

# **A csontvázra ható genetikai és környezeti tényezők klinikai vizsgálata**

MTA doktori értekezés

dr. Takács István

2016

## Tartalomjegyzék

|                                                                                     |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tartalomjegyzék .....</b>                                                        | <b>2</b>  |
| <b>Bevezetés .....</b>                                                              | <b>9</b>  |
| <b>I. Az értekezés témáinak irodalmi áttekintése .....</b>                          | <b>11</b> |
| I.1. – A csontváz megbetegedései.....                                               | 11        |
| I.1.1. Osteoporosis .....                                                           | 11        |
| I.1.1.1. Az osteoporosis típusai.....                                               | 11        |
| I.1.1.2. Az osteoporosis epidemiológiája .....                                      | 13        |
| I.1.1.3. Az osteoporosis patogenesisise .....                                       | 14        |
| I.1.1.3.A. Az involutiós osteoporosis patogenesisise .....                          | 14        |
| I.1.1.3.B. Csont remodeling változásai osteoporosisban .....                        | 20        |
| I.1.1.4. Az osteoporosis kezelése .....                                             | 25        |
| I.1.1.4.A. Reszorpció gátló kezelések.....                                          | 26        |
| I.1.1.4.B. A csontképzést fokozó kezelési formák .....                              | 29        |
| I.1.1.4.C. A compliance és a perzisztencia szerepe az osteoporosis kezelésben ..... | 29        |
| I.1.1.5. Az osteoporosis szövődményei - Csonttörések.....                           | 30        |
| I.1.2.1. D-vitamin anyagcseréje .....                                               | 32        |
| I.1.2.2. D-vitamin-hiány .....                                                      | 34        |
| I.1.2.2.A. D-vitamin-hiány csontvázrendszeri hatásai, tünetei.....                  | 35        |
| I.1.2.2.C. D-vitamin-hiány nem csontvázrendszeri hatásai, tünetei .....             | 39        |
| I.1.2.3. D-vitamin-kezelés .....                                                    | 42        |
| I.1.3. Osteopetrosis .....                                                          | 45        |

|                                                                                          |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| I.1.4. Fibrogenesis imperfecta ossium.....                                               | 47        |
| I.2. – A csontvázra ható genetikai tényezők.....                                         | 48        |
| I.2.1 Az osteoporosissal összefüggésbe hozható kromoszóma régiók.....                    | 52        |
| I.2.2 Az osteoporosissal összefüggésbe kandidáns gének.....                              | 54        |
| I.2.1.1. D-vitamin receptor gén ( <i>VDR</i> ) .....                                     | 54        |
| I.2.1.2. Interleukin-1 receptor antagonista ( <i>IL-1ra</i> ) gén .....                  | 55        |
| I.2.1.3. Interleukin-6 ( <i>IL-6</i> ) gén .....                                         | 55        |
| I.2.1.4. Inzulinszerű növekedési faktor 1 ( <i>IGF-1</i> ) gén .....                     | 56        |
| I.2.1.5. Kalcium szenzor receptor gén ( <i>CaSR</i> ) gén.....                           | 56        |
| I.2.1.6. TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B jelátviteli út génjei .....                         | 56        |
| I.2.1.7. Wnt jelátviteli út génjei, különös tekintettel az LRP5 szerepére .....          | 57        |
| I.3. – A csontvázra ható környezeti tényezők.....                                        | 58        |
| I.3.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatása a törésekre .....      | 60        |
| I.3.2. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők .....                              | 62        |
| I.3.3. A D-vitamin-pótlás hatásossága a dózis és az adagolás módjának függvényében ..... | 63        |
| I.3.4. Fibrogenesis imperfecta ossium (FIO) kezelési lehetőségei.....                    | 63        |
| I.3.5. Glikogéntárolási betegségben a csontanyagcsere változása .....                    | 63        |
| <b>II. Célkitűzések .....</b>                                                            | <b>65</b> |
| II.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálata .....                              | 65        |
| II.1.1. Az osteoporosissal összefüggésbe hozható kandidáns gének vizsgálata .....        | 65        |
| II.1.1.1. D-vitamin receptor gén .....                                                   | 65        |
| II.1.1.2. Interleukin-1 receptor antagonista fehérje gén .....                           | 65        |

|                                                                                                                                                                |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| II.1.1.3. Interleukin-6 gén.....                                                                                                                               | 66        |
| II.1.1.4. Inzulinszerű növekedési faktor 1 gén.....                                                                                                            | 66        |
| II.1.1.5. Kalcium szenzor receptor gén .....                                                                                                                   | 66        |
| II.1.1.6. TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B jelátviteli út génjeinek hatása a csontdenzításra, a<br>csonttörési gyakoriságra és a gének szöveti expressziójára ..... | 66        |
| II.1.1.7. Wnt jelátviteli út génjei .....                                                                                                                      | 67        |
| II.1.2. Az osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg vizsgálata .....                                                                     | 67        |
| II.2. A csontvázra ható környezeti tényezők vizsgálata .....                                                                                                   | 67        |
| II.2.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatása a törésekre és az egészségügyi<br>kiadásokra. ....                                          | 68        |
| II.2.2. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők .....                                                                                                   | 68        |
| II.2.3. A D-vitamin-pótlás hatékonysága a dózis és az adagolás módjának függvényében .....                                                                     | 69        |
| II.2.4. Fibrogenesis imperfecta ossium (FIO) kezelési lehetőségei .....                                                                                        | 69        |
| II.2.5. Glikogéntárolási betegség miatti májtranszplantációt követően a csontanyagcsere változása                                                              | 70        |
| <b>III. Módszerek.....</b>                                                                                                                                     | <b>71</b> |
| III.1. Vizsgálati módszer - a vizsgált populáció, a vizsgálat felépítése.....                                                                                  | 71        |
| III.1.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálata .....                                                                                                 | 71        |
| III.1.1.1. Az osteoporosisra ható gének meghatározása - a vizsgált populáció .....                                                                             | 71        |
| III.1.1.2. Az osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg vizsgálata .....                                                                  | 73        |
| III.1.2. A csontvázra ható környezeti tényezők meghatározása során vizsgált populáció.....                                                                     | 74        |
| III.1.2.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatékonysága - a vizsgált<br>populáció.....                                                     | 74        |

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| III.1.2.2. A tél végi D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők azonosítása - a vizsgált ..... 78                                 | 78 |
| populáció..... 78                                                                                                                    | 78 |
| III.1.2.3. A D-vitamin-pótlás hatékonyságának meghatározása - a vizsgált populáció ..... 79                                          | 79 |
| III.1.2.4. Fibrogenesis imperfecta ossium új típusú kezelésével gyógyított személy adatai ..... 80                                   | 80 |
| III.1.2.5. Von Gierke betegség miatti májtranszplantáció után a csontanyagcsere változása..... 81                                    | 81 |
| III.2. Mérési módszerek ..... 81                                                                                                     | 81 |
| III.2.1. Laboratóriumi mérések ..... 81                                                                                              | 81 |
| III.2.1.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálata során alkalmazott laboratóriumi..... 81                                   | 81 |
| III.2.1.2. A csontvázra ható környezeti tényezők meghatározása során alkalmazott laboratóriumi . 82                                  | 82 |
| III.2.2. Osteodensitometria ..... 83                                                                                                 | 83 |
| III.2.3. Genetikai vizsgálatok ..... 83                                                                                              | 83 |
| III.2.3.1. A VDR gén vizsgálata során használt genetikai módszerek..... 83                                                           | 83 |
| III.2.3.2. Az <i>IL-1ra</i> gén vizsgálata során használt genetikai módszerek..... 84                                                | 84 |
| III.2.3.3. Az <i>IL-6</i> gén vizsgálata során használt genetikai módszerek..... 84                                                  | 84 |
| III.2.3.4. Az <i>IGF-1</i> gén vizsgálata során használt genetikai módszerek ..... 85                                                | 85 |
| III.2.3.5. Az <i>CaSR</i> gén vizsgálata során használt genetikai módszerek..... 86                                                  | 86 |
| III.2.3.6. A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B (RANK /Rank Ligand /Osteoprotegerin) ..... 87                                               | 87 |
| III.2.3.7. A Wnt jelátviteli út génjeinek vizsgálata során használt genetikai módszerek ..... 88                                     | 88 |
| III.3. Statisztikai módszerek ..... 89                                                                                               | 89 |
| III.3.1. A VDR, az <i>IGF-1</i> és az <i>IL-6</i> csonthatásának genetikai vizsgálatakor használt statisztikai<br>módszerek ..... 89 | 89 |
| III.3.2. Az <i>IL-1ra</i> gén csonthatásának genetikai vizsgálata során használt statisztikai módszerek .. 90                        | 90 |

|                                                                                                                                                      |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| III.3.3. A <i>CaSR</i> gén csonthatásának genetikai vizsgálata során használt statisztikai módszerek .....                                           | 90        |
| III.3.4. A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B szabályozási rendszer génjeinek vizsgálata során<br>használt statisztikai módszerek .....                     | 91        |
| III.3.5. A Wnt jelátviteli út génjeinek vizsgálata során használt statisztikai módszerek.....                                                        | 92        |
| III.3.6. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének törésekre gyakorolt hatásának<br>vizsgálata során használt statisztikai módszerek ..... | 92        |
| III.3.7. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők vizsgálata során használt statisztikai.....                                                  | 96        |
| III.3.8. A D-vitamin-pótlás hatékonyságának meghatározása során használt statisztikai módszerek<br>.....                                             | 97        |
| <b>IV. Eredmények.....</b>                                                                                                                           | <b>98</b> |
| IV.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálatának eredményei.....                                                                             | 98        |
| IV.1.1. Az osteoporosisal összefüggésbe hozható kandidáns gének vizsgálatának .....                                                                  | 98        |
| IV.1.1.1. <i>VDR</i> gén rs2228570 polimorfizmusának hatása a fiatalfelnőttkori .....                                                                | 98        |
| IV.1.1.2. <i>IL-1ra</i> VNTR polimorfizmus hatása a postmenopausás csontdenzitásra és az.....                                                        | 99        |
| IV.1.1.3. <i>IL-6</i> gén hatása a fiatalfelnőttkori csontdenzitásra .....                                                                           | 101       |
| IV.1.1.4. <i>IGF-1</i> gén hatása a fiatalfelnőttkori csontdenzitásra .....                                                                          | 104       |
| IV.1.1.5. <i>CaSR</i> gén "A986S" polimorfizmusának szerepe a postmenopasában mért csontdenzitásra<br>.....                                          | 106       |
| IV.1.1.6. A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B szabályozási rendszer génjeinek hatása a .....                                                               | 108       |
| IV.1.1.7. A Wnt jelátviteli út génjeinek hatása a csontdenzitás-értékekre és a csonttörékenységre                                                    | 114       |
| IV.1.2. Az autoszomális domináns osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg<br>.....                                             | 118       |

|                                                                                                                                                       |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| IV.2. Csontvázra ható környezeti hatások vizsgálatainak eredményei .....                                                                              | 120        |
| IV.2.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatása a törésekre,<br>kórházi kezelésekre, egészségügyi kiadásokra és a halálozásra..... | 120        |
| IV.2.1.1. Törésekre gyakorolt hatás.....                                                                                                              | 121        |
| IV.2.1.2. Kórházi benfekvések számára gyakorolt hatás .....                                                                                           | 123        |
| IV.2.1.3. Egészségügyi kiadásokra gyakorolt hatás.....                                                                                                | 125        |
| IV.2.1.3. A betegek halálozására gyakorolt hatás.....                                                                                                 | 127        |
| IV.2.2. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők tél végén, Magyarországon .....                                                                | 129        |
| IV.2.3. A D-vitamin-pótlás hatékonysága dózis és a pótlás gyakoriság függvényében.....                                                                | 133        |
| IV.2.4. Fibrogenesis imperfecta ossium - új kezelési lehetőség .....                                                                                  | 135        |
| IV.2.5. Glycogéntárolási betegségben a csontanyagcsere változása.....                                                                                 | 138        |
| <b>V. Megbeszélés .....</b>                                                                                                                           | <b>140</b> |
| V.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálata .....                                                                                            | 140        |
| V.1.1. Az osteoporosisal összefüggésbe hozható kandidáns gének vizsgálata .....                                                                       | 140        |
| IV.1.1.1. VDR gén rs2228570 polimorfizmusának hatása a fiatalfelnőttkori BMD-re .....                                                                 | 140        |
| V.1.1.2. <i>IL-1 ra</i> gén VNTR polimorfizmus hatása a postmenopausás BMD-re és az .....                                                             | 141        |
| V.1.1.3. <i>IL-6</i> gén hatása a fiatalfelnőttkori csontdenzitásra .....                                                                             | 142        |
| V.1.1.4. <i>IGF-1</i> gén hatása a fiatalfelnőttkori csontdenzitásra .....                                                                            | 143        |
| V.1.1.5. <i>CaSR</i> gén "A986S" polimorfizmusának hatása a postmenopausában mért BMD-re .....                                                        | 144        |
| V.1.1.6. A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B rendszer génjeinek hatása a .....                                                                              | 145        |
| V.1.1.7. A Wnt jelátviteli út génjeinek hatása a csontdenzítás-értékekre és a csonttörékenységre ..                                                   | 148        |
| V.1.3. Az autoszomális domináns osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg                                                        | 149        |

|                                                                                                                                                       |            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| V.2. Csontvázra ható környezeti hatások vizsgálatainak eredményei.....                                                                                | 151        |
| V.2.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatása a törésekre, kórházi<br>kezelésekre, egészségügyi kiadásokra és a halálózásra ..... | 151        |
| V.2.2. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők tél végén, Magyarországon .....                                                                 | 153        |
| V.2.3. A D-vitamin-pótlás hatékonysága dózis és pótlásgyakoriság függvényében.....                                                                    | 156        |
| V.2.4. Fibrogenesis imperfecta ossium új kezelési lehetősége .....                                                                                    | 157        |
| V.2.5. von Gierke betegségben a csontanyagcsere változása májtranszplantációt követően .....                                                          | 159        |
| <b>VI. Új eredmények.....</b>                                                                                                                         | <b>160</b> |
| <b>VII. Rövidítések jegyzéke .....</b>                                                                                                                | <b>163</b> |
| <b>VIII. Irodalomjegyzék .....</b>                                                                                                                    | <b>168</b> |
| <b>IX. Az értekezésben szereplő saját közlemények .....</b>                                                                                           | <b>197</b> |
| <b>X. Köszönetnyilvánítás .....</b>                                                                                                                   | <b>200</b> |



## Bevezetés

Az emberi csontváz sok szempontból különleges szerepet tölt be a szervezetben. A változó külső tényezőknek megfelelően biztosítja a szervezet szilárd vázát, lehetővé teszi a mozgást, védelmet nyújt a belső szerveknek és nem utolsósorban hatalmas kalciumraktárt képez. Annak ellenére, hogy a csontváz folyamatosan alkalmazkodik a szervezet belső változásaihoz és a környezethez, mégis évszázadokon át, mint változatlan, lényegében élettelen szövetnek tekintette az orvostudomány. Magyarországon - Európában is az elsők között - Holló István Professzor kezdett foglalkozni a csontanyagcsere kutatásával az 1950-es években. Az ő kutatócsoportjának munkájába kapcsolódtam be, immár 28 évvel ezelőtt. Céлом a kezdetektől a gyakori csontbetegségek okainak vizsgálata volt. A leggyakoribb csontbetegség az osteoporosis esetében, kutatásaim döntően a genetikai okok meghatározására irányultak. Ennek oka leginkább az volt, hogy tudományos pályafutásom kezdete egybeesett az osteoporosisban a genetikai kutatások fontosságának felismerésével. Ekkor írták le, azt a később visszavont megfigyelést, hogy az osteoporosis kialakulásának döntő oka a D-vitamin receptor gén polimorfizmusa. A felismerés nem volt igaz, de a szellem már kiszabadult a palackból. Első vizsgálataim - az akkori tudásunknak megfelelően - a csontanyagcserére ható citokinek, növekedési faktorok genetikai vizsgálatával foglalkoztak. Ebben az időben valamennyi vizsgálatom negatív eredményt adott. Ezen eredményeinket az új, - számunkra anyagi okokból már elérhetetlen - vizsgálati módszerek, a GWAS (genome wide association study) vizsgálatok egyértelműen igazolták. Később a csontanyagcsere legfontosabb regulátorainak, a RANK (Receptor activator of nuclear factor kappa-B)-RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)- OPG (osteoprotegerin) rendszernek és a Wnt szignálút csontanyagcserében betöltött szerepének a megismerésével vizsgálataink is új irányt kaptak. A csontanyagcserében központi szerepet játszó szabályozó mechanizmusok szereplőinek genetikai hatását az elsők között igazoltuk. Gyakorló klinikusként az osteoporosisal kapcsolatban, a másik fontos tudományos kérdés a környezeti tényezők hatása volt. Ezen belül is a legfontosabb kérdésnek azt tartottam, hogy az általunk alkalmazott gyógyszeres kezelésnek milyen hatása van betegeink csonttörési kockázatára, a kórházi észlelések

számára, a halálozási kockázatokra és nem utolsósorban kezeléseink ára megterül-e az egészségügyi kiadásokban.

A nagy ásványianyag-tartalommal és fokozott csonttörékenységgel járó osteopetrosis genetikai és klinikai kutatására az USA-ban nyílt alkalom. Magyarországon - úgy tűnik - ritkábban fordul elő a kórkép, mint azt feltételeztük, habár szakrendelésemen, ami a csontanyagcsere betegségek országos centrumában működik, számos beteget diagnosztizáltam.

Az elmúlt negyedszázadban a D-vitamin-hiány következtében kialakuló osteomalacia klinikai megítélése változott meg legjobban. Míg korábban a csontváz ritka, annak meglágyulásával járó kórképnek gondoltuk, ma már egy gyakori, a csontok szilárdságát- a csonttömeg lényeges fogyása nélkül- jelentősen csökkentő betegségnek tartjuk. Annak ellenére, hogy a csontok szempontjából a D-vitamin ellátottság fontossága egyértelmű, számos kérdés tisztázatlan. Az irodalomban nem egységes a normál érték, a szükséges pótlás adagja és időtartalma sem. Az egységes hazai gyakorlat kialakítása miatt három alkalommal Konszenzus Konferenciát szerveztem, ahol tizennégy orvos társaság részvételével egységes magyarországi ajánlást fogalmaztunk meg. A véleményem szerint legfontosabb két gyakorlati kérdés megválaszolására klinikai vizsgálatokat végeztünk. A D-vitamin-hiány legnagyobb gyakoriságát és az ezt befolyásoló tényezőket egy országos reprezentatív vizsgálatral mértük fel. A szükséges D-vitamin-pótlás adagját és idejét egy kontrollált, kettős vak, multicentrikus vizsgálatral határoztuk meg.

Tudományos munkásságom egységes és legfontosabb része a nagy csontanyagcsere-betegségek vizsgálata volt, de e mellett sok kérdést a mindennapi gyakorlat vetett fel. Szakrendelésemen sok ritka betegséget diagnosztizáltam. Ezek döntő többsége szakmai kihívás volt, de tudományos érdekességet nem jelentett. Két esetben azonban olyan kezelési módszert alkalmaztunk, ami a beteg sorsát befolyásolta és tudományos érdeklődésre tarthatott számot. Értekezésem ezt a két esetet is bemutatja.

## I. Az értekezés témáinak irodalmi áttekintése

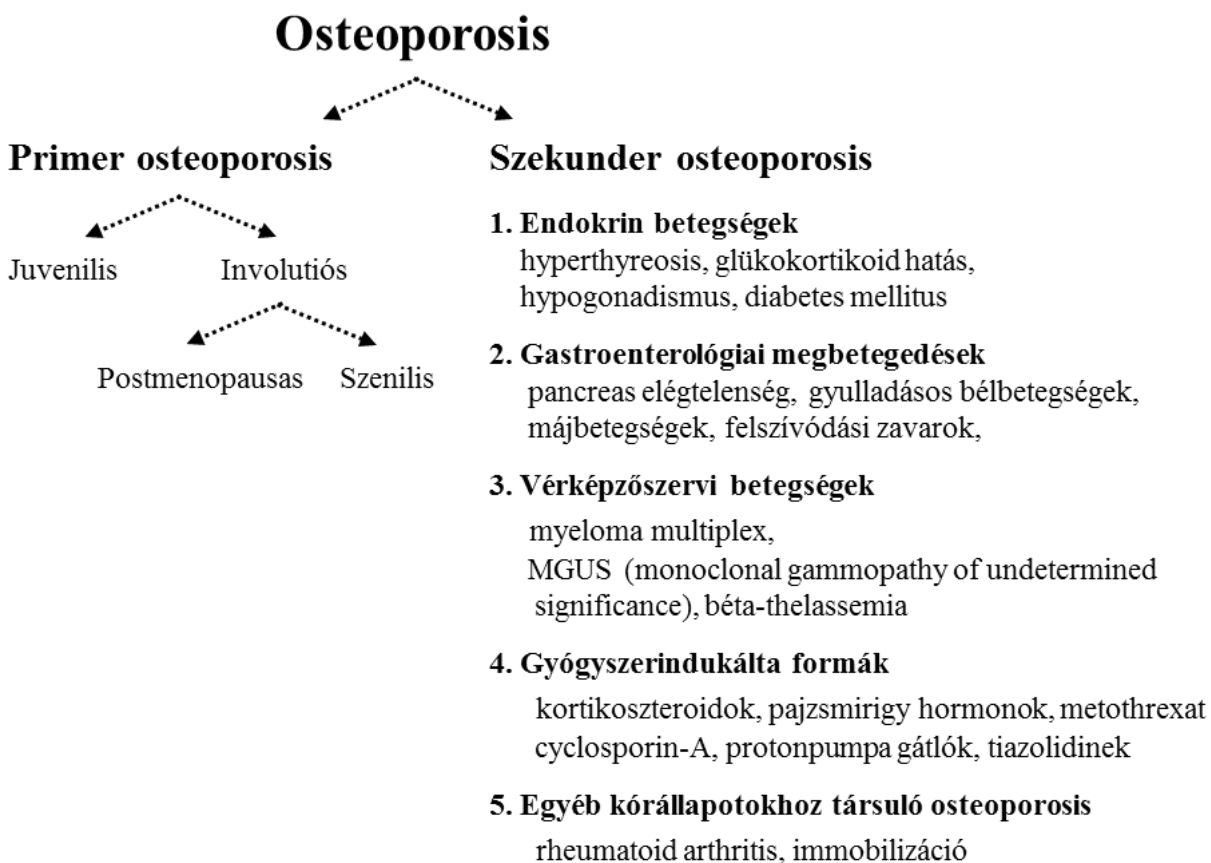
### I.1. – A csontváz megbetegedései

#### I.1.1. Osteoporosis

##### I.1.1.1. Az osteoporosis típusai

"Az osteoporosis a csontváz generalizált, progresszív megbetegedése, amelyben a csonttömeg megfogyása, a microarchitectura károsodása és a csontminőség romlása fokozott törékenységhoz vezet"

(1). A betegség definíciója sajnos korántsem egyértelmű, sok segítséget nem nyújt a betegség gyakorlati diagnosztikához. A WHO (World Health Organization) ajánlás alapján meghatározott -2,5 T score-os csontdenzitás határérték (2) önmagában nem jelzi betegség fennállását, egészséges ember csontdenzitása is lehet ez alatti. Más oldalról e határérték felett van az osteoporoticus eredetű csípőtáji törésen átesett betegeknek több, mint a fele (3). A törési kockázatszámítás - legelterjedtebb napjainkban a FRAX (fracture risk assessment tool) - széleskörű használatáig és elfogadottságáig, mégis ez a messze túlértékelt -2,5 T score-os határérték jelenthet fogódzót a diagnosztikában. A kórkép diagnosztikája azonban nem csak a denzitás értéken, hanem a többi csontfogyáshoz vezető kórkép - pl. osteomalacia, hyperparathyreosis, renalis osteodystrophia, osteogenesis imperfecta, - kizárásán is alapul. Ezért a diagnosztika felállításában az anamnézis mellett a laboratóriumi vizsgálatok és a csontrentgen nélkülözhetetlenek. Az a régi tankönyvi ajánlás, mely szerint egyszerű laboratóriumi mérésekkel (kalcium, foszfát, alkalikus foszfatáz) egyértelműen elkülöníthetők ezek a kórképek, ma már nem állja meg a helyét. Ma több irodalmi adat és saját vizsgálataink (4) is igazolják, hogy sokszor még súlyos D-vitamin-hiányban sem változnak meg ezek a labor értékek. Primer hyperparathyreosis esetek jelentős része napjainkban már a normál felső harmadában lévő kalcium értékkel jár (3). Ezért a 25-hidroxi-D-vitamin (25OHD) és a PTH mérés a szükséges labordiagnosztika részévé vált (1). A csontok röntgenvizsgálata nem csak a többi calcipenias osteopathiához vezető kórkép elkülönítésében segít, de mutatja az osteoporosis súlyosságának fokát is (5). Az primer, más néven involutiós osteoporosis diagnosztikát csak a másodlagosan osteoporosisához vezető kórképek kizárása után állíthatjuk fel. Szekunder osteoporosisához számos endokrin, gasztroenterológiai, hematológiai kórkép mellett gyógyszer mellékhatások vezethetnek. (1. ábra)



1. ábra Osteoporosisok beosztása kóreredit alapján

A primer osteoporosisok gyakorlati beosztása lényegében a beteg életkora szerinti szakmai megegyezésen alapul. A juvenilis osteoporosis a pubertástól a 20-as életek végéig jelentkező rendkívül ritka megbetegedés. Postmenopausás osteoporosisnak a menopauzától 65 éves korig megjelenő betegséget nevezzük, bár ennek az időbeli beosztásnak a kórélettani magyarázata kérdéses, mert erre a formára jellemző menopauza utáni gyors csontvesztés csupán 3-5 évig tart. A leggyakoribb, az időskori (szenilis) forma, melyet 65 éves kor felett diagnosztizálunk.

Jól jelzi a napjainkban használt beosztás ellentmondásait, hogy a külön típusként csoportosított, primer osteoporosisnak tekintett postmenopausás osteoporosis valójában egy hormonhiány miatt kialakuló szekunder forma. A 65 éves kor előtt jelentkező férfi osteoporosis is nehéz elhelyezni ebben a

beosztásban, épp úgy, mint a menopauza előtt ismétlődő csonttöréseket szenvedő betegeket, akiknél nem igazolható más, csontvesztéshez vezető kórkép. A gyakorlatban azokat a betegeket, akiknél kis csontdenzitást mérünk, a rossz csontminőséget törések jelzik és nem igazolható más csontvesztéshez vagy csontminőség romláshoz vezető kórkép, primer osteoporosisban szenvedőnek kell tekintenünk.

#### I.1.1.2. Az osteoporosis epidemiológiája

Az osteoporosisban szenvedő, fokozott töréskockázatnak kitett betegek jelentős része tünetmentes. Gyakran csak a szövődmény kialakulása, a csonttörés hívja fel a figyelmet a betegségre. Ezért is nevezik világszerte "néma járványnak" a kórképet. Húsz évvel korábban, nagy epidemiológiai felmérések alapján az USA-ban 26 millió nőnél tételeztek fel fokozott csonttörési kockázatot (6). Ezt a gyakoriságot kivetítve a fejlett ipari országokra, 75 millióra becsülték ezen országokban a betegek számát. Ez Magyarországon közel egy millió beteget jelentene. Ezeknek a becsült adatoknak a felhasználhatóságát az elmúlt évtizedekben sok új információ kérdőjelezte meg. Ma már tudjuk, hogy a csontdenzitás - habár fontos mutatója annak - önmagában nem elegendő a diagnózis, vagy a csonttörési kockázat megítéléséhez. A korábbi felmérések pedig főleg ezeken a denzitásértékeken alapultak. Azonban azok az epidemiológiai felmérések, amelyek nem a csont mennyiségének változását, hanem a csont szerkezeti változását, a csigolyadeformitás kialakulását mérték, hasonló betegség gyakoriságot mutattak ki. Magyarországon az ötven év feletti nők 16.7 %-ánál és - meglepő módon - a férfiak 18.7 %-ánál találtak csigolyadeformitást (7). A felmérés adatainak teljes populációra vetítése kilencszázezer beteget jelentene. Mindkét megközelítés alapján közel egymillió lehet Magyarországon a csontanyagcsere-betegségben szenvedő betegek száma. Az osteoporosis előfordulását és a betegség gyakoriságának változását sokkal pontosabban lehet követni a kialakult törések számának változásával. Az ezredfordulón mintegy kilencmillió csonttörés alakult ki világszerte az osteoporosis talaján (8). A csonttörések, ezen belül is a legsúlyosabb szövődmény, a csípőtáji törés számának folyamatos növekedését jósolták a következő 40 évre, az átlagéletkor növekedése és a csont szempontjából előnytelen életmódváltozások miatt (9). Azonban az ezredforduló

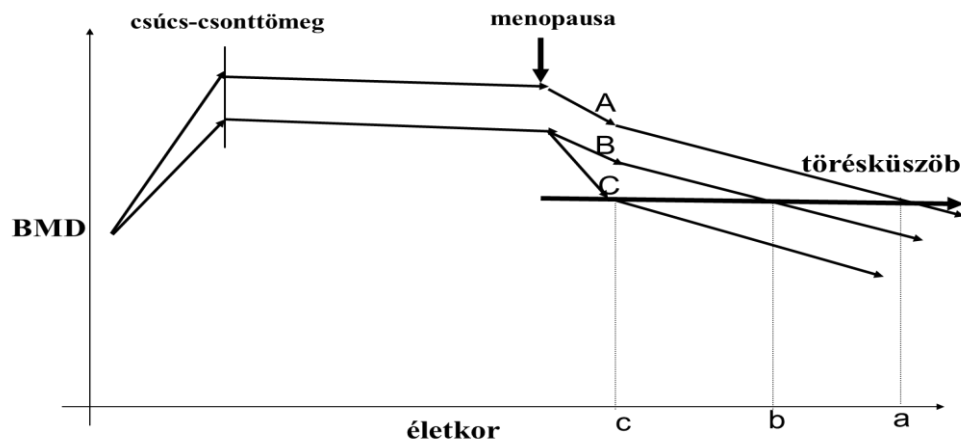
után az epidemiológiai adatok a növekedési trend leállását, lassulását mutatták (10, 11). Ennek háttérében az idősödő populáció egészségi állapotának, a kalcium és D-vitamin ellátottságnak javulását és a hatékony osteoporosis kezelés széleskörű elterjedését tételezték fel. Olyan országos felmérés, ami a törések számának csökkenése mögött a hatékony osteoporosis kezelés szerepét igazolta volna, a mi vizsgálatunkig nem történt.

Az osteoporosis talaján kialakuló törések mintegy egynegyede csípőtáji törés (12). Magyarországon a csípőtáji törések száma jól nyomon követhető, mert a betegség ellátása minden esetben kórházi ellátáshoz kötött és Magyarországon egy egészségbiztosító lát el mindenkit. A rendszeresen közölt hazai adatok alapján egy húsz éves növekedési trend után a törések számának stabilizálódása látszott az 2001 és 2008 közötti időszakban. A törések számának változását magyarázó környezeti tényezőkkel azonban ezek a vizsgálatok nem foglalkoztak.

#### I.1.1.3. Az osteoporosis patogenesisise

##### I.1.1.3.A. Az involutiós osteoporosis patogenesisise

Az involutiós osteoporosisra a csontok mennyiségének csökkenése mellett a csontot alkotó anyagok minőségének változása jellemző. A csont törékenységének fokozódásában a szerkezet átalakulása legalább olyan fontos szerepet játszik, mint a mennyiségi változások. Éppen ezért a betegség kórélettana nem csak a csont megfogyatkozását, de a szerkezeti változásait és a törékenységének fokozódását is megfelelően kell, hogy magyarázza. A csonttörékenység szempontjából kritikus csontmennyiség kialakulását a fiatalkori csúcs-csonttömeg és a csontvesztés sebessége befolyásolja (13). (2. ábra)

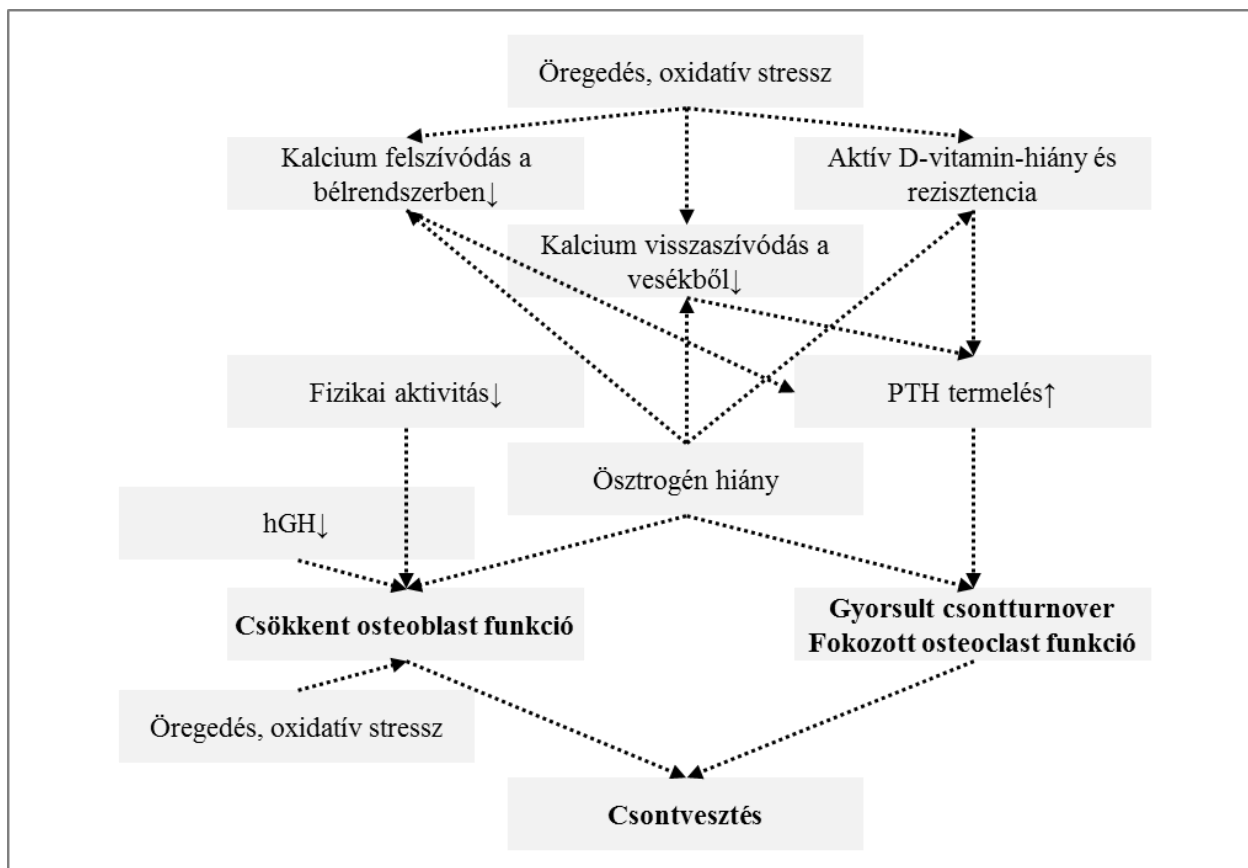


2. ábra A csonttömeg változása az életkor függvényében

A, nagy csúcs-csonttömeg, normál csontvesztés  
 B, kis csúcs-csonttömeg, normál csontvesztés  
 C, kis csúcs-csonttömeg, gyors csontvesztés  
 a,b,c a törési küszöb elérésének időpontja  
 BMD- csontdenzitás

A 20.-30. életév között kialakuló csúcs-csonttömeget, ikervizsgálatok alapján, 50-85%-ban genetikai faktorok határozzák meg (14, 15). Környezeti tényezők közül a nem elégséges kalcium bevitel, a kis születéskori súly, a testmozgás hiánya és a késői pubertás vezethet ahhoz, hogy az egyén nem éri el a számára genetikailag kódolt legnagyobb csonttömeget. Úgy tűnik, a csontépítés sebességének csökkenése miatt, a csontvesztés lassú fázisa korán, már a harmadik dekádban megkezdődhet. Ekkor még a csontbontás nem fokozódik. Ez a folyamat nem nemihormon-függő, valószínűleg a csontsejteket érő oxidatív stressz következménye.

Lényeges változások menopauza környékén kezdődnek. Az ösztrogén szint 90 %-os csökkenése először gyors csontvesztéshez vezet, ami kb. 3-5 évig tart és akár évi 3%-os csontvesztéssel járhat. Ezt követően a progresszió lassul, az évi kb. 0,5-1 %-os csontvesztés a trabeculáris és a corticalis csontokon egyformán megfigyelhető. Az életkor előrehaladtával egyre inkább a corticalis csontvesztés kerül túlsúlyba (16). Az életfogytig tartó lassú csontvesztésben az ösztrogénhiány mellett az öregedési folyamatok következtében megemelkedő szabadgyökök és a PTH (parathyreoid hormon) is jelentős szerepet játszanak (17). (3. ábra)



3. ábra Az involutiós osteoporosis patogenesisise

Gyors csontvesztés a menopauza körül kialakuló hormonhiány következménye. A megmaradt ösztrogén mennyisége befolyásolja a csontvesztés sebességét, az osteoporosis kialakulását. Meglepő módon ezt az összefüggést nem csak nőknél, de idős férfiaknál is igazolták, habár a férfi osteoporosis kialakulása jó néhány ponton különbözik a nőkéétől (18). A menopauza környékén bekövetkező ösztrogén szint csökkenés döntően nem a trabecularis csontok anyagcseréjét változtatja meg, azok jóval inkább a korfüggő, oxidatív stresszel magyarázható változások hatása alatt állnak. Ennek magyarázata, hogy a trabecularis csontban, szemben a corticalis típussal, nem csak  $ER\alpha$  (estrogen receptor alpha), de  $ER\beta$  (estrogen receptor beta) is van, ezért az ösztrogén érzékenysége kisebb, mint a corticalis csontoknak (19). Ezért kis ösztrogén szint változás hatására a trabecularis csontokon már nem érvényesül az ösztrogén „védő” effektusa. A menopauzában létrejövő nagy ösztrogén csökkenés hatása leginkább a corticalis



csontokon jelenik meg. Az ösztrogénhiányban kialakuló változások igen szerteágazóak. Gátolják a csont remodeling aktivációját, a csont remodeling elemi egységeinek (BMU- basic multicellular unit) kialakulását. Gátolja az osteoclastok differenciálódását és gyorsítja az apoptózisukat. Serkenti az osteoblastok differenciálódását a mesenchymális őssejtből és gátolja az apoptózisukat. Gátolja az osteocyták apoptózisát, és valószínűleg az osteocytákon keresztül, a Wnt/ $\beta$ -catenin szignál transzdukciós úttal együttműködve biztosítja a mechanikai terhelésre adott csontválaszt. Részben a csontsejtek számára és életidejére gyakorolt hatáson keresztül, részben közvetlen hatásként fokozza az OPG, gátolja a RANKL termelést. Ösztrogénhiányban az osteoclastok érése gyorsul, számuk növekszik, az életidejük megnyúlik, míg az osteoblastok életideje csökken. Ennek következtében, az osteoblastok és osteoclastok működési egységeként felfogható csont működési egységének egyensúlya megbomlik. Az aktivációs frekvencia, a működő egységek száma nő, a csontbontás és építés ideje, vagyis a remodeling ciklusának hossza megnyúlik. Több és hosszabb ideig működő osteoclast nagyobb üreget váj ki, mint amit a rövidebb ideig működő osteoblastok pótolni tudnának. Ez azon túl, hogy csontvesztéhez vezet, előnytelen, részben irreverzibilis szerkezeti változásokat okoz. A fokozott reszorpció következtében a corticalis csont elvékonyodik, benne a Havers csatornák átmérője növekszik, ami a corticalis porozitást fokozza. A trabecularis csontállományban a trabeculák nem csak elvékonyodnak, de csökken az összterületük és számuk, fokozódik szeparációjuk és az összeköttetésük is átszakad, ami drámaian csökkenti teherbírást. A csontot alkotó szerves és szervetlen anyagban is előnytelen változások jönnek létre, amelyek részben a gyorsult reszorpció, részben az öregedés következtében alakulnak ki. A nem redukálható intermolekuláris kötések aránya nő a kollagén molekulák között, ami a csont rigiditását fokozza. Az újonnan képzett csont mineralizációja lassul, ez az aktivációs frekvencia növekedésének is köszönhetően, a nem megfelelően mineralizált csontállomány arányának növekedéséhez, ezen keresztül a csontszilárdság csökkenéséhez vezet (20). Általában a lassú csontvesztés a menopauza után több mint 5 évvel válik döntő tényezővé az osteoporosis kialakulásában. Ebben is szerepet játszanak az ösztrogénhiány által elindított kórfolyamatok, de a főszerepet az öregedéssel együtt járó változások játsszák. Az ösztrogénhiány már döntően a bélből történő kalcium felszívódás, és a vesében a PTH-tól

független kalcium reabszorpció csökkentésén, valamint a D-vitamin aktiválásán keresztül hat. Ezt támasztja alá az a tény is, hogy idős nőkben az ösztrogénkezelés hatására normalizálódik az emelkedett PTH érték (21).

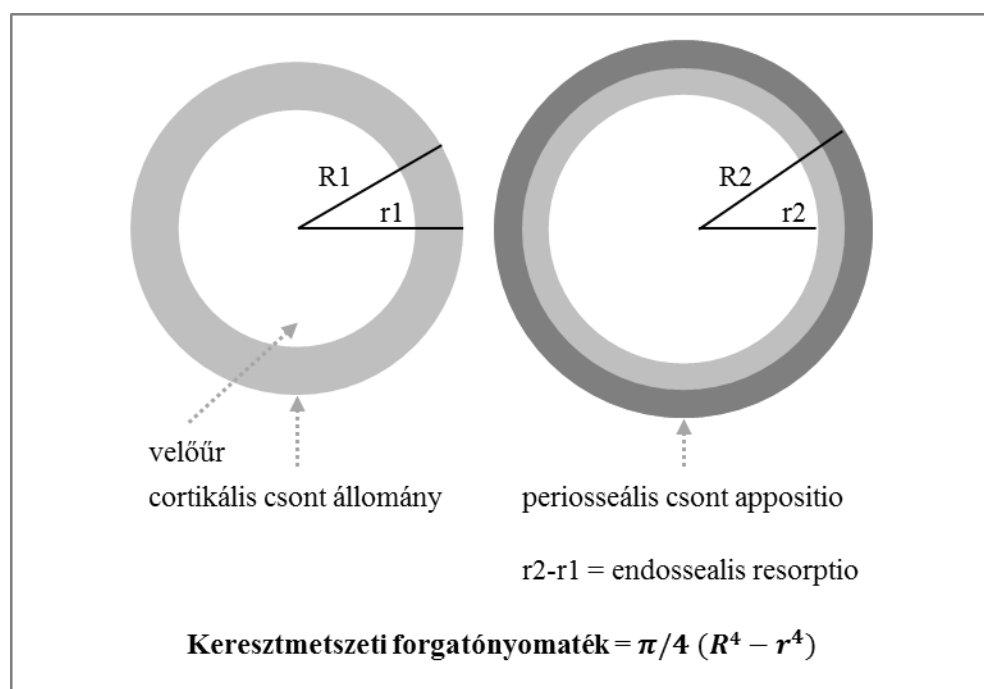
Az ösztrogénhiány hatásától függetlenül is létrejön PTH emelkedés, csontvesztéshez vezető szekunder hyperparathyreosis. Az öregedési folyamat részeként csökken a kalcium felszívódása a belekben, visszaszívódása a vesékben, valamint a D-vitamin  $1\alpha$ -hidroxilációja. Az aktív D-vitamin kialakulásának csökkenése mellett nő a D-vitamin rezisztencia is. Ezen hatásokra kialakuló PTH emelkedés teljesen ellensúlyozható nagy kalcium tartalmú diétával, amely mellett a PTH normalizálódik, a csont biokémiai paraméterek pedig a fiatalfelnőttkori normál tartományba kerülnek (22). A csontbontás fokozódása mellett az osteoblastok működése, így a csontképzés is csökken részben az öregedéssel járó hGH (human growth hormone) csökkenés, részben a csökkent fizikai aktivitás, részben az oxidatív stressz hatására bekövetkező csontsejtváltozások miatt (23). (3. ábra)

Míg a harmadik évtizedtől észlelhető egyenletes csontvesztés döntően a trabeculáris csontokon zajlik, addig a nemihormon-hiány miatt kialakuló gyors csontvesztésben a corticalis csontok is részt vesznek, habár ezek anyagcseréje jóval lassabb a trabecularis csontokénál. Idősebb korban a trabecularis csontok szerepe csökken a teljes csontanyagcserében, mert a csontrendszer kb. 20 %-át kitevő, de annak legnagyobb felületét adó trabecularis csontállomány mennyisége csökken, viszont a kisebb felületet adó, de nagyobb mennyiségű corticalis állomány porozitása fokozódik, aktív felülete növekszik és az ösztrogén szint már nem elegendő a corticalis csontok védelméhez sem (24).

A lassú csontvesztés időszakában a csontvesztés mértéke számszerűleg csökken, de ez nem jár együtt a törékenységi kockázat csökkenésével, mert a kevesebb és már szerkezetileg károsodott csont további elvesztése gyorsabban növeli a csontok törékenységet.

A már említett mennyiségi és mikroszerkezeti változások mellett a csontok makro szerkezetének, alakjának változása is jelentős befolyást gyakorol azok törékenységre. A combnyak hossza (a trochanter lateralis felszíne és a medencecsont belső felszíne közötti távolság) jelentős hatást gyakorol a csípőtáji törés valószínűségére (25). Rövidebb combnyak kevésbé törik. Ugyancsak genetikailag meghatározott a

csigolyatest fedőlemezőnek vastagsága, ami azonos BMD érték mellett is jelentősen befolyásolja a csigolyakompresszió kockázatát. Vastagabb fedőlemez kisebb törési kockázatot jelent. A csöves csontok mérete is öröklődik (26), azonban a pubertás korban környezeti és hormonális tényezők ezt jelentősen befolyásolják. A férfi nemi hormonok, a hGH és az IGF-1 (insulin-like growth factor 1) növelik a periosseális csontépülést (27), míg az ösztrogén gátolja azt. Az ösztrogén serkenti az endosseális csontépítést. Ez az egyik oka a férfiak vastagabb csontozatának, ami a keresztmetszeti forgatónyomaték növekedése miatt a törékenység csökkenéséhez is vezet. (4. ábra) Osteoporosisban mind a gyors-, mind a lassú csontvesztés fázisában az endosteális csontfelszívódás és a periosteális csontképzés dominál, vagyis ez a mechanizmus a csonttörés bekövetkezése ellen hat, mert a csont hajlítási szilárdságát növeli. A periosteális csontképzés csökkenése az osteoblastok működési zavara, vagy az osteocyták csontképzési szignáljának elmaradása vagy elégtelensége miatt, jelentősen növeli a csonttörési kockázatot.

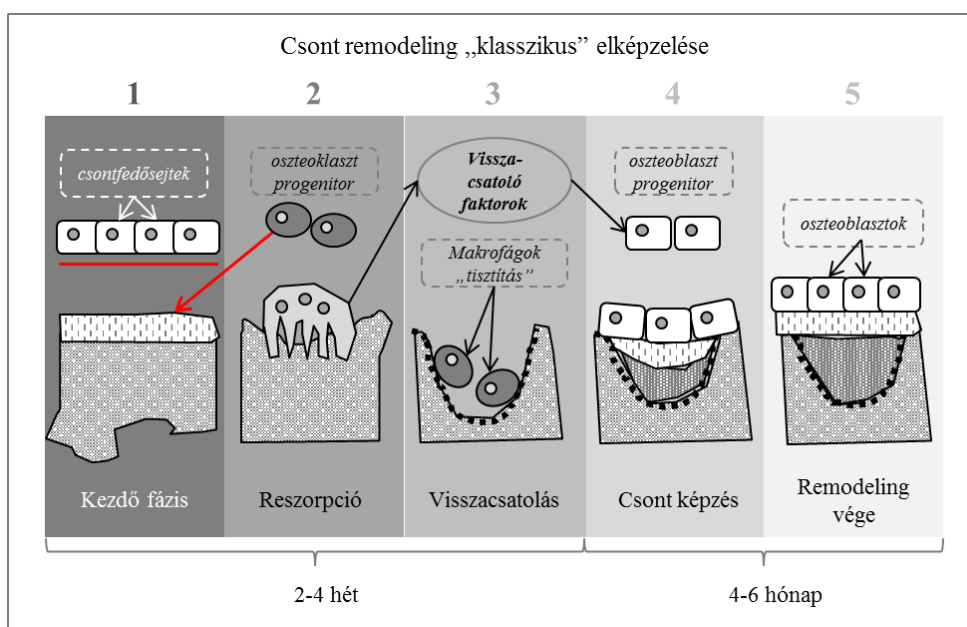


4. ábra Csöves csontok keresztmetszeti forgatónyomatéka

### I.1.1.3.B. Csont remodeling változásai osteoporosisban

Az osteoporosis kialakulásának, a genetikai faktorok szerepének megértéséhez nélkülözhetetlen a csontsejtek működésének, együttműködésének áttekintése. A sejtek egybehangolt működésének kialakulására napjainkban egészen máshogy tekintünk, mint akár 1-2 évvel korábban. A korábbi soksejtű elemi egységekre BMU alapuló modellt (28) felváltotta a csont átalakítási rekeszeket (BRC - bone remodeling compartment) előtérbe helyező szemlélet (29). (5.ábra) A BRC egységeken működő kölcsönhatások ismerete nélkül, csupán az osteoporosis ösztrogén-hiányon, öregedési folyamatokon és külső hatásokon alapuló patogenezis modellje alapján a modern genetikai kutatások eredményei nem értelmezhetőek.

A klasszikus, 1965-re datálódó elképzelés szerint a felnőtt érett csont állapotát a csontsejtek közötti információáramlás, "coupling" határozza meg. Egyensúly esetén a fedősejtek által már nem fedett csontrészelethez kapcsolódó osteoclastok üreget vájnak ki, majd az ide érkező osteoblastok az üreget ugyanannyi csonttal töltik fel, mint amennyit az osteoclast kivájt. E szerint a modell szerint osteoporosis akkor alakul ki, ha a képződő új csont mennyisége kevesebb, mint az osteoclastok által lebontott csont. (5. ábra)

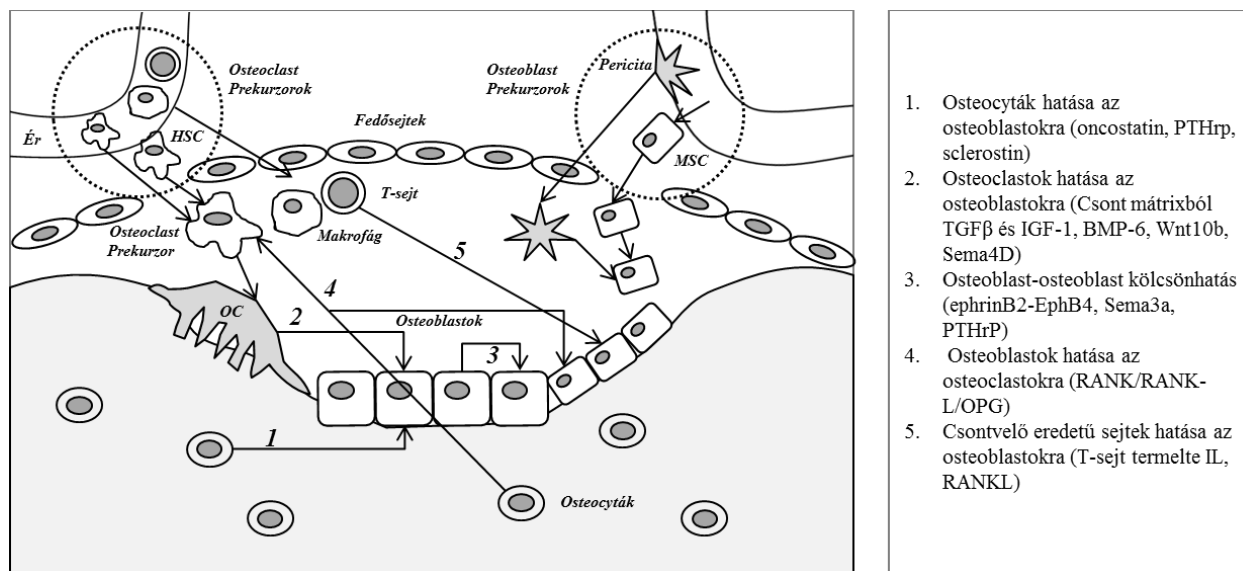


5. ábra A csont remodeling régi modellje

Ennek a modellnek kétségkívül nagy előnye volt, hogy ráirányította a figyelmet arra, hogy a csont egy élő, folyamatosan megújuló szövet, azonban már az 1970-es évektől sokszor nehéz volt összeegyeztetni az új tudományos eredményekkel. A csontanyagcsere genetikai vizsgálatokkal azonosított új szereplői a gyulladásos faktorok, az ephrinek, a semaforinok már nem voltak a régi, mechanikus szemlélettel összeegyeztethetők. Ráadásul az új modellbe olyan bizonyítottan hatékony szereplőket is be kellett illeszteni, melyek valójában nem is a csontsejtek közötti kommunikációt szolgálják, de hatnak a csontsejtek működésére. Előnytelen esetben osteoporosishoz vezethetnek. Nehezen volt magyarázható a csont remodeling időbeli lefolyása is. Egy adott jelre a csont egy adott helyén a sejtek megjelentek, majd eltűntek átadva helyüket az új sejteknek. Jelenlegi tudásunkat ötvöző elképzelés szerint a csont remodeling valamennyi szereplője egyszerre van jelen. A kapcsolat minden sejt között oda-vissza formában folyamatosan létezik. A folyamatot a szabályozó tényezők egyensúlyának változása irányítja.

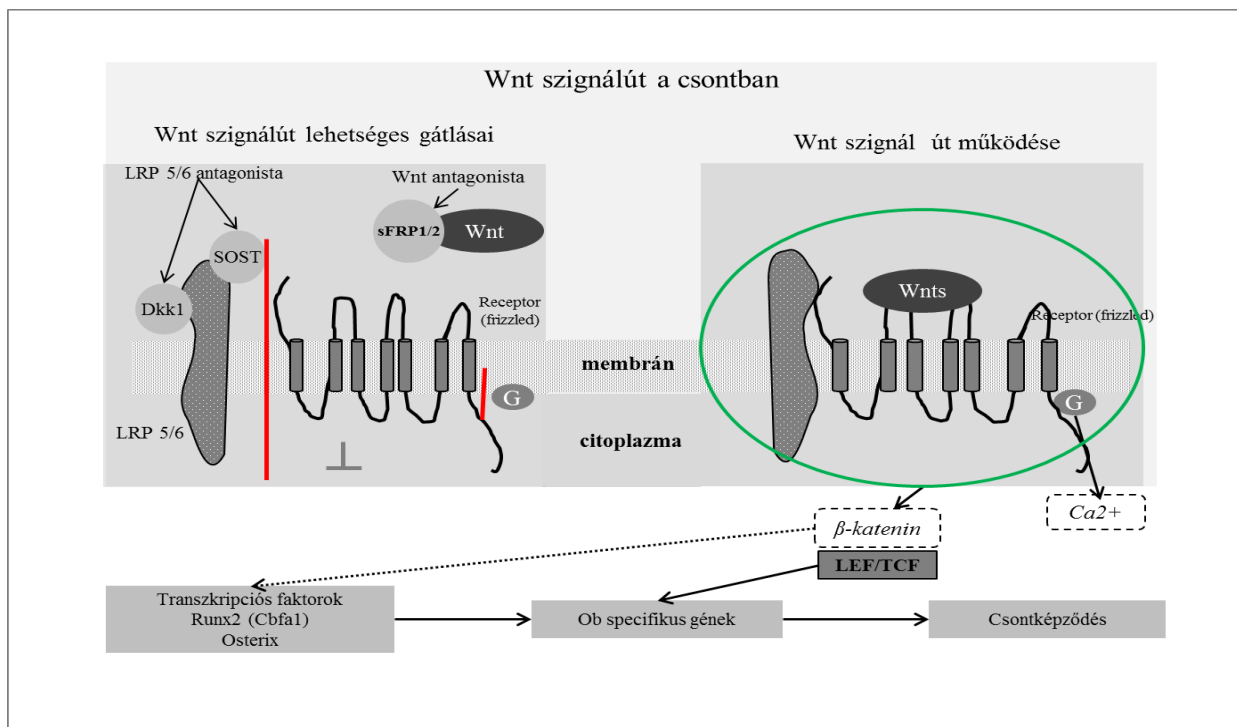
Első lépés a csont remodeling helyének kijelölése. Valójában a csont fedősejtek nem eltűnnek az aktiválódó csontfelszínen, hanem elválva attól egy boltozatot képeznek a csont felszíne felett, ami alatt zajlanak a jelátviteli folyamatok, működnek a csontsejtek (30). A fedősejtek elválásának egyik ingere az osteocytákból érkezik (31). Ennek kiváltója lehet a csontsérülés mellett a csont előregeződése, az osteocyták apoptosisa. A másik jelforrás a BRC-ben az ott jelenlévő kapillárisokból származhat (32). A kapillárisok jelenléte más szempontból is fontos. Mind hemopoeticus őssejtvonalból származó osteoclast előalakok, mind a mesenchymalis őssejtekből (és a pericytákból) származó osteoblast előalakok kerülnek a BRC-be a keringésből. Az osteoclast előalakok migrációját a S1P (shingosin-1-phosphate) segíti elő (33). Az osteoclastok éréséhez szükséges M-CSF (macrophage-colony-stimulating factor), RANKL, VEGF (vascular endothelial growth factor) és nitrogén oxid részben az osteoblast sejtvonalból, részben az endothel sejtekből, részben az ott jelenlévő kapillárisokból bevándorló immunsejtekből származnak (32). A remodeling aktiválódása után a folyamat valamennyi szereplője jelen van a fedősejtek boltozata alatt. Ez nem csak elválasztja a folyamatot a környező csontvelőtől, de biztosítja a jelátviteli mechanizmusban szereplő anyagok megfelelő koncentrációját is. Évtizedekig úgy tekintettünk az osteoblastokra mint a remodeling folyamat karmestereire. Úgy tűnik ez a szerepük ennyire nem egyértelmű. Az osteoblastok

működésének egyik, de valószínűleg nem a legfontosabb szerepe az osteoclastok RANKL-on keresztüli serkentése. Az osteoclastok éréséhez szükséges RANKL döntő része hemopoeticus sejtekből, a T sejtekből származik (34, 35). Osteoblastok inkább az osteoclast aktivitást gátló OPG termeléssel szabályozzák az osteoclastok érését (36). Az osteoblast ugyanakkor Sema3B (semaphorin3B) termeléssel fokozza az osteoclastok érését (37). Az osteoclast hatása az osteoblastra részben a csont mátrixból felszabaduló TGF $\beta$ -n (transforming growth factor béta) (38) és IGF-1-en (39) keresztül érvényesül. A TGF  $\beta$  mesenchymalis őssejtek migrációját fokozza a BRC-be, az IGF-1 az osteoblast érését segíti elő. Szabályozásuk plasminogén aktivátorral történik. Mindkét fehérje komplexként van jelen a csontban, majd kiszabadulva onnan az osteoblast által termelt plasminogén aktivátor aktiválja azokat (40, 41). Közvetlen osteoclast hatást gyakorol a CT-1 (cardiotrophin-1) is, amely stimulálja az osteoblastok differenciálódását (42), épp úgy, mint az osteoclastok által is termelt BMP-6 (bone morphogenetic protein 6) és a Wnt10b (43, 44). (6. ábra)



6. ábra Basic Multicellular Unit (BMU) működésének vázlata  
(Sims A.N., Martin T.J., Bonkey Rep.2014,3:481 alapján módosított ábra)

A csontsejtek közötti kapcsolatban fontos szerepet tölt be az osteocyta hatás az osteoblastokra. Az összes csontsejt 95% osteocyta. Az a régi elképzelés, hogy ezek a nyugvó állapotban lévő sejtek csak a csontmátrixba került osteoblastok lennének jelentősebb szerep nélkül, mára teljesen megdőlt (45). Hálózatuk különleges szerepet tölt be a csontok működésének szabályozásában is. Az osteocyták termelik az OSM-t (oncostatin), ami a leginkább az osteoblast stimulációjában játszik szerepet (46), fokozva a csontképzést és a PTHrp (parathyroid hormone-related protein) termelést is, ami szintén pozitív hatással van az osteoblast differenciálódásra (47). Úgy tűnik, hogy az osteocyták által termelt legfontosabb szabályozó faktor a sclerostin, ami az LRP5-höz (low-density lipoprotein receptor-related protein 5) kötődve gátolja az LRP5-Wnt-Frizzled protein triplét kialakulását, ezáltal a Wnt szignálút aktiválódását, az osteoblaston belüli béta-katenin szint emelkedését (7. ábra).



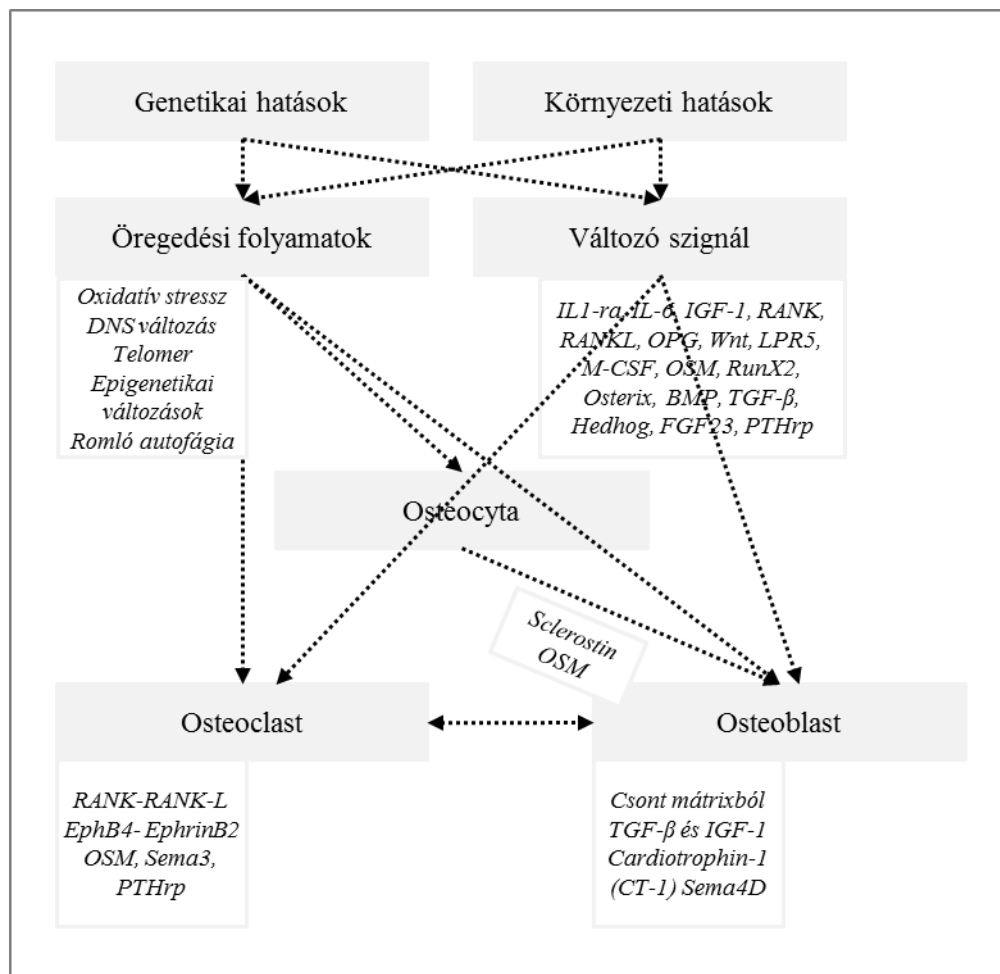
7. ábra Wnt szignálút gátlása és működése a csontban

SOST - sclerostin; LRP5/6 - Low-density lipoprotein receptor-related protein5/6;  
 DKK1 - Dickkopf-related protein1; sFRP1/2 - secreted frizzled-related protein1/2;  
 LEF/TCF - T-cell factor/lymphoid enhancer factor

Mechanikai terhelés hatására a sclerostin termelés csökken, ezáltal a Wnt szignálút aktiválódik. Mechanikai terhelés hiányában a sclerostin termelés fokozódik, a csontképzés csökken. A mechanikai terhelésre adott csontválasz szabályozásában az osteocyták a sclerostin mellett az általuk termelt RANKL-OPG arány dinamikus változtatásával és az FGF23 (fibroblast growth factor 23) termelés módosításával is részt vesznek (48). Végül, de nem utolsó sorban a sejt-sejt interakciónak is fontos szerepe van a szabályozásban. Döntően ez osteoblast-osteoblast egymásra hatást jelent. Ebben az ephrin B2 (49), a RUNX2 (runt-related transcription factor 2) (50), a PTHrp (51), az OSM (46) és a Sema3a (52) játszik jelentős szerepet. (6. ábra)

Osteoporosisban a csontműködésnek ez a sokszereplős, kényes egyensúlya felbomlik. Ennek hátterében állhatnak genetikai okok is. Valamilyen polimorfizmus, mutáció befolyásolhatja előnyösen vagy előnytelenül az egyes faktorokat. Állhatnak a háttérben környezeti okok, ezek részben a klasszikus hormonális úton (PTH, D-hormon, kalcitonin), részben a csont terhelésén, részben a BRC-ben jelenlévő immunsejtek működésének változásán keresztül érvényesülnek. Az öröklött adottságok és a változó környezeti tényezők mellett a kor előrehaladtával egyre nagyobb szerepet játszanak az öregedéssel összefüggésbe hozható, a csontanyagcsere valamennyi szereplőjére egyformán ható tényezők (8. ábra). Az öregedés folyamatát is befolyásolják a genetikai adottságok és a környezeti tényezők.





8. ábra A csontanyagcsere egyensúlyát befolyásoló tényezők

#### I.1.1.4. Az osteoporosis kezelése

Az osteoporosis kezelésében ma már több alapvetően különböző hatásmechanizmusú gyógyszercsoport érhető el. A minden esetben adandó bázis terápia mellett a jelenleg elérhető kezelések egy része a csont reszorpció gátlásán másik része a csontképzés fokozásán keresztül hat. Mindegyik kezelésre igaz, hogy a nem megfelelő compliance vagy a túl rövid kezelési periódus alapvetően befolyásolja a kezelés hatásosságát (53).

#### I.1.1.4.A. Reszorpció gátló kezelések

##### Női hormonpótló kezelés

A HPK (női hormonpótló kezelés) alkalmazása az osteoporosis terápiájában jelentősen visszaszorult az elmúlt 15 évben, annak ellenére, hogy ez az egyik bizonyítékokkal legjobban alátámasztott kezelési forma és oki kezelés is postmenopausas osteoporosisban (54). Az osteoporosis kezeléséből a WHI (Women's Health Initiative) vizsgálat negatív kardiovaszkuláris és emlőrák eredményei miatt szorult ki (55). A WHI vizsgálat tervezését, felépítését és a használt hormonokat, illetve azok adagját is számos bíráló érte (56). Ennek ellenére nem került vissza a postmenopausas osteoporosis kezelési lehetőségei közé. A női hormonpótlást ma elsősorban a klimax szindróma kezelésére alkalmazzuk. Méheltávolításon átesett nők számára ösztrogén monoterápia javasolt, míg a nem hysterectomizált, 60 évnél fiatalabb nők számára, menopauza után tíz éven belül kombinált hormonterápia ajánlott, amely esetében célszerű a gesztagént szisztémás alkalmazás helyett, lehetőség szerint lokálisan alkalmazni.

##### SERM (szelektív ösztrogénreceptor modulátorok)

Azokat a vegyületeket, amelyek az ösztrogén-receptoron hatnak, de a receptort különböző szövetekben különbözőképpen aktiválják, SERM-nek (szelektív ösztrogén-receptor modulátor) nevezzük. Ezek egyes szövetekben ösztrogén agonistaként, más szövetekben ösztrogén antagonistaként működnek. A SERM csoport osteoporosis szempontjából legtöbbet vizsgált tagja a raloxifen. A MORE (Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation) vizsgálatban 7704 postmenopausas nőn a csontsűrűség 2-3%-os emelése mellett a csigolyatörések számát a korábban még nem törötteken 60%-kal, a korábban már csigolyatörést elszenvedetteken 37%-kal csökkentette 4 éves kezelés során. A combnyaktörések száma azonban nem csökkent szignifikáns mértékben (57). Az elemzések szerint a raloxifen törési kockázatot mérséklő hatásának csak 4%-a magyarázható a BMD növekedésével, azaz döntő részben más tényezőkön, a csontminőség változásán keresztül hat. Emellett bizonyítottan jelentősen csökkenti ösztrogénreceptor-pozitív invazív emlőrák incidenciáját (58) és mérsékelten emelheti a vénás thromboemboliás kórképek előfordulását. Ezért ma olyan késői postmenopausas osteoporosisban szenvedő nőknek ajánlható, akik már

túl vannak a korai menopauzaszindróma tüneteinek, és/vagy a menopauza hormonkezelésén, nincsen fokozott vénás thromboemboliás betegségre való hajlamuk, ugyanakkor emelkedett az emlőrák rizikójuk.

### Biszfoszfonátok

A csonttritkulás kezelésében leggyakrabban alkalmazott készítmények az aminobiszfoszfonátok. Ezek a mevalonsav biokémiai útvonalon belül a farnezil pirofoszfátáz enzimet gátolják, és így megakadályozzák a preniláció folyamatát, amely viszont elengedhetetlen a csontbontó osteoclast cytoskeletonjának szerveződéséhez és a csonthoz való kötődéséhez. A gátolt működésű, korai apoptózison áteső osteocyták miatt a csontbontás jelentősen csökken. A biszfoszfonátokat elsősorban fokozott csontreszorpció és törési kockázat esetében alkalmazzuk. A mindennapi gyakorlatban az alendronat, a risedronat és az ibandronat szájon át alkalmazható. A vertebrális töréseket kb. 50 %-al, a nem vertebrális töréseket 20-30%-al csökkenti a 3 éves kezelés (59, 60). A biszfoszfonátok biológiai felezési ideje hosszú, azaz tartósan a csontszövetben maradnak, így hatásuk is tartós, minimum 2-3 éves időtartamú. Az iv. adható, a törési kockázatot legjobban csökkentő zoledronát esetében 3 éves kezelés hatása akár 6 évig is elegendő lehet (61, 62).

### A RANK ligand ellenes monoklonális antitest, a denosumab

A denosumab RANKL elleni human antitest, amit 6 havonta subcutan injekció formájában kell adagolni. A denosumab hatása reverzibilis, azaz ha 6 hónap elteltével a beteg nem kap újabb injekciót, a csontanyagcsere visszaáll a kezelés előtti szintre. A RANKL gátlásával csökken a csontbontó osteoclastok érése és aktivitása, ennek eredményeképpen a csontbontás sebessége, és végső soron a csontok törékenysége. A biszfoszfonátokat meghaladó mértékű törési kockázat csökkenés érhető el denosumab alkalmazásával (63). Az antireszorptív hatás jelentősebb, mint az alendronát kezelés esetében, mind a csontbontást tükröző laboratóriumi markerek, mind a csonttömeg, illetve csonttömeg alakulását tekintve. A denosumab a csont trabecularis állománya mellett a corticalis csontállományra is jelentős hatást fejt ki, ami döntő a csont szilárdsága szempontjából (64). Hosszú távú, három éven túli alkalmazás során sem

csökken hatékonysága (65). Veseelégtelenség esetén nem változik a gyógyszer farmakokinetikája, ezért vesebetegeknek is adható.

### Stroncium ranelát

A periódusos rendszerben a kalciummal egy csoportba tartozó stroncium a csontbontás jelentős gátlásával és a csontképzés mérsékelt fokozásával befolyásolja a csontanyagcserét, ennek eredményeképpen a csontátépülés egyensúlya eltolódik a csontképződés irányába. A csonttömeg jelentősen növekszik, ám ennek kb. 50%-a artefaktum, mivel a stroncium atom nagyobb méretéből következően befolyásolja az abszorpciometrián alapuló denzitometriás méréseket. A maradék kb. 50% azonban valós csonttömeg-növekedés, amelynek következtében a vertebrális relatív kockázatát több mint 40 %-al, a nem vertebrális törések relatív kockázatát pedig közel 20 %-al csökkenti (66). Ebben azonban valószínűleg annak is szerepe van, hogy ez a készítmény pozitívan hat a corticalis csontállományra, amely a csontszilárdság alapvető tényezője. Ez a pozitív hatás 10 éves kezelés során is megmarad (67) . A stroncium-ranelát terápia hatékonysága nem függ a menopauza kezdetétől, az attól eltelt időtől, az osteoporosis súlyosságától vagy korábbi csonttörés elszenvedésétől. A stroncium kezelés olyan késői menopauzában lévő osteoporotikus nőknek javasolt, akiknek a csontreszorpciója nem kifejezetten gyors, de a törési kockázatuk fokozott. Napjainkban felmerült annak gyanúja, hogy a kardiovaszkuláris kockázatot - bizonyos esetekben - emeli alkalmazása, ezért használata a mindennapi gyakorlatban visszaszorult.

#### I.1.1.4.B. A csontképzést fokozó kezelési formák

A strontium ranelát is képes valamelyest fokozni a csontképzést, de hatásának döntő része a csontbontás gátlásán keresztül érvényesül, ezért nem soroljuk a csontképzést fokozó készítmények közé.

#### Teriparatid és PTH

A parathormon (84 aminosav) és az első 34 aminosavat tartalmazó polipeptidjének, a teriparatidnek intermittáló alkalmazásával, tisztán anabolikus, azaz csontépítő hatást érünk el. A teljes peptid, az 1-84-parathormon hazánkban nincs forgalomban. Az eddigi tapasztalatok lényegesen kedvezőtlenebbek, mint a teriparatiddal. A teljes molekula esetében nem igazolódott előnyös hatás a nem vertebrális törésekre és a mellékhatások (hypercalcaemia) gyakorisága is jelentős volt.

A naponta egyszer, subcutan injekció formájában adott, 1-34 aminosav részletet tartalmazó teriparatid jelentősen növeli a csonttömeget és több mint 60 %-al csökkenti a vertebrális és több mint 50%-kal a nem vertebrális törések kockázatát (68). A teriparatid hatékonysága független az életkortól, a kiinduláskor mért csontsűrűségtől és a korábbi csigolyatörések számától. A teriparatid javítja mind a corticalis, mind a trabecularis csontállomány szerkezetét. A teriparatid kezelés elhagyása után is tartósan alacsony marad az új csigolyatörések kialakulásának kockázata a postmenopausás osteoporosisban szenvedőkön még 3 évig. A teriparatid kezelés után a megnövekedett csontsűrűséget stabilizálhatja a teriparatid után alkalmazott anti-reszorptív terápia. A teriparatid férfiakon és glükokortikoid indukálta osteoporosisban szenvedőkön is hatékony (69, 70). A nagy törési kockázatú vagy más készítményekre nem megfelelően reagáló betegnél célszerű ezt a kezelési formát alkalmazni, a jelen európai szabályozás szerint maximum 18 hónapig.

#### I.1.1.4.C. A compliance és a perzisztencia szerepe az osteoporosis kezelésben

Az osteoporosis kezelés sikerében különleges szerepet játszik a betegek együttműködési készsége a compliance és a kezelés melletti időbeli kitartás, a perzisztencia (71). Krónikus betegségek kezelésében már az 1970-es évek óta ismert, hogy a betegek valódi együttműködése messze elmarad az orvos által feltételezettől (72). Az osteoporosis esetében, ami hosszú évekig, az első csonttörés megjelenéséig

tünetmentes lehet, különösen nagy gondot jelent a betegek együttműködésének hiánya. A biszfoszfonátok megjelenése előtt is kifejezetten rossz volt az osteoporoticus betegek compliance-e és perzisztenciája a kezeléshez (73, 74), vagyis ezek nem magyarázhatóak a biszfoszfonátok esetleges mellékhatásaival. A biszfoszfonátok megjelenésével nem javult a helyzet (75), bár a heti (76), majd havi (77), végül az évi egyszeri adagolási mód javított mind a compliance-en, mind a perzisztencián. Azonban a betegek több mint fele egy év után már nem szedte az osteoporosis elleni kezelést (78) (79). A napi injekció formájában adott teriparatid kezelés jelent valamelyest kivételt. A 80 % feletti compliance-et és perzisztenciát magyarázhatja a különleges adagolási mód, a kezelés idejének behatárolt volta és az, hogy ezt a kezelést a legsúlyosabb osteoporosisban szenvedők kaphatják csupán (80). A rossz compliance és perzisztencia súlyos következményekkel jár. A klinikai vizsgálatokkal nyert töréscsökkentő eredmények csak 80 % feletti compliance esetén jelennek meg a valós életben (81). Rossz compliance növeli a törések és a kórházi kezelések számát is (82).

A kérdés jelentősége ellenére 2016-ig nem rendelkezünk reprezentatív magyarországi adatokkal (79).

#### I.1.1.5. Az osteoporosis szövődményei - Csonttörések

A kis erőbehatásra - testmagasságnál nem magasabb helyről történő esések miatt - bekövetkező csonttöréseket tartjuk osteoporosis talaján kialakult töréseknek. Ezek típusos helyei a radius distalis vége, humerus proximális vége, csípőtáj (combnyak, pertochanter) és a csigolyák. Emellett, ritkábban bármely csonton kialakulhat törés kis erőbehatásra, a csont mennyiségének és szerkezeti változásának következtében. Ebben az összefoglalóban a két legfontosabb osteoporoticus eredetű töréstípussal, a csigolyakompresszióval és a csípőtáji töréssel foglalkozom részletesebben.

#### Vertebrális törések

A csigolyakompresszió gyakorisága nő meg leghamarabb, már a menopauzát követő években. Egy európai felmérésben a korra standardizált csigolyadeformitás az 50 év feletti korosztályban a nőknél 20% a férfiaknál 12% volt. A deformitás gyakorisága az 50-59 éves és a 70-79 éves korcsoportok között több,

mint háromszorosára nőtt (83). A kompresszió leggyakrabban a középső háti és a thoraco-lumbalis átmenetben lévő csigolyákon alakul ki (84). Az enyhe deformitások csak kb. 20%-a, a súlyos deformitások 40 %-a okoz jellemző klinikai tüneteket (85). Ezek a háti fájdalom, a gerinc mozgékonyságának csökkenése, nehezített mozgás, csökkenő magasság, progresszív kyphosis, romló légzésfunkció, has elódomborodása, korai teltségérzés, puffadás lehetnek. Mindezek súlyosan befolyásolják az életminőséget (86). A csigolyakompressziók 75 %-a nagyobb trauma nélkül következik be, míg a csípőtáji törésnél ez az arány csak 10 %. A csigolyakompresszió önmagában más rizikófaktoroktól függetlenül, a legerősebb előre jelzője a következő törés bekövetkeztének. Három év alatt négyszeresére (57), tíz év alatt több mint tízszeresére (87) növeli az újabb csigolyakompresszió esélyét a korábban bekövetkezett vertebrális törés. Nem csak a következő töréseket jelzi előre a csigolyakompressziója, de a fokozott mortalitási kockázatot is. Öt éves követés során megelőző csigolyakompresszió nőknél közel kétszeresére, férfiaknál közel négyszeresére emelte az adott életkorra jellemző halálozási kockázatot (88).

### Csípőtáji törések

Férfiaknak 6% esélyük van arra, hogy életük során csípőtáji törést szenvedjenek, míg postmenopausás nőknél ez a kockázat 14% (89). A csípőtáji törések gyakorisága 65 éves kor felett kezd el meredeken emelkedni és többségük 75 év felett következik be (90), amikor már a corticalis csontvesztés dominál. Hazánkban 1987-ben Kazár és munkatársai kb. 8000 csípőtáji törést azonosítottak (91). 1995-ben Poór és munkatársai 14 345 csípőtáji törésről számoltak be (9692 nő és 4653 férfi) (92). 1999-2003 közötti időszakban a combnyak és pertrochanter törések számának csökkenését regisztrálták Péntek és munkatársai, az évenkénti átlagos törésszám 12 265 volt az 50 feletti populációban (93). Héjj 2001 és 2008 közötti időszakban a korábbi növekedési trendhez képest a törések számának stabilizálódását írta le Magyarországon (94). A csípőtáji törésekkel kapcsolatos halálozás rendkívül magas világszerte. Magyarországon a műtétet követő 4 hónapon belül a betegek negyede, egy éven belül egy harmada hal meg. A töréssel összefüggésbe hozható közvetlen halálozás 25 % volt (95)! A csípőtáji törésen átesett

betegek ellátásának egészségügyi költsége is óriási. Az USA-ban a csípőtáji törés 316 000 kórházi ellátást igényelt 2011-ben. Ennek összköltsége közel 5 milliárd dollár volt (96). Magyarországon a csípőtáji törés elsődleges ellátása 1-1,5 millió forint egészségügyi kiadást jelent, de a szövődmények ellátásával és a szükséges rehabilitációval ez az összeg 6 millió forint fölé is emelkedhet (97).

### I.1.2. Osteomalacia

A D-vitamin nem valódi vitamin, csupán orvostörténeti okokból nevezzük így. Mivel a szervezet képes termelni, több lépcsőn keresztül aktiválódik, és saját receptora van, valójában az aktivált D-vitamin egy szteroid hormon. Ennek ellenére, - a szokásoknak megfelelően - mégis az elfogadott D-vitamin nomenklatúrát fogom használni.

A D-vitamin az egyik legősibb vegyület. Szinte minden élőlényben jelen van. Az evolúció során szerepe jelentősen változott, az UV (ultaviolett) fény elleni védelemtől, a megfelelő kalcium szint biztosításán keresztül, a sejtműködés szabályozásáig (98). Aktiválódása eredményeképp kialakuló  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  a legősibb hormon az élőszervezetekben. Hatása szerteágazó, szinte minden szervrendszerben kimutatható. Napjainkban a D-vitamin-hiány az egyik legnagyobb egészségügyi probléma a civilizált világban, melynek jelentőségéről egyre több információ áll rendelkezésünkre (99).

#### I.1.2.1. D-vitamin anyagcseréje

A D-vitamin egy a napfény hatására az emberi szervezetben kialakuló, vagy a táplálékkal bekerülő előanyag, amiből számos lépésben aktiválódik az egyik legősibb szteránvázas hormon. A bőrben 7-dehidrokoleszterolból a napfény UV-B sugárzásának (290-315 nm) hatására  $\text{D}_3$ -previtamin, majd  $\text{D}_3$ -vitamin alakul ki (99-103). Habár a bőr D-vitamin-képző kapacitása hatalmas, nyáron fürdőruhában történő napozáskor a bőr enyhe pirulását okozó napsugárzás hatására 10-20 000 NE  $\text{D}_3$  vitamint képez (103). Pusztán napsugárzással  $\text{D}_3$ -vitamin túlkínálat nem alakulhat ki (104). Ennek oka, hogy túl sok UV-B sugárzás hatására a pre-vitaminból inaktív anyagok képződnek (105) és a bőr fokozódó pigment tartalma gátolja a  $\text{D}_3$ -vitamin képzést. A  $\text{D}_3$ -vitamin-képzés az életkorral jelentősen csökken, ami részben



magyarázza az idősokban mért gyakori hiányt (106). Általában 10-30 perces (évszaktól, napszaktól és UV-B sugárzás erősségétől függően), az arcot és a fedetlen végtagokat érő napsugárzás, tavasztól ősziig elegendő a D<sub>3</sub>-vitamin képzéséhez (102, 107, 108). A reggeli és délutáni, a késő őszi, téli és kora tavaszi napsugárzás D<sub>3</sub>-vitamin képző hatása a mi égövünkön nagyságrendekkel kisebb, ezért a megfelelő D-vitamin szint eléréséhez nem elegendő. A szoláriumok által kibocsátott UV-A sugárzás nem alkalmas D<sub>3</sub>-vitamin képzésére.

A D<sub>3</sub>-vitamin ellátottság alapvetően nem étrendi kérdés. Az átlagos magyarországi étrend napi ~ 2 µg-ot, 80 NE-et biztosít (109), de más országokban is 150 NE körül van a bevitel (110).

A D<sub>3</sub>-vitamin épp úgy, mint a növényi eredetű D<sub>2</sub>-vitamin, aktiválódásának első lépéseként a májban hidroxilálódik a 25. szénatomon (102, 111). Ezt a hidroxilálást több enzim is képes elvégezni, a reakció többszörösen túlbiztosított, ezért csak súlyos májbetegségben alakulhat ki zavara. A 25OHD a DBP-hez (vitamin D binding protein) kapcsolódva jut a keringésbe. Az aktív formává alakuláshoz szükséges 1. szénatomon történő hidroxiláció részben a vesében zajlik. Ennek működése szoros kontroll alatt áll, ami védi a szervezetet a túl sok aktivált D-vitamin kialakulásától. A vesében keletkező aktív hormon alapvetően a kalcium-anyagcserében játszik szerepet.

Az 1α-hidroxiláció sok más szövetben, például a bőrben, az emlőben, az immunsejtekben, a placentában, a szívizom, az erek és a vastagbél simaizom sejtjeiben is működik (112). Ezt az enzimátikus lépést azonban már más szövetspecifikus faktorok, például gyulladásos citokinek szabályozzák. A vesén kívül keletkező aktív D-vitamin döntően autokrin-parakrin hatást fejt ki (113), és a sejt osztódásra illetve differenciálódásra van hatással számos más szervspecifikus hatás mellett.

Az 1,25(OH)<sub>2</sub>D-vitamin hatása részben genomikus, ami a gének 3-5%-ának átíródását bizonyítottan befolyásolja, részben nem genomikus hatás, ami a sejtmembránon és a citoszolban elhelyezkedő VDR-en (vitamin D receptor) keresztül érvényesül (114-116).

### I.1.2.2. D-vitamin-hiány

Az angol nyelvű irodalomban használt D-vitamin-hiány (deficiency) és az elégtelen ellátottság (insufficiency) nem különül el élesen. Ezért helyesebb egységesen a D-vitamin-hiány elnevezés használata, és azon belül a súlyos és enyhe formák elkülönítése. A klasszikus beosztás szerint a súlyos csonttünetekkel, osteomaláciával, más néven „Angol-kórral” járó betegséget azonosították a D-vitamin-hiánnyal (25OHD <10 ng/ml vagy 25 nmol/l). Később, populációs adatok alapján, 20 ng/ml-re emelték a normál tartomány alsó határát. Jelenleg legtöbb helyen ez az érték szerepel a laboratóriumi leleteken (117). Élettani adatok alapján azonban már évtizedek óta ismert, hogy 30 ng/ml (75 nmol/l) alatt a D-vitamin-hiány parathormon (PTH) emelkedéssel és csontvesztéssel társul. A legújabb adatok alapján ez alatt az érték alatt már a csontminőség is súlyosan károsodik, szöveti szinten osteomalacia alakul ki (118). Jelenleg ezt a 30 ng/ml-es értéket tekintjük a D-vitamin-hiány határának. Valószínűleg a csontrendszeren kívüli ideális hatáshoz 40-50 ng/ml közötti érték kellene, ez azonban még további bizonyításra vár.

A D-vitamin-hiány egy civilizációs megbetegedés. Az anyagcsere adatok igazolják, hogy a D-vitamin hiánya nem étrendi kérdés. Még megfelelően összeállított diétával is csak a szükséges mennyiség tizedét tudnánk bevinni. A D-vitamin-hiány kialakulása egyértelműen a bőrt érő napsugárzás – UV-B sugárzás - mennyiségének csökkenésével magyarázható. Magyarországon naponta szükséges UV-B sugárzáshoz márciustól októberig, a végtagokat, a vállat és az arcot érő, napi 15 perces, 10 és 16 óra közötti, direkt napsugárzás elegendő lenne. Azonban Magyarországon is számos civilizációs és földrajzi tényező gátolja a megfelelő mennyiségű D-vitamin képzését.

Sötétebb bőrűeknek jóval több UV-B sugárzásra van szükségük, ami fekete bőrűeknél akár két és félszer nagyobb sugárzás igényt jelent. A fokozott bőrrák kockázat miatt - egyébként helyesen - terjedő napvédő faktorok is gátolják a D-vitamin-termelést. Nyolcasnál nagyobb faktorú krémek mellett már gyakorlatilag nincs D-vitamin-képzés. Természetesen az ablakon átjutó fény sem hasznosítható ilyen szempontból. A D-vitamin-képzés az életkorral jelentősen csökken, ami részben magyarázza az idősokban mért gyakori hiányt (106). A 35. szélességi foktól északra a téli napsugárzás hatásossága jóval kisebb. A téli-tavaszi D-vitamin-hiány legfontosabb oka, hogy Magyarországon október közepétől márciusig, az alacsonyan beeső

fény miatt a napsugárzás D-vitamin-képzésre alig (nem) hasznosítható. A nyáron-ősszel termelt és raktározott D-vitamin pedig a 3-4 hetes felezési ideje miatt nem tart ki a tél végéig. A hiány gyakoriságának növekedését részben a népesség testsúlyának növekedése magyarázza. A D-vitamin zsírban oldódó, ezért nagyobb mennyiségű zsírszövet esetén ugyanaz a mennyiségű vitamin nagyobb térben oszlik el és szérumszintje már elégtelen lehet (106).

A D-vitamin-hiány rendkívül gyakori. Első pillanatban meglepő módon, lényegileg hasonló 60 % körüli gyakoriságot találtak a 35. szélességi foktól az egyenlítő felé eső országokban, mint az attól távolabb élő népeknél. Azonban, ha figyelembe vesszük az egyenlítőhöz közeli népek sötétebb bőrszínét és a napsugárzás elleni védelem módjait, már nem is annyira meglepő ez az adat. Európában a régi normálértékek mellett általában (20 ng/ml) 30 % körüli, de a jelenlegi 30 ng/ml-es értéknél már 50-70 % körüli a D-vitamin-hiány a gyakorisága. A mérsékelt égövben, így nálunk is, a D-vitamin ellátottság szoros összefüggést mutat az évszakok változásával. Leggyakoribb télen és tavasszal. A nyáron és ősszel mérhető 50 % körüli gyakoriság erre az időszakra 70 % fölé emelkedik (99). A kérdés fontossága ellenére, a mi vizsgáltunkig, nem volt sem egy ország népességére reprezentatív, sem a D-vitamin-hiány legalacsonyabb pontját leíró adat.

#### I.1.2.2.A. D-vitamin-hiány csontvázrendszeri hatásai, tünetei

A vérben keringő  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , vagyis D-hormon legfőbb szerepe a kalcium-anyagcsere szabályozása. A kalcium/foszfát anyagcsere szabályozásában szoros kölcsönhatásban van a PTH-val és az FGF23-al. Ugyan a D-hormonnak közvetlen csonthatásai is ismertek, mégis legfontosabb szerepe a megfelelő kalciumellátottság biztosításában van. Genetikai módszerrel VDR hiányossá tett egerekben nagy kalcium tartalmú diétával a D-vitamin-hiányra jellemző szekunder hyperparathyreosis, az osteomalacia és a hypocalcaemia is megszüntethető volt (119). A D-vitamin a szérum kalciumot legfőképp a bélből történő felszívódáson keresztül képes befolyásolni. Az aktív kalcium felszívódás arányát, így a kalcium felszívódás hatékonyságát döntően a TRPV6 (transient receptor potential cation channel subfamily V

member 6) kalcium szelektív csatornán keresztül növeli (120). Ez is mutatja, hogy a kalcium-anyagcsere szempontjából nincs értelme külön ideális kalcium és ideális D-vitamin ellátottságról beszélni. A D-vitamin-szint függvényében változik a napi kalcium szükséglet. Harminc ng/ml feletti értékeknél a kalcium felszívódás javulásában plató alakul ki, vagyis az aktív transzport aránya már nem nő tovább jelentős mértékben. A mindennapi gyakorlat szempontjából rendkívül fontos, hogy az ajánlásokban javasolt kalcium bevitel csak normál D-vitamin szint mellett elegendő (110).

Közvetlenül csontsejtekre gyakorolt hatása rendkívül összetett, az osteoblastokon és az osteoclastokon is érvényesül. Az aktív D-vitamin növeli a RANKL mennyiségét, ezen keresztül fokozza az osteoclastok érését, ugyanakkor gátolja a kifejlett osteoblastok apoptosist (121), fokozza a Cbfa1 (core-binding factor alpha1) és a BMP 2 és 6 (bone morphogenetic protein 2 és 6) átíródását (122), sőt gátolja az adipogenezist a PPAR- $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) expresszióján és aktiválódásán keresztül (121), valamint fokozza az LRP5 expresszióját, ezért fokozza a csontképzést. A VDR átíródásának fokozása - kísérleti állatokban - nagyobb csontképzéssel járt (123). D-vitamin-hiányban ugyanakkor a gyors csontanyagcseréjű csontvesztés uralja a képet, ami döntően a másodlagos PTH emelkedés következménye. Ezt súlyosbítja a csont mineralizáció zavara (118), ami extrém hiányban (<10 ng/ml) a rachitis típusos képét okozza.

A rachitis és az osteomalacia ugyanazon kórkép életciklustól függő megnyilvánulási formái. A rachitis gyermekkori betegség, melyben a növekedési porcban zajló (endochondralis) új csontképződés mineralizációja szenved zavart. Kóros a csontfejlődés, ezzel együtt a csont növekedésének üteme, változik a csontok mérete és alakja, mely alacsony termethez és deformált csontokhoz vezet. Az osteomalacia felnőttkori megbetegedés, az epiphysis fűgák lezáródása után alakul ki. A peri- és endostealis csontképződés (remodeling) során megújuló csontszövet mineralizációját érinti. A már kialakult csontok méretét nem, de alakját, és főleg az összetételét befolyásolja a betegség. Mindkét kórkép lényege a csont mineralizációjának zavara, melynek hátterében a mineralizációhoz szükséges anyagok, a kalcium és a

foszfát hiánya áll. Ezt a zavart mind gyermek, mind felnőtt korban leggyakrabban a D-vitamin-hiány okozza, ami az ideális kalcium és a foszfát felszívódáshoz is nélkülözhetetlen (124).

Ritkán, nem valódi D-vitamin-hiány, hanem a D-vitamin hatás elmaradása áll a kórkép hátterében. A D-vitamin kalcium-anyagcsere hatásához szükséges aktiváció, az  $1\alpha$ -hidroxiláció elmaradása és a VDR hatásvesztő mutációja vezethet örökletes úton, már gyermekkorban D-vitamin-hiányhoz hasonló klinikai képhez, valódi D-vitamin-hiány nélkül. Az  $1\alpha$ -hidroxiláció teljes vagy részleges hiányát a kódoló gén autoszomális recesszív mutációja okozza. Aktivált D-vitaminnal vagy hatalmas adag D-vitaminnal a kórkép gyógyítható, ezért D-vitamin dependens rachitis elnevezése terjedt el (125). Klinikailag hasonló csontvázrendszeri tüneteket okozó kórkép a D-vitamin adására nem reagáló (nem D-vitamin dependens) autoszomális recesszív módon öröklődő extrém ritka kórkép oka a VDR működési zavara. Extrém körülmények között, súlyos táplálkozási zavarban, a gyermekkori kalcium bevitel hiánya, D-vitamin-hiány nélkül is okozhat hasonló képet, amire példát afrikai éhező gyermekeknél lehet látni (126). A foszfáthiány csak a vesén át történő súlyos foszfátvesztés esetén képzelhető el kórokként, mert szinte minden táplálék tartalmaz jelentős mennyiségű foszfátot. Ehhez a klinikai képhez ritka öröklődő kórképek (öröklődő hypophosphataemiás rachitisek) és FGF23 termelő tumorok vezethetnek. Az öröklődő hypophosphataemiás rachitiseknek több formája ismert. A leggyakoribb az X-kromoszómához kötött forma, de van autoszomális domináns, recesszív és felnőtt korban manifesztálódó betegség is. A legtöbb esetben a keringő FGF23 mennyisége nő meg, de néhány esetben az FGF23 lebontásában szerepet játszó *PHEX* (gene of phosphate-regulating neutral endopeptidase, on the X chromosome) gén mutációját mutatták ki. A betegeket nagy adag (1-3 ug/die) aktivált D-vitamin és napi 1-4 g foszfát adásával lehet kezelni (127).

A tumor indukálta osteomalacia oka leggyakrabban a mesenchymális tumor által termelt FGF23. A betegségre jellemző a típusos osteomalacia mellett, a normál tartományban lévő kalcium érték, a kifejezetten alacsony foszfát szint és a vesén át történő fokozott foszfátvesztés. A tumor eltávolítása után a laboratóriumi paraméterek normalizálódnak (128).

A mineralizációs zavar klinikai tünetei is életkorfüggőek. Újszülött korban a D-vitamin-hiánynak még nem a csont tünetei, hanem a kalcium felszívódás zavara miatt a kalciumhiány tünetei dominálnak. A csecsemőknél valódi tetániás rohamok, stridoros légzés, időnként apnoe alakulhat ki. A kalciumhiánytól úgy tűnik függetlenül, csak a D-vitamin közvetlen hatásának elmaradása miatt súlyos szívelégtelenség alakulhat ki, ami kalcium adására nem, csak D-vitamin-pótlásra reagál (129). Az újszülött kor után már a csonttünetek dominálnak. A teherviselő csontok meghajolhatnak, az epiphysis fugák kiszélesednek. Jellegzetes a kifejezett karikaláb, de valgus-varus deformitás egyszerre is kialakulhat. Késik a koponya kutacsainak záródása (craniotabes), az os parietale ellapulása és a homlokdudorok elődomborodása miatt a fej „kocka” alakúvá válhat. Jellegzetesek a mellkas deformitásai: a borda-sternum találkozásoknál a porc kiszélesedik, megnagyobbodik, elődudorodik, a szegycsont besüpped (Harrison bemélyedés), kialakul a „rachitises olvasó”. Deformálódhat a medence, kimenete beszűkülhet, ún. kártyaszív alakú medence alakulhat ki. A mellkas ellapul, ami a D-vitamin-hiányában keletkező izomgyengeséggel együtt nehézlégzést okozhat és hajlamosíthat felső légúti megbetegedésekre. A csonttünetek mellett jelenlévő izomgyengeség miatt késik a felállás és a járás megkezdése.

Felnőtteken (osteomalacia) a csontok alakváltozása ritkán következik be, de a már kialakult alakváltozások megmaradnak. A csontok ásványianyag-tartalma csökken, maguk a csontok fájdalmassá válhatnak. A csontok szerkezete megváltozik. A nem mineralizált osteoid térfogata meghaladja a teljes csonttér fogat 2%-át, a nem mineralizálódó felszín pedig a teljes felszín 20 %-át. Ezzel együtt az osteoid szigeteken belül a csontszövet mineralizációja kifejezetten fokozódik (118). Ez a kétirányú változás a csontszerkezetet gyengíti, a csontok törékenységet a denzitás értéktől függetlenül fokozza (130).

A kórkép kiváltó okától függően változnak a laboratóriumi tünetek. D-vitamin-hiányban a szérumban kalcium és a foszfor tartalom, valamint a vizelet kalcium tartalma csökkenhet. A szérumban alkalikus foszfatáz enzim aktivitása emelkedhet a fokozott osteoblast tevékenység miatt. Növekszik a szérumban osteocalcin szint is, de kisebb mértékben, mint az alkalikus foszfatáz aktivitás.

### I.1.2.2.C. D-vitamin-hiány nem csontvázrendszeri hatásai, tünetei

#### Immunrendszeri hatások

A D-vitamin immunrendszer több sejtvonalára is hat. A T limfociták, a B limfociták és a makrofágok is rendelkeznek D-vitamin receptorral (VDR) és képesek 1-, 24- és 25- $\alpha$ - hidroxilálni. Érdekes módon az 1- $\alpha$  és 24- $\alpha$ -hidroxilálás itt nem a kalcium anyagcserét szabályozó hormonok, hanem gyulladásos faktorok, mint az IFN $\gamma$  (interferon gamma) és a TLR (toll-like receptor) kontrollja alatt áll (131). Emellett az aktivált D-vitamin befolyásolja a TNF $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha), a cathelicidin, IL-8 (interleukin 8), IL-12 (interleukin 12) és az IFN $\gamma$  képzést is.

Klinikai vizsgálatban is igazolták, hogy a szérumban D-vitamin-szinttel arányosan változik a makrofágok aktivitása. Összefüggést találtak az afrikai bevándorlók TBC (tuberculosis) fertőzése, a téli influenza járványok (132) és a D-vitamin ellátottság között. Sőt a D-vitamin-pótlás néhány vizsgáltban a TBC gyógyulását is javította. A D-vitamin-hiány és a sejtes immunitás szoros kapcsolatát bizonyítja, hogy sok Th1 (T helper cell 1) mediálta autoimmun betegség - a gyulladásos bélbetegségek, a rheumatoid arthritis, a lupus erythematosus, a sclerosis multiplex és a DM1 (1-es típusú diabetes mellitus) - gyakorisága jelentősen megnő elégtelen D-vitamin ellátottság esetén (133). A betegségek megjelenésének szezonális is – leggyakoribbak a téli, kora tavaszi hónapokban -, ezt az összefüggést támasztja alá. Például sclerosis multiplexben nem csak önmagában a hiány, de a normál tartományon belüli D-vitamin-szint változás is befolyásolja a betegség kockázatát (134, 135).

Logikusnak tűnik nagy adag aktivált D-vitamin terápia alkalmazása ezekben a kórképekben, azonban a hypercalcaemia, a vese kalcifikáció és a fokozott csontreszorpció veszélye miatt ez az út nem járható. Ezért kevésbé hypercalcaemizáló analógokat állítottak elő. Ezek állatkísérletes modellekben számos autoimmun betegség, mint az SLE, a kollagén indukálta arthritis, a gyulladásos bélbetegségek, a thyreoiditis, különböző típusú nephritisek kialakulását előzték meg, vagy javították a betegség lefolyását. Ez az immunmoduláló hatás a szervtranszplantációk túlélésének javításában is felhasználható. Aktivált D-vitamin vagy analógjainak adása, különösen más immunszuppresszor kezeléssel kombinációban, szinte valamennyi transzplantált szerv túlélését javítja, sőt csökkenti az opportunisták számát is (136).

### Szénhidrát-anyagcserére gyakorolt hatás

1980 óta ismert, hogy a  $\beta$ -sejtek inzulin termelése csökken D-vitamin-hiányban. (137). Azóta számos állatkísérlet és humán megfigyelés támasztotta alá ezt. Pótlás után a D-vitamin-hiányban észlelt csökkent glukóztolerancia reverzibilisnek bizonyult. Ezeket a megfigyeléseket magyarázhatja VDR jelenléte a  $\beta$ -sejtekben.

A DM1 kialakulásban fontos szerepet játszik a D-vitamin-hiány. Számos tanulmány bizonyította, hogy a terhesség és a kora gyermekkor idején adott megfelelő D-vitamin pótlás csökkentette a betegség kialakulásának kockázatát (138). A D-vitamin-hiányban kialakuló immunológiai változások NOD egerekben korábban fellépő és gyorsabb  $\beta$ -sejt pusztuláshoz vezetnek, ami D-vitamin adásával in vivo és in vitro is kivédhető volt (139).

DM2 (1-es típusú diabetes mellitus) már nem ennyire egyértelmű a kép. D-vitamin-pótlás a vizsgálatok egy részében javította a glukóztoleranciát, míg más vizsgálatok semleges vagy előnytelen hatásról számoltak be (140). Ennek háttérében fokozódó inzulin rezisztencia lehetősége is felmerült, habár nagy esetszámú vizsgálatban jó D-vitamin ellátottság mellett a metabolikus szindróma gyakoriságának csökkenését írták le. Ehhez hozzájárulhat az adipocyták számának csökkenése is, mert a mesenchymalis őssejt differenciálódása az osteoblast vonal felé tolódik aktivált D-vitamin hatására.

### Szív- és érrendszeri hatások

A „NHANES III (Third National Health and Nutrition Examination Survey)” felmérés 2001 és 2004 közötti periódusában a D-vitamin-hiány és a koronária betegség, ill. a szívelégtelenség előfordulása és a D-vitamin-hiány súlyossága között korrelációt találtak (141). A koronária betegség, a szívelégtelenség, a stroke és a perifériás artériás érbetegség előfordulása is gyakoribb volt kisebb D-vitamin-szint mellett. Koronária betegekben a D-vitamin-hiány 77%, az ischaemiás eredetű szívelégtelenségben szenvedő csoportban 89%, míg a kontroll, kardiovaszkuláris betegségre alacsony kockázatú, kor, nem és rassz tekintetében illesztett csoportban 68% volt.



Ezt az összefüggést részben a D-vitamin közvetlen szívizomra, részben a legfontosabb rizikófaktorokra gyakorolt hatása magyarázza. D-vitamin adása egerekben rövidíti a kontrakciós és a relaxációs időt is. Ugyanakkor ez a kontraktilitást gyorsító hatása a VDR hiányos egerekben már nem figyelhető meg (142). A közvetlen szívizomhatás mellett befolyásolja a natriuretikus peptid elválasztást is. D-vitamin-hiányban a gyulladásos citokinek emelkedett szintje hozzájárulhat a szívelégtelenség kialakulásához (143).

A legfontosabb kardiovaszkuláris rizikófaktorok közül a vérnyomás és az érlemezésedés is összefügg a D-vitamin ellátottsággal. Régóta ismert, hogy a szérumban  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -vitamin szintje fordítottan arányos a vérnyomással mind egészséges, mind hipertóniás betegekben. Az eddigi adatok alapján úgy tűnik, hogy a D-vitamin az érlemezésedés folyamatában dózis dependens "U" alakú görbe szerint fejti ki hatását. Mind a D-vitamin-hiány, mind a normál érték feletti szérumszint fokozza a kalcifikációt. A D-vitamin renin-angiotensin rendszerre és az ér endothelen ható gyulladásos citokinekre gyakorolt hatása együttesen limitálhatja az atherosclerosis progresszióját. Emellett az aktív D-vitamin in vitro gátolta az ICAM-1 (inter cellular adhesion molecule-1), és a PECAM-1 (platelet-endothelial cell adhesion molecule-1) expresszióját, csökkentette az LPS (lipopolysacharid) indukálta glikált termékek képződését, az IL-6 és Nf-kappaB (nuclear factor kappaB) aktivációját (144). Ezek alapján nem meglepő, hogy a coronariabetegségre nagy és közepes rizikójú betegek csoportjában a D-vitamin szint és a coronariák elmezésedése között fordított arányosságot találtak. Health Professionals Follow up vizsgálatban, 18225 férfi követésével, a D-vitamin-hiányos betegek 2,5x-es myocardialis infarctus rizikónövekedését igazolták. Még a közepesen csökkent D-vitamin szérumszint (22,6-29,9 ng/ml) esetében is szignifikáns volt a rizikónövekedés (145).

#### Tumor kialakulására gyakorolt hatás

In vitro vizsgálatokban az aktivált D-vitamin gátolja a tumor sejtek proliferációját, fokozza differenciálódásukat. Emellett emlő-, colon- és prostata-tumorsejteken megindítja az apoptózist (146), valamint gátolja az angiogenezist (147). D-vitamin receptor hiányos (VDR KO) egerekben jelentősen megnő az epitheliális (bőr, colon, emlő) és karcinogén indukálta (leukémia) tumorok kockázata, míg az

ovarium-, tüdő-, májrák esélye nem változik (148). Az aktív D-vitamin származékok lebontásában szerepet játszó  $24\alpha$ -hidroxiláz enzim aktivitása is hatással lehet a tumorok kialakulására (149).

Az első epidemiológiai megfigyelések óta (150) számos vizsgálat talált fordított arányosságot a colon-, az emlő- és a prosztaták gyakorisága, illetve az UV-B sugárzás nagysága között. Azonban sem az adott területre jellemző UV-B sugárzás, sem a D-vitamin bevitel nem jelent feltétlen összefüggést a D-vitamin értékkel az életmódbeli és táplálkozási különbségek miatt. Ez magyarázhatja az ellentmondó eredményeket is (151). A D-vitamin ellátottságot legjobban tükröző szérumszint 25(OH)D és a tumorrizikó közötti fordított arányosság leginkább hiány esetén mutatható ki, míg nagyobb D-vitamin szintnél ez az összefüggés gyengül. Például 32 ng/ml feletti D-vitaminnál a colon tumor kockázata megfelelődik a 12 ng/ml alatti értékhez képest. Sajnos, a legjobb mérhető paraméter is csak keresztmetszeti képet ad és nem tükrözi pontosan azt a D-vitamin ellátottságot, amely mellett a tumor kialakult. Éppen ezért a D-vitamin tumor kialakulásra gyakorolt hatásának valódi klinikai jelentőségét a D-vitamin-kezelés mellett mért kockázatsökkenés mutatná meg valójában. Mai napig nagyon kevés ilyen vizsgálat történt. A hét éves WHI vizsgálatban 400 NE D-vitamin adásának – a hatástalanul kis adag miatt nem meglepő módon – nem volt hatása az invazív tumorok kialakulásának kockázatára (152). Mások, nagyobb adag, 1100 NE D-vitamin adása mellett azonban már egy év után 77%-al kisebb tumor kockázatot igazoltak döntően az emlő és a colon tumor csökkenése miatt (153). A colon tumor kockázatát 40 %-al csökkentette a 25OHD szérumszintjének 50 nmol/l-es történő emelése (154). Az utóbbi években megjelent metaanalízisek a colon és colontumor esetében találtak összefüggést a tumor kialakulásának kockázata és a 25OHD értékek között (155, 156). A korábbiakkal ellentétben a prostata tumorral kapcsolatban nem találtak kapcsolatot a tumor gyakoriság és a 25OHD értékek között (156).

#### I.1.2.3. D-vitamin-kezelés

Alig van olyan hiányállapot az emberi szervezetben, ami olyan gyakori lenne és olyan sok külső és belső tényező befolyásolná kialakulását, mint a D-vitamin-hiány. Ennek ellenére a szakmai irányelvek

meglehetősen leegyszerűsítve kezelték a problémát és általánosságban használható D-vitamin-pótlási adagokat adtak meg. Furcsa módon a legtöbb vizsgálat is egy adott D-vitamin adagra kialakuló klinikai választ vizsgálja, ami éppúgy értelmetlen, mint például annak a vizsgálata, hogy hypothyreosisban 100 ug l-thyroxin adása mennyire befolyásolja a tüneteket. A hypothyreosis kezelésében mindenki számára egyértelmű, hogy az elsődleges cél a TSH (thyroid-stimulating hormone) érték normalizálása, ha kell kisebb, ha kell nagyobb adaggal. Sajnos a D-vitamin-hiánnyal kapcsolatos vizsgálatokban ez a megközelítés még nem általános. Még így is az utóbbi évek adatai alapvetően változtatták meg a D-vitamin adásának indikációját és a javasolt adagokat.

A gyógyszeres pótlás adagjának meghatározásához figyelembe kell venni a legfőbb D-vitamin-forrást a napsugárzást is. Magyarországon novembertől márciusig a beeső napfény gyakorlatilag nem alkalmas D-vitamin-képzésre. A nyári hónapokban is a 8-10 óra és a 16-18 óra közötti időszakban a napsugárzás D-vitamin-termelő hatása csak töredéke a déli napsugárzásnak. Természetesen a bőrrák fokozódó kockázata miatt nem tehetjük ki a betegeket fokozott UV-B sugárzásnak, ezért terápiás célzattal sem a túlzott napozás, sem a szoláriumozás nem ajánlható. Ugyanakkor fel kell hívni a figyelmet arra, hogy a napsugárzás hatása nélkül az ideális D-vitamin ellátottság nem érhető el. Ezért a szélsőségektől mentes, bőrkímélő napon tartózkodás a cél. Tizenöt percig az arcot és a fedetlen végtagokat érő, nyári, 10 és 18 óra közötti UV-B sugárzás körülbelül 2-3000 NE D-vitamin képzéséhez elegendő. Szerencsére ez az UV-B adag még nem fokozza a bőrrák kockázatát.

A D-vitamin terápiás adagjának meghatározásában három egymástól független tényezőt kell figyelembe venni. Egységnyi D-vitaminnak 25OHD emelő hatása annál nagyobb, minél nagyobb dózisban, minél hosszabban és minél súlyosabb hiányban adjuk. Ezért általános képletet adni arra, hogy egységnyi D-vitamin mennyivel emeli meg a 25OHD szérumszintjét nem lehet. Csak a másik két tényező figyelembe vételével határozhatjuk meg a szükséges D-vitamin bevitel nagyságát. Ezt a nemzetközi ajánlások, sajnos, nem veszik figyelembe. A D-vitamin-pótlás adagja a különböző nemzetközi ajánlásokban nagyon különböző, napi 600 NE és 2000 NE között változik. Az IOF (Institute of Medicine) ajánlásában napi 600 NE az ajánlott adag (157), míg az AES (American Endocrine Society) 2000 NE napi bevitelét javasolja

(158). A különbség részben abból adódik, hogy a javasolt minimális szérumszintet is máshol húzták meg. Az IOF 50 nmol/l, az AES 75 nmol/l elérését javasolja. A különbség másik magyarázata az lehet, hogy súlyos hiány esetén a D-vitamin-pótlás biohasznosulása jobb, ezért az 50 nmol/l értékek eléréséhez arányaiban jóval kevesebb D-vitaminra van szükség (159).

A Magyarországi D-vitamin Konszenzus ajánlása volt az első, ami a széleskörű pótlást a téli hónapokra javasolta, akkor viszont mindenki számára, míg az áprilistól novemberig terjedő időszakban azoknak, akiknek D-vitamin-hiányra hajlamosító betegségük vagy életmódjuk van (160).

A D-vitamin biológiai felezési ideje kb. 3 hét, ezért a heti és havi adagolás is lehetségesnek tűnik.

Meglepő módon, a kérdés gyakorlati jelentősége ellenére nagyon kevés olyan randomizált klinikai vizsgálat van, ami a napi, a heti és a havi adagolási módot hasonlította volna össze (161, 162).

A D-vitamin-pótlás biztonságos. Ebben szerepet játszó számos védelmi mechanizmus közül három különösen fontos: 1, A fokozódó UV sugárzás mellett gyorsan plató alakul ki a hormonképzésben. 2, A DBP kötési képessége hússzorosan haladja meg a D-vitamin és származékainak koncentrációját. 3, A vesében történő D-vitamin-aktiválás,  $1\alpha$  hidroxiláció helyett a  $24\alpha$  hidroxilálás irányában, vagyis egy inaktív forma képzésének irányában tolódnak el a folyamatok a szérum kalcium, az  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , az FGF-23 növekedése és a PTH mennyiségének csökkenése esetén.

Egy harminc évvel korábbi vizsgálat eredménye (163) alapján a per os biztonságosan bevihető dózis felső határát napi 2000 NE-ben határozták meg, ami sokáig gátolta a kellően nagy adagú D-vitamin-pótlás alkalmazását. A biztonságossági vizsgálatok ismételten megerősítették, hogy nem D-vitamin-hiányos felnőtteknek tartósan adva, napi 4000 NE  $\text{D}_3$ -vitamin sem okozott hypercalcaemiát vagy hypercalciuriát. A biztosan toxicus, kórosan emelkedett kalcium értékekkel járó napi dózis 10 000 NE körül lehet. Nincs olyan dokumentált eset, ami 200 ng/ml-es érték alatti D-vitamin értéknél valódi intoxikációt igazolt volna (164).

### I.1.3. Osteopetrosis

A kórkép incidenciája 1:20 000 és 1:100 000 közötti, penetranciája kb. 75% (165). Hasonló incidenciát számítva ez Magyarországon több tucat, néhány száz beteget jelentene. A valóságban alig néhány eset ismert (166).

A kórkép négy típusának (gyermekkori, felnőttkori, intermediér, renális tubuláris acidózissal) közös jellemzője a csontreszorpció zavara, amit az osteoclastok hiánya vagy „működésképtelensége” magyaráz. Az osteoclastok csontreszorpciós képessége azonban nem egyformán változik a különböző típusokban, ezért igen eltérő klinikai kép alakul ki. Közös jellemzőjük a generalizáltan, szimmetrikusan növekvő csonttömeg. A trabecularis és a corticalis csont vastagabb, ennek megfelelően a csontdenzitás is kifejezetten megnő. Ugyanakkor a csontok törékenysége fokozódik.

Gyermekkori, „malignus” típus autoszomális recesszív módon öröklődő, súlyos kórkép. Okaként három genetikai defektust azonosítottak, de eddigi ismereteink szerint még legalább egy, ismeretlen mutáció is felelőssé tehető a betegség kialakulásáért. A *TCIRG1* gén - ami az osteoclastok proton pumpájának  $\alpha 3$  alegységét kódolja - mutációja mutatható ki az esetek 50 %-ában (167). A 7-es klorid csatornát kódoló *CLCN7* (chloride channel, voltage-sensitive 7) gén mutációja áll az esetek 10-15%-ának hátterében (168). Ezekben az esetekben amellet, hogy az osteoclastok proton pumpájának működése károsodik, neuron degenerációt és retinasejt elhalást is megfigyeltek. A *CLCN7* fehérje  $\beta$ -alegységét kódoló *OSTM1* (gene of osteopetrosis associated transmembrane protein 1) gén funkcióvesztése különösen súlyos kórképhez vezet (169). Emellet a *TNFSF11* (*RANKL*) és *TNFRSF11A* (*RANK*) gének funkcióvesztő mutációit is leírták a kórkép hátterében (170, 171). Ezekre az esetekre az osteoclastok számának kifejezett csökkenése jellemző. A gyermekkori típusban a betegek valamennyi csontja érintett, denzitásuk fokozódik, ugyanakkor törékenységük is nő. A csont üregek beszűkülnek, a nyílások átmérője jelentősen csökken. A klinikai tünetek is ezzel állnak összefüggésben. A sorozatos csonttörések miatt deformitások alakulnak ki, a betegek növekedése elmarad. A velőűr beszűkülése miatt a vérképzés károsodik. A vérkép eltérések mellett hepato-splenomegalia alakul ki. A csontnyílások beszűkülése idegrendszeri problémákhoz, látás, hallás és mozgáskárosodáshoz vezet. A szérum kalcium érték a diétától függ. Nem megfelelő pótlás esetén

secundaer hyperparathyreosis lép fel, természetesen – a nem jól működő osteoclastok miatt – megfelelő kalciumemelkedés nélkül. Speciális, csak az osteopetrosis első három típusára jellemző laboratóriumi eltérés a TRAP (tartarát rezisztens acidfoszfátáz) csökkenése és a CK-BB (creatine kinase brain type) emelkedése. A többi laboratóriumi eltérést a kialakuló szövödmények határozzák meg. A csontbetegség gyógyulása *CLCN7* fehérjét kódoló gén és az *OSTM1* gén funkcióvesztése esetén csontvelő transzplantációtól várható. Ha ez nem lehetséges, tüneti kezelésként nagy adag calcitriol adható a csontreszorpció fokozására, prednisolon a vérképzés serkentésére és interferon- $\gamma$ 1b az infekciók számának csökkentésére. Kezelés nélkül a betegek háromnegyede 4 éves kora előtt meghal, leggyakrabban valamilyen fertőzésben.

Az intermediér forma öröklődése szintén autoszomális recesszív. Eddig a betegség okaként a *CLCN7* gén mutációját azonosították. A klinikai tünetek később jelennek meg és kevésbé súlyosak. A betegek alacsonyak, a többszörös törések következtében csontjaik esetleg torzultak. Fogfejlődési zavarok, sükettség, mérsékelt anémia és visszatérő fertőzések, gyakran osteomyelitis jellemzik a klinikai képet. Laboratóriumi elváltozások közül a TRAP csökkenés és a CK-BB emelkedése jellegzetes. Radiológiai képére a generalizált, szimmetrikus osteosclerosis „csont a csontban” kép a jellemző. A tünetek súlyosságától függően kezelése megegyezik a gyerekkori formáéval, csontvelő transzplantáció azonban csak a súlyos esetekben indokolt.

Felnőttkori típus autoszomális domináns módon öröklődik.

Egyes alcsoportjának (ADO1) hátterében az *LRP5* gén aktivációs mutációja igazolódott (172). A generalizált sclerosis ellenére a betegek nagy része tünetmentes, a csontok törékenysége nem fokozott. Laboratóriumi eltérést nem, vagy alig mutatnak. A speciális TRAP csökkenés és CK-BB növekedés mellett PTH emelkedés fordulhat elő. Kezelést nem igényelnek. Valójában nem is tekinthető klinikailag osteopetrosisnak, sokkal inkább az *LRP5* aktiválás zavarának.

A kettes alcsoportban (ADO2 – vagy Albers-Schönbers betegség) *CLCN7* gén nem funkcióvesztő mutációját mutatták ki (173, 174). Az esetek 30%-ában azonban nem lehetett a *CLCN7* gén mutációját igazolni (175). A genetikai háttértől függetlenül a klinikai kép egységes. Leginkább az axiális csontok és

a koponya érintettek. A csontok törékenysége fokozódik, megjelenhet az extramedulláris csontképzés és gyakori a perifériás idegek érintettsége is. Tüneti kezelésére kalciumszegény diéta mellett (ha a hypocalcaemia lehetővé teszi!) adott calcitriol, interferon- $\gamma$ 1b, a pancytopenia mérséklésére glukokortikoidok adhatók.

Osteopetrosis renalis tubularis acidosis (Guibaud-Vainsel szindróma) oka a carboanhydrase II. enzim autoszomalis recesszív módon öröklődő mutációja (176). Ritka megbetegedés, ami a mediterrán országokban és a Közel-Keleten fordul elő. Tünetei gyakran már gyermekkorban megjelennek. Gyakori csonttörés, alacsony termet, szellemi retardáció, fogzási zavarok és a nervus opticus kompressziója miatt kialakuló vakság jellemző. A hipotónia, az izomgyengeség és a hypokalaemia az egyidejűleg fennálló renalis tubularis acidosis következménye. Radiológiai képére a generalizált osteosclerosis mellett cerebrális kalcifikáció jellemző, ami a cortexet és a basalis ganglionokat érinti. Laboratóriumi eltérések elkülönítik a többi formától, mert TRAP csökkenés és CK-BB emelkedés nem jellemzőek, ugyanakkor megjelennek a renális tubularis acidosisal járó eltérések. Kezeléséről kevés adat áll rendelkezésre. A csontvelő transzplantáció javította az osteopetrosist és lassította a cerebrális calcificatiót, de nem hatott a renalis tubularis acidosisra. A  $\text{HCO}_3^-$  kezelés hosszú távú hatásáról még nincsenek megbízható adatok. Úgy tűnik, a kórkép lényegesen nem befolyásolja a várható élettartamot, bár eddig csak fiatal felnőttekről vannak közlemények.

#### I.1.4. Fibrogenesis imperfecta ossium

FIO (Fibrogenesis Imperfecta Ossium) egy ismeretlen eredetű és patogenezisű, súlyos, szerzett csontmegbetegedés, melynek kezelése nem ismert. A kórképet 1950-ben írták le (177) és az elmúlt hatvan évben csupán huszonöt eset vált ismertté (178).

A hisztológiai képre a kollagén struktúrájának drámai változása jellemző. A strukturált laminális kollagénszerkezet helyét kaotikus, irreguláris kollagénelrendeződés veszi át. Gyakran osteomalacia vagy Paget betegség téves diagnózisára vezetve a vizsgálat. Az elektronmikroszkópos képét a kollagénnel jellemző kettőstörés eltűnése teszi specifikussá.

Laboratóriumi leletekben a szérum kalcium, foszfát, PTH és D-vitamin a normál tartományban van, míg a csontbontást és a csontépítést tükröző biokémiai markerek igen kifejezetten emelkedettek. A közölt esetek többségében, - ahol vizsgálták - monoklonális gammopathiát írtak le, melynek jelentősége nem ismert.

Radiológiai képe nem jellegzetes, leginkább az axiális osteomaláciához hasonlít (179). A trabecularis szerkezet megváltozik, durvává, heterogénné válik, fokozódik denzitása. A corticalisok elvékonyodnak. A betegség a koponyacsontokat soha nem érinti. Az elváltozások jellemzően a teherviselő csontokon alakul ki. A csontok denzitása DEXA (dual-energy x-ray absorptiometry) méréssel fokozódik.

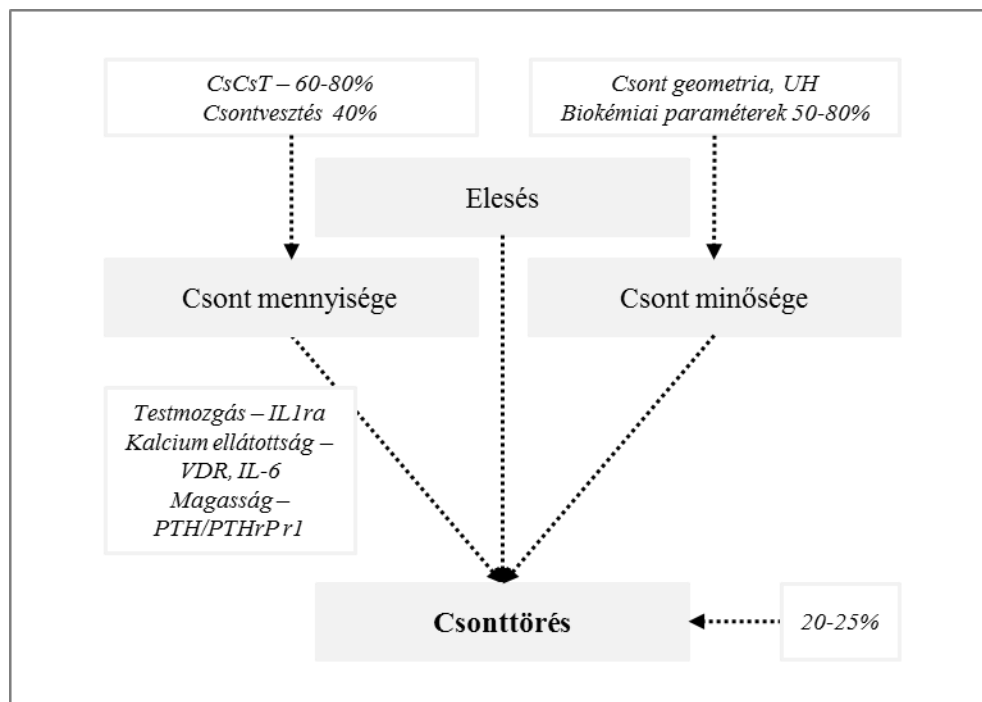
Klinikai képére a kifejezett csontfájdalom, gyakori, deformáló csonttörések jellemzőek. Ezek a fokozódó izomgyengeséggel együtt a betegek mozgásképtelenségéhez vezetnek. Specifikus kezelése nem ismert. Egy esetben a melphalan kezelés mellett átmeneti javulást írtak le (180).

## I.2. – A csontvázra ható genetikai tényezők

Évtizedek óta ismert a genetikai tényezők meghatározó szerepe jó néhány ritka, öröklődő csontbetegség esetében. A csontanyagcsere-betegségekkel kapcsolatos genetikai kutatások robbanásszerű felgyorsulását azonban nem e ritka, Mendel szabályok szerint öröklődő kórképek, hanem az osteoporosis genetikai determináltságának felismerése magyarázta.

A 80-as években vált nyilvánvalóvá, hogy a fiatalkori legnagyobb csonttömeget, az úgynevezett csúcs-csonttömeget nagyrészt genetikai tényezők határozzák meg (14). Kimutattak öröklődő hatást a csontanyagcsere, a csonttörés kockázatát nagyban befolyásoló combnyak geometria, valamint az ultrahanggal mérhető csontminőség esetében is (181). Ha nem áll fenn szekunder osteoporosishoz vezető betegség, vagy állapot, az osteoporosis kialakulása, a csonttörési kockázat jórészt genetikai tényezőktől függ. Mai tudásunk alapján a csúcs-csonttömeg 60-85 %-ban, a csontok geometriája 60-80%-ban, a csontvesztés 40%-ban, a csonttörések bekövetkezése 25%-ban áll genetikai kontroll alatt (181-183). (9. ábra)





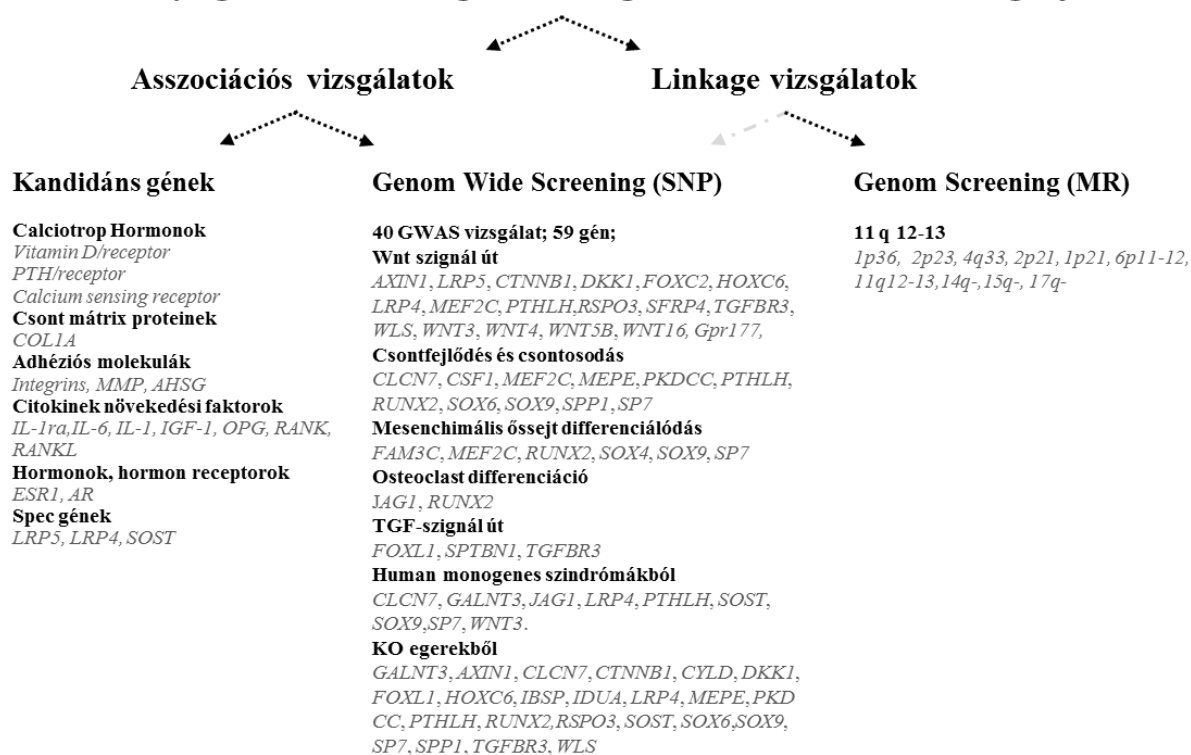
9. ábra Az osteoporosis kialakulására ható genetikai tényezők hatása százalékban kifejezve

Az osteoporosis komplex megbetegedés, a több génen keresztül érvényesülő genetikai hatás mellett számos környezeti tényező befolyásolja kialakulását. A genetikai hatás férfiaknál éppúgy kimutatható, mint nőknél. Bár néhány esetben igazolták, hogy egyetlen genetikai változás is osteoporosishoz vezethet, úgy mint az aromatase vagy az ösztrogén receptor gén inaktivációs mutációja (184), mégis, minden kétséget kizáróan, az osteoporosis kockázatát több gén együttese határozza meg (185). A többgénese öröklődésű betegségek hátterében álló genetikai variációk kimutatása rendkívül bonyolult feladat. A nehézséget nem csak a gének nagy száma okozza, hanem a gének közötti kölcsönhatások is. Erre a kölcsönhatásra a csontanyagcsere-betegségek között a legjobb példa az osteogenesis imperfecta, amely egy Mendel szabályok szerint öröklődő, egy gén különböző mutációi által okozott kórkép. Nyilvánvaló, hogy a betegséget egy családon belül egy mutáció okozza, mégis lényegi fenotípusbeli eltérések jöhetnek létre, a csontra ható egyéb gének hatása miatt (186). Elképzelhető, hogy egy eleve több gén által befolyásolt betegség, az osteoporosis esetében milyen bonyolult lehet ezeknek az egymás hatását is befolyásoló géneknek a kimutatása. A feladat nehéz, de a modern metodikák segítségével nem lehetetlen.

A 90-es évektől felgyorsuló kutatások alapvetően két megközelítési módot alkalmaznak. Egyrészt a csontanyagcserében ismerten szerepet játszó fehérjék génjeinek, a "kandidáns gének" szerepét próbálják bizonyítani, másrészt olyan, a csontanyagcserével eddig összefüggésbe nem hozott géneket keresnek, amelyek hatnak a csúcs-csonttömegre, a csonttritkulás kialakulására vagy a csontok törékenységre. A csúcs-csonttömeg és a BMD-vel igazolt csonttritkulás esetében a gének csontmennyiségre gyakorolt hatását vizsgálják. A csontok törékenysége azonban nem csak a csontok mennyiségétől, de azok minőségétől és geometriájától is függ, vagyis a csontok törékenységre gyakorolt genetikai hatás a csontmennyiségtől függetlenül is érvényesülhet. Ezért nem lehet az osteoporosis genetikai hátterét vizsgáló tanulmányok mindegyikét egységes csoportként kezelni.

Humán vizsgálatokban a kötődés (linkage) és az asszociáció módszerét alkalmazzák. (10. ábra)

## Csontanyagcserére ható gének meghatározásának stratégiája



10. ábra A csontanyagcserére ható gének meghatározási stratégiái és azok legfontosabb eredményei

Kötődéses (linkage) vizsgálat esetén arra kapunk választ, vajon a csont ásványianyag-tartalom és az adott gén együtt öröklődik-e. A kapott eredmény nemcsak egy polimorf pontról vagy vizsgált génről, de annak környezetében elhelyezkedő más génekről is információt ad. A kötődés mértékét, megállapodás szerint, „LOD score”-al fejezzük ki. A +3 feletti érték szignifikáns kötődést, a +1,9 és +3 közötti érték lehetséges kötődést jelent. A -2 alatti LOD score kizárja annak lehetőségét, hogy a vizsgált marker és a tulajdonság együtt öröklődik. Amennyiben polimorf markerként nem egy kandidáns gén polimorfizmusát, hanem a mikrostellit ismétlődéseket (microsatellit repeat - MR) használjuk fel, akkor "genom screeninget" végezhetünk. Ma már a "genom screeninget" vagy 5-10 cM távolságban elhelyezkedő MR-kel vagy ismert SNP-kel (single nucleotide polymorphism) végzik el. A nagy teljesítményű genetikai módszerek elterjedésével az SNP-k használata került előtérbe. Napjainkban akár több százezer SNP felhasználásával több ezer vizsgált személy mintáiból végzik a GWAS vizsgálatokat. Ezeknek a vizsgálatoknak jelentős része nem vizsgál különböző generációkat, ezért nem valódi linkage vizsgálatok. Ugyanakkor a klasszikus asszociációs vizsgálatokkal szemben nem csak egy gén és a vizsgált tulajdonság összefüggését vizsgálják, de egyszerre több ezer genetikai lokusz esetében teszik ezt, beazonosítva új, korábban nem vizsgált géneket is. Az osteoporosis genetikai kutatásában ennek példája a GEFOS (genetic factors for osteoporosis consortium - [www.gefos.org](http://www.gefos.org)), amely 20 000 mintán az osteoporosis-sal összefüggésbe hozható új lokuszokat keresi. A módszer nagy hátránya, hogy csak nagy esetszámú, speciálisan összeválogatott populáción használható, ezért kivitelezése extrém drága. Előnye a nagy statisztikai megbízhatóság.

Az asszociációs módszerrel kapott eredmény azt mutatja meg, hogy az adott genetikai variáció gyakrabban fordul-e elő az adott tulajdonsággal, betegséggel, mint az véletlenszerűen várható lenne. A kapott eredmény csak arra a genetikai helyre vonatkozik, amit vizsgálunk. Az eredményt befolyásolhatják a környezeti tényezők, a vizsgált populáció genetikai összetétele és az esetleges LD (linkage disequilibrium). Jól érzékelteti az asszociációs vizsgálat populáció összetételétől való függőségét az *IGF-1* gén MR polimorfizmusának vizsgálata során kapott eredmény. Ha a vizsgálatba vont valamennyi személy adatait együtt elemeztük – a bórszintől függetlenül –, szoros asszociációt találtunk a csúcs-csonttömeg és

az *IGF-1* gén MR polimorfizmusa között. Ha a genetikailag nyilvánvalóan különböző fehér- és fekete bőrű populációt külön vizsgálták, nem kaptak semmilyen asszociációt. Az *IGF-1* gén és a csúcs-csonttömeg közti összefüggés hiányát igazolta ugyanezen a populáción végzett linkage vizsgálat eredménye is (187). Az asszociációs vizsgálatoknál rendkívül fontos az elegendően nagy megfelelően kiválasztott vizsgálati populáció és az elegendően nagy mintaszám. Ennek legjobb példája a GENOMOS konzorcium ([www.genomos.eu](http://www.genomos.eu)), amelyben az osteoporosis kandidáns génjeit több mint 45 000 személy mintában vizsgálják.

Az asszociációs vizsgálat előnye, hogy amennyiben megfelelően összeválogatott a populáció és valóban a megfelelő gént vizsgálják, akkor gyorsan és arányaiban kis anyagi ráfordítással pozitív eredményhez juthatnak.

#### I.2.1 Az osteoporosisal összefüggésbe hozható kromoszóma régiók

Az egész genomra kiterjedő screening vizsgálatok, a MR-ek használatával végzett kötődéses vizsgálatok és az SNP-kel végzett GWAS vizsgálatok alapján negyven kromoszóma régió és a csont ásványianyag-tartalom vagy a csonttörékenység között lehetett összefüggést kimutatni (188-191). (1. táblázat)

| Az osteoporosisal összefüggésbe hozható kromoszóma régiók |                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Korábbi linkage vizsgálatból ismert régiók                | <i>2p23, 4q33, 2p21, 1p21, 5q33-35, 6p11-12, 11q12-13, 14q-, 15q-, 17q-</i>                                                                                                                                                                                                 |
| GWAS vizsgálatokkal azonosított régiók                    | <i>1p36.2, 1q24.3, 2p16.2, 2q13, 2q33.1, 3q13.2, 3q25.31, 7p14.1, 7q21.3, 7q36.1, 8q13.3, 9q34.11, 10p11.23, 10q22.3, 10q24.2, 11p14.1, 11p14.1, 12q13.2, 12q23.3, 14q32.12, 14q32.12, 14q32.32, 16p11, 16p13.11, 16q23, 17p13.3, 17q21.31, 18p11.21, 19q13.11, Xp22.31</i> |

1. táblázat Az osteoporosisal összefüggésbe hozható kromoszóma régiók

A genetikai vizsgálatok lehetőségeit kétségkívül a 11q 12-13-as DNS (deoxiribonukleinsav) szakasz vizsgálata tükrözi legjobban. Három különböző, Mendel szabályok szerint öröklődő, a csontokra kifejezett hatással bíró megbetegedés génjét lokalizálták ugyanebben a régióban. A juvenilis osteoporosis és fiatalkori vaksággal járó OPPG (osteoporosis-pseudoglioma szindróma) (192), az autoszomális recesszív úton öröklődő osteopetrosis (193), és az egy családon belül nagy csont ásványianyag-tartalmat- HBM (high bone mass) örökítő gén ugyanott, vagy egymáshoz rendkívül közel helyezkedik el. A 11q12-13 régió egyik génjének vagy génjeinek az osteoporosis pathogenezisében betöltött szerepét látszott alátámasztani az a 835 testvérpáron elvégzett linkage vizsgálat, amelyben a femur denzitás örökítéséért felelős egyik gént ugyanebben a régióban lokalizálta (194). A 11q12-13 DNS szakaszon elhelyezkedő, a csontokra ható gének azonosítása sikerrel és valóban meglepő eredménnyel járt.

Az ebben a régióban elhelyezkedő gének közül elsőként egy, a T sejtek immunválaszát szabályozó fehérje (*TCIRG1*) génjének szerepét igazolták a csontanyagcserében. A gén által kódolt fehérje nem csak a T sejtek immunválaszának kialakításában játszik szerepet, de az osteoclastok protonpumpájának egyik alegységét is alkotja (167). Ez magyarázza a csontanyagcserében betöltött szerepét. A *TCIRG1* mutációja az osteoclastok csontbontó funkciójának csökkenésével jár, és osteopetrosishoz vezet emberben éppúgy, mint egerekben. A *TCIRG1* mutációit azonban nem lehetett összefüggésbe hozni az OPPG szindróma kialakulásával és a HBM familiáris örökítésével. Az OPPG szindróma hátterében egy, a lipid anyagcserében szerepet játszó fehérjékre hasonlító fehérjét kódoló gén, az *LRP5* funkció csökkenéssel járó mutációja igazolódott. Emberi csontszövetben az *LRP5* génexpresszióját mutatták ki az osteoblastokban, legerősebben a remodelingben aktív részekben, az endosteumban és a trabecularis csontokban. Az *LRP5* génre "knock out" egerekben kis csonttömeg, kis testsúly és kóros szem vaszkularizáció alakult ki. Az *LRP5* gén egy másik, funkciónövekedéssel járó mutációja igazolódott a HBM familiáris örökítésének hátterében. Ha egérben az *LRP5* gént genetikai módszerekkel "kiütik" és az így *LRP5* hiányossá tett egérbe a HBM familiáris örökítésért felelős mutációt tartalmazó humán gént ültetik be, akkor ennek az egérnek a normális egerekhez képest több és erősebb corticalis és trabecularis csontja lesz. Az *LRP5*

hatásának jó része a Wnt jelátviteli rendszeren keresztül érvényesül. A Wnt molekulák erősen hidrofíl szignálfehérjék, melyek a fejlődésben játszanak alapvető szerepet. A Wnt 10b hatással van az osteoblast képződésre és a trabeculáris csontok mennyiségére. Az LRP5 a Wnt molekulához kapcsolódva a sejten belüli komplex konformáció változását idézi elő, ezért  $\beta$ -catenin szabadul fel és ez a *TCF* gén aktiválódásához vezet.

### I.2.2 Az osteoporosisal összefüggésbe kandidáns gének

A kandidáns gének vizsgálata alapvetően más megközelítési módot jelent a kötődéses vizsgálatokhoz képest. Míg az utóbbiak előzetes feltételezés nélkül, mérnöki módszerekkel keresik a szerepet játszó gént, addig a klasszikus kandidáns gén vizsgálatokban az ismert csontanyagcsere folyamatok alapján történik meg a vizsgálandó gén kiválasztása. Ez a magyarázata a sok negatív eredményt adó vizsgálatnak. A kandidáns gének vizsgálatának új fejezetét nyitotta meg a genetikai módszerek fejlődése. A GWAS vizsgálatokhoz már nem kell "előzetes feltételezés", mert ez a módszer egyszerre több ezer gént képes vizsgálni.

#### I.2.1.1. D-vitamin receptor gén (*VDR*)

Morrison 1994-ben a *Nature*-ban megjelent cikkében szignifikáns összefüggést írt le a *VDR* gén 3' régiójában elhelyezkedő BsmI. polimorfizmus és a BMD (bone mineral density) között. Az ikervizsgálat alapján úgy számították, hogy a teljes genetikai hatás kb. 75 %-ért ez a gén felel (195). Ezt az eredményt azonban újraértékeltek, ekkor a szignifikáns összefüggés eltűnt (196). A szellem azonban kiszabadult a palackból, és a *VDR* gén az érdeklődés középpontjába került. Sok vizsgálat szólt az eredetileg leírt összefüggés mellett, számos eredmény szólt ellene (197), sőt fordított asszociációra utaló eredmények is megjelentek (198). A már 1996-ban 16 vizsgálat alapján elvégzett metaanalízis a *VDR* gén minimális hatását (0,15-0,2 Z score) igazolta csupán (199), habár ebben az elemzésben még nem szerepelt a FOK1 polimorfizmus. A csontok törékenységevel kapcsolatban is vizsgálták a *VDR* gén szerepét, azonban az akkori adatok nem tudták egyértelműen igazolni az összefüggést.

A különböző *VDR* polimorfizmusok eltérő biológiai hatásának magyarázatára számos elmélet született. Feltételezték, hogy a 3' át nem íródó régióban elhelyezkedő BsmI. (rs1544410), ApaI. (rs7975232), TaqI. (rs731236), polimorfizmusok, az RNS stabilitást befolyásoló szekvenciák markerei lehetnek, azonban ezt az elképzelést sem tudták egyértelműen alátámasztani. A 2. exonban elhelyezkedő T→C tranzíció miatt kialakuló FokI. enzimmel kimutatható polimorfizmus (rs2228570), amely érinti a start kodont, az átíródó fehérje hosszában okoz változást. Az rs2228570 polimorfizmussal kapcsolatban joggal feltételezték, hogy befolyásolja a *VDR* biológiai aktivitását. Az első adatok ezt az elképzelést igazolták (200), igaz mások nem találtak összefüggést az rs2228570 polimorfizmus és a *VDR* biológiai aktivitás között (201). Összefoglalva: a korábbi adatok alapján úgy tűnt, hogy a *VDR* gén rs2228570 polimorfizmusa szerepet játszhat a csont ásványianyag-tartalom meghatározásában, az osteoporosis kialakulásában, azonban hatása valószínűleg kicsi és a hatásmechanizmus sem pontosan ismert.

#### I.2.1.2. Interleukin-1 receptor antagonista (*IL-1ra*) gén

Az interleukin-1 receptor antagonista (*IL-1ra*) fehérje gátolja az IL-1 csontbontást serkentő hatását szövetkultúrákban (202). Nagyobb IL-1/*IL-1ra* arányt találtak osteoporoticus nőkben, mint egészséges kontrollokban (203). Az *IL-1ra* feltételezett csontvédő szerepe (204) alapján kódoló génjét összefüggésbe hozták az osteoporosis kialakulásával (205, 206).

#### I.2.1.3. Interleukin-6 (*IL-6*) gén

Az interleukin-6 serkenti az osteoclastogenezist (207, 208). Szérumszintje korrelál a BMD értékkel postmenopausás nőkben (209). Osteoporoticus eredetű csigolyafraktúrákban az *IL-6* génexpressziója és mRNS szintje emelkedett (210). Asszociációs vizsgálatban összefüggést találtak a BMD érték és a gén egy VNTR (variable number tandem repeat) polimorfizmusa között (211).

#### I.2.1.4. Insulinszerű növekedési faktor 1 (*IGF-1*) gén

Az IGF-1 anabolikus fehérje (212), ami serkenti az osteoblastok kialakulását és működését is (213). Nagy mennyiségben van jelen a csontmátrixban és lehetséges, hogy az osteoblastok és osteoclastok közötti kapcsolatra a coupling mechanizmusra is hatással van (214). Genetikai módszerrel *IGF-I* hiányossá tett (knockout) egerekben a csontfejlődés késik, nagyságuk csökken (215). Humán vizsgálatokban, a menopauzában és időskorban mért szérum IGF-I szint szoros kapcsolatot mutatott a BMD-vel (216, 217). Ugyanakkor az *IGF-1* gén egy MR polimorfizmusának összefüggését írták le a szérum IGF-1 szinttel (218).

#### I.2.1.5. Kalcium szenzor receptor gén (*CaSR*) gén

A *CaSR* (kalcium-sensing receptor) a mellékpajzsmirigyben a PTH elválasztást (219), a vesében a kalcium reabszorpciót szabályozza (220). Mivel a PTH koncentráció és a vér kalcium szintje befolyásolja a csontanyagcserét, a *CaSR* működésének változása hatással lehet a csontitkulás kialakulására. A *CaSR* génnek ismertek olyan polimorfizmusai, melyek hatással vannak a *CaSR* működésére (221) és különböző életszakaszokban a BMD értékekre is (222, 223).

#### I.2.1.6. TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B szabályozási rendszer génjei

A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B (RANK/RANKL/OPG) szabályozási rendszer döntő szerepet tölt be a csontanyagcsere szabályozásában. A RANK és a liganduma RANKL kulcsfontosságú fehérjék az osteoclastogenesisben. Az OPG szolubilis fehérjeként a RANK-hoz kapcsolódva gátolja a RANK/RANKL kapcsolódást és ezen keresztül az osteoclastok fejlődését, valamint aktiválódását (224, 225). Genetikai módszerekkel *OPG* gén hiányossá tett egerekben súlyos osteoporosis alakul ki (226), míg a gén túl expresszálása osteopetrosishoz vezet (224). *RANK* gén hiányos egerekben súlyos osteopetrosis alakul ki (227), míg *RANK* adása hypercalcaemiát és csontvesztést okoz (36).



Napjainkig számos vizsgálatban igazolták, hogy az *OPG* gén polimorfizmusai hatással vannak a csonttömeg nagyságára és a törési kockázatra (228-230). A kapcsolatot a csont ásványianyag-tartalom és az *OPG* gén között nem egygénes asszociációs, de GWAS vizsgálatok is megerősítették (188, 189).

#### I.2.1.7. Wnt jelátviteli út génjei, különös tekintettel az *LRP5* szerepére

A WNT jelátviteli útvonal alapvető szerepet játszik a csontanyagcserében, különösen a csontképzésben (231). (7. ábra) A Wnt-vel és a receptor fehérjével (frizzled protein) komplexet alkotó *LRP 5/6*-nek és az *LRP 5/6* komplexhez kötődését gátló *DKK1*-nek (dikkopf1) és az *SOST*-nek (sclerostin) a genetikai eltéréseit is összefüggésbe hozták a csontanyagcsere változásaival (232). A Wnt szignálút legtöbbet vizsgált tagja az *LRP5* gén, mely funkcióvesztése okozza az osteoporosis-pseudoglioma szindrómát (192), funkciófokozó mutációja pedig a nagy csontdenzitás szindrómát (172) és az osteopetrosis bizonyos típusát (233). Az *LRP5* gén variációit összefüggésbe hozták a BMD változásokkal, osteoporosis kialakulásával (234, 235). Az eredményeket GWAS vizsgálatok is megerősítették (191, 236).

A (*GPR177*) egy 7-transzmembrán fehérje, ami a Wnt fehérje szekréciójában játszik szerepet, segíti annak kiszabadulását a Golgi apparátusból (237). *GPR177* hiányos egerekben a csontvázrendszer fejlődése károsodik (238). GWAS vizsgálatban a csontmennyiség és a *GPR177* összefüggését írták le (190).

Az *SP7* (*SP7* transzkripciós faktor más néven osterix) az osteoblast differenciálódásban szerepet játszó transzkripciós faktor, amely a *HIF1A*-val (hypoxia inducible factor-1alpha) szinergizmusban gátolja a Wnt szignál utat (239) és segíti a mesenchymalis őssejtek osteoblast irányú differenciálódását a porc irányú differenciálódással szemben (240). Hatással van a csontfejlődésre, szerepet játszik az embriogenezisben és a csontgyógyulásban is (241). Az osteogenesis imperfecta XII-es típusának hátterében az *SP7* fehérjét kódoló, 12q13.13 lokalizációban elhelyezkedő gén mutációját igazolták (242). Az *SP7* gén expressziójának csökkenését írták le osteoporoticus betegekben (243). GWAS vizsgálatban összefüggést találtak a BMD érték és az *SP7* gén között afro-amerikai nőkben (191).

### I.3. – A csontvázra ható környezeti tényezők

Az emberi csontváz a rá ható külső tényezőkhez folyamatosan alkalmazkodik, így biztosítva a szerkezet szilárd vázát. A kóros behatásokról az osteoporosis patogenesis fejezetben (I.1.1.3.) írtam bővebben. Egészséges szervezetnek a megfelelő kalcium és D-vitamin ellátottságra és a csontokat terhelő mozgásra van szüksége leginkább. A már beteg csontvázra ható legerősebb környezeti tényező a gyógyszeres kezelés.

A kalciumpótlás előnyös vagy káros hatásáról széleskörű szakmai vita bontakozott ki, amely még napjainkban is tart. Azonban arról az ötven éve ismert és azóta számtalanszor igazolt tényről sem szabad elfelejtkezni, hogy a tartós kalciumhiány szekunder hyperparathyreosishoz és ezen keresztül csontvesztéshez vezet (244, 245).

A jelenlegi szakmai ajánlás alapján felnőttkorban 1000-1200 mg kalcium napi bevitele javasolt a csont egészségének fenntartásához (1). A szokásos magyar étrend 600-700 mg kalciumot tartalmaz (246). Tejtermék fogyasztása vagy kalcium gyógyszeres pótlása nélkül a kívánatos mennyiség nehezen érhető el. Másik oldalról kalciumpótlást jó néhányan akkor is kapnak, ha étrendjük megfelelő mennyiségű kalciumot tartalmaz. Vagyis nem a kalciumpótlás adagját kell általában meghatározni, hanem az összesen - diétával és pótlással - bevitt kalcium mennyiségét kell az ideális tartományban tartani.

A kalciumpótlás szükségességét csont szempontból nem kérdőjelezték meg, ugyanakkor a lehetséges kardiovaszkuláris káros hatásokról 2010 után éles szakmai vita bontakozott ki. Szakmai körökben nagy megdöbbenést keltett és nagy sajtó visszhangot kapott Bolland és munkatársai a BMJ-ben 2010-ben megjelent metaanalízise, ami a 40 év feletti populációban, legalább 500 mg kalciumpótlás mellett az akut myocardiális infarctus kockázatának 30%-os növekedését írta le (247). Az irodalomban kialakult vita alapján ennek a metaanalízisnek az eredményét számos tény alapvetően torzította: 1, a kalciumot kapó csoport LDL-cholesterin értéke nagyobb volt, mint a kontroll csoporté; 2, nem mérték fel a kardiovaszkuláris kockázatot a vizsgálatok elején; 3, a myocardiális infarctus diagnózisa önbevalláson alapult, a tisztázatlan esetek száma a kalciummal kezelt csoportban 30% volt (!); 4, az egyik legnagyobb a metaanalízisbe vont vizsgálatban (RECORD) a betegek compliance-e 50 % alatt volt a kalciumot kapó

csoportban; 5, végül de nem utolsósorban az elemzett vizsgálatok elsődleges végpontjai egy esetben sem a kardiovaszkuláris megbetegedések voltak.

Ugyanakkor számos vizsgálat igazolta a kalciumpótlás semleges, vagy előnyös hatását a szív-érrendszerre. Például a WHI vizsgálatban, ahol kis adag D-vitamin (400 NE) mellett 1000 mg kalciumot szedtek a résztvevők a vizsgálat elsődleges végpontja a kardiovaszkuláris megbetegedés volt, de nem találtak semmilyen negatív hatást (248). Lewis és munkatársai 2011-ben megjelent közleményében, speciálisan kardiovaszkuláris végpontú vizsgálatban, 1460 személy 9,5 éves követése alapján, a nagy adag (1200 mg naponta) kalciumpótlásnak sem találta semmilyen negatív hatását a szív-érrendszerre, sőt a szívelégtelenség kockázatának csökkenését írták le (249). A Framingham vizsgálatban sem találtak összefüggést a kalcium bevitel és a szívkoszorúerek meszesedésének mértéke között (250). Összességében a szakmai ajánlásban szereplő kalcium napi bevitel továbbra is kockázatmentesnek tartható és szükséges a csontok egészsége szempontjából. A javasoltnál nagyobb mennyiség bevitel, túlzott mennyiségű pótlás, egészségügyi kockázata nem zárható ki, ezért nem javasolt.

A D-vitamin ellátottság és a csont kapcsolatáról a D-vitamin-hiány csontvázrendszeri hatásai című fejezetben (I.1.2.2.A.) írok bővebben.

A mozgás csontokra gyakorolt hatása is régóta ismert (251). A csont számára sem a túl kis, sem a túl nagy erőbehatás nem előnyös. Az űrhajósok igen gyors és nagymértékű csontvesztését, - ami elérheti a havi 1-2 %-ot is -, a mechanikai energia hiány okozza (252). Azonban a tartós statikus terhelés is csontvesztéssel jár (253). A dinamikus, ismétlődő, nem túl nagy erejű erőbehatás a legelőnyösebb. Az új eredmények azt mutatják, hogy a döntően az izmok antigravitációs működésével összefüggésbe hozható, kis energiájú, de nagy frekvenciájú ingerek legalább olyan fontosak, ha nem fontosabbak, a csontanyagcsere szempontjából, mint a sporttal biztosítható kis frekvenciájú, nagy erejű hatások (254). Ezt bizonyítják azok az állatkísérletek is, amelyekben naponta ismétlődő kis energiájú, de nagy frekvenciájú mozgatással, „rázással”, akár 20 %-al növelhető volt a csontdenzitása (255). A kevés humán vizsgálat eredménye is ezt támasztja alá. Például egy 64 betegen végzett vizsgálatban a napi 2\*10 perces 30Hz-es 0,2 g erejű „rázás” egy év alatt 3,3 %-al emelte a BMD-t (256).

A csont mechanikai energiához történő adaptációját egy soklépcsős összehangolt rendszer biztosítja, amelyből egyre több részlet válik világossá. Úgy tűnik a legfontosabb szenzor nem a csontsejtek deformálódása. A szenzor funkciót ellátó osteocyták apoptózisát mind a kis, mind a túl nagy erőhatások gyorsítják (257). A mechanikai energiát a csont Havers csatornáiban áramló folyadékot érzékelő osteocyta hálózat erősíti fel. Az osteocyták connexin expressziója és a Wnt szignál aktivitás - ezen keresztül a béta-katenin mennyisége - nő mechanikai energia hatására. Ugyancsak a Wnt szignál aktiválódása magyarázhatja jórészt, hogy a mesenchymális őssejt az osteoblast progenitor sejtek irányába differenciálódik, míg az adipocyták kialakulása csökken. Emellett a mesenchymális őssejtekben még ioncsatornák aktiválódása, a sejtthártya lipid összetételének és az integrinek mennyiségének változása is megfigyelhető ismétlődő mechanikai energia hatására (258). Az utóbbi évek egyik legjelentősebb osteológiai újdonsága, hogy a csont remodeling mellett, attól részben függetlenül működik egy csont modelling folyamat is, ami a mechanikai terhelésre képes a szervezet részéről választ adni (259) akkor is, ha a remodelinget gyógyszer adásával leállították.

### I.3.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatása a törésekre

A legfontosabb környezeti tényező, ami hatással van az osteoporoticus betegek csontjainak állapotára a gyógyszeres kezelés. Az osteoporosisban alkalmazott gyógyszerek mindegyikével legalább három éves, törési végpontú, randomizált, kettős vak vizsgálatot végeztek (59, 61, 63, 66, 68, 260-262). Ezek az eredmények azonban nem mindig tükrözik a valós életben bekövetkező változásokat, a szigorú bevásztási kritériumok és a klinikai vizsgálatokra jellemző jó compliance miatt.

Napjainkban már sok szempont szerint választhatunk a rendelkezésre álló gyógyszerek között. Szempont lehet a készítmény hatásmechanizmusa (csontépítést serkentő vagy csontbontást gátló), az adagolás módja vagy a hatás helye, inkább trabecularis vagy inkább corticalis csontokon legyen hatékony.

A hatásmechanizmus alapján logikus, hogy egy a csontok elvesztése miatt kialakuló betegségben az elvesztett csontot új csonttal pótoljuk. A jelenleg egyetlen, tisztán anabolikus készítmény, a teriparatid

elsőként történő használatát támasztja alá az a tény is, hogy jelenleg a kezelés hossza jól körülírt, 18 hónap (68). Kezdő terápiaként történő alkalmazását csak finanszírozási szempontok gátolhatják. Ha a diagnózis felállításakor a beteg megfelel a szigorú finanszírozási szabályoknak a teriparatid kezelés mindenképp elsőként választandó, mert a kezelés 18 hónapja után a reszorpció gátlók adásával a megnyert új csontot is védeni tudjuk. Így a beteg töréskockázata tartósan jóval kisebb lesz, mint anabolikus kezelés nélkül.

A strontium ranelát anabolikus hatása jóval kisebb, mint a teriparatidé (66, 263), de jelentős antireszorptív hatása is van, ezzel egyedül álló hatásmechanizmust biztosítva a kezelésnek (264). A terápia megkezdésekor szem előtt kell tartanunk, hogy a strontium beépülése a csontokba gyors ODM (osteodensitometria) érték növekedéshez vezet, ezért a későbbi teriparatid kezelést – finansziális okokból - lehetetlenné teszi. Nem csak a strontium ranelát, de a teriparatid esetében is igazolták, hogy a terápia megkezdésekor mért csontanyagcsere állapottól, biokémiai markerektől függetlenül kifejti előnyös hatását (265).

A reszorpció gátlók (biszfoszfonátok, denosumab) elsőként történő alkalmazásának egyértelmű indikációja az aktuálisan gyorsult csontanyagcsere, a fokozott reszorpció. Ez a menopauzát követő első 3-5 évben és szekunder osteoporosisban jellemző (266). Azonban idősebb korban, gyorsult reszorpció nélkül is bizonyították ezeknek a szereknek a hatékonyságát, ezért idős korban is valódi terápiás lehetőséget jelentenek (60).

Míg menopauzában a csontanyagcsere döntően a trabeculáris csontokon zajlik, később a súlypont áttevődik a corticalis csontokra. Ennek részben a trabeculáris csontozat megfogyatkozása, részben a corticalis porozitás, így a corticalis felszín megnövekedése áll a háttérben (24). Ezért érthetővé válik, hogy időskorban miért növekszik viszonylag gyorsan a döntően corticalis csontok alkotta perifériás csöves csontok törékenysége. Az osteoporosis elleni készítmények corticalis hatása lényegesen eltér egymástól. Ezért fontos a terápiás döntés meghozatalakor, hogy milyen a készítmény corticalis hatása. Míg a reszorpció gátló raloxifennek alig van (57), addig a teriparatidnek (68), a strontium ranelátnak (66) és a denosumabnak (63) kifejezett, előnyös corticalis hatása mutatható ki. A biszfoszfonátoknak corticalis

hatása jelentős, de elmarad a teriparatid, strontium ranelát, denosumab trió ilyen irányú hatékonysága mögött (267).

A terápiaválasztás harmadik szakmai szempontja a készítmény adagolásának módja. Parenterális vagy per os adagolható készítmények közötti választást sok tényező befolyásolja. A gazdasági szempontok, a beteg preferencia mellett mindenképp figyelembe kell venni parenterális készítmények mellett kialakuló jobb compliance-t és adherenciát (268).

A való életben a gyógyszeres kezelés hatékonyságát leginkább a gyógyszeresedés rendszeressége és hossza befolyásolja (269). Magyarországi adatok korábban nem álltak rendelkezésre.

### I.3.2. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők

Az emberi szervezetnek szükséges napi 2000-4000 NE D-vitamin (164) töredékét lehet csak a táplálékkal biztosítani (109). Éppen ezért minden olyan környezeti tényező, ami a napsugárzás UV-B (290-315 nm) sugárzásának bőrre gyakorolt hatását befolyásolja, hatással van a D-vitamin értékekre is. Az UV-B sugárzás erőssége a napszaktól és az évszaktól is függ Magyarországon. A téli-tavaszi D-vitamin-hiány legfontosabb oka, hogy október közepétől márciusig, az alacsonyan beeső fény miatt a napsugárzás D-vitamin-képzésre hazánkban alig (nem) hasznosítható (270). Az életmód, a lakhely (271) és a napozó krémek használata is a kapott UV-B sugárzás mennyiségével vannak összefüggésben (272). A D-vitamin-képzés a bőrben az életkor előrehaladtával idősokban csökken (106), részben a bőr összetételének változása, részben a D-vitamin-képzésben résztvevő enzimek aktivitásának csökkenése miatt.

A szoláriumok UVA sugárzása nem alkalmas D-vitamin-képzésre, de a kis mennyiségben jelenlévő UV-B sugárzás is befolyásolhatja a D-vitamin értéket (273).

A D-vitamin-pótlás adagjától függően befolyásolja a D-vitamin-értéket. Magyarországon az ételek D-vitamin-dúsítása ritka és nagyon kisadagú. Habár a Magyarországi Konszenzus Konferencia ajánlása alapján októbertől márciusig minden felnőttnek javasolt 1500-2000 NE D-vitamin-pótlás (160), ez napjainkig közel sem vált általánossá.

### I.3.3. A D-vitamin-pótlás hatásossága a dózis és az adagolás módjának függvényében

A felnőtteknek javasolt napi D-vitamin-pótlás mennyiségére vonatkozó szakmai ajánlások széles határok, napi 600 NE és 2000 NE egység között változnak (157, 160). Korábbi vizsgálatok eredménye alapján a D-vitamin-hiányban hatásos legkisebb napi adag 1000 NE (274). Évtizedek óta ismert, hogy a 25OHD biológiai féléletideje 19-21 nap (275). Ezért joggal vetődött fel annak a lehetősége, hogy a D-vitamin pótlását egyszerre nagyobb adag bevitelével oldják meg. Az extrém nagy adagok használata számos mellékhatáshoz vezetett, nőtt az elesések száma, csökkent a csont mennyisége (276). Az évente vagy félévente történő egyszeri D-vitamin-pótlásnak ez szabott határt. Ugyanakkor a heti vagy havi egyszeri adagok használatának elvi akadályja nincs. Ennek ellenére kevés olyan vizsgálatot végeztek, ahol a naponta adott D-vitamin hatékonyságát és biztonságosságát hasonlították volna össze ugyanazon napi adagnak megfelelő heti és/vagy havi adagolással (161, 162). A korábbi vizsgálatokat idős, jórészt osteoporosisban szenvedő betegeken végezték (161, 162). Ez idáig nem történt olyan vizsgálat, ami felnőtt, nem idősek otthonában élő, D-vitamin-hiányos populáción hasonlította volna össze a napi 1000, a heti 7000 és a havi 30 000 NE D<sub>3</sub>-vitamin biztonságosságát és hatását a 25OHD szintekre.

### I.3.4. Fibrogenesis imperfecta ossium (FIO) kezelési lehetőségei

A FIO egy rendkívül ritka (178) szerzett csontmegbetegedés, melynek kezelése nem megoldott. A kezdeti calcitonin, bishosphonat, tesztoszteron, 1-alphahidroxikolekalciferol kezelés teljesen hatástalannak bizonyult (277-279). Szupportív kezelés mellett melphalan adásával próbálkoztak, mérsékelt sikerrel. Néhány esetben, tartós kezelés mellett láttak csupán javulást (180, 278), de a gyógyszer ismert mellékhatásai (anémia, neutropénia) miatt a kezelést többször esetben meg kellett szakítani (279).

### I.3.5. Glikogéntárolási betegségben a csontanyagcsere változása

Számos enzim vesz részt a glikoneogenezisben, melyek jól ismert genetikai eltérései vezetnek a glikogéntárolási betegségekhez (GSD - glycogen storage disease) (280). A leggyakoribb 1-es típus (von Gierke betegség) egy ritka, autoszomális recesszív módon öröklődő kórkép, melynek hátterében a glükóz-

6-foszfátáz enzim zavara áll. A kórkép gyakorisága 1/100 000 élve születés (281). A kórképnek két formája ismert. Az 1a típusban az enzim katalitikus alegysége, az 1b típusban a G6P transzlokáz károsodik (282). A betegség klinikai tünetei a fejlődés elmaradása, alacsony testmagasság, visszatérő hypoglycaemiák, emelkedett szérum lipidek és húgysav, neutropenia, acidosis, hepatomegalia, májelégtelenség és korán kifejlődő májadenomák (282).

A kórképre jellemző csontfejlődési zavarok, kis csontsűrűség háttérében több kóroki tényező áll. A hGH és az IGF-1 termelés csökkenése (283, 284), hGH inszenzitivitás (284, 285), alacsony inzulin szint (286), krónikus acidózis (286, 287), kalória hiány (286) egyaránt szerepet játszhat. Legfontosabb patogenetikai tényező a csontrendszer elégtelen fejlődése szempontjából a hGH-IGF-1 tengely károsodása. Ezt okozhatja a hipofízis károsodása és májelégtelenség is (284). hGH adásával néhány esetben a növekedés gyorsulását érték el (288). A kórképben gyakran szükségessé váló májtranszplantáció (289, 290) után a csontanyagcsere rendezésének módja, lehetőségei azonban mindezidáig nem ismertek.



## II. Célkitűzések

### II.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálata

#### II.1.1. Az osteoporosisal összefüggésbe hozható kandidáns gének vizsgálata

Az elmúlt huszonöt évben a csontvázra ható genetikai tényezőkkel kapcsolatos munkám során, az irodalmi adatok alapján legvalószínűbb kandidáns gének osteoporosis kialakulásában betöltött szerepét kívántam vizsgálni. A vizsgált gének osteoporosis kialakulásában feltételezett szerepét az I.2.2. fejezetben összefoglalt irodalmi adatok támasztják alá. Vizsgálataim részben egészséges felnőtteken, részben osteoporosisban szenvedő nőknél végeztem, a csúcs-csonttömeggel és az osteoporosis kialakulásával való kapcsolatot kutatva. Célkitűzésem volt az alábbi (II.1.1-8.) gének polimorfizmusainak csontanyagcserére gyakorolt hatásának vizsgálata.

##### II.1.1.1. D-vitamin receptor gén

Az osteoporosisal elsőként összefüggésbe hozott genetikai faktor, melynek meghatározó szerepét később cáfolták, de így is a legtöbbet vizsgált genetikai tényező maradt. (I.2.1.1. fejezet)

Célkitűzésem volt a *VDR* gén egyetlen exonban jelenlévő rs2228570 polimorfizmusának a csontdenzitásra gyakorolt hatását vizsgálni asszociációs és linkage módszerekkel.

##### II.1.1.2. Interleukin-1 receptor antagonist fehérje gén

Az IL-1ra befolyással bír az IL-1 csonthatására, ami az egyik legerősebb csontreszorpciót serkentő citokin. Ez alapján feltételezhető volt, hogy az IL-1ra genetikai variációi befolyással lehetnek a csonttritkulás kialakulására. (I.2.1.2. fejezet)

Célkitűzésem volt az *IL-1ra* gén 2. intronjában lévő - korábbi vizsgálatban a csontvesztéssel összefüggést mutató (205) - VNTR polimorfizmusának hatását vizsgálni a menopauza utáni csonttömegre.

#### II.1.1.3. Interleukin-6 gén

Az IL-6 az egyik legerősebb csontreszorpciós faktor. A kódoló gén genetikai variációt összefüggésbe hozták a csonttritkulás kialakulásával (211). (I.2.1.3. fejezet)

Célkitűzésem volt az *IL-6* gén genetikai variációinak a csúcs-csonttömegre gyakorolt hatását vizsgálni linkage és asszociációs módszerrel is.

#### II.1.1.4. Inzulinszerű növekedési faktor 1 gén

Az IGF-1 igazoltan anabolikus hatással bír a csontokon. Idős korban összefüggést találtak a szérumban IGF-1 szint és a BMD érték között (218). (I.2.1.4. fejezet)

Célkitűzésem volt az *IGF-1* gén genetikai variációinak a csúcs-csonttömegre gyakorolt hatását vizsgálni linkage és asszociációs módszerrel is.

#### II.1.1.5. Kalcium szenzor receptor gén

A CaSR fehérje működésének változása hatással van a PTH elválasztásra és ezen keresztül a csontanyagcserére is. (I.2.1.5. fejezet) A *CaSR* gén 986 Ala/Ser polimorfizmusa ("A986S") hatással van egészséges emberekben a szérumban kalcium szintre.

Célkitűzésem volt a *CaSR* gén 986 Ala/Ser polimorfizmus hatásának vizsgálata a menopauza utáni csonttömegre és az osteoporosis kialakulására.

#### II.1.1.6. TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B jelátviteli út génjeinek hatása a csontdenzitásra, a csonttörési gyakoriságra és a gének szöveti expressziójára

A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B jelátviteli út génjei alapvető szerepe játszanak a csontanyagcserében, főleg a csontbontás szabályozásában. A jelátviteli út génjeinek genetikai hatást külön-külön igazolták a csontdenzitásra és az osteoporosis kialakulására. (I.2.1.7. fejezet)

Célkitűzésem volt a jelátviteli út génjeinek együttes genetikai vizsgálata. A három gén haplotípusainak hatását kívántam vizsgálni a csontdenzitásra, a csonttörési gyakoriságra és a gének szöveti expressziójára.

#### II.1.1.7. Wnt jelátviteli út génjei

A Wnt jelátviteli út alapvető szerepet játszik a csontanyagcserében, döntően a csontképzésben. A jelátviteli út fehérjeinek génjeit összefüggésbe hozták a csontdenzitással, az osteoporosis kialakulásával. (I.2.1.8. fejezet)

Célkitűzésem volt a Wnt jelátviteli útban szerepet játszó fehérjék génjeinek és a postmenopausás csont ásványianyag-tartalomnak összefüggését vizsgálni, különös tekintettel a GWAS vizsgálatban valószínűsített, de korábban nem vizsgált gének szerepére.

#### II.1.2. Az osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg vizsgálata

Az osteopetrosis különböző típusainak genetikai háttere napjainkra pontosan ismert, azonban tizenöt évvel korábban számos részlet ismeretlen volt. Az ADO2 egy autoszomális domináns módon öröklődő felnőttkori forma, melynek klinikai penetranciája 75 %-os. A kórkép klinikai tünetei jól ismertek. (I.1.3 fejezet) Azonban az nem volt ismert, hogy a nem penetrálódó, klinikai tüneteket nem okozó betegségben az osteoclastok működése sérül-e valamilyen mértékben.

Célkitűzésem volt, hogy ADO2 hordozó tünetmentes személyben megvizsgáljam, hogy az autoszomális domináns módon öröklődő kórkép enyhe, klinikailag nem manifesztálódó eltérései jelen vannak-e.

#### II.2. A csontvázra ható környezeti tényezők vizsgálata

Az osteoporosis kialakulását számtalan környezeti tényező befolyásolja. Mint ahogy azt az I.1.1.3. fejezetben részletesen kifejtettem, az involutios osteoporosis kialakulás közel sem az idős korban, kezdődik. Már kisgyermekkorban a kevés testmozgás, a kalciumszegény táplálkozás a csúcs-csonttömeg csökkenéséhez vezet. Emiatt a későbbi csontvesztés gyorsabban vezet a kritikusan kis csontsűrűséghez, a fokozott törési kockázathoz. A csontvesztés sebességét is rendkívül sok környezeti tényező befolyásolja. A kalciumszegény táplálkozás, a D-vitamin-hiány, a mozgásszegény életmód, az öregedési folyamatok mellett számos betegség, patológiás állapot jár csontvesztéssel (I.1.1.3.A.).

Éppen ezért a csontvázrendszerre ható környezeti tényezők közül azokat kívántam vizsgálni, melyek hatása viszonylag rövid idő alatt, jól körülírhatóan jelenik meg.

Célkitűzésem volt a csontvázrendszerre ható kezelési formák hatékonyságának vizsgálata osteoporosisban, D-vitamin-hiányban és egyes ritka csontbetegségekben, mint a FIO és a von Gierke betegség.

#### II.2.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatása a törésekre és az egészségügyi kiadásokra.

Az osteoporosis kezelésében alkalmazott készítmények hosszú távú hatásáról is számos adat áll rendelkezésünkre. (1.3.1. fejezet) Ezek az adatok azonban döntő részben gyógyszervizsgálatok részeként születtek, ezért nem mindenben tükrözik a mindennapi életet. A modern osteoporosis gyógyszerek egy ország teljes népességén mért töréscsökkentő hatékonyságáról, a kezelés gazdasági hatásairól kevés adat áll rendelkezésünkre.

Célkitűzésem volt a magyarországi adatok alapján felmérni, hogy a modern osteoporosis kezelések bevezetése milyen hatással volt a törések gyakoriságának változására és az egészségügyi kiadásokra Magyarországon. Valamint, hogy a terápiás compliance és adherencia hogyan befolyásolja a terápia hatékonyságát.

#### II.2.2. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők

A D-vitamin ellátottságot alapvetően az UV-B sugárzás mennyisége befolyásolja. (I.1.3.2.) Magyarországon a legalacsonyabb D-vitamin értékek a tél legvégére alakulnak ki. Nem volt ismert, hogy a teljes népességben milyen alacsony lesz a D-vitamin-szint tél végére. Az sem volt ismert, hogy a szabadhormonok mennyisége arányosan csökken-e a teljes 25OHD-hez képest. Kérdés volt, hogy a leghosszabb UV-B sugárzásmentes periódus végén a D-vitamin szintet befolyásoló ismert környezeti

tényezőknek van-e szerepük és a D-vitamin-hiánnyal összefüggésbe hozható betegségek gyakoriságára hatással van-e az ebben az időszakban mért hormonérték.

Célkitűzésem volt a D-vitamin szintek meghatározása a magyarországi népességre, korra, nemre és lakhelyre reprezentatív mintán történő vizsgálata a leghosszabb UV-B sugárzásmentes periódus után, a tél legvégén. Továbbá vizsgálni kívántam, hogy milyen környezeti tényezők befolyásolják a tél végi D-vitamin-hiányt és a hiány állapot legmélyebb pontja mutat-e összefüggést a D-vitamin-hiánnyal összefüggésbe hozható betegségek gyakoriságával.

### II.2.3. A D-vitamin-pótlás hatékonysága az adag és az adagolás módjának függvényében

A D<sub>3</sub>-vitamin adása mellett észlelt szérumszint 25OHD emelkedést számos vizsgálatban mérték és meglehetősen eltérő eredményeket kaptak. (I.3.3. fejezet) Azonban nem volt ismert, hogy a téli UV-B sugárzásmentes periódus három hónapja alatt mennyi az ideális D-vitamin ellátottsághoz szükséges D-vitamin-pótlás adagja. Nem ismert az sem, hogy a napi, a heti és a havi rendszerességgel adott - napi dózisra ekvivalens - adagolási módok egyformán hatásosak és biztonságosak-e.

Célkitűzésem volt a napi, heti és havi gyakorisággal alkalmazott napi 1000 NE dózis ekvivalens D<sub>3</sub>-vitamin szérumszint 25OHD értékre gyakorolt hatásának vizsgálata három hónapos kezelési időszak alatt.

### II.2.4. Fibrogenesis imperfecta ossium (FIO) kezelési lehetőségei

A FIO rendkívül ritka, szerzett csontbetegség. A kórkép kezelési kísérletei ez idáig jórészt sikertelenek voltak. Csupán melphalan adásával tudtak néhány esetben eredményt elérni. Kemoterápiás készítmény adása az alapbetegség miatt már súlyos általános állapotban lévő betegeknek az esetek többségében önmagában kontraindikált. (I.1.3.4. fejezet)

Célkitűzésem volt olyan kevésbé kockázatos kezelési eljárást alkalmazni FIO-ban, ami súlyos betegnél is a klinikai kép javulását okozza.

#### II.2.5. Glikogéntárolási betegség miatti májtranszplantációt követően a csontanyagcsere változása

GSD-ben, annak 1-es típusában is a növekedés elmaradása, a csontanyagcsere zavara összetett anyagcserezavar és hormonális eltérések következménye. Nem ismert olyan kezelés, amely a betegséget meggyógyítaná. A kialakuló májadenoma miatt gyakran szükségessé váló májtranszplantáció sem gyógyítja a betegséget – pl. az izmokban a glikogenezis zavara fennmarad -, de transzplantáció után a hypoglycaemia hajlam, az acidózis szűnik, a máj IGF-I termelő kapacitása rendeződik. Nem ismert, hogy ebben a kórképben a csontanyagcserére a májtranszplantáció hogyan hat. Nem ismert továbbá, hogy májtranszplantáció után milyen terápia szükséges és lehetséges a csontanyagcsere rendezéséhez.

Célkitűzésem volt von Gierke betegségben szenvedő beteg májtranszplantációja után a csontanyagcsere változások követése, a szükséges terápia meghatározása.

### III. Módszerek

#### III.1. Vizsgálati módszer - a vizsgált populáció, a vizsgálat felépítése

##### III.1.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálata

##### III.1.1.1. Az osteoporosisra ható gének meghatározása - a vizsgált populáció

A *VDR*, az *IL-6*, és az *IGF-1* gének vizsgálata során asszociációs és kötődéses módszerrel is tanulmányoztuk a csúcs-csonttömeg és a gének kiválasztott polimorfizmusainak kapcsolatát.

Az Indiana University School of Medicine "Sister study" vizsgálatába vont személyek mintáit használtuk fel. A vizsgálatba ötszáznegyvenkét testvérpár került be (418 kaukázusi és 124 afro-amerikai rasszhoz tartozó testvérpár). A 20 és 45 év közötti, még nem menopauzás nők valamennyien egészségesek voltak, a testvérpárok életkora közötti különbség kisebb volt, mint 10 év. Valamennyi résztvevőnél ODM, magasság és súlymérés történt, felmérték dohányzási szokásaikat is. (2. táblázat)

| Vizsgálat résztvevőinek adatai                                       | kaukázusi       | afro-amerikai   | <i>p</i> |
|----------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------|----------|
| <b>résztvevők száma</b>                                              | 646             | 165             |          |
| <b>családok száma</b>                                                | 292             | 71              |          |
| családok 2 testvérrel                                                | 246             | 54              |          |
| családok 3 testvérrel                                                | 36              | 12              |          |
| családok 4 testvérrel                                                | 9               | 4               |          |
| családok 5 testvérrel                                                | 1               | 1               |          |
| <b>genotipizált szülők száma</b>                                     | 157             | 1               |          |
| <b>résztvevők életkora (átlag év <math>\pm</math> SD)</b>            | 34,0 $\pm$ 6,7  | 34,2 $\pm$ 6,1  | 0,0071   |
| <b>testvérek életkora közötti különbség (év <math>\pm</math> SD)</b> | 3,6 $\pm$ 2,5   | 3,6 $\pm$ 2,6   | 0,97     |
| <b>résztvevők testsúlya (átlag kg <math>\pm</math> SD)</b>           | 69,1 $\pm$ 15,2 | 75,6 $\pm$ 17,7 | 0,0001   |

2. táblázat Az „Indiana Sister study” vizsgálat résztvevőinek demográfiai adatai.

Az *IL1-ra* gén, a *CaSR* gén, a TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B jelátviteli út és a Wnt jelátviteli út génjeinek vizsgálata során asszociációs módszerrel a menopauza utáni csontdenzitás és/vagy az osteoporosis gyakoriság összefüggését tanulmányoztuk a gének kiválasztott polimorfizmusaival.

A vizsgálatok során a Semmelweis Egyetem I.sz. Belgyógyászati Klinikáján, ambuláns vizsgálaton megjelent felnőtt, kaukázusi rasszhoz tartozó nők mintáit, adatait használtuk fel. Valamennyi vizsgálat rendelkezett a szükséges etikai engedéllyel, minden résztvevő beleegyező nyilatkozatot írt alá. Menopauza meghatározása a vizsgálatokban a 40 éves kor után, ismert nőgyógyászati betegség nélkül, legalább 12 hónapon át elmaradó menstruáció volt. Osteoporosisban szenvedőnek tekintettük a vizsgált személyeket, ha a gerincen vagy a combnyakon a csontdenzitás érték  $-2,5$  Tscore alatti volt és vizsgálataink nem igazoltak más csontanyagcsere-betegséget. Involutios osteoporosis diagnózisának felállításához kizártuk valamennyi szekunder osteoporosishoz vezető kórképet. A vizsgálatokba bevont résztvevők nem szenvedtek semmilyen a csontanyagcserét befolyásoló más betegségben és nem szedtek a csontanyagcserét befolyásoló gyógyszert. Minden résztvevőnél felmértük a csontanyagcserére ható környezeti tényezőket, a dohányzási, alkoholfogyasztási szokásokat. Néhány vizsgálatnál a kalcium bevitel nagyságát is kikérdeztük kérdőív segítségével. Mértük a résztvevők magasságát, súlyát, rögzítettük életkorukat és a menopauzában eltöltött évek számát illetve a korábbi csonttöréseket.

Az *IL1-ra* gén vizsgálata során 286 már menopauzában lévő, 40-65 év közötti nő adatait, mintáit használtuk fel. Közülük 98-an szenvedtek osteoporosisban (átlag életkoruk 56,5 év). Az osteoporosisban szenvedők kontroll csoportja 81 kor szerint illesztett nem osteoporotikus egyén (átlag életkor 54,3 év) adata volt.

A *CaSR* gén vizsgálata során 108 osteoporosisban szenvedő beteget (átlagéletkor  $59,3 \pm 6,5$ ) és 122 nem osteoporotikus nő (átlagéletkor  $57,2 \pm 5,7$  év) mintáit, adatait használtuk fel.

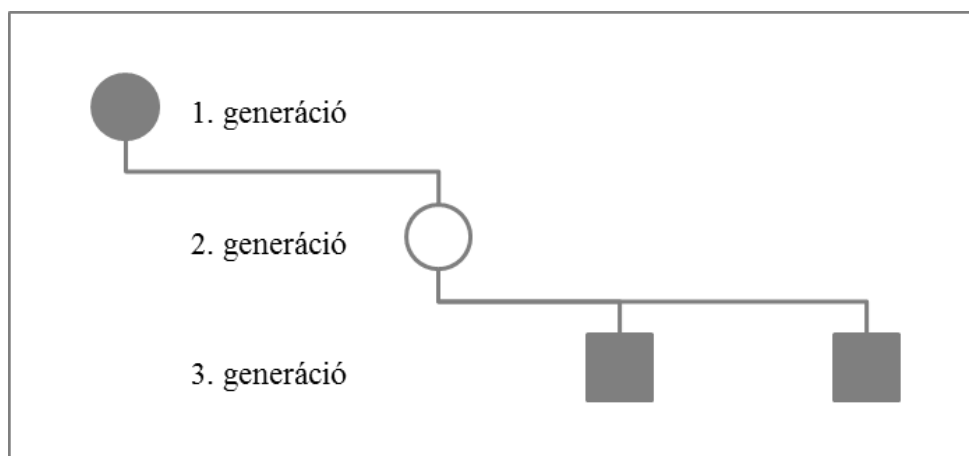
A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B szabályozási út génjeinek vizsgálatába 360 postmenopausás nőt vontunk be. A genetikai hatás értékeléséhez nem képeztünk csoportokat a csontdenzitás-értékek alapján. Ugyanakkor a vizsgálatban résztvevők közül 17 betegről csontmintát nyertünk, a vizsgálatról függetlenül szükségessé váló ízületi vagy csontműtét kapcsán. Az mRNS mérés ezekből a csontmintákból történt.



A Wnt jelátviteli út génjeinek vizsgálata során 932 postmenopausás egyén mintáit használtuk fel (átlagéletkoruk  $61,1 \pm 9,9$  év) volt.

#### III.1.1.2. Az osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg vizsgálata

Ebben a vizsgálatban egy ADO2-ben szenvedő család adatait dolgoztam fel. (11. ábra) Az 57 éves nagymama (1. generáció) édesanyja és testvére is ebben a betegségben szenvedett, mutatva annak klinikai tünetei. A nagymamánál 12 éves korát követően egyértelmű radiológiai tünetek mellett többszöri csípő, felkar és tibia törés alakult ki. Az ő harmincnégy éves lánya (2. generáció) tünetmentes volt a vizsgálat kezdetéig. Feltételezték, hogy a betegségért felelős gént nem örökölte. Azonban a két unokánál 3 éves és 5 éves (3. generáció) korukban a betegség egyértelmű radiológiai tünetei jelentek meg. A vizsgálat során a tünetmentes anyánál kerestem a betegség esetleges radiológiai, laboratóriumi jeleit.



11. ábra Az osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg családfája

A római számok a generációkat, a körök a nőket, a négyzetek a férfiakat, a fekete jelek a beteg, a világos jel a hordozó személyt jelzik.

### III.1.2. A csontvázra ható környezeti tényezők meghatározása során vizsgált populáció

#### III.1.2.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatékonysága - a vizsgált populáció

A vizsgálat során az OEP ( Országos Egészségbiztosítási Pénztár) adatbázisban 2004 és 2010 között osteoporosis BNO- kóddal (betegségek nemzetközi osztályozására szolgáló rendszer) fekvő- vagy járóbeteg-ellátás során azonosított, vagy osteoporosis terápiát kiváltott női betegek osteoporosis szempontjából releváns ellátási tételeit megvizsgálva, több modellben tanulmányoztuk az osteoporosis kezelés hatékonyságát a terápiás együttműködés és a terápiás hűség függvényében. Vizsgáltuk a törésszámra, az egészségügyi kiadásokra és halálózásra gyakorolt hatást is.

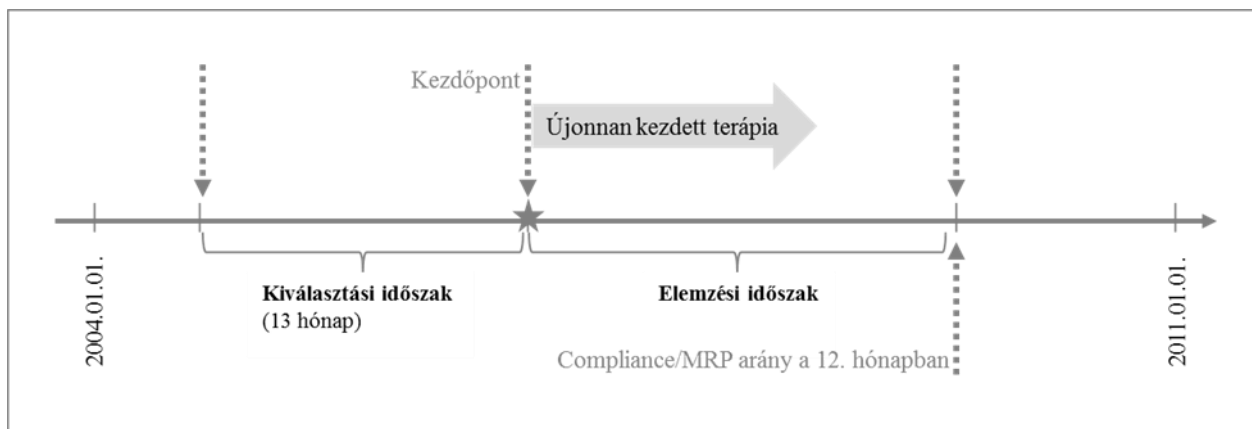
A terápiás perzisztencia és compliance során a gyógyszerellátási adatok elemzését végeztük el, míg a törési kockázat vizsgálatánál a fekvő- és járóbeteg-ellátás BNO-kóddal azonosított tételeit is vizsgáltuk. Az ellátási adatok mellett a beteg kora és neme is elérhető volt. Az egyes elemzésekbe a teljes női betegkörből különböző feltételek alapján szelektáltuk a betegeket.

Beválogatási kritériumok: 1, A beteg legalább egy receptet kiváltott a releváns osteoporosis-terápiák közül (3. táblázat) a vizsgálati időszakban; 2, Osteoporosishoz vagy osteoporoticus töréshez kapcsolódó ellátást kapott a vizsgálati időszakban. Azok a betegek feleltek meg ennek a kritériumnak, akik járó- vagy fekvőbeteg-ellátásban részesültek osteoporosis BNO-kód mellett (M80, M81), illetve 60 évesnél idősebb korban valamely osteoporosisra jellemző testtájékon törést szenvedtek (csípő-, csukló-, felkar-, gerinc-, többszörös törés).

| Megnevezés          | Kiszerelés | Hatóanyag   | Adagolás          |
|---------------------|------------|-------------|-------------------|
| Evista 60 mg        | 28×        | raloxifen   | napi orális       |
| Forsteo 20 µg/80 µl | 1×         | teriparatid | napi parenteralis |
| Trabecan-Teva 70 mg | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Trabecan 70 mg      | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Sedron 70 mg        | 12×        | alendronat  | heti orális       |
| Sedron 70 mg        | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Massidron 70 mg     | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Massidron 70 mg     | 8×         | alendronat  | heti orális       |
| Fosamax 70 mg       | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Fosamax 10 mg       | 28×        | alendronat  | heti orális       |
| Fortimax            | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Alendron-Rat 70 mg  | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Alendron Pli 70 mg  | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Alendron He 70 mg   | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Alendromax 70 mg    | 12×        | alendronat  | heti orális       |
| Alendromax 70 mg    | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Alendis 70 mg       | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Bonviva 3 mg/3 ml   | 1×         | ibandronat  | háromhavi         |
| Bonviva 150 mg      | 1×         | ibandronat  | havi orális       |
| Boneact 35 mg       | 4×         | risedronat  | heti orális       |
| Actonel 5 mg        | 28×        | risedronat  | heti orális       |
| Actonel 35 mg       | 12×        | risedronat  | heti orális       |
| Actonel 35 mg       | 4×         | risedronat  | heti orális       |
| Aclasta 5 mg        | 1×100 ml   | zolendronat | evi parenteralis  |
| Fosavance 70 mg     | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Fosavance 70 mg     | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Epolar Trio         | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Calcisedron-D Trio  | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Calcisedron-D       | 4×         | alendronat  | heti orális       |
| Calcisedron-D       | 12×        | risedronat  | heti orális       |
| Actonel Trio 35 mg  | 4×         | risedronat  | heti orális       |
| Actonel Trio 35 mg  | 4×         | risedronat  | heti orális       |
| Protelos 2 G        | 28×        | stroncium   | napi orális       |
| Protelos 2 G        | 84×        | stroncium   | napi orális       |

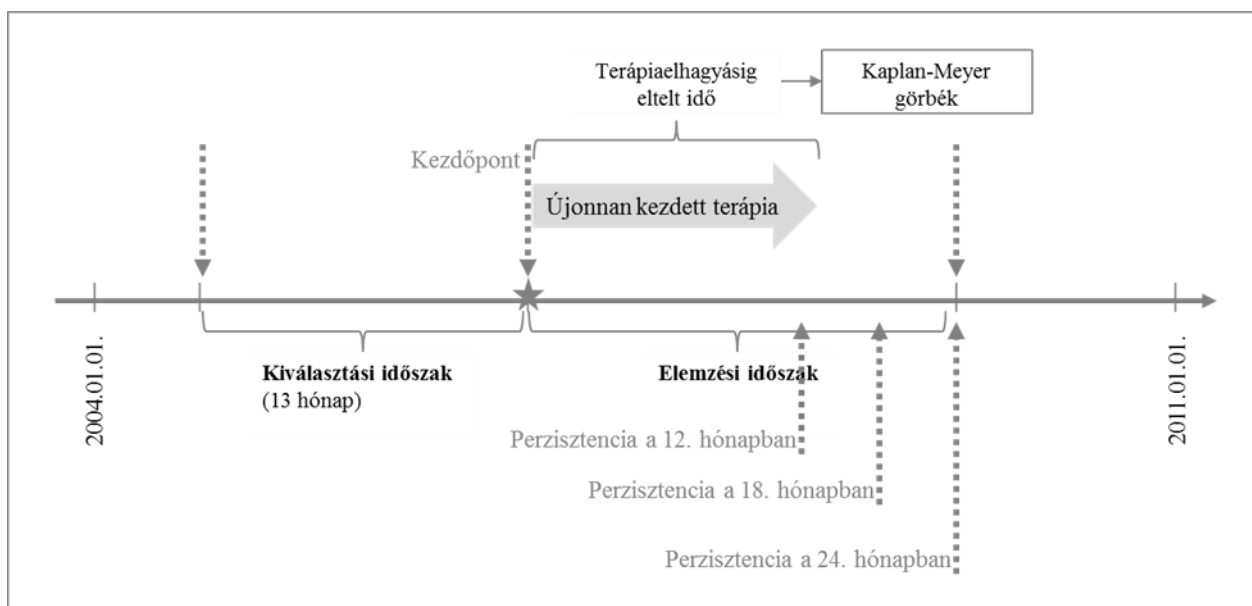
### 3. táblázat A figyelembe vett osteoporosis terápiák csoportosítása

Kizárási kritériumok: 1, A beteg 50 évnél fiatalabb volt; 2, Malignus kórképben (is) szenvedett; 3, Paget-kór vagy AIDS állt fenn; 4, A kezdőponttól számított három hónapon belül bekövetkezett elhalálozás. A betegkör azonosítását követően kijelöltük az elemzés kezdetét. (12. ábra) A kezdőpont minden esetben új terápiakezdésre esett, amelyet a kiválasztási periódusra vonatkozó kritériummal azonosítottunk (a kezdőpontot megelőző 13 hónap során azonos csoportba sorolt készítményből nem váltott ki gyógyszert a beteg). Azokat a betegeket, akik egy napon többféle új gyógyszert váltottak ki, a vizsgálatainkból kiszűrtük. A fenti meghatározásnak köszönhetően egy beteg a megfigyelt időperiódus során többször is teljesíthette a kezdőpont feltételeit, ezért a perzisztencia- és compliance-elemzésekbe vont adatok száma magasabb, mint a vizsgált betegszám. A compliance esetében az elemzési időszak az első kiváltást követő 12 hónapos periódus volt. Ezen az időintervallumon belül határoztuk meg annak mértékét, hogy a betegek milyen százalékos arányban szedték megfelelően a gyógyszert: MPR (medication possession ratio). Amennyiben a betegről nem állt rendelkezésre 12 havi adat, úgy kizárásra került az elemzéseinkből.



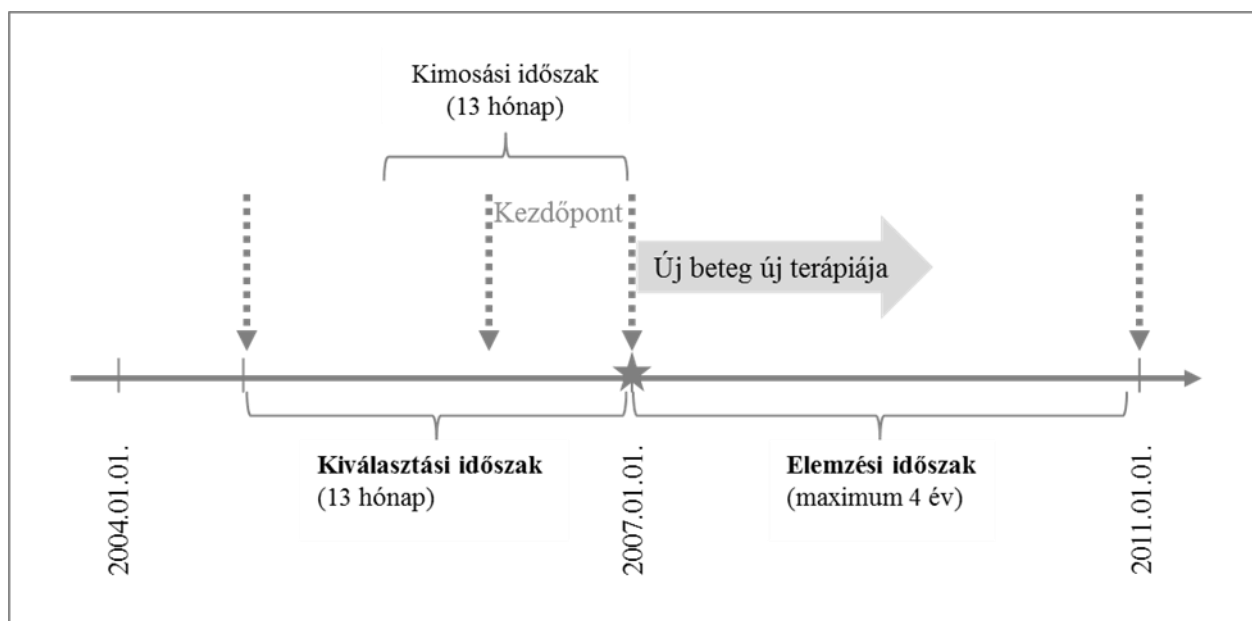
12. ábra A compliance elemzés metodikája

A perzisztencia vizsgálatát kétéves időtávon végeztük el. Az elemzési időszak alatt az első kiváltást követő 12., 18. és 24. hónapban vizsgáltuk meg a terápián maradt betegek arányát. (13. ábra)



13. ábra A perzisztencia-elemzés metodikája

A betegekről rendelkezésre álló megfigyelési időtartamok eltérőek lehetnek, mivel a Kaplan–Meier túlélés elemzés során a betegek eltérő megfigyelési idejéből adódó torzítások kiküszöbölhetők. A törési kockázatok elemzése esetén az elemzési időszak az új betegek újonnan kezdett terápiáját követő négy év volt. (14. ábra)



14. ábra A törési kockázat elemzésének metodikája

A kezdőpontot megelőző 13 hónapban a betegek ebben az esetben sem álltak kezelés alatt. A törési kockázat változásának vizsgálatakor a beteg ellátási adataiban semmilyen osteoporoticus terápia nem volt megengedett. Itt a megelőző kezelés nélküli három évben található komorbid (kovariánsok) alapján csoportokba soroltuk a betegeket. A perzisztencia-elemzéshez hasonlóan az eltérő hosszúságú megfigyelési időszak nem okoz torzítást az eredményeinkben. Az egyes elemzésekben azonosított betegeket alcsoportonként is megvizsgáltuk. A perzisztencia és a compliance vizsgálata esetén az adatokat az osteoporosis-terápiák mentén képzett csoportokban elemeztük, amelyeket a beviteli mód és az adagolás gyakorisága szerint alakítottunk ki aszerint, hogy a kezdőpontban milyen terápián volt a beteg. A törési kockázat elemzése során a terápiák között csak beviteli mód szerint tettünk különbséget (orális vagy parenteralis).

A kezelés hatékonyságának megítélésére két csoportot hoztunk létre, hasonlítottunk össze. A vizsgálatnak ennek a részébe azoknak a betegeknek az adatai kerültek, akiknek az osteoporosis kezelése 2006.01.01-je és 2007.12.31-e között indult, így biztosítva a 3 éves követés lehetőségét és a kezelés előtti 2 éves megfigyelési periódust. Az egyik csoportba jó compliance-el kerültek a betegek, ez 80 % feletti MPR-t jelentett. A rossz compliance határát 20 %-os MPR-nél húztuk meg.

### III.1.2.2. A tél végi D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők azonosítása - a vizsgált populáció

A keresztmetszeti vizsgálat speciális időzítésű, Magyarországon korra, nemre és lakhelyre reprezentatív mintán zajlott. Vizsgálatunkba 831 személyt vontunk be, akik életkor, lakhely, nem szerinti eloszlásban tükrözték a 2012-es népszámláláskor nyert magyarországi felnőtt populáció adatait. (4. táblázat)

A vizsgálatban kizáró tényező nem volt. A résztvevőket a földrajzi eloszlás alapján kiválasztott háziorvosok hívták be. A háziorvosok a tőlük nem és kor szerint kért felnőttet az egészségügyi kártyák alapján hívták be. A vizsgált csoportban az első behívott családi nevének kezdőbetűje megegyezett a háziorvos családi nevének kezdőbetűjével. Ettől kezdve a megfelelő alanyokat abc sorrendben hívták be, egészen addig, amíg a kért vizsgálati számot el nem érték. Rendelőben egészségügyi probléma miatt jelentkező betegek a vizsgálatban nem vehettek részt.

| Vizsgált populáció eloszlása |                     |                  |            |                     |                  |          |
|------------------------------|---------------------|------------------|------------|---------------------|------------------|----------|
| Tervezett                    |                     |                  | Kiértékelt |                     |                  | Súlyszám |
| Lakcím                       | Csoportok           | Vizsgált személy | Lakcím     | Csoportok           | Vizsgált személy |          |
| Budapest                     | 18-29 év nő         | 13               | Budapest   | 18-29 év nő         | 16               | 0,654    |
|                              | 18-29 év férfi      | 13               |            | 18-29 év férfi      | 11               | 0,951    |
|                              | 30-59 év nő         | 39               |            | 30-59 év nő         | 41               | 0,766    |
|                              | 30-59 év férfi      | 39               |            | 30-59 év férfi      | 34               | 0,923    |
|                              | 60 év fölötti nő    | 25               |            | 60 év fölötti nő    | 35               | 0,575    |
|                              | 60 év fölötti férfi | 16               |            | 60 év fölötti férfi | 17               | 0,758    |
| Város                        | 18-29 év nő         | 39               | Város      | 18-29 év nő         | 26               | 1,208    |
|                              | 18-29 év férfi      | 39               |            | 18-29 év férfi      | 23               | 1,365    |
|                              | 30-59 év nő         | 117              |            | 30-59 év nő         | 90               | 1,047    |
|                              | 30-59 év férfi      | 117              |            | 30-59 év férfi      | 80               | 1,177    |
|                              | 60 év fölötti nő    | 74               |            | 60 év fölötti nő    | 56               | 1,064    |
|                              | 60 év fölötti férfi | 48               |            | 60 év fölötti férfi | 35               | 1,104    |
| Falu                         | 18-29 év nő         | 23               | Falu       | 18-29 év nő         | 41               | 0,452    |
|                              | 18-29 év férfi      | 23               |            | 18-29 év férfi      | 35               | 0,529    |
|                              | 30-59 év nő         | 68               |            | 30-59 év nő         | 53               | 1,033    |
|                              | 30-59 év férfi      | 68               |            | 30-59 év férfi      | 30               | 1,825    |
|                              | 60 év fölötti nő    | 43               |            | 60 év fölötti nő    | 25               | 1,385    |
|                              | 60 év fölötti férfi | 27               |            | 60 év fölötti férfi | 16               | 1,359    |
| Összesen                     |                     | 831              |            |                     | 664              |          |

4. táblázat Tél végi reprezentatív D-vitamin felmérésben résztvevő személyek eloszlása

A vizsgált személyek vitális paramétereit a háziorvosi rendelőben mérték, az egészségügyi anamnézist ellenőrizték. Minden résztvevő kérdőívet töltött ki a D-vitamin anyagcserével összefüggésbe hozható életmódbeli szokásairól, betegségeiről és az esetleges D-vitamin-pótlásról. Az adatok hiánya, a felkért résztvevők visszautasítása és a vérminták hibája (nem centrifugált vérek) miatt a vizsgálatba 669 értékelhető személy adatait dolgoztuk fel. A reprezentativitás megtartása érdekében a mintákat súlyoztuk.

### III.1.2.3. A D-vitamin-pótlás hatékonyságának meghatározása - a vizsgált populáció

Randomizált, kettősvak, kontrollált, multicentrikus vizsgálatba 2013. február és október között összesen 140 személyt szűrtünk. Közülük 67-et randomizáltunk (55 nőt, 12 férfit). Beválasztási feltétel volt a legalább 18 éves életkor és az 50 nmol/l alatti szérumszint 25OHD-vitamin-szint. Kizáró ok volt a szűréskor észlelt vagy egy éven belüli hypercalcaemia (se  $\text{Ca} > 2,60 \text{ mmol/l}$ ), a szűrés előtti két évben igazolt hypercalciuria, vesekövesség az anamnézisben, súlyos veseelégtelenség ( $\geq 3$ . stádium) osteoporosison kívül más csontanyagcsere betegség és a malabszorpció. Kizáró ok volt még a jelentős elhízás, a pangásos szívelégtelenség, az angina pectoris, valamint a két hónapon belüli D-vitamin-szedés napi 1000 NE-nél nagyobb adagban.

Randomizációt követően a vizsgált személyeket három kezelési csoportba osztottuk. Az "A" csoportban napi 1000 NE, a "B" csoportban heti 7000 NE, a "C" csoportban havi 30 000 NE D<sub>3</sub>-vitamin kezelést kaptak. A vizsgálat 90 napja alatt 5 vizit történt. A vizitek beosztását és az elvégzett vizsgálatokat a 5. táblázat tartalmazza.

|                                 | Szűrés | Vizit 0  | Vizit 1  | Vizit 2   | Vizit 3  |
|---------------------------------|--------|----------|----------|-----------|----------|
| Vizit időpontja (nap)           | Sz     | Sz+0 ±15 | V0+30 ±8 | V0+60 ±15 | V0+90 ±8 |
| Beteg tájékoztatás              | X      |          |          |           |          |
| Anamnézis felvétel              | X      |          |          |           |          |
| Vitális paraméterek mérése      | X      |          | X        |           | X        |
| Fizikális vizsgálat             | X      |          |          |           | X        |
| Beválasztási kritériumok        | X      |          |          |           |          |
| Gyógyszeres kezelés felmérése   | X      | X        | X        |           | X        |
| Randomizálás                    |        | X        |          |           |          |
| 25OHD, Ca, PTH mérés            | X      |          | X        | X         | X        |
| Vizeletvizsgálat (Ca, P, kreat) | X      |          | X        | X         | X        |
| Rutin vérvizsgálat              | X      |          |          |           | X        |
| Vizsgálati készítmény kiosztása |        | X        | X        | X         |          |
| Mellékhatások felmérése         |        | X        | X        | X         | X        |
| Életmód és diéta értékelése     | X      | X        | X        |           | X        |

5. táblázat A vizsgálat során tervezett vizitek ideje és az elvégzett vizsgálatok

#### III.1.2.4. Fibrogenesis imperfecta ossium új típusú kezelésével gyógyított személy adatai

Az 1951-ben született férfi családjában nem fordult elő csontanyagcsere-betegség. Jobb lába egy éves korban járványos gyermekbénulás miatt lebénult. Betegségének első tünetei 1997-ben jelentkeztek. Háti és deréktáji fájdalom kapcsán a IX. és X. háti illetve az I. és II. lumbális csigolyák kompresszióját mutatták ki. A részletes kivizsgálás során epehólyag tumor gyanúja merült fel és az elektroforézissel kimutatott M komponens felvetette myeloma multiplex gyanúját is. Az epehólyagot eltávolították, de malignitás nem igazolódott. Ismételt hematológiai kivizsgálás kizárta myeloma lehetőségét, MGUS igazolódott. Ekkor a crista biopszia még normál csontszerkezetet mutatott. 1998-ban patológiás borda- és metatarsus törést szenvedett. 2002-ben bal, 2005-ben jobb combnyaktörés alakult ki, avascularis nekrosis talaján. 2005-ben kétoldali csípőprotézis műtét történt. A műtétet követően a beteg mankóval járt. Ekkor mindkét ulna, majd humerus súlyosan deformálódott és ismételten eltört. 2008-után a végtagok és a gerinc súlyos deformációja miatt tolókocsival tudott csak közlekedni. Testmagassága több mint 30 cm-rel csökkent. 2008 után folyamatosan fájdalomcsillapítóra szorult.



### III.1.2.5. Von Gierke betegség miatti májtranszplantáció után a csontanyagcsere változása

A betegnél kisgyermekkora óta észlelték a von Gierke betegség tüneteit. Fejlődése elmaradt kortársaitól, magassága 23 éves korára 128 cm volt. Gyakoriak voltak a hypoglycaemias rosszullétek, hepatomegalia, neutropenia alakult ki. Tizennégy éves korában köszvényt, hypogonadismust és hypothyreosist diagnosztizáltak. Húsz éves korában a májban kifejlődő adenomák, malignus transzformáció veszélye miatt májtranszplantációt végeztek. A beteg ezután került rendelésemre, extrém alacsony csontdenzitás-értékekkel, hypogonadizmusra és hypothyreosisra utaló laboratóriumi paraméterekkel, a csontrentgen alapján nyitott epifízis fugákkal.

## III.2. Mérési módszerek

### III.2.1. Laboratóriumi mérések

#### III.2.1.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálata során alkalmazott laboratóriumi módszerek

A VDR FOKI polimorfizmus, az *IGF-1* MR és az *IL-6* VNTR polimorfizmusának vizsgálata során az egészséges résztvevők szűrő vizsgálataihoz az Indiana University Medical School központi laboratóriumának automatáit használtuk fel (Cobas Mira, Roche Diagnostic System, Branchburg, NJ).

A *CaSR*, a *TNFRSF11A*/*TNFSF11*/*TNFRSF11B*- és a Wnt jelátviteli út génjeinek vizsgálata során a postmenopausás, részben osteoporotikus populáció laboratóriumi vizsgálatait a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumának automatáival végeztük el. Valamennyi esetben kizártunk minden más csontvesztéssel járó kórképet és a szekunder osteoporosishoz vezető betegségeket. Laboratóriumi automatával mértük a kalcium, foszfát értékeket a szérumban és a vizeletben, kreatinin, GOT (glutamát-oxalacetát aminotranszferáz), GGT (gamma-glutamil transzferáz), alkalikus foszfatáz, glükóz, kálium, nátrium, TSH, 25OHD és PTH értékeket a szérumban.

Az osteopetrosis tünetmentes génhordozó egyén vizsgálata során a rutin laboratóriumi méréseket az Indiana University Medical School központi laboratóriumának automatáival végeztük. A CK-t (kreatin-kináz) Vitros 750 XRC automatával (Johnson and Johnson Diagnostic, Rochester, NY) határoztuk meg. A CK-BB-t agaróz gélen történő elektroforetikus futtatás után (REP CK-16 Isoenzyme KIT, Helena Laboratories, Beaumont, TX) mértük. A TRAP meghatározás Lau 1987-ben közölt metodikájának megfelelően történt (291).

#### III.2.1.2. A csontvázra ható környezeti tényezők meghatározása során alkalmazott laboratóriumi módszerek

A tél végén végzett, reprezentatív D-vitamin felmérés, a D-vitamin-pótlás hatékonyságának vizsgálata és a FIO-ban szenvedő beteg vizsgálata során a 25OHD-vitamint és a PTH-t automatizált immunoassay-vel (LIAISON analyzer DiaSorin, USA) mértük. A 25OHD-vitamin meghatározásnál az intra- és inter-assay koefficiens varianciája 4.1-7.7% és 7.7-10.9% között volt csökkenő koncentrációknál. A DBP-t immunoturbidimetriával, poliklonális nyúl antihumán globulin antitest (A0021, Dako) felhasználásával automatizált platformon (Modular, Roche, Mannheim, Germany) mértük. A szérum kalcium, foszfát, albumin, alkalikus foszfatáz, kálium, nátrium, laktát dehidrogenáz, kreatinin, glükóz, koleszterin, triglicerid, GOT, GPT, GGT és a vizelet kalcium, foszfát, kreatinin mérés a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumában Beckman Coulter AU 5800 automatával (Beckman Coulter, Brea, USA) történt. A biológiailag elérhető és a szabad 25OHD értékeket korábban Powe által leírt képlet szerint számítottuk (292).

### III.2.2. Osteodensitometria

A *VDR*, az *IL-6* és az *IGF-1* gének és a csúcs-csonttömeg vizsgálata során a csontmérést a lumbális gerincen ( $L_{2-4}$ ) és a femurnyakon DEXA-val, Lunar DPX-L készülékkel (Lunar Corp., Madison, WI) végeztük el. Minden testvérpárt ugyanazon a készüléken mértünk.

Az *IL-1ra*, a *CaSR*, az *LCT*, a *TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B*- és a *Wnt* jelátviteli út génjeinek vizsgálata során a csontméréseket az Semmelweis Egyetem I.sz. Belgyógyászati Klinika Osteodensitometriai Laborjában végeztük el. Az *IL-1ra* és a *CaSR* génhez kapcsolódó vizsgálatban DPX-L készülékkel (Lunar Corp., Madison, WI); a *TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B*- és a *Wnt* jelátviteli út génjeihez kapcsolódó vizsgálatokban Lunar Prodigy DXA készülékkel (GE Medical Madison, Wisconsin, USA) mértük a lumbális gerinc  $L_{2-4}$  régióját, a csípőtájat (teljes femur és combnyak). A vizsgálatok során minden vizsgálatba vont személy esetében ugyanazt a denzitométert használtuk. A mérési eredményeket, a csontdenzitást terület denzitásban,  $g/cm^2$  értékben és T score-ban is kifejeztük. (T score: a nemnek megfelelő fiatalfelnőttkori átlagtól való eltérést fejezi ki. Egységnyi értéke megegyezik a kornak megfelelő adott populáció fiatalfelnőttkori átlagának szórásával; Z score: a kornak, nemnek megfelelő csoport átlagától való eltérést fejezi ki. Egységnyi értéke megegyezik az adott populáció kornak, nemnek megfelelő csoport átlagának szórásával)

### III.2.3. Genetikai vizsgálatok

#### III.2.3.1. A *VDR* gén vizsgálata során használt genetikai módszerek

A genomiális DNS-t a perifériás mononukleáris sejtekből etanol precipitációval izoláltuk a meghatározott protokoll szerint (293). A *VDR* gén FOK polimorfizmusát korábbi irodalomban megadott primerekkel (201) amplifikáltuk PCR (polymerase chain reaction) segítségével. A PCR amplifikációt Hybaid Touch Thermocycleren (Hybaid, Teddington, UK) végeztük. A DNS mintákat  $90^{\circ}C$ -on denaturáltunk 2 percig, amelyet öt ciklus (denaturáció  $92^{\circ}C$ , 20 másodperc;  $58^{\circ}C$ , 30 másodperc;  $68^{\circ}C$ , 120 másodperc), majd 43 ciklus (denaturáció  $92^{\circ}C$ , 10 másodperc;  $58^{\circ}C$ , 20 másodperc;  $68^{\circ}C$  C 60 másodperc) követett. A végső szintézist  $68^{\circ}C$  fokon 8 percig végeztük. A PCR terméket FOK1 enzimmel (New England Biolabs,

Beverly, MA, USA) emésztettük 37 °C-on 1 órán keresztül, majd. 2%-os agaróz gélen elektroforézissel különítettük el. A mintákat etidium-bromiddal festettük meg. Az allélok elnevezése a korábbi publikációknak megfelelően történt, az enzimhatás létrejöttékor "f", annak hiányában "F"-nek nevezve azokat.

### III.2.3.2. Az *IL-1ra* gén vizsgálata során használt genetikai módszerek

A genomiális DNS-t a perifériás mononukleáris sejtekből etanol precipitációval izoláltuk a meghatározott protokoll szerint (293). Az *IL-1ra* gén 86 bázispáros tandem repeat polimorfizmusát korábbi irodalomban megadott primerekkel (294) amplifikáltuk PCR segítségével. A PCR amplifikációt Hybaid Touch Thermocycleren (Hybaid, Teddington, UK) végeztük. A DNS mintákat 95°C-on denaturáltunk 5 percig, amelyet öt ciklus (denaturáció 95°C, 30 másodperc; 60°C, 120 másodperc; 72°C, 60 másodperc), majd 25 ciklus (denaturáció 95°C, 30 másodperc; 60°C, 60 másodperc; 72°C 60 másodperc) követett. A végső szintézist 72°C fokon 5 percig végeztük. A PCR termékeket 2%-os agaróz gélen 120 Voltos feszültségen 30 percen keresztül elektroforézissel különítettük el. A mintákat etidium-bromiddal festettük meg. Az allélok elnevezése a korábbi publikációknak megfelelően történtek meg: allél 1 (A1), 410 bp – négy ismétlődés; allél 2 (A2), 240 bp – két ismétlődés; allél 3 (A3), 500 bp – öt ismétlődés; allél 4 (A4), 325 bp – három ismétlődés; allél 5 (A5), 595 bp – hat ismétlődés (294).

### III.2.3.3. Az *IL-6* gén vizsgálata során használt genetikai módszerek

A vérmintákat minden résztvevő lánytestvérétől, és amennyiben lehetséges volt, egyik szülőtől vettük. A genomiális DNS-t standard technikával izoláltuk (295). A DNS mintát a Bowcock és mts.-ai által leírt módon, egyedi, a VNTR polimorfizmusra jellemző, 39 UTR primerekkel amplifikáltuk PCR-ral (296). A három reakciós keverék 30 ng templát DNS-t, minden primerből 15 ng-ot, 200 mmol/l dNTP-t, 1,5 mmol/l MgCl<sub>2</sub>-ot, 1 U Taq polimerázt (Perkin Elmer, Branchburg, NJ) tartalmazott. Az oldatot 20 ml-re töltöttük fel pufferrel. A forward primereket radioaktív <sup>32</sup>P-ral jelöltük meg T4 polinukleotid kinázt használva (Life

Technologies, Inc., Gaithersburg, MD). A PCR amplifikációt PRC-200 DNS Engine thermocyclerrel végeztük (MJ Research, Inc., Watertown, MA) 94°C-on 1 percig, amelyet 35 ciklus követett (94°C-on 1 percig és 72°C-on 1,5 percig). A végső szintézis fázisát 72°C-on 7 percig végeztük. A radioaktívan megjelölt PCR termékeket a DNS láncok hosszúsága alapján különítettük el, 4%-os poliakrilamid szekvenáló gélen elektroforetizáltuk Kodak BioMax STS 451 eszközön (Eastman Kodak Company, Rochester, NY) 70 W-on 5 óra 30 percen keresztül. Az autoradiográfiákat erősítő ernyő nélkül 12-16 órára kazettákba helyeztük. Minden genotípust két különböző, független megfigyelő pontozott. Az eredmények ellenőrzése céljából a genotípusok 39 %-át újból megvizsgáltuk és ellenőriztük a genotipizálást. Az allélek fragmenseinek méreteit a pUC18 baktérium DNS-ével (Amersham Life Science, Inc., Cleveland, Ohio) való összehasonlítás alapján határoztuk meg.

#### III.2.3.4. Az *IGF-1* gén vizsgálata során használt genetikai módszerek

A vérmintákat minden résztvevő lánytestvérétől, és amennyiben lehetséges volt, a szüleiktől nyertük. A DNS-t standard technológia alapján izoláltuk (295). A PCR-hoz Rosen és mts.-ai által leírtak alapján oligonukleotid primereket használtunk, és különböző citozin-adenozin ismétlődésekből álló polimorf mikroszatellitákat amplifikáltunk (218). Ezek a polimorf mikroszatelliták 1 kb távolságban találhatóak az *IGF-1* gén transzkripció kezdetétől. A reakcióhoz 30 ng DNS mintát, minden primerből 100 ng-ot, minden deoxynukleotid trifoszfátból 200 mmol/l-t, 1,5 mmol/l MgCl<sub>2</sub>-ot, 0,5 egység Taq polimerázt (Perkin-Elmer Corp., Branchburg, NJ), és 20 ml-re kiegészített, a gyártó által ajánlott puffert használtunk. A forward primert radioaktív <sup>32</sup>P-ral jelöltük meg T4 polinukleotid kináz segítségével (Life Technologies, Inc., Gaithersburg, MD). A PCR amplifikációt PTC-200 DNS Engine thermocyclerrel (MJ Research, Inc., Watertown, MA) végeztük 94°C-on 10 másodpercig, amelyet 35 ciklus követett 94°C-on 30 másodpercig, 68°C-on 30 másodpercig és 72°C-on 45 másodpercig. A végső szintézis fázisát 72°C-on 5 percig végeztük. A radioaktívan megjelölt PCR termékeket hosszúság alapján különítettük el elektroforézissel 6,5%-on poliakrilamid szekvenáló gélen Kodak BioMax STS 451 (Eastman Kodak Company, Rochester,

NY) eszközzel 70 W-on 2 óra 45 percig. Az autoradiográfiákat erősítő ernyő használata nélkül 4-12 órára kazettákba tettük. Mind a fenotípus, mind a genotípus által kódolt információ elérhető volt a résztvevők számára. Az eredmények ellenőrzése céljából a genotípusok 36%-át újból megvizsgáltuk és ellenőriztük a genotipizálást. Az allél fragmensek méreteit a pUC18 baktérium DNS-éhez viszonyítva állapítottuk meg (Amersham Life Science, Inc., Cleveland, Ohio).

### III.2.3.5. Az *CaSR* gén vizsgálata során használt genetikai módszerek

A genomiális DNS-t perifériás mononukleáris sejtekből vontuk ki etanol precipitáció segítségével a megadott protokollok alapján (293). A *CaSR* gén polimorf régióját (rs1801725) allél specifikus PCR-rel amplifikáltuk. Az alábbi primereket használtuk: primer M, 5'\_ACG-GTC ACC TTC TCA CTG ACG-TTT GAT GAG-CCT CAG AAG TAC T 3'\_43 mer; primer W, 5'\_GCT TTG ATG AGC CTC AGA AGA TCG\_24-mer; és primer R, 5'\_CTC TTC AGG GTC CTC CAC CTC T 3'\_22-mer (10 umol/l végső koncentráció). A PCR reakciót 20 ul-es végső térfogaton végeztük. A reagens az alábbiakat tartalmazta: 2 ul 10\* Mg nélküli puffer, 4ul deoxiukleotidtrifoszfát (dNTP) (1mmol/l), 1,2 ul 25 mmol/l MgCl<sub>2</sub>, 1ul DNS (25 ng/ml), 3-2-1 ul primer R, W, M (4 umol/l), 0,1 ul (0,5 U/ul) Taq (Promega, Madison, WI); és 5,7 ul 2D PCR víz. A PCR program a következő volt: 94°C-on 12 percig, 35\* (94°C-on 20 másodpercig, 55°C-on 20 percig, 72°C-on 30 másodpercig) és 72°C-on 5 percig. A két különböző típusú *CaSR* allél alapján (allél A: ariginin a 986-os pozícióban, és allél S: szerin a 986-os pozícióban) három különböző genotípust -AA, AS, SS- vizsgáltunk. A PCR-hoz Hybaid Express thermocyclert (Teddington, Middlesex, UK) használtunk. Elektroforézist alkalmaztunk a szeparációhoz, amelyet 7%-os Spreadex/akrilamid-bis (29:1) gélen végeztünk (Elchrom, Charm, Svájc).

### III.2.3.6. A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B (RANK /Rank Ligand /Osteoprotegerin)

jelátviteli út génjeinek vizsgálata során használt genetikai módszerek

Kutatásunk során a *TNFRSF11B* gén két SNP-jét (rs1564858 és rs3102735 (A163G)) és a *TNFSF11* gén három SNP-jét (rs9533156 (T643C), rs9525641 (T290C) és az rs3742257) genotipizáltuk. Az SNP-k kiválasztása a csontmetabolizmusban feltételezett szereppel bíró SNP-k, valamint a korábban már vizsgált SNP-hez való közeli lokalizáció alapján történt. A genomiális DNS-t vénás vérből nyertük High Pure PCR Template Purification kitet használva (Roche). A DNS-ek mennyiségét és minőségét NanoDrop B-100 spektrofotométer (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, USA) segítségével állapítottuk meg. A genotípusokat a GenomeLab SNPstream Genotyping System (Beckman Coulter, Fuleton, CA, USA) alapján határoztuk meg a Semmelweis Egyetem SNP Core Facilityból. Az ultranagy áteresztőképességű automatizált genotipizáló rendszer felhasználásával összekapcsoltuk a multiplex PCR-t a tagged array-vel. A PCR primereket és a megjelölt extenziós primereket az "autoprimer.com" weboldalon terveztük meg, az internet alapú Beckman Coulter primer tervező programmal (<http://www.autoprimer.com>). A technikai hibák kiszűrése érdekében tíz véletlenszerűen kiválasztott mintát genotipizáltunk három párhuzamos futtatás során.

Génexpressziós vizsgálatok: A vér és egyéb szennyeződések eltávolítása céljából az eltávolított csontmintákat alaposan átmostuk PBS-sel (phosphate-buffered saline), majd a mintákat folyékony nitrogénben tároltuk. A folyékony nitrogénben tárolt csontmintákat Freezer mill 6750 (SPEX Centriprep Inc. Metuchen, NJ, USA) segítségével porlasztottuk. A direkt polyA-RNS-t Dynebeads Oligo dT paramagnetikus részecskékkel izoláltuk (Dynal Biotech, Oslo, Norway). A puffer beállításait és protokollt a gyártó által leírt módon, a korábban ismertettek szerint állítottuk össze (297). A DNáz kezelést követően az mRNS-eket a NucleoSpin RNA Clean-up kittel (Macherey-Nagel, Duren, Germany) tisztítottuk meg. Az mRNS-ek mennyiségét és minőségét spektrofotométerrel 260 és 280 nm-en vizsgáltuk. A *TNFRSF11B* and *TNFSF11* gének cDNS-eit kvantitatív real time PCR-ral amplifikáltuk 25 ul reakciós oldatban. Az oldat tartalmazott 1 ul cDNS-t, 12,5 ul TaqMan 2\* Universal PCR Master Mix NoAmpErase

UNG oldatot, 1,25  $\mu$ l előre megtervezett, validált GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) és *TNFRSF11B* és *TNFSF11*-specifikus TaqMan génexpressziós assay-t (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA). A génspecifikus cDNS-eket ABI Prism 7500 Real-Time PCR segítségével amplifikáltuk. Minden mintát egyszerre három paralel futtatással vizsgáltunk a protokoll alapján 10 perces denaturációval 95°C-on és 50 ciklussal azt követően 15 másodpercig denaturálva 95°C-on, 1 perces hőkezeléssel és 60°C-on extenzióval. Endogén kontrollnak a *GAPDH* housekeeping gént használtuk. A küszöbciklus számokat a 7500 System SDS software 1.3. Reative Quantification Study softwerrel analizáltuk.

### III.2.3.7. A Wnt jelátviteli út génjeinek vizsgálata során használt genetikai módszerek

Az *LRP5*, *GPR177* és az *SP7* gének SNP-jének kiválasztásához nyilvánosan elérhető online adatbázist (<http://genome.ucsc.edu/>, <http://www.genome.gov/gwastudies/>, and <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) használtunk. Kilenc SNP-t a funkciójuk valamint a GWAS vizsgálatokban korábbi megjelenésük alapján választottunk ki. Az első kritérium alapján olyan missense eltéréseket választottunk ki, amelyek a fehérjét kódoló aminosav sorrendben okoznak változást. A második kritériumnak megfelelően olyan SNP-ket választottunk, amelyek  $5 \times 10^{-8}$  vagy ennél kisebb p értékkel rendelkeznek.

Genotipizálás: A genomiális DNS-t a betegek szájnyálkahártyájáról nyertük: a szuperficiális réteg letörlésével a szájüreget borító sejtek legkülső rétegének a sejtjeit vizsgáltuk. A DNS-eket High Pure PCR Template Purifying kittel nyertük ki (Roche Diagnostics, Gmbh, Mannheim, Germany). A genotipizálást Sequenom MassARRAY Analyzer 4-en végeztük (Sequenom, San Diego, CA, USA).



### III.3. Statisztikai módszerek

#### III.3.1. A VDR, az IGF-1 és az IL-6 csonthatásának genetikai vizsgálatakor használt statisztikai módszerek

A legalább 50 nagyban polimorf mikroszatellita ismétlődés vizsgálatával igazoltuk a testvéri kapcsolatot a vizsgált testvérpárok között. Ehhez a RELATIVE számítógépes programot használtuk (Dept. of Genetics and Development, Columbia University, New York, NY) (298). Az esetleges rassz hatások vizsgálatának érdekében rasszonként csoportosítottuk a pácienseket (kaukázusi és afro-amerikai). A két pontos, nonparametricus, kvantitatív linkage analízist SIBPAL program segítségével végeztük el (S.A.G.E. /Statistical Analysis for Genetic Epidemiology/ 3.0; Dept. of Epidemiology and Biostatistics, Case Western Reserve University, Cleveland, OH). A linkage analízis számításokhoz a Mapmaker/SIBS program (20 MIT Center for Genome Research, Whitehead Institute for Biomedical Research, Cambridge, MA) Haseman-Elston és a maximum likelihood variance programrészeit alkalmaztuk (299). Ezek a metodikák minden egyes marker és a BMD változók közötti kötődést egyenként határozzák meg. A kvantitatív linkage metodikák egyik előnye ezekben az analízisekben, hogy nem szükséges „alacsony” vagy „magas” BMD értékekhez önkényes küszöbértéket rendelni, így módon minden testvérpárt be lehet vonni az analízisbe. Az IL-6 polimorfizmusok és BMD értékek közötti összefüggés vizsgálata érdekében véletlenszerűen választottunk ki egy lány testvért minden családból. Minden allél jelen volt az átlagos populációban minimum 5%-os frekvenciával, a különbségek analízisét ANOVA modell (egyszempontú varianciaanalízis) segítségével végeztük. Így vizsgáltuk a jelentős különbségeket a gerinc- és a combnyak BMD között olyan egyéneknél, akik nulla, egy vagy két IL-6 alléllal rendelkeztek. Az IGF-1 genotípus és BMD közötti asszociáció vizsgálatát egy, családonként véletlenszerűen kiválasztott lánytestvér vizsgálatával végeztük (n=363). Minden allél jelen volt az átlag populáció 5, vagy ennél nagyobb százalékában. Az ANOVA modellt használtuk a gerinc és/vagy combnyak BMD különbségének vizsgálatára olyan egyéneknél, akik nulla, egy vagy két mintát hordoztak minden allélból.

### III.3.2. Az *IL-1ra* gén csonthatásának genetikai vizsgálata során használt statisztikai módszerek

Az allélok és genotípusok előfordulási frekvenciáit a chi square teszt segítségével hasonlítottuk össze. Összesen 286 nőt vizsgáltunk. Ezt követően két alcsoportot, 98 csontritkulásban szenvedő és 81 egészséges nőt tartalmazó csoportot alkottunk és hasonlítottuk össze. A fennmaradó 107 osteopeniás (t-score 1,0-2,5) nőt kizártuk ebből, a második analízisből. ANOVA módszerrel vizsgáltuk a BMD és a genotípus közötti összefüggést a teljes populációban és az alcsoportokban is. Az analízis során a két leggyakoribb *IL-1ra* allélt (A1 és A2) használtuk. Az A3 és A5 allélokat nem vizsgáltuk az ezeket hordozó betegek alacsony száma (0,3%) miatt. Annak valószínűsége, hogy a genotípusok közötti 0,5 z-score különbséget ki tudjuk mutatni 52,2% volt a lumbális csigolyákon és 97,9% a combnyakon.

### III.3.3. A *CaSR* gén csonthatásának genetikai vizsgálata során használt statisztikai módszerek

A betegeket a BMD alapján osteoporoticus és kontroll csoportba osztottuk. További két csoportot hoztunk létre a betegek *CaSR* genotípusai (az S allél jelenléte vagy hiánya alapján). Az allélok előfordulási frekvenciáját a Fisher's exact teszttel elemeztük. A t-tesztet és ANOVA módszerrel vizsgáltuk a *CaSR* polimorfizmusok hatását a folyamatos változókra. Hasonló elemzéseket végeztünk a vizsgált populáció összes alanyán és az osteoporoticus és kontroll alcsoportokban is. A folyamatos változókat az átlag és a standard deviancia segítségével határoztuk meg. Szignifikánsnak vettük a különbséget  $p=0,05$  értéknél. GLM ANOVA analízist használtunk a BMD és az S allél jelenléte közötti lehetséges kapcsolat megbecslésére, figyelembe véve a kor, BMI (body mass index) és dohányzási szokások hatásait. Vizsgálatunk ereje 0,8 volt a lumbális csigolyák t-score 0,5 egységnyi különbségének és a combnyak t-score 0,4 egységnyi különbségének kimutatására. A statisztikai elemzéseket a Windows SPSS 9.0.0. verziójával végeztük el.

### III.3.4. A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B szabályozási rendszer génjeinek vizsgálata során használt statisztikai módszerek

A genotipizált SNP-k leíró analízisét Haploview 4.0 szoftverrel végeztük. Kolmogorov-Smirnov teszttel analizáltuk a studyban szereplő fenotípusok eloszlását. Stepwise regressziós analízist használtunk a genetikai változóknak valamint a csigolyák és a teljes csípő BMD értékeinek (lineáris regresszió), a nem vertebrális osteoporotic törések (logisztikai regresszió) kapcsolatainak vizsgálatához. A kor, a menopauza ideje, a BMI, a dohányzás és az alkoholfogyasztás esetében logisztikus regresszióval határoztuk meg a fenotípusra szignifikánsan ható kovariánsokat. Ugyancsak logisztikai regressziós modellel vizsgáltuk a gerinc és a teljes csípő BMD értékek törési rizikóra gyakorolt hatását. Genotípus-fenotípus asszociációt három gyakori genetikai modellel (additív, domináns és recesszív) határoztuk meg non-parametrikus tesztekkel (Jonckheere-Terpstra trend teszt az additív modell, Mann-Whitney U teszt a domináns és recesszív modellre). Az eredmények megbízhatóságának becslésére a 10000 Monte Carlo permutációt végeztük el, pontos P értékeket generálva. Individuális analíziseket és a permutált P értékeket pontosítottuk a genotípus SNP-k számával, ezért itt csak olyan eredményeket tekintettünk szignifikánsnak, amikor a P értéke  $\leq 0,01$  volt. A vizsgálat szenzitivitását a Quanto 1.1 software-rel számoltuk ki. A haplotípusokat a „haplo.-stats” R-package segítségével vizsgáltuk. (<http://cran.r-pfproject.org/>). A haplotípusok hatását a kovariáns arányú alanyok fenotípusain generalizált lineáris modellel számoltuk ki, a software „haplo-glm” funkciója segítségével. Gén-gén közötti géninterakciókat multivariábilis lineáris regressziós modell segítségével határoztuk meg. A *TNFRSF11B* és a *TNFSF11* relatív expresszióját a csontmintákban non-parametriás teszt segítségével 10000 Monte Carlo permutációval hasonlítottuk össze a fenotípussal. A regressziót és a nonparametriás tesztek a Windows SSPS 13.0.1 programmal végeztük el (SSPS Inc., Chicago, IL, USA). A p értéket a haplotípusok, interakciók és génexpressziók esetében  $<0,05$  értéknél tekintettük szignifikánsnak. Az SNP közeli régiók genomális szekvenciáinak analízisét az NCBI dbSNP adatbázisából nyertük (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>). A transzkripciós faktorkötő helyeket a TRANFAC adatbázisban a PROMO internet alapú szoftver segítségével határoztuk meg. (<http://alggen.lsi.upc.es>)

### III.3.5. A Wnt jelátviteli út génjeinek vizsgálata során használt statisztikai módszerek

A genotípusok és a törési rizikó közötti kapcsolat meghatározáshoz kontingencia táblázatot készítettünk, amelyek a genotípust és a korábbi töréseket tartalmazta. Az eredmények statisztikai vizsgálatára a Pearson chi-squared tesztet alkalmaztuk.

Genotipizált adatok és csontparaméterek vizsgálata során a betegeket különböző csoportokba soroltuk a genotipizált adatok eredménye alapján. Három csoportot (homozigóta recesszív, homozigóta domináns és heterozigóta) alkottunk az SNP-k alapján. A három csoport szabályszerűségét Shapiro-Wilk tesztel, a variancia homogenitást Levene tesztel elemeztük. A különböző genotípusok összehasonlítását kovariancia analízissel (ANCOVA) és Bonferroni tesztel végeztük. A BMD értékeket korhoz és BMI-hez igazítottuk. Minden tesztet az SSPS 21-gyel (SSPS Inc., Chicago, IL, USA) végeztünk el. A vizsgálati adataink alapján a linkage disequilibrium plottokat Haplo View 4.0 (Broad Institute, Cambridge, MA, USA) programmal alkottuk meg. A fenotípusban megjelenő gének közötti interakciókat az SNPacc segítségével számoltuk ki, (300) a haplotípus analizálását a haplo.stats programmal végeztük. Alfa értéknek a 0,05-öt választottuk.

### III.3.6. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének törésekre gyakorolt hatásának vizsgálata során használt statisztikai módszerek

#### Leíró analízis

A betegek és az események azonosítása egységes definíciók alapján történt. A statisztikai összehasonlításba bevont betegeket a törések előfordulásával és a járulékos egészségügyi költségekkel jellemeztük kétévente az index dátumot követően a 3 éves időtartamban. A magas és az alacsony compliance-szel rendelkező betegek relatív rizikóját hasonlítottuk össze a teljes vizsgálati periódus (3 év) során. Ezt kétévente újból megismételtük klinikai szempontból és a költségek változásának követése érdekében.

### Statisztikai összehasonlítás

A statisztikai összehasonlítást a nyers adatok alapján végeztük el, hogy meghatározzuk a relatív rizikót a teljes statisztikai periódus (3 év) alatt. Ezt kétfévente megismételtük klinikai szempontból és a költségek változásának szempontjából is. Az osteoporosis terápiájának felfüggesztése számos faktorról járt együtt, amelyek a kezelési karok közötti különbségekhez vezettek. A vizsgálati karok közötti oki különbségek azonosítása érdekében propensity analízist végeztünk vizsgálat kezdete előtti két éves periódus adatai alapján.

### Propensity modell

A vizsgálat kezdete után elemeztük, hogy a betegek klinikai hátterének (demográfiai adatok, betegség és terápiás előzmény, társult betegségek) milyen hatása van a vizsgált változókra függetlenül attól, hogy a kezelt vagy a nem kezelt csoportba kerültek. A kezelési karok nyers adatainak összehasonlítása olyan kapcsolatokat mutatott, amelyeket nem lehetett tisztán megítélni (például a kezelési karok egyes változóinak statisztikailag jelentős különbségeit nem csak a különböző terápiák befolyásolták, hanem azokat a két kezelési kar különböző betegösszetétele is okozhatta). Ily módon a két kezelési karban szereplő betegeket a propensity modell alapján hasonlítottuk össze (301), amely során a különböző betegek összeválogatása miatt keletkezett pontatlanságot le lehetett csökkenteni és a kezelések különböző hatásait meg tudtuk mérni az immár redukált pontatlansággal, mint ismert változóval (302). A propensity modellben azokat a változókat használtuk, amelyeket a vizsgálat kezdetekor már felmértünk. (6. táblázat)

| Propensity modellhez változók                        | Átlag/beteg |           |
|------------------------------------------------------|-------------|-----------|
|                                                      | Aktív       | Kontroll  |
| Törések száma                                        | 0.0462      | 0.0366    |
| Kórházban töltött napok száma                        | 0.1475      | 0.0718    |
| Kórházi észlelések száma                             | 0.0198      | 0.0114    |
| DEXA mérések száma                                   | 0.5681      | 0.4255    |
| Segédeszköz használata                               | 3.00 %      | 2.07 %    |
| Rendelői vizitek száma                               | 1.4091      | 0.9471    |
| Azon napok száma, amikor fájdalomcsillapítót szedett | 1.4915      | 1.8596    |
| Terápiás hűség nem osteoporosis gyógyszerekhez       | 0.2603      | 0.1938    |
| Terápiás hűség fájdalomcsillapítókhoz                | 0.008       | 0.0099    |
| Nem osteoporosis kezelések költsége                  | 23.40 USD   | 18.45 USD |
| A csonttörések kezelési költsége                     | 25.73 USD   | 14.36 USD |
| Az orvosi segédeszközök költsége                     | 0.94 USD    | 0.58 USD  |

6. táblázat A vizsgálatban résztvevők követési periódus utolsó fél évében mért jellemzői

A propensity score-okat nagyságuk alapján öt egyenlő csoportba osztottuk. Elegendő számú beteg volt minden egyes csoportban. A kezdő periódus előtti kovariancia elemzés érdekében megvizsgáltuk a propensity score-hoz igazított különbségeket a jó compliance-ű és a rossz compliance-ű csoport átlagai között ANOVA segítségével. A propensity score kiegyenlítéséért a propensity score alapján felállított öt csoportot, mint addicionális faktort bevontuk az ANOVA modellbe. Nem találtunk eltérést az 5%-os szignifikancia határértéknél. Ezek alapján a kovariancia különbségeit a két csoport között - amelyek a kezdési időszak előtt léteztek - kizártuk a propensity score korrekciójával. A különbségeket a vizsgálat teljes ideje alatt, valamint két évente megbecsültük a csonttörések és a hospitalizáció során. A szenzitivitás elemzéséhez több modellt is alkalmaztunk. ANOVA teszt: A vizsgálati periódus során a különbségek szignifikanciáját ANOVA teszt segítségével vizsgáltuk a propensity modell eredmények figyelembe vételével és a nélkül. Az I. típusú hibát 5%-ra állítottuk.

Cox arányos kockázati modell: a különböző törések előfordulását és a kórházi ápolást vizsgáltuk az arányos kockázati modellel (303). A Cox regresszió, azaz a Cox arányossági kockázati modell azon a feltevésen alapszik, hogy az úgynevezett kockázati funkciót (azonnali/pillanatnyi rizikó) jellemezzük egy eredménnyel, amely egy követő periódusfüggő faktor és egyben az exponenciális funkciója a magyarázó változóknak. A modell eredménye az RR érték, amely megmutatja a relatív rizikót, amely egy arány. Ez az arány összehasonlítja a jó compliance-ű kar eseményrizikóját, azzal az esemény rizikóval, amelyik a nem jó compliance-ű csoportban fordult elő.

Ismételt mérés Poisson regresszió alany specifikus random hatásokkal: Az események frekvenciáját általában a Poisson regresszióval modelleztük. Ilyen eseményeknek tekintettük a törések számát, a hospitalizációt vagy a halált a meghatározott időintervallumban. Azonban a Poisson regressziós modell feltételezi a tökéletesen homogén adathalmazt. A betegek heterogenitása a statisztikai módszer használatát gátolhatja, amit az átlag és a variancia értékek alapján ítélnénk meg. A Poisson regresszió alkalmazásának feltétele az átlag és a variancia kiegyenlítettsége. A túl nagy szórás esetében a Poisson regresszióknak a becsült konfidencia intervalluma irreálisan megrövidül. A törések heterogenitása az adathalmazban azt jelenti, hogy változó körülmények adódtak, mint például az osteoporosis elleni kezelések. Kontrolláltuk a heterogenitás okozta túlzott szórást a Poisson regresszió egyénspecifikus random hatásainak ismételt értékelésével. Ismételt Poisson regressziós számítás elvégzésével modelleztük a törések frekvenciáját, a hospitalizációt és a betegek halálát előre meghatározott időszakban. Az események becsült számát „ $\mu$ ”-val, a betegeket „ $i$ ”-vel, az időpontot „ $t$ ”-vel jelölve, a funkcionális kapcsolatot kifejező modell:  $\log(\mu_{it}) = \alpha_i + X_{it}\beta_t$ , ahol  $\mu$  a random metszet, amely függ a betegektől ( $i$ ), de nem függ az időtől ( $t$ ) és a  $X_{it}\beta_t$  állandó (azaz nem random) hatásai a lehetséges időfüggő kovariáns.

Generalizált lineáris modell (GLM): a költségek összehasonlítása során generalizált lineáris modellt alakítottunk ki, ebben feltételeztük a gamma eloszlást és logaritmikus link funkciót használtunk. Ily módon az összehasonlítás kovariánsainak becslését logaritmikus skálán ábrázoltuk. A két vizsgálati kar különböző betegösszetétel által okozott torzításokat a propensity scorral történt korrekcióval szüntettük meg. A költséghatékonyság elemzése során, a törési rizikót és a szociális biztosítási költségeket elemeztük

a két kezelési karban. Meghatároztuk a nem fatális törések következtében létrejött összes egészségvesztést és megállapítottuk a teljes költséget. A törésekhez kapcsolódó egészségvesztést a QALY-val (quality-adjusted life years ) az életek minőségéhez igazítottan kifejeztük ki nemzetközi hatékonysági mérést alkalmazva a nemzetközi irodalom alapján (304) (305). Ezeket az értékeket a magyar normál populáció díjszabásaihoz igazítottuk a nemzetközi tanulmány alapján (306) és a publikált QALY metodikát alkalmaztuk a számításhoz (307). A nemzetközi irodalom alapján a disutility-t az EQ-5D metodikával vizsgáltuk, amely a legszélesebb körben elfogadott vizsgálati eszköz. Ezek az értékek reprezentálják az európai elfogadott értékeket, és korábban beviteli adatként szolgáltak a magyarországi és nemzetközi költséghatékonysági analízis publikációkban egyaránt.

### III.3.7. A D-vitamin értékre ható környezeti tényezők vizsgálata során használt statisztikai módszerek

A hiányzó adatok és a nem válaszoló háziorvosok miatt kialakult mintavételi hibák kompenzálására a mintákat súlyoztuk. A leíró adatokat átlaggal és SD-vel (standard deviáció), a folyamatos változókat a gyakoriság százalékos megadásával adtuk meg. Minden állandó változóra elvégeztük a normalitás tesztelését, és a D-vitamin és DBP értékek eloszlását vizuálisan ábrázoltuk hisztogramokon. A különböző D-vitamin értékek és DBP szintek közötti összefüggést lineáris regressziós analízis segítségével vizsgáltuk, a t-25OHD vitamin értéket használva független változóként. A non-linearitás vizsgálatának modelljében a t-25OHD-vitamin értékek négyzetét használtuk. Lineáris regressziós modellben egyenként vizsgáltuk meg a D-vitamin-szint lehetséges befolyásoló faktorait, a D-vitamint és a DBP-t mint független változókat alkalmazva. Azokat a paramétereket, amelyek univariáns asszociációt mutattak ( $p < 0,1$ ) a D-vitamin értékekkel és/vagy a DBP szintekkel, egy többszörös lineáris modellbe helyeztük, hogy meghatározzuk a befolyásoló tényezők független hatását. Végül logisztikai regressziós modellel vizsgáltuk a potenciális összefüggést a feltételezeten D-vitamin-függő betegségek (állapotok) és a D-vitamin értékek között. Ebben a modellben a D-vitamin értékek voltak a független változók és a



betegségállapotok voltak a következményes változók. Minden analízist IBM SPSS 20. statisztikai verziójával végeztünk. A szignifikancia határát  $p < 0,05$ -nél húztuk meg.

### III.3.8. A D-vitamin-pótlás hatékonyságának meghatározása során használt statisztikai módszerek

A kezelési csoportok közötti különbség kimutatásának statisztikai erejét egyirányú ANCOVA modell és a Dunnett post hoc teszt segítségével számítottuk ki. Párokat hasonlítottunk össze ("A" csoport vs. "B" csoport, "A" csoport vs. "C" csoport és "A" csoport vs. "D" csoport). 20 minta/ kezelési csoport vizsgálati alany számot feltételezve és a becslés erejét szimulációval és 5000 adat sorozatának analizálásával végeztük. A becslés ereje magasabb volt 80%-nál az "A" csoport vs. "B" csoport, "A" csoport vs. "C" csoport esetében, és magasabb 95%-nál az "A" csoport vs. "D" csoport összehasonlításakor. Mivel az átlagos I-típusú hiba a Dunnett-tesztnél kevesebb volt 5%-nál, minden egyes tesztnél a hipotézis valid szignifikanciát és függetlenséget adott. A leíró demográfiai adatokat, a biztonsági paramétereket (plazma és vizelet Ca és PTH) és a mellékhatások eloszlását Kolmogorov-Szmirnov és Levene statisztikai tesztekkel értékeltük ki. A D<sub>3</sub>-vitamin-pótlás hatékonyságát kovariancia analízissel (ANCOVA) hasonlítottuk össze a vizsgálat különböző csoportjaiban. Az adatbázist a klinikai adatbázis Mythos software (Adware Research Kft., Hungary) segítségével dolgoztuk fel. A statisztikai analízist SPSS 19 (IBM Corporation, New York USA) és a SAS 9.3 (SAS Institute Inc. Cary, USA) programokkal végeztük el.

## IV. Eredmények

### IV.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálatának eredményei

#### IV.1.1. Az osteoporosisal összefüggésbe hozható kandidáns gének vizsgálatának eredményei

##### IV.1.1.1. VDR gén rs2228570 polimorfizmusának hatása a fiatalfelnőttkori csonttömegre

Az „f” és az „F” allél eloszlása Hardy – Weinberg equilibriumban volt a teljes vizsgált populációban és külön-külön mindkét rasszban is. Az rs2228570 (FOK I.) polimorfizmusnak asszociációs vizsgálattal nem igazolódott semmilyen hatása a fiatalfelnőttkori BMD értékre (7. táblázat). A vizsgálat statisztikai erejét figyelembe véve a genetikai hatás biztosan 3 % alatti lehet csupán. A vizsgált genetikai polimorfizmust, mint genetikai markert használva a VDR gén 1 cM környezetében tudtuk meghatározni azt, hogy a fiatalfelnőttkori csonttömeg öröklésében szerepet játszik-e a vizsgált régió. Vizsgáltuk az egyforma allélt hordozó (N=348), az egy allélben különböző (n=175) és a mindkét allélban különböző (n=12) testvérpárokat. A BMD különbség a testvérpárok között az egyforma allélt hordozóknál  $0,12 \pm 0,09 \text{ g/cm}^2$ , az egy allélban különbözőknél  $0,12 \pm 0,09 \text{ g/cm}^2$ , a mindkét allélban különbözőknél  $0,15 \pm 0,1 \text{ g/cm}^2$  volt ( $p=0,4$ ). Elvégeztük a Haseman-Elston regressziós tesztet. Ezzel sem lehetett igazolni a VDR gén genetikai hatását a fiatalfelnőttkori csonttömeg öröklésében. A lumbális gerincen a fehér populációban  $p=0,13$ , az afro-amerikai populációban  $p=0,15$ , a femurnyakon  $p=0,27$  és  $p=0,44$  volt a szignifikancia értéke. Eredményeink alapján a VDR gén rs2228570 polimorfizmusa nincs hatással a fiatalfelnőttkori csonttömeg nagyságára (308).

| Rassz         | Mérési hely      | f,f genotípus | f,F genotípus | F,F genotípus | p    | R <sup>2</sup> |
|---------------|------------------|---------------|---------------|---------------|------|----------------|
| fehér         | L <sub>2-4</sub> | 1,28±0,16     | 1,28±0,14     | 1,27±0,14     | 0,48 | 0,002          |
| fehér         | Femur            | 1,00±0,13     | 1,00±0,13     | 0,99±0,14     | 0,71 | 0,001          |
| afro-amerikai | L <sub>2-4</sub> | 1,40±0,12     | 1,32±0,12     | 1,32±0,14     | 0,1  | 0,029          |
| afro-amerikai | Femur            | 1,10±0,14     | 1,05±0,14     | 1,08±0,14     | 0,43 | 0,011          |

7. táblázat A VDR gén rs2228570 polimorfizmusának hatása a fiatalfelnőttkori csonttömegre

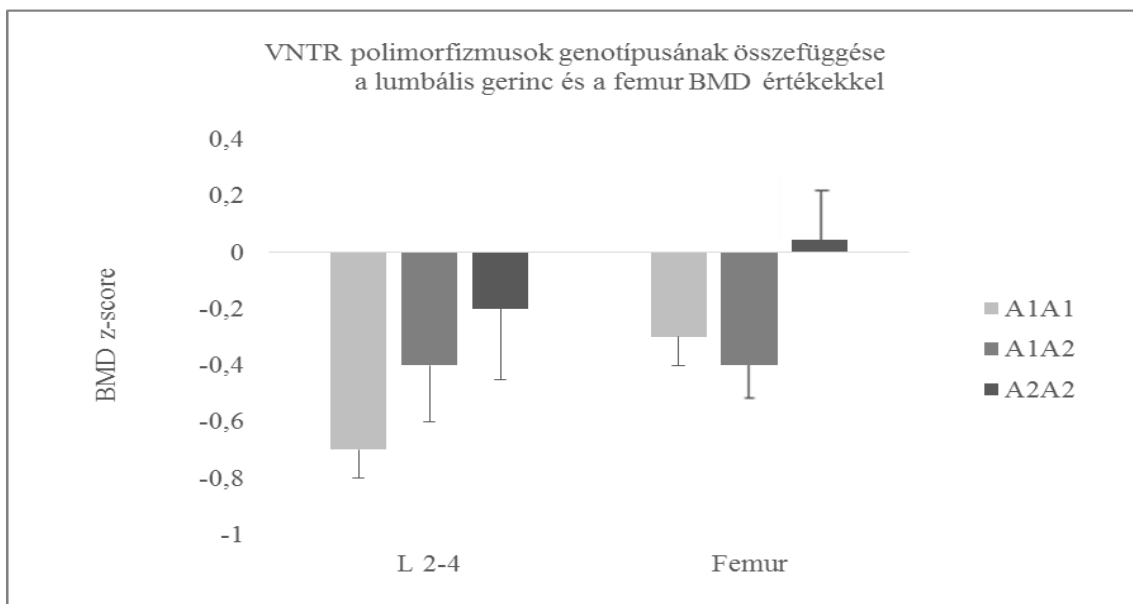
#### IV.1.1.2. IL-1 ra VNTR polimorfizmus hatása a postmenopausás csontdenzitásra és az osteoporosis kialakulására

Az *IL-1ra* gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmusnak öt típusát igazoltunk. (8. táblázat)

|                               | Genotípus |      |      |      |      | Allél frekvencia |        |       |       |
|-------------------------------|-----------|------|------|------|------|------------------|--------|-------|-------|
|                               | A1A1      | A1A2 | A2A2 | A1A3 | A1A5 | A1               | A1     | A3    | A5    |
| Teljes populáció (n=286)      | 153       | 99   | 23   | 10   | 1    | 72,70%           | 25,30% | 1,80% | 0,20% |
| Osteoporotikus csoport (n=98) | 57        | 32   | 6    | 3    | 0    | 76,50%           | 22,40% | 1,10% | 0,00% |
| Kontroll csoport (n=81)       | 41        | 27   | 9    | 4    | 0    | 69,70%           | 27,80% | 2,50% | 0,00% |

8. táblázat Az *IL-1ra* gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmusának eloszlása

Nem találtunk összefüggést a vizsgált személyek e polimorfizmusának genotípusa és a menopauza utáni csontdenzitás között (15. ábra) sem az osteoporotikus, sem a kontroll csoportban, sem a lumbális gerincen, sem a femurnyakon. (9. táblázat)



15. ábra Az *IL-1ra* gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmusok genotípusának összefüggése a lumbális gerinc és a femur BMD értékekkel Z score-ban kifejezve.

|                               | <i>IL-1ra</i> genotípusok |              |              |
|-------------------------------|---------------------------|--------------|--------------|
|                               | A1A1                      | A1A2         | A2A2         |
| <b>Teljes populáció</b>       | n = 153                   | n = 99       | n = 23       |
| kor (év)                      | 57,1 (40-65)              | 57,2 (40-65) | 58,7 (44-65) |
| L <sub>2-4</sub> Z score      | -0,67 ± 0,11              | -0,43 ± 0,17 | -0,2 ± 0,29  |
| Femur Z score                 | -0,31 ± 0,09              | -0,42 ± 0,12 | -0,4 ± 0,17  |
| <b>Osteoporoticus csoport</b> | n = 57                    | n = 32       | n = 6        |
| kor (év)                      | 57,1 (40-65)              | 55,0 (45-65) | 60,8 (56-65) |
| L <sub>2-4</sub> Z score      | -1,88 ± 0,11              | -1,99 ± 0,15 | -1,58 ± 0,21 |
| Femur Z score                 | -1,04 ± 0,12              | -1,18 ± 0,13 | -0,56 ± 0,16 |
| <b>Kontroll csoport</b>       | 53,6 (44-65)              | 55,3 (46-63) | 54,4 (49-64) |
| kor (év)                      | n = 153                   | n = 99       | n = 23       |
| L <sub>2-4</sub> Z score      | 0,71 ± 0,12               | 1,3 ± 0,25   | 0,94 ± 0,34  |
| Femur Z score                 | 0,60 ± 0,13               | 0,76 ± 0,23  | 0,55 ± 0,28  |

9. táblázat Az *IL-1ra* gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmus genotípusaiban a lumbalis gerinc és femur BMD értékek, Z score-ban kifejezve.

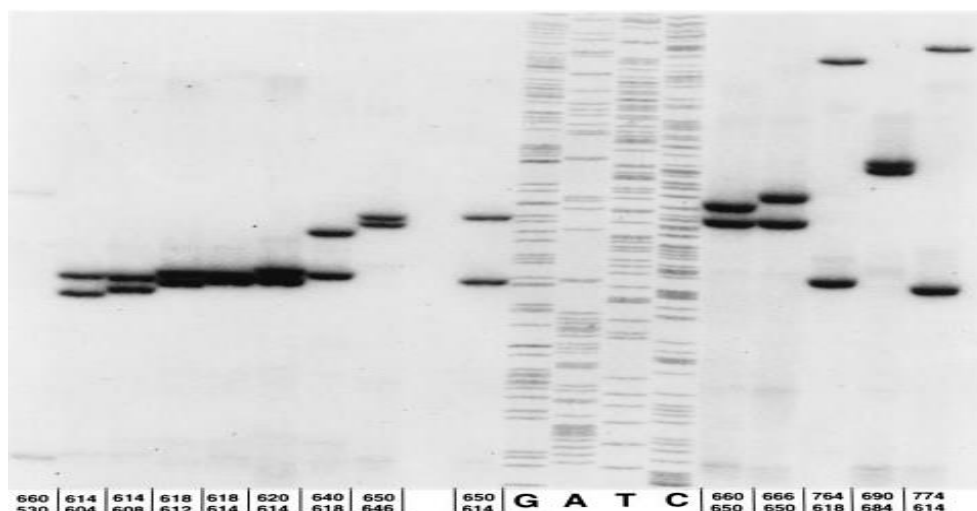
Eredményeink alapján az *IL-1ra* gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmusa nincs hatással a menopauza utáni csonttömeg nagyságára sem az osteoporoticus, sem a kontroll populációban (309).

## IV.1.1.3. Interleukin-6 hatása a fiatalfelnőttkori csontdenzitásra

Az *IL-6* gén fiatalfelnőttkori csontdenzitásra gyakorolt hatásának vizsgálata során a gén 3' végéhez közeli, át nem íródó régióban elhelyezkedő VNTR polimorfizmust vizsgáltuk. A korábbi vizsgálókhoz képest több, 17 különböző variánst találtunk az 530 és 774 bázispár közötti tartományban. Az allélek eloszlását a 10. táblázat tartalmazza. A korábbi vizsgálókkal szemben mi el tudtuk különíteni a 642 bp hosszúságú fragmentumokat is - ahová a két leggyakoribb allél is tartozik -, ami részben magyarázhatja a vizsgálatok eredményének különbségeit.

| Murray és mtsai (n=200) |                                  | Jelen vizsgálat (n=812) |                                  |       |        |
|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|-------|--------|
| Fragment mérete (bp)    | Allél gyakorisági frekvencia (%) | Fragment mérete (bp)    | Allél gyakorisági frekvencia (%) |       |        |
|                         |                                  |                         | Összes                           | Fehér | Fekete |
| 822                     | 0,75                             | 774                     | 4                                | 2,9   | 6,8    |
|                         |                                  | 764                     | 0,05                             | 0     | 0,3    |
| 698                     | 25                               | 690                     | 0,7                              | 0     | 3,8    |
|                         |                                  | 684                     | 0,1                              | 0     | 0,6    |
| 672                     | 19,75                            | 666                     | 0,1                              | 0,1   | 0,3    |
| 662                     | 2                                | 660                     | 3                                | 3,4   | 0,9    |
| 652                     | 1,75                             | 650                     | 22                               | 19,3  | 35,9   |
|                         |                                  | 646                     | 0,2                              | 0     | 1,2    |
| 642                     | 75,5                             | 640                     | 6                                | 2,8   | 21,5   |
|                         |                                  | 638                     | 0,3                              | 0     | 1,8    |
|                         |                                  | 620                     | 0,1                              | 0,1   | 0      |
|                         |                                  | 618                     | 26                               | 29,4  | 12,6   |
|                         |                                  | 614                     | 35                               | 41,4  | 9,4    |
|                         |                                  | 612                     | 1                                | 0,1   | 5      |
|                         |                                  | 608                     | 0,3                              | 0,4   | 0      |
|                         |                                  | 604                     | 0,05                             | 0,1   | 0      |
|                         |                                  | 530                     | 0,1                              | 0,1   | 0      |

10. táblázat Az *IL-6* allélek mérete és eloszlása a vizsgált populációban összehasonlítva egy korábbi vizsgálati eredménnyel (211)



16. ábra Az *IL-6* gén 3' végéhez közeli VNTR polimorfizmus genotipizálásának példája. Az allélek méretének meghatározásához pCU18 baktérium DNS szekvenciáját használtuk fel. A genotípus méreteket az oszlopok alján ábrázoltuk.

A vizsgált populációban a BMD értékek a normál tartományban voltak. A kaukázusi rasszhoz tartozó személyek BMD értéke alacsonyabb volt, mint az afro-amerikaiaké, idősebbek voltak, hosszabb ideig szedtek orális fogamzásgátlót és testsúlyuk is kisebb volt (11. táblázat). Ezért a számításokban korra és nemre súlyozott BMD értékekkel számoltunk.

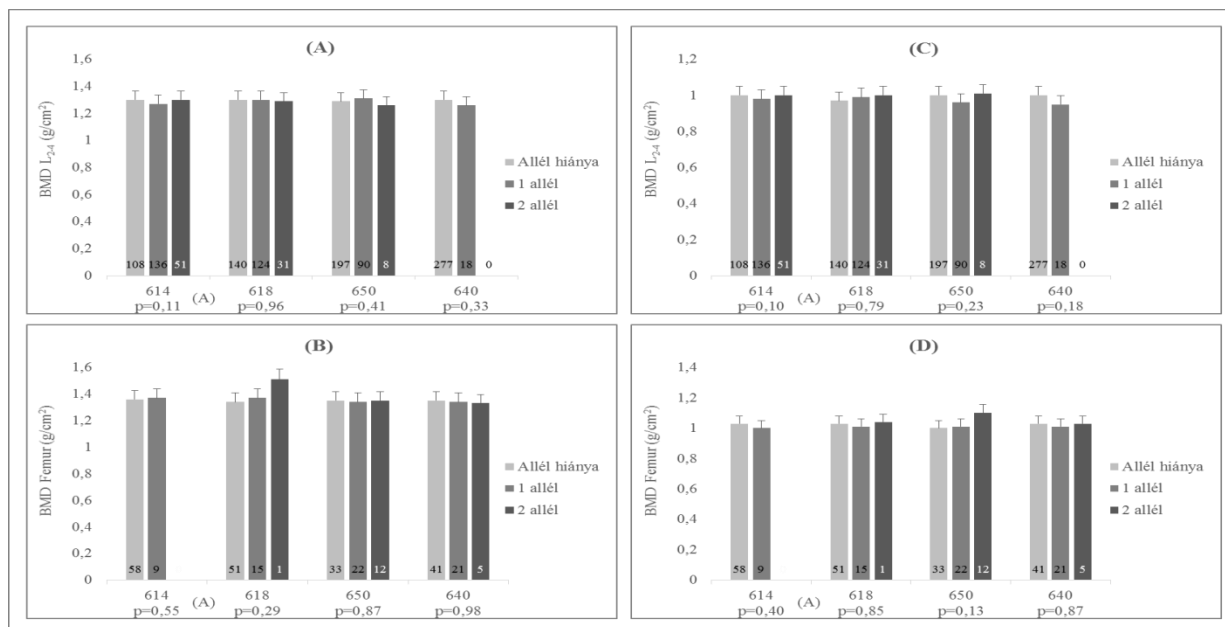
|                                                 | Kaukázusi | Afro-amerikai | P      |
|-------------------------------------------------|-----------|---------------|--------|
| Testvérpárok átlag életkora (év)                | 34,0±6,7  | 32,4±6,1      | 0,0071 |
| Testvérpárok életkora közötti különbség (év)    | 3,57±2,48 | 3,59±2,6      | 0,97   |
| Részvevők testsúlya (kg)                        | 69,1±15,2 | 75,6±17,7     | 0,0001 |
| Orális fogamzásgátló szedése (év)               | 5,52±5,11 | 4,27±4,84     | 0,005  |
| BMD érték L <sub>2-4</sub> (g/cm <sup>2</sup> ) | 1,27±0,14 | 1,33±0,14     | 0,0001 |
| BMD értékfemur (g/cm <sup>2</sup> )             | 1,00±0,13 | 1,07±0,14     | 0,0001 |

11. táblázat A vizsgálatban résztvevők dermográfiai adatai átlag ± SD-ben kifejezve és a két rassz közötti különbség t-próbával számított különbségének p értéke.

Az asszociációs vizsgálatban az 5%-os gyakoriságot meghaladó négy leggyakoribb allél esetében számítottuk ki, hogy az allélek hiánya, egy vagy kétszeres jelenléte összefüggést mutat-e a BMD

értékekkel. Ezzel a módszerrel nem találtunk összefüggést az *IL-6* gén vizsgált polimorfizmusa és a fiatalfelnőttkori BMD között. (17. ábra)

Az *IL-6* gén fiatalfelnőttkori csontdenzitásra gyakorolt hatásának vizsgálata során a gén 3' végéhez közeli, át nem íródó régióban elhelyezkedő VNTR polimorfizmust, mint genetikai markert is felhasználtuk. Kétpontos, nem parametrikus linkage analízissel (SIBPAL program használatával) nem találtunk kötődést az *IL-6* gén (és annak közvetlen környezete) valamint a fiatalfelnőttkori BMD érték öröklődése között. Kaukázusi populációban a LOD score mind a gerincen, mind a femuron 0,00 volt. Az afro-amerikai populációban a gerincen 0,253, a femuron 0,00 volt ez az érték. Mapmaker/Sibs program használatával hasonló eredményeket kaptunk. Eredményeink alapján az *IL-6* gén nem játszik szerepet a fiatalfelnőttkori csontdenzitás öröklődésében (310).



17. ábra Gerinc ( $L_{2-4}$ ) BMD értékek a kaukázusi (A), az afro-amerikai (B), combnyak BMD értékek a kaukázusi (C) és az afro-amerikai (D) populációban a különböző genotípusokban. Minden családból egy testvér lett kiválasztva véletlenszerűen, az ő adataikat ábrázoltuk. A vizsgált személyek száma az oszlopok alatt lett feltüntetve. A BMD adatok  $g/cm^2$ -ben (átlag  $\pm$ SD-ben) lettek megadva. A különböző számú alléllal bíró egyének közötti különbség számításához ANOVA tesztet használtunk, melynek eredménye ( $p=$ ) az alléleknek megfelelő oszlopok alatt lett feltüntetve.

## IV.1.1.4. Inzulinszerű növekedési faktor 1 hatása a fiatalfelnőttkori csontdenzitásra

Az *IGF-1* gén és a fiatalfelnőttkori csontdenzitás kapcsolatának vizsgálata során a gén át nem íródó részében elhelyezkedő microsatellita ismétlődést használtuk fel, mint genetikai markert. Az allélek mérete 176-202 bp között mozgott. Az allélek gyakoriságát a 12. táblázat mutatja.

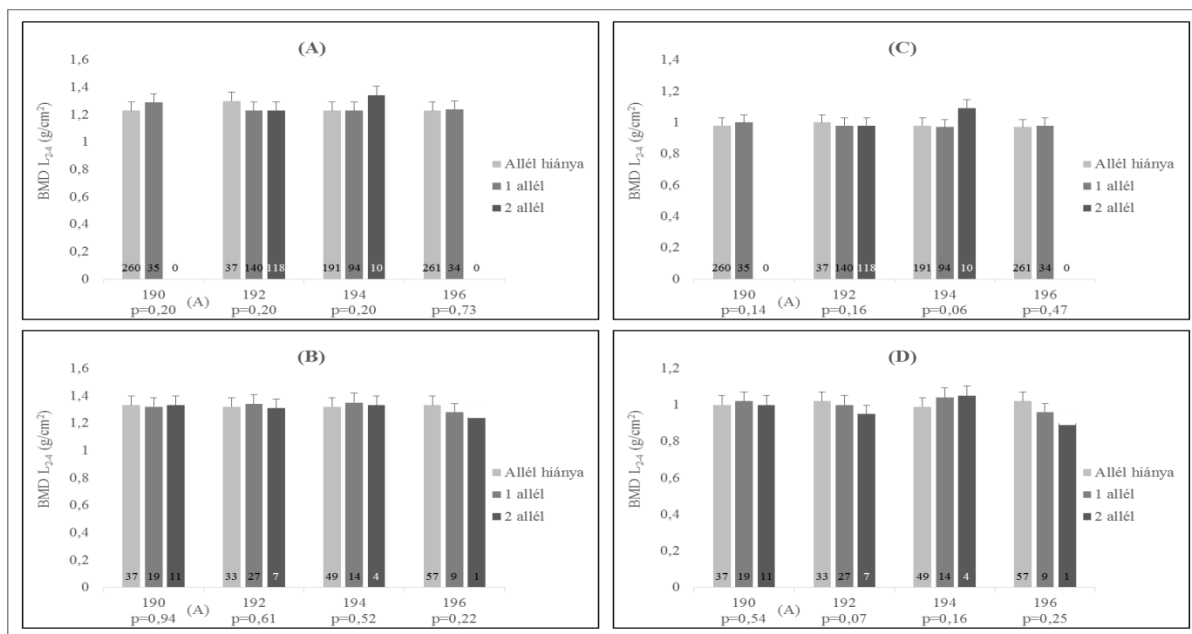
| Fragment mérete (bp) | Allél gyakorisági frekvencia (%) |              |
|----------------------|----------------------------------|--------------|
|                      | Kaukázusi                        | Afroamerikai |
| 176                  | 0,4                              | 1,5          |
| 186                  | 0                                | 3,2          |
| 188                  | 2,1                              | 6,2          |
| 190                  | 6,9                              | 32,6         |
| 192                  | 63,5                             | 29,4         |
| 194                  | 19,6                             | 16,5         |
| 196                  | 5,7                              | 7,6          |
| 198                  | 1,9                              | 1,2          |
| 200                  | 0                                | 0,9          |
| 202                  | 0                                | 0,9          |

12. táblázat Az *IGF-1* gén átíródó részétől 1 kb távolágra elhelyezkedő microsatellita ismétlődés mérete és az allélek gyakorisága a vizsgált csoportokban

A vizsgált populációban a BMD értékek a normál tartományban voltak. A kaukázusi rasszhoz tartozó személyek BMD értéke alacsonyabb volt, mint az afro-amerikaiaké, idősebbek voltak, hosszabb ideig szedtek orális fogamzásgátlót és testsúlyuk is kisebb volt. Ezért a számításokban korra és nemre súlyozott BMD értékekkel számoltunk.

Asszociációs vizsgálatban az 5%-os gyakoriságot meghaladó négy leggyakoribb allél esetében számítottuk ki, hogy az allélek hiánya, egy vagy kétszeres jelenléte összefüggést mutat-e a BMD értékekkel. Ezzel a módszerrel nem találtunk összefüggést az *IGF-1* gén vizsgált polimorfizmusa és a fiatalfelnőttkori BMD között. (18. ábra)





18. ábra Gerinc (L<sub>2-4</sub>) BMD értékek a kaukázusi (A), az afro-amerikai (B), combnyak BMD értékek a kaukázusi (C) és az afro-amerikai (D) populációban a különböző genotípusokban. Minden családból egy testvér lett kiválasztva véletlenszerűen, az ő adatait ábráztuk. A vizsgált személyek száma az oszlopok alatt lett feltüntetve. A BMD adatok g/cm<sup>2</sup>-ben (átlag ±SD-ben) lettek megadva. A különböző számú alléllal bíró egyének közötti különbség számításához ANOVA tesztet használtunk, melynek eredménye (p=) az alléleknek megfelelő oszlopok alatt lett feltüntetve.

Habár nem találtunk összefüggést az *IGF-1* gén átíró részétől 1 kb távolágra elhelyezkedő microsatellita ismétlődés és a fiatalfelnőttkori csontdenzitás között, ezt a polimorfizmust, mint genetikai markert is felhasználtuk annak vizsgálatára, hogy akár az *IGF-1* gén, akár annak közvetlen környezetében elhelyezkedő gének szerepet játszanak-e a fiatalfelnőttkori csontdenzitás öröklődésében. Kétpontos, nem parametrikus linkage analízissel (SIBPAL program használatával) nem találtunk kötődést az *IGF-1* gén (és annak közvetlen környezete) valamint a fiatalfelnőttkori BMD érték öröklődése között. Kaukázusi populációban a LOD score a gerincen 0,17 (0,24), a femuron 0,01 (p=0,43) volt. Az afro-amerikai populációban a gerincen 0,00 a combnyakon 0,00 volt ez az érték. Mapmaker/Sibs program használatával hasonló eredményeket kaptunk. Eredményeink alapján az *IGF-1* gén nem játszik szerepet a fiatalfelnőttkori csontdenzitás öröklődésében (187).

IV.1.1.5. Kalcium szenzor receptor gén "A986S" polimorfizmusának szerepe a postmenopasában mért csontdenzitásra

A vizsgáltba bevont 230 postmenopausás nő antropometriás értékeit, denzitás eredményeit és a vizsgált polimorfizmus eloszlását a csoportok között a 13. táblázat mutatja be.

|                                      | Összes       | Osteoporotikus | Nem osteoporotikus | p <sup>a</sup> |
|--------------------------------------|--------------|----------------|--------------------|----------------|
| <b>Alanyok száma</b>                 | 230          | 108            | 122                |                |
| <b>Kor (év)</b>                      | 58,2 ± 6,2   | 59,3 ± 6,5     | 57,2 ± 5,7         | 0,005          |
| <b>Magasság (cm)</b>                 | 160,2 ± 9,5  | 158,7 ± 11,7   | 161,5 ± 7,0        | 0,026          |
| <b>Testtömeg (kg)</b>                | 66,1 ± 13,5  | 62,4 ± 14,1    | 69,0 ± 12,4        | 0,001          |
| <b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>        | 25,4 ± 4,2   | 24,1 ± 3,8     | 26,4 ± 4,2         | 0,643          |
| <b>Lumbális T (g/cm<sup>2</sup>)</b> | -1,96 ± 1,52 | -3,22 ± 0,77   | -0,83 ± 1,07       | <0,0001        |
| <b>Lumbális Z (g/cm<sup>2</sup>)</b> | -0,72 ± 1,4  | -1,65 ± 0,89   | 0,11 ± 1,21        | <0,0001        |
| <b>Femur T (g/cm<sup>2</sup>)</b>    | -1,36 ± 1,3  | -2,11 ± 1,02   | -0,69 ± 1,08       | <0,0001        |
| <b>Femur Z (g/cm<sup>2</sup>)</b>    | -0,37 ± 1,1  | -0,94 ± 0,90   | 0,13 ± 1,04        | <0,0001        |
| <b>AA</b>                            | 172          | 84             | 90                 | 0,762          |
| <b>AS</b>                            | 56           | 24             | 32                 |                |
| <b>SS</b>                            | 2            | 2              | 0                  |                |

13. táblázat Kor, antropometrikus adatok, csontdenzitás és kalciumérzékelő receptorok polimorfizmusa 230 postmenopausás fehér nőben és osteoporotikus és kontroll alcsoportokban (átlag ± SD)  
p<sup>a</sup> a két csoport közötti különbség szignifikanciája

A *CaSR* gén vizsgált "A986S" polimorfizmusa Hardy-Weinberg equilibriumban volt a vizsgált populációban. Nem találtunk eltérést az osteoporotikus és a nem osteoporotikus csoport allél eloszlása között (p=0,762). (13. táblázat) A polimorfizmus és a BMD érték közötti kapcsolatot "t" teszttel értékeltük, a vizsgált személyeket az "S" allél jelenléte (25,2%) vagy hiánya (74,8%) alapján két csoportba osztottuk. Nem találtunk összefüggést a *CaSR* gén vizsgált genotípusai és a mért BMD értékek között sem a teljes populációban, sem a csoportokon belül. (14. táblázat)

|                                      | Összes    |           |      | Oszteoporotikus |            |      | Nem oszteoporotikus |            |      |
|--------------------------------------|-----------|-----------|------|-----------------|------------|------|---------------------|------------|------|
|                                      | AA        | AS+SS     | p    | AA              | AS+SS      | p    | AA                  | AS+SS      | p    |
| <b>Életkor (évek)</b>                | 58,4±6,5  | 57,6±4,8  | 0,27 | 59,4±6,9        | 59,3±4,9   | 0,89 | 57,5±6,0            | 56,2±4,4   | 0,19 |
| <b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>        | 25,3±4,1  | 25,5±4,4  | 0,80 | 24,2±3,8        | 23,8±3,6   | 0,67 | 26,3±4,0            | 26,8±4,7   | 0,60 |
| <b>Lumbális T (g/cm<sup>2</sup>)</b> | -1,93±1,6 | 2,06±1,4  | 0,57 | -3,20±0,74      | -3,29±0,83 | 0,59 | -0,76±1,1           | -1,05±0,74 | 0,10 |
| <b>Lumbális Z (g/cm<sup>2</sup>)</b> | -0,64±1,4 | -0,91±1,1 | 0,20 | -1,59±0,89      | -1,86±0,88 | 0,17 | 0,21±1,3            | -0,14±0,77 | 0,07 |
| <b>Femur T (g/cm<sup>2</sup>)</b>    | -1,35±1,3 | -1,36±1,2 | 0,92 | -2,10±1,09      | -2,14±0,95 | 0,87 | -0,73±1,1           | -0,76±1,1  | 0,68 |
| <b>Femur Z (g/cm<sup>2</sup>)</b>    | -0,35±1,1 | -1,39±1,0 | 0,83 | -0,95±0,94      | -0,91±0,76 | 0,85 | 0,17±1,0            | 0,01±1,0   | 0,45 |

14. táblázat: Csont ásványi denzitás mérések a csoportokban, amelyeket az „S” allél jelenléte vagy hiánya alapján hoztunk létre az osteoporoticus és a nem osteoporoticus alcsoportokban (átlag±SD és p értékek)

Összefüggést GLM ANOVA számítással sem tudtunk igazolni, ahol a test tömeg index-et és életkort, mint kovariáns vettük figyelembe. (15. táblázat)

| Függő változó      | A jelenlévő vagy hiányzó „S” allél p értéke |                         |                             |
|--------------------|---------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
|                    | Minden beteg                                | Oszteoporotikus betegek | Nem oszteoporotikus betegek |
| <b>Lumbális T</b>  | 0,23                                        | 0,25                    | 0,14                        |
| <b>Lumbális Z</b>  | 0,20                                        | 0,07                    | 0,25                        |
| <b>Femorális T</b> | 0,57                                        | 0,83                    | 0,45                        |
| <b>Femorális Z</b> | 0,84                                        | 0,79                    | 0,58                        |

15. táblázat A csont ásványi denzitás (BMD) és az S allél CaSR génben való jelenlét/hiány összefüggésének vizsgálata GLM ANOVA analízissel (BMD mint dependens változó, S allél jelenléte vagy hiánya, mint faktor, a test tömeg index és életkor, mint kovariáns alkalmazásával). Az összefüggést a szignifikancia (p) értékek mutatják.

Eredményeink alapján a CaSR gén "A986S" polimorfizmusa nincs hatással a postmenopasában mért csontdenzitásra (311).

IV.1.1.6. A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B szabályozási rendszer génjeinek hatása a csontdenzitásra, a csonttörési gyakoriságra és a gének szöveti expressziójára

A csontdenzitás és csonttöréselemzésben vizsgált személyek (n=353 genetikai adatok hiányában a vizsgálatba bevont személyek közül hét kimaradt az értékelésből) mérési adatait a 16.táblázat tartalmazza.

| Változó                                  | Átlag $\pm$ SD vagy (%) |
|------------------------------------------|-------------------------|
| Életkor (év)                             | 61,6 $\pm$ 7,9          |
| Menopauza óta eltelt idő (év)            | 13,5 $\pm$ 8,3          |
| Testtömeg index (kg/m <sup>2</sup> )     | 27,6 $\pm$ 4,5          |
| Dohányzók                                | 45 (12,5%)              |
| Alkoholfogyasztás                        | 16 (4,44%)              |
| Kalciumbevitel (mg/nap)                  | 642 $\pm$ 113           |
| Szérum 25OHD (ng/ml)                     | 44,6 $\pm$ 6,7          |
| Lumbális gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,887 $\pm$ 0,176       |
| Teljes csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )    | 0,785 $\pm$ 0,168       |
| Osteoporosis                             | 198 (55%)               |
| Korábbi nem vertebrális törés            | 76 (21,5%)              |

16. táblázat A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B szignálút vonal genetikai variációinak csont denzitásra és törési gyakoriságra gyakorolt hatásának vizsgálatában kiértékelt populáció adatai.

A génexpressziós vizsgálatokba bevont személyek csupán életkorukban tértek el a teljes vizsgált populációtól - életkoruk 63,6 $\pm$ 12,2 év volt-, semmilyen más paraméterben sem különböztek szignifikáns módon. Az összes vizsgált SNP Hardy-Weinberg egyensúlyban volt, az allélek frekvenciája minden esetben meghaladta az 5%-ot. A *TNFSF11* gén három vizsgált SNP-je (rs9533156, rs9525641, rs3742257) haploblokkot alkotott, míg a *TNFRSF11B* gén két SNP-je nem kapcsolódott egymáshoz. Regressziós modellben a BMD-t szignifikánsan befolyásolta a kor, a menopauza ideje és a BMI. A törési rizikóra a kor, a BMI és a BMD érték volt hatással. A vizsgálat statisztikai ereje 75% volt a csípőn legalább 0,054

g/cm<sup>2</sup> BMD változás kimutatásra domináns modellen. A lumbalis gerincen 65%, a legalább 0,053 g/cm<sup>2</sup> BMD változás kimutatásra recesszív modellen. Asszociáció analízisben a polimorfizmusok és a BMD értékek összefüggését három különböző modellel vizsgáltuk. Ezen számítások eredményeit a 17. A/B/C táblázatok mutatják be.

| TNFRSF11B |                                 | Additív modell |             |             |                      |
|-----------|---------------------------------|----------------|-------------|-------------|----------------------|
| rs1564858 | Genotípus (szám)                | A/A (13)       | A/G (73)    | G/G (267)   | P érték <sup>a</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,13±0,16     | -0,013±0,15 | 0,011±0,16  | 0,021                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | -0,018±0,15    | -0,044±0,13 | 0,013±0,15  | 0,0002 <sup>c</sup>  |
| rs3102735 | Genotípus (szám)                | C/C (8)        | C/T (87)    | T/T (267)   | P érték <sup>a</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,073±0,11    | -0,003±0,17 | 0,003±0,16  | 0,173                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | -0,129±0,08    | -0,014±0,13 | 0,009±0,16  | 0,009 <sup>d</sup>   |
| TNFSF11   |                                 | Additív modell |             |             |                      |
| rs9533156 | Genotípus (szám)                | C/C (95)       | C/T (185)   | T/T (73)    | P érték <sup>a</sup> |
|           | gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,004±0,18     | -0,017±0,16 | 0,040±0,15  | 0,109                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,024±0,17     | -0,017±0,14 | 0,013±0,15  | 0,466                |
| rs9525641 | Genotípus (szám)                | C/C (96)       | C/T (184)   | T/T         | P érték <sup>a</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,004±0,18     | -0,017±0,16 | -0,040±0,15 | 0,057 <sup>e</sup>   |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,024±0,17     | -0,017±0,14 | 0,013±0,15  | 0,449                |
| rs3742257 | Genotípus (szám)                | C/C (90)       | C/T (189)   | T/T (74)    | P érték <sup>a</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,032±0,15     | -0,020±0,16 | 0,013±0,18  | 0,080 <sup>d</sup>   |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,020±0,18     | -0,019±0,14 | 0,027±0,16  | 0,363                |

17. A táblázat *TNFRSF11* és *TNFSF11* gének polimorfizmusainak hatása a BMD-re additív modellben.

A gerinc és csípő BMD értékek átlag ±SD értékben lettek feltüntetve. A p értéket nonparametrikus teszttel (<sup>a</sup>Jonckheere-Terpsta) számítottuk ki. Additív modellben posthoc tesztek végeztünk (<sup>c</sup>homozigóta recesszívet hasonlítottuk a homozigóta dominánshoz, <sup>d</sup>homozigóta dominánst hasonlítottuk a heterozigótákhoz, <sup>d</sup> homozigóta recesszíveket hasonlítottuk a heterozigótákhoz)

| TNFRSF11B |                                 | Domináns modell |               |                      |
|-----------|---------------------------------|-----------------|---------------|----------------------|
| rs1564858 | Genotípus (szám)                | A/A+A/G (86)    | G/G (267)     | P érték <sup>b</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,035±0,15     | 0,011±0,16    | 0,017                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,040±0,13      | 0,013±0,15    | 0,0001               |
| rs3102735 | Genotípus (szám)                | C/C+C/T (95)    | T/T (267)     | P érték <sup>b</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,010±0,16     | 0,003±0,16    | 0,403                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | -0,024±0,13     | 0,009±0,16    | 0,035                |
| TNSFF11   |                                 | Domináns modell |               |                      |
| rs9533156 | Genotípus (szám)                | C/C (95)        | C/T+T/T (258) | P érték <sup>b</sup> |
|           | gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,004±0,18      | -0,001 ±0,16  | 0,880                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,024±0,16      | -0,009± 0,14  | 0,356                |
| rs9525641 | Genotípus (szám)                | C/C (96)        | C/T+T/T (257) | P érték <sup>b</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,004±0,18      | -0,001±0,16   | 0,898                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,024 ±0,17     | -0,009 ±0,14  | 0,352                |
| rs3742257 | Genotípus (szám)                | C/C (90)        | C/T+T/T (263) | P érték <sup>b</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,032 ±0,15     | -0,010 ±0,16  | 0,016                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,020 ±0,17     | -0007 ±0,15   | 0,112                |

17.B táblázat *TNFRSF11* és *TNFSF11* gének polimorfizmusainak hatása a BMD-re domináns modellben.

A gerinc és csípő BMD értékek átlag ±SD értékben lettek feltüntetve. A p értéket nonparametrikus teszttel (<sup>b</sup> Mann–Whitney U) számítottuk ki.

| TNFRSF11B |                                 | Recesszív modell |               |                      |
|-----------|---------------------------------|------------------|---------------|----------------------|
| rs1564858 | Genotípus (szám)                | A/A (13)         | A/G+G/G (340) | P érték <sup>b</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,013±0,16      | 0,001±0,16    | 0,681                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | -0,018±0,15      | 0,001±0,15    | 0,502                |
| rs3102735 | Genotípus (szám)                | C/C (8)          | C/T+T/T (345) | P érték <sup>b</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,073±0,11      | 0,002±0,16    | 0,185                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | -0,129±0,08      | 0,003±0,15    | 0,004                |
| TNSFF11   |                                 | Recesszív modell |               |                      |
| rs9533156 | Genotípus (szám)                | C/C+C/T (280)    | T/T (73)      | P érték <sup>b</sup> |
|           | gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,010± 0,16     | 0,040 ±0,15   | 0,009                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | -0,003 ±0,15     | 0,013 ±0,15   | 0,189                |
| rs9525641 | Genotípus (szám)                | C/C + C/T (280)  | T/T (73)      | P érték <sup>b</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,010 ±0,18     | 0,040 ±0,15   | 0,009                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | -0,003 ±0,15     | 0,016 ±0,15   | 0,189                |
| rs3742257 | Genotípus (szám)                | C/C + C/T (279)  | T/T (74)      | P érték <sup>b</sup> |
|           | Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | -0,004 ±0,16     | 0,013 ±0,18   | 0,718                |
|           | Csípő BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | -0,007 ±0,15     | 0,027± 0,16   | 0,205                |

17.C táblázat *TNFRSF11* és *TNFSF11* gén polimorfizmusainak hatása a BMD-re recesszív modellben.

A gerinc és csípő BMD értékek átlag ±SD értékben lettek feltüntetve. A p értéket

nonparametrikus teszttel (<sup>b</sup> Mann–Whitney U) számítottuk ki.

*TNFRSF11B* gén polimorfizmusai szoros összefüggést mutattak a gerincen és a csípőtájon mért BMD értékekkel. Domináns modellel számolva az rs1564858 SNP-ben ‘A’ allél-t hordozó személyek csípőtáji BMD értéke szignifikánsan kisebb volt. Kovariánsokra történt illesztést követően a csípőtáji BMD-ben a különbségek a következők voltak: -0,040±0,133 g/cm<sup>2</sup> az ‘A/A+A/G’ genotípusban és 0,013±0,155 g/cm<sup>2</sup> a ‘G/G’ genotípusban p=0,0001. Recesszív modellel számolva az rs3102735 polimorfizmus mutatott összefüggést a csípőtáji BMD-vel. Kovariánsokra történt illesztést követően a csípőtáji BMD-ben a különbségek a következők voltak: -0,129±0,083 a ‘C/C’ és 0,003±0,151 g/cm<sup>2</sup> a ‘C/T+T/T’ genotípusokban p=0,004. A *TNFSF11* gén két SNP-je mutatott szoros összefüggést a gerinc BMD értékekkel az rs9533156 és az rs9525641. Kovariánsokra történt illesztést követően a csípőtáji BMD-ben a

különbségek a következők voltak:  $-0,010 \pm 0,163$  a 'C/C+C/T' és  $0,040 \pm 0,154$  g/cm<sup>2</sup> a 'T/T' genotípusokban. A vizsgált SNP-k közül egyik sem mutatott összefüggést a nem vertebrális törésekkel. A két gén vizsgált SNP-i között nem lehetett szignifikáns interakciót kimutatni.

A *TNFSF11* gén haplotípusainak a BMD értékekkel, valamint a nem vertebrális törésekkel fennálló összefüggését Score teszttel és GLM-el (generalizált lineáris modell) vizsgáltuk.

A vizsgálat eredményeit a 18. táblázat mutatja be.

|                                                                    |             | Score teszt |                      | GLM modell             |                      |
|--------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|----------------------|------------------------|----------------------|
| Haplotípus                                                         | Frekvenciák | Hap score   | P érték <sup>a</sup> | Koefficiens<br>±S.E.M. | P érték <sup>b</sup> |
| <b>(A) hatása a TNFSF11 haplotípusnak a kapcsolt gerinc BMD-m</b>  |             |             |                      |                        |                      |
| TTC                                                                | 0,453       | -0,398      | 0,711                | $0,037 \pm 0,019$      | 0,048                |
| CCC                                                                | 0,063       | -0,428      | 0,679                | $-0,025 \pm 0,028$     | 0,423                |
| CCR                                                                | 0,471       | -2,432      | 0,013                | $-0,049 \pm 0,021$     | 0,018                |
|                                                                    |             | Score tesz  |                      | GLM modell             |                      |
| Haplotípus                                                         | Frekvencia  | Hap score   | P érték <sup>c</sup> | Koefficiens<br>±S.E.M. | P érték <sup>d</sup> |
| <b>(B) TNFRSF11B haplotípus hatásai a csípő BMD-jéhez igazítva</b> |             |             |                      |                        |                      |
| GT                                                                 | 0,789       | 2,846       | 0,006                | $0,016 \pm 0,010$      | 0,102                |
| GC                                                                 | 0,069       | -1,182      | 0,245                | $-0,034 \pm 0,023$     | 0,138                |
| AT                                                                 | 0,063       | -1,487      | 0,148                | $-0,037 \pm 0,022$     | 0,106                |
| AC                                                                 | 0,078       | -1,987      | 0,041                | $-0,044 \pm 0,021$     | 0,039                |

18. táblázat A *TNFRSF11* és a *TNFRSF11B* haplotípusainak összefüggése a gerinc és a csípő BMD-vel

A táblázat az 5%-nál nagyobb gyakoriságú haplotípusok kovariánsokra illesztett BMD

értékekre gyakorolt hatásait mutatja be.

p<sup>a</sup> permutációs p érték asszociációs határértéke 0,022

p<sup>b</sup> számításánál a referencia haplotípus a TTC

p<sup>c</sup> permutációs p érték asszociációs határértéke 0,065

p<sup>d</sup> számításánál a referencia haplotípus a GT

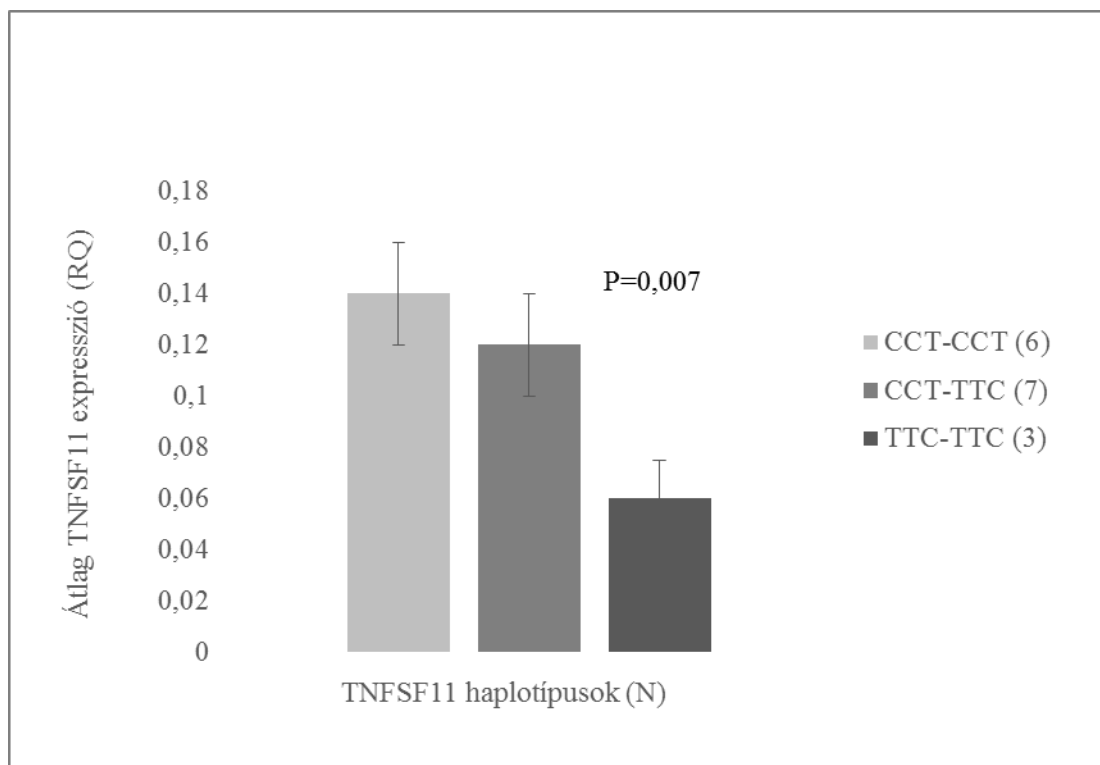


A *TNFSF11* gén vizsgált haplotípusai szoros összefüggést mutattak a gerinc BMD-vel (permutált  $p=0,022$ ). A 'CCT' haplotípus alacsony BMD értékekkel, míg a 'TTC' haplotípus nagyobb gerinc BMD-vel társult.

A *TNFRSF11B* gén vizsgált haplotípusaival nem lehetett kimutatni összefüggést egyik vizsgált klinikai paraméterrel sem (permutált  $p=0,065$ ), habár két haplotípusnak is volt egyéni hatása a csípőtáji BMD-re.

A leggyakoribb 'GT' haplotípus nagyobb, a legritkább 'AC' haplotípus alacsonyabb BMD értékkel társult. Nem találtunk összefüggést a haplotípusok és a nem vertebrális törések között.

A haplotípusok génexpresszióra gyakorolt hatását 16 csontmintából, quantitativ valós idejű PCR-rel vizsgáltuk. A *TNFSF11* specifikus mRNA mennyisége a 'CCT' haplotípussal mutatott szoros összefüggést, az összefüggés permutált  $p$  értéke 0,007 volt. (19. ábra)



19. ábra A *TNFSF11* haplotípusok hatása a *TNFSF11* szöveti expressziójára

Az oszlopok a *TNFSF11* gén GAPDH-hoz viszonyított relatív expressziójának átlagát mutatják a szórásokkal együtt.

A CCT haplotípust hordozó egyének *TNFSF11* expressziója 2,25-ször nagyobb a haplotípust nem hordozókkal szemben. (átlag  $RQ \pm SD$   $0.126 \pm 0.050$  ‘CCT’ hordozókban és  $0.056 \pm 0.026$  a nem hordozókban  $p=0.025$ ) Nem találtunk összefüggést a génspecifikus mRNA expresszió és a *TNFRSF11B* genotípusai között.

‘In silico’ szekvencia analízist végeztünk annak meghatározására, hogy a haplotípusok befolyásolhatják-e a transzkripciós faktorok kötődését. A CCT haplotípus promoter régiójában hét különböző kötőhelyet azonosítottunk, míg a TTC haplotípusnál csupán kettőt.

Eredményeink alapján a *TNFSF11* és a *TNFRSF11B* gének vizsgált genotípusai és a csontdensitászértékek között szignifikáns összefüggés áll fenn. A *TNFSF11* gén esetében elsőként írtunk le egy haplotípust (CCT), ami fokozott *TNFSF11* csontszöveti expresszióval és kisebb BMD értékekkel jár postmenopausás nőkben (312).

#### IV.1.1.7. A Wnt jelátviteli út génjeinek hatása a csontdensitászértékekre és a csonttörékenységre

A vizsgálatba bevont 889 személy adatait az 19. táblázat mutatja be.

| Változó                                     | Átlag $\pm$ SD   |
|---------------------------------------------|------------------|
| Kor (év)                                    | $61,05 \pm 9,95$ |
| BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )              | $28,06 \pm 4,8$  |
| Gerinc BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ )       | $0,82 \pm 0,33$  |
| Gerinc T-score                              | $-1,6 \pm 1,2$   |
| Teljes csípő BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) | $0,75 \pm 0,12$  |
| Teljes csípő T-score                        | $-1,8 \pm 1,1$   |

19. táblázat A vizsgált populáció adatai átlag  $\pm$  SD-ben kifejezve.

A vizsgálatba bevont személyeket három csoportba osztottuk a csont ásványianyag-tartalom alapján.

A csoportok BMD és T score értékeit a 20. táblázat tartalmazza.

|                                 | Átlag±SD     |
|---------------------------------|--------------|
| <b>Normál n=90</b>              |              |
| Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 1,08 ± 0,31  |
| Gerinc T-score                  | -0,13 ± 0,62 |
| Femur BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,96 ± 0,09  |
| Femur T-score                   | -0,18 ± 0,64 |
| <b>Oszteopénia n=455</b>        |              |
| Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,86 ± 0,33  |
| Gerinc T-score                  | -1,29 ± 0,82 |
| Femur BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,79 ± 0,12  |
| Femur T-score                   | -1,56±0,65   |
| <b>Oszteoporózis n=344</b>      |              |
| Gerinc BMD (g/cm <sup>2</sup> ) | 0,71 ± 0,27  |
| Gerinc T-score                  | -2,35 ± 1,14 |
| Femur BMD (g/cm <sup>2</sup> )  | 0,67 ± 0,11  |
| Femur T-score                   | -2,61 ± 0,99 |

20. táblázat. A osteoporosis státuszuk alapján kialakított betegcsoportok csontdenzitás értékei

A genotipizálás eredményeit a 21. táblázat tartalmazza.

| Gén           | SNP rsID    | SNP helyzete   | SNP helye      | Callrate (%) | MAF*  | Allél | HWE-teszt** | Hatás                         |                                    |
|---------------|-------------|----------------|----------------|--------------|-------|-------|-------------|-------------------------------|------------------------------------|
|               |             |                |                |              |       |       |             | BMD<br>(p érték) <sup>†</sup> | T-score<br>(p érték) <sup>††</sup> |
| <b>GPR177</b> | rs1430742   | chr1:68635075  | intron         | 98,54        | 0,209 | G/A   | 0,2991      | 0,379                         | 0,31                               |
|               | rs2566755   | chr1:68635390  | intron         | 99,78        | 0,21  | A/G   | 0,3822      | 0,26                          | 0,169                              |
|               | rs2566785   | chr1:68604094  | nem kódoló RNS | 99,78        | 0,39  | A/G   | 0,4963      | 0,881                         | 0,399                              |
|               | rs983034    | chr1:686035086 | exon           | 99,44        | 0,389 | C/T   | 0,5216      | 0,456                         | 0,55                               |
| <b>LRP5</b>   | rs4988300   | chr11:68088831 | intron         | 99,78        | 0,463 | G/T   | 0,4399      | 0,004                         | 0,079                              |
|               | rs599083    | chr11:68192346 | intron         | 98,65        | 0,313 | G/T   | 0,7046      | 0,615                         | 0,04                               |
|               | rs634008    | chr11:68094741 | intron         | 98,99        | 0,443 | C/T   | 0,6447      | 0,017                         | 0,034                              |
| <b>SP7</b>    | rs191240606 | chr12:53722883 | exon           | 99,89        | 0     | C/A   | 1           | -                             | -                                  |
|               | rs2016266   | chr12:53727955 | intron         | 99,78        | 0,315 | A/G   | 0,5534      | 0,231                         | 0,096                              |

21. táblázat A vizsgált SNP-k genotipizálásának eredményeit és az SNP-k BMD-re gyakorolt hatását mutatja be.

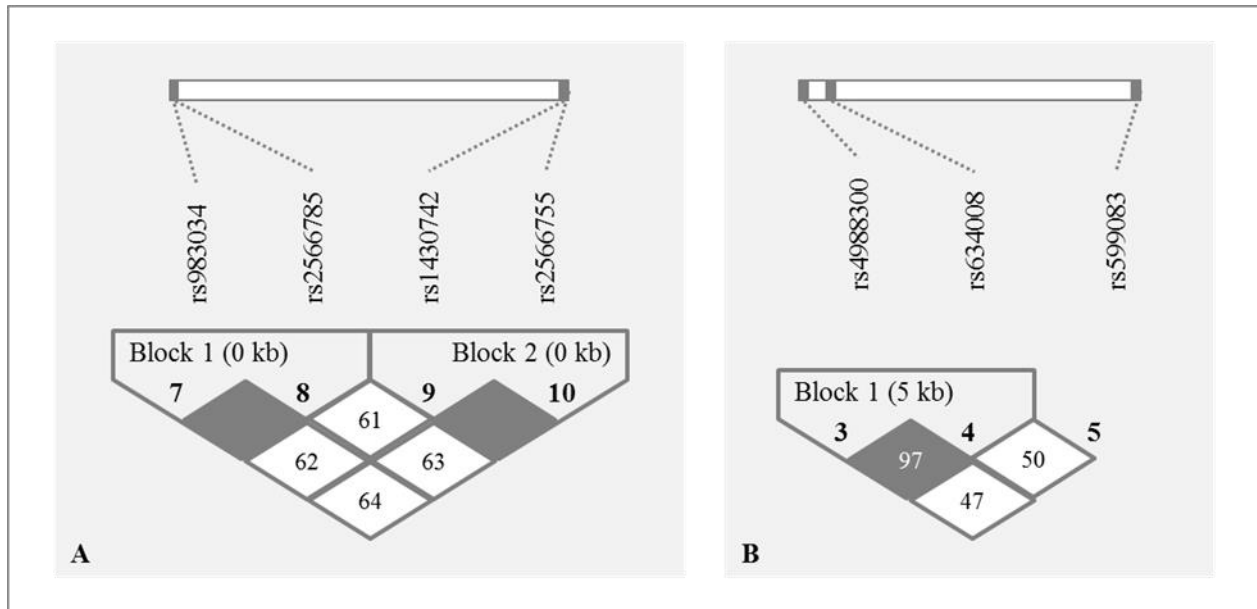
\*MAF minimum allél frekvencia

\*\*Hardy-Weinberg equilibrium teszt. HWE tesztet a Haploview 4.0-val végeztük

†BMD értékeket a korhoz és a BMI-hez igazítottuk

†† T-score értékeket a BMI értékekhez igazítottuk

Valmennyi vizsgált SNP Hardy-Weinberg equilibriumban volt. A SNP-k azonosítási pontossága 98,54% volt. Az *SP7* gén rs191240606 SNP-je monomorfnak bizonyult a vizsgált populációban, habár az 1000 genom projectben ez polimorfnek adódott. A *GPR177* gén vizsgált SNP-i két haplotípus blokkot alkottak, míg az *LRP5* SNP-i egy haplotípus blokkban voltak. (20. ábra)



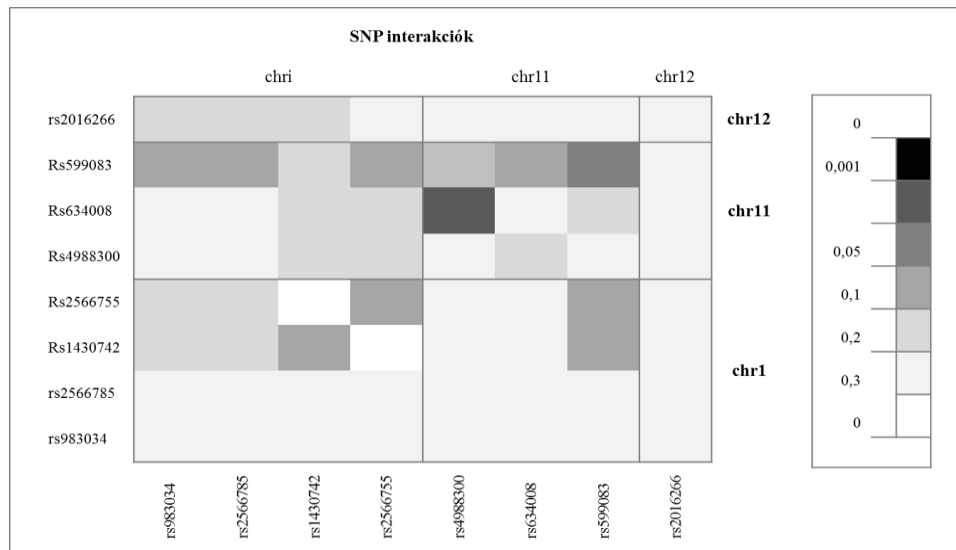
20. ábra A vizsgált SNP-k haplotípus blokkjai.

A, *GPR177* gén SNP-i; B, *LRP* gén SNP-i

Az *LRP5* gén két vizsgált SNP-je az rs4988300 és az rs634008 esetében tudtunk összefüggést kimutatni a teljes femur BMD-vel. Bonferroni korrekció után az rs4988300 estében maradt meg az összefüggés ( $p=0,004$ ). Erre az SNP-re heterozigóta egyének teljes femur BMD-je szignifikánsan nagyobb volt, mint a homozigótáknak. A gerinc BMD értékekkel egyik vizsgált SNP sem mutatott összefüggést. Továbbá nem találtunk összefüggést a vizsgált genotípusok és az osteoporoticus törések között.

A haplotípus elemzés és a gén-gén interakció vizsgálat eredményeit a 21. ábra foglalja össze. Az *LRP5* gén két SNP-je mutatott szignifikáns interakciót (rs4988300 and rs634008,  $p=0.009$ ).

Ez az összefüggés azonban a Bonferroni korrekció után már nem érte el a szignifikancia szintjét.



21. ábra A vizsgált gének SNP-inek interakciója

(Az SNP interakció grafikus ábrázolását SNPassoc program R verziójával végeztük)

Semmilyen más interakciót sem találtunk a vizsgált SNP-k között. A haplotípusok és a BMD értékek között sem tudtunk kimutatni összefüggést. (22. táblázat)

A *GRE177* és az *SP7* gének SNP-i nem mutattak semmilyen összefüggést a vizsgálati alanyok csont ásványianyag-tartalmával és a csonttörések számával egyik vizsgált lokalizációban sem.

|               |           |           | Hap-freq | Hap-score | p érték | Sim p érték |
|---------------|-----------|-----------|----------|-----------|---------|-------------|
| <b>LRP5</b>   | rs4988300 | rs634008  |          |           |         |             |
| HT1           | G         | C         | 0,00523  | -1,77528  | 0,07585 | 0,068       |
| HT2           | T         | T         | 0,02507  | -0,10453  | 0,91675 | 0,916       |
| HT3           | G         | T         | 0,52595  | 0,26365   | 0,79205 | 0,807       |
| HT4           | T         | C         | 0,43128  | 0,3294    | 0,74185 | 0,744       |
| <b>GPR177</b> | rs1430742 | rs2566755 |          |           |         |             |
| HT1           | A         | A         | 0,77721  | -0,95755  | 0,33829 | 0,345       |
| HT2           | G         | G         | 0,20578  | 0,3342    | 0,73821 | 0,746       |
|               | rs2566785 | rs983034  |          |           |         |             |
| HT1           | G         | T         | 0,38435  | -1,13311  | 0,25717 | 0,284       |
| HT2           | A         | C         | 0,60658  | 1,29942   | 0,1938  | 0,211       |

22. táblázat A vizsgált gének haplotípusainak gyakorisága és összefüggése a teljes femur T score-al

Eredményeink alapján nincs összefüggés a *GRP177* és *SP7* gének vizsgált polimorfizmusai és a csontdenzitás-értékek valamint a törési rizikó között. Szoros összefüggést találtunk viszont az *LRP5* gén rs4988300 polimorfizmusa és a femur denzitás között (313).

#### IV.1.2. Az autoszomális domináns osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg vizsgálata során nyert eredmények

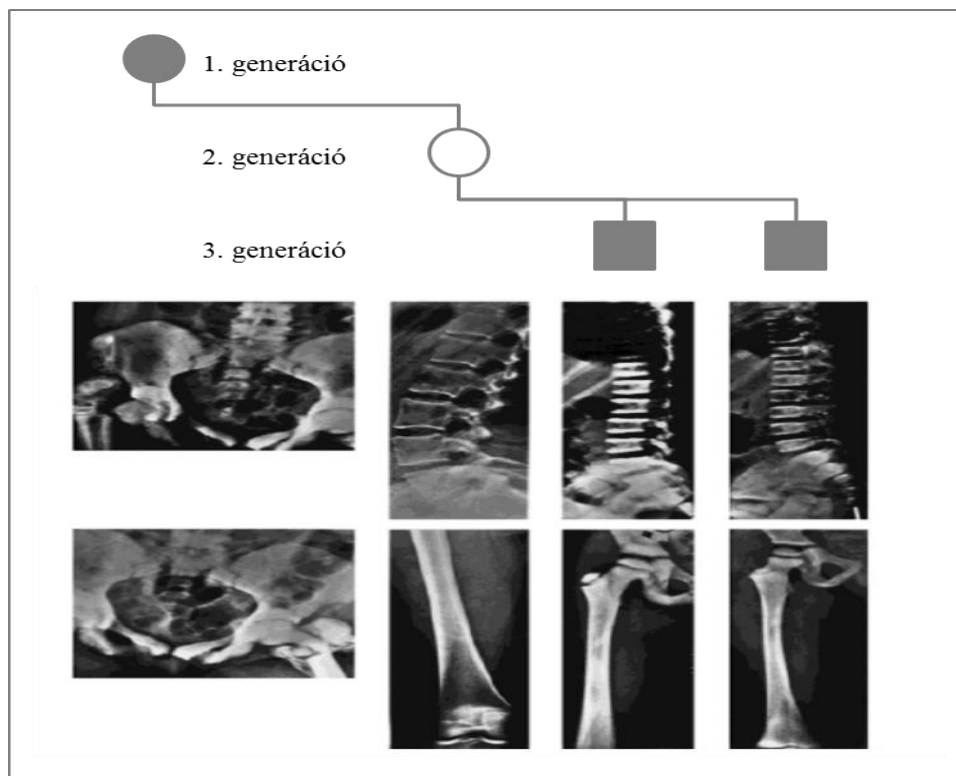
Az autoszomális domináns osteopetrosis génjét hordozó család leírását a III.1.1.3. fejezet taglalja részletesen. A betegség génjét biztosan hordozó, de az autoszomális domináns öröklődésű betegség tüneteit nem mutató anya vizsgálata során radiológiai és laboratóriumi vizsgálatokat végeztünk. A betegségre jellemző nagy csont ásványianyag-tartalmat a denzitometriai mérések nem igazolták. (23. táblázat)

|                               | Személy 1 | Személy 2 |
|-------------------------------|-----------|-----------|
| <b>Teljes test BMD</b>        |           |           |
| g/cm <sup>2</sup>             | 1,778     | 1,111     |
| Z score                       | +8,8      | -0,2      |
| <b>Lumbális gerinc (L2-4)</b> |           |           |
| g/cm <sup>2</sup>             | 2,383     | 1,156     |
| Z score                       | +10,9     | -0,4      |
| <b>Femur nyak (jobb)</b>      |           |           |
| g/cm <sup>2</sup>             | N.M       | 0,975     |
| Z score                       | N.M       | 0,0       |

23. táblázat *ADO2* génjét hordozó család 1. és 2. számú személyének BMD értékei (N.M.- nem mérhető)

személy 1 - *ADO2*-ben szenved, személy 2 - a betegség génjét tünetmentesen hordozza,

A betegség génjét hordozó családtagnál nem tudtunk kimutatni semmilyen, a betegségre jellemző radiológiai elváltozást. (22. ábra)



22. ábra A vizsgált személyek családfája és csontröntgen felvételei.

A római számok a generációkat, a körök a nőket, a négyzetek a férfiakat, a fekete jelek a beteg, a világos jel a hordozó személyt jelzik. A családfa alatt függőlegesen, oszlopban láthatók a vizsgált személyek csontröntgen képei. Az 1. és a 3. generációnál az ADO2 radiológiai tüneteivel.

Az ADO2-re jellemző laboratóriumi eltéréseket sem lehetett igazolni a gént hordozó 34 éves anyánál. A normál tartományban lévő kalcium, foszfát és kreatinin értékek mellett a TRAP és a CK is a normál tartományban volt. A CK-BB mennyisége mérhetetlenül alacsony volt.

Eredményeink alapján az ADO2 hordozó személyek laboratóriumi, radiológia vizsgálati eredményei nem térnek el a normál értékektől, így ezek alapján nem lehet következtetni a beteg gén hordozására (314).

## IV.2. Csontvázra ható környezeti hatások vizsgálatainak eredményei

## IV.2.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatása a törésekre,

kórházi kezelésekre, egészségügyi kiadásokra és a halálózásra

Vizsgálatunkban az osteoporosiskezelés gyakorlati hatékonyságát vizsgáltuk. Ezért a biztosan osteoporosisban szenvedő betegek két csoportját hasonlítottuk össze. A megfelelően kezelt betegeket MPR 80 % felett) (aktív kar) hasonlítottuk össze az elégtelenül vagy nem kezelték csoportjával (MPR kisebb, mint 20%) (kontroll kar). A 20 %-nál kisebb MPR-el bíró csoportba 17 084 nő került, akik 50 %-a 70 év feletti volt. A 80%-nál nagyobb MPR-ű csoportba 8636 beteg került, akik 53 %-a volt idősebb 70 évnél. A vizsgált populáció kiindulási jellemzőit az 24. táblázat tartalmazza. Ezeket a kiindulási tényezőket a megfigyeléses periódus előtti fél évben bekövetkezett események alapján határoztuk meg. Ezeket a későbbi számítások során, mint meglévő hajlamosító tényezőket (propensity score) vettük figyelembe.

|                                               | Átlagban betegenként      |                           |
|-----------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                                               | Aktív kar                 | Kontroll kar              |
| Törések száma                                 | 0,0462 (329) <sup>a</sup> | 0,0366 (626) <sup>b</sup> |
| Kórházban töltött napok száma                 | 0,475                     | 0,0718                    |
| Kórházi kezelések száma                       | 0,0198                    | 0,0114                    |
| DEXA mérések száma                            | 0,5681                    | 0,4255                    |
| Egészségügyi segédeszközök használata         | 3,00%                     | 2,07%                     |
| Ambuláns vizitek száma                        | 1,4091                    | 0,9471                    |
| Napok száma mikor fájdalomcsillapítót szedtek | 1,4915                    | 1,8596                    |
| A nem osteoporosis kezelésekhöz az MPR        | 0,2603                    | 0,1938                    |
| MPR a fájdalomcsillapítókhoz                  | 0,008                     | 0,0099                    |
| A kezelés átlagos költsége                    | 23,40 USD <sup>c</sup>    | 18,45 USD <sup>c</sup>    |
| A törések ellátásának átlagos költsége        | 25,73 USD <sup>c</sup>    | 14,36 USD <sup>c</sup>    |
| A segédeszközök átlagos költsége              | 0,94 USD <sup>c</sup>     | 0,58 USD <sup>c</sup>     |

24. táblázat A vizsgálatban résztvevők adatai a követéses periódust megelőző fél év adatai alapján

<sup>a</sup> törések abszolút száma a 80% feletti MPR csoportban,

<sup>b</sup> törések abszolút száma a 20% alatti MPR csoportban,

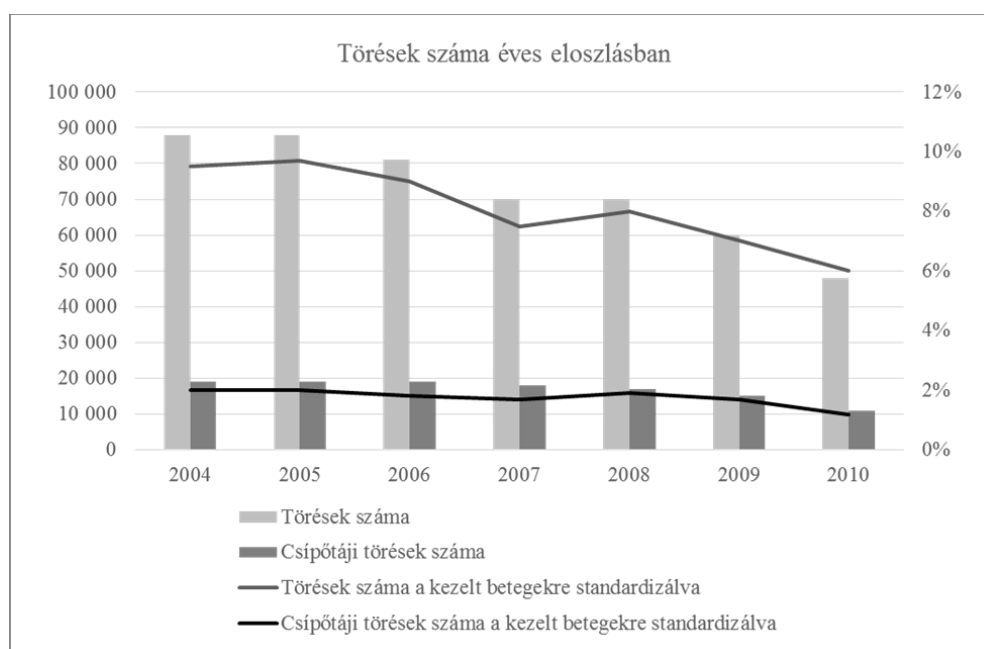
MPR - megfelelő gyógyszeresedés aránya;

<sup>c</sup>USD (United States dollar) a 2013. novemberi árfolyam alapján számítva



## IV.2.1.1. Törésekre gyakorolt hatás

Az OEP adatbázisának alapján a 2004-től 2010-ig terjedő időszakban jelentősen csökkent az osteoporosis BNO-kóddal regisztrált betegek csonttöréseinek száma. Az 23.ábrán a törések számának csökkenése látható a vizsgált időszakban, abszolút értékben, illetve a kezelt betegszámra standardizálva. Az évek közötti különbségek a Welch próba eredményei alapján statisztikailag szignifikánsak ( $p < 0,05$ ) az összes törés tekintetében, azonban a csípő- és combcsont törése esetében nem voltak azok. A törésszám 88 290-ről 47 747-re, a csípőtáji törések száma 17 992-ről 11 242-re csökkent a vizsgált hét évben.



23. ábra A csonttörések és a csípőtáji törések számának változása Magyarországon.

Folyamatos vonallal jelölve a törések számának változását a kezelt betegek számára standardizálva, mivel 2007-ben a kezelt betegek száma jelentősen csökkent.

A vizsgálat három éves követéses periódusában észlelt törések számát a 25. táblázat mutatja be. Az adatokat Cox modell segítségével hasonlítottuk össze. Az összehasonlítást a mért törések számaival (nyers RR) és a törések számának a megfigyeléses periódusban felmért kockázati tényezőkhez történő

illesztésével (illesztett RR) is elvégeztük. A megfigyelési periódus kockázati tényezőinek figyelembe vétele után, - a klinikai tünetekkel csak az esetek harmadában járó csigolyatörés (315) kivételével - valamennyi töréstípusnál és a törések miatti kórházi kezeléseknél is szignifikáns különbség volt a gyógyszert megfelelően szedő és a gyógyszert rosszul szedő csoport között. A teljes követési periódus három éve alatt a bármilyen első törés bekövetkeztének kockázata 21 %-al csökkent az aktívan kezelt csoportban a kontroll csoporthoz képest. Legnagyobb különbség a csípőtáji törések számában volt, ennek a töréstípusnak a kockázata 52 %-al csökkent megfelelő kezelés esetén. Ez a különbség a valóságban még nagyobb lehetett, mert a törések kapcsán elhunyt személyeket nem vettük figyelembe a számítások során.

| Törés típusa                  | Aktív kar | Kontroll kar | Nyers RR | p       | Illesztett RR | p       |
|-------------------------------|-----------|--------------|----------|---------|---------------|---------|
| Összes törés                  | 847       | 1936         | 0,8742   | 0,0047* | 0,7931        | 0,0000* |
| Csigolya törés                | 90        | 201          | 0,9489   | 0,7199  | 0,8974        | 0,4746  |
| Csípőtáji törés               | 115       | 380          | 0,5538   | 0,0000* | 0,485         | 0,0000* |
| Csukló törés                  | 430       | 887          | 0,964    | 0,5883  | 0,8698        | 0,0448* |
| Egyéb törések                 | 296       | 690          | 0,8823   | 0,1188  | 0,8046        | 0,0087* |
| Törés miatti kórházi észlelés | 443       | 929          | 0,72     | 0,0000* | 0,6306        | 0,0000* |

25. táblázat A vizsgálat követési periódusában bekövetkezett törések száma és azok relatív rizikója (RR) a törések száma alapján (nyers RR) és a követési periódus előtt fél évig megfigyelt kockázati tényezőkhöz történt illesztést (illesztett RR) követően.

\*szignifikáns az eredmény  $p < 0,05$

Annak megítélésére, hogy az osteoporosis kezelés milyen gyorsan fejti ki hatását, az osteoporosis miatti kezelés megkezdését követően félévente mértük fel az újonnan bekövetkezett törések számát. Az aktív és a kontroll csoportokat kétmintás "t" teszttel (Welch próba) hasonlítottuk össze. Az eredményeket a 26. táblázat mutatja be. A kezdettől fennálló jelentős különbségek ellenére a két csoport közötti különbség csak a vizsgálat harmadik évére vált szignifikánssá.

| Periódus | Aktív       | Kontroll    | Különbség | p       |
|----------|-------------|-------------|-----------|---------|
| 1. félév | 178 (2,06%) | 319 (1,87%) | 0,0019    | 0,3202  |
| 2. félév | 165 (1,91%) | 315 (1,84%) | 0,007     | 0,7356  |
| 3. félév | 141 (1,63%) | 303 (1,77%) | -0,0014   | 0,4689  |
| 4. félév | 130 (1,51%) | 307 (1,80%) | -0,0029   | 0,1187  |
| 5. félév | 112 (1,30%) | 332 (1,94%) | -0,0065   | 0,0007* |
| 6. félév | 132 (1,53%) | 331 (1,94%) | -0,0041   | 0,0304* |
| Összesen | 858         | 1907        |           |         |

26. táblázat A törések számának különbsége féléves periódusokban.

A kiindulási paraméterekhez történő illesztés nélkül. \*szignifikáns az eredmény  $p < 0,05$

A két csoport között a vizsgálat kezdetekor fennálló hajlamosító tényezők (propensity score) figyelembe vétele után a kezelés hatását már jóval korábbi időpontban, fél év után ki lehetett mutatni. (27. táblázat)

| Modell             | Követés        | RR    | Konfidencia intervallum |             | p       |
|--------------------|----------------|-------|-------------------------|-------------|---------|
|                    |                |       | Alsó határ              | Felső határ |         |
| Poisson regresszió | 1. fél év után | 0,803 | 0,7386                  | 0,8721      | 0,0000* |
|                    | 2. fél év után | 0,772 | 0,7035                  | 0,8464      | 0,0000* |
|                    | 3. fél év után | 0,735 | 0,6613                  | 0,8165      | 0,0000* |

27. táblázat Az aktív és a kontroll csoportban bekövetkező törések relatív rizikójának változása az idő függvényében a kezdeti hajlamosító tényezőkhez történő illesztés után.

RR - relatív rizikó, \*szignifikáns az eredmény  $p < 0,05$

#### IV.2.1.2. Kórházi bennfekvések számára gyakorolt hatás

A vizsgálat teljes három éve alatt 37%-al csökkent a töréssel kapcsolatos kórházi kezelések száma az aktívan kezelt csoportban a kontrollokhoz képest. Annak megítélésére, hogy az osteoporosis kezelés milyen hatással volt a törésekkel kapcsolatos kórházi kezelések gyakoriságára, az osteoporosis miatti kezelés megkezdését követően félévente mértük fel a kórházi kezelések számát. Az aktív és a kontroll

csoportokat kétmintás "t" tesztel (Welch próba) hasonlítottuk össze. Az eredményeket a 28. táblázat mutatja be. A kezdettől fennálló jelentős különbségek ellenére a két csoport közötti különbség csak a vizsgálat harmadik évére vált szignifikánssá.

| Periódus | Aktív | Kontroll | Különbség | p       |
|----------|-------|----------|-----------|---------|
| 1. félév | 60    | 130      | -0,0007   | 0,6172  |
| 2. félév | 52    | 107      | -0,0002   | 0,8355  |
| 3. félév | 43    | 118      | -0,0019   | 0,1418  |
| 4. félév | 46    | 128      | -0,0022   | 0,1020  |
| 5. félév | 34    | 167      | -0,0058   | 0,0000* |
| 6. félév | 44    | 159      | -0,0042   | 0,0020* |
| Összesen | 279   | 809      |           |         |

28. táblázat A kórházi kezelések számának különbsége féléves periódusokban.

A kiindulási paraméterekhez történő illesztés nélkül. \*szignifikáns az eredmény  $p < 0,05$

Ha figyelembe vettük a csoportokban a vizsgálat kezdetekor meglévő hajlamosító tényezőket, akkor a két csoport között a kórházi kezelések számában a különbség szintén a harmadik évre vált szignifikánssá, de ez a különbség csökkent (12). (29. táblázat)

| Periódus | Aktív  | Kontroll | Illesztett RR | Illesztett MD | Nyers MD | p       |
|----------|--------|----------|---------------|---------------|----------|---------|
| 1. félév |        |          |               |               | 0,00     | 0,62    |
| 2. félév | 0,0060 | 0,0063   | 0,9569        | -0,0003       | -0,0002  | 0,8355  |
| 3. félév | 0,0056 | 0,0069   | 0,8108        | -0,0013       | -0,0019  | 0,1418  |
| 4. félév | 0,0071 | 0,0075   | 0,9437        | -0,0004       | -0,0022  | 0,1020  |
| 5. félév | 0,0083 | 0,0098   | 0,8506*       | -0,0015       | -0,0058  | 0,0000* |
| 6. félév | 0,0088 | 0,0093   | 0,9437*       | -0,0005       | -0,0042  | 0,0020* |

29. táblázat A kórházi kezelések számának különbsége féléves periódusokban.

A kiindulási paraméterekhez történő illesztés után.

RR - relatív rizikó; MD - átlagos különbség; \*szignifikáns az eredmény  $p < 0,05$

## IV.2.1.3. Egészségügyi kiadásokra gyakorolt hatás

A csonttritkulással kapcsolatos egészségügyi kiadásokat az első gyógyszer felírását követően félévente értékeltük. A betegekre eső átlagos kiadásokat USD-ben (United States dollar) fejeztük ki. Az egy betegre jutó átlagos kiadást gamma generalizált linear modell (Gamma GLM) segítségével számítottuk ki. A két csoportban a vizsgálat kezdete előtt felmért hajlamosító adatok figyelembe vétele nélküli eredményeket az 30. táblázat mutatja be. Az aktívan kezelt csoport csonttritkulással kapcsolatos egészségügyi kiadásai már a második félévtől szignifikánsan kisebbek voltak, mint a kontroll csoportnak.

| Periódus | Összes beteg |           | Törött beteg |             | Nyers arány | p       |
|----------|--------------|-----------|--------------|-------------|-------------|---------|
|          | Aktív        | Kontroll  | Aktív        | Kontroll    |             |         |
| 1. félév | 37,83 USD    | 33,58 USD | 267,90 USD   | 371,57 USD  | 1,0829      | 0,1355  |
| 2. félév | 32,58 USD    | 26,83 USD | 197,31 USD   | 326,12 USD  | 0,8359      | 0,0010* |
| 3. félév | 28,33 USD    | 24,40 USD | 368,65 USD   | 372,30 USD  | 0,8047      | 0,0003* |
| 4. félév | 28,44 USD    | 23,72 USD | 332,35 USD   | 423,44 USD  | 0,8529      | 0,0178* |
| 5. félév | 23,91 USD    | 25,47 USD | 183,91 USD   | 302,00 USD  | 0,7000      | 0,0000* |
| 6. félév | 24,50 USD    | 25,01 USD | 221,20 USD   | 286,70 USD  | 0,7219      | 0,0000* |
| Összesen | 175,6 USD    | 159,0 USD | 1 571,3 USD  | 2 082,1 USD |             |         |

30. táblázat A csonttritkulással kapcsolatos egészségügyi kiadások változása a vizsgálat ideje alatt.

Az aktív és a kontroll csoport közötti különbséget Gamma GLM modell-el számítottuk ki a csoportokban a vizsgálat kezdete előtt felmért hajlamosító adatok figyelembe vétele nélkül.

A kiadásokat USD-ben fejeztük ki (2013. novemberi USD/FT árfolyamon számolva).

\*szignifikáns az eredmény  $p < 0,05$

A vizsgálat előtt felmért hajlamosító tényezők figyelembe vételével hasonló eredményeket kaptunk. A kiadások a második félévtől szignifikánsan kisebbek voltak a kezelt csoportban. (31. táblázat)

| Periódus | Illesztett arány | Konfidencia intervallum |             | p       |
|----------|------------------|-------------------------|-------------|---------|
|          |                  | Alsó határ              | Felső határ |         |
| 1. félév | 1.0459           | 0.9411                  | 1.1624      | 0.4046  |
| 2. félév | 0.8186           | 0.7353                  | 0.9113      | 0.0003* |
| 3. félév | 0.7842           | 0.6999                  | 0.8786      | 0.0000* |
| 4. félév | 0.8495           | 0.7519                  | 0.9598      | 0.0088* |
| 5. félév | 0.6873           | 0.6107                  | 0.7735      | 0.0000* |
| 6. félév | 0.7240           | 0.6413                  | 0.8173      | 0.0000* |

31. táblázat A csonttritkulással kapcsolatos egészségügyi kiadások változása a vizsgálat ideje alatt.

Az aktív és a kontroll csoport közötti különbséget Gamma GLM modell-el számítottuk ki a csoportokban a vizsgálat kezdete előtt felmért hajlamosító adatok figyelembevételével.

\*szignifikáns az eredmény  $p < 0,05$

A kiadásokat USD-ben fejeztük ki (2013. novemberi USD/FT árfolyamon számolva).

A költséghatékonyság számítás során felhasznált adatok a következők voltak: 1, A vizsgálat ideje alatt 0,0722 törés fordult elő az aktívan kezelt és 0,0929 törés a kontroll csoportban. Ez alapján a két csoport között 0,0207 törés/beteg volt a különbség; 2, A bekövetkezett törések megoszlása és a különböző törések hazai és nemzetközi irodalom által elfogadott egészségkárosító hatása (disutility factor) alapján (32. táblázat) átlagos törési disutility értéket számoltunk ki, ez 0,2075 volt; 3, Az aktívan kezelt és a modell csoportban is kiszámítottuk egy törés árát. A GLM modell számítás alapján körülbelül 350 USD megtakarítást eredményezett a kevesebb törés miatt a megfelelő osteoporosis kezelés; 4, Az OEP adatai alapján meghatároztuk a két csoport osteoporosis gyógyszerekkel kapcsolatos kiadásait. Az aktívan kezelt csoportban ez 531,7 USD, a kontroll csoportban (itt az MPR 8%) 51 USD volt. Mindezek alapján 121 USD volt az ára 0,0043 QALY nyereségnek (0,0207 törés kivédése szorozva az egy törésre eső disutility értékkel), vagyis a járulékos ár-érték arány nyereség (ICER) értéke 28,128 USD volt.

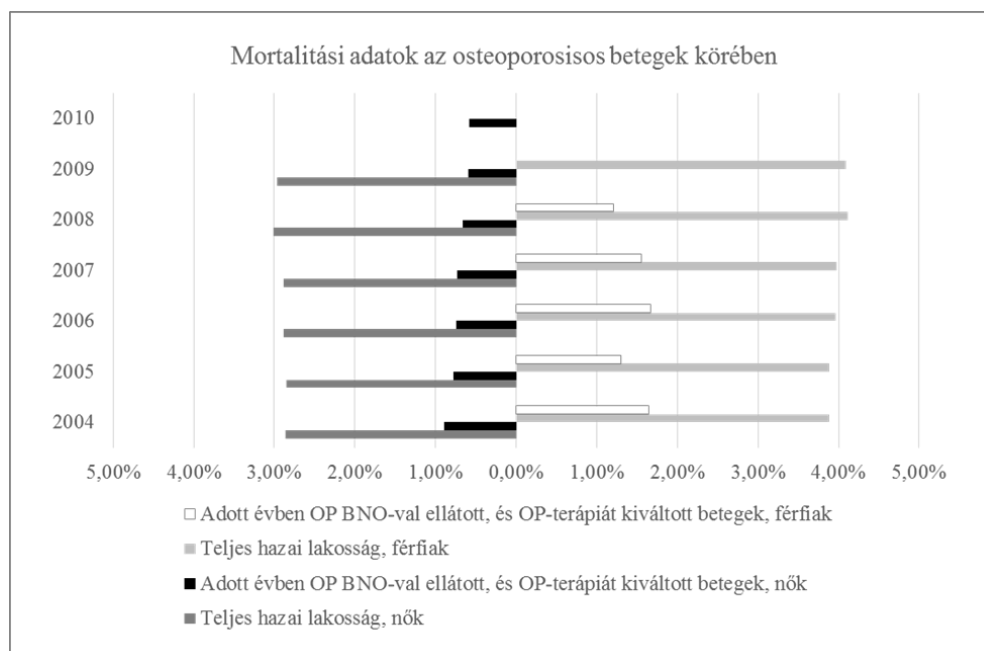
| Törés típusa | Eloszlása a vizsgálatban | Disutility érték az első évben | Disutility érték a második évben |
|--------------|--------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Femur        | 3,83%                    | 0,074                          | 0,023                            |
| Csípőtáj     | 18,95%                   | 0,232                          | 0,156                            |
| Csigolya     | 9,43%                    | 0,234                          | 0,652                            |
| Csukló       | 34,10%                   | 0,041                          |                                  |
| Tibia        | 3,75%                    | 0,074                          | 0,023                            |
| Többi törés  | 29,94%                   | 0,074                          | 0,023                            |

32. táblázat A törések gyakorisága a vizsgált populációban és disutility értéke irodalmi adatok alapján.  
(304, 305)

A WHO 2002-es Health Reportjában ajánlásokat fogalmaz meg a költséghatékonyság értékelésére (316). Ez alapján azon terápiák tekinthetők költséghatékonynak, amelyek egységnyi QALY nyereséget az egy főre jutó GDP (gross domestic product) (a Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján 2013-ban 23,507 USD) háromszorosánál alacsonyabb inkrementális költségen képesek biztosítani. Így Magyarországon egységnyi QALY nyereség maximum 70,521 USD-ig költséghatékonny. Adataink alapján folyamatos kezelés mellett egységnyi QALY nyereség inkrementális 28,128 USD, azaz a költséghatékonysági arányszám ICER (incremental cost effectiveness ratio) bőven a WHO által javasolt határérték alá esik. Összességében a folyamatos osteoporotikus terápia (MPR>0,8) Magyarországon rendkívül költséghatékonynak tekinthető (12).

#### IV.2.1.3. A betegek halálozására gyakorolt hatás

A RRR ábrán az osteoporosis diagnózissal rendelkező betegpopuláció mortalitási adatai kerültek összehasonlításra a teljes populáció mortalitásával. Megállapítható, hogy mind a nők, mind a férfiak esetében az osteoporosis diagnózissal nyilvántartott betegek mortalitása messze kisebb, mint a teljes populáció halálozási aránya.



24. ábra Mortalitási adatok az osteoporosisos betegek körében

OEP adatbázis 2004-től 2010-ig terjedő időszakának feldolgozása alapján:

- 1, Magyarországon lényegesen csökkent a csonttörések száma
- 2, Az aktívan kezelt betegek körében a csonttörések száma már az első félévet követően kisebb volt, mint a nem megfelelően kezelt kontroll csoport esetében.
- 3, Az aktívan kezelt betegek körében a kórházi kezelések száma 37%-al kisebb volt, mint a nem megfelelően kezelt kontroll csoport esetében. A különbség a két csoport között a harmadik évre vált szignifikánssá.
- 4, Az aktívan kezelt betegekre fordított egészségügyi kiadás már az első fél év után kisebb volt, mint a nem megfelelően kezelt kontroll csoport esetében.
- 5, Magyarországon a csonttörés megelőzésére fordított egészségügyi kiadás alapján folyamatos kezelés mellett egységnyi QALY nyereség ára 28,128 USD, azaz az ICER bőven a WHO által javasolt határérték alá esik. Összességében a folyamatos osteoporotikus terápia ( $MPR > 0,8$ ) Magyarországon rendkívül költséghatékonynak tekinthető.
- 6, Magyarországon az osteoporosis miatt kezelt betegek mortalitása kisebb, mint az átlag populációé.



## IV.2.2. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők tél végén, Magyarországon

A korra, nemre és lakhelyre reprezentatív populáció adatait a 33. táblázat foglalja össze.

| Vizsgált jellemzők                      | Átlag $\pm$ SD vagy (%) |
|-----------------------------------------|-------------------------|
| <b>Kor</b> (év)                         | 49,62 $\pm$ 16,65       |
| <b>Magasság</b> (m)                     | 1,69 $\pm$ 0,09         |
| <b>Súly</b> (kg)                        | 74,89 $\pm$ 16,00       |
| <b>BMI</b> (kg/m <sup>2</sup> )         | 25,84 $\pm$ 4,59        |
| <b>Nem</b>                              |                         |
| Férfi                                   | 281 (42%)               |
| Nő                                      | 383 (58%)               |
| <b>Lakhely</b>                          |                         |
| Budapest                                | 153 (23%)               |
| Város                                   | 309 (46,5%)             |
| Falu                                    | 202 (30,5%)             |
| <b>Foglalkozás</b>                      |                         |
| Fizikai munka                           | 252 (38%)               |
| Szellemi munka                          | 412 (62%)               |
| <b>Szolárium használat</b>              | 39 (6,6%)               |
| <b>Külföldi utazás (délre)</b>          | 25 (5,2%)               |
| <b>D-vitamin-szedés</b>                 | 99 (17,2%)              |
| <b>Osteoporosis gyakorisága</b>         | 48 (7,9%)               |
| <b>Korábbi csonttörés</b>               | 164 (29%)               |
| <b>Ismert autoimmun betegség</b>        | 21 (3,6%)               |
| <b>Ismert diabetes mellitus</b>         | 74 (11,9%)              |
| <b>Ismert szív-érrendszeri betegség</b> | 144 (23,8%)             |
| <b>Tuberculosis az anamnézisben</b>     | 7 (1,0%)                |
| <b>Malignus tumor az anamnézisben</b>   | 30 (4,8%)               |

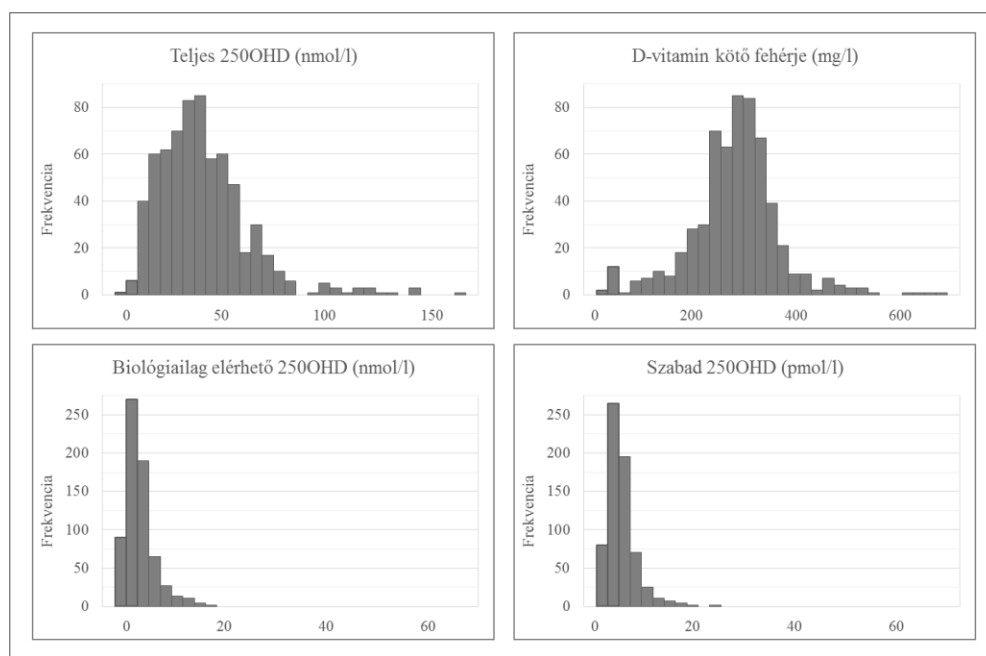
33. táblázat A vizsgált populáció jellemzői

A t-25OHD $\pm$ SD érték 41,3 $\pm$ 20.6 nmol/l, az f-25OHD 10,8 $\pm$ 6,2 pmol/l, a b-25OHD 4,4 $\pm$ 2,5 nmol/l, a DBP 308,9 $\pm$ 92,1 mg/l volt. A D-vitamint nem szedő egyének t-25OHD $\pm$ SD értéke 38.4 $\pm$ 17.2 nmol/l volt. A D-vitamin és DBP értékek leíró statisztikáját a 34. táblázat tartalmazza.

|                             | Teljes vizsgálati populáció |        |                    |                    | ha t-25OHD<br><30 nmol/l | ha t-25OHD<br>30-50 nmol/l | ha t-25OHD<br>50-75 nmol/l | ha t-25OHD<br>>75 nmol/l |
|-----------------------------|-----------------------------|--------|--------------------|--------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|
|                             | Átlag ± SD                  | Medián | 25.<br>percentilis | 75.<br>percentilis | Átlag ± SD               | Átlag ± SD                 | Átlag ± SD                 | Átlag ± SD               |
| <b>t-25OHD<br/>(nmol/l)</b> | 41,3 ± 20,6                 | 38,7   | 26,8               | 51,5               | 21,1 ± 5,5               | 39,2 ± 5,3                 | 59,3 ± 7,1                 | 95,4 ± 23,2              |
| <b>f-25OHD<br/>(pmol/l)</b> | 10,8 ± 6,2                  | 9,9    | 6,8                | 13,4               | 6,3 ± 4,3                | 10,6 ± 4,6                 | 14,8 ± 4,8                 | 21,5 ± 6,3               |
| <b>b-25OHD<br/>(nmol/l)</b> | 4,4 ± 2,5                   | 4      | 2,8                | 5,5                | 2,6 ± 1,9                | 4,3 ± 1,7                  | 6,0 ± 2,0                  | 8,7 ± 2,6                |
| <b>DBP (mg/l)</b>           | 308,9 ± 92,1                | 317    | 261                | 357                | 293,6 ± 102,3            | 303,7 ± 84,0               | 325,3 ± 84,9               | 355,2 ± 91,4             |

34. táblázat A D-vitamin és DBP értékek leíró statisztikája reprezentatív magyar népességben

A D-vitamin értékek eloszlása nem követte a normál eloszlást. (25. ábra)



25. ábra A D-vitamin értékek és a DBP eloszlása a vizsgált populációban

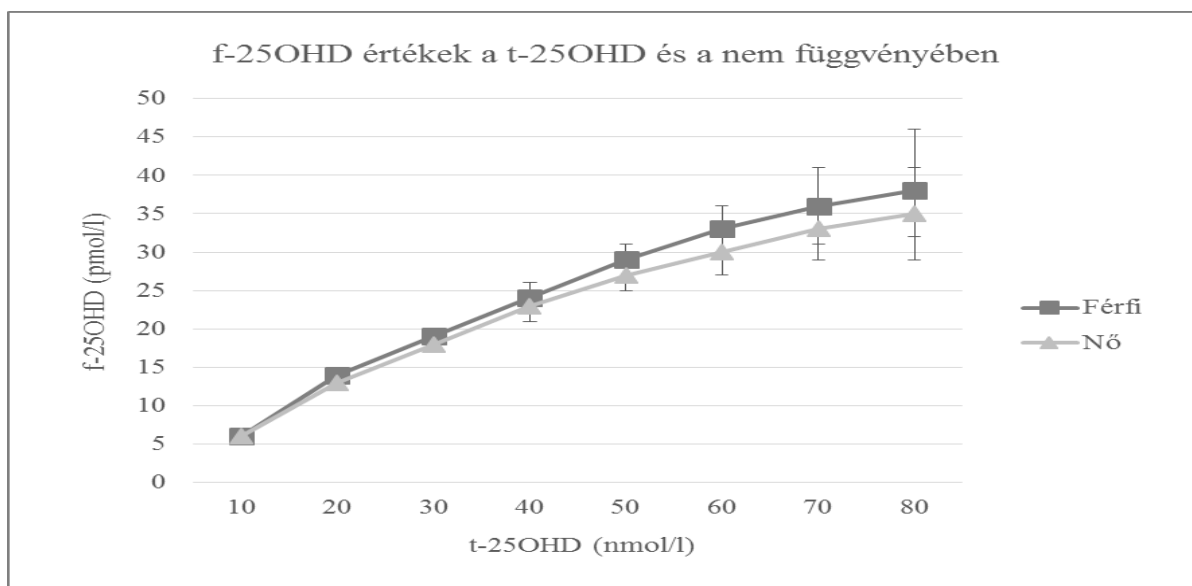
A populáció 94%-ának t-25OHD értéke nem érte el a Magyarországon a normál tartomány alsó határának elfogadott 75 nmol/l-t, 71 % 50 nmol/l és 30% pedig 30 nmol/l alatt volt. Kizárva az értékelésből a D-vitamint szedőket (n=99) a hiány százalékos előfordulása 97%, 77% és 34% volt, hasonló határértékekre. A DBP átlaga 308.9±92.1 mg/l volt és közel normál eloszlást mutatott. (26. ábra) Habár a DBP és a t-

25OHD értékek szoros pozitív korrelációt mutattak ( $r=0.188$ ;  $p<0.0001$ ), a DBP csupán a t-25OHD érték változásának 3%-át magyarázta. (35. táblázat)

|                                  | DBP    |      | f-25-OHD |        | b-25OHD |        |
|----------------------------------|--------|------|----------|--------|---------|--------|
|                                  | B      | SE   | B        | SE     | B       | SE     |
| <b>Intercept</b>                 | 274,77 | 8,07 | 0,77     | 0,66   | 0,27    | 0,27   |
| <b>t-25-OHD</b>                  | 0,72   | 0,17 | 0,27     | 0,02   | 0,11    | 0,01   |
| <b>(t-25-OHD)<sup>2</sup></b>    | n.s.   |      | -0,001   | 0,0004 | -0,0004 | 0,0004 |
| <b>R<sup>2</sup> a modellhez</b> | 0,028  |      | 0,51     |        | 0,51    |        |

35. táblázat Lineáris regressziós modell a t-25-OHD, a DBP, az f-25-OHD és a b-25-OHD értékek közötti összefüggés leírására.

Az átlag b-25OHD érték  $4.4 \pm 2.5$  nmol/l, az átlag f-25OHD érték  $10.8 \pm 6.2$  pmol/l volt. (34. táblázat) Mind a b-25OHD, mind a f-25OHD értékek szorosan korreláltak a t-25OHD szintekkel ( $r=0.704$  and  $r=0.710$ ,  $p<0.0001$ ), de a korreláció nem volt lineáris. Progresszíven kisebb f-25OHD emelkedés volt nagyobb t-25OHD értékeknél (26. ábra).



26. ábra Többszörös lineáris regresszióval megbecsült f-25OHD értékek a t-25OHD és a nem függvényében. A hibasávok a 95%-os konfidencia intervallumokat jelzik.

A mért t-25OHD érték magyarázta az f-25OHD varianciájának 64%-át. Az f-25OHD és a b-25OHD közötti korreláció rendkívül szorosnak bizonyult ( $r=0,98$ ,  $p<0.0001$ ). Ezért a f-25OHD és a b-25OHD értékeket közel egyenlőnek vehetjük. Ennek megfelelően a továbbiakban csak az egyikkel, az f-25OHD-vel kapcsolatos számítások eredményét mutatjuk be, mivel az mindkét értékre vonatkoztatható.

Sem a t-25OHD, sem az f-25OHD értékek nem mutattak összefüggést a korrall, habár a DBP szint csökkent az életkor előrehaladtával ( $r=0.165$ ;  $p<0.0001$ ). Nőkben a DBP érték szignifikánsan nagyobb ( $p<0.0001$ ), az f-25OHD pedig kisebb volt, mint a férfiakban (27. ábra), míg a t-25OHD értékek nem mutattak különbséget a nemek között. (36. táblázat) A lakhely, a télen szabadban töltött órák száma, és a munka típusa nem mutatott összefüggést egyik D-vitamin értékkel sem. A BMI korrelált a t-25OHD értékekkel ( $r=0.115$ ;  $p=0.004$ ) és a DBP-vel ( $r=0.283$ ;  $p<0.0001$ ), de nem mutatott összefüggést a f-25OHD szintekkel (36. táblázat). A vizsgált népesség csupán kis hányada járt rendszeresen szoláriumba (6.6%) vagy utazott tőlünk délre fekvő országokba vagy magas hegységbe (5.2%), ahol a téli UV-B sugárzás jelentős lehet. Mind a szoláriumhasználat, mind az utazás jelentős hatással volt a t-25OHD értékekre ( $p<0.0001$  a szoláriumhasználat és  $p=0.002$  az utazás esetében). Nem meglepő módon a D<sub>3</sub>-vitamin-pótlás hatással volt mind a t-25OHD, mind az f-25OHD értékekre ( $p<0.0001$ ).

| Kovariáns                     | t-25-OHD |      |        | DBP    |       |        | f-25-OHD |      |        | b-25-OHD |        |        |
|-------------------------------|----------|------|--------|--------|-------|--------|----------|------|--------|----------|--------|--------|
|                               | B        | SE   | p      | B      | SE    | p      | B        | SE   | p      | B        | SE     | p      |
| <b>Kor (évek)</b>             | -0,05    | 0,05 | 0,29   | -0,95  | 0,22  | 0,000* | 0,13     | 0,16 | 0,41   | -0,002   | -0,006 | 0,77   |
| <b>Női nem</b>                | 1,02     | 1,6  | 0,52   | 39,01  | 7,25  | 0,000* | -1,33    | 0,5  | 0,008* | -0,6     | 0,2    | 0,003* |
| <b>Lakhely</b>                |          |      |        |        |       |        |          |      |        |          |        |        |
| Budapest                      | -0,17    | 2,27 | 0,94   | -38,86 | 10,45 | 0,000* | 0,98     | 0,74 | 0,18   | 0,44     | 0,29   | 0,14   |
| Város                         | 9        | 1,92 | 0,64   | 4,94   | 8,42  | 0,59   | -0,36    | 0,6  | 0,55   | -0,84    | 0,24   | 0,73   |
| Falu                          | ref      |      |        | ref    |       |        | ref      |      |        | ref      |        |        |
| <b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b> | -0,2     | 0,07 | 0,004* | -5,96  | 0,82  | 0,000* | 0,11     | 0,06 | 0,06   | 0,04     | 0,02   | 0,09   |
| <b>Szolárium használat</b>    | 18,8     | 3,17 | 0,000* | 26,57  | 15,47 | 0,09   | 3,67     | 1    | 0,000* | 1,56     | 0,4    | 0,000* |
| <b>Külföldi utazás</b>        | 12,4     | 3,92 | 0,002* | -19,5  | 19,8  | 0,32   | 4,45     | 1,31 | 0,001  | 2,04     | 0,52   | 0,000* |
| <b>D-vitamin-pótlás</b>       | 20,05    | 2,05 | 0,000* | 5,57   | 10,61 | 0,6    | 5,09     | 0,7  | 0,000* | 2,02     | 0,28   | 0,000* |

36. táblázat. A D-vitamin értékek és a DBP szinteket befolyásoló lehetséges tényezők egyváltozós lineáris regressziós modellszámítás alapján. \*szignifikáns az eredmény  $p<0,05$

A vizsgált betegségek (osteoporosis, tuberkulózis, diabetes mellitus, rosszindulatú tumorok, autoimmun- és kardiovaszkuláris betegségek) gyakorisága megegyezett a magyar lakosságban korábban leírtakkal. A megbetegedések közül csupán a kardiovaszkuláris betegségek gyakorisága mutatott összefüggést az alacsonyabb D-vitamin értékekkel ( $p=0.012$ ). Osteoporosis gyakorisága 7.9% volt a vizsgált populációban. Az ismerten osteoporosisban szenvedő betegek t-25OHD értéke nagyobb volt ( $p=0.02$ ), mivel Magyarországon a betegség kezelésének kötelező eleme a D<sub>3</sub>-vitamin-pótlás. Az általunk vizsgált népességben is az osteoporosisban szenvedő betegek 48%-a szedett rendszeresen D<sub>3</sub>-vitamint. Ugyanakkor nem találtunk összefüggést az osteoporosis szövődményei, a csonttörések száma és a D-vitamin szintek között.

A mért t-25OHD érték összefüggést mutatott a szérum P ( $p=0,015$ ) és PTH értékekkel, de nem függött össze a szérum kalcium szinttel. PTH esetében ez az összefüggés nem volt lineáris ( $p_{\text{squared term}}=0.004$ ), nagyobb t-25OHD értékeknél kisebb volt a PTH csökkenés. Azonban sem a PTH, sem a szérum P érték nem alkalmas az egyes egyénnél a D-vitamin-hiány kimutatására, mert a ROC analízisben a görbe alatti terület (AUC) értéke 0,421 illetve 0,633 volt (4).

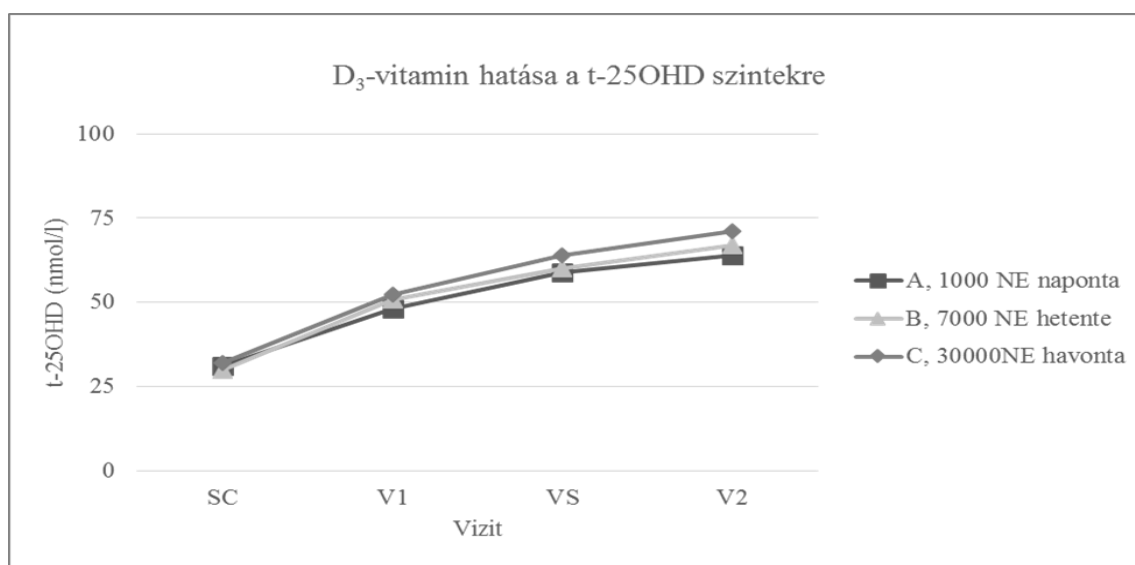
#### IV.2.3. A D-vitamin-pótlás hatékonysága dózis és a pótlás gyakoriság függvényében

A vizsgálatban 140 egyént szűrtünk, közülük 67 került a vizsgálatba a beválasztási és kizárási kritériumoknak megfelelően. A vizsgálati alanyok kezdeti adatait a 37. táblázat mutatja be.

|                  | Randomizált személy | Kor (év)  | Nem   |    | Magasság (cm) | Súly (kg) | t-25OHD érték |            |             |
|------------------|---------------------|-----------|-------|----|---------------|-----------|---------------|------------|-------------|
|                  |                     | Átlag±SD  | Férfi | Nő | Átlag±SD      | Átlag±SD  | Átlag±SD      | Alsó határ | Felső határ |
| <b>A csoport</b> | 22                  | 51,1±15,7 | 3     | 19 | 164,2±7,2     | 77,1±14,9 | 33,7±9,69     | 29,4       | 38          |
| <b>B csoport</b> | 23                  | 51,9±16,1 | 5     | 18 | 166,1±9,2     | 71,6±14,5 | 32,0±8,6      | 28,1       | 35,9        |
| <b>C csoport</b> | 22                  | 55,7±17,5 | 4     | 18 | 161,0±10,3    | 71,3±13,8 | 34,1±10,7     | 29,2       | 39          |

37. táblázat A vizsgálati alanyok jellemzői a vizsgálat kezdetekor

A bevásztott személyek kilencven százaléka teljesítette a vizsgálatot a protokollnak megfelelően. A hat kiesett beteg közül három visszavonta a bejegyzését, három pedig nem jelent meg a viziteken. A fennmaradt hatvanegy személy együttműködése jó vagy kiváló volt. A fel nem használt gyógyszerek kilencvenhat százalékát visszahozták. Mindhárom kezelési csoport adatai normál eloszlást mutattak és homogénnek bizonyultak. A különböző adagolási módjai a napi 1000 NE-nek megfelelő D<sub>3</sub>-vitaminnak (A csoport napi 1000 NE; B csoport heti 7000 NE; C csoport havi 30 000 NE) egyformán emelték a t-25OHD értéket. Az "A" csoportban  $30.6 \pm 3.5$ , a "B" csoportban  $35.3 \pm 3.3$  és a "C" csoportban  $37.2 \pm 2.7$  nmol/l volt az emelkedés. (27. ábra)



27. ábra 1000 NE napi dózisonak megfelelő D<sub>3</sub>-vitamin adás hatása a szérumban t-25OHD szintekre

Mindhárom kezelési csoportban mértük a valójában bevitt D<sub>3</sub>-vitamin mennyiségét. Az "A" csoportban  $949 \pm 20$  IU, a "B" csoportban  $1157 \pm 55$  IU és a "C" csoportban  $1175 \pm 62$  IU volt az egy napra eső D<sub>3</sub>-vitamin bevitel. Ezekre az értékekre számítva a terápiás választ gyakorlatilag azonos értékeket kaptunk a három csoportban. Az "A" csoportban  $32.6 \pm 3.7$  nmol/l/1000 NE napi dózis; "B" csoportban  $31.6 \pm 2.8$  nmol/l/1000 NE napi dózis és a "C" csoportban  $32.3 \pm 2.3$  nmol/l/1000 NE napi dózis t-25OHD növekedést mértünk. A vizsgálatba bevont D-vitamin-hiányos populáció három hónapos kezelése napi 1000 NE

napidózis-ekvivalens adagban minden vizsgálati alany t-25OHD értékét 50 nmol/l fölé emelte, de a szérumszint nem érte el a Magyarországon a normál tartomány alsó határának tekintett (160) 75 nmol/l-es értéket.

Annak kizárására, hogy a napsugárzás befolyásolta-e a vizsgálati eredményeket, a szűrés időpontja szerint is elemeztük a vizsgálati alanyok eredményeit. Két csoportot alkottunk. Az elsőbe a márciusban és áprilisban szűrt 25 személy, a másodikba a májusban és júniusban szűrt 36 vizsgálati alany került. Nem volt különbség a két csoport szűrő viziten mért alap t-25OHD értéke ( $33.62 \pm 9.12$  nmol/l, és  $33.15 \pm 9.6$  nmol/l) és az észlelt terápiás válasz között, amiben a különbség kevesebb, mint 1 nmol/l volt. Nem volt különbség a szérum kalcium és a vizelet kalcium értékek változásában sem a csoportok között. Egy alkalommal észleltünk szérum és öt alkalommal vizelet kalciumemelkedést, amiből négy átmenetinek bizonyult. Ezeket a laboratóriumi eltéréseket, mint mellékhatásokat értékeltük. A PTH értékek csökkentek a t-25OHD emelkedésével párhuzamosan, a szűrő viziten mért  $49.4 \pm 16.4$  pg/ml-ről, a vizsgálat végén mért  $44.7 \pm 17.3$  pg/ml-re. A változás nem volt szignifikáns, valószínűleg azért, mert a normál tartományban lévő PTH érték beválasztási kritérium volt, így emelkedett PTH-val nem kerülhettek vizsgálati alanyok a vizsgálatba.

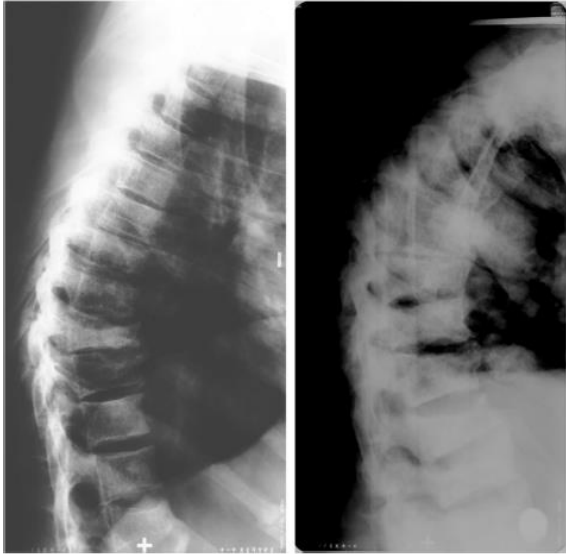
A vizsgálatba nem fordult elő súlyos nem kívánatos mellékhatás. A mellékhatások száma nem különbözött a vizsgálati csoportok között.

#### IV.2.4. Fibrogenesis imperfecta ossium - új kezelési lehetősége

A beteg laboratóriumi, radiológiai és hisztológiai leletei számos kórkép lehetőségét vetették fel.

A szérum ALP eleinte csupán kissé emelkedett (300-400 IU/l), majd fokozatosan 1200-1500 IU/l közötti értékig nőtt és ebben a tartományban stabilizálódott. Ezzel párhuzamosan az 1. típusú kollagén C-terminális polipeptid értéke is jelentősen, 1200 pg/ml-ig emelkedett. A kórkép felfedezésekor csökkent BMD érték és a gyors csontanyagcserére utaló csont biokémiai markerek alapján osteoporosis diagnózis született és biszfoszfonát kezelés indult. Az ezt követő években a BMD érték gyorsan és kifejezetten nőtt

(2010-re a T score 40-ig emelkedett !!), ugyanakkor a csontok törékenysége fokozódott és a csont-röntgen képeken foltos szklerotizáció jelent meg. (28. ábra) Összességében ezek a változások kizárták osteoporosis lehetőségét.



28. ábra A beteg thoracolumbalis gerinc röntgen felvételei két (bal) és kilenc (jobb) évvel a betegség első tüneteinek megjelenését követően. Patológias törések megjelenése, jelentős deformálódás és a fokozódó szklerotizáció figyelhető meg a képen.

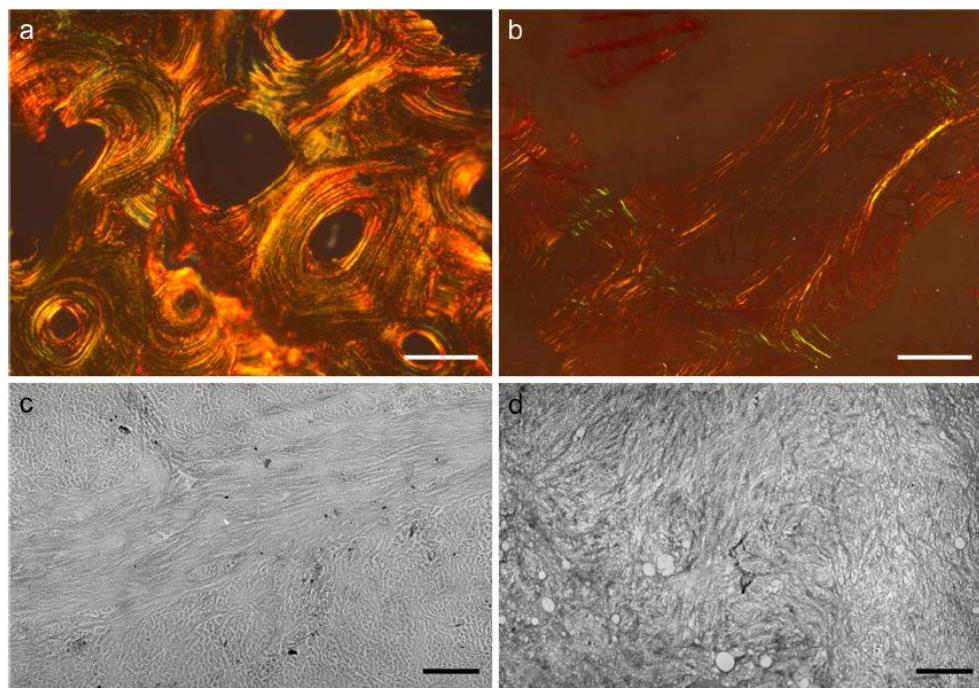
Csontbiopsziás minták fénymikroszkópos vizsgálata vastag csontgerendákat, kifejezetten fokozott remodelinget és irreguláris csontszerkezetet írt le. Figyelembe véve az emelkedő ALP értékeket, a kiterjedt csontfájdalmat és az egyre gyakoribb patológias töréseket, Paget kór gyanúja merült fel. Genetikai vizsgálatot végeztünk, ami a familiáris Paget háttérében álló *5q35-QTER* gén egy néma mutációját írta le a gén 6. exonjában, de ezen kívül semmilyen más eltérést sem talált. Összességében a biszfoszfonát kezelés eredménytelensége, az atipikus, szimmetrikus megjelenés és az, hogy a kóros csontfolyamat nem érintette a koponyát, valószínűtlenné tette Paget betegség fennállását.

A csont-röntgen-vizsgálattal leírt durva trabekula szerkezet a transzparens és szklerotikus részek keveredése felvetette osteomalacia lehetőségét, habár a kalcium, foszfát, 25OHD-vitamin és PTH értékek



végig a normál tartományban voltak. Az átmenetileg adott D<sub>3</sub>-vitamin és calcitriol kezelésnek semmilyen hatása sem volt, azt néhány hónap után elhagytuk.

2012-ben biopszia történt a tibia corticalis régiójából. A biopsziás mintát elektronmikroszkóppal és polarizált fényű mikroszkóppal is megvizsgáltuk. A mintában a normál kollagén struktúra váltakozott az irreguláris, struktúra nélküli kollagén mintázattal. Ez utóbbi területen a kollagén struktúrára jellemző kettőstörés sem látszott polarizált fény alatt. (29. ábra) Ezek az eredmények alátámasztották fibrogenesis imperfecta ossium (FIO) diagnózisát.



29. ábra. Polarizált fényű (fent) és transzmissziós elektronmikroszóp (lent) felvételek a patológiás (jobb) és kontroll (bal) csontmintákból. A csontminták a 2012-es tibia corticalis biopsziából származnak.

Annak alapján, hogy FIO-ban gyakran jelen van - a mi betegünkénél is megfigyelt - monoclonalis gammopathia, korábban a melphalan terápia néhány esetben hatásosnak bizonyult és nem találtak mások sem amiloid lerakódást a csontokban, feltételeztük, hogy a betegség hátterében a kollagén szintézisre ható antitestek állnak. Ennek a patogenetikai faktornak az eltávolítása volt a 2012 októberében megkezdett,

kéthetente alkalmazott plazmaferezis célja. A plazmaferezis kezelés mellett csontturnover markerek csökkentek, a beteg klinikai állapota javult, fájdalomcsillapító igénye csökkent. Sajnos a tartós terápia hatását nem tudtuk felmérni, mert 2013 májusában vastagbél perforáció miatt sebészeti osztályra került és a sikeres műtétet követően két nappal tüdőembóliában elhunyt (317).

#### IV.2.5. Glycogéntárolási betegségben a csontanyagcsere változása

A májadenomák miatt 23 éves korban végzett májtranszplantáció után gyors növekedés kezdődött. Az extrém alacsony 128 cm-es, informatikusként dolgozó fiatal férfinél a gyors csontanyagcsere és kis BMD értékek miatt más intézményben osteoporosist diagnosztizáltak. A tervezett biszfoszfonát kezelés előtt segítségünket kérték a beteg ellátásában.

Kivizsgálása során szubsztituált hypothyreosist, jelentős D-vitamin-hiányt, hypogonadismust és nyitott epifízis fugákat találtunk. (38. táblázat; 30. ábra)



30. ábra von Gierke kórban szenvedő 24 éves férfi kéz röntgen felvétele, nyitott epifízis fűgákkal

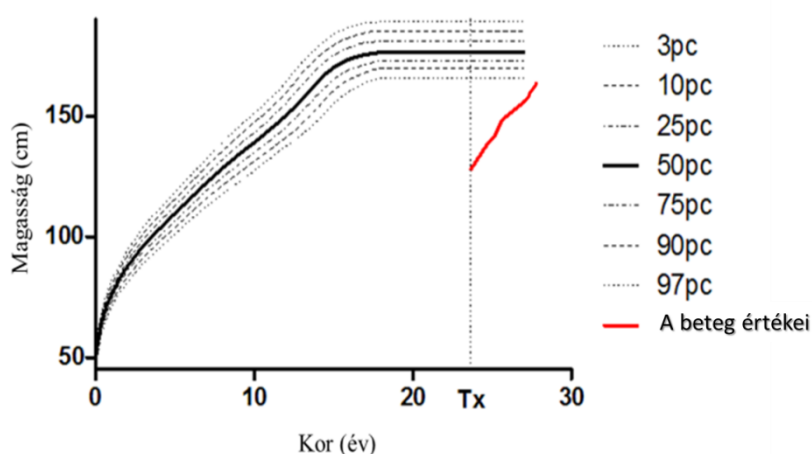
A beteg életkora ellenére a kórosnak gondolt csontanyagcsere paramétereit nem osteoporosis, hanem a gyors növekedés okozta. Ennek megfelelően a kezelés célja nem a csontanyagcsere lassítása, hanem a további növekedés feltételeinek megfelelő biztosítása volt. Kalciumot és D-vitamint pótolunk, a levothyroxine adagját az ideális TSH érték eléréséhez módosítottuk. Véleményünk szerint az alacsony

tesztoszteron érték döntően a műtét előtti IGF-1-hiány következménye volt. A műtétet követően - változatlan növekedési hormon értékek mellett - az IGF-1 szint normalizálódott, ezért a tesztoszteron értékek fokozatos növekedését vártuk. Tesztoszteronpótlást a nyitott epifízis fugák miatt is kontraindikálnak gondoltuk. A beteg laboratóriumi paramétereinek változását a (38. táblázat) mutatja be.

|                       | Magasság (cm) | $\beta$ -crosslaps (pg/ml) | Osteocalcin (ng/ml) | Ca (mmol/l) | GH (ng/ml) | IGF-1 (ng/ml) | TSH (mIU/l) | Tesztoszteron (ng/ml) | Tanner érték | Here térfogat (ml) | Csontkor (év) | Vércukor (mmol/l) | Húgysav (umol/l) | Triglicerid (mmol/l) |
|-----------------------|---------------|----------------------------|---------------------|-------------|------------|---------------|-------------|-----------------------|--------------|--------------------|---------------|-------------------|------------------|----------------------|
| Transzplantáció előtt | 128,0         | NA                         | NA                  | 2,39        | 3,00       | 10,20         | 0,92        | ND                    | II.          | 4,00               | 11,00         | 3,60              | 707,00           | 24,45                |
| TR +5 hónap           | 129,0         | NA                         | NA                  | NA          | 3,00       | 78,50         | 3,70        | ND                    | ND           | ND                 | 13,00         | 4,60              | 430,00           | 3,16                 |
| TR +12 hónap          | 138,0         | 1633                       | 158.0               | 2,28        | NA         | NA            | 0,02        | 1,90                  | II.          | 12,00              | ND            | 7,10              | 545,00           | 1,39                 |
| TR +18 hónap          | 142,0         | 1518                       | 115.1               | 2,26        | 0,90       | 234,30        | 2,91        | ND                    | ND           | ND                 | ND            | 5,30              | 563,00           | 0,80                 |
| TR +24 hónap          | 148,5         | NA                         | NA                  | 2,17        | 4,00       | 231,60        | 2,16        | 2,31                  | III.         | 12,00              | ND            | 4,60              | 475,00           | 1,08                 |
| TR +32 hónap          | 152,0         | 1362                       | 117.5               | 2,20        | NA         | NA            | 1,73        | 3,21                  | ND           | ND                 | ND            | 5,20              | 645,00           | 1,14                 |
| TR +40 hónap          | 155,8         | 1846                       | 144.1               | 2,23        | NA         | NA            | 2,67        | 6,50                  | III.         | 15,00              | ND            | 4,80              | 498,00           | 1,97                 |
| TR +52 hónap          | 160,3         | 3509                       | >200                | 2,28        | 0,38       | 175,80        | 1,54        | 4,46                  | III.         | ND                 | ND            | 4,90              | 501,00           | 2,49                 |

38. táblázat Von Gierke kórban szenvedő beteg anyagcsere paramétereinek változása a májtranszplantációt követően.

Gondozásunk mellett a 23 évesen májtranszplantált beteg a transzplantációt követő négy évben 32 cm-t nőtt, így elérte a 160 cm-es magasságot. (31. ábra) Ezzel együtt csontdenzitása is jelentősen, a gerincen - 5,4 T-ről -1,4 T-re, a combnyakon -3,9 T-ről -0,7 T-re javult. (318)



31.ábra A beteg növekedési üteme a transzplantációt követően a normál populáció értékeihez képest.  
Tx -transzplantáció időpontja; pc- percentilis

## V. Megbeszélés

### V.1. A csontvázra ható genetikai tényezők vizsgálata

#### V.1.1. Az osteoporosisal összefüggésbe hozható kandidáns gének vizsgálata

##### IV.1.1.1. VDR gén rs2228570 polimorfizmusának hatása a fiatalfelnőttkori BMD-re

A *VDR* gén ismert polimorfizmusai közül az rs2228570 az egyetlen, ami exonban helyezkedik el és befolyásolja az átíródó fehérje hosszát. Habár az 1994 és 1996 között végzett vizsgálatok még másik három, intronban elhelyezkedő polimorfizmust vizsgáltak (rs1544410, rs7975232, rs731236), de az 1996-os, 16 vizsgálatot feldolgozó metaanalízis csak rendkívül kis genetikai hatást tudott kimutatni (199). Az rs2228570 polimorfizmus funkcionális jelentősége alapján nem volt meglepő az először kimutatott csonthatás (200), amit a következő vizsgálatok már nem tudtak igazolni (201). Az ellentmondásos korábbi adatok miatt asszociációs és linkage vizsgálatot is végeztünk, annak kiderítésére, hogy a *VDR* gén rs2228570 polimorfizmusa hatással van-e a fiatalfelnőttkori BMD-re. Asszociációs vizsgálatnál nyert eredményeink alapján a *VDR* gén rs2228570 polimorfizmusa 3 %-nál kisebb varianciáját magyarázhatja csak a fiatalfelnőttkori BMD-nek. **Linkage vizsgálatunk pedig kizárta annak lehetőségét, hogy a *VDR* gén szerepet játszhatna a fiatalfelnőttkori csonttömeg genetikai meghatározásában (308).**

Eredményeink publikálása óta eltelt 18 évben eredményeinket nem cáfolták meg, asszociációs vizsgálatnál hasonló eredményt kaptak (319, 320). Az rs2228570 SNP szerepét a D-vitamin anyagcserével kapcsolatba hozott számos kórképben igazolták vagy zárták ki (321-323), de csontanyagcserében csak a postmenopausában mért BMD értékkel, vagyis a postmenopausás csontvesztéssel találtak összefüggést (324). Az rs2228570 SNP-vel végzett vizsgálatok 2014-ben megjelent metaanalízise alapján a postmenopausás betegekkel végzett vizsgálatok 60 %-a adott pozitív eredményt, talált összefüggést. Érdeemes megemlíteni, hogy a 2006 után végzett vizsgálatok döntő többségét Kínában és Törökországban végezték (325).

A fiatal felnőttekkel végzett GWAS vizsgálat alapján a *VDR* gén nem játszik szerepet a fiatalfelnőttkori csonttömeg meghatározásában (191).

#### V.1.1.2. *IL-1 $\alpha$* gén VNTR polimorfizmus hatása a postmenopausás BMD-re és az osteoporosis kialakulására

Az Interleukin-1 a csontreszorpció egyik legerősebb stimulátora (326). Az IL-1 $\alpha$  fehérje struktúrájában hasonló az IL-1-hez, annak receptorához kötődve gátolja az IL-1 biológiai hatását, annak kompetitív inhibitora. Az *IL-1 $\alpha$*  gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmus befolyásolja a szabályozó faktorok bekötődését (294), ezért biológiai funkciója lehet. Számos betegséggel kapcsolatban kimutatták ennek a polimorfizmusnak a hatását, (327, 328) habár mások nem erősítették ezt meg (329).

A csonttal kapcsolatban elsőként postmenopausás osteoporosisban szenvedőkön találtak alacsonyabb BMD értéket azoknál, akiknél az A2 allél volt jelen (330). Egy másik vizsgálatban nem találtak összefüggést a polimorfizmus és a korai menopauzában mért BMD érték között, de lassabb csontvesztést igazoltak az A2 allélt hordozóknál (205). Az ellentmondó eredmények után végeztük el vizsgálatunkat, amelyben postmenopausás osteoporotikus és nem osteoporotikus betegekben vizsgáltuk a 2. intronban elhelyezkedő VNTR polimorfizmus hatását a BMD értékekre. **A korábbi vizsgálokkal ellentétben mi nem találtunk összefüggést a vizsgált személyek VNTR polimorfizmusának genotípusa és a menopauza utáni csontdenzitás között sem az osteoporotikus, sem a kontroll csoportban, sem a lumbális gerincen, sem a femurnyakon (309).**

Tanulmányunk megjelenését, 2000 októberét követően a vizsgálatok jelentős része a mi eredményeinket támasztotta alá. Huey-Yi és mtsai. postmenopausás kínai nőknél nem találtak összefüggést a polimorfizmus és a BMD értékek között (331), épp úgy, mint Han és mtsai. postmenopausás koreai nőknél (332).

Ugyanakkor ellentétes vizsgálati eredményeket is közöltek. Koreai postmenopausás nőknél az A2 allél hordozása alacsonyabb BMD értékkel és nagyobb osteoporosis kockázattal társult (333). Langdahl és mtsai. az A1A1/A3 genotípust hordozóknál nem csak alacsonyabb gerinc BMD értéket, de 68 %-al nagyobb törési kockázatot is leírtak (334). Fontova és mtsai. kaukázusi postmenopausás osteoporosisban

szenvedő nőkben az A2 allél védőszerepét írták le, az A2 allélt hordozó nőknél nagyobb BMD értékeket mértek (335).

Összefoglalva az *IL-1ra* gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmus csontanyagcserére gyakorolt hatásáról született vizsgálatok vagy nem mutattak ki hatást vagy egymásnak ellentmondó hatást igazoltak. A GWAS vizsgálatok sem az *IL-1ra* génben sem a 2q13-14 kromoszóma lokalizációban sem találtak olyan genetikai lókuszt, ami a menopauza után mért BMD értékekkel vagy az osteoporosis kialakulásával összefüggést mutatott volna (188-191). A legújabb vizsgálati módszerek a mi eredményünket igazolták, az *IL-1 ra* gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmusnak nincs hatása a menopauza után mért BMD értékekre.

#### V.1.1.3. Interleukin-6 gén hatása a fiatalfelnőttkori csontdenzitásra

Az IL-6 csonthatásai régóta ismertek. Serkenti az osteoclastok érését (207, 208) hiányában – transzgenikus egerekben – csökken az osteoclastok száma (336). Humán megfigyelések alapján hyperthyreosisban befolyásolja a BMD értéket (337) és az IL-6 mRNS mennyisége nagyobb osteoporoticus csigolyakompressziót szenvedett betegekben (210). Murray és mtsai. szignifikáns összefüggést találtak az *IL-6* gén 3' végéhez közeli VNTR polimorfizmus és 200 pre- és postmenopausás nő BMD értéke között (211). Az általunk végzett vizsgálatban ugyanezt a polimorfizmust vizsgáltuk, de jóval több, a korábbi hattal szemben 17 alléltípust tudtunk elkülöníteni. Az általunk végzett asszociációs vizsgálatban az 5%-os gyakoriságot meghaladó négy leggyakoribb allél esetében kiszámítottuk, hogy az allélek hiánya, egy vagy kétszeres jelenléte összefüggést mutat-e a BMD értékekkel. **Nem találtunk összefüggést az *IL-6* gén 3' végéhez közeli VNTR polimorfizmus és a fiatalfelnőttkori BMD között. Az *IL-6* gén fiatalfelnőttkori csontdenzitásra gyakorolt hatásának vizsgálata során a gén 3' végéhez közeli, át nem íródó régióban elhelyezkedő VNTR polimorfizmust, mint genetikai markert is felhasználtuk. Nem találtunk kötődést az *IL-6* gén (és annak közvetlen környezete) valamint a fiatalfelnőttkori BMD érték**

**öröklődése között. Eredményeink alapján az *IL-6* gén nem játszik szerepet a fiatalfelnőttkori csontdenzitás öröklődésében (310).**

Vizsgálati eredményeink megjelenését követően számos tanulmány foglalkozott az *IL-6* gén csontrendszerre kifejtett hatásával. Egyetlen, 2006-ban kínai szerzők által végzett, kis impaktfaktorú újságban megjelent tanulmány nem erősítette meg a mi eredményeinket. Ebben a szerzők az *IL-6*-nak mind a gerinc, mind a femur BMD-vel szignifikáns összefüggését írták le 402 kínai család vizsgálata alapján. A különbséget magyarázhatja, hogy ők alapvetően más megközelítést (szülők adatait számításba vették), más kevésbé validált statisztikai módszert használtak (338). A többi praemenopausás, fiatal felnőtt populáción végzett vizsgálat a mi eredményeinket erősítette meg, nem talált összefüggést az *IL-6* polimorfizmusa és a BMD értékek között sem kaukázusi (339), sem japán populációban (340). Az irodalmi adatok egységesen arra utalnak, hogy az *IL-6* genetikai hatása a csontvesztésben, ezen keresztül a postmenopausás BMD meghatározásában érvényesül (341, 342).

A fiatal felnőtteken végzett GWAS vizsgálat sem az *IL-6* génben sem a 7p21 kromoszóma lokalizációban sem találtak olyan genetikai lókuszt, ami fiatalfelnőttkori BMD értékekkel összefüggést mutatott volna (343) (344). A legújabb vizsgálati módszerek a mi eredményünket igazolták, az *IL-6* gén nem játszik szerepet a fiatalfelnőttkori csontdenzitás öröklődésében.

#### V.1.1.4. IGF-1 gén hatása a fiatalfelnőttkori csontdenzitásra

Az IGF-1 egy anabolikus polipeptid, melyet számos szövettípus termel, mely autokrin és parakrin hatást fejt ki (345). Stimulálja az osteoblastokat (346), fokozza a csontmátrixfehérjék szintézisét (213), az osteoclast formációt és aktivációt (347).

Patkányokban fokozza az osteoblastok aktivitását és csökkenti az osteoclastok számát (348). Klinikai vizsgálatokban a szérumban IGF-1 érték összefüggést mutatott a BMD értékkel férfi primer osteoporosisban (349) és idős nőkben is (350). Az *IGF-1* gén genotípusa hatással van a szérumban IGF-1 szintre (218). A szérumban IGF-1 szint fokozatosan csökken az életkorral (217). Mindezek alapján feltételeztük, hogy az *IGF-1* gén hatással van a csúcs-csonttömeg kialakulására. A BMD és az *IGF-1* gén közötti kapcsolat

kimutatására a mások által is vizsgált mikrosatellita ismétlődést használtuk fel. **Nem találtunk kötődést az *IGF-1* gén (és annak közvetlen környezete) valamint a fiatalfelnőttkori BMD érték öröklődése között. Eredményeink alapján az *IGF-1* gén nem játszik szerepet a fiatalfelnőttkori csontdenzitás öröklődésében (187).**

A vizsgálatunk érdekessége, hogy asszociációs vizsgálati modellel, az összes vizsgálati alanyt egy csoportban vizsgálva, szignifikáns összefüggést találtunk a femur BMD érték és a 190-es valamint a 192-es allél gyakorisága között ( $p=0,02$  és  $p=0,002$  volt a szignifikancia szintje). Az álpozitív eredmény hátterében az állt, hogy a 190-es allél nagyobb BMD értékkel járt vizsgálatunkban, ugyanakkor ez az allél jóval gyakoribb volt az ismerten nagyobb BMD értékkel bíró afro-amerikai populációban. Másik oldalról a 192-es allél alacsonyabb BMD értékkel társult és jóval gyakoribb volt a kaukázusi populációban. Ha két vizsgált populációt külön elemeztük a szignifikáns összefüggések eltűntek. Épp úgy, mint a kötődéses vizsgálatban. **Vizsgálatunk rámutatott az asszociációs vizsgálatok egyik legnagyobb gyengeségére, arra hogy a Hardy-Weinberg egyensúly fennállása még nem biztosítéka a nem stratifikált vizsgálati populációnak.**

Vizsgálatunk megjelenés óta eltelt időben más munkacsoportok is megerősítették vizsgálati eredményeinket. Jiang és mtsai. 402 kínai család vizsgálata során nem találtak összefüggést az *IGF-1* gén polimorfizmusai és a fiatalfelnőttkori BMD értékek között (351). A csúcs-csonttömeg génjének lokalizációját is a 14. és a 15. kromoszómára lokalizálták (352), míg az *IGF-1* gén a 12q23.2 lokalizációban helyezkedik el.

#### V.1.1.5. *CaSR* gén "A986S" polimorfizmusának hatása a postmenopausában mért BMD-re

A *CaSR* számos szövetben és sejtípusban jelen van többek között a tüdőben, a vékony és vastagbelekben, a mellékvesében, a pajzsmirigy C sejtjeiben, a vesében és a mellékpajzsmirigyben (219, 353). Szerepet játszik a PTH elválasztás és a vesében történő kalcium visszaszívás, ezen keresztül a szérum kalcium érték szabályozásában is (354). A kalcium-anyagcsere állapota alapvetően befolyásolja a csontanyagcserét.



Ezért a kalcium-anyagcsere szabályozási zavara metabolikus csontbetegséghez vezethet. A *CaSR* gén rs1801725 (A986S) polimorfizmusa guanin-timin cserével jár, ami alanin-szerin cseréhez vezet az átírózó fehérjében. Az rs1801725 SNP és a szérum kalcium érték között összefüggést írtak le egészséges felnőttekben (355), amit később egy GWAS vizsgálat is megerősített (354). Azoknál a nőknél, akik AA genotípusúak voltak alacsonyabb szérum kalcium értéket mértek, azokhoz képest, akik az AS vagy az SS genotípushoz tartoztak (355). Ezek alapján feltételeztük, hogy a *CaSR* gén rs1801725 polimorfizmusa összefügg a postmenopausás BMD érték nagyságával.

**Vizsgálatunk nem igazolt semmilyen összefüggést a vizsgált polimorfizmus és a postmenopausában mért gerinc vagy femur BMD érték között.**

Vizsgálatunk eredménye különbözött a korábban Tsukamoto és mtsai. által leírtaktól. Ők összefüggést tudtak kimutatni a *CaSR* gén egy mikrosatellita ismétlődése és a BMD értékek között Japán postmenopausás nőkben (223). A különbséget magyarázhatta volna a különböző vizsgálati populáció és a különbözőség a vizsgált polimorfizmusokban is. Azonban a későbbi GWAS vizsgálatok egyértelműen a *CaSR* gén csontvázrendszerre gyakorolt hatása ellen szóltak (354). Sem magának a *CaSR* génnek sem a 3q21.1 kromoszóma régióknak nem lehetett hatását kimutatni felnőtt populációban.

Vizsgálati eredményeinket támasztotta alá egy spanyol munkacsoport, akik több, mint 1200 postmenopausás osteoporosisban szenvedő nőt vizsgáltak és nem találtak semmiféle összefüggést az rs1801725 polimorfizmus és a BMD értékek között (356).

#### V.1.1.6. A TNFRSF11A/TNFSF11/TNFRSF11B jelátviteli út génjeinek hatása a

csontdenzitásra, a csonttörési gyakoriságra és a gének szöveti expressziójára

A *TNFSF11* (*RANK-L*) gén a 13 kromoszóma hosszú karján (13q14) helyezkedik el. Mutációja osteoclast hiányos osteopetrosist okoz (357). Promoter régiójában elhelyezkedő két SNP, az rs9533156 és az rs9525641 összefüggést mutatott a csípő (358) és a gerinc BMD-vel is (359). **A mi vizsgálati eredményeink is megerősítették az rs9533156 és az rs9525641 az összefüggését a mindkét régióban**

**mért BMD értékekkel. Emellett mi egy harmadik - intronikus elhelyezkedésű – SNP, az rs3742257 és a gerinc BMD szoros korrelációját is leírtuk.** Mivel az rs3742257, az rs9533156 és az rs9525641 öröklődése szorosan egymáshoz kötött, haplotípus vizsgálatokat végeztünk. Korábban Mencil és mtsai. is elemezték egy haplotípus és a BMD értékek kapcsolatát, de ők harmadikként is egy a promoter régióban elhelyezkedő SNP-t (rs9533155) vizsgáltak (360). Az ő vizsgálatukban a 'CCG' haplotípus kisebb gerinc BMD-vel, és humán embrionális vesesejtekbe transzvektálva, nagyobb *TNFSF11* expresszióval társult (360).

**Mi elsőként igazoltuk, hogy a 'CCT' haplotípus kisebb BMD értékekkel társul és humán csontmintákban fokozott *TNFSF11* mRNS expresszióval jár.** Ez volt az első vizsgálat, ahol sikerült **igazolni a csontban, hogy a *TNFSF11* gén genetikai variációjának hatása megjelenik az átíródás szintjén is.** Az általunk vizsgált haplotípus harmadik tagjának (rs3742257) szerepét jelzi, hogy a 'CCT' haplotípusra igaz megfigyelések nem bizonyultak igaznak a 'CCC' haplotípusra. Elemzéseinket a promoter régióban elhelyezkedő két SNP-vel külön is elvégeztük (rs9533156, rs9525641). A 'TT' haplotípus szignifikánsan nagyobb BMD-vel társult, ami alátámasztja annak valószínűségét, hogy a *TNFSF11* gén promoter régiójában elhelyezkedő genetikai variációknak hatása lehet a BMD értékekre. Ennek magyarázata lehet - in silico vizsgálataink alapján -, hogy a 'CCT' haplotípus esetén hét különböző haplotípus-függő speciális transzkripció faktor kötő hely van, míg a 'TTC' haplotípusban csak kettő.

A *TNFSF11* gén csonthatásaival kapcsolatos vizsgálati eredményeinket az irodalmi adatok egyértelműen megerősítették. Több mint 100 cikk foglalkozott ezzel a kérdéssel és még napjainkban is jelennek meg eredményeinket megerősítő publikációk (361, 362). A GWAS vizsgálatok is megerősítették a *TNFSF11* gén hatását a csont ásványianyag-tartalomra, sőt néhány vizsgálatban a legnagyobbban találták azt (189, 363).

A *TNFSF11B* (osteoprotegerin) gén esetében a kezdeti vizsgálati eredmények ellentmondásosak voltak. A gén promoter régiójában elhelyezkedő rs3102735 SNP esetében kimutatták, hogy a 'G' allélt hordozóknál kisebb a csonttömeg (364). Langdahl és mtsai. ugyancsak a 'G' allélt találták gyakoribbnak osteoporoticus

betegekben és ezt az allélt hordozóknál kisebb BMD-t és nagyobb törési kockázatot írtak le (229). Jorgensen és mtsai. a mért szérumban TNFSF11B-től függetlenül igazolták az rs3102735 genetikai hatást a BMD-re és a csonttörési gyakoriságra (365). Más szerzők ugyanakkor nem tudták az rs3102735 hatását kimutatni a BMD-re vagy a csonttörési gyakoriságra (230, 366, 367). **A mi vizsgálati eredményeink szignifikáns összefüggést igazoltak az rs3102735 SNP variációi és a BMD értékek között. Ugyanakkor ez az SNP nem befolyásolta a csontban az in vivo génexpresszió nagyságát.** In silico elemzésünk alapján pedig ennek a promotor régióban elhelyezkedő polimorfizmusnak a különböző változatai nem befolyásolják a transzkripció faktorok kötődését. Mindezek alapján **az rs3102735 inkább markere, mint hordozója a TNFSF11B gén csontokra gyakorolt hatásának.**

A *TNFSF11B* gén másik általunk vizsgált SNP-je az rs1564858 volt, amely 2. intronban helyezkedik el és nem öröklődik szorosan együtt az rs3102735-el. **Vizsgálati eredményeink szignifikáns összefüggést igazoltak az rs1564858 variációi és a femur BMD értékek között. Ugyanakkor ez az SNP sem befolyásolta a csontban az in vivo génexpresszió nagyságát.** Ennek az intronban elhelyezkedő SNP-nek a genetikai hatása inkább indirekt lehet, a génfunkció módosításában nyilvánulhat meg.

A két SNP-ből képzett haplotípusban a leggyakoribb nagyobb, a legritkább pedig kisebb femur BMD-vel társult. Ez is alátámasztja a *TNFSF11B* gén lehetséges szerepét a BMD meghatározásában.

*TNFSF11B* génnel kapcsolatos eredményeinket megerősítették a GWAS vizsgálatok is (188-190). Összhangban a mi eredményeinkkel úgy tűnik, hogy a genetikai hatásért a promotor régióban elhelyezkedő rs3102735 mellett főleg egy közvetlen hatást gyakorló genetikai variáció, az első exonban elhelyezkedő rs2073618 felelős, amely együtt öröklődik az általunk vizsgált rs1564858-al (229). Az rs2073618 SNP hatását egyedi vizsgálatok (358, 368) és metaanalízis is igazolta (369).

#### V.1.1.7. A Wnt jelátviteli út génjeinek hatása a csontdenzitás-értékekre és a csonttörékenységre

A Wnt jelátviteli út alapvető szerepet játszik nem csak a csontfejlődésben (370), de a felnőttkori csontanyagcserében is. A jelátviteli út legtöbbet vizsgált tényezője a Wnt- és a frizzled fehérjével komplexet alkotó LRP5, melynek funkcióvesztő (371) és fokozott fehérjeátíródással járó mutációi (372) is ismert humán megbetegedésekhez vezetnek. Ezek mellett az egyértelmű fenotípusbeli jelekkel járó mutációk mellett az *LRP5* gén 95 genetikai variációt hordozó SNP-je ismert (373). Ezek közül három intronban elhelyezkedő SNP-t vizsgáltunk (*rs4988300*, *rs599083*, *rs634008*), melyek lehetséges szerepét a postmenopausás BMD érték meghatározásában és az osteoporosis kialakulásában már korábbi vizsgálatok is felvetették (190-192, 236). **A mi eredményeink a korábbiaknál nagyobb, postmenopausás populáción igazolták az *rs4988300* SNP hatását a csípőtáji BMD-re (313).** Az *rs4988300* SNP gerinc BMD-re és az *rs634008* SNP gerinc valamint csípőtáji BMD-re gyakorolt hatása Bonferroni korrekciót követően már nem bizonyult szignifikánsnak. Ez utóbbi eredményeink hasonlóak voltak Xiong és mtsai. (374) és Kiel és mtsai. (375) eredményeihez. Velük szemben azonban, mi nagyobb és egységesebb populáción, egyértelműen ki tudtuk mutatni az *rs4988300* SNP hatását a csípőtáji BMD-re. Az *rs599083* SNP esetében nem tudunk semmilyen összefüggést kimutatni a BMD-vel. Az *rs4988300* és az *rs634008* kapcsolatosan öröklődik és köztük szoros interakció mutatható ki. Az elvégzett haplotípus vizsgálat azonban nem igazolt összefüggést a BMD értékek és a haplotípus között. Vizsgáltuk az *rs4988300*, *rs599083*, *rs634008* SNP-k hatását a csonttörési kockázatra is, de nem tudunk összefüggést kimutatni a vizsgált polimorfizmusok és a csonttörések száma között.

A GPR177 egy glikoprotein, amely a Wnt jelátviteli út aktivitását fokozza, döntően azzal, hogy a Wnt fehérje Golgi apparátusból történő kilépését serkenti (237). Öt korábbi GWAS vizsgálat metaanalízise alapján összefüggést írtak le a *GPR177* gén két polimorfizmusa (*rs2566755* and *rs1430742*) és a BMD értékek között egy rendkívül vegyes populáción. A vizsgált személyek életkora 18 és 96 év közötti volt és a férfiakat és nőket egyaránt bevontak a vizsgálatokba (190). Idős férfiakban ugyancsak összefüggést találtak a *GPR177* gén egy polimorfizmusa (*rs1430742*) és a gerincen mért BMD értékek között (376). **Mi**

**nagy, homogén, postmenopausás populációban nem találtunk összefüggést a *GPR177* gén korábban vizsgált polimorfizmusai (*rs2566755*, *rs1430742*, *rs1430742*) és a BMD értékek, valamint a csonttörési kockázat között. Ez alapján a *GPR 177* gén nem játszik szerepet a menopauza után mért csontmennyiség kialakításában (313).** Eredményünket támasztotta alá számos GWAS vizsgálat, ahol az 1p31.3 lokalizációban nem találtak a BMD öröklődésére ható genetikai variációt (189, 236, 363) és Kumar és mtsai. vizsgálata is, akik postmenopausás populációban nem találtak összefüggést a *GPR177* gén SNP-i és a csontmennyiség között (377).

Az *SP7* gén hatását a BMD-re egy korábbi GWAS vizsgálatok igazolták. Azonban ezek csak gyermekkorban és fiatal felnőtt korban vizsgálták az összefüggést angliai gyermekeken és afro-amerikai nőkön (191, 378). **Mi nagy, homogén, postmenopausás populációban nem találtunk összefüggést az *SP7* gén korábban vizsgált polimorfizmusai (*rs2016266*, *rs191240606*) és a BMD értékek, valamint a csonttörési kockázat között. Habár a mi populációnkban az *rs191240606* monomorfnek bizonyult. Ez alapján az *SP7* gén vizsgált polimorfizmusa nem játszik szerepet a postmenopausában mért csontmennyiség kialakításában (313).** Vizsgálati eredményeinkkel összhangban más kutatócsoport sem tudott összefüggést kimutatni az *SP7* gén polimorfizmusai és a menopauza után mért csontdenzitás között (379).

#### V.1.3. Az autoszomális domináns osteopetrosis génjét hordozó, de klinikailag tünetmentes beteg vizsgálata során nyert eredmények

Az ADO2 egy osteosclerosissal járó megbetegedés, ami osteoclastok számának növekedésével, de azok működési zavarával jár (380). Mivel a betegség öröklődése autoszomális domináns, feltételeztük, hogy a betegséget okozó gént hordozó, a betegség tüneteit nem mutató, de azt továbbörökítő személynél a betegségre jellemző enyhébb laboratóriumi vagy BMD változások mutathatóak ki. Korábban a betegséget hordozó, de annak klinikai tüneteit nem mutató személyeknél nem találtak az ADO2-re jellemző csontrentgen (165, 381), és szöveti eltérést (381). Azonban a BMD-t és a jellemző laboratóriumi markereket, a TRAP-ot (382) és a CK-BB-t (383) nem vizsgálták.

**Elsőként igazoltuk, hogy az ADO2 génjét hordozó, azt örökítő személyben, nem változnak sem a csont ásványianyag-tartalom, sem az ADO2-re jellemző laboratóriumi értékek, a TRAP és CK-BB (314).** Vizsgálati eredményeinket követően két évvel írták le az ADO2 hátterében 70-80%-ban kimutatható genetikai zavart, a 16. Kromoszóma rövid karjának 13.3-as lokalizációjában elhelyezkedő *CLCN7* gén nem funkcióvesztő mutációját (168, 173, 175), aminek máig 25 különböző típusát írták le, döntően az fehérje intracelluláris szakaszát kódoló DNS szakaszokon (384). Az ismert 25 mutáció közül huszonhárom aminosavcserével, egy konformáció változással és egy a fehérje hosszának megváltozásával jár (173). Az esetek 30%-ában azonban nem lehetett a *CLCN7* gén mutációját igazolni (175).

Annak ellenére, hogy az ADO2 öröklődése autoszomális domináns, egyetlen ismert mutáció esetében sem lehetett egyértelmű genotípus/fenotípus összefüggést kimutatni (167). Ugyanannak a mutációnak a fenotípusbeli megjelenése rendkívül változatos lehet a tünetmentestől a súlyos formáig. A genetikailag bizonyított betegség klinikai megjelenése 70 és 90 % közötti gyakoriságú az érintett családokban (381, 385-387). Annak oka a mai napig nem egyértelmű, hogy ugyanaz a mutáció egy családon belül időnként miért nem okoz klinikai tünetet. Feltételezik, hogy a promoter régióban lévő SNP-k befolyásolhatják a kóros és nem kóros fehérjék arányát és ezen keresztül a betegség súlyosságát (388). Emellett a *CLCN7* gén *rs12926669* polimorfizmusa, ami valin/methionin cseréhez vezet, úgy tűnik, szintén befolyásolhatja a tünetek megjelenését (388, 389). Emellett az intronban elhelyezkedő, 50 bázispár hosszú ismétlődő szakaszt tartalmazó VNTR polimorfizmus és a betegség súlyosságának kapcsolatát is leírták (390), de ez a polimorfizmus kapcsolatosan öröklődik az *rs12926669* SNP-vel (391).

Összefoglalva, a mi eredményeinkkel egyezően az ADO2 génjét hordozó, de a betegség tüneteit nem mutató egyéneknél más kutatócsoportok sem tudtak kimutatni a betegséggel összefüggésbe hozható eltérést, és a mai napig nem bizonyos, hogy mi befolyásolja a genetikai betegség klinikai tüneteinek megjelenését.

## V.2. Csontvázra ható környezeti hatások vizsgálatának eredményei

### V.2.1. Az osteoporosis hosszú távú gyógyszeres kezelésének hatása a törésekre, kórházi kezelésekre, egészségügyi kiadásokra és a halálozásra

Magyarország két szempontból is modell értékű ország az osteoporosis kezelés szempontjából. Egyrészt a betegeket egy ebből a célból létrehozott hálózaton belül, a magyarországi osteoporosis hálózat centrumaiban látják el, egységes szakmai protokoll szerint. Másrészt minden beteg ugyanannál a biztosítónál van biztosítva, így a gyógyszerellátás, az ambuláns ellátás és a kórházi kezelés is jól nyomon követhető az Országos Egészségbiztosítási Pénztár (OEP) adatai alapján. Vizsgálatunkban egy hét éves periódus 2004. január 1. és 2010. december 31. közötti időszak adatait dolgoztuk fel. **Igazoltuk, hogy minden előzetes várakozással szemben, ebben az időszakban a csontritkulás talaján kialakult csonttörések száma jelentősen, 46 %-al csökkent, az évi 88 290 törésszám 47 747-re mérséklődött. A csípőtáji törések száma is hasonlóan, 37,5 %-al, 17 992-ről 11 242-re csökkent (12).** Ez a jelentős csökkenés annak ellenére jött létre, hogy a vizsgálat periódusban a várható élettartam 2,5 évvel nőtt Magyarországon. A csontritkulás talaján kialakult törések száma széles határok között mozog világszerte (392, 393). A magyarországi adatok hasonlóak a környező államokban mértékhez (392), habár a törések gyakoriságának változása ellentétes a szomszéd országokban mértékhez képest. Ausztriában a csípőtáji törések száma 13 %-al nőtt 1994 és 2006 között (394). Romániában 16%-os növekedést regisztráltak 2005 és 2009 között (395). A magyarországihoz hasonló töréscsökkenést 7 éves periódusban, korábban még soha nem igazoltak. Az ilyen jelentős csökkenésnek a magyarázata nem egyértelmű. Logikus magyarázat lehetne a gyógyszereszedési adherencia különbözősége, azonban a magyarországi adatok - kb. 50 %-os adherencia a kezelték között - egyáltalán nem kiemelkedőek. A gyógyszereszedési perzisztencia sem mondható jónak. Az első év végére a betegek 32%-a, a második év végére 18%-a, a harmadik év végére csupán a betegek 13%-a folytatta csak a megkezdett kezelést (396). Ezek az értékek hasonlóak a Franciaországban (397) és az USA-ban mértékhez (398) és elmaradnak a Svédországi adatoktól(399). Ennek alapján a kiemelkedő töréscsökkentő hatást nem magyarázhatja a magyarországi betegek gyógyszer

adherenciája és perzisztenciája. Az egyik lehetséges magyarázat az egyedülálló magyarországi osteoporosis hálózat működése lehet, ahol egységes szakmai protokoll alapján, speciálisan képzett orvosok látják el a betegeket. A másik magyarázat a kezelt betegek nagy száma lehet. A vizsgált periódusban 70 000 és 150 000 között változott a kezelt betegek száma. Ha figyelembe vesszük az alacsony perzisztenciát, akkor a vizsgált hét év alatt a kb. 700 000 beteg nagyobbik része kapott hosszabb-rövidebb ideig osteoporosis elleni kezelést.

Az osteoporosis elleni kezelés hatékonyságának felmérésére nem csak a törésszám csökkenést vizsgáltuk, de összehasonlítottuk a megfelelően kezelt betegek kezelési eredményeit ( $MPR > 80\%$ ) a hatékony kezelést nem kapók ( $MPR < 20\%$ ) csoportjával. **Igazoltuk, hogy a három éven át megfelelően kezelt betegek ( $MPR > 80\%$ ) 23 %-al kevesebb törést - köztük 55 %-al kevesebb csípőtáji törést - szenvednek el, és 38 %-al ritkábban kerülnek kórházba, azokhoz képest akiket nem kezeltek hatékonyan ( $MPR < 20\%$ ) (12).** A törések közül egyedül a vertebrális törésekre nem volt igaz az összefüggés, amit részben magyarázhat, hogy a csigolyatörések nagyobbik hányada rejtve marad radiológia vizsgálat nélkül (400). Eredményeink megfeleltek a korábban, más kutatók által publikáltaknak. Ross és munkatársai tanulmányukban 1998 és 2007 között, huszonhét vizsgálat metaanalízise alapján, 30 %-os törésszám növekedést mutattak ki abban a csoportban ahol rossz volt a compliance, a megfelelően kezeltékhez képest (401). Olsen és munkatársai, Dán biztosítói adatok alapján, kisebb törési kockázatfokozódást találtak, - 21 % a teljes töréseknél és 28% a csípőtáji töréseknél -, de ők az  $MPR > 80\%$ -os csoportot egy  $MPR < 50\%$ -os csoporthoz hasonlították, vagyis kevésbé szigorú szűrési feltételeket alkalmaztak (402). Hozzánk hasonlóan egyik munkacsoport sem tudott különbséget kimutatni a csigolyatörések számában a két vizsgált csoport között.

Tanulmányoztuk az aktívan kezelt ( $MPR > 80\%$ ) és a nem hatékonyan kezelt ( $MPR < 20\%$ ) csoportok közötti különbség kialakulásának idejét is. A nyers adatok alapján a csoportok közötti különbség a második évre vált szignifikánssá, de ha figyelembe vettük a csoportok között a vizsgálat kezdetekor már fennálló különbséget, akkor a törések száma már fél év után szignifikáns különbséget mutatott. Nagy klinikai vizsgálatokban a kezelt és nem kezelt csoportok közötti különbség valamivel később vált



szignifikánssá (60, 61, 63, 66, 68, 261), de azokban a kontroll csoport folyamatos kalcium és D-vitamin-kezelést kapott, míg a mi vizsgálatunkra ez nem volt igaz.

A két vizsgálati csoport kórházi kezelésének számában is szignifikáns különbséget találtunk a második év végére. A harmadik év végére ez a különbség már 47 %-os volt, vagyis a nem megfelelően kezelték közel kétszer gyakrabban kerültek kórházba, mint a kezelt csoport tagjai. Eredményünket alátámasztotta Huybrecht és mtsai. vizsgálata is, akik 1,7 éves periódusban 37 %-os kockázatnövekedést találtak 50 %-nál rosszabb compliance esetén (82).

Az egységes adatbázisnak köszönhetően vizsgálni tudtuk a csontritkulás-kezeléssel, a törésselátással kapcsolatos kiadásokat és az osteoporosis ellátás költséghatékonyságát is. Az aktív csontritkulás-kezelés már fél év után szignifikánsan csökkentette a töréssel kapcsolatos kiadásokat. A kezelés költséghatékonyságát a 2002-es WHO ajánlás alapján számítottuk ki (316), melyet a magyarországi irányelvek is átvettek. Ez alapján akkor költséghatékony egy kezelés, ha egy QUALY nyereség bekerülési költsége kisebb, mint az adott ország egy főre jutó GDP-jének háromszorosa. Magyarországon 2011-ben az egy főre jutó GDP 12 178 USD volt, vagyis ennek háromszorosa, 36 534 USD-ig költséghatékony egy QUALY nyereséggel járó kezelés. Vizsgálatunkban az aktív csontritkulás-kezeléssel nyerhető egy QUALY 28 158 USD volt.

**Igazoltuk, hogy Magyarországon az aktív osteoporosis kezelés nem csak csökkenti a törések számát és a kórházi bennfekvéseket, de a nemzetközi és hazai ajánlások alapján költséghatékony is (12).**

#### V.2.2. A D-vitamin értékekre ható környezeti tényezők tél végén, Magyarországon

A magyarországi népességre korra, nemre és lakhelyre reprezentatív népességben vizsgáltuk a tél legvégén mérhető D-vitamin értékeket, az azokat befolyásoló tényezőket. **Vizsgálatunkban igazoltuk, hogy ebben az időszakban a D-vitamin értékek minden korábban mértnél alacsonyabbak. A D-vitamin értékek - sem a 25OHD, sem a szabadhormon értékek - nem követik a normál eloszlást. A népesség 94%-ának t-25OHD értéke nem érte el tél legvégén Magyarországon a normál tartomány alsó határának elfogadott 75 nmol/l-t, 71 % 50 nmol/l és 30% pedig 30 nmol/l alatt volt.** Ezek az

értékek alacsonyabbak voltak, mint a hasonló szélességi fokon korábban közöltek (403-405) és a tőlünk jóval északabbra fekvő országok adatainak feleltek meg (406). Ennek oka a speciális mintavételi időszak (270) - tél végére kiürülnek a D-vitamin raktárak, mivel októbertől márciusig az UV-B sugárzás nagyon kicsi - és a Magyarországra jellemző alacsony étrendi D-vitamin bevitel (109) lehet.

A D-vitamin biológiai hatását nem kötött formában fejt ki, ezért vizsgáltuk a biológiailag elérhető és a szabad 25hidroxi-D-vitamin értékek eloszlását, rájuk ható tényezőket és hatásukat a D-vitamin-hiánnyal összefüggésben kialakuló betegségekre. Mértük a t-25OHD-t, a DBP-t és az albumint. Ezekből számítottuk a b-25OHD és f-25OHD értékeket. A b-25OHD és f-25OHD eloszlása hasonló volt a t-25OHD eloszlásához. A b-25OHD és f-25OHD extrém szoros korrelációt mutatott, ezért az f-25OHD-re vonatkozó megállapításaink igazak a b-25OHD-ra is. Vizsgálatunkban az f-25OHD varianciáját 64 %-ban magyarázta a t-25OHD változása. Habár más vizsgálók is szoros összefüggést találtak a DBP szérumszintje és a t-25OHD értékek között (407, 408), a mi vizsgálatunkban ez a korreláció gyenge volt. A DBP érték változása csak 3%-ban magyarázta a t-25OHD varianciáját.

Nem találtunk nemek között különbséget a t-25OHD értékekben, ugyanakkor nőkben a DBP érték magasabb és az f-25OHD alacsonyabb volt. **Vizsgálati eredményeink felvetik annak lehetőségét, hogy nőkben a hasonló t-25OHD érték mellett mért alacsonyabb f-25OHD szintek miatt a D-vitamin-hiány súlyosabb klinikai következményekkel járhat, mint férfiakban (4).**

Vizsgáltuk, hogy a tél legvégén milyen környezeti tényezők vannak hatással a mért és számított D-vitamin értékekre. **Vizsgálatunkban nem találtunk összefüggést a kor, a nem, a lakhely, a munka típusa, a szabadban töltött idő és a t-25OHD értékek között. Csak a D-vitamin-pótlásnak, a rendszeres szoláriumozásnak és a meleg éghajlatra történő utazásnak volt hatása a tél végi t-25OHD értékekre (4).** Eredményeink lényegesen eltérnek a korábban közöltektől (106, 270, 271), mert a mi modellünkben az UV-B sugárzás környezeti hatása elhanyagolható volt. A vizsgált tényezők közül a munka, a lakhely, a szabadban töltött órák száma teljes egészében, a kor és a nem részben, a kapott UV-B sugárzás mennyiségén keresztül befolyásolja a t-25OHD értékeket. Ugyancsak az UV-B sugárzás hatása áll a meleg éghajlatra történő utazás és a szoláriumozás t-25OHD-re kifejtett hatása mögött. Eredményünk a

szoláriumozással kapcsolatban meglepő, mert a modern szoláriumok energia kibocsátását évekkal ezelőtt lényegesen korlátozták ( $0,3 \text{ W/m}^2$ ), a szoláriumok UV-A sugárzása nem alkalmas D-vitamin-képzésre és az UV-B sugárzás aránya ezekben a szoláriumokban nagyon alacsony lehet csupán (273). Ennek ellenére mégis ki tudtunk mutatni szignifikáns hatást.

A mi eredményeink is alátámasztották azt a jól ismert összefüggést, hogy a nagyobb BMI érték alacsonyabb t-25OHD értékhez vezet (409), ugyanakkor **vizsgálatunkban a nagyobb BMI érték kisebb DBP-vel társult és nem befolyásolta az f-25OHD értékeket. Ez alapján kérdéses a nagyobb BMI mellett mért kisebb t-25OHD biológiai jelentősége (4).** Korábbi vizsgálatok összefüggést találtak a t-25OHD érték és a csonttörési gyakoriság (410, 411), az esések száma (412), számos autoimmun betegség (413, 414), kardiovaszkuláris betegségek (145), a diabetes mellitus gyakorisága (415) és bizonyos malignus megbetegedések között (416, 417). A mi keresztmetszeti vizsgálatunkban a tél legvégén mérhető **t-25OHD és f-25OHD értékek csak a kardiovaszkuláris kockázattal mutattak összefüggést.** Ennek az összefüggésnek a jelentőségét is megkérdőjelezheti, hogy a vizsgálati kérdőíven bejelölt kardiovaszkuláris betegség diagnózist nem kontrolláltuk, az bevalláson alapult. Negatív eredményünk magyarázata lehetett, hogy bizonyos kórképeknél az alacsony prevalencia miatt rendkívül alacsony volt a betegszám, így nem volt megfelelő a statisztikai erő az összefüggések kimutatására. Magyarázhatta a valódi összefüggések hiánya, de ennek ellene szól a sok ezernyi - ezeket az összefüggéseket alátámasztó - irodalmi adat. Végül lehetséges magyarázat, hogy a D-vitamin-hiánnyal kapcsolatos klinikai tünetek megjelenése nem csak a hiány nagyságától, de annak hosszától is függ. Vizsgálatunkban a t-25OHD pozitív, lineáris összefüggést mutatott a szérumban foszfát és negatív, nem lineáris összefüggést a PTH értékekkel. Ugyanakkor nem találtunk szignifikáns kapcsolatot a t-25OHD és f-25OHD értékek illetve a szérumban kalcium szint között. ROC (Receiver operating characteristic) elemzés eredménye alapján sem a PTH, sem a foszfát érték sem alkalmas arra, hogy értékükből következtetni lehessen a D-vitamin-hiányra. **Vizsgálatunkban igazoltuk, hogy a rutinszerűen mért kalcium, foszfát és a PTH értékek nem használhatóak a mindennapi gyakorlatban a D-vitamin-hiány kimutatására (4).**

### V.2.3. A D-vitamin-pótlás hatékonysága adag és pótlásgyakoriság függvényében

Az utóbbi tíz évben egyre több adat bizonyítja, hogy az extrém nagy adag –egyszerre több mint 200 000 NE D-vitamin adása, és az évenként egyszeri ekkora vagy nagyobb adaggal megoldott D-vitamin-pótlás káros lehet (276). Ugyanakkor a D-vitamin hosszú felezési ideje miatt (275) a napi adagolás felesleges. Ezért a heti vagy havi adagolás tűnik ideálisnak. Ennek ellenére ez idáig nem történt olyan vizsgálat, ami nem idős vagy csonttörött, D-vitamin-hiányos populáción vizsgálta volna, az ugyanazon napi dózisonak megfelelő adagú naponta, hetente és havonta adott D<sub>3</sub>-vitamin hatást a szérumban D-vitamin szintekre. **Mi a prospektív, randomizált, kontrollált, multicentrikus vizsgálatunkban elsőként igazoltuk, hogy napi 1000 NE, heti 7000 NE és havi 30 000 NE D<sub>3</sub>-vitamin 25OHD szérumszint emelő hatása és biztonságossága nem különbözik.** Ish-Shalom és mtsai. vizsgálatukban ugyancsak a napi, heti és havi adagolás hatékonyságát hasonlították össze (161), de az ő vizsgálatuk sok szempontból különbözött. Idős, csípőtáji törésen átesett betegeknek adtak napi 1500 NE D<sub>3</sub>-vitamint ethanolban oldva, nyolc héten keresztül. Ők is hasonló 25OHD szintemelkedést mértek a különböző csoportokban, de a vizsgált populáció jóval idősebb és a vizsgálati készítmény is speciális, a patikai forgalomban nem kapható forma volt. Az alkalmazott adag is különbözött, míg ők napi 1500 NE D<sub>3</sub>-vitamint adtak, mi a legkisebb hatásos dózist, napi 1000 NE-t használtunk. Chel és mtsai. eredményei különböztek az általunk leírtaktól (162). Ők idősotthon lakóinak adtak napi 600 NE-nek megfelelő D<sub>3</sub>-vitamin tablettát napi, heti és havi gyakorisággal. Ők vizsgálatuk 4 hónapja alatt a napi adagolási mód mellett kapták a legnagyobb, és havi adagolás mellett a legkisebb 25OHD szérumszint növekedést. A különböző eredmények magyarázata részben a vizsgált személyek gyógyszereszedési szokásainak különbségében lehet. Az ő vizsgálatukban csak esetlegesen mérték a betegek compliance-ét míg a mi vizsgálatunkban ezt minden viziten felmértük és betegeink gyógyszereszedési fegyelme is kiemelkedően jó volt.

A napi 1000 NE napi dózisonak megfelelő D<sub>3</sub>-vitamin háromhavi adása hasonló dózisválaszt adott mindhárom vizsgálati csoportban. A 32,5 nmol körüli emelkedés kissé nagyobb volt az Amerikai Endokrin Társaság ajánlása alapján vártnál (158) és nagyjából azonos volt az IOM számítási módja alapján feltételezettnek (157). Korábbi, napi 1000 NE D<sub>3</sub>-vitamint alkalmazó vizsgálatokat főleg idős és

osteoporosisban szenvedő vizsgálati alanyokon végezték. Az 1000 NE adása mellett észlelt 25OH emelkedés mértéke széles határok, 18 – 44 nmol/l között mozgott (418-421). Ennek magyarázata a különböző vizsgálati populációkban, a különböző súlyosságú D-vitamin-hiányban és a különböző kezelési hosszúságban lehetett. Vizsgálatunkban a vizsgálati alanyok 25OHD értéke minden esetben meghaladta az 50 nmol/l-t a vizsgálat végére, de nem érte el a 75 nmol/l-t. **A napi 1000 NE-t, a heti 7000 NE-t és a havi 30 000 NE D<sub>3</sub>-vitamint kapó csoportokban a mellékhatások típusa, gyakorisága és súlyossága teljesen azonos volt. Mindhárom adagolási mód biztonságosnak bizonyult.** Biztonságossági adataink megegyeztek más vizsgálók adataival (161, 162).

#### V.2.4. Fibrogenesis imperfecta ossium új kezelési lehetősége

A FIO egy rendkívül ritka szerzett csontbetegség. Az eddig közölt huszonöt eset jelentős részében a diagnózist csak a beteg halála után állapították meg. A betegség kiváltó oka és kialakulásának mechanizmusa a mai napig ismeretlen. Nem ismertek hajlamosító genetikai faktorok és családi halmozódást is csak egy esetben írtak le (422). A betegség mindkét nemben kialakulhat, jellemzően középkorú betegekben, bár egy esetben 12 éves lánynál is leírták a kórkép tüneteit (422). A FIO tünetei nem jellegzetesek, progrediálóak és a diagnózis felállításakor jellemzően súlyosak. A kórkép ismétlődő patológiás törésekkel, spontán csontfájdalommal, izomgyengeséggel, csontdeformitásokkal jár és végül a beteg súlyos mozgáskorlátozottságához vezet. A laboratóriumi tünetek sem jellegzetesek. A kalcium-anyagcsere laboratóriumi paraméterei közül a kalcium, a foszfát, a 25OHD-vitamin és a PTH nem változik, de a csontbiokémiai markerek - az építést és a bontást tükrözőek is – nőnek. Az általunk diagnosztizált beteg klinikai tünetei és laboratóriumi leletei is megfeleltek a korábban leírt eseteknél közölteknek, habár az ő vizeletkalcium értéke inkább alacsony volt, míg mások emelkedett értékekről számoltak be (179, 279). Az élőben diagnosztizált esetek nagyobbik részében leírtak egy monoclonális gammopathiát, melynek jelentősége, a betegség kialakulásában betöltött szerepe, a mai napig nem ismert (178). Az általunk közölt esetben is a monoclonális gammopathia már az első csonttünetek észlelésekor jelen volt. A csontok radiológiai vizsgálata egy adott időpillanatban nem jellegzetes, más

csontbetegségekkel hasonlóságot mutathat, de a változások időbeli lefolyása segítheti a diagnózist. Esetünk is ezt mutatja. A csontrentgen képek alapján átmenetileg felmerült osteoporosis, axialis osteomalácia és Paget kór lehetősége is, de a betegség lefolyása cáfolta ezeket. Jellemzően a koponya soha nem érintett, változik a trabekuláris szerkezet, a csont szerkezete foltossá válik, a corticalisok elvékonyodnak. Esetünkben a radiológiai változások a csont terheltségével arányosan jelentek meg. Egy három évvel korábbi vizsgálatban a FIO-ban látható és a Waldenström betegségben megfigyelt csontelváltozások hasonlóságát írták le (423), ami a monoclonális gammopathia oki szerepét veti fel. A betegség diagnózisa, mint esetünkben is, szövettani vizsgálaton alapul. A fénymikroszkópos vizsgálat nem specifikus, Paget kórral keverhető össze, de az elektronmikroszkópos kép jellemző. A strukturált laminális kollagénszerkezet helyét rendezetlen, irreguláris kollagénelrendeződés veszi át, ezért az elektronmikroszkópos képen a kollagénre jellemző kettőstörés eltűnik, ami a betegségre specifikus elváltozás (279).

A miénkhez hasonlóan a többi esetben is a betegek diagnózisa csak későn, valójában a többi csontbetegség lehetőségének kizárása után született meg. Ezért a FIO-s betegek szinte minden esetben részesültek biszfoszfonát, kalcium, D-vitamin és néhány esetben teriparatid kezelésben, minden terápiás hatás nélkül. A FIO diagnózisának felállítását követően – feltételezve a monoclonális gammopathia oki szerepét – próbálkoztak melphalan adásával, ami a tünetek részleges javulásához vezetett néhány esetben (180, 278), mások viszont semmiféle javulást sem tudtak kimutatni (424-426). Nagy adagú szteroid kezeléssel is próbálkoztak, de a mellékhatások miatt a kezelést le kellett állítani. A rövid kezelés alatt a FIO klinikai képe nem változott (424)(12). **A FIO kezelésében elsőként általunk alkalmazott plazmaferézis 6 hónap alatt jelentősen csökkentette a beteg panaszait és mérsékelte a csontbiokémiai markereket, valamint 75 %-al csökkentette az M-komponens szérumszintjét (317).** A plazmaferézisek közötti idő megnyújtásával – két hét helyett havonta alkalmazott kezelés mellett - párhuzamosan romlottak a beteg panaszai és laboratóriumi paraméterei. Sajnos, más betegségben a beteg meghalt, így a plazmaferézis kezelés hosszú távú hatásait már nem tudtuk felmérni.

#### V.2.5. von Gierke betegségben a csontanyagcsere változása májtranszplantációt követően

A glikogéntárolási betegségek Ib típusában, a von Gierke betegségben kialakuló növekedési és csontanyagcsere-zavar hátterében összetett metabolikus és hormonális okok állnak. A betegségre 50-90%-ban jellemző az alacsony termet, de ennek hátterében nincs egyértelmű bizonyíték a hGH hiányra (287). Korábban Melis és mtsai. (284) a máj IGF-1 képző kapacitásának csökkenését találták a növekedés elmaradás hátterében. **Mi elsőként igazoltuk, hogy májátültetést követően az azt megelőzően extrém alacsony IGF-1 érték normalizálódásával párhuzamosan a növekedés is megindul. Ez a növekedés, ebben az életkorban korábban soha nem tapasztalt mértékű volt, 23 éves kortól indulóan, 32 cm négy és fél év alatt (318).** Kétségtől, a rendeződő szénhidrát anyagcsere és metabolikus acidózis csökkenése is szerepet játszhat a gyors növekedésben (427), de esetünkben az IGF-1 központi szerepét támasztja alá, hogy a transzplantációt követően az anyagcsere paraméterek gyorsan rendeződtek, de az IGF-1 csak félévvel később normalizálódott, ahogy a növekedés is fél évvel később indult meg. Más kutatók is leírtak növekedést a májátültetést követően (428, 429), azonban nem vizsgálták ennek lehetséges okait és az általuk észlelt növekedés messze elmaradt az általunk közölttől (430).

A májátültetés után a von Gierke kórban szenvedő beteg BMD értéke kifejezetten alacsony volt és csontanyagcsereje számos negatív tényező hatása alatt áll. Az extrém alacsony BMD érték oka részben a naptári kornál jóval alacsonyabb csontkor, a kifejezett IGF-1 hiány, a részben az IGF-1 hiánnyal összefüggő tesztoszteron hiány és a májátültetést megelőzően fennálló összetett anyagcserezavar volt (431). Korábban is leírták a betegség társuló csontanyagcsere-zavart, másodlagos csonttritkulást (432), de arról, hogy a májtranszplantációt követően hogyan alakul a csontmennyiség nincs korábbi adat. **Mi elsőként igazoltuk, hogy májátültetést követően, gyógyszeres kezelés nélkül, kalcium és D-vitamin-pótlás mellett a BMD rendeződik (318).** Kifejezetten gyorsult csontanyagcsere a transzplantációt követően a csontnövekedés jele és nem kóros folyamat következménye volt, ezért annak lassítása hiba lett volna. Nemihormon pótlását a nyitott epifízis fűgák és az IGF-1 normalizálódást követően várhatóan spontán rendeződő tesztoszteron érték is kontraindikálta. Habár a beteg osteoporosis kockázata nagyobb a tartós immunszuppresszív kezelés miatt, a növekedési fázis lezáródásig gyógyszeres kezelése nem indokolt.

## VI. Új eredmények

Elsőként zártuk ki annak lehetőségét, hogy a *VDR*, az *IL-6* vagy az *IGF-1* gén (vagy azok közvetlen környezetében elhelyezkedő gének) szerepet játszhatnának a fiatalfelnőttkori csonttömeg genetikai meghatározásában.

A korábbi vizsgálokkal ellentétben, mi nem találtunk összefüggést az *IL-1ra* gén 2. intronjában elhelyezkedő VNTR polimorfizmus, valamint a *CaSR* gén "A986S" polimorfizmus genotípusa és a menopauza utáni csontdenzitás között sem az osteoporotikus, sem a kontroll csoportban, sem a lumbalis gerincen, sem a femurnyakon.

Vizsgálati eredményeink is megerősítették a *TNFSF11* gén két polimorfizmusának (*rs9533156* és az *rs9525641*) az összefüggését a gerincen és a csípőtájon mért BMD értékekkel. Emellett mi egy harmadik SNP, az *rs3742257* és a gerinc BMD szoros korrelációját is leírtuk. Elsőként igazoltuk, hogy ennek a három SNP-nek a 'CCT' haplotípusa kisebb BMD értékekkel társul és humán csontmintákban fokozott *TNFSF11* mRNS expresszióval jár. Ez volt a világon az első vizsgálat, ahol sikerült igazolni a csontban, hogy a *TNFSF11* gén genetikai variációjának hatása megjelenik az átíródás szintjén is.

Szignifikáns összefüggést igazoltunk a *TNFSF11B* gén *rs3102735* és *rs1564858* polimorfizmusai és a postmenopausás BMD értékek között. Ugyanakkor ez a két SNP nem befolyásolta a csontban az in vivo génexpresszió nagyságát. Ez alapján az *rs3102735* és az *rs1564858* inkább markere, mint hordozója a *TNFSF11B* gén csontokra gyakorolt hatásának.

Korábbiaknál nagyobb, postmenopausás populáción igazoltuk az *LRP5* gén *rs4988300* polimorfizmusának hatását a csípőtáji BMD-re. Ugyanakkor nem tudtuk megerősíteni a más vizsgálok által talált összefüggést az *rs599083* és az *rs634008* polimorfizmusok valamint a postmenopausában mért BMD értékek között.



Mi nagy, homogén, postmenopausás populációban nem találtunk összefüggést a *GPR177* és az *SP7* gén korábban vizsgált polimorfizmusai (*rs2566755*, *rs1430742*, *rs1430742*; *rs2016266*, *rs191240606*) és a BMD értékek, valamint a csonttörési kockázat között. Ez alapján a *GPR 177* és az *SP7* gén nem játszik szerepet a menopauza utáni csontmennyiség kialakításában.

Elsőként igazoltuk, hogy az *ADO2* génjét hordozó, azt örökítő személyben, nem változnak sem a csont ásványianyag-tartalom, sem az *ADO2*-re jellemző laboratóriumi értékek a TRAP és CK-BB.

Igazoltuk, hogy minden előzetes várakozással szemben, hét éves időszakban a csontritkulás talaján kialakult csonttörések száma nem nőtt, de jelentősen, 46 %-al csökkent. Az évi 88 290 törésszám 47 747-re, ezen belül a csípőtáji törések száma 37,5 %-al, 17 992-ről 11 242-re csökkent. Igazoltuk, hogy a három éven át megfelelően kezelt betegek (MPR>80%) 23 %-al kevesebb törést - köztük 55 %-al kevesebb csípőtáji törést - szenvednek el, és 38 %-al ritkábban kerülnek kórházba, azokhoz képest, akiket nem kezeltek hatékonyan (MPR<20%).

Vizsgálatunkban korra, nemre és lakhelyre reprezentatív populáción igazoltuk, hogy tél legvégén a D-vitamin értékek minden korábban mértnél alacsonyabbak. A D-vitamin értékek - sem a 25OHD, sem a szabadhormon értékek - nem követik a normál eloszlást. A népesség 94%-ának t-25OHD értéke nem érte el ekkor Magyarországon a normál tartomány alsó határának elfogadott 75 nmol/l-t, 71 % 50 nmol/l-t és 30% pedig 30 nmol/l alatt volt. Vizsgálati eredményeink felvetik annak lehetőségét, hogy nőkben a hasonló t-25OHD érték mellett mért alacsonyabb f-25OHD szintek miatt a D-vitamin-hiány súlyosabb klinikai következményekkel járhat, mint férfiakban. Vizsgálatunkban nem találtunk összefüggést a kor, a nem, a lakhely, a munka típusa, a szabadban töltött idő és a t-25OHD értékek között. Csak a D-vitamin-pótlásnak, a rendszeres szoláriumozásnak és a meleg éghajlatra történő utazásnak volt hatása a tél végi t-25OHD értékekre. A nagyobb BMI érték kisebb DBP-vel társult és nem befolyásolta az f-25OHD

értékeket. Ez alapján kérdéses a nagyobb BMI mellett mért kisebb t-25OHD biológiai jelentősége. A t-25OHD és f-25OHD értékek csak a kardiovaszkuláris kockázattal mutattak összefüggést.

Prospektív, randomizált, kontrollált, multicentrikus vizsgálattal elsőként igazoltuk, hogy a napi 1000 NE-nek megfelelő D<sub>3</sub>-vitamin naponta, vagy hetente, vagy havonta egyszer történő adásának (napi 1000 NE, havi 7000 NE vagy havi 30 000 NE) 25OHD szérumszint emelő hatása és a kezelés biztonságossága azonos.

A FIO kezelésében elsőként általunk alkalmazott plazmaferézis 6 hónap alatt jelentősen csökkentette a beteg panaszait és mérsékelte a csontbiokémiai markereket, párhuzamosan az M-komponens szérumszintjének csökkenésével.

Elsőként igazoltuk, hogy von Gierke betegségben májátültetést követően, az azt megelőzően extrém alacsony IGF-1 érték normalizálódásával párhuzamosan a növekedés is megindul. Ez a növekedés, ebben az életkorban korábban soha nem tapasztalt mértékű volt, 23 éves kortól indulóan, 32 cm négy és fél év alatt. Igazoltuk továbbá, hogy von Gierke betegségben májátültetést követően, gyógyszeres kezelés nélkül, kalcium és D-vitamin-pótlás mellett a BMD rendeződik.

## VII. Rövidítések jegyzéke

|                                      |                                                                  |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> | 1,25-dihidroxi-D <sub>3</sub> -vitamin                           |
| 25OHD                                | 25-hidroxi-D-vitamin                                             |
| ADO2                                 | autoszomális domináns osteopetrosis 2-es típusa                  |
| AES                                  | American Endocrine Society                                       |
| ANOVA modell                         | egyszempontú varianciaanalízis                                   |
| b-25OHD                              | biológiailag elérhető 25-hidroxi-D-vitamin                       |
| BMD                                  | bone mineral density                                             |
| BMI                                  | body mass index- (testtömeg index)                               |
| BMP2                                 | bone morphogenetic protein 2                                     |
| BMP6                                 | bone morphogenetic protein 6                                     |
| BMU                                  | basic multicellular unit- (a csont remodeling elemi egysége)     |
| BNO                                  | betegségek nemzetközi osztályozására szolgáló rendszer           |
| BRC                                  | bone remodeling compartment - (csont átépülési tér)              |
| CaSR                                 | kalcium-sensing receptor                                         |
| Cbfa1                                | core-binding factor alpha1                                       |
| CK                                   | kreatin-kináz                                                    |
| CK-BB                                | creatine kinase brain type                                       |
| CLCN7                                | chloride voltage-gated channel 7                                 |
| CT-1                                 | cardiotrophin-1                                                  |
| DBP                                  | vitamin D binding protein- (D-vitamin-kötő fehérje)              |
| DEXA                                 | dual-energy x-ray absorptiometry- (kettősfoton abszorpciometria) |
| DKK1                                 | dikkopf-releted protein 1                                        |
| DM1                                  | diabetes mellitus type 1 (1-es típusú diabetes mellitus)         |
| DM2                                  | diabetes mellitus type 2 (2-es típusú diabetes mellitus)         |
| DNS                                  | deoxiribonukleinsav                                              |

|              |                                                                       |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------|
| ER $\beta$   | estrogen receptor beta                                                |
| ER $\alpha$  | estrogen receptor alpha                                               |
| f-25OHD      | szabad 25-hidroxi-D-vitamin                                           |
| FGF23        | fibroblast growth factor 23                                           |
| FIO          | Fibrogenesis Imperfecta Ossium                                        |
| FRAX         | fracture risk assessment tool - (törési kockázatbecslő algoritmus)    |
| GAPDH        | glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase                              |
| GDP          | gross domestic product                                                |
| GEFOS        | genetic factors for osteoporosis consortium                           |
| GGT          | gamma-glutamil transzferáz                                            |
| GLM          | generalizált lineáris modell                                          |
| GOT          | glutamát-oxálacetát aminoszferáz                                      |
| GPR177       | G protein-coupled receptor 177                                        |
| GSD          | glykogen storage disease- glikogéntárolási betegség                   |
| GWAS         | genome wide association study - (teljes genom asszociációs vizsgálat) |
| HBM          | high bone mass                                                        |
| hGH          | human growth hormone- (növekedési hormon)                             |
| HIF1A        | hypoxia inducible factor-1alpha                                       |
| HPK -        | női hormonpótló kezelés                                               |
| ICAM-1       | inter cellular adhesion molecule-1                                    |
| ICER         | incremental cost effectiveness ratio                                  |
| IFN $\gamma$ | interferon gamma                                                      |
| IGF-1        | insulin-like growth factor 1- (inzulinszerű növekedési faktor 1)      |
| IL-1ra       | interleukin 1 receptor antagonist                                     |
| IL-6         | interleukin 6                                                         |

|              |                                                                                                          |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| IL-12        | interleukin 12                                                                                           |
| IL-8         | interleukin 8                                                                                            |
| IOF          | Institute of Medicine                                                                                    |
| LD           | linkage disequilibrium                                                                                   |
| LPS          | lipopolyszacharid                                                                                        |
| LRP5         | low-density lipoprotein receptor-related protein 5                                                       |
| MAF          | minor allele frequency                                                                                   |
| M-CSF        | macrophage colony-stimulating factor                                                                     |
| MGUS         | monoclonal gammopathy of undetermined significance- (ismert jelentőség nélküli monoklonális gammopathia) |
| MORE         | Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation                                                               |
| MPR          | medication possession ratio                                                                              |
| MR           | microsatellit repeat                                                                                     |
| mtsai.       | munkatársai                                                                                              |
| Nf-kappaB    | nuclear factor kappaB                                                                                    |
| NHANES III   | Third National Health and Nutrition Examination Survey                                                   |
| ODM          | osteodensitometria                                                                                       |
| OEP          | Országos Egészségbiztosítási Pénztár                                                                     |
| OPG          | osteoprotegerin                                                                                          |
| OPPG         | osteoporosis-pseudoglioma szindróma                                                                      |
| OSM          | oncostatin                                                                                               |
| <i>OSTM1</i> | gene of osteopetrosis associated transmembrane protein 1                                                 |
| PBS          | phosphate-buffered saline                                                                                |
| PCR          | polymerase chain reaction - (polimeráz-láncreakció)                                                      |
| PECAM-1      | platelet-endothelial cell adhesion molecule-1                                                            |
| <i>PHEX</i>  | gene of phosphate-regulating neutral endopeptidase, on the X chromos.                                    |

|                |                                                                           |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------|
| PPAR- $\gamma$ | peroxisome proliferator-activated receptor gamma                          |
| PTH            | parathyreoid hormon - (parathormon)                                       |
| PTHrp          | parathyroid hormone-related protein                                       |
| QALY           | quality-adjusted life years - (életminőséggel korrigált életévek)         |
| RANK           | Receptor activator of nuclear factor kappa-B                              |
| RANKL          | Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand                       |
| ROC            | receiver operating characteristic                                         |
| RUNX2          | runt-related transcription factor 2                                       |
| S1P            | shingosin-1-phosphate                                                     |
| SD             | standard deviáció                                                         |
| Sema3B         | semaphorin3B                                                              |
| SERM           | szelektív ösztrogénreceptor modulátorok                                   |
| SNP            | single nucleotide polymorphism-(egy pontos polimorfizmus)                 |
| SOST           | sclerostin                                                                |
| SP7            | SP7 transzkripció faktor (más néven osterix)                              |
| t-25OHD        | teljes 25-hidroxi-D-vitamin                                               |
| T-score        | a mért csontdenzitás csúcs-csonttömegtől való elérése szórásban kifejezve |
| TBC            | tuberculosis                                                              |
| TGF $\beta$    | transforming growth factor béta                                           |
| Th-1           | T helper cell 1- (1-es típusú T limfocita)                                |
| TLR            | toll-like receptor                                                        |
| TNF $\alpha$   | tumor necrosis factor alpha                                               |
| TRAP           | tartarát rezisztens acidfoszfataz                                         |
| TRPV6          | transient receptor potential cation channel subfamily V member 6          |
| TSH            | thyroid-stimulating hormone                                               |
| USD            | United States dollar                                                      |

|        |                                                                    |
|--------|--------------------------------------------------------------------|
| UV     | ultraviolett                                                       |
| UV-B   | ultraviolett B                                                     |
| VDR    | vitamin D receptor- (D-vitamin receptor)                           |
| VEGF   | vascular endothelial growth factor                                 |
| VNTR   | variable number tandem repeat (változó számú szakaszos ismétlődés) |
| WHI    | Women's Health Initiative                                          |
| WHO    | World Health Organization- Egészségügyi Világszervezet             |
| Wnt    | Wingless-related integration site gene family                      |
| Wnt10b | Wingless-related integration site gene 10b                         |

## VIII. Irodalomjegyzék

1. **Lakatos P, Takacs I, Szekeres L, Poór G.** A korral járó és a kortikoszteroidok indukálta osteoporosis diagnosztikus és terápiás protokollja - 2011 *Magyar reumatológia*. 2011;52:28-33
2. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organization technical report series*. 1994;843:1-129
3. **Wainwright SA, Marshall LM, Ensrud KE, Cauley JA, Black DM, Hillier TA, Hochberg MC, Vogt MT, Orwoll ES, Study of Osteoporotic Fractures Research G.** Hip fracture in women without osteoporosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90:2787-2793
4. **Szabo B, Tabak AG, Toldy E, Szekeres L, Szili B, Bakos B, Balla B, Kosa JP, Lakatos P, Takacs I.** The role of serum total and free 25-hydroxyvitamin D and PTH values in defining vitamin D status at the end of winter: a representative survey. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2015;
5. **Győri G** 2012 A csontok hagyományos röntgen vizsgálata. Budapest: Semmelweis Kiadó
6. **Melton LJ, 3rd.** How many women have osteoporosis now? *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1995;10:175-177
7. **Poor G, Kiss C, Szilagyi M, Mituszova M, O'Neill TW, Felsenberg D, Silman AJ.** [Prevalence of vertebral deformity in Hungary: the European Vertebral Osteoporosis Study]. *Orvosi hetilap*. 1997;138:2647-2652
8. **Johnell O, Kanis JA.** An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2006;17:1726-1733
9. **Gullberg B, Johnell O, Kanis JA.** World-wide projections for hip fracture. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 1997;7:407-413
10. **Jaglal SB, Weller I, Mamdani M, Hawker G, Kreder H, Jaakkimainen L, Adachi JD.** Population trends in BMD testing, treatment, and hip and wrist fracture rates: are the hip fracture projections wrong? *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2005;20:898-905
11. **Rogmark C, Sernbo I, Johnell O, Nilsson JA.** Incidence of hip fractures in Malmo, Sweden, 1992-1995. A trend-break. *Acta orthopaedica Scandinavica*. 1999;70:19-22
12. **Lakatos P, Toth E, Szekeres L, Poor G, Hejj G, Marton I, Takacs I.** Comparative statistical analysis of osteoporosis treatment based on Hungarian claims data and interpretation of the results in respect to cost-effectiveness. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2014;25:2077-2087
13. **Hansen MA, Overgaard K, Riis BJ, Christiansen C.** Role of peak bone mass and bone loss in postmenopausal osteoporosis: 12 year study. *Bmj*. 1991;303:961-964
14. **Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S.** Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *The Journal of clinical investigation*. 1987;80:706-710
15. **Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, Norton JA, Johnston CC, Jr.** Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1991;6:561-567
16. **Riggs BL, Khosla S, Melton LJ, 3rd.** A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and



- contributes to bone loss in aging men. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1998;13:763-773
17. **Manolagas SC.** From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocrine reviews*. 2010;31:266-300
  18. **Napoli N, Faccio R, Shrestha V, Bucchieri S, Rini GB, Armamento-Villareal R.** Estrogen metabolism modulates bone density in men. *Calcified tissue international*. 2007;80:227-232
  19. **Bord S, Horner A, Beavan S, Compston J.** Estrogen receptors alpha and beta are differentially expressed in developing human bone. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86:2309-2314
  20. **Eastell R.** Role of oestrogen in the regulation of bone turnover at the menarche. *The Journal of endocrinology*. 2005;185:223-234
  21. **Riggs BL, Khosla S, Melton LJ, 3rd.** Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocrine reviews*. 2002;23:279-302
  22. **Yendt ER, Kovacs KA, Jones G.** Secondary hyperparathyroidism in primary osteoporosis and osteopenia: optimizing calcium and vitamin D intakes to levels recommended by expert panels may not be sufficient for correction. *Clinical endocrinology*. 2008;69:855-863
  23. **Marie PJ, Kassem M.** Extrinsic mechanisms involved in age-related defective bone formation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96:600-609
  24. **Zebaze RM, Ghasem-Zadeh A, Bohte A, Iuliano-Burns S, Mirams M, Price RI, Mackie EJ, Seeman E.** Intracortical remodelling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: a cross-sectional study. *Lancet*. 2010;375:1729-1736
  25. **Boonen S, Koutri R, Dequeker J, Aerssens J, Lowet G, Nijs J, Verbeke G, Lesaffre E, Geusens P.** Measurement of Femoral Geometry in Type-I and Type-II Osteoporosis - Differences in Hip Axis Length Consistent with Heterogeneity in the Pathogenesis of Osteoporotic Fractures. *Journal of Bone and Mineral Research*. 1995;10:1908-1912
  26. **Jian WX, Long JR, Deng HW.** High heritability of bone size at the hip and spine in Chinese. *Journal of human genetics*. 2004;49:87-91
  27. **Yakar S, Rosen CJ, Beamer WG, Ackert-Bicknell CL, Wu Y, Liu JL, Ooi GT, Setser J, Frystyk J, Boisclair YR, LeRoith D.** Circulating levels of IGF-1 directly regulate bone growth and density. *The Journal of clinical investigation*. 2002;110:771-781
  28. **Hattner R, Epker BN, Frost HM.** Suggested sequential mode of control of changes in cell behaviour in adult bone remodelling. *Nature*. 1965;206:489-490
  29. **Sims NA, Martin TJ.** Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit. *BoneKEy reports*. 2014;3:481
  30. **Hauge EM, Qvesel D, Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F.** Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2001;16:1575-1582
  31. **Verborgt O, Gibson GJ, Schaffler MB.** Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2000;15:60-67
  32. **Kristensen HB, Andersen TL, Marcussen N, Rolighed L, Delaisse JM.** Increased presence of capillaries next to remodeling sites in adult human cancellous bone. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2013;28:574-585
  33. **Ishii M, Kikuta J, Shimazu Y, Meier-Schellersheim M, Germain RN.** Chemorepulsion by blood S1P regulates osteoclast precursor mobilization and bone remodeling in vivo. *The Journal of experimental medicine*. 2010;207:2793-2798

34. **Matsuzaki K, Udagawa N, Takahashi N, Yamaguchi K, Yasuda H, Shima N, Morinaga T, Toyama Y, Yabe Y, Higashio K, Suda T.** Osteoclast differentiation factor (ODF) induces osteoclast-like cell formation in human peripheral blood mononuclear cell cultures. *Biochemical and biophysical research communications*. 1998;246:199-204
35. **Wythe SE, Nicolaidou V, Horwood NJ.** Cells of the immune system orchestrate changes in bone cell function. *Calcified tissue international*. 2014;94:98-111
36. **Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ.** Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*. 1998;93:165-176
37. **Sutton AL, Zhang X, Dowd DR, Kharode YP, Komm BS, Macdonald PN.** Semaphorin 3B is a 1,25-Dihydroxyvitamin D3-induced gene in osteoblasts that promotes osteoclastogenesis and induces osteopenia in mice. *Molecular endocrinology*. 2008;22:1370-1381
38. **Tang Y, Wu X, Lei W, Pang L, Wan C, Shi Z, Zhao L, Nagy TR, Peng X, Hu J, Feng X, Van Hul W, Wan M, Cao X.** TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation. *Nature medicine*. 2009;15:757-765
39. **Xian L, Wu X, Pang L, Lou M, Rosen CJ, Qiu T, Crane J, Frassica F, Zhang L, Rodriguez JP, Xiaofeng J, Shoshana Y, Shouhong X, Argiris E, Mei W, Xu C.** Matrix IGF-1 maintains bone mass by activation of mTOR in mesenchymal stem cells. *Nature medicine*. 2012;18:1095-1101
40. **Yee JA, Yan L, Dominguez JC, Allan EH, Martin TJ.** Plasminogen-dependent activation of latent transforming growth factor beta (TGF beta) by growing cultures of osteoblast-like cells. *Journal of cellular physiology*. 1993;157:528-534
41. **Campbell PG, Novak JF, Yanosick TB, McMaster JH.** Involvement of the plasmin system in dissociation of the insulin-like growth factor-binding protein complex. *Endocrinology*. 1992;130:1401-1412
42. **Walker EC, McGregor NE, Poulton IJ, Pompolo S, Allan EH, Quinn JM, Gillespie MT, Martin TJ, Sims NA.** Cardiotrophin-1 is an osteoclast-derived stimulus of bone formation required for normal bone remodeling. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2008;23:2025-2032
43. **Pederson L, Ruan M, Westendorf JJ, Khosla S, Oursler MJ.** Regulation of bone formation by osteoclasts involves Wnt/BMP signaling and the chemokine sphingosine-1-phosphate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008;105:20764-20769
44. **Vukicevic S, Grgurevic L.** BMP-6 and mesenchymal stem cell differentiation. *Cytokine & growth factor reviews*. 2009;20:441-448
45. **Bonewald LF.** The amazing osteocyte. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2011;26:229-238
46. **Walker EC, McGregor NE, Poulton IJ, Solano M, Pompolo S, Fernandes TJ, Constable MJ, Nicholson GC, Zhang JG, Nicola NA, Gillespie MT, Martin TJ, Sims NA.** Oncostatin M promotes bone formation independently of resorption when signaling through leukemia inhibitory factor receptor in mice. *The Journal of clinical investigation*. 2010;120:582-592
47. **Allan EH, Hausler KD, Wei T, Gooi JH, Quinn JM, Crimeen-Irwin B, Pompolo S, Sims NA, Gillespie MT, Onyia JE, Martin TJ.** EphrinB2 regulation by PTH and PTHrP revealed by molecular profiling in differentiating osteoblasts. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2008;23:1170-1181
48. **Sapir-Koren R, Livshits G.** Osteocyte control of bone remodeling: is sclerostin a key molecular coordinator of the balanced bone resorption-formation cycles? *Osteoporosis international : a*

- journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2014;25:2685-2700
49. **Takyar FM, Tonna S, Ho PW, Crimeen-Irwin B, Baker EK, Martin TJ, Sims NA.** EphrinB2/EphB4 inhibition in the osteoblast lineage modifies the anabolic response to parathyroid hormone. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 2013;28:912-925
  50. **Tu X, Joeng KS, Nakayama KI, Nakayama K, Rajagopal J, Carroll TJ, McMahon AP, Long F.** Noncanonical Wnt signaling through G protein-linked PKCdelta activation promotes bone formation. *Developmental cell.* 2007;12:113-127
  51. **Miao D, He B, Jiang Y, Kobayashi T, Soroceanu MA, Zhao J, Su H, Tong X, Amizuka N, Gupta A, Genant HK, Kronenberg HM, Goltzman D, Karaplis AC.** Osteoblast-derived PTHrP is a potent endogenous bone anabolic agent that modifies the therapeutic efficacy of administered PTH 1-34. *The Journal of clinical investigation.* 2005;115:2402-2411
  52. **Hayashi M, Nakashima T, Taniguchi M, Kodama T, Kumanogoh A, Takayanagi H.** Osteoprotection by semaphorin 3A. *Nature.* 2012;485:69-74
  53. **Adami S, Isaia G, Luisetto G, Minisola S, Sinigaglia L, Gentilella R, Agnusdei D, Iori N, Nuti R, Group IS.** Fracture incidence and characterization in patients on osteoporosis treatment: the ICARO study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 2006;21:1565-1570
  54. **Cauley JA, Robbins J, Chen Z, Cummings SR, Jackson RD, LaCroix AZ, LeBoff M, Lewis CE, McGowan J, Neuner J, Pettinger M, Stefanick ML, Wactawski-Wende J, Watts NB, Women's Health Initiative I.** Effects of estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density: the Women's Health Initiative randomized trial. *Jama.* 2003;290:1729-1738
  55. **Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, LaCroix AZ, Kooperberg C, Stefanick ML, Jackson RD, Beresford SA, Howard BV, Johnson KC, Kotchen JM, Ockene J, Writing Group for the Women's Health Initiative I.** Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *Jama.* 2002;288:321-333
  56. **Banks E, Canfell K.** Invited Commentary: Hormone therapy risks and benefits--The Women's Health Initiative findings and the postmenopausal estrogen timing hypothesis. *American journal of epidemiology.* 2009;170:24-28
  57. **Ettinger B, Black DM, Mitlak BH, Knickerbocker RK, Nickelsen T, Genant HK, Christiansen C, Delmas PD, Zanchetta JR, Stakkestad J, Gluer CC, Krueger K, Cohen FJ, Eckert S, Ensrud KE, Avioli LV, Lips P, Cummings SR.** Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators. *Jama.* 1999;282:637-645
  58. **Cummings SR, Eckert S, Krueger KA, Grady D, Powles TJ, Cauley JA, Norton L, Nickelsen T, Bjarnason NH, Morrow M, Lippman ME, Black D, Glusman JE, Costa A, Jordan VC.** The effect of raloxifene on risk of breast cancer in postmenopausal women: results from the MORE randomized trial. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation. *Jama.* 1999;281:2189-2197
  59. **Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, Bauer DC, Genant HK, Haskell WL, Marcus R, Ott SM, Torner JC, Quandt SA, Reiss TF, Ensrud KE.** Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet.* 1996;348:1535-1541
  60. **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 G.** Effect of risedronate on the risk of hip fracture in elderly women. Hip Intervention Program Study Group. *The New England journal of medicine.* 2001;344:333-340

61. **Black DM, Delmas PD, Eastell R, Reid IR, Boonen S, Cauley JA, Cosman F, Lakatos P, Leung PC, Man Z, Mautalen C, Mesenbrink P, Hu H, Caminis J, Tong K, Rosario-Jansen T, Krasnow J, Hue TF, Sellmeyer D, Eriksen EF, Cummings SR, Trial HPF.** Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis. *The New England journal of medicine*. 2007;356:1809-1822
62. **Black DM, Reid IR, Boonen S, Bucci-Rechtweg C, Cauley JA, Cosman F, Cummings SR, Hue TF, Lippuner K, Lakatos P, Leung PC, Man Z, Martinez RL, Tan M, Ruzicky ME, Su G, Eastell R.** The effect of 3 versus 6 years of zoledronic acid treatment of osteoporosis: a randomized extension to the HORIZON-Pivotal Fracture Trial (PFT). *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2012;27:243-254
63. **Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR, Delmas P, Zoog HB, Austin M, Wang A, Kutilek S, Adami S, Zanchetta J, Libanati C, Siddhanti S, Christiansen C, Trial F.** Denosumab for Prevention of Fractures in Postmenopausal Women with Osteoporosis. *New Engl J Med*. 2009;361:756-765
64. **Seeman E, Delmas PD, Hanley DA, Sellmeyer D, Cheung AM, Shane E, Kearns A, Thomas T, Boyd SK, Boutroy S, Bogado C, Majumdar S, Fan M, Libanati C, Zanchetta J.** Microarchitectural deterioration of cortical and trabecular bone: differing effects of denosumab and alendronate. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2010;25:1886-1894
65. **Papapoulos S, Chapurlat R, Libanati C, Brandi ML, Brown JP, Czerwinski E, Krieg MA, Man Z, Mellstrom D, Radominski SC, Reginster JY, Resch H, Roman Ivorra JA, Roux C, Vittinghoff E, Austin M, Daizadeh N, Bradley MN, Grauer A, Cummings SR, Bone HG.** Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the first two years of the FREEDOM extension. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2012;27:694-701
66. **Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, Cannata J, Balogh A, Lemmel EM, Pors-Nielsen S, Rizzoli R, Genant HK, Reginster JY.** The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *The New England journal of medicine*. 2004;350:459-468
67. **Reginster JY, Kaufman JM, Goemaere S, Devogelaer JP, Benhamou CL, Felsenberg D, Diaz-Curiel M, Brandi ML, Badurski J, Wark J, Balogh A, Bruyere O, Roux C.** Maintenance of antifracture efficacy over 10 years with strontium ranelate in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2012;23:1115-1122
68. **Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK, Wang O, Mitlak BH.** Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *The New England journal of medicine*. 2001;344:1434-1441
69. **Orwoll ES, Scheele WH, Paul S, Adami S, Syversen U, Diez-Perez A, Kaufman JM, Clancy AD, Gaich GA.** The effect of teriparatide [human parathyroid hormone (1-34)] therapy on bone density in men with osteoporosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2003;18:9-17
70. **Saag KG, Shane E, Boonen S, Marin F, Donley DW, Taylor KA, Dalsky GP, Marcus R.** Teriparatide or alendronate in glucocorticoid-induced osteoporosis. *The New England journal of medicine*. 2007;357:2028-2039
71. **Cramer JA, Roy A, Burrell A, Fairchild CJ, Fuldeore MJ, Ollendorf DA, Wong PK.** Medication compliance and persistence: terminology and definitions. *Value in health : the journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research*. 2008;11:44-47

72. **Podell RN, Gary LR.** Compliance: a problem in medical management. *American family physician.* 1976;13:74-80
73. **Ravnikar VA.** Compliance with hormone therapy. *American journal of obstetrics and gynecology.* 1987;156:1332-1334
74. **MacIntyre I, Stevenson JC, Whitehead MI, Wimalawansa SJ, Banks LM, Healy MJ.** Calcitonin for prevention of postmenopausal bone loss. *Lancet.* 1988;1:900-902
75. **Kamatari M, Koto S, Ozawa N, Urao C, Suzuki Y, Akasaka E, Yanagimoto K, Sakota K.** Factors affecting long-term compliance of osteoporotic patients with bisphosphonate treatment and QOL assessment in actual practice: alendronate and risedronate. *Journal of bone and mineral metabolism.* 2007;25:302-309
76. **Keen R, Jodar E, Iolascon G, Kruse HP, Varbanov A, Mann B, Gold DT.** European women's preference for osteoporosis treatment: influence of clinical effectiveness and dosing frequency. *Current medical research and opinion.* 2006;22:2375-2381
77. **Carr AJ, Thompson PW, Cooper C.** Factors associated with adherence and persistence to bisphosphonate therapy in osteoporosis: a cross-sectional survey. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2006;17:1638-1644
78. **McHorney CA, Schousboe JT, Cline RR, Weiss TW.** The impact of osteoporosis medication beliefs and side-effect experiences on non-adherence to oral bisphosphonates. *Current medical research and opinion.* 2007;23:3137-3152
79. **Lakatos P, Takacs I, Marton I, Toth E, Zoltan C, Lang Z, Psachoulia E, Intorcia M.** A Retrospective Longitudinal Database Study of Persistence and Compliance with Treatment of Osteoporosis in Hungary. *Calcified tissue international.* 2016;98:215-225
80. **Arden NK, Earl S, Fisher DJ, Cooper C, Carruthers S, Goater M.** Persistence with teriparatide in patients with osteoporosis: the UK experience. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2006;17:1626-1629
81. **Caro JJ, Ishak KJ, Huybrechts KF, Raggio G, Naujoks C.** The impact of compliance with osteoporosis therapy on fracture rates in actual practice. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2004;15:1003-1008
82. **Huybrechts KF, Ishak KJ, Caro JJ.** Assessment of compliance with osteoporosis treatment and its consequences in a managed care population. *Bone.* 2006;38:922-928
83. **O'Neill TW, Felsenberg D, Varlow J, Cooper C, Kanis JA, Silman AJ.** The prevalence of vertebral deformity in european men and women: the European Vertebral Osteoporosis Study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 1996;11:1010-1018
84. **Van der Klift M, De Laet CE, McCloskey EV, Hofman A, Pols HA.** The incidence of vertebral fractures in men and women: the Rotterdam Study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 2002;17:1051-1056
85. **Siris E, Adachi JD, Lu Y, Fuerst T, Crans GG, Wong M, Harper KD, Genant HK.** Effects of raloxifene on fracture severity in postmenopausal women with osteoporosis: results from the MORE study. Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2002;13:907-913
86. **Ross PD.** Clinical consequences of vertebral fractures. *The American journal of medicine.* 1997;103:30S-42S; discussion 42S-43S

87. **Melton LJ, 3rd, Atkinson EJ, Cooper C, O'Fallon WM, Riggs BL.** Vertebral fractures predict subsequent fractures. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 1999;10:214-221
88. **Center JR, Nguyen TV, Schneider D, Sambrook PN, Eisman JA.** Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. *Lancet.* 1999;353:878-882
89. **Lauritzen JB.** Hip fractures. Epidemiology, risk factors, falls, energy absorption, hip protectors, and prevention. *Danish medical bulletin.* 1997;44:155-168
90. **Kannus P, Parkkari J, Sievanen H, Heinonen A, Vuori I, Jarvinen M.** Epidemiology of hip fractures. *Bone.* 1996;18:57S-63S
91. **Kazar G, Szepesi A, Manninger J.** [Epidemiology, therapeutic and rehabilitation problems in hip fractures]. *Orvosi hetilap.* 1987;128:1505-1508
92. **Poór G.** Az osteoporosis, a csigolyadeformitások és a proximális femurtörések klinikai-epidemiológiai vonatkozásai. . In: Akadémiai doktori értekezés. Budapest: Magyar Tudományos Akadémia; 1999;
93. **Pentek M, Horvath C, Boncz I, Falusi Z, Toth E, Sebestyen A, Majer I, Brodszky V, Gulacsi L.** Epidemiology of osteoporosis related fractures in Hungary from the nationwide health insurance database, 1999-2003. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA.* 2008;19:243-249
94. **Héjj G.** Csípőtáji törések hazánkban 2001-2008 között – A biszfoszfonátok csípőtáji törési kockázatot csökkentő hatásának vizsgálata hazai adatok alapján. *Ca és Csont.* 2009;12:103-104
95. **Kazar G, Cserhati P, Melly A, Manninger J, Kadas I.** [Five-year follow up of patients with femoral neck fractures]. *Orvosi hetilap.* 1997;138:3173-3177
96. **Torio CM, Andrews RM.** National Inpatient Hospital Costs: The Most Expensive Conditions by Payer, 2011. In: Quality AfHRA ed. Rockville, MD: HCUP Statistical Brief #160; 2013;
97. **Sebestyen A, Boncz I, Nyarady J.** [Analysis of health insurance costs in cases of patients under 60 years old with medial femoral neck fracture treated primarily with screw fixation or hip replacement]. *Orvosi hetilap.* 2006;147:1129-1135
98. **Holick MF** 1989 Phylogenetic and evolutionary aspects of vitamin D from phytoplankton to humans. In: Pang PKT, MP S eds. Vertebrate endocrinology: fundamentals and biomedical implications. Orlando, FL: Academic Press, Inc (Harcourt Brace Jovanovich); 7-43
99. **Holick MF, Chen TC.** Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *The American journal of clinical nutrition.* 2008;87:1080S-1086S
100. **Moan J, Porojnicu AC, Dahlback A, Setlow RB.** Addressing the health benefits and risks, involving vitamin D or skin cancer, of increased sun exposure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2008;105:668-673
101. **Holick MF, Chen TC, Lu Z, Sauter E.** Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *Journal of Bone & Mineral Research.* 2007;22 Suppl 2:V28-33
102. **Holick MF.** Vitamin D deficiency. *The New England journal of medicine.* 2007;357:266-281
103. **Holick MF.** Vitamin D: a D-Lightful health perspective. *Nutrition reviews.* 2008;66:S182-194
104. **Barger-Lux MJ, Heaney RP.** Effects of above average summer sun exposure on serum 25-hydroxyvitamin D and calcium absorption. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2002;87:4952-4956
105. **Lugtenburg J, Havinga E.** Studies on vitamin D and related compounds XX. The conformation of tachysterol; N. O. E. and 220 MHz N. M. R. *Tetrahedron letters.* 1969:2391-2394

106. **Need AG, Morris HA, Horowitz M, Nordin C.** Effects of skin thickness, age, body fat, and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1993;58:882-885
107. **Jones G, Dwyer T.** Bone mass in prepubertal children: gender differences and the role of physical activity and sunlight exposure. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1998;83:4274-4279
108. **Sato Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K.** Amelioration of osteoporosis and hypovitaminosis D by sunlight exposure in hospitalized, elderly women with Alzheimer's disease: a randomized controlled trial. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2005;20:1327-1333
109. **Zajkas G, Biro L, Greiner E, Szorad I, Agoston H, Balazs A, Vitrai J, Hermann D, Boros J, Nemeth R, Keki Z, Martos E.** [Dietary survey in Hungary, 2003-2004. Micronutrients: vitamins]. *Orvosi hetilap*. 2007;148:1593-1600
110. **Heaney RP.** Vitamin D endocrine physiology. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2007;22 Suppl 2:V25-27
111. **DeLuca HF.** Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2004;80:1689S-1696S
112. **Tangpricha V, Flanagan JN, Whitlatch LW, Tseng CC, Chen TC, Holt PR, Lipkin MS, Holick MF.** 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylase in normal and malignant colon tissue. *Lancet*. 2001;357:1673-1674
113. **Somjen D, Weisman Y, Kohen F, Gayer B, Limor R, Sharon O, Jaccard N, Knoll E, Stern N.** 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase is expressed in human vascular smooth muscle cells and is upregulated by parathyroid hormone and estrogenic compounds. *Circulation*. 2005;111:1666-1671
114. **Eelen G, Verlinden L, van Camp M, van Hummelen P, Marchal K, de Moor B, Mathieu C, Carmeliet G, Bouillon R, Verstuyf A.** The effects of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 on the expression of DNA replication genes. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2004;19:133-146
115. **Ellison TI, Dowd DR, MacDonald PN.** Calmodulin-dependent kinase IV stimulates vitamin D receptor-mediated transcription. *Molecular endocrinology*. 2005;19:2309-2319
116. **Kim S, Shevde NK, Pike JW.** 1,25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates cyclic vitamin D receptor/retinoid X receptor DNA-binding, co-activator recruitment, and histone acetylation in intact osteoblasts. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2005;20:305-317
117. **Jones G.** Assay of vitamins D2 and D3, and 25-hydroxyvitamins D2 and D3 in human plasma by high-performance liquid chromatography. *Clinical chemistry*. 1978;24:287-298
118. **Priemel M, von Dörmann C, Klatte TO, Kessler S, Schlie J, Meier S, Proksch N, Pastor F, Netter C, Streichert T, Puschel K, Amling M.** Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2010;25:305-312
119. **Yoshizawa T, Handa Y, Uematsu Y, Takeda S, Sekine K, Yoshihara Y, Kawakami T, Arioka K, Sato H, Uchiyama Y, Masushige S, Fukamizu A, Matsumoto T, Kato S.** Mice lacking the vitamin D receptor exhibit impaired bone formation, uterine hypoplasia and growth retardation after weaning. *Nature genetics*. 1997;16:391-396
120. **Peng JB, Chen XZ, Berger UV, Vassilev PM, Tsukaguchi H, Brown EM, Hediger MA.** Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J Biol Chem*. 1999;274:22739-22746

121. **Duque G, Macoritto M, Kremer R.** 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> inhibits bone marrow adipogenesis in senescence accelerated mice (SAM-P/6) by decreasing the expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma 2 (PPARgamma2). *Experimental gerontology*. 2004;39:333-338
122. **Sammons J, Ahmed N, El-Sheemy M, Hassan HT.** The role of BMP-6, IL-6, and BMP-4 in mesenchymal stem cell-dependent bone development: effects on osteoblastic differentiation induced by parathyroid hormone and vitamin D(3). *Stem cells and development*. 2004;13:273-280
123. **Gardiner EM, Baldock PA, Thomas GP, Sims NA, Henderson NK, Hollis B, White CP, Sunn KL, Morrison NA, Walsh WR, Eisman JA.** Increased formation and decreased resorption of bone in mice with elevated vitamin D receptor in mature cells of the osteoblastic lineage. *Faseb J*. 2000;14:1908-1916
124. **Mellanby E.** A Lecture on THE RELATION OF DIET TO HEALTH AND DISEASE: SOME RECENT INVESTIGATIONS. *British medical journal*. 1930;1:677-681
125. **Fraser D, Kooh SW, Kind HP, Holick MF, Tanaka Y, DeLuca HF.** Pathogenesis of hereditary vitamin-D-dependent rickets. An inborn error of vitamin D metabolism involving defective conversion of 25-hydroxyvitamin D to 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D. *The New England journal of medicine*. 1973;289:817-822
126. **Kreiter SR, Schwartz RP, Kirkman HN, Jr., Charlton PA, Calikoglu AS, Davenport ML.** Nutritional rickets in African American breast-fed infants. *J Pediatr*. 2000;137:153-157
127. **Lamy M, Royer P, Frezal J, Lestrade H.** [Primary hypophosphatemic vitamin-resistant familial rickets]. *Archives francaises de pediatrie*. 1958;15:1-24
128. **Cai Q, Hodgson SF, Kao PC, Lennon VA, Klee GG, Zinsmeister AR, Kumar R.** Brief report: inhibition of renal phosphate transport by a tumor product in a patient with oncogenic osteomalacia. *The New England journal of medicine*. 1994;330:1645-1649
129. **Olgun H, Ceviz N, Ozkan B.** A case of dilated cardiomyopathy due to nutritional vitamin D deficiency rickets. *Turk J Pediatr*. 2003;45:152-154
130. **Seitz S, Koehne T, Ries C, De Novo Oliveira A, Barvencik F, Busse B, Eulenburg C, Schinke T, Puschel K, Rueger JM, Amling M, Pogoda P.** Impaired bone mineralization accompanied by low vitamin D and secondary hyperparathyroidism in patients with femoral neck fracture. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2013;24:641-649
131. **Stoffels K, Overbergh L, Giuliatti A, Verlinden L, Bouillon R, Mathieu C.** Immune regulation of 25-hydroxyvitamin-D<sub>3</sub>-1alpha-hydroxylase in human monocytes. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2006;21:37-47
132. **Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, Garland CF, Giovannucci E.** Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiology and infection*. 2006;134:1129-1140
133. **Cantorna MT, Mahon BD.** Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*. 2004;229:1136-1142
134. **Pierrot-Deseilligny C, Souberbielle JC.** Is hypovitaminosis D one of the environmental risk factors for multiple sclerosis? *Brain : a journal of neurology*. 2010;133:1869-1888
135. **Sotirchos ES, Bhargava P, Eckstein C, Van Haren K, Baynes M, Ntranos A, Gocke A, Steinman L, Mowry EM, Calabresi PA.** Safety and immunologic effects of high- vs low-dose cholecalciferol in multiple sclerosis. *Neurology*. 2016;86:382-390



136. **Stein EM, Shane E.** Vitamin D in organ transplantation. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2011;22:2107-2118
137. **Norman AW, Frankel JB, Heldt AM, Grodsky GM.** Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science*. 1980;209:823-825
138. **Brekke HK, Ludvigsson J.** Vitamin D supplementation and diabetes-related autoimmunity in the ABIS study. *Pediatr Diabetes*. 2007;8:11-14
139. **Giulietti A, Gysemans C, Stoffels K, van Etten E, Decallonne B, Overbergh L, Bouillon R, Mathieu C.** Vitamin D deficiency in early life accelerates Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetologia*. 2004;47:451-462
140. **Orwoll E, Riddle M, Prince M.** Effects of vitamin D on insulin and glucagon secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *The American journal of clinical nutrition*. 1994;59:1083-1087
141. **Kim DH, Sabour S, Sagar UN, Adams S, Whellan DJ.** Prevalence of hypovitaminosis D in cardiovascular diseases (from the National Health and Nutrition Examination Survey 2001 to 2004). *Am J Cardiol*. 2008;102:1540-1544
142. **Tishkoff DX, Nibbelink KA, Holmberg KH, Dandu L, Simpson RU.** Functional vitamin D receptor (VDR) in the t-tubules of cardiac myocytes: VDR knockout cardiomyocyte contractility. *Endocrinology*. 2008;149:558-564
143. **Zittermann A.** Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Progress in Biophysics & Molecular Biology*. 2006;92:39-48
144. **Talmor Y, Golan E, Benchetrit S, Bernheim J, Klein O, Green J, Rashid G.** Calcitriol blunts the deleterious impact of advanced glycation end products on endothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;294:F1059-1064
145. **Giovannucci E, Liu Y, Hollis BW, Rimm EB.** 25-hydroxyvitamin D and risk of myocardial infarction in men: a prospective study. *Arch Intern Med*. 2008;168:1174-1180
146. **James SY, Mackay AG, Colston KW.** Effects of 1,25 dihydroxyvitamin D3 and its analogues on induction of apoptosis in breast cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 1996;58:395-401
147. **Nakagawa K, Kawaura A, Kato S, Takeda E, Okano T.** 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a preventive factor in the metastasis of lung cancer. *Carcinogenesis*. 2005;26:429-440
148. **Zinser GM, Suckow M, Welsh J.** Vitamin D receptor (VDR) ablation alters carcinogen-induced tumorigenesis in mammary gland, epidermis and lymphoid tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2005;97:153-164
149. **Balla B, Tobias B, Kosa JP, Podani J, Horvath P, Nagy Z, Horanyi J, Jaray B, Szekely E, Krenacs L, Arvai K, Dank M, Putz Z, Szabo B, Szili B, Valkusz Z, Vasas B, Gyori G, Lakatos P, Takacs I.** Vitamin D-neutralizing CYP24A1 expression, oncogenic mutation states and histological findings of human papillary thyroid cancer. *Journal of endocrinological investigation*. 2015;38:313-321
150. **Garland CF, Garland FC.** Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *International journal of epidemiology*. 1980;9:227-231
151. **Kristal AR, Cohen JH, Qu P, Stanford JL.** Associations of energy, fat, calcium, and vitamin D with prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11:719-725
152. **Brunner RL, Wactawski-Wende J, Caan BJ, Cochrane BB, Chlebowski RT, Gass ML, Jacobs ET, LaCroix AZ, Lane D, Larson J, Margolis KL, Millen AE, Sarto GE, Vitolins MZ, Wallace RB.** The effect of calcium plus vitamin D on risk for invasive cancer: results of the Women's Health Initiative (WHI) calcium plus vitamin D randomized clinical trial. *Nutrition and cancer*. 2011;63:827-841

153. **Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP.** Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;85:1586-1591
154. **Yin L, Grandi N, Raum E, Haug U, Arndt V, Brenner H.** Meta-analysis: longitudinal studies of serum vitamin D and colorectal cancer risk. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2009;30:113-125
155. **Heine-Broring RC, Winkels RM, Renkema JM, Kragt L, van Orten-Luiten AC, Tigchelaar EF, Chan DS, Norat T, Kampman E.** Dietary supplement use and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analyses of prospective cohort studies. *International journal of cancer*. 2015;136:2388-2401
156. **Gandini S, Boniol M, Haukka J, Byrnes G, Cox B, Sneyd MJ, Mullie P, Autier P.** Meta-analysis of observational studies of serum 25-hydroxyvitamin D levels and colorectal, breast and prostate cancer and colorectal adenoma. *International journal of cancer*. 2011;128:1414-1424
157. **Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, Rosen CJ, Shapses SA.** The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96:53-58
158. **Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM.** Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96:1911-1930
159. **McKenna MJ, Murray BF.** Vitamin D dose response is underestimated by Endocrine Society's Clinical Practice Guideline. *Endocrine connections*. 2013;2:87-95
160. **Takacs I, Benko I, Toldy E, Wikonkál N, Szekeres L, Bodolay E, Kiss E, Szabó B, Valkusz Z, Kovács T, Szabó A, Bittner N, Várbió S, Sziller I, Császár A, Kiss R, Lakatos P.** Hungarian Consensus about the vitamin D effects on prevention and treatment of diseases. *Magyar Orvos*. 2014;Suppl 2014/1
161. **Ish-Shalom S, Segal E, Salganik T, Raz B, Bromberg IL, Vieth R.** Comparison of daily, weekly, and monthly vitamin D3 in ethanol dosing protocols for two months in elderly hip fracture patients. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93:3430-3435
162. **Chel V, Wijnhoven HA, Smit JH, Ooms M, Lips P.** Efficacy of different doses and time intervals of oral vitamin D supplementation with or without calcium in elderly nursing home residents. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2008;19:663-671
163. **Narang NK, Gupta RC, Jain MK.** Role of vitamin D in pulmonary tuberculosis. *The Journal of the Association of Physicians of India*. 1984;32:185-188
164. **Hathcock JN, Shao A, Vieth R, Heaney R.** Risk assessment for vitamin D. *The American journal of clinical nutrition*. 2007;85:6-18
165. **Bollerslev J.** Osteopetrosis. A genetic and epidemiological study. *Clinical genetics*. 1987;31:86-90
166. **Szekely G, Winkler V, Tarkovacs G, Hosszufalusi N, Vertes P.** [Albers-Schonberg disease]. *Orvosi hetilap*. 1995;136:501-505
167. **Frattini A, Pangrazio A, Susani L, Sobacchi C, Mirolo M, Abinun M, Andolina M, Flanagan A, Horwitz EM, Mihci E, Notarangelo LD, Ramenghi U, Teti A, Van Hove J, Vujic D, Young T, Albertini A, Orchard PJ, Vezzoni P, Villa A.** Chloride channel CICN7 mutations are responsible for severe recessive, dominant, and intermediate osteopetrosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2003;18:1740-1747

168. **Kornak U, Kasper D, Bosl MR, Kaiser E, Schweizer M, Schulz A, Friedrich W, Delling G, Jentsch TJ.** Loss of the CIC-7 chloride channel leads to osteopetrosis in mice and man. *Cell*. 2001;104:205-215
169. **Pangrazio A, Poliani PL, Megarbane A, Lefranc G, Lanino E, Di Rocco M, Rucci F, Lucchini F, Ravanini M, Facchetti F, Abinun M, Vezzoni P, Villa A, Frattini A.** Mutations in OSTM1 (grey lethal) define a particularly severe form of autosomal recessive osteopetrosis with neural involvement. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2006;21:1098-1105
170. **Guerrini MM, Sobacchi C, Cassani B, Abinun M, Kilic SS, Pangrazio A, Moratto D, Mazzolari E, Clayton-Smith J, Orchard P, Coxon FP, Helfrich MH, Crockett JC, Mellis D, Vellodi A, Tezcan I, Notarangelo LD, Rogers MJ, Vezzoni P, Villa A, Frattini A.** Human osteoclast-poor osteopetrosis with hypogammaglobulinemia due to TNFRSF11A (RANK) mutations. *American journal of human genetics*. 2008;83:64-76
171. **Sobacchi C, Frattini A, Guerrini MM, Abinun M, Pangrazio A, Susani L, Bredius R, Mancini G, Cant A, Bishop N, Grabowski P, Del Fattore A, Messina C, Errigo G, Coxon FP, Scott DI, Teti A, Rogers MJ, Vezzoni P, Villa A, Helfrich MH.** Osteoclast-poor human osteopetrosis due to mutations in the gene encoding RANKL. *Nature genetics*. 2007;39:960-962
172. **Van Wesenbeeck L, Cleiren E, Gram J, Beals RK, Benichou O, Scopelliti D, Key L, Renton T, Bartels C, Gong Y, Warman ML, De Vernejoul MC, Bollerslev J, Van Hul W.** Six novel missense mutations in the LDL receptor-related protein 5 (LRP5) gene in different conditions with an increased bone density. *American journal of human genetics*. 2003;72:763-771
173. **Cleiren E, Benichou O, Van Hul E, Gram J, Bollerslev J, Singer FR, Beaverson K, Aledo A, Whyte MP, Yoneyama T, deVernejoul MC, Van Hul W.** Albers-Schonberg disease (autosomal dominant osteopetrosis, type II) results from mutations in the CICN7 chloride channel gene. *Human molecular genetics*. 2001;10:2861-2867
174. **Whyte MP, Kempa LG, McAlister WH, Zhang F, Mumm S, Wenkert D.** Elevated serum lactate dehydrogenase isoenzymes and aspartate transaminase distinguish Albers-Schonberg disease (Chloride Channel 7 Deficiency Osteopetrosis) among the sclerosing bone disorders. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2010;25:2515-2526
175. **Del Fattore A, Peruzzi B, Rucci N, Recchia I, Cappariello A, Longo M, Fortunati D, Ballanti P, Iacobini M, Luciani M, Devito R, Pinto R, Caniglia M, Lanino E, Messina C, Cesaro S, Letizia C, Bianchini G, Fryssira H, Grabowski P, Shaw N, Bishop N, Hughes D, Kapur RP, Datta HK, Taranta A, Fornari R, Migliaccio S, Teti A.** Clinical, genetic, and cellular analysis of 49 osteopetrotic patients: implications for diagnosis and treatment. *Journal of medical genetics*. 2006;43:315-325
176. **Sly WS, Whyte MP, Sundaram V, Tashian RE, Hewett-Emmett D, Guibaud P, Vainsel M, Baluarte HJ, Gruskin A, Al-Mosawi M, et al.** Carbonic anhydrase II deficiency in 12 families with the autosomal recessive syndrome of osteopetrosis with renal tubular acidosis and cerebral calcification. *The New England journal of medicine*. 1985;313:139-145
177. **Baker SL, Turnbull HM.** Two cases of a hitherto undescribed disease characterized by a gross defect in the collagen of the bone matrix. *J Pathol Bacteriol*. 1950;62:132-134
178. **Coursey C, Weber T, Dodd L, Martinez S.** Fibrogenesis imperfecta ossium: MR imaging of the axial and appendicular skeleton and correlation with a unique radiographic appearance. *Skeletal radiology*. 2007;36:1077-1084
179. **Christmann D, Wenger JJ, Dosch JC, Schraub M, Wackenheim A.** [Axial osteomalacia. Comparative analysis with fibrogenesis imperfecta ossium (author's transl)]. *Journal de radiologie*. 1981;62:37-41

180. **Ebeling PR, Smith R, Brown MA.** Fibrogenesis imperfecta ossium - Symptomatic and histologic improvement with melphalan therapy. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2003;18:S415-S415
181. **Arden NK, Baker J, Hogg C, Baan K, Spector TD.** The heritability of bone mineral density, ultrasound of the calcaneus and hip axis length: a study of postmenopausal twins. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1996;11:530-534
182. **Garnero P, Arden NK, Griffiths G, Delmas PD, Spector TD.** Genetic influence on bone turnover in postmenopausal twins. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1996;81:140-146
183. **Kelly PJ, Hopper JL, Macaskill GT, Pocock NA, Sambrook PN, Eisman JA.** Genetic-Factors in Bone Turnover. *J Clin Endocr Metab*. 1991;72:808-813
184. **Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K.** Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1995;80:3689-3698
185. **Peacock M, Turner CH, Econs MJ, Foroud T.** Genetics of osteoporosis. *Endocrine reviews*. 2002;23:303-326
186. **Smith R.** Osteogenesis imperfecta: from phenotype to genotype and back again. *International journal of experimental pathology*. 1994;75:233-241
187. **Takacs I, Koller DL, Peacock M, Christian JC, Hui SL, Conneally PM, Johnston CC, Jr., Foroud T, Econs MJ.** Sibling pair linkage and association studies between bone mineral density and the insulin-like growth factor I gene locus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999;84:4467-4471
188. **Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, Pastinen TM, Soranzo N, Wilson SG, Andrew T, Falchi M, Gwilliam R, Ahmadi KR, Valdes AM, Arp P, Whittaker P, Verlaan DJ, Jhamai M, Kumanduri V, Moorhouse M, van Meurs JB, Hofman A, Pols HA, Hart D, Zhai G, Kato BS, Mullin BH, Zhang F, Deloukas P, Uitterlinden AG, Spector TD.** Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. *Lancet*. 2008;371:1505-1512
189. **Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, Gudbjartsson DF, Walters GB, Ingvarsson T, Jonsdottir T, Saemundsdottir J, Center JR, Nguyen TV, Bagger Y, Gulcher JR, Eisman JA, Christiansen C, Sigurdsson G, Kong A, Thorsteinsdottir U, Stefansson K.** Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *The New England journal of medicine*. 2008;358:2355-2365
190. **Rivadeneira F, Styrkarsdottir U, Estrada K, Halldorsson BV, Hsu YH, Richards JB, Zillikens MC, Kavvoura FK, Amin N, Aulchenko YS, Cupples LA, Deloukas P, Demissie S, Grundberg E, Hofman A, Kong A, Karasik D, van Meurs JB, Oostra B, Pastinen T, Pols HA, Sigurdsson G, Soranzo N, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Williams FM, Wilson SG, Zhou Y, Ralston SH, van Duijn CM, Spector T, Kiel DP, Stefansson K, Ioannidis JP, Uitterlinden AG, Genetic Factors for Osteoporosis C.** Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nature genetics*. 2009;41:1199-1206
191. **Ichikawa S, Koller DL, Padgett LR, Lai D, Hui SL, Peacock M, Foroud T, Econs MJ.** Replication of previous genome-wide association studies of bone mineral density in premenopausal American women. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2010;25:1821-1829
192. **Gong Y, Vikkula M, Boon L, Liu J, Beighton P, Ramesar R, Peltonen L, Somer H, Hirose T, Dallapiccola B, De Paepe A, Swoboda W, Zabel B, Superti-Furga A, Steinmann B, Brunner HG, Jans A, Boles RG, Adkins W, van den Boogaard MJ, Olsen BR, Warman ML.** Osteoporosis-pseudoglioma syndrome, a disorder affecting skeletal strength and vision, is assigned to chromosome region 11q12-13. *American journal of human genetics*. 1996;59:146-151

193. **Heaney C, Carmi R, Dushkin H, Sheffield V, Beier DR.** Genetic mapping of recessive osteopetrosis to 11q12-13. *American journal of human genetics*. 1997;61:A12-A12
194. **Koller DL, Rodriguez LA, Christian JC, Slemenda CW, Econs MJ, Hui SL, Morin P, Conneally PM, Joslyn G, Curran ME, Peacock M, Johnston CC, Foroud T.** Linkage of a QTL contributing to normal variation in bone mineral density to chromosome 11q12-13. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1998;13:1903-1908
195. **Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA.** Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*. 1994;367:284-287
196. **Eisman JA.** Vitamin D receptor gene alleles and osteoporosis: an affirmative view. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1995;10:1289-1293
197. **Garnero P, Borel O, Sornay-Rendu E, Arlot ME, Delmas PD.** Vitamin D receptor gene polymorphisms are not related to bone turnover, rate of bone loss, and bone mass in postmenopausal women: the OFELY Study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1996;11:827-834
198. **Houston LA, Grant SF, Reid DM, Ralston SH.** Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density, and osteoporotic vertebral fracture: studies in a UK population. *Bone*. 1996;18:249-252
199. **Cooper GS, Umbach DM.** Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1996;11:1841-1849
200. **Arai H, Miyamoto K, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, Tonai T, Nishisho T, Mori S, Takeda E.** A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1997;12:915-921
201. **Ferrari S, Rizzoli R, Manen D, Slosman D, Bonjour JP.** Vitamin D receptor gene start codon polymorphisms (FokI) and bone mineral density: interaction with age, dietary calcium, and 3'-end region polymorphisms. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1998;13:925-930
202. **Guise TA, Garrett IR, Bonewald LF, Mundy GR.** Interleukin-1 receptor antagonist inhibits the hypercalcemia mediated by interleukin-1. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 1993;8:583-587
203. **Khosla S, Peterson JM, Egan K, Jones JD, Riggs BL.** Circulating cytokine levels in osteoporotic and normal women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1994;79:707-711
204. **Abrahamsen B, Bendtzen K, Beck-Nielsen H.** Cytokines and T-lymphocyte subsets in healthy post-menopausal women: estrogen retards bone loss without affecting the release of IL-1 or IL-1ra. *Bone*. 1997;20:251-258
205. **Keen RW, Woodford-Richens KL, Lanchbury JS, Spector TD.** Allelic variation at the interleukin-1 receptor antagonist gene is associated with early postmenopausal bone loss at the spine. *Bone*. 1998;23:367-371
206. **Eastell R, Hannon RA, Blakemore AIF, Russell RGG, Duff GW.** IL-1 receptor antagonist genotype is associated with low bone mineral density in postmenopausal osteoporosis. *Bone*. 1998;23 Suppl:s375
207. **Ishimi Y, Miyaura C, Jin CH, Akatsu T, Abe E, Nakamura Y, Yamaguchi A, Yoshiki S, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T, Suda T.** IL-6 Is Produced by Osteoblasts and Induces Bone-Resorption. *Journal of Immunology*. 1990;145:3297-3303

208. **Kurihara N, Bertolini D, Suda T, Akiyama Y, Roodman GD.** IL-6 stimulates osteoclast-like multinucleated cell formation in long term human marrow cultures by inducing IL-1 release. *J Immunol.* 1990;144:4226-4230
209. **Papadopoulos NG, Georganas K, Skoutellas V, Konstantellos E, Lyritis GP.** Correlation of interleukin-6 serum levels with bone density in postmenopausal women. *Clinical rheumatology.* 1997;16:162-165
210. **Ralston SH.** Analysis of gene expression in human bone biopsies by polymerase chain reaction: evidence for enhanced cytokine expression in postmenopausal osteoporosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 1994;9:883-890
211. **Murray RE, McGuigan F, Grant SF, Reid DM, Ralston SH.** Polymorphisms of the interleukin-6 gene are associated with bone mineral density. *Bone.* 1997;21:89-92
212. **Schoenle E, Zapf J, Humbel RE, Froesch ER.** Insulin-like growth factor I stimulates growth in hypophysectomized rats. *Nature.* 1982;296:252-253
213. **Hock JM, Centrella M, Canalis E.** Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication. *Endocrinology.* 1988;122:254-260
214. **Hayden JM, Mohan S, Baylink DJ.** The insulin-like growth factor system and the coupling of formation to resorption. *Bone.* 1995;17:93S-98S
215. **Baker J, Liu JP, Robertson EJ, Efstratiadis A.** Role of insulin-like growth factors in embryonic and postnatal growth. *Cell.* 1993;75:73-82
216. **Nasu M, Sugimoto T, Chihara M, Hiraumi M, Kurimoto F, Chihara K.** Effect of natural menopause on serum levels of IGF-I and IGF-binding proteins: relationship with bone mineral density and lipid metabolism in perimenopausal women. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies.* 1997;136:608-616
217. **Boonen S, Lesaffre E, Dequeker J, Aerssens J, Nijs J, Pelemans W, Bouillon R.** Relationship between baseline insulin-like growth factor-I (IGF-I) and femoral bone density in women aged over 70 years: potential implications for the prevention of age-related bone loss. *Journal of the American Geriatrics Society.* 1996;44:1301-1306
218. **Rosen CJ, Kurland ES, Vereault D, Adler RA, Rackoff PJ, Craig WY, Witte S, Rogers J, Bilezikian JP.** Association between serum insulin growth factor-I (IGF-I) and a simple sequence repeat in IGF-I gene: implications for genetic studies of bone mineral density. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1998;83:2286-2290
219. **Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger MA, Lytton J, Hebert SC.** Cloning and characterization of an extracellular Ca(2+)-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature.* 1993;366:575-580
220. **Pearce SH, Bai M, Quinn SJ, Kifor O, Brown EM, Thakker RV.** Functional characterization of calcium-sensing receptor mutations expressed in human embryonic kidney cells. *The Journal of clinical investigation.* 1996;98:1860-1866
221. **Pollak MR, Brown EM, Estep HL, McLaine PN, Kifor O, Park J, Hebert SC, Seidman CE, Seidman JG.** Autosomal dominant hypocalcaemia caused by a Ca(2+)-sensing receptor gene mutation. *Nature genetics.* 1994;8:303-307
222. **Lorentzon M, Lorentzon R, Lerner UH, Nordstrom P.** Calcium sensing receptor gene polymorphism, circulating calcium concentrations and bone mineral density in healthy adolescent girls. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies.* 2001;144:257-261
223. **Tsukamoto K, Orimo H, Hosoi T, Miyao M, Ota N, Nakajima T, Yoshida H, Watanabe S, Suzuki T, Emi M.** Association of bone mineral density with polymorphism of the human calcium-sensing receptor locus. *Calcified tissue international.* 2000;66:181-183

224. **Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ.** Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997;89:309-319
225. **Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T.** Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95:3597-3602
226. **Hofbauer LC.** Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 1999;141:195-210
227. **Kim N, Odgren PR, Kim DK, Marks SC, Jr., Choi Y.** Diverse roles of the tumor necrosis factor family member TRANCE in skeletal physiology revealed by TRANCE deficiency and partial rescue by a lymphocyte-expressed TRANCE transgene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97:10905-10910
228. **Arko B, Prezelj J, Komel R, Kocijancic A, Hudler P, Marc J.** Sequence variations in the osteoprotegerin gene promoter in patients with postmenopausal osteoporosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87:4080-4084
229. **Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, Eriksen EF.** Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2002;17:1245-1255
230. **Garcia-Unzueta MT, Riancho JA, Zarrabeitia MT, Sanudo C, Berja A, Valero C, Pesquera C, Paule B, Gonzalez-Macias J, Amado JA.** Association of the 163A/G and 1181G/C osteoprotegerin polymorphism with bone mineral density. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. 2008;40:219-224
231. **Day TF, Guo X, Garrett-Beal L, Yang Y.** Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. *Developmental cell*. 2005;8:739-750
232. **Ai M, Holmen SL, Van Hul W, Williams BO, Warman ML.** Reduced affinity to and inhibition by DKK1 form a common mechanism by which high bone mass-associated missense mutations in LRP5 affect canonical Wnt signaling. *Molecular and cellular biology*. 2005;25:4946-4955
233. **Van Hul E, Gram J, Bollerslev J, Van Wesenbeeck L, Mathysen D, Andersen PE, Vanhoenacker F, Van Hul W.** Localization of the gene causing autosomal dominant osteopetrosis type I to chromosome 11q12-13. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2002;17:1111-1117
234. **Ferrari SL, Deutsch S, Choudhury U, Chevalley T, Bonjour JP, Dermitzakis ET, Rizzoli R, Antonarakis SE.** Polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) gene are associated with variation in vertebral bone mass, vertebral bone size, and stature in whites. *American journal of human genetics*. 2004;74:866-875
235. **Mizuguchi T, Furuta I, Watanabe Y, Tsukamoto K, Tomita H, Tsujihata M, Ohta T, Kishino T, Matsumoto N, Minakami H, Niikawa N, Yoshiura K.** LRP5, low-density-lipoprotein-receptor-related protein 5, is a determinant for bone mineral density. *Journal of human genetics*. 2004;49:80-86
236. **Estrada K, Stykarsdottir U, Evangelou E, Hsu YH, Duncan EL, Ntzani EE, Oei L, Albagha OM, Amin N, Kemp JP, Koller DL, Li G, Liu CT, Minster RL, Moayyeri A, Vandenput L, Willner D, Xiao SM, Yerges-Armstrong LM, Zheng HF, Alonso N, Eriksson J, Kammerer CM, Kaptoge SK, Leo PJ,**

- Thorleifsson G, Wilson SG, Wilson JF, Aalto V, Alen M, Aragaki AK, Aspelund T, Center JR, Dailiana Z, Duggan DJ, Garcia M, Garcia-Giralt N, Giroux S, Hallmans G, Hocking LJ, Husted LB, Jameson KA, Khusainova R, Kim GS, Kooperberg C, Koromila T, Kruk M, Laaksonen M, Lacroix AZ, Lee SH, Leung PC, Lewis JR, Masi L, Mencej-Bedrac S, Nguyen TV, Nogues X, Patel MS, Prezelj J, Rose LM, Scollen S, Siggeirsdottir K, Smith AV, Svensson O, Trompet S, Trummer O, van Schoor NM, Woo J, Zhu K, Balcells S, Brandi ML, Buckley BM, Cheng S, Christiansen C, Cooper C, Dedoussis G, Ford I, Frost M, Goltzman D, Gonzalez-Macias J, Kahonen M, Karlsson M, Khusnutdinova E, Koh JM, Kollia P, Langdahl BL, Leslie WD, Lips P, Ljunggren O, Lorenc RS, Marc J, Mellstrom D, Obermayer-Pietsch B, Olmos JM, Pettersson-Kymmer U, Reid DM, Riancho JA, Ridker PM, Rousseau F, Slagboom PE, Tang NL, Urreizti R, Van Hul W, Viikari J, Zarrabeitia MT, Aulchenko YS, Castano-Betancourt M, Grundberg E, Herrera L, Ingvarsson T, Johannsdottir H, Kwan T, Li R, Luben R, Medina-Gomez C, Palsson ST, Reppe S, Rotter JI, Sigurdsson G, van Meurs JB, Verlaan D, Williams FM, Wood AR, Zhou Y, Gautvik KM, Pastinen T, Raychaudhuri S, Cauley JA, Chasman DI, Clark GR, Cummings SR, Danoy P, Dennison EM, Eastell R, Eisman JA, Gudnason V, Hofman A, Jackson RD, Jones G, Jukema JW, Khaw KT, Lehtimäki T, Liu Y, Lorentzon M, McCloskey E, Mitchell BD, Nandakumar K, Nicholson GC, Oostra BA, Peacock M, Pols HA, Prince RL, Raitakari O, Reid IR, Robbins J, Sambrook PN, Sham PC, Shuldiner AR, Tylavsky FA, van Duijn CM, Wareham NJ, Cupples LA, Econs MJ, Evans DM, Harris TB, Kung AW, Psaty BM, Reeve J, Spector TD, Streeten EA, Zillikens MC, Thorsteinsdottir U, Ohlsson C, Karasik D, Richards JB, Brown MA, Stefansson K, Uitterlinden AG, Ralston SH, Ioannidis JP, Kiel DP, Rivadeneira F. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nature genetics*. 2012;44:491-501
237. **Bartscherer K, Pelte N, Ingelfinger D, Boutros M.** Secretion of Wnt ligands requires Evi, a conserved transmembrane protein. *Cell*. 2006;125:523-533
238. **Maruyama T, Jiang M, Hsu W.** Gpr177, a novel locus for bone mineral density and osteoporosis, regulates osteogenesis and chondrogenesis in skeletal development. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2013;28:1150-1159
239. **Chen D, Li Y, Zhou Z, Xing Y, Zhong Y, Zou X, Tian W, Zhang C.** Synergistic inhibition of Wnt pathway by HIF-1alpha and osteoblast-specific transcription factor osterix (Osx) in osteoblasts. *PLoS One*. 2012;7:e52948
240. **Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng JM, Behringer RR, de Crombrughe B.** The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*. 2002;108:17-29
241. **Chauveau C, Broux O, Delecourt C, Hardouin P, Jeanfils J, Devedjian JC.** Gene expression in normotopic and heterotopic human bone: increased level of SP7 mRNA in pathological tissue. *Molecular and cellular biochemistry*. 2008;318:81-87
242. **Lapunzina P, Aglan M, Temtamy S, Caparros-Martin JA, Valencia M, Leton R, Martinez-Glez V, Elhossini R, Amr K, Vilaboa N, Ruiz-Perez VL.** Identification of a frameshift mutation in Osterix in a patient with recessive osteogenesis imperfecta. *American journal of human genetics*. 2010;87:110-114
243. **Dalle Carbonare L, Valenti MT, Zanatta M, Donatelli L, Lo Cascio V.** Circulating mesenchymal stem cells with abnormal osteogenic differentiation in patients with osteoporosis. *Arthritis and rheumatism*. 2009;60:3356-3365
244. **Gershon-Cohen J, Jowsey J.** The Relationship of Dietary Calcium to Osteoporosis. *Metabolism: clinical and experimental*. 1964;13:221-226



245. **Tang BM, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A.** Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet*. 2007;370:657-666
246. **Speer G, Szamosujvari P, Dombai P, Csore K, Mikofalvi K, Steindl T, Streicher I, Tarsoly J, Zajzon G, Somogyi P, Szamosujvari P, Lakatos P.** Dietary Calcium Intake and Calcium Supplementation in Hungarian Patients with Osteoporosis. *Int J Endocrinol*. 2013;
247. **Bolland MJ, Avenell A, Baron JA, Grey A, MacLennan GS, Gamble GD, Reid IR.** Effect of calcium supplements on risk of myocardial infarction and cardiovascular events: meta-analysis. *Bmj*. 2010;341:c3691
248. **Prentice RL, Pettinger MB, Jackson RD, Wactawski-Wende J, Lacroix AZ, Anderson GL, Chlebowski RT, Manson JE, Van Horn L, Vitolins MZ, Datta M, LeBlanc ES, Cauley JA, Rossouw JE.** Health risks and benefits from calcium and vitamin D supplementation: Women's Health Initiative clinical trial and cohort study. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2013;24:567-580
249. **Lewis JR, Calver J, Zhu K, Flicker L, Prince RL.** Calcium supplementation and the risks of atherosclerotic vascular disease in older women: results of a 5-year RCT and a 4.5-year follow-up. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2011;26:35-41
250. **Samelson EJ, Booth SL, Fox CS, Tucker KL, Wang TJ, Hoffmann U, Cupples LA, O'Donnell CJ, Kiel DP.** Calcium intake is not associated with increased coronary artery calcification: the Framingham Study. *The American journal of clinical nutrition*. 2012;96:1274-1280
251. **Jones HH, Priest JD, Hayes WC, Tichenor CC, Nagel DA.** Humeral hypertrophy in response to exercise. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. 1977;59:204-208
252. **Lang T, LeBlanc A, Evans H, Lu Y, Genant H, Yu A.** Cortical and trabecular bone mineral loss from the spine and hip in long-duration spaceflight. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2004;19:1006-1012
253. **Lanyon LE, Rubin CT.** Static vs dynamic loads as an influence on bone remodelling. *Journal of biomechanics*. 1984;17:897-905
254. **Ozcivici E, Luu YK, Adler B, Qin YX, Rubin J, Judex S, Rubin CT.** Mechanical signals as anabolic agents in bone. *Nature reviews. Rheumatology*. 2010;6:50-59
255. **Rubin C, Turner AS, Bain S, Mallinckrodt C, McLeod K.** Anabolism. Low mechanical signals strengthen long bones. *Nature*. 2001;412:603-604
256. **Rubin C, Recker R, Cullen D, Ryaby J, McCabe J, McLeod K.** Prevention of postmenopausal bone loss by a low-magnitude, high-frequency mechanical stimuli: a clinical trial assessing compliance, efficacy, and safety. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2004;19:343-351
257. **Noble BS, Peet N, Stevens HY, Brabbs A, Mosley JR, Reilly GC, Reeve J, Skerry TM, Lanyon LE.** Mechanical loading: biphasic osteocyte survival and targeting of osteoclasts for bone destruction in rat cortical bone. *American journal of physiology. Cell physiology*. 2003;284:C934-943
258. **Robling AG, Niziolek PJ, Baldrige LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, Mantila SM, Gluhak-Heinrich J, Bellido TM, Harris SE, Turner CH.** Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem*. 2008;283:5866-5875
259. **Ominsky MS, Libanati C, Niu QT, Boyce RW, Kostenuik PJ, Wagman RB, Baron R, Dempster DW.** Sustained Modeling-Based Bone Formation During Adulthood in Cynomolgus Monkeys May Contribute to Continuous BMD Gains With Denosumab. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2015;30:1280-1289

260. **Chesnut IC, Skag A, Christiansen C, Recker R, Stakkestad JA, Hoiseth A, Felsenberg D, Huss H, Gilbride J, Schimmer RC, Delmas PD.** Effects of oral ibandronate administered daily or intermittently on fracture risk in postmenopausal osteoporosis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2004;19:1241-1249
261. **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. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2000;11:83-91
262. **Rizzoli R, Reid DM.** Ibandronate: An IV injection for the treatment for postmenopausal osteoporosis. *Bone*. 2007;41:S24-S28
263. **Chen PQ, Satterwhite JH, Licata AA, Lewiecki EM, Sipos AA, Misurski DM, Wagman RB.** Early changes in biochemical markers of bone formation predict BMD response to teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2005;20:962-970
264. **Collette J, Reginster JY, Bruyere O, Deroisy R, Jupsin I, Devogelaer JP, Adami S, Marcelli C.** Dissociation between bone formation and bone resorption evidenced by changes in biochemical markers of bone turnover in patients treated with strontium ranelate. *Calcified tissue international*. 2007;80:S120-S120
265. **Collette J, Bruyere O, Kaufman JM, Lorenc R, Felsenberg D, Spector TD, Diaz-Curiel M, Boonen S, Reginster JY.** Vertebral anti-fracture efficacy of strontium ranelate according to pre-treatment bone turnover. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 2010;21:233-241
266. **Takács I** 2011 Az involútiós osteoporosis patogenezise. Budapest: Semmelweis Kiadó
267. **Kendler DL, Roux C, Benhamou CL, Brown JP, Lillestol M, Siddhanti S, Man HS, San Martin J, Bone HG.** Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2010;25:72-81
268. **Ziller V, Kostev K, Kyvernitakis I, Boeckhoff J, Hadji P.** Persistence and compliance of medications used in the treatment of osteoporosis--analysis using a large scale, representative, longitudinal German database. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 2012;50:315-322
269. **Adami S, Isaia G, Luisetto G, Minisola S, Sinigaglia L, Silvestri S, Agnusdei D, Gentilella R, Nuti R.** Osteoporosis treatment and fracture incidence: the ICARO longitudinal study. *Osteoporos Int*. 2008;19:1219-1223. Epub 2008 Feb 1220.
270. **Webb AR, Kline L, Holick MF.** Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1988;67:373-378
271. **Babu US, Calvo MS.** Modern India and the vitamin D dilemma: Evidence for the need of a national food fortification program. *Mol Nutr Food Res*. 2010;54:1134-1147
272. **Matsuoka LY, Ide L, Wortsman J, MacLaughlin JA, Holick MF.** Sunscreens suppress cutaneous vitamin D3 synthesis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1987;64:1165-1168
273. **Moan J, Lagunova Z, Cicarma E, Aksnes L, Dahlback A, Grant WB, Porojnicu AC.** Sunbeds as vitamin D sources. *Photochem Photobiol*. 2009;85:1474-1479. doi: 1410.1111/j.1751-1097.2009.00607.x.

274. **Vieth R, Chan PC, MacFarlane GD.** Efficacy and safety of vitamin D3 intake exceeding the lowest observed adverse effect level. *The American journal of clinical nutrition*. 2001;73:288-294
275. **Mawer EB, Schaefer K, Lumb GA, Stanbury SW.** The metabolism of isotopically labelled vitamin D3 in man: the influence of the state of vitamin D nutrition. *Clinical science*. 1971;40:39-53
276. **Sanders KM, Stuart AL, Williamson EJ, Simpson JA, Kotowicz MA, Young D, Nicholson GC.** Annual High-Dose Oral Vitamin D and Falls and Fractures in Older Women A Randomized Controlled Trial. *Jama-J Am Med Assoc*. 2010;303:1815-1822
277. **Ralphs JR, Stamp TC, Dopping-Hepenstal PJ, Ali SY.** Ultrastructural features of the osteoid of patients with fibrogenesis imperfecta ossium. *Bone*. 1989;10:243-249
278. **Stamp TC, Byers PD, Ali SY, Jenkins MV, Willoughby JM.** Fibrogenesis imperfecta ossium: remission with melphalan. *Lancet*. 1985;1:582-583
279. **Carr AJ, Smith R, Athanasou N, Woods CG.** Fibrogenesis imperfecta ossium. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. 1995;77:820-829
280. **Shin YS.** Glycogen storage disease: clinical, biochemical, and molecular heterogeneity. *Seminars in pediatric neurology*. 2006;13:115-120
281. **Froissart R, Piraud M, Boudjemline AM, Vianey-Saban C, Petit F, Hubert-Buron A, Eberschweiler PT, Gajdos V, Labrune P.** Glucose-6-phosphatase deficiency. *Orphanet journal of rare diseases*. 2011;6:27
282. **Chou JY.** The molecular basis of type 1 glycogen storage diseases. *Current molecular medicine*. 2001;1:25-44
283. **Dunger DB, Holder AT, Leonard JV, Okae J, Preece MA.** Growth and endocrine changes in the hepatic glycogenoses. *European journal of pediatrics*. 1982;138:226-230
284. **Melis D, Pivonello R, Parenti G, Della Casa R, Salerno M, Balivo F, Piccolo P, Di Somma C, Colao A, Andria G.** The growth hormone-insulin-like growth factor axis in glycogen storage disease type 1: evidence of different growth patterns and insulin-like growth factor levels in patients with glycogen storage disease type 1a and 1b. *J Pediatr*. 2010;156:663-670 e661
285. **Brooks ED, Little D, Arumugam R, Sun B, Curtis S, Demaster A, Maranzano M, Jackson MW, Kishnani P, Freemark MS, Koeberl DD.** Pathogenesis of growth failure and partial reversal with gene therapy in murine and canine Glycogen Storage Disease type Ia. *Molecular genetics and metabolism*. 2013;109:161-170
286. **Mundy HR, Hindmarsh PC, Matthews DR, Leonard JV, Lee PJ.** The regulation of growth in glycogen storage disease type 1. *Clinical endocrinology*. 2003;58:332-339
287. **Moses SW.** Historical highlights and unsolved problems in glycogen storage disease type 1. *European journal of pediatrics*. 2002;161 Suppl 1:S2-9
288. **Noto RA, Vijayaraghavan V, Timoshin A, Sansobrinio D.** Improved growth with growth hormone therapy in a child with glycogen storage disease Ib. *Acta Paediatr*. 2003;92:977-979
289. **Morioka D, Kasahara M, Takada Y, Corrales JP, Yoshizawa A, Sakamoto S, Taira K, Yoshitoshi EY, Egawa H, Shimada H, Tanaka K.** Living donor liver transplantation for pediatric patients with inheritable metabolic disorders. *American journal of transplantation*. 2005;5:2754-2763
290. **Matern D, Starzl TE, Arnaout W, Barnard J, Bynon JS, Dhawan A, Emond J, Haagsma EB, Hug G, Lachaux A, Smit GP, Chen YT.** Liver transplantation for glycogen storage disease types I, III, and IV. *European journal of pediatrics*. 1999;158 Suppl 2:S43-48
291. **Lau KH, Onishi T, Wergedal JE, Singer FR, Baylink DJ.** Characterization and assay of tartrate-resistant acid phosphatase activity in serum: potential use to assess bone resorption. *Clinical chemistry*. 1987;33:458-462
292. **Powe CE, Ricciardi C, Berg AH, Erdenesanaa D, Collerone G, Ankers E, Wenger J, Karumanchi SA, Thadhani R, Bhan I.** Vitamin D-binding protein modifies the vitamin D-bone mineral density

- relationship. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2011;26:1609-1616
293. **Wyman AR, White R.** A highly polymorphic locus in human DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1980;77:6754-6758
  294. **Tarlow JK, Blakemore AI, Lennard A, Solari R, Hughes HN, Steinkasserer A, Duff GW.** Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86-bp tandem repeat. *Human genetics*. 1993;91:403-404
  295. **Madisen L, Hoar DI, Holroyd CD, Crisp M, Hodes ME.** DNA banking: the effects of storage of blood and isolated DNA on the integrity of DNA. *American journal of medical genetics*. 1987;27:379-390
  296. **Bowcock AM, Ray A, Erlich H, Sehgal PB.** Rapid detection and sequencing of alleles in the 3' flanking region of the interleukin-6 gene. *Nucleic acids research*. 1989;17:6855-6864
  297. **Balla B, Kosa JP, Kiss J, Borsy A, Podani J, Takacs I, Lazary A, Nagy Z, Bacsí K, Speer G, Orosz L, Lakatos P.** Different gene expression patterns in the bone tissue of aging postmenopausal osteoporotic and non-osteoporotic women. *Calcified tissue international*. 2008;82:12-26
  298. **Goring HH, Ott J.** Relationship estimation in affected sib pair analysis of late-onset diseases. *European journal of human genetics : EJHG*. 1997;5:69-77
  299. **Kruglyak L, Lander ES.** Complete multipoint sib-pair analysis of qualitative and quantitative traits. *American journal of human genetics*. 1995;57:439-454
  300. **Gonzalez JR, Armengol L, Sole X, Guino E, Mercader JM, Estivill X, Moreno V.** SNPAssoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*. 2007;23:644-645
  301. **D'Agostino RB, Jr.** Propensity score methods for bias reduction in the comparison of a treatment to a non-randomized control group. *Statistics in medicine*. 1998;17:2265-2281
  302. **Rosenbaum PR, Rubin DB.** The central role of the propensity score in observational studies for causal effects. *Biometrika*. 1983;70:41-55
  303. **Cox DR.** Regression models and life-tables. *J R Stat Soc Ser B Methodol*. 1972;34:187-220
  304. **Schousboe JT, Gourlay M, Fink HA, Taylor BC, Orwoll ES, Barrett-Connor E, Melton LJ, 3rd, Cummings SR, Ensrud KE, Osteoporotic Fractures in M, Study of Osteoporotic Fractures Research G.** Cost-effectiveness of bone densitometry among Caucasian women and men without a prior fracture according to age and body weight. *Osteoporosis international*. 2013;24:163-177
  305. **Peasgood T, Herrmann K, Kanis JA, Brazier JE.** An updated systematic review of Health State Utility Values for osteoporosis related conditions. *Osteoporosis international*. 2009;20:853-868
  306. **Boros J, Nemeth R, Vitrai J.** National Health Interview Survey OLEF 2000. *Research Report. National Centre for Epidemiology Publication*. 2002;
  307. **Prieto L, Sacristan JA.** Problems and solutions in calculating quality-adjusted life years (QALYs). *Health and quality of life outcomes*. 2003;1:80
  308. **Econs MJ, Koller DL, Considine EL, Takacs I, Christian JC, Conneally PM, Peacock M, Johnston CC, Foroud T.** Bone Mineral Density and laboratory evaluation of a type II autosomal dominant osteopetrosis carrier. *Journal of Bone & Mineral Research*. 1998:S 271
  309. **Bajnok E, Takacs I, Vargha P, Speer G, Nagy Z, Lakatos P.** Lack of association between interleukin-1 receptor antagonist protein gene polymorphism and bone mineral density in Hungarian postmenopausal women. *Bone*. 2000;27:559-562
  310. **Takacs I, Koller DL, Peacock M, Christian JC, Evans WE, Hui SL, Conneally PM, Johnston CC, Jr., Foroud T, Econs MJ.** Sib pair linkage and association studies between bone mineral density and the interleukin-6 gene locus. *Bone*. 2000;27:169-173
  311. **Takacs I, Speer G, Bajnok E, Tabak A, Nagy Z, Horvath C, Kovacs K, Lakatos P.** Lack of association between calcium-sensing receptor gene "A986S" polymorphism and bone mineral density in Hungarian postmenopausal women. *Bone*. 2002;30:849-852

312. **Takacs I, Lazary A, Kosa JP, Kiss J, Balla B, Nagy Z, Bacsi K, Speer G, Lakatos P.** Allelic variations of RANKL/OPG signaling system are related to bone mineral density and in vivo gene expression. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2010;162:423-431
313. **Horvath P, Balla B, Kosa JP, Tobias B, Szili B, Kirschner G, Gyori G, Kato K, Lakatos P, Takacs I.** Strong effect of SNP rs4988300 of the LRP5 gene on bone phenotype of Caucasian postmenopausal women. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2016;34:79-85
314. **Takacs I, Cooper H, Weaver DD, Econs MJ.** Bone mineral density and laboratory evaluation of a type II autosomal dominant osteopetrosis carrier. *American journal of medical genetics*. 1999;85:9-12
315. **Cooper C, O'Neill T, Silman A.** The epidemiology of vertebral fractures. European Vertebral Osteoporosis Study Group. *Bone*. 1993;14 Suppl 1:S89-97
316. **Guilbert JJ.** The world health report 2002 - reducing risks, promoting healthy life. *Education for health*. 2003;16:230
317. **Bakos B, Lukats A, Lakatos P, Gyori G, Tremmel A, Takacs I.** Report on a case of fibrogenesis imperfecta ossium and a possible new treatment option. *Osteoporosis international*. 2014;25:1643-1646
318. **Szili B, Gorog D, Gerlei Z, Gyori G, Lakatos P, Takacs I.** Rapid height growth after liver transplantation in adulthood. *Growth hormone & IGF research : official journal of the Growth Hormone Research Society and the International IGF Research Society*. 2016;29:1-3
319. **Cheng WC, Tsai KS.** The vitamin D receptor start codon polymorphism (Fok1) and bone mineral density in premenopausal women in Taiwan. *Osteoporosis international*. 1999;9:545-549
320. **Wynne F, Drummond F, O'Sullivan K, Daly M, Shanahan F, Molloy MG, Quane KA.** Investigation of the genetic influence of the OPG, VDR (Fok1), and COL1A1 Sp1 polymorphisms on BMD in the Irish population. *Calcified tissue international*. 2002;71:26-35
321. **Hou W, Wan X, Fan J.** Variants Fok1 and Bsm1 on VDR are associated with the melanoma risk: evidence from the published epidemiological studies. *BMC genetics*. 2015;16:14
322. **Vilarino FL, Bianco B, Christofolini DM, Lerner TG, Barbosa CP.** [Analysis of VDR gene polymorphism Fok1 in infertile women with endometriosis]. *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia : revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia*. 2011;33:65-69
323. **Abu El Maaty MA, Hassanein SI, Gad MZ.** Genetic variation in vitamin D receptor gene (Fok1:rs2228570) is associated with risk of coronary artery disease. *Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*. 2016;21:68-72
324. **Singh M, Singh P, Singh S, Juneja PK, Kaur T.** Vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism influences the risk of osteoporosis in postmenopausal women of Northwest India. *Archives of osteoporosis*. 2013;8:147
325. **Mohammadi Z, Fayyazbakhsh F, Ebrahimi M, Amoli MM, Khashayar P, Dini M, Zadeh RN, Keshtkar A, Barikani HR.** Association between vitamin D receptor gene polymorphisms (Fok1 and Bsm1) and osteoporosis: a systematic review. *Journal of diabetes and metabolic disorders*. 2014;13:98
326. **Uy HL, Dallas M, Calland JW, Boyce BF, Mundy GR, Roodman GD.** Use of an in vivo model to determine the effects of interleukin-1 on cells at different stages in the osteoclast lineage. *Journal of bone and mineral research*. 1995;10:295-301
327. **Blakemore AI, Watson PF, Weetman AP, Duff GW.** Association of Graves' disease with an allele of the interleukin-1 receptor antagonist gene. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1995;80:111-115

328. **Demeter J, Messer G, Ramisch S, Mee JB, di Giovine FS, Schmid M, Herrmann F, Porzolt F.** Polymorphism within the second intron of the IL-1 receptor antagonist gene in patients with hematopoietic malignancies. *Cytokines and molecular therapy*. 1996;2:239-242
329. **Heward J, Allahabadia A, Gordon C, Sheppard MC, Barnett AH, Franklyn JA, Gough SC.** The interleukin-1 receptor antagonist gene shows no allelic association with three autoimmune diseases. *Thyroid*. 1999;9:627-628
330. **Eastell R, Hannon RA, Blakemore AIF, Russell RGG, Duff GW.** IL-1 receptor antagonist genotype is associated with low bone mineral density in postmenopausal osteoporosis. *Bone*. 1998;23(Suppl.):S375
331. **Chen HY, Chen WC, Wu MC, Tsai FJ, Lin CC.** Interleukin-1beta and interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism in postmenopausal women: correlation to bone mineral density and susceptibility to osteoporosis. *Maturitas*. 2003;44:49-54
332. **Han KO, Choi JT, Moon IG, Jeong MS, Yim CH, Chung HY, Jang HC, Yoon HK, Han IK.** Nonassociation of interleukin-1 receptor antagonist genotypes with bone mineral density, bone turnover status, and estrogen responsiveness in Korean postmenopausal women. *Bone*. 2002;31:612-615
333. **Kim JG, Lim KS, Ku SY, Kim SH, Choi YM, Moon SY.** Relations between interleukin-1, its receptor antagonist gene polymorphism, and bone mineral density in postmenopausal Korean women. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2006;24:53-57
334. **Langdahl BL, Lokke E, Carstens M, Stenkjaer LL, Eriksen EF.** Osteoporotic fractures are associated with an 86-base pair repeat polymorphism in the interleukin-1--receptor antagonist gene but not with polymorphisms in the interleukin-1beta gene. *Journal of bone and mineral research*. 2000;15:402-414
335. **Fontova R, Gutierrez C, Vendrell J, Broch M, Vendrell I, Simon I, Fernandez-Real JM, Richart C.** Bone mineral mass is associated with interleukin 1 receptor autoantigen and TNF-alpha gene polymorphisms in post-menopausal Mediterranean women. *Journal of endocrinological investigation*. 2002;25:684-690
336. **Kitamura H, Kawata H, Takahashi F, Higuchi Y, Furuichi T, Ohkawa H.** Bone marrow neutrophilia and suppressed bone turnover in human interleukin-6 transgenic mice. A cellular relationship among hematopoietic cells, osteoblasts, and osteoclasts mediated by stromal cells in bone marrow. *The American journal of pathology*. 1995;147:1682-1692
337. **Lakatos P, Foldes J, Horvath C, Kiss L, Tatrai A, Takacs I, Tarjan G, Stern PH.** Serum interleukin-6 and bone metabolism in patients with thyroid function disorders. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1997;82:78-81
338. **Wang YB, Guo JJ, Liu YJ, Deng FY, Jiang DK, Deng HW.** The human calcium-sensing receptor and interleukin-6 genes are associated with bone mineral density in Chinese. *Yi chuan xue bao = Acta genetica Sinica*. 2006;33:870-880
339. **Garnero P, Borel O, Sornay-Rendu E, Duboeuf F, Jeffery R, Woo P, Delmas PD.** Association between a functional interleukin-6 gene polymorphism and peak bone mineral density and postmenopausal bone loss in women: the OFELY study. *Bone*. 2002;31:43-50
340. **Yamada Y, Ando F, Niino N, Shimokata H.** Association of polymorphisms of interleukin-6, osteocalcin, and vitamin D receptor genes, alone or in combination, with bone mineral density in community-dwelling Japanese women and men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88:3372-3378
341. **Czerny B, Kaminski A, Kurzawski M, Kotrych D, Safranow K, Dziedziejko V, Bohatyrewicz A, Pawlik A.** The association of IL-1beta, IL-2, and IL-6 gene polymorphisms with bone mineral density and osteoporosis in postmenopausal women. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2010;149:82-85

342. **Magana JJ, Gomez R, Cisneros B, Casas L, Valdes-Flores M.** Association of interleukin-6 gene polymorphisms with bone mineral density in Mexican women. *Archives of medical research.* 2008;39:618-624
343. **Koller DL, Ichikawa S, Lai D, Padgett LR, Doheny KF, Pugh E, Paschall J, Hui SL, Edenberg HJ, Xuei X, Peacock M, Econs MJ, Foroud T.** Genome-wide association study of bone mineral density in premenopausal European-American women and replication in African-American women. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2010;95:1802-1809
344. **Koller DL, Zheng HF, Karasik D, Yerges-Armstrong L, Liu CT, McGuigan F, Kemp JP, Giroux S, Lai D, Edenberg HJ, Peacock M, Czerwinski SA, Choh AC, McMahon G, St Pourcain B, Timpson NJ, Lawlor DA, Evans DM, Towne B, Blangero J, Carless MA, Kammerer C, Goltzman D, Kovacs CS, Prior JC, Spector TD, Rousseau F, Tobias JH, Akesson K, Econs MJ, Mitchell BD, Richards JB, Kiel DP, Foroud T.** Meta-analysis of genome-wide studies identifies WNT16 and ESR1 SNPs associated with bone mineral density in premenopausal women. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 2013;28:547-558
345. **Le Roith D.** Seminars in medicine of the Beth Israel Deaconess Medical Center. Insulin-like growth factors. *The New England journal of medicine.* 1997;336:633-640
346. **McCarthy TL, Centrella M, Canalis E.** Regulatory effects of insulin-like growth factors I and II on bone collagen synthesis in rat calvarial cultures. *Endocrinology.* 1989;124:301-309
347. **Mochizuki H, Hakeda Y, Wakatsuki N, Usui N, Akashi S, Sato T, Tanaka K, Kumegawa M.** Insulin-like growth factor-I supports formation and activation of osteoclasts. *Endocrinology.* 1992;131:1075-1080
348. **Spencer EM, Liu CC, Si EC, Howard GA.** In vivo actions of insulin-like growth factor-I (IGF-I) on bone formation and resorption in rats. *Bone.* 1991;12:21-26
349. **Kurland ES, Rosen CJ, Cosman F, McMahon D, Chan F, Shane E, Lindsay R, Dempster D, Bilezikian JP.** Insulin-like growth factor-I in men with idiopathic osteoporosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1997;82:2799-2805
350. **Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, Hannan MT, Harris T, Wilson PW, Kiel DP.** Association between insulin-like growth factor I and bone mineral density in older women and men: the Framingham Heart Study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 1998;83:4257-4262
351. **Jiang DK, Shen H, Li MX, Jiang C, Yang N, Zhu J, Wu Y, Qin YJ, Zhou Q, Deng HW.** No major effect of the insulin-like growth factor I gene on bone mineral density in premenopausal Chinese women. *Bone.* 2005;36:694-699
352. **Peacock M, Koller DL, Hui S, Johnston CC, Foroud T, Econs MJ.** Peak bone mineral density at the hip is linked to chromosomes 14q and 15q. *Osteoporosis Int.* 2004;15:489-496
353. **Pearce SHS, Thakker RV.** The calcium-sensing receptor: Insights into extracellular calcium homeostasis in health and disease. *Journal of Endocrinology.* 1997;154:371-378
354. **Kapur K, Johnson T, Beckmann ND, Sehmi J, Tanaka T, Kutalik Z, Stykarsdottir U, Zhang WH, Marek D, Gudbjartsson DF, Milaneschi Y, Holm H, Dilorio A, Waterworth D, Li Y, Singleton AB, Bjornsdottir US, Sigurdsson G, Hernandez DG, DeSilva R, Elliott P, Eyjolfsson GI, Guralnik JM, Scott J, Thorsteinsdottir U, Bandinelli S, Chambers J, Stefansson K, Waeber G, Ferrucci L, Kooner JS, Mooser V, Vollenweider P, Beckmann JS, Bochud M, Bergmann S.** Genome-Wide Meta-Analysis for Serum Calcium Identifies Significantly Associated SNPs near the Calcium-Sensing Receptor (CASR) Gene. *Plos Genet.* 2010;6
355. **Cole DEC, Peltekova VD, Rubin LA, Hawker GA, Vieth R, Liew CC, Hwang DM, Evrovski J, Hendy GN.** A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor and circulating calcium concentrations. *Lancet.* 1999;353:112-115

356. **Perez-Castrillon JL, Sanz A, Silva J, Justo I, Velasco E, Duenas A.** Calcium-sensing receptor gene A986S polymorphism and bone mass in hypertensive women. *Archives of medical research.* 2006;37:607-611
357. **Sobacchi C, Frattini A, Guerrini MM, Abinun M, Pangrazio A, Susani L, Bredius R, Mancini G, Cant A, Bishop N, Grabowski P, Del Fattore A, Messina C, Errigo G, Coxon FP, Scott DI, Teti A, Rogers MJ, Vezzoni P, Villa A, Helfrich MH.** Osteoclast-poor human osteopetrosis due to mutations in the gene encoding RANKL. *Nature genetics.* 2007;39:960-962
358. **Mencej-Bedrac S, Prezelj J, Marc J.** TNFRSF11B gene polymorphisms 1181G > C and 245T > G as well as haplotype CT influence bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas.* 2011;69:263-267
359. **Mencej S, Albagha OME, Prezelj J, Kocjan T, Marc J.** Tumour necrosis factor superfamily member 11 gene promoter polymorphisms modulate promoter activity and influence bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *J Mol Endocrinol.* 2008;40:273-279
360. **Mencej S, Prezelj J, Kocijancic A, Ostanek B, Marc J.** Association of TNFSF11 gene promoter polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas.* 2006;55:219-226
361. **Tu P, Duan P, Zhang RS, Xu DB, Wang Y, Wu HP, Liu YH, Si L.** Polymorphisms in genes in the RANKL/RANK/OPG pathway are associated with bone mineral density at different skeletal sites in post-menopausal women. *Osteoporosis Int.* 2015;26:179-185
362. **Johnson DC, Weinhold N, Mitchell J, Chen B, Stephens OW, Forsti A, Nickel J, Kaiser M, Gregory WA, Cairns D, Jackson GH, Hoffmann P, Noethen MM, Hillengass J, Bertsch U, Barlogie B, Davis FE, Hemminki K, Goldschmidt H, Houlston RS, Morgan GJ.** Genetic factors influencing the risk of multiple myeloma bone disease. *Leukemia.* 2016;30:883-888
363. **Richards JB, Kavvoura FK, Rivadeneira F, Stykarsdottir U, Estrada K, Halldorsson BV, Hsu YH, Zillikens MC, Wilson SG, Mullin BH, Amin N, Aulchenko YS, Cupples LA, Deloukas P, Demissie S, Hofman A, Kong A, Karasik D, van Meurs JB, Oostra BA, Pols HAP, Sigurdsson G, Thorsteinsdottir U, Soranzo N, Williams FMK, Zhou YH, Ralston SH, Thorleifsson G, van Duijn CM, Kiel DP, Stefansson K, Uitterlinden AG, Ioannidis JPA, Spector TD, Consortium G.** Collaborative Meta-analysis: Associations of 150 Candidate Genes With Osteoporosis and Osteoporotic Fracture. *Annals of internal medicine.* 2009;151:528-U532
364. **Brandstrom H, Stiger F, Michaelsson K, Gillberg P, Ljunghall S, Ljunggren O, Kindmark A.** Polymorphism in the promoter region of the human gene for osteoprotegerin: Correlation with bone mineral density. *Journal of Bone and Mineral Research.* 1999;14:S334-S334
365. **Jorgensen HL, Kusk P, Madsen B, Fenger M, Lauritzen JB.** Serum osteoprotegerin (OPG) and the A163G polymorphism in the OPG promoter region are related to peripheral measures of bone mass and fracture odds ratios. *Journal of bone and mineral metabolism.* 2004;22:132-138
366. **Kim JG, Kim JH, Kim JY, Ku SY, Jee BC, Suh CS, Kim SH, Choi YM.** Association between osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor-kappa B (RANK), and RANK ligand (RANKL) gene polymorphisms and circulating OPG, soluble RANKL levels, and bone mineral density in Korean postmenopausal women. *Menopause.* 2007;14:913-918
367. **Ueland T, Bollerslev J, Wilson SG, Dick IM, Islam FMA, Mullin BH, Devine A, Prince RL.** No associations between OPG gene polymorphisms or serum levels and measures of osteoporosis in elderly Australian women. *Bone.* 2007;40:175-181
368. **Boron D, Kotrych D, Bartkowiak-Wieczorek J, Uzar I, Bogacz A, Kaminski A.** Polymorphisms of OPG and their relation to the mineral density of bones in pre- and postmenopausal women. *Int Immunopharmacol.* 2015;28:477-486



369. **Lee YH, Woo JH, Choi SJ, Ji JD, Song GG.** Associations between osteoprotegerin polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis. *Molecular biology reports*. 2010;37:227-234
370. **Komiya Y, Habas R.** Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis*. 2008;4:68-75
371. **Tuysuz B, Bursali A, Alp Z, Suyugul N, Laine CM, Makitie O.** Osteoporosis-pseudoglioma syndrome: three novel mutations in the LRP5 gene and response to bisphosphonate treatment. *Hormone research in paediatrics*. 2012;77:115-120
372. **Boyden LM, Mao J, Belsky J, Mitzner L, Farhi A, Mitnick MA, Wu D, Insogna K, Lifton RP.** High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *The New England journal of medicine*. 2002;346:1513-1521
373. **Twells RC, Mein CA, Phillips MS, Hess JF, Veijola R, Gilbey M, Bright M, Metzker M, Lie BA, Kingsnorth A, Gregory E, Nakagawa Y, Snook H, Wang WY, Masters J, Johnson G, Eaves I, Howson JM, Clayton D, Cordell HJ, Nutland S, Rance H, Carr P, Todd JA.** Haplotype structure, LD blocks, and uneven recombination within the LRP5 gene. *Genome research*. 2003;13:845-855
374. **Xiong DH, Shen H, Zhao LJ, Xiao P, Yang TL, Guo Y, Wang W, Guo YF, Liu YJ, Recker RR, Deng HW.** Robust and comprehensive analysis of 20 osteoporosis candidate genes by very high-density single-nucleotide polymorphism screen among 405 white nuclear families identified significant association and gene-gene interaction. *Journal of bone and mineral research*. 2006;21:1678-1695
375. **Kiel DP, Demissie S, Dupuis J, Lunetta KL, Murabito JM, Karasik D.** Genome-wide association with bone mass and geometry in the Framingham Heart Study. *BMC medical genetics*. 2007;8 Suppl 1:S14
376. **Roshandel D, Thomson W, Pye SR, Boonen S, Borghs H, Vanderschueren D, Huhtaniemi IT, Adams JE, Ward KA, Bartfai G, Casanueva FF, Finn JD, Forti G, Giwercman A, Han TS, Kula K, Lean ME, Pendleton N, Punab M, Wu FC, Holliday KL, O'Neill TW, Group ES.** Polymorphisms in genes involved in the NF-kappaB signalling pathway are associated with bone mineral density, geometry and turnover in men. *PLoS One*. 2011;6:e28031
377. **Kumar J, Swanberg M, McGuigan F, Callreus M, Gerdhem P, Akesson K.** LRP4 association to bone properties and fracture and interaction with genes in the Wnt- and BMP signaling pathways. *Bone*. 2011;49:343-348
378. **Timpson NJ, Tobias JH, Richards JB, Soranzo N, Duncan EL, Sims AM, Whittaker P, Kumanduri V, Zhai G, Glaser B, Eisman J, Jones G, Nicholson G, Prince R, Seeman E, Spector TD, Brown MA, Peltonen L, Smith GD, Deloukas P, Evans DM.** Common variants in the region around Osterix are associated with bone mineral density and growth in childhood. *Human molecular genetics*. 2009;18:1510-1517
379. **Mendez JP, Rojano-Mejia D, Coral-Vazquez RM, Coronel A, Pedraza J, Casas MJ, Soriano R, Garcia-Garcia E, Vilchis F, Canto P.** Impact of genetic variants of IL-6, IL6R, LRP5, ESR1 and SP7 genes on bone mineral density in postmenopausal Mexican-Mestizo women with obesity. *Gene*. 2013;528:216-220
380. **Felix R, Hofstetter W, Cecchini MG.** Recent developments in the understanding of the pathophysiology of osteopetrosis. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 1996;134:143-156
381. **Johnston CC, Jr., Lavy N, Lord T, Vellios F, Merritt AD, Deiss WP, Jr.** Osteopetrosis. A clinical, genetic, metabolic, and morphologic study of the dominantly inherited, benign form. *Medicine*. 1968;47:149-167
382. **Ballanti P, Minisola S, Pacitti MT, Scarnecchia L, Rosso R, Mazzuoli GF, Bonucci E.** Tartrate-resistant acid phosphate activity as osteoclastic marker: sensitivity of cytochemical assessment and serum assay in comparison with standardized osteoclast histomorphometry. *Osteoporosis international*. 1997;7:39-43

383. **Yoneyama T, Fowler HL, Pendleton JW, Sforza PP, Lui CY, Iranmanesh A, Gerard RD.** Elevated levels of creatine kinase BB isoenzyme in three patients with adult osteopetrosis. *The New England journal of medicine*. 1989;320:1284-1285
384. **Bollerslev J, Henriksen K, Nielsen MF, Brixen K, Van Hul W.** Autosomal dominant osteopetrosis revisited: lessons from recent studies. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2013;169:R39-57
385. **Benichou OD, Laredo JD, de Vernejoul MC.** Type II autosomal dominant osteopetrosis (Albers-Schonberg disease): clinical and radiological manifestations in 42 patients. *Bone*. 2000;26:87-93
386. **Waguespack SG, Hui SL, Dimeglio LA, Econs MJ.** Autosomal dominant osteopetrosis: clinical severity and natural history of 94 subjects with a chloride channel 7 gene mutation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92:771-778
387. **Waguespack SG, Koller DL, White KE, Fishburn T, Carn G, Buckwalter KA, Johnson M, Kocisko M, Evans WE, Foroud T, Econs MJ.** Chloride channel 7 (CLCN7) gene mutations and autosomal dominant osteopetrosis, type II. *Journal of bone and mineral research*. 2003;18:1513-1518
388. **Campos-Xavier AB, Casanova JL, Doumaz Y, Feingold J, Munnich A, Cormier-Daire V.** Intrafamilial phenotypic variability of osteopetrosis due to Chloride Channel 7 (CLCN7) mutations. *Am J Med Genet A*. 2005;133A:216-218
389. **Chu K, Koller DL, Snyder R, Fishburn T, Lai D, Waguespack SG, Foroud T, Econs MJ.** Analysis of variation in expression of autosomal dominant osteopetrosis type 2: searching for modifier genes. *Bone*. 2005;37:655-661
390. **Kornak U, Ostertag A, Branger S, Benichou O, de Vernejoul MC.** Polymorphisms in the CLCN7 gene modulate bone density in postmenopausal women and in patients with autosomal dominant osteopetrosis type II. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91:995-1000
391. **Pettersson U, Albagha OM, Mirolo M, Taranta A, Frattini A, McGuigan FE, Vezzoni P, Teti A, van Hul W, Reid DM, Villa A, Ralston SH.** Polymorphisms of the CLCN7 gene are associated with BMD in women. *Journal of bone and mineral research*. 2005;20:1960-1967
392. **Kanis JA, Oden A, McCloskey EV, Johansson H, Wahl DA, Cooper C, Epidemiology IOFWGo, Quality of L.** A systematic review of hip fracture incidence and probability of fracture worldwide. *Osteoporosis international*. 2012;23:2239-2256
393. **Kanis JA, Johnell O, De Laet C, Jonsson B, Oden A, Ogelsby AK.** International variations in hip fracture probabilities: implications for risk assessment. *Journal of bone and mineral research*. 2002;17:1237-1244
394. **Mann E, Icks A, Haastert B, Meyer G.** Hip fracture incidence in the elderly in Austria: an epidemiological study covering the years 1994 to 2006. *BMC geriatrics*. 2008;8:35
395. **Grigorie D, Sucaliuc A, Vladescu C.** Hip Fracture Epidemiology in Romania: Nationwide Study 2005-2009. *Osteoporosis Int*. 2011;22:323-323
396. **Lakatos P, Tóth E, Nagy B, Szekeres L, Takacs I.** Adherencia a magyar posztmenopauzális osteoporotikus női betegek körében. *LAM KID*. 2012;2:5-17
397. **Confavreux CB, Canoui-Poitaine F, Schott AM, Ambrosi V, Tainturier V, Chapurlat RD.** Persistence at 1 year of oral antiosteoporotic drugs: a prospective study in a comprehensive health insurance database. *European Journal of Endocrinology*. 2012;166:735-741
398. **Siris ES, Harris ST, Rosen CJ, Barr CE, Arvesen JN, Abbott TA, Silverman S.** Adherence to bisphosphonate therapy and fracture rates in osteoporotic women: Relationship to vertebral and nonvertebral fractures from 2 US claims databases. *Mayo Clinic Proceedings*. 2006;81:1013-1022
399. **Landfeldt E, Strom O, Robbins S, Borgstrom F.** Adherence to treatment of primary osteoporosis and its association to fractures-the Swedish Adherence Register Analysis (SARA). *Osteoporosis Int*. 2012;23:433-443

400. **Genant HK, Li J, Wu CY, Shepherd JA.** Vertebral fractures in osteoporosis - A new method for clinical assessment. *J Clin Densitom.* 2000;3:281-290
401. **Ross S, Samuels E, Gairy K, Iqbal S, Badamgarav E, Siris E.** A meta-analysis of osteoporotic fracture risk with medication nonadherence. *Value in health : the journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research.* 2011;14:571-581
402. **Olsen KR, Hansen C, Abrahamsen B.** Association between refill compliance to oral bisphosphonate treatment, incident fractures, and health care costs-an analysis using national health databases. *Osteoporosis Int.* 2013;24:2639-2647
403. **Bhattoa HP, Bettembuk P, Ganacharya S, Balogh A.** Prevalence and seasonal variation of hypovitaminosis D and its relationship to bone metabolism in community dwelling postmenopausal Hungarian women. *Osteoporosis Int.* 2004;15:447-451
404. **Omdahl JL, Garry PJ, Hunsaker LA, Hunt WC, Goodwin JS.** Nutritional status in a healthy elderly population: vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 1982;36:1225-1233.
405. **Kull M, Jr., Kallikorm R, Tamm A, Lember M.** Seasonal variance of 25-(OH) vitamin D in the general population of Estonia, a Northern European country. *BMC public health.* 2009;9:22
406. **Cashman KD, Muldowney S, McNulty B, Nugent A, FitzGerald AP, Kiely M, Walton J, Gibney MJ, Flynn A.** Vitamin D status of Irish adults: findings from the National Adult Nutrition Survey. *The British journal of nutrition.* 2013;109:1248-1256
407. **Lauridsen AL, Vestergaard P, Hermann AP, Brot C, Heickendorff L, Mosekilde L, Nexø E.** Plasma concentrations of 25-hydroxy-vitamin D and 1,25-dihydroxy-vitamin D are related to the phenotype of Gc (vitamin D-binding protein): a cross-sectional study on 595 early postmenopausal women. *Calcified tissue international.* 2005;77:15-22
408. **Powe CE, Evans MK, Wenger J, Zonderman AB, Berg AH, Nalls M, Tamez H, Zhang D, Bhan I, Karumanchi SA, Powe NR, Thadhani R.** Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans. *The New England journal of medicine.* 2013;369:1991-2000
409. **Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson MG, Keyes MJ, McCabe EL, Robins SJ, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Jacques PF, Booth SL, Vasan RS, Wolf M, Wang TJ.** Adiposity, Cardiometabolic Risk, and Vitamin D Status: The Framingham Heart Study. *Diabetes.* 2010;59:242-248
410. **Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Orav EJ, Lips P, Meunier PJ, Lyons RA, Flicker L, Wark J, Jackson RD, Cauley JA, Meyer HE, Pfeifer M, Sanders KM, Stahelin HB, Theiler R, Dawson-Hughes B.** A pooled analysis of vitamin D dose requirements for fracture prevention. *The New England journal of medicine.* 2012;367:40-49
411. **Bischoff-Ferrari HA.** Vitamin D and Fracture Prevention. *Endocrin Metab Clin.* 2010;39:347-+
412. **Bischoff-Ferrari HA, Orav EJ, Dawson-Hughes B.** Effect of cholecalciferol plus calcium on falling in ambulatory older men and women - A 3-year randomized controlled trial. *Arch Intern Med.* 2006;166:424-430
413. **Munger KL, Levin LI, Hollis BW, Howard NS, Ascherio A.** Serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of multiple sclerosis. *Jama-J Am Med Assoc.* 2006;296:2832-2838
414. **Ritterhouse LL, Crowe SR, Niewold TB, Kamen DL, Macwana SR, Roberts VC, Dedekke AB, Harley JB, Scofield RH, Guthridge JM, James JA.** Vitamin D deficiency is associated with an increased autoimmune response in healthy individuals and in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2011;70:1569-1574
415. **Hyponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM.** Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet.* 2001;358:1500-1503
416. **Ma YL, Zhang P, Wang F, Yang JJ, Liu ZH, Qin HL.** Association Between Vitamin D and Risk of Colorectal Cancer: A Systematic Review of Prospective Studies. *J Clin Oncol.* 2011;29:3775-3782
417. **Welsh J.** Vitamin D and prevention of breast cancer. *Acta Pharmacol Sin.* 2007;28:1373-1382

418. **Sorva A, Risteli J, Risteli L, Valimaki M, Tilvis R.** Effects of vitamin D and calcium on markers of bone metabolism in geriatric patients with low serum 25-hydroxyvitamin D levels. *Calcified tissue international*. 1991;49 Suppl:S88-89
419. **Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ.** Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *The American journal of clinical nutrition*. 2003;77:204-210
420. **Kenny AM, Biskup B, Robbins B, Marcella G, Burleson JA.** Effects of vitamin D supplementation on strength, physical function, and health perception in older, community-dwelling men. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2003;51:1762-1767
421. **Orwoll ES, Weigel RM, Oviatt SK, Mcclung MR, Deftos LJ.** Calcium and Cholecalciferol - Effects of Small Supplements in Normal Men. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1988;48:127-130
422. **Camus JP, Perie G, Brocheriou C, Crouzet J, Prier A, Cros F.** [Fibrogenesis imperfecta ossium. Study of 2 cases in the same family]. *Annales de medecine interne*. 1975;126:583-589
423. **Epperla N, McKiernan FE, Kenney CV.** Radiographic findings in Waldenstrom's macroglobulinemia resembling fibrogenesis imperfecta ossium (FIO): a case report. *Skeletal radiology*. 2014;43:381-385
424. **Lafage MH, Schaefferbeke T, Marce S, Dehais J.** Inefficiency of Melphalan in Fibrogenesis-Imperfecta-Ossium Associated with Monoclonal Gamopathy. *Arthritis and rheumatism*. 1992;35:S315-S315
425. **LafageProust MH, Schaefferbeke T, Dehais J.** Fibrogenesis imperfecta ossium: Ineffectiveness of melphalan. *Calcified tissue international*. 1996;59:240-244
426. **Wang CS, Steinbach LS, Campbell JB, Hayashi G, Yoon ST, Johnston JO.** Fibrogenesis imperfecta ossium: imaging correlation in three new patients. *Skeletal radiology*. 1999;28:390-395
427. **Weinstein DA, Wolfsdorf JI.** Effect of continuous glucose therapy with uncooked cornstarch on the long-term clinical course of type 1a glycogen storage disease. *European journal of pediatrics*. 2002;161 Suppl 1:S35-39
428. **Iyer SG, Chen CL, Wang CC, Wang SH, Concejero AM, Liu YW, Yang CH, Yong CC, Jawan B, Cheng YF, Eng HL.** Long-term results of living donor liver transplantation for glycogen storage disorders in children. *Liver Transplant*. 2007;13:848-852
429. **Marega A, Fregonese C, Tulissi P, Vallone C, Gropuzzo M, Toniutto PL, Baccarani U, Bresadola F, Toso F, Montanaro D.** Preemptive Liver-Kidney Transplantation in Von Gierke Disease: A Case Report. *Transpl P*. 2011;43:1196-1197
430. **Liu PP, de Villa VH, Chen YS, Wang CC, Wang SH, Chiang YC, Jawan B, Cheung HK, Cheng YF, Huang TL, Eng HL, Chuang FR, Chen CL.** Outcome of living donor liver transplantation for glycogen storage disease. *Transpl P*. 2003;35:366-368
431. **Schwahn B, Rauch F, Wendel U, Schonau E.** Low bone mass in glycogen storage disease type 1 is associated with reduced muscle force and poor metabolic control. *J Pediatr*. 2002;141:350-356
432. **Minarich LA, Kirpich A, Fiske LM, Weinstein DA.** Bone mineral density in glycogen storage disease type 1a and 1b. *Genetics in medicine*.

## IX. Az értekezésben szereplő saját közlemények

**Econs MJ, Koller DL, Considine EL, Takacs I, Christian JC, Conneally PM, Peacock M, Johnston CC, Foroud T.** Bone Mineral Density and laboratory evaluation of a type II autosomal dominant osteopetrosis carrier. *Journal of Bone & Mineral Research*. 1998;S 271 **IF: Kongresszusi abstract**

**Bajnok E, Takacs I, Vargha P, Speer G, Nagy Z, Lakatos P.** Lack of association between interleukin-1 receptor antagonist protein gene polymorphism and bone mineral density in Hungarian postmenopausal women. *Bone*. 2000;27:559-562 **IF: 3,998**

**Takacs I, Koller DL, Peacock M, Christian JC, Evans WE, Hui SL, Conneally PM, Johnston CC, Jr., Foroud T, Econs MJ.** Sib pair linkage and association studies between bone mineral density and the interleukin-6 gene locus. *Bone*. 2000;27:169-173 **IF: 3,998**

**Takacs I, Koller DL, Peacock M, Christian JC, Hui SL, Conneally PM, Johnston CC, Jr., Foroud T, Econs MJ.** Sibling pair linkage and association studies between bone mineral density and the insulin-like growth factor I gene locus. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999;84:4467-4471 **IF: 5,805**

**Takacs I, Speer G, Bajnok E, Tabak A, Nagy Z, Horvath C, Kovacs K, Lakatos P.** Lack of association between calcium-sensing receptor gene "A986S" polymorphism and bone mineral density in Hungarian postmenopausal women. *Bone*. 2002;30:849-852 **IF: 3,755**

**Takacs I, Lazary A, Kosa JP, Kiss J, Balla B, Nagy Z, Bacsi K, Speer G, Lakatos P.** Allelic variations of RANKL/OPG signaling system are related to bone mineral density and in vivo gene expression.

*European journal of endocrinology.* 2010;162:423-431

**IF: 3,482**

**Horvath P, Balla B, Kosa JP, Tobias B, Szili B, Kirschner G, Gyori G, Kato K, Lakatos P, Takacs I.** Strong effect of SNP rs4988300 of the LRP5 gene on bone phenotype of Caucasian postmenopausal women.

*Journal of bone and mineral metabolism.* 2016;34:79-85

**IF: 2,460**

**Takacs I, Cooper H, Weaver DD, Econs MJ.** Bone mineral density and laboratory evaluation of a type II autosomal dominant osteopetrosis carrier. *American journal of medical genetics.* 1999;85:9-12

**IF: 2,479**

**Lakatos P, Toth E, Szekeres L, Poor G, Hejj G, Marton I, Takacs I.** Comparative statistical analysis of osteoporosis treatment based on Hungarian claims data and interpretation of the results in respect to cost-effectiveness. *Osteoporosis international.* 2014;25:2077-2087

**IF: 4,179**

**Lakatos P, Takacs I, Marton I, Toth E, Zoltan C, Lang Z, Psachoulia E, Intorcica M.** A Retrospective Longitudinal Database Study of Persistence and Compliance with Treatment of Osteoporosis in Hungary.

*Calcified tissue international.* 2016;98:215-225

**IF: 3,272**

**Lakatos P, Tóth E, Nagy B, Szekeres L, Takacs I.** Adherencia a magyar posztmenopauzális osteoporoticus női betegek körében. *LAM KID.* 2012;2:5-17

**IF: 0**

**Szabo B, Tabak AG, Toldy E, Szekeres L, Szili B, Bakos B, Balla B, Kosa JP, Lakatos P, Takacs I.**

The role of serum total and free 25-hydroxyvitamin D and PTH values in defining vitamin D status at the end of winter: a representative survey. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2015; DOI

10.1007/s00774-015-0729-4

**IF: 2,460**

**Takacs I, Benko I, Toldy E, Wikonkál N, Szekeres L, Bodolay E, Kiss E, Szabó B, Valkusz Z,**

**Kovács T, Szabó A, Bittner N, Várbíró S, Sziller I, Császár A, Kiss R, Lakatos P.** Hungarian

Consensus about the vitamin D effects on prevention and treatment of diseases. *Magyar Orvos*.

2014;Suppl 2014/1

**IF: 0**

**Takacs I, Tóth E B, Szekeres I, Szabó B, Bence B, Lakatos P.** Randomized clinical trial to comparing efficacy of daily, weekly and monthly administration of vitamin D<sub>3</sub>. *Endocrin Practice*. Under review

**Balla B, Tobias B, Kosa JP, Podani J, Horvath P, Nagy Z, Horanyi J, Jaray B, Szekely E, Krenacs L, Arvai K, Dank M, Putz Z, Szabo B, Szili B, Valkusz Z, Vasas B, Gyori G, Lakatos P, Takacs I.**

Vitamin D-neutralizing CYP24A1 expression, oncogenic mutation states and histological findings of human papillary thyroid cancer. *Journal of endocrinological investigation*. 2015;38:313-321

**IF: 1,448**

**Bakos B, Lukats A, Lakatos P, Gyori G, Tremmel A, Takacs I.** Report on a case of fibrogenesis imperfecta ossium and a possible new treatment option. *Osteoporosis international*. 2014;25:1643-1646

**IF: 4,169**

**Szili B, Gorog D, Gerlei Z, Gyori G, Lakatos P, Takacs I.** Rapid height growth after liver transplantation in adulthood. *Growth hormone & IGF research*. 2016;29:1-3

**IF: 1,407**

**Az értekezésben szereplő közlemények összesített impaktfaktora 42,912.**

## X. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Holló István Professzor Úrnak és Szűcs János professzor Úrnak, akik ráirányították figyelmemet a csontanyagcsere-betegségekre, és akik bevezettek a klinikai endokrinológia és az oszteológia rejtelmeibe. Lakatos Péter Professzor Úrnak, aki a molekuláris biológiából volt mesterem, és akinek a munkacsoportjában közel húsz évig dolgozhattam. Michael J. Econs-nak és Conrad C. Johnstonnak, akiknek Indianapolisi laboratóriumában és vezetésével az értekezés egyik lényeges részét jelentő munkák készülhettek.

Köszönöm korábbi és jelenlegi Ph.D. hallgatóimnak dr. Balla Bernadettnek, dr. Lazáry Áronnak, dr. Halászlaki Csabának, dr. Szabó Boglárkának, dr. Szili Bláznak és dr. Bakos Bencének a szorgalmas és kitartó munkát. Köszönöm a Semmelweis Egyetem I.sz. Belgyógyászati Klinika endokrin munkacsoportja valamennyi tagjának baráti támogatását. Köszönöm az I. sz. Belgyógyászati Klinika kutató laboratóriuma valamennyi munkatársának a segítségét, a laboratórium vezetőjének dr. Kósa János szakmai támogatását. Végül, de nem utolsó sorban köszönöm szüleimnek, gyermekeimnek és feleségemnek a türelmet, kitartást és töretlen támogatást, amely nélkül ez a mű soha nem készülhetett volna el.