

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ: ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ *AMPHIMAS*
***PTEROCARPOIDES* ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ**
ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΘΗΛΕΟΣ
ΩΟΘΗΚΕΚΤΟΜΗΜΕΝΟΥ ΕΠΙΜΥΟΣ

ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ Δ. ΠΑΤΣΑΚΗ
ΝΟΣΗΛΕΥΤΡΙΑ



ΑΘΗΝΑ, 2016

ΘΕΜΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: Μελέτη της δράσης του εκχυλίσματος *Amphimas pterocarroides* στην πρόληψη της οστεοπόρωσης σε πειραματικό πρότυπο του θήλεος ωθηκεκτομημένου επίμυος.

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΤΗΣΗΣ: 08/07/11

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 14/11/2011

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Καθηγήτρια κ.Ισμήνη Δοντά (Επιβλέπον Μέλος)

Καθηγήτρια κ.Σοφία Μητάκου

Αναπληρωτή Καθηγητή κ.Νικόλαο Παπαιωάννου

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: 02/07/12

1^η ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΟΔΟΥ: 22/02/2013

2^η ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΟΔΟΥ: 08/08/2014

3^η ΕΚΘΕΣΗ ΠΡΟΟΔΟΥ: 11/05/2015

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 20/02/17

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:
21/3/17

ΟΝΟΜΑ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ:

Πέτρος Π. Σφηκάκης

ΜΕΛΗ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

1) Καθηγήτρια κ.Ισμήνη Δοντά

2) Καθηγήτρια κ.Σοφία Μητάκου

3) Αναπληρωτή Καθηγητή κ.Νικόλαο Παπαιωάννου

4) Καθηγητή κ.Αλέξιο-Λέανδρο Σκαλτσούνη

5) Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ.Αγγελική Τριανταφύλλου-Πιτίδη

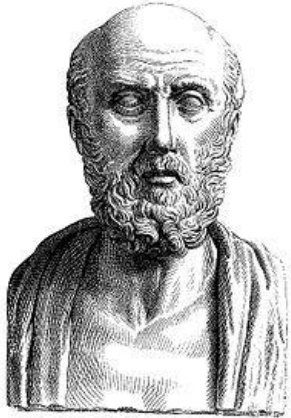
6) Αναπληρώτρια Καθηγήτρια κ.Έυα Κ άσση

7) Επίκουρο Καθηγητή κ.Ιωάννη Τριανταφυλλόπουλο

Ο ΟΡΚΟΣ ΤΟΥ ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ, ΚΑΙ ΔΣΚΛΗΠΙΟΝ,
 ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ, ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝ
 ΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙ
 ΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ
 ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΞΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ' ΗΓΗΣΑΣΘ
 ΑΙ ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΞΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗ
 Ν ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΑΣΘΑΙ, Κ
 ΑΙ ΧΡΕΛΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣΘΑΙ, Κ
 ΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΥΤΕΡΟΥ ΑΔΕΛΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝ
 ΕΕΙΝ ΑΡΡΕΣΙ, ΚΑΙ ΔΙΔΑΞΕΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ,
 ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΝΘΑΝΕΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΞΥ
 ΓΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ
 ΛΟΙΠΗΣ ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΑΣ
 ΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣΙ, ΚΑΙ ΤΟΙΣΙ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΞΑΝ
 ΤΟΣ, ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΑΙΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΛΟ
 ΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ, ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ, ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ.
 ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟ
 ΝΤΩΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙ ΔΗΛΗ
 ΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗ, ΕΙΡΞΕΙΝ. **■** ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ
 ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙΜΟΝ, ΟΥΔΕΥ
 ΦΗΓΗΣΟΜΑΙ ΞΥΜΒΟΥΛΙΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ' ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ ΟΥ
 ΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ. **■** ΑΓΝΩΣ Δ
 Ε ΚΑΙ ΟΣΙΩΣ ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝ
 ΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ. **■** ΟΥ ΤΕΜΕΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘ
 ΙΛΝΤΑΣ, ΕΚΧΛΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ ΠΡ
 ΗΞΙΟΣ ΤΗΣΔΕ. **■** ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΩ,
 ΕΣΕΛΕΥΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤ
 ΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ, Τ
 ΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ ΤΕ ΓΥ
 ΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΝ, ΕΛΕΥΘΕΡ
 ΩΝ ΤΕ ΚΑΙ ΔΟΥΛΩΝ. **■** Α Δ' ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ,
 Η ΙΔΩ, Η ΔΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΚΑΤΑ Β
 ΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Δ ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑΛΕΕΣΘΑΙ
 ΕΞΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟ
 ΙΔΥΤΑ. **■** ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕ
 Δ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ ΜΗ ΞΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘ
 ΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ Π
 ΔΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΣ ΤΟΝ ΔΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ ΠΑΡΑΒΑΙ
 ΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

■



"Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην πανάκεια και σε όλους τους Θεούς επικαλούμενος την μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτό τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό. Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτή την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί του τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας. Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τα αδέρφια μου και να τους διδάξω την τέχνη αυτή αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο και να μεταδώσω με παραγγελίες, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου που με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σε αυτούς που έχουν ορκισθεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο και να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω. Και να μη δώσω ποτέ σε κανένα, έστω κι αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή. Ομοίως να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για να αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου και την τέχνη μου καθαρή και αγνή. Και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους αλλά να αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς. Και σε όποια σπίτια κι αν μπω, να μπω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους. Και ότι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το τηρήσω μυστικό. Αν τον όρκο μου αυτό τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είτε να απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά".

*«Η έγκρισις Διδακτορικής Διατριβής υπό την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου
Αθηνών δεν υποδηλοί αποδοχής των γνωμών του συγγραφέως»
Κανονισμός Πανεπιστημίου Αθηνών, άρθρο 202, παρ.2, Νόμος 5343/1932*

Αφιερώνεται

στην μνήμη του πατέρα μου....

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	10
Βιογραφικό σημείωμα	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο Οστίτης ιστός και οστικός μεταβολισμός	31
1.1. Φυσιολογία του οστίτη ιστού	31
1.2. Φυσιολογία θεμέλιας ουσίας του οστίτη ιστού	34
1.3. Τύποι οστίτη ιστού	35
1.4. Οστική ανακατασκευή.....	40
1.5. Ρύθμιση της οστικής ανακατασκευής.....	43
1.6. Ορμονική ρύθμιση της οστικής ανακατασκευής.....	47
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο Εμμηνόπαυση	49
2.1. Εισαγωγικά στοιχεία-ορισμοί.....	49
2.2. Επιδημιολογία της εμμηνόπαυσης	50
2.3. Παθοφυσιολογία εμμηνόπαυσης	52
2.3.1. Μηχανισμοί εξάντλησης ωοθυλακίων	52
2.3.2. Ορμονικές μεταβολές.....	53
2.4. Επιπτώσεις της εμμηνόπαυσης.....	56
2.5. Εμμηνόπαυση και ορμονική θεραπεία υποκατάστασης	59
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο Οστεοπόρωση.....	63
3.1. Ορισμός	63
3.2. Επιδημιολογία	66
3.3. Διάγνωση.....	68
3.3.1. Κλινική εκτίμηση ασθενούς και λήψη ιστορικού.....	68
3.3.2 Μέθοδοι εκτίμησης της οστικής ποσότητας και ποιότητας	69
3.3.3. Βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού.....	75
3.4. Θεραπευτική προσέγγιση της οστεοπόρωσης.....	78
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο Οιστρογόνα και οιστρογονικοί υποδοχείς	92
4.1. Ορισμός	92
4.2. Οιστρογονικοί υποδοχείς.....	94
4.3. Μηχανισμοί δράσης των οιστρογόνων.....	96
4.3.1. Γενωμική δράση	96
4.3.2. Μη γενωμική δράση.....	98
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο Φυτοοιστρογόνα.....	99
5.1. Εισαγωγή	99

5.2. Ιστορική αναδρομή	99
5.3. Ορισμός	100
5.4. Ταξινόμηση και χημική δομή φυτοοιστρογόνων.....	101
5.5. Βιοδιαθεσιμότητα, μεταβολισμός και απέκκριση	105
5.6. Ανεπιθύμητες ενέργειες.....	106
5.7. Φυτοοιστρογόνα και οστεοπόρωση	109
5.7.1 In vitro μελέτες και μηχανισμοί δράσης των φυτοοιστρογόνων	109
5.7.2 Πειραματικές μελέτες	113
5.7.3. Κλινικές μελέτες	115
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6° Σκοπός μελέτης	121
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7° Επιλογή πειραματικού μοντέλου	123
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8° Υλικό και μέθοδος.....	126
8.1. Σχεδιασμός πειράματος	126
8.2. Αρίθμηση επίμυων	129
8.3. Ωοθηκεκτομή.....	130
8.4. Μετρήσεις οστικής πυκνότητας.....	132
8.5. Εκτίμηση εμβιομηχανικών ιδιοτήτων	134
8.6. Επιλογή φυτικού εκχυλίσματος	137
8.6.1. Παρασκευή εκχυλίσματος.....	138
8.6.2. Ανάλυση εκχυλίσματος	140
8.6.3. Έλεγχος άμεσης και χρόνιας τοξικότητας του εκχυλίσματος.....	141
8.7. Στατιστική ανάλυση.....	143
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9° Αποτελέσματα	144
9.1. Γενικά.....	144
9.2. Μεταβολές της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης	144
9.4. Αξιολόγηση εμβιομηχανικών ιδιοτήτων	149
9.5. Μετρήσεις σωματικού βάρους επίμυων και βάρους ζωτικών οργάνων.....	151
9.6. Κατανάλωση εκχυλίσματος.....	154
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10° Συζήτηση και ανάλυση των αποτελεσμάτων	155
10.1. Συζήτηση	155
10.2. Περιορισμοί	163
10.3. Συμπεράσματα	165
Περίληψη	167
Abstract.....	169

Βιβλιογραφία	171
Κατάλογος εικόνων	198
Κατάλογος γραφημάτων.....	199
Κατάλογος πινάκων	199
Κατάλογος αλγορίθμων	200

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η εκπόνηση διδακτορικής διατριβής συνιστά μια απαιτητική και επίπονη διαδικασία, της οποίας ο τίτλος απονέμεται σε έναν μόνο ερευνητή, αν και πίσω από αυτόν υφίσταται πολυπληθής ομάδα υποστήριξης και ενορχήστρωσης της ερευνητικής προσπάθειας. Τούτη η σελίδα, ίσως να ναι η πιο σημαντική αυτής της διατριβής, διότι καταθέτω την ψυχή μου ως ένα "ευχαριστώ" για όλους τους σημαντικούς ανθρώπους των οποίων η συμβολή ήταν καταλυτική και είχα την τύχη να γνωρίσω στο σύντομο αυτό ταξίδι των πέντε ετών.

Και πρώτα απ' όλους θα ήθελα να ευχαριστήσω εκ βάθους καρδιάς την Καθηγήτρια, μέντορα και επιβλέπουσα της διδακτορικής μου διατριβής **κ.Ισμήνη Δοντά**, Καθηγήτρια Πειραματικής Χειρουργικής Έρευνας, εμπνευστή της πραγμάτωσης της διδακτορικής διατριβής στο σύνολό της, για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπό μου. Η ψυχική της ευγένεια και γαλήνη με έκανε καλύτερο άνθρωπο και μου δίδαξε πως μόνο με υπομονή και ηρεμία μπορεί κανείς να προοδεύσει στην έρευνα, αλλά και στη ζωή. Κατά την διάρκεια της διεξαγωγής της μελέτης, αφιέρωνε σημαντικό μέρος του πολύτιμου χρόνου της προκειμένου να με κατευθύνει και να καταφέρει να επιλύσει όλους τους προβληματισμούς μου. Η γνωριμία μου με την κ.Δοντά, πριν από μία δεκαετία, αποτέλεσε ορόσημο για τη μετέπειτα σταδιοδρομία μου και εντρύφηση στο χώρο της οστεοπόρωσης. Δεν θα ξεχάσω ποτέ όλες τις συζητήσεις συμβουλευτικού χαρακτήρα που είχα μαζί της, από την πρώτη στιγμή, προσφέροντάς μου άριστη καθοδήγηση και πλήθος γνώσεων ως απόρροια της πολυετούς εμπειρίας της. Την ευχαριστώ, ολόψυχα, μέσα από την καρδιά μου για όλα όσα προσφέρει απλόχερα στο κοινωνικό σύνολο και σ'εμένα προσωπικά.

Ο ίδιος άνθρωπος αποτέλεσε και το συνδεδετικό κρίκο της γνωριμίας μου με την αξιότιμη κ.**Σοφία Μητάκου**, Καθηγήτρια του τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων του Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Θα ήθελα να την ευχαριστήσω θερμά για την συνεχή και απρόσκοπτη παροχή συμβουλών σε κάθε μου έκκληση, αλλά και για και την εποικοδομητική κριτική της. Η εμπιστοσύνη που επέδειξε στο πρόσωπό μου ήταν όχι μόνο άκρως τιμητική αλλά και συγκινητική. Ασυγχώρητη παράληψή μου θα ήταν να μην αναφερθώ στον κ. **Στάυρο Κουρκουλή**, Καθηγητή Πειραματικής Μηχανικής στο Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο για τις επιστημονικές του συμβουλές κατά την επεξήγηση των αποτελεσμάτων που προέκυψαν από τα πειράματα της μηχανικής αντοχής των οστών.

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων του Μυοσκελετικού Συστήματος «Θ. Γαροφαλίδης». Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον κ.**Νικόλαο Παπαιωάννου**, Αναπληρωτή Καθηγητή Ορθοπαιδικής, ο οποίος τελούσε Διευθυντής του εργαστηρίου κατά την περίοδο καθορισμού του θέματος και διεξαγωγής της διδακτορικής μου διατριβής. Θέλω να εκφράσω και γραπτά, την ευγνωμοσύνη μου για την τιμή να μου εμπιστευθεί την πραγματοποίηση της διδακτορικής μου διατριβής στο Εργαστήριο στο οποίο προΐστατο. Από την πρώτη στιγμή δέχτηκε να στεγάσει στο εργαστήριό του την ερευνητική αυτή προσπάθεια, στηρίζοντας ηθικά και υλικά κάθε βήμα της δουλειάς μας.

Ωστόσο, η ολοκλήρωση της διατριβής θα ήταν ανέφικτη χωρίς τη συνεισφορά ορισμένων ανθρώπων, των οποίων η συμβολή ήταν καθοριστική. Θα ήθελα, λοιπόν, να ευχαριστήσω από καρδιάς τους **Μαρία Χαλαμπαλάκη** (Φαρμακοποιό), **Μαρία Αγγελάκη** (Ειδικό καρδιολόγο), **Χριστίνα Πασαλή** (Νοσηλεύτρια), **Παύλο Λελόβα**

(Κτηνίατρο), **Job Tchoumtchoua** (Βιολόγο), για την άριστη συνεργασία, την ψυχική υποστήριξη και την ανεκτίμητη βοήθεια που μου παρείχαν.

Ασφαλώς, πολύτιμη ήταν και η συμβολή όλου του επιστημονικού και βοηθητικού προσωπικού του Εργαστηρίου Έρευνας Παθήσεων του Μυοσκελετικού Συστήματος «Θ. Γαροφαλίδης», του οποίου η αρωγή ήταν καταλυτική και χωρίς αυτούς τίποτε δεν θα ήταν δυνατόν. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την κ. Χρυσανγή Καψή, τον κ. Παναγιώτη Προκόπη και την κ. Ελενη Κωστακίωτη, για τις άοκνες και αγόγγυστες προσπάθειες που κατέβαλαν για την εκπόνηση της διδακτορικής μου διατριβής, που είχε ως αποτέλεσμα να τεθεί ένα λιθαράκι ακόμη στην προαγωγή της Υγείας και στην εξέλιξη της Έρευνας στην επιστημονική κοινότητα του Ελλαδικού χώρου.

Κλείνοντας, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου λέγοντας ένα μεγάλο ευχαριστώ στον σύντροφό μου, στους φίλους μου και στην οικογένεια μου, οι οποίοι όντας δίπλα μου σε κάθε βήμα μου, μου έδιναν κουράγιο και δύναμη να συνεχίζω να μάχομαι τις αντιξοότητες που προκύπτανε κατά τη διάρκεια της διατριβής. Εύχομαι, ολόψυχα, το παρόν πόνημα να δικαιώνει την εμπιστοσύνη όλων αυτών των ανθρώπων. Η αγάπη και η ευγνωμοσύνη μου θα είναι παντοτινή....

Αναστασία Πατσάκη

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Όνοματεπώνυμο: Πατσάκη Αναστασία

Όνομα πατρός: Δημήτριος **Όνομα μητρός:** Βασιλική

Διεύθυνση οικείας: Δουκίσσης Πλακεντίας 10, Αμπελόκηποι, Αθήνα ΤΚ:11523

Τηλέφωνα επικοινωνίας: 2114013091 / 6979985164

Ηλεκτρονική διεύθυνση (e-mail): apatsaki@gmail.com

Ημερομηνία γέννησης: 25/09/1982 **Τόπος:** Αθήνα

Οικογενειακή κατάσταση: Άγαμη

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ

Λύκειο αποφοίτησης: Γενικό Λύκειο Νεαπόλης Βοιών

Σπουδές: Πτυχίο Νοσηλευτικής, Ανωτάτου Τεχνολογικού Εκπαιδευτικού Ιδρύματος Αθηνών.

Βαθμός Πτυχίου: Λίαν Καλώς (7,63). **Ημερομηνία λήψης πτυχίου:** 27/5/2005.

Άδεια ασκήσεως επαγγέλματος: 27/07/2005 Νομαρχία Αρκαδίας.

ΞΕΝΕΣΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλική: 2007 Κάτοχος Certificate of Proficiency in English του Πανεπιστημίου του MICHIGAN.

ΧΡΗΣΗ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΩΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΩΝ

Κάτοχος διπλώματος **ECDL** (windows, word, excel, access, internet, powerpoint, internet / outlook). **Ημερομηνία λήψης πτυχίου:** 05/01/2004

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

23 Ιουνίου 2008 – παρόν: Νοσηλεύτρια στην Καρδιολογική Μονάδα στο Νοσοκομείο Κοργιαλένιο Μπενάκειο ΝΕΕΣ, Αθήνα.

01 Απριλίου 2006 – 20 Ιουνίου 2008: Νοσηλεύτρια στην Καρδιολογική-Καρδιοχειρουργική Μονάδα.

01 Απριλίου 2005–01 Απριλίου 2006: Νοσηλεύτρια στο Καρδιολογικό-Καρδιοχειρουργικό τμήμα της Ευρωκλινικής Αθηνών.

ΜΕΛΟΣ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΤΡΟΠΩΝ

08 Ιουνίου 2015 – παρόν: Μέλος της επιτροπής Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης του προσωπικού στο Νοσοκομείο Κοργιαλένιο Μπενάκειο ΝΕΕΣ, Αθήνα.

20 Μαρτίου 2011 – παρόν: Μέλος της επιτροπής Ελέγχου Εκπαίδευσης του προσωπικού στο Νοσοκομείο Κοργιαλένιο Μπενάκειο ΝΕΕΣ, Αθήνα.

26 Ιουνίου 2011 – παρόν: Μέλος της επιτροπής Εφαρμογής ΚΕΝ- DRGs στο ΕΣΥ στο Νοσοκομείο Κοργιαλένιο Μπενάκειο ΝΕΕΣ, Αθήνα.

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

A-ΣΥΝΤΑΚΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

Μέλος της συντακτικής επιτροπής, στο επίσημο επιστημονικό νοσηλευτικό περιοδικό «ΝΟΣΗΛΕΥΤΙΚΗ», που εκδίδεται από τον Εθνικό Σύνδεσμο Νοσηλευτών Ελλάδας (Ε.Σ.Ν.Ε.) από το έτος 1962.

B- ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ

Πλήρεις Δημοσιεύσεις σε Διεθνή Περιοδικά:

1. **Αναστασία Πατσάκη**, Job Tchoumtchoua, Χριστίνα Πασαλή, Πάυλος Λελόβας, Στάυρος Κουρκουλής, Νικόλαος Παπαιωάννου, Jean-Claude Mbanya, Dieudonné Njamen, Σοφία Μητάκου, Μαρία Χαλαμπαλάκη, Ισμήνη Δοντά. «Επίδραση του φυτικού εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoides* σε δυο συγκεντρώσεις στην οστική απώλεια του ωθηκεκτομημένου επίμυος». Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής, *in press*.
2. **Anastasia Patsaki**, Job Tchoumtchoua, Christina Passali, Lelovas Pavlos, Stavros Kourkoulis, Nikolaos Papaioannou, Jean-Claude Mbanya, Dieudonné Njamen, Sofia Mitakou, Maria Halabalaki, Ismene Dontas. The Protective Effect of *Amphimas pterocarpoides* Plant Extract on Bone Mineral Density and Strength in Estrogen Deficient Ovariectomized Wistar Rats. Medicinal and Aromatic Plants 2016, 5: 269
3. **Anastasia Patsaki**, Theodoros Xanthos, Ioannis Pantazopoulos, Christina Passali, Lila Papadimitriou, Ismene Dontas. Evaluation of Greek high school

- teacher's knowledge in basic life support, automated external defibrillation and foreign body airway obstruction. J Emerg Nurs. 2012 Mar;38(2):176-81.
- Christina Passali, Ioannis Pantazopoulos, Ismene Dontas, **Anastasia Patsaki**, Dimitris Barouxis, Georgios Troupis, Theodoros Xanthos. Evaluation of nurses' and doctors' knowledge of basic & advanced life support resuscitation guidelines. Nurse Educ Pract. 2011 Nov;11(6):365-9.
 - Christina Passali, **Anastasia Patsaki**. In-Hospital Resuscitation: Association between Nurses CPR Training and Survival to Discharge, pp. 213-224 Advances in Medicine and Biology, Volume 48 pp.213-224.

Μεταφράσεις Επιστημονικών Δοκιμίων:

Μέλος της μεταφραστικής ομάδας του εγχειριδίου που εκδόθηκε από το Διεθνές συμβούλιο των νοσηλευτών (I.C.N.) και των Εθνικό Σύνδεσμο Νοσηλευτών Ελλάδας (Ε.Σ.Ν.Ε.) στα πλαίσια της παγκόσμιας ημέρας του νοσηλευτή για το έτος 2014, με τίτλο «Νοσηλευτές: Μια Δύναμη Αλλαγής-Ένας Ζωτικός Πόρος για την Υγεία».

Σύσταση νοσηλευτικών πρωτοκόλλων:

19/05/2015: Συμμετοχή στην επιτροπή εκπόνησης των κλινικών νοσηλευτικών πρωτοκόλλων από την Ένωση Νοσηλευτών Ελλάδος, προκειμένου αυτά να κατατεθούν στην αρμόδια υπηρεσία του Υπουργείου Υγείας, για την τεκμηρίωση των νοσηλευτικών διαδικασιών.

Γ – ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

Αναρτημένες ανακοινώσεις

- Anastasia Patsaki**, Job Tchoumtchoua, Christina Passali, Pavlos Lelovas, George Kiniklis, Stavros Kourkoulis, Nikolaos Papaioannou, Sofia Mitakou, Maria Halabalaki, Ismene Dontas. Dose dependent effects of Amphimas pterocarpoides plant extract on bone mineral density and strength in estrogen ovariectomized rats.13th FELASA Congress, Belgium, 13-16/06/2016.
- Christina Passali, Pavlos Lelovas, **Anastasia Patsaki**, Stavros Kourkoulis, Antonios Galanos, Maria Makropoulou, Nektarios Aligiannis, Nikolaos Papaioannou, Alexios-Leandros Skaltsounis, Ismene Dontas. Effects of Red

- Wine polyphenols on bone mechanical properties in ovariectomized rats. 13th FELASA Congress, Belgium, 13-16/06/2016.
3. **Anastasia Patsaki**, Christina Passali, Pavlos Lelovas, Job Tchoumtchoua, Antonios Galanos, George Kiniklis, Nikolaos Papaioannou, Sofia Mitakou, Maria Halabalaki, Ismene Dontas. The protective effect of high concentration *Amphimas pterocarpoides* plant extract on trabecular bone mineral density, in estrogen deficient ovariectomized rats. AAALAC International, ESLAV and ECLAM Conference 2015, Germany, September 12 – 13/09/2015.
 4. Alexandros Zervas, Pavlos Lelovas, Christina Passali, **Anastasia Patsaki**, Maria Makropoulou, Antonis Galanos, Alexios-Leandros Skaltsounis, Ismene Dontas. Age-related changes of haemodynamic parameters in adult female ovariectomized rats, the effect of oil consumption. HSBLAS-ESLAV-ECLAM Meeting, Athens, 22-23/09/2014.
 5. Christina Passali, **Anastasia Patsaki**, Pavlos Lelovas, Maria Makropoulou, Nektarios Aligiannis, Antonios Galanos, Nikolaos Papaioannou, Alexios-Leandros Skaltsounis, Ismene Dontas. Red Wine polyphenols improve bone mineral density of ovariectomized rats. HSBLAS-ESLAV-ECLAM Meeting, Athens, 22-23/09/2014.
 6. Christina Passali, Maria Makropoulou, Pavlos Lelovas, **Anastasia Patsaki**, Nektarios Aligiannis, Antonios Galanos, Nikolaos Papaioannou, Alexios-Leandros Skaltsounis, Ismene Dontas. The effect of natural polyphenol extract of red grape wine in peripheral blood pressure of the ovariectomized rat model of osteoporosis. HSBLAS-ESLAV-ECLAM Meeting, Athens, 22-23/09/2014.
 7. **Anastasia Patsaki**, Job Tchoumtchoua, Stavros Kourkoulis, Pavlos Lelovas, Christina Passali, Antonios Galanos, Nikolaos Papaioannou, Maria Halabalaki, Sofia Mitakou, Ismene Dontas. Changes in the biomechanical properties of the femur in the ovariectomized rat following administration with the extract from the plant *Amphimas pterocarpoides*. HSBLAS-ESLAV-ECLAM Meeting, Athens, 22-23/09/2014.
 8. **Anastasia Patsaki**, Christina Passali, Pavlos Lelovas, Job Tchoumtchoua, Antonios Galanos, George Kiniklis, Nikolaos Papaioannou, Sofia Mitakou, Maria Halabalaki, Ismene Dontas. Bone mineral density changes in the ovariectomized rat model of osteoporosis after administration of the extract

- from the plant of *Amphimas pterocarpoides*. HSBLAS-ESLAV-ECLAM Meeting, Athens, 22-23/09/2014.
9. Alexandros Zervas, Pavlos Lelovas, **Anastasia Patsaki**, Christina Passali, Antonios Galanos, Ismene Dontas. “Age related changes of physiological parameters in young adult rats: A non invasive observational study”. 12th FELASA SECAL CONGRESS, Spain, 10-13/06/2013.
 10. Ismene Dontas, **Anastasia Patsaki**, Pavlos Lelovas, Christina Passali, Antonios Galanos, Jean-Claude Mbanya, Dieudonné Njamen, Job Tchoumtchoua, Alexios Skaltsounis, Maria Halabalaki. ”The beneficial effect of a plant extract (*Amphimas pterocarpoides*) on the overiactomized rat model of osteoporosis”. FELASA Secal congress, Spain, 10-13/06/2013.
 11. Ismene Dontas, **Anastasia Patsaki**, Pavlos Lelovas, Christine Passali, Antonios Galanos, Job Tchoumtchoua, Maria Halabalaki .”The influence of a plant extract (*Amphimas pterocarpoides*) on haemodynamic parameters of the overiactomized rat model of osteoporosis”. BCLAS-ESLAV-ECLAM Symposium, Belgium, 15-16/10/2012.
 12. Ismene Dontas, Kyriaki Venetsanou, Pavlos Lelovas, **Anastasia Patsaki**, Christina Passali, Aggeliki Triantafylou. “Preliminary results on the inflammatory- associated markers RANKL and TNF-a after overiactomy”. 3rd East Mediterranean International Council Symposium for Laboratory Animal Science, Turkey, 13-15/6/2011.
 13. Ismene Dontas, Pavlos Lelovas, **Anastasia Patsaki**, Christine Passali, Theodoros Xanthos, Antonis Gallanos, Nikolaos Papaioannou, Aggeliki Triantafylou. “The effect of fish oil consumption on the rat model of osteoporosis”. New Paradigms in Laboratory Animal Science, 11th FELASA Congress, Finland, 14-17/6/2010.
 14. **Anastasia Patsaki**, Pantazopoulos Ioannis, Ismene Dontas, Christine Passali, Lila Papadimitriou, Theodoros Xanthos. “Evaluating knowledge and attitudes of a sample of Greek high school teachers regarding cardiopulmonary resuscitation, automated external defibrillation, and foreign body airway obstruction. Are school nurses the key to improve survival after out of hospital cardiac arrest”. 11th Spring Annual Meeting on Cardiovascular Nursing, Belgium, 1-2/4/2011.

15. **Anastasia Patsaki**, Erato Kollarou, Aikaterini Preka, Christine Festeridou, Maria Marouda, Panagiota Ioannou. «Transcoronary transplantation of autologous mesenchymal cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium—the nursing part», 6th Annual Spring Meeting in Cardiovascular Nursing, Norway, 5-6/6/2006.

ΕΛΛΗΝΙΚΑΣΥΝΕΔΡΙΑ

Οργάνωση Συνεδρίων

1. Μέλος της οργανωτικής επιτροπής στο 3^ο Συνέδριο Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης, Αθήνα 7-8/10/14.

Επιστημονική Επιτροπή Συνεδρίων

1. Μέλος της επιστημονικής επιτροπής στο 2^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης, Αθήνα 31/10/14-1/11/14.

Οργάνωση Κλινικών Φροντιστηρίων

1. Συντονίστρια Κλινικού Φροντιστηρίου «Βασικές αρχές ΗΚΓ» στο 3^ο Συνέδριο Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης, Αθήνα 7-8/10/14.
2. Εισηγήτρια Κλινικού Φροντιστηρίου «Τα μυστικά μιας καλής παρουσίασης» στο 17^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο ΠΑΣΥΝΟ-ΕΣΥ, Καλάβρυτα 2-4/12/2016.
3. Εισηγήτρια Κλινικού Φροντιστηρίου «Ανάγνωση βασικού ηλεκτροκαρδιογραφήματος» στο 17^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο ΠΑΣΥΝΟ-ΕΣΥ, Καλάβρυτα 2-4/12/2016.

Προεδρεία

1. Προεδρείο σε στρογγυλό τραπέζι, στο 17^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο ΠΑΣΥΝΟ-ΕΣΥ, Καλάβρυτα 2-4/12/2016.

Διαλέξεις – Στρογγυλά Τραπέζια

1. «Νοσηλευτική φροντίδα μετά την ανάκτηση αυτόματης κυκλοφορίας». 43^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο Ε.Σ.Ν.Ε. Σύρος, 11-14/05/16.
2. «Διεπιστημονική προετοιμασία ομάδας», 2^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης, Αθήνα, 31/10/14-1/11/15.

3. « Η δομή και η συνεργασία της ομάδας αναζωογόνησης. 8^ο Πανελλήνιο και 7^ο Πανευρωπαϊκό Επιστημονικό και Επαγγελματικό Νοσηλευτικό Συνεδρίου. Θεσσαλονίκη, 7-10/05/2015.
4. «Η χρήση της θεραπευτικής υποθερμίας και της καπνογραφίας: Επιστημονικά δεδομένα από την παγκόσμια επιστημονική κοινότητα», στα πλαίσια του 39^ο Πανελλήνιου Νοσηλευτικού Συνεδρίου Ε.Σ.Ν.Ε. Βόλος, 15-18/05/2012.
5. «Νοσηλευτική φροντίδα μετά από την επιτυχή Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση», στα πλαίσια του εκπαιδευτικού κύκλου μαθημάτων του τομέα της Επείγουσας και Εντατικής Νοσηλευτικής του Εθνικού Συνδέσμου Νοσηλευτών Ελλάδος. Αθήνα, 27/11/2013.
6. «Νεότερα δεδομένα στην αντιμετώπιση του OEM με βλαστοκύτταρα. Η νοσηλευτική προσέγγιση», στα πλαίσια του 6^ο Επιστημονικού Συμποσίου του τομέα της Επείγουσας και Εντατικής Νοσηλευτικής. Αθήνα, 28-30/9/2012.
7. «Βελτίωση έκβασης θυμάτων καρδιακής ανακοπής με τις κατευθυντήριες οδηγίες του 2010», στα πλαίσια του 1^ο Πανελλήνιου Συνεδρίου Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης, Αθήνα, 1/4/12.
8. «Αυτόματοι εξωτερικοί απινιδιστές στα γενικά τμήματα του νοσοκομείου», στα πλαίσια του 15th State of the Art. Αθήνα, 7-9/4/2011.
9. Πασαλή Χριστίνα, Πατσάκη Αναστασία. «Προϋποθέσεις επιτυχίας Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης». 13th State of the Art, Αθήνα, 2-4/4/2009.

Ελεύθερες Ανακοινώσεις

1. Χριστίνα Πασαλή, **Αναστασία Πατσάκη**. «Ο ρόλος του ενδοαορτικού ασκού στην διαχείριση της καρδιογενούς καταπληξίας μετά από οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου:Συνέπειες για την νοσηλευτική πρακτική». 18^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Καρδιολογικό Συνέδριο, Αθήνα, 1-2/11/2012.
2. Αγγελική Τριαναταφύλλου, Κυριακή Βενετσάνου, Πάυλος Λελόβας, Χριστίνα Πασαλή, **Αναστασία Πατσάκη**, Θεόδωρος Ξάνθος, Ισμήνη Δοντά. Η ευεργετική επίδραση του ιχθυελαίου σαν συμπλήρωμα διατροφής στα λιπίδια του αίματος και στους ανοσολογικούς δείκτες θηλέων επίμυων. 12^ο Πανελλήνιο Κτηνιατρικό συνέδριο, Αθήνα 5-8/04/2012.

3. Πασαλή Χριστίνα, **Πατσάκη Αναστασία**. «Διερεύνηση γνώσεων ιατρικού και νοσηλευτικού προσωπικού στην Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση». 17-19/6/2010.
4. **Πατσάκη Αναστασία**, Κολλάρου Ερατώ, Πρέκα Αικατερίνη, Φεστερίδου Χριστίνα, Μαρούδα Μαρία, Ιωάννου Παναγίωτα. «Εμφύτευση βλαστοκυττάρων στο νεκρωμένο μυοκάρδιο με σκοπό την ανάπλαση νέων μυοκαρδιακών κυττάρων- η νοσηλευτική συμβολή». 33^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο, Ρόδος, 26/10/2007.
5. **Patsaki Anastasia**, Passali Christina, Festeridou Christina. «New therapeutic procedures of mitral stenosis compared with the old ones – the nursing role». Ioannina Cardio-Vascular Education, Ιωάννινα 6-8/12/2007
6. **Anastasia Patsaki**, Kollarou Erato, Preka Aikaterini, Christina Festeridou, Marouda Maria, Ioanou Panagiota. Transcoronary transplantation of autologous mesenchymal cells and endothelial progenitors into infarcted human myocardium – the nursing part 7-9/12/2006.

Αναρτημένες ανακοινώσεις

1. **Πατσάκη Αναστασία**, Κολλάρου Ερατώ, Πρέκα Αικατερίνη, Φεστερίδου Χριστίνα, Μαρούδα Μαρία, Ιωάννου Παναγίωτα. «Η συνεχής παρακολούθηση σημείων και συμπτωμάτων καρδιοχειρουργημένων ασθενών από το νοσηλευτικό προσωπικό» Παρουσιάστηκε ως αναρτημένη ανακοίνωση στο 33^ο Πανελλήνιο Νοσηλευτικό Συνέδριο, Ρόδος, 8-11/5/2006.

Βραβεύσεις

Βραβείο στους Alexandros Zervas, Pavlos Lelovas, **Anastasia Patsaki**, Christine Passali, Antonios Galanos, Ismene Dontas, για την εργασία με τίτλο «Age related changes of physiological parameters in young adult rats: A non invasive observational study». Παρουσιάστηκε ως ελεύθερη ανακοίνωση στο 12th FELASA SECAL CONGRESS, στην Ισπανία στις 10-13/06/2013.

Δ- ΥΠΟΤΡΟΦΙΕΣ

«Υποτροφίες Αριστείας Ι.Κ.Υ. Μεταπτυχιακών σπουδών στην Ελλάδα- πρόγραμμα SIEMENS»για την εκπόνηση της Διδακτορικής Διατριβής με τίτλο «Μελέτη της δράσης του εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoïdes* στην πρόληψη της

οστεοπόρωσης στο πειραματικό πρότυπο του θήλεος ωθηκεκτομημένου επιμυος». Ημερομηνία λήψης υποτροφίας 9 Σεπτεμβρίου 2012.

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ ΩΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΟΜΕΝΟΣ

A - ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης με θέμα «Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση» από το Τμήμα Ιατρικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, χρονολογία λήψης τίτλου: 30/06/2010 με βαθμό Άριστα.

B - ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

1. Εκπαίδευση στο σεμινάριο ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (BLS) και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ του European Resuscitation Council. Αθήνα 17/12/2006.
2. Εκπαίδευση στο σεμινάριο εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (BLS) και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ του European Resuscitation Council. Αθήνα 18/10/2008.
3. Εκπαίδευση στο σεμινάριο εκπαίδευσης, εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (BLS) και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ του European Resuscitation Council. Αθήνα, 26/09/2009
4. Εκπαίδευση στο Σεμινάριο Ανανηπτών στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (eACLS) του American College of Emergency Physicians. Αθήνα 21-23/11/2008.
5. Εκπαίδευση στο Σεμινάριο Ανανηπτών στο ILS (Immediate Life Support) του European Resuscitation Council. Αθήνα 4/12/2013.
6. Εκπαίδευση στο Σεμινάριο Ανανηπτών στην: ΑΜΕΣΗ ΚΑΙ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΟΥ ΑΕΡΑΓΩΓΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΑΚΗ ΑΝΑΚΟΠΗ το οποίο διοργανώθηκε σε συνεργασία με το πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση» της Ιατρικής Σχολής Αθηνών εγκεκριμένο από την Ελληνική Εταιρεία Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης και το Κεντρικό Συμβούλιο Υγείας, Αθήνα, 28/06/2009.
7. Εκπαίδευση στο Σεμινάριο Ανανηπτών στην: ΕΠΕΙΓΟΥΣΑ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (ΕΠΕΙΖΩ), Αθήνα, 10/3/2007.

8. Εκπαίδευση στο σεμινάριο ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (BLS) και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ του American Heart Association, Αθήνα 22/09/2013.
9. Εκπαίδευση στο σεμινάριο εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (BLS) και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ του American Heart Association, Αθήνα 22/09/2013.
10. Εκπαίδευση στο σεμινάριο εκπαιδευτών στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (ACLS) του American Heart Association, Αθήνα 22/09/2013.
11. Εκπαίδευση στο Σεμινάριο Εκπαιδευτών στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (eACLS, Instructor Development Course) του American College of Emergency Physicians. Αθήνα 10-11/1/2009.
12. Εκπαίδευση στο Σεμινάριο ΗΚΓ και Φαρμακολογία από το American Heart Association. Αθήνα 11/9/2013.
13. Εκπαίδευση στο Σεμινάριο Ανανηπτών στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (ALS) του European Resuscitation Council. Αθήνα 2-3/7/2014.

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ ΩΣ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΡΙΑ

Κλινική Εκπαιδευτρια: Καρδιολογικό/Καρδιοχειρουργικό τμήμα και Μονάδα Εμφραγμάτων της Ευρωκλινικής Αθηνών, 01/10/2006-20/06/2008.

Οργάνωση σεμιναρίων Εξειδικευμένης Υποστήριξης της Ζωής:

1. Συνυπεύθυνη Σεμιναρίων (CourseCo-Director) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ (ALS) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 03/04/2016.
2. Συνυπεύθυνη Σεμιναρίων (CourseCo-Director) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ (ALS) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 31/01/2016.
3. Συνυπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Co-Director) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ (ALS) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 04/10/2016.

4. Υπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians, Αθήνα, 16/03/2014.
5. Συνυπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians, Αθήνα, 15/12/2013.
6. Υπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians, Αθήνα, 09/06/2013.
7. Συνυπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians, Αθήνα, 09/12/2012.
8. Συνυπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians, Αθήνα, 19/02/2012.

Οργάνωση σεμιναρίων Εγκαιρης Υποστήριξης της Ζωής:

1. Υπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στην: ΕΓΚΑΙΡΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (ΕΥΖΩΗ) της Ελληνικής Εταιρείας Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης (ΕΕΚΑΑ), Αθήνα, 20/4/2013.

Οργάνωση σεμιναρίων Βασικής Υποστήριξης της Ζωής:

1. Υπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 20/10/2012.
2. Υπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 12/10/2010.
3. Υπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 18/05/2010.
4. Υπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 14/06/2010.

5. Υπεύθυνη Σεμιναρίων (Course Director) στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 20/01/2010.

Ως εκπαιδύτρια εκπαιδευτών σε σεμινάρια Βασικής Υποστήριξης της Ζωής:

1. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 14/09/2013.
2. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 19/01/2013.
3. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 25/06/2011.
4. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 15/01/2011.
5. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Ιωάννινα, 13/10/2010.
6. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 27/09/2010.
7. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 25/02/2010.

8. Πλήρης Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 25/04/2009.

Ως εκπαιδύτρια εκπαιδευτών σε σεμινάρια Εξειδικευμένης Υποστήριξης της Ζωής:

1. Πλήρης Εκπαιδευτής σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στην ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (Generic Instructor Course) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (eACLS), του American College of Emergency Physicians Αθήνα, 23-24/06/2012.
2. Πλήρης Εκπαιδευτής σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στην ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (Generic Instructor Course) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (eACLS), του American College of Emergency Physicians Αθήνα, 17-18/12/2011.
3. Πλήρης Εκπαιδευτής σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στην ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (Generic Instructor Course) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (eACLS), του American College of Emergency Physicians Αθήνα, 05-06/06/2010.
4. Πλήρης Εκπαιδευτής σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στην ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (Generic Instructor Course) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (eACLS), του American College of Emergency Physicians Αθήνα, 24-25/04/2010.
5. Πλήρης Εκπαιδευτής σε Σεμινάρια Εκπαιδευτών στην ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (Generic Instructor Course) στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ (eACLS), του American College of Emergency Physicians Αθήνα, 20-21/06/2009.

Ως εκπαιδύτρια σε σεμινάρια Εξειδικευμένης Υποστήριξης της Ζωής:

1. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ (ALS) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 28-29/03/2015.

2. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ (ALS) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 9-10/02/2015.
3. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ (ALS) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 05-06/05/2014.
4. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΕΣ (ALS) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 29-30/11/2014.
5. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 27-29/04/2012.
6. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 27-29/01/2012.
7. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 13-15/05/2011.
8. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 15-17/04/2011.
9. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 25-27/02/2011.
10. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 17-19/09/2010.
11. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 08-10/10/2010.
12. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 26-28/03/2010.

13. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 04-06/12/2010.
14. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 23-25/10/2009.
15. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 10-12/04/2009
16. Πλήρη Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια στην: ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΜΕΝΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του American College of Emergency Physicians (eACLS), Αθήνα, 20-22/03/2009

Ως εκπαιδύτρια σε σεμινάρια Βασικής Υποστήριξης της Ζωής:

1. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 18/09/2015
2. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 08/09/2007.
3. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 18/10/2008.
4. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 22/02/2009.
5. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 21/03/2009.
6. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Πάρος, 23/05/2009.

7. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 06/10/2009.
8. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 20/01/2010.
9. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αλιβέρι, 09/03/2010.
10. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 06/03/2010.
11. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Αθήνα, 27/03/2010.
12. Εκπαιδύτρια σε Σεμινάρια Ανανηπτών στη: ΒΑΣΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ και τον ΑΥΤΟΜΑΤΟ ΕΞΩΤΕΡΙΚΟ ΑΠΙΝΙΔΙΣΜΟ (BLS/AED) του European Resuscitation Council, Θεσσαλονίκη, 09/05/2015.

Ως εκπαιδύτρια σε σεμινάρια Άμεσης Υποστήριξης της Ζωής:

1. Εκπαιδύτρια στο Σεμινάριο Ανανηπτών στην: ΑΜΕΣΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ του European Resuscitation Council, Αθήνα 05/12/2015.

Ως εκπαιδύτρια σε σεμινάρια Έγκαιρης Υποστήριξης της Ζωής:

1. Εκπαιδύτρια στο Σεμινάριο Ανανηπτών στην: ΕΓΚΑΙΡΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ οποίο διοργανώθηκε σε συνεργασία με το πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση» της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, Αθήνα 17/09/2011.
2. Εκπαιδύτρια στο Σεμινάριο Ανανηπτών στην: ΕΓΚΑΙΡΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΗΣ ΖΩΗΣ οποίο διοργανώθηκε σε συνεργασία με το πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών «Καρδιοαναπνευστική Αναζωογόνηση» της Ιατρικής Σχολής Αθηνών, Αθήνα 31/03/2013.

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΤΑΙΡΕΙΕΣ-ΣΥΛΛΟΓΟΙ

1. Μέλος του **Ευρωπαϊκού Συμβουλίου Αναζωογόνησης** (European Resuscitation Council-ERC).
2. Μέλος της **Ελληνικής Εταιρίας Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης** (ΕΕΚΑΑΝ).
3. Μέλος του **Ελεγκτικού Συμβουλίου της Ελληνικής Εταιρείας Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης** (3/2010-3/2015).
4. Μέλος της Ένωσης Νοσηλευτών Ελλάδος (Ε.Ν.Ε)
5. Μέλος του Εθνικού Συνδέσμου Νοσηλευτών Ελλάδας (Ε.Σ.Ν.Ε.).

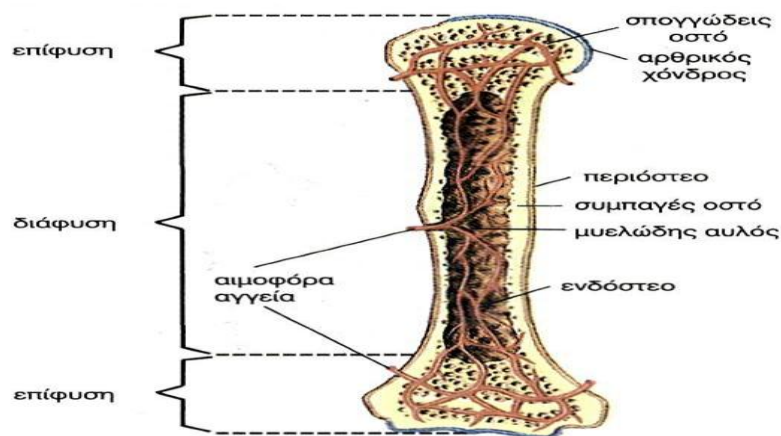
ΓΕΝΙΚΟΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο**ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ**

1.1.Φυσιολογία του οστίτη ιστού

Τα οστά ανάλογα με τη μορφολογία τους διακρίνονται σε μακρά, πλατιά και βραχέα. Τα μακρά οστά συναντώνται κυρίως στα άκρα (βραχιόνιο, μηριαίο), ενώ τα πλατιά οστά σχηματίζουν την κρανιακή κοιλότητα (μετωπιαίο, ινιακό) και τη λεκάνη (ανώνυμα οστά). Τα βραχέα οστά συναντώνται στη σπονδυλική στήλη (σπόνδυλοι), στην άκρα χείρα, καθώς και το πόδι. Τα επιμήκη οστά έχουν δύο άκρα που λέγονται επιφύσεις, ενώ το μεταξύ τους κυλινδρικό τμήμα αποτελεί την διάφυση. Το ώριμο οστό αποτελείται σε ποσοστό 25% από οργανική ουσία, συμπεριλαμβανομένων των διαφόρων τύπων οστικών κυττάρων, 5% από ύδωρ και κατά 70% από ανόργανα μέταλλα, κυρίως μόρια υδροξυαπατίτη. Η σύνδεση του υδροξυαπατίτη με τις ίνες κολλαγόνου, είναι υπεύθυνη για τη χαρακτηριστική σκληρότητα και αντίσταση του οστού. Σε μια εγκάρσια διατομή ενός μακρού οστού, παρατηρεί κανείς από τα έξω προς τα μέσα το περίοστεο, το φλοιώδες τμήμα (συμπαγή οστέινη ουσία), το σπογγώδες τμήμα (σπογγώδη οστέινη ουσία), το ενδόστεο και τον αυλό, ο οποίος περιέχει το μυελό των οστών, τα αγγεία, τα νεύρα. **(Εικ.1)**. Το περίοστεο είναι μία ινοελαστική μεμβράνη ή αλλιώς ένας υμένας, που περιβάλλει εξωτερικά ολόκληρο το οστό εκτός από τις αρθρικές χόνδρινες επιφάνειές του. Είναι σε άμεση επαφή με το οστό και περιέχει πολλά αιμοφόρα αγγεία. Στο μικροσκόπιο το περίοστεο μοιάζει να σχηματίζεται από τρεις στιβάδες που είναι ενωμένες μεταξύ τους. Η εξωτερική στοιβάδα αποτελείται κυρίως από πυκνό συνδετικό ιστό που περιέχει λίγα λιπώδη κύτταρα και λίγες ελαστικές ίνες. Στη στοιβάδα αυτή, φέρονται κυρίως τα αγγεία και τα νεύρα του οστού. Η μεσαία στοιβάδα διακρίνεται από τη μεγάλη αφθονία σε ελαστικές ίνες και φέρει μικρό αριθμό αγγείων, ενώ συνδέεται στενά με την

εξωτερική. Τέλος, η εσωτερική στοιβάδα περιέχει μεγάλο αριθμό οστεοβλαστών κατά τη νεαρή ηλικία, διότι στους ενήλικες τα κύτταρα αυτά σπανίζουν και η στοιβάδα αυτή μετατρέπεται σε ινώδη συνδετικό ιστό, καθώς ενσωματώνεται με τη μεσαία. Η σημασία της εσωτερικής στοιβάδας είναι μεγάλη για τη διάπλαση του οστού εξαιτίας του γεγονότος ότι, οι οστεοβλάστες προορίζονται για την εξασφάλιση της οστέωσης και της ανάπτυξης του οστού από το περίοστεο. Στους ενήλικες το περίοστεο, λόγω της απώλειας των οστεοβλαστών, δεν εμφανίζει οστεοπλαστικές ικανότητες παρά μόνο σε περίπτωση καταγμάτων, όπου επανεμφανίζονται οι οστεοβλάστες στην εσωτερική του στοιβάδα. Ο οστίτης ιστός διαθέτει πλούσια αγγείωση με αιμοφόρα αγγεία που εξορμούνται από το περίοστεο και κατευθύνονται στους σωλήνες του Havers, ενώ άλλα μεγαλύτερα αγγεία διανέμονται στην σπογγώδη ουσία των οστών.



Εικόνα 1. Μορφολογία και δομή μακρών οστών. Στην εικόνα διακρίνεται το περίοστεο, το συμπαγές οστό, το σπογγώδες οστό, ο μυελός των οστών αλλά και τα αγγεία του αίματος τα οποία διεισδύουν στο οστό. Από διαδίκτυο, Google images.

Ο οστίτης ιστός ανάλογα με τη θέση των κυττάρων και της βασικής του οστικής ουσίας εμφανίζει δύο διαφορετικές μορφές. Η μία είναι ο συμπαγής ή

φλοιώδης οστίτης ιστός και η άλλη ο σπογγώδης ή δοκιδωτός οστίτης ιστός. Το 80% περίπου του σκελετού αποτελείται από φλοιώδη ιστό, ενώ το υπόλοιπο 20% από δοκιδωτό. Ο φλοιώδης ιστός, συνιστά το εξωτερικό τμήμα των περισσότερων οστών και εντοπίζεται κατά κύριο λόγο στις διαφύσεις των μακρών οστών, στα όρια των αρθρώσεων καθώς και στα σώματα των σπονδύλων, όπου δρα προστατευτικά σαν κέλυφος περιβάλλοντας το ασθενέστερο σπογγώδες οστόν (**Εικ.2**). Την διαφοροποίηση ανάμεσα σε αυτές τις δύο μορφές του οστίτη ιστού, προσδίδει η βάση της πορώδους κατασκευής τους. Στον συμπαγή οστίτη ιστό, η βασική ουσία είναι ιδιαίτερα πυκνή με το πορώδες του να κυμαίνεται στο 5-10% και οι οστικές του δοκίδες έχουν τέτοια στενή επαφή μεταξύ τους, ώστε να σχηματίζουν ένα οστό παχύ, ομοιογενές και στέρεο. Αντιθέτως το σπογγώδες οστόν, είναι πολύ αραιότερο σε σχέση με το φλοιώδες με το πορώδες του να κυμαίνεται μεταξύ 75-95% και εντοπίζεται στις επιφύσεις των μακρών οστών, στον πυρήνα των σπονδυλικών σωμάτων καθώς και στα πλατέα οστά.¹



Εικόνα 2. Κατανομή σπογγώδους και φλοιώδους οστού στο σώμα των σπονδύλων.

Από το διαδίκτυο, Google images.

Ο σπογγώδης ιστός, αποτελείται από οστικά πετάλια και δοκίδες με ποικίλο σχήμα και πάχος, που διατάσσονται προς διάφορες κατευθύνσεις ανάλογα με τα εκάστοτε μηχανικά φορτία που υφίστανται. Ανάμεσα από τις δοκίδες δημιουργούνται

κοιλότητες που συμπληρώνονται από ενδόστυο, ονομάζονται μυελοκυψέλες και περιέχουν τον μυελό των οστών ή λιπώδη ιστό. Από λειτουργικής άποψης, το σπογγώδες οστόν θεωρείται περισσότερο ενεργό μεταβολικά απ' το φλοιώδες το οποίο, κυρίως είναι επιφορτισμένο με την μηχανική λειτουργία του οστού. Στο φλοιώδες οστόν, τα οστικά κύτταρα έχουν μια συγκεκριμένη αρχιτεκτονική διάταξη ενώ την βασική του δομική μονάδα αποτελεί ο οστεώνας. Στο φλοιώδες οστόν, η οστέινη ουσία αποτελείται από όλα τα στοιχεία του πεταλιώδη οστίτη ιστού, δηλαδή τα οστέινα πετάλια, τα οστικά κύτταρα, τις οστικές κοιλότητες, τα οστικά σωληνάκια, τους σωλήνες του Havers, τους σωλήνες του Volkmann και τις διατιτρώσες ίνες του Sharpey. Μια από τις διαφορές του σπογγώδους από το συμπαγές τμήμα των οστών είναι ότι διαφέρουν ως προς την διάταξη αυτών των στοιχείων.²

1.2. Φυσιολογία θεμέλιας ουσίας του οστίτη ιστού

Η μεσοκυττάρια ουσία προέρχεται από τους οστεοβλάστες και αποτελείται από την οργανική θεμέλια ουσία και τους κρυστάλλους υδροξυαπατίτη. Η θεμέλια ουσία αποτελείται από κολλαγόνο τύπου I και μη κολλαγονικές πρωτεΐνες (σάκχαρα, γλυκοπρωτεΐνες, πρωτεογλυκάνες, γλυκοζαμινογλυκάνες, πεπτίδια, λιπίδια, οργανικά και ανόργανα ιόντα, και νερό). Το κολλαγόνο συντίθεται στο εσωτερικό του οστεοβλάστη σαν τροποκολλαγόνο και στην συνέχεια εξέρχεται στο περιβάλλον με εξωκύτωση και αποθηκεύεται στα σωματίδια του Golgi. Η δομή του μορίου τροποκολλαγόνου αποτελείται από τρεις διαπλεκόμενες αλύσεις, σαν πλεξίδα, (δύο άλφα-1 και μια άλφα-2). Πολλά μόρια προκολλαγόνου δημιουργούν κολλαγονικά ινίδια. Πολλά κολλαγονικά ινίδια δημιουργούν τις ίνες του κολλαγόνου. Οι ίνες στη συνέχεια διαπλέκονται με τέτοιο τρόπο ώστε να δημιουργούν ένα στερεό υπόβαθρο, τη βάση (τον καμβά), επάνω στην οποία θα επικαθήσουν τα κρυσταλλικά άλατα για να δημιουργηθεί το οστικό ύφασμα. Επομένως, η οργανική θεμέλια ουσία του οστίτη

παρέχει στα οστά την απαιτούμενη σκληρότητα μέσω της παρουσίας των ανόργανων στοιχείων του ιστού, ενώ η ινώδης φύση του κολλαγόνου προσδίδει την απαραίτητη ελαστικότητα και ευλυγισία στο οστό. Συνεπώς η θεμέλια ουσία διασφαλίζει την άριστη μηχανική υποστήριξη του σώματος έτσι ώστε τα οστά να μπορούν, να ανταπεξέρχονται στις συνεχείς μικροκαταπονίσεις.

Το κυριότερο κρυσταλλικό άλας είναι ο υδροξυαπατίτης. Στα οστικά άλατα περιλαμβάνονται επίσης άλατα μαγνησίου, νατρίου, καλίου και ανθρακικά τα οποία δε σχηματίζουν σαφείς κρυστάλλους και προσροφώνται στις επιφάνειες των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη.³ Ο υδροξυαπατίτης όμως, δεν διασφαλίζει μόνο την σκλήρυνση και την σταθερότητα των οστών αλλά αποτελεί και τη μοναδική αποθήκη ασβεστίου για τον οργανισμό. Έτσι σε περιπτώσεις που το ασβέστιο του αίματος είναι μειωμένο και η πρόσληψή του από το έντερο δεν είναι δυνατόν να αυξηθεί, τότε εκκρίνεται από τους παραθυρεοειδείς αδένες η παραθορμόνη, η οποία δρώντας διαμέσου των οστεοβλαστών στους οστεοκλάστες τους διεγείρει, αυξάνοντας την οστεόλυση. Μοναδικός σκοπός της οστεόλυσης σε αυτές τις περιπτώσεις, είναι η παροχή ασβεστίου στον οργανισμό που επιτυγχάνεται με τη διάλυση των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη.

1.3. Τύποι οστίτη ιστού

Ο οστίτης ιστός αποτελεί έναν εξειδικευμένο συνδετικό ιστό, ο οποίος αποτελείται από εκτός από την ασβεστοποιημένη μεσοκυττάρια ουσία, την οστική μητρική ή θεμέλια ουσία, και από τέσσερα διαφορετικά είδη κυττάρων, τους οστεοβλάστες, τα οστεοκύτταρα, τα επενδυματικά κύτταρα και τους οστεοκλάστες (Εικ.4).

Οι οστεοβλάστες είναι οστεοπαραγωγικά κύτταρα, προέρχονται από πολυδύναμα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα του μυελού των οστών όπως και οι λιποβλάστες, οι χονδροβλάστες και οι μυοβλάστες. Μορφολογικά, έχουν κυβοειδές σχήμα, αποτελούν κύτταρα με έντονο βασεόφιλο πρωτόπλασμα και αναπτυγμένο σύστημα Golgi και εντοπίζονται στις οστικές επιφάνειες μαζί με τις πρόδρομες μορφές τους, σχηματίζοντας μια συνεχή κυτταρική στιβάδα.⁴

Οι οστεοβλάστες είναι υπεύθυνοι για την παραγωγή των δομικών συστατικών του οστίτη ιστού και την παραγωγή ρυθμιστικών παραγόντων και ενζύμων που επηρεάζουν την παραγωγή και απορρόφηση του οστού.⁵ Στην πρώτη κατηγορία εντάσσεται η παραγωγή δομικών πρωτεϊνών της εξωκυττάριας ουσίας, με κυριότερό εκπρόσωπο το κολλαγόνο τύπου I που αποτελεί και το κύριο συστατικό του οστεοειδούς. Επιπλέον, οι οστεοβλάστες λαμβάνουν μέρος και στην ασβεστοποίηση της εξωκυττάριας ουσίας, μέσω της παραγωγής και της δράσης της αλκαλικής φωσφατάσης. Το ένζυμο αυτό, εντοπίζεται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των οστεοβλαστών και σχετίζεται με τον σχηματισμό νέου οστίτη ιστού αν και ο ακριβής μηχανισμός δράσης δεν έχει αποσαφηνισθεί πλήρως. Η οστεοκαλσίνη, εξάλλου, είναι μια ακόμα μη κολλαγόνα πρωτεΐνη, η οποία παράγεται από τους οστεοβλάστες κατά τη διάρκεια της φάσης ασβεστοποίησης του οστού.

Στη δεύτερη κατηγορία λειτουργιών του οστεοβλάστη εμπεριέχεται η παραγωγή αυξητικών παραγόντων, κυτοκινών και ενζύμων απαραίτητων για το σχηματισμό και την απορρόφηση του οστού. Οι οστεοβλάστες, παράγουν αυξητικούς παράγοντες οι οποίοι εναποτίθενται και παραμένουν δεσμευμένοι στη θεμέλια ουσία του οστίτη ιστού. Σε μεταγενέστερο χρόνο, κι αφού με τη δράση των οστεοκλαστών γίνει απορρόφηση οστού, οι δεσμευμένοι αυξητικοί παράγοντες απελευθερώνονται, προάγοντας τον πολλαπλασιασμό οστεοπρογονικών κυττάρων και επάγοντας τη

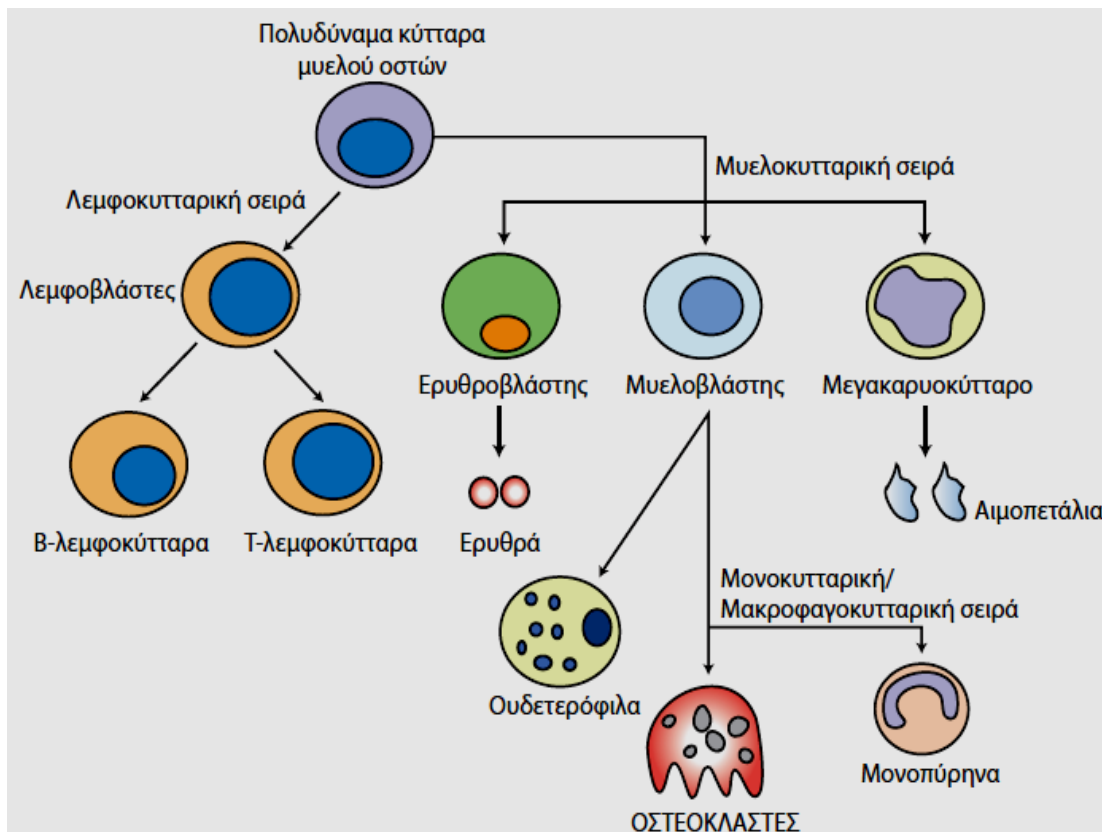
διαφοροποίησή τους σε οστεοβλάστες.⁴ Εξάλλου, οι οστεοβλάστες συμμετέχουν με έμμεσο τρόπο και στην απορρόφηση του οστού. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της παραγωγής κυτοκινών από τους οστεοβλάστες, οι οποίες επενεργούν πάνω στους οστεοκλάστες, προκαλώντας την ενεργοποίησή τους και, τελικά, την απορρόφηση οστού.⁶

Η οστεοκλάστη αποτελεί το κύτταρο εκείνο που είναι υπεύθυνο για την οστική απορρόφηση τόσο του οστού όσο και του αποτιτανωμένου κολλαγόνου μεσω σχηματισμού ειδικών κοιλοτήτων που ονομάζονται βοθρία Howship. Απαραίτητη προϋπόθεση για την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών αποτελεί η προσκόλληση τους στην θεμέλια ουσία, η οποία επιτυγχάνεται μέσω των υποδοχέων των ιντεγκρινών που διαθέτουν οι οστεοκλάστες.

Μορφολογικά, αποτελεί ένα γιγαντοκύτταρο διαμέτρου έως 200.000 μm^3 , με πολλούς πυρήνες (έως 100), άφθονα μιτοχόνδρια, πολλά λυσοσώματα, ελεύθερα ριβοσώματα, ηωσινοφιλή κυτταροπλασματική χρώση και πολλές ιδιαιτερότητες. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των οστεοκλαστών αποτελεί η «πτυχωτή παρυφή» της κυτταρικής τους μεμβράνης, η οποία βρίσκεται σε στενή επαφή με την προς απορρόφηση οστική επιφάνεια.

Η οστεοκλάστη, προέρχεται από πολυδύναμα αρχέγονα κύτταρα του μυελού των οστών. Η δημιουργία της ξεκινά με τον πολλαπλασιασμό και την επιστράτευση προγονικών κυττάρων των οστεοκλαστών, τα οποία θεωρούνται ότι είναι μονοβλάστες ή προμονοκύτταρα. Στην συνέχεια, ακολουθεί η διαφοροποίησή τους σε μονοπύρηνους προστεκλάστες, με αυξημένο αριθμό υποδοχέων καλσιτονίνης. Ακολουθεί η σύντηξη των μονοπύρηνων οστεοκλαστών, σε πολυπύρηνες οστεοκλάστες, ή σύντηξη με προπάρχουσες οστεοκλάστες, ή ακόμα σύντηξη

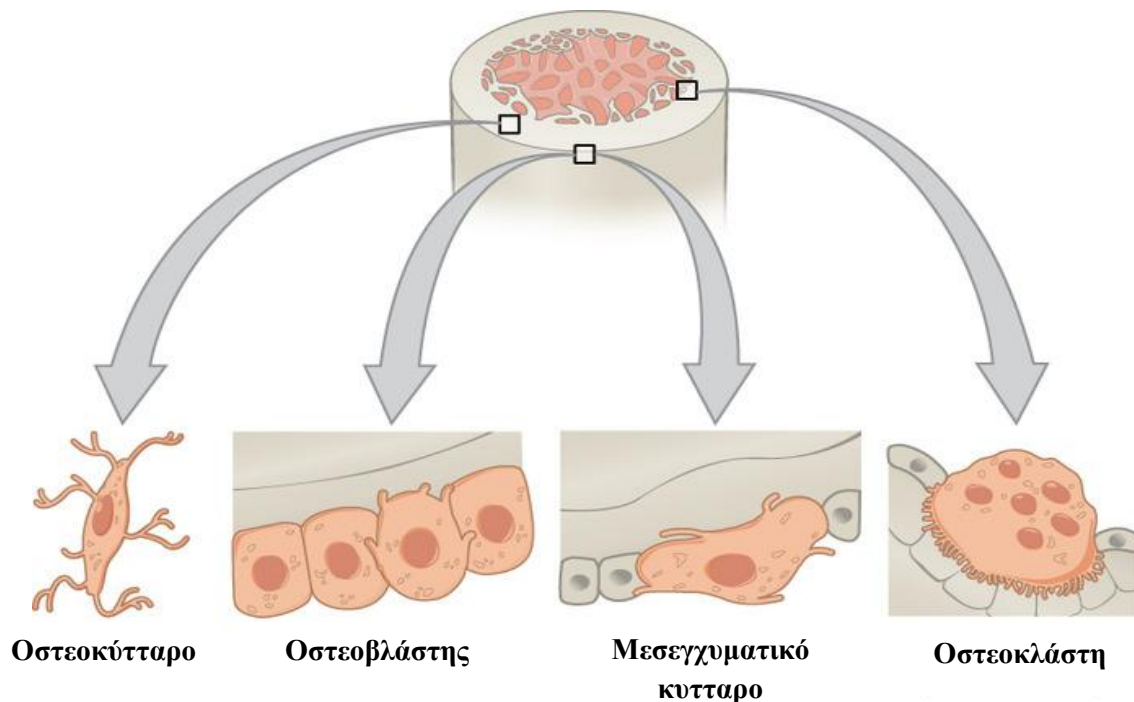
πολυπύρηνων οστεοκλαστών σε μεγαλύτερες⁷ (Εικ.3). Η διαφοροποίηση και η ωρίμανση των οστεοκλαστών πραγματοποιείται με την επίδραση αιμοποιητικών αυξητικών παραγόντων όπως είναι ο παράγοντας διέγερσης των αποικιών των μακροφάγων M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor), ο παράγοντας RANKL (Receptor Activator of Nuclear factor NFκB- Ligand).⁸



Εικόνα 3. Προέλευση και διαφοροποίηση των οστεοκλαστών.²

Τα οστεοκύτταρα είναι τα πολυπληθέστερα κύτταρα του οστίτη ιστού (x10 από τους οστεοβλάστες και x 1000 από τους οστεοκλάστες), προέρχονται από τους οστεοβλάστες και ανευρίσκονται μέσα σε κοιλότητες και κυψελίδες του οστού, που έχουν εγκλισθεί με την επιμετάλωση του παραγόμενου οστού. Τα οστεοκύτταρα, έχουν ανάλογη δράση με τους οστεοβλάστες αλλά ασθενέστερη σε σχέση με αυτούς. Τα οστεοκύτταρα, βρίσκονται σε συνεχή επικοινωνία τόσο μεταξύ τους όσο και με τους οστεοβλάστες. Μέσω αυτής της επικοινωνίας, τα οστεοκύτταρα

αντιλαμβάνονται τις αλλαγές στο εξωκυττάριο υγρό, συμμετέχουν στην ομοιοστασία του ασβεστίου, εντοπίζουν αλλαγές στα επίπεδα ορμονών όπως τα οιστρογόνα και τα γλυκοκορτικοειδή που επηρεάζουν την επιβίωσή τους. Επιπρόσθετα, το εκτεταμένο αυτό δίκτυο επικοινωνίας λειτουργεί σαν οστικός μηχανοστάτης και είναι υπεύθυνο για την αντίληψη των μηχανικών ερεθισμάτων και τη μετατροπή τους σε βιοχημικά σήματα, για τις φορτίσεις που υφίστανται τα οστά.⁹ Επιπλέον είναι πλέον καλά τεκμηριωμένο, πως τα οστεοκύτταρα όπως και οι οστεοβλάστες μπορούν να συνθέτουν θεμέλια οστική ουσία η οποία προοδευτικά επιμεταλλώνεται, γεγονός που αποδεικνύει πως και τα οστεοκύτταρα συμμετέχουν στην οστική ανακατασκευή.¹⁰



Εικόνα 4. Τύποι οστίτη ιστού. Από το διαδίκτυο, Google images.

Τέλος **τα μεσεγχυματικά κύτταρα**, όπου προέρχονται μάλλον από την οστεοβλαστική σειρά των κυττάρων, έχουν επίπεδη πλακώδη εμφάνιση και περιέχουν έναν επιμήκη πυρήνα. Αναφέρονται στην βιβλιογραφία και με τα ονόματα, ανενεργοί οστεοβλάστες, οστεοπρογονικά κύτταρα ή επίπεδα επενδυματικά κύτταρα. Τα μεσεγχυματικά κύτταρα, επενδύουν τις επιφάνειες των οστών και κύρια τους δράση

είναι η προφύλαξη της θεμέλιας ουσίας από τη δράση των οστεοκλαστών, οι οποίοι δεν έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν μη-επιμεταλλωμένες οστικές επιφάνειες. Πιθανολογείται ότι τα μεσεγχυματικά κύτταρα, λαμβάνουν σήματα από τα οστεοκύτταρα για να προσανατολίσουν χημειοτακτικά τις πρόδρομες μορφές οστεοκλαστών προς συγκεκριμένες θέσεις του οστού κατά την έναρξη της οστικής ανακατασκευής. Επομένως, είναι υπεύθυνα για την σύζευξη άλλων οστικών κυττάρων.¹⁰

1.4. Οστική ανακατασκευή

Ο οστίτης ιστός διακρίνεται από αξιοσημείωτη δυνατότητα συνεχούς ανακατασκευής, καθ'όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου.¹¹ Ως οστική ανακατασκευή ορίζεται η διαδικασία ανανέωσης του μικροπεριβάλλοντος του οστού, μέσω μιας θαυμαστής ισόρροπης ανταγωνιστική δράσης των δύο βασικών κυτταρικών ομάδων του οστού, των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών.

Η οστική ανακατασκευή πραγματοποιείται μέσω της τροποποίησης της βασικής μικροκατασκευαστικής μονάδας του οστού (Basic Structural Unit, BSU) αλλά παράλληλα και μέσω βασικής πολυκυτταρικής ή μεταβολικής μονάδας του οστού (Basic multicellular Unit, BMU). Ο ρυθμός της ανακατασκευής φθάνει το 100% ανά έτος το πρώτο έτος της ζωής, μειώνεται στο 10% στο τέλος της παιδικής ηλικίας και συνεχίζει με αυτό το ρυθμό ή και μικρότερο κατά την ενήλικη ζωή. Η οστική ανακατασκευή ρυθμίζεται από αυξητικούς και ορμονικούς παράγοντες, καθώς και από μηχανικές και ηλεκτρικές δυνάμεις που ασκούνται στον σκελετό. Η οστική ανακατασκευή, διενεργείται με διαφορετικό ρυθμό μεταξύ των μονάδων του σπογγώδους και φλοιώδους οστού με την πάροδο της ηλικίας. Τα κύτταρα στο σπογγώδες οστό, σε αντίθεση με το φλοιώδες οστό βρίσκονται σε στενή επαφή με το μυελό των οστών και τις οστεότροπες κυτοκίνες, σε μεγάλη έκταση επιφάνειας.

Η ιδιότητα τους αυτή έχει ως αποτέλεσμα, η επίδραση των πρωτεϊνών αυτών να είναι σημαντικότερη σε σχέση με το φλοιώδες οστόν.¹²

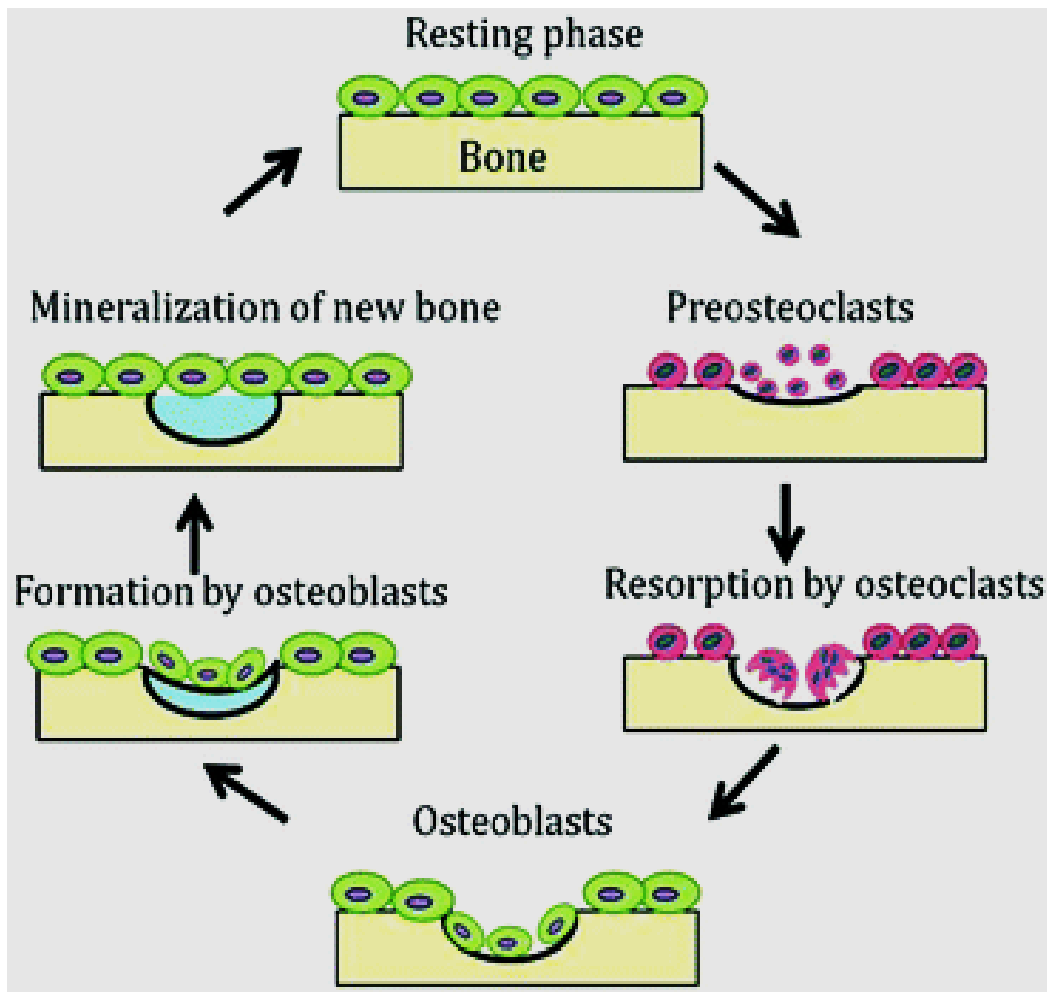
Η αλληλουχία των λειτουργιών της οστικής ανακατασκευής περιλαμβάνει τις ακόλουθες έξι φάσεις (**Εικ.5**) : α) τη φάση ηρεμίας, β) τη φάση ενεργοποίησης, γ) τη φάση οστικής απορρόφησης, δ) τη φάση κυτταρικής αναστροφής, ε) τη φάση οστικής παραγωγής και στ) τη φάση επιμετάλλωσης του οστεοειδούς.

α) Φάση ηρεμίας (Quiescent phase): Αποτελεί τη φάση όπου η μεταβολική μονάδα του οστού είναι ανενεργή και ταυτίζεται με τη μικροκατασκευαστική μονάδα του οστού.

β) Φάση ενεργοποίησης (Activation phase): Ακολουθεί η ενεργοποίηση της οστικής επιφάνειας, μέσω της απομάκρυνσης των επενδυματικών κύτταρων και της πέψης της μεμβράνης του ενδόστεου. Παράλληλα διάφοροι ενεργοποιητές, όπως οι κυτοκίνες (κυρίως ο TNF-α, ο παράγων RANKL η ιντερλευκίνη 1 και 6) για ποικίλους ενδογενείς ή εξωγενείς παράγοντες ενεργοποιούν τους προστεοκλάστες, οι οποίοι συντηκόμενοι σε πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα σχηματίζουν τους ώριμους οστεοκλάστες. Η έναρξη της ενεργοποίησης των οστεοκλαστών ενεργοποιείται υπό την επίδραση πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας (οστεοποντίνη) και των υποδοχέων της κυτταρικής τους μεμβράνης. Η διαδικασία αυτή και για τους δύο τύπους του οστού ολοκληρώνεται μέσα σε πέντε με επτά ημέρες.

γ) Φάση οστικής απορρόφησης (Resorption phase): Σε αυτό το στάδιο, οι οστεοκλάστες που βρίσκονται στην επιφάνεια του οστού δραστηριοποιούνται, προκαλώντας οστική απορρόφηση και αποικοδομούν προοδευτικά την αποτιτανωμένη θεμέλια ουσία. Εν συνεχεία, δημιουργούν ένα κωνικό μέτωπο μέσα στο συμπαγές αβέρσιο σύστημα. Η οστική απορρόφηση ολοκληρώνεται από τα

μακροφάγα του μυελού των οστών, που απελευθερώνουν τους αυξητικούς παράγοντες της θεμέλιας ουσίας. Η φάση της οστικής απορρόφησης τελειώνει με την απόπτωση των οστεοκλαστών. Για το σπογγώδες οστό, η φάση της οστικής απορρόφησης διαρκεί τρεις με τέσσερις εβδομάδες, ενώ για το φλοιώδες οστό, έξι με δέκα εβδομάδες.



Εικόνα 5. Στάδια οστικής ανακατασκευής.¹³

δ) **Φάση κυτταρικής αναστροφής (Reversal phase):** Κατά την φάση αυτή, οι οστεοκλάστες απομακρύνονται και επιστρατεύονται οι οστεοβλαστες. Ο μηχανισμός απελευθέρωσης των οστεοβλαστών δεν έχει απολύτως διευκρινιστεί, αλλά σύμφωνα με τις ισχύουσες θεωρίες προκαλείται από την διέγερση αυξητικών παραγόντων (TGF- β , IGF-I, IGF-II, BMPs) από τους οστεοκλάστες οι

οποίοι ελκύουν πρόδρομους οστεοβλάστες και διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση τους. Η διαδικασία αυτή και για τους δύο τύπους του οστού ολοκληρώνεται μέσα σε λίγες ημέρες.

ε) Φάση οστικής παραγωγής (Formation phase): Οι προ-οστεοβλάστες προσελκύονται χημειοτακτικά από τους αυξητικούς παράγοντες που έχουν απελευθερωθεί στη θεμέλια ουσία και διαφοροποιούνται σε ώριμους οστεοβλάστες, οι οποίοι συνθέτουν και εναποθέτουν προοδευτικά οστεοειδές. Το νεοσυντιθέμενο οστό είναι ισόποσο εκείνου που απορροφήθηκε στις προηγούμενες φάσεις. Η φάση οστικής παραγωγής διαρκεί δύο με τρεις μήνες για το σπογγώδες οστό, ενώ για το φλοιώδες απαιτούνται περίπου πέντε μήνες.

στ) Φάση επιμετάλλωσης οστεοειδούς (Mineralization phase): Η μεταβολική μονάδα του οστού αδρανοποιείται, επιστρώνεται ξανά από επενδυματικά κύτταρα και λειτουργεί σαν μικροκατασκευαστική μονάδα του οστού. Η φάση της επιμετάλλωσης ξεκινά 30 ημέρες μετά την απόθεση του οστεοειδούς και σταματά την 90^η ημέρα για το σπογγώδες οστό και την 130^η ημέρα για το φλοιώδες οστό. Ακολουθεί η φάση ηρεμίας και η διαδικασία ολοκληρώνεται.

Η συνεχής αυτή επαναλαμβανόμενη διαδικασία απαιτεί την απόλυτη συνεργασία και συντονισμό των δύο βασικών οστικών κυττάρων. Η ισόρροπη αυτή συνεργασία μεταξύ των κυτταρικών σειρών του οστίτη ιστού αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο της οστικής ανακατασκευής και ονομάζεται σύζευξη. Οποιαδήποτε διαταραχή αυτής της σύζευξης οδηγεί σε μεταβολική οστική πάθηση.¹⁴

1.5. Ρύθμιση της οστικής ανακατασκευής

Η οστική ανακατασκευή ρυθμίζεται από πληθώρα γενετικών, ενδοκρινικών και τοπικών παραγόντων. Η έναρξη των τοπικών οστικών μηχανισμών

πραγματοποιείται με την μεσολάβηση αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών. Οι αυξητικοί παράγοντες εκκρίνονται από τους οστεοβλάστες και επιδρούν άμεσα στις κυτταρικές σειρές συντελώντας καθοριστικά στον πολλαπλασιασμό των προ-οστεοβλαστών και στην διαφοροποίησή τους σε οστεοβλάστες. Οι αυξητικοί παράγοντες εκτός από την άμεση δράση, τους έχουν την ικανότητα να αποθηκεύονται στην θεμέλια ουσία που παράγουν οι οστεοβλάστες και επαναχρησιμοποιούνται σε περιπτώσεις που θα ενεργοποιηθεί η οστική ανακατασκευή. Επίσης, οι αυξητικοί παράγοντες επιτελούν τον ρόλο του τελικού μεταβιβαστή μηνυμάτων που δίδονται από τις ασβεστίοτροπες ορμόνες.

Οι κυτοκίνες, αποτελούν πρωτεΐνες μικρού μοριακού βάρους, έχουν μικρό χρόνο ημίσειας ζωής και έχουν ισχυρότατη βιολογική δράση τόσο αυτοκρινική όσο και παρακρινική. Οι κυτοκίνες σε επίπεδοοστικών κυττάρων, εμπλέκονται στις διαδικασίες επιλογής και διαφοροποίησης των αρχέγονων κυττάρων σε οστεοβλάστες και οστεοκλάστες. Ταυτόχρονα, οι κυτοκίνες μπορούν να επιδράσουν και σε επίπεδο ώριμων κυττάρων ενεργοποιώντας, επιστρατεύοντας ή καταστέλλοντας τα σε ορισμένες οστικές επιφάνειες. Στενή σχέση εμφανίζουν επίσης με τα ορμονικά συστήματα που ρυθμίζουν τον οστικό μεταβολισμό και αλληλεπιδρούν τόσο με τον άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης όσο και με τις γενετικές ορμόνες καθώς και την βιταμίνη D. Οι κυριότερες κυτοκίνες, αυξητικοί παράγοντες, ιντερφερόνες και ιντερλευκίνες που λαμβάνουν μέρος στον οστικό μεταβολισμό παρουσιάζονται στον

Πίνακα 1.

	ΔΡΑΣΗ ΣΤΟ ΟΣΤΟΥΝ
ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ	
RANKL(ReceptorActivatorofNFκBLigand)	Αποτελεί μέλος της οικογένειας του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF) και εμφανίζεται με την μορφή 3 μορίων: της RANKL-1, RANKL-2, RANKL-3. Αυξάνει την οστεοκλαστική δραστηριότητα, προάγοντας την διαφοροποίηση, την σύντηξη και την ενεργοποίηση των πρόδρομων μορφών των οστεοκλαστών (σε συνεργασία με τον M-CSF), για την έναρξη της οστικής απορρόφησης. Επίσης αναστέλλει την απόπτωση των πολυπύρηνων ώριμων οστεοκλαστών. ¹⁵
RANK (ReceptorActivatorofNF-κB)	Αποτελεί τον φυσικό υποδοχέα της RANKL, αποτελεί μια τύπου II μεμβρανική πρωτεΐνη που εκφράζεται από κύτταρα της σειράς των μονοκύτταρων / μακροφάγων. Η RANKL, συνδέεται με το εξωκυττάριο τμήμα του υποδοχέα της RANK στην επιφάνεια των οστεοκλαστών και τον ενεργοποιεί, προάγοντας έτσι μια αλληλουχία αντιδράσεων που στοχεύουν στην διαφοροποίηση, την σύντηξη, την επιβίωση και την ενεργοποίηση των ώριμων οστεοκλαστών. ¹⁶
ΟΣΤΕΟΠΡΟΤΕΓΕΡΙΝΗ (OPG)	Η OPG προάγει την αναστολή των τελικών σταδίων της διαφοροποίησης των πρόδρομων οστεοκλαστών και προκαλεί την απόπτωση τους, μέσω σύνδεσης της με τους υποδοχείς της RANKL, προτού αυτή συνδεθεί με τους κυτταρικούς υποδοχείς της RANK, εξουδετερώνοντας με αυτό τον τρόπο την οστεοκλαστογένεση και αναστέλλοντας την οστική απορρόφηση. ¹⁷
ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΕΣ	
Ιντερλευκίνη-1 (IL-1 A ΚΑΙ B)	Προάγει την παραγωγή προσταγλαδινών από τα οστεοβλαστικά κύτταρα και συμμετέχει ενεργά στην ωρίμανση και την διαφοροποίηση των πρόδρομων μορφών οστεοκλαστών από τα αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα. ¹⁸
Ιντερλευκίνη-3 (IL-3 MULTI-CSF)	Η ιντερλευκίνη-3 (IL-3) σε συνέργεια με άλλες κυτοκίνες (GM-CSF, G-CSF, IL-11, IL-6) διεγείρει τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των πρώιμων αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων όλων των σειρών του μυελού των οστών. ¹⁹
Ιντερλευκίνη-4 (IL-4)	Αποτελεί μια αντιφλεγμονώδη κυτοκίνη, που αναστέλλει την έκκριση των φλεγμονώδων κυτοκινών (IL-1, IL-6, TNF-α, PGE2) από τα μακροφάγα και προάγει την ενεργοποίηση των μακροφάγων από την IFN-γ. Επιπρόσθετα αναχαιτίζει τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών και της IL-6 από τους οστεοβλάστες και έχει αρνητική επίδραση στην οστεοκλαστογένεση επιδρώντας στο σύστημα RANKL/ RANK. ²⁰
Ιντερλευκίνη-6 (IL-6)	Δρα ως τοπικός παράγοντας της οστικής απορρόφησης, διεγείροντας τις πρόδρομες μορφές των οστεοκλαστών. Επιπρόσθετα, ενισχύει την οστική αναδόμηση μέσω του συστήματος RANKL/ RANK/ OPG. ²¹
Ιντερλευκίνη-9 (IL-9)	Ενεργοποίηση οστεοκλαστών και οστεοβλαστών.
Ιντερλευκίνη-11 (IL-11)	Προάγει την αύξηση του αριθμού των οστεοκλαστών σε συνέργεια με βιταμίνη D, με μηχανισμό ανεξάρτητο του συστήματος RANKL/RANK. Επιπλέον, διεγείρει την έκφραση της RANKL από τις οστεοβλάστες. ²²
Ιντερλευκίνη-17 (IL-17)	Προάγει οστεοκλαστογένεση, καθώς διεγείρει την παραγωγή IL-1β και τον παράγοντα TNF-α από τα μακροφάγα. ²³
ΙΝΤΕΡΦΕΡΟΝΕΣ	
Ιντερφερόνη-γ (IFN-γ)	Αναστέλλει την ανάπτυξη οστεοβλαστών, αναστέλλοντας τους οστεοκλάστες στο ενδιάμεσο στάδιο της διαφοροποίησης τους. ²⁴
Ιντερφερόνη-β (IFN-β)	Παράγεται από τους προ-οστεοκλάστες και αναχαιτίζει την διαφοροποίησή τους σε οστεοκλάστες. ²⁴
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΑΠΟΚΙΩΝ	

M-CSF (Διεγερτικός παράγοντας των αποικιών των μονοκυττάρων – μακροφάγων)	Προάγει την ανάπτυξη και διαφοροποίηση προδρομων σειρών οστεοκλαστών. Ο M-CSF σε συνεργασία με τον GM-CSF, προκαλεί την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των δεσμευμένων προγονικών κυττάρων και συμβάλει στην απελευθέρωση κυτοκινών από τα ώριμα μονοκύτταρα. Επιπρόσθετα, επιφέρει κυτταροτοξικότητα στα μακροφάγα και συμβάλει στην έκκριση IL-1, GM-CSF, IFN και TNF- α . ²⁵
Διεγερτικός παράγοντας των αποικιών των κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF)	Προάγει την ενεργοποίηση και την διαφοροποίηση των άωρων μονοκυττάρων και αναστέλλει την μεταγενέστερη εξέλιξη των μονοκυττάρων σε οστεοκλάστες. Επίσης, ενισχύει την δράση των κυτοκινών IL-6 και TNF- α προκαλώντας οστεοκλαστογένεση. ²⁶
ΑΥΞΗΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	
Αυξητικός παράγοντας της βλαστικής μεταμόρφωσης ή μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας (TGF-β)	Σε χαμηλές συγκεντρώσεις διεγείρει τον σχηματισμό προσταγλαδινών προάγοντας την οστεοκλαστογένεση, ενώ σε υψηλές συγκεντρώσεις δρα τόσο στους οστεοβλάστες διεγείροντας την πλάση του οστού όσο και στους οστεοκλάστες διεγείροντας την οστική απορρόφηση. Ο TGF- β επιδρά στις πρόδρομες μορφές των οστεοκλαστών, παρεμποδίζοντας την ωρίμανση τους. Παράλληλα αυξάνει την παραγωγή της OPG από τις οστεοβλάστες, ενώ μειώνει την έκφραση της RANKL. ²⁷
Αυξητικός αιμοπεταλιακός παράγοντας (PDGF)	Παράγεται από τα αιμοπετάλια και επιδρά δρώντας μιτογονικά σε κύτταρα μεσεγχυματικής προέλευσης. ²⁸
VEGF (Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας)	Προάγει την διαφοροποίησή μονοκυττάρων σε οστεοκλάστες και ενεργοποιεί τους ώριμους οστεοκλάστες προς οστική απορρόφηση. Προκαλεί οστική απορρόφηση μέσω της διέγερσης του ειδικού υποδοχέα των οστεοβλαστών για σύνθεση προσταγλαδινών, οι οποίες ακολούθως προκαλούν οστική εναπόθεση. ²⁹
Αυξητικός παράγοντας του ενδοθηλίου (MMPs)	Δρα στα μονοκύτταρα, προάγει τη διαφοροποίησή τους σε οστεοκλάστες και ενεργοποιεί τις ώριμες οστεοκλάστες προς οστική απορρόφηση. Οι πρωτεΐνες της οικογένειας των MMPs, είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και την καταστροφή των βασικών μεμβρανών. ³⁰
Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF)	Διεγείρει τους οστεοβλάστες προς σύνθεση προσταγλαδινών, αυξάνοντας το ρυθμό μεταγραφής του mRNA της κυκλοοξυγενάσης
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΝΕΚΡΩΣΗΣ ΟΓΚΩΝ	
ΚΑΧΕΤΙΝΗ (TNF-α)	Προάγουν την ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των προδρομικών μορφών των οστεοκλαστών και ενεργοποιούν τους οστεοβλάστες προς σύνθεση των κυτοκινών (IL-6, M-CSF, GM-CSF) που θα συμβάλουν στην ωρίμανση των οστεοκλαστών.
ΛΕΜΦΟΤΟΞΙΝΗ (TNF-β)	
ΠΡΟΣΤΑΓΛΑΔΙΝΕΣ	
	Οι προσταγλαδίνες διεγείρουν τους προοστεοκλάστες για σύντηξη και διαφοροποίηση, με σκοπό να σχηματίσουν ώριμους οστεοκλάστες. Επιπρόσθετα, επιδρούν και στους οστεοκλαστες προάγοντας την τροποποίηση του σχήματός τους για να έρθουν σε επαφή με το ενασβεστωμένο υπόστρωμα για την ενεργοποίηση της οστικής απορρόφησης. Επιπρόσθετα η προσταγλαδίνη E2 (PGE2) προάγει την έκφραση του RANKL από τους οστεοβλάστες. ³¹

Πίνακας 1. Κατάταξη των κυριότερων κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων που έχουν επίδραση στον οστίτη ιστό.

1.6. Ορμονική ρύθμιση της οστικής ανακατασκευής

Παραθορμόνη

Η παραθορμόνη αποτελεί τον σημαντικότερο ρυθμιστή των συγκεντρώσεων του ασβεστίου και του φωσφόρου στο αίμα. Η δράση της είναι δόσοεξαρτώμενη και καθορίζεται ανάλογα με τα κυκλοφορούντα επίπεδα της στο αίμα. Σε υψηλά επίπεδα, η παραθορμόνη προκαλεί την αναστολή της δράσης της RANKL από τους οστεοβλάστες και ενεργοποίηση των οστεοκλαστών που οδηγεί σε αυξημένο ρυθμό απόπτωσης των οστικών κυττάρων. Η ενεργοποίηση των οστεοκλαστών απελευθερώνει την έκκριση του TGF- β και IGF-1 από τους οστεοβλάστες και διεγείρουν τα κύτταρα της οστεολυτικής βλάβης να πολλαπλασιαστούν. Στα οστά, η παραθορμόνη διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο μέσω του συσχετιζόμενου με την παραθορμόνη πεπτιδίου (PTH/PTHrP). Η αυξημένη έκκριση του πεπτιδίου οδηγεί στην αύξηση της παραθορμόνης διεγείροντας την οστεοκλαστογένεση.³²

Βιταμίνη D

Η βιταμίνη D προκαλεί την έκκριση παραγόντων που διεγείρουν παρακρινικά τους οστεοκλάστες (IL-11, IL-1, IL-6, TNF) προάγοντας την οστική απορρόφηση. Τέλος η βιταμίνη D διαμεσολαβεί και στην επαγόμενη από τον TNF ρύθμιση των υποδοχέων καλσιτονίνης στα οστικά κύτταρα.

Καλσιτονίνη

Η καλσιτονίνη προάγει την οστεοβλαστογένεση και αναστέλλει την οστική απορρόφηση μέσα από την συρρίκνωση και την καταστροφή της λαχνωτής επιφάνειας των οστεοκλαστών.

Οιστρογόνα

Η έλλειψη των οιστρογόνων κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης διεγείρει την έκκριση OPG η οποία ασκεί άμεσα την επιρροή στο σύστημα OPG/RANKL/RANK ως ανταγωνιστής και στους υποδοχείς RANK των οστεοκλαστών, αναστέλλοντας με αυτό τον τρόπο την διαφοροποίηση του τελικού σταδίου των οστεοκλαστών που οδηγεί στην απενεργοποίησή τους. Η διέγερση της OPG αναστέλλει την έκκριση των φλεγμονωδών κυτοκινών (IL-1, IL-6, TGF α), του M-CSF και της προσταγλαδίνης E2 περιορίζοντας την οστεοκλαστική δραστηριότητα.³³

Γλυκοκορτικοειδή

Τα γλυκοκορτικοειδή (κορτιζόλη και κορτικοστερόνη) αυξάνουν την οστεοκλαστογένεση αναστέλλοντας την δράση της OPG και δρουν άμεσα στους ώριμους οστεοβλάστες, δεσμεύοντας στους υποδοχείς των γλυκοκορτικοειδών που υπάρχουν στους οστεοβλάστες αναχαιτίζοντας την λειτουργία τους.³⁴

Θυρεοειδικές ορμόνες

Οι θυρεοειδικές ορμόνες κατά την παιδική και εφηβική ηλικία προάγουν την ανάπτυξη του σκελετού, έως την επίτευξη της κορυφαίας οστικής μάζας. Η διαταραχή της ομαλής λειτουργίας των θυρεοειδή αδένων, τόσο σε ποιότητα όσο και σε ταχύτητα επιφέρει δυσμενή αποτελέσματα στην οστική πυκνότητα και στην αρχιτεκτονική του οστίτη ιστού. Ο υποκλινικός υπερθυρεοειδισμός στις μετεμμηνόπαυσιες γυναίκες προάγει την οστεοκλαστογένεση και συμβάλει στην επιβράδυνση του ρυθμού και την έκταση της οστικής ανακατασκευής.³⁵

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο**ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗ**

2.1. Εισαγωγικά στοιχεία-ορισμοί

Η εμμηνόπαυση χαρακτηρίζεται από την οριστική διακοπή της έμμηνου ρύσεως, ως αποτέλεσμα της μόνιμης παύσης της ωοθηκικής λειτουργίας. Αποτελεί ορόσημο στην ζωή των γυναικών και σηματοδοτεί το τέλος της αναπαραγωγικής τους λειτουργίας. Η εμμηνόπαυση βρίσκεται στο επίκεντρο του επιστημονικού ενδιαφέροντος καθώς εξαιτίας της αύξησης του προσδόκιμου επιβίωσης στο δυτικό κόσμο, οι γυναίκες καλούνται πλέον να περάσουν ένα μεγάλο μέρος της ζωής τους σε οιστρογονική ένδεια. Η χρονική στιγμή που ορίζεται ως η έναρξη της εμμηνόπαυσης, είναι η ημερομηνία της τελευταίας εμμηνου ρύσεως η οποία μπορεί να υπολογιστεί μόνο αναδρομικά, μετά από την πάροδο 12 μηνών συνεχούς αμηνόρροιας η οποία όμως δεν οφείλεται σε κάποια άλλη παθολογική ή φυσιολογική αιτία.³⁶ Σε ορισμένες περιπτώσεις ωστόσο, η εμμηνόπαυση μπορεί να προκληθεί ιατρογενώς (προκλητή εμμηνόπαυση) μετά από την χειρουργική αφαίρεση των ωοθηκών, μετά την χορήγηση φαρμακευτικής θεραπείας (χημειοθεραπείας) ή ακτινοβολίας της πυέλου.

Η διάμεση ηλικία εμφάνισης της τελευταίας εμμηνου ρύσης είναι τα 51.3 έτη. Για τις γυναίκες που εισέρχονται στην φυσιολογική εμμηνόπαυση, η διαδικασία είναι βαθμιαία και διαχωρίζεται σε τρία στάδια: την περιεμμηνόπαυση η αλλιώς μετάβαση στην εμμηνόπαυση, τηνεμμηνόπαυση, και την μετεμμηνόπαυση. Η περιεμμηνόπαυση, ξεκινά αρκετά έτη πριν την εμμηνόπαυση, όταν πλέον οι ωοθήκες αρχίζουν και παράγουν προοδευτικά λιγότερα οιστρογόνα και τερματίζεται με την τελευταία έμμηνου ρύση. Στο περιεμμηνόρροιακό στάδιο, αρχίζουν να παρατηρούνται τα σημεία και τα συμπτώματα της επικείμενης εμμηνόπαυσης.

Ως εμμηνόπαυση, όπως προαναφέρθηκε ορίζεται το σημείο όπου η γυναίκα έχει την τελευταία της περίοδο. Σε αυτό το στάδιο, οι ωοθήκες έχουν σταματήσει να παράγουν ωάρια και ορμόνες. Τέλος ως μετεμμηνόπαυση, ορίζεται το διάστημα που επέρχεται μετά την εμμηνόπαυση. Σε αυτό το στάδιο, οι ωοθήκες παράγουν λιγότερα οιστρογόνα και προγεστερόνη και δεν απελευθερώνονται ωάρια. Κατά την περίοδο αυτή, τα συμπτώματα της εμμηνόπαυσης υποχωρούν προοδευτικά αλλά τα προβλήματα υγείας που σχετίζονται με την έλλειψη οιστρογόνων με τη πάροδο του χρόνου αυξάνονται και ενέχουν μακροπρόθεσμους κινδύνους.³⁷

2.2.Επιδημιολογία της εμμηνόπαυσης

Η μέση ηλικία εισαγωγής των λευκών γυναικών από βιομηχανικές χώρες στην εμμηνόπαυση, κυμαίνεται στα 50-52 έτη, ενώ το προσδόκιμο επιβίωσης των γυναικών αυτών ανέρχεται στα 76-81 έτη.³⁸ Σε μια πρόσφατη μελέτη διεπιστώθη, πως για κάθε πενταετία καθυστέρησης της εγκατάστασης της εμμηνόπαυσης η επιβίωση των γυναικών αυξανόταν κατά 0.3%. Στην ίδια μελέτη ανευρέθη, πως η κατανάλωση καπνού αποτελεί έναν σημαντικό τροποποιητή της συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας εγκατάστασης της εμμηνόπαυσης και της επιβίωσης. Ο καπνός επηρέασε την σημαντικά την επιβίωση των γυναικών, με τις καπνίστριες να πεθαίνουν κατά μέσο όρο 3.6 έτη νωρίτερα, σε σχέση με αυτές που δεν κατανάλωσαν ποτέ καπνό. Η κατανάλωση καπνού έχει συσχετιστεί και στο παρελθόν από πληθώρα μελετών με την επίσπευση της εμμηνόπαυσης κατά 1-2 έτη, καθώς και με την μείωση του περιεμμηνόπαυσιακού σταδίου. Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες του καπνού προάγουν την πρόωμη απόπτωση των ωοκυττάρων και μεταβάλλουν το ενδοκρινολογικό προφίλ μεταβάλλοντας τα επίπεδα και την απελευθέρωση των ορμονών από την υπόφυση.³⁹

Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, ο χρόνος εισαγωγής στην εμμηνόπαυση διαφαίνεται να έχει κληρονομικό χαρακτήρα. Οι γυναίκες εισέρχονται σε εμμηνόπαυση την ίδια περίπου ηλικία που εισέρχονται και οι μητέρες τους.⁴⁰ Επίσης, πλήθος μελετών συσχετίζει το χαμηλό κοινωνικό-οικονομικό επίπεδο τόσο της γυναίκας όσο και του συζύγου της με πρωιμότερη εγκατάσταση της εμμηνόπαυσης. Ωστόσο, σε πρόσφατη έρευνα που διεξήχθη στην Βρετανία, διεπιστώθη ότι, ο σημαντικότερος παράγοντας που καθόρισε την έναρξη της εμμηνόπαυσης ήταν η κοινωνικό-οικονομική κατάσταση της γυναίκας κατά την παιδική της ηλικία και οι παράγοντες που διαδραμάτισαν καθοριστικό ρόλο για την εισαγωγή στην εμμηνόπαυση ήταν, η μαθησιακή ικανότητα του ατόμου και η διατροφή του μέσω θηλασμού.⁴¹ Επιπρόσθετα, η ηλικία εγκατάστασης στην εμμηνόπαυση φάνηκε να ελέγχεται και από γενετικούς παράγοντες, μετά από μελέτη του γενετικού υλικού διδύμων.⁴²

Το 2013, σε μια ακόμα μελέτη που διεξήχθη από τους Monterossa Castro et al και συμπεριλάμβανε 6079 γυναίκες από 11 χώρες της Λατινικής Αμερικής, ανευρέθη πως οι γυναίκες <45 ετών με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II αναπτύσσουν τριπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης πρώιμης εμμηνόπαυσης, σε σύγκριση με αυτές που δεν έχουν σακχαρώδη διαβήτη.⁴³ Σύμφωνα με την μελέτη Shanghai Women's Health, η κατανάλωση θερμίδων, φρούτων και πρωτεΐνης συσχετίστηκε με καθυστέρηση εγκατάστασης της εμμηνόπαυσης.⁴⁴

Αντίθετα, ο αποκλεισμός της πρόσληψης κρέατος στην διατροφή των χορτοφάγων, προάγει τα υψηλά επίπεδα των ορμονών FSH και LH και την αύξηση των ημερών της εμμηνου ρύσεως. Συνεπώς, η κατανάλωση κρέατος διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο στην αλληλεπίδραση των ορμονών κατά μήκος του άξονα υποθαλάμου-υπόφυσης-ωοθηκών.^{45,46} Η λήψη αντισυλληπτικών δισκίων επέδρασε

θετικά στην καθυστέρηση της εγκατάστασης της εμμηνόπαυσης, βασιζόμενη στην θεωρία πως η χορήγηση αντισυλληπτικών καθυστερεί την εξάντληση των ωοθυλακίων.⁴⁷ Τέλος, οι γυναίκες με εμμηνορυσιακό κύκλο <26 ημερών, παρουσιάζουν πρόωμη εμμηνόπαυση (κατά ενάμιση χρόνο νωρίτερα), σε σχέση με τις γυναίκες που διατηρούν κύκλο >33 ημερών.⁴⁸

Υπολογίζεται πως οι γυναίκες θα ζήσουν το 1/3 της ζωής τους σε οιστρογονική ένδεια, καθίσταται λοιπόν αναγκαίο να μελετηθούν και να αντιμετωπιστούν τα συμπτώματα και οι συνέπειες της εμμηνόπαυσης. Για τη χώρα μας, υπάρχουν μόνο δύο επιδημιολογικές μελέτες από τους Batrinos et al τη δεκαετία του 1970⁴⁹ και από τον Αδαμόπουλο το 2002.⁵⁰ Και στις δύο αυτές μελέτες διαφαίνεται, πως η μέση ηλικία εμφάνισης της εμμηνόπαυσης είναι τα 48 έτη και οι 7 μήνες. Αξίζει να σημειωθεί, πως από τα ελληνικά δεδομένα προκύπτει αυξημένο ποσοστό χειρουργικής εμμηνόπαυσης στις Ελληνίδες, γεγονός που αντανακλά στις αυξημένες περιπτώσεις ολικών υστερεκτομών στη χώρα μας.

2.3. Παθοφυσιολογία εμμηνόπαυσης

Η εμμηνόπαυση αποτελεί το τελευταίο στάδιο της γήρανσης του αναπαραγωγικού συστήματος και η εμφάνιση της σχετίζεται με δυο κυρίως παθοφυσιολογικές οντότητες, αυτήν της εξάντλησης των ωοθυλακίων και αυτήν της εμφάνισης των διαφόρων ενδοκρινολογικών μεταβολών στον άξονα «υποθάλαμου- υπόφυσης-ωοθηκών» (Εικ.6).⁵¹

2.3.1. Μηχανισμοί εξάντλησης ωοθυλακίων

Τα ωογόνια, αποτελούν τις άωρες μορφές των γεννητικών οργάνων της γυναίκας τα οποία πολλαπλασιάζονται με μιτωτική διαίρεση από τον τρίτο έως τον έβδομο μήνα της ζωής. Εν συνεχεία, ακολουθεί η ανάπτυξη ωοκυττάρων τα οποία

μπορούν να παραμείνουν στην πρόσφαση της πρώτης μιτωτικής διαίρεσης εντός των αρχέγονων ωοθυλακίων, έως και 50 έτη. Κατά τον ένατο μήνα της κύησης, κυριαρχούν μόνο τα αρχέγονα ωοθυλάκια τα οποία ενεργοποιούνται για να εισέλθουν στην δεξαμενή των πρωτογενών ωοθυλακίων. Κατά την γέννηση στις ωοθήκες εμπεριέχονται συνολικά 500.000-800.000 ωοθυλάκια καθώς το 80% εξ αυτών έχουν υποστεί ατρησία. Κατά την περίοδο της εφηβείας, ο αριθμός των ωοθυλακίων μειώνεται σημαντικά στις 250.000 καθώς έχει υποστεί ατρησία το 95% του αρχικού αριθμού τους, ενώ κατά την μεταβατική περίοδο στην εμμηνόπαυση τα απομείναντα ωοθυλάκια στις ωοθήκες ανέρχονται μόλις στα 1.000. Ο ρυθμός ελάττωσης της ωοθηκικής δεξαμενής αυξάνεται σημαντικά με το πέρασ των ετών. Επιπρόσθετα, εκτός από τις επιδράσεις που επιφέρει ο χρόνος στον αριθμό των ωοθυλακίων, σημαντικές αλλαγές παρατηρούνται και στην ποιότητα των ωαρίων που έχουν απομείνει στην ωοθήκη.⁵¹

2.3.2. Ορμονικές μεταβολές

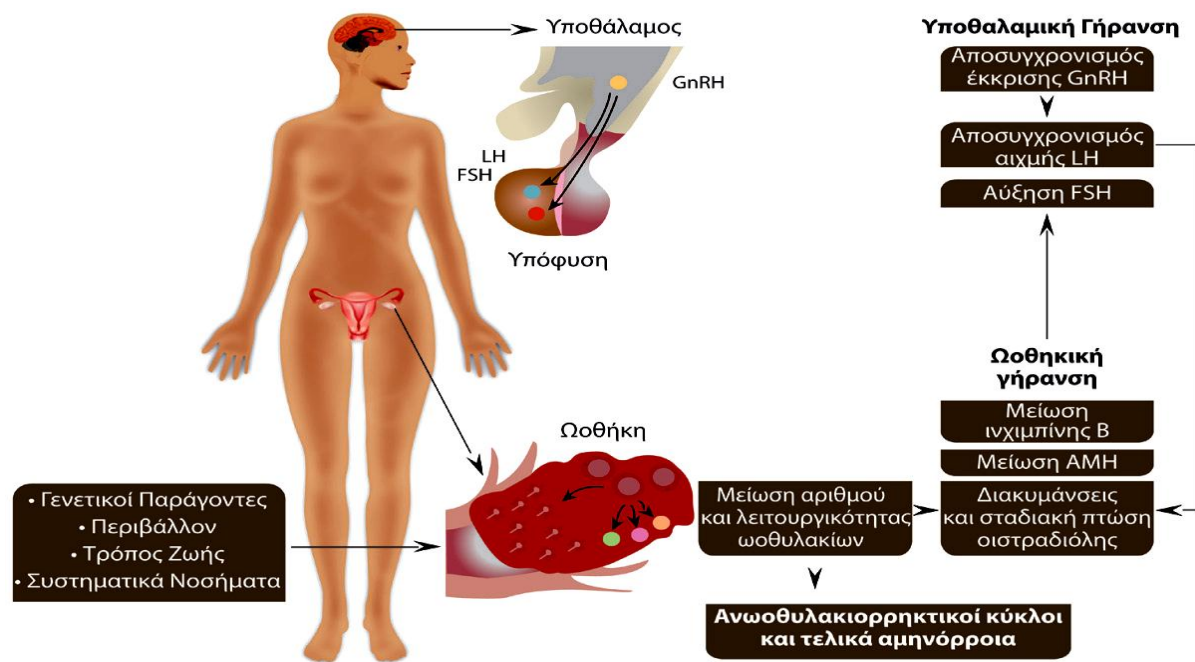
Η πρωϊμότερη ορμονική διαταραχή που παρατηρείται κατά την μετάβαση στην εμμηνόπαυση, είναι η μείωση των επιπέδων της ανασταλτίνης Β (ινχιμπίνη-Β). Η ανασταλτίνη Β, παράγεται από την κοκκιώδη σειρά των κυττάρων των πρωτογενών ωοθυλακίων καθώς και από τα ωοθυλάκια τα οποία περιέχουν άντρο. Επομένως, όταν κατά την εμμηνόπαυση παρατηρείται μείωση του αριθμού των ωοθυλακίων παρατηρείται και αυτόματη μείωση της παραγωγής της ανασταλτίνης Β. Η μειωμένη παραγωγή της ανασταλτίνης Β, διεγείρει την περαιτέρω αύξηση της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) η οποία προάγει την στρατολόγηση πολλών ωοθυλακίων και την αυξημένη παραγωγή οιστρογόνων. Η ελάττωση της ανασταλτίνης Β και η ταυτόχρονη αύξηση της FSH, μπορεί να συμβεί καθ'όλη την

διάρκεια της αναπαραγωγικής ηλικίας, φθάνουν όμως σε κριτικό επίπεδο κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης.

Κατά την περιεμμηνόπαυσιακή περίοδο, η γυναίκα μπορεί να διατηρήσει την ικανότητα ωορρηξίας σε κάποιο βαθμό. Η αναλογία των όμως ωορρηκτικών κύκλων από το 60% στα έξι έτη πριν την εμμηνόπαυση, μειώνεται κατακόρυφα στο 10% κατά τους τελευταίους μήνες. Η μειωμένη αναλογία των ωορρηκτικών κύκλων, οφείλεται αφενός στην εξάντληση του αριθμού των ωοθυλακίων και αφετέρου στις διάφορες μεταβολές του κεντρικού νευρικού συστήματος. Κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης, παρατηρείται μειωμένη ευαισθησία του υποθαλάμου της υπόφυσης στα οιστρογόνα, με αποτέλεσμα να μειώνονται σημαντικά οι συγκεντρώσεις της LH (απουσία του φαινομένου της θετικής παλίνδρομου δράσης της οιστραδιόλης), η οποία θα διεγείρει την ωορρηξία. Κατά τα αρχικά στάδια της περιεμμηνόπαυσης, η τιμή της οιστραδιόλης παραμένει σε υψηλά επίπεδα παρά τις μικρές διακυμάνσεις, ενώ ραγδαία πτώση των επιπέδων της παρατηρείται τους τελευταίους μήνες πριν την διακοπή της εμμήνου ρύσεως. Για ένα σύντομο χρονικό διάστημα, μπορούν να παρατηρηθούν σποραδικά επεισόδια αύξησης των τιμών τόσο της οιστραδιόλης, όσο και της προγεστερόνης όμως μετά την εμφάνιση της τελευταίας περιόδου, η προγεστερόνη σταματά να παράγεται.

Ταυτόχρονα με την μείωση των οιστρογόνων κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης, παρατηρείται και μείωση των ανδρογόνων. Οι κυριότεροι εκπρόσωποι της κατηγορίας των ανδρογόνων είναι, η Δ4 ανδροστενδιόνη και η τεστοστερόνη. Στην προεμμηνόπαυσιακή περίοδο, η Δ4 ανδροστενδιόνη εκκρίνεται τόσο από την ωοθήκη όσο και από τα επινεφρίδια με ρυθμό 3mg ανά ημέρα. Κατά την εμμηνόπαυσιακή περίοδο, η Δ4 ανδροστενδιόνη παράγεται κατά κύριο λόγο από τα επινεφρίδια, ενώ μόλις ένα 20% παράγεται από τις ωοθήκες, ενώ η ημερήσια

παραγωγή της μειώνεται στα 1.5 mg ημερησίως. Η Δ4 ανδροστενδιόνη αρωματοποιείται σε οιστρόνη, αποτελώντας και την ουσιαστική πηγή του κυριότερου μετεμμηνοπαυσιακού οιστρογόνου. Ο ρυθμός παραγωγής της τεστοστερόνης κατά την προεμμηνοπαυσιακή περίοδο ανέρχεται στα 250 mg και παράγεται κυρίως από τα επινεφρίδια και δευτερευόντως από τις ωθήκες (σε ποσοστό 25%). Κατά την εμμηνόπαυση, παρατηρείται αύξηση της παραγωγής στις ωθήκες κατά 15% και μείωση της παραγωγής από τα επινεφρίδια κατά 15%, ενώ ο ρυθμός παραγωγής μειώνεται σε 180 mg την ημέρα. Η τεστοστερόνη αρωματοποιείται στην περιφέρεια σε οιστραδιόλη. Κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης, παρατηρούνται και διάφορες άλλες ενδοκρινολογικές μεταβολές καθώς και διαταραχές στον μεταβολισμό. Έτσι παρατηρείται μείωση των επιπέδων της αυξητικής ορμόνης (GH) και αύξηση αντίστασης στην ινσουλίνη που οδηγεί σε αντιρροπιστική υπερινσουλιναιμία. Τόσο η ινσουλίνη όσο και η GH ασκούν δράση στα λιποκύτταρα και έχουν συσχετισθεί με την αύξηση του βάρους κατά την εμμηνόπαυση.^{51,52}



Εικόνα 6. Σχηματική απεικόνιση της παθοφυσιολογίας της εμμηνόπαυσης.⁵³

2.4. Επιπτώσεις της εμμηνόπαυσης

Η μειωμένη παραγωγή οιστρογόνων από τις ωοθήκες κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση διαφόρων σωματικών, αγγειοκινητικών και ψυχικών συμπτωμάτων, η ένταση των οποίων ποικίλει ανάλογα με το γενετικό υπόβαθρο κάθε γυναίκας.⁵⁴

Οι εξάψεις αποτελούν το κυρίαρχο αγγειοκινητικό σύμπτωμα και εμφανίζονται περίπου στην ηλικία των 47 ή 48 ετών. Τα αγγειοκινητικά συμπτώματα εμφανίζονται κυρίως κατά την όψιμη περιεμμηνοπαυσιακή και πρόιμη μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο. Η συχνότητα και η ένταση τους, κορυφώνεται στις γυναίκες ηλικίας 53-54 ετών. Τα αγγειοκινητικά συμπτώματα ποικίλουν σε συχνότητα και διάρκεια, μπορούν να εμφανιστούν σε καθημερινή βάση έως κι 10 φορές ημερησίως και μπορούν να διαρκέσουν από 6 μήνες ως και χρόνια. Οι εξάψεις, συχνά μπορεί να συνοδεύονται από ρίγος και ταχυκαρδία και μπορούν να συμβούν οποιαδήποτε στιγμή της ημέρας. Συνήθως εκλύονται μετά την χρήση αλκοολούχων ποτών, την κατανάλωση θερμού φαγητού ή την ολιγόωρη παρουσία των ασθενών σε θερμό περιβάλλον. Τα ακριβή αίτια της εμφάνισης των εξάψεων δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως, όμως οι παροδικές μεταβολές της οιστραδιόλης στο πλάσμα φαίνεται να αποτελούν την κυρίαρχη αιτία. Οι μεταβολές στην συγκέντρωση της οιστραδιόλης, επιδρούν στο θερμορυθμιστικό κέντρο του υποθαλάμου με αποτέλεσμα να παρατηρείται συνεχής εναλλαγή της θερμοκρασίας των ατόμων. Επίσης οι αγγειοκινητικές διαταραχές, μπορεί να συσχετίζονται και με την μεταβολή της συγκέντρωσης των επιπέδων της αδρεναλίνης και της νοραδρεναλίνης στο πλάσμα, οι οποίες μπορούν να προάγουν την εμφάνιση περιφερικής αγγειοδιαστολής, ταχυκαρδίας και αισθήματος άγχους.⁵⁵

Η χρόνια έλλειψη των οιστρογόνων μπορεί να προκαλέσει ατροφία του επιθηλίου της ουρογεννητικής οδού, προκαλώντας ατροφική κολπίτιδα με ξηρότητα του αιδοίου, κνησμό και ανώμαλη κολπική έκκριση. Τα συμπτώματα αυτά μπορούν να γίνουν ιδιαίτερα ενοχλητικά επηρεάζοντας την ποιότητα ζωής των γυναικών. Επιπρόσθετα παρατηρείται, απομάκρυνση του υποδορίου λίπους από τα μεγάλα χείλη του αιδοίου, με αποτέλεσμα να προκαλείται στένωση του πρόδρομου κόλπου, συρρίκνωση ουρήθρας και σημαντική στένωση της ακροποσθίας της κλειτορίδας. Όλες αυτές οι αλλαγές προάγουν την δυσπαρευνία η οποία μπορεί να είναι τόσο σοβαρή και να οδηγήσει σε απροθυμία σεξουαλικής δραστηριότητας.⁵⁶ Η υποοιστρογοναιμία επιδρά και στην φυσιολογική χλωρίδα του κόλπου δημιουργώντας πιο αλκαλικό περιβάλλον, προκαλώντας την μειωμένη αντίστασή της ουροποιογεννητικής οδού έναντι διαφόρων λοιμώξεων και την πρόκληση δυσουρικών ενοχλημάτων, ουρηθρίτιδων και υποτροπιάζουσών ουρολοιμώξεων.⁵⁷

Εκτός από τα σωματικά συμπτώματα που μπορούν να εμφανισθούν κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης, μπορεί να παρατηρηθούν ψυχολογικές διαταραχές με συχνές εναλλαγές συναισθήματος, απώλεια ενδιαφέροντος έως και κατάθλιψη. Ο συνδυασμός σωματικών και ψυχικών συμπτωμάτων, μπορούν να επιφέρουν και διαταραχές ύπνου οδηγώντας σε χρόνια κόπωση, αρθραλγίες και κεφαλαλγία. Η εμφάνιση καρδιαγγειακών παθήσεων θεωρείται ότι αποτελεί μια από τις μακροπρόθεσμες συνέπειες της εμμηνόπαυσης. Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία οι γυναίκες αναπτύσσουν στεφανιαία νόσο κατά μέσο όρο 10 έτη αργότερα από τους άνδρες. Έως την ηλικία των 65 ετών 1 στις 7 γυναίκες θα αναπτύξει στεφανιαία νόσο. Το ποσοστό αυτό αυξάνεται σημαντικά με την πάροδο των χρόνων όπου μετά την ηλικία των 65 ετών η επίπτωση της στεφανιαίας νόσου στις γυναίκες διπλασιάζεται. Ενώ δεν θα πρέπει να παραληφθεί και το γεγονός πως η

πρόωρη εμμηνόπαυση τριπλασιάζει την πιθανότητα προσβολής από στεφανιαία νόσο σε σύγκριση με τις γυναίκες που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία. Μια σειρά παραμέτρων που σχετίζονται με το μεταβολικό σύνδρομο και τους μηχανισμούς πήξεως που έχουν άμεση επίδραση στο ενδοθήλιο των αγγείων επηρεάζονται αρνητικά με την πάροδο του χρόνου και την έλλειψη των οιστρογόνων. Σε αυτούς τους παράγοντες συμπεριλαμβάνεται η υπέρταση, η ολική χοληστερόλη, τα τριγλυκερίδια, η λιποπρωτεΐνη-α, το ινωδογόνο, ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, η ενδοθηλίνη καθώς και ο παράγοντας Von Willebrand. Αυτές οι αλλαγές μπορούν να ερμηνεύσουν την αυξημένη επίπτωση της στεφανιαίας νόσου και της αθηροσκλήρυνσης της αορτής που παρατηρείται μετά την εμμηνόπαυση.⁵⁸

Κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης, η έλλειψη των οιστρογόνων προάγει την ταχεία απώλεια της οστικής μάζας, γεγονός που οδηγεί στην μείωση της ανθεκτικότητας του οστού και αυξάνει τον κίνδυνο πρόκλησης αναίτιων καταγμάτων. Η οστεοπόρωση αποτελεί την πρώτη αιτία νοσηρότητας στον μετεμμηνόπαυσιακό πληθυσμό και συνδέεται με τεράστιο κοινωνικό και οικονομικό κόστος. Τα οστεοπορωτικά κατάγματα προσβάλλουν κυρίως την οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης, τον αυχένα και την κεφαλή του μηριαίου οστού καθώς το περιφερικό άκρο της κερκίδας (κάταγμα Colles). Στα αρχικά στάδια, η οστεοπόρωση δεν παρουσιάζει εμφανή συμπτώματα και πολλές γυναίκες αγνοούν ότι υποφέρουν από αυτήν. Πρόκειται όμως για μια ασθένεια με μεγαλύτερη επίπτωση από τα καρδιαγγειακά νοσήματα και τον καρκίνο του μαστού. Η υποοιστρογοναιμία και ειδικότερα η μειωμένη έκκριση της 17β-οιστραδιόλης, έχει σημαντική επίδραση στην οστεοβλαστική και οστεοκλαστική δραστηριότητα. Νεότερα δεδομένα καταδεικνύουν πως ακόμα και στο επιθήλιο του εντέρου ανευρίσκονται υποδοχείς της 17β-οιστραδιόλης, που είναι υπεύθυνοι για την απορρόφηση του ασβεστίου. Σε

τοπικό ρυθμιστικό επίπεδο η 17β-οιστραδιόλη αυξάνει τα επίπεδα διαφόρων κυτταροκινών από τους οστεοβλάστες οι οποίες με παρακρινική δράση κινητοποιούν την αιμοποιητική σειρά που θα οδηγήσει σε διέγερση των οστεοκλαστών.⁵⁹

Τέλος, η επίδραση των οιστρογόνων στον εγκέφαλο διαφαίνεται να είναι νευροπροστατευτική καθώς και νευροτροφική. Τα οιστρογόνα σε φυσιολογικούς νευρώνες προάγουν την κυτταρική διαφοροποίηση, την ανάπτυξη των νευρικών λειτουργιών καθώς και την δημιουργία νέων συνάψεων μεταξύ των νευρικών κυττάρων. Δεδομένης αυτής της εμπλοκής των οιστρογόνων στην λειτουργία του Κ.Ν.Σ. γίνεται αντιληπτό πως σύνδρομα που περιλαμβάνουν έκπτωση διανοητικών λειτουργιών (π.χ. νόσος Alzheimer) πιθανόν να υπεισέρχονται στην αιτιολογία εμφάνισής τους.⁶⁰

Οι επιπτώσεις της εμμηνόπαυσης, μπορούν να επηρεάσουν δυσμενώς την ποιότητα ζωής των γυναικών και η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης (ΟΘΥ) αποτελεί την θεραπεία εκλογής για την ύφεση των συμπτωμάτων. Η συχνότητα εμφάνισης τους εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως φυλετικούς, πολιτισμικούς, ψυχοκοινωνικούς και πολιτισμικούς και η εκδήλωσή τους κορυφώνεται 1-2 έτη, από την τελευταία εμμηνορρυσία.

2.5.Εμμηνόπαυση και ορμονική θεραπεία υποκατάστασης

Η ΟΘΥ αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι μιας συνολικής θεραπευτικής προσέγγισης, που έχει ως στόχο την διασφάλιση της υγείας των εμμηνοπαυσιακών γυναικών μέσω της θεραπείας των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων. Η ΟΘΥ στην μετεμμηνόπαυση οστεοπόρωση ελαττώνει τους δείκτες οστικού μεταβολισμού, αυξάνει την οστική πυκνότητα μειώνοντας με αυτό τον τρόπο τον συνολικό αριθμό των καταγμάτων.⁶¹ Η χορήγηση οιστρογόνων σαν μονοθεραπεία ή σαν συνδυασμένη

θεραπεία (οιστρογόνο και προγεσταγόνο) συμβάλει μέσα από μελέτες στην ύφεση των αγγειοκινητικών συμπτωμάτων κατά 60-90%.⁶² Σε ΟΘΥ συνίσταται να τεθούν, όλες οι γυναίκες που εμφανίζουν εμμηνόπαυση πριν την ηλικία των 45 ετών και κυρίως αυτές που εμφανίζουν πρόιμηεμμηνόπαυση στην ηλικία των 40 ετών, διότι παρουσιάζουν υψηλό κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακής νόσου και οστεοπόρωσης. Σε αυτές τις ηλικίες, συνίσταται να τεθεί ΟΘΥ τουλάχιστον έως την κανονική ηλικία εισαγωγής στην εμμηνόπαυση.

Αφότου η ΟΘΥ χορηγήθηκε πριν από 70 έτη για πρώτη φορά για την αντιμετώπιση της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης, πληθώρα μελετών έχουν διενεργηθεί έκτοτε αναδεικνύοντας τόσο τα οφέλη που προκύπτουν από την χορήγηση της, αλλά ωστόσο κάνουν λόγο και για τους πιθανούς κινδύνους που μπορεί να ενέχει η μακροχρόνια χορήγηση της για την υγεία των γυναικών. Έως το 1998 διάφορες μελέτες συνηγορούσαν για τις πολλαπλές ευεργετικές επιδράσεις των οιστρογόνων στα οστά, στα μετεμμηνοπαυσιακά συμπτώματα, το καρδιαγγειακό και το νευρικό σύστημα. Το 1998 όμως η μελέτη HERS, ανέδειξε όχι μόνο την ανεπάρκεια καρδιοπροστασίας των οιστρογόνων, αλλά και την αυξημένη επίπτωση στεφανιαίας νόσου και φλεβοθρόμβωσης μετά από την λήψη τους. Η μελέτη αυτή προκάλεσε μεγάλη αναστάτωση στην επιστημονική κοινότητα, δεδομένου ότι μεγάλος αριθμός γυναικών ελάμβαναν μακροχρόνια αγωγή με διάφορα σκευάσματα ΟΘΥ και σε διάφορες δόσεις.^{63,64} Τα ευρήματα της μελέτης HERS, επαναλήφθηκαν σε αρκετές μικρότερες τυχαιοποιημένες μελέτες δευτερογενούς καρδιαγγειακής πρόληψης της ορμονικής θεραπείας. Στις μελέτες ESPRIT⁶⁵ και 'Pap-worth HRT study'⁶⁶ που ακολούθησαν, η χορήγηση οιστραδιόλης από του στόματος ή διαδερμικά, σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου ή

έστω γνωστής αγγειογραφικής στεφανιαίας νόσου, δεν μειώσετον κίνδυνο εμφάνισης νέων καρδιαγγειακών συμβαμάτων.

Το 2002, δημοσιεύεται η μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη του Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας των ΗΠΑ (WHI) μια μεγάλης κλίμακας και μακράς περιόδου τυχαιοποιημένη μελέτη στην οποία έλαβαν μέρος 16,608 εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η οποία επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα της μελέτης HERS και οι συστάσεις για την χρήση της ΟΘΥ. άλλαξαν δραματικά. Η μελέτη τερματίστηκε νωρίς μετά από 5.6 έτη, λόγω αυξημένου κινδύνου ανάπτυξης στεφανιαίας νόσου, αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων, πνευμονικής εμβολής και καρκίνου του μαστού παρά το γεγονός πως παρατηρήθηκε συντριπτική μείωση των καταγμάτων και των επεισοδίων καρκίνου του παχέως εντέρου.^{67,68} Τα δεδομένα από την επιστημονική αυτή μελέτη παρουσιάστηκαν με έντονο τρόπο στα μέσα μαζικής ενημέρωσης και αυτό οδήγησε γεγονός οδήγησε σε μείωση του ποσοστούτων γυναικών στις Η.Π.Α. που λάμβαναν ΟΘΥ από 42% σε 28%.⁶⁹

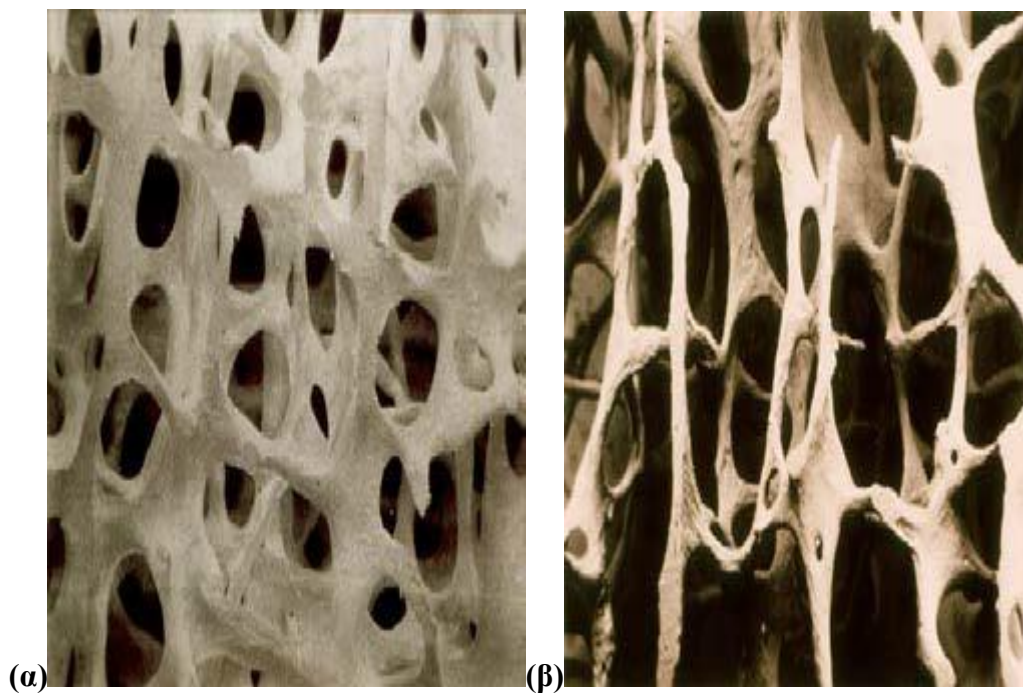
Έκτοτε υπήρξε μια σημαντική αλλαγή στην συνταγογράφηση της ΟΘΥ με αποτέλεσμα να περιοριστεί η χρήση της για την «συντομότερη διάρκεια που απαιτείται» και «με την ελάχιστη αποτελεσματική δοσολογία». Τα αποτελέσματα των πιο πρόσφατων μελετών όσον αφορά τις επιδράσεις της ορμονικής θεραπείας στο ενδοθήλιο των αγγείων, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι οι επωφελείς, επιβλαβείς ή ουδέτερες δράσεις της ορμονικής θεραπείας στην αγγειακή λειτουργία εξαρτώνται πρωτίστως από την ηλικία της γυναίκας και το χρόνο από την τελευταία έμμηνο ρύση. Φαίνεται ότι η ΟΘΥ, βελτιώνει την αγγειακή λειτουργία κυρίως όταν χορηγείται σε σχετικά νέες εμμηνοπαυσιακές γυναίκες πρώιμα, μετά την έναρξη της εμμηνόπαυσης.^{70,71} Λίγα έτη αργότερα η μελέτη WISDOM, έρχεται να επιβεβαιώσει τα ευρήματα της WHI, με την ΟΘΥ να αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης

καρδιαγγειακών και εγκεφαλικών επεισοδίων όταν η έναρξη της χορήγησης της πραγματοποιείται αρκετά χρόνια μετά την εμμηνόπαυση.

Από τα νέα επιστημονικά δεδομένα και τον επανέλεγχο παλαιότερων μελετών διαφαίνεται πως όταν η ΟΘΥ χορηγείται μέσα σε λίγα χρόνια από την έναρξη της εμμηνόπαυσης και με σαφείς ενδείξεις, έχει περισσότερα οφέλη παρά κινδύνους. Παρόλα αυτά ένας μεγάλος αριθμός εμμηνοπαυσιακών γυναικών είναι απρόθυμες ή δεν πληρούν τα κριτήρια να λάβουν ΟΘΥ και το γεγονός αυτό τις οδηγεί να αναζητούν εναλλακτικές μεθόδους για την αντιμετώπιση των εμμηνοπαυσιακών τους συμπτωμάτων. Τα τελευταία χρόνια όλο και μεγαλύτερος αριθμός γυναικών στρέφεται στην αναζήτηση νέων εναλλακτικών λύσεων για την αντιμετώπιση διάφορων παθολογικών καταστάσεων στην εμμηνόπαυση, όπως η οστεοπόρωση. Εναλλακτικές θεραπείες που δεν απαιτούν ιατρική συνταγή, με αποδεδειγμένη ασφάλεια και αποτελεσματικότητα, που θα μπορούσαν να ασκήσουν δράση παρόμοια με αυτή των οιστρογόνων στα οστά, χωρίς όμως τις παρενέργειες αυτών και όπου ο ασθενής θα αισθάνεται πολύ μεγαλύτερη ασφάλεια να τις εφαρμόσει. Τέτοιες μέθοδοι είναι η κατανάλωση φυτοοιστρογόνων, η βοτανοθεραπεία, η ομοιοπαθητική και η σωματική άσκηση. Μελέτες παρατήρησης και κλινική εμπειρία, δείχνουν πως η εναλλακτική ιατρική είναι ασφαλής και έχει θέση στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης. Η ιδιαιτερότητα στον τρόπο δράσης των φυτοοιστρογόνων επιτρέπει τη θεραπευτική τους χρήση για την αντιμετώπιση της εμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης χωρίς τις ανεπιθύμητες ενέργειες από τις μέχρι σήμερα καθιερωμένες θεραπείες υποκατάστασης. Επιπλέον, η ευρεία διαθεσιμότητα τους και το σχετικά χαμηλό κόστος τους τα καθιστά ελκυστική εναλλακτική επιλογή για την πρόληψη της εμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο**ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ****3.1. Ορισμός**

Ο όρος οστεοπόρωση προέρχεται από την ελληνική λέξη πορώδες οστό και χρησιμοποιείται για την περιγραφή μιας χρόνιας και σταδιακά εξελισσόμενης παθολογικής κατάστασης, η οποία χαρακτηρίζεται από προοδευτική απώλεια της οστικής μάζας και διαταραχή της μικροαρχιτεκτονικής του οστίτη ιστού. Η μείωση της οστικής μάζας και η δομική εκφύλιση του οστίτη ιστού, οδηγούν στην ελάττωση της μηχανικής αντοχής του οστού και στην αύξηση του κινδύνου πρόκλησης αναίτιων καταγμάτων (**Εικ.8**).⁷²

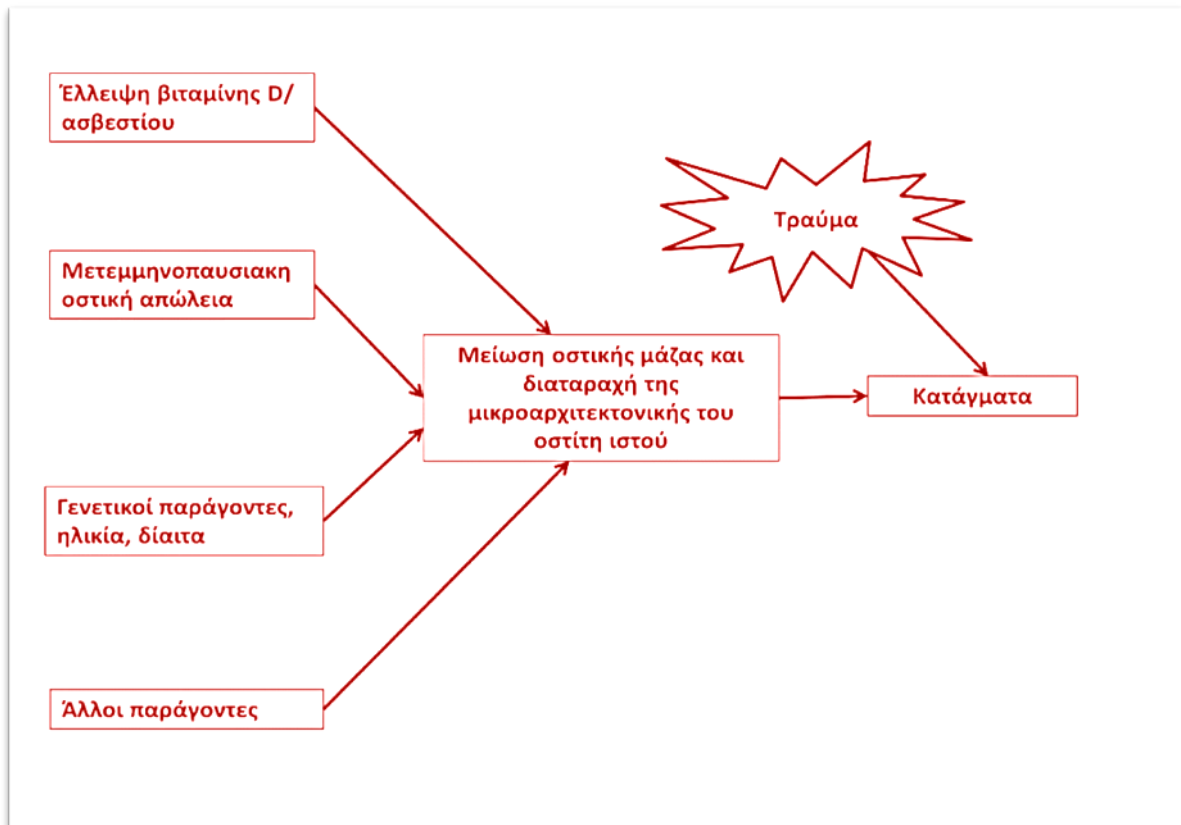


Εικόνα7. (α) Υγιές οστό. (β) Οστεοπορωτικό οστό. International Osteoporosis Foundation.

Οι δύο ουσιαστικότεροι παράγοντες που συμβάλουν στην ανάπτυξη της οστεοπόρωσης είναι το χαμηλό επίπεδο της κορυφαίας οστικής μάζας που αποκτά ένα άτομο στην ηλικία των 25 ετών περίπου και η αυξημένη οστική απώλεια που

εμφανίζεται μετά την ηλικία των 45-50 ετών. Φυσιολογικά έως την ηλικία των 25 ετών, η οστική παραγωγή είναι μεγαλύτερη από την οστική απορρόφηση και επομένως παρατηρείται συνεχής αύξηση της οστικής μάζας έως ότου φθάσει στο μέγιστο επίπεδο της (κορυφαία οστική μάζα) στη ηλικία αυτή των 25 ετών. Τα επόμενα 20 έτη, ο ρυθμός της οστικής παραγωγής είναι ίσος με αυτόν της οστικής απορρόφησης με αποτέλεσμα η οστική μάζα να παραμένει σταθερή. Μετά την ηλικία των 45 ετών όμως, παρατηρείται αναστροφή της αναλογίας αυτής με την οστική απορρόφηση να κυριαρχεί έναντι της οστικής παραγωγής και μάλιστα σε μεγαλύτερο βαθμό στις γυναίκες σε σχέση με τους άνδρες με αποτέλεσμα την εγκατάσταση της εμμηνόπαυσης περί την ηλικία των 50 ετών.

Η οστεοπόρωση μπορεί να είναι είτε πρωτοπαθής είτε δευτεροπαθής δηλαδή να οφείλεται σε κάποιο χρόνιο νόσημα ή στην μακροχρόνια χορήγηση κάποιου φαρμάκου. Η πρωτοπαθής οστεοπόρωση συναντάται σε 2 τύπους: την μετεμμηνοπαυσιακή (τύπου I) ή την σχετιζόμενη με την ηλικία (τύπου II, γεροντική) οστεοπόρωση. Η τύπου I οστεοπόρωση προσβάλλει κατά κύριο λόγο μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 50-65, προσβάλλοντας κυρίως το σπογγώδες οστό των σπονδυλικών σωμάτων. Αντιθέτως, η τύπου II ή γεροντική οστεοπόρωση προσβάλλει κυρίως το φλοιώδες οστό, τόσο στο μηριαίο όσο και στο ισχίο και συναντάται σε άτομα ηλικίας 70 ετών και άνω. Οφείλεται κυρίως στην υπολειτουργία των οστεοβλαστών, λόγω της αύξησης της παραθορμόνης ή μείωσης της τιμής της βιταμίνης D. Για την γένεση της δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης ενοχοποιείται συγκεκριμένο κάθε φορά αίτιο, ωστόσο τα όρια μεταξύ πρωτοπαθούς και δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης είναι συχνά δυσδιάκριτα και μπορεί να συνυπάρχουν ταυτόχρονα και οι δύο μορφές.⁷³



Εικόνα 8. Παθοφυσιολογία καταγμάτων οφειλόμενων σε οστεοπόρωση.⁷³

Τα κυριότερα αίτια της δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης είναι:

- **Φάρμακα:** Μακροχρόνια λήψη γλυκοκορτικοειδών, θυροξίνης, αντιεπιληπτικών, κυτταροτοξικών, ηπαρίνης, ανοσοκατασταλτικών και αντισυλληπτικών.
- **Διαταραχές του μεταβολισμού του ασβεστίου:** Ανεπάρκεια βιταμίνης D και υπερασβεστιουρία.
- **Γενετικά νοσήματα:** Με κύριους εκπροσώπους την αιμοχρωμάτωση, την υποφωσφατασία, τις αιμοσφαιρινοπάθειες και την ατελή οστεογένεση.
- **Ενδοκρινολογικές διαταραχές:** Σύνδρομο Cushing, υπερθυρεοειδισμός, υπογοναδισμός, πρωτοπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός και σακχαρώδης διαβήτης τύπου I.

- **Νοσήματα του γαστρεντερικού:** Διάφορα σύνδρομα δυσασπορρόφησης όπως είναι η κοιλιοκάκη και η νόσος Crohn, χρόνια ηπατική νόσος και η ολική γαστρεκτομή.
- **Άλλες παθήσεις:** Λέμφωμα, λευχαιμία, πολλαπλούν μυέλωμα, νευρογενής ανορεξία, ρευματοειδής αρθρίτιδα, μεταμοσχεύσεις, χρόνια νεφρική νόσος.

3.2. Επιδημιολογία

Η οστεοπόρωση αποτελεί ένα τεράστιο πρόβλημα της δημόσιας υγείας για 2 λόγους: Πρώτον διότι είναι συχνή και δεύτερον διότι συνεπάγεται με σοβαρές επιπτώσεις στους ασθενείς, στις οικογένειες τους, στο σύστημα υγείας και στην εθνική οικονομία γενικότερα. Το 2010 στην Ευρωπαϊκή ένωση των 27 κρατών μελών (συνολικός πληθυσμός 507.400.000) υπολογίστηκε πως 22 εκατομμύρια γυναίκες και 5.5 εκατομμύρια άνδρες πως πάσχουν από οστεοπόρωση. Το ήδη υψηλό κόστος για τα εθνικά συστήματα υγείας από την περίθαλψη των ασθενών με οστεοπορωτικά κατάγματα αναμένεται να αυξηθεί σημαντικά τα επόμενα χρόνια λόγω της αύξησης του προσδόκιμου επιβίωσης. Παγκοσμίως, οι ηλικιωμένοι αυξάνονται με δραματικούς ρυθμούς και εκτιμάται πως ο αριθμός των ατόμων ηλικίας άνω των 65 ετών αναμένεται να αυξηθεί από τα 323 εκατομμύρια που υπολογίζονται σήμερα στα 1.555 εκατομμύρια το 2050.

Τα κατάγματα χαμηλής ενέργειας αποτελούν την κύρια κλινική εκδήλωση της οστεοπόρωσης και αποτελούν ένα τεράστιο επιδημιολογικό πρόβλημα και για τα δύο φύλλα καθώς σχετίζονται και με την αύξηση του ορίου ηλικίας. Το 2010 καταγράφηκαν στην Ευρωπαϊκή Ένωση 3.5 εκατομμύρια νέα κρούσματα καταγμάτων χαμηλής ενέργειας. Από αυτά, 620.000 νέα περιστατικά υπέστησαν κατάγματα στο ισχίο, 520.000 υπέστησαν κατάγματα στην σπονδυλική στήλη, 560.000 κατάγματα αφορούσαν το αντιβράχιο ενώ 1.800.000 κατάγματα αφορούσαν

διάφορα άλλα σημεία του σώματος. Το άμεσο κόστος για την αντιμετώπιση των οστεοπορωτικών καταγμάτων για το σύνολο των 27 κρατών-μελών της Ευρωπαϊκής Ένωσης ήταν 38,7 δισεκατομμύρια ευρώ και το κόστος αυτό λόγω της αύξησης του μέσου όρου ζωής των ατόμων αναμένεται να αυξηθεί έως το 2025 κατά 25%.⁷⁴ Στοιχεία που προέρχονται από τις ΗΠΑ καταδεικνύουν το τεράστιο κόστος νοσηλείας και ιατροφαρμακευτικής περίθαλψης των καταγμάτων, καθώς για το έτος 2005 τα ποσά που δαπανήθηκαν για την αντιμετώπιση οστεοπορωτικών καταγμάτων ανέρχονταν σε 19 δισεκατομμύρια δολάρια. Η αντίστοιχη πρόβλεψη για το 2025 αναμένεται να φτάσει στα 25.3 δισεκατομμύρια δολάρια.⁷⁵

Στην Ευρώπη, η επίπτωση των μορφομετρικά διαγιγνωσκομένων σπονδυλικών καταγμάτων είναι 10.7/1.000 άτομα ανά έτος στις γυναίκες και 5.7/1.000 άτομα ανά έτος στους άνδρες.⁷⁶ Αντίστοιχα, η επίπτωση των μη σπονδυλικών καταγμάτων χαμηλής ενέργειας είναι 19/1.000 άτομα και 7.3/1.000 άτομα ανά έτος.⁷⁷ Στην Ελλάδα, η επίπτωση των καταγμάτων του ισχίου αυξήθηκε περίπου κατά 100% από το έτος 1977 μέχρι το έτος 2007. Συγκεκριμένα διαπιστώθηκε αύξηση από το έτος 1977 μέχρι το έτος 2002, αλλά παρατηρήθηκε ήπια αλλά σημαντική μείωση της συχνότητας από το έτος 2002 μέχρι το έτος 2007. Ο σχετικός κίνδυνος για την εμφάνιση κατάγματος του ισχίου σε άτομα ηλικίας 60-69 ετών για το έτος 2007 ελαττώθηκε σε σχέση με το έτος 1977 από 0.92 σε 0.85, ενώ στα άτομα 70-79 ετών ο σχετικός κίνδυνος αυξήθηκε από 1.53 το 1977 σε 1.61 για το έτος 2007. Σε άτομα μεγαλύτερα των 80 ετών ο σχετικός κίνδυνος αυξήθηκε 2.81 φορές σε σχέση με το έτος 1977. Σημειώνεται ότι το 50% των καταγμάτων ισχίου συνέβησαν σε άτομα μεγαλύτερα των 80 ετών.⁷⁸

Στην Ελλάδα ο πληθυσμός άνω των 50 ετών από τα 4.20 εκατομμύρια που ήταν το 2010 προβλέπεται να φθάσει στα 5.1 εκατομμύρια το 2025, μια αύξηση της

τάξεως του 20%. Ενώ, ο συνολικός αριθμός καταγμάτων για το έτος 2010 υπολογιζόταν στις 86.000 (15.000 νέα κατάγματα στο ισχίο, 13.000 στην σπονδυλική στήλη, 15.000 στον καρπό και στο άπω τμήμα της κερκίδας και 43.000 αφορούσαν διάφορα άλλα σημεία του σώματος) το 2025 αναμένεται να ξεπεράσει τις 107.000. Ωστόσο, το άμεσο κόστος που διέθεσε το Εθνικό Σύστημα Υγείας (ΕΣΥ) για το έτος 2010 ανερχόταν στα 680 εκατομμύρια €. Για το έτος 2025, ο αριθμός των οστεοπορωτικών καταγμάτων αναμένεται να αγγίξει τις 107.000 και το συνολικό κόστος για το ΕΣΥ να εκτιναχτεί στα 814 εκατομμύρια ευρώ.⁷⁴ Ως εκ τούτου, η οστεοπόρωση αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα της δημόσιας υγείας με συνέπειες που ξεπερνούν κοινωνικά, ιατρικά και οικονομικά όρια και επιβάλλουν την περαιτέρω έρευνα, είτε σε πειραματικά πρότυπα είτε σε εναλλακτικές μεθόδους πειραματισμού.

3.3. Διάγνωση

Η έγκαιρη διάγνωση της οστεοπόρωσης είναι πολύ δύσκολο να πραγματοποιηθεί, μιας που η πάθηση κατά τα αρχικά της στάδια δεν παρουσιάζει συμπτώματα ή αυτά δεν είναι θορυβώδη και γι αυτό το λόγο εύστοχα ονομάστηκε και κατά το παρελθόνως «σιωπηλή επιδημία». Η κλινική και εργαστηριακή εκτίμηση των ασθενών, για την διάγνωση της οστεοπόρωσης κρίνεται αναγκαία για την πρόληψη των καταγμάτων χαμηλής βίας που προκαλούνται σαν αποτέλεσμα της οστεοπόρωσης.

3.3.1. Κλινική εκτίμηση ασθενούς και λήψη ιστορικού

Η λήψη λεπτομερούς ατομικού και οικογενειακού ιστορικού καθώς και η κλινική εξέταση των ασθενών, μπορούν να αποτελέσουν πολύτιμα εργαλεία για την ανεύρεση παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση της νόσου. Η ορθή αξιολόγηση ενός ιστορικού πρέπει να περιλαμβάνει την ηλικία, το φύλλο, την φυλή, το

οικογενειακό και ατομικό ιστορικό οστεοπόρωσης και καταγμάτων χαμηλής βίας, την αξιολόγηση του δείκτη μάζας σώματος (BMI), τις διαταραχές της εμμήνου ρύσεως (όψιμη εμμηναρχή-πρόωρη ή χειρουργική εμμηνόπαυση), τις διαιτητικές συνήθειες του ατόμου, την μακροχρόνια λήψη φάρμακων καθώς και τις παθήσεις που σχετίζονται με την απώλεια οστικής μάζας.

3.3.2 Μέθοδοι εκτίμησης της οστικής ποσότητας και ποιότητας

Ο ακτινογραφικός έλεγχος της σπονδυλικής στήλης, αποτελεί σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο για την προσέγγιση της οστεοπόρωσης και θεωρείται μια από τις ουσιαστικότερες διαγνωστικές εξετάσεις, η οποία μας παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για την διερεύνηση της μορφής και του σχήματος των οστών. Η εμφάνιση σπονδυλικών καταγμάτων ή παραμορφώσεων ελέγχεται σε πλάγια ακτινογραφία της θωρακοσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης. Ωστόσο, σημαντικό μειονέκτημα της εξέτασης αποτελεί πως η οστεοπόρωση δεν μπορεί να ανιχνευθεί εγκαίρως παρά μόνο όταν η οστική απώλεια είναι μεγαλύτερη από το 30-40% της οστικής μάζας.

Προς το παρόν ως η “ιδανική μέθοδος” (gold standard) στην πυκνομετρία και την πρόγνωση του κινδύνου κατάγματος, θεωρείται η **απορροφησιμετρία διπλής ενεργειακής δέσμης φωτονίων-X (Dual Energy X-ray Absorptiometry, DEXA)** όπου και θεωρείται ο πλέον ακριβής, χρήσιμος και αξιόπιστος τρόπος διάγνωσης της οστεοπόρωσης. Ο προσδιορισμός της οστικής μάζας μέσω DEXA αποτελεί μια μέθοδο ευρέως διαδεδομένη και έχει αξιολογηθεί από πληθώρα κλινικών μελετών για την αποτελεσματικότητά της, καθώς χρησιμοποιείται τόσο για την ανεύρεση ατόμων «υψηλού κινδύνου» για την εκδήλωση της νόσου όσο και για την λήψη ορθών θεραπευτικών παρεμβάσεων. Η μέθοδος αυτή, αναπτύχθηκε το 1970 και αποτελεί μια προβολική τεχνική η οποία εκτιμά την οστική πυκνότητα κεντρικά, στην

σπονδυλική στήλη, στο ισχίο, στο αντιβράχιο και σε ολόκληρο το σώμα. Παρέχει σημαντικές πληροφορίες τόσο για την κατανομή της οστικής μάζας, όσο και για την κατανομή και την ποσότητα του υποκείμενου λίπους και των μυϊκών μαζών.

Επιπρόσθετα, η μέθοδος DEXA αποτελεί μια προσιτή και ταχεία εξέταση, με υψηλό δείκτη ακριβείας (0.5-2%, απόκλιση της μετρούμενης τιμής της BMD από την αντίστοιχη πραγματική τιμή), με μεγάλη δυνατότητα πρόγνωσης κατάγματος, με σταθερή βαθμονόμηση (calibration) και χαμηλό κόστος αλλά κυρίως με χαμηλή λήψη ακτινοβολίας σε απόσταση 1 μέτρου (<1 μ R). Η μέθοδος DEXA, προσδιορίζει την περιεκτικότητα του οστού σε μεταλλικά στοιχεία και με αυτό τον τρόπο καθίσταται εφικτός ο υπολογισμός της οστικής πυκνότητας. Η μέτρηση της οστικής πυκνότητας θεωρείται ανάλογη της οστικής μάζας εφόσον βέβαια η σχέση κολλαγόνου προς υδροξυαπαιτίτη παραμένει σταθερή.⁷⁹ Μέσω των μονάδων DEXA παρέχεται επίσης η δυνατότητα αξιολόγησης των σπονδυλικών παραμορφώσεων και των σπονδυλικών καταγμάτων. Η μέθοδος ονομάζεται VFA/Vertebral Fracture Assessment και χρησιμοποιεί την οπτική ημιποσοτική τεχνική κατά Genant.⁸⁰

Για τον έλεγχο της οστεοπόρωσης στους ανθρώπους οι διεθνείς οργανισμοί Οστεοπόρωσης και κλινικής Πυκνομετρίας (NOF / National Osteoporosis Foundation, ISCD / International Society Clinical Densitometry) συστήνουν την μέτρηση της οστικής πυκνότητας σε δυο ανατομικές θέσεις: στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (O1-O4) και στο μη επικρατές ισχίο (αυχέννας και ολικό ισχίο) και αξιολογούνται οι χαμηλότερες τιμές. Από την αξιολόγηση της οστικής πυκνότητας ο ασθενής κατατάσσεται σε φυσιολογικό, οστεοπενικό και οστεοπορωτικό.⁸¹ Σε κάθε μέτρηση αξιολογείται και συγκρίνεται η μέση πυκνότητα της υπό μελέτη περιοχής, με την αντίστοιχη μέση τιμή οστικής πυκνότητας (BMD) υγείων νεαρών ατόμων ηλικίας 20-29 ετών (T-score). Επίσης αξιολογείται και

συγκρίνεται και με την μέση τιμή BMD της υπό εξέταση περιοχής με υγιές άτομο του ίδιου φύλου και ηλικίας και λοιπών χαρακτηριστικών με αυτά του εξεταζόμενου (Z-score). Ο έλεγχος και η αξιολόγηση της οστικής πυκνότητας με την μέθοδο DEXA θα πρέπει να γίνεται με τις ακόλουθες παραμέτρους:

α) Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και άνδρες ηλικίας μεγαλύτερης των 50 ετών η κατάταξη διενεργείται με βάση το T-score. Σύμφωνα με τις τιμές μέτρησης με DEXA που υιοθετήθηκαν από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.) το 1994 και την Διεθνή Εταιρεία Κλινικής Πυκνομετρίας (ISCD, International Society for Clinical Densitometry) ένα μεγαλύτερο του -1.5, εκλαμβάνεται ως φυσιολογικό, ως «οστεοπενικός» ορίζεται ο ασθενής με τιμές T-Score από -1 έως -2.5 SD (γκρίζα περιοχή της νόσου) και «οστεοπορωτικός» όταν οι τιμές του T-Score είναι μικρότερες των -2.5 SD. Τέλος, «εγκατεστημένη οστεοπόρωση» θεωρείται όταν οι τιμές του T-score είναι μικρότερες των -2.5 SD, με ταυτόχρονη συνύπαρξη ενός ή περισσότερων οστεοπορωτικών καταγμάτων. Στον επανέλεγχο συνίσταται πάντα σύγκριση των τιμών της BMD και όχι του T-score. Επισημαίνεται, πως όταν οι εξεταζόμενοι ασθενείς ξεπερνούν το 80^ο έτος της ηλικίας τους, θεωρείται ορθότερο να εκτιμάται ο Z-score έναντι του T-score.

(β) Σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και άνδρες ηλικίας μικρότερης των 50 ετών η κατάταξη γίνεται βάση του Z-score. Το αποτέλεσμα των μετρήσεων θεωρείται «μέσα στο αναμενόμενο για την ηλικία» αν ο εξεταζόμενος έχει τιμές Z-score μεγαλύτερες των -2 SD και «κατώτερο του αναμενόμενου για την ηλικία» αν έχει τιμές μικρότερες των -2 SD.⁸² Από τον Οκτώβριο του 2011, μετά την δημοσιοποίηση των οδηγιών διαγνωστικής και θεραπευτικής προσέγγισης της οστεοπόρωσης που εκδόθηκαν από τον ΕΟΦ, τα κριτήρια των ασθενών που θα πρέπει να υποβάλλονται σε μέτρηση οστικής πυκνότητας ανάλογα με την ηλικία τους αναγράφονται στον Πίνακα 2.

Ηλικία <50 ετών	
Ιστορικό κατάγματος χαμηλής βίας	Πρωτοπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός
Υπογοναδισμός	Φάρμακα που η μακροχρόνια χορήγηση τους σχετίζεται με απώλεια οστικής μάζας (στεροειδή, αναστολείς αρωματάσης κ.α.)
Πρώιμη εμμηνόπαυση < από 45 ετών	Νοσήματα που σχετίζονται με απώλεια οστικής μάζας (ρευματοειδής αρθρίτιδα, σύνδρομο Cushing, σακχαρώδης διαβήτης τύπου I, κ.α.)
Σύνδρομα δυσαπορρόφησης	
Ηλικία 50-64 ετών	
Εμφάνιση κατάγματος χαμηλής βίας μετά την ηλικία των 40 ετών	Βάρος < από 60 Kgr και απώλεια βάρους > από το 10% ο βάρος σε ηλικία 25 ετών
Κάταγμα ισχίου γονέα	Ημερήσια κατανάλωση αλκοόλ ≥ από 25-30 gr ημερησίως και κάπνισμα
Σπονδυλικό κάταγμα ή οστεοπενική απεικόνιση των οστών στην ακτινογραφία	Έτεροι παράγοντες και νόσοι (παρόμοιοι με την ηλικιακοί ομάδα των 50 ετών)
Ηλικία ≥ 65 ετών	
Όλοι οι άνδρες και οι γυναίκες	

Πίνακας 2. Κλινικές ενδείξεις μέτρησης οστικής πυκνότητας.⁸¹

Σήμερα υπάρχουν πολλές μέθοδοι και τεχνικές μέτρησης της οστικής μάζας. Παράλληλα με την μέθοδο DEXA έχουν αναπτυχθεί και άλλες προσπελάσεις με μέτρηση της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης και πιο πρόσφατα, παραλλαγές της DXA και της ποσοτικής υπολογιστικής τομογραφίας (Quantitative Computed Tomography, QCT) με περιφερική μέτρηση, με φορητές συσκευές.

Η **Ποσοτική υπερηχοτομογραφία (QUS)** αποτελεί μια εναλλακτική μέθοδο εκτίμησης της οστικής πυκνότητας σε ευπρόσιτες θέσεις όπως είναι το οπίσθιο τμήμα της πτέρνας και η άπω μετάφυση των εγγύς φαλάγγων. Η μέθοδος εκτιμά και άλλες

παραμέτρους πλην της BMD, όπως την εξασθένηση της δέσμης ηχητικών κυμάτων / BUA (Broadband Ultrasound Attenuation) και την ταχύτητα μετάδοσης του ήχου/SOS (Speed Of Sound), οι οποίες εκφράζονται σε dB / MHz και σε m/sec αντιστοίχως. Η BUA σχετίζεται με την υφή του οστού και φαίνεται ότι εκτιμά κατά προσέγγιση τον κίνδυνο κατάγματος, ενώ η παράμετρος SOS σχετίζεται με τις μηχανικές ιδιότητες του οστού, εκτιμώντας κυρίως την ελαστικότητα και την ακαμψία του οστού.⁸³ Η μέθοδος QUS αποτελεί μια ταχεία, ανώδυνη, μέθοδο εκτίμησης της BMD με χαμηλά ποσοστά ακτινοβολίας. Στα πλεονεκτήματα της μεθόδου επίσης συμπεριλαμβάνονται χαμηλό κόστος των μηχανημάτων, με αποτέλεσμα η μέθοδος να παρουσιάζει ευρεία διαθεσιμότητα όπως επίσης και η μεγάλη διαθεσιμότητα της μεθόδου, καθώς οι μονάδες μέτρησης είναι φορήτες με μικρό όγκο και χαμηλό βάρος. Η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα της μεθόδου ωστόσο, θεωρούνται υποδεέστερες έναντι των άλλων μεθόδων οστικής πυκνομετρίας. Τα κύρια μειονεκτήματα της μεθόδου QUS συνοψίζονται αφενός στην απουσία μεγάλης βάσεως δεδομένων αναφοράς νεαρών ατόμων ελέγχου, το οποίο έχει ως συνέπεια τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις να μην είναι συγκρίσιμα μεταξύ τους και αφετέρου στο σημαντικό αριθμός ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.⁸⁴ Σύμφωνα με το Διεθνές Ινστιτούτο Οστεοπόρωσης (International Osteoporosis Foundation, IOF), η μέθοδος συνίσταται για την εκτίμηση του κινδύνου κατάγματος και όχι για την διάγνωση και την κατάταξη του ασθενούς σε φυσιολογικό, οστεοπενικό ή οστεοπορωτικό.⁸⁵

Η ποσοτική υπολογιστική τομογραφία (Quantitative Computed Tomography, QCT) αποτελεί μια τροποποιημένη μέθοδο υπολογιστικής τομογραφίας, η οποία αναπαριστά την αληθή ογκομετρική τρισδιάστατη μέτρηση της οστικής πυκνότητας και το αποτέλεσμα εκφράζεται σε g/cm^2 . Οι μετρήσεις

διενεργούνται στην σπονδυλική στήλη, στον αυχένα του μηριαίου οστού, στην κάτω γνάθο, στην κνήμη και το αντιβράχιο. Η μέθοδος διακρίνεται στην δισδιάστατη (2D: ανάλυση περιοχής ενδιαφέροντος ανά pixel / ROI) και τα τελευταία χρόνια στην τρισδιάστατη (3D: ανάλυση περιοχής ενδιαφέροντος ανά voxel / VOI) ή ογκομετρική (vQCT). Αποτελεί την μοναδική μέθοδο, η οποία προσμετρά την οστική πυκνότητα ξεχωριστά στο σπογγώδες και στο φλοιώδες τμήμα των οστικών επιφανειών και ως εκ τούτου, θεωρείται η μέθοδος με την μεγαλύτερη ευαισθησία. Η ακρίβεια της εκάστοτε μέτρησης κυμαίνεται στο 5-10%, ενώ η επαναληψιμότητα της μεθόδου ανέρχεται στο 2-4%. Επίσης η ογκομετρική εκτίμηση συγκεκριμένων περιοχών, έχει ως αποτέλεσμα την ικανοποιητική μελέτη της μηχανικής αντοχής των οστών. Σημαντικά μειονεκτήματα της μεθόδου αποτελούν το σχετικά υψηλό κόστος, η μεγάλη διάρκεια εξέτασης και η υψηλή έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία (50 mSv).⁸⁶

Τα συστήματα περιφερικής ποσοτικής τομογραφίας (peripheral Quantitative Computed Tomography, pQCT) αποτελούν αυτόματα συστήματα προσδιορισμού της οστικής πυκνότητας στην περιοχή του άπω τμήματος της κερκίδας και της ωλένης ή της κνήμης. Το σύστημα μέτρησης pQCT είναι ένας μικρός φορητός αξονικός τομογράφος με χαμηλό κόστος ο οποίος έχει την ικανότητα να διαχωρίζει το σπογγώδες από το φλοιώδες οστόν, προσδιορίζοντας ταυτόχρονα και τις γεωμετρικές παραμέτρους του οστού μέσω μιας τομής πάχους μόλις 2.5mm και τα αποτελέσματα εκφράζονται σε mg/cm.^{3,87,88} Η εξέταση απαιτεί χρόνο 200 sec, συν επιπλέον χρόνο 10 sec για την ανασύνθεση της εικόνας. Η δόση ακτινοβολίας για την τομή των 2,5 mm είναι ισοδύναμη με 0,03 mSv. Η in vivo ακρίβεια της μεθόδου για την ολική BMD κερκίδας είναι 0,8 CV και για την BMD σπογγώδους οστού 1,6 CV.⁸⁹ Στα μειονεκτήματα της μεθόδου συμπεριλαμβάνονται η μικρή διαθεσιμότητα στη χώρα μας, η αδυναμία μέτρησης στην περιοχή του αυχένα του μηριαίου οστού

και της σπονδυλικής στήλης, καθώς και τα περιορισμένα δεδομένα φυσιολογικών τιμών αναφοράς.

Ο μαγνητικός συντονισμός (Magnetic Resonance Imaging, MRI) δεν παρέχει πληροφορίες για την πυκνότητα του οστού, ωστόσο η κυριότερη εφαρμογή του στην οστεοπόρωση στηρίζεται στην μελέτη της αρχιτεκτονικής του σπογγώδους ιστού και των οστεοδοκίδων. Η ανάδειξη των αποτελεσμάτων καθίσταται εφικτήμέσα από την «αποκωδικοποίηση» των μεταβολών του σήματος του μυελού των οστών. Επίσης, η MRI αποτελεί την μέθοδο εκλογής για την διαφορική διάγνωση οστεοπορωτικών και κακοήθους αιτιολογίας σπονδυλικών καταγμάτων διατηρώντας το πλεονέκτημα της πολυεπίπεδης απεικόνισης. Η διαφορική διάγνωση είναι συχνά δύσκολή αλλά ιδιαίτερα σημαντική, για την ανεύρεση της κατάλληλης θεραπευτικής προσέγγισης για τον ασθενή.⁹⁰ Μια δεύτερη εφαρμογή του μαγνητικού συντονισμού στην οστεοπόρωση αποτελεί, η μελέτη του σπογγώδους ιστού μέσω του μαγνητικού συντονισμού υψηλής ευκρίνειας (High Resolution MRI, HR-MRI) . Με αυτό τον τρόπο, καθίσταται εφικτή η εκτίμηση της ποιότητας του οστού αλλά κυρίως ελέγχεται ο κίνδυνος ανάπτυξης οστεοπορωτικού κατάγματος. Οι μετρήσεις διενεργούνται στον περιφερικό σκελετό σε περιοχές πλούσιες σε σπογγώδη ιστό (εγγύς μηριαίο οστό, στην πτέρνα, στην κερκίδα και την ωλένη) λόγω των περιορισμών θορύβου/σήματος στον κεντρικό σκελετό.⁹¹

3.3.3. Βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού

Για την διάγνωση και την αξιολόγηση της μετεμμηνοπαυσιακής ή της γεροντικής οστεοπόρωσης, απαιτείται η διενέργεια τόσο βιοχημικών όσο και απεικονιστικών εξετάσεων, για τον αποκλεισμό των δευτεροπαθών αιτιών της οστεοπόρωσης και τον καθορισμό του καταγματικού κινδύνου. Οι κυριότερες εργαστηριακές βιοχημικές εξετάσεις που απαιτούνται για την διαλογή και την

εκτίμηση του οστεοπορωτικού ασθενή είναι: η γενική αίματος, η T.K.E, η ηλεκτροφόρηση λευκωμάτων ορού (για αποκλεισμό κακοήθειας, πολλαπλού μυελώματος), η αλκαλική φωσφατάση ορού, η κρεατινίνη ορού, το ασβέστιο ορού (διορθωμένο ως προς την αλβουμίνη ορού), ο φωσφόρος ορού και το ασβέστιο ούρων 24ώρου. Σε περίπτωση που οι τιμές των δεικτών αυτών είναι φυσιολογικές μπορεί να αποκλειστεί κατά 90% περίπου μια δευτεροπαθής μορφή οστεοπόρωσης.⁸¹ Εν συνεχεία, θα ακολουθήσουν δεύτερης γραμμής διαγνωστικές εξετάσεις για τον αποκλεισμό της δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης όπως είναι η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη (TSH), η παραθορμόνη (PTH), η 25 υδρόξυ-βιταμίνη D (25OHD), η τεστοστερόνη στους άνδρες (υπογοναδισμός), η ανοσοηλεκτροφόρηση ορού και ούρων (αιματολογικά νοσήματα), τα αντισώματα έναντι της τρανσγλουταμινάσης (κοιλιοκάκη), η τρυπτάση ορού (μαστοκύττωση), και η κορτιζόλη ορού μετά καταστολή με δεξαμεθαζόνη (σύνδρομο Cushing).

Οι βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού, αποτελούν ένζυμα ή μόρια της θεμέλιας ουσίας του οστίτη ιστού που παράγονται κατά την διαδικασία της οστικής εναλλαγής και συνδέονται είτε με την οστεοβλαστική δραστηριότητα και ονομάζονται δείκτες οστικής παραγωγής, είτε με την οστεοκλαστική δραστηριότητα και ονομάζονται δείκτες οστικής απορρόφησης. Ο προσδιορισμός τους διενεργείται με εργαστηριακές εξετάσεις ούρων και αίματος, επιτρέποντας έτσι την αδρή ποσοτική εκτίμηση του ισοζυγίου μεταξύ οστικού σχηματισμού και αποδόμησης.⁹² Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση και αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στην Ελλάδα του Ελληνικού Ιδρύματος Οστεοπόρωσης, συνιστάται η μέτρηση ενός δείκτη οστικής παραγωγής και ενός οστικής απορρόφησης πριν και 3-6 μήνες μετά την έναρξη της αντιοστεοκλαστικής θεραπείας.⁹³ Οι κυριότεροι δείκτες οστικής παραγωγής και απορρόφησης αναγράφονται στον Πίνακα 14.

<i>Δείκτες Οστικής Παραγωγής</i>	<i>Δείκτες Οστικής Απορρόφησης</i>
<i>Αίμα</i>	<i>Αίμα</i>
Αλκαλική Φωσφατάση	N- τελοπεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου I (NTX)
Οστικό κλάσμα αλκαλική Φωσφατάση	C - τελοπεπτίδιο του κολλαγόνου τύπου I (PICP)
N- τελικό προπεπτίδιο του Προκολλαγόνου τύπου I (PINP)	Ανθεκτική στο άλας του τρυγικού οξέος όξινη φωσφατάση
C - τελικό προπεπτίδιο του Προκολλαγόνου τύπου I (PICP)	Ουσία που συνδέεται με τον υποδοχέα που ενεργοποιεί τον παράγοντα κΒ (RANKL)
Οστεοκαλσίνη	
Οστεοπροτεγερίνη	<i>Ούρα</i>
	Ασβέστιο / Κρεατινίνη
	Υδροξυπρολίνη / Κρεατινίνη
	Πυριδινολίνη / Κρεατινίνη
	Δεόξυπυριδινολίνη / Κρεατινίνη
	NTX/ Κρεατινίνη

Πίνακας 14. Δείκτες οστικού μεταβολισμού.²

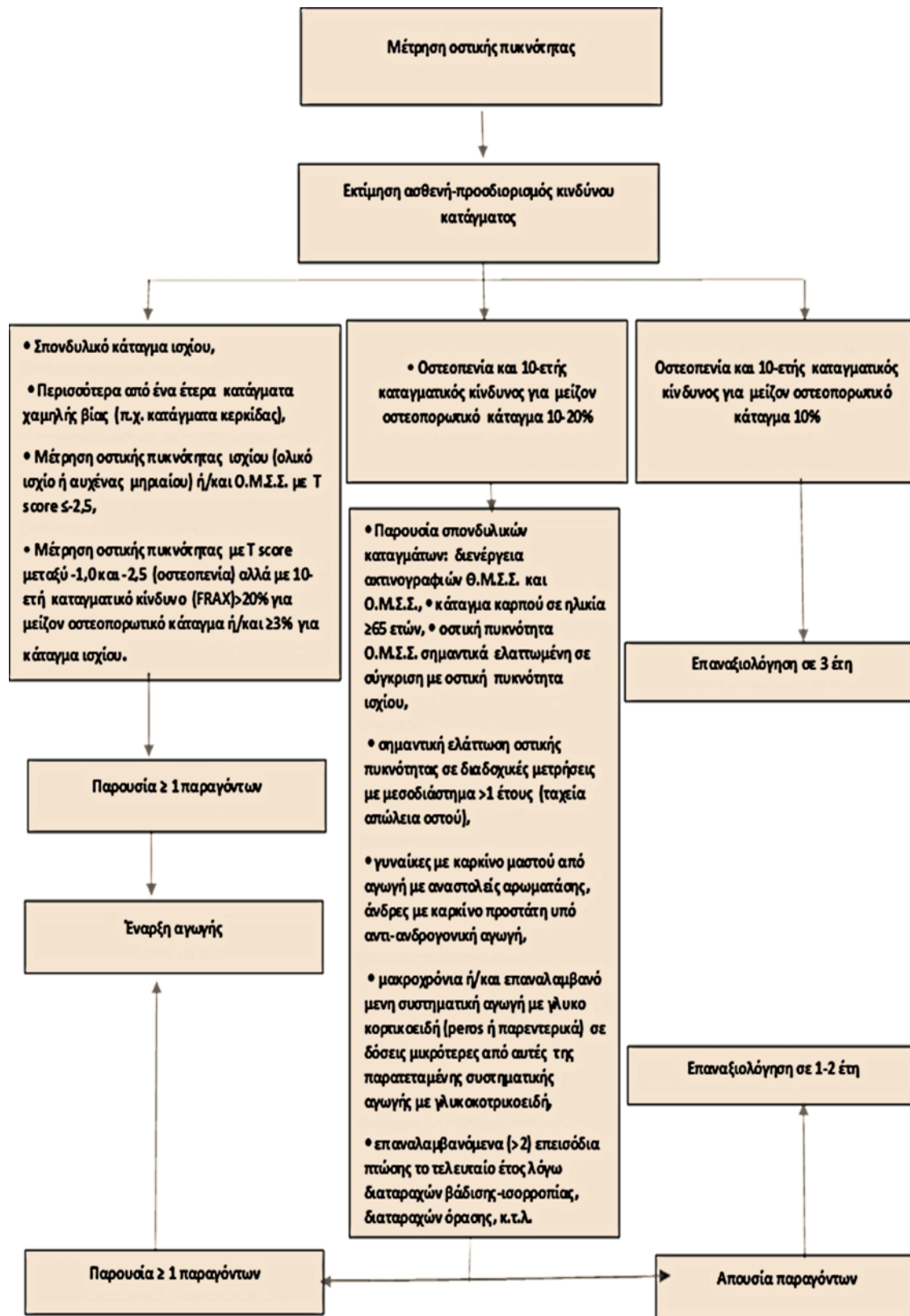
Οι ΒΔΟΜ αποτελούν πολύτιμο εργαλείο στην εκτίμηση της δυναμικής φύσης του ανθρώπινου σκελετού. Η ικανότητα των ΒΔΟΜ να προδικάζουν την εμφάνιση κατάγματος, ήταν ανεξάρτητη από την μέτρηση της οστικής πυκνότητας. Ωστόσο, η συνεκτίμηση των επιπέδων ΒΔΟΜ και του αποτελέσματος της DEXA οδηγούσε σε αύξηση της ειδικότητας στη πρόγνωση του συνολικού καταγματικού κινδύνου. Διάφορες προοπτικές μελέτες τεκμηριώνουν τη συσχέτιση υψηλών επιπέδων ΒΔΟΜ με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης σπονδυλικού ή μη σπονδυλικού κατάγματος.

Επομένως, οι γυναίκες με χαμηλή BMD και αυξημένα επίπεδα βιοχημικών οστικών δεικτών, διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης αναίτιου κατάγματος.^{94,95}

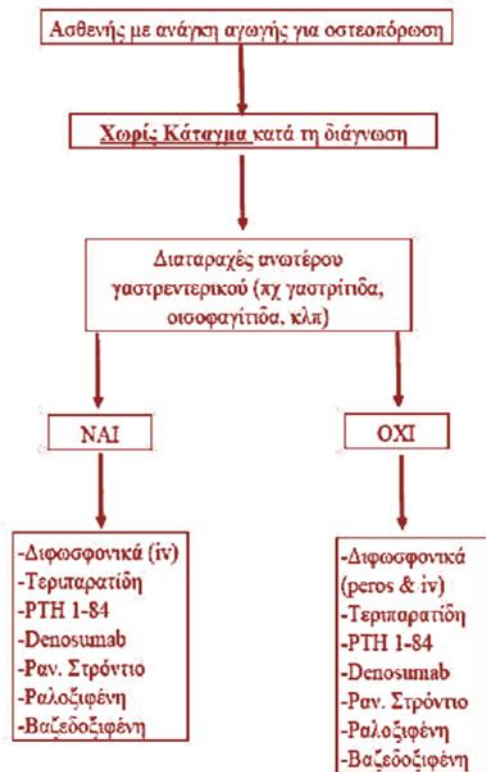
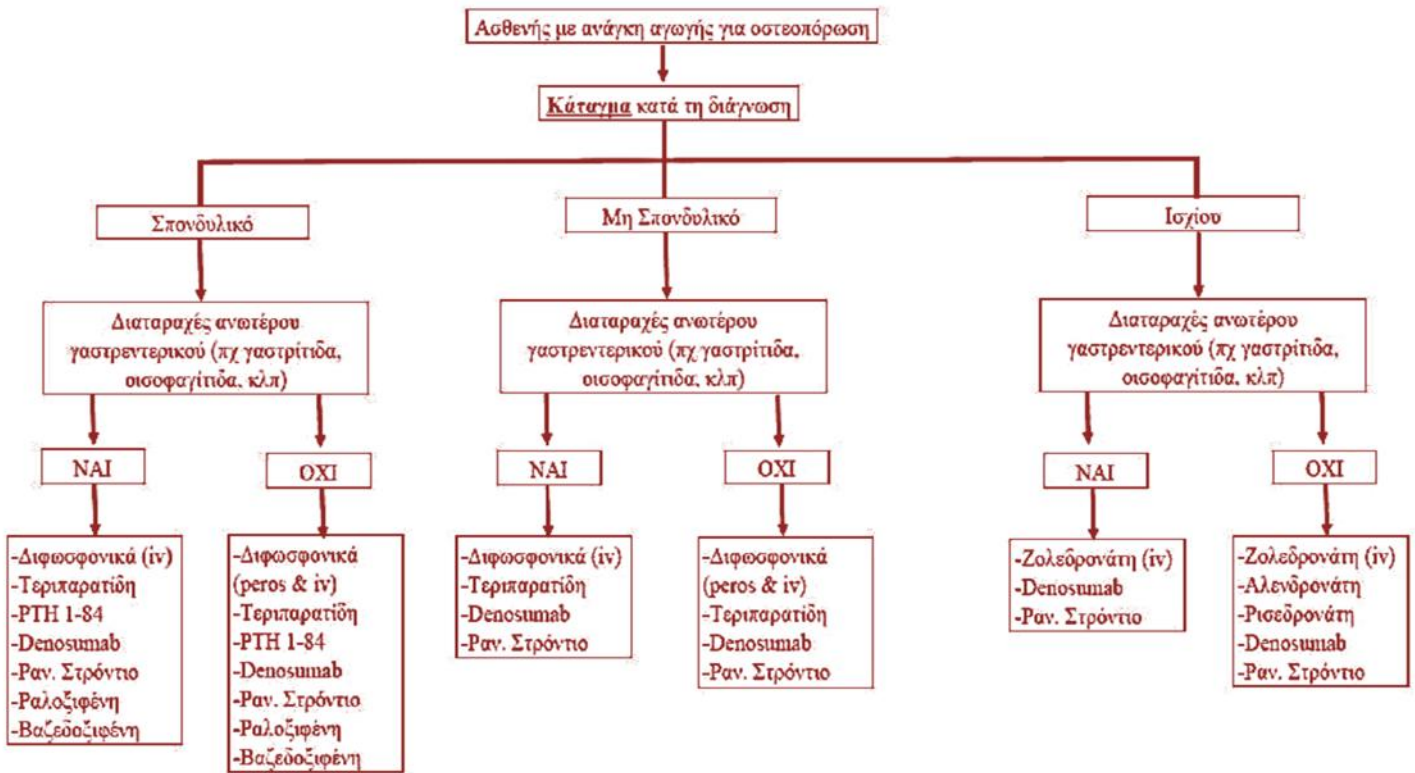
Ένα από τα μειονεκτήματα της μεθόδου DEXA είναι η βραδύτητα στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας μιας θεραπείας, μιας που η μεταβολή της BMD είναι μικρή και βραδεία. Αντιθέτως, οι ΒΔΟΕ παρουσιάζουν σημαντικές μεταβολές μόλις σε διάστημα 3-6 μηνών.^{96,97} Επίσης οι μελέτες, FIT,⁹⁵ HORIZON,⁹⁴ MORE⁹⁸ δείχνουν, πως όσο μεγαλύτερη είναι η μείωση των ΒΔΟΕ μετά από την λήψη αντιστεοκλαστικής θεραπείας, τόσο μεγαλύτερη είναι η μείωση του κινδύνου κατάγματος (σπονδυλικά, μη σπονδυλικά). Η πρώιμη μείωση των ΒΔΟΜ μετά την έναρξη αντιστεοκλαστικής αγωγής συσχετίζεται θετικά με μελλοντική αύξηση της BMD και μείωση του καταγματικού κινδύνου, επομένως μπορεί να προδικάσει μια αποτελεσματική θεραπεία.

3.4. Θεραπευτική προσέγγιση της οστεοπόρωσης

Στόχο κάθε θεραπευτικής προσέγγισης στην οστεοπόρωση αποτελεί η μείωση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας, που οφείλεται στην πρόκληση κάποιου αναίτιου κατάγματος. Η πρόληψη εμφάνισης καταγμάτων και ιδιαίτερα του πρώτου σπονδυλικού κατάγματος είναι υψίστης σημασίας καθώς, οι πιθανότητες εμφάνισης και άλλων καταγμάτων πολλαπλασιάζονται σημαντικά, εξαιτίας των αλλαγών που παρατηρούνται στην εμβιομηχανική της σπονδυλικής στήλης από την παθοφυσιολογία της νόσου. Ασθενείς που έχουν υποστεί κάποιο κάταγμα στο παρελθόν στον περιφερικό σκελετό, διατρέχουν 2-8 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να υποστούν και κάποιο νέο κάταγμα σε οποιαδήποτε περιοχή του σκελετού.⁹⁹ Από τον Οκτώβριο του 2011, διατυπώθηκαν και ισχύουν οι «Οδηγίες διαγνωστικής και θεραπευτικής προσέγγισης της οστεοπόρωσης» του ΕΟΦ.⁸¹ Τα κριτήρια έναρξης φαρμακευτικής αγωγής περιγράφονται στον αλγόριθμο 1.



Αλγόριθμος 1. Αλγόριθμος προσδιορισμού ανάγκης θεραπείας μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και ανδρών ≥ 50 ετών.²



Αλγόριθμος 2. Αλγόριθμος αντιμετώπισης μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.²

3.4.1 Φαρμακευτικές παρεμβάσεις

Διφωσφονικά

Τα διφωσφονικά αποτελούν την θεραπεία πρώτης επιλογής για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με εγκατεστημένη οστεοπόρωση, εξαιτίας της ισχυρής αντιστεοκλαστικής τους δράσης και της ευεργετικής τους επίδρασης στον οστικό μεταβολισμό. Εξαιτίας της διαφορετικότητας που παρουσιάζουν τα διφωσφονικά στις πλάγιες αλυσίδες τους, έχουν ανιχνευθεί έως σήμερα πέντε είδη διφωσφονικών με διαφορετικές βιολογικές και βιοχημικές ιδιότητες και παρατίθενται με την σειρά εισαγωγής τους στην κλινική πράξη: η ετιδρονάτη, η αλενδρονάτη, η ριζεδρονάτη, η ιμπανδρονάτη και η ζολενδρονάτη.

Η ετιδρονάτη συνετέθη το 1987 και αποτέλεσε το πρώτο διφωσφονικό, το οποίο εκτιμήθηκε για την αντικαταγματική του δράση. Η θεραπευτική δόση της ετιδρονάτης είναι 400 mg ημερησίως για 2 εβδομάδες και στην συνέχεια διακόπτεται η χορήγηση της για 3 μήνες και μπορεί να επαναληφθεί η χορήγηση της εν ενθέτω χρόνο. Η διακεκομμένη χορήγηση της ετιδρονάτης, στοχεύει στην αποφυγή καταστολής της οστεοβλαστικής δραστηριότητας και την αποφυγή επιμετάλλωσης του παραγόμενου οστεοειδούς. Σε 2 τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες, η ετιδρονάτη επέφερε σημαντική αύξηση της BMD και είχε αποτελεσματικότητα στην πρόληψη νέων σπονδυλικών καταγμάτων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με βαριά οστεοπόρωση.^{100,101} Η αλενδρονάτη αποτελεί το πρώτο διφωσφονικό δεύτερης γενεάς και συνετέθη το 1996. Η δοσολογία της αλενδρονάτης είναι 10 mg ημερησίως από το στόμα, ή εβδομαδιαία εφάπαξ χορήγηση των 70 mg. Στην μελέτη FIT, η αλενδρονάτη μείωσε τη συχνότητα των σπονδυλικών καταγμάτων, των καταγμάτων του ισχίου και εκείνων του καρπού σε ποσοστό 50% εντός τριών ετών, ενώ ο κίνδυνος των

πολλαπλών σπονδυλικών καταγμάτων μειώθηκε σε ποσοστό 90%σε ασθενείς με προϋπάρχοντα κατάγματα.¹⁰² Σε μία σειρά μετα-αναλύσεων που διεξήχθησαν από την της ORAG, η αλενδρονάτη σε δόση ≥ 5 mg ημερησίως κατάφερε να μειώσει τον σχετικό κίνδυνο σπονδυλικού κατάγματος κατά 48%ενώ σε δόση ≥ 10 mg ημερησίως κατάφερε να μειώσει τον σχετικό κίνδυνο μη σπονδυλικών καταγμάτων κατά 49% . Επίσης η χορήγηση 10 mg αλενδρονάτης για 3 έτη, κατάφερε να αυξήσει σημαντικά την BMD σε διάφορα σημεία του σκελετού.¹⁰³

Η ριζενδονάτη, αποτελεί πυριδυνλικό διφωσφονικό δεύτερης γενιάς και η συνιστώμενη δοσολογία είναι 5 mg ημερησίως από το στόμα ή 35mg εβδομαδιαίως ή 150 mg μηνιαίως (στην Ελλάδα 75 mg από του στόματος σε 2 συνεχόμενες μέρες). Στην μελέτη VERT, η ριζενδονάτη απέδειξε την αποτελεσματικότητα της μειώνοντας των κίνδυνο εμφάνισης σπονδυλικού κατάγματος κατά 65% και 61% μόλις στο πρώτο έτος θεραπείας.^{104,105} Αντίστοιχα ήταν και τα αποτελέσματα της μελέτης HIP, όπου τεκμηριώθηκε η αποτελεσματικότητα της αλενδρονάτης τόσο στην αύξηση της οστικής μάζας όσο και κυρίως στην μείωση των σπονδυλικών καταγμάτων και των καταγμάτων ισχίου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με προϋπάρχον σπονδυλικό κάταγμα.¹⁰⁶ Η αντικαταγματική δράση της ριζεδρονάτης, διατηρείται και στα 5 έτη θεραπείας όπως προκύπτει από την μελέτη VERT-MN.¹⁰⁷ Η ιβανδρονάτη, ανήκει στα αμινοδιφωσφονικά δεύτερης γενεάς και έχει 10 φορές ισχυρότερη δράση σε σχέση με την αλενδρονάτη. Η χορήγηση της ιβανδρονάτης είναι διαθέσιμη σε 3 θεραπευτικά σχήματα: 2.5 mg ημερησίως ή 150 mg μηνιαίως, από του στόματος χορήγηση ή 3 mg ενδοφλεβίως, κάθε 3 μήνες. Η χορήγηση της υποστηρίζεται από μεγάλες μελέτες όπως η BONE,σε ημερήσια δόση των 2.5 mg και η MOBILE σε 150 mg όπου διαπίστωσαν αύξηση της οστικής πυκνότητας στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και του ισχίου καθώς και σημαντική μείωση των μορφωμετρικών

σπονδυλικών καταγμάτων. Νεότερα δεδομένα επιβεβαιώνουν την αποτελεσματική και ασφαλή χορήγηση τόσο του από του στόματος όσο και του ενδοφλεβίου σχήματος για πέντε έτη.¹⁰⁸ Τέλος το ζολενδρονικό οξύ, ανήκει στα διφωσφονικά τελευταίας γενεάς και χορηγείται ανά έτος σε δοσολογία 5 mg ενδοφλεβίως, βραδέως. Δύο μεγάλες κλινικές μελέτες, με μεγάλο αριθμό μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητά του τόσο στα σπονδυλικά, όσο και στα μη σπονδυλικά κατάγματα καθώς και στα κατάγματα του ισχίου.¹⁰⁹

Οι σημαντικότερες παρενέργειες που αναφέρονται μετά την χορήγηση διφωσφονικών είναι η εμφάνιση γριπώδους συνδρομής, υπερπυρεξία, ωτοτοξικότητα, δερματικά εξανθήματα και ασθματικές κρίσεις. Ασφαλώς, όπως σε όλα τα διφωσφονικά, στην ζολενδρονάτη χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή όταν χορηγείται σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (φόβος εγκυμοσύνης). Σχετική αντένδειξη αποτελεί η χορήγηση της, σε ασθενείς με χαμηλή κάθαρση κρεατινίνης (<35 ml/min). Μετά από μακροχρόνια χορήγηση διφωσφονικών μπορεί να παρατηρηθούν, ήπια δυσπεπτικά φαινόμενα μέχρι βαριές μορφές ελκώδους οισοφαγίτιδας. Για την αποφυγή τους, συνίσταται η πρόσληψη του φαρμάκου με πολύ νερό και η αποφυγή κατάκλισης μετά την λήψη του σκευάσματος. Λόγω των παρενεργειών και του πρωτοκόλλου λήψεως των διφωσφονικών, η συμμόρφωση στην θεραπεία είναι σχετικά χαμηλή. Με την ανάπτυξη των μηνιαίων και ετησίων σχημάτων χορήγησης, αναμένεται να διερευνηθεί σε μελλοντικές μελέτες η συμμόρφωση των ασθενών στην θεραπευτική αγωγή.

Καλσιτονίνη

Η καλσιτονίνη είναι ένα πολυπεπτίδιο με 32 αμινοξέα, που παράγεται και εκκρίνεται από τα παραθυλακίωδη κύτταρα του θυρεοειδούς (κύτταρα C). Η κύρια

φυσιολογική δράση της καλσιτονίνης είναι, η ελάττωση του ασβεστίου του ορρού. Η καλσιτονίνη ασκεί επίσης και αναλγητική δράση, όταν χορηγείται αμέσως μετά την εμφάνιση οστεοπορωτικού σπονδυλικού κατάγματος. Η αντιοστεοκλαστική δράση της καλσιτονίνης είναι δοσοεξαρτώμενη, διότι η αδρανοποίηση των οστεοκλαστών μετά από την χορήγηση καλσιτονίνης είναι παροδική και μετά από ένα σύντομο χρονικό διάστημα η οστεοκλάστη επανευρίσκει την φυσιολογική της λειτουργία. Επομένως, η χορήγηση της συνίσταται στις περιπτώσεις που παρατηρείται αυξημένος ρυθμός οστικής εναλλαγής. Η αποτελεσματικότερη δοσολογία της καλσιτονίνης είναι εκείνη των 200 iu ημερησίως, μέσω ρινικού spray. Το 2012, η Επιτροπή Φαρμάκων για Ανθρώπινη Χρήση (CHMP) του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων συστήνει ότι τα φαρμακευτικά προϊόντα που περιέχουν καλσιτονίνη θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για μικρό χρονικό διάστημα, λόγω ενδείξεων ότι η μακροχρόνια χρήση αυτών των φαρμάκων, συσχετίζεται με έναν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου(Δελτίο τύπου ΕΟΦ 23/7/2012). Μετά από την διαπίστωση αυτή η καλσιτονίνη είναι πλέον διαθέσιμη μόνο ως διάλυμα για ένεση και έγχυση και χρησιμοποιείται μόνο στις ακόλουθες περιπτώσεις, στο πιο σύντομο δυνατό χρονικό διάστημα και χρησιμοποιώντας την ελάχιστη αποτελεσματική δόση:

- Πρόληψη της οξείας απώλειας οστικής μάζας εξαιτίας αιφνίδιας ακινητοποίησης, με συνιστώμενη διάρκεια χορήγησης δύο έως τέσσερις εβδομάδες.
- Στη νόσο Paget, σε ασθενείς που δεν ανταποκρίνονται σε εναλλακτικές θεραπείες ή για εκείνους στους οποίους τέτοιες θεραπείες δεν είναι κατάλληλες, ωστόσο η θεραπεία θα πρέπει να περιορίζεται στους τρεις μήνες.
- Υπερασβεσταιμία που προκαλείται από καρκίνο.

Εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων (Selective Estrogen Receptor Modulators – SERMs)

Οι εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων είναι ουσίες που αλληλεπιδρούν με ορισμένους οιστρογονικούς υποδοχείς με διαφορετικό τρόπο από ότι τα οιστρογόνα, ευνοώντας με αυτό τον τρόπο την έκφραση διαφορετικών γονιδίων. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα SERMs να ασκούν τόσοσυναγωνιστικές όσο και ανταγωνιστικές επιδράσεις ταυτόχρονα, ανάλογα με το είδος του ιστού.¹¹⁰ Στα οστά, ασκούν οιστρογονική δράση μέσω των οιστρογονικών υποδοχέων α(ERα) και β (ERβ) που εκφράζονται τόσο από τους οστεοβλάστες, όσο και από τους οστεοκλάστες. Από τους διάφορους SERMs, οι γνωστότεροι είναι η ραλοξιφένη και η ταμοξιφένη. Οι εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων ενδείκνυται για την θεραπεία μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, με χαμηλή οστική πυκνότητα ή οστεοπόρωση.

Η συνιστώμενη δοσολογία της ραλοξιφαίνης είναι 60 mg ημερησίως, σε συνδυασμό με συμπληρώματα ασβεστίου και βιταμίνης D. Η τετραετής τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη MORE, ανέδειξε την αντικαταγματική δράση της ραλοξιφαίνης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπόρωση.¹¹¹ Παράλληλα παρατηρήθηκε σαφής βελτίωση του λιπιδαιμικού προφίλ των ασθενών που έλαβαν ραλοξιφένη και μειώθηκε σημαντικά ο κίνδυνος των καρδιαγγειακών συμβαμάτων, μεταξύ γυναικών υψηλού κινδύνου και εκείνων με εγκατεστημένη καρδιαγγειακή νόσο.¹¹² Η κυριότερη παρενέργεια και αντένδειξη χορήγησης της ραλοξιφαίνης, είναι η ύπαρξη ιστορικού θρομβοφλεβίτιδας καθώς η θεραπεία με ραλοξιφαίνη συσχετίζεται με αυξημένη συχνότητα φλεβικής θρόμβωσης παρόμοιας με εκείνης των οιστρογόνων.^{113,114,115} Συνίσταται λοιπόν, η διακοπή της ραλοξιφένης τρεις ημέρες πριν την έναρξη μακροχρόνιας ακινητοποίησης.

Η ταμοξιφαίνη χρησιμοποιείται ευρέως για την αντιμετώπιση των επακόλουθων του καρκίνου του μαστού, μειώνοντας τον κίνδυνο υποτροπής κατά 30% για τις ορμονοεξαρτώμενες μορφές της νόσου. Συνίσταται η χορήγηση της ταμοξιφαίνης σε γυναίκες με ιστορικό μαστεκτομής, για την μείωση της οστικής απώλειας. Η σημαντικότερη παρενέργεια του φαρμάκου είναι η υπερπλασία του ενδομητρίου και ο αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του μαστού.¹¹⁶

Το 2009 ένας νέος SERMs, η βαζεδοξιφαίνη ενεκρίθη και κυκλοφόρησε με αποτελεσματικότητα ανάλογη με αυτή της ραλοξιφαίνης. Η βαζεδοξιφαίνη ενδείκνυται για θεραπεία της οστεοπόρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο πρόκλησης κατάγματος, με αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα έναντι των καταγμάτων των σπονδύλων. Η συνιστώμενη δόση της βαζεδοξιφαίνης είναι ένα δισκίο μια φορά την ημέρα.¹¹⁷ Η χρήση της βαζεδοξιφαίνης όπως και των λοιπών SERMs, δεν συνιστάται σε γυναίκες που παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης επεισοδίου φλεβικής θρομβοεμβολής.^{118,119}

Ορμονική θεραπεία υποκατάστασης (ΟΘΥ)

Ο ρόλος της ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης (ΟΘΥ) στην πρόληψη της οστικής απώλειας σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είναι καλά τεκμηριωμένος, καθώς η ΟΘΥ επιφέρει αύξηση της οστικής πυκνότητας σε όλα τα σημεία μέτρησης σύμφωνα με πληθώρα μελετών. Η επίδραση αυτή είναι δόσοεξαρτώμενη και δεν επηρεάζεται από την οδό απορρόφησης (διαδερμική ή από του στόματος) ή τον συνδυασμό με προγεστερόνη.¹²⁰ Τα τελευταία χρόνια καταβάλλεται προσπάθεια, να μειωθεί η δόση του χορηγούμενου οιστρογόνου στα σκευάσματα της ΟΘΥ για την αποφυγή των ανεπιθύμητων ενεργειών. Οι χορηγούμενες δόσεις 17β-οιστραδιόλης

μειώθηκαν στα 0.25-1 mg από το στόμα ή 3-37 μg διαδερμικά, σε αντίθεση με τα 2 mg και τα 50-100 μg αντίστοιχα που χρησιμοποιούνταν κατά το παρελθόν.¹²¹

Η συσχέτιση καρκίνου του μαστού και της ΟΘΥ παραμένει ακόμη αμφιλεγόμενη. Η αιτιολογία του καρκίνου του μαστού δεν είναι γνωστή. Ωστόσο, η παχυσαρκία, η αυξημένη κατανάλωση οινοπνεύματος και η έλλειψη κίνησης αποτελούν γνωστούς προδιαθεσικούς παράγοντες για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού.¹²² Στις περισσότερες μελέτες αναφέρεται αυξημένος κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού μετά τη χορήγηση οιστρογόνων σε συνδυασμό με προγεστερόνη.¹²³ Σε γυναίκες με ακέραια μήτρα, συνίσταται η λήψη προγεστερόνης μαζί με τα οιστρογόνα για την προστασία έναντι του καρκίνου της μήτρας. Η προγεστερόνη χορηγείται κυκλικά για 12-14 ημέρες κάθε μήνα, είτε με κολπικά δισκία προγεστερόνης, είτε με ενδομήτριο σπείραμα λεβονοργεστρέλης στις περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ή συνεχώς στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Σε μια μετανάλυση 51 επιδημιολογικών μελετών, διαπιστώθηκε πως ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού εξαρτάται και από τη διάρκεια της θεραπείας.¹²⁴ Σε ευρωπαϊκές μελέτες, αναφέρεται ότι ο κίνδυνος για τον καρκίνο του μαστού μπορεί να αυξηθεί μετά από 5 χρόνια θεραπείας, ενώ στη Nurses' Health Study αναφέρεται ότι πιθανόν να αυξηθεί μόνο μετά από 15–20 χρόνια θεραπείας. Επίσης, η αύξηση της πυκνότητας των μαστών στη μαστογραφία σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.¹²⁵

Η συστηματική από του στόματος χορήγηση της ΟΘΥ διπλασιάζει τον κίνδυνο ανάπτυξης φλεβικής θρόμβωσης. Ο κίνδυνος αυτός όμως είναι πολύ μικρότερος σε γυναίκες ηλικίας <60 ετών. Ο απόλυτος κίνδυνος στο γενικό πληθυσμό είναι μικρός, αλλά σε γυναίκες με παράγοντες κινδύνου όπως παχυσαρκία, κάπνισμα είναι υπολογίσιμος.¹²⁶ Ειδικά σε φορείς θρομβογόνων πολυμορφισμών, όπως ο

πολυμορφισμός Leiden στον παράγοντα V ή μετάλλαξη G20210A στο γονίδιο της προθρομβίνης II, καθώς και σε ορισμένους πολυμορφισμούς του γονιδίου CY3A5,¹²⁷ η ΟΘΥ αυξάνει κατά πολύ τον κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης. Σε περίπτωση που η υποψήφια για ΟΘΥ αναφέρει παράγοντες κινδύνου για φλεβική θρόμβωση, συστήνεται η χορήγηση διαδερμικής ΟΘΥ, δεδομένου ότι δόσεις διαδερμικής 17β-οιστραδιόλης μέχρι 50γ, με ή χωρίς προγεσταγόνο, δεν αυξάνουν τον κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης. Τέλος, ο κίνδυνος φλεβικών θρομβοεμβολικών επεισοδίων είναι πιθανό να εξαρτάται και από το είδος της προγεστερόνης καθώς ο κίνδυνος αυτός είναι σημαντικά μικρότερος με ορισμένα σκευάσματα, όπως η φυσική προγεστερόνη.¹²⁸ Νεότερα δεδομένα φανερώνουν πως η χρήση διαδερμικών οιστρογόνων χαμηλής δόσης, δεν αυξάνει τον κίνδυνο φλεβικής θρόμβωσης και αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου.^{129,130}

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα αποτελούν την κύρια αιτία θανάτου και νοσηρότητας στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και η ΟΘΥ φαίνεται να έχει πολλαπλές ευεργετικές δράσεις στο καρδιαγγειακό σύστημα. Σε μεγάλες μελέτες (WHI, Nurses Health Study) και σε μια εκτεταμένη μετα-ανάλυση (23 μελετών), παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση ΟΘΥ σε γυναίκες ηλικίας 50–59 ετών (<10 ετών από την εμμηνόπαυση) μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.^{131,132} Εάν όμως η ΟΘΥ χορηγηθεί σε γυναίκες που βρίσκονται 10-20 έτη στην εμμηνόπαυση και το ενδοθήλιο των αγγείων έχει υποστεί ήδη την διαδικασία της αθηρωμάτωσης, είναι πιθανό η θεραπεία να αποσταθεροποιήσει τις αθηρωματικές πλάκες και να προκαλέσει στεφανιαίο επεισόδιο.¹³¹ Συνεπώς εάν η ΟΘΥ χορηγηθεί κατά την πρώτη δεκαετία της εμμηνόπαυσης ασκεί καρδιοπροστατευτική δράση, ενώ εάν ξεκινήσει μετά τα 60 είναι πιθανό να δράσει επιζήμια.

Τιβολόνη

Η τιβολόνη είναι ένα συνθετικό στεροειδές, το οποίο δρα μέσω οιστρογονικών, προγεσταγονικών και ανδρογονικών υποδοχέων και παρουσιάζει ήπια οιστρογονική και αναβολική δράση. Χορηγείται σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κλιμακτηριακές διαταραχές που βρίσκονται μέσα στην πρώτη δεκαετία από την τελευταία έμμηνο ρύση από το στόμα σε χαμηλή δόση των 1,25 mg ημερησίως.¹³³ Στην μελέτη LIFT, συμπεριελήφθησαν 4935 γυναίκες και η χορήγηση 1,25 mg τιβολόνης ημερησίως για 3έτη, κατάφερε να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης σπονδυλικών και μη σπονδυλικών καταγμάτων κατά 45% και 26% αντίστοιχα ενώ ταυτόχρονα μείωσε και τα επεισόδια καρκίνου του μαστού και του εντέρου. Δυστυχώς στην ίδια μελέτη, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση του κινδύνου εμφάνισης των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων και γι' αυτό και διεκόπη πρόωμα.¹³⁴

Ασβέστιο και βιταμίνη D

Η βασική λειτουργία του ασβεστίου στο οστόν είναι η αναστολή της έκκρισης της ενδογενούς παραθορμόνης (η οποία δρα διεγερτικά στην οστική κατασκευή) καθώς η συνεχή χορήγηση της, έχει συσχετιστεί με αυξημένη οστική απώλεια. Η πτωχή πρόσληψη ασβεστίου, μπορεί να οδηγήσει στην απόκτηση χαμηλής κορυφαίας οστικής πυκνότητας κατά την ενήλική ζωή, γεγονός που μπορεί να αποτελέσει παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση οστεοπόρωσης. Παράλληλα ενδιαφέρουσα είναι η παρατήρηση, πως η ανεπάρκεια της βιταμίνης D αυξάνεται με την ηλικία και αποτελεί παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση οστεοπόρωσης, ιδίως σε ηλικιωμένα άτομα.

Το Διεθνές Ίδρυμα Οστεοπόρωσης, συνιστά την χορήγηση 1000-1200 mg ασβεστίου ημερησίως ως συμπληρωματική θεραπεία σε συνδυασμό με 800 μονάδες

βιταμίνης D παράλληλα με την χορήγηση οποιασδήποτε αντικαταβολικής ή αναβολικής θεραπείας.¹³⁵ Από την προσιτή βιβλιογραφία, η χορήγηση του ασβεστίου έχει συσχετιστεί με γαστρεντερικές διαταραχές (δυσανεξία και φουσκώματα) καθώς και με αυξημένα επεισόδια νεφρολιθίασης. Ενώ την τελευταία 5 ετία, μελέτες συσχετίζουν την χορήγηση ασβεστίου με τον αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης εμφράγματος του μυοκαρδίου,ωστόσο τα δεδομένα από τις υπάρχουσες μελέτες παρουσιάζουν κάποιους περιορισμούς.¹³⁶

Ρανελικό στρόντιο

Το ρανελικό στρόντιο είναι ένα σχετικά νέο φάρμακο και αποτελεί θεραπεία πρώτης εκλογής μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, με οστεοπόρωση με ή χωρίς ιστορικό σπονδυλικών καταγμάτων. Παρουσιάζει διττή δράση, επιδρώντας τόσο στους οστεοκλάστες, μειώνοντας την οστική απορρόφηση, όσο και στους οστεοβλάστες αυξάνοντας την οστική παραγωγή. Οι δύο πολυπληθέστερες μελέτες που απέδειξαν την αποτελεσματικότητα του φαρμάκου στην αντιμετώπιση της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης είναι η SOTI⁹⁶ και η TROPOS.¹³⁷ Και οι δύο μελέτες ανέδειξαν, πως η ημερήσια από του στόματος χορήγηση 2gr ρανελικού στρόντιου οδήγησε σε μείωση του σχετικού κινδύνου εμφάνισης νέων σπονδυλικών και μη σπονδυλικών καταγμάτων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με εγκατεστημένη οστεοπόρωση. Και στις δυο μελέτες, κατεγράφη αυξημένος κίνδυνος εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης γι αυτό και η χορήγηση του φαρμάκου αντενδείκνυται σε ασθενείς με ιστορικό θρομβοφλεβίτιδας ή κατάκλισης.¹³⁸ Οι συχνότερα αναφερόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες αφορούν κατά κύριο λόγο το γαστρεντερολογικό σύστημα και περιλαμβάνουν δυσπεπτικά ενοχλήματα, ναυτία και διάρροια. Πρόσφατα μέσα από την προσιτή βιβλιογραφία ανευρέθηκαν περιπτώσεις

που η λήψη του ρανελικού στροντίου συσχετίστηκε με την εμφάνιση του συνδρόμου DRESS (Drug Rush Eosinophilia Systemic Symptoms).

Η δεσονουμάμπη

Αποτελεί τη νεότερη φαρμακολογική ουσία που προστέθηκε στη θεραπευτική φαρέτρα αντιμετώπισης της οστεοπόρωσης. Σύμφωνα με την μελέτη HALT, η χορήγηση της δενονουμάμπης συνίσταται στην θεραπεία της οστικής απώλειας που σχετίζεται με ορμονικό αποκλεισμό σε άνδρες με καρκίνο του προστάτη καθώς αυξάνει την BMD στην σπονδυλική στήλη και το ισχίο και μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης σπονδυλικών καταγμάτων.¹³⁹ Η δεσονουμάμπη, είναι ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που έχει ως στόχο την αναστολή του παράγοντα RANKL, επιδρώντας άμεσα στους οστεοκλάστες διακόπτοντας την λειτουργικότητα, την παραγωγή και την επιβίωση τους.¹⁴⁰

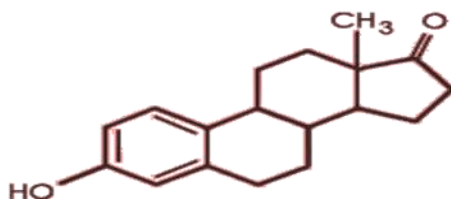
ΗμελέτηFREEDOM, αποτελεί την βασική μελέτη έγκρισης του φαρμάκου στην οποία έλαβαν μέρος 7768 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ηλικίας 60-91 ετών που έπασχαν από οστεοπόρωση. Μετά από 36 μήνες θεραπείας, παρατηρήθηκε μείωση των σπονδυλικών και μη σπονδυλικών καταγμάτων καθώς και των καταγμάτων του ισχίου.¹⁴¹ Παρατηρήθηκε επίσης, πως όταν η διακοπή της χορήγησης υπερβεί τους 18 μήνες επέρχεται άμεση μείωση της BMD περίπου στα αρχικά επίπεδα πριν την έναρξη της θεραπείας. Επομένως τα ευρήματα από την προσιτή βιβλιογραφία, συνηγορούν στην συνεχόμενη χορήγηση της δεσονουμάμπης για την διατήρηση της δραστηριότητας του φαρμάκου. Έτσι το 2012 σε επέκταση της μελέτης FREEDOM στην πενταετία, παρατηρήθηκε αύξηση της οστικής πυκνότητας στην σπονδυλική στήλη και στο ισχίο, ενώ η επίπτωση των καταγμάτων συνέχισε να παραμένει χαμηλή.¹⁴²

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο

ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ ΚΑΙ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΙΚΟΙ ΥΠΟΔΟΧΕΙΣ

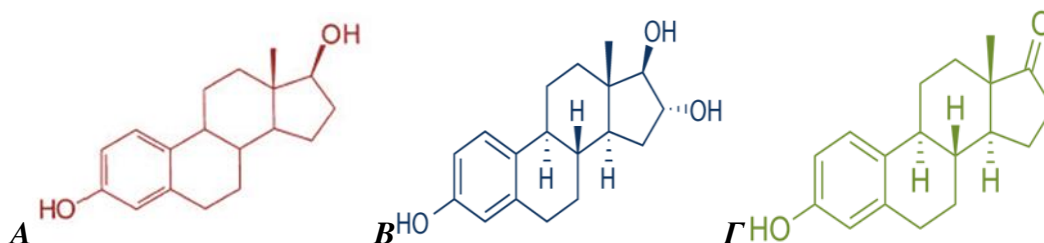
4.1. Ορισμός

Οι γεννητικοί αδένες της γυναίκας είναι οι ωθήκες και η βασική μονάδα των ωοθηκών, το ωοθυλάκιο. Οι γυναικείες γεννητικές ορμόνες των προεμμηνόπαυσιακών γυναικών είναι η προγεστερόνη, τα οιστρογόνα και τα ανδρογόνα. Η προγεστερόνη, παράγεται από το ωχρό σωματίο μετά την ωορρηξία και την ωρίμανση του κυρίαρχου ωοθυλακίου, ενώ τα ανδρογόνα (κυρίως τεστοστερόνη και ανδροστενοδιόνη) εκκρίνονται από τα κύτταρα του στρώματος των ωοθηκών. Τα οιστρογόνα ανήκουν σε μια ομάδα στεροειδών χημικών ενώσεων, όπου ο μοριακός τους σκελετός αποτελείται από τέσσερις δακτυλίους ατόμων άνθρακα.



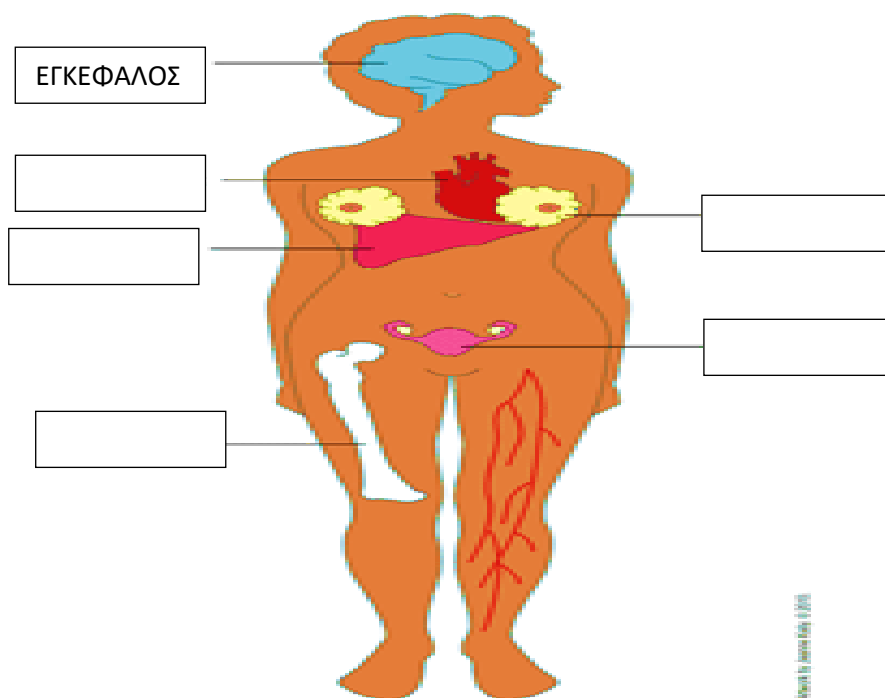
Εικόνα 9. Μοριακή δομή στεροειδών. Απο το διαδίκτυο, Google images.

Τα οιστρογόνα που παράγονται στο γυναικείο οργανισμό είναι η 17β-οιστραδιόλη, η οιστρόνη και η οιστριόλη.¹⁴³



Εικόνα 10. Μοριακή δομή της (Α) οιστραδιόλης, (Β) οιστρόλης, (Γ) οιστρόνης. Απο το διαδίκτυο, Google images.

Τα οιστρογόνα είναι ορμόνες που ρυθμίζουν την λειτουργία διαφόρων συστημάτων του γυναικείου οργανισμού συμπεριλαμβανόμενων του αναπαραγωγικού συστήματος, του ήπατος, των οστών, του δέρματος και του καρδιαγγειακού συστήματος (Εικόνα 11).



Εικόνα 11. Ιστοί-στόχοι των οιστρογόνων.Απο το διαδίκτυο, Google images.

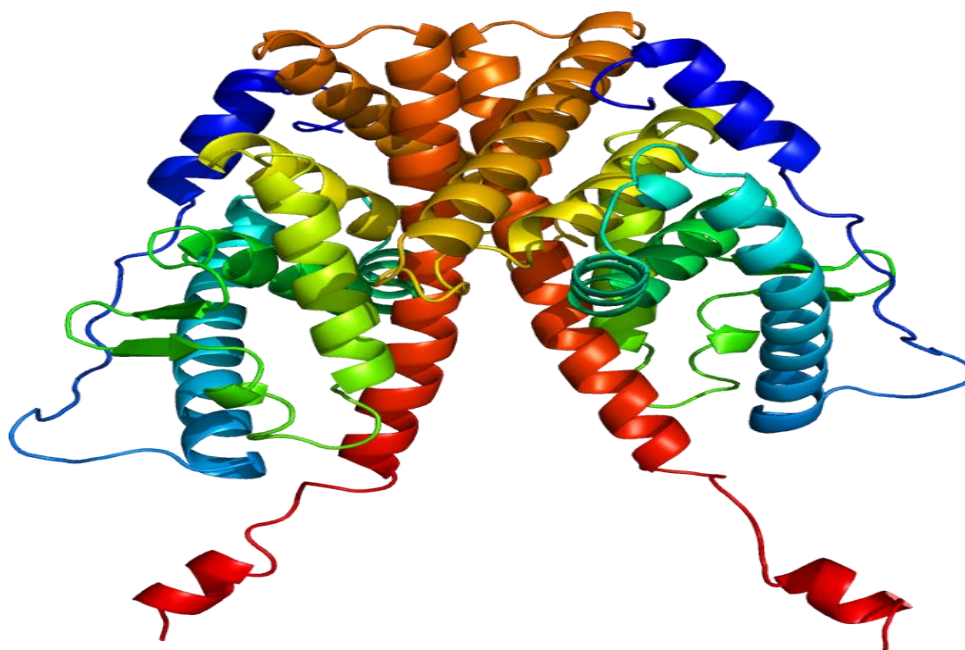
Η σύνθεσή των οιστρογόνων ξεκινά από τη χοληστερόλη, η οποία εισέρχεται στα κύτταρα της ωοθήκης μέσω του αίματος, αποθηκεύεται με τη μορφή εστέρων σε λιπιδικά σταγονίδια και φυλάσσεται μέχρι τη στιγμή της χρήσης της. Μετά τη σύνθεσή τους τα οιστρογόνα, όπως άλλωστε και οι υπόλοιπες λιπόφιλες στεροειδείς ορμόνες, κυκλοφορούν στο αίμα συνδεδεμένα με πρωτεΐνες. Τα οιστρογόνα δρουν σαν «σηματοδοτικά μόρια» στον οργανισμό, δηλαδή μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας, τους παρέχεται η ικανότητα να αλληλεπιδρούν με διάφορες πρωτεΐνες-υποδοχείς του κυτταροπλάσματος διαφόρων «ιστών στόχων». Ανάλογα με τον ιστό στόχο, τα οιστρογόνα παρουσιάζουν διττή δράση έχοντας άλλοτε ευεργετική και

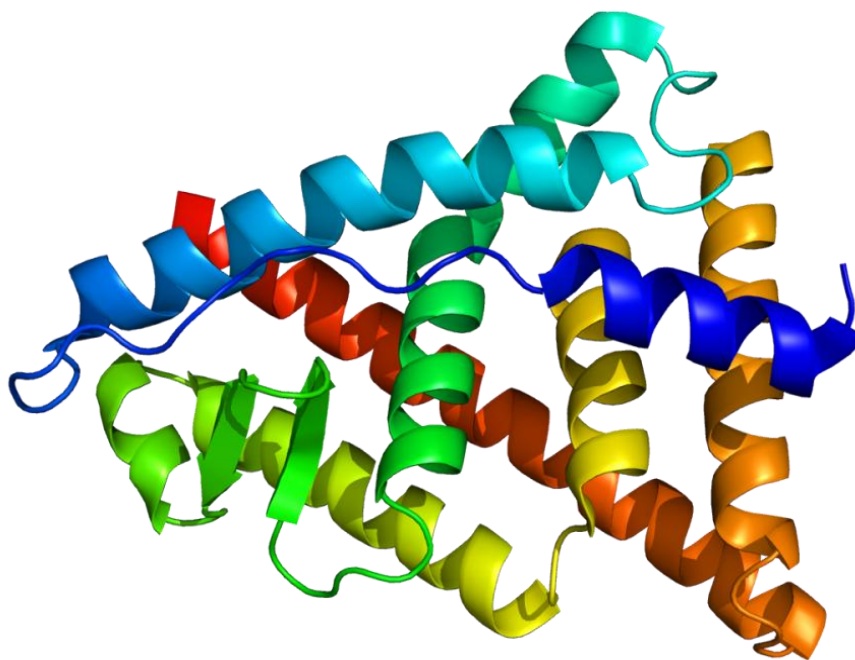
άλλοτε επιβλαβή επίδραση σε αυτούς. Οι ειδικές επιδράσεις των οιστρογόνων σε κάθε ιστό καθορίζονται από τον τύπο του οιστρογονικού υποδοχέα που εμπλέκεται, τα «γονίδια στόχους» που ελέγχουν καθώς και από την ισορροπία μεταξύ άλλων ενεργοποιητών ή αναστολέων που μπορούν να τροποποιήσουν το τελικό αποτέλεσμα της οιστρογονικής δράσης.¹⁴³ Στις προεμμηνόπαυσικές γυναίκες οι ωοθήκες αποτελούν την κύρια πηγή των οιστρογόνων, ενώ κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης η σύνθεση των οιστρογόνων διενεργείται κατά κύριο λόγο στον λιπώδη ιστό.

4.2. Οιστρογονικοί υποδοχείς

Τα τελευταία χρόνια υπάρχει ένα αυξανόμενο ενδιαφέρον σχετικά με την επίδραση που μπορεί να έχουν οι γενετικοί πολυμορφισμοί των οιστρογονικών υποδοχέων στους διάφορους ιστούς του ανθρώπινου οργανισμού. Οι οιστρογονικοί υποδοχείς (ERs) αποτελούν μέλη της μεγάλης υπεροικογένειας των στεροειδών ορμονών και διαίρούνται σε δυο υποκατηγορίες τους α (ERα) και τους β (ERβ).¹⁴⁴ Οι υποδοχείς οιστρογόνων ERα και ERβ παρουσιάζουν μεγάλη ομοιότητα μεταξύ τους, όσο και με τα υπόλοιπα 70 και πλέον μέλη της υπεροικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων. Οι δύο τύποι υποδοχέων παρουσιάζουν μεγάλη ομοιότητα στην περιοχή του υποδοχέα που συνδέεται με το DNA, αλλά δεν συμβαίνει το ίδιο με την περιοχή που συνδέεται με το υπόστρωμα. Μόνο το 55% των αμινοξέων της περιοχής αυτής είναι κοινό και στις δύο κατηγορίες υποδοχέων. Αποτέλεσμα αυτού είναι ότι μερικά υποστρώματα προσδένονται με διαφορετική συγγένεια στους δύο τύπους υποδοχέων. Για παράδειγμα η 17-α οιστραδιόλη και η οιστρόνη εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια προς τους υποδοχείς α ενώ η 17-β οιστραδιόλη προσδένεται με την ίδια συγγένεια και στους 2 υποδοχείς.¹⁴³ Οι δύο τύποι υποδοχέων παρουσιάζουν διαφορετική δομή και τα γονίδια τους εντοπίζονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Ο

ERα αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά από τους Toft και Gorski και κλωνοποιήθηκε λίγα έτη αργότερα από την ομάδα του Green.^{145,146} Ο ERα αποτελείται από 595 αμινοξέα, έχει μοριακό βάρος 66 kDa και το γονίδιο του έχει χαρτογραφηθεί στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 6q24-q27. Οι ERα συναντώνται κατά κύριο λόγο, είτε σε ιστούς του αναπαραγωγικού συστήματος όπως είναι το ενδομήτριο, ο μαστός και το στρώματα των ωοθηκών, είτε σε διάφορα άλλα όργανα όπως είναι ο εγκέφαλος, το ήπαρ και οι νεφροί. Το 1996 ο Kuiper και οι συνεργάτες, κατάφεραν να κλωνοποιήσουν από προστάτη αρουραίου το cDNA ενός δεύτερου οιστρογονοϋποδοχέα, που ονομάστηκε ERβ, σε αντιδιαστολή με τον κλασσικό ERα.¹⁴⁷ Την ίδια χρονιά κλωνοποιήθηκε και το ανθρώπινο cDNA του ERβ, από την ομάδα του Mosselman.¹⁴⁸ Ο ERβ αποτελείται από 530 αμινοξέα, έχει μοριακό βάρος 54.2 kDa και το γονίδιο του εντοπίζεται στην περιοχή q21-q22 του χρωμοσώματος 14.¹⁴⁹ Οι ERβ εντοπίζονται κυρίως στα οστά, στον εγκέφαλο, στο ενδοθήλιο, στον προστάτη, στο βλεννογόνο του εντέρου, στους νεφρούς, τα κοκκίωδη κύτταρα των ωοθηκών και στις αναπτυσσόμενες σπερματίδες.¹⁴³

**ERα**



ERβ

Εικόνα 12. Απεικόνιση της τεταρτοταγούς δομής των α (ER α) και β (ER β) οιστρογονικών υποδοχέων. Από Wikipedia.

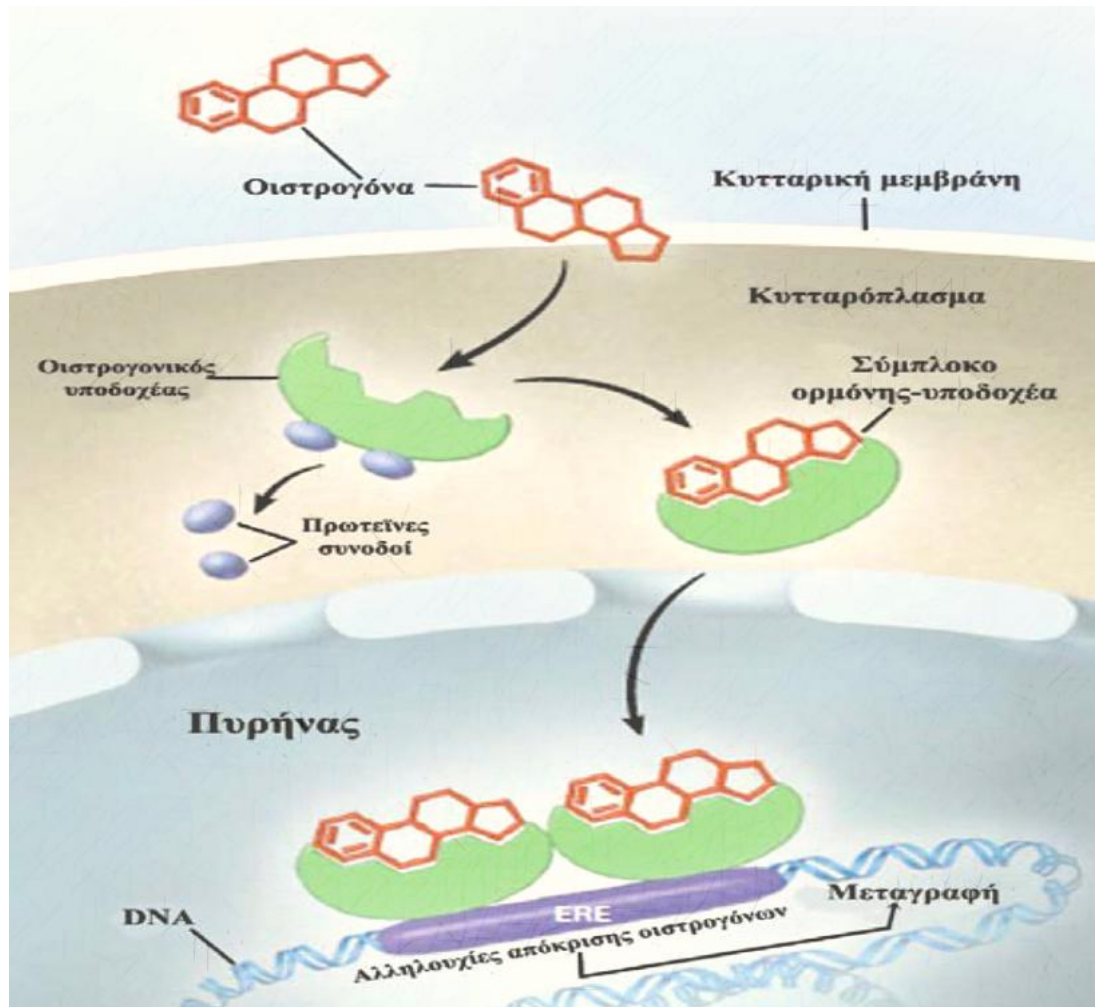
4.3. Μηχανισμοί δράσης των οιστρογόνων

Ο πρώτος μηχανισμός δράσης των οιστρογόνων στις κυτταρικές λειτουργίες είναι *γενωμικός* και επιτελείται σε χρονικό διάστημα λεπτών ή ωρών. Ο δευτέρος μηχανισμός δράσης είναι *μη γενωμικός* και επιτελείται ταχέως, με τη συμβολή των μεμβρανικών υποδοχέων.¹⁵⁰

4.3.1. Γενωμική δράση

Αποτελεί τον κύριο μηχανισμό δράσης των οιστρογόνων και πραγματοποιείται μέσω της πρόσδεσης των οιστρογόνων στους υποδοχείς α και β . Η ακριβής θέση των οιστρογονικών υποδοχέων δεν είναι γνωστή, αλλά φαίνεται ότι διατηρείται μια ισορροπία στις συγκεντρώσεις των υποδοχέων, ανάμεσα στο κυτταρόπλασμα και στον πυρήνα των «κυττάρων-στόχων».¹⁵¹ Κατά το χρονικό διάστημα που οι οιστρογονικοί υποδοχείς δεν είναι συνδεδεμένοι με οιστρογόνα, ενώνονται με

διάφορες πρωτεΐνες (chaperones) οι οποίες διατηρούν τους υποδοχείς σε ανενεργή κατάσταση και ταυτόχρονα αποκρύπτουν τις περιοχές πρόσδεσης στο γενετικό υλικό, μέχρι τη στιγμή της σύνδεσης με τον υπεύθυνη ορμόνη η οποία εισέρχεται μέσω της κυκλοφορίας στο εσωτερικό του.¹⁵²



Εικόνα 13. Κλασική οδός δράσης των οιστρογόνων.¹⁴³

Η ενεργοποίηση του υποδοχέα επέρχεται όταν το ελεύθερο οιστρογόνο διαχυθεί μέσω της κυτταρικής μεμβράνης και εισέλθει στο κυτταρόπλασμα. Σε αυτό το σημείο δημιουργείται αρχικά ένα σύμπλοκο το οποίο μετακινείται σταδιακά προς τον πυρήνα (με την βοήθεια των πρωτεϊνών του κυτταροσκελετού), ενώ στην περίπτωση που υποδοχέας βρίσκεται στον πυρήνα του κυττάρου, η ορμόνη διαχέεται μόνη της έως τον πυρήνα. Μετά την πρόσδεση της ορμόνης στον πυρήνα ή το

κυτταρόπλασμα του υποδοχέα διεγείρεται η αποδέσμευση συγκεκριμένων πρωτεϊνών (πρωτεΐνη θερμικού shock 90 / Heat Shock Protein 90, HSP90) και επέρχεται η ενεργοποίηση του υποδοχέα και η αλλαγή της στερεοδιαμόρφωσης του. Μετά την ενεργοποίηση του, ο υποδοχέας διμερίζεται και με τη μορφή αυτή συνδέεται με μια συγκεκριμένη αλληλουχία βάσεων κοντά σε ένα γονίδιο του DNA, η οποία ονομάζεται στοιχείο απόκρισης στα οιστρογόνα (Estrogen Response Elements, EREs) και ενεργοποιεί την σύνθεση mRNA, που οδηγεί τελικά στη μεταβολική απάντηση του κυττάρου στα οιστρογόνα.¹⁵³

4.3.2. Μη γενωμική δράση

Εκτός από τον κλασσικό τρόπο δράσης των οιστρογόνων, ο οποίος εκκινείται από τους ενδοκυττάριους υποδοχείς και απαιτεί ένα χρονικό διάστημα λεπτών ή και ωρών για την μεταβολή της έκφρασης των διαφόρων «γονιδίων στόχων», υπάρχουν και οιστρογόνα τα οποία εμφανίζουν ταχεία έναρξη δράσης και δεν μπορούν να εξηγηθούν από τις μεταβολές της μεταγραφικής δραστηριότητας. Η ενεργοποίηση των οιστρογονικών υποδοχέων σε αυτή την περίπτωση, προκύπτει από την σύνδεση των οιστρογόνων με τους υποδοχείς α και β που βρίσκονται είτε στην κυτταρική μεμβράνη των κύτταρων στόχων,¹⁵⁴ είτε σε ενδοκυττάριους διαμεμβρανικούς οιστρογονικούς υποδοχείς που βρίσκονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο.¹⁵⁵ Παραδείγματα τέτοιων μη γενωμικών δράσεων των οιστρογόνων, αποτελεί η ταχεία αγγειοδιαστολή των στεφανιαίων αγγείων, η ινσουλινοτρόπος επίδραση στα β κύτταρα του παγκρέατος¹⁵⁶ και η ενεργοποίηση των μοριακών οδών που σχετίζονται με τη δράση αυξητικών παραγόντων στα νευρικά κύτταρα.¹⁵⁷

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο

ΦΥΤΟΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ

5.1.Εισαγωγή

Υπολογίζεται πως η μέση γυναίκα περνάει σήμερα περίπου το ένα τρίτο της ζωής της στην εμμηνόπαυση, με άμεση συνέπεια το μεγάλο προσωπικό, κοινωνικό και οικονομικό κόστος που προκύπτει κατά τη θεραπευτική αντιμετώπιση και την διαχείριση των αναπόφευκτων επιπλοκών που παρατηρούνται.¹⁵⁸ Πλέον υπάρχει πληθώρα φαρμακευτικών σχημάτων για την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης και την ύφεση των μετεμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων. Ένας από τους ουσιαστικότερους όμως λόγους αποτυχίας αυτών των φαρμακευτικών παρεμβάσεων, είναι η χαμηλή συμμόρφωση των ασθενών εξαιτίας των ανεπιθύμητων, σοβαρών ή λιγότερο σοβαρών, παρενεργειών που παρατηρούνται κατά τη μακροχρόνια χορήγηση τους.¹⁵⁹

Επιπρόσθετα σημαντικός αριθμός γυναικών είναι απρόθυμες ή δεν πληρούν τις προϋποθέσεις για τη λήψη κάποιας φαρμακευτικής ουσίας, με αποτέλεσμα συχνά να καταφεύγουν στην αναζήτηση εναλλακτικών μεθόδων για την αντιμετώπιση των εμμηνοπαυσιακών τους συμπτωμάτων. Η αναζήτηση εναλλακτικών λύσεων που μπορούν να εφαρμοστούν χωρίς τη σύσταση ιατρού, παρατηρείται όλο και συχνότερα στον πληθυσμό σε διάφορες χώρες, πιθανώς επειδή ο ασθενής αισθάνεται μεγαλύτερη ασφάλεια να τις εφαρμόσει.¹⁶⁰ Από τις εναλλακτικές μεθόδους αντιμετώπισης των εμμηνοπαυσιακών συμπτωμάτων συνηθέστερη είναι η λήψη φυτοοιστρογόνων.

5.2. Ιστορική αναδρομή

Μια ισορροπημένη διατροφή πλούσια σε φρούτα, λαχανικά και συμπλέγματα υδρογονανθράκων χαμηλού γλυκαιμικού δείκτη, ήταν ανέκαθεν συνδυασμένη με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης χρόνιων παθήσεων.¹⁶¹ Τα φυτοοιστρογόνα

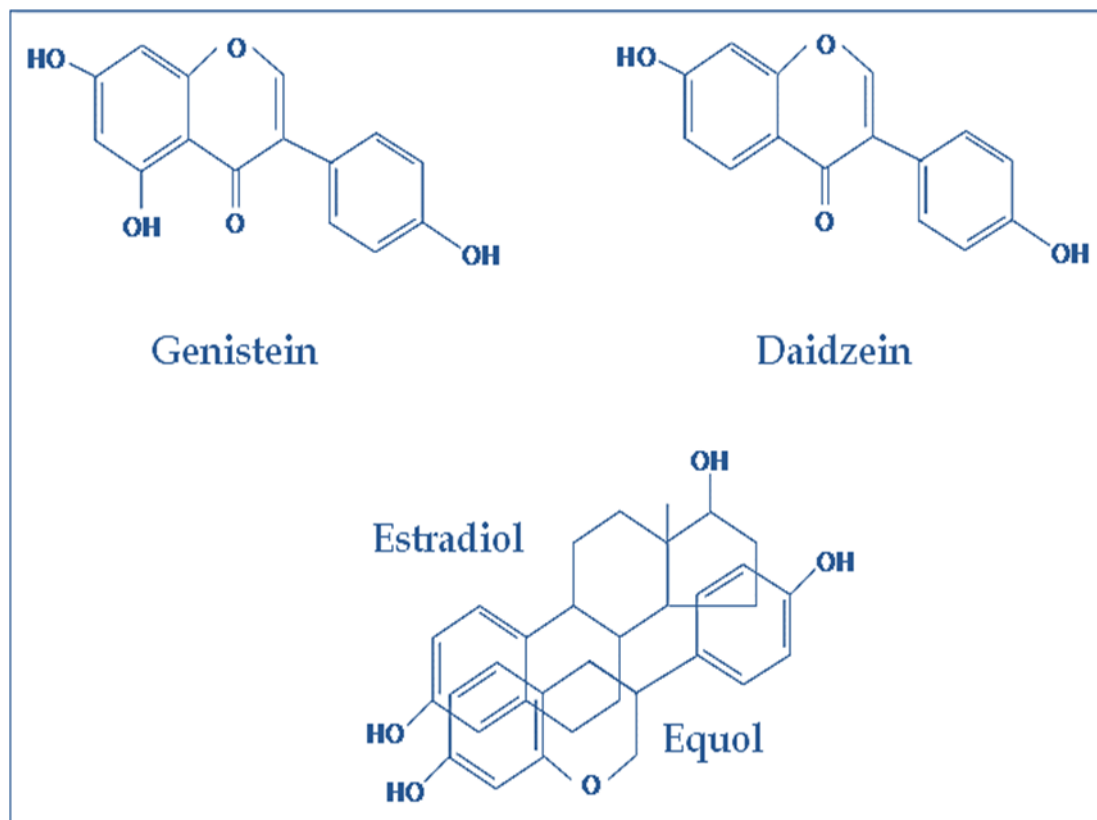
ανακαλύφθηκαν το 1926, αλλά δεν ήταν αρχικά γνωστό ότι θα μπορούσαν να έχουν οποιαδήποτε επίδραση σε διάφορα ορμονοεξαρτώμενα νοσήματα.¹⁶² Το 1940 σε πειραματική μελέτη που διενεργήθηκε σε πρόβατα, διεπιστώθη πως η αυξημένη κατανάλωση κόκκινου λάχανου, είχε θετική επίδραση στην γονιμότητα των προβάτων.¹⁶³ Όμως το μεγάλο ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για τα φυτοοιστρογόνα προέκυψε στην δεκαετία του 1990, μετά από την επιδημιολογική παρατήρηση, πως η κατανάλωση τροφής πλούσια σε ισοφλαβόνες πληθυσμών της Ασίας, συσχετίστηκε με μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων όπως οστεοπόρωσης,¹⁶⁴ καρδιαγγειακών παθήσεων¹⁶⁵ και διαφόρων τύπων καρκίνου (προστάτη, μαστού, παχέος εντέρου).¹⁶⁶ Το 2002 μετά την δημοσιοποίηση της μελέτης Women's Health Initiative (WHI),¹¹⁴ εντατικοποιήθηκε η έρευνα για την ανεύρεση νέων εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης των συνεπειών της εμμηνόπαυσης.

5.3. Ορισμός

Ο όρος φυτοοιστρογόνα προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις «φυτό» και «οιστρογόνα». Τα φυτοοιστρογόνα είναι μη στεροειδείς φυτικές ενώσεις που παρουσιάζουν οιστρογονική και αντι-οιστρογονική δράση ανάλογα με τον «στόχο». Αποτελούν μια ομάδα διαφορετικών ενώσεων, οι οποίες απαντώνται σε πληθώρα εδώδιμων φυτών, τα οποία έχουν ως κοινό παρονομαστή την παρουσία μιας φαινολικής ομάδας, η θέση της οποίας καθορίζει τις οιστρογονικές ή αντι-οιστρογονικές ιδιότητες του φυτού.¹⁶⁷

Τα φυτοοιστρογόνα, παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες με την 17β-οιστραδιόλη όχι μόνο ως προς τη δομή (**Εικ. 14**) αλλά και ως προς τον τρόπο δράσης τους, καθώς δεσμεύονται στους υποδοχείς ERα και ERβ των οιστρογόνων και με τον τρόπο αυτό μιμούνται ή ρυθμίζουν τις δράσεις των ενδογενών οιστρογόνων στα

όργανα στόχους.^{168,169} Η δραστηριότητα των φυτοοιστρογόνων μπορεί να μεταβληθεί ανάλογα με τις συγκεντρώσεις των ενδογενών οιστρογόνων και επηρεάζεται από παράγοντες, όπως το φύλο και η ηλικία των ασθενών.



Εικόνα 14. Δομική ομοιότητα οιστρογόνων-φυτοοιστρογόνων.¹⁷⁰

Η ιδιαιτερότητα των φυτοοιστρογόνων ως προς τον τρόπο δράσης, επιτρέπει τη θεραπευτική τους χρήση για την πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Επιπλέον, η ευρεία διαθεσιμότητα τους και το σχετικά χαμηλό κόστος τους τα καθιστά ελκυστική εναλλακτική επιλογή για την πρόληψη της εμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.¹⁷¹

5.4. Ταξινόμηση και χημική δομή φυτοοιστρογόνων

Τα φυτοοιστρογόνα ανήκουν στην οικογένεια των πολυφαινόλων. Σήμερα είναι γνωστά πάνω από 8.000 είδη πολυφαινολικών ενώσεων. Οι κυριότερες

κατηγορίες των φυτοοιστρογόνων είναι οι ισοφλαβόνες, οι λιγνάνες, οι κουμεστάνες, τα φλαβονοειδή και οι στιλβόνες.¹⁷²

Οι ισοφλαβόνες αποτελούν την κατηγορία εκείνη των φυτοοιστρογόνων που έχουν επικεντρώσει το επιστημονικό ενδιαφέρον των ερευνητών. Οι ισοφλαβόνες ανευρίσκονται σε διάφορα φυτά, φρούτα και λαχανικά αλλά κυρίως εμπεριέχονται στα φυτά που ανήκουν στην οικογένεια Leguminosa. Οι ισοφλαβόνες διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην άμυνα των φυτών, αλλά ταυτόχρονα εμπεριέχουν ουσίες που συμβάλουν στην προαγωγή της υγείας και την αντιμετώπιση διαφόρων ορμονοεξαρτώμενων διαταραχών στους ανθρώπους.¹⁶⁸ Οι κυριότεροι εκπρόσωποι της κατηγορίας των ισοφλαβόνων είναι η γενιστεΐνη, η δαιζδεΐνη και γλυκιτεΐνη. Σημαντικές πηγές ισοφλαβόνων είναι τα όσπρια (μαύρα φασόλια, φακές, φάβα, πράσινα μπιζέλια), όλα τα προϊόντα σόγιας, οι ξηροί καρποί, τα δημητριακά ολικής άλεσης, τα λούπινα και ο βλαστός τριφυλλίου.¹⁷³

Οι λιγνάνες είναι ευρέως κατανεμημένες στο φυτικό βασίλειο και συμβάλουν στην ανάπτυξη και την ωρίμανση των φυτών. Οι λιγνάνες, αποτελούν δομικούς λίθους της διατροφής του Δυτικού κόσμου και έχουν αντιοξειδωτική κυρίως δράση. Στα φυτά, οι λιγνάνες εμφανίζονται με την μορφή γλυκοζιτών και οι κυριότεροι εκπρόσωποι των φυτικών λιγνανών είναι η ματαιρεσινόλη και η σεκοισολαρικεσινόλη. Οι δύο σημαντικότερες λιγνάνες που έχουν αναγνωριστεί στα βιολογικά υγρά του ανθρώπου είναι οι εντερολακτόνη και η εντεροδιόλη, οι οποίες σχηματίζονται από την επίδραση των βακτηρίων του εντερικού σωλήνα με τις φυτικές λιγνάνες. Επειδή οι ενώσεις αυτές δεν προέρχονται από φυτά αλλά παράγονται σε ζωικούς οργανισμούς, χαρακτηρίζονται ως «λιγνάνες των θηλαστικών».¹⁷⁴ Ωστόσο, μερικοί άνθρωποι φαίνεται να στερούνται το σωστό ή επαρκή πληθυσμό βακτηρίων στο έντερο για την μετατροπή των μητρικών ενώσεων

των λιγνανών σε «λιγνάνες των θηλαστικών». Η χορήγηση αντιβιοτικών, μπορεί να συμβάλει στην διαταραχή της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου και να παρεμποδίσει την ικανότητα της εντερικής χλωρίδας να δημιουργήσει ενεργούς μεταβολίτες για αρκετές εβδομάδες.¹⁷⁵ Η παχυσαρκία και το κάπνισμα παρεμποδίζουν την παραγωγή εντερολακτόνης, ενώ ο καφές και το τσαί φαίνεται να έχουν ευεργετική επίδραση στην παραγωγή της. Ο λιναρόσπορος αποτελεί μακράν την πλουσιότερη διατροφική πηγή των φυτικών λιγνανών, ενώ άλλες διαιτητικές πηγές αποτελούν ο συναπόσπορος, ο ηλίοςπορος, το σισαμέλαιο, η σόγια και τα φυσικία. Ακολουθούν τα φύκια, η σίκαλη, η βρώμη το κριθάρι, τα όσπρια, τα φρούτα (ιδιαίτερα τα μούρα), το τσαί, ο καφές, τα δημητριακά με πίτουρο και τα δημητριακά ολικής άλεσης καθώς και πληθώρα λαχανικών όπως το σπανακι, το λάχανο, το μπρόκολο, και το κουνουπίδι.¹⁷⁶

Οι κουμεστάνες αποτελούν μια ακόμα ομάδα φυτικών φαινολών που παρουσιάζουν οιστρογονική δραστηριότητα. Παρουσιάζουν δομική ομοιότητα με τις ισοφλαβόνες και παρά το γεγονός ότι ένας σημαντικός αριθμός κουμεστανών έχει απομονωθεί από τα φυτά, ένα μικρό ποσοστό από αυτές είναι οιστρογονικά ενεργό με κυριότερους εκπροσώπους την κουμεστρολή και η 4'-μεθοξικουμestρόλη. Οι κουμεστάνες παράγονται κατά την διάρκεια της ανθοφορίας, από τους σπόρους των φυτών που ανήκουν στην οικογένεια Leguminosa ή φυτών που καλλιεργούνται για ζωοτροφές όπως ο σανός και η φορβή.¹⁶⁸ Αποτελούν ισχυρούς ενεργοποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων, αλλά δεν περιέχονται στο καθημερινό διαιτολόγιο. Οι σημαντικότερες πηγές των κουμεστανών περιέχονται στα βλαστάρια φυτών όπως στα βλαστάρια τριφυλλιού, της σόγιας και του αλφάλφα, ενώ μικρότερες ποσότητες κουμestάνων εμπεριέχονται στα μπιζέλια, στα λαχανάκια βρυξελλών, το σπανάκι,

στους καρπούς των φασολίων λίμαη, στην μύρα από λυκίσκο και στο ούισκι από καλαμπόκι.¹⁷⁰

Η φυτική ένωση ρεσβερατρόλη, ανήκει στην κατηγορία των **στιλβενίων** και ανευρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις στη φλούδα των σταφυλιών και ιδιαίτερα των κόκκινων, στα φύλλα ευκαλύπτου και ελάτου, στους ξηρούς καρπούς και στα μούρα.¹⁷⁷ Η ρεσβερατρόλη παρουσιάζει ισχυρή αντιοξειδωτική¹⁷⁸ ενώ έρευνες των τελευταίων χρόνων αναδεικνύουν, πως η ρεσβερατρόλη συμβάλει στην αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης των πειραματόζωων.¹⁷⁹

Τέλος **τα φλαβονοειδή**, αποτελούν μια από τις μεγαλύτερες χημικές κατηγορίες δευτερογενών μεταβολιτών που απαντώνται στο φυτικό βασίλειο. Ο όρος φλαβονοειδή χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα ευρύ σύνολο φυσικών προϊόντων που σχηματίζουν έναν ανθρακικό σκελετό με 15 άτομα άνθρακα διατεταγμένα σε δύο αρωματικούς δακτυλίους που ενώνονται με μία γέφυρα τριών ανθράκων (C6-C3-C6). Τα φλαβονοειδή διακρίνονται σε επιμέρους ομάδες όπως τις ανθοκυανίνες, φλαβόνες, φλαβονόνες, διϋδροφλαβονόλες, χαλκόνες, φλαβονόλες, φλαβάνες, προανθοκυανιδίνες και τα ισοφλαβονοειδή.¹⁸⁰ Τα κόκκινα φασόλια, το ρόδι και οι διάφοροι τύποι βατόμουρων θεωρούνται τροφές πολύ υψηλής περιεκτικότητας σε φλαβονοειδή, ενώ πολλά κόκκινα και κίτρινα φρούτα και λαχανικά καθώς και κάποιοι ξηροί καρποί αποτελούν επίσης καλές πηγές αυτών των φυτικών συστατικών. Πολλά είδη φλαβονοειδών έχουν σπασμολυτικές, αντιαλλεργικές, και διουρητικές δράσεις.¹⁸¹ Η κουερσετίνη (ή κερσετίνη) αποτελεί έναν από τους κύριους εκπροσώπους των φλαβονοειδών και βρίσκεται σε υψηλές συγκεντρώσεις σε τροφές όπως τα κρεμμύδια (εξώτερος φλοιός), η φλούδα των μήλων, το κόκκινο κρασί και το πράσινο και μαύρο τσάι. Οι ερευνητές ανακάλυψαν ότι η κουερσετίνη επηρεάζει την διαδικασία που προκαλεί την αποσταθεροποίηση

των στεφανιαίων αρτηριακών τοιχωμάτων και μειώνει έτσι τον κίνδυνο εμφάνισης των οξέων στεφανιαίων συμβαμάτων και των αγγειακών εγκεφαλικών επεισοδίων.¹⁸²

5.5. Βιοδιαθεσιμότητα, μεταβολισμός και απέκκριση

Ως βιοδιαθεσιμότητα ορίζεται το μέγεθος της απορρόφησης ενός φαρμάκου μετά τη χορήγησή του. Για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας των φυτοοιστρογόνων απαιτείται ένας ευαίσθητος λειτουργικός δείκτης που όμως εξαιτίας της ποικιλομορφίας των βιολογικών δράσεων αυτών των ενώσεων, δεν είναι εφικτό να οριστεί. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα, οι εκτιμήσεις για την βιοδιαθεσιμότητα να στηρίζονται σε δεδομένα που αφορούν την απορρόφηση, τον μεταβολισμό, την κατανομή και την απέκκριση της υπό μελέτη φυτικής ουσίας. Μέσα από την προσιτή βιβλιογραφία, μικρός αριθμός μελετών αναφέρονται στην φαρμακοκινητική των φυτοοιστρογόνων και κυρίως κάνουν λόγο για συγκεκριμένα είδη ισοφλαβονών και τους μεταβολίτες τους (δαιζδεΐνης / γενιστεΐνη), ενώ ακόμα λιγότερες πληροφορίες υπάρχουν για τις λιγνάνες και με ελάχιστα ή καθόλου δεδομένα για την κουμεστρόλη.

Τα φυτοοιστρογόνα παρουσιάζουν ταχεία απορρόφητική ικανότητα, με δυνατότητα επίτευξης μέγιστων συγκεντρώσεων σε 2 έως 12 ώρες από την έναρξη της χορήγησής τους.¹⁸³ Οι ισοφλαβόνες, παρουσιάζουν την γρηγορότερη αύξηση στη συγκέντρωση του πλάσματος, μόλις σε χρονικό διάστημα 15 λεπτών μετά την κατανάλωσή τους.¹⁸⁴ Οι συγκεντρώσεις των ισοφλαβονών στο πλάσμα των ανθρώπων, επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα συνήθως μετά το πέρας 48 ωρών από την πρόσληψή τους.¹⁸⁵ Εν αντιθέσει, οι μεταβολίτες των λιγνανών παρουσιάζουν βραδύτερο χρόνο απορρόφησης και ανιχνεύονται στο πλάσμα των ασθενών μετά από 8.5 ώρες.

Τα φυτοοιστρογόνα και κυρίως οι ισοφλαβόνες, προσλαμβάνονται από την τροφή σαν ανενεργείς γλυκοσίδες, και αφού υποστούν ζύμωση από την μικροβιακή χλωρίδα του εντέρου, μετατρέπονται σε δραστικές βιολογικά αγλυκονικές μορφές, με την βοήθεια των βακτηριακών β-γλυκοσιδασών προκειμένου να παράγουν συγκεκριμένο αριθμό μεταβολίτων. Μετά την απορρόφηση τους συνδέονται στο ήπαρ κυρίως σε γλυκουρονικό και λιγότερο σε θειϊκό οξύ. Η δαιζδεΐνη μπορεί να μεταβολισθεί περαιτέρω σε εκουόλη (στο 30%-50% των ανθρώπων), η σε o-demethylangolensin (O-DMA) στο 80%-90% του πληθυσμού. Ο μεταβολισμός τους είναι κατά κύριο λόγο εντερικός και ηπατικός, αλλά διαφέρει ανάλογα με την ηλικία και το είδος με αποτέλεσμα να υπάρχει δυσκολία στην ερμηνεία των διαφόρων μετρήσεων.

Η κύρια οδός απέκκρισης στον άνθρωπο είναι οι νεφροί, ενώ στους αρουραίους το υψηλότερο ποσοστό απέκκρισης διενεργείται μέσω των κοπράνων (περίπου στο 20%).¹⁸⁶ Στους ανθρώπους η ουρική απέκκριση ανέρχεται στο 30%, ενώ το υπόλοιπο της δόσης καταναλώνεται κατά την μετατροπή των μητρικών ενώσεων στους ενεργούς μεταβολίτες τους.¹⁸³

5.6. Ανεπιθύμητες ενέργειες

Όσο αυξάνονται οι γνώσεις για τα φυτοοιστρογόνα και τον τρόπο αλληλεπίδρασής τους με τους οιστρογονικούς υποδοχείς, τόσο περισσότερο αυξάνεται η χρήση και η κατανάλωσή τους. Σε πρόσφατη ανασκόπηση μελετών, για την διερεύνηση του προφίλ ασφάλειας των φυτοοιστρογόνων οι συχνότερα αναφερόμενες ανεπιθύμητες ενέργειες αφορούσαν το γαστρεντερολογικό σύστημα (κοιλιακό άλγος, δυσκοιλιότητα, μετεωρισμός, ναυτία, διάρροια), ενώ ένα μικρό ποσοστό των γυναικών ανέφερε μυαλγίες και υπνηλία μετά από την μακροχρόνια λήψη φυτικών σκευασμάτων. Η χρήση των φυτοοιστρογόνων δεν συσχετίστηκε σε

καμία μελέτη, με την ανάπτυξη καρκίνου στο μαστό ή στην μήτρα.¹⁸⁷ Το 2008, αναφέρθηκαν 3 περιπτώσεις γυναικών που παρουσίασαν αιμορραγία από την ουρήθρα, δυσμηνόρροια και αλλοιώσεις στο ενδομήτριο (ενδομητρίωση και λειομώματα) μετά την κατανάλωση συμπληρωμάτων υψηλής περιεκτικότητας σε ισοφλαβόνες, όπου τα συμπτώματα υφέθηκαν σταδιακά, μετά την μείωση της κατανάλωσης των αντίστοιχων συμπληρωμάτων.¹⁸⁸

Σεμετά-ανάλυση 92 τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών που ακολούθησε, στην οποία έλαβαν μέρος 9629 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η καθημερινή λήψη ισοφλαβόνων για χρονικό διάστημα 3 και 6 μηνών δεν συσχετίστηκε με την εμφάνιση σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών.¹⁸⁹ Πρόσφατες μελέτες διάρκειας 3 ετών απέδειξαν, πως η κατανάλωση 70 mg ισοφλαβονών ημερησίως δεν συσχετίστηκε με την ανάπτυξη υπερπλασίας στο ενδομήτριο μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών,¹⁹⁰ ενώ σε παρόμοια μελέτη η από του στόματος χορήγηση δαιζδεΐνης και γενιστεΐνης για παρόμοιο χρονικό διάστημα, φαίνεται να επέδρασε προστατευτικά ως προς την ανάπτυξη καρκίνου.¹⁹¹ Σε μια μόνο μελέτη, η καθημερινή λήψη σόγιας σε υψηλή συγκέντρωση (150 mg), επί 5 χρόνια προκάλεσε υπερπλασία στο ενδομήτριο σε 6 από τις 298 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες του δείγματος. Σε όλες τις αναφερόμενες όμως περιπτώσεις, η υπερπλασία του ενδομητρίου εμφανίστηκε κατά το 5^ο έτος της αγωγής με φυτοοιστρογόνα.¹⁹²

Είναι πλέον ευρέως γνωστό, πως η χορήγηση σκευασμάτων δαιζδεΐνης, έχει συσχετιστεί με την μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού κατά 32%.¹⁹³ Σε μετανάλυση που ακολούθησε τα επόμενα έτη, κατέστι πλέον σαφές πως στους Ασιατικούς πληθυσμούς ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου του μαστού ήταν αντιστρόφως ανάλογος της κατανάλωσης προϊόντων σόγιας. Η ημερήσια κατανάλωση 10 mg σόγιας, επαρκούσε για να μειώσει τον κίνδυνο εμφάνισης

καρκίνου του μαστού κατά 12%.¹⁹⁴ Επιπρόσθετα, η κατανάλωση σόγιας σε γυναίκες ηλικίας 20-75 ετών με ιστορικό καρκίνου του μαστού, μείωσε σε σημαντικό βαθμό την θνητότητα και την πιθανότητα επανεμφάνισης της νόσου.¹⁹⁵

Η ηλικία έκθεσης στα φυτοοιστρογόνα, φαίνεται να διαδραματίζει ουσιαστικό ρόλο ως προς την θετική τους επίδραση. Ο Shu και οι συνεργάτες του διεξήγαγαν μια αναδρομική μελέτη σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού. Οι ασθενείς συμπλήρωσαν ένα ερωτηματολόγιο που αφορούσε τις διατροφικές τους συνήθειες κατά την εφηβεία. Η μεγάλη κατανάλωση προϊόντων σόγιας κατά την εφηβεία, συσχετίστηκε με χαμηλή επίπτωση του καρκίνου του μαστού κατά την ενήλικη ζωή.¹⁹⁶

Κατά το παρελθόν πληθώρα επιστημονικών μελετών συνηγορούσαν πως η κατανάλωση ισοφλαβονών είχε ως αποτέλεσμα την μείωση των κυκλοφορούντων επιπέδων των οιστρογόνων και της προγεστερόνης, και προκαλούσε την εξασθένηση του προωορρηκτικού κύματος της ωχρινοτρόπου (LH) και της ωοθυλακιοτρόπου ορμόνης (FSH).^{197,198} Σε μετανάλυση του 2009 από τον Hooper και τους συνεργάτες, η χορήγηση ισοφλαβονών φάνηκε να προάγει την καταστολή της LH και της FSH και να παρατείνει την διάρκεια της εμμηνου ρύσεως.¹⁹⁹ Γι αυτό τον λόγο περιορίστηκε η εκτεταμένη χρήση των ισοφλαβονών σε γυναίκες που βρίσκονται σε αναπαραγωγική ηλικία και ξεκινούν προσπάθειες τεκνοποίησης ή παρουσιάζουν διαταραχές της εμμηνου ρύσεως, για την αποφυγή τέτοιων ορμονολογικών διαταραχών.

Συνοψίζοντας, η έλλειψη αξιοσημείωτων μακροπρόθεσμων παρενεργειών από την λήψη φυτοοιστρογόνων δείχνουν πως η εναλλακτική ιατρική είναι ασφαλής και έχει θέση στην αντιμετώπιση των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης.¹⁸⁹ Χρειάζονται, όμως, περισσότερες τυχαιοποιημένες μελέτες για την εξαγωγή ασφαλών

συμπερασμάτων σχετικά με την αποτελεσματικότητα, αλλά και την ασφάλεια, των εναλλακτικών αυτών μεθόδων.

5.7. Φυτοοιστρογόνα και οστεοπόρωση

Τα τελευταία 20έτη, έχει διενεργηθεί σημαντικός αριθμός κλινικών και πειραματικών μελετών για τον έλεγχο της οστεοπροστατευτικής δράσης διαφόρων φυτοοιστρογόνων. Έως το Δεκέμβρη του 2012, είχαν καταγραφεί περίπου 18.474 άρθρα.

5.7.1 In vitro μελέτες και μηχανισμοί δράσης των φυτοοιστρογόνων

Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο τα φυτοοιστρογόνα επιδρούν στην οστική ανακατασκευή, δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Τα φυτοοιστρογόνα πιστεύεται ότι δρουν δεσμεύοντας τους οιστρογονικούς υποδοχείς που βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη των «οργάνων στόχων», με τρόπο παρόμοιο με αυτόν που προσδέονται και τα ενδογενή οιστρογόνα.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα φυτοοιστρογόνα είναι σε εντυπωσιακό βαθμό δομικά όμοια με τα ενδογενή οιστρογόνα, κυρίως με την 17β-οιστραδιόλη. Η ομοιότητα αυτή, επιτρέπει στις ισοφλαβόνες να συνδέονται στον οιστρογονικό υποδοχέα υποκαθιστώντας, ουσιαστικά, τη 17β-οιστραδιόλη.²⁰⁰ Η χημική τους συγγένεια με τους υποδοχείς ERα και ERβ μπορεί να είναι δοσοεξαρτώμενη, αλλά μικρότερη από αυτήν των ενδογενών οιστρογόνων.²⁰¹ Κάποιες κατηγορίες φυτοοιστρογόνων, εμφανίζουν μεγαλύτερη συγγένεια για τους ERβ σε σχέση με τα ενδογενή οιστρογόνα.²⁰² Η δράση τους αυτή μπορεί να ερμηνεύσει τον τρόπο με τον οποίο τα φυτοοιστρογόνα δρουν προστατευτικά έναντι του καρκίνου του μαστού, αφού οι ERβ εμποδίζουν την ανάπτυξη του κυττάρων του μαστού, ενώ οι ERα την προωθούν.²⁰³ Επιπρόσθετα, τα φυτοοιστρογόνα εκτός από τους υποδοχείς των

οιστρογόνων έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν και τους υποδοχείς των ανδρογόνων, της προγεστερόνης και της ωκυτοκίνης.

Όπως αναφέρθηκε, κάθε φυτοοιστρογόνο παρουσιάζει διαφορετική οιστρογονική ισχύ. Ο Κuíρετ και οι συνεργάτες του, απέδειξαν πως η ένταση της διέγερσης της μεταγραφικής δραστηριότητας από τον υποδοχέα ποικίλει και εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την οιστρογονική ισχύ του φυτοοιστρογόνου, που είναι συνδεδεμένο.²⁰⁴ Η κουμεστρόλη και η γενιστεΐνη φαίνεται να έχουν την ισχυρότερη οιστρογονική δράση, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα είδη των φυτοοιστρογόνων όπως προέκυψε από την *in vitro* σύγκριση της οιστρογονικής δράσης διαφόρων φυτοοιστρογόνων, με αυτήν της 17β οιστραδιόλης.²⁰⁵

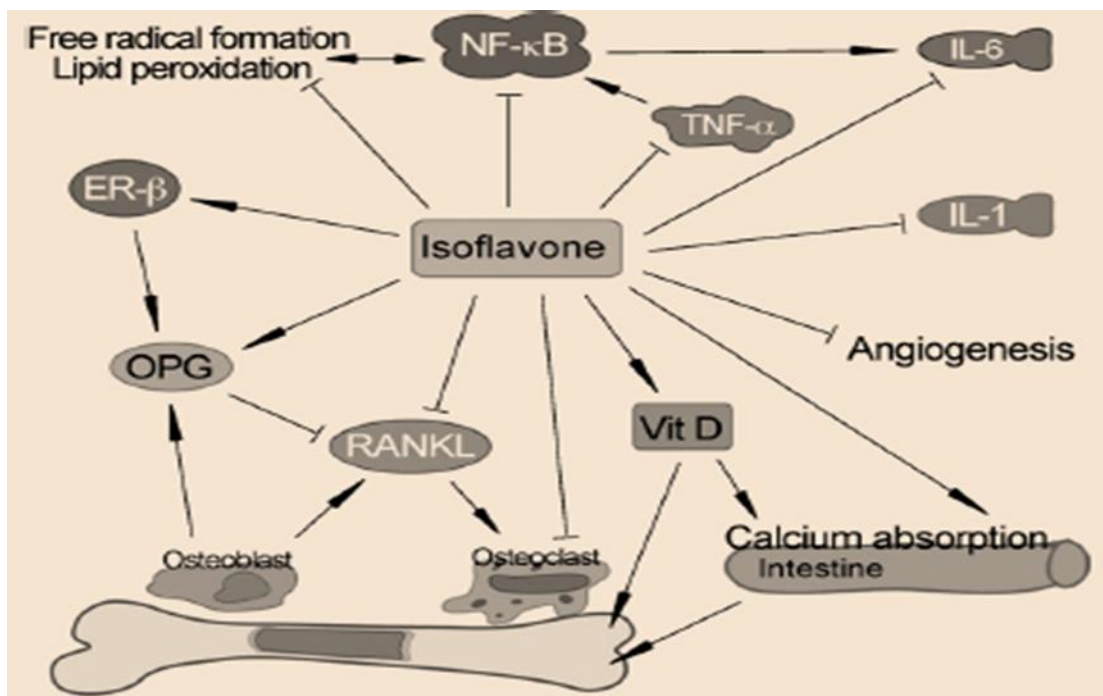
Πέρα από την σύνδεση τους όμως με τους οιστρογονικούς υποδοχείς ορισμένα φυτοοιστρογόνα όπως οι ισοφλαβόνες ασκούν οστεοπροστατευτική ρόλομέσα από την αντιοξειδωτική τους δράση, περιορίζοντας έτσι την επιβλαβή επίδραση των ελευθέρων ριζών του οξυγόνου στους ιστούς.²⁰⁶ Επιπρόσθετα πολλά είδη φυτοοιστρογόνων όπως οι λιγνάνες, η κουμεστρόλη και οι ισολαβόνες δρουν και σαν αναστολείς της αρωματάσης. Η αρωματάση αποτελεί μέλος της οικογένειας των ενζύμων του κυτοχρώματος P450, το οποίο υπάρχει στους μυς, το δέρμα, στους μαστούς και το λιπώδη ιστό και μετατρέπει τα ανδρογόνα (ανδροστενδιόνη και τεστοστερόνη) σε οιστρογόνα. Η ιδιότητα αυτή ορισμένων φυτοοιστρογόνων, έχει ως αποτέλεσμα την μείωση των επιπέδων των οιστρογόνων στο σώμα, αναστέλλοντας την μετατροπή άλλων ορμονών σε οιστρογόνα στους διάφορους ιστούς του σώματος, όπως ο λιπώδης ιστός. Τα υψηλά επίπεδα του ενζύμου αρωματάσης, σχετίζονται με την ανάπτυξη διαφόρων ορμονοεξαρτούμενων όγκων όπως του καρκίνου του μαστού, του προστάτη και των επινεφριδίων. Σε απουσία, επομένως, παραγωγής οιστρογόνων

από τις ωοθήκες, ο όγκος εξαρτάται από αυτή τη μετατροπή για να αναπτυχθεί και τα φυτοοιστρογόνα φαίνεται πως έχουν προστατευτικό ρόλο σε αυτό.²⁰⁷

Μελέτες που επικεντρώνονται στον μηχανισμό δράσης των ισοφλαβόνων **(Εικ.15)** αποδεικνύουν, πως τα φυτικά εκχυλίσματα που περιέχουν δαιζδεΐνη, έχουν την ικανότητα να επιδρούν και άμεσα στους οστεοβλάστες, αυξάνοντας την δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης, την περιεκτικότητα του DNA και του πρωτεϊνικού περιεχομένου.²⁰⁸ Το ίδιο ισχύει και με τους οστεοκλάστες, όπου ισοφλαβόνες όπως η γενιστεΐνη εισβάλλουν απευθείας στον πυρήνα των οστεοκλαστών ή ενεργοποιούν την διαδικασία της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών της κυτταρικής μεμβράνης μπλοκάροντας την δράση της κινάσης της τυροσίνης και των τοποισομεράσων I και II, αναστέλλοντας με αυτό τον τρόπο την διαδικασία της απόπτωσης.²⁰⁹ Η φωσφορυλίωση, αποτελεί μια γρήγορη και αναστρέψιμη αντίδραση, η οποία έχει στόχο να μεταβάλλει λειτουργικά μια πρωτεΐνη για όσο χρονικό διάστημα χρειάζεται και να την καταστήσει ανενεργή.²¹⁰ Το φαινόμενο που περιγράφηκε με την χορήγηση της γενιστεΐνης δεν παρατηρείται όμως και μετά την χορήγηση της δαιζδεΐνης, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι οι δύο αυτές ισοφλαβόνες αναστέλλουν την οστική απορρόφηση με τελείως διαφορετικό τρόπο. Τα συμπεράσματα της μελέτης αυτής ήρθαν να ενισχύσουν και δεδομένα από την μελέτη των Williams et al, όπου η γενιστεΐνη και όχι η δαιζδεΐνη μείωσε την έκκριση του υδροχλωρικού οξέως του στομάχου. Το όξινο περιβάλλον του στομάχου υποβοηθά την απορρόφηση του ασβεστίου και με τον τρόπο αυτό αναστέλλεται η οστική απορρόφηση.²¹¹

Η χειρουργική ή η φυσική ενδεία των οιστρογόνων που παρατηρείται στην εμμηνόπαυση, προκαλεί την αύξηση του παράγοντα νέκρωσης των όγκων α (TNF- α), μιας κυτοκίνης που εμπλέκεται ενεργά σε διάφορα νοσήματα που επιδρούν αρνητικά

στον οστικό μεταβολισμό. Η κυτοκίνη RANKL, αποτελεί μέλος της οικογένειας TNF και προάγει την διαφοροποίηση των οστεοκλαστών. Για να κατασταλεί η δράση του RANKL, τα ενδογενή οιστρογόνα διεγείρουν τους οστεοβλάστες να παράγουν οστεοπροτεγερίνη (OPG). Πριν από μερικά έτη διαπιστώθηκε πως η γενιστεΐνη προάγει την παραγωγή OPG από τους οστεοβλάστες και με τον προαναφερθέντα μηχανισμό αδρανοποιεί τον RANKL και κατά συνέπεια την οστεοκλαστογένεση παρέχοντας έναν επιπρόσθετο μηχανισμό δράσης των ισοφλαβονών.^{213,214} Η ιντερλευκίνη 6 (IL-6) είναι μια πολύ λειτουργική κυτοκίνη και στην οστεοπόρωση δρα ως τοπικός παράγοντας οστικής απορρόφησης διεγείροντας τις πρόδρομες μορφές των οστεοκλαστών. Οι ισοφλαβόνες ωστόσο, συμβάλουν στην καταστολή της IL-6 παρεμποδίζοντας με τον τρόπο αυτό την οστεοκλαστογένεση.²¹⁴



Εικόνα 15. Μηχανισμοί δράσης ισοφλαβονών.²¹²

Ολοκληρώνοντας, οι ισοφλαβόνες μπορούν ακόμα να επηρεάσουν τον οστικό μεταβολισμό και με διάφορους άλλους μηχανισμούς, όπως μέσα από την παρεμπόδιση

της αγγειογένεσης,²¹⁵ μειώνοντας την υπεροξειδάση των λιπιδίων²¹⁶ ή μειώνοντας την τιμή της 17-β υδροξυστεροειδούς αφυδρογονάσης.²¹⁷

5.7.2 Πειραματικές μελέτες

Το ζωικό μοντέλο που έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για τη μελέτη της πρόληψης και της θεραπείας της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης είναι ο ωοθηκεκτομημένος επίμυς, καθώς παρουσιάζει σημαντικές ομοιότητες με το ανθρώπινο πρότυπο.^{218,219}

ΟΚαλι και η ομάδα του, ήταν από τους πρώτους ερευνητές που αναφέρθηκαν στην οστεοπροστατευτική επίδραση των ισοφλαβονών στον οστικό μεταβολισμό.²²⁰ Τα τελικά σημεία των μελετών που ακολούθησαν, βασίστηκαν στην μεταβολή της οστικής πυκνότητας, στην μείωση της μηχανικής αντοχής των οστών και στις μεταβολές των βιοχημικών δεικτών του οστικού μεταβολισμού. Η ασφάλεια του «υπο μελέτη» εκχυλίσματος αξιολογήθηκε κάθε φορά με τον έλεγχο διατήρησης του βάρους της μήτρας, για τον αποκλεισμό οποιασδήποτε «οιστρογονικού τύπου» δράσης. Ο σχεδιασμός των πειραματικών πρωτοκόλλων διέφερε μεταξύ των εκάστοτε μελετών, όπως επίσης η οδός και η δόση χορήγησης του εκάστοτε φυτοοιστρογόνου.

Οι Fanti et al το 1998, παρουσίασαν την προστατευτική επίδραση που είχε η γενιστεΐνη στην απώλεια της οστικής πυκνότητας τόσο σπογγώδες όσο και στο φλοιώδες οστό θηλέων ωοθηκεκτομημένων επίμυων. Η χορήγηση γενιστεΐνης συνέβαλε στην αύξηση της οστικής παραγωγής, στην αύξηση των επιπέδων της οστεοκαλσίνης και ανέστειλε την έκκριση του TNF-α. Επιπρόσθετα, η γενιστεΐνη συνέβαλε στην καταστολή των Β λεμφοκυττάρων τα οποία είναι υπεύθυνα για την έκκριση των κυτοκινών TNF-α, IL-1, IL-6. Σε μελέτη που ακολούθησε αργότερα από

τους Ishimi et al, διεπιστώθη ότι λεμφοποίηση που παρατηρήθηκε μετά την ωθηκεκτομή, κατάφερε να αντιστραφεί με την χορήγηση 17-β οιστραδιόλης και γενιστεΐνης.²²¹

Η ευεργετική επίδραση των φυτοοιστρογόνων στην απώλεια της οστικής απώλειας επιβεβαιώθηκε από πληθώρα μελετών σε ωθηκεκτομημένους επιμυες.²²² Η χορήγηση ισοφλαβονών και συγκεκριμένα η χορήγηση δαιζδεΐνης κατάφερε να μειώσει σε σημαντικό βαθμό την εντερική απορρόφηση του ασβεστίου, γνωστή συνέπεια της ωθηκεκτομής.²²³ Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση 849 άρθρων, η χορήγηση των φυτοοιστρογόνων κατάφερε να αποτρέψει σε σημαντικό βαθμό την απώλεια του σπογγώδους οστού μετά την ωθηκεκτομή.²²⁴ Η επίδραση των φυτοοιστρογόνων ήταν εξίσου ευεργετική και στην μείωση των δεικτών του οστικού μεταβολισμού, αποδεικνύοντας πως τα φυτοοιστρογόνα είναι ικανά να αναστείλουν τον ρυθμό της οστικής ανακατασκευής σε σημαντικό βαθμό.^{219,225}

Ωστόσο υπάρχουν και μελέτες που απέδειξαν πως η κατανάλωση ισοφλαβονών επηρέασε ελάχιστα ή καθόλου σε κάποιες περιπτώσεις, την οστική απώλεια των πειραματικών μοντέλων.²²⁶ Ο Bahr και η ομάδα του δεν βρήκε καμία συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση σόγιας και την απώλεια της οστικής πυκνότητας των ωθηκεκτομημένων αρουραίων ράτσας Sprague-Dawley. Στατιστικά σημαντικές διαφορές ανευρέθηκαν μόνο στην ιστομορφομετρία στην ομάδα που έλαβε την υψηλή συγκέντρωση του εκχυλίσματος με σόγια.²²⁷ Λίγα έτη αργότερα, ο Picherit και οι συνεργάτες του παρατήρησαν πως η κατανάλωση ισοφλαβονών κατάφερε να περιορίσει έως ένα βαθμό τον οστικό μεταβολισμό, όμως δεν κατέστη εφικτή η ανάκτηση της χαμένης οστικής απώλειας καταλήγοντας στο συμπέρασμα πως η κατανάλωση ισοφλαβονών μπορεί να παρέχει προστατευτικό ρόλο στην οστική απώλεια αλλά σε καμία περίπτωση δεν μπορεί να έχει επανορθωτικό ρόλο μετά την

απώλεια της οστικής μάζας. Παρόμοιες πειραματικές μελέτες αναφέρουν, πως η έναρξη της θεραπείας με το φυτικό εκχύλισμα θα πρέπει να ξεκινά αμέσως μετά την ωοθηκεκτομή, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για φυτοιστρογόνα με ήπια οιστρογονική δράση, τα οποία συνήθως παρέχουν ένα πιο ήπιο θεραπευτικό αποτέλεσμα. Μετά την ωοθηκεκτομή στο συγκεκριμένο ζωικό πρότυπο η οστική απώλεια διενεργείται με ταχύτετους ρυθμούς και οι πρώτες αλλαγές στην εγγύς μετάφυση της κνήμης είναι ήδη ορατές από την δεύτερη κιόλας εβδομάδα μετά την ωοθηκεκτομή, επομένως η άμεση έναρξη του εκχυλίσματος μπορεί να παρεμποδίσει αυτές τις πρώιμες μεταβολές.^{228,229,230} Οι περισσότερες πειραματικές μελέτες υποστηρίζουν τα ευρήματα των *in vitro* μελετών, καταλήγοντας στο συμπέρασμα πως οι ισοφλαβόνες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον οστικό μεταβολισμό και μπορούν να αποτρέψουν την ταχεία οστική απώλεια που συνοδεύει την ωοθηκεκτομή εξαιτίας της χειρουργικής ή φυσιολογικής ενδείας των οιστρογόνων.

5.7.3. Κλινικές μελέτες

Το επιστημονικό ενδιαφέρον για την διερεύνηση των πιθανών οστεοπροστατευτικών ιδιοτήτων των φυτοιστρογόνων προέκυψε μετά την δημοσίευση της πρώτης κλινικής μελέτης το 1994 που αφορούσε την χορήγηση ιπριφλαβόνης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.²³¹ Η ιπριφλαβόνη είναι συνθετικό παράγωγο των φλαβονοειδών, προέρχεται από την δαιζδεΐνη και η χορήγηση της φαίνεται να ασκεί οστεοπροστατευτική δράση κατά την εμμηνόπαυση.²³² Ωστόσο σε μια πολυκεντρική μελέτη διάρκειας 3 ετών που ακολούθησε, η χορήγηση ιπριφλαβόνης δεν είχε τα ίδια ευεργετικά αποτελέσματα στην διατήρηση της οστικής πυκνότητας και επιπρόσθετα η μακροχρόνια χορήγηση της συσχετίστηκε με την ανάπτυξη λεμφοκυτοπενίας.²³³

Τα τελευταία έτη έχουν έρθει στο φώς της δημοσιότητας πολλές μελέτες που διερευνούν την επίδραση των ισοφλαβονώνστην πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Αυτές ποικίλουν σημαντικά στον τρόπο σχεδιασμού τους, ενώ οι περισσότερες από αυτές βασίζονται σε επιδημιολογικές παρατηρήσεις. Η ηλικία των γυναικών που λαμβάνουν μέρος στην εκάστοτε μελέτη και το ορμονικό τους προφίλ, φαίνεται να αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας μιας ενδεχόμενης θεραπείας με φυτοοιστρογόνα, καθώς παρατηρούνται ουσιαστικές διαφορές ανάμεσα στις γυναίκες που βρίσκονται στην περι-εμμηνοπαυσιακή και την μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο. Ο οστικός μεταβολισμός στην άμεση μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο διενεργείται με ταχύτερους ρυθμούς σε σχέση με τα υπόλοιπα έτη της εμμηνόπαυσης.^{234,235} Επίσης ο τύπος, η δόση και η εντερική απορρόφηση των φυτοοιστρογόνων διαφέρουν από μελέτη, σε μελέτη και γι αυτό τον λόγο δεν μπορούν να εξαχθούν με ασφάλεια συμπεράσματα. Έχει παρατηρηθεί πως ακόμα ανάμεσα σε άτομα διαφορετικής φυλής, ο μεταβολισμός των μητρικών ενώσεων των φυτοοιστρογόνων για την παραγωγή ενεργών μεταβολιτών διαφέρει.²³⁶

Η μελέτη SWAN αποτελεί την πρώτη και μεγαλύτερη πολυκεντρική επιδημιολογική μελέτη στην οποία έλαβαν μέρος 1927 γυναίκες, ηλικίας 42-52 ετών, από 5 διαφορετικές χώρες. Κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη αποτέλεσαν, η διακοπή της εμμήνου ρύσεως το τελευταίο τρίμηνο και η γυναίκα να μην έχει λάβει αγωγή με ΟΘΥ. Μέσω ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων διερευνήθηκε η ανεύρεση πιθανής συσχέτισης, ανάμεσα στην λήψη γενιστεΐνης και στην αύξηση της οστικής πυκνότητας σε διάφορα σημεία του σκελετού (στην σπονδυλική στήλη, στο μηριαίο οστό και στο ισχίο). Οι γυναίκες λευκής φυλής όπως και οι Αφροαμερικανές ανέφεραν μικρή κατανάλωση προϊόντων σόγιας και γι αυτό και αποκλείστηκαν από

την μελέτη. Οι γυναίκες Ιαπωνικής και Κινεζικής καταγωγής ανέφεραν την μεγαλύτερη κατανάλωση προϊόντων σόγιας ωστόσο παρατηρήθηκε μια ουσιαστική θετική δόσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης γενιστεΐνης και της οστικής πυκνότητας μόνο στις γυναίκες Ιαπωνικής καταγωγής. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής υποδεικνύουν πως μπορεί η υψηλή πρόσληψη γενιστεΐνης να επιδράσει θετικά στον οστικό μεταβολισμό, αλλά ανάμεσα στις διάφορες φυλές μπορεί να παρατηρηθούν γενετικές διαφορές ή διαφορές στον μεταβολισμό της γενιστεΐνης οι οποίες να είναι αυτές που τελικά να καθορίσουν την δράση των οιστρογονικών υποδοχέων στο οστό.²³⁷ Σε μια ακόμη μελέτη 85 μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών Ιαπωνικής καταγωγής, η κατανάλωση προϊόντων σόγιας αποτέλεσε καθοριστικό παράγοντα για την αύξηση της BMD και την καταστολή της οστικής απορρόφησης.²³⁸ Αντιθέτως σε μελέτη που συμπεριελάμβανε 208 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες από την Καλιφόρνια δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση ανάμεσα στην κατανάλωση προϊόντων σόγιας και την αύξηση της BMD καθώς και δεικτών οστικού μεταβολισμού επιβεβαιώνοντας την υπόθεση της μελέτης SWAN.²³⁹

Σε κλινική μελέτη που διενεργήθηκε από τους Clifton-Bligh et al, η χορήγηση ισοφλαβονών σε 2 συγκεντρώσεις 57 και 85 mg, καθόρισαν μια δόσοεξαρτώμενη αύξηση στην οστική πυκνότητα, της τάξεως του 3-4% στην εγγύς κερκίδα και στην ωλένη.²⁴⁰ Η ομάδα του Morabito, συνέκρινε την επίδραση που μπορεί να έχει η χορήγηση 54 mg/d γενιστεΐνης σε σχέση με την καθιερωμένη δοσολογία της ΟΘΥ, στους οστικούς βιοχημικούς δείκτες και την οστική πυκνότητα (BMD) μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, ηλικίας 47-57 ετών για ένα έτος. Όπου και διεπιστώθη, πως οι γυναίκες που έλαβαν θεραπεία με γενιστεΐνη παρουσίασαν εφάμιλλες τιμές με τις γυναίκες που υποβλήθηκαν σε αγωγή με ΟΘΥ, δεικτών όπως η πυρινιδολίνη και η δεοξυπυριδινολίνη. Η BMD και στις δυο ομάδες παρέμβασης

αυξήθηκε σημαντικά τόσο στην σπονδυλική στήλη όσο και στον αυχένα του μηριαίου οστού. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση των επιπέδων της αλκαλικής φωσφατάσης και της οστεοκαλσίνης στην ομάδα που έλαβε θεραπεία με γενιστεΐνη σε σύγκριση και με την ομάδα που έλαβε την ΟΘΥ, όπου τα επίπεδα των συγκεκριμένων βιοχημικών δεικτών μειώθηκαν σημαντικά. Παρά το γεγονός ότι και οι δύο θεραπείες κατάφεραν να συμβάλουν στην μείωση των βιοχημικών δεικτών οστικής απορρόφησης, μόνο η χορήγηση γενιστεΐνης κατάφερε να ενεργοποιήσει την οστεοβλαστική δραστηριότητα όπως φάνηκε από τη σημαντική αύξηση των συγκεντρώσεων οστεοκαλσίνης σε σχέση με την ομάδα που έλαβε την ΟΘΥ.²⁴¹ Επισημαίνοντας την ουσιαστική διαφορά που έχουν ως προς τον τρόπο δράσης τους στον οστικό μεταβολισμό τα φυτοοιστρογόνα και η ΟΘΥ. Η μελέτη αυτή συμφωνεί με τα ευρήματα και άλλων μελετών όπου η χορήγηση ισοφλαβονών επέδρασε θετικά στην οστική παραγωγή.^{213,214}

Πιο πρόσφατες μελέτες παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα, σχετικά με την οστεοπροστατευτική δράση των ισοφλαβονών. Τα αποτελέσματα των περισσότερων μελετών δείχνουν πως η κατανάλωση ισοφλαβονών επιδρά θετικά στον οστικό μεταβολισμό,^{234,235,242,243} ωστόσο μετά-αναλύσεις των μελετών ανέδειξαν μία ασθενή ευεργετική επίδραση στην διατήρηση της οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη σε προσλήψεις >80 mg ημερησίως, αλλά η δόση αυτή δεν φαίνεται να έχει το ίδιο ευεργετικό αποτέλεσμα σε ισχίο και τροχαντήρα.^{244,245} Σε πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση 19 κλινικών μελετών, η κατανάλωση ισοφλαβονών επέφερε σημαντική αύξηση κατά 54% της οστικής πυκνότητας και μείωση κατά 23% της δεοξυπυρινολίνης ούρων σημαντικού δείκτη οστικής απορρόφησης.²⁴²

Τα ευρήματα από την προσιτή βιβλιογραφία δεν είναι σαφή, ενώ πολλές φορές είναι και αντικρουόμενα. Οι λόγοι για αυτή την ασυνέπεια μεταξύ των

μελετών, είναι η διαφορετική ηλικία εισαγωγής των συμμετεχόντων στην μελέτη, η διαφορετικότητα στο ορμονικό τους προφίλ, η δόση, ο τύπος, η οδός χορήγησης καθώς και η διάρκεια χορήγησης των φυτικών αυτών σκευασμάτων. Επομένως, κυριαρχεί μια αβεβαιότητα για τις ενδεχόμενες θετικές επιδράσεις των ισοφλαβονών στην σκελετική υγεία των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Με βάση τις υπάρχουσες δημοσιευμένες μελέτες, είναι αδύνατον να προτείνουν την χορήγηση των φυτικών σκευασμάτων ως εναλλακτική θεραπεία για την αντιμετώπιση της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Κρίνεται απαραίτητη η διενέργεια νέων διαχρονικών, προοπτικών, διπλά τυφλών μελετών με σημαντικό αριθμό δείγματος προκειμένου να διευκρινιστεί σε βάθος η πιθανή προστατευτική επίδραση των ισοφλαβονών στον οστικό μεταβολισμό των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Για τον ακριβή σχεδιασμό των μελετών, κρίνεται απαραίτητος ο καθορισμός της οιστρογονικής κατάστασης των γυναικών εκ των προτέρων καθώς και η ακριβής ηλικία των συμμετεχόντων. Επίσης είναι απαραίτητη η διενέργεια επιπρόσθετων μελετών για την αποσαφήνιση του ακριβούς μηχανισμού δράσης του εκάστοτε φυτοοιστρογόνου που χρησιμοποιείται, καθώς τα υπάρχοντα δεδομένα δεν είναι επαρκή.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο**ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ**

Ο όρος οστεοπόρωση προέρχεται από τις ελληνικές λέξεις πορώδες οστό και ορίζει τη συστηματική σκελετική νόσο, κατά την οποία παρατηρείται μείωση της οστικής μάζας με συνεπακόλουθη διαταραχή της μικροαρχιτεκτονικής του οστίτη ιστού. Η μείωση της οστικής μάζας και η δομική εκφύλιση του οστίτη ιστού, οδηγούν στην ελάττωση της μηχανικής αντοχής του οστού και στην αύξηση του κινδύνου πρόκλησης αναίτιων καταγμάτων.^{72,246} Η εμμηνόπαυση αποτελεί την πιο συχνή αιτία της οστεοπόρωσης παγκοσμίως.²⁴⁷ Παρά το γεγονός ότι η θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (ΘΟΥ), αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες φαρμακευτικές θεραπείες για την πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης, πρόσφατες μελέτες αναδεικνύουν τον αυξημένο κίνδυνο που διατρέχει αυτή η ομάδα των γυναικών να αναπτύξει καρκίνο του μαστού και της μήτρας, μετά τη μακροχρόνια χορήγηση τέτοιων ορμονικών σκευασμάτων.^{73,248,249} Επομένως, είναι επιτακτική η ανάγκη ανεύρεσης νέων εναλλακτικών θεραπειών με αποδεδειγμένη ασφάλεια και αποτελεσματικότητα.

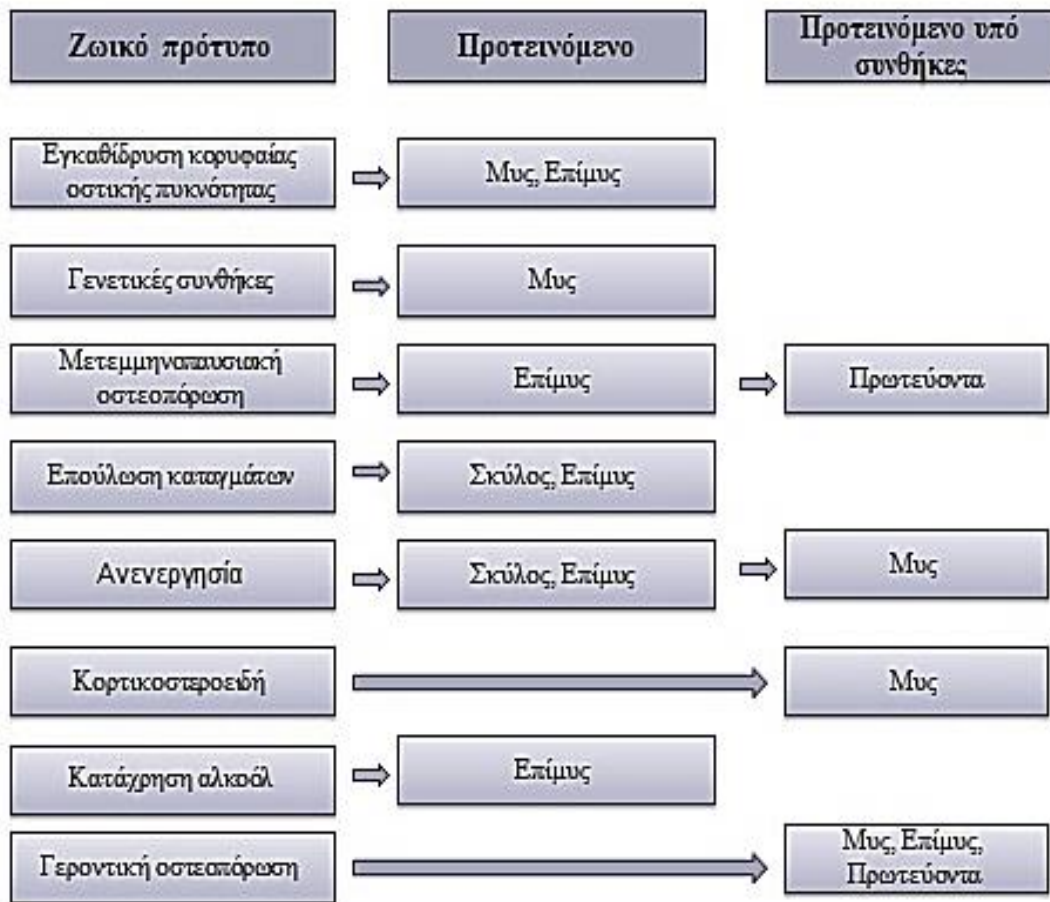
Τα φυτοοιστρογόνα είναι μη στεροειδείς φυτικές ενώσεις που παρουσιάζουν πολλές ομοιότητες με τη 17β-οιστραδιόλη και διαθέτουν οιστρογονική αντιοιστρογονική δράση ανάλογα με τον «ιστό-στόχο» μέσω των αντίστοιχων υποδοχέων, ERα και ERβ.^{168,169} Ο εκλεκτικός τρόπος δράσης τους καθώς και η ευρεία διαθεσιμότητά τους, σε συνδυασμό με το σχετικά χαμηλό κόστος τους τα καθιστά ελκυστική εναλλακτική επιλογή για την πρόληψη της εμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.¹⁷¹

Παγκοσμίως υπάρχει μεγάλη ποικιλία φυτών, το εκχύλισμα των οποίων έχει «οιστρογονική» φαρμακευτική δράση. Σε αυτή την κατηγορία ανήκει το φυλλοβόλο δέντρο *Amphimas pterocarpoides* (*AP*), της οικογένειας Leguminosa, το οποίο ευδοκimeί στην Κεντρική και Δυτική Αφρική. Εκχυλίσματα από τον φλοιό καθώς και τους καρπούς του δέντρου χρησιμοποιούνται ευρέως σε εμπειρική βάση, από τον τοπικό πληθυσμό για την θεραπεία διαφόρων ορμονοεξαρτώμενων διαταραχών.²⁵⁰ Παρά τη διαδεδομένη όμως χρήση του *AP*, η βιοδραστικότητά του έχει μελετηθεί ελάχιστα και οι υπάρχουσες μελέτες αναφέρονται μόνο στην αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδη δράση του.²⁵¹ Από πρόσφατη φυτοχημική ανάλυση του εκχυλίσματος που διενεργήθηκε από μέλη της επιστημονικής μας ομάδας, ανιχνεύτηκε η παρουσία 11 ισοφλαβονών με ισχυρή οιστρογονική δράση.²⁵² Έως σήμερα, δεν υπάρχει δημοσιευμένη μελέτη που να αναφέρεται στις αντιστεοπορωτικές ιδιότητες του εκχυλίσματος, πάρα την πληθώρα των ισοφλαβονών που εμπεριέχονται σε αυτό. Για τους λόγους αυτούς, ο σκοπός της παρούσας πειραματικής μελέτης ήταν η διερεύνηση της πιθανής ευεργετικής δράσης του φυτικού εκχυλίσματος *AP* στην πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Για την διεξαγωγή της μελέτης χρησιμοποιήθηκε το πειραματικό μοντέλο του ωοθηκεκτομημένου επίμυος, το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στη μελέτη της πρόληψης και της θεραπείας της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.^{218,219}

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7^ο

ΕΠΙΛΟΓΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΥ ΜΟΝΤΕΛΟΥ

Ζωικά είδη που έχουν χρησιμοποιηθεί στην έρευνα της οστεοπόρωσης είναι τα πρωτεύοντα, τα πρόβατα, οι χοίροι, οι σκύλοι, οι κόνικλοι, οι επίμυες και οι μύες.²¹⁹



Αλγόριθμος 3. Αλγόριθμος των προτεινόμενων και υπό συνθήκες προτεινόμενων ζωικών προτύπων στην έρευνα της οστεοπόρωσης.²⁵³

Τα πρωτεύοντα σε σχέση με τα υπόλοιπα ζωικά είδη, έχουν βιολογικά τις περισσότερες ομοιότητες με τον άνθρωπο ως προς τα ανατομικά τους στοιχεία, τον μεταβολισμό των οστών τους καθώς και την λειτουργία διαφόρων συστημάτων τους (ενδοκρινολογικού και πεπτικού).²⁵⁴ Δυστυχώς ο πειραματισμός με πρωτεύοντα είναι δυσχερής. Ο χειρισμός τους είναι δύσκολος και απαιτούνται ειδικές εγκαταστάσεις για

την φύλαξη τους, όπως και εξειδικευμένο προσωπικό για την φροντίδα τους. Επιπρόσθετα, τα πρωτεύοντα ενέχουν υψηλό κίνδυνο μετάδοσης κάποιας ζωοανθρωπονόσου. Γι' αυτό η χρήση τους περιορίζεται με βάση την υπάρχουσα νομοθεσία 2010/63/ΕΕ, στους τομείς εκείνους της βιοϊατρικής έρευνας που είναι «καθοριστικής σημασίας για τον άνθρωπο και για τους οποίους δεν υπάρχουν ακόμα άλλες εναλλακτικές μέθοδοι αντικατάστασης».²⁵⁵ Εξαιτίας της πολυπλοκότητας αυτής των πρωτευόντων, ο επίμυς αποτελεί το δημοφιλέστερο ζωικό πρότυπο για την μελέτη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.^{219,256}

Η καταλληλότητα του ζωικού είδους εξαρτάται τόσο από το πρωτόκολλο πρόκλησης της οστεοπόρωσης, όσο και από τα ζωοτεχνικά χαρακτηριστικά του κάθε είδους. Τα πειραματικά πρότυπα οστεοπόρωσης μπορούν να εφαρμοστούν είτε σε σκελετικά ώριμους επίμυες, είτε σε σκελετικά ανώριμους επίμυες. Στην ηλικία των 10 μηνών, οι επίμυες θεωρούνται σκελετικά ώριμοι και σε αυτή την ηλικία αποκτούν την κορυφαία οστική μάζα. Ο σκελετικά ανώριμος επίμυς, αποτελεί κατάλληλο πρότυπο για την έρευνα διαφόρων ενδοκρινολογικών, περιβαλλοντικών και διατροφικών παραγόντων που μπορεί να εμπλέκονται στην απόκτηση κορυφαίας οστικής μάζας, ενώ το μοντέλο του σκελετικά ώριμου επίμυ θεωρείται το ιδανικότερο πειραματικό μοντέλο για την μελέτη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Μετά την ωοθηκεκτομή στον σκελετό του επίμυος, παρατηρείται αυξημένος ρυθμός οστικής ανακατασκευής, ο οποίος διαφέρει στα διάφορα σημεία των οστών. Τα χαρακτηριστικά αυτά της οστικής απώλειας προσομοιάζουν τις οστικές αλλαγές, οι οποίες διενεργούνται στον άνθρωπο κατά την διάρκεια της εμμηνόπαυσης. Οι πρωϊμότερες αναφερόμενες αλλαγές για το σπογγώδες οστόν είναι 14 ημέρες, για την εγγύς μετάφυση της κνήμης 60 ημέρες και για τον αυχένα του μηριαίου οστού 30 ημέρες. Ενώ ο χρόνος που απαιτείται για την επίτευξη σταθερής κατάστασης

ισορροπίας στους επίμυες, είναι 90 ημέρες για τους οσφυϊκούς σπονδύλους και 270 ημέρες για το μηριαίο οστόν.^{219,253,256}

Οι πρωϊμότερες αναφερόμενες αλλαγές στο φλοιώδες οστόν, παρατηρούνται μετά το πέρας 90-120 ημερών από την ωθηκεκτομή, ενώ η επίτευξη σταθερής κατάστασης ισορροπίας επέρχεται μετά το πέρας 180 ημερών. Στο φλοιώδες οστόν των διαφύσεων των μακρών οστών, η ωθηκεκτομή διεγείρει την περιοστική ανάπτυξη. Ταυτόχρονα όμως στην ενδοοστική επιφάνεια των διαφύσεων των μακρών οστών, παρατηρείται αυξημένη οστική απορρόφηση η οποία οδηγεί στη διεύρυνση του μεγέθους της μυελικής κοιλότητας.^{257,258} Οι αντίρροπες αυτές δράσεις έχουν σαν συνέπεια, οι αλλαγές να επέρχονται αργά στο φλοιώδες οστόν των ωθηκεκτομημένων επίμυων .

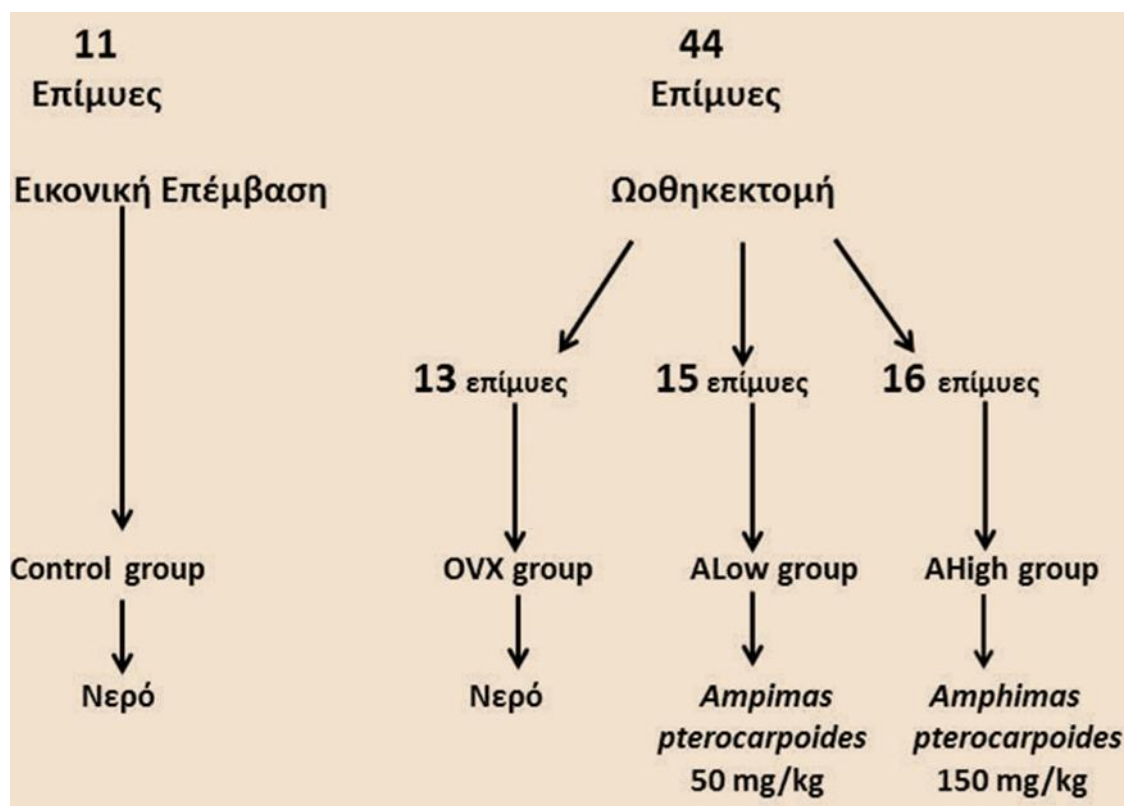
Η μείωση της οστικής μάζας και η δομική εκφύλιση του οστίτη ιστού οδηγούν στην ελάττωση της μηχανικής αντοχής του οστού και στην αύξηση του κινδύνου πρόκλησης αναίτιων καταγμάτων.^{72,246} Ο επίμυς, όπως και τα περισσότερα ζωικά πρότυπα δεν υφίστανται αυτόματα ή χαμηλής εντάσεως κατάγματα. Το μειονέκτημα αυτό μπορεί να υπερκερασθεί, αξιολογώντας τις μηχανικές δοκιμές των οστώνμέσα από διάφορες δοκιμασίες, η δημοφιλέστερη εκ των οποίων είναι η κάμψη 3 σημείων. Σημαντικές αλλαγές στην μηχανική αντοχή των οσφυϊκών σπονδύλων επέρχονται μετά ο πέρας 90 ημερών, ενώ ο απαιτούμενος χρόνος για την εμφάνιση αλλαγών στην διάφυση του μηριαίου οστού είναι 360 ημέρες.^{253, 258}

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο**ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ**

8.1. Σχεδιασμός πειράματος

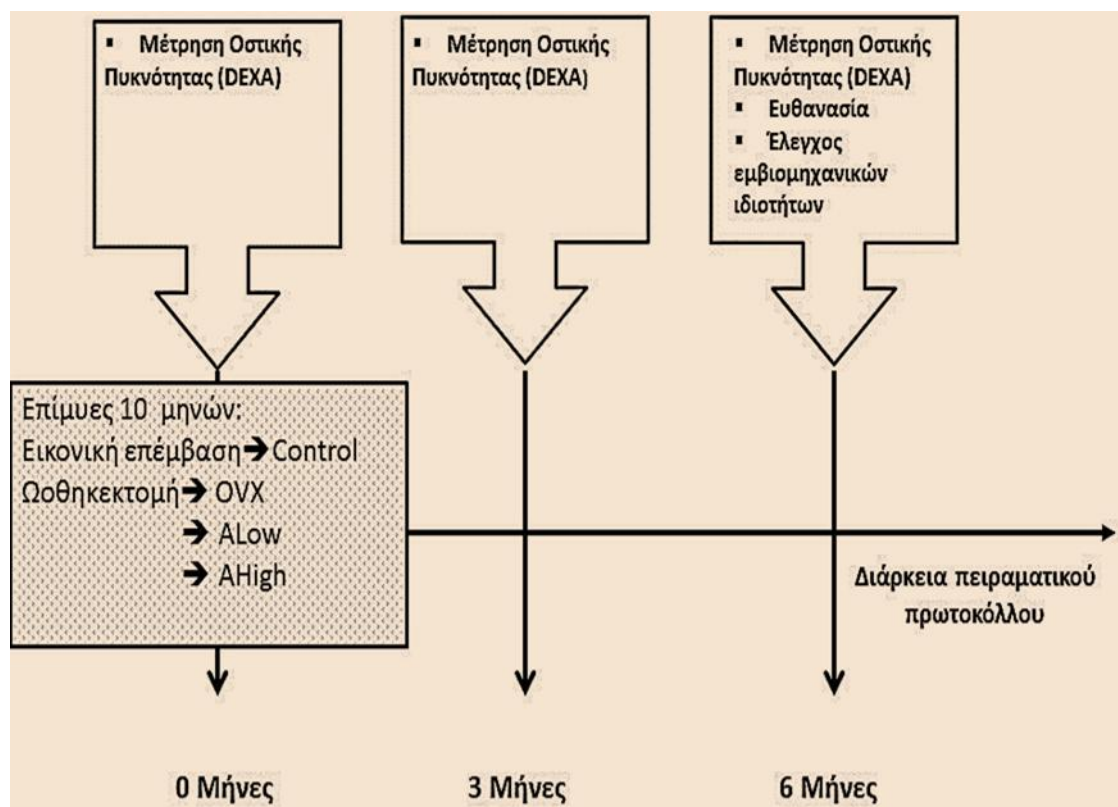
Μετά την έγκριση του πειραματικού πρωτοκόλλου από την Διεύθυνση Κτηνιατρικής της Νομαρχίας Αθηνών με αριθμό Πρωτοκόλλου 262/13-01-2011, πενήντα πέντε ενήλικοι (10 μηνών) θηλυκοί επίμυες της φυλής Wistar με σωματικό βάρος (300 +/-50g), αποκτήθηκαν από την καταχωρημένη μονάδα αναπαραγωγής του Ιδρύματος Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις προβλεπόμενες διατάξεις της Ευρωπαϊκής Σύμβασης για την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και ερευνητικούς σκοπούς (Ν. 1197/81 Άρθρο 4, Ν. 2015/92, ΠΔ 160/91). Η μελέτη διενεργήθηκε υπό την επίβλεψη και τη συμβολή κτηνιάτρου, ο οποίος ήταν υπεύθυνος για την τήρηση των προβλεπόμενων κανόνων υγιεινής των χώρων, των κανόνων εγκλιματισμού, προστασίας, διατροφής και ευζωίας των πειραματόζωων. Τα πειράματα διενεργήθηκαν στο Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων του Μυοσκελετικού Συστήματος «Θ. Γαροφαλίδης». Οι συνθήκες διαβίωσης ήταν ιδανικές. Ειδικότερα υπήρχε περιβάλλον σταθερής θερμοκρασίας, υγρασίας, αερισμού και υγιεινής με 12ωρη φυσιολογική εναλλαγή φωτός και σκότους. Τα πειραματόζωα φυλάσσονταν ανά τετράδες σε κλωβούς διαστάσεων (45 × 30 × 20 εκ.) και είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Μετά από 7 ημέρες εγκλιματισμού στο περιβάλλον του εργαστηρίου, όλοι οι επίμυες υποβλήθηκαν σε προσδιορισμό οστικής πυκνότητας με την μέθοδο DEXA πριν από οποιαδήποτε παρέμβαση, καθώς και αργότερα στους 3 και στους 6 μήνες. Σύμφωνα με το σωματικό τους βάρος και κατανέμοντας ομοιόμορφα άτομα από τις ίδιες

τοκετοομάδες σε κάθε πειραματική ομάδα, για την αποφυγή ανατομικής ή γενετικής ποικιλίας ανάμεσά τους, οι επίμυες διαιρέθηκαν σε τέσσερις ομάδες (**Γράφ. 1**).



Γράφημα 1. Ταξινόμηση των ομάδων.

Η πρώτη ομάδα υποβλήθηκε σε εικονική επέμβαση και αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου (Control, n=11), ενώ η δεύτερη ομάδα (OVX, n=13) υποβλήθηκε σε ωοθηκεκτομή χωρίς κάποια θεραπευτική παρέμβαση. Η πρώτη και η δεύτερη ομάδα έλαβαν πόσιμο νερό *ad libitum* αμέσως μετά το χειρουργείο, έως και την λήξη του πειράματος. Οι υπόλοιποι ωοθηκεκτομημένοι επίμυες χωρίστηκαν σε δυο επιπρόσθετες ομάδες που αποτέλεσαν την τρίτη και την τέταρτη ομάδα και έλαβαν θεραπεία με το εκχύλισμα *Ampimas pterocarpoides* σε συγκέντρωση 50 mg/kg (ALow, n=15) και 150 mg/kg (AHigh, n=16) για 6 μήνες σύμφωνα με τον σχεδιασμό της μελέτης. Οι φιάλες του εκχυλίσματος ανακινούνταν δύο φορές την ημέρα ώστε να αποφευχθεί η δημιουργία ιζήματος. Ο σχεδιασμός του πειραματικού πρωτοκόλλου παρουσιάζεται στο Γράφημα 2.



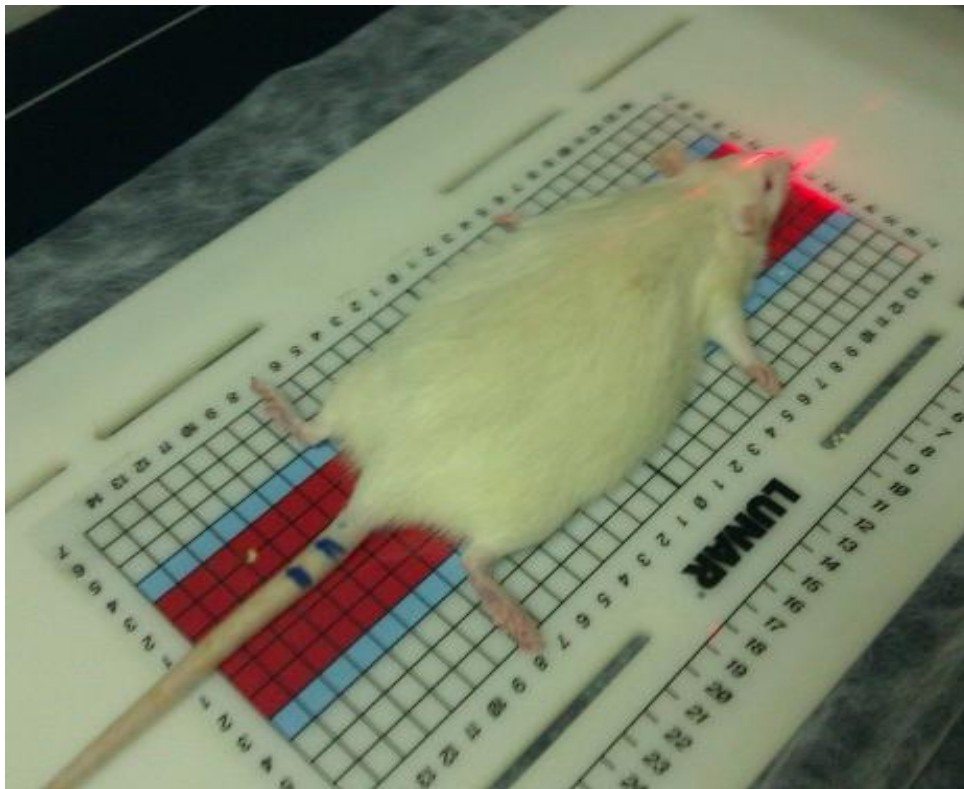
Γράφημα 2. Σχεδιασμός του πειράματος.

Όλοι οι επίμυες μετά την ωοθηκεκτομή έως και την λήξη του πειράματος, έλαβαν ειδική τροφή χωρίς προσθήκη σόγιας (Dieta Speciali 4RF21 modified, Mucedola, Italy) για την αποφυγή λήψεως επιπρόσθετου φυτοοιστρογόνου, που θα οδηγούσε στην αλλοίωση των αποτελεσμάτων της μελέτης μας. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, όλοι οι επίμυες ζυγίζονταν σε δεκαπενθήμερη βάση και εξετάζονταν καθημερινά. Μετά το πέρας των 6 μηνών, που σηματοδοτούσε και την λήξη του πειράματος, όλοι οι επίμυες υποβλήθηκαν σε ευθανασία με τη χορήγηση ενδομυϊκής αναισθησίας με 3 mg/kg ξυλαζίνης και 10 mg/kg κεταμίνης και αφαίμαξης από την οπίσθια κοίλη φλέβα. Στην συνέχεια συλλέχθηκαν τα ζωτικά όργανα και το λίπος και ζυγίσθηκαν άμεσα σε μικροζυγό ακριβείας (Sartorius handy microbalance H60) και διατηρήθηκαν στους -80°C . Όλοι οι επίμυες εξετάστηκαν λεπτομερώς για πιθανή ανεύρεση κακοήθειας ή κάποιας άλλης παθολογικής κατάστασης. Επιβεβαίωση της επιτυχίας της ωοθηκεκτομής διασφαλίστηκε με την απουσία ωοθηκικού ιστού και την

εμφάνιση σημαντικής ατροφίας των κεράτων της μήτρας. Επίσης, τα μηριαία οστά συλλέχθηκαν και τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία συλλογής διπλωμένα με γάζες και εμποτισμένα με φυσιολογικό ορό. Τα δοκίμια φυλάχθηκαν στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ και εστάλησαν στο Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο στο τμήμα Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστήμων, για τη διενέργεια των μετρήσεων μηχανικής αντοχής.

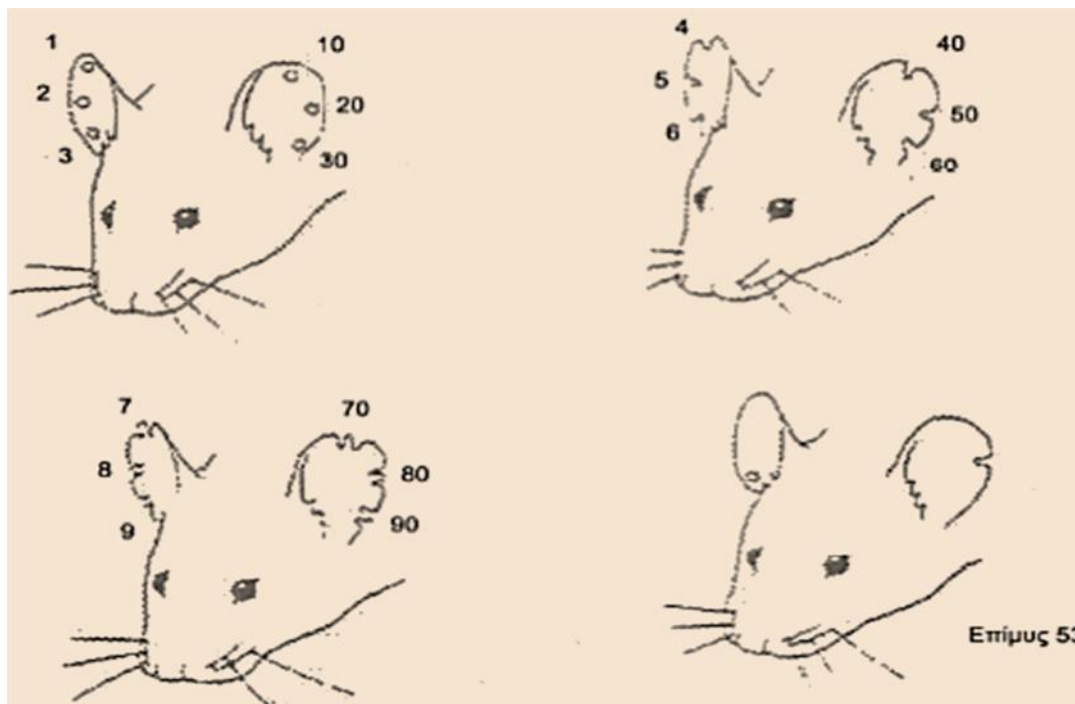
8.2. Αρίθμηση επίμυων

Για την αρίθμηση των επίμυων χρησιμοποιήθηκαν ειδικοί ανεξίτηλοι μαρκαδόροι και η αρίθμηση πραγματοποιήθηκε αρχικώς στις ουρές των ζώων. Στη βάση της ουράς οι αριθμοί αντιπροσωπεύονταν με ισάριθμους κύκλους μέχρι τον αριθμό τέσσερα ενώ στην άκρη της ουράς σχηματίζονταν οι πεντάδες με κύκλους, όπου ένας κύκλος ισοδυναμούσε με μία πεντάδα.



Εικόνα 16. Μέθοδος προσωρινής αρίθμησης και ταυτοποίησης των επίμυων.

Η μόνιμη αρίθμηση των επίμυων πραγματοποιήθηκε με ανώδυνη τεχνική 202 (Εικ.17) κατά την χορήγηση της πρώτης αναισθησίας κατά την αρχική μέτρηση DEXA. Για την αρίθμηση και την ταυτοποίηση στα ώτα των επίμυων οι μονάδες σημάνθηκαν στο δεξιό ούς ενώ οι δεκάδες στο αριστερό.

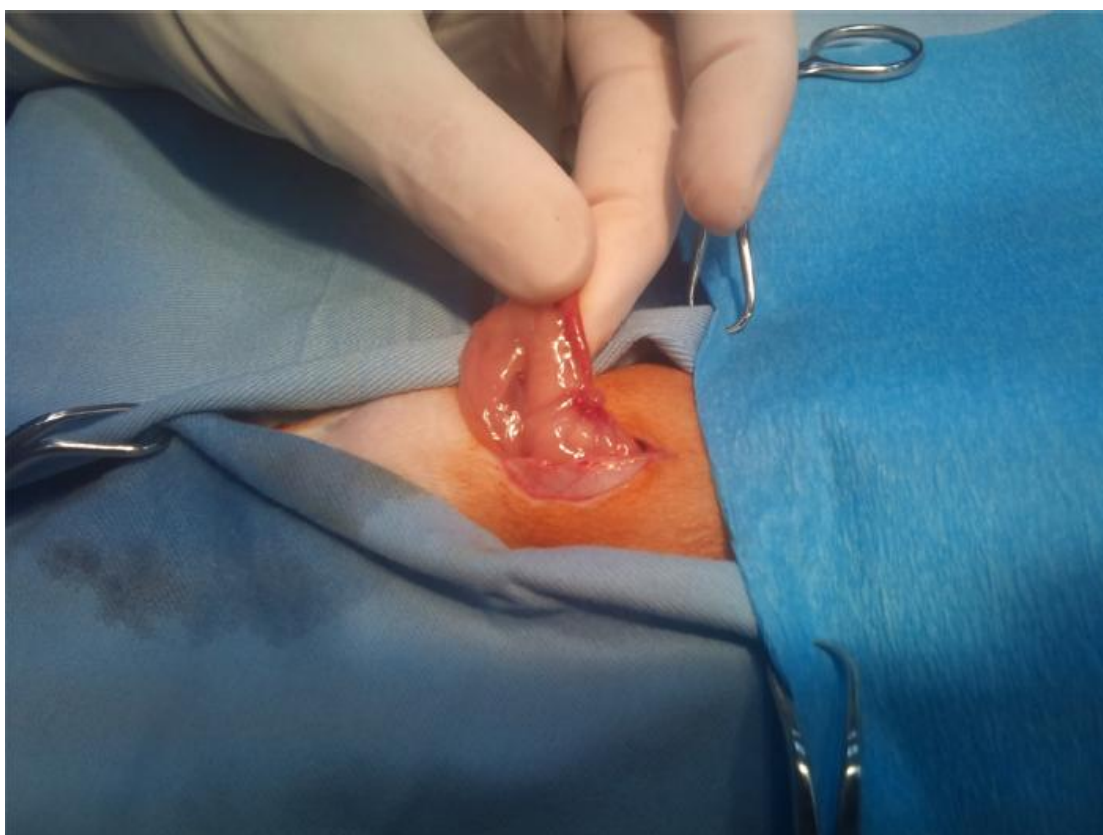


Εικόνα17. Μέθοδος μόνιμης αρίθμησης και ταυτοποίησης των επίμυων. Οι μονάδες σημαίνονται στο δεξιό ούς και οι δεκάδες στο αριστερό.

8.3. Ωοθηκεκτομή

Μετά τη χορήγηση γενικής αναισθησίας με 3 mg/kg ξυλαζίνης και 100 mg/kg κεταμίνης, το πειραματόζωο τοποθετήθηκε στην ειδικά διαμορφωμένη χειρουργική τράπεζα και ακινητοποιήθηκε, με την επίδεση των άνω και κάτω άκρων με ειδικούς μάντες. Τα άνω άκρα προσδένονταν χαλαρά, έτσι ώστε να μην εμποδίζονται οι αναπνευστικές κινήσεις. Εν συνεχεία, διενεργήθηκε ευπρεπισμός της κοιλιακής χώρας και αντισηψία με χρήση διαλύματος ιωδιούχου ποβιδόνης 10%. Εν συνεχεία, ακολούθησε τοποθέτηση αποστειρωμένου χειρουργικού πεδίου στο κοιλιακό τοίχωμα

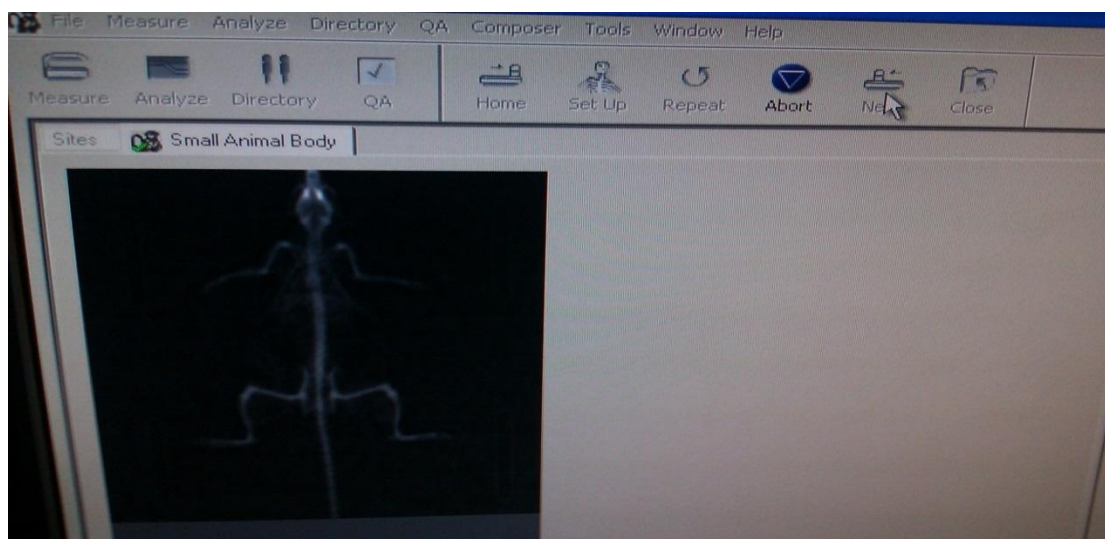
και πραγματοποιήθηκε μέση τομή του δέρματος στη μέση γραμμή και σε μήκος ίσο με το μισό της απόστασης από τον ομφαλό ως την ηβοισχιακή σύμφυση. Με κυρτό ψαλίδι αποχωρίστηκε ο υποδόριος ιστός και αποκαλύφθηκε η λευκή γραμμή. Ακολούθησε τομή της λευκής γραμμής και είσοδος στην περιτοναϊκή κοιλότητα. Μετά την ανεύρεση της αριστερής ωοθήκης διαχωρίστηκε ο πλατύς σύνδεσμος, σε περιοχή όπου δεν υπάρχουν αγγεία. Στη συνέχεια και με απορροφήσιμο ράμμα 4-0, διενεργήθηκαν δύο απολινώσεις. Η πρώτη στο ύψος του ίδιου συνδέσμου της ωοθήκης και η δεύτερη κεφαλικά της ωοθήκης στον κρεμαστήρα σύνδεσμο. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε και για τη δεξιά ωοθήκη. Ακολούθησε σύγκλιση των κοιλιακών τοιχωμάτων με απλές χωριστές ραφές και απορροφήσιμο ράμμα 4-0. Στο δέρμα χρησιμοποιείται μη απορροφήσιμο ράμμα 4-0 και η σύγκλιση της χειρουργικής τομής επιτυγχάνεται με Π οριζόντιες ραφές.



Εικόνα 18. Αναγνώριση του δεξιού κέρατος της μήτρας και της σύστοιχης ωοθήκης.

8.4. Μετρήσεις οστικής πυκνότητας

Μετρήσεις οστικής πυκνότητας (BMD) για την εκτίμηση του φλοιώδους και του σπογγώδους οστού πραγματοποιήθηκαν με την βοήθεια απορροφησιμετρίας διπλής ενεργειακής δέσμης ακτίνων X (Dual Energy X-ray Absorptiometry/DEXA) κατά την έναρξη του πειράματος, στους 3 και στους 6 μήνες. Οι τιμές υπολογίστηκαν σε γραμμάρια ανά τετραγωνικό εκατοστό. Η ακινητοποίηση των επίμυων διασφαλίστηκε μέσω ενδομυϊκών ενέσεων κεταμίνης 80 mg/kg και ξυλαζίνης 3 mg/kg πριν από κάθε μέτρηση. Οι επίμυες τοποθετούνταν στο κέντρο της τράπεζας της συσκευής (Lunar Prodigy Advance Densitometer, **Εικ.20**) και οι τομές ελήφθησαν με λειτουργικό υψηλής ανάλυσης, ειδικό για μικρά θηλαστικά (**Εικ.19**), πάντα από τον ίδιο έμπειρο χειριστή.



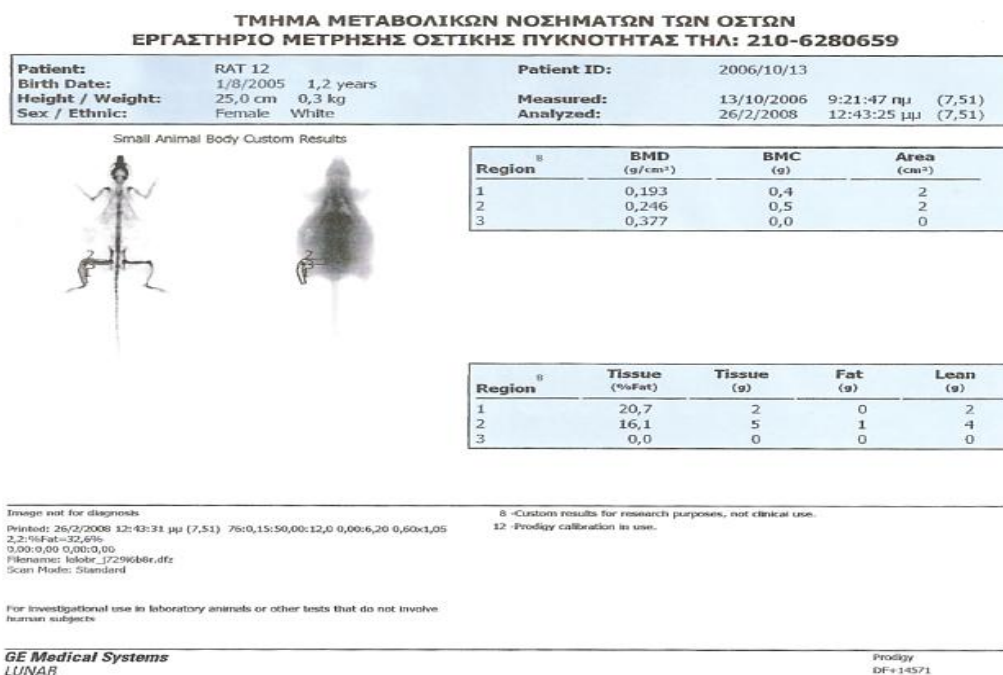
Εικόνα 19. Μέτρηση οστικής πυκνότητας με λήψη τομών με λειτουργικό υψηλής ανάλυσης, ειδικό για μικρά θηλαστικά.

Στην συνέχεια εκτιμήθηκε η οστική πυκνότητα όλης της κνήμης, συμπεριλαμβανομένου του φλοιώδους και του σπογγώδους οστού, με την τοποθέτηση περιοχής ενδιαφέροντος (Region Of Interest, ROI) να περιλαμβάνει ολόκληρη την κνήμη. Για την εκτίμηση της BMD του σπογγώδους οστού, το ROI

(διαστάσεων 2 mmx 2 mm) τοποθετήθηκε στην εγγύς μετάφυση της κνήμης, 3 mm περιφερικά της κνημιαίας αρθρικής επιφάνειας. Το σύστημα βαθμονομούνταν πριν από την κάθε μέτρηση της εκάστοτε ομάδας και η *in vitro* ακρίβεια (συντελεστής μεταβλητότητας) του συστήματος ήταν 0,5%.



Εικόνα 20. Τοποθέτηση επίμυος στην τράπεζα μέτρησης της οστικής πυκνότητας.



Εικόνα 21. Ανάλυση DEXA σε επίμυ.

8.5. Εκτίμηση εμβιομηχανικών ιδιοτήτων

Η ανάλυση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων των οστών αποτελεί μία από τις πιο αξιόπιστες μεθόδους για την εκτίμηση της ποιότητας του οστού, μέσα από τον προσδιορισμό των μηχανικών και γεωμετρικών χαρακτηριστικών τους.²⁵⁹ Ο επίμυς όπως και η πλειοψηφία των ζωικών προτύπων οστεοπενίας/οστεοπόρωσης δεν παρουσιάζουν αυτόματα ή χαμηλής εντάσεως κατάγματα. Αυτό το μειονέκτημα όμως, μπορεί να υπερκερασθεί μελετώντας τις μηχανικές δοκιμασίες των οστών. Η εκτίμηση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων των μηριαίων οστών των ωοθηκεκτομημένων επίμυων της μελέτης μας πραγματοποιήθηκε *ex vivo*, με τη μηχανική δοκιμή κάμψης τριών σημείων (Three Point Bending Test/3PBT). Σκοπός της παρούσας πειραματικής διαδικασίας αποτέλεσε ο προσδιορισμός της αντοχής και της στιβαρότητας του οστίτη ιστού της διάφυσης του μηριαίου καθώς και ο υπολογισμός της τάσης θραύσης. Η τάση θραύσης, αποτελεί βασικό μέγεθος εκτίμησης της αντοχής του οστού, απαλλαγμένο από άλλους παράγοντες. Η τιμή των τάσεων αποτελεί ίσως και το ουσιαστικότερο μέγεθος για την εξαγωγή συμπερασμάτων όσον αφορά στην αντοχή του οστού κάτω από ορισμένες συνθήκες πίεσης, υπό συγκεκριμένο φορτίο και φανερώνει το ρυθμό φόρτισης και το φορτίο με το οποίο αστοχούν πιο εύκολα τα οστά.²⁶⁰

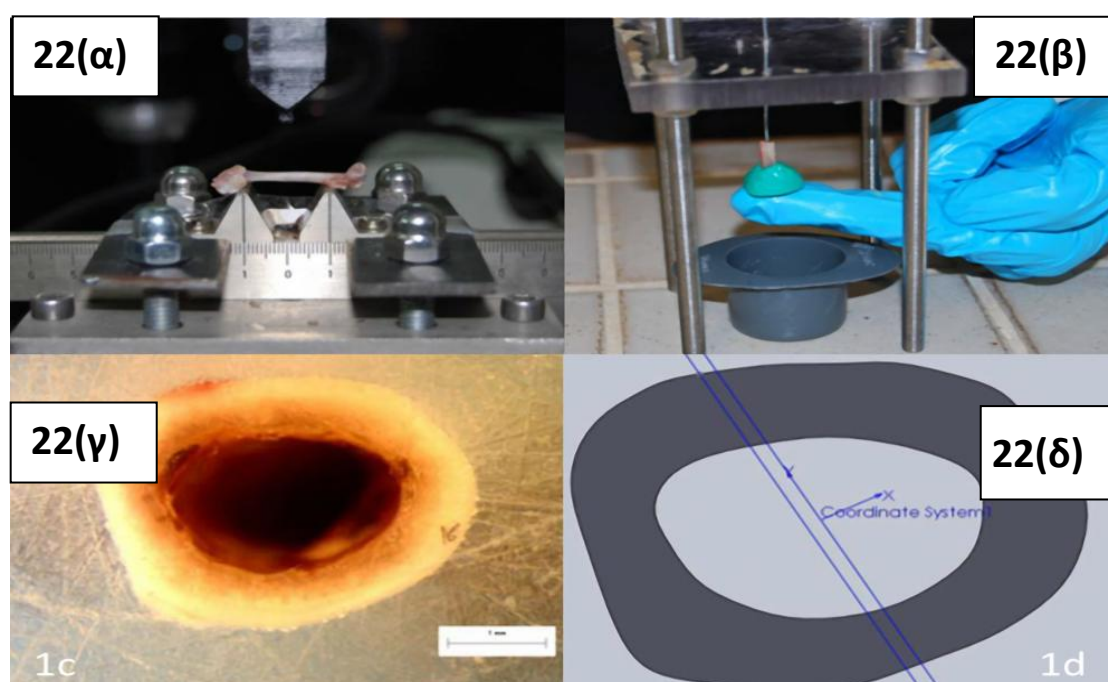
Η σειρά με την οποία τα δοκίμια θα υποβάλλονταν στην διαδικασία κάμψης τριών σημείων καθορίστηκε, με βάση την ημερομηνία ευθανασίας του εκάστοτε πειραματόζωου, ξεκινώντας από αυτά που ευθανατώθηκαν πρώτα. Τα δοκίμια παρέμεναν αποθηκευμένα σε κλειστά δοχεία στους -20°C , διαδικασία που έχει αποδειχθεί ότι δεν επιφέρει σημαντικές αλλοιώσεις στα μηχανικά χαρακτηριστικά των δοκιμίων.²⁶¹ Την ημέρα διεξαγωγής των μηχανικών δοκιμασιών, τα δοκίμια αποψύχονταν ώστε να μην επηρεαστεί ο δείκτης ελαστικότητας τους λόγω ψύχους

και να ληφθούν εσφαλμένες μετρήσεις. Επιπρόσθετα, ιδιαίτερη προσοχή εδόθη στην διατήρηση της υγρασίας των οστών και γι' αυτό δοκίμια παρέμειναν τυλιγμένα σε εμποτισμένες γάζες με φυσιολογικό ορόεως την εκτέλεση των μετρήσεων. Εάν τα οστά χάσουν μέρος της υγρασίας τους, επηρεάζεται ο δείκτης ελαστικότητας και το όριο θράυσης τους, με αποτέλεσμα να μειώνεται η ανθεκτικότητά τους επηρεάζοντας τα αποτελέσματα των μετρήσεων μας. Εν συνεχεία, τα δοκίμια κωδικοποιήθηκαν με αποκλειστικό κωδικό που αντιστοιχούσε στο πρωτόκολλο της εμβιομηχανικής κατά αύξοντα αριθμό που αντιστοιχούσεσε κάθε πειραματόζωο. Τα δοκίμια αφού καθαρίστηκαν από υπολείματα μυών που θα αλλοίωναν την λήψη των μετρήσεων φωτογραφήθηκαν και σημειώθηκε οποιαδήποτε αξιόλογη ανατομική παρατήρηση.

Κατά την διενέργεια των μετρήσεων τα μηριαία οστά τοποθετήθηκαν οριζόντια σε στρογγυλεμένες αρπάγες που βρίσκονταν σε απόσταση 20 mm μεταξύ τους **Εικ.22(α)** και εν συνεχεία εφαρμοζόταν φόρτιση στο μέσο της διάφυσης του μηριαίου οστού με ρυθμό 1 mm/min μέσω εμβόλου με στρογγυλεμένη άκρη. Η φόρτιση εφαρμοζόταν σταθερά μέχρις ότου επέλθει το κάταγμα του δοκιμίου. Στη συνέχεια κατεγράφησαν οι καμπύλες φόρτισης-παραμόρφωσης και η μέγιστη φόρτιση (σε Newtons) κατά τη στιγμή του κατάγματος. Σε περίπτωση εσφαλμένης τοποθέτησης ή εξαιτίας ανατομικών παραλλαγών των δοκιμίων, παρατηρούνταν στροφή κατά η διάρκεια της φόρτισης. Τα δοκίμια αυτά αποκλείονταν από τη στατιστική ανάλυση.

Στη δεύτερη φάση της πειραματικής διαδικασίας μελετήθηκε η ακριβής γεωμετρία και η διατομή του οστού που αστόχησε κατά τη διαδικασία της κάμψης. Για αυτό τον λόγο επιλέχθηκε το ένα από τα δύο μέρη του σπασμένου οστού και συγκεκριμένα το άνω άκρο προς το γόνατο. Δοκίμια που είχαν σπάσει μακριά από το σημείο φόρτισης, κοντά στους κονδύλους του γόνατος εγκιβωτίστηκαν σε ρητίνη από

την μεριά του ισχίου. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν κάθετα με τη βοήθεια πλαστελίνης σε μικρά κυλινδρικά δοχεία τα οποία γεμίστηκαν με ρητίνη **Εικ.22(β)**. Έπειτα το σύμπλοκο οστού/ρητίνης αφαιρέθηκε από τα δοχεία και λειάνθηκε σε μηχανήμα λείανσης **Εικ.22(γ)**. Ακολούθησε φωτογράφιση των δοκιμών οστού/ρητίνης στο στερεοσκόπιο και μέσω σύνδεσης με τον Η/Υ και τη βοήθεια του προγράμματος Image Pro Plus κατέστη δυνατός ο υπολογισμός των γεωμετρικών μεγεθών και υπολογισμός της ακριβούς τάσης θραύσης **Εικ.22(δ)**.



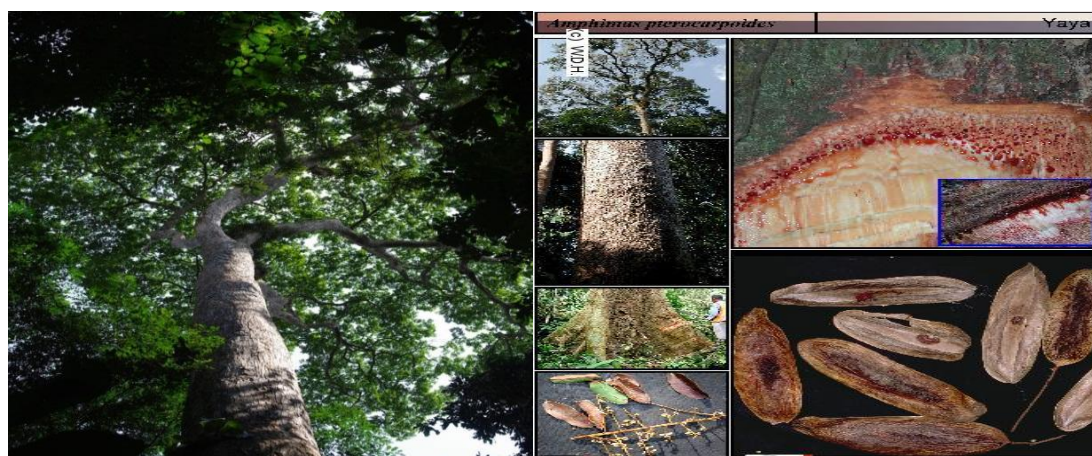
Εικόνα 22. Πειραματική διαδικασία μετρήσεων μηχανικής αντοχής των μηριαίων οστών των επίμυων.

Στην συνέχεια το ένα από τα δύο θραύσματα εγκιβωτίστηκε σε ρητίνη και λειάνθηκε ώστε να καταγραφεί η πλήρης μορφή της διατομής. Η επεξεργασία των εικόνων που λήφθηκαν από στερεοσκόπιο επεξεργάστηκαν με το λογισμικό Solid works ώστε να προσδιοριστούν τα παρακάτω μεγέθη: το γεωμετρικό κέντρο της διατομής, ο άξονας φόρτισης και η εκκεντρότητά του ως προς το γεωμετρικό κέντρο, το εμβαδόν της διατομής αστοχίας, η εσωτερική και εξωτερική ακτίνα, το μέσο και το

ελάχιστο πάχος διατομής, το κύριο σύστημα αναφοράς, οι επιφανειακές ροπές δευτέρας τάξης του κυρίου συστήματος, ο ουδέτερος άξονας και το σημείο αστοχίας του υλικού. Με τη βοήθεια των παραπάνω μεγεθών κατέστη δυνατός ο υπολογισμός για τον ακριβή προσδιορισμό της τάσης θραύσης .

8.6. Επιλογή φυτικού εκχυλίσματος

Τον Μάρτιο του 2010, τμήματα από το φλοιό του δέντρου *Amphimas pterocarpoides* συλλέχθηκαν από το βουνό Ελούμντεμ, στην κεντρική περιοχή του Καμερούν κατόπιν έγκρισης και επικύρωσης του πρωτοκόλλου από τον κ. Victor Nana βοτανολόγου στο Εθνικό Ερμπαρίο του Καμερούν (Άδεια πειραματισμού 52563/HNC). Για τον έλεγχο της αντιοστεοπορωτικής δράσης του φυτού, κρίθηκε αναγκαία η παρασκευή εμπλουτισμένου σε γλυσιτείνη εκχυλίσματος, από τον κορμό του δέντρου. Για τον σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές εκχύλισης, εμπλουτισμού και διαχωρισμού σε μεγάλη κλίμακα όπως εκχύλιση με υπερήχους, χρήση ρητινών προσρόφησης και μοριακού αποκλεισμού, χρωματογραφία κατανομής με φυγοκέντριση και παρασκευαστική υγρή χρωματογραφία μέσης πίεσης.

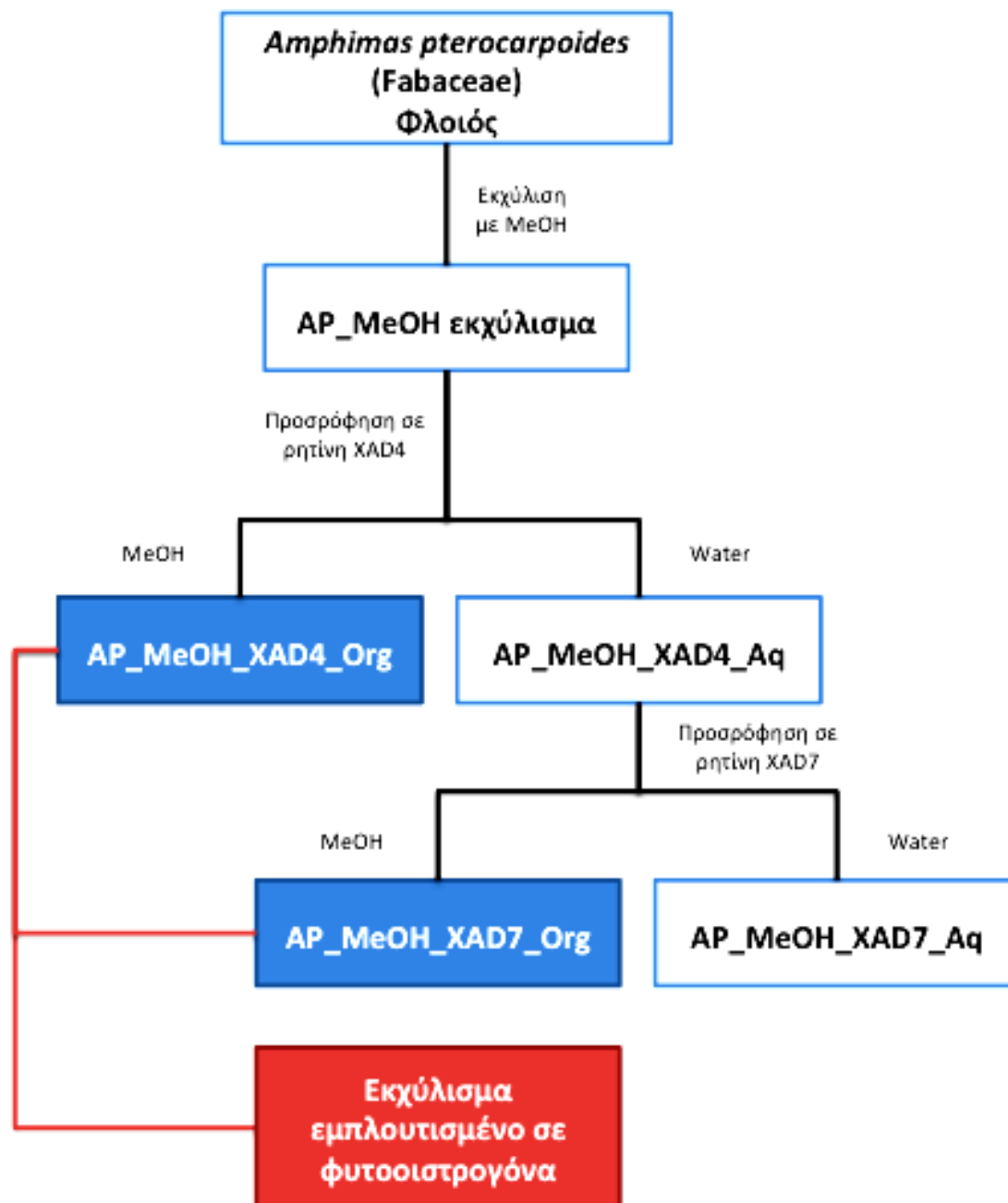


Εικόνα 23. Διαφορά μέρη του δέντρου *Amphimas pterocarpoides* (φλοιός, καρποί, φύλλα), που χρησιμοποιούνται από τον πληθυσμό του Καμερούν για την παρασκευή εκχυλισμάτων.

8.6.1. Παρασκευή εκχυλίσματος

Για την προετοιμασία του εκχυλίσματος, διενεργήθηκε αποξήρανση τμημάτων του φλοιού υπό σκιά και κονιοποίηση του υλικού χρησιμοποιώντας μύλο αλευριού. Εν συνεχεία, η κόνις που παρελήφθη από τον φλοιό του δέντρου *Amphimas pterocarpoides* (15 kg ξηρού φλοιού) εκχυλίστηκε με οργανικό διαλύτη μεθανόλης (MeOH) με τη βοήθεια πιλοτικού εκχυλιστήρα με ενσωματωμένο σύστημα διήθησης. Συνολικά ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 40 L ανά εκχύλιση, και η διαδικασία επαναλήφθηκε δύο φορές. Εν συνεχεία, ο διαλύτης απομακρύνθηκε από το στερεό υπόλειμμα με τη βοήθεια ενσωματωμένου συστήματος διήθησης, ενώ τα διηθήματα συνενώθηκαν και συμπυκνώθηκαν σε πιλοτικό περιστροφικό εξατμιστήρα όγκου 20 L μέχρι ποσοστού στερεού υπολείμματος 70 %. Το υπόλειμμα υπέστη λυοφιλοποίηση με αποτέλεσμα το τελικό προϊόν να είναι 750 g ξηρού μεθανολικού εκχυλίσματος. Ακολούθησε εμπλουτισμός του εκχυλίσματος με τη συνδυαστική χρήση προσροφητικών ρητινών. 700 g από το μεθανολικό εκχύλισμα αναδιαλύθηκαν σε 100 L νερό και διοχετεύτηκε σε στήλη η οποία είχε πληρωθεί με 50L προσροφητικής ρητίνης Amberlite XAD4, και το διάλυμα αφέθηκε να περάσει από τη στήλη. Το υδατοδιαλυτό κλάσμα το οποίο περιείχε τις ουσίες οι οποίες δεν περιέχουν φαινολικούς ή αρωματικούς πυρήνες στο μόριό τους (σάκχαρα, μικρό ποσοστό πολυμερών) συλλέχθηκε, και η ρητίνη εκπλύθηκε με 50 L νερού, το οποίο μετά την έξοδό του από τη στήλη συνενώθηκε με το προηγούμενο κλάσμα. Στη συνέχεια η στήλη εκπλύθηκε με 50 L μεθανόλης για την αποδέσμευση των φαινολικών συστατικών, και η οργανική φάση προωθήθηκε στις πιλοτικές εγκαταστάσεις εξάτμισης υπό κενό. Η εξάτμιση πραγματοποιήθηκε μέχρι το εκχύλισμα να φτάσει σε περιεκτικότητα 70% σε στερεά, ενώ στη συνέχεια συνεχίστηκε σε περιστροφικό εξατμιστήρα όγκου 20 L (**Γράφ. 3**). Από την όλη διαδικασία προέκυψε ξηρό

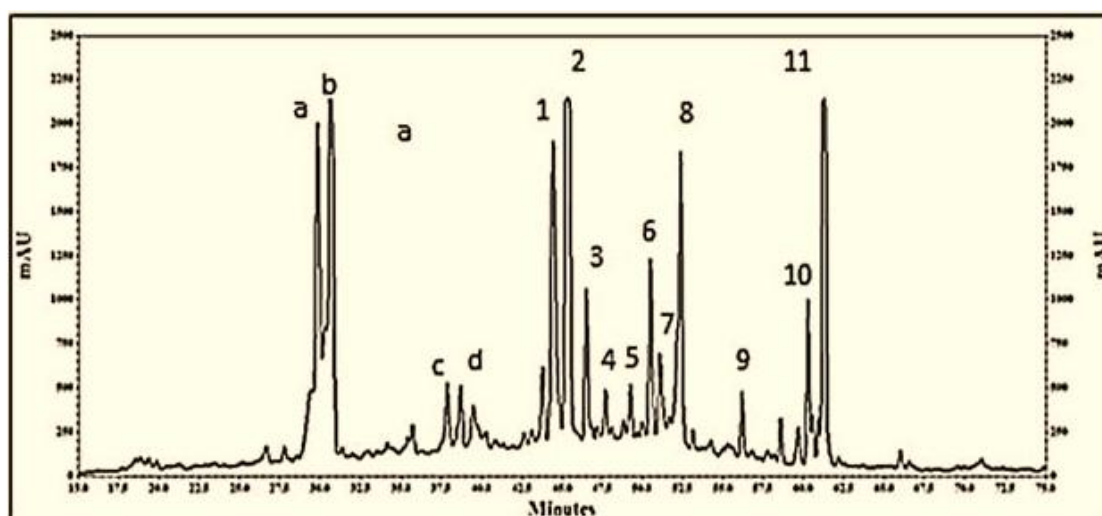
εκχύλισμα εμπλουτισμένο σε γλυσιτεΐνη βάρους 450gr. Η προσθήκη του εκχυλίσματος έγινε στο πόσιμο νερό σε δοσολογία 50 mg/kg και 150 mg/kg.



Γράφημα 3. Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας εκχύλισης και εμπλουτισμού με προσροφητικές ρητίνες του μεθανολικού εκχυλίσματος του δέντρου *Amphimas pterocarpoides* (Fabaceae).

8.6.2. Ανάλυση εκχυλίσματος

Με την μέθοδο της φασματοσκοπίας πραγματοποιήθηκε ταυτοποίηση των ουσιών, όπου το τελικό περιεχόμενο των ισοφλαβονών στο μείγμα ήταν 30 %. Μετά την παραλαβή από την εκχύλιση ακολούθησε ποιοτικός έλεγχος με υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης συνδεδεμένη με ανιχνευτή υπεριώδους ορατού μεταβαλλόμενου μήκους κύματος διατάξεως φωτοδιόδων (HPLC - DAD) προκειμένου να διερευνηθεί το βιοχημικό του προφίλ. Τα φασματογράμματα μετρήθηκαν στα 254, 280 και 365 nm. Το Γράφημα 4 αναπαριστά την υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) του *Amphimas pterocarpoides* όπως αυτή καταγράφηκε στα 254 nm. Στο σημείο αυτό, κατέστη δυνατή η ανίχνευση αρκετών κορυφών που αναπαριστούν τις πολυφαινολικές ενώσεις που προέκυψαν, καθώς και τα 11 είδη ισοφλαβονοειδών που ανιχνεύτηκαν.



Γράφημα 4. Το Βιοχημικό προφίλ του εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoides* μέσω

υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC-DAD) στις 254 nm. Τα συστατικά που ανιχνεύθηκαν στο χρόνο <40 min (a – d) ταυτοποιήθηκαν σαν απλές φαινολικές ενώσεις. (1) Αφρορμωσίνη-7-O-β-D-απιοφουρανοσίλη-(1→6)-β-D-γλυκοκυρανοσίδη; (2) Αφρορμωσίνη -7-O-β-D-γλυκοκυρανοσίδη; (3) 7-Μεθυλ-δυσδροτεκτοριγίνη; (4) Δυσδρογλυκτεΐνη; (5) Ιρισολιδόν; (6) Δαιΐζεινη; (7) Γλυκτεΐνη; (8) Δυσδροαφρορμωσίνη; (9) Φορμονονεΐνη; (10) 7-Μεθυλ-Ιρισολιδόν; (11) Αφρορμωσίνη

8.6.3. Έλεγχος άμεσης και χρόνιας τοξικότητας του εκχυλίσματος

Πριν την έναρξη του πειραματικού πρωτοκόλλου, για την αξιολόγηση της οστεοπροστατευτικής δράσης του φυτικού εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoides* στις δύο χορηγούμενες συγκεντρώσεις διενεργήθηκε έλεγχος για την ασφάλεια του εκχυλίσματος για τον ορθό καθορισμό των δόσεων. Όπου και διεξήχθησαν δύο μελέτες, μια άμεσης και μια υπό-χρόνιας τοξικότητας.

Άμεση τοξικότητα

Για τον έλεγχο της άμεσης τοξικότητας από την χορήγηση του εκχυλίσματος χρησιμοποιήθηκαν έξι θηλυκοί επίμυες ράτσας Wistar, ο οποίοι χωρίστηκαν σε δύο ομάδες των τριών ατόμων. Η πρώτη ομάδα έλαβε πόσιμο νερό και αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου, ενώ η δεύτερη ομάδα έλαβε το φυτικό εκχύλισμα *Amphimas pterocarpoides* σε συγκέντρωση 2000 mg/kg. Η χορήγηση τόσο του νερού όσο και του εκχυλίσματος πραγματοποιήθηκε με την βοήθεια στοματογαστρικού καθετήρα. Όλα τα ζώα τέθηκαν υπό στενή παρακολούθηση 30 λεπτά πριν την έναρξη, για 2, 4 και 6 ώρες μετά από την χορήγηση. Εν συνεχεία, όλα τα ζώα εξετάζονταν λεπτομερώς (5-10 λεπτά) σε καθημερινή βάση για 14 ημέρες, για την έγκαιρη αναγνώριση οποιουδήποτε σημείου τοξικότητας. Ως σημεία τοξικότητας ορίστηκαν: ο θάνατος, οποιαδήποτε μεταβολή στη γενετήσια συμπεριφορά, στο δέρμα, στους οφθαλμούς και στην σωματοκινητική συμπεριφορά (εμφάνιση τρόμου, συσπάσεων, σιελόρροιας, διάρροιας, ληθαργικότητας, υπνηλίας και κόματος). Μετά την λήξη της περιόδου παρατήρησης όλα τα ζώα ευθανατώθηκαν και υποβλήθηκαν σε νεκροτομικό έλεγχο. Μέσα από την παρατήρηση των ζώων και την καθημερινή τους εξέταση δεν σημειώθηκε κάποια μεταβολή στην συμπεριφορά τους καθώς και κλινικά σημεία που να υποδηλώνουν τοξικότητα. Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και την πειραματική

ομάδα, όσον στην μεταβολή του βάρους και την ανεύρεση κάποιας παθολογικής κατάστασης από τα νεκροτομικά παρασκευάσματα.

Υποχρόνια τοξικότητα

Για την περαιτέρω αξιολόγηση του εκχυλίσματος για τον κίνδυνο εμφάνισης υποχρόνιας τοξικότητας χρησιμοποιήθηκαν 60 επίμυες οι οποίοι διαιρέθηκαν σε 6 ομάδες των 10 ζώων (5 άρρενες και 5 θήλειες). Η πρώτη ομάδα έλαβε νερό και αποτέλεσε την ομάδα ελέγχου, η δεύτερη ομάδα έλαβε το εκχύλισμα σε συγκέντρωση 150 mg/Kg, η τρίτη σε συγκέντρωση 300 mg/Kg και η τέταρτη ομάδα σε συγκέντρωση 600 mg/Kg. Οι ομάδες 5 και 6 χρησιμοποιήθηκαν ως δορυφορικές (satellite) ομάδες της ομάδας ελέγχου και της ομάδας υψηλής δόσης. Η χορήγηση του εκχυλίσματος μέσω ρινογαστρικού σωλήνα διήρκησε 28 ημέρες. Καθ' όλη την διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματος, όλοι οι επίμυες εξετάζονταν ημερησίως για και ζυγίζονταν ανά 4 ήμερο. Οι δορυφορικές ομάδες παρακολούθηθηκαν επιπλέον για 14 ημέρες, για τον αποκλεισμό εμφάνισης εμμενόντων ή αναστρέψιμων συμπτωμάτων και καθώς και αποκλεισμό εμφάνισης ετεροχρονισμένης τοξικότητας. Ως σημεία τοξικότητας και για αυτήν την χρονική περίοδο ορίστηκαν τα εξής: ο θάνατος, οποιαδήποτε μεταβολή στη γενετήσια συμπεριφορά, στο δέρμα, στους οφθαλμούς και στην σωματοκινητική συμπεριφορά (εμφάνιση τρόμου, συσπάσεων, σιελόρροιας, διάρροιας, ληθαργικότητας, υπνηλίας και κόματος). Μετά το πέρας των 28 και των 42 ημερών αντίστοιχα, όλα τα ζώα ευθανατώθηκαν μετά από την χορήγηση αναισθησίας. Ακολούθησε νεκροτομή και συλλογή των επικείμενων οργάνων για την διενέργεια παθολογοανατομικών αναλύσεων. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων και για αυτή την χρονική περίοδο, δεν υπέδειξαν κάποιο σημείο τοξικότητας και δεν παρουσιάστηκε κάποια αξιοσημείωτη μεταβολή του βάρους των επίμυων. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στο βάρος των

ζωτικών οργάνων ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και στις πειραματικές ομάδες και δεν ανιχνεύτηκαν παθολογικά ευρήματα.

8.7. Στατιστική ανάλυση

Οι μέσες τιμές (mean) και οι τυπικές αποκλίσεις (Standard Deviation=SD) χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των ποσοτικών μεταβλητών. Για τη σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών μεταξύ των 4 ομάδων χρησιμοποιήθηκε ο παραμετρικός έλεγχος ανάλυσης διασποράς (ANOVA). Για τον έλεγχο του σφάλματος τύπου I, λόγω των πολλαπλών συγκρίσεων χρησιμοποιήθηκε η διόρθωση κατά Bonferroni σύμφωνα με την οποία το επίπεδο σημαντικότητας είναι $0.05/k$ (k = αριθμός των συγκρίσεων). Η ανάλυση διασποράς για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (ANOVA) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να ελεγχθούν διαφορές στις μετρήσεις οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης (Total Tibia) και της εγγύς μετάφυσης της κνήμης (Proximal Tibia) μεταξύ των ομάδων αλλά και χρονικά. Επίσης, με την ανωτέρω μέθοδο εκτιμήθηκε εάν ο βαθμός μεταβολής στο χρόνο των υπό μελέτη παραμέτρων ήταν διαφορετικός μεταξύ των δυο ομάδων. Τα επίπεδα σημαντικότητας είναι αμφίπλευρα και η στατιστική σημαντικότητα τέθηκε στο 0.05. Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 19.0.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9^ο

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

9.1. Γενικά

Το δείγμα αποτελούνταν από 55 επίμυες χωρισμένους σε 4 ομάδες. Συγκεκριμένα, 11 (20.0%) αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου, 13 (23.6%) την ομάδα OVX, 15 (27.3%) την ομάδα ALow και οι υπόλοιποι 16 (29.1%) την ομάδα AHigh.

9.2. Μεταβολές της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης

Στον Πίνακα 4 παρουσιάζεται η μεταβολή της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης ξεχωριστά για κάθε ομάδα. Στην αρχική μέτρηση δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στις τιμές της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης μεταξύ των 4 ομάδων. Στους 3 μήνες, οι τιμές της ομάδας Control ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με τις τιμές των ομάδων OVX και ALow, ενώ με την ομάδα AHigh δεν βρέθηκε σημαντική διαφορά. Στους 3 μήνες οι ομάδες OVX, ALow και AHigh είχαν παρόμοιες τιμές οστικής πυκνότητας σε ολόκληρη την κνήμη. Στους 6 μήνες, οι τιμές της ομάδας Control ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με τις τιμές όλων των υπολοίπων ομάδων. Επίσης, οι τιμές της ομάδας AHigh ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με των ομάδων OVX και ALow. Οι ομάδες OVX και ALow είχαν παρόμοιες τιμές στους 6 μήνες.

Κατά τη διάρκεια παρακολούθησης, οι τιμές της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης στην ομάδα Control παρέμειναν σταθερές. Αντίθετα, στις υπόλοιπες ομάδες σημειώθηκε σημαντική μείωση τόσο από μέτρηση σε μέτρηση όσο και συνολικά από την αρχική μέτρηση στους 6 μήνες. Πιο αναλυτικά, η μείωση που σημειώθηκε στην ομάδα OVX στους 6 μήνες ήταν κατά -10,727% (SD=3.720%),

στην ομάδα ALow ήταν κατά -11.321% (SD=2.779%) και στην AHigh ήταν κατά -6.077% (SD=4.943%).

Η μείωση της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης της ομάδας Control διέφερε σημαντικά από την μείωση της οστικής πυκνότητας όλων των υπολοίπων ομάδων ($p < 0.001$ για όλες τις συγκρίσεις). Αντίθετα, ο βαθμός μείωσης της ομάδας OVX δε διέφερε σημαντικά από το βαθμό μείωσης της ομάδας ALow ($p = 0.547$). Ακόμα, ο βαθμός μείωσης στην ομάδα AHigh ήταν σημαντικά μικρότερος συγκριτικά τόσο με την ομάδα OVX ($p = 0.014$) όσο και με την ομάδα ALow ($p = 0.001$).

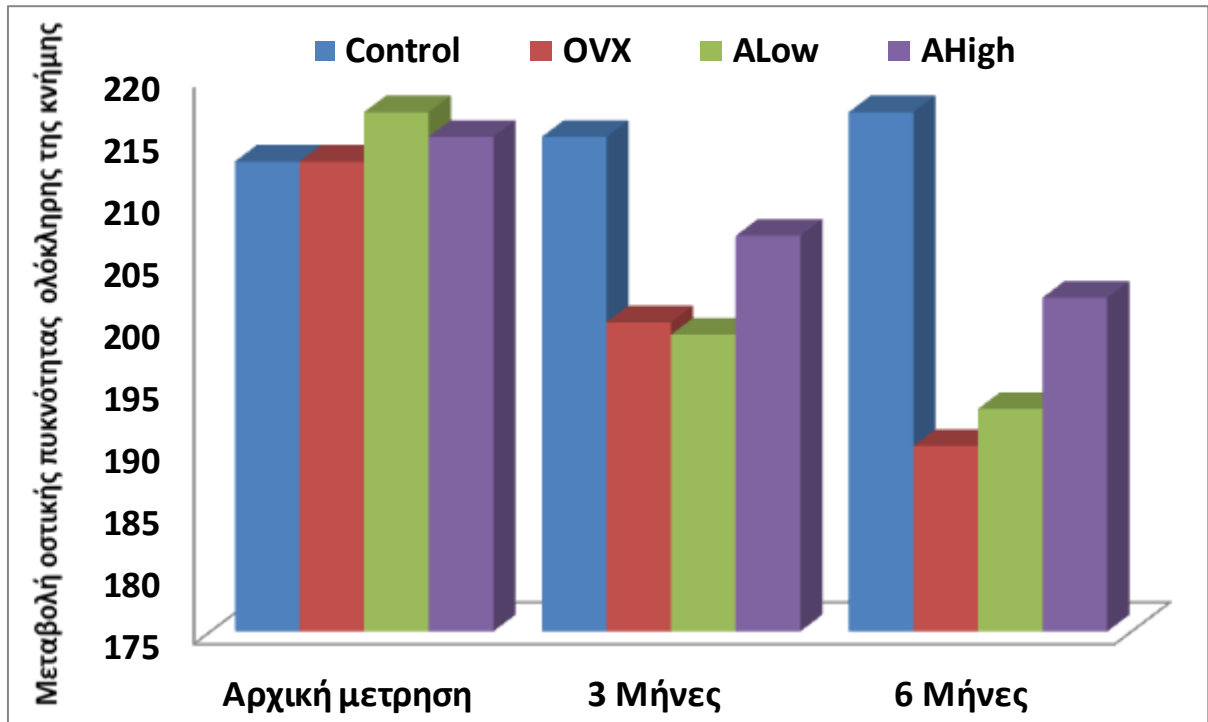
Ομάδα	<u>Ολόκληρη η κνήμη</u>			Μεταβολή (%) στους 3 μήνες	Μεταβολή (%) στους 6 μήνες	P** Αρχική vs 3 μήνες	P** Αρχική vs 6 μήνες	P** 3 vs 6 μήνες	P‡
	Αρχική μέτρηση	3 μήνες	6 μήνες						
	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)				
Control ¹	0.213 (0,011)	0.215 (0.012)	0.217 (0.011)	1.043 (2.876)	1.684 (3.447)	0.978	0.574	1.000	<0.001
OVX ²	0.213 (0,009)	0.200 (0.006)	0.190 (0.007)	-6.016 (2.646)	-10.727 (3.720)	<0.001	<0.001	<0.001	
ALow ³	0.217 (0,010)	0.199 (0.008)	0.193 (0.007)	-8.526 (3.015)	-11.321 (2.779)	<0.001	<0.001	<0.001	
AHigh ⁴	0.215 (0,010)	0.207 (0.009)	0.202 (0.011)	-3.802 (4.042)	-6.077 (4.943)	<0.001	<0.001	0.003	
P* _{1 vs 2}	1.000	<0.001	<0.001						
P* _{1 vs 3}	1.000	<0.001	<0.001						
P* _{1 vs 4}	1.000	0.095	0.001						
P* _{2 vs 3}	1.000	1.000	1.000						
P* _{2 vs 4}	1.000	0.258	0.006						
P* _{3 vs 4}	1.000	0.093	0.047						

*Διαφορά μεταξύ των ομάδων

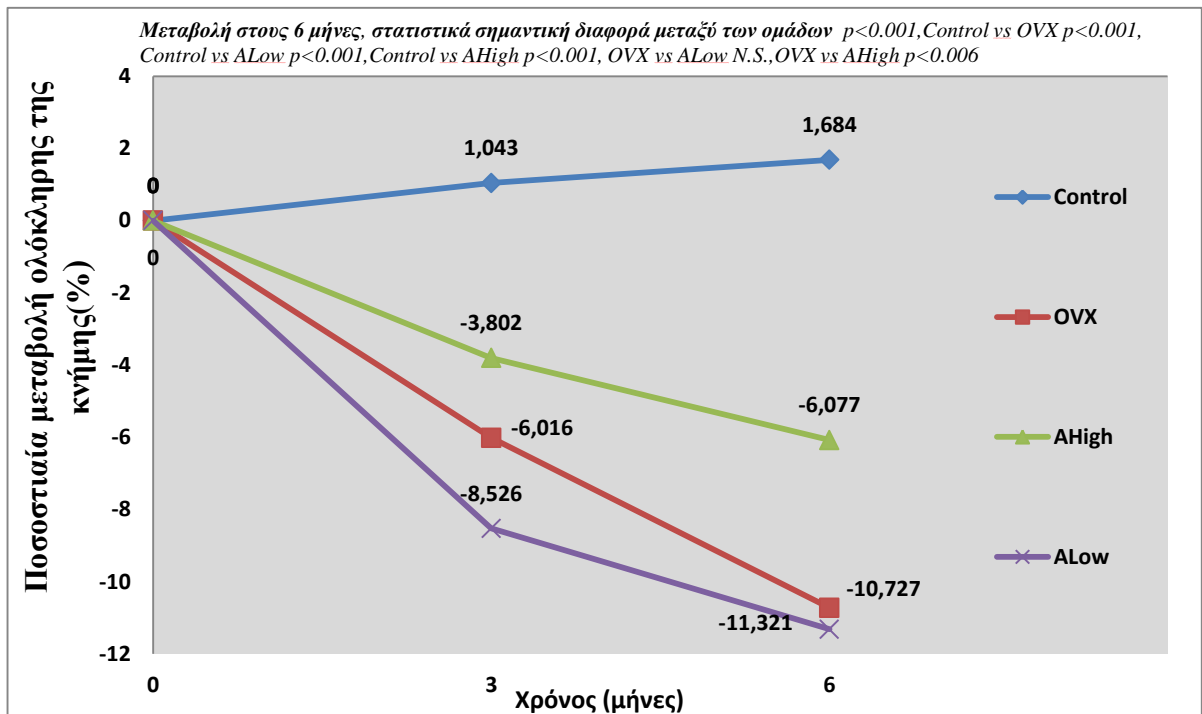
**Διαφορά μεταξύ των μετρήσεων.

‡ Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων

Πίνακας 4. Μεταβολή της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης ξεχωριστά για κάθε ομάδα.



Γράφημα 5. Μεταβολή της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης και στις δυο χρονικές περιόδους, για τις 4 ομάδες χωριστά.



Γράφημα 6. Ποσοστιαίες μεταβολές της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης και στις δυο χρονικές περιόδους, για τις 4 ομάδες χωριστά.

9.3. Μεταβολές της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης

Στον Πίνακα 5 παρουσιάζεται η μεταβολή της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης ξεχωριστά για κάθε ομάδα. Στην αρχική μέτρηση δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στις τιμές της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης μεταξύ των 4 ομάδων. Τόσο στους 3 όσο και στους 6 μήνες, οι τιμές της ομάδας Control ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με τις τιμές όλων των υπολοίπων. Επίσης, και στους 3 αλλά και στους 6 μήνες οι τιμές της ομάδας AHigh ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με των ομάδων OVX και ALow και οι τιμές της ομάδας ALow ήταν σημαντικά υψηλότερες από αυτές της ομάδας OVX.

Ομάδα	Εγγύς μετάφυση της κνήμης			Μεταβολή (%) στους 3 μήνες	Μεταβολή (%) στους 6 μήνες	P** Αρχική vs 3 μήνες	P** Αρχική vs 6 μήνες	P** 3 vs 6 μήνες	P‡
	Αρχική μέτρηση	3 μήνες	6 μήνες						
	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)				
Control ¹	0.331 (0.022)	0.351 (0.018)	0.357 (0.017)	6.254 (3.392)	8.108 (3.125)	<0.001	<0.001	0.680	<0.001
OVX ²	0.330 (0.023)	0.258 (0.031)	0.224 (0.024)	-21.822 (7.035)	-32.134 (5.905)	<0.001	<0.001	<0.001	
A-Low ³	0.352 (0.017)	0.301 (0.011)	0.267 (0.017)	-14.512 (3.182)	-23.985 (5.191)	<0.001	<0.001	<0.001	
A-High ⁴	0.343 (0.021)	0.327 (0.017)	0.314 (0.018)	-4.421 (2.436)	-8.144 (5.134)	<0.001	<0.001	<0.001	
P* _{1 vs 2}	1.000	<0.001	<0.001						
P* _{1 vs 3}	0.078	<0.001	<0.001						
P* _{1 vs 4}	0.901	0.027	<0.001						
P* _{2 vs 3}	0.037	<0.001	<0.001						
P* _{2 vs 4}	0.570	<0.001	<0.001						
P* _{3 vs 4}	1,000	0.004	<0.001						

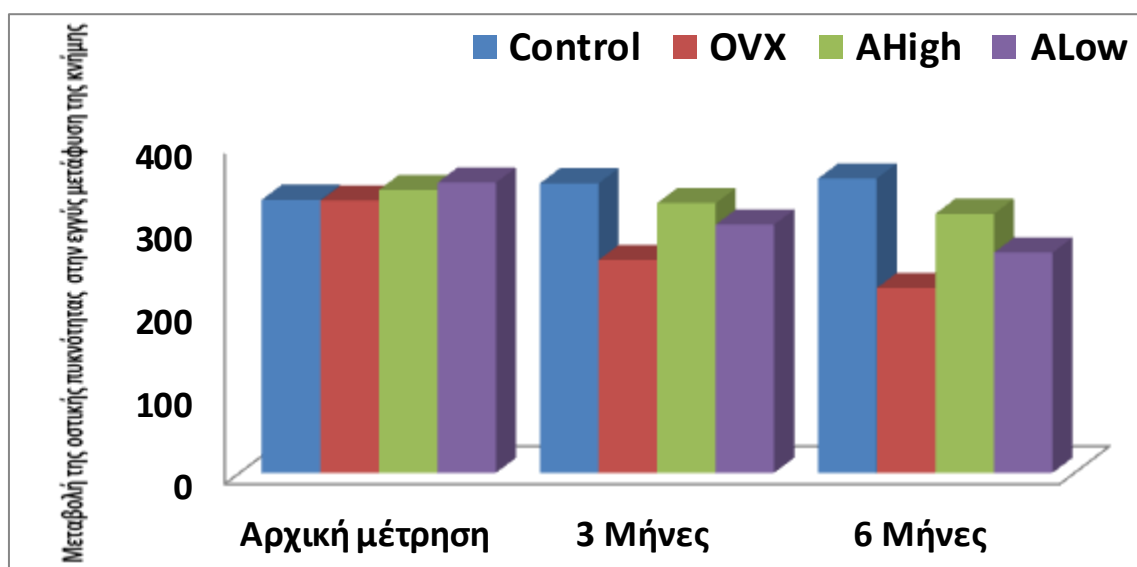
*Διαφορά μεταξύ των ομάδων

**Διαφορά μεταξύ των μετρήσεων.

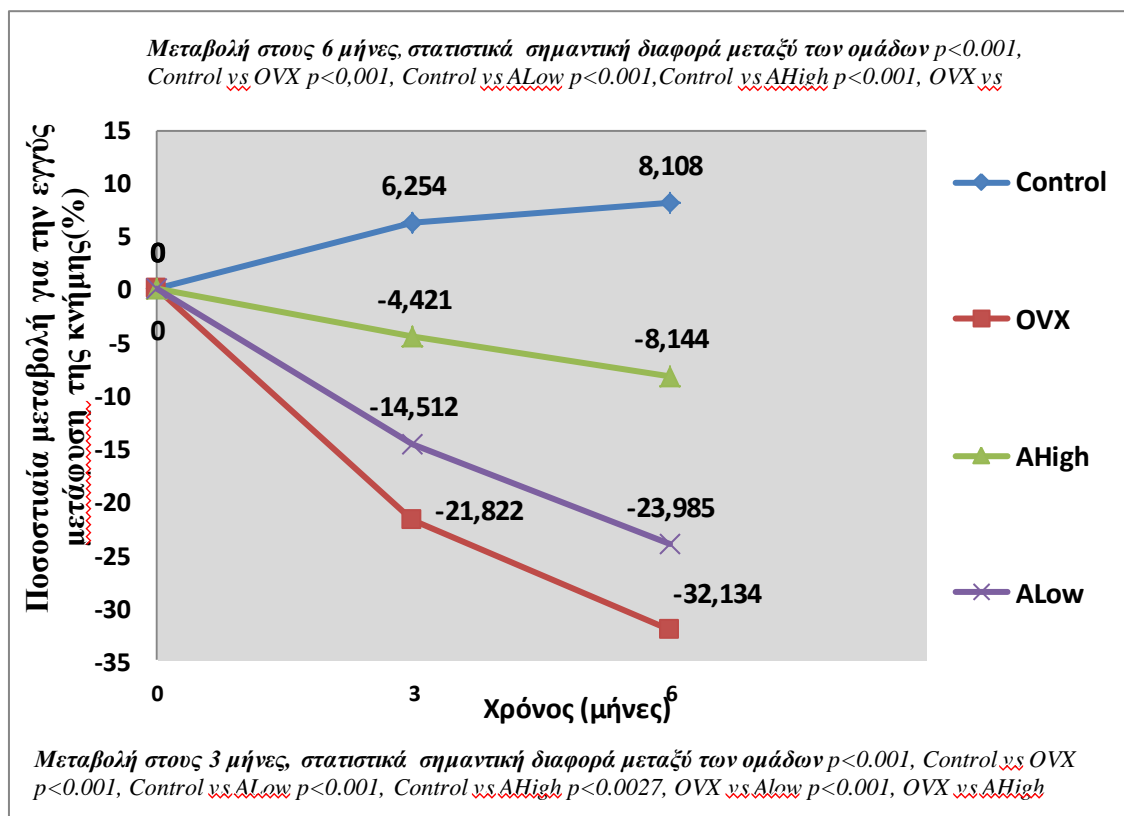
‡ Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις ANOVA. Διαφορές στη μεταβολή από τη μια μέτρηση στην άλλη μεταξύ των ομάδων

Πίνακας 5. Μεταβολή της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης ξεχωριστά για κάθε ομάδα

Κατά τη διάρκεια παρακολούθησης, οι τιμές της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης στην ομάδα Control αυξήθηκαν σημαντικά από την αρχική μέτρηση στους 3 και στους 6 μήνες ενώ από τους 3 στους 6 μήνες δε σημειώθηκε σημαντική μεταβολή. Επιπροσθέτως, στις υπόλοιπες ομάδες σημειώθηκε σημαντική μείωση τόσο από μέτρηση σε μέτρηση όσο και συνολικά από την αρχική μέτρηση στους 6 μήνες. Πιο αναλυτικά, η μείωση που σημειώθηκε στην ομάδα OVX στους 6 μήνες ήταν κατά -32.134% (SD=5.905%), στην ομάδα ALow ήταν κατά -23.985% (SD=5.191%) και στην AHigh ήταν κατά -8.144% (SD=5.134%). Ο βαθμός μείωσης διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων (Πίν.5). Πιο αναλυτικά, ο βαθμός μείωσης της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης της ομάδας Control διέφερε σημαντικά από το βαθμό μείωσης όλων των υπολοίπων ομάδων ($p < 0.001$ για όλες τις συγκρίσεις). Επίσης, ο βαθμός μείωσης της ομάδας OVX ήταν σημαντικά μεγαλύτερος από το βαθμό μείωσης της ομάδας ALow ($p = 0.013$). Ακόμα, ο βαθμός μείωσης στην ομάδα A-High ήταν σημαντικά μικρότερος συγκριτικά τόσο με την ομάδα OVX ($p < 0.001$) όσο και με την ομάδα ALow ($p < 0.001$, Γράφ.7).



Γράφημα 7. Μεταβολή της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης και στις δυο χρονικές περιόδους, για τις 4 ομάδες χωριστά.



Γράφημα 8. Ποσοστιαίες μεταβολές της οστικής πυκνότητας για την εγγύς μετάφυση της κνήμης και στις δυο χρονικές περιόδους, για τις 4 ομάδες χωριστά.

9.4. Αξιολόγηση εμβιομηχανικών ιδιοτήτων

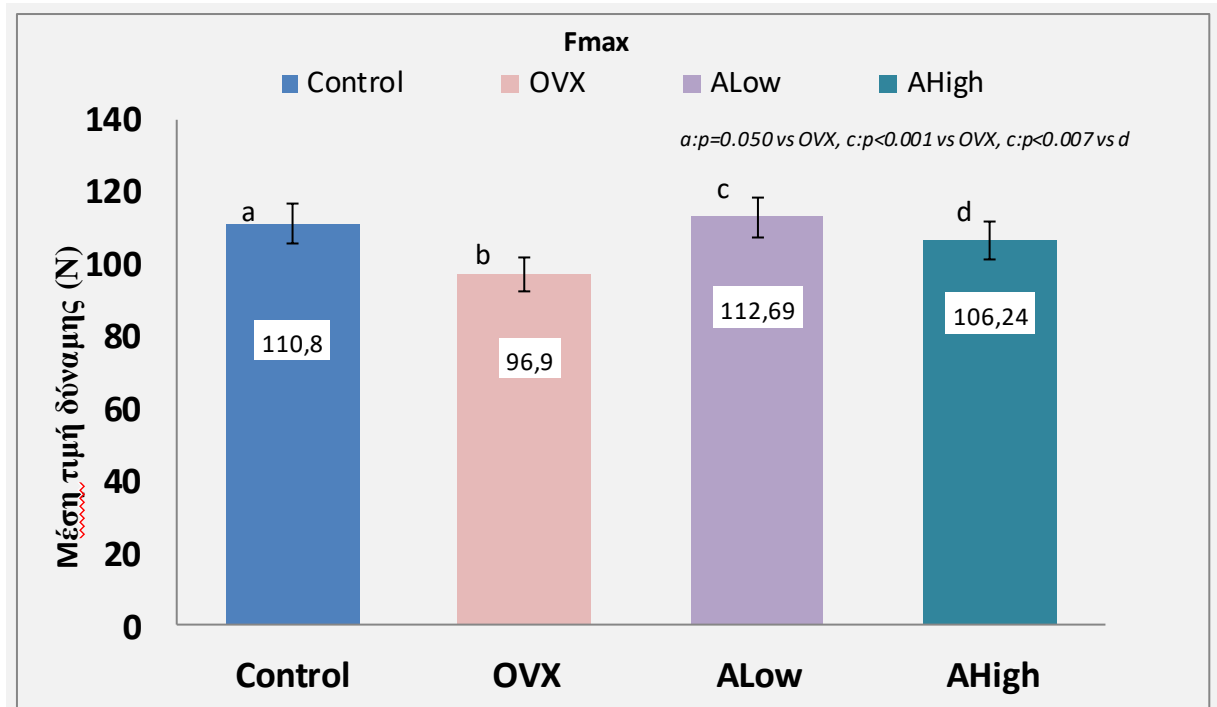
Κατά την εκτίμηση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις τιμές της δύναμης (Force) και της τάσης θράυσης (Stress) μεταξύ των ομάδων. Συγκεκριμένα, μετά τη διόρθωση κατά Bonferroni, βρέθηκε ότι οι τιμές της Force ήταν σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα ALow σε σύγκριση με αυτές, τόσο της ομάδας OVX ($p < 0.001$) όσο και της ομάδας AHigh ($p = 0.007$). Επίσης οι τιμές του Force ήταν σημαντικά χαμηλότερες στην ομάδα OVX σε σύγκριση με την ομάδα Control ($p = 0.050$). Οι τιμές του Force στις ομάδες Control και ALow ήταν παρόμοιες ($p = 0.147$). Επίσης οι τιμές ήταν παρόμοιες και στις ομάδες OVX και AHigh ($p = 0.318$). Στον πίνακα που ακολουθεί δίνονται οι μετρήσεις στις εμβιομηχανικές ιδιότητες, ξεχωριστά για κάθε ομάδα.

	Ομάδα				P Anova
	Control ^a	OVX ^b	ALow ^c	AHigh ^d	
	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	
Δύναμης(N)	110.8 (12.14) ^b	96.90 (11.74) ^{a, c}	112.69 (12,41) ^{b,d}	106.24 (13.41) ^c	0.004
Τάσης θραύσης (MPa)	179.68 (11.57) ^b	158.48 (13.78) ^{a, c}	180.5 (11,84) ^b	173.3 (15.18)	0.043

Υποσημείωση: a,b,c φανερώνει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μετά την διόρθωση Bonferroni.

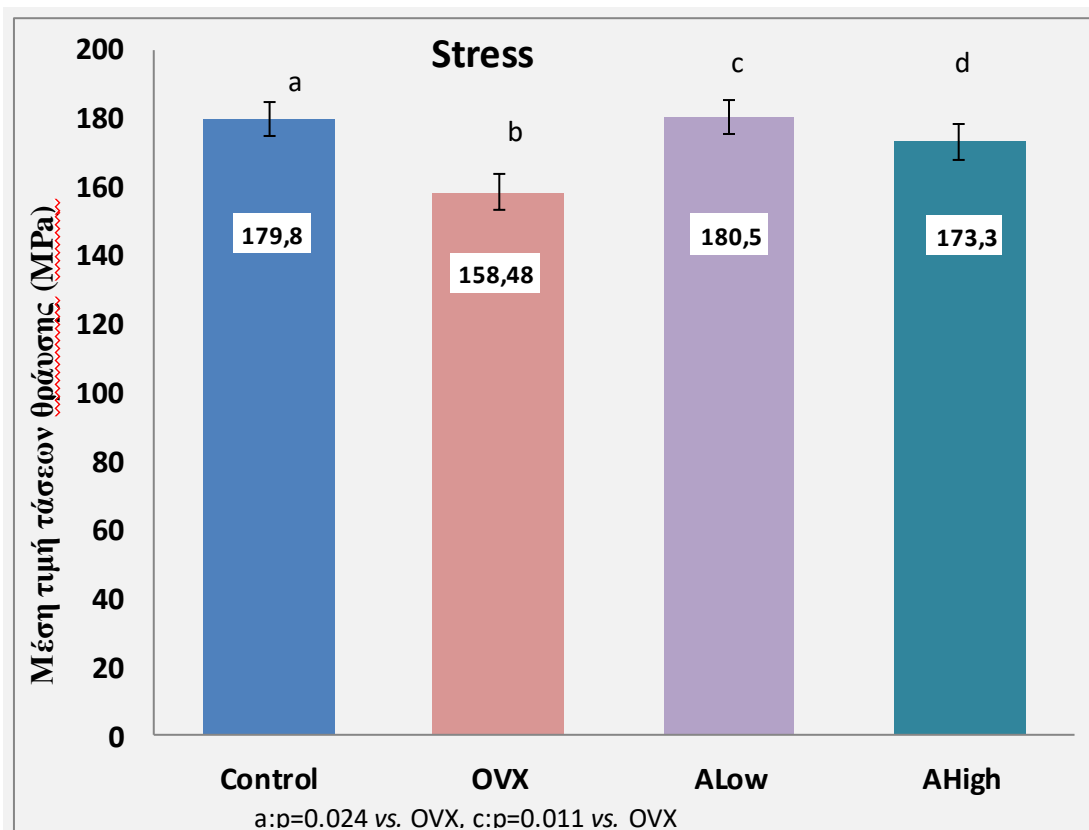
Πίνακας 6. Τιμές μετρήσεων τάσης θραύσης (MPa) και δύναμης (N) κατά την λήξη της πειραματικής διαδικασίας χωριστά για κάθε ομάδα.

Τέλος, οι τιμές του Stress ήταν σημαντικά χαμηλότερες στην ομάδα OVX σε σύγκριση με αυτές, τόσο της ομάδας Control ($p=0,024$) όσο και της ομάδας ALow ($p=0.011$, **Γράφ.10**). Επιπροσθέτως, οι τιμές του Stress στην ομάδα AHigh ήταν παρόμοιες με την ομάδα Control ($p=1.000$) και ALow ($p=0.309$).



Υποσημείωση: a,b,c φανερώνει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μετά την διόρθωση Bonferroni

Γράφημα 9. Γραφική αναπαράσταση των τιμών της δύναμης (N), για κάθε ομάδα χωριστά.



Υποσημείωση: a,b,c φανερώνει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μετά την διόρθωση Bonferroni

Γράφημα 10. Γραφική αναπαράσταση των τιμών της τάσης θραύσης, για κάθε ομάδα χωριστά.

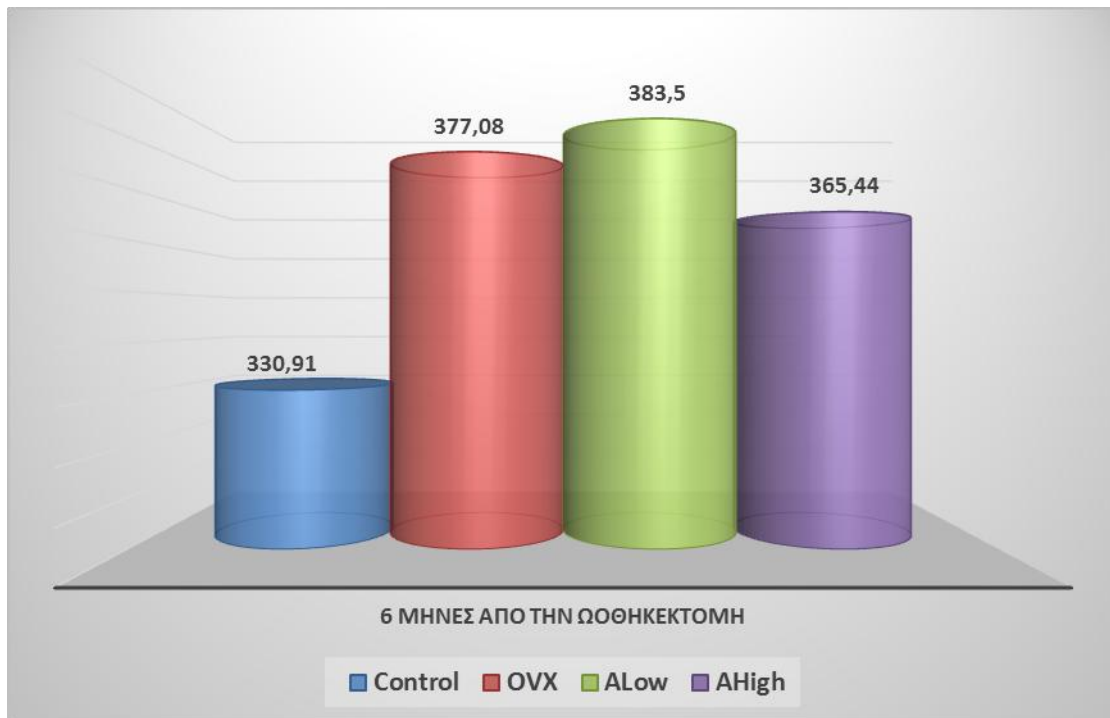
9.5. Μετρήσεις σωματικού βάρους επίμυων και βάρους ζωτικών οργάνων

Βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο σωματικό βάρος, στο βάρος της μήτρας και το λίπος ανάμεσα στις ομάδες. Κατά την έναρξη του πειραματισμού δεν υπήρξε σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων (μέσο σωματικό βάρος σε γραμμάρια \pm μονάδες σταθερής απόκλισης: Control $289.50 \pm 21.84.31$, OVX 299.15 ± 25.21 , ALow 292.13 ± 22.28 , AHigh 297.56). Η σύγκριση των μέσων όρων των σωματικών βαρών των επιμύων στο τέλος της μελέτης, ανέδειξε πως το σωματικό βάρος της ομάδας Control ήταν σημαντικό χαμηλότερο συγκριτικά με αυτό των ομάδων OVX ($p=0.017$) καθώς και μεταξύ των ALow ($p=0.004$) και AHigh ($p=0.018$). Ενώ καμιά διαφορά δεν παρατηρήθηκε στις ποσοστιαίες αλλαγές των σωματικών βαρών μεταξύ των ομάδων ωθηκεκτομής και παρέμβασης.

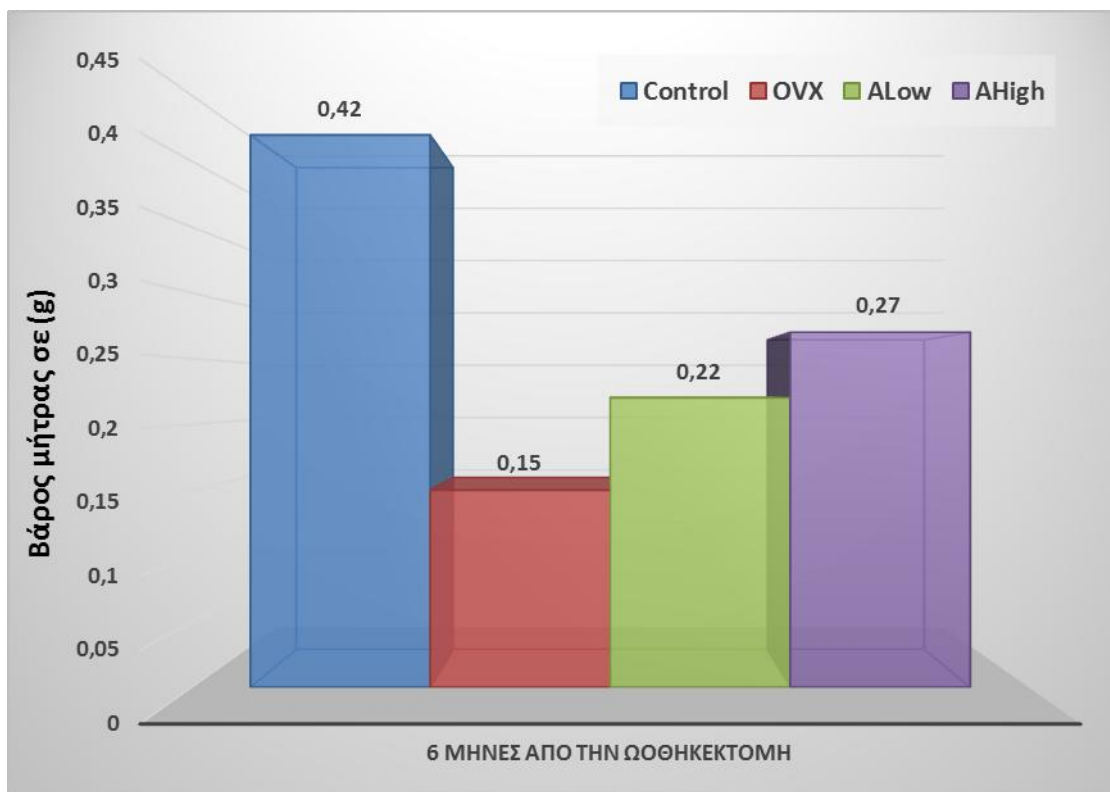
	Ομάδα				P ANOVA
	Control ^a	OVX ^b	ALow ^c	AHigh ^d	
	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	Μέση τιμή (SD)	
Σωματικό Βάρος (gr)	33.91 (33.33) ^{b,c,d}	377.08 (35,84) ^a	383.5 (42.27) ^a	365.44 (31.68) ^a	0.004
Βάρος εγκέφαλου	1.99 (0.08)	1.97 (0.12)	1.97 (0.08)	1.99 (0.10)	0.856
Βάρος καρδιάς	0.86 (0.12)	0.89 (0.10)	0.89 (0.10)	0.89 (0.10)	0.909
Βάρος νεφρού	0.78 (0.09)	0.79 (0.09)	0.82 (0.12)	0.79 (0.08)	0.803
Βάρος ήπατος	7.68 (1.08)	7.35 (1.64)	8.41 (0.79)	7.63 (1.21)	0.137
Βάρος μήτρας	0.42 (0.09) ^{b,c,d}	0.15 (0.03) ^a	0.22 (0.27) ^a	0.27 (0.27) ^a	0.019
Λίπος	22.94 (5.19) ^c	29.72 (7.75)	34.53 (7.10) ^{a,d}	26.16 (6.58) ^c	0.001

Πίνακας 7. Μέτρηση σωματικού βάρους και βάρος ζωτικών οργάνων κατά την λήξη της πειραματικής περιόδου, ξεχωριστά για κάθε ομάδα.

Επίσης, οι τιμές λίπους ήταν σημαντικά υψηλότερες στην ομάδα ALow συγκριτικά με τις ομάδες Control και AHigh (p<0.001 και p=0.009 αντίστοιχα). Όσον αφορά στις μήτρες, στην επισκόπηση κατά τη διάρκεια της νεκροψίας, η εμφάνιση τους στις ομάδες ωθηκεκτομής και παρέμβασης ήταν ατροφική γεγονός που επιβεβαιώθηκε και από τη στατιστική ανάλυση των βαρών τους. Πιο συγκεκριμένα το μέσο βάρος μήτρας ήταν σημαντικά υψηλότερο στην ομάδα Control συγκριτικά με αυτό των ομάδων OVX (p=0.015), ALow (p=0.019) και AHigh (p=0.032).



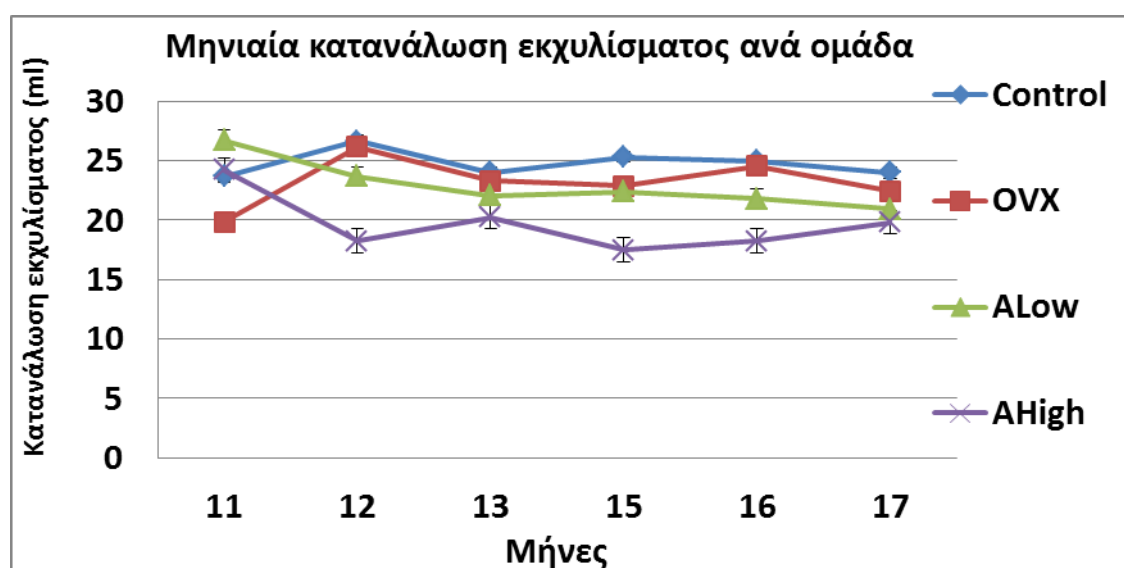
Γράφημα 11. Μέσος όρος των σωματικών βαρών των επίμυων κατά την λήξη της πειραματικής περιόδου.



Γράφημα 12. Μέσο βάρος της μήτρας, ξεχωριστά για κάθε ομάδα κατά την λήξη της πειραματικής περιόδου.

9.6. Κατανάλωση εκχυλίσματος

Η χορήγηση του φυτικού εκχυλίσματος δεν προκάλεσε κάποια ανεπιθύμητη ενέργεια στα ζώα που τους χορηγούνταν. Ωστόσο η κατανάλωση νερού και του φυτικού εκχυλίσματος διέφερε μεταξύ των ομάδων Control, OVX και των ομάδων παρέμβασης σε διάφορες χρονικές περιόδους. Συγκεκριμένα ένα μήνα μετά την έναρξη της πειραματικής περιόδου, η κατανάλωση ύδατος διέφερε σημαντικά μεταξύ των ομάδων Control και OVX ($p=0.003$) και των ομάδων OVX με ALow ($p<0.001$) και AHigh ($p<0.001$). Τον επόμενο μήνα, η κατανάλωση ύδατος ανάμεσα στην ομάδα Control και OVX δεν παρουσίαζε σημαντική διαφορά, ενώ η ομάδα AHigh κατανάλωσε σημαντικά πολύ λιγότερη ποσότητα εκχυλίσματος σε σχέση με την ομάδα Control ($p=0.030$). Σημαντική διαφορά ανάμεσα στην κατανάλωση ύδατος της ομάδος OVX και στην κατανάλωση του φυτικού εκχυλίσματος από την ομάδα AHigh ($p<0.001$) παρουσιάστηκε στην ηλικία των 15 μηνών και συνεχίστηκε μέχρι την λήξη της πειραματικής περιόδου. Στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την κατανάλωση του φυτικού εκχυλίσματος ανάμεσα στις δυο ομάδες παρέμβασης, παρατηρήθηκε στην ηλικία των 13 μηνών ($p=0.013$) και στην ηλικία των 15 μηνών ($p<0.001$).



Γράφημα 13. Μέσος όρος κατανάλωσης ύδατος και εκχυλίσματος των πειραματικών ομάδων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10^ο**ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

10.1. Συζήτηση

Τα τελευταία χρόνια, ερευνητικά δεδομένα αναδεικνύουν την αξία των φυτικής προέλευσης βιολογικά δραστικών ενώσεων που εμφανίζουν δράση παρόμοια με αυτή των οιστρογόνων αλλά είναι απαλλαγμένες από τις ανεπιθύμητες ενέργειες αυτών, γεγονός που έχει ανοίξει νέους ορίζοντες και έχει δώσει πολλές ελπίδες για την ευρεία χρήση τους στην πρόληψη της εμμηνόπαυσιακής οστεοπόρωσης.^{171,262,263} Οι ουσίες αυτές ονομάζονται φυτοοιστρογόνα και μια υποκατηγορία αυτών είναι οι ισοφλαβόνες.^{264,265}

Παρά το γεγονός ότι το εναιώρημα από τον φλοιό του δέντρου *Amphimas pterocarpoides* περιέχει σημαντικό αριθμό ισοφλαβονοειδών, καμιά επιστημονική μελέτη δεν έχει δημοσιευθεί έως σήμερα για τη διερεύνηση της αντιοστεοπορωτικής τους δράσης. Έτσι λοιπόν, η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη πειραματική μελέτη που αποδεικνύει πως το φυτικό εκχύλισμα *Amphimas pterocarpoides* είναι ικανό να αποτρέψει την ταχεία οστική απώλεια που παρατηρείται μετά από ωοθηκεκτομή με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Επιπλέον, το εκχύλισμα συντελεί στη διατήρηση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων του οστού, καθιστώντας το πιο ανθεκτικό στα κατάγματα. Η ασφάλεια του εκχυλίσματος, όσον αφορά την μη επιθυμητή «οιστρογονικού τύπου» δράση στη μήτρα των πειραματόζωων, εκτιμήθηκε και επιβεβαιώθηκε με τη διατήρηση του νωπού βάρους της μήτρας στα επίπεδα της ομάδας OVΧ μετά τη χορήγηση του εκχυλίσματος για διάστημα έξι μηνών.

Η ταχεία οστική απώλεια που συνοδεύει την εμμηνόπαυση αποτελεί ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της οστεοπόρωσης. Η εκτίμηση της οστικής πυκνότητας με

την μέθοδο DEXA χρησιμοποιείται από σειρά ετών για την πρόβλεψη της πιθανότητας εμφάνισης κατάγματος σε ασθενή ακόμα και στο προκλινικό επίπεδο της νόσου.²⁶⁶ Οι τιμές της οστικής πυκνότητας στην ομάδα ελέγχου ήταν σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με τις τιμές όλων των υπόλοιπων ωθηκεκτομημενων ομάδων όπως ήταν αναμενόμενο να συμβεί.²¹⁹ Η ποσοστιαία μείωση της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης για τους ωθηκεκτομημένους χωρίς παρέμβαση επίμυες, ανήλθε στο -21.822% κατά το πρώτο τρίμηνο και στο -32.134% κατά το δεύτερο. Αντιθέτως, η μείωση της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης εκτιμήθηκε στο -6.016% στους 3 μήνες και στο -10.727% στους 6 μήνες μετά την ωθηκεκτομή. Η παραδοξότητα των αποτελεσμάτων οφείλεται στη μεγάλη αναλογία φλοιώδους οστού σε ολόκληρη τη κνήμη, το οποίο δεν υφίσταται τόσο δραματική απώλεια κατά την πρώιμη περίοδο μετά την ωθηκεκτομή. Αντίθετα, στην εγγύς μετάφυση της κνήμης κυριαρχεί το σπογγώδες οστόν, το οποίο είναι ευάλωτο στις αλλαγές του οστικού μεταβολισμού και οι επιπτώσεις της ωθηκεκτομής γίνονται εμφανείς σε διάστημα μόλις 14 ημερών.^{219,267, 268}

Παρόμοιες μελέτες με από του στόματος χορήγηση φυτικών εκχυλισμάτων με διαφορετικά είδη φυτοοιστρογόνων που έχουν πραγματοποιηθεί, έχουν αποδείξει την ευεργετική δράση για το χρονικό διάστημα των πρώτων τριών μηνών μετά την ωθηκεκτομή, διάστημα κατά το οποίο παρατηρείται η ταχεία οστική απώλεια στο σπογγώδες οστόν στα πλαίσια της ένδειας των οιστρογόνων^{171,228,269-272} Στην παρούσα μελέτη, διερευνήθηκε η επίδραση του φυτικού εκχυλίσματος του *AP* και κατά τη φάση της απώτερης βραδείας απώλειας του σπογγώδους οστού (φάση plateau). Οι επίμυες που υποβλήθηκαν σε ωθηκεκτομή παρουσίασαν επιπρόσθετη μείωση της οστικής πυκνότητας στο διάστημα ανάμεσα στους 3 και 6 μήνες, η οποία ήταν μικρότερου βαθμού μεν αλλά σημαντική δε. Μετά το πέρας του πρώτου

τριμήνου, η οστική απώλεια αρχίζει να αντισταθμίζεται ως ένα βαθμό με το σχηματισμό νέου οστού και με τον τρόπο αυτό ο μεταβολισμός του οστού εισέρχεται σε μια καινούργια σχετικά σταθερή κατάσταση ισορροπίας. Συγκριτικά με την ομάδα OVX, η χορήγηση του φυτικού εκχυλίσματος AP απέτρεψε σε μεγάλο βαθμό τη μείωση του BMD στην εγγύς μετάφυση της κνήμης και στις δυο χορηγούμενες συγκεντρώσεις (50 mg/kg και 150 mg/kg) για το χρονικό διάστημα των 3 και 6 μηνών. Από τα παραπάνω μπορεί να γίνει αντιληπτό πως το ισχυρό ευεργετικό αποτέλεσμα του εκχυλίσματος AP είναι ικανό όχι μόνο να αποτρέψει την πρόιμη απώλεια του σπογγώδους οστού, αλλά και να διατηρήσει το ευεργετικό αυτό αποτέλεσμα και για τους επόμενους 3 μήνες που αντιστοιχούν στη φάση του «plateau».

Το φλοιώδες οστόν δεν υφίσταται αντίστοιχες δραματικές απώλειες στην πρόιμη μετά την ωθηκετομή περίοδο. Με βάση την διαθέσιμη βιβλιογραφία, οι πρωϊμότερες αναφερόμενες αλλαγές στο φλοιώδες οστόν στον επίμυ παρατηρούνται τρεις με τέσσερις μήνες μετά την ωθηκετομή, ενώ η επίτευξη σταθερής κατάστασης επέρχεται μετά την πάροδο των 6 μηνών.^{218,219,258,273} Αυτό συμβαίνει γιατί στο φλοιώδες οστό η οστική απώλεια στην ενδοοστική επιφάνεια των μακρών οστών μετά την ωθηκετομή, αντισταθμίζεται από το σχηματισμό οστού στο περίοστεο. Οι αντίρροπες αυτές δράσεις, έχουν σαν αποτέλεσμα οι τελικές μεταβολές να επέρχονται με αργό ρυθμό στο φλοιώδες οστό.^{257,273,274} Στην παρούσα μελέτη κατά την διαχρονική σύγκριση των τιμών της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης, οι τιμές της ομάδας Control παρέμειναν σταθερές τόσο στους 3 όσο και στους 6 μήνες, ενώ στις ωθηκετομημένες ομάδες σημειώθηκε σημαντική μείωση της οστικής πυκνότητας τόσο στους 3 όσο και στους 6 μήνες. Η χαμηλή δόση του εκχυλίσματος απέτρεψε σχεδόν κατά 50% την απώλεια του φλοιώδους οστού κατά την περίοδο

ανάμεσα στους 3 και 6 μήνες χωρίς όμως αυτό να είναι στατιστικά σημαντικό. Στους 6 μήνες δε και μόνο, οι τιμές της οστικής πυκνότητας για την ομάδα AHigh ήταν σημαντικά υψηλότερες σε σύγκριση τόσο με την ομάδα OVX ($p=0.006$) και όσο και με την ομάδα ALow ($p=0.047$). Η παρατήρηση αυτή αναδεικνύει την ισχυρή προστατευτική δράση της υψηλής συγκέντρωσης του εκχυλίσματος σε βάθος χρόνου και για το φλοιώδες οστόν.

Η πιθανότητα εμφάνισης κατάγματος δεν εξαρτάται μόνο από την ελάττωση της οστικής πυκνότητας, άλλα και από την διαταραχή της δομής και της μικροαρχιτεκτονικής του οστίτη ιστού.^{272,225} Τα ζωικά πρότυπα οστεοπενίας και οστεοπόρωσης όπως είναι και ο επίμυς, δεν υφίστανται αυτόματα ή χαμηλής έντασης κατάγματα και αυτό δυσχεραίνει την εκτίμηση της επίδρασης της υπό μελέτης θεραπείας στην μηχανική αντοχή των οστών. Αυτό το μειονέκτημα όμως, μπορεί να υπερκερασθεί μελετώντας τις εμβιομηχανικές ιδιότητες των οστών.^{275,276} Στην μελέτη μας, τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις της οστικής πυκνότητας για την εκτίμηση των ποσοτικών αλλαγών του οστίτη ιστού μετά από την ωθηκεκτομή, βρίσκονται σε αντιστοιχία με τις εκτιμώμενες εμβιομηχανικές ιδιότητες των οστών. Σύμφωνα με την προσιτή βιβλιογραφία, η διατήρηση της οστικής πυκνότητας του σπογγώδους τμήματος του οστού συμβάλει στην διατήρηση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων του οστού.²⁷⁶⁻⁸⁰

Στην παρούσα μελέτη, η ωθηκεκτομή προκάλεσε σημαντική μείωση του σπογγώδους οστού και ταυτόχρονη μείωση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων των οστών μετά τη λήξη της πειραματικής περιόδου. Μετά το πέρας των 6 μηνών, η δοκιμασία κάμψης τριών σημείων που πραγματοποιήθηκε *ex vivo* στα μηριαία οστά των ωθηκεκτομημένων επίμυων ανέδειξε πως τόσο η μέγιστη φόρτιση που απαιτήθηκε για την πρόκληση κατάγματος όσο και η τάση θραύσης για την ομάδα

της χαμηλής δόσης του φυτικού εκχυλίσματος ήταν σημαντικά υψηλότερες σε σχέση με την ομάδα της ωοθηκεκτομής (Fmax, ALow 112.69 Mpa vs. OVX 96.9 Mpa, $p < 0.001$ / Stress, ALow 180.5 Mpa vs OVX 158.48 Mpa, $p = 0.005$). Τα αποτελέσματα των δοκιμών αναδεικνύουν την ευεργετική επίδραση που ασκεί το φυτικό εκχύλισμα AP όχι μόνο στην διατήρηση της ποσότητας του οστού (οστική πυκνότητα) αλλά και στην διατήρηση της ποιότητας του οστού (εμβιομηχανικές ιδιότητες), καθοριστικούς παράγοντες για την αποφυγή πρόκλησης κατάγματος.²⁷⁷ Σε παρόμοιες μελέτες, η από του στόματος χορήγηση δαϊζεϊνης, φορμονεντίνης και γλυκυτεϊνης σε συγκέντρωση 50 mg/kg κατάφερε να αποτρέψει την αποδόμηση του σπογγώδους οστού και να διατηρήσει την μηχανική αντοχή αυτού.^{280,281}

Αντίθετα, τα αποτελέσματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν και για την ομάδα AHigh. Στη δόση αυτή, τα επίπεδα τάσης θραύσης και η μέγιστη φόρτιση που απαιτούνταν για την πρόκληση κατάγματος ήταν αυξημένα σε σχέση με την ομάδα OVX, χωρίς όμως να παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά. Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, η χορήγηση ισοφλαβονών σε συγκέντρωση που υπερβαίνει τα 100 mg/kg παρουσιάζει διφορούμενα αποτελέσματα κατά την εκτίμηση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να αποδοθεί στον τρόπο δράση τους, αλλά μπορεί να είναι και απόρροια των διαφορετικών πειραματικών μεθόδων που ακολουθήθηκαν.²⁸²⁻²⁸⁵ Είναι κρίσιμο να επισημανθεί ο μικρός αριθμός των διαθέσιμων δοκιμών της ομάδος AHigh (n=6) σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αρκετά από τα δοκίμια της ομάδας AHigh αποκλείστηκαν από την στατιστική επεξεργασία εξαιτίας ανατομικής παραλλαγής ή εσφαλμένης τοποθέτησης τους στις αρπαγές του μηχανήματος. Επομένως, κρίνεται σκόπιμη η διενέργεια νέων πειραματικών μελετών με μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων για την ασφαλή εξαγωγή συμπερασμάτων.

Στα πλαίσια της μελέτης, εκτιμήθηκε και το προφίλ ασφάλειας του εκχυλίσματος *AP*. Το φυτικό εκχύλισμα κατάφερε να παρεμποδίσει την ταχεία οστική απώλεια ασκώντας ευεργετική δράση στα οστά χωρίς να προκαλέσει δυσμενή επίδραση σε όργανα όπως η μήτρα. Η σύγχρονη θεραπεία υποκατάστασης μέσω ορμονικών σκευασμάτων για την πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης, έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη κακοήθειας στην μήτρα όσο και στον μαστό, εξαιτίας της μη εκλεκτικής δράσης των χορηγούμενων οιστρογόνων.^{286,287} Αξίζει να σημειωθεί πως κατά την νεκροψία που πραγματοποιήθηκε μετά το πέρας των 6 μηνών, δεν παρατηρήθηκαν παθολογικά ευρήματα σε όργανα στόχους, όπως ο μαστός και η μήτρα και στις δυο χορηγούμενες συγκεντρώσεις. Από τις μετρήσεις του νωπού βάρους της μήτρας στους επίμυες που υποβλήθηκαν σε ωοθηκεκτομή, ανεξάρτητα από τη λήψη του εκχυλίσματος, δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές. Η απουσία υπερτροφίας της μήτρας υποδηλώνει τη χαμηλή πιθανότητα καρκινογένεσης, γνωστής επιπλοκής της ορμονικής θεραπείας υποκατάστασης.²⁸⁶⁻²⁸⁷ Επομένως μπορεί κανείς να εικάσει πως το φυτικό εκχύλισμα *AP*, και στις δυο χορηγούμενες συγκεντρώσεις, δρα με τρόπο αντίστοιχο των εκλεκτικών τροποποιητών των υποδοχέων των οιστρογόνων και ασκεί ευεργετική επίδραση στα οστά με ασφάλεια. Πειραματικά δεδομένα αναδεικνύουν πως οι ισοφλαβόνες μιμούνται τη δράση των οιστρογόνων σε όργανα στόχους μέσω των άλφα (α) και των βήτα (β) οιστρογονικών υποδοχέων (ER). Οι ER- β είναι περισσότεροι από τους ER- α στον οστίτη ιστό, ενώ οι ER- α υπερτερούν σε όργανα στόχους όπως ο μαστός και η μήτρα.^{242,288} Από τα δεδομένα της μελέτης μας μπορεί κανείς να εικάσει ότι το φυτικό εκχύλισμα *AP* έχει εκλεκτική δράση στους ER- β υποδοχείς και για το λόγο αυτό ασκεί την ευεργετική του επίδραση στα οστά απαλλαγμένο από σοβαρές παρενέργειες.

Σε μια πρόσφατη μετά-ανάλυση που δημοσιεύθηκε το 2014 από τον Fu SW et al, η από του στόματος χορήγηση φυτοοιστρογόνων έχει προστατευτική δράση στην απώλεια της οστικής πυκνότητας, τόσο στην εγγύς μετάφυση όσο και σε ολόκληρη την κνήμη μετά την ωθηκεκτομή.¹⁷¹ Παρόμοιες πειραματικές μελέτες αναφέρουν, πως η έναρξη της θεραπείας με το φυτικό εκχύλισμα θα πρέπει να ξεκινά αμέσως μετά την ωθηκεκτομή, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για φυτοοιστρογόνα με ήπια οιστρογονική δράση, τα οποία συνήθως παρέχουν ένα πιο ήπιο προστατευτικό ή θεραπευτικό αποτέλεσμα. Μετά την ωθηκεκτομή στο συγκεκριμένο ζωικό πρότυπο, η οστική απώλεια διενεργείται με ταχύτατους ρυθμούς και οι πρώτες αλλαγές στην εγγύς μετάφυση της κνήμης είναι ήδη ορατές από την δεύτερη εβδομάδα, επομένως η άμεση έναρξη του εκχυλίσματος μπορεί να παρεμποδίσει αυτές τις πρώιμες μεταβολές.²²⁸⁻²³⁰

Η προστατευτική δράση του εκχυλίσματος από το φλοιό του δέντρου *AP* στην ταχεία απώλεια της οστικής πυκνότητας και στην διατήρηση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων των οστών πιθανόν να οφείλεται, στην παρουσία 11 διαφορετικών ειδών ισοφλαβονών οι οποίες ανιχνεύτηκαν από τους συνεργάτες μας μέσω χρωματογραφίας υψηλής ανάλυσης.²⁵² Κάποια από τα είδη ισοφλαβονών που ανιχνεύθηκαν στο φυτικό μας εκχύλισμα όπως η δαιζδεΐνη, η γλυκιτεΐνη και η φορμονεντίνη, έχουν ήδη αποδεδειγμένη αναβολική δράση στο μεταβολισμό των οστών και αποτρέπουν την ταχεία απώλεια οστού που ακολουθεί την ωθηκεκτομή.^{280,289,290-292} Αξίζει να σημειωθεί ακόμα πως η υψηλή περιεκτικότητα του εκχυλίσματος σε αντιοξειδωτικές ουσίες έχει περιγραφεί ήδη από τους Biara et al,²⁵⁰ ενώ ο ρόλος του οξειδωτικού στρες στην παθογένεση της οστεοπόρωσης είναι καλά τεκμηριωμένος.^{206,293}

Κατά την λήξη της πειραματικής περιόδου, η σύγκριση των μέσων όρων των σωματικών βαρών των επιμύων ανέδειξε στατιστικά σημαντική αύξηση του βάρους μεταξύ των ομάδων Control και OVX καθώς και μεταξύ των ομάδων Control και παρέμβασης, παρόλο που όλες οι ομάδες ελάβαν την ίδια ποσότητα θερμίδων καθ' όλη την διάρκεια της μελέτης. Επιπρόσθετα, κατά την διάρκεια της νεκροτομής παρατηρήθηκε σημαντική εναπόθεση λίπους στην κοιλιακή χώρα σε όλα τα ζώα που είχαν υποστεί ωθηκεκτομή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η αύξηση του βάρους και της κοιλιακής εναπόθεσης λίπους αποτελούν κάποιες από τις κυριότερες επιπτώσεις της εμμηνόπαυσης, οι οποίες σχετίζονται με την ενδογενή έλλειψη οιστρογόνων, κατά κύριο λόγο της οιστραδιόλης και την μειωμένη διέγερση ER-α οιστρογονικών υποδοχέων.^{294,295} Η παχυσαρκία έχει «προστατευτική» δράση στα οστά, προάγοντας την οστική παραγωγή, παραμένει όμως μια ανεπιθύμητη επίπτωση της εμμηνόπαυσης καθώς συσχετίζεται με την ανάπτυξη καρδιαγγειακών παθήσεων και καρκίνου.^{296,297} Η χορήγηση του φυτικού εκχυλίσματος AP δεν κατάφερε να αποτρέψει την αύξηση του βάρους και την εναπόθεση λίπους στους 6 μήνες μετά την ωθηκεκτομή, καθώς η δράση των ισοφλαβονών στη μήτρα και το λιπώδη ιστό είναι σαφώς ασθενέστερη σε σύγκριση με τον οστίτη ιστό.²⁸²

Συμπερασματικά, η από του στόματος χορήγηση του φυτικού εκχυλίσματος AP για χρονικό διάστημα 6 μηνών στο πειραματικό πρότυπο του θήλεος ωθηκεκτομημένου επίμυος και στις δυο συγκεντρώσεις, κατάφερε να αποτρέψει την ταχεία αποδόμηση του οστού και έδρασε ευεργετικά ως προς στην διατήρηση της οστικής πυκνότητας και την συνεπακόλουθη διατήρηση της δομικής ακεραιότητας και των εμβιομηχανικών του ιδιοτήτων. Επιπρόσθετα, η δράση αυτή του εκχυλίσματος δεν συνοδεύτηκε από την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών στα όργανα στόχους όπως η μήτρα και ο μαστός. Ως εκ τούτου, το υπό μελέτη φυτικό

εκχύλισμα, θα μπορούσε να αποτελέσει μια ελκυστική εναλλακτική φυτική επιλογή για την πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Πειραματικές και κλινικές μελέτες απαιτούνται για την περαιτέρω διερεύνηση του μηχανισμού δράσης του φυτικού αυτού εκχυλίσματος και την αξιολόγηση του ρόλου του στην πρόληψη της εμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.

10.2. Περιορισμοί

Αναγνωρίζεται, φυσικά, ότι η παρούσα έρευνα διέπονταν από αρκετούς περιορισμούς. Καταρχήν, επρόκειτο για πειραματική μελέτη βασικής έρευνας. Κατ' επέκταση, το μοντέλο του ωοθηκεκτομημένου επίμου που χρησιμοποιήθηκε δεν αντικατόπτριζε με ακρίβεια το κλινικό σενάριο σε επίπεδο ανθρώπινου οργανισμού. Ο επίμυς αν και συνιστά συγκριτικά με τα υπόλοιπα ζωικά πρότυπα ιδανική επιλογή για τη διεξαγωγή πειραματισμών, εντούτοις δεν παύει να έχει διαφορές από τον άνθρωπο, σε ότι αφορά την ανάπτυξη του σκελετού του.

Επιπρόσθετα, ο αριθμός των ζώων που χρησιμοποιήθηκε ήταν σχετικά μικρός, δεδομένου του νομικού πλαισίου που διέπει τις πειραματικές μελέτες σύμφωνα με το οποίο, ο αριθμός των ζώων που χρησιμοποιούνται θα πρέπει να περιορίζεται στο ελάχιστο δυνατό. Ωστόσο, το γεγονός ότι αναδείχθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, μολονότι το μέγεθος του δείγματος ήταν μικρό ερμηνεύεται ως ενδεικτικό πραγματικής ύπαρξης των διαφορών αυτών κατά την επίδραση από τη χορήγηση του φυτικού εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoïdes*.

Έναν ακόμη περιορισμό της μελέτης αυτής συνιστά το γεγονός ότι ο επίμυς όπως προαναφέρθηκε δεν παρουσιάζει αυτόματα ή χαμηλής εντάσεως κατάγματα όπως άλλωστε και τα περισσότερα ζωικά πρότυπα της οστεοπόρωσης, γεγονός που μπορεί να υπερκερασθεί μελετώντας με τις μηχανικές δοκιμές των οστών. Κατά την δοκιμασία κάμψης τριών σημείων στα μηριαία οστά, η ομάδα AHigh κατόρθωσε να

διατηρήσει υψηλά επίπεδα τάσης θραύσης και η μέγιστη φόρτιση που απαιτούνταν για την πρόκληση κατάγματος ήταν μεγαλύτερη σε σχέση με την ομάδα OVX, χωρίς όμως να παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να αποδοθεί στον τρόπο δράσης των ισοφλαβόνων, αλλά μπορεί να είναι και απόρροια των διαφορετικών πειραματικών μεθόδων που ακολουθήθηκαν.^{282,283,284,285} Είναι κρίσιμο να επισημανθεί ο μικρός αριθμός των διαθέσιμων δοκιμίων της ομάδος AHigh (n=6) σε σχέση με τις υπόλοιπες ομάδες. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι αρκετά από τα δοκίμια της ομάδος AHigh αποκλείστηκαν από την στατιστική επεξεργασία εξαιτίας ανατομικής παραλλαγής ή εσφαλμένης τοποθέτησης τους στις αρπαγές του μηχανήματος. Επομένως, κρίνεται σκόπιμη η διενέργεια νέων πειραματικών μελετών με μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων για την ασφαλή εξαγωγή συμπερασμάτων.

Τέλος, ένα ερώτημα που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης είναι η ιδανική χορηγούμενη δόση του εκχυλίσματος από τον κορμό του δέντρου *Amphimas pterocarroides* για την πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Στο παρόν πειραματικό πρωτόκολλο επιλέχτηκε η χορήγηση 2 συγκεντρώσεων (50 mg/kg και 150 mg/kg) αμέσως μετά την ωοθηκεκτομή πριν την έναρξη της ταχείας απώλειας του σπογγώδους οστού, στηριζόμενοι σε μελέτες άλλων ερευνητών. Επιπρόσθετα, έως σήμερα δεν υπάρχει δημοσιευμένη μελέτη που να αναφέρεται στις αντιστεοπορωτικές ιδιότητες του εκχυλίσματος και κατά συνέπεια, κανένα σχόλιο δεν είναι εφικτό να γίνει σε σχέση με το εάν διαφορετικές δόσεις του φαρμάκου επιδείκνυαν ή όχι καλύτερα αποτελέσματα. Επομένως η επίδραση του φυτικού εκχυλίσματος *Amphimas pterocarroides* σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, θα μπορούσε να αποτελέσει την ερευνητική υπόθεση μελλοντικών μελετών.

10.3. Συμπεράσματα

Εν κατακλείδι και εντός των παραπάνω περιορισμών, η παρούσα ερευνητική προσπάθεια κατέδειξε ότι η επίδραση των οιστρογονικών ή και των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων του εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoides* στον οστικό μεταβολισμό του σκελετού του ωθηκεκτομημένου επίμυος ήταν ευεργετική.

Η ανάλυση των δεδομένων που προέκυψαν από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν με τη μέθοδο DEXA για την εγγύς μετάφυση της κνήμης όπου κυριαρχεί το σπογγώδες οστόν που υφίσταται και την σημαντικότερη επίδραση εξαιτίας της απώλειας οιστρογόνων, παρατηρήθηκε πως η ποσοστιαία μεταβολή της οστικής πυκνότητας κατά το πρώτο και το δεύτερο τρίμηνο ήταν δραματική για την ομάδα της ωθηκεκτομής. Η χορήγηση του φυτικού εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoides* και στις δύο χορηγούμενες συγκεντρώσεις απέτρεψε σε σημαντικό βαθμό την ταχεία οστική απώλεια που συνοδεύει την ωθηκεκτομή, σε σχέση με την ομάδα της ωθηκεκτομής.

Το φλοιώδες οστόν δεν υφίσταται αντίστοιχες δραματικές απώλειες στην πρώιμη μετά την ωθηκεκτομή περίοδο όπως το σπογγώδες οστόν, αλλά παρουσιάζει καθυστερημένη απώλεια ιστού. Οι πρωϊμότερες αναφερόμενες αλλαγές στο φλοιώδες οστόν στον επίμυ παρατηρούνται τρεις με τέσσερις μήνες μετά την ωθηκεκτομή, ενώ η επίτευξη σταθερής κατάστασης επέρχεται μετά την πάροδο των 6 μηνών. Η χαμηλή δόση του εκχυλίσματος απέτρεψε σχεδόν κατά 50% την απώλεια του φλοιώδους ιστού κατά την περίοδο ανάμεσα στους 3 και 6 μήνες χωρίς όμως αυτό να είναι στατιστικά σημαντικό. Στους 6 μήνες δε και μόνο, οι τιμές της οστικής πυκνότητας για την ομάδα AHigh ήταν σημαντικά υψηλότερες σε σύγκριση τόσο με την ομάδα OVX) και όσο και με την ομάδα ALow. Η παρατήρηση αυτή αναδεικνύει

την ισχυρή προστατευτική δράση της υψηλής συγκέντρωσης του εκχυλίσματος σε βάθος χρόνου και για το φλοιώδες οστόν.

Επιπλέον, το εκχύλισμα συντέλεσε και στη διατήρηση των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων του οστού, καθιστώντας το πιο ανθεκτικό στα κατάγματα. Η ασφάλεια του εκχυλίσματος, όσον αφορά την μη επιθυμητή «οιστρογονικού τύπου» δράση στη μήτρα των πειραματόζωων, εκτιμήθηκε και επιβεβαιώθηκε με τη διατήρηση του νωπού βάρους της μήτρας στα επίπεδα της ομάδας ΟΥΧ μετά τη χορήγηση του εκχυλίσματος για διάστημα έξι μηνών. Το φυτικό εκχύλισμα από τον φλοιό του δέντρου *Amphimas pterocarpoides* δύναται να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης, ωστόσο απαιτούνται περαιτέρω μελέτες, όσον αφορά την αποτελεσματική και ασφαλή χρήση της σε ανθρώπους.

Το παρόν πόνημα αποτελεί έως σήμερα την πρώτη ωφέλιμη πειραματική μελέτη που αποδεικνύει πως η χορήγηση του φυτικού εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoides* κατάφερα να αποτρέψει την ταχεία αποδόμηση του οστού και έδρασε ευεργετικά ως προς στην διατήρηση της οστικής πυκνότητας και την συνεπακόλουθη διατήρηση της δομικής ακεραιότητας και των εμβιομηχανικών του ιδιοτήτων και είναι ικανό να αποτρέψει την ταχεία οστική απώλεια που παρατηρείται μετά από ωθηκεκτομή με δόσοεξαρτώμενο τρόπο, ενώ δεν παρατηρήθηκε δυσμενής επίδραση σε όργανα όπως η μήτρα. Τα ερωτήματα που παραμένουν αναπάντητα σχετικά με τον υποκείμενο μηχανισμό μέσω του οποίου επάγεται η θετική επίδραση του φυτικού εκχυλίσματος καθώς και η ανεύρεση της κατάλληλης θεραπευτικής δόσολογίας, συνιστούν «πεδίο δόξης λαμπρό» για περαιτέρω έρευνα.

Ευχαριστίες: Το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών και το πρόγραμμα “Υποτροφίες Αριστείας Ι.Κ.Υ. Μεταπτυχιακών Σπουδών στην Ελλάδα-Πρόγραμμα SIEMENS”.

Περίληψη

Εισαγωγή: Η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης είναι αποτελεσματική στην πρόληψη της οστικής απώλειας σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, όμως η μακροχρόνια χορήγησή της έχει συσχετιστεί με παρενέργειες. Είναι επιτακτική η ανάγκη ανεύρεσης νέων εναλλακτικών θεραπειών με αποδεδειγμένη ασφάλεια και αποτελεσματικότητα. Στην παρούσα μελέτη αξιολογήσαμε την επίδραση του φυτικού εκχύλισματος *Amphimas pterocarpoides* στο πειραματικό πρότυπο του θήλεος ωθηκεκτομημένου επίμυος.

Υλικό και Μέθοδος: Για την πραγματοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 55 θηλυκοί επίμυες Wistar (ηλικίας 10 μηνών). Διενεργήθηκε ωθηκεκτομή στους 44 επίμυες, ενώ οι υπόλοιποι 11 υποβλήθηκαν σε εικονική επέμβαση (Control group). Οι ωθηκεκτομημένοι επίμυες διαιρέθηκαν σε τρεις ομάδες: την ομάδα ωθηκεκτομής (OVXgroup, n=13), την ομάδα ωθηκεκτομής που έλαβε το φυτικό εκχύλισμα σε συγκέντρωση 50 mg/kg (ALow group, n=15) και την ομάδα ωθηκεκτομής που έλαβε το φυτικό εκχύλισμα σε συγκέντρωση 150 mg/kg (AHigh group, n=16). Σε όλα τα ζώα, ο προσδιορισμός της οστικής τους πυκνότητας πραγματοποιήθηκε με απορροφησιομετρία διπλής ενεργειακής δέσμης ακτινών X (DEXA) πριν από οποιαδήποτε παρέμβαση, στους 3 και στους 6 μήνες. Μετά το πέρας των 6 μηνών, οι επίμυες ευθανατώθηκαν και τα μηριαία οστά συλλέχθηκαν για την διενέργεια μετρήσεων μηχανικής αντοχής.

Αποτελέσματα: Στις μετρήσεις DEXA, 3 μήνες μετά την ωθηκεκτομή, η ποσοστιαία μεταβολή της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης ανερχόταν στο 6.254% για την ομάδα Control, στο -21.822 για την ομάδα OVX, -14.512% για την ομάδα ALow και -8.144% για την ομάδα AHigh με σημαντικές

διαφορές μεταξύ αρχικής μέτρησης σε όλες τις ομάδες πλην της ομάδας Control ($p < 0.001$). Η ευεργετική επίδραση συνεχίστηκε και στους 6 μήνες, όπου οι ποσοστιαίες μεταβολές της οστικής πυκνότητας των ομάδων ήταν: Control 8.108%, OVX -32.134%, ALow -23.985%, AHigh -8.144% με σημαντικές διαφορές μεταξύ αρχικής μέτρησης σε όλες τις ομάδες πλην την Control ($p < 0.001$). Η δοκιμασία κάμψης τριών σημείων αποκάλυψε, πως η μέγιστη φόρτιση (F_{max}) που απαιτήθηκε για την πρόκληση κατάγματος για την ομάδα ALow ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σχέση με την ομάδα OVX (112.69 Mpa vs. 96.9 Mpa $p < 0.001$). Επιπρόσθετα, η τάση θραύσης (Stress) της ομάδας OVX, ήταν σημαντικά μικρότερη σε σύγκριση με την ομάδα ALow (158.48 Mpa vs. 180.5 Mpa, $p = 0.011$). Τα αποτελέσματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν και για την ομάδα AHigh και στις δυο παραμέτρους αν και οι τιμές παρέμειναν υψηλότερες από την ομάδα OVX.

Συμπεράσματα: Η παρούσα μελέτη αποδεικνύει πως το φυτικό εκχύλισμα *Amphimas pterocarpoides* είναι ικανό να αποτρέψει την ταχεία αποδόμηση και συμβάλει στη διατήρηση τόσο της ποσότητας όσο και της ποιότητας του οστού, καθοριστικούς παράγοντες για την αποφυγή πρόκλησης κατάγματος.

Abstract

Introduction: Osteoporosis is a major health threat and its prevalence is expected to rise dramatically in the coming decades. Hormone replacement therapy (HRT) plays a crucial role in the management and the prevention of osteoporosis, but prolonged use has been associated with adverse effects such as breast and uterine cancer, thromboembolic episodes and coronary heart disease. This has led to an increased demand for alternative therapies. In the present study, we assessed the phytoestrogenic potential of *Amphimas pterocarpoides* (AP) plant extract on the ovariectomy induced bone loss in rats in two different doses.

Methods and materials: Fifty five female (10 month old) Wistar rats were used. Ovariectomy (OVX) was performed in 44 rats, while sham operation was performed in the remaining 11 rats (Control group). Ovariectomized animals were separated in the OVX group (n=13) and received drinking water *ad libitum* right after the surgery until the end of the experiment, while the treated groups received *Amphimas pterocarpoides* extract at 50 mg/kg (ALow group, n=15) and at 150 mg/kg (AHigh group, n=16). Measurements of Bone Mineral Density (BMD) were established using dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) and performed at baseline, 3 and 6 months after ovariectomy. After 6 months treatment, the rats were euthanized, and their femurs were extracted. The femoral biomechanical properties were evaluated using the 3-point bending test (3PB).

Results: The percentage changes of the mean values of the proximal tibia BMD from baseline to 3 months for Control, OVX, ALow and AHigh, were 6.254%, -21.822%, -14.512% and -4.421% whereas, the percentage changes from baseline to 6 months were 8.108%, -32.134%, -23.985% and -8.144 accordingly. The 3PB test revealed

that the maximal load before fracture (Fmax) demonstrated a significant higher value in the ALow group compare to the OVX group (112.69 Mpa vs. 96.9 Mpa, $p < 0.001$). In addition the mean values for Stress in the OVX group was significant lower in contrast to ALow group (158.48 Mpa vs. 180.5 Mpa, $p = 0.011$). AHigh group presented higher values in Fmax and Stress in contrast to the OVX group, but statistical significant values did not observed between groups.

Conclusions: This study suggests that orally administered *Amphimas pterocarpoides* for 6 months, manage to prevent the rapid degradation of bone and is effective in terms of improving both bone quantity (bone density) and quality (biomechanical parameters), surrogate markers of reduced risk fracture risk.

Βιβλιογραφία

1. Λυρίτης Γεωργιος. Μεταβολικά νοσήματα των οστών (Κεφάλαιο 1). Στο: Ισμήνη Δοντά, Ανατομική και βιολογία των οστικών κυττάρων και της θεμέλιας ουσίας. Αθήνα, Εδόσεις Hylonome Editions, 2007:13-20.
2. Καπετάνιος Γεώργιος. Η οστεοπόρωση και ο ορθοπαιδικός-Βασικές γνώσεις στην καθημερινή πράξη. Στο: Απαραίτητες γνώσεις δομής και βιολογίας των οστών για τον ορθοπαιδικό. Θεσσαλονίκη, Ελληνική Εταιρεία Χειρουργικής Ορθοπαιδικής και Τραυματολογίας, 2013:15-20.
3. Forriol F, Shapiro F. Bone development: interaction of molecular components and biophysical forces. Clin Orthop Relat Res. 2005 Mar;(432):14-33.
4. Aubin JE. Regulation of osteoblast formation and function. Rev Endocr Metab Disord. 2001 Jan;2(1):81-94.
5. Aubin JE. Advances in the osteoblast lineage. Biochem Cell Biol. 1998;76(6):899-910.
6. Goltzman D. Discoveries, drugs and skeletal disorders. Nat Rev Drug Discov. 2002 Oct;1(10):784-96.
7. Luxenburg C, Addadi L, Geiger B. The molecular dynamics of osteoclast adhesions. Eur J Cell Biol. 2006 Apr;85(3-4):203-11.
8. Amling M, Takeda S, Karsenty G. A neuro (endo)crine regulation of bone remodeling. Bioessays. 2000 Nov;22(11):970-5.
9. Hazenberg JG, Taylor D, Lee TC. The role of osteocytes and bone microstructure in preventing osteoporotic fractures. Osteoporos Int. 2007 Jan;18(1):1-8.
10. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocr Rev. 2000 Apr;21(2):115-37.
11. Dalle Carbonare L, Valenti MT, Bertoldo F, Zanatta M, Zenari S, et al. Bone microarchitecture evaluated by histomorphometry. Micron. 2005;36(7-8):609-16.
12. Frost HM. From Wolff's law to the Utah paradigm: insights about bone physiology and its clinical applications. Anat Rec. 2001 Apr 1;262(4):398-419.
13. Mawani Y, Cawthray JF, Chang S, Sachs-Barrable K, Weekes DM, et al. In vitro studies of lanthanide complexes for the treatment of osteoporosis.

- DaltonTrans. 2013 May 7;42(17):5999-6011.
14. Γεωργιος Α. Μεταβολικά νοσήματα των οστών. Στο: Ευαγγελία Κασκάνη, οστική παραγωγή και ρύθμισή της. Αθήνα, Εδόσεις Hylonome Editions, 2007:57-59.
 15. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, et al. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004 Dec;15(6):457-75.
 16. Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, et al. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest.* 2003 Apr;111(8):1221-30.
 17. Croucher PI, Shipman CM, Lippitt J, Perry M, Asosingh K, et al. Osteoprotegerin inhibits the development of osteolytic bone disease in multiple myeloma. *Blood.* 2001 Dec 15;98(13):3534-40.
 18. Ma T, Miyanishi K, Suen A, Epstein NJ, Tomita T, et al. Human interleukin-1-induced murine osteoclastogenesis is dependent on RANKL, but independent of TNF-alpha. *Cytokine.* 2004 May 7;26(3):138-44.
 19. Ikebuchi K, Wong GG, Clark SC, Ihle JN, Hirai Y, et al. Interleukin 6 enhancement of interleukin 3-dependent proliferation of multipotential hemopoietic progenitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987 Dec;84(24):9035-9.
 20. Wei S, Wang MW-H, Teitelbaum SL, Ross FP. Interleukin-4 reversibly inhibits osteoclastogenesis via inhibition of NF-kappa B and mitogen-activated protein kinase signaling. *J Biol Chem.* 2002 Feb 22;277(8):6622-30.
 21. Kwan Tat S, Padrines M, Théoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2004 Feb;15(1):49-60.
 22. Wong PKK, Campbell IK, Robb L, Wicks IP. Endogenous IL-11 is pro-inflammatory in acute methylated bovine serum albumin/interleukin-1-induced (mBSA/IL-1)arthritis. *Cytokine.* 2005 Jan 21;29(2):72-6.
 23. Van Bezooijen RL, Papapoulos SE, Löwik CW. Effect of interleukin-17 on nitric oxide production and osteoclastic bone resorption: is there dependency on nuclear factor-kappaB and receptor activator of nuclear factor kappaB (RANK)/RANK ligand signaling. *Bone.* 2001 Apr;28(4):378-86.
 24. Hayashi T, Kaneda T, Toyama Y, Kumegawa M, Hakeda Y. Regulation of receptor activator of NF-kappa B ligand-induced osteoclastogenesis by

- endogenous interferon-beta (INF-beta) and suppressors of cytokine signaling (SOCS). The possible counteracting role of SOCSs- in IFN-beta-inhibited osteoclast formation. *J Biol Chem*. 2002 Aug 2;277(31):27880-6.
25. Fujikawa Y, Sabokbar A, Neale SD, Itonaga I, Torisu T, et al. The effect of macrophage-colony stimulating factor and other humoral factors (interleukin-1, -3, -6, and -11, tumor necrosis factor-alpha, and granulocyte macrophage-colony stimulating factor) on human osteoclast formation from circulating cells. *Bone* [Internet] 2001 [cited 2016 Sep 13];28(3):261–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11248655>
 26. Ming L-G, Chen K-M, Xian CJ. Functions and action mechanisms of flavonoids genistein and icariin in regulating bone remodeling. *J Cell Physiol*. 2013 Mar;228(3):513-21.
 27. Lari R, Fleetwood AJ, Kitchener PD, Cook AD, Pavasovic D, et al. Macrophage lineage phenotypes and osteoclastogenesis--complexity in the control by GM-CSF and TGF-beta. *Bone*. 2007 Feb;40(2):323-36.
 28. Zhang J, Fu M, Myles D, Zhu X, Du J, Cao X, et al. PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways. *FEBS Lett*. 2002 Jun 19;521(1-3):180-4.
 29. Malemud CJ. Growth hormone, VEGF and FGF: involvement in rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta*. 2007 Jan;375(1-2):10-9.
 30. Parikka V, Väänänen A, Risteli J, Salo T ST. Human mesenchymal stem cell derived osteoblasts degrade organic bone matrix in vitro by matrix metalloproteinases. *Matrix Biology* 2005;24:438–47.
 31. Shoji M, Tanabe N, Mitsui N, Tanaka H, Suzuki N, et al. Lipopolysaccharide stimulates the production of prostaglandin E2 and the receptor Ep4 in osteoblasts. *Life Sci*. 2006 Mar 20;78(17):2012-8.
 32. Huang JC, Sakata T, Pflieger LL, Bencsik M, Halloran BP, et al. PTH differentially regulates expression of RANKL and OPG. *J Bone Miner Res*. 2004 Feb;19(2):235-44.J
 33. Liu B-Y, Wu P-W, Bringham FR, Wang J-T. Estrogen inhibition of PTH-stimulated osteoclast formation and attachment in vitro: involvement of both PKA and PKC. *Endocrinology*. 2002 Feb;143(2):627-35.
 34. Canalis E, Bilezikian JP, Angeli A, Giustina A. Perspectives on glucocorticoid-induced osteoporosis. *Bone*. 2004 Apr;34(4):593-8.

35. Mosekilde L, Eriksen EF, Charles P. Effects of thyroid hormones on bone and mineral metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1990 Mar;19(1):35-63.
36. Utian WH. The International Menopause Society menopause-related terminology definitions. *Climacteric.* 1999 Dec;2(4):284-6.
37. Luoto R, Kaprio J, Uutela A. Age at natural menopause and sociodemographic status in Finland. *Am J Epidemiol.* 1994 Jan 1;139(1):64-76.
38. Gold EB. The Timing of the Age at Which Natural Menopause Occurs. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2011 Sep;38(3):425-40.
39. Bellavia A, Wolk A, Orsini N. Differences in age at death according to smoking and age at menopause. *Menopause.* 2016 Jan;23(1):108-10.
40. MacMahon B, Worcester J. Age at menopause. *Vital Health Stat 11.* 1966 Oct;(19):1-20.
41. Hardy R, Kuh D. Social and environmental conditions across the life course and age at menopause in a British birth cohort study. *BJOG.* 2005 Mar;112(3):346-54.
42. Snieder H, MacGregor AJ, Spector TD. Genes control the cessation of a woman's reproductive life: a twin study of hysterectomy and age at menopause. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Jun;83(6):1875-80.
43. Monterrosa-Castro A, Blümel JE, Portela-Buelvas K, Barón G, Bencosme A, et al. Type II diabetes mellitus and menopause: a multinational study. *Climacteric.* 2013 Dec;16(6):663-72.
44. Dorjgochoo T, Kallianpur A, Gao Y-T, Cai H, Yang G, et al. Dietary and lifestyle predictors of age at natural menopause and reproductive span in the Shanghai Women's Health Study. *Menopause.* 2008 Sep-Oct;15(5):924-33.
45. Hill PB, Garbaczewski L, Daynes G, Gaire KS. Gonadotrophin release and meat consumption in vegetarian women. *Am J Clin Nutr.* 1986 Jan;43(1):37-41.
46. Nagel G, Altenburg H-P, Nieters A, Boffetta P, Linseisen J. Reproductive and dietary determinants of the age at menopause in EPIC-Heidelberg. *Maturitas.* 2005 Nov-Dec;52(3-4):337-47.
47. Gold EB, Bromberger J, Crawford S, Samuels S, Greendale GA, et al. Factors associated with age at natural menopause in a multiethnic sample of midlife women. *American Journal of Epidemiology* 2001;153(9):865-74.
48. Whelan EA, Sandler DP, McConaughy DR, Weinberg CR. Menstrual and

- reproductive characteristics and age at natural menopause. *Am J Epidemiol*. 1990 Apr;131(4):625-32.
49. Batrinos ML, Panitsa-Fafliá C, Pitoulis S, Pavlou S, Piaditis G, et al. The clinical features of the menopause and its relation to the length of pregnancies and lactation. *Maturitas*. 1979 Jun;1(4):261-8.
50. Adamopoulos DA, Karamertzanis M, Thomopoulos A, Pappa A, Koukkou E, et al. Menopause. 2002 Nov-Dec;9(6):443-8.
51. Broekmans FJ, Soules MR, Fauser BC. *Endocr Rev*. 2009 Aug;30(5):465-93.
52. Βρυωνίδου Α, Κλωνάρης Ν. Μετάβαση στην εμμηνόπαυση : παθοφυσιολογία , συμπτωματολογία και αντιμετώπιση. Εντατική εκπαίδευση στην ενδοκρινολογία : 13^{ος} κύκλος-γονάδες;251–62.
53. Χριστοδουλάκος Γ. Οδηγός εμμηνόπαυσης της Ελληνικής Εταιρείας Κλιμακτηρίου και Εμμηνόπαυσης. Στο: Χριστοδουλάκος Γ, εμμηνόπαυσιακά συμπτώματα. Αθήνα, Ελληνική εταιρεία Κλιμακτηρίου και Εμμηνόπαυσης, 2015:3-10.
54. Weiss G, Skurnick JH, Goldsmith LT, Santoro NF, Park SJ. Menopause and hypothalamic-pituitary sensitivity to estrogen. *JAMA*. 2004 Dec 22;292(24):2991-6.
55. Politi MC, Schleinitz MD, Col NF. Revisiting the duration of vasomotor symptoms of menopause: a meta-analysis. *JAMA*. 2004 Dec 22;292(24):2991-6.
56. Nappi RE, Lachowsky M. Menopause and sexuality: prevalence of symptoms and impact on quality of life. *Maturitas*. 2009 Jun 20;63(2):138-41.
57. Castelo-Branco C, Cancelo MJ, Villero J, Nohales F, Juliá MD. Management of post-menopausal vaginal atrophy and atrophic vaginitis. *Maturitas*. 2005 Nov 15;52 Suppl 1:S46-52.
58. Carr MC. The emergence of the metabolic syndrome with menopause. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003 Jun;88(6):2404-11.
59. Martens MG. Risk of fracture and treatment to prevent osteoporosis-related fracture in postmenopausal women. A review. *J Reprod Med*. 2003 Jun;48(6):425-34.
60. Polo-Kantola P. Sex steroids and sleep: sleep disturbances in menopause. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2003 Apr;64(2):152-6.
61. Cauley JA, Robbins J, Chen Z, Cummings SR, Jackson RD, et al. Effects of

- estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density: the Women's Health Initiative randomized trial. *JAMA*. 2003 Oct 1;290(13):1729-38.
62. Pines A, Sturdee DW, Birkhauser MH, de Villiers T, Naftolin F, et al. HRT in the early menopause: scientific evidence and common perceptions. *Climacteric*. 2008 Aug;11(4):267-72.
63. Kuh DL, Wadsworth M, Hardy R. Women's health in midlife: the influence of the menopause, social factors and health in earlier life. *Br J Obstet Gynaecol*. 1997 Aug;104(8):923-33.
64. Fletcher SW, Colditz GA. Failure of estrogen plus progestin therapy for prevention. *JAMA*. 2002 Jul 17;288(3):366-8.
65. Cherry N, Gilmour K, Hannaford P, Heagerty A, Khan MA, et al. Oestrogen therapy for prevention of reinfarction in postmenopausal women: a randomised placebo controlled trial. *Lancet*. 2002 Dec 21-28;360(9350):2001-8.
66. Clarke SC, Kelleher J, Lloyd-Jones H, Slack M, Schofield PM. A study of hormone replacement therapy in postmenopausal women with ischaemic heart disease: the Papworth HRT atherosclerosis study. *BJOG*. 2002 Sep;109(9):1056-62.
67. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002 Jul 17;288(3):321-33.
68. Anderson GL, Limacher M, Assaf AR, Bassford T, Beresford SA, et al. Effects of conjugated equine estrogen in postmenopausal women with hysterectomy: the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2004 Apr 14;291(14):1701-12.
69. Hersh AL, Stefanick ML, Stafford RS. National use of postmenopausal hormone therapy: annual trends and response to recent evidence. *JAMA*. 2004 Jan 7;291(1):47-53.
70. Mendelsohn ME, Karas RH. HRT and the young at heart. *N Engl J Med*. 2007 Jun 21;356(25):2639-41.
71. Sherwood A, Bower JK, McFetridge-Durdle J, Blumenthal JA, Newby LK, et al. Age moderates the short-term effects of transdermal 17beta-estradiol on endothelium-dependent vascular function in postmenopausal women.

- Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2007 Aug;27(8):1782-7.
72. Queally JM, Kiernan C, Shaikh M, Rowan F, Bennett D. Initiation of osteoporosis assessment in the fracture clinic results in improved osteoporosis management: a randomised controlled trial. *Osteoporos Int.* 2013 Mar;24(3):1089-94.
 73. Gambacciani M, Levancini M. Hormone replacement therapy and the prevention of postmenopausal osteoporosis. *Prz Menopauzalny.* 2014 Sep;13(4):213-20.
 74. Svedbom A, Hernlund E, Ivergård M, Compston J, Cooper C, et al. Osteoporosis in the European Union: a compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos.* 2013;8:137.
 75. Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, Wong JB, King A, et al. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. *J Bone Miner Res.* 2007 Mar;22(3):465-75.
 76. European Prospective Osteoporosis Study (EPOS) Group, Felsenberg D, Silman AJ, Lunt M, Armbrecht G, Ismail AA, et al. Incidence of vertebral fracture in europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *J Bone Miner Res.* 2002 Apr;17(4):716-24.
 77. Ismail AA, Pye SR, Cockerill WC, Silman AJ, Reeve J, et al. Incidence of limb fracture across Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Osteoporos Int.* 2002 Jul;13(7):565-71.
 78. Lyritis GP, Rizou S, Galanos A, Makras P. Incidence of hip fractures in Greece during a 30-year period: 1977-2007. *Osteoporos Int.* 2013 May;24(5):1579-85.
 79. Baltas CS, Balanika AP, Raptou PD, Tournis S, Lyritis GP. Hellenic guidelines on bone densitometry working group. Clinical practice guidelines proposed by the Hellenic Foundation of Osteoporosis for the management of osteoporosis based on DXA results. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2005 Oct-Dec;5(4):388-92.
 80. Lenchik L, Rogers LF, Delmas PD, Genant HK. Diagnosis of osteoporotic vertebral fractures: importance of recognition and description by radiologists. *AJR Am J Roentgenol.* 2004 Oct;183(4):949-58.
 81. Makras P, Vaiopoulos G, Lyritis GP. Greek National Medicine Agency. 2011 guidelines for the diagnosis and treatment of osteoporosis in Greece. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2012 Mar;12(1):38-42.

82. Kanis JA, McCloskey E V, Johansson H, Cooper C, Rizzoli R, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2013 Jan;24(1):23-57.
83. Alenfeld FE, Engelke K, Schmidt D, Brezger M, Diessel E, et al. Diagnostic agreement of two calcaneal ultrasound devices: the Sahara bone sonometer and the Achilles+. *Br J Radiol.* 2002 Nov;75(899):895-902.
84. Cheng S, Njeh CF, Fan B, Cheng X, Hans D, et al. Influence of region of interest and bone size on calcaneal BMD: implications for the accuracy of quantitative ultrasound assessments at the calcaneus. *Br J Radiol.* 2002 Jan;75(889):59-68.
85. Frost ML, Blake GM, Fogelman I. Can the WHO criteria for diagnosing osteoporosis be applied to calcaneal quantitative ultrasound? *Osteoporos Int.* 2000;11(4):321-30.
86. Adams JE. Quantitative computed tomography. *Eur J Radiol.* 2009 Sep;71(3):415-24.
87. MacNeil JA, Boyd SK. Accuracy of high-resolution peripheral quantitative computed tomography for measurement of bone quality. *Med Eng Phys.* 2007 Dec;29(10):1096-105.
88. Parkinson IH, Fazzalari NL. Whole bone geometry and bone quality in distal forearm fracture. *J Orthop Trauma.* 2008 Sep;22(8 Suppl):S59-65.
89. Grampp S, Nather A, Rintelen B, Henk C, Resch-Holeczke A, et al. Peripheral quantitative CT of the forearm: scanner cross-calibration using patient data. *Br J Radiol.* 2000 Mar;73(867):275-7.
90. Genant HK, Jiang Y. Advanced imaging assessment of bone quality. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Apr;1068:410-28.
91. Alberich-Bayarri A, Marti-Bonmati L, Angeles Pérez M, Sanz-Requena R, Lerma-Garrido JJ, et al. Assessment of 2D and 3D fractal dimension measurements of trabecular bone from high-spatial resolution magnetic resonance images at 3 T. *Medical physics* Sep ;37(9):4930–7.
92. Seibel MJ. Clinical application of biochemical markers of bone turnover. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006 Aug;50(4):603-20.
93. Διονυσίωτης Ι, Δήμου Π, Σπυροπούλου Α, Ηλιόπουλος Α, Κατσαλήρα Α, Κοντογιάννη Μ και συν. Κατευθυντήριες γραμμές για τη διάγνωση και αντιμετώπιση της Οστεοπόρωσης στην Ελλάδα. Αθήνα, Ελληνικό Ίδρυμα

- Οστεοπόρωσης 2013.
94. Delmas PD, Munoz F, Black DM, Cosman F, Boonen S, et al. Effects of yearly zoledronic acid 5 mg on bone turnover markers and relation of PINP with fracture reduction in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2009 Sep;24(9):1544-51.
 95. Bauer DC, Black DM, Garnero P, Hochberg M, Ott S, et al. Change in bone turnover and hip, non-spine, and vertebral fracture in alendronate-treated women: the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res.* 2004 Aug;19(8):1250-8.
 96. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, et al. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 2004 Jan 29;350(5):459-68.
 97. Saag K, Lindsay R, Kriegman A, Beamer E, Zhou W. A single zoledronic acid infusion reduces bone resorption markers more rapidly than weekly oral alendronate in postmenopausal women with low bone mineral density. *Bone.* 2007 May;40(5):1238-43.
 98. Reginster J-Y, Sarkar S, Zegels B, Henrotin Y, Bruyere O, et al. Reduction in PINP, a marker of bone metabolism, with raloxifene treatment and its relationship with vertebral fracture risk. *Bone.* 2004 Feb;34(2):344-51.
 99. Cooper C, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Melton LJ. Incidence of clinically diagnosed vertebral fractures: a population-based study in Rochester, Minnesota, 1985-1989. *J Bone Miner Res.* 1992 Feb;7(2):221-7.
 100. Storm T, Thamsborg G, Steiniche T, Genant HK, Sorensen OH. Effect of intermittent cyclical etidronate therapy on bone mass and fracture rate in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 1990 May 3;322(18):1265-71.
 101. Watts NB, Harris ST, Genant HK, Wasnich RD, Miller PD, et al. Intermittent cyclical etidronate treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med.* 1990 Jul 12;323(2):73-9.
 102. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet.* 1996 Dec 7;348(9041):1535-41.
 103. Cranney A, Wells G, Willan A, Griffith L, Zytaruk N, et al. Meta-analyses of

- therapies for postmenopausal osteoporosis. II. Meta-analysis of alendronate for the treatment of postmenopausal women. *Endocr Rev.* 2002 Aug;23(4):508-16.
104. Harris ST, Watts NB, Genant HK, McKeever CD, Hangartner T, et al. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *JAMA.* 1999 Oct 13;282(14):1344-52.
105. Reginster J, Minne HW, Sorensen OH, Hooper M, Roux C, et al. Randomized trial of the effects of risedronate on vertebral fractures in women with established postmenopausal osteoporosis. Vertebral Efficacy with Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *Osteoporos Int.* 2000;11(1):83-91.
106. McClung MR, Geusens P, Miller PD, Zippel H, Bensen WG, et al. Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. Hip Intervention Program Study Group. *N Engl J Med.* 2001 Feb 1;344(5):333-40.
107. Sorensen OH, Crawford GM, Mulder H, Mulder H, Hosking DJ, et al. Long-term efficacy of risedronate: a 5-year placebo-controlled clinical experience. *Bone.* 2003 Feb;32(2):120-6.
108. Bianchi G, Czerwinski E, Kenwright A, Burdeska A, Recker RR, et al. Long-term administration of quarterly IV ibandronate is effective and well tolerated in postmenopausal osteoporosis: 5-year data from the DIVA study long-term extension. *Osteoporos Int.* 2012 Jun;23(6):1769-78.
109. Lyles KW, Colón-Emeric CS, Magaziner JS, Adachi JD, Pieper CF, et al. Zoledronic acid and clinical fractures and mortality after hip fracture. *N Engl J Med.* 2007 Nov 1;357(18):1799-809.
110. Grese TA, Sluka JP, Bryant HU, Cullinan GJ, Glasebrook AL, et al. Molecular determinants of tissue selectivity in estrogen receptor modulators. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Dec 9;94(25):14105-10.
111. Delmas PD, Ensrud KE, Adachi JD, Harper KD, Sarkar S, et al. Efficacy of raloxifene on vertebral fracture risk reduction in postmenopausal women with osteoporosis: four-year results from a randomized clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Aug;87(8):3609-17.
112. Barrett-Connor E, Grady D, Sashegyi A, Anderson PW, Cox DA, et al. Raloxifene and cardiovascular events in osteoporotic postmenopausal women: four-year results from the MORE (Multiple Outcomes of Raloxifene

- Evaluation) randomized trial. *JAMA*. 2002 Feb 20;287(7):847-57.
113. Cauley JA, Norton L, Lippman ME, Eckert S, Krueger KA, et al. Continued breast cancer risk reduction in postmenopausal women treated with raloxifene: 4-year results from the MORE trial. Multiple outcomes of raloxifene evaluation. *Breast Cancer Res Treat*. 2001 Jan;65(2):125-34.
114. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, et al. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA*. 2002 Jul 17;288(3):321-33.
115. Grady D, Wenger NK, Herrington D, Khan S, Furberg C, et al. Postmenopausal hormone therapy increases risk for venous thromboembolic disease. The Heart and Estrogen/progestin Replacement Study. *Ann Intern Med*. 2000 May 2;132(9):689-96.
116. Vogel VG, Costantino JP, Wickerham DL, Cronin WM, Cecchini RS et al. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: the NSABP Study of Tamoxifen and Raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA*. 2006 Jun 21;295(23):2727-41.
117. Kanis JA, Johansson H, Oden A, McCloskey E V. Bazedoxifene reduces vertebral and clinical fractures in postmenopausal women at high risk assessed with FRAX. *Bone*. 2009 Jun;44(6):1049-54.
118. de Villiers TJ, Chines AA, Palacios S, Lips P, Sawicki AZ, et al. Safety and tolerability of bazedoxifene in postmenopausal women with osteoporosis: results of a 5-year, randomized, placebo-controlled phase 3 trial. *Osteoporos Int*. 2011 Feb;22(2):567-76.
119. Silverman SL, Chines AA, Kendler DL, Kung AW, Teglbjaerg CS, et al. Sustained efficacy and safety of bazedoxifene in preventing fractures in postmenopausal women with osteoporosis: results of a 5-year, randomized, placebo-controlled study. *Osteoporos Int*. 2012 Jan;23(1):351-63.
120. Effects of hormone therapy on bone mineral density: results from the postmenopausal estrogen/progestin interventions (PEPI) trial. The Writing Group for the PEPI. *JAMA*. 1996 Nov 6;276(17):1389-96.
121. Gambacciani M, Cappagli B, Ciaponi M, Pepe A, Vacca F, et al. Ultra low-dose hormone replacement therapy and bone protection in postmenopausal women. *Maturitas*. 2008 Jan 20;59(1):2-6.

122. Kuhl H. Is the elevated breast cancer risk observed in the WHI study an artifact? *Climacteric*. 2004 Sep;7(3):319-22.
123. Dietel M, Lewis MA, Shapiro S. Hormone replacement therapy: pathobiological aspects of hormone-sensitive cancers in women relevant to epidemiological studies on HRT: a mini-review. *Hum Reprod*. 2005 Aug;20(8):2052-60.
124. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. *Lancet*. 1997 Oct 11;350(9084):1047-59.
125. Chen WY, Manson JE, Hankinson SE, Rosner B, Holmes MD et al. Unopposed estrogen therapy and the risk of invasive breast cancer. *Arch Intern Med*. 2006 May 8;166(9):1027-32.
126. Canonico M, Plu-Bureau G, Lowe GDO, Scarabin P-Y. Hormone replacement therapy and risk of venous thromboembolism in postmenopausal women: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2008 May 31;336(7655):1227-31.
127. Canonico M, Bouaziz E, Carcaillon L, Verstuyft C, Guiochon-Mantel A, et al. Synergism between oral estrogen therapy and cytochrome P450 3A5*1 allele on the risk of venous thromboembolism among postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008 Aug;93(8):3082-7.
128. Canonico M, Oger E, Plu-Bureau G, Conard J, Meyer G, et al. Hormone therapy and venous thromboembolism among postmenopausal women: impact of the route of estrogen administration and progestogens: the ESTHER study. *Circulation*. 2007 Feb 20;115(7):840-5.
129. Renoux C, Dell'aniello S, Garbe E, Suissa S. Transdermal and oral hormone replacement therapy and the risk of stroke: a nested case-control study. *BMJ*. 2010 Jun 3;340:c2519.
130. Schaeffers M, Muysers C, Alexandersen P, Christiansen C. Effect of microdose transdermal 17beta-estradiol compared with raloxifene in the prevention of bone loss in healthy postmenopausal women: a 2-year, randomized, double-blind trial. *Menopause*. 2009 May-Jun;16(3):559-65.
131. Rossouw JE, Prentice RL, Manson JE, Wu L, Barad D, et al. Postmenopausal hormone therapy and risk of cardiovascular disease by age and years since menopause. *JAMA*. 2007 Apr 4;297(13):1465-77.

132. Salpeter SR, Walsh JME, Greyber E, Salpeter EE. Brief report: Coronary heart disease events associated with hormone therapy in younger and older women. A meta-analysis. *J Gen Intern Med.* 2006 Apr;21(4):363-6.
133. Lyritis GP, Karpathios S, Basdekis K, Grigoriou O, Katostaras T, et al. Prevention of post-oophorectomy bone loss with Tibolone. *Maturitas.* 1995 Nov;22(3):247-53.
134. Cummings SR, Ettinger B, Delmas PD, Kenemans P, Stathopoulos V, et al. The effects of tibolone in older postmenopausal women. *N Engl J Med.* 2008 Aug 14;359(7):697-708.
135. Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour J-P, Boonen S, Burckhardt P, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporos Int.* 2010 Jul;21(7):1151-4.
136. Bolland MJ, Avenell A, Baron JA, Grey A, MacLennan GS, et al. Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis. *BMJ.* 2010 Jul 29;341:c3691.
137. Reginster JY, Seeman E, De Vernejoul MC, Adami S, Compston J, et al. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 May;90(5):2816-22.
138. Stevenson M, Davis S, Lloyd-Jones M, Beverley C. The clinical effectiveness and cost-effectiveness of strontium ranelate for the prevention of osteoporotic fragility fractures in postmenopausal women. *Health Technol Assess.* 2007 Feb;11(4):1-134.
139. Smith MR, Egerdie B, Hernández Toriz N, Feldman R, Tammela TL, et al. Denosumab in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *N Engl J Med.* 2009 Aug 20;361(8):745-55.
140. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature.* 2003 May 15;423(6937):337-42.
141. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med.* 2009 Aug 20;361(8):756-65.
142. Freemantle N, Satram-Hoang S, Tang E-T, Kaur P, Macarios D, et al. Final results of the DAPS (Denosumab Adherence Preference Satisfaction) study: a 24-month, randomized, crossover comparison with alendronate in

- postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2012 Jan;23(1):317-26.
143. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N Engl J Med.* 2002 Jan 31;346(5):340-52.
144. Osz J, Brélivet Y, Peluso-Iltis C, Cura V, Eiler S, et al. Structural basis for a molecular allosteric control mechanism of cofactor binding to nuclear receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Mar 6;109(10):E588-94.
145. Toft D, Gorski J. A receptor molecule for estrogens: isolation from the rat uterus and preliminary characterization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1966 Jun;55(6):1574-81.
146. Green S, Walter P, Kumar V, Krust A, Bornert JM, et al. Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature.* 1986 Mar 13-19;320(6058):134-9.
147. Kuiper GG, Enmark E, Pelto-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson JA. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Jun 11;93(12):5925-30.
148. Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett.* 1996 Aug 19;392(1):49-53.
149. Enmark E, Pelto-Huikko M, Grandien K, Lagercrantz S, Lagercrantz J, et al. Human estrogen receptor beta-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997 Dec;82(12):4258-65.
150. Deroo BJ, Korach KS. Estrogen receptors and human disease. *J Clin Invest.* 2006 Mar;116(3):561-70.
151. Nikov GN, Hopkins NE, Boue S, Alworth WL. Interactions of dietary estrogens with human estrogen receptors and the effect on estrogen receptor-estrogen response element complex formation. *Environ Health Perspect.* 2000 Sep;108(9):867-72.
152. Smith DF, Toft DO. Steroid receptors and their associated proteins. *Mol Endocrinol.* 1993 Jan;7(1):4-11.
153. Higgins SJ, Gehring U. Molecular mechanisms of steroid hormone action. *Adv Cancer Res.* 1978;28:313-97.
154. Meyer MR, Haas E, Prossnitz ER, Barton M. Non-genomic regulation of vascular cell function and growth by estrogen. *Mol Cell Endocrinol.* 2009 Sep 24;308(1-2):9-16.

155. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER. A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science* 2005 Sep;307(5715):1625–30.
156. Nadal A, Rovira JM, Laribi O, Leon-quinto T, Andreu E, et al. Rapid insulinotropic effect of 17beta-estradiol via a plasma membrane receptor. *FASEB journal*. 2016 Sep ;12(13):1341–8.
157. Watters JJ, Campbell JS, Cunningham MJ, Krebs EG, Dorsa DM. Rapid membrane effects of steroids in neuroblastoma cells: effects of estrogen on mitogen activated protein kinase signalling cascade and c-fos immediate early gene transcription. *Endocrinol*. 2016 Sep;138(9):4030–3.
158. Lane NE. Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Feb;194(2 Suppl):S3-11.
159. Compston J, Bowring C, Coopera, Cooper C, Davies C, et al. Diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and older men in the UK: National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) update 2013. *Maturitas*. 2013 Aug;75(4):392-6.
160. Higgs D, Kessenich C. Complementary Therapies in Osteoporosis. *J Nurse Pract*. 2010;6(3):193–8.
161. Lupton JR, Blumberg JB, L'Abbe M, LeDoux M, Rice HB, et al. Nutrient reference value: non-communicable disease endpoints--a conference report. *Eur J Nutr*. 2016 Mar;55 Suppl 1:S1-10.
162. Lowe S, Lange F. SEU weiliche sexual hormone (Thelytropine). *BZ* 1927; 180: 1-26.
163. Potter JD SK. Principles of chemoprevention. In: *Vegetables, fruit and phytoestrogens as preventive agents*. Lyon: IARC Scientific Publishers; 1996. p. 61–90.
164. Alekel DL, Germain AS, Peterson CT, Hanson KB, Stewart JW, et al. Isoflavone-rich soy protein isolate attenuates bone loss in the lumbar spine of perimenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2000 Sep;72(3):844-5.
165. Sobenin IA, Myasoedova VA, Orekhov AN. Phytoestrogen-Rich Dietary Supplements in Anti-Atherosclerotic Therapy in Postmenopausal Women. *Curr Pharm Des*. 2016;22(2):152-63.
166. Messina M, Ho S, Alekel DL. Skeletal benefits of soy isoflavones: a review of the clinical trial and epidemiologic data. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2004

- Nov;7(6):649-58.
167. Humfrey CD. Phytoestrogens and human health effects: weighing up the current evidence. *Nat Toxins*. 1998;6(2):51-9.
 168. Poluzzi E, Piccinni C, Raschi E, Rampa A, Recanatini M, et al. Phytoestrogens in postmenopause: the state of the art from a chemical, pharmacological and regulatory perspective. *Curr Med Chem*. 2014;21(4):417-36.
 169. Vitale DC, Piazza C, Melilli B, Drago F, Salomone S. Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2013 Mar;38(1):15-25.
 170. Kurzer MS, Xu X. Dietary phytoestrogens. *Annu Rev Nutr*. 1997;17:353-81.
 171. Fu S, Zeng G, Zong S, Zhang ZY, Zou B, et al. Systematic review and meta-analysis of the bone protective effect of phytoestrogens on osteoporosis in ovariectomized rats. *Nutr Res*. 2014 Jun;34(6):467-77.
 172. Li F, Yang X, Yang Y, Guo C, Zhang C, et al. Antiosteoporotic activity of echinacoside in ovariectomized rats. *Phytomedicine*. 2013 Apr 15;20(6):549-57.
 173. Liggins J, Grimwood R, Bingham SA. Extraction and quantification of lignan phytoestrogens in food and human samples. *Anal Biochem*. 2000 Dec 1;287(1):102-9.
 174. Takić MM, Jovanović VB, Pavićević ID, Uzelac TN, Aćimović JM, et al. Binding of enterolactone and enterodiol to human serum albumin: increase of cysteine-34 thiol group reactivity. *Food Funct*. 2016 Feb;7(2):1217-26.
 175. Raffaelli B, Hoikkala A, Leppälä E, Wähälä K. Enterolignans. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2002 Sep 25;777(1-2):29-43.
 176. Warren MP, Shortle B, Dominguez JE. Use of alternative therapies in menopause. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2002 Jun;16(3):411-48.
 177. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Resveratrol: a molecule whose time has come? And gone? *Clin Biochem*. 1997 Mar;30(2):91-113.
 178. Murcia MA, Martínez-Tomé M. J Food Prot. 2001 Mar;64(3):379-84. Antioxidant activity of resveratrol compared with common food additives. *J Food Prot*. 2001 Mar;64(3):379-84.
 179. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. 2006 Nov 16;444(7117):337-42.
 180. Iwashina T, Kitajima J. Chalcone and flavonol glycosides from *Asarum*

- canadense (Aristolochiaceae). *Phytochemistry*. 2000 Dec;55(8):971-4.
181. Seitz U, Oefner PJ, Nathakarnkitkool S, Popp M, Bonn GK. Capillary electrophoretic analysis of flavonoids. *Electrophoresis*. 1992 Jan-Feb;13(1-2):35-8.
182. Boots AW, Haenen GRMM, Bast A. Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *Eur J Pharmacol*. 2008 May 13;585(2-3):325-37.
183. Rowland I, Faughnan M, Hoey L, Wähälä K, Williamson G, Cassidy A. Bioavailability of phyto-oestrogens. *Br J Nutr*. 2003 Jun;89 Suppl 1:S45-58.
184. Rowland I, Wiseman H, Sanders T, Adlercreutz H, Bowey E. Metabolism of oestrogens and phytoestrogens: role of the gut microflora. *Biochem Soc Trans*. 1999 Feb;27(2):304-8.
185. Setchell KDR, Faughnan MS, Avades T, Zimmer-Nechemias L, Brown NM, et al. Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of ¹³C-labeled tracers in premenopausal women. *Am J Clin Nutr*. 2003 Feb;77(2):411-9.
186. King RA, Bursill DB. Plasma and urinary kinetics of the isoflavones daidzein and genistein after a single soy meal in humans. *Am J Clin Nutr*. 1998 May;67(5):867-72.
187. Bedell S, Nachtigall M, Naftolin F. The pros and cons of plant estrogens for menopause. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014 Jan;139:225-36.
188. Chandrareddy A, Muneyyirci-Delale O, McFarlane SI, Murad OM. Adverse effects of phytoestrogens on reproductive health: a report of three cases. *Complement Ther Clin Pract*. 2008 May;14(2):132-5.
189. Tempfer CB, Froese G, Heinze G, Bentz E-K, Hefler L, et al. Side effects of phytoestrogens: a meta-analysis of randomized trials. *Am J Med*. 2009 Oct;122(10):939-46.e9.
190. Andres S, Abraham K, Appel KE, Lampen A. Risks and benefits of dietary isoflavones for cancer. *Crit Rev Toxicol*. 2011 Jul;41(6):463-506.
191. Horn-Ross PL, John EM, Canchola AJ, Stewart SL, Lee MM. Phytoestrogen intake and endometrial cancer risk. *J Natl Cancer Inst*. 2003 Aug 6;95(15):1158-64.
192. Villaseca P. Non-estrogen conventional and phytochemical treatments for vasomotor symptoms: what needs to be known for practice. *Climacteric*. 2012 Apr;15(2):115-24.

193. Verheus M, van Gils CH, Keinan-Boker L, Grace PB, Bingham SA, Peeters PHM. Plasma phytoestrogens and subsequent breast cancer risk. *J Clin Oncol*. 2007 Feb 20;25(6):648-55.
194. Wu AH, Yu MC, Tseng C-C, Pike MC. Epidemiology of soy exposures and breast cancer risk. *Br J Cancer*. 2008 Jan 15;98(1):9-14.
195. Shu XO, Zheng Y, Cai H, Gu K, Chen Z, et al. Soy food intake and breast cancer survival. *JAMA*. 2009 Dec 9;302(22):2437-43.
196. Ziegler RG, Hoover RN, Pike MC, Hildesheim A, Nomura AM, et al. Migration patterns and breast cancer risk in Asian-American women. *J Natl Cancer Inst*. 1993 Nov 17;85(22):1819-27.
197. Duncan AM, Merz BE, Xu X, Nagel TC, Phipps WR, Kurzer MS. Soy isoflavones exert modest hormonal effects in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Jan;84(1):192-7.
198. Wu AH, Stanczyk FZ, Hendrich S, Murphy PA, Zhang C, et al. Effects of soy foods on ovarian function in premenopausal women. *Br J Cancer*. 2000 Jun;82(11):1879-86.
199. Huber J, Imhof M, Schmidt M. Effects of soy protein and isoflavones on circulating hormone concentrations in pre- and post-menopausal women: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2010 Jan-Feb;16(1):110-1.
200. Oseni T, Patel R, Pyle J, Jordan VC. Selective estrogen receptor modulators and phytoestrogens. *Planta Med*. 2008 Oct;74(13):1656-65.
201. McCarty MF. Isoflavones made simple - genistein's agonist activity for the beta-type estrogen receptor mediates their health benefits. *Med Hypotheses*. 2006;66(6):1093-114.
202. Borges S, Desta Z, Li L, Ward BA, Nguyen A, et al. Quantitative effect of CYP2D6 genotype and inhibitors on tamoxifen metabolism: implication for optimization of breast cancer treatment. *Clin Pharmacol Ther*. 2006 Jul;80(1):61-74.
203. An J, Tzagarakis-Foster C, Scharschmidt TC, Lomri N, Leitman DC. Estrogen receptor beta-selective transcriptional activity and recruitment of coregulators by phytoestrogens. *J Biol Chem*. 2001 May 25;276(21):17808-14.
204. Kuiper GG, Carlsson B, Grandien K, Enmark E, Ha Ggblad J, et al. Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution

- of estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology*. 1997 Mar;138(3):863-70.
205. Milligan SR, Kalita JC, Heyerick A, Rong H, De Cooman L, et al. Identification of a potent phytoestrogen in hops (*Humulus lupulus* L.) and beer. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999 Jun;84(6):2249-52.
206. Sharma T, Islam N, Ahmad J, Akhtar N, Beg M. Correlation between bone mineral density and oxidative stress in postmenopausal women. *Indian J Endocrinol Metab*. 2015 Jul-Aug;19(4):491-7.
207. Karkola S, Wähälä K. The binding of lignans, flavonoids and coumestrol to CYP450 aromatase: a molecular modelling study. *Mol Cell Endocrinol*. 2009 Mar 25;301(1-2):235-44.
208. Brynin R. Soy and its isoflavones: a review of their effects on bone density. *Altern Med Rev*. 2002 Aug;7(4):317-27.
209. Gao YH, Yamaguchi M. Suppressive effect of genistein on rat bone osteoclasts: apoptosis is induced through Ca²⁺ signaling. *Biol Pharm Bull*. 1999 Aug;22(8):805-9.
210. Blair HC, Jordan SE, Peterson TG, Barnes S. Variable effects of tyrosine kinase inhibitors on avian osteoclastic activity and reduction of bone loss in ovariectomized rats. *J Cell Biochem*. 1996 Jun 15;61(4):629-37.
211. Williams JP, Jordan SE, Barnes S, Blair HC. Tyrosine kinase inhibitor effects on avian osteoclastic acid transport. *Am J Clin Nutr*. 1998 Dec;68(6 Suppl):1369S-1374S.
212. Atmaca A, Kleerekoper M, Bayraktar M, Kucuk O. Soy isoflavones in the management of postmenopausal osteoporosis. *Menopause*. 2008 Jul-Aug;15(4 Pt 1):748-57.
213. Yamagishi T, Otsuka E, Hagiwara H. Reciprocal control of expression of mRNAs for osteoclast differentiation factor and OPG in osteogenic stromal cells by genistein: evidence for the involvement of topoisomerase II in osteoclastogenesis. *Endocrinology*. 2001 Aug;142(8):3632-7.
214. Chen XW, Garner SC, Anderson JJB. Isoflavones regulate interleukin-6 and osteoprotegerin synthesis during osteoblast cell differentiation via an estrogen-receptor-dependent pathway. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Jul 12;295(2):417-22.
215. Fotsis T, Pepper M, Adlercreutz H, Fleischmann G, Hase T, et al. Genistein, a dietary-derived inhibitor of in vitro angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*.

- 1993 Apr 1;90(7):2690-4.
216. Kapiotis S, Hermann M, Held I, Seelos C, Ehringer H, et al. Genistein, the dietary-derived angiogenesis inhibitor, prevents LDL oxidation and protects endothelial cells from damage by atherogenic LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997 Nov;17(11):2868-74.
217. Whitehead SA, Cross JE, Burden C, Lacey M. Acute and chronic effects of genistein, tyrphostin and lavendustin A on steroid synthesis in luteinized human granulosa cells. *Hum Reprod.*
218. Jee WS, Yao W. Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2001 Mar;1(3):193-207.
219. Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Comp Med.* 2008 Oct;58(5):424-30.
220. Kalu DN, Masoro EJ, Yu BP, Hardin RR, Hollis BW. Modulation of age-related hyperparathyroidism and senile bone loss in Fischer rats by soy protein and food restriction. *Endocrinology.* 1988 May;122(5):1847-54.
221. Ishimi Y, Miyaura C, Ohmura M, Onoe Y, Sato T, et al. Selective effects of genistein, a soybean isoflavone, on B-lymphopoiesis and bone loss caused by estrogen deficiency. *Endocrinology.* 1999 Apr;140(4):1893-900.
222. Wu J, Wang X, Chiba H, Higuchi M, Nakatani T, et al. Combined intervention of soy isoflavone and moderate exercise prevents body fat elevation and bone loss in ovariectomized mice. *Metabolism.* 2004 Jul;53(7):942-8.
223. Paik M-K, Lee H-O, Chung H-S, Yang S-O, Kim J-H, et al. Genistein may prevent cadmium-induced bone loss in ovariectomized rats. *J Med Food.* 2003 Winter;6(4):337-43.
224. Miao Q, Li JG, Miao S, Hu N, Zhang J. The bone-protective effect of genistein in the animal model of bilateral ovariectomy: roles of phytoestrogens and PTH/PTHrP against post-menopausal osteoporosis. *Int J Mol Sci.* 2012;13(1):56-70
225. Zhang Y, Lai W-P, Leung P-C, Wu C-F, Wong M-S. Short- to mid-term effects of ovariectomy on bone turnover, bone mass and bone strength in rats. *Biol Pharm Bull.* 2007 May;30(5):898-903.
226. Bahr JM, Nakai M, Rivera A, Walsh J, Evans GL, et al. Dietary soy protein and isoflavones: minimal beneficial effects on bone and no effect on the

- reproductive tract of sexually mature ovariectomized Sprague-Dawley rats. *Menopause*. 2005 Mar;12(2):165-73.
227. Nakai M, Cook L, Pyter LM, Black M, Sibona J, et al. Dietary soy protein and isoflavones have no significant effect on bone and a potentially negative effect on the uterus of sexually mature intact Sprague-Dawley female rats. *Menopause*. 2005 May-Jun;12(3):291-8.
228. Dontas I, Lelovas PP, Kourkoulis SK, Paliogianni A, Mitakou S et al. Protective effect of *Sideritis euboea* extract on bone mineral density and strength of ovariectomized rats. *Menopause*. 2011 Aug;18(8):915-22.
229. Zhang R, Liu ZG, Li C, Hu SJ, Liu L, et al. Du-Zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) cortex extract prevent OVX-induced osteoporosis in rats. *Bone*. 2009 Sep;45(3):553-9.
230. Weerachayaphorn J, Chuncharunee A, Mahagita C, Lewchalermwongse B, Suksamrarn A, et al. *J Ethnopharmacol*. 2011 Sep 2;137(2):956-62.
231. Valente M, Bufalino L, Castiglione GN, D'Angelo R, Mancuso A, et al. Effects of 1-year treatment with ipriflavone on bone in postmenopausal women with low bone mass. *Calcif Tissue Int*. 1994 May;54(5):377-80.
232. Agnusdei D, Gennari C, Bufalino L. Prevention of early postmenopausal bone loss using low doses of conjugated estrogens and the non-hormonal, bone-active drug ipriflavone. *Osteoporos Int*. 1995;5(6):462-6.
233. Alexandersen P, Toussaint A, Christiansen C, Devogelaer JP, Roux C, et al. Ipriflavone in the treatment of postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2001 Mar 21;285(11):1482-8.
234. Chen Y-M, Ho SC, Lam SSH, Ho SSS, Woo JLF. Beneficial effect of soy isoflavones on bone mineral content was modified by years since menopause, body weight, and calcium intake: a double-blind, randomized, controlled trial. *Menopause*. 2004 May-Jun;11(3):246-54.
235. Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, Grobbee DE, de Haan EH, et al. Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2004 Jul 7;292(1):65-74.
236. Setchell KDR, Brown NM, Lydeking-Olsen E. The clinical importance of the metabolite equol—a clue to the effectiveness of soy and its isoflavones. *J Nutr*. 2002 Dec;132(12):3577-84.

237. Greendale GA, FitzGerald G, Huang M-H, Sternfeld B, Gold E, et al. Dietary Soy Isoflavones and Bone Mineral Density: Results from the Study of Women's Health Across the Nation. *Am J Epidemiol.* 2002 Apr 15;155(8):746-54.
238. Horiuchi T, Onouchi T, Takahashi M, Ito H, Orimo H. Effect of soy protein on bone metabolism in postmenopausal Japanese women. *Osteoporos Int.* 2000;11(8):721-4.
239. Kritiz-Silverstein D, Goodman-Gruen DL. Usual dietary isoflavone intake, bone mineral density, and bone metabolism in postmenopausal women. *J Womens Health Gend Based Med.* 2002 Jan-Feb;11(1):69-78.
240. Clifton-Bligh PB, Baber RJ, Fulcher GR, Nery ML, Moreton T. The effect of isoflavones extracted from red clover (Rimostil) on lipid and bone metabolism. *Menopause.* 2001 Jul-Aug;8(4):259-65.
241. Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, Gaudio A, Lasco A, et al. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Bone Miner Res.* 2002 Oct;17(10):1904-12.
242. Wei P, Liu M, Chen Y, Chen DC. Systematic review of soy isoflavone supplements on osteoporosis in women. *Asian Pac J Trop Med.* 2012 Mar;5(3):243-8.
243. Harkness LS, Fiedler K, Sehgal AR, Oravec D, Lerner E. Decreased bone resorption with soy isoflavone supplementation in postmenopausal women. *J Womens Health (Larchmt).* 2004 Nov;13(9):1000-7.
244. Liu J, Ho SC, Su Y, Chen W, Zhang C, et al. Effect of long-term intervention of soy isoflavones on bone mineral density in women: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Bone.* 2009 May;44(5):948-53.
245. Taku K, Melby MK, Takebayashi J, Mizuno S, Ishimi Y, et al. Effect of soy isoflavone extract supplements on bone mineral density in menopausal women: meta-analysis of randomized controlled trials. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2010;19(1):33-42.
246. Adachi JD, Adami S, Gehlbach S, Anderson FA Jr, Boonen S, et al. Impact of prevalent fractures on quality of life: baseline results from the global longitudinal study of osteoporosis in women. *Mayo Clin Proc.* 2010 Sep;85(9):806-13.

247. Stuenkel CA, Davis SR, Gompel A, Lumsden MA, Murad MH, et al. Treatment of Symptoms of the Menopause: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Nov;100(11):3975-4011.
248. Manuscript A. NIH Public Access. *Changes* 2012;29(12):997–1003.
249. Lukes A. Evolving issues in the clinical and managed care settings on the management of menopause following the women's health initiative. *J Manag Care Pharm.* 2008 Apr;14(3 Suppl):7-13.
250. Biapa P-CN, Agbor GA, Oben JE, Ngogang JY. Phytochemical studies and antioxidant properties of four medicinal plants used in Cameroon. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2007 Jun 10;4(4):495-500.
251. Saah EPF, Sielinou VT, Kuete V, Lacmata ST, Nkengfack AE. Antimicrobial and antioxidant isoflavonoid derivatives from the roots of *Amphimas pterocarpoides*. *J ChemSci*2013;68:931–8.
252. Tchoumtchoua J, Njamien D, Mbanya JC, Skaltsounis A-L, Halabalaki M. Structure-oriented UHPLC-LTQ Orbitrap-based approach as a dereplication strategy for the identification of isoflavonoids from *Amphimas pterocarpoides* crude extract. *J Mass Spectrom.* 2013 May;48(5):561-75.
253. Δοντα Ι, Λελόβας Π . Πειραματικά πρότυπα οστεοπόρωσης. Στο: Είδη ζώων εργαστηρίου ως πειραματικών προτύπων οστεοπόρωσης. Αθήνα, Ελληνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης 2011:12-34.
254. Hodgen GD, Goodman AL, O'Connor A, Johnson DK. Menopause in rhesus monkeys: model for study of disorders in the human climacteric. *Am J Obstet Gynecol.* 1977 Mar 15;127(6):581-4.
255. Weiss RA. Retroviral zoonoses. *Nat Med.* 1998 Apr;4(4):391-2.
256. Jee WS, Yao W. Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2001 Mar;1(3):193-207.
257. Aerssens J, van Audekercke R, Talalaj M, Geusens P, Bramm E, Dequeker J. Effect of 1alpha-vitamin D3 and estrogen therapy on cortical bone mechanical properties in the ovariectomized rat model. *Endocrinology.* 1996 Apr;137(4):1358-64.
258. Danielsen CC, Mosekilde L, Svenstrup B. Cortical bone mass, composition, and mechanical properties in female rats in relation to age, long-term ovariectomy, and estrogen substitution. *Calcif Tissue Int.* 1993 Jan;52(1):26-33.

259. Turner CH, Burr DB. Basic biomechanical measurements of bone: a tutorial. *Bone*. 1993 Jul-Aug;14(4):595-608.
260. Seo SH, Lee J, Park IH. Efficacy of Dual Energy X-ray Absorptiometry for Evaluation of Biomechanical Properties : Bone Mineral Density and Actual Bone Strength. *J Bone Metab*. 2014 Aug;21(3):205-12.
261. Pelker RR, Frielaender GE, Marklham TC, Panjabi MM, Moen CJ. Effects of freezing and freeze-drying on the biomechanical properties of rat bone. *J Orthop Res* 1984;1:405-411.
262. Miao Q, Li J, Miao S, Hu N, Zhang J, et al. The Bone-Protective Effect of Genistein in the Animal Model of Bilateral Ovariectomy: Roles of Phytoestrogens and PTH / PTHR1 Against Post-Menopausal Osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2012;13(1):56-70.
263. Brzezinska, Debia. Phytoestrogens: the “natural” selective estrogen receptor modulators? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1999 Jul;85(1):47-51.
264. Depypere HT, Comhaire FH. Herbal preparations for the menopause: Beyond isoflavones and black cohosh. *Maturitas*. 2014 Feb;77(2):191-4.
265. Shedd-Wise KM, Alekel DL, Hofmann H, Hanson KB, Schiferl DJ, et al. The Soy Isoflavones for Reducing Bone Loss Study: 3-Yr Effects on pQCT Bone Mineral Density and Strength Measures in Postmenopausal Women. *J Clin Densitom*. 2011 Jan-Mar;14(1):47-57.
266. Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical Use of Bone Densitometry. *JAMA*. 2002 Oct 16;288(15):1889-97.
267. Wronski TJ, Dann LM, Horner SL. Time course of vertebral osteopenia in ovariectomized rats. *Bone*. 1989;10(4):295-301.
268. He CC, Hui RR, Tezuka Y, Kadota S, Li JX. Osteoprotective effect of extract from *Achyranthes bidentata* in ovariectomized rats. *J Ethnopharmacol*. 2010 Feb 3;127(2):229-34.
269. Zhang R, Hu SJ, Li C, Zhang F, Gan HQ, et al. *Achyranthes bidentata* root extract prevent OVX-induced osteoporosis in rats. *J Ethnopharmacol*. 2012 Jan 6;139(1):12-8.
270. Shuid AN, Ping LL, Muhammad N, Mohamed N, Soelaiman IN. The effects of *Labisia pumila* var. *alata* on bone markers and bone calcium in a rat model of post-menopausal osteoporosis. *J Ethnopharmacol*. 2011 Jan 27;133(2):538-42.
271. Dontas I, Halabalaki M, Moutsatsou P, Mitakou S, Papoutsis Z, et al. Protective

- effect of plant extract from *Onobrychis ebenoides* on ovariectomy-induced bone loss in rats. *Maturitas*. 2006 Jan 20;53(2):234-42.
272. Zhao X, Wu Z-X, Zhang Y, Yan YB, He Q, Cao PC, et al. Anti-osteoporosis activity of *Cibotium barometz* extract on ovariectomy-induced bone loss in rats. *J Ethnopharmacol*. 2011 Oct 11;137(3):1083-8.
273. Seeman E. Structural basis of growth-related gain and age-related loss of bone strength. *Rheumatology (Oxford)*. 2008 Jul;47 Suppl 4:iv2-8. R
274. Burr DB. Muscle strength, bone mass, and age-related bone loss. *J Bone Miner Res*. 1997 Oct;12(10):1547-51.
275. Yoshitake K, Yokota K, Kasugai Y, Kagawa M, Sukamoto T, et al. Effects of 16 weeks of treatment with tibolone on bone mass and bone mechanical and histomorphometric indices in mature ovariectomized rats with established osteopenia on a low-calcium diet. *Bone*. 1999 Sep;25(3):311-9.
276. Verbruggen SW, Mc Garrigle MJ, Haugh MG, Voisin MC, McNamara LM. Altered mechanical environment of bone cells in an animal model of short- and long-term osteoporosis. *Biophys J*. 2015 Apr 7;108(7):1587-98.
277. Jiang GZ, Matsumoto H, Hori M, Gunji A, Hakozaiki K, et al. Correlation among geometric, densitometric, and mechanical properties in mandible and femur of osteoporotic rats. *J Bone Miner Metab*. 2008;26(2):130-7.
278. Li G-W, Xu Z, Chang S-X, Nian H, Wang X-Y, Qin L-D. Icaritin prevents ovariectomy-induced bone loss and lowers marrow adipogenesis. *Menopause*. 2014 Sep;21(9):1007-16.
279. Ko Y-J, Wu J-B, Ho H-Y, Lin W-C. Antiosteoporotic activity of *Davallia formosana*. *J Ethnopharmacol*. 2012 Jan 31;139(2):558-65.
280. Kaczmarczyk-Sedlak I, Wojnar W, Zych M, Ozimina-Kamińska E, Taranowicz J, et al. Effect of formononetin on mechanical properties and chemical composition of bones in rats with ovariectomy-induced osteoporosis. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:457052.
281. Setchell KDR, Lydeking-Olsen E. Dietary phytoestrogens and their effect on bone: evidence from in vitro and in vivo, human observational, and dietary intervention studies. *Am J Clin Nutr*. 2003 Sep;78(3 Suppl):593S-609S.
282. Zhi CD, Lowik C. Dose-dependent effects of phytoestrogens on bone. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2005;16(5):207–13.
283. Zheng X, Lee S-K, Chun OK. Soy Isoflavones and Osteoporotic Bone Loss: A

- Review with an Emphasis on Modulation of Bone Remodeling. *J Med Food*. 2016 Jan;19(1):1-14.
284. Zhang Y, Li X-L, Lai W-P, Chen B, Chow HK, et al. Anti-osteoporotic effect of *Erythrina variegata* L. in ovariectomized rats. *J Ethnopharmacol*. 2007 Jan 3;109(1):165-9.
285. Mohd Effendy N, Abdullah S, Yunoh MFM, Shuid AN. Time and dose-dependent effects of *Labisia pumila* on the bone strength of postmenopausal osteoporosis rat model. *BMC Complement Altern Med*.
286. Burrows LJ, Basha M, Goldstein AT. The effects of hormonal contraceptives on female sexuality: a review. *J Sex Med*. 2012 Sep;9(9):2213-23.
287. Weiderpass E, Adami H-O, Baron JA, Magnusson C, Bergström R, et al. Risk of Endometrial Cancer Following Estrogen Replacement With and Without Progestins. *J Natl Cancer Inst*. 1999 Jul 7;91(13):1131-7.
288. Pilsková L, Riečanský I, Jagla F. The physiological actions of isoflavone phytoestrogens. *Physiol Res*. 2010;59(5):651-64.
289. Tyagi AM, Srivastava K, Singh AK, Kumar A, Changkija B, et al. Formononetin reverses established osteopenia in adult ovariectomized rats. *Menopause*. 2012 Aug;19(8):856-63.
290. Beck V, Rohr U, Jungbauera. Phytoestrogens derived from red clover: An alternative to estrogen replacement therapy? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005 Apr;94(5):499-518.
291. Zaheer K, Akhtar MH. An Updated Review of Dietary Isoflavones: Nutrition, Processing, Bioavailability and Impacts on Human Health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2015 Nov 13:0. [Epub ahead of print]
292. Urasopon N, Hamada Y, Cherdshewasart W, Malaivijitnond S. Preventive effects of *Pueraria mirifica* on bone loss in ovariectomized rats. *Maturitas*. 2008 Feb 20;59(2):137-48.
293. Pietschmann P, Mechtcheriakova D, Meshcheryakova A, Föger-Samwald U, Ellinger I. Immunology of Osteoporosis: A Mini-Review. *Gerontology*. 2016;62(2):128-37.
294. Gravena AAF, Brischiliari SCR, Lopes TCR, Agnolo CMD, Carvalho MDB, et al. Excess weight and abdominal obesity in postmenopausal Brazilian women: a population-based study. *BMC Womens Health*.
295. Stefanska A, Bergmann K, Sypniewska G. Metabolic Syndrome and

- Menopause: Pathophysiology, Clinical and Diagnostic Significance. *Adv Clin Chem.* 2015;72:1-75.
296. Neuhaus ML, Aragaki AK, Prentice RL, Manson JE, Chlebowski R, et al. Overweight, Obesity, and Postmenopausal Invasive Breast Cancer Risk. *JAMA Oncol.* 2015 Aug;1(5):611-21.
297. Farahmand M, Ramezani Tehrani F, Bahri Khomami M, Noroozadeh M, Azizi F. Surgical menopause versus natural menopause and cardio-metabolic disturbances: A 12-year population-based cohort study. *J Endocrinol Invest.* 2015 Jul;38(7):761-7.

Κατάλογος εικόνων

- **Εικόνα 1.** Μορφολογία και δομή μακρών οστών.
- **Εικόνα 2.** Κατανομή σπογγώδους και φλοιώδους οστού στο σώμα των σπονδύλων.
- **Εικόνα 3.** Προέλευση και διαφοροποίηση των οστεοκλαστών.
- **Εικόνα 4.** Τύποι οστίτη ιστού.
- **Εικόνα 5.** Στάδια οστικής ανακατασκευής.
- **Εικόνα 6.** Σχηματική απεικόνιση της παθοφυσιολογίας της εμμηνόπαυσης.
- **Εικόνα 7.** Απεικόνιση υγιούς και οστεοπορωτικού οστού.
- **Εικόνα 8.** Παθοφυσιολογία καταγμάτων οφειλόμενων σε οστεοπόρωση.
- **Εικόνα 9.** Μοριακή δομή στεροειδών.
- **Εικόνα 10.** Μοριακή δομή της (Α) οιστραδιόλης, (Β) οιστρόλης, (Γ) οιστρόνης.
- **Εικόνα 11.** Ιστοί-στόχοι των οιστρογόνων.
- **Εικόνα 12.** Απεικόνιση της τεταρτοταγούς δομής των α (ERα) και β (ERβ) οιστρογονικών υποδοχέων.
- **Εικόνα 13.** Κλασική οδός δράσης των οιστρογόνων.
- **Εικόνα 14.** Δομική ομοιότητα οιστρογόνων-φυτοοιστρογόνων.
- **Εικόνα 15.** Μηχανισμοί δράσης ισοβλαβονών.
- **Εικόνα 16.** Μέθοδος προσωρινής αρίθμησης και ταυτοποίησης των επίμυων.
- **Εικόνα 17.** Μέθοδος μόνιμης αρίθμησης και ταυτοποίησης των επίμυων.
- **Εικόνα 18.** Αναγνώριση του δεξιού κέρατος της μήτρας και της σύστοιχης ωοθήκης.
- **Εικόνα 19.** Μέτρηση οστικής πυκνότητας με λήψη τομών με λειτουργικό υψηλής ανάλυσης, ειδικό για μικρά θηλαστικά.
- **Εικόνα 20.** Τοποθέτηση επίμυος στην τράπεζα μέτρησης της οστικής πυκνότητας.
- **Εικόνα 21.** Ανάλυση DEXA σε επίμυ.
- **Εικόνα 22.** Πειραματική διαδικασία μετρήσεων μηχανικής αντοχής των μηριαίων οστών των επίμυων.
- **Εικόνα 23.** Διαφορά μέρη του δέντρου *Amphimas pterocarpoides* (φλοιός, καρποί, φύλλα) που χρησιμοποιούνται από τον πληθυσμό του Καμερούν για την παρασκευή εκχυλισμάτων.

Κατάλογος γραφημάτων

- **Γράφημα 1.** Ταξινόμηση των πειραματικών ομάδων.
- **Γράφημα 2.** Σχεδιασμός του πειράματος.
- **Γράφημα 3.** Σχηματική αναπαράσταση της διαδικασίας εκχύλισης και εμπλουτισμού με προσροφητικές ρητίνες του μεθανολικού εκχυλίσματος του δέντρου *Amphimas pterocarpoides* (Fabaceae).
- **Γράφημα 4.** Βιοχημικό προφίλ του εκχυλίσματος *Amphimas pterocarpoides* μέσω υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC-DAD) στις 254 nm.
- **Γράφημα 5.** Μεταβολή της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης και στις δυο χρονικές περιόδους, για τις 4 ομάδες χωριστά.
- **Γράφημα 6.** Ποσοστιαίες μεταβολές της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης και στις δυο χρονικές περιόδους, για τις 4 ομάδες χωριστά.
- **Γράφημα 7.** Μεταβολή της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης και στις δυο χρονικές περιόδους, για τις 4 ομάδες χωριστά.
- **Γράφημα 8.** Ποσοστιαίες μεταβολές της οστικής πυκνότητας για την εγγύς μετάφυση της κνήμης και στις δυο χρονικές περιόδους, για τις 4 ομάδες χωριστά.
- **Γράφημα 9.** Γραφική αναπαράσταση των τιμών της δύναμης (N), για κάθε ομάδα χωριστά.
- **Γράφημα 10.** Γραφική αναπαράσταση των τιμών της τάσης θραύσης, για κάθε ομάδα χωριστά.
- **Γράφημα 11.** Μέσος όρος των σωματικών βαρών των επίμυων κατά την λήξη της πειραματικής περιόδου.
- **Γράφημα 12.** Μέσο βάρος της μήτρας, ξεχωριστά για κάθε ομάδα κατά την λήξη της πειραματικής περιόδου.
- **Γράφημα 13.** Μέσος όρος κατανάλωσης ύδατος και εκχυλίσματος των πειραματικών ομάδων.

Κατάλογος πινάκων

- **Πίνακας 1.** Κατάταξη των κυριότερων κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων που έχουν επιδράση στον οστίτη ιστό.
- **Πίνακας 2.** Κλινικές ενδείξεις μέτρησης οστικής πυκνότητας.

- **Πίνακας 3.** Δείκτες οστικού μεταβολισμού.
- **Πίνακας 4.** Μεταβολή της οστικής πυκνότητας ολόκληρης της κνήμης ξεχωριστά για κάθε ομάδα.
- **Πίνακας 5.** Μεταβολή της οστικής πυκνότητας στην εγγύς μετάφυση της κνήμης ξεχωριστά για κάθε ομάδα.
- **Πίνακας 6.** Τιμές μετρήσεων τάσης θραύσης (Mpa) και δύναμης (N) κατά την λήξη της πειραματικής διαδικασίας χωριστά για κάθε ομάδα.
- **Πίνακας 7.** Μέτρηση σωματικού βάρους και βάρους ζωτικών οργάνων κατά την λήξη της πειραματικής περιόδου, ξεχωριστά για κάθε ομάδα.

Κατάλογος αλγορίθμων

- **Αλγόριθμος 1.** Αλγόριθμος προσδιορισμού ανάγκης θεραπείας μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και ανδρών ≥ 50 ετών.
- **Αλγόριθμος 2.** Αλγόριθμος αντιμετώπισης μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.
- **Αλγόριθμος 3.** Αλγόριθμος των προτεινόμενων και υπο συνθήκες προτεινόμενων ζωικών προτύπων στην έρευνα της οστεοπόρωσης.