

Factori de decizie terapeutica in osteoporoza de postmenopauza

Alina Sucaliuc

REZUMAT

MOTIVATII

Conceptul de osteoporoza a evoluat de la criteriul unic al masei osoase scazute catre unul mai larg, bazat atat pe cantitatea cat si pe calitatea osoasa, cuprins in termenul de rezistenta osoasa. Aceasta depinde atat calitatile intrinseci ale osului, proprietatile materiale (mineralizare, microfracturi, cross-links), microarhitectura, geometria osului (marime, forma), turn-overul osos. Studiile familiale sustin puternic influenta genetica asupra masei osoase si predispozitia catre fracturi. Imbatranirea este recunoscuta ca factor de prim ordin pentru riscul de fractura, fara a se puncta in mod precis mecanismele care conduc la fractura in scheletul varstnicului. Este prin urmare unanim recunoscut ca osteoporoza este mult mai complexa decat se considera initial, sugerand ca pe langa evaluarea densitatii minerale osoase (DMO) alti factori pot fi utili in evaluarea fragilitatii osoase si a raspunsului terapeutic. Cu toate ca determinarea DMO prin densitometrie osoasa cu raze X (DEXA) este facila, disponibila, noninvaziva, cresterea sub tratament nu explica deplin eficacitatea medicatiei antiresorbtive posibil de utilizat in momentul de fata. In plus, varietatea de factori care influenteaza riscul pentru osteoporoza si pentru fracturi osteoporotice poate sta de asemenea la baza variabilitatii raspunsului pacientilor la tratament. Astfel, pentru monitorizarea eficacitatii terapiei sunt necesare metode care sa faca mai usoara decizia terapeutica, sa ajute in stabilirea tipului de preparat de ales, duratei administrarii, individualizarii terapiei in functie de varsta, severitatea bolii, prezenta factorilor de risc, comorbiditatilor.

Cu toate ca in studii sunt utilizate tehnologii noi pentru evaluarea microarhitecturii osoase, majoritatea sunt metode invazive, altele sunt excesiv de scumpe pentru a permite utilizarea lor in mod obisnuit, limitand astfel deocamdata accesul la acest tip de informatie. Pe langa determinarea DMO, care ramane totusi markerul surogat cel mai important al eficacitatii terapiei precum si mijlocul cel mai utilizat pentru diagnosticul osteoporozei,

evaluarea atenta a factorilor de risc clinici si analiza turn-over-ului osos prin determinarea markerilor biochimici ai formarii si resorbtiei osoase pre- si postterapeutic pot contribui la conturarea unui profil patogenetic al pacientului care sa conduca la o decizie terapeutica mai adaptata, pliata pe caracteristicile individuale.

In evaluarea pacientei cu masa osoasa scazuta sunt frecvent trecute cu vederea cauzele secundare de osteoporoza, in mod particular hiperparatiroidismul primar si osteomalacia. In acest sens ar fi util de cunoscut ponderea diferitelor cauze secundare, ceea ce ar usura gasirea unui algoritm de investigatii pentru pacienta cu osteoporoza si evident stabilirea unei terapii corecte, eficace si cost-eficiente.

IPOTEZA DE LUCRU :

Am urmarit analiza utilitatii markerilor biochimici ai turnoverului osos in managementul osteoporozei de postmenopauza, contributia in evaluarea riscului de fractura, precum si determinarea sensibilitatii si specificitatii lor pentru raspunsul la tratamentul antiosteoporotic. In ultima parte am determinat frecventa cauzelor secundare de osteoporoza la paciente in postmenopauza.

Studiul a inclus **3 parti** :

1. Analitic observational tip case-control pentru analiza factorilor de risc
2. Interventional ne-randomizat pentru analiza raspunsului markerilor de resorbtie si formare osoasa la tratamentul antiosteoporotic
3. Analitic observational pentru investigarea cauzelor secundare de osteoporoza la paciente cu masa osoasa mica la examinarea DEXA

Populatia de studiu :

1. Criterii de includere :

Au fost incluse 292 de paciente in postmenopauza, cu diagnostic absorbtivometric de osteoporoza, fara tratament antiosteoporotic anterior, la care s-au determinat markerii biochimici ai turn-overului osos; grupul a inclus un subgrup de 145 de paciente tinere, sub 60 de ani.

Criteriul principal de apreciere a fost determinarea densitatii minerale osoase (DMO).

Criterii de excludere :

- Paciente cu diagnostic sau suspiciune de boli care conduc la afectarea metabolismului osos (hiperparatiroidism primar, hipertiroidie, exces cortizolic endogen sau exogen, boli neoplazice).
- Paciente aflate deja sub tratament antiosteoporotic.
- Ca urmare a prevalentei mari in populatia de paciente cu osteoporoza a insuficientei de vitamina D au fost mentinute in studiu femeile care s-au incadrat in aceasta categorie.

Grupurile de control :

- control premenopauza : 39 de paciente cu ciclu menstrual prezent spontan, avand masa osoasa normala la determinarea absorbtimetriei
- control postmenopauza : 35 de paciente aflate in postmenopauza, avand masa osoasa normala la determinarea absorbtimetriei.

2. Criterii de includere :

Au fost incluse 167 de paciente in postmenopauza, cu diagnostic absorbtimetric de osteoporoza, fara tratament antiosteoporotic anterior

Criterii de excludere :

Paciente cu diagnostic sau suspiciune de boli care conduc la afectarea metabolismului osos (hiperparatiroidism primar, hipertiroidie, exces cortizolic endogen sau exogen, boli neoplazice).

Interventia : tratament antiosteoporotic cu medicatie de tip antiresorbtiv (bifosfonati - alendronat, risedronat, ibandronat - si SERM : raloxifen) sau de tip stimulator al formarii osoase (teriparatid).

Criteriul principal de apreciere a fost modificarea DMO (DEXA) sub tratament antiosteoporotic, comparandu-se raspunsul pozitiv pe markerii ososi cu raspunsul pozitiv pe DMO pentru stabilirea sensibilitatii si specificitatii determinarii markerilor de turnover.

3. Criterii de includere :

Au fost incluse 126 de paciente in postmenopauza, cu masa osoasa scazuta la examenul DEXA (scor T sub -2,5 DS), consecutive, cu prezentare intr-o perioada de 4 luni.

S-a determinat frecventa osteoporozei secundare in cadrul populatiei cu osteoporoza.

Factori de confuzie posibili:

- Selectia pacientelor a fost facuta dintre paciente spitalizate in Institutul C.I. Parhon, ceea ce ar putea avea consecinte asupra diferentelor de severitate a bolii fata de populatia generala a femeilor cu osteoporoza de postmenopauza
- Este de asteptat ca determinarea markerilor ososi sa fi fost facuta la paciente cu osteoporoza severa (scor T sub -2,5 DS plus fracturi de fragilitate), masa osoasa mult scazuta (scoruri T mici) sau paciente tinere.
- Este posibila implicarea unor factori de risc care au fost ignorati sau care sunt dificil de cuantificat (de exemplu aportul alimentar de calciu sau vitamina D sau greutatea corporala mica in antecedentele pacientei)

Prelucrarea statistico-matematica

Compararea mediilor s-a facut cu ajutorul testelor t-Student, ANOVA sau Kruskal-Wallis. Atunci când parametrul comparat provine dintr-o distribuție normală, s-a folosit testul t al lui Student, pentru compararea a două loturi sau ANOVA pentru compararea a trei sau mai multe loturi. Dacă presupunerea că loturile provin din populații cu distribuție normală nu a fost plauzibilă, am folosit pentru comparare testul Kruskal-Wallis, mai ales atunci când volumele loturilor au fost mici

La **testele de comparare** a mediilor, Student, Chi pătrat, ANOVA, Kruskal-Wallis, am folosit următoarea interpretare a valorilor lui p, obținute prin testele de mai sus.

- $p < 0.05$, diferența între cele două medii este semnificativă (S).
- $p < 0.01$, diferența între cele două medii este înalt semnificativă(HS).
- $p < 0.001$, diferența între cele două medii este foarte înalt semnificativă(VHS).
- $p > 0.05$, diferența între cele două medii este nesemnificativă(NS).

Toate pachetele folosite furnizează direct rezultatul p al testului, ca probabilitate de a face o eroare dacă se respinge ipoteza de nul. Tabelele de incidență au fost apreciate din punctul de vedere al dependenței între cei doi factori de clasificare cu ajutorul testului CHI PĂTRAT, reținând doar rezultatele sub 5%, considerat un prag de semnificație suficient.

Coeficientul de corelație. Pentru două serii de date, coeficientul de corelație folosit este **coeficientul lui Pearson**, cel mai sintetic indicator al corelației.

g) **Sensibilitatea (Sn)** unui test este raportul dintre numărul pacienților diagnosticați corect ca pozitivi și numărul total de bolnavi. $Sn = B^+ / B$

h) **Specificitatea (Sp)** unui test este raportul dintre numărul pacienților diagnosticați corect ca negativi și numărul total de sănătoși. $Sn = S^- / S$

Pentru determinarea valorilor optime ale markerilor ososi pentru detectarea răspunsului pozitiv la tratament s-au construit curbele ROC (Receiver Operator Curve).

METODE

Markerii turnover-ului osos :

Cross-laps seric

Telopectidele carboxi-terminale ale colagenului de tip I au fost măsurate prin metoda ELISA – ELISA serum CrossLaps (Osteometer).

Limita de detectie 0,020 ng/ml ; coeficient de variatie intraassay 5%, interassay 7 %.

Valori normale :

Femei premenopauza : 0,321±0,155 ng/ml

Femei postmenopauza : 0,506±0,255 ng/ml

Osteocalcina serica

Determinarea osteocalcinei s-a facut cu truse ELISA N-MID TM Osteocalcin One Step. Prin acest test s-a determinat atat osteocalcina intacta (1-49) cat si fragmentul N-medio-terminal (1-43) al osteocalcinei.

Limita de detectie: 0,5 ng/ml; coeficienti de variatie : interassay 5%, intraassay 3%.

Valori normale:

Femei premenopauza: 4,9-30,5 ng/ml

Femei postmenopauza: 9,5-48,3 ng/ml.

25 hidroxi-vitaminaD

A fost măsurată cu un kit ELISA (Enzyme Binding Protein assay) pentru determinarea cantitativă a 25 hidroxi vitaminei în plasma sau ser. Valorile normale sunt de 8-55 ng/ml. Sensibilitatea testului este de 0,6 ng/ml. Coeficienții de variație totali nu au depășit 10%.

Parathormonul seric

Parathormonul intact (1-84), biologic activ, a fost măsurat în ser prin test enzimatic ELISA în sistem “sandwich” în două etape cu kit-ul DSL-10-8000 ACTIVE™ I-PTH ELISA.

Sensibilitatea testului este de 1,0 pg/ml, intervalul de normalitate este cuprins între 16-62 pg/ml. Coeficienții de variație totali au fost sub 6,3%.

Investigatii biochimice

Recoltarea sangelui s-a facut dimineata, a jeun, pentru determinarea calcemiei , fosforemiei, fosfatazei alcaline, precum si a celorlalte analize biochimice uzuale utilizandu-se metode standard. Urina pe 24 de ore a fost recoltata in conditii de rutina pentru masurarea calciuriei.

Diagnosticul fracturilor

Evaluarea fracturilor a fost facuta pe baza anamnezei, pentru coloana vertebrala fiind completata cu radiografie de profil pentru zona lombara si toracica in cazurile avand suspiciune de fractura (cifoza, scadere in inaltime, durere cronica sau acuta de spate).

Au fost masurate inaltimea anterioara, mijlocie si posterioara, fracturile platoului vertebral si cele marginale fiind definite prin reducerea cu cel putin 20% (sau 4 mm) a inaltimilor mijlocie si anterioara in comparatie cu inaltimea posterioara. Fracturile prin compresiune au fost diagnosticate in cazul scaderii inaltimii vertebrei cu cel putin 20% sau 4 mm fata de vertebrele invecinate.

Au fost considerate fracturi osteoporotice fracturile produse spontan sau la traumatisme minime (cel mult cadere din pozitia ortostatica), fracturile categorizate ca traumatice nefiind incluse in calculul statistic.

Masurarea densitatii minerale osoase (DMO)

Densitatea minerala osoasa a fost masurata prin absorbtimetrie duala cu raza X (DEXA) (LUNAR DPXL), la nivelul coloanei lombare in proiectie antero-posterioara (L2-L4) si la nivelul colului femural si soldului total. Eroarea pe un an a preciziei masuratorii in vivo (CV%) a fost de 0,5% si respectiv 1%. Rezultatul este exprimat ca densitate minerală osoasă (DMO) în g/cm^2 și în scoruri T și Z. Pentru diagnosticul osteoporozei pe baza acestor masuratori s-au folosit criteriile OMS.

REZULTATE

I. Caracteristicile lotului de studiu sunt prezentate in tabelul numarul 1.

Tabel nr 1. Caracteristicile generale ale lotului de studiu

	Nr.Paciente	Media	Dev.Std	C.V. (%)
varsta	292	60.63	8.27	13.65
menopauza	292	46.77	5.34	11.42
ani postmenopauza	292	13.86	8.41	60.65
IMC	292	24.54	3.25	13.24
DMO coloana	260	0.78	0.08	10.12
Scor T coloana	260	3.46	0.64	18.49

Scor Z coloana	260	2.30	0.69	30.14
DMO sold	72	0.69	0.08	11.46
T sold	72	2.78	0.67	24.06
Z sold	72	1.04	0.55	52.83
CL baza	292	0.69	0.31	45.59
OC baza	291	24.00	11.69	48.71
FA baza	183	116.57	45.72	39.22
Calciurie baza	156	0.19	0.11	55.04
25OHD	197	19.34	12.08	62.45
PTH	170	43.54	23.66	54.34

IMC=indice de masa corporala, DMO=densitate minerala osoasa, CL=cross-laps, OC=osteocalcina, FA=fosfataza alcalina, 25OHD=25 hidroxivitamina D

Lotul de paciente cu osteoporoza a inclus un subgrup de 145 de paciente tinere, cu varsta pana la 60 de ani, pe care am insistat pentru caracterizare, dat fiind procentul mai mic de osteoporoza in populatie pana la acesta varsta (9,6%)¹. Acest sublot are o pondere mare in lotul general (49,65%), facand ca varsta medie a intregului lot sa fie de 60,6 ani, cu limite intre 43 si 83 de ani. Varsta medie a sublotului de femei tinere este de 53,71 ani (limite 43-60 de ani).

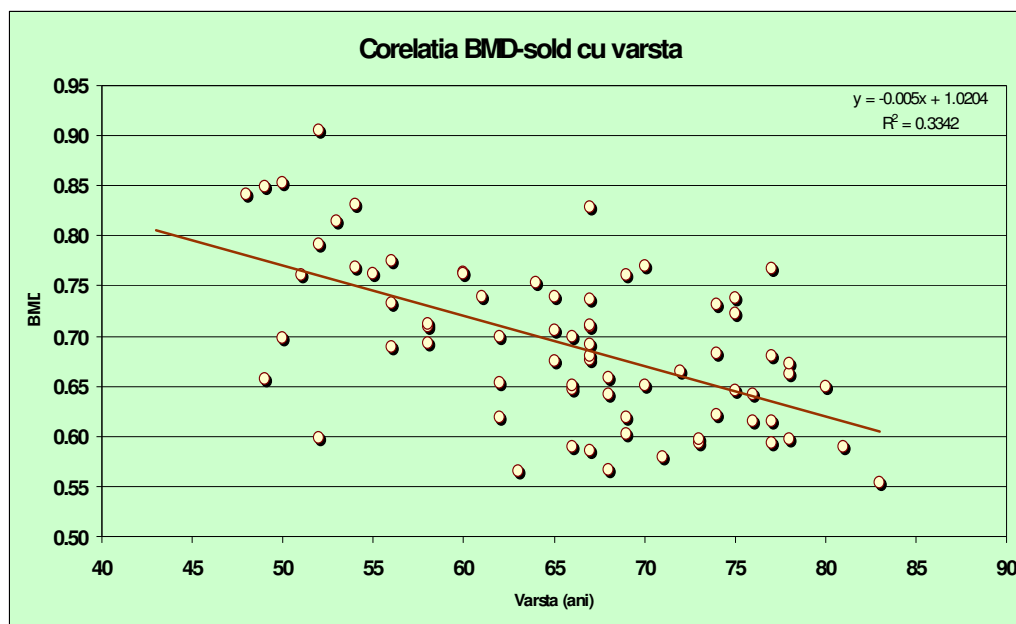
Caracteristicile lotului au fost influentate de selectia pacientelor, determinarea fiind facuta in majoritatea cazurilor ca urmare a varstei tinere, prezentei fracturilor sau unor rezultate densitometrice demonstrand o masa osoasa scazuta, cu scoruri T si Z mult scazute. In plus pacientele au fost alese dintre femeile spitalizate, astfel incat este prezumabil ca severitatea cazurilor a fost mai mare decat cea a mediei populatiei generale cu osteoporoza. Cu toate acestea, acest tip de paciente sunt cele cu riscul de fractura cel mai inalt, la care utilitatea evaluarii corecte este maxima.

Pentru diagnosticul de osteoporoza si pentru includerea in lot s-a folosit absorbtimetria cu raze X , media DMO pentru intregul lot fiind de 0,780 g/cm², corespunzand unui scor T mediu -3,46 DS si unui scor Z -2,3 DS. Severitatea osteoporozei este reflectata de distributia pe quartile care arata ca 75% dintre pacientele din lotul tanar au avut masa osoasa corespunzatoare unui scor T sub -3 DS, iar din lotul varstnic sub -3,1 DS.

Compararea DMO ale celor doua subloturi de varste diferite si corelatia DMO-varsta demonstreaza importanta varstei in patogenia masei osoase scazute. DMO a fost semnificativ mai mica la subgrupul varstnic fata de cel tanar (p<0,01 pentru DMO coloana si

P<0,001 pentru DMO sold), iar corelatia cu varsta cea mai puternica a rezultat pentru DMO masurata la nivelul colului femural, cu un coeficient de corelatie lineara $r = -0,5781$.

Figura nr. 1 Corelatia intre BMD sold si varsta la lotul total



Este de altfel cunoscut ca in postmenopauza rata de pierdere osoasa se accentueaza, situandu-se la 3% pe an la nivel lombar, faza care dureaza aproximativ 5 ani. Ulterior rata de pierdere se atenuaza fiind de 0,5% pe an la majoritatea situsurilor.² Aceste cifre nu explica insa masa osoasa mica la pacientele din lotul tanar cu menopauza recenta. Este totusi cunoscut ca o pierdere osoasa mica apare din premenopauza, chiar de la varsta adulta dupa unii autori, probabil ca urmare a alterarii balantei dintre formarea si resorbtia osoasa.³ O rata redusa de remodelare ar conduce insa doar la o pierdere mica de masa osoasa (vezi mai jos). Explicatiile posibile pentru prezenta unei DMO scazute la paciente:

- capital osos maxim mic
- pierdere rapida sau indelungata (la pacientele varstnice)
- formare osoasa redusa
- pattern mostenit al densitatii si structurii osoase

Pentru masa osoasa conteaza mult pierderea osoasa din postmenopauza sau asociata imbatranirii dar de maxima importanta este si capitalul osos maxim de la care incepe aceasta pierdere. Este plauzibil ca pacientele cu turnover normal sau chiar scazut nu si-au dobandit

masa osoasa optima (aport insuficient de calciu, vitamina D, proteine, deficite hormonale, activitate fizica redusa).

De aici rezulta posibila utilitate a studiului markerilor ososi, determinarea DMO fiind statica in timp de markerii ar putea informa asupra dinamicii osului, patogeniei osteoporozei si raspunsului la terapie.

Pentru a studia influenta deficitului estrogenic pe osteoporoza si riscul de fractura am inclus in cercetare varsta menopauzei si numarul de ani de postmenopauza. Varsta menopauzei a fost semnificativ mai mica pentru loturile cu osteoporoza fata de controlul de femei in postmenopauza cu masa osoasa normala ($p < 0,05$), sugerand astfel implicarea deficitului estrogenic in patogenie.

Importanta osteoporozei ca morbiditate si mortalitate rezida din producerea fracturilor de fragilitate, scopul terapiei fiind prevenirea aparitiei primei fracturi si a celor ulterioare (mai ales fiind cunoscuta cresterea intr-un an a riscului de fracturare de 5 ori la pacientele cu fracturi prevalente).⁴ Un procent mare dintre pacientele din loturile de studiu au avut fracturi nonvertebrale si vertebrale (43,4% total), mai multe in lotul varstnic (peste jumatate dintre paciente) ($p < 0,001$). Semnificatia apare atat pentru fracturile totale, cat si pentru cele vertebrale ($p < 0,01$). Diferenta se datoreaza probabil unei combinatii de factori cu influenta pe masa si arhitectura osoasa (varsta, perioada de deficit estrogenic) dar este de presupus si un risc crescut pentru cadere la varstnici.

Prezenta corelatiei dintre istoricul personal de fracturi totale si vertebrale si scaderea DMO sugereaza dependenta patogenica dintre masa osoasa scazuta si riscul de fractura, fapt confirmat de altfel de mari studii epidemiologice care gasesc o dublare a riscului de fractura pentru fiecare DS in minus.^{5,6} Corelatia mai puternica cu DMO de la nivelul soldului sustin determinarea DEXA la acest sediu ca fiind parametrul densitometric optim de evaluat pentru riscul de fractura si in consecinta pentru decizia terapeutica.

In mod surprinzator, rezultatul obtinut la corelatia fracturi-DMO arata un coeficient mai mare pentru lotul varstnic, sugerand astfel ca relatia este mai slaba in cazul pacientelor tinere si astfel ponderea scaderii DMO in patogenia fracturilor e mai mica. Date din literatura sustin insa o reducere a puterii predictive a determinarii DMO in aprecierea riscului de fractura o data cu cresterea in varsta.⁷ Astfel, la pacientii tineri scorul DXA are o importanta mai mare in evaluarea cazurilor individuale decat la pacientii varstnici, la care balanta se inclina in

favoarea factorilor de risc clinici, majoritatea cu frecventa mai mare odata cu avansarea in varsta. Explicatia ar putea veni din particularitatile lotului tanar, incluzand multe paciente cu scoruri foarte mici. Totusi, daca se compara pacientele cu o DMO corespunzatoare unui scor T mai mic de -3 DS cu cele cu scor intre -2,5 si 3 DS inclusiv se remarca o frecventa a fracturilor de 2,16 ori mai mare.

Unul dintre factorii de risc cunoscuti pentru osteoporoza si fracturi de fragilitate este istoricul familial pentru aceste boli, mai ales pentru fractura de sold. Rezultatele obtinute in acest studiu confirma dependenta intre aparitia fracturilor si antecedentele heredo-colaterale pozitive, sugerand mostenirea unui profil genetic de susceptibilitate. Relatia fracturi-AHC pare mai puternica decat DMO-AHC ceea ce sustine implicarea si a altor factori, posibil de microarhitectura, care sa induca un risc crescut de fractura.

Evaluarea turnoverului osos

In postmenopauza, consecutiv deficitului estrogenic creste remodelarea osoasa. Acest fapt, binecunoscut deja de mai mult timp^{8,9}, este reflectat si in studiul meu, valoarea medie pentru markerii de resorbtie si formare osoasa fiind semnificativ mai mare fata de premenopauza.

Mai mult, valoarea medie a cross-laps si osteocalcinei sunt crescute semnificativ in lotul de paciente cu osteoporoza fata de lotul de control de postmenopauza, sustinand astfel implicarea cresterii turnoverului in pierderea de masa osoasa.

Tabelul nr.2 Compararea caracteristicilor lotului de osteoporoza cu grupurile de control de premenopauza si postmenopauza. NA=not applicable

	Lot control premenopauza		Lot control postmenopauza		Lot osteoporoza	
	Medie	DS	Medie	DS	Medie	DS
varsta ani	42,34	7,60	59,16	6,57	60,63	8,27
postmenopauza	NA	NA	12,84	4,90	13,86	8,41
IMC	23,27	3,68	24,3	4,27	24,54	3,25
DMO	1,09	0,14	1,16	0,09	0,78	0,08
scor T	-0,88	1,14	-0,28	0,73	3,46	0,64
scor Z	-0,55	0,91	0,34	0,70	2,30	0,69

Tabelul nr. 3 Comparatia markerilor ososi la paciente cu osteoporoza de postmenopauza (OPPM) cu grupul de control de premenopauza si grupul de control de postmenopauza

CL	Nr.Pac.	Media	DevStd	
Pre	39	0.29	0.12	p<0.001 (VHS)
Post	35	0.44	0.17	
OPPM	292	0.69	0.31	

OC	Nr.Pac.	Media	DevStd	
Pre	39	12.89	5.63	p<0.001 (VHS)
Post	35	19.26	10.51	
OPPM	291	24.00	11.69	

Cresterea turnover-ului osos in postmenopauza poate conduce la scaderea masei osoase prin cresterea ratei de activare a unitatilor multicelulare de remodelare si prin adancirea cavitatilor de resorbtie. Ca rezultat apar subtierea, intreruperea trabeculelor, cu pierderea conectivitatii precum si cresterea porozitatii in osul cortical.

Argumente puternice in acest sens au adus si mai multe studii prospective, care gasesc si o corelatie intre valoarea markerilor ososi si pierderea de masa osoasa.^{10,11,12,13}. Problema studiilor longitudinale este precizia de masurare a DMO care face ca procentul de pierdere osoasa anuala sa se apropie de eroarea de precizie, facand utilizarea radiusului varianta cea mai utila. Rezultatul pe care l-as nota ca cel mai consistent apartine studiului lui Garnero, care gaseste o crestere de 2-6 ori a pierderii osoase la pacientele avand un nivel al markerilor peste 2DS fata de premenopauza. Cu toate acestea la loturile de studiu anticorelatia dintre cross-laps si osteocalcina si DMO este slaba, calculul pe loturi relevand pentru cross-laps corelatia cea mai stransa cu DMO la tinere. Relatia pare a fi mai puternica intre markerii de formare osoasa si DMO pe coloana si sold la cele doua loturi, ceea ce ar putea sugera un defect al formarii, cu decuplarea celor doua procese ale turnoverului osos. Cresterea resorbtiei nu este urmata in mod proportional de formarea osoasa, cu pierdere consecutiva de os.

Corelatia cu fracturile

Corelatia cu riscul de fractura este mai importanta pentru ca arata de fapt relatia cu calitatea osoasa. In acest context, stressul focal rezultat prin cresterea profunzimii cavitatilor de

resorbție poate induce apariția de zone de rezistență mică, ce pot duce la fracturi chiar în absența pierderii osoase semnificative.

Rezultatele obținute sunt însă ne semnificative atât pe fracturi vertebrale cât și totale, la toate loturile de studiu, cu o singură excepție – fosfataza alcalină la lotul varstnic pe fracturi vertebrale, la care corelația a fost relativ slabă.

Una dintre explicațiile posibile pentru acest rezultat ar putea fi neconcordanța temporală a determinării markerilor cu apariția fracturii în antecedentele pacienților. Oricum, aceste date ridică însă un semn de întrebare asupra utilității markerilor pentru stabilirea riscului de fractură la nivel individual.

În literatura rezultatele din diferite studii sunt contradictorii. Studii retrospective¹⁴ dar retrospective și prospective de mari dimensiuni (EPIDOS¹⁵, Rotterdam¹⁶, OFELY¹⁷) susțin că creșterea nivelului markerilor de resorbție osoasă este asociată cu creșterea riscului de fracturi vertebrale, de sold și alte fracturi nonvertebrale, relația fiind independentă de DMO. Cu toate acestea, studii mai recente pe brațele placebo ale trialurilor cu alendronat (Fracture Intervention Trial – FIT)¹⁸ și risedronat (VERT)¹⁹ nu găsesc o corelație semnificativă între riscul de fracturi vertebrale și valoarea markerilor de resorbție osoasă.

Remodelarea se menține crescută

În lotul de pacienți cu osteoporoză turnover-ul osos se menține crescut și la vârste mai înaintate, rezultând o corelație negativă foarte slabă între nivelul markerilor și vârsta sau anii de postmenopauză, deși mediile dintre celor două loturi tânăr și varstnic au fost semnificativ diferite. Menținerea valorilor crescute ale markerilor a fost observată și în alte studii, unii găsind un pattern bimodal, cu creștere în postmenopauză precoce și una ulterioară, la varstnic.²⁰ Aceste rezultate vin oarecum în contradicție cu evoluția masei osoase, cu pierdere mai rapidă în postmenopauză precoce și mai lentă ulterior.

Heterogenitatea turnover-ului osos

Câteva considerații sunt însă necesare în privința nivelului de turnover. As remarcă în primul rând variabilitatea de valori în lotul pacienților cu osteoporoză. Deși media este semnificativ crescută față de lotul de postmenopauză, totuși limitele sunt largi. Distribuția pe cuartile a valorilor cross-laps și osteocalcinei încadrează aproximativ 25% dintre paciențele din lot la un nivel sub media de postmenopauză atât la lotul tânăr cât și la varstnic.

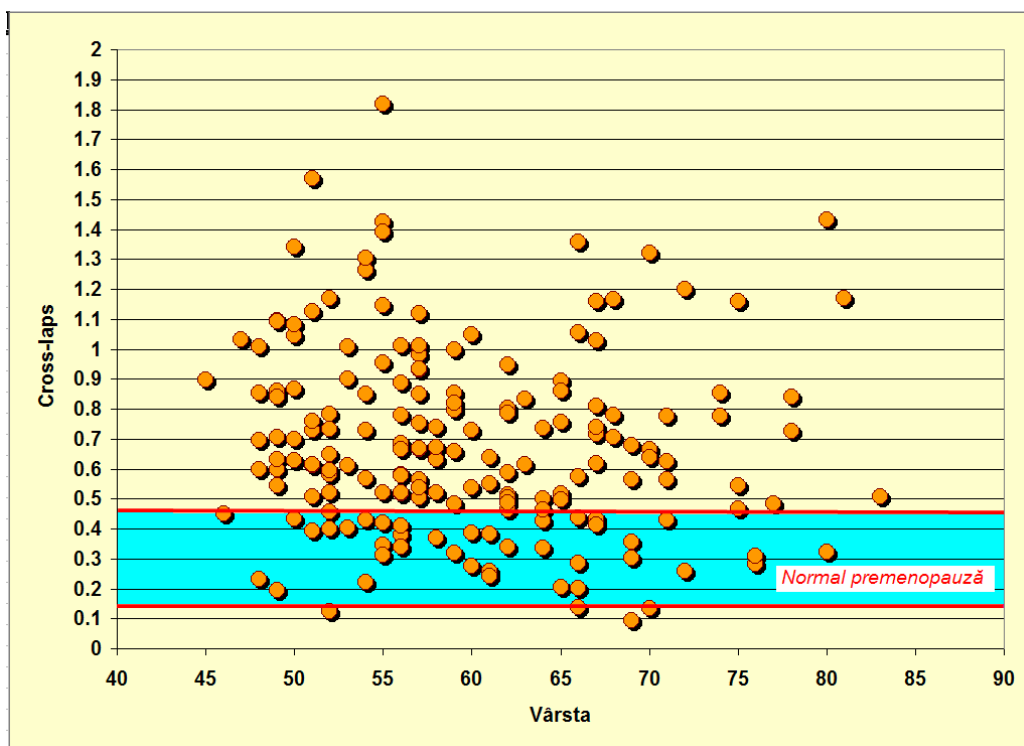


Figura nr. 2 Heterogenitatea valorilor cross-laps serice la pacientele cu osteoporoza

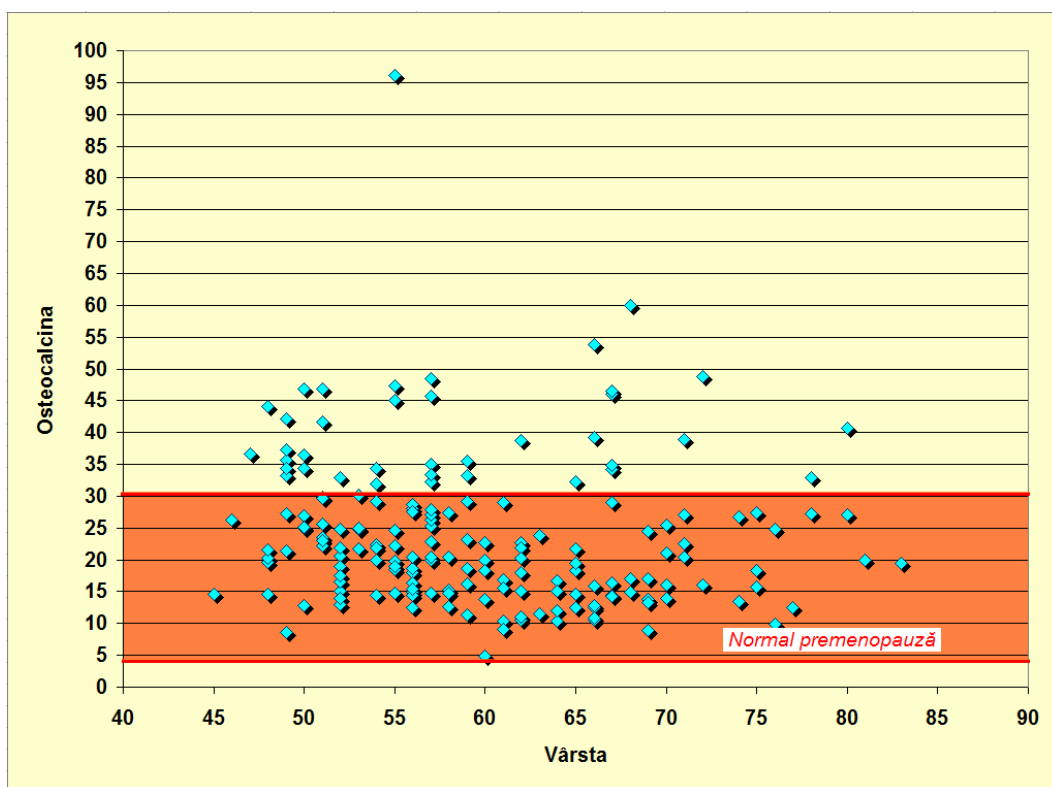


Figura nr. 3 Heterogenitatea valorilor osteocalcinei serice la pacientele cu osteoporoza

Acest fapt ridica pe de o parte problema patogeniei masei osoase scazute la pacientele respective. Este posibil ca alti factori, mai ales un profil genetic particular sau esecul obtinerii unui capital osos maxim sa fie cauzele acestor diferite.

Pe de alta parte in acest fel scade valoarea de predictie pentru pierderea de os.

Pacientele cu osteoporoza pot avea un dezechilibru intre resorbtia si formarea osoasa consecinta fie a unei formari osoase reduse, unei resorbtii crescute sau ambelor fenomene.

Heterogenitatea mecanismelor de fragilitate osoasa sugereaza ca nu trebuie sa tratam toate pacientele cu osteoporoza sau fracturi in acelasi mod.

Am evaluat apoi pacientele cu si fara fracturi osteoporotice, totale si vertebrale, urmarind parametrii densitometrici si de turnover osos. Concordant cu rezultatele anterioare, semnificatia ramane pentru DMO, sugerand alterarea DMO ca cel mai important factor pentru riscul de fractura. Nivelul de semnificatie statistica fracturi totale: $p < 0.001$ (VHS), putere: 82%, fracturi vertebrale: $p < 0.05$ (S), putere: 14%.

Vitamina D si PTH

Investigarea statusului vitaminei D la pacientele cu osteoporoza de postmenopauza arata o proportie covarsitoare a insuficientei si deficitului vitaminei D in acest grup. Definind deficitul de vitamina D nivelul sub 10 ng/ml al 25 hidroxi vitaminei D si insuficienta valorile intre 10-30 ng/ml, 22% dintre paciente s-au incadrat in primul grup si 65% in cel de-al doilea, numai 13% avand o valoare normala. Aceste procente confirma importanta problemei deficitului de vitamina D in populatia feminina din Romania, demonstrata in studii anterioare.²¹

Valori intre 30-60 ng/ml sunt considerate optime pentru sanatatea scheletului dar si pentru organism in general, conducand la o mineralizare corecta si fara sa induca cresterea resorbtiei osoase prin hiperparatiroidismul secundar, precipitand sau agravand osteoporoza. Expunerea insuficienta la soare, aportul scazut de vitamina D din dieta sau malabsorbtia determina o scadere a absorbtiei intestinale a calciului de la 30-40% la 10-15%, cu scaderea calciului ionizat si semnalizarea catre senzorul de calciu din paratiroide sa sintetizeze si sa secrete parathormon.²² Pentru grupul de studiu exista de altfel o corelatie inversa intre 25OHD si PTH, sustinand astfel prezenta hiperparatiroidismului la pacientele cu nivel scazut al

vitaminei D. Majoritatea autorilor sunt de acord ca este necesar un nivel al 25OHD peste 30 ng/ml pentru a minimiza PTH.

Deși considerată de obicei o problemă a vârstnicului, în subgrupul de paciente tinere proporțiile se păstrează; putem considera deci deficitul de vitamina D una dintre cauzele importante de DMO mică, posibil și prin efectul pe capitalul osos maxim. Problema există și în alte populații, chiar la copii sănătoși și adulți tineri, mai ales la europeni unde fortificarea alimentelor nu se practică frecvent, dar și în SUA.²³ Întrucât la pacientele tinere există o probabilitate foarte mare a osteoporozelor secundare, măsurarea nivelului 25OHD trebuie să facă parte obligatoriu din planul de investigații la o asemenea pacientă.

II. Evaluarea răspunsului la tratament antiosteoporotic

Răspunsul la tratamentul antiabsorbant

În mod ideal, pe un grup de paciente de studiu, eficacitatea terapiei trebuie evaluată folosind ca end-point incidența fracturilor. Fractura fiind însă un eveniment rar, numărul pacientelor necesare este foarte mare. În plus, la nivel individual, decizia terapeutică nu poate fi luată în funcție de apariția fracturilor, fiind astfel utilizați markeri surogat care să ne dea o imagine asupra evoluției favorabile sau nefavorabile a pacientei. Cel mai frecvent marker surogat folosit astăzi este evaluarea DMO în dinamică, deși nu poate explica deplin scăderea riscului de fractură. Este recunoscută eficacitatea tratamentelor antiosteoporotice pe riscul de fractură, studii clinice randomizate, controlate placebo dovedind acest efect.^{24,25,26,27,28,29} În acest studiu am determinat procentele de răspuns pozitiv pentru întregul lot de studiu (peste 80% pentru toți bifosfonatii), cu rezultate asemănătoare celor din cercetările din literatură și am încercat în plus să stabilesc rata de răspuns pozitiv pentru pacientele tinere din lot. Întrucât este posibil ca mecanismele patogenice la aceste paciente să fie diferite de cele la vârstnice este interesant de aflat dacă răspunsul la o medicație de tip antiabsorbant are un efect similar și la vârste mai tinere.

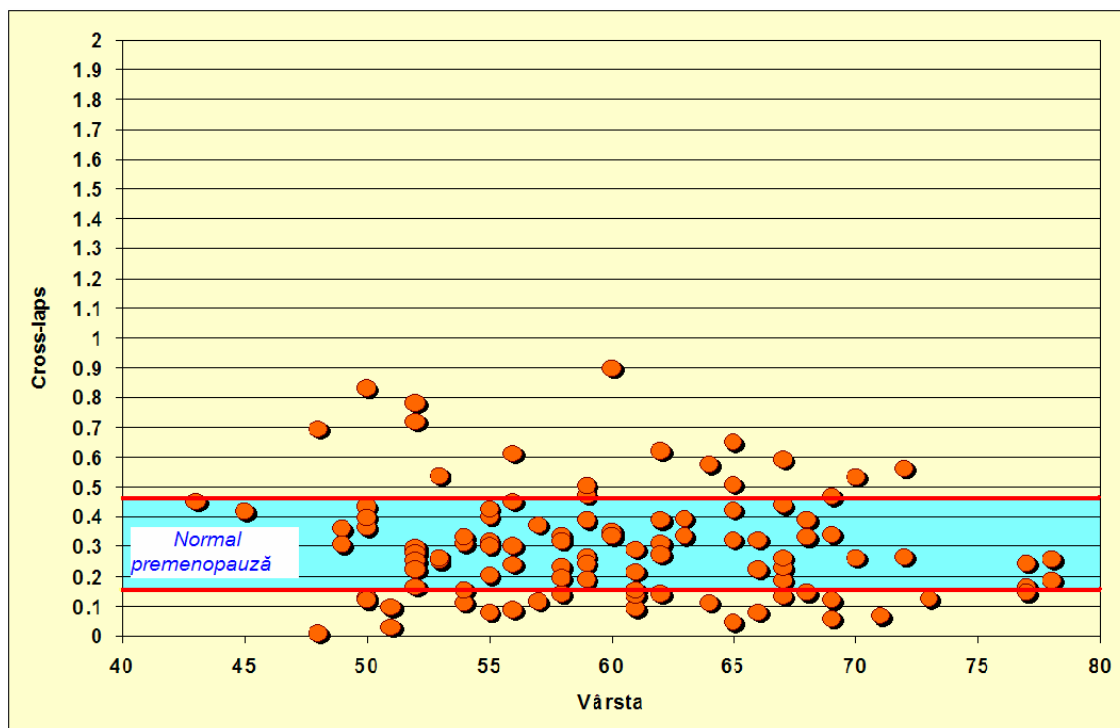


Figura nr. 4. Nivelul posttratament al cross-laps seric la pacientele tratate cu antiresorbtive

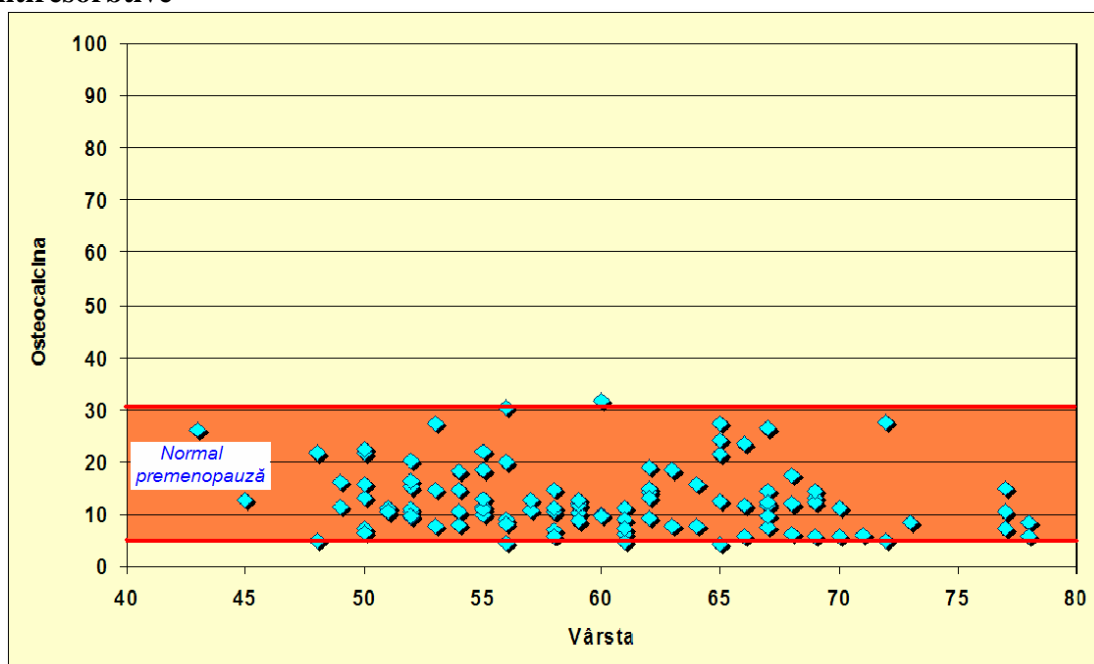


Figura nr. 5. Nivelul posttratament al osteocalcinei serice la pacientele tratate cu antiresorbtive

Rezultatele comparative pe cele doua loturi arata o rata de raspuns similara pentru risedronat (87% vs 85%), iar pentru alendronat o rata superioara de raspuns la tinere (90% vs 71%), posibil pentru ca inhibitia marcata a turnoverului se produce la paciente care au o medie a markerilor de remodelare semnificativ mai mare decat la varstnice.

Tratamentul cu antiresorbitive a scazut markerii ososi la nivel de premenopauza sau mai mult la majoritatea pacientelor atat in grupul general cat si la subgrupul tanar. Pentru risedronat, unde determinarile s-au facut de la o luna de terapie, reducerea a fost rapida, la o luna de tratament fiind deja semnificativa statistic si s-a mentinut pe perioada terapiei.

Este de semnalat o decalare intre scaderea cross-laps si cea a osteocalcinei, indicand o decuplare temporara intre resorbtia si formarea osoasa.

Inhibitia rapida a turnover-ului osos poate explica scaderea rapida a riscului de fractura la bifosfonati, pentru risedronat semnificativa inca de la 6 luni³⁰, moment in care modificarea DMO nu poate explica acest efect. Mecanismul probabil este reducerea stressului focal si a microleziunilor prin scaderea initiala a resorbtiei ; situsurile deja activate isi completeaza formarea osoasa si mineralizarea primara si secundara. Ulterior intervin efectele pe arhitectura trabeculara si densitatea minerala a osului.³¹

Inhibitia subnormala a turnoverului osos

Dupa tratament 28% dintre pacientele tratate cu alendronat au avut un nivel al cross-laps suprasat sub nivelul de premenopauza, pentru risedronat procentul fiind de 18%, iar pentru ibandronat 21%, cu valori mai mici pentru inhibitia formarii osoase – osteocalcina a scazut la valori subnormale la doar 5% dintre pacientele cu alendronat si la 2% dintre cele cu risedronat.

Rezultate din analiza studiului FIT sustin ca o inhibitie mai puternica a turnover-ului conduce la o crestere mai mare a DMO precum si la scaderea riscului de fractura.³² Aceasta concluzie vine in contradictie cu alte studii care gasesc ca o scadere a markerilor ososi sub 40% nu ar aduce un beneficiu suplimentar pe riscul de fractura.³³ Acest fapt poate fi important mai ales in cazul pacientelor tinere, la care interventia pe remodelare poate avea consecinte de lunga durata. Este cunoscut ca scheletul se regenereaza complet o data la 10 ani.³⁴ Rolul remodelarii osoase este astfel acela de reparare a microleziunilor de oboseala, a microfracturilor. O inhibitie puternica si de lunga durata a turnover-ului poate conduce la alterarea repararii osoase si la acumularea acestor leziuni, cu posibil efect pe rezistenta

osului. Demonstrat la doze mari la caine³⁵, acest efect nu are un corespondent bine sustinut in studiile pe oameni, insa rezultatele pe termen lung lipsesc. In cazul pacientelor tinere poate fi o masura de precautie alegerea unei medicatii care sa nu induca o supresie excesiva a remodelarii. Este poate motivul pentru care nu este dovedit riscul de fractura la administrarea bifosfonatilor peste 5 ani, posibil ca urmare a acumularii leziunilor de oboseala.³⁶

Utilitatea markerilor ososi in evaluarea raspunsului pozitiv la tratament

Raspunsul la tratamentul antiosteoporotic se evalueaza actual prin determinarea DMO prin absorbtimetrie cu raze X, in mod obisnuit la 1-2 ani, nu mai devreme, pentru ca cresterea masei osoase se apropie de eroarea de precizie. Din acest motiv ar fi util de gasit o investigatie care sa poata sa aiba o putere de predictie pentru raspunsul pe masa osoasa, dar sa fie in acelasi timp facila si posibil de determinat la intervale mai scurte de timp.

Evaluarea sensibilitatii si specificitatii determinarii markerilor ososi posttratament pentru raspunsul pe masa osoasa arata ca acestia sunt un parametru destul de modest ca putere de predictie. Valoarea absoluta pentru care s-au obtinut sensibilitate si specificitate optime este 0,331 ng/ml pentru cross-laps (sensibilitate 73%, specificitate 67%) si 12,05 pentru osteocalcina (sensibilitate 60%, specificitate 63%), cu curba de discriminare mai slaba pentru osteocalcina.

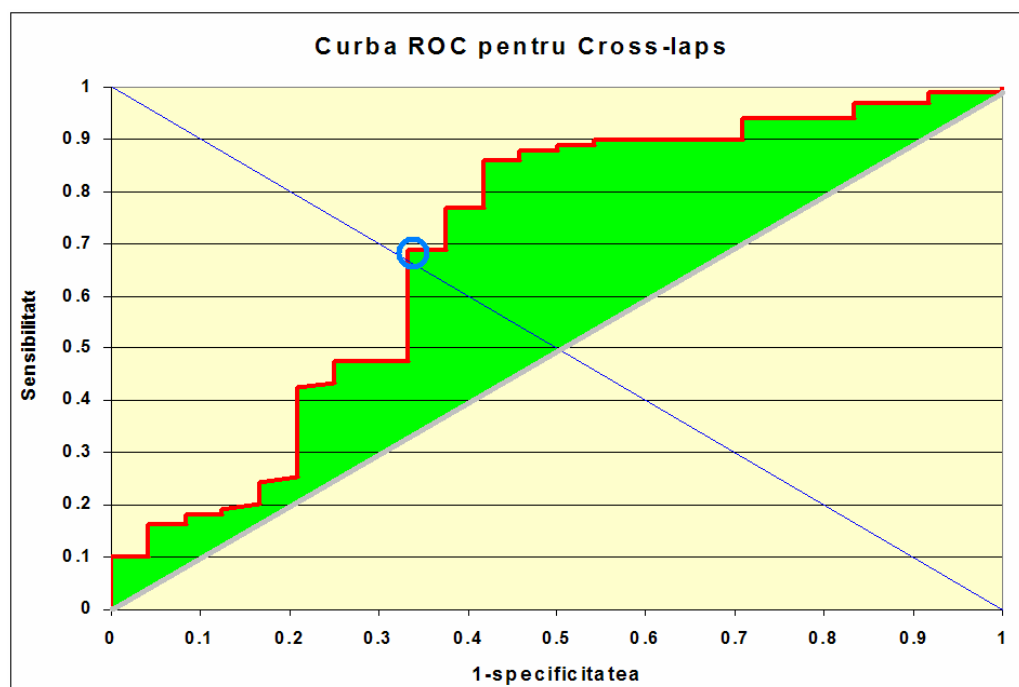


Figura nr. 6. Curba ROC pentru cross-laps

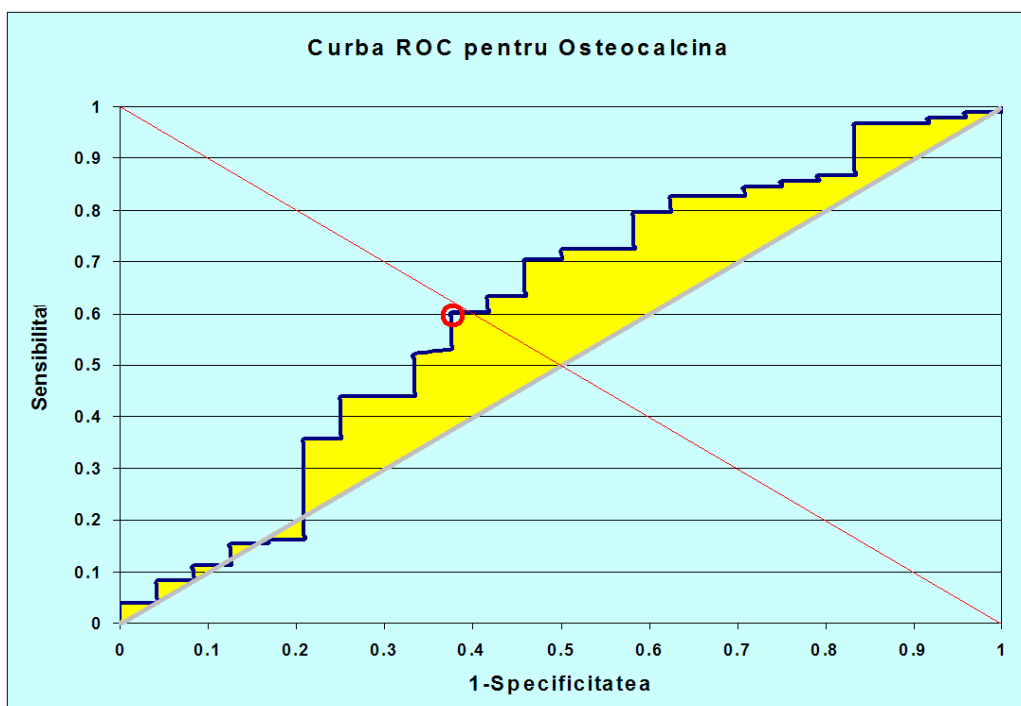


Figura nr. 7. Curba ROC pentru osteocalcina

Cu aceste cifre, insotite de o curba ROC care arata o arie de deasupra liniei de determinare nula destul de mica fac din determinarea markerilor biochimici ai turnoverului osos predictorii relativ modesti pentru raspunsul la tratament.

De aceea, daca sensibilitatea metodei este destul de buna, specificitatea este mica. Aceasta inseamna ca ne asteptam ca raspunsul pozitiv pe markeri sa ne ajute in stabilirea probabilitatii de raspuns pozitiv pe masa osoasa, insa un raspuns negativ pe inhibitia markerilor nu face la fel de probabila o evolutie negativa a densitatii minerale. De aceea, inhibitia posttratament poate fi un argument pentru medic dar si pentru pacienta (in vederea cresterii compliantei la un tratament la care un beneficiu nu este evident clinic), insa noninhibitia nu este un argument suficient de solid pentru a renunta la terapie. Astfel, luand in calculul decizional aceste rezultate, nu as recomanda intreruperea tratamentului daca raspunsul pe markeri e negativ.

Tratamentul antiosteoporotic este de lunga durata, silentios desi eficace, ceea ce duce la o rata mare de renuntare in randul pacientelor. Problema compliantei la terapie poate fi ameliorata prin programe de sustinere a pacientului, in care, pe langa informarea repetata cu privire la boala, riscuri si efectele agentilor medicamentoși, pot fi incluse investigatiile pe

turnover. Raspunsul pozitiv la tratament, confirmat prin supresia markerilor ososi, ar putea creste complianta terapeutica.

III. Investigarea osteoporozei secundare

Analiza grupului de 126 de paciente consecutive cu diagnostic absorbtometric de osteoporoza pentru identificarea frecventei osteoporozei secundare a relevat o frecventa mare a insuficientei si deficitului de vitamina D (42,86% din total). Hiperparatiroidismul primar a fost identificat la aproximativ 4% dintre paciente si 0,79% au fost diagnosticate cu hipercalcemie paraneoplazica. In absenta investigatiilor biochimice si hormonale pacientele ar fi fost tratate numai cu terapie specifica antiosteoporotica, omitandu-se identificarea cauzei masei osoase mici.

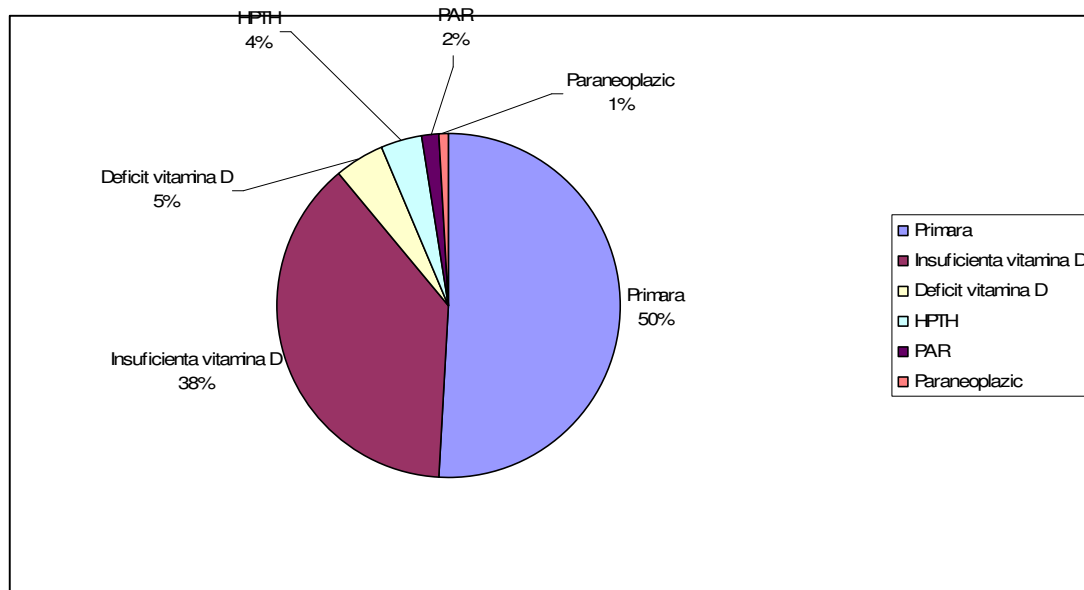


Figura nr. 15. Frecventa cauzelor secundare de osteoporoza

Analizele biochimice nu au putut face diferenta intre cele 2 entitati, sugerand astfel ca pentru diagnostic este necesara determinarea 25OHD. Numai 2 dintre pacientele cu deficit de vitamina D au avut o valoare a calciului subnormala (8,4 mg/dl), iar pacientele cu osteoporoza fara deficit sau insuficienta de vitamina D au avut valori variabile ale calcemiei, fosfatemiei, calciuriei si fosfatazei alcaline, desi incadrate in range-ul de normal.

Parametrii absorbtometrici nu ajuta foarte mult in diagnosticul formelor secundare. In general se considera ca un scor Z sub -2 DS ridica suspiciunea osteoporozei secundare, insa 3

dintre pacientele cu hiperparatiroidism primar au avut un scor Z peste aceasta valoare, ceea ce subliniaza necesitatea diagnosticului diferential indiferent de scoruri.

Ramane in discutie planul de investigatii al pacientei cu osteoporoza de postmenopauza, problema includerii in protocol a determinarii PTH si 25OHD fiind de fapt si una de cost-eficienta. Frecventa mare a insuficientei de vitamina D in populatia cu osteoporoza poate fi contracarata si prin tratament cu calciu si vitamina D asociat medicatiei antiosteoporotice, dar vedem utila determinarea uzuala a nivelului 25OHD.

Concluzii

- + Markerii de turnover osos cresc in postmenopauza; cresterea este semnificativ mai mare la pacientele cu masa osoasa mica**
- + Exista o heterogenitate a valorilor markerilor ososi la femeile cu OPPM, ceea ce sugereaza prezenta mai multor mecanisme patogenice si obliga la individualizarea terapiei**
- + Prezenta fracturilor s-a corelat cel mai bine cu DMO si cu varsta pacientelor cu osteoporoza**
- + Nivelul corelatiilor dintre markerii ososi si fracturi sau DMO fac din acestia predictorii slabi pentru riscul de fracturi de fragilitate**
- + In postmenopauza remodelarea osoasa, reflectata de markerii de resorbtie si formare osoasa, se mentine crescuta si la varste inaintate**
- + Raspunsul pozitiv la antiresorbtive pe markerii ososi a fost de peste 80%, cu un raspuns similar pe masa osoasa**
- + Inhibitia subnormala a markerilor ososi a fost prezenta la 28% dintre pacientele cu alendronat, 18% la risedronat, 21% cu ibandronat pentru cross-laps si la 5% cu alendronat si 2% cu risedronat pentru osteocalcina**
- + O inhibitie a cross-laps seric sub 0,331 ng/ml confera o sensibilitate de 73% si o specificitate de 67% pentru raspunsul pozitiv pe masa osoasa**
- + Pacientele tinere, sub 60 de ani, au avut un raspuns similar cu cele varstnice la terapia antiresorbtiva**

 La pacientele cu OPPM frecventa mare a insuficientei si deficitului de vitamina D (42,86%) este un argument pentru includerea in protocolul de investigatii al pacientei cu osteoporoza a determinarii nivelului seric al 25-hidroxitaminei D

-
- ¹ Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. Lancet. 2002 Jun 1;359(9321):1929-36
- ² Dumitrache C, Poiana C, Grigorie D. Osteoporoza. Aspecte metabolice si endocrine. Editura Medicala AMALTEA, Bucuresti 1995
- ³ Seeman E, Delmas PD. Bone Quality – The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. N Engl J Med 2006;354:2250-61
- ⁴ Lindsay R, Silverman SL, Cooper C, Hanley DA, Barton I, Broy SB, Licata A, Benhamou L, Geusens P, Flowers K, Stracke H, Seeman E. Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture. JAMA 2001;285:320-3
- ⁵ Melton JL, Atkinson EJ, O’Fallon WM, Wahner HW, Riggs BL. Long-term fracture prediction by bone mineral assessed at different skeletal sites. J Bone Miner Res 1993;8:1227-33
- ⁶ Cummings SR, Black DM, Nevitt Mc et al. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Lancet 1993; 341:72-5
- ⁷ Johnell O, Kanis JA, Oden A, Johansson H, De Laet C, Delmas P, Eisman JA, Fujiwara S, Kroger H, Mellstrom D, Meunier PJ et al. Predictive Value of BMD for Hip and Other Fractures. J Bone Miner Res 2005; 20;1185-1194.
- ⁸ Uebelhart D, Schlemmer A, Johansen JS, Gineyts E, Christiansen C, Delmas PD Effect of menopause and hormone replacement therapy on the urinary excretion of pyridinium cross-links. J Clin Endocrinol Metab. 1991;72:367-73
- ⁹ Delmas PD, Schlemmer A, Gineyts E, Riis B, Christiansen C. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. J Bone Miner Res. 1991;6:639-44.
- ¹⁰ Ross PD, Knowlton W. Rapid Bone Loss Is Associated with Increased Levels of Biochemical Markers. J Bone Miner Res. 1998;13:297-302
- ¹¹ Christiansen C, Riis BJ, Rodbro P. Prediction of rapid bone loss in postmenopausal women. Lancet. 1987; 1:1105-8.
- ¹² Rogers A, Hannon RA, Eastell R. Biochemical markers as predictors of rates of bone loss after menopause. J Bone Miner Res. 2000;15:1398-404.
- ¹³ Dresner-Pollak R, Parker RA, Poku M, Thompson J, Seibel MJ, Greenspan SL. Biochemical markers of bone turnover reflect femoral bone loss in elderly women. Calcif Tissue Int. 1996 ;59:328-33.
- ¹⁴ Melton LJ 3rd, Khosla S, Atkinson EJ, O’Fallon WM, Riggs BL. Relationship of bone turnover to bone density and fractures. J Bone Miner Res. 1997;12:1083-91.
- ¹⁵ Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC, Marcelli C, Grandjean H, Muller C, Cormier C, Breart G, Meunier PJ, Delmas PD. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS Prospective Study. J Bone Miner Res. 1996;11:1531-8.
- ¹⁶ van Daele PL, Seibel MJ, Burger H, Hofman A, Grobbee DE, van Leeuwen JP, Birkenhager JC, Pols HA. Case-control analysis of bone resorption markers, disability, and hip fracture risk: the Rotterdam study. BMJ. 1996;312:482-3.
- ¹⁷ Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustat B, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. J Bone Miner Res. 2000;15:1526-36.
- ¹⁸ Bauer DC, Black DM, Garnero P, Hochberg M, Ott S, Orloff J, Thompson DE, Ewing SK, Delmas PD; Fracture Intervention Trial Study Group. Change in bone turnover and hip, non-spine, and vertebral fracture in alendronate-treated women: the fracture intervention trial. J Bone Miner Res. 2004;19:1250-8
- ¹⁹ Eastell R, Barton I, Hannon RA, Chines A, Garnero P, Delmas PD. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. J Bone Miner Res. 2003;18:1051-6.
- ²⁰ Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. J Bone Miner Res. 1996;11:337-49.

-
- ²¹ Grigorie D, Neacsu E, Marinescu M, Dumitrache L, Popa O. 25 hydroxyvitamin D and parathyroid hormone status in 834 postmenopausal women with osteoporosis, *Acta Endocrinologica (new series)*, 2005,1(3)369-76.
- ²² Holick MF, Garabedian M. Vitamin D: Photobiology, Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. . In: Favus MJ editor: Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, 6th edition, 2006, p. 106-114
- ²³ Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc.* 2006 Mar;81(3):353-73.
- ²⁴ Black DM, Thompson DE, Bauer DC, Ensrud K, Musliner T, Hochberg MC, Nevitt MC, Suryawanshi S, Cummings SR; Fracture Intervention Trial. Fracture risk reduction with alendronate in women with osteoporosis: the Fracture Intervention Trial. FIT Research Group. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Nov;85(11):4118-24. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab* 2001 Feb;86(2):938.
- ²⁵ Cummings SR, Black DM, Thompson DE, Applegate WB, Barrett-Connor E, Musliner TA, Palermo L, Prineas R, Rubin SM, Scott JC, Vogt T, Wallace R, Yates AJ, LaCroix AZ. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. *JAMA.* 1998 Dec 23-30;280(24):2077-82.
- ²⁶ Harris ST, Watts NB, Genant HK, McKeever CD, Hangartner T, Keller M, Chesnut CH 3rd, Brown J, Eriksen EF, Hoesly MS, Axelrod DW, Miller PD. 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.
- ²⁷ Reginster J, Minne HW, Sorensen OH, Hooper M, Roux C, Brandi ML, Lund B, Ethgen D, Pack S, Roumagnac I, Eastell R. 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.
- ²⁸ McClung MR, Geusens P, Miller PD, Zippel H, Bensen WG, Roux C, Adami S, Fogelman I, Diamond T, Eastell R, Meunier PJ, Reginster JY; Hip Intervention Program Study Group. 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.
- ²⁹ Chesnut III CH, Skag A, Christiansen C, Recker R, Stakkestad JA, Hoiseth A, Felsenberg D, Huss H, Gilbride J, Schimmer RC, Delmas PD; Oral Ibandronate Osteoporosis Vertebral Fracture Trial in North America and Europe (BONE). Effects of oral ibandronate administered daily or intermittently on fracture risk in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2004 Aug;19(8):1241-9.
- ³⁰ Roux C, Seeman E, Eastell R, Adachi J, Jackson RD, Felsenberg D, Songcharoen S, Rizzoli R, Di Munno O, Horlait S, Valent D, Watts NB. Efficacy of risedronate on clinical vertebral fractures within six months. *Curr Med Res Opin.* 2004 Apr;20(4):433-9.
- ³¹ Seeman E, Delmas PD. Bone Quality – The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *N Engl J Med* 2006;354:2250-61
- ³² Bauer DC, Black DM, Garnero P, Hochberg M, Ott S, Orloff J, Thompson DE, Ewing SK, Delmas PD and for the Fracture Intervention Trial Study Group. Change in Bone Turnover and Hip, Non-Spine, and Vertebral Fracture in Alendronate-Treated Women: The Fracture Intervention Trial. *Journal of Bone and Mineral Research* 2004;19: 1250-1258.
- ³³ Eastell R, Barton I, Hannon RA, Chines A, Garnero P, Delmas PD. Relationship of early changes in bone resorption to the reduction in fracture risk with risedronate. *J Bone Miner Res.* 2003;18:1051-6.
- ³⁴ Manolagas SC. Birth and Death of Bone Cells: Basic Regulatory Mechanisms and Implications for the Pathogenesis and Treatment of Osteoporosis. *Endocr Rev* 2000;21:115-37
- ³⁵ Mashiba T, Hirano T, Turner CH, Forwood MR, Johnston CC, Burr DB. Suppressed bone turnover by bisphosphonates increases microdamage accumulation and reduces some biomechanical properties in dog rib. *J Bone Miner Res* 2000; 15:613-20
- ³⁶ Black DM, Schwartz AV, Ensrud KE, Cauley JA, Levis S, Quandt SA, Satterfield S, Wallace RB, Bauer DC, Palermo L, Wehren LE, Lombardi A, Santora AC, Cummings SR; FLEX Research Group. Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): a randomized trial. *JAMA.* 2006;296(24):2927-38.