

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Dunja Mudri

**UTJECAJ GRAVESOVE BOLESTI I NJEZINOG LIJEČENJA TIREOSTATSKIM
LIJEKOVIMA NA INHIBITORE WNT PUTA SKLEROSTIN I DICKKOPF 1**

Doktorska disertacija

Osijek, 2022.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK

Dunja Mudri

**UTJECAJ GRAVESOVE BOLESTI I NJEZINOG LIJEČENJA TIREOSTATSKIM
LIJEKOVIMA NA INHIBITORE WNT PUTA SKLEROSTIN I DICKKOPF 1**

Doktorska disertacija

Osijek, 2022.

Mentor rada: prof. dr. sc. Ivica Mihaljević

Komentor rada: izv. prof. Ines Bilić-Čurčić

Rad ima 103 stranice.

Predgovor

Istraživanje je provedeno u okviru znanstvenog projekta „Utjecaj nadomjesnog liječenja hipotireoze i liječenja hipertireoze na metabolizam kosti“.

Voditeljica projekta: izv. prof. Ines Bilić-Čurčić, dr. med. VIF 2016-MEFOS-20

Zahvale

Zahvaljujem prof. dr. sc. Ivici Mihaljeviću, dr. med. na pruženoj prilici i poticaju za znanstveno napredovanje.

Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Ines Bilić-Čurčić, dr. med., na strpljenju, usmjeravanju, savjetima, potpori i pomoći tijekom provedbe znanstvenog istraživanja i prilikom izrade ovoga rada.

Zahvaljujem doc. dr. sc. Tomislavu Kizivatu, dr. med. na stalnoj prisutnosti, tehničkoj potpori, strpljenju i savjetima u svim etapama znanstvenog istraživanja.

Zahvaljujem prof. dr. sc. Martini Smolić i svim članovima Laboratorija za farmakologiju Medicinskog fakulteta Osijek te doc. dr. sc. Vatroslavu Šeriću, mag. med. biochem. i suradnicima Zavoda za kliničku laboratorijsku dijagnostiku Kliničkoga bolničkoga centra Osijek.

Zahvaljujem dr. sc. Ivani Marić, dr. med. na nesebičnoj pomoći i potpori.

Zahvaljujem autorima upitnika o prehranbenim i životnim navikama koji su mi ga ustupili.

Također zahvaljujem kolegama i suradnicima Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja Kliničkoga bolničkoga centra Osijek na pomoći u kliničkom dijelu istraživanja.

Zahvaljujem svojoj obitelji na poticaju i razumijevanju.

Sadržaj:

1. UVOD.....	1
1.1. Definicija, epidemiologija i etiopatogeneza Gravesove bolesti	1
2. HIPOTEZA	25
3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	26
4. ISPITANICI I METODE.....	27
4.1. Ustroj istraživanja.....	27
4.2. Ispitanici	27
4.3. Metode.....	28
U hipertireoidnom stanju učinjena su početna mjerenja:	28
U eutireoidnom stanju učinjena su kontrolna mjerenja:	31
4.4. Statističke metode	32
5. Rezultati	34
5.1. Antropometrijske karakteristike i prehrambene i životne navike ispitanika na početku liječenja	34
5.2. Serumske koncentracije FT4, FT3, TSH-a, antiTSH-R-a u ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja.....	37
5.3. Razina biokemijskih biljega koštane pregradnje u ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja.....	40
5.4. Mineralna gustoća kosti u ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja	44
5.5. Povezanost serumskih razina Wnt inhibitora sa serumskim razinama hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a u ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja	54
5.6. Povezanost serumskih razina Wnt inhibitora s prehrambenim i životnim navikama ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima.....	56
5.7. Povezanost serumskih razina Wnt inhibitora s gustoćom kosti ispitanica s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja	60
5.8. Povezanost serumskih razina Wnt inhibitora s ostalim biljezima koštane pregradnje kod ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja....	63
6. RASPRAVA	68
6.1 Uvod u raspravu	68
6.2 Serumske razine Wnt inhibitora sklerostina i DKK1 pri GB-u liječenom tireostatskim lijekovima	69
6.3. Serumske razine biljega koštane pregradnje OC, β -CTX i DPD uslijed GB-a liječenoga tireostatskim lijekovima.....	72
6.4. Koštana gustoća uslijed GB-a liječenoga tireostatskim lijekovima	73
6.5. Povezanost hormona štitnjače s Wnt inhibitorima, koštanom gustoćom i s biljezima koštane pregradnje.....	75

6.6. Osvrt na prehrambene i životne navike ispitanika s Gravesovom bolesti na početku liječenja	76
6.7. Usporedba ispitivanih parametara u svrhu predviđanja smanjenja koštane gustoće u budućnosti	79
6.8. Moguća ograničenja istraživanja.....	80
6.9. Buduća istraživanja	80
6.10. Zaključak rasprave.....	81
7. ZAKLJUČCI.....	82

Popis kratica:

ALP alkalna fosfataza (od engl. *alkaline phosphatase*)

antiTSH-R antitijela na TSH-receptor

APC adenomatozna polipoza kolona (od engl. *adenomatous polyposis coli*)

BAP koštana alkalna fosfataza (od engl. *bone alkaline phosphatase*)

β -CTX od engl. *β -isomerized C-terminal telopeptide (beta-CrossLaps)*

BMD mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*)

CK-1 kinaza kazeina I (od engl. *casein kinase I*)

CPZ karboksipeptidaza Z (od engl. *carboxypeptidase Z*)

CTX C-telopeptid tipa I kolagena (od engl. *C-terminal telopeptide of type I collagen*)

D dejodinaza

DIT dijodtireozin

DKK1 Dickkopf 1

DPD deoksipiridinolin

DVL *dishevelled*

DXA dvoenergetska rendgenska apsorpciometrija (od engl. *dual X-ray absorptiometry*)

FT4 slobodni T4 (od engl. *free T4*)

FT3 slobodni T3 (od engl. *free T3*)

FZD *frizzled*

GB (engl. GD) Gravesova bolest (GD, engl. Graves' disease)

GO Gravesova orbitopatija

GSK-3 β kinaza sintaze glikogena 3 β (engl. *glycogen synthase kinase 3 β*)

ICTP C-terminalni kolagenski telopeptid tipa I (od engl. *carboxy-terminal telopeptide of type I collagen*)

IGF-1 inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (od engl. *insulin-like growth factor I*)

INTP N-terminalni kolagenski telopeptid tipa I (od engl. *terminal telopeptide of type I collagen*)

ITM indeks tjelesne mase

IU međunarodna jedinica (od engl. *international unit*)

I-131 jod-131

LRP protein srodan lipoproteinskom receptoru (od engl. *low-density lipoprotein receptor-related protein*)

MIT monojodtirozin

MNTG multinodozna toksična guša

NIS natrij-jodidni simporter (engl. *sodium-iodide symporter*)

NTX N-telopeptid tipa I kolagena (od engl. *N-terminal telopeptide of type I collagen*)

OC osteokalcin

OCIF čimbenik inhibicije osteoklastogeneze (od engl. *osteoclastogenesis inhibitory factor*)

PCP put polariteta planarnih stanica (od engl. *planar cell polarity*)

PICP C-terminalni prokolagenski propeptid tipa 1 (od engl. *C-terminal propeptide of type I procollagen*)

PINP N-terminalni prokolagenski propeptid tipa 1 (od engl. *N-terminal propeptide of type I procollagen*)

PTH paratireoidni hormon

PTU propiltiouracil

RANK/RANKL/OPG receptor aktivatora nuklearnoga faktora- κ B/ligand aktivatora receptora nuklearnoga faktora- κ B/osteoprotegerin (od engl. *receptor activator of NF-kappa B/receptor activator of NF-kappa B ligand/ osteoprotegerin*)

RITh radiojodna terapija (od engl. *radioiodine therapy*)

SZO Svjetska zdravstvena organizacija

T4 tiroksin

T3 trijodtironin

TA toksični adenom

TCF/LEF T-stanični čimbenik/ limfoidni pojačavajući protein (od engl. *T-cell factor/lymphoid enhancer factor*)

TR-ACP tartarat-rezistentna kisela fosfataza (od engl. *tartrate-resistant acid phosphatase*)

Tg tireoglobulin

TPO tireoidna peroksidaza

TR receptor za hormon štitnjače (od engl. *thyroid receptor*)

TRH hormon koji oslobađa tireotropin (od engl. *thyrotropin-releasing hormone*)

TSH tireostimulirajući hormon

TSH-R receptor za TSH

Wnt Wingless/integrated

Popis tablica:

Tablica 5. 1 Antropometrijska obilježja ispitanika	34
Tablica 5. 2. Raspodjela ispitanika prema fizičkoj aktivnosti i navici vježbanja	35
Tablica 5. 3. Konzumiranje mlijeka, mliječnih proizvoda i alkohola.....	36
Tablica 5.4. Regularnost menstruacijskih ciklusa, dob kod menopauze, stanje po histerektomiji i adneksotomiji.....	37
Tablica 5. 5. Razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D na početnom i kontrolnom mjerenju.....	37
Tablica 5.6. Razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D na početnom i kontrolnom mjerenju prema spolu	38
Tablica 5.7. Razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D na početnom i kontrolnom mjerenju u ispitanika kojima je i kojima nije uveden vitamin D	39
Tablica 5.8. Usporedba hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D na početnom i kontrolnom mjerenju između skupina ispitanika podijeljenih po spolu i suplementaciji vitaminom D	40
Tablica 5.9. Razine biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na početnom i kontrolnom mjerenju	41
Tablica 5.10. Razine biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na početnom i kontrolnom mjerenju prema spolu i u ispitanika kojima jest i kojima nije uveden suplement vitamina D ..	42
Tablica 5.11. Usporedba koncentracija biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na početnom i kontrolnom mjerenju prema spolu i suplementaciji vitaminom D	43
Tablica 5.12. T-vrijednosti i BMD lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti na početnom i kontrolnom mjerenju.....	44
Tablica 5.13. T-vrijednosti i BMD lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti prema spolu na početnom i kontrolnom mjerenju	45
Tablica 5.14. T-vrijednosti i BMD lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti na početnom i kontrolnom mjerenju kod ispitanika kojima je uveden i kojima nije uveden vitamin D	46
Tablica 5.15. Gustoća kosti lumbalne kralježnice prema T-vrijednosti na početnom i kontrolnom mjerenju.....	47
Tablica 5.16. Gustoća kosti kuka prema T-vrijednosti na početnom i kontrolnom mjerenju ..	47
Tablica 5.17. Usporedba FT4, FT3, TSH-a, antiTSH-R-a, vitamina D, biljega koštane pregradnje i inhibitora Wnt puta na početnom i kontrolnom mjerenju između ispitanika s	

urednom i sa smanjenom gustoćom kosti lumbalne kralježnice izmjerenima na kontrolnom mjeranju	49
Tablica 5.18. Usporedba razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a, vitamina D, biljega koštane pregradnje i inhibitora Wnt puta određenih na početnom i kontrolnom mjeranju između ispitanika s urednom i sa smanjenom gustoćom kosti kuka izmjerenoj na kontrolnom mjeranju	51
Tablica 5.19. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i rezultata DXA mjerenja, biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na početnom i kontrolnom mjeranju	53
Tablica 5.20. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a sa sklerostinom na početnom i kontrolnom mjeranju.....	54
Tablica 5.21. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a sa sklerostinom na početnom i kontrolnom mjeranju kontrolirano za spol, dob i uzimanje vitamina D	54
Tablica 5.22. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a s DKK1 na početnom i kontrolnom mjeranju.....	55
Tablica 5.23. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a s DKK1 na početnom i kontrolnom mjeranju korigirano za spol, dob i uzimanje vitamina D	55
Tablica 5.24. Razlike u razinama sklerostina na početnom mjeranju prema prehranbenim i životnim navikama ispitanika te nastupu menopauze i redovitosti menstruacijskih ciklusa ispitanica	57
Tablica 5.25. Razlike u razinama DKK1 na početnom mjeranju prema prehranbenim i životnim navikama ispitanika i nastupu menopauze i redovitosti menstruacijskih ciklusa ispitanica	58
Tablica 5.26. Razlike prehranbenih i životnih navika ispitanika te nastupa menopauze i redovitosti menstruacijskih ciklusa ispitanica ovisno o DXA nalazu kralježnice i kuka izmjerenom na kontrolnom mjeranju.....	60
Tablica 5.27. Povezanost serumske razine sklerostina s T-vrijednostima i mineralnom gustoćom kosti ispitanika na početnom i kontrolnom mjeranju	61
Tablica 5.28. Povezanost serumske razine sklerostina s mineralnom gustoćom kosti ispitanika na početnom i kontrolnom mjeranju uz korekciju po spolu, dobi i uzimanje vitamina D.....	61
Tablica 5.29. Povezanost serumske razine DKK1 s T-vrijednosti i mineralnom gustoćom kosti ispitanika na početnom i kontrolnom mjeranju	62
Tablica 5.30. Povezanost serumske razine DKK1 s T-vrijednosti i mineralnom gustoćom kosti ispitanika na početnom i kontrolnom mjeranju uz korekciju po spolu, dobi i uzimanju vitamina D.....	63

Tablica 5.31. Povezanost serumske razine sklerostina s biljezima koštane pregradnje ispitanika na početnom i kontrolnom mjerenju	64
Tablica 5.32. Povezanost serumske razine sklerostina s biljezima koštane pregradnje ispitanika na početnom i kontrolnom mjerenju uz korekciju po spolu, dobi i uzimanju vitamina D.....	64
Tablica 5.33. Povezanost serumske razine DKK1 s biljezima koštane pregradnje ispitanika na početnom i kontrolnom ispitivanju	65
Tablica 5.34. Povezanost serumske razine DKK1 s biljezima koštane pregradnje ispitanika na početnom i kontrolnom ispitivanju uz korekciju po spolu, dobi i uzimanju vitamina D	65
Tablica 5.35. Utjecaj dobi, spola, uzimanja suplementa vitamina D, vježbanja, vježbanja u mladosti i pušenja i koncentracije hormona štitnjače, antiTSH-R, biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na gustoću lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti	66
Tablica 5.36. Utjecaj dobi, spola, uzimanja vitamina D, vježbanja, vježbanja u mladosti i pušenja te koncentracije hormona štitnjače, antiTSH-R-a, biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na gustoću lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti kontrolirano za dob, spol, ITM i uzimanje vitamina D	67

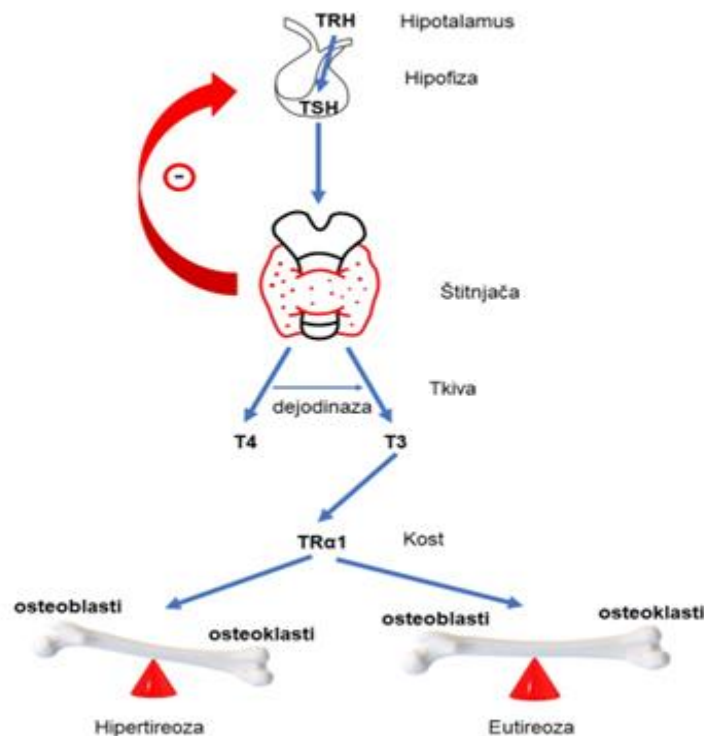
1. UVOD

1.1. Definicija, epidemiologija i etiopatogeneza Gravesove bolesti

Gravesova bolest (GB) najčešći je uzrok povećane proizvodnje hormona štitnjače, odnosno hipertireoze, pri čemu se hormoni štitnjače pojačano izlučuju u cirkulaciju i utječu na organske sustave u tijelu. Može se javiti u bilo kojoj životnoj dobi, ali najčešće se javlja u odraslih osoba između 30 i 60. godine života (1). Učestalost GB-a je 20 – 50 slučajeva na 100.000 ljudi godišnje (2). Puno češće zahvaća žene, 5 - 10 puta češće u odnosu na muškarce. Rizik za nastanak bolesti tijekom života kod žena iznosi 3 %, a kod muškaraca 0.5 % (2). Čimbenici koji dovode do nastanka bolesti su u najvećem postotku genetski, u 79 % slučajeva, dok okolišni čimbenici čine 21 % (1). Okolišni čimbenici koji se navode kao čimbenici rizika su pušenje, spolni hormoni, trudnoća, stres, upale i neprimjeren unos joda (3).

Hormoni štitnjače važni su za različite stanične funkcije, uključujući proliferaciju, rast, diferencijaciju, metabolizam, regeneraciju i homeostazu.

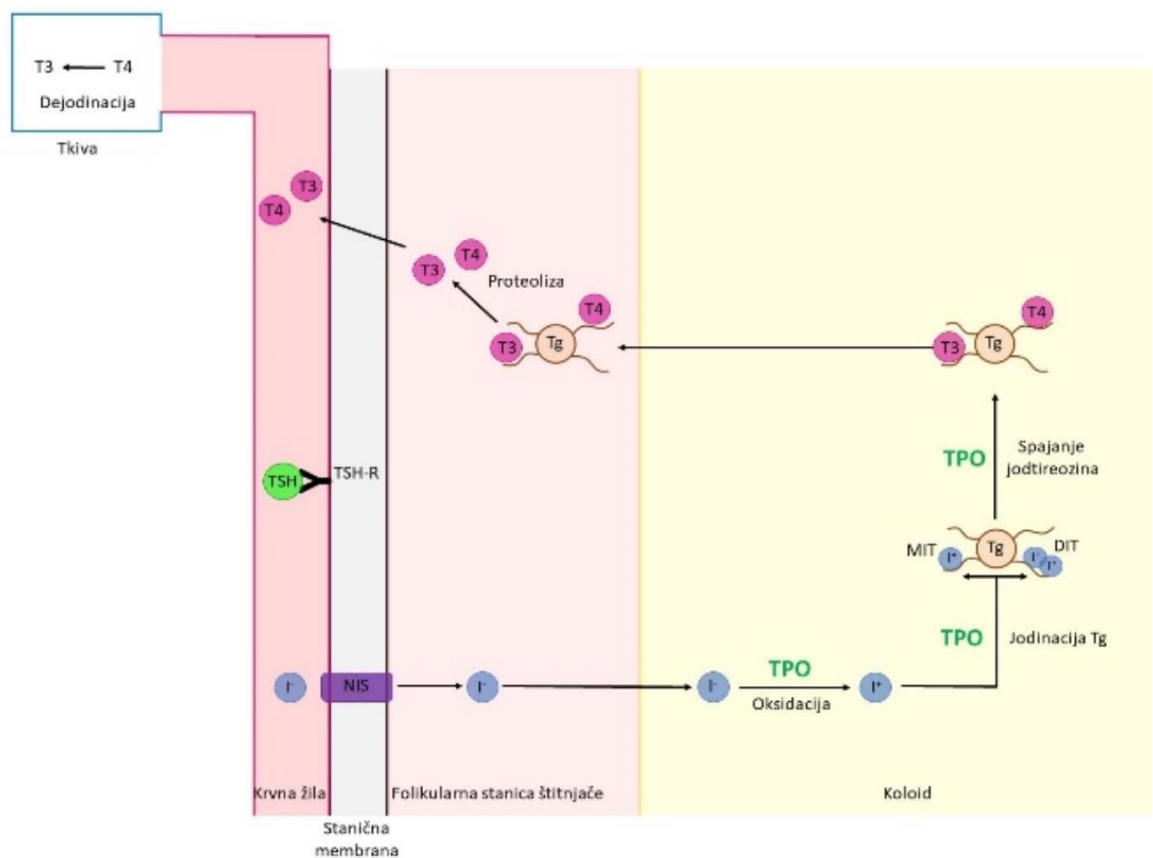
Funkcija štitnjače proizvodnja je hormona trijodtironina (T3) i tetrajodtironina (tiroksina, T4) u folikularnim stanicama štitnjače. Folikularne stanice okružuju tekućinu koja se naziva koloid, a zajedno s koloidom folikularne stanice čine folikule između kojih prolaze krvne žile. Proizvodnja i izlučivanje hormona štitnjače regulirani su negativnom povratnom spregom osi hipotalamus-hipofiza-štitnjača. Hipotalamus proizvodi hormon koji oslobađa tireotropin (TRH od engl. *thyrotropin-releasing hormone*) koji odlazi do prednjega dijela hipofize. U prednjem dijelu hipofize veže se za TRH-receptore u stanicama koje proizvode tireostimulirajući hormon (TSH) (4) i potiče stanice na proizvodnju TSH-a. TSH utječe na stvaranje hormona u štitnjači vezanjem za TSH-receptore (TSH-R) koji se nalaze na membrani folikularnih stanica štitnjače (Slika 1).



Slika 1.1. Shematski prikaz osi hipotalamus-hipofiza-štitnjača i djelovanja na kost u hipertireozu i eutireozu. TRH - hormon koji oslobađa tireotropin; TSH – tireostimulirajući hormon; T4 – tiroksin; T3 – trijodtironin; TR α 1 – receptor α 1 za hormon štitnjače

Vežanjem TSH-a za TSH-R u folikularnim stanicama potiče se proizvodnja glikoproteina tireoglobulina (Tg) i ulazak jodida iz cirkulacije u folikularne stanice. Jod se u organizam unosi hranom, ali se iz hrane apsorbira u obliku jodida koji je prisutan u cirkulaciji. S obzirom na to da je koncentracija jodida u cirkulaciji viša u odnosu na količinu koja je prisutna u štitnjači, jodid ulazi u folikularne stanice pomoću natrij-jodidnoga simportera (NIS, od engl. *sodium-iodide symporter*). Nakon ulaska u folikularnu stanicu jodid odlazi u koloid u kojemu je i otpušteni Tg, kao posljedica vežanja TSH-a za TSH-R. U koloidu se posredovanjem enzima tireoidne peroksidaze (TPO) odvija proces oksidacije kojim se jodid pretvara u jod. Razlog toj pretvorbi potreba je za jodom za stvaranje hormona štitnjače. Tg je glikoprotein sastavljen od aminokiselina od kojih je jedna tireozin. Jod se veže za tirozilske ostatke na molekuli Tg-a

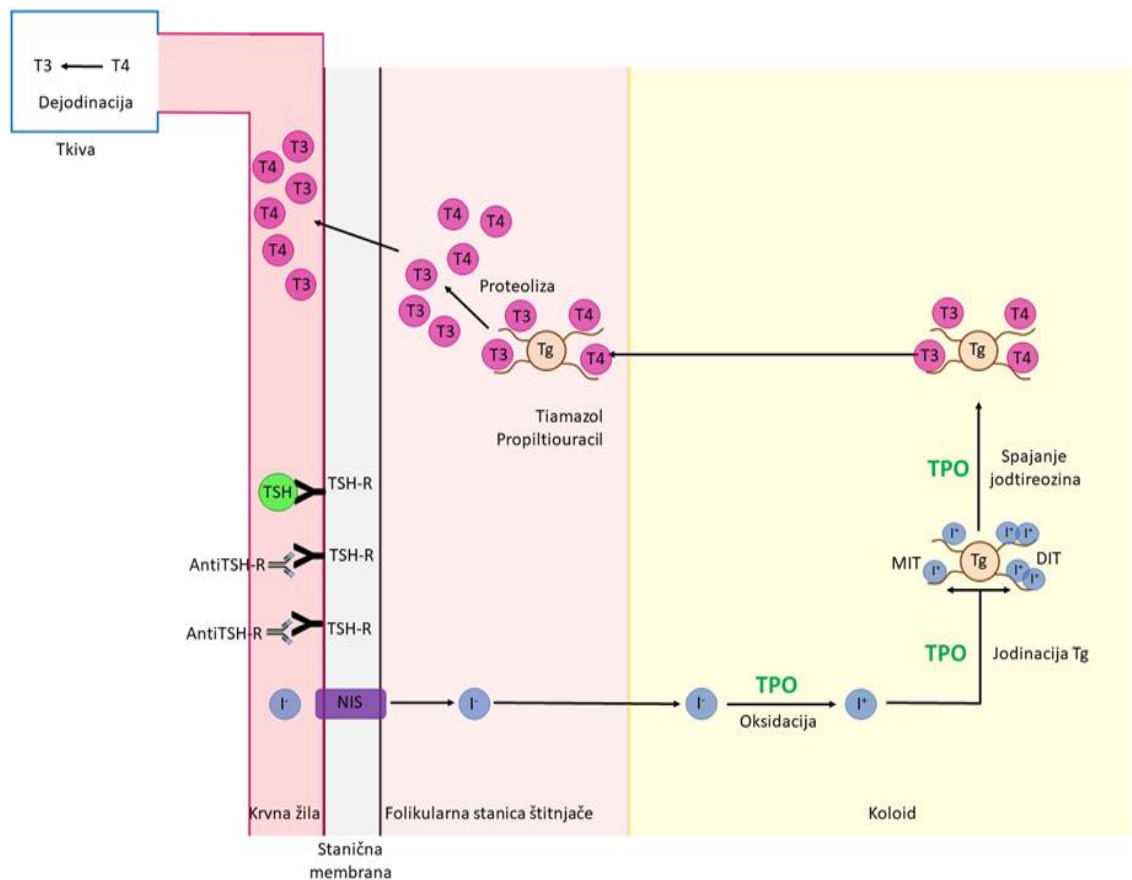
procesom koji se naziva jodinacija Tg-a ili organifikacija joda. Vežanjem jednoga joda na tirozin, stvara se monojodtirozin (MIT), a vežanjem dva joda na tirozin, stvara se dijodtirozin (DIT). Spajanjem MIT-a i DIT-a nastaju hormoni štitnjače, trijodtironin (T3) i tetrajodtironin (tiroksin, T4). T3 nastaje spajanjem MIT-a i DIT-a, a T4 nastaje spajanjem dva DIT-a. Ti procesi spajanja također se odvijaju posredovanjem TPO-a. Sljedeći je korak endocitoza Tg-a kojom se Tg vraća iz koloida u folikularnu stanicu gdje dolazi do njegove proteolize, pri čemu se T4 i T3 odvajaju od Tg-a nakon čega se mogu izlučiti u cirkulaciju (Slika 2).



Slika 1.2. Shematski prikaz stvaranja hormona štitnjače. TSH – tireostimulirajući hormon; TSH-R – receptor za TSH; NIS - natrij-jodidni simporter; I^- - jodid; I^+ - intermedijarni oblik joda; TPO – tireoidna peroksidaza; Tg – tireoglobulin; MIT – monojodtirozin; DIT – dijodtirozin; T3 – trijodtironin; T4 - tiroksin

Najveći dio cirkulirajućih hormona štitnjače, oko 99 %, veže se za proteine plazme, a ostatak cirkulira nevezan, slobodno, pa se oni nazivaju slobodnima T4 i T3, odnosno FT4 i FT3 (od engl. *free T4 i T3*) (5). Najvjerojatniji razlog tome je osiguranje zaliha hormona štitnjače za stanice i tkiva, pa se zbog toga ne izlučuju urinom (6). Također, prije ulaska u ciljne stanice hormoni štitnjače mogu se brzo odvojiti od proteina plazme. Glavni hormon koji se izlučuje iz štitnjače je T4 (7). T4 djeluje kao prohormon za T3, a njegova je glavna uloga pretvorba u T3 (8) procesom koji se odvija u perifernim tkivima. Hormoni štitnjače ulaze u ciljne stanice preko transmembranskih prijenosnika. Nakon ulaska u ciljnu stanicu T4 se djelovanjem enzima dejodinaza pretvara u T3 (9). Postoje tri tipa dejodinaza: 1, 2 i 3 (D1, D2 i D3). Za pretvorbu T4 u T3 najvažniji je D1, iako pretvorbu posreduje i D2. D1 i D3 posreduju u pretvorbi T4 u metabolički neaktivni reverzni T3 (rT3), dok pretvorbu rT3 u T2 hormon (koji je metabolički neaktivan i brzo se dalje metabolizira) posreduju D1 i D2, a pretvorbu T3 u T2 posreduje D3 (10). Pretvorbom T4 u T3 nastaje 80 % T3, a preostalih 20 % izlučuje se izravno iz štitnjače. T3 je biološki puno aktivniji u odnosu na T4. Nakon ulaska u ciljnu stanicu T3 veže se za receptore hormona štitnjače (TR, od engl. *thyroid receptor*) koji se nalaze u jezgri, čime se regulira transkripcija gena. Postoji više oblika receptora za koje se veže T3: TR α 1, TR β 1, TR β 2 i TR β 3 (11). Oba receptora, TR α 1 i TR β 1, prisutni su u koštanim stanicama, ali TR α 1 je oko deset puta više zastupljeniji u odnosu na TR β 1 i važan je posrednik djelovanja T3 u kostima (12).

GB je autoimuna bolest pri kojoj se aktiviraju antitijela na TSH-receptor (antiTSH-R). Ta antitijela vežu se na TSH-R na folikularnim stanicama štitnjače (3) (Slika 3) te kontinuirano i nekontrolirano stimuliraju folikularne stanice štitnjače u kojima se posljedično u prekomjernoj količini stvaraju hormoni štitnjače, T3 i T4.



Slika 1.3. Shematski prikaz stvaranja hormona štitnjače pri Gravesovoj bolesti. TSH – tireostimulirajući hormon; TSH-R – receptor za TSH; antiTSH-R – antitijela na TSH; NIS – natrij-jodidni simporter; I⁻ – jodid; I⁺ – intermedijarni oblik joda; TPO – tireoidna peroksidaza; Tg – tireoglobulin; MIT – monojodtirozin; DIT – dijodtirozin; T3 – trijodtironin; T4 – tiroksin

Osim GB-a, hipertireozu mogu uzrokovati čvoraste bolesti kao što su multinodozna toksična guša (MNTG), odnosno postojanje više čvorova u štitnjači i toksični adenom (TA) za koji je karakteristično postojanje jednoga čvora određene veličine u jednome režnju štitnjače. Za razliku od GB-a, te dvije bolesti nisu uzrokovane autoimunim procesima. U njima je povećana produkcija hormona štitnjače obično manje izražena nego kod GB-a i češće se javljaju srčani poremećaji.

Povišene razine hormona štitnjače u krvi mogu biti i posljedica tireotoksikoze. Za razliku od hipertireoze, koja je posljedica povećane proizvodnje hormona štitnjače u samoj štitnjači, tireotoksikoza označava samo njihovu povećanu razinu u cirkulaciji, što nije posljedica njihove

povećane proizvodnje u folikularnim stanicama štitnjače. Uzroci tireotoksikoze mogu biti upalne bolesti štitnjače, kao što su subakutni tireoiditis, postpartalni tireoiditis, tihi (engl. *silent*) tireoiditis, prekomjeren unos joda (kao posljedica uzimanja lijekova ili izvođenja dijagnostičkih pretraga koji sadrže inaktivni jod, kao i uzimanje dodataka prehrani koje sadrže jod). Isto tako, razine hormona mogu biti prolazno povišene i uslijed druge autoimune bolesti štitnjače - Hashimotov tireoiditisa, ujedno najčešćega uzroka hipotireoze.

1.2 Klinička slika i liječenje GB-a

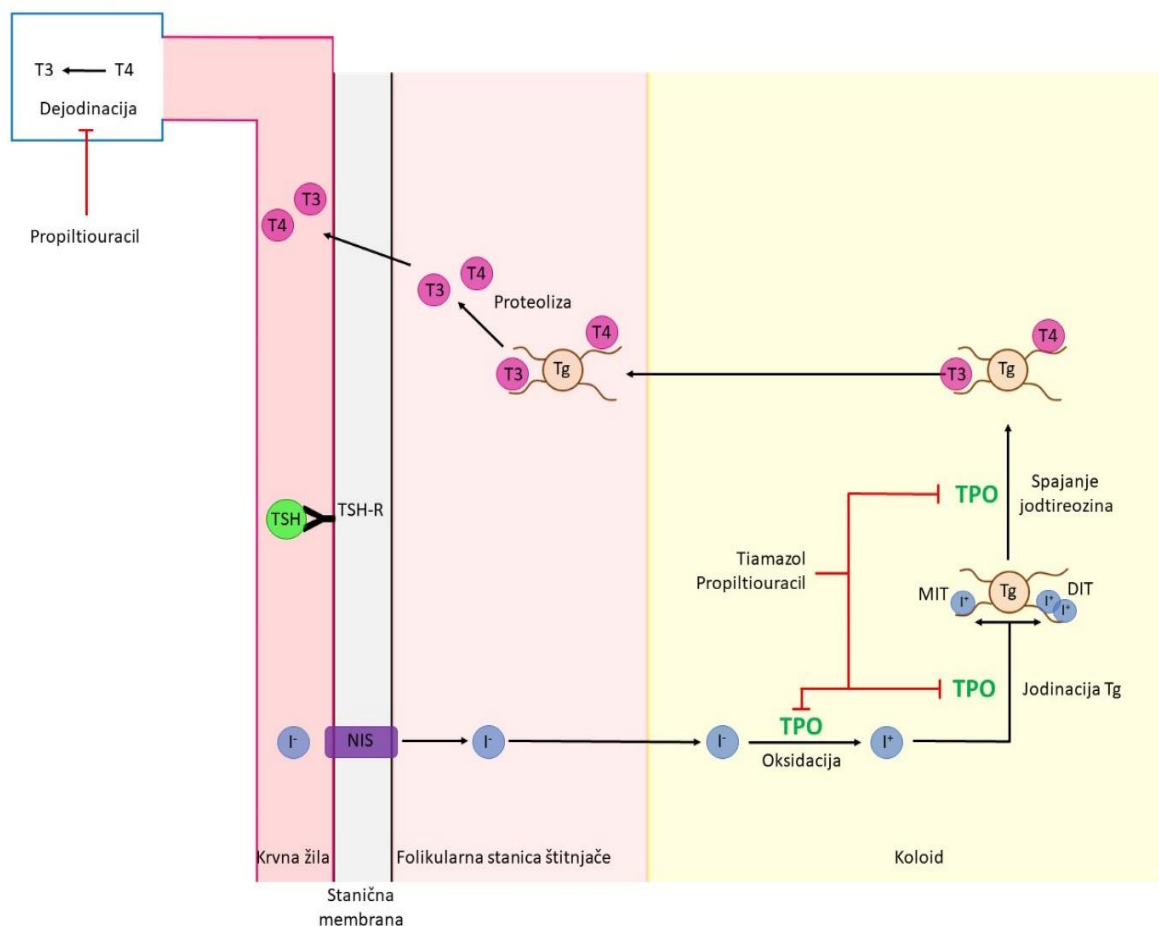
Hormoni štitnjače djeluju na različite organe i organske sustave, pa simptomi i znakovi bolesti mogu biti različiti. Najčešći su osjećaj lupanja srca, umor, drhtanje, osjećaj tjeskobe, poremećaj spavanja, gubitak tjelesne mase, nepodnošenje topline i pretjerano znojenje. Prilikom fizikalnoga pregleda najčešće su prisutni ubrzan rad srca, drhtanje ekstremiteta, topla i znojna koža. Također, u sklopu ekstratireoidne manifestacije GB-a mogu se javiti i promjene na očima poznate pod nazivom Gravesova orbitopatija (GO). Izvješća o prevalenciji bolesti se razlikuju pa postoje podatci da se kreće u rasponu od 13 % do 69 % (13), kao i oko 40 % (14). Češće se javlja u žena, 2,5 – 6 puta češće u odnosu na muškarce, ali kod muškaraca se češće javlja teži oblik bolesti (15). Glavni simptomi GO-a su suženje očiju, osjećaj pijeska u očima, fotofobija, bol u očima koja se može javiti spontano ili prilikom očnih pokreta, dvoslike, smanjena osjetljivost na boje i gubitak vida. Znakovi GO-a su retrakcija vjeđe, crvenilo i otoci vjeđa, crvenilo bjeloočnica, izbočenje očnih jabučica (egzoftalmus), nemogućnost potpunoga zatvaranja vjeđa (lagoftalmus), smanjena pomičnost očnih jabučica i smanjena oštrina vida (16). Prema simptomima i znakovima, GO se stupnjuje na blagi, umjereno teški i teški oblik bolesti (17).

Za postavljanje dijagnoze GB-a potrebno je odrediti razine hormona štitnjače u krvi i razine antitijela, od kojih su najvažnija antiTSH-R. Postoje i druga antitijela koja se mogu odrediti, kao što su antitijela na TPO (antiTPO) i na Tg (antiTg). Njihove razine mogu biti povišene i pri GB-u, s obzirom na to da se radi o autoimunoj bolesti, ali za sam GB najvažniji je antiTSH-R koji obično dobro korelira s aktivnošću bolesti. Osim laboratorijskih pretraga, radi se i nuklearnomedicinska dijagnostičko-slikovna pretraga koja se naziva scintigrafija štitnjače. U svrhu postavljanja dijagnoze GB-a obično se izvodi apliciranjem radiofarmaka koji se naziva tehnećij pertehnetat (Tc-99m pertehnetat), iako se može izvoditi i primjenom radioaktivnoga joda-131 (I-131). Od morfoloških pretraga koristi se ultrazvuk, kojime se utvrđuje veličina i

izgled štitnjače. Laboratorijski nalazi karakteristični za GB povišene su razine hormona štitnjače u serumu, bilo T4 i T3, bilo FT4 i FT3, niska razina TSH-a i povišena razina antiTSH-R u serumu. Na scintigramu, odnosno slici koja se dobije izvođenjem scintigrafije s Tc-99m pertehnetatom, uslijed GB-a vidi se difuzno prikazana štitnjača. Prikaz štitnjače kod MNT-guše i TA-a je različit, odnosno kod MNTG-a vide se područja koja smanjeno i područja koja normalno ili pojačano nakupljaju radiofarmak, dok se kod TA-a najčešće vidi nakupljanje radiofarmaka u čvoru koji je uzrok povećane produkcije hormona. U slučaju postojanja upalnih bolesti štitnjače ili unosa inaktivnoga joda u organizam, na scintigramu se vidi ili blijed prikaz štitnjače ili se štitnjača uopće ne prikazuje. Dakle, ta je pretraga važna za razlučivanje uzroka hipertireoze, kao i za razlikovanje hipertireoze od tireotoksikoze. Ultrazvučno se pri GB-u može vidjeti uvećana štitnjača u kojoj su sniženi odjeci u parenhimu u odnosu na normalan prikaz, odnosno prikazuje se hipoehogeno, a prokrvljenost parenhima je pojačana. Mogu postojati i čvorovi koji se mogu ciljano punktirati radi citološke analize, dok za postavljanje dijagnoze GB-a nije nužna citološka analiza tkiva štitnjače.

Tri su načina liječenja bolesnika s GB-om, a to su primjena tireostatskih lijekova, radiojodne terapije (RITh, od engl. *radioiodine therapy*) i operacija štitnjače (18). Izbor liječenja može se razlikovati ovisno o zemljopisnoj regiji. Na području Hrvatske prvi izbor liječenja GB-a uvođenje je tireostatskih lijekova. Načini liječenja MNTG-a i TA-a isti su kao i za GB, ali prvi izbor liječenja je primjena RITh-a, a zatim operacija štitnjače ili liječenje tireostatskim lijekovima. Tireotoksikoza se obično liječi simptomatski ili u slučaju određenoga tipa ijatrogene tireotoksikoze primjenom kortikosteroida.

Tireostatski lijekovi uzimaju se u obliku tableta i aktivno ulaze u štitnjaču u kojoj sprječavaju proizvodnju hormona štitnjače tako što inhibiraju TPO. Dakle, djeluju tako što smanjuju oksidaciju joda, jodinaciju Tg-a i spajanje MIT-a i DIT-a u hormone štitnjače. Također, smanjuju nastanak Tg-a i rast folikularnih stanica, a PTU smanjuje i pretvorbu T4 u T3 u perifernim tkivima (Slika 4). S obzirom na to da tireostatski lijekovi sprečavaju stvaranje novih hormona, ali ne sprečavaju otpuštanje već stvorenih hormona u cirkulaciju, potrebno je određeno vrijeme da bi se razine T4 i T3 u cirkulaciji smanjile.



Slika 1.4. Shematski prikaz djelovanja tireostatskih lijekova. TSH – tireostimulirajući hormon; TSH-R – receptor za TSH; NIS - natrij-jodidni simporter; I^- - jodid; I^+ - intermedijarni oblik joda; TPO – tireoidna peroksidaza; Tg – tiroglobulin; MIT – monojodtirozin; DIT – diiodtirozin; T3 – trijodtironin; T4 - tiroksin

Prema smjernicama Europskoga društva za štitnjaču lijek izbora za liječenje GB-a su tionamidi, kao što je karbimazol u dozi 10 – 30 mg dnevno i propiltiouracil (PTU) u dozi od 100 mg svakih osam sati. Kako je već spomenuto ranije, PTU smanjuje i pretvorbu T4 u T3 u perifernim tkivima (19). Na našem je tržištu od tionamida prisutan tiamazol koji se uvodi kao prvi lijek izbora. Najčešće je početna doza tiamazola 30 – 60 mg dnevno podijeljeno u tri doze. Oba lijeka brzo se apsorbiraju. Najvišu koncentraciju u serumu tiamazol postiže za 60 – 120 minuta, a PTU za 60 minuta. Vrijeme poluživota tiamazola u serumu iznosi 6 – 8 sati, a PTU 90 minuta. Tiamazol djeluje dulje u odnosu na PTU, odnosno djeluje 24 sata, a PTU djeluje 8 – 12 sati.

Također, tiamazol djeluje deset puta jače u odnosu na PTU, pa brže postiže učinak tako da do normalizacije odnosa T3/T4 dolazi za šest tjedana, za razliku od PTU-a koji isti odnos postiže za 12 tjedana. Oba lijeka izlučuju se putem bubrega. Štetne učinke češće izaziva PTU, u 20 % slučajeva, za razliku od tiamazola kod kojega je taj postotak niži i iznosi 15 %. Jedan od najtežih i najopasnijih štetnih učinaka je agranulocitoza koju tiamazol izaziva u 0.6 %, a PTU može i u dvostruko većem postotku, odnosno u 1 – 1.5 % slučajeva. Od drugih težih štetnih učinaka mogu se javiti hepatitis, koji je češće izazvan PTU-om, toksičan učinak na bubrege i sindrom sličan lupusu. Ipak, najčešće nuspojave koje se javljaju blažega su tipa kao što su osip, koprivnjača i bolovi u zglobovima (u 1.5 % slučajeva). Ako kožne reakcije nisu jako izražene, ne mora se prekinuti liječenje tireostatskim lijekovima, nego se dodatno može uvesti antihistaminik i smanjiti doza tireostatskoga lijeka (20).

Prva kontrola nakon uvođenja tireostatskoga lijeka predviđena je za mjesec dana. Doze lijeka i kontrolni pregledi prilagođavaju se individualno svakome bolesniku ovisno o serumskoj koncentraciji hormona štitnjače i kliničkoj slici. Terapijska doza održavanja je od 2.5 do 10 mg tiamazola dnevno i od 50 do 100 mg PTU-a dnevno. Liječenjem tijekom vremena dolazi do normaliziranja T4 i T3, dok TSH često ostane suprimiran tijekom nekoliko mjeseci zbog čega nije osjetljiv pokazatelj ranoga odgovora na terapiju. Tijekom vremena se TSH vraća unutar granica referentnoga intervala, odnosno postiže se eutireoidno stanje. Liječenje obično traje 12 do 8 mjeseci i unutar toga vremena najčešće se postiže smirenje bolesti (20). Ako se u tome periodu ne postigne izlječenje, liječenje se i dalje može nastaviti lijekovima, ali i radikalnijim tretmanom, odnosno primjenom RITh-a ili operacijom štitnjače. Liječenje bolesnika koji dodatno boluju i od srčanih bolesti tireostatskim lijekovima obično je kraćega trajanja jer se nakon postizanja eutireoidnoga stanja obično primjenjuje RITh kako bi se hipertireoza trajno zaustavila. Ako dođe do razvoja GO-a, uz tireostatske se lijekove mogu primijeniti i glukokortikoidi ili operacija štitnjače (17).

1.3 Djelovanje GB-a na pregradnju kosti

Jedan od sustava na koje GB može djelovati koštani je sustav. Koštani je sustav vrlo aktivan, tijekom cijeloga života pregrađuje se da bi se održale njegove glavne funkcije: podupiranje tijela, zaštita unutarnjih organa i održavanje mineralne ravnoteže organizma (21). Koštani sustav građen je od stanica i međustanične tvari.

Pregradnja kosti odvija se tijekom cijeloga života na odabranim mjestima procesima razgradnje i izgradnje koji su normalno u ravnoteži, tako da se koštana masa ne mijenja. Signal koji upućuje na to koja će se površina pregraditi može biti strukturno oštećenje ili sistemski parakrini čimbenici koji reguliraju mineralnu ravnotežu organizma (12). Pregradnja kosti odvija se u četiri faze. Prvo nastupa faza aktivacije tijekom koje se aktiviraju osteociti koji reguliraju aktivnost osteoblasta i osteoklasta. Ta faza nastupa jer se na koštanoj površini stvara specifična struktura koju treba pregraditi, a zove se odjeljak koštane pregradnje. Signal koji ukazuje na to koja će se koštana površina pregraditi najvjerojatnije dolazi od osteocita. Na tome mjestu dolazi do stanične smrti osteocita i otpuštanja citokina i čimbenika rasta. Slijedi druga faza razgradnje kosti. Tijekom toga perioda na mjesto pregradnje, odnosno oštećenja kosti, dolaze osteoklasti privučeni citokinima i čimbenicima rasta oslobođenima u prethodnoj fazi. Osteoklasti resorbiraju oštećeno područje pri čemu se oslobađaju različiti čimbenici rasta i raspadni proteini matriksa koji privlače osteoblaste i slijedi treća faza obrata. U toj fazi završava razgradnja i počinje izgradnja koštanoga matriksa. Ostatke resorbiranoga matriksa otklanjaju različite mononuklearne stanice. Na taj način čiste resorbiranu površinu i pripremaju je za sljedeću fazu. U toj zadnjoj fazi izgradnje na mjesto pregradnje dolaze preosteoblasti koji se diferenciraju u osteoblaste. Osteoblasti stvaraju sastojke međustaničnoga matriksa i reguliraju mineralizaciju novoga matriksa izlučujući kalcij i fosfate i razgrađujući inhibitore mineralizacije. Rezultat ciklusa pregradnje popravak je oštećenoga dijela kosti kako bi se održala njezina jačina, mineralizacija i građa (9, 21). Normalno faza koštane razgradnje traje 50 dana, a izgradnja kosti 150 dana (22), što je nešto kraće od sedam mjeseci. Da bi se cjelovitost kosti održala, procesi razgradnje i izgradnje kosti moraju se odvijati usklađeno u vremenu i prostoru. Pri hipertireozii ciklusi pregradnje kosti odvijaju se češće, a sam je ciklus skraćen i traje oko 3 – 4 mjeseca, što je kraće za oko 50 % (23) od pregradnje kosti normalnoga trajanja, pri čemu razgradnja kosti nadvladava izgradnju (Slika 1).

Djelovanje T3-a i TSH-a u osteocitima nije istraženo i ne zna se postoje li prijenosnici hormona štitnjače, dejodinaze, receptori za hormone štitnjače ili za TSH. Osteoblasti imaju prijenosnike hormona štitnjače, dejodinaze D2 i D3, receptore za hormone štitnjače (predominantno TR α) i za TSH. Većina istraživanja upućuje na to da T3 potiče diferencijaciju osteoblasta i izgradnju kosti. Podatci o učinku TSH-a nisu jednoznačni, pa nije jasno djeluje li stimulirajuće, kao inhibitor, ili nema učinak na diferencijaciju i funkciju osteoblasta. Osteoklasti imaju prijenosnika za ulazak hormona štitnjače u stanicu, dejodinazu tipa 3, receptore za hormone štitnjače i za TSH. No, nejasno je na koji način T3 djeluje na osteoklaste, direktno u samim

osteoklastima ili indirektno preko osteoblasta, osteocita, stromalnih stanica ili drugih stanica koštane srži (9).

1.4 Wnt/ β kateninski signalni put

Prvi član obitelji *wingless/integrated* (Wnt) puta otkriven je 1982. godine (24, 25) i od tada se taj put kontinuirano istražuje. Wnt put je složen kaskadni signalni put sastavljen od barem 19 Wnt proteina, deset transmembranskih receptora iz obitelji *frizzled* (FZD) proteina, nekoliko različitih koreceptora, različitih inhibitora među kojima su protein srodan lipoproteinskom receptoru (LRP, od engl. *low-density lipoprotein receptor-related protein*), LRP4, LRP5/6, *dishevelled* (DVL), *axin*, adenomatozna polipoza kolona (APC, od engl. *adenomatous polyposis coli*), enzim glikogen-sintaza-kinaza 3 β (GSK-3 β , od engl. *glycogen synthase kinase 3 β*), kinaza kazeina I (CK-1, od engl. *casein kinase 1*), β -katenin, T-stanični čimbenik/ limfoidni pojačavajući protein (TCF/LEF, od engl. *T-cell factor/lymphoid enhancer factor*), Goucho represori, sklerostin i dickkopf 1 (DKK1).

Zadnjih desetljeća počelo se s istraživanjem bolesti nastalih kao posljedica rijetkih mutacija gena koje su dovele do poremećaja koštane gustoće (26). Tijekom istraživanja uvidjelo se da je jedan od ključnih čimbenika u održavanju ravnoteže kosti Wnt signalni put koji se sastoji od dva glavna dijela. Jedan dio čini Wnt/ β -kateninski put, koji se naziva i kanonski put. Drugi dio je nekanonski put koji uključuje A) put polariteta planarnih stanica (PCP, od engl. *planar cell polarity*) i B) Wnt kalcijски put (Wnt – Ca²⁺) (27, 28). Sva tri puta djeluju vezanjem Wnt proteina za FZD-receptore (29). Kanonski Wnt/ β -kateninski put regulira morfogenezu tijekom embrionalnoga razvoja, razvoj i održavanje homeostaze, kao i biologiju matičnih stanica (30). Nekanonski Wnt putevi reguliraju više staničnih funkcija, uključujući proliferaciju, diferencijaciju, adheziju, polaritet, pokretljivost i migraciju (31). Najvažniji i najčešće proučavan od njih je Wnt/ β -kateninski put. Nekanonski Wnt putovi ne ovise o β -kateninu i LRP-u, za razliku od kanonskoga puta (32). Aktivacija i inhibicija Wnt/ β -kateninskoga puta odvija se kroz nekoliko kaskadnih koraka u kojima sudjeluju različiti proteini. Općenito, proces prijenosa signala započinje izvan stanice, nastavlja se kroz staničnu membranu i citoplazmu i završava u jezgri.

Aktivacija ovoga puta počinje vezanjem izvanstaničnoga signala koji su najčešće jedan od Wnt proteina, pri čemu najčešće Wnt3a i Wnt1c za LRP5/6 i FZD-receptore koji se nalaze u staničnoj membrani. FZD-receptori su specifični FZD-proteini koji sedam puta prolaze kroz

staničnu membranu. Signal koji nastaje navedenim vezanjem prenosi se u unutrašnjost, odnosno citoplazmu stanice. U citoplazmi signal dalje prenose DVL-proteini do proteinskoga kompleksa kojega čine GSK3 β , CK1, *axin* i APC. U ovom slučaju prijenosom signala inhibira se djelovanje GSK3 β i *axina*, a posljedično tome smanjuje se fosforilacija β -katenina što mu daje stabilnost, pa se nakuplja u citosolu. Iz citosola odlazi u jezgru u kojoj ulazi u reakcije s čimbenicima transkripcije TCF/LEF, a rezultat je poticanje transkripcije ciljnih gena važnih za preživljenje, diferencijaciju i migraciju stanica (Slika 5).

U suprotnom slučaju, kada određeni čimbenici inaktiviraju Wnt signalni put, događa se sljedeće: čimbenici se vežu za FZD i LRP5/6 u staničnoj membrani, taj signal DVL ponovo prenosi do već spomenutoga proteinskog kompleksa GSK3 β , CK1, *axin* i APC. Taj se kompleks naziva i kompleksom razaranja jer GSK3 β i CK1 fosforiliraju β -katenin, a *axin* i APC uzrokuju ubikvitinaciju i proteosomalnu degradaciju β -katenina koji postaje nestabilan i razgrađuje se u citoplazmi. Posljedica tih procesa izostanak je međudjelovanja β -katenina i čimbenika transkripcije TCF/LEF u jezgri. Umjesto β -katenina, za njih se veže Groucho represor, a rezultat je sprečavanje transkripcije ciljnih gena (33, 34) (Slika 5a i 5b).

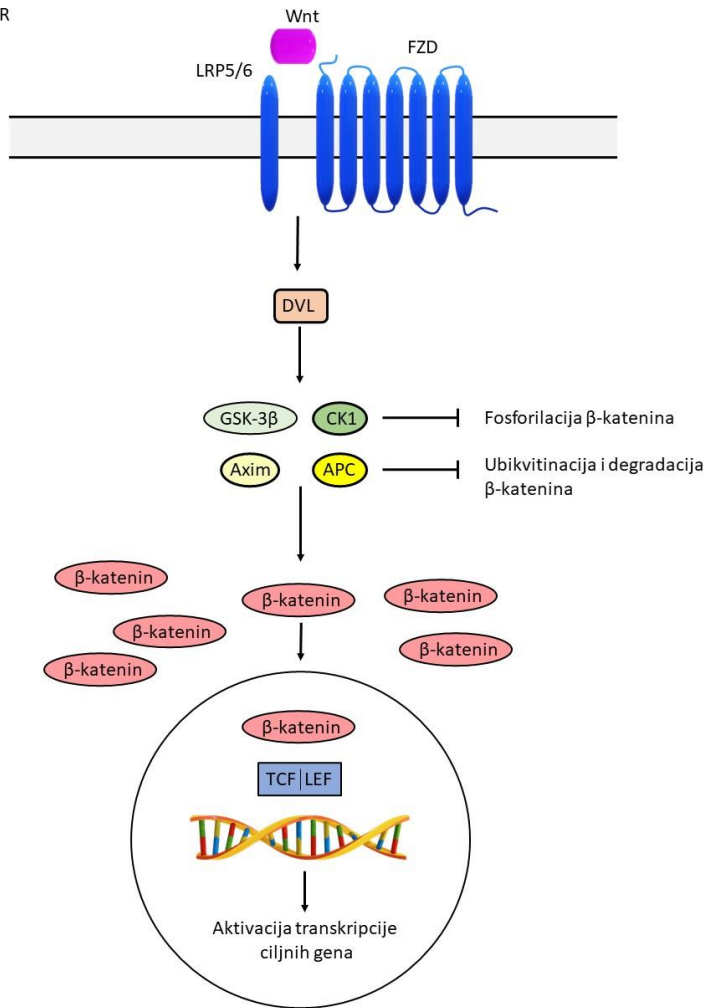
A

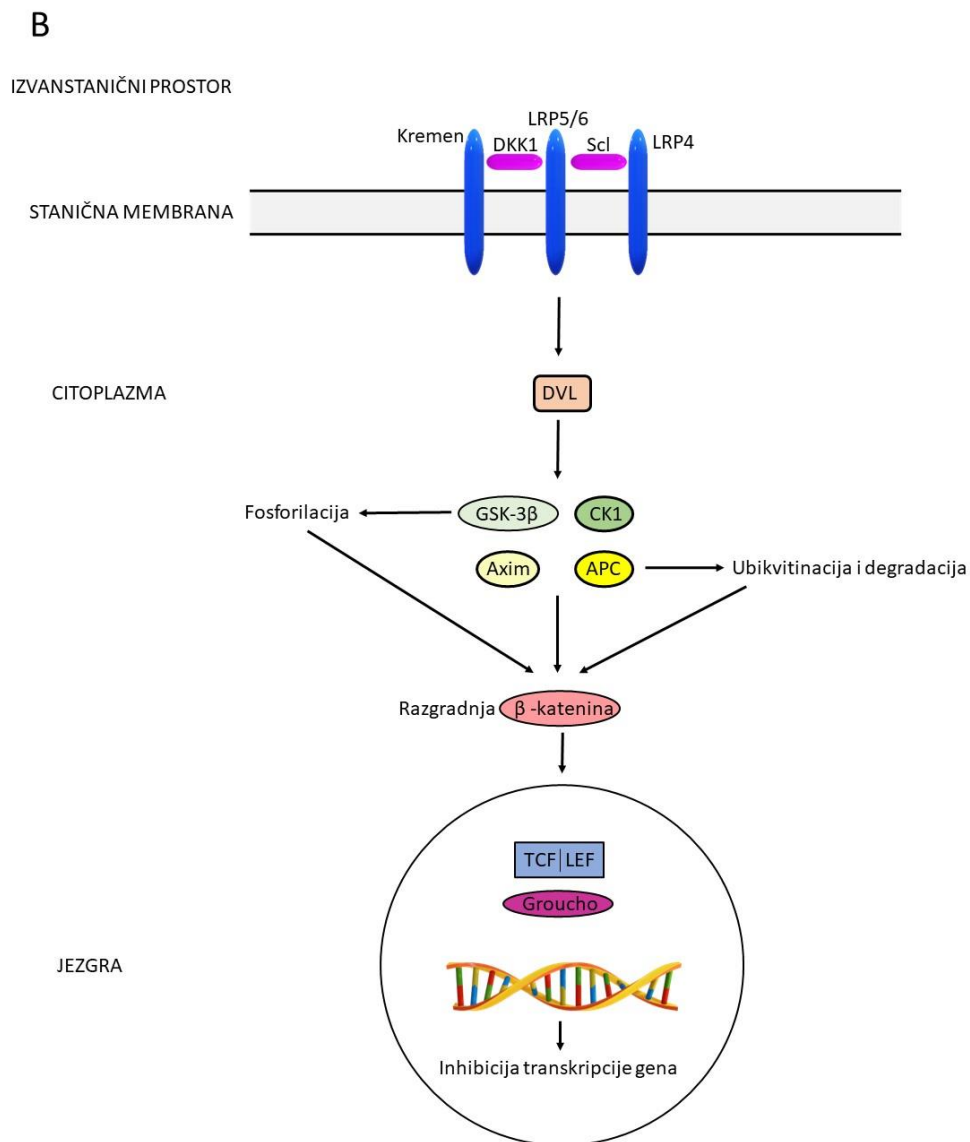
IZVANSTANIČNI PROSTOR

STANIČNA MEMBRANA

CITOPLAZMA

JEZGRA





Slika 1.5. Shematski prikaz aktivacije (A) i inhibicije (B) Wnt puta. Wnt - *wingless/integrated*; FZD - *frizzled*; LRP4/5/6 - proteini srodni lipoproteinskom receptoru 4, 5 i 6; DVL - *dishevelled*; GSK-3 β - glikogen-sintaza-kinaza 3 β ; CK-1 - kinaza kazeina I; APC - adenomatozna polipoza kolona; TCF/LEF - T-stanični čimbenik/ limfoidni pojačavajući protein; DKK1 - dickkopf 1; Scl - sklerostin.

Wnt/ β -kateninski put važan je i za sve tri vrste stanica koje čine sastavni dio skeleta odraslih osoba: osteoblaste koji stvaraju kost, osteoklaste koji resorbiraju kost i osteocite koji pridonose regulaciji osteoblasta i osteoklasta tijekom koštanje pregradnje (35-37). Poticanjem Wnt puta koštana gustoća se povećava, a njegovim kočenjem koštana gustoća se smanjuje (28). Zbog toga su se počeli istraživati i inhibitori Wnt puta, osobito sklerostin i DKK1.

Ekspresija sklerostina i DKK1 regulirana je složenim mehanizmima koji uključuju ukriženo djelovanje sistemskih hormona, citokina i mehaničkoga opterećenja. Nakon mehaničkoga poticaja osteociti luče sklerostin koji putuje do površine kosti gdje se, kao i DKK1, veže za LRP5/6. Sklerostin se još veže i za LRP 4 (38), a DKK1 se veže za proteine Kremen (39). Na taj način sprečavaju vezanje Wnt proteina i koče prenošenje signala u koštanim stanicama, odnosno koče Wnt/ β -kateninski put na prethodno opisan način. Inhibiranje toga puta, osim na koštane stanice, utječe i na RANK/RANKL/OPG sustav. Općenito, ligand aktivatora receptora nuklearnoga faktora-kappa B (RANKL, od engl. *receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*) ligand je koji stvaraju i izlučuju osteoblasti i osteociti. RANKL se veže za svoj receptor aktivatora nuklearnoga faktora-kappa B (RANK, od engl. *receptor activator of nuclear factor-kappa B*) čime se omogućuje aktivacija, sazrijevanje i produžavanje preživljenja osteoklasta. Osteoblasti izlučuju i glikoprotein osteoprotegerin (OPG) koji služi kao receptor mamac za RANKL i na taj način sprečava vezanje RANK-a za RANKL, što dovodi do inhibiranja osteoklastogeneze. OPG se naziva i čimbenikom inhibicije osteoklastogeneze (OCIF, od engl. *osteoclastogenesis inhibitory factor*), a njegovi učinci suprotni su onima kojima posreduje RANKL. Inhibiranjem Wnt/ β -kateninskoga puta oštećuje se osteoblastogeneza i smanjuje preživljenje osteoblasta. U osteoblastima i osteocitima smanjuje se ekspresija OPG-a, a u osteocitima se povećava ekspresija sklerostina i RANKL-a. Ti procesi pogoduju diferencijaciji prekursora osteoklasta u osteoklaste. Posljedica opisanih događaja smanjene su izgradnja i povećana razgradnja kosti, a povećana ekspresija sklerostina negativnom povratnom spregom ograničava stvaranje kosti. Isto tako, u osteocitima se pojačava ekspresija i aktivnost enzima koji modeliraju matriks, a posljedica je osteoliza (40).

Sklerostin je glikoprotein, a uputa za prepisivanje dolazi od SOST-gena (41). Stvara se uglavnom u osteocitima (42, 43), pa je zato ovisan o koštanoj masi i prisutnosti osteocita. Osteociti se nalaze unutar mineraliziranoga matriksa kosti (44). Sadrže široku mrežu kanalića, a misli se da sudjeluju u procesu pregradnje kosti tako što prepoznaju mikrofrakture. To je ključno za zamjenu promijenjene kosti novim kolagenom (45). No, sklerostin je nađen i u

osteoblastima, osteoklastima, hondroцитima, odontoblastima i cementocitima, dok se SOST može prepisati u koštanoj srži, hrskavici, bubrezima, jetri, plućima i gušterači (46)

Kod kralježnjaka je DKK1 glikoprotein i član obitelji koju čine četiri člana (DKK1-4) (47). DKK1 ima ulogu unutar Wnt kanonskoga puta. Proizvode ga osteociti, ali i osteoblasti, a njegova ekspresija otkrivena je i u koži, endotelu, prostati, placenti, trombocitima, manje i u drugim tkivima (48, 49). Djeluje unutar kosti tako što inhibira razvoj i aktivnost osteoblasta. Povišena razina DKK1 stoga može oštetiti aktivnost osteoblasta i uzrokovati gubitak kosti (50). Svojstva sklerostina i DKK1 zanimljiva su za farmakološku industriju (43) zbog uloge njihovih antitijela u liječenju osteoporoze i koštanih poremećaja (39). Prednost sklerostina je što je jedini modulator puta koji je visoko selektivan za kost (26). Znači, osim na sprečavanje razgradnje kosti, može djelovati i na njezinu izgradnju.

Učinci DKK1 na kost promjenjivi su i manje izraženi u odnosu na one koji su dobiveni primjenom antitijela na sklerostin, no zaključeno je da DKK1 može utjecati na gubitak kosti na dva načina. Prvi je način uzrokovanje erozije kosti, što je vidljivo kod nekih autoimunih bolesti kao što su reumatoidni artritis, osteoartritis, sistemski eritemski lupus. Drugi način je osteopenija koja može biti izazvana primjenom glukokortikoida, nedostatkom estrogena (48). *In vitro* studijama i pretkliničkim istraživanjima dobiveni su ohrabrujući rezultati o primjeni antitijela na DKK1 u osteotropnim karcinomima (51).

Sustavna istraživanja inhibitora Wnt puta dovela su do odobrenja novoga lijeka za liječenje osteoporoze, inhibitora sklerostina romosozumaba (52). Lijek je indiciran za liječenje teške osteoporoze kod žena u postmenopauzi s visokim rizikom od prijeloma.

1.5. Wnt/ β -kateninski signalni put i hormoni štitnjače

Za djelovanje hormona štitnjače važne su dehidrogenaze, kao i TR. Zbog njihove prisutnosti i djelovanja, mogu se mijenjati razine hormona štitnjače i u samim tkivima. Tako se pri hipertireozu povećava aktivnost D1 prisutnoga u perifernim tkivima. Najviše ga ima u jetri i bubrezima, a u manjoj količini u skeletnim mišićima, srcu i štitnjači. Djelovanjem D1 povećava se pretvorba T4 u T3 koji se izlučuje u cirkulaciju. Za pretvorbu T4 u T3 unutar stanice odgovoran je D2 koji je i pod negativnom regulacijom od strane hormona štitnjače. Na taj način, njegova se aktivnost povećava u stanju nedostatka hormona štitnjače, odnosno hipotireozu, kako

bi se povećala pretvorba T4 u T3 (53). Također, aktivnost D3 se smanji kako bi se smanjila pretvorba T4 u metabolički neaktivne oblike hormona.

Druga razina djelovanja hormona štitnjače receptori su za koje se vežu u jezgrama stanica i ostvaruju svoje djelovanje. TR-i su transkripcijski čimbenici koje modulira T3. T3 ima veći afinitet vezanja za TR nego T4, zbog čega je on biološki aktivniji hormon. Fiziološki odgovor na T3 ovisi o vrsti TR-a koji su prisutni u određenoj stanici. Nakon ulaska T3 u stanicu, a zatim u jezgru gdje se veže za TR, potiče se prepisivanja gena. T3 veže se za TR nakon čega se od TR-a odvaja korepresor, a veže koaktivator. Taj kompleks TR i koaktivatora veže se za promotorsku regiju gena čime se potiče prepisivanje ciljnih gena. Kada nema T3 u stanici, TR ostaje u kompleksu s korepresorom što rezultira inhibiranjem genskoga prepisivanja (54).

No, funkcija TR-a koordinirana je i integrirana i u drugim signalnim putovima, što se osobito odnosi na međudjelovanje puta TR-a i Wnt puta koje se odvija na nekoliko razina. Međudjelovanje se može odvijati u različitim tkivima i uključivati ili TR α ili TR β receptore. Konačni rezultat njihova međudjelovanja ovisi o vrsti stanica u kojima T3 može potaknuti proliferaciju ili diferencijaciju, odnosno aktivaciju ili represiju Wnt sustava u određenim tkivima (29). U stanicama karcinoma debeloga crijeva vezanje T3 za TR β 1 rezultira supresijom Wnt puta pri čemu je inhibirano prepisivanje gena za ciklin D1 u reakciji posredovanoj inhibiranjem β -katenina, njegovim ulaskom u jezgru i vezanjem za TCF/LEF (55). Također, u karcinomu štitnjače miša ispitivano je međudjelovanje TR β i β -katenina. Rezultati su pokazali da se TR β vezao za β -katenin, dok je T3 prekinuo njihovu interakciju, što je potaknulo razgradnju β -katenina u citoplazmi, a posljedično tome smanjena je aktivnost Wnt puta (56).

Wnt put može neizravno utjecati na T3, što je opisano na modelu karcinoma debeloga crijeva. Svoj učinak Wnt put ostvaruje djelovanjem na dejodinaze pri čemu β -katenin potiče D3, a istodobno smanjuje D2. Rezultat takvoga dvostrukog djelovanja smanjenje je unutarstanične razine T3 (57). Kada je Wnt put aktiviran, β -katenin se ne razgrađuje u citoplazmi, nego odlazi u jezgru u kojoj potiče transkripciju gena za D3. Posljedično tome, razina D3 se povisi pa se njezinim posredovanjem T4 inaktivira pretvorbom u rT3, a T3 u T2. Smatra se da Wnt izravno djeluje i na D2, ali molekularni mehanizmi koji sudjeluju u tom procesu još nisu razjašnjeni (58).

Hormoni štitnjače važni su za normalan razvoj skeleta. Nekoliko istraživanja ispitivalo je i pokazalo utjecaj hormona štitnjače na hondrocite u pločama rasta djelovanjem na Wnt/ β -kateninski signalni put. Pokazano je da hormon štitnjače regulira završnu diferencijaciju

hondrocita u pločama rasta, djelomično preko Wnt/ β -kateninskoga puta u istraživanju u kojemu je kultura stanica epifizealnih hondrocita štakora tretirana T3 hormonom. Rezultati su pokazali povećanu količinu stabilnoga β -katenina u citoplazmi, povećanu transkripcijsku aktivnost TCF/LEF u jezgri što je stimuliralo ekspresiju Runx2/cbfa1 gena, a krajnji rezultat bio je završna diferencijacija hondrocita. Također, djelovanjem DKK1 inhibiran je Wnt/ β -kateninski put, a posljedično tome i promjene potaknute djelovanjem T3 hormona (59). Također, karboksipeptidaza Z (CPZ, od engl. *carboxypeptidase Z*) pokazala se kao čimbenik koji je dio puta djelovanja T3 na Wnt/ β -kateninski put. T3 je potaknuo ekspresiju CPZ-a, a CPZ je potaknuo prijenos signala na Wnt putu vodeći diferencijaciji hondrocita u ploči rasta (60). Još jedan posrednik na putevima međudjelovanja T3 i Wnt/ β -kateninskoga puta je inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (IGF-1, od engl. *insulin-like growth factor 1*) koji potiče ekspresiju Wnt4 i djeluje kao stabilizator β -katenina (61), a ekspresiju receptora IGF-1 stimulira T3.

O povezanosti hormona štitnjače, Wnt signalnoga puta i kosti postoji svega nekoliko istraživanja. Osmišljen je animalni model, prvenstveno za ispitivanje karcinoma štitnjače (56, 62), a u ispitivanih miševa postojala je mutacija gena za TR β . U osteoblastima miševa dominantno negativna mutacija gena za TR β dovela je do aktivacije Wnt/ β kateninskoga puta i povećane izgradnje kosti (63). Na temelju *in vitro* istraživanja u kojima je transfekcijom potaknuta ekspresija Thrb1 i Thra1 u stanicama osteoblasta, sugerirano je da slobodni TR djeluje kao stabilizator β -katenina u kosti. Taj učinak prekida se vezanjem T3 za TR što dovodi do degradacije β -katenina i inhibiranja Wnt puta, dakle ovisi o TR-a (56, 63).

O povezanosti povišenih razina hormona štitnjače, Wnt signalnoga puta i kosti postoji samo nekoliko istraživanja (64, 65). O utjecaju povišenih razina hormona štitnjače na koncentracije DKK1 prema našem saznanju nema istraživanja provedenih na ljudima. Postoji samo nekoliko istraživanja provedenih na životinjskim modelima (66, 67).

Budući da GB može dovesti do promjena koštanoga metabolizma i gustoće kosti, čime se remeti ravnoteža kosti, pretpostavili smo da može doći i do promjene serumske razine sklerostina i DKK1. Ovim istraživanjem željeli smo ispitati mijenjaju li se serumske razine ta dva inhibitora Wnt puta u kontrolnome periodu kod bolesnika liječenih tireostatskim lijekovima i ispitati postoji li povezanost između njih i koštane gustoće i biljega koštanoga metabolizma. Na taj način doprinijelo bi se razumijevanju patofizioloških procesa koji se odvijaju u kosti kod GB-a liječenoga tireostatskim lijekovima.

1.6. Koštana gustoća

Gustoća kosti može se smanjiti uslijed GB-a pri kojemu, uz ubrzanu koštanu pregradnju, procesi razgradnje nadvladavaju procese izgradnje. U odraslih osoba gubitak koštane gustoće iznosi 10 – 20 % i najviše zahvaća kortikalnu kost (68). Zlatni standard za određivanje koštane gustoće je denzitometrija (69). Uobičajeno se koristi apsorpciometrija s pomoću X-zraka dviju različitih energija (DXA, od engl. *dual X-ray absorptiometry*). Ta metoda koristi se X-zrakama dvije jačine u vrlo maloj dozi koje se propuštaju kroz kost. Iza kosti senzori mjere X-zrake koje su prošle kroz kost, a rezultat se obrađuje u elektroničkom računalu.

Rezultati denzitometrijskoga mjerenja izražavaju se na tri načina: u apsolutnim vrijednostima, u g/cm² koje označavaju razliku između propuštenih i apsorbiranih X-zraka u tijelu; kao T-vrijednost, koja predstavlja odstupanje izmjerene vrijednosti koštane gustoće (BMD, od engl. *bone mineral density*) od vršne koštane mase mladih osoba (20 – 25 godina), izraženo u standardnim devijacijama (SD) i kao Z-vrijednost, koja predstavlja odstupanje izmjerene vrijednosti BMD-a od prosječne koštane mase osoba iste dobi izraženo u SD-u. 1994. godine Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) definirala je kriterije na temelju kojih se procjenjuje stanje koštane gustoće i postojanje rizika od nastanka osteoporoze. T-vrijednost između +1 i -1 predstavlja normalnu mineralnu gustoću kostiju. Vrijednost između -1 i -2,5 je osteopenija. Vrijednost manja ili jednaka 2,5 definira se kao osteoporoza. Teška osteoporoza ona je koja je udružena s prijelomom kojemu nije prethodila trauma. Osteoporoza je najčešća bolest koštanoga sustava i predstavlja javnozdravstveni problem. Češće zahvaća žene bijele rase i ljude starije dobi. Osteoporoza predstavlja čimbenik rizika za nastanak prijeloma. Zahvaća velik broj ljudi oba spola, svih etničkih pripadnosti, a učestalost raste s dobi. To je tiha bolest sve do nastanka prijeloma, koji može uzrokovati invaliditet.

Zbog poznate činjenice da hipertireoza može uzrokovati osteoporozu, bilo je prijedloga da se kod bolesnika s novootkrivenom hipertireozom razmotri određivanje BMD-a kao standardne pretrage kako bi se identificirale skupine kod kojih je potrebno daljnje praćenje koštane gustoće i spriječio nastanak prijeloma (70). Postoje različita istraživanja u kojima je uslijed hipertireoze došlo do smanjenja gustoće kosti (71-74). Također, povećan je i rizik od nastanka prijeloma (75) i to, prema istom istraživanju, u prvih pet godina nakon postavljanja dijagnoze hipertireoze. Liječenjem tireostatskim lijekovima taj je rizik značajno smanjen, neovisno o dozi (76). Ipak, do porasta ili normalizacije gustoće kosti može doći čak 1 – 4 godine nakon što je hipertireoza

otkrivena (77), a povećanje gustoće kosti može biti i djelomično, odnosno na lumbalnoj kralježnici i kuku, uz pogoršanja na podlaktici (78).

1.7. Koštani metabolizam

Kost je građena od koštanoga tkiva što ga čine koštane stanice i koštana međustanična tvar. Međustanična tvar sastavljena je od anorganskoga i organskog dijela. Anorganski dio građen od kristala kalcijevih soli, ponajviše hidroksiapatita, a ostatak anorganskoga dijela čine proteoglikani, glikoproteini, male peptidne molekule, sijaloproteini, citokini. Organski dio naziva se osteoid i sadrži oko 95 % kolagenih vlakana, od kojih je najzastupljeniji kolagen tipa I, čija je razgradnja sastavni dio procesa koštane razgradnje.

GB, osim na gustoću kosti, može djelovati i na koštani metabolizam koji se ubrzava uslijed hipertireoze. Koštani metabolizam procjenjuje se određivanjem biljega koštane pregradnje koji daju podatke o dinamici koštane pregradnje i koriste se za praćenje odgovora na liječenje osteoporoze. Za određivanje biljega koštane pregradnje koriste se komercijalno dostupni kitovi kojima se mjere raspadni proizvodi kolagena i druge molekule oslobođene iz osteoklasta i osteoblasta tijekom procesa koštane razgradnje i izgradnje. Ovisno o tome u kojoj etapi koštane pregradnje se stvaraju, dijele se na biljege koštane izgradnje i koštane razgradnje, a mogu se određivati u serumu i u urinu. U biljege kojima se procjenjuje koštana izgradnja ubrajaju se ukupna alkalna fosfataza (ALP, od engl. *alkaline phosphatase*), koštani ALP, što je koštano specifični izoenzim alkalne fosfataze (BAP, od engl. *bone alkaline phosphatase*), osteokalcin (OC), C-terminalni prokolagenski propeptid tipa 1 (PICP, od engl. *C-terminal propeptide of type I procollagen*) i N-terminalni prokolagenski propeptid tipa 1 (PINP, od engl. *N-terminal propeptide of type I procollagen*).

Biljege kojima se procjenjuje razgradnja kosti čine hidroksiprolin, piridinolin, deokspiridinolin (DPD), N-terminalni kolagenski telopeptid tipa I (INTP, od engl. *terminal telopeptide of type I collagen*), C-terminalni kolagenski telopeptid tipa I (ICTP, od engl. *carboxy-terminal telopeptide of type I collagen*), *beta-CrossLaps* (β -CTX, od engl. *β -isomerized C-terminal telopeptide*), N-telopeptid tipa I kolagena (NTX, od engl. *N-terminal telopeptide of type I collagen*), C-telopeptid tipa I kolagena (CTX, od engl. *C-terminal telopeptide of type I collagen*) i tartarat-rezistentna kisela fosfataza (TR-ACP, od engl. *tartrate-resistant acid phosphatase*).

ALP se izlučuje iz kosti prilikom mineralizacije osteoida. No, samo polovica razine ALP-a u serumu dolazi iz kosti, dok je druga polovica podrijetlom iz jetre, zbog čega je specifičan koštani biljeg samo kod osoba koje nemaju bolest jetre ili žučnoga sustava. No, dostupan je BALP koji se stvara samo u osteoblastima.

OC je nekolageni protein sastavljen od aminokiselina i bogat glutaminskom kiselinom. Nalazi se u kosti, a luče ga osteoblasti. Osjetljiv je i specifičan biljeg stvaranja kostiju, a njegova povećana koncentracija u krvi znak je povećane izmjene kostiju. Osim u koštanom tkivu, može se naći u dentinu i okoštanim hrskavicama jer ga stvaraju i odontoblasti i hipertrofični hondrociti.

PICP i PINP su propeptidi prokolagena 1 iz kojega nastaje kolagen i služe kao pokazatelji stvaranja kolagena tipa 1 u međustaničnoj tvari.

Hidroksiprolin nastaje hidrosilacijom prolina u prokolagenskom lancu koji se otpušta prilikom razgradnje kolagena tipa 1.

Piridinolin i DPD nalaze se u serumu i urinu tijekom cijepanja kolagenskih vlakana. DPD se uglavnom nalazi u kosti, a samo u malim količinama u drugim tkivima. Piridinolin se u većoj količini nalazi u hrskavici, pa se DPD smatra specifičnijim biljekom u odnosu na piridinolin. DPD se ne metabolizira nakon razgradnje kolagena i izlučuje se urinom, njegove količine u urinu odražavaju razgradnju kosti, odnosno eroziju dubine i koštanoga volumena (79).

ICTP je proizvod razgradnje kolagena tipa 1 koji se oslobađa u cirkulaciju tijekom patoloških procesa koštane pregradnje, kao što je to slučaj kod metastaza malignih tumora u kosti (80).

β -CTX razgradni je proizvod kolagena tipa 1 koji se oslobađa tijekom razgradnje kosti i kojime se može procijeniti stupanj razgradnje zreloga kolagena. Kada se koštana razgradnja poveća, njegova je razina u krvi povećana.

Kolagen se sastoji od tri niza polipeptida koji stvaraju trostruku zavojnicu. Na jednom kraju zavojnice nalazi se C-, a na drugom kraju zavojnice N-telopeptid koji se oslobađaju razgradnjom kolagena i mogu se mjeriti kao biljezi razgradnje kosti, NTX i CTX.

TRAP je glikoprotein kojega proizvode zreli osteoklasti, aktivirani makrofagi i dendritične stanice. Aktivan je kao fosfataza i kao izvor reaktivnih spojeva kisika. Peptidni lanac cijepaju proteaze na dva izomerna oblika: 5a i 5b (81). TRAP 5b oblik potječe iz osteoklasta, ali je predloženo da više odražava broj osteoklasta nego koštanu razgradnju (82).

1.8. Čimbenici rizika koji mogu utjecati na gustoću kosti

Velik broj čimbenika može utjecati na gustoću kosti. Neki od čimbenika rizika su promjenjivi, dok se drugi ne mogu mijenjati. Čimbenici rizika koji se ne mogu promijeniti su dob (starija dob), etnička pripadnost (bijela rasa), spol (ženski), nizak indeks tjelesne mase (ITM), redovitost menstruacijskih ciklusa, početak menopauze prije 45. godine života, odstranjenje jajnika prije 50. godine života, postojanje prijeloma kuka kod roditelja, prijelom kosti u odrasloj dobi nakon blagog pada, sklonost lomovima. Isto tako, na koštanu gustoću mogu utjecati neke bolesti i uzimanje određenih lijekova, kao što su hiperparatireoidizam, odnosno pojačan rad nuzštitnih žlijezda, šećerna bolest tipa 1, Cushingov sindrom, upalne bolesti crijeva, reumatoidni artritis, kronična bolest bubrega, kao i uzimanje kortikosteroida dulje od tri mjeseca. S obzirom na to da osteoporoza može uzrokovati prijelome i na taj način dovesti do invaliditeta, vrlo su bitni čimbenici na koje se može utjecati promjenom prehranbenih navika i načina života. U te čimbenike ubrajaju se konzumiranje alkohola, prehrana, pušenje i fizička aktivnost.

Pravilna i uravnotežena prehrana, odnosno unos dovoljnih količina hranjivih tvari kao što su kalcij, fosfor i proteini, doprinosi izgradnji koštane mase tijekom djetinjstva, adolescencije i mladosti, a održavanju tijekom starenja.

Kalcij je glavni građevni element kostiju u kojima se nalazi 99 % zaliha kalcija tijela koje služe i za održavanje razine kalcija u cirkulaciji potrebnoga i za zdrave mišiće i živčani sustav. Razina potrebe za kalcijem mijenja se tijekom života. Za vrijeme rasta i razvoja potrebno je unositi veće količine kalcija. U starijoj dobi smanjuje se sposobnost organizma da apsorbira kalcij, zbog čega su i tada povećane potrebe za unosom kalcija. Izvor hranjivih tvari su mliječni proizvodi što podrazumijeva mlijeko i mliječne proizvode, odnosno sireve i fermentirane mliječne proizvode kao što su kefir, jogurt, kiselo mlijeko. Osim mliječnih proizvoda, kalcij sadrži i druga hrana kao što je tamnozeleno povrće (kelj, špinat, brokula), riba koja ima meke kosti kao što su sardine i losos, orašasti plodovi, žitne pahuljice, određeno voće, odnosno naranče, marelice, suhe smokve i tofu. Tvrdi sir može osigurati 1 g kalcija na 100 g, dok mlijeko i jogurt mogu osigurati između 100 mg do 180 mg na 100 g. Kelj i brokula daju između 100 i 150 mg na 100 g. Žitarice obično imaju oko 30 mg na 100 g, ali ako su obogaćene kalcijem, količina može doseći 180 mg na 100 g. Od orašastih plodova i sjemenki posebno su bogati kalcijem bademi, sezam i chia sjemenke koji mogu osigurati između 250 do 600 mg na 100 g (83). Preporuke o dnevnome unosu kalcija razlikuju se ovisno o smjernicama, ali općenito za

starije od 19 godina variraju od 1000 mg do 1300 mg dnevno (83). Naknadno je kanadska vlada ponovo analizirala smjernice izdane 2010. godine u suradnji s Medicinskim institutom u Sjedinjenim Američkim Državama kako bi stanovnici dobili što prikladnije savjete o prehrani. Ti savjeti dostupni su na <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/healthy-eating/vitamins-minerals/vitamin-calcium-updated-dietary-reference-intakes-nutrition.html> (84).

Za apsorpciju kalcija važan je vitamin D. Glavni izvor vitamina D njegovo je stvaranje u koži pod utjecajem ultraljubičastih B-zraka čime se dobiva oko 90 % vitamina D (85). Drugi manji izvor vitamina D njegova je apsorpcija u crijevima nakon unosa hranom ili u obliku komercijalno dostupnoga dodatka prehrani. Vitamin D unesen konzumiranjem prehrambenih namirnica, dodataka prehrani i stvoren u koži izlaganjem sunčevim zrakama biološki je inertan. Da bi prešao u aktivan oblik, treba dva puta proći proces hidroksilacije. Prva reakcija hidroksilacije odvija se u jetri u kojoj se vitamin D pretvara u 25-hidroksivitamin D (25(OH)D) koji se naziva i kalcidiol. Druga reakcija hidroksilacije odvija se u bubrezima u kojima se stvara fiziološki aktivan 1,25-dihidroksivitamin D (1,25(OH)₂D) koji se naziva i kalcitriol (86). S obzirom na suvremeni način života u kojemu čovjek sve manje boravi na otvorenom i na jakost sunčevih zraka, zbog čega se koriste kreme s visokim zaštitnim faktorom, koje mogu značajno smanjiti sintezu vitamina D, upitno je koliko se vitamina D stvara u samome organizmu (87). Stoga, njegov deficit ne bi trebao biti iznenađujuć.

Vitamin D potiče apsorpciju kalcija u crijevima i održava serumske koncentracije kalcija i fosfata odgovarajućima čime omogućuje normalnu mineralizaciju i sprečava smanjenje kalcija u serumu i posljedično pojavu grčeva ili trnaca ekstremiteta. Potreban je i za koštanu pregradnju (88). Vitamin D uz kalcij djeluje kao zaštita od nastanka osteoporoze kod starijih odraslih osoba. U prehrambenim namirnicama i dodacima prehrani vitamin D postoji u dva glavna oblika, kao D₂, odnosno ergokalciferol, i kao D₃, odnosno kolekalciferol, a oba oblika dobro se apsorbiraju u crijevima. Najveći dio cirkulirajućega vitamina D u organizmu je u obliku 25-hidroksivitamina D (25(OH)D), kalcidiola. Njegov poluživot je 2 – 3 tjedna. Aktivan je u kostima i crijevu, ali je značajno manje potentan u odnosu na 1,25-dihidroksivitamin D (kalcitriol). On je najaktivniji oblik vitamina D, a njegov poluživot je oko 4 – 6 sati (89). Glavni pokazatelj stanja vitamina D u organizmu odražava serumska koncentracija 25(OH)D.

Pušenje smanjuje gustoću kosti (90, 91). Također, meta-analiza upućuje na to da se pušenjem povećava rizik za nastanak prijeloma kralježnice i kuka te učinak pušenja na gustoću kosti ovisi o količini cigareta koju osoba puši, a djelomično je reverzibilan nakon prestanka pušenja (92).

Istraživano je i djelovanje alkohola na koštanu gustoću. Pretjerana konzumacija alkohola udružena je s povišenim rizikom od nastanka osteoporoze, ali postoje oprečni podatci o utjecaju manjih do umjerenih količina alkohola, bez jednoznačnoga zaključka. Rizik od nastanka bilo kakvoga osteoporotičnoga prijeloma postojano raste s konzumiranjem većih količina alkohola, iako nije otkrivena statistički značajna razlika. Povećana konzumacija alkohola udružena je s rizikom od nastanka prijeloma kuka, no utjecaj manjih doza alkohola nije jasan jer je BMD bio viši u osoba koje su konzumirale male količine alkohola u odnosu na one koji alkohol nisu konzumirale (93).

Vježbanje se preporučuje kao jedan od načina kojima bi se smanjio rizik od nastanka osteoporoze. Svjetska zdravstvena organizacija definira fizičku aktivnost kao pokrete tijela koji nastaju radom skeletnih mišića, a zahtijevaju potrošnju energije. Tjelesna aktivnost odnosi se na sve kretanje, uključujući i ono tijekom slobodnoga vremena, za prijevoz od i do mjesta rada ili kao dio posla osobe. Također, tjelesna aktivnost umjerenoga i jakog intenziteta poboljšava zdravlje. SZO je dao smjernice za različite dobne skupine i specifične skupine stanovništva o tome koliko je tjelesne aktivnosti potrebno za dobro zdravlje. Povećano fizičko opterećenje može povećati čvrstoću kosti (94) što bi doprinijelo stvaranju kosti u bolesnika s osteoporozom. Preporuča se redovita tjelovježba s naglaskom na primjenu vježbi koje opterećuju mišiće umjesto koštanoga sustava kako bi se poboljšali pokretljivost, snaga, držanje i ravnoteža, a ujedno zadržala i poboljšala snaga kosti i smanjio rizik od padova i nastanka prijeloma (95).

2. HIPOTEZA

Inhibitori Wnt puta sklerostin i DKK1 osjetljivi su biljezi praćenja dinamike koštane pregradnje izazvane GB-om i njegovim liječenjem tireostatskim lijekovima.

3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

- 1.) Ispitati postoji li razlika u serumskim koncentracijama sklerostina i DKK1 kod ispitanika s GB-om na početku liječenja i nakon kontrolnoga perioda od godine dana
- 2.) Ispitati povezanost serumskih koncentracija sklerostina i DKK1, mineralne gustoće kosti i biljega koštane pregradnje OC, DPD i β -CTX kod ispitanika s GB-om na početku liječenja i nakon kontrolnoga perioda od godine dana
- 3.) Ispitati povezanost serumskih koncentracija sklerostina i DKK1 s parametrima prehrambenih i životnih navika ispitanika s GB-om na početku liječenja

4. ISPITANICI I METODE

4.1. Ustroj istraživanja

Longitudinalno prospektivno kohortno istraživanje započeto je nakon odobrenja Etičkoga povjerenstva Medicinskoga fakulteta Osijek (Broj: 2158-61-07-17-214) i odobrenja Etičkoga povjerenstva KBC-a Osijek (Broj: R2:17233-3/2017 i broj: R2-6782/2018.) u skladu s odredbama Helsinške deklaracije 1964.

4.2. Ispitanici

U istraživanju je sudjelovalo 37 ispitanika oba spola u dobi od 22 do 74 godine s novootkrivenim GB-om koji su liječeni u Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja Kliničkoga bolničkog centra Osijek. Prije uključivanja u istraživanje ispitanici su potpisali informirani pristanak.

Kriteriji za uključenje ispitanika u istraživanje:

- povišene razine FT4 i FT3
- snižena, odnosno suprimirana razina TSH-a
- povišena razina antiTSH-R
- difuzni prikaz štitnjače na scintigramu učinjenom s Tc 99m pertehnetatom
- ultrazvučni prikaz štitnjače karakterističan za difuznu bolest štitnjače

Isključni kriteriji:

- bolesnici koji već uzimaju lijekove za osteoporozu, kortikosteroide ili hormonske nadomjesne lijekove
- bolesnici kod kojih je izmjeren povišen paratireoidni hormon (PTH) ili koji imaju primarni hiperparatireoidizam
- bolesnici koji imaju Cushingovu bolest, upalne bolesti crijeva, malapsorpciju, akutne infektivne bolesti, bubrežnu bolest, ankilozni spondilitis ili karcinome
- bolesnici koji su bili dugotrajno imobilizirani

- bolesnici koji su prethodno operirali štitnjaču ili je provedena radioterapija u području vrata
- bolesnici kod kojih je došlo do recidiva GB-a
- bolesnici kod kojih je tireotoksikoza uzrokovana amiodaronom ili inducirana unosenjem jodnih preparata ili sredstava
- bolesnici s upalnim bolestima štitnjače (subakutni, „*silent*“ ili postpartalni tireoiditis)
- žene koje su rodile i/ili dojile tijekom godine koja je prethodila dijagnozi
- bolesnici s latentnom hipertireozom, hashitoksikozom, dekompenziranim TA-om ili MNTG-om
- srčani bolesnici
- bolesnici s GO-om utvrđenim prema EUGOGO smjernicama koji zahtijeva primjenu kortikosteroidne terapije i/ili radikalniji tretman, odnosno operaciju štitnjače

Ispitivanje je provedeno u vremenskom periodu od prosinca 2017. godine do veljače 2020. godine. U ispitivanje je uključeno 50 ispitanika, a završilo ga je 37 ispitanika.

Kod svih je ispitanika prvi lijek izbora bio tiamazol. Kod dvoje ispitanika tiamazol je zamijenjen s PTU-om zbog nuspojava: alergijske reakcije, bolova i oticanja zglobova. Kod jednoga ispitanika pojavila se hepatotoksična reakcija kao nuspojava na tiamazol, zbog čega je bolesnik upućen na operaciju štitnjače i isključen iz istraživanja. Pet ispitanika imalo je snižen TSH na kontrolnome mjerenju. Troje ispitanika isključeno je zbog pojave GO-a tijekom kontrolnoga perioda radi čega su ili upućeni na operaciju štitnjače ili im je aplicirana kortikosteroidna terapija. Jedan ispitanik odlučio se na operaciju štitnjače radi uvećane strume tijekom perioda praćenja, nakon postizanja eutireoidnog stanja, a prije nego su predviđena kontrolna mjerenja. Troje ispitanika prestalo je dolaziti na kontrolne preglede i nisu došli na kontrolno mjerenje.

4.3. Metode

U hipertireoidnom stanju učinjena su početna mjerenja:

4.3.1. Laboratorijska ispitivanja

Uzorci krvi i urina uzeti su između 8 i 10 sati nakon noćnoga posta. Uzorkovanje krvi vršilo se iz kubitalne vene.

Na početku su istraživanja svim bolesnicima na Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBCO-a određeni kompletna krvna slika i diferencijalna krvna slika elektronskim brojačem krvnih stanica na Sysmex aparatu, ukupni kalcij, anorganski fosfati, urea, kreatinin, aspartat aminotransferaza, alanin aminotransferaza, alkalna fosfataza i gama-glutamiltransferaza spektrofotometrijom na Beckman Coulter aparatu i paratireoidni hormon (PTH) kromatografijom na LCMS/MS aparatu kako bi se isključio hiperparatireoidizam, dobio uvid u razine hematoloških i biokemijskih pretraga prije uvođenja tireostatskih lijekova i kako bi se tijekom liječenja mogao procijeniti potencijalno štetan učinak tireostatskih lijekova na bubrege i jetru.

Na Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek određen je i ukupni vitamin D 3 kromatografijom na LCMS/MS aparatu, FT4, FT3 i TSH kemiluminiscentnim imunokemijskim testom na Abbot, Arhitect i 2000, antiTSH_R, OC i β -CTX elektrokemiluminiscentnim imunokemijskim testom (ECLIA) na Cobas 6000 Roche diagnostics i u urinu DPD kromatografijom na Chromsystems.

Također, uzeti su uzorci krvi za analizu sklerostina i DKK1 i centrifugirani na Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek, a serumu su pohranjeni u Laboratoriju za farmakologiju Medicinskoga fakulteta u Osijeku na temperaturi -80°C do analize.

4.3.2. Antropometrijska mjerenja

Antropometrijskim mjerenjima određeni su tjelesna visina i težina i izračunat je indeks tjelesne mase (ITM) koji predstavlja omjer tjelesne težine (izražene u kilogramima) i kvadrata tjelesne visine (izražene u metrima). Za ITM se koristila sljedeća podjela:

- < 20 kg/m² – pothranjenost;
- 20 – 25 kg/m² – idealna tjelesna masa;
- 25 - 30 kg/m² – pretjerana tjelesna masa;
- > 30 kg/m² – pretilost.

4.3.3. Upitnik o prehrambenim i životnim navikama

Na početku istraživanja ispitanici su ispunili upitnik o prehranbenim i životnim navikama koji je upotrijebljen u ranijem istraživanju i preuzet uz dopuštenje autora (96).

Upitnikom se pratilo trenutnu visinu, težinu, ITM, zanimanje (koje je osoba radila prije mirovine ako je u mirovini); je li osoba imala prijelom kuka/trupa kralješka; je li osoba tijekom života imala prijelom bez prethodne veće traume; ima li umjetni kuk; je li roditelj imao prijelom kuka; puši li osoba; je li koristila kortikosteroide duže od tri mjeseca; je li joj dijagnosticiran reumatoidni artritis, koristi li lijekove za osteoporozu/osteopeniju; koristi li vitamin D, kalcij; je li joj fizička aktivnost duža od 30 min dnevno; vježba li i koliko često ako vježba; je li vježbala u prošlosti; konzumira li redovito minimalnu količinu mliječnih proizvoda (ekvivalent je pola litre mlijeka dnevno); koliko mlijeka ukupno konzumira dnevno u litrama; koliko sira i jogurta konzumira tjedno u kg; pije li redovito alkohol (više od dvije čaše alkoholnoga pića na dan); je li joj dijagnosticiran: pojačan rad štitnjače, šećerna bolest, upalna bolest crijeva (Chronova bolest/ulcerozni kolitis), poremećaj u prehrani (anoreksija/bulimija), završni stadij bubrežne bolesti, hiperparatireoidizam; je li menopauza nastupila i prije 45. godine života; u kojoj godini života je nastupila menopauza; je li joj učinjena histerektomija ili odstranjeni jajnici i kada, ako je odgovor da; kada je bila prva menstruacija; jesu li ciklusi bili regularni; kolika je bila visina u mladosti.

4.3.4. Mjerenje mineralne gustoće kostiju

Mineralna gustoća kostiju (BMD, od engl. *bone mineral density*) izmjerena je u Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja KBC-a Osijek denzitometrijom dvoenergetskim rendgenskim zrakama (DXA, od engl. *dual-energy X-ray absorptiometry*). Denzitometrija je obavljena na uređaju GE Lunar Prodigy Primo. Regije skeleta na kojima je mjerena gustoća kosti su: područje lumbalne kralježnice (L1 – L4 kralježaka) i proksimalni dio bedrene kosti (vrat bedrene kosti, trohanter, zbirni rezultat za proksimalni dio bedrene kosti, Wardov trokut). Snimanje je obavljao inženjer radiologije, a nalaz analizirao kvalificirani liječnik. Prilikom pokretanja uređaja, prije snimanja, uređaj je automatski izvodio kontrolu kvalitete i kalibraciju. Početno mjerenje mineralne gustoće kosti izvedeno je u hipertireoidnoj fazi GB-a. Rezultati mjerenja izraženi su kao BMD (u g/cm²) i kao T-vrijednost (predstavlja odstupanje izmjerene vrijednosti BMD-a od vršne koštane mase mladih osoba izraženo u standardnim devijacijama (SD)). Prema kriterijima SZO-a koštana gustoća procjenjuje se, a dijagnoza osteoporoze postavlja na temelju T-vrijednosti. S obzirom na T-vrijednosti, ispitanici su podijeljeni u tri skupine:

- normalan nalaz (T-vrijednost između -1 i +1),
- osteopenija (T-vrijednost između -1 i -2,5) i
- osteoporoza (T-vrijednost manja od -2,5)

Prema smjernicama Europskoga društva za štitnjaču lijek izbora za liječenje GB-a su tionamidi, kao što su karbimazol u dozi 10 – 30 mg dnevno i PTU u dozi od 100 mg svakih 8 sati. Na našem tržištu prisutan je tiamazol koji se uvodi kao prvi lijek izbora. Najčešće je početna doza tiamazola 30 – 60 mg dnevno podijeljeno u tri doze. Prva kontrola bila je mjesec dana nakon uvođenja tireostatika. Doze lijeka i praćenje prilagođene su individualno svakome bolesniku, ovisno o serumskoj koncentraciji hormona štitnjače i kliničkoj slici. Terapijska doza održavanja bila je 2.5 – 10 mg tiamazola dnevno i 50 – 100 mg PTU-a dnevno, a ciljna razina serumskoga TSH-a tijekom terapije održavanja unutar je granica referentnoga intervala. Tireostatski lijekovi sprečavaju stvaranje FT4 i FT3 u folikularnim stanicama štitnjače, a tijekom vremena razina TSH-a vraća se unutar referentnoga raspona. Također, snižava se razina antiTSH-R kontrolirana s ciljem boljega predviđanja remisije bolesti. U slučaju nuspojave na lijek, kao što je alergijska reakcija, tiamazol je zamijenjen lijekom iz druge linije PTU-om. U slučaju pojave alergijske reakcije na PTU, ovisno o koncentracijama hormona štitnjače, smanjena je dnevna doza PTU-a i uveden antihistaminik. U slučaju nuspojava kao što su bolovi u zglobovima ili oticanje zglobova, tiamazol je izostavljen, a uveden lijek iz druge linije PTU-a u dozi koja je ovisila o serumskim koncentracijama hormona štitnjače.

Ispitanicima kojima je izmjeren deficit vitamina D uveden je suplement vitamina D u dozi 600 – 800 IU (engl. *international unit*, IU).

U eutireoidnom stanju učinjena su kontrolna mjerenja:

4.3.5. Laboratorijska analiza

Uzorci krvi i urina uzeti su između 8 i 10 sati nakon noćnoga posta. Na Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek određen je ukupni vitamin D 3 kromatografijom na LCMS/MS aparatu, FT4, FT3 i TSH kemiluminiscentnim imunokemijskim testom na Abbot, Arhitect i 2000, antiTSH_R, OC i β -CTX elektrokemiluminiscentnim imunokemijskim testom (ECLIA) na Cobas 6000 Roche diagnostics i u urinu DPD kromatografijom na Chromsystems.

Također, uzeti su uzorci krvi za analizu sklerostina i DKK1 i centrifugirani na Zavodu za kliničku laboratorijsku dijagnostiku KBC-a Osijek, a serumi su pohranjeni u Laboratoriju za farmakologiju Medicinskoga fakulteta u Osijeku na temperaturi -80°C do analize.

Serumske razine sklerostina i DKK1 analizirane su združeno nakon pohrane.

Serumske razine sklerostina mjerene su korištenjem komercijalno dostupnoga humanog ELISA seta (Human SOST ELISA Kit, Saint Louis, USA). Osjetljivost, odnosno LLOQ je 40 pg/ml. ULOQ = 10000 pg/ml. CV % < 10 %. Postupak mjerenja radio se prema uputama proizvođača, a prije mjerenja određeni su standardi.

Razine DKK1 u serumu određene su pomoću komercijalno dostupnoga humanog ELISA seta (Human Dickkopf 1 (DKK1) ELISA Kit, Cusabio, Wuhan, Kina). Osjetljivost, odnosno LLOQ je < 15.6 pg/ml. ULOQ = 4000 pg/ml. CV % < 8 %. Postupak mjerenja radio se prema uputama proizvođača, a prije mjerenja određeni su standardi.

4.3.6. Mineralna gustoća kostiju

Mineralna gustoća kostiju izmjerena je u Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja KBC-a Osijek denzitometrijom dvoenergetskim rendgenskim zrakama. Denzitometrija je rađena na uređaju GE Lunar Prodigy Primo. Regije skeleta na kojima je mjerena gustoća kosti su područje lumbalne kralježnice (L1 – L4 kralježaka) i proksimalni dio bedrene kosti (vrat bedrene kosti, trohanter, zbirni rezultat za proksimalni dio bedrene kosti, Wardov trokut). Snimanje je obavljao inženjer radiologije, a nalaz analizirao kvalificirani liječnik. Prilikom pokretanja uređaja, a prije snimanja, uređaj je automatski izvodio kontrolu kvalitete i kalibraciju. Rezultati mjerenja izraženi su kao BMD (u g/cm^2) i kao T-vrijednost S obzirom na T-vrijednosti ispitanici su podijeljeni u tri skupine:

- normalan nalaz (T-vrijednost između -1 i +1),
- osteopenija (T-vrijednost između -1 i -2,5) i
- osteoporoza (T-vrijednost manja od -2,5)

4.4. Statističke metode

Kategorijski podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Numerički podatci opisani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom u slučaju raspodjela koje slijede

normalnu, a u ostalim slučajevima medijanom i granicama interkvartilnog raspona. Razlike kategorijskih varijabli testirane su Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro - Wilkovim testom. Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli između dviju nezavisnih skupina testirane su Mann-Whitneyevim U testom (uz pripadni 95% raspon pouzdanosti razlike). Povezanost numeričkih varijabli ocijenjena je Spearmanovim koeficijentom korelacije ρ (rho), i parcijalnom korelacijom u slučaju korekcije za dob, spol i uzimanje vitamina D. Regresijskom analizom (sa i bez korekcije za spol, dob, uzimanje vitamina D) pokušalo se utvrditi koji prediktori (Wnt inhibitori, biljezi koštane izgradnje i razgradnje) najviše utječu na vrijednosti denzitometrijskog nalaza. Razlike normalno raspodijeljenih numeričkih varijabli između dva mjerenja (na početnom mjerenju i nakon godine dana) testirane su Wilcoxonovim testom ili testom marginalne homogenosti. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na 0,05. Za statističku obradu korišteni su programi MedCalc® Statistical Software version 20.111 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2022) i SPSS ver. 23 (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS, Ver. 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

5. Rezultati

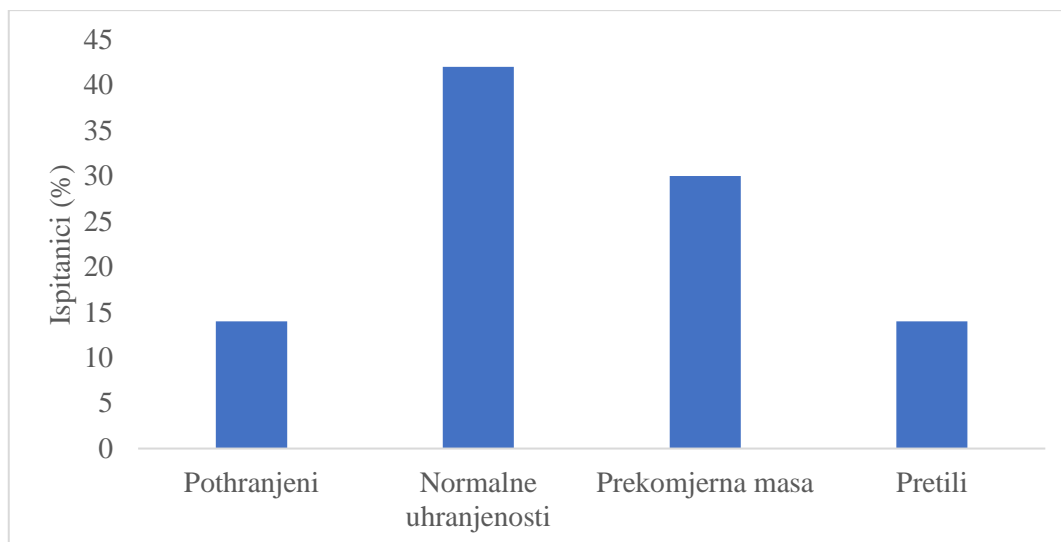
5.1. Antropometrijske karakteristike i prehrambene i životne navike ispitanika na početku liječenja

Istraživanje je provedeno na 37 ispitanika, od kojih 33 (89 %) žene i 4 (11 %) muškarca. Medijan dobi ispitanika je 47 godina, u rasponu od 22 do 74 godine. Tjelesna masa ispitanika je u rasponu od 50 kg do 92 kg, a tjelesna visina od 147 cm do 184 cm, a medijan indeksa tjelesne mase $24,4 \text{ kg/m}^2$, u rasponu od 17,9 do 33,9 (Tablica 5.1).

Tablica 5. 1 Antropometrijska obilježja ispitanika

	Medijan (interkvartilni raspon)	Minimum – maksimum
Dob [godina]	47 (33 – 58)	22 – 74
Tjelesna visina [cm]	165 (160 – 170)	147 - 184
Tjelesna masa [kg]	67 (54,5 – 71)	50 – 92
Indeks tjelesne mase [kg/m^2]	24,4 (20,25 – 26,95)	17,9 – 33,9

S obzirom na vrijednosti indeksa tjelesne mase 5 (14 %) ispitanika je pothranjeno, 16 (42 %) je normalne uhranjenosti, 11 (30 %) ispitanika je prekomjerne mase, a pretilo je 5 (14 %) ispitanica (Slika 5.1).



Slika 5.1. Raspodjela ispitanika prema indeksu tjelesne mase prikazano u postotcima

S obzirom na zanimanje, najviše ispitanica, njih 6 (16 %) su domaćice, po 3 (8 %) ispitanika su profesori ili radnici, po 2 (5 %) ispitanika su agronomi, ekonomisti ili trgovci, a po jedan (3 %) ispitanik je bravar, ekonomski tehničar, frizer, inženjer računarstva, student, knjigovođa, knjižničar, kozmetičarka, kuharica, medicinska sestra, policajac, slastičar, sobarica, stolar, stomatolog, suradnik u razrednoj nastavi, učitelj i ugostitelj.

Svi ispitanici imaju dnevnu fizičku aktivnost duže od 30 minuta, a u trenutku ispitivanja vježbalo ih je 10 (27 %), jedan ispitanik jednom tjedno, a po 3/10 ispitanika dva, tri, četiri i više puta tjedno. U prošlosti je vježbalo 20 (54 %) ispitanika (Tablica 5.2).

Tablica 5. 2. Raspodjela ispitanika prema fizičkoj aktivnosti i navici vježbanja

	Broj (%) ispitanika
Imaju dnevnu fizičku aktivnost duže od 30 minuta	37 (100)
Vježbaju	10 (27)
Koliko vježbaju	
1 puta tjedno	1/10
2 puta tjedno	3/10
3 puta tjedno	3/10
4 i više puta tjedno	3/10
Vježbali su u prošlosti	20 (54)

Mliječne proizvode redovito konzumira 22 (60 %) ispitanika, njih 21 (57 %) do 0,25 L/dan, a 35 (95 %) ispitanika do 0,5 kg sira i jogurta tjedno. Alkohol redovito (više od dvije čaše alkoholnoga pića na dan) ne konzumira niti jedan ispitanik (Tablica 5.3).

Tablica 5. 3. Konzumiranje mlijeka, mliječnih proizvoda i alkohola

	Broj (%) ispitanica
Redovito konzumira mliječne proizvode	22 (60)
Koliko mlijeka konzumiraju dnevno	
do 0,25 L	21 (57)
0,25 – 0,5 L	12 (32)
0,5 – 1 L	3 (8)
više od 1 L	1 (3)
Koliko sira i jogurta konzumiraju tjedno	
do 0,5 kg	35 (95)
0,5 kg i više	2 (5)
Ne piju redovito alkohol (više od 2 čaše alkoholnoga pića na dan)	37 (100)

Medijan dobi kod prve menstruacije je 13 godina, u rasponu od 10 do 18 godina. Medijan dobi kod menopauze je 50 godina, u rasponu od 29 do 55 godina. Regularne cikluse imale su 33 (89 %) žene, a u menopauzi prije 45. godine bile su 2 (5 %) ispitanice. Histerektomiju nije imala niti jedna ispitanica, a adneksetomiju je imala jedna, i to u dobi od 33 godine (Tablica 5.4).

Tablica 5.4. Regularnost menstruacijskih ciklusa, dob kod menopauze, stanje po histerektomiji i adnektomiji

Dob kod prve menstruacije [godina]	13 (12 – 15)
Regularni ciklusi [n (%)]	33 (89)
Menopauza prije 45. godine [n (%)]	2 (5)
Dob kod menopauze [Medijan (interkvartilni raspon)]	50 (48 – 52)
Histerektomija [n (%)]	-
Odstranjeni jajnici [n (%)] (u dobi od 33 godine)	1 (3)

5.2. Serumske koncentracije FT4, FT3, TSH-a, antiTSH-R-a u ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja

Kod svih ispitanika postoji značajna razlika u koncentracijama FT4, FT3, TSH-a i antiTSH-R-a između početnoga mjerenja u hipertireoidnom stanju i kontrolnoga mjerenja u eutireoidnom stanju (Tablica 5.5).

Tablica 5. 5. Razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D na početnom i kontrolnom mjerenju

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95% raspon pouzdanosti)	P*
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje		
FT4 pmol/L	31,85(29,27 – 39,41)	11,45 (10,73 - 12,76)	-21,9 (-24,2 do -19,2)	< 0,001
FT3 pmol/L	16,3 (12,72 – 26,85)	3,98 (3,61 – 4,47)	-15,3 (-19,7 do -11,2)	< 0,001
TSH mIU/L	0,01 (0,01 - 0,01)	1,76 (1,06 - 3,02)	1,99 (1,47 do 2,68)	< 0,001
AntiTSH-R U/L	8,7 (4,15 - 13,45)	1,1 (0,45 - 2,4)	-8,25 (-10,25 do -5,2)	< 0,001
Vitamin D ug/L	22,2 (18,3 – 31,2)	22,5 (15,9 – 25,7)	-2,5 (-6,6 do 1,4)	0,19

*Wilcoxon test; FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

Dodatno smo ispitanike podijelili prema spolu. Rezultati pokazuju da kod četiri ispitanika muškoga spola nije dobivena značajna razlika između početnoga i kontrolnoga mjerenja u razinama FT4, FT3, TSH-a i antiTSH-R-a, dok kod ispitanica postoji značajna razlika između navedenih parametara (Tablice 5.6).

Tablica 5.6. Razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D na početnom i kontrolnom mjerenju prema spolu

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95% raspon pouzdanosti)	P*
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje		
Muškarci (n=4)				
FT4 pmol/L	30,7 (28,3 – 34,2)	9,16 (8,5 – 11,6)	-21,2	0,07
FT3 pmol/L	15,4 (12,9 – 17,3)	3,79 (3,02 – 4,5)	-11,8	0,07
TSH mIU/L	0,01	2,39 (2,1 – 4,2)	2,45	0,07
AntiTSH-R U/L	4,95 (3,45 – 6,4)	0,90 (0,55 – 1,45)	-3,93	0,07
Vitamin D ug/L	14,5 (n=2)	22,5 (n=2)	-	-
Žene (n=33)				
FT4 pmol/L	31,9 (29,3 – 39,4)	11,5 (10,7 – 12,8)	-21,9 (-24,2 do -19,2)	< 0,001
FT3 pmol/L	16,3 (12,7 – 26,8)	3,98 (3,6 – 4,5)	-15,3 (-19,7 do -11,2)	< 0,001
TSH mIU/L	0,01 (0,01 - 0,01)	1,76 (1,01 – 3,02)	1,99 (1,47 do 2,68)	< 0,001
AntiTSH-R U/L	8,7 (4,67 – 13,6)	1,1 (0,4 – 2,55)	-7,3 (-10,3 do -5,2)	< 0,001
Vitamin D ug/L	22,2 (18,3 – 31,2)	22,5 (15,9 – 25,7)	-2,5 (-6,6 do 1,4)	0,19

*Wilcoxon test; FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

Ispitanicima koji su prije uvođenja tireostatskih lijekova imali deficit vitamina D uveden je suplement vitamina D. Zbog toga smo ispitanike dodatno podijelili u dvije skupine, na one koji su zbog deficita uzimali preparate vitamina D i one kojima je vitamin D na početnom mjerenju

bio unutar referentnoga raspona. U obje skupine dobivena je značajna razlika u izmjerenim razinama FT4, FT3, TSH-a i antiTSH-R-a između početnoga i kontrolnog mjerenja (Tablica 5.7).

Tablica 5.7. Razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D na početnom i kontrolnom mjerenju u ispitanika kojima je i kojima nije uveden vitamin D

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95% raspon pouzdanosti)	P*
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje		
Uveden vitamin D (n=20)				
FT4 pmol/L	32,4 (30,1 – 37,4)	11,01 (9,91 – 12,51)	-22,8 (-25,5 do -19,9)	< 0,001
FT3 pmol/L	16,6 (13,9 – 22,6)	3,9 (3,2 – 4,4)	-13,6 (-17,8 do -10,8)	< 0,001
TSH mIU/L	0,01 (0,01 - 0,01)	2,33 (1,64 – 3,57)	2,5 (1,83 – 3,82)	< 0,001
AntiTSH-R U/L	7,75 (4,5 – 12,4)	1,3 (0,4 – 2,7)	-6,18 (-10,2 do -3,8)	0,002
Vitamin D ug/L (n=10)	18 (10,9 – 18,3)	17,4 (12,3 – 23,8)	2,8 (-5,7 do 8,2)	0,51
Nije uveden vitamin D (n=17)				
FT4 pmol/L	29,8 (26,2 – 40,3)	11,9 (11,3 – 12,9)	-20,3 (-24,3 do -15,9)	< 0,001
FT3 pmol/L	14,9 (12,02 – 30,7)	4,14 (3,76 – 4,55)	-16,4 (-22,4 do -8,9)	< 0,001
TSH mIU/L	0,01 (0,01 - 0,01)	1,50 (0,79 – 2,23)	1,57 (1,05 do 2,57)	< 0,001
AntiTSH-R U/L	8,7 (4,2 – 13,5)	0,7 (0,6 – 2,35)	-7,7 (-13,1 do -4,5)	0,001
Vitamin D ug/L (n=12)	27,6 (24 – 34,8)	24,7 (22 – 28,1)	-4,5 (-9,3 do 0,45)	0,06

*Wilcoxon test; FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

Usporedbom razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D izmjerenih na početnom i kontrolnom mjerenju nisu dobivene značajne razlike između ispitanika muškoga i ispitanika ženskoga spola. Usporedbom istih parametara između skupine ispitanika u kojih je na početnom mjerenju utvrđen deficit vitamina D, zbog čega su uzimali suplement, i skupine

ispitanika koji su na početnom mjerenju imali normalnu koncentraciju vitamina D otkrivena je značajna razlika samo u koncentraciji TSH-a (Tablica 5.8).

Tablica 5.8. Usporedba hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i vitamina D na početnom i kontrolnom mjerenju između skupina ispitanika podijeljenih po spolu i suplementaciji vitaminom D

	P* vrijednost na početnom mjerenju		P* vrijednost na kontrolnom mjerenju	
	Razlike Po spolu	Razlike po uzimanju D vit (prije Th)	Razlike Po spolu	Razlike po uzimanju D vit (prije Th)
FT4 pmol/L	0,52	0,90	0,14	0,08
FT3 pmol/L	0,51	0,86	0,62	0,13
TSH mIU/L	>0,99	>0,99	0,19	0,04
AntiTSH-R U/L	0,14	0,79	0,76	0,75
Vitamin D ug/L	0,05	-	0,87	-

*Mann Whitney U test; FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

5.3. Razina biokemijskih biljega koštane pregradnje u ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja

Nakon analize svih ispitanika postoji značajna razlika u razinama biljega koštane pregradnje β -CTX-a, OC-a i DPD-a, kao i Wnt inhibitora sklerostina i DKK1 između početnoga i kontrolnog mjerenja. Razine β -CTX-a, OC-a i DPD-a na početnom mjerenju su povišene, a na kontrolnom mjerenju se snižavaju. Razine sklerostina su na početnom mjerenju više, a na kontrolnom mjerenju se snižavaju. Za DKK1 je suprotna situacija, odnosno na početnom mjerenju razine su niže, dok su na kontrolnom mjerenju koncentracije u porastu (Tablica 5.9).

Tablica 5.9. Razine biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na početnom i kontrolnom mjerenju

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95% raspon pouzdanosti)	P*
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje		
β -CTX ng/ml	1,21 (0,79 - 1,7)	0,37 (0,24 - 0,51)	-0,89 (-1,11 do -0,67)	< 0,001
OC ng/ml	58,5 (47,5 – 87,5)	26 (20,5 – 35,5)	-35,3 (-45 do -25,5)	< 0,001
DPD nmol	19,35 (12,3 – 25,5)	4,05 (3 – 4,95)	-14,9 (-18,5 do -11,6)	< 0,001
Sklerostin pg/mL	134,68 (30,3 – 306,9)	65,82 (27,7 – 177,7)	-34,3 (-86,7 do -6,5)	< 0,001
Dickkopf pg/mL	¹ 0,403 (0,265 – 0,595)	0,604 (0,410 – 0,889)	0,181 (0,036 do 0,321)	0,01

*Wilcoxon test; β -CTX - beta-CrossLaps; OC – osteokalcin; DPD - deoksimiridinolin

Kada se rezultati analiziraju prema spolu, vidi se da kod ispitanika muškoga spola dolazi do promjene razina β -CTX-a, OC-a, DPD-a, sklerostina i DKK1, iako nije dobivena statistički značajna razlika između početnoga i kontrolnog mjerenja, dok je kod ispitanica ženskoga spola nađena značajna razlika u razinama β -CTX-a, OC-a, DPD-a, sklerostina i DKK1 između početnoga i kontrolnog mjerenja (Tablica 5.10).

Analizom razina istih biljega na početnom i kontrolnom mjerenju u skupini ispitanika kojima nije uveden vitamin D i skupini ispitanika kojima je uveden vitamin D, postojala je značajna razlika u izmjerenim razinama β -CTX-a, OC-a i DPD-a između početnoga i kontrolnog mjerenja u obje skupine, dok se rezultati sklerostina i DKK1 razlikuju između skupina. U skupini ispitanika koji nisu imali deficit vitamina D, dobivena je značajna razlika u razini sklerostina, ali ne i DKK1. Različit rezultat dobiven je u skupini ispitanika kojima je uveden vitamin D, u kojoj je dobivena značajna razlika u razini DKK1, ali ne i sklerostina (Tablica 5.10).

Tablica 5.10. Razine biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na početnom i kontrolnom mjerenju prema spolu i u ispitanika kojima jest i kojima nije uveden suplement vitamina D

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95% CI)	P*
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje		
Muškarci (n=4)				
β-CTX ng/ml	1,05 (0,74 – 1,46)	0,22 (0,22 – 0,32)	-0,78	0,07
OC ng/ml	44,5 (43 – 66)	22,5 (17,5 – 30)	-28	0,07
DPD nmol	8,55 (6,6 – 10,6)	2,1 (2,05 – 2,1)	-6,5	0,07
Sklerostin pg/mL	85,3 (29,6 – 245,6)	110,6 (25,2 – 59090,1)	-3,05	0,72
Dickkopf ¹ pg/mL	0,28 (0,14 – 0,38)	0,14 (0,08 – 0,201)	-0,12	0,07
Žene (n=33)				
β-CTX ng/ml	1,21 (0,81 – 1,73)	0,37 (0,24 – 0,51)	0,89 (-1,11 do -0,66)	< 0,001
OC ng/ml	58,5 (47,5 – 87,5)	26 (20,5 – 35,5)	-35,3 (-45 do -25,5)	< 0,001
DPD nmol	19,4 (12,3 – 25,5)	4,05 (3 – 4,95)	-14,9 (-18,5 do -11,6)	< 0,001
Sklerostin pg/mL	134,7 (30,3 – 306,9)	65,8 (27,7 – 161,1)	-39,8 (-96,3 do -9,1)	< 0,001
DKK1 pg/mL	0,40 (0,26 – 0,59)	0,60 (0,41 – 0,89)	0,18 (0,04 – 0,32)	0,01
Uveden vitamin D (n=20)				
β-CTX ng/ml	1,16 (0,79 – 1,64)	0,38 (0,23 – 0,50)	-0,82 (-1,02 do -0,54)	< 0,001
OC ng/ml	51 (44,3 – 83,5)	28 (21,3 – 36,8)	-28,8 (-43,5 do -21,5)	< 0,001
DPD nmol	16,7 (10,5 – 21,2)	3,6 (2,3 – 4,7)	-12,6 (-16,6 do -8,9)	< 0,001
Sklerostin pg/mL	202,5 (41,4 – 329,3)	128,8 (31,4 – 184,9)	-71,8 (-116,9 do -19,5)	0,002
Dickkopf ¹ pg/mL	0,38 (0,22 – 0,57)	0,42 (0,16 – 0,71)	-0,01 (-0,12 do 0,16)	0,94
Nije uveden vitamin D (n=17)				
β-CTX ng/ml	1,25 (0,85 – 1,81)	0,32 (0,17 – 0,51)	-0,98 (-1,40 do -0,63)	< 0,001
OC ng/ml	61 (46,3 – 85,8)	25 (19,3 – 30)	-38,5 (-56 do -26)	< 0,001
DPD nmol	19,9 (12,3 – 27,6)	4,05 (3 – 5,1)	-15,4 (-21,1 do -8,65)	0,001
Sklerostin pg/mL	32,3 (28,6 – 210,6)	32,3 (24,5 – 120,6)	-4,1 (-57,8 do 2,5)	0,16
Dickkopf ¹ pg/mL	0,39 (0,28 – 0,59)	0,66 (0,55 – 1,04)	0,32 (0,09 – 0,55)	0,01

*Wilcoxon test; β-CTX - beta-CrossLaps; OC – osteokalcin; DPD - deoksipiridinolin

Uspoređene su razine biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora između muškoga i ženskog spola i između onih koji su uzimali i koji nisu uzimali suplement vitamina D i to je učinjeno s rezultatima dobivenim na početnom i na kontrolnom mjerenju.

Usporedbom razina β -CTX-a, OC-a i sklerostina izmjerenih na početnom i kontrolnom mjerenju nisu dobivene značajne razlike između ispitanika muškoga i ispitanika ženskog spola. Značajne razlike na oba mjerenja dobivene su jedino za DPD, dok je za DKK1 značajna razlika dobivena samo na kontrolnom mjerenju. Usporedbom istih parametara između skupine ispitanika u kojih je na početnom mjerenju utvrđen deficit vitamina D, zbog čega su uzimali suplement, i skupine ispitanika koji su imali normalnu koncentraciju vitamina D nađena je značajna razlika samo u koncentraciji DKK1 na kontrolnom mjerenju, dok u ostalim ispitivanim parametrima nije nađena značajna razlika (Tablica 5.11).

Tablica 5.11. Usporedba koncentracija biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na početnom i kontrolnom mjerenju prema spolu i suplementaciji vitaminom D

	P* vrijednost prije terapije		P* vrijednost poslije terapije	
	Razlike po spolu	Razlike po uzimanju D vit (početno mjerenje)	Razlike Po spolu	Razlike po uzimanju D vit (početno mjerenje)
β -CTX ng/ml	0,48	0,61	0,13	0,28
OC ng/ml	0,32	0,59	0,37	0,36
DPD nmol	0,006	0,17	0,003	0,25
Sklerostin pg/mL	0,75	0,05	0,75	0,82
Dickkopf ¹ pg/mL	0,26	0,78	0,007	0,03

*Mann Whitney U test; β -CTX - beta-CrossLaps; OC – osteokalcin; DPD - deoksipiridinolin

5.4. Mineralna gustoća kosti u ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja

Na početnom i kontrolnom mjerenju ispitanicima je denzitometrijom mjerena koštana gustoća u području lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti. Kod svih ispitanika postoji značajna razlika u T-vrijednosti lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti kao i u BMD-u lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti između početnoga i kontrolnog mjerenja (Tablica 5.12).

Tablica 5.12. T-vrijednosti i BMD lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti na početnom i kontrolnom mjerenju

Svi ispitanici	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95% pouzdanosti) raspon	P*
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje		
T-vrijednost L1 – L4	-1,3 (-1,9 do 0,3)	-0,7 (-1,4 do 0,7)	0,4 (0,2 do 0,65)	0,001
T-vrijednost kuka	-0,6 (-1,3 do -0,10)	-0,3 (-1,025 do 1,25)	0,5 (0,3 do 0,7)	< 0,001
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,7 (-1,63 do 0,23)	-0,4 (-1,03 do 0,425)	0,35 (0,2 do 0,5)	< 0,001
BMD L1 – L4	1,016 (0,946 do 1,21)	1,095 (1,01 do 1,27)	0,067 (0,04 do 0,105)	< 0,001
BMD kuka	0,915 (0,84 do 0,963)	0,963 (0,879 do 1,148)	0,079 (0,049 do 0,115)	< 0,001
BMD vrata bedrene kosti	0,894 (0,78 do 0,946)	0,935 (0,852 do 1,032)	0,062 (0,036 do 0,089)	< 0,001

*Wilcoxon test; BMD – mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*)

Kada se nalaz denzitometrijskoga mjerenja analizira prema spolu, vidi se da kod muškoga spola nema značajne razlike niti u T-vrijednosti, niti BMD-u kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti. Kod ženskoga spola postoji značajna razlika i u T-vrijednosti i BMD-u lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti (Tablice 5.13).

Tablica 5.13. T-vrijednosti i BMD lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti prema spolu na početnom i kontrolnom mjerenju

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95% pouzdanosti) raspon	P*
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje		
Muškarci				
T-vrijednost L1 – L4	0,15 (-0,7 do 1,1)	0,55 (-0,05 do 0,95)	0,25	0,47
T-vrijednost kuka	-0,15 (-1,45 – 0,45)	-0,1 (-1,05 – 0,3)	0,08	-
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,5 (-2 - 0,65)	-0,65 (-1,95 – 0,2)	-0,175	0,47
BMD L1 – L4	1,24 (1,14 – 1,36)	1,26 (1,19 – 1,29)	-0,01	> 0,99
BMD kuka	1,07 (0,91 – 1,15)	1,08 (0,95 – 1,11)	0,006	0,72
BMD vrata bedrene kosti	1,01 (0,81 – 1,16)	0,97 (0,82 – 1,03)	-0,024	0,47
Žene				
T-vrijednost L1 – L4	-1,3 (-1,9 do 0,3)	-0,7 (-1,4 do 0,7)	0,4 (0,2 do 0,65)	0,001
T-vrijednost kuka	-0,6 (-1,3 do -0,1)	-0,3 (-1,03 do 1,25)	0,5 (0,3 do 0,7)	< 0,001
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,7 (-1,63 – 0,23)	-0,4 (-1,03 – 0,43)	0,35 (0,2 do 0,5)	< 0,001
BMD L1 – L4	1,02 (0,95 – 1,21)	1,09 (1,01 – 1,27)	0,07 (0,04 – 0,11)	< 0,001
BMD kuka	0,92 (0,84 – 0,96)	0,96 (0,88 – 1,15)	0,08 (0,05 – 0,12)	< 0,001
BMD vrata bedrene kosti	0,89 (0,78 – 0,95)	0,94 (0,85 – 1,03)	0,06 (0,04 – 0,09)	< 0,001

*Wilcoxon test; BMD – mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*)

Nalaz denzitometrijskoga mjerenja analiziran je zasebno u ispitanika kojima je zbog deficita uveden suplement vitamina D i u ispitanika koji su imali normalnu koncentraciju vitamina D. U obje skupine ispitanika nađena je značajna razlika u T-vrijednosti i BMD-u lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti između početnoga i kontrolnog mjerenja (Tablice 5.14).

Tablica 5.14. T-vrijednosti i BMD lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti na početnom i kontrolnom mjerenju kod ispitanika kojima je uveden i kojima nije uveden vitamin D

	Medijan (interkvartilni raspon)		Razlika (95% pouzdanosti)	raspon	P*
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje			
Uveden vitamin D					
T-vrijednost L1 – L4	-1,15 (-1,8 do 0,5)	-0,3 (-1,1 do 0,65)	-0,5 (0,25 – 0,85)		0,001
T-vrijednost kuka	-0,6 (-1,65 do -0,15)	-0,4 (-0,95 do 0,3)	0,35 (0,1 do 0,65)		0,006
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,9 (-1,65 do -0,15)	-0,55 (-1,05 do 0)	0,3 (0,05 do 0,55)		0,02
BMD L1 – L4	1,05 (0,97 – 1,24)	1,13 (1,05 – 1,27)	0,06 (0,03 – 0,096)		0,006
BMD kuka	0,93 (0,80 – 1,02)	0,96 (0,88 – 1,09)	0,05 (0,02 – 0,09)		0,005
BMD vrata bedrene kosti	0,88 (0,78 – 0,95)	0,93 (0,85 – 1,01)	0,04 (0,009 – 0,078)		0,02
Nije uveden vitamin D					
T-vrijednost L1 – L4	-1,1 (-1,85 – 0,23)	-1,1 (-1,5 – 0,75)	0,25 (-0,1 do 0,65)		0,11
T-vrijednost kuka	-0,6 (-1,3 do 0,58)	0 (-1,08 do 1,45)	0,50 (0,25 do 0,9)		0,003
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,6 (-1,55 – 0,35)	0 (-1,13 – 0,68)	0,30 (0 do 0,55)		0,02
BMD L1 – L4	1,04 (0,94 – 1,17)	1,09 (1,004 – 1,309)	0,071 (0,016 – 0,143)		0,01
BMD kuka	0,92 (0,85 – 0,97)	1,0 (0,87 – 1,17)	0,09 (0,05 – 0,14)		0,001
BMD vrata bedrene kosti	0,91 (0,78 – 1,01)	0,98 (0,85 – 1,06)	0,07 (0,02 – 0,11)		0,01

*Wilcoxon test; BMD – mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*)

1994. Svjetska zdravstvena organizacija definirala je kriterije za T-vrijednosti na temelju kojih se nalaz denzitometrijskoga mjerenja označava kao uredan, kao osteopenija ili kao osteoporozu. Urednu koštanu gustoću označuje T-vrijednost između +1 i -1, osteopeniju između -1 i -2,5, a osteoporozu T-vrijednost jednaka ili manja od -2.5.

Prema T-vrijednosti kralježnice, na početnom mjerenju uredan nalaz imalo je 16 (43%) ispitanika, osteopenija je bila prisutna kod 20 (54%) ispitanika, a samo je jedna ispitanica imala osteoporozu. Na kontrolnom mjerenju uredan nalaz kralježnice imalo je 25 (67%) ispitanika, osteopenija je bila prisutna kod 11 (30%) ispitanika, a osteoporozu je imala jedna ispitanica. Analiza rezultata pokazuje da je došlo do značajnoga poboljšanja koštane gustoće lumbalne kralježnice na kontrolnom mjerenju (Tablica 5.15).

Tablica 5.15. Gustoća kosti lumbalne kralježnice prema T-vrijednosti na početnom i kontrolnom mjerenju

Slabinska kralježnica	Broj (%) ispitanika početno mjerenje				P*	
	Uredan nalaz	Osteopenija	Osteoporozu	Ukupno		
Uredan nalaz	15	10	0	25 (67)	0,007	
Kontrolno mjerenje	Osteopenija	1	10	0		11 (30)
	Osteoporozu	0	0	1		1 (3)
	Ukupno	16 (43)	20 (54)	1 (3)		37 (100)

*McNemar-Bowkerov test

Prema T-vrijednosti kuka, na početnom mjerenju uredan nalaz imalo je 24 (65%) ispitanika, osteopenija je bila prisutna kod 12 (32%) ispitanika, a osteoporozu nije imao niti jedan ispitanik. Na kontrolnom mjerenju uredan nalaz kuka imalo je 27 (73%) ispitanika, osteopenija je bila prisutna kod 10 (27%) ispitanika, a osteoporozu nije imao ni jedan ispitanik. Analiza rezultata pokazuje da u području kuka postoji razlika u koštanoj gustoći između početnoga i kontrolnog mjerenja, ali nije statistički značajna (Tablica 5.16).

Tablica 5.16. Gustoća kosti kuka prema T-vrijednosti na početnom i kontrolnom mjerenju

Kuk	Broj (%) ispitanika početno mjerenje				P*	
	Uredan nalaz	Osteopenija	Osteoporozu	Ukupno		
Uredan nalaz	23	4	0	27 (73)	0,10	
Kontrolno mjerenje	Osteopenija	1	8	1		10 (27)
	Osteoporozu	0	0	0		0
	Ukupno	24 (65)	12 (32)	1 (3)		37 (100)

*Test marginalne homogenosti

Na kontrolnom su mjerenju prema denzitometrijskom nalazu lumbalne kralježnice ispitanici podijeljeni u dvije skupine:

jednu skupinu činili su ispitanici koji su imali normalnu koštanu gustoću, a drugu skupinu ispitanici koji su imali smanjenu gustoću kosti.

Između te dvije skupine ispitanika nije bilo značajne razlike u dobi niti ITM-u.

Također, nije bilo značajne razlike u razinama hormona štitnjače (niti FT4 niti FT3), antiTSH-R-a, vitamina D, OC-a, DPD-a, sklerostina i DKK1. Između navedenih skupina izmjerena je jedino značajna razlika u koncentraciji β -CTX-a prisutna i na početnom i na kontrolnom mjerenju (Tablice 5.17).

Tablica 5.17. Usporedba FT4, FT3, TSH-a, antiTSH-R-a, vitamina D, biljega koštane pregradnje i inhibitora Wnt puta na početnom i kontrolnom mjerenju između ispitanika s urednom i sa smanjenom gustoćom kosti lumbalne kralježnice izmjerenima na kontrolnom mjerenju

	Medijan (interkvartilni raspon) prema nalazu kralježnice na kontrolnom mjerenju		Razlika (95% raspon pouzdanosti)	P*
	Uredan nalaz (n=25)	Osteopenija/ osteoporoza (n=12)		
Dob	40 (32 - 53,5)	54 (34,8 - 60,3)	7 (-4 do 19)	0,21
ITM	24,7 (20,25 - 26,2)	23,4 (19,2 - 27,8)	-0,1 (-3,8 do 3,4)	0,92
Početno mjerenje				
FT4 pmol/L	33,87 (29,77 - 40,44)	30 (26,4 - 34,9)	-3,45 (-8,04 do 0,63)	0,09
FT3 pmol/L	17,24 (14,69 - 27,33)	13,6 (10,9 - 21,9)	-3,19 (-8,1 do 1,52)	0,14
TSH mIU/L	0,01 (0,01 - 0,01)	0,01 (0,01 - 0,01)	-	-
AntiTSH-R U/L	9,2 (4,4 - 13,8)	6,1 (3 - 10,1)	-2,55 (-6,9 do 1,3)	0,17
Vitamin D ug/L	19,1 (14,8 - 25,95)	20 (12,7 - 29)	0,4 (-7,1 do 7,4)	0,86
β-CTX ng/ml	0,93 (0,74 - 1,58)	1,6 (1,2 - 1,9)	0,42 (0,034 – 0,806)	0,03
OC ng/ml	50 (41 - 89,5)	60 (54 - 84)	10 (-10 do 23)	0,22
DPD nmol	17,8 (10,55 - 25,55)	18,8 (12 - 25,7)	1,2 (-5,5 do 9,1)	0,67
Sklerostin pg/mL	100,7 (29,4 - 306,9)	165,5 (31,3 - 303,7)	0 (-103,7 do 139,4)	0,97
Dickkopf 1 pg/mL	0,4 (0,3 - 0,5)	0,4 (0,2 - 0,8)	0,011 (-0,18 do 0,268)	0,97
Kontrolno mjerenje				
FT4 pmol/L	11,5 (10,4 - 12,9)	11,2 (10,4 - 12,8)	-0,175 (-1,31 do 1,31)	0,73
FT3 pmol/L	3,9 (3,4 - 4,5)	4,2 (3,6 - 4,5)	0,08 (-0,34 do 0,51)	0,72
TSH mIU/L	1,9 (1,2 - 2,9)	1,9 (0,8 - 3,8)	0,02 (-0,98 do 1,16)	0,97
AntiTSH-R U/L	0,7 (0,5 - 1,8)	1,8 (0,4 - 5,2)	0,6 (-0,2 do 2,5)	0,23
Vitamin D ug/L	22,2 (18,7 - 24,8)	25,4 (15,8 - 30,6)	4,4 (-6,6 do 11,9)	0,38
β-CTX ng/ml	0,3 (0,2 - 0,4)	0,5 (0,4 - 0,6)	0,18 (0,028 do 0,303)	0,03
OC ng/ml	25 (18,5 - 35)	28,5 (22,5 - 39,3)	4 (-3 do 10)	0,26
DPD ng/ml	3,6 (2,7 - 5)	4,3 (3 - 4,9)	0,5 (-0,6 do 1,4)	0,36
Sklerostin pg/mL	34,1 (28,01 – 181,3)	74,8 (26,6 – 166,6)	-0,66 (-83,2 do 54,9)	0,89
Dickkopf 1 pg/mL	0,6 (0,2 - 0,7)	0,7 (0,2 - 1,1)	0,12 (-0,196 do 0,49)	0,28

*Mann Whitney U test; FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH; β-CTX - beta-CrossLaps; OC – osteokalcin; DPD - deoksiipiridinolin

Kada ispitanike s obzirom na denzitometrijski nalaz kuka izmjeren na kontrolnom mjerenju podijelimo u dvije skupine, odnosno

- u skupinu s urednim nalazom gustoće kosti i
- u skupinu sa smanjenom koštanom gustoćom,

značajna razlika između navedenih skupina dobivena je za ITM, ali nije za dob. Također, između dvije skupine ispitanika nije dobivena značajna razlika u razinama hormona štitnjače, antiTSH-R-a, vitamina D, β -CTX-a, OC-a, DPD-a, sklerostina niti DKK1 (Tablice 5.18).

Tablica 5.18. Usporedba razina hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a, vitamina D, biljega koštane pregradnje i inhibitora Wnt puta određenih na početnom i kontrolnom mjerenju između ispitanika s urednom i sa smanjenom gustoćom kosti kuka izmjerenoj na kontrolnom mjerenju

	Medijan (interkvartilni raspon) prema nalazu kuka na kontrolnom mjerenju		Razlika (95% pouzdanosti)	raspon	P*
	Uredan nalaz	Osteopenija			
Dob	45 (33 - 54)	55 (31,8 - 61,3)	5 (-7 do 18)		0,32
ITM	24,8 (22,3 - 28)	19,8 (18 - 25,6)	-4 (-7,2 do -0,5)		0,03
Početno mjerenje					
FT4 pmol/L	31,27 (28,19 - 40,07)	31,7 (29,7 - 37,3)	0,06 (-5,2 do 4,4)		0,99
FT3 pmol/L	16,64 (11,85 - 24,83)	15,1 (13,1 - 33,9)	0,61 (-4,58 do 7,17)		0,77
TSH mIU/L	0 (0 - 0)	0 (0 - 0)	-		> 0,99
AntiTSH-R mIU/L	8,7 (4 - 13,5)	6,8 (4,2 - 14,3)	-0,85 (-5,1 do 3,7)		0,75
Vitamin D ug/L	19,1 (14,2 - 25,3)	19,7 (14,9 - 31,1)	0,6 (-6,4 do 8,7)		0,83
β-CTX ng/ml	1,03 (0,77 - 1,6)	1,5 (1,1 - 2)	0,367 (-0,1 do 0,801)		0,13
OC ng/ml	50,5 (43,5 - 80,5)	60,5 (55,8 - 90,5)	11 (-5 do 32)		0,19
DPD nmol	17 (11,9 - 26,1)	20,4 (9,7 - 25)	0,85 (-7 do 8,4)		0,93
Sklerostin pg/mL	45,04 (30,2 - 250,7)	260,5 (34,1 - 306,9)	110,7 (-7,03 do 265,6)		0,19
Dickkopf ¹ pg/mL	0,4 (0,3 - 0,5)	0,6 (0,2 - 1,1)	0,176 (-0,07 do 0,54)		0,17
Kontrolno mjerenje					
FT4 pmol/L	11,5 (10,3 - 13)	11 (10,5 - 12,3)	-0,44 (-1,74 do 0,89)		0,51
FT3 pmol/L	3,9 (3,6 - 4,5)	4,2 (3,2 - 4,5)	-0,02 (-0,5 do 0,47)		0,99
TSH mIU/L	1,8 (1 - 3,2)	2 (1,1 - 3,1)	0,136 (-0,96 do 1,07)		0,78
AntiTSH-R U/L	0,7 (0,4 - 2,1)	1,6 (1 - 3,4)	0,8 (-0,2 do 2)		0,09
Vitamin D ug/L	23,3 (18,1 - 26,4)	19 (7,5 - 24,6)	-4,2 (-)		0,34
β-CTX ng/ml	0,3 (0,2 - 0,5)	0,4 (0,3 - 0,5)	0,02 (-0,135 do 0,153)		0,80
OC ng/ml	25 (17 - 35)	28 (24,8 - 35,5)	5 (-2 do 10)		0,17
DPD nmol	4,1 (2,8 - 4,9)	3,6 (2,7 - 5,1)	-0,1 (-1,2 do 1)		0,88
Sklerostin pg/mL	33,6 (26,4 - 155,6)	116,9 (36,8 - 280,8)	36,7 (-12,3 do 151,4)		0,26
Dickkopf ¹ pg/mL	0,6 (0,2 - 0,7)	0,8 (0,4 - 1,3)	0,34 (-0,06 do 0,654)		0,11

*Mann Whitney U test; FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH; β-CTX - beta-CrossLaps; OC – osteokalcin; DPD - deoksipiridinolin

Uspoređene su razine hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i rezultata denzitometrijskoga mjerenja lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti s biljezima koštane pregradnje OC-om, DPD-om i β -CTX-om te Wnt inhibitorima sklerostinom i DKK1 određenim na početnom i kontrolnom mjerenju.

Na početnom mjerenju pozitivna povezanost dobivena je između oba hormona štitnjače (FT4 i FT3) i sva tri biljega koštane pregradnje, odnosno OC-om, DPD-om i β -CTX-om.

Usporedbom antiTSH-R-a s biljezima koštane pregradnje, pozitivna povezanost dobivena je između antiTSH-R-a i DPD-a. Negativna povezanost dobivena je između T-vrijednosti i BMD-a lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti s OC-om i β -CTX-om.

Na kontrolnom mjerenju pozitivna povezanost dobivena je između FT4 i DPD-a. Između FT3, TSH-a i antiTSH-R-a i biljega koštane pregradnje nije dobivena značajna povezanost.

Negativna povezanost dobivena je između T-vrijednosti lumbalne kralježnice i dva biljega koštane pregradnje, OC-a i β -CTX-a, dok je usporedbom BMD-a lumbalne kralježnice i usporedbom T-vrijednosti i BMD-a kuka i vrata bedrene kosti negativna povezanost dobivena samo s OC-om (Tablice 5.19).

Tablica 5.19. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a, antiTSH-R-a i rezultata DXA mjerenja, biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na početnom i kontrolnom mjerenju

Početno mjerenje	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)				
	OC	DPD	β -CTX	Sklerostin	Dickkopf 1
FT4 pmol/L	0,377 (0,02)	0,581 (<0,001)	0,360 (0,03)	0,271 (0,10)	0,208 (0,22)
FT3 pmol/L	0,355 (0,04)	0,694 (<0,001)	0,394 (0,02)	0,226 (0,19)	0,259 (0,13)
TSH mIU/L					
AntiTSH-R U/L	0,166 (0,33)	0,404 (0,01)	-0,002 (0,99)	0,138 (0,42)	0,284 (0,09)
T-vrijednost L1 – L4	-0,447 (0,006)	-0,058 (0,73)	-0,396 (0,02)	-0,158 (0,35)	-0,235 (0,16)
T-vrijednost kuka	-0,496 (0,002)	-0,106 (0,53)	-0,393 (0,02)	-0,090 (0,60)	-0,270 (0,11)
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,406 (0,01)	-0,119 (0,48)	-0,374 (0,03)	-0,262 (0,12)	-0,244 (0,15)
BMD L1 – L4	-0,407 (0,01)	-0,034 (0,84)	-0,385 (0,02)	-0,114 (0,50)	-0,300 (0,07)
BMD kuka	-0,439 (0,007)	-0,103 (0,54)	-0,391 (0,02)	-0,072 (0,67)	-0,229 (0,17)
BMD vrata bedrene kosti	-0,379 (0,02)	-0,153 (0,37)	-0,348 (0,04)	-0,193 (0,25)	-0,308 (0,06)
Kontrolno mjerenje	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost)				
	OC	DPD	β -CTX	Sklerostin	Dickkopf 1
FT4 pmol/L	0,023 (0,89)	0,478 (0,003)	0,042 (0,81)	-0,246 (0,14)	0,319 (0,05)
FT3 pmol/L	-0,064 (0,71)	0,178 (0,30)	-0,017 (0,92)	-0,034 (0,84)	0,480 (0,003)
TSH mIU/L	0,121 (0,48)	-0,325 (0,05)	0,117 (0,49)	0,136 (0,42)	-0,335 (0,04)
AntiTSH-R U/L	-0,122 (0,47)	-0,248 (0,14)	-0,111 (0,51)	0,261 (0,12)	-0,219 (0,19)
T-vrijednost L1 – L4	-0,354 (0,03)	-0,134 (0,43)	-0,445 (0,006)	0,142 (0,40)	-0,257 (0,12)
T-vrijednost kuka	-0,449 (0,002)	0,135 (0,43)	-0,239 (0,15)	-0,091 (0,59)	-0,157 (0,35)
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,484 (0,002)	0,095 (0,58)	-0,318 (0,05)	-0,143 (0,40)	-0,111 (0,51)
BMD L1 – L4	-0,290 (0,08)	-0,117 (0,5)	-0,391 (0,02)	0,025 (0,88)	-0,223 (0,18)
BMD kuka	-0,461 (0,004)	0,073 (0,67)	-0,269 (0,11)	-0,099 (0,56)	-0,197 (0,24)
BMD vrata bedrene kosti	-0,524 (0,001)	0,02 (0,91)	-0,354 (0,03)	-0,185 (0,27)	-0,179 (0,29)

FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH; BMD - mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*); β -CTX - beta-CrossLaps; OC – osteokalcin; DPD - deoksipiridinolin

5.5. Povezanost serumskih razina Wnt inhibitora sa serumskim razinama hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a u ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja

Na početnom i kontrolnom mjerenju uspoređena je razina hormona štitnjače i antiTSH-R-a sa sklerostinom pri čemu nije dobivena značajna povezanost (Tablica 5.20).

Tablica 5.20. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a sa sklerostinom na početnom i kontrolnom mjerenju

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost) sklerostina	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
FT4 pmol/L	0,271 (0,10)	-0,246 (0,14)
FT3 pmol/L	0,226 (0,19)	-0,034 (0,84)
TSH mIU/L	-	0,136 (0,42)
AntiTSH-R U/L	0,138 (0,42)	0,261 (0,12)

FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

Razina hormona štitnjače i antiTSH-R-a uspoređena je sa sklerostinom na početnom i kontrolnom mjerenju nakon učinjene kontrole za spol, dob i uzimanje suplementa vitamina D nakon čega nije dobivena značajna povezanost između navedenih parametara (Tablica 5.21).

Tablica 5.21. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a sa sklerostinom na početnom i kontrolnom mjerenju kontrolirano za spol, dob i uzimanje vitamina D

	Koeficijent parcijalne* korelacije r (P vrijednost) sklerostina	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
FT4 pmol/L	-0,028 (0,88)	-0,060 (0,74)
FT3 pmol/L	-0,019 (0,92)	0,198 (0,26)
TSH mIU/L	-	0,008 (0,97)
AntiTSH-R U/L	0,021 (0,91)	0,015 (0,93)

*kontrolirano po spolu, dobi i uzimanju vitamina D; FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

Na početnom i kontrolnom mjerenju uspoređena je razina hormona štitnjače i antiTSH-R-a s DKK1. Na kontrolnom mjerenju dobivena je pozitivna povezanost između FT3 i DKK1, a negativna povezanost između TSH-a i DKK1. Između ostalih navedenih parametara nije dobivena značajna povezanost prilikom bilo kojega mjerenja (Tablica 5.22).

Tablica 5.22. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a s DKK1 na početnom i kontrolnom mjerenju

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost) dikkopf 1	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
FT4 pmol/L	0,208 (0,22)	0,319 (0,05)
FT3 pmol/L	0,259 (0,13)	0,480 (0,003)
TSH mIU/L	-	-0,335 (0,04)
AntiTSH-R U/L	0,284 (0,09)	-0,219 (0,19)

FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

Razina hormona štitnjače i antiTSH-R-a uspoređena je s DKK1 na početnom i kontrolnom mjerenju nakon učinjene korekcije za spol, dob i uzimanje suplementa vitamina D nakon čega je dobivena pozitivna povezanost između FT3 i DKK1 na kontrolnom mjerenju, dok između ostalih navedenih parametara nije dobivena značajna povezanost prilikom bilo kojega mjerenja (Tablica 5.23).

Tablica 5.23. Povezanost hormona štitnjače, TSH-a i antiTSH-R-a s DKK1 na početnom i kontrolnom mjerenju korigirano za spol, dob i uzimanje vitamina D

	Koeficijent parcijalne* korelacije r (P vrijednost) dikkopf 1	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
FT4 pmol/L	0,249 (0,16)	0,165 (0,35)
FT3 pmol/L	0,197 (0,27)	0,453 (0,007)
TSH mIU/L	-	-0,198 (0,26)
AntiTSH-R U/L	0,246 (0,16)	-0,221 (0,21)

*kontrolirano po spolu, dobi i uzimanju vitamina D; FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

5.6. Povezanost serumskih razina Wnt inhibitora s prehranbenim i životnim navikama ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima

Upitnikom koji su ispitanici oba spola ispunili na početku istraživanja ispitalo se puše li, koliko su vremena dnevno fizički aktivni, vježbaju li, jesu li vježbali u mladosti i uzimaju li redovito mliječne proizvode. Ispitanice su dale podatke o vremenu nastupa menopauze i jesu li im menstruacijski ciklusi redoviti, odnosno jesu li bili redoviti prije nastupa menopauze. S obzirom na dobivene odgovore, ispitanici su podijeljeni u dvije skupine. Jednu skupinu činili su oni koji nisu pušili, ne vježbaju i nisu vježbali u mladosti i ne uzimaju redovito mliječne proizvode, kao i ispitanice kojima je menopauza nastupila prije 45. godine života. U toj skupini bilo je 27 ispitanika koji nisu pušili i ne vježbaju, 17 ih nije vježbalo u mladosti, a 14 neredovito konzumira mliječne proizvode. Drugu skupinu činili su ispitanici koji su pušili, vježbaju, vježbali su u mladosti i uzimaju redovito mliječne proizvode, kao i ispitanice kojima je menopauza nastupila nakon 45. godine života. U ovoj skupini bilo je deset ispitanika koji su pušili i vježbaju, 20 ih je vježbalo u mladosti, a 22 redovito konzumira mliječne proizvode. Svi ispitanici bili su tijekom dana fizički aktivni više od 30 minuta, a kod svih ispitanica menstruacijski ciklusi bili su redoviti, uključujući one koje ih imaju i koje su ih imale prije nastupa menopauze.

Usporedbom podataka između dvije skupine ispitanika nisu dobivene značajne razlike u razinama sklerostina (Tablica 5.24).

Za iste podatke u istim skupinama ispitanika analizirano je i ima li razlike u razinama DKK1. No, u ovom slučaju dobivena je značajna razlika u razini DKK1 između skupine ispitanika koji vježbaju i skupine u kojoj ispitanici nisu vježbali (Tablica 5.25).

Tablica 5.24. Razlike u razinama sklerostina na početnom mjerenju prema prehranbenim i životnim navikama ispitanika te nastupu menopauze i redovitosti menstruacijskih ciklusa ispitanica

	Medijan (interkvartilni raspon) koncentracije sklerostina na početku liječenja		Razlika (95% raspon pouzdanosti)	P*
	Ne	Da		
Pušenje (n=27/10)	37,7 (29,1 – 285,7)	206,02 (45,04 – 306,9)	48,1 (-33,9 do 202,7)	0,18
Dnevna fizička aktivnost veća od 30 minuta (n=0/37)	-	134,7 (30,4 – 306,9)	-	-
Vježbanje (n=27/10)	45,04 (28,4 – 252,5)	223,3 (34,5 – 351,6)	92,6 (-5,4 do 276,9)	0,08
Vježbanje u mladosti (n=17/20)	37,7 (29,6 – 241,7)	165,5 (31,6 – 306,9)	8,6 (-16,7 do 182,1)	0,35
Redovita konzumacija mliječnih proizvoda (n=14/22)	180,9 (30,9 – 306,9)	120,2 (30,4 – 260,9)	-5,5 (-193,0 do 63,0)	0,58
Nastup menopauze prije 45. godine (n=18/2)	202,5 (32,3 – 306,9)	28,6 (n=2)	-173,8	0,13
Redoviti menstruacijski ciklusi (n=0/37)	-	134,7 (30,4 – 306,9)	-	-

Tablica 5.25. Razlike u razinama DKK1 na početnom mjerenju prema prehrambenim i životnim navikama ispitanika i nastupu menopauze i redovitosti menstruacijskih ciklusa ispitanica

	Medijan (interkvartilni raspon) koncentracije dickkopfa 1 na početnom mjerenju obzirom na prisutne navike		Razlika (95% raspon pouzdanosti)	P*
	Ne	Da		
Pušenje (n=27/10)	0,392 (0,218 – 0,527)	0,378 (0,283 – 0,762)	0,08 (-0,13 do 0,33)	0,47
Dnevna fizička aktivnost veća od 30 minuta (n=0/37)	-	0,329 (0,241 – 0,586)	-	-
Vježbanje (n=27/10)	0,434 (0,271-0,637)	0,309 (0,05 – 0,354)	-0,22 (-0,42 do -0,07)	0,01
Vježbanje u mladosti (n=17/20)	0,404 (0,213-0,597)	0,358 (0,271-0,530)	-0,011 (-0,011 do 0,167)	0,82
Redovita konzumacija mliječnih proizvoda (n=14/22)	0,394 (0,257 – 0,648)	0,398 (0,283 – 0,468)	-0,03 (-0,232 do 0,165)	0,78
Nastup menopauze prije 45. godine (n=18/2)	0,445 (0,283 – 0,648)	0,229 (n = 2)	-	-
Redoviti menstruacijski ciklusi (n=0/37)	-	0,329 (0,241 – 0,586)	-	-

*Mann Whitney U test

Podatke iz navedenoga upitnika usporedili smo s nalazima denzitometrijskoga mjerenja dobivenim na kontrolnom ispitivanju. S obzirom na nalaz denzitometrijskoga mjerenja lumbalne kralježnice i kuka, ispitanici su podijeljeni u dvije skupine. Jednu skupinu činili su oni koji su imali normalnu koštanu gustoću, a drugu skupinu oni koji su imali smanjenu gustoću kosti. U svakoj skupini analiziralo se koliko je ispitanika pušača, koliko ih je fizički aktivno više od 30 minuta dnevno, koliko ih vježba, koliko ih je vježbalo u mladosti, koliko ih redovito uzima mliječne proizvode, kod koliko je ispitanica menopauza nastupila prije 45. godine života i koliko ispitanica ima redovite menstruacijske cikluse, odnosno imalo nastupa menopauze.

Na kontrolnom ispitivanju 25 ispitanika imalo je urednu, a 12 ispitanika smanjenu koštanu gustoću kralježnice, dok je 27 ispitanika imalo urednu, a 10 ispitanika smanjenu koštanu gustoću kuka. Pušilo je 10 ispitanika (27 %), dnevnu fizičku aktivnost duže od 30 minuta imali su svi ispitanici. Vježbalo je njih 10 (27 %), ali dvostruko više u skupini ispitanika s urednom gustoćom kralježnice. U mladosti je vježbalo 20 ispitanika (54%), također gotovo dvostruko više njih u skupini s urednom gustoćom kralježnice. Mliječne proizvode redovito je konzumiralo 22 ispitanika (61%), a gotovo trostruko više ih je u skupini s urednom gustoćom kralježnice. Kod 2 (10%) ispitanice menopauza je nastupila prije 45. godine života i obje su u skupini s urednom gustoćom kralježnice. Sve ispitanice imale su redovite menstruacijske cikluse.

No, nije nađena značajna razlika u ispitivanim navikama između skupine ispitanika s normalnom i skupine ispitanika sa smanjenom koštanom gustoćom (Tablice 5.26).

Tablica 5.26. Razlike prehrambenih i životnih navika ispitanika te nastupa menopauze i redovitosti menstruacijskih ciklusa ispitanica ovisno o DXA nalazu kralježnice i kuka izmjenom na kontrolnom mjerenju

	Broj (%) ispitanika s obzirom na nalaz			P*
	Uredan nalaz	Osteopenija/ osteoporoza	Ukupno	
Nalaz kralježnice na kontrolnom mjerenju	<i>n</i> = 25	<i>n</i> = 12	<i>n</i> = 37	
Pušači su	6 (24)	4/12	10 (27)	0,70
Imaju dnevnu fizičku aktivnost veću od 30 minuta	25 (100)	12/12	37 (100)	-
Vježbaju	7 (28)	3/12	10 (27)	>0,99
Vježbali su u mladosti	13 (52)	7/12	20 (54)	>0,99
Redovito konzumiraju mliječne proizvode	16 (67)	6/12	22 (61)	0,47
Nastup menopauze prije 45. godine	2/11 (18)	0/9	2/20 (10)	0,48
Imaju redovit menstruacijski ciklus	21 (100)	12/12	33 (100)	-
Nalaz kuka na kontrolnom mjerenju	<i>n</i> = 27	<i>n</i> = 10	<i>n</i> = 37	
Pušači su	6 (22)	4/10	10 (27)	0,41
Imaju dnevnu fizičku aktivnost duže od 30 minuta	27 (100)	10/10	37 (100)	-
Vježbaju	8 (30)	2/10	10 (27)	0,69
Vježbali su u mladosti	13 (48)	7/12	20 (54)	0,29
Redovito konzumiraju mliječne proizvode	16 (62)	6/10	22 (61)	>0,99
Nastup menopauze prije 45. godine	2/15	0/5	2/20 (10)	>0,99
Imaju redovit menstruacijski ciklus	25 (100)	9/9	33 (100)	-

*Fisherov egzaktni test

5.7. Povezanost serumskih razina Wnt inhibitora s gustoćom kosti ispitanica s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja

Na početnom i kontrolnom mjerenju razine sklerostina uspoređene su s rezultatima denzitometrijskoga mjerenja pri čemu nije dobivena značajna povezanost T-vrijednosti i BMD-a lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti s koncentracijama sklerostina (Tablica 5.27).

Tablica 5.27. Povezanost serumske razine sklerostina s T-vrijednostima i mineralnom gustoćom kosti ispitanika na početnom i kontrolnom mjerenju

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost) sklerostina	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
T-vrijednost L1 – L4	-0,158 (0,35)	0,142 (0,40)
T-vrijednost kuka	-0,090 (0,60)	-0,091 (0,59)
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,262 (0,12)	-0,143 (0,40)
BMD L1 – L4	-0,114 (0,50)	0,025 (0,88)
BMD kuka	-0,072 (0,67)	-0,099 (0,56)
BMD vrata bedrene kosti	-0,193 (0,25)	-0,185 (0,27)

BMD - mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*)

Razine sklerostina dobivene na početnom i kontrolnom ispitivanju uspoređene su s istim rezultatima denzitometrijskoga mjerenja nakon učinjene korekcije za spol, dob i uzimanje suplementa vitamina D pri čemu nije dobivena značajna povezanost T-vrijednosti i BMD-a lumbalne kralješnice, kuka i vrata bedrene kosti s koncentracijama sklerostina (Tablica 5.28).

Tablica 5.28. Povezanost serumske razine sklerostina s mineralnom gustoćom kosti ispitanika na početnom i kontrolnom mjerenju uz korekciju po spolu, dobi i uzimanje vitamina D

	Koeficijent parcijalne* korelacije r (P vrijednost) sklerostina	
	Na početku terapije	Na kontroli
T-vrijednost L1 – L4	-0,102 (0,56)	0,066 (0,71)
T-vrijednost kuka	-0,248 (0,16)	0,120 (0,50)
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,331 (0,06)	0,185 (0,29)
BMD L1 – L4	-0,100 (0,57)	-0,041 (0,82)
BMD kuka	-0,250 (0,16)	0,100 (0,57)
BMD vrata bedrene kosti	-0,319 (0,07)	0,067 (0,71)

*kontrolirano po spolu, dobi i uzimanju vitamina D; BMD - mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*)

Razine DKK1 dobivene na početnom i kontrolnom mjerenju uspoređene su s rezultatima denzitometrijskoga mjerenja pri čemu nije dobivena značajna povezanost T-vrijednosti i BMD-a lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti s koncentracijama DKK1 (Tablica 5.29).

Tablica 5.29. Povezanost serumske razine DKK1 s T-vrijednosti i mineralnom gustoćom kosti ispitanika na početnom i kontrolnom mjerenju

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost) dikkopf 1	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
Dob ispitanika	0,196 (0,25)	0,133 (0,43)
T-vrijednost L1 – L4	-0,235 (0,16)	-0,257 (0,13)
T-vrijednost kuka	-0,270 (0,11)	-0,157 (0,35)
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,244 (0,15)	-0,111 (0,51)
BMD L1 – L4	-0,300 (0,07)	-0,223 (0,19)
BMD kuka	-0,229 (0,17)	-0,197 (0,24)
BMD vrata bedrene kosti	-0,308 (0,06)	-0,179 (0,29)

BMD – mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*)

Zatim su razine DKK1 dobivene na početnom i kontrolnom mjerenju uspoređene s rezultatima denzitometrijskoga mjerenja nakon učinjene korekcije za spol, dob i uzimanje suplementa vitamina D pri čemu nije dobivena značajna povezanost T-vrijednosti i BMD-a lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti s koncentracijama DKK1 (Tablica 5.30).

Tablica 5.30. Povezanost serumske razine DKK1 s T-vrijednosti i mineralnom gustoćom kosti ispitanika na početnom i kontrolnom mjerenju uz korekciju po spolu, dobi i uzimanju vitamina D

	Koeficijent parcijalne* korelacije r (P vrijednost) dikkopf 1	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
T-vrijednost L1 – L4	-0,151 (0,39)	-0,198 (0,26)
T-vrijednost kuka	-0,139 (0,43)	-0,242 (0,17)
T-vrijednost vrata bedrene kosti	-0,169 (0,34)	-0,206 (0,24)
BMD L1 – L4	-0,251 (0,15)	-0,207 (0,24)
BMD kuka	-0,121 (0,49)	-0,254 (0,15)
BMD vrata bedrene kosti	-0,266 (0,13)	-0,214 (0,22)

*kontrolirano po spolu, dobi i uzimanju vitamina D; BMD - mineralna gustoća kosti (od engl. *bone mineral density*)

5.8. Povezanost serumskih razina Wnt inhibitora s ostalim biljezima koštane pregradnje kod ispitanika s GB-om na početku liječenja tireostatskim lijekovima i nakon kontrolnoga razdoblja

Na početnom i kontrolnom ispitivanju izmjerene su razine biljega koštane pregradnje OC, DPD i β -CTX. Usporedbom njihovih razina s razinama sklerostina, nije dobivena značajna povezanost (Tablica 5.31).

Tablica 5.31. Povezanost serumske razine sklerostina s biljezima koštane pregradnje ispitanika na početnom i kontrolnom mjerenju

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost) sklerostina	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
OC ng/ml	0,223 (0,19)	-0,024 (0,89)
DPD nmol	0,076 (0,66)	-0,178 (0,30)
β -CTX ng/ml	0,244 (0,15)	-0,004 (0,98)

OC – osteokalcin; DPD – deoksipiridinolin; β -CTX - beta-CrossLaps

Dodatno su razine OC-a, DPD-a i β -CTX-a uspoređene s razinama sklerostina nakon prilagodbe učinjene po spolu, dobi i uzimanju vitamina D. Ovom analizom dobivena je pozitivna povezanost između razina OC-a i sklerostina izmjerenih na početnom ispitivanju. Usporedbom razina DPD-a i β -CTX-a nije dobivena značajna povezanost niti na jednom ispitivanju (Tablica 5.32).

Tablica 5.32. Povezanost serumske razine sklerostina s biljezima koštane pregradnje ispitanika na početnom i kontrolnom mjerenju uz korekciju po spolu, dobi i uzimanju vitamina D

	Koeficijent parcijalne* korelacije r (P vrijednost) sklerostina	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
OC ng/ml	0,417 (0,02)	-0,145 (0,42)
DPD nmol	0,027 (0,88)	0,005 (0,98)
β -CTX ng/ml	0,272 (0,13)	0,011 (0,95)

*kontrolirano po spolu, dobi i uzimanju vitamina D; OC – osteokalcin; DPD – deoksipiridinolin; β -CTX - beta-CrossLaps

S OC-om, β -CTX-om i DPD-om uspoređene su i serumske razine DKK1 pri čemu nije dobivena značajna povezanost između bilo kojega biljega i DKK1 niti na početnom niti na kontrolnom ispitivanju (Tablica 5.33). Razine OC-a, β -CTX-a i DPD-a uspoređene su s razinama DKK1 i nakon korekcije učinjene za dob, spol i uzimanje vitamina D, ali također nije dobivena značajna povezanost (Tablica 5.34).

Tablica 5.33. Povezanost serumske razine DKK1 s biljezima koštane pregradnje ispitanika na početnom i kontrolnom ispitivanju

	Spearmanov koeficijent korelacije Rho (P vrijednost) dickkopfa 1	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
OC ng/ml	0,194 (0,26)	0,159 (0,35)
DPD nmol	0,099 (0,56)	0,282 (0,09)
β -CTX ng/ml	0,143 (0,41)	0,247 (0,14)

OC – osteokalcin; DPD – deoksipiridinolin; β -CTX - beta-CrossLaps

Tablica 5.34. Povezanost serumske razine DKK1 s biljezima koštane pregradnje ispitanika na početnom i kontrolnom ispitivanju uz korekciju po spolu, dobi i uzimanju vitamina D

	Koeficijent parcijalne* korelacije r (P vrijednost) dickkopfa 1	
	Početno mjerenje	Kontrolno mjerenje
OC ng/ml	0,029 (0,87)	0,115 (0,52)
DPD nmol	0,061 (0,73)	-0,023 (0,89)
β -CTX ng/ml	0,080 (0,66)	-0,190 (0,28)

*kontrolirano po spolu, dobi i uzimanju vitamina D; OC – osteokalcin; DPD – deoksipiridinolin; β -CTX - beta-CrossLaps

Prema podacima dobivenim iz upitnika o prehrambenim i životnim navikama, dobi, spolu, ITM-u uz koncentracije hormona štitnjače, antiTSH-R-a, vitamina D, OC-a, β -CTX-a i DPD-a, sklerostina i DKK1 analiziralo se je li neki od čimbenika pretkazatelj lošijega nalaza koštane gustoće lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti nakon korekcije učinjene za dob, spol i uzimanje suplementa vitamina D. Prema dobivenim rezultatima, niti jedan čimbenik nije značajan pretkazatelj lošijega nalaza gustoće lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti (Tablica 5.35).

Također, niti jedan čimbenik nije značajan pretkazatelj lošijega nalaza gustoće lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti nakon korekcije učinjene za dob, spol, ITM i uzimanje suplementa vitamina D (Tablica 5.36).

Tablica 5.35. Utjecaj dobi, spola, uzimanja suplementa vitamina D, vježbanja, vježbanja u mladosti i pušenja i koncentracije hormona štitnjače, antiTSH-R, biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na gustoću lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti

	Kontrolirano za dob, spol i uzimanje vitamina D					
	β	P vrijednost	OR (95% CI)	* β	*P vrijednost	*OR (95% CI)
Dob	0,03	0,23	1,03(0,981-1,084)			
Spol (Ž)	20,1	0,99	-			
Uzimanje vitamina D	0,74	0,30	2,1 (0,518-8,508)			
Vježbanje (da)	-0,15	0,85	0,86 (0,178-4,126)	0,62	0,52	1,86 (0,28 – 12,5)
Vježbanje u mladosti	0,26	0,72	1,29 (0,322-5,189)	0,71	0,39	2,03 (0,41 – 10,09)
Pušenje (da)	0,46	0,55	1,58 (0,349-7,174)	0,37	0,66	1,45 (0,27 – 7,76)
Početno mjerenje						
FT4 pmol/L	-0,10	0,13	0,91 (0,799 – 1,028)	-0,085	0,23	0,92 (0,80 – 1,06)
FT3 pmol/L	-0,04	0,36	0,96 (0,889-1,044)	-0,036	0,41	0,97 (0,89 – 1,05)
AntiTSH-R U/L	-0,03	0,46	0,97 (0,881 – 1,059)	-0,042	0,42	0,96 (0,87 – 1,06)
β -CTX ng/ml	0,50	0,32	1,65 (0,612 – 4,465)	0,47	0,37	1,6 (0,57 – 4,50)
OC ng/ml	0,001	0,90	1,001 (0,979-1,024)	0,003	0,83	1,003 (0,98 – 1,03)
DPD nmol	0,02	0,65	1,02 (0,945-1,095)	0,01	0,81	1,01 (0,93 – 1,09)
Dickkopf 1 pg/mL	0,55	0,60	1,73 (0,216-13,904)	-0,17	0,88	0,84 (0,09 – 8,21)
Sklerostin pg/mL	-0,001	0,77	0,99 (0,99 – 1,003)	0	0,88	1,0 (0,99 – 1,004)

*kontrolirano za dob, spol i uzimanje vitamina D; β - koeficijent regresije; OR – omjer izgleda (od eng. *odds ratio*); CI – raspon pouzdanosti (od engl. *confidence interval*); FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH

Tablica 5.36. Utjecaj dobi, spola, uzimanja vitamina D, vježbanja, vježbanja u mladosti i pušenja te koncentracije hormona štitnjače, antiTSH-R-a, biljega koštane pregradnje i Wnt inhibitora na gustoću lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti kontrolirano za dob, spol, ITM i uzimanje vitamina D

	Kontrolirano za dob, spol, ITM i uzimanje vit D					
	β	P vrijednost	OR (95% CI)	* β	*P vrijednost	*OR (95% CI)
Dob	0,03	0,23	1,03(0,981-1,084)			
Spol (Ž)	20,1	0,99	-			
ITM	-0,007	0,93	0,99 (0,854-1,154)			
Uzimanje vitamina D	0,74	0,30	2,1 (0,518-8,508)			
Vježbanje (da)	-0,15	0,85	0,86 (0,178-4,126)	0,95	0,37	2,59 (0,32 – 20,85)
Vježbanje u mladosti	0,26	0,72	1,29 (0,322-5,189)	0,86	0,32	2,36 (0,43 – 12,84)
Pušenje (da)	0,46	0,55	1,58 (0,349-7,174)	0,11	0,91	1,13 (0,191 – 6,501)
Početno mjerenje						
FT4 pmol/L	-0,10	0,13	0,91 (0,799 – 1,028)	-0,131	0,13	0,89 (0,757 – 1,037)
FT3 pmol/L	-0,04	0,36	0,96 (0,889-1,044)	-0,046	0,29	0,96 (0,877 – 1,041)
AntiTSH-R U/L	-0,03	0,46	0,97 (0,881 – 1,059)	-0,045	0,39	0,96 (0,862 – 1,061)
β -CTX ng/ml	0,50	0,32	1,65 (0,612 – 4,465)	0,46	0,39	1,59 (0,548 – 4,598)
OC ng/ml	0,001	0,90	1,001 (0,979-1,024)	-0,001	0,96	0,99 (0,973-1,027)
DPD nmol	0,02	0,65	1,02 (0,945-1,095)	0,007	0,87	1,007 (0,926-1,096)
Dickkopf 1 pg/mL	0,55	0,60	1,73 (0,216-13,904)	-0,269	0,83	0,764 (0,069 – 8,477)
Sklerostin pg/mL	-0,001	0,77	0,99 (0,99 – 1,003)	-0,001	0,70	0,99 (0,995 – 1,003)

*kontrolirano za dob, spol, ITM i uzimanje vitamina D; β - koeficijent regresije; OR – omjer izgleda (od eng., *Odds ratio*); CI – raspon pouzdanosti (od engl. *confidence interval*); FT4 – slobodni tiroksin; FT3 – slobodni trijodtironin; TSH - tireostimulirajući hormon; antiTSH-R - antitijela koja se vežu na receptor za TSH; β -CTX - beta-CrossLaps; OC – osteokalcin; DPD - deoksiipiridinolin

6. RASPRAVA

6.1 Uvod u raspravu

GB je autoimuna bolest štitnjače uslijed koje se antitijela vežu za TSH-receptor u folikularnim stanicama štitnjače zbog čega dolazi do njihove hiperplazije, povećane produkcije hormona štitnjače T4 i T3 i nastanka hipertireoze (97). T4 i T3 se iz folikularnih stanica štitnjače otpuštaju u cirkulaciju u kojoj su najvećim dijelom vezani za proteine plazme, a malim dijelom cirkuliraju slobodno kao FT4 i FT3.

GB je najčešći uzrok hipertireoze i češće se javlja u žena, a omjer za dobivanje bolesti u žena i muškaraca iznosi između 4:1 i 10:1. Najčešće se javlja u dobi između trećega i petoga desetljeća života s incidencijom 20 – 50 slučajeva na 100.000 ljudi godišnje (98).

Hipertireoza izaziva znakove ubrzanoga metabolizma i može djelovati na različite organe i organske sustave, pa simptomi i znakovi bolesti mogu biti različiti. Jedan od učinaka može biti djelovanje na koštani sustav pri čemu se skraćuje ciklus pregradnje kosti za skoro 50 % (1). Dolazi do poremećaja odnosa između izgradnje i razgradnje kosti pri čemu razgradnja kosti nadvladava njezino stvaranje što može dovesti do smanjenja gustoće kosti, odnosno osteopenije ili osteoporoze. Koštana gustoća procjenjuje se denzitometrijom, dok se metabolizam kosti procjenjuje određivanjem biljega koštane izgradnje i razgradnje u serumu i u urinu. Negativan utjecaj hipertireoze na gustoću kosti poznat je od ranije (77, 99).

Zbog raširenosti osteoporoze koja može uzrokovati prijelome i na taj način dovesti do invaliditeta, čimbenici važni za održavanje procesa koštane pregradnje sustavno su istraživani. Važnu ulogu u održavanju homeostaze kosti i koštanoj pregradnji ima Wnt kaskadni signalni put i njegovi inhibitori (50, 100, 101). O važnosti toga signalnoga puta saznalo se u istraživanjima koja su uslijedila nakon otkrića bolesti koje karakterizira poremećaj koštane gustoće (38). Tijekom istraživanja došlo se do saznanja da je za postizanje homeostaze kosti vrlo važan Wnt/ β -kateninski put koji se naziva i kanonskim putem. Poticanjem Wnt puta koštana masa se povećava, dok se njegovim inhibiranjem smanjuje (28). Stoga su inhibitori kanonskoga Wnt puta postali zanimljivi za istraživanja, osobito sklerostin i DKK1.

Važnu ulogu u razvoju i održavanju koštane mase zauzima i odgovarajuća prehrana, odnosno unos nutritivnih čimbenika važnih za mineralni sadržaj u kostima u koje se ubrajaju kalcij i

vitamin D (102). Osim odgovarajuće prehrane, za održavanje zdravih kostiju važno je vježbanje koje utječe na veličinu i snagu mišića i na taj način na održavanje pokretljivosti (103).

6.2 Serumske razine Wnt inhibitora sklerostina i DKK1 pri GB-u liječenom tireostatskim lijekovima

Usljed GB-a povećana je produkcija hormona štitnjače T4 i T3 koji se u prekomjernoj količini otpuštaju u cirkulaciju. U cirkulaciji su oni najvećim dijelom vezani za proteine plazme, a manjim dijelom nalaze se u slobodnom obliku kao FT4 i FT3. Hormoni štitnjače važni su za različita tkiva i organe, među kojima je i koštani sustav za čije normalno je funkcioniranje važan i Wnt/ β -kateninski put, odnosno kanonski put. Wnt/ β -kateninski put je složen signalni put, a za njegovo funkcioniranje važni su inhibitori puta sklerostin i DKK1.

U našem istraživanju ispitanici su bili bolesnici s novootkrivenim GB-om koji su na početku ispitivanja imali povišene razine FT4 i FT3, a nisku razinu TSH-a u serumu. Liječeni su tireostatskim lijekovima i dolazili na kontrolne preglede na kojima su se doze lijekova prilagođavale te su nakon godinu dana bili u stanju eutireoze s razinama FT4, FT3 i TSH unutar referentnoga raspona.

U našem uzorku ispitanika koncentracije sklerostina i DKK1 izmjerene u serumu značajno su se promijenile između početnoga i kontrolnog mjerenja.

Na početnom mjerenju, u stanju hipertireoze, koncentracije sklerostina bile su više, a na kontrolnom pregledu su se značajno smanjile.

Koncentracije DKK1 bile su oprečne u odnosu na razine sklerostina pa su na početnom mjerenju, u stanju hipertireoze koncentracije DKK1 u serumu bile niže, a na kontrolnom mjerenju u stanju eutireoze značajno su se povisile.

Podatci o povezanosti hipertireoze i sklerostina su oskudni i samo je nekoliko istraživanja provedenih među ljudima.

Naši rezultati u skladu su s većinom rezultata iz literature u kojima su se tijekom liječenja GB-a koncentracije serumskoga sklerostina značajno smanjile (64, 65, 104). Koncentracije sklerostina ispitivane su i između skupine hipertireoidnih bolesnika i kontrolne skupine s različitim ishodima. Tako u jednom istraživanju nije dobivena značajna razlika u koncentraciji

sklerostina između navedenih skupina (105), dok je u drugom istraživanju značajna razlika postojala (104).

Prema našim saznanjima, serumske koncentracije DKK1 nisu istraživane u bolesnika s GB-om. Tsourdi i autori (66) ispitali su koncentracije DKK1 i sklerostina u miševa. Serumske koncentracije DKK1 bile su niže, a serumske koncentracije sklerostina više u hipertireoidnih animalnih modela što je u skladu s našim rezultatima. Ista grupa istraživača (67) ispitala je ulogu DKK1 u poremećajima kosti izazvanih hipertireozom u miševa koji su imali globalnu ili za osteocite specifičnu deleciju DKK1. Za obje skupine zajedničko je da gubitak funkcije DKK1 nije bio dovoljan da bi se normalizirale promjene kosti izazvane hipertireozom (67). Iako su se koncentracije Wnt inhibitora značajno promijenile liječenjem GB-a, u našem istraživanju nije dobivena značajna povezanost sklerostina s hormonima štitnjače i TSH-om. DKK1 je pozitivno korelirao s FT3, a negativno s TSH-om, ali nakon korekcije učinjene za dob, spol i uzimanje vitamina D, ostala je samo pozitivna povezanost s FT3.

Koncentracije sklerostina i DKK1 izmjerene na početnom i kontrolnom mjerenju analizirali smo prema spolu i u odnosu na razinu vitamina D.

Kada se rezultati analiziraju prema spolu, kod žena je dobivena značajna razlika u serumskim koncentracijama sklerostina i DKK1 između početnoga i kontrolnog mjerenja. Pri tome je vidljivo da se koncentracija sklerostina značajno smanjila, a koncentracija DKK1 povećala u skupini žena. Oprečni rezultati tendencije kretanja sklerostina i DKK1 dobiveni su u skupini muškaraca kod kojih se koncentracija sklerostina povećala, a koncentracija DKK1 smanjila u kontrolnom vremenu praćenja i liječenja, iako nisu dobivene značajne razlike. Iako se s obzirom na malen broj muških ispitanika ne može donijeti zaključak o postojanju značajnih razlika u razinama ispitivanih Wnt inhibitora između spolova, rezultat je u skladu s ranijim istraživanjem koje je obuhvatilo veću skupinu ispitanika, u kojem je kod muškaraca izmjerena viša koncentracija sklerostina, dok je koncentracija DKK1 bila značajno niža u odnosu na žene (106).

Deficit vitamina D u današnje vrijeme široko je rasprostranjen. U skladu s time, i neki od naših ispitanika imali su normalnu razinu vitamina D, dok je kod drugih izmjerena snižena razina i njima je uveden suplement vitamina D u dozi 600-800 IU dnevno.

U skupini ispitanika koji su imali normalnu razinu vitamina D dobivena je značajna razlika u koncentraciji DKK1 između početnoga i kontrolnog mjerenja, dok značajna razlika u

koncentracijama sklerostina nije nađena. Različit rezultat dobiven je u ispitanika kojima je, zbog deficita, uveden vitamin D. U ovoj skupini dobivena je značajna razlika u koncentraciji sklerostina, ali ne i DKK1. Istraživanja o učinku primjene vitamina D na ova dva inhibitora Wnt puta razlikuju se po svom ustroju. Razlikovale su se i terapijske doze vitamina D i kalcija i period u kojemu su davani. Također, u nekima su sudjelovale samo žene, a u drugima osobe oba spola (107-110). Razine sklerostina smanjile su se nakon liječenja vitaminom D osoba s utvrđenim deficitom vitamina D (109, 110). Postojao je i različit odgovor ovisno o spolu pa su se kod žena razine sklerostina smanjile i u skupini koja je uzimala vitamin D i u placebo skupini. U istom istraživanju u muškaraca je razina sklerostina porasla u skupini koja je uzimala vitamin D i kalcij, dok se smanjila u placebo skupini (108). Pozitivna povezanost između vitamina D i sklerostina dobivena je u ispitanika s različitom tjelesnom masom određenoj prema ITM-u (111). U već spomenutom istraživanju, uz sklerostin, analiziralo se i mijenja li se koncentracija DKK1 u osoba s deficitom vitamina D i, za razliku od sklerostina, koncentracije DKK1 su porasle, ali nije dobiven značajan porast (107). Različit rezultat dobiven je u osoba starijih od 70 godina kod kojih je koncentracija sklerostina ostala nepromijenjena na kontrolnom ispitivanju, dok je DKK1 porastao samo kada su davane određene doze vitamina D (112).

U svim navedenim istraživanjima dane su suprafiziološke doze vitamina D, dok su u našem istraživanju uvedene značajno manje doze. Rezultati provedenih istraživanja nisu jednoznačni, čemu odgovaraju i rezultati našega istraživanja. Mogli bismo pretpostaviti da su naši rezultati posljedica razlika u samim koncentracijama sklerostina i DKK1 u kontrolnom periodu, a ne samoga učinka vitamina D.

Oprečne koncentracije sklerostina i DKK1 u serumu zabilježene su i do sada (113).

Promjene koncentracija sklerostina i DKK1 u hipertireozi koje smo dobili našim istraživanjem u skladu su s ranijim rezultatima zbog čega bismo mogli pretpostaviti da hormoni štitnjače različito utječu na navedena dva inhibitora Wnt signalnoga puta.

Moguća objašnjenja za ovakav rezultat su:

1. Utjecaj tireostatskoga liječenja na procese u koštanom tkivu. Djelovanjem tireostatskih lijekova tijekom vremena razine FT4 i FT3 se smanjuju, a TSH raste pa se njihove razine normaliziraju te organizam iz hipertireoidnoga stanja prelazi u eutireoidno. Smirivanjem bolesti mijenja se i utjecaj GB-a na procese u kosti. Proces koštane pregradnje se produžuje, a procesi koštane izgradnje i razgradnje se uravnotežuju. Koncentracije biljega koštane pregradnje se normaliziraju, a koštana gustoća poboljšava.

2. Serumske razine sklerostina i DKK1 se nadopunjuju (114).
3. U hipertireozi je zabilježen porast razine sklerostina, dok je razina DKK1 manja. Razina DKK1 mogla bi neizravno označavati stupanj povećane koštane izgradnje, a razine sklerostina mogle bi biti kompenzatorni mehanizam kojim se ograničava daljnja stimulacija osteoblasta (66).
4. U stanju eutireoze kada su hormoni štitnjače u granicama normale, smanjenje serumske koncentracije sklerostina vjerojatno je posljedica njegovoga manjega stvaranja u osteocitima, dok bi povećanje koncentracije DKK1 moglo označavati protutežu sklerostinu i neizravno upućivati na usporenje stupnja procesa koštane izgradnje u skladu s produženjem ciklusa koštane pregradnje.
5. U periodu liječenja i praćenja ispitanika, između početnoga i kontrolnog mjerenja, koncentracije sklerostina i DKK1 značajno su se promijenile u skladu s poboljšanjem funkcijskoga statusa štitnjače, što govori u prilog križnoj povezanosti Wnt signalnoga puta s putevima djelovanja hormona štitnjače. Stoga, pretpostavljamo vjerojatnijim da su promjene serumskih koncentracija sklerostina i DKK1 prvenstveno posljedica patofiziološkoga djelovanja hormona štitnjače na Wnt signalni put i na njih same, a na taj način na proces pregradnje kosti.

6.3. Serumske razine biljega koštane pregradnje OC, β -CTX i DPD uslijed GB-a liječenoga tireostatskim lijekovima

U kliničkom radu za praćenje dinamike procesa koštane pregradnje i procjenu odgovora na liječenje osteoporoze određuju se različiti biljezi koštane pregradnje. S obzirom na to da smo u našem istraživanju ispitivali mijenjaju li se razine Wnt inhibitora uslijed GB-a i tijekom njegova liječenja, o čemu ima malo podataka u literaturi, određivanjem poznatih biljega koštane pregradnje željeli smo ispitati kako se mijenjaju njihove razine i na taj način dobiti uvid u procese koštanoga metabolizma i koštane pregradnje.

U našem istraživanju koštanu pregradnju analizirali smo određivanjem biljega izgradnje kosti OC-a u serumu, biljega razgradnje β -CTX-a u serumu te DPD-a u urinu.

Koncentracije svih analiziranih biljega, OC-a, β -CTX-a i DPD-a, bile su značajno više na početku istraživanja u stanju hipertireoze u odnosu na kontrolno mjerenje u eutireoidnom

stanju. S obzirom na to da je tijekom istraživanja pod utjecajem tireostatskih lijekova došlo do normalizacije funkcijskoga statusa štitnjače, takav rezultat je očekivan i u skladu je s rezultatima ranijih istraživanja (104, 115-118). Rezultat je ujedno i potvrda mijene procesa koštane pregradnje tijekom kontrolnoga perioda.

U hipertireoidnom stanju dobili smo pozitivnu povezanost između oba hormona štitnjače i sva tri biljega koštane pregradnje, dok je u eutireoidnom stanju pozitivna povezanost između FT4 i DPD-a.

Kada se rezultati analiziraju prema spolu, kod žena je dobivena značajna razlika u koncentracijama OC-a, β -CTX-a i DPD-a između početnoga i kontrolnog mjerenja. Kod muškaraca je došlo do smanjenja koncentracija OC-a, β -CTX-a i DPD-a u kontrolnome periodu, kao i kod žena, no nisu dobivene statistički značajne razlike što je moguća posljedica maloga broja muških ispitanika ili zbog manjih razlika u koncentracijama biljega koštane pregradnje na početnom i kontrolnom ispitivanju. Razlike u koncentracijama biljega koštane pregradnje između spolova izmjerene su i ranije (119), kao i više razine OC-a u muškaraca u odnosu na žene (120). I u drugom su istraživanju muškarci u odnosu na žene imali više razine biljega koštane izgradnje od kojih je mjeren i OC, dok takva razlika nije bila značajna za DPD (121).

Kod svih ispitanika, neovisno o tome jesu li imali normalnu razinu ili deficit vitamina D, postojala je značajna razlika u izmjerenim koncentracijama OC-a, β -CTX-a, i DPD-a u kontrolnom periodu, što upućuje na to da uzimanje suplementa vitamina D nije značajnije utjecalo na razine ispitivanih biljega koštane pregradnje.

Druga istraživanja međusobno se razlikuju po dobivenim rezultatima, ali i po primijenjenim dozama vitamina D i ispitivanim biljezima koštane pregradnje, pa u nekima nije potvrđen učinak i povezanost vitamina D i ispitivanih biljega koštane pregradnje (122, 123), dok u drugom postoji (124).

6.4. Koštana gustoća uslijed GB-a liječenoga tireostatskim lijekovima

Hormoni štitnjače, osim na koštani metabolizam, mogu utjecati i na koštanu gustoću koja se u stanju hipertireoze može smanjiti. U našem istraživanju denzitometrijom smo mjerili koštanu gustoću lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti na početku istraživanja kada je razina

hormona štitnjače u serumu bila povišena i nakon liječenja i kontrolnoga perioda u stanju eutireoze.

Naše je istraživanje otkrilo značajnu razliku u koštanoj gustoći lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene između početnoga i kontrolnog mjerenja tijekom kojega se povećao BMD i T-vrijednost lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti. Takav nalaz u skladu je s drugim istraživanjima (99, 125-129). Također, u skladu je i s rezultatima biljega koštane pregradnje koji su bili značajno manji na kontrolnom mjerenju.

Usporedbom serumskih koncentracija sklerostina s BMD-om lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti nije nađena značajna povezanost niti u hipertireozu niti u eutireoidnom stanju. Takav nalaz u skladu je s istraživanjem u kojemu nije bilo značajne povezanosti između sklerostina i BMD-a lumbalne kralježnice poslijemenopauzalnih žena (130). Ipak, u istom istraživanju nađena je negativna povezanost između sklerostina i BMD-a vrata bedrene kosti, trohantera i ukupnoga kuka, kao i u istraživanju na hipertireoidnim miševima (66). S druge strane, pozitivna povezanost između sklerostina i BMD-a lumbalne kralježnice nađena je u bolesnika na peritonealnoj dijalizi (131) i žena u poslijemenopauzi (132). Stoga, rezultati provedenih istraživanja nisu jednoznačni. Također, nije dobivena povezanost DKK1 s T-vrijednostima i nalazima BMD-a, a u literaturi postoje različiti rezultati i različito oblikovane grupe ispitanika u odnosu na ovo istraživanje (133, 134).

Analizirali smo i stupanj smanjenja koštane gustoće pri čemu je primjetno da je u hipertireozu samo jedan ispitanik imao osteoporozu, dok je kod drugih ispitanika izmjerena ili osteopenija ili normalna koštana gustoća. Moguće objašnjenje za takav denzitometrijski nalaz moglo bi biti trajanje hipertireoidnoga stanja u ispitanika prije utvrđivanja povišenih koncentracija hormona štitnjače. Zbog dostupnosti zdravstvene zaštite i laboratorijskih testova kojima se određuju koncentracije TSH-a i hormona štitnjače, moguće je da je GB dijagnosticiran relativno brzo, pa hipertireoidno stanje nije imalo značajniji učinak na koštanu gustoću. Stoga je moguća pretpostavka da su promjene koštane gustoće bile nedovoljno izražene da bi se dobila povezanost s Wnt inhibitorima.

Koštanu gustoću analizirali smo prema spolu, odnosno zasebno kod muškaraca i kod žena. Kod ispitanica prisutno je značajno poboljšanje BMD-a i T-vrijednosti lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti na kontrolnom ispitivanju, dok kod muškaraca nije utvrđena značajna razlika, i u ovom slučaju moguće je da je to zbog broja muških ispitanika ili zbog bolje koštane gustoće muških ispitanika.

Dodatno smo analizirali je li došlo do razlike u koštanoj gustoći između skupine ispitanika kojima je na početnom ispitivanju utvrđen manjak vitamina D i uvedena terapija i onih koji su na početnom ispitivanju imali normalnu razinu vitamina D. U obje skupine ispitanika došlo je do značajnoga poboljšanja BMD-a i T-vrijednosti kuka i vrata bedrene kosti kao i BMD-a lumbalne kralježnice. Podatci iz literature o povezanosti vitamina D i BMD-a razlikuju se, u nekima vitamin D utječe na BMD (135, 136), dok u drugima, kao i prema meta-analizi, korist od suplemenata vitamina D je niska, odnosno nema značajne povezanosti i uzročno-posljedične veze (137-139).

6.5. Povezanost hormona štitnjače s Wnt inhibitorima, koštanom gustoćom i s biljezima koštane pregradnje

Hormone štitnjače, TSH, antiTSH-R, vitamin D, OC, β -CTX, DPD, sklerostin i DKK1 određene na početnom i kontrolnom ispitivanju usporedili smo između skupine ispitanika koji su na kontrolnom ispitivanju imali normalnu gustoću i onih u kojih je koštana gustoća lumbalne kralježnice i kuka bila smanjena. Od ispitivanih parametara značajna razlika dobivena je usporedbom koncentracije β -CTX-a između ispitanika s normalnom i onih sa smanjenom gustoćom lumbalne kralježnice. β -CTX je biljeg koštane pregradnje koji je visoko specifičan i osjetljiv u praćenju odgovora na antiresorptivnu terapiju (140). Patološka koštana pregradnja nastaje ranije u odnosu na pojavu osteoporoze, a serumski β -CTX prikladan je biljeg za rutinsku procjenu postoji li povećana koštana pregradnja u žena i muškaraca (141). U hipertireozu koštana razgradnja je više izražena od izgradnje. Smirenjem GB-a i postizanjem eutireoze brzina koštane razgradnje se smanjuje, a procesi razgradnje i izgradnje kosti se uravnotežuju, pa smatramo da razlika u koncentraciji β -CTX u kontrolnom periodu odražava promjene u procesima koštane pregradnje, a prvenstveno razgradnje. Značajna razlika u ostalim ispitivanim parametrima između dvije skupine nije nađena, moguće zbog manje razlike u koncentracijama samih parametara.

Hormoni štitnjače, TSH, i nalazi denzitometrijskoga mjerenja lumbalne kralježnice, ukupnoga kuka i vrata bedrene kosti korelirani su s biljezima koštane pregradnje i Wnt inhibitorima na početnom ispitivanju i godinu dana od uvođenja tireostatske terapije. Prije započinjanja liječenja utvrđena je značajna pozitivna povezanost svih biljega koštane pregradnje OC-a, β -CTX-a i DPD-a i s FT4 i s FT3. Takav je nalaz podudaran s rezultatima već spomenutoga

istraživanja El Hadidy (118). U drugim istraživanjima ispitivani su različiti biljezi koštane pregradnje u odnosu na funkcijski status štitnjače, a naši su rezultati djelomično podudarni u njihovim (116, 142).

Usporedbom serumskih koncentracija sklerostina s hormonima štitnjače i BMD-om, nađena je pozitivna povezanost FT3 u hipertireoidnom stanju. Takav nalaz razlikuje se od nekih drugih (66, 130). S druge strane, pozitivna povezanost između sklerostina i BMD-a lumbalne kralježnice nađena je u bolesnika na peritonealnoj dijalizi (131) i žena u postmenopauzi (132).

U eutireoidnom stanju nađena je pozitivna povezanost FT3 s DKK1 i negativna povezanost između TSH-a i DKK1. Nije nađena povezanost DKK1 s nalazima BMD-a, niti s drugim biljezima koštane pregradnje.

6.6. Osvrt na prehrambene i životne navike ispitanika s Gravesovom bolesti na početku liječenja

Osim GB-a koji zbog hipertireoidnih razina hormona štitnjače može promijeniti koštanu gustoću, postoji više drugih čimbenika koji mogu utjecati na stanje koštanoga sustava.

Zbog toga su na početku istraživanja ispitanici ispunili upitnik o svojim prehrambenim i životnim navikama kojime se ispitivalo navike i redovitost vježbanja u prošlosti i trenutnom vremenu, navike vezane uz konzumaciju mliječnih proizvoda i njihovu količinu, puše li, konzumiraju li alkohol, a kod ispitanica i redovitost menstruacijskih ciklusa te vrijeme nastupa menopauze.

Na osnovi podataka dobivenih iz upitnika i usporedbom s koncentracijama Wnt inhibitora, nije dobivena značajna razlika u koncentraciji sklerostina između skupine ispitanika koji su **vježbali** i onih koji nisu što je u skladu s ranije provedenim istraživanjem u kojemu vježbanje nije imalo učinak na koncentraciju sklerostina (143). No, podatci iz literature se razlikuju (144-147), a na razine sklerostina utjecali su vrsta i intenzitet treninga (148).

Za razliku od sklerostina, koncentracije DKK1 bile su značajno niže u ispitanika koji su vježbali, što je u skladu s istraživanjem u kojemu su ispitanici sudjelovali u visoko intenzivnom treningu (149). Isti rezultati dobiveni su u pacijentica s dijagnosticiranim rakom dojke koje su vježbale (150).

Koncentracije sklerostina i DKK1 razlikovale su se u imobiliziranih pacijenta u kojih su koncentracije sklerostina bile više u odnosu na kontrolnu pokretnu skupinu, dok se koncentracija DKK1 nije značajno razlikovala između navedenih skupina (151).

S obzirom na navedeno, više čimbenika moglo je utjecati na rezultate dobivene našim istraživanjem, iako je nejasno zašto su različiti rezultati dobiveni za dva inhibitora Wnt signalnoga puta. Isto tako, kako su samo u jednom istraživanju ispitana oba Wnt inhibitora, dok je u ostalima ispitivan ili sklerostin ili DKK1, ne mogu se znati rezultati istraživanja da su u njima ispitivani i sklerostin i DKK1.

Čimbenici koji su u našem istraživanju mogli utjecati na razine sklerostina i DKK1 su redovitost vježbanja, vrsta vježbi i opterećenje, godine i spol. Ispitanici su osobe oboljele od GB-a te je moguće da su simptomi uzrokovani hipertireoidnim hormonima, kao što su lupanje i ubrzan rad srca, umor i iscrpljenost, utjecali na redovitost vježbanja i opterećenje vježbi. Također, sklerostin se najvećim dijelom izlučuje iz osteocita, dok se DKK1 izlučuje i iz stanica drugih organa i organskih sustava na koje je vježbanje moglo utjecati, a time i na razlike u dobivenim rezultatima.

Od ukupnoga broja ispitanika, desetero ih je pušilo. Između ispitanika koji su pušili i onih koji nisu pušili nisu dobivene značajne razlike u koncentracijama niti sklerostina, niti DKK1. Isti rezultat dobiven je analizom sklerostina u poslijemenopauzalnih žena (152), dok se koncentracija DKK1 značajno razlikovala između pušača i nepušača, ali razlika u koncentraciji sklerostina nije bila značajna (153).

U našem istraživanju nije utvrđena značajna razlika u gustoći kosti između pušača i nepušača. U ranijim istraživanjima pokazano je da pušenje dovodi do smanjenja koštane mase u pušača (154), a rizik za nastanak prijeloma značajno je veći nego što bi na to upućivao nalaz gustoće kosti dobiven denzitometrijskim mjerenjem (155). Ipak, postoje i razlike pri čemu je kod pušača muškaraca BMD bio niži nego u nepušača, ali kod žena je BMD bio sličan kod pušača i nepušača (156). Povezanost pušenja i gustoće kosti ranije je u većoj mjeri istraživana.

Kako su biljezi koštane pregradnje pokazatelji dinamike i odnosa između izgradnje i razgradnje kosti, istraživanja su se usmjerila na ispitivanje biljega koštane pregradnje koji daju podatke i o učinkovitosti antiresorptivnoga liječenja te indirektno o riziku nastanka osteoporoze i prijeloma (154), dok se denzitometrijom potvrđuju već prisutne promjene koštane gustoće.

Objašnjenje za naš rezultat moglo bi biti u malom broju ispitanika koji su pušili ili u tome da nisu pušili dovoljne količine cigareta dnevno ili dovoljno dugo vremena. Osim toga, iako se u ispitanika poboljšala koštana gustoća na kontrolnom ispitivanju, kod većine je na prvom ispitivanju izmjerena osteopenija ili normalna gustoća kosti. Zbog navedenoga je moguće da pušenje, zajedno s ostalim čimbenicima rizika za nastanak osteoporoze, nije dovoljno utjecalo na koštanu gustoću.

Za zdravlje kosti bitna je i prehrana mliječnim proizvodima. Važnu ulogu u postizanju vrška koštane gustoće imaju kalcij i proteini koje sadrže mliječni proizvodi i čine 50 – 60 % dnevnoga unosa kalcija i 20 – 30 % dnevnoga unosa proteina (157).

U našem istraživanju nije dobivena značajna razlika u koncentracijama sklerostina i DKK1 između ispitanika koji su redovito konzumirali mliječne proizvode i onih koji nisu, što je u skladu s istraživanjem Kalema u kojem nije nađena povezanost između serumskih koncentracija sklerostina i prehrane mliječnim proizvodima (152).

Također, između skupina ispitanika koji su imali normalnu koštanu gustoću lumbalne kralježnice i kuka i onih sa smanjenom gustoćom kosti, nije nađena značajna razlika u konzumaciji mliječnih proizvoda. Meta-analizom je otkriveno da se prehranom koja uključuje mliječne proizvode reducira rizik od smanjenja BMD-a i prevenira rizik od nastanka prijeloma (158). Objasnenje našega rezultata može biti u broju ispitanika, ali i podatku da je većina naših ispitanika redovito konzumirala mliječne proizvode.

U našem istraživanju sve ispitanice imale su redovite menstruacijske cikluse. Neke od ispitanica bile su u menopauzi u trenutku započinjanja istraživanja, ali su tijekom reproduktivnoga razdoblja također imale redovite menstruacijske cikluse. Istraživanja ukazuju da razine sklerostina i DKK1 nisu značajno različite u pojedinim fazama menstruacijskoga ciklusa žena u prijemnopauzi (159, 160). Pokazano je i da koncentracije sklerostina rastu s dobi na što upućuju razlike u razinama sklerostina između žena u poslijemenopauzi u odnosu na žene u prijemnopauzi (161-163). U našem istraživanju sudjelovale su žene koje su bile u prijemnopauzi i u poslijemenopauzi, no s obzirom na ustroj istraživanja koje je longitudinalno prospektivno, smatramo da te razlike nisu značajno utjecale na razine sklerostina i DKK1 u serumu.

U upitniku koji su ispitanici ispunili na početku istraživanja ispitana je prisutnost čimbenika rizika za nastanak osteoporoze. U ovome istraživanju rizični čimbenici nisu imali značajan utjecaj na promjene koštane gustoće, ali većina ispitanika imala je osteopeniju ili normalnu

koštanu gustoću u trenutku ispitivanja. Od ispitanih parametara jedino se u vježbača razina DKK1 značajno razlikovala u odnosu na osobe koje nisu vježbale. To pokazuje važnost upitnika o prehranbenim i životnim navikama i dobivanja podataka o čimbenicima rizika koji su mogli utjecati na stanje koštanoga sustava prije nastanka GB-a.

6.7. Usporedba ispitivanih parametara u svrhu predviđanja smanjenja koštane gustoće u budućnosti

Na temelju odgovora iz spomenutoga upitnika, kao i dobi, spola, ITM-a, koncentracija hormona štitnjače, antiTSH-R-a, vitamina D, OC-a, β -CTX-a, DPD-a, sklerostina i DKK1 izmjerenih prilikom početnoga ispitivanja u hipertireoidnom stanju ispitali smo je li neki od čimbenika pretkazatelj lošijega nalaza koštane gustoće lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti. Niti jedan od čimbenika nije se pokazao kao prediktor lošijega nalaza gustoće kosti lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti. Isti rezultat dobiven je i nakon korekcije učinjene za dob, spol i uzimanje vitamina D.

S obzirom na to da se u kontrolnom periodu gustoća kosti lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti značajno poboljšala, smatramo da je to razlog što niti jedan od ispitivanih čimbenika nije pretkazatelj lošijega nalaza koštane gustoće. Također, pretpostavljamo da su promjene serumskih koncentracija dva ispitivana inhibitora Wnt puta sklerostina i DKK1, kao i biljega koštanoga metabolizma i gustoće kosti sekundarno uvjetovane GB-om i reverzibilne. Koncentracije sklerostina i DKK1 mijenjale su se ovisno o funkcijskom statusu štitnjače, kao i ostali ispitivani biljezi koštane pregradnje OC, β -CTX i DPD, što upućuje na to da su sudionici patofizioloških zbivanja u koštanom tkivu i da bi ih bilo korisno istražiti kao potencijalne nove, dodatne biljege koštane pregradnje.

U istraživanjima su se kao pozitivni pretkazatelji osteoporoze pokazali edukacija i ITM u presječnom istraživanju 821 zdrave žene u dobi između 20 i 70 godina, pa su sudjelovale i žene u prijemnopauzi i u poslijemenopauzi. Ovo istraživanje dalo je nekoliko rezultata; ITM je bio značajno viši u poslijemenopauzalnih žena, osobe koje su redovito konzumirale mliječne proizvode imale su bolji BMD na kralježnici, a osobe koje su 3 – 4 sata tjedno radile kućanske poslove u odnosu na one kojima je netko drugi obavljao takve poslove imale su bolji BMD na kralježnici i bedrenoj kosti (164). Različiti biljezi koštane pregradnje, PINP, β -CTX i NTX pokazali su se kao značajni pretkazatelji nastanka osteoporoze kralježnice u budućnosti u žena,

ali ne i kuka (165). U istraživanje su bili uključeni ispitanici oba spola između 40 i 79 godina. Biljezi koštane pregradnje određeni su na početku istraživanja, a gustoća kosti lumbalne kralježnice (L2-L4) i proksimalnoga femura (vrat femura, Wardov trokut i trohanter) na početku istraživanja i u još tri navrata tijekom desetogodišnjega praćenja. Veću vjerojatnost za nastanak osteoporotičnoga prijeloma imale su starije žene čiji je BMD bio niži, a vrijednosti β -CTX-a više (166).

6.8. Moguća ograničenja istraživanja

Jedno od ograničenja provedenoga istraživanja relativno je malen broj ispitanika. U istraživanju su sudjelovale osobe oba spola, kao i žene u prijemnopauzi i poslijemenopauzi. Bilo bi idealno oblikovati odvojene skupine žena u prijemnopauzi i žena u poslijemenopauzi i muškaraca. Time bi se isključile moguće razlike u koštanom sustavu uzrokovane dobi i spolom. Međutim, ustroj takve studije zahtijevao bi puno duže vremensko razdoblje za provođenje istraživanja. Kriteriji za uključivanje ispitanika u ovo istraživanje bili su osobito strogi, budući da su uključeni samo bolesnici s novootkrivenim GB-om, a nisu uključeni bolesnici kojima je dijagnosticirana hipertireoza uslijed drugoga uzroka. Isključni kriteriji također su bili vrlo strogi kako bi se izbjegli mogući utjecaji drugih čimbenika na ispitivane parametre. Kontrolna mjerenja rađena su nakon godine dana, a za to je vrijeme kod ispitanika došlo do poboljšanja funkcijskoga statusa štitnjače, kao i njihovoga subjektivnog osjećaja. U praksi je to značilo pronalaženje pristupa prema ispitanicima kojime bi ih se motiviralo na sudjelovanje u kontrolnoj, odnosno završnoj fazi znanstvenoga istraživanja. Prema našim saznanjima, ovo je prvo istraživanje koje je imalo ovakvu dužinu praćenja ispitanika i takve kriterije za uključivanje. Drugo ograničenje mogla bi biti povezana s objektivnošću i točnošću podataka dobivenih upitnikom u vezi s načinom života i prehrambenim navikama, no smatramo da je mala vjerojatnost za takvu mogućnost, s obzirom na to da ispunjavanje upitnika nije utjecalo na započinjanje i provođenje liječenja.

6.9. Buduća istraživanja

Sklerostin i DKK1 inhibiraju koštanu izgradnju, a potiču koštanu razgradnju te imaju važnu ulogu u održavanju ravnoteže kosti. Na tržištu je dostupan lijek inhibitor sklerostina koji je

namijenjen za liječenje osteoporoze. Naše istraživanje ukazuje na to da sklerostin i DKK1 sudjeluju u procesima koštane pregradnje nastalima kao posljedica GB-a. Stoga bi u budućnosti bilo zanimljivo nastaviti s istraživanjima sklerostina i DKK1 u drugim bolestima koje zahvaćaju koštani sustav kako bi se patofiziološki procesi koji se odvijaju unutar tih bolesti razumjeli i doveli do novih mogućnosti liječenja. S obzirom na promjene razina sklerostina i DKK1, smatramo da bi ih bilo korisno istražiti kao potencijalne nove biljege koštane pregradnje.

6.10. Zaključak rasprave

Provedeno istraživanje pokazalo je da GB i njegovo liječenje tireostatskim lijekovima utječe na razine oba ispitivana inhibitora Wnt puta. Razine sklerostina i DKK1 mjerene u serumu značajno su se promijenile između početnoga i kontrolnog mjerenja. Početno mjerenje bilo je u stanju hipertireoze u kojemu je razina sklerostina bila značajno viša, a razina DKK1 značajno niža u odnosu na kontrolno mjerenje učinjeno nakon godine dana u stanju eutireoze kao rezultata liječenja GB-a tireostatskim lijekovima.

Na početku istraživanja ispitanici su ispunili upitnik o prehrambenim i životnim navikama u kojemu su navedeni čimbenici rizika za razvoj osteoporoze. Na temelju dobivenih odgovora, čimbenici rizika nisu značajno utjecali na promjene koštane gustoće ispitanika.

7. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenoga istraživanja i dobivenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Serumska razina sklerostina (Wilcoxon test, $p < 0,001$) značajno je veća, dok je serumska razina DKK1 (Wilcoxon test, $p = 0,001$) značajno manja u stanju hipertireoze u odnosu na eutireoidno stanje.
2. Nije utvrđena značajna povezanost T-vrijednosti i BMD-a lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti sa serumskim koncentracijama sklerostina i DKK1;
Nakon prilagodbe učinjene po spolu, dobi i uzimanju vitamina D utvrđena je pozitivna povezanost između koncentracija OC-a i sklerostina na početnom mjerenju, dok nije utvrđena povezanost DKK1 s bilo kojim drugim biljegom koštane pregradnje;
Negativna povezanost između T-vrijednosti i BMD-a lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti utvrđena je s OC-om i β -CTX-om u stanju hipertireoze;
Negativna povezanost u eutireoidnom stanju dobivena je između T-vrijednosti lumbalne kralježnice i dva biljega koštane pregradnje, OC i β -CTX, kao i između BMD-a lumbalne kralježnice, T-vrijednosti i BMD-a kuka i vrata bedrene kosti s OC-om.
3. Serumske razine sklerostina nisu se značajno razlikovale između skupina ispitanika podijeljenih prema njihovim prehrambenim navikama i načinu života. Dobivena je značajna razlika u serumskoj koncentraciji DKK1 (Mann Whitney U test, $p = 0,001$) između skupine ispitanika koji su vježbali i skupine u kojoj ispitanici nisu vježbali.

8. SAŽETAK

Cilj istraživanja: Ispitivanje razlika u serumskim razinama Wnt inhibitora sklerostina i DKK1 u ispitanika s GB-om na početku liječenja i nakon kontrolnoga perioda od godine dana i ispitivanje povezanosti serumskih razina sklerostina i DKK1, BMD-a i biljega koštane pregradnje OC, DPD i β -CTX u ispitanika s GB-om na početku liječenja i nakon kontrolnoga perioda od godine dana i ispitivanje povezanosti serumskih razina sklerostina i DKK1 s parametrima prehranbenih i životnih navika ispitanika s GB-om na početku liječenja.

Nacrt istraživanja: Longitudinalno prospektivno kohortno

Ispitanici i metode: U istraživanje je uključeno 37 ispitanika oboljelih od novootkrivenoga GB-a u dobi između 22 i 74 godine. Na početku istraživanja ispitanici su ispunili upitnik o prehranbenim i životnim navikama. Na početnom mjerenju, u hipertireoidnom stanju, između 8 i 10 sati ujutro (nakon noćnoga posta) ispitanici su dali uzorke krvi i urina u kojima su određeni OC, DPD i β -CTX. Tada su uzeti i uzorci krvi za određivanje sklerostina i DKK1 koji su centrifugirani, a serumi su pohranjeni na -80°C do analize. Denzitometrijom je određena gustoća kosti lumbalne kralježnice i kuka. Bolesnicima su uvedeni tireostatski lijekovi, a nakon godinu dana u eutireoidnom stanju određeni su isti parametri u serumu i urinu.

Rezultati: Na kontrolnom mjerenju nakon godinu dana razine sklerostina bile su značajno manje, a razine DKK1 značajno veće. Koštana gustoća lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti bile su značajno više, a razine OC-a, β -CTX-a i DPD-a značajno niže. U hipertireozii razine sklerostina bile su pozitivno povezane s FT3. U eutireoidnom stanju nađena je pozitivna korelacija između FT3 i DKK1, dok je negativna korelacija nađena između TSH-a i DKK1. Nije nađena povezanost sklerostina i DKK1 s drugim biljezima koštane pregradnje OC-om, β -CTX-om ili DPD-om. Također, niti jednim mjerenjem nije utvrđena značajna korelacija između sklerostina ili DKK1 i T-vrijednosti ili BMD-a lumbalne kralježnice, kuka i vrata bedrene kosti.

Zaključak: Razlike u serumskim razinama sklerostina i DKK1 nakon liječenja GB-a ukazuju na utjecaj GB-a i njegova liječenja tireostatskim lijekovima na ta dva inhibitora Wnt puta, kao i njihovu ulogu u procesima pregradnje kosti uzrokovanim GB-om.

Ključne riječi: biljezi koštane pregradnje; dickkopf 1 protein ljudski; Gravesova bolest; gustoća kosti; SOST protein ljudski

9. SUMMARY

The influence of Graves' disease and its treatment by antithyroid drugs on inhibitors of Wnt pathway sclerostin and dickkopf 1

Objectives: The aim of this research is to examine the differences in serum concentrations of the Wnt inhibitor sclerostin and DKK1 in subjects with GB at the beginning of the treatment and after a control period of one year. Additional objectives are to examine the relationship between serum concentrations of sclerostin and DKK1, BMD and markers of bone remodeling OC, DPD and β -CTX in subjects with GB at the beginning of treatment and after a control period of one year, and to examine the relationship between serum concentrations of sclerostin and DKK1 with nutritional and lifestyle parameters habits of subjects with GB at the beginning of treatment.

Study Design: Longitudinal prospective cohort

Participants and Methods: 37 subjects with newly diagnosed Graves' disease (GD) aged between 22 and 74 were included in the study. At the beginning of the study the respondents filled out a questionnaire about food and lifestyle habits. At the initial measurement, in a hyperthyroid state between 8 and 10 a.m. (after an overnight fast), subjects gave blood and urine samples in which OC, DPD and β -CTX were determined. Also, were taken blood samples to determine sclerostin and DKK1 which were centrifuged, and the serum were stored at -80°C until analysis. Bone density of the lumbar spine and hip was determined by densitometry. The patients were treated with antithyroid drugs (ATD), and after 1 year in a euthyroid state, the same parameters were determined in serum and urine.

Results: At the follow-up measurement one year after the introduction of ATD, the levels of sclerostin were significantly lower, while the levels of DKK1 increased significantly. Bone density of the lumbar spine, hip, and femoral neck improved significantly, and OC, β -CTX, and DPD concentrations decreased. In hyperthyroidism, sclerostin levels were positively associated with FT3. In the euthyroid state, a positive correlation was found between FT3 and DKK1, while a negative correlation was found between TSH and DKK1. No association of sclerostin and DKK1 with other markers of bone remodeling OC, β -CTX or DPD was found. Also, no significant correlation was found between sclerostin or DKK1 and T-score or BMD of the lumbar spine, hip and femoral neck at any measurement.

Conclusion: Differences in the serum levels of sclerostin and DKK1 following GD treatment indicate the impact of GD and its treatment with ATD on these two Wnt pathway inhibitors as well as their participation in bone remodeling processes caused by GD.

Key words: biomarkers; dickkopf 1 protein, human; graves disease; bone density; SOST protein. human

10. LITERATURA

1. Antonelli A, Ferrari SM, Ragusa F, Elia G, Paparo SR, Ruffilli I, et al. Graves' disease: Epidemiology, genetic and environmental risk factors and viruses. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2020;34(1):101387.
2. Smith TJ, Hegedüs L. Graves' Disease. *N Engl J Med.* 2016;375(16):1552-65.
3. Bartalena L. Diagnosis and management of Graves disease: a global overview. *Nat Rev Endocrinol.* 2013;9(12):724-34.
4. Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev.* 2001;81(3):1097-142.
5. Welsh KJ, Soldin SJ. DIAGNOSIS OF ENDOCRINE DISEASE: How reliable are free thyroid and total T3 hormone assays? *Eur J Endocrinol.* 2016;175(6):R255-R63.
6. Feldt-Rasmussen U, Krogh Rasmussen Å. *Thyroid Hormone Transport and Actions.* Basel: Karger; 2007. p. 80-103.
7. Friesema EC, Jansen J, Visser TJ. Thyroid hormone transporters. *Biochem Soc Trans.* 2005;33(Pt 1):228-32.
8. Cardoso LF, Maciel LM, Paula FJ. The multiple effects of thyroid disorders on bone and mineral metabolism. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2014;58(5):452-63.
9. Bassett JH, Williams GR. Role of Thyroid Hormones in Skeletal Development and Bone Maintenance. *Endocr Rev.* 2016;37(2):135-87.
10. Bianco AC, Kim BW. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *J Clin Invest.* 2006;116(10):2571-9.
11. Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev.* 2010;31(2):139-70.
12. Nicholls JJ, Brassill MJ, Williams GR, Bassett JH. The skeletal consequences of thyrotoxicosis. *J Endocrinol.* 2012;213(3):209-21.
13. Längericht J, Krämer I, Kahaly GJ. Glucocorticoids in Graves' orbitopathy: mechanisms of action and clinical application. *Ther Adv Endocrinol Metab.* 2020;11:2042018820958335.
14. Chin YH, Ng CH, Lee MH, Koh JWH, Kiew J, Yang SP, et al. Prevalence of thyroid eye disease in Graves' disease: A meta-analysis and systematic review. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2020;93(4):363-74.

15. Şahlı E, Gündüz K. Thyroid-associated Ophthalmopathy. *Turk J Ophthalmol.* 2017;47(2):94-105.
16. Bartalena L, Tanda ML. Current concepts regarding Graves' orbitopathy. *J Intern Med.* 2022;292(5):692-716.
17. Bartalena L, Kahaly GJ, Baldeschi L, Dayan CM, Eckstein A, Marcocci C, et al. The 2021 European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) clinical practice guidelines for the medical management of Graves' orbitopathy. *Eur J Endocrinol.* 2021;185(4):G43-G67.
18. Subekti I, Pramono LA. Current Diagnosis and Management of Graves' Disease. *Acta Med Indones.* 2018;50(2):177-82.
19. Burch HB, Cooper DS. Management of Graves Disease: A Review. *JAMA.* 2015;314(23):2544-54.
20. Kahaly GJ, Bartalena L, Hegedüs L, Leenhardt L, Poppe K, Pearce SH. 2018 European Thyroid Association Guideline for the Management of Graves' Hyperthyroidism. *Eur Thyroid J.* 2018;7(4):167-86.
21. Zoričić Cvek Sa, Bobinac D, Đudarić L, Cvijanović O. The remodeling of the skeleton. *Medicina Flumensis.* 2015.;51(4):11.
22. Williams GR. Thyroid hormone actions in cartilage and bone. *Eur Thyroid J.* 2013;2(1):3-13.
23. Gorka J, Taylor-Gjevre RM, Arnason T. Metabolic and clinical consequences of hyperthyroidism on bone density. *Int J Endocrinol.* 2013;2013:638727.
24. Clevers H, Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell.* 2012;149(6):1192-205.
25. Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell.* 1982;31(1):99-109.
26. Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med.* 2013;19(2):179-92.
27. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis.* 2008;4(2):68-75.
28. Kim JH, Liu X, Wang J, Chen X, Zhang H, Kim SH, et al. Wnt signaling in bone formation and its therapeutic potential for bone diseases. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2013;5(1):13-31.
29. Skah S, Uchuya-Castillo J, Sirakov M, Plateroti M. The thyroid hormone nuclear receptors and the Wnt/ β -catenin pathway: An intriguing liaison. *Dev Biol.* 2017;422(2):71-82.

30. MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell*. 2009;17(1):9-26.
31. Chen Y, Chen Z, Tang Y, Xiao Q. The involvement of noncanonical Wnt signaling in cancers. *Biomed Pharmacother*. 2021;133:110946.
32. Lademann F, Tsourdi E, Hofbauer LC, Rauner M. Thyroid Hormone Actions and Bone Remodeling - The Role of the Wnt Signaling Pathway. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2020;128(6-07):450-4.
33. Liu J, Xiao Q, Xiao J, Niu C, Li Y, Zhang X, et al. Wnt/ β -catenin signalling: function, biological mechanisms, and therapeutic opportunities. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1):3.
34. Flack JE, Mieszczanek J, Novcic N, Bienz M. Wnt-Dependent Inactivation of the Groucho/TLE Co-repressor by the HECT E3 Ubiquitin Ligase Hyd/UBR5. *Mol Cell*. 2017;67(2):181-93.e5.
35. Krishnan V, Bryant HU, Macdougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest*. 2006;116(5):1202-9.
36. Weivoda MM, Ruan M, Hachfeld CM, Pederson L, Howe A, Davey RA, et al. Wnt Signaling Inhibits Osteoclast Differentiation by Activating Canonical and Noncanonical cAMP/PKA Pathways. *J Bone Miner Res*. 2016;31(1):65-75.
37. Tu X, Delgado-Calle J, Condon KW, Maycas M, Zhang H, Carlesso N, et al. Osteocytes mediate the anabolic actions of canonical Wnt/ β -catenin signaling in bone. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(5):E478-86.
38. Delgado-Calle J, Sato AY, Bellido T. Role and mechanism of action of sclerostin in bone. *Bone*. 2017;96:29-37.
39. Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS. Sclerostin and Dickkopf-1 as therapeutic targets in bone diseases. *Endocr Rev*. 2012;33(5):747-83.
40. Carrillo-López N, Martínez-Arias L, Fernández-Villabrille S, Ruiz-Torres MP, Dusso A, Cannata-Andía JB, et al. Role of the RANK/RANKL/OPG and Wnt/ β -Catenin Systems in CKD Bone and Cardiovascular Disorders. *Calcif Tissue Int*. 2021;108(4):439-51.
41. Kubota T, Michigami T, Ozono K. Wnt signaling in bone metabolism. *J Bone Miner Metab*. 2009;27(3):265-71.
42. Shan Y, Wang L, Li G, Shen G, Zhang P, Xu Y. Methylation of bone. *Biochem Cell Biol*. 2019;97(4):369-74.
43. Delgado-Calle J, Bellido T. Osteocytes and Skeletal Pathophysiology. *Curr Mol Biol Rep*. 2015;1(4):157-67.

44. Schaffler MB, Kennedy OD. Osteocyte signaling in bone. *Curr Osteoporos Rep.* 2012;10(2):118-25.
45. Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF. The osteocyte: an endocrine cell ... and more. *Endocr Rev.* 2013;34(5):658-90.
46. Sebastian A, Loots GG. Transcriptional control of *Sost* in bone. *Bone.* 2017;96:76-84.
47. Hu Y, Liu M, Xu S, Li S, Yang M, Su T, et al. The Clinical Significance of Dickkopf Wnt Signaling Pathway Inhibitor Gene Family in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Med Sci Monit.* 2020;26:e927368.
48. Huang Y, Liu L, Liu A. Dickkopf-1: Current knowledge and related diseases. *Life Sci.* 2018;209:249-54.
49. Evenepoel P, D'Haese P, Brandenburg V. Sclerostin and DKK1: new players in renal bone and vascular disease. *Kidney Int.* 2015;88(2):235-40.
50. Li J, Sarosi I, Cattley RC, Pretorius J, Asuncion F, Grisanti M, et al. Dkk1-mediated inhibition of Wnt signaling in bone results in osteopenia. *Bone.* 2006;39(4):754-66.
51. Rachner TD, Göbel A, Benad-Mehner P, Hofbauer LC, Rauner M. Dickkopf-1 as a mediator and novel target in malignant bone disease. *Cancer Lett.* 2014;346(2):172-7.
52. Paik J, Scott LJ. Romosozumab: A Review in Postmenopausal Osteoporosis. *Drugs Aging.* 2020;37(11):845-55.
53. Dentice M, Marsili A, Zavacki A, Larsen PR, Salvatore D. The deiodinases and the control of intracellular thyroid hormone signaling during cellular differentiation. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(7):3937-45.
54. Sirakov M, Skah S, Nadjar J, Plateroti M. Thyroid hormone's action on progenitor/stem cell biology: new challenge for a classic hormone? *Biochim Biophys Acta.* 2013;1830(7):3917-27.
55. Natsume H, Sasaki S, Kitagawa M, Kashiwabara Y, Matsushita A, Nakano K, et al. Beta-catenin/Tcf-1-mediated transactivation of cyclin D1 promoter is negatively regulated by thyroid hormone. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;309(2):408-13.
56. Guigon CJ, Zhao L, Lu C, Willingham MC, Cheng SY. Regulation of beta-catenin by a novel nongenomic action of thyroid hormone beta receptor. *Mol Cell Biol.* 2008;28(14):4598-608.
57. Dentice M, Luongo C, Ambrosio R, Sibilio A, Casillo A, Iaccarino A, et al. β -Catenin regulates deiodinase levels and thyroid hormone signaling in colon cancer cells. *Gastroenterology.* 2012;143(4):1037-47.

58. Ely KA, Bischoff LA, Weiss VL. Wnt Signaling in Thyroid Homeostasis and Carcinogenesis. *Genes (Basel)*. 2018;9(4).
59. Wang L, Shao YY, Ballock RT. Thyroid hormone interacts with the Wnt/beta-catenin signaling pathway in the terminal differentiation of growth plate chondrocytes. *J Bone Miner Res*. 2007;22(12):1988-95.
60. Wang L, Shao YY, Ballock RT. Carboxypeptidase Z (CPZ) links thyroid hormone and Wnt signaling pathways in growth plate chondrocytes. *J Bone Miner Res*. 2009;24(2):265-73.
61. Wang L, Shao YY, Ballock RT. Thyroid hormone-mediated growth and differentiation of growth plate chondrocytes involves IGF-1 modulation of beta-catenin signaling. *J Bone Miner Res*. 2010;25(5):1138-46.
62. Furuya F, Hanover JA, Cheng SY. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase signaling by a mutant thyroid hormone beta receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(6):1780-5.
63. O'Shea PJ, Kim DW, Logan JG, Davis S, Walker RL, Meltzer PS, et al. Advanced bone formation in mice with a dominant-negative mutation in the thyroid hormone receptor β gene due to activation of Wnt/ β -catenin protein signaling. *J Biol Chem*. 2012;287(21):17812-22.
64. Skowrońska-Józwiak E, Krawczyk-Rusiecka K, Lewandowski KC, Adamczewski Z, Lewiński A. Successful treatment of thyrotoxicosis is accompanied by a decrease in serum sclerostin levels. *Thyroid Res*. 2012;5(1):14.
65. Skowrońska-Józwiak E, Lewandowski KC, Adamczewski Z, Krawczyk-Rusiecka K, Lewiński A. Mechanisms of Normalisation of Bone Metabolism during Recovery from Hyperthyroidism: Potential Role for Sclerostin and Parathyroid Hormone. *Int J Endocrinol*. 2015;2015:948384.
66. Tsourdi E, Rijntjes E, Köhrle J, Hofbauer LC, Rauner M. Hyperthyroidism and Hypothyroidism in Male Mice and Their Effects on Bone Mass, Bone Turnover, and the Wnt Inhibitors Sclerostin and Dickkopf-1. *Endocrinology*. 2015;156(10):3517-27.
67. Tsourdi E, Colditz J, Lademann F, Rijntjes E, Köhrle J, Niehrs C, et al. The Role of Dickkopf-1 in Thyroid Hormone-Induced Changes of Bone Remodeling in Male Mice. *Endocrinology*. 2019;160(3):664-74.
68. Tuchendler D, Bolanowski M. The influence of thyroid dysfunction on bone metabolism. *Thyroid Res*. 2014;7(1):12.
69. Morgan SL, Prater GL. Quality in dual-energy X-ray absorptiometry scans. *Bone*. 2017;104:13-28.

70. Majima T, Komatsu Y, Doi K, Takagi C, Shigemoto M, Fukao A, et al. Negative correlation between bone mineral density and TSH receptor antibodies in male patients with untreated Graves' disease. *Osteoporos Int.* 2006;17(7):1103-10.
71. Jódar E, Muñoz-Torres M, Escobar-Jiménez F, Quesada-Charneco M, Lund del Castillo JD. Bone loss in hyperthyroid patients and in former hyperthyroid patients controlled on medical therapy: influence of aetiology and menopause. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997;47(3):279-85.
72. Boonya-Ussadorn T, Punkaew B, Sriassawaamorn N. A comparative study of bone mineral density between premenopausal women with hyperthyroidism and healthy premenopausal women. *J Med Assoc Thai.* 2010;93 Suppl 6:S1-5.
73. Tuchendler D, Bolanowski M. Assessment of bone metabolism in premenopausal females with hyperthyroidism and hypothyroidism. *Endokrynol Pol.* 2013;64(1):40-4.
74. Barbosa AP, Rui Mascarenhas M, Silva CF, Távora I, Bicho M, do Carmo I, et al. Prevalence of silent vertebral fractures detected by vertebral fracture assessment in young Portuguese men with hyperthyroidism. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(2):189-94.
75. Vestergaard P, Mosekilde L. Fractures in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism: a nationwide follow-up study in 16,249 patients. *Thyroid.* 2002;12(5):411-9.
76. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Influence of hyper- and hypothyroidism, and the effects of treatment with antithyroid drugs and levothyroxine on fracture risk. *Calcif Tissue Int.* 2005;77(3):139-44.
77. Vestergaard P, Mosekilde L. Hyperthyroidism, bone mineral, and fracture risk--a meta-analysis. *Thyroid.* 2003;13(6):585-93.
78. Dhanwal DK, Gupta N. Bone mineral density trends in Indian patients with hyperthyroidism--effect of antithyroid therapy. *J Assoc Physicians India.* 2011;59:561-2, 7.
79. Roux JP, Arlot ME, Gineyts E, Meunier PJ, Delmas PD. Automatic-interactive measurement of resorption cavities in transiliac bone biopsies and correlation with deoxypyridinoline. *Bone.* 1995;17(2):153-6.
80. Horiguchi T, Tachikawa S, Kondo R, Hirose M, Teruya S, Ishibashi A, et al. Usefulness of serum carboxy-terminal telopeptide of type I collagen (ICTP) as a marker of bone metastasis from lung cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2000;30(4):174-9.
81. Nenonen A, Cheng S, Ivaska KK, Alatalo SL, Lehtimäki T, Schmidt-Gayk H, et al. Serum TRACP 5b is a useful marker for monitoring alendronate treatment: comparison with other markers of bone turnover. *J Bone Miner Res.* 2005;20(10):1804-12.

82. Alatalo SL, Ivaska KK, Waguespack SG, Econs MJ, Väänänen HK, Halleen JM. Osteoclast-derived serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b in Albers-Schonberg disease (type II autosomal dominant osteopetrosis). *Clin Chem*. 2004;50(5):883-90.
83. Cormick G, Belizán JM. Calcium Intake and Health. *Nutrients*. 2019;11(7).
84. Canada Go. Vitamin D and Calcium: Updated Dietary Reference Intakes: www.canada.ca; [Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/healthy-eating/vitamins-minerals/vitamin-calcium-updated-dietary-reference-intakes-nutrition.html>].
85. Norval M, Wulf HC. Does chronic sunscreen use reduce vitamin D production to insufficient levels? *Br J Dermatol*. 2009;161(4):732-6.
86. Muscogiuri G, Mitri J, Mathieu C, Badenhoop K, Tamer G, Orio F, et al. Mechanisms in endocrinology: vitamin D as a potential contributor in endocrine health and disease. *Eur J Endocrinol*. 2014;171(3):R101-10.
87. Macdonald HM. Contributions of sunlight and diet to vitamin D status. *Calcif Tissue Int*. 2013;92(2):163-76.
88. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev*. 2001;22(4):477-501.
89. Vondra K, Stárka L, Hampl R. Vitamin D and thyroid diseases. *Physiol Res*. 2015;64 Suppl 2:S95-S100.
90. Lorentzon M, Mellström D, Haug E, Ohlsson C. Smoking is associated with lower bone mineral density and reduced cortical thickness in young men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):497-503.
91. Kiyota Y, Muramatsu H, Sato Y, Kobayashi T, Miyamoto K, Iwamoto T, et al. Smoking cessation increases levels of osteocalcin and uncarboxylated osteocalcin in human sera. *Sci Rep*. 2020;10(1):16845.
92. Ward KD, Klesges RC. A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density. *Calcif Tissue Int*. 2001;68(5):259-70.
93. Godos J, Giampieri F, Chisari E, Micek A, Paladino N, Forbes-Hernández TY, et al. Alcohol Consumption, Bone Mineral Density, and Risk of Osteoporotic Fractures: A Dose-Response Meta-Analysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(3).
94. Sundh D, Nilsson M, Zoulakis M, Pasco C, Yilmaz M, Kazakia GJ, et al. High-Impact Mechanical Loading Increases Bone Material Strength in Postmenopausal Women-A 3-Month Intervention Study. *J Bone Miner Res*. 2018;33(7):1242-51.

95. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. *Osteoporos Int.* 2014;25(10):2359-81.
96. Bojanić K, Bilić Ćurčić I, Kuna L, Kizivat T, Smolic R, Raguž Lučić N, et al. Association of Wnt Inhibitors, Bone Mineral Density and Lifestyle Parameters in Women with Breast Cancer Treated with Anastrozole Therapy. *J Clin Med.* 2018;7(9).
97. Chazenbalk GD, Pichurin P, Chen CR, Latrofa F, Johnstone AP, McLachlan SM, et al. Thyroid-stimulating autoantibodies in Graves disease preferentially recognize the free A subunit, not the thyrotropin holoreceptor. *J Clin Invest.* 2002;110(2):209-17.
98. Ippolito S, Cusini C, Lasalvia P, Gianfagna F, Veronesi G, Gallo D, et al. Change in newly diagnosed Graves' disease phenotype between the twentieth and the twenty-first centuries: meta-analysis and meta-regression. *J Endocrinol Invest.* 2021;44(8):1707-18.
99. Nicolaisen P, Obling ML, Winther KH, Hansen S, Hermann AP, Hegedüs L, et al. Consequences of Hyperthyroidism and Its Treatment for Bone Microarchitecture Assessed by High-Resolution Peripheral Quantitative Computed Tomography. *Thyroid.* 2020.
100. Lin C, Jiang X, Dai Z, Guo X, Weng T, Wang J, et al. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling. *J Bone Miner Res.* 2009;24(10):1651-61.
101. Qiang YW, Barlogie B, Rudikoff S, Shaughnessy JD. Dkk1-induced inhibition of Wnt signaling in osteoblast differentiation is an underlying mechanism of bone loss in multiple myeloma. *Bone.* 2008;42(4):669-80.
102. Palacios C. The role of nutrients in bone health, from A to Z. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2006;46(8):621-8.
103. Papadopoulou SK, Papadimitriou K, Voulgaridou G, Georgaki E, Tsotidou E, Zantidou O, et al. Exercise and Nutrition Impact on Osteoporosis and Sarcopenia-The Incidence of Osteosarcopenia: A Narrative Review. *Nutrients.* 2021;13(12).
104. Mihaljević O, Živančević-Simonović S, Lučić-Tomić A, Živković I, Minić R, Mijatović-Teodorović L, et al. The association of circulating sclerostin level with markers of bone metabolism in patients with thyroid dysfunction. *J Med Biochem.* 2020;39(4):436-43.
105. Sarıtekin İ, Açıkgöz Ş, Bayraktaroğlu T, Kuzu F, Can M, Güven B, et al. Sclerostin and bone metabolism markers in hyperthyroidism before treatment and interrelations between them. *Acta Biochim Pol.* 2017;64(4):597-602.

106. Dovjak P, Dorfer S, Föger-Samwald U, Kudlacek S, Marculescu R, Pietschmann P. Serum levels of sclerostin and dickkopf-1: effects of age, gender and fracture status. *Gerontology*. 2014;60(6):493-501.
107. Sankaralingam A, Roplekar R, Turner C, Dalton RN, Hampson G. Changes in Dickkopf-1 (DKK1) and Sclerostin following a Loading Dose of Vitamin D 2 (300,000 IU). *J Osteoporos*. 2014;2014:682763.
108. Dawson-Hughes B, Harris SS, Ceglia L, Palermo NJ. Effect of supplemental vitamin D and calcium on serum sclerostin levels. *Eur J Endocrinol*. 2014;170(4):645-50.
109. Acıbuca F, Dokmetas HS, Acıbuca DO, Kılıçlı F, Aydemir M, Cakmak E. Effect of Vitamin D Treatment on Serum Sclerostin Level. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2017;125(9):634-7.
110. Cidem M, Karacan I, Arat NB, Zengi O, Ozkaya M, Guzel SP, et al. Serum sclerostin is decreased following vitamin D treatment in young vitamin D-deficient female adults. *Rheumatol Int*. 2015;35(10):1739-42.
111. Azzam EZ, Ata MN, Younan DN, Salem TM, Abdul-Aziz AA. DObesity: Relationship between vitamin D deficiency, obesity and sclerostin as a novel biomarker of bone metabolism. *J Clin Transl Endocrinol*. 2019;17:100197.
112. Christodoulou M, Aspray TJ, Piec I, Washbourne C, Tang JC, Fraser WD, et al. Vitamin D Supplementation for 12 Months in Older Adults Alters Regulators of Bone Metabolism but Does Not Change Wnt Signaling Pathway Markers. *JBMR Plus*. 2022;6(5):e10619.
113. Witcher PC, Miner SE, Horan DJ, Bullock WA, Lim KE, Kang KS, et al. Sclerostin neutralization unleashes the osteoanabolic effects of Dkk1 inhibition. *JCI Insight*. 2018;3(11).
114. Maeda K, Kobayashi Y, Koide M, Uehara S, Okamoto M, Ishihara A, et al. The Regulation of Bone Metabolism and Disorders by Wnt Signaling. *Int J Mol Sci*. 2019;20(22).
115. Pantazi H, Papapetrou PD. Changes in parameters of bone and mineral metabolism during therapy for hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(3):1099-106.
116. Akalin A, Colak O, Alatas O, Efe B. Bone remodelling markers and serum cytokines in patients with hyperthyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;57(1):125-9.
117. Barsal G, Taneli F, Atay A, Hekimsoy Z, Erciyas F. Serum osteocalcin levels in hyperthyroidism before and after antithyroid therapy. *Tohoku J Exp Med*. 2004;203(3):183-8.
118. El Hadidy eH, Ghonaim M, El Gawad SSh, El Atta MA. Impact of severity, duration, and etiology of hyperthyroidism on bone turnover markers and bone mineral density in men. *BMC Endocr Disord*. 2011;11:15.

119. Povoroznyuk V, Zaverukha N, Solonenko T, Musiienko A. Reference intervals of serum carboxy-terminal telopeptide of type I collagen in the Ukrainian residents of various ages and sexes. 2020. p. 72-80.
120. del Pino J, Martín-Gómez E, Martín-Rodríguez M, López-Sosa C, Cordero M, Lanchares JL, et al. Influence of sex, age, and menopause in serum osteocalcin (BGP) levels. *Klin Wochenschr.* 1990;69(24):1135-8.
121. Henry YM, Eastell R. Ethnic and gender differences in bone mineral density and bone turnover in young adults: effect of bone size. *Osteoporos Int.* 2000;11(6):512-7.
122. Jorde R, Stunes AK, Kubiak J, Joakimsen R, Grimnes G, Thorsby PM, et al. Effects of vitamin D supplementation on bone turnover markers and other bone-related substances in subjects with vitamin D deficiency. *Bone.* 2019;124:7-13.
123. Lerchbaum E, Trummer C, Theiler-Schwetz V, Kollmann M, Wölfler M, Pilz S, et al. Effects of Vitamin D Supplementation on Bone Turnover and Bone Mineral Density in Healthy Men: A Post-Hoc Analysis of a Randomized Controlled Trial. *Nutrients.* 2019;11(4).
124. Haderslev KV, Jeppesen PB, Sorensen HA, Mortensen PB, Staun M. Vitamin D status and measurements of markers of bone metabolism in patients with small intestinal resection. *Gut.* 2003;52(5):653-8.
125. Krølner B, Jørgensen JV, Nielsen SP. Spinal bone mineral content in myxoedema and thyrotoxicosis. Effects of thyroid hormone(s) and antithyroid treatment. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1983;18(5):439-46.
126. Wakasugi M, Wakao R, Tawata M, Gan N, Inoue M, Koizumi K, et al. Change in bone mineral density in patients with hyperthyroidism after attainment of euthyroidism by dual energy X-ray absorptiometry. *Thyroid.* 1994;4(2):179-82.
127. Belsing TZ, Tofteng C, Langdahl BL, Charles P, Feldt-Rasmussen U. Can bone loss be reversed by antithyroid drug therapy in premenopausal women with Graves' disease? *Nutr Metab (Lond).* 2010;7:72.
128. Ock SY, Chung YS, Choi YJ. Changes in bone mineral density and trabecular bone score in Graves' disease patients after anti-thyroid therapy. *Osteoporos Sarcopenia.* 2016;2(3):175-9.
129. Yoshihara A, Yoshimura Noh J, Mukasa K, Watanabe N, Iwaku K, Ohye H, et al. The characteristics of osteoporotic patients in Graves' disease patients newly diagnosed after menopause: a prospective observational study. *Endocr J.* 2016;63(12):1113-22.

130. Zou J, Li XL, Yang F. Association between sclerostin, serum bone turnover markers and bone density in postmenopausal women with fragility fracture. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2016;9(7):12984-91.
131. Kuo TH, Lin WH, Chao JY, Wu AB, Tseng CC, Chang YT, et al. Serum sclerostin levels are positively related to bone mineral density in peritoneal dialysis patients: a cross-sectional study. *BMC Nephrol*. 2019;20(1):266.
132. Garnero P, Sornay-Rendu E, Munoz F, Borel O, Chapurlat RD. Association of serum sclerostin with bone mineral density, bone turnover, steroid and parathyroid hormones, and fracture risk in postmenopausal women: the OFELY study. *Osteoporos Int*. 2013;24(2):489-94.
133. Butler JS, Murray DW, Hurson CJ, O'Brien J, Doran PP, O'Byrne JM. The role of Dkk1 in bone mass regulation: correlating serum Dkk1 expression with bone mineral density. *J Orthop Res*. 2011;29(3):414-8.
134. Memon AR, Butler JS, O'Riordan MV, Guerin E, Dimitrov BD, Harty JA. Comparison of serum Dkk1 (Dickkopf-1) and bone mineral density in patients on bisphosphonate treatment vs no treatment. *J Clin Densitom*. 2013;16(1):118-24.
135. Adami S, Bertoldo F, Braga V, Fracassi E, Gatti D, Gandolini G, et al. 25-hydroxy vitamin D levels in healthy premenopausal women: association with bone turnover markers and bone mineral density. *Bone*. 2009;45(3):423-6.
136. Sadat-Ali M, Al Elq AH, Al-Turki HA, Al-Mulhim FA, Al-Ali AK. Influence of vitamin D levels on bone mineral density and osteoporosis. *Ann Saudi Med*. 2011;31(6):602-8.
137. Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2014;383(9912):146-55.
138. Alkhenizan A, Mahmoud A, Hussain A, Gabr A, Alsoghayer S, Eldali A. The Relationship between 25 (OH) D Levels (Vitamin D) and Bone Mineral Density (BMD) in a Saudi Population in a Community-Based Setting. *PLoS One*. 2017;12(1):e0169122.
139. Tang Y, Wei F, Yu M, Zhou H, Wang Y, Cui Z, et al. Absence of causal association between Vitamin D and bone mineral density across the lifespan: a Mendelian randomization study. *Sci Rep*. 2022;12(1):10408.
140. Christgau S, Bitsch-Jensen O, Hanover Bjarnason N, Gamwell Henriksen E, Qvist P, Alexandersen P, et al. Serum CrossLaps for monitoring the response in individuals undergoing antiresorptive therapy. *Bone*. 2000;26(5):505-11.

141. Peichl P, Griesmacherb A, Marteau R, Hejc S, Kumpan W, Müller MM, et al. Serum crosslaps in comparison to serum osteocalcin and urinary bone resorption markers. *Clin Biochem.* 2001;34(2):131-9.
142. Lee MS, Kim SY, Lee MC, Cho BY, Lee HK, Koh CS, et al. Negative correlation between the change in bone mineral density and serum osteocalcin in patients with hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;70(3):766-70.
143. Bergström I, Parini P, Gustafsson SA, Andersson G, Brinck J. Physical training increases osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Metab.* 2012;30(2):202-7.
144. Ardawi MS, Rouzi AA, Qari MH. Physical activity in relation to serum sclerostin, insulin-like growth factor-1, and bone turnover markers in healthy premenopausal women: a cross-sectional and a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(10):3691-9.
145. Zagrodna A, Józków P, Mędraś M, Majda M, Słowińska-Lisowska M. Sclerostin as a novel marker of bone turnover in athletes. *Biol Sport.* 2016;33(1):83-7.
146. Gombos GC, Bajsz V, Pék E, Schmidt B, Sió E, Molics B, et al. Direct effects of physical training on markers of bone metabolism and serum sclerostin concentrations in older adults with low bone mass. *BMC Musculoskelet Disord.* 2016;17:254.
147. Janik M, Stuss M, Michalska-Kasiczak M, Jegier A, Sewerynek E. Effects of physical activity on sclerostin concentrations. *Endokrynol Pol.* 2018;69(2):142-9.
148. Lombardi G, Lanteri P, Colombini A, Mariotti M, Banfi G. Sclerostin concentrations in athletes: role of load and gender. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2012;26(1):157-63.
149. Saghand MR, Rajabi H, Dekhoda M, Hoseini A. The Effects of Eight Weeks High-Intensity Interval Training vs. Continuous Moderate-Intensity Training on Plasma Dickkopf-1 and Glycemic Control in Patients with Type 2 Diabetes. *Annals of Applied Sport Science.* 2020;8(2).
150. Kim TH, Chang JS, Park KS, Park J, Kim N, Lee JI, et al. Effects of exercise training on circulating levels of Dickkopf-1 and secreted frizzled-related protein-1 in breast cancer survivors: A pilot single-blind randomized controlled trial. *PLoS One.* 2017;12(2):e0171771.
151. Gaudio A, Pennisi P, Bratengeier C, Torrisi V, Lindner B, Mangiafico RA, et al. Increased sclerostin serum levels associated with bone formation and resorption markers in patients with immobilization-induced bone loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(5):2248-53.
152. Kalem MN, Kalem Z, Akgun N, Bakırarar B. The relationship between postmenopausal women's sclerostin levels and their bone density, age, body mass index,

- hormonal status, and smoking and consumption of coffee and dairy products. *Arch Gynecol Obstet.* 2017;295(3):785-93.
153. Jorde R, Stunes AK, Kubiak J, Grimnes G, Thorsby PM, Syversen U. Smoking and other determinants of bone turnover. *PLoS One.* 2019;14(11):e0225539.
154. Al-Bashaireh AM, Haddad LG, Weaver M, Chengguo X, Kelly DL, Yoon S. The Effect of Tobacco Smoking on Bone Mass: An Overview of Pathophysiologic Mechanisms. *J Osteoporos.* 2018;2018:1206235.
155. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, De Laet C, Eisman JA, et al. Smoking and fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2005;16(2):155-62.
156. Supervía A, Nogués X, Enjuanes A, Vila J, Mellibovsky L, Serrano S, et al. Effect of smoking and smoking cessation on bone mass, bone remodeling, vitamin D, PTH and sex hormones. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006;6(3):234-41.
157. Rizzoli R. Dairy products and bone health. *Aging Clin Exp Res.* 2022;34(1):9-24.
158. Fabiani R, Naldini G, Chiavarini M. Dietary Patterns in Relation to Low Bone Mineral Density and Fracture Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Adv Nutr.* 2019;10(2):219-36.
159. Cidem M, Usta TA, Karacan I, Kucuk SH, Uludag M, Gun K. Effects of sex steroids on serum sclerostin levels during the menstrual cycle. *Gynecol Obstet Invest.* 2013;75(3):179-84.
160. Liakou CG, Mastorakos G, Makris K, Fatouros IG, Avloniti A, Marketos H, et al. Changes of serum sclerostin and Dickkopf-1 levels during the menstrual cycle. A pilot study. *Endocrine.* 2016;54(2):543-51.
161. Mirza FS, Padhi ID, Raisz LG, Lorenzo JA. Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95(4):1991-7.
162. Ardawi MS, Al-Kadi HA, Rouzi AA, Qari MH. Determinants of serum sclerostin in healthy pre- and postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 2011;26(12):2812-22.
163. Mödder UI, Hoey KA, Amin S, McCready LK, Achenbach SJ, Riggs BL, et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J Bone Miner Res.* 2011;26(2):373-9.
164. Bener A, Hammoudeh M, Zirie M. Prevalence and predictors of osteoporosis and the impact of life style factors on bone mineral density. *APLAR Journal of rheumatology.* 2007;10(3):227-33.

165. Yoshimura N, Muraki S, Oka H, Kawaguchi H, Nakamura K, Akune T. Biochemical markers of bone turnover as predictors of osteoporosis and osteoporotic fractures in men and women: 10-year follow-up of the Taiji cohort. *Mod Rheumatol*. 2011;21(6):608-20.
166. Qu XL, Zheng B, Chen TY, Cao ZR, Qu B, Jiang T. Bone Turnover Markers and Bone Mineral Density to Predict Osteoporotic Fractures in Older Women: A Retrospective Comparative Study. *Orthop Surg*. 2020;12(1):116-23.

11. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci

Dunja Mudri, dr. med.

Specijalistica nuklearne medicine

Klinički zavod za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja, Klinički bolnički centar Osijek

J. Huttlera 4

31 000 Osijek

e-mail: dunjavalentina@gmail.com

Mjesto i datum rođenja: Đakovo, 24. veljače 1976.

Obrazovanje:

- 2017. – danas – Poslijediplomski doktorski studij Biomedicina i zdravstvo, Medicinski fakultet Osijek, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
- 1995. - 2003. Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet, Studij medicine u Osijeku
- 1991. - 1995. Opća gimnazija u Osijeku
- 1983. - 1991. Osnovna škola u Osijeku

Radno iskustvo:

- 19. 1. 2012. – danas Specijalistica nuklearne medicine na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja, KBC Osijek
- 1. 6. 2015. - 31. 5. 2021. Asistentica na Katedri za nuklearnu medicinu i onkologiju na Medicinskom fakultetu Osijek
- 20. 8. 2007. – 18. 1. 2012. Specijalizantica nuklearne medicine na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja, KBC Osijek
- 1. 6. 2007. – 19. 8. 2007. Doktorica medicine na zamjeni, Ambulanta opće medicine Vuka/Beketinci, Dom zdravlja Osijek

- 1. 1. 2005. - 31. 5. 2007. doktor medicine, Hitna medicinska pomoć Osječko-baranjske županije
- 18. 8. 2003. - 17. 8. 2004. Pripravnički staž u Općoj bolnici Vinkovci

Članstvo i aktivnosti u znanstvenim i strukovnim udrugama:

Hrvatska liječnička komora

Hrvatski liječnički zbor

Hrvatsko društvo za nuklearnu medicinu

Hrvatsko društvo za preciznu personaliziranu medicinu

Popis radova i aktivnih sudjelovanja na skupovima

1. Oralno izlaganje Subakutni tireoiditis de Quervain – bolest koja se još uvijek teže prepoznaje. Sixth International Congress of the Croatian Society of Nuclear Medicine, May 15-18, 2011, Opatija, Croatia
2. Mihaljević I, Mudri D, Smolić R, Smolić M, Tucak-Zorić S. Biochemical Bone Turnover Markers: Significance in Patients with Osteoporosis, Coll Antropol. 2009 Dec;33 Suppl 2:21-4.
3. Izlaganje postera Moždana smrt – uloga radionuklidne scintigrafije na 5. godišnjem sastanku Hrvatske udruge tehnologa u nuklearnoj medicini s međunarodnim sudjelovanjem 2010. u Kraljevici, Republika Hrvatska
4. Izlaganje postera The influence of hyperthyroidism and its treatment by antithyroid drugs on changes of bone metabolism, bone density and Wnt inhibitors sclerostin and dickkopf 1. na 1. Pecs – Osijek PhD symposium, May 10, 2019. Pécs, Hungary
5. Mudri D, Kizivat T, Smolić M, Mihaljević I, Smolić R, Bilić-Čurčić I. Impact of Graves' Disease and Antithyroid Therapy on Bone Mineral Density – Pathophysiological Mechanisms and Clinical Relevance, Acta clinica Croatica, 2019. (in press)

6. Wagenhofer V, Mihaljević I, Šnajder D, Mudri D, Marić I. The Clinical Value of I-131 Diagnostic Whole-Body Scan in the Follow – Up of Patients with Differentiated Thyroid Cancer, *Acta clinica Croatica*, 2019. (in press)
7. Kizvat T, Marić I, Mudri D, Bilić-Čurčić I, Primorac D, Smolić M. Hypothyroidism and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathophysiological Associations and Therapeutic Implications, *Journal of Clinical and Translational Hepatology*, *J Clin Transl Hepatol*. 2020 Sep 28;8(3):347-353. doi: 10.14218/JCTH.2020.00027. Epub 2020 Jul 21.
8. Poster D.Mudri, T. Kizivat, D. Šnajder, D. Vrdoljak, I. Bilić-Čurčić, I. Mihaljević; Influence of Graves' disease on bone mineral density and bone metabolism – can it still be of interest and importance?. Tenth International Congress of the Croatian Society of Nuclear Medicine, May 07-10, 2020, Vodice, Croatia
9. Poster D. Vrdoljak, T. Kralj, D. Šnajder Mujkić, D. Mudri, V. Wagenhofer, I. Mihaljević; Thyrotropin receptor antibodies and Graves' ophthalmopathy. Tenth International Congress of the Croatian Society of Nuclear Medicine, May 07-10, 2020, Vodice, Croatia
10. e-poster I. Mihaljevic, V. Wagenhofer, T. Kralj, D. Vrdoljak, T. Kizivat, D. Mudri, M. Franceschi, T. Jukic; The diagnostic value of stimulated serum thyroglobulin in the follow-up of low and intermediate-risk patients with differentiated thyroid cancer. 33rd Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine – EANM'20 Virtual | October 22 - 30, 2020
11. Mudri D, Kizivat T, Mihaljević I, Bilić Čurčić I. Wnt Inhibitors and Bone Mineral Density in Patients with Graves' Disease Treated with Antithyroid Drugs: A Preliminary Prospective Study. *Metabolites*. 2022 Jul 29;12(8):711. doi: 10.3390/metabo12080711. PMID: 36005583; PMCID: PMC9413978.

12. Prilozi

1. Upitnik o prehranbenim i životnim navikama

Današnji datum :

Ime i prezime:

Datum rođenja:

Adresa :

Broj telefona:

Ime liječnika obiteljske medicine:

Trenutna visina :

Težina:

BMI:

Zanimanje (koje je radila prije mirovine , ako je u mirovini):

1. Da li ste imali prijelom kuka/trupa kralješka ? DA / NE
2. Da li ste u tijeku života imali prijelom bez prethodne veće traume ? DA / NE
3. Da li imate umjetni kuk ? DA / NE
ako DA : lijevi , desni , oba (zaokružite)
4. Da li je vaš roditelj imao prijelom kuka ? DA / NE
5. Da li pušite ? DA / NE
6. Da li ste koristili kortikosteroide duže od 3 mjeseca ili duže ? DA / NE
7. Da li vam je dijagnosticiran reumatoidni artritis ? DA / NE
8. Da li koristite lijekove za osteoporozu/osteopeniju ? DA / NE
Ako DA zaokružite koji lijek koristite i koliko dugo (u mjesecima ga koristite) ?
Actonel (i.e. risedronate) Evista (i.e. raloxifene) Fosamax (i.e. alendronate) Boniva (i.e. ibandronate) Forteo (i.e. parathyroid hormone) HRT (i.e. estrogen/hormone therapy) Osseor (i.e. strontium ranelate) Prolia (i.e. denosumab)
(ako da koje: bisfosfonati (risendronat, ibandronat, alendronat), Forsteo, Prolia, Evista)
9. Da li koristite vitamin D ? DA / NE
Ako DA :
Manje od 1 god
Između 1-2 god
Između 2-4 god
Više od 4 god
10. Da li koristite kalcij ? DA / NE
Ako DA :
Manje od 1 god
Između 1-2 god

Između 2-4 god
Više od 4 god

11. Da li je vaša fizička aktivnost veća od 30 min dnevno (hodaње, trčanje, rad u vrtu i kući)? DA / NE

12. Da li vježbate?
Ako DA - Kako i koliko često?
Jedan puta tj.
Dva puta tj.
Tri puta tj.
4 i više puta tj.

13. Da li ste vježbali u prošlosti? DA / NE

14. Da li redovito konzumirate minimalnu količinu mliječnih proizvoda (ekvivalent je pola litre mlijeka dnevno)?

DA / NE

15. Koliko mlijeka ukupno konzumirate dnevno u litrama (zaokružite količinu)?

Do 0,25l
0,25-0,5l
0,5-1l
1l i više

15. Koliko sira i jogurta konzumirate tjedno u kg ?

Do 1,5 kg
1,5-3kg
3 – 5 kg
5kg i više

16. Da li redovno pijete alkohol (više od 2 čaše alkoholnog pića na dan) ? DA / NE

17. Da li vam je dijagnosticiran :
Pjačan rad štitnjače, šećerna bolest, upalna bolest crijeva (Chronova bolest/ulcerozni kolitis),
poremećaj u prehrani (anoreksija/bulimija), završni stadij bubrežne bolesti, hiperparatiroidizam?
DA / NE (ako DA zaokružite dijagnosticiranu bolest)

18. Da li je menopauza nastupila i prije 45.god.života ? DA / NE

19. U kojoj godini života vam je nastupila menopauza?

20. Da li ste imali histerektomiju? (ako da kada)

21. Da li su vam odstranjeni jajnici? (ako DA – u kojoj godini života ?)

22. Kada ste dobili prvu menstruaciju?

23. Da li su ciklusi bili regularni?

DA / NE

24. Koliko ste bili visoki u mladosti?