



**UNIVERSITETI I TIRANËS
FAKULTETI I SHKENCAVE TË NATYRËS
PROGRAMI I STUDIMIT BIOLOGJI MOLEKULARE**

TEZË DOKTORATURE

**PIRJA E DUHANTIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT
TË KOCKAVE TEK GRATË NË PERIUDHËN
POSMENOPAUIKE**

Lorena Hysi

**Udhëheqës shkencor
Prof. Dr. Tefta REXHA**

Tiranë, 2014



**UNIVERSITETI I TIRANËS
FAKULTETI I SHKENCAVE TË NATYRËS
PROGRAMI I STUDIMIT BIOLOGJI MOLEKULARE**

TEZA E DOKTORATURËS

**PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT
TË KOÇKAVE TEK GRATË NË PERIUdhËN
POSMENOPAUZIKE**

Mbrohet më dt. ____ . ____ .2014 para Komisionit:

1. _____ Kryetar
2. _____ Anëtar (Oponent)
3. _____ Anëtar (Oponent)
4. _____ Anëtar
5. _____ Anëtar

TIRANË 2014

PASQYRA E LËNDËS

	Faqe
Pasqyra e lëndës	i
Lista e shkurtimeve	iii
Parathënie	iv
Qëllimi i studimit	vi
KREU I: PJESA TEORIKE	1
1.1 Organizimi, funksioni dhe biokimia e kockave.	1
1.1.1 Organizimi	1
1.1.2 Kocka si një organ: Organizimi makroskopik	1
1.1.3 Kocka si një ind: Matriksi i kockës dhe përbërja minerale	1
1.1.4 Organizimi qelizor brenda matriksit të kockës	2
1.1.4.1 Osteocitet	2
1.1.4.2 Osteoblastet	3
1.1.4.3 Osteoklastet	6
1.2 Rimodelimi i kockës	9
1.2.1 Resorbimi i kockës	10
1.2.2 Formimi i kockës	11
1.3 Osteoporoza	13
1.3.1 Pathogjeneza e ostoporozës	14
1.4 Mekanizmat e veprimit të estrogenit në rregullimin e turnoverit të kockave dhe masës kockore	14
1.4.1 Veprimi i estrogenit në nivelin e organeve	14
1.4.2 Veprimi i estrogenit në nivel indor	14
1.4.3 Veprimi i estrogenit në nivel qelizor	15
1.4.4 Veprimi i estrogenit në nivel molekular	16
1.5 Ndikimi i duhanit në shfaqjen e osteoporozës	17
1.5.1 Duhanpirja dhe hormonet kalcitropike	18
1.5.2 Duhanpirja dhe hormonet seksuale	19
1.5.3 Duhanpirja dhe hormonet adrenale	20
1.5.3.1 Efekti direkt në qelizat e kockës	20
1.5.3.2 Ndikimi në faktorë të tjerë të lidhur me kockën	20
1.6. Gjenetika e osteoporozës	21
1.7 Markerët biokimikë të turnoverit të kockave	22
1.7.1 Markerët e formimit të kockës	23
1.7.1.1 Propeptidet prokolagenikë	23
1.7.1.2 Osteokalcina	25
1.7.1.3 Fosfataza alkaline	28
1.7.2 Markerët e resorbimit të kockës	29
1.7.2.1 Produkte të degradimit të rajonit telopeptid të kolagenit tipi I	29
1.7.2.2 Hormoni paratiroid (PTH)	31
1.7.2.3 Variabiliteti i markerëve	32
KREU II. MATERIALE DHE METODA	35
2.1 Materiali	35
2.2 Metoda	39
2.2.1 Teknika ECL	39
2.2.2 Përshkrimi i procedurës së matjes në aparatën Elecsys 2010	43
KREU III. REZULTATE DHE DISKUTIME	46
3.1. Analizimi i parametrave të matur tek gratë në postmenopauz	46
3.2 Ndikimi i statusit menopauzal në nivelin e markerëve biokimikë të turnoverit të kockës	58
3.3 Duhanpirja dhe niveli i markerëve të turnoverit të kockës	62

**L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË
NË PERIUdhËN POSMENOPAUZIKE**

PËRFUNDIME	74
FALENDERIME	76
LITERATURA	77
PËRMBLEDHJE	95
LISTA E PUBLIKIMEVE	96

LISTA E SHKURTIMEVE

1,25-OH₂-D	1,25 dihidroksivitamina D
ACTH	Hormoni adrenokortikotrop
ALP	Fosfataza alkaline
ANOVA	Analiza njëfaktoriale e variancës
DHEAS	Dehidroepiandrosteronsulfat
ARF	Aktivizim-Resorbim-Formim
BMD	Densiteti mineral i kockës
BMI	Indeksi i masës trupore
BMU	Njësi multiqelizore të kockës
ECF	Lëng jashtëqelizor
ECL	Elektrokemilumineshenca
ERs	Receptorët me afinitet të lartë për estrogenin
G-CSF	Faktorët koloni stimulus të granulociteve
IL	Interleukina
M-CSF	Faktorët koloni stimulus të makrofagëve
M-CSF	Stimulus i kolonive makrofage
NF_κB	Faktori nuklear kappa B
OC	Osteokalcina
OPG	Osteoprotegerin
PGE₂	Prostaglandinat E ₂
PICP	Propeptidi aminoterminal i prokolagjenit tipi I
PINP	Propeptidi karboksiterminal i prokolagjenit tipi I
PTH	Hormoni i paratiroides
QUS	Quantitative ultrasound
RANKL	Receptori i faktorit nuklear kapa
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TNFα	Faktorët α të nekrozës së tumoreve
TRAP	Fosfataza acide tartratezistente
β- CTX	Beta crosslap

Parathënie

Osteoporozja përfaqëson një çrregullim metabolik të zakonshëm të skeletit, që karakterizohet nga një reduktim sinjifikant në densitetin mineral të kockës, duke shkaktuar një rritje të thyeshmërisë së kockave dhe rritje të riskut për frakturë (Anonymous, 1993). Është më e zakonshme tek femrat sesa tek meshkujt, kjo si pasojë e humbjes më të madhe të masës kockore dhe jetëgjatësisë më të madhe të femrave. Osteoporozja është pa dyshim një problem madhor i shëndetit publik. Shkalla e lartë e frakturave rezulton në një humbje të cilësisë së jetës tek gratë e moshuara dhe gjithashtu ka një kosto të lartë ekonomike. Kjo kosto pritet të rritet në mënyrë dramatike në të ardhmen si pasojë e rritjes së jetëgjatësisë dhe popullsisë në moshë të madhe (Cooper, 2003).

Pirja e duhanit si një faktor risku për osteoporozën është bërë e mundur të identifikohet rreth 20 vjet më parë. Studime nga më të fundit kanë treguar për një lidhje direkte ndërmjet përdorimit të duhanit dhe zvogëlimit të densitetit të kockave. Duhanpirja është një përcaktues i rëndësishëm për osteoporozën. Ka disa mekanizma nëpërmjet të cilave duhani indukon efektet toksike në kockë. Mekanizma të tillë përfshijnë ndryshime në metabolizmin e hormoneve kalçitropike, adrenokortikale dhe absorbimin e kalçiumit, çrregullime në prodhimin e hormoneve seksuale dhe efekt direkt i konsumit të duhanit në qelizat e kockës.

Estrogjeni luan një rol mbrojtës në metabolizmin e kockës, kryesisht duke penguar resorbimin e kockës. Ndikimi i mungesës së estrogjenit në pathogjenezën e osteoporozës tek gratë në posmenopauzë është tashmë i njohur prej vitesh (Cummings et al., 1998; Falahati-Nini et al., 2000). Duhanpirëset karakterizohen nga një menopauzë më e hershme, (Jick, 1977; Mikkelsen et al., 2007) dhe sekretojnë më pak estradiol dhe estriol. Mendohet se duhani ndikon në uljen e nivelit të estrogjenit nëpërmjet rritjes së hidroksilimit 2a të estradiolit duke prodhuar një metabolit me aktivitet minimal estrogjenik, i cili largohet shumë shpejt nga qarkullimi.

Nikotina dhe kadmiumi në përbërje të tymit të duhanit përbëjnë faktorë të lartë risku për zhvillimin e osteoporozës. Ata rritin resorbimin e kockës dhe interferojnë me funksionin e osteoblasteve (inhibojnë aktivitetin e tyre). Gjithashtu nikotina inhibon prodhimin e një numri të madh citokinash, duke përfshirë dhe ato që ndikojnë në procesin e neovaskularizimit dhe diferencimin e osteoblasteve.

Ka të dhëna sipas të cilave pirja e duhanit ka një efekt sinjifikativ në metabolizmin e kalçiumit dhe vitaminës D. Absorbimi i kalçiumit paraqitet në një nivel më të ulët në pirëset e duhanit, krahasuar me ato gra që nuk pijnë duhan. Kjo i atribuohet niveleve të ulura të PTH-së dhe kalçitriolit në serum të duhanpirësve (Brot et al., 1999; Need et al., 2002; Jorde et al., 2004). Inhibimi i procesit të absorbimit të kalçiumit, sjell për pasojë, si përshpejtimin e humbjes së masës kockore, ashtu edhe mosefikasitetin e suplementeve të kalçiumit të përfutur me dietën ushqimore.

Duhet vënë në dukje se analiza e ndikimit të pirjes së duhanit në shëndet, është e komplikuar. Kjo sepse është e vështirë të përcaktohet nëse një ulje e densitetit të kockave vjen si pasojë e pirjes së duhanit, apo për shkak të faktorëve të tjerë të riskut që hasen ndërmjet duhanpirësve. Kështu p.sh. është fakt që pirësit e duhanit në shumicën e rasteve janë më të dobët se ata që nuk pijnë duhan, kanë tendencë të konsumojnë më shumë alkool, kryejnë më pak aktivitete fizike, ekspozohen më pak në diell dhe karakterizohen nga një sasi e reduktuar e kalçiumit në dietën ushqimore.

**L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË
NË PERIUDHËN POSMENOPAUIKE**

Gratë pirëse të duhanit kanë një menopauzë më e hershme, krahasuar me ato që nuk pijnë duhan. Janë pikërisht këta faktorë që risin riskun e duhan pirësve, përveç impaktit të zakonit të të pirit të duhanit në shfaqjen e osteoporozës.

Edhe pse në vënde të ndryshme të botës janë kryer në mënyrë të vazhdueshme studime në lidhje me ndikimin e duhanit në metabolizmin e kockave dhe nivelin e markerëve të turnoverit të kockave, vlen për të theksuar fakti se në vëndin tonë një studim i tillë kryhet për herë të parë.

Qëllimi i studimit:

Përcaktimi i ndikimit të duhanit në metabolizmin e kockave nëpërmjet matjes së nivelit të markerëve të formimit dhe resorbimit të kockave tek gratë në periudhën e posmenopauzës.

Objektivat:

- Të analizohet roli i markerëve biokimikë të kockës në përcaktimin e gjendjes së kockës dhe shfaqjen e osteoporozës.
- Përcaktimi i ndikimit të moshës dhe statusit menopauzal në metabolizmin e kockës dhe nivelin e markerëve të turnoverit të kockës.
- Vlerësimi i lidhjes së mundshme midis konsumit të duhanit dhe densitetit kockor.
- Të studiohet ndikimi i numrit të cigareve të konsumuar në ditë dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes në nivelin e markerëve të kockës.

Kapitulli I

KONSIDERATA TEORIKE

1.1 Organizimi, funksioni dhe biokimia e kockave

1.1.1 Funksioni

Kockat janë inde të specializuara dhe të mineralizuara, që formojnë së bashku skeletin, i cili ka tre funksione kryesore:

1. Mbështetës: ky funksion konsiston në kapjen dhe mbështetjen e indeve dhe organeve në pjesë të ndryshme të tij.
2. Mbrojtës: Shumë eshtra duke u bashkuar me njëra tjetrën formojnë kanale apo kavitate ku vendosen organe me rëndësi jetike, p.sh. kanali vertebrior, brenda të cilit vendoset palca e kurrizit; kafazi i krahavorit ku vendosen mushkëritë, zemra etj; kafka brenda të cilës vendoset truri dhe organet e shqisave.
3. Krijimi i një rezerve të kalciumit dhe fosfateve.

Rimodelimi i kockës është procesi i turnoverit të kockës, duke lejuar ruajtjen e formës, cilësisë dhe sasisë së skeletit. Ky proces karakterizohet nga veprime të koordinuara të osteoklasteve dhe osteoblasteve, të organizuara në *njësi multiqelizore të kockës (BMU)*, të cilat ndjekin sekuencën e proceseve: aktivizim-resorbim-formim. Rritja e kockës është një term që përdoret për të përshkruar ndryshimet në strukturën e kockës pasi është formuar skeleti dhe gjatë periudhës së rritjes dhe maturimit të skeletit.

1.1.2 Kocka si një organ: Organizimi makroskopik

Dy tipat e kockave të gjetura në skelet: kocka të sheshta (skapula, mandibula etj) dhe kocka të gjata (tibia, femuri, humerusi etj) derivojnë nga dy forma të ndryshme të zhvillimit: respektivisht *intramembranor* dhe *endokondrial*.

Ndryshimi kryesor është se tek zhvillimi endokondrial kemi kalimin nga ind lidhor në ind kërcor dhe më tej në ind kockor, ndërsa në osifikimin intramembranor bëhet kalimi direkt nga ind lidhor në atë kockor (Marks & Odgren, 2002).

1.1.3 Kocka si një ind: Matriksi i kockës dhe përbërja minerale

Matriksi i kockës konsiston kryesisht në fibra të kolagenit tipi I (afërsisht 90 %) dhe nga proteina jokolagenike. Janë sekuencuar dhe purifikuar një numër i madh proteinash jokolagenike të pranishme në matriksin e kockës, por roli i tyre është përcaktuar vetëm pjesërisht.

Pjesa më e madhe e këtyre proteinave sintetizohet nga osteoblastet, por jo të gjitha. Proteinat jokolagenike të matriksit të kockës mund të klasifikohen në: *proteoglukanet*, proteina të glikoziluara që përmbajnë *sekuencën RGD (tripeptidi Arg-Gly-Asp)* dhe *glikoproteina* që nuk përmbajnë sekuencën RGD dhe proteina të γ karboksiluara. Ato kontribuojnë në forcën, qëndrueshmërinë dhe integritetin strukturor ose mund të përfshihen në turnoverin e kockës (Robey, 2002).

Afërsisht 25% e proteinave jokolagenike të kockës janë proteina të plazmës, të cilat absorbohen në mënyrë përzgjedhëse nga matriksi i kockës. Këtu bën pjesë edhe *α₂-HS-glikoproteina*, që sintetizohet në mëlçi. Proteina kryesore jokolagenike është

osteokalcina, e cila zë 1% të matriksit dhe luan një rol të rëndësishëm në lidhjen e kalçiumit, stabilizimin e hidroksiapatiteve dhe rregullimin e procesit të formimit të kockës (Gallop et al., 1980). Një tjetër rregullator negativ i formimit të kockës, i gjetur në matriks, është *proteina gla* e matriksit, e cila duket se inhibon mineralizimin e parakohshëm ose të papërshtatshëm, siç është demonstruar tek minjtë që ju mungon kjo proteinë. Në kontrast me këtë *biglikani*, një proteoglukan ky që shprehet në matriksin e kockës, rregullon pozitivisht formimin e kockës (Xu et al., 1998). Kjo është demonstruar nga reduktim i formimit të kockës dhe masës kockore tek minjtë me mungesë biglikani (Robey 2002).

1.1.4 Organizimi qelizor brenda matriksit të kockës

1.1.4.1 Osteocitet

Matriksi i kalcifikuar i kockës nuk është metabolikisht inert dhe qelizat (osteocitet) ndodhen të fiksuara thellë në brëndësi të kockës në laguna të vogla. Të gjitha osteocitet derivojnë nga qelizat e formimit të kockës (osteoblastet), të cilat janë të lidhura me matriksin kockor të prodhuar prej tyre. Edhe pse aktiviteti metabolik i osteoblasteve ulet ndjeshëm, pasi ato janë përfshirë plotësisht në matriksin e kockës, tashmë të shndërruara në osteocite, këto qeliza vazhdojnë të prodhojnë proteina të matriksit.

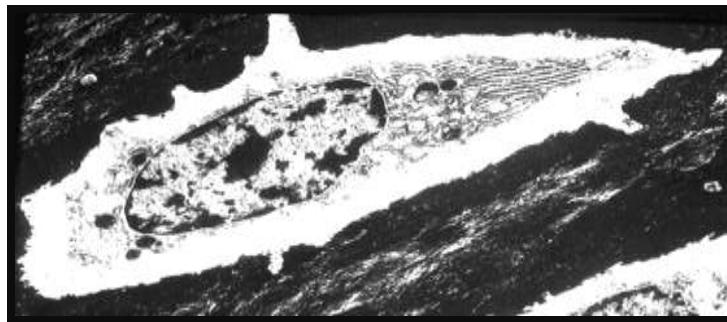


Figura 1.1: Mikrografi elektronike e një osteociti në brendësi të një lakune në matriksin e kalcifikuar kockor.

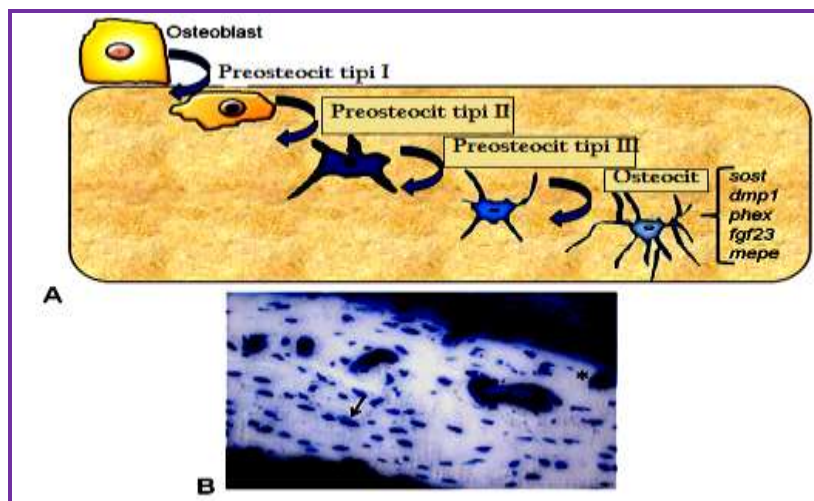


Figura 1.2: Osteociti (A) Paraqitje skematike e procesit të diferencimit të një osteociti. (B) Seksion histologjik i kockës i ngjyrosur me blumetilen/azuro II, ku duket disa osteocite në brendësi të lakunave (shigjeta) dhe preosteocite të sapoformuara (yjl).

Në figurën 1.2 (A), duket qartë se sapo që osteoblastet depozitojnë matriksin kockor, grackohen në të dhe më pas i nënshtrohen një procesi diferencimi, duke u shndëruar nga preosteocite të tipit I, në ato II, III deri në maturimin në osteocite, të cilat shprehin disa markerë si: *sost, dmp1, phex, fgf23 dhe mepe*.

Morfologjia e osteociteve varion në varësi të moshës së qelizës dhe aktivitetit funksional të tyre. Një osteocit i ri ka një ultrastrukturë të ngjashme me osteoblastet nga të cilat është formuar, me përjashtim të faktit që karakterizohet nga një ulje e volumit qelizor dhe intesitetit funksional të organeleve të përfshirë në sintezën e proteinave (REP, Ap. Golxhi). Një osteocit i vjetër i lokalizuar në thellësi të kockës së kalcifikuar shfaq një ulje të mëtejshme të volumit qelizor dhe organeleve, si dhe një akumulim të glikogjenit në citoplazëm. Këto qeliza sintetizojnë sasi të vogla të kockës së re në sipërfaqe të lagunave osteocitike, të cilat më vonë mund të kalcifikohen. Osteocitet shprehin në nivele të ulta një numër të markerëve të osteoblasteve përfshirë këtu: *osteokalcinën, osteopontinën, osteonektinën* etj.

Osteocitet kanë një numër të madh zgjatimesh të pasura me mikrofilamente, të cilat janë në kontakt me zgjatimet e osteociteve të tjera ose me zgjatimet e qelizave që veshin sipërfaqen e kockës. Këto zgjatime organizohen gjatë formimit të matriksit dhe para kalcifikimit të tij, duke formuar një rrjetë me kanale të ngushta që përshkojnë gjithë matriksin e kockës (Nijweide et al., 2002). Midis membranës plazmatike të osteociteve dhe matriksit të kockës ndodhet *hapësira periosteocitike*. Kjo hapësirë është e mbushur me *lëng jashtëqelizor (ECF)*, që përfaqëson burimin e vetëm të lëndës ushqyese, citokinave dhe hormoneve për osteocitet.

Duke parë strukturën e rrjetës dhe lokalizimin e osteociteve brenda lagunave, ku zbulohet prania e lëngut jashtëqelizor, ka të ngjarë që osteocitet të përgjigjen ndaj tendosjes së indeve kockorë dhe të influencojnë në aktivitetin e rimodelimit të kockës duke rekrutuar osteoklaste në vendet ku kërkohet rimodelimi i kockës. Studime në kulturat qelizore kanë demonstruar një rritje të influksit të kalçiumit dhe prostaglandinës, të prodhuara nga osteocitet pas një stimulimi mekanik (Ajubi et al., 1996; Klein et al., 1995).

Osteocitet mund të bëhen apoptotike dhe vdekja e tyre e programuar mund të jetë një nga sinjalet kritike për inductimin e rimodelimit të kockës. Në fund të fundit fati i osteociteve është të fagocitohen dhe treten së bashku me komponentët e tjerë të kockës gjatë resorbimit osteoklastik të kockës (Noble et al., 1997).

Në veçanti zbulimi se osteocitet mund të sekretojnë *sklerostinë* (antagonist i WNT-së) dhe që ky sekretim inhibohet si nga trajtimi me PTH, ashtu edhe nga ngarkesa mekanike, kanë vendosur lidhjen e parë direkte midis biomekanikës, hormoneve endokrine, formimit të kockës dhe osteociteve. Në mënyrë të ngjashme osteocitet mund të sekretojnë *RANKL* dhe *OPG*, duke kontribuar gjithashtu në rregullimin e resorbimit të kockës.

1.1.4.2 Osteoblastet

Osteoblastet përfaqësojnë qelizat kockore, përgjegjëse për prodhimin e përbërësve të matriksit të kockës, proteinave kolagjenike dhe jokolagjenike. Osteoblastet asnjëherë nuk shfaqen ose veprojnë individualisht, por janë gjetur gjithmonë në klastera qelizash kuboidale përgjatë sipërfaqes së kockës. Osteoblastet nuk operojnë të izoluar dhe zakonisht midis osteoblasteve hasen gap-junction që punojnë së bashku në sipërfaqen e kockës (Baron, 2003). Osteoblastet ndodhen të rreshtuar në shtresën e matriksit të kockës që ato prodhojnë, por përpara se ai të kalcifikohet (ind osteoid).

Në nivelin ultrastrukturor, osteoblastet karakterizohen nga prania e një REP-i granular të mirëzhvilluar dhe një Aparat Golxhi me një numër të madh vezikulash dhe çisternash. Këto organele janë të përfshirë në aktivitetin kryesor të osteoblasteve: prodhimin dhe sekretimin e proteinave kolagjenike dhe jokolagjenike të matriksit të kockës, përfshirë dhe kolagjenin e tipit I.

Osteoblastet gjithashtu prodhojnë një numër të faktorëve të rritjes, nën veprimin e stimujve të ndryshëm, duke përfshirë faktorët e rritjes për insulinën (IGFs), faktorët e rritjes së pllakëzave (PDGFs), faktorët e rritjes së fibroblasteve (bFGF), faktorët transformues të rritjes (TGF β), proteina morfogjenetike të kockës (BMPs dhe WNTs) (Harada & Rodan, 2003).

Aktiviteti i osteoblasteve rregullohet në mënyrë autokrine dhe parakrine nga këta faktorë të rritjes, receptorët e të cilëve mund të gjenden në osteoblaste, ashtu si dhe receptorët për një numër të madh hormonesh endokrine. Receptorët klasikë endokrinë përfshijnë receptorët për hormonin e paratiroides, hormonin tiroid, hormonet e rritjes, insulinën, progesteronin dhe prolaktinën. Gjithashtu për osteoblastet janë karakteristike edhe receptorët për hormonet steroide: siç janë estrogjenet, androgjenet, vitamina D₂ dhe retinoidet. Receptorët për efektorët parakrinë dhe autokrinë, përfshijnë ata për faktorët epidermalë të rritjes (*EGF*), *IGF*, *PDGF*, *interleukina*, *FGF*, *BMP* dhe *Wnt* (Harada & Rodan 2003; Baron & Rawadi, 2002).

Midis citokinave të sekretuara nga osteoblastet, që përfaqësojnë rregullatorët kryesorë për diferencimin e osteoklasteve, mund të përmendim: *M-CSF*, *RANKL* dhe *osteoprotegerin (OPG)* (Boyle et al., 2003; Asagiri & Takayanagi, 2007). RANKL nxit diferencimin dhe aktivitetin e osteoklasteve. Osteoblastet e kanë origjinën nga qeliza burimore pluripotente mezenkimale, si dhe nga qeliza burimore stromale të palcës së kockave (*endosteum*) ose qeliza burimore mezenkimale të indit lidhor (*periosteum*).

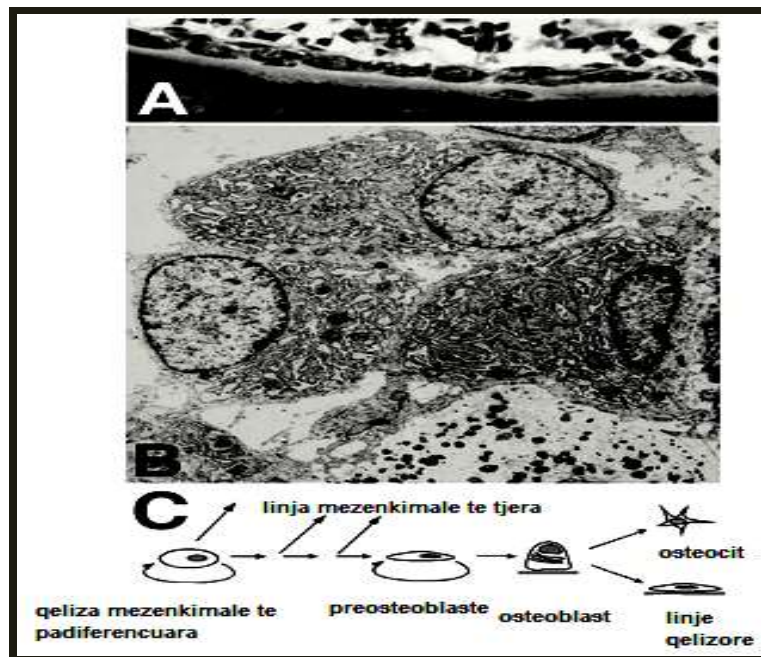


Figura 1.3. Osteoblastet dhe indi osteoid. A: mikrografi me dritë e një grupi osteoblastesh që prodhojnë osteoidin; B: Mikrografi elektronike e 3 osteoblasteve që mbulojnë një shtresë të indit osteoid të mineralizuar. Grumbujt e zinj në indin osteoid përfaqësojnë depozita të mineraleve. C: Linja

L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË NË PERIUdhËN POSMENOPAUIKE

e osteoblasteve. Osteoplastet derivojnë nga qeliza mezenkimale të padiferencuara, të cilat kanë aftësi të proliferohen dhe më pas të diferencohen në mjaft tipa qelizorë. Edhe preosteoplastet ruajnë aftësinë proliferative dhe janë gjithashtu të angazhuara drejt fenotipit osteoplastik. Osteoplasti i maturuar pushon ndarjen, por mund të diferencohet ose deri në osteocit, kur zhytet në matriksin kockor, ose në qelizat mbuluese të sipërfaqes kockore.

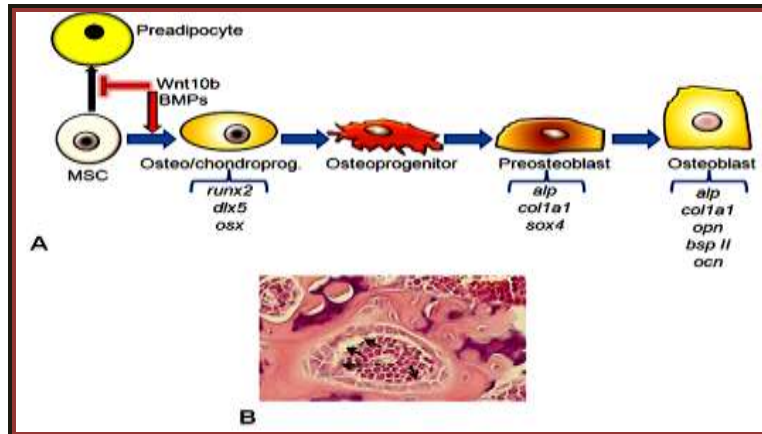


Figura 1.4: Osteoplasti. (A) Paraqitje skematike e procesit të osteoplastogjenezës: osteoplastet origjinohen nga një qelizë stem mezenkimale pluripotente (MSC), e cila e stimuluar, shndërohet fillimisht në prekursor osteo/kondro e më pas në prekursor osteo. Ky i fundit përfaqëson një preosteoplast që më pas maturohet në osteoplast. Çdo fazë diferencimi mund të zbulohet nga prania e markerëve specifikë. (B) Një seksion i indit kockor i ngjyrosur me hematoksilinë/eozinë, ku duken osteoplastet e maturuara kuboide (shigjetat).

Këta prekursorë me stimulimin e duhur, i nënshtrohen proliferimit dhe diferencimit në *preosteoplaste*, në këtë pikë ato janë të prirura të diferencohen në osteoplaste të maturuara. Preosteoplastet janë lokalizuar në sipërfaqe të kockës dhe zakonisht vendosen poshtë osteoplasteve të maturuara dhe aktive; ato janë qeliza eliptike me një bërthamë të zgjatur dhe janë të afta të proliferohen. Preosteoplasteve iu mungon aftësia e sintezës së proteinave specifike, një proces ky i pranishëm tek osteoplastet e maturuara.

Zhvillimi i fenotipit të osteoplasteve është gradual, me një sekuencë të përcaktuar të shprehjes së gjeneve dhe aktivitetit qelizor gjatë zhvillimit dhe maturimit, e kontrolluar kjo nga një sekuencë e faktorëve të transkriptimit dhe citokinave.

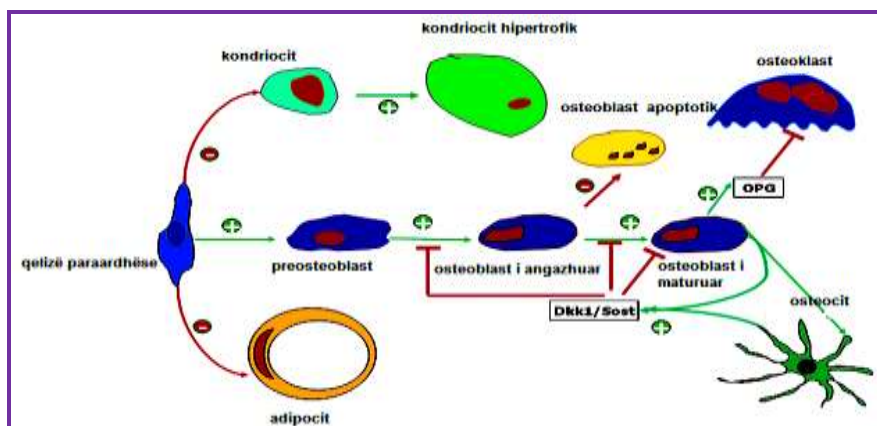


Figura 1.5: Rruga e sinjalizimit Wnt determinon fatin qelizor të qelizave mezenkimale origjinore, duke rregulluar formimin dhe resobimin e kockës. Rruga Wnt represson diferencimin e qelizave origjinore në adipocite dhe kondriocite, proces ky që kërkohet gjatë tranzicionit

të kondriociteve në gjendje hipertrofike. Në të kundërt aktivizimi i rrugës Wnt, nxit linjën qelizore osteoblastike, duke kontrolluar proliferimin, maturimin, diferencimin terminal të saj, si dhe formimin e kockës. Osteoblastet dhe/ose osteocitet e diferencuara prodhojnë inhibitorë të rrugës Wnt, siç janë proteinat *Dickkopf (Dkk1)* dhe *sklerostinë (Sost)*, të cilat luajnë rol në kontrollin feedback negativ të diferencimit dhe funksionit të osteoblasteve. Rruga e sinjalizimit Wnt, gjithashtu indukon osteoblastet të prodhojnë më shumë osteoprotegerinë (OPG), duke rritur kështu nivelin e lidhjes së saj me RANKL. Proces ky që sjell si pasojë uljen e nivelit të diferencimit të osteoklasteve dhe për pasojë të resorbimit të kockës.

Siç del edhe nga figura 1.5, në gjysëm dekadën e fundit është gjetur se rruga e sinjalizimit Wnt/b kateninë luan një rol kryesor rregullator në formimin e kockës. Proteinat Wnt i takojnë një familje të madhe peptidesh që lidhen me dy receptorë membranorë: *Lrp5* ose *6* dhe *Frizzled*. Mbas lidhjes së këtyre ligandëve, sinjali nëpërmjet receptorëve transduket në brendësi të qelizës. Rruga e sinjalizimit brenda qelizor aktivizon *b kateninën*, e cila translokohet në bërthamë dhe stimulon transkriptimin e disa gjeneve përmes *sistemit TCF/Lef. Sklerostina (Sost)*, përfaqëson një proteinë specifike të osteociteve që inhibon formimin e kockës duke u lidhur tek *Lrp5*, proces ky që sjell si pasojë bllokimin e sinjalizimit Wnt.

Dy faktorë transkriptimi *Runx2* dhe *Osterix (Osx)* paraqiten absolutisht të nevojshëm për diferencimin e osteoblasteve. Gjenet target *Runx2* përcaktojnë në osteoblastet mature proteina të tilla si: *osteokalcinë, sialoproteinë e kockës, osteopontinë* dhe *kolagen a 1* (Ducy & Karsenty, 1995).

Osx kryesisht mund të jetë i nevojshëm për spostimin e qelizave prekursorë larg nga kondrocitet dhe drejt rrugës së zhvillimit të osteoblasteve (Nakashima et al., 2002).

Një rol të rëndësishëm në të kuptuarit e procesit të formimit të kockës, luan edhe gjetja e lidhjes së qartë midis *LRP5*, një ko-receptor ky për rrugën e sinjalizimit Wnt dhe masës kockore tek njerëzit dhe minjtë. Humbja e funksionit të *LRP5* çon në sindromën e njohur si *Osteoporosis Pseudo-Glioma, (OPPG)*, me një humbje ekstreme të masës kockore, ndërsa rritja e funksionit të saj, bëhet shkak për një masë të lartë kockore tek njerëzit.

Një delecion në gjenin që kodon për *sklerostinën (sost)*, një tjetër inhibitor endogjen i rrugës Wnt, gjithashtu shkakton një fenotip osteosklerotik. (sterosteosis, sindroma Van Buchen) (Baron & Rawadi, 2002).

1.1.4.3 Osteoklastet

Osteoklastet përfaqësojnë qelizat kockore përgjegjëse për resorbimin e kockës. Osteoklastet janë qeliza gjigande multinukleare me diametër afërsisht 100mm, që përmbajnë deri në 20 bërthama. Zakonisht gjenden në kontakt më një sipërfaqe të kalcifikuar të kockës dhe brenda lakunave (lakuna Howships) që janë rezultat i aktivitetit të tyre resorbues. Ka mundësi që të gjesh 4-5 osteoklaste në të njëjtin vend resorbimi, por zakonisht janë vetëm 1 ose 2.

Karakteristikat ultrastrukturore të këtyre qelizave janë: aparat Golxhi shumë i zhvilluar rreth bërthamave, mitokondri dhe vezikula transporti të ngarkuara me enzima lizozomale. Lidhja e qelizës në matriks realizohet nëpërmjet receptorëve të integrinës, të cilët lidhen me një sekuencë RGD specifike (*argininë-glicinë-aspartat*), të pranishme në proteinat e matriksit.

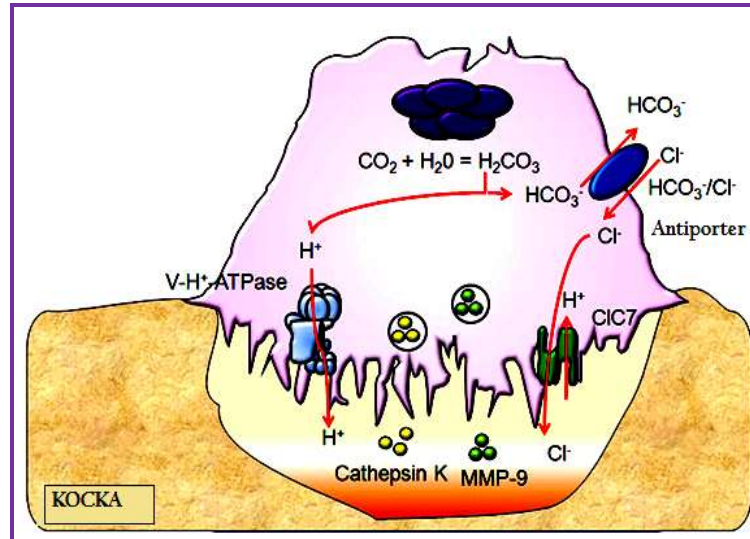


Figura 1.6: Osteoklastet dhe mekanizmi i resorbimit të kockës. Resorbimi osteoklastik. Osteoklastet formojnë një zonë të përmbyllur nëpërmjet lidhjes së ndërmjetësuar nga integrinat me sekuenca specifike të peptideve brenda matrisit të kockës, duke formuar një kompartment të mbyllur midis qelizës dhe sipërfaqes së kockës. Ky kompartment acidifikohet dhe arrihet një pH optimal për aktivitetin e enzimave lizomale dhe resorbimin e kockës.

Membrana plazmatike në zonën e “rrudhosur” përmban proteina që janë gjetur gjithashtu në membranën e lizomeve dhe organeleve të ngjashëm, si dhe një tip specifik ATP-aze të përfshirë në acidifikim. Membrana bazolaterale e osteoklasteve është e pasur me pompa Na/K ATP-aza, $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$, Na^+/H^+ dhe një numër të madh kanalesh jonike (Teitelbaum & Ross, 2003).

Osteoklastet e kanë origjinën nga qelizat prekursorë të monociteve/makrofagëve. Proliferimi i prekursorëve të osteoklasteve shoqërohet me shkrirje të qelizave mononukleare dhe degradim të matrisit të kockës nga qeliza mature (Teitelbaum, 2000). Diferencimi i osteoklasteve varet nga prania e qelizave stromale të palcës ose osteoblasteve, të cilat shprehin në sipërfaqen e tyre ligandin për **receptorin e faktorit nuclear kappa B (RANKL)** (Udagawa et al., 1990; Lacey et al., 1998).

RANKL stimulon receptorin RANK në membranën plazmatike të prekursorëve të osteoklasteve dhe ky është bashkëveprimi kryesor midis osteoklasteve dhe osteoblasteve që nevojitet për osteoklasogjenezën (Lacey et al., 1998, Hsu et al., 1999).

Osteoprotegerin (OPG), një faktor i prodhuar nga osteoblastet ka një strukturë të ngjashme me RANK dhe funksionon si një receptor joshës për RANKL duke inhibuar osteoklasogjenezën. (Simonet et al., 1997).

Balanca në sitemin RANK/RANKL/OPG dhe në mënyrë të veçantë balanca midis stimuluesit të osteoklasogjenezës (RANKL) dhe inhibitorit (OPG), përcakton shkallën e aktivizimit të receptorit RANK dhe si pasojë edhe sasinë e osteoklasteve aktive dhe sasinë e resorbimit. (Hofbauer et al., 1999).

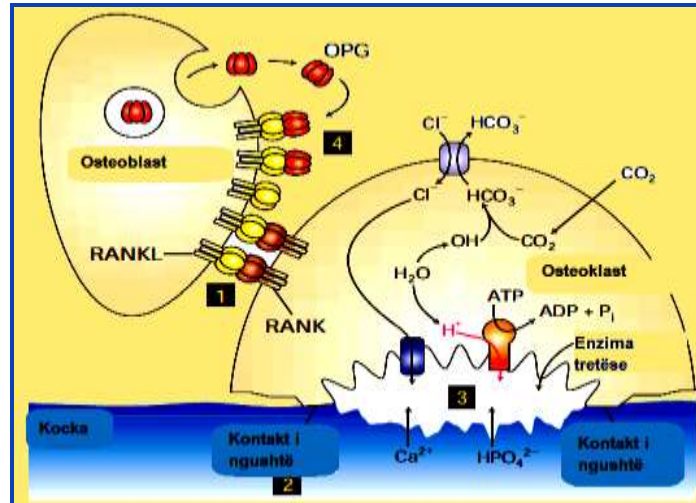


Figura 1.7: Resorbimi i kockës dhe roli i sistemit RANK/RANKL/OPG në rregullimin e këtij procesi

Një faktor tjetër esencial për osteoklastogjenezën është *faktori stimulues i kolonive makrofage (M-CSF)*, i cili lidhet me receptorin e vet në prekursorët e osteoklasteve dhe siguron sinjalin për mbijetesë dhe proliferim. Si RANKL dhe M-CSF janë esenciale për osteoklastogjenezën. Diferencimi i osteoklasteve kërkon faktorët e transkriptimit *PU-1* dhe *Mitf* në stadet e hershme, të cilët futin prekursorët në rrugën e zhvillimit mieloid. M-CSF kërkohet më vonë për të futur qelizat në ciklin e zhvillimit të monociteve duke siguruar proliferimin dhe shprehjen e receptorëve RANK.

Në këtë stad qelizat kërkojnë praninë e RANKL. Gjithashtu kërkohet dhe shprehja e *TRAF6*, *NFκB*, *cFos* dhe *NFAT c1*, të gjithë efektorë të sinjalizimit RANK. Ndërsa molekula të tilla si *integrina avβ3* dhe *c-Src* janë të përfshira në polarizimin e qelizave. Si përfundim shprehja e gjeneve që kodojnë për proteinat esenciale të resorbimit të kockës, siç është *kathepsina K*, dhe *anhidraza karbonike II*, shënon stadin e fundit në rrugën e diferencimit (Teitelbaum, 2000). Kathepsina K është një nga enzimat kryesore që sintetizohet dhe sekretohet nga osteoklastet. Kjo enzimë është e aftë të degradojë kolagenin në një pH të ulët dhe njëkohësisht është një target për inhibimin e resorbimit të kockës (Bruzzaniti & Baron, 2007).

Osteoklastet resorbojnë kockën nëpërmjet acidifikimit dhe proteolizës të matriksit të kockës dhe kristaleve hidroksipitat të inkapsuluara. Anhidraza karbonike tipi II prodhon jone hidrogjen brenda në qelizë, të cilët pompohen më vonë përmes kufirit të rudhosur të membranës nëpërmjet pompave protonike të lokalizuara në membranën bazo-laterale, në këtë mënyrë duke acidifikuar mjedisin jashtëqelizor. Prosesi i parë gjatë resorbimit të matriksit të kockës është mobilizimi i kristaleve të hidroksipitatit duke tretur lidhjet me kolagenin nëpërmjet proteinave jokolagjenike dhe pH i ulët shpërbën kristalet e hidroksipitatit, duke ekspozuar matriksin e kockës. Më pas fibrat e kolagenit treten nga kathepsina K, tani në pH optimal. Mbetjet e kësaj tretjeje jashtëqelizore mund transportohen përmes qelizës dhe çlirohen në domenin bazo-lateral (Väänänen and Zhao, 2000). Ngjitja e osteoklasteve në sipërfaqen e kockës përfaqëson një proces esencial për resorbimin e kockës. Ky proces përfshin receptorët transmembranorë të integrinave. Integrinat lidhen me sekuenca specifike të aminoacideve (kryesisht sekuenca RGD) të proteinave në sipërfaqe të matriksit të kockës. Rregullimi i resorbimit të kockës ndërmjetësohet nga veprimi i hormoneve në

qelizat stromale, osteoblastet dhe osteocitet. Për shembull PTH mund të stimulojë prodhimin osteoblastik të M-CSF, RANKL, OPG ose IL-6, të cilat veprojnë direkt në osteoklaste. (Boyle et al., 2003; Asagiri & Takayanagi, 2007).

Evidenca të fundit kanë treguar se osteoklastet i nënshtrohen apoptozës pas një cikli resorbimi, një proces ky i favorizuar nga estrogjeni, duke shpjeguar rritjen e resorbimit të kockës pas gonadoektomisë ose menopauzës.

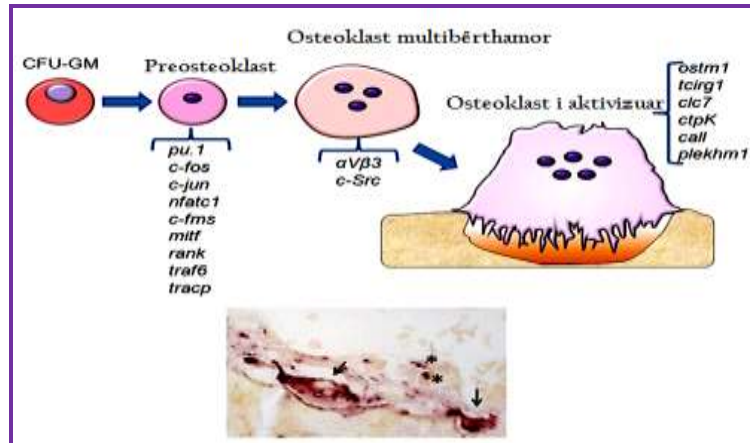


Figura 1.8: Paraqitje skematike e procesit të diferencimit të osteoklastit. Procesi fillon nga CFU-GM (*Colony Forming Unit-Grannulocyte Monocyte*) që fillimisht angazhohen për të formuar preosteoklastet, të cilat më pas fuzohen duke formuar osteoklastet multibërthamore. Më pas osteoklastet polarizohen dhe aderohen me matriksin kockor duke u bërë kështu aktive (sipër). Më poshtë në figurë është paraqitur një seksion i indit kockor që tregon osteoklastet (shigjetat) dhe preosteoklastet (yje) të ngjyrosura purpur për markerin specifik TRAcP

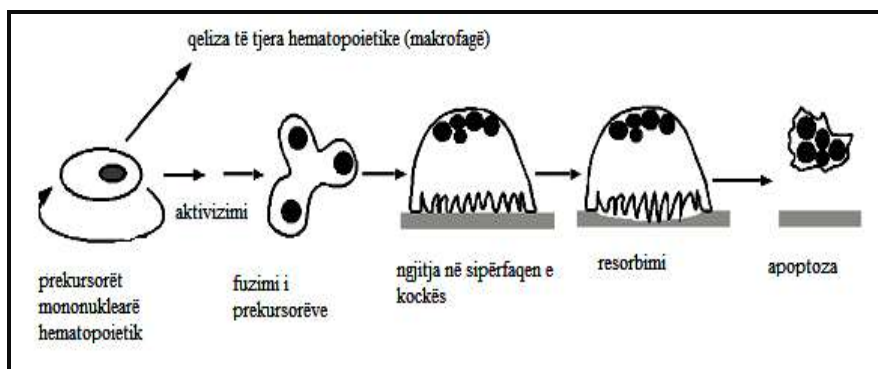


Figura 1.9: Cikli jetësor i osteoklasteve dhe apoptoza. Osteoklastet derivojnë nga qeliza prekurre mononukleare hematopoietike, të cilat fuzohen me qeliza të tjera prekurre për të formuar osteoklaste multinukleare. Osteoklasti fillimisht atakohet në sipërfaqen e kockës dhe më pas fillon resorbimin. Pas një cikli të resorbimit të kockës osteoklastet i nënshtrohen apoptozës.

1.2. Rimodelimi i kockës

Skeleti është një organ metabolikisht aktiv që i nënshtrohet rimodelimit të vazhdueshëm përgjatë gjithë jetës, nëpërmjet procesit të resorbimit dhe formimit të kockës. Rimodelimi është procesi i turn-overit të kockës si rezultat i aktivitetit të qelizave në sipërfaqe të kockës. Gati 10% e skeletit të adultëve tek njeriu rimodelohet çdo vit. Rimodelimi lejon vertebrorët të rinovojnë kockat dhe është i nevojshëm për të ruajtur integritetin strukturor të skeletit dhe për të përbushur funksionin metabolik. Rimodelimi lejon kockën të përshtatet ndaj ndryshimeve në shpërndarjen e forcave

mekanike dhe të riparojë mikrodëmtimet. Për më tepër rimodelimi nevojitet për mobilizimin e kalçiumit dhe komponentëve të tjerë të matriksit të kockës, si dhe për inkorporimin e tyre në kockë kur duhet.

Rimodelimi është klasifikuar në dy tipa: rimodelim Haversian, që karakterizon kockat kortikale dhe rimodelim Endosteal, që përfaqëson një proces karakteristik përgjatë sipërfaqes së kockave trabekulare. Si pasojë e sipërfaqes së madhe së kockave trabekulare pjesa më e madhe e turnoverit ndodh në sipërfaqen endostealiale të kockave trabekulare ku është në kontakt me palcën e kockave. Formimi dhe resorbimi i kockës nuk ndodh rastësisht përgjatë sipërfaqes së kockës, ato janë të kordinuara si pjesë e mekanizmit të turnoverit të kockës, gjatë të cilit kocka e vjetër zëvendësohet nga kocka e re, duke siguruar një mundësi për të ndryshuar formë, arkitekturë ose densitet të skeletit (Eriksen, 1986).

Tek skeleti normal i adultëve, formimi i kockës ndodh vetëm pasi ka ndodhur resorbimi. Ngjarjet që ndodhin gjatë rimodelimit janë **aktivizim-resorbim-formim (ARF)** dhe realizohen nga një grup qelizash që formojnë njësitë bazë multiqelizore (BMU). Një cikël rimodelimi fillon me formimin e njësisive të reja BMU në një sipërfaqe inaktive të kockës. Qelizat në atë sipërfaqe shkatërrohen dhe zëvendësohen nga osteoklaste që ndërtojnë një zonë të resorbuar në sipërfaqen e kockës brenda një intervali dy javor. Cikli komplet i rimodelimit zgjat afërsisht 3 muaj tek njeriu (Mundy et al., 2003).

1.2.1 Resorbimi i kockës

Stadi fillestar përfshin rekrutimin e qelizave osteoklastike në vendin ku do të ndodhë resorbimi. Sinjalet që drejtojnë osteoklastet në saitet e resorbimit janë akoma të paqarta, por ka mundësi që nën veprimin e sinjaleve çlirohen nga osteocitet faktorë lokalë nën përgjigjen e deformimit të kockës ose mikrofrakturave që shkaktohen nga lodhja (Väänänen and Zhao, 2000).

Resorbimi i kockës nga osteoklastet kalon në disa etapa. Etapa fillestare ka të bëjë me ngjitjen e osteoklasteve në matriks dhe gjenerimin e një mikromjedisi të izoluar midis qelizës dhe sipërfaqes së kockës (Silver et al., 1988). Osteoklastet sekretojnë acide dhe proteaza në sipërfaqen e kockës, të cilat veprojnë për të degraduar matriksin e kockës. Demineralizimi është faza e parë dhe përfshin acidifikimin e mikromjedisit të izoluar. Kjo është e ndërmjetësuar nga një ATP-azë vakuolare (V-ATPaze e lokalizuar në zonën e rrudhosur të membranës që takon sipërfaqen e kockës (Väänänen et al., 1990).

Zona e rrudhosur përmban gjithashtu kanale për jonet e klorit që lejojnë një lëvizje të anioneve të klorit në lagunat e resorbuar në mënyrë që të ruajnë elektroneutralitetin. Kjo rezulton në sekretim të HCl në lagunat e resorbuar duke shkaktuar rënie të pH. Mjedisi acid mobilizon mineralet e kockave dhe kur largohen komponentët mineral të matriksit mund të çlirohen disa proteina. Shpërbërja e mineraleve të kockës pasohet nga një degradim i komponentëve organikë të kockës nga proteazat dhe kryesorja është kathepsina K, një proteinazë lizosomale (Inui et al., 1997).

Produktet e degraduara endocitohen dhe transportohen përmes qelizës nëpërmjet transcitozës dhe si përfundim çlirohen në anën bazolaterale (Salo et al., 1997). Krahas kathepsinës K në këtë proces kontribuojnë dhe enzima të tjera, siç është metaloproteinaza e matriksit apo kathepsina të tjera (Väänänen and Zhao, 2002).

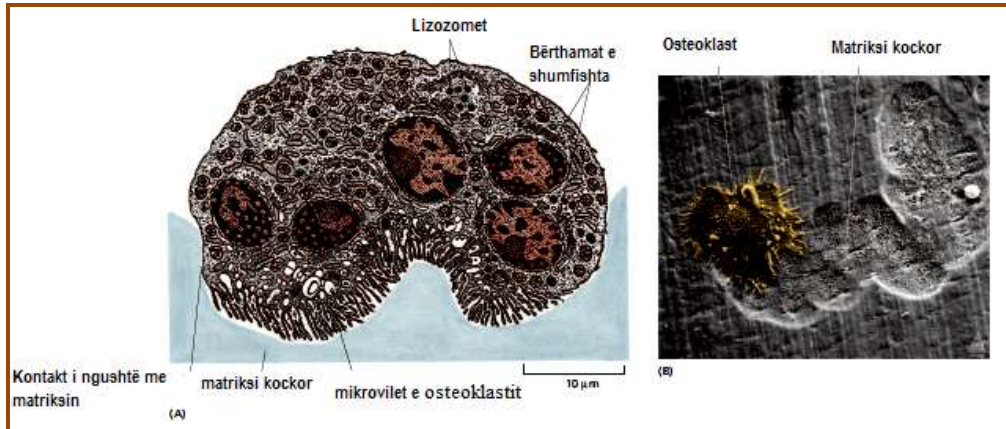


Figura 1.10: A. Struktura e një osteoklasti. B. Një mikrografi e SEM, të një osteoklasti duke resorbuar kockën.

Faza reversale: Gjatë fazës ndërmjetëse midis resorbimit të matriksit dhe formimit të kockës, sipërfaqja e resorbuar përgatitet për formimin e kockës. Proçeset e sakta molekulare që ndodhin para formimit të kockës nuk janë kuptuar plotësisht, por është sugjeruar se ndërmjetësohen nga një popullim i qelizave mononukleare (Rifkin & Heijl, 1979). Pas resorbimit të kockës dhe shkëputjes së osteoklasteve, qelizat mononukleare mbulojnë sipërfaqen duke formuar një shtresë “çementi”, të pasur me osteopontinë. Kjo vijë çementi shënon limitin e resorbimit të kockës dhe këtu vepron si kocka e vjetër dhe ajo e re. kjo është quajtur si faza reversale, e cila pasohet nga një periudhë e formimit të kockës (McKee & Nanci, 1996).

1.2.2 Formimi i kockës

Tek skeleti i adultëve formimi i kockës ndodh normalisht vetëm në vendet ku ka ndodhur resorbimi dhe këto proçese janë të çiftuara në kohë dhe në hapësirë (Eriksen, 1986). Prekursorët e osteoblasteve tërhiqen në vendin e resorbuar nga molekula kemiotaktike, që mund të jenë çliruar nga matriksi i resorbuar (Mundy et al., 1982). Këto përfshijnë fragmente të proteinave strukturore apo dhe faktorë të rritjes. Në vëndet e rimodelimit ndodh proliferimi i prekursorëve të osteoblasteve i ndikuar nga faktorët lokalë të rritjes dhe osteoblastet e maturuara depozitojnë komponentë organikë të matriksit në sipërfaqet e resorbuar.

Rrjeta e kolagjenit sintetizohet fillimisht e ndjekur nga inkorporimi i proteinave jo kolagjenike. Prodhimi i kolagjenit të tipit I dhe formimi i matriksit kolagjenoz, shoqërohet me një rritje të *fosfatazës alkaline*, e cila pëson një ulje graduale kur fillon mineralizimi i matriksit. *Osteokalcina* shfaqet në stadet e fundit të diferencimit dhe gati në fillim të mineralizimit (Owen et al., 1990). Matriksi i ri organik i sintetizuar, i cili nuk është mineralizuar akoma njihet si osteoid dhe vihet re për shkak të një vonese kohore midis formimit të matriksit dhe kalcifikimit të tij, që zgjat afërsisht 10 ditë tek njerëzit (Baron, 2003).

Mineralizimi: Formimi i kockës ndodh gjatë tre proceseve të koordinuara: prodhimi i matriksit osteoid, maturimi i tij dhe mineralizimi i matriksit. Në kockën normale të një individi adult këto procese ndodhin në raporte të njëjta, kështu balanca midis prodhimit të matriksit dhe mineralizimit është e njëjtë.

Fillimisht osteoblastet depozitojnë me shpejtësi kolagjen, pa bërë mineralizimin duke depozituar një shtresë të hollë osteoide. Kjo pasohet nga një rritje në nivelin e

mineralizimit për të barazuar nivelin e sintezës së kolagjenit. Në stadin final ulet niveli i sintezës së kolagjenit dhe mineralizimi vazhdon deri sa shtresa osteoide të jetë mineralizuar plotësisht. Kjo periudhë kohore duket se është e nevojshme për osteoidin që të modifikohet dhe të suportojë mineralizimin. Për të nxitur mineralizimin në kockë duhet të kemi përqëndrime të larta të joneve kalcium dhe PO_4^{3-} , në mënyrë që të induktohet precipitimi i tyre në kalcium fosfat proces ky që lejon formimin e kristaleve të hidroksipitatit. Këto të fundit, grumbullohen në vezikulat e matriksit, të cilat janë strukturat e para ku mund të vrojtohen kristalet e hidroksipitatit.

Membranat janë shumë të pasura me fosfatazë alkaline dhe fosfolipide acidike, të cilat hidrolizojnë inhibitorët e kalcifikimit në matriks (përfshirë këtu pirofosfatin dhe ATP), duke lejuar kondensimin e kristaleve apatite. Pasi këto kristale vendosen në mjedisin e matriksit ato do të rriten në klastera, të cilat më vonë bashkohen për të kalcifikuar matriksin duke mbushur hapësirat midis dhe brenda fibrave të kolagjenit.

Rimodelimi i skeletit mund të ndikohet nga ndryshime në forcat mekanike ose mikrodëmtimet, si dhe nga përgjigjet hormonale ndaj ndryshimeve në nivelin e kalçiumit dhe fosforit (Mundy & Guise, 1999). Kjo përfshin hormonet e rregullimit sistematik të kalçiumit, hormonin e paratiroides (PTH) dhe 1,25(OH)2D3 (vitamin D), si dhe kalçitonina dhe një numër hormonesh lokalë e citokina. Hormonet seksuale si estrogjeni janë gjithashtu të përfshira, duke ndikuar negativisht në diferencimin e osteoklasteve dhe në resorbimin e kockës. Një kontroll sistematik sigurohet dhe nga *hormoni leptinë* i sintetizuar nga adipocitet, i cili vepron indirekt, duke u lidhur me receptorët e tyre në hipotalamus dhe dërguar sinjale në kockë (Ducy et al., 2000).

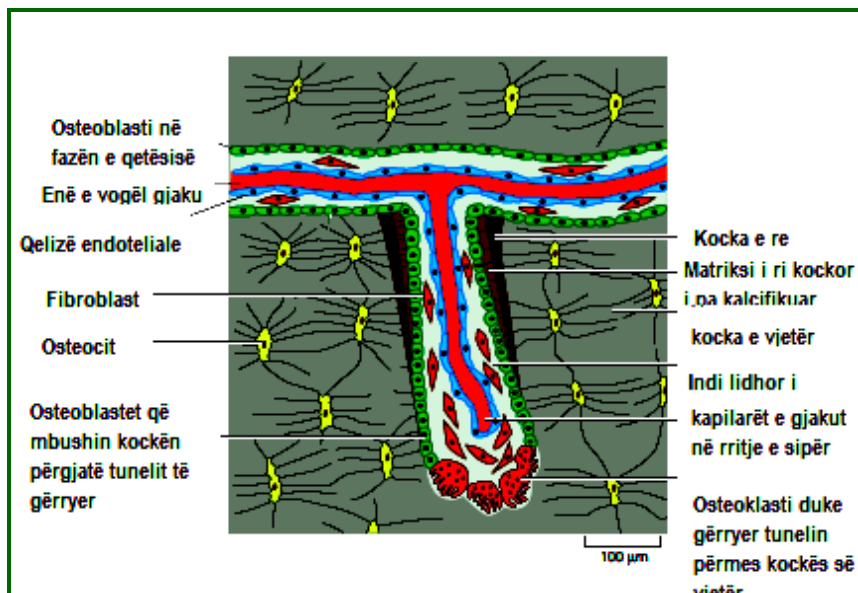


Figura 1.11. Rimodelimi i kockës kompakte

Për shumë vjet është pranuar se formimi dhe resorbimi i kockës janë çiftuar në mënyrë të njëjtë. Tek skeleti normal i adultëve raporti midis nivelit të formimit dhe resorbimit të kockës në procesin e rimodelimit është i barabartë, kështu turn-overi i kockës është i balancuar, pra volumi i kockës që resorbohet është i barabartë me atë që formohet. Në këtë mënyrë një reduktim në aktivitetin e osteoblasteve do të shkaktojë një reduktim të ngjashëm në aktivitetin e osteoklasteve, në mënyrë që të ruhet volumi i kockës. Një imbalancë në rimodelim, që çon në humbje të masës

kockore, ndodh në qoftë se kaviteti i krijuar nga osteoklastet është shumë i thellë, nëse osteoblastet nuk e mbushin dot këtë hapësirë ose të dyja këto së bashku.

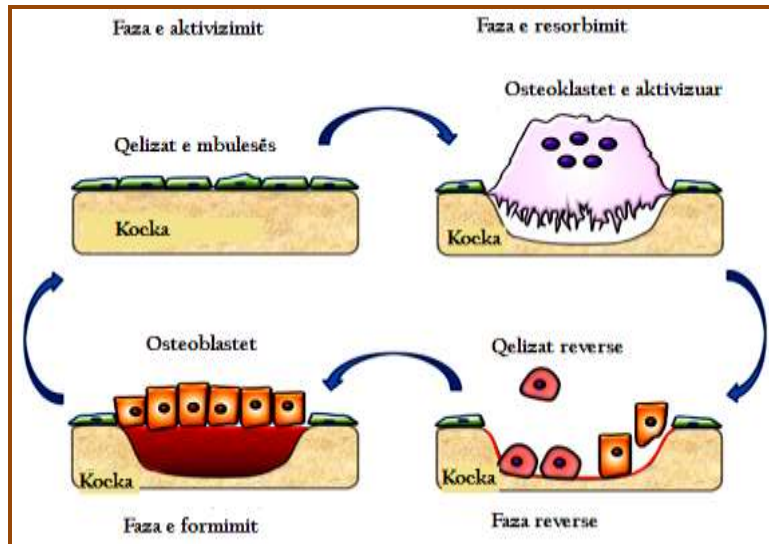


Figura 1.12: Fazat e formimit dhe resorbimit të kockës

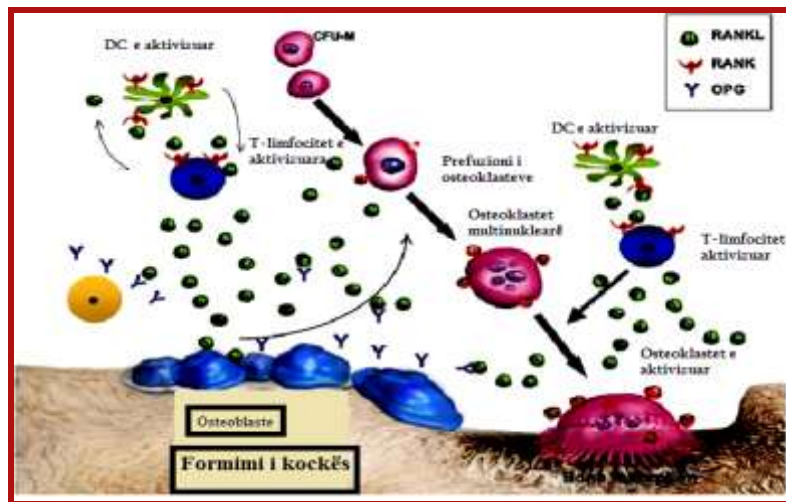


Figura 1.13: Cikli i rimodelimit të kockës. Osteoblastet (OB) “orkestrojnë” procesin e rregulluar të rimodelimit të kockës përmes sinjaleve aktivë të faktorëve sistemikë, përfshirë këtu: hormonin e rritjes (GH), interleukinat (IL-1, IL-6), hormonin paratiroid (PTH) dhe estrogenin (-E2). M-CSF dhe RANKL përfaqësojnë gjithashtu dy faktorë me anën e të cilëve osteoblastet ndërmjetësojnë në rekrutimin dhe diferencimin e osteoklasteve (OC).

1.3. Osteoporozë

Osteoporozë përfaqëson një çrregullim metabolik të zakonshëm të skeletit, që karakterizohet nga masë e ulët kockore dhe perforime “mikroarkitekturorë” në indin kockor, duke shkaktuar një rritje të thyeshmërisë së kockave dhe një pritshmëri më të madhe për fraktura (Anonymous, 1993). Është më e zakonshme tek femrat sesa tek meshkujt, kjo si pasojë e humbjes më të madhe të masës kockore dhe jetëgjatësisë më të madhe të femrave. Osteoporozë është pa dyshim një problem madhor i shëndetit publik. Shkalla e lartë e frakturave rezulton në një humbje të cilësisë së jetës tek gratë e moshuara dhe gjithashtu ka një kosto të lartë ekonomike. Kjo kosto pritët të rritët në mënyrë dramatike në të ardhmen si pasojë e rritjes së jetëgjatësisë dhe popullsisë në

moshë të madhe (Cooper, 2003). Për këtë arsye është domosdoshmëri zhvillimi i metodave jo të kushtueshme dhe gjerësisht të aplikueshme për diagnostikimin, parandalimin dhe trajtimin, me qëllim kufizimin e rritjes së frakturave osteoporotike.

1.3.1 Pathogjeneza e osteoporozës

Humbja e madhe e masës kockore që ndodh me mplakjen, i detyrohet një balance negative të aktivitetit osteoblastik ndaj atij osteoklastik. Pathogjeneza e humbjes së kockës dhe osteoporozës është komplekse dhe përfshin predispozita gjenetike dhe ndryshime në sistemin hormonal, përfshirë këtu edhe ndikimin e mjedisit.

Shkaku kryesor i osteoporozës tek gratë është rënia e nivelit të estrogenit që shoqëron menopauzën dhe ndërprerjen e funksionit ovarian. Humbja e masës kockore tek gratë në postmenopauzë ndodh në dy faza (Riggs et al., 1998): një fazë të përsheptuar rastësore që zgjat për 5-10 vjet dhe karakterizohet nga një humbje sinjifikante e kockave trabekulare (rreth 3% në vit tek kockat e shpinës) dhe një faze të ngadalshme të humbjes së masës kockore, që gjithashtu fillon në menopauzë dhe bëhet dominante pas fazës së parë. Faza e ngadalëshme, përfshin humbje të kockave trabekulare dhe kortikale, rreth ~0.5% në vit në disa rajone të skeletit dhe zgjat gjatë gjithë pjesës tjetër të jetës.

Rënia e nivelit të estradiolit qarkullues në periudhën e menopauzës është një nga arsyet kryesore për fillimin e humbjes së masës kockore. Mekanizmat e veprimit të estrogenit në kockë nuk janë plotësisht të qarta, por mesa duket humbja e masës kockore ndodh si pasojë e rritjes së shkallës së rimodelimit, si dhe nga një inbalancë midis resorbimit dhe formimit të kockës. Shkalla e rimodelimit të kockës është gati e dyfishuar në menopauzë dhe vazhdon të mbetet e rritur gjatë osteoporozës (Recker et al., 2004).

1.4. Mekanizmat e veprimit të estrogenit në rregullimin e turnoverit të kockave dhe masës kockore

Megjithëse lidhja e sasisë së ulët të estrogenit me humbjen e masës kockore në periudhën pasmenopauzike dhe osteoporozës është trajtuar për gati 40 vjet me rradhë, mekanizmi nëpërmjet të cilit estrogeni ruan masën kockore nuk ka qënë plotësisht i qartë. Vetëm gjatë dekadës së fundit është arritur të kuptohet më mirë ky mekanizëm. Veprimi i estrogenit në kockë mund të shihet në disa nivele të ndryshme të organizmit. Le të njihemi në mënyrë më të detajuar me veprimin e estrogenit në kockë dhe metabolizmin e kalçiumit në organe, inde, nivel qelizor dhe molekular.

1.4.1 Veprimi i estrogenit në nivelin e organeve

Në nivelin e organeve veprimi bazë i estrogenit konsiston në ruajtjen dhe mbajtjen e qëndrueshme të masës kockore. Estrogjeni është një nga përcaktuesit fiziologjikë kryesorë të masës kockore. Ulja e nivelit të estrogenit do të çonte në humbje të theksuar të masës kockore. Ndërsa niveli i ulët i hormoneve të tjerë kalcitrofikë (hormoni paratiroid, vitamina D, kalcitonina ose glukokortikoidet) ka një efekt shumë modest në kockë.

1.4.2 Veprimi i estrogenit në nivel indor

Estrogjeni vepron në skelet në mënyrë direkte ose indirekte, duke ndikuar kështu në homeostazën e kalçiumit ekstraskelotor (Riggs, 1998).

Efekti direkt në skelet

Ndërmjetësohet nga *receptorët me afinitet të lartë për estrogenin (ERs)*, që ndodhen në osteoblaste dhe osteoklaste. Qelizat e kockës përmbajnë *ERα* dhe *ERβ*. Efekti i estrogenit në skelet është të supresojë turnoverin e kockave dhe të ruajë balancën midis formimit dhe resorbimit të kockës. Në menopauzë efekti i kufizuar i estrogenit çon në rritje të turnoverit të kockave dhe për pasojë niveli i formimit të kockës është më i ulët se ai i resorbimit (Manolagas, 2000). Nga një studim i realizuar në Francë në një grup të përbërë nga 653 femra, u zbulua se markerët e formimit rriten me 45%, ndërsa ata të resorbimit me afërsisht 90%. Kjo imbalancë çon në humbje të masës kockore (Garnero et al., 1996).

Efekti indirekt në skelet

Në ndryshim me fazën e shpejtë të humbjes së kockës, gjatë së cilës kemi një humbje apo rrjedhje të joneve Ca dhe njëkohësisht shtypje të funksionit të paratiroides, faza e ngadalshme është e shoqëruar me gëryerje të jashtme të kalçiumit dhe me një hiperparatiroidizëm progresiv. Kjo shkaktohet nga humbja e efektit të estrogenit në homeostazën e kalçiumit. Estrogjeni ndikon në sasinë e kalçiumit në kockë, duke vepruar nëpërmjet receptorëve të estrogenit për të rritur nivelin e absorbimit të tij nga ana e indit kockor. Estrogjeni vepron edhe në veshka për të rritur absorbimin renal të kalçiumit. Defiçenca e estrogenit çon në rritje të sasisë së kalçiumit në gjak dhe si pasojë shkakton hiperparatiroidizëm, duke u bërë shkak për një rritje të resorbimit të kockave (Genant et al., 1982; Arjmandi et al., 1993).

Pjesa më e madhe e kalçiumit në trup gjendet në skelet. Si pasojë e kësaj ekziston një mekanizëm konstant i shkëmbimit midis kalçiumit në kocka dhe kalçiumit që ndodhet në gjak. Për aq kohë sa gjaku përmban sasinë e caktuar të kalçiumit të marrë nëpërmjet ushqimit, sasia e kalçiumit në kockë qëndron konstante. Kur niveli i kalçiumit në gjak është i ulët, trupi riabsorbon kalçiumin nga kocka në gjak dhe kjo rezulton në humbje të masës kockore. Sasia e nevojshme e kalçiumit në gjak është shumë e rëndësishme për tu realizuar një numër i madh funksionesh dhe nuk mund të tolerohet një defiçencë e kalçiumit, qoftë dhe për një periudhë të shkurtër. Kjo është arsyeja se pse sasia e ulët e kalçiumit ose vështirësitë në absorbimin e tij mund të rezultojnë në humbje të masës kockore.

1.4.3 Veprimi i estrogenit në nivel qelizor

Estrogjeni vepron për të ulur formimin dhe aktivitetin e osteoklasteve, duke rritur shkallën e apoptozës dhe duke zvogëluar jetëgjatësinë e tyre. Por estrogeni rrit edhe veprimin e osteoblasteve, diferencimin dhe proliferimin e tyre. Mungesa e estrogenit indukon një imbalancë në rimodelim, duke zgjatur fazën e resorbimit (reduktohet apoptoza e osteoklasteve) dhe duke shkurtuar fazën e formimit (rritet apoptoza e osteoblasteve) (Frost, 1966). Për veprimin direkt të estrogenit në rritjen e procesit të formimit të kockës ka prova të shumta, një prej tyre është ajo e realizuar nga Khastgir (Khaustgir et al., 2001) dhe Tobias & Compston (Tobias & Compston., 1999) të cilët demonstruan një rritje të volumit të kockës tek gratë pas një trajtimi për 6 vjet me doza të larta estrogeni.

Sasia e ulët e estrogenit ndikon gjatë rimodelimit në dy rrugë:

1. rrit aktivizimin e njësive BMU, të cilat ngrajnë në nivel të lartë turnoverin e kockës
2. indukon imbalancën e rimodelimit, duke zgjatur fazën e resorbimit dhe shkurtuar fazën e formimit.

Gjithashtu rritja e osteoklasteve nxit edhe progresionin e BMU-së. Si pasojë e këtyre ndryshimeve, volumi i kavitetit të resorbimit rritet përtej aftësisë së osteoblasteve për ta rimbushur atë. Në kockat e rrjetëzuara, rritja e jetëgjatësisë së osteoklasteve rrit resorbimin, duke çuar në një perforim trabekular dhe humbje të konektivitetit trabekular. Kur ekziston një imbalancë në rimodelim turnoveri i lartë i kockave përkeqëson procesin e humbjes së masës kockore (Riggs, 2000).

1.4.4 Veprimi i estrogenit në nivel molekular

Citokinat përgjegjëse për rregullimin parakrin të resorbimit të kockës nga estrogeni mund të grupohen në citokina “upstream” dhe “downstream”. Studime të hershme janë fokusuar në rolin që luan mungesa e estrogenit për rritjen e prodhimit në kockë të citokineve upstream ku përfshihen:

1. *Interleukina 1 (IL1)*
2. *Interleukina 6 (IL6)*
3. *Faktorët α të nekrozës së tumoreve (TNF α)*
4. *Faktorët koloni stimulus të granulociteve (G-CSF)*
5. *Faktorët koloni stimulues të makrofagëve (M-CSF)*
6. *Prostaglandinat E₂ (PGE₂).*

Këto citokina rritin shkallën e resorbimit të kockës, kryesisht duke rritur nivelin e preosteoklasteve në kockë. Estrogjeni gjithashtu rregullon aktivitetin e faktorit të transformimit β (TGF- β), një inhibitor ky i resorbimit të kockës, që vepron direkt në osteoklaste duke ulur aktivitetin e tyre, gjë që sjell si pasojë apoptozën e tyre. Citokinat janë efektorët finalë të diferencimit dhe funksionimit të osteoklasteve (Pacifi, 1996).

Faktori parakrin i diferencimit të osteoklasteve që tashmë është identifikuar si aktivator i receptorit të **NF κ B (faktori nuklear kappa B)**, njihet me shkurtimin **RANKL** dhe përfaqëson një proteinë që prodhohet nga osteoblastet. Kontakti qelizë-qelizë midis osteoblasteve dhe osteoklasteve, lejon RANKL të lidhet me receptorët membranorë RANK, duke stimuluar të gjitha aspektet e funksionimit të osteoklasteve. Në përgjigje të sinjalizimit RANKL, në të njëjtën kohë që rritet diferencimi dhe aktiviteti i osteoklasteve, ulet ndjeshëm apoptoza e tyre. RANKL është një faktor i nevojshëm dhe i mjaftueshëm për formimin e osteoklasteve.

Osteoklastet fillimisht lidhen me kockën me anën e **podosomeve** të ndërmjetësuar nga integrinat. Më pas në saje të ndërveprimit të osteoklastit me osteoblastet fqinjë me anën e proteinave trimerike transmbranore RANK dhe RANKL, induktohet një riorganizim i citoskeletit. Ky i fundit bëhet shkak për krijimin e lidhjeve të specializuara dhe të ngushta të osteoklastit me kockën. Osteoklastet e aktivizuara çlirojnë në hapësirën jashtëqelizore, një përzjerje korozive të përbërë nga HCL dhe proteaza që resorbojnë apo tretin kockën. Osteoblastet mund të supresojnë resorbimin e kockës me anën e sekretimit të **osteoprotegerinës (OPG)**. Lidhja e OPG-së me receptorin RANKL, bllokon lidhjen e këtij të fundit me RANK, duke ndërprerë kështu aktivizimin e tyre.

Qelizat e osteoblasteve sekretojnë osteoprotegerin (OPG), një receptor ky që neutralizon RANKL dhe nuk e lejon atë të lidhet me RANK. Estrogjeni rrit sasinë e OPG-së dhe ul sasinë e M-CSF dhe RANK (Hofbauer et al., 2000). Megjithatë roli i efektit të estrogenit në këtë rrugë sinjalizimi mund të jetë indirekt nëpërmjet ndërmjetësuesve të stimuluar nga estrogeni. Kështu IL1 dhe TNF α ndikojnë në rritjen

e nivelit të RANKL, OPG dhe M-CSF, ndërsa PGE₂ rrit nivelin e RANKL dhe ul atë të OPG.

Akoma nuk është provuar veprimi direkt i estrogjenit në rregullimin e RANKL. Estrogjeni gjithashtu bllokon dhe aktivitetin e *Jun NH₂ – terminal kinazës (JNK)* dhe prodhimin e *c-Jun* dhe *Jun D* në qelizat e osteoklasteve. Të dhënat tregojnë se estrogjeni inhibon resorbimin e kockës duke induktuar ndryshime të vogla, por të rëndësishme në faktorët rregullues të varur nga estrogjeni.

Nga sa vumë në dukje më sipër del se estrogjeni ruan masën e kockës dhe mban të qëndrueshme balancën midis resorbimit dhe formimit të kockës. Estrogjeni vepron në skelet direkt nëpërmjet receptorëve me afinitet të lartë ER të vendosur në osteoblaste dhe osteoklaste dhe në mënyrë indirekte duke rritur absorbimin e kalçiumit intestinal dhe ruajtjen e kalçiumit renal. Estrogjeni rrit formimin e kockës duke rritur funksionin e osteoblasteve dhe ulur apoptozën e tyre. Estrogjeni ul resorbimin e kockës duke kufizuar osteoklastogjenezën dhe aktivitetin e osteoklasteve, si dhe rrit apoptozën e tyre. Ky veprim realizohet në mënyrë direkte dhe indirekte. Efekti parakrin i një numri të madh citokinash ndërmjetësojnë veprimin indirekt.

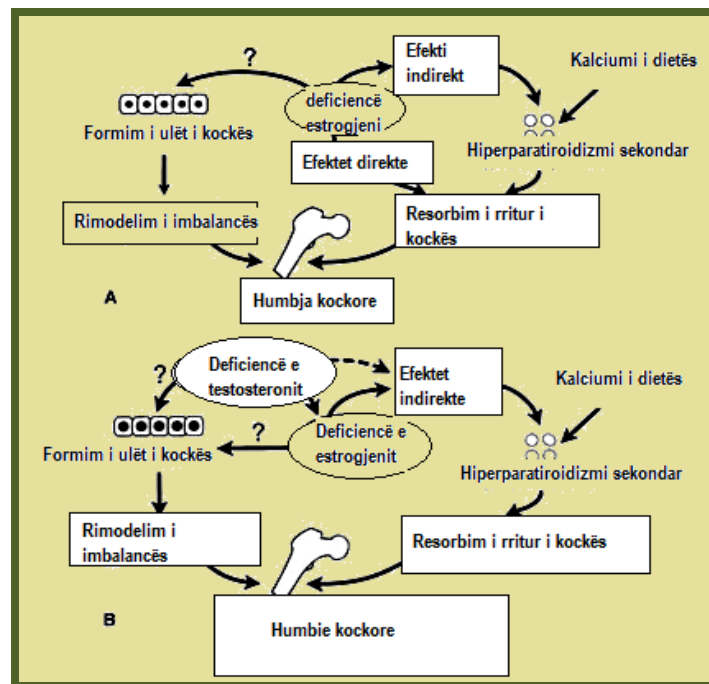


Figura 1.14: Paraqitja skematike e mekanizmit nëpërmjet të cilit ulja e niveleve të estrogjenit dhe testosteronit çon në humbje të masës kockore.

1.5. Ndikimi i duhanit në shfaqjen e osteoporozës

Mekanizmat e ndikimit të duhanit në shfaqjen e osteoporozës nuk janë akoma shumë të qarta. Ndryshimet në metabolizmin e kockave të induktuara nga duhanpirja mund të ndodhin si pasojë e ndryshimit të niveleve të hormoneve kalcitropike, ndryshimit në prodhimin, metabolizmin dhe lidhjen e estradiolit (Krall & Dawson-Hughes, 1999; Rapuri et al., 2000; Michnovicz et al., 1989; Cassidenti et al., 1990), ndryshime në metabolizmin e hormoneve adreno kortikale (Rubin & Warner, 1975; Baron et al., 1995) dhe efektit direkt në osteogjenezë duke përfshirë ndryshimet në sistemin RANK– RANKL–OPG (Tang et al., 2009; Lappin et al., 2007), metabolizmin e kolagenit (Sorensen et al., 2010) dhe angiogjenezën e kockës (Ma et al., 2010).

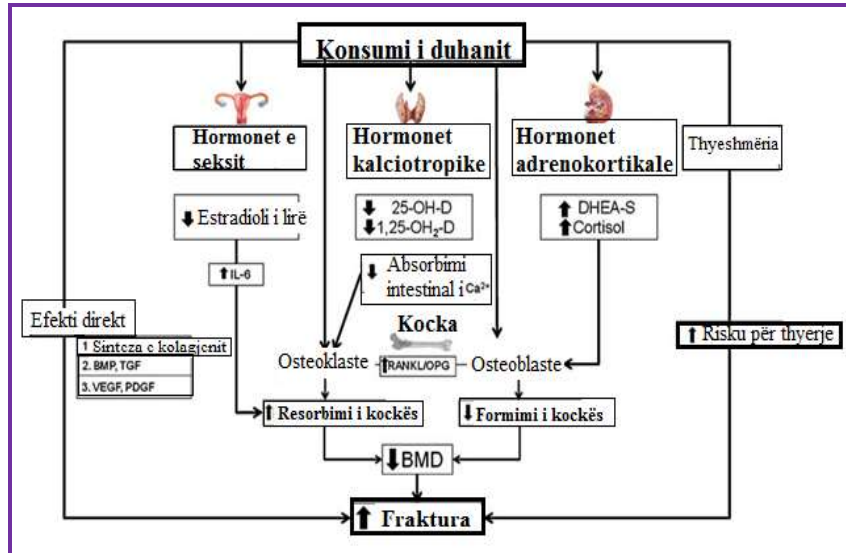


Figura 1.15. Mekanizmat pathofiziologjikë të veprimit të duhanit në uljen e densitetit mineral të kockës dhe rritjen e riskut për fraktura.

1.5.1 Duhanpirja dhe hormonet kalcitropike

Aksi PTH-vitamin D, luan një rol të rëndësishëm në homeostazën e kalçiumit dhe mineralizimin e kockës. Kjo sepse PTH rregullon sasinë e kalçiumit të jonizuar në serum nëpërmjet ndryshimeve në resorbimin e kockës dhe riabsorbimit renal të kalçiumit, ndërsa 1,25 dihydroxyvitamin D (1,25-OH₂-D) rregullon absorbimin e kalçiumit intestinal.

Dy studime kanë treguar nivel të ulët të 25- hydroxyvitaminës D (25-OH-D) dhe 1,25-OH₂-D-së tek duhanpirëset, krahasuar me jo duhanpirëset (Brot, 1999). Gjithashtu duhanpirja mund të ndryshojë metabolizmin hepatic të vitaminës D, duke ndikuar në aktivitetin e enzimës 25 hydroxylazë (CYP2R1) në mëlçi dhe duke ulur nivelin e 25-OH-D, në mënyrë të ngjashme me efektin e duhanit në rritjen e shkallës së degradimit hepatic të estrogenit (Michnovicz et al., 1986). Mekanizmi pathofiziologjik i niveleve të ulta të 1,25-OH₂-D tek duhanpirëset nuk është qartësuar plotësisht. Sot mendohet se nivel i ulët i kalcitriolit mund t'i detyrohet aftësisë së ulët të 25-OH-D, një precursor ky metabolik i 1,25-OH₂-D, ose si pasojë e shtypjes së çlirimit të PTH (Need et al., 2002).

Përsa i përket efektit të duhanit në nivelin e PTH-së ka mendime kontradiktore. Disa studime tregojnë rritje të nivelit të PTH-së në varësi të vitaminës D (Szulc et al., 2002; Rapuri et al., 2000). Studime të tjera tregojnë shtypje të nivelit të PTH, pavarësisht nivelit të ulët të vitaminës D (Brot, 1999; Need et al., 2002; Paik et al., 2011). Vlerat e ndryshme të PTH në studime të ndryshme, mund t'i detyrohen dhe efektit të peshës, konsumit të alkoolit, përdorimit të estrogenit, aktivitetit fizik, ekspozimit në diell, marrjes së kalçiumit dhe Vitaminës D (Brot, 1999; Kiel et al., 1996). Ka prova që tregojnë se duhani ka të bëjë me absorbimin gastrointestinal të kalçiumit nëpërmjet ndryshimeve në metabolizmin e hormoneve kalcitropikë, duke ndikuar për pasojë në gjëndjen e kockës (Brot, 1999; Rapuri et al., 2000). Tashmë është e qartë se duhanpirëset kanë një mënyrë jetese jo të shëndetëshme, si për shembull marrje në sasi të ulët të kalçiumit dhe vitaminës D dhe mungesë aktiviteti fizik. Këto të marra së bashku ndikojnë në nivelin e hormoneve kalcitropikë dhe shëndetin të kockës në përgjithësi (Halperin et al., 2010; Weinzenberg et al., 2005).

1.5.2 Duhanpirja dhe hormonet seksuale

Estrogjeni luan një rol mbrojtës në metabolizmin e kockës, kryesisht duke penguar resorbimin e kockës. Ndikimi i mungesës së estrogjenit në pathogjenezën e osteoporozës tek gratë në posmenopauzë është tashmë i njohur prej vitesh (Cummings et al., 1998; Falahati-Nini et al., 2000). Duhanpirëset karakterizohen nga një menopauzë më e hershme, (Jick, 1977; Mikkelsen et al., 2007) dhe sekretojnë më pak estradiol dhe estriol.

Ka tre mënyra të mundshme nëpërmjet të cilave duhanpirja ndikon në prodhimin dhe metabolizmin e estrogjenit (Fig. 1.17):

1. Nikotina dhe metabolitët e saj reduktojnë prodhimin e estrogjenit duke inhibuar enziminë aromatazë në një mënyrë të kthyshme (Barbieri et al., 1986).
2. Si tek meshkujt ashtu dhe tek femrat duhanpirja rrit metabolizmin hepatic të estradiolit nëpërmjet hidroksilimit 2α , duke çuar në shndërrim të pakthueshëm të estronit në 2-methoxyestrone, një metabolit ky inaktiv (Cassidenti et al., 1990).
3. Duhanpirësit karakterizohen nga nivele të larta të SHBG-së, (sex-hormone binding globulin), krahasuar me joduhanpirësit, duke reduktuar sasinë e estradiolit të lire (Daniel et al., 1992).

Sidoqoftë studime të tjera nuk kanë treguar një lidhje midis duhanit dhe estradiolit (Whitcomb et al., 2010) ose një rritje paradoksale në nivelin e estradiolit tek femrat duhanpirëse në posmenopauzë krahasuar me ato joduhanpirëse (Brand et al., 2011).

Rezultatet e ndryshme të këtyre studimeve, mund të shpjegohet me dallimet ndërmjet popullatave në studim, struktura e studimit, koha e realizimit të matjeve etj. Testosteroni ka një efekt indirekt në shëndetin e kockës (Amory et al., 2004) nëpërmjet aromatizimit të estrogjenit. Por testosteroni mund të ketë edhe një efekt direkt që i detyrohet pranisë së receptorëve të androgjeneve në kockë (Colvard et al., 1989; Riggs et al., 2002).

Rritja e nivelit të testosteronit tek meshkujt duhanpirës mund të lidhet me një feedback negativ të minimizuar të aksit hipotalamus–hipofizë, si pasojë e niveleve të ulta të estradiolit, gjë që sjell një rritje të gonadotropinave dhe testosteronit (Trummer et al., 2002). Si rrjedhojë duhanpirja mund të inhibojë aromatazën dhe parandalojë shndërrimin e testosteronit në estradiol. Nikotina mund të stimulojë *hormonin adrenokortikotrop (ACTH)*, duke rezultuar në një stimulim si të kortizolit ashtu edhe të androgjeneve (Direk et al., 2011; Khaw et al., 1988).

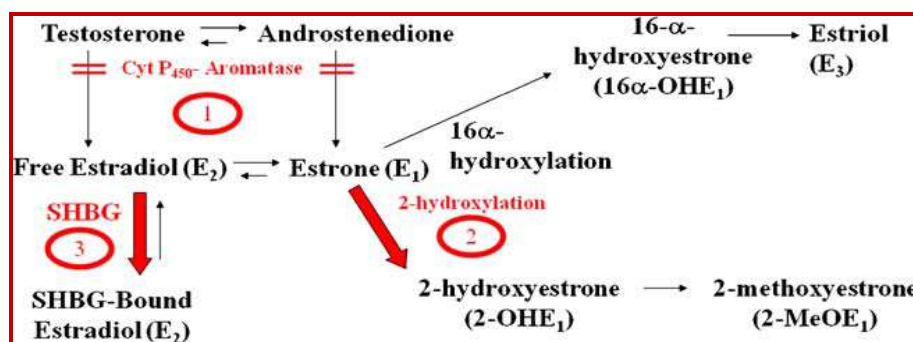


Figura 1.16: Ndryshimet që karakterizojnë prodhimin, metabolizmin dhe lidhjen e estradiolit në varësi të zakonit të pirjes së duhanit. Sinteza dhe metabolizmi i estrogjenit:

efektet e pirjes së duhanit janë nënvizuar me ngjyrë të kuqe. Pirja e duhanit: 1. Redukton prodhimin e estradiolit me anën e inhibimit të aromatazës 2. Rrit nivelin e 2-hidroksilimit dhe prodhimin e pakthyesëm të 2-metoksiestronit, që përfaqëson një metabolit inaktiv të estrogenit dhe 3. Rrit nivelet e SHBG-së, e cila ul nga ana e vet nivelin e estradiolit të lirë aktiv.

1.5.3 Duhanpirja dhe hormonet adrenale

Sasi të mëdha të glukokortikoidëve mund të ndikojnë në mënyrë direkte në metabolizmin e kockës, duke ndryshuar aktivitetin osteoblastik dhe osteoklastik të qelizave ose në mënyrë indirekte nëpërmjet ndryshimeve të ndërmjetësuar nga metabolizmin i alteruar i gonadeve, çrregullime në absorbimin gastrointestinal të kalçiumit ose dhe problemeve në riabsorbimin renal tubular të kalçiumit (Oakley et al., 2009).

Disa studime kanë treguar se duhanpirëset kanë nivele më të larta të *kortizolit*, *DHEAS*, dhe *androstenedionit*, krahasuar me joduhanpirëset (Direk et al., 2011; Khaw et al., 1988). Sidoqoftë këto rezultate nuk janë konfirmuar nga studime të tjera, që tregojnë nivele të ngjashme të kortizolit tek duhanpirëset dhe joduhanpirëset (Oncken et al., 2002; Yeh & Barbieri 1989).

1.5.3.1 Efekti direkt në qelizat e kockës

Kocka është një organ dinamik me osteoblaste që rregullojnë formimin e kockës dhe osteoklaste që nxisin resorbimin e kockës. Këto dy tipa qelizash janë nën kontrollin e disa faktorëve ku përfshihen: sistemi RANK–RANKL–OPG, estradioli, citokina të ndryshme dhe hormone kalciotropike. Efekti i nikotinës në formimin apo resorbimin e kockës është shumë kompleks (Fang et al., 1991). Nikotina në sasi të ulëta stimulon formimin e kockës ndërsa në sasi të larta e inhibon atë (Fang et al., 1991; Rothem et al., 2009). Kjo mund të realizohet nëpërmjet receptorëve acetilkolin-nikotinikë të pranishëm në qelizat e osteoblasteve (Walker et al., 2001; Villablanca, 1998).

Efekti i nikotinës në çlirimin osteoblastik të IL-6, një rregullator ky i resorbimit të kockës, është specifik në varësi të llojit, dhe tek qelizat osteoblastike humane mungon ndryshimi i nivelit të IL-6 ndaj nikotinës (Kamer et al., 2006). Por nga ana tjetër dy studime in vitro kanë treguar një ulje deri në mungesë të ndryshimit në qelizat osteoklastike pas ekspozimit ndaj nikotinës bazuar në nivelin e *fosfatazës acide tartratresistente (TRAP)*. Kjo e fundit përfaqëson një biomarker të aktivitetit osteoklastik të qelizave (Yuhara et al., 1999; Tanaka et al., 2006).

Studime in vitro kanë treguar se përbërësit e duhanit inhibojnë si proliferimin dhe diferencimin e osteoblasteve, ashtu edhe riparimin dhe rimodelimin e kockës (Liu et al., 2003; Liu et al., 2001).

1.5.3.2 Ndikimi në faktorë të tjerë të lidhur me kockën

Sistemi RANK–RANKL–OPG luan një rol të rëndësishëm në formimin dhe aktivitetin e osteoklasteve (Simonet et al., 1997; Bolon et al., 2001; Burgess et al., 1999). Ndërveprimi midis RANKL dhe RANK nxit formimin e osteoklasteve, ndërsa OPG konkurrin me RANKL për RANK dhe inhibon osteoklastogjenezën (Lacey et al., 1998). Disa studime kanë hetuar lidhjen midis duhanit dhe sistemit RANK–RANKL–OPG. Nikotina ka një efekt inhibitor në osteogjenezë, por mund të ketë të njëjtin efekt dhe në angiogjenezë, që mund të luajë një rol determinant në dinamikën e kockës.

1.6. Gjenetika e osteoporozës

Ekzistojnë faktorë të ndryshëm që ndikojnë në densitetin mineral, siç është dieta ushqimore (sasia e kalçiumit, konsumi i alkolit) dhe mënyra e jetesës (pirja e duhanit dhe aktiviteti fizik). Në raste të rralla osteoporozë mund të trashëgohet në mënyrë të thjeshtë mendeliane. Ka mjaft raste të kësaj sindrome familjare që shkaktohen nga mutacione në nivelin e **gjenit të aromatazës** dhe atij përgjegjës për **receptorin α të estrogenit (ER α)** (Smith et al., 1994; Morishima et al., 1995).

Osteoporozë trashëgohet në formë dominante autosomale, që konsiston në mutacionin e një gjeni të vetëm të lokalizuar në kromozomin 11 (Johnson et al., 1997). Megjithatë pavarësisht këtyre rasteve, osteoporozë konsiderohet si një sëmundje multifaktoriale, në të cilën faktorët gjenetikë modulohen nga faktorët hormonalë, mjedisorë dhe dietetikë. Sëmundje të tilla quhen sëmundje “poligjenike”, pasi përcaktohen nga faktorë të shumëfishtë gjenetikë.

Masa kockore është nën kontrollin e një numri të madh gjenesh, shumë prej të cilëve (gjene minorë ose të vegjël), ushtrojnë efekt të vogël në **BMD**, ndërsa një numër i vogël (gjene maxhorë), kontribuojnë në mënyrë të konsiderueshme në variacionin e këtij tipari. Gjithashtu ka të ngjarë që ekziston dhe ndërveprimi gjen-mjedis.

Ka një numër të madh gjenesh kandidatë të përfshirë në përcaktimin e BMD-së dhe në patogjenezën e osteoporozës, ndër të cilët ka gjene që kodojnë për: citokina, hormone kalcitropikë, receptorë të tyre dhe proteina të matriksit të kockës. Një listë e kandidatëve të mundshëm për osteoporozë jepet më poshtë. Ka mundësi që i njëjti fenotip osteoporotik mund të jetë rezultat i ndërveprimeve të ndryshme gjenetike dhe mjedisore.

Proteina kandidatë për osteoporozën:

1. Molekula të adezionit dhe ligandë (p.sh. **integrina**)
2. Proteina të matriksit të kockës :
 - **Kolagjenike**
 - **Jokolagjenike**
3. Hormone kalcitropikë dhe receptorët e tyre
 - **Kalcitonina** dhe receptorët e saj
 - **Vitamina D** dhe receptorët e saj
 - **PTH** dhe receptorët e saj
4. Citokina, faktorë të rritjes dhe receptorët e tyre (**IL6, IL1, IGFI**)
5. Enzima metabolike (**Aromatazë, metaloproteinazë**)
6. Hormonet seksualë dhe receptorët e tyre
 - **Androgjen**
 - **Estrogjen**

Vitet e fundit observime të ndryshme epidemiologjike dhe klinike, kanë nxjerrë në pah rolin determinant të gjeneve në patogjenezën e osteoporozës.

Së pari është për tu theksuar ekzistenca e ndryshimeve raciale në BMD dhe turnoverin e kockave: gratë me ngjyrë shfaqin vlera të larta të BMD-së në zona të ndryshme të skeletit, krahasuar kjo me gratë e bardha të së njëjtës moshë, peshë, gjatësi, sasi kalçiumi dhe nivel të aktivitetit fizik (Luckey et al., 1989; Daniels et al., 1995., Schnitzler et al., 1990). Një diferencë e tillë në masën e kockës është e shoqëruar edhe me një prevalencë më të lartë të osteoporozës tek gratë e bardha krahasuar me ato me ngjyrë.

Ndryshime të ngjashme në vlerat e BMD-së janë vënë re midis popullatave polineziane dhe atyre europiane (Cundy et al., 1995). Këto variacione në incidencën e osteoporozës midis grupeve raciale dhe etnike mund të vijnë si pasojë e faktorëve mjedisorë, por mund të reflektojnë dhe ndryshime të trashëguara. Studimet kanë treguar ekzistencën e një kontributi gjenetik në osteoporozë, që provohet nga një korrelim në vlerat e BMD-së midis nënave dhe vajzave, veçanërisht për shtyllën kurrizore (Seeman et al., 1989; Hansen et al., 1992).

Krahasuar me gra të së njëjtës moshë, vajzat e grave me osteoporozë kanë një përmbajtje të reduktuar të mineraleve në kocka dhe një risk më të lartë për fraktura pas menopauzës (Seeman et al., 1989). Gjithashtu studime janë realizuar dhe me binjakët. Analiza krahasuese e diferencës në këtë drejtim, ndërmjet binjakëve monozygotikë dhe dizygotikë mund të jetë e vlefshme në vlerësimin e kontributit gjenetik dhe mjedisor në masën kockore. Në këtë rast mund të përcaktohet nëse varianca fenotipike shkaktohet nga mjedisi. Tek binjakët dizygotikë (që ndajnë 50% të gjeneve), diferenca në BMD i detyrohet si faktorëve gjenetikë dhe atyre mjedisorë, ndërsa tek binjakët monozygotikë diferenca në BMD i detyrohet ekskluzivisht faktorëve mjedisorë.

Studime të fundit demostrojnë një korrelacion të fuqishëm ndërmjet masës kockore dhe nivelit të osteokalcinës në serum tek binjakët monozygotikë. Për binjakët dizygotikë vlera e korrelacionit është më e ulët. Kjo dëshmon për rolin gjenik në metabolizmin e kockës (Smith et al., 1973). Strategjia kryesore që përdoret për identifikimin dhe përcaktimin e gjeneve të përfshira në patogjenezën e osteoporozës është *linkage analysis*, si dhe studime në individë të prekur dhe jo të prekur që s'kanë lidhje me njëri-tjetrin, gjithashtu dhe eksperimente të kryera tek kafshët (Lander & Schork 1994). Në praktikë të gjitha këto vlejné për të vënë në dukjë lidhjen midis karakteristikave fenotipike të sëmundjes dhe një serie markerash gjenetikë polimorfikë.

Së fundmi disa studime gjenetike kanë identifikuar disa lokuse gjenikë që duket se janë të përfshirë në rregullimin e masës kockore dhe patogjenezën e frakturave osteoporotike (Eisman, 2000; Brandi et al., 2001; Econs & Speer 1996; Morrison et al., 1994; Cooper & Umbach, 1996; Gong et al., 1999; Ferrari et al., 1998).

1.7. Markerët biokimikë të turnoverit të kockave

Krahas matjes së densitetit mineral të kockës (BMD) duke përdorur teknika të tilla si *DXA (Dual energy X-ray absorptiometry)* dhe *QUS (quantitative ultrasonometry)*, vitet e fundit është vënë re një rritje e përdorimit të markerëve të turnoverit të kockave kryesisht tek gratë në periudhën posmenopauzike për të diagnostikuar osteoporozën. Janë zhvilluar metoda të automatizuara për matjen e këtyre markerëve, që do të thotë se në shumë laboratore është lehtësuar puna për të kryer këto matje.

Matja e këtyre markerëve të turnoverit të kockave nuk është shumë e kushtueshme dhe mund të realizohet në mënyrë të përsëritur tek i njëjti subjekt. Përfitimi kryesor i përdorimit të këtyre markerëve është se në përgjigje të trajtimit vihen re ndryshime sinjifikative brenda pak muajve, ndërsa në BMD nuk vihen re ndryshime sinjifikante në më pak se 12 muaj dhe gjithashtu përdorimi i tyre zvogëlon nevojën për matje të vazhdueshme të densitetit kockor.

Markerët e turnoverit të kockave në përgjithësi klasifikohen si: **markerë të formimit të kockës** dhe **markerë të resorbimit**, duke reflektuar respektivisht aktivitetin e osteoblasteve dhe osteoklasteve. Duhet pasur parasysh se formimi dhe resorbimi i kockës janë dy dukuri që shoqërojnë njëra-tjetrën, kështu një marker i formimit ose i resorbimit mund të përdoret për të karakterizuar si gjendjen e lartë të turnoverit të kockave pas menopauzës, ashtu edhe uljen që mund të pësojë turnoveri si përgjigje ndaj trajtimit me faktorë të antiresorbimit.

1.7.1 Markerët e formimit të kockës

1.7.1.1 Propeptidet prokolagjenikë

Propeptidi karboksiterminal i prokolagjenit tipi I (**PICP**) dhe propeptidi aminoterminal i prokolagjenit tipi I (**PINP**), lirohen në qarkullimin e gjakut gjatë konvertimit jashtëqelizor të prokolagjenit në **tropokolagjen**. Kolagjeni i tipit I është një trimer me dy lloje zinxhirësh polipeptidikë α_1 dhe α_2 . Të tre zinxhirët polipeptidikë mbështillen me njëri tjetrin duke formuar një helikë të trefishtë. Ky tip kolagjeni përfaqëson proteinën kryesore të matriksit të kockës. Theksojmë se në përbërjen organike të kockës, 90% e zë kolagjeni i tipit I dhe 10 % i takon **osteokalcinës**.

Kolagjeni sintetizohet nga osteoblastet duke pasur si formë prekursive **prokolagjenin** dhe sekretohet në hapësirën ndërqelizore, ku i nënshtrohet një serie modifikimesh, duke përfshirë dhe këputjen e **propeptideve** nga proteaza specifike. Propeptidet çlirohen dhe hidhen në qarkullimin e gjakut, ndërsa molekula e re që formohet është kolagjeni në formë fibrilare.

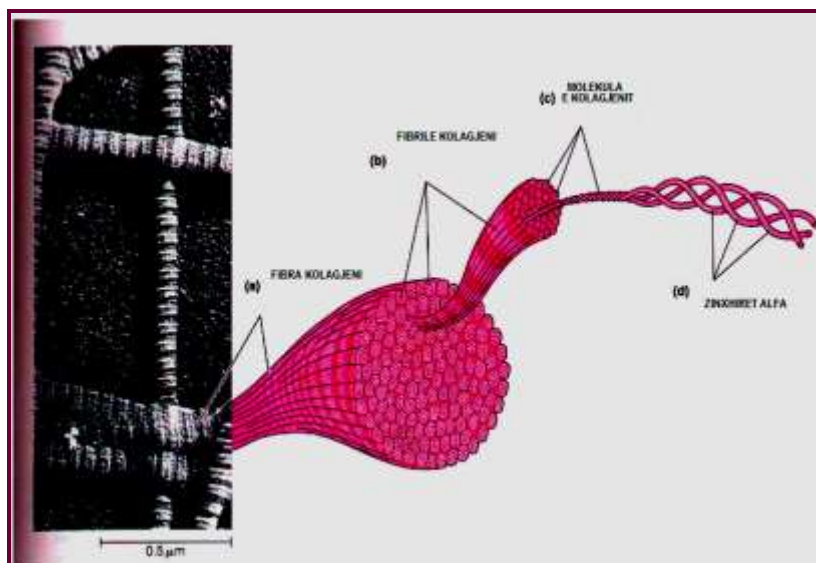


Figura 1.17: Organizimi dhe struktura e kolagjenit

PICP përfaqëson një polipeptid globular me një peshë molekulare 100 kDa, që përmban ura disulfide intra dhe inter zinxhirore. **PINP** është një polipeptid i vogël me peshë molekulare 35 kDa, që përmban ura disulfide vetëm intrazinxhirore. PINP duket se përfaqëson një marker të formimit të kockës më të ndjeshëm se PICP.

Rritja e nivelit të PINP-së gjatë menopauzës është më e lartë se ajo e PICP-së. Ka disa arsye për këtë ndryshim në ndjeshmëri. Mendohet se kontributi nga burime jokockore në nivelin qarkullues të propeptideve është i vogël (Seibel et al., 2002). Ndryshimet në modelet e këputjes së propeptideve nga prokolagjeni, në inde të ndryshëm mund të jenë përgjegjës për faktin që PINP-ja është më specifike se PICP-ja. PICP këputet plotësisht dhe çlirohet në sasi ekuimolare me sasinë e kolagjenit të sintetizuar në çdo ind; PINP në kolagjenin e gjetur në indet e mineralizuara, copëtohet plotësisht, ndërsa në indet e buta mund të përfshihet në fibra dhe të çlirohet gjatë rritjes së fibrave ose degradimit të kolagjenit.

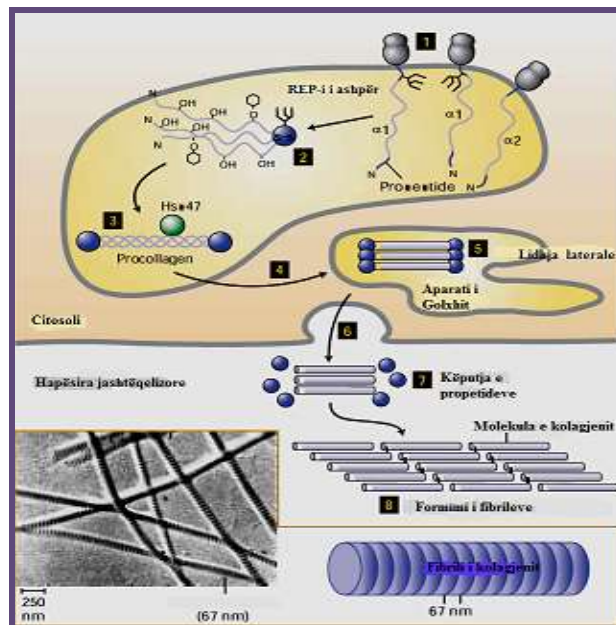


Figura 1.18: Procesi i shndërrimit të prokolagjenit deri në fibrat e kolagjenit

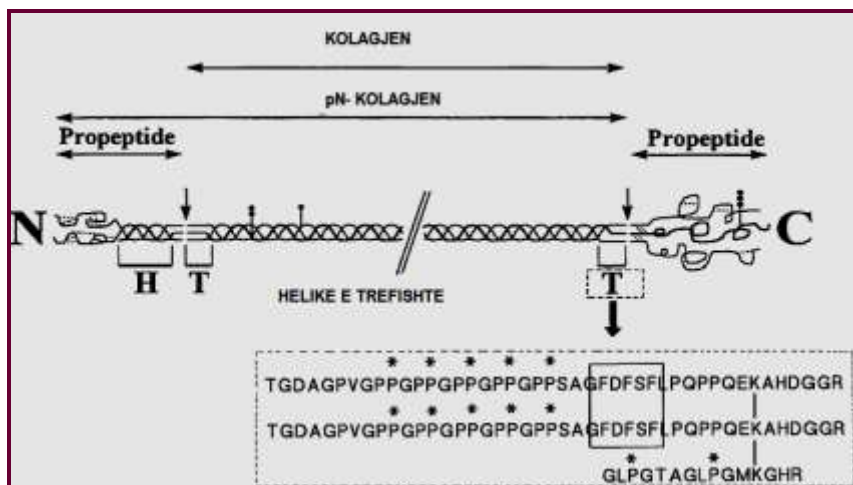


Figura 1.19: Struktura e tipit I të molekulës së kolagjenit dhe propeptidet.

Në figurën e mësipërme, shigjetat e holla tregojnë shtet e këputjes së telopeptidit aminoterminal (**PINP**) dhe telopeptidit karboksiterminal (**PICP**). Shigjeta e trashë tregon strukturën e molekulës me lidhje tërthore trivalente **ICTP**. Analiza e ICTP-së (ICTP assay), mundëson dedektimin e vetëm fragmenteve që përmbajnë dy zona të pasura me fenilalaninë (kutitë solide), të cilat mbahen së bashku me anën e lidhjeve trivalente tërthore.

Në figurë me N, është shënuar skaji aminoterminal i propeptidit; me C, skaji karboksiterminal i propeptidit; me H domeni helikal në telopeptidin aminoterminal dhe me T, domenet telopeptidike në secilin skaj të molekulës kolagjenike.

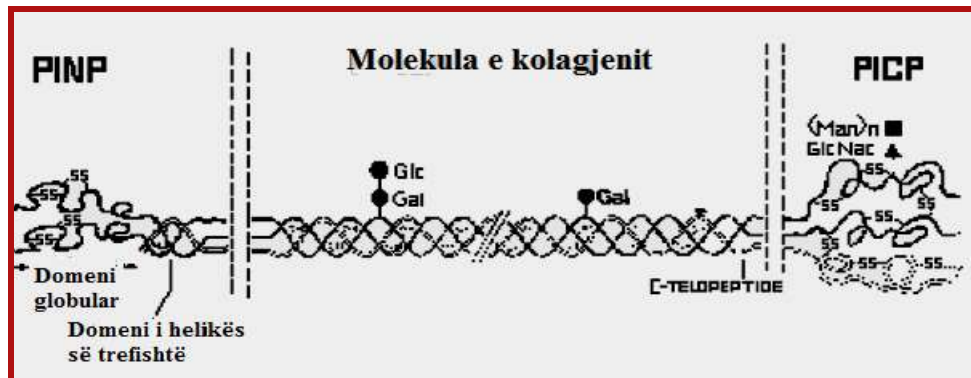


Figura 1.20. Struktura e tipit I të kolagjenit dhe telopeptidet PINP dhe PICP

1.7.1.2 Osteokalcina

Turnoveri i kockave mund të analizohet me anën e matjes së enzimave ose proteinave të matriksit që prodhohen nga osteoblastet apo osteoklastet. **Osteokalcina** që njihet edhe si **proteina Gla**, përfaqëson një marker të formimit të kockës. Osteokalcina është një proteinë, e cila prodhohet nga osteoblastet dhe që varet nga vitaminat K dhe D. Kjo proteinë është nga më të hasurat e më të studjuarat ndër të gjitha proteinat jo kolagjenike në kockë (Eastell & Blumsohn, 1997; Price & Nishimoto, 1980).

Struktura e osteokalcinës

Osteokalcina përfaqëson një polipeptid prej 49 aminoacidesh dhe peshë molekulare 5.8Kd. Tek njeriu gjeni i osteokalcinës është i lokalizuar në kromozomin 1 (1Q25 – Q31) dhe transkriptimi i tij rregullohet nga **1,25 dihidroxitamina D3**. (Price et al., 1980).

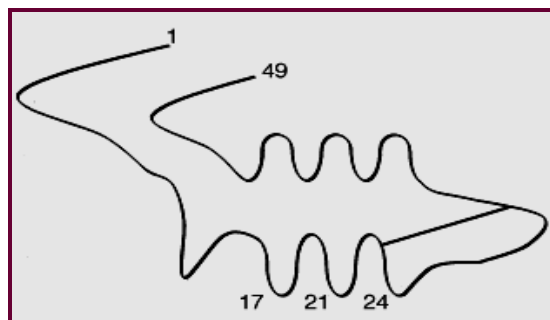


Figura 1.21: Diagrama e strukturës sekondare të osteokalcinës. Bazat Gla janë të pranishme në pozicionet 17, 21, dhe 24. Në diagramë vrojtohet edhe një lidhje disulfidike ndërmjet bazave 23 dhe 29.

Osteokalcina sintetizohet në ribozomet e REP-it, fillimisht si një formë prekursorë që njihet si *preproosteocalcina* me peshë molekulare 11kD dhe me 98 aminoacide. Kjo molekulë është e përbërë nga tre pjesë: një sinjal peptidik prej 23 aminoacidësh, që këputet gjatë translatimit, një propeptid prej 26 aminoacidësh që targeton proteinën për procesin e gama-karboksilimit, si dhe proteinën e maturuar prej 49 aminoacide (Gundberg & Clough, 1992; Houben et al., 1997).

Molekula e maturuar e osteokalcinës është e përbërë nga dy domene antiparalele α helikalë (16-25 dhe 30-41), që janë të lidhur nga një α -turn (26-29). Më tej molekula përmban dy α -helika të tjera si dhe një β - shtresë në skajin e saj C- terminal (Hauschka, 1986; Hauschka, 1982).

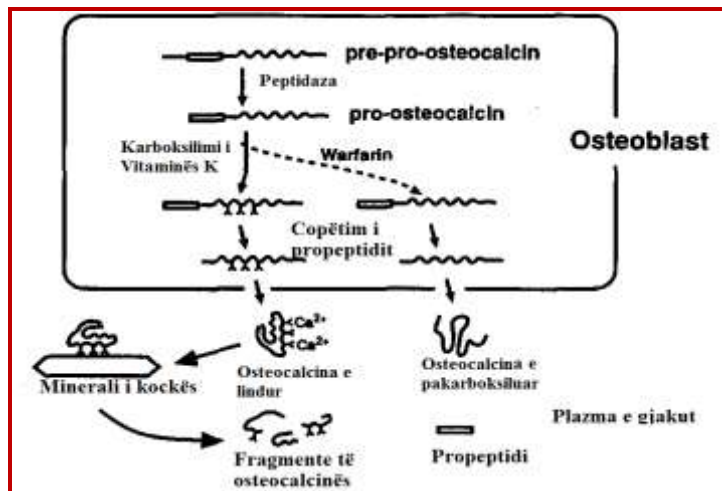


Figura 1.22: Sinteza dhe procesimi i osteokalcinës

Gama- karboksilimi i Osteokalcinës

Osteokalcina, siç e vumë në dukje më sipër, përfaqëson një nga të tre proteinat e varura nga vitamina K, që prodhohen nga osteoblastet; dy të tjerat njihen si *XGla proteinë* dhe *proteina S* (Maillard et al., 1992). Vitamina K_1 përfaqëson një kofaktor esencial për procesin e gama-karboksilimit posttranslacional të osteokalcinës. Gjatë këtij procesi tek *acidi glutaminik (Glu)*, në pozicionet 17, 21 dhe 24 shtohet një grup i dytë karboksilik, duke formuar kështu aminoacidin *karboksilglutamit (Gla)*. Ky modifikim ndryshon konformacionin e proteinës, duke stabilizuar porcionin α - helikal të saj. Ky proçes rrit afinitetin e osteokalcinës për kalciumin dhe hidroksiapatitin.

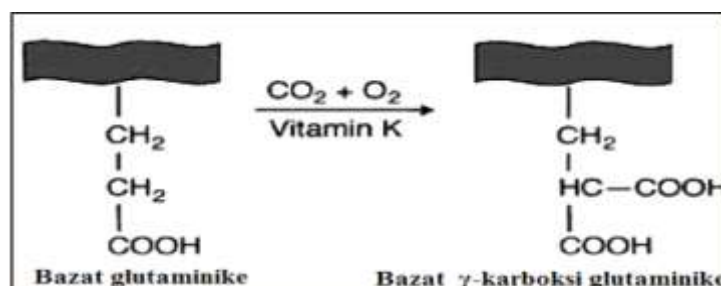


Figura 1.23. Gama-karboksilimi i bazave glutaminike. Ky proces katalizohet nga karboksilaza e varur nga vitamina K, e cila luan rolin e kofaktorit apo koenzimës.

Sinteza dhe katabolizmi i Osteokalcinës

Për shumë kohë osteokalcina është konsideruar si një produkt osteoblastik specifik. Kohët e fundit është gjetur, se përveç osteoblasteve, edhe megakariocitet e adipocitet karakterizohen nga një ekspresion i mRNA-së dhe sintezë e proteinës së osteokalcinës. Sidoqoftë duhet të theksojmë se ky proces është vërtetuar në kondita in vitro në qelizat imortale, pra jo në qelizat in vivo (Thiede et al., 1994; Benyahu et al., 1997).

Funksioni aktual i osteokalcinës nuk është akoma i njohur, por ka të dhëna eksperimentale që provojnë rolin e saj në rregullimin e funksionit të osteoblasteve. Pjesa më e madhe e osteokalcinës së sekretuar nga osteoblastet, depozitohet në matriksin ekstraqelizor kockor. Osteokalcina e serumit përfaqëson një fraksion të osteokalcinës totale, që nuk ka arritur të absorbohet nga hidroksiapatiti.

Heterogjeniteti i osteokalcinës qarkulluese

Heterogjeniteti i osteokalcinës qarkulluese është raportuar për herë të parë në vitin 1985 (Gundberg et al., 1985).

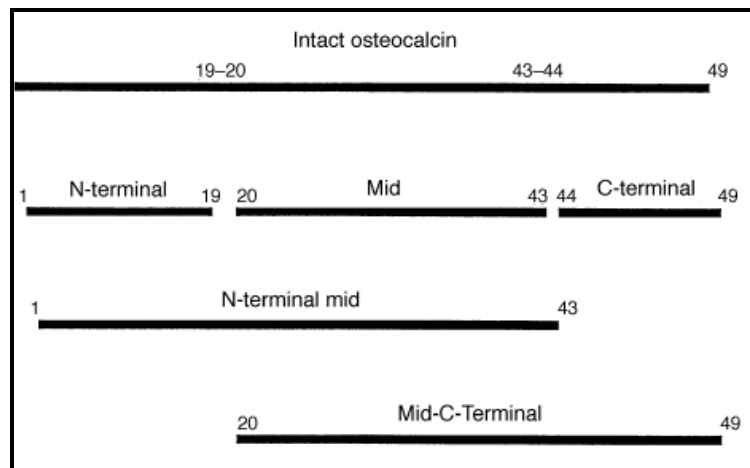


Figura 1.24. Molekula intakte e osteokalcinës dhe fragmentet e saj potencialë

Osteokalcina e serumit karakterizohet nga një periudhë e shkurtër e gjysëm zbërthimit dhe hidrolizohet në mëlçi dhe veshka (Farrugia & Melick, 1986). Ndërkohë kur mid-fragmenti N-terminal tregon stabilitet, fragmenti C-terminal këputet me lehtësi. Aminoacidet në sekuencat 19-20 dhe 43-44, janë të ndjeshme ndaj hidrolizës triptike (Diaz et al., 1994).

Ka mendime se aminoacidet argynil-argynil, në pozicionet 19-20, janë të mbrojtura nga hidroliza në saje të inkorporimit të tyre në heliksin Gla, por ka mundësi që kjo të vijë edhe nga ngarkesa e lartë negative e aminoacidit të modifikuar gama - karboksiglutamil në pozicionet 17, 21 dhe 24.

Aminoacidet në pozicionet 43 dhe 44, të cilat janë mjaft mirë të konservuara në të gjitha llojet, paraqiten labile në saje të inkorporimit të tyre në beta-shtresën C-terminale (Hauschka et al., 1989).

Gjatë një studimi të kryer nga Garnero et al, ku për të identifikuar fragmentet qarkulluese të osteokalcinës në subjektet e shëndetshëm dhe pacientët që vuanin nga osteoporozja, u përdorën antitropa monoklonalë, molekula intakte

dhe mid-fragmenti N-terminal përfaqësonin format më të hasura imunoreaktive (Garnero et al., 1994).

Zbulimi i osteokalcinës intakte apo i fragmenteve të saj, përbën sot një burim të rëndësishëm për zgjedhjen e analizave komerciale në laboratorët klinikë.

Pavarësisht një numri të konsiderueshëm testesh për matjen e osteokalcinës në serum ose plazëm, krahasueshmëria e testeve të ndryshëm është e varfër. Kjo si pasojë e heterogjenitetit të fragmenteve qarkulluese të osteokalcinës dhe ndryshueshmërisë në njohjen e këtyre fragmenteve nga analizat të ndryshme.

Osteokalcina intakte degradohet në qarkullimin e gjakut. Vetëm afërsisht 36% e osteokalcinës imunoreaktive qarkulluese mbetet si proteinë e plotë, 30% e saj përfaqësohet nga një fragment i madh *N-mid molekulë* dhe pjesa që mbetet konsiston në fragmente të vogla. Stabiliteti i dukshëm i osteokalcinës imunoreaktive është më i madh kur përdoren teste për të matur nivelin e molekulave të plota sëbashku me fragmentet e N-mid molekulave, sesa kur përdoren ato që matin vetëm nivelin e molekulave të plota. Në praktikën klinike rekomandohen testet që matin si nivelin e molekulave të plota, ashtu edhe nivelin e fragmenteve N-mid.

Së fundmi fragmente të vogla të osteokalcinës janë izoluar në urinë, të cilat mendohet se janë më shumë produkte të degradimit të matriksit të kockës sesa produkte të formimit të kockës. Kjo sugjeron se osteokalcina mund të jetë një marker i resorbimit të kockës. Pra është më e mundshme që osteokalcina të konsiderohet si një marker i turnoverit të kockave sesa një marker specific i formimit të kockës

Zbulimi klinik i osteokalcinës së serumit

Markerët e kockës, siç e kemi vënë në dukje më sipër, klasifikohen sipas ndikimit të tyre në formimin e kockës apo resorbimin e saj. Osteokalcina është një marker i formimit të kockës dhe në disa raste, siç është terapia me kortikosteroidë, konsiderohet të jetë më sensitiv se sa aktiviteti i *fosfatazës alkaline* të serumit (Delmas et al., 1990).

Osteokalcina e serumit reflekton se 30-40% e osteokalcinës së prodhuar, nuk arrin të inkorporohet në matriksin kockor. Si rregull osteokalcina e sapo sintetizuar çlirohet në qarkullimin e gjakut si molekulë intakte (Diaz et al., 1998). Fragmentet e osteokalcinës, mund të derivojnë nga resorbimi i kockës dhe katabolizmi i molekulës in vivo, para "pastrimit" të saj nga ana e metalproteazave në mëlçi dhe veshka (Baurgras et al., 1997). Tek gratë në posmenopauzë, nivelet e osteokalcinës së serumit, korrelojnë në mënyrë sinjifikative, si me nivelin e formimit të kockës, ashtu edhe me nivelin e rritur të kalciumit, por jo me resorbimin e kockës (Brown et al., 1984).

1.7.1.3 Fosfataza alkaline

Fosfataza alkaline e serumit (ALP) është përdorur për shumë vjet si një marker i formimit të kockës. Ajo përfaqëson një izoenzimë të aderuar në sipërfaqen e jashtme të membranës plazmatike të osteoblasteve, që çlirohet pjesërisht në qarkullim. Fosfataza alkaline përfaqëson një hidrolazë përgjegjëse për largimin e grupeve fosfat nga disa tipa molekulash, me një aktivitet optimal në pH bazik. Ekzistojnë disa tipa të ndryshëm izoenzimash të fosfatazës alkaline, që kodohen nga katër gjene të ndryshëm, të lokalizuar në kromozomin 1 në qeliza të indeve jospecificë, intestin, plaçentë dhe qelizat gjerninale.

Gjenet tek qelizat e indeve jospecificë kodojnë për izoformat e kockës, mëlçisë dhe veshkës, dhe ndryshimet në këto izoforma vijnë si pasojë e ndryshimeve gjatë procesit të posttranslatimit (glikozilimi N dhe O dhe përmbajtja në acid sialik) (Price, 1993). BALP dhe fosfataza alkaline e mëlçisë përbëjnë afërsisht 95% të aktivitetit të përgjithshëm të ALP në serumin human.

Përsa i përket izoenzimës intestinale dhe plaçentare, ato janë gjetur vetëm si gjurmë në serumin e adultëve normalë. Funkzioni preçiz i izoformës kockore mbetet i paqartë, por mendohet se është i lidhur me mineralizimin kockor (Harris, 1990). Fosfataza alkaline totale është një marker i rëndësishëm i formimit të kockës në diagnostikimin dhe monitorimin e sëmundjeve që karakterizohen nga çrregullime në turnoverin e kockës. Fosfataza alkaline e kockës është marker më i ndjeshëm dhe më i dobishëm në matjen e shumë ndryshimeve në turnoverin e kockës, siç ndodh gjatë menopauzës (Watts, 1999). Garnero et al. gjeti një rritje prej 77% të fosfatazës alkaline kockore pasmenopauzike krahasuar me një rritje prej 24% të fosfatazës alkaline totale (Garnero & Delmas, 1993).

1.7.2 Markerët e resorbimit të kockës

1.7.2.1 Produkte të degradimit të rajonit telopeptid të kolagjenit tipi I

Pjesa më e madhe e markerëve të resorbimit të kockës janë produkte të degradimit të kolagjenit I. Më të përdorur janë karboksitelo-peptidet dhe aminotelo-peptidet e kolagjenit I, (*NTX* dhe *CTX*), të cilët çlirohen në qarkullim gjatë resorbimit të kockës. Një pjesë e tyre sekretohen në urinë dhe pjesa tjetër degradohet në veshkë. Këto peptide specifike janë produkte të degradimit të rajonit johelikal të kolagjenit I në skajin aminoterminal (*NTX*) dhe karboksiterminal (*CTX*), të prodhuara nga osteoklastet gjatë resorbimit të kockës. *NTX* dhe *CTX* mund të maten në urinë dhe në serum.

Në urinën e adultëve, 40% janë telopeptide në gjëndje të lirë, ndërsa 60% janë në gjëndje të lidhur, por ky raport varet dhe nga niveli i turnoverit të kockës. Sa më i lartë të jetë turnoveri i kockës, aq më i vogël paraqitet raporti midis sasisë së lirë dhe asaj të lidhur. Analiza për *NTX* njeh oktapeptidin QYDGKGVG të telopeptidit N-terminal. Epitopi për analizimin e *CTX* është një peptid i përbërë nga tetë aminoacide EKAHDGGR të lokalizuar në segmentin C-terminal të zinxhirit të kolagjenit dhe që prodhohet nga veprimi i enzimës osteoklastike kathepsina K gjatë resorbimit të kockës. (Garnero et al., 2003).

Telo-peptidi *CTX* përfaqëson një oktapeptid, që përmban acidin aspartik dhe glicinën, të cilat paraqiten mjaft të ndjeshme ndaj izomerizimit. Për pasojë ekzistojnë katër izoforma të telopeptidit *αL* , *βL* , *αD* dhe *βD* . (Cloos and Fledelius, 2000). Izomerizimi ndodh gjatë një periudhe të gjatë kohore dhe është e shoqëruar me mplakjen e proteinës. Izoforma L është gjetur tek kockat e formuara rishtaz, ndërsa format e tjera janë gjetur në sasi të madhe gjatë maturimit të kockës. Megjithatë një përzierje e izoformave të molekulave *CTX* janë gjetur edhe në urinë dhe serum. Ekzistojnë teste të ndryshme për të matur *α -CTX* dhe *β -CTX* në urinë, si dhe *β -CTX* (*β -crosslap*) në serum. (Bonde et al., 1997).

Raporti i formave të ndryshme ndyshon në varësi të moshës biologjike të proteinës, kështu sasia e formave *β* dhe *D* në inde rritet me kalimin e viteve. (Cloos and Fledelius, 2000). Meqënëse molekula e kolagjenit përmban dy zinxhirë *$\alpha 1$* telopeptide, *CTX* mund të gjendet në format *$\alpha\alpha$* , *$\alpha\beta$* dhe *$\beta\beta$* .

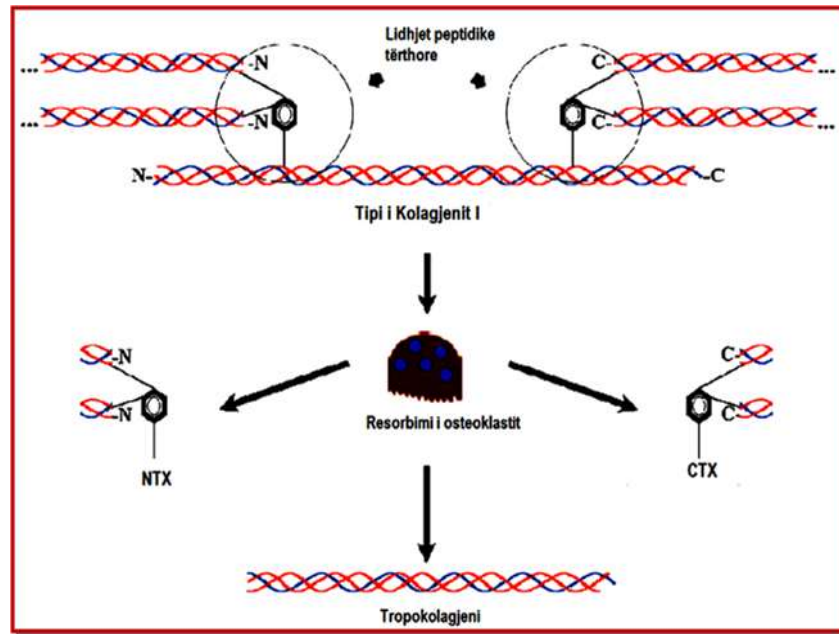


Figura 1.25: Procesi i formimit të karboksitelo-peptideve (CTX) dhe aminotelo-peptideve (NTX)

Ekziston një radioimunoanalizë, që mat nivelin e molekulave $\alpha\alpha$ dhe $\alpha\beta$ dhe formën njëzinxhirëshe α të peptidit në urinë. Po kështu ELISA mat format $\beta\beta$ dhe $\alpha\beta$, si dhe formën njëzinxhirëshe β në urinë.

Aktualisht, analiza për CTX, që është specifike për formën β , është më shumë e përdorur nga të gjitha testet për CTX dhe analizon degradimin e kockës relativisht të vjetër dhe të maturuar. Kjo analizë është e vlefshme për analizimin e formës β në urinë dhe serum. Ajo përdor antitrupe monoklonale kundër oktapeptidit sintetik që karakterizohet nga një sit lidhje kryq (Glu-Lys-Ala-His-beta-Asp-Gly-Gly-Arg) të quajtur beta-CTX ose beta *CrossLaps*) (Christgau et al., 1998).

Produkte të degradimit të rajonit helikal të kolagjenit I

Hidroksiprolina, si një marker i resorbimit të kockës përfaqëson një produkt të degradimit të rajonit helikal të kolagjenit I. Ajo përfaqëson afërsisht 13% të aminoacideve që përmbahen në molekulën kolagjenike dhe çlirohet në qarkullimin e gjakut gjatë resorbimit të kockës. Hidroksiprolina qarkullon si në formën e lirë (90%) dhe në atë të lidhur me peptide. Pjesa më e madhe e hidroksiprolinës së lirë filtrohet dhe riabsorbohet nga veshka. Pjesa që mbetet sekretohet në urinë së bashku me format e lidhura me peptide. Hidroksiprolina në urinë karakterizohet nga tre disavantazhe të mëdha si një marker i resorbimit të kockës :

- Një fraksion i rëndësishëm derivon nga burime jokockore.
- Hidroksiprolina merret edhe nga dieta ushqimore dhe duhet të bëhet një kufizim i dietës 24 orë para se të grumbullohen mostrat.
- Pjesa më e madhe e hidroksiprolinës metabolizohet në mëlçi.

Enzimat osteoklastike

Markerë të tjerë të resorbimit të kockës janë enzimat osteoklastike.

- Fosfataza acide tartrat rezistente (TRAcP)**

TRAcP në serum është përdorur për shumë kohë si një marker i resorbimit të kockës. Duhet të vemë në dukje se metodat kinetike të përdorura për matjen e TRAcP nuk ishin specifike dhe nuk mund të zbulonin TRAcP që vinte nga burime të tjera, si trombocitet, eritrocitet ose osteoblastet (Halleen et al., 1999). Vetëm vitet e fundit janë zhvilluar teknika specifike për **izoformat 5b**. Duke përdorur këto teste specifike është provuar se niveli i TRAcP 5b në serum reflekton më tepër numrin e osteoklasteve se sa aktivitetin e tyre. (Halleen et al., 2000).

b) Kathepsina K dhe Metaloproteinazat e matriksit (MMP)

Janë dy markerë të rinj të resorbimit të kockës. Kathepsina K përfaqëson një proteazë cisteine që shprehet nga osteoklastet dhe është e rëndësishme për resorbimin e kockës. Studimet kanë treguar se nivelet në serum të kësaj proteaze rriten ndjeshëm tek gratë me osteoporozë postmenopauzike, si dhe tek gratë që kanë pësuar fraktura.

1.7.2.2 Hormoni paratiroid (PTH)

PTH apo siç quhet ndryshe *Parat hormoni*, formohet nga gjendra paratiroide dhe sekretohet më pas në gjak. Forma intakte e PTH-së përfaqësohet nga një molekulë e përbërë nga një zinxhir i vetëm polipeptidik me 84 aminoacide dhe me peshë molekulare 9500 dalton. PTH, së bashku me kalcitoninën dhe vitaminën D, mobilizon kalçiumin dhe fosfatet nga sistemi skeletik, rrit nivelin e përfshirjes së kalçiumit nga intestini dhe nxit ekskretimin e fosfateve nga veshkat.

Qëndrueshmëria e nivelit të kalçiumit në gjak sigurohet nga ndërveprimi i PTH-së me kalcitoninën. Sekretimi i PTH-së inhibohet nga një përqëndrim i lartë i kalçiumit në gjak, ndërsa nxitet nga një përqëndrim i ulët i tij. Çrregullimet që prekin gjendrën paratiroide bëhen shkak për hiper apo hipokalçeminë. Pra kuptohet që parathormoni luan një rol të rëndësishëm në homeostazën e kalçiumit në gjak (Hamann & Lane, 2006). Po le të ndalemi në mënyrë më të detajuar në efektet fiziologjike të PTH-së.

Hormoni paratiroid e kryen funksionin e tij duke stimuluar të paktën tre procese:

- **Mobilizon procesimin e kalçiumit nga kocka.** Në këtë rast megjithëse mekanizmat janë akoma të paqarta, ka të dhëna për rolin e PTH-së si stimulues i osteoklasteve për resorbimin e mineraleve kockorë, proces ky që përfundon me çlirimin e kalçiumit në gjak.
- **Përmirëson nivelin e absorbimit të kalçiumit nga zorra e hollë.** Ky proces rezulton në rritjen e nivelit të kalçiumit në gjak. PTH nxit këtë proces në mënyrë indirekte, duke aktivizuar procesin e prodhimit të formës aktive të vitaminës D në veshka. Vitamina D indukon në qelizat epiteliiale intestinale sintezën e një *proteine që lidhet me kalçiumin*, e cila nga ana e saj lehtëson absorbimin efikas të kalçiumit në gjak.
- **Supreson humbjen e kalçiumit me anën e urinës.** Në këtë rast PTH nxit procesin e konservimit të kalçiumit në gjak, efekt ky që ndërmjetësohet nga stimulimi i reabsorbimit tubular të kalçiumit. Një tjetër efekt i PTH-së në nivelin e veshkave është edhe stimulimi i humbjes së joneve fosfat me anën e urinës.

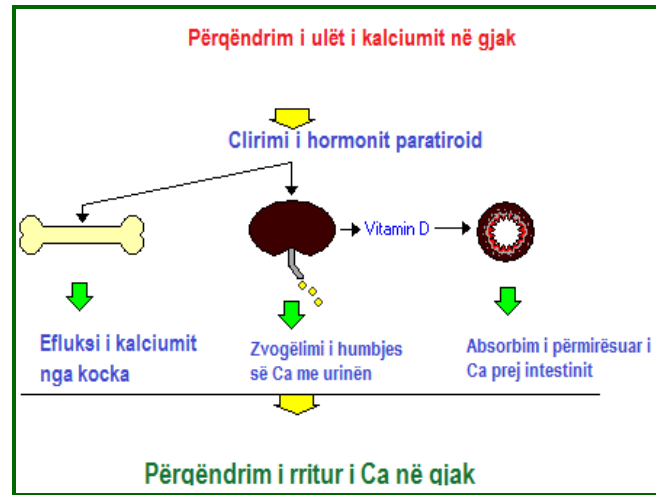


Figura 1.26. Efektet fiziologjike të PTH-së

Kontrolli i sekretimit të PTH-së

Tashmë është e njohur se PTH-ja çlirohet në përgjigje të përqendrimeve të ulta jashtë qelizore të kalciumit të lirë. Ndryshimet në përqendrimet e fosfatit mund të shoqërohen edhe me ndryshime në nivelin e sekretimit të PTH-së, por ky paraqitet si një proces indirekt, dhe është fakt që në vetvete, fosfati nuk përfaqëson një rregullator sinjifikativ të këtij hormoni. Kur niveli i përqendrimit të kalciumit bie poshtë atij normal, atëherë vrojtohet një rritje e nivelit të sekretimit të PTH-së. Por është fakt që nivele të ulura të PTH-së sekretohen edhe në rastin kur niveli i kalciumit në gjak është në vlera të larta. Qelizat e gjendrës paratiroide monitorojnë nivelin e kalciumit të lirë jashtëqelizor me anën e një proteine integrale membranore që funksionon si *receptor sensitiv i kalciumit*.

1.7.2.3 Variabiliteti i markerëve

Ndryshimi i markerëve në menopauzë, osteoporozë dhe në përgjigje ndaj terapive.

A. Gjatë menopauzës

Defiçenca e estrogenit që shkaktohet nga ovariectomia ose nga trajtimi me medikamente, rezulton në një rritje të shpejtë të nivelit të turnoverit të kockave. Në mënyrë të ngjashme edhe menopauza karakterizohet nga një rritje e nivelit të markerëve. Magnituda e rritjes varion në markerë të ndryshëm, duke reflektuar specificitetin e tyre në kockë ose ndryshimet në metabolizmin e tyre me nivel të ulët ose të lartë turnoveri. Markerët në përgjithësi nisin të rriten në periudhën e premenopauzës. Gratë në premenopauzë në moshën mbi 40 vjeç karakterizohen nga një nivel më i lartë i CTX dhe osteokalcinës krahasuar me gratë në moshë të re (Garnero et al., 1996; Garnero et al., 2003; Chaki et al., 2000). dhe kjo mund të jetë e lidhur me BMD-në e ulët.

Tek gratë në menopauzë, që karakterizohen nga nivele të larta të *hormonit folikul-stimulues (FSH)* dhe estradioli është akoma në nivelin e premenopauzës, NTX rritet me 20%, ndërsa markerët e formimit nuk ndryshojnë, krahasuar me nivelin e tyre në premenopauzë. Ndryshimet në turnoverin e kockave tek gratë në premenopauzë dhe peri-menopauzë mund të rregullohen nga inhibinat, veçanërisht *inhibina A*, pavarësisht nga niveli i FSH-së dhe estrogenit.

Ndërkohë që niveli i estradiolit ulet, rritet niveli i markerëve të turnoverit të kockës (Albright et al., 1941). Në vitet e para të menopauzës nivelet e sekretuara të *piridinium cross-link* rriten dhe madje dyfishohen. Rritja e tetrapeptideve është më e madhe se rritja e pirodinolinave të lira. Ekziston një rritje e vogël e markerëve *TRAcP* dhe *ICTP*.

Kathepsina K është më e ulët tek gratë e moshuara, krahasuar me gratë në premenopauzë. Ndryshimet në rritjen e markerëve të formimit të kockës tek gratë në periudhën pasmenopauzike mund të jenë të lidhur me aspekte të ndryshme të formimit të kockës, që reflekton çdo marker. Rritja e PICP-së është më e vogël afërsisht 20%. PINP, që mund të jetë propeptidi më specifik i kockës shfaq një rritje më të madhe në menopauzë. NTX, CTX dhe markerë të formimit të kockës mbeten në nivele të larta tek gratë në periudhën pasmenopauzike.

B. Osteoporoza

Markerët e resorbimit të kockës rriten në mënyrë sinjifikative tek gratë në periudhën postmenopauzike që vuajnë nga osteoporoza në krahasim me gratë e shëndetëshme. Por markerët e formimit të kockës janë më pak të prirur për tu rritur dhe madje mund të tentojnë të ulen. Këto ndryshime sugjerojnë se në osteoporozë ndodh një shkallë mosbalancimi e formimit dhe resorbimit të kockës. Në një grup prej 63 gra që vuanin nga osteoporoza në periudhën pasmenopauzike u gjet një rritje prej afërsisht 47% e nivelit të *deoksiprolinës*, krahasuar kjo me një grup prej 67 gra normale në postmenopauzë. Në këtë rast megjithatë kishte një përputhje të konsiderueshme në vlerat individuale tek të dy grupet. Heterogjeniteti i resorbimit të kockës në grupin osteoporotik ka mundësi që të tregojë shkaqet e ndryshme të sëmundjes ose mund të përfaqësojë ndryshimet në stadin e vërtetimit të sëmundjes tek individët e marrë në studim. Së fundmi është treguar se një marker i resorbimit, siç është kathepsina K, rritet në mënyrë sinjifikative tek gratë në periudhën postmenopauzike që vuajnë nga osteoporoza krahasuar me gra të shëndetëshme.

Ka të dhëna sipas të cilave gratë postmenopauzike që vuajnë nga osteoporoza, mund të kategorizohen në tre grupe: me nivel normal, të ulët dhe të lartë të formimit të kockës. Të dhënat tregojnë gjithashtu se edhe nivelet e osteokalcinës ndjekin në mënyrë të ngjashme nivelet përkatëse të formimit të kockës (Brown et al., 1984).

Është raportuar vetëm një rritje me 10% e osteokalcinës në gratë postmenopauzike osteoporotike, ndërkohë kur vërtetohen nivele mjaft të larta, deri në 50% të biomarkerëve të tjerë, siç është p.sh. *deoxypridinolina* (Eastell et al., 1988).

Ka të dhëna sipas të cilave përqëndrimi i osteokalcinës korrelon me nivelin e humbjes së kockës, sidomos në pjesën distale të parakrahut (Christiansen et al., 1997). Monitorimi i nivelit të osteokalcinës ka mundësi të jetë i përshtatshëm jo vetëm për diagnozën e osteoporozës, por edhe për determinimin e përgjigjes ndaj trajtimit në rastet e sëmundjeve të metabolizmit të kockës, si dhe për të parashikuar nivelin e humbjes së kockës në gratë postmenopauzale (Nielsen et al., 1990).

C. Përgjigja ndaj terapive

Bifosfonatet janë mjaft të përdorshëm në trajtimin aktual të osteoporozës në postmenopauzë. Bifosfonatet janë agjentë antiresorbues që supresojnë aktivitetin e osteoklasteve. Markerët e resorbimit të kockës ulen ndjeshëm në përgjigje ndaj

trajtimit. Ekziston një ulje prej 50-70% e telopeptideve brenda 12 javëve të para të trajtimit. (Rosen et al., 1998). Është provuar se ka një ulje sinjifikante në urinë të NTX brenda 8 javëve të para të trajtimit me **alendronat**. Ndryshimet në markerët e tjerë të resorbimit të kockës janë më të vogla (Bauer et al., 2006; Schousboe et al., 2007). Niveli i TRAcP 5b në serum reduktohet deri në 20%. Në përgjigje të bifosfonateve reduktohen gjithashtu edhe markerët e formimit të kockës.

Kështu **PINP** reduktohet deri në 60% dhe **fosfataza alkaline e kockës (ALP)** deri në 40%. I ngjashëm paraqitet gjithashtu edhe veprimi i **alendronatit** dhe **risendronatit** në reduktimin e frakturave. Ulja e turnoverit të kockave duket se është më e madhe tek pacientët e trajtuar me alendronat. Trajtimi me **modulatorë selektivë për receptorët e estrogenit (SERMs)**, siç është **raloksifeni**, ka një efekt më të vogël në markerët e turnoverit të kockave sesa bifosfonatet. CTX në serum zvogëlohet me 30-40% dhe TRAcP 5b me vetëm 10%. Përgjigja e markerëve të formimit të kockës është gjithashtu e vogël: PINP zvogëlohet me 30% dhe ALP (fosfataza alkaline) me 15-20% (94,95).

Në ndryshim me medikamentet antiresorbues që supresojnë turnoverin e kockës, trajtimi i ri anabolik për **osteoporozën teriparatide**, stimulon turnoverin e kockës, e cila kur kombinohet me një balancë pozitive të rimodelimit çon në një rritje të masës kockore (Ivaska et al., 2007). Si markerët e formimit dhe ata të resorbimit të kockës rriten në përgjigje ndaj **teriparatidit**, që nga ana e vet përfaqëson një formë rekombinante të hormonit paratiroid. Në këtë rast 6 muaj pas fillimit të trajtimit, PINP rritet 200% dhe PICP 60% dhe pas kësaj ata kthehen sërish në nivelet e paratrajtimit. Ndërkaq fosfataza alkaline qëndron në nivele të larta gjatë trajtimit, siç ndodh edhe me markerët e resorbimit. NTX në urinë mund të rritet deri në 200% pas 12 muajsh trajtim.

Stroncium ranelate ka një mënyrë tjetër veprimi, por që nuk është kuptuar plotësisht. Ajo rezulton në rritje të vogla në formimin e kockës dhe zvogëlim të resorbimit të kockës. Megjithatë ndryshimet në markerët e turnoverit të kockës në përgjigje të këtij preparati janë më të vogla se ato që vërojtohen në përgjigje ndaj trajtimeve të tjera. CTX në serum ulet me 12% dhe fosfataza alkaline me 8% (Meunier et al., 2004).

Kapitulli II

MATERIALI DHE METODAT

2.1 Materiali

Në përputhje me qëllimin u krijua edhe metodika e punës që përfshin periudhën 2011-2014.

Për të realizuar këtë studim fillimisht janë realizuar dy marrëveshje me dy qendra diagnostikimi. Marrëveshja e parë është realizuar me qëndrën e diagnostikimit “Harrison”, ku u realizua dhe grumbullimi i rasteve të marra në studim dhe marrëveshja e dytë me klinikën “Intermedika”, për kryerjen e analizave.

Fillimisht për të realizuar studimin ne hartuam një pyetësor, i cili iu shpërnda rreth 200 grave të moshave të ndryshme dhe me status menopauzal të ndryshëm. Nëpërmjet plotësimit të formularit janë marrë të dhëna për moshën, mënyrën e të ushqyerit, aktivitetin fizik, konsumin e duhanit, alkoolit, kanë pësuar apo jo fraktura në moshë të rritur etj (pyetëtori është paraqitur më poshtë).

Duke u bazuar në përgjigjet e pyetësorit u bë e mundur përzgjedhja e grave që do të përfshiheshin në studim. Nga studimi u përjashtuan gratë që ishin duke ndjekur terapinë e zëvendësimit hormonal apo ndonjë terapi tjetër alternative që mund të ndikonte në turnoverin e kockës. U përjashtuan gratë që i ishin nënshtruar ndërhyrjeve kirurgjikale për heqjen e mitrës apo dhe të vezoreve, gra që ishin diagnostikuar me osteoporozë dhe ishin duke marrë medikamente për osteoporozën si dhe gra që kishin probleme me gjëndrën e paratiroides dhe sëmundjen e diabetit.

Në studim u përfshinë 100 femra, të moshës 33-74 vjeç, nga të cilat 80 u zgjodhën gra në postmenopauz dhe u marrën si raste studimi, ndërsa 20 gra në premenopauz dhe u marrën si raste kontrolli.

Në grupin e grave në postmenopauz u përfshinë gratë që kishin më shumë se 12 muaj ndërprerje të ciklit menstrual. Gratë në postmenopauz u klasifikuan në dy grupe, në varësi të duhanpirjes, në gra që konsumonin duhan dhe gra joduhampirëse. Më tej një klasifikimi më i detajuar u bë për gratë duhanpirëse, në varësi të sasisë së duhanit të konsumuar dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes.

Mostrat e përdorura në këtë studim janë serume, të përfutuara prej gjakut venoz. Gjaku është mbledhur në tuba me xhel dhe është centrifuguar për 10 minuta me 5000 rpm. Serumi është ruajtur në ngrirje në temperaturë -70°C deri në kryerjen e analizave.

Për të gjitha mostrat është realizuar matja e markerëve të formimit dhe resorbimit të kockës, me aparatit Elecsys 2100 dhe teknikën e elektrokemiluminishencës (ECL). Është matur niveli i betacrosslapit, osteokalcinës, fosfatazës alkaline dhe hormonit të paratiroides (PTH).

Është matur pesha (kg) dhe gjatësia (cm) dhe më pas është llogaritur dhe indeksi i masës trupore (BMI) nëpërmjet formulës $\text{BMI} = \text{pesha (kg)} / \text{gjatësia}^2 \text{ (m)}$. BMI klasifikohet në këto kategori: nënpeshë ($<18.5 \text{ kg/m}^2$), normal ($18.5\text{-}22.9 \text{ kg/m}^2$), mbipeshë ($23.0\text{-}25 \text{ kg/m}^2$) dhe obese ($>25 \text{ kg/m}^2$).

Është përcaktuar densiteti mineral i kockës (BMD) duke përdorur teknikën QUS (Quantitative ultrasound). Kjo teknikë përdor ultratingujt në vend të rrezatimit dhe matet në këmbët e pacientëve dhe më saktë tek kyçi i këmbës. Sinjali është zbutur

pasi shpërndahet dhe përthithet nga kockat trabekulare dhe kjo zbutje është e reduktuar tek pacientët me osteoporozë, të cilët kanë më pak kockë trabekulare. Për shkak të kostos së ulët dhe transportit me lehtësi të kësaj pajisjeje, QUS është më gjerësisht e përdorur sesa metodat e tjera. (Gluer, 1997). Matjet e BMD-së shprehen në njësi të deviacionit standart të njohura si T-score, të cilat tregojnë diferencën midis pikut ideal të masës kockore të arritur nga një adult i ri dhe masës kockore të pacientit. Në përputhje me udhëzimet e Organizatës Botërore të Shëndetësisë (WHO), osteoporozja është përcaktuar në një vlerë të densiteti mineral të kockës së paku 2,5 SD poshtë vlerës mesatare të adultëve të shëndetshëm, pra T-score është -2,5.

Tabela 2.1: Përcaktimi i osteoporozës sipas udhëzimeve të WHO (Anonymous, 1994).

Diagnoza	Përcaktimi
Normal	T-score \geq -1,0
Osteopeni	-2,5 < T-score < -1,0
Osteoporozë	T-score \leq -2,5

Pytësori i plotësuar nga gratë e përfshira në studim është paraqitur më poshtë:

PYETËSOR

Emër:

Mbiemër:

Vendbanimi:

Mosha:

Pesha:

Gjatësia:

BMI (kg/m²):

T-score:

1. Mosha kur iu kanë filluar periodat:
a) nën 10 vjeç b) 10-15 vjeç c) 15-20 vjeç d) mbi 20 vjeç
2. Jeni në menopauz (ndërprerje të periodave mbi një vit):
a) Po b) Jo
3. Menopauza iu ka filluar:
a) Përpara moshës 40 vjeç b) 45-50 vjeç c) Pas moshës 50 vjeç
4. Keni lindur fëmijë:
a) Po b) Jo
5. Sa fëmijë keni lindur:
a) 1-2 b) 3-4 c) 5-6 d) Mbi 6
6. Ngjyra normale e lëkurë suaj
a) E bardhë b) Gruri c) E zezë d) Tjetër, specifiko

**L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË
NË PERIUdhËN POSMENOPAUZIKE**

7. Keni patur ndërprerje të periodave për më gjatë se 12 muaj (përjashto menopauzën)
a) Po b) Jo
8. Keni patur ndërhyrje të tilla si:
a) Heqje të mitrës b) Heqje të vezoreve
9. A keni përdorur kontraceptivë për të parandaluar shtatëzaninë:
a) Po b) Jo
10. A konsumoni kafe, nëse po sa filxhanë në ditë:
a) Po, 1 b) Po, 2 c) Po, mbi 2 c) Jo, nuk konsumoj
11. A konsumoni çaj, nëse po sa filxhanë në ditë:
a) Po, 1 b) Po, 2 c) Po, mbi 2 d) Jo, nuk konsumoj
12. A pini duhan, nëse po sa cigare në ditë:
a) Po, 1-10 cigare b) Po, 11-20 cigare c) Po, mbi 20 cigare d) Jo nuk pi
13. A konsumoni rregullisht alkool (1 gotë birrë, ½ gotë vere, 1 teke pije tjetër)
a) Po b) Jo
14. A trajtoheni me estrogen pas menopauzës
a) Po b) Jo
15. Jeni trajtuar për diabet
a) Po, të tipit I b) Po, të tipit II c) Jo, nuk jam trajtuar
16. Jeni trajtuar për hipertiroidizëm
a) Po b) Jo
17. Jeni trajtuar me hormone të tiroides (Levotiroksinë):
a) Po b) Jo
18. Jeni trajtuar me vitaminë D:
a) Po, më pak se 1 vit b) Po, 1 vit c) Po, mbi 1 vit d) Jo
19. Jeni trajtuar me kalçium:
a) Po, më pak se 1 vit b) Po, 1 vit c) Po, mbi 1 vit d) Jo
20. Jeni trajtuar me ndonjë medikament për osteoporozë, nqs po specifiko për sa kohë:
a) Po, me Bonviva b) Po, me Kalcitoninë c) Po, me Aclasta d) Po, me Fosamax e) Po, me Osteofos f) Jo, nuk jam trajtuar
21. Trajtoheni me kortizonikë:
a) Po, prej më pak se 3 muaj b) Po, prej 3 muaj c) Po, mbi 3 muaj d) Jo, nuk trajtohem
22. Keni thyer një kockë pas një përplasjeje apo rrëzimi të lehtë:

- a) Po b) Jo
23. Keni humbur në gjatësi më tepër se 3 cm (vitet e fundit)
a) Po b) Jo
24. Ka patur rast ndër familjarët tuaj me osteoporozë:
a) Po b) Jo
25. Ka patur rast ndër familjarët tuaj të ketë thyer një kockë pas një përplasjeje apo rrëzimi të lehtë:
a) Po b) Jo
26. Ekspozoheni në diell mbi 30 min në ditë:
a) Po b) Jo
27. Ecni më shumë se 30 min në ditë:
a) Po b) Jo

Metoda statistikore

Përpunimin statistikor i të dhënave është realizuar duke përdorur programet Microsoft Office Excel (2007) dhe SPSS version 20 (IBM statistics 2011). Rezultatet janë shprehur si mesatare \pm devijacion standart (\pm SD). Më poshtë jepen testet statistikore që janë zhvilluar për të treguar besueshmërinë e rezultateve të përfituara gjatë këtij studimi.

- Normaliteti i të dhënave të vazhduara për të gjithë grupet është testuar me anë të testit Kolmogorov-Smirnov. Shpërndarja është konsideruar normale për nivelin $p > 0.05$.
- Për të testuar ndryshimin e mesatareve të dy parametrave të caktuar midis dy grupeve të ndryshme është përdorur testi i Studentit për kampione të pavarura (Independent samples T-test), (Koni, 2008), pasi është vërtetuar se të dhënat kanë shpërndarje normale.
- Analiza e variancës njëdrejtimëshe ANOVA ($\alpha = 0.05$) është përdorur për të testuar diferencat midis mesatareve të mostrave.
- Përcaktimi i lidhjeve dhe sasisë së shoqërimit mes variablave të vazhduara është bërë me anë të regresit linear të shumëfishtë dhe analizës korrelative. Analiza korrelative përdoret për të përcaktuar nëse dy variabla janë të pavarura midis tyre ose bashkëndryshojnë, që do të thotë që variojnë së bashku. Me anë të korrelacionit, përcaktohet masa e shoqërimit si edhe drejtimi i shoqërimit. Për variablat me shpërndarje normale është llogaritur koeficienti i korrelacionit të produktit të momentit, i nxjerrë nga Karl Pearson. Përpara se të llogaritet koeficienti Pearson të dhënat janë testuar për linearitetin mes variablave me anë të metodës grafike scatterplot. Testi i sinjifikancës në korrelacion përcakton nëse një koeficient korrelacioni i një mostre nxirret nga një popullatë me koeficient korrelacioni parametrik zero.

- Për të gjithë llojet e testeve statistikore që janë zhvilluar, ndryshimet janë konsideruar statistikisht të besueshme për çdo $p < 0.05$.

2.2 Metodat

2.2.1 Teknika ECL

Metoda e përcaktimit të niveleve të osteokalcinës, β -crosslapit dhe PTH-së bazohet në teknikën e elektrokemiluminishencës. Për këtë arsye fillimisht do të sqarojmë se çfarë përfaqëson kjo teknikë.

Proçeset elektrokemiluminishente, është e njohur tashmë që ndodhin me molekula numeroze, përfshirë këtu komponimet e ruteniumit, osmiumit, rheniumit ose elementëve të tjerë. ECL përfaqëson një proces gjatë të cilit nga prekursorë të qëndrueshëm të sipërfaqes së një elektrode, gjenerohen forma reaktive të larta. Këto forma reaktive të larta reagojnë më pas me njëra tjetrën, duke prodhuar dritë. Zhvillimi i teknikave imunoanalitike të ECL/Origen, mbështetet në përdorimin e kompleksit ruthenium (II)-tris (bipyridil) $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ dhe tripropylaminës (TPA). Produkti kemiluminishent final formohet gjatë shkallës apo fazës dedektuese. Reaksionet kemiluminishente që çojnë në emetimin e dritës, prej kompleksit të ruteniumit, iniciohen më tepër në mënyrë elektrike se sa kimike. Kjo arrihet duke aplikuar një voltazh të caktuar mbi komplekset imunologjike (përfshirë këtu edhe kompleksin e ruteniumit). Këto të fundit janë të atashuara në mikropjesëza të veshura apo mbuluara me streptavidinë. Avantazhi i inicimit elektrik të reaksionit kemiluminishent qëndron në faktin se reaksioni i tërë mund të kontrollohet në mënyrë precize.

Kripërat e rutenium (II)-tris (bipyridil) janë të qëndrueshme dhe të tretshme në ujë. Ligandët e biopyrilit mund të modifikohen me grupe reaktivë, duke formuar në këtë mënyrë komponime kemiluminishente. Në teknikën e ECL-së përdoret elementi esterik **NHS- N-hidroksisuksiccinidei**, i cili ka veti të kompleksohet me amino grupet e proteinave, hapteneve, dhe të acideve nukleike. Kjo teknikë zbulimi aplikohet ndaj një grupi të gjërë analitësh.

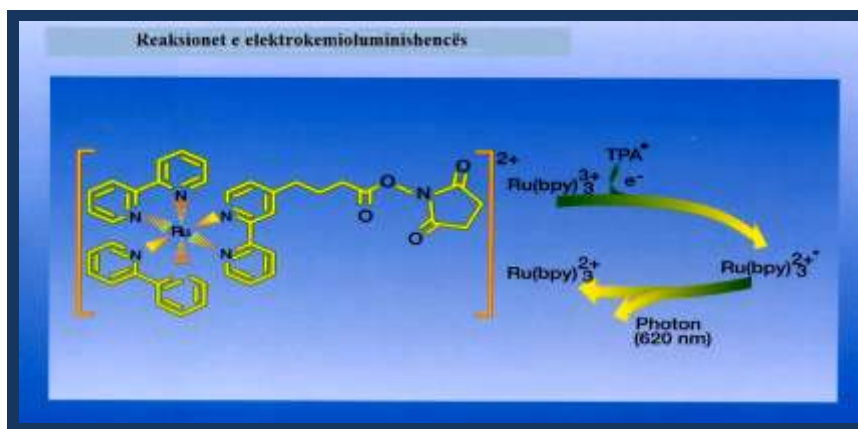


Figura 2.1. Kompleksi ruthenium dhe TPA

Reaksioni ECL në sipërfaqen e elektrodës

Siç e vumë në dukje pak më sipër, dy substanca aktive elektrokimike: kompleksi ruthenium dhe TPA-ja, janë të përfshira në reaksionet që çojnë në emetimin e dritës.

Këto dy substanca mbeten të qëndrueshme për sa kohë që nuk aplikohet voltazh në to. Reaksion ECL i ruthenium tris(bipyridil) dhe tripropylaminës (TPA) ndodh në sipërfaqen e një elektrode platini. Voltazhi që aplikohet krijon një fushë elektrike, e cila shkakton reaksionin ndërmjet materialeve në këtë fushë. TPA-ja oksidohet në elektrodë, lëshon një elektron dhe formon kation- radikal TPA të ndërmjetëm, i cili më tej reagon duke çliruar një proton H^+ , gjë që çon në formimin e radikalit TPA (TPA^{\bullet}). (figura 2.2)



Figura 2.2: Fazat e amplifikimit të sinjalit në reaksionin ECL.

Nga ana tjetër, kompleksi i rutheniumit gjithashtu lëshon një elektron në sipërfaqen e elektrodës, duke u oksiduar për të formuar kationin $Ru(bpy)_3^{3+}$. Ky kation i rutheniumit është komponenti reaktiv sekondar për vazhdimin e reaksionit kemiluminishent me radikal TPA. Radikali TPA dhe kationi $Ru(bpy)_3^{3+}$ reagojnë me njëri tjetrin dhe nga ky reagim kimik $Ru(bpy)_3^{3+}$ reduktohet në $Ru(bpy)_3^{2+}$ dhe njëkohësisht me anë e transferimit të energjisë, formon një gjendje të eksituar. (figura 2.3)

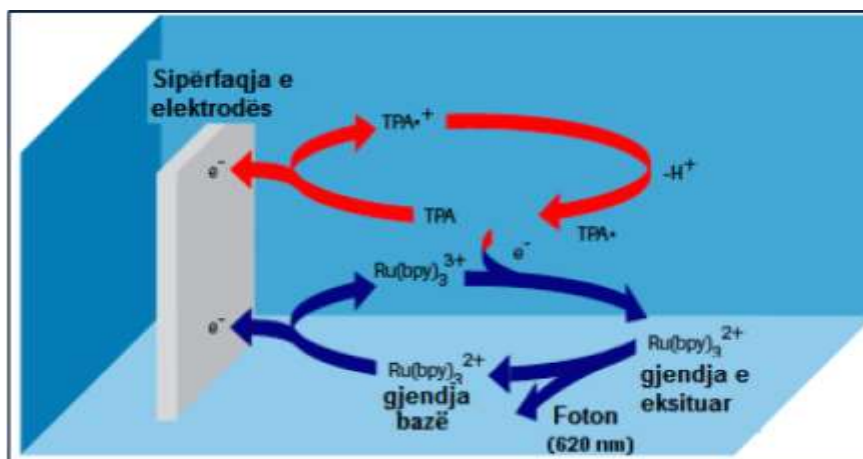


Figura 2.3: Reaksioni ECL në dhomën e matjes

Kjo gjendje e eksituar është e paqëndrueshme dhe kthehet në formën origjinore me emetimin e një fotoni në gjatësi vale 620 nm. Ky cikël reaksionit mundet tashmë të fillojë përsëri. Edhe radikali TPA reduktohet në produkte që nuk influencojnë në procesin e kemioluminishencës. Ky reaksion kontrollohet me anë të difuzionit të TPA-së dhe të një sasive të caktuar të kompleksit të rutheniumit.

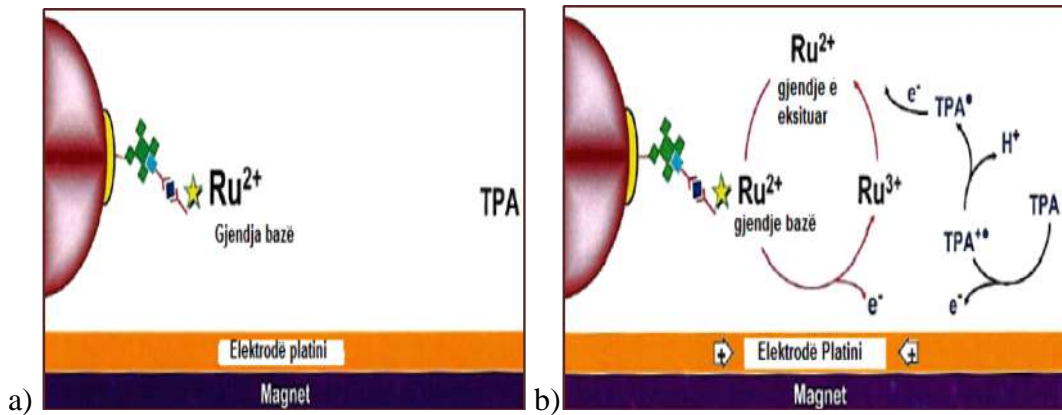


Figura 2.4: Gjendjet e kompleksit të ruteniumit gjatë reaksionit ECL. a) Gjendja bazë e ruteniumit. b) Gjendja e eksituar e ruteniumit.

Kur TPA-ja depletohet në fushën elektrike, intensiteti i dritës së emetuar reduktohet gradualisht. Kompleksi i ruteniumit gjatë reaksionit rigjenerohet, d.m.th kompleksi i ruteniumit mund të performojë disa cikle foton-rigjeneruese. Shumë fotone mund të gjenerohen nga një kompleks antigjen-antittrup.

Prodhimi i sinjalit të ECL-së:

Grafiku në figurën 2. shpjegon një prodhim tipik të sinjalit të ECL-së. E parë nga një këndvështrim elektrik, reaksioni mund të shpjegohet si më poshtë: Kur një rrymë aplikohet në elektrodë, ndodh një pik i emetimit të dritës për një interval të shkurtër dhe mund të matet si sinjali i ECL-së. Nën kurbë matet një hapësirë e përcaktuar përreth intensitetit maksimal.

Vija e ndërprerë tregon rrymën (voltazhin) e përdorur në elektrodë për të prodhuar sinjalin e ECL-së. Vija e vazhduar është drita aktuale e matur nga detektori fotoamplifikues. (Roche Diagnostics, Operator's manual, Version 1,0).

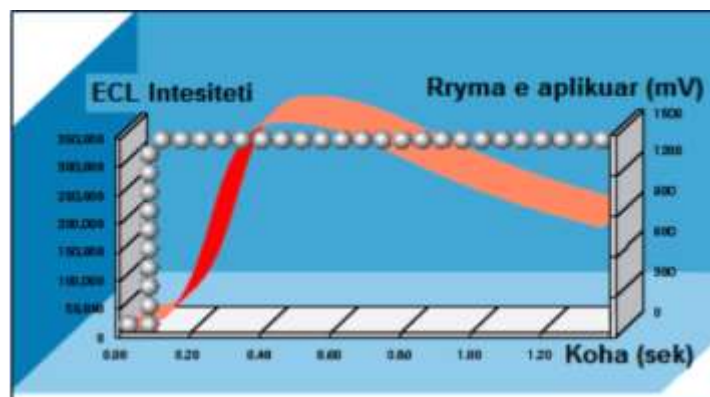


Figura 2.5: Gjenerimi i sinjalit të ECL-së.

Avantazhet e teknologjisë ECL:

Elektrokemiluminishenca përfaqëson një teknologji moderne që ofron mjaft avantazhe, krahasuar me teknika të tjera dedektuese:

- Sensibiliteti i përmirësuar, kombinuar me inkubacionin e shkurtër kohor, lejon rezultate të sakta dhe të shpejta.

- Është një teknikë që aplikohet për një shumëllojshmëri analitësh, duke siguruar një platformë solide për ekspansionin menu.
- Niveli i lartë matës (prej pesë shkallë të magnitudës), minimizon tretjet dhe përsëritjet, duke reduktuar kohën dhe koston e reagentëve

Dhoma e matjes me ECL

Qëllimi sistemit është matja duke përdorur teknikën ECL, e cila bazohet në zhvillimin e tre hapave thelbësorë. (*Roche Diagnostics, Operator's manual, Version 1,0*).

- **Ndarja:** Duke përdorur një magnet, mikropjesëzat e streptavidinës që janë të mbuluara me komplekset antigen-antitrupe, depozitohen uniformisht në elektrodën e punës. Një sistem bufer (procell) përdoret për të larë pjesëzat në elektrodën që punon dhe për të larguar reagentin e tepërt dhe materialet e mostrës nga dhoma e matjes.
- **Reaksioni ECL:** Magnetin zhvendoset dhe më pas aplikohet një rrymë në elektrodë, në të cilën mikropjesëzat e mbuluara me komplekset antigen-antitrupe janë depozituar për të filluar reaksionin e ECL-së. Më pas sistemi përdor sinjalet korresponduese për llogaritjen e rezultatit.
- **Çlirimi i mikropjesëzave dhe pastrimi i dhomës:** Menjëherë sapo ka përfunduar matja, mikropjesëzat paramagnetike pastrohen larg nga sipërfaqja e elektrodës me një solucion special pastrues (clean cell). Sipërfaqja e dhomës së matjes rigjenerohet nëpërmjet ndryshimit të potencialit në elektrodë. Dhoma më pas është gati për një matje tjetër (fig 2.6).

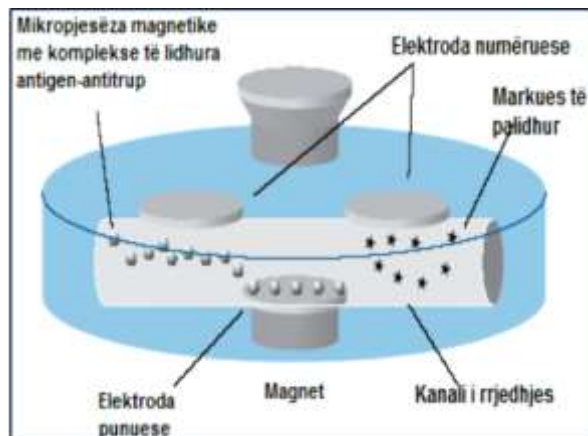


Figura 2.6: Dhoma e matjes në teknikën ECL.

Parimet e ECL-së:

Parimet e përshtatshëm në Elecsys 2010 Immunoassay System janë tre: parimi kompetitiv; parimi Sandwich (sandwich) dhe parimi i tipit "Urë" (bridging). Të tre parimet bazohen në zhvillimin e reaksioneve antigen-antitrupe duke përdorur kompleksin streptavidinë-biotinë. Ne kemi përdorur parimin sandwich për matjen e tre markerëve osteokalcinës, β -crosslapit dhe PTH.

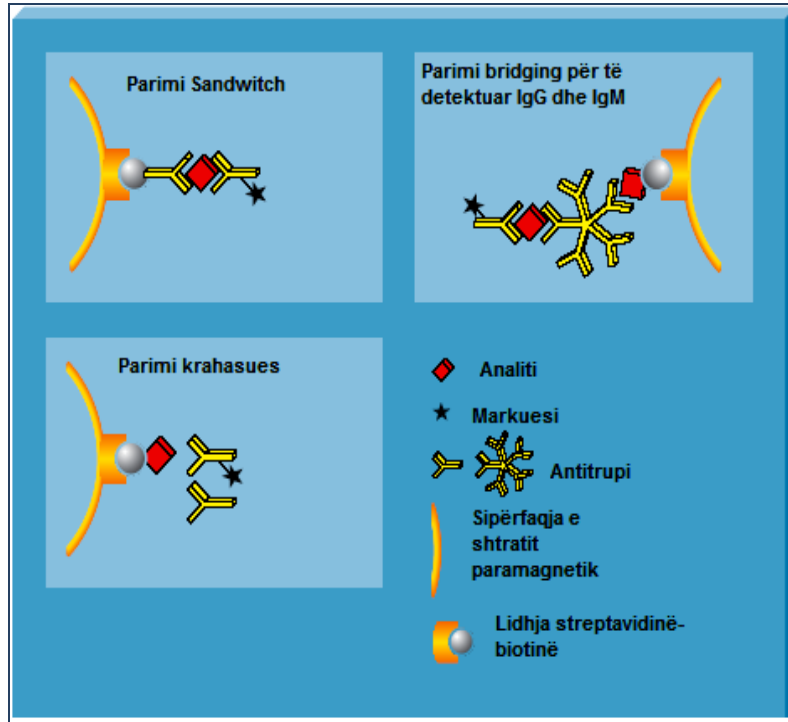


Figura 2.4: Tre parimet e analizave ECL

2.2.2 Përshkrimi i procedurës së matjes në aparatin Elecsys 2010

Një test ECL përfshin faza të ndryshme pipetimi, një periudhë inkubimi dhe një fazë përfundimtare të matjes.

Tre fazat e mësipërme realizohen në epruveta të vogla të quajtura kupa të analizave. Secili cikël i duhur i pipetimit zhvillohet për një kohë të përcaktuar, prej 42 sekondash. Pas kohës së duhur të inkubimit, përzjerja e reaksionit pipetohet në dhomat e matjes ku zhvillohet procesi i matjes. Pas çdo pipetimi, gjilpërat e mostrës ose reagentit pastrohen dhe nëqoftëse është e nevojshme pastrohet edhe mikseri i mikropjesëve.

Procedurat e përgatitjes

Pasi ndizet analizatori, fillojnë proceset e fillimit gjatë të cilave mekanizmat rivendosen në pozicionet e tyre të punës. Selektohen testet e duhura për mostrën e pacientit dhe fillon procedura duke u bazuar në protokollin përkatës të çdo testi (*MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 and cobas e analyzers, 2011*). Fillimisht aspirohet një reagent (R1 ose R2) dhe mostra ose mikrocopëzat njëra pas tjetrës. Pas çdo aspirimi gjilpërat e aspirimit pastrohen. Mostra dhe reagenti hidhen në një kupë të re analize, ndërsa gjilpëra e analizës hidhet në koshin e duhur. Për disa teste që kërkojnë edhe hollim, diluenti (pretreatment) pipetohet së bashku me mostrën në një kupë analize. Më pas një sasi e mostrës së holluar hidhet bashkë me reagentin në një kupë të re analize.

Principi i tipit "sandwich" për dedektimin e PTH-së

Aplikohet në rastet e analizëve me një peshë të lartë molekulare siç është p.sh. në rastin tonë PTH. I gjithë procesi i analizës zgjat 18 minuta.

Në fazën e parë të inkubimit, mostra e marrë nga pacienti (50 µl të serumit apo plazmës humane), kombinohet, në një provëz analize, me një reagent që përmban antitropa monoklonal PTH specifik të biotinizuar dhe një antitrop monoklonal PTH specifik të shënuar me një kompleks ruteniumi. Gjatë inkubimit, antitropat lidhen me PTH-në prezente në mostër, duke formuar një kompleksi sandviç.

Në fazën e dytë të inkubimit, shtojmë mikropjesëzat paramagnetike të mbuluara me streptavidinë. Gjatë këtij inkubimi antitropat e biotinizuar atashohen në sipërfaqen solide me anën e bashkëveprimit të biotinit dhe streptavidinës.

Pas kësaj përzierja reaktive, që përmban komplekset imune transferohet (aspirohet) në dhomën e matjes, ku dhe mikropjesëzat tërhiqen në mënyrë paramagnetike drejt sipërfaqes së elektrodës. Kështu kompleksi imun përmbillet në elektrodë dhe reagentët e palidhur shpëlahen me anë të një bufferi Pro-Cell.

Aplikimi i një tensioni në elektrodë më pas indukon emetimin kemiluminishent, i cili matet me anën e një fotomultiplier (fotoshumëzuesi). Konjugati që përfaqëson derivate të rutheniumit, stimulohet të prodhojë dritë. Sasia e dritës së prodhuar në mënyrë indirekte është proporcionale me sasinë e PTH-së në mostër. Vlerësimi dhe kalkulimi i përqendrimit të antigenit ose të analitit, bëhet me anë e kurbës së kalibrimit.

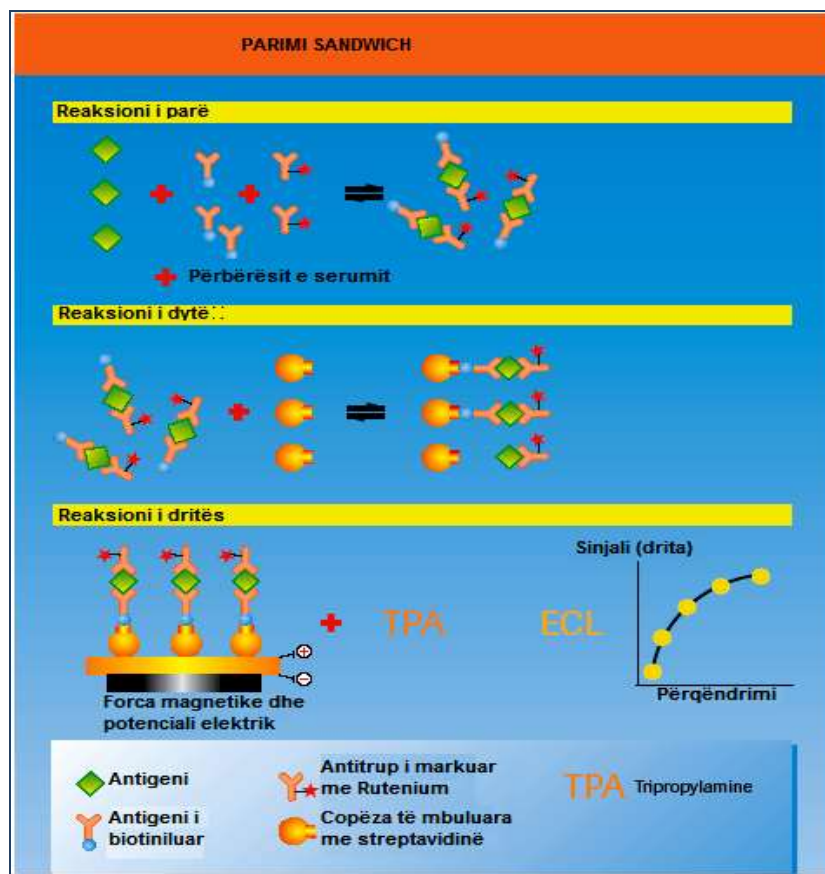


Figura 2.5: Paraqitje skematike e parimit sandviç

Reagentët –solucionet e punës

1. Mikropartikula të mbuluara me streptavidinë, 1 shishe, 6,5 m L; mikropartikula të mbuluara me streptavidinë 0,72 mg/mL.

2. Anti-PTH-Ab-biotin i shishe 7 mL; Antitrup monoklonal anti-PTH (i miut) i biotiniluar, 2.3 mg/L ; Fosfat buffer 100mm/L, pH 7.0.
3. Anti-PTH-aB-Ab - Ru (bpy)₃²⁺;1 shishe, 7 m L; Antitropa monoklonal anti-PTH të miut të shënuar me 2.0 mg/L të kompleksit të ruteniumit; fosfat bufer 100 mmol/L, p H 7.0.

Principi i tipit “sandwich” për dedektimin e Osteokalcinës

Është i njëjtë me parimin që zbatohet për detektimin e PTH, i vetmi ndryshim është që në këtë rast reagenti përmban një antitrup monoklonal N MID osteokalcinë specifik të biotiniluar dhe një antitrup monoklonal N MID osteokalcinë specifik të shënuar me një kompleks ruteniumi dhe ndërvepron duke formuar një kompleksi sandviç.

Kështu sasia e dritës së prodhuar në mënyrë indirekte është proporcionale me sasinë e N MID Osteokalcinës në mostër. Vlerësimi dhe kalkulimi i përqendrimit të antigjenit ose të analitit, bëhet me anë e kurbës së kalibrimit.

Principi i tipit “sandwich” për dedektimin e β -crosslapit

Specifiteti i analizës sigurohet nëpërmjet përdorimit të dy antitrupave monoklonalë që njohin oktapeptidin linear β -8AA (EKAHD- β -GGR). Analiza për β -Crosslapin në serum kuantifikon të gjitha tipet e fragmenteve të degradimit të kolagjenit tipi I, që përmbajnë dy herë oktapeptidin β -8AA (β -CTX). 50 μ L të mostrës së marrë ikubohen së bashku me një antitrup monoklonal anti- β -Crosslap të biotinizuar. Antigjeni në mostër çlirohet nga komponentët e serumit. Proçedura në vazhdim është e njëjtë me atë të shpjeguar më lart.

Principi i testit për detektimin e fosfatazës alkaline

Matja e fosfatazës alkaline realizohet duke përdorur testin kolorimetrik. Në prani të joneve magnez dhe zink, p-nitrofenil fosfati shpërbëhet nga fosfataza duke formuar fosfat dhe p-nitrofenol.

P-nitrofenoli i prodhuar është në proporcion me aktivitetin katalitik të fosfatazës alkaline. Përcaktohet duke matur rritjen e absorbancës.

Reagentët –solucionet e punës

1. 2-amino-2-metil-propanol: 1,724 mol/L, pH 10,5 (30⁰C); acetat magnezi: 3,83 mmol/L; sulfat zinku: 0,766 mmol/L, acidi etilendiaminë triacetik: 3,83 mmol/L.
2. P-nitrofenol fosfat: 132,8 mmol/L, pH 8,5 (30⁰C).

Kapitulli III

Rezultate dhe Diskutime

3.1 Analizimi i parametrave të matur tek gratë në periudhën postmenopauzike

Në studim janë përfshirë në total 100 gra të moshës 33-74 vjeç, nga të cilat 80 ishin në postmenopauz (ndërprerje të ciklit menstrual më shumë se një vit) dhe 20 në premenopauz, të cilat u morën si raste kontrolli.

Rezultatet e përfutuara nga matja e parametrave, u testuan me testin Kolmogorov-Smirnov për të parë nëse kishin shpërndarje normale. Rezultatet rezultuan me shpërndarje normale ($p > 0.05$ në të gjitha rastet).

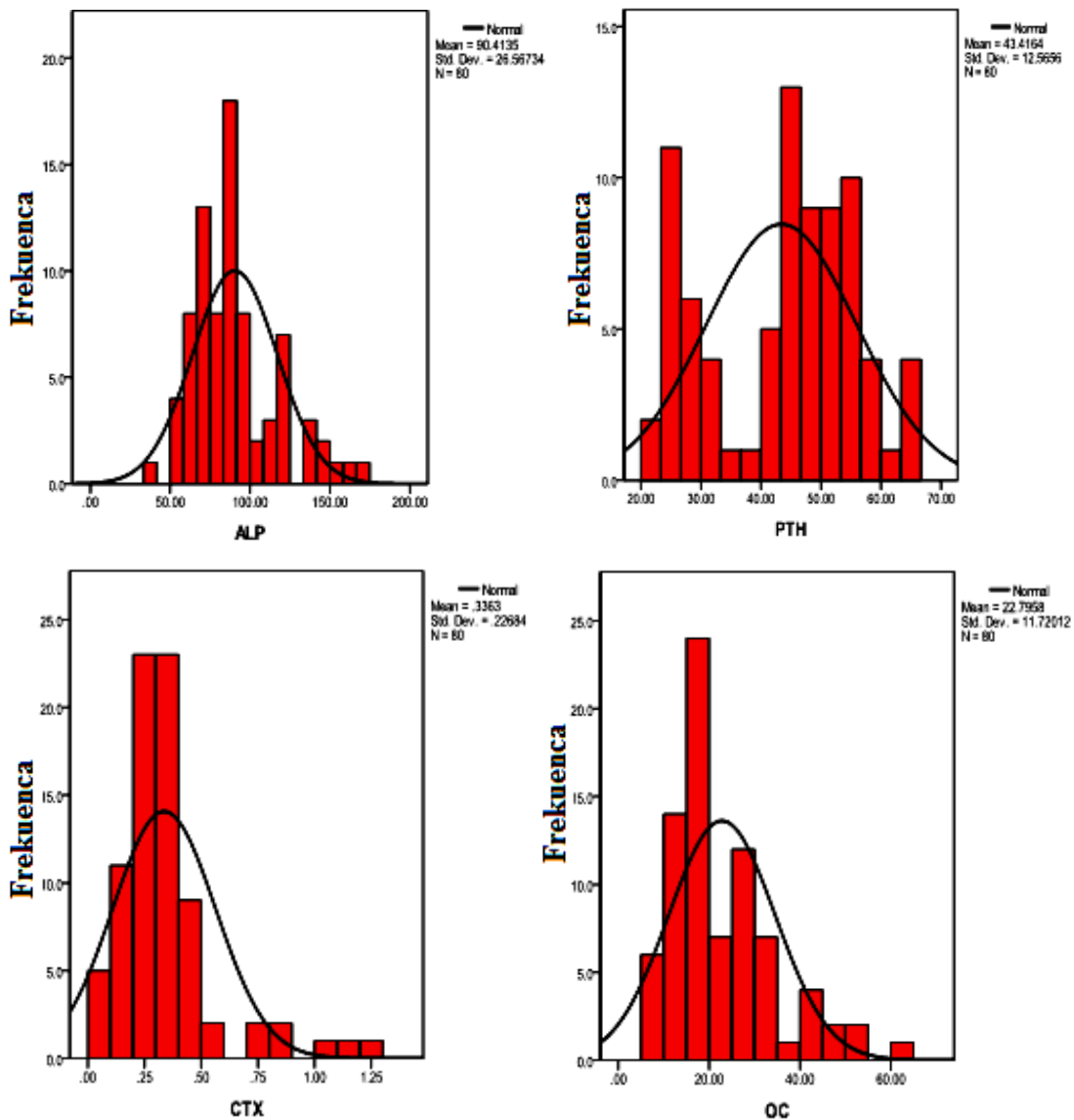


Figura 3.1: Shpërndarja e ALP, PTH, CTX dhe OC

Vlerat e parametrave të matur tek gratë në postmenopauz janë paraqitur në tabelën 3.1.

Tabela 3.1: Vlerat e parametrave të matur tek gratë në postmenopauz (Mesatare±SD)

Gra në Postmenopauz (n=80)			
	Mesatarja±SD	Minimum	Maximum
Mosha (vjeç)	57.43 ± 6.45	44	74
Gjatësia (cm)	159.58 ± 5.95	144	175
Pesha (kg)	71.38 ± 11.17	45	102
BMI (kg/m²)	28.06 ± 4.18	18.15	39.43
BMD (T-score)	-1.81 ± 0.64	-3.00	-0.10
Ca (mg/dl)	9.05 ± 0.50	8..10	10.10
ALP (ng/ml)	90.41 ± 25.56	36.4	167.2
PTH (U/L)	43.41 ± 12.56	21.04	65.40
OC (ng/ml)	22.79 ± 11.72	6.26	63.61
β-CTX (ng/ml)	0.336 ± 0.226	0.02	1.28

Mosha mesatare e grave të marra në studim është afërsisht 57 vjeç.

Fillimisht duhet të theksojmë se mbledhja e mostrave nuk është realizuar në të njëjtin orar të ditës dhe si pasojë rezultatet e analizave janë më të ndjeshme ndaj variabilitetit biologjik.

Niveli mesatar i ALP-së rezultoi 90.41±25.56 ng/ml. Kufijtë e vlerave të këtij markeri tek gratë janë 35-104 U/L. Dhe me sa shohim vlera e gjetur nga ne është shumë afër kufirit të sipërm. Në një studim të realizuar nga Soontrapa et al, vlera e ALP ishte 88.29±1.55 ng/ml, vlerë kjo shumë e afërt me mesataren tonë (Soontrapa et al, 2005). Vlera të ngjashme vijnë si pasojë e karakteristikave të përbashkëta të grave të marra në studim në të dyja rastet, si psh. mosha mesatare, pesha, mënyra e të ushqyerit etj.

Përsa i përket osteokalcinës, vlera mesatare e gjetur ishte 22.79 ± 11.72 ng/ml. Vlerat e referencës për osteokalcinën tek gratë në postmenopauz rezultuan 15-46 ng/ml. Në studime të ndryshme vlerat e këtij markeri ndryshojnë në mënyrë të ndjeshme. Vlera e gjetur nga ne përputhet me atë të një studimi të realizuar nga Hamdi (Hamdi, 2013), në një grup grash në postmenopauz, ku vlera mesatare e osteokalcinës ishte 22.30 ± 1.77 ng/ml.

Niveli mesatar i beta crosslapit rezultoi 0.336±0.226 ng/ml. Kufijtë e vlerave të këtij markeri tek gratë në postmenopauz janë 0.104-1.008 ng/ml. Niveli i β-CTX në serum në publikime të ndryshme jepet me vlera të ndryshme. Vlera e referencës është ajo e raportuar nga Garnero et al. në 429 gra në postmenopauz (mosha 45-80 vjeç) dhe është 0.556±0.226 ng/ml (Garnero et al. 2001). Studimi është realizuar në Francë.

Kjo vlerë nuk përputhet me rezultatin e gjetur nga ne dhe është relativisht më e lartë se vlera jonë. Në një tjetër studim të realizuar në Suedi niveli i β-CTX ishte 0.312±0.186 ng/ml (Lenora et al.2007), një vlerë e afërt me mesataren e gjetur në studimin tonë (0.336±0.226) dhe kjo ngjashmëri mund të lidhet me mënyrën e njëjtë të përzgjedhjes së mostrës. Ndërsa në studimin e realizuar nga Martinez et al u raportua një vlerë e barabartë me 0.387±0.197 ng/ml (Martinez et al, 2009). Këto vlera ndryshojnë nga ato të gjetura nga Trento et al, i cili realizoi një studim në 200 gra italiane në postmenopauz, ku vlera mesatare e β-CTX ishte 0.45±0.10 ng/ml.

**L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË
NË PERIUdhËN POSMENOPAUIKE**

Pra mesa shohim kemi një ndryshim të vlerave të β -CTX në studime të ndryshme që variojnë nga 0.556 ± 0.226 ng/ml deri në 0.312 ng/ml (pothuajse një ndryshim prej 100%). Këto dy vlera ekstreme janë respektivisht 39.6% më të larta dhe 8% më të ulëta se ato të gjetura nga studimi ynë.

Ndryshimet në vlera mund ti detyrohen karakteristikave të veçanta të grave të përfshira në studim si psh. moshë, pesha, duhanpirja, aktiviteti fizik etj. Edhe pse të gjitha studimet kanë trajtuar gra në postmenopauz ndryshon vlera mesatare e moshës dhe mund të themi se ndryshimi i moshës mund të jetë një faktor që ndikon dhe në vlerat e markerëve biokimikë. Përsa i përket peshës nuk mund ta konsiderojmë si një faktor që ndikon pasi në përgjithësi vlera mesatare e peshës e gjetur në studimin tonë është e përafërt me atë të studimeve të realizuar nga autorë të tjerë. Një element i rëndësishëm që mund të ndikojë në variabilitetin e vlerave të markerëve është dhe duhanpirja. Numri i grave që konsumojnë duhan dhe sasia e duhanit të konsumuar ndryshon nga një studim në tjetrin. Në tabelën 3.2 janë treguar karakteristikat e grave të marra në studim.

Tabela 3.2: Rezultate të marra nga pyetësi i realizuar

	Nr.	%
Aktiviteti fizik:		
Ecje më shumë se 30 min në ditë	53	66.2%
Ecje më pak se 30 min në ditë	27	33.8%
Ekspozimi në diell		
Më shumë se 30 min	44	55%
Më pak se 30 min	36	45%
Histori familjare me fraktura		
Po	15	18.75%
Jo	65	81.25%
Humbur gjatësi		
Po	48	60%
Jo	32	40%
Thyerje		
Po	14	17.5%
Jo	66	82.5%
Konsumi i kafes		
1 filxhan në ditë	17	21.25%
2 filxhanë në ditë	27	33.75%
Mbi 2 filxhanë në ditë	26	32.5%
Nuk konsumojnë kafe	10	12.5%
Konsumojnë alkool		
Po	14	17.5%
Jo	66	82.5%
Kur ka filluar menopauza		
<40 vjeç	15	18.75%
40-50vjeç	56	70%
>50 vjeç	9	11.25%
Pirja e duhanit		
Nuk pinë duhan	55	68.75%
Pinë 1-10 cigare në ditë	4	5%
11-20 cigare në ditë	8	10%
Mbi 20 cigare në ditë	13	16.25%

**L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË
NË PERIUdhËN POSMENOPAUIKE**

Në tabelën 3.3 janë dhënë shoqërimet e mundshme që ekzistojnë midis parametrave të matur.

Tabela 3.3: Lidhja midis parametrave të matur

	Mosha	ALP	PTH	CTX	OC	BMD	Pesha	Gjatësia	BMI
Ca	-0.137	-0.425**	0.507**	-0.326**	-0.269*	-0.053	0.057	-0.121	0.113
Mosha	-	0.332**	0.058	0.281*	0.316**	-0.388**	0.024	-0.010	0.032
ALP		-	-0.480**	0.499**	0.451**	-0.178	-0.117	-0.022	-0.123
PTH			-	-0.291**	-0.344**	0.030	-0.077	-0.215	0.025
CTX				-	0.732**	-0.229*	0.072	0.222*	-0.046
OC					-	-0.268*	0.175	0.258	0.042
BMD						-	0.114	-0.170	0.210
Pesha							-	0.363**	0.879**
Gjatësia								-	-0.122
BMI									-

*p < 0.05; **p < 0.01.

Lidhje tepër sinjifikante egzistojnë midis markerëve të turnoverit të kockave. Kështu një shoqërim i moderuar negativ është gjetur midis ALP dhe PTH-së ($r=-0.480$, $p=0.0005$). Po kështu ndërmjet ALP-së dhe OC; ALP-së dhe β -CTX është gjetur një shoqërim i moderuar pozitiv ($r=0.451$, $p=0.0005$ dhe $r=0.499$, $p=0.0005$ përkatësisht). Pra rritja e vlerave të ALP-së shoqërohet me rritje të vlerave të dy markerëve: osteokalcinës, si një marker i formimit të kockës dhe beta crosslapit, si një marker i resorbimit të kockës.

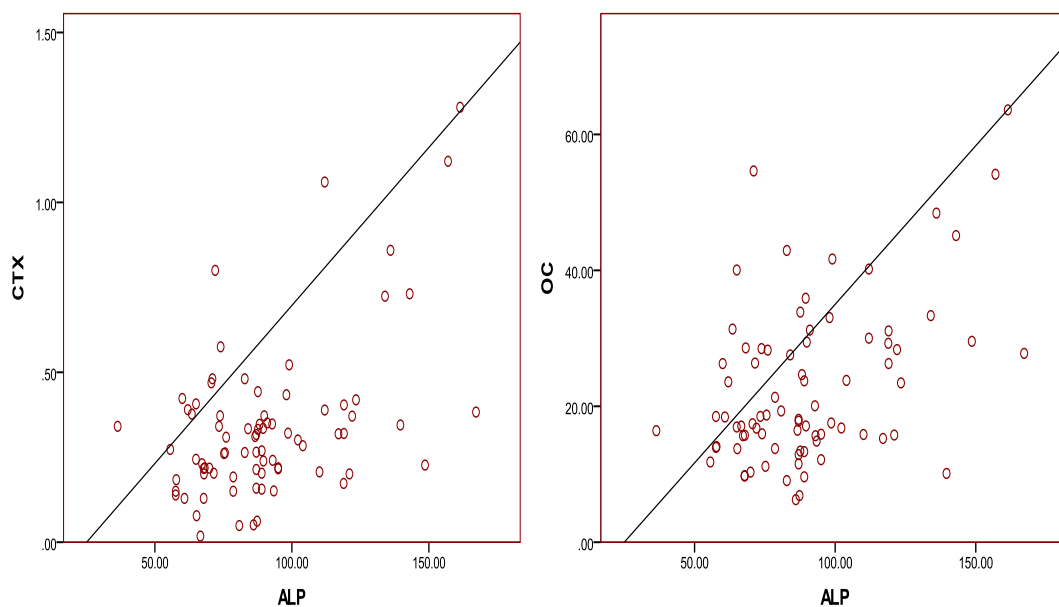


Figura 3.2: Skategrama që tregon shoqërimin midis ALP dhe CTX, ALP dhe OC

Një tjetër korrelacion është ai midis PTH-së dhe β -CTX ($r=-0.291$, $p=0.009$), si dhe midis PTH-së dhe OC ($r=-0.344$, $p=0.002$).

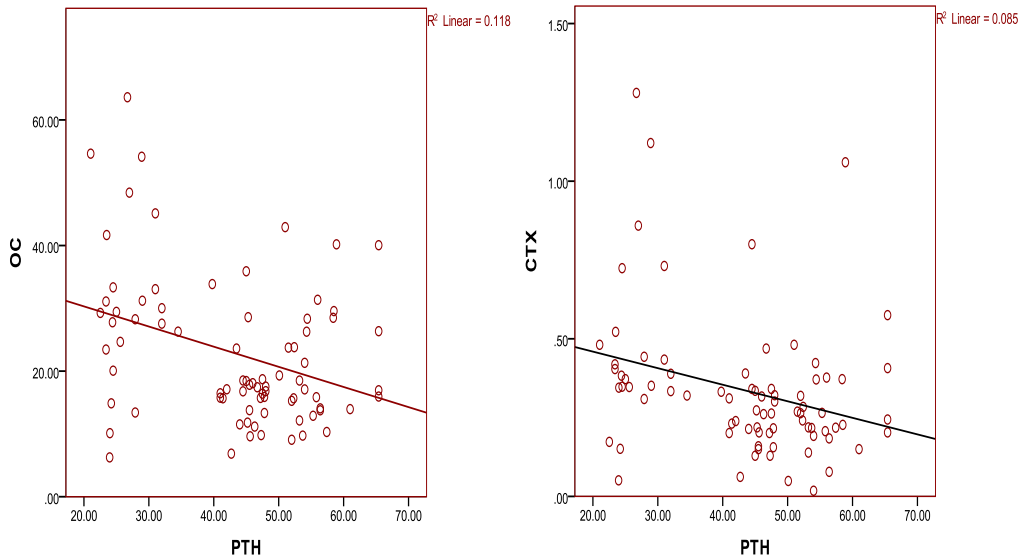


Figura 3.3: Skatograma që tregon shoqërimin midis PTH dhe CTX, PTH dhe OC

Por një shoqërim shumë i fortë është vënë re midis OC dhe β -CTX ($r=0.732$, $p=0.0005$). Dhe ashtu siç duket dhe nga koeficienti Pearson është një shoqërim pozitiv. Rritja e vlerave të OC shoqërohet me rritjen e vlerave të β -CTX, duke treguar kështu një turnover të lartë të kockës. Osteokalcina është konsideruar si një marker specifik i funksionit të osteoblasteve, kjo pasi është treguar se nivelet e saj korrelojnë me shkallën e formimit të kockës. Por duke parë se ky marker çlirohet nga matriksi i kockës gjatë procesit të resorbimit, reflekton më së miri turnoverin e përgjithshëm të kockës dhe mund të konsiderohet si një marker i turnoverit të kockës. Vlera të larta të beta crosslapit të shoqëruara nga vlera të larta të osteokalcinës tregojnë për një rritje të resorbimit të kockës.

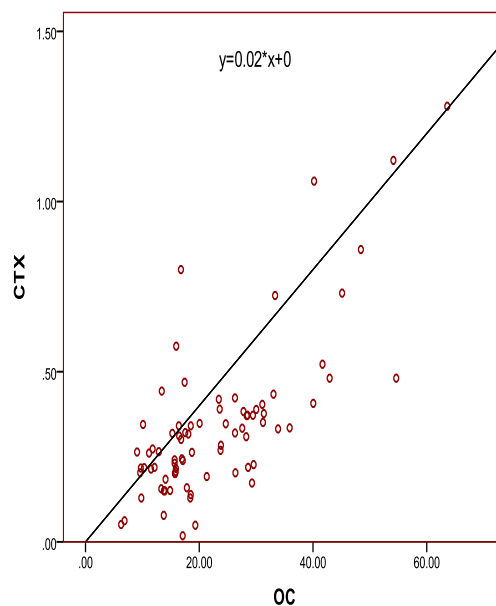


Figura 3.4: Skatograma që tregon shoqërimin midis CTX dhe OC

Tek gratë në postmenopauz kalçiumi është një element i rëndësishëm dhe tregues i metabolizmit të kockës. Ne gjetëm një korrelacion modest negativ midis kalçiumit dhe ALP-së ($r=-0.425$, $p=0.0005$), midis kalçiumit dhe OC ($r=-0.269$, $p=0.016$) dhe midis kalçiumit dhe β -CTX ($r=-0.326$, $p=0.003$). Ndërsa një korrelacion pozitiv i moderuar është gjetur ndërmjet nivelit të kalçiumit dhe PTH-së ($r=0.507$, $p=0.0005$).

Rëndësia klinike e markerëve biokimikë të turnoverit të kockave në menaxhimin e osteoporozës postmenopauzale mbetet akoma një problem për diskutim. Është sugjeruar që disa nga këta markerë mund të përdoren për të targetuar gratë që janë në risk të lartë për osteoporozë dhe për të pësuar fraktura (Ross & Knowlton, 1998; Ravn et al, 1997).

Lidhja ndërmjet markerëve të kockës dhe BMD-së

Densiteti mineral i kockës është një tregues i rëndësishëm i metabolizmit të kockës. Tabela 3.6 tregon rezultatet e korrelacionit midis BMD-së dhe markerëve të ndryshëm biokimikë të turnoverit të kockës.

Tabela 3.6: Lidhja midis BMD-së dhe markerëve biokimikë të turnoverit të kockës

	Koeficienti i korrelacionit Pearson	<i>p</i>
ALP	-0.178	0.114
OC	-0.268	0.01
CTX	-0.219	0.05
PTH	0.030	0.793

Vlera e koeficientit të korrelacionit për ALP dhe BMD është $r=-0.178$ dhe $p=0.114$ ($p>0.05$). Kjo do të thotë se nuk ekziston asnjë shoqërim midis vlerave të ALP –së dhe densitetit mineral të kockës.

Ashtu siç duket edhe nga tabela, ekziston një korrelacion i dobët, por sinjifikativ, midis BMD-së dhe dy markerëve të turnoverit të kockës: osteokalcinës dhe beta crosslapit. Për të dy markerët ky shoqërim është negativ, pra rritja e nivelit të tyre shoqërohet me ulje të vlerave të BMD-së.

Prania e një lidhjeje komplekse midis turnoverit të kockave dhe masës kockore, ku një turnover i lartë i kockës shoqërohet me ulje të masës kockore, ka çuar në rezultatin se markerët e kockës mund të parashikojnë frakturat tek gratë e moshuara, veçanërisht ato që përfshijnë kockat trabekulare, si dhe përdorimi i kombinuar i BMD-së dhe markerëve të kockës mund të ndikojë në parashikimin e frakturave.

Markerët biokimikë të turnoverit të kockave, si osteokalcina dhe beta crosslapi mundet gjithashtu të përdoren për një përcaktim më të hershëm të përgjigjes ndaj terapive dhe trajtimeve specifike.

Në figurat 3.6 dhe 3.7 janë paraqitur skategramat përkatëse që tregojnë pikërisht shoqërimin midis këtyre markerëve dhe densitetit mineral të kockës.

Vrojtohet një korrelacion negativ pikërisht midis osteokalcinës dhe BMD-së ($r=-0.268$ dhe $p=0.01$) si dhe midis beta crosslapit dhe BMD-së ($r=-0.219$ dhe $p=0.05$). Rritja e vlerave të këtyre markerëve shoqërohet me një ulje në densitetin mineral të kockës.

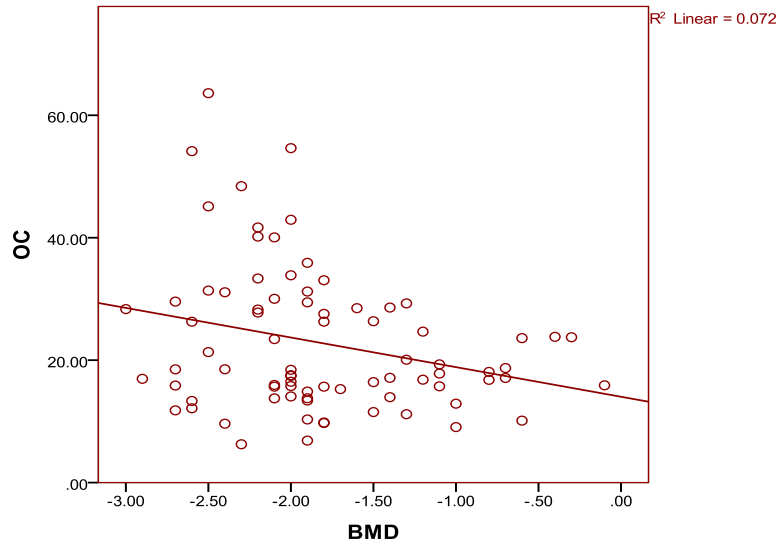


Figura 3.6: Skategrama që tregon shoqërimin midis OC dhe BMD

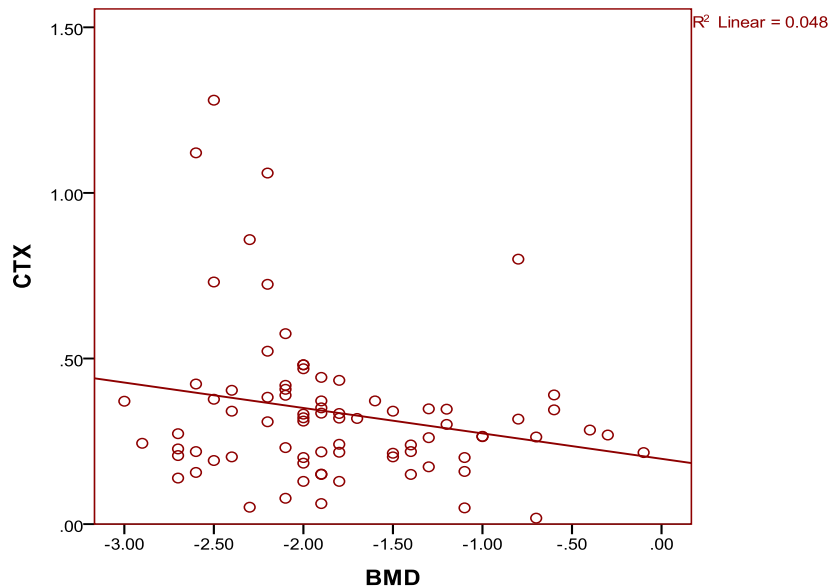


Figura 3.7: Skategrama që tregon shoqërimin midis CTX dhe BMD

Asnjë shoqërim sinjifikant nuk është gjetur midis BMD-së dhe hormonit të paratiroides. Vlera e koeficientit të korrelacionit është 0.030 dhe $p=0.793$, vlerë kjo më e madhe se 0.05 dhe si pasojë themi se nuk kemi gjetur shoqërim midis këtyre dy parametrave. Gjithashtu nuk u gjet asnjë shoqërim sinjifikant midis ALP-së dhe densitetit mineral të kockës. Duke ditur se ALP totale e ka origjinën nga burime të ndryshme, ajo nuk ka gjetur një përdorim të gjerë si një marker i rimodelimit të kockës.

Markerët e turnoverit të kockave mund të jenë të nevojshëm për vlerësimin e humbjes së masës kockore dhe përcaktimin e trajtimit të osteoporozës. Markerët e resorbimit të kockës dhe në veçanti β -CTX, janë të nevojshëm për parashikimin e osteoporozës dhe riskut për fraktura. Në një studim të realizuar nga Desai et al, niveli i markerit të resorbimit të kockës, telopeptidi C-terminal i kolagenit tipi I (β -CTX) rritet në

mënyrë të ndjeshme përgjatë viteve duke treguar dhe një shoqërim negativ me BMD-në (Desai et al, 2007).

Disa studime prospektive kanë treguar se një rritje e resorbimit të kockave e vlerësuar nga marker specifikë biokimikë është shoqëruar me një rritje të riskut për fraktura pavarësisht BMD-së (Garnero et al, 2000; Ravn et al, 1997).

Përdorimi i markerëve të kockave tek individët mund të jetë e nevojshme në disa situata, veçanërisht tek gratë të cilat nuk janë cilësuar në risk nga matjet e BMD-së. Kështu markerët e kockave mund të përdoren për përcaktimin e riskut për fraktura në raste specifike ku BMD-ja dhe faktorët klinikë të riskut nuk janë të mjaftueshëm për të marrë një vendim në lidhje me trajtimin (Garnero & Delmas, 2004).

Markerët biokimikë të formimit dhe resorbimit të kockës, sipas raportimeve të bëra nga Rogers et al, korrelojnë në mënyrë sinjifikante me ndryshimet në densitetin mineral të kockës në një grup grash në postmenopauz (Rogers et al, 2000). Lofman et al vuri re një shoqërim negativ midis nivelit të markerëve të kockës, të matur në serum dhe grave në postmenopauz, dhe BMD-së (Lofman et al, 2005).

Studimi ynë konfirmoi shoqërimin sinjifikant negativ midis vlerave të markerëve të turnoverit të kockave dhe BMD-së, pra vlerat T-score të densitetit mineral të kockës ulen me rritjen e vlerave të markerëve të turnoverit. Në mbështetje të rezultatit janë dhe një numër i madh artikujsh, të cilët pohojnë me bindje se ndryshimi i nivelit të markerëve të turnoverit ndikon në densitetin mineral të kockës. (Rogers et al, 2000; Cosman et al. 1996; Chaki et al, 2000).

Kufizimet e këtij studimi mund të jenë mostra e vogël dhe fakti që subjektet që me dëshirën e tyre kanë marrë pjesë në studim kanë qënë vullnetarë të përzgjedhur në mënyrë të rastësishme apo dhe shoqëruar të pacientëve që paraqiteshin në klinikë. Një studim i bazuar në një numër më të madh individësh mund të sigurojë të dhëna më të detajuara në lidhje me rezultatet e deritanishme dhe mund të përcaktojë rolin e markerëve të kockës dhe BMD-së në parashikimin e humbjes së masës kockore.

Gratë në postmenopauz të përfshira në studim u klasifikuan në tre grupe në varësi të densitetit mineral të kockës (BMD), të matur nëpërmjet QUS-së. Në grupin e parë, bëjnë pjesë 11 gra me densitet normal të kockës (T-score > -1), në grupin e dytë 55 gra me osteopeni (-2.5 < T-score < -1) dhe në grupin e tretë 14 gra me osteoporozë (T-score < -2.5).

Në tabelën 3.7 jepen vlerat e markerëve të turnoverit të kockave tek gratë e klasifikuara si normale, osteopenike dhe osteoporotike.

Tabela 3.7: Vlerat e markerëve të turnoverit të kockave tek gratë normale, osteopenike dhe ato me osteoporozë

	Normal	Osteopeni	Osteoporozë
ALP	87.32 ± 21.29	88.47 ± 23.23	100.45 ± 39.55
OC	17.25 ± 5.16	22.64 ± 10.97	27.73 ± 16.15
β-CTX	0.31 ± 0.18	0.32 ± 0.18	0.43 ± 0.36
PTH	47.13 ± 8.61	41.28 ± 12.9	48.88 ± 11.8

Ashtu siç shohim dhe nga tabela vlerat e ALP-së ndryshojnë në të tre grupet dhe kemi një rritje duke kaluar nga gratë me vlera normale të BMD-së tek ato me osteoporozë. Vlera e ALP-së në grupin e tretë, pra grupin e grave me osteoporozë është në mënyrë

sinjifikante më e lartë se vlera në grupin e parë ($F=8.98$, $p=0.006$) dhe vlera mesatare në grupin e dytë ($F=12.8$, $p=0.001$). Ndërsa nuk vihet re ndonjë ndryshim sinjifikant midis grupit të grave normale dhe atyre me osteopeni ($p>0.05$).

Përsa i përket PTH-së nuk mund të themi të njëjtën gjë, pasi vlerat e saj nuk rriten në mënyrë sinjifikante duke kaluar nga grupi i parë në të tretin. Shohim se gratë me osteopeni karakterizohen nga vlera më të ulëta të PTH-së në krahasim me ato normale dhe ky ndryshim është sinjifikant ($F=5.75$, $p=0.019$). Ndërsa tek grupi i tretë kemi një rritje të vlerës të PTH-së në krahasim me grupin e dytë, por ky ndryshim nuk është sinjifikant ($p>0.05$). Gjithashtu tek gratë me osteoporozë vlera mesatare e PTH-së është më e lartë sesa tek gratë normale por duke përdorur testin e studentit (t-test) arrijmë të gjejmë se kjo rritje nuk është sinjifikante ($p>0.05$).

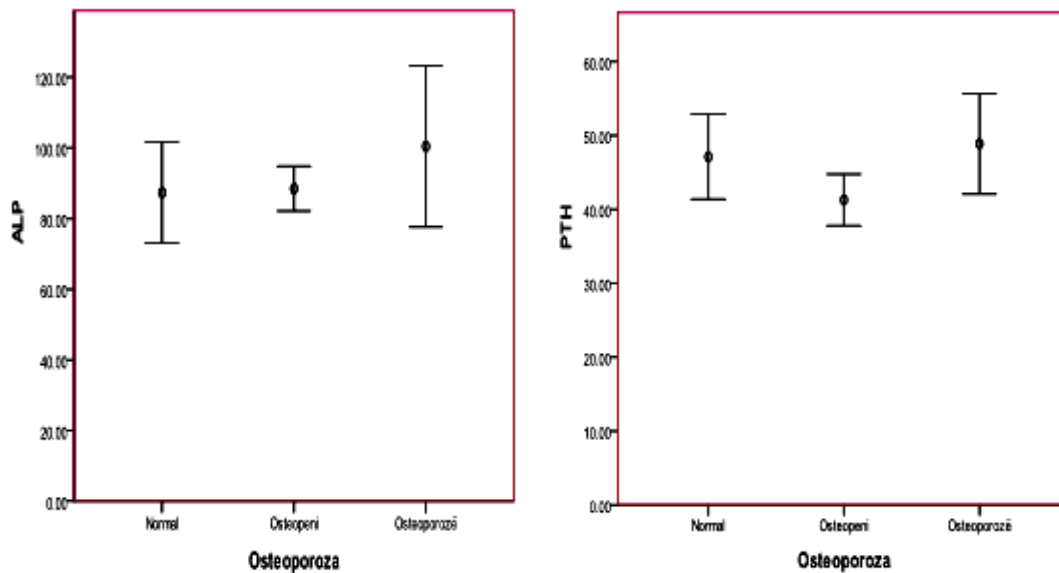


Figura 3.8: Vlerat e ALP dhe PTH në tre grupet e grave

Vlera mesatare e OC-së paraqitet e ndryshme në tre grupet e grave. Kështu gratë me osteoporozë kanë vlera më të larta të këtij markeri krahasuar me gratë që karakterizohen nga një densitet normal i kockës dhe ky ndryshim është sinjifikant ($F=7.02$, $p=0.014$). Gjithashtu gratë që janë cilësuar si osteopenike karakterizohen nga nivele më të larta të OC-së në raport me gratë me densitet normal të kockës ($F=8.31$, $p=0.005$).

Përsa i përket nivelit të markerit të resorbimit të kockës β -CTX, mund të themi se ai është mjaft më i lartë tek grupi i grave osteoporotike, krahasuar me ato normale dhe osteopenike ($p=0.006$). Por ajo çka vihet re është fakti se vlera mesatare e β -CTX nuk ndryshon midis grupit me densitet normal të kockës dhe atij me osteopeni ($p>0.05$).

Në përgjithësi mund të themi se gratë osteoporotike në posmenopauz karakterizohen nga nivele më të larta të markerëve biokimikë të kockave, duke na treguar kështu për një shkallë të lartë të rimodelimit të kockës.

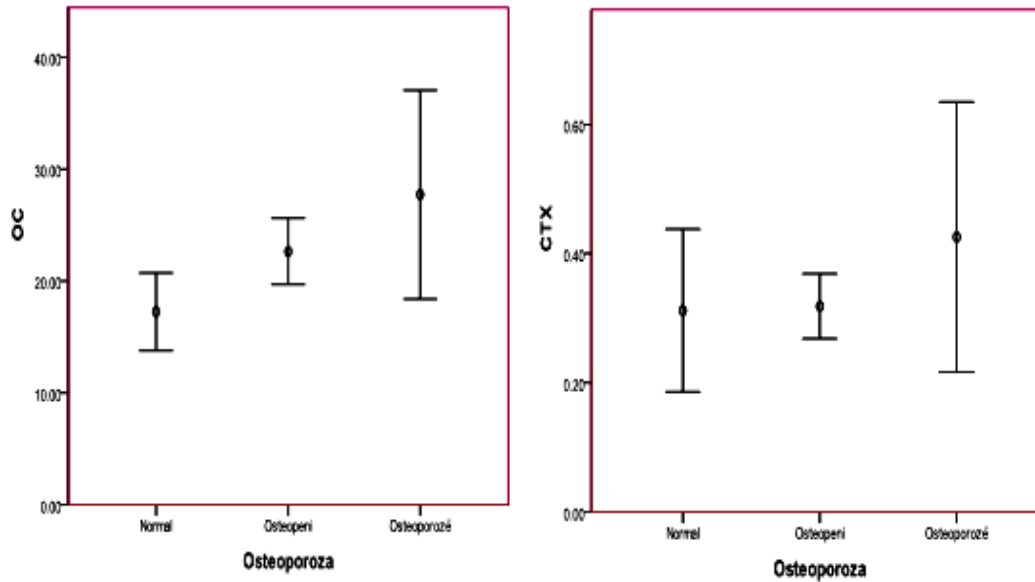


Figura 3.9: Vlerat e OC dhe CTX në tre grupet e grave

Duke përdorur analizën e variancës, ne gjetëm se gratë në postmenopauz kanë vlera të ndryshme të densitetit mineral në përputhje me moshën ($F_{(2,77)}=7.63$, $p<0.001$). Gratë e grupit të parë, gratë normale janë ato me moshë më të vogël pra janë më të reja (54.18 ± 7.67 vjeç), në grupin e dytë janë me moshë më të madhe (56.72 ± 5.70 vjeç) dhe gratë e grupit të tretë që janë gratë osteoporotike janë më të vjetrat në moshë (62.78 ± 5.57 vjeç).

Duke përdorur markerët e turnoverit të kockave si variabla të pavarur dhe T-score si variabël i varur, realizuam një regression linear të shumëfishtë. Rezultatet treguan se ALP, CTX, PTH, OC si dhe calciumi, pesha dhe moshja, ishin përcaktues sinjifikant të vlerave T-score. Vlera e koeficientit të përcaktueshmërisë ishte $r^2=0.234$. Kjo do të thotë se këta parametra ndikojnë me 23.4% në ndryshimin e vlerave të densitetit mineral të kockës, $F_{(7,72)}=3.1$ dhe $p=0.006$.

Gjithashtu duke përdorur regresionin e shumëfishtë ne mundëm të provojmë ndikimin e markerëve biokimikë tek njeri-tjetri. Kështu nëpërmjet një analize regresioni me variabël të varur CTX dhe variabla të pavarura BMD, ALP, OC dhe PTH u gjet se ndryshimi i vlerave të CTX është i përcaktuar në mënyrë tepër sinjifikante ($F_{(4,75)}=25.08$ dhe $p=0.0001$) nga ndryshimet në markerët e tjerë. Vlera e koeficientit të përcaktueshmërisë ishte $R^2=0.572$. Pra 57.2% e ndryshimeve në nivelin e CTX është e lidhur me ndryshimet në markerët e tjerë.

Të njëjtën gjë mund të themi dhe për osteokalcinën, ku përcaktues sinjifikantë të vlerave të saj janë BMD, OC, PTH dhe ALP ($F_{(4,75)}=24.7$ dhe $p=0.0001$). 56.9% e ndryshimeve të këtij markeri është e ndikuar nga vlerat e markerëve të tjerë ($R^2=0.569$).

Lidhja e markerëve të kockës me moshën

Mosha është një element i rëndësishëm që ndikon në ndryshimin e nivelit të markerëve të kockës. Një studim i realizuar nga Shan et al, ka raportuar rritje të turnoverit të kockës (ALP dhe β -CTX) me rritjen e moshës, duke treguar nivelin minimal në moshën 30-39 vjeç dhe maksimumin në moshën 40-59 vjeç (Shan et

**L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË
NË PERIUdhËN POSMENOPAUIKE**

al,2006). Ashtu siç duket dhe nga tabela 3.3 ekziston një shoqërim sinjifikant midis moshës dhe markerëve të tillë si ALP ($r=0.332$, $p=0.003$), OC ($r=0.316$, $p=0.004$) dhe β - CTX ($r=0.281$, $p=0.012$). Me rritjen e moshës rritet dhe niveli i këtyre markerëve, çka tregon dhe për një turnover të lartë të kockës me kalimin e viteve.

Për të studiuar lidhjen midis moshës dhe parametrave të ndryshëm kemi bërë një ndarje të grave në postmenopauzë në tre grupe sipas moshës. Grupi i parë përfshin subjektet me moshën nga 44 deri 53 vjeç, grupi i dytë 54-63 vjeç dhe grupi i tretë 64-74 vjeç.

Tabela 3.4: Vlerat e parametrave në tre grupmosha të ndryshme (Mesatare \pm SD)

	Moshë (vjeç)			p
	44-53 (n=18)	54-63 (n=50)	64-74 (n=12)	
Gjatësia (cm)	159.38 \pm 7.66	159.58 \pm 5.42	159.91 \pm 5.74	0.973
Pesha (kg)	71 \pm 12.58	71.38 \pm 9.86	71.97 \pm 14.77	0.974
BMI (kg/m²)	27.93 \pm 4.44	28.10 \pm 3.90	28.12 \pm 5.20	0.988
BMD (T-score)	-1.46 \pm 0.47	-1.81 \pm 0.67	-2.33 \pm 0.39	0.001
Ca (mg/dl)	9.23 \pm 0.53	8.99 \pm 0.48	9.01 \pm 0.53	0.221
ALP (ng/ml)	74.77 \pm 14.13	90.04 \pm 22.50	115.40 \pm 37.7	0.0005
PTH (U/L)	44.64 \pm 10.93	42.80 \pm 11.69	44.11 \pm 18.32	0.853
OC (ng/ml)	20.05 \pm 10.09	21.11 \pm 9.40	33.92 \pm 16.57	0.001
β-CTX (ng/ml)	0.271 \pm 0.16	0.307 \pm 0.16	0.553 \pm 0.38	0.001

Në tabelën e mësipërme jepen karakteristikat bazë që mund të ndikohen nga moshë, markerët e turnoverit të kockës dhe vlerat T-score të BMD-së. Nivelet e markerëve të tillë si: beta crosslapi ($F_{(2,77)}=7.75$, $p=0.001$), osteokalcina ($F_{(2,77)}= 7.47$, $p=0.001$) dhe fosfataza alkaline ($F_{(2,77)}=10.44$, $p=0.0005$), ndryshojnë në varësi të moshës dhe konkretisht rriten në mënyrë të ndjeshme më rritjen e moshës.

Vlerat më të larta të këtyre markerëve i gjejmë tek gratë me moshë 64-74 vjeç. Duke përdorur analizën e variancës (ANOVA) mundëm të provojmë se ekziston një sinjifikancë e fortë. Gjithashtu në mënyrë sinjifikante ndryshojnë dhe vlerat e BMD-së, të cilat pësojnë ulje ($F_{(2,77)}=7.49$, $p=0.001$) dhe vlerat më të ulta janë tek gratë e moshës 64-74 vjeç.

Përsa i përket PTH-së, analiza e variancës tregoi se nuk kemi ndryshim sinjifikativ midis tre grupmoshave ($p=0.853$). Por ndryshim sinjifikant në vlerat e PTH-së kemi midis grave me moshë 54-63 vjeç dhe atyre me moshë 64-74 vjeç (testi i Studentit, $p=0.0005$), ku shohim një rritje të nivelit të këtij hormoni. Nuk mund të themi të njëjtën gjë për vlerat e kalçiumit, të cilat janë pothuajse të njëjta në të tre grupet ($p=0.221$).

Edhe vlerat e parametrave të tjerë, pesha, gjatësia dhe BMI nuk ndryshojnë por ruajnë vlera pothuajse të njëjta.

L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË NË PERIUdhËN POSMENOPAUIKE

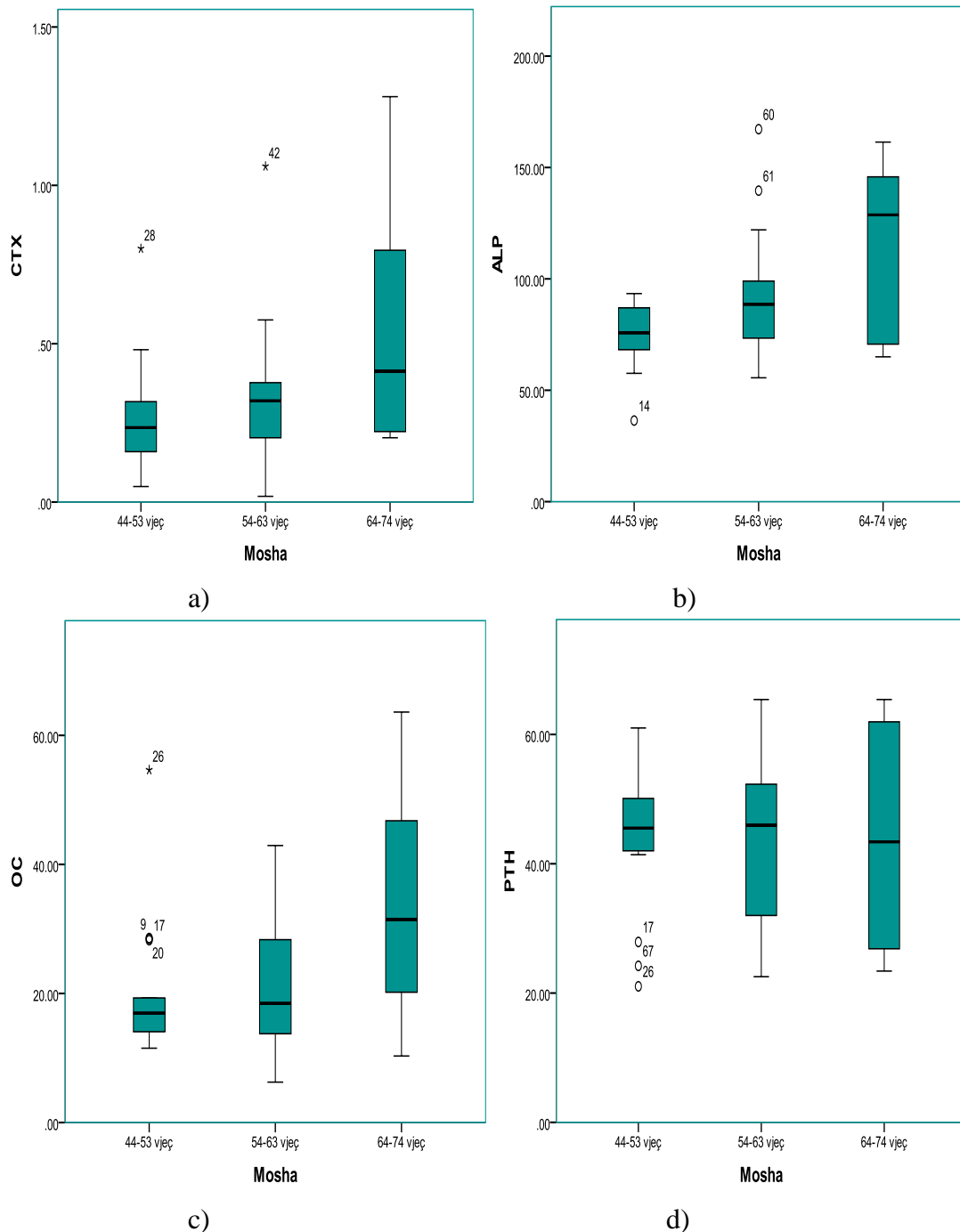


Figura 3.5: Vlerat mesatare të CTX (a), ALP (b), OC (c) dhe PTH (d) në të tre grupmoshat sipas metodës boxplot. Metoda boxplot: kufijtë e kutisë tregojnë percentilet 25 dhe 75, vija horizontale në brendësi të kutisë tregon mesoren e të dhënave, kufijtë e vijës vertikale tregojnë 5 deri 95 % të vlerave. Numrat jashtë kufijve tregojnë vlera të veçuara.

Duke parë ndikimin e moshës në markerët e turnoverit të kockave dhe densitetit mineral, mund të themi se me rritjen e moshës rritet dhe risku për fraktura dhe osteoporozë, në përputhje kjo edhe me studime të kryera nga autorë të tjerë (Shiga et al., 2014). Në përgjithësi BMD ulet me moshën, duke u shoqëruar me një rritje të turnoverit të kockës e përcaktuar nga niveli në serum i OC dhe β -CTX.

Humbja e masës kockore që ka lidhje me moshën ndodh si rezultat i rritjes së shkallës së resorbimit, e ndjekur kjo nga një pamundësi e procesit të formimit për të mbushur hapësirat e resorbuar. Këto humbje të masës kockore janë të ngadalta ose të përshpejtuara. Humbje të ngadalta të masës kockore ndodhin si pasojë e një imbalance në procesin e rimodelimit të kockës. Ndërsa humbja e përshpejtuar vihet re tek gratë pas menopauzës dhe karakterizohet nga një turnover i lartë i kockës. Kjo rritje e turnoverit mendohet se vjen si pasojë e rritjes së aktivitetit të osteoklasteve, pas rënies së efektit mbrojtës që luan estrogeni.

Në analizën e regresionit, moshë ka një shoqërim sinjifikant me markerët e turnoverit të kockave, si me ata të formimit dhe me ata të resorbimit. Ky përfundim nuk përputhet me disa studime të mëparshme, në të cilat sugjerohet se humbja e masës kockore tek gratë me moshë të madhe vjen më shumë si rezultat i rritjes së markerëve të resorbimit sesa nga ulja e markerëve të formimit të kockës. (Eastell et al., 1988; Garner et al., 1996).

Ndryshimet e shkaktuara si pasojë e moshës në densitetin mineral të kockës mund të reflektojnë humbje të masës kockore, por kjo mund të shkaktohet dhe nga ndryshime në mënyrën e jetesës, dietës ushqimore, nivelit të aktivitetit fizik, si dhe faktorë të tjerë mjedisorë. Gjithashtu turnover i kockës nuk varet drejtpërdrejt nga BMD-ja dhe raportimet në lidhje me mundësinë e parashikimit të humbjes së masës kockore duke përdorur markerët janë kontradiktore. Disa autorë theksojnë rëndësinë e tyre në përcaktimin e humbjes së shpejtë apo të ngadaltë të masës kockore (Ebeling et al., 1996; Vergnaud et al., 1997). Rritja e turnoverit të kockës tek gratë në moshë më të madhe është në përputhje me studime të realizuar më parë si tek gratë e bardha dhe ato me ngjyrë (Yan et al., 2002). Turnoveri i kockave, i cili rritet në mënyrë sinjifikante pas menopauzës, vazhdon të qëndrojë në nivele të larta përgjatë viteve.

Në tabelën 3.5 paraqitet % e grave me osteoporozë në grupmosha të ndryshme, duke u mbështetur në vlerat e BMD-së. Ashtu dhe siç duket nga tabela, në grupin me moshë më të re nuk ka asnjë individ me osteoporozë, ndërsa me osteopeni janë 77.8% dhe pjesa tjetër karakterizohet nga një densitet normal i kockës.

Në grupmoshën 54-63 vjeç shohim se 16% e individëve janë me osteoporozë, ndërsa në grupmoshën më të madhe 64-74 vjeç kjo përqindje rritet dhe arrin deri në 50%.

Tabela 3.5: Përqindja e grave me osteoporozë në grupmosha të ndryshme

	Mosha	Osteoporozë					
		Normal		Osteopeni		Osteoporozë	
		Nr.	(%)	Nr.	(%)	Nr.	(%)
	44-53 vjeç (n=18)	4	22.2%	14	77.8%	0	0
	54-63 vjeç (n=50)	7	14%	35	70%	8	16%
	64-74 vjeç (n=12)	0	0	6	50%	6	50%

3.2 Ndikimi i statusit menopauzal në nivelin e markerëve biokimikë të turnoverit të kockës.

Gratë në periudhën e postmenopauzës karakterizohen nga vlera më të larta të BMD krahasuar me gratë që janë në premenopauz, respektivisht -0.89 dhe -1.81 dhe duke përdorur analizën e variancës (ANOVA) arritëm të tregojmë se ky ndryshim është

L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË NË PERIUdhËN POSMENOPAUIKE

sinjifikativ me $F_{(1,98)} = 35.93$ and $p = 0.0005$. Ky përfundim përputhet me një studim që ka përcaktuar vlerën e BMD-së në gra me status të ndryshëm menstrual. Ky studim thekson se individët me BMD të ulët janë më të prirur për tu diagnostikuar me osteopeni ose osteoporozë (Jarupanich 2007).

Një studim tjetër ka demonstruar se densiteti i ulët mineral i shoqëruar me menopauz progreson së paku për dhjetë vjet. Ata gjithashtu vunë re se mplaçka rrit riskun për osteoporozë (Garton et al., 1996). Po ky studim ka konstatuar se gratë në postmenopauz kanë nivel më të ulët të oestradiolit krahasuar me gratë në premenopauz. Arsyeja për rënie të nivelit të oestradiolit tek grupi i grave në postmenopauz është fakti se osteoblastet e kockës janë më të ndjeshme sesa osteoklastet ndaj uljes së nivelit të estrogenit si pasojë e moshës, si pasojë homeostaza e rimodelimit të kockës pëson ndryshime (Luigi & Loredana, 2005).

Një tjetër studim tregon se deficienca e estrogenit promovon humbje të masës kockore në çdo moshë, ndikon në rritjen e jetëgjatësisë së osteoklasteve dhe ul jetëgjatësinë e osteoblasteve, si pasojë balanca është negative dhe formohet më pak kockë. (Ohta et al., 1996).

Tabela 3.8: Ndryshimet në vlerat e parametrave midis grave në premenopauz dhe atyre në posmenopauz (Mesatare ± SD).

	Gra në premenopauz (n=20)	Gra në posmenopauz (n=80)
Mosha (vjeç)	44.50 ± 4.93	57.43 ± 6.45
Gjatësia (cm)	157.85 ± 6.31	159.58 ± 5.95
Pesha (kg)	75.02 ± 11.25	71.38 ± 11.17
BMI (kg/m²)	30.11 ± 3.97	28.06 ± 4.18
BMD (T-score)	-0.89 ± 0.46	-1.81 ± 0.64
Ca (mg/dl)	9.37 ± 0.42	9.05 ± 0.50
ALP (ng/ml)	67.71 ± 13.60	90.41 ± 25.56
PTH (U/L)	29.56 ± 3.67	43.41 ± 12.56
OC (ng/ml)	16.26 ± 0.97	22.79 ± 11.72
CTX (ng/ml)	0.211 ± 0.052	0.336 ± 0.226

Produktet e degradimit të kolagenit të kockës kanë qënë në fokus të procedurave laboratorike të përdorura për të reflektuar degradimin e kockës (Demers et al., 2000). Një produkt i rëndësishëm i degradimit të kolagenit të tipit I është dhe beta crosslapi (β-CTX). Niveli i këtij markeri në studimin tonë shfaqet më i lartë tek gratë në periudhën e postmenopauzës, krahasuar me gratë në premenopauz (0.336 dhe 0.211 ng/ml) dhe ky ndryshim arrin në shkallën e sinjifikancës me $p=0.004$ dhe $F_{(1,98)}=8.47$.

Vlera më të larta të këtij markeri të resorbimit të kockës, tregojnë një resorbim më të madh të kockës tek gratë në postmenopauz. Faktori kryesor që ndikon është estrogeni. Ulja e nivelit të estrogenit tek gratë në postmenopauz shkakton një rritje të aktivitetit të osteoklasteve dhe si pasojë më shumë kockë të resorbuar dhe më shumë humbje të masës kockore. Në përfundime të ngjashme kanë arritur dhe autorë të tjerë, si Garnero et al., (Garnero et al., 2001), i cili duke përdorur të njëjtën metodë për matjen e beta crosslapit, gjeti një rritje afërsisht 86% tek gratë në postmenopauz,

krahasuar me ato në premenopauzë. Chailurkit et al, (Chailurkit et al., 2001) Jovcevska et al, (Jovcevska et al., 2009) dhe Okabe et al, (Okabe et al., 2001), gjithashtu treguan se analiza e beta crosslapit mund të përdoret si një metodë shumë e vlefshme dhe jo invazive për të përcaktuar rimodelimin e kockës në postmenopauzë dhe gjithashtu ajo mund të përdoret jo vetëm për të identifikuar gra që janë në rrezik për të zhvilluar osteoporozë, por mund të përdoret dhe për ta parandaluar atë.

Gjithashtu tek gratë në postmenopauz, vlera mesatare e osteokalcinës është më e lartë krahasuar me gratë në premenopauz (respektivisht 22.79 dhe 16.26 ng/ml). Duke përdorur testin e studentit mundëm të provojmë se ky është një ndryshim sinjifikativ me $F_{(1,98)}=28.29$ dhe $p<0.0005$. Ky rezultat mbështetet gjithashtu dhe nga studimi i bërë nga Vanita et al (Vanita et al., 2011).

Osteokalcina përfaqëson një proteinë të matriksit të kockës të sintetizuar nga osteoblastet e maturuara dhe përbën gati 15% të proteinave jokolagjenike të matriksit (Civitelli et al., 2009). Pjesa më e madhe e osteokalcinës (80-90%), përfshihet në hidroksiapatitet e kockës dhe vetëm një përqindje e vogël mbetet në qarkullim (Lee et al., 2000). Niveli i osteokalcinës në serum është raportuar se korrelohet me shkallën e formimit të kockës dhe si pasojë është konsideruar si një marker specifik i funksionit të osteoblasteve.

Por meqenëse ajo çlirohet gjithashtu nga matriksi i kockës gjatë resorbimit të kockës, duke reflektuar në përgjithësi turnoverin e kockës, osteokalcina është cilësuar si një marker i turnoverit të kockës. Është një proteinë lidhëse e kalçiumit, e varur nga vitamina K dhe e prodhuar nga osteoblastet. Ajo ka një afinitet të lartë për kalçiumin. Mbetjet e acidit karboksiglutamik të osteokalcinës janë të afta të lidhen me hidroksiapatitet e kockës, duke nxitur kështu mineralizimin e kockës.

Gratë që vuajnë nga osteoporozja dhe që kanë një deficiençë të kalçiumit dhe fosforit, mund të karakterizohen nga një shkallë e ulët e mineralizimit të kockës, që i detyrohet formimit të reduktuar të kristaleve të hidroksiapatiteve. Në këto kushte osteokalcina e lirë mund të jetë e pranishme në qarkullim, duke shpjeguar kështu përqëndrimin e lartë të osteokalcinës në serum tek gratë në postmenopauz (Ravn et al., 1996; Filip et al., 2004).

Vlera të larta të osteokalcinës, fosfatazës alkaline dhe telopeptideve karboksiterminalë (CTX) janë raportuar tek femrat osteoporotike (Iki et al., 2004). Pino et al (Pino et al.,) e ka përcaktuar osteokalcinën si një marker të besueshëm të turnoverit të kockës, i cili është i rëndësishëm në diagnostikimin dhe ndjekjen e osteoporozës. Niveli i osteokalcinës në serum rritet me moshën dhe gratë në moshë më të madhe se 65 vjeç kanë afërsisht vlera dy herë më të larta të osteokalcinës në serum sesa gratë me moshë më të vogël se 44 vjeç (Filip et al., 2004).

Gratë në postmenopauzë karakterizohen gjithashtu nga vlera më të larta të fosfatazës alkaline dhe hormonit të paratiroides (67.71ng/ml dhe 29.56 U/L), krahasuar me gratë në premenopauzë (90.41 ng/ml dhe 43.41 U/L). Edhe në këtë rast, për të parë në se këto vlera kanë ndryshim sinjifikant, u përdor testi i Studentit, që për fosfatazën alkaline rezultoi: $F=5.34$ dhe $p=0.023$, ndërsa për hormonin e paratiroides: $F=22.94$ dhe $p<0.0005$. Në të dyja rastet vlera e p është më e vogël se 0.05, pra mund të themi se kemi një ndryshim sinjifikativ.

ALP është një enzimë që luan një rol të rëndësishëm në formimin dhe mineralizimin e osteoidit (Indumati et al., 2007). Fosfataza alkaline e serumit është marker më i zakonshëm i formimit të kockës. Një rritje e moderuar e fosfatazës alkaline është

jonormale dhe mund të reflektojnë një defekt në mineralizimin e kockës tek pacientët e moshuar (Delmas, 1993). Nivele të larta të fosfatazës alkaline në gjak, tregojnë aktivitet të rritur të osteoblasteve (Kaveh et al., 2010) dhe mund të vijë si pasojë e efektit inhibitor të estrogenit në turnoverin e kockës, i cili varet nga mosha dhe nga indeksi i masës trupore. Është sugjeruar se në shumicën e rasteve klinike matja e fosfatazës alkaline siguron informacion diagnostikues të mjaftueshëm dhe me një raport të mirë kosto-përfitim (Melton et al., 1997).

Në periudhën e menopauzës, shkalla e rimodelimit të kockës rritet në mënyrë të shpejtë. Ky fakt mund të shpjegohet nga të dhënat e përfituara fillimisht nga studimet e kryera tek minjtë, nga të cilat rezulton se rënia e hormoneve seksuale steroidë rregullon formimin e osteoklasteve dhe osteoblasteve në palcë duke ndikuar në prodhimin dhe veprimin e citokinave që janë përgjegjëse për osteoklastogenezën dhe osteoblastogenezën (Manolagas, 2000).

Afërsisht 99% e kalçiumit të trupit ndodhet në kockë (Murray et al., 2006). Tek gratë në moshë të madhe resorbimi rritet ndjeshëm edhe për shkak të reduktimit të sasisë së kalçiumit të marrë. Gjithashtu formimi i kockës inhibohet për të ruajtur sasinë e kalçiumit në serum (Storm et al., 1998). Rezultatet e studimit tonë treguan se gratë në premenopauz kishin nivele më të larta të kalçiumit sesa ato në postmenopauz (9.37 dhe 9.05 mg/dl). Kjo është në përputhje dhe me studime të tjera (Indumati et al., 2007; Riggs et al., 1969).

Gratë tentojnë të humbin çdo vit rreth 1% të densitetit kockor gjatë dhe pas menopauzës (Indumati et al., 2007). Afërsisht 35% e grave i nënshtrohen humbjes së masës kockore duke filluar që në periudhën e perimenopauzës. Parametrat biokimikë mund të sigurojnë një informacion të rëndësishëm mbi aktivitetin e osteoklasteve dhe osteoblasteve. Markerët biokimikë që reflektojnë formimin e kockës dhe proceset e resorbimit, përbëjnë një vegël të rëndësishme për të monitoruar metabolizmin e kockës dhe humbjen e përshpejtuar të masës kockore tek gratë në periudhën e postmenopauzës.

Lidhur me vlerat T-score të densitetit mineral të kockës, na rezultoi se tek gratë në periudhën e premenopauzës 40% kishin vlera nga 1 deri në -1 dhe u klasifikuan normale, ndërsa 60% e tyre kishin vlera nga -1 deri në -2.5 dhe u klasifikuan si osteopenike. Në grupin e grave në premenopauzë nuk na rezultoi asnjë individ me osteoporozë. Ndërsa tek gratë në postmenopauzë vumë re një situatë tjetër, 13.75% ishin normale, 68.75% osteopenike dhe 17.5% osteoporotike.

Tabela 3.9: Klasifikimi i grave në normale, osteopenike dhe osteoporotike sipas vlerave T-score të BMD-së

	Osteoporoza					
	Normal		Osteopeni		Osteoporozë	
	Nr.	%	Nr.	%	Nr.	%
Premenopauz	8	40%	12	60%	0	0
Postmenopauz	11	13.75%	55	68.75%	14	17.5%

Në USA 16% e grave në postmenopauz janë vlerësuar me osteoporozë, vlerë kjo e ngjashme me atë të gjetur nga ana jonë. Në krahasim me këtë një prevalencë e lartë është vrojtuar tek gratë e moshës 50-79 vjeç në Japoni, 35% (Iki et al., 2002).

Ndërsa tek gratë në Saudi 24% vuanin nga osteoporozë. Një studim tjetër ka treguar se prevalenca e osteopenisë dhe osteoporozës tek gratë në postmenopauzë, duke u bazuar në vlerat T-score ishte respektivisht 54% dhe 14% (Caudarella et al., 2003).

Arsyeja e dhënë nga një grup autorësh ishte se deficienca e estrogenit është e lidhur me BMD-në. Deficienca e estrogenit si pasojë e oophorectomi-së, pa zëvendësim hormonal, kontribuon në masë të ulët kockore dhe fraktura osteoporotike gjatë periudhës së postmenopauzës (Sowers & Galuska., 1993).

Osteoporozë është një sëmundje që karakterizohet nga densitet mineral i ulët i kockës dhe nga ndryshime në mikrostrukturën e kockës, të cilat shkaktojnë thyeshmëri të kockave. Faktorët e riskut të identifikuar për osteoporozën janë: moshë e madhe, duhanpirja, alkooli, peshë e vogël trupore, inaktiviteti fizik, marrja në sasi të ulët e kalçiumit, nivele të ulta të vitaminës D dhe gjendja e estrogenit (Shin et al, 2010).

Zakonisht osteoporozë prek gratë në postmenopauz, duke rritur riskun për fraktura të kockës. Nga një studim i realizuar në Shtetet e Bashkuara të Amerikës, gjatë periudhës 2005-2006, bazuar në vlerat e densitetit mineral të kockës, 4.5 milion gra të moshës më të madhe se 50 vjeç (e barabartë me 10% të popullatës së grave me moshë më të madhe se 50 vjeç) vuanin nga osteoporozë dhe 22.7 milion (49%) karakterizoheshin nga osteopenia (Looker et al, 2010). Tek gratë prevalenca e osteoporozës dhe densitetit të ulët kockor rritet me moshën. Menopauza është një faktor risku për osteoporozën dhe ndikon nëpërmjet një mekanizmi (akoma të paqartë), që përfshin edhe mungesën e estrogenit. Estrogjeni mund të stimulojë sintezën e faktorit të rritjes të ngjashëm me insulinën (IGF-I) dhe faktorit transformues të rritjes (TGF- β) në osteoblaste, por inhibon prodhimin e interleukinës I (IL-1) dhe faktorit tumorial α (TNF- α) tek monocitet. Kështu në përgjigje ndaj mungesës së estrogenit mund të kemi ndryshime të mëdha në nivelin e këtyre citokinave dhe kjo mund të ndikojë për një humbje më të shpejtë të masës kockore tek gratë në postmenopauz.

Statusi menopausal gjithashtu ndikon në ndryshimet e markerëve të turnoverit të kockave. OC dhe β -CTX janë më të larta tek gratë në postmenopauz krahasuar me gratë para menopauzës. Sipas studimeve të realizuara menopauza është e shoqëruar me rritje sinjifikante të shkallës së turnoverit të kockave, e matur nëpërmjet markerëve të formimit dhe resorbimit të kockave, duke përfshirë OC dhe β -CTX. (Melton et al., 1997). Këto ndryshime ishin më shumë sinjifikante kur u analizuan së bashku me densitetin mineral të kockës. Ne gjetëm një shoqërim negativ midis OC, β -CTX dhe densitetit mineral të kockës. Faktorë të tjerë antropometrikë si gjatësia, peshë, BMI nuk treguan ndonjë lidhje në analizën e regresionit.

3.3 Duhanpirja dhe niveli i markerëve të turnoverit të kockës

Duhanpirja është metoda më e zakonshme e konsumit të duhanit. Gjatë duhanpirjes duhani digjet dhe tymi që çlirohet përmban kryesisht grimca të ngurta ose dhe të gazta. Duhanpirja është një nga shkaqet kryesore të sëmundjeve të ndryshme madje mund të shkaktojë dhe vdekjen, pasojat e duhanpirjes vrasin deri në 3 milion njerëz çdo vit.

Studime të realizuara kohët e fundit kanë treguar për një lidhje direkte midis konsumit të duhanit dhe uljes së densitetit kockor, megjithatë është e vështirë të përcaktohet në qoftë se ulja e densitetit kockor vjen si pasojë e duhanit në vetvete apo nga faktorë të tjerë risku që janë të zakonshëm midis duhanpirësve. Pirja e duhanit nxit

osteoporozën, një gjëndje në të cilën kockat dobësohen dhe janë më të ndjeshme për të pësuar fraktura (George et al., 1976; Law & Hackshaw, 1997).

Hipoteza të ndryshme janë hedhur për të shpjeguar mekanizmin nëpërmjet të cilit duhanpirja ndikon në kocka dhe vëmëndja kryesore është tek efekti antiestrogjenik. Duhanpirëset kanë një menopauz më të hershme dhe kanë nivele më të ulëta të estrogjenit qarkullues si pasojë e një turnover të lartë hepatic. Të gjithë këta faktorë kontribuojnë në një ekspozim të ulët ndaj estrogjenit, duke sjellë si pasojë humbje më të shpejtë të masës kockore. Faktorë të tjerë që lidhen më mënyrën e jetesës janë cilësuar si më prevalent midis duhanpirësve krahasuar me joduhani-pirëset si për shembull më pak aktivitet fizik, rritje e sasisë së alkoolit të konsumuar ose deficienca që lidhen me mënyrën e të ushqyerit dhe mund të ndikojnë në metabolizmin e kockës.

Në 80 gra në postmenopauz, që u morrën në studim 25 ishin duhanpirëse, ndërsa 55 nuk kishin konsumuar ndonjëherë duhan në jetën e tyre. Për të parë ndikimin e duhanit në nivelin e markerëve të kockave ne krahasuam këto dy grupe me njëri-tjetrin. Parametrat e krahasuar janë paraqitur në tabelën 3.10.

Tabela 3.10: Krahasimi i vlerave të parametrave të matur tek gratë duhanpirëse dhe joduhani-pirëse (Mesatare ± SD)

	Duhanpirëse (n=25)	Jo duhanpirëse (n=55)	p
Mosha (vjeç)	59.04 ± 5.08	56.70 ± 6.91	0.407
Pesha (kg)	72.47 ± 9.16	70.88 ± 12.02	0.069
BMI (kg/m²)	27.73 ± 3.14	28.21 ± 4.59	0.062
BMD (T-score)	-1.96 ± 0.46	-1.74 ± 0.71	0.008
Ca (mg/dl)	8.62 ± 0.34	9.24 ± 0.44	0.187
ALP (ng/ml)	111 ± 27.90	81.06 ± 19.90	0.008
PTH (U/L)	27.10 ± 4.35	50.82 ± 6.59	0.04
OC (ng/ml)	31.26 ± 13.96	18.94 ± 8.12	0.016
CTX (ng/ml)	0.469 ± 0.28	0.277 ± 0.16	0.021

Ashtu siç duket dhe nga tabela 3.10, gratë që pijnë duhan karakterizohen nga vlera më të ulëta të densitetit mineral të kockës në krahasim me gratë që nuk pijnë duhan (-1.96 ± 0.46 krahas -1.74 ± 0.71) dhe ky ndryshim është sinjifikant (p=0.008). Ulja e BMD-së tek gratë që pijnë duhan është 11.3%. Mund të themi se kjo ulje është relativisht e madhe, krahasuar me studime të kryera më parë. Kështu Rapuri et al, tregoi për një ulje vetëm me 6% të densitetit kockor (Rapuri et al, 2000).

Ulja e densitetit mineral e vërtetuar në studimin tonë mund të vijë si pasojë e një kombinimi të mundshëm midis uljes së absorbimit të kalçiumit dhe resorbimit të lartë të kockës. Niveli i kalçiumit tek gratë që pijnë duhan është 6.8% më i ulët sesa tek gratë që nuk konsumojnë duhan, por ky ndryshim nuk është sinjifikant (p=0.186) dhe mund të vijë si pasojë e uljes së përthithjes së kalçiumit në kockë. Krall dhe Dawson-Hughes gjithashtu raportuan një absorbim më pak efficient të kalçiumit tek kockat e duhanpirësve, duke e konsideruar këtë si një faktor që kontribuon në nivelin e ulët të BMD-së të vërtetuar tek duhanpirësit (Krall dhe Dawson-Hughes, 1999). Megjithatë mekanizmi i saktë për absorbimin e ulët të kalçiumit nuk është i qartë.

Rritja e resorbimit të kockës është mjaft e dukshme nëpërmjet të dhënave të marra nga matja e markerëve të turnoverit të kockës.

Kështu niveli i β -CTX është më i lartë tek gratë posmenopauzike që pijnë duhan sesa tek ato që nuk pijnë (0.469 ± 0.28 krahasuar me 0.277 ± 0.16) dhe kjo rritje është tepër sinjifikante ($p=0.021$).

Të njëjtën gjë mund të themi edhe për OC, e cila pëson një rritje sinjifikante tek gratë duhanpirëse, krahasuar me ato joduhanpirëse (31.26 ± 13.96 krahasuar me 18.19 ± 8.12 , $p=0.016$).

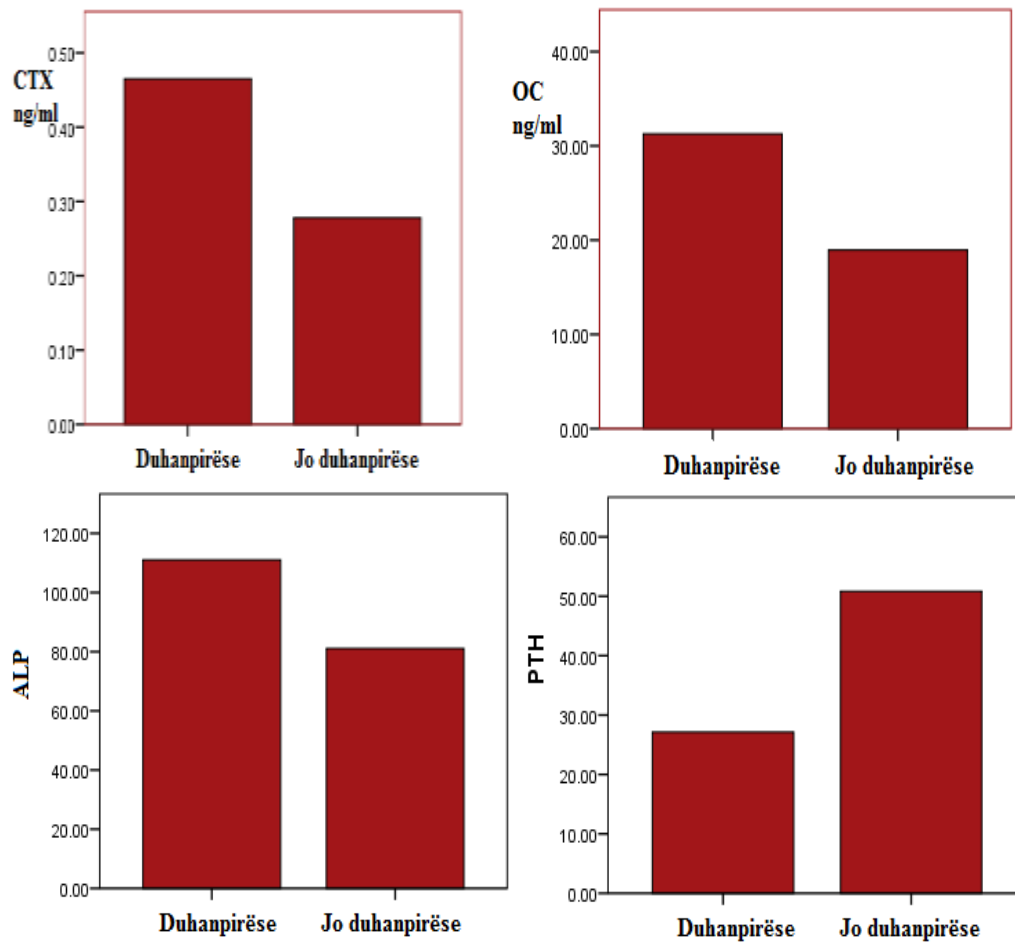


Figura 3.10: Niveli i markerëve biokimikë tek gratë duhanpirëse dhe joduhanpirëse

Osteokalcina në serum përfaqëson një marker të formimit të kockës, që prodhohet nga osteoblastet dhe është e lidhur fort me procesin e resorbimit të kockës. Kjo sepse resorbimi dhe formimi janë dy procese të çiftuara. Por jo të gjitha studimet flasin për rritje të OC-së tek gratë duhanpirëse. Përfundime të ndryshme janë raportuar në lidhje me efektin e duhanit në formimin e kockës. Studime të kryera më shumë tek kafshët dhe në kushtë in vitro, kanë sugjeruar se nikotina shtyp aktivitetin e osteoblasteve (Fang et al, 1991), ndërsa nga studime të tjera nuk u gjet një ndikim kaq sinjifikant (Lenz et al, 1992). Të dhënat në lidhje me nivelin e markerëve të turnoverit të kockave tek gratë në postmenopauz, janë të pakta.

PTH-ja është një parametër tjetër i matur që paraqet ndryshime sinjifikante midis grave duhanpirëse dhe joduhanpirëse. Kështu gratë që konsumojnë duhan kanë vlera më të ulëta të këtij hormoni në krahasim me gratë që nuk konsumojnë duhan (27.10 ± 4.35 në krahasim me 50.82 ± 6.59) dhe ndryshimi është sinjifikant me $p=0.04$. Kjo rënie e nivelit të PTH-së është relativisht e madhe dhe pikërisht 46.7%. Ulja e nivelit të PTH-së e vënë re midis grave duhanpirëse mund të shpjegohet nga një ulje e sekretimit ose një rritje e degradimit të këtij hormoni.

Raportime të ndryshme janë bërë për lidhjen e mundshme që mund të egzistojë ndërmjet duhanpirjes dhe nivelit të PTH-së në serum, vlera të ulta ashtu si dhe vlera të larta të PTH-së janë raportuar si pasojë e duhanpirjes. PTH-ja vepron për të rritur përqëndrimin e kalçiumit duke nxitur resorbimin e kalçiumit nga kocka, mbajtjen e kalçiumit nga tubulat renalë dhe hidrosilimin e 25-hidroksivitamin D në veshka. Nga kjo del se vitamina D rrit absorbimin e kalçiumit në zorrë dhe PTH-ja rrit sekretimin renal të fosfateve. (Parrot & Winder, 1998)

Autorë të ndryshëm kanë raportuar një lidhje si midis duhanit dhe riskut për fraktura, ashtu edhe densitetit mineral të ulët në kocka (George et al., 1976; Law & Hackshaw, 1997), megjithatë mekanizmi mbetet për tu qartësuar. Bazuar në njohuritë tona nuk ka të dhëna të plota të publikuara në lidhje me efektin e duhanit në nivelin e markerëve të kockës tek gratë në Shqipëri. Në këtë studim ne treguam se niveli i PTH-së është ulur tek gratë në postmenopauz që konsumojnë duhan. Ky rezultat është në përputhje dhe me studime të mëparshme të realizuara nga Landin-Wilhelmsen et al (Landin-Wilhelmsen et al., 1995) në 347 gra dhe burra, Brot et al (Brot et al., 1999) në 510 gra të moshës 45-58 vjeç, Need et al (Need et al., 2002) në një studim në 405 gra në postmenopauzë, të cilët raportuan se PTH-ja në serum është në nivel sinjifikant më të ulët tek duhanpirëset. Need et al, raportoi se ulja e nivelit të PTH-së mund të vijë si pasojë e ndryshimeve të vogla, të pamatshme në kalçiumin e jonizuar në serum dhe duhanpirja mund të jetë arsyeja për këtë rënie.

Por nga ana tjetër Rapuri et al, në një studim të realizuar në 444 gra të moshuara, gjeti se niveli i PTH-së në serum ishte më i lartë tek duhanpirëset krahasuar me joduhanpirëset (Rapuri et al., 2000). Një numër shumë i madh kimikatesh janë gjetur tek individët që konsumojnë duhan. Një apo disa nga këto kimikate mund të veprojnë në kockë apo dhe në tubulat renalë, duke inhibuar sekretimin e PTH-së nga gjëndra e paratiroides.

Rregullatori kryesor i nivelit të PTH-së është kalçiumi i jonizuar i plazmës, ku ndryshime të momentit në nivelin e kalçiumit të jonizuar, shkaktojnë ndryshime shumë të shpejta në sekretimin dhe sintezën e PTH-së. Por rregullatorë të tjerë, siç janë peptide kromograninë dhe interleukina 8 mund të modifikojnë sekretimin e PTH-së. Nuk mund të përjashtohet dhe efekti toksik direkt i duhanit në qelizat e paratiroides. Për më tepër substancat që përmban duhani mund të ndërveprojnë me receptorët e kalçiumit dhe teorikisht duhanpirja mund të rrisë degradimin e PTH-së në mostrat e gjakut dhe për pasojë të ulë nivelin e PTH-së, pa ndikuar në homeostazën e kalçiumit. Në studimin e bërë nga Need et al, kalçiumi i jonizuar ishte në nivele më të larta tek duhanpirëset, çka shpjegon dhe uljen e nivelit të PTH-së.

Aktiviteti i ALP-së është i pranishëm në sipërfaqen e qelizave të shumë indeve humane. Përqëndrimet më të larta janë gjetur në zorrë, mëlçi, kockë, placentë dhe veshkë. Aktiviteti i ALP-së në kockë është i përqëndruar në osteoblaste. Vlera të larta

të ALP-së janë karakteristikë e sëmundjeve të ndryshme që kanë lidhje me kockat, si p.sh. *osteosarkoma, osteomalakia, sëmundja Paget* etj.

Duhanpirja mendohet se është e lidhur me rritjen e fosfatazës alkaline. Dhe në studimin tonë gjetëm një rritje të vlerave të fosfatazës alkaline tek gratë që konsumojnë duhan. Kështu tek këto të fundit niveli i ALP-së ishte 111 ± 27.90 ng/ml ndërsa tek gratë që nuk pijnë duhan, vlera mesatare ishte 81.06 ± 19.90 u/l dhe ky ndryshim u paraqit mjaft sinjifikant ($p=0.008$). Rritja e nivelit të ALP-së është 27%.

Rritja e aktivitetit të ALP-së mund të vijë si pasojë e rritjes së aktivitetit të osteoblasteve, të cilat luajnë një rol të rëndësishëm në turnoverin e kockës dhe tentojnë të kompensojnë nivelin e ulët të kalçiumit në plazëm. Ky efekt mund të jetë efekt kumulativ i një apo më shumë lëndëve kimike që ndodhen në tymin e duhanit dhe reflektohet në uljen e nivelit të PTH-së dhe rritjen e nivelit të ALP-së në serum. Gratë që pijnë duhan kanë vlera të BMI-së më të ulta, sesa gratë që nuk pijnë duhan (27.73 ± 3.14 dhe 28.21 ± 4.589 kg/m²). Gjithashtu dhe niveli i kalçiumit është më i ulët tek gratë duhanpirëse, në krahasim me ato joduhanpirëse (8.62 ± 0.34 mg/dl në krahasim me 9.24 ± 0.44 mg/dl) por ky ndryshim nuk është sinjifikant.

Duhanpirja mund të induktojë një resorbim të shtuar të kalçiumit nga skeleti, duke rritur kështu nivelin e kalçiumit në serum. Kjo mund të shkaktojë osteoporozën, megjithëse një përfundim i kësaj natyre mbetet pak spekulativ dhe mund të qëndrojë vetëm në kuadrin e një hipoteze. Në studimin tonë ne matëm vetëm kalçiumin total në serum, i cili nuk paraqet ndryshime sinjifikante midis duhanpirëseve dhe joduhanpirëseve. Ndryshimet e vogla që mund të ekzistojnë në nivelin e kalçiumit të jonizuar nuk janë të dukshme kur matet kalçiumi total. Për më tepër, në qoftë se arsyeja është mobilizimi i kalçiumit nga skeleti, kjo për të rritur nivelin e kalçiumit të jonizuar në serum duhet të reduktojë absorbimin intestinal të kalçiumit dhe do të shkaktohte hiperkalçiumi, të cilën ne nuk e pamë.

Humbja e masës kockore ndodh zakonisht kur ka një imbalancë midis sasisë së kockës resorbuar dhe sasisë së formuar. Nuk ka shumë evidenca të mundshme në literaturë që testojnë se kur një nga këto mekanizma është përgjegjës për humbje të masës kockore si pasojë e duhanpirjes. Nëpërmjet këtij studimi ne siguroam disa evidenca të cilat tregojnë se humbja e masës kockore, që vihet re tek duhanpirëset mund të shkaktohet fillimisht si pasojë e rritjes së resorbimit të kockës. Marker i resorbimit të kockës beta crosslapi pëson një rritje me 41% tek duhanpirësit. Gjithashtu një rritje të konsiderueshme vëmë re dhe për osteokalcinën (39%). Edhe pse e prodhuar nga osteoblastet ajo shpesh është cilësuar si një marker i turnoverit të kockës, duke raportuar në këtë mënyrë shkallën e turnoverit të kockës.

Në studimin tonë, vlerat e larta të markerëve të kockave të përfituara tek gratë duhanpirëse në postmenopauz, flasin për një resorbim të lartë të kockave tek ato. Një nga mekanizmat më të zakonshëm të propozuar për rritjen e resorbimit është ulja e nivelit të estradiolit qarkullues. Ky reduktim në nivelin e estrogenit vjen si pasojë e uljes së prodhimit dhe rritjes së degradimit të estrogenit qarkullues. Kjo sjell si pasojë një rritje të hormoneve FSH e LH dhe të resorbimit. Proces ky që më vonë shoqërohet edhe me një rritje të sekretimit të hidroksiprolinës dhe piridolinës. Megjithatë jo të gjitha studimet kanë dokumentuar një lidhje midis duhanpirjes dhe estrogenit (Law et al, 1997). Në studimin tonë ne nuk realizuam matje të hormoneve seksuale. Mekanizma të tjerë të mundshëm, që mund të shpjegojnë efektin e duhanit në

resorbimin e kockës, janë efektet direkte toksike të duhanit në qelizat e kockës dhe rezistenca e kalçitoninës tek duhanpirësit (Fang et al., 1991).

Akoma vazhdon të jetë e paqartë se cilët janë përbërësit e duhanit që ndikojnë në metabolizmin e kockës. Nga studime të realizuara in vitro janë vënë re ndryshime në aktivitetin e qelizave të kockës (osteoblaste dhe osteoklaste) nën ndikimin e përqëndrimeve të larta të nikotinës por edhe të përbërësve jonikotinkë të duhanit (Fang et al., 1991).

Ndikimi i numrit të cigareve të konsumuara në ditë dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes në nivelin e markerëve të kockës

Një pyetje e ngritur nga shumë studiues lidhur me ndikimin e duhanit, është se a ndikon numri i cigareve të pira dhe kohëzgjatja e pirjes së duhanit në metabolizmin e kockës? Ne u përpoqëm të studiojmë lidhjen midis numrit të cigareve të konsumuara në ditë dhe nivelit të markerëve biokimikë të kockës, si dhe lidhjen midis këtyre markerëve dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes, pra sa kohë kanë që pijnë duhan.

Fillimisht le të shohim se si ndryshon niveli i markerëve të turnoverit të kockave në tre grupet e duhanpirësve, të ndarë në varësi të numrit të cigareve të konsumuara në ditë. Në grupin e parë bëjnë pjesë gra që pijnë nga 1-10 cigare në ditë, në grupin e dytë 10-20 cigare në ditë dhe në grupin e tretë që pijnë më shumë se 20 cigare në ditë. Niveli i markerëve biokimikë në këto tre grupe është paraqitur në tabelën 3.

Tabela 3.11: Niveli i parametrave të matur në tre grupet e grave të klasifikuara në varësi të numrit të cigareve të konsumuara në ditë

Numri i cigareve të pira në ditë				
	<10	10-20	>20	p
BMD (T-score)	-1.42 ± 0.61	-1.90 ± 0.39	-2.20 ± 0.25	0.007
ALP (ng/ml)	98.71 ± 19.77	104.20 ± 23.62	124.64 ± 31.32	0.05
PTH (U/L)	26.12 ± 4.20	25.42 ± 2.39	28.61 ± 4.83	0.310
OC (ng/ml)	19.06 ± 9.05	27.03 ± 12.72	39.54 ± 12.05	0.013
β-CTX (ng/ml)	0.298 ± 0.098	0.338 ± 0.134	0.464 ± 0.282	0.014

Ashtu siç shohim dhe në tabelën 3.11, vlerat e markerëve ndryshojnë në varësi të numrit të cigareve të konsumuara gjatë ditës. Me rritjen e numrit të cigareve të konsumuara në ditë, niveli i markeri të resorbimit të kockës β-CTX, pëson një rritje. Kjo e fundit, duke përdorur analizën e variancës një drejtimëshe, është provuar se është sinjifikante ($F_{(2,22)}=5.17$ dhe $p=0.014$). Vlera e këtij markeri në grupin e grave që konsumojnë më shumë se 20 cigare në ditë është 36% më e lartë në krahasim me nivelin e β-CTX tek grupi i grave që konsumojnë deri në 10 cigare në ditë.

Të njëjtën gjë mund të themi dhe për markerin e formimit të kockës osteokalcinën, i cili ndikohet nga sasia e cigareve të konsumuara në ditë dhe për pasojë me rritjen e sasisë së duhanit të konsumuar rritet dhe niveli i osteoklacinës ($F_{(2,22)}=5.32$, $p=0.013$). Niveli i osteokalcinës tek gratë që konsumojnë më shumë se 20 cigare në ditë është 39.54 ng/ml, ndërsa tek ato që konsumojnë më pak se 10 cigare në ditë është 19.06 ng/ml, pra shohim se kemi një ndryshim relativisht të madh sepse vlerat rriten me 51.8%. Ndërsa ndryshimi midis atyre që konsumojnë 1-10 cigare në ditë dhe atyre që konsumojnë 10-20 cigare në ditë është me 29.5%.

L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË NË PERIUdhËN POSMENOPAUIKE

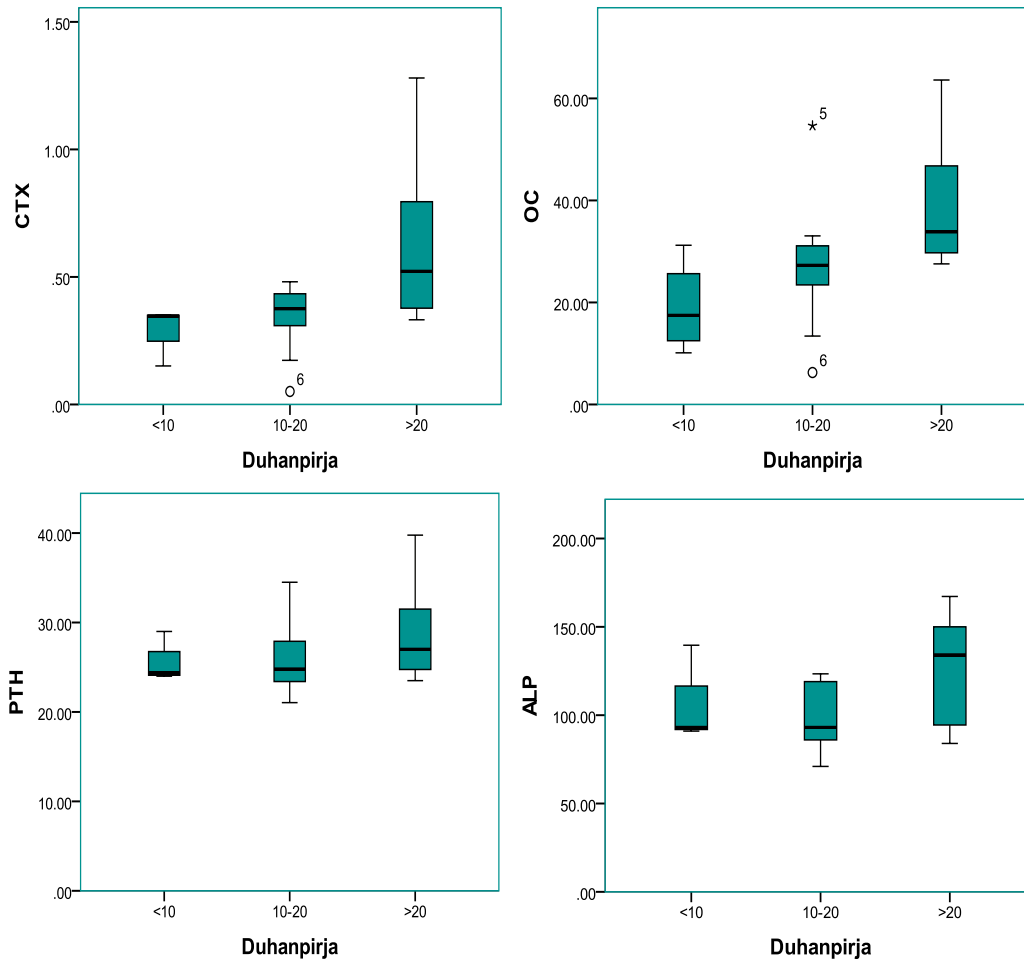


Figura 3.11: Ndryshimi i vlerave të markerëve në varësi të numrit të cigareve të konsumuara në ditë.

ALP është një tjetër marker i cilësuar si marker i formimit, i cili paraqit vlera të ndryshme tek gratë që konsumojnë sasi të ndryshme të duhanit. Vlerat e këtij markeri janë më të larta tek gratë që konsumojnë më shumë duhan ($p=0.05$). Kështu niveli mesatar i ALP-së tek gratë që konsumojnë 1-10 cigare në ditë është 98.71 U/L, ndërsa tek ato që konsumojnë mbi 20 cigare në ditë, vlera mesatare është 124.64 U/L. Në këtë rast vlerat e ALP-së rriten me 21%. Një studim që mbështet rezultatet e gjetura nga ne dhe që tregon rritje të vlerave të ALP-së me rritjen e numrit të cigareve të konsumuara është ai i realizuar nga Woitge et al (Woitge et al., 1998)

Ndërsa vlerat e PTH-së nuk ndryshojnë në mënyrë sinjifikante midis tre grupeve ($p>0.05$). Dhe nuk u gjet asnjë shoqërim midis vlerave të këtij hormoni dhe numrit të cigareve të konsumuara në ditë. Edhe në ato gra që pinin vetëm një ose dy cigare në ditë, niveli i PTH-së ishte pothuajse aq i ulët sa në ato që pinin 20 apo dhe më shumë cigare në ditë. Rezultatet e gjetura nga ne janë në përputhje me ato të gjetura nga Brot et al, (Brote et al., 1999) dhe Jorde et al, (Jorde et al., 2005).

Duke përdorur analizën e korrelacionit ne gjetëm një korelacion sinjifikant pozitiv midis numrit të cigareve të konsumuara në ditë dhe vlerave të β -CTX-it ($r=0.711$, $p=0.0005$), ashtu siç duket dhe në figurën 3.12

Po kështu ndërmjet nivelit të OC-së dhe numrit të cigareve të konsumuara në ditë, ekziston një shoqërim sinjifikant i fortë me vlerë të koeficientit të korrelacionit $r=0.697$ dhe $p=0.0005$.

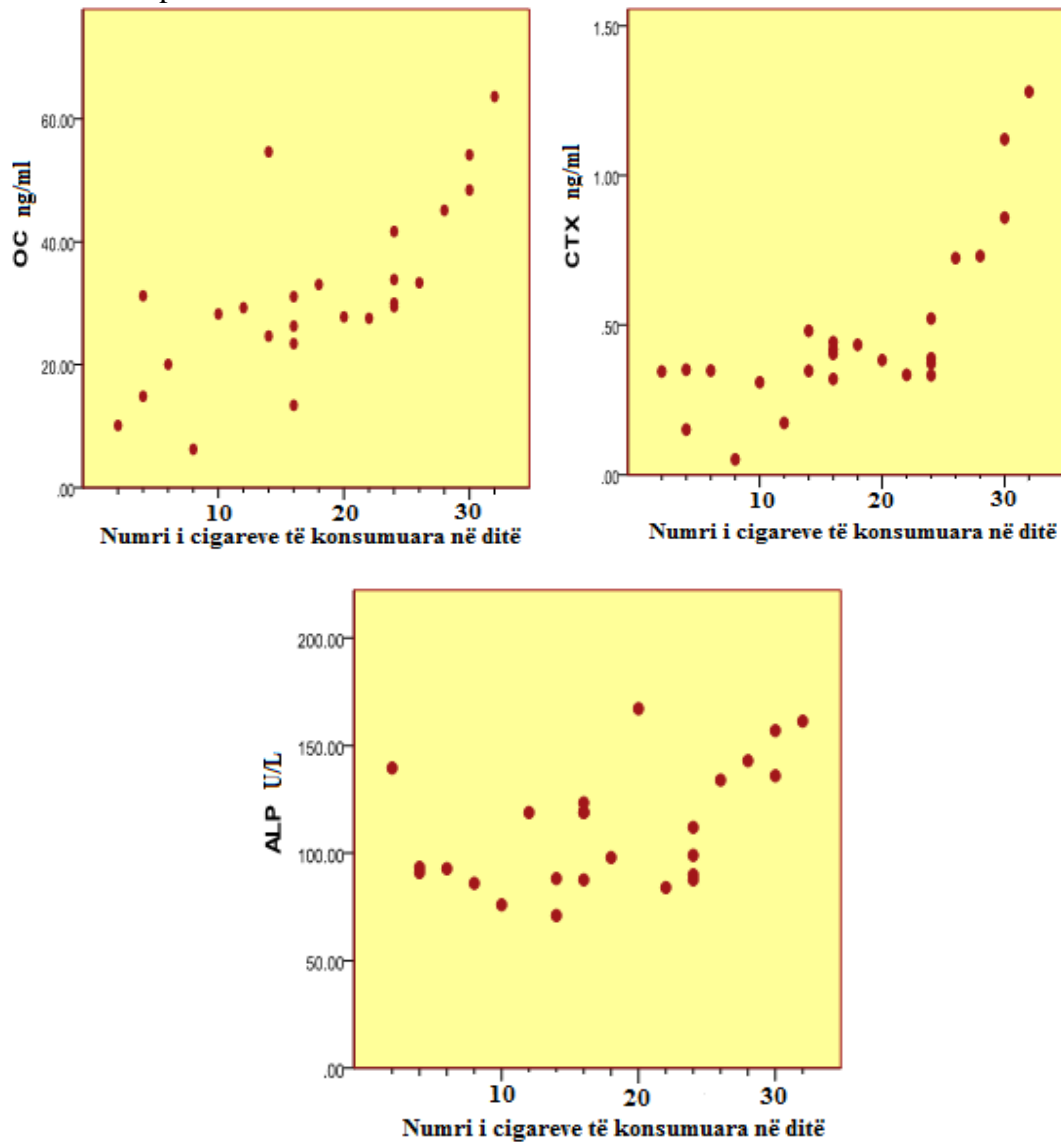


Figura 3.12: Skategrama që tregon lidhjen midis CTX, OC, ALP dhe numrit të cigareve të konsumuara në ditë.

Korrelacioni Pearson tregoi për një shoqërim sinjifikant dhe pozitiv midis vlerave të ALP-së dhe numrit të cigareve të konsumuara në ditë ($r=0.458$, $p=0.021$).

Densiteti mineral i kockës është një tregues i rëndësishëm i riskut për fraktura dhe osteoporozë. Ai ndikohet nga numri i cigareve të konsumuara në ditë, duke pësuar ulje me rritjen e numrit të cigareve. Kështu gratë që konsumojnë më shumë se 20 cigare në ditë kanë BMD më të ulët, në krahasim me ato që konsumojnë 1-10 cigare apo 10-20 cigare ($F=6.37$, $p=0.007$).

Ekziston një korrelacion sinjifikant negativ midis BMD-së dhe numrit të cigareve të konsumuara në ditë ($r=-0.644$, $p=0.001$).

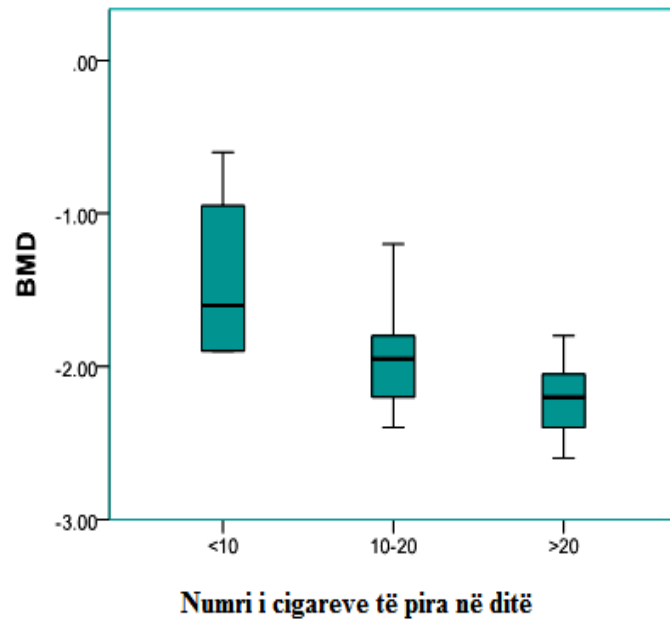


Figura 3.13: Ndryshimi i vlerave të BMD-së në varësi të numrit të cigareve të konsumuara në ditë

Krahas numrit të cigareve të konsumuara, në nivelin e markerëve biokimikë të turnoverit të kockave ndikon dhe kohëzgjatja e duhanpirjes.

Vlerat e markerëve ndryshojnë në tre grupet e duhanpësve, të ndara në varësi të periudhës kohore gjatë së cilës kanë konsumuar duhan. Në grupin e parë bëjnë pjesë gra që kanë deri në 10 vjet që konsumojnë duhan, në grupin e dytë bëjnë pjesë gra që kanë 10-20 vjet që konsumojnë duhan dhe në grupin e tretë gra që kanë mbi 20 vjet që konsumojnë duhan.

Vlerat mesatare të β -CTX në të tre grupet në përputhje me kohëzgjatjen e duhanpirjes në vjet <10, 10-20 dhe >20 vjet ishin 0.171 ± 0.106 , 0.387 ± 0.052 dhe 0.667 ± 0.337 ng/ml. Ndryshimet në vlerat e β -CTX janë statistikisht sinjifikante ($F=8.30$, $p=0.002$). Gratë në posmenopauzë, që kanë një kohë më të gjatë që konsumojnë duhan, karakterizohen nga vlera më të larta të β -CTX. Ekziston një korrelacion sinjifikant pozitiv midis nivelit të këtij markeri dhe kohëzgjatjes së konsumit të duhanit ($r=0.654$, $p=0.0005$).

Niveli i OC-së në të tre grupet e grave duhanpirëse, doli përkatësisht 19.66 ± 11.08 , 28.47 ± 10.30 dhe 31.26 ± 13.96 ng/ml. Ndryshimi i vlerave të OC-së midis tre grupeve është sinjifikant ($F=3.86$, $p=0.036$). Po kështu korrelacioni Pearson tregoi se ekziston një shoqërim sinjifikant pozitiv midis kohëzgjatjes së konsumit të duhanit dhe nivelit të OC-së ($r=0.509$, $p=0.009$).

Me vlera të ndryshme na u shfaq edhe ALP në të tre grupet. Kështu vlera mesatare e ALP-së në grupin e grave që kanë 1-10 vjet që pijnë duhan është 93.57 ± 18.32 ng/ml, tek gratë që kanë 10-20 vjet që pijnë duhan 103.74 ± 26.75 ng/ml dhe tek ato me mbi 20 vjet vlera mesatare është 125.95 ± 26.98 ng/ml. I pranishëm është dhe korrelacioni sinjifikant dhe pozitiv midis vlerës së këtij markeri dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes ($r=0.452$, $p=0.023$) figura 3.14.

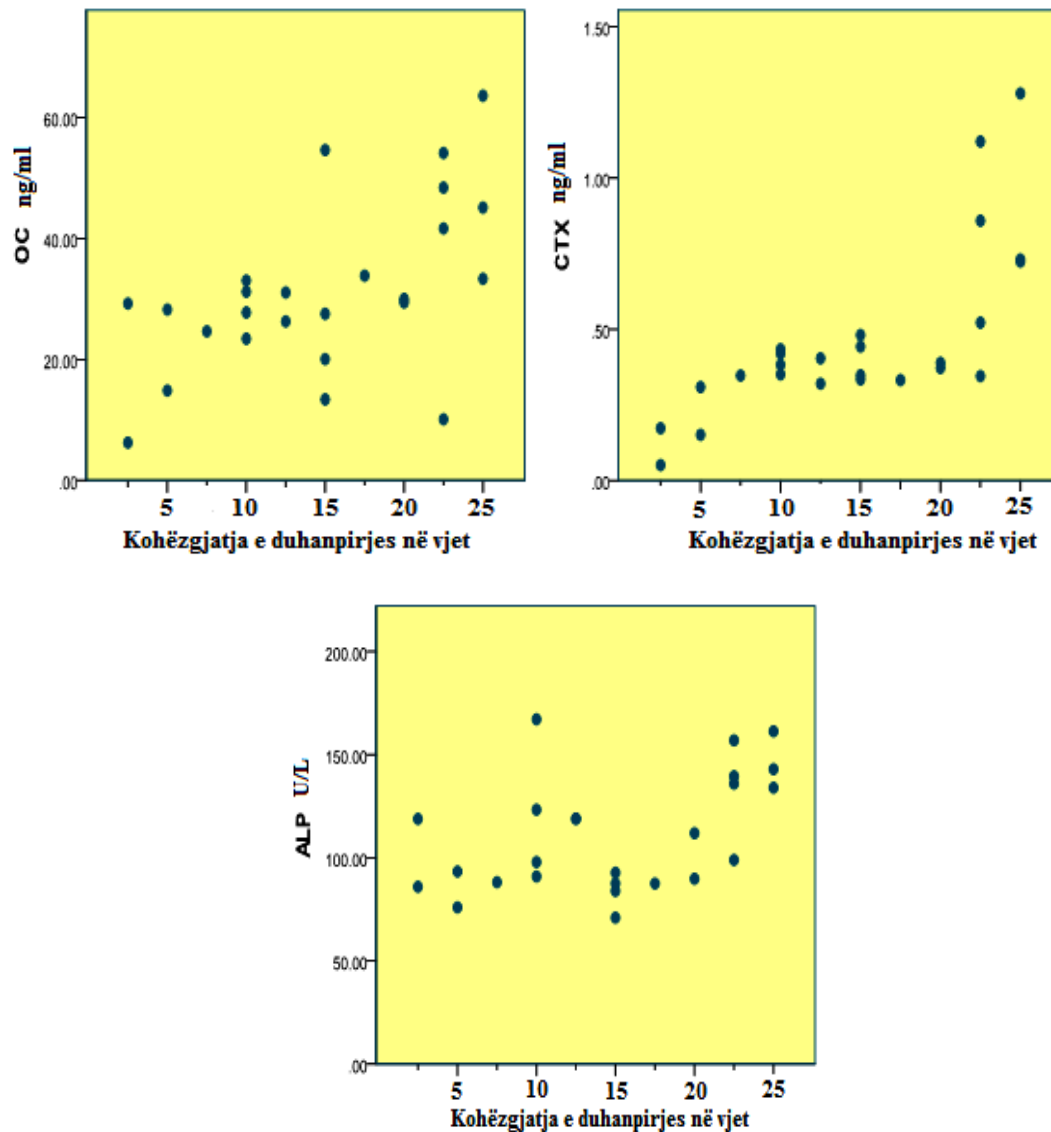


Figura 3.14: Skategrama që tregon lidhjen midis nivelit të OC, CTX, ALP dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes

Ndërsa vlerat e PTH-së nuk paraqitin ndryshime sinjifikative midis tre grupeve të grave që konsumojnë duhan ($p>0.05$). Nuk na ka rezultuar asnjë shoqërim sinjifikant midis vlerave të hormonit të paratiroides dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes.

Pra mund të themi se si numri i cigareve të konsumuar dhe kohëzgjatja e duhanpirjes ndikojnë në metabolizmin e kockës. Një studim i realizuar nga Kuo et al, tregoi se statusi i duhanpirjes dhe kohëzgjatja e duhanpirjes ishin faktorë përcaktues të densitetit të kockës dhe ky efekt ishte kumulativ me kohëzgjatjen dhe sasinë, (Kuo et al., 2008), në përputhje kjo dhe me studimin e realizuar nga ana jonë.

Rezultatet e paraqitura në këtë studim, tregojnë se duhanpirja ndikon në uljen e nivelit të BMD-së tek gratë në posmenopauzë, duke siguruar në këtë mënyrë të dhëna të tjera që mbështesin lidhjen midis duhanit dhe osteoporozës.

Në Shtetet e Bashkuara të Amerikës një në çdo katër gra është konsumatore e rregullt e duhanit, dhe raporti i grave që konsumojnë më shumë se 25 cigare në ditë është

dyfishuar gjatë 20 viteve të fundit. 8% e femrave duhanpirëse që janë në moshë mesatare kanë filluar të konsumojnë duhan që para moshës 20 vjeçare. Tek gratë që pijnë mesatarisht një paketë në ditë vihet re një deficiet prej 2% për çdo dekadë në densitetin spinal, që është gjysë deviacioni standart më e ulët tek gratë joduhani-pirëse në periudhën e menopauzës. Është për tu theksuar fakti se dhe në vendin tonë është rritur ndjeshëm numri i grave që konsumojnë duhan. Me rritjen e moshës së popullatës rritet dhe sasia e paketave të duhanit të konsumuara në ditë. Si pasojë do të rritet dhe numri i frakturave që i detyrohen duhanpirjes. Njohja e ndikimit të duhanit në shfaqjen e osteoporozës mund ti ndihmojë gratë për të vendosur të heqin dorë nga duhanpirja apo të vazhdojnë konsumin e duhanit.

Duhet të vemë në dukje se tek gratë duhanpirëse, krahas efektit direkt të duhanit në metabolizmin e kockave, mund të ndikojnë dhe faktorë të tjerë, që shoqërojnë duhanpirjen. Disa sugjerime në lidhje me mekanizmin nëpërmjet të cilit duhanpirja ndikon në kockë përfshijnë edhe aktivitetin e ulët fizik, rritje të konsumit të alkoolit dhe mangësi në dietën ushqimore.

Kështu gratë duhanpirëse karakterizohen nga një konsum më i madh i alkoolit në krahasim me gratë joduhani-pirëse. Në grupin e duhanpirëseve, 40% e grave konsumonin alkool (të paktën 1 pije në ditë, 1 gotë birrë, ½ gotë vere, 1 teke pije tjetër), ndërsa tek grupi i grave joduhani-pirëse vetëm 3.63% konsumonin alkool.

Të gjitha studimet e kryera në lidhje me përdorimin e alkoolit dhe metabolizmin e kockës, tregojnë se një konsum i rregullt i alkoolit mund të ndikojë në shëndetin e kockës dhe mund të rrisë riskun për zhvillimin e osteoporozës. Gjithashtu duket se alkooli ka një efekt në qelizat e formimit të kockës (osteoblaste) duke ngadalësuar turnoverin e kockës, por mekanizmat specifikë nëpërmjet të cilave alkooli ndikon në kockë nuk janë shumë të qarta.

Njerëzit që konsumojnë alkool kanë 75% më shumë mundësi të jenë duhanpirës sesa ata që nuk konsumojnë alkool dhe duhanpirësit kanë 86% më shumë mundësi për të konsumuar alkool sesa jo duhanpirësit (Shiffman and Balabanis 1995). Aktiviteti i njërës ndikon në impaktin e tjetrës për shembull: duhanpirja ngadalëson çlirimin e alkoolit nga stomaku dhe si pasojë më pak alkool për tu absorbuar gjatë qarkullimit. (Chen et al. 2001). Duke ulur në këtë mënyrë përqëndrimin e alkoolit në gjak, duhanpirja lejon njerëzit që të konsumojnë më shumë alkool para se të dehen. Gjithçka që rrit konsumin e alkoolit (si për shembull duhanpirja) mund të jetë përcaktuese për fiziologjinë e kockës.

Një tjetër faktor është dhe konsumi i kafes. Kështu tek gratë duhanpirëse 16% pinin një kafe në ditë, 40% dy kafe, ndërsa pjesa tjetër 44% më shumë se dy kafe në ditë. Tek gratë duhanpirëse nuk gjetëm asnjë individ që nuk konsumonte kafe. Ndërsa tek gratë joduhani-pirëse 23.63% konsumonin një kafe në ditë, 29.09% dy kafe në ditë, 29.09% më shumë se dy kafe në ditë dhe 18.18% nuk konsumonin kafe. Pra nga sa shohim, gratë që pijnë duhan konsumojnë më shumë kafe sesa ato që nuk pijnë duhan.

Mendimet në lidhje me ndikimin negativ të kafes në densitetin e kockës mbeten të paqarta. Kështu Johansson et al. tregoi një shoqërim negativ midis konsumit të kafes dhe densitetit mineral të kockës tek gratë. Bauer et al., gjeti se konsumi i kafes përgjatë gjithë jetës, ishte i shoqëruar me masë të ulët kockore. Ndërsa Kroger et al. raportoi se kafeina nuk kishte asnjë efekt në densitetin mineral të kockës. Dy studime të tjera (Harriss & Dawson-Hughes, 1994; Barrett-Connor et al., 1994) gjetën se kafeina ndikonte vetëm tek ato gra që kishin nivel të ulët të kalçiumit.

**L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË
NË PERIUdhËN POSMENOPAUZIKE**

Duhanpirëset gjithashtu ekspozohen më pak në diell sesa gratë joduhanpirëse, 40% e tyre ekspozohen më shumë se 30 minuta në ditë në diell, ndërsa gratë joduhanpirëse 61.8%. Më pak rrezatim diellor do të thotë më pak vitaminë D dhe si pasojë rënie të densitetit mineral të kockës.

Na ka rezultuar se edhe aktiviteti fizik është një faktor që ndikon në metabolizmin e kockës. Tek gratë joduhanpirëse 70.9% ecnin më shumë se 30 min në ditë, ndërsa tek ato duhanpirëse 48% ecnin më shumë se 30 minuta në ditë. Pra gratë që pijnë duhan janë më pak aktive se ato që nuk pijnë duhan.

Paraqet interes njohja e ndikimit të aktivitetit fizik në masën kockore dhe në shkallën e humbjes së kockës. Megjithëse mekanizmat nuk janë plotësisht të qartë, stresi mekanik, si ai i shkaktuar nga tkurrja e muskujve dhe ushtrimet për rënien në peshë, rritin densitetin e kockës (Marcus and Kiratli 1998; Snow et al. 1996).

Kocka që është e imobilizuar dhe nuk ka funksion të mbajtjes së peshës është e prirur që të humbë masë kockorë më shpejt (Turner., 2000).

PËRFUNDIME

Studimi ynë konfirmoi shoqërimin sinjifikant negativ midis vlerave të markerëve të turnoverit të kockave dhe BMD-së, pra vlerat T-score të densitetit mineral të kockës ulen me rritjen e vlerave të markerëve të turnoverit.

Analizat e markerëve të kockave mund të jenë një domosdoshmëri klinike për një përcaktim sa më të saktë të gjendjes së kockës dhe riskut të mundshëm për fraktura të lidhura me osteoporozën, në veçanti β -CTX, si një marker i resorbimit dhe OC si një marker i formimit paraqiten me rëndësi për parashikimin e osteoporozës dhe riskut për fraktura. Një vlerësim i rregullt i këtyre markerëve mund të ndihmojë në një diagnostikim të hershëm, parandalim dhe trajtim të osteoporozës postmenopauzale.

Ekziston një shoqërim sinjifikant midis moshës dhe markerëve të tillë si ALP, OC dhe β -CTX. Me rritjen e moshës rritet dhe niveli i këtyre markerëve, çka tregon dhe për një turnover të lartë të kockës me kalimin e viteve.

Statusi menopausal gjithashtu ndikon në ndryshimet e markerëve të turnoverit të kockave. OC, β -CTX, ALP dhe PTH janë më të larta tek gratë në postmenopauz krahasuar me gratë në premenopauz. Menopauza është e shoqëruar me rritje sinjifikante të shkallës së turnoverit të kockave, e matur nëpërmjet markerëve të formimit dhe resorbimit të kockave. Ndikimi i menopauzës në nivelet e markerëve mund të reflektojë më së miri rrugën fiziologjike përgjegjëse për uljen e densitetit mineral të kockës tek gratë pas menopauzës.

Edhe pse studimi ynë u realizua në një mostër relativisht të vogël rezultatet e marra prej tij mund të shërbejnë si një bazë e mirë të dhënash për vlerat mesatare të markerëve biokimikë të turnoverit të kockave tek gratë në Shqipëri.

Mund të themi se në çdo rast moshë dhe ndryshimet në statusin menopausal duhet të merren parasysh kur bëhen matje laboratorike për nivelin e markëve biokimikë të metabolizmit të kockës.

Gratë postmenopauzike që konsumojnë duhan karakterizohen nga nivele më të larta të OC, β -CTX dhe ALP, por nivele më të ulta të PTH, krahasuar kjo me gratë që nuk konsumojnë duhan. Densiteti mineral i kockës ishte gjithashtu më i ulët tek duhanpirësit krahasuar me joduhaniqësit. Çka tregon një turnover më të lartë të kockës tek gratë që konsumojnë duhan dhe humbje më të madhe të masës kockore.

Rezultatet tregojnë se duhanpirja ul densitetin mineral të kockës dhe vjen si pasojë e një absorbimi të reduktuar të kalçiumit dhe rritjes së markerëve të rimodelimit të kockës.

Gratë që pijnë duhan kanë vlera të BMI-së më të ulta, sesa gratë që nuk pijnë duhan (27.73 ± 3.14 dhe 28.21 ± 4.589 kg/m²). Gjithashtu dhe niveli i kalçiumit është më i ulët tek gratë duhanpirëse, në krahasim me ato joduhaniqës (8.62 ± 0.34 mg/dl në krahasim me 9.24 ± 0.44 mg/dl).

Niveli i OC, β -CTX dhe ALP korrelohet në mënyrë sinjifikante me numrin e cigareve të konsumuar në ditë dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes. Tek gratë që konsumojnë më shumë duhan dhe kanë më shumë kohë si duhanpirëse niveli i markerëve të kockës

**L. HYSI: PIRJA E DUHANIT DHE MARKERËT E TURNOVERIT TË KOCKAVE TEK GRATË
NË PERIUdhËN POSMENOPAUZIKE**

është më i lartë dhe densiteti kockor më i ulët, kjo tregon dhe për një mundësi më të madhe të zhvillimit të osteoporozës.

Ndërsa vlerat e PTH-së nuk paraqitin ndryshime sinjifikative midis tre grupeve të grave që konsumojnë duhan. Nuk na ka rezultuar asnjë shoqërim sinjifikant midis vlerave të hormonit të paratiroides dhe kohëzgjatjes së duhanpirjes.

Rezultatet e paraqitura në këtë studim tregojnë që duhanpirja ndikon në metabolizmin e kockës dhe sigurojnë evidenca të mëtejshme që mbështesin lidhjen midis duhanit dhe osteoporozës.

FALENDERIME

Gjej rastin të falenderoj përzemërsisht të gjithë personat që më kanë ndihmuar në realizimin e këtij punimi:

- *Mirënjohje e thellë dhe shumë falenderime i drejtohen Prof. Dr. Tefta Rexha, për ndihmën si udhëheqëse shkencore, këshillat dhe mbështetjen që më ka dhënë.*
- *Faleminderit Prof. As. Anila Mitre për ndihmën e pakushtëzuar, mendimet dhe këshillat e saj bënë të mundur përmirësimin e punës time.*
- *Faleminderit Dr. Eliana Ibrahimimi për sugjerimet dhe ndihmën e vazhdueshme për realizimin e përpunimeve statistikore të kësaj teze doktore.*
- *Drejtuesit e Laboratorit Mjekësor Intermedika, Tiranë dhe Klinikës Harrison për gadishmërinë e pakursyer që kanë treguar për mbledhjen e mostrave dhe zhvillimin e studimit.*
- *Fakultetin e Shkencave të Natyrës, për grantin e dhënë për reagentët e nevojshëm për kryerjen e analizave.*

Këtë studim ia kushtoj familjes time: prindërve, motrës dhe në veçanti bashkëshortit tim që më ka mbështetur shumë gjatë këtij studimi.

LITERATURA

1. Ajubi NE, Klein-Nulend J, Nijweide PJ, Vrijheid-Lammers T, Alblas MJ and Burger EH. (1996). Pulsating fluid flow increases prostaglandin production by cultured chicken osteocytes--a cytoskeleton-dependent process. *Biochem Biophys Res Commun*, **225**, 62-8.
2. Albright F, Smith PH, Richardson AM. (1941). Postmenopausal osteoporosis—its clinical features. *JAMA* 116:2465–2473.
3. Amory JK et al. (2004). Exogenous testosterone or testosterone with finasteride increases bone mineral density in older men with low serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 89:503–510.
4. Anonymous. (1993). Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med*, 94, 646-50.
5. Arjmandi BH, Salih MA, Herbert DC, Sims SH, Kalu DN. (1993). Evidence for estrogen receptor-linked calcium transport in the intestine. *Bone Miner*; 21:63-74.
6. Asagiri M. and Takayanagi H. (2007). The molecular understanding of osteoclast differentiation, *Bone*, 40:251-264.
7. Barbieri RL, Gochberg J, Ryan KJ. (1986). Nicotine, cotinine, and anabasine inhibit aromatase in human trophoblast in vitro. *J Clin Invest* 77:1727–1733.
8. Baron JA, Comi RJ, Cryns V, Brinck-Johnsen T, Mercer NG. (1995). The effect of cigarette smoking on adrenal cortical hormones. *J Pharmacol Exp Ther* 272:151–155.
9. Baron R. (2003). General principles of bone biology. In *Primer of the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.*, eds. Favus MJ, 5th ed., pp. 1-8. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
10. Baron R. and Rawadi G. (2002). Targeting the Wnt/ β -catenin Pathway to Regulate Bone Formation in the Adult Skeleton, *Endocrinology* 148, 2635-43.
11. Barrett-Connor E, Chang J-C, Edelstein SL. (1994). Coffee-associated osteoporosis offset by daily milk consumption: the Rancho Bernardo study. *JAMA*; 271:280–3.
12. Bauer DC, Garnero P, Hochberg MC et al. (2006). Pretreatment levels of bone turnover and the antifracture efficacy of alendronate: the fracture intervention trial. *J Bone Miner Res* 21:292–299 143.
13. Baumgrass R, Williamson MK, Price PA. (1997). Identification of peptide fragments generated by digestion of bovine and human osteocalcin with the lysosomal proteinases cathepsin B, D, L, H, and S. *J Bone Miner Res*; 12: 447-55

14. Benayahu D, Shamay A, Wientroub S. (1997). Osteocalcin (BGP) gene expression, and protein production by marrow stromal adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*; 2 31: 4426.
15. Bolon B et al. (2001). Adenoviral delivery of osteoprotegerin ameliorates bone resorption in a mouse ovariectomy model of osteoporosis. *Mol Ther* 3:197–205.
16. Bonde M, Garnero P, Fledelius C, Qvist P, Delmas PD and Christiansen C. (1997). Measurement of bone degradation products in serum using antibodies reactive with an isomerized form of an 8 amino acid sequence of the Ctelopeptide of type I collagen. *J Bone Miner Res*, 12, 1028-34.
17. Boyle W.J, Simonet W.S, Lacey D.L. (2003). Osteoclast differentiation and activation, *Nature* 423, 337 – 342.
18. Brand JS et al. (2011). Cigarette smoking and endogenous sex hormones in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*
19. Brandi ML, Gennari L, Matucci Cerinic M. (2001). Genetic markers of osteoarticular disorders: facts and hopes. *Arthritis research*; 45.
20. Brot C, Jorgensen NR & Sorensen OH.(1999). The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *European Journal of Clinical Nutrition*; 53 920–926.
21. Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Edouard C, Chapuy MC, Meunier PJ. (1984). Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet*; i: 1091-4.
22. Bruyere O, Collette J, Delmas P, Rouillon A, Roux C, Seidel L. (2003). Interest of biochemical markers of bone turnover for long-term prediction of new vertebral fracture in postmenopausal osteoporotic women. *Maturitas* 44 : 259-65.
23. Bruzzaniti A. and Baron R.(2007). Molecular regulation of osteoclast activity. *Rev. Endocr. Metab. Disord*, 7:123-39.
24. Burgess TL et al. (1999). The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 145:527–538.
25. Cassidenti DL, Vijod AG, Vijod MA, Stanczyk FZ, Lobo RA. (1990). Short-term effects of smoking on the pharmacokinetic profiles of micronized estradiol in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol* 163:1953–1960.
26. Caudarella R, Vescini F, Buffa A, Sinicropi G, Rizzoli E, La Manna G. (2003). Bone mass loss in calcium stone disease: focus on hypercalciuria and metabolic factors. *J Nephrol*.
27. Chailuurkit L, Ongphiphadhanakul B, Piaseu N, Saetung S and Rajatanavin R. (2001). Biochemical markers of bone turnover and response of bone mineral

- density to intervention in early postmenopausal women: An experience in a clinical laboratory. *Clin Chem* 47(6):1083-1088.
28. Chaki O, Yoshikata I, Kikuchi R et al. (2000). The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res* 15:1537–1544.
29. Chen, W.J.A.; Parnell, S.; and West, J.R. (2001). Nicotine decreases blood alcohol concentration in neonatal rats. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* 25:1072–1077.
30. Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P, Bjarnason NH, Ravn P, Fledelius C, Herling C, Qvist P and Christiansen C. (1998). Clinical evaluation of the Serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem*, 44, 2290- 300.
31. Christiansen P, Steiniche T, Brixen K, Hessev I, Melsen F, Charles P. (1997). Primary hyperparathyroidism: biochemical markers and bone mineral density at multiple skeletal sites in Danish patients. *Bone* 21: 93-9.
32. Civitelli R, Armamento-Villareal R, Napoli N. (2004). Bone turnover markers: understanding their value in clinical trials and clinical practice, *Osteoporosis Int*, (20), 853-51.
33. Cloos PA and Fledelius C. (2000). Collagen fragments in urine derived from bone resorption are highly racemized and isomerized: a biological clock of protein aging with clinical potential. *Biochem J*, 345 Pt 3, 473-80.
34. Colvard DS et al. (1989). Identification of androgen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:854–857.
35. Cooper C. (2003). Epidemiology of osteoporosis. In *Primer of the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.*, eds. Favus MJ, 5th ed., pp. 307-313. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
36. Cooper GS, Umbach DM. (1996). Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? *J Bone Miner Res* 11:1841-49.
37. Cosman F, Nieves J, Wilkinson C, Schnering D, Shen V, Lindsay R. (1996). Bone density change and biochemical indices of skeletal turnover. *Calcif Tissue Int* 58:236–243.
38. Cummings SR et al. (1998). Endogenous hormones and the risk of hip and vertebral fractures among older women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 339:733–738.
39. Cundy T, Cornish J, Evans MC, Gamble G, Stapleton J. (1995). Sources of interfacial variation in bone mineral density. *J Bone Miner Res*; 10:368-73.

40. Daniel M, Martin AD, Drinkwater DT. (1992). Cigarette smoking, steroid hormones, and bone mineral density in young women. *Calcif Tissue Int* 50:300–305.
41. Daniels LD, Pettifor JM, Schnitzler CM, Rusell SW, Patel DN. (1995). Ethnic differences in bone density in female South African nurses. *J Bone Miner Res* 10:359-67.
42. Delmas PD. (1993). Biochemical markers of bone turnover. *Journal of Bone and Mineral Research* 8(2) 8549-8555.
43. Delmas PD, Christiansen C, Mann KG, Price PA. (1990). Bone Gla protein (osteocalcin) assay standardization report. *J Bone Miner Res* 5: 5-11.
44. Demers LM, Costa L, Lipton A. (2000). Biochemical markers and skeletal metastases, *Cancer*, (88), 2919-2926.
45. Desai MP, Khatkhatay MI, Bhanu PKV, Savardekar LS, Shah RS, Ansari Z. (2007). Hormonal profiles and biochemical indices of bone turnover in Indian women. *Osteoporos Int* 18 : 923-9.
46. Diaz DE, Guerrero R, de la Piedra C. (1994). Six osteocalcin assays compared. *Clin Chem* 40: 20717.
47. Diaz DE, Nacher M, Rapado A, Serrano S, Bosch J, Aubia J. (1998). Immunoreactive osteocalcin forms in conditioned media from human osteoblast culture and in sera from healthy adult control subjects and patients with bone pathologies. *Eur J Clin Invest* 28: 48-58.
48. Direk N, Newson RS, Hofman A, Kirschbaum C, Tiemeier H. (2011). Short and long-term effects of smoking on cortisol in older adults. *Int J Psychophysiol* 80:157–160 103.
49. Ducy P and Karsenty G. (1995). Two distinct osteoblast-specific cis-acting elements control expression of a mouse osteocalcin gene. *Mol Cell Biol*, 15, 1858-69.
50. Ducy P, Schinke T and Karsenty G (2000) The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science*, 289, 1501-4.
51. Eastell R, Blumsohn A. (1997). The value of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *J Rheumatol*; 24: 1215-72.
52. Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, Eriksen EF, Mann KG, Riggs BL. (1988). Bone formation rate in older normal women: concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics, and biochemical markers. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 7418.

53. Ebeling PR, Atley LM, Guthrie JR, Burger HG, Dennerstein L, Hopper JL, Wark JD: Bone turnover markers and bone density across the menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab* 1996, **81**, 3366-3371.
54. Econs MJ, Speer MC. (1996). Genetic studies of complex diseases: Let the reader beware. *J Bone Miner Res* 11:1835-40.
55. Eisman JA. (1990). Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev* 20:788-804.
56. Eriksen EF. (1986). Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. *Endocr Rev*, **7**, 379-408.
57. Falahati-Nini A et al. (2000). Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men. *J Clin Invest* 106:1553–1560.
58. Fang MA, Frost PJ, Iida-Klein A, Hahn TJ. (1991). Effects of nicotine on cellular function in UMR 106-01 osteoblast-like cells. *Bone* 12:283–286.
59. Farrugia W, Melick RA. (1986). Metabolism of osteocalcin. *Calc Tiss Internat* 39: 2348.
60. Ferrari SL, Rizzoli R, Slosman DO, Bonjour JP. (1998). Do dietary calcium and age explain the controversy surrounding the relationship between bone mineral density and vitamin D receptor gene polymorphisms? *J Bone Miner Res* 13:363-70.
61. Filip RS, Zagorski J. (2004). Age and BMD related differences in biochemical markers of bone metabolism in rural and urban women from Lublin region, Poland, *Ann Agric Environ Med*, (11), 255-9.
62. Frost HM. (1966). Bone dynamics in metabolic bone disease. *J Bone Joint Surg* 48:1192-1203.
63. Gallop PM, Lian JB and Hauschka PV. (1980). Carboxylated calcium-binding proteins and vitamin K. *N Engl J Med*, 302, 1460-6.
64. Garnero P, Delmas PD. (2004). Contribution of bone mineral density and bone turnover markers to the estimation of risk of osteoporotic fracture in postmenopausal women. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 4 : 50-63.
65. Garnero P and Delmas PD. (1993). Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab*, **77**, 1046-53.
66. Garnero P, Borel O and Delmas PD. (2001). Evaluation of a fully automated serum assay for C-terminal cross linking telopeptide of type I collagen in osteoporosis. *Clin Chem* 47(4):694-702.

67. Garnero P, Ferreras M, Karsdal MA, Nicamhlaobh R, Risteli J, Borel O, Qvist P, Delmas PD, Foged NT and Delaisse JM. (2003). The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. *J Bone Miner Res*, 18, 859-67.
68. Garnero P, Grimaux M, Seguin P, Delmas PD. (1994). Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin generated in vivo and in vitro. *J Bone Miner Res* 9: 255-64.
69. Garnero P, Mulleman D, Munoz F, Sornay-Rendu E, Delmas PD. (2003). Long-term variability of markers of bone turnover in postmenopausal women and implications for their clinical use: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 18:1789–1794.
70. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, Delmas PD. (1996). Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 11:337–349.
71. Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD (2000). Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: The OFELY study. *J Bone Miner Res* 15 : 1526-36.
72. Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N. (2008). Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem* 54:188–96.
73. Garton. M, Martin. J, New. S, Lee.S, Loveridge N, Milnet J. (1996). Bone mass and metabolism in women aged 45–55. *Clinical Endocrinology (Oxf)*, 44(5):563–73.
74. Genant HK, Cann CE, Ettinger B, Gordan GS. (1982). Quantitative computed tomography of vertebral spongiosa: A sensitive method for detecting early bone loss after oophorectomy. *Ann Intern Med* 97:699-705.
75. George HB, Donald ES. Colin RP. (1999). *Text book of Physiology and Biochemistry*.
76. Gerdhem P, Obrant KJ. (2002). Effects of cigarette-smoking on bone mass as assessed by Dual-Energy X-ray Absorptiometry and Ultrasound. *Osteoporos Int.*; 13:932–6.
77. Gong G, Stern HS, Cheng SC. The association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphisms. *Osteoporos Int* 9:55-64.
78. Gundberg CM, Clough ME. (1992). The osteocalcin propeptide is not secreted in vivo or in vitro. *J Bone Miner Res* 7: 7380.
79. Gundberg CM, Wilson PS, Gallop PM, Parfitt AM. (1985). Determination of osteocalcin in human serum: results with two kits

- compared with those by a well-characterized assay. *Clinical Chemistry* 31:1720-3.
80. Houben R, Soute BA, Knapen MH, Vermeer C. (1997). Strategies for developing human osteocalcin standards: a critical evaluation. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 227: 100-4.
81. Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ and Väänänen HK. (2000) Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption. *J Bone Miner Res*, 15, 1337-45.
82. Halleen JM, Karp M, Viloma S, Laaksonen P, Hellman J, Käkönen SM, Stepan JJ, Holmes S, Väänänen H and Pettersson K. (1999). Two-site immunoassays for osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase based on characterization of six monoclonal antibodies. *J Bone Miner Res*, 14, 464-9.
83. Halperin AC, Smith SS, Heiligenstein E, Brown D, Fleming MF. (2010). Cigarette smoking and associated health risks among students at five universities. *Nicotine Tob Res* 12:96–104.
84. Hamann KL & Lane NE. (2006). Parathyroid hormone update. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*; 32 703–719.
85. Hansen MA, Hassager C, Jensen SB, Christiansen C. (1992). Is heritability a risk factor for postmenopausal osteoporosis? *J Bone Miner Res*; 7(9):1037-43.
86. Harada S. and Rodan G.A. (2003). Control of osteoblast function and regulation of bone mass, *Nature* 423, 349-355.
87. Harris H. (1990). The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 186:133–150.
88. Harriss SS, Dawson-Hughes B. (1994). Caffeine and bone loss in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*; 60:573–8.
89. Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. (1989). Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev*; 69: 990-1047.
90. Hauschka PV. (1982). Calcium-dependent alpha-helical structure in osteocalcin. *Biochemistry*; 21: 2538/47.
91. Hauschka PV. (1986). Osteocalcin: the vitamin K-dependent Ca^{2P}-binding protein of bone matrix. *Haemostasis*; 16: 258-729.
92. Hofbauer LC et al. (2000). The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res*; 15:2-12.
93. Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC and Khosla S. (1999). Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of

- osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology*, 140, 4382-9.
94. Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan HL, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia XZ, Elliott R, Chiu L, Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB and Boyle WJ. (1999). Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 3540-5.
95. Iki M, Akiba T, Matsumoto T, Nishino H, Kagamimori S, Kagama Y and JPOS Study Group. (2004). Reference database of biochemical markers of bone turnover for the Japanese female population, *Osteoporos Int*, (15), 981-9.
96. Iki M, Kagamimori S, Kagawa Y, Matsuzaki T, Yone Shima H, Marumo F. Bone Mineral Density of the spine, hip and distal forearm in representative samples of the Japanese female population: Japanese population-based Osteoporosis (JPOS) study. *Osteoporos Int* 12, 529-37.
97. Indumati V, Patil VS and Jaikhani R. (2007). Hospital based preliminary study on osteoporosis in postmenopausal women. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22(2) 96 -100.
98. Inui T, Ishibashi O, Inaoka T, Origane Y, Kumegawa M, Kokubo T and Yamamura T. (1997). Cathepsin K antisense oligodeoxynucleotide inhibits osteoclastic bone resorption. *J Biol Chem*, 272, 8109-12.
99. Ivaska KK, Gerdhem P, Akesson K, Obrant KJ. (2007). Bone turnover markers and prediction of fracture: nine-year follow-up study of 1040 elderly women. *J Bone Miner Res* 22 [Suppl 1]: S21, Abstract 1073.
100. Jarupanich, T. (2007). Prevalence and risk factors associated with osteoporosis in women attending menopause clinic at Hat Yai Regional Hospital. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 90(5):865-9.
101. Jick H. (1977). Relation between smoking and age of natural menopause. *Lancet* 309:1354-1355.
102. Johnson ML, Gong G, Kimberling W, Recker SM, Kimmel DB, Recker RB. (1997). Linkage of a gene causing high bone mass to human chromosome 11 (11q12-13). *Am J Hum Genet* 60:1326-32).
103. Jorde R, Saleh F, Figenschau Y, Kamycheva E, Haug E & Sundsfjord J. (2004). Serum parathyroid hormone levels in smokers and nonsmokers. The fifth Tromso study. *European Journal of Endocrinology* 152 1-8.
104. Josefina Martínez, José M. Olmos, José L. Hernández, Gabriel Pinedo, Javier Llorca, Eduardo Obregón, Carmen Valero, Jesús González-Macías. (2009). Bone

- turnover markers in Spanish postmenopausal women The Camargo cohort study. *Clinica Chimica Acta.* 409 70–74.
105. Jovcevska JM, Stratrova S, Gjorgovski I, Gruev T, Kotevska M, Ivanovska DJ. (2009). Bone turnover markers realations to postmenopausal osteoporosis. *JMB28*:161-165.
106. Kamer AR, El-Ghorab N, Marzec N, Margarone JE 3rd, Dziak R. (2006) Nicotine induced proliferation and cytokine release in osteoblastic cells. *Int J Mol Med* 17:121–127.
107. Kaveh K, Ibrahim R, Emadi M and Bakara. (2010). Osteoprosis and bone health. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 9(6) 1048-1054.
108. Khastgir G et al. (2001). Anabolic effect of estrogen replacement on bone in postmenopausal women with osteoporosis: Histomorphometric evidence in a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab*; 86:289-95.
109. Khaw KT, Tazuke S, Barrett-Connor E. (1988). Cigarette smoking and levels of adrenal androgens in postmenopausal women. *N Engl J Med* 318:1705–1709.
110. Kiel DP et al. (1996). The effect of smoking at different life stages on bone mineral density in elderly men and women. *Osteoporos Int* 6:240–248.
111. Klein-Nulend J, Semeins CM, Ajubi NE, Nijweide PJ and Burger EH. (1995). Pulsating fluid flow increases nitric oxide(NO) synthesis by osteocytes but not periosteal fibroblasts--correlation with prostaglandin upregulation. *Biochem Biophys Res Commun*, 217, 640-8.
112. Koni M. (2008). *Biostatistika*. Tiranë, SHBLU.
113. Krall EA, Dawson-Hughes B. (1999). Smoking increases bone loss and decreases intestinal calcium absorption. *J Bone Miner Res* 14:215–220.
114. Kuo CW, Chang TH, Chi WL, Chu TC. (2008). Effect of cigarette smoking on bone mineral density in healthy Taiwanese middle-aged men. *J Clin Densitom.*; 11(4):518-24.
115. Lacey DL et al. (1998). Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 93:165– 176.
116. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy E, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J and Boyle WJ. (1998). Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell*, 93, 165-76.
117. Lander ES, Schork NJ. (1994). Genetic dissection of complex traits. *Science* 1994;265:2037-48.

118. Landin-Wilhelmsen K, Wilhelmsen L, Lappas G, Rose'n T, Lindstedt G, Lundberg P-A, Wilske J. (1995). Serum intact parathyroid hormone in a random population sample of men and women: relationship to anthropometry, life-style factors, blood pressure, and vitamin D. *Calcified Tissue International* : (56) 104–108.
119. Lappin DF, Sherrabeh S, Jenkins WM, Macpherson LM. (2007). Effect of smoking on serum RANKL and OPG in sex, age and clinically matched supportive-therapy periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 34:271–277.
120. Law MR, Hackshaw AK. (1997). Meta analysis of cigarette smoking, bone mineral density and risk of hip fracture :recognition of a major effect .*BMJ*; 15:841-846.
121. Law, M. R., Cheng, R., Hackshaw, A., Allaway, S., and Hale, A. K. (1997). Cigarette smoking, sex hormones and bone density in women. *Eur J Epidemiol* 13:553– 558.
122. Lee AJ, Hodges S, Eastell R. (2000). Measurement of osteocalcin, *Ann Clin Biochem*, (37), 432-46.
123. Lenora J, Ivaska KK, Obrant KJ, Gerdhem P. (2007). Prediction of bone loss using biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos Int* 18:1297–305.
124. Lenz, L. G., Ramp, W. K., Galvin, R. J., and Pierce, W. M., Jr. (1992). Inhibition of cell metabolism by a smokeless tobacco extract: Tissue and species specificity. *Proc Soc Exp Biol Med* 199:211–217.
125. Lindsay R, Hart DM, Forrest C, Baird C. (1980). Prevention of spinal osteoporosis in oophorectomized women. *Lancet* 2:1151–1154.
126. Liu X et al. (2003). Cigarette smoke extract inhibits chemotaxis and collagen gel contraction mediated by human bone marrow osteoprogenitor cells and osteoblast-like cells. *Osteoporos Int* 14:235–242.
127. Liu XD et al. (2001). Cigarette smoke inhibits osteogenic differentiation and proliferation of human osteoprogenitor cells in monolayer and three-dimensional collagen gel culture. *J Lab Clin Med* 137:208–219.
128. Lofman O, Magnusson P, Toss G, Larsson L. (2005). Common 26. biochemical markers of bone turnover predict future bone loss, A 5-year follow-up study. *Clin Chim Acta* 356 : 75-6.
129. Looker AC, Melton LJ, Harris TB. (2010). Prevalence and trends in low femur bone density among older US adults. *Bone Mineral Research* 25;64-71.
130. Luckey MM, Meier DL, Mandeli IP, Da Costa MC, Hubbard ML. (1989). Radial and vertebral bone density in white and black women: evidence for racial differences in premenopausal bone homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab*; 69:762-70.

131. Luigi. M, Loredana. M, (2005). Utility of dietary phytoestrogen in preventing postmenopausal osteoporosis. *Current Topics in Nutraceutical Research*, (3)15–28.
132. Ma L, Zheng LW, Sham MH, Cheung LK. (2010). Uncoupled angiogenesis and osteogenesis in nicotine-compromised bone healing. *J Bone Miner Res* 25:1305–1313.
133. Maillard C, Berruyer M, Serre CM, Dechavanne M, Delmas PD. (1992). Protein-S, a vitamin K-dependent protein, is a bone matrix component synthesized and secreted by osteoblasts. *Endocrinology*; 1 30: 1599-604.
134. Manolagas SC. (2000). Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanism and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev*; 21: 115-37.
135. Marcus. R, and Kiratli.B.J. (1998). Physical activity and osteoporosis. In: Stevenson, J.C., and Lindsay, R., eds. *Osteoporosis*. New York: Chapman & Hall Medical. pp. 309–323.
136. Marks SC and Odgren PR. (2002) Structure and development of the skeleton. In *Principles of Bone Biology*, eds. Bilezikian JP, Raisz LG and Rodan GA, 2nd ed., pp. 3-15. Academic Press, San Diego, USA.
137. McKee MD and Nanci A. (1996). Osteopontin: an interfacial extracellular matrix protein in mineralized tissues. *Connect Tissue Res*, 35, 197-205.
138. Melton LJ, Khosla S, Atkinson EJ, O’fallon WM and Riggs BL. (1997). Relationship of bone turnover to bone density and fractures. *Journal of Bone and Mineral Research* 12(7) 1083 -1091.
139. Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, et al. (2004). The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med*; 350:459–468.
140. Michnovicz JJ, Hershcopf RJ, Haley NJ, Bradlow HL, Fishman J. (1989). Cigarette smoking alters hepatic estrogen metabolism in men: implications for atherosclerosis. *Metabolism* 38:537–541.
141. Michnovicz JJ, Hershcopf RJ, Naganuma H, Bradlow HL, Fishman J. (1986). Increased 2-hydroxylation of estradiol as a possible mechanism for the anti-estrogenic effect of cigarette smoking. *N Engl J Med* 315:1305–1309.
142. Mikkelsen TF, Graff-Iversen S, Sundby J, Bjertness E. (2007). Early menopause, association with tobacco smoking, coffee consumption and other lifestyle factors: a cross-sectional study. *BMC Public Health* 7:149

143. Morishima A, Grumbach MM, Simpson ER, Fisher C, Qin K. Aromatase deficiency in male and female siblings caused by a novel mutation and the physiological role of estrogens. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:3689-98.
144. Morrison NA, Cheng JQI, Akifumi T. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367:284-87.
145. Mundy GR and Guise TA. (1999). Hormonal control of calcium homeostasis. *Clin Chem*, 45, 1347-52.
146. Mundy GR, Chen D and Oyajobi BO. (2003). Bone remodeling. In *Primer of the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism.*, eds. Favus MJ, 5th ed., pp. 46-58. Lippincott, Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
147. Mundy GR, Rodan SB, Majeska RJ, DeMartino S, Trimmier C, Martin TJ and Rodan GA. (1982). Unidirectional migration of osteosarcoma cells with osteoblast characteristics in response to products of bone resorption. *Calcif Tissue Int*, 34, 542-6.
148. Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng JM, Behringer RR and de Crombrughe B. (2002). The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*, 108, 17-29.
149. Need AG, Kemp A, Giles N, Morris HA, Horowitz M & Nordin BE. (2002) Relationship between intestinal calcium absorption, serum vitamin D metabolites and smoking in postmenopausal women. *Osteoporosis International*. 13 83–88.
150. Nielsen HK, Brixen K, Bouillon R, Mosekilde L. (1990). Changes in biochemical markers of osteoblastic activity during the menstrual cycle. *J clin endocrinol metab*; 70: 1431-7.
151. Nijweide PJ, Burger EH and Klein-Nulend J. (2002) The osteocyte. In *Principles of Bone Biology*, eds. Bilezikian JP, Raisz LG and Rodan GA, 2nd ed., pp. 93-107. Academic Press, San Diego, USA.
152. Noble BS, Stevens H, Loveridge N and Reeve J. (1997). Identification of apoptotic changes in osteocytes in normal and pathological human bone. *Bone*, 20, 273-82.
153. Oakley AE et al. (2009). Cortisol reduces gonadotropin-releasing hormone pulse frequency in follicular phase ewes: influence of ovarian steroids. *Endocrinology* 150:341–349.
154. Ohta. H, Sugimoto. I, Masuda. A, Komukai. S, Suda. Y, Makita, K. (1996). Decrease bone mineral density associated early menopause progress for at least ten years: cross-sectional comparison between early and normal menopausal women. *Bone*, 18(3):227–31.

155. Okabe R, Nakatsuka K, Inaba M, Miki T, Naka H, Masaki H. (2001). Clinical evaluation of the Elecsys β -crosslaps serum assay, a new assay for degradation products of type I collagen C-telopeptides. *J Clin Chem* 47(8):1410-1414.
156. Oncken C et al. (2002). Effects of smoking cessation or reduction on hormone profiles and bone turnover in postmenopausal women. *Nicotine Tob Res* 4:451–458.
157. Owen TA, Aronow M, Shalhoub V, Barone LM, Wilming L, Tassinari MS, Kennedy MB, Pockwinse S, Lian JB and Stein GS. (1990). Progressive development of the rat osteoblast phenotype in vitro: reciprocal relationships in expression of genes associated with osteoblast proliferation and differentiation during formation of the bone extracellular matrix. *J Cell Physiol*, 143, 420-30.
158. Pacifici R. (1996). Estrogen, Cytokines and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *11:1043-51*.
159. Paik JM, Farwell WR, Taylor EN. (2011). Demographic, dietary, and serum factors and parathyroid hormone in the National Health and Nutrition Examination Survey. *Osteoporos Int*.
160. Parrott AC, Winder G (1998). Nicotine chewing gum and cigarette smoking comparative effects upon vigilance and heart rate. *psychopharmacology*. 97(2):261-257.
161. Price CP. (1993). Multiple forms of human serum alkaline phosphatase : detection and quantitation. *Ann Clin Biochem* 30: 355-72.
162. Price PA, Nishimoto SK. (1980). Radioimmunoassay for the vitamin K-dependent protein of bone and its discovery in plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 22348.
163. Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ. (1980). New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone GLA protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest* 66: 87883.
164. R Jorde, F Saleh, Y Figenschau, E Kamycheva, E Haug and J Sundsfjord. (2005). Serum parathyroid hormone (PTH) levels in smokers and non-smokers. The fifth Tromsø study. *European Journal of Endocrinology*;152 39–45.
165. Rapuri PB, Gallagher JC, Balhorn KE, Ryschon KL. (2000). Smoking and bone metabolism in elderly women. *Bone* 27:429–436.
166. Ravn P, Fledelius C, Rosenquist C, Overgaard K, Christiansen C. (1996). High bone turnover is associated with low bone mass in both pre and postmenopausal women, *Bone*, (19), 291-8.

167. Ravn P, Rix M, Andreassen H, Clemmensen B, Bidstrup M, Gunnes M. (1997). High bone turnover is associated with low bone mass and spinal fracture in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 60 : 255-60.
168. Recker R, Lappe J, Davies KM and Heaney R. (2004). Bone remodeling increases substantially in the years after menopause and remains increased in older osteoporosis patients. *J Bone Miner Res*, 19, 1628-33.
169. Rifkin BR and Heijl L. (1979). The occurrence of mononuclear cells at sites of osteoclastic bone resorption in experimental periodontitis. *J Periodontol*, 50, 636-40.
170. Riggs BL, Khosla S and Melton LJ. (1998). A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res*, 13, 763-73.
171. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. (2002). Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev* 23:279–302.
172. Riggs BL. (2000). The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. *J Clin Invest* 106:1203-4.
173. Robey P.G (2002). Bone Matrix Proteoglycans and Glycoproteins, In *Principles of Bone Biology*, J.P. Bilezikian, L.G. Raisz and G.A. rodan Editors, Academic Press Publishers, Chapter 14, 225-238.
174. Rogers A, Hannon RA, Eastell R. (2000). Biochemical markers as predictors of rates of bone loss after menopause. *J Bone Miner Res* 15:1398–1404.
175. Rosen HN, Moses AC, Garber J, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL. (1998). Utility of biochemical markers of bone turnover in the follow-up of patients treated with bisphosphonates. *Calcif Tissue Int*. 63:363–368.
176. Ross P, Knowlton W. (1998). Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers. *J Bone Miner Res* 13 : 297-302.
177. Rothem DE, Rothem L, Soudry M, Dahan A, Eliakim R (2009) Nicotine modulates bone metabolism-associated gene expression in osteoblast cells. *J Bone Miner Metab* 27:555–561.
178. Rubin RP, Warner W. (1975). Nicotine-induced stimulation of steroidogenesis in adrenocortical cells of the cat. *Br J Pharmacol* 53:357–362.
179. Ru-Chun Dai, Xian-Ping Wu, Er-Yuan Liao, Rana A. Hamdi. (2013). Evaluation of Serum Osteocalcin Level in Iraqi Postmenopausal Women with Primary Osteoporosis. *J Fac Med Baghdad Vol.55, No. 2*, pg.166-169.
180. Salo J, Lehenkari P, Mulari M, Metsikko K and Vaananen HK. (1997). Removal of osteoclast bone resorption products by transcytosis. *Science*, 276, 270-3.

181. Scharla SH, Ziegler R, Seibel MJ. (1998). Seasonal variation of biochemical indexes of bone turnover: results of a population-based study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83, 68 -75.
182. Schnitzler CM, Pettifor JM, Mesquita JM, Bird MDT, Schnaid E, Smyth AE. (1990). Histomorphometry of iliac crest bone in 346 normal black and white South African adults. *Bone Miner* 10:183-99.
183. Schousboe JT, Bauer DC, Nyman JA, Kane RL, Melton LJ, Ensrud KE. (2007). Potential for bone turnover markers to costeffectively identify and select postmenopausal osteopenic women at high risk of fracture for bisphosphonate therapy. *Osteoporos Int* 18:201–210.
184. Seeman E, Hopper JL, Bach LA .(1989). Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *N Engl J Med* 320:554-58.
185. Seibel MJ, Eastell R, Gundberg CM, Hannon RA and Pols HAP (2002). Biochemical markers of bone metabolism. In *Principles of Bone Biology*, eds. Bilezikian JP, Raisz LG and Rodan GA, 2nd ed., pp. 1543-1571. Academic Press, San Diego, USA.
186. Shan P. F, Wu XP, Zhang H, Luo XH, Cao XZ, Xie H. (2006). Age-related changes of serum bone alkaline phosphatase and cross-linked C-telopeptides of type I collagen and the relationship with bone mineral density in Chinese women. *Clin Chim Acta* 366 : 233-8.
187. Shiffman, S., and Balabanis, M. (1995). Associations between alcohol and tobacco. In: Fertig, J.B., and Allen, J.P., eds., *Alcohol and Tobacco: From Basic Science to Clinical Practice*. National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism Research Monograph No. 30. Bethesda, MD: National Institutes of Health. pp. 17–36.
188. Shiga T, Moriyoshi Y, Nagahara H. (2014). Bone turnover markers and risk factors associated with osteoporosis and decreased bone mass. *Ningen Dock International* 1:000-000.
189. Shin CS, Choi HJ, Kim MJ. (2010). Prevalence and risk factors of osteoporosis in Korea: a community based cohort study with lumbar spine and hip bone mineral density. *Bone* 47:378-387.
190. Silver IA, Murrills RJ and Etherington DJ. (1988). Microelectrode studies on the acid microenvironment beneath adherent macrophages and osteoclasts. *Exp Cell Res*, 175, 266-76.
191. Simonet WS, et al. (1997) Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 89, 309-19.
192. Smith DM, Nance WE, Kang KW, Christian JC, Johnston CC. genetic factors in determining bone mass. *J Clin Invest* 1973; 52:2800-8.

193. Smith EP, Boyod J, Frank GR, Korach KS. Estrogen resistance caused by mutation in the estrogen receptor gene in a men. *N Engl J Med* 1994; 331:1056-61).
194. Snow. CM., Shaw. JM and Matkin. CC. (1996). Physical activity and risk for osteoporosis. In: Marcus, R.; Feldman, D.; and Kelsey, J., eds. *Osteoporosis*. New York: Academic Press,. pp. 511–528.
195. Sorensen LT et al. (2010). Effect of smoking, smoking cessation, and nicotine patch on wound dimension, vitamin C, and systemic markers of collagen metabolism. *Surgery* 148:982–990.
196. Sowers MF, Galuska, DA (1993). Epidemiology of bone mass in premenopausal women. *Epidemiol Rev.* 15(2):374–98.
197. Stewart TL, Ralston SH. (2000). Role of genetic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *J endocrinol* 166:235-45.
198. Soontrapa MD, Soontrapa MD, Narong Bunyaratavej MD (2005). *J Med Assoc Thai* 88(Suppl 5): S29-33.
199. Szulc P et al. (2002). Increased bone resorption in moderate smokers with low body weight: the Minos study. *J Clin Endocrinol Metab* 87:666–674.
200. Tanaka H et al. (2006). Nicotine and lipopolysaccharide stimulate the formation of osteoclast-like cells by increasing macrophage colony-stimulating factor and prostaglandin E2 production by osteoblasts. *Life Sci* 78:1733–1740.
201. Tang TH, Fitzsimmons TR, Bartold PM. (2009). Effect of smoking on concentrations of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and osteoprotegerin in human gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol* 36:713–718.
202. Teitelbaum SL (2000) Bone resorption by osteoclasts. *Science*, **289**, 1504-8.
203. Teitelbaum, S.L. & Ross, F.P. (2003). Genetic regulation of osteoclast development and function, *Nature Reviews Genetics*, 4, 638-649.
204. Thiede MA, Smock SL, Petersen DN, Grasser WA, Thompson DD, Nishimoto SK. (1994). Presence of messenger ribonucleic acid encoding osteocalcin, a marker of bone turnover, in bone marrow megakaryocytes and peripheral blood platelets. *Endocrinology* 1 35: 929-37.
205. Tobias JH, Compston JE (1999). Does estrogen stimulate osteoblast function in postmenopausal women? *Bone* 24:121-24.
206. Trento LK, Pietriopoli A, Ticconi C. (2009). Role of type I collagen C telopeptide, bonespecific alkaline phosphatase and osteocalcin in the assessment of bone status.

207. Trummer H, Habermann H, Haas J, Pummer K. (2002) The impact of cigarette smoking on human semen parameters and hormones. *Hum Reprod* 17:1554–1559.
208. Turner, R.T. (2000). What do we know about the effects of space flight on bone? *Journal of Applied Physiology* 89:840–847.
209. Udagawa N, Takahashi N, Akatsu T, Tanaka H, Sasaki T, Nishihara T, Koga T, Martin TJ and Suda T. (1990). Origin of osteoclasts. *proc natl acad sci u s a*, **87**, 7260-4.
210. Väänänen HK, Karhukorpi EK, Sundquist K, Wallmark B, Roininen I, Hentunen T, Tuukkanen J and Lakkakorpi P (1990). Evidence for the presence of a proton pump of the vacuolar H(+)-ATPase type in the ruffled borders of osteoclasts. *J Cell Biol*, 111, 1305-11.
211. Väänänen HK, Zhao H, Mulari M and Halleen JM (2000). The cell biology of osteoclast function. *J Cell Sci*, 113 (Pt 3), 377-81.
212. Väänänen K and Zhao H. (2002). Osteoclast function. In *Principles of Bone Biology*, eds. Bilezikian JP, Raisz LG and Rodan GA, 2nd ed., pp. 127-139. Academic Press, San Diego, USA.
213. Vanita R. Jagtap, Jayashri V. Ganu, Nitin S. Nagane. (2011). BMD and Serum Intact Osteocalcin in Postmenopausal Osteoporosis Women, *Ind J Clin Biochem.*, 26(1), 70-83.
214. Vergnaud P, Garnero P, Meunier PJ, Breart G, Kamihagi K, Delmas PD: Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: The EPIDOS study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997, **82**, 719-724.
215. Villablanca AC. (1998). Nicotine stimulates DNA synthesis and proliferation in vascular endothelial cells in vitro. *J Appl Physiol* 84:2089–2098.
216. Walker LM, Preston MR, Magnay JL, Thomas PB, El Haj AJ. (2001). Nicotinic regulation of c-fos and osteopontin expression in human-derived osteoblast-like cells and human trabecular bone organ culture. *Bone* 28:603–608.
217. Watts NB. (1999). Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clin Chem* 45:1359-65.
218. Whitcomb BW et al. (2010) Ovarian function and cigarette smoking. *Paediatr Perinat Epidemiol* 24:433–440.
219. Winzenberg TM, Riley M, Frendin S, Oldenburg B, Jones G. (2005). Sociodemographic factors associated with calcium intake in premenopausal women: a cross-sectional study. *Eur J Clin Nutr* 59:463–466.

220. Wong PKK, Christie JJ, Wark JD (2007). Review: The effects of smoking on bone health. *Clin Sci.*; 113:233–41.
221. Xi-Yu Wu, Hong-Li, Hui Xie, Xiang-Hang Luo, Yi-Qun Peng, Ling-Qing Yuan, Zhi-Feng Sheng. (2014). Age-related bone turnover markers and osteoporotic risk in native Chinese women. *BMC Endocrine Disorders* 14:8.
222. Xu T et al. (1998). Targeted disruption of the biglycan gene leads to an osteoporosis-like phenotype in mice. *Nat Genet*, 20, 78-82.
223. Yan L, Prentice A, Zhou B, Zhang H, Wang X, Stirling DM, Laidlaw A, Han Y, Laskey A. (2002). Age- and gender-related differences in bone mineral status and biochemical markers of bone metabolism in Northern Chinese men and women. *Bone* , **30**, 412-415.
224. Yeh J, Barbieri RL. (1989). Twenty-four-hour urinary-free cortisol in premenopausal cigarette smokers and nonsmokers. *Fertil Steril* 52:1067–1069.
225. Yuhara S et al. (1999) Effects of nicotine on cultured cells suggest that it can influence the formation and resorption of bone. *Eur J Pharmacol* 383:387–393.

PËRMBLEDHJE

Duhanpirja është një përcaktues i rëndësishëm për osteoporozën. Ka disa mekanizma nëpërmjet të cilave duhani indukon efektet toksike në kockë. Qëllimi i këtij studimi ishte përcaktimi i turnoverit të kockës duke përdorur markerët biokimikë si: beta krosslapi (β -CTX), osteokalcina (OC), fosfataza alkaline (ALP), hormoni i paratiroides (PTH) dhe ndikimi i duhanit në nivelin e këtyre markerëve. Në studim morrën pjesë 100 gra: 20 gra në premenopauzë dhe 80 në postmenopauzë. Gratë në postmenopauzë u klasifikuan në dy grupe në varësi të konsumit të duhanit (duhanpirëse dhe joduhanpirëse). Të gjithë subjektet plotësuan një pyetësor në lidhje me mënyrën e jetesës. U mat pesh dhe gjatësia. Densiteti mineral i kockës u përcaktua duke përdorur teknikën ultrasound kuantitative (QUS). U mblodhën mostrat e serumeve dhe niveli i markerëve biokimikë u mat duke përdorur teknikën e elektrokemioluminiscencës (ECL) në aparatit Elecsys 2010. Gratë postmenopauzike që konsumonin duhan karakterizohen nga nivele më të larta të OC ($p=0.016$), β -CTX ($p=0.021$) dhe ALP ($p=0.008$), por nivele më të ulta të PTH ($p=0.04$), krahasuar kjo me gratë që nuk konsumojnë duhan. Densiteti mineral i kockës ishte gjithashtu më i ulët tek duhanpirësit ($p=0.008$) krahasuar me joduhanpirësit. Rezultatet tregojnë se duhanpirja ul densitetin mineral të kockës dhe vjen si pasojë e një absorbimi të reduktuar të kalçiumit dhe rritjes së markerëve të rimodelimit të kockës.

Fjalë kyçe: *Postmenopauza, Osteoporozë, Markerët e turnoverit të kockës, Duhanpirja, Elektrokemioluminiscenca.*

ABSTRACT

Smoking is an important determinant of osteoporosis. There are a wide variety of mechanisms by which smoking induces bone toxic effects. The aim of this study was to assess bone turnover using biochemical markers, such as beta crosslap (β -CTX), osteocalcin (OC), alkaline phosphatase (ALP), parathyroid hormone (PTH) and determine their relationship with smoking. A total of 100 Albanian women participated in the study: 20 premenopausal women and 80 postmenopausal women. Postmenopausal women were divided into two groups according to their smoking status (smokers and non smokers). All subjects completed a questionnaire on life style factors. Height and weight were measured. Bone density was scanned using Quantitative Ultrasound (QUS). Serum samples were collected and levels of bone turnover markers were measured by electrochemiluminescence (ECL) using Elecsys 2010. Postmenopausal women who smoke had significantly higher levels of serum OC ($p=0.016$), β -CTX ($p=0.021$) and ALP ($p=0.008$) but reduced levels of PTH ($p=0.04$) compared to nonsmokers postmenopausal women. Bone mineral density was lower in smokers ($p=0.008$) compared with nonsmokers. These results suggests that smoking lowers bone mineral density, and is a result of decreased calcium absorption and increased bone remodeling markers.

Key words: *Postmenopaus, Osteoporosis, Bone turnover markers, Smoking, Electrochemiluminescence*

LISTA E PUBLIKIMEVE

Në kuadër të këtij studimi janë publikuar 4 artikuj dhe është realizuar pjesëmarrja në 5 konferenca:

Artikuj të botuar:

1. **L.HYSI, T. REXHA.** “The use of biochemical markers of bone turnover in the Diagnosis of postmenopausal osteoporosis”. Journal of International Academic Research for Multidisciplinary; Volume 2, Issue 5 (Qershor 2014): ISSN 2320-5083, fq 462-467. A global society for multidisciplinary research (www.jiarm.com)
2. **L.HYSI, T. REXHA.** “Përdorimi i beta crosslap-it si një marker i resorbimit të kockës tek gratë në periudhën postmenopauzike”. Buletini i Shkencave të Natyrës; Nr 17 (2014): ISSN 2305-882X, fq 11-18.
3. **L.HYSI, T. REXHA.** “The influence of smoking on postmenopausal bone markers”. Albanian journal of agriculture science; Volume 12 (4) (2013): ISSN 2218-2020, fq 759-762.
4. **L.HYSI, T. REXHA.** “Studimi i nivelit të vitaminës D në popullatën shqiptare”. Buletini i Shkencave të Natyrës; Nr 16 (2013): ISSN 2305-882X, fq 112-117.

Konferenca:

1. **L.HYSI, T. REXHA, I. KULLOLLI.** “Bone mineral density and factors associated with osteoporosis in pre and postmenopausal albanian women”. V International Symposium of Ecologists of the Republic of Montenegro, Tivat, Montenegro, 02-05.10.2013. Abstract book ISBN: 978-86-908743-4-7, fq 35 dhe Proceeding book ISSN: 1800-7155, fq 479-485 .
2. **L.HYSI, T. REXHA.** “Serum osteocalcin as a specific marker of bone turnover in postmenopausal women”. First International Conference “Biotechnology in Agriculture” at Agricultural University of Tirana, Albania, 22-23 April 2014. Abstract book ISBN: 978-9928-4217-0-8, fq 66-67 dhe Proceeding book ISSN: 2218-2020, fq 341-344.
3. **L.HYSI, T. REXHA, A.MITRE.** “The effects of smoking on vitamin D status, PTH and calcium in postmenopausal women with problems of osteoporosis”. The 1-st International Conference “Research and Education challenges Towards the Future”, Shkodër, Albania, 24-25 May 2013. Proceeding book ISBN: 2308-0825, (<http://icrae2013.unishk.edu.al/icraecd2013/>).
4. **L.HYSI, T. REXHA.** “Cigarette smoking and bone metabolism in postmenopausal women”. 2nd International Conference “Research and Education challenges Towards the Future”, Shkodër, Albania, May 2014. Proceeding book ISBN: 2308-0825
5. **L.HYSI, T. REXHA.** “Studimi i nivelit të vitaminës D në popullatën shqiptare”. Konferenca shkencore “Fakulteti i Shkencave të Natyrës në 100 vjetorin e pavarësisë”, Tiranë, 22-23 Nëntor, 2012. Libri i abstrakteve, fq 30-31.