

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

JULIJAN STROPNIK

MAGISTRSKA NALOGA

MAGISTRSKI ŠTUDIJ LABORATORIJSKA BIOMEDICINA

Ljubljana, 2014

Univerza  
v Ljubljani

Fakulteta  
*za farmacijo*



JULIJAN STROPNIK

**UPORABA KOSTNIH BIOKEMIJSKIH KAZALCEV ZA OCENJEVANJE  
ZAPLETOV PRI TERAPIJI Z ZAVIRALCI ALFA-REDUKTAZE**

THE USE OF BIOCHEMICAL BONE MARKERS FOR THE ASSESSMENT OF  
COMPLICATIONS IN THE TREATMENT WITH ALPHA-REDUCTASE INHIBITORS

MAGISTRSKA NALOGA

Ljubljana, 2014

Magistrsko nalogo sem opravljal na Fakulteti za farmacijo, na Katedri za klinično biokemijo, pod mentorstvom prof. dr. Janje Marc, mag.farm., spec. med. biokem..

Zahvaljujem se svoji mentorici, prof.dr. Janji Marc, mag.farm., spec.med.biokem. za vse strokovne napotke in vodenje pri nastajanju magistrske naloge.

Hvala tudi mag. Klemnu Jagodič, dr.med., spec. urologije za vzorce in podatke o bolnikih ter asist. dr. Simoni Mencej Bedrač, mag. farm. za pomoč pri statistični obdelavi podatkov. Iskrena hvala mag. Branki Svetic, spec.med.biokem. za strokovno pomoč pri tehnični izvedbi meritev.

Prav posebej bi se želel zahvaliti tudi svoji družini, ženi Sonji ter sinovoma Dorijanu in Izidorju. Usklajevanje študija od rednem delu in družini je bila težka naloga. Brez njihovega razumevanja, prilagajanja in potrpežljivosti, bi težko dosegel ta cilj, ki sem si ga zadal.

### **Izjava**

**Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelal pod mentorstvom prof. dr. Janje Marc, mag.farm., spec. med. biokem..**

Ljubljana, september 2014

*Julijan Stropnik*

Predsednik komisije: prof.dr. Janko Kos, mag.farm.

Član komisije: doc.dr. Jurij Trontelj, mag. farm.

## VSEBINA

POVZETEK .....	I
ABSTRACT .....	III
SEZNAM OKRAJŠAV .....	V
SEZNAM SLIK IN PREGLEDNIC .....	VIII
I UVOD .....	1
1.1 Benigna hiperplazija prostate .....	1
1.1.1 Anatomija prostate .....	1
1.1.2 Etiologija in patofiziologija BHP .....	2
1.1.3 Klinična slika in simptomi .....	2
1.1.4 Diagnoza .....	3
1.1.5 Zdravljenje .....	4
1.2 5 $\alpha$ - reduktaza .....	6
1.2.1 Vpliv androgenov na kosti .....	7
1.3 Ocenjevanje vpliva endogenih in eksogenih snovi na kosti .....	8
1.4 C-terminalni telopeptid kolagena tipa I (CTX) .....	9
1.5 Osteokalcin (OC) .....	9
1.6 Celokupni N-terminalni propeptid prokolagen tipa I (P1NP) .....	10
1.7 Vitamin – D (VitD) in uravnavanje kostne remodelacije .....	10
1.8 Parathormon (PTH) in uravnavanje kostne remodelacije .....	11
II NAMEN DELA .....	12
III MATERIALI IN METODE .....	13
3.1. Preiskovana skupina .....	13
3.2. Merjenje biokemijskih kazalcev kostne remodelacije v serumu .....	13
3.2.1. Elektro-kemiluminiscentna imunokemijska metoda .....	13
3.2.2. Merjenje koncentracije CTX, OC in P1NP .....	15
3.2.3. Merjenje koncentracije 25(OH)-VitD .....	17
3.2.4. Merjenje koncentracije PTH .....	18
3.3 Statistične metode .....	19
3.3.1. Kolmogorov – Smirnov in Shapiro – Wilkov test normalnosti porazdelitve .....	19
3.3.2. Statistična analiza razlik med podskupinami .....	19
3.3.3. Korelacijska analiza .....	20
IV REZULTATI IN RAZPRAVA .....	21
4.1. Uporabljene metode in analiza vzorcev .....	21
4.2. Ocena vpliva finasterida na kostno remodelacijo .....	22
4.2.1. Ocena vpliva finasterida na koncentracijo CTX .....	22
4.2.2. Ocena vpliva finasterida na koncentracijo OC .....	26
4.2.3. Ocena vpliva finasterida na koncentracijo P1NP .....	28

4.3.	Ocena vpliva dutasterida na kosti.....	31
4.3.1.	Ocena vpliva dutasterida na koncentracijo CTX.....	31
4.3.2.	Ocena vpliva dutasterida na koncentracijo OC.....	34
4.3.3.	Ocena vpliva dutasterida na koncentracijo PINP.....	37
4.4.	Primerjava kostnih učinkov finasterida in dutasterida.....	39
4.4.1.	Ocena razlik v učinku finasterida in dutasterida na koncentracijo CTX.....	40
4.4.2.	Ocena razlik v učinku finasterida in dutasterida na koncentracijo OC.....	41
4.4.3.	Ocena razlik v učinku finasterida in dutasterida na koncentracijo PINP.....	41
V	SKLEP.....	42
VI	LITERATURA.....	44
	PRILOGA.....	49

## POVZETEK

Benigna hiperplazija prostate je kronično, s staranjem povezano, stanje oziroma bolezen. Pomembno vlogo pri razvoju in napredovanju bolezni ima zvišana koncentracija dihidrotestosterona (DHT), ki se v prostati tvori iz testosterona s pomočjo encima 5- $\alpha$  reduktaze (5AR). Pri zdravljenju bolnikov z benigno hiperplazijo prostate se najpogosteje uporablja farmakološko zdravljenje z zaviralci encima 5- $\alpha$  reduktaza (5ARI), finasteridom (FI) in dutasteridom (DU), ki posredno znižata koncentracijo DHT. Zmanjšanje biološko aktivnih androgenov, kot je DHT, bi ob takšni terapiji lahko posledično povzročilo neželene učinke na kosti in nastanek osteoporoze. V naši študiji smo pri 70 bolnikih z BHP ocenjevali, ali terapija s finasteridom in dutasteridom po polletni oziroma po enoletni terapiji vodi v pojav neželenih učinkov na kostnem tkivu. Vsem bolnikom smo izmerili serumske koncentracije kostnih biokemijskih kazalcev (CTX, OC, P1NP), 25(OH)-VitD ter PTH, pred pričetkom, po 6 mesecih in po 12 mesecih terapije ter ocenili korelacijo in razlike teh parametrov pri obeh vrstah terapije. Analiza je pokazala, da se je koncentracija CTX pri enoletni terapiji s FI statistično značilno povečala ( $p=0,020$ ) in sicer za 38,5%, medtem, ko se je pri terapiji z DU koncentracija CTX sicer tudi povečala za 29,2 %, vendar ta sprememba ni bila statistično značilna ( $p=0.145$ ). Omenjeno povišanje ni klinično pomembno, saj je sprememba še vedno znotraj orientacijskih referenčnih vrednosti za CTX za to starostno obdobje. Pri ostalih kostnih kazalcih, OC in P1NP, nismo potrdili statistično značilnih razlik v obdobju enoletne terapije, ne pri finasteridu kot tudi ne pri dutasteridu. Koncentracija le-teh je bila praktično nespremenjena oziroma konstantna. S korelacijo smo ugotovili tudi, da med kostnimi kazalci (CTX, OC, P1NP) obstaja pozitivna povezava, ki je glede na moč povezave dobra do zelo dobra. Vse povezave so bile tudi statistično značilne ( $p<0,05$ ). Ugotovljeno potrjuje smiselnost rezultatov in odraža fiziološke procese v kostnem tkivu. Znano je namreč, da proces razgradnje kvantitativno spremlja proces tvorbe. Ugotavljamo, da tvorba po uvedbi enoletne terapije z 5ARI, kljub ugotovljenemu značilnemu zvišanju CTX, še vedno lahko sledi procesu resorpcije. Koncentracije 25-VitD ter PTH se skozi enoletno obdobje niso statistično značilno spremenile in so bile praktično konstantne pri obeh zdravilih. To nakazuje, da bi sprememba koncentracije CTX lahko bila posledica terapije in ne posledica delovanja 25(OH)-VitD ter PTH, kot možnih regulatorjev kostne remodelacije. Naši rezultati prav tako kažejo, da so učinki obeh

proučevanih inhibitorjev encima 5AR na kostno tkivo praktično enaki. Na osnovi naših rezultatov ne moremo potrditi neželenih učinkov finasterida in dutasterida na kostno tkivo.

**Ključne besede: prostata, benigna hiperplazija, finasterid, dutasterid, C-terminalni telopeptid kolagena tipa I (CTX), osteokalcin (OC), Celokupni N-terminalni propeptid prokolagen tipa I (P1NP)**

## ABSTRACT

Benign prostatic hyperplasia is a chronic condition or illness, associated with aging. An important role in the development and progression of the illness have increased concentrations of dihydrotestosterone (DHT), which is formed in the prostate from testosterone with the help of the enzyme 5- $\alpha$ -reductase (5AR). Treatment of patients with benign prostatic hyperplasia most commonly involves pharmacological therapy with 5- $\alpha$ -reductase (5ARI) enzyme inhibitors, finasteride (FI) and dutasteride (DU), which consequently decrease the DHT concentration. A decrease in biologically active androgens, like DHT, can during such a therapy consequently cause adverse effects on bones and the development osteoporosis. In our study, we accessed in 70 BHP patients, whether therapy with finasteride and dutasteride after 6 or 12 months leads to the occurrence of adverse effect on the bone tissue. In all patients we measured serum concentrations of bone biochemical indicators (CTX, OC, P1NP), 25(OH)-VitD and PTH before the treatment and after 6 and 12 months of treatment and assessed the correlation and differences of this parameters in both types of therapy. The analysis showed, that the CTX concentration statistically typically increased ( $p=0,020$ ) after 12 months of FI therapy, namely for 38.5%, while the CTX concentration after 12 months of therapy with DU also increased for 29.2%, but this change was not statistically significant ( $p=0.145$ ). The mentioned increase is not clinically important, since the change is still within the CTX reference ranges for this age group. In other bone indicators, OC and P1NP, we did not prove statistically typical differences during 12 months of therapy, not with finasteride nor with dutasteride. Their concentrations were practically unaffected or constant. With the correlation we also found, that there is a positive connection between bone indicators (CTX, OC, P1NP), which in terms of strength ranges from good to very good. All connections were also statistically typical ( $p<0.05$ ). The findings prove the reasonableness of the results and reflects physiological processes in the bone tissue. It is namely known, that the decomposition process is qualitatively followed by the process of formation. We find, that formation after the introduction of a 12-month therapy with 5ARI can despite of the found typical increase in CTX still follow the resorption process. The concentrations of 25-VitD and PTH did not statistically typically change during 12 months of therapy and remained practically constant in the case of both drugs. This indicates, that a change in the CTX concentration could be a consequence of the therapy and not a consequence of



25(OH)-VitD and PTH functioning as possible regulators of bone remodulation. Our results also show, that effects of both studied enzyme 5AR inhibitors on the bone tissue are practically the same. Based on our results we cannot prove adverse effects of finasteride and dutasteride on the bone tissue.

**Key words: prostate, benign hyperplasia, finasteride, dutasteride, collagen type 1 C-terminal telopeptide (CTX), osteocalcin (OC), total procollagen type 1 N-terminal propeptide (P1NP).**

## SEZNAM OKRAJŠAV

5 ARI	zaviralci 5-a reduktaze
5AR	5-a reduktaza
5AR-1	5a-reduktaza tipa 1
5AR-2	5a-reduktaza tipa 2
A-CTX-DU	Podskupina rezultatov koncentracij CTX pred terapijo z dutasteridom
A-CTX-FI	Podskupina rezultatov koncentracij CTX pred terapijo s finasteridom
AK	aminokislin
ALP	celokupna alkalna fosfataza
ANOVA	analiza variance
A-OC-DU	Podskupina rezultatov koncentracij OC pred terapijo z dutasteridom
A-OC-FI	Podskupina rezultatov koncentracij OC pred terapijo s finasteridom
A-P1NP-DU	Podskupina rezultatov koncentracij P1NP pred terapijo z dutasteridom
A-P1NP-FI	Podskupina rezultatov koncentracij P1NP pred terapijo s finasteridom
A-PTH-DU	Podskupina rezultatov koncentracij PTH pred terapijo z dutasteridom
A-PTH-FI	Podskupina rezultatov koncentracij PTH pred terapijo s finasteridom
A-VITD-DU	Podskupina rezultatov koncentracij VITD pred terapijo z dutasteridom
A-VITD-FI	Podskupina rezultatov koncentracij VITD pred terapijo s finasteridom
BALP	kostna alkalna fosfataza
β-CTX	β oblika aspartične kisline
B-CTX-DU	Podskupina rezultatov koncentracij CTX iz odvzema po 6 mesecih terapije z dutasteridom
B-CTX-FI	Podskupina rezultatov koncentracij CTX iz odvzema po 6 mesecih terapije s finasteridom
BGP	Bone-GLA-Protein
BHP	benigna hiperplazija prostate
B-OC-DU	Podskupina rezultatov koncentracij OC iz odvzema po 6 mesecih terapije z dutasteridom
B-OC-FI	Podskupina rezultatov koncentracij OC iz odvzema po 6 mesecih terapije s finasteridom
B-P1NP-DU	Podskupina rezultatov koncentracij P1NP iz odvzema po 6 mesecih terapije z dutasteridom
B-P1NP-FI	Podskupina rezultatov koncentracij P1NP iz odvzema po 6 mesecih terapije s finasteridom
B-PTH-DU	Podskupina rezultatov koncentracij PTH iz odvzema po 6 mesecih terapije z dutasteridom
B-PTH-FI	Podskupina rezultatov koncentracij PTH iz odvzema po 6 mesecih terapije s finasteridom
BSAP	kostna alkalna fosfataza v serumu
B-VITD-DU	Podskupina rezultatov koncentracij VITD iz odvzema po 6 mesecih terapije z dutasteridom
B-VITD-FI	Podskupina rezultatov koncentracij VITD iz odvzema po 6 mesecih terapije s finasteridom
C-CTX-DU	Podskupina rezultatov koncentracij CTX iz odvzema po 1 letu terapije z

	dutasteridom
C-CTX-FI	Podskupina rezultatov koncentracij CTX iz odvzema po 1 letu terapije s finasteridom
C-OC-DU	Podskupina rezultatov koncentracij OC iz odvzema po 1 letu terapije z dutasteridom
C-OC-FI	Podskupina rezultatov koncentracij OC iz odvzema po 1 letu terapije s finasteridom
C-P1NP-DU	Podskupina rezultatov koncentracij P1NP iz odvzema po 1 letu terapije z dutasteridom
C-P1NP-FI	Podskupina rezultatov koncentracij P1NP iz odvzema po 1 letu terapije s finasteridom
C-PTH-DU	Podskupina rezultatov koncentracij PTH iz odvzema po 1 letu terapije z dutasteridom
C-PTH-FI	Podskupina rezultatov koncentracij PTH iz odvzema po 1 letu terapije s finasteridom
CTX	C-terminalni telopeptid kolagena I
C-VITD-DU	Podskupina rezultatov koncentracij VITD iz odvzema po 1 letu terapije z dutasteridom
C-VITD-FI	Podskupina rezultatov koncentracij VITD iz odvzema po 1 letu terapije s finasteridom
DBP	Vit-D Binding Protein
DHT	dihidrotestosteron
Dpd	Deoksipiridinolin
DU	dutasterid
DXA	dvoenergijska rentgenska absorpciometrija , <i>angl. dual energy x-ray absorptiometry</i>
ECL	elektrokemiluminiscenca
ECLIA	elektro - kemiluminiscentni encimskoimunski test
FI	finasterid
GIT	gastrointestinalni trakt
ICTP	Telopeptid kolagena I
IPSS	InternatiInternational Prostate Symptom Score
LUTS	Lower Urinary Track Symptoms Lower Urinary Track Symptoms
MKG	mineralna kostna gostota
MTOPS	Medical Therapy of Prostatic Symptoms
NTX	N-terminalni telopeptid kolagena I
OC	osteokalcin
OHPro	Hidroksiprolin
P1CP	C-terminalni propeptid prokolagena I
P1NP	N-terminalni propeptid prokolagena I
PASM	prekomerno aktivni sečni mehur
PSA	prostata specifični antigen
PTH	parathormon
Pyr	Pridinolin
RV	referenčne vrednosti
<i>SRD5ARI</i>	Gen za 5AR-1

SRD5AR2	Gen za 5AR-2
T	testosteron
TPA	tripropilamin
TPA <sup>•+</sup>	tripropilamin radikalski kation
TRAP	Tartrat-rezistentna kislá fosfataza
TURP	transuretralna resekcija prostate
UZ	ultrazvok
VDR	Vitamin D Receptor
Zn	cink

## SEZNAM SLIK IN PREGLEDNIC

### Seznam slik

<i>Slika 1: Strukturni formuli finasterida in dutasterida (povzeto po 9).</i> .....	5
<i>Slika 2: Pretvorba testosterona (T) v dihidrotestosteron (DHT) (povzeto po 9).</i> .....	6
<i>Slika 3: Shematski prikaz elektrokemiluminiscence z uporabo rutenijevega(II)-tris(bipiridil) kompleksa</i> .....	14
<i>Slika 4: Shematični prikaz principa »sendvič« testa ECLIA za določanje koncentracije izbranih kostnih kazalcev (CTX, OC, PINP). Signal je direktno proporcionalen s koncentracijo analita v vzorcu (prirejeno po 41).</i> .....	16
<i>Slika 5: Shematični prikaz kompetitivnega ECLIA principa za določanje koncentracije 25(OH)-VitD. Signal je indirektno proporcionalen s koncentracijo analita v vzorcu (prirejeno po 41).</i> .....	18
<i>Slika 6: Spremembe serumskih koncentracij CTX pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C)</i> .....	23
<i>Slika 7: Spremembe serumskih koncentracij OC pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C)</i> .....	27
<i>Slika 8: Spremembe serumskih koncentracij PINP pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C)</i> .....	30
<i>Slika 9: Spremembe serumskih koncentracij CTX pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C)</i> .....	33
<i>Slika 10: Spremembe serumskih koncentracij OC pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C)</i> .....	35
<i>Slika 11: Spremembe serumskih koncentracij PINP pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C)</i> .....	38

### Seznam preglednic

<i>Preglednica I: Simptomi BHP (3,4)</i> .....	3
<i>Preglednica II: Biokemijski kazalci kostne remodelacije;</i> .....	8
<i>Preglednica III: Spremembe serumskih koncentracij CTX pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (A-CTX-FI), po polletni terapiji (B-CTX-FI) in po enoletni terapiji (C-CTX-FI)</i> .....	23
<i>Preglednica IV: Korelacija CTX z OC in PINP pri bolnikih, ki so prejeli finasterid;</i> .....	24
<i>Preglednica V: Korelacija CTX s PTH in 25(OH)-VitD pri bolnikih, ki so prejeli finasterid;</i> .....	26

<i>Preglednica VI: Spremembe serumskih koncentracij OC pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (A-OC-FI), po polletni terapiji (B-OC-FI) in po enoletni terapiji (C-OC-FI) .....</i>	27
<i>Preglednica VII: Korelacija OC s CTX in PINP pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; .....</i>	28
<i>Preglednica VIII: Spremembe serumskih koncentracij PINP pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (A-PINP-FI), po polletni terapiji (B-PINP-FI) in po enoletni terapiji (C-PINP-FI) .....</i>	29
<i>Preglednica IX. Korelacija PINP s CTX in OC pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; .....</i>	30
<i>Preglednica X: Spremembe serumskih koncentracij CTX pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (A-CTX-DU), po polletni terapiji (B-CTX- DU) in po enoletni terapiji (C-CTX- DU).....</i>	32
<i>Preglednica XI. Korelacija CTX z OC in PINP pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; .....</i>	33
<i>Preglednica XII: Spremembe serumskih koncentracij OC pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (A-OC-DU), po polletni terapiji (B-OC-DU) in po enoletni terapiji (C-OC- DU) .....</i>	35
<i>Preglednica XIII. Korelacija OC s CTX in PINP pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid;.....</i>	36
<i>Preglednica XIV: Spremembe serumskih koncentracij PINP pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (A-PINP-DU), po polletni terapiji (B- PINP -DU) in po enoletni terapiji (C- PINP-DU) .....</i>	37
<i>Preglednica XV: Korelacija PINP s CTX in OC pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; .....</i>	38
<i>Preglednica XVI: Primerjava učinkov finasterida in dutasterida na kostne kazalce CTX, OC in PINP.....</i>	40
<i>Preglednica XVII: Izmerjene koncentracije CTX, OC in PINP pri vseh vzorcih bolnikov na terapiji z 5ARI (finasterid in dutasterid); N= 70; v času 0, 6 in 12 mesecev .....</i>	49
<i>Preglednica XVIII: Izmerjene koncentracije CTX, OC in PINP pri vzorcih bolnikov na terapiji s finasteridom; N= 35; v času 0, 6 in 12 mesecev.....</i>	51
<i>Preglednica XIX: Izmerjene koncentracije CTX, OC in PINP pri vzorcih bolnikov na terapiji z dutasteridom; N= 35; v času 0, 6 in 12 mesecev .....</i>	52
<i>Preglednica XX: Izmerjene koncentracije VITD in PTH pri vzorcih bolnikov na terapiji s finasteridom; N= 35; v času 0, 6 in 12 mesecev.....</i>	53
<i>Preglednica XXI: Izmerjene koncentracije VITD in PTH pri vzorcih bolnikov na terapiji z dutasteridom; N= 35; v času 0, 6 in 12 mesecev .....</i>	54

# I UVOD

## 1.1 Benigna hiperplazija prostate

### 1.1.1 Anatomija prostate

Prostata (obsečnica) je v velikosti oreha velika spolna žleza, ki tvori del moškega reprodukcijskega sistema (1). V telesu se nahaja pod sečnim mehurjem ter med sramno kostjo in danko. Prostata v obliki obroča obkroža sečnico, v katero se na tem mestu stekata semenski izvodi. Po sečnici se sicer izloča seč iz sečnega mehurja. Vloga prostate v popolnosti še ni povsem pojasnjena. Med njene glavne naloge uvrščamo proizvodnjo izločkov, ki so del semenske tekočine in skladiščenje cinka (Zn), ki s svojo protibakterijsko vlogo varuje prostato in spodnja sečila pred vnetji (2).

Prostata, ki ob rojstvu tehtja nekaj gramov, začne kasneje v puberteti pod vplivom moških spolnih hormonov rasti (faza 1) in nekje do 20. leta starosti doseže dolžino 3 – 4 cm in teži do 20 g. Pri starosti okoli 25 let, prostata začne ponovno rasti (faza 2). Celice določenega dela prostate začnejo pod vplivom moškega spolnega hormona testosterona (T) nabrekati, kar posledično vodi do večjega volumna prostate. Takšno stanje prostate imenujemo benigna hiperplazija prostate (BHP). Koliko se bo prostata pri posamezniku povečala, ne moremo predvideti (1).

Benigna hiperplazija prostate (BHP) je torej stanje, ki je povezano s staranjem (3). V zrelem in starejšem obdobju življenja ima prostata pomembno vlogo na kakovost življenja moških (1). Čeprav BHP praviloma ne ogroža življenja, lahko povzroča moteče simptome spodnjih sečil (*Lower Urinary Track Symptoms – LUTS/BHP*). Simptomi so izraženi pri 40 % moških, starejših od 65 let, in pri 20 % moških, mlajših od 65 let. Razvoj bolezni poteka počasi, progresivno in je del normalnega staranja moškega (4).

### 1.1.2. Etiologija in patofiziologija BHP

Etiologija BHP še ni popolnoma pojasnjena. Prav tako še niso poznani vsi rizični faktorji za nastanek BHP (1). Za nastanek sta potrebna predvsem dva pogoja: starost moškega in zvišana koncentracija dihidrotestosterona (DHT), ki se v žlezi tvori iz testosterona s pomočjo encima 5- $\alpha$  reduktaze (5AR) (4). Znanstveniki so odkrili, da se pri moških, pri katerih ne nastaja DHT, ne razvije BHP (1). BHP se razvije takrat, ko se močno znižajo vrednosti androgenov in zvišajo vrednosti estrogenov v prostati. Estrogeni stimulirajo stromo prostate, da se močno razvije. To stanje imenujemo stromalna hipertrofija. To povzroči dvig koncentracije 5- $\alpha$  reduktaze, s posledično akumulacijo androgenih receptorjev, kar vodi v razrast žleznega epitelijskega tkiva. V periuretralnem tkivu prostate se razvijejo številni vozlički, ki verjetneje izvirajo iz periuretralnih žlez, ne pa iz vezivno-mišičnega tkiva prostate.

Na ta način se prostatični del sečnice oži in podaljšuje, kar povzroča napredujočo obstrukcijo pretoka urina (4). Stene mehurja se zadebelijo in mehur se začne krčiti tudi takrat, ko je v njem manjša količina seča, kar vodi v pogostejše uriniranje. Posledično mehur oslabi in izgubi sposobnost praznjenja (1). Nepopolno praznjenje mehurja pa povzroča zastoj seča in nagnjenost k nastanku sečnih kamnov, okužbam mehurja, prostate in zgornjega dela sečil. Posledica podaljšane obstrukcije je lahko hidronefroza in okvara ledvične funkcije, tudi če zapora ni popolna. (4).

### 1.1.3. Klinična slika in simptomi

BHP ni rak prostate in tudi ni predstopnja v nastajanju raka prostate. To sta dve različni bolezni, ki se razvijeta v različnih predelih žleze prostate. Rak prostate se začne na periperalni coni prostate in raste navzven, medtem, ko se BHP začne v tranzicijski coni in raste v notranjost, povzroča obstrukcijo sečnice in simptome spodnjih sečil (2).

Simptomi se kažejo kot znaki motenj uriniranja in praznjenja mehurja (Preglednica 1). Motnje uriniranja, ki so predvsem posledica obstrukcije zaradi povečane prostate ali skrčenja mišičnih vlaken v prostati in na vratu mehurja, se odražajo kot tanek, upočasnen, razpršen in prekinjajoč curek seča. Včasih se ta izloča le po kapljicah. Medtem pa so ostale motnje uriniranja, ki se odražajo kot nenaden pritisk na praznjenje mehurja, nehotno



uhajanje seča, pogosto dnevno in nočno uriniranje, ponavadi posledica različnih vzrokov. Težave, ki jih ima bolnik pri uriniranju, pogosto niso povezane z velikostjo prostate (5).

*Preglednica I: Simptomi BHP (3,4).*

Simptomi zastoja urina (iritacijski)	Pogostejše uriniranje Pogosto mokrenje ponoči (nikturija) Urgentno mokrenje Urgentna inkontinenca
Simptomi pri uriniranju (obstrukijski)	Težave na začetku uriniranja Slabši curek seča Potreba po napenjanju med uriniranjem Prekinjanje curka seča Občutek nezadostnega praznjenja mehurja Retenca seča

#### 1.1.4. Diagnoza

Diagnoza BHP temelji na simptomih, klinični sliki in osnovnih preiskavah. Cilj diagnoze je izključiti druge vzroke težav pri uriniranju, predvsem raka prostate, in ugotoviti stanja, ki potrebujejo nadaljnjo kirurško obravnavo (4). Rutinske diagnostične postopke pri bolnikih z LUTS/BHP delimo v tri skupine:

- **obvezni:** vprašalnik za točkovno vrednotenje simptomov BHP (IPSS – International Prostate Symptom Score), digitorektalni pregled prostate, določitev serumskega kreatinina za oceno ledvične funkcije, analiza urina,
- **priporočeni:** določanje prostatičnega specifičnega antigena (PSA), merjenje pretoka urina (uroflow), ocena zaostalega urina (rezidualni urin) s transabdominalno ultrazvočno preiskavo,
- **preiskave, ki niso priporočene:** intravenska pielografija, ultrazvok (UZ) zgornjih sečil, meritev tlaka/pretoka, uretrocistoskopija in transrektalna UZ preiskava (6,7).

### 1.1.5. Zdravljenje

Cilji zdravljenja BHP so izboljšati kakovost življenja, zboljšati pretok urina, zmanjšati možnosti akutne zapore urina ter potrebo po kirurškem zdravljenju. Zdravljenje je tako usmerjeno večinoma na izboljšanje simptomov spodnjih sečil in zmanjšanje velikosti prostate (6).

#### **Nadzorovano opazovanje**

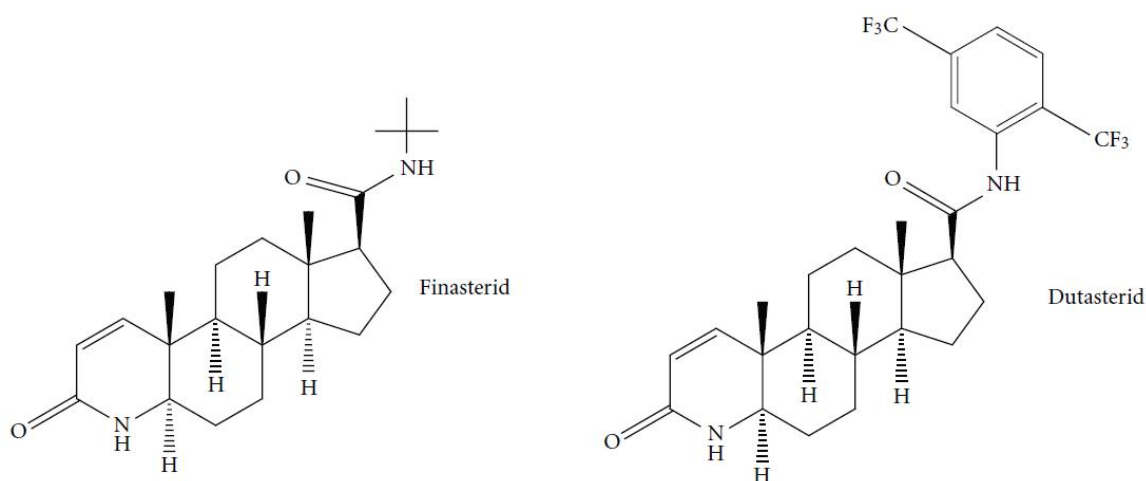
Bolniki, pri katerih se zaradi bolezni ne poslabša kakovost življenja in jih tovrstne težave ne ovirajo pri vsakodnevnih aktivnostih, posebnega zdravljenja ne potrebujejo. Pri teh bolnikih se z namenom odkritja napredovanja bolezni izvaja redne preglede (8). Reden nadzor bolnika z mejno velikostjo prostate in oceno simptomov po IPSS manj kot 7 imenujemo nadzorovano opazovanje (5).

#### **Farmakološko zdravljenje**

Farmakološko zdravljenje zajema tako zmanjšanje velikosti prostate kot tudi izboljšanje simptomov spodnjih sečil ter izboljšanje pretoka urina. Takšno zdravljenje zmanjša možnost akutne zapore urina ali potrebo po kirurškem zdravljenju. To dosežemo z dvema skupinama zdravil, ki ju lahko tudi kombiniramo (5).

- **Zaviralci  $\alpha$ -1 adrenoreceptorjev (alfa zaviralci)** znižujejo tonus gladkih mišic prostate in sprostijo vrat mehurja, tako zmanjšajo pritisk v mehurju in sečnici ter izboljšajo pretok urina za 10 – 15 % že po 1 – 2 tednih. Ta zdravila so bolj učinkovita pri odpravi obstruktivnih kot iritacijskih simptomov BHP (3). Na izbiro so neselektivni zaviralci, kot sta terazosin in doksazosin, ter selektivni  $\alpha_{1A}$  tamsulozin. Alfa 1 zaviralci ne preprečujejo napredovanja bolezni in ne zmanjšujejo velikosti prostate (5). Primerni so za bolnike z BHP in arterijsko hipertenzijo (4). Vsi alfa zaviralci imajo podobno učinkovitost, medtem, ko se razlikujejo večinoma po jakosti stranskih učinkov (ortostatska hipotenzija, omotica, utrujenost, zamašen nos, retrogradna ejakulacija) (5).

- **Zaviralci  $5\alpha$  reduktaze (5 ARI)**, kot sta finasterid in dutasterid, v prostati zavirajo delovanje encima  $5\alpha$ -reduktaze (5 AR), ki pretvarja testosteron v dihidrotestosteron (DHT). DHT pospešuje rast telesnih tkiv in tako tudi prostate. Obe učinkovini zmanjšata velikost prostate in dolgoročno zmanjšata možnost akutne zapore urina ali kirurškega posega. Finasterid (FI) zavira izoencim 5AR tipa 2, dutasterid (DU) pa tipa 1 in tipa 2. Strukturni formuli obeh zaviralcev prikazuje slika 1. Izoencim 5AR tip 1 se nahaja izven prostate in sicer v koži in jetrih (3). Ugotovljeno je, da dutasterid močnejše in v večji meri zavira encim  $5\alpha$ -reduktazo. Učinek na velikost prostate in pretok urina se pokaže že v 1 do 3 mesecih. Velikost prostate se po 2 letih zmanjša za 23.3 %, izboljšajo pa se tudi simptomi uriniranja (5,8).



Slika 1: Strukturni formuli finasterida in dutasterida (povzeto po 9).

- **Kombinacijsko zdravljenje z 5 ARI in alfa zaviralci** v začetku ni pokazalo bistvene prednosti pred monoterapijo. Šele študija MTOPS (Medical Therapy of Prostatic Symptoms) je pokazala, da po več letih terapije kombinacija zdravil bistveno izboljša simptome in zmanjša napredovanje LUTS/BHP. Pri moških s povečano prostato in povečanimi vrednostmi PSA se je izboljšanje pokazalo že občutno prej (2). Zdravila so se nedavno uživala ločeno. V zadnjem času pa je na voljo že kombinacija v stalni sestavi dveh zdravil, ki kot posamezno zdravilo izboljša sodelovanje bolnika in olajša odločitev za zdravljenje (5).
- **Antimuskarinska zdravila** se uporabljajo pri zdravljenju bolnikov s težavami spodnjih sečil, ki so posledica BHP in pri simptomih prekomerno aktivnega

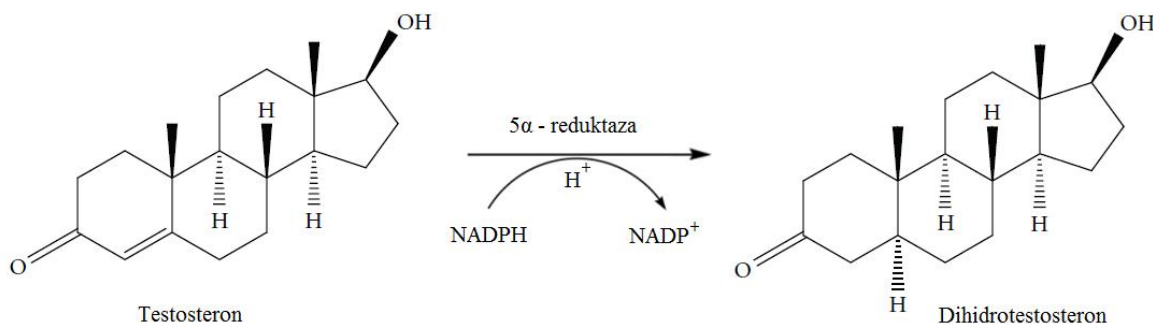
sečnega mehurja (PASM). Možna je kombinacija zdravil z alfa zaviralci, terapija je učinkovita vendar so pri njej bolj izraziti stranski učinki (5,8)

## Kirurško zdravljenje

Danes obstajajo številna zdravila za zdravljenje BHP in spremljajočih težav. Kirurškega zdravljenja pa se vseeno poslužimo, kadar zdravila niso učinkovita. Zanj se odločimo tudi, kadar bolnik ne prenaša zdravil, kadar ima večjo količino zastalega seča v mehurju z nastankom kamnov in okužbami ali, ko pride do akutne zapore seča. Najpogosteje izveden kirurški poseg je transuretralna resekcija prostate (TURP) (5).

### 1.2 $5\alpha$ - reduktaza

Je encim, ki omogoča redukcijo testosterona v biološko najbolj učinkovit androgeni hormon, dihidrotestosteron (DHT) (Slika 2). DHT ima v primerjavi s testosteronom (T) 2 do 5 x večjo afiniteto do androgenega receptorja in izzove nekajkrat večje biološke androgene učinke (9).



Slika 2: Pretvorba testosterona (T) v dihidrotestosteron (DHT) (povzeto po 9).

Od trenutno treh znanih izooblik encima  $5\alpha$ -reduktaza, tipa 1, tipa 2 in tipa 3, sta bolje opisana izoencima  $5\alpha$ -reduktaza tipa 1 (5AR-1) in  $5\alpha$ -reduktaza tipa 2 (5AR-2). Gena za oba izoencima so klonirali in dobro opisali. Struktura obeh genov je podobna, se pa razlikujeta v lokaciji na kromosomih. Gen za 5AR-1 (*SRD5A1*) se nahaja na kromosomu 5 (5p15) in kodira zapis za protein z 259 aminokislinami in molekulska masa 29,5 kDa,

medtem, ko se gen za 5AR-2 (*SRD5A2*) nahaja na kromosomu 2 (2p23) ter kodira zapis za protein z 254 aminokisljinami in molekulska masa 28,4 kDa (10,11,12,13). Oba izoencima vsebujeta veliko hidrofobnih aminokisljin, imata NH<sub>2</sub>-terminalno vezavno domeno za steroide (ligande) in COOH-terminalno vezavno domeno za NADPH (9). Zaradi velike vsebnosti hidrofobnih AK se torej nahajata v membrani in sta od NADPH odvisna encima. Izoencima katalizirata redukcijo 4-en-3-oksosteroidov, med katere uvrščamo tudi testosteron, v ustrezne 5 $\alpha$ -3-oksosteroidne. Primeri ostalih 4-en-3-oksosteroidov so progesteron, epitestosteron, androstendion in deoksikortikosteron. Razlikujeta se v velikosti in območju pH potrebnega za njuno optimalno delovanje, ki je posledica različne aminokislinske strukture; enakih imata namreč le 47% aminokislinskih ostankov. Optimalno delovanje 5AR-1 je tako v pH območju 6-9, medtem ko je za 5AR-2 optimalno pH območje pri 5,5. Razlika med obema se kaže tudi v kinetičnih parametrih. Substrati, kot so testosteron, progesteron in androstendion, imajo običajno večjo afiniteto do tipa 2 ( $K_m = 0,05 - 1 \mu M$ ) kot do tipa 1 ( $K_m = 1-5 \mu M$ ) (14).

Izoencim 5AR-1 najdemo večinoma v koži in lasišču (razen v genitalijah), v žlezah lojnicah, v jetrih, mišicah in v manjši meri tudi v prostati. V fetusu se 5AR-1 ne izraža.

Izoencim 5AR-2 je po drugi strani bolj specifičen in se pretežno nahaja v prostati. Najdemo pa ga tudi v koži genitalij, semenskih veziklih, lasnih foliklih, epidermisu in jetrih (15,16).

### 1.2.1 Vpliv androgenov na kosti

Androgeni imajo pomemben vpliv na razvoj skeleta in na vzdrževanje kostne mase, tako pri ženskah, kot pri moških. Mehanizmi vpliva androgenov na skeletno homeostazo se zelo intenzivno proučujejo in so fokus številnih raziskav. V kostnih celicah je bilo identificiranih veliko androgenskih receptorjev, ekspresijske analize pa so pokazale, da je teh androgenskih receptorjev v kosti zelo veliko. Prav tako so dokumentirani (Hofbauer and Khosla, 1999) direktni vplivi androgenov na proliferacijo, diferenciacijo, mineralizacijo in gensko ekspresijo v osteoblastih (17).

Število specifičnih androgen vezavnih mest v osteoblastu variira; med 1.000 in 14.000 vezavnih mest na celico. Vezava androgena je specifična, brez signifikantne kompeticije z estrogenom, progesteronom ali deksametazona (17,18).

Androgeni imajo direkten vpliv na proliferacijo in ekspresijo osteoblastov *in vitro* (20, 21).

### 1.3 Ocenjevanje vpliva endogenih in eksogenih snovi na kosti

Vplive endogenih hormonov in drugih ravnih dejavnikov ter zdravil na kostno tkivo lahko ocenjujemo z različnimi slikovnimi tehnikami in s spremljanjem koncentracij biokemijskih kazalcev kostne remodelacije v serumu. Od slikovnih tehnik se največ uporablja dvoenergijska rentgenska absorpciometrija (DXA, *angl. dual energy x-ray absorptiometry*) ter zelo redko tudi ultrazvok (UZ). DXA je tudi metoda prvega izbora za merjenje mineralne kostne gostote (MKG) v diagnostiki in spremljanju osteoporoze. Metoda temelji na uporabi snopa žarkov dveh energij, ki ga usmerimo skozi preiskovani del telesa. Naprava posname preiskovano področje telesa, ponavadi stegenice in ledvenih vretenc, izmeri atenuacijo vsake energije posebej ter izračuna količino kostnine. Metoda je natančna in zanesljiva, sevanje je zanemarljivo. Kar nam omogoča, da meritve varno ponavljamo in to izkoristimo za spremljanje učinka zdravljenja (19). Problem pri teh metodah je nizka občutljivost saj lahko spremembe MKG zaznamo šele po enem letu. Mnogo hitrejši so biokemijski kazalci, ki jih merimo v serumu. Koncentracije teh se zvišajo že po treh oziroma 6 mesecih po delovanju npr. zdravila (22).

Med biokemijske kazalce kostne remodelacije uvrščamo razgradne produkte kolagena oziroma proteine, ki jih izločajo kostne celice. Delimo jih v kazalce tvorbe in kazalce razgradnje in jih prikazuje Preglednica II (22).

*Preglednica II: Biokemijski kazalci kostne remodelacije;*

Biokemijski kazalci tvorbe kostnine	Biokemijski kazalci razgradnje kostnine
<i>Produkti sinteze kolagen tipa I</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• C-terminalni propeptid prokolagena I (PICP)</li><li>• N-terminalni propeptid prokolagena I (PINP)</li></ul>	<i>Razgradni produkti kolagen tipa I</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Hidroksiprolin (OHPro, OHP)</li><li>• Pridinolin (Pyr)</li><li>• Deoksimiridinolin (Dpd)</li></ul>
<i>Osteoplastni encimi</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Kostna alkalna fosfataza (BALP, BSAP)</li></ul>	<i>Osteoklastni encimi</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Tartrat-rezistentna kislina fosfataza (TRAP)</li><li>• Katepsin K</li></ul>
<i>Matriksni proteini</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• Osteokalcin (OC, BGP)</li></ul>	<i>Prečno povezani telopeptidi kolagen tipa I</i> <ul style="list-style-type: none"><li>• C-terminalni telopeptid kolagena I (CTX)</li><li>• N-terminalni telopeptid kolagena I (NTX)</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Celokupna alkalna fosfataza (ALP, AP)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Telopeptid kolagena I (ICTP)</li></ul>

## 1.4 C-terminalni telopeptid kolagena tipa I (CTX)

Proces kostne preнове ali kostna remodelacija je intenziven biokemijski proces, ki v kostnem tkivu poteka vse življenje. Da bi se ohranile določene lastnosti kosti kot npr. prožnost, se v tem procesu staro kostno tkivo zamenjuje z novim. Kostnina se v procesu kostne preнове najprej razgradi (resorpcija) in nato takoj nadomesti z enako količino novo sintetizirane kostnine (formacija) (33). Več kot 90% organske komponente kostnine, organskega matriksa, tvori kolagen tipa I. V postopku razgradnje kostnine se zreli kolagen I razgradi v manjše fragmente, ki se odplavijo v krvni obtok in se izločijo iz telesa skozi ledvica. Z določanjem označevalca razgradnje kosti lahko ugotavljamo aktivnost kostne preнове. Pri fiziološki (starost) ali patološko povečani (osteoporoza) razgradnji kostnine, se kolagen tipa I razgradi v povečanem obsegu in sorazmerno se poveča nivo kolagenskih fragmentov v krvi (32).

Posebej relevantni fragmenti kolagena tipa I so C-terminalni telopeptidi (CTX). V C-terminalnih telopeptidih se prisotna  $\alpha$ - aspartatna kislina (*ang. aspartic acid*) s starostjo kosti pretvori v  $\beta$  obliko aspartatne kisline ( $\beta$ -CTx). Te izomere telopeptidov so specifične za razgradnjo kolagena tipa I v kostnini. Povečane serumske koncentracije izomer C-terminalnih telopeptidov kolagena tipa I so bile poročane pri bolnikih s povečano razgradnjo kosti. Serumske vrednosti so se normalizirale po ustrezni anti-resorpcijski terapiji (32).

## 1.5 Osteokalcin (OC)

Osteokalcin (OC) je majhen od vitamina K odvisen protein, ki ga sestavlja 49 aminokislin, in ima molekulsko maso okoli 5800 Da (23). Je eden najpomembnejših nekolagenih proteinov v kostnem matriksu. Sintetizirajo ga zreli osteoblasti, odontoblasti in hipertrofični hondrociti (24).

V svoji primarni strukturi ima tri gama-karboskiglutaminske aminokislinske ostanke (Bone-GLA-Protein, BGP) (27), preko katerih se v prisotnosti kalcija protein veže na anorgansko komponento kostnine, hidroksisapatit. S to vezavo protein vzdržuje tudi svojo sekundarno strukturo. Osteokalcin je tako pod direktnim vplivom hormonov za presnovo kalcija (vitamin D, parathormon in kalcitonina) (28). V procesu sinteze kostnine osteoblasti torej sintetizirajo osteokalcin, ki se veže v hidroksiapatit. Delež pa se ga vedno

sprosti v krvni obtok (25). V krvnem obtoku se nahaja v obliki intaktne molekule (AK 1-49) in krajših fragmentov, N-MID fragmentov (1-43 AK) in C-terminalnih fragmentov (43-49 AK). Intaktna molekula osteokalcina je zaradi proteazne cepitve med AK 43 in 44 razmeroma nestabilna molekula. Na novo nastali N-MID fragment je znatno bolj stabilen (26).

Osteokalcin je visoko specifični kostni kazalec za relativno oceno kostne premene. Serumski osteokalcin je tako biokemijski kazalec tvorbe kostnine. Povišane vrednosti osteokalcina se pojavijo pri različnih boleznih kot so osteomalacija, Pagetova bolezen kosti, hipertiroidizmu in renalni osteodistrofiji. Zmanjšane vrednosti osteokalcina se pojavijo pri hipoparatiroidizmu in pri dolgo trajajoči terapiji s kortikosteroidi (27).

## **1.6 Celokupni N-terminalni propeptid prokolagen tipa I (P1NP)**

Več kot 90% organske komponente kostnine, organskega matriksa, tvorijo kolagenska vlakna (29, 30), natančneje kolagen tipa I, ki izhaja iz prokolagena tipa I, ki ga sintetizirajo in izločajo fibroblasti in osteoblasti (27) Prokolagen tipa I vsebuje N- in C-terminalne podaljške, ki se pri pretvorbi prokolagena v kolagen in pri vezavi le tega v organski matriks s pomočjo specifičnih proteaz odstranijo. Odstranjeni podaljški, C- in N-terminalne propeptide prokolagena tipa I (P1CP in P1NP), se sprostijo v medcelični prostor in zaidejo v krvni obtok. P1CP in P1NP in so torej specifični označevalci nastanka in vezave kolagena v organski matriks in zato eden pravih kazalcev tvorbe kostnine. P1NP se v krvni obtok sprosti v trimerni obliki a se razmeroma hitro pod termalnimi vplivi razgradi v monomerne oblike (31).

## **1.7 Vitamin – D (VitD) in uravnavanje kostne remodelacije**

Obe obliki vitamina D, in sicer vitamin D<sub>3</sub> (holekalciferol) in vitamin D<sub>2</sub> (ergokalciferol) (34), se po krvni plazmi prenašata vezana na vitamin D vezavnih proteinih (DBP – Vit-D Binding Protein). Hidroksilirata se v jetrih, da nastane 25-hidroksivitamin D ter nato v ledvicah, pri čemer nastane 1,25-dihidroksi vitamin D, ki je njuna končna in fiziološko aktivna oblika (35, 36).

Vitamin D je steroidni hormon, ki se po vstopu v tarčne celice veže na znotrajcelični receptor za vitamin D (VDR, *angl. Vitamin D Receptor*), ki se v telesu nahaja v različnih



tkivih, kot so jetra, ledvica, črevo in tudi v kosteh. Njegovo delovanje v kosteh je pomembno za homeostazo kalcijevih ionov in tako posledično tudi za kostno remodelacijo. Kompleks receptor–vitamin D deluje kot transkripcijski dejavnik in vpliva na transkripcijo genov, predvsem na tiste, ki so vpleteni v presnovo  $\text{Ca}^{2+}$  in fosfatov. Vitamin D podobno kot PTH deluje v smislu povečanja koncentracije  $\text{Ca}^{2+}$ . V gastrointestinalnem traktu (GIT) poveča sintezo vezavnega proteina za  $\text{Ca}^{2+}$ , prenašalcev za  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ - črpalk v enterocitih, kar pospeši absorpcijo  $\text{Ca}^{2+}$  iz lumna v plazmo. V ledvicah poveča reabsorpcijo in zmanjša izločanje  $\text{Ca}^{2+}$  in fosfatov z urinom. V kostnini ima neposredne učinke (v visokih odmerkih) in sicer pospeši resorpcijo kostnine. Prevladujejo pa posredni učinki, posredovanimi z njegovimi učinki na GIT in ledvice, pri katerih se koncentracija  $\text{Ca}^{2+}$  zvišuje, kar pospeši mineralizacijo kostnega matriksa (38, 39). Pomanjkanje vitamina D je vzrok nekaterim kostnim boleznim kot npr. rahitis pri otrocih in osteomalacija pri odraslih.

## 1.8 Parathormon (PTH) in uravnavanje kostne remodelacije

PTH je glavni kalciotropni hormon odgovoren za vzdrževanje Ca ionov v plazmi. Dražljaj za izločanje parathormona je koncentracija kalcija, ki jo ta hormon popravlja prek svojih neposrednih učinkov na ledvica in kosti ter posredno preko svojega vpliva na sintezo vitamina D na celice črevesne sluznice. Na kosti deluje PTH na dva načina. V prvi fazi svojega delovanja pospešuje reabsorpcijo tistega dela kostnine, ki se nahaja tik ob membrani osteocitov. Med membrano in kostnino je zelo ozek prostor, napolnjen s kostno vodico, v kateri so kalcijevi ioni. Ti se pod vplivom PTH začnejo prenašati na drugo stran osteocita, od koder potem preko kapilarne stene vstopijo v krvni obtok. Po nekaj urah se začnejo kazati dolgoročnejši učinki PTH, katerih osnovni mehanizem je pospeševanje delovanja osteoklastov, celic, ki so odgovorne za razgrajevanje kostnine (29, 39). Nekatere kostne bolezni, npr. renalna osteodistrofija, so povezane s patološko zvišanimi koncentracijami PTH. Na osnovi spremenjene koncentracije PTH lahko odkrijemo nekatere vzroke za kostne spremembe pri bolniku.

## II NAMEN DELA

Namen našega dela je ugotoviti, ali zdravljenje z zaviralci encima  $5\alpha$  reduktaze (ARI) po 6 mesecih oziroma po 12 mesecih vodi v pojav neželenih učinkov na kostnem tkivu. V raziskavo bomo vključili približno 70 bolnikov z benigno hiperplazijo prostate, ki so bili izbrani za terapijo z dvema različnima zaviralcema  $5\alpha$ -reduktaze, finasteridom in dutasteridom. Vsem bolnikom bomo v obdobju terapije odvzeli periferno vensko kri trikrat, in sicer pred pričetkom, po 6 mesecih in po 12 mesecih terapije ter izmerili serumske vrednosti izbranih biokemijskih kazalcev kostne razgradnje (CTX) in izgradnje (OC, P1NP) ter 25(OH)-VitD ter PTH.

Namen našega dela bo testirati dve hipotezi:

- Hipoteza 1. Kostni biokemijski kazalci (CTX, OC, P1NP) in 25(OH)-VitD, PTH se povišajo v času 6 oz. 12 mesecev terapije z zaviralci  $5\alpha$  reduktaze (5 ARI).
- Hipoteza 2. Terapija z dutasteridom v primerjavi s finasteridom močnejše zviša kostne biokemične kazalce v času 6 oz. 12 mesecev po uvedbi terapije.

## III MATERIALI IN METODE

### 3.1. Preiskovana skupina

V raziskavo smo vključili 70 bolnikov moškega spola, pri katerih je bila potrjena diagnoza benigne hiperplazije prostate in so bili izbrani za terapijo z zaviralci  $5\alpha$  reduktaze (5ARI). 35 bolnikov je prejelo finasterid, ostalih 35 pa dutasterid. Vključeni bolniki so bili brez znanih presnovnih ali drugih sistemskih bolezni, ki vplivajo na kosti ali presnovo mineralov. Vsem bolnikom je bila v obdobju enoletne terapije z 5ARI odvzeta periferna venska kri trikrat, in sicer v času pred pričetkom terapije, po 6 mesecih in po 12 mesecih terapije. Odvzeto kri smo skladno z dobro laboratorijsko prakso ustrezno pripravili in shranili za kasnejšo analizo na  $-80^{\circ}\text{C}$ . Vsem vzorcem smo z elektro - kemiluminiscentnim encimskoimunskim testom (ECLIA) določili serumske vrednosti izbranih biokemijskih kazalcev CTX, OC, P1NP ter 25(OH)-VitD. PTH je bil izmerjen po vsakem odvzemu ob rutinskem pregledu v SB Celje. Starost bolnikov je bila od 51 do 79 let s povprečno starostjo in standardnim odklonom  $67 \pm 7$  let.

### 3.2. Merjenje biokemijskih kazalcev kostne remodelacije v serumu

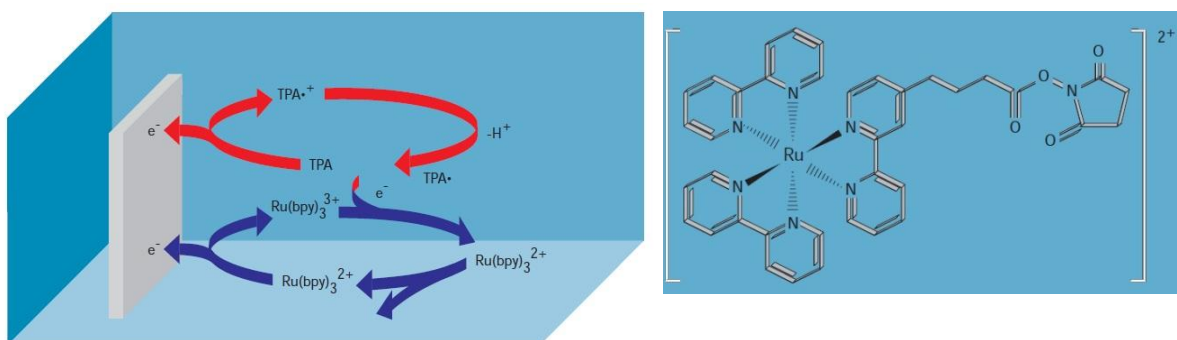
#### 3.2.1. Elektro-kemiluminiscentna imunokemijska metoda

Luminiscenca je fizikalni pojav, pri katerem snov, ki ni močno segreti, seva svetlobo. Sevanje svetlobe je posledica vračanja elektronov iz višjega (vzbujenega) energijskega stanja v osnovno energijsko stanje, pri katerem se energija sprošča v obliki vidnega elektromagnetnega sevanja. Vidno elektromagnetno sevanje imenujemo tudi emisijska svetloba. Glede na način prehoda elektronov v vzbujeno stanje delimo luminiscenčne tehnike na:

- fotoluminiscenca: elektroni prehajajo v vzbujeno stanje zaradi absorpcije energije elektromagnetnega sevanja s kratko valovno dolžino;
- kemiluminiscenca: pojav elektronov v vzbujenem stanju je posledica kemijske reakcije, ki jo imenujemo tudi kemiluminiscenčna reakcija;

- elektrokemiluminiscenca: kemiluminiscenčno reakcijo izzovemo s tvorbo potenciala na elektrodi, potopljeni v raztopino reagentov (40).

Pri elektrokemiluminiscenci (ECL) izzovemo kemiluminiscenčno reakcijo s tvorbo potenciala na elektrodi, potopljeni v raztopino reagentov. V primerjavi s kemiluminiscenco s tem dosežemo boljši nadzor nad potekom kemijske reakcije. V reakciji najpogosteje uporabljamo rutenij, na primer v obliki rutenijevega(II)-tris(bipiridil) kompleksa ( $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ ) (Slika 3), ki ga je mogoče relativno enostavno združiti z aminoskupinami proteinov, haptenov in nukleinskih kislin. Alternativni kovini sta osmij in renij. Drugi reagent je tripropilamin (TPA). Oba reagentata ostaneta stabilna do vzpostavitve potenciala na platinasti elektrodi. Vzpostavitev pozitivnega potenciala na površini platinaste elektrode sproži nastanek dveh cikličnih reakcij (Slika 3). TPA se na elektrodi oksidira (odda elektron), nastane vmesni TPA radikalski kation ( $\text{TPA}^{\bullet+}$ ), ki po oddaji  $\text{H}^+$  tvori  $\text{TPA}^{\bullet}$ . Istočasno se tudi  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  oksidira v  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ . Nastali  $\text{TPA}^{\bullet}$  reducira  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$  v nestabilni intermediat  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ , ki ob prehodu iz vzbujenega stanja v energijsko stabilnejši  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  odda svetlobo valovne dolžine 620 nm. Nastali stabilni  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  vstopa v nov reakcijski cikel, TPA pa se v reakciji porablja. Reakcijo kontroliramo z difuzijskim dodajanjem TPA in količino prisotnega  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{3+}$ . Ko jakost emitirane svetlobe doseže maksimum, se koncentracija TPA v električnem polju zniža in ECL postopno izveni (40).



Slika 3: Shematski prikaz elektrokemiluminiscence z uporabo rutenijevega(II)-tris(bipiridil) kompleksa.

ECL se uporablja v obliki heterogenega imunokemijskega postopka. Za osamitev imunskega kompleksa potrebujemo sistem dveh protiteles. Prvo protitelo je označeno z biotinom, drugo protitelo proti istemu antigenu pa je označeno z  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ . Po dodatku magnetnih delcev, prevlečenih s streptavidinom, reakcijsko mešanico prenesemo v merilno celico, kjer se kompleksi streptavidin : biotin–prvo protitelo : antigen : drugo protitelo- $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$  ujamejo na površino platinaste elektrode, na kateri smo predhodno ustvarili ustrezno elektromagnetno polje. Matriks vzorca in preostanek nevezanih reagentov odstranimo s spiranjem. Nato z ustvarjanjem ustreznega potenciala na isti površini platinaste elektrode izzovemo prej opisano, kontrolirano kemiluminiscenčno reakcijo (40, 41).

### 3.2.2. Merjenje koncentracije CTX, OC in P1NP

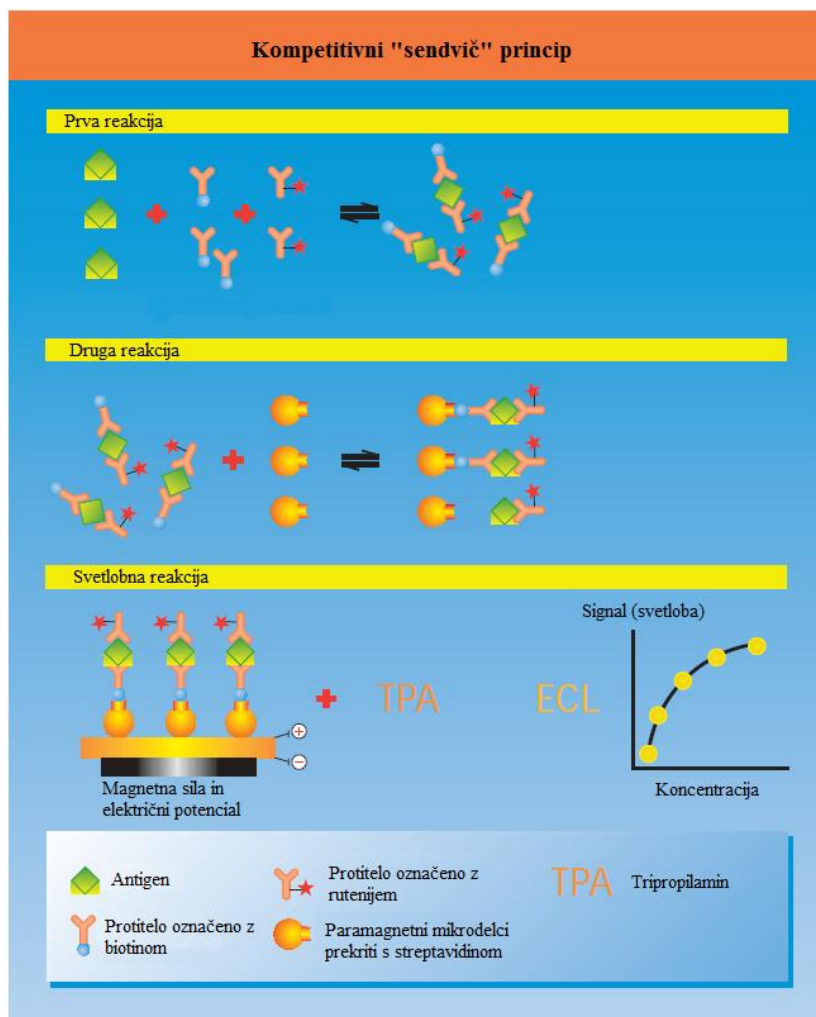
Serumski vzorci bolnikov so bili do analize shranjeni na temperaturi  $-80^\circ\text{C}$ . Pred pričetkom analize so bili ustrezno odtaljeni in homogenizirani. Serija reagentov za posamezne merjene parametre se med analizo ni menjala. Tako smo se izognili možni variabilnosti rezultatov zaradi različnih serij reagentov.

Serumsko koncentracijo izbranih kostnih kazalcev, C-terminalnega telopeptid kolagena tipa I (CTX), osteokalcina (OC) in celokupnega N-terminalnega propeptida prokolagena tipa I (P1NP), smo določili z elektro-kemiluminiscenčnim encimskoimunskim testom na analizatorju Cobas e411. Uporabili smo reagenčne komplete  $\beta$ -CrossLaps/serum, N-MID Osteocalcin in total P1NP (vsi od Roche Diagnostics GmbH, Mannheim). Določitev smo izvedli skladno z navodili proizvajalca.

Serumski vzorci bolnikov so bili do analize shranjeni na temperaturi  $-80^\circ\text{C}$ . Pred pričetkom analize so bili ustrezno odtaljeni in homogenizirani.

**Princip:** Reakcija poteka v več stopnjah. V prvi inkubaciji se tvori kompleks med tremi komponentami: analitom (CTX, OC, P1NP) iz vzorca, analit specifičnim monoklonskim protitelesom, ki je biotinirano, in analit specifičnim monoklonskim protitelesom, ki je označeno z rutenijem. V prvi inkubaciji se protitelesa specifično vežejo na analit iz vzorca in tvorijo kompleks. V drugi inkubaciji se po dodatku streptavidin prekritih paramagnetnih mikrodelcev, preko interakcije med biotinom in streptavidinom, kompleksi iz prve inkubacije vežejo na paramagnetne mikrodelce. Reakcijska mešanica tega novo nastalega

kompleksa se v merilni celici s pomočjo magnetne sile veže na površino delovne elektrode. Nevezani kompleksi se sperejo s spiralnim pufrom. Napetost na elektrodi pa inducira kemiluminiscentno sevanje, ki ga izmeri fotomultiplikator. Količina sevane svetlobe je direktno proporcionalna s koncentracijo analita (CTX, OC, PINP) v vzorcu (41). Rezultati se določijo s kalibracijsko krivuljo (Slika 4).



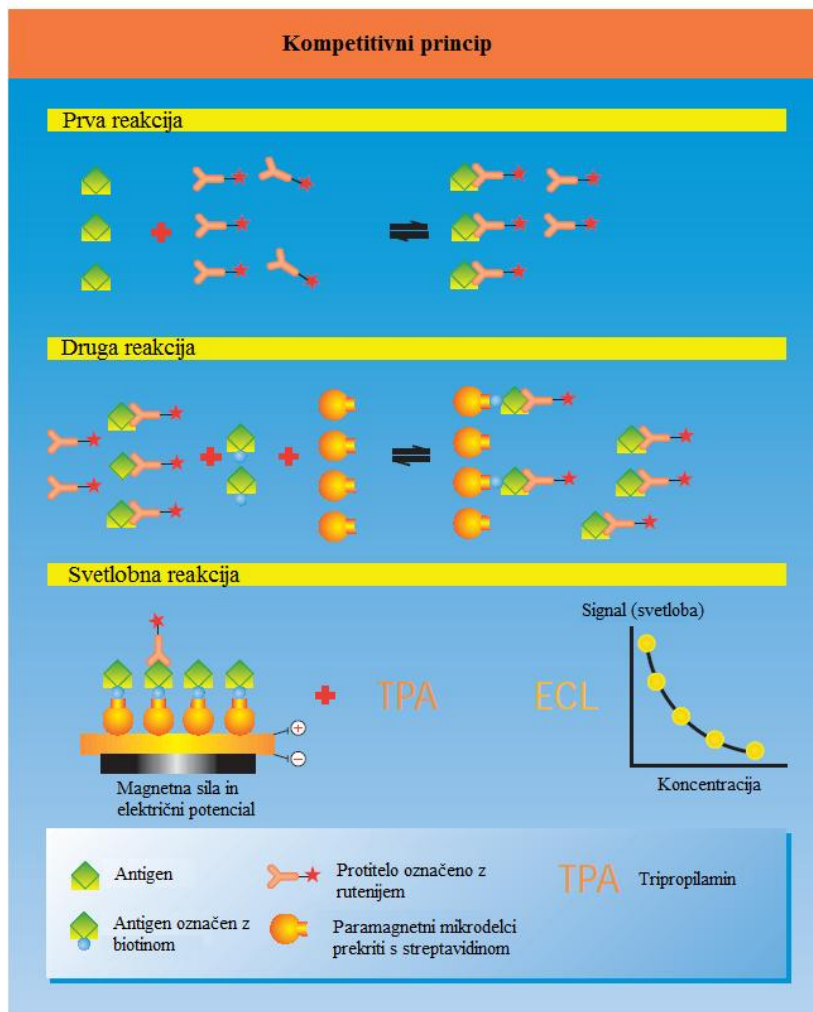
Slika 4: Shematični prikaz principa »sendvič« testa ECLIA za določanje koncentracije izbranih kostnih kazalcev (CTX, OC, PINP). Signal je direktno proporcionalen s koncentracijo analita v vzorcu (prirejeno po 41).

### 3.2.3. Merjenje koncentracije 25(OH)-VitD

Serumsko koncentracijo celokupnega VitD (25-hidroksi vitamin D) smo določili z elektrokemiluminiscenčnim encimskoimunskim testom na analizatorju Cobas e411. Uporabili smo reagenčni komplet Vitamin D total, proizvajalca Roche Diagnostics GmbH, Mannheim. Določitev smo izvedli skladno z navodili proizvajalca.

Serumski vzorci bolnikov so bili do analize shranjeni na temperaturi  $-80^{\circ}\text{C}$ . Pred pričetkom analize so bili ustrezno odtaljeni in homogenizirani.

**Princip:** Reakcija poteka v več stopnjah in temelji na kompetitivnem ECLIA principu. V prvi inkubaciji se s pomočjo pomožnih reagentov vezani 25(OH)-VitD sprosti iz Vit-D vezavnih proteinov. V drugi inkubaciji se tvori kompleks med sproščenim 25(OH)-VitD iz vzorca in Vit-D vezavnim proteinom, ki je označeno z rutenijem. Preostali nevezani Vit-D vezavni protein, označen z rutenijem, se v naslednji, tretji inkubaciji z dodanim 25(OH)-VitD označenim z biotinom poveže v kompleks. Ta kompleks se po dodatku streptavidin prekritih paramagnetnih mikrodlecev, preko interakcije med biotinom in streptavidinom, nato veže na paramagnetne mikrodlece. Reakcijska mešanica tega novo nastalega kompleksa se v merilni celici s pomočjo magnetne sile veže na površino delovne elektrode. Nevezani kompleksi se sperejo s spiralnim pufrom. Napetost na elektrodi pa inducira kemiluminiscentno sevanje, ki ga izmeri fotomultiplikator. Količina sevane svetlobe je indirektno proporcionalna s koncentracijo 25(OH)-VitD (41). Rezultati se določijo s kalibracijsko krivuljo (Slika 5).



Slika 5: Shematični prikaz kompetitivnega ECLIA principa za določanje koncentracije 25(OH)-VitD. Signal je indirektno proporcionalen s koncentracijo analita v vzorcu (prirejeno po 41).

### 3.2.4. Merjenje koncentracije PTH

Serumsko koncentracijo parathormona (PTH) so določili z elektro-kemiluminiscenčnim encimskoimunskim testom v Splošni bolnišnici Celje ob rutinskem pregledu preiskovanca (PTH (1-84), Roche Diagnostics GmbH, Mannheim). Določitev so izvedli skladno z navodili proizvajalca.



### 3.3 Statistične metode

Statistično analizo podatkov smo izvedli z uporabo računalniškega programa SPSS/PASW V 21.0.0 (IBM, Chicago, IL, ZDA). Podatke bolnikov smo razdelili v tri skupine: skupino bolnikov na terapiji s finasteridom, skupino bolnikov na terapiji z dutasteridom in skupino vseh bolnikov, ki so bili na terapiji z ARI (finasterid in dutasterid). V vseh treh skupinah so podskupine za primerjavo predstavljale koncentracije biokemijskih kazalcev odvzetih v treh obdobjih terapije (0 mesecev, 6 mesecev in 12 mesecev).

Pri statistični analizi smo vzorce bolnikov označili z zaporedno številko od 1 - 70 in jim dodali še identifikacijo odvzema krvi: črka A (odvzem pred pričetkom terapije), B (odvzem po 6. mesecih terapije) in C (odvzem po 12. mesecih terapije). Tako je na primer vzorec z oznako 45C predstavljal odvzem krvi po 12. mesecih terapije pri bolniku z zaporedno številko 45.

Vzorce smo razvrstili v podskupine glede na biokemijski kazalec in jih označili z kratico biokemijskega kazalca (CTX, OC, P1NP, VITD, PTH) in identifikacijo odvzema. Tako na primer podskupina A-CTX-FI označuje rezultate za *C-terminalni telopeptid kolagena tipa I* iz prvega odvzema pri bolnikih, ki so dobivali finasterid. Podskupino rezultatov bolnikov, ki so prejeli dutasterid, smo označili z DU. Podskupino rezultatov bolnikov, ki so prejeli ali finasterid ali dutasterid, smo označili z oznako FIDU.

#### 3.3.1. Kolmogorov – Smirnov in Shapiro – Wilkov test normalnosti porazdelitve

V vseh treh skupinah smo pred nadaljnjo statistično analizo preverili normalnost porazdelitve podatkov s Kolmogorov – Smirnovim in Shapiro – Wilkovim testom. Slednji se uporablja v primeru majhnega števila bolnikov.

#### 3.3.2. Statistična analiza razlik med podskupinami

V skupinah smo iskali statistično značilne razlike parametrov med podskupinami. Pri parametrih, ki so se porazdeljevali normalno, smo v nadaljnji analizi uporabili parametrični test ANOVA. Pri parametrih, pri katerih porazdelitev ni bila normalna, pa smo uporabili

neparametrična testa: dvostranski test Friedman ali Mann – Whitney. Pri vrednosti  $p > 0.05$  smo zaključili, da razlika med primerjanimi podskupinami ni statistično značilna za analizirane spremenljivke, medtem, ko smo pri vrednosti  $p < 0.05$  statistično značilno razliko poiskali z analizo POST HOC (Bonferroni ali Games Howell). Bonferroni v primeru, da so variance enake in Games Howell v primeru, da so variance različne.

### 3.3.3. Korelacijska analiza

V vseh treh skupinah podatkov smo s statistično analizo korelacije ugotavljali moč (vrednost  $r^2$ ) in značilnost povezave (vrednost  $p$ ) med posameznimi preučevanimi kostnimi kazalci. Povezavo smo vrednotili kot statistično značilno pri vrednosti  $p < 0.05$ . Glede na moč povezave (vrednost  $r^2$ ) smo povezavo  $r < 0,5$  označili kot šibko povezavo,  $r$  med 0,5 in 0,75 dobro povezavo in  $r > 0,75$  zelo dobro povezavo.

## IV REZULTATI IN RAZPRAVA

### 4.1. Uporabljene metode in analiza vzorcev

V raziskavo smo vključili 70 bolnikov moškega spola starih od 51 do 79 let ( $67 \pm 7$  let), pri katerih je bila potrjena diagnoza benigne hiperplazije prostate in so bili izbrani za terapijo z zaviralci  $5\alpha$  reduktaze (5 ARI). 35 bolnikov se je zdravilo s finasteridom, ostalih 35 pa z dutasteridom. Vključeni bolniki so bili brez znanih presnovnih ali drugih sistemskih bolezni, ki vplivajo na kosti ali presnovo mineralov. Vsem bolnikom je bila v obdobju enoletne terapije odvzeta periferna venska kri trikrat, in sicer v času pred pričetkom terapije, po 6 mesecih in po 12 mesecih terapije. V vzorcih smo z elektrokemiluminiscentno imunokemijsko metodo (ECLIA) izmerili serumske koncentracije izbranih biokemijskih kazalcev CTX, OC in P1NP ter 25(OH)-VitD. PTH je bil izmerjen po vsakem odvzemu ob rutinskem pregledu v Splošni bolnišnici Celje. Rezultate meritev prikazujejo preglednice XVII - XXI v Prilogi.

Pri statistični analizi smo rezultate razporedili v dve skupini: skupino bolnikov na terapiji s finasteridom in skupino bolnikov na terapiji z dutasteridom. V določenih statističnih analizah smo vse bolnike obravnavali skupaj ne glede na terapijo. Analizirali smo korelacijo med posameznimi biokemijskimi kazalci ter razlike med učinki terapije s finasteridom in dutasteridom.

V statistično analizo smo vključili samo tiste bolnike, za katere smo imeli rezultate meritev od vseh treh odvzemov. Iz raziskave smo izključili bolnike, ki iz kakršnegakoli razloga niso imeli teh podatkov, npr. premalo vzorca za analizo, manjkajoč vzorec, ker bolnik ni prišel na zdravniški pregled ipd. Število izključenih bolnikov je bilo različno v različnih podskupinah in je znašalo od 0 do 6. Natančno število vključenih bolnikov v podskupinah je navedeno v besedilu in spremljajočih preglednicah v nadaljevanju.

## 4.2. Ocena vpliva finasterida na kostno remodelacijo

Vpliv terapije s finasteridom (FI) na kostno tkivo smo ugotavljali na osnovi spreminjanja koncentracij kostnih biokemijskih kazalcev v serumu v času enoletnega zdravljenja s finasteridom. Meritve smo izvajali v času 0., 6. in 12. mesecih terapije.

### 4.2.1. Ocena vpliva finasterida na koncentracijo CTX

Koncentracijo CTX pred terapijo oziroma v času 0. (A-CTX-FI) smo izmerili pri 33 bolnikih, po polletni terapiji oziroma v času 6. mesecev (B-CTX-FI) je bila koncentracija CTX izmerjena 32 bolnikom in po enem letu (C-CTX-FI) 29 bolnikom. S Shapiro-Wilkovim testom normalnosti porazdelitve smo ugotovili, da se v vseh treh podskupinah podatki porazdeljujejo normalno, zato smo analizo nadaljevali s parametričnim testom ANOVA. Analiza je pokazala, da v preiskovanem obdobju od uvedbe terapije obstaja značilna razlika v koncentraciji CTX ( $p=0,023$ ). Da bi ugotovili, po katerem obdobju po uvedbi terapije je prišlo do značilne oz. največje spremembe v koncentraciji CTX, smo analizo nadaljevali s testiranjem homogenosti varianc. Ugotovili smo, da variance niso različne ( $p=0,261$ ) in zato nadaljevali z analizo POST HOC Bonferroni. Analiza je pokazala, da ni razlike med koncentracijami CTX niti v prvem šestmesečnem ( $p=1,000$ ) niti v drugem šestmesečnem obdobju terapije ( $p=0,217$ ). Razlike koncentracij CTX v serumu v prvem in drugem šestmesečnem obdobju terapije so bile v okviru standardne napake velikosti od  $\pm 0,019$  do  $\pm 0,027$  ng/mL. Smo pa statistično značilno razliko v koncentraciji CTX, pri bolnikih, ki so prejeli finasterid, potrdili v času 12 mesecev po uvedbi terapije. Koncentracija CTX se je v času enoletne terapije s finasteridom značilno povežala ( $p=0,020$ ) in sicer za 38,5% od povprečne koncentracije CTX, izmerjene pred uvedbo terapije. Ugotovljeno nakazuje, da se je v času enoletne terapije s finasteridom kostna resorpcija značilno povežala (Slika 6), kar bi lahko nakazovalo na povežano kostno razgradnjo in posredno na neželeni učinek zdravljenja s finasteridom po enoletni terapiji. Relativno zvišanje koncentracije CTX tekom enoletne terapije s finasteridom pa kljub temu ni klinično pomembno, saj je sprememba še vedno znotraj orientacijskih referenčnih vrednosti (RV). Glede na RV za preiskovano populacijo (50 – 70 let) je pričakovati, da klinično pomembne spremembe nastopijo pri koncentraciji  $> 0,704$  ng/mL. Kljub temu pa domnevamo, da bi pri večletni terapiji s finasteridom, spremembe koncentracije CTX

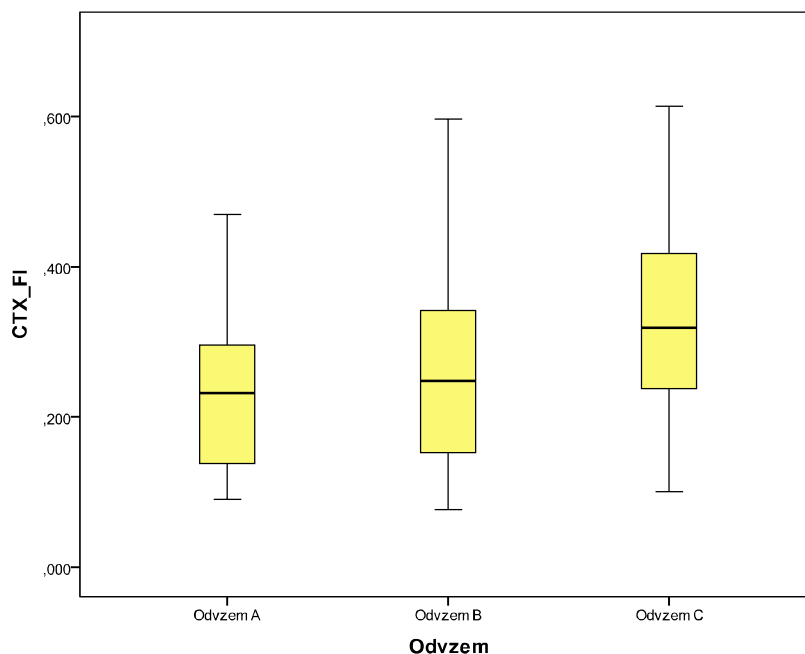
lahko postale klinično pomembne. Predvsem pri mlajših moških (30 - 50 let), pri katerih so RV nižje (<0,584 ng/mL).

*Preglednica III: Spremembe serumskih koncentracij CTX pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (A-CTX-FI), po polletni terapiji (B-CTX-FI) in po enoletni terapiji (C-CTX-FI)*

Podskupina	N	Srednja vrednost (ng/mL)	SE (ng/mL)	SD (ng/mL)	95% Interval zaupanja		Normalnost (p vrednost)	p vrednost/ post HOC
					spodnja meja	zgornja meja (ng/mL)		
A-CTX-FI	33	0,239	0,019	0,107	0,201	0,277	0,107	0,023*/
B-CTX-FI	32	0,270	0,024	0,138	0,221	0,320	0,053	0,020**
C-CTX-FI	29	0,331	0,027	0,144	0,276	0,386	0,255	

\*p<0,05; enostranska ANOVA,

\*\* p<0,05; post-HOC – Bonferroni – statistično značilno povišanje po enoletnem obdobju terapije



*Slika 6: Spremembe serumskih koncentracij CTX pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C).*

Izvedli smo tudi statistično analizo korelacije CTX z drugimi kostnimi kazalci pred uvedbo terapije, po polletnem in enoletnem obdobju terapije. Moč povezave CTX z OC in P1NP je bila v vseh treh obdobjih dobra ( $r = 0,600$  do  $0,781$ ), pozitivna in statistično značilna ( $p < 0,005$ ). Ugotovljeno potrjuje smiselnost rezultatov in odraža fiziološke procese v kostnem tkivu. Znano je namreč, da proces razgradnje kvantitativno spremlja proces tvorbe, zato se povišajo v serumu tako kazalci tvorbe kot tudi razgradnje. Ugotavljamo, da tvorba po enoletni terapiji s finasteridom, ob značilnem zvišanju CTX, sicer še lahko sledi procesu resorpcije, vendar verjetno ne dovolj.

*Preglednica IV: Korelacija CTX z OC in P1NP pri bolnikih, ki so prejeli finasterid;*

Podskupina	A-CTX-FI	Podskupina	B-CTX-FI	Podskupina	C-CTX-FI
A-CTX-FI	1	B-CTX-FI	1	C-CTX-FI	1
A-OC-FI	0,781	B-OC-FI	0,765	C-OC-FI	0,778
A-P1NP-FI	0,746	B-P1NP-FI	0,600	C-P1NP-FI	0,627

\*v vseh primerih je korelacija značilna,  $p < 0,05$

Finasterid deluje zaviralno na izoencim 5AR tipa 2, ki se pretežno nahaja v prostati in je odgovoren za pretvorbo testosterona (T) v približno 70,8% vsega cirkulirajočega dihidrotestosterona (DHT). Pri terapiji s finasteridom se pretvorba T v DHT v prostati zavre. Posledično se poveča koncentracija T v prostati, ki nato s pasivno difuzijo prehaja nazaj v krvni obtok. Glede na podatke iz literature (42) se serumska koncentracija T poveča za približno 15%, kar pa je še vedno znotraj fiziološkega območja. Znano je, da androgeni vplivajo na kosti preko vezave na androgeni receptor (AR), ki je izražen v obeh vrstah celic kostnega tkiva. Liganda za AR sta oba, T in DHT. DHT ima sicer 2x večjo afiniteto za vezavo na androgeni receptor, medtem ko pa T disocira 5x hitreje v primerjavi z DHT (43). Medtem, ko je vpliv androgenov na osteoblaste bolj raziskan, je vpliv androgenov na osteoklaste še vedno predmet številnih študij. Kljub temu je znano, da androgeni preko AR zavirajo nastajanje osteoklastov in s tem zmanjšujejo tudi razgradnjo kosti (44). V odsotnosti oziroma pomanjkanju androgenov T in DHT ta inhibicija ni popolna in vodi v nadaljnje nastajanje osteoklastov ter seveda v povečano koncentracijo kostnih kazalcev razgradnje (CTX) v krvi. Pri naši študiji smo to zaznali in ugotovili, da ima finasterid vpliv na koncentracijo CTX, saj se je koncentracija CTX po enoletni terapiji statistično značilno zvišala.

V literaturi nismo zasledili študije novejšega datuma, ki bi obravnavala vpliv finasterida na koncentracijo CTX v obdobju enoletne terapije pri bolnikih z diagnosticirano BHP. Kljub temu pa je S.R. Tollin s sodelavci (45) leta 1996 pri bolnikih z BHP ugotavljal vpliv tri mesečne terapije s finasteridom na kosti z merjenjem MKG (DXA) in izbranimi urinskimi kostnimi kazalci razgradnje (Ca, hidroksiprolin, NTX). Vpliva finasterida na kostno razgradnjo niso potrdili. H. Matzkin s sodelavci (46) je leta 1992 izvedel podobno študijo na bolnikih z BHP, kjer je ugotavljal vpliv finasterida na kosti v obdobju enega leta. Tudi tukaj niso zaznali vpliva finasterida na kosti. MKG in ostali parametri so ostali po enoletni terapiji normalni. Podobno je ugotovil Matsumoto s sodelavci pri študiji vpliva po 4 letni terapiji s finasteridom (47). Naše ugotovitve so v tem pogledu skladne z ugotovitvami omenjenih avtorjev, saj je povišanje koncentracije CTX ostalo v okviru RV, torej je pričakovati, da bi izmerjena MKG pri naših bolnikih bila prav tako normalna. Žal zaradi organizacijskih (ne)možnosti MKG v naši magistrski nalogi nismo merili.

V nadaljevanju smo želeli ugotoviti povezanost učinkov terapije z glavnimi endogenimi regulatorji kostne remodelacije, in sicer s PTH ter vitaminom D.

Znano je, da PTH pospešuje razgradnjo kosti tako, da spodbuja tvorbo in delovanje osteoklastov preko delovanja PTH na osteoblaste. Osteoklasti namreč nimajo receptorjev za PTH. Pričakovati je torej, da bo ob povišani koncentraciji PTH, povišan tudi CTX. Zato nas je zanimala moč in značilnost povezave PTH s CTX. S statistično analizo korelacije smo ugotovili, da je v času enoletne terapije s finasteridom moč povezave med PTH in CTX šibka ( $r = -0,053$  do  $0,318$ ) ter statistično neznačilna ( $p > 0,05$ ). Nadalje smo ugotovili, da se koncentracija PTH v obdobju 12 mesečne terapije ni statistično značilno povišala oziroma spremenila ( $p = 0,604$ ). Koncentracija PTH v obdobju 12 mesečne terapije pri preiskovancih v tej podskupini je bila praktično konstantna in sicer je bila mediana 57,0 (47,5; 65,0) ng/L. Iz ugotovljenega lahko sklepamo, da povišanje koncentracije CTX v obdobju 12 mesečne terapije ni posledica delovanja PTH ampak verjetno posledica terapije s finasteridom.

Zanimala nas je tudi povezava CTX s koncentracijo 25(OH)-VitD. 25(OH)-VitD preko svojih neposrednih učinkov lahko pospeši kostno resorpcijo, medtem ko s posrednimi učinki preko GIT in ledvic, pospeši mineralizacijo kostnega matriksa. Pričakovati je torej,

da bo ob povišani koncentraciji 25(OH)-VitD, povišan tudi CTX. S statistično analizo korelacije smo ugotovili, da enoletna terapija s finasteridom praktično ne vpliva na koncentracije 25(OH)-VitD, saj se njegove vrednosti med enoletno terapijo niso značilno spreminjale ( $p=0,519$ ). Moč povezave med 25(OH)-VitD in CTX je bila šibka ( $r = -0.143$  do  $0.134$ ) ter neznačilna, saj so bile vrednosti  $p > 0,05$  (od  $0,309$  do  $0,490$ ). Povprečna koncentracija 25(OH)-VitD po 12 mesečni terapiji s finasteridom je bila pri bolnikih v tej podskupini  $54,91 \pm 4,37$  ng/L, torej prenizka, da bi povišanje koncentracije CTX v preiskovani skupini lahko pripisali delovanju 25(OH)-VitD. Zaključimo lahko, da zvišanje koncentracije CTX v obdobju 12 mesečne terapije ni posledica delovanja vitamina D, temveč verjetno terapije s finasteridom.

*Preglednica V: Korelacija CTX s PTH in 25(OH)-VitD pri bolnikih, ki so prejeli finasterid;*

Podskupina	A-CTX-FI	Podskupina	B-CTX-FI	Podskupina	C-CTX-FI
A-PTH-FI	0,207*	B-PTH-FI	0,318*	C-PTH-FI	-0,053*
A-VITD-FI	0,134*	B-VITD-FI	-0,196*	C-VITD-FI	-0,143*

\*v vseh primerih je korelacija neznačilna,  $p > 0.05$

#### 4.2.2. Ocena vpliva finasterida na koncentracijo OC

Koncentracijo OC pred terapijo oziroma v času 0. (A-OC-FI) smo izmerili pri 33 bolnikih, po polletni terapiji oziroma v času 6. mesecev (B-OC-FI) je bila koncentracija OC izmerjena 32 bolnikom in po enem letu (C-OC-FI) 29 bolnikom. S Shapiro-Wilkovim testom normalnosti porazdelitve smo ugotovili, da se v vseh treh podskupinah podatki porazdeljujejo normalno, zato smo analizo nadaljevali s parametričnim testom ANOVA. Ugotovili smo, da se koncentracija OC v obdobju enoletne terapije s finasteridom ni značilno spremenila ( $p=0.797$ ) (Slika 7). Sprememba koncentracij OC v enoletnem obdobju po uvedbi terapije je bila v okviru standardne napake, velikosti od  $\pm 1,09$  do  $\pm 1,28$  ng/mL.

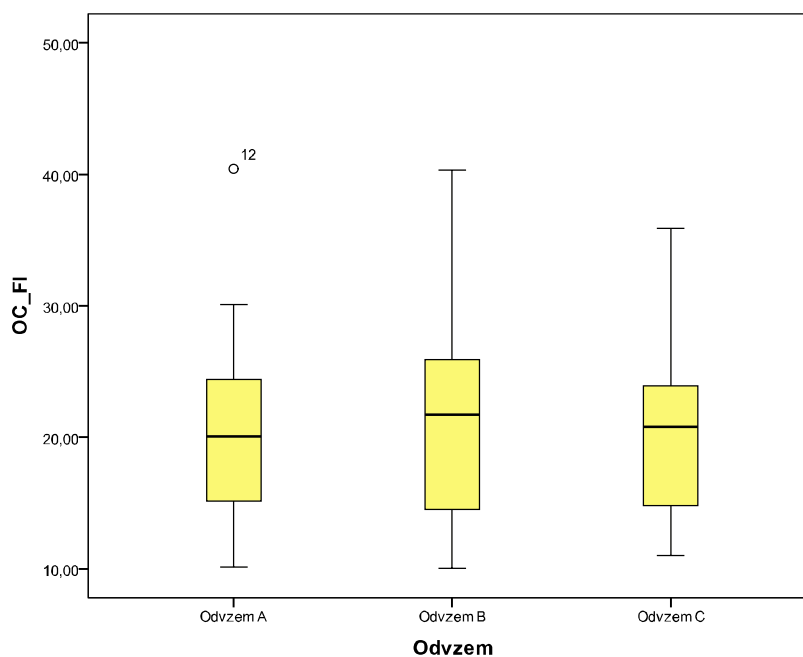


*Preglednica VI: Spremembe serumskih koncentracij OC pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (A-OC-FI), po polletni terapiji (B-OC-FI) in po enoletni terapiji (C-OC-FI).*

Podskupina	N	Srednja vrednost (ng/mL)	SE (ng/mL)	SD (ng/mL)	95% Interval zaupanja (ng/mL)		Normalnost (p vrednost)	p vrednost*
					spodnja meja	zgornja meja		
A-OC-FI	33	20,48	1,09	6,27	18,25	22,70	0,050	0,797
B-OC-FI	32	21,62	1,28	7,23	19,01	24,23	0,321	
C-OC-FI	29	21,02	1,28	6,90	18,39	23,64	0,078	

\* enostranska ANOVA

Čeprav smo pričakovali povišane vrednosti koncentracije OC ob terapiji s finasteridom, so se vrednosti OC v serumu po pol leta terapije sicer povišale za 2,6% ter nadalje do enega leta ostale konstantne, predstavlja to zvišanje neznačilno spremembo v času terapije. Omenjeno zvišanje OC je klinično nepomembno in znotraj RV za OC (do 46 ng/mL). To kaže na to, da finasterid ni vplival na kostno tvorbo oziroma na kostno remodelacijo.



*Slika 7: Spremembe serumskih koncentracij OC pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C).*

Izvedli smo tudi statistično analizo korelacije OC s kostnimi kazalci pred uvedbo terapije, po polletnem in enoletnem obdobju terapije. Moč povezave OC s CTX in P1NP je bila v vseh treh obdobjih dobra ( $r = 0,765$  do  $0,815$ ), pozitivna in statistično značilna ( $p < 0,005$ ) (Preglednica VII). Ugotovljeno potrjuje smiselnost rezultatov in odraža fiziološke procese v kostnem tkivu.

*Preglednica VII: Korelacija OC s CTX in P1NP pri bolnikih, ki so prejeli finasterid;*

Podskupina	A-OC-FI	Podskupina	B-OC-FI	Podskupina	C-OC-FI
A-OC-FI	1	B-OC-FI	1	C-OC-FI	1
A-CTX-FI	0,781	B-CTX-FI	0,765	C-CTX-FI	0,778
A-P1NP-FI	0,778	B-P1NP-FI	0,815	C-P1NP-FI	0,785

\*v vseh primerih je korelacija značilna,  $p < 0.05$

Kot smo že opisali v prejšnjem poglavju, finasterid deluje zaviralno na izoencim 5AR tipa 2, in le-ta pospešuje pretvorbo T v DHT. Ugotovili smo, da je kljub zaviranju pretvorbe T v bolj učinkovit androgen DHT, tvorba in s tem povezana sprememba koncentracije kostnega kazalca OC ostala nespremenjena. Naše hipoteze, da se koncentracija OC ob terapiji s finasteridom v enoletnem obdobju poveča, nismo potrdili.

V literaturi nismo zasledili študije novejšega datuma, ki bi obravnavala vpliv finasterida na koncentracijo OC v obdobju enoletne terapije pri bolnikih z diagnosticirano BHP. Že omenjena raziskava S.R. Tollina in sodelavcev (45) leta 1996 ni pokazala povezanosti tri mesečne terapije s finasteridom s serumskimi koncentracijami kazalcev tvorbe, OC in BALP. Naše ugotovitve so v tem pogledu skladne z objavljenimi podatki, saj je koncentracija OC v naši raziskavi ostala praktično nespremenjena.

#### 4.2.3. Ocena vpliva finasterida na koncentracijo P1NP

Nadalje smo želeli ugotoviti vpliv terapije s finasteridom na kostni kazalec tvorbe kosti, P1NP. Koncentracijo P1NP pred pričetkom terapije oziroma v času 0. (A-P1NP-FI) smo izmerili pri 33 bolnikih, po polletni terapiji oziroma v času 6. mesecev (B-P1NP-FI) je bila koncentracija OC izmerjena 32 bolnikom in po enem letu (C- P1NP-FI) 29 bolnikom. S Shapiro-Wilkovim testom normalnosti porazdelitve smo ugotovili, da se podatki

podskupine A-P1NP-FI ne porazdeljujejo normalno ( $p=0,004$ ), medtem ko se podatki ostalih podskupin porazdeljujejo normalno (B-P1NP-FI,  $p=0,380$  in C-P1NP-FI,  $p=0,145$ ). Nadaljnjo analizo značilnih razlik smo zato izvajali z neparametričnim Friedmanovim testom (ang. *Friedman's two way analysis*). Ugotovili smo, da se koncentracija P1NP v enoletnem obdobju terapije s finasteridom ni značilno spremenila ( $p=0,786$ ). Sprememba koncentracij P1NP v enoletnem obdobju je bila v okviru standardne napake od  $\pm 3,09$  do  $\pm 3,19$ . Vrednosti koncentracij P1NP so bile v območju RV (do 80 ng/mL).

*Preglednica VIII: Spremembe serumskih koncentracij P1NP pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (A-P1NP-FI), po polletni terapiji (B-P1NP-FI) in po enoletni terapiji (C-P1NP-FI)*

Podskupina	N	Srednja vrednost (ng/mL)	SE (ng/mL)	SD (ng/mL)	95% Interval zaupanja spodnja meja    zgornja meja (ng/mL)		Normalnost (p vrednost)	p vrednost*
A-P1NP-FI	33	35,37 <sup>a</sup>	3,12	17,91	28,26 <sup>b</sup>	53,55 <sup>c</sup>	0,004*	0,786**
B- P1NP -FI	32	44,72	3,19	18,03	38,22	51,22	0,380	
C- P1NP -FI	29	42,72	3,09	16,64	36,39	49,05	0,145	

\*  $p < 0,05$

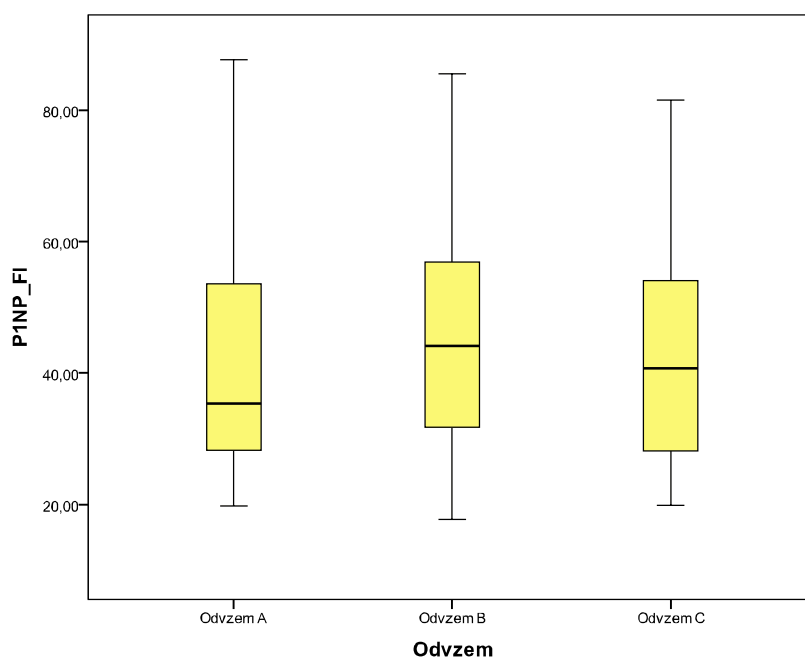
\*\*dvostranska Friedmanova analiza

<sup>a</sup> mediana

<sup>b</sup> 25. percentil

<sup>c</sup> 75. percentil

P1NP je za razliko od OC novejši in bolj specifičen kazalec kostne tvorbe. Ti propeptidi kolagena I se v serumu povešajo ob pospešenem nastajanju »zrelega« kolagena I, torej ob pospešeni kostni tvorbi. Tudi pri tem kazalcu smo pričakovali zvišanje vrednosti koncentracije P1NP pri terapiji s finasteridom. Koncentracije P1NP v serumu so ostale praktično konstantne v času terapije. To kaže na to, da finasterid verjetno ne vpliva na kostno tvorbo oziroma na kostno remodelacijo.



Slika 8: Spremembe serumskih koncentracij P1NP pri bolnikih, ki so prejeli finasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C).

Izvedli smo tudi statistično analizo korelacije P1NP s kostnimi kazalci pred uvedbo terapije, po polletnem in enoletnem obdobju terapije. Moč povezave P1NP s CTX in OC je bila v vseh treh obdobjih dobra ( $r = 0,600$  do  $0,815$ ), pozitivna in statistično značilna ( $p < 0,005$ ). Ugotovljeno potrjuje smiselnost rezultatov in odraža fiziološke procese v kostnem tkivu. Tudi s pomočjo ugotovitev pri tem kostnem kazalcu lahko zaključimo, da se kostna tvorba v času enoletne terapije s finasteridom ne spremeni. Korelacija kaže tudi boljše ujemanje z OC kot s CTX saj so korelacijski koeficienti višji ( $>0,750$ ).

Preglednica IX. Korelacija P1NP s CTX in OC pri bolnikih, ki so prejeli finasterid;

Podskupina	A-P1NP-FI	Podskupina	B- P1NP -FI	Podskupina	C- P1NP -FI
A-OC-FI	0,778	B-OC-FI	0,815	C-OC-FI	0,785
A-CTX-FI	0,746	B-CTX-FI	0,600	C-CTX-FI	0,625
A-P1NP-FI	1	B-P1NP-FI	1	C-P1NP-FI	1

\*v vseh primerih je korelacija značilna,  $p < 0.05$

Ugotovili smo, da je kljub zaviranju pretvorbe T v bolj učinkovit androgen DHT, tvorba in s tem povezana sprememba koncentracije kostnega kazalca P1NP ostala nespremenjena. Naše hipoteze, da se koncentracija P1NP ob terapiji s finasteridom v enoletnem obdobju poveša, nismo potrdili.

V literaturi nismo zasledili študije novejšega datuma, ki bi obravnavala vpliv finasterida na koncentracijo P1NP v obdobju enoletne terapije pri bolnikih z diagnosticirano BHP. V že omenjenih raziskavah S.R. Tollin s sodelavci (45) ter H. Matzkin s sodelavci (46) vpliva finasterida na kostno tvorbo niso potrdili, vendar v nobeni od teh raziskav niso merili novejšega in danes priznanega kazalca kostne tvorbe t.j. P1NP. Zaradi teh razlogov naših rezultatov neposredno ne moremo primerjati z omenjenima raziskavama.

### **4.3. Ocena vpliva dutasterida na kosti**

Kot pogosta alternativa finasteridu se za zdravljenje BHP uporablja dutasterid. Dutasterid deluje zaviralno na oba izoencima 5AR, tip 1 (koža, jetra) in tip 2 (prostata) in je odgovoren za pretvorbo T v približno 94,7% vsega cirkulirajočega DHT. Oceno vpliva dutasterida (DU) na kosti smo ugotavljali z analizo rezultatov posameznih biokemijskih kazalcev kostne remodelacije pri skupini bolnikov, ki je prejela dutasterid. V skupino, ki je prejela dutasterid je bilo vključenih 35 bolnikov.

#### **4.3.1. Ocena vpliva dutasterida na koncentracijo CTX**

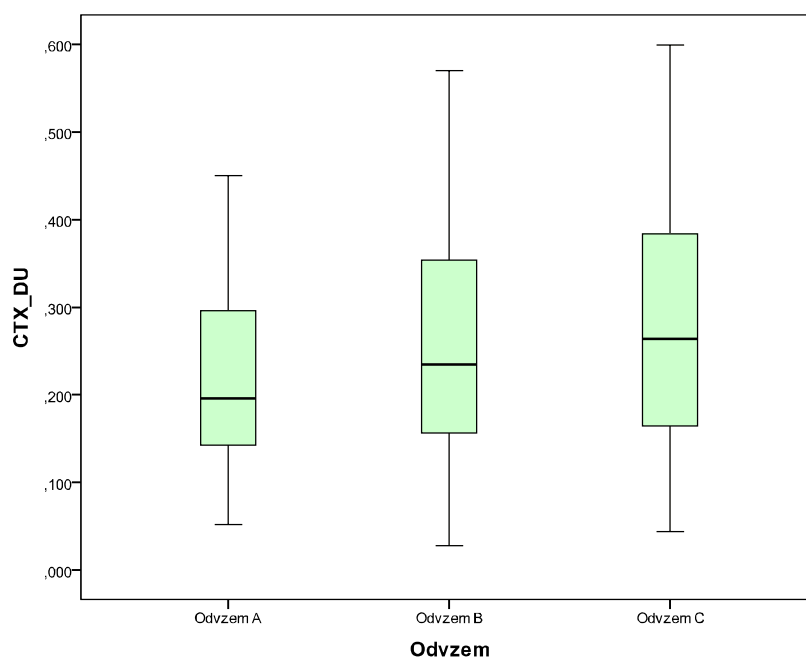
Koncentracijo CTX pred terapijo oziroma v času 0. (A-CTX-DU) smo izmerili pri 35 bolnikih, po polletni terapiji oziroma v času 6. mesecev (B-CTX-DU) je bila koncentracija CTX izmerjena prav tako 35 bolnikom in po enem letu (C-CTX-DU) 31 bolnikom. S Shapiro-Wilkovim testom normalnosti porazdelitve smo ugotovili, da se v vseh treh podskupinah podatki porazdeljujejo normalno ( $p > 0.05$ ), zato smo analizo nadaljevali s parametričnim testom ANOVA. Ugotovili smo, da se koncentracija CTX v obdobju enoletne terapije z dutasteridom sicer vidno povešala za 29,2 %, a sprememba kljub temu ni bila statistično značilna ( $p = 0.145$ ).

*Preglednica X: Spremembe serumskih koncentracij CTX pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (A-CTX-DU), po polletni terapiji (B-CTX- DU) in po enoletni terapiji (C-CTX- DU).*

Podskupina	N	Srednja vrednost (ng/mL)	SE (ng/mL)	SD (ng/mL)	95% Interval zaupanja		Normalnost (p vrednost)	p vrednost/ post HOC
					spodnja meja (ng/mL)	zgornja meja (ng/mL)		
A-CTX-DU	35	0,219	0,018	0,105	0,183	0,255	0,363	0.145*
B-CTX-DU	35	0,260	0,023	0,137	0,213	0,307	0,145	
C-CTX-DU	31	0,283	0,027	0,153	0,227	0,339	0,396	

\*p<0,05; enostranska ANOVA

Tudi to ugotovljeno zvišanje koncentracije CTX v enoletni terapiji z dutasteridom ni klinično pomembno, saj je sprememba še vedno znotraj orientacijskih referenčnih vrednosti (RV) za to starostno obdobje bolnikov ( $67 \pm 7$  let). Glede na RV je pričakovati, da bi klinično pomembne spremembe nastopile pri koncentraciji  $> 0,704$  ng/mL ( $> 50$  let). Izmerjena maksimalna koncentracija CTX po obdobju enoletne terapije pa je bila 0,599 ng/mL, pri vzorcu z oznako 34C. Domnevamo, da bi predvsem pri mlajših moških (30 - 50 let), pri katerih so RV nižje ( $>0,584$  ng/mL), po večletni terapiji ob enakem učinku dutasterida na koncentracijo CTX, spremembe lahko postale statistično značilne ali celo klinično pomembne. Priporočamo izvedbo študije vpliva dutasterida na koncentracijo CTX na populaciji moških bolnikov, starosti 30 – 50 let, ki so na terapiji z dutasteridom.



Slika 9: Spremembe serumskih koncentracij CTX pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C).

Izvedli smo tudi statistično analizo korelacije CTX s kostnimi kazalci pred uvedbo terapije, po 6 mesečnem in enoletnem obdobju terapije. Moč povezave CTX z OC in P1NP je bila v vseh treh obdobjih dobra ( $r = 0,562$  do  $0,800$ ), pozitivna in statistično značilna ( $p < 0,05$ ). Ugotovljeno potrjuje smiselnost rezultatov in odraža fiziološke procese v kostnem tkivu. Znano je namreč, da proces razgradnje kvantitativno spremlja proces tvorbe, zato se povečajo v serumu tako kazalci tvorbe kot tudi razgradnje. Ugotavljamo, da tvorba po enoletni terapiji z dutasteridom, ob opaznem zvišanju CTX, sicer še lahko sledi procesu resorpcije vendar verjetno ne dovolj.

Preglednica XI. Korelacija CTX z OC in P1NP pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid;

Podskupina	A-CTX-DU	Podskupina	B-CTX-DU	Podskupina	C-CTX-DU
A-CTX-DU	1	B-CTX-DU	1	C-CTX-DU	1
A-OC-DU	0,649	B-OC-DU	0,562	C-OC-DU	0,751
A-P1NP-DU	0,646	B-P1NP-DU	0,729	C-P1NP-DU	0,800

\*v vseh primerih je korelacija značilna,  $p < 0.05$

Pri terapiji z dutasteridom se pretvorba T v DHT zavre. Posledično se poveča koncentracija T v prostati, ki nato s pasivno difuzijo prehaja nazaj v krvni obtok. Glede na podatke iz literature (42) se serumska koncentracija T posledično poveča, vendar je sprememba še vedno znotraj fiziološkega območja. Znano je, da androgeni (T, DHT) preko AR zavirajo nastajanje osteoklastov in s tem zmanjšujejo tudi razgradnjo kosti (44). V odsotnosti oziroma pomanjkanju T ali DHT ta inhibicija ni popolna in vodi k nadaljnji tvorbi osteoklastov. Aktivnost osteoklastov pa povzroči povečano koncentracijo kostnih kazalcev razgradnje (CTX) v krvi. Pri naši študiji smo ugotovili, da dutasterid sicer poveča koncentracijo CTX v obdobju enoletne terapije, vendar sprememba ni statistično značilna in tudi ne klinično pomembna.

V literaturi nismo zasledili študije, ki bi obravnavala vpliv dutasterida na koncentracijo CTX v obdobju enoletne terapije pri bolnikih z diagnosticirano BHP. Kljub temu pa je kar nekaj avtorjev, Andriole s sodelavci (48) in Marihart s sodelavci (49), ki opisujejo raziskavo ARIA 1009 o vplivu dutasterida na MKG, OC, BALP in NTX v urinu. V omenjeni raziskavi so ugotovili, da dutasterid ne vpliva na koncentracije izbranih kazalcev niti na MKG. Naše ugotovitve so v tem pogledu skladne z ugotovitvami omenjenih avtorjev, saj se je koncentracija CTX sicer povišala vendar ne klinično značilno spremenila. Pričakujemo, da bi bila izmerjena MKG pri naših bolnikih prav tako v okviru R.V..

#### 4.3.2. Ocena vpliva dutasterida na koncentracijo OC

Koncentracijo OC pred terapijo (A-OC-DU) in po polletni terapiji (B-OC-DU) smo izmerili pri 35 bolnikih, medtem, ko je bila koncentracija OC po enem letu (C-OC-DU) izmerjena 31 bolnikom. S Shapiro-Wilkovim testom normalnosti porazdelitve smo ugotovili, da se v vseh treh podskupinah podatki porazdeljujejo normalno, zato smo analizo nadaljevali s parametričnim testom ANOVA. Ugotovili smo, da se koncentracija OC v obdobju enoletne terapije z dutasteridom ni značilno spremenila ( $p=0,875$ ). Koncentracija OC v obdobju enoletne terapije je ostala praktično konstantna.

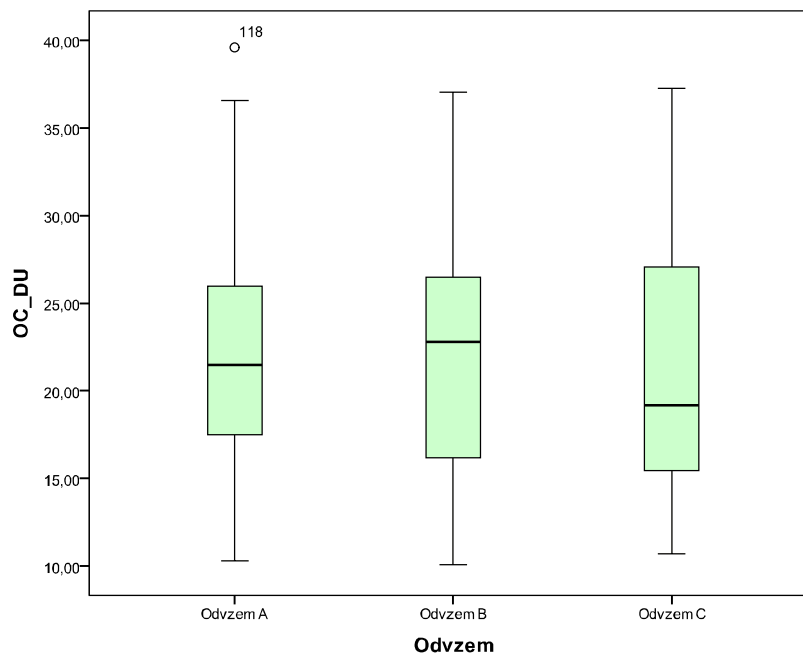


*Preglednica XII: Spremembe serumskih koncentracij OC pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (A-OC-DU), po polletni terapiji (B-OC-DU) in po enoletni terapiji (C-OC- DU).*

Podskupina	N	Srednja vrednost (ng/mL)	SE (ng/mL)	SD (ng/mL)	95% Interval zaupanja (ng/mL)		Normalnost (p vrednost)	p vrednost
					spodnja meja	zgornja meja		
A-OC-DU	35	22,31	1,17	6,92	19,93	24,69	0,394	0.875*
B-OC-DU	35	21,91	1,17	6,90	19,54	24,28	0,502	
C-OC-DU	31	21,41	1,35	7,50	18,65	24,16	0,154	

\*p<0,05; enostranska ANOVA

Koncentracija se je sicer od začetka terapije znižala za 4%, vendar je ta sprememba še vedno znotraj standardne napake po enoletnem obdobju terapije in sicer  $21,41 \pm 1,35$  ng/mL. Ugotovljena koncentracija OC po terapiji je klinično nepomembna in znotraj RV za OC (16 - 46 ng/mL). To nakazuje, da dutasterid ni vplival na kostno tvorbo oziroma na kostno remodelacijo.



*Slika 10: Spremembe serumskih koncentracij OC pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C).*

Izvedli smo tudi statistično analizo korelacije OC z izbranimi kostnimi kazalci pred uvedbo terapije, po polletnem in enoletnem obdobju terapije. Moč povezave OC s CTX in P1NP je bila v vseh treh obdobjih dobra ( $r = 0,562$  do  $0,848$ ), pozitivna in statistično značilna ( $p < 0,005$ ) (Preglednica XIII). Ugotovljeno potrjuje smiselnost rezultatov in odraža fiziološke procese v kostnem tkivu. Znano je namreč, da proces razgradnje kvantitativno spremlja proces tvorbe. Zaključimo lahko, da se kostna tvorba v času enoletne terapije z dutasteridom ne spremeni.

*Preglednica XIII. Korelacija OC s CTX in P1NP pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid;*

Podskupina	A-OC-DU	Podskupina	B-OC-DU	Podskupina	C-OC-DU
A-OC-DU	1	B-OC-DU	1	C-OC-DU	1
A-CTX-DU	0,649	B-CTX-DU	0,562	C-CTX-DU	0,751
A-P1NP-DU	0,776	B-P1NP-DU	0,843	C-P1NP-DU	0,848

\*v vseh primerih je korelacija značilna,  $p < 0.05$

Dutasterid deluje zaviralno na oba izoencima 5AR, tip 1 (koža, jetra) in tip 2 (prostata) in je odgovoren za pretvorbo T v približno 94,7% vsega cirkulirajočega DHT. Pri terapiji z dutasteridom se pretvorba T v DHT zavre, kar vodi do povečane koncentracije T v prostati, ki nato s pasivno difuzijo prehaja nazaj v krvni obtok. Glede na podatke iz literature (42) se serumska koncentracija T posledično poveča, vendar je sprememba še vedno znotraj fiziološkega območja. Mehanizem delovanja androgenov na osteoblaste je kompleksen in ne vključuje samo AR ampak tudi ostale mehanizme. Ugotovili smo, da je kljub zaviranju pretvorbe T v bolj učinkovit androgen DHT, tvorba in s tem povezana sprememba koncentracije kostnega kazalca OC ostala nespremenjena. Naše hipoteze, da se koncentracija OC pri terapiji z dutasteridom v enoletnem obdobju poveča, nismo potrdili.

V literaturi nismo zasledili študije, ki bi obravnavala vpliv dutasterida na koncentracijo OC v obdobju enoletne terapije pri bolnikih z diagnosticirano BHP. Kljub temu pa je kar nekaj avtorjev, Andriole s sodelavci (48) in Marihart s sodelavci (49), ki opisujejo raziskavo ARIA 1009 o vplivu dutasterida na MKG, OC, BALP in NTX v urinu. V omenjeni raziskavi so ugotovili, da dutasterid ne vpliva na koncentracije izbranih kazalcev niti na MKG. Naše ugotovitve so v tem pogledu skladne z ugotovitvami omenjenih avtorjev, saj

se koncentracija OC skozi terapijo praktično ni spremenila. Pričakujemo, da bi izmerjena MKG pri naših bolnikih bila prav tako normalna.

#### 4.3.3. Ocena vpliva dutasterida na koncentracijo P1NP

Koncentracijo P1NP pred terapijo (A-P1NP-DU) in po polletni terapiji (B-P1NP-DU) smo izmerili pri 35 bolnikih, medtem, ko je bila koncentracija P1NP po enem letu (C-P1NP-DU) izmerjena 31 bolnikom. S Shapiro-Wilkovim testom normalnosti porazdelitve smo ugotovili, da se podatki podskupine A-P1NP-DU ne porazdeljujejo normalno ( $p=0,002$ ) medtem, ko se podatki ostalih podskupin porazdeljujejo normalno (B-P1NP-DU,  $p=0,461$  in C-P1NP-DU,  $p=0,476$ ). Nadaljnjo analizo značilnih razlik smo zato izvajali z neparametričnim Friedmanovim testom (*Friedman's two way analysis*). Ugotovili smo, da se koncentracija P1NP v obdobju enoletne terapije z dutasteridom ni značilno spremenila ( $p=0,067$ ). Analizo bi zato bilo smiselno izvesti na večji populaciji vzorcev. Koncentracija P1NP v obdobju enoletne terapije z DU je bila praktično konstantna in spremembe po enem letu v okviru standardne napake  $38,34 \pm 2,87$ . Vrednosti koncentracij P1NP so bile v območju RV (do 80 ng/mL).

*Preglednica XIV: Spremembe serumskih koncentracij P1NP pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (A-P1NP-DU), po polletni terapiji (B- P1NP -DU) in po enoletni terapiji (C- P1NP-DU).*

Podskupina	N	Srednja vrednost (ng/mL)	SE (ng/mL)	SD (ng/mL)	95% Interval zaupanja		Normalnost (p vrednost)	p vrednost
					spodnja meja (ng/mL)	zgornja meja (ng/mL)		
A-P1NP-DU	35	39,91 <sup>a</sup>	3,21	19,00	29,14 <sup>b</sup>	48,39 <sup>c</sup>	0,002*	0,067**
B- P1NP -DU	35	41,99	2,73	16,18	36,43	47,54	0,461	
C- P1NP -DU	31	38,34	2,87	15,96	32,48	44,19	0,476	

\*  $p < 0,05$

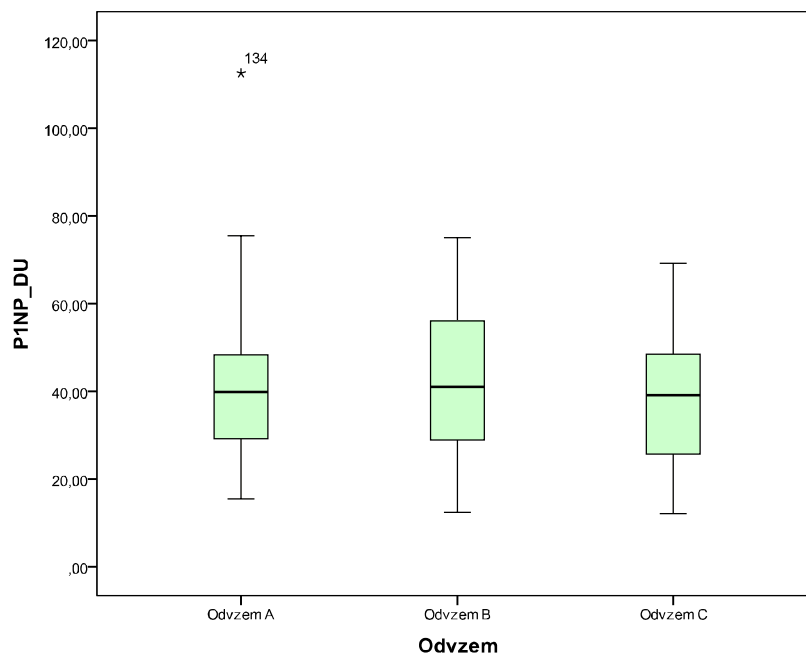
\*\* dvostranska Fridmanova analiza

<sup>a</sup> mediana

<sup>b</sup> 25. percentil

<sup>c</sup> 75. percentil

P1NP je za razliko od OC novejši in bolj specifičen kazalec kostne tvorbe. Tudi pri tem kazalcu smo pričakovali zvišanje vrednosti koncentracije P1NP pri terapiji z dutasteridom. Koncentracije P1NP v serumu so ostale praktično konstantne v času terapije. To kaže na to, da dutasterid nima značilnega vpliva na kostno tvorbo oziroma na kostno remodelacijo.



Slika 11: Spremembe serumskih koncentracij P1NP pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid; pred pričetkom terapije (Odvzem A), po polletni terapiji (Odvzem B) in po enoletni terapiji (Odvzem C).

Izvedli smo tudi statistično analizo korelacije P1NP s kostnimi kazalci pred uvedbo terapije, po polletnem in enoletnem obdobju terapije. Moč povezave P1NP s CTX in OC je bila v vseh treh obdobjih zelo dobra ( $r = 0,729$  do  $0,848$ ), pozitivna in statistično značilna ( $p < 0,005$ ). Ugotovljeno potrjuje smiselnost rezultatov in odraža fiziološke procese v kostnem tkivu. Tudi s pomočjo ugotovitev pri tem kostnem kazalcu lahko zaključimo, da se kostna tvorba v času enoletne terapije z dutasteridom ne spremeni. Korelacija kaže tudi boljše ujemanje z OC kot s CTX saj so korelacijski koeficienti višji ( $>0,750$ ).

Preglednica XV: Korelacija P1NP s CTX in OC pri bolnikih, ki so prejeli dutasterid;

Podskupina	A-P1NP-DU	Podskupina	B-P1NP-DU	Podskupina	C-P1NP-DU
A-OC-DU	0,778	B-OC-DU	0,843	C-OC-DU	0,848
A-CTX-DU	0,776	B-CTX-DU	0,729	C-CTX-DU	0,800
A-P1NP-DU	1	B-P1NP-DU	1	C-P1NP-DU	1

\*v vseh primerih je korelacija značilna,  $p < 0.05$

Dutasterid deluje zaviralno na oba izoencima 5AR, tip 1 (koža, jetra) in tip 2 (prostata) in je odgovoren za pretvorbo T v približno 94,7% vsega cirkulirajočega DHT. Pri terapiji z dutasteridom se pretvorba T v DHT zavre. Posledično se poveča koncentracija T v prostati, ki nato s pasivno difuzijo prehaja nazaj v krvni obtok. Glede na podatke iz literature (42) se serumska koncentracija T zaradi tega sicer poveča, vendar je sprememba še vedno znotraj fiziološkega območja. Znano je, da androgeni vplivajo na kosti preko vezave na androgeni receptor (AR), ki je izražen v celicah kostnega tkiva. Natančneje, androgeni povečajo proliferacijo in sprožijo diferenciacijo osteoblastov, kostnih celic, ki so odgovorne za izgradnjo kosti. Mehanizem delovanja androgenov na osteoblaste je kompleksen in ne vključuje samo AR, ampak tudi ostale mehanizme. Ugotovili smo, da je kljub zaviranju pretvorbe T v bolj učinkovit androgen DHT, tvorba in s tem povezana sprememba koncentracije kostnega kazalca P1NP ostala nespremenjena. Naše hipoteze, da se koncentracija P1NP pri terapiji z dutasteridom v enoletnem obdobju poviša, nismo potrdili.

V literaturi nismo zasledili študije novejšega datuma, ki bi obravnavala vpliv dutasterida na koncentracijo P1NP v obdobju enoletne terapije pri bolnikih z diagnosticirano BHP. V že omenjenih raziskavah S.R. Tollin s sodelavci (45) ter H. Matzkin s sodelavci (46) vpliva dutasterida na kostno tvorbo niso potrdili, vendar v nobeni od teh raziskav niso merili novejšega in danes priznanega kazalca kostne tvorbe t.j. P1NP. Zaradi teh razlogov naših rezultatov neposredno ne moremo primerjati z omenjenima raziskavama.

Čeprav smo pričakovali, da bo pri terapiji z dutasteridom, ki odgovoren za pretvorbo T v približno 94,7% vsega cirkulirajočega DHT, dokazali neželeni učinek na kosti, se to ni pokazalo. Eden od možnih razlogov je, da nakopičeni T kljub manjši afiniteti do AR dosega oz. kompenzira učinke DHT. To kažejo tudi naši rezultati.

#### **4.4. Primerjava kostnih učinkov finasterida in dutasterida**

Pri študiji nas je zanimalo tudi, ali obstaja razlika v učinku na kosti med učinkovinama finasterid (FI) in dutasterid (DU). Razliko učinka na kosti smo ugotavljali tako, da smo med seboj primerjali absolutne spremembe v koncentraciji (delte) izbranih kostnih kazalcev (CTX, OC, P1NP) v času po šestih mesecih in po enoletni terapiji. Podatke smo

razdelili v podskupine glede na terapijo, jih označili glede na kostni kazalec (CTX, OC, PINP) in spremembo po prvem šestmesečnem obdobju (d01) ter po enoletni terapiji (d02). Tako na primer podskupina CTXd01-FI predstavlja podatke o absolutnih spremembah koncentracije kostnega kazalca CTX po polletni terapiji s finasteridom.

#### 4.4.1. Ocena razlik v učinku finasterida in dutasterida na koncentracijo CTX

Z analizo normalnosti porazdelitve smo v podskupinah dCTX01 in dCTX02 ugotovili, da se podatki pri finasteridu ne porazdeljujejo normalno ( $p < 0,05$ ), medtem ko se podatki pri dutasteridu porazdeljujejo normalno ( $p > 0,05$ ). Analizo ugotavljanja razlik v učinku na kosti med FI in DU smo pri CTX zato nadaljevali z neparametričnim testom Mann – Whitney U. Ugotovili smo, da med FI in DU ne obstaja statistično značilna razlika v učinku na kosti ne v polletnem ( $p = 0,334$ ) in ne v enoletnem obdobju ( $p = 0,853$ ). Sta pa oba povzročila povišanje koncentracije CTX v obdobju enoletne terapije, kar smo opisali v poglavju 4.2.1 in 4.3.1 te razprave. Povišanje koncentracije CTX pri finasteridu je bilo statistično značilno a vendar klinično nepomembno, medtem ko je bilo povišanje koncentracije CTX pri dutasteridu statistično neznačilno. Zaključujemo, da sta učinka finasterida in dutasterida na CTX v preiskovani skupini enaka (Preglednica XV).

*Preglednica XVI: Primerjava učinkov finasterida in dutasterida na kostne kazalce CTX, OC in PINP*

Podskupina	Finasterid				Dutasterid				Mann–Whitney U test (p vred.)
	N	Srednja vrednost <sup>a</sup> (ng/mL)	Mediana (ng/mL)	Normalnost (p vrednost)	N	Srednja vrednost <sup>a</sup> (ng/mL)	Mediana (ng/mL)	Normalnost (p vred.)	
dCTX 01	32	22,36	3,18	0,000*	35	24,44	15,85	0,305	0,334
dCTX 02	29	51,34	42,52	0,000*	31	35,76	44,09	0,366	0,853
dOC 01	32	1,07	0,55	0,000*	35	-0,40	-0,72	0,001*	0,075
dOC 02	29	0,07	0,26	0,554	31	-0,76	-0,22	0,043*	0,819
dPINP 01	32	12,79	1,62	0,000*	35	4,30	4,24	0,770	0,970
dPINP 02	29	5,50	-0,60	0,045*	31	-4,49	-0,71	0,256	0,530

\*  $p < 0,05$

<sup>a</sup> srednja vrednost absolutne spremembe v koncentraciji kostnega kazalca

#### 4.4.2. Ocena razlik v učinku finasterida in dutasterida na koncentracijo OC

Z analizo normalnosti porazdelitve smo v podskupinah dOC01 pri finasteridu, dOC01 in dOC02 pri dutasteridu ugotovili, da se podatki ne porazdeljujejo normalno ( $p < 0,05$ ), medtem ko se podatki pri finasteridu v podskupini dOC02 porazdeljujejo normalno ( $p > 0,554$ ). Analizo ugotavljanja razlik v učinku na kosti med FI in DU smo pri OC zato nadaljevali z neparametričnim testom Mann – Whitney U. Ugotovili smo, da med FI in DU ne obstaja statistično značilna razlika v učinku na koncentracijo OC ne v polletnem ( $p = 0,075$ ) in ne v enoletnem obdobju ( $p = 0,819$ ) po uvedbi terapije. Obe učinkovini praktično nista pokazali učinka na koncentracijo OC, saj je koncentracija OC skozi obdobje enoletne terapije ostala konstantna. Zaključujemo, da finasterid in dutasterid na OC v preiskovani skupini nimata učinka oz. je njun učinek enak (Preglednica XVI).

#### 4.4.3. Ocena razlik v učinku finasterida in dutasterida na koncentracijo P1NP

Z analizo normalnosti porazdelitve smo v podskupinah dP1NP01 in dP1NP02 ugotovili, da se podatki pri finasteridu ne porazdeljujejo normalno ( $p < 0,05$ ), medtem ko se podatki pri dutasteridu porazdeljujejo normalno ( $p > 0,05$ ). Analizo ugotavljanja razlik v učinku na kosti med FI in DU smo pri P1NP zato nadaljevali z neparametričnim testom Mann – Whitney U. Ugotovili smo, da med FI in DU ne obstaja statistično značilna razlika v učinku na koncentracijo P1NP ne v polletnem ( $p = 0,970$ ) in ne v enoletnem obdobju ( $p = 0,530$ ) po uvedbi terapije. Nobena od obeh učinkovin praktično ni pokazala učinka na koncentracijo P1NP, saj je koncentracija P1NP skozi obdobje enoletne terapije ostala konstantna. Zaključujemo, da niti finasterid niti dutasterid v preiskovani skupini nimata učinka na koncentracijo P1NP oz. je njun učinek enak (Preglednica XVI).

Študije, ki bi obravnavala razliko v učinku finasterida in dutasterida na kosti pri bolnikih z BHP, nismo zasledili.

## V SKLEP

Namen našega dela je bilo ugotoviti, ali zdravljenje BHP z zaviralcema encima  $5\alpha$  reduktaze (ARI), finasteridom in dutasteridom, po 6. mesecih oziroma po 12. mesecih terapije vodi v pojav neželenih učinkov na kostnem tkivu. Vpliv terapije na kostno tkivo smo ugotavljali z merjenjem in analizo serumskih vrednosti izbranih biokemijskih kazalcev kostne razgradnje (CTX) in izgradnje (OC, P1NP) ter 25(OH)-VitD ter PTH pred pričetkom, po 6. mesecih in po 12. mesecih terapije. Oceniti smo želeli tudi razliko v učinku na kosti med finasteridom in dutasteridom.

Na osnovi rezultatov, ki smo jih pridobili, lahko zaključimo:

- koncentracija CTX se je pri bolnikih, ki so prejeli finasterid v času enoletne terapije statistično značilno povišala ( $p=0,020$ ) in sicer za 38,5%, vendar to povišanje ni bilo klinično pomembno. Zvišanje tudi ni posledica delovanja 25(OH)-VitD in PTH saj so bile koncentracije obeh kalciotropnih hormonov skozi enoletno obdobje terapije praktično konstantne.
- Vpliva finasterida na koncentracijo OC ter na koncentracijo P1NP nismo potrdili. Koncentraciji obeh kazalcev kostne tvorbe se v obdobju enoletne terapije s finasteridom nista povečali oziroma značilno spremenili in sta ostali praktično konstantni.
- pri terapiji z dutasteridom se je koncentracija CTX v obdobju enoletne terapije sicer povišala za 29,2 %, a sprememba ni statistično značilna in tudi ne klinično pomembna, zato vpliva dutasterida na razgradnjo kosti nismo mogli potrditi.
- Vpliva dutasterida na koncentracijo OC ter na koncentracijo P1NP prav tako nismo potrdili. Koncentraciji obeh kazalcev kostne tvorbe se v obdobju enoletne terapije z dutasteridom nista povečali oziroma značilno spremenili in sta ostali praktično konstantni.
- med FI in DU ne obstaja statistično značilna razlika v učinku na CTX ne v polletnem ( $p=0,334$ ) in ne v enoletnem obdobju ( $p=0,853$ ). Povišanje koncentracije



CTX po enem letu pri finasteridu je bilo statistično značilno, medtem ko je bilo povišanje koncentracije CTX pri dutasteridu statistično neznačilno.

- med FI in DU ne obstaja statistično značilna razlika v učinku na koncentracijo OC ne v polletnem ( $p=0,075$ ) in ne v enoletnem obdobju ( $p=0,819$ ) po uvedbi terapije. Učinka finasterida in dutasterida na OC nismo potrdili oz. je njun učinek na koncentracijo OC enak.
- med FI in DU ne obstaja statistično značilna razlika v učinku na koncentracijo P1NP ne v polletnem ( $p=0,970$ ) in ne v enoletnem obdobju ( $p=0,530$ ) po uvedbi terapije. Obe učinkovini praktično nista pokazali učinka na koncentracijo P1NP, saj je koncentracija P1NP skozi obdobje enoletne terapije ostala konstantna.

V naši raziskavi smo potrdili vpliv finasterida na kostno remodelacijo, natančneje na kostno razgradnjo, saj se je koncentracija CTX po enoletni terapiji značilno povišala. Vpliv sicer ni povzročil klinično pomembnega povišanja, a je pričakovati, da bi ob enakem učinku finasterida, predvsem pri mlajši populaciji moških z BHP, sprememba lahko postala klinično pomembna po dolgotrajni terapiji. Tudi dutasterid je povzročil opazno povišanje koncentracije CTX, ki sicer ni bilo statistično značilno in tudi ne klinično pomembno. Predlagamo nadaljevanje raziskave ob sočasnem merjenju testosterona in DHT. Ob sočasnih meritvah testosterona in DHT v serumu bi lahko dobili boljši vpogled in napoved neželenih učinkov proučevanih inhibitorjev 5AR na kostno tkivo.

## VI LITERATURA

1. <http://kidney.niddk.nih.gov/KUDiseases/pubs/prostateenlargement/index.aspx>
2. American Urological Association Guideline: Management of Benign Prostatic Hyperplasia (BPH): <http://www.auanet.org/common/pdf/education/clinical-guidance/Benign-Prostatic-Hyperplasia.pdf>
3. Therapeutic Class Review: Benign Prostatic Hyperplasia (BHP) Treatments, Megellan Medicaid Administration, Inc, 2012; 1 -20. <http://www.hhsc.state.tx.us/news/meetings/2014/PT/0411/4g.pdf>
4. A. Kodela: *Benigna hiperplazija prostate*, Izzivi družinske medicine: Učno gradivo - Zbornik seminarjev Študentov Medicinske fakultete Univerze v Mariboru. 4. Letnik 2009/2010, Zavod za razvoj družinske medicine, Maribor, 2011: 158 - 162.
5. A.Kmetec: *Benigna hiperplazija prostate*, Farmacevtski vestnik, 2011; 62: 77 – 80.
6. S. Židanik: *Obravnava bolnikov z benigno hiperplazijo prostate pri zdravnikih splošne medicine*. Zdravniški vestnik, Ljubljana, 2003; 72: 411-415.
7. S. Kert, K. Tušek-Bunc: *Benigna hiperplazija prostate - problem staranja*, Medicinski razgledi, Ljubljana, 2007; 46: 79-83.
8. J. de la Rosette, G. Alivizatos, S. Madersbacher, C. Rioja Sanz, J. Nordling, M. Emberton, S. Gravas, M.C. Michel, M. Oelke: *Guidelines on Benign Prostatic Hyperplasia*, European Association of Urology; 2006: 29 -30
9. F. Azzouni, A. Godoy, Y. Li, J. Mohler: *The 5 Alpha-Reductase Isozyme Family: A Review of Basic Biology and Their Role in Human Diseases*, Advances in Urology, Hindawi Publishing Corporation; 2012: 1 - 18.
10. Andersson S, Russell DW: *Structural and biochemical properties of cloned and expressed human and rat steroid 5 $\alpha$ -reductases*, Proc Natl Acad Sci USA 1990; 87: 3640–3644.

11. Andersson S, Berman DM, Jenkins EP, Russell DW: *Deletion of steroid 5 $\alpha$ -reductase-2 gene in male pseudohermaphroditism*, Nature 1991; 354: 159–161.
12. Labrie F, Sugimoto Y, Luu-The V, Simard J, Lachance Y, Bachvarov D, Leblanc G, Durocher F, Paquet N: *Structure of human type II 5 alpha-reductase gene*. *Endocrinology*, 1992; 131: 1571–1573.
13. Russell DW, Wilson JD: *Steroid 5 alpha-reductase: two genes/two enzymes*. *Ann Rev Biochem*, 1994; 63: 25–61.
14. Yuan-Shan Zhu, Guang-Huan Sun: *5 $\alpha$ -Reductase Izozymes in Prostate*, *J Med Sci*. 2005 ; 25(1): 1–12.
15. L.S.Marks: *5 $\alpha$ -reductase: history and clinical importance*, *Reviews in urology* 2004; 6 (9): 11-21.
16. N. Beranič, T. Lanišnik Rižner, S.Gobec: *Pregled pomembnejših inhibitorjev 5 $\alpha$ -reduktaz tipa 1 in 2*, *Farmaceutski vestnik, Ljubljana*, 2012; 63: 168 – 177.
17. K.M. Wiren: *Chapter 46; Androgens Receptor Expression and Steroid Action in Bone*, *Principles in Bone Biology*, 3rd edition, Academic Press Inc., 2008: 1001 – 1023.
18. K.M.Wiren: *Chapter 15; Androgens and Skeletal Biology: Basic Mechanisms, Osteoporosis*, 3rd edition, Elsevier, 2008: 425 – 449.
19. J. Preželj: *Motnje presnove kalcija in kostne bolezni*, *Interna medicina, Littera Picta, Ljubljana*, 2011; 973 - 981.
20. A.G. Turner, A.J. Notini, W.S.M. Chiu, J. Hodge, G. Nicholson, J.D. Zajac, R.A. Davey: *Androgen Receptor Expression and Function in Osteoclasts*, *The Open Physiology Journal*, 2008; 1: 28-33.
21. Bart L. Clarke, Sundeep Khosla: *Androgens and Bone*, *Steroids*, 2009; 74 (3): 296 – 305.
22. J. Marc: *Informacijske molekule v kostni premeni*, *Zbornik srečanja, Zlom kolka v Sloveniji 2000 – 2010, Celje*, 2011: 27 – 33.

23. C. Rosenquist, P. Qvist, N. Bjarnason, et al.: *Measurement of a More Stable Region of Osteocalcin in Serum by ELISA with two Monoclonal Antibodies*, Clin Chem 1995; 41 (10): 1439 – 1445.
24. P. Garnero, PD. Delmas: *New developments in Biological Markers for Osteoporosis*, Calcif Tissue Int., 1996; 59 (1): 2 – 9.
25. P. Ravn, JO. Christensen, M. Baumann, et al.: *Changes in Biochemical Markers and Bone Mass after withdrawal of Ibandronate treatment: Prediction of bone mass changes during treatment*, Bone, 1998; 22 (5): 559 – 564.
26. CM. Gundberg: *Biology, physiology and clinical chemistry of Osteocalcin*, J Clin Ligand Assay 1998; 21 (2): 128 – 138.
27. Reagenčni list: Siemens, *IMMULITE 2000 Osteocalcin* (PIL2KPP-19, 2008-08-13)
28. R.Eastel, M. Baumann, N.R. Hoyle, L. Wicczorek: *Bone markers: biochemical and clinical perspectives*; M. Dunitz, 2001; 35 - 40.
29. Z. Grubič: *Presnova kalcija in fosfatov*, Patofiziologija s temelji fiziologije, Pafi, Ljubljana, 2002: 153 – 155.
30. O. Orum, M. Hansen, C.H. Jensen, et al.: *Procollagen type 1 N-terminal propeptide (PINP) as an indicator of type 1 collagen metabolism: ELISA development, reference interval, and hypovitaminosis D induced hyperparathyroidism*. Bone, 1996; 19 (2): 157 – 163.
31. Reagenčni list: Roche total P1NP, 2012-08, V 9 English
32. Reagenčni list: Roche  $\beta$ -CrossLaps/serum, 2012-06, V 5 English
33. S. Mencej Bedrač, B. Ostanek, V.Mlakar, J. Zupan, T, Kocjan, J. Preželj, J. Marc: *Sodobni pregled na nastanek osteoporoze*, Farmacevtski vestnik; 2012, 63: 269 – 276.
34. M.F. Holick: *Vitamin D Status: measurement, interpretation, and clinical application*, Ann Epidemiol, 2009; 19 (2): 73 – 78.

35. P. Lips: *Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications*, Endocrin Rev 2001 Aug; 22 (4): 447 – 501.
36. A.C. Heijboer, M.A. Blankenstein, I.P. Kema, et al.: *Accuracy of 6 routine 25-hydroxyvitamin D assays: influence of Vitamin D binding protein concentration*, Clin Chem 2012; 58: 543 – 548.
37. A.M. Willet: *Vitamin D status and it`s relationship with parathyroid hormone and bone mineral status in older adolescents*, Proceeding of the Nutrition Society 2005; 64: 193 – 203.
38. T. Marš: *Motnje v presnovi kalcija in fosfatov*, Seminarji iz patološke fiziologije, 1. Izdaja, Medicinska fakulteta, Inštitut za patološko fiziologijo, 2008; 86 – 90.
39. Reagenčni list, Siemens Vitamin D (Total), Centaur System, 10631296\_EN Rev. A, 2011-01
40. D. Černe: *Luminiscenčne tehnike*, Biomedicinska analitika I. Učbenik za študente laboratorijske biomedicine, 2012: 24 -34.
41. Cobas e 411, *Compendium of background Information (COBI – CD)*, Roche Diagnostics GmbH; 2011: B3 – C11.
42. Priložena navodila: *PROPECIA, finasteride*, Merck & Co., Inc., 1997: 1 – 2.
43. T. Laninšek Rižner: *Androgeni, benigna hiperplazija prostate in rak prostate*. Medicinski razgledi 2008; 47: 73 – 85.
44. Huber DM, Bendixen AC, Pathrose P, et al.: *Androgens suppress osteoclast formation induced by RANKL and macrophage-colony stimulating factor*, Endocrinology 2001; 142(9): 3800-8.
45. S.R. Tollin, H.N. Rosen, K.Zurowski, B. Saltzman, A.J. Zeind, S.Berg, S.Greenspan: *Finasteride therapy does not alter bone turnover in man with benign prostatic hyperplasia – A clinical research center study*, J Clin Endo Met, 1996; 81 (3): 1031 – 1034.

46. H. Matzkin, J. Chen, Y. Weisman, D. Goldray, F. Pappas, N Jaccard, Z. Braf: *Prolonged treatment with finasteride (a 5 alpha-reductase inhibitor) does not affect bone density and metabolism*, Clin Endocrinol (Oxf). 1992; 37(5): 432-6.
47. Matsumoto AM1, Tenover L, McClung M, Mobley D, Geller J, Sullivan M, Grayhack J, Wessells H, Kadmon D, Flanagan M, Zhang GK, Schmidt J, Taylor AM, Lee M, Waldstreicher J; Pless Study Group: *The long-term effect of specific type II 5alpha-reductase inhibition with finasteride on bone mineral density in men: results of a 4-year placebo controlled trial*, J Urol. 2002; 167 (5): 2105-8.
48. Andriole GL, Kirby R.: *Safety and tolerability of the dual 5alpha-reductase inhibitor dutasteride in the treatment of benign prostatic hyperplasia*, Eur Urol. 2003; 44 (1): 82-8.
49. S. Marihart, M. Harik, B. Djavan: *Dutasteride: A Review of Current Data on a Novel Dual Inhibitor of 5α Reductase*, Rev Urol. 2005; 7(4): 203–210.

## PRILOGA

*Preglednica XVII: Izmerjene koncentracije CTX, OC in P1NP pri vseh vzorcih bolnikov na terapiji z 5ARI (finasterid in dutasterid); N= 70; v času 0, 6 in 12 mesecev.*

Odvzem pred pričetkom terapije					Odvzem po polletni terapiji				Odvzem po enoletni terapiji			
F11 DU2	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	P1NP (ng/mL)	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	P1NP (ng/mL)	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	P1NP (ng/mL)
1	1 A	0,368	24,06	59,88	1 B	0,314	29,02	64,12	1 C	0,561	29,46	57,28
2	2 A	0,126	28,92	39,26	2 B	0,131	29,07	49,64	2 C	0,164	24,51	38,98
1	3 A	0,138	15,13	34,52	3 B	0,169	14,65	35,36	3 C	0,342	15,91	49,69
2	4 A	0,109	17,48	29,23	4 B	0,156	14,95	40,96	4 C	0,264	18,39	44,12
1	5 A	0,231	18,46	34,43	5 B	0,241	19,47	45,66	5 C	0,381	20,85	54,08
2	6 A	0,170	24,24	37,38	6 B	0,191	23,77	42,31	6 C	x	x	x
1	7 A	0,184	13,27	28,47	7 B	0,133	13,30	64,13	7 C	x	x	x
2	8 A	0,181	16,36	28,38	8 B	0,139	13,09	24,72	8 C	0,242	18,62	39,59
1	9 A	0,095	15,11	21,89	9 B	0,077	11,89	19,15	9 C	0,135	12,26	22,17
2	10 A	0,139	16,80	33,79	10 B	0,028	10,41	12,40	10 C	0,044	10,71	12,07
1	11 A	0,127	12,08	31,65	11 B	0,129	14,18	34,51	11 C	0,238	15,93	33,98
2	12 A	0,146	27,59	35,90	12 B	0,140	25,35	40,18	12 C	0,288	30,70	44,83
1	13 A	0,278	29,27	64,64	13 B	0,301	31,50	75,66	13 C	0,414	31,44	66,03
2	14 A	0,196	19,93	29,05	14 B	0,242	24,67	46,88	14 C	0,365	23,50	33,80
1	15 A	0,229	18,59	27,86	15 B	0,198	21,39	49,61	15 C	0,341	20,33	41,11
2	16 A	0,073	12,98	15,49	16 B	0,063	11,75	16,57	16 C	0,052	11,58	12,61
1	17 A	0,409	25,24	37,69	17 B	0,256	24,77	36,01	17 C	0,593	23,91	35,94
2	18 A	0,269	27,52	55,94	18 B	0,264	25,99	56,17	18 C	0,092	12,83	12,60
1	19 A	0,401	24,41	39,10	19 B	0,334	26,55	48,99	19 C	0,239	23,10	37,53
2	20 A	0,450	26,63	61,67	20 B	0,447	26,57	75,04	20 C	0,542	26,86	69,29
1	21 A	0,359	24,88	59,72	21 B	0,229	23,86	60,20	21 C	0,316	19,86	48,64
2	22 A	0,179	25,12	43,69	22 B	0,255	28,29	56,05	22 C	0,186	29,27	47,76
1	23 A	0,470	40,42	87,61	23 B	0,473	40,33	85,55	23 C	0,432	35,26	61,84
2	24 A	0,210	17,88	43,17	24 B	0,235	21,07	46,79	24 C	0,238	19,17	44,74
1	25 A	0,123	13,74	24,18	25 B	0,149	14,34	23,39	25 C	0,276	13,01	24,21
2	26 A	0,314	39,58	69,95	26 B	0,231	37,02	59,09	26 C	0,425	37,26	63,39
1	27 A	0,172	17,96	28,69	27 B	0,148	17,11	31,42	27 C	0,333	14,20	19,91
2	28 A	0,426	25,64	44,80	28 B	0,281	24,92	45,71	28 C	0,534	25,42	42,77
1	29 A	0,098	12,96	19,73	29 B	0,100	13,07	21,41	29 C	0,146	17,98	35,11
2	30 A	0,147	24,55	40,93	30 B	0,175	23,93	30,92	30 C	0,280	26,54	33,37
2	31 A	0,213	21,24	39,91	31 B	0,157	18,09	26,49	31 C	0,364	23,17	39,14
1	32 A	0,403	22,98	85,69	32 B	0,374	21,02	71,46	32 C	0,418	24,18	77,69

## Nadaljevanje preglednice XVII.

Odvzem pred pričetkom terapije					Odvzem po polletni terapiji				Odvzem po enoletni terapiji			
FII <sup>a</sup> DU2 <sup>b</sup>	ID	CTx (ng/mL)	OC (ng/mL)	P1NP (ng/mL)	ID	CTx (ng/mL)	OC (ng/mL)	P1NP (ng/mL)	ID	CTx (ng/mL)	OC (ng/mL)	P1NP (ng/mL)
1	33 A	0,256	23,18	57,79	33 B	0,284	18,44	47,81	33 C	0,319	20,81	49,89
2	34 A	0,399	24,63	49,57	34 B	0,547	27,95	64,76	34 C	0,599	29,62	62,28
1	35 A	0,177	13,28	25,70	35 B	0,117	10,04	17,73	35 C	0,211	13,54	34,23
2	36 A	0,132	19,79	26,44	36 B	0,104	17,16	24,98	36 C	0,125	16,38	27,40
1	37 A	0,238	19,09	35,37	37 B	0,286	19,58	32,13	37 C	0,212	14,32	28,11
2	38 A	0,279	25,56	43,45	38 B	0,433	22,79	41,87	38 C	0,402	27,30	51,18
1	39 A	0,296	22,29	50,52	39 B	0,347	26,85	50,58	39 C	0,320	22,26	40,74
2	40 A	0,321	33,23	56,86	40 B	0,296	26,40	56,49	40 C	0,476	35,14	56,80
2	41 A	0,220	18,41	75,51	41 B	0,406	16,05	37,90	41 C	0,293	18,02	47,51
2	42 A	0,052	12,63	21,67	42 B	0,120	14,14	30,81	42 C	0,090	12,00	21,93
2	43 A	0,165	17,49	37,29	43 B	0,341	22,79	38,33	43 C	0,249	18,95	28,27
1	44 A	0,251	24,91	64,44	44 B	0,336	23,26	62,06	44 C	0,290	22,49	57,80
1	45 A	0,253	24,72	40,01	45 B	0,597	30,20	38,85	45 C	0,614	28,92	43,54
1	46 A	0,301	20,67	55,21	46 B	0,545	23,46	53,65	46 C	0,429	21,33	54,88
1	47 A	0,090	10,14	22,98	47 B	0,223	22,28	51,54	47 C	0,101	11,00	23,37
1	48 A	0,224	18,15	34,78	48 B	x	x	x	48 C	x	x	x
2	49 A	0,349	33,42	64,58	49 B	0,570	33,63	67,32	49 C	x	x	x
2	50 A	0,195	17,70	24,32	50 B	0,205	16,33	25,13	50 C	0,327	16,97	24,06
1	51 A	0,294	30,11	49,88	51 B	0,475	36,18	70,88	51 C	0,557	31,31	48,76
2	52 A	0,087	13,92	27,87	52 B	0,178	10,07	28,40	52 C	0,153	11,04	21,90
2	53 A	0,115	13,44	18,21	53 B	0,190	14,32	22,80	53 C	0,194	13,06	22,33
2	54 A	0,065	10,30	17,52	54 B	0,140	17,92	25,56	54 C	0,107	12,73	17,49
1	55 A	0,136	23,52	53,55	55 B	0,489	25,30	43,26	55 C	0,534	35,87	81,52
1	56 A	0,232	24,60	36,72	56 B	0,377	24,86	40,90	56 C	0,251	14,80	22,00
2	57 A	0,327	36,57	112,60	57 B	0,492	35,18	72,86	57 C	0,510	28,97	61,52
1	58 A	0,117	16,38	28,26	58 B	0,174	13,93	23,67	58 C	0,178	14,61	25,25
2	59 A	0,301	23,75	45,80	59 B	0,344	22,80	29,36	59 C	0,318	14,48	27,20
2	60 A	0,259	23,68	47,21	60 B	0,384	26,87	60,36	60 C	0,243	23,10	51,67
2	61 A	0,355	21,47	41,12	61 B	0,418	21,22	46,13	61 C	0,165	17,29	38,78
2	62 A	0,183	20,34	39,88	62 B	0,212	18,32	31,50	62 C	x	x	x
1	63 A	0,091	19,15	19,92	63 B	0,164	19,76	24,06	63 C	0,128	18,78	24,84
1	64 A	0,279	20,08	32,30	64 B	0,131	22,02	44,13	64 C	0,290	21,75	38,66
1	65 A	0,181	13,36	21,83	65 B	0,157	12,59	19,28	65 C	x	x	x
1	66 A	0,399	23,60	39,42	66 B	0,328	26,59	44,03	66 C	x	x	x
2	67 A	0,237	15,81	29,81	67 B	0,235	15,95	36,27	67 C	x	x	x
2	68 A	0,291	26,27	51,84	68 B	0,363	28,14	58,78	68 C	0,434	30,05	49,05
1	69 A	x	x	x	69 B	x	x	x	69 C	x	x	x
1	70 A	x	x	x	70 B	x	x	x	70 C	x	x	x

<sup>a</sup> 1 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo s finasteridom

<sup>b</sup> 2 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo z dutasteridom



*Preglednica XVIII: Izmerjene koncentracije CTX, OC in PINP pri vzorcih bolnikov na terapiji s finasteridom; N= 35; v času 0, 6 in 12 mesecev.*

F11 <sup>a</sup> DU2 <sup>b</sup>	Odvzem pred pričetkom terapije				Odvzem po polletni terapiji				Odvzem po enoletni terapiji			
	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	PINP (ng/mL)	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	PINP (ng/mL)	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	PINP (ng/mL)
1	1 A	0,368	24,06	59,88	1 B	0,314	29,02	64,12	1 C	0,561	29,46	57,28
1	3 A	0,138	15,13	34,52	3 B	0,169	14,65	35,36	3 C	0,342	15,91	49,69
1	5 A	0,231	18,46	34,43	5 B	0,241	19,47	45,66	5 C	0,381	20,85	54,08
1	7 A	0,184	13,27	28,47	7 B	0,133	13,30	64,13	7 C	x	x	x
1	9 A	0,095	15,11	21,89	9 B	0,077	11,89	19,15	9 C	0,135	12,26	22,17
1	11 A	0,127	12,08	31,65	11 B	0,129	14,18	34,51	11 C	0,238	15,93	33,98
1	13 A	0,278	29,27	64,64	13 B	0,301	31,50	75,66	13 C	0,414	31,44	66,03
1	15 A	0,229	18,59	27,86	15 B	0,198	21,39	49,61	15 C	0,341	20,33	41,11
1	17 A	0,409	25,24	37,69	17 B	0,256	24,77	36,01	17 C	0,593	23,91	35,94
1	19 A	0,401	24,41	39,10	19 B	0,334	26,55	48,99	19 C	0,239	23,10	37,53
1	21 A	0,359	24,88	59,72	21 B	0,229	23,86	60,20	21 C	0,316	19,86	48,64
1	23 A	0,470	40,42	87,61	23 B	0,473	40,33	85,55	23 C	0,432	35,26	61,84
1	25 A	0,123	13,74	24,18	25 B	0,149	14,34	23,39	25 C	0,276	13,01	24,21
1	27 A	0,172	17,96	28,69	27 B	0,148	17,11	31,42	27 C	0,333	14,20	19,91
1	29 A	0,098	12,96	19,73	29 B	0,100	13,07	21,41	29 C	0,146	17,98	35,11
1	32 A	0,403	22,98	85,69	32 B	0,374	21,02	71,46	32 C	0,418	24,18	77,69
1	33 A	0,256	23,18	57,79	33 B	0,284	18,44	47,81	33 C	0,319	20,81	49,89
1	35 A	0,177	13,28	25,70	35 B	0,117	10,04	17,73	35 C	0,211	13,54	34,23
1	37 A	0,238	19,09	35,37	37 B	0,286	19,58	32,13	37 C	0,212	14,32	28,11
1	39 A	0,296	22,29	50,52	39 B	0,347	26,85	50,58	39 C	0,320	22,26	40,74
1	44 A	0,251	24,91	64,44	44 B	0,336	23,26	62,06	44 C	0,290	22,49	57,80
1	45 A	0,253	24,72	40,01	45 B	0,597	30,20	38,85	45 C	0,614	28,92	43,54
1	46 A	0,301	20,67	55,21	46 B	0,545	23,46	53,65	46 C	0,429	21,33	54,88
1	47 A	0,090	10,14	22,98	47 B	0,223	22,28	51,54	47 C	0,101	11,00	23,37
1	48 A	0,224	18,15	34,78	48 B	x	x	x	48 C	x	x	x
1	51 A	0,294	30,11	49,88	51 B	0,475	36,18	70,88	51 C	0,557	31,31	48,76
1	55 A	0,136	23,52	53,55	55 B	0,489	25,30	43,26	55 C	0,534	35,87	81,52
1	56 A	0,232	24,60	36,72	56 B	0,377	24,86	40,90	56 C	0,251	14,80	22,00
1	58 A	0,117	16,38	28,26	58 B	0,174	13,93	23,67	58 C	0,178	14,61	25,25
1	63 A	0,091	19,15	19,92	63 B	0,164	19,76	24,06	63 C	0,128	18,78	24,84
1	64 A	0,279	20,08	32,30	64 B	0,131	22,02	44,13	64 C	0,290	21,75	38,66
1	65 A	0,181	13,36	21,83	65 B	0,157	12,59	19,28	65 C	x	x	x
1	66 A	0,399	23,60	39,42	66 B	0,328	26,59	44,03	66 C	x	x	x
1	69 A	x	x	x	69 B	x	x	x	69 C	x	x	x
1	70 A	x	x	x	70 B	x	x	x	70 C	x	x	x

<sup>a</sup> 1 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo s finasteridom

<sup>b</sup> 2 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo z dutasteridom

*Preglednica XIX: Izmerjene koncentracije CTX, OC in PINP pri vzorcih bolnikov na terapiji z dutasteridom; N= 35; v času 0, 6 in 12 mesecev.*

		Odvzem pred pričetkom terapije			Odvzem po polletni terapiji				Odvzem po enoletni terapiji			
F11 <sup>a</sup> DU2 <sup>b</sup>	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	PINP (ng/mL)	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	PINP (ng/mL)	ID	CTX (ng/mL)	OC (ng/mL)	PINP (ng/mL)
2	2 A	0,126	28,92	39,26	2 B	0,131	29,07	49,64	2 C	0,164	24,51	38,98
2	4 A	0,109	17,48	29,23	4 B	0,156	14,95	40,96	4 C	0,264	18,39	44,12
2	6 A	0,170	24,24	37,38	6 B	0,191	23,77	42,31	6 C	x	x	x
2	8 A	0,181	16,36	28,38	8 B	0,139	13,09	24,72	8 C	0,242	18,62	39,59
2	10 A	0,139	16,80	33,79	10 B	0,028	10,41	12,40	10 C	0,044	10,71	12,07
2	12 A	0,146	27,59	35,90	12 B	0,140	25,35	40,18	12 C	0,288	30,70	44,83
2	14 A	0,196	19,93	29,05	14 B	0,242	24,67	46,88	14 C	0,365	23,50	33,80
2	16 A	0,073	12,98	15,49	16 B	0,063	11,75	16,57	16 C	0,052	11,58	12,61
2	18 A	0,269	27,52	55,94	18 B	0,264	25,99	56,17	18 C	0,092	12,83	12,60
2	20 A	0,450	26,63	61,67	20 B	0,447	26,57	75,04	20 C	0,542	26,86	69,29
2	22 A	0,179	25,12	43,69	22 B	0,255	28,29	56,05	22 C	0,186	29,27	47,76
2	24 A	0,210	17,88	43,17	24 B	0,235	21,07	46,79	24 C	0,238	19,17	44,74
2	26 A	0,314	39,58	69,95	26 B	0,231	37,02	59,09	26 C	0,425	37,26	63,39
2	28 A	0,426	25,64	44,80	28 B	0,281	24,92	45,71	28 C	0,534	25,42	42,77
2	30 A	0,147	24,55	40,93	30 B	0,175	23,93	30,92	30 C	0,280	26,54	33,37
2	31 A	0,213	21,24	39,91	31 B	0,157	18,09	26,49	31 C	0,364	23,17	39,14
2	34 A	0,399	24,63	49,57	34 B	0,547	27,95	64,76	34 C	0,599	29,62	62,28
2	36 A	0,132	19,79	26,44	36 B	0,104	17,16	24,98	36 C	0,125	16,38	27,40
2	38 A	0,279	25,56	43,45	38 B	0,433	22,79	41,87	38 C	0,402	27,30	51,18
2	40 A	0,321	33,23	56,86	40 B	0,296	26,40	56,49	40 C	0,476	35,14	56,80
2	41 A	0,220	18,41	75,51	41 B	0,406	16,05	37,90	41 C	0,293	18,02	47,51
2	42 A	0,052	12,63	21,67	42 B	0,120	14,14	30,81	42 C	0,090	12,00	21,93
2	43 A	0,165	17,49	37,29	43 B	0,341	22,79	38,33	43 C	0,249	18,95	28,27
2	49 A	0,349	33,42	64,58	49 B	0,570	33,63	67,32	49 C	x	x	x
2	50 A	0,195	17,70	24,32	50 B	0,205	16,33	25,13	50 C	0,327	16,97	24,06
2	52 A	0,087	13,92	27,87	52 B	0,178	10,07	28,40	52 C	0,153	11,04	21,90
2	53 A	0,115	13,44	18,21	53 B	0,190	14,32	22,80	53 C	0,194	13,06	22,33
2	54 A	0,065	10,30	17,52	54 B	0,140	17,92	25,56	54 C	0,107	12,73	17,49
2	57 A	0,327	36,57	112,60	57 B	0,492	35,18	72,86	57 C	0,510	28,97	61,52
2	59 A	0,301	23,75	45,80	59 B	0,344	22,80	29,36	59 C	0,318	14,48	27,20
2	60 A	0,259	23,68	47,21	60 B	0,384	26,87	60,36	60 C	0,243	23,10	51,67
2	61 A	0,355	21,47	41,12	61 B	0,418	21,22	46,13	61 C	0,165	17,29	38,78
2	62 A	0,183	20,34	39,88	62 B	0,212	18,32	31,50	62 C	x	x	x
2	67 A	0,237	15,81	29,81	67 B	0,235	15,95	36,27	67 C	x	x	x
2	68 A	0,291	26,27	51,84	68 B	0,363	28,14	58,78	68 C	0,434	30,05	49,05

<sup>a</sup> 1 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo s finasteridom

<sup>b</sup> 2 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo z dutasteridom

*Preglednica XX: Izmerjene koncentracije VITD in PTH pri vzorcih bolnikov na terapiji s finasteridom; N= 35; v času 0, 6 in 12 mesecev.*

		Odvzem pred pričetkom terapije		Odvzem po polletni terapiji			Odvzem po enoletni terapiji		
F11 <sup>a</sup> DU2 <sup>b</sup>	ID	VITD (nmol/L)	PTH (ng/L)	ID	VITD (nmol/L)	PTH (ng/L)	ID	VITD (nmol/L)	PTH (ng/L)
1	1 A	65,90	59	1 B	40,23	37	1 C	44,03	43
1	3 A	65,50	26	3 B	37,93	46	3 C	31,03	37
1	5 A	59,85	66	5 B	53,00	57	5 C	39,33	54
1	7 A	38,68	57	7 B	10,80	59	7 C	x	x
1	9 A	86,00	52	9 B	64,53	58	9 C	75,48	57
1	11 A	31,55	55	11 B	25,65	60	11 C	25,13	73
1	13 A	77,50	70	13 B	57,15	62	13 C	57,25	55
1	15 A	60,93	50	15 B	35,70	70	15 C	41,15	60
1	17 A	90,20	45	17 B	69,85	76	17 C	75,90	58
1	19 A	60,03	78	19 B	52,38	79	19 C	47,53	48
1	21 A	102,90	51	21 B	90,55	42	21 C	86,58	53
1	23 A	43,35	67	23 B	55,75	62	23 C	45,28	44
1	25 A	38,93	34	25 B	58,38	32	25 C	37,65	40
1	27 A	105,68	57	27 B	141,58	48	27 C	120,40	25
1	29 A	47,03	60	29 B	51,58	39	29 C	47,25	36
1	32 A	52,35	47	32 B	63,98	39	32 C	38,68	47
1	33 A	49,25	56	33 B	68,25	55	33 C	43,05	54
1	35 A	23,95	73	35 B	30,25	47	35 C	21,78	57
1	37 A	38,45	58	37 B	55,45	49	37 C	35,20	66
1	39 A	38,13	42	39 B	59,85	46	39 C	39,38	54
1	44 A	50,25	69	44 B	63,03	54	44 C	59,48	71
1	45 A	33,40	54	45 B	55,15	57	45 C	50,43	61
1	46 A	31,08	58	46 B	41,25	55	46 C	39,85	58
1	47 A	39,55	46	47 B	71,25	65	47 C	80,45	67
1	48 A	15,83	67	48 B	x	x	48 C	x	x
1	51 A	35,93	95	51 B	42,28	104	51 C	53,25	101
1	55 A	43,40	38	55 B	42,73	70	55 C	47,50	51
1	56 A	31,50	70	56 B	34,83	111	56 C	50,28	117
1	58 A	80,30	64	58 B	85,68	79	58 C	102,50	70
1	63 A	43,65	73	63 B	39,05	64	63 C	65,53	64
1	64 A	67,85	56	64 B	71,98	46	64 C	91,15	64
1	65 A	48,85	64	65 B	56,80	45	65 C	x	x
1	66 A	22,48	113	66 B	26,80	97	66 C	x	x
1	69 A	x	66	69 B	x	67	69 C	x	79
1	70 A	x	32	70 B	x	28	70 C	x	29

<sup>a</sup> 1 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo s finasteridom

<sup>b</sup> 2 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo z dutasteridom

*Preglednica XXI: Izmerjene koncentracije VITD in PTH pri vzorcih bolnikov na terapiji z dutasteridom; N= 35; v času 0, 6 in 12 mesecev.*

		Odvzem pred pričetkom terapije		Odvzem po polletni terapiji			Odvzem po enoletni terapiji			
FI1 <sup>a</sup>	DU2 <sup>b</sup>	ID	VITD (nmol/L)	PTH (ng/L)	ID	VITD (nmol/L)	PTH (ng/L)	ID	VITD (nmol/L)	PTH (ng/L)
2		2 A	74,33	55	2 B	89,13	61	2 C	85,70	41
2		4 A	73,53	60	4 B	54,80	66	4 C	57,95	84
2		6 A	77,05	29	6 B	64,93	48	6 C	x	x
2		8 A	99,50	48	8 B	73,20	40	8 C	77,13	42
2		10 A	56,58	30	10 B	60,23	33	10 C	55,45	35
2		12 A	75,10	46	12 B	58,70	51	12 C	53,03	37
2		14 A	76,45	81	14 B	66,98	67	14 C	59,50	52
2		16 A	62,38	37	16 B	36,30	34	16 C	41,78	43
2		18 A	83,23	25	18 B	53,50	39	18 C	59,93	33
2		20 A	41,93	51	20 B	33,13	63	20 C	25,55	43
2		22 A	50,70	22	22 B	50,25	23	22 C	35,00	24
2		24 A	46,88	57	24 B	43,73	72	24 C	32,70	66
2		26 A	31,80	44	26 B	32,35	42	26 C	31,53	50
2		28 A	36,90	169	28 B	41,60	152	28 C	32,05	214
2		30 A	112,28	39	30 B	114,08	31	30 C	104,93	55
2		31 A	72,70	29	31 B	110,20	31	31 C	104,78	37
2		34 A	41,55	42	34 B	47,43	55	34 C	39,20	61
2		36 A	24,00	69	36 B	38,40	66	36 C	27,43	104
2		38 A	52,98	57	38 B	57,58	65	38 C	48,63	72
2		40 A	66,48	74	40 B	50,90	61	40 C	59,95	84
2		41 A	43,08	35	41 B	58,05	44	41 C	44,20	39
2		42 A	81,38	32	42 B	94,10	43	42 C	87,30	49
2		43 A	56,28	48	43 B	53,43	34	43 C	42,90	34
2		49 A	57,65	63	49 B	70,45	58	49 C	x	x
2		50 A	84,00	35	50 B	91,80	38	50 C	64,40	51
2		52 A	73,83	25	52 B	90,08	33	52 C	97,25	30
2		53 A	53,93	58	53 B	76,25	34	53 C	91,55	52
2		54 A	40,38	32	54 B	72,45	36	54 C	70,50	67
2		57 A	59,28	55	57 B	68,85	62	57 C	78,80	60
2		59 A	48,95	112	59 B	51,90	187	59 C	97,10	129
2		60 A	88,43	51	60 B	89,40	44	60 C	105,88	64
2		61 A	62,28	86	61 B	69,95	76	61 C	76,48	43
2		62 A	27,10	91	62 B	34,88	54	62 C	x	x
2		67 A	73,10	36	67 B	117,15	52	67 C	x	x
2		68 A	93,83	52	68 B	106,83	51	68 C	126,65	38

<sup>a</sup> 1 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo s finasteridom

<sup>b</sup> 2 – označuje vzorce bolnikov, ki so prejeli terapijo z dutasteridom