

Kvalita kosti: které účinky léčby můžeme monitorovat a co to předpokládá?

J. ŠTĚPÁN

3. interní klinika 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Osteocentrum Všeobecné fakultní nemocnice, Praha

SOUHRN

Štěpán J.: **Kvalita kosti: které účinky léčby můžeme monitorovat a co to předpokládá?**

Při monitorování účinnosti zvoleného léku osteoporózy je výhodné užívat metodu, která cíleně a kvantitativně hodnotí ten aspekt kvality kosti, který se při léčbě mění nejprůkazněji a nejlépe vypovídá o mechanismu účinku léku. Při některých způsobech léčby (aminobisfosfonáty) je to obsah minerálu ve skeletu, jindy je to stupeň osteoresorpce, posuzovaný pomocí biochemických markerů (HRT, raloxifen, kalcitonin). Posuzování účinnosti léčby osteoporózy (monitorování léčby) umožňuje identifikovat ty pacientky, které z nějakého důvodu na léčbu přiměřeně neodpovídají (anebo ji vůbec neuzívají). Hodnocení markerů osteoresorpce upřesňuje informaci, kterou poskytuje BMD. Výpověď vyšetření o změnách stavu skeletu je třeba hodnotit se znalostí nepřesnosti tohoto vyšetření. Vyšetření biochemických markerů zatím není v klinické praxi zavedeno, protože není standardizováno, je nákladnější než DXA, a jeho klinická výpověď nebyla plně validována.

Klíčová slova: bisfosfonáty – kostní minerál – kostní markery – monitorování – kvalita kosti.

SUMMARY

Štěpán J.: **Quality of bone: what effects of treatment can be monitored and what does it require?**

For monitoring skeletal effects of the antiresorption treatments it is advantageous to employ techniques aimed to a quantitative assessment of specific aspects of quality of bone that respond most significantly to the treatment and best reflect the mechanisms of action of the drug. Some treatment modes, such as aminobisphosphonates, are best assessed using the bone mineral density measurement (BMD), while evaluation of bone resorption using biochemical markers is most suitable to judge efficacy of treatment with estradiol, raloxifene, and calcitonin. Monitoring enables to identify patients not responding to the treatment or not compliant. The information provided by BMD may be further elaborated using the biochemical markers. The Least Significant Change enables an appropriate clinical interpretation of the measurements. The clinical utilization of the biochemical markers requires a further standardisation and comprehensive validation.

Keywords: bisphosphonates – bone mineral – bone markers – monitoring – quality of bone.

Osteologický bulletin 2003;8(3):75–81

Adresa: MUDr. Jan Štěpán, 3. interní klinika VFN, U nemocnice 1, 128 00 Praha 2, tel.: 224 962 913, fax: 224 922 370, e-mail: jstepan@mbox.vol.cz

Došlo do redakce: 24. 7. 2003

V posledních deseti letech se výrazně zlepšily možnosti léčení postmenopauzální osteoporózy. K terapii vápníkem, vitaminem D, kalcitoninem a ovariálními hormony (hormonální substituční léčba, HRT) přibyla léčba bisfosfonáty, selektivními modulatory estrogenových receptorů (SERM) a selektivními regulátory tkáňové estrogení aktivity (STEAR). V krátké době bude možné užívat parathormonu a jeho derivátů. Každý z těchto léků působí na kost jiným mechanismem a specificky ovlivňuje určitý aspekt kvality kosti, a v důsledku toho také riziko zlomenin. Pokud lékař chce monitorovat účinnost zvoleného léku osteoporózy na kost, bude s výhodou užívat metodu, která cíleně a kvantitativně hodnotí ten aspekt kvality kosti, který se při léčbě mění nejprůkazněji. Cílem tohoto článku je jednak upozornit na specifika různých způsobů terapie z hlediska monitorování účinků léků, a jednak na nutnost kontroly kvality zvoleného způsobu monitorování. Bude to vysvětleno na příkladu monitorování léčby bisfosfonáty, protože monitorování ostatních způsobů léčby osteoporózy je námětem dalších článků v tomto čísle Osteologického bulletinu.

Monitorování léčby osteoporózy vychází ze znalosti mechanismů účinků zvoleného léku na skelet

Očekávaným účinkem léčby osteoporózy je snížení rizika zlomeniny. Tento účinek byl ve velkých klinických studiích prokázán už po prvním roce léčení estrogeny [1], raloxifenem [2], alendronátem [3] i risedronátem [4] a byl potvrzen při všech těchto způ-

sobech léčby po dobu 3–5 let [5–9]. Ani po této době však není osteoporóza vyléčena, protože i v nejlepším případě se kostní hmota zvyšuje jen o několik procent. Proč tedy tak výrazně (až na polovinu) klesá riziko zlomenin? Vysvětlením je na prvním místě zpomalení kostní remodelace antiresorpčními léky. Tím se zabránil dalšímu prohlubování osteoresorpčních kavit a perforací trámčů kosti, a umožnil se dokončení remodelačního cyklu a sekundární mineralizace v již iniciovaných kostních jednotkách (vyplnění remodelačního prostoru). Tím se zlepšila mechanická odolnost kosti více, než by odpovídalo jen zvýšení denzity kostního minerálu (BMD). Pokud jsou účinné antiresorpční léky pravidelně užívány ženami s postmenopauzální osteoporózou a již prodělanou zlomeninou po dobu 3 let, zabránil nově zlomenině obratle u jedné z 10–20 léčených žen.

Typickým příkladem je mechanismus účinků **aminobisfosfonátů** na kost. Aminobisfosfonáty po internalizaci v osteoklastech účinně inhibují katalytickou aktivitu řady enzymů, mj. osteoklastické kyselých fosfatázy a farnesylfosfát syntázy, jednoho z klíčových enzymů mevalonátové metabolické cesty syntézy cholesterolu. Přítomnost farnesyl difosfátu nebo geranylgeranyldifosfátu je limitujícím faktorem prenylace malých proteinů, obsahujících GTP. Nedostatek těchto prenylovaných proteinů vede k poruše morfologie osteoklastu, poruše integrinové signalizace, poškození zřasené membrány osteoklastu a zhoršení pohybu endosomů. V důsledku toho se jednak zhoršuje schopnost adheze osteoklastu k minerali-

zované kostní matrix, jednak se zkracuje životnost osteoklastu aktivací pro-apoptotických caspas [10–15]. V koncentracích, které jsou dosahovány na povrchu kosti, alendronát in vitro zcela inhibuje také osteoblasty, zatímco risedronát takto působí až při vyšších koncentracích [16]. Po 2 letech léčení postmenopauzální osteoporózy alendronátem klesá aktivací frekvence (množství remodelujících se trámčité kosti) o 92 % a po 3 letech o 96 %. Během jednoho roku se pak remodelují jen 2–4 % kosti, zatímco u zdravých žen před menopauzou je to v průměru 40–50 % trámčité kostní hmoty. Při léčbě risedronátem (5 mg/den) je situace podstatně příznivější než při léčbě alendronátem. Po 3 letech této léčby, která navozuje srovnatelný pokles rizika zlomenin obratlů i neobratlových fraktur jako alendronát [5] klesá aktivací frekvence jen o 47 % [17]. Čím pomaleji se kost remodeluje, tím déle pokračuje sekundární mineralizace a přibývá minerálu (BMD). Osteoid totiž mineralizuje ve dvou stupních. Po rychlé primární minerali-

zaci trvale pokračuje pomalá sekundární mineralizace, díky které se obsah minerálu zvyšuje o dalších až 60 %. Pokud by však obsah minerálu v kosti překročil 66 %, kost je více lomivá [18]. Uchování optimálně mineralizované a pružné kostní hmoty je jedním z důvodů proč se u zdravých dospělých osob obnovuje trámčítá kost po každých zhruba 2 letech a celý skelet po asi 10 letech [19]. Prodloužením období sekundární mineralizace při léčbě alendronátem se stupeň mineralizace v jednotlivých úsecích kosti vyrovnává. Homogenita mineralizace kosti pak může přispívat k snadnějšímu šíření mikrotrhlin ve stárnoucí kosti. Histomorfometrické a mikroradiografické vyšetření kosti, získané biopsií u žen s postmenopauzální osteoporózou, léčených 10 mg alendronátu denně po dobu 2 let, prokázalo zvýšení obsahu minerálu o 7,3 %. Objem kosti se však nezměnil. Tloušťka a objem osteoidu a povrchy s osteoidem naopak významně poklesly [20–22]. Výsledky histomorfometrického vyšetření kosti, získané biopsií u žen

Tabulka 1

Příklad výpočtu LSC pro měření BMD v bederní páteři u 15 pacientek s osteoporózou (měření bylo u každé z nich opakováno třikrát). Podle tohoto výsledku lze považovat za statisticky významnou změnu BMD v bederní páteři o nejméně 0,021 g/cm² (resp. změnu o 2,87 %, toto vyjádření však není v praxi doporučeno).

Pacientka	BMD 1	BMD 2	BMD 3	Průměr	SD	CV	SD ²	CV ²
A	0,772	0,775	0,785	0,777	0,006807	0,875668	0,0000463	0,766794
B	0,828	0,817	0,809	0,818	0,009539	1,166185	0,0000910	1,359987
C	0,759	0,761	0,768	0,763	0,004726	0,619644	0,0000223	0,383958
D	0,815	0,833	0,812	0,820	0,011358	1,3851	0,0001290	1,918501
E	0,744	0,733	0,738	0,738	0,005508	0,745946	0,0000303	0,556436
F	0,751	0,743	0,749	0,748	0,004163	0,556843	0,0000173	0,310074
G	0,702	0,723	0,716	0,714	0,010693	1,498273	0,0001143	2,244823
H	0,536	0,529	0,530	0,532	0,003786	0,712089	0,0000143	0,50707
I	0,758	0,766	0,743	0,756	0,011676	1,54515	0,0001363	2,38749
J	0,818	0,822	0,808	0,816	0,007211	0,883714	0,0000520	0,78095
K	0,469	0,477	0,475	0,474	0,004163	0,878958	0,0000173	0,772568
L	0,751	0,738	0,747	0,745	0,006658	0,893336	0,0000443	0,798049
M	0,595	0,605	0,610	0,603	0,007638	1,265905	0,0000583	1,602515
N	0,769	0,753	0,759	0,760	0,008083	1,063074	0,0000653	1,130126
O	0,677	0,687	0,681	0,682	0,005033	0,73837	0,0000253	0,54519
Průměr SD ² a CV ²							0,0000576	1,070969
Odmocnina průměru SD ² a CV ²							0,0075895	1,0348762
LSC (95 %) = 2,77*odmocnina průměru SD ² (g/cm ²) a CV ² (%)							0,021	2,87

Tabulka 2

Jistota, s jakou vypovídá (při znalosti LSC) změna BMD při opakovaném osteodenzitometrickém vyšetření o skutečné změně BMD (podle [49]).

	LSC (g/cm ²)			
Změna (g/cm ²)	0,010	0,020	0,030	0,040
0,010	52 %	28 %	19 %	14 %
0,020	84 %	52 %	36 %	28 %
0,030	97 %	71 %	52 %	40 %
0,040	100 %	84 %	65 %	52 %

lěčených alendronátem déle než 3 roky, nebyly nikdy publikovány a ve vztahu k snížené remodelaci nebyla ani hodnocena četnost mikrotrhlin (mikropoškození) a její vliv na mechanickou odolnost kosti, tak jak to známe z experimentálních studií [23].

Samotný mechanismus účinků bisfosfonátů, vedoucí ke kumulaci minerálu v kosti je zdůvodněním využití osteodenzitometrie pro monitorování těchto účinků na kost. Klinické studie přesvědčivě dokumentovaly, že více mineralizovaná hmota obratlů i kortikálních kostí je po 3 letech léčby mechanicky odolnější. Relativní riziko zlomenin obratlů u žen s postmenopauzální osteoporózou pokleslo po 3 letech léčby alendronátem o 48 % [3,6,24–26]. U starších žen (průměrně 71letých, nikoli však u žen mladších), které již prodělaly osteoporotickou zlomeninu, kleslo riziko fraktury proximálního femoru o 49 %. Informace o vyšším riziku zlomenin obratlů po delší době užívání bisfosfonátů [27] vyžadují ověření.

Protože po 3 letech léčby je stav skeletu pouze stabilizován a absolutní riziko zlomenin je obvykle stále vysoké, je třeba u většiny pacientek uvažovat o **dlohodobém léčení osteoporózy**, často celoživotním. Přestože kvalitních klinických studií sledujících dlouhodobé účinky antiresorpčních léků je zatím málo, lze konstatovat, že při mnohaletém užívání těchto léků závisí riziko zlomenin především na tom, jak se účinkem léků kvalita kosti upravuje k premenopauzálnímu stavu. To se týká nejenom zvýšení obsahu minerálu v kosti (tedy tvrdosti kostní hmoty), ale také zlepšení elasticity kosti. To předpokládá pravidelnou obnovu kostní organické matrix a převahu novotvorby kosti nad osteoresorpcí. Takovýto anabolický efekt se klinicky využívá při léčbě teriparatidem [28], ale je v mnohem menší míře prokazován i u některých antiresorpčních léků. S jistotou je známo, že po 6 letech léčby postmenopauzální osteoporózy vyššími dávkami estradiolu je kostní remodelace snížena do premenopauzálního rozmezí, ale současně se průkazně zvyšuje množství kostní hmoty, vytvořené v jednom remodelačním cyklu, a zvyšuje se tloušťka kostních trámčů [29]. Protože přibývá normální kostní hmoty, po pěti letech hormonální substituční léčby se prokazatelně (o 34 %) snižuje riziko zlomenin obratlů i proximálního femoru [30]. Anabolický účinek na kost byl prokázán in vitro i pro raloxifen, jehož mechanismus účinku na kost je obdobný jako u estradiolu [31]. V soulase s tím při léčbě raloxifemem s každým rokem pokračující léčby klesá počet žen, které je nutno léčit, aby se předešlo jedné zlomenině obratlů (NNT, number needed to treat). NNT je po třech letech léčby raloxifemem 16, po čtyřech letech 12. Zvětšuje se tedy rozdíl mezi incidencí zlomenin u lěčených žen a u žen, které braly jen placebo [32]. Podrobně o tom pojednávají další články v tomto časopise.

Dlouhodobá léčba osteoporózy vyžaduje zájem a spolupráci pacientek a ochotu užívat léky po dobu mnoha let. Předpokládá to:

1. Užití léků, které ani při dlouhodobém užívání nemají závažné nežádoucí účinky.
2. Užití léků, které upravují kvalitu kostní hmoty a při jejichž dlouhodobém užívání klesá riziko zlomenin. V této souvislosti je třeba připomenout, že např. tříletá léčba přípravky fluoru navodila zvýšení kostní hmoty, ale riziko zlomenin se nesnížilo [33]. Informaci o efektu léčby na snížení rizika zlomenin získává lékař z publikovaných klinických studií, kde je primárním kritériem riziko zlomenin, a z metaanalýz.
3. Ke spolupráci žen při dlouhodobé léčbě nepochybně přispívá informace o příznivém účinku léčby na jiné tkáně. Např. při terapii postmenopauzální osteoporózy raloxifemem klesá s dobou léčení i riziko nádorového onemocnění prsu a snižují se i rizika některých dalších zdravotních komplikací vyššího věku [34].
4. Spolupráci žen při dlouhodobé léčbě zlepšuje dostupnost informace o dosažené úpravě stavu skeletu účinkem užívaného léku [35].

V klinických studiích je nejčastěji užívaným druhotným kritériem účinnosti studovaného přípravku změna **denzity kostního mi-**

nerálu (BMD) v bederní páteři, proximálním femoru, případně v distálním předloktí a celotělově. Současně bývá ve studiích hodnocen mechanismus účinků léčby pomocí **biochemických markerů** kostní remodelace v séru nebo v moči.

Pacientku a ani jejího lékaře však příliš nezajímá, že se v klinické studii statisticky významně lišily průměrné hodnoty BMD (nebo biochemického markeru) u skupiny pacientek, které dostávaly placebo od skupiny, léčené vysokou dávkou léčebného přípravku. Klinicky relevantní je pouze informace, jak BMD (nebo marker) vypovídá o stupni odpovědi (snížení rizika zlomeniny) u dané jednotlivé osoby, léčené přípravkem v registrované dávce. Plátce zdravotní péče navíc zajímají náklady spojené s ověřováním účinnosti léčby u jednotlivých pacientek.

Co lze od monitorování léčby očekávat?

Protože HRT, raloxifen a bisfosfonáty statisticky významně snižují riziko zlomenin během prvních 3–4 let léčby (mají tedy ověřený příznivý efekt u většiny nemocných s osteoporózou), byl vyjádřen názor, že není třeba tento efekt monitorovat individuálně [36,37]. Navíc, na rozdíl od klinických studií není výpověď BMD ani biochemických markerů při monitorování účinnosti léčby u jednotlivých pacientek zcela jednoznačná. V mnoha případech jsou během léčby změny těchto ukazatelů malé. Je pak obtížné rozhodnout, zda je zjištěná změna BMD nebo markeru skutečně výrazem účinků léčby a nebo chyby měření. Náklady na monitorování léčbu prodražují.

Nástroje, které dnes máme pro monitorování účinnosti léčby k dispozici, skutečně neumožňují určit stupeň snížení rizika zlomeniny u dané pacientky během roční léčby. Monitorování účinnosti léčení však zcela nepochybně umožňuje identifikaci pacientek, které na terapii osteoporózy neodpovídají způsobem, který lze očekávat na základě známého mechanismu účinku zvoleného léku. V případě antiresorpčního léku je očekávaným efektem terapie snížení kostní remodelace a udržení nebo mírné zvýšení BMD. Počet pacientek, které takto na terapii nereagují, je při některých typech léčby nízký [38], ale někdy jde až o třetinu lěčených žen [39]. A právě tyto ženy mohou významně profitovat z přehodnocení základní diagnózy a případně z úpravy terapie.

Platí to i pro léčbu bisfosfonáty. Ani podávání alendronátu nemá u všech žen stejný efekt na kost. Po roce léčby alendronátem se BMD v kyčli zvýšila o více než 4 % u 22 % žen, u 59 % žen se zvýšila o nejvýše 4 %, u 17 % se BMD snížila až o 4 % a u 1 % žen byl úbytek vyšší. Přitom pacientky, jejichž BMD během léčby alendronátem klesá, mají dvojnásobné riziko zlomeniny obratlů v porovnání se ženami, jejichž BMD se zvyšuje [40]. V praxi je proto velmi důležité vědět, zda u dané pacientky BMD neklesá.

BMD jako nástroj monitorování účinků léčby na skelet

Osteodenzitometrické vyšetření skeletu poskytuje informaci o množství kostního minerálu ve vyšetřené úseku kosti (bone mineral content, BMC), o ploše vyšetřené úseku kosti a odvozeně o obsahu minerálu v plošné jednotce kosti (bone mineral density, BMD). Nevypovídá tedy o množství kostní hmoty, ani o množství minerálu v jednotce objemu kosti, ale o množství kostního minerálu v plošné projekci. Protože BMD vysvětluje více než 75 % variability mechanické odolnosti proximálního femoru [41], měření BMD v klinické praxi u jednotlivých pacientek:

1. je základním prostředkem ke zjištění osteoporózy [42–44],
2. pomáhá při rozhodování o léčebných opatřeních, vždy ale jen jako jeden z řady ukazatelů absolutního rizika zlomeniny [45],
3. je zatím nejdostupnějším a nejvíce doporučovaným způsobem monitorování účinnosti léčby na skelet [46,47].

Které denzitometrické metody užít pro monitorování?

Je vhodné užít dvouenergiovou rentgenovou absorpciometrii (DXA), která měří místa s největší odpovědí na léčbu (na změny

klinického stavu) a má nejlepší reprodukovatelnost. V praxi je výhodné používat vždy téhož osteodenzitometru. Přístroj by měl být dlouhodobě dostupný bez podstatnějších změn hardware i software. Předěje se tak problémům s přepočítáváním dřívějších hodnot BMD.

Která místa skeletu užít pro monitorování?

DXA bederní páteře je preferovaným místem pro monitorování změn BMD u žen po menopauze (dobrá reprodukovatelnost, odpověď na HRT). Protože ve vyšším věku jsou časté degenerativní a hyperostotické změny páteře, je však „zlatým standardem“ celkový proximální femur [48]. Chyba měření celkového proximálního femoru je menší, než chyba měření krčku femoru.

Odpověď na léčbu změnou BMD předloktí a celého těla je menší, než v páteři, nicméně u starších osob je to v praxi často jediné místo, kde lze změny BMD spolehlivě interpretovat. Střed radiu (kortikální kosti) je preferovaným místem pro monitorování hyperparatyreózy. Ostatní místa, jako krček femoru, trochanter, Wardův trojúhelník, boční páteř a celé tělo nemají být pro monitorování účinků léčby u dospělých osob užívána.

Je změna BMD, zjištěná při opakovaném vyšetření pacientky, významná?

Aby bylo možno hodnotit změnu za určitý časový interval jako statisticky významnou, je nutné znát chybu užitého přístroje i chybu operátora. Významnost změny BMD, zjištěná u dané pacientky po zvoleném časovém období závisí na **reprodukovatelnosti měření**, zvoleném intervalu spolehlivosti (zpravidla 95%), na stupni změny BMD a konečně také na počtu měření v daném časovém intervalu [49]. Aby bylo možno hodnotit chybu užitého přístroje a chybu jeho operátora, je nutné vyšetřit 30 pacientů, u každého provést 2 po sobě jdoucí měření v daném místě skeletu. Musí jít o nemocné, kteří jsou pro dané pracoviště typičtí věkem a pokročilostí osteoporózy. Alternativou je vyšetřit 15 pacientů, a vyšetření opakovat třikrát. Po každém měření je třeba pacienta znovu uložit a polohovat. Pro každého měřeného pacienta se vypočte průměrná hodnota BMD, její SD a variační koeficient (CV%). Pro celou měřenou skupinu 15 pacientů se vypočte nejmenší významná změna ($LSC = 2,77 \times \text{chyba měření (pro 95\% hladinu spolehlivosti)}$) (v g/cm²). Vyjadřování v procentech není doporučeno. Příklad výpočtu je uveden v *tabulce 1*. LSC platí pro daný přístroj a daného operátora, ale pokud je osteodenzitometr obsluhován větším počtem operátorů, je výhodné užít LSC, která je průměrem LSC jednotlivých operátorů. LSC pochopitelně platí jen pro tu oblast skeletu, kde byla výše uvedeným způsobem ověřena. Pro každé místo skeletu je tedy LSC stanovena zvlášť. Stanovení reprodukovatelnosti in vivo nemůže být nahrazováno ani údajem o reprodukovatelnosti z jiného pracoviště, údajem poskytnutým výrobcem přístroje, ani údajem, získaným reprodukovatelností měření fantomu. Při interpretaci LSC je třeba zvažovat, že BMD se může měnit oběma směry a proto ženy, kterým během prvního roku léčby poklesla BMD, mohou vykazovat při dalším měření nárůst BMD [50].

Publikované koeficienty variance (CV) pro centrální DXA jsou 0,5–3 %, pro QCT bederní páteře 1–4 %, pro periferní QCT 1–2 %, a pro periferní DXA kolem 1 % [51–54]. DXA bederní páteře má nejlepší přesnost (0,5–1 %) [55]. Neznačená to, že metody s nejmenší chybou přesnosti jsou nezbytně nevhodnější pro monitorování změn BMD při léčbě. Záleží totiž také na stupni změny BMD, a ta je zpravidla v různých úsecích skeletu rozdílná (viz výše). Výhodnost monitorování změn BMD při léčbě opakovaným měřením bederní páteře nezpochybňuje ani možnost kolísání množství tukové a svalové hmoty.

Samozřejmým předpokladem pro hodnocení změny v BMD je zvolení téže oblasti zájmu (ROI) při základním a následném měření. Umístění ROI musí být identické (tytéž obratle), velikost ob-

lasti musí být obdobná ($\pm 1\%$) a při opakovaném vyšetření se v této oblasti nesmí objevit nový artefakt (např. komprese obratle). Poloha pacientky musí být při všech opakovaných vyšetřeních obdobná.

Interpretace výsledků opakovaného měření BMD u dané pacientky musí respektovat klinické aspekty. Pokud během léčby poklesne BMD v daném místě skeletu o méně, než kolik činí LSC, je třeba léčbu považovat za účinnou. U jednotlivé pacientky se dá považovat za neúspěch léčby ve smyslu změny BMD až pokles BMD větší, než činí LSC. Pro posouzení klinické významnosti změny BMD je třeba zvažovat také typ léčby a úsek skeletu, kde se měří BMD. Pro monitorování stavu skeletu se nemá užívat T-skóre, Z-skóre nebo %, ale vždy se má užívat změny BMD (g/cm²). Na otázku, s jakou jistotou vypovídá zjištěná změna BMD o skutečné změně, odpovídá *tabulka 2*.

Kdy opakovat měření BMD?

Interval monitorování je ovlivněn jak hodnotou LSC, tak rozsahem odpovědi BMD na léčbu. U neléčených osob závisí interval monitorování na výchozí hodnotě BMD, věku a aktivitě onemocnění. Protože u jednotlivých osob nelze predikovat rychlost úbytku kostní hmoty, je praktičtější opakovat denzitometrické vyšetření po době, kdy lze v daném místě skeletu předpokládat změnu BMD větší, než je LSC v daném místě skeletu. Jako příklad uveďme, že pokud je typicky chyba měření (%CV) BMD v krčku femoru 1,5 %, pak při 95% hladině spolehlivosti $LSC = 1,5\% \times 2,77 = 4,2\%$. Opakovat měření má v tomto případě smysl až po době, za kterou podle klinických zkušeností ubude přes 4 % BMD v krčku femoru. Bylo doporučeno opakovat měření BMD bederní páteře po 1–2 letech a podobně také měření celkového proximálního femoru. Vzhledem k reprodukovatelnosti ultrazvukového vyšetření a stupni změny ultrazvukových parametrů patní kosti by mělo smysl měření opakovat až po 5 letech [56]. Je třeba zohlednit, že terapie různými léky je spojena s různě velkou změnou BMD.

U nemocných léčených glukokortikoidy je doporučeno opakovat osteodenzitometrické vyšetření po 6 měsících od zahájení léčby. Totéž platí pro dlouhodobě imobilizované pacienty. Naopak pacienty s již dokumentovanou příznivou odpovědí na HRT a bisfosfonáty lze opakovat vyšetřit po 2 letech, pokud se nezměnil klinický stav pacienta.

I malé zvýšení BMD může být spojeno s klinicky významným snížením rizika zlomeniny – další aspekty kvality kostní hmoty

Cílem léčby nemocných s osteoporózou je snížit jejich riziko zlomeniny. BMD páteře se po 3 letech léčby antiresorpčními přípravky průměrně zvyšuje o 6 % (alendronát), případně o 2,5 % (raloxifen), nebo i jen o 1 % (kalcitonin). Během této doby však prokazatelně klesá riziko zlomeniny obratlů o 30–50 % při terapii všemi těmito antiresorpčními léky. Změnami BMD lze vysvětlit jen 4–25 % snížení rizika zlomenin při antiresorpční léčbě [57]. Mechanické vlastnosti kosti totiž závisí nejenom na BMD, ale i na řadě ukazatelů kvality kosti. Léky ovlivňují kvalitu kostní hmoty různým mechanismem a v různém stupni. Řadu z ukazatelů kvality kosti lze objektivně a kvantitativně hodnotit, zatím však zpravidla jen na specializovaných pracovištích. Patří sem měření distribuce a kvality kostního minerálu pomocí mikroradiografie [58] nebo úzkouhlové analýzy rozptylu rtg záření (SAXS) [59], stejně jako hodnocení kvality kolagenu typu I [60,61], mikroarchitektury kosti [62,63], geometrie kosti [64], stupně remodelace kosti [65], a ultrazvukových parametrů trámčité nebo kortikální kosti [66].

Dvou z uvedených ukazatelů kvality kosti lze s výhradami využít pro monitorování léčby. Jsou to **kvantitativní ultrasonometrie kosti** (QUS) a vyšetření biochemických markerů kostní remodelace v krvi nebo v moči. Využití QUS v praxi pro diagnostiku a monitorování léčby zatím brání nejenom skutečnost, že na rychlost

průchodu ultrazvukového signálu kostí (SOS) a zeslabení signálu (BUA) mají v různém stupni vliv různé ukazatele kvality kosti (obsah kostního minerálu, uspořádání kostních trámčů a elasticita kostí [56], ale také horší reprodukovatelnost QUS v porovnání s DXA (CV je typicky 2%), a značná interindividuální variabilita měření QUS. Zatímco výpověď QUS o budoucím riziku zlomenin je dobře dokumentována [56,67], chybí studie o výpovědi změn QUS během léčby o změně rizika zlomenin.

Biochemické markery kostní remodelace jako nástroj monitorování účinků léčby na skelet

Výhrady uvedené pro QUS do značné míry odpadají při měření biochemických markerů kostní remodelace. Zvýšení biochemických markerů osteoresorpce nad horní mez premenopauzálního rozmezí jejich hodnot je již validovaným kritériem rizika zlomenin [68]. Vysvětlením této výpovědní hodnoty markerů je jednak rychlejší pokles BMD u žen s dlouhodobě zvýšenou osteorespocí (vyššími hodnotami markerů), jednak zhoršení mikroarchitektury kosti v důsledku perforace kostních trámčů. Markery tedy nejsou náhradou za BMD, ale upřesňují výpověď BMD o riziku zlomenin.

Monitorování léčby pomocí markerů umožňuje identifikaci pacientek, u kterých při léčbě koncentrace markeru osteoresorpce zůstává v rozmezí LSC nebo se zvyšuje (graf 1). Tyto ženy mohou významně profitovat z přehodnocení základní diagnózy a případně z úpravy terapie. Dalším argumentem pro monitorování účinnosti léčby je lepší pravidelnost užívání léku a setrvávání na terapii u pacientek, které znají výsledky měření markeru. Potvrdilo se to např. u žen užívajících risedronát [69].

U žen s postmenopauzální osteoporózou, léčených raloxifenem již byla potvrzena výpověď biochemických markerů o změně rizika zlomenin. U velké sestavy žen vypovídaly krátkodobé změny koncentrace S-OC o pozdějším snížení rizika zlomenin, zatímco BMD tuto výpovědní hodnotu neměly [70]. U jednotlivé pacientky nelze ani ze změny BMD, ani biochemického markeru predikovat, zda právě tato pacientka bude mezi léčenými ženami tou, která zlomeninu neutrpí.

Je změna markeru, zjištěná při opakovaném vyšetření pacientky, významná?

V mnoha případech jsou změny biochemických markerů během léčby malé, a podobně jako to platí pro BMD, rozdíly mezi dvěma po sobě jdoucími měřeními markeru mohou vyjadřovat nejen skutečnou změnu, ale také chybu jeho měření. Je pak obtížné rozhodnout, zda je zjištěná změna markeru skutečně výrazem účinků léčby a nebo chyby měření. Při posuzování stupně změny markeru je třeba (podobně jako pro BMD) uvažovat nejmenší významnou změnu markeru (LSC). Změna markeru, nutná pro dosažení významnosti při $p < 0,05$ (LSC) je v případě deoxypyridinolinu, NTX a CTX v moči typicky 26 %, 70 % a 132 %. V případě osteokalcinu, PINP a osteoklastické ACP v séru je to typicky 21 %, 21 % a 17% [71].

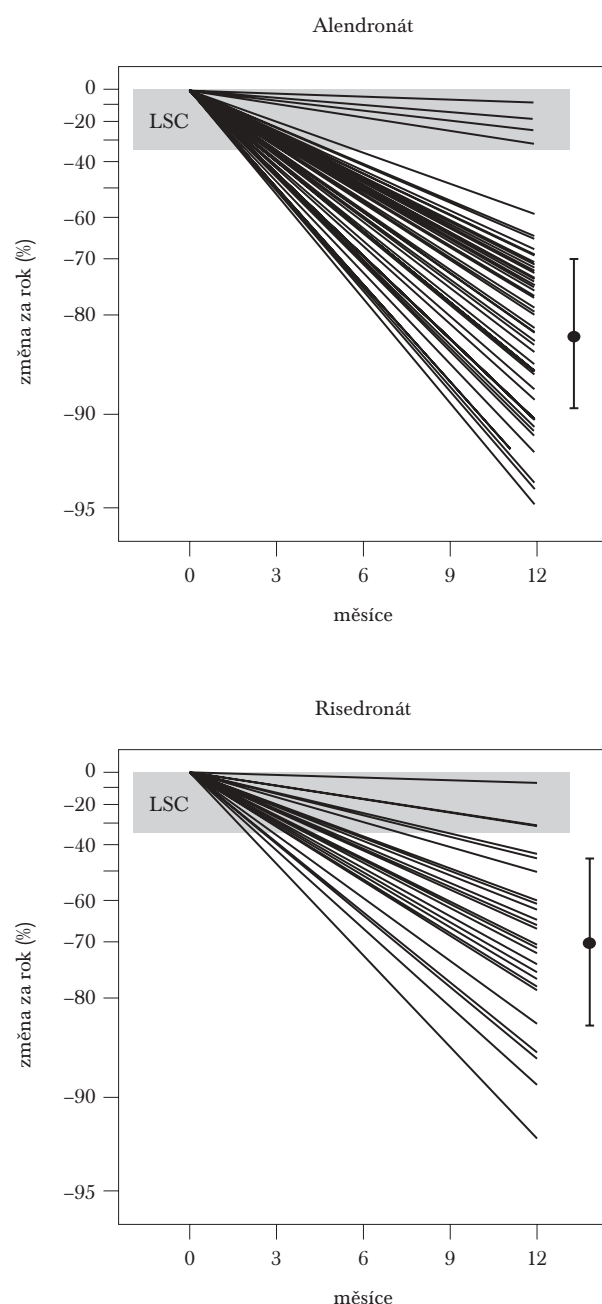
Výpovědní hodnota vyšetření biochemických markerů

Biochemické vyšetření u nemocných s kostním metabolickým onemocněním, tedy i u žen s osteoporózou, je jedním z nezbytných východisek při diferenciální diagnostice a při rozhodování o povaze a aktivitě procesu a o vhodné léčbě. Během několika týdnů po zahájení léčby se hodnoty biochemických markerů snižují a po 3–6 měsících podávání estrogenů nebo raloxifenu dosahují průměru normálního rozmezí, tj. rozmezí hodnot u žen před menopauzou. Při léčbě risedronátem dosahují markery průměrných koncentrací mírně nad dolní hranici normy, při léčbě alendronátem klesají v průměru pod dolní hranici normálního rozmezí. Marker osteoresorpce lze měřit už po 3 až 6 měsících a posuzovat procentuální pokles koncentrace markeru v porovnání s basální hodnotou. Současně lze posoudit, jakých hodnot dosáhla koncentrace marke-

ru vzhledem k normálnímu rozmezí hodnot markeru u žen před menopauzou. Pro některé typy léčby byla již určena nejmenší změna markeru, která je spojena s prokazatelnou změnou BMD po roce léčby. Rozlišovací hodnoty (odpovídající nejmenší významné

Graf 1

Pokles biochemického markeru osteoresorpce (C-terminální telopeptid kolagenu typu I v séru, S-CTX) po roce p.o. léčby alendronátem (10 mg/den) nebo risedronátem (5 mg/den) u žen s postmenopauzální osteoporózou. Svislá úsečka vyjadřuje průměr a rozmezí 1 SD. Šedá zóna vyjadřuje nejmenší významnou změnu markeru (LSC). Významným poklesem S-CTX odpovídalo na léčbu 92 % žen léčených alendronátem a 90 % žen léčených risedronátem. Obdobně významné zvýšení BMD bylo při DXA bederní páteře zjištěno u 56 % žen léčených alendronátem a u 52 % žen léčených risedronátem.



změně) lze určit s předem stanovenou specifikou nebo senzitivitou pro každý marker. O dobré odpovědi na léčbu estrogeny ve smyslu změny BMD vypovídá s 90% senzitivitou pokles U-NTX a U-CTX o 45 %, S-CTX o 35 %, U-DPD, S-OC a S-kostní ALP o 20 %. O dobré odpovědi na léčbu alendronátem vypovídá pokles U-NTX a U-CTX o 65 %, S-CTX o 55 %, U-DPD o 30 % a S-OC a S-kostní ALP o 40 % [72]. Zatím nejsou stanovena podobná kritéria u pacientů léčených raloxifenem ani risedronátem.

Interpretace změn markerů v praxi – kdy vyšetřit kostní markery

Cílem monitorování změn biochemických markerů není hodnocení stupně snížení rizika zlomeniny u dané pacientky během léčby, ale identifikace pacientek, které na léčbu neodpovídají předpokládaným způsobem. Nepřiměřeně malé snížení markeru upozorňuje, že pacientka lék neužívá předepsaným způsobem, že se efekt léku dostatečně neuplatňuje, nebo že původní diagnóza nebyla správná. V praxi však takovéto osamocené nesnížení markeru po několika měsících léčby není dostatečným důvodem k přerušení léčby. Za ekonomičtější proto považujeme měřit v rámci diferenciální diagnostiky marker u všech nemocných před zahájením léčby. Po 1 roce léčby (nebo později) posuzujeme marker jen u těch pacientek, jejichž BMD průkazně klesá. Pokud se marker u těchto žen po roce léčby prokazatelně upravil, považujeme za vhodné ověřit BMD, a pokračovat v léčbě do další kontroly. Pokud je výpověď obou vyšetření souhlasná, tedy pokud se po roce léčby BMD prokazatelně zhoršila a marker zůstává nezměněn, považujeme za vhodné zjistit důvody pro malý efekt léčby, přehodnotit indikaci léku, případně diagnózu.

Výjimkou z uvedené zkušenosti je monitorování léčby kalcitoninem. Při této léčbě je totiž snížení markerů kostní remodelace (v průměru o 15–20 %) zhruba o polovinu menší, než je LSC měření markerů [73]. Z mechanismu účinku kalcitoninu však vyplývá, že na ověření účinnosti léku není třeba (na rozdíl od bisfosfonátů nebo raloxifenu) čekat měsíce nebo rok, ale že efekt na kost dané pacientky lze ověřit již za 90 minut po aplikaci léku opakovaným změřením sérové koncentrace markeru osteoresorpce. U kalcitoninu má takové ověřování význam, protože s pokračujícím trváním léčby přibývá nemocných, kteří na léčbu nereagují. Podle našich zkušeností je to po 3 letech až čtvrtina léčených žen [39]. Při jiných typech léčby jsou nereagujících pacientů jen procenta.

Otevřenou otázkou zůstává zavedení biochemických markerů do klinické praxe. Prozatím totiž žádný z výzkumně užívaných markerů není standardizován. Výsledky měření markerů v témže vzorku séra se v různých laboratořích velmi významně liší (až o 700 %) [74]. Pokud klinické pracoviště chce markerů užívat, musí místní laboratoř zvolený marker plně validovat a stanovit vlastní normální hodnoty [72]. Praktické využití markerů je také limitováno cenou vyšetření, která je u nás dvojnásobná proti DXA.

Závěrem lze uvést, že nástroje, které jsou v současné době dostupné pro monitorování léčby (BMD a biochemické markery), umožňují identifikovat ty pacientky, které z nějakého důvodu na léčbu přiměřeně neodpovídají (anebo ji vůbec neužívají). Klinikou výpověď těchto nástrojů je třeba hodnotit se znalostí nepřesností měření daného parametru na daném pracovišti. Změna měřeného parametru musí být větší, než nepřesnost měření (LSC). Během prvního roku účinné léčby lze pomocí DXA bederní páteře zjistit průkazné zvýšení BMD u poloviny pacientek léčených alendronátem nebo risedronátem, ale jen u čtvrtiny pacientek léčených raloxifenem. U zbytku léčených žen se BMD průkazně nemění, případně (jen u malého procenta pacientek) průkazně klesá. Současným hodnocením BMD a markeru osteoresorpce lze účinnost léčby posuzovat objektivněji, než pouze sledováním BMD. Vyšetření biochemických markerů však zatím není v klinické praxi zavedeno, protože není standardizováno a je nákladnější než DXA.

Předneseno na Pracovním dnu SMOS, Praha 15. 5. 2003.

Literatura

- Lufkin EG, Whitaker MD, Nickelsen T, et al. Treatment of established postmenopausal osteoporosis with raloxifene: a randomized trial. *J Bone Miner Res* 1998; 13:1747–54.
- Maricic M, Adachi JD, Sarkar S, et al. Early effects of raloxifene on clinical vertebral fractures at 12 months in postmenopausal women with osteoporosis. *Arch Intern Med* 2002;162:1140–3.
- Polis HA, Felsenberg D, Hanley DA, et al. Multinational, placebo-controlled, randomized trial of the effects of alendronate on bone density and fracture risk in postmenopausal women with low bone mass: results of the FOSIT study. *Foxamax International Trial Study Group. Osteoporos Int* 1999;9:461–8.
- Reginster J, Minne HW, Sorensen OH, et al. Randomized trial of the effects of risedronate on vertebral fractures in women with established postmenopausal osteoporosis. *Vertebral Efficacy with Risedronate Therapy (VERT) Study Group. Osteoporos Int* 2000;11:83–91.
- Cranney A, Tugwell P, Adachi J, et al. Meta-analysis of risedronate for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Endocr Rev* 2002;23:517–523.
- Cranney A, Wells G, Willan A, et al. Meta-analysis of alendronate for the treatment of postmenopausal women. *Endocr Rev* 2002;23:508–516.
- Cranney A, Tugwell P, Zytaruk N, et al. Meta-analysis of raloxifene for the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Endocr Rev* 2002;23:524–528.
- Wells G, Tugwell P, Shea B, et al. Meta-analysis of the efficacy of hormone replacement therapy in treating and preventing osteoporosis in postmenopausal women. *Endocr Rev* 2002;23:529–539.
- Cranney A, Tugwell P, Zytaruk N, et al. Meta-analysis of calcitonin for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Endocr Rev* 2002;23:540–551.
- van Beek E, Pieterman E, Cohen L, et al. Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;264:108–11.
- Reszka AA, Halasy Nagy JM, Masarachia PJ, et al. Bisphosphonates act directly on the osteoclast to induce caspase cleavage of mst1 kinase during apoptosis. A link between inhibition of the mevalonate pathway and regulation of an apoptosis-promoting kinase. *J Biol Chem* 1999;274:34967–73.
- Bergstrom JD, Bostedor RG, Masarachia PJ, et al. Alendronate is a specific, nanomolar inhibitor of farnesyl diphosphate synthase. *Arch Biochem Biophys* 2000; 373:231–41.
- Benford HL, Frith JC, Auriola S, et al. Farnesol and geranylgeraniol prevent activation of caspases by aminobisphosphonates: biochemical evidence for two distinct pharmacological classes of bisphosphonate drugs. *Mol Pharmacol* 1999;56: 131–40.
- Colucci S, Minielli V, Zamboni G, et al. Alendronate reduces adhesion of human osteoclast-like cells to bone and bone protein-coated surfaces. *Calcif Tissue Int* 1998;63:230–5.
- Benford HL, McGowan NW, Helfrich MH, et al. Visualization of bisphosphonate-induced caspase-3 activity in apoptotic osteoclasts in vitro. *Bone* 2001;28: 465–73.
- Still K, Phipps RJ, Scutt A. Effects of risedronate, alendronate, and etidronate on the viability and activity of rat bone marrow stromal cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 2003;72:145–150.
- Eriksen EF, Melsen F, Sod E, et al. Effect of long-term risedronate on bone quality and bone turnover in women with postmenopausal osteoporosis. *Bone* 2002; 31:620–625.
- Currey JD. Changes in the impact energy absorption of bone with age. *J Biomech* 1979;12:459–69.
- Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21:115–37.
- Boivin GY, Chavassieux PM, Santora AC, et al. Alendronate increases bone strength by increasing the mean degree of mineralization of bone tissue in osteoporotic women. *Bone* 2000;27:687–94.
- Meunier PJ, Boivin G. Bone mineral density reflects bone mass but also the degree of mineralization of bone: therapeutic implications. *Bone* 1997;21:373–7.
- Boivin G, Meunier PJ. Effects of bisphosphonates on matrix mineralization. *J Musculoskel Neuron Interact* 2002;2:538–543.
- Mashiba T, Turner CH, Hirano T, et al. Effects of suppressed bone turnover by bisphosphonates on microdamage accumulation and biomechanical properties in clinically relevant skeletal sites in beagles. *Bone* 2001;28:524–31.
- Black DM, Cummings SR, Karpf DB, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. *Fracture Intervention Trial Research Group. Lancet* 1996;348(9041):1535–41.
- Liberman UA, Weiss SR, Broll J, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333:1437–43.
- Cummings SR, Black DM, Thompson DE, et al. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. *JAMA* 1998;280:2077–82.
- Tonino RP, Meunier PJ, Emkey R, et al. Skeletal benefits of alendronate: 7-year treatment of postmenopausal osteoporotic women. Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3109–15.

28. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2001;344:1434–41.
29. Khastgir G, Studd J, Holland N, et al. Anabolic effect of estrogen replacement on bone in postmenopausal women with osteoporosis: histomorphometric evidence in a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:289–95.
30. Writing Group for the Women's Health Initiative I. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:321–33.
31. Taranta A, Brama M, Teti A, et al. The selective estrogen receptor modulator raloxifene regulates osteoclast and osteoblast activity in vitro. *Bone* 2002;30:368–76.
32. Delmas PD, Ensrud KE, Adachi JD, et al. Efficacy of raloxifene on vertebral fracture risk reduction in postmenopausal women with osteoporosis: four-year results from a randomized clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:3609–17.
33. Meunier PJ, Sebert JL, Reginster JY, et al. Fluoride salts are no better at preventing new vertebral fractures than calcium-vitamin D in postmenopausal osteoporosis: the FAVOS study. *Osteoporos Int* 1998;8:4–12.
34. Cauley JA, Norton L, Lippman ME, et al. Continued breast cancer risk reduction in postmenopausal women treated with raloxifene: 4-year results from the MORE trial. Multiple outcomes of raloxifene evaluation. *Breast Cancer Res Treat* 2001;65:125–34.
35. Silverman SL, Greenwald M, Klein RA, et al. Effect of bone density information on decisions about hormone replacement therapy: a randomized trial. *Obstet Gynecol* 1997;89:321–5.
36. Blake GM, Fogelman I. The role of bone density measurements in the evaluation of new treatments for osteoporosis. *Curr Pharm Des* 2002;8:1885–1905.
37. Compston JE. Do we need to monitor anti-osteoporosis treatment anyway? *Calcif Tissue Int* 2003;72:328.
38. Cummings SR, Palermo L, Browner W, et al. Monitoring osteoporosis therapy with bone densitometry: misleading changes and regression to the mean. *Fracture Intervention Trial Research Group. JAMA* 2000;283:1318–21.
39. Štěpán JJ, Zikan V. Calcitonin load test to assess the efficacy of salmon calcitonin. *Clin Chim Acta* 2003;v tisku.
40. Hochberg MC, Ross PD, Black D, et al. Larger increases in bone mineral density during alendronate therapy are associated with a lower risk of new vertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. *Fracture Intervention Trial Research Group. Arthritis Rheum* 1999;42:1246–54.
41. Courtney AC, Wachtel EF, Myers ER, et al. Effects of loading rate on strength of the proximal femur [published erratum appears in *Calcif Tissue Int* 1994 Nov;55:402]. *Calcif Tissue Int* 1994;55:53–8.
42. Kanis JA, Johnell O, Oden A, et al. Ten year probabilities of osteoporotic fractures according to BMD and diagnostic thresholds. *Osteoporos Int* 2001;12:989–95.
43. Kanis JA, Johnell O, Oden A, et al. Risk of hip fracture according to the World Health Organization criteria for osteopenia and osteoporosis. *Bone* 2000;27:585–90.
44. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. Geneva: World Health Organisation; 1994.
45. Kanis JA. Assessing the risk of vertebral osteoporosis. *Singapore Med J* 2002;43:100–5.
46. Miller PD, Zapalowski C, Kulak CA, et al. Bone densitometry: the best way to detect osteoporosis and to monitor therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1867–71.
47. Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical use of bone densitometry: scientific review. *JAMA* 2002;288:1889–97.
48. Kanis JA, Gluer CC. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int* 2000;11:192–202.
49. Bonnick SL, Johnston CC, Jr., Kleerekoper M, et al. Importance of precision in bone density measurements. *J Clin Densitom* 2001;4:105–10.
50. Cummings SR, Parfitt AM. Bone density regression to the mean and the individual patient. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4001–2.
51. Haddaway MJ, Davie MW, McCall IW. Bone mineral density in healthy normal women and reproducibility of measurements in spine and hip using dual-energy X-ray absorptiometry. *Br J Radiol* 1992;65(771):213–7.
52. Sievanen H, Koskue V, Rauhio A, et al. Peripheral quantitative computed tomography in human long bones: evaluation of in vitro and in vivo precision. *J Bone Miner Res* 1998;13:871–82.
53. Heilmann P, Wuster C, Prolingheuer C, et al. Measurement of forearm bone mineral density: comparison of precision of five different instruments. *Calcif Tissue Int* 1998;62:383–7.
54. Michaeli DA, Mirshahi A, Singer J, et al. A new x-ray based osteoporosis screening tool provides accurate and precise assessment of phalanx bone mineral content. *J Clin Densitom* 1999;2:23–30.
55. Sievanen H, Oja P, Vuori I. Precision of dual-energy x-ray absorptiometry in determining bone mineral density and content of various skeletal sites. *J Nucl Med* 1992;33:1137–42.
56. Gluer CC. Quantitative ultrasound techniques for the assessment of osteoporosis: expert agreement on current status. The International Quantitative Ultrasound Consensus Group. *J Bone Miner Res* 1997;12:1280–8.
57. Harris ST, Watts NB, Genant HK, et al. Effects of risedronate treatment on vertebral and nonvertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial. Vertebral Efficacy With Risedronate Therapy (VERT) Study Group. *JAMA* 1999;282:1344–52.
58. Boivin G, Chavassieux P, Meunier P. Histomorphometry of bone. Effects of different treatments on bone remodeling and mineralization. *Osteologicky Bull* 2002;7:5–9.
59. Roschger P, Rinnerthaler S, Yates J, et al. Alendronate increases degree and uniformity of mineralization in cancellous bone and decreases the porosity in cortical bone of osteoporotic women. *Bone* 2001;29:185–91.
60. Weichtova M, Štěpán JJ, Michalska D, et al. COL1A1 polymorphism contributes to bone mineral density to assess prevalent wrist fractures. *Bone* 2000;26:287–90.
61. Garnero P, Cloos P, Sornay-Rendu E, et al. Type I collagen racemization and isomerization and the risk of fracture in postmenopausal women: The OFELY prospective study. *J Bone Miner Res* 2002;17:826–33.
62. Genant HK, Gordon C, Jiang Y, et al. Advanced imaging of the macrostructure and microstructure of bone. *Horm Res* 2000;54 (Suppl 1):24–30.
63. Majumdar S. Magnetic resonance imaging of trabecular bone structure. *Top Magn Reson Imaging* 2002;13:323–34.
64. Faulkner KG, Cummings SR, Nevitt MC, et al. Hip axis length and osteoporotic fractures. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *J Bone Miner Res* 1995;10:506–8.
65. Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustat B, et al. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 2000;15:1526–36.
66. van den Bergh JP, van Lenthe GH, Hermus AR, et al. Speed of sound reflects Young's modulus as assessed by microstructural finite element analysis. *Bone* 2000;26:519–24.
67. Njeh CF, Hans D, Li J, et al. Comparison of six calcaneal quantitative ultrasound devices: precision and hip fracture discrimination. *Osteoporos Int* 2000;11:1051–62.
68. Garnero P. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk. *Osteoporos Int* 2000;11(Suppl 6):55–65.
69. Eastell R, Garnero P, Vrijens B, et al. Influence of patient compliance with risedronate therapy on bone turnover marker and bone mineral density response: The IMPACT Study. *Calcif Tissue Int* 2003;72:408.
70. Bjarnason NH, Sarkar S, Duong T, et al. Six and twelve month changes in bone turnover are related to reduction in vertebral fracture risk during 3 years of raloxifene treatment in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* 2001;12:922–30.
71. Hannon R, Blumsohn A, Naylor K, et al. Response of biochemical markers of bone turnover to hormone replacement therapy: impact of biological variability. *J Bone Miner Res* 1998;13:1124–33.
72. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, et al. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int* 2000;11:612–17.
73. Chesnut CH, Silverman S, Andriano K, et al. A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study. PROOF Study Group. *Am J Med* 2000;109:267–76.
74. Seibel MJ, Lang M, Geilenkeuser WJ. Interlaboratory variation of biochemical markers of bone turnover. *Clin Chem* 2001;47:1443–50.