

Rozprawa habilitacyjna

**OCENA WPŁYWU HEPARYN DROBNOCZĄSTECZKOWYCH
I ACENOKUMAROLU NA MINERALIZACJĘ
I WYBRANE MARKERY OBROTU KOSTNEGO**

Liliana Wawrzyńska

Klinika Chorób Wewnętrznych Klatki Piersiowej
Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Pneumonol. Alergol. Pol. 2004, 72

Oc[>fR>

Adres Redakcji: 01-138 Warszawa, ul. Płocka 26,
tel. (022) 43-12-108, fax. (022) 43-12408, e-mail: 3klinika@igichp.edu.pl

SPIS TREŚCI

OBJAŚNIENIA SKRÓTÓW	4
1. WSTĘP	5
1.1. Wprowadzenie	5
1.2. Przegląd piśmiennictwa	5
1.3. Heparyna	8
1.3.1. Rys historyczny	8
1.3.2. Budowa i mechanizm działania heparyny	8
1.3.3. Heparyny drobnocząsteczkowe	8
1.4. Antagoniści witaminy K	9
1.4.1. Rys historyczny	9
1.4.2. Mechanizm działania antagonistów witaminy K	9
1.5. Metabolizm kości - struktura, obrót kostny	9
1.6. Diagnostyka tworzenia i resorpcji kości	10
1.6.1. Markery tworzenia kości	10
1.6.2. Markery resorpcji kości	11
1.6.3. Osteokalcyna	11
1.7. Diagnostyka obrazowa	11
1.8. Definicja osteoporozy	12
2. ZAŁOŻENIA PRACY	13
3. CEL PRACY	13
4. MATERIAŁ	14
4.1. Dane ogólne	14
4.1.1. Kryteria włączenia i wyłączenia	14
4.1.2. Ankieta dla pacjenta	14
4.1.3. Wskazania do przedłużonej profilaktyki przeciwzakrzepowej	15
4.2. Podział chorych w trzech etapach pracy	15
4.3. Skrócony schemat pracy	17
5. METODY	19
5.1. Pomiar gęstości kości	19
5.2. Badanie stężenia wapnia całkowitego oraz aktywności fosfatazy zasadowej	19
5.3. Oznaczanie stężenia osteokalcyny	20
5.4. Oznaczanie stężenia βCrossLaps	21
5.5. Metody statystyczne	21
6. WYNIKI	22
6.1. Etap I	22
6.2. Etap II	27
6.3. Etap III	30
6.3.1. Wpływ LMWH	32
6.3.2. Wpływ acenokumarolu	36
7. OMÓWIENIE	43
7.1. Wprowadzenie	43
7.2. Dobór badanej grupy	43
7.3. Omówienie metod	44
7.4. Omówienie wyników	45
7.5. Podsumowanie	48
8. WNIOSKI	49
9. STRESZCZENIE	50
10. PIŚMIENNICTWO	53

OBJAŚNIENIA SKRÓTÓW

- ALP** (*Alkaline Phosphatase*) – fosfataza zasadowa
- aPTT** (*activated Partial Thromboplastin Time*) – czas częściowej tromboplastyny po aktywacji
- BMC** (*Bone Mineral Content*) – zawartość składników mineralnych w jednostce objętości kości
- BMD** (*Bone Mineral Density*) – gęstość mineralna kości
- BMI** (*Body Mass Index*) – wskaźnik masy ciała
- BMP 3** (*Bone Morphogenetic Protein 3*) – białko morfogenetyczne hamujące różnicowanie komórek macierzystych kości w osteoblasty
- BMPs** (*Bone Morphogenetic Proteins*) – kostne białka morfogenetyczne stymulujące różnicowanie komórek macierzystych w osteoblasty lub hamujące to różnicowanie
- COPD** (*Chronic Obstructive Pulmonary Disease*) – przewlekła obturacyjna choroba płuc
- CTX** – usieciowane C–teloptydy
- DPD** – deoksyperydynolina
- DXA** (*Dual X–ray Absorptiometry*) – dwuwiązkowa absorpcjometria rentgenowska
- gla** – reszty gammadokarboksyglutamyłowe
- glu** – reszty glutamyłowe
- HRT** (*Hormone Replacement Therapy*) – hormonalna terapia zastępcza
- IGFBP** (*Insulin Growth Factor of Bone Protein*) – insulinopodobny czynnik wzrostowy białka kości
- IL 11** – interleukina 11
- INR** (*International Normalized Ratio*) – międzynarodowy znormalizowany wskaźnik = (oznaczony wskaźnik protrombinowy)^c; c jest międzynarodowym wskaźnikiem czułości dla danej tromboplastyny
- j. aXa, UI aXa** – jednostki aktywności anty Xa (przeciw czynnikowi dziesiątemu „a”)
- LMWH** (*Low Molecular Weight Heparins*) – heparyny drobnocząsteczkowe
- NTX, INTP** – usieciowane N–teloptydy
- OC** – osteokalcyna
- PICP** (*Procollagen I Extension Peptides*) – C–końcowe peptydy prokolagenu typu I
- PINP** (*Procollagen I Extension Peptides*) – N–końcowe peptydy prokolagenu typu I
- PTH** – parathormon
- PYD** – pirydynolina
- RIA** (*Radioimmunoassay*) – metoda radioimmunologiczna
- Sixth ACCP Consensus Conference** – (*Sixth American College of Chest Physicians Consensus Conference*) – szósta, ustalająca konferencja Amerykańskiego Towarzystwa Lekarzy Klatki Piersiowej
- STAT 3** (*Signal Transducer and Activator of Transcription*) – czynnik sygnalizujący przewodzenie i transkrypcję genu
- T₃** – trijodotyronina
- T₄** – tyroksyna
- TFPI** (*Tissue Factor Pathway Inhibitor*) – czynnik tkankowy, inhibitor krzepnięcia
- TRAP** (*Tartrate Resistant Acid Phosphatase*) – izoenzym fosfatazy kwaśnej odporny na hamowanie winianem
- T–score** – odchylenie średniej wartości BMD od populacji młodych dorosłych
- QCT** (*Quantitative Computed Tomography*) – ilościowa tomografia komputerowa
- UFH** (*Unfractionated Heparin*) – heparyna niefrakcjonowana (standardowa)
- Vit.K** (*Vitamin K*) – witamina K
- Z–score** – odchylenie od średniej wartości BMD w odniesieniu do wieku, płci i rasy
- ZTP** – zator tętnicy płucnej
- ZŻ** – zakrzepica żylna,
- ZŻG** – zakrzepica żył głębokich
- żchzz** – żylna choroba zakrzepowo – zatorowa
- BCrossLaps** – C–końcowe usieciowane teloptydy łańcucha po konwersji do formy β

1. WSTĘP

„Lepiej zapobiegać niż leczyć”

1.1. Wprowadzenie

W ciągu ostatnich dwudziestu lat równolegle ze wzrostem liczby pacjentów leczonych przeciwzakrzepowo oraz stosujących profilaktykę przeciwzakrzepową wzrosło – w sposób naturalny – zainteresowanie ubocznymi skutkami tej terapii.

Rozwój cywilizacji ma wpływ na wiele czynników ryzyka żyłnej choroby zakrzepowo – zatorowej (żchzz). Zaliczamy do nich m.in. unieruchomienie, otyłość, a także choroby nowotworowe.

Dzięki większej dostępności do wiedzy, większej świadomości lekarzy a także dzięki rozwojowi metod diagnostycznych wzrasta liczba pacjentów z rozpoznaną żylną chorobą zakrzepowo – zatorową. Chorzy ci wymagają leczenia, a następnie stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej. Osiągnięcia techniki, znajdując zastosowanie w medycynie, stwarzają coraz to nowe perspektywy. Rozwijają się transplantologia oraz inne dziedziny zabiegowe. W związku z rozwojem tych dziedzin rośnie liczba pacjentów z nieusuwalnymi czynnikami ryzyka żchzz, u których rodzi się konieczność stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej do końca życia [46]. Udaje się dłużej i skuteczniej leczyć pacjentów z chorobami uznawanymi za nieuleczalne.

Dużą grupę stanowią pacjenci z zaburzeniami rytmu serca pod postacią migotania przedsionków. Zaakceptowano wskazania do stosowania przedłużonej profilaktyki przeciwzakrzepowej również u tych chorych.

W 1986 roku opublikowano zalecenia National Institute of Health (NIH) Consensus Development Conference, zgodnie z którymi należy stosować profilaktykę przeciwzakrzepową u chorych ze średnim i wysokim ryzykiem żchzz poddawanych zabiegom operacyjnym. W 2001 roku opublikowano zalecenia Sixth American College of Chest Physicians (ACCP) Consensus Conference, w których rozszerzono wskazania oraz określono zasady postępowania w profilaktyce przeciwzakrzepowej [46].

Heparyny drobnocząsteczkowe oraz antagoniści Vit. K – pochodne kumaryny są wciąż najszerzej dostępnymi i stosowanymi lekami w profilaktyce przeciwzakrzepowej [31].

Heparyna niefrakcjonowana ma udokumentowany, niekorzystny wpływ na układ kostny. Heparyny drobnocząsteczkowe (Low Molecular Weight Heparins LMWH) wprowadzono do praktyki klinicznej m.in. z nadzieją na ich mniej nasilone objawy uboczne, w tym dotyczące kości. Odkąd udoku-

mentowano skuteczność LMWH w profilaktyce wtórnej stały się one alternatywą do długotrwałego stosowania acenokumarolu. Wybór pomiędzy tymi lekami powinien odbywać się w oparciu o rzetelne porównanie ich objawów ubocznych, w tym niekorzystnego wpływu na układ kostny.

Znaczenie osteoporozy rośnie również w związku ze wzrostem znaczenia czynników ryzyka wystąpienia tej patologii. Są nimi: unieruchomienie, ogólnoustrojowe choroby metaboliczne, palenie papierosów, alkohol, stosowanie licznych leków, niedobory dietetyczne (wapń, Vit. D, Vit. C, białko).

Istotę osteoporozy stanowi zmniejszenie masy kostnej i destrukcja mikroarchitektury co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia mechanicznej wytrzymałości kości i zwiększonego zagrożenia złamaniami [64]. Ponieważ żylna choroba zakrzepowo – zatorowa i osteoporoza mają wspólne czynniki ryzyka wdrożenie leczenia a następnie profilaktyki żchzz przy użyciu heparyn drobnocząsteczkowych lub antagonistów Vit.K może stanowić kolejny istotny czynnik ryzyka osteoporozy z jej poważnymi następstwami pod postacią bólów, złamań i niesprawności.

Złamanie szyjki kości udowej znajduje się wśród najważniejszych przyczyn zachorowań i zgonów ludzi starszych. Wśród białych kobiet w Ameryce Północnej powyżej 50 roku życia 17,5% będzie miało złamanie szyjki kości udowej w ciągu aktywnego życia (wśród mężczyzn złamania występują trzykrotnie rzadziej ok. 6%) [114]. Prognozowane koszty leczenia i wydatki spowodowane przerwą w działalności zawodowej będą wynosiły ok. 45 milionów dolarów rocznie.

Ryzyko żchzz i osteoporozy wzrasta z wiekiem. Ponieważ w całym świecie ludność się starzeje można przewidywać wzrost rozpowszechnienia tych patologii. Istotnym zadaniem wobec niemożności uniknięcia skumulowanego ryzyka może się stać wprowadzenie pierwotnej lub wtórnej profilaktyki przeciw osteoporozie.

1.2. Przegląd piśmiennictwa

Wśród wielu opublikowanych prac na temat osteoporozy u pacjentów stosujących profilaktykę przeciwzakrzepową pionierską była praca Griffith'a z 1965 roku, w której opisał on złamania kręgow i żeber potwierdzone badaniami RTG po leczeniu heparyną pacjentów z niestabilną chorobą wień-

cową, zaburzeniami krążenia mózgowego oraz z zakrzepicą żylną i zatorowością płucną [41]. W następnych latach badania dotyczyły zmian kostnych u kobiet ciężarnych leczonych heparyną standardową. I wśród tych chorych obserwowano znacznie częściej występowanie osteoporozy [8,19-21,27,117]. Stopniowo heparyny drobnocząsteczkowe zaczęły wypierać heparynę standardową. Kolejne badania dotyczyły początkowo zwierząt (szczury, króliki), a następnie ludzi. Murray (1985) wykazał, że utrata masy kostnej w wyniku stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej u szczurów zależy od wielkości masy cząsteczkowej heparyny [75]. Ten sam autor (1995) wykazał na królikach, że heparyna frakcjonowana podawana w dawce 1500j aXa/kg przez miesiąc nie wywołała żadnych zmian masy kostnej w przeciwieństwie do

heparyny niefrakcjonowanej [74]. Bardzo wyraźny wpływ na występowanie złamań, stosując zasadę podwójnie ślepej próby, u pacjentów stosujących niefrakcjonowaną heparynę lub heparynę drobnocząsteczkową potwierdził Monreal: sześciokrotnie częściej dochodziło do złamań u pacjentów stosujących heparynę standardową [67]. W 1997 roku Nelson-Piercy opublikował pracę, z której wynika, że wśród kobiet ciężarnych przyjmujących enoksaparynę w dawce 40mg dziennie przez 6-8 miesięcy u 33% z nich doszło do obniżenia masy kostnej bez ewidentnych objawów klinicznych [76]. Podsumowanie wyników prac z lat 1965-2003 dotyczących wpływu heparyn na kości przedstawia tab.1.1.

Przegląd piśmiennictwa obejmującego dane na temat oceny wpływu antagonistów Vit. K na kości zawiera prace, których wyniki są rozbieżne. Mon-

Tab. 1.1. Wyniki badań nad wpływem heparyny standardowej i heparyn drobnocząsteczkowych na metabolizm kostny z lat 1965 – 2002

Oznaczenia: ++ wyraźny wpływ, + słaby wpływ, – brak wpływu

Autor	Rok	Materiał	Wnioski
Griffith G.C. i wsp.	1965	pacjenci z n.ch.w., zab.kr.mózgowego, z żchzz	UFH +
Hellgren M. i wsp.	1982	kobiety w ciąży	UFH +
Mellisari M. i wsp.	1982	kobiety w ciąży	LMWH -
De Swiet M. i wsp.	1983	kobiety w ciąży	UFH +
Murray W. i wsp.	1985	szczury	UFH+ LMWH –
Murray W. i wsp.	1995	króliki	UFH+ LMWH-
Ginsberg K.S. i wsp.	1990	kobiety w ciąży	UFH +
Matzch T. i wsp.	1990	szczury	UFH+ =tinzaparin+ >2000UIaXa/kg m.c.
Monreal M. i wsp.	1990	szczury	UFH ++, LMWH –
Monreal M. i wsp.	1994	ludzie	UFH+, LMWH+/-,6 razy mniej
Dahlman T.C.	1993	kobiety w ciąży	UFH: złamania kręgow 2,2%
van der Wiel i wsp.	1993	zdrowi mężczyźni	LMWH bez wpływu na obrót kostny
Barbour L.A. i wsp.	1994	kobiety w ciąży	UFH+
Shaughnessy S.G. i wsp.	1995	szczurze płody	UFH++, LMWH +
Shaughnessy S.G. i wsp.	1999	szczury	heparyna gromadzona jest w kościach
Panagakos F.S. i wsp.	1995	kości szczurzych płodów	UFH+
Chigot P. i wsp.	1996	ludzie	LMWH+, UFH++
Douketis J. i wsp.	1996	kobiety w ciąży + grupa kontrolna	UFH+,nie ma korelacji pomiędzy dawką ani czasem podawania
Samama M.M. i wsp.	1996	ludzie	UFH++, LMWH+
Muir J.M. i wsp.	1996	szczury	UFH+(kość beleczkowa)
Muir J.M. i wsp.	1997	szczury	LMWH+(osteoblasty), UFH++(osteoblasty, osteoklasty)
Nelson-Piercy C.	1997	kobiety w ciąży	enoksaparyna +
Nishiyama M. i wsp.	1997	szczury	UFH++, LMWH+
Pettila V. i wsp.	2002	kobiety w ciąży	niższa BMD UFH+++ , LMWH+
Kock H.J.	2002	hodowla ludzkich osteoblastów	UFH, LMWH hamują wzrost osteoblastów przez konkurencję IGFBP -5 i heparyny
Walton K.J.	2002	myszy	UFH + IL 11 aktywuje STAT3 i tworzenie osteoklastów

real (1991) opublikował dane, z których wynika, że warfaryna obniża masę kostną u ludzi [68]. Podobne wnioski wynikają z pracy Kissa (1995), który uważa, że przewlekłe stosowanie warfaryny może mieć wpływ na zmniejszenie masy kostnej i stąd należy wykonywać regularnie badania densytometryczne kości [55]. Odmienny pogląd reprezentuje S. Jamal (1998), która badała wpływ warfaryny na gęstość kości u starych kobiet i nie potwierdziła tego zjawiska [47]. Większość ostatnio publikowanych prac potwierdza wpływ antagonistów Vit. K na kości. Oznaczano stężenie karboksylowanej osteokalcyny w surowicy ludzkiej (Astermark 1999) i potwierdzono znamienne niższe stężenie tej formy osteokalcyny u pacjentów leczonych warfaryną [6]. Caraballo (1999) dokonując analizy wykonanych poprzednio dużych dziewięciu prac porównał stopień zmian gęstości mineralnej kości w trzech obszarach: kości promieniowej kręgow łędźwiowych i kości udowej i zawarł we wnioskach z pracy sugestię, że bez wątplenia długotrwałe przyjmowanie warfaryny powoduje ubytek masy kostnej; jakkolwiek nieznacznie zwiększa ryzyko złamań [16]. Knappen (2000) badając wpływ

antagonistów Vit.K na wzrost i wytrzymałość kości potwierdził wcześniej znany fakt zaburzeń w karboksylacji osteokalcyny i w jej produkcji, ale nie dotyczyło to żadnego innego markera obrotu kostnego [56]. W dużej rodzinie białek odpowiedzialnych za wzrost (Transforming Growth Factor-beta) znajdują się również białka powstające w kości określane wcześniej jako osteogenina. Wśród tych powstających w samej kości, określonych wspólnym mianem kostnych białek morfogenetycznych (Bone Morphogenetic Proteins BMPs), znajduje się zarówno białko stymulujące różnicowanie komórek macierzystych kości w osteoblasty jak też białko będące jego antagonistą (BMP3). Daluiski (2001) próbował wytłumaczyć niejasny wpływ tego białka na gęstość kości [23].

Przegląd wyników badań nad wpływem antagonistów Vit. K na kości z lat 1982 – 2003 zawiera tab.1.2.

Zagadnienie to było również przedmiotem zainteresowań własnych autorki [113-115]. Wyniki tych badań potwierdzają wcześniejsze spostrzeżenia i zachęcają do dalszych badań.

Tabela 1.2. Wyniki badań nad wpływem antagonistów Vit.K na metabolizm kości z lat 1982 – 2001

Autor	Rok	Materiał	Wnioski
Goswami A., Leonard J.L i wsp.	1982	szczury	warfaryna jest inhibitorem enzymatycznej monodejodynacji pierścienia zewnętrznego T4
Monreal M. i wsp.	1991	ludzie	obniżenie BMD
Kiss J. i wsp.	1995	ludzie	BMD +/-, ważna kontrola densytometryczna
Philip W.J. i wsp.	1995	mężczyźni	zaburza karboksylację osteokalcyny
Callahan B.C. i wsp.	1995	implanty pokryte hydroksyapatytem	warfaryna hamuje wzrost i wytrzymałość kości
Sato Y. i wsp.	1997	ludzie po udarze mózgu	warfaryna obniża BMD
Lafforgue P. i wsp.	1997	ludzie	warfaryna nie wpływa na BMD tylko na osteokalcynę
Jamal S.A. i wsp.	1998	starsze kobiety, po menopauzie	warfaryna nie obniża BMD
Price P.A i wsp.	1998	szczury	przyspiesza odkładanie wapnia w naczyniach i na zastawkach
Astermark J. i wsp.	1999	ludzie	warfaryna znacznie obniża stężenie karboksy-osteokalcyny
Caraballo P.J. i wsp.	1999	ludzie	warfaryna obniża powstawanie osteokalcyny, ale nieznacznie zwiększa ryzyko złamań
Haffa A. i wsp.	2000	szczury	warfaryna hamuje powstawanie osteokalcyny
Knappen M.H. i wsp.	2000	ludzie	warfaryna nie wpływa na obrót kostny
Daluiski A. i wsp.	2001	ludzie	BMP3 hamuje powstawanie osteoblastów z prekursorów i pośrednio wpływa na BMD

1.3. Heparyna

1.3.1. Rys historyczny

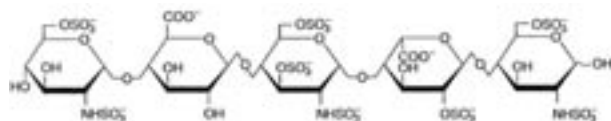
Heparynę odkryli niezależnie od siebie: Doyon w 1911 i Mc Lean w 1916 roku [81a].

W ostatnim ćwierćwieczu XIX wieku znano antykoagulacyjne działanie peptonów (powszechnie w użyciu był pepton Witte'a) podawanych dożylnie psom. W 1911 roku, po kilku latach doświadczeń polegających m.in. na podawaniu atropiny do żyły wrotnej psów – w wyniku czego obserwowano masywne krwawienie w narządach wewnętrznych – Doyon uznał, że wątroba zawiera antykoagulant podobny do tego, który powstaje po podaniu dożylnym peptonów. Antykoagulant ten nazwano „antytrombiną”. W 1916 roku student trzeciego roku medycyny Jay Mc Lean uzyskał zgodę na badania nad poszukiwaniem związku kefaliny, lecytyny i sfingomieliny z układem krzepnięcia. Nie znajdując żadnych powiązań rozpoczął badania nad obecnością „heparfosfatydu” w wątrobach i sercach psów. Znalezione przez niego czynniki hamowały krzepnięcie. Kierujący pracami młodego studenta profesor William Howell określił, po publikacji Mc Leana – czynniki te jako „antiprotrombinę”, a stymulowany przez podawanie peptonu jako „heparynę” (z powodu dużej jego zawartości w wątrobie psa). W 1939 roku Brinkhous potwierdził obecność w surowicy kofaktora nazwanego później antytrombiną III; mechanizm działania połączenia antytrombiny III z heparyną wyjaśnił Rosenberg [18].

1.3.2. Budowa i mechanizm działania heparyny

Heparyna jest mieszaniną cząsteczek o masie od 3 do 30 000 daltonów. Należy do glikozaminoglikanów, które są kwaśnymi mukopolisacharydami. Każda cząsteczka zbudowana jest z podjednostek dwusacharydowych (rys.1.1). Jednostki te mają skierowane na zewnątrz ujemnie naładowane grupy anionowe.

Mechanizm działania przeciwwkrzepowego heparyny związany jest z jej wiązaniem się w kompleks antytrombina + heparyna. Dzięki temu antytrombina przekształca się z wolno działającego inhibitora w bardzo szybko działający



Rys.1.1 Budowa heparyny [116]

tryplet, którego zadaniem jest przede wszystkim inaktywacja trombiny (czynnik IIa) i czynnika Xa. W mniejszym stopniu inaktywuje także inne proteazy serynowe: czynniki IXa, XIa i XIIa oraz VIIa. Poza tym znajdujące się na powierzchni śródbłonna naczyń glikozaminoglikany pod wpływem heparyny uwalniają zależny od czynnika tkankowego inhibitor krzepnięcia (Tissue Factor Pathway Inhibitor – TFPI) [116].

1.3.3. Heparyny drobnocząsteczkowe

Heparyny drobnocząsteczkowe (Low Molecular Weight Heparins -LMWH) powstają przez depolimeryzację heparyny niefrakcjonowanej. W 1976 roku Andersson i Johnson [2,50] niezależnie od siebie opublikowali prace, w których zawarte były spostrzeżenia, że mieszaniny mniejszych cząsteczek heparyny wyodrębnione z całej masy cząstek o różnej masie składających się na heparynę „standardową” mają znacznie mniejszy wpływ na aktywowany czas częściowej tromboplastyny (activated partial thromboplastin time – aPTT) podczas, gdy inaktywują czynniki Xa.

Według European Pharmacopoeia Commission heparyny drobnocząsteczkowe są solami heterogennych siarczanów glikozaminoglikanów o średniej masie cząsteczkowej mniejszej niż 8000 daltonów. Cechują się one większą aktywnością anty Xa w stosunku do aktywności anty IIa w porównaniu z heparyną standardową. Tylko 25% cząstek LMWH zawiera pentasacharyd, który może wiązać się z antytrombiną, reszta neutralizuje czynniki Xa. To zjawisko przekłada się na fakt, że tylko duże stężenia heparyn drobnocząsteczkowych przedłużają czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (aPTT). Heparyny te cechuje też znacznie większa dostępność biologiczna (100% dostępności versus 30% dla heparyny standardowej) co pozwala na zastosowanie dawek dostosowanych do masy ciała chorego bez konieczności oznaczania aPTT. Budowa cząsteczki LMWH tłumaczy też powinowactwo do wapnia [93].

Heparyny drobnocząsteczkowe są eliminowane głównie przez nerki, podczas gdy heparyna standardowa jest metabolizowana w wątrobie i makrofagach. U chorych z niewydolnością nerek eliminacja LMWH z krążenia jest około dwa razy dłuższa niż u zdrowych [60].

Patomechanizm powstawania osteoporozy indukowanej heparyną nie jest zupełnie jasny. Budowa chemiczna z położeniem naładowanych ujemnie reszt anionowych w cząsteczkach pentasacharydów

powoduje przyciąganie dodatnio naładowanych jonów wapnia. Nie udowodniono jednoznacznie wzrostu stężenia parathormonu, ale jedną z przyczyn jest aktywacja osteoklastów przez ten hormon [53,110]. Inne ważne przyczyny to: zmniejszenie aktywności osteoblastów, zwiększenie resorpcji kości wskutek aktywacji kolagenazy oraz zaburzenia przemiany Vit. D [7,8,104].

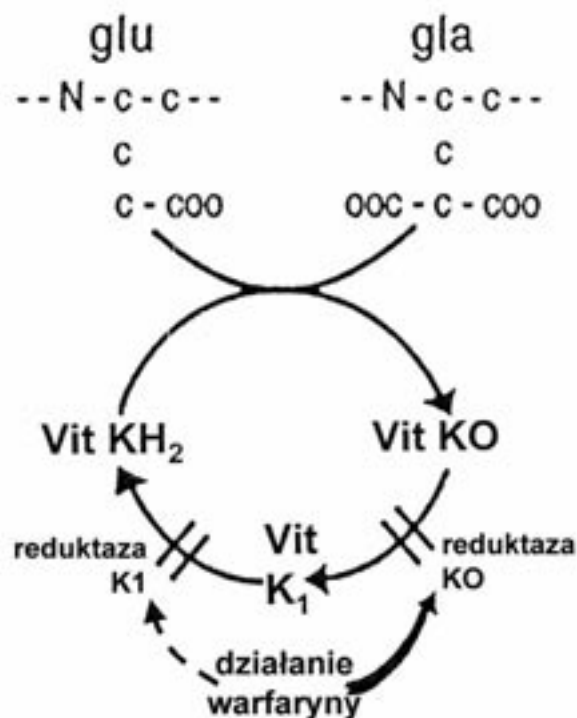
1.4. Antagoniści witaminy K

1.4.1. Rys. historyczny

W latach dwudziestych ubiegłego wieku wśród bydła na preriach Stanów Zjednoczonych Ameryki i Kanady zaczęła się pojawiać dziwna choroba: bydło ginęło wśród objawów masywnych krwotoków wewnętrznych. Wśród podejrzeń o przyczynę choroby pojawiły się twierdzenia, że powodem są nieznanne mikroorganizmy lub niedobory dietetyczne. Dzięki uporowi biednego farmera z Wisconsin, który mimo przeciwności losu w lutym 1933 roku zawiózł padłe zwierzęta i niekrzepnącą krew do laboratorium Carla Linka oraz dzięki zainteresowaniu i zdolnościom pochodzącego ze Szwabii studenta Wilhelma Schoeffela udowodniono, że przyczyną tajemniczej choroby bydła była kumaryna. Obecna ona była w źle przechowywanym mokrym sianie, nadając koniźnie gorzki smak i fioletowy kolor. W 1939 roku wyizolowano tajemniczą substancję, a w 1940 roku Carl Link z zespołem dokonał syntezy dikumarolu. Z pośród ponad 150-ciu związków wybrano analog nr 42 i nadano mu nazwę WARFARIN na pamiątkę fundacji, która płaciła za badania (Wisconsin Alumni Research Foundation). Początkowo preparat ten służył jako trucizna na szczury [81b,30].

1.4.2. Mechanizm działania antagonistów witaminy K

Przez kilkadziesiąt lat uważano, że witamina K jest niezbędna w syntezie czterech białek krzepnięcia: protrombiny, czynnika VII, IX i X [43,48]. W przeciwieństwie do heparyny leki – antagoniści witaminy K nie wykazują bezpośredniego działania na krzepnięcie krwi. Istotą ich działania jest interakcja z metabolizmem samej witaminy K (rys. 1.2.). Wzrasta stężenie epoksydu Vit. K (utlenionej Vit. K) oraz stężenie niezredukowanej Vit. K. Brak odpowiedniej ilości kofaktora reakcji potranslacyjnej karboksylacji reszt kwasu glutaminowego zlokalizowanego w N-końcowym fragmencie cząstek



Rys. 1.2. Działanie warfaryny

czynników krzepnięcia (II,VII,IX,X) powoduje, że nie powstanie kwas gammakarboksyglutaminowy, nie zwiąże on jonów wapnia i pozostaną nieaktywne w procesie krzepnięcia czynniki [43].

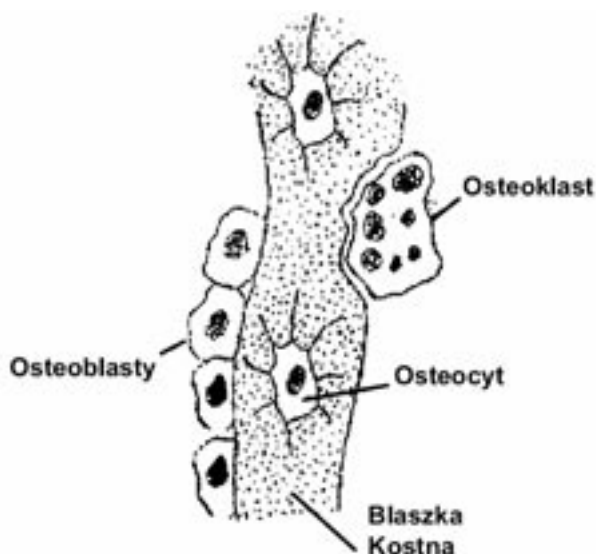
Ostatnio zainteresowanie wzbudził udział witaminy K w powstawaniu białek zależnych od tej witaminy nie związanych bezpośrednio z krzepnięciem a z homeostazą wapnia. Witamina K jest kofaktorem konwersji białek zawierających reszty glutamylowe w gammakarboksyglutamylowe (Gla). Spośród kilku białek zawierających reszty Gla najistotniejszym klinicznie jest niekolagenowe białko kostne zwane osteokalcyną (Gla-protein). Antagoniści Vit. K blokując reakcję gammakarboksylacji prowadzą do wzrostu stężenia nie- i niepełnie karboksylowanej osteokalcyny. Tylko cząsteczki, które podlegają gammakarboksylacji mogą zostać włączone do macierzy kostnej. Antagoniści witaminy K nie tylko powodują wzrost niekarboksylowanej osteokalcyny, ale obniżają stężenie całkowitej puli osteokalcyny i znacznie zmniejszają jej powinowactwo do hydroksyapatytów [13].

1.5. Metabolizm kości – struktura, obrót kostny

Tkanka kostna, która jest wysoko zróżnicowaną postacią tkanki łącznej, ma dwufazową strukturę składającą się z fazy organicznej i mineralnej. Fazę organiczną (macierz kostną) tworzą włókna kolage-

nu typu I usieciowane wiązaniami poprzecznymi (cross-links). Kolagen stanowi 95% substancji organicznej. Pozostała część organiczna to: proteoglikany, białka adhezyjne, czynniki wzrostu i osteonektyna. Wśród włókien kolagenowych umieszczone są kryształki uwodnionego fosforanu wapnia (hydroksyapatytu).

Choroby kości wywołane zmianami w metabolizmie są w istocie zaburzeniami przebudowy kości. Przebudowa kości jest bardzo zintegrowanym procesem. Odnowa tkanki kostnej odbywa się w cyklach, które następują po sobie. Są nimi: pobudzenie – resorpcja – wytwarzanie. Pobudzone osteoklasty i ich prekursorzy rozpoczynają drażnienie jamki na powierzchni kości. Po pewnym czasie następuje aktywacja prekursorów osteoblastów i wypełnienie ubytku. Objętość kości nie zmienia się bowiem proces ten w warunkach zdrowia jest ciągły – jest to stała przebudowa fizjologiczna (rys.1.3) [25,33].



Rys. 1.3. Ciągły proces przebudowy kości

Kości długie zbudowane są z grubej warstwy kości zbitiej – 90% tej kości jest uwapniona. Kości płaskie złożone są z dwóch warstw zbitiej kości korowej. Wnętrze kręgów, kości biodrowej, nasad kości długich wypełnia sieć beleczek zwanych kością gąbczastą. Tylko 15-25% kości gąbczastej jest uwapniona. Kość gąbczasta jest porowata, ma znacznie większą powierzchnię pokrytą przez komórki pełniące funkcje metaboliczne. Komórki kostne to: osteoblasty, osteocyty i osteoklasty. Osteoblasty pochodzą z prekursorów wywodzących się z mezenchymy. Głównym ich zadaniem jest produkcja kompleksów złożonych z kolagenu i proteoglikanów które tworzą osteoid oraz

odgrywają rolę w mineralizacji macierzy. Dwa produkty, które mają znaczenie w tym procesie to fosfataza zasadowa i osteokalcyna – białko kostne zawierające kwas gammakarboksyglutaminowy. Osteoblasty pobudzają też osteoklasty do resorpcji kości poprzez wpływ na parathormon. Osteocyty to osteoblasty całkowicie otoczone przez zmineralizowaną macierz kostną. Funkcją osteocytów jest precyzyjne utrzymywanie równowagi mineralnej ustroju. Osteoklasty są dużymi wielojądrzastymi komórkami występującymi na powierzchni kości. Są to podstawowe komórki odpowiedzialne za resorpcję i przebudowę kości. Cytoplazma tych dużych komórek zawiera lizosomy z licznymi enzymami litycznymi. W resorpcji kości biorą udział cztery układy enzymatyczne: anhidrazy węglanowej, pompy protonowej, ATP-azy wapniowo – zależnej i pompy sodowo – potasowej. W pierwszym etapie gromadzenie jonów wodorowych, obniżenie pH sprzyja rozpuszczaniu wapnia na powierzchni kości. Kolejnym etapem jest rozkładanie organicznych elementów przez enzymy lityczne [64,65].

1.6. Diagnostyka tworzenia i resorpcji kości

Zastosowanie oznaczenia stężenia wapnia i fosforanów w surowicy oraz oznaczanie wydalania wapnia i fosforanów z moczem w celu wykrycia zaburzeń metabolizmu kości nie nadaje się do indywidualnej diagnostyki. Są to tylko testy przesiewowe. Stężenie wapnia w surowicy, a zwłaszcza wydalanie z moczem, zależy od wielu czynników (diety, PTH, czynności nerek, estrogenów). Podobnie ograniczona jest przydatność oznaczania hydroksyproliny w moczu.

1.6.1. Markery tworzenia kości

Testy umożliwiające śledzenie procesu tworzenia i resorpcji kości opierają się na oznaczaniu enzymów osteoblastów, które dostają się do surowicy krwi. Markerem związanym z aktywnością biologiczną osteoblastów i tworzeniem kości jest fosfataza zasadowa (ALP). Całkowita aktywność ALP może być uznawana za wskaźnik aktywności osteoblastów tylko u osób bez schorzeń wątroby. W wieku dojrzałym przeważa jej izoforma wątrobowa podczas gdy izoforma kostna dominuje w wieku dziecięcym i w okresie dojrzewania. Niestety w surowicy ALP występuje w postaci czterech izoenzymów (łożyskowego, jelitowego, komórek rozrodczych oraz wątrobowo – kostnego). Do ozna-

czania izoformy kostnej stosuje się szereg odmiennych metod m.in. immunoenzymatycznych [9].

Kolejnymi markerami tworzenia kości są: C-końcowy propeptyd i N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (PICP i PINP). Kolagen typu I jest syntetyzowany przez osteoblasty w postaci prokolagenu, który na dwóch końcach posiada propeptydy: karboksylowy PICP i aminowy PINP. Końcowe propeptydy są dużymi białkami, nie mogą być usuwane przez nerki, są metabolizowane w wątrobie.

1.6.2. Markery resorpcji kości

Do markerów resorpcji kości zaliczono: wydalanie wapnia, stężenie PTH i hydroksylowanej Vit. D. Należy do nich również hydroksyprolina, aminokwas występujący głównie w kolagenie. Do mocznika i CO₂ rozpada się 90% hydroksyproliny. Tylko 10% wydalane jest z moczem. Sporo ograniczeń i mała swoistość tkankowa hydroksyproliny powodują, że jest to rzadko oznaczany marker resorpcji kości. Innymi markerami są: hydroksylizyna oraz fosfataza kwaśna, a zwłaszcza jeden z jej pięciu izoenzymów oporny na hamowanie winianem (tartarate resistant acid phosphatase TRAP). Ostatnio też powszechnie dostępne stało się oznaczanie wydalania pirydynoliny (PYD) i deoksypirydynoliny (DPD) w moczu. Za bardziej swoiste niż PYD i DPD dla kolagenu typu I uważa się cząsteczki sieciujące związane z peptydami. Oznacza się stężenie N-końcowego telopeptydu (NTX, INTP) w moczu oraz C-końcowego telopeptydu (CTX) w moczu. Stężenie CTX można oznaczać również w surowicy [101].

1.6.3. Osteokalcyna

Osteokalcyna (OC) jest jednym z głównych markerów obrotu kostnego. Produkowana przez osteoblasty występuje tylko w tkance kostnej i zębiny stanowiąc główny składnik macierzy kostnej. Do krążenia uwalniana jest w procesie kościotworzenia i w czasie resorpcji kości. Synteza osteokalcyny zależna jest od Vit. K, która niezbędna jest do karboksylacji reszt N-glutaminowych do karboksylglutaminianów. Puła OC w krążeniu zawiera zarówno nowosyntetyzowaną formę białka jak i uwolnioną z macierzy. Większość diagnostyków [64] uważa OC za marker kościotworzenia, choć inni [104] skłaniają się do określenia OC bardziej uniwersalnym mianem markera obrotu kostnego.

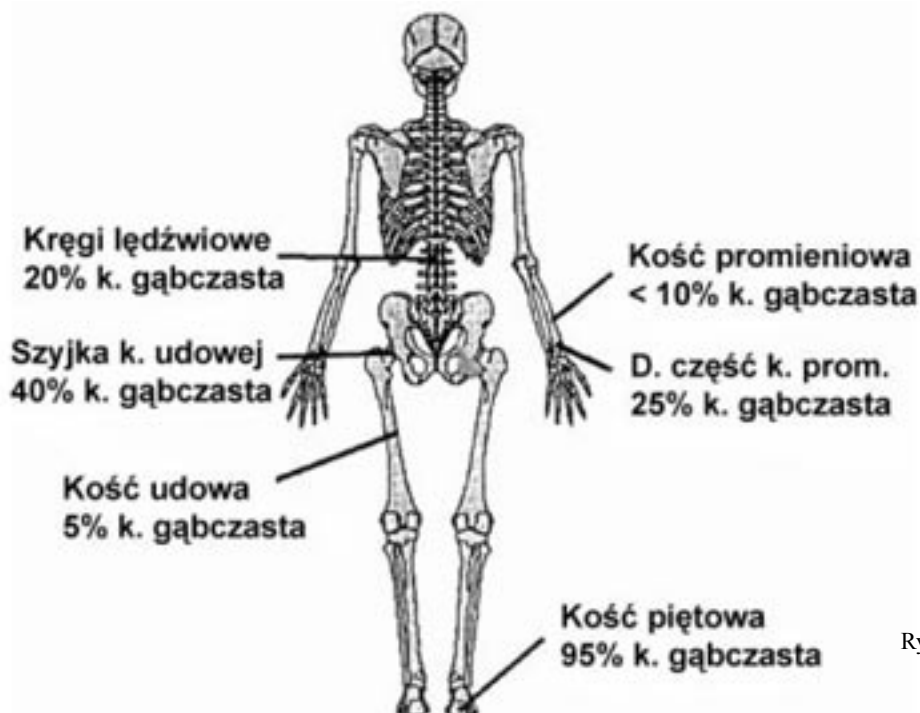
1.7. Diagnostyka obrazowa

Podstawowa diagnostyka schorzeń metabolicznych kości polega na badaniach obrazowych, głównie radiologicznych opartych o techniki pomiaru gęstości masy kostnej (densytometria) i przebudowy struktury kości oraz o biopsję kości, której celem jest ocena ilości jednostek kościotworzenia czyli badanie histomorfometryczne.

Konwencjonalne, oceniane gołym okiem zdjęcia rentgenowskie, nigdy nie były przydatne dla oceny gęstości kości. Odwapnienie staje się na nich widoczne dopiero po zmniejszeniu gęstości kości przynajmniej o 40%. Oceniano gęstość kości jakościowo opierając się głównie na badaniach radiologicznych kręgów. Dzielono zaburzenia na cztery stopnie. Odmienna punktacja radiologiczna dotyczyła trzonu kości udowej i kości śródreźca [10].

Postęp nowoczesnych technik absorpcjometrii wywodzi się z wcześniejszych badań opartych na promieniowaniu rentgenowskim. Osłabienie promieni X zależy od gęstości tkanek. Zmniejszenie liczby lub energii fotonów w wiązce promieni rentgenowskich w konkretnych miejscach jest podstawą powstawania obrazu na kliszy RTG. Ilościowe ustalenie stopnia osłabienia umożliwia ilościową ocenę gęstości badanej tkanki. Jest to zasada absorpcjometrii fotonowej i pomiaru gęstości kości. W absorpcjometrii dwóch wiązek promieni rentgenowskich o różnych energiach źródłem fotonów jest lampa rentgenowska. Dwie wiązki fotonów wychodzą z lampy rentgenowskiej przez specjalne filtry zawierające pierwiastki (cer) umożliwiające docieranie do tkanek dużej ilości fotonów w specyficznych zakresach energii. Wartości pomiarów za pomocą dwuwiazkowej absorpcjometrii (DXA) cechują się dużą powtarzalnością, a ekspozycja na promieniowanie wytwarzane przez aparaturę jest wyjątkowo niska: dawka równoważna biologicznie istotna wynosi dla kręgosłupa w pozycji AP tylko 1 milirem [10].

Współczynnik powierzchni metabolicznej kości do jej objętości jest znacznie wyższy dla kości gąbczastej niż dla zbitej (korowej). Obrót kostny zachodzi 3 do 10 razy szybciej w kości gąbczastej niż w kości zbitej. Fakt ten ma podstawowe znaczenie dla zawartości składników mineralnych w jednostce objętości kości (Bone Mineral Content BMC) i jest powodem dla którego w badaniu densytometrycznym wybrano miejsca, w których znajduje się odpowiednio dużo kości gąbczastej (rys.1.4) [63].



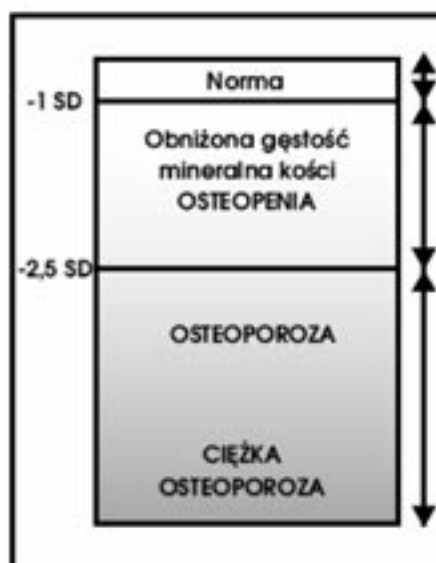
Rys.1.4. Udział kości gąbczastej w różnych obszarach szkieletu

1.8. Definicja osteoporozy

Osteoporoza jest chorobą metaboliczną kości charakteryzującą się obniżoną masą kostną i zaburzeniem mikroarchitektury tkanki kostnej prowadzącym do zwiększenia jej kruchości a w konsekwencji do wzrostu ryzyka złamań [52]. Dokładna definicja osteoporozy określona przez World Health Organization opiera się na pomiarach gęstości kości. O zaburzeniach gęstości kości mówimy gdy BMD (Bone Mineral Density- mineralna gęstość kości) mierzona w stawie biodrowym (tzw. total hip) jest niższa niż 833 mg/cm². Osteopenią określamy stan, w którym BMD mieści się w granicach pomiędzy 833 a 648 mg/cm² a osteoporozą – gdy BMD jest niższa od 648 mg/cm².

Drugim zasadniczym podejściem do zdefiniowania osteoporotycznej wartości progowej jest odniesienie aktualnej gęstości kości do średniej gęstości tkanki kostnej w populacji zdrowych młodych dorosłych. Wielkości odchyłeń powyżej i poniżej poziomu średniej wartości dla populacji młodych dorosłych wyrażone w odchyleniach standardowych (SD) opisuje się jako tzw. wskaźnik T (T-score). Normalne są wartości, które nie są mniejsze niż 1 odchylenie standardowe poniżej wartości średniej dla młodych dorosłych. Osteopenii odpowiadają

wartości pomiędzy -1,0 i -2,5 SD a osteoporoza występuje u osób z wartościami mniejszymi niż 2,5 SD (rys. 1.5). Kolejny system oceny gęstości mineralnej kości to ten, w którym stosuje się skalę odniesienia do wieku, płci i rasy tzw. wskaźnik Z (Z- score).



Obniżenie gęstości mineralnej kości (BMD) poniżej 2,5 odchyłeń standardowych (SD) w stosunku do wartości dla populacji zdrowych młodych ludzi

Rys.1.5. Schemat obrazujący znaczenie odchyłeń standardowych dla rozpoznania osteoporozy

2. ZAŁOŻENIA PRACY

Wzrastająca liczba chorych stosujących profilaktykę przeciwzakrzepową i dłuższy czas stosowania leków wskazują na konieczność obserwacji i badania objawów ubocznych.

Uzyskane dzięki lepiej poznanej farmakokinetyce i rozwojowi badań histomorfometrycznych wyniki dotychczasowych badań dokumentują wpływ powszechnie stosowanych leków przeciwzakrzepowych na kości.

Rozszerzenie wskazań i konieczność stosowania leczenia i profilaktyki przeciwzakrzepowej stanowią niepodważalne fakty.

Klinika Chorób Wewnętrznych Klatki Piersiowej oraz Oddział Intensywnej Opieki Kardiologiczno – Pneumonologicznej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie stanowią jeden z ośrodków referencyjnych leczenia żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej w kraju. Duża liczba chorych hospitalizowanych z powodu żchzz skłania do podjęcia próby wyjaśnienia, czy wśród leczonych z powodu tej patologii pacjentów w naszym kraju dochodzi do opisywanych wśród innych populacji zaburzeń mineralizacji kości. Możliwe, że uzyskane w pracy wyniki przybliżą rozwiązanie problemu: czy, kiedy, i jak należałoby monitorować objawy uboczne w postaci zaburzeń mineralizacji kości oraz czy należałoby wdrażać profilaktykę osteoporozy.

Wnioski wynikające z porównania nasilenia objawów ubocznych podczas stosowania LMWH lub acenokumarolu mogą pomóc w podjęciu decyzji w wyborze leku z tej grupy, której wpływ na strukturę kości okaże się mniejszy.

3. CEL PRACY

1. Ocena wpływu profilaktyki przeciwzakrzepowej przy zastosowaniu heparyn drobnocząsteczkowych i acenokumarolu na mineralizację kości.

2. Porównanie wpływu heparyn drobnocząsteczkowych i acenokumarolu na wybrane markery obrotu kostnego.

3. Ocena przydatności badania densytometrycznego kości u pacjentów stosujących wtórną profilaktykę przeciwzakrzepową.

4. MATERIAŁ

Materiał obejmował 117 chorych leczonych szpitalnie i ambulatoryjnie z powodu żylnej choroby zakrzepowo – zatorowej w Klinice Chorób Wewnętrznych Klatki Piersiowej i w Oddziale Intensywnej Opieki Kardiologiczno – Pneumonologicznej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie w latach 1999-2003. Wśród chorych znajdowało się 55 kobiet i 62 mężczyzn. Pacjenci otrzymywali heparyny drobnocząsteczkowe lub acenokumarol w dawkach ustalonych w profilaktyce wtórnej t.zn.: nadroparynę w dawce 225 I.Ch.j.m./kg/dobę; enoksaparynę w dawce 1mg/kg m.c./dobę lub acenokumarol w dawce powodującej utrzymanie INR (International Normalized Ratio, międzynarodowego, znormalizowanego wskaźnika) pomiędzy 2,0 a 3,0.

4.1. Dane ogólne

Badania wykonano po uzyskaniu zgody Komisji ds. Etyki Badań Naukowych przy Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc.

4.1.1. Kryteria włączenia i wyłączenia

Główne kryteria włączenia chorych stosowane w pracy to:

1. wiek 20 -80 lat,
2. rozpoznanie żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej (zakrzepicy żył głębokich i/lub zatorowości płucnej ustalone według szeroko akceptowanych kryteriów),
3. ustalone wskazania do wtórnej profilaktyki p/zakrzepowej przez co najmniej 6 miesięcy.

Kryteria wyłączenia:

1. ostry okres choroby (do 7 dni od początku objawów),
2. choroby przemiany materii,
3. złamania kości (również endoprotezy), unieruchomienie kończyn w ciągu ostatnich 3 lat.

W celu dokładnej oceny w/w kryteriów posługiwano się ankietą zawierającą 40 pytań.

4.1.2. Ankieta dla pacjenta

Pacjenci odpowiadali na opracowane wcześniej pytania zadawane przez lekarza prowadzącego przed pierwszym badaniem densytometrycznym. Tylko odpowiedź twierdząca na któreś z 16-tu pytań (pytania od 5-go do 20-go) była powodem

wykluczenia pacjenta z planowanego badania. Odpowiedzi na pozostałe pytania nie miały takiego znaczenia. Istotne dane uzyskiwano również z wywiadów w dostępnej dokumentacji lekarskiej.

Pytania ogólne:

1. Imię i nazwisko
2. Wiek pacjenta
3. Płeć
4. Waga / wzrost

Pytania dotyczące przeciwwskazań do udziału w badaniu (odpowiedź TAK lub NIE):

5. Cukrzyca insulinozależna?
6. Pierwotna nadczynność przytarczyc w okresie ostatniego roku?
7. Nadczynność tarczycy – obecnie stan hipertyreozы lub leczenie preparatami tyreotoksycznymi?
8. Nadczynność kory nadnerczy?
9. Zespół nerczycowy?
10. Niewydolność nerek (dotyczy pacjentów z poziomem kreatyniny powyżej 2 mg%)?
11. Przewlekłe choroby wątroby?
12. Przewlekłe choroby przewodu pokarmowego?
13. Choroba nowotworowa?
14. Leczenie sterydami w okresie ostatnich 6 miesięcy?
15. Leczenie kalcytoniną w okresie ostatnich 6 miesięcy?
16. Leczenie bifosfonianami w okresie ostatniego roku?
17. Leczenie żeńskimi hormonami płciowymi lub anabolikami w ciągu ostatniego roku?
18. Leczenie fluorkiem sodu w ciągu ostatniego roku?
19. Leczenie preparatami przeciwpadaczkowymi w okresie ostatnich 12 miesięcy?
20. Leczenie hormonami tarczycy w okresie ostatnich 6 miesięcy?

Dane dotyczące dodatkowych informacji o chorym:

21. Bóle kostne? (Jeśli tak, to jaka jest ich lokalizacja i nasilenie w skali 1-3)
22. Złamania w przeszłości? Złamania pourazowe? Złamania patologiczne?
23. Zmiany zwyrodnieniowe kręgosłupa?
24. Długotrwałe unieruchomienie w przeszłości?
25. Kamica nerkowa?
26. Krzywica w dzieciństwie?
27. Leczenie preparatami wielowitaminowymi/wielomineralnymi?
28. Leczenie preparatami wapnia?

29. Leczenie preparatami Vit. D3?
30. Leczenie tiazydami / furosemidem?
31. Zazywanie leków przeczyszczających?
32. Przyjmowanie preparatów glinowych?
33. Tryb życia pacjenta: spoczynkowy? aktywny fizycznie?
34. Zawartość wapnia w diecie: wysoka? niska?
35. Użytki: kawa? alkohol? papierosy? Poniższe 5 pytań dotyczy kobiet:
36. Czy pacjentka miesiączkuje?
37. Kiedy była ostatnia miesiączka?
38. Miesiączki są regularne?
39. Porody w przeszłości? Jeśli tak, to ile razy?
40. Operacje ginekologiczne polegające na usunięciu jajników w przeszłości? Usunięcie jednostronne? Usunięcie obustronne?

Tab. 4.1. Dane podstawowe 117 pacjentów

	STOSOWANY LEK			p
	Nadroparyna	Enoksaparyna	Acenokumarol	
liczba całkowita	15	57	45	NS
Kobiety	7	23	25	NS
Mężczyźni	8	34	20	NS
Wiek (śr.)	46,8±4,1	48,1±3,8	49,9±4,5	-
ZTP+ZŻ	-	38	33	NS
ZŻ	15	18	13	NS
BMI (kg/m ²)	25,5	26,1	26,7	-
Palenie papierosów	4	19	16	NS
Niewyd. serca	-	14	8	NS
Niewyd. oddechowa	-	11	7	NS
Filtr w żgd	-	7	4	NS

4.2. Podział chorych w trzech etapach pracy

Badanie wykonywano w trzech etapach.

4.1.3. Wskazania do przedłużonej profilaktyki przeciwzakrzepowej

Wskazania do stosowania przedłużonej wtórnej profilaktyki przeciwzakrzepowej ponad 6 miesięcy oparto na zaleceniach Sixth ACCP Consensus Conference on Antithrombotic Therapy [44,46].

Przedłużoną profilaktykę stosowano w przypadku:

1. nawracającej zakrzepicy idiopatycznej,
2. nieusuwalnych czynników ryzyka pod postacią niewydolności serca lub/i oddychania,
3. trombofilii,
4. obecności filtrów w żyłę główną dolną.

Heparynę drobnocząsteczkową stosowano we wtórnej profilaktyce przy bezwzględnych i względnych przeciwwskazaniach do stosowania doustnych antykoagulantów [46].

Przeciwwskazania te to:

- wiek powyżej 80 lat,
- przebyty zabieg neurochirurgiczny,
- krwawienie w ciągu 2 lat przed leczeniem,
- wrzód żołądka lub dwunastnicy,
- płyn w osierdziu,
- alkoholizm,
- ośpienie starcze,
- brak współpracy i/lub możliwości kontroli INR.

Dane o wszystkich biorących udział w badaniu pacjentach zawarte są w tab.4.1

Etap I

Badaniem objęto 31 chorych leczonych z powodu zchzz w Klinice w latach 1998-1999 oraz pozostających pod ambulatoryjną opieką Przychodni Przeszpitalnej.

Wśród pacjentów było 17 mężczyzn i 14 kobiet w wieku od 20 do 75 lat, średnio 56 lat.

Chorych podzielono na grupy: grupa A (15 pacjentów), grupa B (9 pacjentów) oraz grupę Ac -7 chorych. Podział chorych wiązał się z lekiem, który stosowali oraz z liczbą zaplanowanych badań dęsytonometrycznych. W grupie A wykonywano to badanie dwukrotnie, w grupie B – jednorazowo w trakcie stosowania profilaktyki, grupę Ac stanowili pacjenci stosujący w profilaktyce Acenokumarol, (w tej małej grupie 3 chorych miało badanie dęsytonometryczne wykonane dwukrotnie, 4 miało pojedyncze badania).

Dane pacjentów w I etapie badania przedstawiają tab.4.2, 4.3, 4.4.

Tab. 4.2. Etap I. Dane pacjentów u których dwukrotnie wykonywano densytometrię kości (grupa A)

I.p.	pleć	wiek	dawka całkowita	czas stosowania	profilaktyka osteoporozy
1	M	67	14,6	12	+
2	K	70	14,6	6	
3	K	75	14,7	10	+
4	K	24	16,4	12	
5	K	44	13,2	7	+
6	K	50	17,6	6	
7	M	50	27,4	7	
8	M	47	21,0	7	
9	M	67	16,8	7	
10	M	46	14,4	6	
11	M	52	16,8	7	
12	M	46	18,4	6	
13	K	66	21,6	12	
14	M	69	14,4	6	+
15	K	74	16,8	7	

Tab 4.3. Etap I. Dane pacjentów u których wykonywano jedno badanie densytometryczne (grupa B)

I.p.	pleć	wiek	dawka do chwili badania	czas do chwili badania
1	M	42	27,00	9
2	K	75	10,80	6
3	K	59	14,40	7
4	M	56	4,96	2
5	M	65	14,40	6
6	K	46	10,80	6
7	M	68	7,20	3
8	M	20	29,20	12
9	K	61	29,20	12

Tab 4.4. Etap I. Dane pacjentów, którzy stosowali acenokumarol we wtórnej profilaktyce p/zakrzepowej.

I.p.	pleć	wiek	czas stosowania	profilaktyka osteoporozy
1	K	71	12	
2	K	65	17	
3	M	46	8	+
4	M	59	12	
5	K	72	1	
6	M	47	48	
7	M	58	12	

Etap II

W drugim etapie pracy zwiększono liczbę pacjentów i wydłużono czas obserwacji.

Pacjenci leczeni byli i pozostawali pod opieką ambulatoryjną kliniki w latach 1999-2001.

Grupa ta obejmowała 86 chorych, 45 kobiet i 41 mężczyzn w wieku od 22 do 74 lat, średnio 48,1 lat. Wzrost liczby pacjentów dotyczył przede wszystkim chorych, którzy we wtórnej profilaktyce stosowali Acenokumarol. U wszystkich tych chorych badanie densytometryczne wykonywano dwukrotnie.

Dane chorych badanych w II etapie przedstawia tab.4.5.

Tab. 4.5. Etap II. Dane pacjentów.

Lek	Liczba pacjentów	Płeć		Wiek (śr.)	Czas (mies.)	ZZG+ZTP	ZZG
		M	K				
Nadroparyna	15	8	7	46,8	3	-	15
Enoksaparyna	24	12	12	46,1	12	18	6
Enoksaparyna	18	8	10	50,1	24	12	6
Acenokumarol	24	14	10	45,6	12	16	8
Acenokumarol	5	2	3	54,0	24	3	2

Etap III

W ostatnim etapie pracy badaniem objęto 31 chorych: 10 kobiet i 21 mężczyzn w wieku 20-75 lat, średnio 41 lat.

Podstawowym powodem dla którego podjęto badania kolejnych chorych w trzecim etapie pracy była możliwość wykonania oznaczeń markerów obrotu kostnego równoległe z dwukrotnie wykonywanymi badaniami densytometrycznymi kości.

Podstawowe dane pacjentów zawiera tab.4.6.

Tabela 4.6. Etap III. Dane pacjentów.

Lp.	Inicjały	Płeć	Wiek	Lek	Czas stos. (mies.)	BMI	Papierosy	Ch. przewł.*
1	ZK	K	43	Ac**	9	27,1	+	
2	BS	M	50	Ac	9	28,3	+	n.s.
3	BA	K	20	Ac	10	21,5	-	
4	BJ	K	45	Ac	9	28,1	+	
5	HP	M	42	Cl***	12	27,2	+	
6	DJ	M	48	Cl	12	22,8	-	n.o.
7	OJ	M	31	Ac	12	22,1	-	
8	BM	K	33	Ac	12	22,8	+	
9	MZ	M	50	Ac	12	23,6	+	
10	NZ	M	68	Cl	12	23,2	-	
11	PW	M	56	Ac	10	24,1	+	n.o.
12	JK	K	30	Cl	12	22,2	+	
13	NJ	M	28	Cl	12	22,6	-	
14	MJ	M	48	Cl	12	23,0	-	
15	ZW	M	25	Cl	8	21,8	+	
16	KA	M	50	Ac	12	24,2	-	
17	SD	M	25	Cl	8	22,7	-	
18	BA	K	20	Ac	12	21,5	+	
19	GM	M	29	Cl	8	22,5	-	
20	AD	M	32	Ac	10	24,6	-	
21	KH	M	72	Ac	7	25,2	-	n.s.
22	SK	M	40	Cl	6	24,1	+	
23	GM	M	32	Ac	6	24,3	-	
24	SzR	M	33	Cl	8	22,8	+	
25	HP	M	42	Cl	8	26,8	-	
26	ST	K	71	Ac	8	27,1	-	
27	JM	K	24	Ac	8	23,6	+	
28	RB	M	49	Cl	8	24,8	-	
29	SR	M	26	Cl	8	23,6	-	
30	ZM	K	48	Ac	8	26,1	+	
31	TG	K	36	Ac	8	26,8	-	

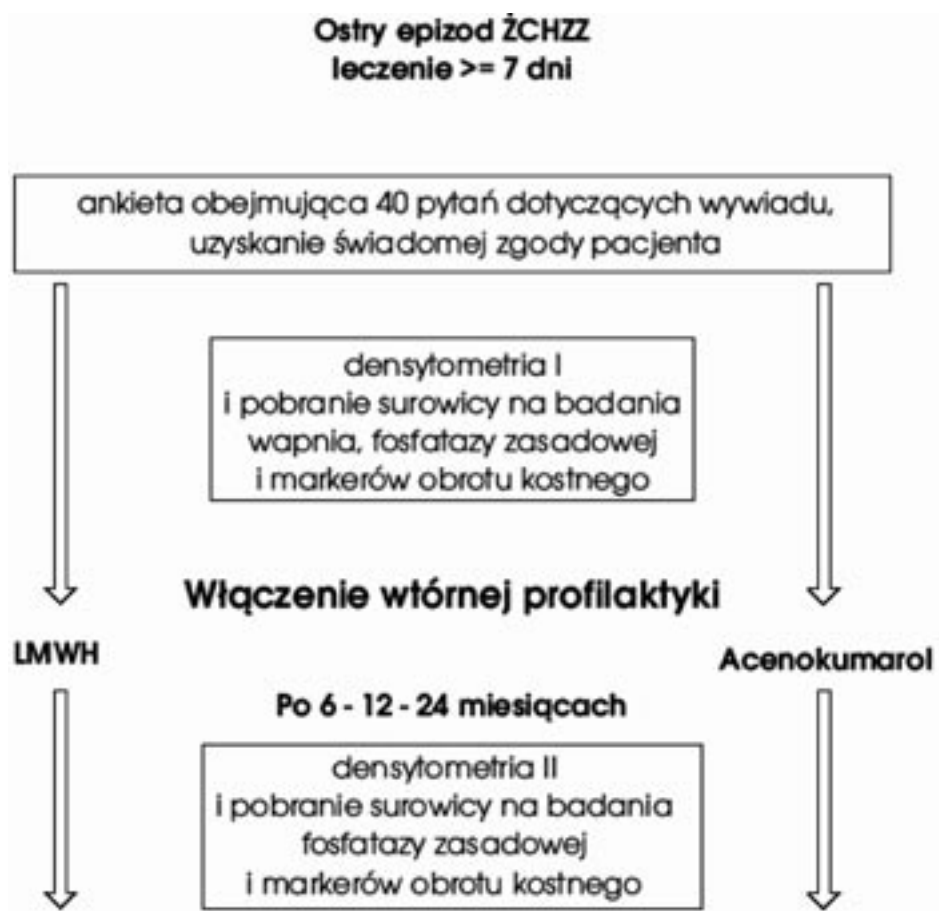
* Niewydolność serca – ns, niewydolność oddychania – no.

** Acenokumarol – Ac *** Enoksaparyna – Cl

4.3. Skrócony schemat pracy

Pacjenci przebywający w klinice z powodu zakrzepicy żyłnej i/lub zatorowości płucnej, leczeni według ogólnie uznanych metod odpowiadali na pytania ankiety i po zakwalifikowaniu według powyżej podanych kryteriów oraz wyrażeniu świadomej zgody na uczestnictwo w badaniu, podczas pierwszych dwóch etapów mieli wykonywane tylko badania densytometryczne natomiast zakwalifikowani do badań w etapie trzecim mieli pobieraną

krew na oznaczenia markerów obrotu kostnego i w tym samym dniu poddawani byli pierwszemu badaniu densytometrycznemu. Po opuszczeniu kliniki pozostawali pod opieką ambulatorium. Przebieg badania przedstawia rys. 4.1.



Rys. 4.1. Schemat pracy

5. METODY

Rozpoznanie zakrzepicy żył głębokich i/lub zatorowości płucnej ustalano według powszechnie przyjętych kryteriów.

5.1. Pomiar gęstości kości

Pomiaru gęstości kości dokonywano za pomocą densytometrii. Badanie to polega na wykorzystaniu metody absorpcjometrii dwóch wiązek promieni rentgenowskich o różnych energiach (metoda DXA) za pomocą aparatu LUNAR DPX-L (LUNAR Madison WI). Aparat ten należy do najnowszej generacji densytometrów dwuenergetycznych wyposażonych w lampę rentgenowską emitującą wachlarzowo ułożony stopień promieniowania. Umożliwia to dokonanie pomiarów w czasie poniżej 1 minuty a zwłaszcza obniżenie błędu powtarzalności poniżej 1% [63]. Metoda ta jest „złotym standardem” w pomiarach gęstości kośćca. Wiązka niskoenergetyczna jest w większym stopniu pochłaniana przez tkankę kostną. Dzięki analizie komputerowej stopnia absorpcji każdego toru promieniowania oddzielnie można uzyskać obraz kości otoczonych przez różnej grubości warstwy tkanek miękkich.

Dla celów tej pracy wybrano miejsca rutynowo badane: w etapie początkowym badano gęstość mineralną kości w odcinku lędźwiowym kręgosłupa w projekcji AP, w bliższej nasadzie kości udowej oraz w przedramieniu. Podobne miejsca szkieletu badano w trzecim etapie pracy; w etapie drugim pominięto badanie przedramienia. Wartości pomiarów densytometrycznych w różnych rejonach szkieletu korelują ze sobą ($r=0,4-0,9$) [64], ale w omawianych etapach pracy posługiwano się porównywaniem zmian w dokładnie tych samych miejscach szkieletu u poszczególnych pacjentów. W analizie badania uwzględniono kręgi od L2 do L4, nasadę bliższą kości udowej, wybierając spośród trzech możliwości (Neck- szyjka, Wards – trójkąt Warda, Troch- krętarz większy) szyjkę kości udowej. W etapie pierwszym i trzecim porównywano również gęstość mineralną kości trzonu kości promieniowej (Radius 33%).

Pacjenci nie wymagali odrębnego przygotowania przed tym badaniem poza zaniechaniem podawania barytu w ciągu 5-7 dni poprzedzających badanie.

Dawki promieniowania jonizującego pochłoniętego przez ciało pacjenta były bardzo małe i wynosiły kilka miliremów.

W trakcie badania oceniano gęstość mineralną kości (BMD) porównując te wartości z wartością

średniej szczytowej gęstości kości z uwzględnieniem płci, wieku i masy ciała pacjenta. Wyniki tych porównań przedstawiane są zarówno w procentach wartości należnych młodym osobom ze szczytową masą kostną (% young adult) bądź jako % wartości referencyjnej dla płci, wieku i ciężaru ciała pacjenta (% age matched). Ze względu na znaczenie określenia „odchylenie standardowe” dla rozpoznania osteopenii i osteoporozy w pracy posłużono się porównaniem odchyleń standardowych Z-score w badanych obszarach dla każdego pacjenta. Badania wykonywano w Zakładzie Radiologii Akademii Medycznej w Warszawie oraz (część badań III etapu) w Krajowym Centrum Osteoporozy w Warszawie.

Przykładowy wydruk badania densytometrycznego pacjenta (kręgosłup lędźwiowy) pokazano na rysunku 5.1.

5.2. Badanie stężenia wapnia całkowitego oraz aktywności fosfatazy zasadowej

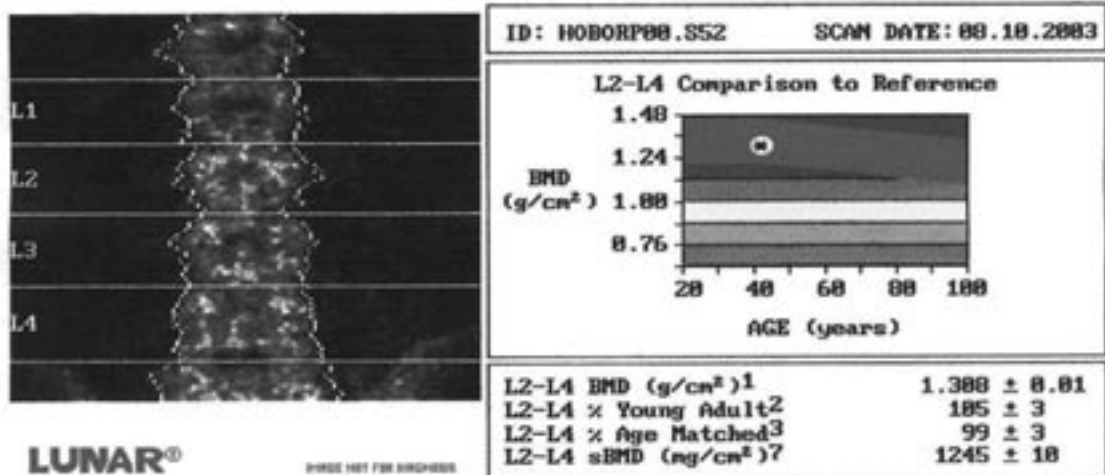
Oznaczenia te wykonywano przy przyjęciu chorego do kliniki w trakcie badań rutynowych oraz (tylko badanie aktywności fosfatazy zasadowej) w trakcie kontroli ambulatoryjnej lub szpitalnej przed powtórny badaniem densytometrycznym. Krew pobierano z żyły łokciowej na czczo ok. godz. 9.00. Oznaczenia wykonywano w Zakładzie Analitiky Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc.

Fosfataza zasadowa (ALP) jest markerem związanym z aktywnością biologiczną osteoblastów. Można przyjąć, że enzym ten jest wskaźnikiem czynności osteoblastów u osób bez schorzeń wątroby. Dla celów omawianej pracy zastosowano oznaczanie aktywności całkowitej fosfatazy zasadowej w oparciu o dane, że 50% ALP pochodzi z produkcji osteoblastów i ewentualny wzrost aktywności ALP mógłby przemawiać za np. wzmożonym kościotworzeniem [101].

Badanie stężenia wapnia w surowicy zaplanowano tylko jako badanie wstępne (screening) w celu wykluczenia jawnej hyper- czy hypo- kalcemii. Nie wykonywano też oznaczania wapnia w dobowej zbiórce moczu ze względu na zbyt niską swoistość i czułość metody. Bardzo wiele czynników może wpływać na wydalanie wapnia (dieta, spożycie soli, Vit.D, PTH, bardzo duża zmienność osobnicza). Wykonywanie tego badania jest też kłopotliwe w warunkach szpitalnych, a zwłaszcza ambulatoryjnych.

AP SPINE RESULTS
KRAJOWE CENTRUM OSTEOPOROZY
 03-335 Warszawa, ul. Syrokomli 32 tel. 8117060, 8119019

PATIENT ID: HOBORP00.S52 SCAN: 1.35 08.10.2003
 NAME: ANALYSIS: 1.35 08.10.2003



Age (years).....	42	Large Standard.....	271.24	Scan Mode.....	Slow
Sex.....	Male	Medium Standard.....	202.43	Scan Type.....	DPX-L
Weight (Kg).....	100.0	Small Standard.....	144.14	Collimation (mm).....	1.68
Height (cm).....	176	Low keV Air (cps)...	632692	Sample Size (mm).....	1.2x 1.2
Ethnic.....	White	High keV Air (cps)...	394732	Current (uA).....	750
System.....	7052	Rvalue (%Fat).....	1.316(37.9)		

REGION	BMD ¹ g/cm ²	Young Adult ²		Age Matched ³	
		%	T	%	Z
L1	1.051	91	-0.91	84	-1.61
L2	1.325	107	0.71	100	0.01
L3	1.258	101	0.15	95	-0.54
L4	1.338	108	0.81	101	0.11
L1-L2	1.194	99	-0.05	93	-0.75
L1-L3	1.217	101	0.06	94	-0.64
L1-L4	1.252	103	0.27	96	-0.43
L2-L3	1.290	104	0.42	97	-0.28
L2-L4	1.308	105	0.57	99	-0.13
L3-L4	1.301	105	0.51	98	-0.19

1 - See appendix E on precision and accuracy. Statistically 68% of repeat scans will fall within 1 SD.

2 - USA AP Spine Reference Population, Ages 20-40. See Appendices.

3 - Matched for Age, Weight(males 25-100kg; females 25-100kg), Ethnic.

7 - sBMD is standardized BMD. See J Bone Miner Res 1994; 9:1503-1514

Rys.5.1. Przykładowy wynik badania densytometrycznego kręgosłupa lędźwiowego

Normy aktywności fosfatazy zasadowej to: 91 -258 IU/l, dla wapnia 4,1 – 5,5 mE/l.

5.3. Oznaczanie stężenia osteokalcyny

Krew do oznaczeń pobierano na czczo z nakłucia żyły łokciowej na skrzep. Odwirowaną surowicę zamrażano w temperaturze -20°C, przechowywano w temperaturze -70°C.

Do oznaczania wykorzystywano metodę radioimmunologiczną. Badano stężenie fragmentów N-MID Osteokalcyny. Zarówno „nietknięta” (intact) osteokalcyna zawierająca 49 aminokwasów jak i N-MID fragment zawierający aminokwasy od 1 do 43 włącznie krążą we krwi. Całkowita cząstka osteokalcyny (intact osteocalcin) zostaje bardzo szybko skrócona poprzez działanie swoistej proteazy pomiędzy 43 a 44 aminokwasem. N-MID fragment

zawierający 43 aminokwasy jest znacznie bardziej stabilny. Korzystano z „kanapkowej” (sandwich) metody radioimmunologicznej, w której używano swoistych przeciwciał monoklonalnych (Elecsys N-Mid Osteocalcin firmy Roche) oraz analizatora Roche Elecsys 2010 [29,90].

Normy stężeń osteokalcyny w surowicy:

Zdrowe kobiety, przed menopauzą powyżej 20 lat	11-43 ng/ml, śr. 23 ng/ml
Zdrowe kobiety po menopauzie (bez HRT)	15-46 ng/ml, śr.27 ng/ml
Kobiety z osteoporozą	13-48 ng/ml, śr.27 ng/ml
Zdrowi mężczyźni 18-30 lat	24-70 ng/ml, śr. 40 ng/ml
30-50 lat	14-42 ng/ml, śr.25 ng/ml
50-70 lat	14-46 ng/ml, śr.24 ng/ml

5.4. Oznaczanie stężenia β CrossLaps

Produkty degradacji kolagenu typu I to cząsteczki, które powstają w wyniku resorpcji kości. Szczególną rolę odgrywają tu C-końcowe usieciowane telopeptydy łańcucha alfa po konwersji do formy beta. Do oznaczeń tych cząstek używano metody radioimmunologicznej, „kanapkowej”, w której wykorzystywano przeciwciała anty-betacrosslaps (Elecsys β Cross Laps serum assay firmy Roche) oraz analizator Roche Elecsys 2010 [83,89].

Normy stężeń β CrossLaps w surowicy:

Kobiety	
przed menopauzą	średnio 0,299 \pm 0,137ng/ml
po menopauzie	średnio 0,556 \pm 0,226ng/ml
Mężczyźni	
30-50 lat	średnio 0,300 \pm 0,142 ng/ml
50-70 lat	średnio 0,304 \pm 0,200ng/ml
powyżej 70 lat	średnio 0,394 \pm 0,230ng/ml

Postępowanie z krwią i surowicą po pobraniu oraz sposób przechowywania odczynników były identyczne jak w przypadku oznaczania osteokalcyny.

5.5. Metody statystyczne

Dla oceny liczebności obserwowanej pacjentów i liczebności oczekiwanej stosowano test chi-kwadrat dla wartości obserwowanych względem oczekiwanych.

Sprawdzanie istotności różnic między dwiema zależnymi próbami dokonano stosując test kolejności par Wilcozona. Sprawdzanie istotności różnic pomiędzy dwiema niezależnymi próbami dokonano stosując test U Manna-Whitneya.

Stopień powiązania zmiennych badano stosując analizę regresji. Parametry równania regresji określone były metodą najmniejszych kwadratów. Szacowany był obszar ufności dla prostej regresji. Liczony był współczynnik korelacji liniowej Pearsona. Dla określenia istotności współczynnika korelacji stosowano statystykę t.

Dla obliczenia istotności różnic pomiędzy współczynnikami nachylenia (współczynnikami regresji) analizowano regresje w grupach. Stosowano przy tym analizę wariancji różnic pomiędzy współczynnikami nachylenia poszczególnych prostych regresji [112].

W pracy wykorzystywano pakiet oprogramowania statystycznej analizy danych STATISTICA for Windows wersja 5.5.

6. WYNIKI

6.1. Etap I

Dokonano oceny zmian gęstości kości w kolejnych grupach pacjentów.

W grupie A porównano zachowanie się gęstości mineralnej kości pomiędzy pierwszym a drugim badaniem densytometrycznym u pacjentów stosujących heparynę drobnocząsteczkową (enoksaparynę) we wtórnej profilaktyce przeciwzakrzepowej. Oceniano BMD w trzech obszarach obejmujących szyjkę kości udowej, kość promieniową w części 1/3 dalszej oraz kręgi lędźwiowe L2 – L4. Wartość

BMD wyrażoną w g/cm^2 uzyskaną w pierwszym badaniu potraktowano jako 100%. Różnicę gęstości pomiędzy pierwszym a drugim badaniem wyrażono jako procentowy ubytek bądź przyrost gęstości kości (tab.6.1). Wśród tej grupy 15 pacjentów znalazło się czworo chorych, z którymi zebrano wywiad już po wykonaniu drugiego badania. Okazało się, że stosowali węglan wapnia i alfacalcidol na 3-4 miesiące przed drugim badaniem. Wyłączono tych chorych z grupy A i obliczono średni ubytek gęstości kości dla trzech obszarów każdego pacjenta oddzielnie, a także dla wszystkich łącznie (tab.6.2).

Tab 6.1. Dane pacjentów u których dwukrotnie wykonywano densytometrię kości (grupa A)

l.p.	płeć	wiek	dawka całkowita enoksaparyny	czas stos.	% zmiany masy kostnej			profilaktyka osteoporozy	średnia zmiana masy kostnej %
					kość udowa	kość promieniowa	kręgi lędźwiowe		
1	M	67	14,6	12	2,70	7,00	4,00	+	4,57
2	K	70	14,6	6	-2,00	-2,90	-10,40		-5,10
3	K	75	14,7	10	2,80	5,50	-5,40	+	0,97
4	K	24	16,4	12	-4,90	-3,40	-6,50		-4,93
5	K	44	13,2	7	1,10	2,20	-1,90	+	0,47
6	K	50	17,6	6	-4,30	2,00	-4,80		-2,37
7	M	50	27,4	7	2,00	0,00	-1,00		0,33
8	M	47	21,0	7	-6,20	-3,00	0,00		-3,07
9	M	67	16,8	7	-1,50	-5,10	-1,40		-2,67
10	M	46	14,4	6	2,20	-1,70	-3,50		-1,00
11	M	52	16,8	7	-10,50	1,30	-2,40		-3,87
12	M	46	18,4	6	-3,10	-1,40	-1,00		-1,83
13	K	66	21,6	12	-2,40	4,20	0,00		0,60
14	M	69	14,4	6	-4,10	1,70	0,00	+	-0,80
15	K	74	16,8	7	-5,70	-9,10	0,00		-4,93

Tab. 6.2. Dane pacjentów u których dwa razy wykonywano densytometrię. Zmiana masy kostnej podana w % (grupa A – bez profilaktyki osteoporozy).

l.p.	płeć	wiek	dawka całkowita enoksaparyny	czas stos.	% zmiany masy kostnej			średni ubytek masy kostnej w %
					kość udowa	kość promieniowa	kręgi lędźwiowe	
1	K	70	14,6	6	-2,00	-2,90	-10,40	-5,10
2	K	24	16,4	12	-4,90	-6,40	-6,50	-5,93
3	K	50	17,6	6	-4,30	-2,00	-5,00	-3,77
4	M	50	27,4	7	0,00	0,00	-1,00	-0,33
5	M	47	21,0	7	-6,20	-3,00	0,00	-3,07
6	M	67	16,8	7	-1,50	-5,10	-1,40	-2,67
7	M	46	14,4	6	2,20	-1,70	-3,50	-1,00
8	M	52	16,8	7	-10,50	-1,30	-2,40	-4,73
9	M	46	18,4	6	-3,10	-1,40	-1,50	-2,00
10	K	66	21,6	12	-2,40	2,20	0,00	-0,07
11	K	74	16,8	7	-5,70	-9,10	0,00	-4,93
Średnio dla wszystkich badanych					-3,49	-2,79	-2,88	-3,05

Potwierdzono wyraźny, procentowy ubytek masy kostnej pomiędzy dwoma badaniami: dla kości udowej o 3,49%, kości promieniowej o 2,79%, w zakresie kręgów lędźwiowych ubytek ten wyniósł 2,88%. Średnia zmiana gęstości mineralnej kości dla badanych w grupie A (bez pacjentów stosujących profilaktykę osteoporozy) wynosiła 3.05%.

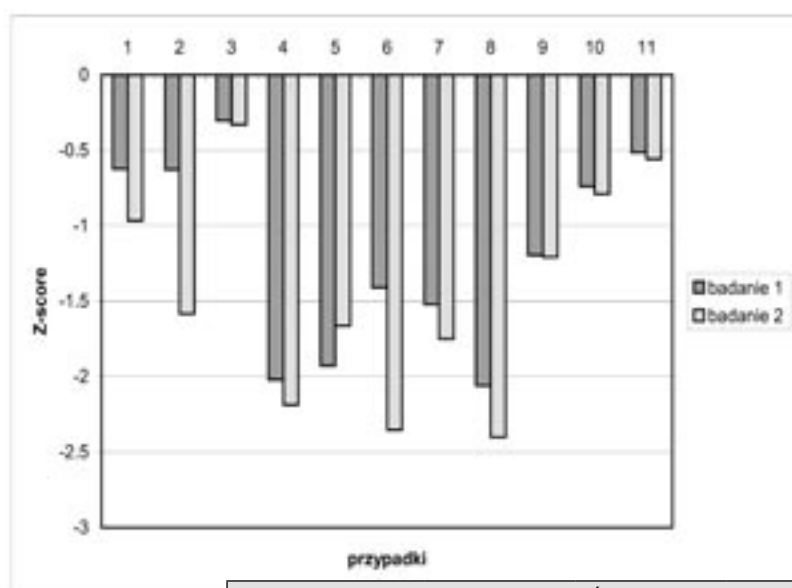
Obliczono również różnice gęstości kości posługując się odniesieniem do odchylenia standardowego z uwzględnieniem odniesienia do wieku, płci i rasy: tzw. Z-score dla każdego badanego obszaru oddzielnie. Wśród 11 badanych tylko u jednego doszło do wzrostu Z-score, u pozostałych 10 obserwowano zmniejszenie Z-score odpowiadające zmniejszeniu gęstości mineralnej kości (tab.6.3).

W grupie tej dla 11 dwukrotnie badanych pacjentów zastosowano test kolejności par Wilcozona. Porównano też średnie zmiany Z-score z trzech badanych obszarów oddzielnie (kość udowa, kość promieniowa i kręgi lędźwiowe) potwierdzając znamienne obniżenie jego wartości ($p < 0,021$) (rys.6.1).

Poddając analizie zmiany Z-score pomiędzy dwoma badaniami w grupie A, a całkowitą dawką przyjętej enoksaparyny oraz czasem stosowania tego leku potwierdzono występowanie słabej korelacji pomiędzy całkowitą dawką leku; nie udowodniono związku pomiędzy zmianami Z-score a czasem w omawianej grupie (rys.6.2, 6.3, tab.6.4).

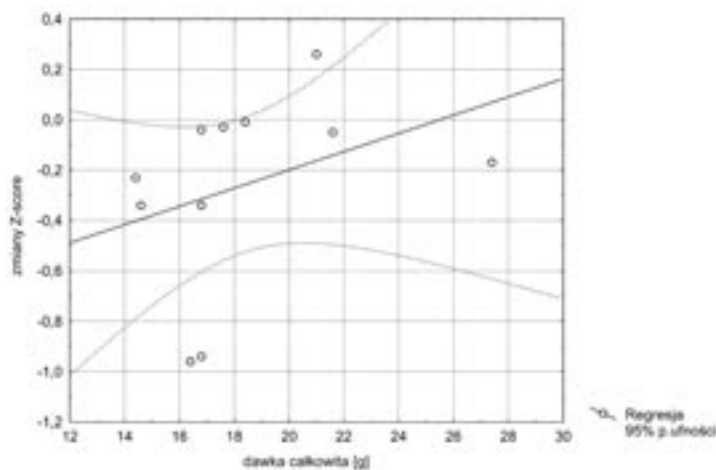
Tab 6.3. Dane pacjentów, u których dwa razy wykonywano densytometrię. Zmiana masy kostnej podana w Z-score. Pominięto pacjentów u których stosowano profilaktykę osteoporozy (grupa A – bez profilaktyki osteoporozy).

l.p.	płeć	wiek	dawka całkowita enoksaparyny	czas stos.	zmiana masy kostnej - Z-score									średni ubytek masy kostnej
					kość udowa			kość promieniowa			kręgi lędźwiowe			
					1 bad.	2 bad.	różnica	1 bad.	2 bad.	różnica	1 bad.	2 bad.	różnica	
1	K	70	14,6	6	1,13	0,92	0,21	-1,66	-1,96	0,30	-1,34	-1,86	0,52	-0,34
2	K	24	16,4	12	-0,07	-1,05	0,98	-1,92	-2,70	0,78	0,11	-1,00	1,11	-0,96
3	K	50	17,6	6	0,15	-0,15	0,30	-0,72	-0,71	-0,01	-0,34	-0,13	-0,21	-0,03
4	M	50	27,4	7	-1,83	-2,08	0,25	-2,44	-2,66	0,22	-1,79	-1,82	0,03	-0,17
5	M	47	21,0	7	-2,76	-1,74	-1,02	-0,95	-1,11	0,16	-2,07	-2,14	0,07	+0,26
6	M	67	16,8	7	-1,92	-0,27	-1,65	-1,92	-6,39	4,47	-0,39	-0,40	0,01	-0,94
7	M	46	14,4	6	-1,40	-1,48	0,08	-0,93	-1,17	0,24	-2,23	-2,60	0,37	-0,23
8	M	52	16,8	7	-1,96	-2,20	0,24	-1,28	-2,02	0,74	-2,94	-2,99	0,05	-0,34
9	M	46	18,4	6	-1,32	-1,50	0,18	-0,97	-0,79	-0,18	-1,29	-1,33	0,04	-0,01
10	K	66	21,6	12	0,26	0,21	0,05	-1,32	-1,24	-0,08	-1,16	-1,34	0,18	-0,05
11	K	74	16,8	7	-0,70	-0,72	0,02	-0,51	-0,61	0,10	-0,33	-0,34	0,01	-0,04

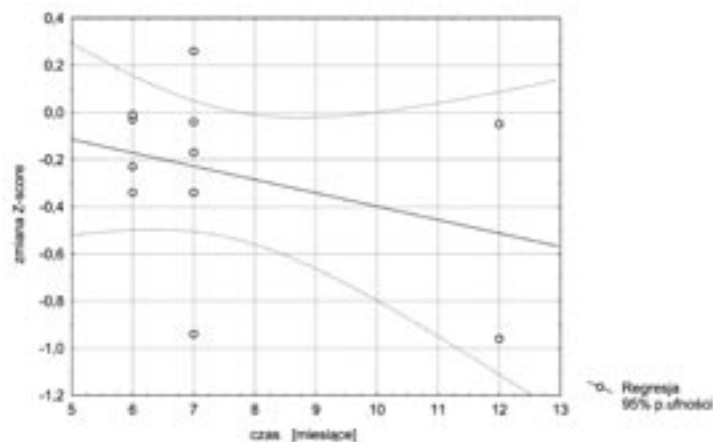


Rys.6.1. Średni ubytek masy kostnej pomiędzy pierwszym i drugim badaniem densytometrycznym; grupa A.

TEST KOLEJNOŚCI PAR WILCOXONA				
Para zmiennych	ilość przypadków	T	Z	p
ŚR_1 & ŚR_2	11	7,00	2,311	0,021



Rys.6.2. Prosta regresji obrazująca zależność średnich zmian Z-score i dawki całkowitej leku (grupa A). Współczynnik korelacji 0,36 (p NS).



Rys. 6.3. Prosta regresji obrazująca zależność średnich zmian Z-score i czasu stosowania leku (grupa A). Współczynnik korelacji -0,34 (p NS).

Tab 6.4. Współczynniki korelacji dla pacjentów grupy A

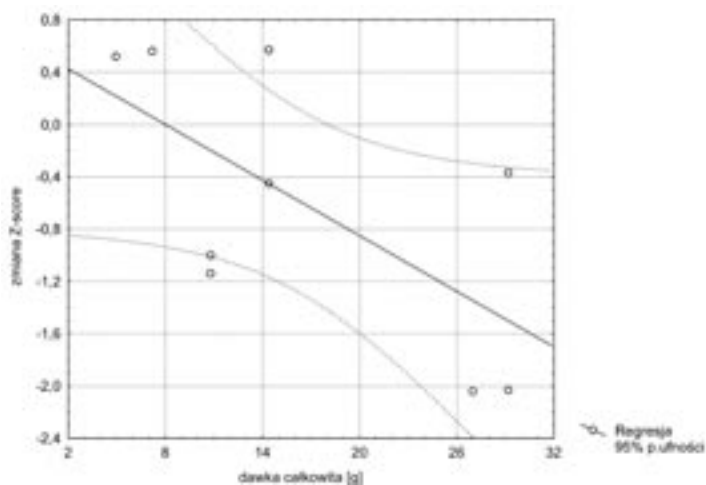
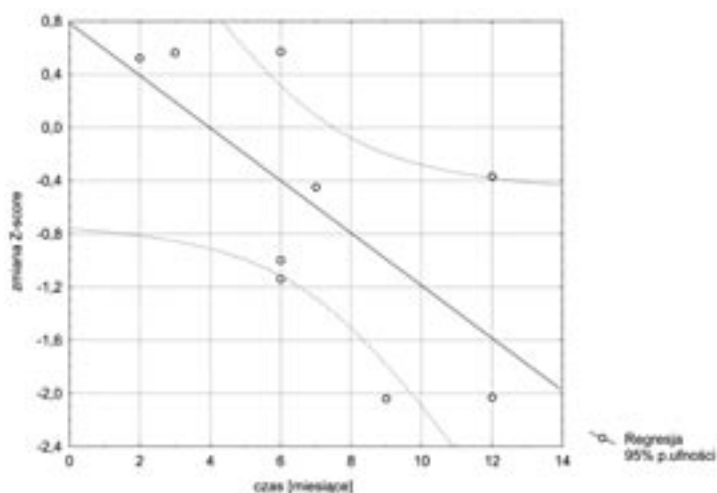
WSPÓŁCZYNNIKI KORELACJI	ubytek masy kostnej kości udowej	ubytek masy kostnej kości promieniowej	ubytek masy kostnej kręgow łędźwiowych	średni ubytek masy kostnej
dawka całkowita enoksaparyny	-0,05 (p NS)	-0,20 (p NS)	-0,33 (p NS)	-0,36 (p NS)
czas stos. leku	0,29 (p NS)	-0,02 (p NS)	0,56 (p NS)	0,33 (p NS)

W grupie B poddano ocenie stan gęstości mineralnej kości już w trakcie stosowania profilaktyki przeciwzrzepowej (trwającej od 2 do 12 miesięcy) przy użyciu enoksaparyny. Nie dysponowano badaniem densytometrycznym wykonanym przed wdrożeniem leczenia i profilaktyki, dlatego przyjęto w tej grupie chorych posłużenie się liczbą odchyłek standardowych dla trzech badanych obszarów kośćca. Założono, że gęstość mineralna kości „ludzi zdrowych” w Polsce odpowiada populacji amerykańskiej i przyjęto amerykańskie normy referencyjne jako średnie szczytowe masy

kostne populacji i wykorzystano je do oceny liczby odchyłek standardowych (tab.6.5). Obliczono również współczynniki korelacji pomiędzy Z-score a stosowaną do chwili badania łączną dawką enoksaparyny oraz pomiędzy Z-score a czasem stosowania leku. Potwierdzono występowanie korelacji (rys.6.4 i 6.5, tab.6.6).

Tab 6.5. Dane pacjentów u których wykonywano jedno badanie densytometryczne (grupa B)

l.p.	płeć	wiek	dawka enoksa-paryny do chwili badania	czas stos.do chwili badania	stan BMD –Z-score			
					kość udowa	kość promieniowa	kręgi lędźwiowe	średnia zmiana masy kostnej
1	M	42	27,00	9	-0,93	-0,81	-4,37	-2,04
2	K	75	10,80	6	-0,94	-1,13	-1,34	-1,14
3	K	59	14,40	7	-0,53	-1,02	0,19	-0,45
4	M	56	4,96	2	-0,36	1,76	0,16	0,52
5	M	65	14,40	6	-0,71	1,37	1,04	0,57
6	K	46	10,80	6	0,01	-1,46	-1,54	-1,00
7	M	68	7,20	3	0,96	0,76	-0,04	0,56
8	M	20	29,20	12	0,17	-0,98	-0,29	-0,37
9	K	61	29,20	12	-2,51	-1,41	-2,18	-2,03

Rys.6.4. Prosta regresji obrazująca zależność średnich zmian Z-score i dawki całkowitej leku (grupa B). Współczynnik korelacji -0,65 ($p < 0,05$).Rys. 6.5. Prosta regresji obrazująca zależność średnich zmian Z-score i czasu leczenia (grupa B). Współczynnik korelacji -0,67 ($p < 0,05$).

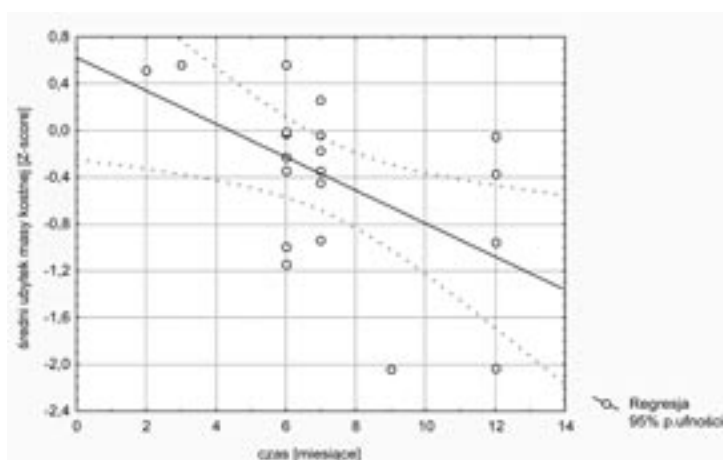
Tab.6.6. Współczynniki korelacji grupa B

	kość udowa	kość promieniowa	kręgi lędźwiowe	średni ubytek masy kostnej
dawka całkowita	-0,50 (p NS)	-0,55 (p NS)	-0,52 (p NS)	-0,65 ($p < 0,05$)
czas stos. leku	-0,52 (p NS)	-0,69 ($p < 0,05$)	-0,43 (p NS)	-0,67 ($p < 0,05$)

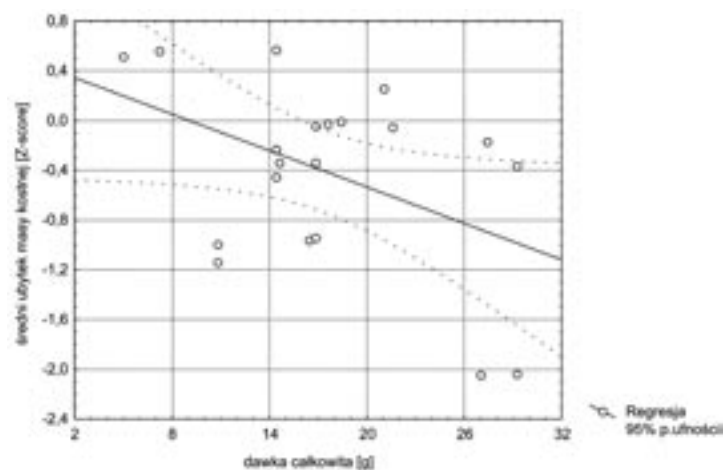
Łącząc grupę A (11 pacjentów) z grupą B (9 pacjentów) poddano analizie stan kośćca opierając się na drugim badaniu densytometrycznym grupy A i pojedynczym badaniu w grupie B. Pozwoliło to na zwiększenie liczby badanych przypadków. Uzyskane wyniki współczynników korelacji wskazały na istotną statystycznie zależność pomiędzy czasem stosowania leku a średnim ubytkiem masy kostnej określonym za pomocą zmiany Z-score (rys.6.6). Występowanie podobnej zależności potwierdzono dla całkowitej dawki przyjętej enoksaparyny i średniego ubytku masy kostnej (rys.6.7).

W kolejnej badanej grupie chorych stosujących acenokumarol znajdowało się 3 chorych, którzy

mieli wykonane dwa badania densytometryczne: u tych pacjentów potwierdzono zmniejszenie BMD pomiędzy badaniami. Jeden z pacjentów stosował w ciągu 6 miesięcy profilaktykę osteoporozy (Calcium carbonicum, Alfacalcidol) co najprawdopodobniej dało efekt w postaci wyraźnego wzrostu BMD. U czterech chorych w tej małej podgrupie wykonano tylko jedno badanie densytometryczne ale nie obserwowano wśród otrzymanych wyników istotnych zmian Z-score wskazujących na zaburzenia mineralizacji w badanych obszarach szkieletu (tab.6.7).



Rys.6.6. Badanie zależności między czasem stosowania LMWH a średnim ubytkiem masy kostnej; grupa A + grupa B, $r = -0,53$, $p < 0,05$.



Rys.6.7. Badanie zależności pomiędzy dawką całkowitą LMWH a średnim ubytkiem masy kostnej; grupa A + grupa B, $r = -0,45$, $p < 0,05$.

Tab. 6.7. Dane pacjentów, którzy stosowali acenokumarol we wtórnej profilaktyce p/zakrzepowej.

l.p.	płeć	wiek	czas stos. (mies.)	% zmiany masy kostnej			profi- laktyka osteopo- rozy	ΔBMD w %
				kość udowa	kość promie- niowa	kręgi lędźwio- we		
1	K	71	12	-4,20	1,50	-2,50		-1,73
2	K	65	17	-0,60	-0,20	-1,00		-0,60
3	M	46	8	10,10	0,00	8,80	+	6,30

l.p.	płeć	wiek	czas stos.	BMD - jedno badanie – Z-score			średni ubytek masy kostnej
				kość udowa	kość promie- niowa	kręgi lędźwio- we	
1	M	59	12	-1,51	-0,25	-0,48	-0,75
2	K	72	1	1,43	0,32	-1,13	0,21
3	M	47	48	-0,22	2,48	1,71	1,32
4	M	58	12	-0,19	-0,34	0,60	0,02

Dla całej grupy badanych w I etapie pracy poszukiwano też związku pomiędzy zmianą mineralizacji kości a wiekiem czy płcią badanych. Nie uzyskano znamiennych statystycznie wartości współczynników korelacji.

6.2. Etap II

We wszystkich grupach badanych obserwowano obniżenie masy kostnej. Do najmniejszych zmian doszło w grupie chorych stosujących nadroparynę w dawce odpowiadającej wtórnej profilaktyce przez 3 miesiące (tab.6.8).

Istotne nasilenie demineralizacji w badanych obszarach miało miejsce u pacjentów stosujących enoksaparynę. Bardzo wyraźne nasilenie zmian obserwowano w miarę wydłużania profilaktyki. Po upływie dwóch lat obserwowano największe ubytki masy kostnej (o 4,8%) w szyjce kości udowej jak i w trzonach kręgów lędźwiowych L2 -L4 (o 3,81%).

Po raz pierwszy poddano ocenie wpływ acenokumarolu na mineralizację kości badając kilkakrotnie pacjentów. Spośród grupy 24 chorych wybrano 15-tu, u których dokonano oceny mineralizacji kości już po 3 miesiącach. Wyniki badań wskazywały na obecność minimalnych zmian: średnio ubytek dla obu badanych miejsc wynosił 0,7%. Wskaźnik Z-score stał się „bardziej ujemny” o 0,1 (tab.6.9).

U 24 pacjentów stosujących pochodne kumaryny dokonano oceny wyników badań densytometrycznych po 12 miesiącach i potwierdzono istotne różnice w mineralizacji zarówno kości udowej (o 1,8%) jak i kręgów lędźwiowych (o 1,72%).

Po upływie 24 miesięcy stosowania antagonisty Vit. K zbadano 5 pacjentów: u nich obniżenie BMD wynosiło 2,55% w kości udowej oraz 2,32% w kręgach lędźwiowych. Zaburzenia opisane powyżej znalazły odbicie w zmianach Z-score dla wszystkich badanych obszarów. I tak najbardziej ujemne odchylenia standardowe (w odniesieniu do wieku, płci i rasy) występowały, stopniowo się pogłębiając po 12-tu a następnie po 24 miesiącach stosowania enoksaparyny, wynosząc: dla szyjki kości udowej kolejno -0,15 i -0,28 a dla kręgów lędźwiowych -0,25 oraz -0,31.

U pacjentów stosujących acenokumarol odchylenia Z-score były również duże. Dla szyjki kości udowej wskaźnik Z-score zmienił się po roku o -0,18 i -0,19 dla kręgów lędźwiowych, a po dwóch latach aż o -0,31 i -0,28.

Zmiany mineralizacji kości podczas stosowania zarówno heparyn drobnocząsteczkowych jak i acenokumarolu wyraźnie postępują z czasem (tabele 6.10, 6.11, 6.12, 6.13, 6.14 i rysunki 6.8, 6.9).

Posługując się analizą regresji obliczono istotność różnic pomiędzy współczynnikami nachyleń prostych regresji. Współczynnik ten dla zmian % BMD kości udowej (podczas stosowania LMWH) wynosi 0,2%/miesiąc i 0,17%/miesiąc dla kręgów lędźwiowych. U chorych stosujących acenokumarol współczynnik wynosi dla kości udowej 0,11%/miesiąc oraz 0,09%/miesiąc dla kręgów lędźwiowych. Współczynniki te obrazują tempo ubytku gęstości mineralnej kości z wpływem czasu stosowania leków. Różnice są statystycznie istotne ($p < 0,05$). Wyniki wskazują, że tempo ubytku BMD jest prawie dwukrotnie wyższe u chorych stosujących LMWH niż u przyjmujących acenokumarol we wtórnej profilaktyce przeciwzakrzepowej.

Tab 6.8. Dane pacjentów u których stosowano nadroparynę. Zmiana masy kostnej podana w % BMD oraz Z-score*.

lp	płeć	wiek	zmiana masy kostnej % BMD			zmiana masy kostnej Z-score		
			K L2 – L4	kość udowa	średnia zmiana	K L2 – L4	kość udowa	średnia zmiana
1	K	72	-3,5	-11,9	-7,7	-0,3	-0,85	-0,57
2	K	75	0,001	-2,55	-1,27	0,02	-0,15	-0,06
3	M	71	-0,01	-0,1	-0,05	-0,01	-0,01	-0,01
4	M	67	-0,56	-4,3	-2,43	-0,04	-0,39	-0,21
5	M	36	2,77	5,49	4,13	0,25	0,45	0,35
6	K	56	1,38	5,22	3,3	0,2	0,44	0,32
7	K	51	1,81	-3,9	-1,05	-0,17	-0,25	-0,21
8	K	26	-2,67	0,58	-1,04	-0,28	0,06	-0,11
9	M	75	0	3,0	1,5	0	0,29	0,15
10	M	50	0,52	1,0	0,76	-0,13	-0,18	-0,15
11	M	59	-5,84	2,85	-1,5	-0,52	0,19	-0,16
12	K	67	-0,2	-9,5	-4,9	-0,02	-0,73	-0,37
13	K	75	-5,85	-2,06	-4,0	-0,59	0,06	-0,26
14	K	69	-10,9	0	-5,45	-0,86	0,19	-0,34
15	M	68	6,35	-1,56	2,4	0,49	-0,25	0,12
			średnio dla wszystkich badanych		-1,15	średnio dla wszystkich badanych		-0,1

* Czas stosowania 3 miesiące

Tab. 6.9. Dane pacjentów u których stosowano acenokumarol. Zmiana masy kostnej podana w % BMD oraz Z-score*.

lp	płeć	wiek	zmiana masy kostnej % BMD			zmiana masy kostnej Z-score		
			K L2 – L4	kość udowa	średnia zmiana	K L2 – L4	kość udowa	średnia zmiana
1	K	68	-1,28	-0,56	-0,92	-0,12	-0,03	-0,07
2	K	68	0,39	12,4	6,39	-0,03	0,56	0,26
3	M	64	4,14	-7,8	-1,83	0,45	-0,61	-0,1
4	M	65	-4,27	-9,6	-6,99	-0,37	-0,64	-0,5
5	K	51	-1,64	7,8	3,08	-0,15	0,66	0,25
6	M	47	-3,66	-1,65	-2,65	-0,35	-0,11	-0,23
7	M	46	0,29	-4,55	-2,13	0,02	-0,22	-0,1
8	M	50	4,4	3,21	3,8	0,38	0,27	0,32
9	M	62	-3,28	0	-1,64	-0,3	0	-0,15
10	M	22	-6,55	-0,82	-3,68	-0,81	-0,09	-0,45
11	K	72	-2,72	-2,19	-2,45	-0,19	-0,13	-0,16
12	K	58	-2,2	1,8	-0,2	-0,51	-0,4	-0,45
13	K	66	-3	3,0	0	-0,17	0,22	0,02
			średnio dla wszystkich badanych		-0,70	średnio dla wszystkich badanych		-0,1

* Czas stosowania 3 miesiące

Tab.6.10. Wpływ czasu stosowania enoksaparyny na mineralizację kości (Δ BMD%)

Czas (miesiące)	6	12	24
Liczba pacjentów	9	24	18
Δ BMD kość udowa	-3,0 %	-3,1 %	-4,8 %
Δ BMD kręgi lędźwiowe	-2,8 %	-4,05 %	-3,81 %

Tab.6.11. Wpływ czasu stosowania enoksaparyny na mineralizację kości (ΔZ -score)

Czas (miesiące)	6	12	24
Liczba pacjentów	9	24	18
ΔZ -score kość udowa	-0,14	-0,15	-0,28
ΔZ -score kręgi lędźwiowe	-0,20	-0,25	-0,31

Tab.6.12. Wpływ czasu stosowania acenokumarolu na mineralizację kości ($\Delta BMD\%$)

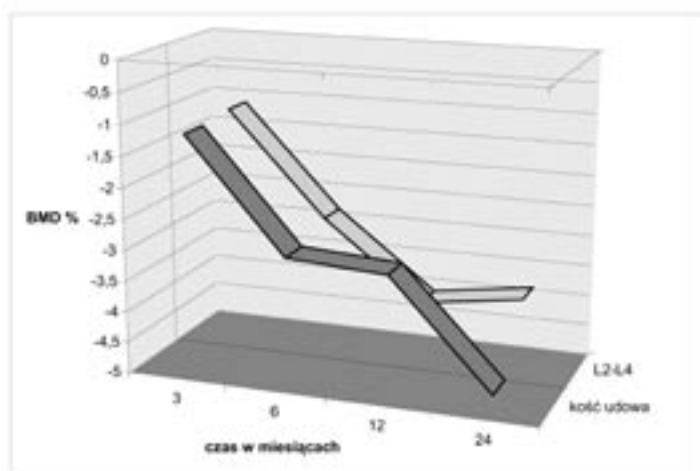
Czas (miesiące)	3	12	24
Liczba pacjentów	13	24	5
ΔBMD kość udowa	-0,6 %	-1,8 %	-2,55 %
ΔBMD kręgi lędźwiowe	-0,8 %	-1,72 %	-2,32 %

Tab.6.13. Wpływ czasu stosowania acenokumarolu na mineralizację kości (ΔZ -score)

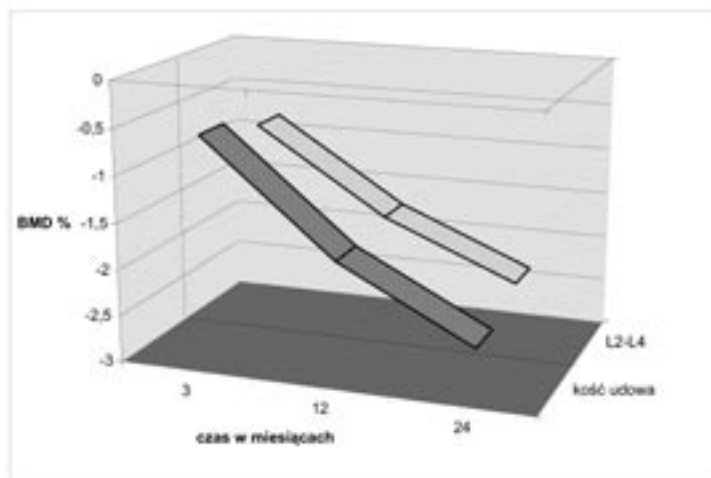
Czas (miesiące)	3	12	24
Liczba pacjentów	13	24	5
ΔZ -score kość udowa	-0,15	-0,18	-0,31
ΔZ -score kręgi lędźwiowe	-0,25	-0,19	-0,28

Tab.6.14. Zmiany mineralizacji kości w trakcie stosowania wtórnej profilaktyki przeciwzakrzepowej

	liczba pacj.	czas miesiące	Zmiany mineralizacji kości			
			Kość udowa – szyjka		Kręgi lędźwiowe	
			$\Delta BMD\%$	ΔZ -score	$\Delta BMD\%$	ΔZ -score
Nadroparyna	15	3	-1,35	-0,07	-1,2	-0,13
Enoxaparyna	24	12	-3,1	-0,15	-4,05	-0,25
Enoxaparyna	18	24	-4,8	-0,28	-3,81	-0,31
Acenokumarol	24	12	-1,8	-0,18	-1,72	-0,19
Acenokumarol	5	24	-2,55	-0,31	-2,32	-0,28



Rys. 6.8. Zmiana mineralizacji kości z upływem czasu u pacjentów stosujących LMWH



Rys. 6.9. Zmiana mineralizacji kości z upływem czasu u pacjentów stosujących acenokumarol

6.3. Etap III

W trzecim etapie pracy podjęto próbę oceny dynamiki zmian BMD oraz sprawdzenia czy towarzyszą im dynamiczne zmiany aktywności fosfatazy zasadowej, stężeń osteokalcyny oraz β CrossLaps w surowicy. Wyniki uzyskane w pracy u wszystkich 31 badanych przedstawia tab. 6.15.

Tab.6.15. Etap III. Wyniki wszystkich 31 badanych.

Lp.	Lek	Czas	ALP-2	ALP-1	Ca	BMD						Z-score						OC-1	B Cross L-1	OC-2	B Cross L-2	ΔOC	Δ B Cross I.	ΔALP																		
						Δ L	Δ F	Δ R	Śr. bezwgl.	% L	% F	% R	Śr. %	Δ L	Δ F	Δ R	Śr. Z-score																									
1	Ac	9	141	148	4,8	-0,01	-0,05	-0,08	-0,047	-0,1	-0,18	-0,8	-0,360	-0,01	0	-0,02	-0,010	10,18	9,52	0,91	-0,66	0,74	-7																			
2	Ac	9	112	118	4,4	-0,109	-0,08	-0,02	-0,070	-6,21	-2,01	-1,02	-3,080	-0,9	-0,1	-0,06	-0,353	21,07	19,03	0,88	-2,04	0,69	-6																			
3	Ac	10	162	159	4,7	-0,053	0,033	-0,14	-0,053	-4,9	3,3	-2,7	-1,433	-0,5	0,2	-0,4	-0,233	24	20,15	1,07	-3,85	0,38	3																			
4	Ac	9	108	111	5,1	-0,08	-0,08	-0,15	-0,103	-0,2	-0,1	-0,15	-0,150	-0,02	-0,01	-0,013	21,88	18,73	1,85	-3,15	0,83	-3																				
5	Cl	12	201	225	4,9	-0,109	-0,027	-0,038	-0,058	-7,65	-2,6	-4,2	-4,817	-0,9	-0,1	-0,5	-0,500	21,55	17,5	0,3	-4,05	0,05	-24																			
6	Cl	12	141	164	4,2	-0,09	-0,08	-0,01	-0,060	-6,28	-0,1	-0,5	-2,293	-0,8	-0,1	-0,09	-0,350	20,33	12,2	1,07	-8,13	0,44	-23																			
7	Ac	12	176	170	4,8	-0,014	0,008	-0,002	-0,003	-1	-2	-2	-1,667	-0,5	-0,1	-0,26	-0,287	19,71	18,8	0,41	-0,91	-0,28	6																			
8	Ac	12	125	115	4,6	0,054	0,014	-0,02	0,016	5	1	-0,3	1,900	0,5	0,2	0	0,233	36,89	18,8	1,98	-18,09	0,92	10																			
9	Ac	12	221	261	4,1	-0,08	-0,18	-0,04	-0,100	-6,1	-0,25	-0,6	-2,317	-0,8	-0,11	-0,01	-0,307	42,53	36,4	1,85	-6,13	0,54	-40																			
10	Cl	12	158	192	4,7	0,011	-0,024	-0,04	-0,018	1	-2,2	-4,4	-1,867	0	-0,1	0,1	0,000	19,16	19	0,33	-0,16	0,01	-34																			
11	Ac	10	118	128	4,6	-0,012	-0,08	-0,01	-0,034	-2,2	-3,8	-1,7	-2,567	-0,3	-0,1	-0,02	-0,140	16,24	16,1	0,32	-0,14	-0,09	-10																			
12	Cl	12	248	251	4,3	-0,07	-0,12	-0,04	-0,077	-5,2	-0,1	-0,05	-1,783	-0,8	-0,2	-0,01	-0,337	17,32	31,6	0,75	14,28	0,15	-3																			
13	Cl	12	172	184	4,5	-0,021	-0,06	-0,02	-0,034	-2	-4,5	-2,1	-2,867	-0,61	-0,2	-0,26	-0,357	23,07	21,08	0,78	-1,99	0,19	-12																			
14	Cl	12	161	168	4,7	-0,05	0,1	-0,11	-0,020	-5,4	6,04	-1,7	-3,553	-0,61	0,01	-0,26	-0,287	30,29	22,5	0,67	-7,79	0,05	-7																			
15	Cl	8	111	144	4,6	0,11	0,09	0,02	0,073	6,11	2,1	1,1	3,103	0,11	0,09	0,11	0,103	29,65	27,6	1,34	-2,05	0,44	-33																			
16	Ac	12	141	159	4,4	-0,11	-0,03	-0,02	-0,053	-4,5	-2,5	-2,1	-3,033	-0,31	-0,1	-0,24	-0,217	12,13	11,01	0,31	-1,12	-0,03	-18																			
17	Cl	8	199	221	4,4	-0,07	-0,11	-0,03	-0,070	-4,9	-0,15	-0,1	-1,717	-0,7	-0,2	-0,01	-0,303	22,32	13,5	0,77	-8,82	0,16	-22																			
18	Ac	12	98	142	5	-0,051	-0,03	-0,11	-0,064	-4,9	-3,3	-2,2	-3,467	-0,5	-0,2	-0,3	-0,333	20,15	17,05	1,28	-3,1	0,21	-44																			
19	Cl	8	115	119	5,1	-0,01	-0,21	-0,15	-0,123	-1,5	-4,2	-3,1	-2,933	-0,01	-0,09	-0,3	-0,133	19,63	15,6	0,55	-4,03	0,09	-4																			
20	Ac	10	161	176	4,8	-0,01	-0,01	-0,02	-0,013	-1	-1	-1,5	-1,167	-0,01	-0,01	-0,02	-0,013	21,13	19,3	0,67	-1,83	0,02	-15																			
21	Ac	7	94	108	4,3	-0,03	-0,03	-0,04	-0,033	-2,1	-3,8	-2,8	-2,900	-0,58	-0,1	-0,31	-0,330	49,17	32,6	0,56	-16,57	-0,33	-14																			
22	Cl	6	109	202	4,3	-0,01	-0,01	-0,01	-0,010	-0,1	-0,21	-0,24	-0,183	-0,21	-0,1	-0,18	-0,163	18,23	11,3	1,22	-6,93	0,44	-93																			
23	Ac	6	182	171	4,1	-0,02	-0,01	-0,02	-0,017	-0,25	-0,2	-0,4	-0,283	-0,4	-0,3	-0,1	-0,267	22,34	17,6	0,2	-4,74	-0,51	11																			
24	Cl	8	155	149	4,2	-0,03	-0,04	-0,01	-0,027	-0,35	-0,4	-0,1	-0,283	-0,1	-0,02	-0,1	-0,073	19,87	16,4	0,84	-3,47	0,34	6																			
25	Cl	6	214	225	4,8	-0,02	-0,1	-0,01	-0,043	-6,3	-0,4	-3,2	-3,300	-1	-0,3	-0,9	-0,733	17,5	14,5	0,27	-3	-0,03	-11																			
26	Cl	8	225	218	5,1	-0,041	-0,02	-0,08	-0,047	-2,8	-1,6	-4,2	-2,867	-0,09	-0,15	-0,7	-0,313	45,36	27,5	0,68	-17,86	0,06	7																			
27	Ac	8	118	131	4,9	-0,02	-0,05	-0,08	-0,050	-0,6	-0,18	-0,3	-0,360	-0,02	-0,01	-0,02	-0,017	15,73	14,6	0,44	-1,13	-0,14	-13																			
28	Cl	8	201	212	4,7	-0,039	-0,02	-0,07	-0,043	-3,1	-1,7	-3,4	-2,733	-0,1	-0,19	-0,9	-0,397	30,05	27,4	0,49	-2,65	0,14	-11																			
29	Cl	8	181	199	4,6	-0,11	-0,04	-0,15	-0,100	-4,8	-3,1	-6,1	-4,667	-0,2	-0,31	-0,96	-0,490	22,32	20,5	0,31	-1,82	0,01	-18																			
30	Ac	8	128	142	4,3	-0,02	-0,07	-0,13	-0,073	-0,2	-0,1	-0,2	-0,167	-0,02	-0,01	-0,02	-0,017	28,25	24,2	0,32	-4,05	0,01	-14																			
31	Ac	8	162	170	4,4	-0,014	0,008	-0,002	-0,003	-1	-2	-2	-1,667	-0,5	-0,1	-0,2	-0,267	34,05	29,3	0,94	-4,75	0,15	-8																			
Średnia																									-0,036	-0,042	-0,053	-0,044	-2,372	-0,975	-1,712	-1,686				-0,222				-4,217	0,182	-14,323

6.3.1. Wpływ LMWH

Wśród 15 chorych stosujących we wtórnej profilaktyce przeciwzakrzepowej enoksaparynę obliczono różnicę gęstości kości pomiędzy dwoma badaniami densytometrycznymi dla trzech badanych obszarów oddzielnie. Największy zarejestrowany ubytek gęstości kości w wartościach bezwzględnych wynosił $-0,119 \text{ g/cm}^2$ i dotyczył kręgów lędźwiowych; $0,21 \text{ g/cm}^2$ ubyło również w zakresie szyjki kości udowej. Wyniki uzyskane w badaniach tej grupy umieszczono w tab. 6.16.

Różnice pomiędzy pierwszym a drugim badaniem przeliczone na wartości procentowe (przy przyjęciu za 100% wartości z 1-go badania) były najwyższe również dla kręgów lędźwiowych ($-7,65\%$). Wysokie, mierzone w procentach ubytki dotyczyły również ultradystalnej części kości promieniowej ($-6,1\%$).

Spośród średnich zmian gęstości kości określanych wartością bezwzględną w g/cm^2 największa dotyczy kości promieniowej, nieco niższe zachodzą w dwóch pozostałych obszarach. Procentowy ubytek jest najwyższy w kręgach lędźwiowych ($-2,88\%$), nieco niższy dotyczy kości promieniowej ($-2,15\%$).

Średnia z trzech obszarów wynosi $-1,97\%$ po upływie średnio ok. 9 miesięcy. W wartościach Z-score największy ubytek dotyczył również kości promieniowej; niższy ubytek miał miejsce w kręgach lędźwiowych. Średnia zmiana Z-score obliczona dla trzech badanych obszarów – po średnio 9 miesiącach wynosi $-0,28$ (tab.6.16).

Kolejno poddano analizie zmiany aktywności fosfatazy zasadowej. Potwierdzono wyraźne obni-

żenie aktywności tego enzymu w drugim badaniu (rys.6.10). Średni ubytek ALP wynosił $18,8 \text{ IU/l}$. Różnica aktywności ALP pomiędzy pierwszym a drugim badaniem jest wysoce znamienne statystycznie ($p < 0,008$) (rys.6.11). Pomiedzy różnicą aktywności tego enzymu a średnim procentowym ubytkiem BMD nie wykazano istotnej korelacji ($r = -0,28$) (rys.6.12).

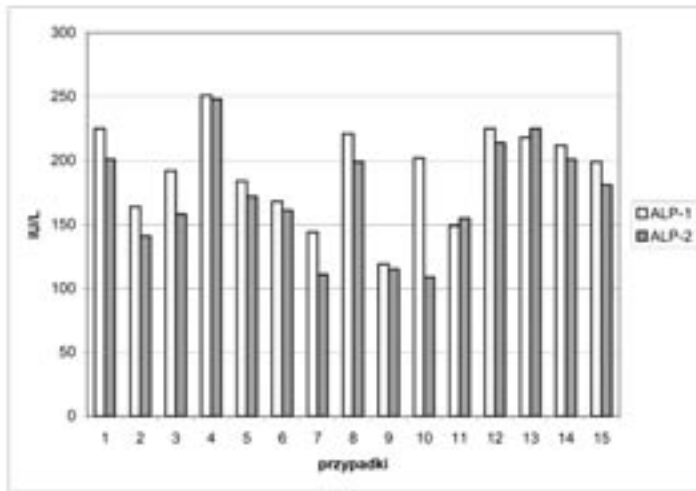
Następnie porównano stężenia osteokalcyny w surowicy chorych pobranej przed rozpoczęciem stosowania enoksaparyny i po 6-12 miesiącach (średnio 9 miesięcy) (rys. 6.13). U 14-tu spośród 15 chorych wykazano obniżenie stężenia osteokalcyny. Średnio ubyło $3,9 \text{ ng/ml}$. Różnica pomiędzy pierwszym i drugim badaniem jest znamienne statystycznie ($p < 0,009$) (rys.6.14).

Korelowano zmiany stężenia osteokalcyny u wszystkich chorych ze zmianami %BMD, fosfatazy alkalicznej oraz ze zmianami $\beta\text{CrossLaps}$. Wyniki analizy statystycznej nie potwierdziły istnienia współzależności w żadnej z badanych par danych w naszej grupie chorych.

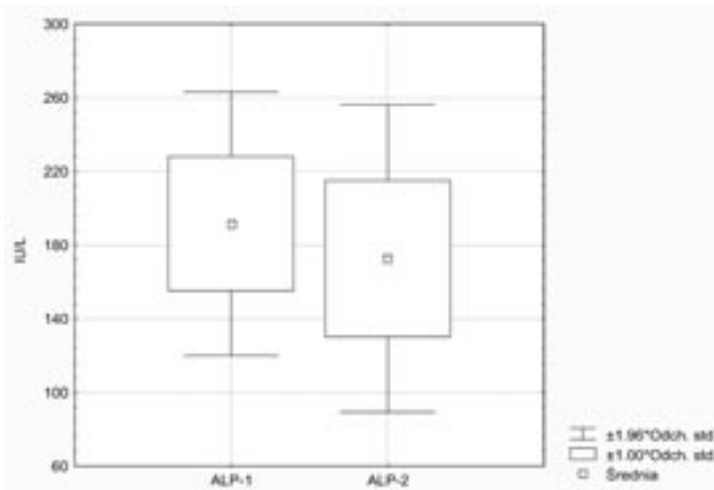
Stężenie $\beta\text{CrossLaps}$ w surowicy wzrosło u 14 spośród 15-tu badanych; najwyższy wzrost wynosił $0,44 \text{ ng/ml}$ (rys.6.15), średnia wartość: $0,17 \text{ ng/ml}$, $p < 0,002$ (rys.6.16). Badano występowanie zależności pomiędzy zmianami stężeń $\beta\text{CrossLaps}$, % zmianami BMD oraz Z-score. Uzyskane wartości współczynników korelacji wskazują na silną zależność pomiędzy badanymi zmiennymi. Współczynniki korelacji wynoszą $r = 0,66$, $p < 0,07$ i $r = 0,52$, $p < 0,05$ – dla wartości wyrażonych w Z-score (rys.6.17, rys.6.18).

Tab.6.16. Etap III. Wyniki uzyskane u 15-tu chorych stosujących enoksaparynę

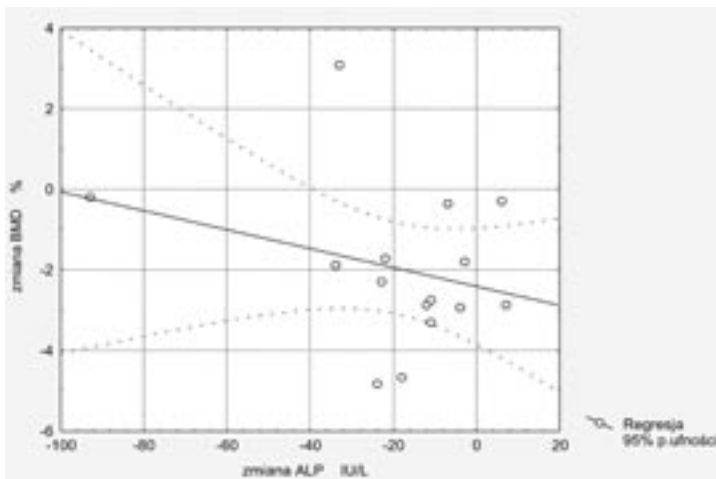
Lp.	Lek	Czas	ALP-2	ALP-1	Ca	BMD				Z-score				OC-1	B Cross L-1	OC-2	B Cross L-2	ΔOC	ΔB Cross I.	ΔALP					
						Δ L	Δ F	Δ R	Śr. bez-wzgl.	% L	% F	% R	Śr. %								Δ L	Δ F	Δ R	Śr. Z-score	
1	Cl	12	201	225	4,9	-0,109	-0,027	-0,038	-0,058	-7,65	-2,6	-4,2	-4,817	-0,9	-0,1	-0,5	-0,500	21,55	0,25	17,5	0,3	-4,05	0,05	-24	
2	Cl	12	141	164	4,2	-0,09	-0,08	-0,01	-0,060	-6,28	-0,1	-0,5	-2,293	-0,8	-0,1	-0,09	-0,330	20,33	0,63	12,2	1,07	-8,13	0,44	-23	
3	Cl	12	158	192	4,7	0,011	-0,024	-0,04	-0,018	1	-2,2	-4,4	-1,867	0	-0,1	0,1	0,000	19,16	0,32	19	0,33	-0,16	0,01	-34	
4	Cl	12	248	251	4,3	-0,07	-0,12	-0,04	-0,077	-5,2	-0,1	-0,05	-1,783	-0,8	-0,2	-0,01	-0,337	17,32	0,6	31,6	0,75	14,28	0,15	-3	
5	Cl	12	172	184	4,5	-0,021	-0,06	-0,02	-0,034	-2	-4,5	-2,1	-2,867	-0,61	-0,2	-0,26	-0,357	23,07	0,59	21,08	0,78	-1,99	0,19	-12	
6	Cl	12	161	168	4,7	-0,05	0,1	-0,11	-0,020	-5,4	6,04	-1,7	-0,353	-0,61	0,01	-0,26	-0,287	30,29	0,62	22,5	0,67	-7,79	0,05	-7	
7	Cl	8	111	144	4,6	0,11	0,09	0,02	0,073	6,11	2,1	1,1	3,103	0,11	0,09	0,11	0,103	29,65	0,9	27,6	1,34	-2,05	0,44	-33	
8	Cl	8	199	221	4,4	-0,07	-0,11	-0,03	-0,070	-4,9	-0,15	-0,1	-1,717	-0,7	-0,2	-0,01	-0,303	22,32	0,61	13,5	0,77	-8,82	0,16	-22	
9	Cl	8	115	119	5,1	-0,01	-0,21	-0,15	-0,123	-1,5	-4,2	-3,1	-2,933	-0,01	-0,09	-0,3	-0,133	19,63	0,46	15,6	0,55	-4,03	0,09	-4	
10	Cl	6	109	202	4,3	-0,01	-0,01	-0,01	-0,010	-0,1	-0,21	-0,24	-0,183	-0,21	-0,1	-0,18	-0,163	18,23	0,78	11,3	1,22	-6,93	0,44	-93	
11	Cl	8	155	149	4,2	-0,03	-0,04	-0,01	-0,027	-0,35	-0,4	-0,1	-0,283	-0,1	-0,02	-0,1	-0,073	19,87	0,5	16,4	0,84	-3,47	0,34	6	
12	Cl	6	214	225	4,8	-0,02	-0,1	-0,01	-0,043	-6,3	-0,4	-3,2	-3,300	-1	-0,3	-0,9	-0,733	17,5	0,3	14,5	0,27	-3	-0,03	-11	
13	Cl	8	225	218	5,1	-0,041	-0,02	-0,08	-0,047	-2,8	-1,6	-4,2	-2,867	-0,09	-0,15	-0,7	-0,313	45,36	0,62	27,5	0,68	-17,86	0,06	7	
14	Cl	8	201	212	4,7	-0,039	-0,02	-0,07	-0,043	-3,1	-1,7	-3,4	-2,733	-0,1	-0,19	-0,9	-0,397	30,05	0,35	27,4	0,49	-2,65	0,14	-11	
15	Cl	8	181	199	4,6	-0,11	-0,04	-0,15	-0,100	-4,8	-3,1	-6,1	-4,667	-0,2	-0,31	-0,96	-0,490	22,32	0,3	20,5	0,31	-1,82	0,01	-18	
Średnia						-0,037	-0,045	-0,050	-0,044	-2,885	-0,875	-2,153	-1,971									-3,898	0,169	-18,800	



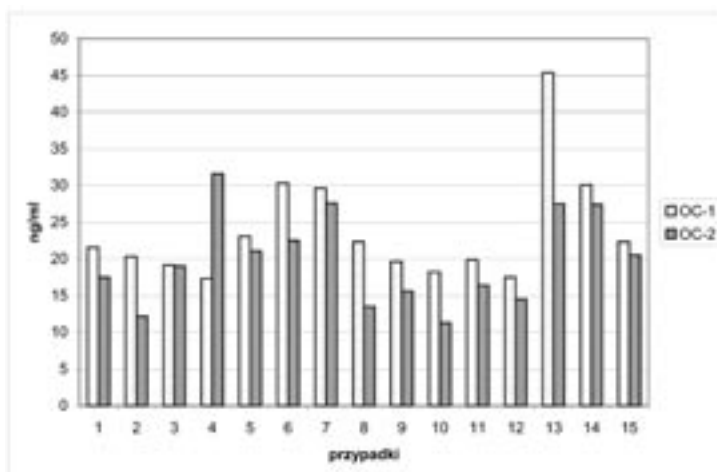
Rys.6.10. Aktywność fosfatazy zasadowej w kolejnych badaniach u pacjentów stosujących enoksaparynę. ALP-1 - badanie pierwsze, ALP-2 - badanie drugie.



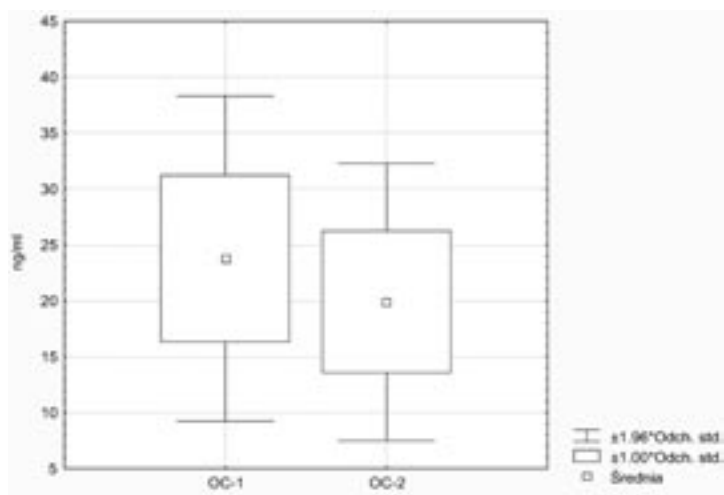
Rys.6.11. Wykres ramkowy obrazujący wartości średnie i odchylenie standardowe aktywności fosfatazy zasadowej w pierwszym (ALP-1) i drugim (ALP-2) badaniu. Badanie pierwsze - średnia 191,53 IU/l, odchylenie standardowe 36,47 IU/l. Badanie drugie - średnia 172,73 IU/l, odchylenie standardowe 42,54 IU/l. Różnica 18,8 IU/l, $p < 0,003$.



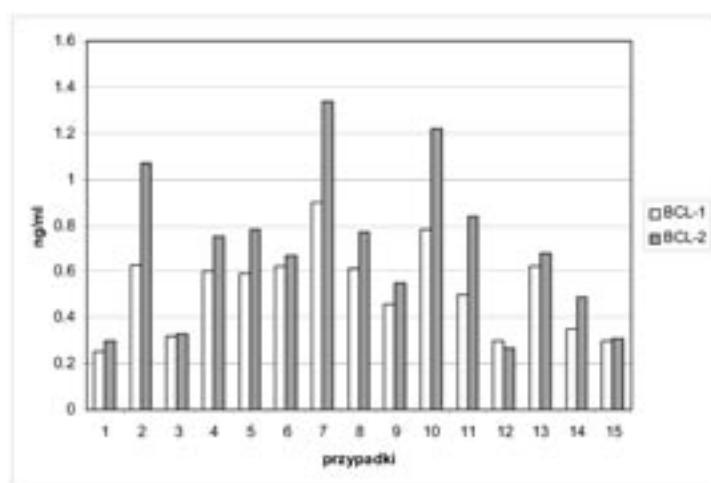
Rys.6.12. Prosta regresji obrazująca zależność pomiędzy zmianą mineralizacji kości w % a zmianą aktywności fosfatazy zasadowej u pacjentów leczonych enoksaparyną. Współczynnik korelacji $-0,28$ (p NS).



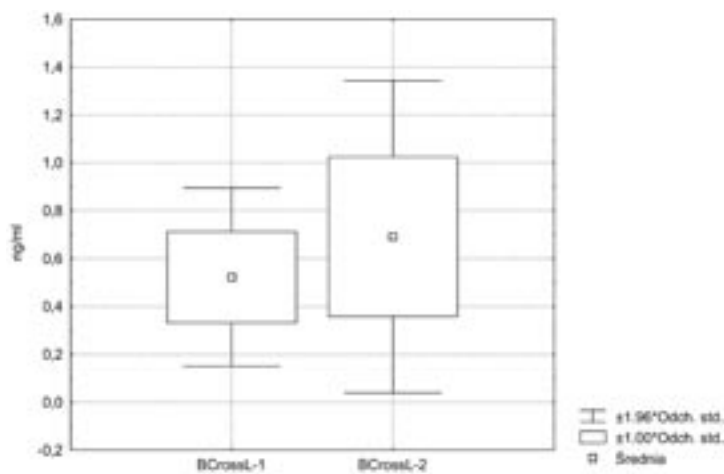
Rys.6.13. Stężenie osteokalcyny w pierwszym (OC-1) i drugim (OC-2) badaniu u pacjentów stosujących enoksaparynę.



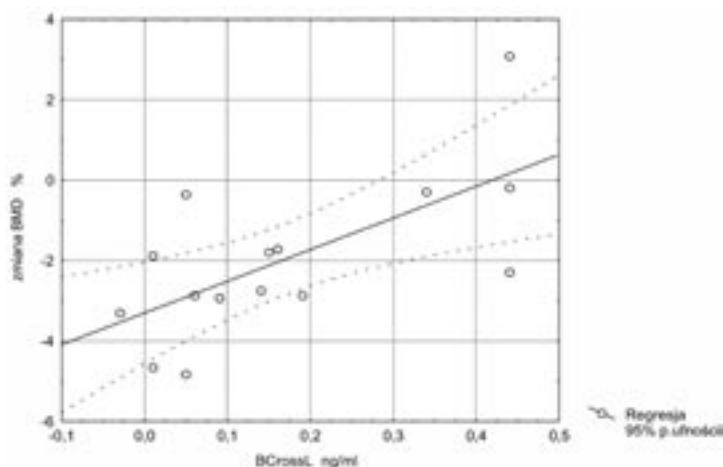
Rys.6.14. Wykres ramkowy obrazujący wartości średnie i odchylenie standardowe stężeń osteokalcyny w pierwszym (OC-1) i drugim (OC-2) badaniu. Badanie pierwsze - średnia 23,77 ng/ml, odchylenie standardowe 7,41 ng/ml. Badanie drugie - średnia 19,87 ng/ml, odchylenie standardowe 6,32 ng/ml. Różnica 3,89 ng/ml, $p < 0,009$.



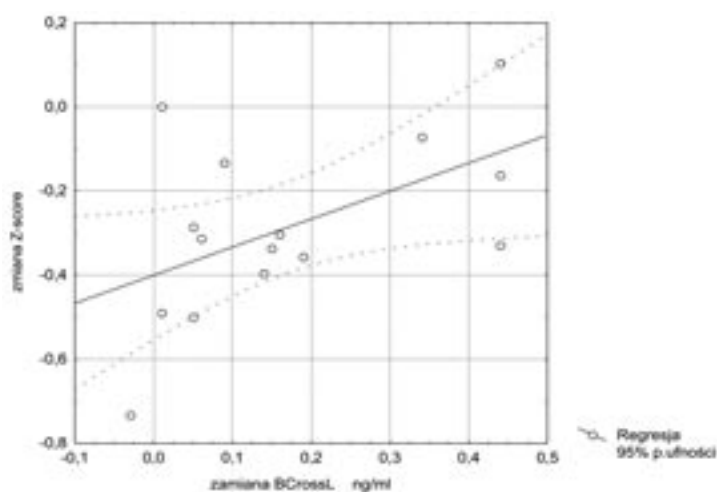
Rys.6.15. Stężenie β CrossLaps w surowicy w pierwszym (BCL-1) i drugim (BCL-2) badaniu u pacjentów stosujących enoksaparynę



Rys.6.16. Wykres ramkowy obrazujący wartości średnie i odchylenie standardowe stężeń β CrossLaps w pierwszym (BCrossL-1) i drugim (BCrossL-2) badaniu. Badanie pierwsze - średnia 0,52 ng/ml, odchylenie standardowe 0,19 ng/ml. Badanie drugie - średnia 0,69 ng/ml, odchylenie standardowe 0,33 ng/ml. Różnica 0,17 ng/ml, $p < 0,002$.



Rys.6.17. Prosta regresji obrazująca zależność pomiędzy zmianą mineralizacji kości w % a stężeniem β CrossLaps u pacjentów leczonych enoksaparyną. Współczynnik korelacji 0,66 ($p < 0,07$)



Rys.6.18. Prosta regresji obrazująca zależność pomiędzy zmianą mineralizacji kości Z-score a zmianą stężenia β CrossLaps u pacjentów leczonych enoksaparyną. Współczynnik korelacji 0,52 ($p < 0,05$)

6.3.2. Wpływ acenokumarolu

Identyczne metody stosowano wobec 16 osób stosujących acenokumarol we wtórnej profilaktyce. Wyniki badań tej grupy zawarto w tab.6.17. Różnica gęstości kości pomiędzy dwoma badaniami densytometrycznymi obliczona została oddzielnie dla każdego obszaru. Najwyższy ubytek gęstości kości wynosił, u jednego z pacjentów w obrębie szyjki kości udowej $-0,189 \text{ g/cm}^2$. Średni ubytek obliczony dla wszystkich badanych wyniósł kolejno: $-0,036 \text{ g/cm}^2$ dla kręgów lędźwiowych, $-0,043 \text{ g/cm}^2$ dla szyjki kości udowej oraz $-0,055 \text{ g/cm}^2$ w obrębie kości promieniowej.

Przeliczono te dane na odsetki wartości wyjściowych i potwierdzono największą demineralizację kręgów lędźwiowych ($-1,89\%$), następnie kości promieniowej ($-1,3\%$) oraz szyjki kości udowej, gdzie ubytek wyniósł $-1,07\%$. Czas stosowania Acenokumarolu pomiędzy dwoma badaniami wynosił od 7 do 12 miesięcy, średnio 8,6 miesiąca.

W wartościach Z-score największy ubytek gęstości mineralnej kości dotyczył – w tej grupie – kręgow lędźwiowych ($\Delta Z\text{-score} = -0,9$) „mniej ujemny” był w obszarze kości promieniowej ($\Delta Z\text{-score} = -0,4$). Średnia zmiana Z score dla wszystkich badanych obszarów w tej grupie wynosi $-0,161$.

Wyniki oznaczeń aktywności fosfatazy zasadowej wykonane przed włączeniem profilaktyki przeciwzkrzepowej i po 6-12 miesiącach wykazują obniżenie aktywności tego enzymu u 12 spośród 16 chorych (rys.6.19). Różnica pomiędzy oznaczeniami aktywności ALP wynosi średnio dla całej grupy $10,125 \text{ U/l}$ i charakteryzuje się wysoką znamiennością statystyczną $p < 0,007$ (rys.6.20). Wykazano dodatnią korelację obniżenia aktywności ALP z % różnicą BMD, $r = 0,58$, $p < 0,01$ (rys.6.21).

Porównanie stężeń osteokalcyny oznaczonych po ok. 9 miesiącach stosowania antagonisty Vit.K wykazało u wszystkich 16-tu chorych obniżenie stężenia tego białka. Najwyższy ubytek to $18,09 \text{ ng/ml}$; średnio w tej grupie ubyło $4,516 \text{ ng/ml}$.

Potwierdzono znamienność statystyczną tej różnicy $p < 0,005$ (rys.6.23). Korelowano zmiany stężenia osteokalcyny u wszystkich chorych ze zmianami % BMD oraz fosfatazy zasadowej jednak bardzo niskie wartości współczynników korelacji nie upoważniają do przyjęcia istnienia jakiegokolwiek współzależności pomiędzy badanymi zmiennymi.

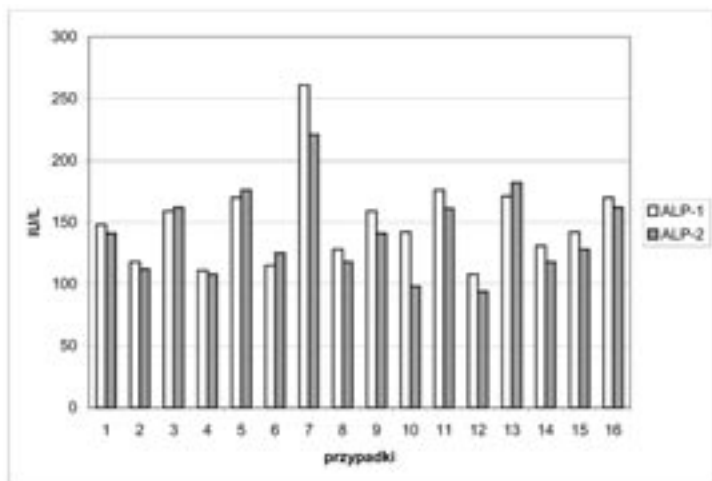
Stężenie β CrossLaps wzrosło w surowicy u 10 chorych. U 6-ciu pozostałych obserwowano niewielkie obniżenie stężenia tego markera (rys.6.24).

Średni wzrost β CrossLaps wynosi 0,194ng/ml (p NS) dla całej grupy badanej (rys.6.25). Potwierdzono słabą korelację ($r=0,29$, p NS) pomiędzy średnią zmianą stężenia β CrossLaps a procentową zmianą BMD oraz zmianą gęstości kości wyrażoną w Z-score ($r=0,38$, p NS) (rys.6.26, rys.6.27).

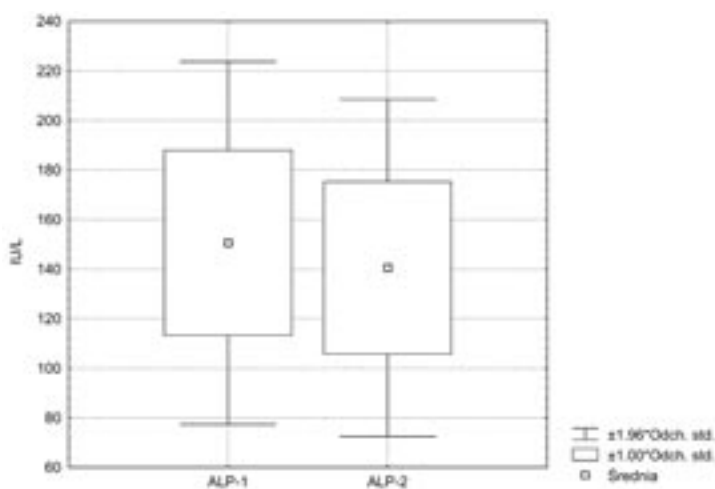
Zbiorcze wyniki badań uzyskane w etapie III przedstawiają tabele: 6.18 oraz 6.19.

Tab.6.17. Etap III. Wyniki badań 16-tu pacjentów stosujących acenokumaroł

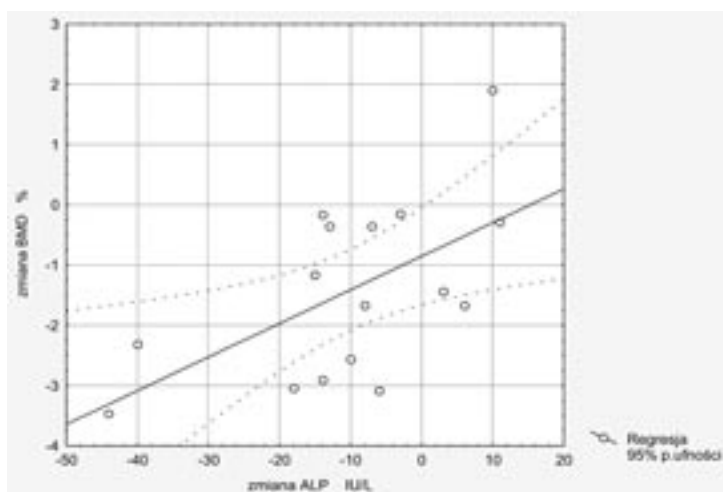
Lp.	Lek	Czas	ALP-2	ALP-1	Ca	BMD				Z-score				OC-1	B Cross L-1	OC-2	B Cross L-2	ΔOC	ΔB Cross I.	ΔALP					
						ΔL	ΔF	ΔR	Śr. bez-wzgl.	%L	%F	%R	Śr. %								ΔL	ΔF	ΔR	Śr. Z-score	
1	Ac	9	141	148	4,8	-0,01	-0,05	-0,08	-0,047	-0,1	-0,18	-0,8	-0,360	-0,01	0	-0,02	-0,010	10,18	0,17	9,52	0,91	-0,66	0,74	-7	
2	Ac	9	112	118	4,4	-0,109	-0,08	-0,02	-0,070	-6,21	-2,01	-1,02	-3,080	-0,9	-0,1	-0,06	-0,353	21,07	0,19	19,03	0,88	-2,04	0,69	-6	
3	Ac	10	162	159	4,7	-0,053	0,033	-0,14	-0,053	-4,9	3,3	-2,7	-1,433	-0,5	0,2	-0,4	-0,233	24	0,69	20,15	1,07	-3,85	0,38	3	
4	Ac	9	108	111	5,1	-0,08	-0,08	-0,15	-0,103	-0,2	-0,1	-0,15	-0,150	-0,02	-0,01	-0,01	-0,013	21,88	1,02	18,73	1,85	-3,15	0,83	-3	
5	Ac	12	176	170	4,8	-0,014	0,008	-0,002	-0,003	-1	-2	-2	-1,667	-0,5	-0,1	-0,26	-0,287	19,71	0,69	18,8	0,41	-0,91	-0,28	6	
6	Ac	12	125	115	4,6	0,054	0,014	-0,02	0,016	5	1	-0,3	1,900	0,5	0,2	0	0,233	36,89	1,06	18,8	1,98	-18,09	0,92	10	
7	Ac	12	221	261	4,1	-0,08	-0,18	-0,04	-0,100	-6,1	-0,25	-0,6	-2,317	-0,8	-0,11	-0,01	-0,307	42,53	1,31	36,4	1,85	-6,13	0,54	-40	
8	Ac	10	118	128	4,6	-0,012	-0,08	-0,01	-0,034	-2,2	-3,8	-1,7	-2,567	-0,3	-0,1	-0,02	-0,140	16,24	0,41	16,1	0,32	-0,14	-0,09	-10	
9	Ac	12	141	159	4,4	-0,11	-0,03	-0,02	-0,053	-4,5	-2,5	-2,1	-3,033	-0,31	-0,1	-0,24	-0,217	12,13	0,34	11,01	0,31	-1,12	-0,03	-18	
10	Ac	12	98	142	5	-0,051	-0,03	-0,11	-0,064	-4,9	-3,3	-2,2	-3,467	-0,5	-0,2	-0,3	-0,333	20,15	1,07	17,05	1,28	-3,1	0,21	-44	
11	Ac	10	161	176	4,8	-0,01	-0,01	-0,02	-0,013	-1	-1	-1,5	-1,167	-0,01	-0,01	-0,02	-0,013	21,13	0,65	19,3	0,67	-1,83	0,02	-15	
12	Ac	7	94	108	4,3	-0,03	-0,03	-0,04	-0,033	-2,1	-3,8	-2,8	-2,900	-0,58	-0,1	-0,31	-0,330	49,17	0,89	32,6	0,56	-16,57	-0,33	-14	
13	Ac	6	182	171	4,1	-0,02	-0,01	-0,02	-0,017	-0,25	-0,2	-0,4	-0,283	-0,4	-0,3	-0,1	-0,267	22,34	0,71	17,6	0,2	-4,74	-0,51	11	
14	Ac	8	118	131	4,9	-0,02	-0,05	-0,08	-0,050	-0,6	-0,18	-0,3	-0,360	-0,02	-0,01	-0,02	-0,017	15,73	0,58	14,6	0,44	-1,13	-0,14	-13	
15	Ac	8	128	142	4,3	-0,02	-0,07	-0,13	-0,073	-0,2	-0,1	-0,2	-0,167	-0,02	-0,01	-0,02	-0,017	28,25	0,31	24,2	0,32	-4,05	0,01	-14	
16	Ac	8	162	170	4,4	-0,014	0,008	-0,002	-0,003	-1	-2	-2	-1,667	-0,5	-0,1	-0,2	-0,267	34,05	0,79	29,3	0,94	-4,75	0,15	-8	
Średnia					-0,036	-0,040	-0,055	-0,044	-1,891	-1,070	-1,070	-1,298	-1,420										-4,516	0,194	-10,125



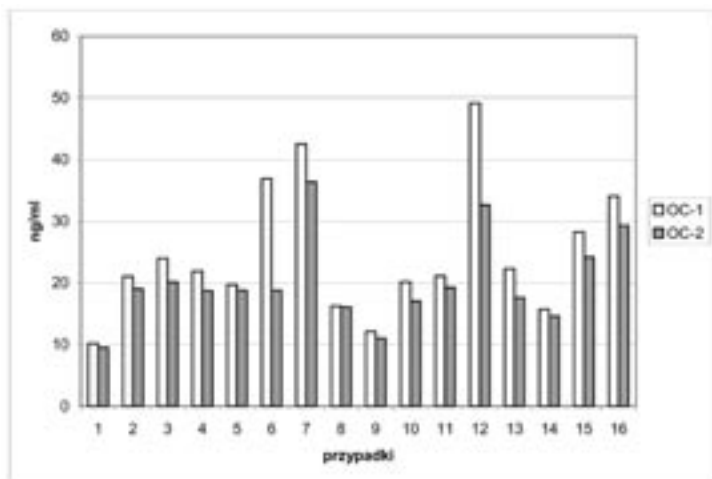
Rys.6.19. Aktywność fosfatazy zasadowej w kolejnych badaniach u pacjentów stosujących acenokumarol. ALP-1 - badanie pierwsze, ALP-2 - badanie drugie.



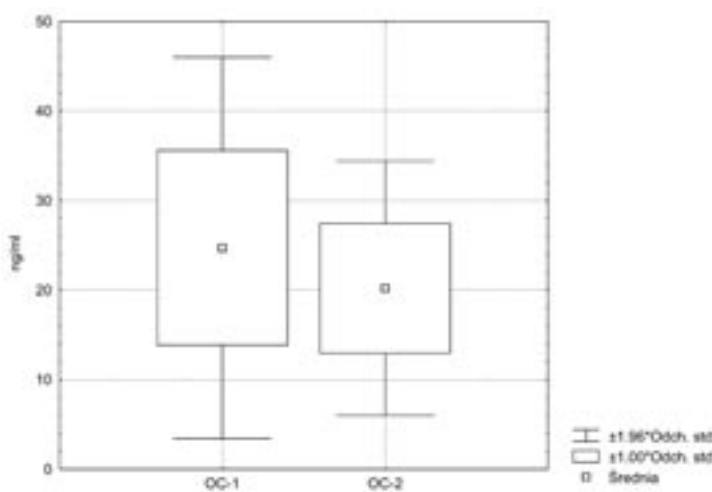
Rys.6.20. Wykres ramkowy obrazujący wartości średnie i odchylenie standardowe w pierwszym (ALP-1) i drugim (ALP-2) badaniu. Badanie pierwsze - średnia 150,56 IU/l, odchylenie standardowe 37,33 IU/l. Badanie drugie - średnia 140,43 IU/l, odchylenie standardowe 34,69 IU/l. Różnica 10,125 IU/l, $p < 0,02$.



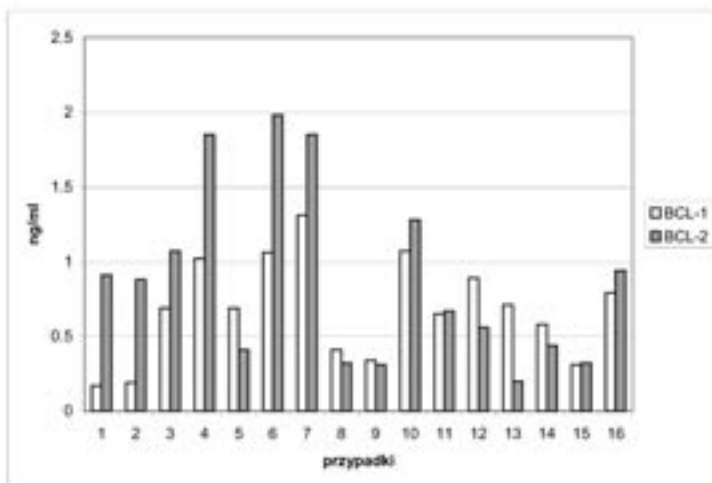
Rys.6.21. Prosta regresji obrazująca zależność pomiędzy zmianą mineralizacji kości w % a zmianą aktywności fosfatazy zasadowej u pacjentów leczonych acenokumarolem. Współczynnik korelacji 0,58 ($p < 0,01$)



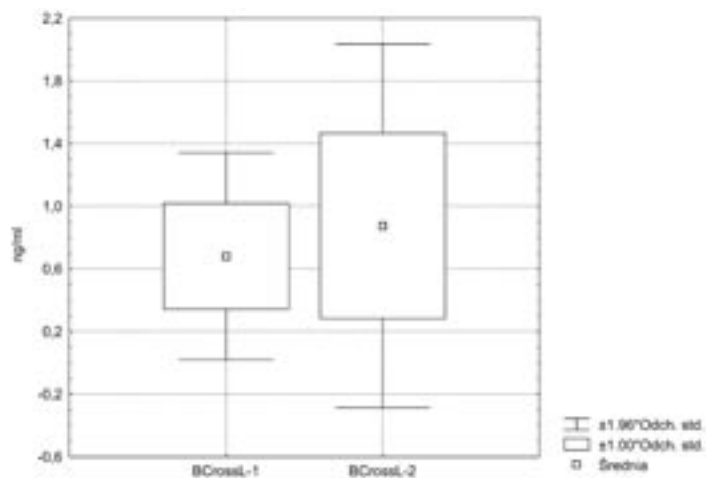
Rys.6.22. Stężenie osteokalcyny w pierwszym (OC-1) i drugim (OC-2) badaniu u pacjentów stosujących acenokumarol.



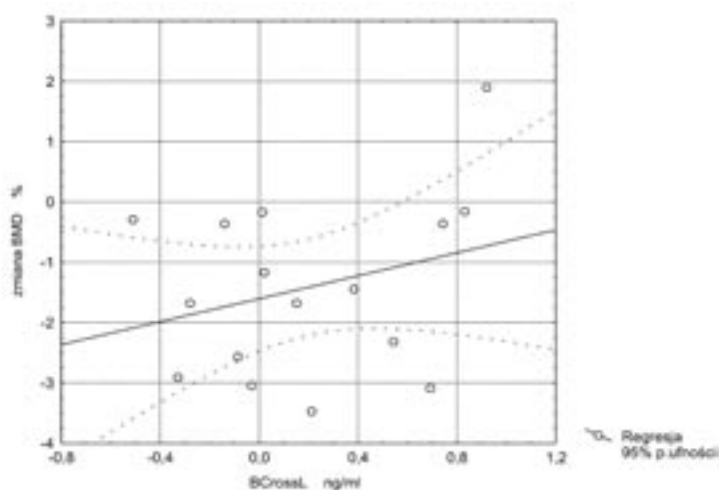
Rys.6.23. Wykres ramkowy obrazujący wartości średnie i odchylenie standardowe stężeń osteokalcyny w pierwszym (OC-1) i drugim (OC-2) badaniu. Badanie pierwsze - średnia 24,71 ng/ml, odchylenie standardowe 10,86 ng/ml. Badanie drugie - średnia 20,19 ng/ml, odchylenie standardowe 7,24 ng/ml. Różnica 4,51 ng/ml, $p < 0,005$.



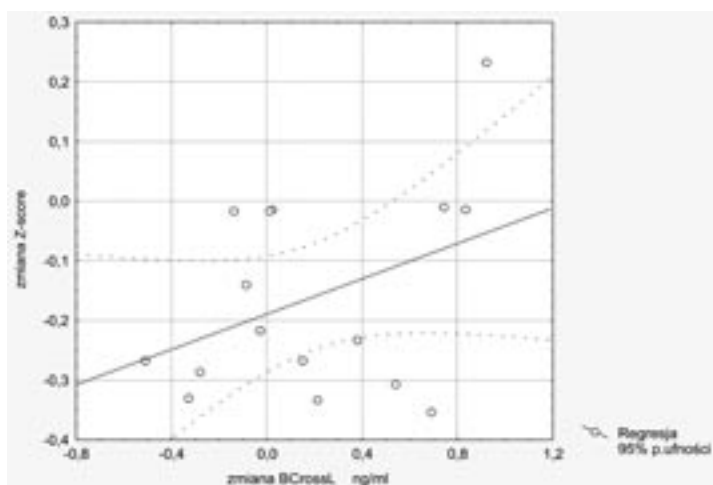
Rys. 6.24. Stężenie β CrossLaps w surowicy w pierwszym (BCL-1) i drugim (BCL-2) badaniu u pacjentów stosujących acenokumarol



Rys.6.25. Wykres ramkowy obrazujący wartości średnie i odchylenie standardowe stężeń β CrossLaps w pierwszym (BCrossL-1) i drugim (BCrossL-2) badaniu. Badanie pierwsze - średnia 0,58 ng/ml, odchylenie standardowe 0,33 ng/ml. Badanie drugie - średnia 0,87 ng/ml, odchylenie standardowe 0,59 ng/ml. Różnica 0,19 ng/ml, p NS.



Rys.6.26. Prosta regresji obrazująca zależność pomiędzy zmianą mineralizacji kości w % a zmianą stężenia β CrossLaps u pacjentów leczonych acenokumarolem. Współczynnik korelacji 0,29 (p NS).



Rys.6.27. Prosta regresji obrazująca zależność pomiędzy zmianą mineralizacji kości Z-score a zmianą stężenia β CrossLaps u pacjentów leczonych acenokumarolem. Współczynnik korelacji 0,39 (p NS).

Tab.6.18. Wyniki badań obejmujące średnie zmiany BMD oraz badanych markerów u chorych stosujących LMWH i Acenokumarol

	Δ BMD	Δ ALP	p	Δ OC	p	$\Delta\beta$ CrossLaps	p
Enoksaparyna	-1,971%	-18,8 IU/L	<0,003	-3,89 ng/ml	<0,009	0,17 ng/ml	<0,002
Acenokumarol	-1,420%	-10,1 IU/L	<0,02	-4,51 ng/ml	<0,005	0,19 ng/ml	NS
	p NS	p NS		p NS		p NS	

Tab. 6.19. Porównanie zależności pomiędzy BMD a badanymi markerami obrotu kostnego w grupach stosujących LMWH i Acenokumarol.

Enoksaparyna	r	p	Acenokumarol	r	p
BMD/ALP	-0,28	NS	BMD/ALP	0,58	<0,01
BMD/OC	0,03	NS	BMD/OC	0,29	<0,05
BMD/ β CrossLaps	0,66	<0,007	BMD/ β CrossLaps	0,28	NS
Z-score/OC	0,03	NS	Z-score/OC	0,12	NS
Z-score/ β CrossLaps	0,52	<0,05	Z-score/ β CrossLaps	0,38	NS

7. OMÓWIENIE

7.1. Wprowadzenie

Żylna choroba zakrzepowo-zatorowa pozostaje istotnym problemem epidemiologicznym. Liczbę nowych przypadków tylko zatorowości płucnej w większych krajach europejskich – Francji, Włoszech ocenia się na 40-60 tysięcy rocznie i podobnej liczby należy spodziewać się także w naszym kraju [106]. O tym jak istotnym klinicznie problemem zatorowość płucna pozostaje w Stanach Zjednoczonych Ameryki świadczy fakt, że liczba zgonów z powodu tej choroby równoważy łączną liczbę zmarłych z powodu raka sutka, wypadków komunikacyjnych oraz AIDS łącznie [105]. Skala problemów związanych z leczeniem tej choroby jest ogromna: jeśli w ciągu każdego roku 2 do 4 osób na 1000 rozpoczyna leczenie przeciwzakrzepowe [54,79,107] to wzrasta znaczenie monitorowania objawów ubocznych związanych z zastosowanym leczeniem.

Rozszerzono wskazania do stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej na chorych z zaburzeniami rytmu serca. Pacjenci z niemiernością zupełną powodowaną migotaniem przedsionków stanowią pokaźną grupę wśród leczonych w oddziałach i poradniach kardiologicznych. Leczenie i profilaktyka przeciwzakrzepowa trwają u tych chorych długo, często do końca życia.

Osteoporoza jest istotnym i stale rosnącym problemem zdrowotnym świata. Jest też objawem towarzyszącym innym chorobom i stosowaniu wielu leków. Dotyczy ona 75 milionów ludzi w USA, Europie i Japonii. Tylko w USA 250 tysięcy osób dotkniętych tą chorobą doznaje złamania szyjki kości udowej. Ryzyko wystąpienia tej patologii jest większe niż suma ryzyka wystąpienia nowotworu piersi, trzonu macicy i jajnika łącznie [104]. Koszty społeczne związane z tą chorobą będą rosły w miarę starzenia się społeczeństw.

7.2. Dobór badanej grupy

Klinika Chorób Wewnętrznych Klatki Piersiowej Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie jest od lat ośrodkiem referencyjnym leczenia żylnych chorób zakrzepowo-zatorowej. W latach 1998-2003 około 400 chorych leczonych z powodu tej choroby pozostawało pod opieką lekarzy tej kliniki oraz ambulatorium.

Dolegliwości w postaci bólów pleców pojawiające się u pacjentów zgłaszających się na badania

kontrolne w trakcie stosowania wtórnej profilaktyki przeciwzakrzepowej, a zwłaszcza potwierdzenie osteopenii w pierwszych kilku badaniach densytometrycznych u tych chorych, stały się powodem zaplanowania nierandomizowanej, prospektywnej pracy w celu wyjaśnienia czy istotne klinicznie zmiany kostne występują w przebiegu stosowanej profilaktyki wtórnej? Opracowano ankietę zawierającą bardzo wiele pytań. Wyłonienie grupy pacjentów, którzy spełnialiby główne kryteria włączenia nie było trudne z powodu dużej liczby hospitalizowanych chorych. Wielu pacjentów wykluczono jednak z powodu towarzyszących zaburzeń metabolicznych. Stąd w pierwszym etapie badania mimo to, że rocznie do kliniki trafiało około 100 pacjentów z rozpoznaniem żchzz, znalazło się tylko 31 chorych. Grupa badanych była dość różnorodna pod względem wieku, płci, masy ciała oraz stosowanych we wtórnej profilaktyce leków. Czas stosowania wtórnej profilaktyki pozostawał w ścisłej zależności od wskazań medycznych i w żadnym razie nie był uwarunkowany potrzebami badania. Traktowano ten etap pracy jako wstępny i stąd w badanej grupie znaleźli się chorzy stosujący nadroparynę, enoksaparynę i acenokumarol.

Uzyskane w tym etapie wyniki okazały się zachęcające do dalszych badań. Liczbę pacjentów zwiększono w poszczególnych grupach. Wprowadzenie nowej metody zapobiegania nawrotom zatorowości płucnej w postaci zakładania filtrów do żyły głównej dolnej stało się powodem pojawienia się wśród grupy badanych kolejnych pacjentów stosujących przedłużoną profilaktykę przeciwzakrzepową. Chorzy z przeciwwskazaniami do stosowania doustnych antykoagulantów korzystali z profilaktyki przeciwzakrzepowej przy użyciu LMWH. W grupie tej znaleźli się chorzy z filtrami, ale też pacjentka po zabiegu neurochirurgicznym w przeszłości, z anomalią naczyniową w o.u.n. Są wśród nich także ci, którzy albo nie chcieli kontrolować INR albo nie mieli takiej możliwości z powodu n.p. dużej odległości od ośrodka wykonującego takie badania.

Prowadzenie kontroli profilaktyki przeciwzakrzepowej u pacjentów mieszkających na wsi lub w małych miasteczkach najczęściej polega na oczekiwaniu na wynik badania krwi przez około 3 dni. Badania wykonywane są na ogół w placówkach powiatowych, często w szpitalach, a wyniki dostępne po kilku dniach w miejscu zamieszkania. Po tym czasie pacjent komunikuje się często nie z lekarzem podstawowej opieki zdrowotnej, ale telefonicznie z lekarzem tutejszej kliniki. Z powodu

opisanych trudności część chorych, również tych nie dysponujących możliwością dojazdu do ośrodka zdrowia, wybierała stosowanie LMWH we wtórnej profilaktyce.

II Etap badania obejmował największą grupę chorych. Wśród tej grupy znaleźli się też pacjenci z nadciśnieniem płucnym w przebiegu przewlekłej nawracającej zatorowości płucnej. Również u tych chorych stosowano przewleklą wtórną profilaktykę przeciwzatorową.

Przyjęty w pracy schemat badania stanowi, że każdy chory jest kontrolą sam dla siebie. Decyzję o takim zaplanowaniu badania tłumaczy fakt, że każdy pacjent pomimo podobnego rozpoznania stanowi niezliczony zbiór zmiennych, z których znamy tylko znikomy ułamek. Każdy choruje inaczej i sam dla siebie stanowi najlepszy punkt odniesienia. Takie postępowanie w próbie klinicznej u osób dobieranych jako grupa kontrolna choć w części eliminuje wpływ czynników, o których nie wiemy. W dostępnym piśmiennictwie liczby badanych i sposób planowania badań dotyczących omawianego zagadnienia są bardzo różnorodne. Materiał obejmujący badanych jest też bardzo różnorodny pod względem płci, wieku, stanu i chorób towarzyszących.

I tak w pionierskiej pracy Griffith'a [41] opisano 117 przypadków leczonych heparyną z powodu choroby niedokrwiennej serca, niewydolności naczyń mózgowych i żchzz bez ujawniania ilu pacjentów było leczonych z powodu choroby wymienionej jako ostatnia.

W następnych pracach materiał stanowiły kobiety w ciąży stosujące profilaktykę przeciwzatorową. Grupy pacjentów stosujących LMWH we wtórnej profilaktyce na ogół obejmowały kilkudziesięciu chorych. Grupę kontrolną stanowili pacjenci tej samej płci i w porównywalnym wieku. Ginsberg [37] badał 61 kobiet (śr. wiek 30,2lat), które stosowały heparynę standardową przez 1-3 miesiące. W opisie materiału nie podano jednak z powodu jakich chorób stosowano heparynę oraz czy było to leczenie, czy profilaktyka.

Dostępne w piśmiennictwie doniesienia na temat populacji badanej w czasie stosowania antagonistów Vit. K zawierają opisy większych grup badanych. Czas stosowania leków we wtórnej profilaktyce też jest dłuższy niż przy stosowaniu LMWH. Grupa pacjentów badana przez Haarlema [108] obejmuje 74 osoby a czas stosowania warfaryny wynosi ponad 3 lata, a już Sophie A. Jamal opisuje wyniki uzyskane z obserwacji 149 kobiet w podeszłym wieku wybranych spośród 6201. Osoby nie przyjmujące warfaryny stanowiły dla pozostałych ogromną grupę kontrolną [47].

W drugim etapie pracy zwiększono liczbę pacjentów do 86 co łącznie z badanymi w etapie trzecim stanowi 117 chorych z żylną chorobą zakrzepowo – zatorową.

7.3. Omówienie metod

W ciągu kilkudziesięciu lat, które upłynęły od czasu pierwszych badań stosowane metody diagnostyczne również uległy zmianie. W pierwszej przytoczonej pracy [41] podstawę rozpoznania osteoporozy stanowiło badanie RTG kośćca. Obecnie wiadomo, że wartość diagnostyczna tego badania jest ograniczona głównie z tego powodu, że zmiany mineralizacji kości można dostrzec na zdjęciu RTG dopiero wtedy gdy osiągną one ponad 40% ubytku masy kostnej [10,87]. Griffith mógł rozpoznać złamania osteoporotyczne lecz z powodów zasadniczych nie mógł oceniać mniej zaawansowanych zmian.

W następnych badaniach posługiwano się technikami wykorzystującymi promienie rentgenowskie przy użyciu filtrów powodujących powstawanie jednej lub dwóch wiązek fotonów. Rosen [16] badając 50 pacjentów (spośród których tylko 1 przypadek dotyczył nawracającej zakrzepicy żył głębokich) posłużył się metodą jakościowej radiografii cyfrowej nie odbiegającej od metody zastosowanej w omawianej pracy poza tym, że zamiast specjalnego filtra używa się dwóch plików fotoelektrycznych. Aktualnie dwuwiazkowa absorpcjometria fotonowa (DPX) uznawana jest za „złoty standard” w badaniach gęstości kośćca [10,52]. Pojedyncze doniesienia dotyczą zastosowań ilościowej tomografii komputerowej (QCT) [85].

Rozwój badań przy użyciu metod radioimmunologicznych spowodował pojawienie się prac opartych na oznaczaniu metodą RIA wielu markerów budowy, przebudowy i niszczenia kości.

Oznaczanie osteokalcyny w jej różnych postaciach służyło badaniu stężeń tego białka w surowicy pacjentów stosujących profilaktykę przeciwzatorową. Osteokalcyna stanowi siódme z kolei pod względem wagowym białko ustroju. W omawianej pracy zastosowano oznaczenie 43-aminokwasowego fragmentu osteokalcyny (N-MID-Osteocalcin). Cała 46-aminokwasowa cząsteczka osteokalcyny jest niestabilna: po odłączeniu 3-aminokwasowej cząstki pozostały N-MID-fragment jest dużo bardziej stabilny. W dostępnych danych przeważają doniesienia dotyczące dynamiki stężeń osteokalcyny oraz jej nie-karboksyloowanej postaci w surowicy osób stosujących leki będące antagonistami Vit.K.

Ponieważ obecność Vit.K jest niezbędna w procesie powstawania reszt gammakarboksyglutaminowych potwierdzono wzrost stężenia nie-karboksylowanej osteokalcyny w przypadku niedoboru Vit.K [6,12,13,56,57].

Znacznie mniej danych jest na temat zachowania się stężeń osteokalcyny u pacjentów leczonych heparyną [14]. Wiadomo, że heparyna wraz z licznymi czynnikami wzrostu i cytokinami stanowi połączenie, które hamuje czynność osteoblastów [11,82,100]. Więcej danych na ten temat przyniosły prace oparte na histomorfometrii kości oraz na hodowli ludzkich osteoblastów w środowisku zawierającym heparynę i heparyny drobnocząsteczkowe [58]. Heparyna poprzez łączenie się z czynnikami wzrostu [58,66], interleukiną [102] czy z białkiem pobudzającym i aktywującym transkrypcję (signal transducer and activator of transcription STAT-3) [111] działa na linie komórkowe, z których wywodzą się zarówno prekursorzy osteoblastów, dojrzałe osteoblasty oraz osteoklasty. Można przyjąć, że w ten sposób hamując czynność i proliferację osteoblastów powoduje obniżenie stężenia osteokalcyny [14] lub/i powoduje wzrost produktów rozpadu usieciowanego kolagenu w wyniku pobudzenia osteoklastów [80,111].

W pracy posłużono się również oznaczeniem stężenia β CrossLaps metodą immunoradiometryczną używając przeciwciał monoklonalnych specyficznych dla liniowych oktapeptydów β 8AA. Użycie tych przeciwciał gwarantowało rozpoznanie i pomiar wszystkich fragmentów kolagenu typu I, które zawierają w/w oktapeptyd.

Oznaczano również aktywność całkowitej fosfatazy zasadowej w surowicy. Obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej pod wpływem stosowania heparyny jest wynikiem hamowania czynności osteoblastów. Opublikowane wcześniej prace dotyczyły jednak porównania wpływu heparyny standardowej i heparyn drobnocząsteczkowych na obraz histomorfometryczny kości szczurów i na zachowanie się markerów kostnych [69,71,72,78,88,97,98].

7.4. Omówienie wyników

Riggs w swojej pracy na temat osteoporozy [87] przytacza dane, z których wynika, że masa kostna osiąga masę szczytową około 30 roku życia. Po okresie „stabilizacji” około 40 roku życia zaczynamy tracić masę kostną. Co rok ubywa około 0,3 do 0,5 % kości zbitej oraz 0,6 –2,4 % kości gąbczastej. Zdania na temat procentowego ubytku kości gąbczastej są podzielone, według innego autora

ubytek ten wynosi 1-2% [104]. W okresie menopauzy dochodzi do przyspieszenia ubytku do 2-3% rocznie, aby po 6-8 latach powrócić do wartości 1% rocznie.

Wyniki uzyskane w Etapie I pracy wydawały się potwierdzać hipotetyczny wpływ stosowania heparyn drobnocząsteczkowych i acenokumarolu na strukturę kości. O ile kilkunastoosobowa grupa badanych (Grupa A) nie stanowiła znaczącej części populacji chorych stosujących profilaktykę, to dawka sumaryczna leku oraz długi czas podawania powinny mieć wpływ na zmiany gęstości mineralnej kości.

Określenie średnich zmian odchylenia standardowego Z-score i badanie jego współzależności z dawką oraz z czasem stosowania potwierdziło występowanie korelacji choć wartość współczynnika nie wskazywała na silny związek. W grupie B wykonane badanie densytometryczne posłużyło tylko ocenie retrospektywnej. Nie dysponowano badaniem wyjściowym dlatego korelacji poddano dane dotyczące dawki oraz czasu stosowania leku do chwili badania. Uzyskane współczynniki korelacji potwierdziły występowanie współzależności ($r=-0,65$ oraz $r=-0,67$). Połączenie obu grup poza zwiększeniem liczby badanych pozwoliło na uwzględnienie chorych ze znacznie wyraźniejszą rozpiętością czasu trwania profilaktyki. Przyjęto założenie, że wyjściowa wartość Z-score była prawidłowa. Uzyskana wartość współczynnika korelacji ($r=-0,53$) wskazuje na zależność pomiędzy czasem stosowania LMWH a ubytkiem BMD wyrażonym w Z-score. Nieco słabsza zależność wystąpiła pomiędzy całkowitą dawką heparyny a ubytkiem gęstości kości wyrażonym w Z-score.

Równoległe z pacjentami stosującymi heparyny drobnocząsteczkowe włączono do badania chorych stosujących acenokumarol. Wobec występowania znanego powszechnie objawu ubocznego długotrwałego stosowania antagonistów Vit.K jakim jest wypadanie włosów podejrzewano możliwość istnienia wspólnego mechanizmu prowadzącego do „obniżenia metabolizmu” w skórze i w tkance kostnej. Jedną z pierwszych prac dotyczących tego zagadnienia była praca dotycząca hamowania kompetycyjnego aktywności T45' dejodynazy przez pochodne kumaryny [40]. W badanej w początkowym, wstępnym etapie grupie chorych stosujących acenokumarol nie potwierdzono istotnych odchyżeń w mineralizacji kości. Zdecydowano o zwiększeniu liczby pacjentów i wydłużeniu czasu obserwacji. Opublikowane niedawno wyniki badań nad wpływem obniżonego stężenia selenu na hamowanie czynności osteoblastów wydają się pozostawać

w związku z poprzednio cytowaną pracą o podobnym wpływie pochodnych kumaryny. Selen znajduje się w centrum aktywnym dejodynaz odpowiedzialnych za konwersję T4 do T3 [70].

Wyniki uzyskane w II etapie pracy oparte na obserwacji 86 pacjentów pozwoliły na podsumowanie obu etapów. Dysponowano badaniami gęstości kości po 3-6-12 i 24 miesiącach stosowania heparyn drobnocząsteczkowych lub acenokumarolu. Ze względu na obiektywne kłopoty z wykonywaniem badań densytometrycznych w trzech obszarach przyjęto u wszystkich ocenę dwóch obszarów: kręgow łędźwiowych i szyjki kości udowej. W celu uzyskania możliwości porównania zmian zachodzących pod wpływem stosowanych leków z upływem czasu oraz aby porównać uzyskane wyniki z dostępnymi w piśmiennictwie posłużono się obliczeniem średnich dla oceny bezwzględnego ubytku w g/cm^2 dla BMD przedstawiając różnicę między badaniami w %. Obliczono też średnie zmiany Z-score dla każdego z badanych obszarów oddzielnie.

Uzyskane i opracowane po II etapie pracy wyniki nie odbiegają od danych dostępnych w piśmiennictwie. Poza pracą Griffith'a, w której opisał on występowanie złamań osteoporotycznych [41] oraz pracą Millera [65] większość badaczy poddawała ocenie stan kośćca przy użyciu badań densytometrycznych [17,59,73]. Niestety badania te dotyczyły w większości szczególnego stanu fizjologii: kobiet ciężarnych i karmiących. Potwierdzono wyraźne zmiany BMD w czasie stosowania heparyny standardowej i mniej wyrażone podczas stosowania LMWH [28]. Dużą liczbę doniesień dotyczących stosowania heparyny u ciężarnych należy tłumaczyć przede wszystkim przeciwwskazaniem do stosowania antagonistów Vit.K a także tym, że ciąża sama jest czynnikiem ryzyka zakrzepicy żyłnej. Dahlman [21] wśród grupy 184 kobiet ciężarnych otrzymujących heparynę standardową opisał występowanie złamań osteoporotycznych u 2,2% (3 z 48 kobiet) stosujących wysokie dawki heparyny (średnio 26500 UI/dobę) oraz u jednej spośród 136 stosujących niższe dawki (średnio 16500 UI/dobę). Ten sam autor potwierdził w retrospektywnej pracy dotyczącej 70 kobiet, że osteopenię (niestety tylko za pomocą RTG) stwierdzano u 17% kobiet w tydzień po porodzie. Zmiany te ustępowały po 6-12 miesiącach [20]. W innym badaniu opisano występowanie 5% ubytku gęstości mineralnej kości pomiędzy 12-tym tygodniem ciąży a pierwszym tygodniem po porodzie. Badania wykonywano już przy użyciu jednowiązkowej absorpcjometrii [22]. Niewyjaśniona pozostaje kwestia: czy i w jakim stopniu za zmiany gęstości kości w ciąży odpowiada sam stan

fizjologiczny czy heparyna. Najprawdopodobniej oba czynniki biorą udział w powstawaniu omawianej patologii. Próbowano oceniać zmiany gęstości kości w ciąży, ale w trakcie stosowania suplementacji wapnia (1,3 g/dobę) i witaminy D (400 UI/dobę). U pięciu spośród czternastu kobiet (36%) obniżenie gęstości mineralnej kości udowej wynosiło 10%. Zmiany te utrzymywały się jeszcze przez 6 miesięcy po porodzie, w trakcie laktacji [8,84].

Heparyny drobnocząsteczkowe wyparły stosowanie heparyny standardowej w profilaktyce przeciwzakrzepowej. Dzięki lepszej biodostępności i dłuższemu okresowi półtrwania można je stosować jeden raz na dobę.

Kolejne prace dotyczyły wpływu LMWH na obrót kostny. Potwierdzono fakt, że LMWH poprzez pozbycie się grupy siarkowej i zmniejszenie aktywnych cząstek w porównaniu z heparyną standardową znacznie mniej hamują produkcję kolagenu i posiadają mniejsze powinowactwo do jonów wapnia [45,98] a także słabiej pobudzają czynność osteoklastów [32].

W oparciu o analizę histomorfometryczną udowodniono w modelu zwierzęcym, że heparyna standardowa powoduje utratę 30% kości korowej w ciągu 28 dni poprzez zwiększenie strefy działania osteoklastów i zmniejszenie strefy osteoblastów oraz osteocytów [72]. Znacznie mniejsze zmiany powodowało użycie w podobnym modelu LMWH [71,72]. Fakty te tłumaczą uzyskane w kolejnych pracach wyniki potwierdzające mniejszy wpływ LMWH niż standardowej heparyny na metabolizm kostny [93].

Dla realizacji założeń niniejszej pracy bardziej istotne były doniesienia Monreala [67,69]. U 80-ciu pacjentów (40-tu leczonych UFH oraz 40-tu otrzymujących dalteparynę) z zakrzepicą żylną stosowano w czasie 3-6 miesięcy 5000 UI dalteparyny lub 10000 UI heparyny standardowej dwa razy dziennie. Sześciu pacjentów stosujących UFH doznało złamań kręgow wobec jednego z grupy stosujących LMWH. Wśród grupy chorych obserwowanych w naszym ośrodku i włączonych do materiału omawianej pracy nie obserwowano złamań. Rozpatrywane w tej pracy zmiany gęstości mineralnej kości w badanych obszarach nie są na ogół duże. Nie pozwalają u większości badanych na rozpoznanie osteoporozy według obowiązującej, podanej przez WHO, definicji. Istotną wskazówką nawet wobec łagodnych zmian jest wyraźny ich postęp związany zwłaszcza z wydłużonym czasem stosowania wtórnej profilaktyki przeciwzakrzepowej. Dynamikę zmian potwierdza osiągnięta znamienność statystyczna.

Oceny wpływu antagonistów Vit.K na gęstość kości podjął się Caraballo poddając łącznej analizie 9 dużych prac opublikowanych w latach 1982-1997. Wśród analizowanych większość przypadków stanowili pacjenci z chorobami serca, tylko Resch wśród 78 pacjentów umieścił 31 z zatorowością płucną i 16 z zakrzepicą żył głębokich porównując ich z grupą zdrowych osób [15]. Wyniki łącznej analizy wszystkich 9 prac wskazywały na występowanie łagodnych zmian. Ryzyko złamań było największe w obrębie dystalnej części kości promieniowej. Ten sam autor poddał ocenie historii chorób 1244 kobiet, które przeżyły choć jeden epizod zakrzepicy żylny lub/i zatorowości płucnej. Spośród nich 545 kobiet otrzymywało leki z grupy antagonistów Vit.K w czasie od 16-36,8 miesięcy. Autor udowadnia, że liczba przeżytych złamań rosła wraz z wydłużaniem się czasu stosowania leku od 2,4% (poniżej 3 mies.) poprzez 3,6% (poniżej 12 mies.) do 5,3% w przypadku stosowania leku dłużej niż jeden rok [16]. Jeszcze większą grupę (6201 kobiet) badała S.Jamal, która porównała stan kości oceniając BMD u 149 chorych stosujących warfarynę z pozostałymi pacjentkami w wieku powyżej 65 lat i nie stwierdziła istotnych różnic gęstości kości [47]. Zupełnie odmienne wyniki uzyskał Sato obserwując 64 pacjentów po przebytych udarze niedokrwiennym mózgu w przebiegu zaburzeń rytmu serca (w czasie od 1 mies do 5,1 roku po udarze). Potwierdził on w tej pracy wyraźny ubytek BMD korelujący z obniżonym stężeniem osteokalcyny [94].

Wyniki kolejnej opublikowanej przez Philip'a pracy wydają się pozostawać w zgodzie z uzyskanymi przez autorkę, chociaż ubytek %BMD u 40-tu badanych mężczyzn stosujących warfarynę był większy w porównaniu do grupy kontrolnej zdrowych i w obrębie L2 -L4 po upływie 72 miesięcy stosowania leku wzrósł do 10,4% [85].

W trzecim etapie pracy podjęto próbę określenia dynamiki zmian niektórych markerów obrotu kostnego. Wzmożony obrót kostny, który występuje w czasie osteoporozy inwolucyjnej typu I powoduje wzrost stężeń markerów obrotu kostnego w surowicy. Powszechnie uważa się zatem, że określenie np. „osteoporoza po heparynie” powinno kojarzyć się z podobną dynamiką zmian markerów.

Uzyskane w pracy wyniki wskazują na wyraźne obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej jak i stężenia osteokalcyny w surowicy chorych stosujących profilaktykę przeciwzakrzepową przy użyciu LMWH jak i acenokumarolu.

Z tych właśnie wyników uzyskanych w pracy można wyciągnąć kolejny bardzo istotny wniosek,

że to nie różnice gęstości mineralnej kości powstające z upływem czasu różnią osteoporozę inwolucyjną od osteoporozy po heparynie. Podstawowa różnica tkwi w mechanizmie przebudowy kości. Po długotrwałym stosowaniu LMWH dochodzi w wyniku zahamowania czynności osteoblastów najpierw do obniżenia aktywności fosfatazy zasadowej oraz obniżenia stężenia osteokalcyny a nie wzrostu tych markerów jak w przypadku osteoporozy inwolucyjnej. Demineralizacja kości będzie następnym etapem zmian. Opublikowane wcześniej przez innych autorów [9,14,71,72,97] prace dotyczyły, podobnie jak i te, w których oznaczano stężenie β CrossLaps w surowicy [80], wyłącznie wpływu LMWH na przebudowę kości. W tej pracy po raz pierwszy porównano wpływ LMWH i acenokumarolu na obrót kostny.

Więcej dostępnych w pracach innych autorów danych przemawia za aktywnym udziałem antagonistów Vit. K w procesie kościotworzenia. Hamowanie karboksylacji osteokalcyny powoduje nie tylko zwiększanie jej nie-karboksylowanej frakcji, ale i obniżanie całkowitego stężenia tego białka [6,42,57,103,108]. Im młodsza osoba była leczona warfaryną tym szybciej dochodziło do obniżenia stężenia osteokalcyny [56]. Średnia wieku chorych badanych w III etapie niniejszej pracy była najniższa spośród pozostałych pacjentów i ten fakt prawdopodobnie wpłynął na wyraźne obniżenie stężenia osteokalcyny u stosujących acenokumarol.

Obniżenie stężenia osteokalcyny może być wywołane również innymi czynnikami. Należą do nich: kortykosterydy stosowane zarówno w dużych dawkach [4] jak i przewlekłe podawane pacjentom z COPD [26] oraz stress powodowany rozległą operacją [77]. Leptyna z kolei wydaje się pełnić rolę ochronną przed obniżaniem się stężenia osteokalcyny na przykład w okresie niedożywienia [39].

Uzyskane wyniki podwyższonego stężenia usieciowanych końcowych fragmentów kolagenu w surowicy u pacjentów stosujących acenokumarol przemawiają, podobnie jak w przypadku stosowania LMWH, za większym kościogubieniem niż odbudową kości. Wyniki przeprowadzonej analizy statystycznej wskazują na występowanie istotnej statystycznie korelacji pomiędzy wzrostem stężenia β CrossLaps a zmniejszeniem gęstości kości i to zarówno u chorych stosujących LMWH jak i – mniej wyraźnej – u osób przyjmujących acenokumarol. Nie potwierdzono występowania takiego związku dla innych porównywanych zmiennych.

Podsumowując zachowanie stężeń markerów obrotu kostnego i porównując je w obu grupach oddzielnie dla pacjentów stosujących LMWH i ace-

nokumarol należy zauważyć, że różnica aktywności fosfatazy zasadowej pomiędzy grupą stosujących LMWH a grupą pacjentów przyjmujących acenokumarol może przemawiać za tym, że proces kościotworzenia jest bardziej hamowany przez LMWH niż przez acenokumarol.

Zarówno w poprzednich etapach badania jak i w ostatnim potwierdzono mniejszy ubytek gęstości kości właśnie w grupie przyjmującej ten lek. Z kolei osteokalcyny ubyło więcej u przyjmujących doustny antykoagulant niż u chorych stosujących LMWH. Zmiany stężeń osteokalcyny nie korelują jednak ze zmianami BMD w żadnej z grup.

Najbardziej wiarygodnym wydaje się wzrost stężenia β CrossLaps w obu porównywanych grupach. Współczynniki korelacji wskazują na zależność zmian β CrossLaps ze zmianami BMD ($r=0.66$) oraz z Z-score ($r=0.52$).

Wyniki badań wskazują, że u pacjentów stosujących LMWH szybko dochodzi do obniżenia aktywności fosfatazy zasadowej z szybszym i bardziej wyraźnym obniżeniem stężenia osteokalcyny niż w grupie stosujących acenokumarol. Możliwe, że ma to wpływ na wyraźniejszą demineralizację kości niż w grupie pacjentów leczonych pochodną warfaryny.

Przedstawione wyniki wydają się wskazywać na nieco inny mechanizm powstawania zaburzeń przebudowy kości powodowany przez LMWH i acenokumarol. W pierwszym przypadku, pod wpływem LMWH dochodzi szybciej i głębiej do zaburzeń czynności osteoblastów, z minimalnie mniejszym, dobrze korelującym ze zmianą BMD rozpadem włókien kolagenu. W grupie stosujących acenokumarol proces ten wydaje się przebiegać wolniej i bardziej systematycznie z nieznacznie większym rozpadem kolagenu.

Doniesienia krajowe nie zawierają informacji dotyczących bezpośrednio tych zagadnień. Nieznane są autorowi prace innych badaczy opublikowane w kraju dotyczące demineralizacji kości powodowanej leczeniem czy profilaktyką przeciwzakrzepową.

W doniesieniach znajdują się jedynie dane na temat zachowania się markerów obrotu kostnego u dzieci, młodzieży a także u pacjentów po przeszczepach nerek niemniej jednak prace te nie dotyczą głównego nurtu badań prezentowanych w pracy [38,86]. Natomiast doniesienia światowe zawierają dość dużo danych na ten temat.

W opublikowanych badaniach własnych problematyka ta została rozwinięta na podstawie obserwacji chorych z naszego ośrodka [113-115]. Doniosłość problemu i uzyskane do chwili obecnej wyniki skłaniają do kontynuacji badań.

7.5. Podsumowanie

Przedstawione i omówione wyniki pracy wskazują na obecność wyraźnych zmian mineralizacji kości oraz obniżenie stężeń markerów formowania kości ze wzrostem stężenia usieciowanych fragmentów kolagenu u pacjentów stosujących wtórną profilaktykę przeciwzakrzepową. Zmiany te świadczą o zaburzeniu przebudowy kości. Mimo, że nie są one dramatyczne ani bardzo duże to nasilenie ich wydaje się wyraźnie zależeć od czasu stosowania wtórnej profilaktyki.

Na podstawie uzyskanych wyników można przyjąć, że patomechanizm zmian powodowanych przez leki z obu porównywanych grup jest prawdopodobnie inny.

Potwierdzono wysoce znamiennej statystycznie różnicę pomiędzy średnimi ubytkami gęstości mineralnej kości w obu grupach. Wpływ antagonisty Vit. K – acenokumarolu – okazał się słabszy. Omawiane zmiany wyraźnie wysoko korelują tylko ze zmianami aktywności fosfatazy zasadowej oraz stężeń β CrossLaps. U pacjentów stosujących LMWH prawdopodobnie dochodzi wcześniej do głębszych zaburzeń czynności samych osteoblastów niż w grupie stosujących acenokumarol. Na podstawie uzyskanych wyników analizy statystycznej, zwłaszcza wśród markerów obrotu kostnego można przyjąć, że w obu badanych grupach mamy do czynienia z obniżeniem się zarówno aktywności fosfatazy zasadowej jak i stężenia osteokalcyny w trakcie profilaktyki z równoczesnym wzrostem stężeń C-końcowych usieciowanych fragmentów kolagenu (β CrossLaps) oznaczanych w surowicy. Potwierdzono znamienność statystyczną różnic stężeń markerów uzyskanych pomiędzy pierwszym a drugim badaniem, ale nie pomiędzy grupami.

Zarówno liczba chorych z rozpoznąaną żylną chorobą zakrzepowo – zatorową jak i liczba czynników ryzyka tej choroby rosną. Wzrasta również średni wiek populacji. Rozwijają się zarówno kardiologia interwencyjna jak i transplantologia. Dzięki znacznemu postępowi wiedzy nasi pacjenci żyją dłużej.

Od wielu lat badanie densytometryczne oraz oznaczanie stężenia osteokalcyny należą do „żelaznej listy” badań, które trzeba bezwzględnie wykonać przed zgłoszeniem kandydata do transplantacji płuc. Znaczna część tych chorych ma osteoporozę w wyniku przewlekłej choroby płuc jeszcze przed transplantacją [5,96]. Przybywa chorych ze wskazaniami do dłuższego stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej. Często nie wystarcza zapobieganie zakrzepicy czy osteoporozie tylko za pomocą ćwiczeń fizycznych czy aktywnego trybu

zycia. Zarówno heparyny drobnocząsteczkowe jak i antagoniści Vit. K są bardzo powszechnie stosowanymi lekami. Pojawiają się prace wskazujące na konieczność kontroli densytometrycznej i równoległe stosowanie profilaktyki u ciężarnych łącznie ze stosowaniem LMWH [36,84,91,92,95].

Pacjenci z chorobami nowotworowymi stanowią kolejną grupę leczonych z ustalonymi wskazaniami do przewlekłego stosowania LMWH [35]. Jest to u tych ciężko chorych pacjentów następny czynnik ryzyka pogłębienia zmian przebudowy kości.

Wprowadzane do praktyki klinicznej leki przeciwzakrzepowe nowej generacji: pentasacharydy oraz inhibitory trombiny będą kolejnym wyzwaniem dla klinicystów ze względu na duże prawdopodobieństwo występowania zaburzeń przebudowy kości jako ubocznego objawu ich stosowania.

Dostępne metody w postaci badań densytometrycznych kości, a także oznaczanie wskaźników przebudowy kości, będą służyły ocenie nasilenia zmian kostnych. Powinny one stanowić pomost pomiędzy rozpoznaniem zagrożeń wynikających ze stosowania potrzebnych leków z wyboru jakimi są heparyny drobnocząsteczkowe lub antagoniści Vit. K, a kolejną profilaktyką możliwych zaburzeń jakimi są zaburzenia przebudowy kości.

8. WNIOSKI

Na podstawie wyników uzyskanych w pracy sformułowano następujące wnioski:

1. Profilaktyka przeciwzakrzepowa przy zastosowaniu heparyn drobnocząsteczkowych lub antagonistów Vit. K w żylnej chorobie zakrzepowo-zatorowej powoduje zaburzenia mineralizacji kości.

2. Heparyny drobnocząsteczkowe powodują łagodne, ale wyraźne zaburzenia mineralizacji; zmiany o mniejszym nasileniu powoduje także stosowanie antagonistów Vit.K. Ubytek masy kostnej wydaje się być związany z czasem stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej.

3. W czasie stosowania heparyn drobnocząsteczkowych i acenokumarolu występują wyraźne zmiany stężeń markerów obrotu kostnego: osteokalcyny, β CrossLaps oraz obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej wskazujące na zaburzenia przebudowy kości.

4. Wskazane jest wykonywanie badania densytometrycznego kości bezpośrednio po zakończeniu ostrego okresu choroby zwłaszcza przy współistnieniu innych czynników ryzyka żylnej choroby zakrzepowo – zatorowej i/lub osteoporozy oraz powtarzanie tego badania co 6-12 miesięcy

5. Profilaktykę osteoporozy należy rozważyć w przypadku potwierdzenia zaburzeń mineralizacji kości w badaniu wstępnym, zwłaszcza przy przewidywanym wydłużeniu czasu stosowania wtórnej profilaktyki i współistnieniu innych czynników ryzyka osteoporozy, albo po kolejnym badaniu densytometrycznym obrazującym zmiany mineralizacji kości.

9. STRESZCZENIE

Rozszerzenie wskazań do stosowania profilaktyki, przedłużenie czasu jej stosowania a także wzrost liczby leczonych przeciwzakrzepowo skłania do zainteresowania ubocznymi skutkami tej terapii. Heparyny drobnocząsteczkowe a także antagoniści Vit. K – pochodne kumaryny – są najszerszej dostępnymi i stosowanymi lekami w profilaktyce przeciwzakrzepowej.

Wśród chorych hospitalizowanych w oddziałach wewnętrznych zatorowość płucna występuje w 0, - 2,5% przypadków. Liczba osób kwalifikowanych do leczenia przeciwzakrzepowego co rok wzrasta o 40–60 tys. rocznie w krajach o populacji podobnej do polskiej.

Znaczenie osteoporozy rośnie również w związku z narastaniem czynników ryzyka tej patologii. Są nimi: unieruchomienie, ogólnoustrojowe choroby metaboliczne, palenie papierosów, alkohol, stosowanie licznych leków oraz niedobory dietetyczne. Ponieważ żchzz i osteoporoza mają wspólne czynniki ryzyka wdrożenie leczenia a następnie profilaktyki żchzz przy użyciu LMWH lub antagonistów Vit.K może stanowić kolejny istotny czynnik ryzyka osteoporozy z jej poważnymi następstwami.

Istotnym zadaniem wobec niemożności uniknięcia skumulowanego ryzyka mogłoby stać się wprowadzenie pierwotnej lub wtórnej profilaktyki przeciw osteoporozie.

Przegląd piśmiennictwa przynosi dane w postaci wielu prac opublikowanych w ciągu ostatnich 40 lat. Dotyczą one, w miarę rozwoju metod diagnostycznych, badań klinicznych potwierdzających w mniejszym lub większym stopniu zaburzenia mineralizacji kości w przebiegu leczenia przy użyciu heparyny standardowej, następnie LMWH i – w ciągu ostatnich lat – również antagonistów Vit.K.

Wnioski wynikające z tych prac nie odbiegają od opublikowanych wcześniej przez autorkę. Konieczność leczenia i stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej są niepodważalnymi faktami. Duża liczba chorych hospitalizowanych w ośrodku referencyjnym jakim jest Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc skłania do podjęcia badań nad tym problemem.

Cele pracy obejmowały:

1. Ocenę wpływu profilaktyki przeciwzakrzepowej przy zastosowaniu heparyn drobnocząsteczkowych i acenokumarolu na mineralizację kości.

2. Porównanie wpływu heparyn drobnocząsteczkowych i acenokumarolu na dynamikę wybranych markerów obrotu kostnego.

3. Ocenę przydatności badania densytometrycznego kości u pacjentów stosujących wtórną profilaktykę przeciwzakrzepową.

Materiał obejmował 117 chorych leczonych szpitalnie i ambulatoryjnie z powodu żchzz w latach 1999-2003. Wśród kobiet było 55 kobiet i 62 mężczyzn w wieku od 20-75 lat. Opracowano kryteria włączenia i wyłączenia obejmujące najistotniejsze elementy z wywiadu chorych. Najistotniejsze z nich to: wiek 20-75 lat, rozpoznanie żchzz według szeroko akceptowanych kryteriów, ustalone wskazania do wtórnej profilaktyki przez co najmniej 6 miesięcy.

W celu dokładnej oceny kryteriów posłużono się ankietą zawierającą 40 pytań. Opracowaną wcześniej ankietę otrzymywali pacjenci przebywający w klinice przed pierwszym badaniem densytometrycznym. Tylko odpowiedzi twierdzące na któreś z wybranych 16-tu pytań były powodem wykluczenia chorych. Pytania te dotyczyły głównie chorób metabolicznych i stosowanych leków. Odpowiedzi na pozostałe pytania zawierały dodatkowe informacje.

Wskazania do przedłużonej ponad 6 miesięcy profilaktyki p/zakrzepowej oparto na zaleceniach Sixth ACCP Consensus Conference on Antithrombotic Therapy.

Badanie wykonywano w trzech etapach. W etapie I badaniem objęto 31 chorych (17 mężczyzn i 14 kobiet) podzielonych na grupy w związku ze stosowanym lekiem oraz z ilością zaplanowanych badań densytometrycznych. Wśród chorych 24 stosowało enoksaparynę, 7 osób przyjmowało acenokumarol. Czas obserwacji wynosił od 3 do 12 miesięcy u pacjentów stosujących LMWH oraz od 1-48 miesięcy w grupie stosującej acenokumarol.

W drugim etapie pracy zwiększono liczbę pacjentów i wydłużono czas obserwacji. Byli to pacjenci również leczeni w klinice a następnie zgłaszający się w ambulatorium w latach 1999-2001. W tym etapie badano 86 chorych (45 kobiet, 41 mężczyzn, śr. wiek 48.1lat). U wszystkich tych chorych badanie densytometryczne wykonywano dwukrotnie.

W etapie III zakwalifikowano do badania 31 chorych (10 kobiet i 21 mężczyzn, śr. wiek 41 lat). Pacjenci leczeni w klinice z powodu żchzz ogólnie uznanymi metodami odpowiadali na pytania ankiety i po wyrażeniu świadomej zgody na uczestnictwo w badaniu mieli pobieraną krew na oznaczenia wapnia, fosfatazy zasadowej oraz markerów obrotu kostnego. W tym samym dniu (w 8-10 dniu leczenia) mieli wykonywane pierwsze badanie densy-

tometryczne. Po opuszczeniu kliniki zgłaszali się do kontroli w ambulatorium. Po 6-12 lub 24 miesiącach mieli powtarzane procedury pobrania krwi i wykonywane drugie badanie densytometryczne kości. Oznaczanie markerów obrotu kostnego wykonywano tylko w III etapie pracy. Pomiaru gęstości mineralnej kości dokonywano przy użyciu aparatu LUNAR DPX-L (Lunar Madison WI). Oznaczenia wykonywane w surowicy to: stężenie wapnia (jako badanie orientacyjne), oznaczanie aktywności fosfatazy zasadowej oraz badanie stężenia osteokalcyny i usieciowanych fragmentów kolagenu typu I - β CrossLaps.

W etapie I dokonano oceny zmian gęstości kości u pacjentów stosujących enoksaparynę. Średni ubytek wyrażony w % pomiędzy dwoma badaniami wynosił dla kości udowej 3,49%, kości promieniowej 2,79% a dla kręgów lędźwiowych 2,88%. Średni ubytek dla trzech miejsc badanych to 3,05%. Porównano też średnie zmiany Z-score dla tych obszarów potwierdzając znamienne obniżenie jego wartości.

Określono również korelację pomiędzy zmianami gęstości kości a całkowitą dawką przyjętego leku oraz czasem stosowania. Wyraźnie mniejszy ubytek masy kostnej wystąpił u pacjentów stosujących acenokumarol.

W drugim etapie pracy we wszystkich podgrupach obejmujących łącznie 86 osób potwierdzono obniżenie masy kostnej. Do najmniejszych zmian doszło u chorych stosujących nadroparynę przez 3 miesiące. Istotne nasilenie demineralizacji miało miejsce u pacjentów stosujących enoksaparynę. Po upływie dwóch lat obserwowano największe ubytki masy kostnej (o 4,8%) w szyjce kości udowej i w trzonach kręgów lędźwiowych L2-L4 (o 3,81%).

Poddano ocenie wpływ acenokumarolu badając chorych najpierw po 3 miesiącach. Ubytek był minimalny i wynosił 0,7%. U 24 pacjentów stosujących pochodne kumaryny dokonano oceny badań densytometrycznych po 12 miesiącach i potwierdzono istotne różnice (kość udowa o 1,8% i kręgi lędźwiowe o 1,72%). Po 24 miesiącach obniżenie BMD wynosiło 2,55% dla kości udowej i 2,32% w kręgach lędźwiowych.

Zmiany mineralizacji kości zarówno podczas stosowania LMWH jak i acenokumarolu wyraźnie postępowały w miarę wydłużania czasu stosowania profilaktyki.

W trzecim etapie pracy podjęto próbę oceny dynamiki zmian BMD oraz sprawdzenia czy towarzyszą im dynamiczne zmiany aktywności fosfatazy zasadowej, stężeń osteokalcyny oraz β CrossLaps w surowicy. Poddano badaniom 15 chorych stosują-

cych enoksaparynę i 16 chorych leczonych acenokumarolem. Obliczono różnice w gęstości kości pomiędzy I a II badaniem densytometrycznym i potwierdzono, podobnie jak w poprzednich dwóch etapach ubytek gęstości mineralnej kości.

Dokonano obliczeń różnic aktywności fosfatazy zasadowej, stężeń osteokalcyny oraz β CrossLaps oddzielnie dla chorych stosujących dwa odrębne leki. Potwierdzono wyraźne obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej oraz stężenia osteokalcyny w drugim oznaczeniu w trakcie stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej. Stężenie fragmentów kolagenu typu I wzrosło w drugim oznaczeniu znamienne, korelując z ubytkiem gęstości mineralnej kości.

Tendencje polegające na obniżeniu aktywności fosfatazy zasadowej i stężenia osteokalcyny są podobne w grupach stosujących LMWH i acenokumarol ale aktywność fosfatazy zasadowej obniża się wyraźniej u chorych stosujących LMWH niż u przyjmujących acenokumarol. Istotne korelacje potwierdzono tylko pomiędzy różnicą aktywności fosfatazy zasadowej i ubytkiem kości w grupie stosującej acenokumarol, a nie LMWH. Nie udokumentowano korelacji pomiędzy różnicą stężeń osteokalcyny a ubytkiem BMD ani dla LMWH ani dla grupy pacjentów stosujących acenokumarol. Tylko stężenie β CrossLaps wzrosło znamienne w obu grupach pacjentów.

Wyniki uzyskane w pierwszych dwóch etapach potwierdziły wpływ stosowania LMWH i acenokumarolu na strukturę kości. Wśród grupy chorych leczonych i obserwowanych w naszym ośrodku, włączonych do omawianego badania nie obserwowano złamań osteoporotycznych. Rozpatrywane w pracy zmiany gęstości mineralnej kości nie są na ogół duże. Istotną wskazówką, nawet wobec łagodnych zmian jest wyraźny ich postęp związany z wydłużeniem czasu stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej.

Dynamika zmian niektórych badanych w pracy markerów obrotu kostnego wydaje się być inna w przypadku stosowania leków przeciwzakrzepowych niż w przypadku osteoporozy inwolucyjnej, gdzie ma miejsce wzrost stężeń tych markerów. Wyniki wskazujące na obniżenie aktywności fosfatazy zasadowej i stężenia osteokalcyny można tłumaczyć hamowaniem czynności osteoblastów przez stosowane leki obok innych złożonych mechanizmów.

Zarówno liczba chorych z zchzz jak i liczba czynników ryzyka tej choroby rosną. Przybywa chorych ze wskazaniami do przedłużonego stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej. Przyczynia się do tego

rozwój kardiologii interwencyjnej, kardiochirurgii, transplantologii a także ustalenie zaleceń dotyczących stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej u pacjentów z chorobami nowotworowymi.

Dostępne metody w postaci badań densytometrycznych kości, a także oznaczanie wskaźników przebudowy kości, będą służyły ocenie nasilenia zmian kostnych. Powinny one stanowić pomost pomiędzy rozpoznaniem zagrożeń wynikających ze stosowania potrzebnych leków z wyboru jakimi są heparyny drobnocząsteczkowe lub antagonisty Vit.K, a kolejną profilaktyką możliwych zaburzeń jakimi są zaburzenia przebudowy kości.

Na podstawie wyników uzyskanych w pracy sformułowano następujące wnioski:

1. Profilaktyka przeciwzakrzepowa przy zastosowaniu heparyn drobnocząsteczkowych lub antagonistów Vit. K w żylnej chorobie zakrzepowo – zatorowej powoduje zaburzenia mineralizacji kości.

2. Heparyny drobnocząsteczkowe powodują łagodne, ale wyraźne zaburzenia mineralizacji; zmiany o mniejszym nasileniu powoduje także sto-

sowanie antagonistów Vit.K. Ubytek masy kostnej wydaje się być związany z czasem stosowania profilaktyki przeciwzakrzepowej.

3. W czasie stosowania heparyn drobnocząsteczkowych i acenokumarolu występują wyraźne zmiany stężeń markerów obrotu kostnego: osteokalcyny, β CrossLaps i aktywności fosfatazy zasadowej, wskazujące na zaburzenia przebudowy kości

4. Wskazane jest wykonywanie badania densytometrycznego kości bezpośrednio po zakończeniu ostrego okresu choroby zwłaszcza przy współistnieniu innych czynników ryzyka żylnej choroby zakrzepowo – zatorowej i/lub osteoporozy oraz powtarzanie tego badania co 6-12 miesięcy.

5. Profilaktykę osteoporozy należy rozważyć w przypadku potwierdzenia zaburzeń mineralizacji kości w badaniu wstępnym, zwłaszcza przy przewidywanym wydłużeniu czasu stosowania wtórnej profilaktyki i współistnieniu innych czynników ryzyka osteoporozy, albo po kolejnym badaniu densytometrycznym obrazującym zmiany mineralizacji kości.

10. PIŚMIENICTWO

1. Adler R.A., Funkhouser H.L., Petkov V.I. i wsp.: Osteoporosis in pulmonary clinic patients. Does point-of care screening predict central dual-energy x-ray absorptiometry?, *Chest* 2003;123:2012-2018.
2. Andersson L.O., Barrowcliffe T. W., Holmer E. i wsp.: Anticoagulant properties of heparin fractionated by affinity chromatography on matrix-bound antithrombin III and by gel filtration. *Thromb. Res.* 1976;9:575-583.
3. Andrade S., Majumdar S.R., Chan A. i wsp.: Low frequency of treatment of osteoporosis among postmenopausal women following a fracture, *Arch. Intern. Med.* 2003;163:2052-2057.
4. Ardisson P., Rota E., Durelli L. i wsp.: Effects of high doses of corticosteroids on bone metabolism. *J. Endocrinol. Invest.* 2002;25: 129-133.
5. Aris M.R., Neuringer I.P., Weiner M.A. i wsp.: Severe osteoporosis before and after lung transplantation, *Chest*, 1996;109:1176-1183.
6. Astermark J., Lilja H., Pettersson K. i wsp.: The proportion of carboxylated to total or intact osteocalcin in serum discriminates warfarin-treated patients from control subjects, *J. Bone Miner. Res.* 1999;14:555-560.
7. Avioli L.V.: Heparin – induced osteoporosis: An appraisal *Adv.Exp.Med.Biol.*, 1975,52,375
8. Barbour L.A., Kick S.D., Steiner J.F. i wsp.: A prospective study of heparin-induced osteoporosis in pregnancy using bone densitometry, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994;170: 862-869.
9. Bhandari M., Hirsh J., Weitz i wsp.: The effects of standard and low molecular weight heparin on bone nodule formation in vitro, *Thromb. Haemost.* 1998;80:413-417.
10. Bonnick S.L.: Techniki densytometrii kości we współczesnej medycynie:[w:] *Osteoporoz, zasady rozpoznawania i leczenia* (red.) Clifford J. Rosen, Springer PWN Warszawa, 1998,103
11. Borawski J., Naumnik B., Myśliwiec M.: Hepatocyte Growth Factor: a possible mediator of heparin-induced osteoporosis? (letter to editor) *Clin. Appl. Thromb. Haemost.* 2003;9:171-172.
12. Brown J.P., Malaval L., Chapuy M.C. i wsp.: Serum bone gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis, *Lancet* 1984; May 19:1091-1093.
13. Callahan B.C., Lisecki E.J., Banks R.E. i wsp.: The effect of warfarin on the attachment of bone to hydroxyapatite-coated and uncoated porous implants, *J. Bone Joint Surg. Am.* 1995;77:225-230.
14. Cantini F., Niccoli L., Bellandi F. i wsp.: Effects of short-term, high dose heparin therapy on biochemical markers of bone metabolism, *Clin. Rheumatol.*, 1995; 14:663-666.
15. Caraballo J.P., Heit J.A., Atkinson J. i wsp.: Long-term use of oral anticoagulants and the risk of fracture, *Arch. Intern. Med.* 1999;159:1750-1756.
16. Caraballo P.J., Gabriel S.E., Castro M.R. i wsp.: Changes in bone density after exposure to oral anticoagulants: a meta-analysis, *Osteoporos Int.*, 1999;5:441-448.
17. Chigot P., De Gennes C., Samama M.M.: Osteoporosis induced either by unfractionated heparin or by low molecular weight heparin, *J. Mal. Vasc.* 1996;21: 121-125.
18. Czerchawski L.: Patofizjologiczne podstawy zastosowania heparyn niskocząsteczkowych w profilaktyce choroby zakrzepowo – zatorowej, Warszawa, 1996,124.
19. Dahlman T., Sjoberg H.E., Hellgren M. i wsp.: Calcium homeostasis in pregnancy during long-term heparin treatment, *Br J. Obstet. Gynaecol.* 1992;99: 412-416
20. Dahlman T., Lindvall N., Hellgren M.: Osteopenia in pregnancy during long-term heparin treatment: a radiological study post partum, *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1990;97:221-228.
21. Dahlman T.C.: Osteoporotic fractures and the recurrence of thromboembolism during pregnancy and the puerperium in 184 women undergoing thromboprophylaxis with heparin, *Am.J. Obstet. Gynecol.* 1993;168: 1265-1270.
22. Dahlman T., Sjoberg H.E., Ringertz H.: Bone mineral density during long-term prophylaxis with heparin in pregnancy, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994;170: 1315.
23. Daluiski A., Engstrand T., Bahamonde M.E. i wsp.: Bone morphogenetic protein-3 is a negative regulator of bone density, *Nat. Genet.* 2001;27: 84-88.
24. Delmas P.D., Wahner H.W., Mann K. i wsp.: Assessment of bone turnover in postmenopausal osteoporosis of serum bone gla-protein, *J. Lab. Clin. Med.* 1983;102:470-476.
25. Dempster D.W.: Bone remodeling [w:] *Osteoporosis: Etiology, diagnosis and management.* (red.) Riggs B.L., Melton L.J.III, Philadelphia, Lippincot-Raven Publishers.
26. Dinc M., Tchugunova Y., Dinc S. i wsp.: Decreased osteocalcin levels in patients with chronic obstructive pulmonary disease, *Metabolism* 2001;50:1336-1339.
27. Dothe R., Pellicer-Coeuret M., Belouet-Moreau C.: Venous thromboembolism in medical inpatients: prophylaxis with low weight heparin in a university hospital and prevalence of thromboembolic events, *Clin. Appl. Thromb. Haemost.*, 2001;7,16-20.
28. Douketis J.D., Ginsberg J.S., Burrows R.F. i wsp.: The effects of long-term heparin therapy during pregnancy on bone density. A prospective matched cohort study, *Thromb. Haemost.* 1996;75: 254-257.
29. Dressner-Pollak R., Parker R.A., Poku M. i wsp.: Biochemical markers of bone turnover reflect femoral bone loss in elderly woman. *Calcif. Tissue. Int.* 1996;59:328-333.
30. Duxbury B.McD., Poller L.: The oral anticoagulant saga: past, present and future, *Clin. Appl. Thromb. Haemost.* 2001;7: 269-275.
31. Filipecki S., Hajduk B., Tomkowski W.: *Zator tętnicy płucnej.* α-medica press, Bielsko Biała, 1994,13,113
32. Fuller K., Chambers T.J., Gallager A.C.: Heparin augments osteoclast resorption-stimulating activity in serum, *J. Cell Physiol.* 1991;147: 208-214.
33. Garner P., Delmas P.D.: Clinical usefulness of markers of bone remodeling in osteoporosis [w:] Meunier P.J. (red.) *Osteoporosis: diagnosis and management*, London Martin Dunitz Ltd, 1998;79:101.
34. Garner P., Sornay-Rendu E., Duboeuf F. i wsp.: Markers of bone turnover predict postmenopausal forearm bone loss over 4 years: the OFELY Study, *J. Bone Min. Res.* 1999;14:1614-1621.
35. Geerts W.H., Heit J.A., Clagett G.P. i wsp.: Prevention of venous thromboembolism, *Chest* 2001,119:132s.
36. Ginsberg J.S., Greer I., Hirsh J.: Use of antothrombotic agents during pregnancy, *Chest*, 2001;119: 122s-131s.
37. Ginsberg J.S., Kovalchuk G., Hirsh J.: Heparin effect on bone density, *Thromb Haemost.*, 1990,64,286.
38. Giza D., Stompór T., Katra B. i wsp.: Metabolizm kości u chorych po zabiegu przeszczepienia nerki w świetle

- wybranych markerów obrotu kostnego oraz w ocenie densytometrycznej Przegl. Lek. 2001;58:979-984.
39. Goldstone A.P., Howard J.K., Lord G.M. i wsp.: Leptin prevents the fall in plasma osteocalcin during starvation in male mice, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002;295:475-481
40. Goswami A., Leonard J.L., Rosenberg I.N.: Inhibition by coumadin anticoagulants of enzymatic outerring mono-deiodination of iodothyronines. *Biophys. Res. Commun.*, 1982,104,1231.
41. Griffith G.C., Nichols G., Asher J.D. i wsp.: Heparin osteoporosis, *JAMA*, 1965:193:85-88
42. Haffa A., Krueger D., Bruner J. i wsp.: Diet- or Vit. K insufficiency elevates circulating undercarboxylated osteocalcin without altering skeletal status in growing female rats, *J.Bone Miner. Res.* 2000;15:872-878.
43. Hirsh J., Dahlen E.J., Anderson D.R. i wsp.: Oral anticoagulants: Mechanism of action, clinical effectiveness and optimal therapeutic range. *Chest*,2001;119:8-21.
44. Hirsh J., Warkentin T.E., Shaughnessy S.G. i wsp.: Heparin and low-molecular-weight heparin. Mechanism of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy and safety, *Chest*, 2001,119: 64s-94s.
45. Hurley M.M., Kream B.E., Raisz L.G.: Structural determinants of the capacity of heparin to inhibit collagen synthesis in 21-day fetal rat calvariae, *J.Bone Min. Res.*, 1990;5:1127-1133.
46. Hyers M.T., Agnelli G., Hull R.D.: Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. *Chest* 2001;119, Nr 1,suppl.:176s-193s.
47. Jamal S.A., Browner W.S., Bauer D.C. i wsp.: Warfarin use and risk for osteoporosis in elderly women. *Ann. Intern. Med.* 1998; 128:829-832.
48. Jie K-S.,G., Gijsbers B.L.M.G., Knapen M.H.J i wsp.: Effects of Vitamin K and oral anticoagulants on urinary calcium excretion, *Br. J. Haem.* 1993;83:100-104.
49. Johansen J.S., Riis B.J., Delmas P.D. i wsp.: Plasma BGP: an indicator of spontaneous bone loss and of the effect of oestrogen treatment in postmenopausal women, *Eur. J. Clin. Invest.* 1988;18: 191-195.
50. Johnson E.A., Kirkwood T.B.L., Stirling Y. i wsp. Four heparin preparations: anti-Xa potentiating effect of heparin after subcutaneous injection. *Thromb. Haemost* 1976;35:586-591.
51. Johnstone C.C., Epstein S.: Clinical, biochemical, radiographic, epidemiologic and economic features of osteoporosis, *Orthop. Clin. North Am.* 1981;12:559-569.
52. Kanis J.A., Melton L.J.III, Christiansen C. i wsp.: The diagnosis of osteoporosis, *J.Bone Miner. Res.* 1994;9:1137-1141.
53. Kher A., Toulemonde F.: Heparin-induced osteoporosis; [w:] Sarret M., Kher A., Toulemonde F. (red.): *Low Molecular Weight Heparin Therapy*, Dekker, New York,1999; 448-449.
54. Kirkegard A.: Incidence of acute deep vein thrombosis in two districts: a phlebographic study, *Acta Chir. Scand.* 1980;146:267 -269.
55. Kiss J., Tihanyi L., Nagy E. i wsp.: The effect of prolonged acenocoumarol therapy on bone density, *Orv. Hetil* 1995; 136: 2113-2115.
56. Knapen M.H., Hellemons-Boode B.S., Langenberg-Ledeboer M. i wsp.: Effect of oral anticoagulant treatment on markers for calcium and bone metabolism, *Haemostasis*, 2000;30:290-297.
57. Knapen M.H.J., Hamulyak K., Vermeer C.: The effect of Vitamin K supplementation on circulating osteocalcin (bone gla protein) and urinary calcium excretion, *Ann. Int. Med.* 1989;111: 1001-1005.
58. Kock H.J., Handschin A.E.: Osteoblast growth inhibition by unfractionated heparin and by low molecular weight heparins: an in vitro investigation, *Clin. Appl. Thromb. Haemost.* 2002; 8: 251-255.
59. Levine L.M., Hirsh J., Salzman E.W.: Side effects of antithrombotic therapy [w:] *Haemostasis and Thrombosis*, R.W. Colman, J. Hirsh, V.J. Marder, E.W. Salzman, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 1994, 936.
60. Łopaciuk S, Bielska-Falda H., Noszczyk W. i wsp.: Low molecular weight heparin versus Acenocoumarol in the secondary prophylaxis of deep vein thrombosis, *Thromb. Haemost.*, 1999,81,26.
61. Matzsch T., Berquist D., Hedner V. i wsp.: Effect of enzymatically depolymerized heparin compared with conventional heparin in healthy volunteers, *Thromb. Haemost.*, 1987,57,97.
62. Matzsch T., Berquist D., Hedner V. i wsp.: Induction of osteoporosis in rats by standard heparin and low molecular weight heparin, *Thromb. Haemost.* 1987,58,36 (abstr.)
63. Methods for bone density measurement. *J.Int. Med.* 1997;241,suppl.739:12-22
64. Miller P.D.: *Kliniczna przydatność i interpretacja wyników densytometrii kości [w:] Osteoporoza, zasady rozpoznawania i leczenia* (red.) Clifford J. Rosen, Springer PWN Warszawa,1998,130.
65. Miller W.E., De Wolfe V.G.: Osteoporosis resulting from heparin therapy, *Clev. Clin. Q.*, 1966,33,31.
66. Modrowski D., Lomri A., Marie P.J.: Glycosaminoglycans bind granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and modulate its mitogenic activity and signaling in human osteoblastic cells, *J.Cell Physiol.* 1998, 177: 187-195.
67. Monreal M., Lafoz E., Olive A. i wsp.: Comparison of subcutaneous unfractionated heparin with a low molecular weight heparin (Fragmin) in patients with venous thromboembolism and contraindications to coumarin, *Thromb. Haemost.* 1994;71: 7-11
68. Monreal M., Olive A., Lafoz E. i wsp.: Heparins, coumarin and bone density (letter to the editor). *Lancet*, 1991;338:706.
69. Monreal M., Vinas L., Monreal L., i wsp.: Heparin – related osteoporosis in rats. A comparative study between unfractionated heparin and a low molecular weight heparin, *Haemostasis* 1990;20: 204-207.
70. Moreno-Reyes R., Egrise D., Neve J. i wsp.: Selenium deficiency-induced growth retardation is associated with an impaired bone metabolism and osteopenia, *J.Bone Miner. Res.* 2001;16:1556-1563.
71. Muir J.M., Hirsh J., Weitz J.L. i wsp.: A histomorphometric comparison of the effects of heparin and low-molecular-weight heparin on cancellous bone in rats, *Blood* 1997; 89: 3236-3242.
72. Muir J.M., Andrew M., Hirsh J. i wsp.: Histomorphometric analysis of the effects of standard heparin on trabecular bone in vivo, *Blood*,1996;88:1314-1320.
73. Murphy M.S., Philip R.J., Mayer A.D. i wsp.: Heparin therapy and bone fractures, *Lancet* 1992;340:1098.
74. Murray W.J., Lindo W.S., Kakkar V.V. i wsp.: Long-term administration of heparin and heparin fractions and osteoporosis in experimental animals, *Blood Coag. Fibrynol.* 1995;6:113-118.
75. Murray W.J.G.: *Low molecular weight heparin in surgical practice*, MS Thesis (London) 1985, 4:586-581.

76. Nelson-Piercy C.: Heparin-induced osteoporosis, *Scand J Rheumatol*, 1998;27,suppl.107:68-71.
77. Nicholson G., Bryant A.E., Macdonald I.A i wsp.: Osteocalcin and the hormonal and metabolic response to major orthopedic surgery, *Anaesthesia* 2002;57:319-325.
78. Nishiyama M., Itoh F., Ujiie A.: Low-molecular-weight heparin (dalteparin) demonstrated a weaker effect on rat bone metabolism compared with heparin, *Jpn. J. Pharmacol.* 1997;74:59-68.
79. Nordstrom M., Lindblad B., Berquist D.: A prospective study of incidence of deep vein thrombosis within a defined urban population., *J.Intern. Med.* 1992; 232, 155-160.
80. Okabe R., Nakatsuka K., Inaba M. i wsp.: Clinical evaluation of the elecsys ²-CrossLaps serum assay, a new assay for degradation products of type I collagen C-telopeptides, *Clin. Chem.*,2001;47:1410-1414.
81. Owen C.A.Jr: A history of blood coagulation. *Mayo Found. Med. Educ. Res. Rochester Minnesota*, 2001,a: 250-256, b:264-266.
82. Panagakos F.S., Jandinski J.J., Feder L. i wsp.: Heparin fails to potentiate the effects of IL-beta-mediated bone resorption of fetal rat long bones in vitro, *Biochimie* 1995;77: 915-918.
83. Peichl P., Griesmacher A., Marteau R. i wsp.: Serum crosslaps in comparison to serum osteocalcin and urinary bone resorption markers, *Clin. Biochem.*2001;34:131- 139.
84. Pettila V., Leinonen P., Markkola A. i wsp.: Postpartum bone mineral density in women treated for thromboprophylaxis with unfractionated heparin or LMW heparin, *Thromb. Haemost.* 2002;87:182-186.
85. Philip W.J., Martin J.C., Richardson J.M. i wsp.: Decreased axial and peripheral bone density in patients taking long-term warfarin, *Q.J.M.*, 1995;88:635-640.
86. Polak-Jonkisz D., Zwolińska D., Bednorz R. i wsp.: Przydatność osteokalcyny i CrossLaps w ocenie zaburzeń gospodarki kostnej u dzieci z przewlekłą niewydolnością nerek leczonych zachowawczo, *Pol.Merk.Lek.* 2002;70:257-260.
87. Riggs B.L., Melton L.J.III.: Involutional osteoporosis, *N E J M*,1986;108:1676-1686.
88. Rosen H.N., Maitland L.A., Suttie J.W. i wsp.: Vitamin K and maintenance of skeletal integrity in adults, *Am. J. Med.* 1993;94:62-68.
89. Rosenquist C., Fledelius C., Christgau S. i wsp.: Serum CrossLaps one step ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation products from C-terminal telopeptides of type I collagen, *Clin. Chem.* 1998;44:2281-2289.
90. Rosenquist C., Quist P., Bjamason N. i wsp.: Measurement of a more stable region of osteocalcin in serum by ELISA with two monoclonal antibodies, *Clin. Chem.* 1995;41:1439-45.
91. Ruiz-Irastorza G., Khamashta M.A., Nelson-Piercy C. i wsp.: Lupus pregnancy: is heparin a risk factor for osteoporosis? *Lupus*, 2001;10: 597-600.
92. Ruiz-Irastorza G., Khamashta M.A., Hughes G.R.V.: Heparin and osteoporosis during pregnancy: 2002 update, *Lupus* 2002;11: 680-682.
93. Samama M.M., Bara L., Gouin- Thibault I.: New data on the pharmacology of heparin and low molecular weight heparins, *Drugs* 1996; 52 suppl.7: 8-14.
94. Sato Y., Honda Y., Kunoh H. i wsp.: Long-term oral anticoagulation reduces bone mass in patients with previous hemispheric infarction and nonrheumatic atrial fibrillation, *Stroke* 1997;12:2390-2394.
95. Schulman S., Hellgren-Wangdal M.: Pregnancy, heparin and osteoporosis, *Thromb. Haemost.* 2002;87:180-181.
96. Shane E., Shonni J., Donovan D. i wsp.: Osteoporosis in lung transplantation candidates with end-stage pulmonary disease, *Am. J. Med.* 1996;101:262-269.
97. Shaughnessy S.G., Hirsh J., Bhandari M i wsp.: A histomorphometric evaluation of heparin-induced bone loss after discontinuation of heparin treatment rats, *Blood*,1999;93: 1231-1236.
98. Shaughnessy S.G., Young E., Deschamps P. i wsp.: The effects of low molecular weight and standard heparin on calcium loss from fetal rat calvaria, *Blood*, 1995; 86:1368-1373.
99. Shearer M.J.: Vitamin K, *Lancet*, 1995;345:229-234.
100. Simmons H.A., Raisz L.G.: Effects acid and basic fibroblast growth factor and heparin on resorption of cultured fetal rat long bones, *J. Bone Min. Research* 1991;6: 1301-1305.
101. Solnica B.: Laboratoryjne markery zaburzeń metabolizmu kości, *Badanie i Diagnostyka*, 1999, 5:20-23.
102. Suga K., Saitoh M., Fukushima S. i wsp.: Interleukin-11 (IL-11) induces osteoblast differentiation and acts synergistically with bone morphogenetic protein-2 in C3H10T1/2 cells. *J. Interferon Cytokine Res.* 2001;21:695-707.
103. Szulc P., Chapuy M.C., Meunier P.J. i wsp.: Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly woman, *J.Clin. Invest.* 1993;91:1769-1774.
104. Tafałaj M., Marcinowska – Suchowierska E.: Nieinwazyjne metody diagnostyki osteoporozy [w:] Osteoporoza – diagnostyka, profilaktyka i leczenie, (red.) E. Marcinowskiej – Suchowierskiej, CMKP Warszawa, 1998, 29.
105. Tapson V.F.: The impact of thromboembolism [w:] XIX Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (abstr.)
106. Torbicki A., Tomkowski W., Pruszczyk P.: Zatorowość płucna na progu nowego wieku, *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2000,104:717-718.
107. van Beck EJR, Büller H.R., ten Cate J.W.: Epidemiology of venous thromboembolism [w:] Textbook of vascular medicine (red.) Tooke J.E., Lowe G.D., London, Arnold,1996: 471-488.
108. van Haarlem L.J.M., Knapen M.H.J. Hamulyak H. i wsp.: Circulating osteocalcin during oral anticoagulant therapy, *Thromb. Haemost.* 1988; 60:79-82.
109. Veiga F., Escriba A., Maluenda M.P. i wsp.: Low molecular weight heparin (enoxaparin) versus oral anticoagulant therapy (acenocoumarol) in the long-term treatment of deep venous thrombosis in the elderly: a randomized trial, *Thromb. Haemost.* 2000;84:559-564.
110. Walenga J.M., Bick R.L.: Heparin-induced thrombocytopenia, paradoxical thromboembolism and other side effects of heparin therapy. *Med. Clin. N. Am.* 1998;82: 635-658.
111. Walton K.J., Duncan J.M., Deshamps P. i wsp.: Heparin acts synergistically with interleukin-11 to induce STAT-3 activation and in vitro osteoclast formation, *Blood*, 2002;100: 2530-2536.
112. Watała C.: Biostatystyka - wykorzystanie metod statystycznych w pracy badawczej w naukach biomedycznych. *α medica press, Bielsko Biała*, 2002.
113. Wawrzyńska L., Przedlacki J., Hajduk B. i wsp.: Low molecular weight heparins, acenocoumarol and bone density (letter to editor), *Haemostasis*,2001;31:69-70.
114. Wawrzyńska L., Przedlacki J., Hajduk B. i wsp.: Heparyny i acenokumarol a mineralizacja kości, *Terapia*, 2002;6: 36-38.

115. Wawrzyńska L., Tomkowski W.Z., Przedlacki J. i wsp.: Changes in bone density during long-term administration of low-molecular weight heparins or acenocoumarol for secondary prophylaxis of venous thromboembolism, *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2003; 33:64-67.

116. Windyga J.: Heparyny drobnocząsteczkowe, *Terapia i Leki*, 2003,52:10-14.

117. Wise P.H., Hall A.J.: Heparin – induced osteopenia in pregnancy, *Br. Med. J.* 1980,281,110.