

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΑΣ
Α' ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΧΕΠΑ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: Ο ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΪΔΗΣ

ΠΑΝΕΠ. ΕΤΟΣ 2010-2011

Αριθμ. 3182

**Η ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΚΥΚΛΟΥ
ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ ΣΕ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ
ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ
ΤΟΝ ΟΣΤΙΚΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ
(Κλινική Μελέτη)**

ΜΑΡΙΑΣ Π. ΓΙΑΒΡΟΠΟΥΛΟΥ
ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΟΥ
ΕΠΙΜΕΛΗΤΡΙΑΣ Β' ΕΣΥ
ΓΕΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΧΕΠΑ, ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΥΠΟΒΛΗΘΗΚΕ ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΥ ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟΥ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2011

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΙΩΑΝΝΗΣ ΓΙΩΒΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΠΑΝΤΕΛΗΣ ΖΕΜΠΕΚΑΚΗΣ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ANNA ΓΚΟΤΖΑΜΑΝΗ-ΨΑΡΡΑΚΟΥ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

Η ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΙΩΑΝΝΗΣ ΓΙΩΒΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΠΑΝΤΕΛΗΣ ΖΕΜΠΕΚΑΚΗΣ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ANNA ΓΚΟΤΖΑΜΑΝΗ-ΨΑΡΡΑΚΟΥ, ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΓΕΩΡΓΙΟΣ ΚΑΠΕΤΑΝΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΜΙΧΑΗΛ ΠΟΤΟΥΠΙΝΗΣ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΓΟΥΛΗΣ, ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΝΤΟΜΠΡΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

«Η έγκρισις τῆς Διδακτορικῆς Διατριβῆς ὑπό τῆς Ἱατρικῆς Σχολῆς τοῦ Ἀριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, δέν ὑποδηλοῖ ἀποδοχήν τῶν γνωμῶν τοῦ συγγραφέως».

(*Νόμος 5343/32, ἄρθρ. 202 § 2 καί ν. 1268/82, ἄρθρ. 50 § 8*)

ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ
ΝΙΚΟΛΑΟΣ Β. ΝΤΟΜΠΡΟΣ

Στον καθηγητή μου

*Στον Παναγιώτη,
στη Χρύσα, στον Κώστα*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	13
----------------	----

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	19
----------------	----

Κεφάλαιο 1

ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ – ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ	19
--	----

1.1. Εισαγωγή	19
1.2. Δομή του οστίτη ιστού	19
1.2.1. Μακροσκοπική δομή σκελετού	19
1.2.2. Φλοιώδες και σπογγώδες οστούν	21
1.2.3. Μικροσκοπική δομή	23

Κεφάλαιο 2

ΟΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ	25
--	----

2.1. Οστεοβλάστες	25
α) Δομή των οστεοβλαστών	25
β) Ρύθμιση οστεοβλαστικής διαφοροποίησης	26
Μεταγραφική ρύθμιση της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης	27
γ) Λειτουργία των οστεοβλαστών	29
Επιμετάλλωση	30
2.2. Επενδυματικά κύτταρα	30
2.3. Οστεοκλάστες	30
2.3.1. Οστική Απορρόφηση	32
2.4. Οστεοκύτταρα	33
2.5. Οστική ανακατασκευή	35
2.5.1. Εισαγωγή	35
2.5.2. Οι φάσεις του κύκλου οστικής εναλλαγής	35

Κεφάλαιο 3

ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ	38
3.1. Εισαγωγή	38
3.2. Δομή του κολλαγόνου	39
3.3. Δείκτες οστικού μεταβολισμού	42
3.3.1. Δείκτες οστικής κατασκευής	42
N-αμινοτελικό προπεπτίδιο του προκολλαγόνου τύπου 1 (P1NP)	42
Οστεοκαλσίνη	44
3.3.2. Δείκτες οστικής απορρόφησης	44

Κεφάλαιο 4

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ ΟΣΤΙΚΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ	45
4.1. Εισαγωγή	45
4.2. Εντερική απορρόφηση Ασβεστίου	45
4.3. Εντερική απορρόφηση Φωσφόρου	50
4.4. Εντερική απορρόφηση Μαγνησίου	52
4.5. Εντερική απορρόφηση της βιταμίνης D	53
4.6. Ο ρόλος των γαστρεντερικών ορμονών στον οστικό μεταβολισμό	54
α) Το γλυκοξο-εξαρτώμενο ινσουλινοτρόπο πεπτίδιο (GIP)	54
β) Το γλουκαγονόμορφο πεπτίδιο-1 (GLP-1, glucagon-like peptide-1)	56
γ) Το γλουκαγονόμορφο πεπτίδιο-2 (GLP-2)	57
δ) Άλλα πεπτίδια	58

Κεφάλαιο 5

ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗΣ ΕΛΑΤΤΩΣΗΣ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ Ο ΕΝΤΕΡΟ-ΟΣΤΙΚΟΣ ΑΞΟΝΑΣ	60
5.1. Εισαγωγή	60
5.2. Ο κυκλάδιος ρυθμός των δεικτών οστικής εναλλαγής	60
5.3. Οξεία επίδραση των θρεπτικών συστατικών στον οστικό μεταβολισμό	62
5.4. Ορμόνες που αυξάνονται μεταγευματικά	64
5.5. Έντερο-Οστικός άξονας	66

Κεφάλαιο 6

ΘΥΡΕΟΕΙΔΗΣ ΑΔΕΝΑΣ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ	68
6.1. Εισαγωγή	68
6.2. Ρύθμιση της λειτουργίας του θυρεοειδούς αδένος	69
6.3. Λειτουργία του θυρεοειδούς αδένος και μηχανισμός δράσης των θυρεοειδικών ορμονών	70
6.4. Η δράση των θυρεοειδικών ορμονών στα οστά	72
6.4.1. Η δράση των θυρεοειδικών ορμονών στην ανάπτυξη και αύξηση του σκελετού	72
6.4.2. Η δράση των θυρεοειδικών ορμονών στη διατήρηση της οστικής μάζας στον ενήλικα σκελετό	74
6.5. Δράση των θυρεοειδικών ορμονών σε κυτταρικό επίπεδο	75

Κεφάλαιο 7

ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 2 ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ	78
7.1. Εισαγωγή	78
7.2. Καταγματικός κίνδυνος στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2	79
7.3. Οστική πυκνότητα στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2	79
7.4. Αποτελέσματα ιστομορφομετρικών μελετών σε ασθενείς και πειραμάτοζωα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2	80
7.5. Η ομοιοστασία του ασβεστίου και ο μεταβολισμός της βιταμίνης D στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2	81
7.6. Μοριακοί μηχανισμοί	82
α) Η δράση της ινσουλίνης και του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα (IGF-1)	82
β) Ο ρόλος των προϊόντων προχωρημένης γλυκοσυλίωσης	83
γ) Ο ρόλος των κυτοκινών	85

Κεφάλαιο 8

β-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ	86
8.1. Εισαγωγή	86
8.2. Παθογενετικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στην ελαττωμένη οστική πυκνότητα σε ασθενείς με μεσογειακή αναιμία	87
8.2.1. Επίκτητοι μηχανισμοί	88
α) Αύξηση μεγέθους του μυελού των οστών	88

β) Ανεπάρκεια ενδοκρινών αδένων	88
γ) Δευτεροπαθής αιμοχρωμάτωση	89
δ) Τοξικότητα της θεραπείας αποσιδήρωσης	89
ε) Ανεπάρκεια βιταμίνης D	89
στ) Ελαττωμένη φυσική δραστηριότητα	90
8.2.2. Γενετικοί παράγοντες που προδιαθέτουν σε ελαττωμένη οστική πυκνότητα στη β-μεσογειακή αναιμία	90
8.3. Μοριακοί μηχανισμοί	92
8.4. Αντιμετώπιση	95
α) Γενικά μέτρα	95
β) Ειδικά μέτρα	95

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	99
1.1. Κριτήρια επιλογής συμμετεχόντων στη μελέτη	99
Α. Ομάδα: ασθενείς με υποθυρεοειδισμό	99
Β. Ομάδα: ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό	99
Γ. Ομάδα: Ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2	100
Δ. Ομάδα: Ασθενείς με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία	100
Ε. Ομάδα ελέγχου	100
1.2. Κριτήρια αποκλεισμού	100
1.3. Ερευνητικό πρωτόκολλο	101
1.4. Μέθοδοι μετρήσεων	101
1.4.1. Γλυκόζη ορού	101
1.4.2. Ορμονικοί προσδιορισμοί	105
α) Γενικά	105
β) Μέτρηση του γλυκοζοεξαρτώμενου ινσουλινοτρόπου πεπτιδίου (GIP) και του γλουκαγονόμορφου πεπτιδίου (GLP-1)	105
Ευαισθησία (sensitivity)	106
Ειδικότητα (specificity)	106
Ακρίβεια	106
1.4.3. Μέτρηση των δεικτών οστικού μεταβολισμού	107
α) Μέτρηση του δείκτη οστικής κατασκευής N- αμινο- τελικού προπεπτιδίου του προκολλαγόνου τύπου 1 (P1NP)	107
Αρχή της μεθόδου	108

Βαθμονόμηση	108
Εύρος μετρήσεων	108
Ευαισθησία	108
Ακρίβεια	108
Αναμενόμενες τιμές	108
β) Μέτρηση οστεοκαλσίνης	110
Δομή	110
Αρχή της μεθόδου	110
Βαθμονόμηση	111
Εύρος μετρήσεων	111
Ευαισθησία	111
Ακρίβεια	111
Αναμενόμενες τιμές	112
γ) Μέτρηση του δείκτη οστικής απορρόφησης C-καρβοξυ- τελικό τελοπεπτιδίου του κολλαγόνου τύπου 1 (β-CTX, β-carboxyterminal crosslaps)	112
Αρχή της μεθόδου	112
Βαθμονόμηση	113
Εύρος μετρήσεων	113
Ευαισθησία	113
Ειδικότητα	113
Ακρίβεια	113
Αναμενόμενες τιμές	114
1.5. Στατιστική Ανάλυση	114
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	115
2.1. Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων	115
2.2. Ασθενείς με παθήσεις του θυρεοειδούς αδένος	115
α) Υποθυρεοειδισμός	115
Επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού και ποσοστά μεταβολής των μετά από τη λήψη γλυκόζης	115
Συσχετίσεις (α)	117
Έγκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1	117
Συσχετίσεις (β)	120
β) Υπερθυρεοειδισμός	120
Επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού και ποσοστά μεταβολής των μετά από τη λήψη γλυκόζης	120

Συσχετίσεις (α)	120
Έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1	120
Συσχετίσεις (β)	121
γ) Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	121
Επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού και ποσοστά μεταβολής των μετά από τη λήψη γλυκόζης	121
Συσχετίσεις (α)	123
Έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1	123
Συσχετίσεις (β)	123
δ) Ασθενείς με ομόζυγο β-μεσογειακή αναιμία	125
Επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού και ποσοστά μεταβολής των μετά από τη λήψη γλυκόζης	125
Συσχετίσεις (α)	125
Έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1	127
Συσχετίσεις (β)	127
 ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	 131
 ΠΕΡΙΛΗΨΗ	 139
 SUMMARY AND CONCLUSIONS	 145
 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	 151
 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	
Πίνακες αποτελεσμάτων	177

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Ο κριτικός ρόλος της λειτουργίας του γαστρεντερικού συστήματος στην ομοιοστασία του ανθρώπινου σκελετού είναι γνωστός από παλαιότερες μελέτες όπου είχε διαπιστωθεί η αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ νοσημάτων που χαρακτηρίζονται από διαταραχές της πρόσληψης (νευρογενής ανορεξία, υποσιτισμός) ή της απορρόφησης της τροφής (φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, κοιλιοκάκη) και του αυξημένου κινδύνου καταγμάτων, απώρροια της απώλειας οστού που παρατηρείται στις καταστάσεις αυτές. Σημαντικό σταθμό στην έρευνα για τη διερεύνηση των μηχανισμών που ρυθμίζουν αυτήν την αλληλεπίδραση μεταξύ του γαστρεντερικού σωλήνα και του οστίτη ιστού, αποτέλεσε η ταυτοποίηση γαστρεντερικών ορμονών που εκκρίνονται από τα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου με την πρόσληψη τροφής και δρουν μέσω ειδικών υποδοχέων στους περιφερικούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του οστίτη, παρέχοντας πολύτιμες 'πληροφορίες' για τις εκάστοτε συνθήκες ενεργειακού ισοζυγίου στον οργανισμό.

Ο οστίτης ιστός είναι ένας δυναμικός ιστός που υφίσταται συνεχή ανανέωση κατά τη διάρκεια της ζωής. Τα οστικά κύτταρα έχουν την ικανότητα να αποδομούν την οστική θεμέλιο ουσία (οστεοκλάστες) αλλά και να συνθέτουν νέο οστίτη ιστό (οστεοβλάστες) σε έναν αέναο κύκλο, όπου η οστική απορρόφηση εναλλάσσεται με την οστική κατασκευή ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν στο οστικό μικροπεριβάλλον. Η δυνατότητα προσδιορισμού στον ορό προϊόντων μεταβολισμού του κολλαγόνου τύπου 1 (PINP, β-CTX) αλλά και μη κολλαγονικών πρωτεϊνών (οστεοκαλσίνη) που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία κατά τη διάρκεια της οστικής ανακατασκευής, μας δίνει πολύτιμες πληροφορίες για την εκτίμηση του ρυθμού οστικής κατασκευής και απορρόφησης σε διάφορες φυσιολογικές αλλά και παθολογικές καταστάσεις του οργανισμού.

Από τη μελέτη των οστικών αυτών δεικτών στον ορό του αίματος προ-

έκλυψε ότι η οστική ανακατασκευή παρουσιάζει μικρότερο ρυθμό με ελάττωση της οστικής απορρόφησης κατά τη διάρκεια της ημέρας και αύξηση κατά τη διάρκεια της νύκτας. Οι μεταβολές αυτές είναι τελεολογικά σκόπιμες και αφορούν την προσαρμογή του σκελετού στις εκάστοτε ενεργειακές ανάγκες του οργανισμού. Σε περιόδους νηστείας κινητοποιείται η δεξαμενή των θρεπτικών και οργανικών στοιχείων του σκελετού μέσω ενεργοποίησης της οστικής απορρόφησης. Με αυτόν τον τρόπο ο σκελετός προμηθεύει τον οργανισμό με τα στοιχεία που χρειάζεται για να επιβιώσει όταν δεν υπάρχει η ανάλογη παροχή από το περιβάλλον. Αντιθέτως, μεταγευματικά ή διαθεσιμότητα των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών καταργεί την ανάγκη για χρησιμοποίηση των αποθεμάτων του σκελετού, με συνέπεια την άμεση ελάττωση της οστικής απορρόφησης. Η επίδραση αυτή του γεύματος είναι ταχεία, δίκην καταρράκτη και μη μεταγραφική.

Εντατική έρευνα στην προσπάθεια να εξηγηθεί ο παθοφυσιολογικός μηχανισμός του φαινομένου, οδήγησε στην υπόθεση ότι η μεταγευματική ελάττωση της οστικής απορρόφησης ρυθμίζεται από σήματα που προέρχονται από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Η σκέψη αυτή επιβεβαιώθηκε από μελέτες που έγιναν σε ασθενείς με εκτομή τμημάτων του λεπτού και του παχέος εντέρου στους οποίους απουσιάζει η φυσιολογική οστική απάντηση στη χορήγηση μικτού γεύματος που αφορά την ελάττωση της οστικής απορρόφησης κατά 50%.

Σήμερα γνωρίζουμε ότι οι γαστρεντερικές ορμόνες που εκκρίνονται από τη λήψη τροφής, όπως το γλυκοζοεξαρτώμενο ινσουλινοτρόπο πεπτίδιο GIP και τα γλουκαγονόμορφα πεπτίδια GLP-1 και GLP-2 φαίνεται να διαδραματίζουν ρόλο κλειδί στην κατανομή των απορροφούμενων στοιχείων προς τα οστά προτείνοντας την ύπαρξη ενός “έντερο-οστικού άξονα”.

Το πεπτίδιο GIP αποτελείται από 42 αμινοξέα και εκκρίνεται από τα K-κύτταρα του δωδεκαδακτύλου. Αν και η κύρια δράση του είναι η επαγωγή της έκκρισης ινσουλίνης μετά τη λήψη τροφής, η ιστική κατανομή των υποδοχέων του GIP είναι ευρεία και περιλαμβάνει την υπόφυση, το φλοιό των επινεφριδίων, την καρδιά, τον εγκέφαλο, το λιπώδη ιστό, το λεπτό έντερο, τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε διάφορα αγγειακά δίκτυα αλλά και τον οστικό ιστό. In vivo και in vitro μελέτες έδειξαν ότι το πεπτίδιο αυτό έχει θετική επίδραση στον οστικό μεταβολισμό. Παρόμοια δεδομένα υπάρχουν σήμερα και για το πεπτίδιο GLP-1 που παράγεται από τα L-κύτταρα του εντέρου μετά τη λήψη τροφής και προάγει και αυτό την εξαρτώμενη από τη γλυκόζη έκκριση ινσουλίνης, ενώ λιγότερο γνωστός είναι ο μηχανισμός δρά-

σης του GLP-2 στον οστίτη ιστό, εφόσον δεν έχουν βρεθεί υποδοχείς του πεπτιδίου αυτού στα οστικά κύτταρα.

Παρά τις σημαντικές ανακαλύψεις που έγιναν τα τελευταία χρόνια στο πεδίο του οστικού μεταβολισμού αλλά και στην αναγνώριση της σημασίας της αλληλεπίδρασης μεταξύ εντέρου και οστίτη ιστού για τη συνολική ομοιοστασία ενέργειας, παραμένουν ακόμα πολλά ερωτήματα αναφορικά με τους μηχανισμούς που διέπουν τη ρύθμιση της μεταγευματικής μεταβολής της οστικής απορρόφησης από τα πεπτίδια που εκκρίνονται από το γαστρεντερικό σωλήνα. Επίσης δεν έχει διερευνηθεί ακόμα η πιθανή μεταβολή του φαινομένου σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις που επηρεάζουν συνολικά τον οστικό μεταβολισμό.

Η παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε με στόχο τη διερεύνηση του φαινομένου της μεταγευματικής μεταβολής της οστικής απορρόφησης σε παθολογικές καταστάσεις που έχουν αρνητικό αντίκτυπο στο οστικό μεταβολισμό, μέσω διαφορετικών παθογενετικών μηχανισμών. Παράλληλα, μελετήθηκαν οι μεταβολές της έκκρισης των πεπτιδίων GIP και GLP-1, που θεωρούνται από τους κύριους μεσολαβητές του φαινομένου.

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού της Α' Παθολογικής Κλινικής του Γενικού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ. Για τις ανάγκες των μετρήσεων υπήρξε συνεργασία με τα εργαστήρια της Πυρηνικής Ιατρικής και της Βιοχημείας.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου στον Καθηγητή και διευθυντή της Α' Παθολογικής Κλινικής κ. Παύλο Νικολαΐδη για την ανάθεση της μελέτης αυτής και την υποστήριξή του κατά τη διάρκεια της εκπόνησής της, στη διευθύντρια του εργαστηρίου της Πυρηνικής Ιατρικής κυρία Άννα Γκοτζαμάνη-Ψαρράκου, για τη βοήθεια και την αμέριστη συμπαράστασή της κατά τη διαδικασία των μετρήσεων των γαστρεντερικών πεπτιδίων, καθώς και στον καθηγητή κ. Μιχαήλ Καραμούζη, διευθυντή του Εργαστηρίου Βιοχημείας, για την πολύτιμη υποστήριξή του στη μέτρηση των δεικτών του οστικού μεταβολισμού.

Τέλος, στον καθηγητή κ. Ιωάννη Γιώβο, είμαι βαθύτατα ευγνώμων για την αμέριστη συμπαράστασή του, την ουσιαστική καθοδήγηση και ανεκτίμητη βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της μελέτης αυτής αλλά και στη διάρκεια της μαθητείας μου κοντά του.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ – ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ

1.1. Εισαγωγή

Ο οστίτης ιστός είναι ένας δυναμικός ιστός που διατηρεί την ικανότητα να αναγεννάται και μετά το πέρας της οριστικής του διαμόρφωσης (ενηλικίωση) από νεοσυντιθέμενο οστόν στις περιοχές που έχουν υποστεί φθορά. Τα οστά παρέχουν μηχανική προστασία σε ευπαθή όργανα του ανθρωπίνου σώματος (κρανίο, θωρακικός κλωβός), θέσεις πρόσφυσης των μυών και τενόντων (μυοσκελετικό σύστημα), και υποβοηθούν την κίνηση του ανθρωπίνου σώματος. Επίσης αποτελούν την κύρια δεξαμενή του οργανισμού σε ιόντα ασβεστίου, φωσφόρου και μαγνησίου ενώ φιλοξενούν και προστατεύουν την ερυθροποίηση που επιτελείται στο μυελό.

Ο σκελετός χωρίζεται σε δύο τμήματα τον αξονικό σκελετό (axial skeleton) και το σκελετό των άκρων (appendicular skeleton). Ο διαχωρισμός αυτός είναι σημαντικός, διότι η σύσταση και η λειτουργία του σκελετού διαφέρει στα δύο αυτά τμήματα.

1.2. Δομή του οστίτη ιστού

1.2.1. Μακροσκοπική δομή σκελετού

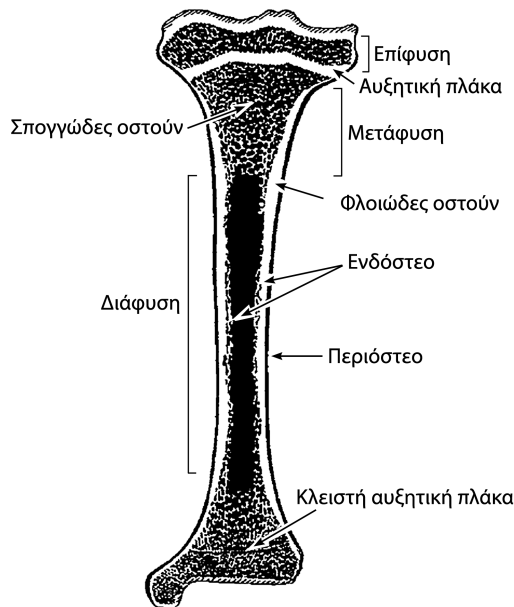
Μορφολογικά, στο σκελετό διακρίνονται δύο τύποι οστών: α) τα πλατέα οστά (οστά κρανίου, κάτω γνάθος, ωμοπλάτη και λαγόνιο οστού) και β) τα μακρά οστά (κνήμη, μηριαίο, βραχιόνιο κτλ.). Οι δύο αυτοί τύποι οστού προέρχονται από διαφορετικές συνθήκες οστικής κατασκευής, τη μεμβρανώδη και την ενδοχόνδρια οστέωση αντίστοιχα. Η κύρια διαφορά τους έγκειται στο ότι στην ενδοχόνδρια οστέωση η καταβολή του χόνδρου προϋ-

πάρχει, ενώ στη μεμβρανώδη οι οστεοβλάστες προέρχονται από τα πολυδύναμα κύτταρα του μεσεγχύματος. Ωστόσο, η ανάπτυξη και αύξηση των μακρών οστών περιλαμβάνει και τους δύο τρόπους οστικής κατασκευής.

Στα μακρά οστά διακρίνουμε 3 τμήματα, την επίφυση, τη μετάφυση και τη διάφυση (Σχήμα 1.1). Οι επιφύσεις είναι οι αποπεπλατυσμένες οστικές επιφάνειες στις οποίες καταλήγουν οι άκρες των μακρών οστών εκατέρωθεν. Η μετάφυση είναι η ζώνη μετάπτωσης των επιφύσεων στο κεντρικό τμήμα του οστού, τη διάφυση. Οι επιφύσεις και οι μεταφύσεις των μακρών οστών είναι αυτές που στηρίζουν τον αρθρικό χόνδρο και γι'αυτό έχουν μεγαλύτερη διάμετρο από τη διάφυση.

Η επίφυση από τη μία πλευρά και η διάφυση με τη μετάφυση από την άλλη προέρχονται από 2 ανεξάρτητα κέντρα οστεοποίησης τα οποία διαχωρίζονται μεταξύ τους από μία χόνδρινη στοιβάδα, τον επιφυσιικό χόνδρο, που αποτελεί την αυξητική πλάκα κατά τη διάρκεια της οστικής ανάπτυξης.

Η εξωτερική ινώδης μεμβράνη που περιβάλλει τα οστά καλείται περιόστεο ενώ η εσωτερική επιφάνεια του οστού που είναι σε άμεση επαφή με το μυελό των οστών, αποτελεί το ενδόστεο.



Σχήμα 1.1. Μακροσκοπικά χαρακτηριστικά των μακρών οστών (Γιώβος - Γιαβροπούλου 2010; Οστικά κύτταρα-Δομές και λειτουργίες).

Το περιόστεο αποτελείται από ινώδη συνδετικό ιστό που καλύπτει το σύνολο της οστικής επιφανείας εν είδη περιτυλίγματος, με εξαίρεση τις περιοχές στις οποίες προσφύονται οι σύνδεσμοι και καλύπτονται από αρθρικό χόνδρο. Αποτελείται από δύο στιβάδες: μία εξωτερική που είναι σε άμεση επαφή με τους μύες και τους άλλους μαλακούς ιστούς και μία εσωτερική στοιβάδα που δημιουργείται κατά τη διάρκεια της οστεοποίησης και σε αυτήν ανευρίσκονται πρόδρομες μη στρατευμένες μορφές χονδροκυττάρων και οστεοβλαστών. Η εσωτερική αυτή στιβάδα του περιοστέου αποτελεί δεξαμενή πρόδρομων κυττάρων και συμμετέχει στην οστική εναπόθεση κατά τη διαδικασία της οστικής αύξησης, ενώ είναι υπεύθυνη και για την αύξηση της διαμέτρου των μακρών οστών που πραγματοποιείται με την πάροδο της ηλικίας.

Το περιόστεο περιέχει επίσης αιμοφόρα αγγεία που είναι υπεύθυνα για τη θρέψη των οστών, νευρικές απολήξεις, οστεοβλάστες και οστεοκλάστες. Η πρόσφυση του περιοστέου στο οστό γίνεται μέσω ισχυρών ινών κολλαγόνου που ονομάζονται ίνες του Sharpey και διεισδύουν στον οστίτη ιστό.

Το ενδόστεο είναι μία μεμβράνη που επαλείφει εσωτερικά την οστική κοιλότητα και περιέχει επίσης αιμοφόρα αγγεία, οστεοβλάστες και επενδυματικά κύτταρα. Εκτός από το μυελό των οστών το ενδόστεο καλύπτει την επιφάνεια του φλοιώδους οστού και τα αιμοφόρα αγγεία που πορεύονται κατά μήκος του οστού, καθ'οδόν προς τους διαύλους του Volkman

1.2.2. Φλοιώδες και σπογγώδες οστούν

Ιστολογικά και ακτινολογικά διακρίνονται δύο τύποι οστών. Το φλοιώδες (ή συμπαγές οστούν) εμφανίζει πυκνή και συμπαγή σύσταση και αποτελεί το 80% της συνολικής οστικής μάζας στον ενήλικα σκελετό, ενώ το δοκιδώδες (ή σπογγώδες οστούν) σχηματίζει ένα δίκτυο, εν είδη μελισσοκυρήθρας, από δοκιδώδεις πλάκες και στήλες που περιβάλλουν το μυελό των οστών και αποτελεί το υπόλοιπο 20% της συνολικής οστικής μάζας.

Η κατανομή του σπογγώδους και του συμπαγούς οστού διαφέρει ανάμεσα στα διάφορα οστά. Η κερκίδα αποτελείται κατά 92% από φλοιώδες και κατά 8% από σπογγώδες οστούν, ενώ οι σπόνδυλοι αποτελούνται κατά 62% από φλοιώδες οστούν και κατά 38% από σπογγώδες οστούν.

Η διάφυση των μακρών οστών αποτελείται κυρίως από συμπαγές οστούν, ενώ το κύριο τμήμα των επιφύσεων και μεταφύσεων αποτελείται από σπογγώδες οστούν το οποίο περιβάλεται από μία λεπτή στοιβάδα συμπαγούς (Bachrach και συν 2009).

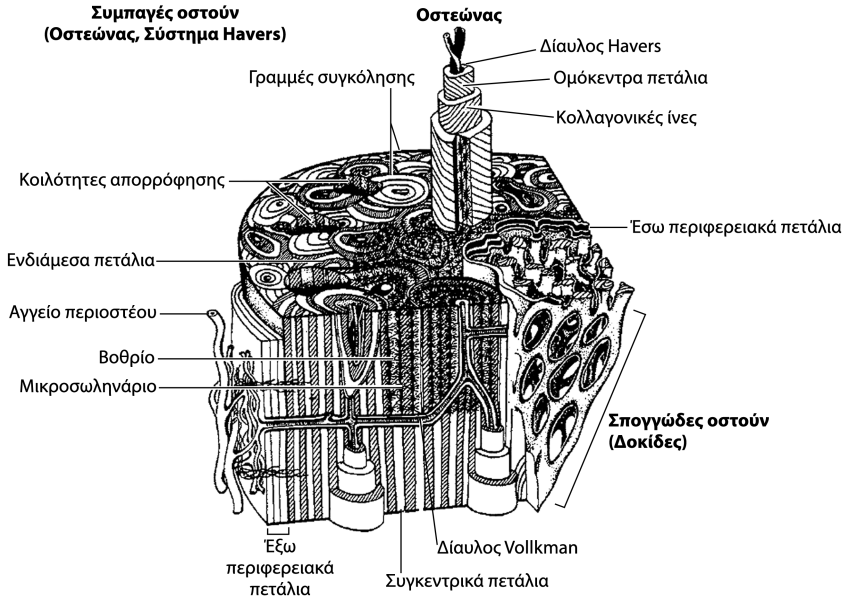
Η αυξητική πλάκα των μακρών οστών και η παρακείμενη μοίρα του

φλοιώδους οστού της μετάφυσης αποτελούν την περιοχή ανάπτυξης και επιμήκυνσης του φλοιώδους οστού. Στον ενήλικα σκελετό η χονδρογενής αυξητική πλάκα αποκαθίσταται από φλοιώδες οστούν, που προκαλεί τη σύντηξη της επίφυσης με τη μετάφυση (σύγκλιση επιφυσιακών πλακών).

Τα γενικά χαρακτηριστικά και των δύο τύπων οστού είναι παρόμοια. Σε ιστολογικό επίπεδο το συμπαγές οστούν αποτελείται από βασικές δομικές μονάδες, τους οστεώνες, ενώ το σπογγώδες από τους ημι-οστεώνες.

Οι οστεώνες ή το σύστημα του Havers, έχουν κυλινδρικό σχήμα και δημιουργούν ένα ανατομικό δίκτυο, όπως τα κλαδιά ενός δένδρου. Το σύστημα του Havers αποτελείται από έναν επιμήκη σωλήνα (σωλήνας Havers), παράλληλο με τον επιμήκη άξονα των μακρών οστών, ο οποίος περιέχει ένα αρτηρίδιο και ένα φλεβίδιο. Ο σωλήνας του Havers λειτουργεί ως άξονας γύρω από τον οποίον διατάσσονται κυκλοτερώς τα πετάλια του συμπαγούς οστού, κατασκευή που παρομοιάζεται με τις κυκλοτερείς ομόκεντρες στιβάδες ενός κρεμμυδιού (Yang και συν 2009) (Σχήμα 1.2).

Ο φλοιώδης οστίτης ιστός εμφανίζει τρεις επιφάνειες, την περιοστική, που χωρίζει την εξωτερική επιφάνεια του οστού από τα παρακαείμενα όρ-



Σχήμα 1.2. Μικροσκοπικά χαρακτηριστικά των μακρών οστών (Δίαυλοι Havers και Volkman) (Γιώβος - Γιαβροπούλου 2010; Οστικά κύτταρα-Δομές και λειτουργίες).

γανα, την ενδοοστική που επαλείφει την εσωτερική επιφάνεια του οστού και περιβάλλει τον αυλό των μακρών οστών που αποτελείται από το μυελό και λιπώδη ιστό και τέλος τις επιφάνειες των πόρων του Havers.

Ο σπογγώδης ιστός αποτελείται από δοκίδες και πλάκες που διατάσσονται προς διάφορες κατευθύνσεις ανάλογα με το μηχανικό φορτίο που δέχεται ο ιστός στις διάφορες σκελετικές θέσεις. Οι κοιλότητες που σχηματίζονται από τις δοκίδες του σπογγώδους οστού περιέχουν μυελό των οστών ή λιπώδη ιστό. Ο σπογγώδης οστίτης ιστός παρουσιάζει μία μόνο επιφάνεια που έρχεται σε επαφή με το μυελό των οστών.

Αν και τα δύο είδη του οστίτη ιστού αποτελούνται από τα ίδια οστικά κύτταρα και από παρόμοια σύσταση θεμέλιο ουσία, υπάρχουν ωστόσο δομικές και λειτουργικές διαφορές. Η κύρια δομική διαφορά είναι ποσοτική: το 80-90% του όγκου του φλοιώδους οστού είναι επασβεστωμένο, ενώ αντίστοιχα μόνο το 15-25% του σπογγώδους (ο υπόλοιπος όγκος καταλαμβάνεται από μυελό των οστών, αιμοφόρα αγγεία και συνδετικό ιστό), με αποτέλεσμα το 70-85% της αλληλεπίδρασης με τους μαλακούς ιστούς που επιτελείται από την ενδοοστική επιφάνεια του οστού να περιλαμβάνει κύρια όλες τις επιφάνειες του σπογγώδους οστού.

Απόρροια αυτής της διαφοράς τους είναι και η διαφορά που εμφανίζουν στη λειτουργία. Από λειτουργικής απόψεως, το σπογγώδες οστό θεωρείται περισσότερο ενεργό μεταβολικά απ' ότι το φλοιώδες, το οποίο είναι επιφορτισμένο κυρίως με τη μηχανική λειτουργία του οστού.

1.2.3. Μικροσκοπική δομή

Η σύσταση του οστίτη οστού περιλαμβάνει το ανόργανο τμήμα (50-70%), την οργανική θεμέλιο ουσία (20-40%), νερό (5-10 %) και λιπίδια (<3%) (Robey και συν 2002).

Το ανόργανο τμήμα του οστού αποτελείται από ένα ανάλογο του γεωλογικού υδροξυαπατίτη που απαντάται στη φύση ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Ο οστικός απατίτης είναι ένας ασβέστιο-υδροξείδιο απατίτης στη δομή του οποίου συμμετέχουν και ιόντα άνθρακος, νατρίου, καλίου, χλωρίου, φθοριούχα και κιτρικά. Στα αρχικά στάδια της οστεογένεσης το υμενώδες και το πεταλιώδες οστό έχουν μικρότερη περιεκτικότητα σε ανόργανα στοιχεία από το τελικό συμπαγές οστόν.

Οι κρύσταλλοι του οστικού υδροξυαπατίτη είναι σχετικά μικροί σε μέγεθος (~9nm - 6nm - 2nm) στα οστά των νέων απόμων, σε αντίθεση με το κάπως μεγαλύτερο μέγεθος που απαντάται στην αδαμαντίνη ουσία των οδόντων και στους πολύ μεγαλύτερους κρυστάλλους που απαντώνται στο γεω-

λογικό απατίτη. Το μικρό αυτό μέγεθος των κρυστάλλων προάγει την ενσωμάτωση και άλλων ιόντων και προσδίδει στο ανόργανο τμήμα του οστού την ιδιότητα να διαλύεται στο όξινο περιβάλλον που δημιουργείται από τους οστεοκλάστες κατά τη διάρκεια της οστικής απορρόφησης. Επίσης παρέχει στα εύκαμπτης σύστασης ινίδια κολλαγόνου, στα οποία εναποτίθεται, σταθερότητα και σχετική ακαμψία. Η διάταξη των οστικών κρυστάλλων διαμορφώνει λεπτούς γωνιώδεις σχηματισμούς οι οποίοι συναθροίζονται ή συντήκονται, κατά τη διαδικασία ωρίμανσης του οστού.

Η περιεκτικότητα του ανοργάνου τμήματος της οστικής θεμελίου ουσίας σε άτομα άνθρακα αυξάνεται καθώς ο οστίτης ιστός ωριμάζει. Ο άνθρακας μπορεί είτε να αντικαταστήσει ιόντα υδροξειδίου (Α τύπος άνθρακα) ή φωσφορικά ιόντα (Β τύπος άνθρακα) είτε να ενσωματωθεί στην επιφάνεια του απατίτη (ασταθής άνθρακας). Με την αύξηση της ηλικίας η αναλογία του ασταθούς άνθρακα ελαττώνεται και στον ώριμο οστικό απατίτη κυριαρχεί ο Β τύπος άνθρακα. Λιγότερα είναι γνωστά για τα υπόλοιπα ιόντα που συσσωρεύονται στη θεμελίου ουσία του οστίτη ιστού. Ειδικότερα για το μαγνήσιο και το στρόντιο υπάρχει αντίλογος αναφορικά με το αν ενσωματώνονται στο πλέγμα του απατίτη ή εναποτίθενται στην επιφάνεια των οστικών ανόργανων κρυστάλλων.

Το δεύτερο πιο άφθονο συστατικό του οστίτη ιστού είναι το κολλαγόνο τύπου 1 (βλέπε κεφάλαιο 4). Το κολλαγόνο παρέχει στο οστούν ελαστικότητα και ευκαμψία και κατευθύνει την οργάνωση της θεμελίου ουσίας. Διάφορες παθήσεις όπως πχ η ατελής οστεογένεση επιβεβαιώνουν το σημαντικό ρόλο του κολλαγόνου στη μηχανική αντοχή του οστού.

Το νερό αποτελεί το 5-10% του συνολικού βάρους του οστού. Η ενυδάτωση του οστίτη ιστού είναι κριτικής σημασίας τόσο για τη θρέψη και λειτουργία των οστικών κυττάρων όσο και για τη μηχανική λειτουργία της οστικής μονάδας κολλαγόνο-κρύσταλλοι υδροξυαπατίτη. Δεσμοί υδρογόνου μεταξύ του κολλαγόνου και του νερού προσδίδουν σταθερότητα στα ινίδια κολλαγόνου και έχει προταθεί ότι η αντικατάσταση του νερού από ανόργανα συστατικά πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια της επιμετάλλωσης.

Οι μη κολλαγονικές πρωτεΐνες αποτελούν το 5% του άνυδρου βάρους του οστίτη ιστού και είναι πολύ σημαντικές για μια πλειάδα λειτουργιών του.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΟΣΤΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ

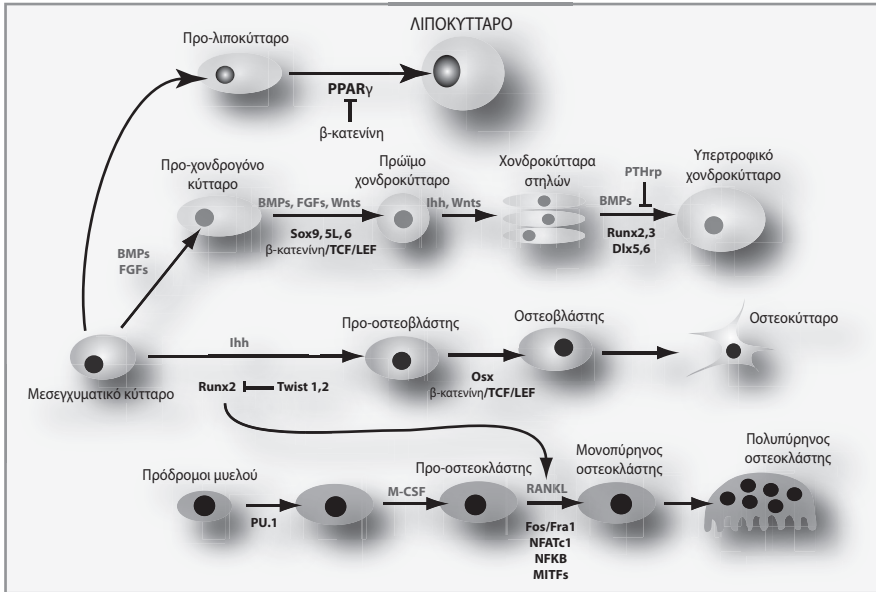
2.1. Οστεοβλάστες

Οι οστεοβλάστες είναι τα οστεοπαραγωγικά κύτταρα του μυελού των οστών που έχουν την ικανότητα να συνθέτουν μη μεταλλωμένο οστίτη ιστό (οστεοειδές), ενώ συμμετέχουν επίσης στην επασβέσωση και απορρόφηση του οστού, καθώς και στη ρύθμιση της μετακίνησης ιόντων ασβεστίου και φωσφόρου μεταξύ οστίτη ιστού και συστηματικής κυκλοφορίας.

Προέρχονται από τα στρωματικά πολυδύναμα (μεσεγχυματικά) βλαστικά κύτταρα του μυελού των οστών από τα οποία προέρχονται και οι υπόλοιπες κυτταρικές μορφές. (Σχήμα 2.1). Το κύριο ιστοχημικό χαρακτηριστικό που διακρίνει τους προ-οστεοβλάστες από άλλους κυτταρικούς τύπους που ανευρίσκονται κοντά στην οστική επιφάνεια είναι η δραστηριότητα του ενζύμου αλκαλική φωσφατάση, που αποτελεί και τον πρωϊμότερο δείκτη της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010). Οι πρόδρομες μορφές των οστεοβλαστών διατηρούν την ικανότητα πολλαπλασιασμού σε αντίθεση με τους ώριμους οστεοβλάστες, οι οποίοι στη συνέχεια δύναται να διαφοροποιηθούν περαιτέρω σε οστεοκύτταρα ή επενδυματικά κύτταρα.

α) Δομή των οστεοβλαστών

Τα οστεοβλαστικά κύτταρα διατάσσονται σε μία ή πολλαπλές στιβάδες. Ο πυρήνας τους είναι πολύ μεγάλος σχετικά με το κυτταρόπλασμα και είναι έκκεντρα τοποθετημένος μακράν της οστικής επιφάνειας. Παρουσιάζουν πολλαπλούς πυρηνίσκους και σημαντικό αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, απόρροια της έντονης μεταβολικής και εκκριτικής τους δραστηριότητας. Επίσης διαθέτουν πολλά ριβοσώματα τα οποία εμφανίζουν στιβαδωτή διάταξη με σχηματισμό δεξαμενών. Η συσκευή Golgi είναι ιδιαίτερα αναπτυγμένη

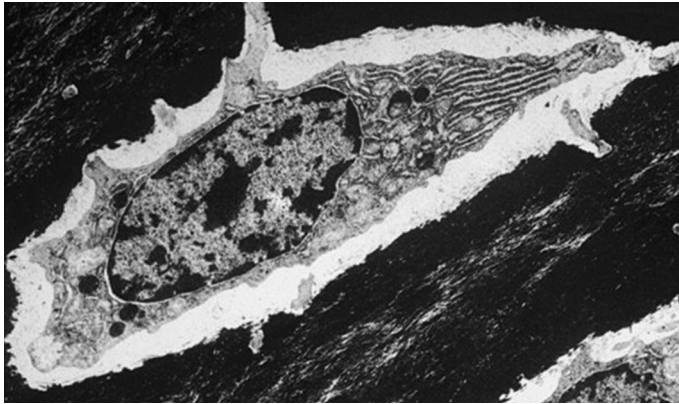


Σχήμα 2.1. Προέλευση οστεοβλαστών. Η διαφοροποίηση των οστεοβλαστών περιλαμβάνει αρχικά τη στράτευσή τους από τα πρόδρομα μεσεγγυματικά κύτταρα από τα οποία επίσης προέρχονται οι μυοβλάστες, οι λιποβλάστες και οι χονδροβλάστες. Ο κύριος μεταγραφικός παράγοντας για τη διαφοροποίηση των μυοκυττάρων είναι ο *MyoD*, για τα χονδροκύτταρα ο παράγοντας *SOX9*, για τα λιποκύτταρα η οικογένεια των μεταγραφικών παραγόντων *PPARγ* και *CCAAT/E/EBP* και για τους οστεοβλάστες ο μεταγραφικός παράγοντας *Runx-2* και το μονοπάτι μεταγωγής σήματος *Wnt*. *MyoD*, *Myoblast determination protein 1*; *SOX-9*, *SRY-related HMG box-9*; *PPAR-γ*, *Peroxisome proliferator-activated receptor*; *CCAAT/EBP-a*, *CCAAT enhancer binding protein-a*; *Runx-2*, *Runt-related transcription factor 2*. (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010 Οστικά κύτταρα-Δομές και Λειτουργίες).

και καταλαμβάνει μεγάλο χώρο πλησίον του πυρήνα (Εικόνα 2.1). Άλλα συστατικά που ανευρίσκονται ευκαιριακά, ειδικά σε πιο πρόδρομες μορφές των οστεοβλαστών περιλαμβάνουν: λυσοσωμάτια, γλυκογόνο, λιπο-σταγονίδια, κεντριόλια και κροσσούς (ανάδευση εξωκυτταρίου υγρού).

β) Ρύθμιση οστεοβλαστικής διαφοροποίησης

Μεγάλος αριθμός ορμονών, κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων που ελευθερώνονται κατά τη διάρκεια της οστικής ανακατασκευής σε μία συγκεκριμένη σκελετική θέση, συμμετέχουν στη ρύθμιση της διαφοροποίησης και λειτουργίας των οστεοβλαστών. Η έναρξη της διαφοροποίησης των με-



Εικόνα 2.1. Ηλεκτρονική φωτογραφία οστεοβλάστη. Η αναπτυγμένη συσκευή Golgi και το αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο είναι χαρακτηριστικά των ενεργών οστεοβλαστών. (Roland Baron, Chapter 1. ANATOMY AND ULTRASTRUCTURE OF BONE - HISTOGENESIS, GROWTH AND REMODELING, www.Endotext.com).

σεγχυματικών κυττάρων προς την οστεοβλαστική κυτταρική σειρά ρυθμίζεται αρχικά από τις οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες, το μετατροπικό αυξητικό παράγοντα TGF- β και το ενδοκυττάριο σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt (Krause και συν 2009; Modder και συν 2008; Bonewald και συν 2002; Baron και συν 2007; Ύανγορουλου και συν 2007).

Μεταγραφική ρύθμιση της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης

Για όλες τις κυτταρικές σειρές που προέρχονται από αυτά τα πολυδύναμα κύτταρα υπάρχουν οι κύριοι μεταγραφικοί παράγοντες, η ενεργοποίηση των οποίων σηματοδοτεί την επακόλουθη έκφραση άλλων μεταγραφικών παραγόντων σε μια αλυσιδωτή αντίδραση που οδηγεί στην τελική έκφραση των απαραίτητων για κάθε κυτταρικό τύπο γονιδίων. Ο κύριος μεταγραφικός παράγοντας για τη διαφοροποίηση των μυοκυττάρων είναι ο MyoD (Μυογενίνη) (Berkes και συν 2005), για τα χονδροκύτταρα ο παράγοντας SOX9 ενώ για τα λιποκύτταρα η οικογένεια των μεταγραφικών παραγόντων PPAR γ και CCAAT/E/EBP (Delorme και συν 2006; Eghbali-Fatoureghi και συν 2005; Franceschi και συν 2007; Karsenty και συν 2007; Cheng και συν 2003). Ο κύριος μεταγραφικός παράγοντας για τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών είναι ο Runx-2 (της οικογένειας των μεταγραφικών παραγόντων Runt -homology domain). Η πλήρης ανεπάρκεια του παράγοντα αυτού σε πειραματόζωα οδηγεί στην ανάπτυξη παθολογικού σκελετού που απαρτίζεται μόνο από χονδροκύτταρα και απουσία οστίτη ιστού,

ενώ απλοειδική ανεπάρκεια του προκαλεί κλειδοκρανιακή δυσπλασία σε ανθρώπους και σε πειραματόζωα (Nishio και συν 2006; Xiao και συν 2005).

Εκτός από τον παράγοντα Runx-2 υπάρχει ακόμη ένας τουλάχιστον μεταγραφικός παράγοντας, με τα σημερινά δεδομένα, ο οποίος είναι απαραίτητος για την οστεοβλαστική διαφοροποίηση. Ο παράγοντας Osterix περιέχει ένα δακτύλιο ψευδαργύρου στο μόριο του και εκφράζεται ειδικά στα οστεοβλαστικά κύτταρα σε όλες τις περιοχές του οστίτη ιστού (Celil και συν 2005). Αδρανοποίηση του παράγοντα Osterix σε ποντίκια είναι ασύμβατη με τη ζωή λόγω πλήρους απουσίας της οστικής κατασκευής. Σε αντίθεση με το Runx-2 που είναι απαραίτητος και για την υπερτροφία των χονδροκυττάρων (Enomoto και συν 2000) ο Osterix συμμετέχει μόνο στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση και στην οστική κατασκευή.

Ο μεταγραφικός παράγοντας ATF4 είχε αρχικά αναγνωρισθεί από τη σύνδεση του στο τμήμα OSE-1 (osteoblast-specific element 1) του προαγωγέα του κολλαγόνου τύπου 1. Εκτός όμως από τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης του κολλαγόνου φαίνεται ότι ο παράγοντας ATF-4 είναι απαραίτητος και για την σύνθεσή του. Έχει αποδειχθεί από μελέτες ότι ο ATF4 είναι υπεύθυνος για την επαρκή μεταφορά των απαραίτητων για τη σύνθεση του κολλαγόνου αμινοξέων στους οστεοβλάστες (Elefteriou και συν 2006). Πειραματικά μοντέλα με πλήρη ανεπάρκεια του ATF4 εμφανίζουν αρχικά καθυστέρηση της σκελετικής ανάπτυξης και στη συνέχεια σοβαρού βαθμού ελάττωση της οστικής μάζας λόγω μειωμένης οστικής κατασκευής. Παρόμοιο σκελετικό φαινότυπο εμφανίζουν οι ασθενείς που πάσχουν από το σύνδρομο Coffin-Lowry, μια X-φυλοσύνδετη νόσο που χαρακτηρίζεται από διανοητική υστέρηση και ελαττωμένη σύνθεση κολλαγόνου (Yang και συν 2004).

Παράλληλα με το ρόλο του στην οστική κατασκευή ο παράγοντας ATF4 συμμετέχει και στη ρύθμιση της οστικής απορρόφησης. Η μοριακή βάση της λειτουργίας αυτής έγκειται στη σύνδεση του ATF4 με τον προαγωγέα του γονιδίου RANKL που εκφράζεται στους οστεοβλάστες. Ωστόσο φαίνεται ότι αυτή η δράση σχετίζεται με τη ρύθμιση της οστικής απορρόφησης από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα (Elefteriou και συν 2006).

Η πρωτεΐνη AP1 (Activating Protein 1) είναι ένα ετεροδιμερές που απαρτίζεται από τις οικογένειες των μεταγραφικών παραγόντων Fos (c-Fos, Fra1, Fra2 και FosB) και Jun (c-Jun, JunB, JunD).

Οι μεταγραφικοί παράγοντες AP1 συμμετέχουν σε πλήθος λειτουργιών σε διάφορους κυτταρικούς τύπους, ωστόσο, ορισμένα μέλη της οικογένειας διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και στην οστική ανακατασκευή, όπως α-

ποδεικνύεται από μελέτες με αντίστοιχες αδρανοποιητικές ή ενεργείς μεταλλάξεις σε πειραματόζωα. Έτσι ποντίκια με ανεπάρκεια του παράγοντα c-Fos εκδηλώνουν βαρεία οστεοπέτρωση λόγω αναστολής της οστεοκλαστικής διαφοροποίησης, ενώ η υπερέκφραση του προκαλεί την ανάπτυξη οστεοσαρκώματος (Wagner και συν 2005). Επίσης απώλεια του παράγοντα JunB οδηγεί σε χαμηλό ρυθμό οστικής εναλλαγής λόγω διαταραχών της λειτουργίας των οστεοβλαστών αλλά και της διαφοροποίησης των οστεοκλαστών (Eferl και συν 2004).

γ) Λειτουργία των οστεοβλαστών

Η κύρια λειτουργία των κυττάρων αυτών είναι η παραγωγή οστεοειδούς (μοναδικό χαρακτηριστικό), το οποίο αποτελείται κατά κύριο λόγο από κολλαγόνο τύπου I και η επακολουθούσα επιμετάλλωσή του. Παράλληλα, υπό την επίδραση ερεθισμάτων στο οστικό μικροπεριβάλλον, οι οστεοβλάστες παράγουν και μια πληθώρα κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων όπως ο ινσουλινομόρφος αυξητικός παράγοντας (IGF-1), ο ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας (FGF), ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγων (TGF-β), ο αυξητικός παράγων των αιμοπεταλίων (PDGF), οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) και οι πρωτεΐνες Wnt (Harada και συν 2003).

Η αλκαλική φωσφατάση και ο υποδοχέας της παραθορμόνης PTHR1 αποτελούν πρωίμους δείκτες των οστεοπαραγωγικών κυττάρων, των οποίων η έκφραση αυξάνει όσο οι οστεοβλάστες συνεχίζουν να διαφοροποιούνται προς ωριμότερες μορφές και να εναποθέτουν θεμέλιο ουσία και ελατώνονται κατά τη μετάβαση των οστεοβλαστών σε οστεοκύτταρα (Calvi και συν 2001). Αντιθέτως, η έκφραση της οστεοκαλσίνης, που αποτελεί όψιμο δείκτη, αυξάνει μετά το τέλος της διαφοροποίησης των ώριμων οστεοβλαστών και σχετίζεται με τη διαδικασία της επιμετάλλωσης του οστεοειδούς (Aubin και συν 2001; Aubin και συν 2002).

Η παραγωγή της θεμελίου ουσίας από τους οστεοβλάστες προηγείται της επιμετάλλωσης κατά 15 ημέρες. Κατά τη διάρκεια της οστικής ανακατασκευής, η καθυστέρηση αυτή της επιμετάλλωσης οδηγεί στην παραμονή μιάς στοιβάδος μη μεταλλωμένης θεμελίου ουσίας, η οποία αποτελεί το οστεοειδές (πάχους 8-10 μm). Ο λανθάνων χρόνος της επιμετάλλωσης είναι περίπου 10 ημέρες στον ενήλικα σκελετό, ενώ η παραγωγή του υμενώδους οστού στην εμβρυϊκή ζωή έχει πολύ μικρότερο λανθάνοντα χρόνο επιμετάλλωσης, με αποτέλεσμα το οστεοειδές στην περίπτωση αυτή να είναι πολύ λεπτό ή και να απουσιάζει τελείως.

Επιμετάλλωση

Η οστική επιμετάλλωση αφορά την – με συγκεκριμένη διάταξη – εναπόθεση του απατίτη στην οστική θεμέλιο ουσία που απαρτίζεται από το κολλαγόνο τύπου 1 και τις μη κολλαγονικές πρωτεΐνες. Η εναπόθεση των κρυστάλλων του απατίτη γίνεται πάντα με τη μεγαλύτερη διάμετρο τους να είναι παράλληλη του άξονα που σχηματίζουν τα ινίδια του κολλαγόνου. Αποτελεί διαδικασία δύο σταδίων: α) αρχική φάση εναπόθεσης μετάλλων, και β) φάση ανάπτυξης, πολλαπλασιασμού και ωρίμανσης των κρυστάλλων υδροξυαπατίτη (Aubin και συν 2002).

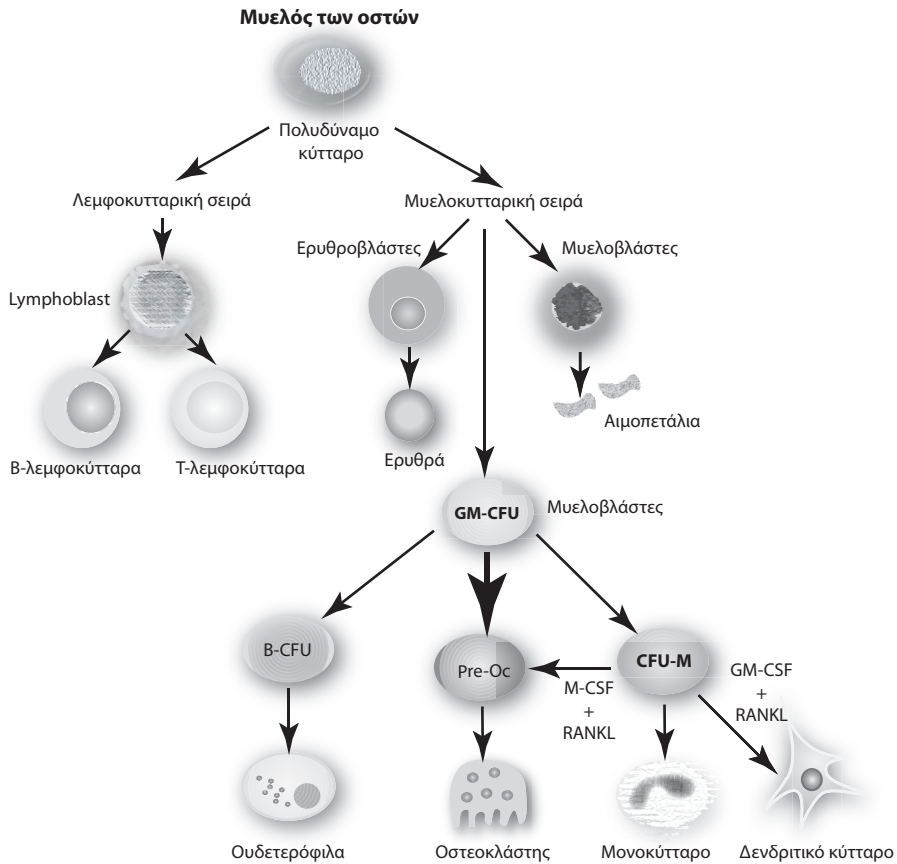
2.2. Επενδυματικά κύτταρα

Τα κύτταρα αυτά διαθέτουν πολύ λίγο κυτταρόπλασμα, είναι αδρανή, επιμήκη, παράλληλα προς την οστική επιφάνεια και συνδέονται μεταξύ τους με χασμαποσυνάψεις. Με την παράλληλη διάταξή τους προς την οστική επιφάνεια και τη δημιουργία μονοστοιβάδας σχηματίζουν το ενδόστεο, που χωρίζει το οστόν από τη μυελική κοιλότητα ή αφορίζουν το περιόστεο, που περιβάλλει τις επιμεταλλωμένες οστικές επιφάνειες.

2.3. Οστεοκλάστες

Οι οστεοκλάστες είναι πολυπύρηννα κύτταρα που προέρχονται από τα πολυδύναμα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα του μυελού των οστών, από τα οποία προέρχονται επίσης τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος και τα μακροφάγα διαφόρων ιστών (Σχήμα 2.2). Τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών ενώνονται για τη δημιουργία γιγάντιων πολυπύρηνων κυττάρων (1 έως > 50 πυρήνες, διαμέτρου 20-100μm) τα οποία στη συνέχεια ενεργοποιούνται μεταβάλλοντας την οργάνωση του κυτταροσκελετού τους, ώστε να είναι δραστικά για την κύρια λειτουργία τους που είναι η οστική απορρόφηση. Οι ώριμοι οστεοκλάστες, που επιτελούν την οστική απορρόφηση, εντοπίζονται σε κοιλότητες της οστικής επιφανείας που ονομάζονται κοιλότητες οστικής απορρόφησης ή βοθρία του Howship και ανευρίσκονται σε γειτονία με το μυελό των οστών (Asagiri και συν 2007).

Αρκετοί ορμονικοί παράγοντες όπως η 1,25-διυδροξυ βιταμίνη D και η παραθορμόνη, αλλά και κυτοκίνες που παράγονται τοπικά στο μικροπεριβάλλον του οστού και από τους ίδιους τους οστεοκλάστες, συμμετέχουν στη ρύθμιση της οστεοκλαστικής διαφοροποίησης και λειτουργίας. Παράλληλα οι υπόλοιποι κυτταρικοί πληθυσμοί του μυελού των οστών όπως τα T-



Σχήμα 2.2. Προέλευση οστεοκλαστών. Οι οστεοκλάστες προέρχονται από τα πολυδύναμα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα του μυελού των οστών, από τα οποία προέρχονται επίσης τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος και τα μακροφάγα διαφόρων ιστών. (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010 Οστικά κύτταρα-Δομές και Λειτουργίες).

λεμφοκύτταρα, τα B-λεμφοκύτταρα και τα οστεοκύτταρα επηρεάζουν και αυτά με τη σειρά τους την οστεοκλαστική διαφοροποίηση (Takayanagi και συν 2007). Απαραίτητη είναι η σύνδεση προ-οστεοκλαστών με τα στρωματικά κύτταρα/οστεοβλάστες που φέρουν κυτταροειδικές διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, όπως ο παράγοντας RANKL, οι οποίες αλληλεπιδρούν με τους ειδικούς υποδοχείς RANK στους προ-οστεοκλάστες, αλλά και στους ώριμους οστεοκλάστες για την ενεργοποίηση της οστεοαπορροφητικής λειτουργίας τους (Bruzzanti και συν 2007; Ύαντορουλou και συν 2008).

Οι οστεοκλάστες εκφράζουν υποδοχείς για την καλσιτονίνη και τη βιτρονεκτίνη (υποδοχείς ιντεγκρινών ανβ3), ενώ υπάρχουν αντικρουόμενες μελέτες για την έκφραση υποδοχέων της παραθορμόνης, των οιστρογόνων και της 1,25-(OH)₂ βιταμίνης D. Η καλσιτονίνη αναστέλλει τη λειτουργία των οστεοκλαστών ενώ η βιταμίνη D προάγει τη διαφοροποίηση των πρόδρομων οστεοκλαστών (Boyle και συν 2003).

Η διάρκεια ζωής ενός οστεοκλάστη σε *in vivo* καταστάσεις είναι περίπου 7 εβδομάδες, με χρόνο ημίσειας ζωής 6 με 10 ημέρες. Η διάρκεια ζωής των πυρήνων των οστεοκλαστών είναι 10 ημέρες.

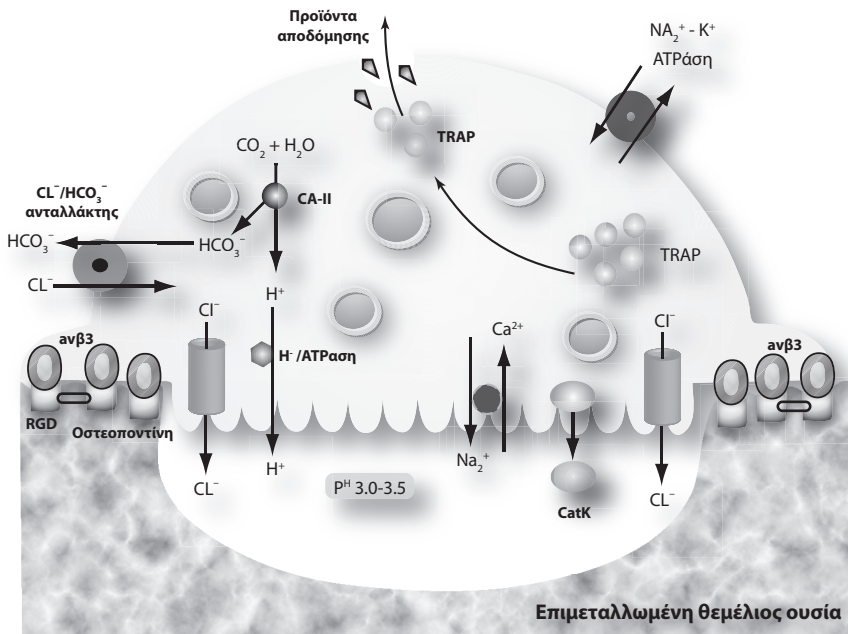
2.3.1. Οστική Απορρόφηση

Η οστική απορρόφηση συντελείται ανάμεσα στη θεμέλιο ουσία του οστού και την πτυχωτή επιφάνεια των οστεοκλαστών και περιλαμβάνει δύο στάδια 1) τη διάλυση των οστικών αλάτων μέσω οξינוποίησης του οστικού μικροπεριβάλλοντος και 2) την πέψη της οργανικής θεμέλιας ουσίας από πρωτεολυτικά ένζυμα (Σχήμα 2.3) (Destaing και συν 2003; Teitelbaum και συν 2003).

Στο κυτταρόπλασμα του οστεοκλάστη, με τη δράση της καρβονικής ανυδράσης τύπου 2, παράγεται διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Στη συνέχεια από το διοξείδιο του άνθρακα παράγονται διττανθρακικά και ένα πρωτόνιο. Τα πρωτόνια μεταφέρονται στην απόρροφητική επιφάνεια μέσω μιας από ATP-εξαρτώμενης αντλίας πρωτονίων (H⁺-ATPase) της πτυχωτής μεμβράνης και δημιουργούν το όξινο περιβάλλον που είναι απαραίτητο για να δράσουν τα πρωτεολυτικά ένζυμα (PH=3,5-4,5). Η διατήρηση της οξεοβασικής ισορροπία του κυτταροπλάσματος του οστεοκλάστη επιτυγχάνεται από ένα δίκτυο ιόντων χλωρίου που λειτουργεί παράλληλα με την αντλία πρωτονίων. Η παρουσία των πρωτονίων στην προς απορρόφηση οστική επιφάνεια προκαλεί αποδόμηση του υδροξυαπατίτη σε ασβέστιο, διαλυτό ανόργανο φωσφόρο και H₂O (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010).

Το οργανικό μέρος του οστού διασπάται από την καθεψίνη K, πρωτεάση κυστεΐνης και από την οστική μεταλλοπρωτεΐνάση. Τα προϊόντα αποδόμησης και τα υπολείμματα μεταφέρονται μέσα σε κυστίδια, διαμέσου του κυτταροπλάσματος, προς τη βασική μεμβράνη του οστεοκλάστη απ' όπου και αποβάλλονται με εξωκύτωση. Τα κυστίδια αυτά περιέχουν το ένζυμο όξινη φωσφατάση (TRAP) που παράγει ενεργές ρίζες οξυγόνου για την περαιτέρω αποδόμηση του κολλαγόνου.

Επιπλέον, η περίσσεια των διττανθρακικών που παράγεται κατά τη διαδικασία της οξינוποίησης, αποβάλλεται μέσω ενός αντιμεταφορέα χλωρί-



Σχήμα 2.3. Οστεοκλαστική απορρόφηση. Η καρβονική ανυδράση τύπου 2, παράγει διοξείδιο του άνθρακα και H_2O . Τα πρωτόνια μεταφέρονται στην απορροφητική επιφάνεια μέσω H^+ -ATPάσης της πτυχωτής μεμβράνης και δημιουργούν το όξινο περιβάλλον ($PH=3,5-4,5$). Η ηλεκτρική ουδετερότητα της πτυχωτής μεμβράνης του οστεοκλάστη διατηρείται από ένα διάλυο ιόντων χλωρίου. Τα προϊόντα αποδόμησης μεταφέρονται μέσα σε κυστίδια που περιέχουν το ένζυμο όξινη φωσφατάση (TRAP) προς την βασική μεμβράνη του οστεοκλάστη απ' όπου και αποβάλλονται με εξωκύτωση. Η περίσσεια των διττανθρακικών αποβάλλεται μέσω αντιμεταφορέα χλωρίου/διττανθρακικών στη βασική μεμβράνη. (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010 Οστικά κύτταρα-Δομές και Λειτουργίες).

ου/διττανθρακικών στη βασική μεμβράνη, διατηρώντας με αυτόν το τρόπο την ισορροπία μεταξύ οξέος και βάσης μέσα στο κύτταρο (Σχήμα 2.3).

2.4. Οστεοκύτταρα

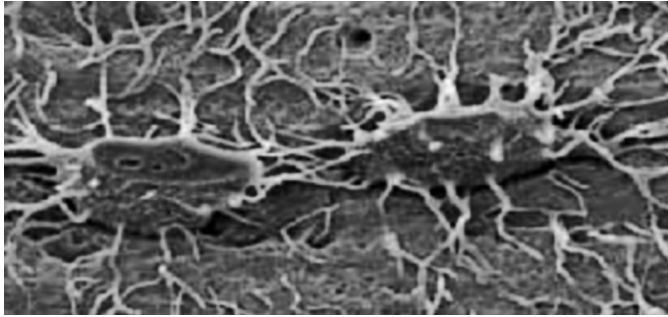
Τα οστεοκύτταρα είναι τα περισσότερα σε αριθμό κύτταρα του οστίτη ιστού. Είναι σχεδόν δεκαπλάσια από τους οστεοβλάστες και χίλιες φορές περισσότερα από τους οστεοκλάστες. Σε αντίθεση με τους οστεοκλάστες και τους οστεοβλάστες που έχουν βραχεία διάρκεια ζωής και εντοπίζονται σε ένα μικρό τμήμα της οστικής επιφάνειας, τα οστεοκύτταρα έχουν μεγάλη

διάρκεια ζωής και είναι διάσπαρτα σε όλη την έκταση του σκελετού. Οι χαρακτηριστικές ιδιότητες αλλά και οι λειτουργίες των οστεοκυττάρων παρέμειναν για πολλά χρόνια άγνωστες κυρίως λόγω της θέσης τους στο εσωτερικό του οστίτη ιστού που δε διευκόλυνε την απομόνωσή τους και τη διερεύνηση της λειτουργίας τους (Aubin και συν 2002).

Είναι γνωστό από παλαιότερες μελέτες ότι η κύρια λειτουργία των οστεοκυττάρων είναι αυτή του οστικού μηχανοστάτη, δηλαδή η αντίληψη των εξωτερικών φορτίων που ασκούνται στο σκελετό, η επεξεργασία και μετατροπή των μηχανικών ερεθισμάτων σε χημικά σήματα και η περαιτέρω μετάδοση τους στις υπόλοιπες κυτταρικές δομές του οστίτη ιστού (Bonewald και συν 2008). Η επικοινωνία με τα υπόλοιπα κυτταρικά στοιχεία του σκελετού γίνεται μέσω ενός εκτεταμένου και πολύπλοκου δικτύου με πολλαπλές συνδέσεις, που, όχι άδικα, από πολλούς ερευνητές παρομοιάζεται με τα νευρικά δίκτυα του εγκεφάλου (Bonewald και συν 2005).

Πρόσφατα δεδομένα απόκαλύπτουν ότι τα οστεοκύτταρα εκτός από τη λειτουργία τους ως οστικού μηχανοστάτη ρυθμίζουν και άλλες, κριτικές για την επβίωση του σκελετού, διεργασίες όπως είναι η επιμετάλλωσή του και η ομοιοστασία των ανοργάνων στοιχείων του. Η ανάπτυξη τεχνικών απομόνωσης των οστεοκυττάρων από ζωντανούς ιστούς, αλλά και η δημιουργία κυτταρικών σειρών που φέρουν τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και τις ιδιότητες των οστεοκυττάρων (οστεοκυτταρική σειρά MLO-Y4) προώθησαν την έρευνα για το ρόλο των κυττάρων αυτών, που ενώ παρέμειναν στην αφάνεια για πολλά χρόνια, αποδεικνύονται ζωτικής σημασίας για τη σωστή λειτουργία και συντήρηση του ανθρωπίνου σκελετού (Bonewald και συν 2009).

Τα ώριμα οστεοκύτταρα έχουν αστεροειδές ή δενδριτικό σχήμα και βρίσκονται «θαμμένα» μέσα στο βοθριοσωληνώδες οστικό δίκτυο που καλύπτει όλη την έκταση του οστίτη ιστού. Στα βοθρία περιέχονται τα κυτταρικά σώματα των οστεοκυττάρων από τα οποία εκφύονται μακριές και λεπτές κυτταροπλασματικές προσεκβολές που ακτινοβολούν προς όλες τις κατευθύνσεις και κυρίως προς την πλησιέστερη οστική επιφάνεια. Οι προσεκβολές αυτές διέρχονται μέσω μικροσωληναρίων που σχηματίζουν ένα πολύπλοκο δίκτυο στην εσωτερική επιφάνεια του οστίτη οστού. Μέσω αυτών των κυτταρικών αποφυάδων τα οστεοκύτταρα συνδέονται με άλλα γειτονικά οστεοκύτταρα, με τους οστεοβλάστες και τα επενδυματικά κύτταρα (lining cells) στην οστική επιφάνεια, αλλά και με τα κυτταρικά στοιχεία του μυελού των οστών, στέλνοντας έτσι σήματα σε όλες τις κυτταρικές παραμέτρους του σκελετού (Εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2. Οστεοκύτταρα σε φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010 Οστικά κύτταρα-Δομές και Λειτουργίες).

2.5. Οστική ανακατασκευή

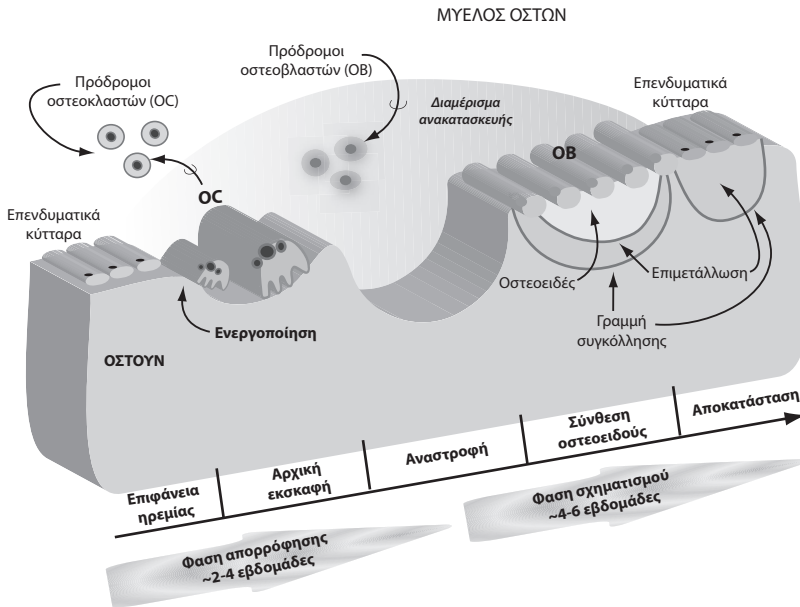
2.5.1. Εισαγωγή

Ο ανθρώπινος σκελετός είναι ένα μεταβολικά ενεργό οργανικό σύνολο που υφίσταται συνεχή ανανέωση καθ'όλη τη διάρκεια της ζωής. Η διαδικασία της παραγωγής νέου οστού και της οστικής ανακατασκευής κατά τη διάρκεια της αύξησης του σκελετού, αποτελεί αναγκαία συνθήκη για την εξασφάλιση της κορυφαίας οστικής πυκνότητας και αντοχής. Στην ενήλικη ζωή ο στόχος της οστικής ανακατασκευής είναι διαφορετικός και αφορά τη διατήρηση της οστικής αντοχής μέσω της απομάκρυνσης του οστού που έχει υποστεί φθορά. Η παρατεταμένη καταστολή της οστικής ανακατασκευής, όπως μετά από μακροχρόνια χορήγηση ισχυρών αντι-οστεοαπόρροφητικών φαρμάκων, οδηγεί στη συσσώρευση μικρορωγμών στο σκελετό, κατάγματα και τελικά σε ελαττωματική αποκατάσταση της οστικής συνέχειας.

2.5.2. Οι φάσεις του κύκλου οστικής εναλλαγής

Ο κύκλος της οστικής εναλλαγής περιλαμβάνει τρεις φάσεις που διαδέχονται χρονικά η μία την άλλη (Hadjidakis και συν 2006) (Σχήμα 2.4).

Πρώτη φάση: Η πρώτη φάση είναι η φάση της οστικής απορρόφησης, που επιτελείται από τους ώριμους οστεοκλάστες και είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική λειτουργία ανανέωσης του οστίτη ιστού. Η φάση αυτή περιλαμβάνει τη στράτευση των πρόδρομων μορφών των οστεοκλαστών, τη διαφοροποίησή τους και την τελική τους ωρίμανση σε ενεργούς οστεοκλάστες που έχουν την ικανότητα να αποδομούν το οστό. Η φάση της οστεοκλαστικής οστικής απορρόφησης είναι διάρκειας 3 περίπου εβδομάδων στον ανθρώπινο σκελετό.



Σχήμα 2.4. Τα στάδια της οστικής ανακατασκευής (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010 Οστικά κύτταρα-Δομές και Λειτουργίες).

Δεύτερη φάση: Η δεύτερη φάση αποτελεί το μεταβατικό στάδιο της σύ-
 ξευξης των δύο κύριων οστικών λειτουργιών, της οστικής απορρόφησης με
 την οστική κατασκευή. Αρχίζει με την εμφάνιση των μονοπύρηνων κυττά-
 ρων του στρώματος του μυελού των οστών στην περιοχή του οστίτη ιστού
 που έχει υποστεί απορρόφηση (BMU). Προσέλκυση των πρόδρομων μορ-
 φών των οστεοβλαστών στο σημείο της εν-εξελίξη οστικής ανακατασκευής
 πραγματοποιείται από την παρακρινή δράση των κυτοκινών που απελευθε-
 ρώνονται από την αποδόμηση της οστικής θεμελίου ουσίας, όπως ο παρά-
 γοντας TGF-β αλλά και από μόρια που παράγονται από τους ίδιους τους ο-
 στεοκλάστες και δρουν σε ειδικούς μεμβρανικούς υποδοχείς των πρόδρο-
 μων μορφών των οστεοβλαστών επάγοντας την ωρίμανση τους (σύστημα ε-
 φρινών, (EphB2-EPHB4). Παράλληλα η οστική απορρόφηση διακόπτεται
 και ενεργοποιείται η απόπτωση των οστεοκλαστών (Γιώβος & Γιαβροπού-
 λου 2010).

Τρίτη φάση: Η τρίτη φάση περιλαμβάνει την οστική κατασκευή όπου
 επιτελείται η παραγωγή και επιμετάλλωση του νεοσχηματιζόμενου οστού
 καθώς και ο τερματισμός της λειτουργίας και της διαφοροποίησης των ο-

στεοκλαστών. Η τελευταία αυτή φάση διαρκεί 3 περίπου μήνες στον ανθρώπινο σκελετό .

Η ρύθμιση της πολύπλοκης αυτής διαδικασίας υπόκειται τόσο σε συστηματικούς όσο και σε τοπικούς μηχανισμούς. Στη συστηματική ρύθμιση συμμετέχουν ορμόνες όπως η PTH, η καλσιτριόλη, η GH, τα γλυκοκορτικοειδή, οι θυρεοειδικές ορμόνες και τα στεροειδή των γονάδων, αλλά και παράγοντες όπως ο IGF-1, οι προσταγλανδίνες, ο TGF- β , οι BMPs και οι κυτοκίνες. Στους τοπικούς μηχανισμούς ρύθμισης περιλαμβάνεται μία πλειάδα κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων που έχουν πρόσφατα αναγνωρισθεί, αλλά και συστήματα επικοινωνίας των οστεοκλαστών με του οστεοβλάστες όπως το σύστημα RANK/RANKL και το σύστημα των εφρινών (Eph B2-Ephrin B4) (Mundi και συν 2006; Zhao και συν 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΚΟΛΛΑΓΟΝΟ ΚΑΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

3.1. Εισαγωγή

Η παραγωγή των πρωτεϊνών που απαρτίζουν το οργανικό μέρος του οστίτη ιστού οφείλεται κατά κύριο λόγο στη συνθετική δραστηριότητα των οστεοβλαστών. Το 90% αποτελείται από κολλαγόνο τύπου 1 και το 10% είναι μη κολλαγονικές πρωτεΐνες.

Τα μόρια κολλαγόνου τύπου I, II, III, V και IX και οι πρόσφατα ανακαλυφθέντες τύποι XXIV και XXVII, αποτελούν την ομάδα των κολλαγονικών μορίων που σχηματίζουν τις δέσμες των ινιδίων. Το κολλαγόνο τύπου 1 είναι η πιο άφθονη πρωτεΐνη των σπονδυλωτών, ανευρίσκεται στους τένοντες, στους συνδέσμους, στο δέρμα και αποτελεί την κυρίαρχη εξωκυττάρια πρωτεΐνη (90% της θεμελίου ουσίας) του οστίτη ιστού που καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την οστική δύναμη και αντοχή (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010).

Κατά την ενδομεμβρανώδη οστέωση τα μεσεγγυματικά κύτταρα συγγεντρώνονται και διαφοροποιούνται άμεσα σε κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς που συνθέτουν κολλαγόνο τύπου I. Αντιθέτως στην ενδοχόνδρια οστέωση ο χόνδρος που αρχικά είναι πλούσιος σε κολλαγόνο τύπου II και XI που εκκρίνεται από τα χονδροκύτταρα, αντικαθίσταται από το οστεοειδές που είναι πλούσιο σε κολλαγόνο τύπου I. Ως εκ τούτου η έκφραση των γονιδίων του κολλαγόνου τύπου I, II και XI ρυθμίζονται από διαφορετικές μεταγραφικές οδούς που ρυθμίζουν την οστεοβλαστογένεση και τη χονδρογένεση αντίστοιχα.

3.2. Δομή του κολλαγόνου

Πρόκειται για ένα ελικοειδές μόριο τριπλής αλύσου που περιέχει δύο ταυτόσημες αλύσους α1 και μια δομικά παρόμοια τρίτη αλύσο α2, η οποία όμως διαφέρει γενετικά.

Στο ανθρώπινο γονιδίωμα το γονίδιο της α1-αλύσου του κολλαγόνου τύπου 1 βρίσκεται στο μακρό σκέλος του χρωμοσώματος 17 (17q21.3-q22) και το γονίδιο της α2 αλύσου στο μακρό σκέλος του χρωμοσώματος 7 (7q21.3-q22). Τα δύο γονίδια έχουν παρόμοια δομή διαφέρουν όμως στο μέγεθος τους (18kb το γονίδιο Col1a1 και 38 kb το γονίδιο Col1a2) λόγω διαφοράς του μεγέθους των ιντρονίων τους. Οι α-άλυσοι του κολλαγόνου χαρακτηρίζονται από την επαναλαμβανόμενη τριπλέτα Gly (γλυκίνη)-X(συνήθως προλίνη)-Y(υδροξυπρολίνη). Η παρουσία της υδροξυπρολίνης είναι μοναδικό χαρακτηριστικό των μορίων του κολλαγόνου και είναι σημαντική για τη σταθεροποίηση της τριπλής έλικας (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010).

Το κολλαγόνο τύπου 1 παράγεται ως προ-κολλαγόνο και υφίσταται μια σειρά μετα-μεταγραφικών τροποποιήσεων που περιλαμβάνουν 1) υδροξυλίωση συγκεκριμένων υπολειμμάτων λυσίνης, και προλίνης 2) γλυκοσυλίωση των υπολειμμάτων λυσίνης και υδροξυλυσίνης με μόρια γλυκόζης ή/και γαλακτόζης και 3) δημιουργία διαμοριακών και ενδομοριακών ομοιοπολικών δεσμών, που διαφέρουν από αυτούς που ανευρίσκονται στο χαλαρό συνδετικό ιστό.

Η δραστηριότητα των υδροξυλασών (προλίνη 4-υδροξυλάση, προλίνη 3-υδροξυλάση και υδροξυλάση της λυσίνης) εξαρτάται από τη σωστή θέση της αλληλουχίας των αμινοξέων στην α-άλυσο και αναγκαία συνθήκη αποτελεί η απουσία ήδη σχηματισμένης τριπλής έλικας.

Για την ενεργοποίηση των ενζύμων είναι απαραίτητη η παρουσία ιόντων σιδήρου, οξυγόνου, α-κετογλουταρικού και ασκορβικού οξέος. Είναι γνωστό ότι η ανεπάρκεια της βιταμίνης C στο σκορβούτο οδηγεί σε καθυστέρηση της επούλωσης του τραύματος. Όταν τα μόρια λυσίνης υδροξυλιώνονται αποτελούν υποστρώματα για τη γλυκο-τρανσφεράση και γαλακτο-τρανσφεράση που προσθέτουν μόρια γλυκόζης και γαλακτόζης αντίστοιχα στην υδροξυλική ομάδα. Όπως και οι υδροξυλάσες τα γλυκοσυλιωτικά αυτά ένζυμα είναι ενεργά προ της διαμορφώσεως της τριπλής έλικας. Η γλυκοσυλίωση παρεμβαίνει στη δημιουργία ινιδίων από τα ώριμα μόρια του κολλαγόνου και η επίταση της οδηγεί σε ελάττωση της διαμέτρου των ινιδίων. Παράλληλα με τις υδροξυλιώσεις και τις γλυκοσυλιώσεις, τα c-προπεπτίδια των τριών αλύσων συνδέονται με το σχηματισμό ένδο- και διαλυσ-σιδικών δισουλφιδικών δεσμών (Σχήμα 3.1). Μετά το πέρας της υδροξυ-

λίωσης των μορίων λυσίνης και τη σύνδεση των τριών C-προπεπτιδίων, αρχίζει η διαμόρφωση της τριπλής έλικας από το C-καρβοξυτελικό άκρο του μορίου προς το N-αμινοτελικό άκρο. Σε περίπτωση που δεν υδροξυλιωθούν τα μόρια λυσίνης ή δεν σχηματιστούν οι δισουλφιδικοί δεσμοί μεταξύ των C-προπεπτιδίων δεν είναι δυνατή η διαμόρφωση της τριπλής έλικας. Σε αντίθεση με το C-καρβοξυτελικό άκρο, η σημασία του N-αμινοτελικού άκρου δεν είναι επαρκώς εξακριβωμένη, ωστόσο από μελέτες σε ποντίκια με ανεπάρκεια του N-προπεπτιδίου διαπιστώθηκε ότι πιθανόν να συμμετέχει στη διαδικασία ανάπτυξης του οργανισμού.

Η νεοσχηματισθείσα τριπλή έλικα του κολλαγόνου συνδέεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο με την πρωτεΐνη Hsp47 (μια μοριακή χαπερόνη των μορίων του κολλαγόνου που ανήκει στην οικογένεια των αναστολέων της πρωτεάσης της σερίνης), και αποδεσμεύεται από αυτήν λίγο πριν εισέλθει στη συσκευή Golgi. Διαταραχή του γονιδίου της πρωτεΐνης Hsp47 οδηγεί σε διαταραχή του προκολλαγόνου και εμβρυϊκή θνησιμότητα σε ποντίκια.

Στη συσκευή Golgi το προκολλαγόνο συσκευάζεται σε κυστίδια και μεταφέρεται στην κυτταρική μεμβράνη. Τα μόρια του προκολλαγόνου εκκρίνονται στον εξωκυττάριο χώρο όπου μια ειδική αμινοπεπτιδάση (ADAMS 2) και μια ειδική καρβοξυπεπτιδάση (BMP-1 ή PCP) αποκόπτουν το N-αμινοτελικό και το C-καρβοξυτελικό άκρο αντίστοιχα. Η αποκοπή αυτή προκαλεί την αυτόματη ενεργοποίηση σχηματισμού ινιδίων του κολλαγόνου, ολοκληρώνοντας την τελική ώριμη μορφή του (Atley και συν 2000; Kadler και συν 2004) (Σχήμα 3.1).

Η απομάκρυνση των προπεπτιδίων ελαττώνει σημαντικά τη διαλυτότητα των μορίων του κολλαγόνου. Ο κύριος ρόλος του C-καρβοξυτελικού προπεπτιδίου στον εξωκυττάριο χώρο είναι η αναστολή του σχηματισμού ινιδίων, ενώ το N-αμινοτελικό προπεπτιδίδιο φαίνεται να έχει επίδραση στη διαμόρφωση του σχήματος και της διαμέτρου των ινιδίων. Τα ελεύθερα προπεπτιδία πιθανόν να συμμετέχουν σε ένα κύκλωμα αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης της σύνθεσης του κολλαγόνου τύπου I και III, όπως έχει αποδειχθεί σε *in vitro* μελέτες με καλλιέργειες ινοβλαστών, χωρίς ωστόσο να είναι διευκρινισμένος ο ακριβής μηχανισμός.

Ο σχηματισμός των ινιδίων στον εξωκυττάριο χώρο κατευθύνεται από την παρουσία υδρόφοβων και φορτισμένων αμινοξέων στην επιφάνεια των μορίων του κολλαγόνου. Ορισμένα υπολείμματα λυσίνης και υδροξυλυσίνης στο μόριο του κολλαγόνου απαμινώνονται από μία οξειδάση της λυσίνης, η οποία απαμινώνει την NH-2 ομάδα και οδηγεί στο σχηματισμό πα-

ραγώγων αλδεϋδης. Τα παράγωγα αυτά συνδέονται αυτόματα με τις απαμινωμένες NH-2 ομάδες των υπολλειμάτων λυσίνης και υδροξυλυσίνης των γειτονικών μορίων του κολλαγόνου, σχηματίζοντας διασταυρούμενους δεσμούς μεταξύ των μορίων. Οι δεσμοί αυτοί αυξάνουν σημαντικά τη δύναμη αντοχής των ινιδίων του κολλαγόνου.

Το τελικό στάδιο του σχηματισμού των ινιδίων του κολλαγόνου περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση των μορίων του κολλαγόνου με άλλα μόρια κολλαγόνου, με τις πρωτεογλυκάνες (SLRPs) της θεμελίου ουσίας του οστού, κυρίως με τη μπιγλυκάνη και τη ντεκορίνη, αλλά και με άλλες μη κολλαγονικές πρωτεΐνες. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές καθορίζουν το σχήμα, το μέγεθος των ινιδίων και το τελικό πρότυπο σχηματισμού της θεμελίου ουσίας του οστού, κατευθύνοντας την εναπόθεση των κρυστάλλων υδροξυαπατίτη στα κενά που σχηματίζονται ανάμεσα στα ινίδια του κολλαγόνου.

3.3. Δείκτες οστικού μεταβολισμού

Κατά τη διάρκεια του κύκλου οστικής εναλλαγής απελευθερώνονται στην κυκλοφορία προϊόντα αποδόμησης του κολλαγόνου, πεπτίδια της πρόδρομης μορφής του κολλαγόνου τύπου 1 καθώς και μη κολλαγονικές πρωτεΐνες, που αντανακλούν το βαθμό της οστικής απορρόφησης και οστικής κατασκευής αντίστοιχα. Τα προϊόντα αυτά αναφέρονται ως δείκτες του οστικού μεταβολισμού και χρησιμοποιούνται σήμερα ευρέως για την αξιολόγηση του ρυθμού οστικής εναλλαγής σε υγιή άτομα αλλά και σε διάφορες παθήσεις που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό, ως προγνωστικοί δείκτες του κινδύνου οστικού κατάγματος αλλά και για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας αντι-απορροφητικής και αναβολικής θεραπείας στην οστεοπόρωση (Πίνακας 3.1). Κατά συνέπεια τα αυξημένα επίπεδα των οστικών δεικτών στον ορό είναι ενδεικτικά του υψηλού ρυθμού οστικής ανακατασκευής, ανεξαρτήτου αιτιολογίας.

3.3.1. Δείκτες οστικής κατασκευής

N-αμινοτελικό προπεπίδιο του προκολλαγόνου

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, κατά το σχηματισμό της ώριμης μορφής του κολλαγόνου, οι πρωτεάσες του εξωκυτταρίου χώρου διασπούν από το πρόδρομο μόριο του προκολλαγόνου το N-αμινοτελικό και το C-καρβοξυτελικό προπεπίδιο του προ-κολλαγόνου (PICP και PINP, αντίστοιχα). Τα προπεπίδια αυτά, απελευθερώνονται στην κυκλοφορία και τα επίπεδά τους στον ορό αντανακλούν το ρυθμό οστικής κατασκευής στη δεδομένη χρο-

Πίνακας 3.1. Δείκτες οστικού μεταβολισμού

	Όνομα	Μηχανισμός
<i>Δείκτες οστικής απορρόφησης</i>		
NTX	N-αμινοτελικό τελοπεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου 1	Προϊόν αποδόμησης του κολλαγόνου
CTX	C-καρβοξυτελικό τελοπεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου 1	Προϊόν αποδόμησης του κολλαγόνου
PYD	Πυριδινολίνη	Προϊόν αποδόμησης των δεσμών ανάμεσα στα μόρια του κολλαγόνου
DPD	Δεοξυπυριδινολίνη	Προϊόν αποδόμησης των δεσμών ανάμεσα στα μόρια του κολλαγόνου
TRACP	Όξινη φωσφατάση - ανθεκτική στο τρυγικό άλας	Ένζυμο του οστεοκλάστη
Hyp	Υδροξυπρολίνη	Προϊόν αποδόμησης του κολλαγόνου
<i>Δείκτες οστικής κατασκευής</i>		
B ALP	Οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης	Εκκρίνεται από τους οστεοβλάστες
P1CP	C-καρβοξυτελικό προπεπτίδιο του προ-κολλαγόνου τύπου 1	Προέρχεται από το πρόδρομο μόριο του προ-κολλαγόνου
P1NP	N-αμινοτελικό προπεπτίδιο του προ-κολλαγόνου τύπου 1	Προέρχεται από το πρόδρομο μόριο του προ-κολλαγόνου
OC-Bone GLA	Οστεοκαλσίνη	Πρωτεΐνη της οστικής θεμελίου ουσίας, εκκρίνεται από τον οστεοβλάστη

νική στιγμή της μέτρησής τους. Σε αντίθεση με το καρβοξυτελικό προπεπτίδιο (P1CP), το οποίο είναι πρωτεΐνη μονής αλύσου, το N-αμινοτελικό προπεπτίδιο εμφανίζεται σε διάφορες ισομορφές, την τριμερή που είναι και η κύρια, τη μονομερή και σε διάφορα κλάσματα του μορίου. Η τριμερής μορφή είναι ασταθής και διασπάται γρήγορα στη μονομερή μορφή που είναι πιο σταθερή και ανθεκτική στην αποδόμηση από πρωτεάσες. Οι διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα για τη μέτρηση του P1NP μπορούν και ανιχνεύουν στον ορό και τις δύο μορφές του κολλαγόνου. Για το προπεπτίδιο P1CP τα αποτελέσματα των διαφόρων μεθόδων δεν ήταν ενθαρυντικά και έτσι σήμερα χρησιμοποιείται το P1NP για την αξιολόγηση του βαθμού οστικής ανακατασκευής (Garnero και συν 2006).

Οστεοκαλσίνη

Η οστεοκαλσίνη παράγεται αποκλειστικά από τους οστεοβλάστες που βρίσκονται στα τελευταία στάδια διαφοροποίησης τους (Cancela και συν 1990). Νεότερες μελέτες αναφέρουν ότι η οστεοκαλσίνη ενδέχεται να διαδραματίζει και γενικότερο ρόλο στην ομοιοστασία ενέργειας στον ανθρώπινο οργανισμό επάγοντας την έκκριση της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα των παγκρεατικών νησιδίων και της αδιπονεκτίνης από το λιπώδη ιστό, αυξάνοντας παράλληλα και την ευαισθησία στην ινσουλίνη στους περιφερειακούς ιστούς (Lee και συν 2007). Η μέτρηση των επιπέδων της στον ορό αποτελεί ευρέως χρησιμοποιούμενο δείκτη οστικής κατασκευής. Στη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου της οστεοκαλσίνης σημαντικό ρόλο παίζουν η ενεργή μορφή της βιταμίνης D (1,25-(OH)₂-βιταμίνη D) και τα γλυκοκορτικοειδή. Ενώ για την τελική διαμόρφωση του ώριμου μορίου της σημαντικά είναι και τα επίπεδα της βιταμίνης K στο οστικό μικροπεριβάλλον, που ρυθμίζουν τη δημιουργία υπολλειμάτων γ-καρβοξυγλουταμικού οξέος στο μόριό της.

3.3.2. Δείκτες οστικής απορρόφησης

Ο βαθμός της οστικής απορρόφησης αντανακλάται στον ορό από τα επίπεδα των προϊόντων καταβολισμού του ώριμου κολλαγόνου τύπου 1 (Πίνακας 3.1). Τα μόρια που χρησιμοποιούνται κυρίως σήμερα για την αξιολόγηση της οστικής απορρόφησης είναι το καρβοξυτελικό (β-CTX και α-CTX) και αμινοτελικό (NTX) τελοπεπτίδιο του κολλαγόνου ή τα μόρια πυριδινόλης και δεοξυπυριδινόλης που προέρχονται από τη διάσπαση των διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ των μορίων του κολλαγόνου. Ο δείκτης β-CTX αποτελεί τον πλέον ευρέως χρησιμοποιούμενο δείκτη για την αξιολόγηση του βαθμού οστικής απορρόφησης και της αποτελεσματικότητας της αντι-οστεοαπορροφητικής θεραπείας στην οστεοπόρωση. Αντανακλά τη διάσπαση του ώριμου μορίου του κολλαγόνου που υφίσταται β-ισομερισμό. Αντιθέτως η α-μορφή του CTX προέρχεται από τη διάσπαση της μη ισομερισμένης μορφής του κολλαγόνου και είναι πιο ευαίσθητος δείκτης του βαθμού οστικής απορρόφησης στη νόσο του Paget ή στην οστική μεταστατική νόσο, όπου λόγω του υψηλού ρυθμού οστικής εναλλαγής δεν παρέχεται ο απαραίτητος χρόνος στο κολλαγόνο να υποστεί β-ισομερισμό (Garnero και συν 1997). Τα επίπεδα του δείκτη NTX αντανακλούν την αποδόμηση και των δύο μορφών του κολλαγόνου τύπου 1 (ισομερισμένη και μη μορφή) (Garnero και συν 1997; Leeming και συν 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΣΤΟΝ ΟΣΤΙΚΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ

4.1. Εισαγωγή

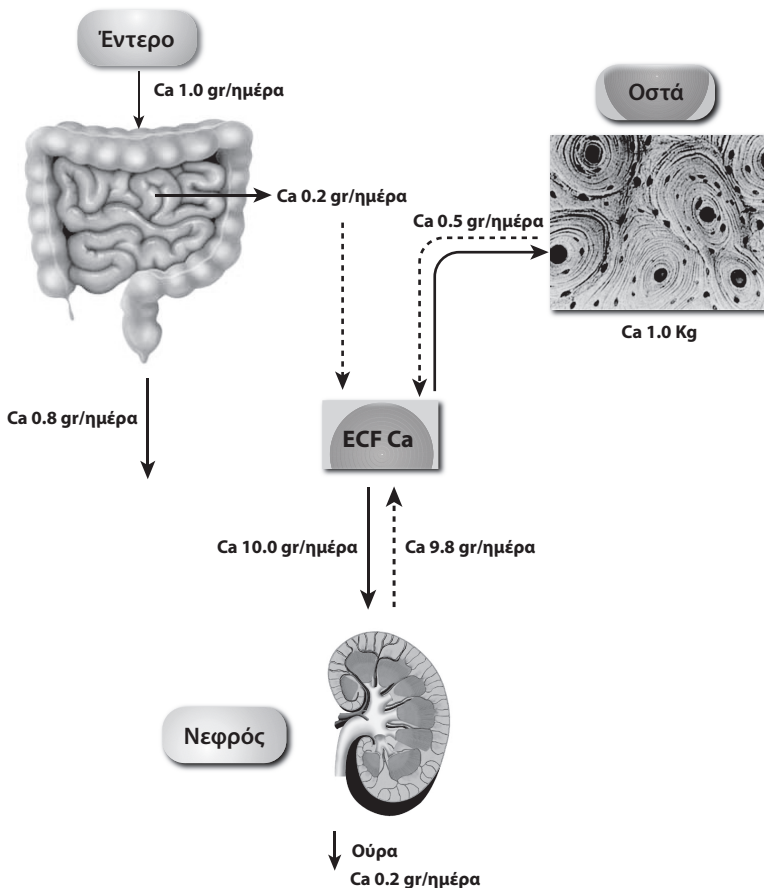
Η επαρκής πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και η φυσιολογική λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος, είναι ζωτικής σημασίας για την ομοιοστασία του ανθρώπινου σκελετού (Clowes και συν 2005). Από παλαιότερες μελέτες είχε διαπιστωθεί ότι οι διαταραχές της παροχής θρεπτικών στοιχείων, είτε λόγω ελαττωμένης πρόσληψης τροφής (νευρογενής ανορεξία, υποσιτισμός) είτε λόγω παθολογικής απορρόφησης (φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, κοιλιοκάκη) δύναται να οδηγήσουν σε οστική νόσο και ως εκ τούτου σε αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων (Bernstein και συν 2003).

Η απορρόφηση του ασβεστίου, του φωσφόρου, του μαγνησίου και άλλων ιχνοστοιχείων μαζί με την απορρόφηση λιποδιαλυτών κυρίως βιταμινών όπως η βιταμίνη D είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση ισορροπίας του οστικού μεταβολισμού. Ωστόσο, νεότερα δεδομένα αποδεικνύουν ότι ο ρόλος του γαστρεντερικού σωλήνα στον οστικό μεταβολισμό δεν περιορίζεται μόνο στην απορρόφηση των απαραίτητων μετάλλων και βιταμινών αλλά φαίνεται να συμμετέχει με περισσότερο ενεργό τρόπο μέσω της μεταγευματικής έκκρισης γαστρεντερικών πεπτιδίων. Τα τελευταία έχουν τη δυνατότητα να δρουν άμεσα στα οστικά κύτταρα, μέσω ειδικών υποδοχέων, μεταβάλλοντας τη λειτουργία τους ανάλογα με την διαθεσιμότητα ενέργειας στον οργανισμό.

4.2. Εντερική απορρόφηση Ασβεστίου

Στον ενήλικα οργανισμό τα αποθέματα του στοιχειακού ασβεστίου είναι περίπου 1000 gr. Το 99% του ασβεστίου του σώματος βρίσκεται στη με-

ταλλική φάση του οστίτη ιστού ενσωματωμένο στους κρυστάλλους του υδροξυαπατίτη $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Η μεταλλική φάση του οστίτη ιστού, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1, είναι πολύ σημαντική για τις μηχανικές ιδιότητες των οστών, ενώ αποτελεί και άμεσα διαθέσιμη πηγή ασβεστίου για τις διάφορες ασβεστιο-εξαρτώμενες βιολογικές λειτουργίες του οργανισμού και για τη διατήρηση των ιόντων ασβεστίου στο πλάσμα εντός στενών φυσιολογικών ορίων. Το υπόλοιπο 1% του συνολικού ασβεστίου του σώματος κατανέμεται στην κυκλοφορία του αίματος, στο εξωκυττάριο υγρό και στους μαλακούς ιστούς (Σχήμα 4.1). Το ασβέστιο στον ορό βρίσκεται κατά 50% με την ελεύθερη ιονισμένη μορφή, που είναι και η δραστική μορφή του α-



Σχήμα 4.1. Κατανομή του ασβεστίου στον οργανισμό. (Primer on Metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism 7th ed. published by ASBMR).

σβεστίου, κατά 40% βρίσκεται συνδεδεμένο με τις πρωτεΐνες του πλάσματος (η σύνδεση αυτή επηρεάζεται άμεσα από τις μεταβολές της οξεοβασικής ισορροπίας του αίματος), ενώ το υπόλοιπο 10 % απαντάται ως σύμπλεγμα με κιτρικά ή φωσφορικά ιόντα (Favus & Goltzman 2008).

Η ποσότητα του ασβεστίου που απορροφάται από τη διατροφή ποικίλει ανάλογα με την ηλικία του ατόμου και την περιεκτικότητα σε ασβέστιο της προσλαμβανόμενης τροφής και μπορεί να κυμαίνεται από 20-60 %. Αύξηση του ποσοστού απορρόφησης παρατηρείται στην περίοδο ανάπτυξης στην παιδική ηλικία, στην αυξητική αιχμή που παρατηρείται με την είσοδο του ατόμου στην περίοδο της εφηβείας, καθώς και κατά τη διάρκεια της κύησης και της γαλουχίας. Επίσης η ικανότητα απορρόφησης του ασβεστίου από τον εντερικό σωλήνα αυξάνει σε καταστάσεις παρατεταμένου διαιτητικού περιορισμού του προσλαμβανόμενου ασβεστίου από τις τροφές, ως αντιρροπιστικός μηχανισμός για την επίτευξη της μέγιστης απορρόφησης των ποσοτήτων που προσλαμβάνονται. Αντιθετως, η ικανότητα απορρόφησης ελαττώνεται με την αύξηση της ηλικίας σε άντρες και γυναίκες και χρειάζεται αυξημένη πρόσληψη ασβεστίου για την αντιστάθμιση του ελαττωμένου ρυθμού εντερικής απορρόφησης. Η αποβολή του ασβεστίου από τα κόπρανα κυμαίνεται από 100-200 mg/dl, και δεν υπόκειται σε ρυθμιστικό έλεγχο από τις ασβεστιοτρόπες ορμόνες ή από τα επίπεδα ασβεστίου του ορού.

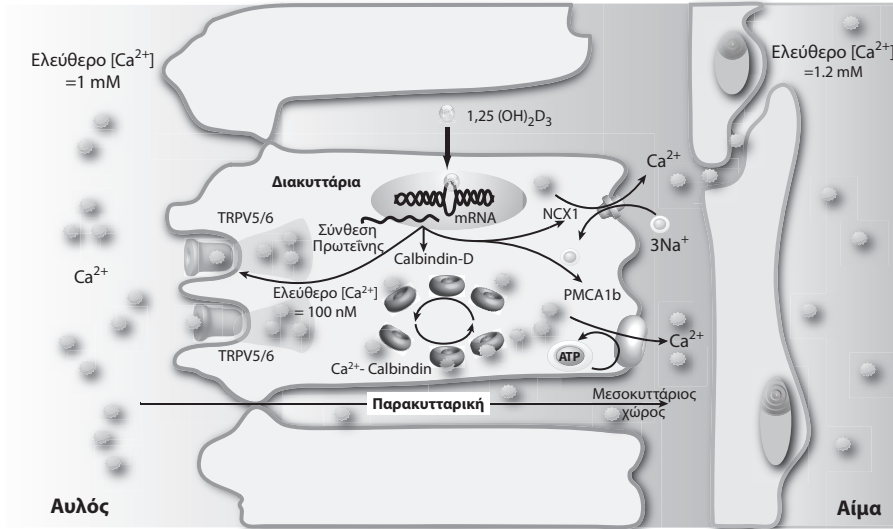
Το μεγαλύτερο ποσοστό ασβεστίου απορροφάται από την περιοχή του δωδεκαδακτύλου και του πρώτου τμήματος της νήσιδας (90%).

Η απορρόφηση επιτελείται μέσω δύο οδών:

- α) Την οδό της ενεργητικής διακυτταρικής μεταφοράς που γίνεται κυρίως από το δωδεκαδάκτυλο και το πρώτο τμήμα της νήσιδας (15%) (Favus & Goltzman 2008) και
- β) την οδό της παρακυτταρικής παθητικής διάχυσης που επιτελείται σε όλο το μήκος του εντέρου.

Η ενεργητική εντερική απορρόφηση περιλαμβάνει τρία διαδοχικά κυτταρικά στάδια.

Στο πρώτο στάδιο τα ιόντα ασβεστίου εισέρχονται στα επιθηλιακά εντερικά κύτταρα μέσω εκλεκτικών αντλιών ασβεστίου, TRPV5 και TRPV6 (transient receptor potential cation channel subfamily V member 5 and 6) που βρίσκονται στην κορυφαία μεμβράνη των εντερικών κυττάρων (Hoenderop και συν 2005) (Σχήμα 4.2). Στη συνέχεια τα ιόντα ασβεστίου συνδέονται με την κυτταροπλασματική πρωτεΐνη Calbindin-9k και μέσω αυτής της σύνδεσης



Σχήμα 4.2. Μηχανισμοί μεταφοράς του ασβεστίου διαμέσου του εντερικού επιθηλίου. Το εντερικό επιθήλιο απορροφά το ασβέστιο μέσω παρακυτταρικής διάχυσης ή διακυτταρικής μεταφοράς. Η παθητική παρακυτταρική μεταφορά του ασβεστίου πραγματοποιείται διαμέσου στενών συνδέσεων μεταξύ των εντερικών κυττάρων με κινητήριο δύναμη τη διαφορά στην ηλεκτροχημική βαθμίδωση. Η 1,25 διυδροξυ βιταμίνη D διεγείρει την ενεργητική διακυτταρική μεταφορά του ασβεστίου αυξάνοντας την έκφραση των καναλιών ασβεστίου στην προς τον εντερικό αυλό μεμβράνη του εντεροκυττάρου και τις καλβιδίνες. Μετά την είσοδο του ασβεστίου στο εντερικό κύτταρο μέσω των αντλιών TRPV5 και TRPV6, συνδέεται με την καλβιδίνη και διαχέεται προς τη βασική μεμβράνη του εντερικού κυττάρου απ'όπου εισέρχεται στην κυκλοφορία μέσω της ATP εξαρτώμενης ασβέστιο ATPase (PMCA1b) και του αντιμεταφορέα $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. (Hoenderop et al 2005 Rev 85: 373-425).

διαχέονται προς τη βασική μεμβράνη του κυττάρου. Στο τρίτο στάδιο τα ιόντα ασβεστίου εξέρχονται από το εντερικό κύτταρο την κυκλοφορία ενάντια στην ηλεκτροχημική τους βαθμίδωση, μέσω της ATP-εξαρτώμενης ασβέστιο-ATPάσης (PMCA1b, plasma membrane Ca^+ pump) και του αντιμεταφορέα Na^+/Ca^+ (NCX1, sodium-calcium exchanger) (Hoenderop και συν 2005; Van de Graaf 2004) (Σχήμα 4.2). Έχει βρεθεί ότι ο αντιμεταφορέας νατρίου -ασβεστίου ρυθμίζεται από την παραθορμόνη και την ενεργό μορφή της βιταμίνης D (1,25 $(\text{OH})_2\text{-D}$), ενώ η αντλία PMCA1b μόνο από την 1,25 $(\text{OH})_2\text{-D}$.

Η ελάττωση της πρόσληψης ασβεστίου με τη διαίτα προκαλεί αντιρρο-

πιστική αύξηση της έκκρισης της παραθορμόνης και της παραγωγής της 1,25 (OH)₂-D, αντισταθμίζοντας τη διαιτητική έλλειψη.

Η απορρόφηση του ασβεστίου μέσω παθητικής παρακυτταρικής διάχυσης επιτυγχάνεται μέσω των κλειστών συνάψεων (tight junctions) που υπάρχουν σε εξειδικευμένες περιοχές της κορυφαίας μεμβράνης των γειτονικών επιθηλιακών κυττάρων και οι οποίοι εμποδίζουν την παρακυτταρική μεταφορά διαλυτών μορίων και τη διάχυση πρωτεϊνών και λιπιδίων μεταξύ των κυττάρων, ώστε να διατηρείται η κυτταρική πολικότητα, ενώ παράλληλα διευκολύνουν τη μεταφορά ιόντων παρακυττάρια. Η μεταφορά ασβεστίου μέσω των στενών αυτών συνδέσμων οφείλεται στην ύπαρξη δι-επιθηλιακής ηλεκτροχημικής βαθμίδωσης και αυξάνει γραμμικά με την αύξηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου στον αυλό, ενώ δεν ρυθμίζεται από την 1,25 (OH)₂-D.

Σε καταστάσεις υψηλής πρόσληψης ασβεστίου καταστέλλεται η παραγωγή της 1,25 (OH)₂-D και η απορρόφηση γίνεται σχεδόν αποκλειστικά μέσω της παρακυτταρικής παθητικής διάχυσης. Τα αίτια ελαττωμένης ή αυξημένης εντερικής απορρόφησης του ασβεστίου συνοψίζονται στον πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.1. Καταστάσεις που σχετίζονται με αυξημένη ή ελαττωμένη εντερική απορρόφηση ασβεστίου

<i>Αυξημένη εντερική απορρόφηση ασβεστίου</i>	<i>Ελαττωμένη εντερική απορρόφηση ασβεστίου</i>
Αυξημένη νεφρική παραγωγή της 1,25 OH βιταμίνης D	Ελαττωμένη νεφρική παραγωγή της 1,25 OH βιταμίνης D
Ανάπτυξη του οργανισμού	Ανεπάρκεια βιταμίνης D
Κύηση-Γαλουχία	Χρόνια Νεφρική Ανεπάρκεια
Πρωτοπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός	Υποπαραθυρεοειδισμός
Ιδιοπαθής υπερασβεστιουρία	Βιταμίνη D-εξαρτώμενη ραχίτιδα τύπου 1
Αυξημένη εξω-νεφρική παραγωγή της 1,25 OH βιταμίνης D	Γήρανση
Σαρκοείδωση και άλλα κοκκιοματώδη νοσήματα	Υπερθυρεοειδισμός
B-κυτταρικό λέμφωμα	Υπερκορτιζολισμός

4.3. Εντερική απορρόφηση Φωσφόρου

Ο φωσφόρος που προέρχεται από τη διατροφή απορροφάται κυρίως από τα τελευταία τμήματα του λεπτού εντέρου, τη νήστιδα και τον ειλεό και σε μικρότερο ποσοστό από το δωδεκαδάκτυλο. Σε φυσιολογικές συνθήκες διαιτητικής πρόσληψης (4-30 mg/kgBΣ/ημέρα) η καθαρή εντερική απορρόφηση κυμαίνεται μεταξύ 60-65% της προσλαμβανόμενης ποσότητας.

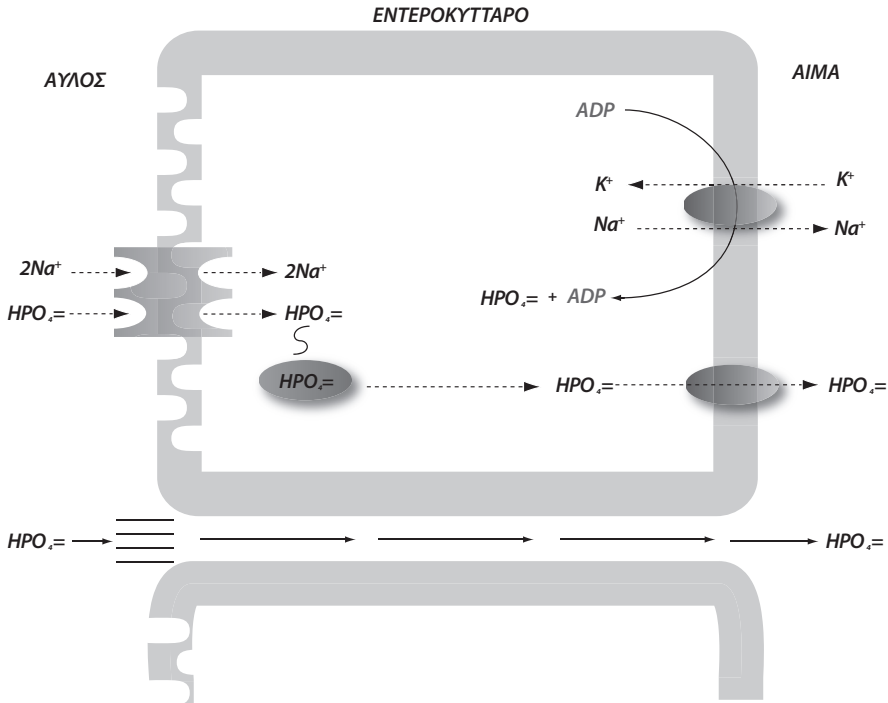
Η απορρόφηση στο γαστρεντερικό σωλήνα επιτυγχάνεται με δύο κυρίως μηχανισμούς. Ο ένας μηχανισμός αφορά την ενεργητική μεταφορά των φωσφορικών ιόντων διαμέσου των εντερικών κυττάρων με κατανάλωση κυτταρικής ενέργειας, ενώ ο δεύτερος γίνεται με παθητική διάχυση παρακυτταρικά (μηχανισμός παρακυτταρικής εκτροπής) (Γιώβος & Τσιλχοροζίδου 2007).

Η ενεργητική μεταφορά του φωσφόρου γίνεται μέσω ειδικών νατριοεξαρτώμενων συμμεταφορέων των φωσφορικών ιόντων (Pi) που ανευρίσκονται στην ψηφτροειδή παρυφή των εντερικών κυττάρων και παρουσιάζουν αυξημένη συγγένεια δέσμευσης με τα Pi. Η ενέργεια για την ηλεκτροχημική αυτή μεταφορά ενάντια στη βαθμίδωση της συγκέντρωσης των φωσφορικών ιόντων από τον αυλό του εντέρου (χαμηλή συγκέντρωση του φωσφόρου) προς τα εντερικά κύτταρα (υψηλή συγκέντρωση φωσφόρου) παρέχεται από τη διαφορά της στάθμης του Na που διατηρείται από τη λειτουργία μιας αντλίας Na (Na^+/K^+ ATPase). Τα φωσφορικά ιόντα μεταφέρονται διαμέσου του κυτταροπλάσματος των εντερικών κυττάρων μέσω μικροσωληναρίων από την κορυφαία μεμβράνη προς τη βασική μεμβράνη των εντερικών κυττάρων. Η έξοδος των Pi από τη βασική μεμβράνη των εντερικών κυττάρων προς την κυκλοφορία γίνεται χωρίς την κατανάλωση ενέργειας με ηλεκτροχημική διάχυση προς την περιοχή με τη χαμηλότερη συγκέντρωση του φωσφόρου (Σχήμα 4.3). Αν και οι συμμεταφορείς του Na/Pi είναι ευαίσθητοι στη δράση της βιταμίνης D, ο μηχανισμός της ενεργητικής μεταφοράς ρυθμίζεται σε μικρό ποσοστό από τα επίπεδα της 25-(OH) και της 1,25 (OH)₂-D και σε συνθήκες ανεπάρκειας της βιταμίνης D, το ποσοστό που απορροφάται από τη διατροφή μειώνεται μόνο κατά 15%.

Το μεγαλύτερο ποσοστό, ωστόσο, της εντερικής απορρόφησης του φωσφόρου επιτυγχάνεται με το μηχανισμό της παθητικής διάχυσης. Η διαδικασία της διάχυσης γίνεται μέσω του παρακυτταρικού χώρου και είναι αποτέλεσμα γραμμικής συνάρτησης με τη διαιτητική πρόσληψη του φωσφόρου. Ο μηχανισμός αυτός πραγματοποιείται λόγω της χαμηλής Km της ενεργητικής μεταφοράς (2 mM) σε αντιδιαστολή με την περιεκτικότητα σε

φωσφόρο του εντερικού περιεχομένου που ξεπερνά τα 5 mM κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα, ακόμα και σε καταστάσεις νηστείας (Σχήμα 4.3).

Παράγοντες που επιδρούν αρνητικά στο μηχανισμό της διάχυσης είναι ο σχηματισμός αδιάλυτων συμπλόκων με ασβέστιο, η συνύπαρξη ενώσεων φωσφορικού αργιλίου ή μαγνησίου στον εντερικό αυλό καθώς και η προ-



Σχήμα 4.3. Μοντέλο μεταφορά του ανόργανου φωσφόρου ($\text{HPO}_4^{=}$) διαμέσου των εντερικών κυττάρων. Η εντερική απορρόφηση του φωσφόρου γίνεται μέσω παρακυτταρικής παθητικής διάχυσης ή ενεργητικής διακυτταρικής μεταφοράς. Στη διακυτταρική μεταφορά το φωσφόρο εισέρχεται στο εντερικό κύτταρο μέσω των νατριοεξαρτώμενων συμμεταφορέων των φωσφορικών ($2\text{Na}^+/\text{HPO}_4^{=}$), που παρουσιάζουν αυξημένη συγγένεια δέσμευσης με τα φωσφορικά ιόντα. Η ενέργεια για αυτή τη μεταφορά που γίνεται ενάντια στη βαθμίδωση της συγκέντρωσης παρέχεται από τη διαφορά της στάθμης του νατρίου που διατηρείται από την Na^+/K^+ ATPase. Στη συνέχεια τα φωσφορικά μετακινούνται διαμέσου μικροσωληναρίων του κυτταροσκελετού προς τη βασική μεμβράνη του εντερικού κυττάρου. Η έξοδος από τα εντερικά κύτταρα προς την κυκλοφορία γίνεται με ηλεκτροχημική διάχυση προς τη χαμηλότερη συγκέντρωση. (Γιώβος & Τσιλχοροζίδου 2007 Φωσφόρος -Μία κλινική θεώρηση).

χωρημένη ηλικία, όπου η απορρόφηση του φωσφορου μπορεί να ελαττωθεί έως και 50 % (Γιώβος & Τσιλχοροζίδου 2007; Lemann και συν 2003).

4.4. Εντερική απορρόφηση Μαγνησίου

Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχουν περίπου 25 γρ μαγνησίου (Mg) τα οποία κατανέμονται ως εξής: το 66% βρίσκεται στον οστίτη ιστό, 33% ενδοκυττάρια και 1% βρίσκεται στο εξωκυττάριο υγρό, συμπεριλαμβανομένου του αίματος (Walser και συν 1961; Parfitt και συν 1980). Η κατανομή του μαγνησίου, που βρίσκεται ενσωματωμένο στους κρυστάλλους του υδροξυαπατίτη, δεν είναι ομοιόμορφη. Κυρίως βρίσκεται στην επιφάνεια του οστού και ένα ποσοστό είναι σε ισορροπία με το μαγνήσιο του εξωκυττάριου υγρού. Το μαγνήσιο αποτελεί το πιο άφθονο διπολικό κατιόν στο εσωτερικό των κυττάρων, όπου απαντάται σε συγκεντρώσεις 5×10^{-4} M. Στα κύτταρα, συμμετέχει ως συν-παράγοντας και ρυθμίζει μια πλειάδα βιολογικών λειτουργιών, απαραίτητων για την επιβίωσή τους (Walser και συν 1961). Η συγκέντρωσή του στο εξωκυττάριο υγρό προσεγγίζει σε μεγάλο βαθμό τις ενδοκυττάριας συγκεντρώσεις, η ρύθμιση των επιπέδων του όμως παραμένει εν πολλοίς άγνωστη.

Το μαγνήσιο βρίσκεται σε πάρα πολλές τροφές και κυρίως στα προϊόντα κυτταρικής προέλευσης. Συνεπώς, ανεπάρκεια μαγνησίου από ελλειπή διαιτητική πρόσληψη δεν δημιουργείται σε απουσία σοβαρών διαταραχών της εντερικής ή νεφρικής δυσλειτουργίας. Η εντερική απορρόφηση του μαγνησίου σχετίζεται άμεσα με τη διαιτητική πρόσληψη. Το ποσοστό του μαγνησίου που απορροφάται σε μία συνηθισμένη διατροφή (168-720 mg /ημερησίως) κυμαίνεται μεταξύ 35-40%. Η απορρόφηση του Mg επηρεάζεται επίσης από την περιεκτικότητα των τροφών σε φωσφόρο, ο οποίος σχηματίζει αδιάλυτα συμπλέγματα με το Mg και έτσι ελαττώνει την απορρόφηση του. Σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει με την απορρόφηση του ασβεστίου και του φωσφόρου η 1,25 (OH)₂-D, δεν επηρεάζει την απορρόφηση του Mg και αντιστοίχως δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της 1,25 (OH)₂-D, στον ορό και της εντερικής απορρόφησης του Mg (Schmulen και συν και συν 1980; Favus & Goltzman 2008). Η μεταφορά του Mg διαμέσου του εντερικού επιθηλίου στο λεπτό και στο παχύ έντερο εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τα δυναμικά των κυτταρικών μεμβρανών, γεγονός που υποδηλώνει την παρουσία ενός μεγάλου δικτύου παρακυτταρικής μεταφοράς του Mg που εξαρτάται από τις ενδοαυλικές συγκεντρώσεις του Mg. Η ειδική για το Mg αντλία TRPM6 έχει απομονωθεί από την κορυφαία μεμβρά-

νη της ψυκτροειδούς παρυφής των επιθηλιακών εντερικών κυττάρων και φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιοστασία του μαγνησίου (Schmulen και συν 1980). Η ρύθμισή της από τις ασβεστιοτρόπες ορμόνες, παραθορόνη και βιταμίνη D, δεν έχει προς το παρόν αποδειχθεί πειραματικά.

4.5. Εντερική απορρόφηση της βιταμίνης D

Η βιταμίνη D είναι μία στεροειδής ορμόνη με μηχανισμό δράσης παρόμοιο με αυτόν των οιστρογόνων και των άλλων στεροειδών ορμονών (Γιώβος & Τσιλχοροζίδου 2007). Απαντάται σε δύο μορφές την εργοκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₂) και τη χοληκαλσιφερόλη (βιταμίνη D₃), οι οποίες είναι βιολογικά ισοδύναμες (40IU=1μg). Οι διαφορές μεταξύ των δύο μορφών συνίστανται στην ύπαρξη ενός διπλού δεσμού μεταξύ του άνθρακα C22 και του άνθρακα C23 και μιας μεθυλικής ομάδας (-CH₃) στον άνθρακα C24.

Η βιταμίνη D του ανθρώπινου οργανισμού προέρχεται είτε από τις τροφές (15-20% των αποθεμάτων της βιταμίνης D) είτε από την ενδογενή παραγωγή της στο δέρμα (80% των αποθεμάτων της). Η τελευταία πραγματοποιείται μέσω μετατροπής του ενδογενούς μεταβολίτη 7-διυδροχοληστερόλη που εντοπίζεται στις επιθηλιακές στοιβάδες του δέρματος και της επιδερμίδας σε προβιταμίνη D₃ υπό την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας του ηλιακού φωτός.

Παρότι το μεγαλύτερο ποσοστό της βιταμίνης D προέρχεται από ενδογενείς πηγές η διατητική της πρόσληψη είναι εξίσου σημαντική διότι η έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία μπορεί να μην είναι πάντα επαρκής για να διατηρήσει τα επιθυμητά επίπεδα της βιταμίνης στον οργανισμό. Τροφές πλούσιες σε βιταμίνη D είναι τα λιπαρά ψάρια, όπως ο σολομός και η ρέγγα, καθώς και το μουρουνέλαιο. Η απορρόφηση της βιταμίνης D γίνεται από το λεπτό έντερο παρουσία των χολικών αλάτων. Γι' αυτό η συνύπαρξη φαρμάκων στον εντερικό σωλήνα που δεσμεύουν τα χολικά άλατα, όπως η κολεστιπόλη, η παρουσία λίπους καθώς και το συνδρόμου δυσαπορρόφησης ελαττώνουν την απορρόφηση της βιταμίνης D. Το μεγαλύτερο ποσοστό της βιταμίνης D εισέρχεται τότε στη λεμφική οδό μέσω των χυλομικρών ενώ μπορεί επίσης να εισέλθει και απευθείας στην πυλαία κυκλοφορία. Η 25-OH-βιταμίνη D και η καλσιτριόλη απορροφώνται κυρίως μέσω του πυλαίου συστήματος και έτσι η απορρόφησή τους επηρεάζεται σε πολύ μικρότερο ποσοστό από την παρουσία λίπους στον αυλό του εντέρου. Στη συνέχεια η βιταμίνη D προσλαμβάνεται από το ήπαρ όπου γίνεται η πρώτη υ-

δροξυλίωση με αποτέλεσμα την παραγωγή του μεταβολίτη 25-OH-βιταμίνη D ο οποίος μεταφέρεται στην κυκλοφορία συνδεδεμένος με την ειδική πρωτεΐνη σύνδεσης για τη βιταμίνη D (DBP, D-binding protein). Μία μικρή ποσότητα της βιταμίνης D αποθηκεύεται στο ήπαρ ενώ η περίσσεια αποθηκεύεται στο λιπώδη ιστό και στους μύες (Gardner & Shoback 2007).

4.6. Ο ρόλος των γαστρεντερικών ορμονών στον οστικό μεταβολισμό

α) Το γλυκοζο-εξαρωτώμενο ινσουλινοτρόπο πεπτίδιο (GIP)

Το GIP είναι ένα πεπτίδιο 42 αμινοξέων που εκκρίνεται από τα K-κύτταρα του δωδεκαδακτύλου (Meier και συν 2002) μετά την είσοδο τροφής. Τα K-κύτταρα αποτελούν ‘ανοιχτού’ τύπου ενδοκρινικά κύτταρα τα οποία διεγείρονται μετά από άμεση επαφή με θρεπτικά συστατικά και κυρίως από το λίπος. Αν και η κύρια δράση του είναι η γλυκοζο-εξαρωτώμενη επαγωγή της έκκρισης ινσουλίνης μετά τη λήψη τροφής (Dupre και συν 1973), η ιστική κατανομή των υποδοχέων του GIP είναι ευρεία και περιλαμβάνει την υπόφυση, το φλοιό των επινεφριδίων, την καρδιά, τον εγκέφαλο, το λιπώδη ιστό, το λεπτό έντερο και τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε διάφορα αγγειακά δίκτυα (Usdin και συν 1993).

Το GIP μεταβολίζεται ταχύτατα αμέσως μετά την έκκριση του από ειδικές διπεπτιδύλ-πεπτιδάσες του εντέρου, γι’ αυτό και ο χρόνος ημίσειας ζωής του είναι 2-4 λεπτά (Kieffer και συν 2005). Το ένζυμο διπεπτιδύλ-πεπτιδάση-4 (DPP4) που είναι κυρίως υπεύθυνο για το μεταβολισμό του GIP αλλά και άλλων γαστρεντερικών πεπτιδίων όπως το GLP1 και το GLP-2 σε ανενεργή προϊόντα, είναι μία πεπτιδάση 766 αμινοξέων που παρουσιάζει ευρεία ιστική κατανομή. Η αμινοπετιδάση αυτή δρα εκλεκτικά σε υποστρώματα που περιέχουν τα αμινοξέα αλανίνη ή προλίνη στη θέση 2 του N-αμινοτελικού τους άκρου.

Απαντάται δε σε δύο μορφές μία διαμεμβρανική και μία διαλυτή μορφή που κυκλοφορεί στο πλάσμα. Η ενζυματική δράση του DPP4 ασκείται κυρίως από τη διαμεμβρανική του μορφή. Ωστόσο, η διαμεμβρανική μορφή του ενζύμου, συνδεδεμένη με την απαμινάση της αδενοσίνης ενεργοποιεί ενδοκυτταρικά σηματοδοτικά μονοπάτια (Ikushima και συν 2002) ανεξάρτητα από την ενζυματική του δράση και ασκεί και ανοσολογικές ιδιότητες, που έχουν μελετηθεί κυρίως στα T-λεμφοκύτταρα (Gorrell και συν 2001).

Σε πρόσφατες μελέτες έχει επίσης αποδειχθεί ο ρόλος του πεπτιδίου GIP στον οστικό μεταβολισμό (Bollag και συν 2000; Ding και συν 2008; Tsukiyama και συν 2006; Xie και συν 2005; Xie και συν 2007). Σε *in vivo* με-

λέτες με διαγονιδιακά ποντίκια (transgenic mice) στα οποία υπάρχει υπερέκφραση ή πλήρη απουσία (knockout) των υποδοχέων του GIP διαπιστώθηκε αύξηση ή ελάττωση της οστικής μάζας με διαταραχή της μικροαρχιτεκτονικής του οστού αντίστοιχα (Xie και συν 2005; Xie και συν 2007). Σε κυτταρικό επίπεδο, από *in vitro* μελέτες αναφέρεται η ύπαρξη υποδοχέων του GIP (GIPR) σε μια πλειάδα οστικών κυττάρων όπως οι οστεοβλάστες, οι οστεοκλάστες, τα οστεοκύτταρα, τα χονδροκύτταρα καθώς και τα πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού των οστών (Bollag και συν 2000; Ding και συν 2008; Tsukiyama και συν 2006). Επιπλέον οι υποδοχείς του GIP στα οστικά κύτταρα παρουσιάζουν παρόμοιο βαθμό συγγένειας δέσμευσης με τους αντίστοιχους υποδοχείς στα β-κύτταρα των παγκρεατικών νησιδίων, γεγονός που υποδηλώνει και τη λειτουργική σημασία των υποδοχέων αυτών (McIntosh και συν 1996).

Στους οστεοβλάστες η ενεργοποίηση του GIPR μετά τη σύνδεση του με το GIP αυξάνει την έκφραση του κολλαγόνου τύπου 1 και τη δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης (Bollag και συν 2000). Παράλληλα έχει βρεθεί ότι η προσθήκη του GIP σε καλλιέργειες πρόδρομων μορφών των οστεοβλαστών προάγει τη διαφοροποίηση των μορφών αυτών και αυξάνει τον πολλαπλασιασμό τους, ενώ επίσης έχει και αντιαποπτωτική δράση στα πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού των οστών (Ding και συν 2008; Tsukiyama και συν 2006). Για τη δράση του GIP στους οστεοκλάστες, υπήρξαν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Σε μία μελέτη οι Zhong και συν έδειξαν ότι το GIP έχει άμεση δράση στους οστεοκλάστες μέσω του υποδοχέα του και αναστέλλει την οστική απορρόφηση που προκαλείται από τη δράση της παραθορμόνης (Zhong και συν 2007). Τα αποτελέσματα αυτά, ωστόσο δεν επιβεβαιώθηκαν από άλλες μελέτες (Tsukiyama και συν 2006). Σε δικά μας πειράματα που έγιναν στο εργαστήριο Μοριακής Ενδοκρινολογίας του νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ, δείξαμε ότι η δράση του GIP στους οστεοβλάστες επάγεται σημαντικά από την παρουσία φυσιολογικών μεταγευματικών επιπέδων γλυκόζης (9mM) στις καλλιέργειες και μέσω γλυκοζο-εξαρτώμενων μηχανισμών επάγει την έκφραση (σε επίπεδο mRNA και πρωτεϊνών) κυτοκινών, όπως οι M-CSF, RANKL, OPG, EPHB4-Eph-B2, που παράγονται από τους οστεοβλάστες και διεγείρουν τη διαφοροποίηση των προ-οστεοκλαστών επάγοντας την αλληλεπίδραση των δύο κυτταρικών συστημάτων και τη σύζευξη της οστικής απορρόφησης με τη οστική κατασκευή (osteoblast-osteoclast crosstalk, Yavropoulou και συν, συγγραφή επιστημονικού άρθρου σε εξέλιξη).

β) Το γλουκαγονόμορφο πεπτίδιο -1 (GLP-1)

Το πεπτίδιο GLP-1 παράγεται από τα L-κύτταρα του εντέρου μετά τη λήψη τροφής σε δύο βιολογικά ενεργείς μορφές: τα αμίδια GLP-1(7-36) και GLP-1 (7-37). Το GLP-1 προάγει την εξαρτώμενη από τη γλυκόζη έκκριση ινσουλίνης (Creutzfeldt και συν 2005) και αυξάνει τη σύνθεσή της, ενώ παράλληλα αναστέλλει την έκκριση γλουκαγόνου και τη γαστρική κένωση και ασκεί ανορεκτική δράση κεντρικά (Mojsos και συν 1987; Kreymann και συν 1987; Holst και συν 1987; Heller και συν 1997; Drucker και συν 2007). Επιπλέον έχειδειχθεί ότι ασκεί παραγωγικές και αντιαποπρωτικές δράσεις στα β-κύτταρα του παγκρέατος ενώ παράλληλα προάγει την νεοαγγειογένεση (Li και συν 2003). Τελός υπάρχουν μελέτες όπου αναφέρεται και η ενδεχόμενη προστατευτική του δράση στο καρδιαγγειακό και στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Baggio και συν 2004).

Σε πρόσφατες *in vivo* μελέτες αποδείχθηκε ότι το GLP-1 ασκεί και αναβολική δράση στα οστά ανεξάρτητα από τη δράση της ινσουλίνης. Στις μελέτες αυτές με διαβητικούς επίμυς ή επίμυς με αντίσταση στην ινσουλίνη η χορήγηση GLP-1 για 3 συνεχόμενες ημέρες βελτίωσε σημαντικά τη μικροαρχιτεκτονική και τις μηχανικές ιδιότητες των οστών στα ποντίκια αυτά (Nuche-Berenguer και συν 2010). Παρόμοια αποτελέσματα διαπιστώθηκαν με τη χορήγηση του exendin-4 αναλόγου του GLP-1 (Nuche-Berenguer και συν 2010a). Ωστόσο, ο μηχανισμός με τον οποίο το GLP-1 συμμετέχει στη ρύθμιση του οστικού μεταβολισμού παραμένει άγνωστος, εφόσον δεν έχουν περιγραφεί ως τώρα υποδοχείς του GLP-1 στα οστά. Σε μία παλαιότερη μελέτη σε διαγονιδιακά ποντίκια με διαταραχή της έκφρασης του παγκρεατικού υποδοχέα του GLP-1 είχεδειχθεί ότι η ανεπάρκεια της ενδοκυττάριας σηματοδοτικής του οδού είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της οστικής απορρόφησης μέσω ελάττωσης της έκφρασης της καλσιτονίνης από τα παραθυλακιοκύτταρα του θυρεοειδούς αδένου (Yamada και συν 2008). Ωστόσο, η πιθανή άμεση δράση του GLP-1 στα οστά μέσω του υποδοχέα της καλσιτονίνης δεν επιβεβαιώθηκε πειραματικά. Σε μία πολύ πρόσφατη μελέτη αποδείχθηκε ότι το GLP-1 ενδέχεται τελικά να δρά άμεσα στα οστικά κύτταρα μέσω ενός διαφορετικού, από αυτόν που απαντάται στα β-παγκρεατικά κύτταρα, τύπου υποδοχέα, που ανήκει στην οικογένεια των GPI/IPG (glycosylphosphatidylinositols generating short-lived inositolphosphoglycans) receptors αντί των γνωστών GLP-1 υποδοχέων που έχουν απομονωθεί στα β-παγκρεατικά κύτταρα και οι οποίοι ανήκουν στην οικογένεια των υποδοχέων που συνδέονται με τις G-πρωτεΐνες (G-protein coupled receptors)

(Nuche-Berenguer και συν 2010 b). Οι ερευνητές έδειξαν ότι το GLP-1 μπορεί να δρα άμεσα στους οστεοβλάστες (οστεοβλαστική κυτταρική σειρά MC3T3-E1) μέσω ενός GPI/IPG υποδοχέα και ενεργοποιώντας τις οδούς των κινασών MAPK (mitogen activated protein kinase) και της φωσφορικής ινοσιτόλης 3 κινάσης (PI3K) να ελαττώνει την έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα Runx-2 και να αυξάνει την έκφραση της οστεοκαλσίνης, ασκώντας έτσι αναβολική δράση στον οστικό μεταβολισμό.

γ) Το γλονκαγονόμορφο πεπτίδιο-2 (GLP-2)

Το πεπτίδιο GLP-2, όπως και το GLP-1 παράγεται από τα L-κύτταρα του εντέρου και προέρχεται από τη μετα-μεταγραφική τροποποίηση του κοινού πρόδρομου μορίου τους, του προγλονκαγόνου.

Η πιο καλά μελετημένη δράση του GLP-2 είναι η ελάττωση του ρυθμού απόπτωσης των κυττάρων του εντερικού επιθηλίου. Επιπλέον ρυθμίζει την εντερική μεταφορά γλυκόζης, την πρόσληψη τροφής, τη γαστρική έκκριση και γαστρική κένωση ενώ παράλληλα βελτιώνει τη λειτουργία του εντερικού φραγμού (Lavin και συν 1996; Lovshin και συν 2000; Drucker και συν 2001).

Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το GLP-2 ασκεί επίσης θετική επίδραση στον οστικό μεταβολισμό.

Χορήγηση του GLP-2 σε μία εφάπαξ χορήγηση ελάττωσε τα επίπεδα του β-CTX σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Παρομοίως τα επίπεδα της δεοξυπυριδινολίνης, που επίσης αντανακλά το βαθμό της οστικής απορρόφησης ελαττώθηκαν σημαντικά μετά τη χορήγηση 800 μgr GLP-2 (Henriksen και συν 2003). Επίσης μελετήθηκε η δράση του GLP-2 στον κύκλο οστικής εναλλαγής σε διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά τη διάρκεια του 24 ώρου. Η χορήγηση GLP-2 σε υγιείς εθελοντές ελάττωσε τα επίπεδα των δεικτών οστικής απορρόφησης ενώ παράλληλα αύξησε τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης (Henriksen και συν 2004). Η ανασταλτική δράση του GLP-2 στην οστική απορρόφηση επιβεβαιώθηκε σε ακόμα μία μελέτη, όπου το GLP-2 χορηγήθηκε σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για 14 ημέρες σε δοσολογία 1.6 ή 3.2 mg ως υποδόρια ένεση (Henriksen και συν 2007). Στη μελέτη αυτή τα επίπεδα των δεικτών οστικής απορρόφησης στον ορό, β-CTX και στα ούρα, δεοξυπυριδινολίδη (DPD) ελαττώθηκαν σημαντικά μετά το διάστημα των 14 ημερών, ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική μεταβολή στους δείκτες οστικής κατασκευής, οστεοκαλσίνη και PINP (Henriksen και συν 2007). Τέλος, σε μία ακόμα κλινική μελέτη το GLP-2 χορηγήθηκε σε διάφορες δόσεις (0.4, 1.6 και 3.2 mgr) σε ημερήσια εφ'απαξ βραδυνή χορήγηση σε με-

τεμνοπαυσιακές γυναίκες για 4 μήνες (Henriksen και συν 2009). Και σε αυτή τη μελέτη η χορήγηση του GLP-2 ελάττωσε τη νυχτερινή αύξηση των δεικτών οστικής απορρόφησης χωρίς να προκαλεί σημαντικές μεταβολές στους δείκτες οστικής κατασκευής. Παράλληλα, σημειώθηκε μικρή αλλά σημαντική δοσοεξαρτώμενη αύξηση της οστικής πυκνότητας του ισχίου στο τέλος της εν λόγω μελέτης. Επίσης σε δύο κλινικές μελέτες που έγιναν σε ασθενείς μετά από χειρουργική επέμβαση στην περιοχή του λεπτού εντέρου και της νήσιδας (ασθενείς με σύνδρομο βραχέος εντέρου και νησιδο- ή είλεοστομία) διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση του GLP-2 αναστέλλει την οστική απορρόφηση μόνο όταν το λεπτό έντερο παραμένει αθικτό και συνεπώς δεν θα μπορούσε να χορηγηθεί σε οστεοπενικούς ασθενείς με σύνδρομο βραχέως εντέρου (Gottschalck και συν 2008 a,b).

δ) Άλλα πεπτίδια

Η είσοδος θρεπτικών συστατικών στο γαστρεντερικό σωλήνα προκαλεί επίσης την έκκριση των πεπτιδίων PYY. Τα πεπτίδια αυτά παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της απορρόφησης και της διανομής των θρεπτικών συστατικών (Holst και συν 2000; Burrin και συν 2001). Το πεπτίδιο PYY εκκρίνεται από το έντερο μεταγευματικά σε αναλογία με την περιεκτικότητα των τροφών σε ενέργεια. Σε μελέτες με PYY knockout ποντίκια, η οστική ανάπτυξη και η οστική πυκνότητα παρέμειναν φυσιολογικά αποκλειόμενα έτσι σημαντικό ρόλο του πεπτιδίου αυτού στον οστικό μεταβολισμό (Schonhoff και συν 2005).

Η γαστρίνη απελευθερώνεται επίσης μετά τη λήψη ασβεστίου και αμινοξέων, αλλά όχι από τη λήψη γλυκόζης ή λίπους και μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα που να αποδεικνύουν σημαντικό ρόλο της γαστρίνης στον οστικό μεταβολισμό.

Η γκρελίνη είναι ένα πεπτίδιο που βρίσκεται στον εγκέφαλο και στο έντερο (Kojima και συν 1999). Τα 2/3 του πεπτιδίου στην κυκλοφορία παράγονται από το στόμαχο και ελαττώνονται σημαντικά μετά από γαστρεκτομή (ελάττωση των επιπέδων ως και 65%) (Ariyasu και συν 2001; Jeon και συν 2004). Τα επίπεδά της στον ορό αυξάνονται σταδιακά προ του γεύματος και ελαττώνονται, φτάνοντας σε ελάχιστα επίπεδα, μία ώρα μετά (Cummings και συν 2001). Οι δύο κύριες δράσεις της γκρελίνης είναι η διέγερση της όρεξης και της έκκρισης της αυξητικής ορμόνης (GH) (Kojima και συν 1999). Σε νεότερες μελέτες, ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι η γκρελίνη έχει δράσεις και στον οστικό μεταβολισμό (Fucushima και συν 2005; Kim και συν 2005; Maccarinelli και συν 2005).

Σε *in vitro* μελέτες, ο υποδοχέας τύπου 1 της γκρελίνης (GHSR-1) αναγνωρίστηκε σε οστεοβλαστικές κυτταρικές σειρές, και η προσθήκη της γκρελίνης στις καλλιέργειες αύξησε τον πολλαπλασιασμό των (Fucushima και συν 2005). Σε *in vivo* πειράματα με επίμυς που είχαν υποστεί γαστρεκτομή η υποδόρια χορήγηση γκρελίνης για 8 εβδομάδες δεν ανέστρεψε την οστική απώλεια που παρατηρείται μετά από γαστρεκτομή (Dornonville de la και συν 2005). Επίσης σε κλινική μελέτη με ενδοφλέβια χορήγηση γκρελίνης 5 pmol/χγλ/λεπτό) σε γαστρεκτομηθέντες ασθενείς και υγιείς εθελοντές δεν προκάλεσε μεταβολή των βιοχημικών δεικτών οστικής ανακατασκευής (PINP και β-CTX), ενώ τα επίπεδά της στο πλάσμα εμφάνισαν αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX (Huda και συν 2007).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΤΟ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗΣ ΕΛΑΤΤΩΣΗΣ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΚΑΙ Ο ΕΝΤΕΡΟ-ΟΣΤΙΚΟΣ ΑΞΟΝΑΣ

5.1. Εισαγωγή

Σε καταστάσεις αυξημένων αναγκών του οργανισμού σε ασβέστιο, η θεμέλιος ουσία του οστίτη ιστού απομεταλλώνεται προσωρινά (και αναστρέψιμα) οδηγώντας σε αύξηση των ιόντων ασβεστίου και φωσφόρου στην κυκλοφορία για να καλυφθούν οι ανάγκες του οργανισμού. Οι ταχείς αυτοί αντιρροπιστικοί μηχανισμοί είναι εμφανείς σε καταστάσεις οξείας ανεπάρκειας του ασβεστίου (ολονύχτια νηστεία), χρόνιας ανεπάρκειας (ανεπαρκής διατροφή, νευρογενής ανορεξία) ή περιοδικών αυξήσεων των απαιτήσεων του οργανισμού (κύηση και γαλουχία), όπου τα επίπεδα του ασβεστίου στην κυκλοφορία παραμένουν εντός φυσιολογικών ορίων. Στις καταστάσεις αυτές ο σκελετός λειτουργεί ως διαθέσιμη πηγή ιχνοστοιχείων και μετάλλων για να καλυφθούν οι ανάγκες του οργανισμού.

5.2. Ο κιρκάδιος ρυθμός των δεικτών οστικής εναλλαγής

Από τις βιοχημικές αναλύσεις των οστικών δεικτών προέκυψε ότι ο κύκλος οστικής εναλλαγής παρουσιάζει κιρκάδιο ρυθμό με ελάττωση της οστικής απορρόφησης κατά τη διάρκεια της ημέρας και αύξηση κατά τη διάρκεια της νύκτας (Pietschman και συν 1990; Wichers και συν 1999). Πολλοί ερευνητές επιχείρησαν να εξηγήσουν το φαινόμενο αυτό κατευθύνοντας το ερευνητικό τους ενδιαφέρον προς τις ορμόνες εκείνες που επίσης παρουσίαζαν νυχθημερινό ρυθμό όπως η κορτιζόλη και η παραθορμόνη και συνεπώς θα μπορούσαν να είναι μεσολαβητές του κιρκάδιου ρυθμού του κύκλου

οστικής εναλλαγής. Σε έρευνα των Heshmati και συν. που δημοσιεύτηκε το 1998 αποδείχτηκε ότι η κατάργηση της πρωϊνής αιχμής της κορτιζόλης μετά από χορήγηση μετυραπόνης δεν είχε καμιά επίδραση στον κιρκάδιο ρυθμό της οστικής απορρόφησης (Heshmati και συν 1998). Παρόμοια αποτελέσματα είχε και η κατάργηση της κιρκάδιας μεταβολής της παραθορμόνης του ορού με συνεχή έγχυση ασβεστίου (Ledger και συν 1995). Ενδιαφέρον παρουσίασε και η ορμόνη της επίφυσης μελατονίνη, της οποίας η συγκέντρωση στο πλάσμα είναι 10-50 φορές μεγαλύτερη κατά τη διάρκεια της νύχτας απ' ότι κατά τη διάρκεια της ημέρας και αυτό θα μπορούσε να συσχετιστεί με τη νυκτερινή αύξηση της οστικής απορρόφησης (Reiter και συν 1991; Ostrowska και συν 2001). Σε μελέτες, ωστόσο, με τυφλούς ασθενείς, που στερούνται της κιρκάδιας μεταβολής της μελατονίνης (Geoffriau και συν 1998), δεν φάνηκε να υπάρχει μεταβολή του ρυθμού της οστεοκλαστικής δραστηριότητας (Qvist και συν 2002).

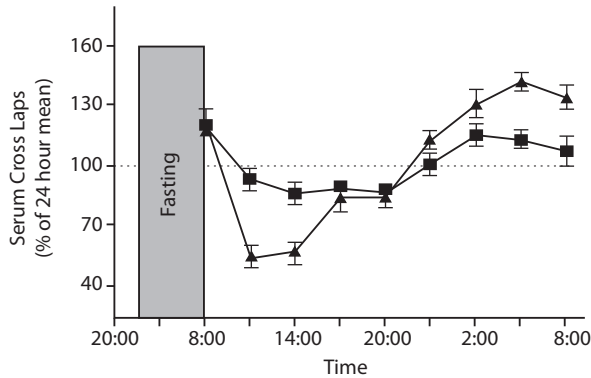
Σημαντικός σταθμός στην έρευνα για την περιοδική μεταβολή του κύκλου οστικής εναλλαγής ήταν η παρατήρηση ότι η οστική απορρόφηση ελαττωνόταν σημαντικά στη νηστεία (Schlemmer και συν 1999). Αποδείχτηκε λοιπόν ότι η πρόσληψη τροφής και όχι ο κιρκάδιος ρυθμός ήταν η κύρια αιτία μεταβολής των δεικτών της οστικής απορρόφησης κατά τη διάρκεια του 24ώρου (Schlemmer και συν 1999; Christgau και συν 2000; Bjarnason και συν 2002; Clowes και συν 2002). Η μεταγευματική αυτή επίδραση στην οστική απορρόφηση δείχθηκε ότι είναι ανεξάρτητη από το φύλο, την ηλικία και την εμμηνόπαυσιακή κατάσταση (Henriksen και συν 2005). Σε αντίθεση με τους δείκτες οστικής απορρόφησης οι δείκτες οστικής κατασκευής δεν παρουσιάζουν σημαντικές μεταβολές με την πρόσληψη τροφής, γεγονός που απορρέει από την αποσύζευξη της οστικής απορρόφησης από την οστική παραγωγή που συντελείται μεταγευματικά (Schlemmer και συν 1999; Christgau και συν 2000; Bjarnason και συν 2002; Clowes και συν 2002). Η νυκτερινή αύξηση της οστικής απορρόφησης είναι αποτέλεσμα της μειωμένης παροχής θρεπτικών συστατικών και οργανικών στοιχείων, που είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της ομοιόστασις του ασβεστίου στο πλάσμα και των παραγωγικών διαδικασιών όπως η αιμοποίηση και η επιθηλιακή αναγέννηση (Henriksen και συν 2005). Για να αντιμετωπίσει ο ανθρώπινος οργανισμός την κατάσταση αυτή κινητοποιεί τη δεξαμενή των θρεπτικών και οργανικών στοιχείων του σκελετού ενεργοποιώντας την οστική απορρόφηση. Με αυτόν τον τρόπο ο σκελετός προμηθεύει τον οργανισμό με τα στοιχεία που χρειάζεται για να επιβιώσει όταν δεν υπάρχει η ανάλογη παροχή

από το περιβάλλον. Αντιθέτως, μεταγευματικά η διαθεσιμότητα των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών καταργεί την ανάγκη για χρησιμοποίηση των αποθεμάτων του σκελετού, με συνέπεια την άμεση ελάττωση της οστικής απορρόφησης. Η επίδραση αυτή του γεύματος αναμένεται να είναι ταχεία, δίκην καταρράκτη και μη μεταγραφική.

5.3. Οξεία επίδραση των θρεπτικών συστατικών στον οστικό μεταβολισμό

Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ότι η είσοδος θρεπτικών ουσιών στο γαστρεντερικό σωλήνα, όπως γλυκόζη (Bjarnason και συν 2002; Clowes και συν 2003), πρωτεΐνες (Bjarnason και συν 2002), ασβέστιο (Blusohn και συν 1994; Rubinacci και συν 1999; Villa και συν 2000; Scopacasa και συν 2000; Hogowitz και συν 1994) ή μεικτό γεύμα προκαλούν ταχεία ελάττωση των βιοχημικών δεικτών οστικού μεταβολισμού (Διάγραμμα 5.1). Σε μία μελέτη, η χορήγηση μικτού γεύματος ελάττωσε τα επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού κατά $3,8 \pm 0,9 \%$ για τον δείκτη οστικής κατασκευής για το P1NP και κατά $17,8 \pm 2,6 \%$ για τον δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX (Clowes και συν 2003). Καμία μεταβολή, ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε στα επίπεδα της αλκαλικής φωσφατάσης του ορού, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί στο μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής (46 ώρες) (Walton και συν 1975).

Με τη χορήγηση γλυκόζης παρατηρήθηκε μεγαλύτερη, (κατά 50%) αλλά και πιο ταχεία (στα πρώτα λεπτά μετά τη χορήγηση) μείωση των δεικτών οστικής απορρόφησης, β-CTX και NTX στον ορό και στα ούρα αντίστοιχα (Bjarnason και συν 2002; Clowes και συν 2003; Henriksen και συν 2003), προσεγγίζοντας τα ποσοστά μεταβολής των δεικτών που παρατηρούνται με τους αντι-οστεοπορωτικούς παράγοντες. Ωστόσο, σε αντίθεση με την παρατεταμένη διάρκειά της δράσης των αντι-οστεαπορροφητικών παραγόντων, η μεταγευματική μεταβολή των δεικτών οστικής απορρόφησης είναι παροδική. Στις πρώτες δύο ώρες παρατηρείται η μέγιστη ελάττωση των δεικτών και στη συνέχεια τα επίπεδά τους ανέρχονται στα προ του γεύματος επίπεδα σε 4-5 ώρες (Bjarnason και συν 2002; Clowes και συν 2003). Επιλέον παρατηρήθηκε ότι η μεταγευματική μεταβολή του οστικού μεταβολισμού αφορούσε κατά κύριο λόγο τους δείκτες οστικής απορρόφησης και λιγότερο τους δείκτες οστικής κατασκευής με ελάττωση του P1NP κατά 8% και της οστεοκαλσίνης κατά 16% ή καθόλου (Clowes και συν 2003; Henriksen και συν 2003). Η διαφορική αυτή επίδραση του γεύματος στις δύο λειτουργίες του οστικού μετα-



Διάγραμμα 5.1. Η επίδραση της νηστείας και του γεύματος στον κικράδιο ρυθμό του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX. (Clowes et al 2005, JBMR 20:1497-1506).

βολισμού, υποδηλώνει ότι οι παράγοντες που είναι υπεύθυνοι για το φυσιολογικό αυτό φαινόμενο επιδρούν κυρίως στην οστική απορρόφηση ή επηρεάζουν και τις δύο λειτουργίες αλλά σε διαφορετικό βαθμό.

Σε μία μέλετη που διερεύνησε την επίδραση των επιμέρους συστατικών ενός γεύματος (πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λίπος), έδειξε ότι τη μεγαλύτερη επίδραση ασκούν οι πρωτεΐνες και η γλυκόζη, ενώ έπονται οι λιπαρές τροφές. Στην ίδια μελέτη δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική μεταβολή στα επίπεδα της οστεοκαλσίνης μετά την κατανάλωση πρωτεϊνών ή λίπους (Henriksen και συν 2003).

Ο κικράδιος ρυθμός των δεικτών οστικού μεταβολισμού έχει δείχθει να μειώνεται σε ένταση κατά τη διάρκεια της νηστείας (Schlemmer και συν 1999; Christgau S 2000), επιβεβαιώνοντας τον κριτικό ρόλο του γεύματος στις παρατηρούμενες μεταβολές των οστικών δεικτών κατά τη διάρκεια της του εικοσιτετραώρου.

Συμπερασματικά, τα επίπεδα των δεικτών οστικής απορρόφησης εμφανίζουν κικράδιο ρυθμό σε μεγαλύτερη βαθμό απ'ότι οι δείκτες οστικής κατασκευής. Γεγονός τελεολογικά σκόπιμο καθώς η παροχή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών κατά τη διάρκεια της ημέρας οδηγεί σε θετικό ισοζύγιο στον οστικό μεταβολισμό με μεγαλύτερη μεταγευματική καταστολή της οστικής απορρόφησης συγκριτικά με τα επίπεδα της οστικής κατασκευής. Αντιθέτως, κατά τη διάρκεια της νύχτας, λόγω απουσίας θρεπτικών συστατικών, η οστική απορρόφηση επικρατεί της οστικής κατασκευής, με στόχο τη διατήρηση της ομοιοστασίας κυρίως του ασβεστίου αλλά και άλλων μετάλλων στον οργανισμό.

5.4. Ορμόνες που αυξάνονται μεταγευματικά

Διάφορες ορμόνες εκκρίνονται ως απάντηση στην είσοδο της τροφής στον οργανισμό, όπως είναι η ινσουλίνη και η αμυλίνη από το πάγκρεας. Η ινσουλίνη έχει μιτογόνο δράση στους οστεοβλάστες *in vitro* και αυξάνει την οστική κατασκευή *in vivo* όταν χορηγείται τοπικά (Cornish και συν 1996). Οι δράσεις αυτές μεσολαβούνται μέσω των υποδοχέων ινσουλίνης και IGF-1 στους οστεοβλάστες (Canalis και συν 1991). Ωστόσο, η ινσουλίνη δεν φαίνεται να επηρεάζει την μεταγευματική ελάττωση της οστικής απορρόφησης. Η οστική απορρόφηση μεταγευματικά ελαττώνεται κατά 40-50% μετά από τη λήψη λίπους ή πρωτεΐνης τα οποία έχουν μικρή ή και καθόλου επίδραση στην έκκριση της ινσουλίνης. Επιπλέον μελέτες έχουν δείξει ότι η πρόκληση υπερινσουλιναϊμίας δεν προκαλεί σημαντική μεταβολή στα επίπεδα οστικής κατασκευής ή απορρόφησης όταν διατηρείται η ευγλυκαιμία (Clowes και συν 2002).

Η αμυλίνη είναι ένα πεπτίδιο 37 αμινοξέων το οποίο συνεκκρίνεται με την ινσουλίνη από τα β-κύτταρα και αυξάνεται ταχέως μετά από τα γεύματα. *In vitro* η αμυλίνη αυξάνει τον αριθμό των οστεοβλαστών (Cornish και συν 1999) και αναστέλλει την οστεοκλαστική διαφοροποίηση, ενώ φαρμακολογικές δόσεις της *in vivo* έχουν αναβολική δράση στα οστά (Cornish και συν 2001). Ωστόσο, τα επίπεδα της αμυλίνης που επιτυγχάνονται μεταγευματικά δεν επαρκούν για να μεταβάλλουν τα επίπεδα των δεικτών οστικής κατασκευής και απορρόφησης.

Το γλουκαγόνο που παράγεται από τα α-κύτταρα του παγκρέατος ελαττώνει την οστική απορρόφηση κατά 10% όταν χορηγείται εξωγενώς (Christgau και συν 2000). Δεν φαίνεται όμως να συμμετέχει στην ταχεία μεταγευματική μεταβολή του κύκλου οστικής εναλλαγής, διότι η πρόσληψη τροφής, είτε δεν έχει καμία επίδραση (Wass και συν 1980) είτε ελαττώνει την έκκριση του γλουκαγόνου (Tse και συν 1983).

Η λεπτίνη, που είναι η πιο γνωστή και καλά μελετημένη ορμόνη που παράγεται από τα λιποκύτταρα αυξάνεται επίσης μεταγευματικά. Ο ρόλος της στη ρύθμιση της όρεξης και της αναπαραγωγικής λειτουργίας μέσω υποθαλαμικών υποδοχέων είναι γνωστός. Φαίνεται όμως ότι έχει άμεσες και έμμεσες δράσεις στα οστά (Reid και συν 2004; Ducy και συν 2000). Υποδοχείς της έχουν ανακαλυφθεί στους οστεοβλάστες και στα χονδροκύτταρα (Steppan και συν 2000; Cornish και συν 2002; Gordeladze και συν 2002). Η λεπτίνη προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, ενώ παράλληλα ρυθμίζει την οστεοκλαστογένεση ελαττώνοντας

την παραγωγή RANK και RANKL και αυξάνοντας την παραγωγή της οστεοπροτεγερίνης (Burguera και συν 2001; Holloway και συν 2002). Ωστόσο, η μεταγευματική αύξηση της λεπτίνης καθυστερεί αρκετές ώρες και αυτό αποκλείει τη συμμετοχή της στην οξεία μεταγευματική ελάττωση της οστικής απορρόφησης η οποία εκδηλώνεται ήδη τις δύο πρώτες ώρες (Coleman και συν 1999).

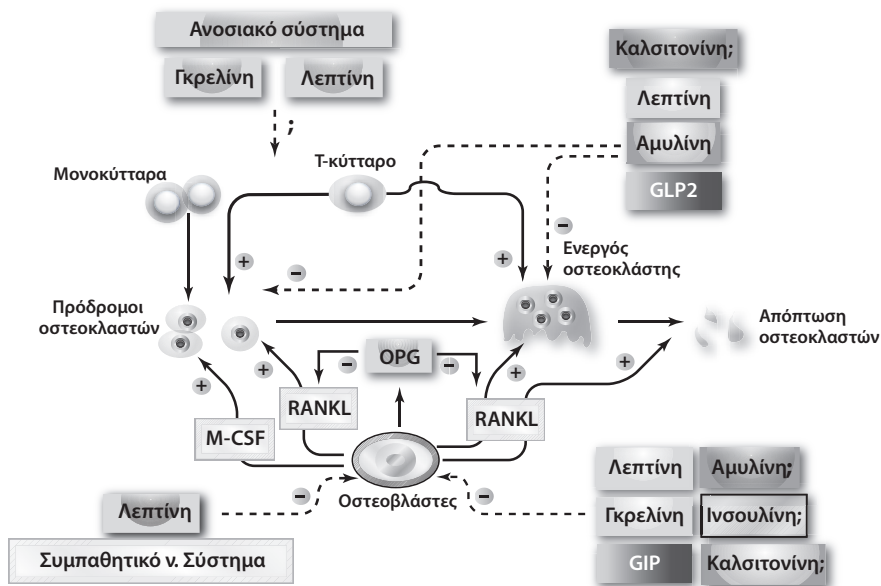
Εντατική έρευνα στην προσπάθεια να εξηγηθεί ο παθογενετικός μηχανισμός του φαινομένου, οδήγησε στην υπόθεση ότι η μεταγευματική ελάττωση της οστικής απορρόφησης ρυθμίζεται από σήματα που προέρχονται από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Η σκέψη αυτή επιβεβαιώθηκε από μελέτες που έγιναν σε ασθενείς με γαστρεκτομή και σε ασθενείς με σύνδρομο βραχέος εντέρου. Στις εν λόγω μελέτες αποδείχτηκε ότι στα υγιή άτομα η οστική απάντηση σε μεικτό γεύμα, σε χορήγηση γλυκόζης ή πρωτεΐνης συνοδευόταν από ελάττωση της οστικής απορρόφησης κατά 50% (Clowes και συν 2002; Clowes και συν 2003; Henriksen και συν 2003; Henriksen και συν 2004) και η ίδια απάντηση παρατηρήθηκε και στα άτομα με γαστρεκτομή αποκλείοντας με τον τρόπο αυτό τη συμμετοχή των γαστρικών ορμονών γαστρίνη και γκρελίνη στο φαινόμενο της μεταγευματικής ελάττωσης της οστικής απορρόφησης (Henriksen και συν 2005). Οι ασθενείς με σύνδρομο βραχέος εντέρου στους οποίους ένα μεγάλο τμήμα του λεπτού εντέρου είχε εκταμεί ενώ παρέμειναν λειτουργικά το δωδεκαδάκτυλο και το κόλον, παρουσίασαν ενδιάμεσης έντασης απάντηση, ενώ στους ασθενείς με εκτομή και τμήματος του παχέος εντέρου καταργήθηκε εντελώς η μεταγευματική οστική απάντηση (Henriksen και συν 2004).

Σε άλλη έρευνα αποδείχτηκε ότι η ελάττωση της οστικής απορρόφησης ήταν σημαντικά μεγαλύτερη μετά από χορήγηση γλυκόζης per os σε σχέση με την ενδοφλέβια χορήγηση προτείνοντας έναν πιθανό ρόλο των ινκρετινών GLP-1 και GIP (Fehmann και συν 1995). Επίσης σε μια μελέτη των Clowes και συν. το 2002 διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση οκτρεοτίδης, ενός μακράς δράσης συνθετικού αναλόγου της σωματοστατίνης, αναστέλλει την οξεία καταστολή της οστικής απορρόφησης που προκαλείται από τη χορήγηση γλυκόζης per os (Clowes και συν 2003). Η σωματοστατίνη είναι γνωστό ότι αναστέλλει τη μεταγευματική αλλά και τη βασική έκκριση πολλών γαστρεντερικών και παγκρεατικών πεπτιδίων όπως η ινσουλίνη, το γλουκαγόνο, το παγκρεατικό πολυπεπίδιο, η καλσιτονίνη, η γαστρίνη, το GIP, το GLP-1 και το GLP-2 (Lamberts και συν 1988). Συνεπώς οι γαστρεντερικές ορμόνες φαίνεται να διαδραματίζουν ρόλο κλειδί στην κατανομή των απορρο-

φούμενων στοιχείων προς τα οστά προτείνοντας την ύπαρξη ενός “έντερο-οστικού άξονα” (Σχήμα 5.1).

5.5. Έντερο-Οστικός άξονας

Σε μια μελέτη των Henriksen και συν (Henriksen και συν 2003) αποδείχτηκε ότι η ενδοφλέβια χορήγηση του GIP και η υποδόρια χορήγηση του GLP-1 δεν επηρέασαν τους οστικούς βιοχημικούς δείκτες ενώ αντιθέτως η υποδόρια χορήγηση του GLP-2 είχε ως αποτέλεσμα την ταχεία και σημαντική δοσοεξαρτώμενη ελάττωση των δεικτών οστικής απορρόφησης χωρίς να επηρεασθεί η οστική κατασκευή, όπως αυτό εκτιμήθηκε από τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης. Ωστόσο, η ενδοφλέβια χορήγηση των πεπτιδίων GIP και GLP-1 απουσία γλυκόζης στην περιφέρεια, απέκλεισε την πιθανή γλυκοζοεξαρτώμενη δράση τους στον οστίτη ιστό. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, έχουν βρεθεί υποδοχείς για το GIP και για το GLP-1 στα οστικά κύτταρα, μέσω των οποίων τα γαστρεντερικά αυτά πεπτίδια θα μπο-



Σχήμα 5.1. Ο πιθανός ρόλος των εντερικών και παγκρεατικών ορμονών στη διαφοροποίηση και λειτουργία οστεοβλαστών και οστεοκλαστών. Απεικονίζονται οι αρνητικές δράσεις (-) οι θετικές (+) δράσεις των ορμονών. Οι άγνωστοι μηχανισμοί απεικονίζονται με ;. (Clowes et al 2005, JBMR 20:1497-1506).

ρούσαν να ασκήσουν άμεση δράση στον οστικό μεταβολισμό. Ωστόσο, δεν έχει διευκρινισθεί ο τρόπος δράσης του GLP-2 στα οστά. Η πρόσφατη ανακάλυψη των υποδοχέων του στο μεντερικό πλέγμα του εντέρου παρέχει ενδείξεις ότι η ενδεχόμενη ενεργοποίηση των απαγωγών νευρικών ινών μέσω των υποδοχέων αυτών θα μπορούσε να μεταβιβάσει το σήμα στα οστά και να εξηγήσει την ταχύτητα της επίδρασης του γεύματος στον κύκλο οστικής εναλλαγής (Bjerkness και συν 2001; Tang-Christensen και συν 2000).

Εν κατακλείδι, διάφορες ορμόνες που αυξάνονται μεταγευματικά ως απάντηση στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών συμμετέχουν στη ρύθμιση του κύκλου οστικής εναλλαγής σε φαρμακολογικές συγκεντρώσεις. Ωστόσο, παραμένουν ακόμα άγνωστοι οι ακριβείς παθογενετικοί μηχανισμοί που ελέγχουν την οξεία αυτή μεταγευματική ελάττωση της οστικής απορρόφησης. Μέχρι στιγμής δεν έχει επίσης διερευνηθεί η πιθανή μεταβολή του φαινομένου σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις που επηρεάζουν συνολικά τον οστικό μεταβολισμό.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΘΥΡΕΟΕΙΔΗΣ ΑΔΕΝΑΣ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

6.1. Εισαγωγή

Ο θυρεοειδής αδένας αποτελεί ένα από τα μεγαλύτερα ενδοκρινικά όργανα του ανθρώπινου σώματος με μοναδική λειτουργία την παραγωγή των θυρεοειδικών ορμονών. Οι θυρεοειδικές ορμόνες δρουν σχεδόν σε όλους τους ιστούς, μέσω ειδικών υποδοχέων και ρυθμίζουν μια πλειάδα φυσιολογικών λειτουργιών που είναι κριτικής σημασίας για την επιβίωση του οργανισμού. Ειδικότερα, οι θυρεοειδικές ορμόνες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη του οργανισμού τόσο κατά την εμβρυϊκή ζωή όσο και στην παιδική ηλικία, συμμετέχουν στη ρύθμιση του καρδιακού ρυθμού, της συσταλτικότητας του μυοκαρδίου, της κινητικότητας του γαστρεντερικού σωλήνα και της επαναρρόφησης του ύδατος από τους νεφρούς. Επίσης μεταβάλλουν τις ενεργειακές δαπάνες του οργανισμού, ανάλογα με τις εκάστοτε ανάγκες, ρυθμίζοντας την ενδογενή παραγωγή θερμότητας και την αυξομείωση του σωματικού βάρους. Ο θυρεοειδής αδένας περιέχει επίσης και τα παραθυλακιώδη ή C κύτταρα που συνθέτουν και εκκρίνουν την καλσιτονίνη, ένα πολυπεπτίδιο 32 αμινοξέων που αναστέλλει την οστεοαπορροφητική λειτουργία των οστεοκλαστών, χωρίς ωστόσο σημαντικό ρόλο στη γενικότερη ομοιοστασία του ασβεστίου στον ανθρώπινο οργανισμό. Η καλσιτονίνη υπερπαραγάγεται στο μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς αδένου που προέρχεται από τα κύτταρα αυτά.

Λόγω του σημαντικού του ρόλου στην εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού ο θυρεοειδής αδένας διαθέτει πλούσιο αγγειακό δίκτυο, το οποίο αυξάνεται ακόμα περισσότερο όταν ο αδένας υπερλειτουργεί (υπερθυρεοειδισμός).

Μικροσκοπικά, ο θυρεοειδής αδένας αποτελείται από σφαιρικά θυλάκια στα οποία επιτελείται η εκλεκτική απορρόφηση του ιωδίου, με τη μορφή ιόντων ιωδίου (I-) από την κυκλοφορία, κυρίως για την παραγωγή των θυρεοειδικών ορμονών. Παράλληλα, τα θυρεοειδικά θυλάκια αποτελούν και 'αποθήκες' του στοιχειακού ιωδίου (με τη μορφή της θυρεοσφαιρίνης) συμμετέχοντας στην ομοιοστασία του ιωδίου που είναι απαραίτητο για τη λειτουργία και άλλων οργάνων που συγκεντρώνουν ιώδιο όπως οι μαστοί, ο στόμαχος, οι σιελογόνοι αδένες, ο θύμος αδένας κ.α. Το 25% των ιόντων ιωδίου στο σώμα συγκεντρώνεται στο θυρεοειδή αδένα με τη μορφή της ιωδιομένης θυρεοσφαιρίνης (κολλοειδές). Τα θυρεοειδικά θυλάκια περιβάλλονται από μία στοιβάδα θυρεοειδικών επιθηλιακών κυττάρων τα οποία εκκρίνουν τις θυρεοειδικές ορμόνες T_3 και T_4 . Διάσπαρατα ανάμεσα στα θυρεοειδικά κύτταρα και μεταξύ των θυλακίων βρίσκονται τα παραθυλακιοΐδη κύτταρα (Shoback και συν 2007).

6.2. Ρύθμιση της λειτουργίας του θυρεοειδούς αδένα

Η ρύθμιση της φυσιολογικής λειτουργίας του θυρεοειδούς αδένα επιτελείται από ένα αρνητικό παλίνδρομο κύκλωμα ρύθμισης που περιλαμβάνει τον άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-θυρεοειδής. Η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη TRH (Thyrotropin releasing hormone) συντίθεται στον παρακλιμακό (PVN, paraventricular) πυρήνα του υποθαλάμου και διεγείρει τη σύνθεση και έκκριση της διεγερτικής του θυρεοειδούς αδένα ορμόνης (TSH, Thyroid stimulating hormone) από τα θυρεοειδοτρόπα κύτταρα του προσθίου λοβού της υπόφυσης. Η TSH δρά μέσω του ειδικού υποδοχέα της TSHR, που ανήκει στην οικογένεια των μεμβρανικών υποδοχέων που συνδέονται με τις G-πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος και ο οποίος εκφράζεται στα θυρεοειδικά κύτταρα. Η σύνδεση στον υποδοχέα TSHR ενεργοποιεί μία σειρά ενδοκυττάρων σηματοδοτικών οδών που οδηγούν στην αύξηση του μεγέθους των θυρεοειδικών κυττάρων και ενεργοποίηση της σύνθεσης και έκκρισης των θυρεοειδικών ορμονών: θυροξίνη (T_4) και 3,5,'3-L-τριϊωδοθυρονίνη (T_3). Οι θυρεοειδικές ορμόνες με τη σειρά τους αναστέλλουν τη σύνθεση και έκκριση των ορμονών TSH και TRH διατηρώντας έτσι τα επίπεδά τους στην κυκλοφορία εντός φυσιολογικών ορίων, ενώ παράλληλα συντηρούν μία αντίστροφη σχέση με τις ορμόνες της υπόφυσης και του υποθαλάμου ορίζοντας το set point του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-θυρεοειδής (Basset και συν 2008).

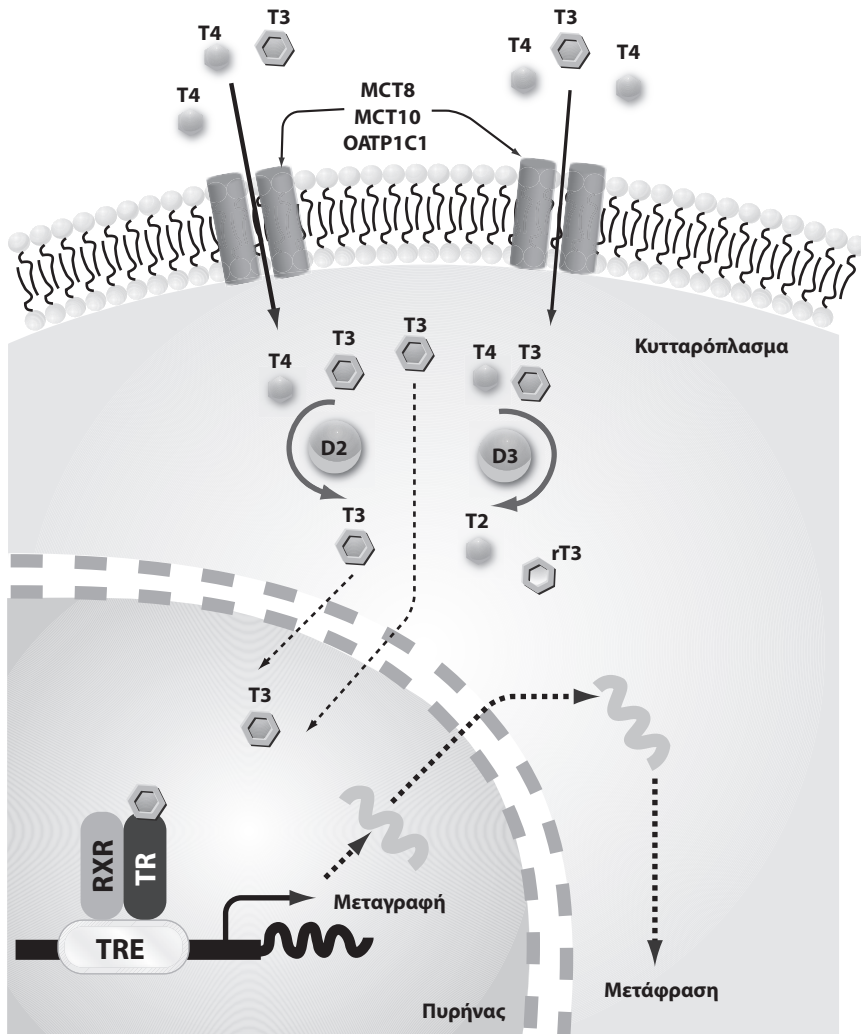
6.3. Λειτουργία του θυρεοειδούς αδένος και μηχανισμός δράσης των θυρεοειδικών ορμονών

Ο θυρεοειδής αδένος εκκρίνει κυρίως την προ-ορμόνη T_4 και σε μικρότερες συγκεντρώσεις την ενεργό ορμόνη T_3 . Το μεγαλύτερο ποσοστό της T_3 στην κυκλοφορία προέρχεται από την '5-ιωδιοποίηση της T_4 μέσω των ιωδοθυρονινο-απώδινασών τύπου 1 και τύπου 2 (D1 και D2). Σε ποσοστό μεγαλύτερο του 95% οι θυρεοειδικές ορμόνες συνδέονται με τις πρωτεΐνες του πλάσματος στην κυκλοφορία. Ωστόσο, η κυκλοφορούσα ελεύθερη μορφή της T_4 διατηρείται σε 3 με 4 φορές υψηλότερα επίπεδα απ'οτι η ελεύθερη μορφή της T_3 .

Η είσοδος των ορμονών T_4 και T_3 στα κύτταρα του εκάστοτε ιστού πραγματοποιείται μέσω ενεργητικής μεταφοράς από ειδικούς μεμβρανικούς μεταφορείς, όπως ο μονοκαρβοξυλικός μεταφορέας (monocarboxylated transporter-MCT 8 και 10) και η πρωτεΐνη μεταφοράς οργανικού οξέως (organic acid transporter protein-1c1, OATP1c1) (Σχήμα 6.1) (van de Deure και συν 2010). Τα ενδοκυττάρια επίπεδα της T_3 και η διαθεσιμότητά της για τη σύνδεσή της με τους ειδικούς πυρηνικούς υποδοχείς TRs (Thyroid Receptors) καθορίζονται από τη σχετική δραστηριότητα των τύπου 2 και 3 απώδινασών (D2 και D3). Η απώδιναση D2 μετατρέπει την T_4 σε T_3 καταλύοντας την απομάκρυνση ενός ατόμου '5-ιωδίου. Αντιθέτως, η D3 αφ' ενός αποτρέπει την ενεργοποίηση της T_4 και αφ' ετέρου απενεργοποιεί την T_3 καταλύοντας την απομάκρυνση ενός ατόμου 5-ιωδίου με αποτέλεσμα την παραγωγή των ανενεργών μεταβολιτών 3, '3,'5,-L -τριϊωδοθυρονίνη (ανάστροφη T_3 , rT_3) και 3,'3-διϊωδοθυρονίνη (T_2), αντίστοιχα (St Germain και συν 2009).

Υποδοχείς των θυρεοειδικών ορμονών

Έχουν ταυτοποιηθεί 3 τύποι θυρεοειδικών υποδοχέων, οι TR α 1, TR β 1 και TR β 2, που κωδικοποιούνται από τα γονίδια THRA και THRB, αντίστοιχα. Οι υποδοχείς αυτοί λειτουργούν ως μεταγραφικοί παράγοντες που επάγονται από την T_3 και ρυθμίζουν τη μεταγραφή των T_3 γονιδίων στόχος (Σχήμα 6.1) (Yen και συν 2001). Οι υποδοχείς TR α 1 και TR β 1 εκφράζονται σε όλους σχεδόν τους ιστούς, ωστόσο, ο βαθμός της έκφρασής τους διαφέρει κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης και στην ενήλικη ζωή (Forrest και συν 1990). Αντιθέτως, η έκφραση του TR β 2 περιορίζεται στον υποθάλαμο και στην υπόφυση, όπου συμμετέχει στην αναστολή της έκφρασης της TSH και της TRH από τις θυρεοειδικές ορμόνες μέσω της λειτουργίας αρνητικού πα-



Σχήμα 6.1. Μηχανισμός δράσης των θυρεοειδικών ορμονών. Οι θυρεοειδικές ορμόνες T₃ και T₄ εισέρχονται στα κύτταρα στόχος μέσω των μεμβρανικών υποδοχέων MCT8, MCT10 και OATP1c1. Η δραστηριότητες των απιωδινασών D2 και D3 ρυθμίζουν την ενδοκυττάρια διαθεσιμότητα των ενεργών μορφών των T₃ και T₄. Η T₃ εισέρχεται στον πυρήνα και συνδέεται με τον υποδοχέα TR με μεγάλη συγγένεια. Ο υποδοχέας TR σχηματίζει ετεροδιμερές σύμπλεγμα με τον υποδοχέα του ρετινοϊκού οξέος (RXR) και αλληλεπιδρά με το ειδικό για την T₃ τμήμα του DNA (T₃-responsive element). (Gogakos και συν 2010 Archives of Biochemistry and Biophysics 503 (2010) 129-136).

λίνδρομου κυκλώματος (negative feedback loop) και στον κοχλία και αμφιβληστροειδή όπου συμμετέχει στη ρύθμιση της ανάπτυξης των αντίστοιχων αισθητηρίων οργάνων (Abel και συν 1999; Abel και συν 2001).

6.4. Η δράση των θυρεοειδικών ορμονών στα οστά

6.4.1. Η δράση των θυρεοειδικών ορμονών στην ανάπτυξη και αύξηση του σκελετού

Ο συγγενής υποθυρεοειδισμός και ο επίκτητος υποθυρεοειδισμός της παιδικής ηλικίας έχουν ως αποτέλεσμα τη σημαντική καθυστέρηση της ανάπτυξης του σκελετού, προκαλώντας αναστολή της αύξησης και διαταραχή της οστικής ωρίμανσης. Η διόρθωση του υποθυρεοειδισμού με χορήγηση θυροξίνης προκαλεί μία περίοδο ταχείας αύξησης, ωστόσο, το τελικό ύψος μπορεί να υπολείπεται του προβλεπόμενου από το ύψος των γονέων και ο βαθμός του ελλείματος σχετίζεται άμεσα με τη διάρκεια του υποθυρεοειδισμού (Rivkees και συν 1988) (Πίνακας 6.1).

Αντίθετα, στην περίπτωση της θυρεοτοξίκωσης στα παιδιά αυξάνεται η οστική ωρίμανση και επιταχύνεται η σκελετική αύξηση, με αποτέλεσμα την πρόωρη σύγκλιση των επιφύσεων και κατά συνέπεια χαμηλό ανάστημα. Σε σοβαρές περιπτώσεις θυρεοτοξίκωσης, η πρόωμη σύγκλιση των κраниακών ραφών δύναται να οδηγήσει σε κраниοσυνοστέωση και αύξηση της ενδοκраниακής πίεσης (Segni και συν 1999).

Οι περιπτώσεις αυτές επιβεβαιώνουν τον κριτικό ρόλο των θυρεοειδικών ορμονών στην ανάπτυξη του σκελετού. Ωστόσο, λόγω της φυσιολογικής αντίστροφης σχέσης που υπάρχει μεταξύ των κυκλοφορούντων θυρεοειδικών ορμονών T_3 και T_4 και της υποφυσιακής ορμόνης TSH, η οποία παραμένει άθικτη στις καταστάσεις αυτές, δεν μπορεί να γίνει σαφής διαχωρισμός της επίδρασης στον οστίτη ιστό μεταξύ των T_4/T_3 και TSH.

Σε δύο σπάνιες γενετικές διαταραχές, η φυσιολογική αντίστροφη αυτή σχέση διαταράσσεται, και ως εκ τούτου η μελέτη τους μας παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για τον διακριτό ρόλο των ορμονών αυτών στα οστά.

Στην περίπτωση της μεμονωμένης ανεπάρκειας της TSH στην υπόφυση, η ανενεργή (loss of function) μετάλλαξη της β-υπομονάδας της TSH οδηγεί σε ανεπάρκεια της TSH και συγγενή υποθυρεοειδισμό που χαρακτηρίζεται από χαμηλά επίπεδα των περιφερειακών ορμονών T_3 και T_4 και μη ανιχνεύσιμα επίπεδα της TSH. Η χορήγηση θυροξίνης στις περιπτώσεις αυτές από τη γέννηση διορθώνει τον υποθυρεοειδισμό, ενώ δεν φαίνεται να ε-

Πίνακας 6.1

Νοσήματα του θυρεοειδούς αδένου	T4	T3	TSH	Επιπλοκές στον αναπτυσσόμενο σκελετό	Επιπλοκές στον ενήλικα σκελετό
Υποθυρεοειδισμός	↓	↓	↑	<ul style="list-style-type: none"> Καθυστέρηση οστικής ηλικίας Αναστολή αύξησης Κοντό ανάστημα 	<ul style="list-style-type: none"> Ελάττωση ρυθμού οστικής ανακατασκευής Αυξημένος καταγματικός κίνδυνος
Υπερθυρεοειδισμός	↑	↑	↓	<ul style="list-style-type: none"> Αύξηση οστικής ηλικίας Επιτάχυνση αύξησης Πρωϊμη σύγκλιση επιφύσεων Κοντό ανάστημα Κρανιοσυνοστέωση 	<ul style="list-style-type: none"> Αύξηση ρυθμού οστικής ανακατασκευής Οστεοπόρωση Αυξημένος καταγματικός κίνδυνος
Αντίσταση στις θυρεοειδικές ορμόνες (RTH)	↑	↑	κ.φ ή ↑	Ποικίλει	Ποικίλει
Ενεργείς μεταλλάξεις του TSHR	↑	↑	↓	<ul style="list-style-type: none"> Βραχεία μετακάρπια και μετατάρσια οστά Αύξηση οστικής ηλικίας Κρανιοσυνοστέωση 	Βραχεία μετακάρπια και μετατάρσια οστά
Ανενεργείς μεταλλάξεις του TSHR	↓	↓	↑	Δεν έχουν περιγραφεί	Δεν έχουν περιγραφεί
Θεραπεία καταστολής με χορήγηση θυροξίνης	κ.φ	κ.φ	↓	Δεν έχουν περιγραφεί	Ελάττωση οστικής πυκνότητας σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες
Ανεπάρκεια της β-υπομονάδας της TSH	↓	↓	-	Φυσιολογική ανάπτυξη μετά απο χορήγηση θυροξίνης	Δεν έχουν περιγραφεί
Υποκλινικός υπερθυρεοειδισμός	κ.φ	κ.φ	↓	Δεν έχουν περιγραφεί	<ul style="list-style-type: none"> Αυξημένος ρυθμός οστικής ανακατασκευής Ελάττωση οστικής πυκνότητας Αύξηση καταγματικού κινδύνου

πηρεάζεται η φυσιολογική οστική ανάπτυξη και οστική πυκνότητα από τη δια βίου ανεπάρκεια της TSH (Papadimitriou και συν 2007). Συνεπώς η TSH δεν φαίνεται να είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική σκελετική ανάπτυξη και αύξηση.

Στη δεύτερη περίπτωση της αντίστασης στις θυρεοειδικές ορμόνες

(RTH), μία ανενεργή μετάλλαξη του υποδοχέα TRβ διαταράσσει τη φυσιολογική αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση του άξονα υποθάλαμος-υπόφυση-θυρεοειδής αδένας και οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα των T_4/T_3 στην κυκλοφορία με φυσιολογικά ή και αυξημένα επίπεδα της TSH. Ο σκελετικός φαινότυπος σε αυτήν την περίπτωση περιλαμβάνει αύξηση του ρυθμού οστικής ανακατασκευής, οστεοπόρωση, κατάγματα και κρανιοσυστοστέωση, γεγονός που επίσης υποδηλώνει τον κυριάρχο ρόλο της T_3 στην οστική ανάπτυξη (Weiss και συν 1996; Weiss και συν 1999).

6.4.2. Η δράση των θυρεοειδικών ορμονών στη διατήρηση της οστικής μάζας στον ενήλικα σκελετό

Σε περιπτώσεις δυσλειτουργίας του θυρεοειδούς αδένου στον ενήλικα σκελετό διαταράσσεται κατά κύριο λόγο ο κύκλος οστικής εναλλαγής.

Από ιστομορφομετρικές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι στον υποθυρεοειδισμό η διάρκεια του κύκλου οστικής εναλλαγής αυξάνεται (Eriksen και συν 1986; Mosekilde και συν 1990). Συγκεκριμένα η διάρκεια της οστεοκλαστικής απορρόφησης διπλασιάζεται, ενώ ο χρόνος της οστεοβλαστικής παραγωγής και η επακόλουθη επιμετάλλωση παρατείνεται κατά 4 φορές. Οι αλλαγές αυτές οδηγούν σε ελάττωση του ρυθμού οστικής ανακατασκευής και σε τελική αύξηση της οστικής μάζας. Αντιθέτως, στον υπερθυρεοειδισμό ο ρυθμός οστικής παραγωγής και απορρόφησης επιταχύνονται και ο κύκλος οστικής εναλλαγής βραχύνεται: η διάρκεια της φάσης της οστικής απορρόφησης ελαττώνεται κατά 60% και της οστικής παραγωγής κατά 30%. Κατά συνέπεια η οστική απορρόφηση αυξάνεται εις βάρος της οστικής παραγωγής με τελικό αποτέλεσμα 10% απώλεια οστού σε κάθε κύκλο οστικής εναλλαγής και οστεοπόρωση με αυξημένο ρυθμό οστικής ανακατασκευής (high bone turnover-osteoporosis) (Mosekilde και συν 1990; Gogakos και συν 2010) Τα ευρήματα αυτά παρατηρούνται επίσης και στους ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό λόγω νόσου Graves, που οφείλεται στη συνεχή διέγερση του υποδοχέα της TSHR στα θυρεοειδικά κύτταρα από διεγερτικά αντισώματα εναντίον του TSHR. Γεγονός που επίσης καταδεικνύει το καθοριστικό ρόλο των θυρεοειδικών ορμονών T_3/T_4 στη λειτουργία του σκελετού και στην ενήλικη ζωή (Davies και συν 2005).

Παρότι η οστική πυκνότητα είναι συνήθως φυσιολογική στο νεοδιαγνωσμένο υποθυρεοειδισμό (Vestergaard και συν 2000; Vestergaard και συν 2002; Vestergaard και συν 2005; Ahmed και συν 2006), μεγάλες πληθυσμιακές μελέτες έχουν δείξει ότι ο υποθυρεοειδισμός σχετίζεται με 2 έως 3 φο-

ρές αύξηση του κινδύνου κατάγματος ακόμα και 10 έτη μετά την αρχική διάγνωση (Vestergaard και συν 2002; Stamato και συν 2000). Αυξημένος καταγματικός κίνδυνος, που δύναται να επιμένει και 5 χρόνια μετά την αρχική διάγνωση και θεραπεία έχει αναφερθεί και στον υπερθυρεοειδισμό (Vestergaard και συν 2005). Ωστόσο, η θεραπεία με αντιθυρεοειδικά φάρμακα επαναφέρει με ταχύ ρυθμό τα φυσιολογικά επίπεδα των βιοχημικών δεικτών της οστικής ανακατασκευής και η ελάττωση της οστικής μάζας μπορεί να επανέλθει στα προ του υπερθυρεοειδισμού επίπεδα μετά από μία πενταετία (Vestergaard και συν 2003).

Επίσης μεγάλες πληθυσμιακές μελέτες έδειξαν ότι ακόμα και σε ευθυρεοειδικές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες τα επίπεδα των θυρεοειδικών ορμονών στα ανώτερα φυσιολογικά όρια και τα χαμηλά επίπεδα της TSH σχετίζονται με ελαττωμένη οστική πυκνότητα και αυξημένο κίνδυνο κυρίως μη σπονδυλικών καταγμάτων (Murphy και συν 2011; Bauer και συν 1997; Bauer και συν 2001). Τα υψηλά επίπεδα των ελεύθερων μορφών της T_3 και T_4 σχετίζονται με χαμηλή οστική πυκνότητα στο ισχίο, ενώ δεν έχει παρατηρηθεί συσχέτιση μεταξύ της οστικής πυκνότητας και της TSH (Murphy και συν 2011; Bauer και συν 1997; Bauer και συν 2001; Cummings και συν 1995; Cauley και συν 1995).

Σε μία μετα-ανάλυση μετά από διόρθωση για την ηλικία, το δείκτη μάζας σώματος και την οστική πυκνότητα, διαπιστώθηκε ότι ο κίνδυνος μη-σπονδυλικών καταγμάτων αυξήθηκε κατά 20-33% στις γυναίκες με υψηλά φυσιολογικά επίπεδα των ελεύθερων κλασμάτων των θυρεοειδικών ορμονών, ενώ αντίστοιχα τα υψηλά-φυσιολογικά επίπεδα της TSH στον ορό δρουν προστατευτικά ελαττώνοντας τον κίνδυνο κατάγματος κατά 35% (Murphy και συν 2011).

6.5. Δράση των θυρεοειδικών ορμονών σε κυτταρικό επίπεδο

In vitro μελέτες έχουν δείξει ότι οι θυρεοειδικές ορμόνες μπορούν να αυξήσουν την οστική απορρόφηση μέσα σε λίγες μόνο ημέρες, μέσω αύξησης της δραστηριότητας των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών, με διαφορετικούς ρυθμούς (Bauer και συν 2009; Γιώβος και συν 2010). Παράλληλα με την αυξημένη δραστηριότητα των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών, αυξάνονται και οι βιοχημικοί δείκτες οστικής κατασκευής (αλκαλική φωσφατάση και οστεοκαλσίνη ορού) και οστικής απορρόφησης (πυριδινολίνη, δεοξυπυριδινολίνη και υδροξυπρολίνη ούρων) (Γιώβος & Γιαβροπούλου 2010).

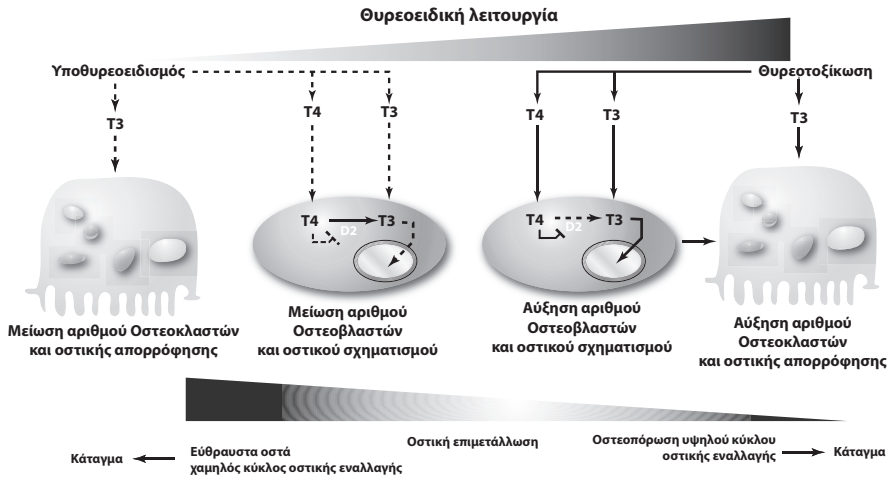
Οι θυρεοειδικές ορμόνες προκαλούν επίσης και αρνητικό ισοζύγιο ασβεστίου. Η αύξηση της οστικής απορρόφησης προκαλεί άνοδο των επιπέδων ασβεστίου στον ορό και επακόλουθη υπερασβεστιαϊμία σε ποσοστό 20%. Η αύξηση αυτή του ασβεστίου καταστέλλει την έκκριση της παραθορμόνης, με αποτέλεσμα την αυξημένη νεφρική απέκκριση του ασβεστίου και την ελαττωμένη εντερική του απορρόφηση, λόγω ελάττωσης της μετατροπής της 25 D₂ (καλσιδιόλη) σε 1,25-D₃ (καλσιτριόλη) (Moselkide και συν 1990).

Σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο οι θυρεοειδικές ορμόνες διεγείρουν την οστεοβλαστική διαφοροποίηση και δραστηριότητα, τη σύνθεση του κολλαγόνου τύπου I, της αλκαλικής φωσφατάσης και της οστεοκαλσίνης. Αυξάνουν επίσης την παραγωγή μορίων από τους οστεοβλάστες, όπως οι προσταγλανδίνες, η IL-6 και ο RANKL που προάγουν τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστικών προβαθμίδων ή αυξάνουν τη δράση των ώριμων οστεοβλαστών. Οι δράσεις τους γίνονται άμεσα αλλά και έμμεσα, μέσω ενεργοποίησης και άλλων σηματοδοτικών οδών όπως το IGF-1 (Σχήμα 6.2).

Αξίζει να αναφερθεί ότι ορισμένες από τις δράσεις των θυρεοειδικών ορμονών στα οστά είναι ταχύτατες και δρουν μέσω κινητοποίησης των ενδοκυττάρων αποθηκών ασβεστίου (μη γενομική δράση).

Με τη συνδιασμένη χρήση τεχνικών, όπως η αντίδραση αλυσιδωτής πολυμεράσης (PCR), η ανοσοχρώση (Immunostaining) και οι μελέτες σύνδεσης (Binding studies) απομονώθηκαν επίσης και υποδοχείς της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης TSH σε πρόδρομες μορφές των οστεοβλαστών αλλά και των οστεοκλαστών. Διαπιστώθηκε σε *in vitro* μελέτες ότι η TSH αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση αλλά και την οστεοβλαστογένεση μέσω ξεχωριστών και ανεξάρτητων μηχανισμών. Συγκεκριμένα αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση μέσω του παράγοντα RANKL, μειώνοντας τη φωσφορυλίωση των παραγόντων JNK (Janus N-terminal kinase) και IκBα της ενδοκυττάριας σηματοδοτικής οδού του RANKL. Παράλληλα ελαττώνει την οστεοκλαστική οστική απορρόφηση, αλλά και την οστεοβλαστογένεση, απενεργοποιώντας τον μεμβρανικό υποδοχέα τυροσινικής κινάσης FLK-1 (υποδοχέας του αγγειακού αυξητικού παράγοντα VEGF, vascular endothelial growth factor), και τον υποδοχέα λιποπρωτεϊνών χαμηλής πυκνότητας LRP-5 (Low density lipoprotein receptor -related peptide) χωρίς ωστόσο να επηρεάζει τα επίπεδα των απαραίτητων για την οστεοβλαστογένεση μεταγραφικών παραγόντων Runx-2 και Osterix (Agrawal και συν 2010; Martini και συν 2010).

Στον υποθυρεοειδισμό ελαττώνονται η στράτευση, η ωρίμανση και η δραστηριότητα των οστικών κυττάρων με αποτέλεσμα να ελαττώνεται ο ρυθ-



Σχήμα 6.2. Δράση των θυρεοειδικών ορμονών στα οστικά κύτταρα.

μός οστικής απορρόφησης αλλά και οστικής κατασκευής. Τα επίπεδα της αλκαλικής φωσφατάσης, της οστεοκαλσίνης του ορού αλλά και της υδροξυπρολίνης των ούρων είναι ελαττωμένα.

Σε μια πρόσφατη μελέτη που χορηγήθηκε ανασυνδιασμένη ανθρωπίνη TSH εφάπαξ σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για να προσδιοριστεί ο ρόλος του στον κύκλο οστικής εναλλαγής, τα επίπεδα των δεικτών οστικής απορρόφησης ελαττώθηκαν στα προεμμηνοπαυσιακά επίπεδα μέσα σε δύο ημέρες από την υποδόρια χορήγηση μίας δόσης TSH (Karga και συν 2010). Προκλινικές μελέτες σε πειραματόζωα βρίσκονται σε εξέλιξη για να εκτιμήσουν αν η TSH μπορεί να χορηγηθεί σε ανθρώπους σε τέτοιο θεραπευτικό σχήμα ώστε να επιτυγχάνεται η μέγιστη δράση στα οστά και η ελάχιστη δράση στον θυρεοειδή αδένα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΣΑΚΧΑΡΩΔΗΣ ΔΙΑΒΗΤΗΣ ΤΥΠΟΥ 2 ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

7.1. Εισαγωγή

Ο σακχαρώδης διαβήτης και η οστεοπόρωση αποτελούν νοσήματα με μεγάλο επιπολασμό σε άτομα προχωρημένης ηλικίας. Η αυξανόμενη ηλικία αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για κάταγμα, ενώ παράλληλα ο αριθμός των ατόμων με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2) αυξάνεται τόσο λόγω αύξησης του μέσου όρου ζωής, όσο και λόγω επιδημικής αύξησης της παχυσαρκίας.

Τα άτομα με ΣΔ παρουσιάζουν αυξημένη ευθραυστότητα των οστών. Η οστική ποιότητα, που αναφέρεται στην οστική μικροαρχιτεκτονική και τα χαρακτηριστικά της οστικής αντοχής, μπορεί να διαταραχθεί στον ΣΔ οδηγώντας σε αύξηση των καταγμάτων.

Οι υποκείμενοι παθογενετικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην παθογένεια του σακχαρώδη διαβήτη δεν είναι πλήρως διευκρινισμένοι, ωστόσο, η αιτιολογία φαίνεται να είναι πολυπαράγοντική (Hofbauer και συν 2007; Nicodemus και συν; 2001).

Επιπλέον ο ήδη αυξημένος καταγματικός κίνδυνος επιδεινώνεται περαιτέρω από τις μικρο και μακροαγγειακές επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη, που μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένο κίνδυνο τραυματισμού λόγω πτώσεων (Vestergaard και συν 2009; Schwartz και συν 2002). Επίσης, παράγοντες όπως η διάρκεια της νόσου, η μεγάλη ηλικία, το προηγούμενο ιστορικό καταγμάτων και η χρήση κορτικοστεροειδών δύναται να επιδεινώσουν ακόμα περισσότερο των καταγματικό κίνδυνο των διαβητικών ασθενών (Melton και συν 2008).

7.2. Καταγματικός κίνδυνος στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

Είναι γνωστό ότι οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔΤ2) παρότι έχουν συνήθως φυσιολογική ή και αυξημένη οστική πυκνότητα σε σχέση με μη διαβητικά άτομα παρουσιάζουν, αυξημένο καταγματικό κίνδυνο (Lecka-Czernik B 2009). Συστηματικές αναλύσεις 16 συνολικά μελετών που διηγήχθησαν σε πληθυσμούς της Ευρώπης και των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής έδειξαν ότι η ύπαρξη του σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σχετίζεται με διπλάσια αύξηση του κινδύνου καταγμάτων ισχίου σε γυναίκες (RR relative risk 2.1) και σε άντρες (RR relative risk 2.8) πάσχοντες (Janghorban και συν 2007). Επίσης σε μελέτες που έγιναν στον πληθυσμό της Ιαπωνίας έδειξαν ότι άντρες (OR odds ratio 4.73) και γυναίκες (OR odds ratio 1.64) ασθενείς με ΣΔΤ2 είχαν αυξημένο κίνδυνο σπονδυλικών καταγμάτων (Yamamoto και συν 2009). Σε πρόσφατες επιδημιολογικές μελέτες έχει διαπιστωθεί ότι εκτός από τα συνήθη κατάγματα ισχίου και σπονδυλικής στήλης οι ηλικιωμένοι κυρίως ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 εμφανίζουν και αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων και σε άλλες σκελετικές θέσεις, όπως το βραχιόνιο οστόν και τα οστά των κάτω άκρων.

7.3. Οστική πυκνότητα στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

Είναι γνωστή η ισχυρή θετική συσχέτιση που υπάρχει στο γενικό πληθυσμό μεταξύ οστικής πυκνότητας και καταγμάτων. Ελάττωση της οστικής πυκνότητας κατά 10% σε οποιαδήποτε σκελετική θέση επιφέρει 1.6-2.6 φορές αύξηση του καταγματικού κινδύνου στο ισχίο και 1.7-2.3 φορές αύξηση του καταγματικού κινδύνου στη σπονδυλική στήλη (Marshall και συν 1996).

Στους ασθενείς με ΣΔΤ2 η οστική πυκνότητα στη σπονδυλική στήλη αλλά και στο ισχίο ανευρίσκεται συνήθως αυξημένη (van der Klift και συν 2005; van Daele και συν 1995; Vestergaard και συν 2007). Σε μία μελέτη μεταξύ διαβητικών και μη διαβητικών γυναικών διαπιστώθηκε ότι οι γυναίκες με ΣΔΤ2 είχαν μεγαλύτερο κίνδυνο να αναπτύξουν οστεοπόρωση σε σχέση με τις διαβητικές γυναίκες ίδιας ηλικίας. Στην ίδια μελέτη το 60.36% των διαβητικών γυναικών με φυσιολογική οστική πυκνότητα είχαν παχυσαρκία ενώ η πλειοψηφία (64.3%) των διαβητικών γυναικών που ανέπτυσαν και οστεοπόρωση είχαν φυσιολογικό δείκτη μάζας σώματος (Sta Romana και συν 2007).

7.4. Αποτελέσματα ιστομορφομετρικών μελετών σε ασθενείς και πειραμάτοζωα με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

Η μη ύπαρξη συσχέτισης μεταξύ οστικής πυκνότητας και καταγματικού κινδύνου, αποτελεί ένδειξη ότι στο ΣΔΤ2 διαταράσσεται κυρίως η οστική ποιότητα.

Τα αποτελέσματα ιστομορφομετρικών μελετών από τη διενέργεια βιοψίας στη λαγόνιο ακρολοφία διαβητικών ασθενών έχουν δείξει αύξηση της οστικής επιφάνειας με παράλληλη διατήρηση του όγκου του σπογγώδους οστού αλλά και της επιφάνειας του οστεοειδούς, εύρημα ενδεικτικό της διαταραχής της ισορροπίας της οστικής ανακατασκευής προς όφελος της οστικής απορρόφησης. Ο χαμηλός ρυθμός οστικής κατασκευής στους διαβητικούς ασθενείς φαίνεται να αυξάνει την εναπόθεση ανόργανων αλάτων στο σκελετό, ιδιαίτερα κατά τη διάρκεια της σωματικής άσκησης. Επίσης, σε μεγάλες ηλικίες ο χαμηλός ρυθμός οστικής ανακατασκευής επιβραδύνει την οστική απώλεια που επέρχεται φυσιολογικά κατά τη διαδικασία γήρανσης του σκελετού (Kraiker και συν 1995).

Οι δείκτες οστικής απορρόφησης NTX, β-CTX και δεοξυπυριδινολίνη βρέθηκαν αυξημένοι στον ορό και στα ούρα αντίστοιχα διαβητικών ασθενών σε σύγκριση με υγιή άτομα ίδιας ηλικίας και φύλου (Suzuki και συν 2005). Η αύξηση της οστικής απορρόφησης, όπως αυτή αντανakλάται στα επίπεδα των οστικών δεικτών, αποκαθίσταται με τη βελτίωση της γλυκαιμικής ρύθμισης, επιβεβαιώνοντας τη συμμετοχή της υπεργλυκαιμίας στη διαταραχή του οστικού μεταβολισμού στο διαβήτη. Επίσης έχει παρατηρηθεί αρνητική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων οστεοκαλσίνης του ορού και των επιπέδων γλυκόζης του αίματος (Dbnig και συν 2006).

Σε διαβητικούς επίμυς έχει παρατηρηθεί μείωση του αριθμού των οστεοβλαστών, της εναπόθεσης οστεοειδούς και του ρυθμού επιμετάλλωσης (Verhaeghe και συν 1990) καθώς και μείωση της αντοχής του οστού. Επίσης σε πειραματικά μοντέλα με χορήγηση αλλοξάνης στους επίμυς παρατηρήθηκε: α) μείωση του όγκου του σπογγώδους οστού και του εύρους του φλοιώδους στη μετάφυση και στη διάφυση του μηριαίου οστού αντίστοιχα β) αυξημένη γλυκοζυλίωση του κολλαγόνου σε βαθμό ανάλογο της εξωκυττάριας συγκέντρωσης του κολλαγόνου, γ) αυξημένη αντίσταση του κολλαγόνου στην υδρόλυση με κολλαγενάση και δ) μείωση του ρυθμού οστικής απορρόφησης (Locatto και συν 1993).

Στην προσπάθεια να διαχωρισθεί η συμμετοχή του παράγοντα της φλεγμονής στην οστική απώλεια που παρατηρείται στο ΣΔΤ2, σε μία μελέτη οι ε-

ρευνητές συνέκριναν τα ιστομορφομετρικά ευρήματα σε δύο ομάδες διαβητικών επίμυων (κατόπιν χορήγησης στρεπτοζοτοκίνης) με ή χωρίς πρόκληση άσχηπτης φλεγμονής με υποδόρια εμφύτευση τάλκου (πειραματικό πρότυπο οστεοπενίας φλεγμονώδους αρχής -Inflammation mediated osteopenia). Η εν λόγω μελέτη έδειξε ότι η μείωση της επιμετάλλωσης και του όγκου του σπογγώδους οστού ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στους διαβητικούς επίμυς με ή χωρίς φλεγμονή σε σύγκριση με τους επίμυς στους οποίους είχε προκληθεί μόνο φλεγμονή.

7.5. Η ομοιοστασία του ασβεστίου και ο μεταβολισμός της βιταμίνης D στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

Διαιτητικοί παράγοντες που έχουν αρνητική επίδραση στον οστικό μεταβολισμό όπως η δυσαπορρόφηση ασβεστίου, η υπερασβεστιουρία και η έλλειψη βιταμίνης D έχουν επίσης περιγραφεί στον ΣΔ. Επίσης, στους διαβητικούς ασθενείς έχουν περιγραφεί μείωση των επιπέδων του μαγνησίου και της παραθορμόνης, ενώ η πειραματική μείωση του ιονισμένου ασβεστίου δεν συνοδεύεται από ανάλογη αύξηση της παραθορμόνης, πιθανόν λόγω λειτουργικού υποπαραθυρεοειδισμού που προκαλείται από την ένδεια μαγνησίου (Saggese και συν 1989).

Αντισταθμιστικό ρόλο στη μειωμένη ανταπόκριση της παραθορμόνης, φαίνεται να διαδραματίζει το σχετιζόμενο με την παραθορμόνη πεπτίδιο (PTH_{1p}) τα επίπεδα του οποίου έχουν βρεθεί να είναι υψηλότερα στους ασθενείς με ΣΔΤ2 (Ishida και συν 1993). Επιπλέον το PTH_{1p} φαίνεται να επιδρά και στην ομοιοστασία των υδατανθράκων αφού εκκρίνεται παράλληλα με την ινσουλίνη σε απάντηση προς το ερέθισμα της γλυκόζης (Shor και συν 2006).

Είναι γνωστό ότι ο ενεργός μεταβολίτης της βιταμίνης D είναι κριτικής σημασίας για την εκκριτική ικανότητα των β-κυττάρων του παγκρέατος. Αντίστοιχα το ενζυμικό σύστημα της 1-α-υδροξυλάσης στα νεφρικά κύτταρα έχει ανάγκη την παρουσία της ινσουλίνης. Χορήγηση αναλόγων βιταμίνης D σε πειραματόζωα αποτρέπει την πρόκληση πειραματικού διαβήτη από στρεπτοζοτοκίνη, ενώ η καλσιτριόλη βελτιώνει τη διαταραγμένη ομοιοστασία της γλυκόζης με παράλληλη αύξηση της οστικής μάζας σε διαβητικούς επίμυς (Del Pino Montes και συν 2004).

Σε υγιείς μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες η γλυκόζη νηστείας έχει δειχθεί να συσχετίζεται αντίστροφα με τα επίπεδα της 25-υδροξυ βιταμίνης D στον ορό (Need και συν 2005), ενώ αντίστοιχα σε διαβητικές γυναίκες πα-

ρατηρείται μεγαλύτερη επίπτωση της υποβιταμίνωσης D σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό (Isaia και συν 2001). Επιπλέον έχει διαπιστωθεί θετική συσχέτιση των επιπέδων της βιταμίνης D με την ευαισθησία των περιφερικών ιστών στη δράση της ινσουλίνης, καθώς και αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης της βιταμίνης D και του κινδύνου εμφάνισης του ΣΔΤ2 (Pittas και συν 2006). Σε κυτταρικό επίπεδο η εκκριτική ικανότητα των β-κυττάρων είναι μειωμένη σε άτομα με χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D (Chiu K και συν 2004).

7.6. Μοριακοί μηχανισμοί

α) Η δράση της ινσουλίνης και του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα (IGF-1)

Η αναβολική δράση της ινσουλίνης στον οστίτη ιστό είναι από παλαιότερα γνωστή.

Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι υπάρχει μειωμένος κύκλος οστικής εναλλαγής, που βεβαιώνεται με μειωμένα επίπεδα οστεοκαλσίνης ορού, μειωμένο αριθμό οστεοβλαστών, μείωση της θεμελίου ουσίας και μειωμένους ρυθμούς εναπόθεσης σε συνθήκες ένδειας ινσουλίνης. Πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν επίσης ότι τα υψηλά επίπεδα ινσουλίνης οδηγούν σε αυξημένη οστική μάζα ελαττώνοντας τον αριθμό των οστεοκλαστών και την οστική απορρόφηση, ενώ παράλληλα αναστέλλουν σε μικρότερο βαθμό τον πολλαπλασιασμό και τη λειτουργία των οστεοβλαστών (Huang και συν 2010).

Ανεξάρτητα, ωστόσο, με την άμεση δράση της ινσουλίνης στα οστά, φαίνεται ότι και η ανεπάρκεια του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα που προκύπτει από τα χαμηλά επίπεδα ινσουλίνης σε συνδυασμό με την αντίσταση των περιφερικών ιστών στη δράση της, συνεισφέρει σημαντικά στη διαταραχή του οστικού μεταβολισμού που παρατηρείται στο σακχαρώδη διαβήτη (Botolin και συν 2007). Ο αυξητικός παράγοντας IGF-1 σε επίπεδο ιστού προάγει τη διαφοροποίηση και αυξάνει τη λειτουργία των οστεοβλαστών με επακόλουθο την αύξηση της οστικής κατασκευής (DiGirolamo και συν 2007). Η ινσουλίνη αναστέλλει επίσης την έκφραση του γονιδίου της δεσμευτικής πρωτεΐνης του παράγοντα IGF-1 (IGFBP-1) στο ήπαρ και σε καλλιέργειες ανθρώπινων οστεοβλαστών. Συνεπώς σε συνθήκες ανεπάρκειας ινσουλίνης και ινσουλινοαντοχής δύναται να αυξάνεται στο οστικό μικροπεριβάλλον η έκφραση τη IGFBP-1 προκαλώντας περαιτέρω μείωση της διαθεσιμότητας του IGF-1 (Conover και συν 1996).

Υπάρχουν αρκετά δεδομένα που καταδεικνύουν τη σημασία της οδού του IGF-1 στον σκελετό.

Σε διαβητικούς επίμυς (μετά από χορήγηση στρεπτοζοτοκίνης), υπάρχει μειωμένη έκφραση του IGF-1, των υποδοχέων του IGF-1 και της ινσουλίνης και μειωμένη οστική ανάπτυξη. Είναι ενδιαφέρον επίσης το γεγονός ότι ο ινσουλινοευσταθιστής γλυκοζομεταφορέας-4 (GLUT4) που είναι σημαντικός για την πρώιμη οστική ανάπτυξη τόσο στα διαβητικά ποντίκια όσο και στους μάρτυρες, ρυθμίζεται από τον υποδοχέα του IGF-1 αλλά όχι από τον υποδοχέα της ινσουλίνης (Maor και συν 1999).

Η δράση του IGF-1 φαίνεται να είναι διαφορετική στο σπογγώδες από ότι στο φλοιώδες οστού, γεγονός που αποδίδεται σε διαφορές στην τοπική έκφραση ή τα κυκλοφορούντα επίπεδα.

Σε διαγονιδιακά ποντίκια με υπερέκφραση του IGF-1 τα μηριαία οστά εμφανίζονται μακρύτερα και πλατύτερα, με σαφώς μεγαλύτερη επιφάνεια διατομής, γεγονός που προδικάζει θεωρητικά μεγαλύτερη οστική αντοχή. Το δοκιδώδες οστού, ωστόσο, δεν δείχνει να επηρεάζεται. Όταν τα επίπεδα του IGF-1 στην κυκλοφορία είναι χαμηλότερα, το δοκιδώδες οστού επηρεάζεται περισσότερο από το φλοιώδες.

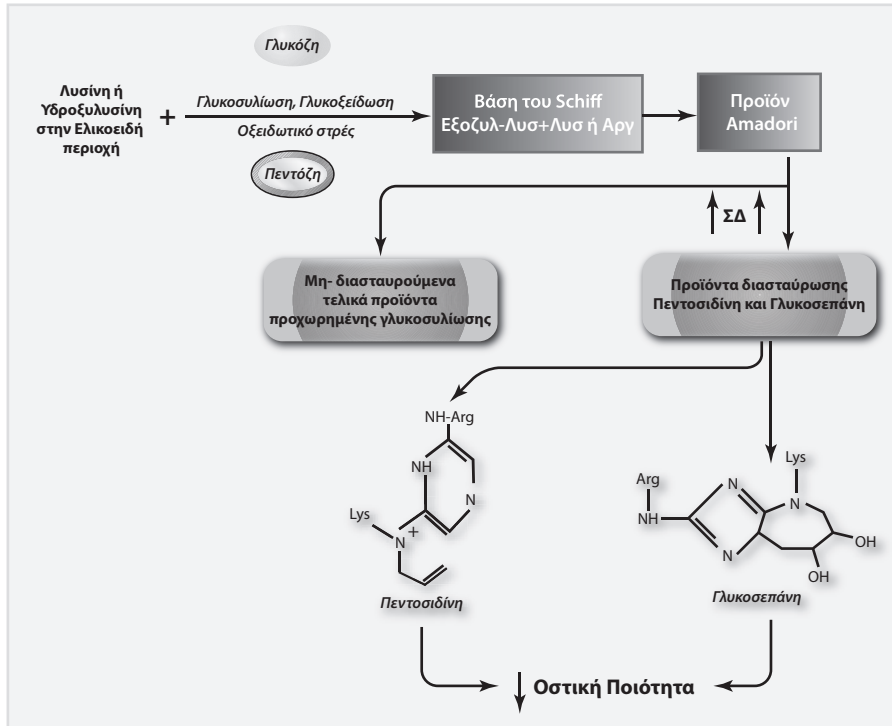
Στο ΣΔΤ2 ο υποδοχέας ινσουλίνης (IR) δεν φαίνεται να είναι αναγκαίος για την διατήρηση της οστικής πυκνότητας, όπως έχει δείχθει σε μοντέλα knockout για τον IR τα οποία παρουσιάζουν φυσιολογική οστική μάζα. Ωστόσο, η οστική ποιότητα είναι προβληματική (Irwig και συν 2006).

Η ενδοκυττάρια σηματοδοτική οδός που ενεργοποιείται από τον υποδοχέα του IGF-1 (IGFR-1) φαίνεται να είναι κριτικός παράγοντας της δράσης της ινσουλίνης στα οστά.

β) Ο ρόλος των προϊόντων προχωρημένης γλυκοσυλίσωσης

Τα προϊόντα προχωρημένης γλυκοσυλίσωσης (AGEs, advanced glycosylation end products) παράγονται in vivo μέσω της χημικής αντίδρασης Maillard. Η αντίδραση αυτή περιλαμβάνει την προσθήκη μορίων γλυκόζης σε πρωτεΐνες με αποτέλεσμα το σχηματισμό των ασταθών δομικά προϊόντων Amadori (ενδιάμεσα προϊόντα) τα οποία στη συνέχεια σταθεροποιούνται οδηγώντας σε μη αναστρέψιμη μη-ενζυματική μετα-μεταγραφική τροποποίηση των πρωτεϊνών και επακόλουθη μεταβολή της φυσιολογικής λειτουργίας των.

Η υπεργλυκαιμία οδηγεί στην παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων AGEs τα οποία συσσωρεύονται στους διάφορους ιστούς και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των επιπλοκών του σακχαρώδη διαβήτη (Σχήμα 7.1). Τα υψηλότερα επίπεδα των προϊόντων αυτών ανευρίσκονται στους



Σχήμα 7.1. Σχηματισμός μη-ενζυματικών διασταυρούμενων δεσμών στο κολλαγόνο τύπου I στον οστίτη ιστό. Η γλυκοσεπάνη (glycosepane) και η πεντοσιδίνη (pentosidine) είναι προϊόντα προχωρημένης γλυκοσυλίωσης που παρεμβάλλονται στη δημιουργία των διασταυρούμενων δεσμών μεταξύ των μορίων του κολλαγόνου και οδηγούν σε αυξημένη ευθραστότητα των οστών. (de Paula et al 2010, *Diabetes Metab Res Rev* 26:622-630).

ιστούς με χαμηλή ανακατασκευική όπως ο χονδρίτης ιστός, το δέρμα, οι τένοντες και ο οστίτης ιστός (Franke και συν 2007). Η συσσώρευση των AGEs στα οστά ελαττώνουν την οστεοπαραγωγική λειτουργία των οστεοβλαστών μέσω ενεργοποίησης του υποδοχέα τους RAGE. Παράλληλα αυξάνουν την οστεκλαστογένεση, αυξάνοντας την έκφραση του RANKL από τους οστεοβλάστες και διαταράσσουν την οστική επιμετάλλωση, ελαττώνοντας την έκφραση της αλκαλικής φωσφατάσης και της οστεοκαλίνης (Franke και συν 2007). Επιπλέον τα AGEs σχετίζονται με τη δημιουργία επιπρόσθετων δεσμών στα ινίδια κολλαγόνου με αποτέλεσμα τη διαταραχή της δομής του (Yamamoto και συν 2008). Η διαδικασία αυτή επηρεάζει αρνητικά τις βιο-

μηχανικές ιδιότητες του σκελετού αυξάνοντας την ακαμψία αλλά και την ευθραστότητα των οστών (Vashishth και συν 2005).

Πρόσφατα δεδομένα δείχνουν σημαντική θετική συσχέτιση μεταξύ των αυξημένων επιπέδων της πεντοσιδίνης, που αποτελεί το πιο σημαντικό προϊόν προχωρημένης γλυκοσυλίσωσης και τον αυξημένο καταγματικό κίνδυνο στους διαβητικούς ασθενείς (Schwartz και συν 2009; Yamamoto και συν 2008).

γ) Ο ρόλος των κυτοκινών

Σε αρκετές μελέτες των τελευταίων ετών αναφέρεται ο ρόλος της χρόνιας χαμηλού βαθμού ιστικής φλεγμονώδους επεξεργασίας που σχετίζεται με την παχυσαρκία στην ανάπτυξη περιφερικής αντίστασης της ινσουλίνης και στην επακόλουθη ανάπτυξη του ΣΔΤ2 σε γενετικώς προδιαθετευμένα άτομα.

Η αύξηση του λιπώδους ιστού σχετίζεται με την αύξηση της έκφρασης προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, όπως οι ιντερλευκίνες IL-1 και IL-6 και πρωτεϊνών της οξείας φάσεως (CRP) που με τη σειρά τους ενεργοποιούν και επιδεινώνουν την υποκείμενη ιστική φλεγμονή (Wise και συν 2004). Παράλληλα, είναι γνωστό ότι η φλεγμονή αυξάνει τον κίνδυνο οστικής απώλειας οδηγώντας σε οστεοπόρωση, αύξηση του καταγματικού κινδύνου και αύξηση της επακόλουθης νοσηρότητας (Clowes και συν 2005; Ginaldi και συν 2005; Tilg και συν 2008).

Οι φλεγμονώδεις παράγοντες IL-1, IL-6, IL-11 και ο παράγων νέκρωσης όγκου (Tumor-necrosis factor) παράγονται με αυξημένο ρυθμό στον λιπώδη ιστό των παχύσαρκων-διαβητικών ατόμων και αυτό έχει ως συνέπεια την επιδείνωση του ήδη διαταραγμένου από τη νόσο οστικού μεταβολισμού (Korcowska και συν 2005).

Συμπερασματικά, η χρόνια υπεργλυκαιμία σε συνδυασμό με την αντίσταση των ιστών στην ινσουλίνη είναι οι κύριοι μηχανισμοί πρόκλησης οστικής διαταραχής στο σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2. Λόγω διαταραχής της οστικής ποιότητας, κατά κύριο λόγο, η μέτρηση της οστικής πυκνότητας δεν αποτελεί αξιόπιστο δείκτη του καταγματικού κινδύνου στους διαβητικούς ασθενείς. Ωστόσο, ο καταγματικός κίνδυνος είναι αυξημένος στους διαβητικούς ασθενείς και οι νευρολογικές και οφθαλμολογικές επιπλοκές του σακχαρώδη διαβήτη μπορούν να επιδεινώσουν περαιτέρω τον κίνδυνο κατάγματος αυξάνοντας τον κίνδυνο πτώσεων. Παρά την πρόοδο που έχει επιτευχθεί τα τελευταία χρόνια αναφορικά με τους μοριακούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στην οστική νόσο του σακχαρώδη διαβήτη, η ρύθμιση των μηχανισμών αυτών και η δυνατότητα παρέμβασης παραμένουν εν πολλοίς άγνωστα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

β-ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

8.1. Εισαγωγή

Η ομόζυγος β-μεσογειακή αναιμία είναι μία γενετική αιμοσφαιρινοπάθεια, κληρονομούμενη με τον αυτοσωματικό υπολλειπόμενο χαρακτήρα, που οφείλεται σε διαταραχή της ικανότητας των ερυθροβλαστών να συνθέτουν τη β-άλυσο της αιμοσφαιρίνης των ενηλίκων. Οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου HBB στο χρωμόσωμα 11 που κωδικοποιεί τη β-άλυσο του μορίου της αιμοσφαιρίνης, με αποτέλεσμα την ανεπάρκεια του φυσιολογικού μορίου της αιμοσφαιρίνης, την αντιρροπιστική αύξηση της λειτουργίας του μυελού των οστών και την αύξηση των επιπέδων της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης HbF. Επακόλουθο της μειωμένης κυκλοφορούσας φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης στον ορό των ασθενών αυτών είναι η αναιμία και η ιστική υποξία (WeaCohen και συν 2004; Weatherall και συν 2001).

Οι Colley και Lee (Cooley και συν 1925) περιέγραψαν για πρώτη φορά μία ομάδα ασθενών με σπληνομεγαλία, αναιμία και αλλαγές κυρίως του προσωπικού σκελετού, με τη χαρακτηριστική μογγλοειδή εμφάνιση που οφείλεται στην αύξηση του μεγέθους των οστών του κρανίου και του προσώπου. Η αύξηση αυτή οφείλεται στην αναιμία και στην αντιρροπιστική αύξηση της διαταραγμένης ερυθροποίησης που οδηγεί σε δραματική επέκταση του μυελού των οστών και σε μέγεθος 30 ως και 40 φορές μεγαλύτερο από το φυσιολογικό. Η αύξηση αυτή του μυελού των οστών, που οδηγεί σε μηχανική διαταραχή της οστικής παραγωγής στο δοκιδώδες οστόν και σε λέπτυση του φλοιώδους οστού, αρχικά εθεωρούντο ο κύριος παράγοντας που οδηγεί στην οστική παραμόρφωση και στην ελάττωση της οστικής πυκνότητας που παρατηρείται στη μεσογειακή αναιμία.

Από την πρώτη εκείνη αναφορά της μογγολοειδούς εμφάνισης των παιδιών με μεσογειακή αναιμία από τους Cooley και Lee μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί και άλλες οστικές ανωμαλίες, όπως παραμορφώσεις της σπονδυλικής στήλης, σκολίωση, συμπίεση νευρικών ριζών, αυτόματα κατάγματα, οστεοπενία και οστεοπόρωση. Καθώς οι συχνές μεταγγίσεις και η τακτική αποσιδήρωση έχουν αυξήσει σημαντικά το προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών αυτών, η οστεοπενία και η οστεοπόρωση εμφανίζονται σε μεγάλο ποσοστό και αποτελούν σημαντικούς παράγοντες νοσηρότητας για τους νεαρούς ενήλικες με ενδιάμεση ή ομόζυγο β-μεσογειακή αναιμία (Pootrakul και συν 1981; Michelson & Cohen 1988; Johanson και συν 1990; Orvieto και συν 1992; Jensen και συν 1998; Vichinsky και συν 1998).

Έχει δειχθεί ότι παρά τη συμβατική θεραπεία της β-ομόζυγου μεσογειακής αναιμίας που περιλαμβάνει συστηματικές μεταγγίσεις για τη διόρθωση της αναιμίας, τακτική αποσιδήρωση για αποφυγή της δευτεροπαθούς αιμοχρωμάτωσης και ορμονική θεραπεία για τη διόρθωση της υπολειτουργίας των ενδοκρινών αδένων, οι ασθενείς αυτοί συνεχίζουν να εμφανίζουν διαταραχές του οστικού μεταβολισμού με επακόλουθη ελάττωση της οστικής πυκνότητας και εμφάνιση οστεοπόρωσης σε ποσοστό 40-50%. (Lasco και συν 2001; Carmina και συν 2004; Karimi και συν 2007).

Η παθογένεια της οστεοπόρωσης στην ομόζυγο β-μεσογειακή αναιμία είναι πολύπλοκη, διαφέρει σημαντικά από την παθογένεια των οστικών παραμορφώσεων που παρατηρούνται σε ασθενείς που δεν μεταγγίζονται (ενδιάμεση μεσογειακή αναιμία) και οφείλεται κυρίως στην ελλειπή ερυθροποίηση και προοδευτική αύξηση του μεγέθους του μυελού των οστών. Διάφοροι επίκτητοι αλλά και γενετικοί παράγοντες εμπλέκονται στην οστική απώλεια που παρατηρείται στην β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία.

8.2. Παθογενετικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στην ελαττωμένη οστική πυκνότητα σε ασθενείς με μεσογειακή αναιμία

Η καθυστερημένη ήβη που εμφανίζουν οι ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία σε συνδυασμό με την εμφάνιση σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, τη δυσλειτουργία των παραθυρεοειδών και του θυρεοειδούς αδένων, την ανεπαρκή αιμοποίηση και την επακόλουθη άυξηση του χώρου που καταλαμβάνει ο μυελός των οστών στο δοκιδώδες οστόν, την άμεση τοξικότητα της περίσσειας του σιδήρου στα οστικά κύτταρα και την ανεπάρκεια της αυξητικής ορμόνης (GH) και του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα-1,

είναι όλοι παράγοντες που συμμετέχουν στην οστική απώλεια που παρατηρείται στη β-μεσογειακή αναιμία (De Vernejoul και συν 1982; Diamond και συν 1989; Jensen και συν 1997; Garofalo και συν 1998; Wonke και συν 1998). Η θεραπεία αποσιδήρωσης έχει επίσης ενοχοποιηθεί για αναστολή της ανάπτυξης και διαταραχή του οστικού μεταβολισμού, ενώ οι υψηλές δόσεις δεσφεριοξαμίνης (desferioxamine) έχει συσχετισθεί και με διαταραχές του χόνδρου (Piga και συν 1988; Brill και συν 1991; Hatori και συν 1995; Rodda και συν 1995; Garofalo και συν 1998; Olivieri και συν 1999; Di Stefano και συν 2004). Τέλος φαίνεται ό,τι διάφοροι γενετικοί παράγοντες που έχουν βρεθεί να σχετίζονται με την εμφάνιση μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης σχετίζονται επίσης και με αυξημένη γενετική προδιάθεση για την εμφάνιση οστεοπόρωσης στους ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία.

8.2.1. Επίκτητοι μηχανισμοί

α) Αύξηση μεγέθους του μυελού των οστών

Η αύξηση του μεγέθους του μυελού των οστών λόγω της ελλειπούς ερυθροποίησης αποτελεί τυπικό εύρημα στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία και οδηγεί σε μηχανική διαταραχή της οστικής παραγωγής, λέπτυνση του φλοιώδους οστού, παραμόρφωση και ευπάθεια των οστών (De Sanctis και συν 1998; Mahachoklertwattana και συν 2003). Σε ιστομορφομετρικές επίσης μελέτες έχει δειχθεί ελάττωση της οστικής παραγωγής και διαταραχή της επιμετάλλωσης (Mahachoklertwattana και συν 2003).

β) Ανεπάρκεια ενδοκρινών αδένων

Ο υποθυρεοειδισμός, ο υποπαραθυρεοειδισμός, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και κυρίως ο υπογοναδισμός (καθυστέρωση της ήβης και δευτεροπαθής υπογοναδισμός) αποτελούν τις κύριες ενδοκρινολογικές διαταραχές που συμμετέχουν στην οστική απώλεια της μεσογειακής αναιμίας (Anapliotou και συν 1995; Jensen και συν 1998; Wonke και συν 1998; Carmina και συν 2004). Η δευτεροπαθής αιμοσιδήρωση των γοναδοτρόφων κυττάρων της υπόφυσης και των γεννητικών κυττάρων των ωοθηκών και των όρχεων αποτελούν τον κύριο παθογενετικό μηχανισμό του υπογοναδισμού στα άτομα με μεσογειακή αναιμία (Berkovitch και συν 2000; Wonke και συν 2001). Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχει διαταραχή και του άξονα GH-IGF-1 στους ασθενείς αυτούς. Τα επίπεδα του IGF-1 και της δεσμευτικής του πρωτεΐνης IGFBP-3 στην κυκλοφορία είναι πολύ χαμηλότερα απ' ότι

στα φυσιολογικά άτομα και οδηγούν σε αύξηση της οστικής απορρόφησης, ελάττωσης της οστικής παραγωγής και κατά συνέπεια οστική απώλεια (Soliman και συν 1998; Lasco και συν 2002; Morabito και συν 2004; Perifanis και συν 2004).

γ) Δευτεροπαθής αιμοχρωμάτωση

Η περίσσεια σιδήρου στα άτομα με μεσογειακή αναιμία, εκτός από τους ενδοκρινείς αδένες και άλλα συμπαγή όργανα, όπως ο σπλήν και η καρδιά, εναποτίθεται και στον οστικό ιστό προκαλώντας έτσι και με άμεσο τρόπο διαταραχή στον οστικό μεταβολισμό.

Έχειδειχθεί ότι η υπερφόρτωση σιδήρου στα οστικά κύτταρα έχει αρνητική επίπτωση στην ωρίμανση του οστεοειδούς και αναστέλλει τοπικά την επιμετάλλωση οδηγώντας σε τοπική οστεομαλακία. Ο υποκείμενος μηχανισμός περιλαμβάνει ενσωμάτωση των ιόντων σιδήρου στους κρυστάλλους του υδροξυαπατίτη με συνέπεια την αναστολή αύξησης των κρυστάλλων και την ελάττωση της δύναμης τάσης της κάθε οστικής μεταβολικής μονάδας (Bone Metabolic Unit) (Mahachoklertwattana και συν 2003).

δ) Τοξικότητα της θεραπείας αποσιδήρωσης

Η θεραπεία αποσιδήρωσης, παρά τη σημαντική συμβολή που έχει στη βελτίωση του προσδόκιμου επιβίωσης των ασθενών αυτών δεν στερείται ανεπιθύμητων ενεργειών.

Ο παράγοντας που χρησιμοποιείται ευρέως για τη δέσμευση του και αποβολή της περίσσειας σιδήρου από τα διάφορα όργανα, η δεσφεριοξαμίνη, έχει άμεση τοξική επίδραση στα οστικά κύτταρα. Αναστέλλει τη σύνθεση του DNA, τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών και των ινοβλαστών, τη διαφοροποίηση των πρόδρομων οστεοβλαστικών κυττάρων και την παραγωγή κολλαγόνου, ενώ προάγει την απόπτωση των οστεοβλαστών, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται σε μεγαλύτερες από τις προτεινόμενες δόσεις (De Sanctis και συν 1996; Chan και συν 2002).

ε) Ανεπάρκεια βιταμίνης D

Η ανεπάρκεια της βιταμίνης C σε ασθενείς με υπερφόρτωση σιδήρου και χαμηλά επίπεδα ασκορβικού οξέως αυξάνει τον κίνδυνο οστεοπορωτικού κατάγματος (Michelson & Cohen 1988). Η ανεπάρκεια της βιταμίνης D μπορεί επίσης να συμμετέχει στην παθογένεια της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με μεσογειακή αναιμία λόγω του ρυθμιστικού της ρόλου στη λειτουργία των οστεοβλαστών και οστεοκλαστών, αν και στις περισσότερες μελέ-

τες δεν διαπιστώθηκαν πολύ χαμηλά επίπεδα 25-υδροξυ-βιταμίνης D στους ασθενείς αυτούς. Υπάρχουν επίσης μελέτες που δείχνουν ότι οι ασθενείς με μεσογειακή αναιμία έχουν και ανεπάρκεια ψευδαργύρου (De Virgiliis και συν 1988; Arcasoy και συν 2001) που συμμετέχει στην ελάττωση της οστικής πυκνότητας (Bekheirnia και συν 2004). Η χορήγηση συμπληρωμάτων για την αναπλήρωση του ελλείματος των βιταμινών και των ιχνοστοιχείων στους ασθενείς αυτούς συνιστάται ως μέρος της θεραπείας τους.

στ) Ελαττωμένη φυσική δραστηριότητα

Οι ασθενείς με μεσογειακή αναιμία εμφανίζουν συνήθως και ελαττωμένη φυσική δραστηριότητα, κυρίως λόγω των επιπλοκών της νόσου, με αποτέλεσμα να προστίθεται ένας ακόμα αρνητικός, για την εύρυθμη λειτουργία του οστικού μεταβολισμού, παράγοντας που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη.

Παρότι ο ρόλος των προαναφερθέντων επίκτητων παραγόντων που προέρχονται είτε από την ίδια τη νόσο είτε από τις επιπλοκές της, είναι καθοριστικός για την ελαττωμένη οστική πυκνότητα που παρατηρείται στους ασθενείς αυτούς, έχει δείχθει ότι ακόμα και μεταξύ των περιπτώσεων που υποβάλλονται σε συστηματικό πρόγραμμα μεταγίσεων, τακτική θεραπεία αποσιδήρωσης και κατάλληλη ορμονική θεραπεία για τις ανεπάρκειες των ενδοκρινών αδένων, τα ποσοστά οστεοπόρωσης και οστεοπενίας συνεχίζουν να είναι σημαντικά υψηλότερα απ' ό,τι στα υγιή άτομα ίδιας ηλικίας και φύλου. Προκύπτει λοιπόν ότι και γενετικοί παράγοντες συμμετέχουν στη διαταραχή του οστικού μεταβολισμού στη μεσογειακή αναιμία.

8.2.2. Γενετικοί παράγοντες που προδιαθέτουν σε ελαττωμένη οστική πυκνότητα στη β-μεσογειακή αναιμία

Οι γενετικοί παράγοντες έχει δείχθει ότι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ελάττωση της οστικής μάζας και την αύξηση των οστεοπορωτικών καταγμάτων στη μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση. Παρόμοιες γενετικές μελέτες, αν και σε μικρότερη έκταση, έχουν γίνει και στα άτομα με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία. Οι πολυμορφισμοί της περιοχής Sp1 του γονιδίου του κολλαγόνου τύπου 1 έχουν μελετηθεί σε άτομα με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία από τους Wonke και συν (Wonke και συν 1998), οι οποίοι έδειξαν ότι περίπου το 30% των ασθενών με β-μεσογειακή αναιμία είναι ετεροζυγώτες και το 4% ομοζυγώτες για τον εν λόγω πολυμορφισμό. Η αναλογία γυναικών προς ανδρών είναι 2:1. Αυτοί οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι άρρενες ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία που φέρουν

το συγκεκριμένο Sp1 πολυμορφισμό αναπτύσσουν σοβαρή οστεοπόρωση της σπονδυλικής στήλης και του ισχίου πιο συχνά απ' ότι οι ασθενείς που δεν φέρουν τον πολυμορφισμό αυτό. Και άλλοι πολυμορφισμοί στο γονίδιο του κολλαγόνου τύπου 1 έχουν συσχετισθεί με ελάττωση της οστικής πυκνότητας και αυξημένη προδιάθεση για οστεοπορωτικά κατάγματα (Pollack και συν 2000).

Η μελέτη των πολυμορφισμών στο γονίδιο του κολλαγόνου τύπου 1 στους ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία μπορεί να βοηθήσει στην αναγνώριση των ασθενών που είναι σε αυξημένο κίνδυνο για οστεοπόρωση και παθολογικά κατάγματα (Perrotta και συν 2000).

Μια άλλη ομάδα ερευνητών μελέτησαν την παρουσία πολυμορφισμών του υποδοχέα της βιταμίνης D (vitamin D receptor, VDR) στους ασθενείς με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία και οστεοπόρωση (Pollack και συν 2000). Οι πολυμορφισμοί στο εξόνιο 2 (FokI) και στο ιντρόνιο 8 (BsmI) του υποδοχέα της βιταμίνης D που έχουν συσχετισθεί με κοντό ανάστημα ελαττωμένη οστική πυκνότητα στην περιοχή της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης και στο ισχίο στον υγιή πληθυσμό, φαίνεται ότι αποτελούν παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη οστεοπόρωσης και στα άτομα με μεσογειακή αναιμία (Pollack και συν 2000; Ferrara και συν 2002).

Ωστόσο, το γεγονός ότι υπάρχει σοβαρή οστική απώλεια και σε ασθενείς που δεν φέρουν τους παραπάνω πολυμορφισμούς σε συνδυασμό με το ότι ασθενείς που φέρουν τους πολυμορφισμούς δεν εμφανίζουν απαραίτητα οστεοπόρωση, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η αναγνώριση των πολυμορφισμών αυτών αποτελεί μία απλή ένδειξη για τη συμμετοχή ενός ακόμα παράγοντα κινδύνου στην οστική απώλεια που προκαλείται από τη μεσογειακή αναιμία.

Η αλληλουχία 713-8delC στο γονίδιο TGF-β1 έχει επίσης συσχετισθεί με ελαττωμένη οστική μάζα σε φυσιολογικές και οστεοπορωτικές γυναίκες (Langdahl και συν 1997; Bertoldo και συν 2000). Οι Perrotta και συν (Perrotta και συν 2000) μελέτησαν τη συσχέτιση μεταξύ της οστικής πυκνότητας, πολυμορφισμών του γονιδίου του κολλαγόνου τύπου 1 (COL1A1) και της αλληλουχίας 713-8delC στο γονίδιο TGF-β1 σε 135 ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία. Σημαντικά μεγάλο ποσοστό έως και 90 % των ασθενών αυτών εμφάνισαν οστεοπόρωση και οστεοπενία. Η οστική πυκνότητα ήταν χαμηλότερη στους άνδρες απ' ότι στις γυναίκες και οι άνδρες ασθενείς εμφάνιζαν μεγαλύτερη οστεοπόρωση στη σπονδυλική στήλη απ' ότι οι γυναίκες. Η μεμονωμένη ύπαρξη πολυμορφισμών στο γονίδιο TGF-β1 δεν εμφάνισε ση-

μαντική συσχέτιση με την οστική πυκνότητα των ασθενών, ενώ οι ασθενείς που εμφάνιζαν ομοζυγωτία ή ετεροζυγωτία για τους πολυμορφισμούς του γονιδίου του κολλαγόνου τύπου 1 είχαν μικρότερη οστική πυκνότητα από αυτούς που δεν έφεραν τους πολυμορφισμούς. Οι πολυμορφισμοί του TGF-β1 επιδρούν αρνητικά στην οστική μάζα λόγω αύξησης του ρυθμού οστικής ανακατασκευής (Langdahl και συν 1997; Bertoldo και συν 2000). Σε αντίθεση, οι πολυμορφισμοί στο γονίδιο του κολλαγόνου τύπου 1 (COL1A1) επιρρεάζουν αρνητικά τη δομή των ινών του κολλαγόνου στα οστά και έτσι αποτελούν ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη οστεοπόρωσης (Perrota και συν 2000; Uitterlinden και συν 2001).

Παρόλ' αυτά χρειάζονται περισσότερες μελέτες και σε μεγαλύτερο αριθμό ασθενών για τη διεξαγωγή οριστικών συμπερασμάτων σχετικά με τη συσχέτιση συγκεκριμένων πολυμορφισμών και οστικής μάζας στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία, τα έως τώρα δεδομένα δείχνουν ότι οι πολυμορφισμοί στο γονίδιο του κολλαγόνου τύπου 1 είναι πολύ σημαντικοί για την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης οστεοπόρωσης στον πληθυσμό αυτό.

8.3. Μοριακοί μηχανισμοί

Οι περισσότεροι από τους παράγοντες που περιγράφηκαν παραπάνω δρουν κυρίως μέσω αναστολής της οστεβλαστικής δραστηριότητας. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, σε ιστομορφομετρικές μελέτες διαπιστώθηκε αύξηση του πάχους και της ωρίμανσης του οστεοειδούς, αύξηση του χρόνου υστερήσεως και διαταραχή της επιμετάλλωσης (mineralization lag time), σε παιδιά και ενήλικες με β-ομόζυγο-μεσογειακή αναιμία (Mahachoklertwattana και συν 2003). Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των ιστομορφομετρικών μελετών, οι Morabito και συν (Morabito και συν 2004) έδειξαν ότι οι ασθενείς με β-θαλασσαιμία έχουν χαμηλά επίπεδα οστεοκαλσίνης στον ορό, εύρημα που, ωστόσο, δεν επιβεβαιώθηκε από άλλες μελέτες (Egen και συν 2005). Πιο πρόσφατα δεδομένα, αναφέρουν αυξημένα επίπεδα του παράγοντα Dickkopf-1 (Dkk-1), ενός αναστολέα της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης, στον ορό των ασθενών αυτών, ο οποίος συσχετίζεται σημαντικά με την ελάττωση της οστικής πυκνότητας στην περιοχή της σφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης και της κερκίδας (Voskaridou και συν 2009). Κατ' αναλογία, τα αυξημένα επίπεδα του Dkk-1 εμφάνισαν θετική συσχέτιση με την αύξηση της οστικής απορρόφησης και την ελάττωση των δεικτών οστικής παραγωγής (Voskaridou και συν 2009). Ο παράγοντας Dickkopf -1 αποτελεί έναν από τους κύριους αρνητικούς ρυθμιστές του μονοπατιού μετα-

γωγής σήματος Wnt στα οστεοβλαστικά κύτταρα. Το σηματοδοτικό αυτό μονοπάτι ρυθμίζει την οστεοβλαστική διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών, ενώ παράλληλα αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση ρυθμίζοντας τα επίπεδα των παραγόντων RANKL-OPG στο οστικό μικροπεριβάλλον.

Αν και αρχικά η δυσλειτουργία των οστεοβλαστών θεωρούνταν ο βασικός υποκείμενος παθογενετικός μηχανισμός για την οστική απώλεια που παρατηρείται στη θαλασσαιμία, νεότερα δεδομένα αναφέρονται και στον πιθανό ρόλο της αυξημένης δραστηριότητας των οστεοκλαστών. Σε ασθενείς με β-ομόζυγο θαλασσαιμία και οστεοπόρωση διαπιστώθηκε αύξηση των δεικτών οστικής απορρόφησης, όπως το N-αμινοτελικό τελοπεπτιδίο του κολλαγόνου τύπου 1 (NTX), που αποτελεί ειδικό δείκτη της οστικής απορρόφησης και του ενζύμου της όξινης φωσφατάσης (TRACP-5b, tartrate resistance acid phosphatase isoform 5b), που παράγεται αποκλειστικά από ενεργοποιημένους οστεοκλάστες (Dresner και συν 2000; Voskaridou και συν 2001; Voskaridou και συν 2003; Angelopoulos και συν 2007). Επίσης και οι δύο δείκτες οστικής απορρόφησης φαίνεται να σχετίζονται σημαντικά με την ελαττωμένη οστική πυκνότητα στην περιοχή της σπονδυλικής στήλης στους ασθενείς αυτούς (Dresner και συν 2000; Voskaridou και συν 2003; Angelopoulos και συν 2007a; Angelopoulos και συν 2007b). Άλλοι δείκτες οστικής απορρόφησης, όπως η πυριδινολίνη και η δεοξυπυριδινολίνη, που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία κατά τη διάρκεια της οστικής ανακατασκευής από την αποδόμηση των διασταυρούμενων δεσμών των ινών του κολλαγόνου του οστίτη ιστού, ανευρέθησαν επίσης αυξημένοι στον ορό των ασθενών με μεσογειακή αναιμία σε σχέση με υγιή άτομα ίδιας ηλικίας και φύλου (Morabito και συν 2004; Eren και συν 2005; Angelopoulos και συν 2007a; Lasco και συν 2002).

Εκτός από τα προϊόντα αποδόμησης του κολλαγόνου, αύξηση διαπιστώθηκε και στα επίπεδα των κυκλοφορούντων κυτοκινών που ενεργοποιούν την οστεοκλαστογένεση στο οστικό μικροπεριβάλλον, όπως οι ιντερλευκίνες 1α και 6 (IL-1α, IL-6) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNF-α, tumor necrosis factor-α) (Morabito και συν 2007), υποστηρίζοντας περαιτέρω τη συμμετοχή και της αυξημένης οστεοκλαστικής δραστηριότητας στην παθοφυσιολογία της οστικής απώλειας στη β-μεσογειακή αναιμία.

Σε μοριακό επίπεδο, είναι γνωστό ότι το σύστημα RANKL-OPG αποτελεί τον κύριο ρυθμιστή του πολλαπλασιασμού των οστεοκλαστών και της οστεοκλαστικής ενεργοποίησης, μέσω της αλληλεπίδρασης οστεοβλαστών

και οστεοκλαστών (βλέπε κεφ. 2). Πειραματικά μοντέλα με ανεπάρκεια του παράγοντα RANKL που εκφράζεται στην κυτταρική μεμβράνη των οστεοβλαστών και των πρόδρομων οστεοβλαστικών μορφών των κυττάρων του μυελού των οστών, ή του ειδικού υποδοχέα του RANK που εκφράζεται στη μεμβράνη των προ-οστεοκλαστών, αναπτύσσουν οστεοπέτρωση λόγω της σημαντικής μείωσης της οστεοκλαστικής δραστηριότητας. Αντιθέτως, ποντίκια με ανεπάρκεια του παράγοντα OPG, εμφανίζουν οστεοπόρωση με πολλαπλά κατάγματα, ελάττωση του όγκου του σπογγώδους οστού και αύξηση του αριθμού των ενεργοποιημένων οστεοκλαστών στις οστικές επιφάνειες, λόγω της απώλειας του OPG και κατά συνέπεια της ανεμπόδιστης δράσης του RANKL στις πρόδρομες μορφές των οστεοκλαστών (Kong και συν 1999; Kim και συν 2000; Bucay και συν 1998). Η ισορροπία ανάμεσα στους παράγοντες RANKL-OPG διαταράσσεται στη β-μεσογειακή αναιμία, υπέρ του παράγοντα RANKL. Έχει δειχθεί ότι τα επίπεδα της διαλυτής μορφής του RANKL είναι αυξημένα στον ορό των ασθενών με μεσογειακή αναιμία ενώ αντίστοιχα τα επίπεδα της οστεοπροτεγερίνης ανευρέθησαν ελαττωμένα ή φυσιολογικά (Voskaridou και συν 2003; Voskaridou και συν 2005; Morabito και συν 2004; Morabito και συν 2007; Angelopoulos και συν 2007a; Angelopoulos και συν 2007b). Η αύξηση αυτή των επιπέδων του RANKL σε συνδυασμό με τα ελαττωμένα ή αμετάβλητα επίπεδα της οστεοπροτεγερίνης, μπορεί εν μέρει να εξηγήσει τη διαταραχή της σύζευξης μεταξύ οστικής απορρόφησης και οστικής παραγωγής που παρατηρείται στη μεσογειακή αναιμία. Ωστόσο, σε καμία μελέτη δεν παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του RANKL και της OPG με την οστική πυκνότητα στην περιοχή της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης ή του αυχένα του μηριαίου οστού. Αρνητική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των αυξημένων επιπέδων του RANKL και των επιπέδων της τεστοστερόνης ή της 17-β-οιστραδιόλης σε άντρες και γυναίκες με β-μεσογειακή αναιμία, αντίστοιχα, προτείνοντας τη συμμετοχή του συστήματος RANKL/OPG στη δράση των ορμονών του φύλου στον οστικό μεταβολισμό (Morabito και συν 2004). Επιπλέον, σημαντική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των παραγόντων RANKL και OPG και της ερυθροποιητίνης (Morabito και συν 2004), επισημαίνοντας το σημαντικό ρόλο της αναιμίας στην υπέρμετρη ενεργοποίηση της οστικής απορρόφησης μέσω της συνεχούς διέγερσης της σύνθεσης της ερυθροποιητίνης και την επακόλουθη υπερπλασία του μυελού των οστών.

8.4. Αντιμετώπιση

Η πολυπλοκότητα των παθοφυσιολογικών μηχανισμών που εμπλέκονται στην οστική απώλεια που παρατηρείται στη μεσογειακή αναιμία, αντανακλά και τις δυσκολίες που συναντώνται στην κλινική πρακτική της αντιμετώπισής της. Η έγκαιρη διάγνωση της οστεοπόρωσης στους ασθενείς με β-θαλασσαιμία σε συνδυασμό με την κατάλληλη θεραπευτική αγωγή είναι κριτικής σημασίας για την αποφυγή επιπλοκών, όπως κατάγματα ή σκελετικές παραμορφώσεις που επιδεινώνουν σημαντικά την ποιότητα ζωής και την επιβίωση των ασθενών αυτών.

α) Γενικά μέτρα

Στα γενικά μέτρα που προτείνονται στην ομάδα αυτή των ασθενών είναι η επαρκής πρόσληψη ασβεστίου (500 mg-1gr στοιχειακού ασβεστίου/ημέρα), βιταμίνης D (1000-1500IU/ημέρα) και ψευδαργύρου μέσω της διατροφής ή με τη χορήγηση συμπληρωμάτων. Η ενθάρρυνση σωματικής άσκησης καθώς και η αποφυγή του καπνίσματος αποτελούν επίσης σημαντικές συστάσεις. Καταλυτικό ρόλο στη διατήρηση της εύρυθμης σκελετικής λειτουργίας διαδραματίζουν επίσης και η επαρκής αποσιδήρωση, που αποτρέπει την άμεση τοξική δράση του σιδήρου στα οστά, καθώς και οι τακτικές μεταγγίσεις για τη διόρθωση της αναιμίας και τον περιορισμό της αύξησης του όγκου που καταλαμβάνει ο μυελός των οστών. Τέλος, και η διόρθωση των ενδοκρινικών επιπλοκών που συνοδεύουν τη β-θαλασσαιμία, είναι κριτικής σημασίας για την ελάττωση της οστικής απώλειας και την αποφυγή των σκελετικών παραμορφώσεων (Haidar και συν 2010; Voscariδου και συν 2004). Ειδικότερα, η διόρθωση του υπογοναδισμού με συνεχή θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης, με τη μορφή της διαδερμικής χορήγησης οιστρογόνων ή τη χορήγηση ανθρώπινης χοριακής γοναδοτροπίνης, έχει δείξει ικανοποιητικά αποτελέσματα αναφορικά με τη βελτίωση των παραμέτρων οστικής πυκνότητας και την πρόληψη της οστεοπόρωσης και των σκελετικών παραμορφώσεων (Lindsay και συν 1993; Anapliotou και συν 1995; Jensen και συν 1998).

β) Ειδικά μέτρα

Αντι-απορροφητικοί παράγοντες που έχουν χρησιμοποιηθεί στους οστεοπορωτικούς ασθενείς με μεσογειακή αναιμία, έδειξαν πολύ καλή ανταπόκριση και ανοχή παρόμοια με τα αποτελέσματα από τη θεραπεία της γεροντικής και μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.

Η χορήγηση καλσιτονίνης, ενός ισχυρού αναστολέα της οστικής απορρόφησης, ελάττωσε τον πόνο και τη συχνότητα των καταγμάτων στους ασθενείς αυτούς (Canatan και συν 1995). Επίσης, η χορήγηση διφωσφονικών (κλοδρονάτη, παμιδρονάτη, αλενδρονάτη και ζολεδρονικό οξύ) είχε πολύ καλά αποτελέσματα με σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας, μείωση των δεικτών οστικής απορρόφησης και ελάττωση της συχνότητας των καταγμάτων. Άλλοι αντι-οστεοπορωτικοί παράγοντες, όπως η τριπαρατίδη (Jiang και συν 2003) και το ρανελικό στρόντιο (Meunier και συν 2004) που επίσης χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης, είναι υπό διερεύνηση στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία και αναμένονται τα αποτελέσματα των μελετών.

Με βάση την προαναφερθείσα θεωρητική βάση του φαινομένου της μεταγευματικής μεταβολής της οστικής απορρόφησης και των ήδη τεκμηριωμένων μεταβολών του οστικού μεταβολισμού των περιγραφέντων παραπάνω νοσηρών καταστάσεων πραγματοποιήθηκε η παρούσα μελέτη με σκοπό να διερευνηθεί η ενδεχόμενη μεταβολή και κατά συνέπεια η συμμετοχή του φαινομένου στην παθογένειά τους.

Σε ομάδες ασθενών με τις διαταραχές αυτές και σε σύγκριση με ομάδες υγιών μαρτύρων έλεγχθηκε η μεταβολή του φαινομένου της μεταγευματικής οστικής απορρόφησης μετά φόρτωση με σταθερή ποσότητα γλυκόζης per os και καταγραφή των μεταβολών των δεικτών απορρόφησης και σχηματισμού του οστού. Παράλληλα, εκτιμήθηκαν και οι μεταβολές των δύο κύριων ορμονών του ΓΕΣ (GIP και GLP-1) που θεωρούνται ως πιθανοί μεσολαβητές του φαινομένου.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1.1. Κριτήρια επιλογής συμμετεχόντων στη μελέτη

Στην παρούσα μελέτη έλαβαν μέρος συνολικά 148 ασθενείς (45 ασθενείς με υποθυρεοειδισμό, 40 ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό, 30 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και 33 ασθενείς με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία).

Εβδομήντα οχτώ υγιείς εθελοντές αντιστοίχου ηλικίας και δείκτου μάζας σώματος συμπεριλήφθησαν επίσης στη μελέτη.

Η διάγνωση της κάθε νόσου στηρίχθηκε στα ακόλουθα κριτήρια.

A Ομάδα: Ασθενείς με υποθυρεοειδισμό

Στην ομάδα αυτή συμπεριλήφθηκαν 45 ασθενείς με πρωτοπαθή υποθυρεοειδισμό προ ενάρξεως αγωγής (32 ασθενείς με χρόνια θυρεοειδίτιδα Hashimoto, 9 ασθενείς με πολυοζώδη βρογχοκήλη, 3 ασθενείς με μετεγχειρητικό υποθυρεοειδισμό και 1 ασθενής με υποθυρεοειδισμό μετά από λήψη ραδιενεργού ιωδίου). Η διάγνωση στηρίχθηκε στα ειδικά για τη νόσο εργαστηριακά ευρήματα (υψηλά επίπεδα TSH > 8 mU/l).

B Ομάδα: Ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό

Στην ομάδα αυτή συμπεριλήφθηκαν 40 ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό, ανεξαρτήτου αιτιολογίας (18 ασθενείς με τοξική πολυοζώδη βρογχοκήλη, 12 ασθενείς με τοξικό αδένωμα, 8 ασθενείς με νόσο Graves και 2 ασθενείς με διάχυτη τοξική βρογχοκήλη και αρνητικά αντι-TSHR αντισώματα), προ της ενάρξεως αντιθυρεοειδικής αγωγής. Η διάγνωση στηρίχθηκε στα ειδικά εργαστηριακά (FT3 > 8,1 pmol/l, FT4 > 25 pmol/l και TSH < 0,01 mU/ml) και σπινθηρογραφικά ευρήματα της νόσου (αυξημένη πρόσληψη ραδιενεργού ιωδίου από τις υπερλειτουργικές περιοχές του θυρεοειδούς αδένου). Ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό λόγω υποξείας θυρεοειδίτιδας ή θυρεοει-

δίτιδας λόγω λήψεως φαρμάκων, όπως το αντι-αρρυθμικό φάρμακο αμιωδαρόνη και ο ανοσοτροποποιητικός παράγοντας ιντερφερόνη, αποκλείστηκαν από τη μελέτη, λόγω της πιθανής παρεμβολής της φλεγμονώδους εξεργασίας ή της τοξικότητας των φαρμάκων αντίστοιχα, στον οστικό μεταβολισμό των ασθενών αυτών.

Γ Ομάδα: Ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

Στην ομάδα αυτή συμπεριλήφθηκαν 30 ασθενείς με πρωτοδιαγνωσθέντα σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2, με βάση τα αναθεωρημένα κριτήρια της ADA.

Δ Ομάδα: Ασθενείς με β-ομόγυγο μεσογειακή αναιμία

Στην ομάδα αυτή συμπεριλήφθηκαν 33 άτομα με β-ομόγυγο μεσογειακή αναιμία που παρακολουθούνται από τη μονάδα μεσογειακής αναιμίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ. Όλοι οι ασθενείς υποβάλλονταν σε τακτικές μεταγγίσεις αίματος (κάθε 1 έως 3 εβδομάδες) και τακτικό πρόγραμμα αποσιδήρωσης με αντλίες υποδόριας χορήγησης δεσφεριοξαμίνης (Desferioxamine) και/η per os χορηγούμενους παράγοντες, όπως το Deferiprone και το Defasirox. Ασθενείς με δυσλειτουργία των ενδοκρινών αδένων λόγω δευτεροπαθούς αιμοχρωμάτωσης (υπο-υπερθυρεοειδισμός, υπερπαραθυρεοειδισμός, σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και υπογοναδισμός) αποκλείστηκαν από τη μελέτη.

Ε Ομάδα: Μάρτυρες

Στην ομάδα αυτή συμπεριλήφθηκαν συνολικά 78 υγιείς εθελοντές χωρίς συνοδά νοσήματα ή ιστορικό λήψεως φαρμάκων που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό (Πίνακες 1 και 2). Λόγω σημαντικής διαφοράς στην ηλικία και στο ΔΜΣ των ασθενών με μεσογειακή αναιμία (Πίνακας 3) σε σχέση με τις υπόλοιπες υπό εξέταση ομάδες (Πίνακας 4) για τους ασθενείς αυτούς χρησιμοποιήθηκε διαφορετική ομάδα ελέγχου.

1.2. Κριτήρια αποκλεισμού για όλες τις ομάδες υπήρξαν τα ακόλουθα:

1. Ηπατική ή νεφρική ανεπάρκεια
2. Φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου (ελκώδης κολίτιδα, νόσος Crohn), ιστορικό πεπτικού έλκους ή δυσσαπορρόφησης
3. Δυσανεξία στη γλυκόζη
4. Ανεπάρκεια βιταμίνης D (25-OH-βιταμίνη D < 40 nmol/l)
5. Οστεοπόρωση (με βάση τις μετρήσεις οστικής πυκνότητας με διπλή φωτονιακή απορροφησιμετρία -DEXA και τα κριτήρια για οστεοπόρωση

της Π.Ο.Υ.: T-score < 2,5 στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης ή στο ισχίο)

6. Μετεμηνόπαυσιαικές γυναίκες με λιγότερο από 5 έτη εισόδου τους στην εμμηνόπαυση.
7. Συνύπαρξη νοσημάτων που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό, εκτός του υπό μελέτη νοσήματος της κάθε ομάδος (πίνακας 1)
8. Λήψη φαρμάκων που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό (πίνακας 2)

1.3. Ερευνητικό πρωτόκολλο

Από κάθε συμμετέχοντα, ασθενή ή μάρτυρα, υπήρξε καταγραφή πλήρους ιατρικού ατομικού και οικογενειακού ιστορικού. Όλοι οι συμμετέχοντες μετά από ολονύκτια νηστεία υποβλήθηκαν σε OGTT με 75 gr γλυκόζης στις 7,30-9,30 το επόμενο πρωϊ. Από κάθε έναν λαμβάνονταν 2 δείγματα φλεβικού αίματος στο χρόνο 0. Το ένα δείγμα αποστέλλονταν άμεσα στο Αιματολογικό και Βιοχημικό εργαστήριο του Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ για βιοχημικό έλεγχο ρουτίνας (προσδιορισμός ολικής, HDL και LDL χοληστερόλης, τριγλυκεριδίων, ηπατικών δοκιμασιών, ουρίας, κρεατινίνης και σακχάρου αίματος) και αιματολογικό έλεγχο. Το δεύτερο δείγμα μαζί με τα δείγματα από τους χρόνους, 60 και 120 λεπτά μετά τη χορήγηση γλυκόζης φυγοκεντρούνταν στο εργαστήριο του τμήματος Ενδοκρινολογίας και Μεταβολισμού της Α' Παθολογικής κλινικής του Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ και ο λαμβανόμενος ορός και πλάσμα αποθηκευόταν στους -70° C μέχρι τη συλλογή του συνόλου των δειγμάτων και την επακόλουθη μέτρηση των οστικών βιοχημικών δεικτών και των γαστρεντερικών πεπτιδίων.

Έγγραφη συγκατάθεση ζητήθηκε από όλους τους συμμετέχοντες και το ερευνητικό πρωτόκολλο εγκρίθηκε από την Επιτροπή Βιοηθικής και Δεοντολογίας της Ιατρικής Σχολής του Α.Π.Θ.

1.4. Μέθοδοι μετρήσεων

Οι βιοχημικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν στο Βιοχημικό εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ του Α.Π.Θ. και οι ραδιοανοσοβιολογικοί προσδιορισμοί στον ορό και στον πλάσμα του αίματος έγιναν στο εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ.

1.4.1. Γλυκόζη ορού

Η γλυκόζη μετρήθηκε με τη μέθοδο οξειδάσης της γλυκόζης με την χρησιμοποίηση του αυτόματου αναλυτή γλυκόζης τύπου Beckmann σε ποσότη-

Πίνακας 1. Νοσήματα που επιπλέκονται δευτεροπαθώς με οστική απώλεια

Γενετικά νοσήματα	Ατελής οστεογένεση	Αιματολογικά νοσήματα	Συστηματική μαστοκύττωση
	Ομοκυστινουρία		Δρεπανοκυτταρική ανααιμία/θαλασσαιμία
	Σύνδρομο Ehlers -Danlos		Χρόνια αιμολυτική ανααιμία
	Σύνδρομο Marfan		Πορφυρία
	Σύνδρομο Riley-Day		Λευχαιμία/Λέμφωμα
	Νόσος Gaucher		Συστηματική μαστοκύττωση
	Υποφωσφατασία	Νοσήματα νεφρών	Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
Ενδοκρινολογικά νοσήματα	Υπογοναδισμός (σύνδρομο Klinefelter, Kallman, AIS)		Νεφρική σκληροσυσπειρωτική οξέωση
	Υπερπρολακτιναιμία		Ιδιοπαθής υπερασβεστιουρία
	Σύνδρομο Cushing	Ρευματικά Νοσήματα	Αγκυλοποιητική σπονδυλοαρθρίτιδα
	Ακρομεγαλία		Σαρκοειδωση
	Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 1		Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Παθήσεις ΓΕΣ	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση		Συστηματικός Ερυθημάτωδης Λύκος
	Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου		

Πίνακας 2. Φάρμακα που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό

Κορτικοειδή
 Θυροξίνη
 Ηπαρίνη
 Χρόνια χρήση Λιθίου
 Αντιεπιληπτικά φάρμακα
 Διουρητικά αγκύλης
 Αντινεοπλασματικά φάρμακα
 Ανοσοκατασταλτικά φάρμακα
 Αγωνιστές εκλυτικής ορμόνης γοναδοτροπινών
 Αντιανδρογόνα
 Αναστολείς αρωματάσης

Πίνακας 3. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, εργαστηριακός και ορμονολογικός έλεγχος ασθενών με παθήσεις του θυρεοειδούς αδένος και σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

	Ομάδα μαρτύρων	Υποθυρεοειδισμός	Υπερθυρεοειδισμός	ΣΔΤ2
Άνδρες	20	13	13	22
Γυναίκες	25	32	27	8
Προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες (%)	20 (80%)	25(78%)	22 (81,5%)	6 (75%)
n	45	45	40	30
ΔΜΣ (kg/m ²)	27,1 ± 0,9	28 ± 1,56	26,79 ± 0,8	29,4 ± 1,27
Ηλικία (έτη)	49,8 ± 1,6	51,2 ± 1,56	50,2 ± 2,1	57,0 ± 2,0
FT3 (3,5-8,1 pmol/l)	5,6 ± 0,18	3,4 ± 0,2*	22,11 ± 2,9*	4,3 ± 0,15
FT4 (10,0-25,0 pmol/l)	16,18 ± 0,7	8,3 ± 0,5*	46,9 ± 4,2*	15,7 ± 0,9
TSH (0,3-4,0 mIU/l)	1,74 ± 0,15	22,3 ± 3,8*	<0,01*	1,53 ± 0,13
PTH (1,6-6,9 pmol/l)	4 ± 0,2	4,68 ± 0,2	3,6 ± 0,29	5,4 ± 0,44
Ασβέστιο ορού (8,2-10,6 mg/dl)	9,11 ± 0,07	9,35 ± 0,07	9,3 ± 0,08	9,0 ± 0,27
Φώσφορος ορού (2,7-4,5 mg/dl)	3,44 ± 0,17	3,8 ± 0,1	3,7 ± 0,09	5,48 ± 1,29
BUN (10-50 mg/dl)	31 ± 1,47	35 ± 1,5	35,9 ± 1,6	32,7 ± 2,29
Γλυκόζη ορού (65-110 mg/dl)	92,9 ± 1,97	92,5 ± 2	89,5 ± 3,2	212 ± 15*
Κρεατινίνη ορού (0,40-1,10 mg/dl)	0,77 ± 0,026	1,2 ± 0,3	0,9 ± 0,03	0,82 ± 0,02
Hct (37,0-47,0 %)	40,6 ± 0,41	41,5 ± 0,7	39,28 ± 0,6	40,6 ± 1,35
Hb (12,0-16,0 g/dl)	13,6 ± 0,17	13,9 ± 0,25	13,38 ± 0,25	14,5 ± 0,23
HbA1c				9,7 ± 0,42

*: Στατιστική σημαντικότητα μεταξύ των ασθενών της κάθε ομάδας και της ομάδας ελέγχου

Πίνακας 4. Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά και εργαστηριακά ευρήματα ασθενών με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία

	Ομάδα μαρτύρων	Ασθενείς	p value
Άνδρες	13	13	-
Γυναίκες	20	32	-
n	33	33	-
ΔΜΣ (kg/m ²)	24,16 ± 1,15	21,9 ± 0,5	ΜΣ
Ηλικία (έτη)	35,64 ± 2	33,09 ± 1,36	ΜΣ
TSH (0,3-4,0 mIU/l)	1,86 ± 0,33	2,37 ± 0,17	ΜΣ
PTH (1,6-6,9 pmol/l)	4,13 ± 0,42	3,815 ± 0,15	ΜΣ
Ασβέστιο ορού (8,2-10,6 mg/dl)	9,11 ± 0,07	9,35 ± 0,07	ΜΣ
Φωσφόρος ορού (2,7-4,5 mg/dl)	3,21 ± 0,34	3,86 ± 0,14	ΜΣ
Ουρία (10-50 mg/dl)	31 ± 1,32	28 ± 1,2	ΜΣ
Γλυκόζη αίματος (65-110 mg/dl)	90 ± 5,2	81,8 ± 4,16	ΜΣ
Κρεατινίνη ορού (0,40-1,10 mg/dl)	0,82 ± 0,03	0,77 ± 0,4	ΜΣ
Hct (37,0-47,0 %)	41,55 ± 1,9	29,2 ± 0,36	p<0,001
Hb (12,0-16,0 g/dl)	13,9 ± 0,7	9,96 ± 0,12	p<0,001
Φερριτίνη (30-400ng/ml)	124,73 ± 55,2	1269 ± 119,3	p<0,001
Βασικά επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού			
β-CTX (pg/ml)	341 ± 33	455,9 ± 46	p=0,044
P1NP (ng/ml)	40,12 ± 2,8	56,42 ± 7,08	p<0,039
Οστεοκαλσίνη (ng/ml)	17,79 ± 1,43	17,15 ± 1,57	ΜΣ

ΜΣ: μη σημαντικές διαφορές

τα 100 μl ορού (Beckmann Glucose Analyzer, Beckmann Instruments Inc, Fullerton, California).

1.4.2. Ορμονικοί προσδιορισμοί

α) Γενικά

Οι ραδιοανοσολογικές μέθοδοι (RIA) βασίζονται στην ικανότητα μιας ορισμένης ποσότητας αντισώματος να συνδέεται με μία σταθερή ποσότητα επισημασμένου αντιγόνου και στον ανταγωνισμό δέσμευσης με ένα μη επισημασμένο αντιγόνο. Το ποσοστό του συνδεδεμένου επισημασμένου αντιγόνου μειώνεται ανάλογα με την αύξηση της πυκνότητας του μη επισημασμένου αντιγόνου στο υπό έλεγχο δείγμα. Ο διαχωρισμός του συνδεδεμένου και του ελεύθερου (F) επισημασμένου αντιγόνου είναι απαραίτητος, ώστε να προσδιορισθεί η ποσότητα του μη επισημασμένου αντιγόνου. Αυτός μπορεί να γίνει με καθίζηση του συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος, ή με χημικές μεθόδους, όπως π.χ. με κατακρήμνιση με πολυαιθυλενική γλυκόλη, ή με την προσθήκη ενός δεύτερου αντισώματος που δεσμεύει την υπάρχουσα στον αρχικό ορό ανοσοσφαιρίνη, ή με συνδυασμό των δύο μεθόδων. Η ποσότητα του μη επισημασμένου αντιγόνου στο άγνωστο δείγμα προσδιορίζεται στη συνέχεια, με σύγκριση της ενεργότητας του δεσμευμένου κλάσματος του αντιγόνου (Ag B) που κατακρημνίζεται μετά από φυγοκέντρηση, με τιμές που καθορίζονται από πριν με τη χρήση γνωστών ποσοτήτων αντιγόνου και την κατασκευή πρότυπης καμπύλης με την ίδια μέθοδο προσδιορισμού.

β) Μέτρηση του γλυκοζοεξααρτώμενου ινσουλινοτρόπου πεπτιδίου (GIP) και του γλουκαγονόμορφου πεπτιδίου (GLP-1)

Για τη μέτρηση των πεπτιδίων GIP και GLP-1 χρησιμοποιήθηκαν σαν αντιγόνα, το GIP και το GLP-1 αντίστοιχα επισημασμένα με ¹²⁵I και ειδικά αντισώματα που αναπτύχθηκαν σε κουνέλια (Rabbit antiserum specific for the peptide 13 ml). Η ραδιενέργεια του ¹²⁵I GIP και του ¹²⁵I GLP-1 στο χρόνο παρασκευής τους ήταν 1,5 μCi/ml. Για την αντίδραση, το αντίσωμα διαλύθηκε σε φωσφορικό ρυθμιστικό διάλυμα και το αντιγόνο σε απεσταγμένο νερό. Ως δεύτερο αντίσωμα χρησιμοποιήθηκε γ-σφαιρίνη που αναπτύχθηκε σε ερίφια, στα οποία έγινε ένεση των αντισωμάτων του κουνελιού σε μίγμα πολυαιθυλενικής γλυκόλης. Για την κατασκευή της πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιήθηκε καθαρό ανθρώπινο πεπτίδιο (12,8 μg σε μορφή λυοφιλοποιημένος κόνεως), σε συγκεντρώσεις 12,5, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200, 6400, 12800 pg/ml. Ο διαχωρισμός των κλασμάτων του αί-

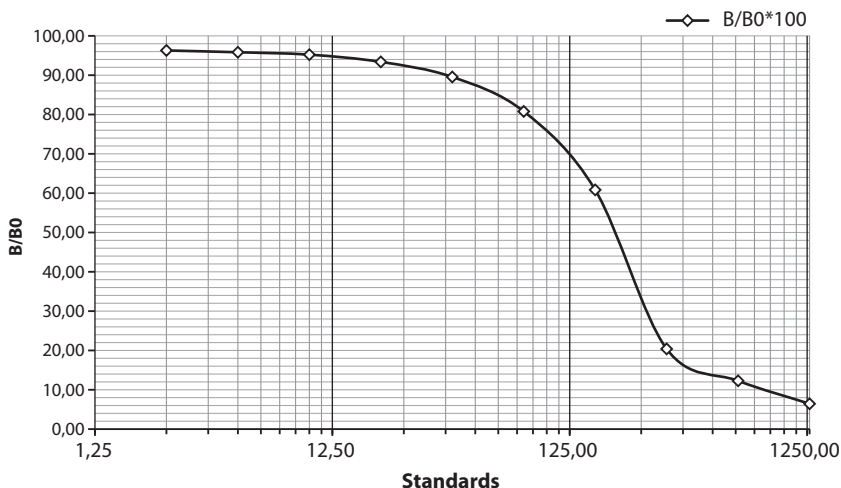
ματος μετά την καθίζηση έγινε σε ψυχόμενη φυγόκεντρο σε 1500-1600 g's. Ο προσδιορισμός έγινε σε θερμοκρασία 4° C και η επώαση διήρκησε 24 ώρες μετά την προσθήκη του πρώτου αντισώματος και 90 min μετά την προσθήκη του δεύτερου αντισώματος. Η ραδιενέργεια του ιζήματος μετρήθηκε σε καταμετρητή γ-ακτινοβολίας για ένα λεπτό. Από τον αριθμό των κρούσεων υπολογίστηκε το πηλίκο B/B0 % με βάση τον ακόλουθο τύπο:

$B/B0 \% = (\text{κρούσεις υπό εξέταση δείγματος} - \text{κρούσεις NSB} / \text{κρούσεις μηδενικής ποσότητας } B0) * 100$. Στη συνέχεια κατασκευάστηκε η πρότυπη καμπύλη σε δύο άξονες (Εικόνες 1 και 2). Στον άξονα ψ τοποθετήθηκε η υπολογιζόμενη %B.B0 για κάθε πρότυπο διάλυμα και στον άξονα χ οι ποσότητες των προτύπων σε pg/ml. Ο προσδιορισμός των τιμών στα υπό εξέταση δείγματα έγινε από την πρότυπη καμπύλη με ειδικό πρόγραμμα.

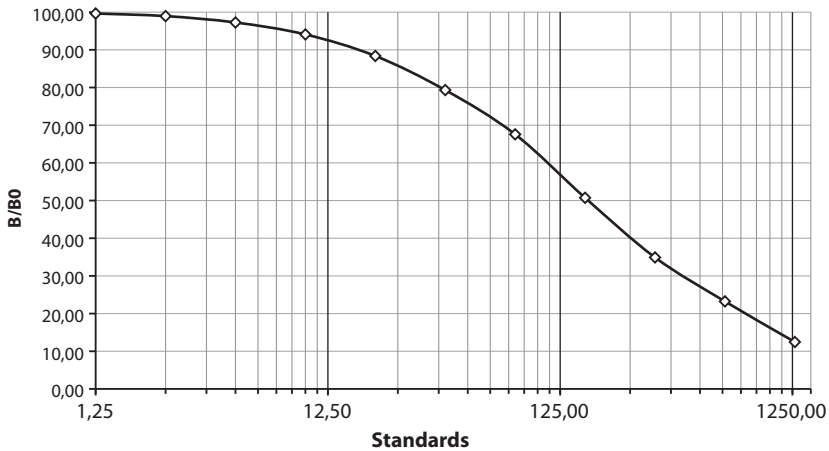
Ευαισθησία (sensitivity): Η μέθοδος μπορούσε να ανιχνεύσει ελάχιστη ποσότητα 12,5 pg/ml για το GLP-1 και 25 pg/ml για το GIP.

Ειδικότητα (specificity): Η σχετική εκατοστιαία διασταυρούμενη ευαισθησία καθορίστηκε από την ποσότητα των πεπτιδίων GIP και GLP-1 που απαιτήθηκε για να προκληθεί ελάττωση της δέσμευσης κατά 50% σε σχέση με την ποσότητα της ουσίας που ελέγχθηκε.

Ακρίβεια: Ο μεταξύ των μετρήσεων συντελεστής διασποράς (inter-assay CV%) κυμαίνονταν μεταξύ 8-12% για το GIP και 6,3-11% για το GLP-1. Ο εντός των μετρήσεων (intra assay CV%) συντελεστής διασποράς κυμαίνονταν μεταξύ 2,5%-3,3% για το GIP και 3,2-4,3% για το GLP-1.



Εικόνα 1. Πρότυπη καμπύλη μέτρησης για το GLP-1.



Εικόνα 2. Πρότυπη καμπύλη μέτρησης για το GIP.

1.4.3. Μέτρηση των δεικτών οστικού μεταβολισμού

Οι δείκτες οστικού μεταβολισμού μετρήθηκαν με τον αυτόματο αναλυτή της Roche -Elecsys 2010.

α) Μέτρηση του δείκτη οστικής κατασκευής N- αμινοτελικού προπεπτιδίου του προκολλαγόνου τύπου 1 (P1NP)

Περισσότερο από 90% του οργανικού τμήματος της θεμελίου ουσίας αποτελείται από κολλαγόνου τύπου 1, το οποίο συντίθεται κυρίως στα οστά (Burgesson 1988). Το πρόδρομο μόριο, προκολλαγόνου τύπου 1, συντίθεται από τους ινοβλάστες και τους οστεοβλάστες. Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3, τα προπεπτίδια από το N-αμινοτελικό και το C-καρβοξυτελικό άκρο του πρόδρομου μορίου απομακρύνονται από ειδικές πρωτεάσες κατά τη μετατροπή του προκολλαγόνου σε κολλαγόνο και απελευθερώνονται στο διακυττάριο χώρο του οστικού μικροπεριβάλλοντος και από εκεί στην κυκλοφορία του αίματος. Το N- αμινοτελικό προπεπίδιο P1NP (type 1 procollagen aminoterminal propeptide) αποτελεί ειδικό δείκτη της εναπόθεσης κολλαγόνου τύπου 1 και κατά συνέπεια της οστικής σύνθεσης (Orum και συν 1996; Brandt και συν 2001). Η δομή του P1NP που ανευρίσκεται στην κυκλοφορία είναι αρχικά τριμερής, όπως και η τριμερής μορφή του κολλαγόνου από το οποίο προέρχεται, στη συνέχεια όμως διασπάται ταχύτατα σε μονομερή μορφή. Η ανοσομέθοδος ηλεκτρο-χημειοφωταύγειας ECLIA, που χρησιμοποιείται στον αυτόματο αναλυτή Elecsys 2010 έχει τη δυνατότητα ανίχνευσης και των δύο μορφών (τριμερής και μονομερής) που βρίσκονται στον ορό (Total P1NP).

Αρχή της μεθόδου: Η μέθοδος στηρίζεται στην αρχή sandwich και η συνολική της διάρκεια είναι 18 λεπτά.

Πρώτη επώαση: Στην πρώτη επώαση επωάζονται μαζί το υπό εξέταση δείγμα (20μl) και το βιοτυνιλωμένο μονοκλωνικό ειδικό για το P1NP αντίσωμα.

Δεύτερη επώαση: Μετά την προσθήκη στρεπταβιδίνης (streptavidin) επισημασμένης με μικροσφαιρίδια και του ειδικού μονοκλωνικού P1NP αντισώματος σεσημασμένου με ρουθίνιο (Ru) δημιουργείται ένα sandwich σύμπλεγμα το οποίο συνδέεται στη στερεά φάση μέσω αλληλεπίδρασης της βιοτίνης με τη στρεπταβιδίνη.

Στη συνέχεια η εφαρμογή ηλεκτρικού δυναμικού στα ηλεκτρόδια προκαλεί την εκπομπή χημειοφωταύγειας η οποία προσδιορίζεται ποσοτικά από τον φωτοπολλαπλασιαστή. Τα αποτελέσματα ελέγχονται με βάση την πρότυπη καμπύλη. Ο αυτόματος αναλυτής προσδιορίζει την αναλυτική συγκέντρωση κάθε δείγματος σε μg/l ή ng/ml.

Βαθμονόμηση: Η μέθοδος έχει βαθμονομηθεί χρησιμοποιώντας ως σημείο αναφοράς το βάρος του φυσικού P1NP σε σειρά ανθρώπινων δειγμάτων στον ορό τα οποία είναι ελεύθερα του P1NP πεπτιδίου.

Εύρος μετρήσεων: 5-1200 ng/ml.

Ευαισθησία (sensitivity): Η μικρότερη ανιχνεύσιμη ποσότητα της μεθόδου είναι 5 ng/mL.

Ειδικότητα (specificity): Διασταυρούμενες αντιδράσεις σε ποσοστό <1% εντοπίζονται με την παραθορόνη, την οστεοκαλσίνη και την 25-OH-βιταμίνη D.

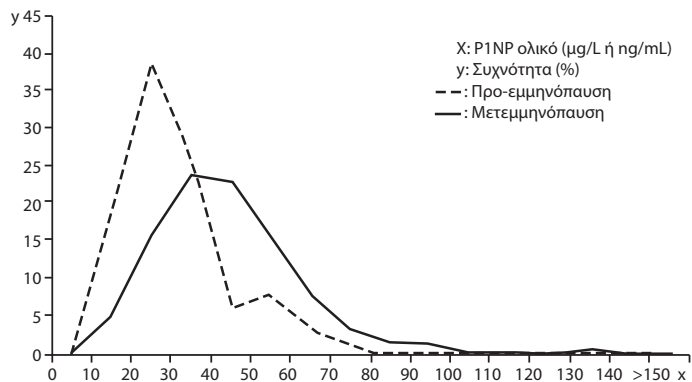
Ακρίβεια: Ο μεταξύ των μετρήσεων συντελεστής διασποράς (inter-assay CV%) κυμαίνονταν μεταξύ 2,3 και 3,7% και ο εντός των μετρήσεων (intra assay CV%) κυμαίνονταν μεταξύ 1,8 και 2,9%.

Αναμενόμενες τιμές: Οι αναμενόμενες τιμές ανάλογα με την ηλικία, το φύλο και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση, απεικονίζονται στον πίνακα 5. Τα επίπεδα P1NP μετρήθηκαν στον ορό 573 υγιών εθελοντριών που συμμετείχαν στη μελέτη OFELY για τον προσδιορισμό της οστικής απώλειας. Η συχνότητα των διαφόρων διακυμάνσεων των συγκεντρώσεων του ολικού P1NP στον ορό σε υγιείς προ και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες καθώς και σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης σε σχέση με αυτές που δεν λαμβάνουν φαίνονται στις εικόνες 3 και 4.

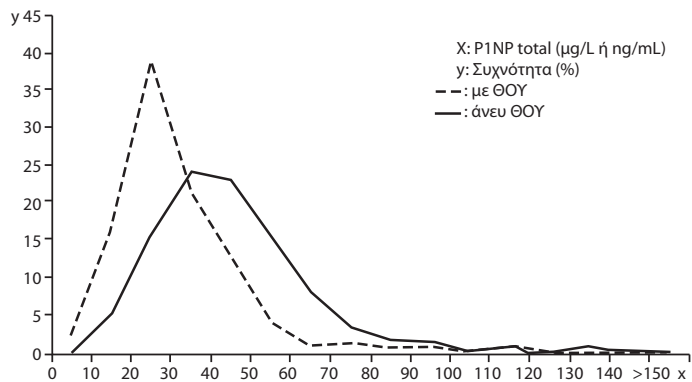
Οι μετρήσεις του ολικού P1NP εμφανίζουν μικρή κικράδια και εποχιακή διακύμανση, ενώ η πρόσληψη τροφής ή νηστεία δεν επιφέρουν σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα ορού.

Πίνακας 5

P1NP	Μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες			Προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες
	Σύνολο	Υπό Θ.Ο.Υ	Άνευ Θ.Ο.Υ	Σύνολο
Αριθμός συμμετεχόντων	444	154	290	129
5η εκατοστιαία θέση (ng/ml)	16,27	14,28	20,25	15,13
Μέσοι όροι Median/mean (ng/ml)	37,09/40,43	28,48/31,74	42,94/45,05	27,80/30,10
95η εκατοστιαία θέση (ng/ml)	73,87	58,92	76,31	58,59



Εικόνα 3.



Εικόνα 4.

β) Μέτρηση οστεοκαλσίνης

Η οστεοκαλσίνη του ορού προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της ανοσο-ηλεκτρονικής χημοφωταύγειας ECLIA. Η μέθοδος χρησιμοποιείται ευρέως για τον *in vitro* ποσοτικό προσδιορισμό του N-αμινοτελικού και κεντρικού τμήματος της οστεοκαλσίνης στον ορό και στο πλάσμα.

Η οστεοκαλσίνη είναι η πιο σημαντική μη-κολλαγονική πρωτεΐνη της θεμελίου ουσίας του οστού. Πρόκειται για μία ασβεστιο-δεσμευτική πρωτεΐνη που παράγεται αποκλειστικά από ώριμα οστεοβλαστικά κύτταρα (αποτελεί αξιόπιστο δείκτη τελικής διαφοροποίησης των οστεοβλαστών) και εξαρτάται από την παρουσία της βιταμίνης K στο οστικό μικροπεριβάλλον, που ρυθμίζει τη δημιουργία υπολλειμάτων γ-καρβοξυγλουταμικού οξέως στο μόριο της. Η βιταμίνη Δ επίσης αυξάνει τη σύνθεσή της.

Δομή: Η οστεοκαλσίνη αποτελείται από 49 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος περίπου 5800 daltons. Λόγω των υπολλειμάτων του γ-καρβοξυγλουταμικού οξέως που περιέχει αναφέρεται αλλιώς και ως bone GLA (glutamic acid) protein, (BGP).

Μετά την έκκριση της από τους οστεοβλάστες το μεγαλύτερο μέρος της οστεοκαλσίνης ενσωματώνεται στην οστική θεμέλιο ουσία, ενώ ένα μέρος της εισέρχεται στην αιματική κυκλοφορία. Κατ'αναλογία τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης του ορού σχετίζονται με το ρυθμό της οστικής ανακατασκευής στις διάφορες παθήσεις του οστικού μεταβολισμού, όπως η οστεοπόρωση ο υπερπαραθυρεοειδισμός και η νόσος του Paget. Η οστεοκαλσίνη έχει μικρό χρόνο ημίσειας ζωής στον ορό λόγω ταχείας υδρόλυσης του μορίου από τους νεφρούς και το ήπαρ (Farrugia και συν 1986). Το C-καρβοξυτελικό άκρο αποδομείται ταχέως, ενώ το N-αμινοτελικό μαζί με το κεντρικό τμήμα που προκύπτει από την αποδόμηση της πρωτεΐνης παρουσιάζει μεγαλύτερη σταθερότητα και είναι πιο ανθεκτικό στη δράση των πρωτεασών που διασπούν τους δεσμούς μεταξύ των αμινοξέων 43 και 44.

Αρχή της μεθόδου: Η μέθοδος χρησιμοποιεί δύο μονοκλωνικά αντισώματα που στρέφονται εκλεκτικά εναντίον ειδικών επιτόπων που ανευρίσκονται στο κεντρικό και στο N-αμινοτελικό τμήμα του μορίου που έχει υποστεί υδρόλυση και στηρίζεται στην αρχή Sandwich. Η διάρκεια της μεθόδου είναι 18 λεπτά.

Πρώτη επώαση: Στην πρώτη επώαση 20 μl από το υπό εξέταση δείγμα, ένα βιοτυνιλιωμένο μονοκλωνικό ειδικό για το N-αμινοτελικό και κεντρικό τμήμα του μορίου αντίσωμα και ένα αντίσωμα ειδικό για N-αμινοτελικό και κεντρικό τμήμα του μορίου που είναι επισημασμένο με ρουθίνιο (Ru) αντιδρούν και σχηματίζουν ένα σύμπλεγμα Sandwich.

Δεύτερη επώαση: Μετά την προσθήκη στρεπταβιδίνης (streptavidin) επισημασμένης με μικροσφαιρίδια το σύμπλεγμα συνδέεται στη στερεά φάση μέσω αλληλεπίδρασης της βιοτίνης με τη στρεπταβιδίνη. Στη συνέχεια η εφαρμογή ηλεκτρικού δυναμικού στα ηλεκτρόδια προκαλεί την εκπομπή χημειοφωταύγειας η οποία προσδιορίζεται ποσοτικά από τον φωτοπολλαπλασιαστή. Τα αποτελέσματα ελέγχονται με βάση την πρότυπη καμπύλη. Ο αυτόματος αναλυτής προσδιορίζει την αναλυτική συγκέντρωση κάθε δείγματος σε ng/ml ή µg/l.

Βαθμολόμηση: Η βαθμολόμηση της μεθόδου έχει γίνει με βάση μία in-house μέθοδο με αποτελέσματα αναφοράς όπου προσδιορίστηκε η οστεοκαλσίνη σε ανθρώπινη οστική θεμέλιο ουσία απουσία πρωτεϊνών.

Εύρος μετρήσεων: 0,5-300 ng/ml. Οι μετρήσεις αναφοράς φαίνονται στον πίνακα 6.

Ευαισθησία (sensitivity): Το κατώτερο όριο ανίχνευσης της οστεοκαλσίνης στον ορό είναι 0,5 ng/ml και αποτελεί την κατώτερη προσδιορισμένη τιμή του αναλυτή που είναι διάφορη του μηδενός. Υπολογίζεται δε ως η τιμή που βρίσκεται 2 σταθερές αποκλίσεις πάνω από το κατώτερο όριο αναφοράς.

Ειδικότητα (specificity): Δεν υπάρχουν διασταυρούμενες αντιδράσεις με το δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX, την παραθορμόνη και το οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης.

Ακρίβεια: Ο μεταξύ των μετρήσεων συντελεστής διασποράς (inter-assay CV%) κυμαίνεται μεταξύ 1,7 και 6,5% και ο εντός των μετρήσεων (intra assay CV%) μεταξύ 1,2 και 4%.

Πίνακας 6

Οστεοκαλσίνη	Αριθμός συμμετέχοντων	Μέσος όρος (median ng/ml)	5η-95η εκατοστιαία θέση
Υγιείς γυναίκες			
Προ-εμμηνοπαυσιακές	133	18,5	9,7-35,1
Μετεμμηνοπαυσιακές	141	17,5	7,6-30,7
Υγιείς Άνδρες			
30-50 ετών	130	22,9	10,2-36,7
51-70 ετών	117	18,5	10,8-31,1
>70 ετών	25	15,9	-
Ασθενείς με οστεοπόρωση	103	291	17,3-48,6

Αναμενόμενες τιμές: Οι αναμενόμενες τιμές της οστεοκαλσίνης με βάση την ηλικία το φύλο και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση φαίνονται στον πίνακα 6. Οι τιμές της αυξάνονται σε νεφρική ανεπάρκεια τόσο λόγω της ελαττωμένης κάθαρσης όσο και λόγω της υποκείμενης νεφρικής οστεοδυστροφίας.

γ) Μέτρηση του δείκτη οστικής απορρόφησης C-καρβοξυτελικό τελοπεπτιδίου του κολλαγόνου τύπου 1 (β-CTX, β-carboxyterminal crosslaps)

Κατά τη διάρκεια ενός φυσιολογικού κύκλου οστικής εναλλαγής το ώριμο κολλαγόνο τύπου 1 αποδομείται και τα προϊόντα καταβολισμού εισέρχονται στην κυκλοφορία και αποβάλλονται από τους νεφρούς. Σε φυσιολογικές ή παθολογικές καταστάσεις αυξημένης οστικής απορρόφησης (προχωρημένη ηλικία και οστεοπόρωση, αντίστοιχα) το κολλαγόνο αποδομείται σε μεγαλύτερο βαθμό και έτσι υπάρχει μία αναλογική αύξηση των προϊόντων καταβολισμού του στον ορό. Ο προσδιορισμός των προϊόντων αυτών στον ορό του αίματος αποτελεί δείκτη της οστεοκλαστικής δραστηριότητας. Η εν λόγω μέθοδος ανιχνεύει τα β-ισομερισμένα C-καρβοξυτελικά τελοπεπτιδία (β-CTX) τα οποία είναι πολύ ειδικά για την αποδόμηση του ώριμου κολλαγόνου τύπου 1 της οστικής θεμελίου ουσίας (Bonde και συν 1994; Fledelius και συν 1996). Αυξημένα επίπεδα των τελοπεπτιδίων αυτών έχουν βρεθεί σε ασθενείς με αυξημένη οστική απορρόφηση και τα επίπεδα τους επανέρχονται στα φυσιολογικά όρια μετά από αντι-οστεοαπορροφητική αγωγή. Η μέθοδος αυτή είναι ειδική για τα διασταυρούμενα ισομερισμένα προϊόντα αποδόμησης του τύπου 1 κολλαγόνου ανεξάρτητα από τη φύση των μεταξύ τους δεσμών πυρόλης ή πυριδινολίνης (Te Koppelle και συν 1998). Η ειδικότητα της μεθόδου βασίζεται στη χρήση δύο μονοκλωνικών αντισωμάτων το καθένα από τα οποία αναγνωρίζει β-8AA οκταπεπτιδία (EKAMD-β-GGR). Συνεπώς, η μέθοδος ανιχνεύει όλα τα προϊόντα αποδόμησης του κολλαγόνου τύπου 1 που περιέχουν δις ισομερισμένα οκταπεπτιδία β-8AA (β-CTX).

Αρχή της μεθόδου: Η μέθοδος στηρίζεται στην αρχή sandwich και η συνολική της διάρκεια είναι 18 λεπτά.

Πρώτη επώαση: Στην πρώτη επώαση επωάζονται μαζί το υπό εξέταση δείγμα (50 μl) και το βιοτυνλιωμένο μονοκλωνικό ειδικό για το β-CTX αντισώμα. Το αντιγόνο του δείγματος απελευθερώνεται από τα συστατικά του ορού.

Δεύτερη επώαση: Μετά την προσθήκη στρεπταβιδίνης (streptavidin) επισημασμένης με μικροσφαιρίδια και του ειδικού μονοκλωνικού β-CTX αντισώματος σεσημασμένου με ρουθίνιο (Ru) δημιουργείται ένα σύμπλεγμα

sandwich το οποίο συνδέεται στη στερεά φάση μέσω αλληλεπίδρασης της βιοτίνης με τη στρεπταβιδίνη. Στη συνέχεια η εφαρμογή ηλεκτρικού δυναμικού στα ηλεκτρόδια προκαλεί την εκπομπή χημειοφωταύγειας η οποία προσδιορίζεται ποσοτικά από τον φωτοπολλαπλασιαστή. Τα αποτελέσματα ελέγχονται με βάση την πρότυπη καμπύλη. Ο αυτόματος αναλυτής προσδιορίζει την αναλυτική συγκέντρωση κάθε δείγματος σε ng/mL ή pg/ml.

Βαθμονόμηση: Η μέθοδος έχει βαθμονομηθεί βάση αποτελεσμάτων αναφοράς που ορίστηκαν με ακρίβεια από το βάρος του φυσικού β-CTX.

Εύρος μετρήσεων: 0,010-6,00 ng/ml (10-6000 pg/ml).

Ευαισθησία (Sensitivity): Η μικρότερη ανιχνεύσιμη ποσότητα της μεθόδου είναι 0,01 ng/mL (10 pg/ml). Ως κατώτερο όριο λαμβάνεται το χαμηλότερο μετρούμενο επίπεδο του αναλυτή που δεν είναι 0, Υπολογίζεται ως η τιμή δύο σταθερών αποκλίσεων πάνω από τη χαμηλότερη σταθερά.

Ειδικότητα (Specificity): Τα μονοκλωνικά αντισώματα που χρησιμοποιούνται αναγνωρίζουν όλα τα προϊόντα αποδόμησης του τύπου 1 κολλαγόνου που το β-8AA οκταπεπτίδιο δύο φορές. Δεν παρατηρούνται διασταυρούμενες αντιδράσεις με την παραθορμόνη, την οστεοκαλσίνη ή το οστικό κλάσμα της αλκαλικής φωσφατάσης.

Ακρίβεια: Ο μεταξύ των μετρήσεων συντελεστής διασποράς (inter-assay CV%) κυμαίνεται μεταξύ 1,6 και 4,6% και ο εντός των μετρήσεων (intra assay CV%) μεταξύ 1,6 και 4,7%. Η λειτουργική ευαισθησία είναι 0,070 ng/ml (70 pg/ml) και αποτελεί τη χαμηλότερη συγκέντρωση στον αναλυτή που με επαναληπτικές μετρήσεις δίνει ενδιάμεση ακρίβεια του συντελεστή διασποράς <20%.

Πίνακας 7

β-CTX	Αριθμός συμμετεχόντων	Μέσος όρος των μετρήσεων ± ΣΑ	Μέσος όρος + 2 ΣΑ (pg/ml)
Άνδρες			
30-50 έτη	165		584
>50-70 έτη	109		704
>70 έτη	365		854
Προ-εμμηνοπαυσιακές γυναίκες	254	299 ± 137	573
Μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες	429	556 ± 226	1008

Αναμενόμενες τιμές: Οι αναμενόμενες τιμές του δείκτη β -CTX ανάλογα με το φύλο, την ηλικία και την εμμηνοπαυσιακή κατάσταση στις γυναίκες απεικονίζονται στον πίνακα 7. Οι τιμές προήλθαν από μελέτες που χρησιμοποίησαν τη μέθοδο Elecsys σε υγιείς εθελοντές (Garnero και συν 1999; Garnero και συν 2001).

1.5. Στατιστική Ανάλυση

Όλες οι μετρήσεις εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm Σταθερό Σφάλμα Μέσου (ΣΣΜ). Ο έλεγχος κανονικότητας των τιμών έγινε με τη μέθοδο Kolmogorov Smirnof. Για τις συγκρίσεις των τιμών των δεικτών οστικού μεταβολισμού στον ορό του αίματος χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος two tailed t-test για ανεξάρτητες μεταβλητές ή το μη-παραμετρικό τεστ Mann Witney για τις μεταβλητές με μη κανονική κατανομή. Το φαινόμενο της μεταβολής της οστικής απορρόφησης και κατασκευής υπολογίστηκε με βάση τον τύπο $[(CTx0' - CTx120') / CTx0] * 100$, όπως έχει περιγραφεί σε προηγούμενες μελέτες (Chailurki και συν 2008; Henriksen και συν 2003). Για την εκτίμηση της συνολικής έκκρισης του GIP υπολογίστηκε η επιφάνεια κάτω από τη καμπύλη (Area under the curve) με βάση τον τραπεζοειδή κανόνα. Για τις συσχετίσεις μεταξύ των τιμών χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι συσχέτισης Pearson και Spearman. Στατιστικώς σημαντικές θεωρήθηκαν οι τιμές με $p < 0,05$.

Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα στατιστικά πακέτα SPSS 16,0 (Chicago Illinois, USA) και Graphpad Prisma (La Jolla CA, USA).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1. Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στη μελέτη

Τα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά των ασθενών και των υγιών μαρτύρων απεικονίζονται στους πίνακες 3 και 4.

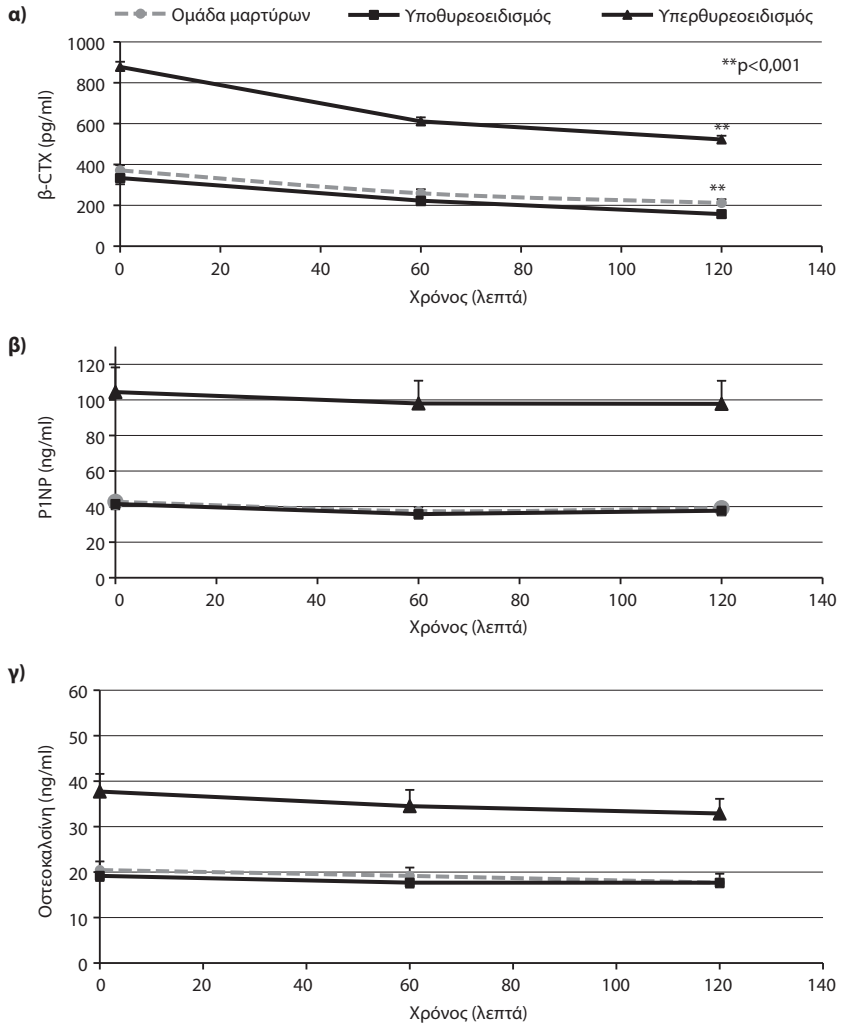
2.2. Ασθενείς με παθήσεις του θυρεοειδούς αδένα

α) Υποθυρεοειδισμός

Επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού και ποσοστά μεταβολής των μετά από τη λήψη γλυκόζης

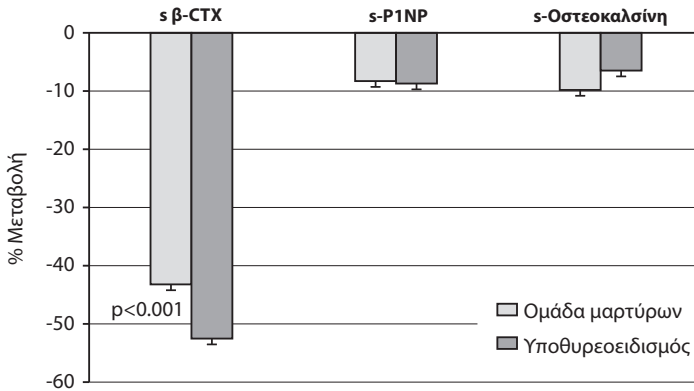
Τα βασικά επίπεδα των βιοχημικών δεικτών της οστικής κατασκευής P1NP και οστεοκαλσίνη δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ασθενών με υποθυρεοειδισμό και της ομάδας των υγιών μαρτύρων ($41,45 \pm 2,96$ ng/ml vs. $42,7 \pm 2,78$ ng/ml, $p=0,758$ αντίστοιχα για το P1NP και $19,17 \pm 1,12$ ng/ml vs. $20,44 \pm 1,89$ ng/ml, $p=0,565$, αντίστοιχα για την οστεοκαλσίνη). Παρομοίως τα επίπεδα του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων (333 ± 30 pg/ml στον υποθυρεοειδισμό vs. 372 ± 25 pg/ml, στην ομάδα των μαρτύρων, $p=0,327$).

Μετά τη φόρτιση με 75 gr γλυκόζης, υπήρξε σημαντική ελάττωση των επιπέδων του β-CTX στον ορό δύο ώρες μετά τη λήψη τόσο στους υγιείς μαρτυρες, όσο και στους ασθενείς με υποθυρεοειδισμό (Εικόνα 1). Αντιθέτως δεν σημειώθηκε σημαντική μεταβολή στους δείκτες οστικής κατασκευής (Εικόνα 1). Το ποσοστό μεταβολής του β-CTX δύο ώρες μετά τη λήψη της γλυ-



Εικόνα 1. Μεταβολές των επιπέδων των δεικτών οστικού μεταβολισμού στον ορό μετά από per os φόρτιση με γλυκόζη.

κόζης, υπήρξε σημαντικά αυξημένο στον υποθυρεοειδισμό σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ($52,52\% \pm 2,6$ vs. $43,2\% \pm 2,3$, $p=0,009$) (Εικόνα 2). Η διαφορά αυτή παρέμεινε στατιστικώς σημαντική μετά και από τη ‘σχετική διόρθωση’ των αποτελεσμάτων με βάση τα επίπεδα του β -CTX στο χρόνο 0 (‘διορθωμένα αποτελέσματα’ $52,48\%$ vs. $43,25\%$ $p=0,010$). Αντιθέτως δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά μεταβολής των δεικτών οστικής κατασκευής ανάμεσα τους ασθενείς με υποθυρεοειδισμό και τους υγιείς μάρτυρες. Τα ποσοστά μεταβολής της οστεοκαλσίνης και του P1NP στον υποθυρεοειδισμό ήταν $6,48\%$ και $8,71\%$ αντίστοιχα. Παρομοίως, τα ποσοστά μεταβολής στους υγιείς μάρτυρες ήταν $9,8\%$ για την οστεοκαλσίνη και $8,3\%$ για το P1NP (Εικόνα 2).



Εικόνα 2. Ποσοστά (%) μεταβολής των οστικών δεικτών στον ορό μετά από per os φόρτιση με 75 gr γλυκόζης.

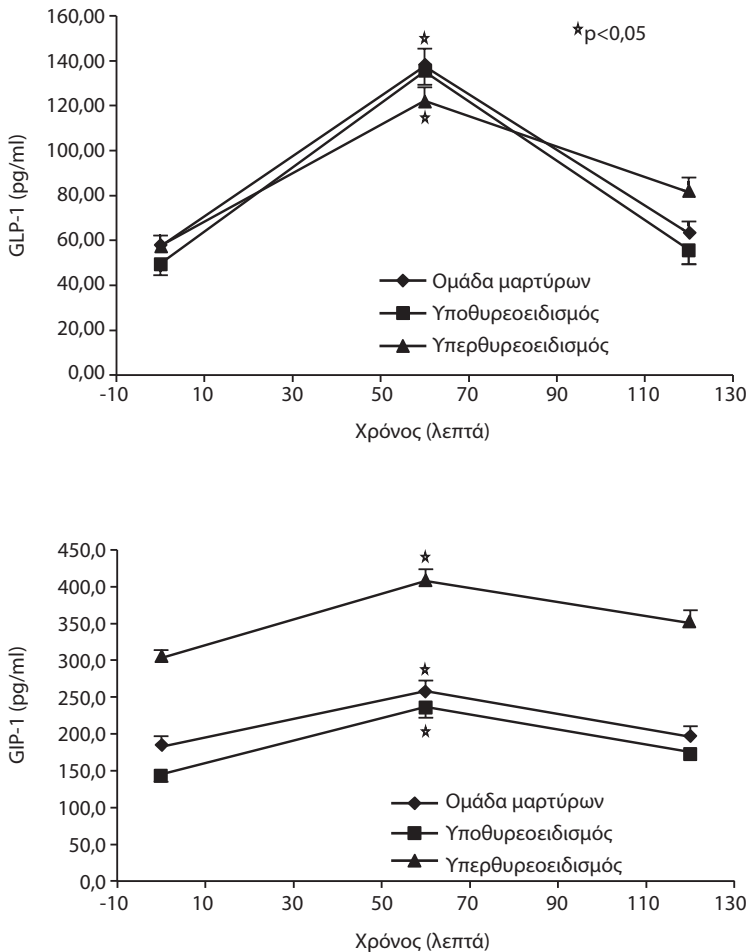
Συσχετίσεις (α)

Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού μεταβολής του δείκτη β -CTX στις δύο ώρες μετά τη λήψη της γλυκόζης και των θυρεοειδικών ορμονών ($r=0,13$, για την FT3, $r=0,212$ για την FT4 και $r=0,189$ για την TSH, $p>0,05$).

Έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1

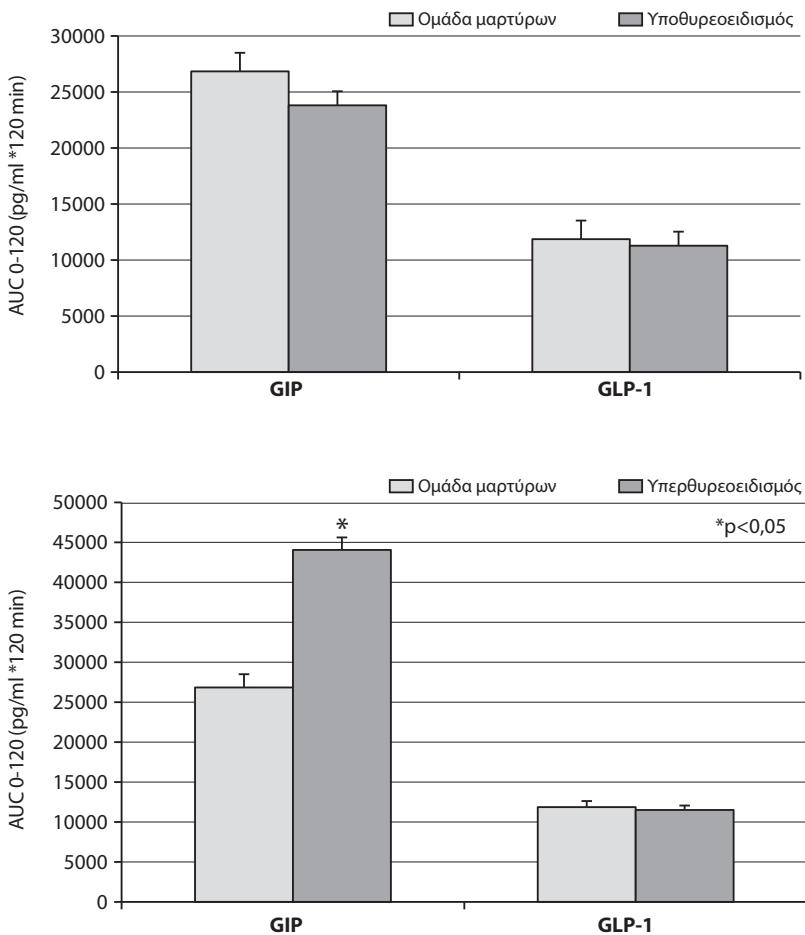
Τα βασικά επίπεδα του πεπτιδίου GIP βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα στους ασθενείς με υποθυρεοειδισμό σε σχέση με τα βασικά επίπεδα των υγιών μαρτύρων ($139,43 \pm 9,4$ pg/ml vs. $181,54 \pm 14,2$, $p=0,016$, αντί-

στοιχα). Τα βασικά επίπεδα του πεπτιδίου GLP-1 δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων ($57,53 \pm 4,8$ pg/ml στην ομάδα control vs. $50,3 \pm 2,6$ pg/ml στην ομάδα των υποθυρεοειδικών ασθενών, $p=0,2$). Μετά από τη λήψη γλυκόζης από του στόματος τα επίπεδα και των δύο πεπτιδίων αυξήθηκαν σημαντικά στα πρώτα 60 λεπτά μετά τη χορήγηση γλυκόζης, ενώ επανήλθαν σχεδόν στα προ γλυκόζης επίπεδα στα 120 λεπτά (Εικόνα 3). Η συνολική έκκριση των πεπτιδίων στις 2 ώρες μετά τη χορήγηση γλυκόζης, ό-



Εικόνα 3. Μεταβολές των επιπέδων του GLP-1 και GIP στο πλάσμα μετά από per os φόρτιση με 75 gr γλυκόζης.

πως προσδιορίστηκε από τον υπολογισμό της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη (AUC), δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των υποθυρεοειδικών ασθενών και των υγιών μαρτύρων ($11194,9 \pm 267,5$ pg/ml*120 min vs. $12009,5 \pm 764,8$ pg/ml*120 min, $p=0,318$ αντίστοιχα για το GLP-1 και $23162,8 \pm 1226,37$ pg/ml*120 min vs. $26732,20 \pm 1643,4$ pg/ml*120 min, $p=0,085$ αντίστοιχα για το GIP) (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Συνολική έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1 μετά από per os φόρτιση με 75 gr γλυκόζης στους ασθενείς με υπο- και υπερθυρεοειδισμό.

Συσχετίσεις (β)

Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της συνολικής έκκρισης των πεπτιδίων GLP-1 και GIP και του ποσοστού μεταβολής, β-CTX στις δύο ώρες μετά τη λήψη γλυκόζης ($r=0,034$ για το GLP-1 και $r=0,057$ για το GIP, $p>0,05$)

β) Υπερθυρεοειδισμός

Επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού και ποσοστά μεταβολής των μετά από τη λήψη γλυκόζης

Τα βασικά επίπεδα των δεικτών οστικής κατασκευής P1NP και οστεοκαλσίνη ανευρέθησαν σημαντικά αυξημένα στους ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό σε σύγκριση με την ομάδα των μαρτύρων ($104,4 \pm 13,8$ ng/ml vs. $42,7 \pm 2,7$ ng/ml $p<0,001$, αντίστοιχα για το P1NP και $37,7 \pm 3,9$ ng/ml vs. $20,44 \pm 1,9$ ng/ml $p<0,001$, αντίστοιχα για την οστεοκαλσίνη). Σημαντικά αυξημένα ήταν και τα επίπεδα του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX στους υπερθυρεοειδικούς ασθενείς (877 ± 117 pg/ml vs. 372 ± 25 pg/ml, $p<0,001$). Η φόρτιση με γλυκόζη προκάλεσε και σε αυτήν την ομάδα των ασθενών σημαντική μεταβολή στα επίπεδα του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX, ενώ οι μεταβολές δεν ήταν σημαντικές για τους δείκτες οστικής κατασκευής P1NP και οστεοκαλσίνη (Εικόνα 1). Παρά τον υψηλό βασικό ρυθμό οστικού μεταβολισμού στους υπερθυρεοειδικούς ασθενείς το ποσοστό μεταβολής των δεικτών 2 ώρες μετά τη λήψη της γλυκόζης δεν διέφερε σημαντικά σε σύγκριση με τα αποτελέσματα των μαρτύρων (Εικόνα 2).

Συσχετίσεις (α)

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ των θυρεοειδικών ορμονών και του ποσοστού μεταβολής του δείκτη β-CTX δύο ώρες μετά τη λήψη γλυκόζης στους υπερθυρεοειδικούς ασθενείς ($r=0,122$ για την FT3, $r=0,167$ για την FT4 και $r=0,098$ για την TSH, $p>0,05$).

Έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1

Τα βασικά επίπεδα του πεπτιδίου GLP-1 στους ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό δεν διέφεραν σημαντικά από τα αντίστοιχα επίπεδα των υγιών μαρτύρων ($57,5 \pm 5,1$ pg/ml vs. $57,32 \pm 4,8$ pg/ml, $p=0,973$, αντίστοιχα). Η χορήγηση γλυκόζης αύξησε σημαντικά τα επίπεδα του GLP-1 και στις δύο ομάδες στα 60 λεπτά μετά τη χορήγηση (Εικόνα 3). Η συνολική έκκριση του

πεπτιδίου GLP-1 μετά τη χορήγηση γλυκόζης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων ($11864,23 \pm 759,4$ pg/ml*120 min στην ομάδα μαρτύρων vs. $11507,53 \pm 554$ pg/ml*120 min στους υπερθυροειδικούς ασθενείς, $p=0,716$) (Εικόνα 4).

Τα επίπεδα νηστείας του πεπτιδίου GIP βρέθηκαν σημαντικώς αυξημένα στους ασθενείς με υπερθυροειδισμό σε σύγκριση με την ομάδα των μαρτύρων ($303,12 \pm 10,8$ pg/ml vs. $182,37 \pm 14,55$ pg/ml, $p<0,001$ αντίστοιχα). Όπως και με το GLP-1, η χορήγηση γλυκόζης από του στόματος αύξησε σημαντικά τα επίπεδα του GIP στα πρώτα 60 λεπτά (Εικόνα 3) και στις δύο ομάδες. Η συνολική έκκριση του GIP υπήρξε σημαντικώς αυξημένη στους υπερθυροειδικούς ασθενείς σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων ($44053,34 \pm 1563,16$ pg/ml*120 min vs. $26839,91 \pm 1658,42$ pg/ml*120 min, $p<0,001$, αντίστοιχα) (Εικόνα 4).

Συσχετίσεις (β)

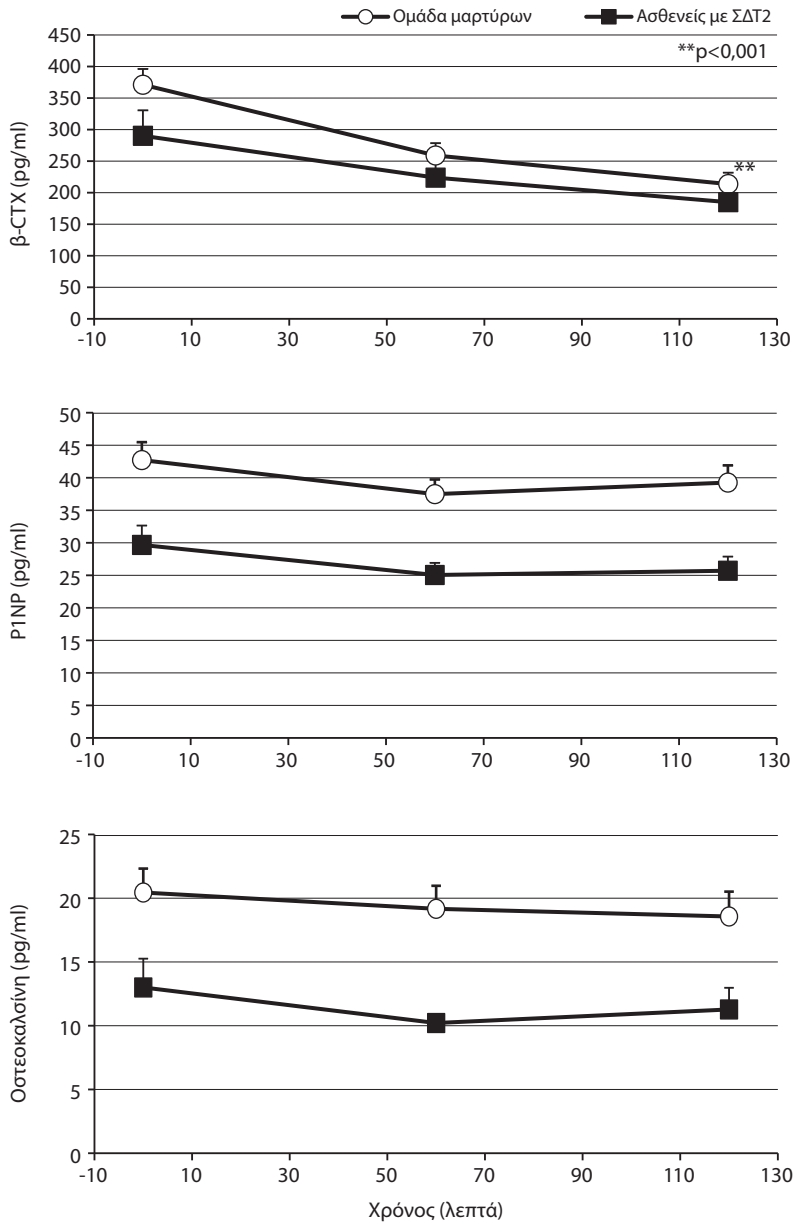
Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού μεταβολής του δείκτη β -CTX και της συνολικής έκκρισης (AUC) των πεπτιδίων GIP και GLP-1 στους υπερθυροειδικούς ασθενείς ($r=0,012$ για το GLP-1 και $r=0,108$ για το GLP-2, $p<0,05$)

γ) Σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2

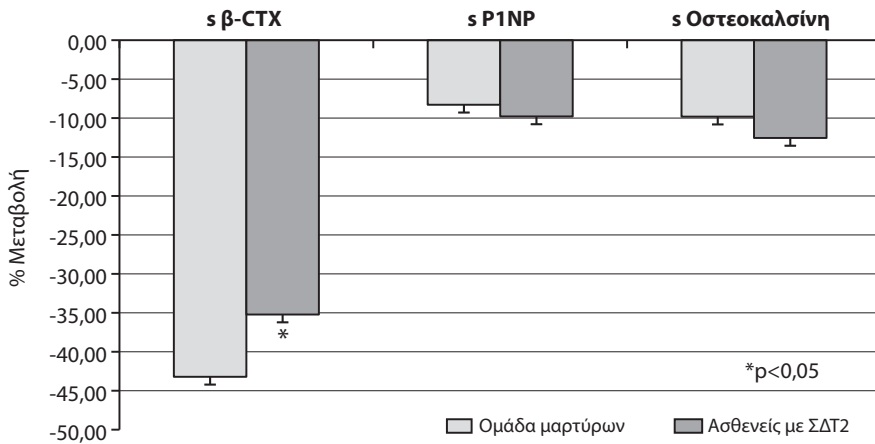
Επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού και ποσοστά μεταβολής των μετά από τη λήψη γλυκόζης

Τα βασικά επίπεδα των δεικτών οστικής κατασκευής P1NP και οστεοκαλσίνη ήταν σημαντικά μειωμένα στους ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 σε σχέση με την ομάδα των μαρτύρων ($29,67 \pm 2,98$ vs. $42,72 \pm 2,78$ ng/ml, $p=0,006$ αντίστοιχα για το P1NP και $13 \pm 2,26$ vs. $20,4 \pm 1,9$ ng/ml, $p=0,024$ αντίστοιχα για την οστεοκαλσίνη). Τα βασικά επίπεδα του β -CTX δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων ($371,1 \pm 25,24$ pg/ml για την ομάδα των μαρτύρων vs. $290,17 \pm 40,41$ pg/ml για την ομάδα των διαβητικών ασθενών, $p=0,098$).

Μετά τη λήψη γλυκόζης τα επίπεδα του β -CTX μειώθηκαν σημαντικά στις δύο ώρες μετά τη λήψη γλυκόζης τους διαβητικούς ασθενείς όπως και στην ομάδα των μαρτύρων (Εικόνα 5). Το ποσοστό μεταβολής του δείκτη β -CTX ήταν σημαντικά χαμηλότερο στους διαβητικούς ασθενείς σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων ($35\% \pm 3,5$ vs. $43\% \pm 2,3$, $p=0,036$) (Εικόνα 6).



Εικόνα 5. Μεταβολές των επιπέδων των δεικτών οστικού μεταβολισμού στον ορό μετά από *per os* φόρτιση με 75 gr γλυκόζης.



Εικόνα 6. Ποσοστά (%) μεταβολής των οστικών δεικτών στον ορό μετά από *per os* φόρτιση με 75 gr γλυκόζης σε ασθενείς με ΣΔΤ2.

Συσχετίσεις (α)

Δεν υπήρχε σημαντική συσχέτιση μεταξύ της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης (HbA1c) και του ποσοστού μεταβολής του δείκτη β-CTX μετά τη λήψη γλυκόζης ($r=0,103$, $p>0,05$).

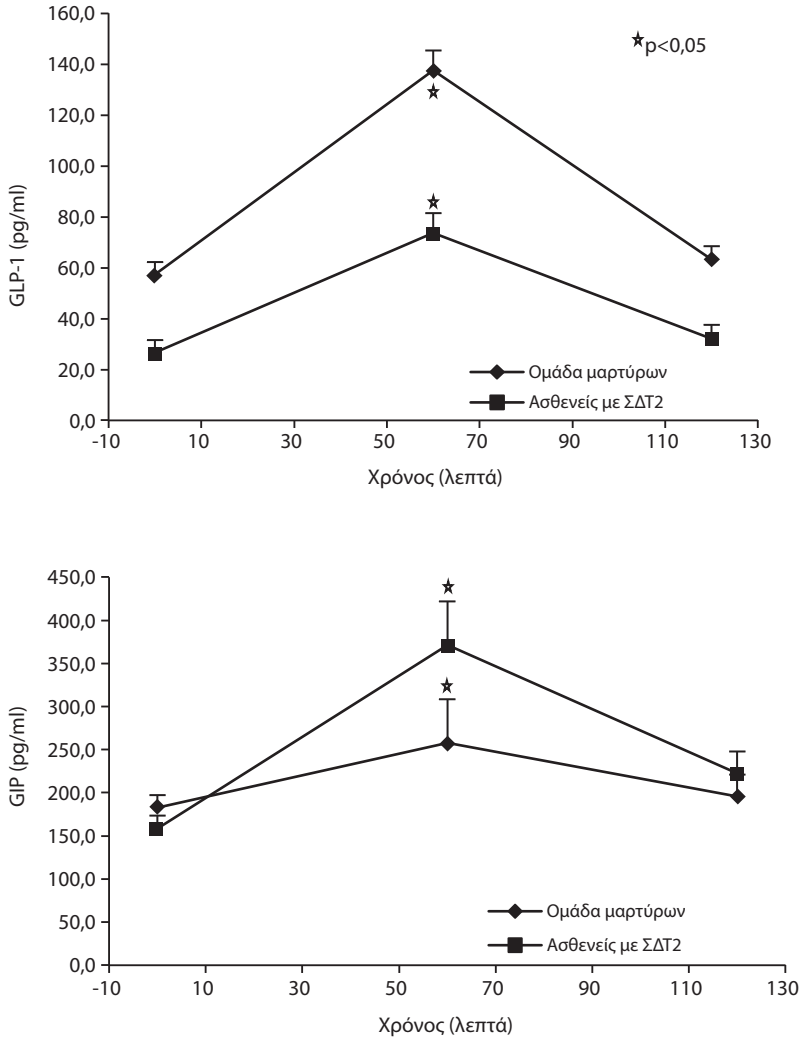
Έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1

Τα βασικά επίπεδα του GIP δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των διαβητικών ασθενών και των υγιών μαρτύρων ($158,5 \pm 14,8$ pg/ml vs. $181,54 \pm 14,2$ pg/ml, $p=0,270$, αντίστοιχα) (Εικόνα 7). Ωστόσο, η συνολική έκκριση του GIP μετά τη λήψη γλυκόζης ήταν σημαντικά αυξημένη στους διαβητικούς ασθενείς ($34066,7 \pm 3670$ pg/ml*120 min vs. $26839,9 \pm 1658,42$ pg/ml*10 min, $p=0,041$) (Εικόνα 8). Αντιθέτως, τα βασικά επίπεδα αλλά και η συνολική έκκριση του GLP-1 ήταν σημαντικά χαμηλότερα στους διαβητικούς ασθενείς σε σύγκριση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων ($26,64 \pm 2,2$ vs. $57,53 \pm 4,8$ pg/ml, $p<0,001$, και $6184,9 \pm 275$ pg/ml*120 min vs. $11864,23 \pm 759,4$ pg/ml*120 min, $p<0,001$, αντίστοιχα).

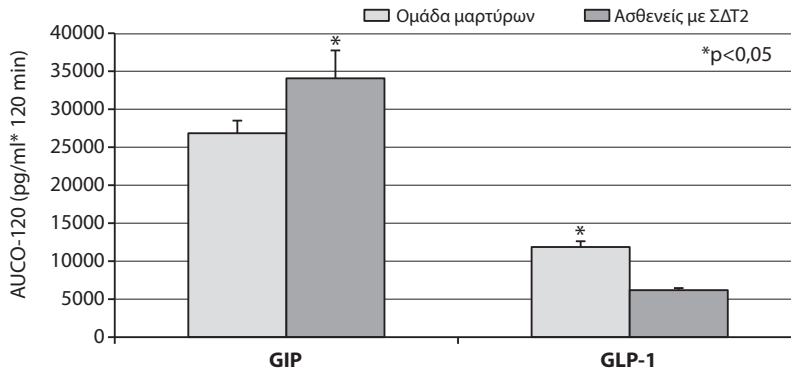
Συσχετίσεις (β)

Σημαντική αρνητική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ της συνολικής έκκρισης του GLP-1 και των επιπέδων της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης

στους διαβητικούς ασθενείς ($r=-0,44$, $p=0,037$). Δεν υπήρξαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού μεταβολής του δείκτη β -CTX και της συνολικής έκκρισης των πεπτιδίων GIP και GLP-1 ($r=0,101$ για το GIP και $r=0,074$ για το GLP-1, $p>0,05$).



Εικόνα 7. Μεταβολές των επιπέδων του GLP-1 και GIP στο πλάσμα μετά από per os φόρτιση με 75 gr γλυκόζης.



Εικόνα 8. Συνολική έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1 μετά από per os φόρτιση με 75 gr γλυκόζης σε ασθενείς με ΣΔΤ2.

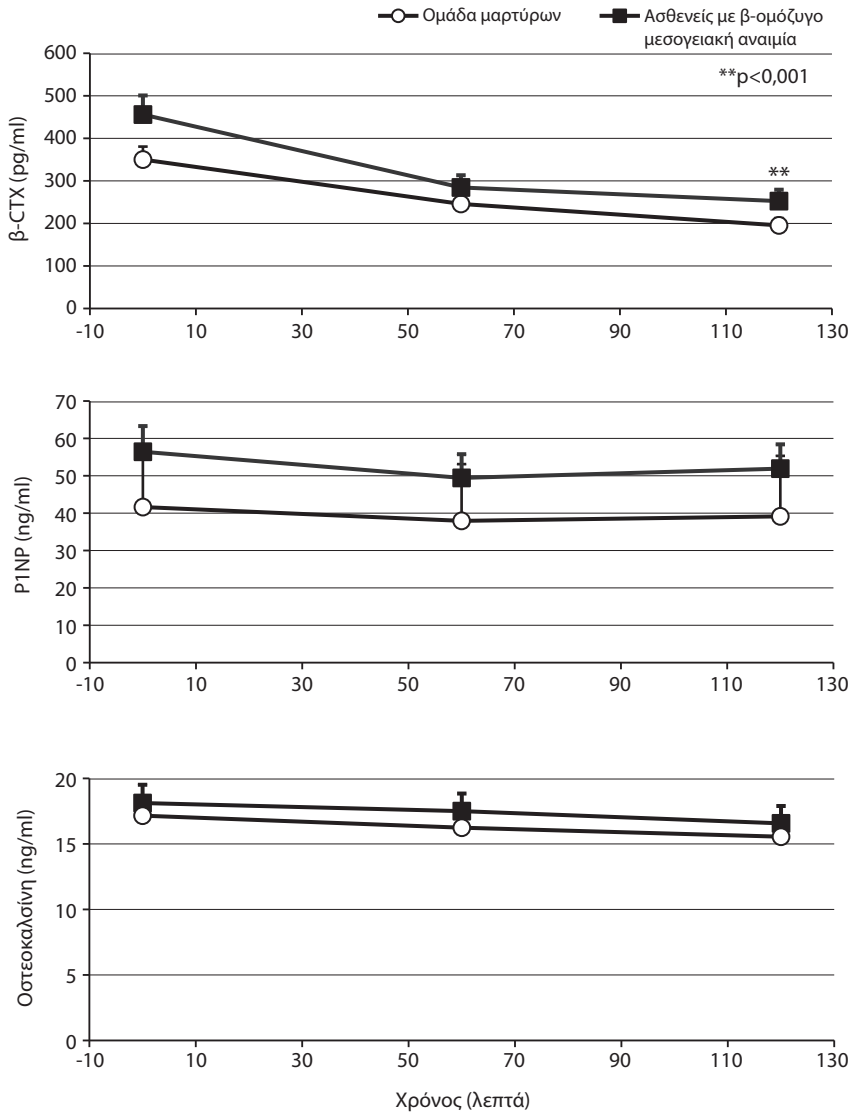
δ) Ασθενείς με ομόζυγο β-μεσογειακή αναιμία

Επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού και ποσοστά μεταβολής των μετά από τη λήψη γλυκόζης

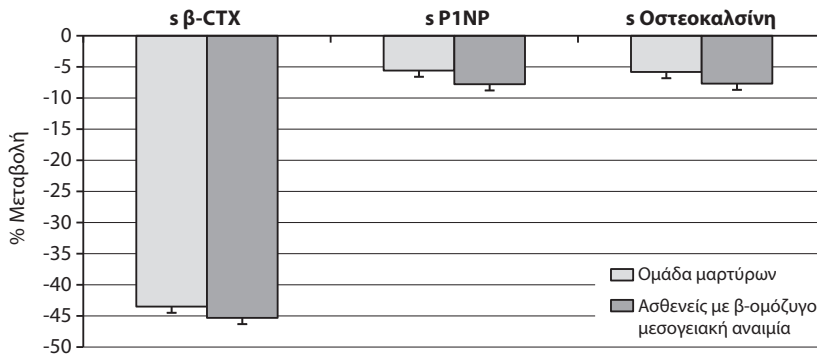
Τα βασικά επίπεδα του δείκτη οστικής κατασκευής P1NP αλλά όχι της οστεοκαλσίνης ήταν σημαντικώς αυξημένα στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία σε σύγκριση με την ομάδα των μαρτύρων. ($56,42 \pm 7,08$ vs. $40,12 \pm 2,80$ ng/ml, $p=0,039$, αντίστοιχα). Παρομοίως, τα επίπεδα του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX, ήταν σημαντικώς υψηλότερα στους ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία σε σύγκριση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων ($450 \pm 45,59$ pg/ml vs. 340 ± 32 pg/ml, $p=0,044$, αντίστοιχα). Μετά τη λήψη γλυκόζης τα επίπεδα του β-CTX ελαττώθηκαν σημαντικά στις 2 ώρες και στις δύο ομάδες, ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στους δείκτες οστικής κατασκευής (Εικόνα 9). Παρά τα αυξημένα επίπεδα νηστείας του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX το ποσοστό μεταβολής του στις δύο ώρες μετά τη φόρτιση με γλυκόζη δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ασθενών με μεσογειακή αναιμία και της ομάδας των μαρτύρων ($43,6\% \pm 0,02$ vs. $45,3\% \pm 0,02$, $p=0,684$, αντίστοιχα) (Εικόνα 10).

Συσχετίσεις (α)

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού μεταβολής του β-CTX και των επιπέδων της φερριτίνης του ορού ($r=0,054$, $p=0,788$) ή των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης ($r=0,049$, $p=0,654$), στους ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία.



Εικόνα 9. Μεταβολές των επιπέδων των δεικτών οστικού μεταβολισμού στον ορό μετά από *per os* φόρτιση με 75 gr γλυκόζης.



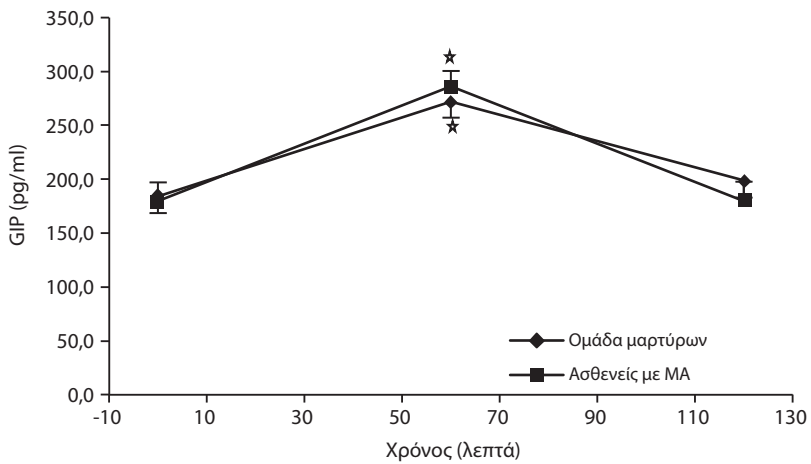
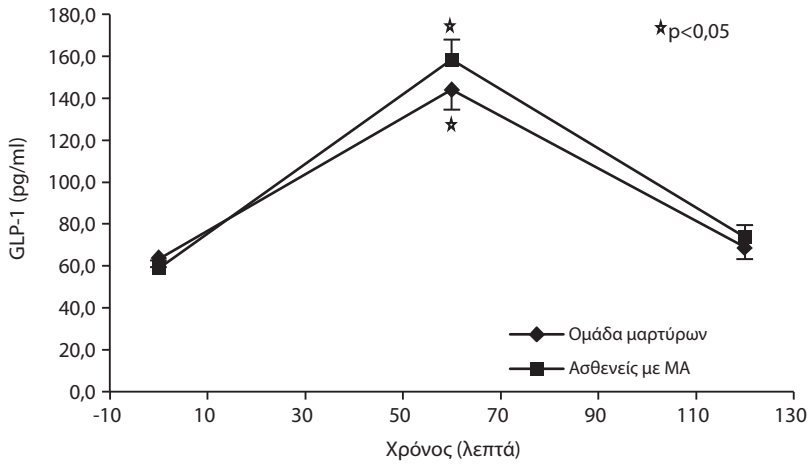
Εικόνα 10. Ποσοστά (%) μεταβολής των οστικών δεικτών στον ορό μετά από *per os* φόρτιση με 75 gr γλυκόζης σε ασθενείς με ομόζυγο β-μεσογειακή αναιμία.

Έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1

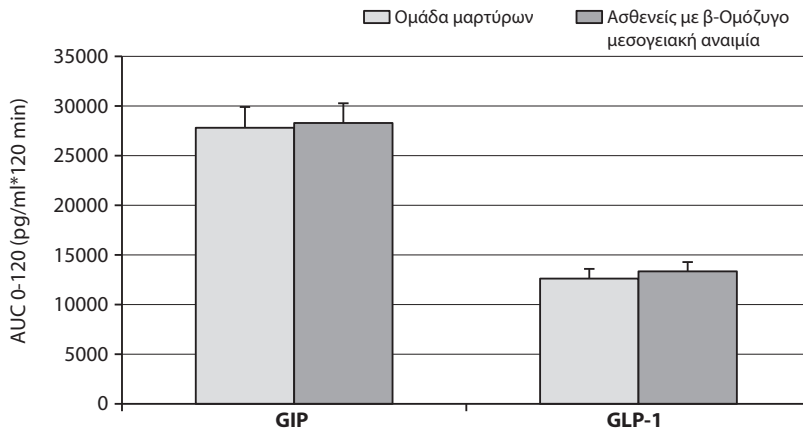
Οι βασικές τιμές των πεπτιδίων GIP και GLP δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ασθενών με μεσογειακή αναιμία και της ομάδας των υγιών μαρτύρων ($58,7 \pm 4,4$ pg/ml vs. $63,2 \pm 6,2$ pg/ml, $p=0,561$ αντίστοιχα για το GLP-1 και $182,3 \pm 17$ pg/ml vs $184 \pm 18,4$ pg/ml, $p=0,945$ αντίστοιχα για το GIP). Στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία η λήψη γλυκόζης *per os* αύξησε σημαντικά τα επίπεδα και των δύο πεπτιδίων στα 60 λεπτά μετά τη χορήγηση, ενώ τα επίπεδα τους μειώθηκαν στη συνέχεια προσεγγίζοντας τα προ της φόρτισης με γλυκόζη επίπεδα στα 120 λεπτά (Εικόνα 11). Παρόμοιες μεταβολές παρατηρήθηκαν και στην ομάδα των υγιών μαρτύρων, όπως ήταν αναμενόμενο από τη φυσιολογία της έκκρισης των δύο πεπτιδίων (Εικόνα 11). Η συνολική έκκριση του GIP και του GLP-1 στα 120 λεπτά μετά τη χορήγηση γλυκόζης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ασθενών με μεσογειακή αναιμία και των υγιών μαρτύρων ($13344,6 \pm 936,6$ pg/ml*120min vs. $12616,6 \pm 976,5$ pg/ml*120min, $p=0,592$ αντίστοιχα για το GLP-1 και $28288,6 \pm 1985,4$ pg/ml*120min vs. $27805,6 \pm 2094,5$ pg/ml*120 min, $p=0,868$, αντίστοιχα για το GIP) (Εικόνα 12).

Συσχετίσεις (β)

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού μεταβολής του δείκτη β-CTX και της συνολικής έκκρισης των πεπτιδίων GIP και του GLP-1, 2 ώρες μετά τη φόρτιση με γλυκόζη στους ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία ($r=0,242$ για το GIP και $r=0,165$, για το GLP-1, $p>0,05$).



Εικόνα 11. Μεταβολές των επιπέδων του GLP-1 και GIP στο πλάσμα μετά από *per os* φόρτιση με 75 gr γλυκόζης.



Εικόνα 12. Συνολική έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1 μετά από per os φόρτιση με 75 gr γλυκόζης σε ασθενείς με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκαν οι μεταβολές στους δείκτες οστικής κατασκευής και οστικής απορρόφησης μετά από *per os* φόρτιση με γλυκόζη σε διάφορες παθήσεις που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό μέσω διαφορετικών παθογενετικών μηχανισμών. Παράλληλα, μελετήθηκαν η συνολική έκκριση των γαστρεντερικών πεπτιδίων GIP και GLP-1 ως απάντηση στο φορτίο γλυκόζης, καθώς και η πιθανή συμμετοχή τους στο φαινόμενο της μεταγευματικής μεταβολής της οστικής απορρόφησης στις παθολογικές αυτές καταστάσεις.

Ο κριτικής σημασίας ρόλος των θρεπτικών συστατικών στην εύρυθμη λειτουργία και ακεραιότητα του οστίτη ιστού είναι από παλαιότερα γνωστός. Παθήσεις που χαρακτηρίζονται από διαταραχή της πρόσληψης τροφής ή της εντερικής απορρόφησης, όπως η νευρογενής ανορεξία ή οι φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου αντίστοιχα, επιπλέκονται με ελάττωση της οστικής μάζας και αύξηση του καταγματικού κινδύνου (Bernstein και συν 2002). Από παθοφυσιολογική άποψη, η διέγερση της οστικής απορρόφησης κατά τις περιόδους νηστείας, οδηγεί στην ταχεία κινητοποίηση και απελευθέρωση στην κυκλοφορία μετάλλων και ιχνοστοιχείων από τον οστίτη ιστό, έτσι ώστε να διατηρείται η ενεργειακή ισορροπία για τη διατήρηση της ενεργειακής ομοιοστασίας του οργανισμού στο σύνολό του. Κατ'αναλογία, σε περιόδους επαρκούς διαιτητικής πρόσληψης η οστική ανακατασκευή προσαρμόζεται στην παροχή ενέργειας από την προσλαμβανόμενη τροφή και καταστέλλει την οστική απορρόφηση στρέφοντας την ισορροπία του οστικού μεταβολισμού υπέρ της οστικής κατασκευής. Παρότι η σημασία της μεταγευματικής αυτής μεταβολής της οστικής ανακατασκευής είναι πλέον αδιαμφισβήτητη για τη διατήρηση της ενεργειακής ομοιοστασίας του οργανισμού και της λειτουργίας του σκελετού σε φυσιολογικές συνθήκες, υπάρχουν πολύ λίγα δε-

δομένα αναφορικά με τη φυσιολογική αυτή σκελετική απάντηση σε παθολογικές καταστάσεις που έχουν αρνητικό αντίκτυπο στον οστικό μεταβολισμό.

Οι παθήσεις που επιλέχθηκαν να μελετηθούν είναι οι δυσλειτουργίες του θυρεοειδούς αδένου, υπο και υπερθυρεοειδισμός, ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2 και η β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία. Το κοινό χαρακτηριστικό των παθήσεων αυτών είναι η διαταραχή της ποιότητας του οστίτη ιστού, με ή χωρίς συνοδό ελάττωση της οστικής μάζας, που οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων. Ωστόσο, οι υποκείμενοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί που οδηγούν στη τελική διαταραχή του οστικού μεταβολισμού διαφέρουν σημαντικά σε κάθε πάθηση.

Υποθυρεοειδισμός

Στην ομάδα των υποθυρεοειδικών ασθενών τα βασικά επίπεδα των δεικτών οστικής απορρόφησης και κατασκευής δεν διέφεραν σημαντικά σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων, όπως έχει ήδη αναφερθεί και σε άλλες μελέτες (Vestergaard και συν 2002; Stamato και συν 2000; Mosekilde και συν 1990). Σε ιστομορφομετρικές μελέτες που έγιναν σε υποθυρεοειδικούς ασθενείς διαπιστώθηκε ότι ο κύκλος οστικής εναλλαγής είναι σημαντικά παρατεταμένος και σχετίζεται με ελάττωση του ρυθμού οστικής ανακατασκευής. Μεγάλες πληθυσμιακές μελέτες, έδειξαν ότι ο κίνδυνος κατάγματος αυξάνει κατά 2 ή 3 φορές στους ασθενείς αυτούς ακόμη και δέκα έτη μετά την αρχική διάγνωση του υποθυρεοειδισμού (Vestergaard και συν 2002; Ahmed 2006). Ωστόσο, η οστική πυκνότητα παραμένει συνήθως εντός φυσιολογικών ορίων, γεγονός που υποδηλώνει τη διαταραχή της οστικής μικροαρχιτεκτονικής στους ασθενείς αυτούς και κατά συνέπεια την ελάττωση της οστικής ποιότητας που οδηγεί σε αύξηση της ευθραυστότητας των οστών. Σε μοριακό επίπεδο, έχει αποδειχθεί ότι η ανεπάρκεια της ενδοκυττάριας σηματοδοτικής οδού που ενεργοποιείται από την τριϊωδοθυρονίνη (T_3) μέσω του πυρηνικού υποδοχέα της TRa1 στα οστικά κύτταρα, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της TSH, είναι κατά κύριο λόγο υπεύθυνη για τις επιπλοκές που παρατηρούνται στον υποθυρεοειδισμό. Στην παρούσα μελέτη, το ποσοστό μείωσης της οστικής απορρόφησης μετά τη φόρτιση με γλυκόζη βρέθηκε σημαντικά αυξημένο στους υποθυρεοειδικούς ασθενείς σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων. Η ενίσχυση της φυσιολογικής αυτής οστικής απάντησης στη λήψη γλυκόζης, θα μπορούσε να θεωρηθεί ως αντισταθμιστικός μηχανισμός του σκελετού στην αρνητική επίδραση της ανε-

πάρεκτασης της T3, ο οποίος όμως δεν φαίνεται να σχετίζεται με τα επίπεδα της TSH και των ελευθέρων κλασμάτων των θυρεοειδικών ορμονών. Ωστόσο, η αδυναμία ακριβούς προσδιορισμού της ενάργξεως της νόσου και κατ'επέκταση του χρόνου έκθεσης του σκελετού στην ανεπάρκεια των θυρεοειδικών ορμονών δεν μας επιτρέπει να καταλήξουμε σε οριστικά συμπεράσματα σχετικά με τους υποκείμενους μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για τη ρύθμιση της μεταγευματικής μεταβολής της οστικής απορρόφησης στον υποθυρεοειδισμό.

Υπερθυρεοειδισμός

Αντιστοίχως, ο υπερθυρεοειδισμός χαρακτηρίζεται από υψηλό ρυθμό οστικής ανακατασκευής, ελαττωμένη οστική πυκνότητα και αύξηση του καταγματικού κινδύνου που υφίσταται έως και 5 χρόνια μετά την έναρξη θεραπευτικής αγωγής (Vestergaard και συν 2003; Vestergaard και συν 2005; Bauer και συν 2001).

Τα ιστομορφομετρικά αποτελέσματα μελετών από οστικές βιοψίες ασθενών με θυρεοτοξίκωση έδειξαν ότι τόσο η οστική κατασκευή όσο και η οστική απορρόφηση είναι αυξημένες στον υπερθυρεοειδισμό, ενώ διαπιστώθηκε βράχυνση του κύκλου οστικής εναλλαγής που οδηγεί τελικώς σε οστεοπόρωση (Eriksen και συν 1986). Σε αναλογία με άλλες μελέτες, τα βασικά επίπεδα των οστικών δεικτών ανευρέθησαν αυξημένα στους υπερθυρεοειδικούς ασθενείς της παρούσας μελέτης. Παράλληλα, η σημαντική καταστολή της οστικής απορρόφησης που διαπιστώθηκε μετά τη λήψη γλυκόζης, παρά τον αυξημένο βασικό ρυθμό οστικής ανακατασκευής, υποδηλώνει ότι η έκθεση του σκελετού στα αυξημένα επίπεδα των θυρεοειδικών ορμονών δεν επηρεάζει τη φυσιολογική αυτή απάντηση του οστίτη ιστού. Ωστόσο, η έλλειψη και εδώ στοιχείων που να αφορούν την διάρκεια της νόσου, καθιστά αδύνατη την εκτίμηση της δυναμικής επίδρασης του χρόνου έκθεσης του σκελετού στην περίσσεια των θυρεοειδικών ορμονών στο φυσιολογικό αυτό φαινόμενο.

Έχει αναφερθεί ότι τα γαστρεντερικά πεπτίδια GIP και GLP-1, 2 φαίνεται να είναι οι κύριοι μεσολαβητές της φυσιολογικής αυτής απάντησης του σκελετού στη λήψη τροφής (Henriksen και συν 2003). Τα πεπτίδια αυτά συντίθενται και εκκρίνονται από τα K και L κύτταρα του εντέρου αντίστοιχα, με την παρουσία τροφής στον εντερικό αυλό. Ο ρόλος τους στο φαινόμενο αυτό έχει αποδειχθεί κυρίως σε πειραματικό επίπεδο (in vitro και in vivo), ενώ είναι λίγα τα δεδομένα που αφορούν μελέτες σε υγιείς ενήλικες

(Henriksen και συν 2003). Τα νοσήματα δυσλειτουργίας του θυρεοειδούς διαταράσσουν τη λειτουργία του γαστρεντερικού συστήματος προκαλώντας ελαττωμένη ή αυξημένη εντερική κινητικότητα και γαστρική κένωση, στον υποθυρεοειδισμό και στον υπερθυρεοειδισμό αντίστοιχα (Ebert και συν 2010). Σε παλαιότερες μελέτες όπου μελετήθηκε η έκκριση του GIP σε υπο και υπερθυρεοειδισμό δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στην έκκριση του πεπτιδίου μετά από λήψη γλυκόζης (Doong και συν 1997; Hays και συν 1994), ενώ δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με την έκκριση του GLP-1 και GLP-2 στους ασθενείς αυτούς. Στην παρούσα μελέτη η έκκριση του GLP-1 και του GIP αυξήθηκε σημαντικά στα 60 πρώτα λεπτά μετά τη φόρτιση με γλυκόζη ενώ τα επίπεδα τους επανήλθαν στα προ της φόρτισης επίπεδα στα 120 λεπτά, όπως αναμένονταν από τη φυσιολογία των πεπτιδίων αυτών. Τα βασικά επίπεδα και η συνολική καμπύλη έκκρισης του GLP-1 μετά τη λήψη γλυκόζης δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ασθενών με υπο ή υπερθυρεοειδισμό και των υγιών μαρτύρων. Αντιθέτως, τα βασικά επίπεδα αλλά και η συνολική έκκριση του GIP ήταν σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό και ελαττώμενα στον υποθυρεοειδισμό. Η διαφορά αυτή πιθανόν να οφείλεται στην αντίστοιχη διαταραχή που προκαλείται στο ρυθμό γαστρικής κινητικότητας και κένωσης στα νοσήματα του θυρεοειδούς αδένου. Η απουσία αντίστοιχων διαφορών στην έκκριση του GLP-1 δεν μπορεί να εξηγηθεί από το σχεδιασμό του παρόντος ερευνητικού πρωτοκόλλου. Ωστόσο, η διαφορετική ανατομική εντόπιση K- και L κυττάρων, κατά μήκος του εντερικού σωλήνα πιθανώς να διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην διαφορετική απάντηση των πεπτιδίων GIP και GLP-1. Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού μεταβολής της οστικής απορρόφησης στους ασθενείς με δυσλειτουργία του θυρεοειδούς αδένου και της συνολικής έκκρισης των γαστρεντερικών πεπτιδίων. Συνεπώς, οι μεταβολές των GIP και GLP-1 δεν φαίνεται να είναι οι κύριοι ρυθμιστές της μεταγευματικής μεταβολής της οστικής απορρόφησης σε αυτήν την ομάδα των ασθενών.

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Οι ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 εμφανίζουν αυξημένο καταγματικό κίνδυνο που ανευρίσκεται μέχρι και 1,7 φορές μεγαλύτερος απ'οτι στα φυσιολογικά άτομα αντίστοιχης ηλικίας και φύλου (Vesteergaard και συν 2007; Lipscombe και συν 2007; Strotmeyer και συν 2005). Οι υποκείμενοι παθογενετικοί μηχανισμοί για το φαινόμενο αυτό δεν έχουν α-

κόμα πλήρως διαλευκανθεί, ενώ υποστηρίζεται ότι οι χρόνιες επιπλοκές του διαβήτη, όπως η νευροπάθεια και η αμφιβληστροειδοπάθεια, προδιαθέτουν σε αυξημένο κίνδυνο πτώσεων. Σε δυσαναλογία με τον αυξημένο καταγματικό κίνδυνο η οστική μάζα συχνά ανευρίσκεται αυξημένη στους διαβητικούς ασθενείς τύπου 2, υποδηλώνοντας ότι η υποκειμένη διαταραχή αφορά κυρίως τη μικροαρχιτεκτονική του οστίτη ιστού. Σε συμφωνία με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, διαπιστώθηκε ότι στους ασθενείς με ΣΔΤ2 τα επίπεδα των δεικτών οστικής κατασκευής είναι ελαττωμένα σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα αντίστοιχης ηλικίας, φύλου και ΔΜΣ, (Shu και συν 2011; Kanazawa και συν 2011), ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο με τους δείκτες οστικής απορρόφησης, ενδεικτικό της διαταραχής της οστεοβλαστικής, κυρίως, λειτουργίας. Κατά τη διάρκεια διεξαγωγής της μελέτης μας, δημοσιεύτηκε μία μελέτη (Chailurki και συν 2008), όπου γίνεται αναφορά στην απάντηση του σκελετού στη γλυκόζη στους διαβητικούς ασθενείς τύπου 2 και σε ασθενείς με διαταραγμένη δοκιμασία ανοχής στη γλυκόζη. Οι εν λόγω ερευνητές έδειξαν ότι το ποσοστό μεταβολής της οστικής απορρόφησης μετά τη φόρτιση με γλυκόζη ελατώνεται σημαντικά στους διαβητικούς ασθενείς, καταδεικνύοντας έναν επιπρόσθετο παράγοντα που δύναται να συμμετέχει στη διατάραξη της οστικής ποιότητας που παρατηρείται στο ΣΔΤ2. Ωστόσο, στη μελέτη αυτή δεν υπήρχε αναφορά στο ρολό της ρύθμισης της υπεργλυκαιμίας, όπως αυτή εκτιμάται από τα επίπεδα της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης, αλλά και των επιπέδων των γαστρεντερικών πεπτιδίων στο μηχανισμό του φυσιολογικού αυτού φαινομένου. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν, όπως έχει ήδη αναφερθεί (Crockett και συν 1976; Nauck και συν 2004), ότι τα βασικά επίπεδα αλλά και η συνολική έκκριση του πεπτιδίου GLP-1 είναι σημαντικά ελαττωμένα στους διαβητικούς ασθενείς σε σχέση με υγιή άτομα παρόμοιας ηλικιακής κατανομής και φύλου, ενώ παρουσιάζουν σημαντική αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης. Παράλληλα και σε αναλογία πάλι με την υπάρχουσα βιβλιογραφία (Crockett και συν 1976; Nauck και συν 2004), τα επίπεδα του GIP και η συνολική του έκκριση ήταν αυξημένα στους διαβητικούς ασθενείς σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων. Δεν βρέθηκε καμία, ωστόσο, σημαντική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού μεταβολής της οστικής απορρόφησης και των επιπέδων της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης ή των γαστρεντερικών πεπτιδίων, υποδηλώνοντας και εδώ την ανεξαρτησία των μηχανισμών που ρυθμίζουν το φαινόμενο αυτό από τη διαταραχή του οστι-

κού μεταβολισμού και την διαταραγμένη έκκριση των γαστρεντερικών πεπτιδίων που παρατηρείται στο ΣΔΤ2.

β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία

Η οστική νόσος που παρατηρείται στους ασθενείς με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία χαρακτηρίζεται από ελάττωση της οστικής κατασκευής με συνυπόδη αύξηση της οστικής απορρόφησης. Διάφοροι γενετικοί παράγοντες, όπως πολυμορφισμοί στα γονίδια του κολλαγόνου και της βιταμίνης D, αλλά και επίκτητοι παράγοντες, όπως η αύξηση του χώρου που καταλαμβάνει ο μυελός των οστών λόγω ανεπαρκούς αιμοποίησης, η τοξική δράση της υπερφόρτωσης του σιδήρου στους περιφερικούς ιστούς, συμπεριλαμβανομένου και του οστίτη ιστού, αλλά και η τοξικότητα της θεραπείας αποσιδήρωσης εμπλέκονται στους παθογενετικούς μηχανισμούς που προκαλούν οστική απώλεια στη μεσογειακή αναιμία (Haidar και συν 2010; Voskaridou και συν 1998). Σημαντικό είναι επίσης το γεγονός ότι ακόμα και σε ασθενείς με ικανοποιητικό έλεγχο της αναιμίας που υποβάλλονται σε συστηματικό πρόγραμμα μεταγγίσεων και αποσιδήρωσης το ποσοστό οστεοπόρωσης κυμαίνεται περίπου μεταξύ 40 και 50% (Jensen και συν 1998; Vogiatzi και συν 2005), καταδεικνύοντας τη σοβαρότητα της διαταραχής του οστικού μεταβολισμού στη β-μεσογειακή αναιμία.

Σε μοριακό επίπεδο, παρότι η δυσλειτουργία των οστεοβλαστών φαίνεται να είναι ο κύριος παθογενετικός μηχανισμός (Mahachoklertwattana και συν 2003), πρόσφατα δεδομένα έχουν δείξει ότι η αναιμία, μέσω διέγερσης της ερυθροποιητίνης και της επακόλουθης επέκτασης του μυελικού χώρου, οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης του RANKL και ενεργοποίηση της οστεοκλαστικής δραστηριότητας (Angelopoulos και συν 2007; Morabito και συν 2004). Όπως έχει δειχθεί και σε προηγούμενες μελέτες (Voskaridou και συν 2001; Angelopoulos και συν. 2007), τα βασικά επίπεδα του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία σε σύγκριση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων. Επίσης υψηλότερα ανευρέθησαν και τα επίπεδα του δείκτη οστικής κατασκευής P1NP, υποδηλώνοντας αυξημένο ρυθμό οστικής ανακατασκευής, ενώ δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στα επίπεδα οστεοκαλσίνης μεταξύ των ασθενών και των υγιών μαρτύρων. Τα αποτελέσματα αυτά αναφορικά με την οστεοκαλσίνη έρχονται σε αντίθεση με τα αντίστοιχα αποτελέσματα μιας δημοσιευμένης μελέτης των Morabito και συν (Morabito και συν 2004), οι οποίοι βρήκαν χαμηλότερα επίπεδα στους ασθενείς με β-μεσογειακή. Ωστό-

σο, η οστεοκαλσίνη συνιστά ένα πολύ μικρό ποσοστό των οστικών πρωτεϊνών συγκριτικά με το κολλαγόνο τύπου 1 που αποτελεί το 90% της οστικής θεμελίου ουσίας. Επιπλέον, το γονίδιο της οστεοκαλσίνης ρυθμίζεται άμεσα από τα επίπεδα της 1,25 διϋδροξυβιταμίνης D (Lian και συν 2001), τα οποία είναι συνήθως ελαττωμένα στους ασθενείς με β-μεσογειακή αναιμία (Naroli και συν 2006) και έτσι τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης στον πληθυσμό αυτό δεν είναι αξιόπιστα για την εκτίμηση της λειτουργίας των οστεοβλαστών. Παρά τον αυξημένο ρυθμό οστικής ανακατασκευής, το ποσοστό μεταβολής της οστικής απορρόφησης μετά τη λήψη γλυκόζης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των ασθενών με μεσογειακή αναιμία και των υγιών μαρτύρων, υποδηλώνοντας ότι η φυσιολογική αυτή απάντηση του σκελετού διατηρείται στους εν λόγω ασθενείς. Παράλληλα, δεν υπήρχε καμία συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού μεταβολής της οστικής απορρόφησης και των παραμέτρων ελέγχου της νόσου (αιμοσφαιρίνη για τα επίπεδα της αναιμίας και φερριτίνη ως δείκτης εκτίμησης της δευτεροπαθούς αιμοσιδήρωσης), υποδηλώνοντας την ανεξαρτησία της οστικής αυτής απάντησης από τις λειτουργικές επιπλοκές της νόσου.

Έχει αναφερθεί ότι η εναπόθεση περίσσειας σιδήρου στον εντερικό βλενογόνο των ασθενών, με μεσογειακή αναιμία ενδέχεται να επηρεάζει τη λειτουργία και την έκκριση του εντερικού επιθηλίου αλλά και των ενδοκρινικών κυττάρων του γαστρεντερικού σωλήνα (Theil 2010). Στην παρούσα μελέτη, τα βασικά επίπεδα αλλά και η συνολική έκκριση των πεπτιδίων GIP και GLP-1 μετά τη φόρτιση με γλυκόζη δεν διέφεραν σημαντικά, συγκριτικά με την ομάδα των υγιών μαρτύρων, υποδηλώνοντας ότι η λειτουργία των K και L κυττάρων παραμένει άθικτη στους ασθενείς αυτούς.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που διενεργήθηκε με στόχο να ερευνήσει τη μεταβολή της οστικής απορρόφησης στη λήψη γλυκόζης, σε παθήσεις που διαταράσσουν τον οστικό μεταβολισμό μέσω διακριτών παθογενετικών μηχανισμών. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να γίνει αναφορά στη διαφορά που διαπιστώθηκε μεταξύ των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής και άλλων δημοσιευμένων μελετών αναφορικά με το ποσοστό μεταβολής του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX μετά τη φόρτιση με γλυκόζη σε υγιείς εθελοντές. Στην παρούσα μελέτη η ελάττωση του β-CTX ήταν περίπου 42%, ενώ σε δύο μελέτες των Henriksen και Chailurkit (Henriksen και συν 2003; Chailurkit και συν 2008)

το αντίστοιχο ποσοστό ήταν περίπου 50%. Δεδομένου, ωστόσο, του γεγονότος ότι τα επίπεδα των οστικών δεικτών στην κυκλοφορία αντανακλούν το επίπεδο του οστικού μεταβολισμού σε μία δεδομένη χρονική στιγμή, η χρησιμοποίηση στην παρούσα ερευνητική εργασία ομάδας υγιών ατόμων παρομοίου ΔΜΣ, ηλικίας και φύλου ως ομάδα αναφοράς, καθώς και η τήρηση σταθερών ερευνητικών συνθηκών (π.χ πρωινή λήψη αίματος μετά από ολονύκτια νηστεία) για όλους τους συμμετέχοντες, τεκμηριώνει την αντικειμενικότητα των αποτελεσμάτων.

Συμπερασματικά, στην παρούσα μελέτη δείξαμε ότι το φυσιολογικό φαινόμενο της μεταγευματικής ελάττωσης της οστικής απορρόφησης, διατηρείται με μεταβολές, ωστόσο, στο βαθμό της σκελετικής απάντησης, σε παθήσεις που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό και είναι ανεξάρτητο από παραμέτρους που διαταράσσονται στα νοσήματα αυτά, υποδηλώνοντας τη σημασία του εν λόγω φαινομένου στην εύρυθμη λειτουργία και συνοχή του οστίτη ιστού. Επίσης, σε αντίθεση με αυτό που θα αναμενόταν από την υπάρχουσα βιβλιογραφία αναφορικά με το ρόλο των γαστρεντερικών πεπτιδίων στη μεταγευματική απάντηση του σκελετού σε φυσιολογικές συνθήκες, σε παθολογικές καταστάσεις οι μεταβολές στα βασικά επίπεδα αλλά και στη μεταγευματική έκκριση των γαστρεντερικών πεπτιδίων δεν φαίνεται να επηρεάζουν το βαθμό της μεταγευματικής ελάττωσης της οστικής απορρόφησης. Παρά την εντατική έρευνα που διεξάγεται σχετικά με τους μηχανισμούς που διέπουν τη βιολογία του οστικού μεταβολισμού στο σύνολό του, οι παράγοντες που ρυθμίζουν την ομοιοστασία της συνολικής ενέργειας του σώματος αλλά και του οστίτη ιστού παραμένουν εν πολλοίς άγνωστοι και μελλοντικές μελέτες αναμένεται να διαφωτίσουν περισσότερο το ρόλο των παγκρεατικών και εντερικών ορμονών στον οστικό μεταβολισμό τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές καταστάσεις.

Η ΜΕΤΑΓΕΥΜΑΤΙΚΗ ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΤΟΥ ΚΥΚΛΟΥ ΟΣΤΙΚΗΣ
ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ ΣΕ ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΕΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ
ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΟΝ ΟΣΤΙΚΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟ
(Κλινική Μελέτη)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Περίληψη

Σε φυσιολογικές συνθήκες ο κύκλος οστικής εναλλαγής εμφανίζει κυρτό κάρδιο ρυθμό με ελάττωση της οστικής απορρόφησης κατά τη διάρκεια της ημέρας και αύξησή της κατά τη διάρκεια της νύκτας. Πρόσφατα δεδομένα αναφέρουν ότι η παρουσία θρεπτικών συστατικών στον εντερικό σωλήνα πυροδοτεί μία σειρά μηχανισμών που έχουν ως καταληκτικό σημείο την ελάττωση της οστικής απορρόφησης μεταγευματικά. Ο άνθρωπος σκελετός, εκτός από τη στηρικτική λειτουργία που παρέχει στον οργανισμό αποτελεί και δεξαμενή ιχνοστοιχείων και μετάλλων, συμμετέχει στην ομοιοστασία του ασβεστίου και στηρίζει την αιμοποίηση διεγείροντας ή καταστέλλοντας τη διαδικασία της οστικής απορρόφησης ανάλογα με τις εκάστοτε ενεργειακές συνθήκες που επικρατούν στο σώμα.

Κριτικό ρόλο στη ρύθμιση της οστικής απορρόφησης μεταγευματικά φαίνεται να διαδραματίζουν το γλυκοζοεξαρτώμενο ινσουλινοτρόπο πεπτίδιο (GIP) και τα γλονκαγονόμορφα πεπτίδια (GLP-1 και 2) που εκκρίνονται με την παρουσία τροφής στο γαστρεντερικό σωλήνα.

Παρότι είναι πλέον αδιαμφισβήτητη η σημασία της μεταγευματικής ρύθμισης της οστικής ανακατασκευής για τη συνολική ομοιοστασία ενέργειας του οργανισμού και την εύρυθμη λειτουργία του οστίτη ιστού, δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με το πως επηρεάζεται αυτή σε παθήσεις που έχουν αρνητικό αντίκτυπο στον οστικό μεταβολισμό.

Οι θυρεοειδικές ορμόνες (τριϊώδοθυρονίνη και θυροξίνη) καθώς και η υποθαλαμική ορμόνη TSH ασκούν σημαντικές επιδράσεις στο σκελετό τόσο στην ανάπτυξη και αύξηση του οστίτη ιστού όσο και στη διατήρηση της οστικής μάζας και της οστικής ποιότητας στον ενήλικα σκελετό. Σε αρκετές μελέτες έχει αναφερθεί σημαντική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων των θυρεοειδικών ορμονών και της οστικής πυκνότητας ή του καταγματικού κινδύνου σε υγιή άτομα αλλά και σε ασθενείς με υπο- και υπερθυρεοειδισμό. Σε κυτταρικό επίπεδο, τόσο τα ελεύθερα κλάσματα των θυρεοειδικών ορμονών όσο και η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη ασκούν άμεση δράση στα οστικά κύτταρα, μέσω ειδικών υποδοχέων.

Ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2, είναι μία κληρονομική πάθηση που χαρακτηρίζεται από δυσλειτουργία του β-κυττάρου και αντίσταση των περιφερεικών ιστών στην ινσουλίνη. Η χρόνια υπεργλυκαιμία προκαλεί σημαντικές διαταραχές στη λειτουργία όλων σχεδόν των ιστών του ανθρωπίνου σώματος. Οι ασθενείς με ΣΔΤ2 εμφανίζουν αυξημένο καταγματικό κίνδυνο με φυσιολογική ή και αυξημένη οστική πυκνότητα, γεγονός που υποδηλώνει τη διαταραχή της οστικής ποιότητας στον ΣΔΤ2. Στους υποκείμενους παθογενετικούς μηχανισμούς που εμπλέκονται στη διαταραχή της οστικής μικροαρχιτεκτονικής στο ΣΔΤ2, περιλαμβάνονται η ελάττωση της ινσουλίνης και του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα IGF-1 σε ιστικό επίπεδο αλλά και οι αρνητικές επιδράσεις της χρόνιας υπεργλυκαιμίας, μέσω της παραγωγής των προϊόντων προχωρημένης γλυκοσυλίωσης τα οποία παρεμβάλλονται μεταξύ των δεσμών των μορίων κολλαγόνου και διαταράσσουν τη δομή της οστικής θεμελίου ουσίας.

Η β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία είναι μία κληρονομική αιμοσφαιρινοπάθεια που χαρακτηρίζεται από σοβαρή αναιμία λόγω ανεπαρκούς σύνθεσης της β-αλυσού της αιμοσφαιρίνης από τους ερυθροβλάστες. Η ελάττωμενη οστική μάζα και η διαταραχή της οστικής αντοχής που παρατηρείται στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο κατάγματος και αποτελεί σημαντική αιτία νοσηρότητας στους ασθενείς αυτούς. Η παθογένεια της οστικής νόσου στη μεσογειακή αναιμία είναι πολυπαράγοντική και περιλαμβάνει την αύξηση του χώρου που καταλαμβάνει ο μυελός των οστών στα μακρά οστά εις βάρος της οστικής μάζας, τις ενδοκρινικές διαταραχές λόγω της δευτεροπαθούς αιμοχρωμάτωσης των ενδοκρινικών αδένων, αλλά και γενετικούς παράγοντες που προδιαθέτουν σε ελάττωση της κορυφαίας οστικής μάζας. Σε μοριακό επίπεδο η κύρια διαταραχή είναι η δυσλειτουργία των οστεοβλαστών σε συνδυασμό με αύξηση της οστεο-

κλαστικής δραστηριότητας που οδηγεί σε διαταραχή της οστικής ανακατασκευής εις βάρος της οστικής κατασκευής.

Ασθενείς και Μέθοδοι

Στην παρούσα μελέτη έλαβαν μέρος συνολικά 148 ασθενείς (45 ασθενείς με υποθυρεοειδισμό, 40 ασθενείς με υπερθυρεοειδισμό, 30 ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 και 33 ασθενείς με β-ομόζυγο μεσογειακή αναιμία). Εβδομήντα οχτώ υγιείς εθελοντές αντιστοίχου ηλικίας και δείκτου μάζας σώματος (ΔΜΣ) συμπεριλήφθηκαν επίσης στη μελέτη.

Ερευνητικό πρωτόκολλο

Όλοι οι συμμετέχοντες μετά από ολονύκτια νηστεία υποβλήθηκαν σε OGTT με 75 gr γλυκόζης στις 7,30-9,30 το επόμενο πρωί. Τα επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού β-CTX, P1NP, και οστεοκαλσίνης στον ορό καθώς και τα επίπεδα των πεπτιδίων GIP, και GLP-1 στο πλάσμα προσδιορίστηκαν στους χρόνους 0, 60 και 120 λεπτά. Οι βιοχημικές εξετάσεις πραγματοποιήθηκαν στο Βιοχημικό Εργαστήριο και οι ραδιοανοσοβιολογικοί προσδιορισμοί στο Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου ΑΧΕΠΑ.

Στατιστική Ανάλυση

Όλες οι μετρήσεις εκφράζονται ως μέσοι όροι \pm Σταθερό Σφάλμα Μέσου (ΣΣΜ). Ο έλεγχος κανονικότητας των τιμών έγινε με τη μέθοδο Kolmogorov Smirnov. Για τις συγκρίσεις των τιμών των δεικτών οστικού μεταβολισμού στον ορό του αίματος χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος two tailed t-test για ανεξάρτητες μεταβλητές ή το μη-παραμετρικό τεστ Mann Whitney για τις μεταβλητές με μη κανονική κατανομή. Το φαινόμενο της μεταβολής της οστικής απορρόφησης και κατασκευής υπολογίστηκε με βάση τον τύπο $[(CTx0' - CTx120') / CTx0] * 100$, όπως έχει περιγραφεί σε προηγούμενες μελέτες. Για την εκτίμηση της συνολικής έκκρισης του GIP υπολογίστηκε η επιφάνεια κάτω από τη καμπύλη (Area under the curve) με βάση τον τραπεζοειδή κανόνα. Για τις συσχετίσεις μεταξύ των τιμών χρησιμοποιήθηκαν οι μέθοδοι συσχέτισης Pearson και Spearman. Στατιστικώς σημαντικές θεωρήθηκαν οι τιμές με $p < 0,05$.

Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα στατιστικά πακέτα SPSS 16,0 (Chicago Illinois, USA) και Graphpad Prisma (La Jolla CA, USA).

Αποτελέσματα

Παθήσεις θυρεοειδούς αδένα

Τα βασικά επίπεδα των βιοχημικών δεικτών της οστικής κατασκευής P1NP και οστεοκαλσίνη και της οστικής απορρόφησης β-CTX, δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των ασθενών με υποθυρεοειδισμό και της ομάδας των υγιών μαρτύρων. Μετά τη φόρτιση με 75 gr γλυκόζης, υπήρξε σημαντική ελάττωση των επιπέδων του β-CTX στον ορό δύο ώρες μετά τη λήψη και στις δύο ομάδες, ενώ δεν σημειώθηκε σημαντική μεταβολή στους δείκτες οστικής κατασκευής. Το ποσοστό μεταβολής του β-CTX δύο ώρες μετά τη λήψη της γλυκόζης, υπήρξε σημαντικά αυξημένο στον υποθυρεοειδισμό σε σχέση με τους υγιείς μάρτυρες ($52,52\% \pm 2,6$ vs. $43,2\% \pm 2,3$, $p=0,009$). Αντιθέτως στον υπερθυρεοειδισμό, τα βασικά επίπεδα των δεικτών οστικής κατασκευής και απορρόφησης ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με τα αντίστοιχα επίπεδα των υγιών μαρτύρων. Το ποσοστό ελάττωσης του δείκτη οστικής απορρόφησης β-CTX δύο ώρες μετά τη λήψη γλυκόζης, ωστόσο, δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων ($42\% \pm 1,8$ vs $43,2\% \pm 2,3$, $p=0,89$).

Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού μεταβολής του δείκτη β-CTX και των επιπέδων των θυρεοειδικών ορμονών στους ασθενείς με υπερ ή υποθυρεοειδισμό. Τα βασικά επίπεδα του πεπτιδίου GIP βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα ή υψηλότερα στους ασθενείς με υπο και υπερθυρεοειδισμό αντίστοιχα, σε σχέση με τα βασικά επίπεδα των υγιών μαρτύρων ενώ τα βασικά επίπεδα του πεπτιδίου GLP-1 δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ ασθενών και υγιών μαρτύρων

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Τα βασικά επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού βρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα στους ασθενείς με ΣΔΤ2 σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων. Δύο ώρες μετά τη λήψη γλυκόζης τα επίπεδα του δείκτη β-CTX οστικής απορρόφησης μειώθηκαν σημαντικά, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές στα επίπεδα των οστικών δεικτών P1NP και οστεοκαλσίνης. Το ποσοστό μεταβολής του β-CTX ήταν σημαντικά χαμηλότερο στο ΣΔΤ2 σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων (35% vs. $43,2\%$, $p=0,036$), δεν υπήρξε ωστόσο καμία συσχέτιση με τα επίπεδα της γλυκοσυλιωμένης αιμοσφαιρίνης. Τα επίπεδα των επιπέδων GIP και GLP1 βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερα ή και χαμηλότερα αντίστοιχα, στους διαβητικούς ασθενείς σε σχέση με την ομάδα των υγιών μαρτύρων.

β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία

Τα βασικά επίπεδα των δεικτών οστικού μεταβολισμού P1NP και β-CTX, αλλά όχι της οστεοκαλσίνης ήταν σημαντικά υψηλότερα στους ασθενείς με μεσογειακή αναιμία σε σχέση με την αντίστοιχη ομάδα των υγιών μαρτύρων. Ωστόσο, το ποσοστό μεταβολής της οστικής απορρόφησης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των δύο ομάδων. Παρομοίως τα επίπεδα των πεπτιδίων GIP και GLP-1, καθώς και η συνολική έκκρισή τους μετά τη λήψη γλυκόζης δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ ασθενών και μαρτύρων.

Συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων των πεπτιδίων GIP και GLP-1 και της ελάττωσης της οστικής απορρόφησης 2 ώρες μετά τη λήψη γλυκόζης

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ της μεταγευματικής ελάττωσης της οστικής απορρόφησης και της συνολικής έκκρισης των πεπτιδίων GIP και GLP-1, όπως αυτή εκτιμήθηκε από τον προσδιορισμό της επιφάνειας κάτω από την καμπύλη, σε καθεμία από τις υπό μελέτη παθήσεις.

Συμπεράσματα

Η μεταγευματική ελάττωση της οστικής απορρόφησης διατηρείται, αν και σε διαφορετικό βαθμό, σε παθήσεις όπως ο υπο και ο υπερθυρεοειδισμός, ο ΣΔΤ2 και η β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία, που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό μέσω διαφορετικών παθογενετικών μηχανισμών. Η φυσιολογική αυτή σκελετική απάντηση στη λήψη τροφής δεν φαίνεται να επηρεάζεται από τις μεταβολές των επιπέδων των πεπτιδίων GIP και GLP-1, υποδηλώνοντας τη συμμετοχή και άλλων παραγόντων στη ρύθμιση του οστικού μεταβολισμού από το γαστρεντερικό σωλήνα μεταγευματικά.

THE POSTPRANDIAL ALTERATION OF BONE TURNOVER IN
DISEASES THAT AFFECT BONE METABOLISM
(A CLINICAL STUDY)

SUMMARY AND CONCLUSIONS

Background

In the normal skeleton, bone remodeling shows a marked circadian pattern, with reduced bone resorption during daytime followed by a nocturnal increase. Recent studies have identified nutrient supply as the initial event that triggers this postprandial suppression of bone resorption. The human skeleton, as a mineral reservoir, participates in calcium homeostasis and supports hemopoiesis by stimulating or suppressing bone resorption depending on the nutrient availability in the circulation. Key signals for the postprandial regulation of bone resorption seem to arise from the gastrointestinal tract and glucose dependent insulinotropic peptide (GIP) and glucagon like peptides (GLP-1 and GLP-2) are considered to be the main candidates. Despite the significance of the nutrient-induced regulation of bone turnover in the general homeostasis and the functional integrity of the bone tissue, less is known about this postprandial adaptation of the skeleton in diseases that affect bone metabolism.

Thyroid hormones (T3 and T4) and the pituitary originated thyroid stimulating hormone (TSH) exert a series of well documented effects on the skeletal development and growth, as well as, on the maintenance of the adult bone mass and quality. Several studies have reported a marked relationship between thyroid status and bone mineral density (BMD) or fracture risk in healthy individuals as well as in patients with thyroid dysfunction.

Diabetes mellitus type 2 (T2DM) is a disease characterized by chronic el-

evations in serum glucose with profound effects on virtually all tissues. The skeletal manifestations of T2DM include an increased risk of fractures associated with normal or even high bone mass density compared to matched for age and gender healthy individuals. In part, the increased rate of fractures can be related to chronic complications of diabetes, such as diabetic neuropathy, nephropathy and retinopathy that can lead to a greater risk of falling. However, recent advances in our knowledge regarding the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus have shed light into the effect of the disease itself in the alteration of bone microarchitecture and in the increased bone fragility associated with T2DM. Possible underlying mechanisms include the effect of low tissue insulin and IGF-1 levels in bone metabolism as well as the effect of chronic hyperglycaemia through the generation of advanced glycation end products in collagen cross-linking and therefore in bone quality.

β -thalassemia major is a hereditary haemoglobinopathy, characterized by profound anemia due to a defect in the ability of erythroblasts to synthesize the beta chain of adult hemoglobin. Low bone mass and increased bone fragility in patients with beta-thalassemia major lead to increased risk of fractures and represent an important cause of morbidity in this population. The pathogenesis of thalassemia-induced bone disease is multifactorial and includes bone marrow expansion, endocrine dysfunction and iron overload, as well as, genetic susceptibility to attainment of low peak bone mass. At tissue level, it has been demonstrated that there is an osteoblast dysfunction together with increased osteoclast activity leading to imbalanced bone turnover in favor of bone resorption.

The present study was conducted in order to investigate the response of bone turnover markers after an oral glucose load in diseases such as hypothyroidism, hyperthyroidism, diabetes mellitus type 2 and beta-thalassemia major that affect bone metabolism through pathogenetically distinct mechanisms. In addition we also studied the secretion of the peptides GLP-1 and GIP and their potential association with the postprandial reduction of bone resorption

Patients and Methods

The study was approved by the research committee of Aristotle University of Thessaloniki. Eighty-five patients with thyroid disease (45 hypothyroid patients and 40 hyperthyroid patients) 30 patients with T2DM, 33 patients with beta-thalassemia major and 78 healthy individuals, matched for age and

BMI, were included in the study. Exclusion criteria were prior use of anti-thyroid drugs or thyroxine, concurrent diseases and medication that affect bone metabolism except for the disease tested, postmenopausal women less than 5 years after menopause, overt diabetes mellitus, impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose, history of malabsorption, peptic ulcer, liver or kidney diseases, gastrointestinal-operations, and inflammatory diseases of the gut. An oral glucose tolerance test with 75gr of glucose was performed after an overnight fast. Blood samples were collected at 0, 1 and 2 h after the ingestion of glucose. Serum levels of β -CTX, P1NP, Osteocalcin, GIP and GLP- were assayed.

Statistical analyses

Results are presented as mean \pm standard error of the mean (SEM). The postprandial response of bone turnover is expressed as the percentage change from baseline at 2 hours of OGTT for β -CTX, P1NP and osteocalcin. Differences between groups were assessed by two-tailed Student's *t*-test or the non-parametric Mann–Whitney *U*-test for independent samples, were appropriate. Paired sample *t*-test was used to assess differences between baseline values of bone markers and values at 2 hours after oral glucose within each group. Correlations between the percentage of change for β -CTX at two hours after oral glucose and baseline thyroid parameters FT₄, FT₃, TSH, in thyroid diseases, parameters of disease for β -thalassemic patients (ferritin and hemoglobin levels) and HbA1c for patients with DM2 were assessed by Pearson or Spearman correlation coefficient (*r*), as applicable. A value of *p*<0.05 was considered statistically significant.

Results

Thyroid diseases

Baseline values of markers of bone metabolism did not differ significantly between hypothyroid patients and the control group. However, the reduction of the bone resorption marker, β -CTX, 2 hours after the glucose load was significantly augmented in these patients (52% versus 43%, *p*=0,009). In hyperthyroidism, although the baseline values of β -CTX, P1NP and osteocalcin were significantly increased, consistent with the increased bone turnover seen in these patients, the postprandial reduction of bone resorption was not altered significantly (42,5% vs 43%). No statistical significant correlation was

reported between the postprandial reduction of bone resorption and any of the thyroid parameters. Baseline values and total secretion of GLP-1 did not differ in the patient group with hypothyroidism or hyperthyroidism and the control group. On the contrary, GIP levels were found significantly increased in hyperthyroidism and significantly decreased in hypothyroidism compared to the control group. 7

Diabetes Mellitus type 2 (T2DM)

Baseline values of bone turnover markers were significantly lower in patients with T2DM compared to the control group. At two hours after the glucose load, β -CTX levels demonstrated a significant reduction compared to baseline values, while markers of bone formation did not change significantly. The percentage reduction of β -CTX at 2 hours was significantly lower in patients with DMT2 compared to the control group (35% vs. 43,2%, $p=0,036$), but no correlation was demonstrated between this and HbA1c. Total secretion of GIP and GLP-1 were significantly increased and decreased respectively in patients with DMT2, compared to the control group.

β -Thalassemia major

Baseline values of β -CTX and P1NP, but not osteocalcin were significantly higher in the patient group compared to controls. At two hours after the glucose load, β -CTX levels demonstrated a significant reduction compared to baseline values while markers of bone formation did not change significantly. The postprandial reduction of β -CTX was comparable to the reduction observed in the control group (43,6% vs. 45,3%, $p=0,684$). Baseline values and total secretion of GIP and GLP-1 did not differ between thalassaemic patients and the control group.

Associations between total secretion of GIP and GLP-1 peptides and reduction of the bone resorption marker at 2 hours after glucose load

No association was detected between the postprandial reduction of bone resorption and the total secretion of GIP and GLP-1, as this was calculated based on Areas Under the Curve for each peptide, in all groups tested.

Conclusion

The postprandial reduction of bone resorption is maintained, albeit in a different degree, in diseases such hypo- or hyperthyroidism, type 2 diabetes

mellitus and β -thalassemia major, that affect bone metabolism through distinct pathogenetic mechanisms. Furthermore this physiologic skeletal response to glucose load does not seem to be affected by alterations in the secretion of GIP and GLP-1, suggesting that other factors might be involved in the regulation of bone metabolism by nutrients.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Γιώβος Ι, Τσιλχοροζίδου Τ. Φωσφόρος. Μία κλινική θεώρηση. University Studio Press. University Studio Press.
- Γιώβος Ι, Γιαβροπούλου Μ. Η δομή και λειτουργία των οστών. Τα οστικά κύτταρα - Δομές και λειτουργίες. University Studio Press.
- Abel ED, Ahima RS, Boers ME, Elmquist JK, Wondisford FE Critical role for thyroid hormone receptor beta2 in the regulation of paraventricular thyrotropin-releasing hormone neurons. *J Clin Invest* 2002;107:1017-1023.
- Abel ED, Boers ME, Pazos-Moura C, Moura E, Kaulbach H, Zakaria M, Agrawal M, Zhu G, Sun L, Zaidi M, Iqbal J. The role of FSH and TSH in bone loss and its clinical relevance. *Curr Osteoporos Rep* 2010; 8(4): 205-11.
- Ahmed LA, Schirmer H, Berntsen GK, Fonnebo V, Joakimsen RM Self-reported diseases and the risk of non-vertebral fractures: the Tromsø study *Osteoporos Int* 2006;17:46-53.
- Anapliotou ML, Kastanias IT, Psara P, Evangelou EA, Liparaki M, Dimitriou P. The contribution of hypogonadism to the development of osteoporosis in thalassaemia major: new therapeutic approaches. *Clin Endocrinol* 1995; 42:279-287.
- Angelopoulos NG, Goula A, Katounda E, Rombopoulos G, Kaltzidou V, Kaltsas D, Malaktari S, Athanasiou V, Tolis G. Circulating osteoprotegerin and receptor activator of NF-kappaB ligand system in patients with beta-thalassemia major. *J Bone Miner Metab* 2007; 25:60-7
- Angelopoulos NG, Goula A, Katounda E, Rombopoulos G, Kaltzidou V, Kaltsas D, Konstandelou E, Tolis G. Markers of bone metabolism in eugonadal female patients with beta-thalassemia major. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007; 24:481-91.

- Arcasoy A, Canata D, Sinav B, Kutlay L, Oguz N, Sen M. Serum zinc levels and zinc binding capacity in thalassemia. *J Trace Elem Med Biol* 2001; 15:85-87.
- Ariyasu H, Takaya K, Tagami T, Ogawa Y, Hosoda K, Akamizu T. Stomach is a major source of circulating ghrelin, and feeding state determines plasma ghrelin-like immunoreactivity levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(10):4753-8.
- Asagiri M, Takayanagi H. The molecular understanding of osteoclast differentiation. *Bone* 2007; 40:251-264.
- Atley LM, Mort JS, Lalumiere M, Eyre DR. Proteolysis of human bone collagen by cathepsin K: Characterization of the cleavage sites generating by cross-linked N-telopeptide neoepitope. *Bone* 2000; 26:241-247.
- Aubin JE, Heersche JNM. Cellular actions of parathyroid hormone on osteoblast and osteoclast differentiation. In "The Parathyroids" (J.P. Bilezikian, R. Marcus, M. Levine, eds.), 2nd Ed. 2001; pp. 199-211. Academic Press, San Diego
- Aubin JE. Regulation of osteoblast differentiation and function. *Rev Endocr Metab Disord* 2001; 2:81-94.
- Bachrach L. Skeletal development in childhood and adolescence. In: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism* (7th edition), published by ASBMR 2010; pp74-80.
- Baggio LL, Drucker DJ. Clinical endocrinology and metabolism. GLP-1 and GLP-2. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2004; 18:531-534.
- Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology* 2007; 148: 2635 - 2643.
- Bassett JH, Williams GR. Critical role of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in bone. *Bone* 2008; 43:418-426.
- Bauer DC, Ettinger B, Nevitt MC, Stone KL. Risk for fracture in women with low serum levels of thyroid-stimulating hormone. *Ann Intern Med* 2001;134:561-568.
- Bauer DC, Nevitt MC, Ettinger B, Stone K. Low thyrotropin levels are not associated with bone loss in older women: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:2931-2936.
- Beber EH, Capelo LP, Fonseca TL, Costa CC, Lotfi CF, Scanlan TS, Gouveia CH. The Thyroid Hormone Receptor (TR) β -Selective Agonist GC-1 Inhibits Proliferation But Induces Differentiation and TR β

- mRNA Expression in Mouse and Rat Osteoblast-Like Cells. *Calcif Tissue Int* 2009; 84:324-333.
- Bekheirnia MR, Abllah Shahirsaz A, Kamgar M, Bouzari N, Erfanzadeh G, Pourzahedgilani N, Tataie SM, Abllah Shahirsaz A, Kimiagar M, Ez-zati F, Larijani B. Serum zinc and its relation to bone mineral density in beta-thalassemic adolescents. *Biol Trace Elem Res* 2004;97:215-224.
- Berkes CA, Tapscott SJ. MyoD and the transcriptional control of myogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2005;16: 585 - 895.
- Berkovitch M, Bistritzer T, Milone SD, Perlman K, Kucharczyk W, Olivieri NF. Iron deposition in the anterior pituitary in homozygous beta-thalassemia: MRI evaluation and correlation with gonadal function. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2000; 13:179-184.
- Bernstein CN, Leslie WD. The pathophysiology of bone disease in gastrointestinal disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15:857-864.
- Bertoldo F, D'Agnuma L, Furlan F, Colapietro F, Lorenzi MT, Maiorano N, Iolascon A, Zelante L, Locascio V, Gasparini P. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphism, bone turnover, and bone mass in Italian postmenopausal women. *J Bone Min Res* 2000; 15:634-639.
- Bjarnason NH, Henriksen EE, Alexandersen P, Christgau S, Henriksen DB, Christiansen C. Mechanism of circadian variation in bone resorption. *Bone* 2002; 30: 307-13
- Bjerkness M, Cheng H. Modulation of specific intestinal epithelial progenitors by enteric neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 12497-12502
- Bollag RJ, Zhong Q, Phillips P, Min L, Zhong L, Cameron R, Mulloy AL, Rasmussen H, Qin F, Ding KH, Isaacs CM. Osteoblast-derived cells express functional glucose-dependent insulinotropic peptide receptors. *Endocrinology* 2000; 141:1228-35.
- Bonewald LF. Establishment and characterization of an osteocyte-like cell line, MLO-Y4. *J Bone Miner Metab* 1999;17:61-5.
- Bonewald LF. Transforming Growth Factor- β , In *Principles of Bone Biology*, J.P. Bilezikian, L.G. Raisz and G.A. rodan Editors, Academic Press Publishers, Chapter 49, 2002; 903-918.
- Bonewald LF. Generation and function of osteocyte dendritic processes *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2005; 5:321-324.
- Bonewald LF, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone* 2008; 42:606-15.
- Botolin S, McCabe LR. Bone loss and increased bone adiposity in sponta-

- neous and pharmacologically induced diabetic mice. *Endocrinology* 2007; 148: 198-205.
- Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423:337-342.
- Brill PW, Winchester P, Giardina PJ, Cunningham-Rundles S. Deferoxamine-induced bone dysplasia in patients with thalassemia major. *American Journal of Roentgenology*. 1991;156:561-565.
- Britto JM, Fenton AJ, Holloway WR, Nicholson GC. Osteoblasts mediate thyroid hormone stimulation of osteoclastic bone resorption. *Endocrinology* 1994;134: 169-176.
- Bruzzaniti A, Baron R. Molecular regulation of osteoclast activity. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2007;7:123-39.
- Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, Scully S, Tan HL, Xu W, Lacey DL, Boyle WJ, Simone WS. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes & Development* 1998; 12:1260-1268.
- Burguera B, Hofbauer LC, Thomas T, Gori F, Evans GL, Khosla S, Riggs BL, Turner RT. Leptin reduces ovariectomy induced bone loss in rats. *Endocrinology* 2001;142:3546-3553
- Burrin DG, Petersen Y, Stoll B, Sangild P. Glucagon - like peptide: a nutrient responsive gut growth factor. *J Nutr* 2001; 131: 709-712
- Calvi LM, Sims NA, Hunzelman JL. Activated parathyroid hormone/parathyroid hormone-related protein receptor in osteoblastic cells differentially affects cortical and trabecular bone. *J Clin Invest* 2001; 107: 277-286.
- Canalis E, Mc Carthy TL, Centrella M. Growth factors and cytokines in bone cell metabolism. *Annu Rev Med* 1991; 42:17-24.
- Canatan D, Akar N, Arcasoy A. Effects of calcitonin therapy on osteoporosis in patients with thalassemia. *Acta Haematol* 1995; 93:20-4.
- Cancela L, Hsieh CL, Francke U, Price PA. "Molecular structure, chromosome assignment, and promoter organization of the human matrix Gla protein gene". *J Biol Chem* 1990; 265(25): 15040-8.
- Carmina E, Di Fede G, Napoli N, Renda G, Vitale G, Lo Pinto C, Bruno D, Malizia R, Rini GB. Hypogonadism and hormone replacement therapy on bone mass of adult women with thalassemia major. *Calcif Tissue Int* 2004; 74:68-71.
- Celil AB, Hollinger JO, Campbell PG. Osx transcriptional regulation is me-

- diated by additional pathways to BMP2/Smad signaling. *J Cell Biochem* 2005; 95: 518 - 528.
- Chailurkit LO, Chanprasertyothin S, Rajatanavin R, Ongphiphadhanakul B. Reduced attenuation of bone resorption after oral glucose in type 2 diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 68:858-62.
- Chan YL, Pang LM, Chik KW, Cheng JC, Li CK. Patterns of bone diseases in transfusion-dependent homozygous thalassaemia major: predominance of osteoporosis and desferrioxamine - induced bone dysplasia. *Pediatr Radiol* 2002; 32:492-497.
- Cheng SL, Shao JS, Charlton-Kachigian N, Loewy AP, Towler DA. MSX2 promotes osteogenesis and suppresses adipogenic differentiation of multipotent mesenchymal progenitors. *J Biol Chem* 2003; 278: 45969-45977.
- Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr* 2004; 79(5):820-5.
- Christgau S. Circadian variation in serum CrossLaps concentration is reduced in fasting individuals. *Clin Chem* 2000; 46: 431.
- Clowes JA, Allen HC, Prentis DM, Eastell R, Blumsohn A. Octreotide abolishes the acute decrease in bone turnover in response to oral glucose. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:4867-4873
- Clowes JA, Hannon RA, Yap TS, Hoyle NR, Blumsohn A, Eastell R. Effect of feeding on bone turnover markers and its impact on biological variability of measurements. *Bone* 2002; (6): 886-90.
- Clowes JA, Khosla S, Eastell R. Potential role of pancreatic and enteric hormones in regulating bone turnover. *J Bone Miner Res* 2005; 20 (9):1497-506.
- Clowes JA, Riggs BL, Khosla S. The role of the immune system in the pathophysiology of osteoporosis. *Immunol Rev* 2000;208: 207-27.
- Clowes JA, Robinson RT, Heller SR, Eastell R, Blumsohn A. Acute changes of bone turnover and PTH induced by insulin and glucose: Euglycemic and hypoglycemic hyperinsulinemic clamp studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3324-3329
- Clowes JA, Yap TS, Li J, Hoyle N, Blumsohn A, Hannon RA, Eastell R. The effect of feeding on bone turnover markers and its impact on biological variability of measurements. *Bone* 2002; 30:886-890
- Cohen AR, Galanello R, Pennell DJ, Cunningham MJ, Vichinsky E. Thalassaemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2004; 2:14-34.

- Coleman RA, Hermann TS. Nutritional regulation of leptin in humans. *Diabetologia* 1999; 42: 639-646. Conover CA, Lee PD, Riggs BL, Powell DR. Insulin-like growth factor-binding protein-1 expression in cultured human bone cells: regulation by insulin and glucocorticoid. *Endocrinology* 1996;137:3295-301.
- Cooley TB, Lee P. A series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone change. *Transactions of the American Pediatric Society* 1925; 10: 37-29.
- Cornish J, Callon KE, Bava U, Kamona SA, Cooper GJ, Reid IR. Effects of calcitonin, amylin and calcitonin gene-related peptide on osteoclast development. *Bone* 2001;29:162-168.
- Cornish J, Callon KE, Bava U, Lin C, Naot D, Hill BL, Grey AB, Broom N, Myers DE, Nicholson GC, Reid IR. Leptin directly regulates bone cell function in vitro and reduces bone fragility in vivo. *J Endocrinol* 2002;175:405-415
- Cornish J, Callon KE, King AR, Cooper GJ, Reid IR. Systemic administration of amylin increases bone mass, linear growth and adiposity in adult male mice. *Am J Physiol* 1998; 275: E694-E699.
- Cornish J, Callon KE, Reid IR. Insulin increases histomorphometric indices of bone formation in vivo. *Calcif Tissue Int* 1996; 59:492-495.
- Cornish J, Callon KE, Lin CQ, Xiao CL, Gamble GD, Cooper GJ, Reid IR. Comparison of the effects of calcitonin gene - related peptide and amylin in osteoblasts. *J Bone Miner Res* 1999; 19:S1; S416
- Creutzfeldt W. The [pre-] history of the incretin concept. *Reg Pept* 2005;128 87-91.
- Crockett SE, Mazzaferri EL, Cataland S. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) in maturity-onset diabetes mellitus. *Diabetes* 1976;25:931-5.
- Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes* 2001;50: 1714-9.
- Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 1995; 332: 767-73.
- Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, Stone K, Fox KM, Ensrud KE, Cauley J, Black D, Vogt TM. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 1995; 332:767-773.

- Davies TF, Ando T, Lin RY, Tomer Y, Latif R. Thyrotropin receptor-associated diseases: from adenomata to Graves disease. *J Clin Invest* 2005; 115:1972-1983.
- de L II, van der Klift M. Bone mineral density and fracture risk in type-2 diabetes mellitus: the Rotterdam Study. *Osteoporos Int* 2005; 16: 1713-20.
- De Sanctis V, Pinamonti A, Di Palma A, Sprocati M, Atti G, Gamberini MR, Vullo C. Growth and development in thalassaemia major patients with severe bone lesions due to desferrioxamine. *Eur J Pediatr* 1996;155:368-372.
- De Sanctis V, Stea S, Savarino L, Scialpi V, Traina GC, Chiarelli GM, Sprocati M, Govoni R, Pezzoli D, Gamberini R, Rigolin F. Growth hormone secretion and bone histomorphometric study in thalassaemic patients with acquired skeletal dysplasia secondary to desferrioxamine. *J Pediatr Endocrinol Metab* 1998;11: 827-833.
- De Vernejoul MC, Girot R, Gueris J, Cancela L, Bang S, Bielakoff J, Mautalen C, Goldberg D, Miravet L. Calcium phosphate metabolism and bone disease in patients with homozygous thalassemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;54 :276–281.
- De Virgiliis S, Congia M, Turco MP, Frau F, Dessi C, Argioli F, Sorcinelli R, Sitzia A, Cao A. Depletion of trace elements and acute ocular toxicity induced by desferrioxamine in patients with thalassaemia. *Arch Dis Child* 1988; 63:250-255.
- Del Pino-Montes J, Benito GE, Fernández-Salazar MP, Coveñas R, Calvo JJ, Bouillon R, Quesada JM. Calcitriol improves streptozotocin-induced diabetes and recovers bone mineral density in diabetic rats. *Calcif Tissue Int* 2004; 75(6):526-32.
- Delorme B, Chateauvieux S, Charbord P. The concept of mesenchymal stem cells. *Regen Med* 2006; 1: 497 - 509.
- Destaing O, Saltel F, Geminard JC, Jurdic P, Bard F. Podosomes display actin turn-over and dynamic self-organization in osteoclasts expressing actin-GFP. *Mol Biol Cell* 2003;14:407-416.
- Di Stefano M, Chiabotto P, Roggia C, Garofalo F, Lala R, Piga A, Isaia GC. Bone mass and metabolism in thalassaemic children and adolescents treated with different iron-chelating drugs. *J Bone Miner Metab* 2004; 22:53-57.
- Diamond T, Stiel D, Posen S. Osteoporosis in hemochromatosis: iron excess,

- gonadal deficiency, or other factors? *Ann Intern Med* 1989; 110:430-436.
- DiGirolamo DJ, Mukherjee A, Fulzele K. Mode of growth hormone action in osteoblasts. *J Biol Chem* 2007; 282: 31666-74.
- Ding KH, Shi XM, Zhong Q, Kang B, Xie D, Bollag WB, Bollag RJ, Hill W, Washington W, Mi QS, Insogna K, Chutkan N, Hamrick M, Isaacs CM. Impact of glucose-dependent insulinotropic peptide on age-induced bone loss. *J Bone Miner Res* 2008; 23:536-43.
- Dobnig H, Piswanger-Sölkner JC, Roth M, Obermayer-Pietsch B, Tiran A, Strele A, Maier E, Maritschnegg P, Sieberer C, Fahrleitner-Pammer A. Type 2 diabetes mellitus in nursing home patients: effects on bone turnover, bone mass, and fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:3355-63.
- Doong ML, Wang JW, Chung SC, Liu JY, Hwang C, Hwang CY, Day CH, Liu YF, Young TK, Ho LL, Wang PS. Regulation of thyroid hormones in the secretion of insulin and gastric inhibitory polypeptide in male rats. *Metabolism* 1997; 46 154-8.
- Dornonville de la CC, Lindqvist A, Egecioglu E, Tung YC, Surve V, Ohlsson C. Ghrelin treatment reverses the reduction in weight gain and body fat in gastrectomised mice. *Gut* 2005;54: 907-13.
- Dresner Pollack R, Rachmilewitz E, Blumenfeld A, Idelson M, Goldfarb AW. Bone mineral metabolism in adults with beta-thalassaemia major and intermedia. *Br J Haematol* 2000; 111:902-907.
- Drucker DJ. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86: 1759-1764.
- Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GLP-2. *Gastroenterology* 2007; 132:2131-2157.
- Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, Shen JH, Vinson C, Rueger JM, Karsenty G. Leptin inhibits bone formation through an hypothalamic relay: A central control of bone mass. *Cell* 2000;100:197-207.
- Dupre J, Ross SA, Watson D, Brown JC. Stimulation of insulin secretion by gastric inhibitory polypeptide in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 37:826-828.
- Ebert EC. The thyroid and the gut. *J Clin Gastro* 2010; 44: 402-6.
- Eferl R, Hoebertz A, Schilling AF, Rath M, Karreth F, Kenner L, Amling M, Wagner EF. The Fos-related antigen Fra-1 is an activator of bone matrix formation. *EMBO J*. 2004; 23: 2789-2799.

- Eghbali-Fatourehchi GZ, Lamsam J, Fraser D. Circulating osteoblast-lineage cells in humans. *N Engl J Med* 2005;352: 1566-1959.
- Elefteriou F, Benson MD, Sowa H. ATF4 mediation of NF1 functions in osteoblast reveals a nutritional basis for congenital skeletal dysplasias. *Cell Metab* 2006; 4: 441-451.
- Enomoto H, Enomoto-Iwamoto M, Iwamoto M. Cbfa1 is a positive regulatory factor in chondrocyte maturation. *J Biol Chem* 2000; 275: 8695-8702 .
- Eren E, Yilmaz N. Biochemical markers of bone turnover and bone mineral density in patients with beta-thalassaemia major. *Int J Clin Pract.* 2005; 59:46-51.
- Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F. Kinetics of trabecular bone resorption and formation in hypothyroidism: evidence for a positive balance per remodeling cycle. *Bone* 1986; 7:101-108.
- Favus M, Goltzman D Regulation of calcium and magnesium in: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism.* 7th ed. Published by ASBMR 2008; 104-108.
- Fehmann HC, Goke R, Goke B. Cell and molecular biology of the incretin hormones glucagon-like peptide -1 and glucose dependent insulin releasing polypeptide. *Endocr Rev* 1995; 16:(3): 390-410.
- Ferrara M, Matarese SM, Francese M, Borrelli B, Coppola A, Coppola L, Esposito L.) Effect of VDR polymorphisms on growth and bone mineral density in homozygous beta thalassaemia. *Br J Haematol* 2002;117: 436-440.
- Forrest D, Sjoberg M, Vennstrom B. Contrasting developmental and tissue-specific expression of alpha and beta thyroid hormone receptor genes. *EMBO J.* 1990; 9:1519-1528.
- Forsen L, Meyer HE, Midthjell K, Edna TH. Diabetes mellitus and the incidence of hip fracture: results from the Nord-Trondelag Health Survey. *Diabetologia* 1999;42: 920-5.
- Franceschi RT, Ge C, Xiao G, Roca H, Jiang D. Transcriptional regulation of osteoblasts. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1116:196 - 207.
- Franke S, Siggelkow H, Wolf G, Hein G. Advanced glycation end products influence the mRNA expression of RAGE, RANKL and various osteoblastic genes in human osteoblasts. *Arch Physiol Biochem* 2007; 113: 154-61.
- Fukushima N, Hanada R, Teranishi H, Fukue Y, Tachibana T, Ishikawa H.

- Ghrelin directly regulates bone formation. *J Bone Miner Res* 2005;20(5):790-8.
- Gardner DG, Shoback D. The thyroid gland. In: Greenspan's Basic and clinical Endocrinology 8th ed. Lange 2007.
- Gardner DG, Shoback D. Metabolic bone diseases In Greenspan's Basic and clinical endocrinology 8th ed. Lange 2008.
- Garnero P, Fledelius C, Gineyts E, Serre CM, Vignot E, Delmas PD. Decreased β -isomerization of the C-terminal telopeptide of type I collagen α 1 chain in Paget's disease of bone. *J Bone Min Res* 1997;12: 1407 - 1415.
- Garofalo F, Piga A, Lala R, Chiabotto S, Di Stefano M, Isaia GC. Bone metabolism in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 1998;850:475-478.
- Geoffriau M, Brun J, Chazot G, Claustrat B. The physiology and pharmacology of melatonin in humans. *Horm Res* 1998; 49(3-4): 136-141
- Ginaldi L, Di Benedetto MC, De Martinis M. Osteoporosis, inflammation and ageing. *Immun Ageing* 2005;2: 14.
- Gogakos AI, Duncan Bassett JH, Williams GR. Thyroid and bone. *Arch Biochem Biophys* 2010;503:129-36.
- Gordeladze JO, Drevon CA, Syversen U, Reseland JE. Leptin stimulates human osteoblastic cell proliferation, de novo collagen synthesis and mineralization: Impact on differentiation markers, apoptosis and osteoclastic signaling. *J Cell Biochem* 2002;85:825-836.
- Gorrell MD, Gysbers V, McCaughan GW. CD26 a multifunctional integral membrane and secreted protein of activated lymphocytes. *Scand J Immunol* 2001;54(3): 249-64.
- Gottschalk IB, Jeppesen PB, Hartmann B, Holst JJ, Henriksen DB. Effects of treatment with glucagon-like peptide-2 on bone resorption in colectomized patients with distal ileostomy or jejunostomy and short-bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2008a;43: 1304-10.
- Gottschalk IB, Jeppesen PB, Holst JJ, Henriksen DB. Reduction in bone resorption by exogenous glucagon-like peptide-2 administration requires an intact gastrointestinal tract. *Scand J Gastroenterol* 2008b; 43(8): 929-37.
- Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1092: 385-96.
- Haidar R, Musallam KM, Taher AT. Bone disease and skeletal complications in patients with β thalassemia major. *Bone* 2011; 48:425-432.

- Harada S, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature* 2003;423:349-355.
- Hatori M, Sparkman J, Teixeira CC, Grynepas M, Nervina J, Olivieri N, Shapiro IM. Effects of deferoxamine on chondrocyte alkaline phosphatase activity: prooxidant role of deferoxamine in thalassemia. *Calcif Tissue Int* 1995; 57:229-236.
- Hays JH, Silverman E, Potter BB, Shakir KM. Normal gastric inhibitory polypeptide response to oral glucose in hypothyroidism. *J Endocrinol* 1994;140 309-12.
- Heller RS, Kieffer TJ, Habener JF. Insulinotropic glucagon like peptide 1 receptor expression in glucagon-producing α -cells of the rat endocrine pancreas. *Diabetes* 1997;45:785-791.
- Henriksen DB. The Gut Feeling of Bone Remodeling *IBMS BoneKEy* 2005; 2(11): 16-23.
- Henriksen DB, Alexandersen P, Bjarnason NH, Vilsboll T, Hartmann B, Henriksen EE, Byrjalsen I, Krarup T, Holst JJ, Christiansen C. Role of gastrointestinal hormones in postprandial reduction of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2003; 18:2180-2189.
- Henriksen DB, Alexandersen P, Byrjalsen I, Hartmann B, Bone HG, Christiansen C, Holst JJ. Reduction of nocturnal rise in bone resorption by subcutaneous GLP-2. *Bone* 2004;34: 140-7.
- Henriksen DB, Alexandersen P, Hartmann B, Adrian CL, Byrjalsen I, Bone HG, Holst JJ, Christiansen C. Four-month treatment with GLP-2 significantly increases hip BMD: a randomized, placebo-controlled, dose-ranging study in postmenopausal women with low BMD. *Bone* 2009; 45: 833-42.
- Henriksen DB, Alexandersen P, Hartmann B, Adrian CL, Byrjalsen I, Bone HG, Holst JJ, Christiansen C. Disassociation of bone resorption and formation by GLP-2: a 14-day study in healthy postmenopausal women. *Bone* 2007; 40: 723-9.
- Henriksen DB, Hartmann B, Jeppesen J, Miholic J, Christensen C, Holst JJ. The postprandial bone resorption process is regulated by gastrointestinal signal. *J Bone Miner Res* 2004; 19:S92.
- Heshmati HM, Riggs BL, Burritt MF, McAlister CA, Wollan PC, Khosla S. Effects of the circadian variation in serum cortisol on markers of bone turnover and calcium homeostasis in normal postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:751-6.

- Hoenderop JG, Nilius B, Bindels RJ. Calcium absorption across epithelia. *Physiol Rev* 2005; 85:373-422.
- Hofbauer LC, Brueck CC, Singh SK, Dobnig H. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus. *J Bone Miner Res* 2007;22:1317-28.
- Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, Myers DE, Hodge JM, Malakellis M, Gough TJ, Collier GR, Nicholson GC. Leptin inhibits osteoclast generation. *J Bone Miner Res* 2002;17:200-209.
- Holst JJ. Gut hormones as pharmaceuticals. From enteroglucagon to GLP-1 and GLP-2. *Regul Pept* 2000; 93(1-3):45-51.
- Holst JJ, Orskov C, Nielsen OV, Schwartz TW. Truncated glucagon-like peptide 1, an insulin-releasing hormone from the distal gut. *FEBS Lett* 1987; 211:169-174.
- Huang S, Kaw M, Harris MT. Decreased osteoclastogenesis and high bone mass in mice with impaired insulin clearance due to liver-specific inactivation to CEACAM1. *Bone* 2010; 46:1138-1145.
- Huda MS, Durham BH, Wong SP, Dovey TM, McCulloch P, Kerrigan D, Pinkney JH, Fraser WD, Wilding JP. Lack of an acute effect of ghrelin on markers of bone turnover in healthy controls and post-gastrectomy subjects. *Bone* 2007;41: 406-13.
- Ikushima H, Munakata Y, Iwata S, Ohnuma K, Kobayashi S, Dang NH, Morimoto C. Soluble CD26/dipeptidyl peptidase IV enhances trans-endothelial migration via its interaction with mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor. *Cell Immunology* 2002; 215: 106-10.
- Irwin R, Lin HV, Motyl KJ, McCabe LR. Normal bone density obtained in the absence of insulin receptor expression in bone. *Endocrinology* 2006;147:5760-7.
- Isaia G, Giorgino R, Adami S. High prevalence of hypovitaminosis D in female type 2 diabetic population. *Diabetes Care*. 2011; 24:1496-9
- Ishida H, Suzuki K, Someya Y, Nishimura M, Sugimoto C, Goto M, Taguchi Y, Kasahara H, Kadowaki S, Imura H. Possible compensatory role of parathyroid hormone-related peptide on maintenance of calcium homeostasis in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1993;129:519-24.
- Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol* 2007;166:495-505.

- Jensen CE, Tuck SM, Agnew JE, Koneru S, Morris RW, Yardumian A, Prescott E, Hoffbrand AV, Wonke B. High prevalence of low bone mass in thalassaemia major. *Br J Haematol* 1998;103 911-5.
- Jeon TY, Lee S, Kim HH, Kim YJ, Son HC, Kim DH. Changes in plasma ghrelin concentration immediately after gastrectomy in patients with early gastric cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89: 5392-6.
- Jiang Y, Zhao JJ, Mitlak BH, Wang O, Genant HK, Eriksen EF. Recombinant human parathyroid hormone (1-34) [teriparatide] improves both cortical and cancellous bone structure *J Bone Mineral Res* 2003;18: 1932-1941.
- Johanson NA. Musculoskeletal problems in hemoglobinopathy. *Orthop Clin North Am* 1990; 21:191-198.
- Kadler K. Matrix loading: assembly of extracellular matrix collagen fibrils during embryogenesis. *Birth Defects Res. C Embryo Today* 2004;72:1-11.
- Kanazawa I, Yamaguchi T, Sugimoto T. Relationship between bone biochemical markers versus glucose/lipid metabolism and atherosclerosis; a longitudinal study in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* Apr 3. Epub ahead of printing 2011
- Karga H, Papaioannou G, Polymeris A, Papamichael K, Karpouza A, Samouilidou E, Papaioannou P. The effects of recombinant human TSH on bone turnover in patients after thyroidectomy. *J Bone Miner Metab* 2010;28:35-41.
- Karimi M, Ghiam AF, Hashemi A, Alinejad S, Soweid M, Kashef S. Bone mineral density in beta-thalassemia major and intermedia. *Indian Pediatr* 2007; 44:29-32.
- Karsenty G. Update on the transcriptional control of osteoblast differentiation. *BoneKEy* 2007; 4: 164 - 170.
- Kieffer TJ, McIntosh CH, Pederson RA. Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Endocrinology* 1995;136: 3585-96.
- Kim N, Odgren PR, Kim DK, Marks SC, Choi Y. Diverse roles of the tumor necrosis factor family member TRANCE in skeletal physiology revealed by TRANCE deficiency and partial rescue by a lymphocyte-expressed TRANCE transgene. *PNAS* 2000; 97:10905-10910.
- Kim SW, Her SJ, Park SJ, Kim D, Park KS, Lee HK. Ghrelin stimulates pro-

- liferation and differentiation and inhibits apoptosis in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Bone* 2005;37(3): 359-69.
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402(6762): 656-60.
- Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveira-dos-Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999;397:315-323.
- Korcowska I, Lacki JK. Changes in certain biochemical markers of bone turnover in rheumatoid arthritis patients treated with short-term low dose glucocorticosteroids]. *Przegl Lek.* 2005; 62: 1384-6.
- Krakauer JC, McKenna MJ, Buderer NF. Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes* 1995; 44:775-782.
- Krause C. Signal transduction cascades controlling osteoblast differentiation In *Primer on the metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism* 7th edition pp 10-23, ASBMR, Washington USA, 2009.
- Kreymann B, Williams G, Ghatei MA, Bloom SR. Glucagon-like peptide 1 (7-36): a physiological incretin in man. *Lancet* 1987; 2:1300-1304.
- Lamberts SW. The role of somatostatin in the regulation of anterior pituitary hormone secretion and the use of its analogs in the treatment of human pituitary tumors. *Endocr Rev* 1988; 9:417- 436.
- Langdahl BL, Knudsen JY, Jensen HK, Gregersen N, Eriksen EF. A sequence variation: 713-8delC in the transforming growth factor-beta 1 gene has higher prevalence in osteoporotic women than in normal women and is associated with very low bone mass in osteoporotic women and increased bone turnover in both osteoporotic and normal women. *Bone* 1997; 20:289-294.
- Lasco A, Morabito N, Gaudio A, Buemi M, Wasniewska M, Frisina N. Effects of hormonal replacement therapy on bone metabolism in young adults with beta-thalassemia major. *Osteoporos Int* 2001; 12:570-575.
- Lasco A, Morabito N, Gaudio A, Crisafulli A, Meo A, Denuzzo G, Frisina N. Osteoporosis and beta-thalassemia major: role of the IGF-I/IGFBP-III axis. *J Endocrinol Inves* 2002;25:338-344.
- Lavin JH, Wittert G, Sun WM, Horovitz M, Morley JE, Read NW. Appetite

- regulation by carbohydrate: role of blood glucose and gastrointestinal hormones. *Am J Physiol* 271(2 Pt 1): 1996;E209-E4.
- Lecka-Czernik B: Bone as a target of type 2 diabetes treatment *Curr Opin Investig Drugs* 2009;10:1085-1090.
- Ledger GA, Burritt MF, Kao PC, O'Fallon WM, Riggs BL, Khosla S. Role of parathyroid hormone in mediating nocturnal and age-related increases in bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3304 -10
- Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, Dacquin R, Mee PJ, McKee MD, Jung DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-Jarvis F, Ducy P, Karsenty G. "Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton". *Cell* 2007; 130: 456-69.
- Lemann J, Favus Jr and M. Intestinal absorption of calcium, magnesium and phosphate. In: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 5th ed. Published by ASBMR 2003; 93-104
- Li H, Hansotia T, Ris F, Halban PA, Drucker DJ. Glucagon-like peptide -1 receptor signaling modulates b-cell apoptosis. *J Biol Chem* 2003;278: 471-478.
- Lian JB, Stein JL, Stein GS, Montecino M, van Wijnen AJ, Javed A, Gutierrez S. Contributions of nuclear architecture and chromatin to vitamin D-dependent transcriptional control of the rat osteocalcin gene. *Steroids* 2001; 66: 159-70.
- Lindsay R. Prevention and treatment of osteoporosis. *Lancet* 1993; 341:801-805.
- Lovshin J, Drucker DJ. New frontiers in the biology of GLP-2. *Regul Pept* 2000; 90(1-3): 27-32.
- Lowell B, Radovick S, Liberman MC, Wondisford FJ. *Clin Invest* 1999;104: 291-300.
- Maccarinelli G, Sibia V, Torsello A, Raimondo F, Pitto M, Giustina A. Ghrelin regulates proliferation and differentiation of osteoblastic cells. *J Endocrinol* 2005;184: 249-56.
- Mahachoklertwattana P, Sirikulchayanonta V, Chuansumrit A, Karnsombat P, Choubtum L, Sriphrapradan A, Domrongkitchaiporn S, Sirisriro R, Rajatanavin R. Bone histomorphometry in children and adolescents with beta-thalassemia disease: iron-associated focal osteomalacia. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3966-397.
- Maor G, Karnieli E. The insulin-sensitive glucose transporter (GLUT4) is involved in early bone growth in control and diabetic mice, but is regu-

- lated through the insulin-like growth factor I receptor. *Endocrinology* 1999;140:1841-51.
- Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 1996; 312: 1254 - 9.
- Martini G, Gennari L, De Paola V, Pilli T, Salvadori S, Merlotti D, Valleggi F, Campagna S, Franci B, Avanzati A, Nuti R, Pacini F. The effects of recombinant TSH on bone turnover markers and serum osteoprotegerin and RANKL levels. *Thyroid* 2008;18:455-60.
- Mazziotti G, Porcelli T, Patelli I, Vescovi PP, Giustina A. Serum TSH values and risk of vertebral fractures in euthyroid post-menopausal women with low bone mineral density. *Bone* 2010;46: 747-751.
- McIntosh CH, Wheeler MB, Gelling RW, Brown JC, Pederson RA. GIP receptors and signal-transduction mechanisms. *Acta Physiologica Scandinavica* 1996;157:361-365.
- Meier JJ, Nauck MA, Schmidt WE, Gallwitz B. Gastric inhibitory polypeptide: the neglected incretin revisited. *Regul Pept* 2002; 107(1-3):1-3
- Melton LJ, Leibson CL, Achenbach SJ. Fracture risk in type 2 diabetes: update of a population-based study. *J Bone Miner Res* 2008; 23:1334-1342.
- Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, Cannata J, Balogh A, Lemmel EM, Pors-Nielsen S, Rizzoli R, Genant HK, Reginster JY. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2004; 350:459-68.
- Michaelsson K, Holmberg L, Mallmin H. Diet and hip fracture risk: a case-control study. Study Group of the Multiple Risk Survey on Swedish Women for Eating Assessment. *Int J Epidemiol* 1995; 24: 771-82.
- Michelson J, Cohen A. Incidence and treatment of fractures in thalassemia. *J Orthop Trauma* 1988;2: 29-32.
- Modder UI, Khosla S. Skeletal stem/osteoprogenitor cells: current concepts, alternate hypotheses, and relationship to the bone remodeling compartment. *J Cell Biochem* 2008;103:393 - 400.
- Mohsen J, Rob M, Van Dam, Walter C, Willett B. Systematic review of Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus and risk of Fracture. *Am J Epidemiol* 2007; 166:495-505.
- Mojsov S, Weir GC, Habener JF. Insulinotropin: glucagon-like peptide-1 (7-

- 37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat pancreas. *J Clin Invest* 1987; 79:616-619.
- Morabito N, Gaudio A, Lasco A, Atteritano M, Pizzoleo MA, Cincotta M, La Rosa M, Guarino R, Meo A, Frisina N. Osteoprotegerin and RANKL in the pathogenesis of thalassemia-induced osteoporosis: new pieces of the puzzle. *J Bone Miner Res* 2004;19: 722-7.
- Morabito N, Lasco A, Gaudio A, Crisafulli A, Di Pietro C, Meo A, Frisina N. Bisphosphonates in the treatment of thalassemia-induced osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2002; 13: 644-649.
- Mosekilde L, Eriksen EF, Charles P. Effects of thyroid hormones on bone and mineral metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990;19:35-63.
- Mundy GR, Eleftheriou F. Boning up on ephrin signaling. *Cell* 2006; 126:441-3.
- Murphy E, Glüer CC, Reid DM, Felsenberg D, Roux C, Eastell R, Williams GR. Thyroid function within the upper normal range is associated with reduced bone mineral density and an increased risk of nonvertebral fractures in healthy euthyroid postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 95:3173-81.
- Napoli N, Carmina E, Bucchieri S, Sferrazza C, Rini GB, Di Fede G. Low serum levels of 25-hydroxy vitamin D in adults affected by thalassemia major or intermedia. *Bone* 2006; 38: 888-92.
- Nauck MA, Baller B, Meier JJ. Gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53 (3):S190-6.
- Need AG, O'Loughlin PD, Horowitz M, Nordin BE. Relationship between fasting serum glucose, age, body mass index and serum 25 hydroxyvitamin D in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005; 62:738-41.
- Nicodemus KK, Folsom AR. Iowa Women's Health Study. Type 1 and type 2 diabetes and incident hip fractures in postmenopausal women. *Diabetes Care* 2001; 7:1192-7.
- Nishio Y, Dong Y, Paris M, O'Keefe RJ, Schwarz EM, Drissi H Runx2-mediated regulation of the zinc finger Osterix/Sp7 gene. *Gene* 2006; 372:62 - 70.
- Nuche-Berenguer B, Moreno P, Esbrit P, Dapθa S, Caeiro JR, Cancelas J, Haro-Mora JJ, Portal-Nunez S, Dapθa S, Esbrit P, Villanueva-Pe-

- nacarrillo ML. Exendin-4 exerts osteogenic actions in insulin-resistant and type 2 diabetic states. *Regul Pept* 2010a; 159: 61-66.
- Nuche-Berenguer B, Portal-Núñez S, Moreno P, González N, Acitores A, López-Herradón A, Esbrit P, Valverde I, Villanueva-Peñacarrillo ML. Presence of a functional receptor for GLP-1 in osteoblastic cells, independent of the cAMP-linked GLP-1 receptor. *J Cell Physiol* 2010b; 225: 585-92.
- Olivieri NF. The beta-thalassemias. *N Engl J Med* 1999; 341:99-109.
- Orvieto R, Leichter I, Rachmilewitz EA, Margulies JY. Bone density, mineral content, and cortical index in patients with thalassemia major and the correlation to their bone fractures, blood transfusions, and treatment with desferrioxamine. *Calcif Tissue Int* 1992;50:397-399.
- Ostrowska Z, Kos-Kudla B, Marek B, Swietochowska E, Gorski J. Assessment of the relationship between circadian variations of salivary melatonin levels and type I collagen metabolism in postmenopausal obese women. *Neuro Endocrinol Lett* 2001; 22:121-17.
- Papadimitriou A, Papadimitriou DT, Papadopoulou A, Nicolaidou P, Fretzayas A. Low TSH levels are not associated with osteoporosis in childhood. *Eur J Endocrinol* 2007;157:221-223.
- Parfitt AM. Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone* 2002; 30 5-7.
- Parfitt AM, Kleerekoper M. Clinical disorders of calcium, phosphorus and magnesium metabolism. In: *Clinical disorders of fluid and electrolyte Metabolism*, 3rd edt McGraw Hill New York 1980; 947-1151.
- Perifanis V, Vyzantiadis T, Vakalopoulou S, Tziomalos K, Garypidou V, Athanassiou-Metaxa M, Harsoulis F. Treatment of beta-thalassaemia-associated osteoporosis with zoledronic acid. *Br J Haematol* 2004;125: 91-92.
- Perrotta S, Cappellini MD, Bertoldo F, Servedio V, Iolascon G, D'Agruma L, Gasparini P, Siciliani MC, Iolascon A. Osteoporosis in beta-thalassaemia major patients: analysis of the genetic background. *Br J Haematol* 2000; 111:461-466.
- Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, Cannata J, Balogh A, et al. The Effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 2004;350:459-468.
- Pietschmann P, Resch H, Woloszczuk W, Willvonseder R. A circadian rhythm

- of serum osteocalcin levels in postmenopausal osteoporosis. *Eur J Clin Invest* 1990;20(3): 310-2.
- Piga A, Luzzatto L, Capalbo P, Gambotto S, Tricta F, Gabutti V. High-dose desferrioxamine as a cause of growth failure in thalassemic patients. *Eur J Haematol* 1988; 40:380-381.
- Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, Hu FB. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006;29:650-6.
- Pootrakul P, Hungsprenges S, Fucharoen S, Baylink D, Thompson E, English E, Lee M, Burnell J, Finch C. Relation between erythropoiesis and bone metabolism in thalassemia. *N Engl J Med* 1981; 304: 1470-1473.
- Qvist P, Christgau S, Pedersen BJ, Schlemmer A, Christiansen C. Circadian variation in the serum concentration of C-terminal telopeptide of type I collagen (serum CTx): effects of gender, age, menopausal status, posture, daylight, serum cortisol, and fasting. *Bone* 2002; 31:57-61.
- Reid IR, Cornish J. Direct actions of Leptin on bone remodeling. *Calcif Tissue Int* 2004; 74:347-352.
- Reiter RJ. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev* 1991; 12:151-80.
- Rivkees SA, Bode HH, Crawford JD (1988) Long-term growth in juvenile acquired hypothyroidism: the failure to achieve normal adult stature. *N Engl J Med* 318:599-602.
- Robey PG. Bone Matrix Proteoglycans and Glycoproteins, In *Principles of Bone Biology*, J.P. Bilezikian, L.G. Raisz and G.A. rodan Editors, Academic Press Publishers, Chapter 14, 2002; 225-238.
- Rodda CP, Reid ED, Johnson S, Doery J, Matthews R, Bowden DK. Short stature in homozygous beta-thalassaemia is due to disproportionate truncal shortening. *Clin Endocrinol* 1995;42:587-592.
- Saggese G, Bertelloni S, Baroncelli GI, Federico G, Calisti L, Fusaro C. Bone demineralization and impaired mineral metabolism in insulin-dependent diabetes mellitus. A possible role of magnesium deficiency. *Paediatr Acta* 1989; 43:405-14.
- Schlemmer A, Hassager C. Acute fasting diminishes the circadian rhythm of biochemical markers of bone resorption. *Eur J Endocrinol* 1999; 140: 332-7.
- Schmulen AC, Lerman M, Pak CY, Zerwekh J, Morawski S, Fordtran JS, Vergne-Marini P. Effect of 1,25-(OH)₂D₃ on jejunal absorption of

- magnesium in patients with chronic renal disease. *Am J Physiol* 1980; 238: G349-52.
- Schonhoff S, Baggio L, Ratineau C, Ray SK, Linder J, Magnuson MA, Drucker DJ, Leiter AB. Energy homeostasis and gastrointestinal endocrine differentiation do not require the anorectic hormone peptide YY. *Mol Cell Biol* 2005;25: 4189-4199.
- Schwartz AV, Garnero P, Hillier TA. Pentosidine and increased fracture risk in older adults with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94:2380-2386.
- Schwartz AV, Hillier TA, Sellmeyer DE. Older women with diabetes have a higher risk of falls: a prospective study. *Diabetes Care* 2002; 25:1749-1754.
- Seeley DG, Kelsey J, Jergas M, Nevitt MC. Predictors of ankle and foot fractures in older women. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *J. Bone Miner Res* 1996;11:1347-1355.
- Segni M, Leonardi E, Mazzoncini B, Pucarelli I, Pasquino AM. Special features of Graves' disease in early childhood. *Thyroid* 1999;9:871-877.
- Shor R, Halabe A, Aberbuh E, Matas Z, Fux A, Boaz M, Wainstein J. PTHrP and insulin levels following oral glucose and calcium administration. *Eur J Intern Med* 2006;17:408-11.
- Sjögren K, Sheng M, Movérare S, Liu JL, Wallenius K, Törnell J, Isaksson O, Jansson JO, Mohan S, Ohlsson C. Effects of liver-derived insulin-like growth factor I on bone metabolism in mice. *J Bone Miner Res* 2002; 17:1977-87.
- Soliman AT, El Banna N, Abdel Fattah M, El Zalabani MM, Ansari BM. Bone mineral density in prepubertal children with beta-thalassemia: correlation with growth and hormonal data. *Metabolism* 1998; 47:541-548.
- St Germain DL, Galton VA, Hernandez A. Minireview: Defining the roles of the iodothyronine deiodinases: current concepts and challenges. *Endocrinology* 2009; 150:1097-1107.
- Sta Romana M, Li-Yu JT. Investigation of the relationship between Type 2 diabetes and osteoporosis using Bayesian inference. *J Clin Densitom* 2007;10:386-90.
- Stamato FJ, Amarante EC, Furlanetto RP. Effect of combined treatment with calcitonin on bone densitometry of patients with treated hypothyroidism. *Rev Assoc Med Bras* 2000; 46:177-181.

- Steppan CM, Crawford DT, Chidsey-Frik KL, Ke HZ, Swick AG. Leptin is a potent stimulator of bone growth in ob/ob mice. *Regul Pept* 2000; 92:73-78.
- Suzuki K, Kurose T, Takizawa M, Maruyama M, Ushikawa K, Kikuyama M, Sugimoto C, Seino Y, Nagamatsu S, Ishida H. Osteoclastic function is accelerated in male patients with type 2 diabetes mellitus: the preventive role of osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin (OCIF/OPG) on the decrease of bone mineral density. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 68:117-25.
- Takayanagi H. Osteoimmunology: shared mechanisms and crosstalk between the immune and bone systems. *Nat Rev Immuno* 2007; 7:292 - 304.
- Tang-Christensen M, Larsen PJ, Romer J, Vrang N. The proglucagon-derived peptide, glucagon-like peptide -2, is a neurotransmitter involved in the regulation of food intake. *Nat Med* 2000;6:802-807.
- Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Gen* 2003; 4:638-649.
- Theil EC. Ferritin iron minerals are chelator targets, antioxidants, and coated, dietary iron. *Ann N Y Acad Sci*. 2010; 1202:197-204.
- Tilg H, Moschen AR, Kaser A, Pines A, Dotan I. Gut, inflammation and osteoporosis: basic and clinical concepts. *Gut* 2008; 57: 684-94.
- Tse TF, Clutter WE, Shah SD, Miller JP, Cryer PE. Neuroendocrine responses to glucose ingestion in man. Specificity, temporal relationships, and quantitative aspects *J Clin Invest* 1983; 72(1):270-7.
- Tsukiyama K, Yamada Y, Yamada C, Harada N, Kawasaki Y, Ogura M, Bessho K, Li M, Amizuka N, Sato M, Udagawa N, Takahashi N, Tanaka K, Oiso Y, Seino Y. Gastric inhibitory polypeptide as an endogenous factor promoting new bone formation after food ingestion. *Mol Endocrinol* 2006;20:1644-51.
- Uitterlinden AG, Weel AE, Burger H, Fang Y, van Duijn CM, Hofman A, van Leeuwen JP, Pols HA. Interaction between the vitamin D receptor gene and collagen type I alpha 1 gene in susceptibility for fracture. *J Bone Miner Res* 2001; 16:379-385.
- Usdin TB, Mezey E, Button DC, Brownstein MJ, Bonner TI. Gastric inhibitory polypeptide receptor, a member of the secretin-vasoactive intestinal peptide receptor family, is widely distributed in peripheral organs and the brain. *Endocrinol* 1993; 133: 2861-2870.
- van Daele PL, Stolk RP, Burger H. Bone density in non-insulin-dependent

- diabetes mellitus. The Rotterdam Study. *Ann Intern Med* 1995; 122: 409-14.
- van de Graaf SF, Boullart I, Hoenderop JG, Bindels RJ. Regulation of the epithelial Ca²⁺ channels TRPV5 and TRPV6 by 1 α ,25-dihydroxy Vitamin D3 and dietary Ca²⁺. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004; 89-90(1-5):303-8.
- van der Deure WM, Peeters RP, Visser TJ. Molecular aspects of thyroid hormone transporters, including MCT8, MCT10, and OATPs, and the effects of genetic variation in these transporters. *J Mol Endocrinol* 2010; 4:1-11.
- Varga F, Spitzer S, Klaushofer K. Triiodothyronine (T3) and 1,25-dihydroxyvitamin D3 (1,25D3) inversely regulate OPG gene expression in dependence of the osteoblastic phenotype. *Calcif Tissue Int* 2004; 74: 382-387.
- Vashishth D. Collagen glycation and its role in fracture properties of bone. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2005; 5:316.
- Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with Type 1 and Type 2 diabetes – a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2007;18: 427-44.
- Vestergaard P, Mosekilde L. Fractures in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism: a nationwide follow-up study in 16,249 patients. *Thyroid* 2002;12: 411-419.
- Vestergaard P, Mosekilde L. Hyperthyroidism, bone mineral, and fracture risk – a meta-analysis. *Thyroid* 2003; 13: 585-593.
- Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Influence of hyper- and hypothyroidism, and the effects of treatment with antithyroid drugs and levothyroxine on fracture risk. *Calcif Tissue Int* 2005;77: 139-144.
- Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Diabetes and its complications and their relationship with risk of fractures in type 1 and 2 diabetes. *Calcif Tissue Int* 2009;4:45-55.
- Vestergaard P, Rejnmark L, Weeke J, Mosekilde L. Fracture risk in patients treated for hyperthyroidism. *Thyroid* 2000;10:341-348.
- Vichinsky EP. The morbidity of bone disease in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850:344-348.
- Villanueva-Penacarrillo ML. Effect of GLP-1 treatment on bone turnover in normal, type 2 diabetic and insulin-resistant states. *Calcif Tissue Int* 2009;84:453-461.

- Vogiatzi MG, Autio KA, Mait JE, Schneider R, Lesser M, Giardina PJ Low bone mineral density in adolescents with beta-thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1054: 462-6.
- Voskaridou E, Christoulas D, Xirakia C, Varvagiannis K, Boutsikas G, Bilalis A, Kastritis E, Papatheodorou A, Terpos E. Serum Dickkopf-1 is increased and correlates with reduced bone mineral density in patients with thalassemia-induced osteoporosis. Reduction post-zoledronic acid administration. *Haematologica*. 2009;94(5):725-8.
- Voskaridou E, Kyrtsolis MC, Terpos E, Skordili M, Theodoropoulos I, Bergele A, Diamanti E, Kalovidouris A, Loutradi A, Loukopoulos D. Bone resorption is increased in young adults with thalassaemia major. *Br J Haematol* 2001;112:36-41.
- Voskaridou E, Terpos E. New insights into the pathophysiology and management of osteoporosis in patients with beta thalassaemia. *Br J Haematol* 2004;127: 127-39.
- Voskaridou E, Terpos E. Osteoprotegerin to soluble receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand ratio is reduced in patients with thalassaemia-related osteoporosis who receive vitamin D3. *Eur J Haematol*. 2005;74:359-61.
- Voskaridou E, Terpos E, Spina G, Palermos J, Rahemtulla A, Loutradi A, Loukopoulos D. Pamidronate is an effective treatment for osteoporosis in patients with beta-thalassaemia. *Br J Haematol* 2003; 123:730-737.
- Wagner EF, Eferl R. Fos/AP-1 proteins in bone and the immune system. *Immunol. Rev.* 2005; 208: 126 - 140.
- Walser M. Ion association. VI Interactions between calcium, magnesium, inorganic phosphate, citrate and protein in normal human plasma. *J Clin Invest*. 1961;40:723-30.
- Wass JA, Penman E, Dryburgh JR, Tsiolakis D, Goldberg PL, Dawson AM, Besser GM, Rees LH. Circulating somatostatin after food and glucose in man. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1980; 12:569-574.
- Weatherall DJ, Clegg JB. *The thalassaemia syndromes*. 4th ed. Oxford: Malden, MA: Blackwell Science; 2001.
- Weiss RE, Refetoff S. Effect of thyroid hormone on growth. Lessons from the syndrome of resistance to thyroid hormone. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996;25: 719-730.
- Weiss RE, Refetoff S. Treatment of resistance to thyroid hormone – primum non nocere. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 401-404.

- Wichers M, Schmidt E, Bidlingmaier F, Klingmuller D (1999) Diurnal rhythm of CrossLaps in human serum. *Clinical Chemistry* 45 1858-1860.
- Wichers M, Schmidt E, Bidlingmaier F, Klingmuller D. Diurnal rhythm of CrossLaps in human serum. *Clin Chem*. 1999; 45:1858-1860.
- Wisse BE. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. *J Am Soc Nephrol* 2004;15: 2792-800.
- Wonke B. Bone disease in b-thalassaemia major. *Br J Haematol* 1998;103:897-901.
- Wonke B. Clinical management of beta-thalassemia major. *Semin Hematol* 2001;38: 350-359.
- Xiao G, Jiang D, Ge C. Cooperative interactions between activating transcription factor 4 and Runx2/ Cbfa1 stimulate osteoblast-specific osteocalcin gene expression. *J Biol Chem* 2005;280: 30689 - 30696.
- Xie D, Cheng H, Hamrick M, Zhong Q, Ding KH, Correa D, Williams S, Mulloy A, Bollag W, Bollag RJ, Runner RR, McPherson JC, Insogna K, Isaacs CM. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor knockout mice have altered bone turnover. *Bone* 2005; 37:759-69.
- Xie D, Zhong Q, Ding KH, Cheng H, Williams S, Correa D, Bollag WB, Bollag RJ, Insogna K, Troiano N, Coady C, Hamrick M, Isaacs CM. Glucose-dependent insulinotropic peptide-overexpressing transgenic mice have increased bone mass. *Bone* 2007;40:1352-60.
- Yamada C, Yamada Y, Tsukiyama K, Yamada K, Udagawa N, Takahashi N, Tanaka K, Drucker DJ, Seino Y, Inagaki N. The murine glucagon-like peptide-1 receptor is essential for control of bone resorption. *Endocrinology* 2008;149:574-579.
- Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M. Serum pentosidine levels are positively associated with the presence of vertebral fractures in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:1013-1019.
- Yamamoto M, Yamaguchi T, Yamauchi M. Diabetic patients have an increased risk of vertebral fractures independent of BMD or diabetic complications. *J Bone Miner Res* 2009; 24: 702-709.
- Yang X, Karsenty G. ATF4, the osteoblast accumulation of which is determined post-translationally, can induce osteoblast-specific gene expression in non-osteoblastic cells. *J Biol Chem* 2004;279:47109 - 47114.
- Yang Y. Skeletal morphogenesis and embryonic development. In: *Primer on*

- the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism (7th edition), published by ASBMR; pp. 2-7. 2010.
- Yaturu S, Humphrey S, Landry C, Jain SK. Decreased bone mineral density in men with metabolic syndrome alone and with Type 2 diabetes. *Med Sci Monit* 15: 2009; CR5-9.
- Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol. Rev* 2001; 81:1097-1142.
- Zhao C, Irie N, Takada Y, Shimoda K, Miyamoto T, Nishiwaki T, Suda T, Matsuo K. Bidirectional ephrinB2-EphB4 signaling controls bone homeostasis. *Cell Metab* 2006; 4:111-21.
- Zhong Q, Itokawa T, Sridhar S, Ding KH, Xie D, Kang B, Bollag WB, Bol-lag RJ, Hamrick M, Insogna K, Isaacs CM. Effects of glucose-dependent insulinotropic peptide on osteoclast function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007;292 E543-8.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΑΝΑΛΥΤΙΚΟΙ ΠΙΝΑΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

1. ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ, ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ & ΣΔΤ2	179-183
2. ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ	184-188
3. ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ	189-193
4. ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2	194-198
5. ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ	199-203
6. ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ	204-208

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΥΠΟΘΥΡΕΟΙΔΙΣΜΟΥ, ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΙΔΙΣΜΟΥ & ΣΔΤ2**

Μάρτυρες	β-CTX (pg/ml) 0 λεπτά	β -CTX (pg/ml) 60 λεπτά	β -CTX (pg/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	431	293	212	50,8
2	239	147	158	33,9
3	541	345	382	29,4
4	563	381	307	45,5
5	515	341	276	46,4
6	205	146	119	42,0
7	686	428	331	51,7
8	147	94	84	42,9
9	687	592	545	20,7
10	174	102	70	59,8
11	190	150	118	37,9
12	187	95	90	51,9
13	159	121	124	22,0
14	105	77	64	39,0
15	328	222	220	32,9
16	431	280	200	53,6
17	452	409	415	8,2
18	446	273	217	51,3
19	357	235	189	47,1
20	888	711	610	31,3
21	578	399	300	48,1
22	420	338	190	54,8
23	502	310	413	17,7
24	125	80	30	76,0
25	279	188	133	52,3
26	434	277	217	50,0
27	269	146	95	64,7
28	551	291	202	63,3
29	245	184	188	23,3
30	381	248	178	53,3
31	426	353	243	43,0
32	317	254	231	27,1
33	231	147	82	64,5
34	356	203	142	60,1
35	229	165	136	40,6
36	412	221	171	58,5
37	267	168	105	60,7
38	227	183	170	25,1
39	278	226	215	22,7
40	306	236	255	16,7
41	363	237	170	53,2
42	467	348	265	43,3
43	445	423	283	36,4
44	490	327	255	48,0
45	125	80	30	76,0
Μέσοι όροι	372,11	258,95	213,64	43,21
ΣΣΜ (±)	24,96	19,59	18,03	2,27

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ, ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ & ΣΔΤ2**

Μάρτυρες	PINP (ng/ml) 0 λεπτά	PINP (ng/ml) 60 λεπτά	PINP (ng/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	39,80	44,43	43,26	-8,7
2	25,80	20,33	24,31	5,8
3	46,73	45,49	54,43	-16,5
4	43,27	42,63	41,64	3,8
5	42,22	34,68	28,24	33,1
6	28,92		28,93	0,0
7	29,19	27,05	27,58	5,5
8	24,49	22,66	19,30	21,2
9	33,29	25,17	20,41	38,7
10	37,06	44,85	44,91	-21,2
11	20,45	17,45	17,09	16,4
12	25,82	21,03	25,59	0,9
13	11,52	7,95	8,40	27,1
14	20,18	12,68	18,21	9,8
15	32,19	27,39	22,22	31,0
16	32,76	29,46	31,02	5,3
17	99,38		99,68	-0,3
18	47,89	41,66	47,30	1,2
19	31,69	28,55	29,66	6,4
20	87,42	75,42	81,37	6,9
21	57,48	43,74	45,00	21,7
22	39,19	36,60	36,77	6,2
23	53,46	41,92	44,82	16,2
24	20,67	16,14	13,40	35,2
25	31,17	25,30	28,43	8,8
26	33,01	28,85	27,35	17,1
27	55,49	43,82	49,13	11,5
28	72,55	63,92	41,23	43,2
29	40,42	34,90	44,73	-10,7
30	81,20	69,72	71,69	11,7
31	61,30	56,37	58,18	5,1
32	31,00	32,50	34,40	-11,0
33	27,62	27,10	28,51	-3,2
34	37,73	37,27	36,83	2,4
35	37,22	33,26	36,37	2,3
36	43,71	42,01	42,35	3,1
37	41,81	41,87	45,86	-9,7
38	37,24	33,94	36,81	1,2
39	41,39	37,22	34,99	15,5
40	44,03	44,17	45,48	-3,3
41	46,93	40,61	41,38	11,8
42	57,00	49,02	50,55	11,3
43	54,13	61,00	52,39	3,2
44	73,80	64,16	67,26	8,9
45	31,78	31,50	34,40	-11,0
Μέσοι όροι	42,72	37,48	39,26	8,29
ΣΣΜ (±)	2,78	2,25	2,64	2,10

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΥΠΟΘΥΡΕΟΙΔΙΣΜΟΥ, ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΙΔΙΣΜΟΥ & ΣΔΤ2**

Μάρτυρες	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 0 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 60 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 120 λεπτά	% μεταβολή στα 120 λεπτά
1	17,36	16,92	14,94	13,9
2	12,76	11,49	10,78	15,5
3	17,03	17,92	18,78	-10,3
4	21,01	18,62	14,04	33,2
5	15,87	14,68	5,96	62,4
6	8,46	12,43	8,48	-0,2
7	61,96	50,29	50,00	19,3
8	11,08	7,36	5,53	50,1
9	73,23	77,17	82,51	-12,7
10	12,19	10,12	8,81	27,7
11	10,10	9,93	8,86	12,3
12	13,21	11,32	12,02	9,0
13	31,43	28,47	31,35	0,3
14	9,04	5,25	6,18	31,6
15	15,49	12,25	8,31	46,4
16	21,01	15,57	13,54	35,6
17	24,29		28,06	-15,5
18	24,28	21,39	16,14	33,5
19	12,79	11,87	10,89	14,9
20	34,10	30,37	30,14	11,6
21	34,79	21,55	25,00	28,1
22	16,24	17,63	16,88	-3,9
23	18,25	18,40	21,48	-17,7
24	8,72	6,98	5,96	31,7
25	12,65	12,15	11,45	9,5
26	14,10	17,07	14,92	-5,8
27	20,50	17,01	17,54	14,4
28	27,23	24,88	17,54	35,6
29	11,54	12,50	17,01	-47,4
30	24,34	24,19	21,95	9,8
31	17,13	14,47	15,70	8,3
32	15,79	14,86	15,18	3,9
33	14,36	15,29	11,75	18,2
34	8,40	11,51	9,79	-16,5
35	15,23	15,36	15,65	-2,8
36	28,25	27,47	26,39	6,6
37	15,90	18,38	17,97	-13,0
38	13,56	13,84	13,30	1,9
39	16,40	12,90	13,58	17,2
40	17,03	20,81	21,13	-24,1
41	21,78	20,67	21,59	0,9
42	32,04	29,77	28,96	9,6
43	20,52	26,09	23,06	-12,4
44	28,16	27,01	27,81	1,2
45	13,54	13,84	12,30	2
Μέσοι όροι	20,44	19,17	18,57	9,82
ΣΣΜ (±)	1,89	1,81	1,95	3,18

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ, ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ & ΣΔΤ2**

Μάρτυρες	GIP (pg/ml) 0 λεπτά	GIP (pg/ml) 60 λεπτά	GIP (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (1-120 λεπτά)
1	190	336	200	31830
2	297	206	307	30480
3	174	310	184	29340
4	200	288	210	29580
5	256	386	266	38826
6	192	212	202	24552
7	288	317	298	36588
8	191	235	201	25884
9	68	184	78	15402
10	114	210	124	19740
11	126	143	136	16404
12	198	234	208	26262
13	189	206	199	23994
14	43	69	53	7002
15	221	251	231	28608
16	198	132	208	20130
17	298	335	308	38292
18	232	348	242	35088
19	184	239	194	25674
20	155	211	165	22278
21	107	207	117	19110
22	80	129	90	12810
23	115	166	125	17154
24	199	314	209	31074
25	168	197	178	22170
26	183	224	193	24714
27	87	198	97	17406
28	13	206	23	13410
29	101	261	111	22032
30	192	268	202	27894
31	206	221	216	25908
32	211	277	221	29610
33	35	171	58	13035
34	52	167	75	13833
35	178	227	201	25005
36	68	215	91	17631
37	302	466	325	46773
38	286	384	309	40863
39	318	358	341	41277
40	343	360	367	42897
41	301	392	325	42297
42	13	206	36	13803
43	464	605	487	64863
44	189	290	212	29433
45	190	336	200	31830
Μέσοι όροι	181,54	258,18	195,94	26839,91
ΣΣΜ (±)	14,2	14,59	14,58	1658,42

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΥΠΟΘΥΡΕΟΙΔΙΣΜΟΥ, ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΙΔΙΣΜΟΥ & ΣΔΤ2**

Μάρτυρες	GLP-1 (pg/ml) 0 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 60 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 120 λεπτά	AUC 1-120 λεπτά
1	68,30	148,30	68,50	13002,00
2	42,00	122,00	50,40	10092,00
3	40,00	120,00	62,00	10260,00
4	60,50	140,50	78,00	12585,00
5	32,80	112,80	39,50	8937,00
6	43,00	123,00	44,00	9990,00
7	41,00	121,00	35,80	9564,00
8	31,50	111,50	31,60	8583,00
9	35,80	115,80	30,00	8922,00
10	28,70	108,70	32,00	8343,00
11	35,97	120,50	31,60	9257,00
12	30,30	116,80	34,40	8949,00
13	42,00	89,00	48,60	8058,00
14	26,00	96,30	31,80	7512,00
15	23,50	101,70	23,10	7500,00
16	40,00	126,00	45,30	10119,00
17	34,00	79,80	42,00	7068,00
18	29,50	91,70	29,30	7266,00
19	42,60	119,70	48,00	9900,00
20	34,30	116,40	45,60	9381,00
21	36,40	136,40	36,40	10368,00
22	55,00	89,00	62,00	8850,00
23	32,00	98,20	37,00	7962,00
24	35,00	105,50	35,00	8430,00
25	33,00	115,60	32,60	8904,00
26	35,50	88,60	43,70	7692,00
27	24,30	78,40	37,00	6543,00
28	25,00	89,70	36,00	7212,00
29	31,30	118,60	36,50	9150,00
30	72,00	120,00	68,00	11400,00
31	91,00	149,00	98,00	14610,00
32	110,00	178,00	109,00	17250,00
33	89,00	165,00	100,20	15576,00
34	97,00	187,00	110,20	17436,00
35	67,00	145,00	89,00	13380,00
36	100,00	210,00	83,00	18090,00
37	57,00	134,00	63,00	11640,00
38	111,00	213,00	109,00	19380,00
39	122,00	321,00	150,00	27420,00
40	78,00	118,00	89,00	12090,00
41	79,00	173,00	88,00	15390,00
42	134,00	236,00	129,00	22050,00
43	145,00	289,00	170,00	26790,00
44	100,80	210,20	116,30	19125,00
45	77,00	112,00	86,00	12090,00
Μέσοι όροι	57,53	137,49	63,17	11864,23
ΣΣΜ (±)	4,8	7,86	5,35	759,39

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ**

Υποθυρεοειδισμός	β-CTX (pg/ml) 0 λεπτά	β-CTX (pg/ml) 60 λεπτά	β-CTX (pg/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	952	591	478	49,79
2	492	0	193	60,77
3	492	341	235	52,24
4	364	219	175	51,92
5	114	110	98	14,04
6	467	309	194	58,46
7	251	134	105	58,17
8	308	152	125	59,42
9	79	55	34	56,96
10	233	184	137	41,20
11	191	130	57	70,16
12	443	311	203	54,18
13	117	84	87	25,64
14	331	125	241	27,19
15	399	278	102	74,44
16	247	114	79	68,02
17	473	432	348	26,43
18	10	10	5	50,00
19	398	233	264	33,67
20	498	497	239	52,01
21	780	469	233	70,13
22	162	138	108	33,33
23	296	155	83	71,96
24	494	278	185	62,55
25	358	289	123	65,64
26	465	310	122	73,76
27	172	133	120	30,23
28	377	309	207	45,09
29	299	223	187	37,46
30	245	121	67	72,65
31	61	65	21	65,57
32	753	663	488	35,19
33	405	219	180	55,56
34	365	253	153	58,08
35	480	358	382	20,42
36	335	215	164	51,04
37	97	87	75	22,68
38	141	56	40	71,63
39	420	207	166	60,48
40	373	207	162	56,57
41	104	57	56	46,15
42	94	39	10	89,36
43	27	11	10	62,96
44	515	266	166	67,77
45	51	45	21	62,03
Μέσοι όροι	330,51	211,42	155,71	52,52
ΣΣΜ (±)	29,63	22,48	16,21	2,60

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ**

Υποθυρεοειδισμός	P1NP (ng/ml) 0 λεπτά	P1NP (ng/ml) 60 λεπτά	P1NP (ng/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	104,9	87,04	88,91	15,24
2	49,21	48,7	47,96	2,54
3	55,46	44,62	55,69	-0,41
4	24,24	22,73	27,02	-11,47
5	40,8	41,93	43,49	-6,59
6	18,07	19,73	16,56	8,36
7	48,88	48,64	50,87	-4,07
8	35,61	27,6	28,89	18,87
9	20,05	15,79	16,2	19,20
10	39,77	33,84	39,11	1,66
11	36,39	33,48	29,97	17,64
12	58,87	56,56	57,48	2,36
13	20,94	19,04	19,67	6,06
14	40,96	16,18	41,38	-1,03
15	30,63	25,14	24,01	21,61
16	46,69	37,19	49,3	-5,59
17	75	53,73	53,1	29,20
18	23,22	19,55	17,2	25,93
19	40,17	31,79	36,44	9,29
20	64,92	32,2	67,41	-3,84
21	69,09	63,82	58,19	15,78
22	24,7	22,52	23,38	5,34
23	57,78	49,41	59,27	-2,58
24	57,36	54,19	47,9	16,49
25	28,98	34,77	30,79	-6,25
26	55,24	49,07	43,98	20,38
27	15,79	11,83	15	5,00
28	44,85	44,73	46,75	-4,24
29	27,02	24,91	24,96	7,62
30	23,34	24,48	21,38	8,40
31	15,58	17,23	16,31	-4,69
32	59,68	53,77	38,82	34,95
33	51,16	53,3	51,53	-0,72
34	65,76	59,77	44,65	32,10
35	66,36	56,92	68,5	-3,22
36	37,7	37,56	34,62	8,17
37	30,61	30,93	34,55	-12,87
38	28,79	27,52	25,06	12,96
39	31,01	30,03	29,82	3,84
40	59,56	48,89	53,9	9,50
41	29,08	25,7	24,51	15,72
42	15,47	9,57	13,7	11,44
43	8,73	6,94	5,11	41,47
44	45,79	33,45	34,9	23,78
45	49,21	48,7	47,96	2,54
Μέσοι όροι	41,45	36,05	37,98	8,71
ΣΣΜ (±)	2,96	2,49	2,58	1,86

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ**

Υποθυρεοειδισμός	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 0 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 60 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 120 λεπτά	% μεταβολή στα 120 λεπτά
1	28,89	34,76	29,41	-1,80
2	35,56		28,99	18,48
3	16,88	16,34	15,10	10,55
4	22,85	20,15	19,21	15,93
5	20,67	20,34	18,89	8,61
6	15,01	15,85	14,26	5,00
7	17,88	16,20	16,10	9,96
8	19,47	14,04	12,97	33,38
9	12,45	11,45	10,44	16,14
10	9,92	12,88	14,28	-43,95
11	10,41	7,41	10,58	-1,63
12	20,22	18,12	18,15	10,24
13	9,43	9,01	9,21	2,33
14	15,42	7,99	19,15	-24,19
15	16,72	15,08	14,52	13,16
16	15,37	18,91	19,17	-24,72
17	29,30	22,99	21,45	26,79
18	7,97	6,50	5,89	26,10
19	21,14	15,63	20,48	3,12
20	28,22	15,74	26,79	5,07
21	28,32	29,72	25,70	9,25
22	15,65	15,01	14,61	6,65
23	23,57	19,04	22,18	5,90
24	34,41	30,40	31,40	8,75
25	11,22	22,30	15,46	-37,79
26	28,01	28,55	23,76	15,17
27	12,28	9,04	12,15	1,06
28	29,35	30,12	30,87	-5,18
29	13,84	13,96	12,85	7,15
30	13,53	12,65	9,67	28,53
31	11,87	11,94	10,82	8,85
32	26,63	26,80	15,75	40,86
33	22,07	23,83	22,67	-2,72
34	27,79	24,15	19,32	30,48
35	23,16	20,97	24,16	-4,32
36	24,23	23,62	22,15	8,58
37	15,00	15,15	18,81	-25,40
38	11,98	11,38	10,89	9,10
39	21,12	22,11	20,36	3,60
40	18,30	17,31	18,24	0,33
41	16,43	13,56	10,73	34,69
42	9,07	6,98	8,03	11,47
43	6,16	6,26	4,56	25,97
44	25,73	25,77	26,81	-4,20
45	20,27	18,68	17,88	11,79
Μέσοι όροι	19,17	17,70	17,66	6,48
ΣΣΜ (±)	1,12	1,05	0,99	2,60

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΥΠΟΘΥΡΕΟΙΔΙΣΜΟΥ**

Υποθυρεοειδισμός	GIP (pg/ml) 0 λεπτά	GIP (pg/ml) 60 λεπτά	GIP (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	145,00	210,00	168,10	21993,00
2	145,00	278,00	109,00	24300,00
3	186,00	210,00	181,70	23631,00
4	197,00	267,00	188,00	27570,00
5	90,00	204,50	122,10	18633,00
6	190,00	310,00	210,00	30600,00
7	181,70	163,40	214,50	21690,00
8	90,00	146,30	132,00	15438,00
9	143,00	180,50	150,80	19644,00
10	90,00	145,00	80,30	13809,00
11	78,00	102,00	65,00	10410,00
12	90,00	90,00	202,20	14166,00
13	90,00	168,80	171,50	17973,00
14	90,00	276,80	157,90	24045,00
15	90,00	90,00	162,00	12960,00
16	135,50	90,00	174,80	14709,00
17	168,80	300,70	197,20	29022,00
18	207,20	220,50	90,00	22146,00
19	88,00	179,00	96,20	16266,00
20	123,00	131,20	254,40	19194,00
21	109,80	224,70	241,60	24024,00
22	131,20	493,30	346,00	43914,00
23	122,00	290,00	145,00	25410,00
24	170,10	229,30	183,60	24369,00
25	90,00	259,00	229,00	25110,00
26	111,40	278,00	120,60	23640,00
27	90,00	230,90	152,50	21129,00
28	90,00	199,50	157,70	19401,00
29	182,40	266,50	150,20	25968,00
30	190,20	202,80	209,40	24156,00
31	90,00	458,80	139,00	34398,00
32	178,00	362,70	189,00	32772,00
33	289,70	449,00	225,20	42387,00
34	90,00	375,20	145,50	29577,00
35	90,00	217,40	274,70	23985,00
36	336,20	370,70	259,00	40098,00
37	101,00	146,00	103,90	14907,00
38	101,00	146,00	103,90	14907,00
39	347,20	392,20	350,10	44451,00
40	112,00	157,00	114,90	16227,00
41	117,20	162,20	120,10	16851,00
42	138,60	200,60	141,50	20439,00
43	129,40	191,40	132,30	19335,00
44	177,50	239,50	180,40	25107,00
45	324,30	337,00	358,40	40701,00
Μέσοι όροι	139,43	236,52	175,58	23810,27
ΣΣΜ (±)	9,4	14,60	10,04	1253,77

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ**

Υποθυρεοειδισμός	GIP-1 (pg/ml) 0 λεπτά	GIP-1 (pg/ml) 60 λεπτά	GIP-1 (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	67,00	178,00	190,40	18402,00
2	115,00	131,00	132,00	15270,00
3	93,00	138,00	95,00	13920,00
4	45,70	134,70	45,40	10815,00
5	60,00	149,00	73,00	12930,00
6	46,50	135,50	47,10	10938,00
7	47,80	136,80	52,10	11205,00
8	34,00	123,00	36,00	9480,00
9	50,50	139,50	54,40	11517,00
10	38,90	127,90	47,00	10251,00
11	48,00	137,00	58,00	11400,00
12	39,50	128,50	50,00	10395,00
13	58,00	153,00	53,00	12510,00
14	53,00	148,00	54,00	12090,00
15	31,00	126,00	50,60	10008,00
16	52,70	147,70	59,50	12228,00
17	38,30	133,30	48,60	10605,00
18	67,00	162,00	72,00	13890,00
19	96,00	191,00	139,30	18519,00
20	42,80	137,80	29,00	10422,00
21	51,50	146,50	50,40	11847,00
22	40,00	135,00	37,00	10410,00
23	38,00	133,00	40,00	10320,00
24	40,70	135,70	43,40	10665,00
25	34,50	129,50	32,50	9780,00
26	38,70	104,70	40,00	8643,00
27	48,50	114,50	50,70	9846,00
28	48,80	114,80	41,60	9600,00
29	41,50	107,50	42,30	8964,00
30	65,60	131,60	60,50	11679,00
31	30,70	133,70	36,00	10023,00
32	26,70	129,70	39,60	9771,00
33	45,30	148,30	45,00	11607,00
34	38,00	141,00	41,60	10848,00
35	32,00	135,00	39,00	10230,00
36	38,70	106,70	37,70	8694,00
37	41,80	109,80	39,90	9039,00
38	58,60	126,60	58,00	11094,00
39	58,00	126,00	66,00	11280,00
40	56,00	124,00	57,00	10830,00
41	56,70	149,70	54,80	12327,00
42	65,00	158,00	59,40	13212,00
43	41,50	134,50	42,30	10584,00
44	49,40	142,40	46,00	11406,00
45	21,00	110,00	28,00	8070,00
Μέσοι όροι	50,30	135,24	55,89	11279,20
ΣΣΜ (±)	2,63	2,53	4,42	315,63

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ

Υπερθυρεοειδισμός	β-CTX (pg/ml) 0 λεπτά	β-CTX (pg/ml) 60 λεπτά	β-CTX (pg/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	3110	2380	2320	25,40
2	318	224	159	50,00
3	925	625	572	38,16
4	366	197	147	59,84
5	1200	802	957	20,25
6	585	524	379	35,21
7	1180	718	167	85,85
8	338	265	200	40,83
9	805	463	562	30,19
10	315	211	140	55,56
11	376	281	204	45,74
12	443	266	223	49,66
13	680	456	336	50,59
14	566	336	181	68,02
15	351	254	218	37,89
16	440	311	193	56,14
17	264	128	106	59,85
18	1430	1020	900	37,06
19	2450	1850	1990	18,78
20	355	233	141	60,28
21	2870	1530	1830	36,24
22	326	245	186	42,94
23	277	170	90	67,51
24	1340	915	649	51,57
25	352	266	169	51,99
26	301	260	187	37,87
27	984	618	546	44,51
28	1470	662	625	57,48
29	1190	1040	829	30,34
30	358	286	190	46,93
31	692	358	334	51,73
32	758	663	739	2,51
33	691	378	337	51,23
34	375	295	198	47,20
35	1700	1310	1140	32,94
36	1440	1030	748	48,06
37	1970	1180	1060	46,19
38	412	312	287	30,34
39	222	761	131	40,99
40	690	360	324	52,73
Μέσοι όροι	877,56	610,85	522,31	44,71
ΣΣΜ (±)	117,56	80,63	86,22	2,44

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΙΔΙΣΜΟΥ**

Υπερθυρεοειδισμός	P1NP (ng/ml) 0 λεπτά	P1NP (ng/ml) 60 λεπτά	P1NP (ng/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	237	209,1	219,2	7,51
2	40,55	34,08	39,19	3,35
3	109,1	98,35	95,92	12,08
4	42,71	38,42	40,21	5,85
5	252,8	248,51	268,9	-6,37
6	53,21	48,5	43,5	18,25
7	74,86	66,88	44,54	40,50
8	46,37	36,35	40	13,74
9	142,7	122,7	135,2	5,26
10	56,76	47,91	50,64	-24,24
11	37,04	44,45	46,02	6,50
12	101,1	91,61	94,53	-19,05
13	68,44	67,48	81,48	-0,64
14	59,43	67,56	59,81	16,35
15	49,24	42,42	41,19	1,05
16	51,58	51,17	51,04	-9,59
17	59,96	63,48	65,71	8,58
18	172,4	143,2	157,6	11,34
19	426,1	398,9	377,8	0,28
20	49,35	51,48	49,21	10,67
21	225	207,5	201	13,75
22	18,55	15,02	16	45,64
23	33,46	28,13	18,19	-10,23
24	139,8	153,6	154,1	15,48
25	29,58	23,32	25	12,94
26	44,96	49,55	39,14	5,73
27	75,33	91,04	71,01	6,41
28	238,8	209,3	223,5	24,36
29	112,6	83,88	85,17	4,92
30	42,52	41,86	40,43	-3,60
31	95,09	90,95	98,51	7,92
32	86,69	80,51	79,82	1,51
33	166,1	131,7	163,6	3,31
34	41,99	37,43	40,6	8,81
35	166,8	134,9	152,1	6,20
36	230,6	228,7	216,3	6,38
37	131,6	100,9	123,2	-17,34
38	44,05	47,52	51,69	30,24
39	17,36	18,63	12,11	7,51
40	131,6	100,9	123,2	3,35
Μέσοι όροι	104,40	97,99	97,77	7,04
ΣΣΜ (±)	13,99	12,90	13,08	2,24

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ**

Υπερθυρεοειδισμός	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 0 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 60 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	91,15	92,51	93,94	-3,06
2	20,55	21,53	22,44	-9,20
3	35,18	30,77	28,62	18,65
4	21,9	16,67	21,11	3,61
5	81,64	65,94	72,68	10,98
6	28,03	26,99	24,84	11,38
7	38,79	21,12	20,35	47,54
8	18,86	15,76	15	20,47
9	40,49	38,22	37,49	7,41
10	20,27	18,68	17,88	11,79
11	10,05	13,37	11,9	-18,41
12	41,48	35,98	35,65	14,05
13	22,67	12,66	23,25	-2,56
14	18,75	22,85	21,02	-12,11
15	24,82	26,08	20,15	18,82
16	29,63	28,54	26,29	11,27
17	17,9	27,47	29,32	-63,80
18	78,01	54,21	52,95	32,12
19	107,1	103,7	70,3	34,36
20	25,54	24,08	18,86	26,16
21	80,71	63,68	67,44	16,44
22	18,06	15,03	13,97	22,65
23	17,14	13,16	15,42	10,04
24	37,04	49,88	40,58	-9,56
25	13,44	12,54	15,35	-14,21
26	16,66	20,44	15,32	8,04
27	22,36	26,05	21,65	3,18
28	70,6	59,15	62,11	12,03
29	37,26	37,53	32,13	13,77
30	18,41	23,73	20,85	-13,25
31	25,03	27,47	18,26	27,05
32	29,76	24,8	26,03	12,53
33	42,38	13,2	10,56	75,08
34	27,14	21,9	23,19	14,55
35	58,2	52,78	43,78	24,78
36	49,96	76,36	58,68	-17,45
37	62,73	54,53	52,25	16,71
38	16,56	25,78	27,81	-67,93
39	54,66	30,56	53,39	2,32
40	58,2	52,78	43,78	24,78
Μέσοι όροι	37,72	34,51	32,89	7,60
ΣΣΜ (±)	3,91	3,60	3,24	4,06

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ**

Υπερθυρεοειδισμός	GIP (pg/ml) 0 λεπτά	GIP (pg/ml) 60 λεπτά	GIP (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	97,40	159,40	100,30	15495,00
2	118,80	180,80	121,70	18063,00
3	383,20	519,00	459,50	56421,00
4	304,00	365,00	374,40	42252,00
5	275,00	323,00	363,50	38535,00
6	366,50	442,70	44,30	38886,00
7	311,70	367,00	334,80	41415,00
8	336,30	358,40	363,50	42498,00
9	260,70	340,00	389,60	39909,00
10	278,60	342,60	422,40	41586,00
11	227,20	304,80	398,00	37044,00
12	290,90	362,70	365,00	41439,00
13	282,70	551,00	461,00	55371,00
14	241,30	395,00	300,60	39957,00
15	287,50	367,00	304,00	39765,00
16	319,40	369,90	497,90	46713,00
17	345,00	570,00	634,30	63579,00
18	359,00	604,20	329,10	56895,00
19	365,60	523,20	327,10	52173,00
20	340,00	342,00	424,60	43458,00
21	353,20	440,20	355,10	47661,00
22	366,40	453,40	368,30	49245,00
23	379,60	466,60	381,50	50829,00
24	392,80	479,80	394,70	52413,00
25	406,00	602,00	407,90	60537,00
26	362,70	373,60	369,20	44373,00
27	283,40	365,50	360,00	41232,00
28	235,00	302,40	242,90	32481,00
29	310,30	445,00	239,20	43185,00
30	306,80	355,50	273,10	38727,00
31	271,00	528,50	520,50	55455,00
32	315,20	496,50	453,00	52836,00
33	301,40	347,00	326,60	39660,00
34	387,00	447,50	291,00	47190,00
35	305,50	459,50	442,00	49995,00
36	254,50	322,20	367,00	37977,00
37	223,00	422,00	213,00	38400,00
38	273,80	393,00	286,10	40377,00
39	310,30	445,00	239,20	43185,00
40	306,80	355,50	273,10	38727,00
Μέσοι οροί	303,12	407,58	350,18	44053,34
ΣΣΜ (±)	10,83	16,08	18,02	1563,16

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΥΠΕΡΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ**

Υπερθυρεοειδισμός	GLP-1 (pg/ml) 60 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 60 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	38,00	131,00	51,00	10530,00
2	83,00	126,00	70,00	12150,00
3	34,00	123,00	38,00	9540,00
4	22,50	111,50	31,20	8301,00
5	57,00	146,00	45,00	11820,00
6	65,00	154,00	69,00	13260,00
7	49,00	138,00	46,00	11130,00
8	52,00	141,00	86,00	12600,00
9	21,70	110,70	52,00	8853,00
10	81,70	170,70	84,30	15222,00
11	28,70	117,70	37,80	9057,00
12	29,00	118,00	42,00	9210,00
13	40,00	129,00	57,00	10650,00
14	25,70	114,70	67,40	9675,00
15	28,90	117,90	39,10	9114,00
16	70,00	174,00	113,70	15951,00
17	54,00	54,00	46,40	6252,00
18	64,50	168,50	65,20	14001,00
19	63,70	167,70	91,00	14703,00
20	64,50	78,00	175,00	11865,00
21	147,80	177,30	150,00	19572,00
22	38,80	78,00	69,30	7923,00
23	24,60	30,90	73,50	4797,00
24	70,00	95,60	65,00	9786,00
25	60,50	124,40	67,40	11301,00
26	65,50	157,50	115,60	14883,00
27	13,50	79,10	118,00	8691,00
28	114,10	161,10	130,70	17010,00
29	52,00	99,00	72,00	9660,00
30	101,80	148,80	107,70	15213,00
31	128,60	175,60	122,30	18063,00
32	17,40	64,40	24,40	5118,00
33	76,00	123,00	123,00	13350,00
34	21,40	68,40	203,70	10857,00
35	111,70	158,70	121,30	16512,00
36	74,00	121,00	92,20	12246,00
37	52,00	99,00	79,00	9870,00
38	45,00	92,00	56,00	8550,00
39	38,00	131,00	51,00	10530,00
40	83,00	126,00	70,00	12150,00
Μέσοι όροι	57,57	122,24	81,53	11507,53
ΣΣΜ (±)	5,10	5,90	6,53	554,01

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2	β-CTX (pg/ml) 0 λεπτά	β-CTX (pg/ml) 60 λεπτά	β-CTX (pg/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	343	305	278	18,95
2	153	180	137	10,46
3	57	62	27	52,63
4	271	164	128	52,77
5	394	370	353	10,41
6	164	151	154	6,10
7	277	225	201	27,44
8	496	379	417	15,93
9	362	239	290	19,89
10	324	259	262	19,14
11	184	122	105	42,93
12	103	60	41	60,19
13	314	268	233	25,80
14	1170	945	472	59,66
15	221	184	153	30,77
16	438	253	209	52,28
17	103	60	41	60,19
18	248	191	146	41,13
19	251	147	147	41,43
20	258	169	125	51,55
21	226	155	107	52,65
22	153	109	74	51,63
23	343	305	278	18,95
24	153	180	137	10,46
25	57	62	27	52,63
26	271	164	128	52,77
27	394	370	353	10,41
28	164	151	154	6,10
29	277	225	201	27,44
30	496	379	417	15,93
Μέσοι όροι	290,17	223,83	184,96	35,22
ΣΣΜ (±)	40,41	32,85	21,30	3,47

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2	P1NP (ng/ml) 0 λεπτά	P1NP (ng/ml) 60 λεπτά	P1NP (ng/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	21,72	20,29	21,37	1,61
2	32,09	30,25	35,68	-11,19
3	8,83	8,51	6,95	21,29
4	77,64	28,61	28,84	62,85
5	24,38	20,39	21,13	13,33
6	25,97	25,92	26,92	-3,66
7	25,95	24,3	27,11	-4,47
8	17,87	14,02	15,87	11,19
9	21,02	17,32	19,11	9,09
10	21,24	20,76	22,02	-3,67
11	22,87	18,69	15,46	32,40
12	29,64	30,05	24,94	15,86
13	24,04	25,87	23,14	3,74
14	63,64	57,19	59,28	6,85
15	29,61	24,55	20,72	30,02
16	60,25	39,2	53,85	10,62
17	26,64	30,05	24,94	6,38
18	23,34	23,68	21,29	8,78
19	21,23	16,34	20,1	5,32
20	40,87	38,32	39,13	4,26
21	23,49	22,68	23,34	0,64
22	14,2	13,28	13,13	7,54
23	21,72	20,29	21,37	1,61
24	32,09	30,25	35,68	-11,19
25	8,83	8,51	6,95	21,29
26	77,64	28,61	28,84	62,85
27	24,38	20,39	21,13	13,33
28	25,97	25,92	26,92	-3,66
29	25,95	24,3	27,11	-4,47
30	17,87	14,02	15,87	11,19
Μέσοι όροι	29,67	25,05	25,71	9,79
ΣΣΜ (±)	2,98	1,86	2,17	2,85

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 0 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 60 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	9,38	8,09	9,35	0,32
2	8,71	11,22	9,66	-10,91
3	3,62	3,55	1,9	47,51
4	14,48	14,45	14,46	0,14
5	5,78	5,34	6,19	-7,09
6	12,59	14,45	10,61	15,73
7	9,99	10,79	10,52	-5,31
8	7,95	6,78	6,95	12,58
9	14,26	7,43	10,97	23,07
10	13,03	12,5	12,3	5,60
11	10,57	8,87	6,83	35,38
12	4,1	6,49	1,92	53,17
13	13,33	13,57	11,67	12,45
14	66,21	11,47	49	25,99
15	8,5	8,32	6,93	18,47
16	20,65	12,51	19,05	7,75
17	4,1	6,49	1,92	53,17
18	12,76	12,25	10,15	20,45
19	6,2	3,02	6,69	-7,90
20	18,01	15,45	15,29	15,10
21	10,13	16,05	15,34	-51,43
22	12,05	11,32	11	8,71
23	9,38	8,09	9,35	0,32
24	8,71	11,22	9,66	-10,91
25	3,62	3,55	1,9	47,51
26	14,48	14,45	14,46	0,14
27	5,78	5,34	6,19	-7,09
28	12,59	14,45	10,61	15,73
29	9,99	10,79	10,52	-5,31
30	7,93	6,78	6,95	12,58
Μέσοι όροι	13,00	10,21	11,27	12,55
ΣΣΜ (±)	2,26	0,70	1,70	4,20

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2

Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2	GIP (pg/ml) 0 λεπτά	GIP (pg/ml) 60 λεπτά	GIP (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	157,00	317,30	187,80	25047,00
2	116,90	226,40	364,30	29382,00
3	34,50	124,80	423,70	28020,00
4	165,30	141,80	110,00	21234,00
5	53,50	44,20	63,10	16767,00
6	48,80	80,30	63,90	6150,00
7	202,00	323,00	185,30	8199,00
8	71,50	315,00	282,70	30999,00
9	287,00	679,80	569,30	29526,00
10	302,00	622,00	324,16	66477,00
11	142,80	472,90	295,70	56105,00
12	205,40	1532,90	179,00	41529,00
13	161,50	309,80	433,70	103506,00
14	309,80	231,50	40,40	36444,00
15	234,50	383,30	293,40	24396,00
16	199,70	734,10	386,90	38835,00
17	81,40	440,00	357,80	61644,00
18	146,00	453,40	333,30	39576,00
19	175,00	323,00	71,60	41583,00
20	189,00	416,30	809,60	26778,00
21	369,30	429,30	453,40	54936,00
22	69,50	90,00	12,50	50439,00
23	144,00	182,20	463,80	7860,00
24	135,00	130,40	320,10	29166,00
25	154,00	170,00	147,70	21477,00
26	131,20	295,20	418,20	19251,00
27	75,70	204,30	211,30	34194,00
28	98,40	192,20	141,80	20868,00
29	147,00	370,80	207,30	18738,00
30	147,00	428,70	166,50	32877,00
Μέσοι όροι	158,49	355,50	277,28	34066,77
ΣΣΜ (±)	14,84	50,59	24,93	3670,53

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΣΑΚΧΑΡΩΔΗ ΔΙΑΒΗΤΗ ΤΥΠΟΥ 2**

Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2	GLP-1 (pg/ml) 0 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 60 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	63,00	110,00	78,00	10830,00
2	28,00	75,00	31,00	6270,00
3	33,00	80,00	45,00	7140,00
4	56,30	96,30	55,50	9132,00
5	30,00	70,00	37,40	6222,00
6	28,00	68,00	49,00	6390,00
7	48,50	88,50	65,00	8715,00
8	20,80	60,80	26,50	5067,00
9	31,00	71,00	31,00	6120,00
10	29,00	69,00	22,80	5694,00
11	19,50	59,50	18,60	4713,00
12	23,80	63,80	17,00	5052,00
13	16,70	56,70	19,00	4473,00
14	23,97	80,50	18,60	6107,00
15	18,30	76,80	21,40	5799,00
16	30,00	49,00	36,60	4938,00
17	14,00	62,70	19,80	4776,00
18	11,50	68,10	11,10	4764,00
19	28,00	92,40	33,30	7383,00
20	21,20	46,20	30,00	4308,00
21	16,70	58,10	17,30	4506,00
22	29,80	86,10	36,00	7140,00
23	21,50	82,80	33,60	6621,00
24	23,60	102,80	24,40	7608,00
25	42,20	55,40	50,00	6090,00
26	19,20	64,60	25,00	5202,00
27	22,20	87,70	25,60	6696,00
28	20,20	97,80	23,20	7170,00
29	14,27	70,80	34,30	5705,00
30	15,07	60,60	27,60	4916,00
Μέσοι όροι	26,64	73,70	32,12	6184,90
ΣΣΜ (±)	2,21	2,94	2,76	275,78

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
Β-ΟΜΟΖΥΓΟΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

β-ομόζυγος μεσογειακή αναίμια	β-CTX (pg/ml) 0 λεπτά	β-CTX (pg/ml) 60 λεπτά	β-CTX (pg/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	1230	676	573	53,41
2	984	623	596	39,43
3	448	301	166	62,95
4	223	207	161	27,80
5	177	154	143	19,21
6	418	254	154	63,16
7	306	237	150	50,98
8	372	262	202	45,70
9	419	232	230	45,11
10	322	180	230	28,57
11	668	503	456	31,74
12	231	134	122	47,19
13	584	440	393	32,71
14	115	89	99	13,91
15	275	197	217	21,09
16	243	141	62	74,49
17	283	158	93	67,14
18	638	384	493	22,73
19	656	456	343	47,71
20	118	59	28	76,27
21	636	438	403	36,64
22	443	305	344	22,35
23	277	180	93	66,43
24	190	142	73	61,58
25	472	297	234	50,42
26	855	64	406	52,51
27	249	140	96	61,45
28	363	204	143	60,61
29	504	222	304	39,68
30	762	606	424	44,36
31	370	296	232	37,30
32	760	524	415	45,39
33	502	221	313	45,6
Μέσοι όροι	450	284,53	252,44	45,31
ΣΣΜ (±)	45,59	29,19	27,28	2,92

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
Β-ΟΜΟΖΥΓΟΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία	P1NP (ng/ml) 0 λεπτά	P1NP (ng/ml) 60 λεπτά	P1NP (ng/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	182,20	180,80	179,70	1,37
2	91,61	81,33	87,07	4,96
3	22,21	30,31	29,13	-31,16
4	39,66	51,67	52,14	-31,47
5	30,22	26,02	24,73	18,17
6	50,29	43,51	44,04	12,43
7	27,52	22,24	21,19	23,00
8	59,26	48,29	53,87	9,10
9	48,27	39,89	41,50	14,03
10	23,74	22,46	21,67	8,72
11	65,49	54,07	59,64	8,93
12	30,76	26,02	25,59	16,81
13	71,06	73,18	71,61	-0,77
14	57,04	44,11	41,71	26,88
15	32,20	28,65	28,75	10,71
16	47,81	50,01	49,51	-3,56
17	23,12	19,85	21,86	5,45
18	162,60	126,00	148,20	8,86
19	148,40	138,60	131,40	11,46
20	11,00	9,98	10,44	5,09
21	29,54	26,19	29,02	1,76
22	36,67	35,11	36,33	0,93
23	45,50	29,51	44,82	1,49
24	45,24	40,99	40,59	10,28
25	52,18	45,47	45,93	11,98
26	61,21	51,66	62,11	-1,47
27	28,70	22,03	20,15	29,79
28	34,81	30,20	33,35	4,19
29	64,60	27,21	43,73	32,31
30	75,93	68,92	70,11	7,66
31	30,74	25,83	25,28	17,76
32	76,01	61,50	65,95	13,24
33	56,42	49,43	51,91	8,00
Μέσοι όροι	56,42	49,43	51,91	7,79
ΣΣΜ (±)	6,98	6,45	6,60	2,31

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
Β-ΟΜΟΖΥΓΟΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 0 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 60 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 120 λεπτά	% Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	42,39	44,30	43,18	-1,86
2	27,07	23,24	20,40	24,64
3	14,62	11,63	12,00	17,92
4	12,54	16,28	16,28	-29,82
5	13,18	14,38	10,94	17,00
6	27,41	24,02	24,27	11,46
7	10,98	10,51	9,97	9,20
8	14,64	9,85	14,41	1,57
9	14,71	11,62	10,02	31,88
10	11,58	12,74	11,01	4,92
11	20,51	18,23	19,59	4,49
12	9,69	8,40	8,20	15,38
13	16,06	21,34	20,91	-30,20
14	12,17	12,00	10,86	10,76
15	8,12	8,58	8,01	1,35
16	17,05	16,04	15,35	9,97
17	9,22	8,93	9,79	-6,18
18	27,15	21,55	22,61	16,72
19	27,26	24,91	16,18	40,65
20	10,67	8,35	10,31	3,37
21	9,81	8,89	9,49	3,26
22	8,50	8,65	8,20	3,53
23	19,09	22,06	18,13	5,03
24	10,56	14,62	11,38	-7,77
25	25,39	24,19	22,21	12,52
26	38,60	34,67	32,64	15,44
27	11,75	11,34	10,41	11,40
28	8,79	9,08	8,39	4,55
29	12,51	6,50	9,71	22,38
30	29,19	26,62	26,82	8,12
31	9,72	8,84	8,88	8,64
32	18,13	17,30	17,09	5,74
33	17,16	16,24	15,55	7,69
Μέσοι όροι	17,16	16,24	15,55	7,69
ΣΣΜ (±)	1,53	1,48	1,38	2,42

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
Β-ΟΜΟΖΥΓΟΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία	GLP-1 (pg/ml) 0 λεπτά	GLP-1 pg/ml) 60 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	36,09	89,80	62,70	8352
2	46,29	100,00	67,20	9405
3	44,29	98,00	59,00	8979
4	34,79	88,50	54,80	7998
5	39,09	92,80	53,20	8337
6	37,29	56,80	65,20	6483
7	32,79	123,70	52,50	9981
8	45,89	151,70	71,20	12615
9	37,59	148,40	68,80	12096
10	39,69	168,40	59,60	13083
11	67,34	121,00	85,20	11836
12	44,34	130,30	24,50	9883
13	47,34	137,60	22,50	10351
14	45,34	147,70	20,10	10825
15	47,84	120,70	31,20	9613
16	36,64	110,50	24,50	8464
17	37,34	121,80	23,50	9133
18	43,64	106,04	24,00	8392
19	84,34	107,44	55,50	10642
20	103,34	136,44	85,50	13852
21	111,00	165,44	96,50	16151
22	67,00	152,44	87,70	13787
23	75,00	199,74	131,50	18179
24	45,00	157,74	110,30	14123
25	78,00	222,74	104,30	18833
26	35,00	146,74	84,30	12383
27	89,00	225,74	130,30	20123
28	100,00	333,74	171,30	28163
29	56,00	150,20	121,30	14331
30	47,00	205,20	55,70	15393
31	102,00	271,60	96,70	22257
32	113,00	324,60	137,70	26997
33	68,80	245,80	84,00	19332
Μέσοι όροι	58,73	156,34	73,40	13344,61
ΣΣΜ (±)	4,39	11,43	6,61	936,59

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
Β-ΟΜΟΖΥΓΟΣ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

β-ομόζυγος μεσογειακή αναιμία	GIP (pg/ml) 0 λεπτά	GIP (pg/ml) 60 λεπτά	GIP (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	268,30	398,75	223,70	38685
2	204,50	224,65	159,90	24411
3	300,50	359,25	295,90	39447
4	203,70	247,65	209,10	27243
5	80,00	196,65	35,40	15261
6	310,50	347,65	301,90	39231
7	244,50	360,25	204,90	35097
8	196,00	251,85	151,40	25533
9	167,30	223,95	122,70	22137
10	119,00	219,45	114,40	20169
11	92,30	141,15	97,70	14169
12	127,60	178,25	118,00	18063
13	210,80	327,05	166,20	30933
14	179,80	209,65	135,20	22029
15	160,10	236,35	150,90	23511
16	64,30	229,70	55,10	17364
17	53,40	238,00	43,80	17196
18	77,70	293,40	92,30	22704
19	169,10	299,70	171,30	28194
20	182,90	252,80	237,30	27774
21	188,20	309,20	242,60	31476
22	11,60	203,00	55,10	14181
23	28,90	199,00	46,40	14199
24	154,90	259,20	163,40	25101
25	44,60	246,60	65,40	18096
26	278,90	498,00	347,40	48669
27	262,40	416,00	273,52	41038
28	294,90	390,40	306,02	41452
29	320,30	392,00	331,42	43072
30	278,30	371,00	289,42	39292
31	134,60	185,00	145,72	19510
32	441,20	584,20	452,32	61858
33	165,90	269,00	177,02	26428
Μέσοι όροι	182,33	289,66	181,30	28288,58
ΣΣΜ (±)	17,14	17,05	17,78	1985,43

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ**

Μάρτυρες	β-CTX (pg/ml) 0 λεπτά	β -CTX (pg/ml) 60 λεπτά	β -CTX (pg/ml) 120 λεπτά	%Μεταβολή στα 120 λεπτά
1	1230	676	573	53,41
2	984	623	596	39,43
3	448	301	166	62,95
4	223	207	161	27,80
5	177	154	143	19,21
6	418	254	154	63,16
7	306	237	150	50,98
8	372	262	202	45,70
9	419	232	230	45,11
10	322	180	230	28,57
11	668	503	456	31,74
12	231	134	122	47,19
13	584	440	393	32,71
14	115	89	99	13,91
15	275	197	217	21,09
16	243	141	62	74,49
17	283	158	93	67,14
18	638	384	493	22,73
19	656	456	343	47,71
20	118	59	28	76,27
21	636	438	403	36,64
22	443	305	344	22,35
23	277	180	93	66,43
24	190	142	73	61,58
25	472	297	234	50,42
26	855	64	406	52,51
27	249	140	96	61,45
28	363	204	143	60,61
29	504	222	304	39,68
30	762	606	424	44,36
31	370	296	232	37,30
32	760	524	415	45,39
33	502	221	313	45,6
Μέσοι όροι	450	284,53	252,44	45,31
ΣΣΜ (±)	45,59	29,19	27,28	2,92

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Μάρτυρες	P1NP (ng/ml) 0 λεπτά	P1NP (ng/ml) 60 λεπτά	P1NP (ng/ml) 120 λεπτά	% μεταβολή στα 120 λεπτά
1	77,24	67,12	54,42	29,54
2	36,18	28,73	28,79	20,43
3	47,75	48,68	41,62	12,84
4	46,73	45,49	54,43	-16,48
5	24,49	22,66	19,30	21,19
6	31,43	28,47	31,35	0,25
7	20,18	12,68	18,21	9,76
8	32,19	27,39	22,33	30,63
9	32,76	29,46	31,02	5,31
10	20,45	17,45	17,09	16,43
11	31,69	28,55	29,66	6,41
12	39,19	36,60	36,77	6,18
13	53,46	41,92	44,82	16,16
14	20,67	16,14	13,40	35,17
15	31,17	25,30	28,43	8,79
16	37,22	33,26	36,37	2,28
17	37,24	33,94	36,81	1,15
18	9,33	17,60	18,25	-95,61
19	47,89	41,66	47,30	1,23
20	55,49	43,82	49,13	11,46
21	40,42	34,90	44,73	-10,66
22	43,71	42,01	42,35	3,11
23	31,00	35,20	34,40	-10,97
24	27,62	27,10	28,51	-3,22
25	41,81	41,87	45,86	-9,69
26	41,39	37,22	34,99	15,46
27	44,03	44,17	45,48	-3,29
28	46,93	40,61	41,38	11,83
29	57,00	49,02	50,55	11,32
30	54,13	61,00	52,39	3,21
31	49	40,61	43,38	11,83
32	55,00	49,02	48,55	11,32
33	52,13	61,00	54,39	3,21
Μέσοι όροι	40,12	35,33	36,00	4,34
ΣΣΜ (±)	2,80	12,56	11,92	22,55

**ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΟΣΤΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ**

Μάρτυρες	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 0 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 60 λεπτά	Οστεοκαλσίνη (ng/ml) 120 λεπτά	% μεταβολή στα 120 λεπτά
1	36,67	39,95	41,16	-12,24
2	26,30	20,20	19,82	8,00
3	27,00	22,00	25,11	7,00
4	40,49	33,38	26,94	33,47
5	24,09	20,98	15,29	36,53
6	13,98	20,99	11,88	15,02
7	17,03	17,92	18,78	-10,28
8	12,19	10,12	8,81	27,73
9	11,52	7,95	8,40	27,08
10	9,04	5,25	6,18	31,64
11	15,49	12,25	8,31	46,35
12	21,01	15,57	13,54	35,55
13	10,10	9,93	8,86	12,28
14	12,79	11,87	10,89	14,86
15	16,24	17,63	16,88	-3,94
16	18,25	18,40	21,48	-17,70
17	8,72	6,98	5,96	31,65
18	12,65	12,15	11,45	9,49
19	15,23	15,36	15,65	-2,76
20	13,56	13,84	13,30	1,92
21	5,42	10,41	11,04	-103,69
22	24,28	21,39	16,14	33,53
23	20,50	17,01	17,54	14,44
24	11,54	12,50	17,01	-47,40
25	28,25	27,47	26,39	6,58
26	15,79	14,86	15,18	3,86
27	14,36	15,29	11,75	18,18
28	15,90	18,38	17,97	-13,02
29	16,40	12,90	13,58	17,20
30	17,03	20,81	21,13	-24,08
31	21,78	20,67	21,59	0,87
32	32,04	29,77	28,96	9,61
33	20,52	26,09	23,06	-12,38
Μέσοι όροι	18,12	17,50	16,57	5,85
ΣΣΜ (±)	8,00	7,90	7,71	5,00

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Μάρτυρες	GLP-1 (pg/ml) 0 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 60 λεπτά	GLP-1 (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	32,80	112,80	39,50	8937
2	43,00	123,00	44,00	9990
3	41,00	121,00	35,80	9564
4	31,50	111,50	31,60	8583
5	35,80	115,80	30,00	8922
6	34,00	79,80	42,00	7068
7	29,50	91,70	29,30	7266
8	42,60	119,70	48,00	9900
9	34,30	116,40	45,60	9381
10	36,40	136,40	36,40	10368
11	55,00	89,00	62,00	8850
12	32,00	98,20	37,00	7962
13	35,00	105,50	35,00	8430
14	33,00	115,60	32,60	8904
15	35,50	88,60	43,70	7692
16	24,30	78,40	37,00	6543
17	25,00	89,70	36,00	7212
18	31,30	118,60	36,50	9150
19	72,00	120,00	68,00	11400
20	91,00	149,00	98,00	14610
21	110,00	178,00	109,00	17250
22	89,00	165,00	100,20	15576
23	97,00	187,00	110,20	17436
24	67,00	145,00	89,00	13380
25	100,00	210,00	83,00	18090
26	57,00	134,00	63,00	11640
27	111,00	213,00	109,00	19380
28	122,00	321,00	150,00	27420
29	78,00	118,00	89,00	12090
30	79,00	173,00	88,00	15390
31	134,00	236,00	129,00	22050
32	145,00	289,00	170,00	26790
33	100,80	210,20	116,30	19125
Μέσοι όροι	63,17	144,23	68,9	12616,63
ΣΣΜ (±)	6,20	10,23	6,74	976,53

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΓΑΣΤΡΕΝΤΕΡΙΚΩΝ ΠΕΠΤΙΔΙΩΝ
ΜΑΡΤΥΡΩΝ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΗΣ ΑΝΑΙΜΙΑΣ

Μάρτυρες	GIP (pg/ml) 0 λεπτά	GIP (pg/ml) 60 λεπτά	GIP (pg/ml) 120 λεπτά	AUC (0-120 λεπτά)
1	256,00	386,10	266,00	38826
2	192,20	212,00	202,20	24552
3	288,20	316,60	298,20	36588
4	191,40	235,00	201,40	25884
5	67,70	184,00	77,70	15402
6	298,20	335,00	308,20	38292
7	232,20	347,60	242,20	35088
8	183,70	239,20	193,70	25674
9	155,00	211,30	165,00	22278
10	106,70	206,80	116,70	19110
11	80,00	128,50	90,00	12810
12	115,30	165,60	125,30	17154
13	198,50	314,40	208,50	31074
14	167,50	197,00	177,50	22170
15	183,20	223,70	193,20	24714
16	87,40	197,70	97,40	17406
17	12,50	206,00	22,50	13410
18	100,80	261,40	110,80	22032
19	192,20	267,70	202,20	27894
20	206,00	220,80	216,00	25908
21	211,30	277,20	221,30	29610
22	34,70	171,00	57,80	13035
23	52,00	167,00	75,10	13833
24	178,00	227,20	201,10	25005
25	67,70	214,60	90,80	17631
26	302,00	466,00	325,10	46773
27	285,50	384,00	308,60	40863
28	318,00	358,40	341,10	41277
29	343,40	360,00	366,50	42897
30	301,40	392,00	324,50	42297
31	12,50	206,00	35,60	13803
32	464,30	605,20	487,40	64863
33	189,00	290,00	212,10	29433
Μέσοι όροι	184,07	271,967	198,83	27805,63
ΣΣΜ (±)	18,40	17,48	18,66	2094,49