

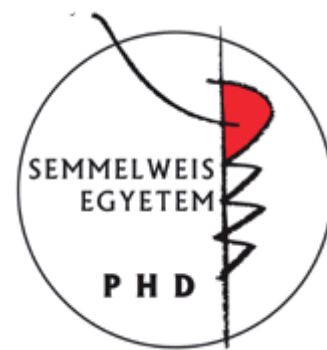
# Femur és mandibula mikromorfológiai vizsgálata osteoporosisban kétféle egér modellen

Doktori értekezés

**Kovácsné dr. Körmendi Szandra Katalin**

Semmelweis Egyetem

Rácz Károly Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Prof. Dr. Dobó-Nagy Csaba PhD. egyetemi tanár

Hivatalos bírálók: Dr. Szalma József DSc. egyetemi docens  
Dr. Joób-Fancsaly Árpád PhD. egyetemi docens

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Prof. Dr. Gera István PhD. egyetemi tanár

Tagok: Prof. Dr. Barabás József PhD. egyetemi tanár  
Dr. Gerber Gábor PhD. egyetemi docens

Budapest  
2022

## Tartalomjegyzék

Rövidítések listája	3
1. Bevezetés	6
1.1. Osteoporosis	6
1.1.1. Az osteoporosis epidemiológiája	7
1.1.2. Az osteoporosis diagnosztikája	9
1.1.3. Az osteoporosisok típusai	10
1.1.3.1. A Frank-Ter Haar szindróma (FTHS)	12
1.1.4. Az osteoporosis prevenciója	14
1.1.5. Az osteoporosis kezelése	15
1.1.5.1. Reszorpció gátló kezelések	16
1.1.5.1.1. Stroncium ranelát	16
1.1.5.1.2. Női hormonpótló kezelés	16
1.1.5.1.3. SERM – szelektív ösztrogénreceptor modulátorok	17
1.1.5.1.4. Biszfoszfonátok	17
1.1.5.1.5. RANK-ligand ellenes monoklonális antitest	19
1.1.5.2. Csontképzést fokozó hatóanyagok	20
1.1.5.2.1. Teriparatid	20
1.1.5.2.2. Abaloparatid	20
1.1.5.2.3. Romosozumab	21
1.1.5.3. D-vitamin és kalcium pótlás	21
1.1.5.3.1. A D-vitamin anyagcseréje	23
1.1.5.3.2. A D-vitamin hatásai	24
1.1.5.3.3. A D-vitamin hiány tünetei	26
1.2. Állatmodellek az osteoporosis okozta csont mikroarchitektúra vizsgálatában	28
1.2.1. Patkány modellek	29
1.2.2. Egér modell	30
1.2.3. Egyéb állatmodellek	31
2. Célkitűzések	36
3. Módszerek	37
3.1. Cephalometriai analízis mikro-CT segítségével az Sh3pxd2b-KO egér modellen	37

3.2. A Tks4 deficiencia hatásának vizsgálata a csontmikromorfológiára Sh3pxd2b-KO egértörzsön	38
3.3. A D-vitamin hatása a femur csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira	39
3.4. A D-vitamin hatása a mandibula csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira	41
3.5. A D-vitamin hatása a mandibula condylus csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira	43
3.6. A D-vitamin hatása a femur és a mandibula bone mineral density (BMD) értékére	44
4. Eredmények	45
4.1. Cephalometriai analízis mikro-CT segítségével az Sh3pxd2b-KO egér modellen	45
4.2. A Tks4 deficiencia hatásának vizsgálata a csontmikromorfológiára Sh3pxd2b-KO egértörzsön	47
4.3. A D-vitamin hatása a femur csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira	49
4.4. A D-vitamin hatása a mandibula csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira	51
4.5. A D-vitamin hatása a mandibula condylus csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira	53
4.6. A D vitamin hatása a femur és a mandibula bone mineral density (BMD) értékére	55
5. Megbeszélés	57
5.1. Cephalometriai analízis mikro-CT segítségével az Sh3pxd2b-KO egér modellen	57
5.2. A Tks4 deficiencia hatásának vizsgálata a csontmikromorfológiára Sh3pxd2b-KO egértörzsön	57
5.3. A D-vitamin hatása a femur, a mandibula és a condylus csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira és a bone mineral density (BMD)-re	59
6. Következtetések	73
7. Összefoglalás	74
8. Summary	75
9. Irodalomjegyzék	76
10. Saját publikációk jegyzéke	98
11. Köszönetnyilvánítás	100

## Rövidítések listája

AAOMS	American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons, Amerikai Arc-Állcsont- és Szájsebészeti Társaság
ARONJ	Antiresorptive agent-related osteonecrosis of the jaw, antireszorptív terápia által indukált állcsont osteonecrosis
BALP	Bone alkaline phosphatase, csont alaklikus foszfatáz
BMD	Bone mineral density, csont ásványianyag sűrűség
BMI	Body mass index, testtömeg index
BMP	Bone morphogenetic protein, csont morfogenetikus fehérje
BRONJ	Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw, biszfoszfonát indukálta állcsont osteonecrosis
BS/BV	Bone surface to volume ratio, csont felszín-térfogat arány
BV	Bone volume, csont térfogat
BV/TV	Percent bone volume, csonttérfogat százalék
Ca.Dm	Canal diameter, csatorna átmérő (Havers)
CaHA	Calcium hydroxyapatite, kalcium-hidroxiapatit
Ca.S	Canal surface, csatorna felület (Havers)
Ca.Sp	Canal separation, csatorna távolság (Havers)
Ca.V	Canal volume, csatorna térfogat (Havers)
CKD	Chronic kidney disease, krónikus vesebetegség
CMD	Craniomandibular dysfunction, craniomandibuláris diszfunkció
Ct.Po	Cortical porosity, kortikális porozitás
Ct.Th	Cortical thickness, kortikális vastagság
DBP	Vitamin D binding protein, D-vitamin kötő fehérje
DEXA	Dual energy X-ray absorptiometry, kétspektrumú-röntgenabszorpciometria
DRONJ	Denosumab-Related Osteoporosis of the Jaw, Denosumab indukálta állcsont oszteonekrózis
EMA	European Medicines Agency, Európai Gyógyszerügynökség
EVOS	European Vertebral Osteoporosis Study

FDA	Food and Drug Administration
FEA	Finite element analysis, végeelem analízis
FGF23	Fibroblast growth factor 23, fibroblaszt növekedési faktor 23
FTHS	Frank-Ter Haar szindróma
FRAX	Fracture Risk Assessment Tool, törési kockázat értékelő eszköz
MNS	Melnick-Needles szindróma
MOOT	Magyar Osteoporosis és Osteoarthológiai Társaság
MRONJ	Medication-related Osteonecrosis of the Jaw, gyógyszer indukálta állcsont oszteonekrózis
MAÁSZT	Magyar Arc-, ÁLLcsont- és Szájsebészeti Társaság
NPF	Non-linear pattern factor, nem lineáris mintázati tényező
OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man, emberi gének és genetikai rendellenességek online katalógusa
QUS	Quantitative ultrasound, kvantitatív ultrahang
PINP	Procollagen type I. N-terminal propeptide, I. típusú prokollagén N-terminális propeptidje
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa B-ligand, nukleáris faktor kappa B ligandum
ROI	Region of interest, kijelölt vizsgálati terület
SAMP6	Senescence-accelerated mouse P6, öregedés gyorsított egér P6
SD	Standard deviáció
SERM	Selective estrogen receptor modulator, szelektív ösztrogén receptor modulátor
SMI	Structural model index, strukturális modell index
Tb.N	Trabecular number, trabekulák száma
Tb.Pf	Trabecular bone pattern factor, trabekuláris mintázati tényező
Tb.Sp	Trabecular separation, trabekuláris távolság
Tks4	Tyrosine kinase substrate 4, tirozin-kináz szubsztrát 4
TMI	Temporomandibuláris ízület
tot	Total porosity, teljes porozitás
TRPV	Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily Vanilloid, tranziens receptor potenciál vanilloid receptor család

TV	Tissue volume, szövet térfogat
VDR	Vitamin D receptor, D-vitamin receptor
WHO	World Health Organization, Egészségügyi Világszervezet

# 1. Bevezetés

## 1.1. Osteoporosis

Az osteoporosis a csontok olyan generalizált megbetegedése, mely csökkent csonttömeg mellett mikroarchitektúra változással jár. Ezek következményeképpen a törési rizikó megnövekszik (Lakatos és mtsai 2011). Mivel a betegség progressziója tünetmentesen vagy tünetszegényen történik, a betegség sokszor csak akkor kerül felismerésre, mikor az első típusos törés megtörténik (Rachner és mtsai 2011).

Sajnos ez a meghatározás kevés gyakorlati segítséget nyújt és nem tekinthető teljesen egyértelműnek sem, ezért a WHO (World Health Organization) által ajánlott csoportbeosztás nagyobb segítséget jelent a gyakorló orvosok számára. Ennek alkalmazásához meg kell határozni a páciens BMD (Bone Mineral Density) értékét, mely leggyakrabban DEXA (dual energy X-ray absorptiometria) segítségével történik. A mért BMD érték az egészséges fiatalkori csúcs-csonttömeghez viszonyított különbségét a fiatal populáció normál átlagértékének szórásában (SD) lehet kifejezni. Ez a T-score érték. Ha korrall és nemmel is korrigálják a BMD érték standard deviációját, akkor Z-score értékről beszélünk. A T-score tekintetében a WHO az alábbi csoportokat definiálja (1. táblázat) (WHO Study Group 1994, Kanis és mtsai 1994). A BMD érték, T-score és Z-score kritikus megítélése a későbbiekben részletesebben ismertetésre kerül.

*1. táblázat – A WHO által a T-score értékek alapján meghatározott csoportok (Kanis és mtsai 1994 alapján)*

<b>T-score</b>	<b>kategória</b>
+1,0 SD > T-score > -1,0 SD	egészséges csontozat
-1,0 SD > T-score > -2,5 SD	osteopenia
-2,5 SD > T-score	osteoporosis
-2,5 SD > T-score + 1 vagy több porotikus törés	súlyos osteoporosis

Ha a BMD érték  $0,1 \text{ g/cm}^2$ -rel csökken, akkor ez nőknél 60-70 %-kal, férfiaknál 30-40 %-kal növeli meg a csontok törékenységét. A standard deviáció, tehát az eltérések felől megközelítve a kérdést az állapítható meg, ha a BMD 1 SD-vel csökken, az átlagosan 2,5-szeres törési kockázat növekedést jelent (Caudarella és mtsai 2003).

### **1.1.1. Az osteoporosis epidemiológiája**

Az, hogy a csonttrikulás népbetegség, nem vonható kétségbe, mivel a legelfogadottabb adat szerint a világon 200-250 millió embert érint (Kanis és mtsai 2019). Az utóbbi négy évtizedben csak Kínában elérte a csonttrikulásos betegek száma a 110 milliót, amit a kutatók elsősorban a társadalom elöregedésével magyaráznak (Chai és mtsai 2021). Ám ha az osteoporosis WHO meghatározása alapján megadott T-score értékei alapján végeznek elemzést, akkor a betegség az 50 év feletti nők körülbelül 21,2 %-át és az azonos korú férfiak 6,3 %-át érintheti világszerte (Kanis és mtsai 2008). Ez pedig már 2008-ban, ha a világ akkori népességét vesszük alapul, arra utalt, hogy világszerte akár 500 millió férfi és nő lehetett érintett, úgy, hogy sok esetben nem is tudtak a betegségükről (Johnell és mtsai 2006).

Magyarországon az EVOS (European Vertebral Osteoporosis Study) tanulmány szerint a csonttrikulás 900 ezer főt érint. A betegek kétharmada nő (Kanis és mtsai 2008, Sebestyén és mtsai 2008). Ezek a számok azt mutatják, hogy a csonttrikulás sokkal gyakoribb, mint más, nagyobb figyelmet kapó betegség, például a diabetes mellitus 2-es típusa, melynek becsült magyarországi betegszáma 727 ezer fő volt 2014-ben (Sebestyén és mtsai 2008, Saedi és mtsai 2019). Sajnos abban hasonló a két betegség, hogy sokáig tünetmentes lehet, így a nem diagnosztizált és kezeletlen esetek tovább növelhetik az előfordulásukat. Tovább nehezíti a pontos betegszámok megadását, hogy egyik betegségnek sincs összefoglaló adatbázisa, így a páciensek számát legtöbbször a specifikus kezelési módokból illetve a felírt gyógyszerek mennyiségéből számolják. Abban azonban egyetértenek a kutatók, hogy a páciensek számának drasztikus emelkedése várható az elöregedő társadalmakban (Sebestyén és mtsai 2008, Saedi és mtsai 2008).

A csonttrikulás jelentőségét jól láthatóan reprezentálják az alábbi adatok is. Világszerte 8,9 millió osteoporotikus törést kezelnek évente, ami azt jelenti, hogy minden harmadik másodpercben bekövetkezik egy törés (Johnell és mtsai 2006). Hazánkban 30-40 ezer



csigolyatest törés, 15 ezer csípőtáji törés és 8-10 ezer felkartörés fordul elő évente (Somogyi és mtsai 2000). Az osteoporosisal összefüggésbe hozható törések, az alkarcsont törésének kivételével, megnövelik a betegség mortalitását (Cooper és mtsai 1993). Csak az Európai Unióban 2010-ben 43 ezer főre becsülték azon elhalálozások számát, melyeket osteoporotikus törésekre lehetett visszavezetni (Kanis és mtsai 2012). A csonttrikulás miatt bekövetkezett csípőtáji törések után a betegek 12-20 %-a hal meg egy éven belül, és csak 20%-uk teljes gyógyulásával számolhatunk (Sebestyén és mtsai 2008). A törés utáni 3-6 hónapban történik a legtöbb haláleset, melyek 20-30 %-ban a törés közvetlen következményei (Kanis és mtsai 2003). Világszerte a férfiak esetén 210 %-ára, nők körében 310 %-ára nőhet a csípőtörések előfordulása 2050-re az előzetes kalkulációk alapján (Gullberg és mtsai 2007). A csuklótörések előfordulási adatai azért különösen fontosak, mert érzékeny jelzői lehetnek a férfiak, kevesebb figyelmet kapó csonttrikulásának. Európában az éves incidencia férfiaknál 1,7 fő/1000 személy volt 2002-ben (Ismail és mtsai 2002).

A társadalmak számára gazdaságilag is jelentős terhet jelent a csonttrikulás. 2005-ben az osteoporosis miatti törések ellátásának költsége Európában 32 milliárd eurót tett ki, de úgy becsülték, hogy 2025-re ez az összeg 38,5 milliárd euróra fog emelkedni (Störm és mtsai 2011). A becslés sajnos elmaradt a tényleges emelkedéstől: már 2019-ben az osteoporotikus törések ellátási költsége 56 milliárd euróval terhelte meg az egészségügyi kasszákat Európában (Kanis és mtsai 2021). A magyar társadalombiztosítás csak az osteopathiak diagnosztizálására évente 3-4 milliárd forintot költ, kezelésük további 10 milliárd forint kiadást jelent. A lakosság ezen felül, 2-4 milliárd forintot költ antiporotikus gyógyszerekre (Magyar Osteoporosis és Osteoarthrológiai Társaság jelentése 2017).

Világszerte számos törekvéssel találkozhatunk, mint például a Break Free from Osteoporosis, melyek a csonttrikulás megelőzésének, kutatásának vagy a páciensek tájékoztatásának céljából jöttek létre. Magyarországon 1995-ben a Magyar Osteoporosis és Osteoarthrológiai Társaság (MOOT) kezdeményezésében, a Nemzeti Osteoporosis Program keretében megkezdték országsszerte az Osteoporosis Centrumok kilakítását (Poór és mtsai 2006). Magyarország is csatlakozott 2000-ben ahhoz a kezdeményezéshez, melyet egy svéd orvoscsoporthoz javaslatára, az ENSZ és a WHO közösen hirdetett meg. Ez volt A Csont és Ízület Évtizede (The Bone and Joint Decade) program, melyet 2011-ben

újabb 10 évre meghosszabbítottak a probléma jelentősége miatt (Johnson és mtsai 2011). Az osteoporosis világnapja október 20-án van.

### **1.1.2. Az osteoporosis diagnosztikája**

A csontsűrűség mérés vagy denzitometria több módon is lehetséges és ez a csonttritkulás egyik alapvető diagnosztikai eszköze. Legelterjedtebb, standard módszer a fentebb is említett DEXA eljárás. Ennek alapja, hogy a szövetek kalcium tartalma nagyon érzékenyen arányos a röntgensugarak elnyelésével. A DEXA eljárás egész testen vagy kiemelt régiókban is elvégezhető, mint a csukló, a csípőízület, az ágyékcsigolyák vagy a sarok területe. Ezeket a régiókat egy speciális, két különböző energiájú röntgensugárzást kibocsájtó berendezéssel vizsgálják, így a terület, vagy az egész test sugárelnyeléséből kivonva a lágyrészekét, megkapható a csontok sugárelnyelése. Az eljárás alacsony sugárterheléssel jár, de a csontsűrűség kismértékű változásai is kimutathatók vele. Limitációi közt említhető, hogy bizonyos súly (120 kg) és magasság (185 cm) felett a gépek paraméterei általában nem teszik lehetővé a vizsgálatot, valamint a pontos kiértékelést megnehezíti egy megelőző törés vagy scoliosis illetve osteoarthritis. A csontszövet mennyisége alul becsülhető osteomalacia esetén (Ferrar és mtsai 2008).

A kvantitatív ultrahang (QUS) és a digitális röntgen-radiogrammetria kevésbé elterjedt megoldás a csontsűrűség mérésére.

A törési rizikó becslése nagy fontosságú az osteoporosis diagnosztikájában, mivel a törések bekövetkeztének valószínűsége alapján állítják fel a terápiát és tulajdonképpen a csonttritkulás kezelésének egyik elsődleges célja a törési rizikó csökkentése. A törési rizikó egyik, de nem egyetlen meghatározó tényezője a BMD. Az elmúlt évek vizsgálatai igazolták, hogy a porotikus töréseken átesett páciensek közt sokaknak normális csontsűrűség értéke van, ugyanakkor sokan nem szenvednek el törést még alacsony BMD érték mellett sem. Ennek oka az, hogy az egyéni rizikófaktorok jelentősen befolyásolják a törési kockázatot (Szathmári és mtsai 2011). Mindezek mellett fontos azonban az is, hogy milyen jellegű törésnek, és milyen törési helyen szeretnénk a törési rizikóját megbecsülni (Gonnelli és mtsai 2005). A törési rizikó kiszámítására többféle szoftvert alkalmaznak, mint a QFracture<sup>TM</sup> vagy a FRAX® (Fracture Risk Assessment Tool). Ez utóbbi a magyar társadalombiztosítás által is finanszírozott diagnosztikai eszköz. A

FRAX® integrálja a páciens BMD értékét és 11 kockázati tényezőjét, mint például a páciens kora, neme, BMI (Body Mass Index) értéke, hogy dohányzik-e, fogyaszt-e alkoholt, volt-e megelőzően porotikus törése vagy reumatoid arthritis-e. A FRAX® algoritmus kiszámítja a csonttrikulással összefüggő major törések előfordulási valószínűségét 10 éven belül.

Az Egyesült Királyságban alkalmazott protokoll szerint, ha a páciens 50 év feletti osteoporotikus nő és a FRAX® értéke 7% feletti major porotikus törés-valószínűséget mutat, akkor költséghatékonyá válik a kezelése és ezért támogatják. Ez a terápiás FRAX® küszöbérték az életkorral emelkedik (Kanis és mtsai 2008). A hazai szakmai irányelv a FRAX®-ot az alap-diagnosztikai eljárások közé sorolja, valamint leírja, hogy a kezelés megfontolandó, ha a csípőtáji törés rizikója kisebb, mint 3% illetve a major porotikus törési rizikó nagyobb, mint 20% (Péntek és mtsai 2016).

A csontformáció és csontreszorpció markereinek mérése a szérumban illetve a vizeletben is történhet. A markerek elemzése segítséget nyújt a diagnózis felállításában, a törési rizikó becslésében és a terápia hatékonyságának megítélésében. A csontformáció specifikus markerei a szérumban a csontspecifikus alkalikus foszfatáz (BALP), az I. típusú prokollagén N-terminális propeptidje (PINP) valamint az osteocalcin. A csontreszorpció markerei a szérumban és vizeletben a béta-crosslaps valamint az I. típusú kollagén karboxi- illetve aminoterminális telopeptidjei (Naylor és mtsai 2012).

### 1.1.3. Az osteoporosisok típusai

Az osteoporosisok beosztását kóreredit alapján lehet elvégezni. Primer csonttrikulásról akkor beszélhetünk, ha a másodlagos osteoporosishoz vezető kórképeket ki lehetett zárni. A **szekunder** csonttrikulásnak gyógyszer mellékhatásokon túl számos gastroenterológiai, endokrin vagy hematológiai oka lehet. **Endokrin betegségek** közül népegészségügyi szempontból is igen jelentős a diabetes mellitus és a hyperthyreosis, melyek alapjául szolgálhatnak szekunder osteoporosisnak. **Gastroenterológiai megbetegedések** és állapotok közül kiemelendők a különböző felszívódási zavarok, akár műtét, például gyomor bypass műtét miatt, akár gyulladásos betegség talaján alakultak ki, mert ezek nagy számban okozhatnak szekunder csonttrikulást. Kimutatták azt is, hogy a

bélrendszerben található baktériumflóra összetétele befolyással bír a csonthomeosztázisra azáltal, hogy hatással van egyes anyagok, például kalcium, felszívódására (Behera és mtsai 2020). **Vérképzőszervi betegségek** közül szekunder osteoporosis leggyakrabban myeloma multiplex és béta-thelassemia kapcsán kerül diagnosztizálásra. Fontosak azon szekunder formák, melyek **gyógyszermellékhatásként** jelentkeznek. Ilyen gyógyszerek lehetnek a kortikoszteroidok, a metothrexat, a protonpumpa gátlók vagy a pajzsmirigyhormon pótlók. Szekunder osteoporosis kialakulásával számolni kell hosszú immobilizáció esetén is.

A **primer** osteoporosisokat a páciens életkora alapján tudjuk a szakmai konszenzus alapján két csoportra osztani. **Juvenilis** osteoporosisról beszélünk, ha a páciens életkora a pubertás és 20-as éveinek vége közé esik. Ez egy rendkívül ritka megbetegedési forma. Az **involutiós** osteoporosis további alcsoportjai a posztmenopauzás illetve szenilis osteoporosis. **Posztmenopauzás** formáról beszélünk, ha a menopauzát követően, de a 65. életévet megelőzően alakul ki a megbetegedés. Ennek a csoportnak a jelentősége tulajdonképpen abban van, hogy ez a menopauza utáni gyors csontvesztés 3-5 éves időszaka (Takács 2016). Pathofiziológiai magyarázata ennek a típusnak egyrészt az, hogy az ösztrogén szint csökkenés hatására nő az osteoclastok és csökken az osteoblastok száma (Clarke és mtsai 2010). Másrészt az elinduló osteoimmunológiai folyamatok során felszabaduló citokinek és mediátorok a remodellinget a bontás irányába billentik (Föger-Samwald és mtsai 2020). A leggyakoribb primer forma az időskori vagy **szenilis** osteoporosis, melyet 65 év felett diagnosztizálnak. A beosztás ellentmondásossága miatt nehéz elhelyezni, besorolni a férfiak 65 éves kor alatt kialakult csontritkulását, illetve nehezen magyarázható a primer formák közötti elhelyezése a posztmenopauzás osteoporosisnak, hiszen ez tulajdonképpen egy hormonhiány miatt kialakuló másodlagos formának is tekinthető (2. táblázat) (Takács 2016).

2. táblázat – Osteoporosisok beosztása (Takács 2016 alapján)

Osteoporosis		
Primer osteoporosis		Szekunder osteoporosis
<i>Juvenilis</i>	<i>Involutiós</i>	
	<i>Posztmenopauzás</i>	<i>Szenilis</i>
		<i>Endokrin betegségek</i> –diabetes mellitus, hyperthyreosis, hypogonadismus <i>Gastroenterológiai megbetegedések</i> – felszívódási zavarok, májbetegségek, pancreas elégtelenség, gyulladásos bélbetegségek <i>Vérképzőszervi betegségek</i> – myeloma multiplex, béta-thalassemia <i>Gyógyszerindukált formák</i> – kortikoszteroidok, protonpumpa gátlók, pajzsmirigy hormonok, cyclosporin-A Immobilizáció

### 1.1.3.1. A Frank-Ter Haar szindróma (FTHS)

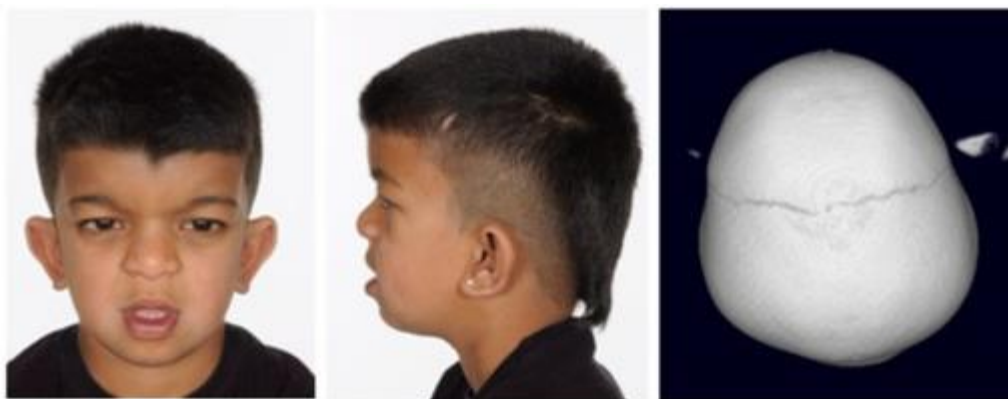
Ritkán, de vannak olyan megbetegedések, melyeknél nehéz a fenti besorolást alkalmazni, és nem sorolhatóak be egyértelműen az említett csontitkulás típusok közé. Elsősorban olyan betegségeknél igaz ez, ahol a csontképződés valamilyen eleme genetikailag károsodott. Ilyen a Frank-ter Haar szindróma is.

Frank és munkatársai 1973-ban írtak le egy ritka, genetikai háttérrel rendelkező tünetegyüttest (Frank és mtsai 1973), amit ter Haar és munkatársai 1982-ben pontosítottak és egyben el is neveztek Melnick-Needles szindrómának (MNS) (ter Haar és mtsai 1982). A szindróma hivatalos neve Frank-ter Haar szindróma, de a szakirodalomban találkozhatunk az előbbi Melnick-Needles szindróma, Borrone Dermatocardioskeletal Syndrome vagy a Megalocornea, Multiple Skeletal Anomalies, and Developmental Delay elnevezéssel is. Az emberi gének és genetikai rendellenességek online katalógusában (OMIM) az azonosítója 229420.

A FTHS előfordulásáról annyit tudunk, hogy meglehetősen ritka, és a százalékos előfordulás megállapításához még kevés az adat (OMIM 2021). 2020-ig a

szakirodalomban csak 40 teljesen dokumentált esetet ismertettek, de ez nyilván nem mutatja meg a szindróma prevalenciáját (Durand és mtsai 2020).

Összesen 79 különböző tünetet kapcsoltak eddig a FTHS-hoz, melyek a pácienseknél eltérő gyakorisággal jelentkeznek. A leggyakoribbak előfordulása 80 és 99 % között van a pácienseknél. Ezek a megrövidült és görbe csöves csontok, a hiperteleorizmus, a glaukóma, a koponya fejlődési rendellenességei közül a rövid filtrum és a széles orrnyereg, valamint a mitrális prolapsus. Szintén nagyon gyakran diagnosztizálnak a pácienseknél csigolya kompressziós töréseket és egyéb csonttöréseket. Vannak olyan tünetek, melyek még gyakoriak, de a pácienseknél csak 30-79 %-ban figyelhetőek meg. Ilyen a kyphosis, a lágyéksérv, de ide tartoznak a fogorvosi szempontból fontos tünetek is, mint a késői fogelőtörés, a gingiva hyperplasia, a korai fog elvesztés és a mandibuláris prognathia. Ezeken túl sok olyan tünet is előfordul, melyek leírása csak 1-1 esetben történt meg, mint a tejeskávé bőrfoltok, a patkóvese vagy a hipotónia (OMIM 2021, Durand és mtsai 2020) (1. ábra).



*1. ábra – Egy Frank-ter Haar szindrómás páciensről készített arcphotók szemből és oldalnézetből, valamint a 3D rekonstruált CT felvételen a koponya felülnézeti képe (Bendon és mtsai 2012)*

A FTHS egy autoszomális recesszív öröklődésű tünetegyüttes. A mutáció az Sh3pxd2b gént érinti. Ennek homozigóta mutációja a Tks4 (tirozin-kináz szubsztrát 4) protein diszfunkciójához vagy hiányához vezet, ami létrehozza ezt a változatos megjelenésű szindrómát (Iqbal és mtsai 2010).

A Tks4 protein lehetséges szerepének tanulmányozására hozták létre Buday és munkatársai azt a Tks4 knock out egértörzset, ahol az 5. és 6. exonon az Sh3pxd2b gént célzottan kiiktatták. Ennek az Sh3pxd2b C57BL/6 egértörzsnak (KO) a megjelenése másolja a FTHS gyakori tüneteit, miszerint megjelennek a csöves csontok deformitásai és növekedési elmaradás, a glaukóma, a kyphosis, a craniomaxillifaciális deformítások, mint az elülső nyitottharapás, valamint a szívfejlődési rendellenességek (Dülk és mtsai 2016). Mindezek mellett azonban a csontok mikroarchitektúrájának vizsgálata addig nem történt meg.

#### **1.1.4. Az osteoporosis prevenciója**

Amikor a csontritkulás megelőzéséről beszélünk, tulajdonképpen két különböző prevenciót értünk alatta. Egyfelől magának a kórkép kialakulásának prevenciója a cél, másfelől a porotikus csonttörések létrejöttét igyekeznek megakadályozni.

Az osteoporosis prevenciója már gyermekkorban és fiatal felnőtt korban meg kell kezdődjön. Ez az elsődleges prevenció csontritkulás esetén arra irányul, hogy megfelelő csontmennyiséget és minőséget hozunk létre a fiatal felnőttkor eléréséig. A csontok későbbi törékenysége, illetve a kialakuló csontritkulás súlyosságának szempontjából fontos az ideális csúcs-csonttömeg, ún. peak bone mass kialakítása. Ezt 20-30 éves kor között érik el az emberek. A kutatások szerint ezt a csúcs-csonttömeget 50-85 %-ban genetikai faktorok határozzák meg, ám a fennmaradó rész a környezeti tényezők által befolyásolható (Slemenda és mtsai 1991). A környezeti tényezők közé értendő a megfelelő fizikai aktivitás, a megfelelő életmód és táplálkozás, a káros szokások és hatások minimalizálása, de ide soroljuk a szűrőprogramokon való részvételt is. A csontritkulás megelőzésére leginkább olyan mozgásformák, angol kifejezéssel weight-bearing mozgásformák javasoltak, melyek álló helyzetben, a gravitáció ellen dolgoztatják meg az izmokat. Ilyen a futás, a séta, a tánc vagy a lépcsómászás, mert ezek a sportok nem csak az izmokat, de az egyensúlyérzékletet is fejlesztik, ezzel is védve a pácienseket a botlásoktól, elesésektől (Cosman és mtsai 2014). A porotikus csonttörések elsődleges prevenciója posztmenopauzában már nem feltétlenül csak a megfelelő fizikai aktivitás kialakítását és D-vitamin valamint kalcium szupplementációt, hanem gyógyszeres kezelést is magába foglalhat.

Az osteoporosis szekunder prevenciója már alapvetően a törés megelőzésére irányul, ahol fokozott figyelemmel kísérik a páciens kalcium és D-vitamin szintjét és bevitelét. Felmérések szerint a mérsékelt égövön élők D-vitamin szintje összefüggésben van az évszakok változásával, így a D-vitamin hiány tavasszal és télen a leggyakoribb, ekkor gyakorisága 70 % fölötti értéket mutat (Holick és mtsai 2008).

A terciér prevenció, a már legalább egy törést elszenvedett csontritkulásos betegek esetén valósul meg, és a további törések megelőzésére irányul, gyógyszerek és életmód változtatás segítségével.

### **1.1.5. Az osteoporosis kezelése**

A fentiekben leírtak alapján Magyarországon az érvényes irányelveknek megfelelően az antiporotikus kezelés indokolt azokban az esetekben, ha a páciens porotikus csigolya- vagy proximális combcsont törést szenvedett el, vagy azonosítható trauma nélkül létrejött végtagtörés történt, és jelentősen csökkent a BMD értéke (T-score kisebb vagy egyenlő -2,5 SD), valamint ha fokozott abszolút töréskockázatot állapítottak meg nála. Mindezek mellett vagy ezek ellenére 2017-ben egy az Európai Unió országaiban végzett felmérés szerint 18,4 millió nő volt, akinek szüksége lett volna antiporotikus kezelésre, de közülük csak 10,6 millióan, tehát 57 %-uk, állt kezelés alatt (Lewiecki és mtsai 2017).

A csontritkulás kezelésekor több, alapvetően különböző hatásmechanizmusú és támadáspontú gyógyszercsoport közül választhat a kezelőorvos. A csontritkulás megelőzésében és bázisterápiájában is fontos szerep jut a szervezet megfelelő kalcium- és D-vitamin ellátottságának biztosításának. Ezek mellett a jelenleg elérhető gyógyszerek egy része a csontreszorpciót gátolja, másik része a csontképzést fokozza. Alapvetően igaz, hogy a nem megfelelő együttműködés vagy a félbehagyott terápia, a kezelési idő megrövidülése miatt, rontja minden gyógyszer hatásosságát (Adami és mtsai 2006).



### **1.1.5.1. Reszorpció gátló kezelések**

#### **1.1.5.1.1. Stroncium ranelát**

Történeti áttekintésből meg kell említeni a stroncium ranelátot. A stroncium egy csoportba tartozik a periódusos rendszerben a kalciummal és csont-affinitása igen magas. Csontszövetbe épülésével jelentősen gátolja a csontbontást és enyhén stimulálja a csontépítést. A csont denzitometriás mérésein azonban stroncium renaláttal kezelt betegek esetén jelentős műtermék képződéssel kell számolni a stroncium atom nagyobb mérete miatt (Shi és mtsai 2021). Nagy előnye a szernek, hogy a kortikális csontszövetre is hatékony és ezek a pozitív csonthatások 10 éven túl is megmaradnak (Reginster és mtsai 2012). A nagyon magas kardiovaszkuláris kockázat miatt azonban fokozatosan kiszorult a csontritkulás kezelési palettájáról, majd 2017-ben megszűnt a magyarországi forgalmazása (MOOT 2017).

#### **1.1.5.1.2. Női hormonpótló kezelés**

A hormonpótló terápia ösztrogén és progesztagén adását jelentheti. Ez történhet monoterápiaként vagy kombinált terápia alkalmazásával. A hormonpótló terápia alkalmazása az elmúlt 20 évben jelentősen visszaszorult az osteoporosis kezelésében (Cauley 2003). Az ösztradiol segít megelőzni a menopauza utáni gyors csontvesztést és enyhíti a klimax-szindróma tüneteit. Az ösztrogének azonban serkentik az endometrium proliferációját, ezért progesztagénnel kombinációban alkalmazzák őket, hogy az endometrium hyperplasia és carcinoma kialakulásának kockázatát csökkentsék. Hormonpótló szerek mellékhatása, hogy növelik a stroke, az emlőrák és a thromboemboliás betegségek kockázatát. Mindezek miatt évente szükséges felülvizsgálni a mellékhatások kockázatát valamint a kezelés eredményeit. Gondos mérlegelés és kontrollok mellett sem haladhatja meg az 5-10 évet a terápia időtartama (Rosenberg és mtsai 2020).

### **1.1.5.1.3. SERM – szelektív ösztrogénreceptor modulátorok**

A SERM olyan vegyület, mely a különböző szervekben, szövetekben található ösztrogén receptorokon különbözőképpen hat. Egyes szövetekben, mint például a csontszövetben, agonista hatást, míg más szövetekben, mint például a méhben és emlőben, antagonistát fejt ki. Legismertebb és legtöbbet vizsgált tagja a raloxifen, egy non-szteroid hatóanyag. A tanulmányok szerint a raloxifen megemeli a csontsűrűséget, csökkenti a csigolyatörések számát, azonban a combnyaktörések előfordulását nem tudja szignifikánsan mérsékelni (Simpson és mtsai 2020). Ez az eredmény is mutatja, hogy a BMD növekedése nem lehet egyedüli oka egy terápia hatásosságának, amellet még jelentős mikroarchitektúrális változások is történnek, melyek növelik a csontok törés elleni ellenállását (Diab és mtsai 2011). A SERM terápia pozitív csonthatásai mellett csökkenti az ösztrogénreceptor-pozitív emlőrák előfordulását is. Mindezek miatt elsősorban olyan késői posztmenopauzás betegek kezelésére alkalmazzák, akiknél emelkedett az emlőrák rizikója (Diab és mtsai 2011).

### **1.1.5.1.4. Biszfoszfónatok**

A difoszfónatokat először 1865-ben állították elő ipari felhasználás céljából (Fleisch és mtsai 2002). Később bifoszfónatokra keresztelték át a vegyület-családot és 1969-ben jelent meg az első közlemény biológiai hatásáról (Graham és mtsai 2011, Fleisch és mtsai 1969). Hazánkban és a világban az 1990-es évek óta vannak alkalmazásban csontreszorpció gátló hatásuk miatt. Az alapstruktúrában két oldallánc kapcsolódik egy központi szénatomhoz, mely így a természetes pirofoszfát szerkezetéhez hasonló (Gyires 2011). Hatásukat úgy fejtik ki, hogy nagy affinitással kötődnek az átépülő csontfelszínhez. A molekula tulajdonságait meghatározza, hogy a rövidebb oldallánc a csont hidroxipatitjához milyen affinitással kapcsolódik, illetve a hosszabb oldallánc szerkezete, mely az antireszorptív hatás erősségéért felel. Ez utóbbi, hosszú oldallánc esetleges nitrogéntartalma adja a biszfoszfónatok csoportosítási lehetőségét, és így beszélhetünk nem-amino- és aminobiszfoszfónatokról (Gyires 2011). A két csoport hatásmechanizmusa eltérő. A nem-aminobiszfoszfónatok az osteoclastokban a citotoxikus ATP analógok képzését serkentik, míg az aminobiszfoszfónatok szintén az

osteoclastokban, de a mevalonsav biokémiai útvonalán a farnezil pirofoszfatáz enzimet gátolják (Rogers és mtsai 2000). Mindkét esetben az osteoclastok apoptózisa miatt, azok számának és aktivitásának csökkenésével kell számolni. A biszfoszfonátok intravénás vagy per os adagolással juttathatók a szervezetbe, de per os adagolás esetén számolni kell rendkívül rossz felszívódásukkal, mely 1-10 % között mozog (Drake és mtsai 2008). Biszfoszfonátokat elsősorban fokozott törési kockázat esetén javasolnak. A per os terápiákban leggyakrabban alendronátot, ibandronátot és risendronátot alkalmaznak. Intravénás adagolása a zolendronátnak a leggyakoribb. A terápia hossza csonttritkulás esetén nincs pontosan meghatározva, de az ajánlások szerint legalább 2-3 évig kell adagolni őket a törések megakadályozása érdekében (Vészelyné és mtsai 2016). Felezési idejük 10-25 év is lehet.

Sajnos a biszfoszfonátoknak jelentős mellékhatásaik lehetnek. Per os adagolás esetén gyakori mellékhatás az oropharyngeális irritáció és fekélyképződés, mely azonban az adagolási előírások betartásával elkerülhető. A biszfoszfonátokat reggel, étkezés előtt, legalább 200 ml csapvízzel kell bevenni. Tilos a tablettát szétrágni illetve 30-60 percig a gyógyszer típusától függően tilos az étkezés és a vízszintes, fekvő testtartás felvétele.

A gyógyszer okozta állcsont osteonecrosis (MRONJ) ritka, de annál súlyosabb mellékhatásként jelentkezhet biszfoszfonátok alkalmazásakor, mely alcsoportnak a neve ilyen esetben biszfoszfonát indukálta állcsont osteonecrosis (BRONJ). Éppen ezért rendkívül fontos a terápia megkezdése előtt a betegek fogászati szanálása, hogy minimalizálni lehessen elsősorban a szájsebészeti beavatkozások kockázatát. Épp így fontos a páciensek rendszeres, lehetőség szerint 3 havonta végzett kontrollja és az ellátási protokollok betartása. Bár nincs konszenzus a különböző nemzetek ajánlásai között, de a megelőzés fontosságában mind egyet értenek. A magyar ajánlást utoljára 2014-ben frissítették (MAÁSZT 2014), ám a nemzetközi ajánlások közül a leginkább hivatkozott AAOMS (American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons) ajánlást 2022-ben, ahol bevezetésre került egy új elnevezés és rövidítés: az antireszorptív terápia indukálta állcsont osteonecrosis (ARONJ) (Ruggiero és mtsai 2022).

Szintén ritka, de jelentős mellékhatása a gyógyszercsoportnak az atípusos femurtörés, mely tulajdonképpen mikrofrakturák eredménye. Meglétét jelezheti a kezelt betegek bizonytalan csípő-, comb- és lágyékfájdalma. A betegek 70 %-ánál a comb és

lágycsontfájdalom több héttel vagy hónappal megelőzheti a részleges vagy teljes atípusos combcsonttörést (Khan és munkatársai 2017).

A biszfoszfonátok vesekárosodást, conjunctivitist és egyéb szemgyulladást, illetve hypocalcaemiát is okozhatnak mellékhatásként.

#### **1.1.5.1.5. RANK-ligand ellenes monoklonális antitest**

A receptor activator of nuclear factor kappa B-ligand (RANKL) ellenes humán monoklonális antitest, a denosumab, úgy fejt ki hatását, hogy megakadályozza a receptor és ligand összekapcsolódását. Ezen reakción keresztül gátolja az osteoclastok proliferációját, differenciálódását és a csontanyagcsere mérlegét így próbálja pozitív irányba billenteni. A denosumab 2010-ben került az osteológusok terápiás eszköztárába. Hatása reverzibilis, 6 havonta subcutan injekció formájában juttatják a beteg szervezetébe. Ha a páciens nem kap újabb kezelést, a szer kiürül szervezetéből, halmozódására nem kell számítani. Antireszorptív hatása meghaladja az alendronátét és erős antireszorptív hatása van a kortikális csontban is, ami kiemeli az antiporotikus szerekek közül (Brown és mtsai 2013). Elsősorban magas törési kockázatú posztmenopauzális nőknél és osteoporosisban szenvedő férfiaknál javallt az alkalmazása. Előnye, hogy a vesétől független a kiválasztása, így beszűkült vesefunkció mellett is biztonságosan alkalmazható. Mellékhatásként azonban az állcsont osteonecrosis is épp úgy előfordulhat, mint biszfoszfonát terápia esetén, sőt egyes kutatások alapján gyakorisága meg is haladja azt, így alcsoportként DRONJ-ként (denosumab-related osteonecrosis of the jaw) is havatkoznak rá a szakirodalomban (Qi és mtsai 2014). Mellékhatásként előfordulhat külső hallójárat osteonecrosis (Takeda és mtsai 2021) és atípusos combcsonttörés (Kendler és mtsai 2021).

## **1.1.5.2. Csontképzést fokozó hatóanyagok**

### **1.1.5.2.1. Teriparatid**

A teriparatid egy rekombináns DNS technológiával előállított 34 aminosavból álló polipeptid. A 84 aminosavból álló parathormon N-terminális végén elhelyezkedő 34 aminosav szekvenciájával egyezik meg a teriparatid szerkezete. Subcutan alkalmazzák, legfeljebb 18 hónapon keresztül, kiegészítő kalcium és D-vitamin terápiával. Sokáig egyedüli szerként volt képes új csont képzését elindítani a súlyos osteoporosisos beteg esetén. A teriparatid 50 %-kal csökkenti a kutatások szerint a nem vertebrális törések és több mint 60 %-kal a vertebrális törések kockázatát. Valamint a kezelés elhagyása után 3 évig alacsony marad a csigolyatörések kockázata (Neer 2001). Hosszan tartó használatát limitálhatja, hogy patkányokon osteosarcoma kialakulását figyelték meg hosszútávú alkalmazása esetén (Watanabe és mtsai 2012). A MRONJ-ban szenvedő betegek esetén viszont felvetődik terápia lehetőségként az alkalmazása (Sim és mtsai 2020).

### **1.1.5.2.2. Abaloparatid**

Az abaloparatid egy 2017-ben az Amerikai Egyesült Államokban klinikai használatra elfogadott 34 aminosavból álló polipeptid, mely szintén a parathormon N-terminális végének szekvenciájával mutat nagy hasonlóságot. A parathormon és a rekombináns polipeptidek is a parathormon receptorhoz kötve fejtik ki hatásukat az osteoblasokon és osteocytákon. A két parathormon receptor konfiguráció közül az  $R^O$ -receptorhoz kötődve fejthető ki hosszabb hatás a csontsejtekre, és az abaloparatid ezen keresztül fejt ki elnyújtott hatását (Brent és mtsai 2021). 2018-ban azonban az Európai Gyógyszerügynökség (EMA) első-, majd másodfokon is elutasította a forgalomba helyezés iránti kérelmét az Európai Unióban, mivel többek közt jelentős kardiovaszkuláris kockázatot láttak az alkalmazásában (EMA 2018).

### **1.1.5.2.3. Romosozumab**

A romosuzumabot 2019-ben vezették be a csontritkulás terápiás eszközei közé először Japánban, majd az Európai Unióban és az Amerikai Egyesült Államokban. A romosuzumab egy rekombináns DNS technikával létrehozott, humanizált monoklonális antitest (IgG2), melynek erős az affinitása a sclerostinhoz. A sclerostin egy a csontsejtek által szekretált glikoprotein, mely a Wnt/ $\beta$  jelátviteli út gátlásával csökkenti a csontépítést. Ha a romosozumab komplexet képez a sclerostinnal, úgy az nem tudja betölteni negatív reguláló szerepét az osteoblastokon, így az egyensúly a csontépítés irányába tolódik el. Ám az osteoblastok aktiválásán túl, jóval kisebb mértékben ugyan, de az osteoclastok mediátor expresszióját is megváltoztatja a romosozumab, ezért kis mértékben a csontreszorpciót is csökkenti. A romosozumabot subcutan injekció formájában alkalmazzák, legfeljebb 12 hónapon keresztül, mely idő alatt a kalcium és D-vitamin bázisterápiára kiemelt gondot kell fordítani. Hogy az elért javulást hosszabb távon megtartható legyen a 12 hónap letelte után antireszorptív terápiára kell áttérni (Tominga és mtsai 2021). Alkalmazása elsőként olyan posztmenopauzás betegeknél történik, akiknek magas a törési kockázatuk. Kizáró ok az alkalmazásra, ha a páciensnek volt myocardialis infarktusa vagy stroke-ja, mivel a szer legsúlyosabb mellékhatásai közé sorolható a kardiovaszkuláris megbetegedések rizikójának jelentős megnövekedése. MRONJ-t és atípusos femur törést nagyon ritka mellékhatásként ennek a szernek a használatakor is leírtak (Ruggiero és mtsai 2022).

### **1.1.5.3. D-vitamin és kalcium pótlás**

A megfelelő mennyiségű D-vitamin és kalcium bevitel alapját képezi az osteoporosis prevenciójának éppúgy, mint a kezelésének. Míg az ideális napi kalcium bevitel ajánlott mennyisége az idők során kevéssé változott, és 1000-1200 mg/nap-ban határozzák meg a legtöbb állásfoglalásban, addig a D-vitamin pótlás tekintetében sok változás történt az utóbbi években. Az alábbi táblázat a Takács és mtsai által készített 2012-es ajánlás alapján készült (3. táblázat).

3. táblázat – Napi ajánlott D-vitamin mennyiség a D-vitamin-hiány megelőzésére (Takács és mtsai 2012 alapján)

Csoport	Ajánlott napi dózis (NE)	Biztonságos napi dózis felső határa (NE)
csecsemő	400-1000	1000
gyermek	600-1000	2000
felőtt	1500-2000	4000
terhes nő	1500-2000	4000
obes felőtt	3000-4000	4000

Takács és mtsai 2016-ban azt a megállapítást tették, hogy egy felőtt számára a napi 1000 NE, a heti egyszeri 7000 NE és a havi egyszeri 30000 NE D3-vitamin adagolása ugyanazon mellékhatás típusokat és súlyosságot okoz, így mindhárom forma biztonsággal alkalmazható (Takács 2016). A SARS-CoV-19 pandémia kapcsán egy Cochrane tanulmány arra hívja fel a figyelmet, hogy a D-vitamin kezelés hatása a fertőzésre egyelőre igen ellentmondásos, mint az a későbbiekben bemutatásra kerül (Strohlein és mtsai 2021).

A D-vitamin az egyik legősibb hormon előanyag, már 750 millió éves kőzetekben is kimutatható (Holick és mtsai 2003). A D-vitamin szerepe fokozatosan változott, de a kalcium anyagcserében való részvétele a növény és állatvilágban meghatározó. Ergokalciferol (D2-vitamin) általában a növények, míg a kolekalciferol (D3-vitamin) az állatok kalciumfüggő folyamatainak szabályozásában vesz részt. A legtöbb állat számára, legyen az hüllő vagy emlős, a D-vitamin termelése napsugárzáshoz kötődik. A tollal és szőrrel fedett állatok lényegében nem képesek D-vitamin szintézisre, tehát táplálékukkal kell megfelelő mennyiséget bevinniük a szervezetükbe. A D-vitamin hiány következményére, a gyermekkori rachitisre korán felfigyeltek a kutatók. Már 1651-ben leírta a tüneteket Francis Glisson, de a vegyület azonosítására és elnevezésére 1912-ig kellett várni. Ekkor kapta Kazimierz Funktól a D-vitamin nevet, noha semmilyen szempontból nem vitaminról van szó. A D-vitamin kutatás jelentősége már 1928-ban tekintélyes volt, hiszen a szerkezeti leírásért Adolf Windaus Nobel-díjat kapott, ám

napjainkban reneszánszát éli a D-vitamin sokféle élettani hatásának vizsgálata (Holick és munkatársai 2007, Behera és mtsai 2020, Föger-Samwald és mtsai 2020).

### **1.1.5.3.1. A D-vitamin anyagcseréje**

Az emberi szervezetbe két úton kerülhet D-vitamin: napfény hatására keletkezhet előanyagából vagy külső forrásból kerülhet a szervezetbe. A bőrben 290-315 nm hullámhosszúságú UV-B sugárzás hatására 7-dehidrokoleszterolból képződik D3-previtamin, majd D3-vitamin. Ha túl sok UV-B sugárzás éri a bőrt, akkor a previtaminból inaktív formák (tachysterol és lumisterol) képződnek valamint a bőr pigmentációja is fokozódik, így D3-vitamin túlkínálat ezen az úton nem jöhet létre. A D-vitamin bőrben való képzésének képessége a kor előrehaladtával csökken az elvékonyodó bőr miatt, ami részben magyarázat arra, hogy az idősebb populációban miért fordul elő gyakrabban D-vitamin hiány (Need és mtsai 1993). Ha fényvédő krémek alkalmazására kerül sor, azok csak akkor szűrik ki az UV-B sugárzás 99%-át, ha az előírt  $2\text{mg}/\text{cm}^2$  mennyiségben alkalmazzák azokat. Mivel ez általában nem így történik, hanem csak ennek körülbelül fele kerül felhasználásra, ezért még 30 SPF faktorszámú krém mellett is képződik D-vitamin (Grigalavicius és mtsai 2016). Tavasszal és nyáron, Magyarország területén, ha 10 és 15 óra között a végtagokat és arcot tíz-tizenöt percig éri közvetlen UV-B sugárzás, akkor 1500-3000 NE D3-vitamint képes előállítani a szervezet (Holick és mtsai 2007). A szervezet D-vitaminnal való ellátottságát elsősorban nem étkezéssel biztosítjuk, hiszen a magyarországi átlagos felnőtt étrend mindössze 80 NE D-vitamint biztosít naponta (Zajkas és mtsai 2007). Ha állati eredetű D3-vitamint vagy növényi eredetű D2-vitamint viszünk be a szervezetünkbe, akkor az aktiválódás első lépcsője a májban, a 25. szénatomon történő hidroxiláció. Ez a 25(OH)D3-vitamin D-vitamin-kötő fehérjéhez (DBP) kapcsoltnak jut a vérkeringésbe. A D3-vitamin pótlás sok szempontból előnyösebb, mint a D2-vitamin bevitel. A D3-vitamin készítmények felszívódása sokkal jobb, valamint a DBP-hez is jobban kötődnek, és a 25(OH)D3-vitamin szintet is erősebben emelik meg (Cranney és mtsai 2008). A D-vitamin aktív formájához még az 1. szénatomon is hidroxilációnak kell bekövetkeznie a vesében. Ezt a folyamatot gátolja a kalcium szint emelkedése és a fibroblast növekedési faktor 23 (FGF23), míg serkenti a parathormon. A CYP24 enzim a vesében, ha hypercalcaemia lép fel vagy túl sok aktivált



1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-vitamin van jelen, a 25(OH)D<sub>3</sub>-vitaminból inaktív, 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-vitamint csinál. A vesén kívül képződő aktív D-vitamin elsősorban autokrin és parakrin hatást fejt ki. Azoknak az aktív formáknak, melyek más szövetekben, például placentában, emlőben, bőrben, szívizomban vagy immunsejtekben képződnek az 1 $\alpha$ -hidroxilációja más szabályozás, például gyulladásos citokinek szabályozása alatt állnak (Takács és mtsai 2012). A D-vitamin hatásának 95-97 %-át sejtmembránban és citoszolban elhelyezkedő D-vitamin receptorokon (VDR) fejt ki, míg 3-5 %-ban a gének átíródásának befolyásolásával fejt ki genomikusan (Eelen és mtsai 2004).

Az aktív 1,25(OH)<sub>2</sub>D-vitamin féléletideje 12 óra, míg a 25(OH)D-forma esetén két-három hónapról beszélhetünk, így a szervezet D-vitamin ellátottságát ez utóbbi, D-vitamin raktárként is szolgáló forma mennyisége mutatja meg leginkább (Heaney és mtsai 2011).

#### **1.1.5.3.2. A D-vitamin hatásai**

A vérben jelenlevő aktív 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-vitamint D-hormonnak is nevezik. D-vitamin legjelentősebb szerepe a szervezetben a kalcium-anyagcsere szabályozása. Van közvetlen csonthatása az osteoblastokon és osteoclastokon keresztül, szabályozza a kalcium visszaszívását a TRPV5 (transient receptor potential cation channel subfamily vanilloid) csatornán keresztül a vese disztális tubulusából, de legfőképp a kalcium bélből való felszívódását befolyásolja a TRPV6 szelektív kalciumcsatornán keresztül (Peng és mtsai 1999). A csontsejtekre kifejtett hatása a RANK-RANKL útvonalhoz kötött. Ha csökken a RANKL mennyiség, az gátolja az osteoblastok apoptózisát, gátolja az osteoclastok érését, és fokozza a BMP2 és 6 (bone morphogenetic protein 2,6) átíródását, ezzel a csontépülés irányába billentve a remodelling egyensúlyát.

A D-vitamin szénhidrát anyagcserére való hatásának alapját a Langerhans szigetek  $\beta$ -sejtein levő VDR receptorok jelenléte képezi. Ezeken keresztül fokozza az inzulin termelését, valamint megemeli a  $\beta$ -sejtek inzulinérzékenységét (Pittas és mtsai 2007).

A D-vitamin hatása a kardiovaszkuláris rendszerre sokrétű. Az 1 $\alpha$ -hidroxiláció a szívizomban, endothel sejtekben és az érfal simaizomsejtjeiben is megtörténik, és így közvetlen hatást fejt ki a fenti szövetekre. Egerekben a D-vitamin gátolja a renin-angiotenzin rendszert (Zhou és mtsai 2008), ezáltal is alátámasztva azt a humán

megfigyelést, hogy a szérumban  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -szint fordítottan arányos a vérnyomással (Takács és mtsai 2012).

A D-vitamin immunológiai szerepét magyarázza, hogy több sejtvonalra is kifejti hatását. Rendelkezik VDR-ral a T- és B-limfociták valamint a makrofágok is. Ezek a sejtek képesek elvégezni az  $1\alpha$ -hidroxilációt valamint a  $24\alpha$ -hidroxilációt is, tehát képesek aktiválni, és túl nagy mennyiség esetén deaktiválni is a D-vitamint. A fenti folyamatok azonban a kalcium anyagcserétől függetlenül zajlanak, a gyulladásos faktorok és interleukinok szabályozása alatt (Stoffels és mtsai 2006). Fertőzések esetén a D-vitamin pótlás így segíti az immunválasz kialakulását és a gyorsabb gyógyulást. Ezért a SARS-CoV-19 pandémia miatt a D-vitamin újra az érdeklődés középpontjába került. Egyes tanulmányok szerint a fertőzés megakadályozásában és gyorsabb legyőzésében időlegesen a D-vitamin szintet érdemes lehet 100-150 nmol/l szintre emelni (Charoenngam és mtsai 2021), míg más tanulmányok csak annyit állapítanak meg, hogy a SARS-CoV-19 fertőzésnek nagyobb eséllyel esnek áldozatul olyan emberek, akiknek a D-vitamin szintje az ajánlott 75nmol/l alatt van (Teshome és mtsai 2021). A D-vitaminnak szerepe van a patológiás immunválasz elkerülésében, mérséklésében is, mivel gátolja a T-helper 1 sejteket, így nagy jelentőséggel bír az autoimmun folyamatok kezelésében (Cantorna és mtsai 2004).

A D-vitamin jelentős szerepet játszhat a rákos megbetegedések megelőzésében és kezelésében. In vitro vizsgálatokban ugyanis gátolja a tumorsejtek proliferációját (Li és mtsai 2014), gátolja az angiogenezist (Bernardi 2002) és serkenti a tumorsejtek apoptózisát (Sergeev és mtsai 2014).

Az ideg- és glia sejtekben megtalálhatóak a D-vitamin anyagcsere enzimjei és felületükön D-vitamin receptorok is. A D-vitaminnak szerepe van az idegrendszer fejlődésében és hiányában bizonyos megbetegedések kockázata megemelkedik (pl.: epilepszia, sclerosis multiplex) (Takács és mtsai 2012).

Nem utolsó sorban a bőr sejtejei képesek a D-vitamin aktiváció minden lépését elvégezni és az aktív D-vitaminnak autokrin-parakrin hatása is érvényesül a bőrsejtek D-vitamin receptorain keresztül (Xie és mtsai 2002).

### 1.1.5.3.3. A D-vitamin hiány tünetei

A D-vitamin normál szintjének meghatározása bonyolult és sokat vitatott kérdés. Napjainkban nem az ideális érték meghatározására törekszenek az orvosok, hanem a hiánytünetek megjelenésének küszöbértékét próbálják megállapítani. Mindezek okán a normál érték küszöbe 25nmol/l, majd 50 nmol/l, később 75 nmol/l lett a legtöbb országban (Malabanan és mtsai 1998). Ez utóbbi, 75 nmol/l tekinthető a normál érték alsó határának ma Magyarországon a 2011-es D-vitamin Konszenzus (Takács és mtsai 2011) és az International Osteoporosis Foundation (Holick és mtsai 2011) ajánlása alapján.

A D-vitamin hiány igen gyakori. Európában nyáron és ősszel 50 % körüli, míg télen és kora tavasszal 70 % fölötti gyakoriságot találtak (Holick és mtsai 2008). Takács és mtsai kimutatták, hogy Magyarországon tél végére a lakosság 94 %-ának 25(OH)D-vitamin értéke nem éri el a 75 nmol/l-es értéket. 71 %-uknál ez az érték az 50 nmol/l értéket se éri el, és 30%-uknál csak 30nmol/l érték alatti szint mérhető (Takács 2016). Egyes vizsgálatok azt mutatják, hogy a D-vitamin hiány gyakoriságának növekedése részben a lakosság túlsúlyával is magyarázható. Mivel a D-vitamin zsírban oldódik, így nagyobb mennyiségű zsírszövetben ugyanannyi vitamin jobban eloszlik és a mért szérumszint ezért alacsony lehet (Need és mtsai 1993).

A súlyos D-vitamin hiány legismertebb tünete az osteomalacia és a rachitis. A két kórkép ugyanazon okból jön létre, de míg a rachitis gyermekkorban, addig az osteomalacia felnőtt korban, és így eltérő lesz a megjelenési formájuk. Osteomalaciában a csontok alakváltozásával ritkán találkozni, de a mikroszerkezet és a BMD jelentős változáson megy keresztül. A csontok ásványianyag tartalma nagymértékben csökken, így a mineralizálatlan felszín nagyobb lesz a teljes csontfelszín 20 %-nál. Az osteoid területek jól mineralizált góccokat fognak közre és ez a szigetszerű szerkezet kifejezett törékenységet eredményez (Seitz és mtsai 2013). Rachitis esetén nem csak a csontszövet, de a növekedési porc mineralizációja is zavart szenved, így deformált, alakilag és méretükben a normálistól eltérő csontok jönnek létre. Rachitis kialakulására extrém alacsony, 25 nmol/l alatti D-vitamin szint esetén lehet számítani. Ilyenkor a kórkép jellegzetes deformitásaival találkozhatunk, mint a caput quadratum, a kártyaszív formájú medencecsont, a lapos mellkas, meghajlott alsó végtagi csontok és a rachitises olvasó. Nagyon ritkán a fenti kórkép oka nem D-vitamin hiány, hanem az aktív D-vitamin hatásának hiánya, melynek oka lehet az  $1\alpha$ -hidroxiláció zavara vagy a VDR mutációja.

Az előbbinek az elnevezése D-vitamin dependens rachitis, mivel aktivált D-vitaminnal kezelhető, az utóbbi elnevezése nem D-vitamin dependens rachitis, hiszen a D-vitamin adása itt hatástalan (Chanchlani és mtsai 2020).

A D-vitamin hiánynak jelentős szerepe van a diabetes mellitus 1-es típusának kilakulásában. A terhesség alatti és kisgyermekkorai megfelelő D-vitamin bevitel bizonyítottan csökkenti a kórkép előfordulásának rizikóját (Brekke és mtsai 2007). Egérkísérletben igazolták, hogy D-vitamin hiányában a  $\beta$ -sejtek gyorsabban pusztulnak és inzulin termelésük is lecsökken (Giuletti és mtsai 2007).

A kardiovaszkuláris rendszer tekintetében elmondható, hogy a D-vitamin hiány elősegítheti szívelégtelenség kialakulását, valamint a kialakult állapotot a későbbiekben súlyosbíthatja is. A D-vitamin hiány hozzájárulhat a magasvérnyomás kialakulásához és fokozza az érlemezés kockázatát (Takács és mtsai 2012).

Az immunrendszerre kifejtett hatása miatt a D-vitamin, illetve annak hiánya, napjainkban nagyon kutatott téma. Több tanulmány igazolja, hogy csecsemőkorban és felnőtt korban is, a D-vitamin hiány fokozza a fertőzésre való hajlamot. Csecsemőknél magasabb influenza-fertőzés előfordulást mértek, alacsonyabb D-vitamin szint esetén (Chan és mtsai 2000), míg felnőtteknél alacsonyabb D-vitamin szint esetén nagyobb volt a SARS-CoV-19 fertőzés esélye (Teshome és mtsai 2021) vagy a TBC kialakulásának esélye (Zeng és mtsai 2015). A D-vitamin-hiány segíti az autoimmun betegségek fellángolását, ezért javasolt a megelőzésükben a rendszeres D-vitamin-szint ellenőrzés, különösen ősszel és tavasszal (Cantorna és mtsai 2004).

Különböző daganatos megbetegedések esetén eltérő erősségű összefüggést találtak a D-vitamin alacsony szintje és azok előfordulása között. Elsőként kiemelendő az emlőcarcinoma és a D-vitamin hiány meta-analízissel igazolt korrelációja, valamint a D-vitamin suplementáció és normális tartományban levő D-vitamin szint inverz relációja az emlőtumor előfordulásával (Hossain és mtsai 2019). További kutatás valószínűsítette, hogy a D-vitamin hiány nem csak az előfordulással mutat összefüggést, hanem a progresszió is gyorsabb, ha D-vitamin hiányos a beteg. Ez utóbbi tanulmány felveti a D-vitamin terápia előnyének valószínűségét is emlőcarcinoma esetén (Voutsadakis és mtsai 2021). Colorectalis carcinoma esetén szintén pozitív korrelációt figyeltek meg a daganatos megbetegedés előfordulása és letális kimenetele, valamint a D-vitamin hiány

között (Ferrer-Mayorga és mtsai 2019). A D-vitamin supplementáció terápiás jelentősége itt is igazoltnak tűnik (Zhou és mtsai 2019).

A D-vitamin hiány az idegrendszer fejlődését és működését is negatívan befolyásolja. Szkizofrénias betegeknél, akut epizódokban, szignifikánsan alacsonyabb D-vitamin szintet mértek, mint remisszióban (Yüksel és mtsai 2014). Az Alzheimer kóros páciensek és más demenciában szenvedők esetén is alacsonyabb D-vitamin szintet találtak, jóllehet a D-vitamin szint normalizálása nem változtatta meg jelentősen az állapotukat (Littlejohns és mtsai 2014, Bivona és mtsai 2021).

A D-vitamin hiány emeli a bőrbetegségek és bőrtumorok kialakulásának kockázatát, ugyanakkor az aktivált D-vitamin kialakulásához nélkülözhetetlen UV-B sugárzás dóziséját emelve is növekszik a különböző bőrcarcinomák kockázata. Fontos tehát a megfelelő fényvédelem és az ajánlások betartása, mert ahogy fentebb is említésre került, a testfelszín 15%-nak (felső végtagok és arc) napi 10-30 perces közvetlen UV-B sugárzása elegendő a nyári időszakban a megfelelő D-vitamin szint kialakításához (Takács és mtsai 2012).

## **1.2. Állatmodellek az osteoporosis okozta csont mikroarchitektúra vizsgálatában**

Csontritkulás következményeit, illetve a kezelésére használt anyagok mikromorfológiai hatásait sokféle állatmodellen vizsgálták már. Mivel az állatmodellek egyike sem alkalmas maradéktalanul az osteoporosis modellezésére, ezért 1994 óta az FDA (Food and Drug Administration) megköveteli, hogy egy lehetséges új terápiát legalább két különböző állatfajon végzett kísérletben is igazoljanak a továbblépés előtt (Thompson és mtsai 1995). Létrehoztak már osteoporosis modellt gyógyszeresen (pl.: ösztrogén receptor antagonistá adásával (Gallagher és mtsai 1993), illetve gonadotropin release hormon agonista adagolásával (Goulding és mtsai 1989)) vagy sebészi úton (Longo és mtsai 2017). Ezek mellett találhatunk az irodalomban immobilizációs modellt sebészi úton létrehozva pl.: idegátvágással (Zeng és mtsai 1996), ín átmetszésével (Thompson és mtsai 1988), vagy konzervatív úton pl.: végtagkötéssel (Tian és mtsai 2011), illetve az állatok táplálkozásába való beavatkozással (pl.: alacsony kalcium tartalmú diéta (Kim és mtsai 2013)) kialakított osteoporosis modellt (Lelovas és mtsai 2008). A technikák

kombinálhatóak is, például az ovariectómia és alacsony dózisú kalcium bevitel egyidejű alkalmazása esetén (Gao és mtsai 2014).

### **1.2.1. Patkány modellek**

Az ovariectomizált patkány modellt már 1973-ban is használták, 1992-ben pedig igazolták, hogy megfelelő posztmenopauzális osteoporosis modell (Frost és mtsai 1992). Bár mint a későbbiekben ismertetésre kerül, vannak a modellnek hibái, mégis ma is ez a modell a gold standard az állatmodellek közül posztmenopauzás osteoporosisban.

A mikro-CT alkalmas ilyen méretű állatok esetében *in vivo* és *in vitro* vizsgálatokra is, valamint többféle mintavételi helyet is felhasználhatunk: lehet ez a tibia, a femur, a csigolyák vagy az állcsontok területén.

Körültekintést igényel azonban az állatok életkorának megválasztása, mivel a patkányok csontrendszerében is a modelling az életkor előrehaladtával átvált remodellingbe mind a spongióza, mind a kortikális területén (Dennison és mtsai 2005). A vizsgálatok azt mutatják, hogy remodelling vizsgálatára a patkányok 15-21 hónapos kora után van lehetőség a kortikális és a spongióza tekintetében (Jee és mtsai 2001). Amíg a modelling van túlsúlyban, addig denziometriára, tomográfiára vagy hisztomorfometriára a tibia és a femur proximalis epiphysisénél levő növekedési lemezzel szomszédos területek nem használhatóak, mivel még hossznövekedés is tapasztalható a csontokban. Ez a folyamat nőtény patkányban a tibia esetében 15, a lumbális csigolyák esetében 21 hónapos korukra befejeződik (Jee és mtsai 2001). A csontvesztés sebessége sem egyforma a különböző vizsgálati helyeken a spongiózában: az ovariectómia után a tibia proximális metaphysisénél 14 nappal, míg a combnyaknál 30 nappal találhatóak szignifikáns változások. Ellenben a kortikális vastagsága a tibia és a combcsont esetében az ovariectómia után 180 nappal, a combnyak esetében 90 nappal csökken szignifikánsan (Jee és mtsai 2001). A csontvesztés sebessége nemcsak a csöves csontokat, de az egész szervezetet tekintve is változó dinamikájú. Az első 100 napban gyors csontvesztés tapasztalható. Ezt követi egy intermedier időszak, ahol osteopenias szinten egy relatív stabilizáció következik be a spongiózában, majd 270 nap után lassabb csontvesztés tapasztalható (Engermann és mtsai 2005). A kortikális csont vizsgálatánál patkányok esetén sokáig gondot jelentett, hogy rágcsálókban nem tudták kimutatni a Havers-féle

remodellinget. Patkányoknál ugyanis az tapasztalható, hogy a kortikális növekszik a periosteum felől és vékonyodik az endosteum felől (Turner és mtsai 2001). Újabb vizsgálatok azonban igazolták, hogy a patkányok kortikálisában is található Havers-csatornák. Az endosteum felőli régóban nagy számban fordulnak elő, magas számú összeköttetéssel, míg periosteálisan kevesebb és elágazódásmentesebb a rendszer (Kim és mtsai 2015), mely magyarázat lehet a fent említett jelenségre.

### 1.2.2. Egér modell

Az állatmodellek közül, az osteoporosis kutatásában, a második leggyakoribb az egér modell. Ám amíg a patkányoknál az ovariectomia és a következményes ösztrogénhiány okozta csontmikromorfológiai változások vizsgálatával találkozunk a legtöbb tanulmányban, addig egereknél a genetikailag módosított egereken végzett kutatások gyakoribbak. Általában fiatal, 8 hetes, egereken végzik a kutatásokat. Egereknél nem alakul ki menopauza, de a koruk előrehaladtával ciklusuk rendszertelenné válhat. A rendkívül sokszínű genetikai tulajdonságok miatt minden egérfajnál kissé eltérő csontélettani jellemzőket láthatunk.

Ovariectomiára a patkányhoz hasonló módon reagál az egerek csontszerkezete: például Swiss-Webster egereknél a tibia proximális metaphysisében 50 %-os spongióza állományvesztés mérhető 5 hét alatt (Bain és mtsai 1993). A **C57BL/6J** szintén egy igen sokat használt egértörzs. Ennél a törzsnél a 12 hónapos egereknél, amely kor a 40 év körüli emberi életkornak felel meg, már tapasztalható a velőűr megnövekedése és a csontépülés lelassulása a periosteum felől, mely folyamatok vékonyabb kortikális eredményeznek (Ferguson és mtsai 2003). Arra is felhívják a figyelmet Glatt és munkatársai, hogy ennél a törzsnél a csöves csontok metaphysisében a BV/TV (percent bone volume) érték az állatok 6-8 hetes korában eléri a maximumot, onnan nagyon lassú, de folyamatos csökkenés tapasztalható öregedésük folyamán, minden csontanyagcserét befolyásoló egyéb tényező nélkül is (Glatt és mtsai 2007). Ugyanakkor a **BALB/c** egerek kortikális csonttömege 20 hónapos korukig nem kezd el csökkenni (Willinghamm és mtsai 2010). A **senescence-accelerated mouse P6 (SAMP6)** egereket kimondottan a senilis osteoporosis modellezésére használják. Ennél a törzsnél arra hívják fel a figyelmet, hogy a vertebrális csigolya trabekuláris csontszerkezetében előbb láthatók osteoporotikus

mikroszerkezet változások, mint a tibia és a femur spongiózájában, de a kortikális csont változásai nem szignifikánsak az azonos korú **SAMR1** egerekéhez képest (Chen és mtsai 2009).

A leggyakrabban vizsgált területek spongióza esetében egéknél is a femur (Cano és mtsai 2008), a tibia (Chen és mtsai 2008), a lumbális csigolya (Willey és mtsai 2010), ritkábban a mandibula (Bouvard és mtsai 2013).

### 1.2.3. Egyéb állatmodellek

A leggyakrabban használt posztmenopauzális állatmodelleket rágcsálókra dolgozták ki, mely általában az állatok ovariectomizálását jelenti. Sok kritika éri azonban ezeket a modelleket tekintetben, hogy milyen lényeges különbségek vannak egy rágcsáló és az ember csontanyagcseréje között. A kritikák elsőként azt emelik ki, hogy rágcsálóknak nincs menopauzájuk, így a kísérletben azt mesterségesen hozzuk létre, másrészt a remodellingjükben is kissé különböznek (Kim és mtsai 2015). Ezért ritkábban ugyan, de más emlősökön végzett kutatásokkal is találkozhatunk. Ezek kivitelezése körülményesebb, lefutásuk pedig hosszabb a rágcsálómodellnél.

Az emberben létrejövő hormonális és csontszerkezet változásokhoz, nem meglepő módon, a főemlősökben találunk leginkább hasonlóakat. Ezeknek az állatoknak hasonló menstruációs ciklusuk van, mint az embernek és kialakulhat náluk menopauza, csak sokkal később (Bonucci és mtsai 2014). Ezen elgondolások miatt választották vizsgálatuk alanyainak a közönséges makákó **majmokat** Blinte Anwar és mtsai, melyeket ovariectomizáltak (OVX) vagy álműtöttek. 76 héttel a műtétek után a mandibulákat és az L2-L4-es csigolyákat beszkenelték, és a második örlőfog közti terület mikroarchitektúráját a csigolyákéval összevetették. SMI (structural model index) növekedést tapasztaltak az OVX csoport alveoláris csontjában, illetve az alveolusfalban magasabb számú pórust találtak, valamint pozitív korrelációt mutattak ki az alveoláris csont szerkezetének károsodása és a csigolyák mikroarchitektúrájának állapota között, mely megállapítás parodontológiai szempontból lehet jelentős (Binte Anwar és mtsai 2007). A közönséges makákók ovariectomizált modelljén azonban osteoporosisban használt gyógyszerek hatásait is vizsgálták, például a romosozumabot Ominsky és mtsai (Ominsky és mtsai 2017). Rézuszmajmokon (Cabal és mtsai 2017) és páviánokon (Hordon



és mtsai 2006) is használták a kidolgozott OVX modellt, főként a lumbális és thoracalis csigolyák mikromorfológiájának mikro-CT-vel való vizsgálatára. A páviánokon végzett vizsgálat során bár a T12 csigolya hisztológiai és mikromorfológiai változásai között szoros korrelációt figyeltek meg, de a mikro-CT-nél szenzitívebb eljárásnak találták a hisztológiát, legalábbis, ha kicsi az esteszám (Hordon és mtsai 2006). Ezeknél a modelleknél számításba kell venni, hogy 8-22 éves állatok kellenek hozzájuk és a kísérletek ideje is 12-24 hónap.

A **minimalacok**at is régóta és sokféleképpen használják az osteoporosis (Borah és mtsai 2000) vagy a MRONJ (Pautke és mtsai 2012) kutatásában. A malac modellnél előnyös tulajdonság, hogy jól fejlett Havers-csatorna rendszerük van, és a menstruációs ciklusuk 20 nap körüli, ám hátrány, hogy viszonylag kevés adat van az ovariektomizált modellről (Bonucci és mtsai 2014). Az OVX modellnél felhívják a figyelmet arra, hogy míg például a közönséges makákó majom 9 évesnél idősebb kell legyen az operáció elvégzésekor, addig minimalacoknál elég, ha 10-18 hónaposak az állatok. A különböző gyógyszerek vizsgálatakor pedig figyelembe kell venni, hogy a minimalacoknál éppúgy, mint közönséges makákó majmoknál, 16 hónapnyi adagolás felel meg a humán vizsgálat esetén 4 évnek (Tsutsumi és mtsai 2012). A minimalacok mellett a **mikromalacok** is megjelentek a csonttritkulás állatmodelljei közt (Kim és mtsai 2013). A kisméretű malacokat, legyen az mini vagy mikro, az teszi elfogadott kutatási alannyá, hogy méretüket és súlyukat erősen lecsökkentették, a házi sertéséhez képest, ezért tartásuk és gondozásuk kisebb helyet és kisebb költséget igényel. Míg az átlagos házisertés 150 kilogramos tömegű, addig a minimalacok 60 kg, a mikromalacok csak 40 kg tömeget érnek el. Ciklusuk azonban hasonló marad a humánhoz, a maga 18-21 napjával. Csúcs csonttömegüket elérik 2,5-3 évesen és az ovariektómia hatása 12 hónap alatt fejlődik ki a csontokban (Turner és mtsai 2001).

**Bárányok**nál a csont-reszorpciós és -formációs markerek 3 illetve 4 hónap alatt szignifikánsan megemelkednek (Chavassieux és mtsai 2001), van Havers-csatorna rendszerük és 14-21 napos menstruációs ciklusuk, ám problémát jelenthet, hogy spontán csontmennyiség vesztes jelentkezhethet náluk télen, a csökkent csontformáció miatt (Bonucci és mtsai 2014). Kombinált modell esetén a csont mikrostrukturális változásai fél év alatt kifejlődnek, mint Lill és munkatársainak kísérletében, akik 7-9 éves bárányokkal dolgoztak. Az állatokat 4 csoportra osztották aszerint, hogy az állatokat

álműtötték, vagy ovariectomizálták, illetve kaptak-e kalciumot, D3 vitamint vagy metilprednizolont. 2 havonta meghatározták a BMD-jüket, aztán 6 hónappal a műtétek után exterminálták az állatokat és mikro-CT segítségével vizsgálták az L3, L4 csigolyákból vett centrális elhelyezkedésű mintát. Az eredmények azt mutatták, mivel az ovariectomizált, kalcium és D3-vitamin megvonásos, de metilprednizolon injektált csoport mutatta a legnagyobb BMD illetve trabekula vastagság (Tb.Th) és trabekula szám (Tb.N) csökkenést, hogy az osteoporosis létrehozására ennél a fajnál is a kombinált eljárással a leggyorsabb (Lill és mtsai 2002).

A **nyúl** modell sem gyakori, de Baofeng munkacsoportja ezzel a modellel dolgozott 2010-ben. Tulajdonképpen ez a kísérlet Castaneda és munkatársai modelljéhez igen hasonló volt (Castaneda és mtsai 2008). Ez is egy kombinált modell: ovariectómia és glükokortikoid együttes adásával hoztak létre osteoporosist. Mérték *in vivo* az állatoknál a BMD értékeket három alkalommal, illetve az első műtét után 10 héttel az állatokat exterminálták és vizsgálták az L3, L4 csigolyák mikrorachitúráját, valamint mechanikai tesztelést is folytattak a csigolyákon. Eredményeik igazolták, hogy ez egy sok szempontból előnyös modell: mivel a nyúl hamar eléri a csontérettséget, már 7-8 hónapos korban, valamint aktív Havers-remodelling zajlik a csontjaiban. Az is előny, hogy viszonylag gyors lefolyású modelltől van szó, hiszen 10 hét elég a csontváltozások létrejöttéhez (Baofeng és mtsai 2010).

A **kutyák**on végzett vizsgálatok előnyei, hogy a kutyákban is van Havers-rendszer, és az intrakortikális remodellingjük azonos a humán csontrendszerben találhatóéval. Ám hátrányuk is akad. Az ovariectómia után létrejövő mikrostrukturális változások összevetését és következtetések levonását humán tekintetben megnehezíti, hogy évente csak kétszer ivarzanak (Bonucci és mtsai 2014). Mindezek ellenére kutyákon is hoznak létre ovariectomizált modellt (Wilson és mtsai 1998). 1-2 éves nőstény beagle kutyákon vizsgálták a biszfoszfonátok hatásait a lumbális csigolya (L1) spogiózájának mikroarchitúrájára. A kontroll csoport nem kapott semmilyen készítményt, míg az egyik csoport rizedronátot, míg a másik alendronátot kapott magas koncentrációban 1 évig. A mikro-CT vizsgálat eredményei azt mutatták, hogy a mikroszerkezet a kezelés hatására lemez-szerű modell felé (plate-like model) mozdult el, és a trabekulák száma is megemelkedett a kontroll csoporthoz viszonyítva (Ding és mtsai 2003).

A **macskák**on végzett csonttritkulás vizsgálatok extrém ritkák. Ennek indoklásakor nyilván megemlítsre kerül, hogy az emberek számára egy ilyen státuszban levő társ-háziállat vizsgálata nehezebben feldolgozható, legalábbis Turner és mtsai szerint. Azt is megemlítik, hogy a háziállat macskák közül sok ovariektómián átesett van, és extrém hosszú ideig élnek, az állatorvosi gyakorlat és kutatások mégse mutatják a csonttörések megnövekedett számát, tehát a modell használhatósága megkérdőjelezhető (Turner és mtsai 2001).

Siu és munkatársai dolgoztak először **kecske** modellel. 3,4 év átlagéletkorú kínai hegyikecskéket ovariektomizáltak, majd alacsony kalciumtartalmú diétán tartották őket 6 hónapig. Fontos kiválasztási kritérium volt, hogy az állatok disztális femoralis és proximális tibiális növekedési zónája lezáruljon a vizsgálat idejére. Mind a mikro-CT vizsgálatot, mind a BMD meghatározást a csipőtaréj területéről vett mintán végezték a kiinduláskor és 6 hónappal később. Ebben az esetben az állatok exterminálására nem volt szükség. A BMD 16,3 %-kal csökkent 6 hónap alatt, míg a BV/TV 8,34 %-kal, a Tb.N 8,51 %-kal csökkent, a Tb.Sp pedig 8,26 %-kal nőtt. Egyértelmű pozitív korrelációt állapítottak meg a BMD és a BV/TV valamint Tb.N, és negatív korrelációt a BMD és a Tb.Sp, SMI között (Siu és mtsai 2004). Yu és munkatársai a kínai hegyikecskéken már hosszabb távú vizsgálatot is végeztek. A kiinduláskor, majd 24 hónappal az ovariektómia (OVX) illetve álműtétek (SHAM) után mérték a szérum ösztrogén szintet, a BMD-t az L1-L4 csigolyákon, a combnyakon, a femur és a tibia diaphysisén, valamint ciklikus mechanikai tesztelést hajtottak végre a csigolyán, combfejen és combnyakon. A mikro-CT vizsgálatra csak az exterminálás után került sor. A BMD érték szignifikáns csökkenését találták, ezzel egyidejűleg a Tb.N, a Tb.Th, és a BV/TV is szignifikánsan csökkent az OVX csoportban a SHAM csoportéhoz képest (Yu és mtsai 2015).

Viszonylag ritkák a **tengerimalacon** végzett csonttritkulás kutatására irányuló vizsgálatok (Ding és mtsai 2008). Tengerimalacok esetén legalább 3 hónaposaknak kell lenniük az állatoknak a megfelelő, és csontnövekedéssel nem torzított, csontmikroszerkezet elemzésekhez. Előnye lehet a modellnek a humánhoz hasonló idejű menstruációs ciklus és hogy kis helyen, olcsón, megfelelő körülmények között tarthatóak az állatok (Turner és mtsai 2001).

A **vadászgörényeket** az 1990-es években elvéve használták csonttritkulás kísérletek modelljeként. A modell fő problémája, hogy nagyon pontosan szabályozni kell az állatok

megvilágítását, mert érzékenyen reagálnak a világosság-sötétség arány eltolódására. Spontán csontvesztés fokozódás kezdődik, ha a világos órák számát 8 órára csökkentjük (Mackey és mtsai 1995).

A **juhok**at több szempontból is hasznos modellnek tekintik csontritkulás vizsgálatokor. Genetikailag közelebb állnak az emberhez, mint a rágcsálók, és a csontok mérete is alkalmasabbá teszi ezeket az állatokat főleg mechanikai és sebészeti tanulmányok elvégzésére. Ha 3 évnél idősebb állatokat választanak a kísérlethez, akkor jól fejlett, és az emberihez igen hasonló, Havers-csatorna rendszer található a csont mikroarchitektúra vizsgálatokor. A juhok spontán ovulálnak és a humánhoz hasonló nemi hormon profiljuk van. Tartásuk relatív olcsó, az állatok könnyen kezelhetőek. Nem utolsó sorban általában a juhokon végzett kísérletek kevesebb etikai és morális aggályt vetnek fel, mint a társállatokon vagy a főemlősökön végzettek (Zarrinkalam és mtsai 2009).

A valódi csontos halak közül a **zebrahalak** és a **medaka** halak, furcsa módon, az utóbbi évtizedben egyre népszerűbb osteoporosis-modell állattá váltak. Sok hasonlóság van a csontosodási mechanizmusokban, mind az endochondrális, mind a perichondrális, mind a desmális csontosodás tekintetében. Az emberi genom 70 %-ának van ortológ génje a zebrahalakban, épp ezért kifejezetten sokat használt modell a csontritkulás kutatásában, ha valamilyen géntechnikai manipuláció vizsgálatáról van szó. Fontos azonban a különbségekről is szót ejteni. Az emberi csontszövetben a sejtek 95 %-a osteocyta, amely sejttípus a medakák csontszövetéből teljesen hiányzik, míg a zebrahalak esetén csak a kifejlett egyedekben találhatóak meg. Az osteoclastok is eltérő megjelenésűek, mert míg az emlősökben ezek többmagvú óriássejtek, addig a valódi csontos halak esetén leggyakrabban egyszemmagvú, kis sejtek, ám reszorbeáló aktivitásuk azonos, és a molekuláris útvonalak egyezők az emlősökben és a zebra illetve medaka halakban (Rosa és mtsai 2021).

## 2. Célkitűzések

Vizsgálatainkban különböző csontok mikromorfológiai analízisét tűztük ki célul mikro-CT segítségével egér modellen. Kutatásainkhoz kétféle egér modellt kívántunk használni.

Az egyik egy génmódosítás eredményeképpen Buday és munkatársai által létrehozott Sh3pxd2b-KO egértörzs volt, ahol a Tks4 állványprotein vagy scaffold protein hiányát vizsgáltuk.

1. Meg kívántuk mérni a koponya és a femur növekedését, hogy összevessük a normális fejlődést mutató egerekével (WT).

2. El kívántuk végezni a femur kortikális és spongióza mikromorfológiai elemzését annak érdekében, hogy lássuk mutatja-e a Frank-ter Haar szindrómára jellemző osteoporotikus jellegzetességeket.

Másik felhasznált modellünk egy ovariektomizált egér modell volt, melyen a posztmenopauzás osteoporosisban létrejövő csontmikroarchitektúra változásokat illetve a D3-vitamin terápiás dózisú adagolásának hatásait kívántuk megfigyelni három mintavételi helyen.

3. Az egér femur kortikálisában ovariektómia hatására végbemenő osteoporotikus elváltozásokat kívántuk vizsgálni, illetve a D3-vitamin erre a folyamatra gyakorolt hatását.

4. Az egér femur spongiózában ovariektómia hatására végbemenő mikroarchitektúra változásokat és a BMD érték kapcsolatát kívántuk elemezni, illetve a D3-vitamin erre területre gyakorolt hatását.

5. Ovariektomizált egér mandibula spongiózájában a csontmikromorfológiai változások és a BMD érték kapcsolatát kívántuk vizsgálni, valamint a D3-vitamin hatását a folyamatra.

6. Egér mandibula condylus mikroszerkezetét kívántuk megfigyelni a fenti kísérleti körülmények közt.

### 3. Módszerek

#### 3.1. Cephalometriai analízis mikro-CT segítségével az Sh3pxd2b-KO egér modellen

A vizsgált csoportokban 6-6 darab 8 hónapos egér volt. Az egyik csoportba az Sh3pxd2b-KO egerek tartoztak, a másikat a kontroll csoportot biztosító C57Bl/6 egerek alkották. Az állatok tartása a kísérleti állatok tartására vonatkozó európai ajánlás (Guidelines for Accommodation and Care of Animals) alapján történt, a PEI/001/2042-6/2014 engedélyben foglaltakkal megegyező módon. Az állatok exterminalása után a bal femur és a teljes koponya eltávolításra került, és tárolásuk 4 Celsius fokon 0,02 %-os nátrium-azid tartalmú foszfát puffer oldatban történt a vizsgálatig. A szkennelést Skyscan 1172 mikro-CT készülékkel (Bruker, Kontich, Belgium) végeztük. Femur esetén a beállítások a következők voltak: a feszültség 50 kV, az áramerősség 198  $\mu$ A, a voxel méret 5,02  $\mu$ m. 0,5 mm-es alumínium filtert használtunk. A léptetés szöge 0,5 fokos volt. A koponya szkenneléskor a feszültség 60 kV, az áramerősség 166  $\mu$ A, a voxelméret 8,2  $\mu$ m volt, 0,5 mm-es alumínium filtert és 0,5 léptetési szöget alkalmazva. A rekonstrukcióhoz az NRECON (Skyscan, Bruker) szoftvert használtunk, majd a méréseket a CT Analyser 1.7.0.0. (Skyscan, Bruker) szoftverben végeztük. A szegmentációhoz globális manuális threshold technikát alkalmaztunk. Az alsó threshold érték 110, a felső érték 255 volt.

A mérőpontokat a Richtmeister és munkatársai által közzétett tanulmánnyal azonos módon állapítottuk meg (Richtmeister és mtsai 2000). A koponyahosszúság mérőpontjai az alábbiak voltak: a foramen magnum elülső határának mediansaggitalis pontja és a felső metszőfogak közti septum mediansaggitalis síkba eső, anterior irányba legkiemelkedőbb pontja. A koponyaszélesség mérőpontjai a processus zygomaticus és az os temporale pars squamosa találkozási pontjai voltak a jobb és bal oldalon. A koponyamagasság mérőpontjait egyrészt a foramen magnum elülső határának mediansaggitalis síkba eső pontján, másrészt az os temporale-k és az os occipitale közti sutura mediansaggitalis síkba eső leganteriorabb pontján jelöltük ki. A mandibula ramus hosszúságát a symphysis mandibulae legelső pontja és az angulus mandibulae legelső pontja közt mértük. A femur hosszát a trochanter major és a condylus lateralis legkiemelkedőbb pontjai közt határoztuk meg. Hogy a mérések pontosságát megnöveljük, minden mérőpont azonosítást

és mérést minden csonton háromszor végeztünk el. Ezek középértékét használtuk a statisztikai analízisben, mely elkészítéséhez GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., California, USA) szoftvert használtunk. Student-féle t-próbát végeztünk és a szignifikancia szintje 0,05 volt.

### **3.2. A Tks4 deficiencia hatásának vizsgálata a csontmikromorfológiára Sh3pxd2b-KO egértörzsön**

A csontmikroarchitektúra vizsgálatát a femuron végeztük az Sh3pxd2b-KO és WT egerek esetén. Hogy ne csak az aktuális korú egerekről kapjunk képet, hanem az idő előrehaladásának függvényében is vizsgálhassuk a csontmikroszerkezet változást, a méréseket elvégeztük 4 hónapos és 8 hónapos WT és KO egereken is. Az állatok tartása és kezelése az előzőekben ismertetett módon történt.

A szkennelési protokoll ebben az esetben a következő volt: a feszültség 50 kV, az áramerősség 198  $\mu$ A, a voxel méret 5,02  $\mu$ m. 0,5 mm-es alumínium filtert használtunk. A léptetés szöge 0,5 fokos volt. A rekonstrukcióhoz NRECON (Skyscan, Bruker) szoftvert alkalmaztunk, majd a csont mikromorfológiai elemzést CT Analyser 1.7.0.0. (Skyscan, Bruker) segítségével végeztük. A szegmentációt globális manuális threshold technikával végeztük. Az alsó threshold érték 112, a felső érték 255 volt.

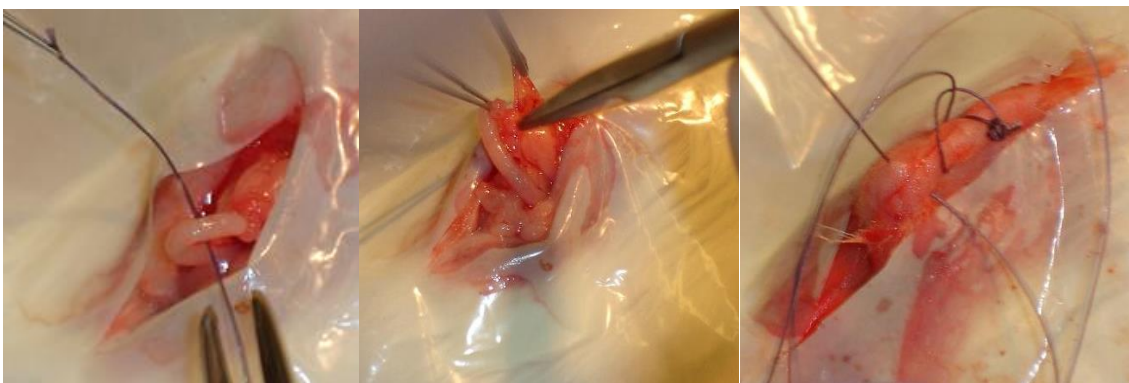
A region of interest (ROI) a femur distalis epiphysisnél található növekedési lemeztől határoztuk meg. Innen a diaphysis irányába mért ötvenedik szelet magasságától 400 szeleten (1,807mm) keresztül vizsgáltuk a trabekuláris csontot. A kortikális vizsgálatát a növekedési lemeztől mért 500. és 600. szelet között végeztük.

Vizsgáltuk a percent bone volume értéket (BV/TV), a trabekulák számát (Tb.N), a trabekulák vastagságát (Tb.Th), a trabecular bone pattern factor-t (Tb.Pf), total porosity értéket (tot) és a kortikális vastagságát (Ct.Th) értékeket.

A statisztikai analízishez GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., California, USA) szoftvert használtunk. Student-féle t-próbát végeztünk és a szignifikancia szintje 0,05 volt.

### 3.3. A D-vitamin hatása a femur csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira

30 darab 6 hetes, 22 g-os CRL:OF1 (Charles River Laboratories) egeret három csoportra osztottunk. A D3 csoport 10 tagja miután átesett az ovariectómián, a műtét napjától kezdve 6 héten át minden nap per os D-vitamint kapott (4 ng/nap Alpha D3-TEVA 0,25 µg) 1 csepp mogyoróolajban, míg az OVX csoport 10 tagja a műtét után, illetve a SHAM csoport 10 tagja az álműtét után a vizsgálat ideje alatt a D-vitamin vivőanyagát, 1 csepp mogyoróolajat kapott. A standard gyógyszerári cseppentő alkalmazásakor az egységnyi csepp mérete 0,024 g mogyoróolaj esetén. Az egerek étrendjét az ajánlásoknak megfelelően úgy alakítottuk ki, hogy az 0,025 mg kolekalciferolt/kg (0,65 µmol vagy 1000 NE/kg) tartalmazzon és normál konzisztenciájú legyen (Benevenga és mtsai 1995). A műtétekhez intraperitoniálisan alkalmazott anesztetikus szer kombinációt használtunk (50mg/ttkg Ketanest 100mg/ml (Bela-pharm, Vechta, Németország) és 10 mg/ttkg Domitor 10ml (OrionPharma, Budapest, Magyarország)). Az ovariectómia és álműtétek esetén is mediansagittális dorzális metszést végeztünk. Ovariectómiánál az uterus két szarva fölött elhelyezkedő petefészkeket nem csak lokalizáltuk, mint az álműtétek esetén, de a körülvevő zsírszövettel és az uterus szarvak végével együtt azok eltávolításra is kerültek. Felszívódó varratokkal zártuk az uterusot, és nem-felszívódó varratokkal a bőr metszést (2. ábra).



2.ábra – Az uterus-szarv lokalizálása a felette elhelyezkedő petefészkekkel és a metszés zárása varratokkal (Körmendi és mtsai 2019)



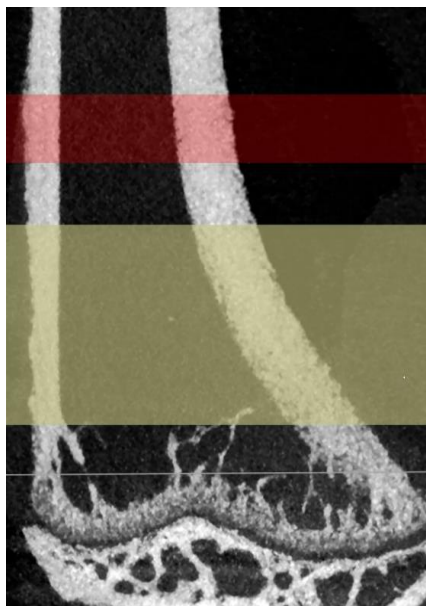
Az állatokat légkondicionált és programozott megvilágítású helységben helyeztük el a vizsgálat idejére. Az állatok exterminálása 100 %-os széndioxid belélegeztetésével történt, ahol a kamra térfogatának széndioxid koncentrációjának 20 %-os emelése 3 perc alatt valósult meg. Az állatok kezelésében és tartásában a Semmelweis Egyetem Állatkísérleti Szabályzatának és a kiadott engedélynek megfelelően jártunk el (22.1/2756/003/2007). Az állatok exterminálása után a bal femurt és a bal hemimandibulát eltávolítottuk, és 4 celsius fokon 0,02 %-os nátrium-azid tartalmú foszfát puffer oldatban tároltuk. A vizsgálatot Skyscan 1172 mikro-CT készülékkel (Bruker, Kontich, Belgium) végeztük.

A femur esetében a szkennelési protokoll a következő volt: a feszültség 50 kV-ra, az áramerősség 198  $\mu$ A-ra, a voxel méret 5,02  $\mu$ m-re volt beállítva. 0,5 mm-es alumínium filtert használtunk. A léptetés szöge 0,5 fokos volt. A rekonstrukcióhoz NRECON (Skyscan, Bruker) szoftvert alkalmaztunk, majd a csont mikromorfológiai elemzést CT Analyser 1.7.0.0. (Skyscan, Bruker) segítségével végeztük. A szegmentációt globális manuális threshold technikával végeztük. Az alsó threshold érték 102, a felső érték 255 volt.

A region of interest (ROI) a femur distalis epiphysisnél található növekedési lemeztől lett meghatározva. Innen a diaphysis irányába mért ötvenedik szelet magasságától 400 szeleten (1,807mm) keresztül vizsgáltuk a trabekuláris csontot. A kortikális vizsgálatát a növekedési lemeztől mért 500. és 600. szelet között végeztük, ahogy az a következő ábrán szemléltetésre kerül (3. ábra).

Vizsgáltuk a percent bone volume (BV/TV) értéket, a trabekulák vastagságát (Tb.Th) a trabecular bone pattern factor-t (Tb.Pf) és a kortikális vastagságot (Ct.Th).

A statisztikai kiértékeléskor SPSS 24.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) szoftvert használtunk. Az adatokon Kruskal-Wallis teszt után, ahol a szignifikancia szint 0,05 volt, post-hoc tesztként Dunn tesztet alkalmaztunk.

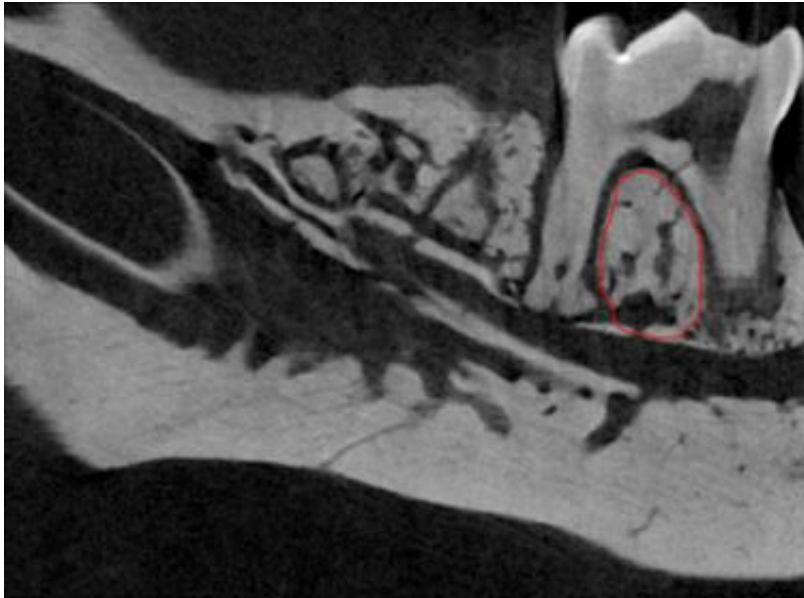


3. ábra – A kortikális vizsgálatához kijelölt ROI (piros) és a spongióza vizsgálatához használt ROI (zöld) elhelyezkedése a növekedési lemezhez (fehér) képest a femur hossz-metszeti képén (Körmendi és mtsai 2019)

### **3.4. A D-vitamin hatása a mandibula csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira**

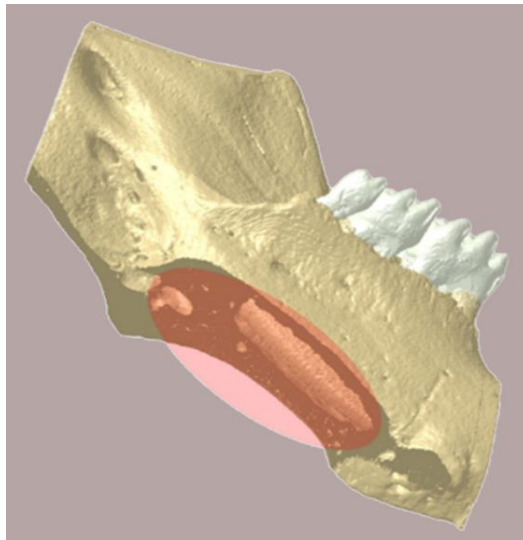
Ahogy a femur mikromorfológiai elemzésének módszertanánál ismertetésre került, az állatok bal hemimandibuláját is eltávolítottuk. Az előzőkkel megegyező módon a mintákat 4 celsius fokon 0,02 %-os nátrium-azid tartalmú foszfát puffer oldatban tároltuk, majd a szkennelést Skyscan 1172 mikro-CT készülékkel (Bruker, Kontich, Belgium) végeztük.

A mandibula estében a feszültség 70 kV, az áramerősség 114  $\mu$ A és a voxel méret 7,1  $\mu$ m volt. 0,5 mm-es alumínium filtert és 0,5 fokos léptetési szöget alkalmaztunk. A mintákon a mandibula spongióza paramétereinek vizsgálatára az 1. moláris fog gyökerei közti területet használtuk fel (4. ábra).



4. ábra – A mandibula trabekuláris csontszerkezetének vizsgálatához használt ROI, mely a pirossal bejelölt interradiális terület, egy saggitális metszeti, rekonstruált képen (Körmendi és mtsai 2019)

A mandibula kortikális ROI a 3. moláris gyökerének distalis felszínétől kezdve mesialisan 250 szeleten át vizsgáltuk a mandibula bázisán (5. ábra).



5. ábra – A mandibula kortikális vizsgálatához használt ROI sematikus ábrázolása pirossal egy 3D rekonstruált modellen (Körmendi és mtsai 2019)

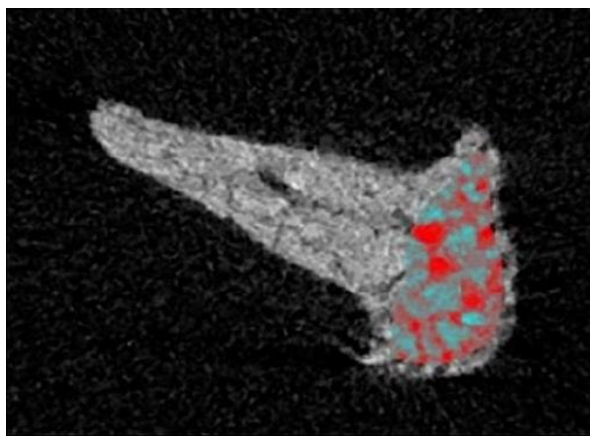
Vizsgáltuk a percent bone volume (BV/TV) értéket, a trabekulák vastagságát (Tb.Th), a bone surface to volume ratio-t (BS/BV) és a kortikális vastagságot (Ct.Th).

A rekonstrukció, szegmentáció, elemzés és statisztikai kiértékelés a femurnál ismertetett módon történt.

### **3.5. A D-vitamin hatása a mandibula condylus csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira**

A mandibula esetén leírásra került körülmények és paraméterek mellett vizsgáltuk az egerek eltávolított bal hemimandibuláján a condylus csontszerkezetét is. Ebben az esetben a szkennelési protokoll úgy változott, hogy a feszültség 60 kV, az áramerősség 156  $\mu$ A és a voxel méret 3,9  $\mu$ m volt. A filter mérete és típusa, valamint a léptetési szög megegyezett a mandibula többi területén alkalmazottal.

Itt a ROI a fejecs teljes szivacsos csontállományát jelentette. Mivel egér esetén nincs értelme az amúgy is kis mintavételi helyet tovább osztani, így az egész caput mandibulae spongiózát egyben vizsgáltuk (6. ábra).



*6. ábra – A condylus ROI kijelölése pirossal látható egy reprezentatív rekonstruált képen (Körmendi és mtsai 2021)*

Vizsgáltuk a percent bone volume (BV/TV) értéket, a trabekulák vastagságát (Tb.Th), a bone surface to volume ratio-t (BS/BV), a trabecular bone pattern factor-t (Tb.Pf) és a kortikális vastagságot (Ct.Th).

A rekonstrukció, szegmentáció, elemzés és statisztikai kiértékelés a femurnál ismertetett módon történt.

### **3.6. A D-vitamin hatása a femur és a mandibula bone mineral density (BMD) értékére**

A BMD meghatározásához a Burker-Micro-CT BMD kalibrációs protokollt követve, szükség van két különböző koncentrációjú kalcium-hidroxiapatit (CaHA) henger szkennelésére a vizsgálandó csontok szkennelését követően. Egerek esetén ez 2 mm-es 0,25 g/cm<sup>3</sup> és 0,75 g/cm<sup>3</sup> sűrűségű rudakkal végzett kalibrációt jelent. A denzitás értékek tartományának meghatározása után az alábbi képlet alapján tudtuk kiszámolni az egyes mintavételi helyek BMD értékét, ahol a mért Hounsfield units (HU) értékeket használtuk:

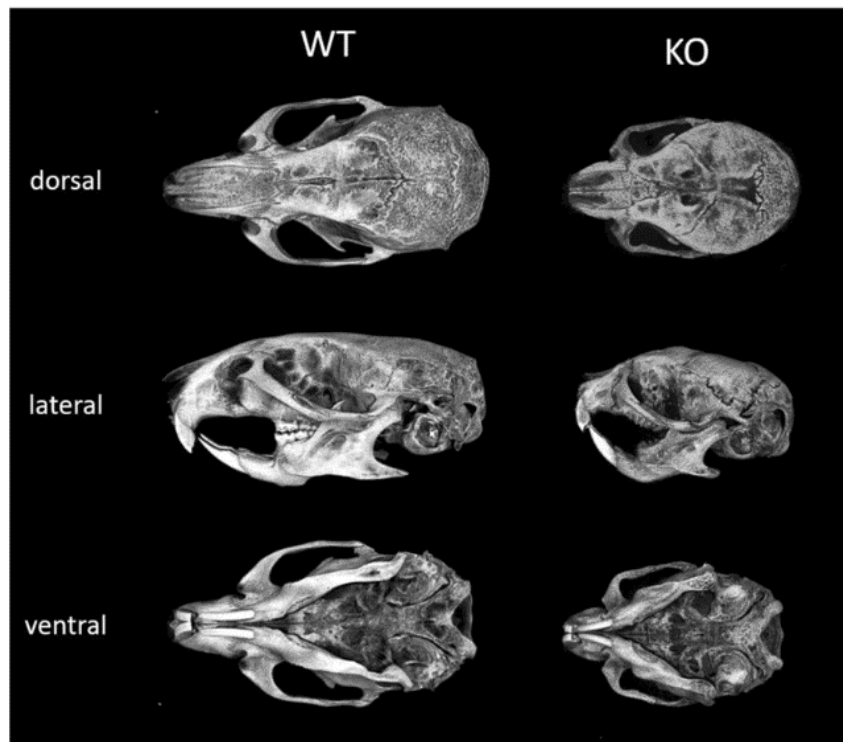
$$BMD = \frac{124,961805 - HU}{4912,70746} \left( \frac{g}{cm^3} \right)$$

A BMD mérést a femur spongióza és a mandibula spongióza mintavételi helyén végeztük el. A statisztikai kiértékelés SPSS 24.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) szoftverrel történt. Az adatokon Kruskal-Wallis teszt után, ahol a szignifikancia szint 0,05 volt, Dunn-féle post-hoc tesztet alkalmaztunk.

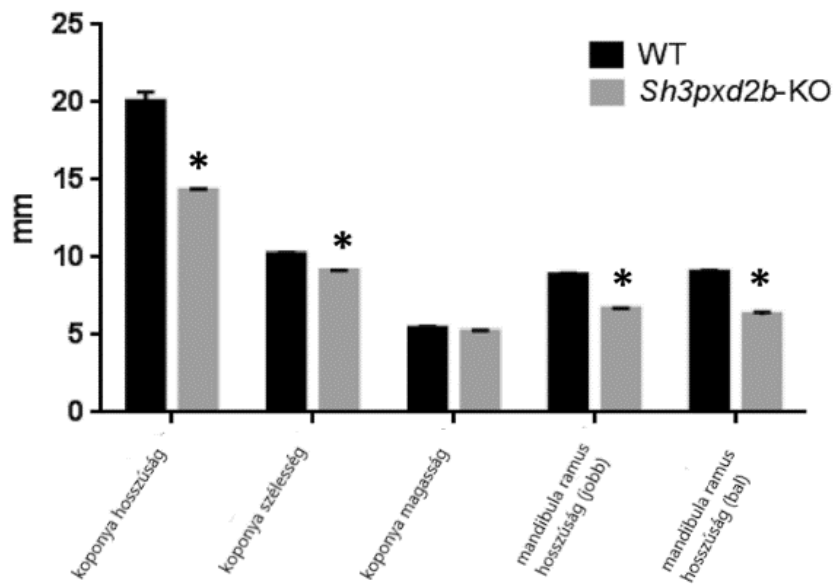
## 4. Eredmények

### 4.1. Cephalometriai analízis mikro-CT segítségével az *Sh3pxd2b*-KO egér modellen

A KO egerek koponyája szignifikánsan rövidebbnek és keskenyebbnek bizonyult a WT egerekéhez viszonyítva, a koponyamagasságban azonban nem volt szignifikáns különbség (7. és 8. ábra, 4. táblázat).



7. ábra – Az *Sh3pxd2b*-KO és a vad típusú (*WT*) egerek cephalometriai analízise jól mutatja a növekedési különbséget 8 hónapos egerek esetén

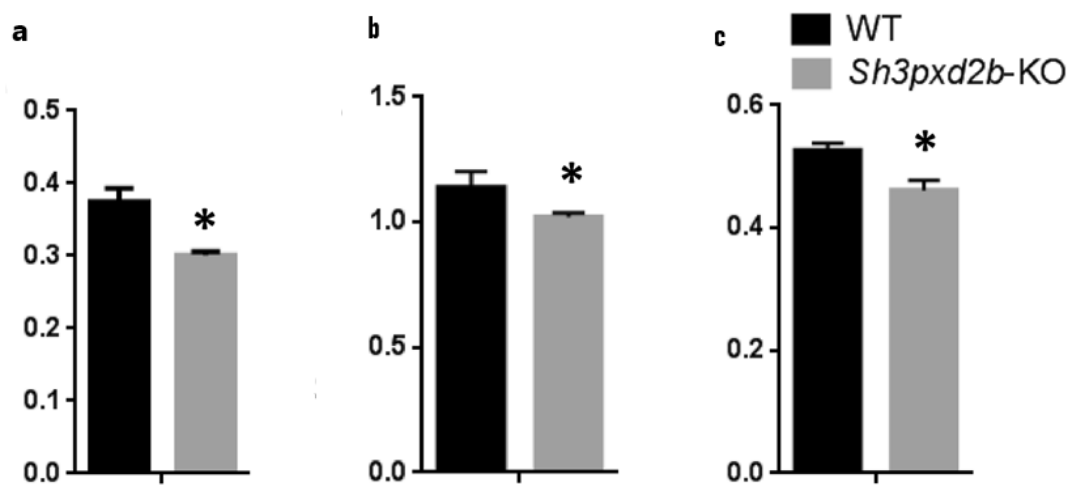


8. ábra – A legnagyobb átmérőnél mérve a hosszúságát, magasságát és szélességét a koponyáknak illetve a mandibula bázis hosszának, megfigyelhető szignifikáns különbség minden dimenzióban, kivéve a koponya magasságát, ahol \*  $p < 0,05$  WT vs. KO (Vas és mtsai 2019)

4. táblázat – Az *Sh3pxd2b*-KO és a WT egerek cephalometriai eredményei, ahol \* jelöli a szignifikánsan különböző paramétereket KO és WT csoport között

	KO egér átlag és SD	WT egér átlag és SD
<b>koponya hosszúság (mm) *</b>	14,42 ± 0,24	20,68 ± 0,95
<b>koponya szélesség (mm) *</b>	9,18 ± 0,18	10,81 ± 0,15
<b>koponya magasság (mm)</b>	5,32 ± 0,13	5,48 ± 0,21
<b>jobb mandibula ramus (mm) *</b>	6,75 ± 0,20	9,06 ± 0,15
<b>bal mandibula ramus (mm) *</b>	6,25 ± 0,16	9,20 ± 0,14

A KO egereknél mért szignifikánsan alacsonyabb hossz/szélesség/magasság arány mutatja, hogy ezeknek az állatoknak leginkább antero-posterior irányban erősen összenyomott koponyájuk van. Ha a femur hosszát vetjük össze a koponya illetve a mandibula hosszával, akkor mindkét esetben szignifikánsan alacsonyabb értéket kapunk a KO egércsoportnál. A KO egerek esetén fogtorlódás és oldalsó nyitott harapás is megfigyelhető volt (9. ábra).



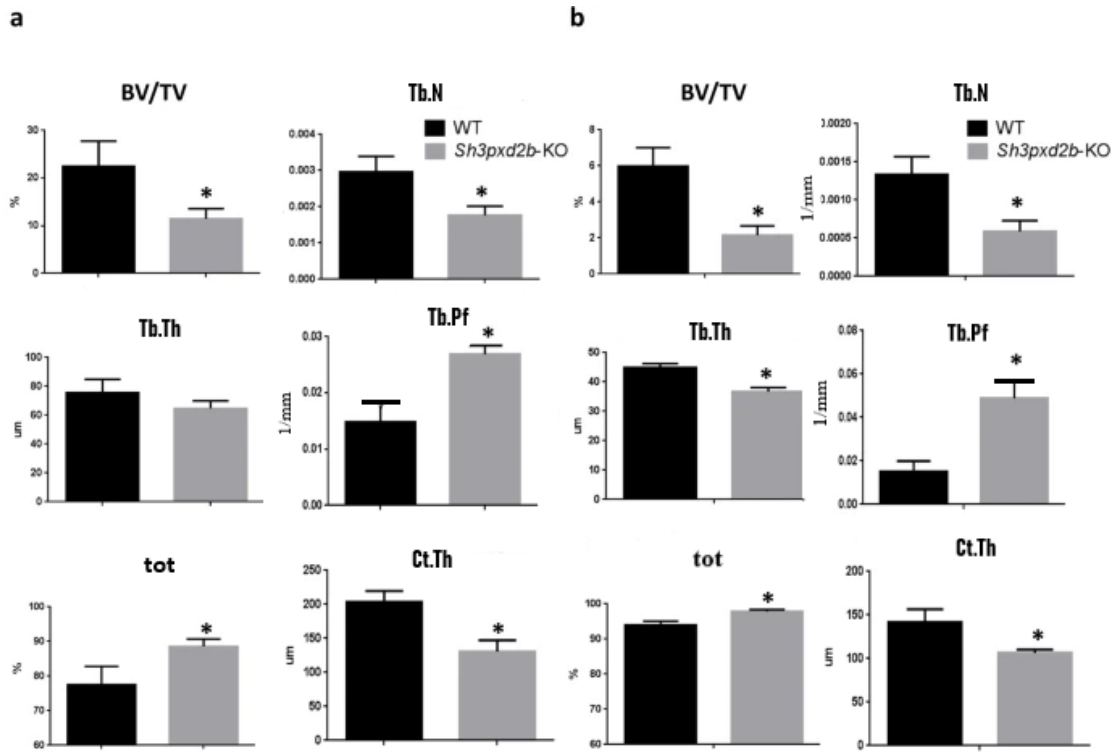
9. ábra – A koponya hossz/szélesség/magasság aránya (a), a koponya hosszának és a femur hosszának aránya (b), a mandibula és a femur hosszának aránya (c) KO és WT egerek esetén, ahol \*  $p < 0,05$  WT vs. KO (Vas és mtsai 2019)

#### 4.2. A Tks4 deficiencia hatásának vizsgálata a csontmikromorfológiára Sh3pxd2b-KO egértözsön

A percent bone volume (BV/TV) szignifikánsan magasabb volt a WT egereknél mindkét korcsoportban a KO egerekhez mérten. A trabekulák száma (Tb.N) szintén szignifikánsan alacsonyabb volt mindkét korcsoportban a KO egereknél, mint a WT-nál. A trabekulák vastagsága (Tb.Th) a 8 hónapos egereknél szignifikánsan kisebbnek mutatkozott a KO egereknél, mint a WT csoport tagjainál. A trabecular bone pattern faktor (Tb.Pf) mindkét korcsoportban szignifikánsan magasabb volt a KO egereknél, mint a WT csoportban. A teljes porozitás (tot) értéke szignifikánsan magasabb volt a KO csoport mindkét



korosztályában, mint a vad típusnál. A kortikális vastagság (Ct.Th) szignifikánsan alacsonyabb volt mindkét korcsoportban a KO egereknél, mint a WT egereknél. (10. ábra és 5. táblázat).



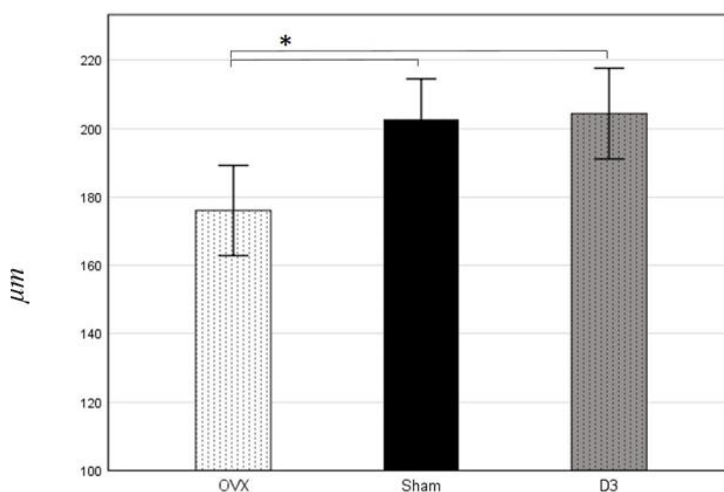
10. ábra - Az *Sh3pxd2b*-KO és a WT egerek mikromorfológiai adatai 4 hónapos korban (a) és 8 hónapos korban (b), ahol \*  $p < 0,05$  WT vs. KO (Vas és mtsai 2019)

5. táblázat - A 4 illetve 8 hónapos *Sh3pxd2b*-KO és *WT* egerek csontmikromorfológiai adatai

	4 hónapos egér átlag és SD		8 hónapos egér átlag és SD	
	WT	KO	WT	KO
<b>BV/TV (%)</b>	23,1 ± 4,8	11,0 ± 1,9	6,0 ± 1,7	2,3 ± 0,9
<b>Tb.N (mm<sup>-1</sup>)</b>	0,003±0,0005	0,0019±0,0005	0,0014±0,0005	0,0005±0,0001
<b>Tb.Th (µm)</b>	77,4 ± 3,9	62,3 ± 2,1	44,9 ± 1,3	38,2 ± 1,2
<b>Tb.Pf (mm<sup>-1</sup>)</b>	0,015 ± 0,005	0,027 ± 0,003	0,018 ± 0,003	0,049 ± 0,008
<b>tot (%)</b>	78,4 ± 4,8	89,5 ± 2,1	93,2 ± 0,9	96,1 ± 0,5
<b>Ct.Th (µm)</b>	209,7 ± 9,7	147,4 ± 7,5	148,3 ± 7,2	104,9 ± 2,3

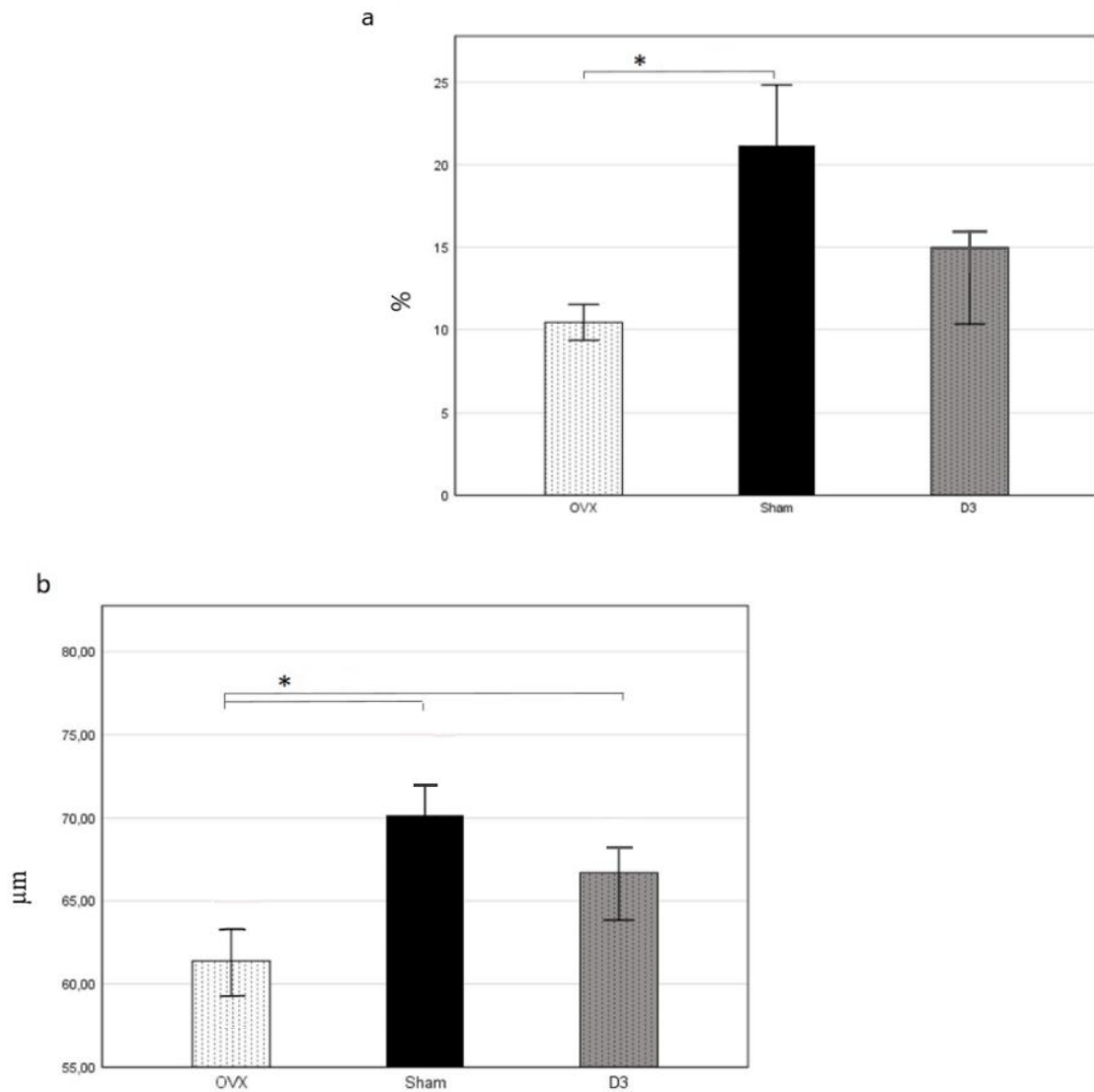
#### 4.3. A D-vitamin hatása a femur csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira

A femur kortikális vizsgálata során a Ct.Th szignifikánsan alacsonyabb volt az OVX (175,1 ± 5,8 µm) csoportban, mint a SHAM (202,7 ± 4,9 µm) vagy a D3 (203,8 ± 6,1 µm) csoportban (11. ábra).



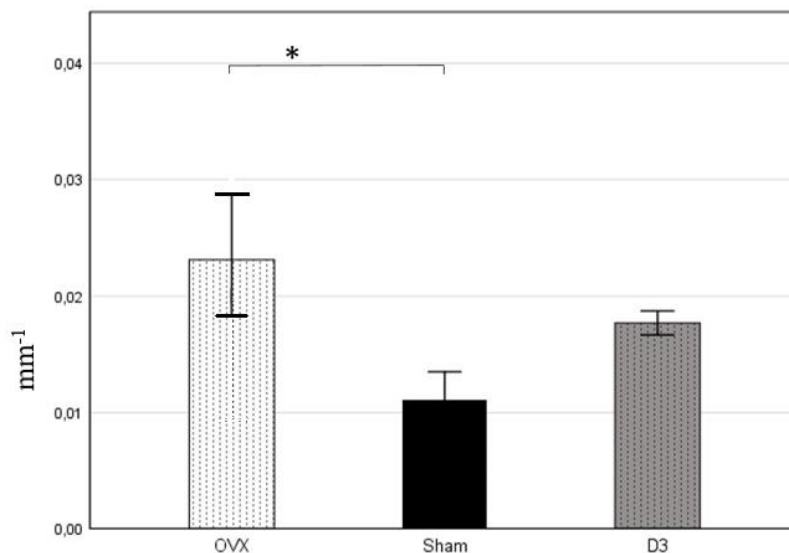
11. ábra – A femur kortikális vastagsága µm-ben kifejezve OVX, SHAM és D3 csoportok esetén, ahol \*  $p < 0,05$  OVX vs. Sham és OVX vs. D3 (Körmendi és mtsai 2019)

A spongióza vizsgálata során a BV/TV szignifikánsan alacsonyabb volt az OVX ( $10,98 \pm 1,78$  %) csoportban, mint a SHAM ( $21,68 \pm 3,62$  %) csoportban. BV/TV értéknél a D3 csoportnál ( $15,0 \pm 2,5$  %) nem volt szignifikáns eltérés a SHAM csoporttól. A Tb.Th szignifikánsan alacsonyabb volt az OVX ( $61,4 \pm 2,7$   $\mu\text{m}$ ) csoportban a SHAM ( $70,3 \pm 2,4$   $\mu\text{m}$ ) és a D3 ( $67,0 \pm 2,2$   $\mu\text{m}$ ) csoporthoz képest (12. ábra).



12. ábra – A femur BV/TV értékek százalékban kifejezve (a) és a Tb.Th értékek (b) az OVX, SHAM és D3 csoportok esetén, ahol \*  $p < 0,05$  OVX vs. Sham és OVX vs. D3 (Körmendi és mtsai 2019)

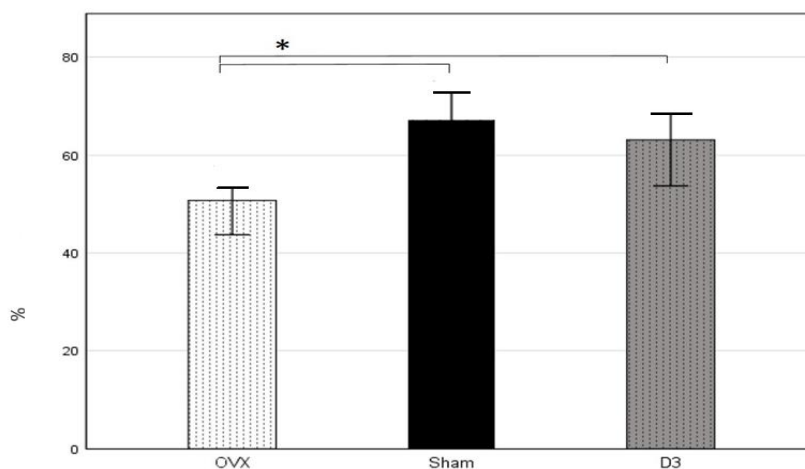
A Tb.Pf az OVX ( $0,023 \pm 0,009 \text{ mm}^{-1}$ ) csoportban szignifikánsan magasabb volt, mint a SHAM ( $0,011 \pm 0,003 \text{ mm}^{-1}$ ) csoportban. A D3 csoport ( $0,018 \pm 0,002 \text{ mm}^{-1}$ ) nem mutatott szignifikáns eltérést (13. ábra).



13. ábra – A femur Tb.Pf értékei mindhárom csoport esetén, ahol \*  $p < 0,05$  OVX vs. Sham és OVX vs. D3 (Körmendi és mtsai 2019)

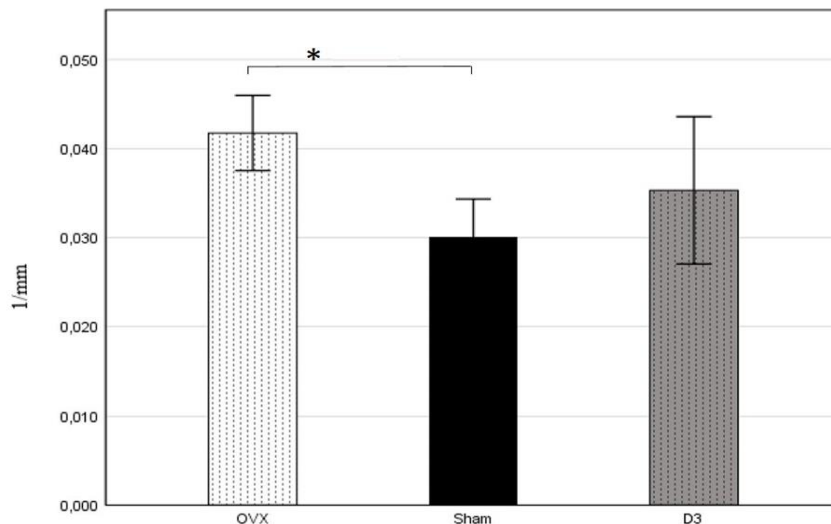
#### 4.4. A D-vitamin hatása a mandibula csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira

A mandibula spongiózában az OVX csoportnál ( $50,2\% \pm 4,3$ ) a BV/TV szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a SHAM ( $68,4\% \pm 3,9$ ) vagy a D3 ( $61,9\% \pm 4,9$ ) csoportnál (14. ábra).



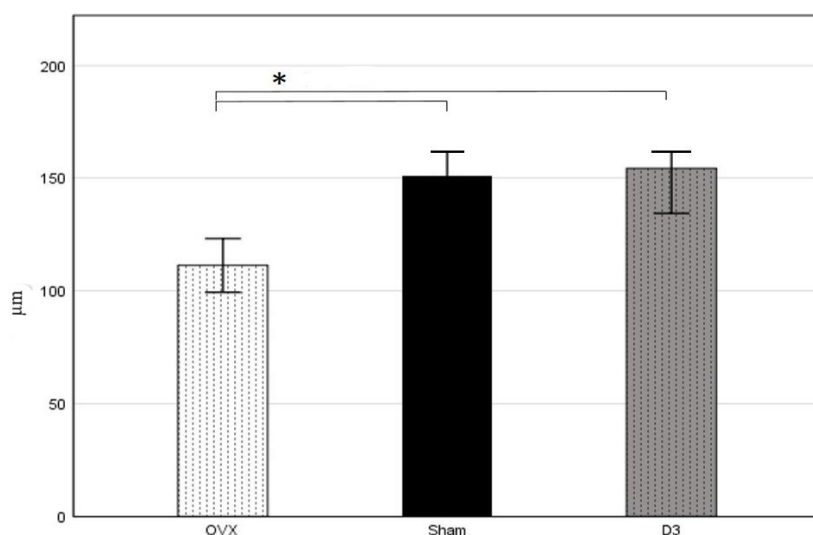
14. ábra – A mandibula BV/TV értékei a három vizsgált csoportban, ahol \*  $p < 0,05$  OVX vs. Sham és OVX vs. D3 (Körmendi és mtsai 2019)

A BS/BV az OVX csoportban ( $0,041 \pm 0,005 \text{ mm}^{-1}$ ) szignifikánsan nagyobb volt, mint a SHAM csoportnál ( $0,03 \pm 0,006 \text{ mm}^{-1}$ ). A D3 csoport ( $0,035 \pm 0,01 \text{ mm}^{-1}$ ) nem mutatott szignifikáns eltérést a SHAM csoporttól, sem az OVX csoporttól (15. ábra).



15. ábra – A BS/BV értékek mandibula esetében mindhárom csoportnál, ahol  $* p < 0,05$  OVX vs. Sham (Körmendi és mtsai 2019)

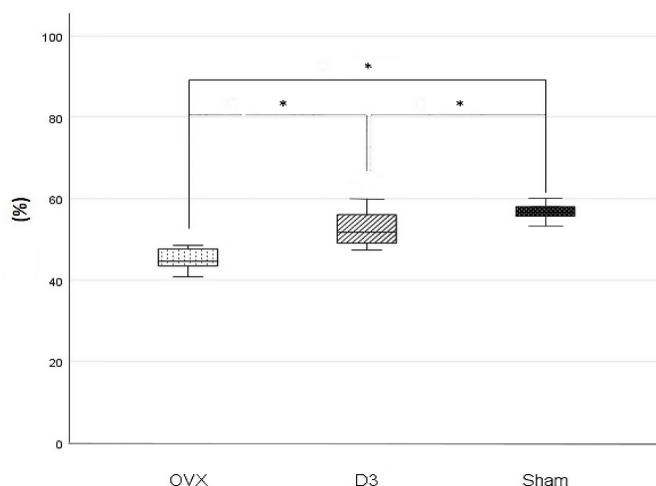
A Tb.Th az OVX csoportban ( $108,5 \pm 5,6 \mu\text{m}$ ) szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a SHAM ( $150,0 \pm 2,4 \mu\text{m}$ ) vagy a D3 csoportnál ( $151,4 \pm 2,6 \mu\text{m}$ ). A mandibula kortikálisában nem voltak szignifikáns változások a vizsgált paraméterekben (16. ábra).



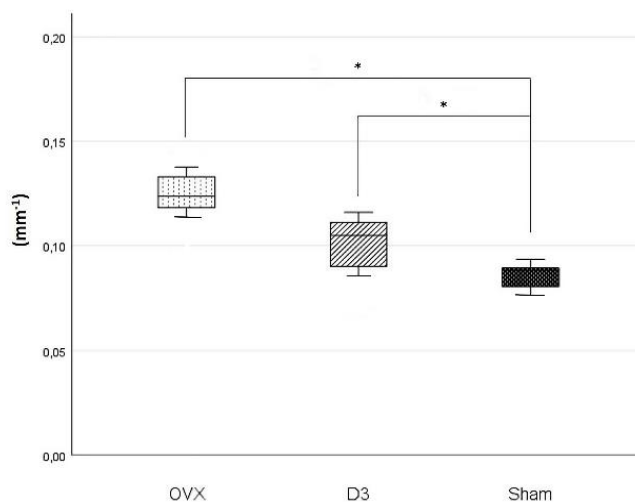
16. ábra – A mandibula Tb.Th értékek mindhárom csoportnál, ahol  $* p < 0,05$  OVX vs. Sham és OVX vs. D3 (Körmendi és mtsai 2019)

#### 4.5. A D-vitamin hatása a mandibula condylus csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira

A condylusban a BV/TV értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak az OVX csoportban ( $44,93 \pm 4,09$  %), mint a SHAM ( $57,61 \pm 4,5$  %) és a D3 ( $51,47 \pm 5,01$  %) csoportban és szignifikáns volt a különbség a SHAM és D3 csoport között is. A BS/BV érték szignifikánsan magasabb volt az OVX ( $0,125 \pm 0,015$  mm<sup>-1</sup>) és a D3 ( $0,109 \pm 0,016$  mm<sup>-1</sup>) csoportban, mint a SHAM ( $0,088 \pm 0,012$  mm<sup>-1</sup>) csoportban (17. és 18. ábra).

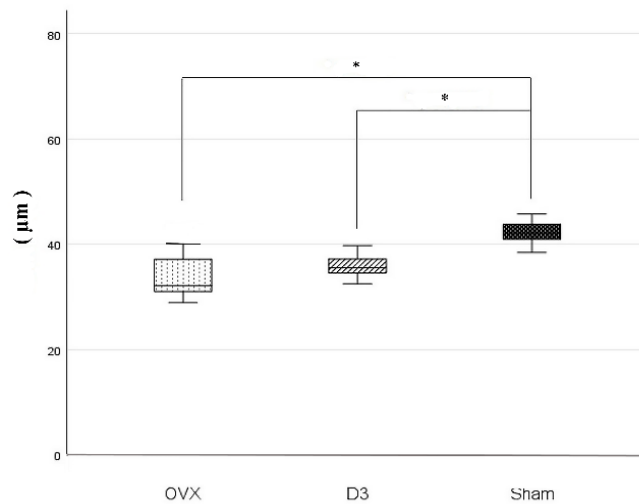


17. ábra – A condylus BV/TV értékei mindhárom csoport esetén, ahol \*  $p < 0,05$  OVX vs. Sham, OVX vs. D3 illetve D3 vs. Sham (Körmendi és mtsai 2021)

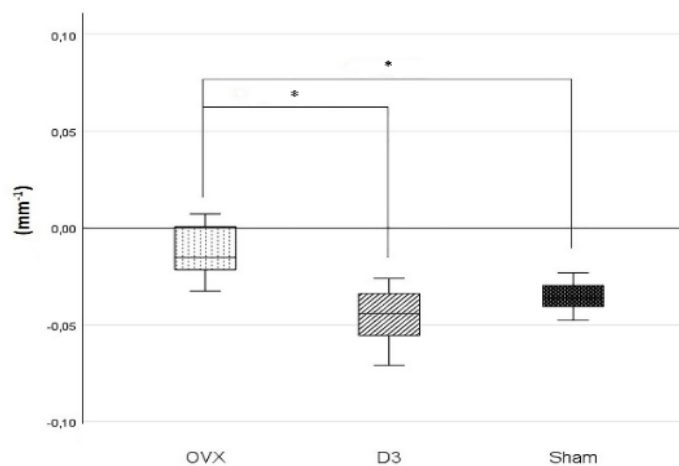


18. ábra – A condylus BS/BV értékei mindhárom csoport esetén, ahol szignifikáns különbség található az OVX és D3 illetve a D3 és Sham csoport közt, ahol a szignifikancia szint  $p < 0,05$  volt (Körmendi és mtsai 2021)

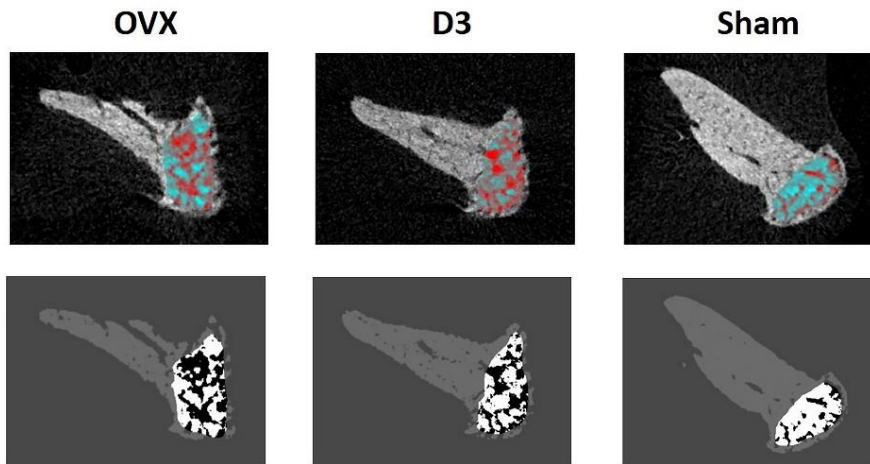
A Tb.Th érték szignifikánsan magasabbnak bizonyult a SHAM csoportban ( $42,8 \pm 3,1 \mu\text{m}$ ), mint az OVX ( $34,42 \pm 4,9 \mu\text{m}$ ) és D3 ( $36,23 \pm 3,1 \mu\text{m}$ ) csoportokban. A Tb.Pf érték szignifikánsan magasabb volt az OVX csoportban ( $-0,01 \pm 0,003 \text{ mm}^{-1}$ ), mint a SHAM ( $-0,039 \pm 0,01 \text{ mm}^{-1}$ ) és D3 ( $-0,043 \pm 0,01 \text{ mm}^{-1}$ ) csoportokban (19., 20. és 21. ábra).



19. ábra – A condylusok Tb.Th értékei láthatóak mindhárom csoport esetén, ahol szignifikáns különbséget találtunk az OVX és Sham illetve D3 és Sham csoportok közt  $p < 0,05$  szignifikanciaszint esetén (Körmendi és mtsai 2021)



20. ábra – A condylusok Tb.Pf értékei láthatóak mindhárom csoport esetén, ahol szignifikáns különbség volt az OVX és D3 illetve az OVX és Sham csoportok közt  $p < 0,05$  szignifikanciaszint alkalmazásakor (Körmendi és mtsai 2021)



21. ábra – Rekonstruált (felső sor) és binarizált képek (alsó sor) a kijelölt ROI-val a három vizsgálati csoport esetén a condylusban (Körmendi és mtsai 2021)

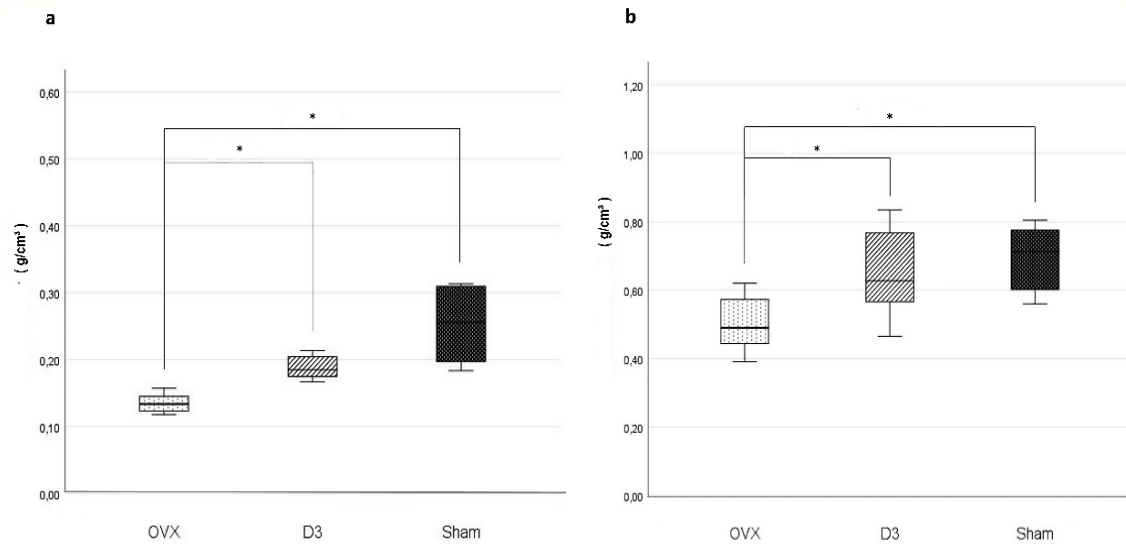
#### 4.6. A D vitamin hatása a femur és a mandibula bone mineral density (BMD) értékére

A femur területén mért BMD értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak az OVX csoportban ( $0,14 \pm 0,02 \text{ g/cm}^3$ ), mint a SHAM ( $0,25 \pm 0,05 \text{ g/cm}^3$ ) és a D3 ( $0,18 \pm 0,03 \text{ g/cm}^3$ ) csoportban.

A mandibulában mért BMD értékek szintén szignifikánsan alacsonyabbak voltak az OVX csoportban ( $0,5 \pm 0,07 \text{ g/cm}^3$ ), mint a SHAM ( $0,69 \pm 0,08 \text{ g/cm}^3$ ) és a D3 ( $0,64 \pm 0,07 \text{ g/cm}^3$ ) csoportban.

A SHAM és D3 csoport között egyik mintavételi helyen sem volt szignifikáns különbség (22. ábra).





22. ábra – A BMD értékek femur (a) és mandibula (b) esetén, ahol \*  $p < 0,05$  OVX vs. Sham, OVX vs. D3 illetve D3 vs. Sham (Körmendi és mtsai 2021)

## **5. Megbeszélés**

### **5.1. Cephalometriai analízis mikro-CT segítségével az Sh3pxd2b-KO egér modellen**

A megfigyelések alapján látszik, hogy az Sh3pxd2b-KO egerek ugyanúgy bradycephalok, mint a Frank-ter Haar szindrómával élő páciensek. A mért és relatív mandibula hosszúság mutatja, hogy a KO egerek micrognathiában is szenvednek. A KO egerek fogazati eltéréseket is mutattak: fogtorlódás és nyitott harapás volt megfigyelhető a moláris régióban. Elülső nyitott harapás nem volt megfigyelhető, ami talán azzal magyarázható, hogy az arcközép és a mandibula növekedésbeli elmaradása hasonló mértékű.

### **5.2. A Tks4 deficiencia hatásának vizsgálata a csontmikromorfológiára Sh3pxd2b-KO egértörzsön**

A BV/TV érték alacsonyabb volta a 4 hónapos KO egereknél már mutatja, hogy a femur spongiosájának azonos területét vizsgálva a teljes vizsgált szövetmennyiségben alacsonyabb a csont mennyisége. Ez már önmagában is jelentős egészségügyi problémát okozhat, főleg, hogy 50 %-ot meghaladó a különbség, és ez az érték tovább romlik az idő előrehaladtával, tekintettel a 8 hónapos egerek mintáiból nyert eredményekre.

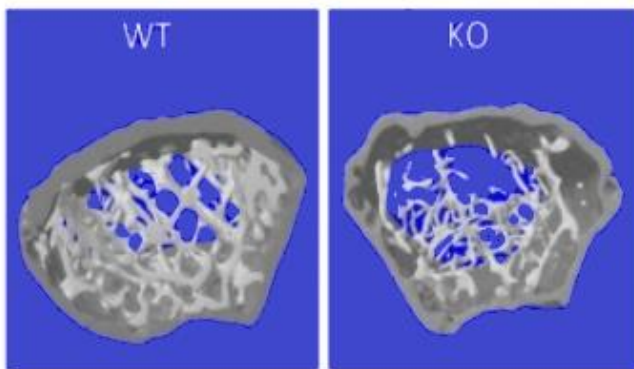
Ezt a mennyiségi változást támasztják alá a trabekulák számát (Tb.N) jelző mérőszámok és az is látható, hogy a 4 hónapos korban még csak tendenciaként értelmezhető trabekula vastagság (Tb.Th) csökkenés 8 hónapos korra szignifikánssá válik. Ezek a számok már minőségi változásra utalnak a csontszerkezetben a mennyiségi változás mellett.

A csont mikroszerkezetének minőségét elfogadottan jól jellemzi a trabecular bone pattern factor (Tb.Pf). Ez a szoftver által számított érték a trabekulák összeköttetéseiről ad információt. Alapgondolata, hogy minél több a konkáv felszín, annál több összeköttetés található a trabekulák között, és minél több a konvex felszín, annál több lekerekedett trabekulafelszín van, ahol megszakadt az összeköttetés. Így az alacsonyabb Tb.Pf érték több összeköttetéssel rendelkező, jobb minőségű csontszerkezetet jelez. Ennek fényében látható, hogy az előbbi mért értékek (BV/TV, Tb.N, Tb.Th) egybecsengnek a Tb.Pf

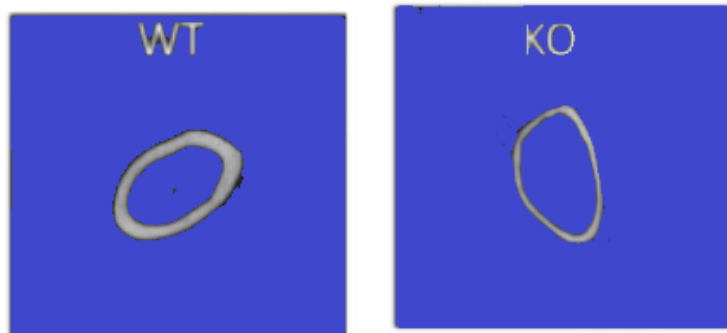
eredményekkel, melyek a KO csoportok mindkét korosztályában szignifikánsan magasabbak a WT csoport eredményeinél, tehát szignifikánsan kevesebb az összeköttetés a spongióza trabekulái közt.

A KO egereknél mérhető kortikális vastagság (Ct.Th) csökkenés mindkét korcsoportban azt jelzi, hogy a kompakt, lassabban reagáló kortikális csont is erősen gyengült szerkezetű (23. ábra).

**a**



**b**



23. ábra – A femur reprezentatív 3D rekonstruált ábrája a mikroszerkezet különbségéről WT és KO egerek esetén (a), illetve a rekonstruált femur egy reprezentatív 2D szeletén a kortikális átmetszete WT és KO egereknél (b)

### **5.3. A D-vitamin hatása a femur, a mandibula és a condylus csontszerkezetének mikromorfológiai tulajdonságaira és a bone mineral density (BMD)-re**

Mikor csonttrikulásról esik szó, mindig elhangzik, hogy nagyon alattomos betegség, mert sokszor csak az első fraktúra hívja fel a figyelmet arra, hogy egy ember súlyos csonttrikulásban szenved, mivel a betegség sokáig nélkülöz minden tünetet. Ám a tünetekkel járó törések és a legtöbbször tünetmentes mikrofaktúrák nem csupán a csontszövet megkevesbedett voltából következnek, hanem az adott csont mikroarchitektúrájának jelentős minőségi változásából. Ezek a változások csontonként eltérő időben és módon jönnek létre, sőt akár egy csonton belül is eltérések találhatóak.

Ahogy az a következőkben is látható a spongióza és kortikális mikroszerkezetének elemzésére széleskörben alkalmazott eszközzé vált a mikro-CT humán és állati eredetű minta esetében is. Az így nyert adatok, vagy az ezekből számoltak, jól jellemzik a csont adott pillanatban fennálló szerkezetét. Ám a szoftverek segítségével a kutatási eszközök téra tovább bővül. A csont ellenálló képességére és a potenciálisan bekövetkező törések lehetséges helyének meghatározására létrehoztak végeelem analízis modellt (FEA) (Rhee és mtsai 2009). A FEA alkalmazása a biomechanika területén 1972-es első publikálása óta exponenciálisan növekszik. A mikro-CT adatokból egyre több algoritmus készül a csont remodelling szimulálására is (Parashar és mtsai 2016). Új felhasználási terület a mikro-CT adatokból létrehozott 3D nyomtatott spongióza minták mechanikai tesztelése (Barak és mtsai 2018), ám ennél is előremutatóbb a mesterséges intelligencia használata a különböző csontokat érintő elváltozások modellezésében. Egy tanulmányban a ReconGAN mesterséges intelligencia segítségével mikro-CT-ből nyert adatokból szimuláció segítségével meg tudták mondani, hogy mekkora feszültséget bír még el a csigolya szerkezete, mielőtt eltörne, anélkül, hogy fizikai objektumként létrehozták volna, például 3D nyomtatással a modellt (Ahmadian és mtsai 2022).

A különböző csontok mikroarchitektúrájának mikro-CT-vel történő vizsgálata során minden paraméter beállításának nagy jelentősége van, ám ezek közül is kiemelten fontos a helyes voxelméret meghatározása. A voxelméret megválasztásánál figyelembe kell venni, hogy a túl nagy felbontás rendkívül megnyújtja a szkennelési időt, valamint jelentősen nehezíti az adathalmaz kezelését. A voxelszámnak ugyanakkor elegendőnek

kell lennie a csont összetett szerkezetének megragadására. A vizsgálatok azt mutatják, elegendő a szerkezeti elemzésre, ha 6 voxel alkot egy trabekulát a vastagságmeghatározás irányában (Wu és mtsai 2015).

Egy másik rendkívül fontos, kiemelendő részlet a szegmentáció elvégzésének módja. A threshold értékének beállításakor bináris képet hozunk létre egy összetett képből. Kvalitatív meghatározás végzésekor, az eredeti szürkeárnyalatos képet egy kalibrált szakértő veti össze a szegmentált csont képével. Kvantitatív meghatározásról akkor beszélünk, ha hisztogram-értékek alapján határozzák meg, mi számít csontszövetnek és mi nem. Globális threshold technika esetén egy fix, meghatározott threshold értéket állítanak be az egész adathalmazra, míg a lokális threshold technika használatakor változó threshold érték van rendelve minden voxelhez a szomszédos voxelek szürkeség-értékének információjától függően (Firdousi és mtsai 2014). Ez utóbbi esetben természetesen külön, automatikus szegmentációs algoritmusok segítik a bináris képek létrehozását.

Isaksson és munkatársai humán mintákon vizsgálta a voxelméret és threshold technikák befolyását a legtöbbször használt mikromorfológiai adatokra. A voxelméret a csípő csontból nyert mintáknál 14  $\mu\text{m}$ , a comb és tibia mintáknál 18  $\mu\text{m}$  volt. Két threshold technikát használtak minden mintánál: globális küszöbértéket a voxelmérettől függetlenül, illetve helyi küszöbértéket. Mindent összevetve azt találták, hogy a lokális küszöbértéket használó algoritmus kevésbé alkalmas a kiemelt paraméterek (BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp) közti eltérések megjelenítésére (Isaksson és mtsai 2011).

A voxelméret helyes megválasztására hívja fel a figyelmet Longo és munkatársainak kísérlete, ahol ovariektomizált patkány modellen a tibiát vizsgálták mikro-CT-vel *in vivo* 18  $\mu\text{m}$ -es és *ex vivo* 9 és 18  $\mu\text{m}$ -es felbontással. 18  $\mu\text{m}$ -es voxelméretnél az *in vivo* és *ex vivo* szkenneléssel nyert csontparaméterekben nem volt szignifikáns különbség. A 9  $\mu\text{m}$ -es voxelméretnél kapott értékeket összevetve a 18  $\mu\text{m}$ -es voxelméretnél mértekkel, szignifikánsan magasabb volt a Tb.Th és a Ct.Th a 18  $\mu\text{m}$  felbontásnál mind az OVX, mind a SHAM csoportnál, bár a többi paraméterben nem volt szignifikáns eltérés (Longo és mtsai 2017).

Egy egér vertebrán végzett kutatásban a voxelméretet 6  $\mu\text{m}$  és 30  $\mu\text{m}$  között változtatták, a threshold értéket pedig kvantitatív és kvalitatív módon is meghatározták. Azt találták, hogy egyes paraméterek erősen függenek a voxelmérettől, ilyen a Tb.Th, ám más

paramétereknél, ilyen a Tb.N és a Tb.Sp, a voxel méretének változtatása nem okoz szignifikáns eltérést. Kis voxelméret mellett a két threshold technika alkalmazása nem hozott szignifikáns különbséget a vizsgált csontmikromorfológiai adatokban, de növelve a voxelméretet az eltérések szignifikánssá váltak. Mindent összevetve a kvalitatív szegmentációs technikát hatékonyabbnak találták BV/TV és Tb.Th mérésére a különböző voxelméretek mellett (Christiansen és mtsai 2016).

A fenti kutatások adatai is alátámasztották, hogy az általunk is alkalmazott kvalitatív, globális threshold technika, az általunk vizsgálni kívánt paraméterekhez kísérletünk körülményei között, megfelelő. A helyes voxelméretet a különböző mintavételi helyeken pedig, a fentiek fényében, szakirodalmi összevetés és ajánlás alapján választottuk ki.

Bár a mi vizsgálataink fókuszába nem került bele a csigolyatestek mikroszerkezetének vizsgálata, a teljesség igénye miatt erről a területről is szólni kell klinikai jelentősége miatt. Fiatalabb korosztályokban a csigolyatestben létrejövő frakturák gyakoribbak, a többi osteoporotikus frakturánál, például a csípőtáji töréseknél. Nehézséget jelent azonban a porotikus csigolyatörések gyakoriságának meghatározása, mivel e frakturák nagy százaléka a klinikai gyakorlatban nem kerül felismerésre. Az első csigolyatörés után ötszörösére nő a további csigolyafrakturák előfordulásának esélye. Ám akár okoznak panaszokat akár nem, a csigolyatörések fokozott mortalitással járnak együtt (MRT-OS 2007).

Mind humán vizsgálatok esetén (Cesar és mtsai 2013), mind patkányoknál (Yoon és mtsai 2012), mind egereknél (Chen és mtsai 2009) vagy egyéb állat modelleken vizsgálva (Lill és mtsai 2002, Hordon és mtsai 2006) a csigolyatestben általában az alábbi változásokat látjuk mikro-CT analíziskor. A trabekulák elvékonyodása állapítható meg a csökkent Tb.Th értékek miatt, főként hengeres formát mutatnak a trabekulák, melyek közt a távolságok növekedését jelzi a Tb.Sp emelkedése, valamint a BV/TV csökkenése és az összeköttetések számának csökkenése tapasztalható, mely egyértelműen gyengült csontszerkezetre utal (Cesar és mtsai 2013). Több tanulmányban is megerősítették, hogy a csigolya trabekuláris csontszerkezetében előbb mutathatóak ki osteoporotikus mikroszerkezet változások, mint a tibia és a femur spongiózájában (Chen és mtsai 2009, Kang és mtsai 2013).

A régebb óta ismert és kutatott trabekularis csontszerkezet változások mellett, a kutatók egyre fontosabb szerepet tulajdonítanak a kortikális csontvesztésnek az osteoporosis

pathogenesisében, különösen 60 év feletti betegeknél. Sajnálatos módon a legtöbb napjainkban használatos antiporotikum sokkal kisebb hatással bír a kortikális, mint a trabekuláris csontra, ugyanis a csontszövetnek ez a két típusa nem csupán szerkezetében, de mechanikai tulajdonságaiban és metabolikus aktivitásában is különbözik (Li és mtsai 2017).

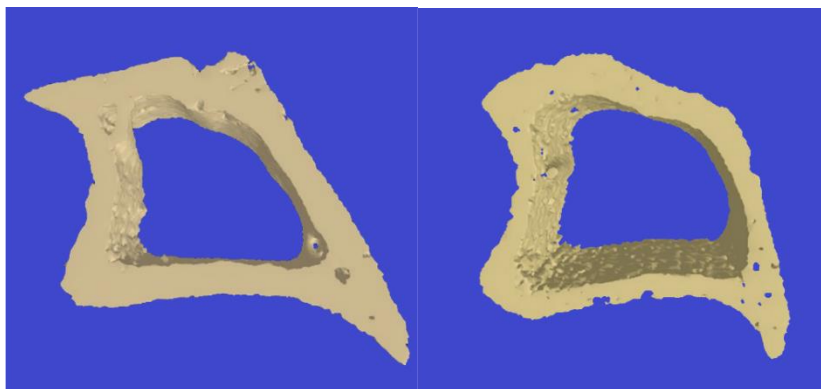
A kortikális szerkezetének vizsgálatában a gold standard sokáig a histológiai vizsgálat volt. Ma már a mikro-CT eredmények e tekintetben is épp oly elfogadottak, mint a spongióza vizsgálata esetén. Particelli és mtsai humán tibia és femur kortikális mintákon végzett kísérlete a mikro-CT-vel és hisztológiai eljárásokkal nyert eredményeket vetette össze. Két globális threshold értékkel dolgoztak a szegmentáció folyamán: egy magasabbal, melyet levegő jelenlétében szkennelt mintáknál és egy alacsonyabbal, melyet a PMMA-ba ágyazott mintáknál használtak. A hisztológiai eljárásokban és a mikro-CT analízissel nyert kortikális porozitás (Ct.Po), Havers-csatorna átmérő (Ca.Dm) és Havers-csatorna távolságok (Ca.Sp) szoros korrelációt mutattak. A vizsgálat azt is igazolta, hogy ha megfelelő a threshold érték, akkor a mintát körülvevő medium nem befolyásolja a csontmikromorfológiai eredményeket (Particelli és mtsai 2011).

Minden csont kortikálisa az osteoporosis meglététől függetlenül a kor előrehaladtával vékonyodik. Tiede-Lewis és mtsai a kortikális csontban létrejövő változásokat vizsgálták egérmodellen. Kísérletükben 5 hónapos C57BL/6 egerek femurját vetették össze 22 hónaposokéval. Mind hím, mind nőtény egereken elvégezték mikro-CT segítségével a mikrostruktúra elemzését és úgy találták, a disztális femur területén a kortikális BV/TV 6,3 %-kal csökkent nőtény állatoknál, de nem változott a hímeknél, a kortikális vastagsága pedig 36 %-kal csökkent a nőtényeknél, de csak 19%-kal a hímek esetében. Ezeknél a jelentős mikroarchitekturális változásoknál az osteocyták dendrit számának csökkenéséhez a sejt denzitás csökkenése társult a histológiai vizsgálatok tanúsága szerint. A dendritszám csökkenése megelőzi az osteocyták számának csökkenését, ami a kutatókban azt a benyomást keltette, hogy az előbbi triggere lehet az osteocyták vitalitás-csökkenésének. Márpedig az osteocytáknak kulcs szerepe lenne a csontmennyiség fenntartásában (Tiede-Lewis és mtsai 2017).

A kortikális mikro-CT vizsgálata lehetőséget nyújt a szövetmennyiség (TV), a kortikális porozitás (Ct.Po), a Havers-csatorna térfogat (Ca.V) és felület (Ca.S) meghatározására. Nyúl-modell felhasználásával Pazagglia és munkatársai azt figyelték meg femur esetén,

hogy subperiosteálisan magasabb csatorna-szám mérhető, mint subendosteálisan (Pazzaglia és mtsai 2010). Kim és munkatársai pedig patkány femur esetén igazolták, hogy subendosteálisan nagyobb átmérőjű és magasabb számú összeköttetéssel bíró Havers-csatornák találhatóak, mint subperiosteálisan (Kim és mtsai 2015).

A kortikális vizsgálata során eredményeink jól mutatták, hogy az OVX csoportban a femur kortikálisa az ösztrogén hiány hatására elvékonyodik, és ez a negatív változás kiküszöbölhető volt a csupán D3-vitamin adagolásával normális kalcium bevitel mellett, hiszen a D3 csoport eredményei szignifikánsan magasabbak voltak az OVX csoporténál, de nem mutattak szignifikáns eltérést a SHAM csoportéval. Ezzel szemben a mandibula kortikálisának vastagságában nem volt szignifikáns változás megfigyelhető egyik csoport viszonylatában sem. Az adatok tendenciáját figyelembe véve, ennek oka az lehet, hogy a mandibula kortikális vastagságának változásához több idő kell, mint csöves csontok esetében. Lee és mtsai kísérletükben a renális osteodystrophia kialakulását vizsgálták egér mandibulán, és a mandibula kortikális szignifikánsan vékonyabb lett a 15. hét végére (Lee és mtsai 2010). Krónikus vesebetegség (CKD) mellett kialakuló posztmenopauzális osteoporosis műtéti modelljén egér esetén már 12 héttel az ovariectomia után szignifikánsan alacsonyabb volt a mandibula Ct.Th értéke az OVX és az OVX+CKD csoportban a SHAM-hez viszonyítva (Guo és mtsai 2016). Tehát adataink nem mondanak ellen a szakirodalom adatainak, hiszen osteoporosis vizsgálatokban főként a hosszú csöves csontok esetén látható a szakirodalomban a kortikális vékonyodása és a porozitás növekedése (Jackson és mtsai 2021, Sharma és mtsai 2018)(24. ábra).

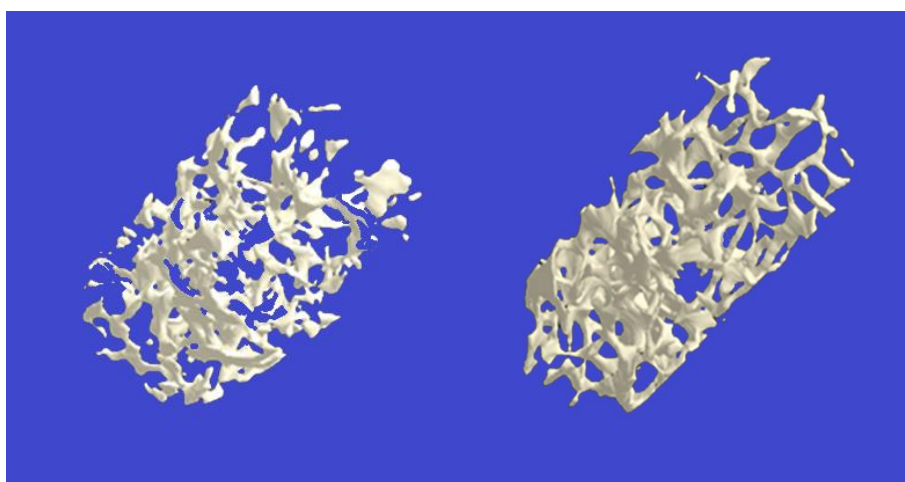


24. ábra – Egér tibia keresztmetszeti rekonstruált képén látható a normál (bal) és csonttritkulásos (jobb) kortikális közötti különbség egy másik vizsgálatunk hasonló modelljén (Körmendi és mtsai 2019)



Állatkísérletekben a disztális femur és a proximális tibia a leggyakrabban vizsgált terület mikro-CT-vel végzett osteoporosis kutatásokban. Jól definiálható és értékelhető nagyságú ROI jelölhető ki akár még olyan kis csontok esetén is, melyekkel egér esetében találkozhatunk. A ROI kijelölése a meta- illetve diaphysisben spongióza illetve kortikális vizsgálata esetén a növekedési lemeztől való megfelelő távolság megtartásával könnyen kivitelezhető. A combnyak mikro-CT-vel azonban kevesebbet vizsgált terület (Milovanovic és mtsai 2017), de mechanikai tesztek elvégzésére több modellben is használják (Mackay és mtsai 2018). Humán mikro-CT vizsgálatokban a combnyak területén vizsgálva a spongiózát, csupán az öregedés is közel 20%-os csökkenést eredményez a BV/TV-ben.

Osteoporosisban elsősorban csöves csontok esetén írták le, hogy a rod-like/rúd-szerű trabekula forma veszi át egyre inkább a kórkép előrehaladásával a plate-like/lemez-szerű karakter helyét. Tulajdonképpen ennek számszerűsítésére hozták létre a structural model index (SMI) értéket. Ám az SMI-ről hamar kiderült, hogy erősen befolyásolja a ROI csonttér fogata, ezért a minták összevetésére nem alkalmas, valamint az is nyilvánvalóvá vált, hogy a trabekulák térgeometriáját a rúd-szerű és lemez-szerű két végpont között tulajdonképpen egy kontinuumban bármilyen forma jellemezheti és az átalakulás lemez-szerű felől a pálca-szerű forma felé sokkal lassabb, mint azt eddig feltételeztük (Felder és mtsai 2020)(25. ábra).



25. ábra – Egér tibiában a spongióza egységes henger alakú ROI-jában található spongióza osteoporotikus (bal) és normál (jobb) csontszerkezet esetén egy hasonló modellű vizsgálatunk pilotjában (Körmendi és mtsai 2019)

Az, hogy az osteoporosis vagy annak kezelése miként érinti az állcsontokat, az több szempontból is fontos a gyakorló orvos számára. Kiemelt vizsgálati terület az alveoláris csont és a temporomandibuláris ízület (TMI). Már 1995-ben Klemetti és munkatársai felvetették, hogy osteoporosisban megnövekedhet a craniomandibuláris diszfunkció (CMD) előfordulása a betegeknél (Klemetti és mtsai 1995). Egyes vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy nem csak az állcsontok mikroszerkezetére, de a condylus porcfelszínére is hatással lehet egyrészt a posztmenopauzás osteoporosisban a csökkent ösztrogénszint, másrészt a csonttrikulás terápiájára esetlegesen használt különböző gyógyszerek, például biszfoszfonát is (Jiang és mtsai 2017, Robinson és mtsai 2020).

Ám míg a csigolyatest, a combcsont és a tibia esetén standardizált és jól definiált ROI alkalmazása látható a tanulmányokban, addig az állcsontok esetében sok eltérő mintavételi hellyel és vizsgálati beállítással lehet találkozni. Egy 2015-ben publikált szisztematikus irodalomkutatás felhívja a figyelmet arra, hogy a rágcsálók állcsontjainak mikroszerkezetének vizsgálati helyei rendkívül heterogének és ezek standardizálására lenne szükség (Faot és mtsai 2015). A maxillán a leggyakrabban az első moláris körüli alveoláris csontot, illetve az interradikuláris szeptumot vizsgálják. A mandibula vizsgálatakor is a molárisok körüli alveoláris csontot, a molárisok és a metszőfog közötti területet, a mandibula bázisát illetve a fejecset használják mintavételi helyként, úgyhogy a ROI mérete és geometriája szerzőnként és tanulmányonként eltérő lehet (Faot és mtsai 2015). Ezeken a helyeken a ROI kijelölése sokkal nehezebb és körültekintőbb feladat, mint a többi csontnál, elsősorban a minta kis mérete és a terület komplexitása miatt.

A spongiózában végzett csontparameter meghatározások vizsgálatunkban a femur és a mandibla corpus esetén is szignifikánsan alacsonyabb BV/TV értékeket eredményeztek az OVX csoportban a SHAM illetve D3 csoporthoz viszonyítva is. A BS/BV értékek emelkedése az OVX csoportban egybecsengve az előző paraméterekkel, egy meggyengült mikroarchitektúrát mutatott mindkét csontban az OVX csoport esetén. A D3 csoport eredményei alapján pedig elmondható, hogy alkalmazása mindkét kijelölt vizsgálati területen csökkentette a csontszövet mikrostrukturális károsodását.

Míg a femur és tibia mikroszerkezeti változásai ovariektómián átesett egér vagy patkány modell esetén egységesebbek, addig az alveoláris csont osteoporosisban való érintettségének megítélése ellentmondásos volt az irodalomban. A korábbi, két évtizeddel ezelőtti tanulmányok azt mutatták, hogy az ovariektómia hatására szignifikánsan kisebb

változások történnek a mandibula condylusban (Yamashiro és mtsai 1998, Fujita és mtsai 1998) vagy a processus alveolarisban (Jiang és mtsai 2003) a csöves csontokhoz képest. Sheng kutatásában úgy találta, hogy kevésbé reagált a mandibula csontszerkezete tibiához képest az osteoprotegerin (OPG) deficiens egerek esetén (Sheng és mtsai 2007). Bouvard és munkatársai vizsgálatában azonban már 28 nap alatt szignifikánsan csökkent az alveolaris csont BV/TV értéke, épp úgy, mint a tibia esetén (Bouvard és mtsai 2013). Ejiri ovariektomizált patkány modellen vizsgálva az alveoláris csontszerkezet úgy találta, hogy azonnali jelentős csontvesztés indul el az ovariektómia után, majd egy lassabb, de elhúzódó reszorpció veszi át az előbbi helyét. Ez idő alatt a trabekulák kisebb fragmentumokra szeparálódnak és számuk is jelentősen csökken, így a remodelling során a helyreállításuk igen nehézkesé válik. Vizsgálataikban arra a következtetésre jutottak, hogy az okkluzális hipofunkció tovább rontja a csont mikroarchitektúráját az alveoláris csontban (Ejiri és mtsai 2008).

Azt, hogy egyes tanulmányokban nem volt kimutatható az interradikuláris területen olyan mértékű csontvesztés, mint a csöves csontok esetén, sokszor az állandó rágónyomás okozta mechanikai terheléssel magyarázták. Ezzel szemben endodonciai és periodontális gyulladások okozhatnak ezeken a területeken az osteoporosisal összefüggésbe nem hozható csontvesztést. Tanulmány támasztja alá azt is, hogy a normál, kemény konzisztenciájú táplálék, melyet kísérleteinkben mi is alkalmaztunk, szignifikánsan csökkentheti az ösztrogén deficiencia negatív hatását a mandibula alveoláris csontszerkezetére patkány modellen (Mavropoulos és mtsai 2014). Mindezek, és a mandibula komplex geometriája, illetve kis mérete nehezítik ennek a területnek a vizsgálatát.

Az eltérő eredmények másik lehetséges oka az eltérő ROI-k használata, ahogy az fentebb is említésre került. Liu és munkatársai kutatásukban a mandibula különböző mintavételi helyeinek mikromorfológiai adatait vetették össze a tibiáéval ovariektomizált egér modellen. Úgy találták, hogy a tibia adataival az első moláris gyökerei közötti spongióza mutat szoros korrelációt, míg a második és harmadik moláris körüli értékek nem (Liu és mtsai 2015). Johnston és munkatársai az eltérő adatok miatt fogalmazták meg kutatásaik eredményeképpen, hogy az alveoláris csont vizsgálatára a legmegfelelőbb hely, rágcsálók esetén a mandibula első moláris fogai közti interradikuláris terület (Johnston és mtsai

2015). Ez a kutatás megerősítette, hogy a kísérleteink feltételeihez ez a terület a leginkább megfelelő vizsgálati terület.

Újabban a tanulmányok, fejlettebb szoftvereket alkalmazva, az ovariektómia hatására létrejövő mikroarchitektúra változásokat vizsgálva, mandibula és hosszú csöves csontok összevetésében, már más eredményeket mutatnak, úgy ahogy a mi eredményeink is. A mandibula alveoláris spongióza állományában és a condylusban is szignifikánsan gyengébb csontszerkezetet találnak az ovariektómia után, csakúgy, mint a femurban (Liu és mtsai 2015, Hao és mtsai 2017, Liu és mtsai 2016).

Patkánymodellen végzett kutatások hasonlóképp eltérő adatokat eredményeztek, mint a fenti egér vizsgálatok. Liu és munkatársai úgy találták, hogy 5 hónap alatt a trabekuláris csont az első moláris gyökerei közt kijelölt ROI területén szignifikánsan gyengébb szerkezetet mutat ovariektómia után. A BV/TV, Tb. SP, Tb.Th és BMD értékek is szignifikánsan alacsonyabbak voltak az OVX csoportnál a SHAM csoporttal összevetve (Liu és mtsai 2015). Egy másik tanulmányukban az ovariektomizált patkány modellen vizsgálva a tibia és a mandibula első molárisának gyökere körüli csontszövet mikroarchitektúráját, szignifikáns korrelációt találtak a BS/BV, Tb.Th és Tb.Sp értékek tekintetében a két mintavételi hely között (Liu és mtsai 2016).

Chattarjee és munkatársainak kutatása, az előbbiekkkel összhangban, arra hívja fel ovariektomizált patkánymodell esetén a figyelmet, hogy míg az első moláris fog közti területen vizsgálva a spongiózát a BV/TV és Tb.Pf értékek szignifikáns különbséget mutattak az OVX és SHAM csoportok közt, addig a második moláris közti területen nem volt szignifikáns eltérés egyetlen paraméter esetén sem (Chattarjee és mtsai 2021).

Liu és munkatársai ovariektomizált patkány modellt használtak, hogy összevessék az időbeli változásokat különböző csontok esetén. Eredményeik azt mutatták, hogy a hosszú csöves csontok, a csigolyák és a csipőlapát területén az ovariektómia után egyaránt elindul a csontvesztés, de a legnagyobb csontvesztéséget a femur és a tibia mutatta, míg a legkevésbé érintettek a csigolya tűnt a vizsgálat 36 hete alatt. A mikromorfológiai adatokat (Tb.Sp, Tb.Th., BV/TV) figyelembe véve azt tapasztalták, hogy míg a femur és a tibia esetén már a 2.-4. héten szignifikáns változásokat találtak a csoportok közt, addig a mandibula és a maxilla esetén ez legfeljebb a 24. illetve 36. héten következett be a patkányoknál. A mandibulában szignifikánsan nagyobb csontvesztéséget tapasztaltak, mint a maxillában (Liu XL és mtsai 2015). Egér modellek esetén hasonló időbeli eltérést

találhatunk (Faot és mtsai 2015), mint a patkányoknál, ezért volt fontos, hogy vizsgálatunkban az előző tanulmányok kísérleti időszakát, az átlagos 6 hetet, vettük követendőnek.

Vizsgálatunkban a femur és mandibula területén mért BMD értékek összecsengnek az adott területek mikromorfológiai adataival. Az OVX csoportnál szignifikánsan alacsonyabbak voltak az értékek, mint a SHAM és D3 csoportoknál, melyek közt nem volt szignifikáns különbség.

A BMD értékek kiemelkedően fontosak, hiszen a mai napig a WHO ezen értékek alapján javasolja felállítani a diagnózist, hogy csontritkulásról van-e szó az adott betegnél. A T-score és Z-score értékekkel kapcsolatban azonban egyre inkább kritikaként került megfogalmazásra, hogy a viszonylag nagy BMD értékcsökkenés sem jelent feltétlen megnövekedett törési kockázatot és így fordultak a klinikumban a törési kockázat számítógépes algoritmusok felé. Az elméleti magyarázat azonban a mikroarchitektúra változásokban keresendő, ezek közül is a BV/TV, Tb.Th és Tb.Sp értékeket emelik ki az osteoporosissal foglalkozó tanulmányok (Molino és mtsai 2020).

Hao ovariektomizált egér modellen nem talált csak a femur területén szignifikáns BMD csökkenést, a BV/TV és Tb.N csökkenés valamint a Tb.Sp növekedése mellett. A mandibulában a BMD változása nem volt szignifikáns, noha a mikroarchitektúrában voltak szignifikánsan eltérő paraméterek, mint a BV/TV érték csökkenése (Hao és mtsai 2017). Liu fentebb is említett tanulmányában (Liu és mtsai 2015) a BMD értékek nem mutattak korrelációt a mandibula és a tibia között. Ezekben a tanulmányokban a BMD csökkenés nem volt szignifikáns a mandibula területén, ellentétben a mi eredményeinkkel, ahol a mandibula BMD értékei korreláltak a mikromorfológiai értékekkel. Az eltérés oka lehet a megelőző kalibráció hiánya Liu és munkatársainak vizsgálatakor, vagy az eltérő referenciák használata, mint Hao és munkatársai kísérletében. A BMD kalibráláshoz használt rudak mérete nagyon fontos, mivel a mért BMD exponenciálisan függ a rúd átmérőjétől, melynek meg kell egyeznie a vizsgált ROI méreteivel. Más tanulmányok esetén a femur és a mandibula esetén mért BMD értékek egyaránt szignifikáns változást mutattak OVX és SHAM csoportok összevetésekor (Hao és mtsai 2016), hasonlóképp a mi eredményeinkhez.

Lee kutatócsoportjának meta-analízise a következő eredményeket hozta: az OVX csoportban a kontroll csoporthoz viszonyítva a mandibula esetén a BV/TV, a Tb.Th és a

BMD értékek a kontroll csoporttal összevetve szignifikáns eltéréseket mutat a szakirodalomban. A Tb.Sp megnőtt az OVX-es csoportban. A Tb.N nem tűnik az elemzések alapján az osteoporosis indikátor paraméterének mikromorfológiai mérések során. A meta-regressziós elemzés azt az eredményt hozta, hogy hosszabb vizsgálati idő esetén, az ovariectomia után nagyobb változásokat találni a BMD értékekben. Az adatok heterogenitását a szerzők szerint főként a ROI és a poszt-OVX időszak hosszának eltérése okozza (Lee és mtsai 2019).

A condylus adatai vizsgálatunkban azt a benyomást keltik, hogy a D3 csoportban ugyan van egy részleges reszorpció, de messze nem olyan mértékű, mint az OVX csoportban. A BV/TV szignifikánsan kisebb, a BS/BV pedig szignifikánsan nagyobb az OVX csoportban, mint a SHAM csoportban, tehát az ovariectomia hatására itt is fokozódik a csontbomlás. Az viszont, hogy a BV/TV is szignifikánsan kisebb, a BS/BV pedig szignifikánsan nagyobb a D3 csoportban, mint a SHAM csoportban, azt mutathatja, hogy a D3-vitamin csontállományra kifejtett védő hatása itt nem teljes mértékben észlelhető. Nem volt szignifikáns különbség a BS/BV és Tb.Th értékekben az OVX és D3 csoport között. A BS/BV érték növekedése itt azt mutatja, hogy a trabekulák erodáltabbá váltak. A Tb.Pf szignifikáns emelkedése az OVX csoportban, összevetve a SHAM csoporttal azt jelzi, hogy a trabekulák közti összeköttetések száma az OVX csoportban lecsökkent, ami a gyengébb mikroszerkezet jele. Azonban a Tb.Pf értékek alapján úgy tűnik, hogy a trabekuláris reszorpció az összeköttetéseknel jön a legkevésbé létre és ez igen előnyös a biomachanikai tulajdonságok szempontjából. Összhangban a nem-lináris formáztató elméletével (NPF), a reszorpciók és formációk dinamikus változást okoznak a mikroszerkezetben, ám a mennyiségi mikromorfológiai adatok változása nem feltétlenül tükrözi a mikroarchitektúra valódi állapotát. Az NPF koncepció alapján a mikromorfológiai elemzés különösen körülményes és bonyolult kisméretű minták esetén, mint a condylus, ezért a vizsgálni kívánt paraméterek kiválasztása még nagyobb körültekintést igényel, mint más mintáknál (Salmon 2015).

A mandibula fejecsenek vizsgálatáról a legtöbbet idézett szakirodalomban két régiót, anterior és posterior is vizsgáltak Tanaka és munkatársai ovariectomizált patkány modellen. Az első és hátsó régió eltérő csontátépülési dinamikát mutatott. Az OVX csoportban a csont térfogat (BV) szignifikánsan csökkent a posterior régióban, bár az anteriorban nem volt változás. A SHAM csoportnál ugyanakkor a BV az öregedéssel nőtt,

míg a posterior régióban nem találtak változást. Ennek az eltérésnek lehet a magyarázata, hogy az okklúzió okozta mechanikai inger másként éri a két régiót. Az ösztrogén hiány okozta csontmennyiség csökkenés tendenciája azonban mindkét területen láthatóvá vált az idő előrehaladtával (Tanaka és mtsai 2000). Egerek esetén a minta kis mérete miatt nem különböztetnek meg régiókat a condylusban.

Kosugi és munkatársai a femur és a condylus mikromorfológiai változásait vetették össze osteoporosisban patkányok esetén, és a condylusban is szignifikáns mikrostrukturális károsodást találtak (Kosughi és mtsai 2013). Ezek az eredmények hasonlóak az általunk tapasztaltakhoz.

Csupán a D3-vitamin hatását a csont mikroszerkezetre igen kevés tanulmányban vizsgálták. Ezekben az esetekben is főként patkánymodellt alkalmaztak és a hosszú csöves csontok területére fókuszáltak, mellőzve az állcsontokat. El Khassawna és munkatársai olyan patkánymodellt használtak, ahol az egyik csoport az ovariektómia mellett a kontroll csoporthoz képest megváltoztatott összetételű táplálékban részesült. Így a táplálékuk 100 %-kal kevesebb D3-vitamint, 15 %-kal kevesebb kalciumot, 7 %-kal kevesebb foszfort, 50 %-kal kevesebb K-vitamint és 75 %-kal kevesebb káliumot tartalmazott. A tibia mikro-CT vizsgálata azt az eredményt hozta a kortikális és a spongióza esetén, hogy a BV/TV, Tb.N, Tb.Sp és a Ct.Th szignifikáns eltérést mutat a kontrollhoz képest. A szerzők felvetik, hogy ez a modell hasznosabb lehet a fraktura-modellek vizsgálatakor, mint az egyszerű ovariektómia (El Khassawna és mtsai 2013).

Fu és munkatársai már egy a mienkhez közelebb álló patkánymodellen elemezték a femur mikroszerkezetét, mivel ebben a vizsgálatban már terápiás mennyiségű D-vitamin adagolás történt az ovariektomizált állatoknál. A kontroll állatok a D-vitamin készítmény vivőanyagát, trigliceridet kaptak. Ez a kísérlet azonban egy fraktura-modell, ahol a törés környezetének mikroarchitektúráját vizsgálták és azt találták, hogy a törés után 6 héttel a D-vitamint kapó csoport értékei szignifikánsan jobbak voltak, mint a kontroll csoportéi a következő paraméterek tekintetében: BV, BV/TV, Tb.Th és Tb.N (Fu és mtsai 2009). Ezek az adatok bár összecsengnek a mi adatainkkal, az erősen eltérő kutatási protokoll miatt nem összevethetőek velük.

Kísérletünkhöz legközelebb Torrubia és munkatársainak 2020-ban publikált tanulmánya áll. Itt 6 hónapos Wistar patkányokat SHAM, OVX és D3-vitamint és kalciumot kapó csoportba. A kísérlet ideje 8 hónap volt, mely alatt minden állat kapott 7,3 g/kg kalciumot

és 1000 IU/kg D3-vitamint a táplálékukkal, és a vizsgálati csoport ezen felül egy olyan készítményt, mellyel 10 mg kalciumot és 6,7 IU D3-vitamint juttattak be naponta, szájon át a kísérleti állatokba. BMD mérést végeztek a femur és lumbális csigolya esetén, valamint ugyanitt elemezték a mikromorfológiai adatokat. BMD esetén nem találtak szignifikáns különbséget a kezelt csoport és az OVX csoport között, de mindkettő szignifikánsan alacsonyabb értéket mutatott, mint a SHAM csoport. A BV/TV, Tb.N és Tb.Sp értékek szignifikánsan gyengült mikroszerkezetet mutattak mind az OVX, mind a kezelt csoportban. A Tb.Th érték nem volt szignifikánsan különböző a SHAM csoporttól egyik csoport esetében sem. Az eredményeinkkel ellentétes megfigyelések oka több részletben keresendő. A femur BMD vizsgálati helyeként a tanulmány az egész femurt adja meg, míg a mikromorfológiai paraméterek vizsgálatakor egy háromszög alakú ROI-t illesztettek a combcsont fejtől, a trochanteren keresztül a disztális femurig. Ez a fajta ROI kijelölés a kutatási körülmények standardizálásra való törekvéssel szembe megy, hiszen a femur esetén a növekedési lemeztől jelölik ki a ROI-t a legtöbb tanulmányban. Érdeemes azt is megjegyezni, hogy ilyen vizsgálatok esetén az OVX csoport általában megkapja az alkalmazott szer vivőanyagát, amire itt nem került sor. Végül a szerzők diszkussziójukban nem is állatkísérletekkel vetik össze eredményeiket, inkább epidemiológiai vizsgálatokat tárgyalnak (Torrubia és mtsai 2020).

Ha a szisztematikus irodalomkutatást tovább szűkítjük és az osteoporosis, mikro-CT és D-vitamin kifejezések mellé a mandibulát is kritériumként adjuk meg, akkor egyetlen összevetésre se tudunk sort keríteni.

Eredményeinket összevetve elmondható, hogy csupán a D3-vitamin adagolása is jelentős protektív hatást fejt ki a mandibula testben az interradikuláris területeken és a femurban a posztmenopauza korai, leggyorsabb csontbontással járó időszakában. Ám a D3-vitamin protektív hatása csak részlegesen érvényesül a condylus területén. Nem hihető, hogy a dózis növelésével ez a hatás erősebbé válna. A különbség oka lehet az eltérő jellegű mechanikai terhelés, mely a condylusban egészen speciális formát ölt. Ez magyarázhatja a condylus csontszerkezetének lassabb remodellingjét, összevetve a mandibula többi területével (Lee és mtsai 2019). Lehetséges, hogy fejlődésbeli különbség okozza az eltérést, mivel a condylus enchondrális csontosodással, míg a mandibula többi része desmalis csontosodással fejlődik (Randalski és mtsai 2016). Felvetődik annak a lehetősége is, és további vizsgálatokat terveznek annak érdekében, hogy tisztázzák, a



condylus csontszövetében a D-vitamin receptor szám különbözik-e a mandibula többi területén találhatóétól. Ezt a gondolatot az a vizsgálat indította el a kutatókban, ahol a D-vitamin receptort kodoló gén és az örökletes retrognáthia kapcsolatát vizsgálták (Küchler és mtsai 2021).

## 6. Következtetések

1. Az Sh3pxd2b-KO egértörzs vizsgálatai jól mutatják, az egész koponya és femur mérései és arányai tekintetében, a Frank-ter Haar szindrómás (FTHS) páciensekhez hasonló csont makromorfológiai elváltozásokat.
2. Az Sh3pxd2b-KO egértörzs mikro-CT-vel végzett mikromorfológiai vizsgálata a femuron kimutatta, hogy annak szerkezete osteoporotikus jelleget mutat a Tks4 állványprotein hiánya miatt.
3. A femur kortikális postmenopauzás osteoporosisban bekövetkező elvékonyodását a D3-vitamin terápiás dózisu adagolása egymagában is képes volt megakadályozni egér modell esetén.
4. A femur trabekuláris csontszerkezeti paramétereinek és BMD szintjének figyelembe vételével elmondható, hogy a D3-vitamin terápiás dózisu adagolása egymagában is képes volt kivédeni a kezdeti gyors csontvesztést ovariektomizált egér modell esetén.
5. A mandibula trabekuláris csontarchitektúrájának és BMD szintjének megőrzésében a D3-vitamin terápiás dózisu adagolása egymagában is eredményesnek bizonyult ovariektomizált egérmodell esetén.
6. A D3-vitamin a mandibula condylusának csontszerkezetére korlátozott védőhatást fejtett ki terápiás dózisu adagolás mellett, ovariektomizált egér modell esetén.

## 7. Összefoglalás

Az osteoporosis jelentősége népegészségügyi és gazdasági szempontból is kimagasló, gyakori előfordulása és következményeinek költséges kezelése okán. A D3-vitaminnak, sok egyéb feladata mellett, jelentős szerepe van mind a kórkép megelőzésében, mind annak kezelésében. Munkánk során az osteoporosisok különböző fajtái közül két típusnál figyeltük meg a mikroszerkezet változását mikro-CT segítségével.

Az Sh3pxd2b-KO egértörzs egy speciális modell, melyben a génmódosítás hasonló patológiás eltéréseket eredményez, mint a Frank-ter Haar szindróma (FTHS) a humán betegek esetén. Makromorfológiai méréseink a koponyán és a femuron igazolták, hogy az Sh3pxd2b-KO egerek csakúgy bradycephal fenotípusúak, micrognathiában szenvednek és fogazati eltéréseket mutatnak (fogtorlódás és oldalsó nyitott harapás), mint az FTHS-ban szenvedő páciensek. A mikromorfológiai adatok azt mutatták, hogy már a 4 hónapos egereknél is tendenciaként megfigyelhetőek osteoporotikus jelek, melyek 8 hónapos korra szignifikáns mikroarchitektúra változásokká válnak. A kezdeti mennyiségi változásokat később minőségi romlás fokozza, mely leginkább a trabekulák összeköttetések számának csökkenésében nyilvánul meg. Az általában lassabban reagáló kortikális csont elvékonyodása 4 és 8 hónapos korban is megfigyelhető volt az egereknél.

Ovariektomizált egérmodell esetén a D3-vitamin hatását vizsgáltuk a csontszerkezetre femur, mandibula test és condylus esetén valamint a csont ásványianyag tartalmára. A femur kortikális az ovariektómia hatására elvékonyodott, ám ezt a D3-vitamin adagolása meg tudta akadályozni. A mandibula kortikálisának vizsgálatakor nem voltak szignifikáns eltérések a csoportok között. A femur és a mandibula spongiózájának vizsgálata összecsengő eredményeket hozott. Az ovariektomizált állatok szignifikánsan rosszabb mikromorfológiai eredményeket mutattak, mint az álműtött és a D3-vitaminnal kezelt csoportok. Az ezeken a mintavételi helyeken végzett BMD mérés szintén ezeket az adatokat erősítette meg. A condylus területén azonban a D3-vitaminnal kezelt csoport legtöbb eredménye szignifikánsan eltért a kontroll csoporttól, azt a benyomást keltve, hogy ezen a területen a D3-vitamin csak részleges protektív hatást tudott kifejteni. Ezen megfigyelés okának pontos tisztázása még további vizsgálatokat igényel.

## 8. Summary

Osteoporosis is of great importance from a public health and economic point of view due to its high incidence and costly treatment of its consequences. Vitamin D3, among many other functions, plays a significant role in both the prevention and the treatment of the disease. In our work, changes in the microstructure were observed in two types of osteoporosis using micro-CT.

The Sh3pxd2b-KO strain is a special model in which genetic modification results in similar pathological differences as Frank-ter Haar syndrome (FTHS) in human patients. Our macromorphological measurements on the skull and femur have confirmed that Sh3pxd2b-KO mice have bradycephal phenotype, micrognathia and dental abnormalities (crowding and lateral open bite) just as patients with FTHS. Our micromorphological data showed that osteopoortic characteristics can already be observed in 4-months-old mice, and become significant microarchitectural changes by the age of 8 months. The initial quantitative changes are later intensified by a deterioration in quality, which is most evident from the decrease in the number of trabecular connections. Thinning of the usually slower responding cortical bone was observed in both age groups.

In an ovariectomized mouse model, the effects of vitamin D3 were examined on bone structure in femur, mandible body and condyle, as well as on bone mineral density. The femur cortical bone thinned due to ovariectomy, but this was prevented by vitamin D3 administration. When examining the cortication of the mandible, there were no significant differences between the groups. The examination of the interradicular area of the mandible and the femur yielded concordant results. Ovariectomized animals showed significantly worse micromorphological results than the sham-operated and vitamin D3-treated groups. This was also confirmed by BMD measurements at these sampling sites. However, in the condyle area, most results of the group treated with vitamin D3 were significantly different from those of the control group, giving the impression that the protective effect of vitamin D3 in this area is only partially present. The exact cause of this observation requires further investigation.

## 9. Irodalomjegyzék

Adami S, Isaia G, Luisetto G, Minisola S, Sinigaglia L, Gentilella R, Agnusdei D, Iori N, Nuti R, Group IS. (2006) Fracture incidence and characterization in patients on osteoporosis treatment: the ICARO study. *J Bone Miner Res*, 21: 1565-1570

Ahmadian H, Mageswaran P, Walter BA, Blakaj DM, Bourekas EC, Mendel E, Marras WS, Soghrati S. (2022) Toward an artificial intelligence-assisted framework for reconstructing the digital twin of vertebra and predicting its fracture response. *Int J Numer Method Biomed Engineer*, 38(6): 3601-3614 DOI: <https://doi.org/10.1002/cnm.3601>

Bain SD, Bailey SC, Celino DL, Lantry MM, Edwards MW. (1993) High-dose estrogen inhibits bone resorption and stimulates bone formation in the ovariectomized mouse. *J Bone Miner Res*, 8: 435-442

Baofeng L, Zhi Y, Bei C, Guolin M, Quingshui Y, Jian L. (2010) Characterization of a rabbit osteoporosis model induced by ovariectomy and glucocorticoid. *Acta Orthoped*, 81(3): 369-401

Barak MM, Black MA. (2018) A novel use of 3D printing model demonstrates the effects of deteriorated trabecular bone structure on bone stiffness and strength. *J Mech Behav Biomed Material*, 78: 455-464

Behera J, Ison J, Tyagi SC, Tyagi N. (2020) The role of gut microbiota in bone homeostasis. *Bone*, 135: 115357-115372 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2020.115317>

Bendon CL, Fenwick AL, Hurst JA, Nürnberg G, Wall SA, Wilkie AOM, Johnson D. (2012) Frank-ter Haar syndrome associated with sagittal craniosynostosis and raised intracranial pressure. *BMC Med Gen*. 13: 104-112

Benevenga NJ. (1995) Nutrient Requirements of the Mouse. In: Benevenga NJ. *Nutrient Requirements of Laboratory Animals, Fourth Revised Edition*. National Academy Press, Washington. p. 92-96.

- Bernardini RJ, Johnson CS, Modzelewski RA, Trump DL. (2002) Antiproliferative effects of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and vitamin D analogs on tumor-derived endothelial cells. *Endocrinology*, 143(7): 2508-2514
- Bivona G, Sasso BL, Gambino CM, Giglio RV, Scazzone C, Agnello L, Ciaccio M. (2021) Th role of vitamin D as a biomarker in Alzheimer's disease. *Brain Sci*, 11(3): 334-340
- Binte Anwar R, Tanaka M, Kohno S, Ikegame M, Watanabe N, Nowazesh Ali M, Ejiri S. (2007) Relationship between Porotic Changes in Alveolar Bone and Spinal Osteoporosis. *J Dent Res*, 86: 52-57
- Bonucci E, Ballanti P. (2014) Osteoporosis-Bone remodeling and animal models. *Toxicol Pathol*, 42: 957-969
- Borah B, Dufresne TE, Cockman MD, Gross GJ, Sod EW, Myers WR, Combs KS, Higgins RE, Pierce SA, Stevens ML. (2000) Evaluation of changes in trabecular bone architecture and mechanical properties of minipig vertebrae by three-dimensional magnetic resonance microimaging and finite element modeling. *J Bone Miner Res*, 15: 1786-1797
- Bouvard B, Gallois Y, Legrand E, Audran M, Chappard D. (2013) Glucocorticoids reduce alveolar and trabecular bone in mice. *Joint Bone Spine*, 8: 77-81
- Brekke HK, Ludvigsson J. (2007) Vitamin D supplementation and diabetes-related autoimmunity in the ABIS study. *Pediatr Diabetes*, 8: 11-14
- Brent MB, Stoltenborg FE, Brüel A, Thomsen JS. (2021) Teriparatide and abaloparatide have a similar effect on bone in mice. *Front Endocrinol*, 12: 628994-629002 DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.628994>
- Brown JP, Roux C, Törring O, Ho PR, Beck Jensen JE, Gilchrist N, Recknor C, Austin M, Wang A, Grauer A, Wagman RB. (2013) Discontinuation of denosumab and associated fracture incidence: analysis from the Fracture Reduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis Every 6 Months (FREEDOM) trial. *J Bone Miner Res*, 28(4): 746-752

- Cabal A, Williams DS, Jayakar RY, Zhang J, Sardesai S, Doung LT. (2017) Long-term treatment with odanacatib maintains normal trabecular biomechanical properties in ovariectomized adult monkeys as demonstrated by micro-CT based finite element analysis. *Bone Reports*, 6: 26-33
- Cesar R, Boffa RS, Fachine LT, Levias TP, Silva AMH, Pereira CAM, Reiff RBM, Rollo N. (2013) Evaluation of trabecular microarchitecture of normal osteoporotic and osteopenic human vertebrae. *Proc Engin*, 59: 6-15
- Cano A, Dapia S, Noguera I, Pineda B. (2008) Comparative effects of 17 B-estradiol, raloxifene and genistein on bone 3D microarchitecture and volumetric bone mineral density in the ovariectomized mice. *Osteoporos Int*, 19: 793-800
- Cantorna MT, Mahon BD. (2004) Mounting evidence for vitamin D as an environmental factor affecting autoimmune disease prevalence. *Exp Biol Med*, 229: 1136-1142
- Caudarella R, Vescini F, Buffa A, Stefoni S. (2003) Bone mass loss in calcium stone disease: focus on hypercalciuria and metabolic factors. *J Nepr*, 16: 260-266
- Castaneda S, Calvo E, Largo R, Gonzalez-Gonzalez R, De La Piedre C, Diaz-Curiel M, Herrero-Beaumont G. (2008) Characterization of a new experimental model of osteoporosis in rabbits. *J Bone Miner Metab*, 26(1): 53-59
- Cauley JA, Robbins J, Chen Z, Cummings SR, Jackson RD, LaCroix AZ, LeBoff M, Lewis CE, McGowan J, Neuner J, Pettinger M, Stefanick ML, Wactawski-Wende J, Watts NB. (2003) Women's Health Initiative I. Effects of estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density: the Women's Health Initiative randomized trial. *Jama*, 290: 1729-1738
- Chai Y, Pu X, Wu Y, Tian X, Li Q, Zeng F, Wang J, Gao J, Gong H, Chen Y. (2021) Inhibitory effect of *Astragalus Membranaceus* on osteoporosis in SAMP6 mice by regulating vitamin D/FGF23/Klotho signaling pathway. *Bioengineered*. 12(1): 4464-4474
- Chan TY. (2000) Vitamin D deficiency and susceptibility to tuberculosis. *Calcif Tissue Int*, 66: 476-478

- Chanchlani E, Nemer P, Sinha R, Nemer L, Krishnappa V, Sochett E, Safadi F, Raina R. (2020) An overview of rickets in children. *Kidney Int Rep*, 5: 980-990
- Charoenngam N, Shirvani A, Holick MF. (2021) Vitamin D: its potential benefit for the COVID-19 pandemic. *Endocr Pract*, 27(5): 484-493
- Chattarjee M, Faot F, Correa C, Kerckhofs J, Vandamme K. (2021) Is the jaw bone microstructure altered in response to osteoporosis and bisphosphonate treatment? A micro-CT analysis. *Int J Mol Sci*, 22(12): 6559-6574
- Chavassieux P, Garnero P, Duboeuf F, Vergnaud P, Brunner-Ferber F, Delmas PD, Meunier P. (2001) Effects of a new selective estrogen receptor modulator (MDL 103,323) on cancellous and cortical bone in ovariectomized ewes: A biochemical, histomorphometric, and densitometric study. *J Bone Miner Res*, 16: 89-96
- Chen H, Zhou X, Emura S, Shoumura S. (2009) Site-specific bone loss in senescence-accelerated mouse (SAMP6): A murine model for senile osteoporosis. *Exp Geront*, 44: 792-798
- Christiansen BA. (2016) Effect of micro-computed tomography voxel size and segmentation method on trabecular bone microstructure measures in mice. *Bone Reports*. 5: 136-140
- Clarke BL, Khosla S. (2010) Physiology of bone loss. *Radiol Clin North Am*, 48:483-495
- Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS. (2014) Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int*, 25(10): 2359-2381
- Cooper C, Atkinson EJ, Jacobsen SJ, O'Fallon WM, Melton LJ. (1993) Population-based study of survival after osteoporotic fractures. *Am J Epidemiol*, 137: 1001-1005
- Cranney A, Weiler HA, O'Donnell S. (2008) Summary of evidence-based review on vitamin D efficacy and safety in relation to bone health. *Am J Clin Nutr*, 88: 513-519
- Dennison E, Cole Z, Cooper C. (2005) Diagnosis and epidemiology of osteoporosis *Curr Opin Rheumatol*, 17: 456-461



Diab T, Wang J, Reinwald S, Guldborg RE, Burr DB. (2011) Effects of the combination treatment of raloxifene and alendronate on the biomechanical properties of vertebral bone. *J Bone Miner Res*, 26(2): 270-276 DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.197>

Ding M, Danielsen CC, Hvid I. (2008) The Effects of Bone Remodeling Inhibition by Alendronate on Three-Dimensional Microarchitecture of Subchondral Bone Tissues in Guinea Pig Primary Osteoarthritis. *Calc Tissue Int*, 82: 77-86

Ding M, Day JS, Burr DB, Mashiba T, Hirano T, Weinans H, Sumner Dr, Hvid I. (2003) Canine cancellous bone microarchitecture after one year of high-dose bisphosphonates. *Calcif Tissue Int*, 72: 737-744

Drake MT, Clarke BL, Khosla S. (2008) Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin Proc*, 83(9): 1032-1045

Durand B, Stoetzel C, Schaefer E, Camels N, Schneidecker S, Kempf N, de Melo C, Guilbert AS, Timbolschi D, Donato L, Astuc D, Sauer A, Antal MC, Dollfus H, El Chehadeh S. (2020) A severe case of Frank-ter Haar syndrome and literature review: Further delineation of the phenotypical spectrum. *Eur J Med Gen*, 63(4): 103857-103864 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmg.2020.103857>

Dülk M, Kudlik Gy, Fekete A, Ernszt D, Kvell K, Pongrácz JE, Merő B, Szeder B, Radnai L, Geiszt M, Csécsy DE, Kovács T, Uher F, Lányi Á, Vas V, Buday L. (2016) The scaffold protein Tks4 is required for the differentiation of mesenchymal stromal cells (MSCs) into adipogenic and osteogenic lineages. *Sci. Rep*, 6: 34280-34288 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/srep34280>

Eelen G, Verlinden L, van Camp M, van Hummelen P, Marchal M, De Moor B, Mathieu Ch, Carmeliet G, Bouillon R, Verstuyf A. (2009) The effects of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 on the expression of DNA replication genes. *J Bone Miner Res*, 19: 2309-2319

Ejiri S, Tanaka M, Watanebe N, Binte-Anwar R, Yamashita E, Yamada K, Ikegame M. (2008) Estrogen deficiency and its effect on the jaw bones. *J Bone Miner Metab*, 26: 409-415

El Khassawna T, Böcker W, Govindarajan P, Schiefke N, Hürter B, Heiss C. (2013) Effects of multi-deficiencies-diet on bone parameters of peripheral bone in

ovariectomized mature rat. PloS ONE. 8(8): 71665-71673 DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.007165>

Engermann M, Goldhahn J, Schneider E. (2005) Animal models for fracture treatment in osteoporosis. *Osteoporos Int*, 16: 129-38

European Medicines Agency (EMA)  
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/eladynos> letöltés  
ideje:2022.03.10

Faot F, Chatterjee M, de Camargos GV, Duyck J, Vandamme K. (2015) Micro-CT analysis of rodent jaw bone micro-architecture: A systematic review. *Bone Reports*, 2: 14-24

Felder AA, Monzem S, De Souza R, Javaheri B, Mills D, Boyde A, Doube M. (2020) The plate-to-rod transition in trabecular bone loss in elusive. *Royal Soc Open Sci*, 8(6): 201401-201410 DOI: <https://doi.org/10.1098/rsos.201401>

Ferguson VL, Ayers RA, Bateman TA, Simske SJ. (2003) Bone development and age-related bone loss in male C57BL/6J mice. *Bone*, 33: 387-398

Ferrar L, Jiang G, Schousboe JT, DeBold CR, Eastell R. (2008) Algorithm-based qualitative and semiquantitative identification of prevalent vertebral fracture: agreement between different readers, imaging modalities, and diagnostic approaches. *J Bone Miner Res*, 23: 417-424.

Ferrer-Mayorga G, Larriba MJ, Crespo P, Munoz A. (2019) Mechanisms of action of vitamin D in colon cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 185: 1-6

Firdousi R, Parveen S. (2014) Local threshold techniques in image binarization. *Int J Engin Comput Sci*, 3: 4062-4065

Fleisch H. (2002) Development of bisphosphonates. *Breast Cancer Res*, 4(1):30-34

Fleisch H, Russell RG, Francis MD. (1969) Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo. *Science*, 165(3899): 1262-1264

- Föger-Samwald U, Dovjak P, Aziz-Semrad U, Kersch-Schindl K, Pietschmann P. (2020) Osteoporosis: Pathophysiology and therapeutic options. *EXCLI J*, 19: 1017-1037
- Frank Y, Ziprkowski M, Romano A, Stein R, Katznelson MB, Cohen B, Goodman RM. (1973) Megalocornea associated with multiple skeletal anomalies: A new genetic syndrome? *J Genet Hum*, 21: 67-72
- Frost HM, Jee WSS. (1992) On the rat model of human osteopenias and osteoporosis. *Bone and Mineral*, 18: 227-236
- Fu L, Tang T, Miao Y, Hao Y, Dai K. (2009) Effect of 1,25-dihydroxy vitamin D<sub>3</sub> on fracture healing and bone remodeling in ovariectomized rat femora. *Bone*, 44: 893-898
- Fujita T, Kawata T, Tokimasa C, Kaku M, Kawassoko S, Tanne K. (1998) Influences of ovariectomy and orchietomy on the remodeling of mandibular condyle in mice. *J Craniofac Gnete Dev Biol*, 18(3): 164-170
- Gallagher A, Chambers TJ, Tobias JH. (1993) The estrogen antagonist ICI 187,780 reduces cancellous bone volume in femal rats. *Endocrinol*, 133: 2787-2791
- Gao X, Ma W, Dong H, Yong Z, Su R. (2014) Establishing a rapid animal model os osteoporosis with ovariectomy plus low calcium diet in rats. *Int J Clin Exp Pathol*, 7(8): 5123-5128
- Giulietti A, Gysemans C, Stoffels K, van Etten E, Decallonne B, Overbergh L, Bouillon R, Mathieu C. (2007) Vitamin D deficiency in early life accelerates Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetol*, 47: 451-462
- Glatt V, Canalis E, Stadmeier L, Boussein ML. (2007) Age-related changes in trabecular architecture differ in female and male C57BL/6J mice. *J Bone Mineral Res*, 8: 1197-1207
- Gonnelli S, Cepollaro C, Gennari L, Montagnani A, Caffarelli C, Merlotti D, Rossi S, Cadirni A, Nuti R. (2005) Quantitative ultrasound and dual-energy X-ray absorptiometry in the prediction of risk factor in men. *Osteoporosis Int*, 16: 963-968
- Guo Y, Sun N, Duan X, Xu X, Zheng L, Seriwatanachai D, Wang Y, Yuan Q. (2016) Estrogen deficiency leads to further bone loss int he mandible of CDK mice. *PLoS ONE*, 11(2): 148804-148815 DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148804>

- Goulding A, Gold E. (1989) A new way to introduce oestrogen-deficiency osteopaenia in the rat: Comparison of the effect of surgical ovariectomy and administration of the LHRH agonist buserelin on the bone resorption and composition. *J Endocrinol*, 121: 293-298
- Graham R, Russel G. (2011) Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone*, 49(1): 2-19
- Grigalavicius M, Iani V, Juzeniene A. (2016) Layer Thickness of SPF 30 Sunscreen and Formation of Pre-vitamin D. *Anticancer Res*, 36: 1409-1415
- Gullberg B, Johnell O, Kanis. Worldwide projections for hip fracture. *Osteoporos Int*, 18: 407-413
- Gyires K, Fürst Zs. (szerk.) Az endokrin rendszer gyógyszerterapeúti alapjai. In: *A farmakológia alapjai: Egyetemi tankönyv Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2011: 812-814*
- Hao L, Fu J, Tian Y, Wu J. (2017) Systematic analysis of lncRNAs, miRNAs, and mRNAs for the identification of biomarkers for osteoporosis in the mandible of ovariectomized mice. *Int J Mol Med*, 40(3): 689-702
- Hao LY, Li J, Tian Y, Wu J. (2016) Changes in the microRNA profile of the mandible of ovariectomized mice. *Cell Physiol Biochem*, 38(4): 1267-1287
- Heaney RP, Recker RR, Grote J, Horst RL, Armas LA. (2011) Vitamin D3 is more potent than vitamin D2 in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 96: 447-452
- Holick MF. (2003) Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem*, 88: 296-307
- Holick MF. (2007) Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 357: 266-281
- Holick MF, Chen TC, Lu ZSauter E. (2007) Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J Bone Mineral Res*, 22 Suppl 2: 28-33.
- Holick MF, Chen TC. (2008) Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr*, 87: 1080-1086
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. (2011) Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*, 96: 1911-1930

- Hordon LD, Itoda M, Shore PA, Heald M, Brown M, Kanis JA, Rodan GA, Aaron JE. (2006) Preservation of thoracic spine microarchitecture by alendronate: Comparison of histology and micro-CT. *Bone*, 38: 444-449
- Houssain S, Beydoun MA, Beydoun HA, Chen X, Zonderman AB, Wood RJ. (2019) Vitamin D and breast cancer: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Clin Nutr ESPEN*, 30: 170-184
- Iqbal Z, Cejudo-Martin P, de Brouwer A, van der Zwaag, Ruiz-Lozano P, Scima MC, Lindsey JD, Weinreb R, Albrecht B, Megarbane A, Alanay Y, Ben-Neriah Z, Amenduni M, Artuso R, Veltman JA, van Beusekom E, Oudakker A, Millán JL, Hennekam R, Hamel B, Courtneidge SA, van Bokhoven H. (2010) Disruption of the podosome adaptor protein Tks4 (Sh3pxd2b) causes the skeletal dysplasia, eye, and cardiac abnormalities of Frank-Ter Haar syndrome. *Am J Hum Genet*, 86(2): 254-261
- Isaksson H, Töyräs J, Hakulinen M, Aula AS, Tamminen I, Julkunen P, Kröger H, Jurvelin JS. (2011) Structural parameters of normal and osteoporotic human trabecular bone are affected differently by microCT images resolution. *Osteoporos Int*, 22: 167-177
- Ismail AA, Pye SR, Cockerill WC, Lunt M, Silman AJ, Reeve J, Banzer D, Benevolenskaya LI, O'Neill TW. (2002) The EPOS Group. Incidence of limb fracture across Europe: Results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Osteoporos Int*, 13: 565-571
- Jackson E, Lara-Castillo N, Akhter MP, Dallas M, Scott JM, Ganesh T, Johnson ML. (2021) Osteocyte Wnt/ $\beta$ -catenin pathway activation upon mechanical loading is altered in ovariectomized mice. *Bone Rep*, 15: 101129-101135 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bonr.2021.101129>
- Jee WS, Yao W. (2001) Overview: animal models of osteopenia and osteoporosis. *J Musculoskelet Neur Interact*, 3: 193-207
- Jiang G, Matsumoto H, Fujii A. (2003) Mandible bone loss in osteoporosis rats. *J Bone Miner Metab*. 21(6): 388-395

Jiang L, Shen X, Wei L, Zhou Q, Gao Y. (2017) Effect of bisphosphonates on mandibular condyle of ovariectomized osteoporotic rats using micro-CT and histomorphometric analysis. *J Oral Pathol Med.* 46(5): 398-404

Johnell O, Kanis JA. (2006) An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int*, 17(12): 1726-1733

Johnson K. (2011) Bone and Joint Decade Extended. *Vet and Comp Orthoped and Traumat*, 24(1): 3-9

Johnston BD, Ward WE. (2015) The ovariectomized rat as a model for studying alveolar bone loss in postmenopausal women. *BioMed Res Int*, 13: 1-12

Kang KY, Kang Y, Kim M, Kim Y Yi H, Kim J, Jung HR, Park SH, Kim HY, Ju JH, Hong YS. (2013) The effects of antihypertensive drugs on bone mineral density in ovariectomized mice. *J Korean Med Sci*, 28: 1139-1144

Kanis JA, Melton JR, Christiansen C, Johnston CC, Khaltev N. (1994) The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 9: 1137–1141

Kanis JA, Oden A, Johnell O, De Laet C, Jonsson B, Oglesby AK. (2003) The components of excess mortality after hip fracture. *Bone*, 32: 468-473

Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H. (2008) Case finding for the management of osteoporosis with FRAX® – assessment and intervention thresholds for the UK. *Osteoporos Int*, 19(10): 1395–1408

Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Oden A, Melton LJ, Khaltsev N. (2008) A reference standard for the description of osteoporosis. *Bone*, 42: 467-475

Kanis JA, Compston J, Cooper C. (2012) The burden of fractures in the European Union in 2010. *Osteoporos Int*, 23(suppl 2): 57-65

Kanis J. (2019) Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. WHO Scientific Group Technical Report.

[https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO\\_Technical\\_Report.pdf4](https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/pdfs/WHO_Technical_Report.pdf4). letöltés: 2022.02.14.

- Kanis JA, Norton N, Harvey NC, Jacobson T, Johansson J, Lorentzon M, McCloskey EV, Willers C, Brogström F. (2021) SCOPE 2021: a new scorecard for osteoporosis in Europe. *Arch Osteoporos*, 16(1): 82-89
- Khan AA, Kaiser S. (2017) Atypical femoral fracture. *CMAJ*, 189(14): 542-49
- Kim C, Park D. (2013) The effect of restriction of dietary calcium on trabecular and cortical bone mineral density in rats. *J Exerc Nutr Biochem*, 17(4): 123-131
- Kim JN, Lee JY, Shin KJ, Gil YC, Koh KS, Song WC. (2015) Haversian system of compact bone and comparison between endosteal and periosteal sides using three-dimensional reconstruction in rat. *Anat Cell Biol*, 48(4): 258-261
- Kim SW, Kim KS, Solis CD, Lee MS, Hyun BH. (2013) Development of osteoporosis animal model using micropigs. *Lab Anim Res*, 29: 174-177
- Kendler DL, Cosman F, Stad RK, Ferrari S. (2021) Denosumab in the treatment of osteoporosis: 10 years later: A narrative review. *Advances in Therapy*, 39: 58-74
- Klemetti E, Vainio P, Kröger H. (1995) Craniomandibular disorders, and skeletal mineral status. *J Craniomand Sleep Pract*, 13(2): 89-92
- Kosugi K, Yonezu H, Kawashima S, Honda K, Arai Y, Shibahara T. (2013) A longitudinal study of the effect of experimental osteoporosis on bone trabecular structure in the rat mandibular condyle. *Cranio*, 31(2): 140-150
- Kozai Y, Kawamata R, Sakurai T, Kanno M, Kashima I. (2009) Influence of prednisolone-induced osteoporosis on bone mass and bone quality of the mandible in rats. *Dentomaxillofacial Radiol*, 22(3): 403-410
- Körmendi Sz, Vecsei B, Ambrus Sz, Orhan K, Dobó-Nagy Cs. (2021) Evaluation of the effect of vitamin D3 on mandibular condyles in an ovariectomized mouse model: a micro-CT study. *BMC Oral Health*, 21: 627-634 DOI: <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01980-8>
- Körmendi Sz, Vecsei B, Orhan K, Dobó-Nagy Cs. (2019) Micro-CT in Osteoporosis Research In: Orhan K. (editor), *Micro-computed Tomography (micro-CT) in Medicine*

and Engineering. Springer, Cham. 87-107 DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-16641-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16641-0_7)

Küchler EC, Reis CLB, Marañón-Vásquez GA, Nelson-Filho P, Matsumoto MN, Stuani MB, Oliveira MAHM, Proff P, Kirschneck C. (2021) Parathyroid hormone gene and genes involved in the maintenance of vitamin D levels association with mandibular retrognathism. *J Pers Med*, 11(5): 369-380

Lakatos P, Kiss Z, Kuluncsics Z, Szekeres I, Horváth C, Poór G. (2011) A RANK-ligand-gátlás előnyei a posztmenopauzás oszteoporózis kezelésében. *Magyar Reumatológia*, 52: 38-43

Lee Ch, Lee JH, Han SS, Kim YH, Choi YJ, Jeon KJ, Jung HI. (2019) Site-specific and time-course changes of postmenopausal osteoporosis in rat mandible: comparative study with femur. *Sci rep*, 9(1): 14155-14162

Lee JH, Han SS, Lee Ch, Kim YH, Battulga B. (2019) Microarchitectural changes in the mandibles of ovariectomized rats: a systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*, 19(1): 128-141

Lee MM, Chu EZ, El-Abadi MM, Foster BL, Tompkins KA, Giachelli CM, Somerman MJ. (2010) Characterization of mandibular bone in a mouse model of chronic kidney disease. *J Periodontol*, 81: 300-309

Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, Lyritis GP, Dontas IA. (2008) The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. *Compar Med*, 58: 425-430

Lewiecki EM, Boyle JF, Arora S, Bouchonville MF, Chafey DH. (2017) Telemonitoring: novel approach to reducing the osteoporosis treatment gap. *Osteoporos Int*, 28: 407-11

Li J, Bao Q, Chen S, Liu H, Feng J, Qin H, Liu D, Shen Y, Zhao Y, Zong Z. (2017) Different bone remodeling levels of trabecular and cortical bone in response to changes in Wnt/B-catenin signaling in mice. *J Orthop Res*, 53(4): 812-819

Li R, Lou Y, Zhang W, Dong Q, Han B. (2014) Vitamin D inhibition of lung adenocarcinoma cell proliferation in vitro. *Tumour biol*, 35(11): 10953-10958



- Lill CA, Fluegel AK, Schneider E. (2002) Effect of ovariectomy, malnutrition and glucocorticoid application on bone properties in sheep: a pilot study. *Osteoporos Int*, 13: 480-486
- Littlejohns TJ, Henley WE, Annweiler C, Beauchet O, Chaves PHO, Fried L, Kerstenbaum BR, Kuller LH, Langa KM, Lopez OL, Kos K, Soni M, Liewellyn DJ. (2014) Vitamin D and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Neurology*, 83(10): 920-928
- Liu H, Gao K, Lin H, Zhang Y, Li B. (2015) Relative skeletal effects in different sites of the mandible with proximal tibia during ovariectomy and the subsequent oestrogen treatment. *J Oral Implantol*, 41: 386-390
- Liu H, Li W, Liu Ys Zhou YS. (2016) Bone micro-architectural analysis of mandible and tibia in ovariectomized rats. *Bone Joint Res*, 5(6): 253-262
- Liu XL, Li CL, Lu WW, Cai WX, Zheng LW. (2015) Skeletal site-specific response to ovariectomy in a rat model: change in bone density and microarchitecture. *Clin Oral Implants Res*, 26(4): 392-398
- Liu Z, Yan C, Kang Ch, Zhang B, Li Y. (2015) Distributional variations in trabecular architecture of the mandibular bone: An *in vivo* micro-CT analysis in rats. *PLoS ONE*, 10(1): 116194-116200 DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116194>
- Longo AB, Salomon PL, Ward WE. (2017) Comparison of ex vivo and in vivo micro-computed tomography of rat tibia at different scanning settings. *J Orthop Res*, 35: 1690-1698
- Mackey MS, Stevens ML, Ebert DC, Tressler DL, Combs KS, Lowry CK, Smith PN, McOsker JE. (1995) The ferret as a small animal model with BMU-based remodeling for skeletal research. *Bone*, 17(4): 1915-1925
- Mackay DL, Kean TJ, Bernardi KG, Haeberle HS, Ambrose CG, Lin F, Dennis JE. (2018) Reduced bone loss in a murine model of postmenopausal osteoporosis lacking complement component 3. *J Orthop Res*, 36: 118-128

Magyar Arc-, Állcsont- és Szájsebészeti Társaság. A biszfoszfonátok által indukált állcsont oszteonekrózisok megelőzése és kezelése II. (2014) Fogorvosi Szemle, 107(3): 106-107

Magyar Osteoporosis és Osteoarthrológiai Társaság. (2017) A csontritkulás népegészségügyi jelentősége, a Nemzeti Osteoporosis Program eddigi eredményei. letöltés: 2022.03.08

Magyar Osteoporosis és Osteoarthrológiai Társaság (2017) Stroncium-ranelát [http://www.osteoporosis.hu/upload/osteoporosis/document/17prote2oh1\\_20170424.pdf?web\\_id=](http://www.osteoporosis.hu/upload/osteoporosis/document/17prote2oh1_20170424.pdf?web_id=) letöltés: 2022.02.13.

Magyar Radiológusok Társaságának Osteológiai Szekciója (MRT-OS) (2007) Osteoporotikus csigolyatörések I. rész. Osteológiai Közlemények, 3: 137-146

Mavropoulos A, Kiliaridis S, Rizzoli A, Ammann P. (2014) Normal masticatory function partially protects the rat mandibular bone from estrogen deficiency induced osteoporosis. J Biomech. 47(4): 2666-2671

Milovanovic P, Vukovic Z, Antonijevic, Djonic D, Zivkovic V, Nikolic S, Djuric M. (2017) Porotic paradoxon: distribution of cortical bone sizes at nano- and micro-levels in healthy vs. fragile human bone. J Mater Sci Mater Med, 28: 71-77

Molino G, Montalbano G, Pontremoli C, Fiorilli S, Vitale-Brovarone. (2020) Imaging techniques for the assessment of the bone osteoporosis-induced variations with particular focus on micro-CT potential. Appl Sci. 10(24): 8939-8965

Naylor K, Eastell R. (2012) Bone turnover markers: use in osteoporosis. Nat Rev Rheumatol, 8: 379-389

Need AG, Morris HA, Horowitz MN, Nordin C. (1993) Effects of skin thickness, age, body fat, and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D. Am J Clin Nutr, 58: 882-885.

Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsmann AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK, Wang O, Mitlak BH. (2001) Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. New England J Med, 344: 1434-1441

OMIM report (2021) Frank Ter Haar syndrome | Genetic and Rare Diseases Information Center (GARD) – an NCATS Program (nih.gov) letöltés 2021.12.10.

Ominsky MS, Boyd SK, Varela A, Jolette J, Felx M, Doyle N, Mellal N, Smith SY, Locher K, Buntich S, Pyrah I, Boyce RW. (2017) Romosozumab Improves Bone Mass and Strength While Maintaining Bone Quality in Ovariectomized Cynomolgus Monkeys. *J Bone Miner Res*, 32(4): 788-801

Parashar SK, Sharma JK. (2016) A review on application of finite element modelling in bone biomechanics. *Persp Sci*, 8: 696-698

Particelli F, Mecozzi L, Beraudi A, Montesi M, Baruffaldi F, Viceconti M. (2011) A comparison between micro-CT and histology for evaluation of cortical bone: effect of polymethylmethacrylate embedding on structural parameters. *J Microscopy*, 245: 302-310

Pautke C, Kreutzer K, Weitz J, Knödler M, Münzel D, Wexel G, Otto S, Hapfelmeier A, Stürzenbaum S, Tischer T. (2012) Bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw: A minipig large animal model. *Bone*, 51: 592-599

Pazzaglia UE, Zarattini G, Giacomini D, Rodella L, Menti AM, Feltrin G. (2010) Morphometric analysis of the canal system of cortical bone: an experimental study in the rabbit femur carried out with standard histology and micro-CT. *Anat Histol Embryol*, 39: 17-26

Peng JB, Chen XZ, Berger UV, Vassilev PM, Tsukaguchi H, Brown EM, Hediger MA. (1999) Molecular cloning and characterization of a channel-like transporter mediating intestinal calcium absorption. *J Biol Chem*, 274: 22739-22746

Péntek M, Gulácsi L, Tóth E, Baji P, Brodszky V, Horváth Cs. (2016) A szakellátásban megjelenő osteoporosisos nők 10 éves csonttöréskockázata a FRAX alapján. *Orv Hetil*, 157(4): 146-153

Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. (2007) The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 92: 2017-2029

- Poór Gy. (2006) Az osteoporosis ellátás gyakorlata és eredményei Magyarországon. *LAM*, 16(8): 675-705
- Qi WX, Tang LN, He AN, Yao Y, Shen Z. (2014) Risk of osteonecrosis of the jaw in cancer patients receiving denosumab: a meta-analysis of seven randomized controlled trials. *Int J Clin Oncol*, 19: 403-410
- Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. (2011) Osteoporosis: now and the future. *Lancet*, 377: 1276–1287
- Randalski RJ, Renz H, Zimmermann CA, Schuster FP, Voigt A, Heikinheimo K. (2016) Chondral ossification centers next to dental primordia in the human mandible: a study of the prenatal development ranging between 68 to 270 mm CRL. *Ann Anat*, 208: 49-57
- Reginster JY, Kaufman JM, Goemaere S, Devogelaer JP, Benhamou CL, Felsenberg D, Diaz-Curiel M, Brandi ML, Badurski J, Wark J, Balogh A, Bruyere O, Roux C. (2012) Maintenance of antifracture efficacy over 10 years with strontium ranelate in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int*, 23: 1115-1122
- Rhee Y, Hur JH, Won YY, Lim SK, Beak MH, Cui WQ, Kim KG, Kim YE. (2009) Assessment of bone quality using finite element analysis based upon micro-CT images. *Clin Orthop Surg*, 1: 40-47
- Richmeister JT, Baxter LL, Reeves RH. (2000) Parallels of craniofacial maldevelopment in Down syndrome and Ts65Dn mice. *Dev Dyn Off Publ Am Assoc Anat*, 217: 137-145
- Robinson JL, Johnson PM, Kister K, Yin MT, Chen J, Wadwa S. (2020) Estrogen signaling impacts temporomandibular joint and periodontal disease pathology. *Odontology*, 108(2): 153-165
- Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, Frith JC. (2000) Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer Supplement*, 88(12): 2961-2978
- Rosa JT, Laizé V, Gavaia PJ, Cancela ML. (2021) Fish models of Induced Osteoporosis. *Front Cell Dev Biol*, 9: 672424-672431 DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.672424>

Rozenberg S, Al-Daghri N, Aubertin-Leheudre M, Brandi ML, Cano A, Prieto-Alhambra D, Reginster JY, Rizzoli R, Rosano G, Trémollières F, Harvey NC. (2020) Is there a role for menopausal hormone therapy in the management of postmenopausal osteoporosis? *Osteoporos Int*, 31: 2271-2286

Ruggiero SL, Dodson TB, Aghaloo T, Carlson ER, Ward BB, Kademani D. (2022) American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons' position paper on Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw – 2022 Update. *J Oral Maxillofac Surg*, 80(5):920-943 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2022.02.008>

Salmon P. (2015) Non-linear pattern formation in bone growth and architecture. *Front Endocrinol*, 5: 239-249 DOI: <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00239>

Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, Colagiuri S, Guariguata Diab Res Clin L, Motala AA, Ogurtsova K, Shaw JE, Bright D, Williams R. (2019) Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Res Clin Pract*, 157: 107843-107851 DOI: [10.1016/j.diabres.2019.107843](https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843)

Sebestyén A, Boncz I, Sándor J, Nyárády J. (2008) Effect of surgical delay on early mortality in patients with femoral neck fracture. *Int Orthop*, 32(3): 375-379

Seitz S, Koehne T, Ries C, De Novo Oliveira A, Barvencik F, Busse B, Eulenburg C, Schinke T, Puschel K, Rueger JM, Amling M, Pogoda P. (2013) Impaired bone mineralization accompanied by low vitamin D and secondary hyperparathyroidism in patients with femoral neck fracture. *Osteoporos Int*, 24: 641-649

Sergeev IN. (2014) Vitamin D mediated apoptosis in cancer and obesity. *Horm Mol Biol Clin Investig*, 20(2): 43-49

Sharma D, Larriera AI, Palacio-Mancheno PE, Gatti V, Fritton JC, Bromage TG, Cardoso L, Doty SB, Fritton SP. (2018) The effects of estrogen deficiency on cortical bone microporosity and mineralization. *Bone*, 110: 1-10

Sheng ZF, Xu K, Ma YI, Liu JH, Dai RC. (2009) Zoledronate reverses mandibular bone loss in osteoprotegerin-deficient mice. *Osteoporos Int*, 20: 151-159

Shi Ch, Sun B, Wu H, Chen R, He H, Zhang Y. (2021) Comparable effects of strontium ranelate and alendronate treatment on fracture reduction in a mouse model of osteogenesis imperfecta. *Biomed Res Int*, 1: 1-13 DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/424310537>

Sim IW, Borromeo GL, Tsao C, Hardiman R, Hofman MS, Hjelle CP. (2020) Teriparatide Promotes Bone Healing in Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw: A Placebo-Controlled, Randomized Trial. *J Clin Oncol*, 38: 2971-2980

Simpson EL, Martyn-StJames M, Hamilton J, Wong R, Gittoes N, Selby P, Davis S. (2020) Clinical effectiveness of denosumab, raloxifene, romosozumab, and teriparatide for the prevention of osteoporotic fragility fractures: A systematic review and network meta-analysis. *Bone*, 130: 115081-11516, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2019.115081>

Siu WS, Qin L, Cheung WH, Leung KS. (2004) A study of trabecular bones in ovariectomized goats with micro-computed tomography and peripheral quantitative computed tomography. *Bone*, 35: 21-26

Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, Norton JA, Johnston CC, Jr. (1991) Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. *J Bone Miner Res*, 6: 561-567

Somogyi P, Bossányi A, Kricsfalusy M, Schreithofer L, Rápolthy I, Udvardy Cs, Horváth Cs. (2000) Az osteoporotikus eredetű csonttörések számának becslése Magyarországon. *Ca és Csont*, 3(3): 111-117

Stoffels K, Overbergh L, Giuliatti A, Verlinden L, Bouillon R, Mathieu C. (2006) Immune regulation of 25-hydroxyvitamin-D3-1alpha-hydroxylase in human monocytes. *J Bone Miner Res*, 21: 37- 47

Ström O, Borgström F, Kanis JA, Compston J, Cooper C, McCloskey EV, Jönsson B. (2011) International Osteoporosis Foundation, European Federation of Pharmaceutical Industry Associations. Osteoporosis: burden, health care provision and opportunities in the EU. *Arch Osteoporos*, 6: 59-155

- Strohlein JK, Wallqvist J, Mikolajewska A, Metzendorf MI, Benstoem C, Meybohm P, Becker M, Skoetz N, Stegemann M, Piechotta V. (2021) Vitamin D supplementation for the treatment of COVID-19: a living systematic review. *Cochrane Database*, 5(5): 15043-15056 DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD015043>
- Szathmári M. (2011) A csonttörés kockázatának megítélése osteoporosisban. *Orv Hetil*, 152(33): 1304–1311
- Takács I. A csontvázra ható genetikai és környezeti tényezők klinikai vizsgálata (2016) MTA doktori értekezés, dc\_1264\_16
- Takács I, Benkő I, Toldy E, Wikonkál N, Szekeres L, Bodolay E, Kiss E, Jambrik Z, Szabó B, Merkely B, Valkusz Zs, Kovács T, Szabó A, Grigoreff O, Nagy Zs, Demeter J, Horváth H, Bittner N, Várbíró Sz, Lakatos P. (2012) Hazai konszenzus a D-vitamin szerepéről a betegségek megelőzésében és kezelésében. *Orv Hetil*, 153S: 5-26
- Takeda T, Ito T, Onishi I, Yokomura M, Kawashima Y, Fijikawa T, Tsutsumi T. (2021) Denosumab-induced osteonecrosis of external auditory canal. *Auris Nasus Larynx*, 48(6): 1199-1203
- Tanaka M, Ejiri S, Kohno S, Ozawa H. (2000) Region-specific bone mass changes in rat mandibular condyle following ovariectomy. *J Dent Res*, 79: 1907-13
- ter Haar B, Hamel B, Hendricks J, de Jager J. (1982) Melnick-Needles syndrome: indication for an autosomal recessive form. *Am J Med Genet*, 13: 469-477
- Teshome A, Adane A, Grima B, Mekonnen ZA. (2021) The impact of vitamin D level on COVID 19 infection: systematic review and meta-analysis. *Front Public Health*, 9: 624559-624571 DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.624559>
- Thompson DD, Rodan GA. (1989) Indomethacin inhibitor of tenotomy-induced bone resorption in rats. *J Bone Miner Res*, 3: 409-414
- Thompson DD, Simmon HA, Pirie CM, Ke HZ. (1995) FDA guidelines and animal models for osteoporosis. *Bone (4 suppl)*,17: 125-133

- Tian XY, Webster SSJ, Li X, Paszty C, Ke HZ. (2011) Sclerostin antibody increases bone mass by stimulating bone formation and inhibiting bone resorption in a hindlimb-immobilization rat model. *Bone*, 48(2): 197-201
- Tiede-Lewis LM, Xie Y, Hulbert MA, Campos R, Dallas MR, Dusevich V, Bonewald LF, Dallas SL. (2017) Degeneration of the osteocyte network in the C57BL/6 mouse model of aging. *Aging*, 9: 2190-2208
- Tominga A, Wada K, Okazaki K, Nishi H, Terayama Y, Kato. (2021) Early clinical effects, safety and predictors of the effects of romosozumab treatment in osteoporosis patient: one-year study. *Osteoporos Int*, 32: 1999-2009
- Torrubia B, Martín-Fernández M, Rupert M, Gómez-Chinchón M, Sosa M, Díez-Pérez A, Visedo PR, de la Piedra C. (2020) Effects of calcium and vitamin-D supplementation on bone quality in an ovariectomized rat model. *J Surg*. 5(2): 1276-1284
- Tsutsumi H, Ikeda S, Nakamura T. Osteoporosis model in minipigs In: McAnulty PA, Dayan AD, Ganderup NC, Hastings KL. (2012) *The minipig in biomedical research*. Boca Raton, FL: CRC Press, 517-525
- Turner AS. (2001) Animal models of osteoporosis-Necessity and limitations. *Eur Cells and Mat*, 1: 66-81
- Turner RT, Maran A, Lotinun S, Hefferan T, Evans GL, Zhang M, Sibonga JD. (2001) Animal models for osteoporosis. *Rev Endoc Metab Dis*, 2: 117-127
- Vas V, Kovács T, Körmendi Sz, Bródy A, Kudlik Gy, Szeder B, Mező D, Kállai D, Koprivanacz K, Merő BM, Dülk M, Tóvári J, Vajdovich P, Şenel SN, Özcan I, Helyes Zs, Dobó-Nagy Cs, Buday L. (2019) Significance of the Tks4 scaffold protein in bone tissue homeostasis. *Sci Rep*. 9: 5781-5791
- Veszelyné Kotán E, Mészáros Á. (2016) Biszfoszfonátok alkalmazásának gyakorlata és aktuális gyógyszerészeti vonatkozásai I. *Acta Pharm Hung*, 86(1): 13-22
- Voutsadakis IA. (2021) Vitamin D baseline levels at diagnosis of breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Hemat Oncol Stem Cell Therapy*, 14(1): 16-26



- Watanabe A, Yoneyama S, Nakajima M, Sato N, Tako-Kawatabe R, Isogai Y, Sakurai-Tanikawa A, Higuchi K, Shimoi A, Yamatoya H, Yoshida K, Kohira T. (2012) Osteosarcoma in Sprague-Dawley rats after long-term treatment with teriparatide (human parathyroid hormone (1-34)). *J Toxicol Sci*, 37(3): 617-629
- Willey JS, Livingston EW, Robbins ME, Bourland JD, Tirado-Lee L, Smith-Sielicki H, Bateman TA. (2010) Risedronate prevents early radiation-induced osteoporosis in mice at multiple skeletal location. *Bone*, 46: 101-111
- Willingham MD, Brodt MD, Lee KL, Stephens AL, Ye J, Silva MJ. (2010) Age-related changes in bone structure and strength in female and male BALB/c mice. *Calcif Tissue Int*, 86: 470-483
- Wilson AK, Bhattacharyya MH, Miller S, Mani A, Sacco-Gibson N. (1998) Ovariectomy-induced changes in aged beagles: Histomorphometry of rib cortical bone. *Calcif Tissue Int*, 62: 237-243
- WHO Study Group (1994) Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. World Health Organization technical report series, 843: 1-129
- Wu Y, Adeeb S, Doschak MR. (2015) Using micro-CT derived bone microarchitecture to analyze bone stiffness – A case study on osteoporosis rat bone. *Front Endocrin*. 6: 1-7
- Xie Z, Komuves L, Yu QC, Elalieh H, Ng DC, Leary C, Chang S, Crumrine D, Yoshizawa T, Kato S, Bikle DD. (2002) Lack of the vitamin D receptor is associated with reduced epidermal differentiation and hair follicle growth. *J Invest Dermatol*, 118: 11-16
- Yamashiro T, Takano-Yamamoto T. (1998) differential responses of mandibular condyle and femur oestrogen deficiency in young rats. *Arch Oral Biol*, 43(3): 191-195
- Yamashita-Mikami E, Tanaka M, Sakurai N, Arai Y, Matsuo A, Ohshima H, Nomura S, Ejiri S. (2013) Correlation between alveolar bone microstructure and bone turnover marker in pre- and postmenopausal women. *Oral Maxillofac Surg*, 115: 12-19

- Yoon KH, Cho DC, Yu SH, Kim KT, Jeon Y, Sung JK. (2012) The change of bone metabolism in ovariectomized rats: analyses of microCT scan and biochemical markers of bone turnover. *J Korean Neurosurg Soc*, 51: 323-327
- Yu Z, Wang G, Tang T, Fu L, Yu X, Zhu Z, Dai K. (2015) Long-term effects of ovariectomy on the properties of bone in goats. *Exp Ther Med*, 9(5): 1967-1973
- Yüskel RN, Altunsoy N, Tikir B, Külük MC, Unal K, Goka S, Aydemir C, Goka E. (2014) Correlation between total vitamin D level and psychopathology in patients with schizophrenia: therapeutic implications for add-on vitamin D augmentation. *Ther Adv Psychopharmacol*, 4(6): 268-275
- Zajkas G, Biro L, Greiner E, Szórád I, Ágoston H, Balázs A, Vitrai J, Hermann D, Boros J, Németh R, Kéki Zs, Martos É. (2007) Táplálkozási vizsgálatok Magyarországon, 2003-2004. Mikrotápanyagok: vitaminok. *Orv Hetil*, 148: 1593-1600
- Zarrinkalam MR, Beard H, Schultz CG, Moore RJ. (2009) Validation of the sheep as a large animal model for the study of vertebral osteoporosis. *Eur Spine J*, 18(2): 244-253
- Zeng J, Wu G, Yang W, Gu X, Liang W, Yao Y, Song Y. (2015) A serum vitamin D level < 25 nmol/l pose high tuberculosis risk: a meta-analysis. 10(5): 126014-12628 DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126014>
- Zeng QQ, Jee WSS, Bigorina AE, King JG, D'Souza SM, Li XJ, Ma YF, Wechter WJ. (1996) Time responses of cancellous and cortical bone to sciatic neurectomy in growing female rats. *Bone*, 19: 13-21
- Zhou C, Lu F, Cao K, Xu D, Goltzman D, Miao D. (2008) Calcium-independent and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-dependent regulation of the renin-angiotensin system in 1alpha-hydroxylase knockout mice. *Kidney Int*, 74: 170-179
- Zhou X, Chen C, Zhong YN, Hao Z, Xu Y, Shen G, Yin X. (2019) Effect and mechanism of vitamin D on the development of colorectal cancer based on intestinal flora disorder. *J Gastroenter Hepatol*, 35: 1023-1031

## 10. Saját publikációk jegyzéke

*A disszertáció alapját képző közlemények:*

**Körmendi Sz**, Vecsei B, Ambrus Sz, Orhan K, Dobó-Nagy Cs. (2021) Evaluation of the effect of vitamin D3 on mandibular condyles in an ovariectomized mouse model: a micro-CT study. BMC Oral Health, 21: 627-634 DOI: <https://doi.org/10.1186/s12903-021-01980-8> IF: 3,748

**Körmendi Sz**, Vecsei B, Orhan K, Dobó-Nagy Cs. (2019) Micro-CT in Osteoporosis Research In: Orhan K. (editor), Micro-computed Tomography (micro-CT) in Medicine and Engineering. Springer, Cham. 87-107 DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-16641-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16641-0_7)

Vas V, Kovács T, **Körmendi Sz**, Bródy A, Kudlik Gy, Szeder B, Mező D, Kállai D, Koprivanacz K, Merő BM, Dülk M, Tóvári J, Vajdovich P, Şenel SN, Özcan I, Helyes Zs, Dobó-Nagy Cs, Buday L. (2019) Significance of the Tks4 scaffold protein in bone tissue homeostasis. Sci Rep. 9: 5781-5791 IF:3,998

*A disszertációtól független közlemények:*

Kertész Zs, Györi D, **Körmendi Sz**, Fekete T, Kis-Tóth K, Jakus Z, Schett G, Rajnavölgyi E, Dobó-Nagy Cs, Mócsai A. (2012) Phospholipase C $\gamma$ 2 is required for basal but not oestrogen deficiency-induced bone resorption. Eur J Clin Invest, 42(1): 49-60 IF:3,365

Joós-Kovács G, Vecsei B, **Körmendi Sz**, Gyarmathy VA, Borbély J, Hermann P. (2019) Trueness of CAD/CAM digitization with a desktop scanner – an in vitro study. BMC Oral Health, 19(4): 280-294 IF:1,911

Jász B, Jász M, **Körmendi Sz**, Vecsei B, Joós-Kovács G, Hermann P, Borbély J. (2022) Ex vivo digital comparison of four impression techniques using an industrial laser scanner. Stoma Edu J, 9(1): 17-22

Palaszko D, König J, Borbély J, Hermann P, **Körmendi Sz.** (2022) Digitális munkafolyamatok teljes alsó-felső lemezes fogpótlás készítésekor (esetismertetés). Fogorvosi Szemle. 114(1): 29-36 DOI: <https://doi.org/10.33891/FSZ.114.1.29-36>

## **11. Köszönetnyilvánítás**

Mindenki előtt köszönet és hála illeti Prof. Dr. Dobó Nagy Csabát, aki mérhetetlen türelemmel és csodálatos ötletekkel segített egészen a disszertáció megírásáig.

Nagy hálával tartozom Prof. Dr. Hermann Péternek, aki időt és lehetőséget adott a munkámra.

Köszönöm szerzőtársaimnak, főként Prof. Dr. Buday Lászlónak, Dr. Vas Virágnak, Dr. Vecsei Bálintnak és Dr. Ambrus Szilviának, hogy segítettek a kísérletek éjszakákba és hétvégékbe nyúló kivitelezésében és a tanulmányok publikálásában.

És a férjemnek köszönök mindent, hogy idáig eljuthattunk együtt.