

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – ПЛЕВЕН
КАТЕДРА „ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ“

Д-р Татяна Недкова Симеонова, дб

**ВЛИЯНИЕ НА ВИТАМИН Д И
ВИТАМИН К2 ВЪРХУ КОСТНИЯ ТЪРНОВЪР И
ФРАКТУРНИЯ РИСК ПРИ ЖЕНИ С
ПОСТМЕНОПАУЗАЛНА ОСТЕОПОРОЗА**

Книга на базата на защитен дисертационен труд

**Плевен
2026**



**ВЛИЯНИЕ НА ВИТАМИН Д И ВИТАМИН К2 ВЪРХУ КОСТНИЯ
ТЪРНОВЪР И ФРАКТУРНИЯ РИСК ПРИ ЖЕНИ С
ПОСТМЕНОПАУЗАЛНА ОСТЕОПОРОЗА**

Книга на базата на защитен дисертационен труд

© д-р **Татяна Недкова Симеонова, д.б.**

Първо издание, 2026

Рецензенти:

Доц. д-р Нина Юриева Белова, д.м.

Доц. д-р Рене Димитрова Милева-Попова, д.б.

© Издател: ИЦ “МУ - Плевен, ул. “св. Климент Охридски” №1

ISBN 978-954-756-376-6

Всички авторски права са запазени! Не се разрешава копиране,
възпроизвеждане, както и разпространение на книгата или части от нея
по какъвто и да е друг начин, без разрешение на автора

РЕЦЕНЗИЯ

от доцент д-р Нина Юриева Белова, дм,
хоноруван преподавател към МУ-София на
предложената за публикуване книга на база на защитен дисертационен
труд за ОНС „д-р“
„ВЛИЯНИЕ НА ВИТАМИН Д И ВИТАМИН К2 ВЪРХУ КОСТНИЯ
ТЪРНОВЪР И
ФРАКТУРНИЯ РИСК ПРИ ЖЕНИ С ПОСТМЕНОПАУЗАЛНА
ОСТЕОПОРОЗА“

от д-р Татяна Недкова Симеонова, дб,
главен асистент към
Катедра по „Физиология и
патофизиология“, МУ-Плевен

Декларирам, че нямам общи публикации с автора на книгата.

Считам, че тематиката на предложената за публикуване книга на база на успешно защитения дисертационен труд е изключително актуална. Представянето на нови, модерни данни за физиологията на костната тъкан, регулацията на калциево-фосфатната обмяна в организма и патофизиологията на остеопорозата е от интерес и полза за цялата медицинската общност в България, както и за тесните специалисти в тази област.

Авторката е направила подробен анализ на съвременните виждания за структурата и физиологията на костната тъкан. Детайлно е обсъдена новата информация за основните регулатори в костната тъкан и костното ремоделиране. На базата на тези данни авторката представя модерните разбираня за патогенезата и патофизиологията на остеопорозата.

Остеопорозата е социално-значимо заболяване, което се характеризира със значително разпространение и отрицателен ефект върху качеството на живот, особено у жените в постменопаузална възраст. Авторката подробно и аналитично е описала рисковите фактори за развитието на заболяването, като в детайли е разгледан ефектът на отпадането на протективната функция на естрогените върху костния метаболизъм и възникващите в резултат на това нарушения в циклите на костното ремоделиране. Направен е обстоен преглед на съвременните диагностични методи за остеопороза, за оценка на фрактурния риск, биохимичните маркери на костния кръговрат, алкалната фосфатаза, остеокалцина. Друг не по-малко важен акцент в книгата са

данните за значението на витамин Д и витамин К2 за костната обмяна, интимните механизми на действие на тези два физиологични регулатора и ролята им в патогенезата на остеопорозата.

От специален интерес е информацията за епидемиологията на остеопорозата в България и препоръките на Българското дружество по ендокринология по този въпрос.

Собствените изследвания на авторката (в цитираните публикации д-р Симеонова е първи автор) допълват знанията за остеопорозата в България специално у жените в постменопаузална възраст. Изследванията са планирани на базата на съвременните представи за заболяването и са проведени върху 100 жени в тази възраст, разпределени в две групи – работна и контролна.

Получени са редица интересни данни за костната минерална плътност, индекса на телесна маса, фрактурния риск оценяван с валидирания за България FRAX® калкулатор и за маркерите на калциево-фосфатната обмяна (нива на калций и фосфати, алкална фосфатаза, паратхормон, витамин Д и витамин К, определян индиректно на базата на остеокалцин). Собствените резултати са онагледени много добре графично и таблично. Много ценен е анализът на получените резултати и обсъждането на взаимоотношенията между основните патогенетични фактори, подкрепено от широката библиографска справка. Важен оригинален принос на работата са получените данни за витамин К2 у жените в менопауза в България, както и взаимоотношенията между витамин Д и витамин К2, костната минерална плътност, костния кръговрат и фрактурния риск у жените в менопауза, които с публикуването на книгата ще бъдат популяризирани сред по-широка медицинска общност.

Предложената за печат книга съдържа 129 страници, от тях 20 страници библиография.

Текстът е представен в 6 глави, илюстративният материал се състои от 34 фигури (29 със собствени резултати) и 9 таблици. Богатата литературна справка съдържа 332 заглавия предимно от последните години, от тях 13 са на български автори, 3 от заглавията са на кирилица.

Текстът е добре структуриран, написан е на коректен литературен български език, използвани са подходящи статистически методи, а илюстративният материал оптимално подпомага разбирането на получените резултати. Имам една единствена техническа препоръка – основната част от цитираните автори от библиографската справка фигурират под съответните

номера в текста, има единични изключения, които би трябвало да бъдат коригирани (напр. Krasimirova et al. 44 стр.), а където това се налага от изложението – да бъде добавен номера от литературната справка (напр. Kirilova и Vladeva 68 стр.).

В заключение, считам, че предложеният за печат материал отговаря напълно на изискванията на Правилника за прилагане на Закона за развитието на академичния персонал в РБ. Представени са основните резултати, методи и приноси на защитения дисертационен труд под форма на добре структуриран текст на книга, а не на дисертация, като това подпомага популяризирането на научните изследвания и приноси на авторката.

Давам положителна оценка на предложената за печат книга на база на защитения от д-р Татяна Симеонова дисертационен труд за ОНС „д-р“.

21.05.2026 г.
дм София

Доцент д-р Нина Юриева Белова,

РЕЦЕНЗИЯ

от доцент д-р Рене Димитрова Милева-Попова, дб,
преподавател към Катедра „Физиология и патофизиология“, МУ-София
на предложената за публикуване книга на база на защитен дисертационен
труд за ОНС „д-р“

„ВЛИЯНИЕ НА ВИТАМИН Д И ВИТАМИН К2 ВЪРХУ КОСТНИЯ ТЪРНОВЪР И ФРАКТУРНИЯ РИСК ПРИ ЖЕНИ С ПОСТМЕНОПАУЗАЛНА ОСТЕОПОРОЗА“

от д-р Татяна Недкова Симеонова, дб,
главен асистент към Катедра по „Физиология и патофизиология“,
МУ-Плевен

Декларирам, че нямам съвместни публикации с автора на книгата. Считам, че темата на предложението за публикуване труд, разработен въз основа на успешно защитена дисертация, е изключително актуална. Представените съвременни данни относно физиологията на костната тъкан, регулацията на калциево-фосфорната обмяна и патофизиологията на остеопорозата представляват значим интерес и биха били полезни както за широката медицинска общност в България, за специалистите в тази област, така и за студентите по медицина.

Трудът на д-р Татяна Недкова Симеонова е изграден върху солидна основа от научни изследвания и международни стандарти. Авторката е извършила задълбочен анализ на съвременните концепции, свързани със структурата и функциите на костната тъкан. Подробно са разгледани новите познания относно основните регулаторни механизми в костта и процесите на костно ремоделиране. Въз основа на този анализ д-р Татяна Симеонова представя актуалните виждания за остеопорозата – от физиологичните основи и патофизиологията до клиничните приложения.

Остеопорозата е социално значимо заболяване с висока честота и съществено негативно въздействие върху качеството на живот, особено при жени в постменопаузален период. В труда са систематично и аналитично представени рисковите фактори за развитие на заболяването, като специално внимание е отделено на ролята на естрогенния дефицит и неговото влияние върху костния метаболизъм и нарушенията в процесите на костно ремоделиране. Направен е обстоен преглед на съвременните диагностични подходи при остеопороза, включително методите за оценка на фрактурния риск, както и биохимичните маркери на костния обмен - алкална фосфатаза и остеокалцин. Значим акцент в книгата представлява и анализът на ролята на витамин D и витамин K2 в костния метаболизъм,

механизмите им на действие и участието им в патогенезата на остеопорозата.

Особено ценна е представената информация относно епидемиологията на остеопорозата в България, както и разгледаните препоръки на Българското дружество по ендокринология по този въпрос.

Собствените изследвания на авторката (в които д-р Симеонова е първи автор) допринасят за обогатяване на познанията относно остеопорозата при жени в постменопаузална възраст в България. Проучванията са разработени с методологична прецизност, съвременен подход и са проведени върху 100 жени, разпределени в работна и контролна група.

Получени са съществени резултати относно костната минерална плътност, индекса на телесна маса, фрактурния риск (оценен чрез валидирания за България FRAX® калкулатор), както и показателите на калциево-фосфатната обмяна - серумни нива на калций и фосфати, алкална фосфатаза, паратхормон, витамин D и витамин K (оценен индиректно чрез остеокалцин). Резултатите са ясно представени чрез графики и таблици. Особено ценен е задълбоченият анализ и интерпретация на получените данни, включително разглеждането на взаимовръзките между основните патогенетични фактори, подкрепени с богата библиография. Значим оригинален принос представляват данните за витамин K2 при жени в менопауза в България, както и анализът на връзката между витамин D и витамин K2, костната минерална плътност, костния обмен и риска от фрактури.

Предложеният за публикуване труд е с обем от 129 страници, включително 20 страници библиография. Съдържанието е структурирано в 6 глави и включва 34 фигури (29 от които представят собствени резултати) и 9 таблици. Използваните 332 литературни източника, предимно съвременни свидетелстват за задълбоченост на анализа.

Текстът е логично организиран, написан на ясен български език и е пример за висок стандарт на академично писане. Използвани са адекватни статистически методи. Резултатите от собствените проучвания са анализирани задълбочено и отлично илюстрирани.

В заключение, считам че предложеният за публикуване материал напълно отговаря на изискванията на Правилника за прилагане на Закона за развитието на академичния състав в Република България. В него са представени основните резултати, методология и научни приноси от

дисертационния труд в подходящ за книга формат, който без съмнение ще намери своето място в академичната общност и в клиничната практика.

Давам положителна оценка на предложението за публикуване труд, разработен въз основа на защитения дисертационен труд на д-р Татяна Симеонова за придобиване на образователна и научна степен „доктор“.

21.05.2026 г.

Доцент Д-р Рене Димитрова Милева-Попова, дб

СЪКРАЩЕНИЯ

- АФ – алкална фосфатаза
БКМ – биохимични костни маркери
ДХА – двойноенергийна рентгенова абсорбциометрия
ЕС – Европейски съюз
ИТМ – индекс на телесна маса
КМП – костна минерална плътност
ОП – остеопороза
ПТХ – паратхормон
СЗО – Световна здравна организация
1.25(ОН)2Д – 1,25-дихидроксихолекалциферол
25(ОН)Д – 25-хидроксихолекалциферол
β-Cross Laps – колаген тип I кръстосано свързан C-телопептид
ВМР – костен морфогенен протеин
ВМУ – костна многоклетъчна единица
CaSR – калциево-чувствителен рецептор
СУР – цитохром оксидаза
СТХ – C-терминален телопептид
EFSA – Европейската агенция за безопасност на храните
EGF – епидермален растежен фактор
Erα – естрогенен рецептор алфа
Erβ – естрогенен рецептор бета
ESR1 – ген кодиращ естрогенен рецептор алфа
ESR2 – ген кодиращ естрогенен рецептор бета
FGF – фибробластен растежен фактор
FGF23 – фибробластен растежен фактор 23
FRAX-MO – голяма остеопоротична фрактура
FRAX-Hfr – бедрена фрактура
IGF – инсулиноподобен растежен фактор
IL-1 – интерлевкин 1
IL-6 – интерлевкин 6
IFCC – Международна федерация по клинична химия и лабораторна медицина
IOF – Международна фондация по остеопороза
M-CSF – макрофаг-колониостимулиращ фактор
NTX – колаген тип I кръстосано свързан N-телопептид
OC – остеокалцин

OPG – остеопротегерин
PGE2 – простагландин E2
PGF – тромбоцитен растежен фактор
PICP – карбокситерминален пропептид
PINP – проколаген тип I аминотерминален пропептид
PTH – паратхормон
PYR – уринен пиридинолин
RANK – рецептор активатор на нуклеарен фактор κ B
RANKL – лиганд активатор на рецептора на нуклеарен фактор κ B
ucOC – некарбоксилиран остеокалцин
SD – стандартно отклонение
TGF- β – трансформиращ растежен фактор- β
VDP – витамин D-свързващ протеин
VDR – витамин D рецептор
VDRE – елементи на отговор на витамин D
TNF – тумор некротизиращ фактор
WNT – Wnt протеин

СЪДЪРЖАНИЕ

1. Въведение	13
2. Костна анатомия и физиология	15
2.1. Структура на костите	15
2.2. Неорганични и органични компоненти на костта	15
2.3. Костни клетки	17
2.4. Костно ремоделиране	20
2.5. Регулация на костното ремоделиране	23
2.6. Системна регулация	24
2.7. Локална регулация	28
2.8. Пикова костна маса и костна минерална плътност	29
3. Остеопороза	31
3.1. Определение	31
3.2. Епидемиология	32
3.3. Класификация на остеопорозата	33
3.4. Рискови фактори за развитие на остеопороза	33
3.5. Патогенеза на постменопаузалната остеопороза	35
4. Диагноза и оценка	39
4.1. Диагноза	39
4.2. Оценка на рисковите фактори	39
4.3. Оценка на фрактурния риск	40
4.4. Биохимични маркери на костен търновър	41
5. Витамин Д	45
5.1. Химична структура и метаболизъм	45
5.2. Механизъм на действие	47
5.3. Физиологични ефекти и регулация	48
5.4. Рискови фактори за развитие на дефицит на витамин Д	51
5.5. Витамин Д в патогенезата на остеопорозата	52
6. Витамин К2	55
6.1. Химична структура, източници, физиологични ефекти	55
6.2. Синергичен ефект на витамините Д и К2	59
7. Собствени изследвания	61
7.1. Клиничен контингент	61
7.2. Начална оценка	62
7.3. Лабораторни изследвания	63
7.4. Статистическа обработка	65
7.5. Резултати от първоначалната оценка	65
7.6. Калциево-фосфорен метаболизъм	76
7.6.1. Калций и фосфор	76
7.6.2. Алкална фосфатаза	76
7.6.3. Паратхормон	78
7.7. Витамин Д статус	79

7.8. Витамин К2 статус	96
8. Заключение	114
Библиография	116

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Остеопорозата (ОП) е значим здравен проблем с характеристиките на „тиха епидемия“, дефинирана като първично метаболитно заболяване на скелета с намалена костна минерална плътност (КМП) и повишен риск от фрактури. Безсимптомното протичане и късната клинична изява, често след настъпване на нискоенергийна фрактура са причина за значителна заболеваемост, инвалидизация и повишена смъртност, особено при жени с постменопаузална ОП. В този контекст изясняването на факторите, влияещи върху костния търновър и фрактурния риск, остава приоритет в съвременните изследвания.

Традиционно, ролята на калция и витамин Д в поддържането на костното здраве е добре установена. В много страни суплементацията с калций самостоятелно или в комбинация с витамин Д се препоръчва в схемите за профилактика и лечение, поради предполагаемата им способност да поддържат здравето на костите и да повишават КМП. Въпреки това, натрупващите се данни поставят под въпрос еднозначната полза от тази стратегия, както по отношение на фрактурния риск, така и поради потенциалните неблагоприятни ефекти, включително повишен сърдечно-съдов риск. Концепцията за т.нар. „калциев парадокс“ – съвместното наличие на костна деминерализация и съдова калцификация – насочва вниманието към по-сложни механизми на регулация на калциевия метаболизъм, в които ключова роля играят витамин Д и витамин К2.

Съвременните данни подчертават синергичното взаимодействие между витамин Д и витамин К2 в регулацията на костния търновър. Витамин Д стимулира синтеза на витамин К-зависими протеини, включително остеокалцин (ОС) и матриксен Gla-протеин (MGP), които изискват витамин К2 независимо гама-карбоксилиране, за да станат биологично активни. Карбоксилираният ОС подпомага минерализацията на костната матрица, а карбоксилираният MGP инхибира ектопичната калцификация в съдовата стена. Дефицитът на витамин К2 води до повишени нива на некарбоксилирани, функционално неактивни форми на тези протеини, което може да допринесе едновременно за повишен костен търновър, намалена костна здравина и увеличен фрактурен риск.

Дефицитът на витамин Д остава широко разпространен в глобален мащаб и все още се разглежда като ключов рисков фактор за развитие на ОП. Въпреки това, данните относно ефекта на оптималните нива на витамин Д върху КМП, костния търновър и фрактурния риск при постменопаузални

жени са противоречиви. Някои мета-анализи на рандомизирани клинични проучвания поставят под съмнение степента на неговия протективен ефект, което предполага, че изолираното му приложение може да не е достатъчно за оптимално повлияване на костния метаболизъм.

В този контекст витамин К2 се очертава като потенциален модулатор на ефектите на витамин Д, с възможна ключова роля за насочване на калция към костната тъкан и ограничаване на съдовата калцификация. Независимо от това, физиологичните механизми на действие на витамин К2 и неговото клинично значение при постменопаузална ОП остават недостатъчно изяснени, а наличните данни са ограничени и често противоречиви.

Липсата на национални данни относно статуса на витамин Д и витамин К2, както и връзката им с маркерите на костен търновър и фрактурния риск при жени в менопауза, допълнително подчертава необходимостта от провеждане на целенасочени изследвания. Това е особено релевантно в условията на недостатъчно ефективни стратегии за ранна диагностика, профилактика и проследяване на ОП.

2. КОСТНА АНАТОМИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

2.1. Структура на костите

Костта е естествен композитен материал. Основните компоненти са неорганични минерали и органичен матрикс. Неорганичната компонента съставя около 70%, а органичната около 30% от костната маса. Костната тъкан се подлага на непрекъснато ремоделиране и се обновява чрез енергозависим процес през целия живот (1). Първоначално костта увеличава размерите и формата си чрез нарастване и сложен процес известен като скелетно моделиране. Моделирането е процес, чрез който костите се оформят и адаптират към натоварване. То води до промени в костната маса, размера и геометрията. Моделирането на кортекса, на периосталните или ендостеалните повърхности променя диаметъра на костта (2). В късна детска и зряла възраст се извършва непрекъснато обновяване на скелета чрез процес, наречен ремоделиране. Костното ремоделиране включва частична резорбция на костта и образуване на нова кост на същото място (3). Както моделирането, така и ремоделирането изискват два отделни процеса, а именно костна резорбция и костно изграждане, които трябва да протичат едновременно, за да бъдат ефективни (4).

2.2. Неорганични и органични компоненти на костта

Неорганичната част на костния матрикс е съставена главно от кристални соли на калциев фосфат под формата на хидроксиапатит с химична формула $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Това позволява костта да служи като резервоар на калций и фосфор, които могат да се съхраняват или мобилизират по контролиран начин. Съдържа и значителни количества натрий, калий, магнезий, цинк, барий, стронций, бикарбонати, цитрати, карбонати и флуориди (5).

Органичната компонента е представена от костни клетки – остеобласти, остеоцити, остеокласти и костен матрикс – остеоид. Костта съдържа сравнително малък брой клетки, закрепени в матрицата от колагенови влакна, които осигуряват повърхност за прилепване на кристалите неорганични соли. Тези кристали се образуват, когато калциевият фосфат и калциевият карбонат се комбинират, за да създадат хидроксиапатит, който включва и други неорганични соли като магнезиев хидроксид, флуорид и сулфат. Кристалите на хидроксиапатит придават на костите твърдост и здравина, докато колагеновите влакна им придават гъвкавост, така че да не са чупливи (6).

Остеобластите синтезират органичната костна матрица, която представлява плътни слоеве колаген, които се редуват успоредно и перпендикулярно на оста на натоварване. В тази матрица се отлагат изключително плътните хидроксиапатитни кристали чрез активен и пасивен транспорт и контрол на рН. Докато матрицата узрява, хидроксиапатитните микрокристали се организират в сложен композит в колагеновия слой чрез нуклеиране в протеиновата решетка (7). Органичната костна матрица се образува от тип I колагенови фибрили, които съставят 90% от общия белтък в костите и неколагенови белтъци, които са 10%. Колагенът вече е описан като критичен за регенерацията на костната тъкан, обаче малко се знае за потенциалния ефект на неколагенните протеини върху остеогенната диференциация, въпреки че тези протеини са идентифицирани преди няколко десетилетия (8).

По-голямата част от органичният компонент е колаген тип I, който се синтезира вътреклетъчно като тропоколаген и след това се изнася като колагенови фибрили. В допълнение към колагена, костната матрица се състои от протеогликани, гликопротеини, фосфолипиди и фосфопротеини, както и различни растежни фактори, включително остеокалцин, остеонектин и костен сиалопротеин (9). Заедно с колагена, неколагенните матриксни протеини образуват скелета за отлагане на хидроксиапатит и създават типичната здравина и устойчивост на костната тъкан (5).

Повечето неколагенови белтъци се синтезират от остеобластите. Една четвърт от тях са плазмени протеини абсорбирани от костния матрикс. Главният неколагенов белтък е остеокалцинът, който играе роля в свързването на калция и стабилизирането на хидроксиапатита в матрикса. Той участва в костното образуване (10).

Основният гликозилиран протеин, присъстващ в костите е алкалната фосфатаза (АФ). Матриксът в началото е неминерализиран остеоид секретирани от остеобластите. Минерализацията започва със секретирани на везикули с АФ. Отделените фосфатни групи стават огнища за калциево и фосфатно кристализиране. Съзряването на костния матрикс е свързано с експресията на АФ и неколагенни белтъци, като остеокалцин, остеопонтин и костен сиалопротеин. Тези протеини свързват калций и фосфати и участват в подреденото отлагане на минерала чрез регулиране на количеството и размера на образуваните кристали хидроксиапатит (11).

2.3. Костни клетки

Въпреки че костните клетки заемат малка част от костния обем, те са от основно значение за функцията на костите. В костната тъкан се намират четири типа клетки: остеопрогениторни клетки, остеобласти, остеоцити и остеокласти.

Остеобластите произхождат от незрели мезенхимни стволови клетки, които могат да се диференцират в хондроцити, мускулни, мастни клетки и фибробласти (12). Мезенхимните (остеопрогениторни) стволови клетки преминават няколко етапа на диференциация, за да образуват зрели остеобласти. Смята се, че костните морфогенни протеини (BMPs) контролират фенотипизирането на мезенхимните стволови клетки в остеобласти. Костните морфогенни протеини са членове на суперсемейството на трансформация растежен фактор- β (TGF- β). Те действат като морфогени в процесите на образуване на различни тъкани (13). Остеобластите произвеждат колаген тип I и мукополизахариди, които имат влакнеста структура и изграждат остеоида. Освен това произвеждат и секретират простагландини и редица растежни фактори: инсулиноподобен растежен фактор (IGF), тромбоцитен растежен фактор (PGF), фибробластен растежен фактор (FGF), TGF- β , BMP и Wnt сигнални протеини. Остеобластната активност се регулира по паракринен и автокринен механизъм от растежните фактори и от някои хормони. Върху остеобластите се експресират рецептори за щитовидни хормони, паратхормон, растежен хормон, инсулин, пролактин. Ядрените им рецептори включват стероидни рецептори за естрогени, андрогени, витамин D и ретиноиди. Тези клетки експресират и рецептори за редица паракринни и автокринни регулатори – епидермален растежен фактор (EGF), IGF, PGF, FGF, TGF- β , BMP, Wnt рецепторни протеини и интерлевкини (IL). Остеобластите секретират и цитокини, които са основен стимул за остеокластната диференциация – макрофаг-колониостимулиращ фактор (M-CSF), мембранен лиганд активатор на рецептора на нуклеарен фактор κ B (RANKL), остеопротегерин (OPG), (10). Установено е, че M-CSF подпомага пролиферацията и диференциацията на мезенхимните стволови клетки в остеобласти, а RANKL диференциацията и функционалната активност на остеокластите (14). Остеобластите произвеждат и АФ, която участва в минерализацията на костите. Ензимът е ранен маркер за диференциация на остеобластите и засилената му експресия се свързва с

прогресивното диференциране на остеобластите в процесите на костно образуване.

Съществуват два вида остеобласти в зависимост от тяхната топография. Мезенхимните остеобласти са заобиколени изцяло от произволно ориентирани колагенови фибрили и по този начин са отговорни за синтеза на трабекуларна кост. Повърхностните остеобласти синтезират колагенови фибрили по дължината на костта. По този начин те участват в директния синтез на ламеларна кост (15).

След като остеобластите завършат костообразуващата си функция те се затварят в костната матрица и се превръщат в остеоцити или остават на повърхността като костни покриващи клетки. Костните покриващи клетки са неактивни остеобласти. Те покриват всички костни повърхности и имат бариерна функция. Има натрупани достатъчно доказателства, че 50 – 70% от остеобластите след приключване на процесите на костообразуване се подлагат на апоптоза, програмиран процес на клетъчна смърт, който се регулира от растежни фактори и цитокини, произведени в костната микросреда (16).

Остеоцитите произлизат от остеобластите. По време на остеогенезата остеобластите отлагат остеоид, който образува малки кухини, наречени лакуни. В края на цикъла, остеобластите се превръщат в остеоцити и се включват в лакуните на костната матрица. Този процес е придружен от видими морфологични и ултраструктурни промени в клетките. Новообразуваните остеоцити запазват някои от структурните особености на остеобластите с богат и добре организиран гранулиран ендоплазмен ретикулум и добре развит апарат на Голджи, характеристики на активните протеин-синтезиращи клетки. Неактивните остеоцити са разположени на по-големи разстояния от активните костообразуващи повърхности имат оскъден гранулиран ендоплазмен ретикулум и по-малък апарат на Голджи (17).

Остеоцитите са най-многобройните и най-дългоживеещи и в миналото са били разглеждани като „неактивни клетки“ в минерализираната кост, но през последните две до три десетилетия е доказано, че изпълняват множество важни функции (18). Те са главните регулатори на костното ремоделиране, чрез директния си ефект върху костната калциева минерализация и индиректно, чрез секрецията на важни регулаторни фактори, регулиращи активността на остеобластите и остеокластите (19). Те синтезират и секретират различни протеини и сигнални молекули, като

склеростин, катепсин К, Wnt протеини, IGF1 и RANKL/OPG участващи в тази регулация (20). Остеоцитите са ендокринни клетки, които участват в регулацията на метаболизма на калция и фосфатите, (21), имат основна роля в трансдукцията на сигнали за механично натоварване и са основни механосензори в костите (22).

Образуването на остеоцитите е сложен процес, който не е напълно изяснен. Предполага се, че процесите на образуването на кост и вграждането на остеобластите протичат под строг контрол от остеоцитите в костната матрица. Остеоцитите, които се оказват вградени по-дълбоко по време на отлагането на матрикса могат да сигнализират повърхностно разположените остеобласти и да намалят тяхната синтезираща активност (23).

Остеоцитите имат приплеснато тяло, с множество нежни, дълги, паякообразни израстъци, ядро и слабо базофилна цитоплазма бедна на органели. Разполагат се в малки кухини – лакуни, а израстъците им проникват в тесни каналикули, където взаимодействат със заобикалящата ги костна тъкан и формират функционален синцитиум, наречен остеоцитна лакунарно-каналicularна система. Остеоцитите са свързани помежду си, чрез различни видове междуклетъчни връзки, между които и цепковидни контакти, позволяващи им бързо да предават информация на остеобластите, костните покриващи клетки, стромалните и ендотелните клетки. Функционалният синцитиум като такъв е способен да инициира, извършва и спира костното ремоделиране, за да отговори на моментните метаболитни и механични костни изисквания. В този контекст, механорецепторната функция на остеоцитите е в основата на костната адаптация към механични стимули, модулирането на костната резорбция и образуването на кост при физиологични механични натоварвания (24).

Остеокластите са специализирани клетки, получени от хемопоетичната линия на моноцитите/макрофагите, които се развиват и прилепват към костния матрикс под въздействието на няколко фактора. Сред тях са M-CSF, секретирани от остеопрогениторни мезенхимни клетки и остеобласти (25) и RANKL, секретирани от остеобласти, остецити и стромални клетки (26). Остеокластните предшественици експресират рецептори за M-CSF, а свързването на M-CSF с рецептора стимулира тяхната пролиферация и инхибира апоптозата. Основният фактор за диференциация на остеокластите е RANKL, който стимулира диференциацията на остеокластите главно чрез контрол на генната експресия след активиране на RANK (27). От друга страна OPG, който се

произвежда от широк спектър клетки, включително остеобласти, стромални клетки, гингивални и пародонтални фибробласти (28), се свързва с RANKL, предотвратявайки взаимодействието RANK/ RANKL и подтиска диференциацията, активността и оцеляването на остеокластите. Така относителните нива на RANKL и OPG са ключови фактори, определящи броя и активността на остеокластите, образувани на конкретно място (29).

Остеокластите са големи многоядрени клетки с множество ядра и базofilна богата на органели цитоплазма. Остеокластите са подвижни и постоянно се променят по форма и размери. Придвижвайки се по дължината на костта, те изпълняват основната си функция – резорбция на костта. След като остеокластите са резорбирали определено количество кост те умират и бързо се отстраняват от фагоцитите. И остеобластите и остеокластите умират чрез апоптоза, процес общ за регенериращите тъкани (30). Оцеляването и апоптозата са от основно значение в жизнения цикъл на остеокластите. Тъй като остеокластите имат кратък живот всяка промяна, която удължава тяхната жизнеспособност може да повиши активността им. Регулирането на остеокластната апоптоза е признато за критичен фактор при ремоделирането на костите (31).

2.4. Костно ремоделиране

Костите имат кортикална /компактна/ и трабекуларна /спонгиозна/ част. Кортикалната костна тъкан е разположена във външния слой на дългите кости, образувайки защитен вал и във вътрешната част на трабекуларната кост основно в проксималния и дисталния им край. Тя съставя около 80% от общата маса на скелета. Трабекуларната кост е съединителна тъкан, в която ламелите са разположени неправилно. Те се свързват помежду си, за да образуват мрежа от трабекуларна тъкан. Трабекуларната кост изгражда метафизите, епифизите и медуларните кухини в края на дългите кости, както и в късите кости. Тази кост съставя останалите 20% от скелетната маса (32).

Кортикалната кост е твърда, богата на калций и изпълнява главно структурна и защитна роля. Трабекуларната кост е по-крехка, по-бедна на калций и има по-голяма повърхностна площ, което позволява да бъде метаболитно активна. Съотношението на трабекуларната и кортикална кост варира в зависимост от скелетното място. Прешлените са богати на трабекуларна кост, но имат тънка кортикална част, а дългите кости имат много по-дебели кортикални части и сравнително по-малко трабекуларна кост (2).

Костите не са инертни структури и се променят непрекъснато през целия живот чрез процес на костно ремоделиране. При възрастните това осигурява бързо или хронично доставяне на калций в извънклетъчното пространство и поддържа еластичността и здравината на скелета. Защишава едновременно структурната цялост на костната система и метаболитно допринася за баланса на калций и фосфор в организма (33). Ремоделирането се изразява в два процеса – костна резорбция и костно образуване, които зависят от активността и броя на костните клетки и непрекъснато подновяват костта, за да възстановят микроструктурните увреждания и да поддържат нейната здравина. Около 5 – 10% от скелета на възрастните се подменя чрез ремоделиране всяка година (2).

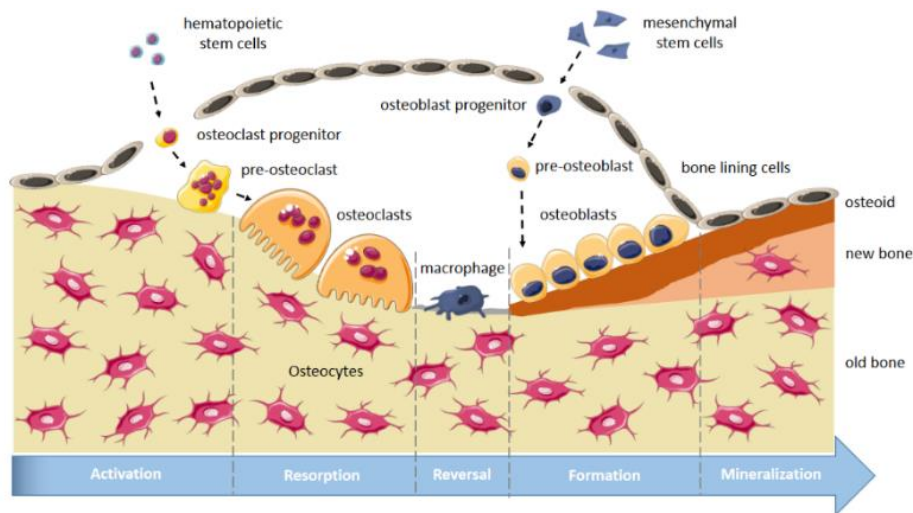
Степента на костния обмен зависи от вида на костта. Тя е най-висока в местата с преобладаващо трабекуларни кости (прешлени) и е най-ниска в компактните кости на таза (10). В процеса на резорбция се освобождава складиран в костите калций и плазмената му концентрация се повишава. При последващото костнообразуване, циркулиращият калций се фиксира активно в минералната му форма и концентрацията му в плазмата намалява. В местата за ремоделиране процесите на освобождаване и фиксиране на калция са свързани (34).

Ремоделирането започва преди раждането и продължава до смъртта на индивида. В скелета на възрастните всички остеокласти и остеобласти принадлежат към уникална временна структура, известна като основна многоклетъчна единица или костна многоклетъчна единица (ВМУ). Тя е съставена от плътно свързана група остеокласти и остеобласти, които последователно извършват резорбция на стара кост и образуване на нова кост. Тези процеси са строго регулирани, така че количеството на образувана нова кост е в перфектно равновесие с това на резорбираната стара кост, като по този начин се поддържа костната микроархитектоника. Днес са идентифицирани много регулаторни молекули, участващи в ремоделирането на костите, но точните механизми остават не напълно изяснени (35). ВМУ живеят по-дълго от съставлящите ги остеобласти и остеокласти и поради това се изисква постоянно подновяване на тези клетки, което се контролира от остеоцитите. Структурата и съставът на ВМУ варират в зависимост от това дали са разположени в трабекуларната или кортикалната кост (36). Костните морфогенни единици показват строга пространствена организация. Всяка е с дължина приблизително 1–2 мм и ширина 0,2–0,4 мм и включва остеокласти в предната част, остеобласти в

задната част, централен съдов капиляр, инервиращ нерв и съединителна тъкан. При здрави възрастни се образуват годишно 3–4 милиона ВМУ и около 1 милион работят всеки момент (37). Всяка ВМУ функционира от определено място и се придвижва към определено място където костта се нуждае от ремоделиране (38).

Ремоделирането се увеличава при жени в перименопауза и ранна менопауза и след това се забавя с по-нататъшното стареене, но продължава с по-бързи темпове, отколкото при жени в пременопауза (11).

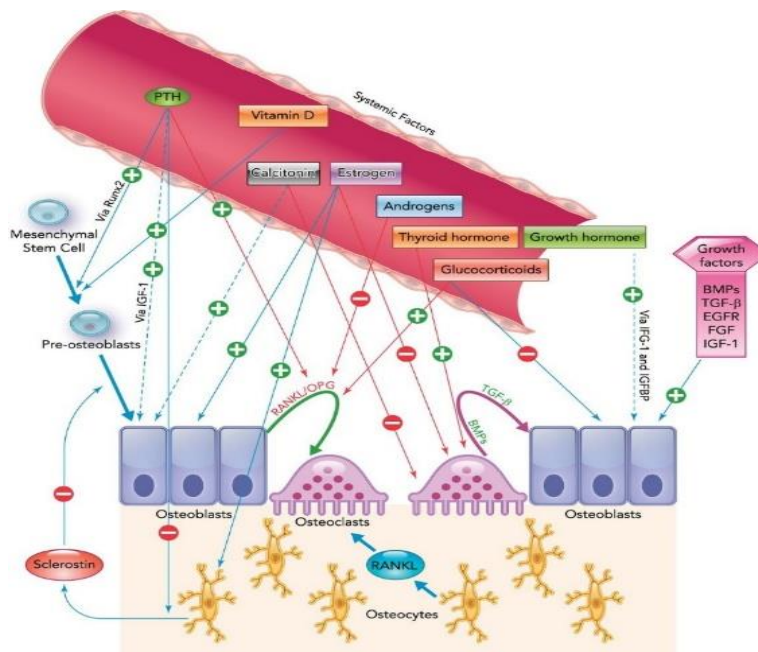
Три основни типа клетки извършват координирано процесите при костно ремоделиране. Остеоцитите усещат външните стимули, остеокластите резорбират костта, а остеобластите образуват нова кост. На Фиг. 2.4.1 е представена диаграма на различните фази в процеса на костно ремоделиране: активиране, резорбция, обръщане, образуване и минерализация. Ремоделирането може да протича на произволни места, но също така може да бъде насочено към местата на увреждане, след като остеоцитите доловят промени в тяхната микросреда. При процеса костните покривни клетки се отдалечават от костта и създават надигната покривка над ремоделиращата се повърхност, откъдето навлизат остеокластни прогениторни клетки – хемопоеични и мезенхимни стволови клетки, които се сливат и диференцират в многоядрени остеокласти. Във фазата на резорбция остеокластите резорбират старата или увредена кост. Фазата на обръщане свързва резорбцията с образуване. Тогава макрофагоподобни клетки изглаждат костната повърхност в процес на подготовка за отлагане на костната матрица. Фазата на образуване се осъществява от остеобластите, които синтезират остеоид. Някои от остеобластите се улавят в матрицата и се диференцират в остеоцити. Останалите остеобласти се подлагат на апоптоза или се превръщат в костни покривни клетки, докато остеоидът се минерализира и се образува новата кост (39).



Фиг. 2.4.1. Схематична диаграма показваща петте фази на костното ремоделиране: активиране, резорбция, обръщане, образуване и минерализация (Truesdell et al., 2020).

2.5. Регулация на костното ремоделиране

Ремоделирането започва в ранния фетален живот и зависи от взаимодействието между 2 клетъчни линии. Остеобластите допринасят за растежа на костите и имат мезенхимен произход. Остеокластите осъществяват костната резорбция и произхождат от хемопоеитичните клетки предшественици. Ремоделирането започва със сливането на остеобластните и остеокластните прекурсорни клетки в многоядрена, остеокластична клетка (33). Контролира се строго организирано от различни локални и системни фактори. Калцитонинът, паратхормонът (ПТХ), витамин Д и естрогените са основните хормонални регулатори на остеокластната костна резорбция. Секрецията на първите три се ръководи от изискването за контрол на физиологичното ниво на серумния калций. В допълнение към системната хормонална регулация, става все по-очевидно, че растежни фактори като IGFs, TGF- β , FGFs, EGF, WNTs и BMPs играят значителна роля в регулирането на физиологичното костно ремоделиране (Фиг. 2.5.1), (40).



Фиг. 2.5.1. Системна и локална регулация на костното ремоделиране. ПТХ (PHT) стимулира диференциацията на остеобластите, чрез експресия на *Runt-related transcription factor-2 (RUNX2)*. ПТХ стимулира пролиферацията и диференциацията на остеопрогениторите до зрели остеобласти чрез *IGF-1*, а чрез *RANKL* стимулира остеокластогенезата. ПТХ намалява експресията на склеростин и повишава скоростта на костообразуване. Витамин Д стимулира остеобластогенезата чрез диференциация на мезенхимните стволови клетки до остеобласти. Калцитонинът повишава пролиферацията на остеобластите и потиска костната резорбция чрез инхибиране на активността на остеокластите. Естрогените инхибират костната резорбция чрез директно индуциране на апоптоза на костно-резорбиращите остеокласти. Андрогените индиректно инхибират активността на остеокластите и костната резорбция чрез ефекти върху остеобластите/остеоцитите и системата *RANKL/RANK/OPG*. Освен системната хормонална регулация, други фактори на растежа, като *IGFs*, *TGF-β*, *FGFs*, *EGF*, *WNTs* и *BMPs*, също играят значителна роля в регулирането на физиологичното костно ремоделиране (40).

2.6. Системна регулация

Паратхормон. Пептиден хормон, състоящ се от 84 аминокиселини, който се синтезира и секретира от паращитовидните жлези. Основният му ефект е да предотвратява настъпването на остра хипокалцемия. Той постига това чрез мобилизиране на калций от запасите в костите, стимулиране на бъбречната реабсорбция на калций и стимулиране на производството на 1,25-дихидроксиголекалциферол за стимулиране на чревната абсорбция на калций (41). Паратхормонът регулира и плазмената концентрация на фосфора, чрез промяна в бъбречната му екскреция. Освобождаването на ПТХ е тонично с циркадна динамика. Количеството на предварително образувания ПТХ е ограничено, а разграждането му е бързо. Наличието на достатъчно ПТХ за посрещане на променящите се изисквания към хомеостазата на извънклетъчните минерални йони се постига чрез координирана регулация на образуването на ПТХ чрез контролиране на

генната експресия. Синтезът и секрецията на ПТХ се регулират от концентрациите на извънклетъчния калций, витамин Д и фосфатите, а също така и от фибробластния растежен фактор 23 (FGF23). Намаляването на извънклетъчния калций повишава синтеза на иРНК за транскрипцията на ПТХ, докато повишаването на калция намалява образуването на ПТХ. По реципрочен начин повишаването на серумния фосфат засилва синтеза на ПТХ, докато намаляването на фосфата намалява образуването му. Регулирането на синтеза на ПТХ чрез серумните фосфати се осъществява независимо от калция и витамин Д. FGF23 намалява секрецията на ПТХ и образуването на иРНК. Клетките на парашитовидната жлеза експресират в мембраните си калциево-чувствителни рецептори (CaSRs) и рецептори за FGFs. Промените извънклетъчния калций регулират секрецията чрез механизъм на отрицателна обратна връзка, който се медира от CaSRs, принадлежащи към фамилия G протеин-свързан рецептори върху паратиреоидните клетки. Хипокалциемията намалява свързването на калция с CaSRs, което стимулира секрецията на ПТХ, а хиперкалциемията потиска освобождаването на ПТХ и стимулира секрецията на калцитонин (42). Високите нива на калций в плазмата се свързват с CaSRs, което причинява конформационна промяна на рецептора и G-протеин зависима стимулация на фосфолипаза С. Това повишава вътреклетъчната калциева концентрация и инхибира екзоцитозата на ПТХ от клетките на парашитовидната жлеза (43).

Паратхормонът регулира калциевата хомеостаза чрез ефектите си върху костното ремоделиране. Той директно въздейства върху остеобластите и остеоцитите и индиректно върху остеокластите (44). Ефектите на ПТХ след свързването му със съответния рецептор на клетъчната мембрана се осъществяват чрез G-протеин, който активира цАМФ-зависимата протеин киназа А и калций-зависимата протеин киназа С. Анаболните действия на ПТХ включват директни ефекти върху пролиферацията, диференциацията и апоптозата на остеобластите и индиректни ефекти, медиранни от скелетните растежни фактори. Индиректното действие на хормона върху остеокластите се осъществява чрез увеличаване на активността на RANKL, който регулира остеокластната костна резорбция (45). Паратхормонът стимулира както костната резорбция, така и образуването на кост, като крайният резултат върху костната маса, катаболен или анаболен, зависи от дозата и продължителността на въздействие. Острото повишаване на плазмената концентрация на ПТХ

подтиска синтеза на колаген, а продължителното периодично приложение на този хормон води до повишено образуване на кост, свойство, за което той е изследван клинично като анаболен агент (46). Плазменият ПТХ има тенденция да се увеличава с напредването на възрастта независимо от витамин Д, йонизирания калций, фосфатите и бъбречната функция (47), а това може да доведе до увеличаване на костния оборот и загуба на костна маса, особено на кортикалната кост.

Витамин Д. 1,25(ОН)₂Д е основната хормонална форма на витамин Д, отговорна за повечето от биологичните му действия. Производството на 1,25(ОН)₂Д в бъбреците е строго контролирано. То се стимулира от ПТХ и се подтиска от калций, фосфор и FGF23. Екстрареналната синтеза на активния витамин Д е под контрола на различни цитокини като TNF- α , интерферон- γ и IL-1 β (48). Витамин Д стимулира интестиналната резорбция на калций и фосфор и чрез калциевите нива в кръвта осигурява нормална минерализация на костите. Чревната мукоза е основната прицелна тъкан за действие на витамин Д в калциевата хомеостаза и има данни, че чревната витамин Д сигнализация е необходима за адекватен активен трансцелуларен и възможен парацелуларен транспорт на калций (49). Витамин Д регулира диференциацията и функцията на хондроцитите и увеличава костната резорбция чрез увеличаване на броя и стимулиране на остеокластите. По време на отрицателен калциев баланс, но при нормални нива на витамин Д, ефектът му върху зрелите остеобласти и остеоцити е такъв че осигурява хомеостазата на серумния калций чрез увеличаване на костната резорбция и влошаване на костната минерализация (50). Това показва, че при тези условия ендокринните ефекти на витамин Д са насочени предимно към осигуряване на нормална серумна калциева хомеостаза, ако е необходимо за сметка на костите (51).

Калцитонин. Полипептиден хормон, който се освобождава от парафоликуларните С клетки на щитовидната жлеза в отговор на повишение на плазмените нива на калция. В костите, калцитонинът се свързва с калцитониновите рецептори на остеокластите и подтиска костната резорбция. Смята се, че калцитонинът не играе важна роля в калциевата хомеостаза при възрастни, но може да е по-важен за развитието на скелета (36).

Растежен хормон. Пептиден хормон, секретирани от хипофизната жлеза, който действа чрез инсулиноподобни растежни фактори, за да стимулира процесите на образуване и резорбция на костите. Хормонът

действа директно и индиректно чрез IGF, за да стимулира пролиферацията и активността на остеобластите, но също така стимулира остеокластната костна резорбция. Кумулативният нетен ефект от тази двойна активност благоприятства формирането на костите (33).

Глюкокортикоиди. Необходими за диференциране на костните клетки по време на вътреутробното развитие, но най-важният им постнатален ефект е да инхибират образуването на кост (52). Глюкокортикоидите намаляват образуването на костта, като благоприятстват оцеляването на остеокластите и причиняват клетъчната смърт на остеобластите. Увеличават действието на RANKL и намаляват това на OPG. OPG действа като рецептор примамка за RANKL, намалява взаимодействието и активността на RANKL/RANK (33).

Щитовидни хормони. Стимулират костната резорбция и образуване и са от критична важност за поддържането на нормалното костно ремоделиране. Тиреотропният хормон, тироксинът и трийодтиронинът предизвикват удължаване на костите в епифизната плоча на дългите кости чрез пролиферация на хондроцитите и стимулират активността на остеобластите. При състояния на хипотиреоидизъм или хипертиреоидизъм степента на костен обмен е съответно ниска и висока. Скоростта на костен обмен се дължи на ефекта на щитовидните хормони върху броя и нивото на активност на остеобластите и остеокластите. Например, високото метаболитно състояние при тиреотоксикоза причинява повишена активност на остеобластите и повишен брой и активност на остеокластите, което води до по-голям костен обмен (53).

Естрогени. Вероятно най-важните системни хормони за поддържане на нормалния костен оборот са естрогените. Дефицитът на естрогени води до увеличаване на костното ремоделиране, при което резорбцията надвишава образуването и костната маса намалява. Недостигът на естрогени води до повишено костно ремоделиране, където костната резорбция изпреварва образуването на кости и намалява костната маса. Смята се, че естрогените повлияват локалните фактори, които регулират диференциацията и образуването на предшествениците на остеобластите и остеокластите. Естрогените може да блокират производството и действието на интерлевкин-6 (IL-6), което подтиска костната резорбция. Дефицитът на естрогени води до намалена остеокластна апоптоза, което също повишава степента на костната резорбция (54).

2.7. Локална регулация

Развитието и диференциацията на остеобластите и остеокластите се контролират от растежни фактори и цитокини, произведени в микросредата на костния мозък, както и адхезионни молекули, които медиат взаимодействията между клетките и костния матрикс. Вече са идентифицирани голям брой растежни фактори и цитокини, които влияят върху функциите на костните клетки. Костните морфогенни протеини могат да иницират остеобластогенеза от недиференцираните клетки предшественици. Те принадлежат към суперсемејството на TGF и регулират диференциацията на мезенхимните клетки на костния мозък в компоненти на костите, хрущялите или мастната тъкан. Притежават силна остеогенна способност и тяхното сигнализиране е от съществено значение за ремоделиране на костите и поддържане на костната маса. Други растежни фактори като TGF- β , EGF, FGF, IGF също имат важно участие в стимулирането на диференциацията на костните клетки и баланса в процесите на костна резорбция и костно образуване (40).

Критични фактори при диференциацията на остеокластите са M-CSF и RANK. Чрез RANK/RANKL/OPG сигналния път процесите на костна резорбция и образуване са плътно свързани (11). Рецепторът RANK се експресира върху клетъчната мембрана на остеокластните предшественици и зрелите остеокласти и неговото активиране стимулира диференциацията и активността им, а RANKL се секретира от стромални клетки или остеобласти и е основният паракринен фактор при активирането на BMU. Той изисква наличието на M-CSF, за да активира системата RANK в остеокласта или остеокластния предшественик. OPG също се секретира от остеобласти и е разтворим рецептор примамка, който неутрализира RANKL и така намалява диференциацията и активността на остеокластите. Секретията на RANKL и OPG се регулират от хормони и цитокини, включително полови хормони, IL-1 и PGE2. Много от важните регулатори на костната резорбция могат да действат чрез промяна на относителните количества RANKL и OPG, секретирани от остеобластите (2). Цитокините, растежните фактори и простагландините действат като паракринни регулатори на цикъла на костното ремоделиране.

Остеобластите регулират нарастването на костната маса или чрез увеличена секреция на остеоид или чрез инхибиране на способността на остеокластите да разграждат костната тъкан. Костното изграждане чрез увеличен синтез на остеоид се стимулира от растежния хормон,

щитовидните хормони и половите хормони – естрогени и андрогени чрез OPG. Остеобластите могат да индуцират синтеза на множество цитокини, които подпомагат костната резорбция. Това се постига чрез стимулирането на клетките предшественици за диференциране в остеокласти. Витамин Д и ПТХ повишават остеобластната секреция на RANKL и IL-6, които стимулират остеокластната резорбция. RANKL и IL-6, стимулират остеобластната секреция на M-CSF, който подпомага диференциацията на клетките предшественици в остеокласти и подтиска секрецията на OPG (14). Степента на остеокластната резорбция се подтиска от калцитонина и OPG. Калцитонинът се свързва директно с рецепторите на остеокластите и намалява активността им. OPG се секретира от остеобластите и свързвайки се с RANKL, инхибира остеокластната стимулация (55).

2.8. Пикова костна маса и костна минерална плътност

Костната минерална плътност на възрастните представлява крайния резултат от два процеса – придобиване на пикова костна маса през юношеството и поддържане на костната маса в следващите години. Увеличаването на костната маса по време на детството и юношеството е свързано главно с увеличаване на размера на костите и по-малко с промени в костната плътност. Литературата не предлага консенсус относно възрастта, на която се достига пикова костна маса. По-ранни проучвания, използващи ДХА, предполагат, че костната маса достига пикове дълго след полово и скелетна зрялост, потенциално в третото десетилетие на индивида или след това. Други проучвания показват, че костната маса достига пикове по-рано, отколкото се смята в момента (56). Голямо проучване на КМП в различни скелетни места и на факторите потенциално влияещи върху възрастта за достигане на пикова костна маса проведено сред мултиетническа група от 18 713 лица, установява, че възрастта при достигане на пикова костна маса варира според местата на скелета и пола. Резултатите показват, че възрастта при достигане на пикова КМП на шийката на бедрената кост, цялото бедро и лумбалните прешлени е съответно 20.5 години, 21.2 години и 23.6 години при мъжете и 18.7 години, 19.0 години и 20.1 години при жените. Жените достигат пикова КМП на шийката на бедрената кост, цялото бедро и лумбалния гръбнак по-рано от мъжете, а расата и ИТМ не оказват влияние. Авторите подчертават, че пониската пикова костна минерална плътност в младостта може да бъде единственият и най-важен фактор, водещ до развитието на ОП при възрастните хора. (57). Расата, полът и генетичната предиспозиция са

отговорни за натрупване на по-голяма част от пиковата костна маса. Други фактори обаче, като физическа активност, прием на калций и витамин Д, телесно тегло, тютюнопушене и консумация на алкохол, социално-икономически статус, възраст на настъпването на менархе, както и вторични причини (заболявания и лекарства), играят важна роля в придобиването на пикова костна маса през детството и юношеството (58). Епидемиологични проучвания показват, че 10% увеличение на пиковата костна маса на популационно ниво намалява риска от фрактури по-късно в живота с 50%. Подобряването на здравето на костите при лица преди 20-годишна възраст може да бъде полезно за намаляване на бъдещия риск от ОП и остеопоротични фрактури. Следователно оптимизирането на приема на калций и протеини, физическата активност с тежести по време на растеж е важна стратегия за оптимално придобиване на пикова костна маса и здравина на костите, както и за предотвратяване на фрактури по-късно в живота (59).

Ниската пикова костна маса вероятно се дължи на загубата на кост, причинена от различни състояния или процеси, които се случват по време на юношеството и младата зряла възраст. Промените могат да са резултат от физиологични и патофизиологични процеси в цикъла на костно ремоделиране по време на етапа на ускорен линеен растеж в юношеството или много по-късно в живота, обикновено след менопаузата при жените (60). Цикълът на костно ремоделиране е процес, при който костта се резорбира с приблизително същата скорост, с която се образува нова кост, което поддържа постоянни костната маса и плътност (61). Когато процесът на ремоделиране се „разедини“, така че резорбцията надвишава образуването, костта започва да се губи. От друга страна, по време на пиково придобиване на кост образуването надвишава резорбцията, което води до нарастване на костта. Ремоделирането е по-изразено в трабекуларния скелет, който е най-метаболично активния компонент на костта поради близостта с костното пространство. Въпреки това трабекуларната кост е изключително уязвима към смущения от локални или системни фактори, които могат да причинят значителен дисбаланс в костния оборот (62).

Измерването на костната маса определя съдържанието на минерали в определена площ от костта. През последните години се прилагат различни техники за измерване на КМП. Количествената компютърна томография е единственият наличен триизмерен дензитометър, способен избирателно да измерва кортикалната или трабекуларната кост, но този метод е неудобен

поради облъчването на пациента и високите разходи. Единичната и двойна фотонна абсорбциометрия вече са остарели и изместени от единичната и двойна рентгенова абсорбциометрия, които не се нуждаят от източник на изотопи. Най-използваната техника в момента е ДХА, позволяваща измерването на КМП в лумбалния отдел на гръбначния стълб и тазобедрената става с голяма точност. Методът е прецизен, неинвазивен, бърз и сравнително евтин, което го прави референтен при определяне здравината на костите. Днес ДХА е „златен“ стандарт в диагнозата на ОП (63).

3. ОСТЕОПОРОЗА

3.1. Определение

Първото определение за ОП е формулирано от консенсусна конференция на Световната здравна организация (СЗО) през 1993 година: “системно скелетно заболяване, характеризиращо се с понижена костна маса и променена микроархитектура на костната тъкан, водещи до повишена чупливост на костта и риск от фрактури”. През 2001 година консенсусна конференция на Американския институт по здравеопазване допълва определението на ОП: “костно увреждане, характеризиращо се с нарушена здравина на костите, предразполагащо индивида към повишен риск от фрактури. Здравината на костите отразява съчетанието на две основни характеристики: костна плътност и качество на костната тъкан”. ОП трябва да се различава от остеопенията и остеомалацията. Остеопенията е физиологичен процес на костна атрофия. При нея загубата на костно вещество не надхвърля обичайните норми и не се установяват патологични фрактури. Остеомалация е количествено нарастване на остеоида – неминерализираната компонента на костта.

Чупливостта на костите при ОП може да бъде резултат от:

- ниска пикова костна маса по време на растеж;
- ексцесивна костна резорбция, водеща до намаляване на костната маса и влошаване на скелетната микроархитектоника;
- недостатъчно образуване на нова кост в отговор на повишена резорбция по време на костното ремоделиране (64).

3.2. Епидемиология

През 2000 г. ОП е определена като третото социално-значимо заболяване в света след сърдечно-съдовите и онкологичните заболявания и с прогноза да заеме второ място през 2020 г. Съвременните данни не потвърждават това тези прогнози. Към 2020 г. заболяването остава сред водещите причини за инвалидизация в рамките на мускулно-скелетните болести, но не заема водещи позиции по обща глобална тежест (65). Епидемиологичните данни, сочат че около 200 млн. души по света страдат от ОП.

През 2021 г. International Osteoporosis Foundation (IOF) публикува доклад озаглавен „SCOPE 2021: a new scorecard for osteoporosis in Europe“, според който в Европейския съюз, ОП са имали приблизително 32 милиона души, от които 25.5 млн. жени и 6.5 милиона мъже. В същият доклад са обобщени ключовите констатации по отношение на епидемиологията, тежестта и лечението на ОП в България. В страната ни към 2019 г. от ОП боледуват 420 хил. души, от които 80.4% са жени. 20.9% от жените и 6.4% от мъжете над 50-годишна възраст имат ОП. През 2019 г. нови 56 хил. нискоенергийни фрактури са диагностицирани, като честотата им е сигнификантно повишена в сравнение с 2010 г. от 6.0 на 19.3 фрактури на 1000 души. В допълнение към болката и увреждането, някои фрактури са свързани с преждевременна смърт, като броят на смъртните случаи, свързани с фрактури варира между страните от ЕС, което отразява променливата честота на фрактурите, а не стандартите на здравеопазване. В България смъртността свързана с остеопоротични фрактури при индивиди над 50 г. възраст е по-висока от смъртността в другите Европейски страни 184/100 000 към 116/100 000. Фрактурите на бедрената шийка са най-сериозната последица от ОП по отношение на заболеваемостта, смъртността и разходите за здравеопазване. Предвижда се българското население на възраст над 50 години да намалее с 0.1% между 2019 г. и 2034 г., за разлика от средното за ЕС, което ще се увеличи с 11.4%. Въпреки това се очаква населението на възраст над 75 години да нарастне с 20.1% за мъжете и 19.7% за жените, което предполага и увеличение на броя и тежестта на фрактурите. Разходите за лечение на остеопоротичните фрактури в България са около 4.2% от разходите за здравеопазване (186 млн. евро от 4.2 млрд. евро през 2019 г.), което е малко по-високо от средното за ЕС от 3.5%. Данните за 2019 г. нареждат България на 25-то място по най-високи разходи за лечение на остеопоротични фрактури на глава от населението в изследваните 29

държави. Много проучвания показват, че значителна част от мъжете и жените с висок риск от фрактури не получават терапия за ОП. В България нелекуваните жени с ОП са до 87% през 2019 г. в сравнение с 95% през 2010 г. Това е най-голямата разлика докладвана за държава в ЕС и се дължи на ниското ниво на реимбурсиране на разходите (25% преди 2016 г. и 50% за 2019 г.), както и ниските публични разходи за здравеопазване като дял от brutния вътрешен продукт – 4.52% (66,67).

3.3. Класификация на остеопорозата

Съвременните знания за заболяването позволяват оформянето и използването на следната класификация:

Първична остеопороза

- Тип I – постменопаузална – характерна за жените между 45 и 65-годишна възраст. Дължи се основно на отпадане на яйчниковата функция. Засягат се основно прешленните тела – трабекуларна кост.
- Тип II – сенилна – при жени над 70 – 75 години. Преопределя се от намаления прием на калций и витамин Д с храната, намалена чревна абсорбция, намалено образуване и метаболизиране на витамин Д в организма и най-общо от процесите на стареене. Засягат се както трабекулната, така и компактната кост.
- Идиопатична остеопороза – ювенилна, пременопаузална, пресенилна. Много рядка форма с фрактури при лица във фертилна възраст (под 20 години).

Вторична остеопороза

- При други основни заболявания – малабсорбция, хронични бъбречни заболявания, тиреотоксикоза, хиперкортицизъм, хипогонадизъм, първичен хиперпаратиреоидизъм, захарен диабет, хронична чернодробна недостатъчност, хронични бъбречни заболявания, бъбречна хиперкалциурия и други.
- Ятрогенна остеопороза – при лечение с глюкокортикостероиди, хепарин, щитовидни хормони, антиепилептични, имуносупресори и др. (Българско дружество по ендокринология, 2019).

3.4. Рискови фактори за развитие на остеопороза

Два основни фактора определят риска от развитие на ОП – пиковата костна маса и размерът на костна загуба:

Костна маса – нараства в периодите на детство и юношество и достига пикови стойности към 20 годишна възраст. Тези стойности се задържат до 35 – 40 г. възраст. Пиковата костна маса е важен фактор определящ състоянието на костите в по-късна възраст. Изграждането на костите се повлиява от множество фактори – генетични, хранене, физическа активност, хормонални, общо здравословно състояние.

Костна загуба – вторият рисков фактор за развитие на ОП. Тя зависи от степента на костна резорбция и продължителността, която зависи от възрастта, в която настъпва менопаузата и продължителността на живота. Размерът на костната загуба се определя от голям брой генетични и външни рискови фактори.

Съвременните знания за рисковите фактори за развитие на ОП позволяват те да бъдат разпределени в две големи групи:

Големи /главни/ рискови фактори:

- Възраст над 65 г.
- Компресионна прешленна фрактура
- Фрактура след 40 г. възраст
- Семейна анамнеза за остеопоротична фрактура
- Системно лечение с глюкокортикоиди над 3 месеца
- Синдром на малабсорбция
- Първичен хиперпаратиреоидизъм
- Остеопения видима на рентгенография
- Склонност към падания
- Хипогонадизъм
- Ранна менопауза преди 45 г.

Малки /второстепенни/ рискови фактори:

- Хронични възпалителни ставни заболявания
- Хронично лечение с имunosупресори, хепарин, антиконвулсанти
- Клинично проявен хипертиреоидизъм
- Понижен прием на калций
- Тютюнопушене
- Прекомерна употреба на алкохол
- Прекомерна употреба на кофеин
- Нисък индекс на телесната маса

Рисковите фактори могат да бъдат разделени още на:

Рискови фактори за развитие на ОП:

- Неподлежащи на промяна – възраст, пол, етнически произход, генетични фактори, фамилна анамнеза, анамнеза за минали фрактури.
- Подлежащи на промяна – хранителни фактори, физическа активност, прием на алкохол и кафе, тютюнопушене, телесно тегло, излагане на слънце, прием на медикаменти и др.

Рискови фактори предразполагащи към фрактури: скелетни фактори, падания, механично натоварване на скелета.

- Лични фактори – напреднала възраст, съпътстващи заболявания, прием на медикаменти, дефицит на витамин Д, прием на алкохол.
- Фактори от околната среда – неподходящо жилище, неправилно използване на помощни средства при ходене, неподходяща обществена среда и др. (68).

3.5. Патогенеза на постменопаузалната остеопороза

Менопаузата се определя като аменорея в продължение на поне 12 месеца след последната менструация без патологични или хирургични причини. Нормалната менопауза настъпва обикновено между 45 и 55 години (69). Постменопаузална ОП се развива се при жените между 45 и 65-годишна възраст в резултат на постепенното отпадане на яйчниковата функция и намалената секреция на естрогени. Характеризира се с прогресивна загуба на костна маса, най-изразена в трабекуларните кости и последващи фрактури. Главният патогенетичен фактор е хормонално обусловеното нарастване на костната резорбция и ускорената загуба на костна маса през първите 5 – 10 години след настъпването на менопаузата.

Роля на естрогените

Естрогените са клас стероидни хормони, който включва естрон, 17 β -естрадиол и естриол. Естрадиолът е най-мощният естроген и участва в регулирането на голямо разнообразие от жизненоважни физиологични функции, които варират от развитие и поддържане на репродуктивните органи до регулиране на сърдечно-съдовата, мускулно-скелетната, имунната и централната нервна система. Естрогените играят важна роля в растежа и съзряването на костите, както и в регулирането на костния обмен при възрастните. По време на растежа естрогените осигуряват нарастването на костите на дължина и ширина и са необходими за правилното затваряне на епифизарните растежни плочи както при жените, така и при мъжете (70).

Ефектите на естрогените върху клетките се медираат от транскрипционни фактори и естрогенните рецептори ER α и ER β , които са кодирани от различни гени. Локализирани в перимембранното пространство, митохондриите и ядрото на клетките в естроген-чувствителните тъкани тези рецептори споделят сходни, но и различни регулаторни ефекти свързани с клетъчния растеж, диференциация и апоптоза (71).

Рецептори ER α и ER β са открити в няколко клетъчни типа по време на прогресирането на диференциацията на мезенхимни и миелоидни предшественици към остеобласти и остеокласти, както и в други видове клетки, които се намират в костния мозък или в тъкани, отдалечени от костите, но могат косвено да повлияват костната хомеостаза. ER α е по-важен за регулирането на костния метаболизъм (72). При „класическият“ механизъм на действие естрогените дифундират в клетката и се свързват със съответните им рецептори, които се намират в ядрото. Образуваният комплекс хормон-рецептор чрез взаимодействие с естроген-отговорните елементи, съдържащи се в промоторния регион на специфичните гени, модулират генната експресия и това води до осъществяване на биологичните им ефекти. Този класически, или „геномен“ механизъм обикновено се проявява в течение на часове (73). Естрогените чрез ER α инхибират костната резорбция, като намаляват броя и активността на остеокластите и увеличават тяхната апоптоза (74). Освен това инхибират апоптозата на остеобластите и остеоцитите, за да се поддържа костообразуването и да се ограничи ремоделирането на костите (75).

Установени са и по-бързи, в рамките на секунди или минути „негеномни“ механизми на действие на естрогените, чрез естрогенни рецептори разположени в или в съседство с плазмената мембрана, или чрез други немембранни, естроген-свързващи протеини, което води до клетъчни отговори като повишени нива на калциеви йони или азотен оксид и активиране на кинази (76).

Естрогените подтискат костната резорбция в трабекуларната и ендокортикалната костни повърхности чрез намаляване на броя на остеокластите. Антиостеокластогенните действия на половите хормони са медиранни, чрез директни ефекти в клетките на остеокластната линия, а също и индиректно. Те спомагат за поддържане на костната маса предимно чрез намаляване на остеокластичната костна резорбция и по този начин потискане на скоростта на костно ремоделиране (77).

Ранните проучвания за ролята на естрогените в метаболизма на костите са фокусирани върху възпалителните цитокини – IL-1, IL-6, TNF- α , M-CSF и простагландин E2 (PGE2). Тези фактори увеличават костната резорбция, главно чрез увеличаване на броя на прекурсорите на остеокластите в костния мозък и се намаляват от естрогените. Други проучвания са установили, че естрогените стимулират TGF- β , инхибитор на костната резорбция, който действа директно върху остеокластите за намаляване на активността и увеличаване на апоптозата (38).

Днес са открити и изучени нови членове от семейството на TNF лиганди и рецепторни сигнални молекули, които служат като крайни ефектори за диференцирането и функционирането на остеокластите. Системата RANKL/RANK/OPG е наречена на трите основни сигнални молекули, които я изграждат. Тази система е от решаващо значение за регулирането на диференциацията и активирането на остеокластите и освобождаването на калций от скелета (78). Естрогените регулират ремоделирането на костите, отчасти чрез модулиране на експресията на RANKL, който е основен цитокин за костната резорбция от остеокластите (79).

Асоциацията между спада на нивата на естрогени при менопаузата и развитието на ОП е забелязана за пръв път през 1940 г. от Фулър Олбрайт в семинарна статия, в която той въвежда термина „постменопаузална остеопороза“. Вниманието към постменопаузалната ОП нараства непрекъснато в следващите 50 – 60 години и днес състоянието е признато като едно от най-честите метаболитни разстройства при възрастни жени. Концепцията, че дефицитът на естрогени е важен за патогенезата на ОП се основава първоначално на факта, че жените след менопауза, чиито нива на естрогени естествено намаляват са изложени на най-висок риск за развитие на болестта. Морфологичните изследвания и измерванията на определени биохимични маркери показват, че костното ремоделиране се ускорява в менопаузата, тъй като маркерите и за резорбция и образуване се увеличават (80).

Има доказателства, че естрогените предотвратяват костната загуба чрез блокиране на производството на възпалителни цитокини от костния мозък и костните клетки (81). Основната последица от увеличеното производство на цитокини в костната микросреда е разширяване на остеокластния басейн поради увеличеното образуване на остеокласти и удължаването на продължителността им на живот (82). Цитокините

упражняват своите регулаторни ефекти върху костния оборот, като стимулират секреторната и пролиферативната активност на зрелите клетки. Сред цитокините, за които е известно, че се регулират от естрогените, са IL-1, IL-6 и TNF. Най-мощните локално произведени стимулатори на костната резорбция са IL-1 и TNF, които са и добре разпознати инхибитори на образуването на кост. Те активират зрелите остеокласти индиректно чрез първичен ефект върху остеобластите и инхибират апоптозата на остеокластите. В допълнение, значително засилват образуването на остеокласти чрез стимулиране на пролиферацията на техните предшественици както директно, чрез IL-6, M-CSF, така и чрез засилване на про-остеокластогенната активност на стромалните клетки (81).

Дефицитът на естрогени води до увеличаване на костния метаболизъм поради ефекти върху всички видове костни клетки. Настъпва дисбаланс в образуването и резорбцията на костите, който оказва влияние върху трабекуларната кост – загуба на свързаност и кортикалната кост – кортикално изтъняване и поръзност (83). В периода на менопаузата намалява и образуването на кост в отговор на механично натоварване, което предполага, че естрогените имат както антикатаболен, така и анаболен ефект (84).

Едни от най-важните медиатори на действието на естрогените върху костите са OPG и RANKL. RANKL е основният цитокин стимулиращ диференциацията, активирането и оцеляването на остеокластите. Той се произвежда от различни клетки, като клетки от стромалната клетъчна линия, активирани Т-лимфоцити, но също и В-лимфоцити. Osteoproteгеринът е разтворим рецептор за примамка за RANKL, който го свързва и инхибира остеокластогенезата (85). Стимулиращият ефект на естрогените върху костообразуването не е напълно изяснен, но може да бъде медиран от естроген-реагиращи елементи на промотори за гени, участващи в биосинтеза на костната матрица, включително колаген от тип I или цитокини, за които се смята, че са важни за свързването на костна резорбция и формиране на костите. През менопаузата нормалният цикъл на костно ремоделиране се нарушава поради естрогенния дефицит. Остеокластната резорбция се увеличава, а активността на остеобластите намалява. В резултат на това количеството на резорбираната кост надвишава образуването, което води до нетна загуба на кост (86).

Наблюдава се както трабекуларна, така и кортикална костна загуба. Силно повишената костна резорбция в трабекуларната кост нарушава

архитектониката на костта и причинява микрофрактури. При кортикалната кост първият отговор на естрогенния дефицит е засилената ендокортикална резорбция. По-късно се увеличава вътрекортикалната поръзност. Това води до намаляване на костната маса, нарушена архитектура и намалена здравина на костите. Костната загуба се наблюдава в две фази. Първата се проявява предимно в трабекуларната кост и е резултат непропорционалното увеличение на костната резорбция в сравнение с образуването. Тази фаза може да се определи и като свързана с менопаузата костна загуба. Втората фаза започва след 4 – 8 години и показва трайна по-бавна загуба както на трабекуларна, така и на кортикална кост и се дължи главно на намаленото костно образуване (87).

4. ДИАГНОЗА И ОЦЕНКА

4.1. Диагноза

Съвременната диагнозата на ОП се поставя на базата на резултатите от измерването на КМП. Дензитометричното определение на ОП се основава на измерените стойности на КМП, която е най-достъпният и най-лесен за интерпретация количествен критерий, отразяващ приноса на костните промени към общия фрактурен риск. През 1994 г. СЗО въвежда дефиниции за остеопороза и остеопения чрез Т-скор. Т-скорът представлява сравнение на КМП на пациента със средната стойност за нормална млада популация от същия пол и раса – броят на стандартните отклонения (SD) над или под средната КМП за нормалната млада популация възрастни. Използва се най-ниският измерен от Т-скор на прешлени тела, усреднено бедро или бедрена шийка, измерени чрез ДХА (Българско дружество по ендокринология, 2019).

Резултатите се интерпретират според критериите на СЗО:

- Нормална костна минерална плътност: Т-скор над -1.0 SD включително
- Остеопения: Т-скор между -1.0 SD и -2.5 SD
- Остеопороза: Т-скор ≤ -2.5 SD
- Тежка остеопороза: Т-скор ≤ -2.5 SD + фрактура (Kanis, 1994).

4.2. Оценка на рисковите фактори

Оценката на рисковите фактори е важна част от клиничното изследване на пациента. За тази цел са разработени въпросници като:

”Едноминутен тест на Международната фондация по остеопороза за оценка на риска”. В България се използва и въпросник, който е оригинална разработка на проф. Михаил Боянов – „Едноминутен тест за оценка риска от остеопороза” (88). Оценката дава възможност да се предскаже вероятността за развитие на ОП, да послужи да идентифициране на лицата с висок риск от фрактури, както и да насочи към допълнителни изследвания или терапевтична намеса.

4.3. Оценка на фрактурния риск

Един от най-разпространените инструменти за оценка на фрактурния риск при пациенти с ОП е FRAX[®] Fracture Risk Assessment Tool (89). Това е компютърно базиран алгоритъм за оценка на риска от фрактури. Чрез него, на базата на изследваната КМП и други клинични рискови фактори се оценява десетгодишната вероятност за настъпване на значима остеопоротична фрактура – бедро, прешлени, раменна кост или предмишница.

Показателите, които се използват за изчисление на FRAX включват:

- КМП в гр/см² или Т-скор на бедрена шийка измерена чрез ДХА
- Клинични рискови фактори – възраст, пол, ръст, телесно тегло, ИТМ, анамнеза за преживяна фрактура, фамилна анамнеза за бедрена фрактура, тютюнопушене, употреба на алкохол, високи дози глюкокортикоиди, ревматоиден артрит и други форми на вторична остеопороза

Използваните в калкулатора рискови фактори се основават на систематичен набор от мета-анализи на популационни кохорти по целия свят. Те са валидирани в независими кохорти с над 1 милион пациенто-години проследяване. Вероятността за фрактури се различава съществено в различните географски региони, затова индексът е изчислен за тези държави, за които е известна епидемиологията на фрактурите. В повечето национални ръководства FRAX е препоръчван метод за оценка на фрактурния риск и е включен в индикациите определящи необходимостта от медикаментозно лечение на ОП. Съгласно съвременните препоръки на Фондацията за здраве на костите и остеопороза, лечението на ОП трябва да се обмисли при пациенти:

- с анамнеза за фрактура на бедрената кост или прешлен
- с Т-скор от $-2,5$ SD или по-нисък на шийката на бедрената кост или гръбначния стълб

- с T-скор между -1,0 и -2,5 SD на шийката на бедрената кост или гръбначния стълб и оценен с FRAX десетгодишен риск от фрактура на бедрената шийка $\geq 3\%$ или от голяма остеопоротична фрактура $\geq 20\%$ (90).

Националното проучване за честотата на остеопорозата в Република България е основна дейност в Програмата за ограничаване на остеопорозата 2005 – 2010 година. Проведено епидемиологично проучване в рамките на програмата има за цел да изследва разпространението на рисковите фактори за ОП и 10-годишния абсолютен фрактурен риск сред представителна извадка български жени на възраст над 50 години. Включени са общо 1331 жени (средна възраст 63.8 ± 8.3 години), разпределени по декади. Техният десетгодишен абсолютен риск за големи фрактури е $13,4 \pm 9,2\%$, а за фрактури на бедрената кост $2,8 \pm 5,2\%$. Данните от използването на FRAX приложението потвърждават предположението, базирано на данните за КМП, че българските жени имат средно тежък риск за остеопоротични фрактури. Ограничението на изследването се дължи на факта, че е използван алгоритъма на FRAX от Великобритания, който може да доведе до резултати, които не са пряко приложими към българското население. Този факт подчертава необходимостта от конкретни български епидемиологични доказателства, позволяващи прилагането на национален инструмент за изчисляване на FRAX (91). През последните няколко години за България е създаден модел FRAX на базата на регионалната оценка на честотата на фрактурите на бедрената кост сред населението. Той трябва да повиши точността на определяне на вероятността за фрактури сред българското население и ще бъде от полза при вземане на решения относно диагностиката и лечението (92). В края на 2020 год. FRAX[®] калкулаторът е валидиран и за България. Трябва да се отбележи, че в рамките на националния консенсус за добра клинична практика, все още липсват препоръки за използването на инструмента при оценката на риска от фрактури.

4.4. Биохимични маркери на костния търновър

Диагностиката и наблюдението на костните метаболитни заболявания могат да представляват голямо предизвикателство, тъй като тези нарушения са до голяма степен асимптоматични и рентгенографските измервания на костната маса реагират бавно на промените в костната физиология. ОП е резултат от промени в броя или активността на остеобластите и

остеокластите, което предполага, че биомаркерите на активността на тези клетки отразяват нивата на костен метаболизъм. Те могат да предоставят допълнителна информация извън рентгенологичните оценки на общата костна маса. Ниската обща костна маса може да се появи или с високи, или с ниски нива на костен обмен, а костта при ОП с нисък обмен може да няма същите биофизични свойства и риск от фрактури като същото количество кост при форма на ОП с висок оборот (93). Измерването на КМП се счита за „златен стандарт“ за оценка на състоянието на костите, но не предлага добри възможности за ранен мониторинг на лечението на ОП. През последните години се изолираха и характеризираха клетъчните и извънклетъчните компоненти на скелетната матрица, което позволи разработването на биохимичните костни маркери (БКМ). Изследването им дава представа за динамиката на костния обмен при много метаболитни костни нарушения. Увеличаването на костния обмен, наблюдавано при стареене и патологични състояния като ОП, влошава костната микроархитектоника и допринася за увеличаване на риска от фрактури и е фактор, независим от ниската КМП. Микроархитектурните промени, влияещи върху качеството на костите, могат да бъдат оценени чрез БКМ, които да служат като допълващ остеодензитометрията инструмент при оценката на фрактурния риск (94).

Маркерите за костен търновър са биохимични продукти, измервани обикновено в кръв или урина, които отразяват метаболитната активност на костите. Трябва да се подчертае, че самите маркери нямат никаква функция в контролирането на скелетния метаболизъм. Те традиционно се категоризират като маркери за образуване на кост или костна резорбция (95). Маркерите за образуване са остеобластни ензими, продукти от разграждането на колагена или матриксни протеини. Резорбционните маркери са остеокластни ензими или продукти от разграждането на колагена освободени в кръвообращението (96).

- Маркерите на костно формиране включват: серумен остеокалцин, специфична за костите алкална фосфатаза, проколаген I карбокситерминален пропептид (PICP) и проколаген тип I аминотерминален пропептид (PINP).
- Маркери на костната резорбция са: уринният пиридинолин (PYR), уринният дезоксипиридинолин (DPD), както и колаген тип I кръстосано свързан N-телопептид (NTX) и колаген тип I кръстосано свързан C-телопептид (β -Cross Laps),(94).

Алкална фосфатаза

Алкалните фосфатази са група изоензими, разположени върху външния слой на клетъчната мембрана и катализират хидролизата на органичните фосфатни естери, присъстващи в извънклетъчното пространство. Цинкът и магнезият са важни ко-фактори на тези ензими. Алкалните фосфатази се класифицират като тъканно-специфични и тъканно-неспецифични. Тези, открити в червата, плацентата и феталната тъкан, са тъканно специфични, което означава че при физиологични условия се намират само в тях. Тъканно-неспецифичните алкални фосфатази образуват по-голямата част от циркулиращата в серума фракция и следователно представляват клиничен интерес (97). Костната и чернодробната изоформи са най-често срещаните (90%). И двете се срещат в еднаква пропорция при здрави индивиди и се различават само в моделите на гликозилиране (98). Нивата на алкална фосфатаза (АФ) в серума при здрави варират в зависимост от възрастта. Нивата са високи през детството и пубертета, поради растежа и развитието на костите. Намалението на нивото във възрастовата група от 15 до 50 години е малко по-високо при мъжете, отколкото при жените. Тези нива отново се повишават в напреднала възраст, като се отбелязва значителна разлика в разпределението по пол (99). Алкалната фосфатаза е маркер за костно изграждане и може да се използва като индикатор за отразяване на ефективността на медикаментозното лечение за ОП (100).

Остеокалцин

Силата на костта зависи от нейното количество и качество. Количеството се определя както от обема на костта, така и от КМП, която представлява количеството минерали на единица обем. Няколко други параметъра, като архитектура и геометрия, костен търновър, корова поръзност, увреждане, минерализация, свойствата на минералите, колагена и неколагеновите протеини са предложени като определящи за качеството на костите (101). Неколагеновите белтъци са само 10% от общото органично съдържание на костите, но показват многофункционална роля за поддържането на биологичната им функция и структурната организация на костта, влияят върху нейните механични свойства и устойчивост на счупване (162, 164).

Остеокалцинът е съставен от 46 – 50 аминокиселини и е сред най-разпространените неколагенни белтъци в костите. Известен е също като

костен гла-протеин и съдържа γ -карбоксиглутаминова киселина. Трите остатъка от глутаминова киселина във веригата на протеина са карбоксилни. Карбоксилният ОС има висок афинитет към калциевите йони и приема α -спирална конформация чрез свързване с тях, докато некарбоксилният ОС няма афинитет към калция. Проучвания в последните години предполагат по-широка роля на ОС, която се простира до регулирането на метаболизма, репродуктивните и когнитивните функции (104).

Остеокалцинът се синтезира от зрелите остеобласти, одонтобласти и хипертрофичните хондроцити (100). Играе ключова роля в костния метаболизъм, но механизмът му на действие не е изяснен напълно. Образоването на костите и костния метаболизъм са зависими от хранителния внос на калций. Йонизираният под действието на стомашната солна киселина калций се резорбира в кръвта чрез калциеви транспортни протеини, за чиято синтеза е необходим витамин Д. Калциевите йони навлизат в костите, регулирани от калцитонина и под формата на хидроксиапатитни кристали се отлагат в костта. Гама карбоксилането на ОС стимулирано от витамин К₂ повишава афинитета на глутаматните остатъци към калциевите йони чрез електростатични взаимодействия, а това благоприятства образуването на хидроксиапатитната решетка, предшестваща минерализацията на костта в процеса на физиологична остеогенеза (105). Резултати от съвременни проучвания показват, че ОС регулира подреждането на хидроксиапатитните кристали успоредно на колагеновите фибрили и е необходим за качеството и здравината на костите (106). Заедно с остеопонтина свързва екстрафибриларните минерални агрегати и допринася за разсейването на енергията от натоварване, което прави костта устойчива на счупване (107).

Молекулите ОС се освобождават директно в кръвообращението по време на костообразоването, но могат да навлязат в циркулацията и от разграждането на костния матрикс по време на костната резорбция. Следователно количествата ОС в кръвообращението са резултат от костно образуване и резорбция (167, 168). Серумните концентрации на ОС се повишават при метаболитни костни заболявания с повишаване на костното образуване като ОП, хиперпаратиреоидизъм, тиреотоксикоза, акромегалия, ренална остеодистрофия, фрактури и костни метастази (110). Серумното ниво на ОС е чувствителен маркер за производство на кост, свързано е с

висока скорост на костен търновър и намалена КМП и добре корелира с хистоморфометричните показатели за образуване на кост (111).

Процесът на производство на ОС изисква два витамина: витамин Д и витамин К2. Витамин Д чрез стимулиране на генната експресия е отговорен за синтеза на функционално неактивен ОС или некарбоксилиран ОС (ucOC), докато витамин К е необходим за процеса на карбоксилиране и активирането на ОС (111).

През последните години беше открито, че костта е ендокринен орган, а ОС всъщност е хормон, който участва в глюкозната хомеостаза, функцията на скелетните мускули, развитието на мозъка, мъжкия фертилитет, чернодробната стеатоза и артериалната калцификация. Тези факти са доказани в животински модели, но има силни индикации, че това може е валидно и при хора, което би имало огромно клинично значение (107).

5. ВИТАМИН Д

5.1. Химична структура и метаболизъм

Терминът витамин Д се отнася до семейство мастноразтворими съединения, които са получени от холестерола. Съществуват две основни форми на витамин Д: витамин Д₂, намиращ се в растенията и по-известен като ергокалциферол или калциферол и витамин Д₃, намиращ се в животински тъкани и често наричан холекалциферол. И двете съединения са неактивни прекурсори на мощни метаболити и попадат в категорията на прохормоните. Това важи не само за холекалциферола и ергокалциферола, получени чрез храната, но и за холекалциферола, който се образува в кожата при излагане на ултравиолетова светлина с дължина на вълната 290 – 315 nm. Производството на витамин Д₃ в кожата не е ензимен процес. Той се произвежда от 7-дехидрохолестерол чрез двуетапен процес, при който единият пръстен се разрушава от ултравиолетовите лъчи (УВЛ), образувайки пре-витамин Д₃, който изомеризира до витамин Д₃ в термочувствителен, но некаталитичен процес. Както интензитетът на УВЛ, така и нивото на пигментацията на кожата допринасят за скоростта на образуване на витамин Д₃ (112). Меланинът в кожата блокира достъпа на УВЛ до 7-дехидрохолестерола и ограничава производството на витамин Д₃. Интензивността на слънчевите УВЛ варира в зависимост от сезона и географската ширина, така че животът по-далеч от екватора осигурява по-краткотрайна експозиция и възможна недостатъчна продукция на витамин

Д3 (113). Холекалциферолът осигурява 80 – 90% от необходимото на организма количество витамин Д.

Витамин Д2 и Д3 се транспортират в кръвта свързани със специфичен витамин Д свързващ протеин (VDBP). Има три основни етапа в метаболизма им. Те са 25-хидроксилиране, 1 α -хидроксилиране и 24-хидроксилиране и се извършват от цитохром Р450 оксидази със смесена функция (CYPs). Тези ензими са разположени или в ендоплазмения ретикулум (например, CYP2R1) или в митохондриите (например, CYP27A1, CYP27B1 и CYP24A1), (114).

След достигането на витамин Д в черния дроб се извършва ензимно хидроксилиране при С-25 от една или повече цитохром Р450 витамин Д 25-хидроксилази (включително CYP2R1, CYP2D11 и CYP2D25), което води до образуването на 25-хидроксивитамин Д 25(ОН)Д. Черният дроб е установен като основен източник за производство на 25(ОН)Д. Първоначалните проучвания на чернодробната 25-хидроксилаза откриват активност както в митохондриалната, така и в микрозомалната фракции, а последващите изследвания показват редица различни CYP 25-хидроксилази включително и с извънчернодробна локализация (115). Процесът на 25-хидроксилиране се регулира от самия 25(ОН)Д, което е много важно за предпазване от хипервитаминоза и токсични прояви, както и за колебанията на нивата му в широки граници. Синтезираният 25(ОН)Д се депонира в черния дроб и мастната тъкан за последващото му използване.

Основната циркулираща форма е 25-хидроксивитамин Д, който се транспортира от VDBP до бъбрека. Бъбрекът е основният, ако не и единственият източник на циркулиращ 1,25 дихидроксихолекарциферол 1,25(ОН)2Д. Редица ензими участват в процеса на 25-хидроксилиране, но най-важният изглежда е CYP2R1, а CYP27B1 е единственият ензим, отговорен за последващото 1 α -хидроксилиране до 1,25(ОН)2Д. Бъбречната фракция на CYP27B1 вероятно е отговорна за по-голямата част от циркулиращия 1,25(ОН)2Д, но CYP27B1 се намира в редица други тъкани, където 1,25(ОН)2Д вероятно обслужва паракринна или автокринна функция. Извънбъбречни локализации на CYP27B1 са установени в епителните клетки в кожата, белите дробове, гърдата, червата, простатата, ендокринни жлези, включително парашитовидните жлези, панкреатичните острови, щитовидната жлеза, тестисите, яйчниците и плацентата, клетки на имунната система, включително макрофаги, лимфоцити, дендритни клетки, остеобласти, хондроцити и различни тумори произхождащи от тези клетки.

За разлика от чернодробните 25-хидроксилази, бъбречната 1 α -хидроксилаза е регулирана основно от три хормона: ПТХ, FGF23 и 1,25(OH)₂D. ПТХ стимулира, докато FGF23 и 1,25(OH)₂D инхибират CYP27B1. Повишената калциева концентрация потиска CYP27B1 главно чрез потискане на ПТХ. Повишената концентрация на фосфати потиска CYP27B1 главно чрез стимулиране на FGF23, въпреки че тези йони могат да имат директни ефекти върху бъбречния CYP27B1 сами по себе си (114).

Всяка клетка, експресираща рецептори за витамин Д притежава и CYP24A1, които е отговорен за катаболизма, както на 25(OH)D, така и на 1,25(OH)₂D, въпреки че някои данни предполагат, че 24,25(OH)₂D и със сигурност 1,24,25(OH)₃D имат биологична активност (116).

Основният биологично активен метаболит е 1,25(OH)₂D. Той е стероиден хормон, който се свързва с ядрен хормонален рецептор (VDR), принадлежащ на голямото семейство ядрени рецептори, което включва рецепторите за глюкокортикоиди, минералокортикоиди, полови хормони, хормони на щитовидната жлеза и метаболити или ретиноиди на витамин А. Днес се знае, че VDR е широко разпространен и не се ограничава до онези тъкани, считани за класически прицелни тъкани на витамин Д. Обикновено се свързва към специални последователности на ДНК, наречени елементи на отговор на витамин Д (VDRE), за да активира или потиска транскрипцията. Идентифицирани са стотици гени и хиляди VDRE места в генома, което определя множеството разнообразни физиологични ефекти на витамин Д (114).

5.2. Механизъм на действие

Съвременните изследвания върху механизма на действие на активния витамин Д показват както геномни, така и негеномни взаимодействия определящи твърде широка гама от физиологични ефекти в множество тъкани и органи. Клетъчните действия на 1,25(OH)₂D се медиират от ядрения VDR. При липса на 1,25(OH)₂D, VDR се разпределя главно в цитоплазмата (117). Взаимодействието на активния витамин с рецептора индуцира образуването на две независими повърхности за протеинови взаимодействия върху VDR. Едната повърхност улеснява свързването с ретиноидния рецептор, необходим за свързване на ДНК, а другата е необходима за свързване на корегулатори на генната модулация (118). След взаимодействие с 1,25(OH)₂D, VDR се димеризира с ретиноидния рецептор и се премества в ядрото, където се свързва с VDRE в гените. В зависимост от целевия ген, ко-активаторите или ко-репресорите се привличат към

димерите, за да индуцират или потиснат генната транскрипция (119). В повечето таргетни клетки тези действия задействат експресията на мрежи от гени, чиито функционални ефекти се комбинират за специфични биологични отговори. Тези отговори са специфични различните тъкани и варират от сложни действия, съществено значими за хомеостатичния контрол на минералния метаболизъм, до насочени действия, които контролират растежа, диференциацията и функционалната активност на многобройни видове клетки, включително тези на имунната система, кожата, панкреаса и костите, както и както много други (120).

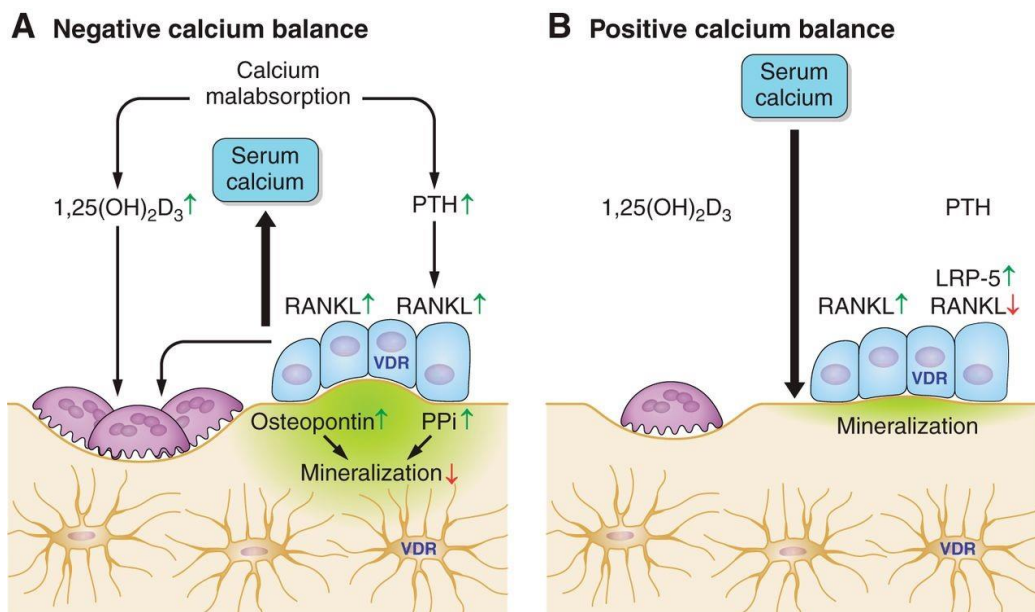
В допълнение към регулирането на генната експресия $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ има редица негеномни действия, включително способността за бързо стимулиране на различни сигнални пътища и транспортиране на калций през плазмената мембрана. В последните години се отдава все по-голямо значение на друг механизъм на действие – $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ модулиране на сигналните пътища, задействано от други агенти на плазмената мембрана. Всъщност редица проучвания показват, че $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ модулира ефектите на растежните фактори и цитокините, променяйки техните цитозолни сигнални пътища, или чрез активността на таргетните ядрени фактори, или чрез паракринно потискане на синтеза и секрецията им от съседните клетки (121).

5.3. Физиологични ефекти и регулация

Физиологичните ефекти на витамин Д са относително добре проучени. Той има добре известна роля в калциевата хомеостаза, която е свързана с поддържането костното здраве. Витамин Д повишава ефективността на чревната абсорбция на диетичния калций, намалява загубите на калций в урината и мобилизира калция, съхраняван в скелета. При хипокалциемия витамин Д медираното повишаване на калция се осъществява по няколко механизма. В червата повишената абсорбция на калций е изключително зависима от витамин Д и се осъществява по сложни все още не напълно изяснени механизми. В бъбреците калцитриолът стимулира реабсорбцията на калций в дисталните тубули. Този процес се постига чрез увеличаване на експресията на калциеви канали и калбиндин. Когато повишената абсорбция не е достатъчна за поддържане на калциевата хомеостаза, запазването на нивата на калций в кръвта е с приоритет пред целостта на скелета. Витамин Д повишава RANKL в остеобластните клетки, увеличавайки остеокластогенезата и стимулира освобождаването на калций от костите (122).

Витамин Д е необходим за развитието и нормалния растеж на костите. Той играе ключова роля в баланса между костно разграждане и костно формиране. Той стимулира минерализацията на остеоида, поддържайки нормална калциева концентрация в комбинация с някои други директни ефекти. Витамин Д увеличава костната минерализация индиректно чрез стимулиране на доставката на калций и фосфати, главно чрез абсорбция от червата. При липса на витамин Д се абсорбират само 10 – 15% от хранителния калций и около 60% от фосфора. Взаимодействието на витамин Д с VDR повишава абсорбцията на калций в червата до 30 – 40% и абсорбцията на фосфор до приблизително 80% (123). Остеобластната VDR сигнализация участва в калциевия метаболизъм основно при отрицателен калциев баланс. Намаленият прием на калций с храната води до повишена мобилизация от костите, за да се запазят нормалните серумни нива на калций. Плазмените нива на ПТХ и витамин Д се повишават, което води до значително изчерпване на калция от костите. Ефектът върху костите е повишена костна резорбция, придружена от нарушена костна минерализация. При положителен калциев баланс VDR сигнализацията подобрява костната резорбция най-вече индиректно чрез действие върху остеобластите, а не върху остеокластите. Остеобластното VDR сигнализиране упражнява директен транскрипционен контрол върху експресията на RANKL, който се свързва със своя рецептор RANK в прекурсорите на остеокластите и увеличава образуването и действието на остеокластите (Фиг. 5.3.1), (49).

Всички клетки в скелета – хондроцити, остеобласти и остеокласти, съдържат както рецептори за витамин Д, така и ензима CYP27B1, необходим за производство на 1,25(OH)₂D. Витамин Д модулира активността на остеобластите и остеокластите.



Фиг. 5.3.1. Скелетни ефекти на витамин Д. **А:** При отрицателен калциев баланс, когато действието на VDR в червата е нарушено или диетичният прием на калций е нисък, чревната абсорбция на калций е намалена. Нормалните серумни нива на калций се поддържат чрез повишени нива на витамин Д и ПТХ, което увеличава костната резорбция и намалява минерализацията на костния матрикс. **В:** При нормален или положителен калциев баланс, витамин Д стимулира чревната абсорбция на калций. Този път доставя достатъчно калций за адекватна минерализация на костния матрикс. VDR сигнализирането в остеопрогениторите увеличава експресията на RANKL и стимулира остеокластогенезата, а VDR действието в зрелите остеобласти има антикатаболни действия, чрез намаляване на експресията на RANKL (49).

Плазменият 1,25(OH)₂D₃ стимулира диференциацията на остеобластите и експресията на остеобластна костно-специфична алкална фосфатаза, остеокалцин, остеоонектин, остеопротегерин и редица други цитокини. А също влияе върху пролиферацията и апоптозата на други скелетни клетки, включително хипертрофични хондроцити (11). Витамин Д предизвиква експресията на няколко костни протеина, сред които и остеокалцин. Има двустранен ефект върху експресията на гените за тип I колаген и алкалната фосфатаза.

Витамин Д регулира минералната обмяна. Подпомага отлагането на калций в дентина и в костта и профилактира остеомалацията. Недостигът на витамин Д намалява нивото на калций в кръвта и стимулира синтеза и секрецията на ПТХ от паращитовидните жлези с последващо костно разграждане.

Витамин Д има отношение и към мускулния тонус. Той стимулира синтеза на белтъци в мускулната клетка и калциевия инфлукс, необходими за мускулното съкращение (124).

Важни регулатори на синтеза на витамин Д са калцият, фосфорът и ПТХ. ПТХ повишава образуването на 1,25(OH)₂D₃ в бъбреците, чрез който

се осъществява резорбцията на калций в тънките черва и реабсорбцията му в бъбречните тубули. Нивата на витамин Д, чрез калциевото ниво са тясно свързани със стимулирането или подтискането на секрецията на ПТХ.

Според приетия в България консенсус за нивата на витамин Д промените в серумните нива на ПТХ при различни нива на витамин Д, служат като критерий за достатъчност (125).

5.4. Рискови фактори за развитие на дефицит на витамин Д

В световната научна литература са натрупани достатъчно данни подкрепящи факта, че дефицитът на витамин Д е често срещано състояние. Основните рискови фактори за появата на дефицит на витамин Д включват:

- недостатъчна експозиция на слънчева светлина
- неадекватен прием с храната
- затлъстяване
- прием на медикаменти (антиконвулсанти, антиретровирусни)
- географска ширина, сезон (зима), времето от деня (рано сутрин и късно следобед)
- пигментация на кожата
- използване на слънцезащитни кремове и запрашеност на средата
- пол – жените са по-предразположени към хиповитаминоза Д
- възрастни хора, институционализирани пациенти, деца, урбанизация, етнически фактори
- заболявания протичащи с малабсорбция (126).

Години наред са правени измервания за определяне на референтните граници на нивата на $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ в редица проучвания. Знае се, че множество фактори оказват влияние върху нивата на витамина и затова е трудно да се приложат универсални референтни стойности. Изследване на концентрацията на $25(\text{OH})\text{D}$ в кръвта е златен стандарт за оценка статуса на витамин Д в организма.

За българската популация възрастни са приети серумни стойности за $25(\text{OH})\text{D}$, базираци се на нивата необходими за оптимална супресия на ПТХ:

- Тежък дефицит на вит. Д – под 25 nmol/l
- Недостатъчност на вит. Д – $25 - 49,99 \text{ nmol/l}$
- Нормално („адекватно“) ниво на вит. Д – над 50 nmol/l
- Оптимално ниво на вит. Д – над 75 nmol/l (125).

5.5. Витамин Д в патогенезата на остеопорозата

Остеопорозата е комплексно заболяване, което се дължи на нарушения баланс между костното изграждане и костната резорбция. Витамин Д играе ключова роля в запазването на този баланс, осигурявайки достатъчни количества калций и фосфати чрез резорбцията в червата и модулирайки активността на остеобластите и остеокластите. Ефектите на витамин Д върху костното образуване са както индиректни – стимулиране на чревната абсорбция и бъбречната реабсорбция на калция, така и директни – чрез ефектите върху остеобластите и съответните рецептори. Хормон-рецепторният комплекс стимулира експресията на множество гени, кодиращи синтеза на протеини, участващи в клетъчната диференциация и костната минерализация като алкална фосфатаза и ОС (127). Дефицитът на Витамин Д води до нарушена минерализация на костите, вторичен хиперпаратиреоидизъм и ускорена костна резорбция, което задълбочава остеомалацията. При възрастните метафизарните плочки са затворени, поради което деформации на костите не се наблюдават. Основни симптоми са стрелкащи костни болки, слабост на мускулатурата, микрофрактури в Луверовите зони – двустранни симетрични на типични места, като шийка на бедрена кост, скапули, тазови кости, ребра и прешлени (124).

Достатъчните количества от витамин Д запазват оптималната мускулна сила и тонус. Ново проучване свързва дефицита на витамин Д със загуба на мускулна сила при възрастни, която може да достигне до 78%. Известно е, че по-възрастните хора са изложени на риск от свързани с възрастта намаляване на мускулната маса и загуба на сила, които не са причинени от неврологични или мускулни заболявания. Намалената мускулна сила е предпоставка за нестабилност, а това повишава риска от падания и фрактури, физическа недееспособност, загуба на независимост, институционализация и преждевременна смърт (128). Днес е прието, че най-големи ползи за поддържане на КМП и нормалната функция на мускулно-скелетната система и долните крайници, с минимален риск от падане и фрактури, имат серумни концентрации на витамин Д над 75 nmol/l (129).

В световната научна литература са натрупани достатъчно данни, подкрепящи факта, че недостатъчност и дефицит на витамин Д са често срещани състояния сред популации от различни възрастови групи, етнос и географски ширини. Лошият витамин Д статус днес се приема като рисков фактор за развитие на остеопороза (130). Дефицитът на витамин Д причинява деминерализация на костите, която може да намали КМП, затова

оценката на нивото на витамин Д при пациенти с ОП е от съществено значение. От друга страна, изходният статус на витамин Д е важен защото, нормални нива на витамина са необходими за постигане на максимален ефект от антирезорбтивната терапия.

В България съществуват публикувани резултати от няколко многоцентрови проучвания на нивата на витамин Д при популации здрави лица. Епидемиологичните данни за витамин Д статуса в българската популация показват дефицит в 21.3%, недостатъчност в 54.5%, нормално ниво в 24.2% от населението. Общо 75.8% от изследваните имат ниво на 25(ОН)Д под желаната стойност от ≥ 50 nmol/l, т.е. голяма част от населението в страната се намира в състояние на дефицит или недостатъчност на витамин Д. Статусът на витамин Д в нашата страна е много лош и този здравен проблем е силно подценяван (131).

Суплементацията с витамин Д за превенция от ОП и фрактури се поддържа от Institute of Medicine (ИОМ), International Osteoporosis Foundation (ИОФ), Endocrine Society.

- Първична профилактика – осигуряване на достатъчни нива на витамин Д във всяка възраст
- Вторична профилактика – диагностициране на лицата с дефицит, коригиране на дефицита и предотвратяване на повторно то му възникване
- Лечение – витамин Д е задължителен елемент в лечението на ОП, независимо от използвания препарат. При пациенти с установен дефицит преди започване на лечението той се коригира в срок от 1 – 3 месеца, след което започва лечението без да се прекъсва приемът на витамин Д (125).

Адекватният прием на калций и витамин Д с храната е от съществено значение за предотвратяване на ОП и е основно допълнение към профилактичното лечение. В научната литература има данни показващи, че нормалните нива на витамин Д, запазват и даже повишават костната минерална плътност при жени в менопауза, а вероятно могат и да намалят риска от фрактури (132). В един обзорец преглед на 26 рандомизирани клинични проучвания Ghoch et al. обобщават ефектите от добавките с витамин Д и калций поотделно и в комбинация върху костната плътност, биохимичните маркери за костен turnover, паданията и остеопоротичните фрактури. Обобщените резултати показват, че калцият със съпътстваща добавка на витамин Д, но не и витамин Д самостоятелно, водят до

повишаване на КМП (133). Днес е общоприето, че прясното и киселото мляко и другите млечни продукти са добри източници на калций и витамин Д и осигуряват повече протеини, калций, магнезий, калий и фосфор от всяка друга храна. Проучвания, подкрепящи благоприятните ефекти на млякото или млечните продукти върху здравето на костите, показват значителна обратна връзка между приема на млечни продукти и маркерите за костна обмяна и положителна връзка с минералното съдържание на костите. Чрез консумацията на 3 порции млечни продукти на ден, може лесно да се постигне препоръчителният дневен прием на хранителни вещества, които са от съществено значение за доброто здраве на костите. Следователно, млечните продукти могат да подобрят здравето на костите и да намалят риска от фрактури в по-късна възраст (134). Непълноценното хранене с намален хранителен прием на калций е свързано с повишена абсорбция на калций в червата и бъбречните тубули, но тази връзка е слабо изразена при по-възрастните хора, поради намалената продукция на витамин Д и резистентността към действието му в червата. Проучвания демонстрират намалена абсорбция на калций дори при повишен прием на витамин Д при по-възрастни жени. Въпреки че намалената абсорбция на калций с напредване на възрастта е многофакторно обусловена, все още се приема, че дефицитът на витамин Д е основна причина за малабсорбция на калций при възрастни хора (135). Добавки с калций и витамин Д не се използват самостоятелно за лечение на ОП, но в същото време са съществено допълнение към терапевтичния режим за ОП.

- Препоръчителен прием на калций от всички източници, където „всички източници“ означава храната, за менопаузални жени – 1500 mg/дневно
- Препоръчителен дневен прием на витамин Д от всички източници, където „всички източници“ означава цялата храна заедно с хранителните добавки и инсолацията е:
 - Мъже и жени под 65 години – ≥ 600 IU (15 μ g) дневно
 - Мъже и жени над 65 години – ≥ 800 IU (20 μ g) дневно
 - Мъже и жени с доказан дефицит на витамин Д – 2000 – 4000 IU (50 – 100 μ g) дневно за 6 – 8 седмици и след това 1000 – 2000 IU (25 – 50 μ g) дневно (125).

6. ВИТАМИН К2

6.1. Химична структура, източници, физиологични ефекти

Витамин К е известен традиционно като витамин на коагулацията. Оттук е името му, което произлиза от немския термин за коагулация (Koagulation). Важността му е толкова голяма, че Нобеловата награда за физиология и медицина през 1943 г. е присъдена на Хенрик Карл Питър Дам и Едуард Аделберт Дойси за откриването на витамина и неговата химична природа (136). Витамин К всъщност е представен от група тясно свързани производни с 2-метил-1,4-нафтохинонова структура. Отделните вещества от групата на витамин К са известни още като К витамини. Те се различават един от друг главно по отношение на дължината и наситеността на изопреноидната странична верига Най-важните естествено срещащи се витамини К са филохинон, който се съдържа в зелените растения и е известен като витамин К1 и менахинон, със странични вериги с различна дължина, който се образува основно от чревни бактерии и е известен като витамин К2 (137). Менахиноните (МК) се класифицират според дължината на страничните им вериги от МК-4 до МК-15 (138).

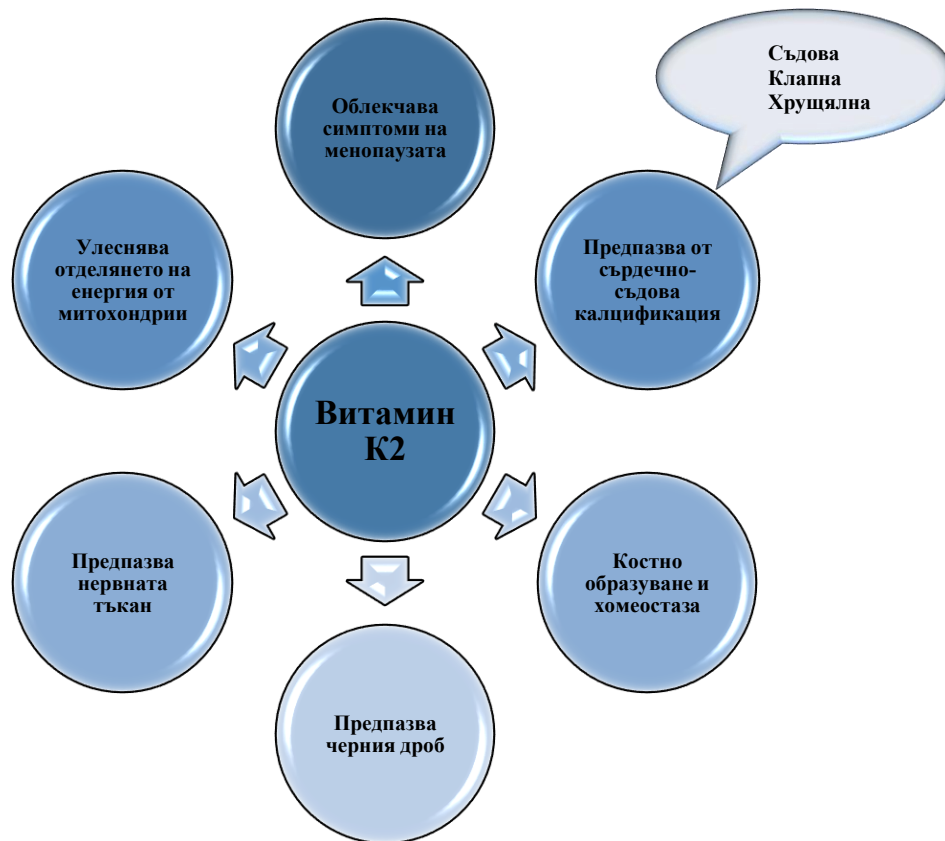
Витамин К1 е главният диетичен източник и се намира в зеленолистните зеленчуци, като спанак, броколи, кейл, брюкселско зеле и растителните масла (139). Главен източник на витамин К2 са млечните продукти и различните видове сирене заради бактериалната ферментация при производството им, както и някои меса и черен дроб. Практически половината от дневния прием на витамина идва от сиренето (140). Други важни източници са ферментирали зеленчуци като кисело зеле и натто, традиционна японска храна съдържаща ферментирали соеви зърна. Витамин К2 се продуцира също и от някои облигатни и факултативни анаеробни бактерии в интестиналния тракт (141). Филохинонът е по-добре дефиниран по отношение на съдържанието му в храните и диетичния прием. Съдържанието на менахинони не е ясно определено и наличието им в храните показва големи регионални различия. Диетичният прием варира широко в различните региони и възрастови групи (142).

Приетите с храната витамини К1 и К2 се резорбират в тънките черва и се транспортират с хиломикроните и лимфната циркулация до черния дроб и другите тъкани. В черния дроб по-голяма част от К1 се метаболизира и екскретира. Малки количества навлизат отново в циркулацията с липопротеините с много ниска плътност и достигат други тъкани. Витамин К2 се транспортира с липопротеините с ниска плътност от черния дроб до

екстрахепаталните тъкани, като костите например. МК-4 се транспортира с липопротеини с ниска и с висока плътност. Витамин К1 и дълговерижните менахинони се натрупват в черния дроб, а МК-4 основно в мозъка, репродуктивните органи, панкреаса и другите жлези (143).

Съществуват постоянно натрупващи се данни, че витамин К2 действа върху почти всяка система в човешкото тяло и има различни роли чрез пряко или непряко участие в регулацията на стотици физиологични и патологични процеси (144). Има множество доказателства, че такова широко участие на витамин К2 е пряко свързано с калциевата хомеостаза, а основната му роля е да поддържа стабилни нива на калций в множество биологични пътища и физиологични процеси (145). Фигура 6.1.1 представя схематично обобщение на възможните биологични ефекти на витамин К2 върху различните аспекти на човешкото здраве от наскоро публикувани *in vitro* и *in vivo* проучвания. Трябва да се отбележи, че биологичните и клиничните данни са все още непълни и противоречиви и са необходими по-задълбочени изследвания (105).

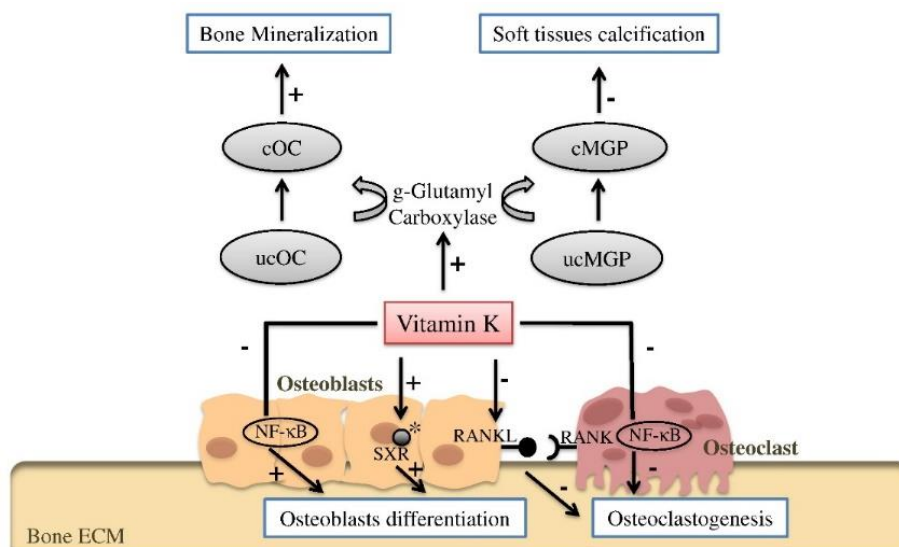
Витамин К е кофактор на ензима γ -глутамил карбоксилаза, който катализира карбоксилирането на глутаминовата киселина (Glu) до γ -карбоксиглутаминова киселина (Gla). Това γ -карбоксилиране на специфични остатъци от глутаминова киселина във витамин К-зависимите протеини ги прави функционално активни.



Фиг. 6.1.1. Физиологични ефекти на витамин К2.

Тези протеини участват в коагулационната и калциевата хомеостаза. Витамин К1 в черния дроб активира синтезираните там фактори на кръвосъсирването (146). К2 се транспортира до извънчернодробните тъкани и регулира активността на остеокалцина (ОС) и матриксния Gla-протеин (MGP), като засега най-добре проучени са ролите му в костната тъкан (147) и като инхибитор на съдовата калцификация (148). Витамин К2 участва и в активирането на други 11 или 12 протеина, които играят различни роли в модулирането на калцификацията на съединителната тъкан. Тъй като този процес е физиологично необходим в костите, но е патологичен в артериите, много изследвания са посветени на намирането на възможна връзка между витамин К2 и превенцията на ОП и сърдечно-съдови заболявания (141). Възможните механизми на действие на витамин К2 в костите и кръвоносните съдове, доказани в животински модели, са представени на Фигура 6.1.2. Витамин К2-зависимите протеини се намират в телесните течности и извънклетъчния матрикс и имат способности за свързване на калций. Проучванията показват, че остеокалцинът с високия си афинитет към калций и хидроксиапатит, е замесен във взаимодействието между остеокластите и остеобластите, в минерализацията на костите и калциевата

хомеостаза. Некарбоксилираният ОС е първоначално синтезираната неактивна форма, която показва ограничена активност на свързване на калций и хидроксиапатит без витамин К2 медирано карбоксилиране (149).



Фиг. 6.1.2. Механизми на действие на витамин К2 в костта: ucOC: некарбоксилиран остеокалцин; cOC: карбоксилиран остеокалцин; ucMGP: некарбоксилиран Matrix Gla протеин; cMGP: карбоксилиран Matrix Gla протеин; NF-κB: нуклеарен фактор κB; SXR: стероиден и ксенобиотичен рецептор; RANKL: рецепторен активатор на нуклеарен фактор κB лиганда; RANK: рецепторен активатор на нуклеарен фактор κB; ECM: извънклетъчен матрикс (149).

Резултати от изследвания върху клетъчни култури, животински модели и хора показват, че витамин К2 е по-ефективен от К1 в подобряване на костното здраве. Витамин К2 увеличава здравината, плътността и минералното съдържание на костите, инхибира костната резорбция, намалява риска от фрактури, намалява загубата на калций в урината, понижава серумните нива на АФ и регулира нивата на карбоксилирания ОС и карбоксилирания MGP. Намалява мобилизацията на калций и увеличава отлагането на калций в костите, укрепвайки костната конструкция. В същото време ограничава появата на калцификация в други органи поради намалена загуба на калций от костите. Необходими са допълнителни изследвания, за да се подкрепят тези наблюдения (105).

In vitro витамин К2 стимулира пролиферацията на костно-мозъчните стволови клетки, стимулира диференциацията на остеобластите и инхибира диференциацията на адипоцитите. Подобни ефекти не се наблюдават при витамин К1. Витамин К2 защитава остеобластите от апоптоза. Увеличаването на броя на остеобластите води до образуването на повече остеоцити, по-голяма лакунарна заетост от тези клетки и намалена кортикална порьозност. От друга страна, витамин К2 подтиска образуването

на остеокласти чрез инхибиране на експресията на RANKL, увеличаване експресията на OPG и стимулиране на остеокластната апоптоза. Тези изследвания предполагат, че витамин К2 регулира костните клетки директно или индиректно и като цяло има анаболен ефект върху костите (143). Витамин К2 допринася за образуването на кост и чрез стимулиране на отлагането на калций, чрез карбоксилиране на витамин К-зависимите протеини. Дефицитът му може да предизвика разтваряне и мобилизиране на калция от костите за поддържане на калциевата хомеостаза, което води до ОП. Тези данни предполагат положителни ефекти на витамин К2 при дегенеративни състояния на костите (150).

Препоръките за дневен прием на витамин К са противоречиви и варират в различните страни. В САЩ препоръчителните дневни дози са съответно 90 и 120 μg за жени и мъже, във Великобритания са 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (142). В Европейските страни препоръките на Европейската агенция за безопасност на храните (EFSA) са само за прием на витамин К1 в доза 70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ за всички възрастни, но те са базирани единствено на нуждите за поддържане на коагулационната функция (151). Количествата за оптимално карбоксилиране на другите витамин К-зависими протеини, изглежда са по-големи (152). Все още липсва консенсус относно количествата, препоръчителни за дневен прием на витамин К2, но повечето добавки съдържат около 100 μg .

Доскоро се смяташе, че дефицит на витамин К2 е рядък и настъпва само в определени рискови групи, но през последните години все по-често се публикуват данни за възможен такъв, както при здрави лица (153), така и при страдащи от различни заболявания, включително и ОП (132,133,134). Публикувани резултати от клинични проучвания демонстрират повишени нива на некарбоксилирани фракции на витамин К2-зависимите протеини, както и понижението им след суплементация с високи дози витамин К2, които доказателства са в полза на тезата за разпространен дефицит (157).

6.2. Синергичен ефект на витамините Д и К2

Днес се приема безспорно, че витамините Д и К2 имат синергичен ефект върху костите и сърдечно-съдовата система. И двата витамина са мастноразтворими и играят централна роля в метаболизма на калция. Витамин Д стимулира синтеза на протеини, които трябва да бъдат карбоксилирани от витамин К, за да станат функционално активни (158). ОС и MGP са основни членове на нарастващото семейство витамин-К зависими

протеини. Те са първите, за които е установено, че не участват в коагулацията и се синтезират извън черния дроб (159). ОС се синтезира и секретира почти изключително от остеобластите, отговорни за синтеза и минерализацията на костния матрикс по време на развитието на скелета и неговата периодична регенерация (160), а МGP се синтезира от съдовите гладко- мускулни клетки и инхибира ектопичната калцификация (161). Преди да бъде секретран в екстрацелуларния матрикс ОС трябва да претърпи γ -карбоксилиране под въздействието на ензима γ -глутамил карбоксилаза. Има данни, че активният витамин Д регулира активността на γ -глутамил карбоксилазата по дозо-зависим начин (162). Карбоксилираният ОС е отговорен за свързването на калциевите йони в костния матрикс и повишаването на костната КМП. Само около 10 – 40% от синтезирания ОС достига до циркулацията, а останалата остава свързана с костния матрикс. Некарбоксилираната фракция е около 30% (136,139) и дори 40 – 60% (164) от общия ОС при възрастни. Има данни, че количествата витамин К₂, необходими за оптималното γ -карбоксилиране са значително по-високи от тези, които се осигуряват само чрез диета (165). Фракцията от ОС, която е претърпяла несъвършено γ -карбоксилиране, се нарича некарбоксилиран ОС (ucОС). Ниският хранителен прием на витамин К е свързан с повишени серумни нива на ucОС.

Днес съотношението ucОС/ОС се приема за по-добър индикатор на витамин К₂ статуса от ucОС и се използва по-широко в клиничните проучвания, поради добрата възможност за сравняване на получените данни. На базата на проведени проучвания върху хранителния прием на витамин К₂, стойности на ucОС/ОС $\geq 20\%$ са индикатор за дефицит (166). В документ, публикуван през 2017 г. Европейската група по безопасност на храните приема изисквания за диетичен прием и потвърждава тези стойности (151).

7. СОБСТВЕНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ

Витамин Д статусът при пациентки с постменопаузална ОП е важен елемент от комплексната оценка, защото дефицитът на витамин Д все още се приема за рисков фактор в развитието на ОП и фрактури, а дефицитът и ниските нива на витамина са често срещани състояния. Публикуваните данни относно нивата на витамин Д и витамин К2 при жени в менопауза и с остеопороза са противоречиви, а в България до 2018 г. такива липсват. В опит да анализираме влиянието на двата витамина върху КМП, костния търновър и фрактурния риск при жени с постменопаузална ОП реализирахме два научно-изследователски проекта финансирани от МУ – Плевен. В рамките на тези проучвания изследвахме показателите на калциево-фосфорния метаболизъм, витамин Д и витамин К2 при здрави жени в менопауза и пациентки с новодиагностицирана ОП.

7.1. КЛИНИЧЕН КОНТИНГЕНТ

Подборът на жени в менопауза се базираше на следните критерии за включване в работна и контролна групи.

Критерии за включване в работната група

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

Критерии за включване в контролната група

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

Оформяне на групите

През периода октомври 2018 г. – май 2021 г. бяха изследвани 100 жени в менопауза. Всички участнички подписаха информирано съгласие. Диагнозата беше поставена след измерване на КМП на прешлените в

лумбалния отдел на гръбначия стълб чрез ДХА. Оформянето на групите се извърши според стандартите на СЗО, а КМП се определи както следва:

- Нормална костна минерална плътност: T-score \geq -1.0 SD;
- Остеопения: T-score между -1.0 SD и -2.5 SD;
- Остеопороза: T-score \leq -2.5 SD;
- Тежка остеопороза: T-score \leq -2.5 SD + фрактура.

Участничките бяха разделени в две групи:

Работна група – Нелекувани жени с новодиагностицирана остеопороза.

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

7.2. НАЧАЛНА ОЦЕНКА

Клиничен преглед: анамнеза и физикално изследване.

Антропометрия – измерване на телесната маса по утвърдена стандартна методика с калибрирана везна и ръста чрез стандартен ръстомер. От телесното тегло в килограми и ръста в квадратни метри се изчисли ИТМ по формулата: ИТМ = кг/м².

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

- Поднормено тегло: < 18,5 кг/м²
- Нормално тегло: 18,5 – 24,99 кг/м²
- Наднормено тегло: 25,0 – 29,99 кг/м²
- Обезитет: \geq 30 кг/м²

Анкетен метод – Пряка индивидуална анкета за проучване на рисковите фактори за остеопороза, чрез попълване на въпросника „Едноминутен тест за оценка риска от остеопороза“, който е оригинална разработка на проф. Михаил Боянов. В него отделните рискови фактори получават различен брой точки в зависимост от тежестта им. При определяне на относителната тежест на рисковите фактори са използвани данните на СЗО и големите епидемиологични проучвания за т.нар. значими (главни) рискови фактори. Общият риск от остеопороза се оценява чрез сбора от всички точки и при наличие на такъв лицето се насочва за измерване на КМП.

Документален метод – бяха разработени индивидуални карти, в които се попълват данни за възрастта, резултатите от антропометричните измервания и костната минерална плътност, история на заболяването, придружаващи заболявания, прием на медикаменти.

Оценка на фрактурния риск:

Калкулаторът FRAX[®] Fracture Risk Assessment Tool влиза в препоръките на СЗО за оценка на фрактурния риск от 2008 г. Това е уеб-базиран алгоритъм за бърза и лесна оценка на индивидуалния фрактурен риск – <https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/>. Чрез него на базата на изследваната КМП и някои клинични рискови фактори се оценява в проценти десетгодишната вероятност за настъпване на значима остеопоротична фрактура – бедро, прешлени, раменна кост или предмишница. Чрез алгоритъма се изчисляват два фрактурни показателя:

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

Показателите, които се използват за изчисление на FRAX включват:

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

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

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

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

7.3. ЛАБОРАТОРНИ ИЗСЛЕДВАНИЯ:

За изследване на предвидените показатели беше използвана венозна кръв. Изследванията се проведоха в периода от октомври до март през 2018 и 2020 г. За избягване на циркадната вариабилност пробите бяха събирани

сутрин между 8.00 и 9.30 часа, след 12-часово гладуване и изследвани в сертифицирана медико-диагностична клинична лаборатория.

- **Биохимични изследвания:**
 - **Калций, фосфор, алкална фосфатаза** – използвана беше 5 мл венозна кръв, взета в стерилни вакутейнери за серум отделен чрез центрофугиране. Пробите бяха изследвани в деня на вземането с биохимичен анализатор Cobas C 311, Roche Diagnostics.
- **Имунологични изследвания:**
 - **Паратхормон, витамин Д, остеокалцин** – използвана беше венозна кръв 5 мл взета в стерилни вакутейнери за серум отделен чрез центрофугиране. Пробите бяха изследвани в деня на вземането с електро-хемилюминисцентен имуноанализ на имунологичен анализатор Cobas E 411, Roche Diagnostics. Референтните стойности на показателите, в съответствие с използваните лабораторни анализи, са показани в Табл. 7.3.1:

Таблица 7.3.1. Референтни стойности на изследваните показатели, в съответствие с използваните лабораторни анализи

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

- **Некарбоксилиран остеокалцин** – използвана беше венозна кръв 3 мл. Пробите за изследване след центрофугиране и отделяне на плазмата бяха замразени и съхранявани при -80°C. Концентрациите бяха измерени с Human Undercarboxylated Osteocalcin (ucOC) ELISA Kit (Abbeexa,UK) в съответствие с инструкциите на производителя.
- **Витамин К2:** Беше оценен индиректно чрез процентното съотношение ucOC/OC. В документ от 2017 г. EFSA приема стойности на ucOC/OC ≥ 20% за индикатор за хранителен дефицит на витамин К2 (151).

7.4. СТАТИСТИЧЕСКА ОБРАБОТКА

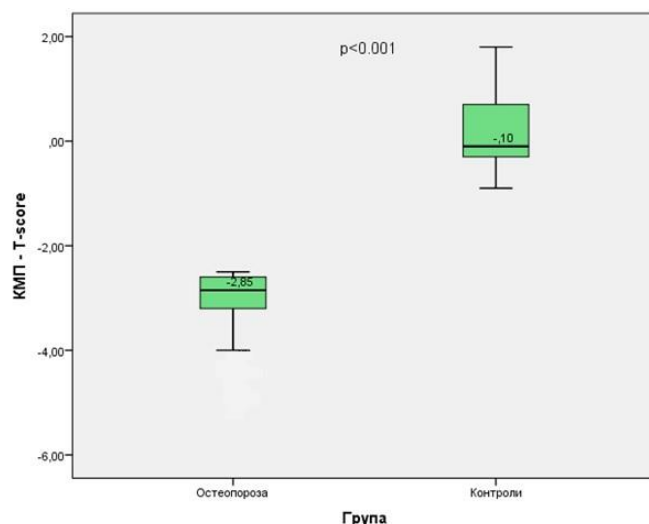
Данните бяха обработени със статистическите програмни продукти SPSS v23.0 и Microsoft Office Excel 2003.

- Резултатите са описани чрез таблици, графики и числови величини. Данните са тествани за нормалност на разпределението чрез тестовете на Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) и Шапиро-Уилк (Shapiro-Wilk). Статистическата обработка е съобразена с вида на данните (номинални, ординални, интервални) и разпределението на величините. За статистически достоверни при различните анализи са приети стойности на $p < 0.05$.
- Използвани са методи на **дескриптивен, сравнителен, корелационен и еднофакторен регресионен анализ**. Степента на корелациите е оценена според корелационния коефициент (r) при 5-степенна скала, като: слаба ($r < 0.3$), умерена ($0.3 < r < 0.5$), значителна ($0.5 < r < 0.7$), висока ($0.7 < r < 0.9$) и много висока ($0.9 < r < 1$)

7.5. РЕЗУЛТАТИ ОТ НАЧАЛНАТА ОЦЕНКА

След измерване на **костната минерална плътност** в областта на прешлените на лумбалния отдел на гръбначния стълб в работната група бяха включени жени с постменопаузална остеопороза и T-скор ≤ -2.5 SD ($n = 62$). В контролната група бяха включени жени без остеопороза и T-скор > -2.5 SD ($n = 38$).

За сравнение между групите бяха използвани непараметрични методи. Анализът с теста на Ман-Уитни показва статистически значимо по-ниска КМП в групата с остеопороза (-2.85 ± 0.54 SD) в сравнение с контролната група (-0.10 ± 0.67 SD) ($U = 0.00$; $p < 0.001$) (Фиг. 7.5.1).



Фиг. 7.5.1. Костна минерална плътност в лумбалния отдел на гръбнака в работната и контролната групи. Данните са представени като медиана, минимална и максимална стойност на T-скор. Разликата между двете групи е статистически значима $p < 0.001$.

Работна група

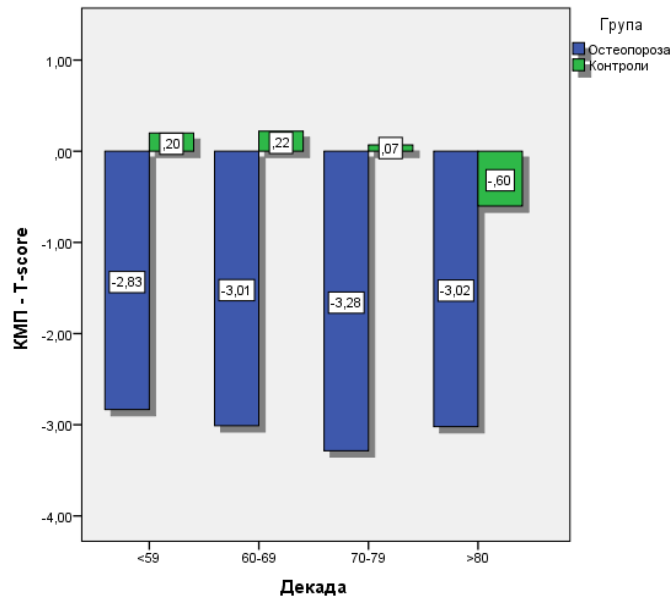
В работната група бяха включени 62 жени на средна възраст 66.05 ± 8.70 г. и средна КМП, изразена чрез T-скор от -2.85 ± 0.54 SD. С цел оценка на тежестта на остеопорозата бяха анализирани данни за наличие на фрактури от медицинската документация. С ОП без фрактура бяха 39 пациентки на възраст 65.21 ± 7.28 г. и T-скор (-2.8 ± 0.62 SD). С тежка ОП, средна възраст 67.48 ± 10.71 г., T-скор (-2.9 ± 0.53 SD) и доказани фрактури в различни области – предмишница и гръбначен прешлен, бяха 23 пациентки. Сравнението между двете подгрупи с теста на Ман-Уитни не установи статистически значима разлика във възрастта ($U = 383.50$; $p = 0.343$) и КМП ($U = 417.50$; $p = 0.650$).

Контролна група

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

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

Измерената КМП в работната и контролната групи, разпределени по декади е показана на Фигура 7.5.2. В групата с ОП, КМП показва постепенно снижение във всяка следваща декада, като най-ниска е при жените на възраст 70 – 79 г. Сравнението с теста на Ман-Уитни по декади поотделно в двете групи показва статистически значима разлика в КМП само в групата с ОП. Жените на възраст между 70 – 79 г. имат статистически значимо по-ниска КМП ($U = 44.50$; $p = 0.022$) от жените на възраст 50 – 59 г.



Фиг. 7.5.2. Средна КМП изразена чрез T-скор при жените от работната и контролната групи разпределени по декади. Разликата в КМП на жените в групата с ОП на възраст 50 – 59 г. и 70 – 79 г. е статистически значима $p < 0.05$.

Остеопорозата е метаболитен синдром, при който костите стават чупливи поради загуба на минерали и костен матрикс в приблизително еднакви пропорции. При постменопаузалната ОП дефицитът на естрогени води до увеличаване на костния търновър поради въздействие върху всички видове костни клетки, а дисбалансът в костното образуване и резорбция има ефект както върху трабекуларната, така и върху кортикалната кост (83). Костната минерална плътност в областта на прешлените L1 – L4 при лица на средна и в напреднала възраст намалява с възрастта. При здравите възрастни жени костната маса достига максимални стойности на възраст около 30 години, а след това с напредването на възрастта започва да намалява бавно и стабилно (167). След настъпването на менопаузата скоростта и степента на костна загуба варират в зависимост от нейната продължителност и различните скелетни места за измерване. Загубата на кост протича в два етапа. Започва с настъпването на менопаузата, като бърз

естроген-зависим процес с бързо намаляване на костната маса и продължава около 5 – 10 години. В този период се губи около 50% от общата КМП на гръдния и лумбалния отдел на гръбначния стълб, което води до чести компресионни фрактури на телата на прешлените. Следва бавната, постоянна, свързана с възрастта, загуба на костна плътност, водеща до разреждане на костните трабекули и загуба на костна тъкан в кортексияния слой, което увеличава и податливостта на шийката на бедрената кост към фрактури. Хормоналният дисбаланс, стареенето, факторите на околната среда, стилът на живот и генетичните предразположения са отговорни за около 50 – 80% от индивидуалната загуба на КМП (168). В този период причина за влошеното качество на костите са постепенната загуба на минерали от костите свързана с остаряването, а също и други свързани с възрастта състояния, като нарушена мускулна функция, дефицит на витамин Д и вторичен хиперпаратиреоидизъм (169). В лонгитудинално проучване на КМП на 366 здрави жени в менопауза Warming et al. намират малка по степен костна загуба в областта на бедрената шийка и гръбначните прешлени преди настъпване на менопаузата и трикратно нарастване в първите 10 години след менопаузата. След този период загубата на кост в гръбначния стълб намалява до нула (170). В изследваната от нас контролна група жени КМП в областта на гръбнака намалява постепенно с напредване на възрастта, като е най-ниска във възрастта над 80 г., но разликите в различните декади от настъпването на менопаузата не достигат статистическа значимост. Подобни резултати съобщават Ohta et al., които сравняват КМП в лумбалния отдел на гръбнака на жени с ранно настъпила и нормална менопауза. Те не отчитат намаляване на КМП с напредване на възрастта при жените с нормално настъпила менопауза (171). Резултати от проведено петгодишно мултицентрово лонгитудинално кохортно проучване на 9423 канадски жени и мъже на възраст над 25 г. показват, че костната загуба при жените започва след 40-годишна възраст, като се наблюдава в различна степен и протича с различна скорост в бедрената шийка и лумбалния отдел на гръбнака. Костната загуба в областта на гръбначните прешлени е най-изразена в перименопаузалия период и първите години след настъпване на менопаузата. След 60-годишна възраст КМП в лумбалния отдел на гръбнака остава почти постоянна, спрямо местата в тазобедрената става. Този модел вероятно отразява разликите в състава на костта в лумбалния отдел на гръбначния стълб, който има по-голямо съдържание на трабекуларна, а не на кортикална кост в сравнение с

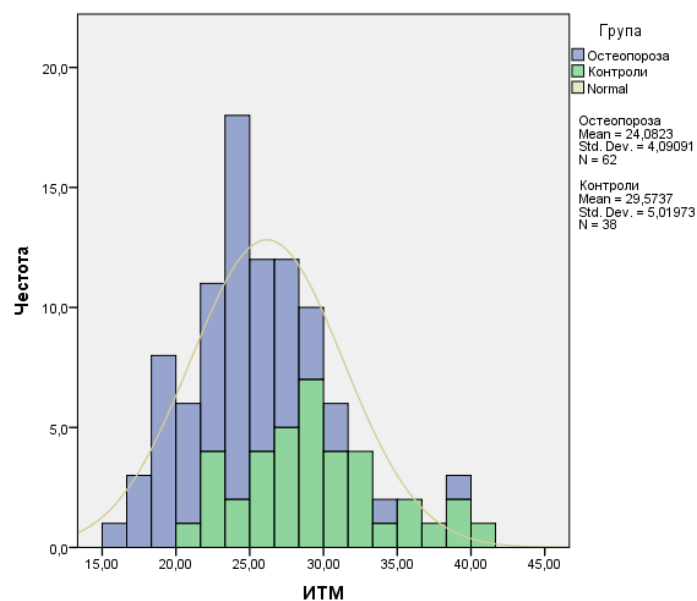
бедрената шийка, както и разлики в механичните напрежения в лумбалния гръбначен стълб и бедрата или степенни разлики в развитието на остеофитоза и други дегенеративни промени, които по-забележимо засягат измерването на костната плътност на прешлените, прикривайки загубата на трабекуларна кост (172).

Остеопорозата се характеризира с понижена КМП и намалена здравина на костите, което създава повишен риск от нискоенергийни фрактури. Жените с ОП показват сигнификантно по-ниска КМП измерена във всички скелетни места, което е критерий за поставяне на диагнозата. КМП, измерена в лумбалната област на гръбнака чрез Т-скора в групата с ОП, е статистически значимо по-ниска от КМП в контролната група. Процесът на загуба на костна маса с остаряването е сложен. Скоростта му зависи от много фактори, като пол, хормонален статус, калциев статус, телесно тегло, степен на физическа активност, генетичен състав и регионални характеристики на костния метаболизъм. Костната загуба не е равномерно разпределена в целия скелет. Много експериментални изследвания на степента на загуба на костна маса са ограничени до специфични костни места, като скоростта на загуба на трабекуларната вертебрална кост е значително по-бърза от тази на кортикалната дълга кост (173). В ранните етапи на постменопаузалната ОП, дефицитът на естрогени предизвиква повишаване на експресията на RANKL, което води до повишен брой и активност на остеокластите, както и едновременно потискане на функциите на остеобластите. Впоследствие повишената нетна костна резорбция, изпреварваща образуването на кост, причинява бърза загуба главно на трабекуларна костна маса (169). Намерихме, че жените с ОП на възраст между 70 – 79 г. имат статистически значимо по-ниска КМП в лумбалния отдел на гръбнака в сравнение с жените във възрастовата група 50 – 59 г., но не и с тези във възрастта 60 – 69 г. В литературата няма достатъчно данни за степента и скоростта на костна загуба при жени с постменопаузална ОП. Проучванията са фокусирани основно върху жени в пременопауза и ранна менопауза, а КМП при възрастните жени е много важна за риска от остеопоротични фрактури. При жените с ОП има дисбаланс в процесите на костно ремоделиране. Скоростта на костна резорбция е повишена, при непроменена или забавена скорост на костно формиране и неадекватна компенсация, а ускорената загуба засяга в по-голяма степен спонгиозните кости (174). Това може да обясни появата на статистически значимата разлика в КМП на гръбнака с напредването на

възрастта. При жените с ОП изглежда намаляването на КМП с напредването на възрастта е по-изразено и продължава в по-голяма степен в сравнение със здравите контроли. Възможни други причини за прогресиращото с напредване на възрастта намаление на КМП при жените с ОП са промените в мускулната сила и ограничената физическа активност. Мускулно-скелетното здраве е особено компрометирано, както от заседналият начин на живот, така и от ниските нива на физическо натоварване (175). Намалената физическа активност и бездействието генерират разтоварване на скелетната система, което води до намалена костна маса (176). Обездвижването предизвиква костна загуба вследствие на увеличаване на резорбцията и намаляване на образуването в костите, носещи тежестта. Това разединяване на костното ремоделиране изглежда като универсален механизъм на костна загуба, предизвикана от обездвижване. В скелетните мускули атрофията настъпва успоредно с костната загуба, главно на нивото на антигравитационните мускули (177). Ограничената физическа активност и често наличието на различни здравословни проблеми при по-възрастните жени намаляват динамичните натоварвания върху костите и засилват костната загуба (178). Влошеното състояние на мускулно-скелетната система с болезненост в мускулите и костите при жените с ОП, може да доведе до допълнително ограничаване на ежедневната им активност, увеличаване на честотата на паданията и съответно увеличаване на риска от фрактури (168).

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

Честотата на разпределение по ИТМ на участничките от работната и контролната група е показана на Фигура 7.5.3. При контролите ясно се вижда изместването на стойностите на ИТМ в посока към наднормено телесно тегло и затлъстяване.



Фиг. 7.5.3. Комбинирана хистограма на честотата на разпределение по ИТМ в $\text{кг}/\text{м}^2$ на участниците от работната и контролната групи. Разликата в средните стойности на ИТМ в двете групи е статистически значима $p < 0.001$.

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

Костната минерална плътност в работната и контролната групи с различен ИТМ е представена в Таблица 7.5.1.

Таблица 7.5.1. Костна минерална плътност на жените в работната и контролната групи с различен ИТМ

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

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

В групата с ОП се забелязва постепенно намаляване на КМП с намаляване на ИТМ при групите с наднормено тегло, нормално тегло и поднормено тегло, но резултатите от тестовете на Крушкел-Уолис не показаха

статистически значими различия ($\chi^2 = 3.483$; $p = 0.323$). При жените от контролната група също липсват статистически значими разлики в КМП при различен ИТМ ($\chi^2 = 1.060$; $p = 0.589$).

Телесното тегло и ИТМ са важен елемент от оценката на пациентите с ОП, защото са рискови фактори за развитие на заболяването. Днес е прието, че жените с висок ИТМ традиционно са с по-висока КМП и са защитени от ОП. Менопаузата се характеризира с прекратяване на производството на естрогени и е свързана с увеличена костна загуба и нарастване на телесното тегло за сметка на мазнините. Промените в хормоналните нива, промените в метаболизма и намалената физическа активност, вероятно осигуряват механизмите за склонността към натрупване на мастна маса след менопауза и увеличаване на телесното тегло. Мастната тъкан на пременопаузалните жени е сравнително малък източник на естрогени (179), но при жените в менопауза, ароматизацията на естрогенните прекурсори в мастната тъкан става основния им източник (180). При затлъстяване в менопауза, повишеният синтез на естрогени в мастната тъкан се смята като един от потенциалните механизми за защитния ефект на мастната маса върху костите (181). Нисък ИТМ ≤ 19 кг/м² се приема за рисков фактор за развитие на ОП (182). Ниският ИТМ предразполага жените в менопауза към бърза костна загуба и ниска костна маса, което е от решаващо значение в патогенезата на ОП. Въпреки това, конкретна диаграма на стойностите на ИТМ за точно прогнозиране на ОП предстои да бъде напълно установена (183). Ние установихме значими разлики в ИТМ на изследваните групи жени. Жените с ОП имат статистически значимо по-нисък среден ИТМ в сравнение с контролната група. Пациентките с ОП имат среден ИТМ в границите на нормалното тел. тегло – 24.08 кг/м², а при контролите средният ИТМ е в границите на наднорменото телесно тегло – 29.57 кг/м². Подобни резултати съобщават и Gurban et al. в проучване на 149 румънски жени в менопауза. Авторите намират ИТМ сигнификантно по-нисък в групата с ОП (25.1 ± 4.5 кг/м²) в сравнение с контролите (29.2 ± 5.1 кг/м²), (184). В публикувано от Nikolov et al. ретроспективно проучване на асоциацията между телесния състав и КМП при 111 жени в менопауза се съобщават подобни статистически значими разлики. Пациентите със стойности на T-score ≤ -2.5 на лумбален гръбнак са със сигнификантно по-нисък ИТМ в сравнение със случаите с T-score > -2.5 (185).

За определяне на **фрактурния риск** е използван валидирания за страната ни FRAX® Fracture Risk Assessment Tool калкулатор. Изчислените рискове за голяма остеопоротична и бедрена фрактура в работната и контролната групи са представени в Таблица 7.5.2. Средните стойности на FRAX-MO и в двете групи са под 20%, а стойностите на FRAX-Hfr са повишени само в групата с ОП.

Таблица 7.5.2. Десетгодишен фрактурен риск изчислен чрез FRAX® Fracture Risk Assessment Tool в работната и контролна групи

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

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

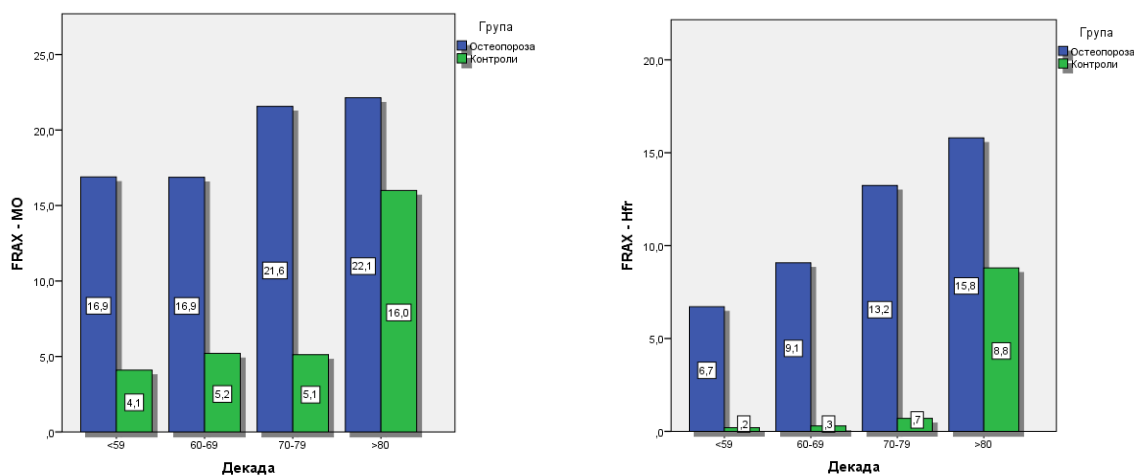
Теста на Ман-Уитни показва FRAX-MO (U = 76.50; p < 0.001) и FRAX-Hfr (U = 41.00; p < 0.001) статистически значимо по-високи при пациентките с ОП в сравнение с жените от контролната група.

В групата с ОП изчисленията FRAX-MO за жените с предшестваща фрактура и без фрактура е съответно 22.53 ± 10.76% и 15.79 ± 9.33%, а FRAX-Hfr съответно 11.86 ± 9.17% и 8.77 ± 8%. Стойностите на FRAX-MO и FRAX-Hfr при жените с предшестваща фрактура са повишени над праговете. При жените без предшестваща фрактура само FRAX-Hfr е повишен. Теста на Ман-Уитни показва, че жените с предшестваща фрактура имат статистически значимо по-висок десетгодишен фрактурен риск в сравнение с жените без фрактура, съответно за FRAX-MO (U = 238.50; p = 0.002) и за FRAX-Hfr (U = 286.5; p = 0.018). Измерената средна КМП при жените с предшестващи фрактури и без фрактури е съответно T-скор от -2.98 ± 0.53 SD и -3.05±0.55 SD, като разликата не е статистически значима (U = 417.50; p = 0.650).

В контролната група FRAX-MO за жените с предшестваща фрактура и без фрактура е съответно 7.12 ± 4.23% и 4.51 ± 1.78%, а FRAX-Hfr съответно 1.24 ± 2.52% и 0.35 ± 0.41% и са под праговете за повишен риск. FRAX-MO при жените с предшестваща фрактура е статистически значимо по-висок в сравнение с жените без фрактура (U = 84.00; p = 0.038). Различията във FRAX-Hfr при жените с предшестващи фрактури и без фрактури не са статистически значими (U = 90.00; p = 0.057). Измерената КМП при жените с предшестващи фрактури и без фрактури е съответно T-

скор от -0.09 ± 0.64 SD и 0.26 ± 0.67 SD, като разликата не е статистически значима ($U = 106.50$; $p = 0.175$).

Изчислените по декади стойности на FRAX-MO и FRAX-Hfr на жените от работната и контролната групи са представени на Фигури 7.5.4 и 7.5.5. FRAX-MO нараства неравномерно с всяка следваща декада, но разликата не достига статистическа значимост, както в групата с ОП ($\chi^2 = 5.061$; $p = 0.281$), така и в групата контроли ($\chi^2 = 7.091$; $p = 0.131$), а групата жени с ОП над 70 г. е повишен. FRAX-Hfr също нараства постепенно с напредване на възрастта като разликите са статистически значими в групата контроли ($\chi^2 = 12.672$; $p = 0.013$), но не и в групата с ОП ($\chi^2 = 7.477$; $p = 0.113$). В групата с ОП рискът от бедрена фрактура е повишен във всички възрастови групи, а при контролите само във възрастта над 80 г.



Фиг. 7.5.4 и 7.5.5. Десетгодишен риск от голяма остеопоротична – FRAX-MO и бедрена – FRAX-Hfr фрактури, изразени в проценти при жените в работната и контролната група разпределени по декади. Статистически значима разлика във FRAX-Hfr в различните възрасти се наблюдава само в контролната група, $p < 0.05$.

Остеопоротичните фрактури зачестяват с напредването на възрастта, но съвременната медицина разполага с много разнообразни възможности за фармакологични и нефармакологични терапии, които повлияват благоприятно костната маса и по този начин намаляват риска от фрактури. Използването им от практикуващите здравни специалисти се подпомага от инструменти, които оценяват риска от фрактури на пациентите, за да се оптимизират клиничните решения относно превенцията и лечението им. Най-широко използваният в световен мащаб уеб-базиран инструмент FRAX[®] изчислява десетгодишната вероятност от настъпване на нискоенергийни фрактури на костите, като отчита няколко общи клинични

рискови фактора и по избор резултатите от измерването на КМП. Има съобщения, че калкулаторът FRAX[®], може да предвиди с достатъчна точност фрактурния риск дори без измерване на КМП и да улесни вземането на решение за лечение (194, 195).

С цел създаване на валиден модел на FRAX[®] за България, Kirilova et al. провеждат ретроспективно популационно проучване в регион Стара Загора за определяне на честотата на бедрените фрактури и при двата пола за периода от 2015 до 2017 г. Специфичната за възрастта и пола честота на бедрените фрактури и националните нива на смъртност са включени в модела на FRAX[®] за България и в края на 2020 г. инструментът е валидиран за страната ни. Изчислената десетгодишна вероятност от големи остеопоротични и бедрени фрактури при жени с предшестваща фрактура в България е постоянно по-висока от тази в Сърбия и Румъния, по-ниска от тази в Турция и подобна на тази в Гърция. Вероятността българките на възраст над 50 г. до края на живота си да получат фрактура на бедрената кост е 11.2%, което е по средата между Румъния и Сърбия (съответно 7.1 и 7.7%) и Гърция и Турция (съответно 15.4 и 15.9%), (92).

Поради регионалните различия в епидемиологията на фрактурите и клиничните рискови фактори е добре получените от нас резултати да бъдат сравнявани с получени такива от България и региона, което е трудно поради все още недостатъчния опит с прилагането на алгоритъма. Анализът на фрактурният риск в работната и контролната групи показва статистически значима разлика, както за FRAX-MO, така и за FRAX-Hfr между групата жени с ОП и контролите. И в двете изследвани групи фрактурният риск нараства с възрастта, но в групата с ОП рискът от остеопоротична фрактура е по-висок. При жените с остеопороза FRAX-Hfr е повишен над 3% във всички възрастови групи, а FRAX-MO е повишен над 20% само при жените над 70-годишна възраст. Съществуват достатъчно публикувани епидемиологични данни, за нарастване на честотата на фрактурите с напредването на възрастта, което отразява прогресивното намаляване на КМП, особено в областта на бедрената шийка и повишения риск от падания при пациентите с ОП (197, 198). Ние установихме и статистически значимо по-висок риск за голяма остеопоротична фрактура при жените с предшестващи фрактури, както в групата с ОП, така и в контролната група, при липса на статистически значими разлики в КМП при жените с предшестващи фрактури и без фрактури. Подобни резултати съобщават Kirilova и Vladeva в едно проучване на рисковите фактори допринасящи към

фрактурния риск на 101 жени в менопауза на възраст 65 ± 11 г., които разделят на група с повишен и група с нормален фрактурен риск. Те установяват, че жените с повишен фрактурен риск са статистически значимо по-възрастни и с по-ниска КМП. Съобщават и статистически значима разлика и повишен фрактурен риск между жените с предшестващи фрактури и такива без фрактури (190). Резултати от проведено аналитично кръстосано проучване на 364 румънски жени в менопауза, от които 228 диагностицирани с първична ОП чрез ДХА показва статистически значима разлика в изчисления с FRAX[®] десетгодишен фрактурен риск между групата с ОП и здравите контроли. Стойностите, намерени от тях за FRAX-MO и FRAX-Hfr в групата с ОП са съответно 8.04 ± 4.68 и 2.76 ± 2.97 и са значително по-ниски и под праговите стойности за повишен фрактурен риск в сравнение с получените от нас 18.29 ± 10.33 и 9.92 ± 8.51 . Стойностите на FRAX-MO и FRAX-Hfr, съответно 4.34 ± 2.47 и 0.82 ± 1.47 в контролната група са сравними с нашите 5.26 ± 2.93 и 0.61 ± 1.42 и са под праговите стойности (191).

7.6. КАЛЦИЕВО-ФОСФОРЕН МЕТАБОЛИЗЪМ

7.6.1. Калций и фосфор

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

7.6.2. Алкална фосфатаза

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

Средните концентрации на АФ в работната и контролна групи разпределени по декади са показани в Таблица 7.6.2.1. Тестът на Крушкел-

Уолис не показва статистически значима разлика в концентрациите на показателя както в групата с ОП ($\chi^2 = 0.272$; $p = 0.873$), така и в контролната група ($\chi^2 = 3.876$; $p = 0.144$). Теста на Ман-Уитни за сравнение по декади между жените с ОП и контролите показва статистически значима разлика в концентрациите само във възрастта до 59 години ($U = 20.00$; $p = 0.021$).

Таблица 7.6.2.1. Средни концентрации на алкална фосфатаза в У/л при жените в работната и контролна групи разпределени по декади

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

Данните са представени като средна стойност ± SD

Алкалната фосфатаза има важна роля в образуването на остеоид и костната минерализация и е първият биохимичен маркер за костно изграждане, използван за научни и клинични цели (Shetty et al., 2016). Алкалните фосфатази са група от изоензими, катализиращи хидролизата на екстрацелуларните органични фосфатни естери. Въпреки че присъстват в много тъкани в цялото тяло, точната им физиологична функция остава до голяма степен неизвестна (192). Около 95% от общата активност на АФ в серума се дължи на костната и чернодробната изоформи. При възрастни с нормална чернодробна функция приблизително 50% от общата активност на АФ произтича от черния дроб и 50% от костите (193). Нивата на серумната АФ варират в зависимост от възрастта при здрави индивиди, като причините за тези нормални вариации не са известни (194). Концентрацията на АФ в серума се повишава само в случай на повишено ремоделиране на костите. Доказателствата сочат, че базираните на пола разлики в метаболизма са свързани с менопаузата, която е силно свързана със загуба на костна маса при жените. Има данни, потвърждаващи повишени нива при жени в менопауза и такива с ОП в сравнение с пременопаузални (195–197), като най-голямо повишение се наблюдава в първите 5 години от настъпването на менопаузата поради повишения костен turnover (198). Микайуа et al. изследват 626 жени с ОП и съобщават сигнификантно повишени нива на АФ във възрастта над 80, в сравнение с тези над 60-годишна възраст (199). Информацията за нивата на АФ при здрави жени в менопауза, сравнени с такива с ОП е оскъдна. Няколко проучвания, проведени сред малък брой жени, не показват сигнификантна разлика в концентрациите на ензима при здрави жени в менопауза и жени с ОП (200,201). Ние намерихме

нива на АФ в референтни стойности и без сигнификантна разлика в двете групи. Нивата на ензима в групата с ОП бяха сигнификантно повишени в рамките на референтните стойности, спрямо тези в контролната група само във възрастта под 59 год., което потвърждава повишения костен търновър при жените с ОП в първите години от настъпването на менопаузата. Необяснимите, понякога вариации в концентрациите на АФ и нееднозначните данни са причина маркерът да не се използва при диагнозата на ОП, но може да бъде полезен при оценка на костния търновър.

7.6.3. Паратхормон

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

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

Средните концентрации на ПТХ в работната и контролната групи разпределени по декади са показани в Таблица 7.6.3.1. Стойностите на ПТХ нарастват постепенно с нарастване на възрастта. Тестовите на Крушкел-Уолис показаха статистически значима разлика в концентрациите на ПТХ в различните възрастови групи в групата с ОП ($\chi^2 = 8.907$; $p = 0.031$), но не и при контролите ($\chi^2 = 2.437$; $p = 0.296$). В проведените постхок тестове на Ман-Уитни за сравнение на възрастовите групи по двойки при жените в

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

Таблица 7.6.3.1. Средни концентрации на ПТХ в U/l при жените в работната и контролна групи разпределени по декади

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

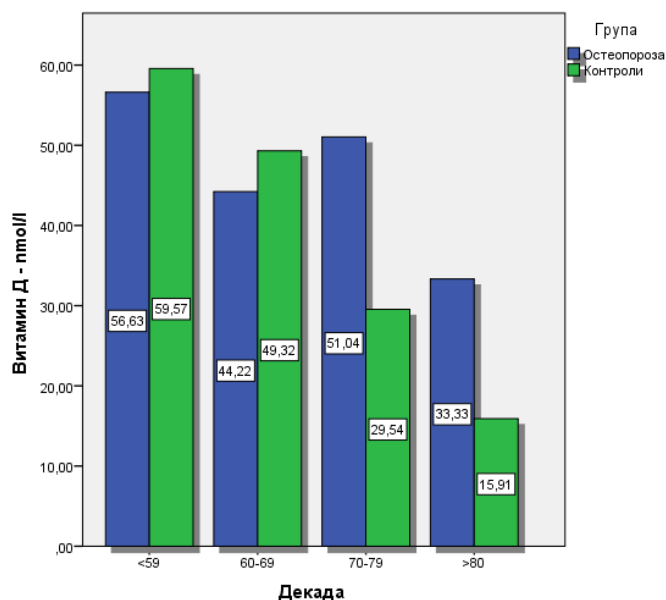
Данните са представени като средна стойност ± SD. Статистически значима разлика, $p \leq 0.05^*$.

7.7. ВИТАМИН Д СТАТУС

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

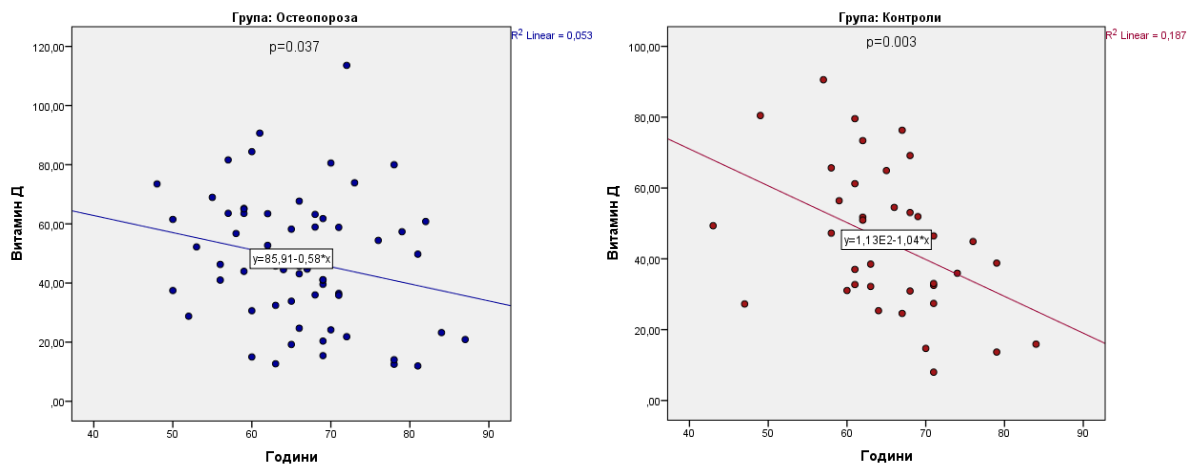
Сравнението по декади в работната и контролна групи показва значимо понижение на витамин Д с всяка следваща декада само в контролната ($F = 5.707$; $p = 0.003$), но не и в работната група ($F = 1.984$; $p = 0.126$) (Фиг. 7.7.1).

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



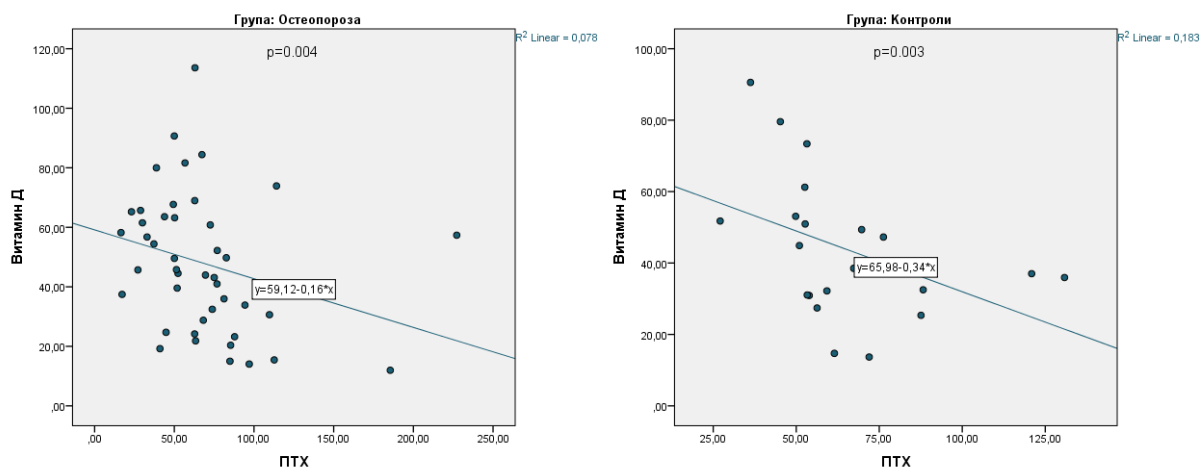
Фиг. 7.7.1. Средни серумни концентрации на витамин Д в pmol/l в работната и контролна групи разпределени по декади. Статистически значима разлика в концентрациите се наблюдава в групата контроли, $p < 0.05$. Във възрастовата група 70 – 79 г. разликата в концентрациите между работната и контролната група е статистически значима, $p < 0.05$.

Корелационните анализи показаха негативна корелационна зависимост между нивата на витамин Д и възрастта слаба по сила ($r = -0.229$; $p = 0.037$) в групата с ОП и умерена по сила ($r = -0.432$; $p = 0.003$) в групата контроли (Фиг. 7.7.2 и 7.7.3).



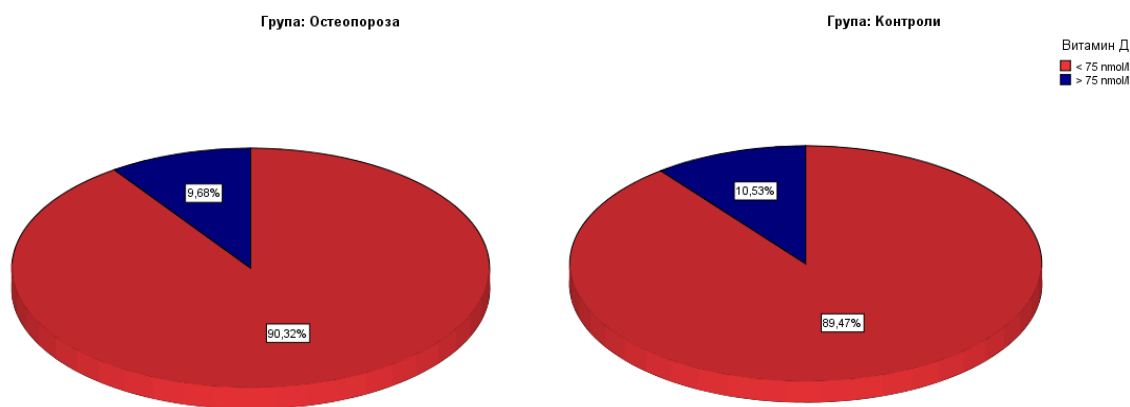
Фиг. 7.7.2 и 7.7.3 Негативни корелационни зависимости между серумните концентрации на витамин Д и средната възраст в работната и контролната групи.

Установихме и негативна корелация между концентрациите на витамин Д и ПТХ умерена по сила ($r = -0.421$; $p = 0.004$) в групата с ОП и значителна в групата контроли ($r = -0.618$; $p = 0.003$) (Фиг. 7.7.4 и 7.7.5).



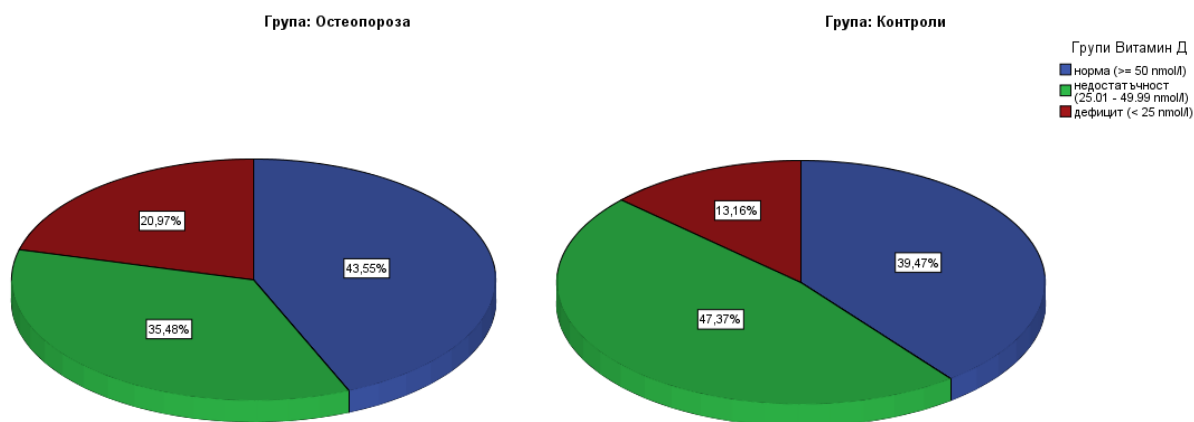
Фиг. 7.7.4 и 7.7.5. Негативни корелационни зависимости между серумните концентрации на витамин Д и ПТХ в работната и контролната групи.

Серумни концентрации на витамин Д над 75 nmol/l, които се приемат за оптимални за поддържане на КМП, нормалната функция на мускулно-скелетната система и долните крайници с минимален риск от падане и фрактури имат само 9.7% ($n = 6$) от жените в работната и 10.5% ($n = 4$) от жените в контролната група. Със субоптимални нива на витамин Д под 75 nmol/l са съответно 90.3% ($n = 56$) и 89.5% ($n = 34$) (Фиг. 7.7.6 и 7.7.7).



Фиг. 7.7.6 и 7.7.7. Относителни дялове в проценти на участничките от двете групи с оптимални (> 75 nmol/l) и субоптимални нива (< 75 nmol/l) на витамин Д.

Относителните дялове на участничките от двете групи с различни нива на витамин Д са представени на Фигури 7.7.8 и 7.7.9. В работната група 43.55% (n = 27) са с нормални нива на витамин Д, 35.48% (n = 22) са с недостатъчност, а 20.97% (n = 13) са с дефицит на витамин Д. В контролната група 39.47% (n = 15) са с нормални нива на витамин Д, 47.37% (n = 18) са с недостатъчност, а 13.16% (n = 5) са с дефицит на витамин Д. Общо 56.45% от пациентките с ОП и 60.53% от контролите са с лош витамин Д статус.



Фиг. 7.7.8 и 7.7.9. Относителни дялове в проценти на участничките от работната и контролната групи с различна концентрация на витамин Д.

В съответствие с намерените нива на витамин Д участничките от работната и контролната групи бяха разпределени в три подгрупи. Показателите на калциево-фосфорната обмяна (калций, фосфор, АФ и ПТХ), витамин Д, ИТМ и КМП и резултатите от сравнителните анализи на пациентките от работната група са представени в Табл. 7.7.1.

Таблица 7.7.1. Показатели на калциево-форфорната обмяна, ИТМ и КМП на участничките от работната група с различни нива на Витамин Д

Работна група	Нива на витамин Д			
	Норма над 50 nmol/l	Недостатъчност 25 – 50 nmol/l	Дефицит под 25 nmol/l	Ниво на значимост
Средна възраст – год.	64.3±8.9	64.4±6.9	72.5±8.4	p=0.009**
Калций – mmol/l	2.44±0,14	2.43±0.1	2.39±0.14	p=0.522
Фосфор – mmol/l	1.26±0,2	1.21±0.15	1.18±0.18	p=0.481
АФ – U/l	89.37±41.83	82.7±20.87	83.85±33.19	p=0.890
ПТХ – pg/ml	60.07±46.43	65.4±24.26	86.51±41.52	p=0.037*
Витамин Д – nmol/l	67.87±4.07	40.6±5.97	18.16±4.71	p<0.001***
ИТМ – кг/м ²	23.43±3.93	24.85±4.71	24.13±3.27	p=0.412
КМП – T - score	- 3.01±0.52	- 3.03±0.57	- 3.05±0.56	p=0.941

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

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

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

Показателите на калциево-форфорната обмяна (калций, фосфор, АФ и ПТХ), витамин Д, ИТМ и КМП и резултатите от сравнителните анализи на участничките от контролната група са представени в Таблица 7.7.2.

Таблица 7.7.2. Показатели на калциево-форфорната обмяна, ИТМ и КМП на участничките от контролната група с различни нива на Витамин Д

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

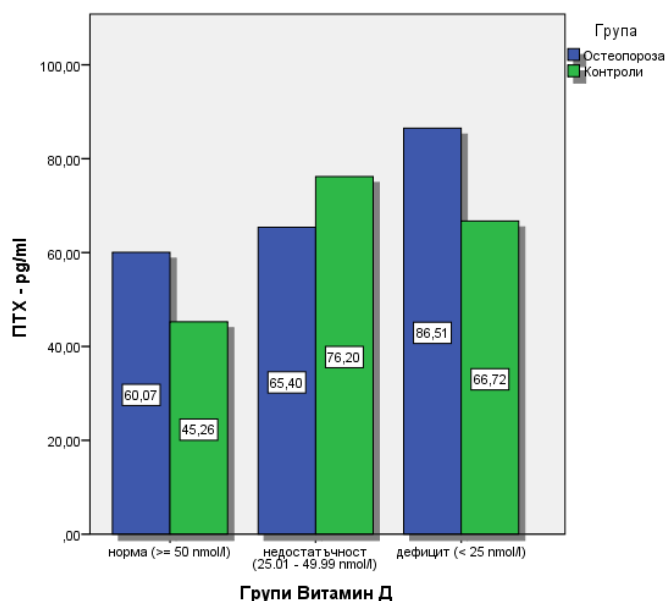
Резултатите са представени като средна стойност ± SD; Статистически значима разлика, p < 0.05*; p < 0.01**; p < 0.001***.

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

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

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

Концентрациите на ПТХ при различни нива на витамин Д в групата жени с ОП и контролите са показани на Фигура 7.7.10.

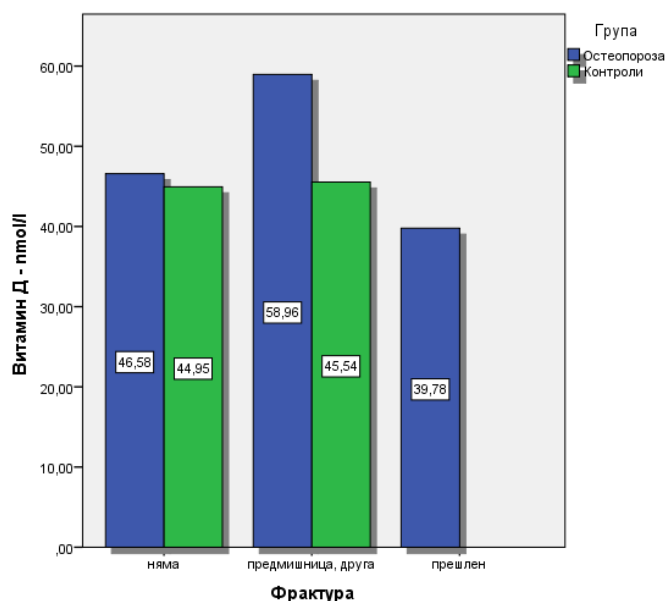


Фиг. 7.7.10. Средна плазмена концентрация на ПТХ в pg/ml на участничките от работната и контролната групи с различна концентрация на витамин Д. Средните концентрации ПТХ в групата с нормални нива на витамин Д са статистически значимо по-ниски от средните концентрации ПТХ в групата с дефицит и в групата с ОП, $p < 0.05$ и в контролната група, $p < 0.01$.

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

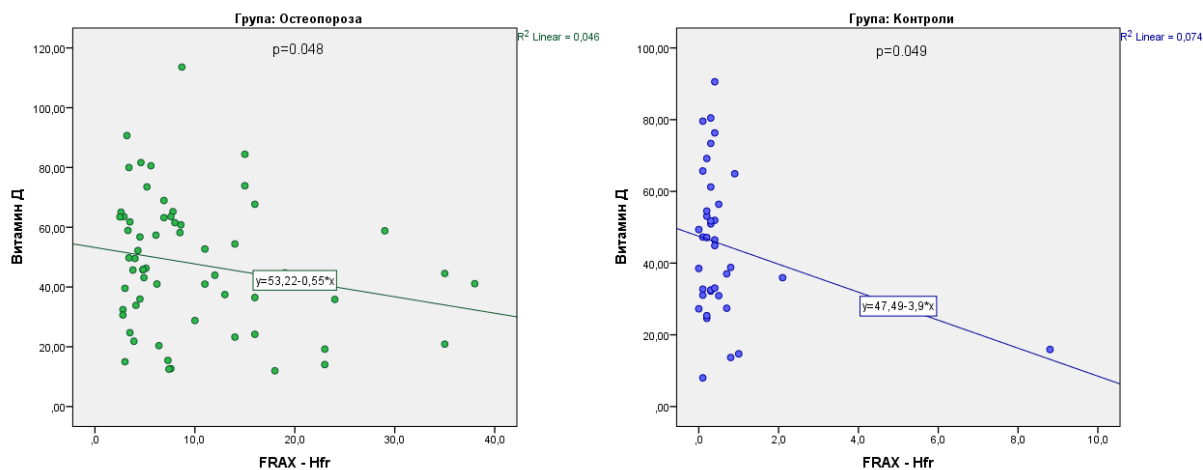
Сравнението на КМП между подгрупите с различни нива на витамин Д не показва статистически значими различия, както в групата с ОП ($\chi^2 = 0.121$; $p = 0.941$), така и в контролната група ($\chi^2 = 0.524$; $p = 0.770$).

Анализът на данните за получените фрактури на участничките към момента на включването показват, че от жените в работната група 17.7% ($n = 11$) на средна възраст 68.82 ± 12.07 години са с фрактури на гръбначен прешлен, а 19.4% ($n = 12$) на средна възраст 64.42 ± 8.43 г. са с фрактури на предмишницата. В контролната група 28.9% ($n = 11$) на възраст 68.91 ± 8.71 г. са с фрактури на предмишница. 62.9% от жените с ОП (65.77 ± 7.71 г) и 71.1% от контролите (63.26 ± 7.89 г) са без фрактури в момента на включването. Сравнението между нивата на витамин Д в работната група показва статистически значимо по-ниски нива при жените с фрактури на гръбначни прешлени в сравнение с жените с фрактури на предмишница ($t = 2.265$; $p = 0.032$). Разликата в нивата на витамин Д при жените с фрактура на предмишница и тези без фрактури не достига статистическа значимост както в групата с ОП ($t = -1.620$; $p = 0.123$), така и в контролната група ($t = -0.069$; $p = 0.946$) (Фиг. 7.7.11).



Фиг. 7.7.11. Средни концентрации на витамин Д в pmol/l в работната и контролната групи при фрактури с различна локализация. В групата с ОП нивата на витамин Д при жените с фрактури на гръбначни прешлени са статистически значимо по-ниски в сравнение с тези на жените с фрактури с друга локализация, $p < 0.05$.

Намерихме слаба негативна корелационна зависимост между витамин Д и FRAX-Hfr ($r = -0.214$; $p = 0.048$) при жените с ОП (Фиг. 7.7.12) и при контролите FRAX-Hfr ($r = -0.273$; $p = 0.049$) (Фиг. 7.7.13).



Фиг. 7.7.12 и 7.7.13. Негативна корелационна зависимост между нивата на витамин Д и FRAX-Hfr при жените от работната и контролната групи.

Здравината на костите се определя от техния основен състав и структура и може да се изрази с две основни техни характеристики – костна плътност и качество на костите. Измерването на КМП дава информация само за количеството на минералите в костите, което е една от характеристиките (202). Качеството на костите описва други аспекти на костния състав и структура, които допринасят за здравината на костите

независимо от КМП. Те включват костен обмен, микроархитектура, минерализация, микроувреждане и състав на костната матрица (203).

Минералите са от съществено значение за нормалния растеж и развитие на скелета при хората. Те играят важна функционална роля в костния метаболизъм и костния обмен (204). Калций и фосфорът са отложени в костите, а калциевият метаболизъм е много сложно свързан с хормоналния метаболизъм и стареенето на костите (205). Ciosek et al. публикуват резултати от анализ на скелетното въздействие на макроелементите калций, фосфор и магнезий, някои микроелементи и тежки метали и обсъждат концентрацията на всеки от тези елементи в костната тъкан. Изследванията относно съдържанието на калция в различните видове кости са проучени при кохорти в Азия, Северна Америка и Европа. Калциевото ниво в костната тъкан може да се подреди в низходящ ред: Северна Америка > Европа > Азия. Концентрацията на калция между континентите варира поради различните диети и замърсяването на околната среда с тежки метали, идващи от промишлеността. Нивото на калций варира и в зависимост от вида на костта, като най-високата концентрация на калций се намира в главата на бедрената кост, а най-ниската в бедрената шийка, което е свързано с васкуларизацията (206). Повече от 99% от общия калций се съхранява в костите и обикновено много малка част под формата на йонизиран калций се намира в плазмата и изпълнява физиологичните му ефекти. Костите имат много важна метаболитна функция защото осигуряват хомеостатичен минерален резервоар, предимно за калций, но също и за други минерали, особено фосфор и магнезий. Те могат да бъдат мобилизирани за поддържане на системната минерална хомеостаза. Метаболитната функция на костта преобладава над нейната структурна функция, тъй като калций и другите минерали се отстраняват от и заместват в костта, за да обслужват системните хомеостатични нужди, независимо от загубата на структурната цялост на скелета (207). Затова адекватният прием на калций е от съществено значение за нормалния растеж и развитие на скелета и зъбите и за адекватна костна минерализация (208). Дефицитът на калций е от основните рискови фактори за ОП. Ниските серумни концентрации включват хомеостатични механизми, които засягат костното ремоделиране и предизвикват засилена костна резорбция (206).

Фосфорът е вторият след калция основен компонент на костната тъкан. В човешкото тяло 85% от двата макроелемента се намират в костите и зъбите под формата на фосфопротеини и хидроксиапатитни кристали

(209). Адекватните нива на неорганичния фосфор са важни за активността на остеобластите и остеоцитите в процеса на матриксната минерализация (84). Предполага се, че както дефицитът, така и излишъкът от калций и фосфор могат да представляват рисков фактор за развитието на костни заболявания. Промените в серумните концентрации на калция и фосфора при ОП са проучвани при хора и животни, но резултатите са противоречиви. Различни литературни източници сочат, че при постменопаузална ОП най-често не се наблюдават промени в серумните им концентрации, но данните не са категорични. Няколко проучвания показват, че определянето на серумните концентрации на калция и фосфора няма клинично значение в диагностиката на ОП, тъй като резултатите от тях са в рамките на референтните стойности (225, 226, 219).

Ние намерихме серумни концентрации на калций и фосфор в референтни за използваните лабораторни анализи стойности и в двете изследвани групи. Концентрациите на калция в групата с ОП са по-ниски, а на фосфора са по-високи в сравнение с контролната група, но разликите не са статистически значими. Както в групата с ОП, така и при контролите нашите резултати показват относително постоянни нива на калций и намаляващи постепенно в границите на референтните стойности с напредване на възрастта фосфати. Не установихме статистически значима разлика в концентрациите на двата елемента при сравнението в групите по декади. Това е в частично съответствие с публикувани данни от няколко проучвания на показателите на калциево-фосфорния метаболизъм при пациентки с постменопаузална ОП и здрави жени в менопауза. Al-khakani et al., намират серумни концентрации на калций и фосфор в референтни граници при жени с постменопаузална ОП и здрави жени в менопауза. В групата с ОП стойностите са по-ниски в сравнение с контролната група здрави жени в менопауза. Те обаче съобщават за статистически значими разлики в рамките на референтните стойности на концентрациите на калция и фосфора в двете групи (204). Sunithapriya et al., съобщават за статистически значимо намаление в концентрациите на калция при жени с ОП в сравнение с контролна група здрави жени. По отношение на концентрацията на фосфора те намират статистически значимо повишение в групата с ОП (212). Kadhim Ali съобщава за намерени нормални нива на калций и фосфор при жените с ОП и контролите, но концентрациите им са сигнификантно по-високи в групата с ОП (193). Tariq et al. съобщават за сигнификантно високи нива на серумен калций при жени в менопауза с

остеопения, което предполага, че в периода на менопаузата започва декалцификация на костите, поради което нивото на калций в серума се повишава бързо, но 2 до 5 години след менопаузата намалява (213)

Регулацията на калциевата хомеостаза е добре проучена през последните десетилетия, докато механизмите на фосфатната хомеостаза остават по-слабо изяснени. Основните хормонални регулатори на калциевите нива са ПТХ и витамин Д, които действат върху костите, бъбреците и стомашно-чревния тракт, повишавайки плазмената концентрация на калций. Калцитонинът също участва в регулацията, като намалява костната резорбция, но при нормални условия има ограничено влияние върху калциевите концентрации (214).

Известно е, че нивата на ПТХ често се повишават в напреднала възраст. Това може да бъде обяснено с възрастово обусловеното постепенно намаляване на нивата на серумния калций, а нарастването на ПТХ при възрастните хора може да се нарече вторичен хиперпаратиреоидизъм (205).

Ние установихме повишени спрямо референтните граници средни плазмени концентрации на ПТХ в само в групата с ОП и статистически значимо нарастване с нарастването на възрастта. Повишени серумни концентрации на ПТХ се наблюдават при жени с ОП, но клиничното им отражение и причините за това все още не са напълно изяснени. Проучване проведено от Cerdà et al. анализира разпространението и състоянията, свързани с повишените серумни нива на ПТХ при 204 жени в менопауза с ОП, както и техните клинични характеристики. Те намират повишени нива на ПТХ > 65 pg/ml при 35% от изследваните, като жените с повишени серумни нива на ПТХ са били по-възрастни (67 ± 9 год.) от тези с нормални нива на ПТХ (63 ± 11 год.). При анализа на състоянията причиняващи хиперпаратиреоидизъм като понижен прием на калций, лош витамин Д статус, бъбречна недостатъчност и хиперкалциурия те намират разпространение подобно на това при жените с нормални нива на ПТХ. Авторите намират корелация с възрастта, но не и с нивата на витамин Д и бъбречната функция и определят хиперпаратиреоидизма при 10 % от жените като първичен (215). Първичен хиперпаратиреоидизъм с нормокалциемия е състояние описано през последното десетилетие, при което ПТХ е повишен при постоянно нормални серумни нива на калций и при липса на вторични причини за хиперпаратиреоидизъм, като бъбречно заболяване или дефицит на витамин Д. При това състояние нивата на ПТХ

първо са повишени, при нормален серумен калций, последвано от развитие на хиперкалциемия при някои, но не всички индивиди (216).

ПТХ е от съществено значение за поддържането на калциевата хомеостаза отчасти, чрез неговите действия за регулиране на костното ремоделиране. Въпреки, че не установихме статистически значими различия в работната и контролната групи, серумните концентрации на калция са по-ниски, а на ПТХ са по-високи при жените с ОП. Паратхормонът стимулира, както образуването на кост, така и костната резорбция, а продължителността и периодичността на въздействието му управлява нетния катаболен или анаболен ефект върху костната маса (44). Продължителното излагане на действието на ПТХ води до катаболни ефекти върху скелета, докато периодичните ниски дози ПТХ имат остеоанаболни ефекти (217). Ниският хранителен прием на калций и/или витамин Д, чрез йонизирания калций стимулират отделянето на ПТХ. При персистиране на хранителните дефицити, продължителното излагане на повишени нива на ПТХ повишава костното ремоделиране, което води до значителна загуба на кост и повишен риск от фрактури (204). Жените в менопауза трябва да получават адекватни количества калций за подтискане на повишената секреция на ПТХ, която може да бъде в основата на развитието на ОП. Въпреки това, все още причинно-следственият ефект на ПТХ върху костната КМП остава неясен. Ние намерихме 45% от жените в групата с ОП и 38% от жените в контролната група с концентрации на ПТХ над 65 pg/ml, но не установихме статистически значими различия в КМП в областта на гръбнака между жените с нормални и повишени нива на хормона и в двете изследвани групи. Затова въпросът дали физиологичните промени в секрецията на ПТХ след менопаузата и с напредването на възрастта допринасят за патогенезата на ОП продължава да е във фокуса на значителен научен интерес. В ранния постменопаузален период ПТХ изглежда реагира на промените в костния обмен, предизвикани от естрогенния дефицит, но не предизвиква тези промени. Нивата на ПТХ, обаче се повишават по-изразено след 70-годишна възраст. Този вторичен хиперпаратиреоидизъм при стареене е свързан с повишена костна обмяна и при жените предизвиква значителна по степен костна загуба. Необходими са допълнителни проучвания за по-добро определяне на приноса на повишените концентрации на ПТХ към загубата на костна маса при възрастните (218). В голямо кохортно проучване на 29155 участници от европейски произход Qu et al. оценяват и описват потенциалните причинно-

следствени ефекти на серумните нива на ПТХ върху КМП и риска от фрактури на 4 места на скелета – китка, бедрена шийка, лумбален гръбнак и пета, както и характеристиките на КМП на 5 възрастови групи. Авторите намират, че концентрациите на ПТХ са негативно асоциирани с КМП, като степента на асоциацията и причинно-следствената връзка е силно изразена при хора на възраст между 45 и 60 год. Те правят заключението, че серумният ПТХ играе роля в развитието на ОП и този причинно-следствен ефект е специфичен за определени скелетни места и възрастта, но са необходими бъдещи проучвания на потенциалните механизми, чрез които ПТХ регулира КМП (219).

Витамин Д и ПТХ са двата основни регулатора на минералния метаболизъм и образуват строго контролиран цикъл на обратна връзка, като ПТХ е основен стимулатор на синтеза на витамин Д в бъбреците, а витамин Д упражнява отрицателна обратна връзка върху секрецията на ПТХ (220). Физиологично в отговор на ниските плазмени концентрации на калций, намаленото свързване на йонизируания калций към калциево-чувствителния рецептор стимулира синтеза и освобождаването на ПТХ и образуването на активен витамин Д. Нашите изследвания показаха статистически значимо по-ниски концентрации на ПТХ при нормални нива на витамин Д, в сравнение с концентрациите при дефицит и в групата с ОП и в контролната група. При нива на витамин Д над 50 pmol/l концентрациите на ПТХ в групата с ОП са по-високи (60.07 ± 46.43 pg/ml) от тези в контролната група (45.26 ± 10.40 pg/ml), макар различията да не достигат статистическа значимост. Поддържането на нормални плазмени нива на калций при жените с ОП е свързано с хронично повишена секреция на ПТХ с неблагоприятни ефекти върху костната резорбция. Ние потвърдихме негативната корелационна зависимост между стойностите на витамин Д и ПТХ. Намалването на витамин Д води до повишаване на стойностите на ПТХ, както при пациентките с ОП и при жените от контролната група (221). Дефицитът на витамин Д чрез ниските плазмени нива на калция се свързва с развитието на вторичен хиперпаратиреоидизъм, рисков фактор за развитието на ОП и последващи фрактури. За да се нормализират серумните нива на калций в условия на хипокалциемия, витамин Д индуцира силна експресия на RANKL, което повишава костната резорбция. Адекватните нива на витамин Д са много важни за усвояването на калция. При дефицит на витамина, хипокалциемията предизвиква повишаване на ПТХ, който стимулира образуването на активен витамин Д в бъбреците, а

взаимодействието на последния с RANKL възстановява серумната калциева концентрация. Мобилизирането на калция от костите намалява тяхната минерална плътност, увеличавайки вероятността за развитие на ОП (222).

Епидемиологични данни показват, че субоптималният витамин Д статус се превръща в световен феномен. Хроничният дефицит на витамин Д води до вторичен хиперпаратиреоидизъм, прогресивна костна загуба и повишен риск от фрактури поради крехкост (223). Недостигът на витамин Д е най-честият хранителен дефицит в световен мащаб. Лошото хранене с намален прием, ограниченото излагане на слънце, нарушенията в абсорбцията, чернодробна и бъбречна недостатъчност и затлъстяване могат да обяснят това високо разпространение (224). Изчислено е, че повече от 50% от населението на света има дефицит на витамин Д (225). Днес за популационни проучвания и сравнение в различните страни, включително и в България, се използват стандартизирани лабораторни анализи. Публикувани от Lips et al. данни за концентрациите на витамин Д в населението варират от адекватен витамин Д статус в скандинавските страни до тежък дефицит в страните от Близкия изток. Недостатъчност на витамин Д се съобщава при под 20% от населението в Северна Европа, при 30 – 60% в Западна, Южна и Източна Европа и до 80% в страните от Близкия изток. Тежък дефицит се установява при под 10% от европейците, което е особено тревожен факт, особено в определени рискови групи. Авторите обръщат внимание на необходимостта от подобряване на витамин Д статуса и създаването на целенасочени стратегии с висок приоритет, като например разумно излагане на слънце, адекватно хранене, политика за обогатяване на храните и добавяне на витамин Д за високорисковите групи (226).

В научната литература има достатъчно публикувани данни за наличие на ниски нива на витамин Д и при пациенти с ОП (227–230). Към момента на нашите проучвания в България липсваха данни за витамин Д статуса при жени с постменопаузална ОП. Намерените от нас нива показват лош витамин Д статус. Средните концентрации на витамина в работната и контролната групи показват недостатъчност, като не намерихме статистически значима разлика в концентрациите при двете групи. Общо 56.45% от пациентките с ОП и 60.53% от контролите са с лош витамин Д статус (231).

Данните за витамин Д статуса при пациентки с ОП в държавите от Югоизточна Европа са недостатъчни. Някои от публикуваните данни

обхващат малък брой участнички, но също показват лош витамин Д статус. Нивата на витамин Д са оценени в едно проучване на различни метаболитни маркери при оценка на костното здраве на Димитрова и съавт. Те изследват 84 български жени с нормална КМП, остеопения и ОП. При оценка на нивата на витамин Д между анализираниите според КМП групи не намират сигнификантна разлика, но отбелязват, че преобладават лицата с дефицит и недостиг на витамин Д и в трите групи. Авторите съобщават за субоптимални нива на витамин Д при 86.6% от здравите контроли, 76.9% при жените с остеопения и 76.7% от пациентките с ОП (232). Gurban et al., изследват 149 румънски жени в менопауза и съобщават субоптимални нива на витамин Д според приетите от тях критерии при 82.5% от жените с ОП и 72.7% от контролите (184). Популационно проучване на 596 гръцки пациентки с ОП на средна възраст 65.3 години на сезонните вариации на нивата на витамин Д показва субоптимални стойности през зимата 92.2% (233). Подобни резултати съобщават Anetakis et al., които изследват сезонните вариации на витамин Д при хетерогенна популация лица от Северна Гърция. Те намират субоптимални нива в зимния период при 97.83% от изследваните 35 жени с ОП на средна възраст 66 год. (234). В двете страни като субоптимални се приемат същите като в България стойности под 75 nmol/l.

Рисковите фактори за дефицит на витамин Д са разнообразни и варират в различните географски ширини и етнически групи, а в България до момента няма изследване кои от тях допринасят най-съществено за лошия витамин Д статус при жените в менопауза и с ОП. Може да се предположи, че причините са комплексни. Нивата на витамин Д намаляват с напредването на възрастта и това е многофакторно обусловено (235–237). При анализите в работната и контролната групи концентрациите на витамин Д показват статистически значимо понижение с всяка следваща декада. Освен това установихме отрицателна корелация с намаляване нивата на витамин Д при нарастване на средната възраст. Жените от работната и контролната групи с дефицит на витамин Д са статистически значимо по-възрастни от жените с недостатъчност и нормални нива.

Витамин Д се синтезира в кожата под въздействието на ултравиолетовите лъчи и се приема с храната, с хранителни добавки или с обогатени с витамин Д храни. Той се намира и в много продукти от животински произход, но не са много храните, които са богати на витамина. Такива са някои океански и морски риби (5 – 25 µg/100 g), гъби (21.1 – 58.7

µg/100 g), еленски лишей (87 µg/100 g), масла от черен дроб на риба (250 µg/100 g). Други хранителни източници са сирене, говежди черен дроб и яйца (1.3 – 2.9 µg/100 g), тъмен шоколад (4 µg/100 g), както и обогатени храни (мляко, кисело мляко, масла, портокалов сок, зърнени храни за закуска). Днес се приема становището, че адекватен прием на витамин от 15 µg/ден, определен от Европейската агенция за безопасност на храните е трудно да се постигне само чрез диета и затова се препоръчват хранителни добавки с витамин Д (125,238). В България обогатяването на храните с витамин Д не е задължително и на пазара изборът е сравнително ограничен. Консумацията на риба също е ниска, което предполага, че за по-голямата част от населението хранителният прием на витамин Д като цяло е оскъден (239). Увеличаването на слънчевата експозиция може донякъде да компенсира ниския хранителен прием, но при възрастните хора това е дискутабилно. Способността на кожата да образува витамина при хората над 65-годишна възраст намалява с 25% в сравнение с хората на 20 – 30 год. при еднаква слънчева експозиция и вероятно е свързана с намалените количества 7-дехидрохолестерол. Други индиректни фактори намаляващи слънчевата експозиция са свързани с носенето на дрехи покриващи голяма част от тялото, използването на слънцезащитни средства, намалената физическа активност и недостатъчно време прекарано на открито. Времето прекарано на открито при възрастните жени в менопауза и пациентките с ОП може допълнително да бъде ограничено от болезненост в мускулите и ставите, безпокойство, свързано с възможни падания и фрактури или намалена подвижност вследствие на вече получени остеопоротични фрактури. Страхът от падане се отразява на самочувствието, ограничава мобилността им и води до избягване на дейности на открито.

Витамин Д статуса и взаимовръзката му с КМП в различните скелетни места продължават да са обект на множество изследвания и в научната литература данните са доста противоречиви. Лошият витамин Д статус днес все още се приема като рисков фактор за развитие на ОП и фрактури (240–243) поради деминерализация на костите, която може да намали КМП. Костната загуба и намалената здравина на костите са основните причини за остеопоротичните фрактури при възрастните хора (244). Има проучвания, които сочат, че дефицитът на витамин Д е свързан с ниска КМП на гръбначните прешлени и бедрената шийка при жени в менопауза (130,245,246). Други проучвания не подкрепят тази връзка (247–250) В изследваната от нас група жени в менопауза ние оценихме нивата на

витамин Д и взаимовръзката им с КМП в лумбалния отдел на гръбнака и фрактурите с различна локализация. В допълнение ние изследвахме и взаимовръзката между витамин Д статуса и фрактурния риск, изчислен с калкулатора FRAX[®], каквито данни в страната ни липсват. Резултатите ни не показаха статистически значима корелация между витамин Д статуса и измерената КМП на гръбначните прешлени в лумбалния отдел, както при пациентките с ОП, така и при здравите контроли. Фактът, че нивата на витамин Д могат да бъдат ниски при хора с нормална костна минерална плътност показва, че има други компенсаторни механизми, които предотвратяват този дефицит да повлияе на костната плътност (251). Резултати от публикувано проучване на вариацията в гените за витамин Д потвърждават тази теза. Tang et al. изследват генетичен полиморфизъм в 417 580 участници от европейски произход, за да намерят причинно-следствена връзка между нивата на витамин Д и КМП в различни скелетни места – предмишница, шийка на бедрена кост, лумбален отдел на гръбначния стълб и цяло тяло в различни възрастови групи. Изследователите отричат подобна връзка във всички измерени скелетни места през целия живот в общата популация, но препоръчват провеждането на мащабни рандомизирани контролирани проучвания за изследване на ролята на добавките с витамин Д за предотвратяване на ОП при високорискови популации (252).

Резултати от обсервационни и епидемиологични проучвания посочват взаимовръзка между дефицита на витамин Д с повишения риск от остеопоротични фрактури (132,253,254) Ниските нива на витамин Д са често срещани при по-възрастните хора, а дефицитът може да доведе до загуба на костна маса, повишена костна резорбция, фрактури и падания. Въпреки това, проучвания, които оценяват ефектите на витамин Д върху КМП, дават противоречиви резултати. По този начин остава неясно дали ниските нива на витамин Д предразполагат индивидите към фрактури от крехкост (255). Ниските серумни нива на витамин Д се сочат като независим от КМП рисков фактор за нискоенергийни фрактури при възрастни хора (256). Мета-анализ от 2017 г. на връзката между серумния витамин Д и риска от фрактури демонстрира, че серумният витамин Д е обратно пропорционален на честотата на фрактурите (243). Тези констатации обаче все още са спорни. Редица проучвания демонстрират ниски нива на витамин Д при пациенти с фрактури на бедрена шийка (257–260). Ние установихме слаба негативна корелационна зависимост с нарастване на десетгодишния риск от фрактура на бедрената шийка, FRAX-Hfr изчислен с FRAX[®] при намаляване на

нивата на витамин Д както в групата с ОП, така и при контролите. В научната литература липсват публикации за изследване на взаимовръзката между нивата на витамин Д и изчисления фрактурен риск при пациенти с ОП, но данните, че ниските нива на витамин Д повишават теоретично възможността за фрактури на бедрената шийка изискват внимание и потвърждение. Резултати от публикуван през 2020 г. мета-анализ показват, че високите серумни нива на витамин Д намаляват риска от фрактура на бедрената кост при пациенти с ОП на възраст над 60 г., но не могат пряко да повлияят на риска от фрактури (261).

Недостатъчност и дефицит на витамин Д се съобщават като рисков фактор и за вертебрални фрактури както при мъжете, така и при жените (262,263). Резултати от други проучвания не показват значителна връзка между нивото на серумния витамин Д и остеопоротичните вертебрални фрактури (264,265). Засега взаимовръзката между серумните нива на витамин Д и остеопоротичните торако-лумбални прешленни фрактури остава спорна, но е възможно дефицитът на витамин Д да се окаже независим от КМП фактор за фрактури при жените с ОП. В изследваната група жени с ОП намерихме статистически значимо по-ниски нива на витамин Д (39.78 nmol/l) при пациентките с фрактура на гръбначни прешлени в сравнение с пациентките с фрактура на предмишница (58.96 nmol/l) и без фрактура (46.58 nmol/l). Подобни на нашите резултати съобщават Milenković et al., които изследват нивата на витамин Д, БКМ и КМП на 58 сръбски жени в менопауза на средна възраст 60.46 ± 6.55 г. с новодиагностицирана ОП. Авторите съобщават средни концентрации на витамин Д от 46.45 ± 14.68 nmol/l, дефицит при 89.76% от изследваните и статистически значимо по-ниски концентрации при жените с предшестващи фрактури, в сравнение с тези без фрактури (37.57 ± 13.08 спрямо 51.22 ± 17.26 nmol/l). Те правят заключението, че субоптималният витамин Д статус при жени с постменопаузална ОП е важен рисков фактор за фрактури на костите (266). Резултати от проведено обширно проучване сред китайски пациенти също не потвърждават взаимовръзка между витамин Д статуса и КМП. Zhang et al., изследват нивата на витамин Д и КМП при 534 пациенти с различни по тежест вертебрални фрактури и 569 пациенти с болка в долната част на гръбнака без фрактури. Авторите не намират корелация между нивата на витамин Д и измерената КМП в областта на гръбнака, но съобщават за сигнификантно по-ниски нива на витамин Д в групата пациенти с прешленни фрактури. Те правят заключението, че има

значителна връзка между серумните нива на витамин Д и честотата и тежестта на вертебралните фрактури само във възрастовата група между 60 до 80 год. (267). Подобни резултати съобщават и Ying et al., които изследват група от 80 жени с постменопаузална ОП, разделени на група с фрактури на гръбначните прешлени и група без фрактури. Те намират статистически значимо по-ниски нива на витамин Д при пациентките с фрактури, в сравнение с тази без фрактури, както и негативна корелация между витамин Д и фрактурите на гръбначните прешлени (268).

Противоречивите данни за взаимовръзката между витамин Д и КМП не отхвърлят възможността лошият витамин Д статус да е свързан с повишен фрактурен риск по други механизми. Има данни, че дефицитът на витамин Д се свързва с мускулна слабост и повишен риск от падане при възрастните хора (269,270). Витамин Д участва в костния растеж и ремоделиране от остеоласти и остеокласти, а нива под 50 nmol/l ускоряват костния обмен, костната загуба и нискоенергийните остеопоротични фрактури (271). Въпреки, че все още липсва консенсус относно оптималните нива на витамина за превенция на фрактурите, днес се смята, че комбинираната добавка на калций и витамин Д е свързана със значително намаляване на общите фрактури и фрактурите на бедрената кост сред различни популации (272). За профилактика на рахит, серумно ниво над 25 nmol/l изглежда достатъчно, но за предотвратяване на костна загуба, оптималните нива са вероятно над 50 nmol/l (273,274). Най-големи ползи за поддържане на КМП и нормалната функция на мускулно-скелетната система и долните крайници имат серумни концентрации на витамин Д над 75 nmol/l. Процентът на жени в менопауза с ОП със серумни концентрации на витамин Д под 75 nmol/l през зимата се доближава до 90 (100% в Европа, 80% в Канада и Съединените щати и 34.3% в Бразилия. Приемането на граничната стойност от 75 nmol/l означава, че почти 80% от жените в менопауза с ОП по света трябва да бъдат лекувани за хиповитаминоза Д през зимата и до 75% през лятото (228). Ние установихме при 90.3% от жените с ОП и 89.5% от контролите, концентрации на витамин Д под 75 nmol/l, което е особено тревожно, затова оценката на нивата на витамин Д в страната ни е от съществено значение.

7.8. ВИТАМИН К2 СТАТУС

Витамин К2 статуса беше определен индиректно чрез серумните концентрации на остеокалцин и некарбоксилиран остеокалцин и

съотношението $ucOC/OC$. Изследвахме 48 жени в менопауза. След измерване на КМП участничките бяха разпределени в работна група, жени с ОП ($n = 26$) и контролна група ($n = 22$). Резултатите от направените изследвания са представени в Таблица 7.8.1.

Таблица 7.8.1. Концентрации на ОС, $ucOC$, $ucOC/OC$, витамин Д, ИТМ и КМП изразена чрез T-score в работната и контролната групи

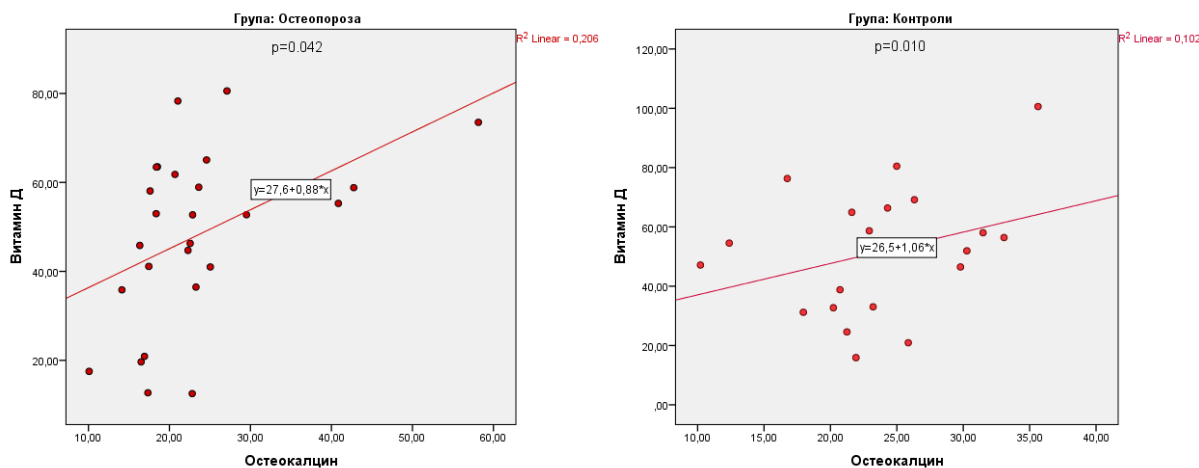
	Остеопороза	Контроли	Ниво на значимост
Възраст	65.62±9.2	63.55±8.7	p=0.670
ОС – ng/ml	23.41±10.08	23.09±6.94	p=0.605
$ucOC$ – ng/ml	17.33±3.38	17.69±3.92	p=0.700
$ucOC/OC$ – %	77.36±22.27	83.63±29.27	p=0.709
АФ – U/l	86.77±48.78	95.5±50.48	p=0.383
Витамин Д – pmol/l	48.09±19.41	48.34±23.1	p=0.943
ИТМ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

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

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

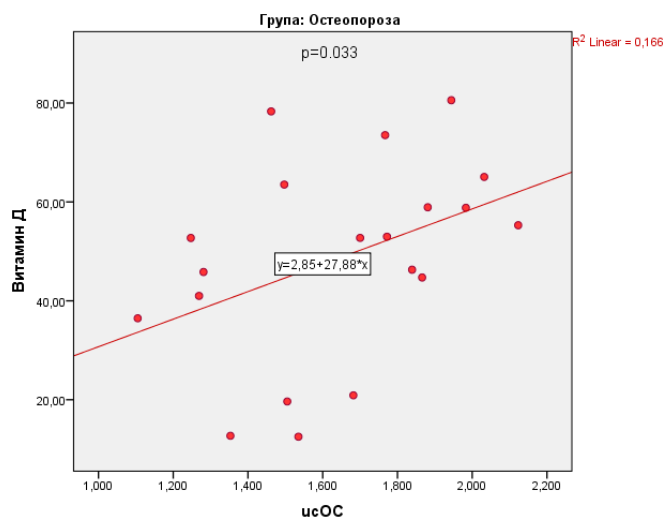
Съотношението $ucOC/OC$ показва стойности над приетите за норма 20% при всички изследвани жени, като най-ниската стойност в групата с ОП е 30.04%, а в контролната група 36.31%. Резултатите показват лош функционален витамин К2 статус и при двете групи, без статистически значима разлика. Средните нива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

Нивата на витамин Д и ОС показват позитивна корелация – умерена по сила в групата с ОП ($r = 0.489$; $p = 0.029$) и значителна по сила в контролната група ($r = 0.535$; $p = 0.010$) (Фиг. 7.8.1 и 7.8.2).



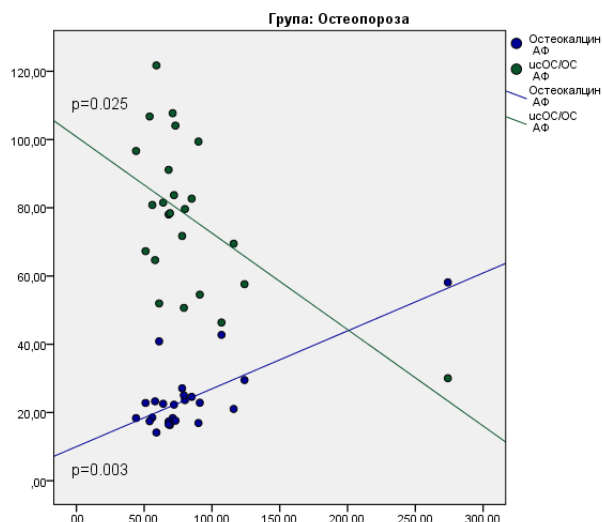
Фиг. 7.8.1 и 7.8.2. Позитивна корелационна зависимост между серумните концентрации на витамин Д и ОС в работната и контролната групи.

В групата с ОП нивата на витамин Д показват умерено позитивна корелация и с концентрациите на ucOC ($r = 0.478$; $p = 0.033$) (Фиг. 7.8.3).



Фиг. 7.8.3. Позитивна корелационна зависимост между серумните концентрации на витамин Д и ucOC в работната група.

В тази група намерихме умерена позитивна корелация между ОС и АФ ($r = 0.457$; $p = 0.025$), както и значителна по сила негативна корелационна зависимост между ucOC/ОС и АФ ($r = -0.574$; $p = 0.003$) (Фиг. 7.8.4).



Фиг. 7.8.4. Умерена позитивна корелационна зависимост между ОС и АФ и умерена негативна корелационна зависимост между ucOC/OC и АФ в групата жени с ОП.

Концентрациите на ОС, ucOC и ucOC/OC на жените от работната и контролната групи разпределени по декади са показани на Таблица 7.8.2.

Таблица 7.8.2. Концентрации на ОС, ucOC и процентно съотношение ucOC/OC на жените от работната и контролната групи разпределени по декади

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

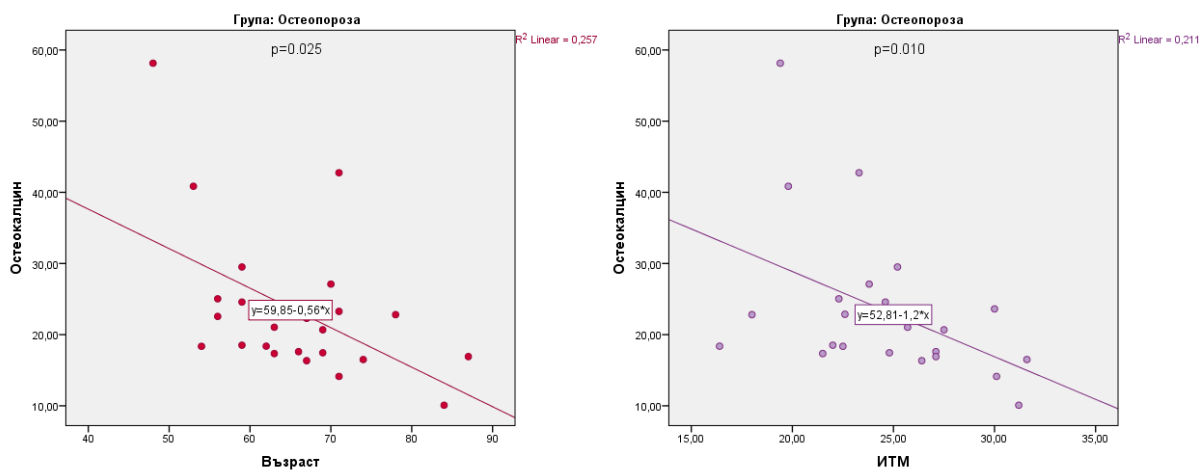
Резултатите са представени като средна стойност ± SD.

Сравнението на показателите по декади с непараметричния тест на Крушкел-Уолис в групата с ОП показва статистически значими различия само в концентрациите на ОС ($\chi^2 = 11.379$; $p = 0.01$). Ман-Уитни постхок тестовете показаха статистически значимо по-високи концентрации на ОС в групата жени до 59, в сравнение с жените на възраст 60 – 69 години ($U = 69.00$; $p = 0.006$) и над 80 ($U = 3.00$; $p = 0.017$). При контролите в различните възрастови групи разликите в показателите не достигат статистическа значимост.

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

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

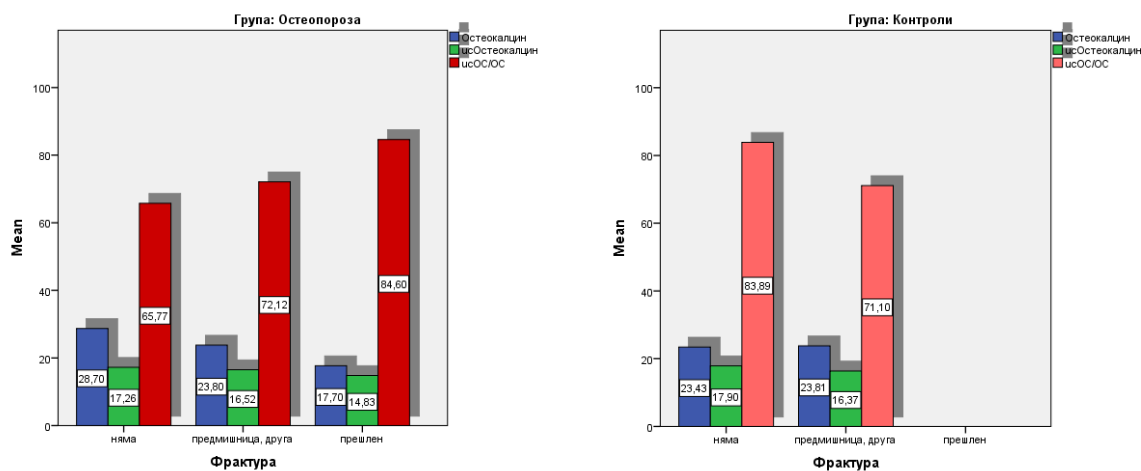
В групата с ОП серумните концентрации на OC показват умерени по сила негативни корелационни зависимости с намаляване на концентрацията при нарастване на възрастта ($r = -0.440$; $p = 0.025$) и ИТМ ($r = -0.496$; $p = 0.010$) (Фиг. 7.8.5 и 7.8.6).



Фиг. 7.8.5 и 7.8.6. Негативни корелационни зависимости между концентрациите на OC и възрастта и ИТМ в групата жени с ОП.

Средните концентрации на OC , $ucOC$ и $ucOC/OC$ при жените от работната и контролната групи без фрактури и с фрактури с различна локализация са показани на Фигури 7.8.7 и 7.8.8. В групата с ОП стойностите на OC и $ucOC$ постепенно намаляват, а съотношението $ucOC/OC$ нараства при жените без фрактури и с фрактури на предмишница и прешлен. Тестовите на Крушкел-Уолис, показаха статистически значима разлика в концентрациите на OC само в групата с ОП ($\chi^2 = 8.534$; $p = 0.014$). Постхок тестовите показаха концентрации на OC статистически значимо по-ниски при жените с фрактури на гръбначни прешлени спрямо жените без фрактури ($U = 10.00$; $p = 0.006$). В контролната група сравнението с теста на Ман-Уитни при жените с фрактури и без фрактури не показва статистически значими различия в концентрациите на OC ($U = 41.00$; $p =$

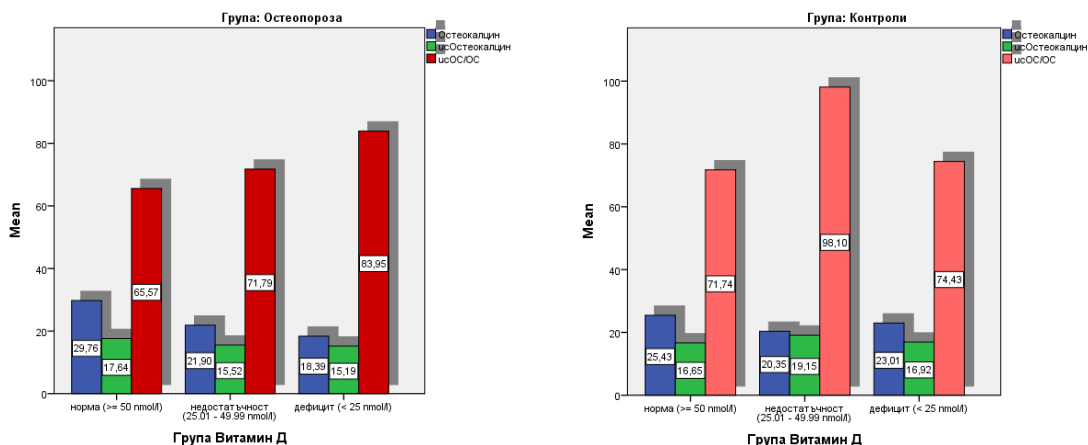
0.934) и ucOC ($U = 35.00$; $p = 0.564$) и съотношението ucOC/OC ($U = 35.00$; $p = 0.564$).



Фиг. 7.8.7 и 7.8.8. Средни стойности на серумния OC, ucOC и ucOC/OC при жените от работната и контролната групи с фрактури с различна локализация. В групата с ОП концентрациите на OC при жените с фрактура на прешлен са статистически значимо по-ниски спрямо жените без фрактура, $p < 0.05$.

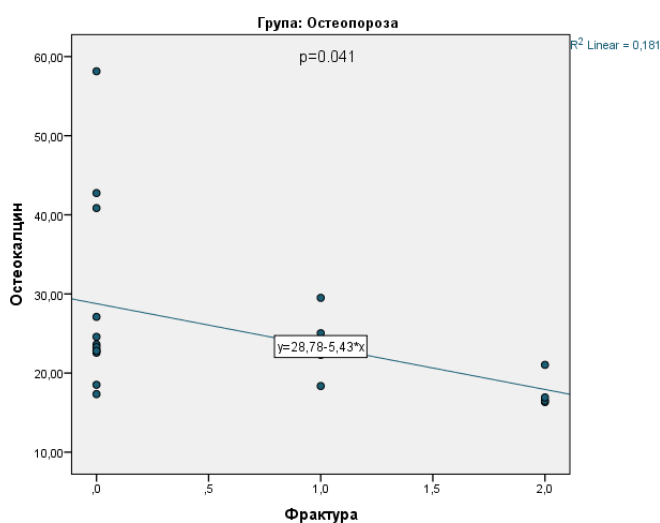
Средните концентрации на OC, ucOC и съотношението ucOC/OC при различни нива на витамин Д в групата с ОП и контролите са показани съответно на Фигури 7.8.9 и 7.8.10. В групата с ОП се вижда постепенно намаляване на концентрациите на OC при различни нива на витамин Д и разликата установена с теста на Крушкел-Уолис е статистически значима ($\chi^2 = 6.637$; $p = 0.036$). Пост-хок тестовете на Ман-Уитни показаха статистически значимо по-високи концентрации на OC при жените с нормални нива на витамин Д спрямо жените с дефицит ($U = 5.00$; $p = 0.015$). Средните концентрации на ucOC намаляват постепенно, а съотношението ucOC/OC нараства, но тестовете не показаха статистически значими различия, ($\chi^2 = 3.841$; $p = 0.147$), съответно ($\chi^2 = 1.276$; $p = 0.528$) при различните нива на витамин Д.

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



Фиг. 7.8.9 и 7.8.10. Средни стойности на серумния ОС, ucOC и ucOC/OC при жените от работната и контролната групи с различни нива на витамин Д. В групата с ОП статистически значими различия в концентрациите на ОС се наблюдават при жените с норма и дефицит на витамин Д, $p < 0.05$. В контролната група статистически значими различия в съотношението ucOC/OC се наблюдават при жените с норма и недостатъчност на витамин Д, $p < 0.05$.

При жените с ОП серумния ОС показва умерена по сила негативна корелационна зависимост с намаляване на концентрациите с увеличаване на фрактурите ($r = -0.460$; $p = 0.041$) (Фиг. 7.8.11). Резултатите от проведения единичен линеен регресионен анализ показаха, че концентрациите на ОС могат статистически значимо да прогнозират появата на фрактури при пациентките с ОП, ($F = 4,60$; $p = 0.042$) с умерена по сила големина на ефекта. Регресионната константа $a = 1.44$; $p = 0.001$ и регресионният коефициент $b = -0.03$, $p = 0.042$ са също статистически значими, а стойността на коригирания коефициент на детерминация ($\text{adjusted } R^2$) е 0.13.



Фиг. 7.8.11. Негативна корелационна зависимост между серумните концентрации на ОС и фрактурите в работната група.

Остеокалцинът днес се използва като маркер за качеството на костта (275). Той играе важна роля в метаболитната регулация, костната минерализация и хомеостазата на калциевите йони и се счита за специфичен маркер за остеобластната функция, защото е доказано, че нивата му корелират със скоростта на образуване на кост (276). Остеобласт-специфичната експресия на ОС се контролира на транскрипционно ниво от витамин Д чрез съответни витамин Д-зависими промотори на остеокалциновите гени (277). Остеокалцинът притежава по-голяма костна специфичност в сравнение с витамин Д, който понастоящем се разглежда повече като хормон, отколкото като фактор с директен ефект върху костната тъкан (224). След секрецията си в костната микросреда, той претърпява витамин К2-зависимо конформационно γ -карбоксилиране, което улеснява свързването на калция с хидроксиапатитните кристали и подобрява качеството на костта. Към момента физиологичните ефекти на ОС не са напълно изяснени, но е установено, че синтезата му зависи от витамин Д, а концентрацията му се повишава при засилено костно образуване (278).

В предменопаузалния период скоростта на костния обмен е постоянна, но през менопаузата се увеличава. При жени с постменопаузална ОП дефицитът на калций и фосфати може да доведе до намалено образуване на хидроксиапатитни кристали и при понижена скорост на костна минерализация ОС попада в кръвообращението (279). Намаленото образуване на хидроксиапатитни кристали увеличава циркулиращия ОС, което може да обясни повишените плазмени концентрации на ОС при жени с постменопаузална ОП (280). Следователно, оценката на плазмените концентрации на ОС може да помогне за установяване на ранните промени, които измерванията на КМП не могат да открият. Повишените нива на ОС могат да бъдат по-ефективен метод за ранно откриване на лица с бърз костен търновър. Определянето на нивата на ОС в серума може да бъде полезно за прогнозиране на вероятна остеопороза на шийката на бедрената кост и L1 – L4 отдели на гръбначния стълб преди измерване на КМП (198).

Остеокалцинът не участва в регулирането на КМП, но е от съществено значение за подреждането на хидроксиапатитните кристали и оптималната здравина и качеството на костите (281). Съдържанието на ОС в костния матрикс се увеличава до 45-годишна възраст, след това достига плато и относително стабилно ниво за следващите 10 години от човешкия живот, а след достигане на 55-годишна възраст се наблюдава намаление на ОС. Като

се има предвид, че ОС отразява активността на остеобластите, значителният спад в нивото му отразява намалено костно образуване (102). Анализът на серумните концентрации на ОС в изследваната от нас група жени с ОП, показва че нивата му при жени до 59 години са статистически значимо по-високи в сравнение с тези при жени на възраст 60–69 години и над 80 години. В групата с ОП установихме и положителна корелация между нивата на ОС и АФ, която може да бъде обяснена с общия им произход и роля в процесите на костното ремоделиране. И двата биохимични маркера се синтезират от остеобластите и отразяват различни, но тясно свързани етапи на костното образуване. Остеобластите произвеждат и секретират големи количества колаген, който образува фибриларна мрежа, заедно с другите неколагенни белтъци. Тези белтъци играят роля в последващото отлагане на минерали под формата на хидроксиапатитни кристали. Костното ремоделиране е цикличен процес, включващ последователни фази на резорбция, формиране и минерализация. Те се характеризират с последователно изразени отличителни остеобластни маркери. Ранната диференциация на остеобластите се определя от експресията на високи нива на АФ, а късната диференциация се характеризира с експресията на остеокалцин и остеопонтин (282). По-високите концентрации на ОС и АФ при жените с ОП до 59-годишна възраст, както и положителната корелация между двата маркера, отразяват повишената остеобластна активност, увеличеният костен търновър, който се асоциира с ускорената загуба на трабекуларна кост в перименопаузалния период. Резултатите ни са подобни на публикувани от други автори. Atalay et al. изследват диагностичната стойност на ОС, ucОС и АФ при 40 пременопаузални и 42 постменопаузални турски жени. Авторите съобщават статистически значимо повишени стойности на ОС при жените в първите 5 години от настъпването на менопаузата и правят заключение, че серумните нива на ОС, с или без ucОС и АФ, могат да бъдат полезни за проследяване на костни промени, които не могат да бъдат оценени с измерване на КМП и за диагностициране на ОП в шийката на бедрената кост и лумбалния отдел на гръбначния стълб в областта на L1 – L4 (198). Статистически по-високи концентрации на ОС при жените в първите 5 – 10 години от настъпването на менопаузата съобщават и Park et al., които изследват възрастово-обусловената динамика на БКМ при 78 корейски жени в менопауза (283).

Съществуващите данни относно корелациите между серумните нива на ОС и възрастта са противоречиви. Публикувани резултати от клинични проучвания показват както позитивна така и негативна корелация между нивата на ОС и възрастта. Kalaiselvi et al. и Singh et al. съобщават за позитивна корелация (284,285) Повишаването на ОС с напредването на възрастта е добре документирано и от Hannemann et al. в едно проучване за определяне на референтните интервали на ОС в голяма група здрави европейски мъже и жени в пре- и менопауза (286). Резултати от други проучвания отхвърлят тази положителна корелация. Diemar et al. проучват взаимовръзката между ОС, възрастта и пола в голяма група датски мъже и жени на различна възраст. Те намират негативна корелация между ОС и възрастта и дефинират три клинични референтни интервала за жените, базирани на възрастта и менопаузалния статус. Авторите отбелязват, че установяването на валидни референтни интервали е от голямо значение, преди пълният потенциал на БКМ да може да се използва в клиничната практика (287). Нашите данни показват умерена по сила негативна корелация с намаляване на серумните нива на ОС с нарастване на възрастта в групата с ОП, но не и в контролната група (Фиг. 59). Намалението на ОС с напредването на възрастта е белег за намаляване на остеобластната функция с намаляване на костното образуване и влошаване на качеството на костта.

Изследванията на взаимовръзките между ОС и ИТМ не дават еднозначни резултати, а при жени с постменопаузална ОП са оскъдни. Osteocalcin се счита за хормон, получен от костите, който влияе върху разпределението на телесните мазнини и ИТМ. Взаимовръзката между ОС и ИТМ е потвърдена от множество проучвания в различни популации. Мета-анализ на 28 кръстосани проучвания съобщава за значима негативна корелация между серумния ОС и ИТМ при здрави възрастни, особено при пациенти с метаболитен синдром (288). Резултати от проучвания върху жени в менопауза показват концентрации на ОС при жени със затлъстяване и наднормено тегло по-ниски от тези на нормалните контроли (106). Ние установихме умерена по сила негативна корелация на ОС с ИТМ в групата с ОП. Подобна по сила негативна корелация съобщават и Hendrijantini et al. в група от 54 индонезийски жени в менопауза, разпределени в три групи според КМП. Авторите свързват по-ниското телесно тегло и ИТМ с повишен костен търновър и обратно (289). Kord-Varkaneh et al., в един мета-анализ на публикуваните данни за взаимовръзката между ОС и ИТМ в

хетерогенни по пол и възраст популации лица, съобщават за значима негативна корелация между показателите и подчертават необходимостта от по-нататъшни проучвания, базирани на типа изследвана популация за по-добро изясняване на тези асоциации (288).

Въпреки очевидната взаимовръзка между витамин Д и ОС и големият интерес на изследователите, много малко резултати от рандомизирани клинични проучвания при хора я доказват, особено при жени с постменопаузална ОП. Положителна корелация между витамин Д и ОС съобщават *Buranasinsup et al.* в група здрави възрастни мъже и жени (275). *Guneu et al.* съобщават за значителна положителна корелация между нивата на витамин Д и ОС при здрави жени в менопауза (224). *Alissa et al.* изследват връзката между серумния ОС и статуса на витамин Д при жени в менопауза и съобщават значителна отрицателна корелация между ОС и хранителния прием на витамин Д във всички изследвани подгрупи (290). Смята се, че суплементацията с витамин Д повишава нивата на ОС поради остеобластна стимулация (291), което го прави неприложим като маркер за образуване на кост при такива пациенти (278). Синтезата на ОС изисква участието на витамин Д и витамин К2. Витамин Д стимулира генната експресия и синтеза на незрялата и функционално неактивна форма – *ucOC*, а витамин К2 е необходим за трансформирането на *ucOC* в зрял функционално активен *sOC*. Схващането, че *ucOC* е чувствителен маркер за определяне на статуса на витамин К2, днес е подложено на съмнение, защото нивата на *ucOC* зависят и от нивата на витамин Д (275). Корелациите между витамин К2 или витамин Д с ОС или *ucOC* показват, че и двата витамина имат връзка с ОС, което означава, че всеки един от тях може да повлияе на синтеза на протеина, а корелациите между двата витамина помежду им показват синергичната им по отношение на костния метаболизъм функция (292). Изследваната от нас група жени в менопауза не е получавала добавки с витамин Д, витамин К2 и калций. Нивата на витамин Д показват недостатъчност без статистически значима разлика и в групата с ОП и при контролите. В групата с ОП концентрациите на ОС са значимо по-високи в групата с нормални нива на витамин Д, в сравнение с групата с дефицит. И в двете изследвани групи установихме позитивна корелация между нивата на витамин Д и ОС. В групата с ОП нивата на витамин Д показват умерено позитивна корелация и с концентрациите на *ucOC*. Взаимовръзката между нивата на витамин Д, *ucOC* и *ucOC/OC* не е еднозначна и изисква потвърждение в рандомизирани клинични проучвания. В литературата има

оскъдни данни и се съобщават както позитивни, така и негативни корелации основно при доброволци от различни възрастови групи. Отрицателни корелации и реципрочни сезонни вариации в нивата на витамин Д и ucOC съобщават Szulc et al. в група от 195 френски институционализирани жени на възраст между 70 и 101 год. (293). Отрицателни корелации съобщават и Saadi et al. в група от 259 доброволки от Обединените Арабски емирства (294). Bunyaratavej et al. съобщават за позитивни корелации между нивата на витамин Д и ucOC при здрави възрастни доброволци (275).

Костната минерална плътност сама по себе си не може да обясни риска за настъпване на фрактури. Остеопоротичните фрактури са резултат от сложно взаимодействие между здравината на костите (оценена *in vivo* като КМП) и натоварването на скелета при ежедневните дейности или травми, особено падания. Повишената скорост на костен търновър около менопаузата и след това, може да бъде допълнителен рисков фактор за фрактури, понеже засилва костната загуба, води до перфорация на трабекулите и загуба на структурни елементи на костта или защото допълнително намалява здравината на костта чрез разширяване на пространствата за ремоделиране (295). Днес се приема, че КМП не може да идентифицира индивиди, които ще развият фрактура в бъдеще (296). Въпреки, че ниската КМП е определяща за остеопоротичните фрактури, някои фрактури настъпват и при по-висока КМП. Пациенти с ОП не получават фрактури, а такива с остеопения развиват множество фрактури, което показва, че КМП не е достатъчен показател за предсказване на фрактурния риск (297). Повишеният костен търновър във времето се счита за допълнителен фактор, повишаващ вероятността от бъдещи фрактури, защото съществува припокриване на данните от КМП на пациентите, които са склонни да развият фрактура и тези, които не го правят (298). Със застаряването на световното население разпространението на остеопоротичните фрактури значително нараства, а съществуващите стратегии за превенция не са достатъчно ефективни. Въпреки че промененият костен и минерален метаболизъм се счита за един от най-важните и модифицируеми рискови фактори за остеопоротични фрактури, диагностичната и прогностична стойност на маркерите за костен търновър все още се оспорва (299). Напоследък има многобройни проучвания, които се опитват да изследват нивата на БКМ във връзка с остеопоротичните фрактури. От тези проучвания някои установяват положителна връзка между костния оборот и честотата на фрактурите (300). Международната

фондация за ОП предлага използването на БКМ, като мощни независими от КМП, инструменти за прогнозиране на фрактурния риск, независимо от КМП (95). Съществуват достатъчно доказателства, че комбинираното изследване на БКМ и КМП може да бъде по-добър предиктор за фрактура от изследването само на КМП. Остеокалцинът, като маркер за костен търновър, може да бъде използван като независим предиктор на риска от фрактури. Високият костен търновър може да наруши трабекуларната архитектура чрез увеличаване на честотата на трабекуларна перфорация и изкривяване, като по този начин намалява здравината на костта, без непременно да повлиява значително КМП (301). Има съобщения че ОС може да бъде полезен в това направление при възрастни хора, особено при жени (100). Резултати от проучване на 90 египетски жени в менопауза демонстрират ползи от изследването на ОС за идентифициране на индивиди с висок фрактурен риск (302). В изследваната от нас група жени с ОП ние установихме серумен ОС и витамин Д в стойности статически значимо по-ниски при жените с фрактури на гръбначни прешлени в сравнение с тези без фрактура. При жените с прешленни фрактури се наблюдава недостатъчност на витамин Д, която може да обясни намаленото образуване на ОС. Ние установихме и умерена по сила негативна корелационна зависимост между серумната концентрация на ОС и наличието на фрактури. Ниските концентрации на ОС се свързват с подтискане на остеобластната функция, намалено костно образуване и нарушени процеси на възстановяване на костта на фона на засилена костна резорбция при компрометирана КМП. В контролната група концентрациите на ОС при жените с фрактури са по-високи в сравнение с жените без фрактури и макар разликите да не достигат статистическа значимост, това отразява нормалната остеобластна функция и запазената способност за образуване на кост. Статистически значимо по-ниски концентрации на ОС при жени с постменопаузална ОП и вертебрални фрактури в сравнение с жени с ОП без фрактури съобщават Mohammed et al. при група от 58 сирийски жени (303). Подобни резултати съобщават и Feng et al., които изследват 120 жени с постменопаузална ОП. Авторите не намират статистически значима разлика в КМП на гръбнака, но съобщават, че нивата на витамин Д и ОС са статистически значимо по-ниски в групата жени с фрактури на гръбначния стълб, в сравнение с групата жени без фрактури и отбелязват необходимостта от допълнителни проучвания с по-голям брой участници, за да се определи прагът на всеки маркер при оценката на риска от фрактури (304). Ниските нива на ОС са индикатор за

подтисната остеобластна функция, намалено костно образуване, влошено качество на костта и повишена чупливост. Резултатите от нашето проучване показват, че ОС може да бъде независим предиктор за настъпването на фрактури при жените с постменопаузална ОП (305). Въпреки широко препоръчаното от IOF използване на БКМ в управлението на ОП, данните в световната литература за използването им в клиничната практика при оценката на фрактурния риск са оскъдни и несигурни. В България няма данни за използването на ОС при предсказване на фрактури.

Резултати от различни клинични проучвания показват, че при съвременния начин на хранене консумацията на витамин К намалява постепенно и дори добре балансираната диета не може да осигури витамина в количества, достатъчни за задоволяване нуждите на организма (306). Освен това, поради съвременните производствени процеси, съдържанието на витамин К, по-специално съдържанието на витамин К2 в храните днес е намалено значително, което прави суплементацията с витамин К2 по-надежден начин за осигуряване на адекватен прием (307,308). Понастоящем няма консенсус относно плазмените нива на витамин К, показващи дефицит или недостатъчност (138).

Проучването на хранителния прием на витамините от групата К се извършва на базата на съществуващ въпросник – Food frequency questionnaire на National Health and Nutrition Examination Survey. Въпросникът е ограничен контролен списък с храни и напитки със секция за честота на отговор, а субектите отбелязват колко често всеки артикул е бил консумиран за определен период от време. В България към момента не съществува валидиран въпросник, няма проучвания за диетичния прием на витамин К2, както и норми за дневен прием.

Възрастта, полът и диетата се смятат за основни детерминанти на нивата на циркулиращия витамин К, но да момента има доста необяснени вариации във витамин К статуса между отделните индивиди (309). Дневният прием на К1 и К2 е по-висок при младите в сравнение с по-възрастните хора и при двата пола. Това се отнася особено за диетичния прием на витамин К2. Последният съставлява само 10.7 % от общия витамин К прием при възрастните и 11.5% от този на жените на средна възраст (310). Има данни, че нуждите от витамин К2 нарастват с напредването на възрастта, като механизмът не е точно установен. Вероятно е свързан с намаления брой остеобласти или с намалената активност на γ -глутамил карбоксилазата. Това определя и разликата в препоръчителния дневен прием при възрастни

и млади здрави жени (311). В клинични проучвания при хора често използвана дозировка на витамин К2 е 45 mg/ден, а приложението му може да бъде интересна стратегия за подобряване на здравето на костите и кръвоносните съдове, особено при жени с постменопаузална ОП (312,313). Нуждата от по-големи количества витамин К2 с напредването на възрастта при намален диетичен прием предполага съществуващ дефицит при възрастните. Намалената активност на γ -глутамил карбоксилазата води до непълно карбоксилиране на ОС. Некарбоксилираният ОС не може да се отложи в костния матрикс и попада в кръвообращението. Повишените концентрации на ucОС са индиректен показател за витамин К2 дефицит и има публикувани оскъдни данни, че са свързани с лош костен статус и повишен риск от фрактури. Съдържанието на ucОС в костта повлиява неблагоприятно здравината на костта с по-голям ефект върху качеството на костта, отколкото върху КМП (314).

Интерпретацията на публикуваните данни за концентрациите на ucОС са затруднени от липсата на достатъчно проучвания при пациентки с ОП. Към момента няма и дефинирани референтни граници за ucОС, определящи лош витамин К2 статус за различни популации лица. Има данни, че жени в менопауза със серумно ниво на ucОС ≥ 4.0 ng/ml показват по-ниски серумни концентрации на витамин К, по-високи маркери за костна резорбция и повишена честота на вертебрални фрактури. За да се улесни дискусията относно насоките за дефицит на витамин К, стойностите на ucОС, измерени чрез различни системи за анализ, ще трябва да бъдат стандартизирани, тъй като има значителни вариации (315). За японска популация пациентки с ОП се приема cut-off value под 4.5 ng/ml, изчислена чрез приетите за витамин К дефицит концентрации (316). Различни проучвания съобщават концентрации на ОС и ucОС в широки граници, но това вероятно се дължи на използваните различни методики за определянето им (317–319). Сравнения между различни държави показват разлики в концентрациите на ucОС и в различните етнически групи (320,321). Това още веднъж подчертава, че са нужни рандомизирани клинични проучвания с добре дефинирани групи от различни географски региони. Стандартизацията на тези показатели ще ги направи полезни и по-широко използвани в клиничната практика. Ние намерихме високи концентрации на ucОС и в двете изследвани групи, без сигнификантна разлика, което може да бъде асоциирано с нисък хранителен прием и лош статус на витамин К2, но в

страната ни все още липсват дефинирани референтни граници за показателя за различни групи лица.

Витамин К2 статуса може да се измери индиректно чрез съотношението $ucOC/OC$, а стойности над 20% се приемат да хранителен витамин К2 дефицит. В научната литература данните за оценка на нивата на витамин К2 при жени в менопауза и такива с ОП са недостатъчни. Повечето публикувани резултати са от проучвания на промените в БКМ, КМП и фрактурния риск при жени с ОП след различна по продължителност суплементация предимно с витамин К1, без да е правена предварителна оценка на витамин К статуса, което затруднява сравнението и интерпретацията на данните.

В проучване на хранителния прием на витамина McKeown et al. изследват 837 мъже и жени от различни възрасти и намират лош витамин К статус при 44% от мъжете и 54% от жените (166). Популационни проучвания на витамин К статуса, проведени сред хора от кавказката раса, показват лош витамин К статус в 25 – 33% от изследваните лица (322–324). Ние установихме високи стойности на $ucOC/OC$ и в двете изследвани групи без статистически значими различия. Най-ниските стойности на $ucOC/OC$ и в двете групи са над приетите за норма, което определя лош витамин К2 статус и влошаването му с напредването на възрастта при изследваните от нас жени. Подобни резултати съобщават и Theuwissen et al, които изследват витамин К2 статуса на 22 здрави белгийски жени на възраст 18 – 45 г. и намират високо съотношение $ucOC/OC$ от 95%. След суплементация с МК-7 същото намалява значително само в групата, получила 90 $\mu g/dn$, което се приема за висока доза (318). Публикувано от Shea et al. проучване на витамин К статуса в мултиетническа група от 438 възрастни (60 – 80 г., 59% жени) в САЩ, показва дефицит или недостатъчност при 97% от изследваните лица (325).

Какви са основните причини за лошия витамин К2 статус при изследваната от нас група жени можем само да предполагаме, поради невъзможността за проучване на хранителния прием и неясния по отношение на менахинони състав и качество на храните в България. Данните, получени от нас са тревожни и трябва да бъдат потвърдени с изследване на по-големи групи лица, за да генерират развитието на стратегии за превенция и лечение, което е важно за рисковите групи, особено в по-напреднала възраст. Днес разпространения дефицит на витамин К2 може да се приеме за възможен. Причините за това са много и

разнообразни: бионаличността на витамин К1 и К2 в храните е лоша, циркулиращите в кръвта количества в сравнение с другите мастно-разтворими витамини са много ниски, бързо се метаболизират и екскретират и имат ниски тъканни запаси. Синтезът на витамин К2 от интестиналната дебелочревна микрофлора в достатъчни количества също е поставен под съмнение. Проучвания демонстрират лоша бионаличност на бактериални менахинони поради здравето им свързване с бактериалната стена и липсата на жлъчни соли, необходими за емулгирането и резорбцията им (157). Широката употреба на антибиотици, унищожавачи чревните бактерии може да влоши допълнително индивидуалния риск от витамин К2 дефицит.

Някои нови публикации свързват съотношението $ucOC/OC$, респективно витамин К2 при хора с мускулната сила, физическата функция и риска от падания, но засега данните са ограничени. След четвъртото десетилетие от живота се наблюдава бърза загуба на мускулна функция, преди още намалението на мускулната маса да стане очевидно (326,327). Мускулната функция се използва за описание на комбинацията от мускулна сила и физическа функция, а влошената мускулна функция е свързана с повишен риск от падания и фрактури, функционални увреждания, загуба на независимост и ранна смъртност (328). Това подчертава необходимостта от идентифициране на потенциални клинични маркери, които да бъдат в състояние да идентифицират лица, изложени на риск от намаляване на мускулната функция и падания, така че да могат да бъдат въведени подходящи стратегии за превенция. Смята се, че карбоксилираната фракция на OC се намира предимно в костите поради високия си капацитет на свързване с хидроксиапатит *in vitro*, докато за $ucOC$ се съобщава от някои автори, че функционира по паракринен и ендокринен начин, като участва в метаболизма на глюкозата и оказва влияние върху мускулната маса и сила (106,329). Съотношението $ucOC/OC$ е доказано по-високо при по-възрастните хора в сравнение с младите (330), отчасти поради намаления прием на витамин К (331). Ретроспективно проучване публикувано през 2020 год. демонстрира взаимовръзка между повишените нива на съотношението $ucOC/OC$, намалената мускулна сила и повишения риск от падания и свързаните с тях хоспитализации. Авторите тестват хипотезата, че по-високото съотношение на $ucOC/OC$ е свързано с намалена мускулна функция и повишен дългосрочен риск от хоспитализации, свързани с падане, в голяма група от 1261 австралийски жени от бялата раса на средна възраст 75.2 ± 2.7 г. Измерените от тях концентрации на OC от 25.05 ± 10.28

ng/ml са подобни, но концентрациите на ucOC от 11.99 ± 5.34 ng/ml и съотношението ucOC/OC от 49 ± 12 % са по-ниски от получените от нас. Авторите съобщават, че жените с по-високо съотношение ucOC/OC имат по-лоша физическа функция, намалена мобилност и по-голям страх от падане, а също и намален хранителен прием на витамин К. Те установяват позитивни корелации между ucOC/OC и ИТМ, както и между ucOC/OC и намалената физическа функция с повишен дългосрочен риск от травматични падания, свързани с хоспитализации и подчертават важността на ранното идентифициране на жените с по-висок риск, за разработването на стратегии за превенция и интервенция (332).

8. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Остеопорозата е мултифакторно, социално-значимо заболяване с все по-нарастваща честота. Усложненията са тежки и свързани с инвалидизация и повишена смъртност. Безсимптомното протичане, често до появата на нискоенергийна фрактура води до подценяване на проблема както от пациентите, така и от медицинските специалисти. Заболяването води до значителни здравни и икономически последици, което налага разработването на ефективни стратегии за превенция, ранна диагностика и лечение.

Съвременните научни данни подчертават ключовата роля на храненето и хранителния статус за костното здраве. Адекватното хранене е изключително важно, както за превенция на ОП и намаляването на фрактурния риск, така и като елемент от нефармакологичното лечение на ОП и фрактурите. Има натрупващи се доказателства, че съвременният начин на хранене и обработката на храните не доставят достатъчни количества калций, витамин Д и витамин К2 особено при възрастни лица. Осигуряването на адекватни количества е все по-вероятно да се осъществява чрез прием на добавки съдържащи изброените нутриенти. Корекция на дефицитите може да намали индивидуалния рисков фактор за ОП и фрактури. Комбинираните добавки с витамин Д и калций повишават КМП на гръбначния стълб при здрави жени в менопауза, а витамин Д е от решаващо значение в процесите на мобилизиране на калциевите йони в костната тъкан. Добавките с витамин Д и калций при жени с ОП самостоятелно не могат да възстановят изгубената костна тъкан и нарушената микроархитектоника, а менахиноните с дълга странична верига са в състояние частично да инхибират костната резорбция, предизвикана от възпаление, хиповитаминоза Д и последваща продукция на ПТХ.

Днес синергичният ефект на витамините Д и К2 върху костите и кръвоносните съдове се смята за безспорен, заради централната им роля в метаболизма на калция. Самостоятелният прием на калций и витамин Д не е достатъчен за възстановяване на вече загубена костна маса и може да повиши сърдечносъдовия риск при остеопороза. Данни показват, че добавянето на витамин К2 към терапевтичните режими може да подобри костната минерална плътност, да повлияе благоприятно костния търновър и да намали риска от фрактури.

Ние изследвахме български жени, които не са приемали добавки с калций, витамин Д и К2 и не са лекувани за остеопороза. Получените от нас

данни потвърждават, че лош витамин Д статус е по-скоро очакван при жени в менопауза и с ОП, а данните за възможен витамин К2 дефицит са много тревожни и подчертават важността на изследването им при тези рискови за фрактури групи. Не установихме корелации между нивата на витамин Д и К2 с КМП в лумбалния отдел на гръбнака, но потвърдихме, че двата витамина повлияват костния търновър, по няколко взаимосвързани механизма. Намалването на витамин Д води до повишаване на стойностите на ПТХ с неблагоприятни ефекти върху костната резорбция, както и до намалено образуване на ОС и забавяне на костния търновър с подтискане на остеобластната функция. Въпреки, че ОС не се използва като маркер за костно образуване, ниските нива са индикатор за влошено качество на костта и повишена чупливост. Резултатите ни потвърждават също, че ниските нива на витамин Д и ОС при пациентките с ОП са свързани с влошено качество на костите и повишена честота на вертебрални фрактури. Ниските нива на витамин Д са независим от КМП рисков фактор за вертебрални фрактури.

Витамин К2 показва негативна корелационна зависимост с ОС и АФ. Високите нива на $ucOC/OC$, които се свързват с дефицит на витамин К2 понижават АФ и sOC с неблагоприятен ефект върху остеобластната функция и костното образуване. Това нарушава баланса между костно образуване и резорбция в полза на резорбцията. Също така влошава качеството на образуваната кост и повишава фрактурния риск, независимо от КМП. Остеопорозата е инвалидизиращо заболяване, а грижите за пациентите с настъпили фрактури повишават значително разходите за здравеопазване. За справяне с проблемите е необходим комплексен подход, включващ ранна диагностика, скрининг за хранителни дефицити, оптимизиране на хранителния режим и при необходимост – суплементация. Маркерите за костен търновър могат да подпомогнат оценката на костното качество и ефекта от провежданото лечение.

Данните че приемът на добавки с калций, витамин Д и витамин К2 имат полза за костното здраве и предотвратяването на фрактури при жени в менопауза и с ОП за страната ни трябва да бъдат потвърдени с рандомизирани клинични проучвания, защото могат да залегнат в основата на национални превантивни и терапевтични стратегии, както и на научно-базирани препоръки за добра клинична практика.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Hardy E, Fernández-Patrón C. Destroy to rebuild: the connection between bone tissue remodeling and matrix metalloproteinases. *Front Physiol.* 2020;11:47.
2. Walsh JS. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. *Surgery (Oxf).* 2015;33:1–6.
3. Kerschhan-Schindl K, Ebenbichler G. Osteoimmunological aspects of biomechanics. In: *Principles of osteoimmunology: molecular mechanisms and clinical applications* [Internet]. Springer-Verlag Wien; 2012. p. 97–111.
4. Safadi FF, Barbe MF, Abdelmagid SM, Rico MC, Aswad RA, Litvin J, et al. Bone structure, development and bone biology. In: *Bone pathology.* Humana Press; 2009. p. 1–50.
5. Downey PA, Siegel MI. Bone biology and the clinical implications for osteoporosis. *Phys Ther.* 2006;86:77–91.
6. Biga LM, Bronson S, Dawson S, Harwell A, Hopkins R, Kaufmann J, et al. *Anatomy & physiology.* 2019 Sep 26;53.
7. Blair HC, Larrouture QC, Li Y, Lin H, Beer-Stoltz D, Liu L, et al. Osteoblast differentiation and bone matrix formation in vivo and in vitro. *Tissue Eng Part B Rev.* 2017;23:268–80.
8. Carvalho MS, Cabral JMS, da Silva CL, Vashishth D. Bone matrix non-collagenous proteins in tissue engineering: creating new bone by mimicking the extracellular matrix. *Polymers (Basel).* 2021;13(7).
9. Fujisawa R, Tamura M. Acidic bone matrix proteins and their roles in calcification. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2012;17(5):1891–903.
10. Ikonomova K, Toncheva A. Cell and molecular bone structure. Laboratory markers. Central Medical Library, MU–Sofia; 2012.
11. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3(Suppl 3):S131.
12. Aubin JE, Triffitt JT. Mesenchymal stem cells and osteoblast differentiation. In: *Principles of bone biology.* Elsevier; 2002. p. 59–81.
13. Downes S, Bassi A, Gough J, Zakikhani M, Bosworth LA. Bone tissue regeneration. Woodhead Publishing; 2011. p. 93–106.
14. Toncheva A, Remichkova M, Ikonomova K, Dimitrova P, Ivanovska N. Inflammatory response in patients with active and inactive osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2009;29(10):1197–203.
15. Shapiro F. Developmental bone biology. In: *Pediatric orthopedic deformities.* Elsevier; 2001. p. 3–128.
16. Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Parfitt AM, Manolagas SC. Osteoblast programmed cell death (apoptosis): modulation by growth factors and cytokines. *J Bone Miner Res.* 1998;13(5):793–802.
17. Florencio-Silva R, Sasso GRDS, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. *Biomed Res Int.* 2015.
18. Qin L, Liu W, Cao H, Xiao G. Molecular mechanosensors in osteocytes. *Bone Res.* 2020 Jun 8;8:23.
19. Schaffler MB, Cheung WY, Majeska R, Kennedy O. Osteocytes: master orchestrators of bone. *Calcif Tissue Int.* 2014 Jan;94(1):5–24.
20. Pathak JL, Bravenboer N, Klein-Nulend J. The Osteocyte as the New Discovery of Therapeutic Options in Rare Bone Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020 Jul 8;11:405.
21. Han Y, You X, Xing W, Zhang Z, Zou W. Paracrine and endocrine actions of bone-the functions of secretory proteins from osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts. *Bone Res.* 2018 May 24;6:16.
22. Uda Y, Azab E, Sun N, Shi C, Pajevic PD. Osteocyte Mechanobiology [Internet]. Vol. 15, *Current Osteoporosis Reports.* Current Medicine Group LLC 1; 2017. p. 318–25.
23. Marotti G. The osteocyte as a wiring transmission system. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2000;1(2):133–6.
24. Palumbo C, Ferretti M. The Osteocyte: From “Prisoner” to “Orchestrator.” *J Funct Morphol Kinesiol.* 2021 Mar 1;6(1):28.
25. Boyce BF, Hughes DE, Wright KR, Xing L, Dai A. Recent advances in bone biology provide insight into the pathogenesis of bone diseases. *Lab Invest.* 1999 Feb;79(2):83–94.
26. Crockett JC, Mellis DJ, Scott DI, Helfrich MH. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. *Osteoporos Int.* 2011 Jan;22(1):1–20.

27. Feng X, Teitelbaum SL. Osteoclasts: New Insights. *Bone Res.* 2013 Mar 29;1(1):11-26.
28. Longhini R, Aparecida de Oliveira P, Sasso-Cerri E, Cerri PS. Cimetidine reduces alveolar bone loss in induced periodontitis in rat molars. *J Periodontol.* 2014 Aug;85(8):1115-25.
29. Cawley KM, Bustamante-Gomez NC, Guha AG, MacLeod RS, Xiong J, Gubrij I, Liu Y, Mulkey R, Palmieri M, Thostenson JD, Goellner JJ, O'Brien CA. Local Production of Osteoprotegerin by Osteoblasts Suppresses Bone Resorption. *Cell Rep.* 2020 Sep 8;32(10):108052.
30. Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science.* 1995 Mar 10;267(5203):1445-9.
31. Soysa NS, Alles N. Positive and negative regulators of osteoclast apoptosis. *Bone Rep.* 2019 Oct 21;11:100225.
32. Bilgiç E, Boyacıoğlu Ö, Gizer M, Korkusuz P, Korkusuz F. Architecture of bone tissue and its adaptation to pathological conditions. In: *Comparative Kinesiology of the Human Body.* Elsevier; 2020. p. 71–90.
33. Rowe P, Koller A, Sharma S. Physiology, Bone Remodeling. 2023 Mar 17. In: *StatPearls [Internet].* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan–. PMID: 29763038.
34. Gallagher JC. Advances in bone biology and new treatments for bone loss. *Maturitas.* 2008 May 20;60(1):65-9.
35. Arias CF, Herrero MA, Echeverri LF, Oleaga GE, López JM. Bone remodeling: A tissue-level process emerging from cell-level molecular algorithms. *PLoS One.* 2018 Sep 19;13(9):e0204171.
36. Kenkre JS, Bassett JHD. The bone remodelling cycle [Internet]. Vol. 55, *Annals of Clinical Biochemistry.* SAGE Publications Ltd; 2018 [cited 2021 May 29]. p. 308–27.
37. Parfitt AM. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *J Cell Biochem.* 1994 Jul;55(3):273-86.
38. Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2000 Apr;21(2):115-37.
39. Truesdell SL, Saunders MM. Bone remodeling platforms: Understanding the need for multicellular lab-on-a-chip systems and predictive agent-based models. *Math Biosci Eng.* 2019 Nov 19;17(2):1233-1252.
40. Siddiqui JA, Partridge NC. Physiological Bone Remodeling: Systemic Regulation and Growth Factor Involvement. *Physiology (Bethesda).* 2016 May;31(3):233-45.
41. Conigrave AD. The Calcium-Sensing Receptor and the Parathyroid: Past, Present, Future. *Front Physiol.* 2016 Dec 15;7:563.
42. Vilaradaga J-P, Friedman PA. Molecular Biology of Parathyroid Hormone. *Textb Nephro-Endocrinology.* 2018 Jan 1;523–37.
43. Rubin MR. Skeletal Manifestations of Hypoparathyroidism. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2018 Dec;47(4):825-837.
44. Silva BC, Bilezikian JP. Parathyroid hormone: anabolic and catabolic actions on the skeleton. *Curr Opin Pharmacol.* 2015 Jun 1;22:41–50.
45. Lombardi G, Di Somma C, Rubino M, Faggiano A, Vuolo L, Guerra E, Contaldi P, Savastano S, Colao A. The roles of parathyroid hormone in bone remodeling: prospects for novel therapeutics. *J Endocrinol Invest.* 2011 Jul;34(7 Suppl):18-22.
46. Grosso MJ, Courtland HW, Yang X, Sutherland JP, Stoner K, Nguyen J, Fahlgren A, Ross FP, van der Meulen MC, Bostrom MP. Intermittent PTH administration and mechanical loading are anabolic for periprosthetic cancellous bone. *J Orthop Res.* 2015 Feb;33(2):163-73.
47. Carrivick SJ, Walsh JP, Brown SJ, Wardrop R, Hadlow NC. Brief report: Does PTH increase with age, independent of 25-hydroxyvitamin D, phosphate, renal function, and ionized calcium? *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 May;100(5):2131-4.
48. Bikle DD. Extrarenal Synthesis of 1,25-Dihydroxyvitamin D and Its Health Implications. In: *Vitamin D.* Humana Press; 2010. p. 277–95.
49. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol Rev.* 2015 Dec 16;96(1):365–408.
50. Lieben L, Masuyama R, Torrekens S, Van Looveren R, Schrooten J, Baatsen P, et al. Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D-induced inhibition of bone mineralization. *J Clin Invest.* 2012 May;122(5):1803–15.
51. Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, Bikle D, White JH, Dawson-Hughes B, et al. Skeletal and Extraskelatal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions. Vol. 40, *Endocrine*

- Reviews. Endocrine Society; 2019. p. 1109–51.
52. Advami S, Lafrancis D, Bogdanovic E, Taxel P, Raisz LG, Kream BE. Dexamethasone suppresses *in vivo* levels of bone collagen synthesis in neonatal mice. *Bone*. 1997 Jan 1;20(1):41–6.
 53. Wang L, Dong J, Xian CJ. Computational Investigation on the Biomechanical Responses of the Osteocytes to the Compressive Stimulus: A Poroelastic Model. *Biomed Res Int*;2018.
 54. Christopher Gallagher J. 2018 NAMS/Pfizer - Wulf H. Utian endowed lecture: Advances in osteoporosis from 1970 to 2018. Vol. 25, *Menopause*. Lippincott Williams and Wilkins; 2018. p. 1403–17.
 55. Hardy R, Cooper MS. Bone loss in inflammatory disorders. Vol. 201, *Journal of Endocrinology*. J Endocrinol; 2009. p. 309–20.
 56. Lu J, Shin Y, Yen MS, Sun SS. Peak bone mass and patterns of change in total bone mineral density and bone mineral contents from childhood into young adulthood. *J Clin Densitom*. 2016 Apr;19(2):180.
 57. Xue S, Kemal O, Lu M, Lix LM, Leslie WD, Yang S. Age at attainment of peak bone mineral density and its associated factors: The National Health and Nutrition Examination Survey 2005-2014. *Bone*. 2020 Feb;131.
 58. Zhu X, Zheng H. Factors influencing peak bone mass gain. *Front Med*. 2021 Feb ;15(1):53–69.
 59. Chevalley T, Rizzoli R. Acquisition of peak bone mass. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2022 Mar;36(2).
 60. Martineau P, Leslie WD. Trabecular bone score (TBS): Method and applications. *Bone*. 2017 Nov;104:66–72.
 61. Manhard MK, Nyman JS, Does MD. Advances in imaging approaches to fracture risk evaluation. Vol. 181, *Translational Research*. Mosby Inc.; 2017. p. 1–14.
 62. Rosen CJ. The Epidemiology and Pathogenesis of Osteoporosis.[Updated 2020 Jun 21]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder WW, Dungan K, et al., editors. *MDText.com, Inc.*; 2000
 63. Berger-Groch J, Thiesen DM, Ntalos D, Hennes F, Hartel MJ. Assessment of bone quality at the lumbar and sacral spine using CT scans: a retrospective feasibility study in 50 comparing CT and DXA data. *Eur Spine J*. 2020 May;29(5):1098–104.
 64. Raisz LG. Pathogenesis of osteoporosis: Concepts, conflicts, and prospects. Vol. 115, *Journal of Clinical Investigation*. 2005. p. 3318–25.
 65. Mark PB. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease in adults, 1990–2023, and its attributable risk factors: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2023. *Lancet*. 2025;406:2461–82.
 66. Kanis JA, Norton N, Harvey NC, Jacobson T, Johansson H, Lorentzon M, et al. SCOPE 2021: a new scorecard for osteoporosis in Europe. *Arch Osteoporos*. 2021 Dec ;16(1).
 67. Willers C, Norton N, Harvey NC, Jacobson T, Johansson H, Lorentzon M, et al. Osteoporosis in Europe: a compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos*. 2022 Dec;17(1).
 68. Monov S, Rashkov R, Shumnalieva R, Monova D. RISK FACTORS FOR OSTEOPOROSIS. 2013;49(2).
 69. Roman Lay AA, do Nascimento CF, Horta BL, Dias Porto Chiavegatto Filho A. Reproductive factors and age at natural menopause: A systematic review and meta-analysis [Internet]. Vol. 131, *Maturitas*. Elsevier Ireland Ltd; 2020. p. 57–64.
 70. Emmanuelle NE, Marie-Cécile V, Florence T, Jean-François A, Françoise L, Coralie F, et al. Critical role of estrogens on bone homeostasis in both male and female: From physiology to medical implications. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):1–18.
 71. Yaşar P, Ayaz G, User SD, Güpür G, Muyan M. Molecular mechanism of estrogen–estrogen receptor signaling. *Reprod Med Biol*. 2017;16(1):4–20.
 72. Vanderschueren D, Laurent MR, Claessens F, Gielen E, Lagerquist MK, Vandenput L, et al. Sex steroid actions in male bone. Vol. 35, *Endocrine Reviews*. Endocrine Society; 2014. p. 906–60.
 73. Deroo BJ, Buensuceso A V. Minireview: Estrogen Receptor-: Mechanistic Insights from Recent Studies. *Mol Endocrinol*. 2010;24:1703–14.
 74. Nakamura T, Imai Y, Matsumoto T, Sato S, Takeuchi K, Igarashi K, et al. Estrogen Prevents Bone Loss via Estrogen Receptor α and Induction of Fas Ligand in Osteoclasts. *Cell*. 2007 Sep;130(5):811–23.

75. Khosla S, Oursler MJ, Monroe DG. Estrogen and the skeleton [Internet]. Vol. 23, Trends in Endocrinology and Metabolism. Trends Endocrinol Metab; 2012. p. 576–81.
76. Levin ER, Hammes SR. Nuclear receptors outside the nucleus: extranuclear signalling by steroid receptors [Internet]. Vol. 17, Nature Reviews Molecular Cell Biology. Nature Publishing Group; 2016. p. 783–97.
77. Almeida M, Laurent MR, Dubois V, Claessens F, O'Brien CA, Bouillon R, et al. Estrogens and androgens in skeletal physiology and pathophysiology. *Physiol Rev*. 2017 Jan 1;97(1):135–87.
78. Infante M, Fabi A, Cognetti F, Gorini S, Caprio M, Fabbri A. RANKL/RANK/OPG system beyond bone remodeling: Involvement in breast cancer and clinical perspectives. Vol. 38, Journal of Experimental and Clinical Cancer Research. BioMed Central Ltd.; 2019. p. 1–18.
79. Streicher C, Heyny A, Andrukhova O, Haigl B, Slavic S, Schüler C, et al. Estrogen Regulates Bone Turnover by Targeting RANKL Expression in Bone Lining Cells. *Sci Rep*. 2017 Dec;7(1).
80. Parfitt AM, Villanueva AR, Foldes J, Rao DS. Relations between histologic indices of bone formation: Implications for the pathogenesis of spinal osteoporosis. *J Bone Miner Res*. 1995;10(3):466–73.
81. Pacifici R. Editorial: Cytokines, Estrogen, and Postmenopausal Osteoporosis—The Second Decade. *Endocrinology*. 1998 Jun;139(6):2659–61.
82. ROODMAN GD. Advances in Bone Biology: The Osteoclast*. *Endocr Rev*. 1996 Aug;17(4):308–32.
83. Eastell R, O'Neill TW, Hofbauer LC, Langdahl B, Reid IR, Gold DT, et al. Postmenopausal osteoporosis. Nature Publishing Group; Sep 29, 2016 p. 1–16.
84. Magne D, Bluteau G, Fauchoux C, Palmer G, Vignes-Colombeix C, Pilet P, et al. Phosphate is a specific signal for ATDC5 chondrocyte maturation and apoptosis-associated mineralization: Possible implication of apoptosis in the regulation of endochondral ossification. *J Bone Miner Res*. 2003 Aug;18(8):1430–42.
85. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature*. 1999 Jan;397(6717):315–23.
86. Lerner UH. Bone remodeling in post-menopausal osteoporosis. Vol. 85, Journal of Dental Research. SAGE Publications Inc.; 2006. p. 584–95.
87. Rogers A, Saleh G, Hannon RA, Greenfield D, Eastell R. Circulating estradiol and osteoprotegerin as determinants of bone turnover and bone density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Oct;87(10):4470–5.
88. Медицинска Библиотека Ц, Университет -София М. Д-р Михаил Боянов КЛИНИЧНА РЕНТГЕНОВА ДЕНЗИТОМЕТРИЯ И КОЛИЧЕСТВЕН УЛТРАЗВУК НА КОСТИТЕ. 2006;
89. Kanis JA, Johansson H, Harvey NC, McCloskey E V. A brief history of FRAX. Vol. 13, Archives of Osteoporosis. Springer London; 2018. p. 118.
90. LeBoff MS, Greenspan SL, Insogna KL, Lewiecki EM, Saag KG, Singer AJ, et al. The clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2022 Oct ;33(10):2049–102.
91. Borissova AM, Rashkov R, Boyanov M, Shinkov A, Popivanov P, Temelkova N, et al. Femoral neck bone mineral density and 10-year absolute fracture risk in a national representative sample of Bulgarian women aged 50 years and older. *Arch Osteoporos*. 2011 Dec;6(1–2):189–95.
92. Kirilova E, Johansson H, Kirilov N, Vladeva S, Petranova T, Kolarov Z, et al. Epidemiology of hip fractures in Bulgaria: development of a country-specific FRAX model. *Arch Osteoporos*. 2020 Dec 1;15(1).
93. Greenblatt MB, Tsai JN, Wein MN. Bone turnover markers in the diagnosis and monitoring of metabolic bone disease. Vol. 63, Clinical Chemistry. American Association for Clinical Chemistry Inc.; 2017. p. 464–74.
94. Shetty S, Kapoor N, Bondu J, Thomas N, Paul T. Bone turnover markers: Emerging tool in the management of osteoporosis. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism Medknow Publications*; Nov 1, 2016 p. 846–52.
95. Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, Foldes AJ, Garnerio P, Griesmacher A, et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: A need for international reference standards. *Osteoporos Int*. 2011 Feb;22(2):391–420.

96. Terreni A, Pezzati P. Biochemical markers in the follow-up of the osteoporotic patients. Vol. 9, *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. CIC Edizioni Internazionali; 2012. p. 80–4.
97. Lowe D, Sanvictores T, John S, Zubair M, John S. Alkaline Phosphatase. StatPearls StatPearls Publishing; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459201/>
98. Romero Barco CM, Manrique Arija S, Rodríguez Pérez M. Biochemical Markers in Osteoporosis: Usefulness in Clinical Practice. *Reumatol Clínica (English Ed)*. 2012 May;8(3):149–52.
99. Green MR, Sambrook J. Alkaline Phosphatase. *Cold Spring Harb Protoc*. 2020 Aug ;2020(8):330–2.
100. Kuo TR, Chen CH. Bone biomarker for the clinical assessment of osteoporosis: Recent developments and future perspectives. *Biomarker Research BioMed Central Ltd.*; May, 2017 p. 1–9.
101. Boskey AL, Imbert L. Bone quality changes associated with aging and disease: a review. Vol. 1410, *Annals of the New York Academy of Sciences*. Blackwell Publishing Inc.; 2017. p. 93–106.
102. Bailey S, Poundarik AA, Sroga GE, Vashishth D. Structural role of osteocalcin and its modification in bone fracture. *Appl Phys Rev*. 2023 Mar;10(1):11410.
103. Boskey AL. Bone composition: relationship to bone fragility and antiosteoporotic drug effects. *Bonekey Rep*. 2013 Dec 4;2.
104. Zoch ML, Clemens TL, Riddle RC. New Insights into the Biology of Osteocalcin. *Bone*. 2016 Jan;82:42.
105. Yan Q, Zhang T, O'Connor C, Barlow JW, Walsh J, Scalabrino G, et al. The biological responses of vitamin K2: A comprehensive review. *Food Sci Nutr*. 2023 Apr;11(4):1634–56.
106. Moriishi T, Ozasa R, Ishimoto T, Nakano T, Hasegawa T, Miyazaki T, et al. Osteocalcin is necessary for the alignment of apatite crystallites, but not glucose metabolism, testosterone synthesis, or muscle mass. *PLoS Genet*. 2020 May;16(5).
107. Rubert M, De la Piedra C, Rubert M, De la Piedra C. La osteocalcina: de marcador de formación ósea a hormona; y el hueso, un órgano endocrino. *Rev Osteoporos y Metab Miner*. 2020 Apr;12(4):146–51.
108. Ivaska KK, Hentunen TA, Vääräniemi J, Ylipahkala H, Pettersson K, Väänänen HK. Release of Intact and Fragmented Osteocalcin Molecules from Bone Matrix during Bone Resorption in Vitro*. *J Biol Chem*. 2004 Apr;279(18):18361–9.
109. Singer FR, Eyre DR. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice. *Cleve Clin J Med*. 2008 Oct;75(10):739-50.
110. Song L. Calcium and Bone Metabolism Indices. *Advances in Clinical Chemistry Elsevier*; Jan 1, 2017 p. 1–46.
111. Swaminathan R. Biochemical markers of bone turnover. In: *Clinica Chimica Acta*. Clin Chim Acta; 2001. p. 95–105.
112. Maclaughlin J, Holick MF, Maclaughlin J, Holick MF. Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D3. Aging Decreases the Capacity of Human Skin to Produce Vitamin D3. *J Clin Invest*. 1985;76(4).
113. Webb AR, Decosta BR, Holick MF. Sunlight regulates the cutaneous production of vitamin D3 by causing its photodegradation. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;68(5):882–7.
114. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. Vol. 21, *Chemistry and Biology*. Cell Press; 2014. p. 319–29.
115. Christakos S, Ajibade D V., Dhawan P, Fechner AJ, Mady LJ. Vitamin D: Metabolism [Internet]. Vol. 39, *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. Endocrinol Metab Clin North Am; 2010. p. 243–53.
116. Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. 25-Hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (CYP24A1): its important role in the degradation of vitamin D. *Arch Biochem Biophys*. 2012 Jul;523(1):9–18.
117. Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. Vol. 26, *Endocrine Reviews*. Oxford Academic; 2005. p. 662–87.
118. Pike JW. Genome-wide principles of gene regulation by the vitamin D receptor and its activating ligand. Vol. 347, *Molecular and Cellular Endocrinology*. Elsevier; 2011. p. 3–10.
119. Haussler MR, Whitfield GK, Kaneko I, Haussler CA, Hsieh D, Hsieh JC, et al. Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcif Tissue Int*. 2013 Feb;92(2):77–98.

120. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, Van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, et al. Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice. Vol. 29, *Endocrine Reviews*. The Endocrine Society; 2008. p. 726–76.
121. Larriba MJ, González-Sancho JM, Bonilla F, Muñoz A. Interaction of vitamin D with membrane-based signaling pathways. Vol. 5 FEB, *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media SA; 2014
122. Janoušek J, Pilařová V, Macáková K, Nomura A, Veiga-Matos J, Silva DD da, et al. Vitamin D: sources, physiological role, biokinetics, deficiency, therapeutic use, toxicity, and overview of analytical methods for detection of vitamin D and its metabolites. 2022;59(8):517–54.
123. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. Vol. 116, *Journal of Clinical Investigation*. American Society for Clinical Investigation; 2006. p. 2062–72.
124. Gerdhem P, Ringsberg KAM, Obrant KJ, Akesson K. Association between 25-hydroxy vitamin D levels, physical activity, muscle strength and fractures in the prospective population-based OPRA Study of Elderly Women. *Osteoporos Int*. 2005;16(11):1425–31.
125. ПРЕПОРЪКИ за добра практика по Остеопороза БЪЛГАРСКО ДРУЖЕСТВО ПО ЕНДОКРИНОЛОГИЯ МИНИСТЕРСТВО НА ЗДРАВЕОПАЗВАНЕТО. МНЗ. София 2019
126. Krasimirova D, Petrova D, Georgiev O, Cherneva R. Vitamin D the known and unknown. *Thoracic Medicine* 2016; 8(1):58-75.
127. van de Peppel J, van Leeuwen JPTM. Vitamin D and gene networks in human osteoblasts. Vol. 5 APR, *Frontiers in Physiology*. Frontiers Media SA; 2014. p. 137.
128. Delinocente MLB, Luiz MM, de Oliveira DC, de Souza AF, Ramirez PC, de Oliveira Máximo R, et al. Are Serum 25-Hydroxyvitamin D Deficiency and Insufficiency Risk Factors for the Incidence of Dynapenia? *Calcif Tissue Int*. 2022 Dec;111(6):571–9.
129. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr*. 2006 Jul 1;84(1):18–28.
130. Mezquita-Raya P, Muñoz-Torres M, De Dios Luna J, Luna V, Lopez-Rodriguez F, Torres-Vela E, et al. Relation between vitamin D insufficiency, bone density, and bone metabolism in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res*. 2001;16(8):1408–15.
131. Borissova AM, Shinkov A, Vlahov J, Dakovska L, Todorov T, Svinarov D, et al. Vitamin D status in Bulgaria - Winter data. *Arch Osteoporos*. 2013 Dec;8(1–2).
132. Lips P, Van Schoor NM. The effect of vitamin D on bone and osteoporosis. Vol. 25, *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab; 2011. p. 585–91.
133. Voulgaridou G, Papadopoulou SK, Detopoulou P, Tsoumana D, Giaginis C, Kondyli FS, Lymperaki E, Pritsa A. Vitamin D and Calcium in Osteoporosis, and the Role of Bone Turnover Markers: A Narrative Review of Recent Data from RCTs. *Diseases*. 2023 Feb 8;11(1):29.
134. Rizzoli R. Dairy products, yogurts, and bone health. *Am J Clin Nutr*. 2014 May 1;99(5):1256S-1262S.
135. Hill TR, Aspray TJ. The role of vitamin D in maintaining bone health in older people. <http://dx.doi.org/101177/1759720X17692502>. 2017 Feb;9(4):89–95.
136. Raju TN. The Nobel chronicles. 1943: Henrik Carl Peter Dam (1895-1976); and Edward Adelbert Doisy (1893-1986). *Lancet* (London, England). 1999;353(9154):761.
137. Gröber U, Reichrath J, Holick MF, Kisters K. Vitamin K: an old vitamin in a new perspective. <http://www.tandfonline.com/action/authorSubmission?journalCode=kder20&page=instructions>. 2015;6(1):968490.
138. Fusaro M, Gallieni M, Rizzo MA, Stucchi A, Delanaye P, Cavalier E, et al. Vitamin K plasma levels determination in human health. 2017 Jun;55(6):789–99.
139. Bolton-Smith C, Price RJG, Fenton ST, Harrington DJ, Shearer MJ. Compilation of a provisional UK database for the phylloquinone (vitamin K1) content of foods†. *Br J Nutr*. 2000;83(4):389–99.
140. Nimptsch K, Rohrmann S, Kaaks R, Linseisen J. Dietary vitamin K intake in relation to cancer incidence and mortality: results from the Heidelberg cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Heidelberg). *Am J Clin Nutr*. 2010;91(5):1348–58.
141. Mladěnka P, Macáková K, Kujovská Krčmová L, Javorská L, Mrštná K, Carazo A, et al. Vitamin K – sources, physiological role, kinetics, deficiency, detection, therapeutic use, and toxicity. *Nutr Rev*. 2022 Mar 10;80(4):677–98.

142. Booth SL. Vitamin K: food composition and dietary intakes. *Food Nutr Res.* 2012;56.
143. Myneni VD, Mezey E. REGULATION OF BONE REMODELING BY VITAMIN K2. *Oral Dis.* 2017 Nov;23(8):1021.
144. Beulens JWJ, Booth SL, Heuvel EGHM van den, Stoecklin E, Baka A, Vermeer C. The role of menaquinones (vitamin K2) in human health. *Br J Nutr.* 2013 Oct;110(8):1357–68.
145. Okano T. A New Horizon in Vitamin K Research. *Yakugaku Zasshi.* 2016;136(8):1141-59.
146. Vermeer C. Vitamin K: the effect on health beyond coagulation – an overview. *Food Nutr Res.* 2012;56.
147. Iwamoto J, Sato Y, Takeda T, Matsumoto H, J I, Y S, et al. High-dose vitamin K supplementation reduces fracture incidence in postmenopausal women: a review of the literature. *Nutr Res.* 2009;Apr;29(4):221–8.
148. Cranenburg E, Brandenburg V, Vermeer C, Stenger M, Mühlenbruch G, Mahnken A, et al. Uncarboxylated matrix Gla protein (ucMGP) is associated with coronary artery calcification in haemodialysis patients. *Thromb Haemost.* 2009;101(02):359–66.
149. Palermo A, Tuccinardi D, D’Onofrio L, Watanabe M, Maggi D, Maurizi AR, et al. Vitamin K and osteoporosis: Myth or reality? *Metabolism.* 2017 May 1;70:57–71.
150. Khalil Z, Alam B, Akbari AR, Sharma H. The medical benefits of vitamin k2 on calcium-related disorders. *Nutrients.* 2021 Feb 1;13(2):1–17.
151. Turck D, Bresson J-L, Burlingame B, Dean T, Fairweather-Tait S, Heinonen M, et al. Dietary reference values for vitamin K EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *EFSA J.* 2017;15(5):4780.
152. McCann JC, Ames BN. Vitamin K, an example of triage theory: is micronutrient inadequacy linked to diseases of aging? *Am J Clin Nutr.* 2009; Oct;90(4):889–907.
153. Sato T, Schurgers LJ, Uenishi K. Comparison of menaquinone-4 and menaquinone-7 bioavailability in healthy women. *Nutr J.* 2012 Nov 12;11:93.
154. Neogi T, Booth SL, Zhang YQ, Jacques PF, Terkeltaub R, Aliabadi P, Felson DT. Low vitamin K status is associated with osteoarthritis in the hand and knee. *Arthritis Rheum.* 2006 Apr;54(4):1255-61.
155. Heiss C, Hoesel LM, Wehr U, Wenisch S, Drosse I, Alt V, et al. Diagnosis of Osteoporosis with Vitamin K as a New Biochemical Marker. *Vitam Horm.* 2008 Jan 1;78:417–34.
156. Jaghsi S, Hammoud T, Haddad S. Relation Between Circulating Vitamin K1 and Osteoporosis in the Lumbar Spine in Syrian Post-Menopausal Women. *Open Rheumatol J.* 2018 Jan 22;12:1-9.
157. Ej B. The Prevalence of Vitamin K Deficiency/Insufficiency, and Recommendations for Increased Intake. *J Hum Nutr Food Sci.* 2016;4(1):1077.
158. Van Ballegooijen AJ, Pilz S, Tomaschitz A, Grubler MR, Verheyen N. The Synergistic Interplay between Vitamins D and K for Bone and Cardiovascular Health: A Narrative Review. *Int J Endocrinol.* 2017;2017.
159. Cancela ML, Laizé V, Conceição N, ML C, V L, N C. Matrix Gla protein and osteocalcin: from gene duplication to neofunctionalization. *Arch Biochem Biophys.* 2014 Nov 1;561:56–63.
160. Manolagas SC. Osteocalcin promotes bone mineralization but is not a hormone. *PLOS Genet.* 2020 Jun 1;16(6):e1008714.
161. Wasilewski GB, Vervloet MG, Schurgers LJ. The Bone-Vasculature Axis: Calcium Supplementation and the Role of Vitamin K. *Front Cardiovasc Med.* 2019 Feb 5;6:6.
162. Miyake N, Hoshi K, Sano Y, Kikuchi K, Tadano K, Koshihara Y. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 promotes vitamin K2 metabolism in human osteoblasts. *Osteoporos Int.* 2001;12(8):680–7.
163. Booth SL, Rajabi A Al. Determinants of Vitamin K Status in Humans. *Vitam Horm.* 2008 Jan 1;78:1–22.
164. Lin X, Brennan-Speranza TC, Levinger I, Yeap BB. Undercarboxylated Osteocalcin: Experimental and Human Evidence for a Role in Glucose Homeostasis and Muscle Regulation of Insulin Sensitivity. *Nutrients.* 2018 Jul 1;10(7).
165. Schurgers LJ, Teunissen KJF, Hamulyák K, Knapen MHJ, Vik H, Vermeer C, et al. Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7. *Blood.* 2007 Apr 15;109(8):3279–83.
166. McKeown NM, Jacques PF, Gundberg CM, Peterson JW, Tucker KL, Kiel DP, et al. Dietary and Nondietary Determinants of Vitamin K Biochemical Measures in Men and Women. *J Nutr.* 2002 Jun 1;132(6):1329–34.

167. Golden NH. Bones and Birth Control in Adolescent Girls. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2020 Jun 1;33(3):249–54.
168. Fugiel J, Ignasiak Z, Skrzek A, Sławińska T. Evaluation of Relationships between Menopause Onset Age and Bone Mineral Density and Muscle Strength in Women from South-Western Poland. *Biomed Res Int*. 2020 Jun 10;2020:5410253.
169. Sirikul W, Siri-Angkul N, Chattipakorn N, Chattipakorn SC. Fibroblast Growth Factor 23 and Osteoporosis: Evidence from Bench to Bedside. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 1;23(5).
170. Warming L, Hassager C, Christiansen C. Changes in bone mineral density with age in men and women: A longitudinal study. *Osteoporos Int*. 2002;13(2):105–12.
171. Ohta H, Sugimoto I, Masuda A, Komukai S, Suda Y, Makita K, et al. Decreased bone mineral density associated with early menopause progresses for at least ten years: Cross-sectional comparisons between early and normal menopausal women. *Bone*. 1996 Mar 1;18(3):227–31.
172. Berger C, Langsetmo L, Joseph L, Hanley DA, Davison KS, Josse R, et al. Change in bone mineral density as a function of age in women and men and association with the use of antiresorptive agents. *C Can Med Assoc J*. 2008 Jun 6;178(13):1660.
173. O'Flaherty EJ. Modeling Normal Aging Bone Loss, with Consideration of Bone Loss in Osteoporosis. *Toxicol Sci*. 2000 May 1;55(1):171–88.
174. Eriksen EF, Hodgson SF, Eastell R, Cedel SL, O'Fallon WM, Riggs BL. Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption, and bone loss at tissue and cellular levels. *J Bone Miner Res*. 1990 Apr;5(4):311–9.
175. McMillan LB, Zengin A, Ebeling PR, Scott D. Prescribing Physical Activity for the Prevention and Treatment of Osteoporosis in Older Adults. *Healthc* 2017, Vol 5, Page 85. 2017 Nov 6;5(4):85.
176. Alexandre C, Vico L. Pathophysiology of bone loss in disuse osteoporosis. *Jt Bone Spine*. 2011 Dec 1;78(6):572–6.
177. Belavý DL, Miokovic T, Armbrrecht G, Richardson CA, Rittweger J, Felsenberg D. Differential atrophy of the lower-limb musculature during prolonged bed-rest. *Eur J Appl Physiol*. 2009 Aug 13;107(4):489–99.
178. Lau RY, Guo X. A Review on Current Osteoporosis Research: With Special Focus on Disuse Bone Loss. *J Osteoporos*. 2011;2011:1–6.
179. Reid IR. Relationships among body mass, its components, and bone. *Bone*. 2002 Nov 1;31(5):547–55.
180. Mizuma N, Mizuma M, Yoshinaga M, Iwamoto I, Matsuo T, Douchi T, et al. Difference in the relative contribution of lean and fat mass components to bone mineral density with generation. *J Obstet Gynaecol Res*. 2006 Apr 1;32(2):184–9.
181. Migliaccio S, Greco EA, Fornari R, Donini LM, Lenzi A. Is obesity in women protective against osteoporosis? *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2011 Jul 2;4:273–82.
182. Compston JE, Flahive J, Hosmer DW, Watts NB, Siris ES, Silverman S, et al. GLOW Investigators. Relationship of weight, height, and body mass index with fracture risk at different sites in postmenopausal women: the Global Longitudinal study of Osteoporosis in Women (GLOW). *J Bone Miner Res*. 2014 Feb;29(2):487–93.
183. Goyal A, Malla VG. Relationship of body mass index with bone mineral density in postmenopausal women: an Indian perspective. *Int J Reprod Contraception, Obstet Gynecol*. 2019 Oct 23;8(11):4490–5.
184. Gurban CV, Balaş MO, Vlad MM, Caraba AE, Jianu AM, Bernad ES, et al. Bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis and their correlation with bone mineral density and menopause duration. *Rom J Morphol Embryol*. 2019 Jan 1;60(4):1127–35.
185. Nikolov MN, Lambova S, Nikolov N. Association between body composition and bone mineral density assessed by whole body dual-energy X-ray absorptiometry. *Rheumatol*. 2022 Oct 22;30(3):3–14.
186. Imerci A, Yalın Kılınç C, Aydoğan NH, Karalezli MN, Savran A. Fracture Risk Assessment Tool (FRAX®) Results Calculated With and Without Bone Mineral Density Values for the Evaluation of Fracture Risk in Postmenopausal Women With Osteopenia. *J Clin Densitom*. 2018 Oct 1;21(4):464–71.
187. Favarato MHS, Almeida MF de, Lichtenstein A, Martins M de A, Junior MF. Risk of osteoporotic fracture in women using the FRAX tool with and without bone mineral density score in patients followed at a tertiary outpatient clinic – An observational study. *Clinics*. 2022 Jan 1;77.

188. Tarride JE, Burke N, Leslie WD, Morin SN, Adachi JD, Papaioannou A, et al. Loss of health related quality of life following low-trauma fractures in the elderly. *BMC Geriatr.* 2016;16(1).
189. Compston JE, Drake MT. Defining Very High Fracture Risk: Is FRAX Fit for Purpose? *J Bone Miner Res.* 2020 Aug 1;35(8):1399–403.
190. Kirilova EK, Vladeva SG. ASSESSMENT OF THE FRACTURE RISK THROUGH FRACTURE RISK ASSESSMENT TOOL (FRAX) IN POSTMENOPAUSAL WOMEN. *Rheumatol.* 2021 Oct 25;29(4):40–6.
191. Ciubean AD, Ungur RA, Irsay L, Ciortea VM, Borda IM, Onac I, et al. Health-related quality of life in Romanian postmenopausal women with osteoporosis and fragility fractures. *Clin Interv Aging.* 2018;13:2465.
192. Vimalraj S. Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization. *Gene.* 2020 Sep 5;754.
193. Kadhim Ali N. Osteoporosis & Physical Activity Estimation of Some Mineral (Calcium, Phosphorous, Vitamin 25 (OH) D and Alkaline Phosphatase) in Osteoporosis Patients in Kirkuk City. 2018;
194. Brichacek AL, Brown CM. Alkaline Phosphatase: A Potential Biomarker for Stroke and Implications for Treatment. *Metab Brain Dis.* 2019 Feb 1;34(1):3.
195. Rai AD, Sherpa ML, Singh A, Thejaswi SG, Bhutia RD. Bone Alkaline Phosphatase and Urine Hydroxyproline Assay in Pre and Postmenopausal Women in the State of Sikkim and its Correlation with Bone Mineral Density. *J Midlife Health.* 2021 Oct 1;12(4):304.
196. Pujari S. International Journal of Clinical Biochemistry and Research Study of bone turnover markers-Alkaline phosphatase and urinary hydroxyproline in postmenopausal women. *Int J Clin Biochem Res.* 2021;8(1):12–4.
197. Khadka B, Timalsina B, Gupta S, Acharya D. Serum Calcium and Alkaline Phosphatase Level among Pre-Menopausal and Post-Menopausal Women in Rupandehi District of Nepal: A Co-Relational Study. *Int J Heal Sci Res.* 2017;7(8):136.
198. Atalay S, Elci A, Kayadibi H, Onder CB, Aka N. Diagnostic Utility of Osteocalcin, Undercarboxylated Osteocalcin, and Alkaline Phosphatase for Osteoporosis in Premenopausal and Postmenopausal Women. *Ann Lab Med.* 2012 Jan;32(1):23.
199. Mukaiyama K, Kamimura M, Uchiyama S, Ikegami S, Nakamura Y, Kato H. Elevation of serum alkaline phosphatase (ALP) level in postmenopausal women is caused by high bone turnover. *Aging Clin Exp Res.* 2015 Jul 24;27(4):413–8.
200. Dominguez Cabrera C, Sosa Henríquez M, Traba ML, Alvarez Villafañe E, De La Piedra C. Biochemical markers of bone formation in the study of postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int.* 1998;8(2):147–51.
201. Yilmaz N, Bayram M, Erbağci AB, Kilniçer MS. Diagnostic value of biochemical markers of bone turnover and postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem Lab Med.* 1999 Feb 1;37(2):137–43.
202. Friedman AW. Important Determinants of Bone Strength. *JCR J Clin Rheumatol.* 2006 Apr;12(2):70–7.
203. Compston J. Bone quality: What is it and how is it measured? Vol. 50, *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia;* 2006. p. 579–85.
204. Al-khakani MF, Radhi W, Moussa A. Assessment of serum calcium, phosphorus, magnesium, iron, and zinc in osteoporosis postmenopausal women. *Res J Pharm Biol Chem Sci.* 2017;5(8):51–6.
205. Bhattarai HK, Shrestha S, Rokka K, Shakya R. Vitamin D, Calcium, Parathyroid Hormone, and Sex Steroids in Bone Health and Effects of Aging. Vol. 2020, *Journal of Osteoporosis. Hindawi Limited;* 2020.
206. Ciosek Ż, Kot K, Kosik-Bogacka D, Łanocha-Arendarczyk N, Rotter I. The effects of calcium, magnesium, phosphorus, fluoride, and lead on bone tissue. *Biomolecules.* 2021;11(4).
207. Shaker JL, Deftos L. Calcium and Phosphate Homeostasis. *Endocr Reprod Physiol.* 2023 May 17;77-e1.
208. Bailey RL, Dodd KW, Goldman JA, Gahche JJ, Dwyer JT, Moshfegh AJ, et al. Estimation of total usual calcium and vitamin D intakes in the United States. *J Nutr.* 2010 Apr;140(4):817–22.
209. Butusov M, Jernelöv A. Phosphorus [Internet]. New York, NY: Springer New York; 2013. (SpringerBriefs in Environmental Science; vol. 9).

210. Chowdary SM, Srikanth S, Lavanya Y. Vitamin D, Serum Calcium and Bone Mineral Density in pre and postmenopausal women - a pilot study. *Indian Journal of Basic and Applied Medical Research*. 2015 Dec 5,(1):371-78.
211. Al-Daghri NM, Aziz I, Yakout S, Aljohani NJ, Al-Saleh Y, Amer OE, et al. Inflammation as a contributing factor among postmenopausal Saudi women with osteoporosis. *Med (United States)*. 2017;96(4).
212. Sunithapriya, Thirumalaipandiyam, Sasivathanam. Comparison of Bone Biomarkers in Postmenopausal Women. *Int J Sci Study*. 2016;112(9):112.
213. Tariq S, Tariq S, Lone KP, Khaliq S. Alkaline phosphatase is a predictor of Bone Mineral Density in postmenopausal females. *Pak J Med Sci*. 2019;35(3):749-753.
214. Watts NB. Estrogens, Estrogen Agonists/Antagonists, and Calcitonin. In: *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism: Eighth Edition*. Wiley Blackwell; 2013. p. 408–11.
215. Cerdà D, Peris P, Monegal A, Albaladejo C, Martínez De Osaba MJ, Surís X, et al. [Increase of PTH in post-menopausal osteoporosis]. *Rev Clin Esp*. 2011 Jul;211(7):338–43.
216. Cusano NE, Silverberg SJ, Bilezikian JP. Normocalcemic PHPT. *Parathyroids Basic Clin Concepts Third Ed*. 2015 Jan 1;331–9.
217. Tay D, Cremers S, Bilezikian JP. Optimal dosing and delivery of parathyroid hormone and its analogues for osteoporosis and hypoparathyroidism – translating the pharmacology. *Br J Clin Pharmacol*. 2018 Feb 1;84(2):252–67.
218. Khosla S. Parathyroid Hormone in the Pathophysiology of Osteoporosis. *Parathyroids Basic Clin Concepts Third Ed*. 2014 Sep 5;827–35.
219. Qu Z, Yang F, Hong J, Wang W, Yan S. Parathyroid Hormone and Bone Mineral Density: A Mendelian Randomization Study. 2020 Nov 1;105(11).
220. Khundmiri SJ, Murray RD, Lederer E. PTH and Vitamin D. *Compr Physiol*. 2016 Apr 1;6(2):561–601.
221. Simeonova T, Stefanova K, Himcheva I, Yordanova-Laleva P, Ruseva B, Dimitrova A. ASSESSMENT OF VITAMIN D STATUS AND CAL-CIUM-PHOSPHORUS METABOLISM IN POST-MENOPAUSAL WOMEN WITH OSTEOPOROSIS. *J IMAB*. 2020;(1).
222. De Martinis M, Allegra A, Sirufo MM, Tonacci A, Pioggia G, Raggiunti M, et al. Vitamin D Deficiency, Osteoporosis and Effect on Autoimmune Diseases and Hematopoiesis: A Review. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 2;22(16):8855.
223. Maier GS, Seeger JB, Horas K, Roth KE, Kurth AA, Maus U, et al. The prevalence of vitamin D deficiency in patients with vertebral fragility fractures. 2015;(1).
224. Guney G, Sener-Simsek B, Tokmak A, Yucel A, Buyukkagnici U, Yilmaz N, et al. Assessment of the Relationship between Serum Vitamin D and Osteocalcin Levels with Metabolic Syndrome in Non-Osteoporotic Postmenopausal Women. *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2019 Mar 22;79(3):293–9.
225. Wimalawansa SJ, Razzaque MS, Al-Daghri NM. Calcium and vitamin D in human health: Hype or real? Vol. 180, *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. Elsevier Ltd; 2018. p. 4–14.
226. Lips P, Cashman KD, Lamberg-Allardt C, Bischoff-Ferrari HA, Obermayer-Pietsch B, Bianchi ML, et al. Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European Calcified Tissue Society. *Eur J Endocrinol*. 2019 Apr 1;180(4):P23–54.
227. Gaugris S, Heaney RP, Boonen S, Kurth H, Bentkover JD, Sen SS. Vitamin D inadequacy among post-menopausal women: A systematic review. *QJM - Mon J Assoc Physicians*. 2005 Sep 1;98(9):667–76.
228. Kuchuk NO, Van Schoor NM, Pluijm SM, Chines A, Lips P. Vitamin D Status, Parathyroid Function, Bone Turnover, and BMD in Postmenopausal Women With Osteoporosis: Global Perspective. *J Bone Miner Res*. 2009 Apr 1;24(4):693–701.
229. Shahnazari B, Moghimi J, Foroutan M, Mirmohammadkhani M, Ghorbani A. Comparison of the effect of Vitamin D on osteoporosis and osteoporotic patients with healthy individuals referred to the Bone Density Measurement Center. *Biomol Concepts*. 2019 Jan 1;10(1):44–50.
230. Gómez-De-Tejada Romero MJ, Navarro Rodríguez MDC, Saavedra Santana P, Quesada Gómez JM, Jódar Gimeno E, Sosa Henríquez M. Prevalence of osteoporosis, vertebral fractures and hypovitaminosis D in postmenopausal women living in a rural environment. *Maturitas*. 2014

Mar;77(3):282–6.

231. Simeonova T, Stefanova K, Himcheva I, Yordanova-Laleva P, Dimitrova A. Vitamin D status, bone mineral density and body mass index in patients with newly diagnosed postmenopausal osteoporosis and healthy menopausal women. *RBJ* [Internet]. 18Oct.2019 [cited 18Apr.2026];27(3):18
232. Димитрова Р. СРАВНИТЕЛНА ХАРАКТЕРИСТИКА НА МЕТАБОЛИТНИ МАРКЕРИ ПРИ ОЦЕНКА НА КОСТНОТО ЗДРАВЕ В ПОСТМЕНОПАУЗАЛНА ВЪЗРАСТ. 2022; 65-6
233. Papadakis G, Keramidis I, Kakava K, Pappa T, Villiotou V, Triantafyllou E, Drosou A, Tertipi A, Kaltzidou V, Pappas A. Seasonal variation of serum vitamin D among Greek female patients with osteoporosis. *In Vivo*. 2015 May-Jun;29(3):409-13.
234. Anetakis C, Mitka S, Chatzidimitriou M, Anagnostopoulos K, Eleftheriou P, Lialiaris T. Vitamin D Status in Osteoporotic and Diabetic Patients and Athletic Healthy Individuals from Northern Greece. *Reports Biochem Mol Biol*. 2023 Feb 1;11(4):565.
235. Aspell N, Laird E, Healy M, Shannon T, Lawlor B, O’Sullivan M. The Prevalence and Determinants of Vitamin D Status in Community-Dwelling Older Adults: Results from the English Longitudinal Study of Ageing (ELSA). *Nutrients*. 2019 Jun 1;11(6).
236. Remelli F, Vitali A, Zurlo A, Volpato S. Vitamin D Deficiency and Sarcopenia in Older Persons. *Nutr* 2019, Vol 11, Page 2861. 2019 Nov 21;11(12):2861.
237. Kupisz-Urbańska M, Łukaszkiwicz J, Marcinowska-Suchowierska E, Kupisz-Urbańska M, Łukaszkiwicz J, Marcinowska-Suchowierska E. Vitamin D in Elderly. *Vitam D* [Internet]. 2021 May 7.
238. Benedik E. Sources of vitamin D for humans. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* [Internet]. 2022 Mar 1;92(2):118–25.
239. Shinkov A, Borissova AM, Dakovska L, Vlahov J, Kassabova L, Svinarov D, et al. Differences in the prevalence of vitamin D deficiency and hip fractures in nursing home residents and independently living elderly. *Arch Endocrinol Metab*. 2016 Feb 23;60(3):217–22.
240. Bandeira F, Griz L, Freese E, Lima DC, Thé AC, Diniz ET, Marques TF, Lucena CS. Vitamin D deficiency and its relationship with bone mineral density among postmenopausal women living in the tropics. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2010 Mar;54(2):227-32.
241. Rizzoli R, Stevenson JC, Bauer JM, Van Loon LJC, Walrand S, Kanis JA, et al. The role of dietary protein and vitamin D in maintaining musculoskeletal health in postmenopausal women: A consensus statement from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Maturitas*. 2014;79(1):122–32.
242. Yuan R, Ma S, Zhu X, Li J, Liang Y, Liu T, et al. Core level regulatory network of osteoblast as molecular mechanism for osteoporosis and treatment. *Oncotarget*. 2016;7(4):3692–701.
243. Wang N, Chen Y, Ji J, Chang J, Yu S, Yu B. The relationship between serum vitamin D and fracture risk in the elderly: a meta-analysis. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research* Feb 27, 2020 p. 1–10.
244. Yang XJ, Sang HX, Bai B, Ma XY, Xu C, Lei W, et al. Ex Vivo Evaluation of Hip Fracture Risk by Proximal Femur Geometry and Bone Mineral Density in Elderly Chinese Women. *Med Sci Monit*. 2018 Oct 18;24:7438.
245. Rassouli A, Milanian I, Moslemi-Zadeh M. Determination of serum 25-hydroxyvitamin D(3) levels in early postmenopausal Iranian women: relationship with bone mineral density. *Bone*. 2001;29(5):428–30.
246. Napoli N, Strollo R, Sprini D, Maddaloni E, Rini GB, Carmina E. Serum 25-OH Vitamin D in relation to Bone Mineral Density and Bone Turnover. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:487463.
247. Alkhenizan A, Mahmoud A, Hussain A, Gabr A, Alsoghayer S, Eldali A. The Relationship between 25 (OH) D Levels (Vitamin D) and Bone Mineral Density (BMD) in a Saudi Population in a Community-Based Setting *PLoS One*. 2017 Jan 1;12(1).
248. Dadonienė J, Čypienė A, Rinkūnienė E, Badarienė J, Burca J, Sakaitė I, et al. Association between vitamin D and bone mineral density in post-menopausal women with metabolic syndrome. *Acta medica Litu*. 2015 May 18;22(1):7–14.
249. Garnero P, Munoz F, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Associations of vitamin D status with bone mineral density, bone turnover, bone loss and fracture risk in healthy postmenopausal women. The OFELY study. *Bone*. 2007 Mar;40(3):716–22.

250. Labronici PJ, Blunck SS, Lana FR, Esteves BB, Franco JS, Fukuyama JM, et al. Vitamin D and its Relation to Bone Mineral Density in Postmenopause Women. 2013 May 1;48(3):228–35.
251. Zhou P, Hu J, Xi P, Zhang N, Yang B, Zheng J, et al. Survey on the levels of 25-hydroxy vitamin D and bone metabolic markers and evaluation of their correlations with osteoporosis in perimenopausal woman in Xi'an region. *PLoS One*. 2017 Jul 1;12(7).
252. Tang Y, Wei F, Yu M, Zhou H, Wang Y, Cui Z, et al. Absence of causal association between Vitamin D and bone mineral density across the lifespan: a Mendelian randomization study. *Sci Reports* 2022 121. 2022 Jun 21;12(1).
253. Feng Y, Cheng G, Wang H, Chen B. The associations between serum 25-hydroxyvitamin D level and the risk of total fracture and hip fracture. *Osteoporos Int*. 2017 May 1;28(5):1641–52.
254. Yao P, Bennett D, Mafham M, Lin X, Chen Z, Armitage J, et al. Vitamin D and Calcium for the Prevention of Fracture: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw Open*. 2019 Dec 2;2(12):e1917789–e1917789.
255. Helynen N, Rantanen L, Lehenkari P, Valkealahti M. Predisposing factors for a second fragile hip fracture in a population of 1130 patients with hip fractures, treated at Oulu University Hospital in 2013–2016: a retrospective study. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2022 Mar 15;143(5):2261–71.
256. Steingrimsdottir L, Halldorsson TI, Siggeirsdottir K, Cotch MF, Einarsdottir BO, Eiriksdottir G, et al. Hip fractures and bone mineral density in the elderly-importance of serum 25-hydroxyvitamin D. *PLoS One*. 2014 Mar 12;9(3).
257. Moniz C, Dew T, Dixon T. Prevalence of vitamin D inadequacy in osteoporotic hip fracture patients in London. *Curr Med Res Opin*. 2005 Dec;21(12):1891–4.
258. Looker AC, Mussolino ME. Serum 25-hydroxyvitamin D and hip fracture risk in older U.S. white adults. *J Bone Miner Res*. 2008 Jan;23(1):143–50.
259. Holvik K, Ahmed LA, Forsmo S, Gjesdal CG, Grimnes G, Samuelsen SO, et al. Low serum levels of 25-hydroxyvitamin D predict hip fracture in the elderly: a NOREPOS study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(8):3341–50.
260. Ramos M, Ramos MM. Vitamin D and fragility fractures. *Rev Osteoporos Metab Min*. 2017;9:40–4.
261. Dai Z, Wang R, Ang LW, Yuan JM, Koh WP. Bone turnover biomarkers and risk of osteoporotic hip fracture in an Asian population. *Bone*. 2016 Feb 1;83:171–7.
262. Ringe JD. The effect of Vitamin D on falls and fractures. *Scand J Clin Lab Invest*. 2012 Apr;72(SUPPL. 243):73–8.
263. Maier GS, Seeger JB, Horas K, Roth KE, Kurth AA, Maus U. The prevalence of vitamin D deficiency in patients with vertebral fragility fractures. *Bone Joint J*. 2015 Jan 1;97-B(1):89–93.
264. Tanaka S, Kuroda T, Yamazaki Y, Shiraki Y, Yoshimura N, Shiraki M. Serum 25-hydroxyvitamin D below 25 ng/mL is a risk factor for long bone fracture comparable to bone mineral density in Japanese postmenopausal women. *J Bone Miner Metab*. 2014 Sep 1;32(5):514–23.
265. El maataoui A, El Maghraoui A, Biaz A, Elmachtani SI, Dami A, Bouhsain S, et al. Relationships between vertebral fractures, sex hormones and vitamin D in Moroccan postmenopausal women: a cross sectional study. *BMC Womens Health*. 2015 May 13;15(1).
266. Milenković S, Dimić A, Stanković A, Aleksić I, Petrović D. Vitamin d status in women with postmenopausal osteoporosis. *Acta Med Medianae* 2017;49:16 8.
267. Zhang L, Chan C, Yang Y, Liu B, Zhu Y, Chen R, et al. Vitamin D Deficiency/Insufficiency Is Associated with Risk of Osteoporotic Thoracolumbar Junction Vertebral Fractures. *Med Sci Monit*. 2019 Nov 3;25:8260.
268. Ying Y, Wei L, Ying Y, Wei L. Relationship between bone metabolism biochemical indexes and osteoporotic lumbar vertebrae fracture after menopause. *J Clin Med Pract* 2020, Vol 24, Issue 7, Pages 112-115;24(7):112–5.
269. Mosekilde L. Vitamin D and the elderly. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Mar;62(3):265–81.
270. Dawson-Hughes B. Serum 25-hydroxyvitamin D and functional outcomes in the elderly. *Am J Clin Nutr*. 2008 Aug 1;88(2).
271. Hewison M. An update on vitamin D and human immunity. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012 Mar;76(3):315–25.

272. Weaver CM, Alexander DD, Boushey CJ, Dawson-Hughes B, Lappe JM, LeBoff MS, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and risk of fractures: an updated meta-analysis from the National Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int*. 2016 Jan 1;27(1):367–76.
273. Lips P. Which circulating level of 25-hydroxyvitamin D is appropriate? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004 May 1;89–90:611–4.
274. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int*. 2005 Jul 18;16(7):713–6.
275. Buranasinsup S, Bunyaratavej N. The intriguing correlation between undercarboxylated osteocalcin and vitamin D. *J Med Assoc Thail*. 2015 Sep 1;98:S16–20.
276. Alam MSF, Rana MA, Alam MSF. Osteocalcin, a promising marker of osteoporosis: evaluation in post-menopausal females with osteoporosis. *Int J Adv Med*. 2019 Nov 25;6(6):1746–9.
277. Kerner SA, Scott RA, Pike JW. Sequence elements in the human osteocalcin gene confer basal activation and inducible response to hormonal vitamin D3. 1989 Jun 1;86(12):4455–9.
278. Kline G, Orton D, Sadrzadeh H. Bone metabolism. *Endocr Biomarkers Clin Clin Chem Partnersh*. 2017 Jan 1;157–80.
279. Jagtap VR, Ganu J V., Nagane NS. BMD and Serum Intact Osteocalcin in Postmenopausal Osteoporosis Women. *Indian J Clin Biochem*. 2011 Jan;26(1):70.
280. Civitelli R, Armamento-Villareal R, Napoli N. Bone turnover markers: understanding their value in clinical trials and clinical practice. *Osteoporos Int* 2009 206. 2009 Feb 4;20(6):843–51.
281. Komori T. What is the function of osteocalcin? *J Oral Biosci*. 2020 Sep 1;62(3):223–7.
282. Lancaster CE, Harrison RE (2017) Effects of Vitamin D, K1, and K2 Supplementation on Bone Formation by Osteoblasts In Vitro: A Meta-analysis. *J Biom Biostat* 8: 365.
283. Park SG, Jeong SU, Lee JH, Ryu SH, Jeong HJ, Sim YJ, et al. The Changes of CTX, DPD, Osteocalcin, and Bone Mineral Density During the Postmenopausal Period. *Ann Rehabil Med*. 2018 Jun 1;42(3):441–8.
284. Kalaiselvi VS, Prabhu K, Ramesh M, Venkatesan V, VS K, K P, et al. The Association of Serum Osteocalcin with the Bone Mineral Density in Post Menopausal Women. *J Clin Diagn Res*. 2013 May 1;7(5):814.
285. Singh S, Kumar D, Lal AK. Serum Osteocalcin as a Diagnostic Biomarker for Primary Osteoporosis in Women. *J Clin Diagn Res*. 2015 Aug 1;9(8):RC04.
286. Hannemann A, Friedrich N, Spielhagen C, Rettig R, Ittermann T, Nauck M, et al. Reference intervals for serum osteocalcin concentrations in adult men and women from the study of health in Pomerania. 2013;13(1).
287. Diemar SS, Møllehave LT, Quardon N, Lylloff L, Thuesen BH, Linneberg A, et al. Effects of age and sex on osteocalcin and bone-specific alkaline phosphatase—reference intervals and confounders for two bone formation markers. *Arch Osteoporos* 2020 151. 2020 Feb 24;15(1):1–10.
288. Kord-Varkaneh H, Djafarian K, Khorshidi M, Shab-Bidar S. Association between serum osteocalcin and body mass index: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2017 Oct;58(1):24–32.
289. Hendrijantini N, Alie R, Setiawati R, Astuti ER, Wardhana MP. The Correlation of Bone Mineral Density (BMD), Body Mass Index (BMI) and Osteocalcin in Postmenopausal Women. *Biology and medicine*. 2016; 8:1-5.
290. Alissa EM, Alnahdi WA, Alama N, Ferns GA. Serum osteocalcin is associated with dietary vitamin D, body weight and serum magnesium in postmenopausal women with and without significant coronary artery disease. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2014;23(2):246–55.
291. Cundy T, Reid IR, Grey A. Metabolic bone disease. *Clin Biochem Metab Clin Asp Third Ed*. 2014 Jan 1;604–35.
292. Stein A, Müller A, Lehmann G, Hein G, Stein G, Kauf E, et al. Relationship between vitamin K and vitamin D levels in patients with osteoporosis. *Vitam und Zusatzstoffe der Ernährung von Mensch und Tier 8 Symp 26 und 27 Sept 2001, Jena/Thüringen, Ger*. 2001;123–8.
293. Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin Invest*. 1993;91(4):1769–74.
294. Saadi HF, Nagelkerke N, Benedict S, Qazaq HS, Zilahi E, Mohamadiyah MK, et al. Predictors and relationships of serum 25 hydroxyvitamin D concentration with bone turnover markers, bone mineral density, and vitamin D receptor genotype in Emirati women. *Bone*. 2006 Nov;39(5):1136–43.

295. Melton Iii LJ, Khosla S, Atkinson EJ, Michael O'fallon W, Riggs BL. Relationship of Bone Turnover to Bone Density and Fractures. *J Bone Min Res.* 1997;12:1083–91.
296. Faulkner KG. Bone matters: Are density increases necessary to reduce fracture risk? Vol. 15, *Journal of Bone and Mineral Research.* American Society for Bone and Mineral Research; 2000. p. 183–7.
297. Buchbinder R, Johnston R V., Rischin KJ, Homik J, Jones CA, Golmohammadi K, et al. Percutaneous vertebroplasty for osteoporotic vertebral compression fracture. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018 Apr 5;2018(4).
298. Vasikaran SD. Utility of biochemical markers of bone turnover and bone mineral density in management of osteoporosis. Vol. 45, *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences.* Crit Rev Clin Lab Sci; 2008. p. 221–58.
299. Fisher A, Fisher L, Srikusalanukul W, Smith PN. Bone Turnover Status: Classification Model and Clinical Implications. *Int J Med Sci.* 2018 Feb 1;15(4):323–38.
300. Chapurlat RD, Garnero P, Brárt G, Meunier PJ, Delmas PD. Serum type I collagen breakdown product (serum CTX) predicts hip fracture risk in elderly women: The EPIDOS study. *Bone.* 2000 Aug 1;27(2):283–6.
301. Lie C, Susanto TM, Susanto LTM. Serum osteocalcin and bone mineral density in postmenopausal women. *Universa Med.* 2011 Dec 23;30(3):155–61.
302. Mohamed AS, Khalifa AI, Abotaleb AA-M, Eledesoky NA-R. Comparative Study Between Periostin And Osteocalcin As Biomarkers For Osteoporosis And Fracture Risk In Egyptian Postmenopausal Women. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2020 Sep 1;12:17–22.
303. Mohammed NS, Turki KM, Munshed MH. Serum Osteocalcin and Serum Osteopontin Levels in Osteoporotic Postmenopausal Women with and without Vertebral Fractures. *J Fac Med Baghdad.* 2015 Oct 1;57(3):257–62.
304. Feng F, Zhou C, Huang P, Zhu Q, Wang G, Zhou B. Value of Biochemical Indexes of Bone Metabolism in Predicting Osteoporotic Lumbar Fractures. *Appl Bionics Biomech.* 2022.
305. Simeonova T, Stefanova K, Kostov K, Ignatov B. VITAMIN K2 AND VITAMIN D: INFLUENCE ON BONE TURNOVER IN WOMEN WITH POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS. *Rheumatol.* 2025 Sep 28;33(1):11–29.
306. Prynne CJ, Thane CW, Prentice A, Wadsworth ME. Intake and sources of phylloquinone (vitamin K(1)) in 4-year-old British children: comparison between 1950 and the 1990s. *Public Health Nutr.* 2005 Apr;8(2):171–80.
307. Theuwissen E, Magdeleyns EJ, Braam LA, Teunissen KJ, Knapen MH, Binnekamp IA, van Summeren MJ, Vermeer C. Vitamin K status in healthy volunteers. *Food Funct.* 2014 Feb;5(2):229–34.
308. Schwalfenberg GK. Vitamins K1 and K2: The Emerging Group of Vitamins Required for Human Health. *J Nutr Metab.* 2017;2017:6254836.
309. Dashti HS, Shea MK, Smith CE, Tanaka T, Hruby A, Richardson K, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies for circulating phylloquinone concentrations. 2014 Dec 1;100(6).
310. Apalset EM, Gjesdal CG, Eide GE, Johansen A-MW, Drevon CA, Tell GS. Dietary vitamins K1, K2 and bone mineral density: the Hordaland Health Study. *Arch Osteoporos* 2010 51. 2010 Feb 9;5(1):73–81.
311. Tsugawa N, Shiraki M, Suhara Y, Kamao M, Tanaka K, Okano T. Vitamin K status of healthy Japanese women: Age-related vitamin K requirement for γ -carboxylation of osteocalcin. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(2):380–6.
312. Fang Y, Hu C, Tao X, Wan Y, Tao F. Effect of vitamin K on bone mineral density: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Bone Miner Metab.* 2012 Jan;30(1):60–8.
313. Lombardi G, Perego S, Luzi L, Banfi G. A four-season molecule: osteocalcin. Updates in its physiological roles. *Endocrine.* 2015 Mar 1;48(2):394–404.
314. Tanaka N, Arima K, Nishimura T, Tomita Y, Mizukami S, Okabe T, et al. Vitamin K deficiency, evaluated with higher serum ucOC, was correlated with poor bone status in women. *J Physiol Anthropol.* 2020 Apr 10;39(1):1–6.
315. Kaneki M, Hosoi T, Ouchi Y, Orimo H. Pleiotropic actions of vitamin K: protector of bone health and beyond? *Nutrition.* 2006 Jul-Aug;22(7-8):845–52.

316. Nishizawa Y, Miura M, Ichimura S, Inaba M, Imanishi Y, Shiraki M, et al. Executive summary of the Japan Osteoporosis Society Guide for the Use of Bone Turnover Markers in the Diagnosis and Treatment of Osteoporosis (2018 Edition). 2019 Nov 1;498:101–7.
317. Bügel S, Sørensen AD, Hels O, Kristensen M, Vermeer C, Jakobsen J, et al. Effect of phylloquinone supplementation on biochemical markers of vitamin K status and bone turnover in postmenopausal women. *Br J Nutr.* 2007;97(2):373–80.
318. Theuwissen E, Cranenburg EC, Knapen MH, Magdeleyns EJ, Teunissen KJ, Schurgers LJ, et al. Low-dose menaquinone-7 supplementation improved extra-hepatic vitamin K status, but had no effect on thrombin generation in healthy subjects. *Br J Nutr.* 2012 Nov 14;108(9):1652–7.
319. Emaus N, Nguyen ND, Almaas B, Berntsen GK, Center JR, Christensen M, et al. Serum level of under-carboxylated osteocalcin and bone mineral density in early menopausal Norwegian women. *Eur J Nutr.* 2013 Feb;52(1):49–55.
320. Yan L, Zhou B, Greenberg D, Wang L, Nigdikar S, Prynne C, Prentice A. Vitamin K status of older individuals in northern China is superior to that of older individuals in the UK. *Br J Nutr.* 2004 Dec;92(6):939–45.
321. Beavan SR, Prentice A, Stirling DM, Dibba B, Yan L, Harrington DJ, Shearer MJ. Ethnic differences in osteocalcin gamma-carboxylation, plasma phylloquinone (vitamin K1) and apolipoprotein E genotype. *Eur J Clin Nutr.* 2005 Jan;59(1):72–81.
322. Booth SL, Dallal G, Shea MK, Gundberg C, Peterson JW, Dawson-Hughes B. Effect of Vitamin K Supplementation on Bone Loss in Elderly Men and Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(4):1217.
323. McCann JC, Ames BN. Vitamin K, an example of triage theory: is micronutrient inadequacy linked to diseases of aging? *Am J Clin Nutr.* 2009 Oct;90(4):889–907.
324. Beulens JWJ, Bots ML, Atsma F, Bartelink MLEL, Prokop M, Geleijnse JM, et al. High dietary menaquinone intake is associated with reduced coronary calcification. *Atherosclerosis.* 2009 Apr;203(2):489–93.
325. Shea MK, Booth SL, Nettleton JA, Burke GL, Chen H, Kritchevsky SB. Circulating Phylloquinone Concentrations of Adults in the United States Differ According to Race and Ethnicity. *J Nutr.* 2012 Jun 1;142(6):1060–6.
326. Larsson L, Degens H, Li M, Salviati L, Lee Y II, Thompson W, et al. Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function. *Physiol Rev.* 2019 Jan 1;99(1):427–511.
327. Pasco JA, Stuart AL, Holloway-Kew KL, Tembo MC, Sui SX, Anderson KB, et al. Lower-limb muscle strength: normative data from an observational population-based study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020 Feb 8;21(1).
328. Beaudart C, Zaaria M, Pasleau F, Reginster JY, Bruyère O. Health Outcomes of Sarcopenia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One.* 2017 Jan 1;12(1).
329. Diegel CR, Hann S, Ayturk UM, Hu JCW, Lim KE, Droscha CJ, et al. An osteocalcin-deficient mouse strain without endocrine abnormalities. *PLoS Genet.* 2020 May 1;16(5).
330. Smith C, Voisin S, Al Saedi A, Phu S, Brennan-Speranza T, Parker L, et al. Osteocalcin and its forms across the lifespan in adult men. *Bone.* 2020 Jan 1;130.
331. Kyla Shea M, Booth SL. Concepts and Controversies in Evaluating Vitamin K Status in Population-Based Studies. 2016 Jan 2;8(1):8.
332. Smith C, Lewis JR, Sim M, Lim WH, Lim EM, Blekkenhorst LC, et al. Higher Undercarboxylated to Total Osteocalcin Ratio Is Associated With Reduced Physical Function and Increased 15-Year Falls-Related Hospitalizations: The Perth Longitudinal Study of Aging Women. *J Bone Miner Res.* 2021 Mar 1;36(3):523–30.