

©Borgis

*Stefan Daniluk

Antyosteoartrotyczny wpływ modulatora β -receptora estrogenowego u kobiet po menopauzie z chorobą zwyrodnieniową kolan i osteopenią. Badanie wstępne

Antiosteoarthritic effect of estrogen β -receptor modulator in postmenopausal women with knee osteoarthritis and osteopenia. A pilot study

Zespół Badawczy Polskiej Fundacji Osteoporozy, Centrum Osteoporozy i Chorób Kostno-Stawowych w Białymstoku

Kierownik Zespołu i Dyrektor Centrum: prof. dr hab. med. Janusz E. Badurski

Streszczenie

Cel pracy. Celem pracy była ocena wpływu raloksyfenu (RLX), specyficznego modulatora receptora estrogenowego, na wskaźniki degradacji chrząstki stawowej i przebudowy kości oraz na modyfikację objawów klinicznych choroby zwyrodnieniowej kolan (OAK) u kobiet po menopauzie z osteopenią.

Materiał i metody. Badanie przeprowadzono u 65 kobiet w wieku 52-79 lat, średnio 65,4, z OAK w 1-3 stopniu wg Kellgrena i Lawrence'a, z masą kostną pomiędzy T-score $-1,0$ i $-2,0$ (w L2-L4 i/lub w szyjce kości udowej), z prawidłowym OB, i nieprzyjmujących leków kościotropowych. Utworzono losowo dwie grupy: kontrolną (C) i badaną (E), nie odróżniające się demograficznie. Obie grupy uzupełniały podaż wapnia do 1200 mg/d i wit. D_3 – 800 IU/d, ale tylko grupa E otrzymywała 60 mg raloksyfenu/d przez 12 miesięcy. Wpływ na chrząstkę oceniano markerem degradacji kolagenu t. II (CTX-II) oraz białkiem oligometrycznym macierzy chrząstki (COMP) w surowicy. Reakcję tkanki kostnej monitorowano aktywnością kostnej fosfatazy alkalicznej (kFOS), osteoprotegeryną (OP), rozpuszczalnym aktywatorem receptora NF-kappa B (sRANKL) oraz produktem degradacji kostnego kolagenu t. I (CTX-I) w moczu, przeliczając na kreatyninę (/Kr). Ocenę kliniczną kolan oparto na indeksach Lequesne i WOMAC.

Wyniki. W grupie C nie odnotowano zmian, zaś w grupie E statystycznie znamienne obniżyły się: CTX-II, CTX-II/Kr, OP oraz indeksy kliniczne Lequesne i WOMAC, nastąpił spadek wydalania CTX-II i CTX-II/Kr o 30% do 40%, zaś indeksów klinicznych WOMAC i Lequesne o 15% do 20%. Stwierdzono istotną korelację pomiędzy spadkiem wydalania CTX-II a poprawą indeksu WOMAC, wskazując na równoległy proces antykataboliczny w stawach z poprawą stanu klinicznego OAK u kobiet leczonych RLX.

Wnioski. Raloksyfen w dawce 60 mg/d przez 12 miesięcy podawany kobietom w średnim wieku 65 lat z chorobą zwyrodnieniową kolan ujawnił efekt hamowania oznak degradacji chrząstki stawowej, zmniejszył dolegliwości i istotnie poprawił funkcję kolan.

Słowa kluczowe: *osteoarthritis*, raloksyfen

Summary

Aim. The aim of the study was to evaluate the influence of Raloxifene (RLX), a selective estrogen receptor modulator, on the rates of the articular cartilage degradation and bone turnover markers as well as on the modification of clinical symptoms of knee osteoarthritis (KOA) in post-menopausal women with osteopenia.

Material and methods. The study was conducted among 65 women aged 52-79, the average age of 65.4, with knee osteoarthritis graded 1-3 in Kellgren-Lawrence grading scale, with bone density between T-score -1.0 and -2.0 (in L1-L4 vertebrae and/or femoral neck), with normal ESR and who did not take any osteotropic medication. Two demographically identical groups were created: a control group (C) and a treatment group (E). In both groups calcium supply was supplemented up to 1200 mg/d and vitamin D_3 supply up to 800 IU/d, however, only group E were given 60 mg/d of raloxifene for 12 months. Markers for type II collagen breakdown (CTX-II) and cartilage oligomeric matrix protein in serum were used to evaluate the influence of raloxifene. Bone tissue metabolism was monitored by the activity of bone alkaline phosphatase (kFOS), osteoprotegerin (OPG), dissoluble receptor activator NF-kappa B (sRANKL) and degradation products from type I collagen t I (CTX-I) in urine on creatinine basis (/Kr). Clinical assessment of the knee was based on the WOMAC and Lequesne indexes.

Results. No change was observed in group C. In group E there was a statistical decrease in CTX-II, CTX-II/Kr, (OPG) and the WOMAC and Lequesne clinical indices; the decrease in CTX-II i CTX-II/Kr excretion was between 30-40% and the WOMAC and Lequesne indices between 15-20%. A significant correlation between the decrease in CTX-II excretion and the improvement of the WOMAC index was identified, which indicates a parallel anticatabolic process in joints and improvement of the clinical condition of KOA in women treated with RLX.

Conclusions. Raloxifene administered to women with knee osteoarthritis of average age of 65 in a dose of 60 mg a day for 12 months proves to inhibit the markers of articular cartilage degradation, reduce discomfort and significantly improve the function of the knee measured by WOMAC index.

Key words: osteoarthritis, raloxifene

WPROWADZENIE

Na patogenezę choroby zwyrodnieniowej stawów, *osteoarthritis* (OA) składają się: 1) skutki przeciążenia stawu przy prawidłowej, zdrowej chrząstce, 2) czynniki obniżające jakość chrząstki stawowej w wyniku starzenia się, procesów zapalnych, mutacji genowych czy zmęczenia materiału biologicznego (1). Trzy niekorzystne czynniki oddziałujące równocześnie – przeciążenie (otyłość, koślawość/szpotałość kolan), pomenopauzalne wypadnięcie funkcji jajników i starzenie się chrząstki znacznie zwiększają ryzyko wystąpienia choroby zwyrodnieniowej kolan (OAK) (2). Na obecnym etapie wiedzy można przyjąć, że proces OA przebiega dwufazowo. Rozpoczyna się od nasilenia przebudowy i resorpcji kości podchrzęsnej (w której niska aktywność PGE₂, wysoka obecność RANKL przy niskiej OPG sprzyjają nasiloniej osteoklastogenezie i resorpcji, skutkując ścieńczeniem grubości kości podchrzęsnej), zaś w zaawansowanej fazie dominuje faza osteosklerotyczna (gdzie wysoka obecność PGE₂, niska RANKL przy wysokiej OPG, hamuje osteoklastogenezę, co zwiększa grubość warstwy kostnej) (3). Momentem inicjującym ten proces jest stres tlenowy, towarzyszący przeciążeniu. Aktywuje on czynnik jądrowy NF-κβ zarówno chondrocytów, jak i osteoblastów i osteocytów, co uruchamia sekrecję z nich interleukiny IL-1β oraz metaloproteinaz degradujących, po ich aktywacji, składniki macierzy chrząstki stawowej (4-7). Chondroprotektoryjne i antykataboliczne działanie na chrząstkę hamowania resorpcji kości kalcitoniną było wykazane znacznie wcześniej niż zjawisko dwufazowości reagowania kości podchrzęsnej na przeciążenie (8).

Wzrost ujawniania się OA kolan u kobiet po menopauzie, kiedy równocześnie obserwuje się szybki spadek masy kostnej, wskazuje, że należy szukać wyłumaczenia w wyłączeniu oddziaływania estrogenów na struktury stawów, w tym głównie wpływu na opóźnianie procesu starzenia się zarówno komórek macierzystych zrębu (KMZ), jak i dojrzałych chondrocytów (9). Receptory estrogenowe α i β znajdują się na osteoblastach, osteoklastach, jak i na chondrocytach, a ich selektywne modulatory (SERM) oddziałują na nie równocześnie w kości, jak i chrząstce (10-12). Ostatnia metaanaliza pozwala przyjąć wpływ endo- i egzogennych estrogenów na przebudowę chrząstki i podchrzęsnej kości, jak i wpływ polimorfizmu estrogenowego receptora α

i β na przebieg OA (13). Pomenopauzalny spadek odczowego estrogenu (E₂) powoduje w krążących makrofagach nadprodukcję IL₆, TNF i IL-1 cytokin stymulujących osteoklastogenezę poprzez wzrost sekrecji RANKL i supresję OPG w pochodnych KMZ, w tym i w chondrocytach (14), sprzyjając resorpcji kości i sekrecji metaloproteinaz z chondrocytów. Raloksyfen (RLX), przedstawiciel SERM zapobiega apoptozie chondrocytów wywoływanej oddziaływaniem interleukiny 1 β (IL-1β), istotnie uczestniczącej w destrukcji stawu w OA, sugerując potencjał antykataboliczny na chrząstkę (15). Kliniczny wpływ RLX na przebieg OA kolan u kobiet nie jest znany.

CEL PRACY

Ocena wpływu RLX na wskaźniki degradacji chrząstki stawowej i przebudowy kości oraz na modyfikację objawów klinicznych choroby zwyrodnieniowej kolan u kobiet po menopauzie z obniżoną masą kostną.

DOBÓR PACJENTEK, KRYTERIA OCENY I STOSOWANE METODY

Badanie przeprowadzono u 65 kobiet w wieku 52-79 lat, średnio 65,4 lat, będących średnio 18 lat po menopauzie, które zgłosiły się do Centrum Osteoporozy i Chorób Kostno-Stawowych w Białymstoku z powodu dolegliwości ze strony kolan. Kryteriami włączenia do badań były:

1. Zdiagnozowana wg kryteriów ACR (16) choroba zwyrodnieniowa kolan (*osteoarthritis* – OA) w 1-3 stopniu zaawansowania w skali Kellgrena i Lawrensa (K-L) (17).
2. Masa kostna o T-score poniżej -1,0 SD, mierzona w szyjce kości udowej lub w kręgosłupie metodą DXA.
3. Prawidłowe wyniki badań OB.
4. Nieprzyjmowanie w przeszłości leków hamujących resorpcję kości ani innych mogących wpływać na nią w ciągu ostatnich dwóch miesięcy, w tym niesteroidowych leków przeciwzapalnych, jak również nieobecność w wywiadzie incydentów zakrzepowych czy chorób mogących mieć wpływ na metabolizm kości.
5. Świadoma zgoda pacjentek na udział w badaniu. Uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Okręgowej Izbie Lekarskiej w Białymstoku na wykonanie niniejszego badania.

Pacjentki losowo przydzielano do grupy kontrolnej (C), bądź do grupy leczonej (E) otrzymującej 60 mg ralkoxyfenu, RLX (EVISTA f-my Eli Lilly) dziennie, w przybliżonym stosunku liczbowym 1:1. W ciągu 12 miesięcy przeprowadzania próby połowa pacjentek z grupy kontrolnej odmówiła dalszego uczestnictwa z powodu braku efektu leczniczego, uszczuplając liczbę grupy C. Pod koniec badań stosunek liczbowy grupy C do E wynosił już tylko 1:2. Uczestniczki obu grup przyjmowały preparaty wapnia w dziennej dawce 1200 mg, witaminę D₃ – 800 IU oraz w razie bólu tramadol 1-2 x 50 mg/dobę. Czas klinicznej manifestacji OA w grupie C wynosił średnio 9,2 lat, a w grupie E – 8,9 lat. Średnie zaawansowanie zmian OA mierzone skalą K-L w grupie C sięgało 2,3 stopnia, zaś w grupie E – 2,4 stopnia. Dane demograficzne obu grup prezentuje tabela 1.

Tabela 1. Liczba, wiek, waga, wzrost, BMI pacjentek uczestniczących w badaniu.

	Grupa kontrolna (C) N = 20	Grupa leczonych (E) N = 34
Wiek	65,7 ± 6,2	65,4 ± 6,3
Waga	72,8 ± 8,3	75,7 ± 12,5
Wzrost	157,3 ± 5,5	158,2 ± 5,0
BMI	29,4 ± 2,8	30,3 ± 5,3

Ocenę wpływu leczenia RLX na chrząstkę stawową oparto na pomiarach wydalania z moczem specyficznego dla chrząstki stawowej C-terminalnego tetrapeptydu kolagenu typu II (18) CTX-II (CartiLaps firmy Nordic Bioscience Diagnostics) metodą ELISA wraz z przeliczaniem na wydaloną z moczem kreatyninę (CTX-II/Kr), oraz na oznaczeniu w surowicy oligometrycznego białka macierzy chrzęstnej (19) (COMP firmy Wieslab) metodą ELISA podaną przez producentów. Metabolizm kości oceniano wskaźnikami jej anabolizmu i katabolizmu: izoenzymem kostnym fosfatazy zasadowej w surowicy (20) FOS (Alkphase-B firmy Metra-Biosystems Inc), osteoprotegeryną OPG (21, 22) w surowicy (Osteoprotegerin firmy Biomedica) oraz C-terminalnym tetrapeptydem kolagenu typu I (23) CTX-I w surowicy (Serum CrossLaps firmy Nordic Bioscience Diagnostics) i rozpuszczalnym aktywatorem receptora NF-kappa B (21, 22) (sRANKL firmy Biomedica) metodą ELISA zgodnie z procedurami producentów zestawów. Klinikzną skalę objawów ze strony kolan, bólu i funkcji, oceniano indeksami WOMAC (24) i Lequesne (25). Badanie masy kostnej (BMD) wykonano metodą DXA aparatem Hologic 4500 SL w kręgach L2-L4 i w szyjce kości udowej.

Protokół 12-miesięcznego badania obejmował 6 wizyt: pierwszą, kwalifikującą do dalszych badań; drugą (miesiąc „0”) – rozpoczęcie leczenia; trzecią (miesiąc „3”) – po 3 miesiącach leczenia; czwartą – po 6 miesiącach („6”), piątą – po 9 miesiącach („9”) i szóstą – po 12 miesiącach („12”). W czasie każdej wizyty (oprócz kwalifikacyjnej) pobierano od będących na czczo pacjentek krew i mocz na ww. badania biochemiczne,

i były one (po odseparowaniu surowicy) przechowywane w temperaturze -70°C do jednoczesnego oznaczenia. W czasie każdej wizyty monitorowano stan ogólny chorych i wydolność ich stawów kolanowych. Pacjentki w trakcie całego 12-miesięcznego okresu leczenia miały możliwość przyjmowania w razie bólu tabletki á 50 mg tramadolu do dawki dziennej 100 mg, z obowiązkiem odnotowania liczby przyjętych tabletek między wizytami.

Analiza statystyczna wyników badań obejmowała ocenę typu rozkładu w populacjach grup C i E, ocenę zmian w czasie leczenia wartości średnich markerów degradacji chrząstki i przebudowy kości oraz testów klinicznych, ocenę równości wartości średnich do zmiennych niezależnych (nieparametrycznym testem zgodności chi kwadrat, testem t Studenta, testem F jednorodności wariancji oraz testem serii Walda-Wolfowitza). Zbadano zależności między parametrami biochemicznymi a testami klinicznymi (testem istotności współczynnika korelacji Pearsona). Ze względu na luki w wynikach poszczególnych oznaczeń, analizie statystycznej poddano tylko wyniki tych pacjentek, które miały wykonane wszystkie badania biochemiczne i kliniczne przed, w czasie i po leczeniu.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

RLX był dobrze tolerowany, w czasie 12-miesięcznej obserwacji nie zauważono objawów niepożądanych. Żadna z osób biorących udział w badaniu nie zrezygnowała z uczestnictwa w grupie E, natomiast w grupie C zrezygnowało w trakcie programu 14 z 34 pacjentek. W grupie C odnotowano sumarycznie w ciągu 12 miesięcy przyjęcie 112 tabletek 50 mg tramadolu, w grupie badanej E – 56 tabletek.

W kolejnych tabelach przedstawiono wyniki badanych wskaźników biochemicznych:

- kostnych (tabela 2): CTX-I (w ng/ml), kreatyniny w moczu, Kr (mmol/l), fosfatazy zasadowej kostnej – FOS (U/l), osteoprotegeryny – OPG (pmol/l), i sRANKL (pmol/l),
- chrzęstnych (tabela 3): COMP (ng/ml), CTX-II (ng/ml), CTX-II/Kr (ng/mmol), oraz
- testów klinicznych (tabela 4): indeksów Lequesne i WOMAC sprzed podania leku (0) oraz po 3, 6, 12 miesiącach (dotyczy parametrów biochemicznych) i po 3, 6, 9 i 12 miesiącach leczenia (dotyczy parametrów klinicznych).

Analiza regresyjna zmian wskaźników biochemicznych i testów klinicznych w czasie (T) kolejnych (0, 3, 6, 9 i 12) miesięcy badania i leczenia wykazała, że:

- w grupie kontrolnej (C) nie znaleziono istotnych zmian żadnego z parametrów w ciągu (T) 12 miesięcy (tabela 5 A, B, C, D: grupa kontrolna C, p(t) > 0,05 oraz ryciny 1 i 2: grupa kontrolna C),
- w grupie badanej (E) zaszły istotne statystycznie zmiany w czasie (T) 12 miesięcy leczenia (tabela 5: Grupa badana E, p(t) < 0,05) w zakresie osteoprotegeryny, CTX-II, CTX-II/Kr, oraz testów klinicznych Lequesne i WOMAC.

Tabela 2. Wskaźniki przebudowy kości (CTX-I, fosfatazy zasadowej kostnej – FOS, osteoprotegeryny – OPG i sRANKL) w grupie kontrolnej C i badanej E, sprzed – 0 oraz po 3, 6 i 12 miesiącach badania.

Wskaźniki przebudowy kości								
	Grupa kontrolna (C)				Grupa badana (E)			
	N	M	SD	SE	N	M	SD	SE
CTX-I_0	19	0,278	0,191	0,044	32	0,291	0,214	0,038
CTX-I_3	18	0,616	0,367	0,087	32	0,663	0,544	0,096
CTX-I_6	18	0,927	0,419	0,099	29	0,745	0,395	0,073
CTX-I_12	16	0,776	0,316	0,079	26	0,608	0,235	0,046
FOS_0	19	26,97	8,311	1,907	32	25,58	9,484	1,677
FOS_3	18	33,29	13,03	3,073	32	31,56	9,837	1,739
FOS_6	18	31,40	8,171	1,926	29	27,14	6,749	1,253
FOS_12	16	33,03	11,69	2,924	27	30,55	12,93	2,489
OPG_0	19	8,063	3,002	0,689	32	8,009	3,321	0,587
OPG_3	19	8,456	3,242	0,744	32	7,381	3,306	0,584
OPG_6	17	8,212	2,520	0,611	28	7,243	2,732	0,516
OPG_12	15	6,407	2,930	0,757	26	6,488	2,352	0,461
sRANKL_0	19	1,351	1,716	0,394	32	1,562	1,859	0,329
sRANKL_3	18	0,862	1,859	0,438	32	0,570	0,801	0,142
sRANKL_6	18	0,279	0,710	0,167	29	0,107	0,146	0,027
sRANKL_12	16	0,677	0,462	0,115	26	0,976	1,524	0,299

N – liczebność próby, M – wartość średnia próby, SD – odchylenie standardowe, SE – standardowy błąd średniej.

Tabela 3. Wskaźniki degradacji chrząstki (COMP, CTX-II oraz CTX-II/Kr) w grupie kontrolnej C i badanej E, sprzed – 0 oraz po 3, 6 i 12 miesiącach badania.

Wskaźniki degradacji chrząstki								
	Grupa kontrolna (C)				Grupa badana (E)			
	N	M	SD	SE	N	M	SD	SE
CTX-II_0	19	2,858	1,613	0,370	32	3,492	1,746	0,309
CTX-II_3	19	3,550	2,016	0,463	32	3,114	1,671	0,295
CTX-II_6	16	4,181	1,889	0,472	29	2,581	1,177	0,218
CTX-II_12	16	3,469	2,626	0,656	27	2,081	1,537	0,296
Kr_0	19	69,04	24,26	5,567	32	84,58	30,26	5,350
Kr_3	19	82,40	47,69	10,94	32	79,93	30,98	5,478
Kr_6	16	91,48	41,38	10,34	29	78,90	34,07	6,328
Kr_12	16	84,26	43,33	10,83	27	79,53	39,07	7,520
CTX-II/Kr_0	19	0,480	0,216	0,049	32	0,483	0,205	0,036
CTX-II/Kr_3	19	0,560	0,392	0,090	32	0,476	0,244	0,043
CTX-II/Kr_6	16	0,600	0,328	0,082	29	0,392	0,174	0,032
CTX-II/Kr_12	16	0,594	0,766	0,192	26	0,354	0,287	0,056
COMP_0	19	47,20	13,93	3,196	32	45,74	12,96	2,291
COMP_3	19	45,01	10,94	2,512	32	38,86	15,84	2,801
COMP_6	18	50,58	12,39	2,922	29	44,08	16,33	3,034
COMP_12	16	42,19	15,42	3,856	27	50,52	11,55	2,223

N – liczebność próby, M – wartość średnia próby, SD – odchylenie standardowe, SE – standardowy błąd średniej.

Wobec stanu sprzed leczenia (0), przewidywany spadek wydalania CTX-II/Kr i CTX-II po 12 miesiącach wynosi od 30% do 40%, natomiast indeksów klinicznych WOMAC i Lequesne od około 15% do 20%.

Stwierdzony, istotny statystycznie, spadek wydalania zarówno CTX-II, jak i CTX-II/Kr, przy równoczesnym

obniżeniu testu WOMAC u osób leczonych RLX (E), wobec braku podobnych zmian u osób nieleczonych (C), może przemawiać za wpływem RLX na zmniejszenie degradacji chrząstki przy równoczesnej, choć wolniejszej, poprawie obrazu klinicznego, tzn. zmniejszeniu dolegliwości i poprawie funkcji kolan.

Tabela 4. Testy kliniczne (Indeksy-Ind. – Lequesne i WOMAC) w grupie kontrolnej C i badanej E, sprzed – 0 oraz po 3, 6, 9 i po 12 miesiącach badania.

Testy kliniczne								
	Grupa kontrolna (C)				Grupa badana (E)			
	N	M	SD	SE	N	M	SD	SE
Ind. Lequesne_0	20	9,000	4,227	0,945	34	9,706	4,261	0,731
Ind. Lequesne_3	20	8,775	4,269	0,955	34	9,103	4,324	0,741
Ind. Lequesne_6	20	7,750	4,822	1,078	34	8,588	3,671	0,630
Ind. Lequesne_9	20	6,975	4,951	1,107	34	8,044	3,327	0,571
Ind. Lequesne_12	20	8,125	4,000	0,894	34	7,853	4,052	0,695
WOMAC_0	20	37,15	16,84	3,766	34	43,47	12,85	2,205
WOMAC_3	19	41,05	18,51	4,247	31	39,38	13,08	2,350
WOMAC_6	15	44,46	16,99	4,389	31	39,22	13,27	2,384
WOMAC_9	17	37,64	17,43	4,228	30	39,43	15,66	2,859
WOMAC_12	18	40,94	17,92	4,224	31	35,06	13,55	2,434

N – liczebność próby, M – wartość średnia próby, SD – odchylenie standardowe, SE – standardowy błąd średniej.

Tabela 5. Analiza regresyjna zależności pomiędzy zmianami w czasie (T), O vs 12, wskaźników kostnych (5A), chrzęstnych (5B) i testów klinicznych (5C), u osób leczonych RLX (E) i nieleczonych, grupy kontrolnej (C).

Tabela 5A.

Badane parametry	Grupa badana (E)			Grupa kontrolna (C)		
	r(X,Y)	t	p(t)	r(X,Y)	t	p(t)
T/CTX-I	0,40	0,617	0,60	0,80	1,886	0,20
T/FOS	0,491	0,797	0,509	0,667	1,267	0,333
T/OPG	-0,982	-7,377	0,018	-0,834	-2,136	0,166
T/sRANKL	-0,40	-0,617	0,60	-0,80	-1,886	0,20

Tabela 5B.

Badane parametry	Grupa badana (E)			Grupa kontrolna (C)		
	r(X,Y)	t	p(t)	r(X,Y)	t	p(t)
T/CTX-II	-0,994	-12,77	0,006	0,461	0,735	0,539
T/Kr	-0,698	-1,379	0,302	0,622	1,124	0,378
T/CTX-II/Kr	-0,953	-4,429	0,047	0,795	1,851	0,205
T/COMP	0,630	1,146	0,370	-0,483	-0,781	0,517

Tabela 5C.

Badane parametry	Grupa badana (E)			Grupa kontrolna (C)		
	r(X,Y)	t	p(t)	r(X,Y)	t	p(t)
T/Ind. Lequesne	-0,988	-11,05	0,002	-0,689	-1,649	0,198
T/WOMAC	-0,892	-3,410	0,042	0,223	0,395	0,719

T – czas, r(X, Y) – współczynnik korelacji Pearsona, t – wartość statystyki t, p(t) – testowy poziom prawdopodobieństwa.

Wyznaczone współczynniki korelacji są istotne z $p < 0,05$.

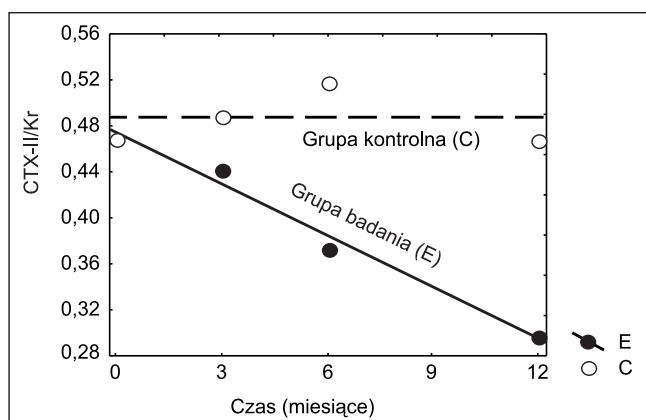
Statystycznie znamienne spadki wartości średnich pomiędzy badaniem 0 a 12 wykazały OPG, CTX-II, CTX-II/Kr oraz kliniczny Indeks Lequesne i WOMAC:

Tabela 5D.

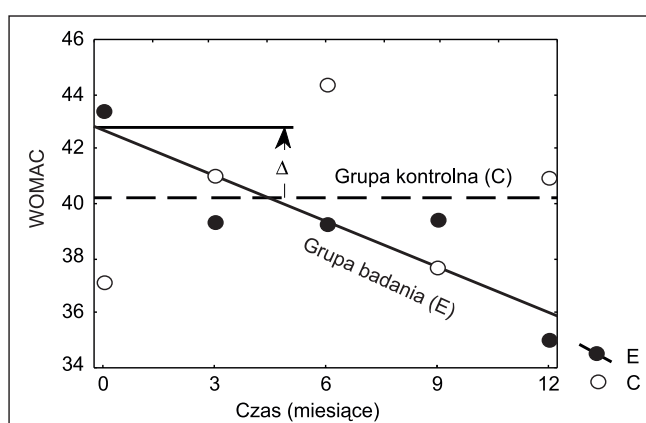
Badane parametry	Grupa badana (E)			Grupa kontrolna (C)		
	r(X,Y)	t	p(t)	r(X,Y)	t	p(t)
T/OPG	-0,982	-7,377	0,018	-0,834	-2,136	0,166
T/CTX-II	-0,994	-12,77	0,006	0,461	0,735	0,539
T/CTX-II/Kr	-0,953	-4,429	0,047	0,795	1,851	0,205
T/Ind. Lequesne	-0,988	-11,05	0,002	-0,689	-1,649	0,198
T/WOMAC	-0,892	-3,410	0,042	0,223	0,395	0,719

T – czas, r(X, Y) – współczynnik korelacji Pearsona, t – wartość statystyki t, p(t) – testowy poziom prawdopodobieństwa.

Wyznaczone współczynniki korelacji są istotne z $p < 0,05$.



Ryc. 1. Zmiany średniej wartości CTX-II/Kr w grupie kontrolnej (C) i badanej (E).



Ryc. 2. Zmiany średniej wartości WOMAC w grupie C i E; Δ – przewidywana różnica między C i E przed podaniem leku.

Zweryfikowano następnie hipotezę o równości wariancji i średnich różnic OPG, CTX-II, CTX-II/Kr oraz testów WOMAC i Lequesne w obu grupach po 12 miesiącach leczenia. Jej wyniki przedstawia tabela 6.

Wartość $p(F) > \alpha = 0,05$ pozwala na przyjęcie jednorodności wariancji dla wszystkich badanych parametrów. Umożliwia to stosowanie testu t Studenta dla wartości średnich OPG, CTX-II, CTX-II/Kr oraz testów WOMAC i Lequesne w grupie kontrolnej i badanej po 12 miesiącach leczenia. Wykazano istotne statystycznie różnice między średnimi CTX-II, CTX-II/Kr i WOMAC, przy $p(t) < \alpha = 0,05$. Przemawia to za wpływem poda-

wania RLX na zmniejszenie degradacji chrząstki, jak i poprawę obrazu klinicznego OA ocenianych wydalaniem CTX-II, CTX-II/Kr i testem WOMAC. W przypadku zaś OPG i testu/indeksu Lequesne w grupie kontrolnej i badanej nie uwidoczniło się znaczących różnic między średnimi ($p(t) > \alpha = 0,05$).

Weryfikacja hipotezy o korelacji pomiędzy leczeniem RLX a CTX-II i jego pochodnej CTX-II/Kr oraz indeksem WOMAC wskazała na istotne statystycznie powiązanie w grupie leczonej E pomiędzy biochemicznym parametrem CTX-II i testem klinicznym WOMAC (przy $p < \alpha = 0,05$), co przedstawia tabela 7 oraz ryciny 3 i 4.

Tabela 7. Korelacja między CTX-II, CTX-II/Kr, a indeksem WOMAC.

	r(X,Y)	T	p(t)
CTX-II/WOMAC	0,979	6,766	0,021
CTX-II/Kr/WOMAC	0,942	3,973	0,058

$r(X, Y)$ – współczynnik korelacji Pearsona, t – wartość statystyki t , $p(t)$ – testowy poziom prawdopodobieństwa. Wyznaczone współczynniki korelacji są istotne z $p < 0,05$.

Poziom prawdopodobieństwa korelacji pomiędzy CTX-II/Kr a testem WOMAC wynosi $p = 0,058$, a zatem nieznacznie przekracza zakładany poziom $\alpha = 0,05$. CTX-II/Kr jest pochodną CTX-II oraz Kr. Wydalanie CTX-II w przeliczeniu na wydaloną z moczem kreatyniną (Kr) powoduje zwiększenie wariancji CTX-II/Kr, co w następstwie prowadzi do zamaskowania jego systematycznych zmian pod wpływem leczenia. Jest to widoczne na rycinie 6 w postaci poszerzenia granic ufności funkcji regresji (linia przerywana). Można zatem przyjąć, że istnieje równie istotna zależność między spadkiem wydalania CTX-II a poprawą indeksu WOMAC.

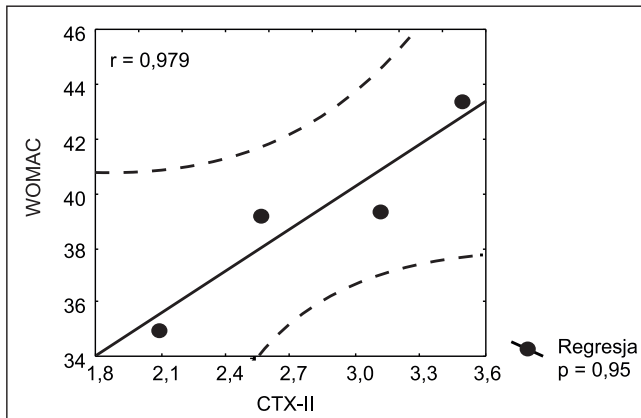
DYSKUSJA

Kluczowym dla oceny wpływu leczenia raloksyfenem na chrząstkę stawową parametrem okazał się CTX-II/Kr, który wykazał statystycznie znaczący spadek wydalania o 30-40% w porównaniu z grupą kontrolną. Wśród testów klinicznych WOMAC i indeks Lequesne ujawniły znaczącą poprawę kliniczną (od 15 do 20%) po roku leczenia. Wymownym okazała się dodatnia korelacja pomiędzy nimi: objawowi hamowania degradacji chrząstki (CTX-II i CTX-II/Kr) towarzyszy złagodzenie dolegliwości ze strony kolan (WOMAC).

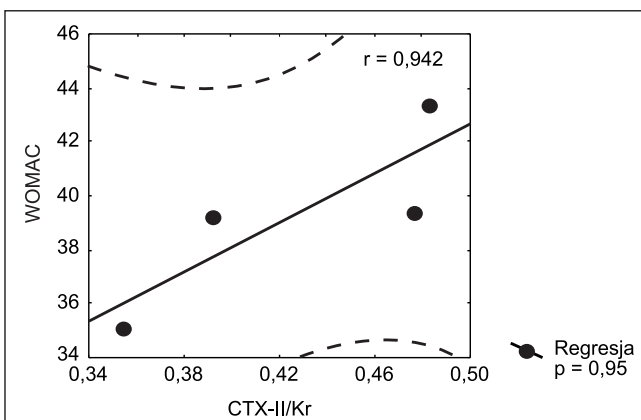
Tabela 6. Wyniki testu jednorodności wariancji $p(F)$ oraz testu t Studenta równości średnich $p(t)$ dla OPG, CTX-II, CTX-II/Kr, oraz testów Lequesne i WOMAC.

Po 12 m.	t	Df	p(t)	N(E)	N(C)	F	p(F)
OPG_	0,302	40	0,764	27	15	1,274	0,648
CTX-II_	-2,951	40	0,005	27	15	1,535	0,405
CTX-II/Kr	-2,124	40	0,040	27	15	1,020	0,929
Ind. Lequesne	-0,701	52	0,486	34	20	1,006	0,959
WOMAC	-3,269	47	0,002	31	18	1,186	0,663

t – parametr rozkładu Studenta, df – liczba stopni swobody, $p(t)$ – prawdopodobieństwo testowe dla równości wartości średnich, N – liczebność próby, F – parametr rozkładu Fishera, $p(F)$ – prawdopodobieństwo testowe dla jednorodności wariancji.



Ryc. 3. Korelacja między CTX-II i WOMAC.



Ryc. 4. Korelacja między CTX-II/Kr i WOMAC.

Przy znamiennej spadku poziomu w surowicy osteoprotegeryny i niezmiennym sRANKL nie stwierdzono zależności pomiędzy markerami degradacji chrząstki i testami klinicznymi a markerami resorpcji i tworzenia kości. Mogłoby to przemawiać bardziej za antykatabolicznym wpływem raloksyfenu na chondrocyty i pośrednio na całą chrząstkę niż na wpływ poprzez komórki kostne na poprawę kliniczną choroby zwyrodnieniowej kolan. Obniżenie poziomu OP u kobiet leczonych raloksyfenem trudne jest do jednoznacznej interpretacji.

Badania na modelach zwierzęcych i przeprowadzonych u ludzi wskazują na szereg podobieństw.

Szczury po owarektomii (OVX) wykazały równoczesny wzrost wydalania zarówno CTX-I, jak i CTX-II, świadczący o jednoczesnym, przyspieszonym procesie degradacji chrząstki (potwierdzonym ponadto obrazem histologicznym) i wzroście resorpcji kości, a egzogennie podawany estrogen i levormeloksyfen, lek z grupy SERM, oba te procesy hamowały (26). U 171 kobiet w wieku 45-65 lat leczonych przezskórną i dostną estrogenową terapią zastępczą wykazano po roku znamienne spadki wydalania o 19-30% z moczem CTX-II i o 70% CTX-I, sugerując antykataboliczny wpływ estrogenów na chrząstkę stawową i kość (27). W grupie 203 kobiet przyjmujących raloksyfen, również przez 1 rok, zaobserwowano proporcjonalny do dawki

od 60 do 150 mg/dziennie spadek wydalania CTX-II do 50% (28).

Podobne możliwości ma większość leków antyresorpcyjnych stosowanych w osteoporozie pomenopauzalnej, kierując naszą uwagę na znaczenie przebudowy podchrzęstnej w patogenezie osteoartrozy, wręcz adresując leczenie OA do sąsiadującej ze stawem tkanki kostnej (29, 30). Analiza obszernego piśmiennictwa o pozytywnym wpływie hormonalnej/estrogenowej terapii zastępczej (H/ETZ) na spowolnienie progresji choroby zwyrodnieniowej u kobiet skłoniła jej autorów do rozważania rekomendacji H/ETZ do leczenia OA (31). Oprócz estrogenów, raloksyfenu, kalcytoniny (8, 32-35) antykataboliczny wpływ na właściwości chrząstki stawowej wykazały: alendronian (36, 37), rizedronian (37, 38), zolendronian (39) oraz ranelinian strontu (40, 41), który jako pierwszy przeszedł pomyślnie trzyletnią, podwójnie zaślepioną, pod kontrolą placebo, próbę kliniczną, budząc nadzieję na zastosowanie w leczeniu OA (42). Wspólną cechą ww. leków jest bezpośrednio hamowanie resorpcyjnej funkcji osteoklastów. W przypadku estrogenów, raloksyfenu, kalcytoniny, strontu, antykataboliczny wpływ na chrząstkę stawową może się realizować również poprzez receptorowe oddziaływanie na chondrocyty.

Wykazany w niniejszej analizie wyników kliniczny efekt poprawy kondycji stawów kolanowych monitorowany indeksem WOMAC przy jednoczesnym spadku wydalania markerów degradacji chrząstki, którym towarzyszył spadek OPG i, choć statystycznie nieistotny, sRANKL, mógłby przemawiać za przeciwartretycznym potencjałem RLX. Raloksyfen w badaniach eksperymentalnych okazał się silnym inhibitorem indukowanego zapalenia stawów, powodując zarówno obniżenie poziomu czynników prozapalnych: interleukiny IL-6, obniżenie ekspresji mRNA RANKL i TNF- α , jak i wzrost produkcji OPG (neutralizującej RANKL) przez osteoblasty (43). Na niewielkiej grupie 24 osób opisano po sześciomiesięcznym leczeniu raloksyfenem istotny efekt analgetyczny i czynnościowy w bólu kolan i krzyża u kobiet po menopauzie (44). Próby klinicznej o standardzie z podwójnie ślepą próbą pod kontrolą placebo do tej pory nie przeprowadzono.

Niniejsze doniesienie ma charakter wstępny. Interpretacja wyników ma szereg ograniczeń. Nie powiodło się utrzymanie liczbowego stosunku 1:1 grupy C i E ze względu na rezygnację 14 z 34 osób z grupy kontrolnej w trakcie badania, nie było ono pod kontrolą placebo i nie było podwójnie zaślepione. Mała liczba pacjentek (34) grupy E nie pozwoliła na utworzenie podgrup o różnym stopniu zaawansowania choroby, co umożliwiłoby uzyskać odpowiedź na pytanie: komu leczenie RLX jest w stanie przynieść największe korzyści? Wyniki stanowią zachętę i motywują do wszczęcia badań klinicznych nad celowością stosowania leków hamujących resorpcję kości w chorobie zwyrodnieniowej. Zgodnie z obecnym stanem wiedzy o przeciążeniu jako dominującym czynnikiem etiologicznym OA i rolą uszkodzenia/obrzęku szpiku kostnego jako skutku ischemii

w nasadach kości tworzących przeciążony staw, należałoby uwzględnić porównanie z NLPZ, przeciwutleniaczami i lekami p/obrzękowymi (45-47).

WNIOSKI

Rozmiary grup, protokół badań i uzyskane wyniki upoważniają do wyciągnięcia roboczych wniosków.
Dwunastomiesięczna kuracja 60 mg/dziennie ra-

loksyfenu z witaminą D i suplementacja wapniem hamuje u kobiet po menopauzie z chorobą zwyrodnieniową kolan wydalanie markerów degradacji chrząstki (CTX-II/Kr) równoległe do poprawy klinicznej kondycji kolan, mierzonej indeksem bólowo-funkcyjnym WOMAC.

Może to przemawiać za antykatabolizmem działaniem RLX na struktury stawu w OA.

PIŚMIENNICTWO

1. Poole AR, Guilak F, Abramson SB: Etiopathogenesis of osteoarthritis. W: Osteoarthritis – diagnosis and medical/surgical management. Fourth Edition. Moskowitz RW, Altman RD, Hochberg MC, Buckwalter JA, Goldberg VM. Wolters Kluwer/Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia 2007; 27-49.
2. Cicuttii FM, Spector T, Baker J: Risk factors for osteoarthritis in the tibiofemoral and patellofemoral joints of the knee. *J Rheumatol* 1997; 24: 1164-1167.
3. Kwan Tat S, Pelletier J-P, Lajeunesse D et al.: The differential expression of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor κB ligand (RANKL) in human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts is an indicator of the metabolic state of these disease cells. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26: 295-304.
4. Lotz M: NO and other radicals in the pathogenesis of osteoarthritis. [In:] Osteoarthritis, inflammation and degeneration. Ed J Buckwalter TOS Press 2007; 182-191.
5. Henrotin YE, Bruckner P, Pujol JP: The role of reactive oxygen species in homeostasis and degeneration of cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2003; 11: 747-755.
6. Martin JA, Brown TD, Heiner AD et al.: Chondrocyte senescence, joint loading and osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res* 2004; Suppl. 427: 96-103.
7. Brandl A, Harmann A, Bechmann V et al.: Oxidative stress induces senescence in chondrocytes. *J Orthop Res* 2011; 29, 7: 1114-1120.
8. Badurski JE, Schwamm W, Zimnoch L et al.: Chondroprotective action of salmon calcitonin in experimental arthropathies. *Calc Tis Intern* 1991; 49, 23-28.
9. Breu A, Sprinzing B, Merkl K et al.: Estrogen reduces cellular aging in human mesenchymal stem cells and chondrocytes. *J Orthop Res* 2011; 29, 10: 1563-1571.
10. Tanamas SK, Wijethilake P, Wluka AE et al.: Sex hormones and structural changes in osteoarthritis: a systemic review. *Maturitas* 2011; 69, 2: 141-156.
11. Felson D, Nevitt M: The effects of estrogen on osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 1998; 10, 3: 269-272.
12. Ushiyama T, Ueyama H, Inoue K et al.: Expression of genes for estrogen receptors alpha and beta in human articular chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7, 6: 560-566.
13. Nilsson O, Falk J, Ritzen E et al.: Raloxifene acts as an estrogen agonist on the rabbit growth plate. *Endocrinology* 2003; 144, 4: 1481-1485.
14. Syed F, Khosla S: Mechanisms of sex steroid effects on bone. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 328: 688-696.
15. Tinti L, Niccolini S, Lamboglia A et al.: Raloxifene protects cultured human chondrocytes from IL-1β induced damage: a biochemical and morphological study. *Eur J Pharmacol* 2011; 670, 1: 67-73.
16. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole D, Borenstein K, Brandt K et al.: Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 1039-1049.
17. Kellgren JH, Lawrence JS: Radiological assessment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1957; 16: 49-502.
18. Christgau S, Garnerio P, Fledelius C et al.: Collagen type II C-telopeptide fragments as an index of cartilage degradation. *Bone* 2001; 29: 209-215.
19. Saxne T, Heinegard D: Cartilage oligomeric matrix protein: a novel marker of cartilage turnover detectable in synovial fluid and blood. *Br J Rheumatol* 1992; 31: 583-591.
20. Delmas PD: Markers of bone formation and resorption. In: Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism, 2nd ed. MJ Favus, ed. 1993; New York: Raven Press, 108-112.
21. Ma YL, Cain RL, Halladay DL et al.: Catabolic effects of continuous human PTH (1-38) in vivo is associated with sustained stimulation of RANKL and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation. *Endocrinology* 2001; 142, 9: 4047-4054.
22. Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P et al.: Clinical evaluation of the Serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem* 1998; 44: 2290-2300.
23. Kwan Tat S, Padrines M, Theoleyre S et al.: IL-6, RANKL, TNF-α/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15, 1: 49-60.
24. Bellamy N: WOMAC osteoarthritis index: a user's guide. London (Canada): University of Western Ontario, 1995.
25. Lequesne M: Indices of severity and disease activity for osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1991; 20, 6, Suppl 2: 48-54. Review.
26. Hoegh-Andersen P, Tanko LB, Andersen TL et al.: Ovariectomized rats as a model of postmenopausal osteoarthritis: validation and application. *Arthritis Res Ther* 2004; 6, 2: 169-180.
27. Ravn P, Warming L, Christgau S, Christiansen C: The effect on cartilage of different forms of application of postmenopausal estrogen therapy: comparison of oral and transdermal therapy. *Bone* 2004; 35: 1216-1221.
28. Tanko G, Kasper T, Quist S: Antiresorptive agents used in the treatment of postmenopausal osteoporosis have different impact on markers of cartilage degradation. American College of Rheumatology National Scientific Meeting, San Antonio 2004; Abstract 829.
29. Dieppe P: Subchondral bone should be the main target for the treatment of pain and disease progression in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7: 325-326.
30. Mattei JP, Roux H: New potential therapeutic goals: Subchondral bone and progression of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 1999; 7: 329-330.
31. Reginster JY, Kvasz A, Bruyere O, Henrotin Y: Is there any rationale for prescribing hormone replacement therapy (HRT) to prevent or to treat osteoarthritis? *Osteoarthritis Cartilage* 2003; 11: 87-91.
32. Manicourt DH, Altman RD, Williams JM et al.: Treatment with calcitonin suppresses the responses of bone, cartilage, and synovium in the early stages of canine experimental osteoarthritis and significantly reduces the severity of the cartilage lesions. *Arthritis Rheum* 1999; 42, 6: 1159-1167.
33. El Hajjaji H, Williams JM, Devogelaer JP et al.: Treatment with calcitonin prevents the net loss of collagen hyaluronan and proteoglycan aggregates from cartilage in the early stages of canine experimental osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12: 904-911.

34. Hellio MP, Peschard MJ, Cohen C et al.: Calcitonin inhibits phospholipase A2 and collagenase activity of human osteoarthritic chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 1997; 5: 121-128.
35. Bagger YZ, Tanko LB, Alexandersen P et al.: Oral salmon calcitonin induced suppression of urinary collagen type II degradation in postmenopausal women: A new potential treatment of osteoarthritis. *Osteoporos Int* 2005; 16: Suppl 3, OC 32, S10.
36. Hayami T, Pickarski M, Wesolowski GA et al.: The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis. Reduction of cartilage degradation and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model. *Arthritis Rheum* 2004; 50, 4: 1193-1206.
37. Carbone LD, Nevitt MC, Wildy K et al.: The relationship of antiresorptive drug use to structural findings and symptoms of knee osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2004; 50, 11: 3516-3525.
38. Bingham C, Aronstein W, Adami S et al.: Treatment with risendronate reduced urinary CTX-II, a specific biochemical marker of type II collagen degradation, in 24-month study of knee OA. *Osteoarthritis Cartilage* 2004; 12, Suppl 13: S9, M22.
39. Muehleman C, Green J, Williams JM et al.: The effect of bone remodeling inhibition by zolendronate in an animal model of cartilage matrix damage. *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10, 2: 226-233.
40. Henrotin Y, Labasse A, Zheng SX et al.: Strontium ranelate increases cartilage matrix formation. *J Bone Miner Res* 2001; 16, 2: 299-308.
41. Alexandersen P, Tanko LB, Bagger YZ et al.: Strontium ranelate inhibits urinary excretion of CTX-II, a marker of cartilage degeneration, in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2005; 16, Suppl 3: P244, S60.
42. Reginster JY, Badurski JE, Bellamy N et al.: Efficacy and safety of strontium ranelate in the treatment of knee osteoarthritis: results of a double-blind, randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2012; w druku.
43. Jochems C, Islander U, Kalkopf A et al.: Role of raloxifene as a potent inhibitor of experimental postmenopausal polyarthritis and osteoporosis. *Arthritis&Reumatism* 2007; 56, 10: 3261-3270.
44. Fujita T, Fujii Y, Munezane H et al.: Analgesic effect of raloxifene on back and knee pain in postmenopausal women with osteoporosis/or osteoarthritis. *J Bone Miner Metab* 2010; 28, 4: 477-484.
45. Lane NE, Brandt K, Hawker G et al.: OARSI-FDP initiative: defining the disease state of osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19: 478-482.
46. Dworkin RH, Peirce-Sandner S, Turk DC et al.: Outcome measures in placebo-controlled trials of osteoarthritis: responsiveness to treatment effect in the REPORT database. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19: 483-492.
47. Strand V, Bloch DA, Leff R et al.: Safety issues in the development of treatments for osteoarthritis: recommendation of the Safety Considerations Working Group. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19: 493-499.

otrzymano/received: 17.02.2012
zaakceptowano/accepted: 15.03.2012

Adres/address:
*Stefan Daniluk
Zespół Badawczy Polskiej Fundacji Osteoporozy
Centrum Osteoporozy i Chorób Kostno-Stawowych
ul. Stołeczna 7, 15-879 Białystok
tel.: +48 (85) 744-54-40
e-mail: Daniluk@pfo.pl