

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН
КАТЕДРА „ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ“

Д-р Татяна Недкова Симеонова

ПРОУЧВАНЕ ВЛИЯНИЕТО НА ВИТАМИН Д И
ВИТАМИН К2 СТАТУСА ВЪРХУ КОСТНИЯ
ТЪРНОВЪР ПРИ ЖЕНИ С ПОСТМЕНОПАУЗАЛНА
ОСТЕОПОРОЗА

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на образователна и
научна степен „Доктор“

Докторска програма
„Физиология на животните и човека“

Научни ръководители

Доц. д-р Боряна Крумова Русева, д.м.
Доц. д-р Здравка Вескова Радинова, д.м.

Официални рецензенти

проф. д-р Анна Найденова Толева, д.м.
доц. Петя Павлова Маркова, д.б.

Плевен
2023

* * *

Дисертационният труд съдържа 182 страници и е онагледен с 12 таблици и 70 фигури.

Библиографският списък включва 450 литературни източника, от които 6 на кирилица и 444 на латиница.

* * *

Дисертационният труд е одобрен и насочен за защита от разширен катедрен съвет на катедра „Физиология и патофизиология“ при Медицински университет – Плевен.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на 15.03.2024 г. от 11:00 ч. в зала „Амброаз Парев“ на МУ – Плевен.

Материалите по защитата са на разположение в Научния отдел и са публикувани на интернет страницата на МУ – Плевен – www.mu-pleven.bg

СЪКРАЩЕНИЯ

АФ – алкална фосфатаза

БКМ – биохимични костни маркери

ДХА – двойноенергийна рентгенова абсорбциометрия

ИТМ – индекс на телесна маса

КМП – костна минерална плътност

ОП – остеопороза

ПТХ – паратхормон

СЗО – Световна здравна организация

EFSA – Европейска група по безопасност на храните

FRAX-Hfr – бедрена фрактура

FRAX-MO – голяма остеопоротична фрактура

IFCC – Международна федерация по клинична химия и лабораторна медицина

IOF – Международна фондация по остеопороза

MGP – матриксен Gla-протеин

OC – остеокалцин

RANKL – лиганд активатор на рецептора на нуклеарен фактор κ В

SD – стандартно отклонение

ucOC – некарбоксилиран остеокалцин

СЪДЪРЖАНИЕ

Въведение	5
Цел	8
Задачи	8
Клиничен контингент, материали и методи	9
Клиничен контингент	9
Критерии за включване на участничките в работната група	9
Критерии за включване на участничките в контролната група	9
Оформяне на работната и контролната групи	9
Материали и методи	10
Резултати	15
Костна минерална плътност	15
Индекс на телесна маса	17
Фрактурен риск	18
Биохимични и имунологични изследвания на калций, фосфор, АФ, остеокалцин, бета КросЛапс, ПТХ, витамин Д и витамин К2	20
Калций и фосфор	20
Алкална фосфатаза	20
Паратхормон	21
Витамин Д	22
Витамин К2	28
Бета КросЛапс	32
Корелации между витамин Д и показателите на калциево-фосфорната обмяна, БКМ, КМП, ИТМ, фрактурния риск и витамин К2	32
Динамика в серумните концентрации на бета КросЛапс и алкална фосфатаза след шестмесечно лечение с Денозумаб	40
Обсъждане	42
Изводи	79
Приноси	81
Участия и публикации	82

ВЪВЕДЕНИЕ

Остеопорозата (ОП) е “тиха епидемия”. Днес заболяването се дефинира като първично метаболитно разстройство на скелета с комплексна патогенеза и силна причинно-следствена връзка между ниската костна минерална плътност (КМП) и повишения риск от фрактури. Безсимптомното или с нехарактерни клинични прояви протичане е причина за подценяване на проблема от пациентите и медицинските специалисти и късно поставяне на диагнозата, често след настъпване на спонтанна фрактура. Усложненията са тежки, свързани с инвалидизация, продължителни грижи и нерядко летален изход, което изисква концентриране усилията на научната общественост към обогатяване на знанията за заболяването в различните страни, а също и създаването и изпълнението на стратегии за превенция на развитието му и възникването на усложнения.

Адекватното хранене играе основна роля в профилактиката и лечението на ОП, а от хранителните вещества най-важни са калций и витамин Д. В много страни суплементацията с калций самостоятелно или в комбинация с витамин Д се препоръчва в схемите за профилактика и лечение, поради предполагаемата им способност да поддържат здравето на костите и да повишават КМП. Нови научни доказателства обаче свързват приема на добавки с калций и витамин Д с повишен риск от сърдечно-съдови заболявания. Едновременното развитие на ОП и артериална калцификация е наречено „калциев парадокс“ и се среща често при жени в менопауза. Проучванията предполагат, че двете заболявания може да са взаимосвързани. Жените, които получават добавки с калций са изложени на по-висок риск от сърдечно-съдови заболявания, а публикации в научната литература потвърждават вероятността витамин К₂ и възможният му дефицит да са свързващото звено между калциевите добавки и увеличаване на сърдечно-съдов риск.

Днес е известно, че витамините Д и К₂ играят централна роля в метаболизма на калция и взаимодействат синергично в поддържането на костното и сърдечно-съдовото здраве. Витамин Д стимулира синтеза на протеини, които се активират чрез витамин К₂-зависимо карбоксилиране. В костите и кръвоносните съдове, витамин К₂-зависимите протеини остеокалцин (OC) и матриксен Gla-протеин (MGP) регулират калциевата хомеостаза. Остеокалцинът се синтезира от остеобластите и поддържа

свързването на калция с костната минерална матрица, а MGP се синтезира от съдовите гладкомускулни клетки и предотвратява ектопична калцификация. Доскоро се е смятало, че дефицит на витамин К2 се среща много рядко и само при пациенти от определени рискови групи. В съвременната научна литература се срещат все повече данни за лош витамин К2 статус и свързани с него неблагоприятни ефекти върху костния и съдовия метаболизъм, чрез повишените нива на некарбоксилираните функционално неактивни фракции на тези протеини.

Дефицитът на витамин Д е най-често срещаният хранителен дефицит в световен мащаб и все още се приема за рисков фактор в развитието на ОП и фрактури.

Към днешна дата все още не е изяснено напълно дали оптималните му нива повишават КМП и намаляват фрактурния риск, както и дали упражняват допълнителни мускулно-скелетни ефекти, тъй като някои скорошни мета-анализи на рандомизирани клинични проучвания поставят под въпрос тези предложени по-рано ефекти на витамин Д, а данните получени в различни географски региони са противоречиви.

В световната научна литература има и противоречиви данни за връзката между дефицита на витамин Д, КМП и фрактурния риск, а вероятността за фрактури се различава съществено в различните географски региони.

Витамин Д статуса при пациентки с постменопаузална ОП е важен елемент от комплексната оценка, защото оптималните нива са изключително важни за постигане на максимален ефект от антирезорбтивната терапия.

Суплементацията с витамин Д и калций, се препоръчва в множество ръководства като елемент в комплексното лечение на ОП, но все повече научни доказателства свързват калциевите добавки с ускорено настъпване на артериална калцификация и повишен сърдечно-съдов риск при пациентки с дефицит на витамин К2.

Витамин К2 участва в регулацията на много жизнени процеси, но все още не са изяснени напълно физиологичните му ефекти и механизмите за повлияване на калциевия метаболизъм, както и потенциалната му роля за поддържане на костното здраве и развитието на ОП.

Костта е жива тъкан, която постоянно се възстановява и обновява поради микроскопични увреждания, възникващи при ежедневната физическа активност. Този процес се нарича костен търновър и обективната му оценка се извършва с помощта на биохимични маркери. Биохимичните маркери за

костен търновър (БКМ) са нови инструменти, които откриват динамиката на костното ремоделиране по отношение на костното образуване и резорбция. Измерват се лесно в проба кръв и урина и трябва да станат предпочитан метод при наблюдението на костните метаболитни заболявания, защото рентгенографските измервания на костната маса реагират бавно на промените в костната физиология. Затова съвременните усилия са насочени към стандартизиране на употребата им, както за научни, така и за клинични цели. Наличността на надеждни, рентабилни, чувствителни и специфични анализи може да допълни измерването на КМП при лечението на ОП, особено при проследяването на пациенти, които са били на антирезорбтивни или костни формационни терапии.

Мониторирането на ранният ефект от лечението на ОП е трудна задача. Серийното измерване на КМП чрез ДХА понастоящем е „златен“ стандарт за оценка. Такова се препоръчва най-рано 1 година след започване на лечението, но нарастването на КМП и намаляването на честотата на фрактурите като очакван терапевтичен ефект се наблюдава обичайно след втората година от лечението.

Биохимичните маркери за костен обмен могат да бъдат полезен инструмент в тази насока, но широкото им въвеждане в клиничната практика е затруднено поради липсата на общовалидни референтни стойности в световен мащаб, особено за жени в менопауза и както беше подчертано са необходими още изследвания. Серумните концентрации на някои от маркерите показват географски вариации, но все още липсват достатъчно данни, а публикуваните в научната литература са разнопосочни.

В България проблемът ОП е силно подценяван. Липсва добра организация по идентифицирането, диагностицирането, лечението и проследяването на пациентите.

В световен мащаб публикуваните данни за нивата на витамин Д и витамин К2 при жени в менопауза и с ОП са отчасти противоречиви.

В България няма публикувани данни за нивата на витамин Д и К2, както и за нивата на БКМ при жени в менопауза и при пациентки с ОП. В ръководствата за ОП тези маркери се препоръчват като възможност за ранно установяване на ефекта от прилаганото лечение, но в страната ни липсва опит в клиничното им приложение.

Въз основа на тези неизяснени въпроси бяха формулирани целта и задачите на дисертационния труд.

ЦЕЛ

Целта на настоящото научно изследване е да се установи витамин Д и витамин К2 статуса на жени с постменопаузална остеопороза, да се проучат ефектите на двата витамина върху костния търновър и да се оценят възможностите за използването им в управлението на остеопорозата.

ЗАДАЧИ

1. Да се оцени костната минерална плътност на участничките чрез измерване с двойно-енергийна рентгенова абсорбциометрия, което да послужи за оформянето на групите. Като елементи от първоначалната оценка да бъдат изчислени индексът на телесната маса и фрактурният риск.
2. Да се изследват показателите на калциево-фосфорния метаболизъм: калций, фосфор, паратхормон и биохимичните маркери за костен търновър алкална фосфатаза, остеокалцин и бета КросЛапс.
3. Да се оцени витамин Д статусът чрез изследване на плазмените му концентрации.
4. Да се оцени витамин К2 статусът индиректно чрез изследване на плазмените концентрации на ucOC и съотношението ucOC/OC.
5. Да се потърсят корелации между нивата на витамините Д и К2, показателите на калциево-фосфорния метаболизъм, костния търновър и костната минерална плътност.
6. Да се изследва динамиката на серумните нива на бета КросЛапс и алкална фосфатаза при пациентките с остеопороза преди и шест месеца след започване комплексното лечение и да се проучи ползата от проследяването им за ранно мониториране на ефекта от лечението.

КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ, МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Клиничен контингент

За постигане на целта на дисертационния труд и изпълнение на поставените задачи беше осъществен подбор на жени в менопауза отговарящи на определени критерии за включване в работна и контролна групи.

Критерии за включване на участничките в работната група

- Възраст ≥ 45 години.
- Настъпила менопауза.
- Анамнестични и клинични данни за липса на заболявания водещи до вторична ОП.
- Доказана постменопаузална ОП чрез изследване на КМП с ДХА.
- Непровеждано до момента на диагнозата лечение за остеопороза, включително суплементация с витамин Д, К2 и калциеви препарати.

Критерии за включване на участничките в контролната група

- Възраст ≥ 45 години.
- Настъпила менопауза.
- Доказана липса на ОП чрез изследване на КМП с ДХА.
- Непровеждана до момента на изследването суплементация с витамин Д, К2 и калциеви препарати.

Оформяне на работната и контролната групи

През периода октомври 2018 г. – май 2021 г. в рамките на Проект № 10/2018 г. и Проект № 8/2020 г. финансирани от МУ – Плевен, се осъществи подбор на участничките, оформяне на групите, създаване на необходимата документация, както и провеждане на предвидените имунологични и биохимични изследвания.

Изследвани бяха 100 жени в менопауза. Всички участнички подписаха информирано съгласие. Диагнозата беше поставена след измерване на КМП на прешлените в лумбалния отдел на гръбначия стълб чрез ДХА. Оформянето на групите се извърши според стандартите на СЗО, а КМП се определи както следва:

- Нормална костна минерална плътност: T- score ≥ -1.0 SD;
- Остеопения: T-score между -1.0 SD и -2.5 SD;

- Остеопороза: T-score ≤ -2.5 SD;
- Тежка остеопороза: T-score ≤ -2.5 SD + фрактура.

Участничките бяха разделени в две групи:

Работна група – Нелекувани жени с новодиагностицирана остеопороза.

Контролна група – Жени без остеопороза с нормална костна минерална плътност или остеопения.

Материали и методи

1. Клинични методи: анамнеза и физикално изследване.

2. Антропометрия – измерване на телесната маса по утвърдена стандартна методика с калибрирана везна и ръста чрез стандартен ръстомер. От телесното тегло в килограми и ръста в квадратни метри се изчисли ИТМ по формулата: $\text{ИТМ} = \text{кг}/\text{м}^2$.

Нормите на СЗО за ИТМ, приети и в България са както следва:

- Поднормено тегло: $< 18,5$ $\text{кг}/\text{м}^2$
- Нормално тегло: $18,5 - 24,99$ $\text{кг}/\text{м}^2$
- Наднормено тегло: $25,0 - 29,99$ $\text{кг}/\text{м}^2$
- Обезитет: ≥ 30 $\text{кг}/\text{м}^2$

3. Социологически методи:

- **Анкетен метод** – Пряка индивидуална анкета за проучване на рисковите фактори за остеопороза, чрез попълване на въпросника „Едноминутен тест за оценка риска от остеопороза“, който е оригинална разработка на проф. Михаил Боянов. В него отделните рискови фактори получават различен брой точки в зависимост от тежестта им. При определяне на относителната тежест на рисковите фактори са използвани данните на СЗО и големите епидемиологични проучвания за т.нар. значими (главни) рискови фактори. Общият риск от остеопороза се оценява чрез сбора от всички точки и при наличие на такъв лицето се насочва за измерване на КМП.
- **Документален метод** – Разработени са анкетни карти за всяка група изследвани лица, в които се попълват данни за възраст, резултатите от антропометричните измервания и костната минерална плътност, история на заболяването, придружаващи заболявания, прием на медикаменти.

4. Оценка на фрактурния риск:

Калкулаторът FRAX[®] Fracture Risk Assessment Tool влиза в препоръките на СЗО за оценка на фрактурния риск от 2008 г. Това е уеб-базиран

алгоритъм за бърза и лесна оценка на индивидуалния фрактурен риск – <https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/>. Чрез него на базата на изследваната КМП и някои клинични рискови фактори се оценява в проценти десетгодишната вероятност за настъпване на значима остеопоротична фрактура – бедро, прешлени, раменна кост или предмишница. Чрез алгоритъма се изчисляват два фрактурни показателя:

- **FRAX-MO (Major osteoporotic)** – общ риск от настъпване на фрактура.
- **FRAX-Hfr (Hip fracture)** – риск от настъпване на фрактура на бедрената шийка.

Показателите, които се използват за изчисление на FRAX включват:

- Костна минерална плътност в гр/см² или Т-скор на гръбнак или бедрена шийка измерена чрез ДХА.
- Клинични рискови фактори: възраст, пол, ръст, телесно тегло, ИТМ, анамнеза за преживяна фрактура, фамилна анамнеза за бедрена фрактура, тютюнопушене, употреба на алкохол, прием на глюкокортикостероиди, ревматоиден артрит и други форми на вторична остеопороза. Данни за посочените рискови фактори са получени от анамнезата и попълнените въпросници.

Съвременните препоръки на Международната фондация по остеопороза от 2008 г. за прагови стойности, над които фрактурният риск се смята за повишен са:

- **FRAX-MO \geq 20%,**
- **FRAX-Hfr \geq 3%.**

В края на 2020 година калкулаторът беше валидиран за употреба в България, но трябва да се отбележи, че в рамките на националния консенсус за добра клинична практика все се още липсват препоръки за използването му при оценката на риска от фрактури.

5. Лабораторни изследвания:

За изследване на предвидените биохимични и имунологични показатели – калций, фосфор, АФ, ПТХ, витамин Д, остеокалцин, некарбоксилиран остеокалцин, бета КросЛапс беше използвана венозна кръв. Изследванията се проведеха в периода от октомври до март през 2018 и 2020 г. За избягване на циркадната вариабилност пробите бяха събирани сутрин между 8.00 и 9.30 часа, след 12-часово гладуване и изследвани в сертифицирана медико-диагностична клинична лаборатория с идентична методология за минимизиране на вариациите дължащи се на технически грешки.

- **Биохимични изследвания:**
 - **Калций, фосфор, алкална фосфатаза** – използвана беше 5 мл венозна кръв, взета в стерилни вакутейнери за серум отделен чрез центрофугиране. Пробите бяха изследвани в деня на вземането с биохимичен анализатор Cobas C 311, Roche Diagnostics.
- **Имунологични изследвания:**
 - **Паратхормон, витамин Д, остеокалцин, бета КросЛапс** – използвана беше венозна кръв 5 мл взета в стерилни вакутейнери за серум отделен чрез центрофугиране. Пробите бяха изследвани в деня на вземането с електро-хемилюминисцентен имуноанализ на имунологичен анализатор Cobas E 411, Roche Diagnostics. Използвани бяха съответно Elecsys PTH с чувствителност 1.20 – 5.00 pg/ml или 0.127 – 530 pmol/ и Elecsys Vitamin D total Roche Diagnostics kits с чувствителност 3.00 – 100 ng/ml или 7.50 – 250 nmol/l, Elecsys N-MID Osteocalcin Roche Diagnostics kit с чувствителност 0.500 – 300 ng/ml и Elecsys β -Crosslaps Roche Diagnostics kit с чувствителност 0.010 – 6.00 ng/ml. Референтните стойности на показателите, в съответствие с използваните лабораторни анализи, са показани в Табл. 1:

Таблица 1. Референтни стойности на изследваните показатели, в съответствие с използваните лабораторни анализи

Показател	Референтни стойности
Калций	2,15 – 2,55 mmol/l
Фосфор	0,87 – 1,45 mmol/l
Алкална фосфатаза	\leq 128 U/l
ПТХ	15 – 65 pg/ml
Витамин Д	\geq 50 – 120 nmol/l – норма 25 – 50 nmol/l – недостатъчност \leq 25 nmol/l – дефицит
Остеокалцин	жени – 11 – 43 ng/ml; менопауза 15 – 46 ng/ml
Бета КросЛапс	0 – 1.008 ng/ml

- **Некарбоксилиран остеокалцин:** Използвана беше венозна кръв 3 мл в стерилни вакутейнери за хематология. Пробите за изследване след центрофугиране и отделяне на плазмата бяха замразени и съхранявани при -80°C. Концентрациите бяха измерени с Human Undercarboxylated Osteocalcin (ucOC) ELISA Kit (Abbeba,UK), с тестови граници 6.25 pg/ml – 400 pg/ml и чувствителност – 3.75

pg/ml. Пробите бяха разредени 1:100 и изследването беше направено в съответствие с инструкциите на производителя

- **Витамин К2 статус:** Оценен беше индиректно чрез процентното съотношение $ucOC/OC$. В документ от 2017 г. EFSA приема стойности на $ucOC/OC \geq 20\%$ за индикатор за хранителен дефицит на витамин К2.

6. Статистически методи – данните са въведени и обработени със статистическите програмни продукти SPSS v23.0 и Microsoft Office Excel 2003.

- Резултатите са описани чрез таблици, графики и числови величини (показатели за структура – относителни дялове, средни стойности, корелационни коефициенти и др.). Непрекъснатите променливи са изразени като средна стойност на величината (X) \pm стандартно отклонение (SD). Категорийните променливи са изразени в абсолютни/относителни честоти. Данните са тествани за нормалност на разпределението чрез тестовете на Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) и Шапиро-Уилк (Shapiro-Wilk). Статистическата обработка е съобразена с вида на данните (номинални, ординални, интервални) и разпределението на величините. За статистически достоверни при различните анализи са приети стойности на $p < 0.05$.
- Използвани са методи на дескриптивен, сравнителен, корелационен и регресионен анализ.

Дескриптивен анализ:

- Честотен анализ на качествените променливи величини, който включва абсолютни и относителни честоти в проценти.
- Вариационен анализ на количествените променливи величини, чрез който са намерени средната аритметична стойност и стандартното отклонение, стандартната грешка на средната аритметична стойност и медианата.

Сравнителен анализ: При сравняването на групите най-често е използвана средната стойност на величините (X) \pm стандартното отклонение (SD), като показател за вариабилността на изследвания фактор или стойностите на медианите в зависимост от типа на разпределение.

- При нормално разпределение на данните, значимостта на разликите между групите е установена с еднофакторен

дисперсионен анализ (ANOVA) и пост-хок тест на Туки (Tukey), Т-тест (t-test) за независими и корелирани извадки.

- При данни, отклоняващи се от нормалното разпределение, за сравнение са използвани непараметричните тестове на Крушкел-Уолис (Kruskal-Wallis) за повече от две извадки и на Ман-Уитни (Mann-Whitney) за две независими извадки.

Корелационен анализ:

- Корелационен анализ на Пирсън (Pearson) за изследване на връзката между две непрекъснати, нормално разпределение величини.
- Рангова корелация на Спирмън ρ (Spearman's ρ) за изследване на връзката между две величини с неправилно разпределение и/или измерени по ординална скала.
- Степента на корелациите е оценена според корелационния коефициент (r) при 5-степенна скала, като: слаба ($r < 0.3$), умерена ($0.3 < r < 0.5$), значителна ($0.5 < r < 0.7$), висока ($0.7 < r < 0.9$) и много висока ($0.9 < r < 1$)

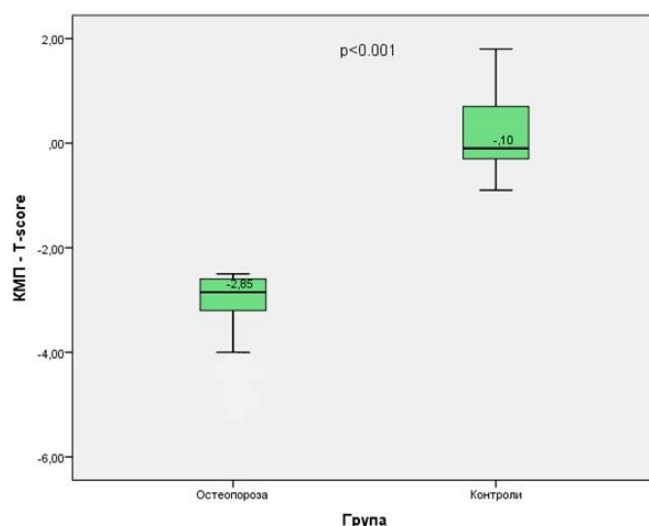
Еднофакторен линеен регресионен анализ: за изследване на взаимовръзката между една или няколко независими променливи.

РЕЗУЛТАТИ

Костна минерална плътност

След проведеното чрез ДХА измерване на КМП областта на прешлените на лумбалния отдел на гръбначния стълб участничките с постменопаузална ОП и Т-скор равен или по-нисък от -2.5 SD бяха включени в работната група ($n = 62$). Участничките без ОП и Т-скор по-висок от -2.5 SD в контролната група ($n = 38$).

Данните от Т-скора показаха неправилно разпределение и за сравнение са използвани непараметрични методи. Тестът на Ман-Уитни показва статистически значимо по-ниска КМП (-2.85 ± 0.54 SD) в групата с ОП, в сравнение с КМП (-0.10 ± 0.67 SD) на жените в контролната група ($U = 0.00$; $p < 0.001$) (Фиг. 1).



Фиг. 1. Костна минерална плътност в лумбалния отдел на гръбнака в работната и контролната групи. Данните са представени като медиана, минимална и максимална стойност на Т-скор. Разликата между двете групи е статистически значима $p < 0.001$.

Работна група

В тази група бяха включени 62 жени на средна възраст 66.05 ± 8.70 г. и средна КМП, изразена чрез Т-скор от -2.85 ± 0.54 SD. За определяне на тежестта на ОП, данни за фрактурите бяха получени от медицинската документация. С ОП без фрактура бяха 39 пациентки на възраст 65.21 ± 7.28 г. и Т-скор (-2.8 ± 0.62 SD). С тежка ОП, средна възраст 67.48 ± 10.71 г., Т-скор (-2.9 ± 0.53 SD) и доказани фрактури в различни области – предмишница и гръбначен прешлен, бяха 23 пациентки. Сравнението между

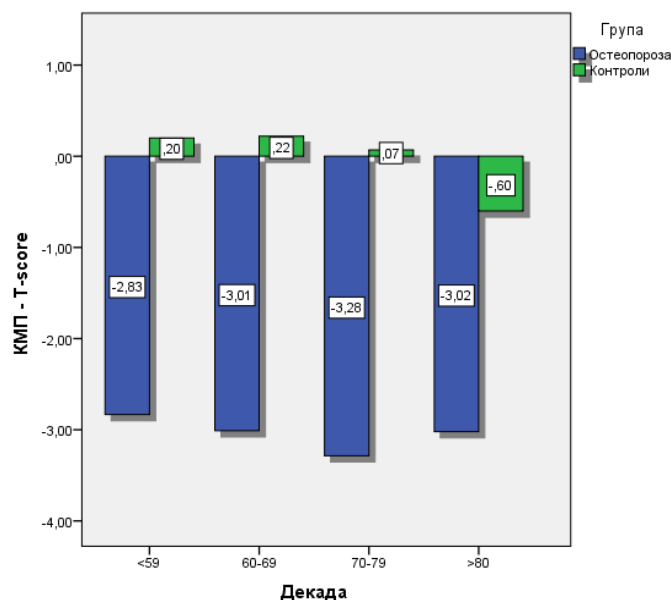
двете групи с теста на Ман-Уитни не показва статистически значима разлика във възрастта ($U = 383.50$; $p = 0.343$) и КМП ($U = 417.50$; $p = 0.650$).

Контролна група

В тази група бяха включени 38 жени в менопауза, без ОП на средна възраст 64.89 ± 8.42 г. и Т-скор (-0.10 ± 0.67 SD). В контролната група 11 жени на средна възраст 68.82 ± 8.8 г. и Т-скор (-0.09 ± 0.64) са с доказани фрактури на предмишница. Тестът на Ман-Уитни за сравнение между жените с фрактура и без такава не показва статистически значима разлика във възрастта ($U = 105.50$; $p = 0.165$) и КМП ($U = 106.50$; $p = 0.175$).

Средната възраст на пациентките с ОП е по-висока (66.06 ± 8.7) в сравнение с контролите (64.89 ± 8.42), но резултатите от проведеният Т-тест за сравнение на независими извадки, не показаха статистически значими различия ($t = 0.657$; $p = 0.513$).

Измерената КМП в работната и контролната групи, разпределени по декади е показана на Фигура 2. В групата с ОП, КМП показва постепенно снижение във всяка следваща декада, като най-ниска е при жените на възраст 70 – 79 г. Сравнението с теста на Ман-Уитни по декади поотделно в двете групи показва статистически значима разлика в КМП само в групата с ОП. Жените на възраст между 70 – 79 г. имат статистически значимо по-ниска КМП ($U = 44.50$; $p = 0.022$) от жените на възраст 50 – 59 г.

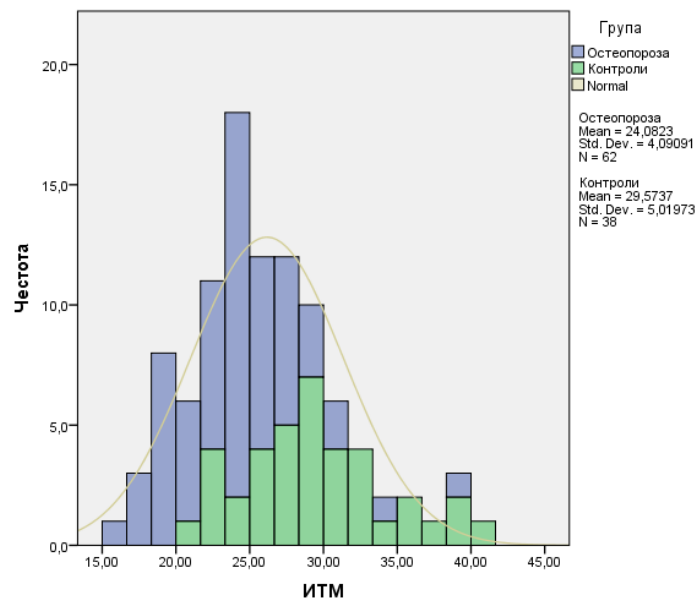


Фиг. 2. Средна КМП изразена чрез Т-скор при жените от работната и контролната групи разпределени по декади. Разликата в КМП на жените в групата с ОП на възраст 50 – 59 г. и 70 – 79 г. е статистически значима $p < 0.05$.

Индекс на телесна маса

Важен параметър в комплексната оценка на пациентите с ОП. Изчислен е по стандартизирана методика и е интерпретиран в съответствие с приетите от СЗО норми. Поради неправилното разпределение на данните за сравнение са използвани непараметрични методи. В групата с ОП средният ИТМ е 24.08 ± 4.09 кг/м², а в контролната група ИТМ е 29.57 ± 5.01 кг/м². Междугруповото сравнение с теста на Ман-Уитни показва, че ИТМ при жените с ОП е статистически значимо по-нисък в сравнение с ИТМ на контролите ($U = 446.0$, $p < 0.001$).

Честотата на разпределение по ИТМ на участничките от работната и контролната група е показана на Фигура 3. При контролите ясно се вижда изместването на стойностите на ИТМ в посока към наднормено телесно тегло и затлъстяване.



Фиг. 3. Комбинирана хистограма на честотата на разпределение по ИТМ в кг/м² на участничките от работната и контролната групи. Разликата в средните стойности на ИТМ в двете групи е статистически значима $p < 0.001$.

В групата с ОП преобладаващата част от жените – 58.1% са с нормално телесно тегло, 29 % са с наднормено телесно тегло, 6.5% са с обезитет и 6.5% са с поднормено телесно тегло. В контролната група 18.4% са с нормално телесно тегло, 42.1% са с наднормено телесно тегло и 39.5% са с обезитет. Непараметричният тест на Крушкел-Уолис показва статистически значимо неравенство в разпределенията по групи ИТМ, както при жените с ОП ($\chi^2 = 47.56$; $p < 0.001$), така и в контролната група ($\chi^2 = 31.798$; $p < 0.001$).

Костната минерална плътност в работната и контролната групи с различен ИТМ е представена в Таблица 2.

Таблица 2. Костна минерална плътност на жените в работната и контролната групи с различен ИТМ

ИТМ кг/м ²					
КМП – T-score	под норма < 18.5	норма 18.5 – 24.99	наднормено тегло 25.0 – 29.99	обезитет > 30	Ниво на значимост
Работна група	-3.63±1.11	-3.06±0.61	-2.86±0.32	-3.15±0.38	p=0.323
Контролна група	–	0.37±0.79	0.05±0.72	0.17±0.57	p=0.589

КМП е изразена чрез T-score в SD и стандартно отклонение.

В групата с ОП се забелязва постепенно намаляване на КМП с намаляване на ИТМ при групите с наднормено тегло, нормално тегло и поднормено тегло, но резултатите от тестовете на Крушкел-Уолис не показаха статистически значими различия ($\chi^2 = 3.483$; $p = 0.323$). При жените от контролната група също липсват статистически значими разлики в КМП при различен ИТМ ($\chi^2 = 1.060$; $p = 0.589$).

Фрактурен риск

Изчислените чрез валидирания за страната ни FRAX ® Fracture Risk Assessment Tool рискове за голяма остеопоротична и бедрена фрактури на жените в работната и контролната групи са представени в Таблица 3. Средните стойности на FRAX-MO и в двете групи са под 20%, а стойностите на FRAX-Hfr са повишени само в групата с ОП.

Таблица 3. Десетгодишен фрактурен риск изчислен чрез FRAX ® Fracture Risk Assessment Tool в работната и контролна групи

Показател	Работна група	Контролна група	Ниво на значимост
FRAX-MO	18.29±10.33 (6.8–38)	5.26±2.93 (2.10–16.00)	p<0.001***
FRAX-Hfr	9.92±8.51 (2.5–38)	0.61±1.42 (0–8.8)	p<0.001***

Стойностите на FRAX-MO /голяма остеопоротична фрактура/ и FRAX-Hfr /фрактура на бедрена шийка/ са представени в проценти ±SD, минимум и максимум в скоби. Статистически значима разлика, $p \leq 0.001$ ***.

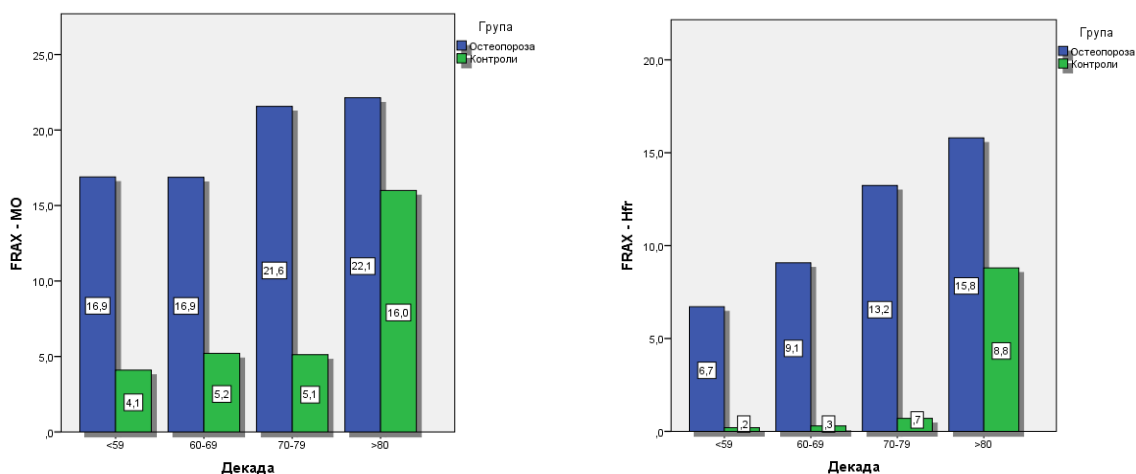
Теста на Ман-Уитни показва FRAX-MO ($U = 76.50$; $p < 0.001$) и FRAX-Hfr ($U = 41.00$; $p < 0.001$) статистически значимо по-високи при пациентките с ОП в сравнение с жените от контролната група.

В групата с ОП изчисленият FRAX-MO за жените с предшестваща фрактура и без фрактура е съответно $22.53 \pm 10.76\%$ и $15.79 \pm 9.33\%$, а

FRAX-Hfr съответно $11.86 \pm 9.17\%$ и $8.77 \pm 8\%$. Стойностите на FRAX-МО и FRAX-Hfr при жените с предшестваща фрактура са повишени над праговете. При жените без предшестваща фрактура само FRAX-Hfr е повишен. Теста на Ман-Уитни показва, че жените с предшестваща фрактура имат статистически значимо по-висок десетгодишен фрактурен риск в сравнение с жените без фрактура, съответно за FRAX-МО ($U = 238.50$; $p = 0.002$) и за FRAX-Hfr ($U = 286.5$; $p = 0.018$). Измерената средна КМП при жените с предшестващи фрактури и без фрактури е съответно Т-скор от -2.98 ± 0.53 SD и -3.05 ± 0.55 SD, като разликата не е статистически значима ($U = 417.50$; $p = 0.650$).

В контролната група FRAX-МО за жените с предшестваща фрактура и без фрактура е съответно $7.12 \pm 4.23\%$ и $4.51 \pm 1.78\%$, а FRAX-Hfr съответно $1.24 \pm 2.52\%$ и $0.35 \pm 0.41\%$ и са под праговете за повишен риск. FRAX-МО при жените с предшестваща фрактура е статистически значимо по-висок в сравнение с жените без фрактура ($U = 84.00$; $p = 0.038$). Различията във FRAX-Hfr при жените с предшестващи фрактури и без фрактури не са статистически значими ($U = 90.00$; $p = 0.057$). Измерената КМП при жените с предшестващи фрактури и без фрактури е съответно Т-скор от -0.09 ± 0.64 SD и 0.26 ± 0.67 SD, като разликата не е статистически значима ($U = 106.50$; $p = 0.175$).

Изчислените по декади стойности на FRAX-МО и FRAX-Hfr на жените от работната и контролната групи са представени на Фигури 4 и 5. FRAX-МО нараства неравномерно с всяка следваща декада, но разликата не достига статистическа значимост, както в групата с ОП ($\chi^2 = 5.061$; $p = 0.281$), така и в групата контроли ($\chi^2 = 7.091$; $p = 0.131$), а групата жени с ОП над 70 г. е повишен. FRAX-Hfr също нараства постепенно с напредване на възрастта като разликите са статистически значими в групата контроли ($\chi^2 = 12.672$; $p = 0.013$), но не и в групата с ОП ($\chi^2 = 7.477$; $p = 0.113$). В групата с ОП рискът от бедрена фрактура е повишен във всички възрастови групи, а при контролите само във възрастта над 80 г.



Фиг. 4 и 5. Десетгодишен риск от голяма остеопоротична – FRAX-MO и бедрена – FRAX-Hfr фрактури, изразени в проценти при жените в работната и контролната група разпределени по декади. Статистически значима разлика във FRAX-Hfr в различните възрасти се наблюдава само в контролната група, $p < 0.05$.

Биохимични и имунологични изследвания на калций, фосфор, АФ, остеокалцин, бета КросЛапс, ПТХ, витамин Д и витамин К2

Калций и фосфор

В работната и контролната групи бяха измерени съответно средни плазмени концентрации на калций от 2.43 ± 0.13 mmol/l и 2.46 ± 0.10 mmol/l и фосфор от 1.23 ± 0.18 mmol/l и 1.20 ± 0.14 mmol/l. И при двете групи концентрациите на калция и фосфора са в референтни стойности. Концентрациите на калция в групата с ОП са по-ниски, но еднофакторният дисперсионен анализ не показва сигнификантна разлика между двете групи ($F = 1.92$; $p = 0.169$). Концентрациите на фосфора също не показват статистически значими различия между двете групи ($F = 0.65$; $p = 0.421$).

Алкална фосфатаза

В работната и контролната група бяха измерени съответно средни концентрации от 85.84 ± 33.5 U/l и 82.08 ± 39.9 U/l. Данните са неправилно разпределени и за сравнение са използвани непараметрични тестове. Концентрацията на ензима в работната група е по-висока, но тестът на Ман-Уитни не показва статистически значима разлика между двете групи ($U = 976.50$; $p = 0.152$).

Средните концентрации на АФ в работната и контролна групи разпределени по декади са показани в Таблица 4. Тестът на Крушкел-Уолис не показва статистически значима разлика в концентрациите на показателя както в групата с ОП ($\chi^2 = 0.272$; $p = 0.873$), така и в контролната група ($\chi^2 = 3.876$; $p = 0.144$). Теста на Ман-Уитни за сравнение по декади между

жените с ОП и контролите показва статистически значима разлика в концентрациите само във възрастта до 59 години ($U = 20.00$; $p = 0.021$).

Таблица 4. Средни концентрации на алкална фосфатаза в U/l при жените в работната и контролна групи разпределени по декади

Възраст	до 59 г.	60 – 69 г.	70 – 79 г.	над 80 г.	Ниво на значимост
Остеопороза	93.62±54.1	82.07±19.31	82.69±29.47	92.6±35.25	p=0.873
Контроли	64.71±9.0	84.55±45.11	76.8±13.51	207±0	p=0.144

Данните са представени като средна стойност ± SD

Паратхормон

Серумните концентрации на ПТХ в работната и контролната групи бяха съответно 67.89 ± 39.56 pg/ml и 64.99 ± 25.12 pg/ml. Средните нива на ПТХ в работната група са повишени, а при контролите са в референтни стойности. Поради неправилното разпределение на данните за сравнение са използвани непараметрични тестове. Тестът на Ман-Уитни не показва статистически значима разлика в концентрациите на ПТХ между групата с ОП и работната група ($U = 454.00$; $p = 0.911$).

В групата с ОП с нормални нива на ПТХ под 65 pg/ml са 54.55%, средна възраст от 63.7 ± 7.3 години, средни концентрации на ПТХ от 43.55 ± 14.34 pg/ml и Т-скор (-3.04 ± 0.61 SD), а с повишени нива над 65 pg/ml са 45.45%, средна възраст от 68.6 ± 9.8 г., средни концентрации на ПТХ от 97.13 ± 40.53 pg/ml и Т-скор (-3.04 ± 0.44 SD). Жените с повишени нива на ПТХ са по-възрастни от жените с нормални нива, но разликите не са статистически значими ($U = 168.00$; $p = 0.089$). В контролната група с нормални нива на ПТХ са 61.9%, средна възраст 64.7 ± 5.4 г., ПТХ – 48.63 ± 10.63 pg/ml, Т-скор (0.08 ± 0.62 SD), а с повишени са 38.1%, средна възраст 64.1 ± 11.1 г., ПТХ – 89.09 ± 24.09 pg/ml, Т-скор (0.09 ± 0.75 SD). Междугруповото сравнение не показва статистически значими различия в КМП при жените с повишени и нормални нива на ПТХ, както в групата с ОП ($U = 211.50$; $p = 0.499$), така и в контролната група ($U = 52.00$; $p = 0.815$).

Средните концентрации на ПТХ в работната и контролната групи разпределени по декади са показани в Таблица 5. Стойностите на ПТХ нарастват постепенно с нарастване на възрастта. Тестовите на Крушкел-Уолис показаха статистически значима разлика в концентрациите на ПТХ в различните възрастови групи в групата с ОП ($\chi^2 = 8.907$; $p = 0.031$), но не и при контролите ($\chi^2 = 2.437$; $p = 0.296$). В проведените постхок тестове на Ман-Уитни за сравнение на възрастовите групи по двойки при жените в

работната група, ПТХ показва статистически значимо повишение при жените на възраст над 80, в сравнение с жените до 59 години ($U = 1.00$; $p = 0.003$).

Таблица 5. Средни концентрации на ПТХ в У/л при жените в работната и контролна групи разпределени по декади

Възраст	до 59 г.	60 – 69 г.	70 – 79 г.	над 80 г.	Ниво на значимост
Остеопороза	46.37±21.16	64.07±25.21	87.91±62.13	107.13±52.6	$p=0.031^*$
Контроли	60.72±21.47	60.24±23.67	76.61±29.65	–	$p=0.398$

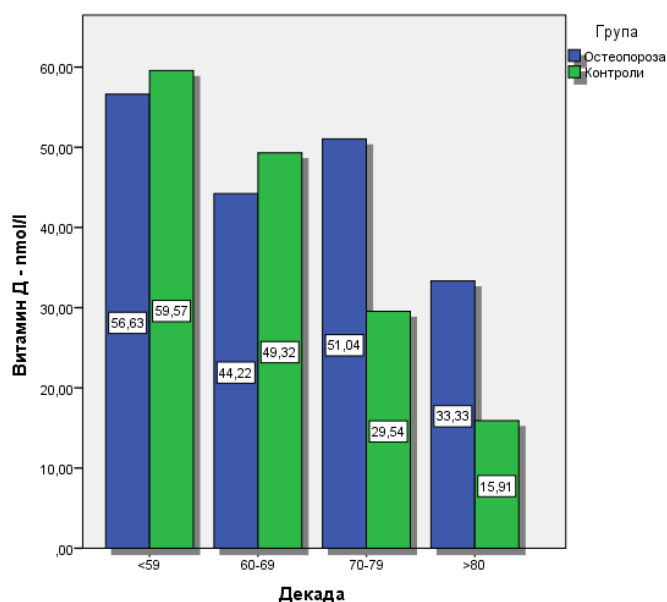
Данните са представени като средна стойност ± SD. Статистически значима разлика, $p \leq 0.05^*$.

Витамин Д

В работната и контролната групи бяха измерени плазмени концентрации на витамин Д съответно 47.77 ± 21.9 nmol/l и 45.12 ± 20.27 nmol/l, като не беше установена статистически значима разлика ($F = 0.364$; $p = 0.548$).

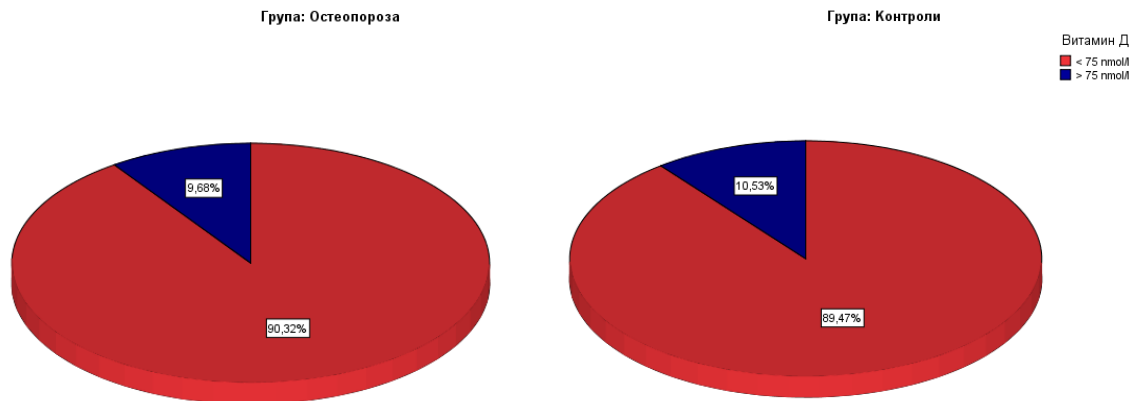
Сравнението по декади в работната и контролна групи показва статистически значимо понижаване на витамин Д с всяка следваща декада само в контролната ($F = 5.707$; $p = 0.003$), но не и в работната група ($F = 1.984$; $p = 0.126$) (Фиг. 6).

Сравнението между жените с ОП и контролите в различните декади показва статистически значима разлика в концентрациите на витамин Д само при жените на възраст между 70 – 79 г., ($t = 2.276$; $p = 0.036$).



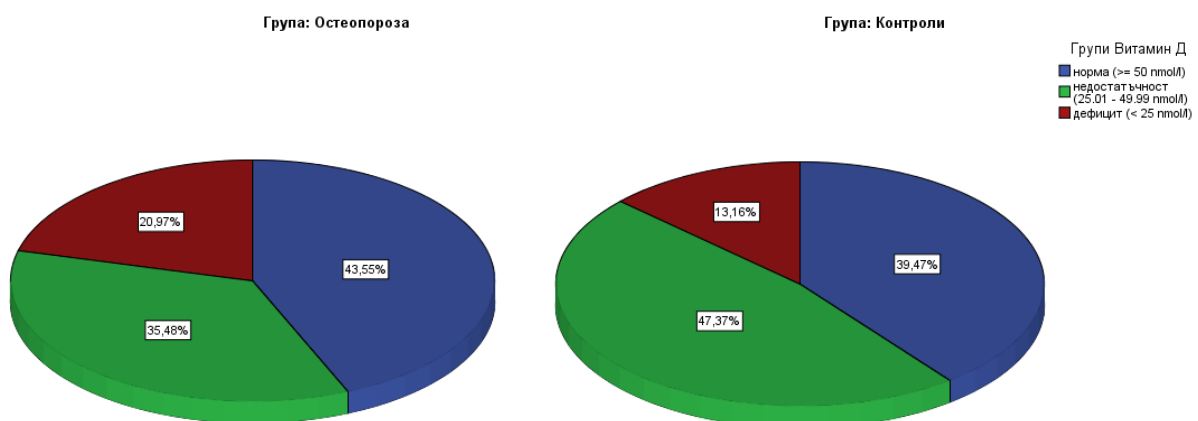
Фиг. 6. Средни серумни концентрации на витамин Д в nmol/l в работната и контролна групи разпределени по декади. Статистически значима разлика в концентрациите се наблюдава в групата контроли, $p < 0.05$. Във възрастовата група 70 – 79 г. разликата в концентрациите между работната и контролната група е статистически значима, $p < 0.05$.

Серумни концентрации на витамин Д над 75 nmol/l, които се приемат за оптимални за поддържане на КМП, нормалната функция на мускулно-скелетната система и долните крайници с минимален риск от падане и фрактури имат само 9.7% (n = 6) от жените в работната и 10.5% (n = 4) от жените в контролната група. Със субоптимални нива на витамин Д под 75 nmol/l са съответно 90.3% (n = 56) и 89.5% (n = 34) (Фиг. 7 и 8).



Фиг. 7 и 8. Относителни дялове в проценти на участничките от работната и контролната групи с оптимални (> 75 nmol/l) и субоптимални нива (< 75 nmol/l) на витамин Д.

Относителните дялове на участничките от двете групи с различни нива на витамин Д са представени на Фигури 9 и 10. В работната група 43.55% (n = 27) са с нормални нива на витамин Д, 35.48% (n = 22) са с недостатъчност, а 20.97% (n = 13) са с дефицит на витамин Д. В контролната група 39.47% (n = 15) са с нормални нива на витамин Д, 47.37% (n = 18) са с недостатъчност, а 13.16% (n = 5) са с дефицит на витамин Д. Общо 56.45% от пациентките с ОП и 60.53% от контролите са с лош витамин Д статус.



Фиг. 9 и 10. Относителни дялове в проценти на участничките от работната и контролната групи с различна концентрация на витамин Д.

В съответствие с намерените нива на витамин Д участничките от работната и контролната групи бяха разпределени в три подгрупи.

Показателите на калциево-фосфорната обмяна (калций, фосфор, АФ и ПТХ), витамин Д, ИТМ и КМП и резултатите от сравнителните анализи на пациентките от работната група са представени в Табл. 6.

Таблица 6. Показатели на калциево-фосфорната обмяна, ИТМ и КМП на участничките от работната група с различни нива на Витамин Д

Работна група	Нива на витамин Д			
	Норма над 50 nmol/l	Недостатъчност 25 – 50 nmol/l	Дефицит под 25 nmol/l	Ниво на значимост
Средна възраст – год.	64.3±8.9	64.4±6.9	72.5±8.4	p=0.009**
Калций – mmol/l	2.44±0.14	2.43±0.1	2.39±0.14	p=0.522
Фосфор – mmol/l	1.26±0.2	1.21±0.15	1.18±0.18	p=0.481
АФ – U/l	89.37±41.83	82.7±20.87	83.85±33.19	p=0.890
ПТХ – pg/ml	60.07±46.43	65.4±24.26	86.51±41.52	p=0.037*
Витамин Д – nmol/l	67.87±4.07	40.6±5.97	18.16±4.71	p<0.001***
ИТМ – кг/м ²	23.43±3.93	24.85±4.71	24.13±3.27	p=0.412
КМП – T - score	- 3.01±0.52	- 3.03±0.57	- 3.05±0.56	p=0.941

Резултатите са представени като средна стойност ± SD; Статистически значима разлика, p < 0.05*; p < 0.01**; p < 0.001***.

Статистически значима разлика при подгрупите с различни нива на витамин Д се наблюдава в средната възраст (F = 5.068; p = 0.009). Пост-хок тестът на Туки показва, че средната възраст на пациентките с дефицит на витамин Д (M = 72.5) е статистически значимо по-висока от средната възраст съответно на пациентките с нормални нива на витамин Д (M = 64.3; p=0.013) и на пациентките с недостатъчност на витамин Д (M = 64.4; p = 0.017). Еднофакторният дисперсионен анализ за сравнение на групите с различни нива на витамин Д не показва статистически значима разлика в средните концентрации на калция (F = 0.657; p = 0.522) и фосфора (F = 0.742; p = 0.481). Статистически значимата разлика в средните концентрации на витамин Д (F = 118,45; p < 0.001) е очаквана.

Непараметричните тестове на Крушкел-Уолис не показаха статистически значими различия в средните стойности на алкалната фосфатаза ($\chi^2 = 0.232$; p = 0.890), ИТМ ($\chi^2 = 1.775$; p = 0.412) и КМП ($\chi^2 = 0.121$; p = 0.941). Концентрациите на ПТХ нарастват постепенно с намаляване на нивата на витамин Д и разликите са статистически значими ($\chi^2 = 6.587$; p = 0.037). Пост-хок тестовете на Ман-Уитни показаха статистически значимо по-ниски концентрации на ПТХ в групата с нормални нива на витамин Д, в сравнение с групата с дефицит (p = 0.024).

Показателите на калциево-фосфорната обмяна (калций, фосфор, АФ и ПТХ), витамин Д, ИТМ и КМП и резултатите от сравнителните анализи на пациентките от контролната група са представени в Таблица 7.

Таблица 7. Показатели на калциево-форфорната обмяна, ИТМ и КМП на участничките от контролната група с различни нива на Витамин Д

Контролна група	Нива на витамин Д			
	Норма над 50 nmol/ml	Недостатъчност 25 – 50 nmol/l	Дефицит под 25 nmol/ml	Ниво на значимост
Средна възраст – год.	62.3±5.3	64.5±9.4	74.2±7.1	p=0.018*
Калций – mmol/l	2.47±0,13	2.45±0.08	2.51±0.1	p=0.495
Фосфор – mmol/l	1.21±0,12	1.23±0.13	1.02±0.1	p=0.004**
АФ – U/l	86.2±51.87	71.89±13.85	106.4±56.78	p=0.197
ПТХ – pg/ml	45.26±10.40	76.2±26.5	66.72±5.24	p=0.003**
Витамин Д – nmol/l	65.33±12.55	36.55±7.62	15.38±5.98	p<0.001***
ИТМ – кг/м ²	27.77±4.08	30.66±5.5	31.08±5.07	p=0.163
КМП – T - score	0.08±0.62	0.22±0.66	0.12±0.94	p=0.770

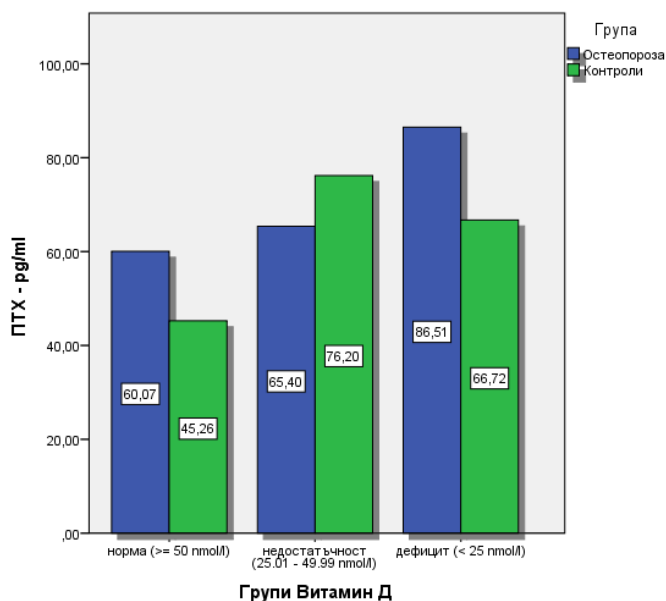
Резултатите са представени като средна стойност ± SD; Статистически значима разлика, p < 0.05*; p < 0.01**; p < 0.001***.

Еднофакторният дисперсионен анализ за сравнение на групите с различни нива на витамин Д не показва статистически значима разлика в средните концентрации на калция (F = 0.718; p = 0.495). Средните концентрации на фосфора са статистически значимо различни (F = 6.571; p = 0.004). Пост-хок тестът на Туки показва, че участничките с нормални нива и с недостатъчност на витамин Д имат статистически значимо по-високи концентрации на фосфор (M = 1.21), съответно (M = 1.23; p = 0.010) от участничките с дефицит (M = 1.02; p = 0.003). Статистически значима разлика се наблюдава в средната възраст (F = 4.529; p = 0.018), а пост-хок тестовете показаха, значимо по-висока средна възраст на жените с дефицит на витамин Д (M = 72.2) в сравнение с възрастта съответно на жените с нормални нива (M = 62.3; p = 0.014) и с недостатъчност на витамин Д (M = 64.5; p = 0.046). Очаквана статистически значима разлика има в средните стойности на концентрациите на витамин Д (F = 62.319; p < 0.001).

Непараметричните тестове на Крушкел-Уолис не показаха статистически значими разлики в средните стойности на АФ ($\chi^2 = 1.250$; p = 0.197), ИТМ ($\chi^2 = 3.630$; p = 0.163) и КМП ($\chi^2 = 0.524$; p = 0.770).

Намериха се статистически значими разлики в средните концентрации на ПТХ ($\chi^2 = 11.78$; p = 0.003). Постхок тестовете на Ман-Уитни показаха значимо по-ниски средни концентрации ПТХ в групата с нормални нива на витамин Д, в сравнение с групата с недостатъчност (p < 0.001).

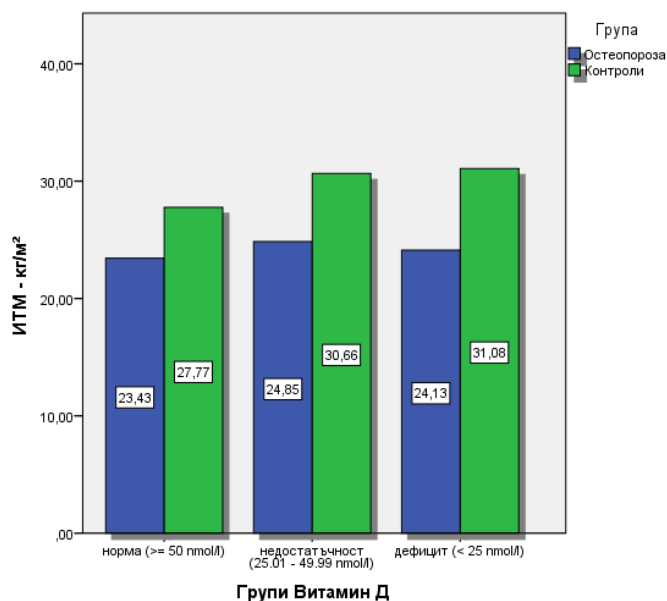
Концентрациите на ПТХ при различни нива на витамин Д в групата жени с ОП и контролите са показани на Фигура 11.



Фиг. 11. Средна плазмена концентрация на ПТХ в pg/ml на участничките от работната и контролната групи с различна концентрация на витамин Д. Средните концентрации ПТХ в групата с нормални нива на витамин Д са статистически значимо по-ниски от средните концентрации ПТХ в групата с дефицит и в групата с ОП, $p < 0.05$ и в контролната група, $p < 0.01$.

Сравнението между жените от работната и контролната групи с различни нива на витамин Д не установи статистически значими различия в средната възраст, концентрациите на калция, фосфора, АФ, ПТХ и витамин Д ($p > 0.05$).

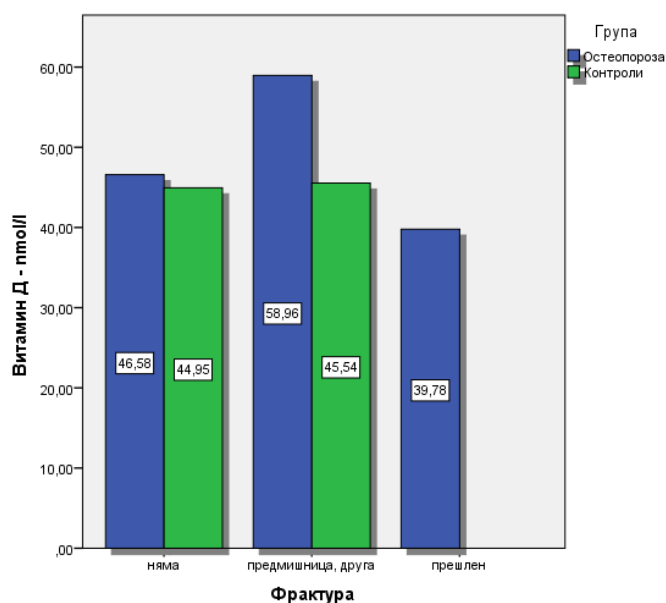
Пациентките в групата с ОП показват статистически значимо по-нисък ИТМ в сравнение с контролите при всички нива на витамин Д – нормални нива на витамин Д ($U=88.50$; $p=0.003$), недостатъчност ($U = 74.00$; $p < 0.001$) и дефицит ($U = 1.00$; $p < 0.001$) (Фиг. 12). От фигурата се вижда, че само в контролната група ИТМ нараства постепенно с влошаването на витамин Д статуса, но сравнението на ИТМ между подгрупите с различни нива на витамин Д не показва статистически значими различия, както в групата с ОП ($\chi^2 = 1.775$; $p = 0.412$), така и в контролната група ($\chi^2 = 3.63$; $p = 0.163$)



Фиг. 12. Среден ИТМ в kg/m^2 на участниците от работната и контролната група с различна концентрация на витамин Д. При всички нива на витамин Д разликите в ИТМ между жените от работната и контролната група са статистически значими $p < 0.01$.

Сравнението на КМП между подгрупите с различни нива на витамин Д не показва статистически значими различия, както в групата с ОП ($\chi^2 = 0.121$; $p = 0.941$), така и в контролната група ($\chi^2 = 0.524$; $p = 0.770$).

Анализът на данните за получените фрактури на участниците към момента на включването показват, че от жените в работната група 17.7% ($n = 11$) на средна възраст 68.82 ± 12.07 години са с фрактури на гръбначен прешлен, а 19.4% ($n = 12$) на средна възраст 64.42 ± 8.43 г. са с фрактури на предмишницата. В контролната група 28.9% ($n = 11$) на възраст 68.91 ± 8.71 г. са с фрактури на предмишница. 62.9% от жените с ОП (65.77 ± 7.71 г) и 71.1% от контролите (63.26 ± 7.89 г) са без фрактури в момента на включването. Сравнението между нивата на витамин Д в работната група показва статистически значимо по-ниски нива при жените с фрактури на гръбначни прешлени в сравнение с жените с фрактури на предмишница ($t = 2.265$; $p = 0.032$). Разликата в нивата на витамин Д при жените с фрактура на предмишница и тези без фрактури не достига статистическа значимост както в групата с ОП ($t = -1.620$; $p = 0.123$), така и в контролната група ($t = -0.069$; $p = 0.946$) (Фиг. 13).



Фиг. 13. Средни концентрации на витамин Д в pmol/l в работната и контролната групи при фрактури с различна локализация. В групата с ОП нивата на витамин Д при жените с фрактури на гръбначни прешлени са статистически значимо по-ниски в сравнение с тези на жените с фрактури с друга локализация, $p < 0.05$.

Витамин К2

Витамин К2 статуса беше определен индиректно чрез серумните концентрации на остеокалцин и некарбоксилиран остеокалцин и съотношението ucOC/OC . Изследвахме 48 жени в менопауза. След измерване на КМП участничките бяха разпределени в работна група жени с ОП ($n = 26$) и контролна група ($n = 22$). Средната възраст, концентрации на ОС, ucOC , ucOC/OC , витамин Д, ИТМ и КМП са представени в Таблица 8.

Таблица 8. Концентрации на ОС, ucOC , ucOC/OC , витамин Д, ИТМ и КМП изразена чрез T-score в работната и контролната групи

	Остеопороза	Контроли	Ниво на значимост
Възраст	65.62±9.2	63.55±8.7	$p=0.670$
ОС – ng/ml	23.41±10.08	23.09±6.94	$p=0.605$
ucOC – ng/ml	17.33±3.38	17.69±3.92	$p=0.700$
ucOC/OC – %	77.36±22.27	83.63±29.27	$p=0.709$
АФ – U/l	86.77±48.78	95.5±50.48	$p=0.383$
Витамин Д – pmol/l	48.09±19.41	48.34±23.1	$p=0.943$
ИТМ – kg/m^2	24.56±3.88	29.84±5.45	$p<0.001^{***}$
КМП – T - скор	-2.98±0.52	-0.21±0.85	$p<0.001^{***}$

Резултатите са представени като средна стойност \pm SD. Статистически значима разлика $p<0.001^{***}$.

Нивата на ОС в работната и контролната групи са в референтните граници на използвания комплект. За сравнение бяха използвани параметричният Т-тест за независими извадки и непараметричната му алтернатива, тест на Ман-Уитни. Не се установиха статистически значими разлики в средната възраст, нивата на витамин Д и концентрациите на ОС, ucОС и АФ.

Съотношението ucОС/ОС показва стойности над приетите за норма 20% при всички изследвани жени, като най-ниската стойност в групата с ОП е 30.04%, а в контролната група 36.31%. Резултатите показват лош витамин К2 статус и при двете групи, като не беше установена статистически значима разлика между тях. Средните нива на витамин Д показват недостатъчност и в двете групи. Пациентките с ОП са с нормално телесно тегло, в сравнение с контролите, които са с наднормено телесно тегло и разликите в ИТМ на двете групи очаквано са статистически значими ($t = -4.416$; $p < 0.001$). Очаквана статистически значима разлика се наблюдава и в средната КМП ($U = 0.00$; $p < 0.001$).

Концентрациите на ОС, ucОС и ucОС/ОС на жените от работната и контролната групи разпределени по декади са показани на Таблица 9.

Таблица 9. Концентрации на ОС, ucОС и процентно съотношение ucОС/ОС на жените от работната и контролната групи разпределени по декади

Възраст	ОС – ng/ml		ucОС – ng/ml		ucОС/ОС – %	
	Остеопороза	Контроли	Остеопороза	Контроли	Остеопороза	Контроли
до 59	29.7±13.55	27.8±5.23	17.5±2,74	16.14±3.32	66.5±22.11	59.1±11.71
60 – 69	20.58±3.03	20.85±7.01	15.15±2.87	16.7±2.69	73.95±10.6	88.61±30.62
70 – 79	26.49±9.85	24.57±4,67	16.94±2.46	23.17±5.77	68.24±16.01	96.6±29.9
над 80	16.92±0	21.92±0	16.82±0	15.46±0	99.4±0	70.5±0

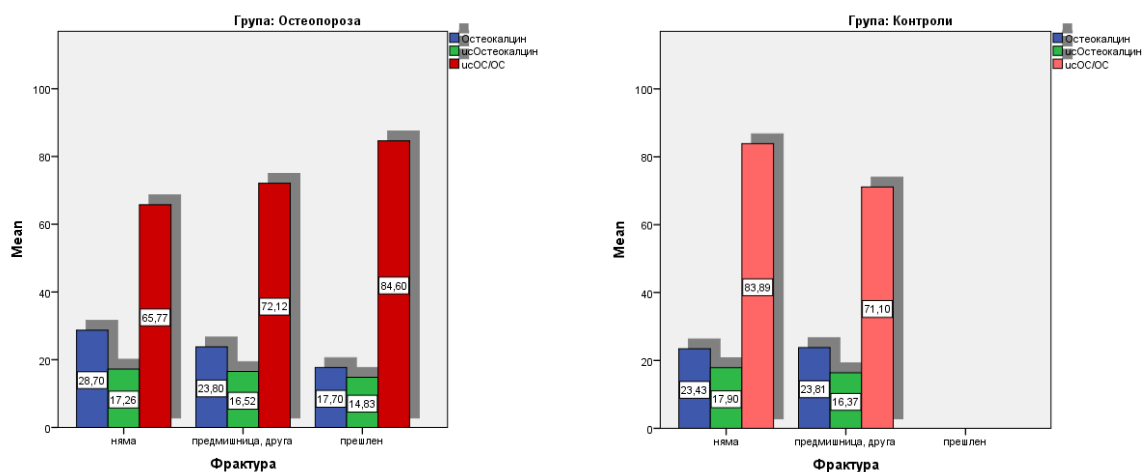
Резултатите са представени като средна стойност ± SD.

Сравнението на показателите по декади с непараметричния тест на Крушкел-Уолис в групата с ОП показва статистически значими различия в концентрациите на ОС ($\chi^2 = 11.379$; $p = 0.01$) и липса на статистически значими различия в концентрациите на ucОС ($\chi^2 = 0.558$; $p = 0.906$) и ucОС/ОС ($\chi^2 = 3.105$; $p = 0.376$). Ман-Уитни постхок тестовете показаха статистически значимо по-високи концентрации на ОС в групата жени до 59, в сравнение с жените на възраст 60 – 69 години ($U = 69.00$; $p = 0.006$) и над 80 ($U = 3.00$; $p = 0.017$). При контролите не се намериха статистически значими разлики в концентрациите на ОС ($\chi^2 = 4.993$; $p = 0.172$), ucОС ($\chi^2 = 6.618$; $p = 0.085$) при жените в различните възрастови групи.

Нарастване на съотношението $ucOC/OC$ с напредване на възрастта, се забелязва и в работната и контролната групи, но разликите са статистически значими само в контролната група. Жените на възраст до 59 г. имат значимо по-ниско съотношение $ucOC/OC$ от жените на възраст 60 – 69 ($U = 10.00$; $p = 0.031$) и 70 – 79 години ($U = 1.00$; $p = 0.048$).

Сравнението в различните възрастови групи между жените от работната и контролната групи не установи статистически значими различия в концентрациите на OC , $ucOC$ и $ucOC/OC$, ($p > 0.05$).

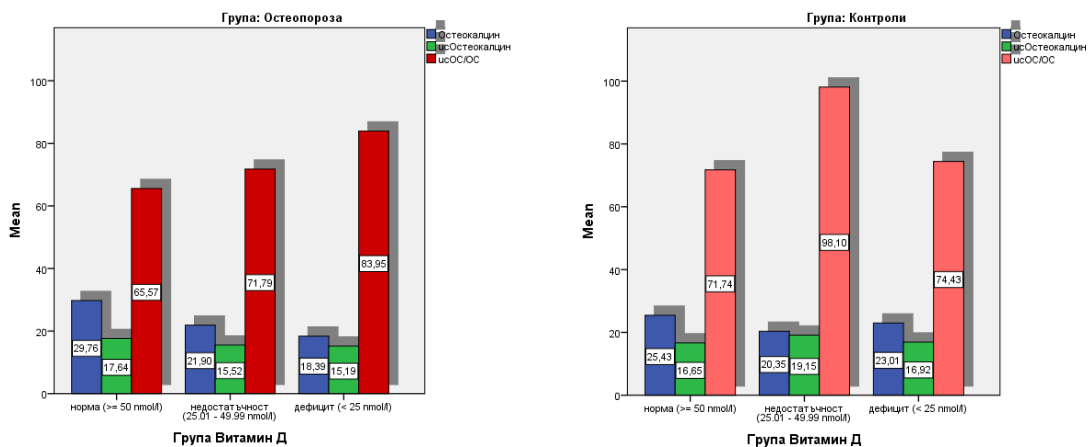
Средните концентрации на OC , $ucOC$ и $ucOC/OC$ при жените от работната и контролната групи без фрактури и с фрактури с различна локализация са показани на Фигури 14 и 15. В групата с ОП стойностите на OC и $ucOC$ постепенно намаляват, а съотношението $ucOC/OC$ нараства при жените без фрактури и с фрактури на предмишница и прешлен. Тестовите на Крушкел-Уолис, показаха статистически значима разлика в концентрациите на OC само в групата с ОП ($\chi^2 = 8.534$; $p = 0.014$). Постхок тестовите показаха концентрации на OC статистически значимо по-ниски при жените с фрактури на гръбначни прешлени спрямо жените без фрактури ($U = 10.00$; $p = 0.006$). Концентрациите на $ucOC$ ($\chi^2 = 2.683$; $p = 0.261$) и съотношението $ucOC/OC$ ($\chi^2 = 3.081$; $p = 0.214$) не показват статистически значими различия при жените без фрактури и с фрактури с различна локализация. В контролната група сравнението с теста на Ман-Уитни при жените с фрактури и без фрактури не показва статистически значими различия в концентрациите на OC ($U = 41.00$; $p = 0.934$) и $ucOC$ ($U = 35.00$; $p = 0.564$) и съотношението $ucOC/OC$ ($U = 35.00$; $p = 0.564$).



Фиг. 14 и 15. Средни стойности на серумния OC , $ucOC$ и $ucOC/OC$ при жените от работната и контролната групи с фрактури с различна локализация. В групата с ОП концентрациите на OC при жените с фрактура на прешлен са статистически значимо по-ниски спрямо жените без фрактура, $p < 0.05$.

Средните концентрации на ОС, ucОС и съотношението ucОС/ОС при различни нива на витамин Д в групата с ОП и контролите са показани съответно на Фигури 16 и 17. В групата с ОП се вижда постепенно намаляване на концентрациите на ОС при различни нива на витамин Д и разликата установена с теста на Крушкел-Уолис е статистически значима ($\chi^2 = 6.637$; $p = 0.036$). Пост-хок тестовете на Ман-Уитни показва статистически значимо по-високи концентрации на ОС при жените с нормални нива на витамин Д спрямо жените с дефицит ($U = 5.00$; $p = 0.015$). Средните концентрации на ucОС намаляват постепенно, а съотношението ucОС/ОС нараства, но тестовете не показаха статистически значими различия, ($\chi^2 = 3.841$; $p = 0.147$), съответно ($\chi^2 = 1.276$; $p = 0.528$) при различните нива на витамин Д.

В контролната група тестовете на Крушкел-Уолис не показаха статистически значими различия в концентрациите на ОС ($\chi^2 = 3.127$; $p = 0.209$) и ucОС ($\chi^2 = 0.651$; $p = 0.722$) при различни нива на витамин Д. Статистически значими разлики се наблюдават в съотношението ucОС/ОС ($\chi^2 = 6.117$; $p = 0.047$). Проведените Ман-Уитни пост-хок тестове показаха статистически значимо по-ниски нива в съотношението ($U = 10.00$; $p = 0.020$) при жените с норма в сравнение с тези с недостатъчност на витамин Д.



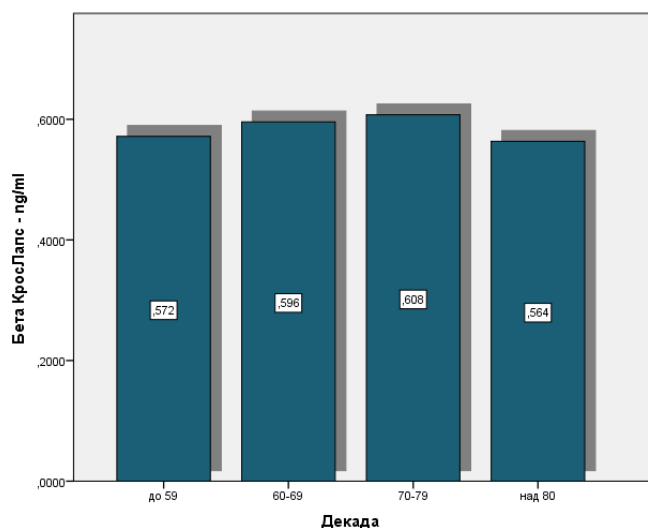
Фиг. 16 и 17. Средни стойности на серумния ОС, ucОС и ucОС/ОС при жените от работната и контролната групи с различни нива на витамин Д. В групата с ОП статистически значими различия в концентрациите на ОС се наблюдават при жените с норма и дефицит на витамин Д, $p < 0.05$. В контролната група статистически значими различия в съотношението ucОС/ОС се наблюдават при жените с норма и недостатъчност на витамин Д, $p < 0.05$.

Бета КросЛапс

Маркера за костно разграждане беше изследван само при жените от работната група. Измерените серумни концентрации са 0.589 ± 0.251 ng/ml /0.06 – 1.20/ и са в референтни стойности. Концентрациите на Бета КросЛапс

по декади са показани на Фигура 18, а проведения еднофакторен дисперсионен анализ не показва статистически значими различия в концентрациите при различните възрастови групи ($F = 0.045$; $p = 0.987$).

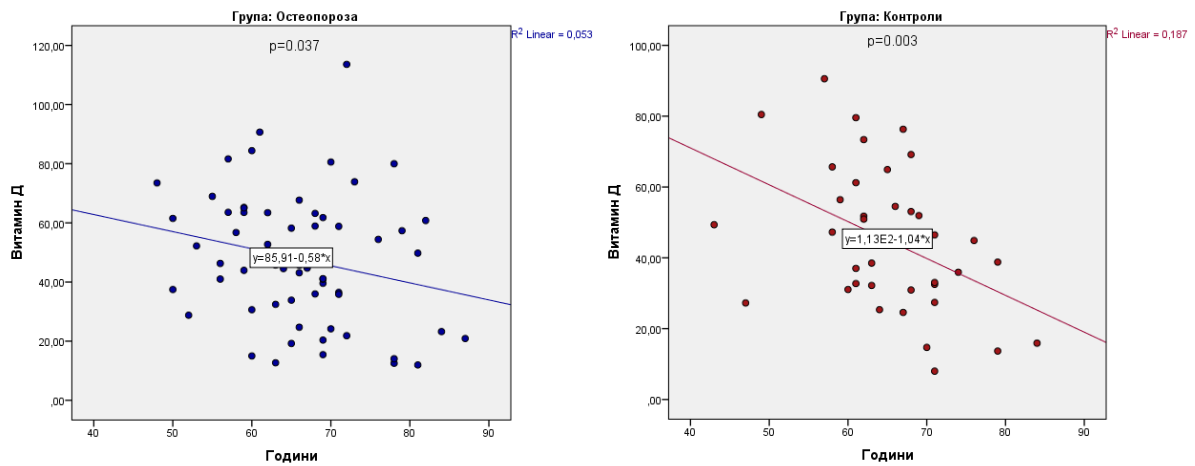
Средните концентрации на бета КросЛапс в групата с нормални нива на витамин Д са 0.555 ± 0.227 ng/ml, а в групите с недостатъчност и дефицит, съответно 0.649 ± 0.278 ng/ml и 0.560 ± 0.260 ng/ml. Еднофакторният дисперсионен анализ не показва статистически значими различия в концентрацията на маркера между групите с различни нива на витамин Д ($F = 0.645$; $p = 0.530$). Концентрациите на бета КросЛапс при жените без фрактура са 0.620 ± 0.284 ng/ml, а при жените с фрактури на предмишница и на гръбначен прешлен са съответно 0.539 ± 0.187 ng/ml и 0.545 ± 0.206 ng/ml. Не установихме статистически значими различия в концентрациите на бета КросЛапс при жените без фрактури и тези с фрактури с различна локализация ($F = 0.487$; $p = 0.618$).



Фиг. 18. Средни серумни концентрации на Бета КросЛапс при жените с ОП разпределени по декади. Разликите не са статистически значими $p > 0.05$.

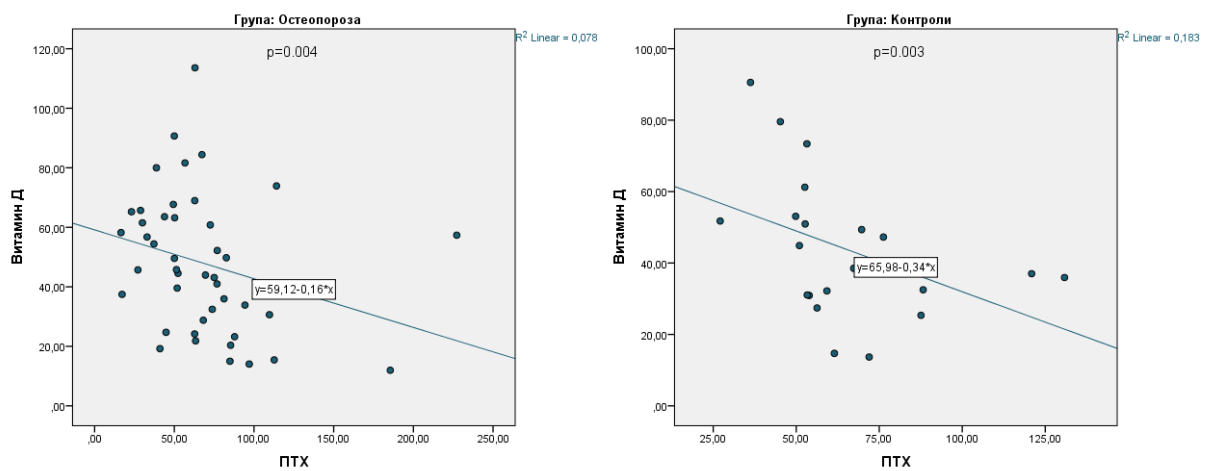
Корелации между витамин Д и показателите на калциево-фосфорната обмяна, БКМ, КМП, ИТМ, фрактурния риск и витамин К2

Анализите показаха негативна корелационна зависимост между нивата на витамин Д и възрастта слаба по сила ($r = -0.229$; $p = 0.037$) в групата с ОП и умерена по сила ($r = -0.432$; $p = 0.003$) в групата контроли (Фиг. 19 и 20).



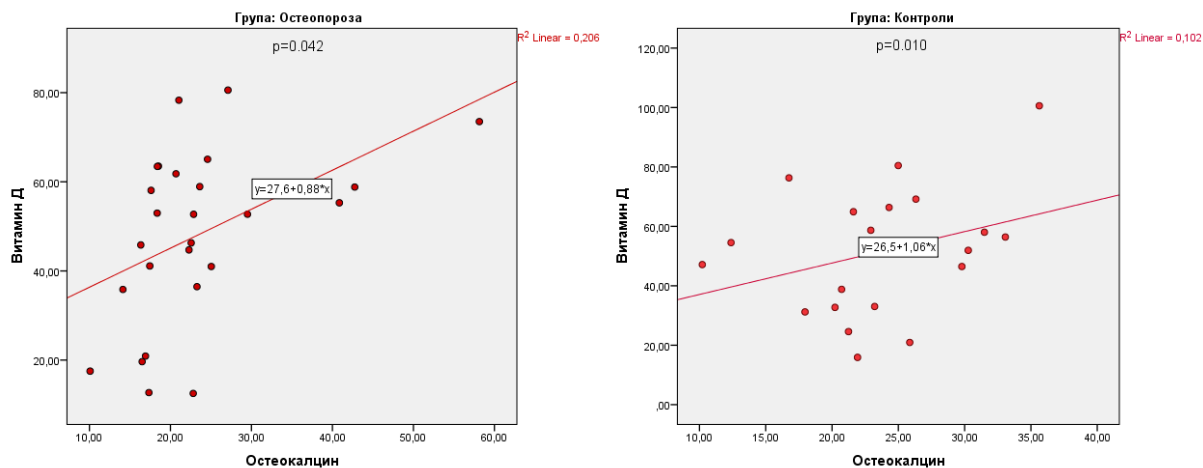
Фиг. 19 и 20. Регресионен модел на негативна корелационна зависимост между серумните концентрации на витамин Д и средната възраст в работната и контролната групи.

Установихме умерена по сила негативна корелационна зависимост между витамин Д и ПТХ в групата с ОП ($r = -0.421$; $p = 0.004$) и значителна по сила в контролната група ($r = -0.618$; $p = 0.003$) (Фиг. 21 и 22).



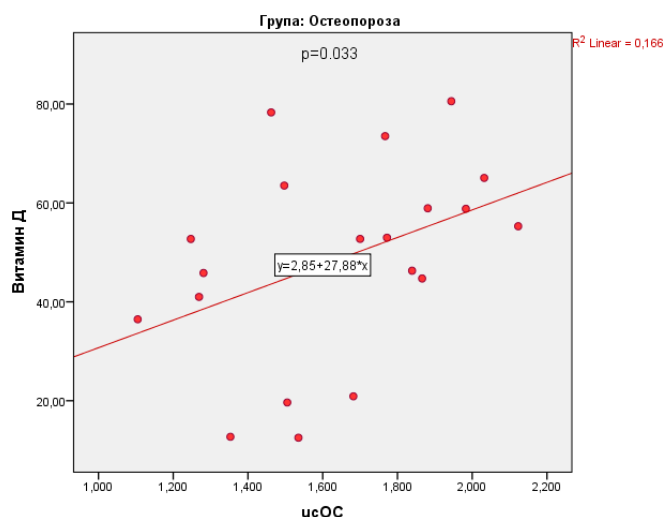
Фиг. 21 и 22. Регресионни модели на негативна корелационна зависимост между серумните концентрации на витамин Д и ПТХ при жените от работната и контролната групи.

Нивата на витамин Д и ОС показват позитивна корелация – умерена по сила в групата с ОП ($r = 0.489$; $p = 0.029$) и значителна по сила в контролната група ($r = 0.535$; $p = 0.010$) (Фиг. 23 и 24).



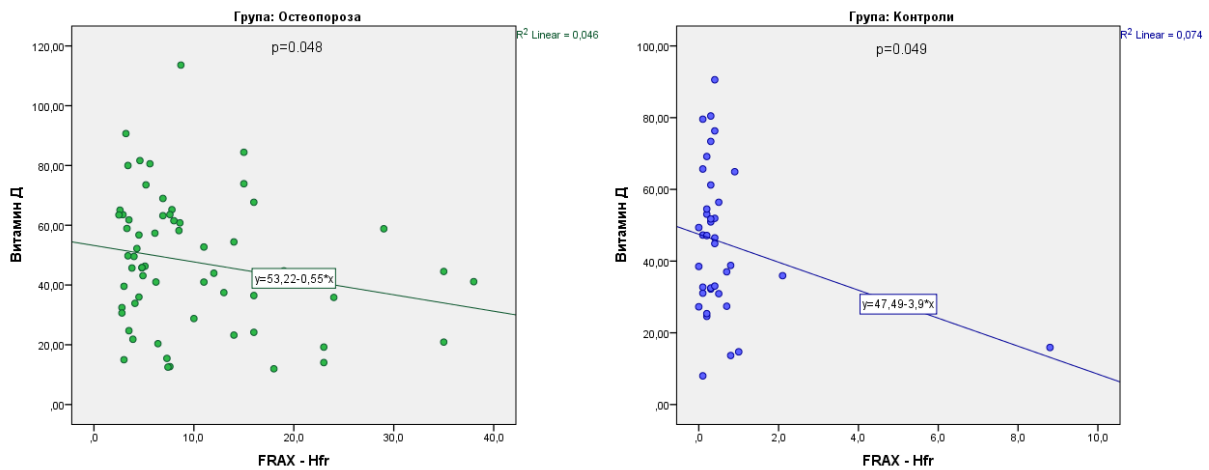
Фиг. 23 и 24. Регресионни модели на позитивна корелационна зависимост между серумните концентрации на витамин Д и ОС в работната и контролната групи.

В групата с ОП нивата на витамин Д показват умерено позитивна корелация и с концентрациите на усОС ($r = 0.478$; $p = 0.033$) (Фиг. 25).



Фиг. 25. Регресионен модел на умерено позитивна корелационна зависимост между серумните концентрации на витамин Д и усОС в работната група.

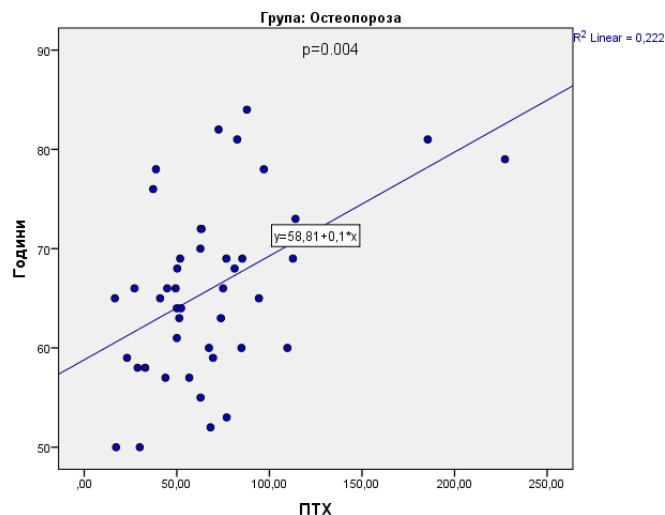
Установихме слаба негативна корелационна зависимост между витамин Д и FRAX-Hfr ($r = -0.214$; $p = 0.048$) при жените с ОП (Фиг. 26) и при контролите FRAX-Hfr ($r = -0.273$; $p = 0.049$) (Фиг. 27).



Фиг. 26 и 27. Регресионен модел на негативна корелационна зависимост между нивата на витамин Д и FRAX-Hfr при жените от работната и контролната групи.

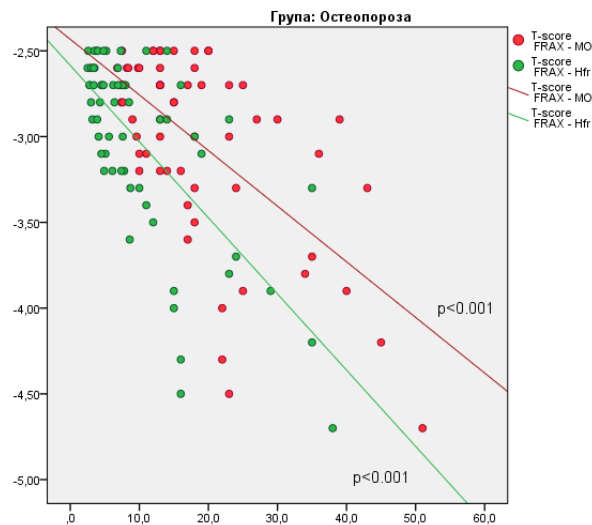
В работната група не се установиха значими корелационни зависимости между витамин Д и ИТМ, КМП, калция, фосфора, АФ, усОС/ОС и бета КросЛапс ($p > 0.05$). Не намерихме и значими корелации между усОС/ОС и КМП, FRAX-МО и FRAX-Hfr ($p > 0.05$). В контролната група също не се установиха значими корелационни зависимости между витамин Д и ИТМ, КМП, калция, фосфора, АФ, усОС, усОС/ОС ($p > 0.05$), а също и между усОС/ОС и КМП, FRAX-МО и FRAX-Hfr ($p > 0.05$).

Установихме умерена по сила позитивна корелационна зависимост с нарастване на концентрациите на ПТХ с нарастване на средната възраст в групата с ОП ($r = 0.422$; $p = 0.004$) (Фиг. 28), но не и в контролната група ($r = 0.244$; $p = 0.287$).



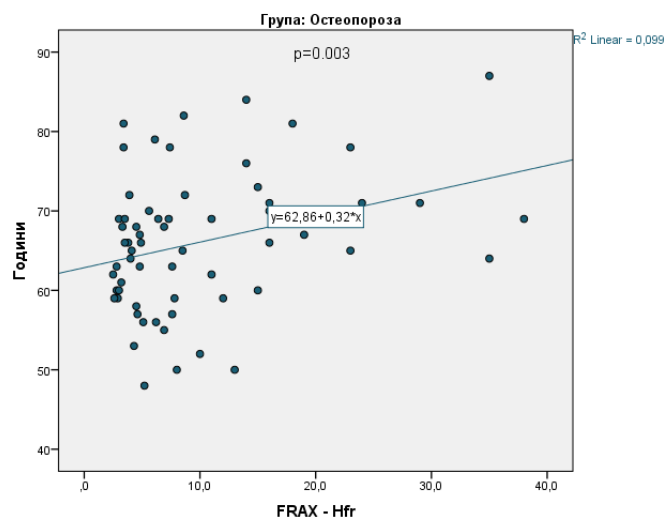
Фиг. 28. Регресионен модел на позитивна корелационна зависимост между средната възраст и серумните концентрации на ПТХ при жените от работната група.

В групата с ОП установихме и негативни корелационни зависимости между КМП и FRAX-МО, значителна по сила ($r = -0.621$; $p < 0.001$), и FRAX-Hfr, много силна ($r = 0.938$; $p < 0.001$) (Фиг. 29).



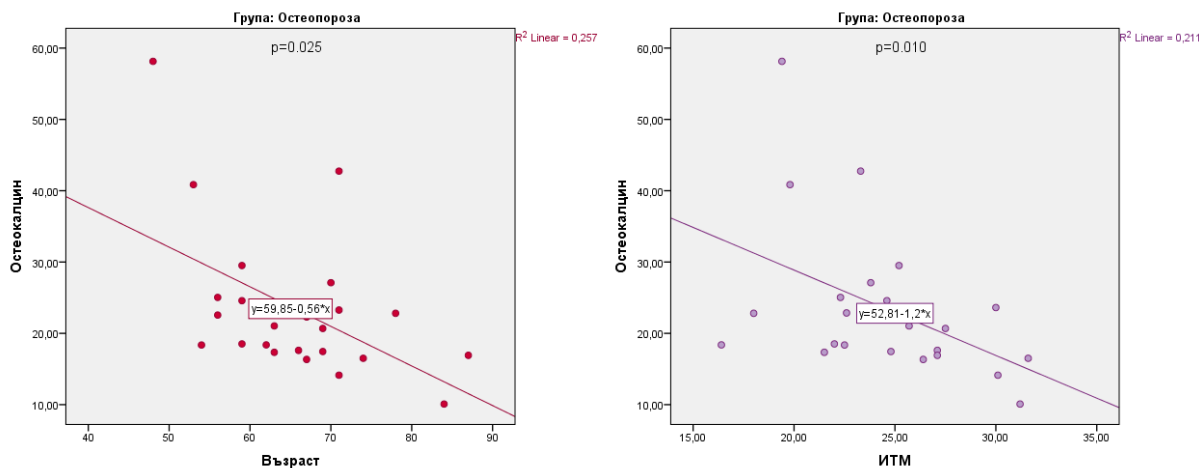
Фиг. 29. Регресионен модел на негативна корелационна зависимост между КМП изразена чрез T-скор и фрактурния риск FRAX-МО и FRAX-Hfr в проценти в работната група.

Съществува позитивна умерена по сила корелация между възрастта и FRAX-Hfr в работната група ($r = 0.315$; $p = 0.003$) (Фиг. 30). С напредването на възрастта риска от фрактура на бедрената шийка при жените с ОП нараства.



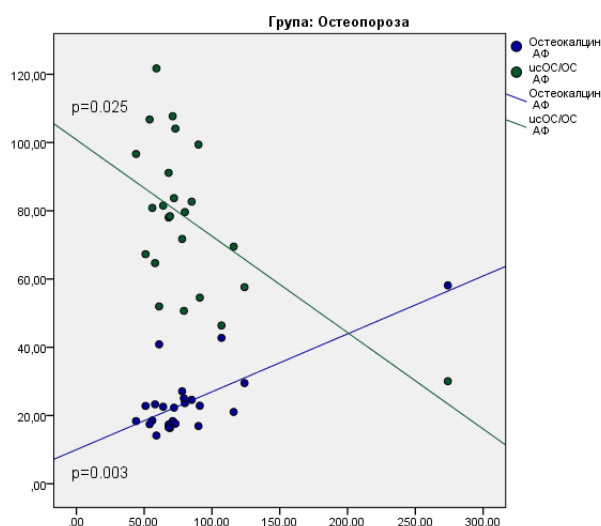
Фиг. 30. Регресионен модел на позитивна корелационна зависимост между средната възраст и фрактурния риск FRAX-Hfr в проценти в работната група.

В групата с ОП серумните концентрации на ОС показват умерени по сила негативни корелационни зависимости с намаляване на концентрацията при нарастване на възрастта ($r = -0.440$; $p = 0.025$) и ИТМ ($r = -0.496$; $p = 0.010$) (Фиг. 31 и 32).



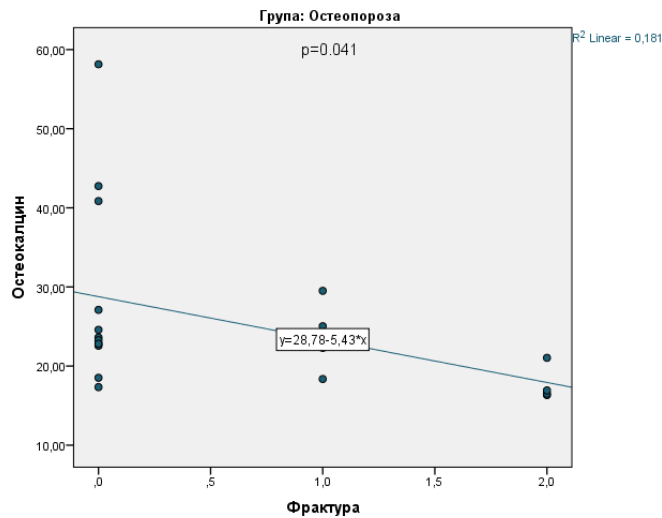
Фиг. 31 и 32. Регресионни модели на негативни корелационни зависимости между концентрациите на ОС и възрастта и ИТМ в групата жени с ОП.

В тази група намерихме умерена позитивна корелация между ОС и АФ ($r = 0.457$; $p = 0.025$), както и значителна по сила негативна корелационна зависимост между $ucOC/OC$ и АФ ($r = -0.574$; $p = 0.003$) (Фиг. 33).



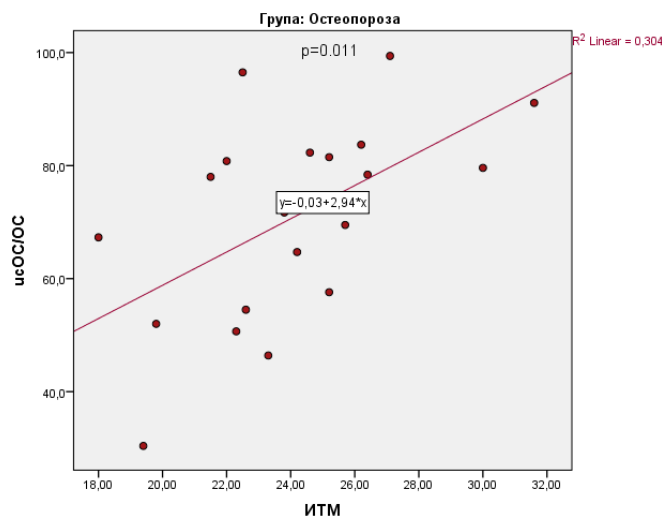
Фиг. 33. Регресионни модели на умерена позитивна корелационна зависимост между ОС и АФ и умерена негативна корелационна зависимост между $ucOC/OC$ и АФ в групата жени с ОП.

При жените с ОП серумния ОС показва умерена по сила негативна корелационна зависимост с намаляване на концентрациите с увеличаване на фрактурите ($r = -0.460$; $p = 0.041$) (Фиг. 34). Резултатите от проведения единичен линеен регресионен анализ показаха, че концентрациите на ОС могат статистически значимо да прогнозира появата на фрактури при пациентките с ОП, ($F = 4,60$; $p = 0.042$) с умерена по сила големина на ефекта. Регресионната константа $a = 1.44$; $p = 0.001$ и регресионният коефициент $b = -0.03$, $p = 0.042$ са също статистически значими, а стойността на коригирания коефициент на детерминация ($adjusted R^2$) е 0.13.



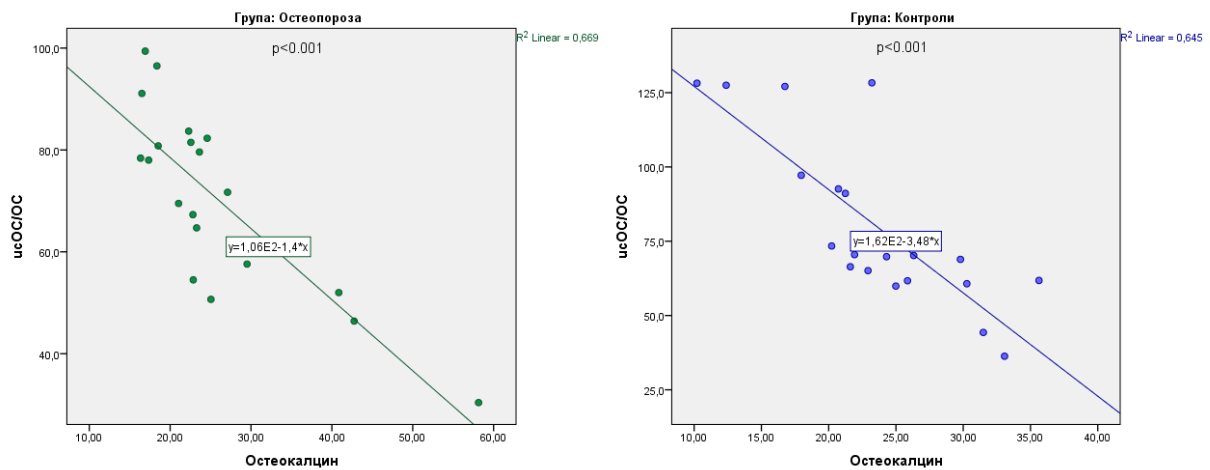
Фиг. 34. Регресионен модел на негативна корелационна зависимост между серумните концентрации на ОС и фрактурите в работната група.

Значителна по сила позитивна корелация се установи и между съотношението $ucOC/OC$ и ИТМ ($r = -0.557$; $p = 0.011$) (Фиг. 35).



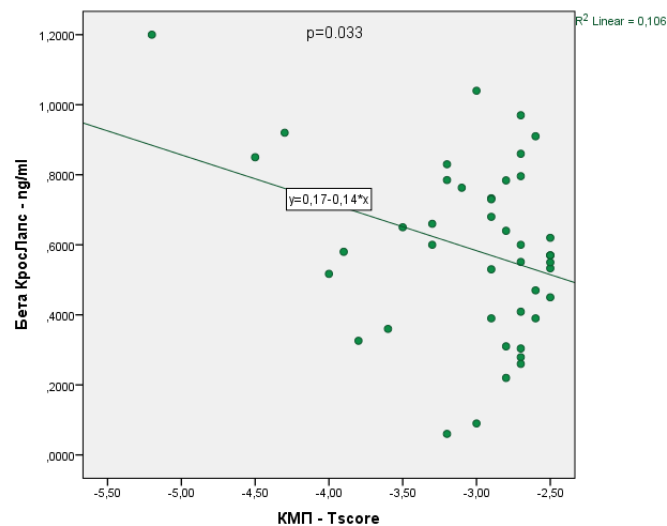
Фиг. 35. Регресионен модел на позитивна корелационна зависимост между съотношението $ucOC/OC$ и ИТМ в работната група.

Съотношението $ucOC/OC$ показва висока негативна корелация с ОС както в групата с ОП ($r = -0.772$; $p < 0.001$), така и в контролната група ($r = -0.839$; $p < 0.001$) (Фиг. 36 и 37).



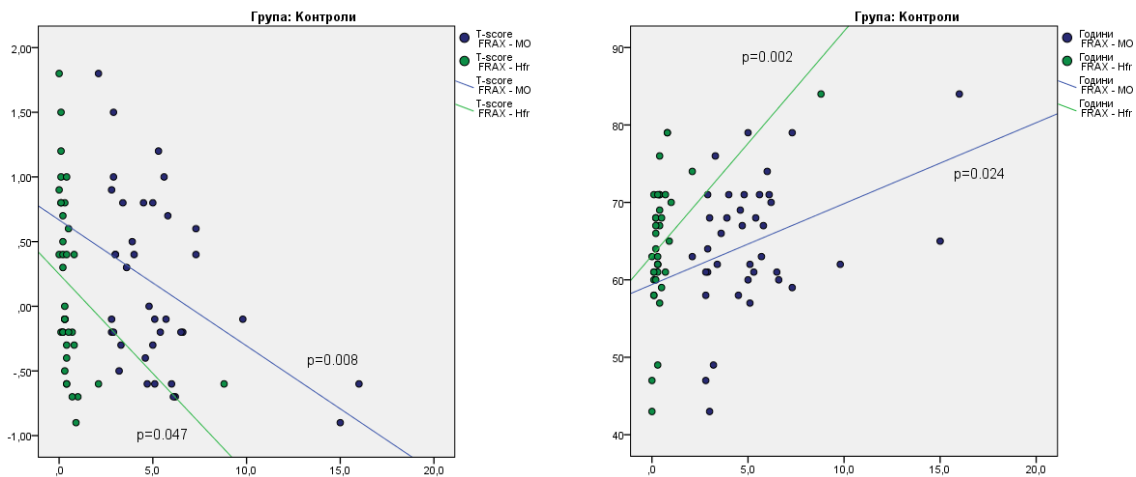
Фиг. 36 и 37. Регресионен модел на негативна корелационна зависимост между съотношението $ucOC/OC$ и OC в работната и контролната групи.

В групата с ОП беше установена умерена негативна корелационна зависимост с намаляване на концентрациите бета КросЛапс при повишаване на КМП ($r = -0.326$; $p = 0.033$) (Фиг. 38).



Фиг. 38. Регресионен модел на негативна корелационна зависимост между серумните концентрации на бета КросЛапс и КМП изразена чрез T-score на лумбалния отдел на гръбначните прешлени.

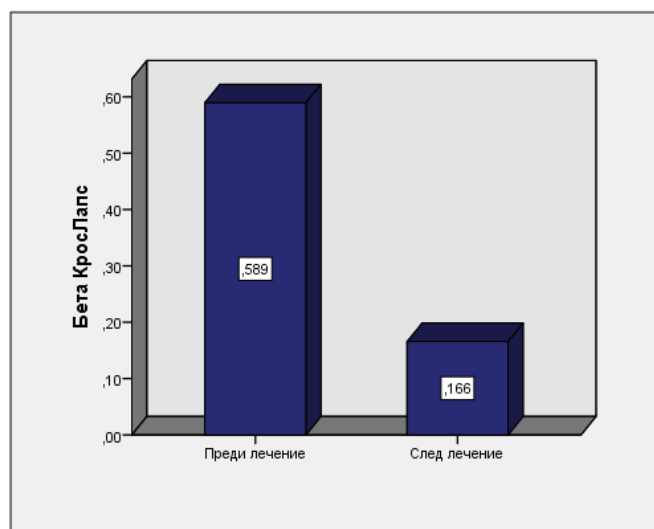
В контролната група установихме негативна корелационна зависимост между КМП и фрактурния риск, умерена по сила за FRAX-MO ($r = -0.427$; $p = 0.008$) и значителна за FRAX-Hfr ($r = -0.325$; $p = 0.047$) (Фиг. 39). Фрактурният риск показва умерено изразена положителна корелация със средната възраст и при FRAX-MO ($r = 0.365$; $p = 0.024$) и при FRAX-Hfr ($r = 0.488$; $p = 0.002$) (Фиг. 40).



Фиг. 39 и 40. Регресионни модели на негативна корелационна зависимост между КМП изразена чрез T-скор, FRAX-MO и FRAX-Hfr и позитивна корелационна зависимост между средната възраст, FRAX-MO и FRAX-Hfr в контролната група.

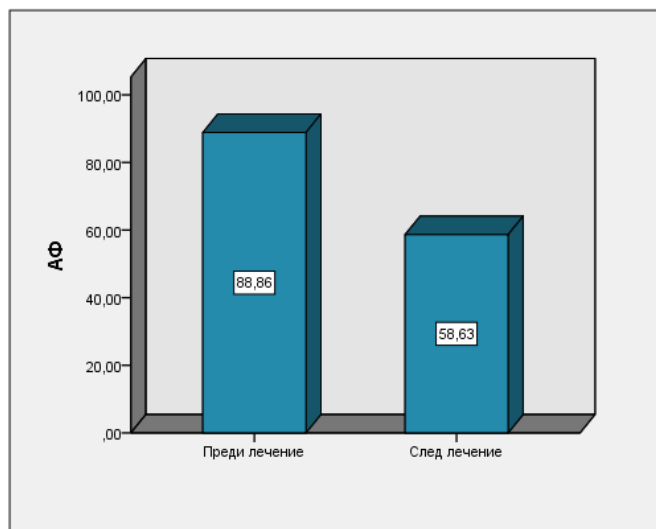
Динамика в серумните концентрации на бета КросЛапс и алкална фосфатаза след шестмесечно лечение с Денозумаб

Концентрациите на бета КросЛапс и АФ бяха измерени преди и след лечение с Денозумаб в дозировка 60 mg подкожно веднъж на 6 месеца. За сравнение между групите е използван параметричния Т-тест за корелирани извадки. Бета КросЛапс преди и след шест месеца е в референтни стойности, съответно 0.589 ± 0.266 ng/ml и 0.166 ± 0.139 ng/ml (Фиг. 41) и понижението с повече от 72% от изходните нива е статистически значимо ($t = 7.351$; $p < 0.001$). Според консенсуса на Българското дружество по ендокринология понижението с над 56% спрямо изходните стойности на маркера между 3-ти и 6-ти месец от началото на лечението се приема за успех.



Фиг. 41. Концентрации на маркера за костно разграждане бета КросЛапс в ng/ml преди и след шестмесечно лечение. Разликата е статистически значима $p < 0.001$

Алкалната фосфатаза преди и след шест месеца също е в референтни стойности, съответно 88.86 ± 22.21 U/l и 58.63 ± 18.34 U/l (Фиг. 42) и понижението е статистически значимо ($t = 6.372$; $p < 0.001$).



Фиг. 42. Концентрации на АФ в U/l преди и след шестмесечно лечение. Разликата е статистически значима $p < 0.001$

ОБСЪЖДАНЕ

Остеопорозата е метаболитен синдром, при който костите стават чупливи поради загуба на минерали и костен матрикс в приблизително еднакви пропорции. При постменопаузалната ОП дефицитът на естрогени води до увеличаване на костния търновър поради въздействие върху всички видове костни клетки, а дисбалансът в костното образуване и резорбция има ефект както върху трабекуларната, така и върху кортикалната кост. С настъпването на менопаузата скоростта и степента на костна загуба варират в зависимост от нейната продължителност и различните скелетни места за измерване. Хормоналният дисбаланс, стареенето, факторите на околната среда, стилът на живот и генетичните предразположения са отговорни за около 50 – 80% от индивидуалната загуба на КМП. В този период причина за влошеното качество на костите са постепенната загуба на минерали от костите свързана с остаряването, а също и други свързани с възрастта състояния, като нарушена мускулна функция, дефицит на витамин Д и вторичен хиперпаратиреоидизъм. В лонгитудинално проучване на КМП на 366 здрави жени в менопауза Warming et al. намират малка по степен костна загуба в областта на бедрената шийка и гръбначните прешлени преди настъпване на менопаузата и трикратно нарастване в първите 10 години след менопаузата. След този период загубата на кост в гръбначния стълб намалява до нула. В изследваната от нас контролна група жени КМП в областта на гръбнака намалява постепенно с напредване на възрастта, като е най-ниска във възрастта над 80 години, но разликите в различните декади от настъпването на менопаузата не достигат статистическа значимост. Подобни резултати съобщават Ohta et al., които сравняват КМП в лумбалния отдел на гръбнака на жени с ранно настъпила и нормална менопауза. Те не отчитат намаляване на КМП с напредване на възрастта при жените с нормално настъпила менопауза. Резултати от проведено петгодишно мултицентрово лонгитудинално кохортно проучване на 9423 канадски жени и мъже на възраст над 25 години показват, че костната загуба при жените започва след 40-годишна възраст, като се наблюдава в различна степен и протича с различна скорост в бедрената шийка и лумбалния отдел на гръбнака. В областта на гръбначните прешлени е най-изразена в перименопаузалния период и първите години след настъпване на менопаузата. След 60-годишна възраст КМП в лумбалния отдел на гръбнака остава почти постоянна, спрямо местата в тазобедрената става. Този модел

вероятно отразява разликите в състава на костта в лумбалния отдел на гръбначния стълб, който има по-голямо съдържание на трабекуларна, а не на кортикална кост в сравнение с бедрената шийка, както и разлики в механичните напрежения в лумбалния гръбначен стълб и бедрата.

ОП се характеризира с понижена КМП и намалена здравина на костите, което създава повишен риск от нискоенергийни фрактури. Жените с ОП показват сигнификантно по ниска КМП измерена във всички скелетни места, което е критерий за поставяне на диагнозата. В нашето проучване КМП измерена в лумбалната област на гръбнака чрез Т-скора в групата с ОП е статистически значимо по-ниска от КМП в контролната група. Скоростта на загуба на кост зависи от много фактори, като пол, хормонален статус, калциев статус, телесно тегло, степен на физическа активност, генетичен състав и регионални характеристики на костния метаболизъм и не е равномерно разпределена в целия скелет. Много експериментални изследвания на степента на загуба на костна маса са ограничени до специфични костни места, като скоростта на загуба на трабекуларната вертебрална кост е значително по-бърза от тази на кортикалната дълга кост. В ранните етапи на постменопаузалната ОП, дефицитът на естрогени предизвиква повишена експресия на RANKL, повишен брой и активност на остеоκластите, както и едновременно потискане на функциите на остеобластите. Впоследствие повишената нетна костна резорбция, изпреварваща образуването на кост, причинява бърза загуба главно на трабекуларна костна маса. Ние намерихме, че жените с ОП на възраст между 70 – 79 г. имат статистически значимо по-ниска КМП в лумбалния отдел на гръбнака в сравнение с жените във възрастовата група 50 – 59 г., но не и с тези във възрастта 60 – 69 г. В литературата няма достатъчно данни за степента и скоростта на костна загуба при жени с постменопаузална ОП. Проучванията са фокусирани основно върху жени в пременопауза и ранна менопауза. При жените с ОП съществува дисбаланс в процесите на костно ремоделиране. Скоростта на костна резорбция е повишена, при непроменена или забавена скорост на костно формиране, а ускорената загуба засяга в по-голяма степен спонгиозните кости. Това може да обясни появата на статистически значимата разлика в КМП на гръбнака с напредването на възрастта. При жените с ОП изглежда намаляването на КМП с напредването на възрастта е по-изразено и продължава в по-голяма степен в сравнение със здравите контроли. При жените с ОП мускулно-скелетното здраве е особено компрометирано от обездвижване и от ниските

нива на физическо натоварване. Ограничената физическа активност и наличието на различни здравословни проблеми при по-възрастните жени намаляват динамичните натоварвания върху костите и засилват костната загуба. Влошеното състояние на мускулно-скелетната система с болезненост в мускулите и костите при жените с ОП, може да доведе до допълнително ограничаване на ежедневната им активност, увеличаване на честотата на паданията и съответно увеличаване на риска от фрактури.

Остеопоротичните фрактури зачестяват с напредването на възрастта, но съвременната медицина разполага с много разнообразни възможности за фармакологични и нефармакологични терапии, които повлияват благоприятно костната маса и по този начин намаляват риска от фрактури. Използването им от практикуващите здравни специалисти се подпомага от инструменти, които оценяват индивидуалния фрактурен риск. Най-широко използваният в световен мащаб веб-базиран инструмент FRAX[®] изчислява десетгодишната вероятност от настъпване на нискоенергийни фрактури на костите, като отчита няколко общи клинични рискови фактора и по избор резултатите от измерването на КМП и може да улесни вземането на решение за лечение. В края на 2020 година, благодарение на усилията на Kirilova et al., калкулаторът FRAX[®] е валидиран за страната ни. Изчислената десетгодишна вероятност от големи остеопоротични и бедрени фрактури при жени с предшестваща фрактура в България е постоянно по-висока от тази в Сърбия и Румъния, по-ниска от тази в Турция и подобна на тази в Гърция. Вероятността българките на възраст над 50 години до края на живота си да получат фрактура на бедрената кост е 11.2%, което е по средата между Румъния и Сърбия (съответно 7.1 и 7.7%) и Гърция и Турция (съответно 15.4 и 15.9%).

Поради регионалните различия в епидемиологията на фрактурите и клиничните рискови фактори е добре получените от нас резултати да бъдат сравнявани с получени такива от България и региона, което е трудно поради все още недостатъчния опит с прилагането на алгоритъма. Анализът на фрактурния риск в работната и контролната групи показва статистически значима разлика, както за FRAX-MO, така и за FRAX-Hfr между групата жени с ОП и контролите. И в двете изследвани групи фрактурния риск нараства с възрастта. Установихме и умерена по сила позитивна корелация с повишаване на FRAX-Hfr с нарастване на средната възраст при жените в менопауза, която се запазва и в работната и контролната групи. При жените с остеопороза FRAX-Hfr е повишен над 3% във всички възрастови групи, а

FRAX-МО е повишен над 20% само при жените над 70-годишна възраст. Съществуват достатъчно публикувани епидемиологични данни за нарастване на честотата на фрактурите с напредването на възрастта, което отразява прогресивното намаляване на КМП, особено в областта на бедрената шийка и повишения риск от падания при пациентите с ОП. Нашите резултати потвърждават, че при жените с ОП рискът от остеопоротична фрактура е по-висок и нараства с напредването на възрастта. Ние установихме и статистически значимо по-висок риск за голяма остеопоротична фрактура при жените с предшестващи фрактури, както в групата с ОП, така и в контролната група, при липса на статистически значими разлики в КМП при жените с предшестващи фрактури и без фрактури. Подобни резултати съобщават Kirilova и Vladeva в едно проучване на рисковите фактори допринасящи към фрактурния риск на 101 жени в менопауза на възраст 65 ± 11 години, които разделят на група с повишен и група с нормален фрактурен риск. Те установяват, че жените с повишен фрактурен риск са статистически значимо по-възрастни и с по-ниска КМП. Съобщават и статистически значима разлика и повишен фрактурен риск между жените с предшестващи фрактури и такива без фрактури. Резултати от проведено аналитично кръстосано проучване на 364 Румънски жени в менопауза, от които 228 диагностицирани с първична ОП чрез ДХА показва статистически значима разлика в изчисления с FRAX[®] десетгодишен фрактурен риск между групата с ОП и здравите контроли. Стойностите намерени от тях за FRAX-МО и FRAX-Hfr в групата с ОП са съответно 8.04 ± 4.68 и 2.76 ± 2.97 и са значително по-ниски и под праговите стойности за повишен фрактурен риск в сравнение с получените от нас 18.29 ± 10.33 и 9.92 ± 8.51 . Стойностите на FRAX-МО и FRAX-Hfr съответно 4.34 ± 2.47 и 0.82 ± 1.47 в контролната група са сравними с нашите 5.26 ± 2.93 и 0.61 ± 1.42 и са под праговите стойности.

Резултатите от нашето проучване демонстрират значителна взаимовръзка между КМП и фрактурния риск. Ние установихме силна негативна корелационна зависимост с повишаване на FRAX-МО и FRAX-Hfr с намаляване на КМП в областта на гръбнака както в групата с ОП, така и при контролите. Подобни резултати съобщават и Liu et al, които изследват 189 участници с ОП на възраст от 50 – 86 години и намират умерена негативна корелация на КМП изразена чрез Т-скора в лумбалния отдел на гръбнака и фрактурния риск изчислен с FRAX[®]. Получените от нас данни за повишения фрактурен риск при жените с ОП и негативната корелационна

зависимост с КМП в областта на гръбнака са в съответствие с публикувани от други автори резултати от епидемиологични и обсервационни проучвания. Използването на FRAX[®] калкулатора е лесно и резултатите за индивидуалния фрактурирен риск се изчисляват бързо. Това предлага добра възможност тези резултати да залегнат в основата на нефармакологични и фармакологични стратегии за превенция на остеопоротичните фрактури и трябва да стимулира по-широката му употреба от медицинските специалисти в страната ни.

Телесното тегло и ИТМ са важен елемент от оценката на пациентките с ОП, защото са рискови фактори за развитие на заболяването. Днес е прието, че жените с висок ИТМ традиционно са с по-висока КМП и са защитени от ОП. Менопаузата се характеризира с прекратяване на производството на естрогени и е свързана с увеличена костна загуба и нарастване на телесното тегло за сметка на мазнините. Маснатият тъкан на пременопаузалните жени е сравнително малък източник на естрогени, но при жените в менопауза, ароматизацията на естрогенните прекурсори в маснатия тъкан става основния им източник. При затлъстяване в менопауза, повишеният синтез на естрогени в маснатия тъкан се смята като един от потенциалните механизми за защитния ефект на маснатата маса върху костите. Нисък ИТМ $\leq 19 \text{ kg/m}^2$ се приема за рисков фактор за развитие на ОП. Ниският ИТМ предразполага жените в менопауза към бърза костна загуба и ниска костна маса, което е от решаващо значение в патогенезата на ОП. Въпреки това, конкретна диаграма на стойностите на ИТМ за точно прогнозиране на ОП предстои да бъде напълно установена. Ние намерихме значими разлики в ИТМ на изследваните групи жени. Жените с ОП имат статистически значимо по-нисък среден ИТМ в сравнение с контролната група. Пациентките с ОП имат среден ИТМ в границите на нормалното тел. тегло – 24.08 kg/m^2 , а при контролите средният ИТМ е в границите на наднорменото телесно тегло – 29.57 kg/m^2 . Подобни резултати съобщават и Gurban et al. в проучване на 149 румънски жени в менопауза. Авторите намират ИТМ сигнификантно по-нисък в групата с ОП ($25.1 \pm 4.5 \text{ kg/m}^2$), в сравнение с контролите ($29.2 \pm 5.1 \text{ kg/m}^2$). В публикувано от Nikolov et al. ретроспективно проучване на асоциацията между телесния състав и КМП при 111 жени в менопауза се съобщават подобни статистически значими разлики. Пациентите със стойности на T-score ≤ -2.5 на лумбален гръбнак са със сигнификантно по-нисък ИТМ в сравнение със случаите с T-score > -2.5 .

Обширни данни показват, че при здрави жени в пременопауза и менопауза ИТМ корелира положително с КМП и негативно с фрактурния риск. Връзката между нарастващото телесно тегло и понижената честота на остеопоротичните фрактури е статистически отдавна доказана в епидемиологични проучвания. Лицата с наднормено тегло имат по-висока КМП в сравнение с индивидите с по-ниско телесно тегло и са по-защитени срещу фрактури на костите, отколкото тези с поднормено тегло. Нашите резултати потвърждават данните, че по-високият ИТМ е протективен фактор срещу развитие на ОП, но са в известно противоречие с общоприетото схващане, че ИТМ корелира позитивно с КМП, защото анализите в работната и контролната групи не потвърдиха корелации между ИТМ и КМП. Жените с ОП показват постепенно намаляване на КМП с намаляване на ИТМ при групите с наднормено, нормално и поднормено тегло, но разликите не достигнаха статистическа значимост. При жените от контролната група също липсват статистически значими разлики в КМП при различен ИТМ. В научната литература има данни показващи, че ИТМ не може да бъде валиден предиктор на КМП, защото корелациите между тях са слаби. Липса на корелации между ИТМ и КМП съобщават и Gurban et al. в цитираното вече проучване на 149 румънски жени в менопауза. Публикувани резултати от друго проучване проведено сред 140 ирански жени в менопауза също не показват корелация между ИТМ и КМП в областта на гръбнака. Отчасти подобни на нашите резултати публикуват Dytfeld et al. и Głogowska-Szeląg в две проучвания на взаимовръзката между ИТМ и КМП при полски жени с постменопаузална ОП. И в двете проучвания участничките са разделени на 3 групи – с нормално тегло, наднормено тегло и обезитет. Dytfeld et al. изследват 92 жени с постменопаузална ОП и не намират корелация между ИТМ и КМП в лумбалния отдел, но съобщават за позитивна корелация с телесното тегло и мастната маса. Głogowska-Szeląg изследва 120 жени и не намира статистически значими различия в КМП на лумбалния отдел на гръбнака при жените с нормално и наднормено тегло, но отчита позитивна корелация между параметрите. Причините за противоречивите данни за корелациите между ИТМ и КМП отчасти са свързани с броя на изследваните лица, разликите в дефинирането и етническата принадлежност на групите за анализ, мястото на измерване на КМП и модела на разпределение на мазнините в тялото, както и взаимовръзката между чистата телесна маса, количеството мастна тъкан и ИТМ.

Здравината на костите се определя от техния основен състав и структура и може да се изрази с две основни техни характеристики: качество на костите и костна плътност. Измерването на КМП дава информация само за количеството на минералите в костите, което е една от характеристиките. Качеството на костите описва други аспекти на костния състав и структура, които допринасят за здравината на костите независимо от КМП. Те включват костен обмен, микроархитектура, минерализация, микроувреждане и състав на костната матрица. Калций и фосфор са отложени в костите, а калциевият метаболизъм е много сложно свързан с хормоналния метаболизъм и стареенето на костите. Костите осигуряват хомеостатичен минерален резервоар, предимно за калций, но също и за други минерали, особено фосфор и магнезий. Метаболитната функция на костта преобладава над нейната структурна функция, тъй като калций и другите минерали се отстраняват от и заместват в костта, за да обслужват системните хомеостатични нужди, независимо от загубата на структурна цялост на скелета. Затова адекватният прием на калций е от съществено значение за нормалния растеж и развитие на скелета и зъбите и за адекватна костна минерализация. Дефицитът на калций е от основните рискови фактори за ОП. Ниските серумни концентрации включват хомеостатични механизми засягащи костното ремоделиране и предизвикващи засилена костна резорбция.

Фосфорът е вторият след калция основен компонент на костната тъкан. В човешкото тяло 85% от двата макроелемента се намират в костите и зъбите под формата на фосфопротеини и хидроксиапатитни кристали. Адекватните нива на неорганичния фосфор са важни за активността на остеобластите и остеоцитите в процеса на матриксната минерализация. Предполага се, че както дефицитът, така и излишъкът от калций и фосфор могат да представляват рисков фактор за развитието на костни заболявания като ОП. Промените в серумните концентрации на калция и фосфора при ОП са проучвани при хора и животни, но резултатите са противоречиви. Различни литературни източници сочат, че при постменопаузална ОП най-често не се наблюдават промени в серумните им концентрации, но данните не са категорични. Няколко проучвания показват, че определянето на серумните концентрации на калция и фосфора няма клинично значение в диагностиката на ОП, тъй като резултатите от тях са в рамките на референтните стойности. Нашите резултати показаха серумни концентрации на калций и фосфор в референтни за използваните

лабораторни анализи стойности и в работната и в контролната групи. Концентрациите на калция в групата с ОП са по-ниски, а на фосфора са по-високи в сравнение с контролната група, но разликите не са статистически значими. Нормалните серумни концентрации на калция и фосфора както при жени с постменопаузална ОП, така и при здрави жени в менопауза, могат да бъдат обяснени с намаляване на общата костна маса. ОП причинява намаляване на общото количество минерализирана кост без намаляване на съотношението на костния минерал към органичната матрица. Както в групата с ОП, така и при контролите нашите резултати показват относително постоянни нива на калций и намаляващи постепенно в границите на референтните стойности с напредване на възрастта фосфати, но не установихме статистически значима разлика в концентрациите на двата елемента при сравнението в групите по декади. Това е в частично съответствие с публикувани данни от няколко проучвания на показателите на калциево-фосфорния метаболизъм при пациентки с постменопаузална ОП и здрави жени в менопауза. Al-khakaní et al., намират серумни концентрации на калций и фосфор в референтни граници при жени с постменопаузална ОП и здрави жени в менопауза. В групата с ОП стойностите са по-ниски в сравнение с контролната група здрави жени в менопауза. Те обаче съобщават за статистически значими разлики в рамките на референтните стойности на концентрациите на калция и фосфора в двете групи. Sunitharpiya et al., съобщават за статистически значимо намаление в концентрациите на калция при жени с ОП в сравнение с контролна група здрави жени. По отношение на концентрацията на фосфора те намират статистически значимо повишение в групата с ОП. Kadhim Alí съобщава за намерени нормални нива на калций и фосфор при жените с ОП и контролите, но концентрациите им са сигнификантно по-високи в групата с ОП. Tariq et al. съобщават за сигнификантно високи нива са серумен калций при жени в менопауза с остеопения, което предполага, че в периода на менопаузата започва декалцификация на костите, поради което нивото на калций в серума се повишава бързо, но 2 – 5 години след менопаузата намалява.

Поддържането на калциево-фосфатната хомеостаза се базира на сложна, строго регулирана система, включваща много йони и хормони. Основните хормонални регулатори на калциевите нива са ПТХ и витамин Д, които действат върху костите, бъбреците и стомашно-чревния тракт, за да повишат плазмения калций и в по-малка степен калцитонина, който

намалява костната резорбция, но изглежда няма голям ефект върху калция при нормални обстоятелства. Известно е, че нивата на ПТХ често се повишават в напреднала възраст. Това може да бъде обяснено с възрастово обусловеното постепенно намаляване на нивата на серумния калций, а нарастването на ПТХ при възрастните хора може да се нарече вторичен хиперпаратиреоидизъм. При ниски серумни нива на калция, ПТХ, заедно с витамин Д, упражнява физиологични ефекти на различни места в тялото, за да мобилизира запасите от калций и да увеличи абсорбцията и реабсорбцията му. И калцият и витамин Д регулират по механизма на отрицателната обратна връзка секрецията на ПТХ.

Средните плазмени концентрации на ПТХ при изследваната група жени с ОП са завишени спрямо референтните граници в сравнение с жените от контролната група, където концентрациите са нормални. Изглежда поддържането на нормални серумни концентрации на калций с напредването на възрастта е свързано с повишена секреция на ПТХ. Концентрациите на ПТХ в групата с ОП нарастват статистически значимо с нарастването на възрастта, като съществува позитивна корелация на ПТХ с възрастта. Повишени серумни концентрации на ПТХ се наблюдават при жени с ОП, но клиничното им отражение и причините за това все още не са напълно изяснени. Проучване проведено от Cerdà et al. анализира разпространението и състоянията, свързани с повишените серумни нива на ПТХ при 204 жени в менопауза с ОП, както и техните клинични характеристики. Те намират повишени нива на ПТХ $> 65 \text{ pg/ml}$ при 35% от изследваните, като жените с повишени серумни нива на ПТХ са били по-възрастни (67 ± 9 години) от тези с нормални нива на ПТХ (63 ± 11 години). При анализа на състоянията причиняващи хиперпаратиреоидизъм като понижен прием на калций, лош витамин Д статус, бъбречна недостатъчност и хиперкалциурия те намират разпространение подобно на това при жените с нормални нива на ПТХ.

Паратхормонът е от съществено значение за поддържането на калциевата хомеостаза отчасти, чрез неговите действия за регулиране на костното ремоделиране. Въпреки, че не установихме статистически значими различия в работната и контролната групи, серумните концентрации на калция са по-ниски, а на ПТХ са по-високи при жените с ОП. Паратхормонът стимулира, както образуването на кост, така и костната резорбция, а продължителността и периодичността на въздействието му управлява нетния ефект върху костната маса, тоест дали е катаболен или

анаболен. Продължителното излагане на действието на ПТХ води до катаболни ефекти върху скелета, докато периодичните ниски дози ПТХ имат остеоанаболни ефекти. Ниският хранителен прием на калций и/или витамин Д, чрез йонизирания калций стимулират отделянето на ПТХ. При персистиране на хранителните дефицити, продължителното излагане на повишени нива на ПТХ повишава костното ремоделиране, което води до значителна загуба на кост и повишен риск от фрактури. Жените в менопауза трябва да получават адекватни количества калций за подтискане на повишената секреция на ПТХ, която може да бъде в основата на развитието на ОП. Въпреки това, все още причинно-следственият ефект на ПТХ върху костната КМП остава неясен. Ние намерихме 45% от жените в групата с ОП и 38% от жените в контролната група с концентрации на ПТХ над 65 pg/ml, но не установихме статистически значими различия в КМП в областта на гръбнака между жените с нормални и повишени нива на хормона и в двете изследвани групи. Затова въпросът дали физиологичните промени в секрецията на ПТХ след менопаузата и с напредването на възрастта допринасят за патогенезата на ОП продължава да е във фокуса на значителен научен интерес. Необходими са допълнителни проучвания за по-добро определяне на приноса на повишените концентрации на ПТХ към загубата на костна маса при възрастните. В голямо кохортно проучване на 29155 участници от европейски произход Qu et al. оценяват и описват потенциалните причинно-следствени ефекти на серумните нива на ПТХ върху КМП и риска от фрактури на 4 места на скелета – китка, бедрена шийка, лумбален гръбнак и пета, както и характеристиките на КМП на 5 възрастови групи. Авторите намират, че концентрациите на ПТХ са негативно асоциирани с КМП, като степента на асоциацията и причинно-следствената връзка е силно изразена при хора на възраст между 45 и 60 години. Те правят заключението, че серумният ПТХ играе роля в развитието на ОП и този причинно-следствен ефект е специфичен за определени скелетни места и възрастта, но са необходими бъдещи проучвания на потенциалните механизми, чрез които ПТХ регулира КМП. Ние не намерихме корелация между нивата на ПТХ и КМП в областта на лумбалните прешлени и в двете изследвани групи. Подобни резултати съобщават Sigurdsson et al., които изследват ПТХ, витамин Д статуса и КМП на 308 жени от кавказката раса на възраст над 70 години, като 33% от участничките са с ОП. Те не намират корелация между ПТХ и витамин Д и КМП в областта на гръбначните прешлени и при двете групи, което

предполага, че други неизяснени до момента фактори в допълнение към ПТХ вероятно допринасят за свързаното с възрастта костно ремоделиране и ОП.

Витамин Д и ПТХ регулират минералния метаболизъм в строго контролиран цикъл на обратна връзка, като ПТХ е основен стимулатор на синтеза на витамин Д в бъбреците, а витамин Д упражнява отрицателна обратна връзка върху секрецията на ПТХ. Нашите изследвания показаха статистически значимо по-ниски концентрации на ПТХ при нормални нива на витамин Д, в сравнение с концентрациите при дефицит и в групата с ОП и в контролната група. При нива на витамин Д над 50 pmol/l концентрациите на ПТХ в групата с ОП са по-високи (60.07 ± 46.43 pg/ml) от тези в контролната група (45.26 ± 10.40 pg/ml), макар различията да не достигат статистическа значимост. Поддържането на нормални плазмени нива на калций при жените с ОП е свързано с хронично повишена секреция на ПТХ с неблагоприятни ефекти върху костната резорбция. Ние потвърдихме негативната корелационна зависимост между стойностите на витамин Д и ПТХ. Намалването на витамин Д води до повишаване на стойностите на ПТХ, както при пациентките с ОП и при жените от контролната група. Дефицитът на витамин Д чрез ниските плазмени нива на калция се свързва с развитието на вторичен хиперпаратиреоидизъм, рисков фактор за развитието на ОП и последващи фрактури. За да се нормализират серумните нива на калций в условия на хипокалциемия, витамин Д индуцира силна експресия на RANKL, което повишава костната резорбция. Мобилизирането на калция от костите намалява тяхната минерална плътност, увеличавайки вероятността за развитие на ОП.

Епидемиологични данни показват, че субоптималният витамин Д статус се превръща в световен феномен. Недостигът на витамин Д е най-честият хранителен дефицит в световен мащаб. Лошото хранене с намален прием, ограниченото излагане на слънце, нарушенията в абсорбцията, чернодробна и бъбречна недостатъчност и затлъстяване могат да обяснят това високо разпространение. Изчислено е, че повече от 50% от населението на света има дефицит на витамин Д. Днес за популационни проучвания и сравнение в различните страни, включително и в България се използват стандартизирани лабораторни анализи. Публикувани от Lips et al. данни за концентрациите на витамин Д в населението варират от адекватен витамин Д статус в скандинавските страни до тежък дефицит в страните от Близкия изток. Недостатъчност на витамин Д се съобщава при под 20% от

населението в Северна Европа, при 30 – 60% в Западна, Южна и Източна Европа и до 80% в страните от Близкия изток. Тежък дефицит се установява при под 10% от европейците, което е особено тревожен факт, особено в определени рискови групи. Авторите обръщат внимание на необходимостта от подобряване на витамин Д статуса и създаването на целенасочени стратегии с висок приоритет, като например разумно излагане на слънце, адекватно хранене, политика за обогатяване на храните и добавяне на витамин Д за високорисковите групи.

В научната литература има достатъчно публикувани данни за наличие на ниски нива на витамин Д и при пациенти с ОП. Към момента на проучването ни в България липсваха данни за витамин Д статуса при пациентки с постменопаузална ОП. Намерените от нас нива показват лош витамин Д статус. Средните концентрации на витамина в работната и контролната групи показват недостатъчност, като няма статистически значима разлика в концентрациите при двете групи. Общо 56.45% от пациентките с ОП и 60.53% от контролите са със субоптимални нива на витамин Д. Субоптимални нива на витамин Д имат съответно 90.3% и 89.5%.

Данните за витамин Д статуса при пациентки с ОП в държавите от Югоизточна Европа са недостатъчни. Някои от публикуваните данни обхващат малък брой участнички, но също показват лош витамин Д статус. Нивата на витамин Д са оценени в едно проучване на различни метаболитни маркери при оценка на костното здраве на Димитрова и съавт. Те изследват 84 български жени с нормална КМП, остеопения и ОП. При оценка на нивата на витамин Д между анализиранияте според КМП групи не намират сигнификантна разлика, но отбелязват, че преобладават лицата с дефицит и недостиг на витамин Д и в трите групи. Авторите съобщават за субоптимални нива на витамин Д при 86.6% от здравите контроли, 76.9% при жените с остеопения и 76.7% от пациентките с ОП. В групата румънски жени в менопауза изследователският екип съобщава субоптимални нива на витамин Д според приетите от тях критерии при 82.5% от жените с ОП и 72.7% от жените в контролната група са със субоптимални нива. Популационно проучване на 596 гръцки пациентки с ОП на средна възраст 65.3 години на сезонните вариации на нивата на витамин Д показва субоптимални стойности през зимата 92.2%. Подобни резултати съобщават Anetakis et al., които изследват сезонните вариации на витамин Д при хетерогенна популация лица от Северна Гърция. Те намират субоптимални нива в зимния период при 97.83% от изследваните 35 жени с ОП на средна

възраст 66 години. В двете страни като субоптимални се приемат същите като в България стойности под 75 nmol/l.

Рисковите фактори за дефицит на витамин Д са разнообразни и варират в различните географски ширини и етнически групи, а в България до момента няма изследване кои от тях допринасят най-съществено за лошия витамин Д статус при жените в менопауза и с ОП. Може да се предположи, че причините са комплексни. Нивата на витамин Д намаляват с напредването на възрастта и това е многофакторно обусловено. Ние също установихме постепенно понижение на витамин Д с напредването на възрастта и в работната и в контролната групи. Концентрациите на витамин Д показват статистически значимо понижение с всяка следваща декада и негативна корелационна зависимост с възрастта. Жените с дефицит на витамин Д са статистически значимо по-възрастни от жените с недостатъчност и нормални нива.

Витамин Д се синтезира в кожата под въздействието на ултравиолетовите лъчи и се приема с храната, с хранителни добавки или с обогатени с витамин Д храни. Той се намира се и в много продукти от животински произход, но не са много храните, които са богати на витамина. Днес се приема становището, че адекватен прием на витамин от 15 µg/ден, определен от Европейската агенция за безопасност на храните е трудно да се постигне само чрез диета и затова се препоръчват хранителни добавки с витамин Д. В България обогатяването на храните с витамин Д не е задължително и на пазара такива практически липсват. Консумацията на риба също е ниска, което предполага, че за по-голямата част от населението хранителният прием на витамин Д като цяло е оскъден. Увеличаването на слънчевата експозиция може донякъде да компенсира ниския хранителен прием, но при възрастните хора това е дискутабилно. Способността на кожата да образува витамина при хората над 65 годишна възраст намалява с 25% в сравнение с 20-30 годишните при еднаква слънчева експозиция и вероятно е свързана с намалените количества 7-дехидрохолестерол. Други индиректни фактори намаляващи слънчевата експозиция са свързани с носенето на дрехи покриващи голяма част от тялото, използването на слънцезащитни средства, намалената физическа активност и недостатъчно време прекарано на открито. Времето прекарано на открито при възрастните жени в менопауза и пациентките с ОП може допълнително да бъде ограничено от болзненост в мускулите и ставите, безпокойство, свързано с възможни падания и

фрактури или намалена подвижност вследствие на вече получени остеопоротични фрактури.

Днес взаимовръзките между витамин Д статуса, КМП и ИТМ все още не са изяснени напълно и продължават да са обект на широки дискусии. Нашето проучване не показва витамин Д статуса да е свързан статистически значимо с ИТМ, както при пациентките с ОП, така и при здравите контроли. Ние не намерихме статистически значима разлика в ИТМ при групите с различни нива на витамин Д. Не установихме и значими корелации между двата показателя. Подобна липса на корелация съобщават и Głogowska-Szeląg et al. в скорошно проучване на нивата на витамин Д при малка група от 69 жени с ОП.

Витамин Д статуса и взаимовръзката му с КМП в различните скелетни места продължават да са обект на множество изследвания и в научната литература данните са доста противоречиви. Лошият витамин Д статус днес все още се приема като рисков фактор за развитие на ОП и фрактури, поради деминерализация на костите, която може да намали КМП. Костната загуба и намалената здравина на костите са основните причини за остеопоротичните фрактури при възрастните хора. Има проучвания, които сочат, дефицитът на витамин Д е свързан с ниска КМП на гръбначните прешлени и бедрената шийка при жени в менопауза. Други проучвания не подкрепят тази връзка. В изследваната от нас група жени в менопауза ние оценихме нивата на витамин Д и взаимовръзката им с КМП в лумбалния отдел на гръбнака и фрактурите с различна локализация. В допълнение ние изследвахме и взаимовръзката между витамин Д статуса и фрактурния риск изчислен с калкулатора FRAX[®], каквито данни в страната ни липсват. Резултатите ни не показаха статистически значима корелация между витамин Д статуса и измерената КМП на гръбначните прешлени в лумбалния отдел както при пациентките с ОП, така и при здравите контроли. Фактът, че нивата на витамин Д могат да бъдат ниски при хора с нормална костна минерална плътност, показва, че има други компенсаторни механизми, които предотвратяват този дефицит да повлияе на костната плътност. Резултати от наскоро публикувано проучване на вариацията в гените за витамин Д потвърждават тази теза. Tang et al. изследват генетичен полиморфизъм в 417 580 участници от европейски произход, за да намерят причинно-следствена връзка между нивата на витамин Д и КМП в различни скелетни места – предмишница, шийка на бедрена кост, лумбален отдел на гръбначния стълб и цяло тяло в различни възрастови групи.

Изследователите отричат подобна връзка във всички измерени скелетни места през целия живот в общата популация, но препоръчват провеждането на мащабни рандомизирани контролирани проучвания за изследване на ролята на добавките с витамин Д за предотвратяване на ОП при високорискови популации.

Резултати от обсервационни и епидемиологични проучвания посочват взаимовръзка между дефицита на витамин Д с повишения риск от остеопоротични фрактури. Ниските нива на витамин Д са често срещани при по-възрастните хора, а дефицитът може да доведе до загуба на костна маса, повишена костна резорбция, фрактури и падания. Въпреки това, проучвания, които оценяват ефектите на витамин Д върху КМП, дават противоречиви резултати. По този начин остава неясно дали ниските нива на витамин Д предразполагат индивидите към фрактури от крехкост. Ниските серумни нива на витамин Д се сочат като независим от КМП рисков фактор за нискоенергийни фрактури при възрастни хора. Мета-анализ от 2017 г. на връзката между серумния витамин Д и риска от фрактури демонстрира, че серумният витамин Д е обратно пропорционален на честотата на фрактурите, но тези констатации все още са спорни. Редица проучвания демонстрират ниски нива на витамин Д при пациенти с фрактури на бедрената шийка. Ние установихме слаба негативна корелационна зависимост с нарастване на десетгодишния риск от фрактура на бедрената шийка при намаляване на нивата на витамин Д както в групата с ОП, така и при контролите. В научната литература липсват публикации за изследване на взаимовръзката между нивата на витамин Д и изчисления фрактурен риск при пациенти с ОП, но данните, че ниските нива на витамин Д повишават теоретично възможността за фрактури на бедрената шийка изискват внимание и потвърждение. Резултати от публикуван през 2020 г. мета-анализ показват, че високите серумни нива на витамин Д намаляват риска от фрактура на бедрената кост при пациенти с ОП на възраст над 60 г., но не могат пряко да повлияят на риска от фрактури.

Недостатъчност и дефицит на витамин Д се съобщават като рисков фактор и за вертебрални фрактури както при мъжете, така и при жените. Резултати от други проучвания не показват значителна връзка между нивото на серумния витамин Д и остеопоротичните вертебрални фрактури. Засега взаимовръзката между серумните нива на витамин Д и остеопоротичните торако-лумбални прешленни фрактури остава спорна, но е възможно дефицитът на витамин Д да се окаже независим от КМП фактор за фрактури

при жените с ОП. В изследваната група жени с ОП ние намерихме статистически значимо по-ниски нива на витамин Д (39.78 nmol/l) при пациентките с фрактура на гръбначни прешлени в сравнение с пациентките с фрактура на предмишница (58.96 nmol/l) и без фрактура (46.58 nmol/l). Подобни на нашите резултати съобщават Milenković et al., които изследват нивата на витамин Д, БКМ и КМП на 58 сръбски жени в менопауза на средна възраст 60.46 ± 6.55 г. с новодиагностицирана ОП. Авторите съобщават средни концентрации на витамин Д от $46.45 \pm 14.68 \text{ nmol/l}$, дефицит при 89,76% от изследваните и статистически значимо по-ниски концентрации при жените с предшествващи фрактури, в сравнение с тези без фрактури (37.57 ± 13.08 , спрямо $51.22 \pm 17.26 \text{ nmol/l}$). Те правят заключението, че субоптималния витамин Д статус при жени с постменопаузална ОП е важен рисков фактор за фрактури на костите. Резултати от проведено обширно проучване сред китайски пациенти също не потвърждават взаимовръзка между витамин Д статуса и КМП. Zhang et al., изследват нивата на витамин Д и КМП при 534 пациенти с различни по тежест вертебрални фрактури и 569 пациенти с болка в долната част на гръбнака без фрактури. Авторите не намират корелация между нивата на витамин Д и измерената КМП в областта на гръбнака, но съобщават за сигнификантно по-ниски нива на витамин Д в групата пациенти с прешленни фрактури. Те правят заключението, че има значителна връзка между серумните нива на витамин Д и честотата и тежестта на вертебралните фрактури само във възрастовата група между 60 до 80 години. Подобни резултати съобщават и Ying et al., които изследват група от 80 жени с постменопаузална ОП, разделени на група с фрактури на гръбначните прешлени и група без фрактури. Те намират статистически значимо по-ниски нива на витамин Д при пациентките с фрактури, в сравнение с тази без фрактури, както и негативна корелация между витамин Д и фрактурите на гръбначните прешлени.

Витамин Д участва в костния растеж и ремоделиране от остеобласти и остеокласти, а нива под 50 nmol/l ускоряват костния обмен, костната загуба и остеопорозните фрактури. Въпреки, че все още липсва консенсус относно оптималните нива на витамина за превенция на фрактурите днес се смята, че комбинираната добавка на калций и витамин Д е свързана със значително намаляване на общите фрактури и фрактурите на бедрената кост сред различни популации. Днес се приема, че най-големи ползи за поддържане на КМП и нормалната функция на мускулно-скелетната система и долните крайници имат серумни концентрации на витамин Д над 75 nmol/l .

Процентът на жени в менопауза с ОП със серумни концентрации на витамин Д под 75 nmol/l през зимата се доближава до 90 – 100% в Европа, 80% в Канада и Съединените щати и 34.3% в Бразилия. Приемането на граничната стойност от 75 nmol/l би означавало, че почти 80% от жените в менопауза с ОП по света трябва да бъдат лекувани за хиповитаминоза Д през зимата и до 75% през лятото. Ние установихме, че 90% от изследваните жени в менопауза са с концентрации на витамин Д под 75 nmol/l, което е особено тревожно, затова оценката на нивата на витамин Д е от съществено значение.

Остеопорозата и артериалната калцификация са основни проблеми за здравето в съвременните общества. Едновременната артериална калцификация и ОП са наречени "калциев парадокс" и се срещат често при жени в менопауза. Резултати от проучвания обаче показват, че жените, които получават добавки с калций са изложени на по-висок риск от сърдечно-съдови заболявания, атеросклероза, стенокардия и миокарден инфаркт. Увеличеният риск за смърт от сърдечно заболяване, асоцииран с калциевите добавки обезсмисля всяка тяхна полза за костното здраве. Нарастващ брой съобщения от скорошни проучвания, разглеждат постменопаузалната ОП като рисков фактор за сърдечно-съдови заболявания, точно както други традиционни рискови фактори като хипертония, дислипидемия и диабет. Това е промяна на парадигмата по отношение на перспективите за ОП. Връзката между ОП и сърдечно-съдовите заболявания отчасти може да се обясни с това, че споделят общи рискови фактори като диабет, дислипидемия, тютюнопушене, прекомерна алкохолна консумация, хиподинамия. Процесите на вкалцияване в атероматозните плаки са подобни на тези наблюдавани при костното ремоделиране. Двата процеса включват общи регулатори като остеопротегерин, а протеини като остеонектин, остеопонтин и колаген тип I се намират в костния матрикс и атероматозните плаки, което предполага, че един механизъм може да причинява двете заболявания. Има нови доказателства, че лицата с ОП са изложени на повишен риск от коронарна артериална болест и инсулт дори след контролиране на другите рискови фактори. Това налага промяна в схващането, че ОП е метаболитно заболяване. Тя трябва да се приема като сърдечно-метаболитно разстройство, като по този начин се подчертава необходимостта от засилени превантивни стратегии за болестта.

Намаляване на сърдечно-съдовия риск при пациентките с ОП може да се постигне с баланс в приема на калций, витамин Д и витамин К2, което ще оптимизира профилактиката и лечението на заболяването. Съществуват доказателства, подкрепящи ползата от добавка и на витамин К2 в терапевтичните режими при пациентите с ОП. Повечето клинични изпитвания досега са изследвали ефекта на суплементацията с витамин Д и К2 върху КМП при жени в менопауза. Публикуваните данни подкрепят идеята, че едновременната им употреба може да бъде по-ефективна за здравето на костите и сърдечно-съдовата система от самостоятелното им приемане. В Япония витамин К2 е официално регистриран за профилактика и лечение на постменопаузална ОП. В Европейските страни все още няма консенсус за използването му в профилактични и лечебни стратегии. Потенциалният полезен ефект от добавките съдържащи витамин К2 за превенция и терапия на различни заболявания фокусира усилията на научната общественост към разширяване на изследванията за изучаване на извънчернодробните ефекти на витамин К2 и за създаване на стандартизирани методики за изследване нивата на витамина.

Резултати от различни клинични проучвания показват, че при съвременния начин на хранене консумацията на витамин К намалява постепенно и дори добре балансираната диета не може да осигури витамин К в количества, достатъчни за задоволяване нуждите на организма. Освен това, поради съвременните производствени процеси, съдържанието на витамин К, по-специално съдържанието на витамин К2 в храните днес е намалено значително, което прави суплементацията с витамин К2 по-надежден начин за осигуряване на адекватен прием. Понастоящем няма консенсус относно плазмените нива на витамин К, показващи дефицит или недостатъчност.

Проучването на хранителния прием на витамините от групата К се извършва на базата на съществуващ въпросник – Food frequency questionnaire на National Health and Nutrition Examination Survey. Въпросникът е ограничен контролен списък с храни и напитки със секция за честота на отговор, а субектите отбелязват колко често всеки артикул е бил консумиран за определен период от време.

Основният диетичен прием в САЩ, Европа и повечето западни страни е филохинон, докато в Япония са основно менахинони. В Нидерландия и Германия например приемът на менахинони е само между 10 – 25% от диетичния прием на витамин К. Различните видове сирена са най-важните

източници на дълговерижни менахинони в Западната диета, но действителното съдържание на менахинони варира значително и зависи от вида на сиренето, времето на зреене, съдържанието на мазнини и географската област, където се произвежда. Като цяло, твърдите сирена съдържат повече менахинони, отколкото меките сирена. Други важни източници на менахинони, основно менахинон-4 в западната диета са месото, черния дроб и яйчения жълтък. В България няма проучвания за диетичния прием на витамин К2, защото все още липсва адаптиран и валидиран за употреба въпросник. Друг основен проблем при проучванията е липсата на данни за съдържанието на витамин К2 в регионалните млечни продукти и другите традиционно консумирани храни в страната ни. Към момента няма и норми за дневен прием на витамин К2. Наредба на Министерството на здравеопазването от януари 2018 г. за физиологичните норми за хранене на населението определя само норма за прием на витамин К1. Препоръчителният дневен прием за възрастни е 70 – 80 µg.

Възрастта, полът и диетата се смятат за основни детерминанти на нивата на циркулиращия витамин К. Дневният прием на К1 и К2 е по-висок при младите в сравнение с по-възрастните хора и при двата пола. Това се отнася особено за диетичния прием на витамин К2. Последният съставлява само 10.7 % от общия витамин К прием при възрастните и 11.5% от този на жените на средна възраст. Има данни, че нуждите от витамин К2 нарастват с напредването на възрастта, като механизмът не е точно установен. Вероятно е свързан с намаления брой остеоласти или с намалената ензимна активност на γ -глутамил карбоксилазата с напредването на възрастта. Това определя и разликата в препоръчителния дневен прием при възрастни и млади здрави жени. В клинични проучвания при хора често използвана дозировка на витамин К2 е 45 mg/ден, а приложението му може да бъде интересна стратегия за подобряване на здравето на костите и кръвоносните съдове, особено при жени с постменопаузална ОП. Нуждата от по-големи количества витамин К2 с напредването на възрастта при намален диетичен прием предполага съществуващ дефицит при възрастните. Намалената активност на γ -глутамил карбоксилазата води до непълно карбоксилиране на ОС. Некарбоксилираният ОС не може да се отложи в костния матрикс и попада в кръвообращението. Повишените концентрации на ucОС са индиректен показател за витамин К2 дефицит и има публикувани оскъдни данни, че са свързани с лош костен статус и повишен риск от фрактури.

Съдържанието на ucOC в костта повлиява неблагоприятно здравината на костта с по-голям ефект върху качеството на костта, отколкото върху КМП.

Интерпретацията на публикуваните данни за концентрациите на ucOC са затруднени от липсата на достатъчно проучвания при пациентки с ОП. До момента няма и дефинирани референтни граници за ucOC определящи лош витамин К2 статус за различни популации лица. Има данни, че жени в менопауза със серумно ниво на ucOC ≥ 4.0 ng/ml показват по-ниски серумни концентрации на витамин К, по-високи маркери за костна резорбция и повишена честота на вертебрални фрактури. За да се улесни дискусиата относно насоките за дефицит на витамин К, стойностите на ucOC, измерени чрез различни системи за анализ, ще трябва да бъдат стандартизирани, тъй като има значителни вариации. За японска популация пациентки с ОП се приема cut-off value под 4.5 ng/ml, изчислена чрез приетите за витамин К дефицит концентрации. Резултати от различни проучвания, показват концентрации на ОС и ucOC в широки граници, но това вероятно се дължи на използваните различни методики за определянето им. Сравнения между различни държави показват разлики в концентрациите на ucOC и в различните етнически групи. Това още веднъж подчертава, че са нужни рандомизирани клинични проучвания с добре дефинирани групи от различни географски региони. Стандартизацията на тези показатели, ще ги направи полезни и по-широко използвани в клиничната практика. Нашите резултати показват високи концентрации на ucOC и в двете изследвани групи, без сигнификантна разлика, което може да бъде асоциирано с нисък хранителен прием и лош статус на витамин К2, но в страната ни все още липсват дефинирани референтни граници за показателя за различни групи лица.

Витамин К2 статуса може да се измери индиректно чрез съотношението ucOC/ОС, а стойности над 20% се приемат да хранителен витамин К2 дефицит. В научната литература данните за оценка на нивата на витамин К2 при жени в менопауза и такива с ОП са недостатъчни. В проучване на хранителния прием на витамина McKeown et al. изследват 837 мъже и жени от различни възрасти и намират лош витамин К статус при 44% от мъжете и 54% от жените. Популационни проучвания на витамин К статуса проведени сред хора от кавказката раса показват лош витамин К статус в 25 – 33% от изследваните лица. Нашите резултати показват много високо съотношение ucOC/ОС. В работната и контролната групи стойностите на ucOC/ОС са съответно 77.36 и 83.63%, без статистически значими различия.

Постепенно нарастване на ucOC/OC се наблюдава и в двете групи, но разликите са статистически значими само в контролната. Най-ниските стойности на ucOC/OC и в двете групи, са над приетите за норма, което определя лош витамин K2 статус и влошаването му с напредването на възрастта при изследваните от нас жени. Подобни резултати съобщават и Theuwissen et al, които изследват витамин K2 статуса на 22 здрави белгийски жени на възраст 18 – 45 г. намират високо съотношение ucOC/OC от 95%. След суплементация с МК-7 същото намалява значително само в групата получила 90 µg/дн, което се приема за висока доза. Публикувано от Shea et al. проучване на витамин K статуса в мултиетническа група от 438 възрастни (60 – 80 г., 59% жени) в САЩ, показва дефицит или недостатъчност при 97% от изследваните лица.

Какви са основните причини за лошият витамин K2 статус при изследваната от нас група жени можем само да предполагаме, поради невъзможността за проучване на хранителния прием и неясния по отношение на менохинони състав и качество на храните в България. Данните получени от нас са тревожни и трябва да бъдат потвърдени с изследване на по-големи групи лица, за да генерират развитието на стратегии за превенция и лечение, което е важно за рисковите групи, особено в по-напреднала възраст. Днес разпространения дефицит на витамин K2 може да се приеме за възможен. Причините за това са много и разнообразни: бионаличността на витамин K1 и K2 в храните е лоша, циркулиращите в кръвта количества в сравнение с другите мастно-разтворими витамини са много ниски, бързо се метаболизират и екскретират и имат ниски тъканни запаси. Синтезът на витамин K2 от интестиналната дебелочревна микрофлора в достатъчни количества също е поставен под съмнение. Проучвания демонстрират лоша бионаличност на бактериални менахинони, поради здравето им свързване с бактериалната стена и липсата на жлъчни соли необходими за емулгирането и резорбцията им. Широката употреба на антибиотици унищожавачи чревните бактерии може да влоши допълнително индивидуалния риск от витамин K2 дефицит.

Витамин K2 е многофункционален витамин, който фокусира голямо внимание заради ефикасността си за подобряване на костния обмен. Той подпомага образуването на кост чрез стимулиране на остеобластната диференциация и повишаване нивата на някои маркери за образуване на кост, като АФ и регулира на минерализацията на извънклетъчния матрикс чрез γ -глутамил карбоксилирането на ОС. Освен това витамин K2 намалява

костната резорбция чрез своите антикатаболни ефекти, а именно намаляване на диференциацията на остеокластите и инхибиране на остеобластната апоптоза. Тези ефекти се смятат за потвърдени в животински модели и клетъчни култури, но предстои да бъдат потвърдени в рандомизирани клинични проучвания и при хора. Дефицитът на витамин К2 може да повлияе неблагоприятно на качеството на костите повече отколкото на костната маса. В нашето проучване ние намерихме значителна по-сила негативна корелационна зависимост между съотношението $ucOC/OC$, респективно витамин К2 и алкалната фосфатаза при жените от работната група, но не и при контролите. Освен това съотношението $ucOC/OC$ показва висока негативна корелация с OC и в двете изследвани групи. Високите нива на $ucOC/OC$, които се свързват с дефицит на витамин К2 понижават алкалната фосфатаза и карбоксилирания OC с неблагоприятен ефект върху остеобластната функция и костното образуване. Това нарушава баланса между костно орбазуване и костна резорбция, в полза на резорбцията, влошава качеството на образуваната кост и може да повиши фрактурния риск, независимо от КМП.

Някои нови публикации свързват съотношението $ucOC/OC$, респективно витамин К2 при хора с мускулната сила, физическата функция и риска от падания, но засега данните са ограничени. Това подчертава необходимостта от идентифициране на потенциални клинични маркери, които да бъдат в състояние да идентифицират лица, изложени на риск от намаляване на мускулната функция и падания, така че да могат да бъдат въведени подходящи стратегии за превенция. Смята се, че карбоксилираната фракция на OC се намира предимно в костите поради високия си капацитет на свързване с хидроксиапатит *in vitro*, докато за $ucOC$ се съобщава от някои автори, че функционира по паракринен и ендокринен начин, като участва в метаболизма на глюкозата и оказва влияние върху мускулната маса и сила. Съотношението $ucOC/OC$ е доказано по-високо при по-възрастните хора в сравнение с младите, отчасти поради намаления прием на витамин К и установените от нас корелационни зависимости между $ucOC/OC$ и възрастта го доказват и при изследваните от нас български жени. Интересно ретроспективно проучване публикувано през 2020 година демонстрира взаимовръзка между повишените нива на съотношението $ucOC/OC$, намалената мускулна сила и повишения риск от падания и свързаните с тях хоспитализации. Авторите тестват хипотезата, че по-високото съотношение на $ucOC/OC$ е свързано с намалена мускулна функция и повишен

дългосрочен риск от хоспитализации, свързани с падане в голяма група от 1261 австралийски жени от бялата раса на средна възраст 75.2 ± 2.7 г. Измерените от тях концентрации на ОС от 25.05 ± 10.28 ng/ml, са подобни, но концентрациите на ucОС от 11.99 ± 5.34 ng/ml и съотношението ucОС/ОС от 49 ± 12 % са по-ниски от намерените от нас. Авторите съобщават, че жените с по-високо съотношение ucОС/ОС имат по-лоша физическа функция, намалена мобилност и по-голям страх от падане, а също и намален хранителен прием на витамин К. Те установяват позитивни корелации между ucОС/ОС и ИТМ, както и между ucОС/ОС и намалената физическа функция с повишен дългосрочен риск от травматични падания свързани с хоспитализации и подчертават важността на ранното идентифициране на жените с по-висок риск, за разработването на стратегии за превенция и интервенция. В изследваните от нас жени с ОП ние също потвърдихме позитивната корелация с нарастване на ucОС/ОС при нарастване на ИТМ. Високият ИТМ очевидно не е свързан с адекватен хранителен прием на витамин К2, като в същото време влошава мускулната сила и може да повиши риска от падания и фрактури, но в страната ни до момента липсват данни за взаимовръзката между ucОС/ОС и честотата на фрактурите. В изследваната от нас група жени с ОП нивата на ucОС/ОС нарастват постепенно при жените без фрактури, с фрактури на предмишница и вертебрални фрактури, но разликите не са статистически значими.

Костта при възрастните се ремоделира непрекъснато, за да възстанови настъпили микроувреждания, да запази механичната си здравина и издръжливост и за поддържане на калциевата хомеостаза. Биохимичните маркери за костен търновър предоставят динамична информация по отношение на скелетния статус, който е независим от КМП и се препоръчва да съпътства и допълва нейните измервания. Днес обаче все още съществуват проблеми с установяването на референтните интервали и хармонизирането на използваните анализи и напоследък усилията са насочени към стандартизиране на използването им, което трябва да улесни сравняването им и използването им в клиничната практика.

В България изследването БКМ още не е навлязло рутинно в клиничната практика и до момента липсва опит от използването им при жени с постменопаузална ОП, а публикуваните данни за нивата им до момента са оскъдни. В страната ни се използват автоматизирани лабораторни анализи, които са бързи, прецизни и удобни за употреба. Производителите са разработили свои собствени референтни стойности, но все още трябва да

бъдат определени и сравнени нормалните нива маркерите за различните страни или дори региони. В нашето проучване ние изследвахме серумните концентрации на алкална фосфатаза, един от най-старите, но достъпни за изследване маркери за костно образуване, остеокалцин, който се приема за маркер за остеобластната функция и качеството на костта и бета КросЛапс, маркер за костна резорбция.

Алкалната фосфатаза има важна роля в образуването на остеоид и костната минерализация и е първият биохимичен маркер за костно изграждане, използван за научни и клинични цели. Концентрацията на АФ в серума се повишава при повишено ремоделиране на костите. Базираните на пола разлики в метаболизма са свързани с менопаузата, която е силно свързана със загуба на костна маса при жените. Има данни потвърждаващи повишени нива при жени в менопауза и такива с ОП в сравнение с пременопаузални жени, като най-голямо повишение се наблюдава в първите 5 години от настъпването на менопаузата поради повишения костен търновър. Мукайуама et al. изследват 626 жени с ОП и съобщават сигнификантно по-високи нива на АФ във възрастта над 80, в сравнение с тези над 60-годишна възраст. Информацията за нивата на АФ при здрави жени в менопауза сравнени с такива с ОП е оскъдна. Няколко проучвания проведени сред малък брой жени не показват сигнификантна разлика в концентрациите на ензима при здрави жени в менопауза и жени с ОП. Ние намерихме нива на АФ в референтни стойности и без сигнификантна разлика в двете групи. Нивата на ензима в групата с ОП бяха сигнификантно повишени в рамките на референтните стойности, спрямо тези в контролната група само във възрастта под 59 години, което потвърждава повишения костен търновър при жените с ОП в първите години от настъпването на менопаузата. Необяснимите, понякога вариации в концентрациите на АФ и нееднозначните данни, са причина маркера да не се използва при диагнозата на ОП, но може да бъде полезен при оценка на костния търновър.

Остеокалцинът днес се използва като маркер за качеството на костта. Остеобласт-специфичната експресия на ОС се контролира на транскрипционно ниво от витамин Д. Остеокалцинът играе важна роля в метаболитната регулация, костната минерализация и хомеостазата на калциевите йони и се счита за специфичен маркер за остеобластната функция, тъй като е доказано, че неговите нива корелират със скоростта на образуване на кост. Той се секретира в костната микросреда и се подлага на витамин К2-зависимо γ -карбоксилиране, което улеснява свързването на

калция в хидроксиапатитните кристали и подобрява качеството на костта. Към момента физиологичните ефекти на ОС не са напълно изяснени, но се знае, че синтезата му зависи от витамин Д, а концентрацията му се повишава при повишено костно образуване.

При жени с постменопаузална ОП дефицитът на калций и фосфати може да доведе до намалено образуване на хидроксиапатитни кристали и при намалена скорост на костна минерализация ОС попада в кръвообращението, което може да обясни повишените плазмени концентрации на ОС при тези жени. Повишените нива на ОС могат да бъдат по-ефективен метод за ранно откриване на лица с бърз костен търновър.

Съществуват няколко лабораторни метода за изследване на ОС, които се различават в различни аспекти, включително в разпознаването на различните циркулиращи фрагменти на протеина. Това води до получаването на различни резултати и за коректна интерпретация на резултатите е от критична важност да се определят метод-специфични референтни интервали. В допълнение концентрациите на ОС показват значими вариации свързани с етническата принадлежност, а референтните стойности на достъпните лабораторни комплекти не отразяват регионалните и етнически различия. След менопаузата ОС се увеличава като маркер за повишен костен търновър с повишено костно образуване и костна резорбция, но засега въпросът относно промените в нивото на ОС при жени с постменопаузална ОП в сравнение с тези в контролите остава спорен и все още липсват гранични стойности за нормален и повишен костен търновър. В мета-анализ Lui et al. обобщават резултатите от 10 проучвания на серумните нива на ОС при европейски и азиатски пациентки с ОП и жени в менопауза без ОП. Във всяко отделно проучване са оценени и сравнени серумните концентрации на ОС при пациентките с ОП и контролните групи. Шест проучвания съобщават за значително повишени нива на ОС при пациентки с постменопаузална ОП. Три проучвания съобщават за едни и същи нива на ОС при жените с ОП и контролите и само едно проучване съобщава за понижено ниво на ОС при пациентките с ОП. Резултати от отделни проучвания също показват повишени нива на ОС при жени с постменопаузална ОП и остеопения. Публикуваните до момента данни за концентрациите на ОС измерени с използвания от нас лабораторен анализ при жени с постменопаузална ОП са оскъдни. Ние измерихме нива на ОС съответно 23.41 ± 10.08 ng/ml в работната и 23.09 ± 6.94 ng/ml в контролната групи, които попадат в референтния диапазон на използвания лабораторен

комплект. Подобни резултати публикуват и Meceska-Jovcevska et al, които изследват 100 жени с постменопаузална ОП от Северна Македония на възраст 59.35 ± 5 г. В проучването си те намират близки до измерените от нас, но малко по-високи концентрации от $26.52 \pm 8.63\text{ng/ml}$, като средната възраст на изследваната от тях група е по-малка.

Ние не установихме статистически значими различия в концентрациите на ОС между работната и контролната групи при статистически значими различия в КМП, както и корелации с КМП в областта на гръбнака при двете групи. Подобни резултати публикуват Naem et al. и Kersch-Schindl et al. Те не откриват статистически значими разлики в серумните нива на ОС при пациентки с ОП и здрави жени в менопауза, като установените от тях концентрации са в референтни граници. При жените с ОП, серумният ОС е леко повишен, но разликата не е статистически значима. Днес има консенсус в схващането, че БКМ не могат да се използват за диагностициране на ОП поради ниската им чувствителност и специфичност и получените от нас данни потвърждават приетата в момента позиция. В приетите понастоящем Европейски насоки за диагностициране и лечение на ОП при жени в постменопауза, ОС не се препоръчва като маркер за диагностика и костно образуване.

Остеокалцинът не участва в регулирането на КМП, но е от съществено значение за подреждането на хидроксиапатитните кристали и оптималната здравина и качеството на костите. Съдържанието на ОС в костния матрикс се увеличава до 45-годишна възраст, след това достига плато и относително стабилно ниво за следващите 10 години от човешкия живот, а след достигане на 55-годишна възраст се наблюдава намаление на ОС. Като се има предвид, че ОС отразява активността на остеобластите, значителният спад в нивото му отразява намалено костно образуване. В нашето проучване анализът в работната и контролната групи разпределени по възраст показват статистически значимо по-високи концентрации на ОС във възрастта до 59 години спрямо другите възрастови групи само в групата с ОП, но не и в контролната група. В групата с ОП установихме и положителна корелация между нивата на ОС и АФ. Остеобластите произвеждат и секретират големи количества колаген, който образува фибриларна мрежа, заедно с другите неколагенни белтъци, които играят роля в последващото отлагане на минерали под формата на хидроксиапатитни кристали. Основните етапи на остеобластогенезата са пролиферация, узряване на матрикса и минерализация и се характеризират с последователно изразени отличителни

остеобластни маркери. Ранната диференциация на остеобластите се определя от експресията на високи нива на АФ, а късната диференциация се характеризира с експресията на остеокалцин и остеопонтин. По-високите концентрации на ОС и АФ при жените с ОП до 59-годишна възраст, както и положителната корелация между двата маркера отразяват повишената остеобластна активност, увеличаване костен turnover, който се асоциира с ускорената загуба на трабекуларна кост в перименопаузалния период. Резултатите ни са подобни на публикувани от други автори. Atalay et al. изследват диагностичната стойност на ОС, ucОС и АФ при 40 пременопаузални и 42 постменопаузални турски жени. Авторите съобщават статистически значимо повишени стойности на ОС при жените в първите 5 години от настъпването на менопаузата и правят заключение, че серумните нива на ОС, с или без ucОС и АФ, могат да бъдат полезни за проследяване на костни промени, които не могат да бъдат оценени с измерване на КМП и за диагностициране на ОП в шийката на бедрената кост и лумбалния отдел на гръбначния стълб в областта на L1 – L4. Статистически по-високи концентрации на ОС при жените в първите 5 – 10 години от настъпването на менопаузата съобщават и Park et al., които изследват възрастово-обусловената динамика на БКМ при 78 корейски жени в менопауза.

Съществуващите данни относно корелациите между серумните нива на ОС и възрастта са противоречиви. Публикувани резултати от клинични проучвания показват както позитивна така и негативна корелация между нивата на ОС и възрастта. Kalaiselvi et al. и Singh et al. съобщават за позитивна корелация. Повишаването на ОС с напредването на възрастта е добре документирано и от Hannemann et al. в едно проучване за определяне на референтните интервали на ОС в голяма група здрави европейски мъже и жени в пре- и менопауза. Резултати от други проучвания отхвърлят тази положителна корелация. Diemar et al. проучват взаимовръзката между ОС, възрастта и пола в голяма група датски мъже и жени на различна възраст. Те намират негативна корелация между ОС и възрастта и дефинират три клинични референтни интервала за жените, базирани на възрастта и менопаузалния статус. Авторите отбелязват, че установяването на валидни референтни интервали е от голямо значение, преди пълният потенциал на БКМ да може да се използва в клиничната практика. Нашите данни показват умерена по сила негативна корелация с намаляване на серумните нива на ОС с нарастване на възрастта в групата с ОП, но не и в контролната група. Намалението на ОС с напредването на възрастта е белег за намаляване на

остеобластната функция с намаляване на костното образуване и влошаване на качеството на костта.

Резултатите от изследването на взаимовръзките между ОС и ИТМ също не са еднозначни, а при жени с постменопаузална ОП са оскъдни. Osteocalcinът се счита за хормон, получен от костите, който влияе върху разпределението на телесните мазнини и ИТМ. Взаимовръзката между ОС и ИТМ е потвърдена от множество проучвания в различни популации. Мета-анализ на 28 кръстосани проучвания съобщава за значима негативна корелация между серумния ОС и ИТМ при здрави възрастни, особено при пациенти с метаболитен синдром. Резултати от проучвания върху жени в менопауза показват, концентрации на ОС при жени със затлъстяване и наднормено тегло по-ниски от тези на нормалните контроли. Ние установихме умерена по сила негативна корелация на ОС с ИТМ в групата с ОП. Подобна по сила негативна корелация съобщават и Hendrijantini et al. в група от 54 индонезийски жени в менопауза разпределени в три групи според КМП. Авторите свързват по-ниското телесно тегло и ИТМ с повишен костен търновър и обратно.

Въпреки очевидната взаимовръзка между витамин Д и ОС и големият интерес на изследователите, много малко резултати от рандомизирани клинични проучвания при хора я доказват, особено при жени с постменопаузална ОП. Положителна корелация между витамин Д и ОС съобщават Buranasinsup et al. в група здрави възрастни мъже и жени. Guney et al. съобщават за значителна положителна корелация между нивата на витамин Д и ОС при здрави жени в менопауза. Синтезата на ОС изисква участието на витамин Д и витамин К2. Витамин Д стимулира генната експресия и синтеза на незрялата и функционално неактивна форма, а витамин К2 е необходим за трансформирането на ucОС в зрял функционално активен карбоксилиран ОС. Схващането, че ucОС е чувствителен маркер за определяне на статуса на витамин К2 е подложено на съмнение, защото нивата на ucОС зависят и от нивата на витамин Д. Корелациите между витамин К2 или витамин Д с ОС или ucОС показват, че и двата витамина имат връзка с ОС, което означава, че всеки един от тях може да повлияе на синтеза на протеина, а корелациите между двата витамина помежду им показват синергичната им по отношение на костния метаболизъм функция. Изследваните от нас жени в менопауза не са получавали добавки с витамин Д, витамин К2 и калций. Нивата на витамин Д показват недостатъчност без статистически значима разлика и в групата с

ОП и при контролите. В групата с ОП концентрациите на ОС са статистически значимо по-високи в групата с нормални нива на витамин Д, в сравнение с групата с дефицит. Ние установихме позитивна корелация между нивата на витамин Д и ОС както в групата с ОП, така и в контролната група. В групата с ОП нивата на витамин Д показват умерено позитивна корелация и с концентрациите на усОС. Взаимовръзката между нивата на витамин Д, усОС и усОС/ОС не е еднозначна и изисква потвърждение в рандомизирани клинични проучвания. В литературата има оскъдни данни и се съобщават както позитивни така и негативни корелации основно при доброволци от различни възрастови групи. Отрицателни корелации и реципрочни сезонни вариации в нивата на витамин Д и усОС съобщават Szulc et al. в група от 195 френски институционализирани жени на възраст между 70 и 101 години. Отрицателни корелации съобщават и Saadi et al. в група от 259 доброволки от Обединените Арабски емирства. Buranasinsup et al. и Bunyaratavej et al. съобщават за позитивни корелации между нивата на витамин Д и усОС при здрави възрастни доброволци.

ИОФ и IFCC препоръчват като референтен маркер за костна резорбция в обсервационни и интервенционални проучвания да се използва бета КросЛапс, който вече се измерва чрез стандартизирани лабораторни анализи, за да се разшири международният опит от приложението му в клиничната медицина. Серумните концентрации на бета КросЛапс показват вариации асоциирани с циркадния ритъм и приема на храна, което се избягва с вземане на кръвни проби сутрин след 12-часово гладуване. Референтните стойности на маркера при здрави жени в менопауза и пациентки с ОП в различните страни все още не са стандартизирани, поради липсата на достатъчно данни, защото повечето проучвания са фокусирани върху изследването на здрави жени в пременопауза. Определени с автоматизираните анализи на Roche до момента са референтни стойности на бета КросЛапс за кохорти пременопаузални жени в няколко европейски страни, САЩ, Австралия и Саудитска Арабия, но получените резултати обаче показват известни вариации. Това предполага, че е възможно референтните стойности да не са универсални и е необходимо да се установят референтни интервали, както за различни географски райони и етноси, така и за различните търговски клинични анализи. Понастоящем няма достатъчно данни за нивата при жени в менопауза и пациентки с ОП. При изследваната група жени с ОП, ние намерихме референтни стойности на бета КросЛапс от 0.589 ± 0.266 ng/ml. Серумните нива на бета КросЛапс

измерени със същия лабораторен комплект за диагностика, показват значителни вариации в различни публикации както при здрави жени в менопауза, така и при пациентки с ОП. Meceska-Jovcevska et al, в цитираното вече проучване на 100 жени с постменопаузална ОП намират концентрации от $0.48 \pm 0.12 \text{ ng/ml}$. Garnero et al. и Boudou et al. съобщават отчетени стойности от $0.556 \pm 0.226 \text{ ng/ml}$ и $0.13 - 0.60 \text{ ng/ml}$ съответно при здрави френски жени в менопауза. Adami et al. съобщават стойности от $0.26 \pm 0.13 \text{ ng/ml}$ при здрави пременопаузални жени от кавказката раса на възраст от 20 до 50 години.

В кохортното проучване Camargo, Martines et al. съобщават стойности от $0.387 \pm 0.197 \text{ ng/ml}$ при испански жени в менопауза. Trento et al. при 200 италиански жени в менопауза (54.6 ± 6.1 години) намират стойности от $0.45 \pm 0.10 \text{ ng/ml}$ и $0.47 \pm 0.12 \text{ ng/ml}$ при жени с нормални и остеопенични стойности на КМП съответно. В проучването TRIO само 20% от жените диагностицирани с ОП чрез ДХА, са имали серумни концентрации на бета КросЛапс над горната граница на нормата за здрави жени в менопауза. Друго проучване, проведено сред пакистански жени, не показва значителни разлики в серумните концентрации при здрави, остеопенични и остеопоротични жени в менопауза.

Измерените от нас концентрации на бета КросЛапс при жените с ОП са подобни на тези, публикувани за здрави френски жени в менопауза, но са по-високи от отчетените за италианските и испанските жени в менопауза без ОП, както и за северно-македонските с ОП. Това потвърждава географските вариации и необходимостта от определяне на референтните стойности в съответствие с географските региони.

Корелациите между БКМ и КМП се проучват активно през последните 20 години, а количествената връзка между тях все още не е ясно установена. Взаимовръзките между ОС и КМП са противоречиви, а при жени в менопауза и с ОП са недостатъчни. Публикации съобщават за негативна корелация между ОС и КМП при жени в менопауза и пациентки с ОП. Други проучвания не подвърждават подобни корелации. Резултатите от нашето проучване не показаха значими корелации на ОС с КМП в областта на гръбнака и при двете изследвани групи.

Ние установихме слаба отрицателна корелационна зависимост между бета КросЛапс и КМП измерена в областта на гръбнака при жените с ОП. Това съответства на оскъдните данни публикувани от Gurban et al. при 149 нелекувани румънски жени с ОП, Kerschman-Schindl et al. при 40 германски

жени с ОП и 40 здрави менопаузални жени и Wei et al. при 1055 китайски жени с постменопаузална ОП.

Костната минерална плътност сама по себе си не може да обясни риска за настъпване на фрактури. Остеопоротичните фрактури са резултат от сложно взаимодействие между здравината на костите (оценена *in vivo* като КМП) и натоварването на скелета при ежедневните дейности или травми, особено падания. Днес се приема, че КМП не може да идентифицира индивиди, които ще развият фрактура в бъдеще. Въпреки, че ниската КМП е определяща за остеопоротичните фрактури, някои фрактури настъпват и при по-висока КМП, което показва, че тя не е достатъчен показател за предсказване на фрактурния риск. Високият костен търновър във времето се счита за допълнителен фактор, който повишава вероятността от бъдещи фрактури. Със застаряването на световното население разпространението на остеопоротичните фрактури значително нараства, а съществуващите стратегии за превенция не са достатъчно ефективни. Въпреки че промененият костен и минерален метаболизъм се счита за един от най-важните и модифицируеми рискови фактори за фрактури, диагностичната и прогностична стойност на БКМ все още се оспорва. Напоследък има многобройни проучвания, които се опитват да изследват нивата на БКМ във връзка с остеопоротичните фрактури. От тези проучвания някои установяват положителна връзка между костния търновър и честотата на фрактурите. IOF предлага използването на БКМ, като мощни независими от КМП, инструменти за прогнозиране на фрактурния риск. Комбинираното изследване на БКМ и КМП може да бъде по-добър предиктор за фрактура от изследването само на КМП. Остеокалцинът като маркер за костен търновър, може да бъде използван като независим предиктор на риска от фрактури. Високият костен търновър може да наруши трабекуларната архитектура чрез увеличаване на честотата на трабекуларна перфорация и изкривяване, като по този начин намалява здравината на костта, без непременно да повлиява значително КМП. Има съобщения че ОС може да бъде полезен в това направление при възрастни хора, особено при жени. Резултати от проучване на 90 египетски жени в менопауза демонстрират ползи от изследването на ОС за идентифициране на индивиди с висок фрактурен риск. В изследваната от нас група жени с ОП ние установихме серумен ОС и витамин Д в стойности статически значимо по-ниски при жените с фрактура на гръбначни прешлени в сравнение с тези без фрактура. При жените с прешленни фрактури се наблюдава недостатъчност на

витамин Д, която може да обясни намаленото образуване на ОС. Ние установихме и умерена по сила негативна корелационна зависимост между серумната концентрация на ОС и наличието на фрактури. Ниските концентрации на ОС се свързват с подтискане на остеобластната функция, намалено костно образуване и нарушени процеси на възстановяване на костта на фона на засилена костна резорбция при компрометирана КМП. В контролната група концентрациите на ОС при жените с фрактури са по-високи в сравнение с жените без фрактури и макар разликите да не достигат статистическа значимост, това отразява нормалната остеобластна функция и запазената способност за образуване на кост. Статистически значимо по-ниски концентрации на ОС при жени с постменопаузална ОП и вертебрални фрактури, в сравнение с жени с ОП без фрактури съобщават Mohammed et al. при група от 58 сирийски жени. Подобни резултати съобщават и Feng et al., които изследват 120 жени с постменопаузална ОП. Авторите не намират статистически значима разлика в КМП на гръбнака, но съобщават, че нивата на витамин Д и ОС са статистически значимо по-ниски в групата жени с фрактури на гръбначния стълб, в сравнение с групата жени без фрактури и отбелязват необходимостта от допълнителни проучвания с по-голям брой участници, за да се определи прагът на всеки маркер при оценката на риска от фрактури. Ниските нива на ОС са индикатор за потисната остеобластна функция, намалено костно образуване, влошено качество на костта и повишена чупливост. Резултатите от нашето проучване показват, че ОС може да бъде независим предиктор за настъпването на фрактури при жените с постменопаузална ОП. В България до момента няма данни за използването на ОС при предсказване на фрактури.

Костната загуба при жени след менопауза се дължи на ускорена костна обмяна и влошаване на качеството на костите. По този начин повишеният костен обмен е рисков фактор за бърза костна загуба и неговото подтискане с антирезорбтивни медикаменти може да поддържа КМП след менопаузата. Някои автори препоръчват БКМ като полезни инструменти при вземане на решение за лечение и избор на медикамент. Пациентите със висок костен търновър могат да имат полза от антирезорбтивна терапия, докато тези с нисък костен търновър, трябва да бъдат лекувани с анаболни препарати. Важно е лицата с висок костен търновър и повишен риск от фрактури да могат да бъдат своевременно идентифицирани и лекувани. Понастоящем обаче няма международен консенсус по отношение на характеристиките по абсолютни стойности на нормален, висок или нисък костен търновър. В

светлината на недостига на проучвания, изследващи варианти на костния търновър, Fisher et al. се опитват да разработят и въведат практически класификационен модел, базиран на едновременното изследване на маркери за костно образуване и за резорбция и тяхното съотношение. В съответствие с препоръките на IOF и IFCC авторите използват бета КросЛапс като маркер за резорбция с уточнението, че все още няма консенсус относно нормалните референтни интервали и избират гранични концентрации от 0.250 ng/ml, препоръчани от повечето експерти. Серумни концентрации на бета КросЛапс ≤ 0.250 ng/ml се асоциират с нормална, а концентрации на бета КросЛапс ≥ 0.250 ng/ml с повишена костна резорбция. Намерените от нас концентрации на маркера в групата жени с ОП насочват към повишена костна резорбция и повишен костен търновър. Димитрова и съавт. предлагат прагова cut-off стойност на бета КросЛапс ≥ 0.44 ng/ml, която може с 50% точност да диференцира пациентите с ОП от здравите контроли. Стойности над 0.44 ng/ml авторите свързват с намаляване на КМП.

От изложеното дотук става ясно, че адекватното хранене е изключително важно, както за превенция на ОП и намаляването на фрактурния риск, така и като елемент от нефармакологичното лечение на ОП и фрактурите. Има натрупващи се доказателства, че съвременният начин на хранене и обработката на храните не доставят достатъчни количества калций, витамин Д и витамин К2 особено при възрастни лица и осигуряването на адекватни количества е все по-вероятно да се осъществява чрез прием на добавки съдържащи изброените нутриенти. Корекция на дефицитите може да намали индивидуалния рисков фактор за ОП и фрактури. Комбинираните добавки с витамин Д и калций повишават КМП на гръбначния стълб при здрави жени в менопауза, а витамин Д е от решаващо значение в процесите на мобилизиране на калциевите йони в костната тъкан. Добавките с витамин Д и калций при жени с ОП самостоятелно не могат да възстановят изгубената костна тъкан и нарушената микроархитектоника, а менахиноните с дълга странична верига са в състояние частично да инхибират костната резорбция, предизвикана от възпаление, хиповитаминоза Д и последваща продукция на ПТХ. Днес синергичният ефект на витамините Д и К2 върху костите и кръвоносните съдове се смята за безспорен, заради централната им роля в метаболизма на калция. Изследвания при жени с ОП показват значително увеличение на КМП при лицата, приемащи добавки с витамин К2, което корелира с повишаване на

остеогенната активност и предоставя доказателства, че рискът от остеопоротични фрактури може да бъде намален чрез хранителни добавки.

Ние изследвахме български жени, които не са приемали добавки с калций, витамин Д и К2 и не са лекувани за остеопороза. Получените от нас данни потвърждават, че лош витамин Д статус е по-скоро очакван при жени в менопауза и с ОП, а данните за възможен витамин К2 дефицит са много тревожни и подчертават важността на изследването им при тези рискови за фрактури групи. Не установихме корелации между нивата на витамин Д и К2 с КМП в лумбалния отдел на гръбнака, но потвърдихме, че двата витамина повлияват костния търновър, по няколко взаимосвързани механизма. Намаляването на витамин Д води до повишаване на стойностите на ПТХ с неблагоприятни ефекти върху костната резорбция, както и до намалено образуване на ОС и забавяне на костния търновър с подтискане на остеобластната функция. Въпреки, че не се използва като маркер за костно образуване ОС, ниските нива са индикатор за влошено качество на костта и повишена чупливост. Резултатите ни потвърждават също, че ниските нива на витамин Д и ОС при пациентките с ОП са свързани с влошено качество на костите и повишена честота на вертебрални фрактури. Витамин К2 показва негативна корелационна зависимост с ОС и АФ. Високите нива на $ucOC/OC$, които се свързват с дефицит на витамин К2 понижават АФ и карбоксилирания ОС с неблагоприятен ефект върху остеобластната функция и костното образуване. Това нарушава баланса между костно образуване и костна резорбция, в полза на резорбцията, също влошава качеството на образуваната кост и повишава фрактурния риск, независимо от КМП. Остеопорозата е инвалидизиращо заболяване, а свързаната с фрактурите висока заболеваемост повишава разходите за здравеопазване. Данните че приемът на добавки с калций, витамин Д и витамин К2 имат полза за костното здраве и предотвратяването на фрактури при жени в менопауза и с ОП за страната ни трябва да бъдат потвърдени с рандомизирани клинични проучвания, защото могат да залегнат в основата на превантивни и терапевтични стратегии.

Лечението на ОП продължава с години. Съвременните антирезорбтивни препарати повишават КМП, намаляват новите фрактури и свързаната с тях заболеваемост. Обаче ефектът върху КМП настъпва бавно и в първите няколко години след започване на лечението е трудно да бъде измерен с референтните методи. Измерването на КМП не може да се използва като единствен инструмент за терапевтичен мониторинг, защото промените са

бавни и в началото минимални, а промените в костната маса и плътност в отговор на антирезорбтивната терапия не могат напълно да отчетат намаляването на фрактурния риск. Препоръчителният интервал за повторно измерване на КМП на гръбнака или бедрената шийка е 1 до 3 години след започване на лечението.

Продължителното лечение и придържането към него е голямо предизвикателство за много пациентки, особено за асимптоматичните и тези които започват с орални бифосфонати. Това може да намали значително комплайънса и да доведе до преждевременното му прекъсване. Друг проблем са пациентките „неотговарящи“ на началното лечение, които трябва да бъдат идентифицирани рано за промяна в терапевтичните стратегии. За разлика от измерванията на КМП, нивата на БКМ показват сигнификантно бърз отговор на промените в костния метаболизъм и това ги прави потенциално полезни за ранно мониториране на терапевтичния отговор, което представлява мотивация за използването им в клиничната практика. Биохимичните костни маркери изглежда могат да бъдат полезен инструмент в управлението на ОП, но широката им клинична употреба все още среща известни затруднения. За да се използва техния клиничен потенциал, определяне на референтните граници за БКМ е от решаващо значение. Днес интерпретацията на концентрациите и референтните стойности на БКМ продължава да е голямо предизвикателство и данните, генерирани от техните измервания, понастоящем се прилагат най-добре, когато са възможни серийни измервания на един пациент. Това може да помогне на клиницистите да решат адекватен ли е отговорът на лечението, да идентифицират пациентите, които трябва да бъдат подложени на друга терапия в случай на неоптимален отговор и да потвърдят спазването на терапевтичния режим от пациентите.

Резултати от клинични проучвания показват, че общата АФ може да се използва като индикатор за ефективността на медикаментозното лечение на ОП с бифосфонати, които са най-често предписваните антирезорбтивни медикаменти за перорален прием. Използването на бета КросЛапс при проследяване на лечението на ОП с орални бифосфонати се препоръчва в няколко ръководства по целия свят. В България АФ не се препоръчва за мониториране на лечението на ОП, а използването на бета КросЛапс не е навлязло широко в клиничната практика и липсват данни за използването му. Според действащият в момента консенсус се препоръчва измерването на бета КросЛапс преди започване на фармакологично лечение и отново

между 3-ия и 6-ия месец от лечението, а терапевтичен успех от лечението с бифосфонати се приема при намаляване на концентрациите маркера с повече от 56%. В нашето проучване проследихме динамиката на АФ и бета КросЛапс преди и шест месеца след приложението на Денозумаб.

Денозумаб е един най-новите и мощни фармакологични антирезорбтивни агенти за лечение на ОП. Той е човешко моноклонално антитяло срещу RANKL, който е ключов медиатор на резорбтивната фаза на костно ремоделиране. Медикаментът се прилага в доза 60 mg подкожно веднъж на 6 месеца. Такъв терапевтичен режим е лесен за спазване и значително подобрява придържането на пациентките към него. Това прави Денозумаб един от предпочитаните препарати за лечение на ОП през последните години при жени без противопоказания.

Данни от няколко клинични проучвания демонстрират ранно намаляване на серумните нива на бета КросЛапс след започване на антирезорбтивно лечение. Това ни позволява да предположим, че маркерът може да бъде полезен при управлението на ОП много по-рано от измерването на КМП, а измерването му в кръвна проба е лесно, неинвазивно и относително евтино. Освен това сутрешните кръвни проби от пациенти на гладно се получават лесно в клинични условия, тъй като тази практика се използва за редица други често срещани лабораторни измервания. Това трябва да бъде предпочитаният начин за оценка на ранния терапевтичен отговор. Arslan et al. сравняват промените в нивата на бета КросЛапс и КМП при жени с остеопороза преди и след 6 месечно лечение. Те съобщават, че няма промяна в КМП, но серумните нива на бета КросЛапс са намалели със 70% във всички случаи. Резултатите от нашето проучване са сходни. Нашите резултати показаха нива на бета КросЛапс преди лечението в референтните за търговския комплект граници. Въпреки това след шестмесечно лечение с Денозумаб серумните концентрации на бета КросЛапс показаха намаление с повече от 70% от изходното ниво. Намаляването на нивото на бета КросЛапс след началото на лечението показва наличието на фармакологични ефекти върху костните клетки, потвърждава придържане на пациента към и предполага успех на лечението. Това е особено важно през първата година, когато видимата промяна в КМП е неразличима чрез ДХА сканиране. Наличието на надежден инструмент за потвърждаване на терапевтичния ефект може да мотивира пациентите да се придържат към лечението. Днес липсата на достатъчно данни за нивата на бета КросЛапс при пациентки с постменопаузална ОП не трябва да обезсърчава

клиницистите, тъй като все още няма консенсус относно универсалните референтни стойности и това затруднява определянето на нивата на костен обмен като ниски, нормални или високи. В момента възможността за извършване на серийни изследвания на серумните концентрации на бета КросЛапс на един пациент са по-полезни и показателни.

Повечето публикации за динамиката в БКМ при лечение с Денозумаб съобщават резултати от изследване на костно-специфичната АФ. Ние оценихме динамиката в концентрациите на общата АФ, въпреки че в България ензима не се препоръчва за мониторинг, защото изследването е лесно, неинвазивно и сравнително евтино. Освен това изследването на плазмените концентрации на АФ, калция, фосфора, ПТХ, витамин Д са важни при първоначалната оценка на пациентите с ОП. Концентрациите на АФ преди и след шестмесечното лечение с Денозумаб показаха сигнификантно снижение. В научната литература данните за промените в АФ и ползата от изследването на ензима в ранното мониториране на лечението на ОП са оскъдни. Намаление на серумните концентрации на АФ показват резултати от едно проучване ефекта на Денозумаб за увеличаване на КМП и модулиране на някои БКМ след предшестващо лечение с бифосфонати в група от 429 италиански пациентки с ОП.

Въз основа на получените резултати, можем да направим заключение, че проследяването на динамиката в концентрациите на бета КросЛапс и АФ може да има потенциална роля в ранното проследяване на терапевтичния ефект на лечението с Денозумаб, но трябва да се натрупат повече данни.

ИЗВОДИ

1. Костна минерална плътност, ИТМ и фрактурен риск:

- Костната минерална плътност при жените с постменопаузална остеопороза е статистически значимо по-ниска в сравнение с контролите. И в двете изследвани групи беше установена силно изразена негативна корелационна зависимост между фрактурния риск и костната минерална плътност.
- При пациентките с остеопороза ИТМ е в границите на нормалното телесно тегло и е статистически значимо по-нисък в сравнение с контролите, при които ИТМ е в границите на наднорменото телесно тегло.
- Установихме положителна корелация на ИТМ с КМП и фрактурния риск – FRAX-MO и FRAX-Hfr.
- Десетгодишният риск FRAX-MO и FRAX-Hfr е статистически значимо по-висок при пациентките с остеопороза в сравнение с контролите.

2. Показатели на калциево-фосфорния метаболизъм и маркери за костен turnover:

- Средните концентрации на калция, фосфора, АФ и ОС са в референтни граници и не показват статистически значими различия и в двете изследвани групи.
- Концентрациите на ОС и АФ при жените с остеопороза до 59-годишна възраст са статистически значимо по-високи в сравнение с другите възрастови групи.
- В групата с остеопороза концентрацията на ПТХ е повишена.
- Концентрациите бета КросЛапс в групата с остеопороза са в референтни стойности.

3. Витамин Д:

- От изследваните жени в менопауза 58% са с лош витамин Д статус.
- Средната възраст на жените с дефицит на витамин Д е статистически значимо по-висока в сравнение с жените с нормални нива и недостатъчност и в двете изследвани групи.

- Концентрациите на ПТХ при нормални нива на витамин Д, са статистически значимо по-ниски в сравнение с ПТХ при дефицит на витамин Д и в двете групи.
- Нивата на витамин Д при жените с остеопороза и фрактури на гръбначни прешлени са статистически значимо по-ниски от нивата на витамин Д при жените с фрактури на предмишница.

4. Витамин К2:

- Витамин К2 статусът установен индиректно чрез съотношението $ucOC/OC$, е лош и в двете изследвани групи. Всички изследвани жени показват стойности над приетите за норма.

5. Корелации между нивата на витамините Д и К2, показателите на калциево-фосфорния метаболизъм, костния търновър и костната минерална плътност:

- Нивата на витамин Д показват негативна корелация с възрастта, ПТХ и $FRAХ-Nfr$ и позитивна корелация с ОС и в двете изследвани групи.
- Само в групата с остеопороза се установиха умерено позитивна корелация между концентрациите на витамин Д и $ucOC$, значителна по сила позитивна корелация между съотношението $ucOC/OC$ и ИТМ и негативна корелационна зависимост между $ucOC/OC$ и ОС и АФ.
- При жените с остеопороза серумният ОС показва умерена по сила негативна корелационна зависимост с броя фрактури и положителна корелационна зависимост с АФ.
- Концентрациите на бета КросЛапс при жените с остеопороза показват умерена негативна корелационна зависимост с КМП.

6. Ранно мониториране на ефекта от лечението:

- Концентрациите на бета КросЛапс и АФ измерени след шестмесечно лечение с Денозумаб показват статистически значимо понижение.
- Определянето на бета КросЛапс и АФ, независимо че са в референтни стойности е препоръчително за серийни измервания при един и същ пациент, защото динамиката им може да е полезен инструмент при ранното мониториране на ефекта от лечението с Денозумаб.

ПРИНОСИ

Приноси с оригинален характер

1. За първи път в България са получени данни за витамин К2 статуса при жени в менопауза и с постменопаузална остеопороза, които не са приемали медикаменти и добавки повлияващи костната минерална плътност.
2. За първи път в страната ни е проучена взаимосвързката между витамин Д и витамин К2, някои биохимични маркери на костния търновър, костната минерална плътност и фрактурния риск при жени с постменопаузална остеопороза.
3. За първи път в страната ни е оценена потенциалната роля на проследяването на динамиката в концентрациите на бета Крос Лапс и алкална фосфатаза за ранно мониториране на ефекта от лечението с Денозумаб.
4. Оценена е взаимосвързката с КМП и нивата на витамин Д и К2 според получените данни за десетгодишния фрактурен риск при пациентки с постменопаузална ОП и жени в менопауза чрез валидирания в страната ни веб базиран калкулатор FRAX[®].

Приноси с потвърдителен характер

1. Получените данни за нивата витамин Д при жени в менопауза потвърждават лош витамин Д статус.
2. Данните ни потвърждават лош витамин К2 статус при жени в менопауза и с постменопаузална остеопороза.
3. Ниските нива на витамин Д са независим от костната минерална плътност рисков фактор за вертебрални фрактури.
4. Фрактурния риск зависи не само от КМП, а от редица други фактори и може да бъде предсказан чрез БКМ. Ниските нива на ОС могат да бъдат независим предиктор за настъпването на фрактури при жените с постменопаузална ОП.

ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ

Публикации в научния печат

В списания с импакт фактор (IF) в Web of Science и/или с импакт ранг (SJR) в Scopus:

1. Simeonova, T., Stefanova, K., Himcheva, I., Yordanova-Laleva, P. and Dimitrova, A. Vitamin D status, bone mineral density and body mass index in patients with newly diagnosed postmenopausal osteoporosis and healthy menopausal women. *Revmatologiya (Bulgaria)*. 27, 3 (Oct. 2019), 18-28 ISSN: 13100505 (Q4; SJR – 0.11)
2. Simeonova T, Stefanova K, Himcheva I, Yordanova-Laleva P, Ruseva B, Dimitrova A. Assessment of vitamin D status and calcium-phosphorus metabolism in postmenopausal women with osteoporosis. *J of IMAB*. 2020 Jan-Mar; 26(1):3011-3014. ISSN: 1312 773X (Q4; SJR – 0.225)
3. Simeonova T, Stefanova K, Yordanova-Laleva P, Ruseva B, Dimitrova A. Bone resorption marker Beta-CrossLaps for early monitoring of osteoporosis treatment with Denosumab – *J of IMAB*. 2022 Oct-Dec;28(4):4731-4734; ISSN 1312-773X (Q4; SJR – 0.225)

Доклади и научни съобщения

1. Simeonova, T., Stefanova, K., Himcheva, I., Yordanova-Laleva, P., Ruseva, B., Dimitrova, A. “Assessment of vitamin D status and calcium-phosphorus metabolism in postmenopausal women with osteoporosis” – 29 - та годишна асамблея на ИМАБ, 9 – 12 май 2019, Варна
2. Татяна Симеонова, Красимира Стефанова, Ивелина Химчева, Павлина Йорданова-Лалева, Боряна Русева, Анелия Димитрова. „Нива на витамин Д при пациентки с постменопаузална остеопороза“ – X-та Национална Юбилейна конференция по хранене с международно участие. 30 май – 1 юни 2019, Варна
3. Simeonova, T., Stefanova, K., Himcheva, I., Yordanova-Laleva, P., Ruseva, B., Dimitrova, A. “Vitamin D status of patients with newly diagnosed postmenopausal osteoporosis and menopausal healthy women” – 45-та Юбилейна научна конференция – МУ Плевен, 31.10. – 02.11.2019, Плевен. *JBCR*. Vol.12 Number 1, Supplement 2, 2019

4. Tatyana Simeonova, Krasimira Stefanova, Pavlina Yordanova-Laleva. “Comparative evaluation of bone formation marker osteocalcin and vitamin D serum levels in women with postmenopausal osteoporosis and healthy women in menopause” – 4th International Health Sciences and Innovation Congress, 5 – 6 July, 2021, Baku, Azerbaijan, Proceeding Book, ISBN: 978-1-955094-10-8
5. Tatyana Simeonova, Krasimira Stefanova, Boryana Ruseva. “Assessment of Bone Formation Marker Osteocalcin and Vitamin D Levels in Women with Postmenopausal Osteoporosis and Healthy Women in Menopause” – 4th International European Conference on Interdisciplinary Scientific Research, 8 – 9 August, 2021 Warsaw, Poland, Abstract Book, ISBN: 978-1-955094-13-9
6. Tatyana Simeonova, Krasimira Stefanova, Ivelina Himcheva, Pavlina Yordanova-Laleva, Boryana Ruseva, Aneliya Dimitrova. “Dynamics of serum β -Cross Laps levels in early monitoring of osteoporosis treatment with Denosumab” – World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases, 26 – 28 August, 2021, London, UK. In Osteoporosis International (Vol. 32, No. SUPPL 1, pp. S199-S199), (Q1, SJR 2021 – 1.11; IF 2021 – 5.071).
7. Tatyana Simeonova, Krasimira Stefanova, Ivelina Himcheva, Petya Dragomirova, Pavlina Yordanova-Laleva, Sergey Kostadinov, Zdravka Radionova, Boryana Ruseva. ”Assessment of vitamin K2 and vitamin D status in Bulgarian women with postmenopausal osteoporosis”, World Congress on Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases, Berlin, Germany, 24 – 26 March, 2022. Aging Clin Exp Res 34 (Suppl 1), 35–474, 2022. (Q2; SJR 2022 – 0.982; IF 2022 – 4.481)
8. Tatyana Simeonova, Krasimira Stefanova, Petya Dragomirova, Pavlina Yordanova-Laleva, Zdravka Radionova, Boryana Ruseva. “Vitamin K2 status in Bulgarian postmenopausal women” – 32-st Annual Assembly of International Medical Association Bulgaria, 20 – 23 October, 2022, Trakia University – Stara Zagora
9. Tatyana Simeonova, Krasimira Stefanova, Ivelina Himcheva, Petya Dragomirova, Pavlina Yordanova-Laleva, Sergey Kostadinov, Zdravka Radionova, Boryana Ruseva. “Comparative evaluation of osteocalcin and vitamin D serum levels in women with postmenopausal osteoporosis and healthy women in menopause” – Национален конгрес на Българското физиологично дружество от 30.10 – 1.11.2022 г., Старозагорски минерални бани