



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΣΙΚΗΣ

## Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

ΝΙΚΟΛΑΪΔΗ ΝΙΚΟΥ

**Επιβλέπουσα:** Μυρσίνη Μακροπούλου, Καθηγήτρια Σχολής Εφαρμοσμένων  
Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου

**Συνεπιβλέπων:** Νικόλαος Κουρκουμέλης, Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Η σελίδα αυτή είναι σκόπιμα λευκή.



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ  
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΣΙΚΗΣ

## Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης

### ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

του

**ΝΙΚΟΛΑΪΔΗ ΝΙΚΟΥ**

**Επιβλέπουσα: Μυρσίνη Μακροπούλου**, Καθηγήτρια Σχολής Εφαρμοσμένων  
Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου

**Συνεπιβλέπων: Νικόλαος Κουρκουμέλης**, Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Ιατρικής  
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Εγκρίθηκε από την τριμελή εξεταστική επιτροπή την 28<sup>η</sup> Φεβρουαρίου 2019.

.....  
Μυρσίνη Μακροπούλου,  
Καθηγήτρια Ε.Μ.Π.

.....  
Νικόλαος Κουρκουμέλης,  
Επίκουρος Καθηγητής  
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

.....  
Αλέξανδρος Γεωργακίλας,  
Αναπληρωτής Καθηγητής  
Ε.Μ.Π.

Αθήνα, Φεβρουάριος 2019

.....  
**ΝΙΚΟΣ ΝΙΚΟΛΑΪΔΗΣ**

© 2019 – All rights reserved

## Περίληψη

Το οστό είναι ένα μεταβολικά ενεργό όργανο και διατηρεί τη δομή και τη λειτουργικότητά του μέσω της διαδικασίας που ονομάζεται οστική αναδόμηση ή οστική ανακατασκευή. Κατά τη διαδικασία αυτή υπάρχουν οστίτης ιστός αφαιρείται (οστική απορρόφηση) και αντικαθίσταται από νέο (οστική δημιουργία). Αυτό απαιτεί τη συντονισμένη δράση των οστικών κυττάρων και κυρίως των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών. Η διαδικασία ρυθμίζεται από εξωτερικούς και εσωτερικούς παράγοντες, μηχανικής και βιολογικής φύσεως. Κυτταρικές και μοριακές διεργασίες και αλληλεπιδράσεις στον οστίτη ιστό, μαζί με το μηχανικό περιβάλλον, συνιστούν το υπό μελέτη σύστημα. Λόγω της αυξημένης πολυπλοκότητας, οι σχετικοί μηχανισμοί έχουν έντονο ερευνητικό ενδιαφέρον. Η επισταμένη μελέτη και κατανόηση πιθανόν να καταστήσουν δυνατή την αποτελεσματική αντιμετώπιση ασθενειών όπως η οστεοπόρωση. Στόχος της παρούσας εργασίας είναι η περιγραφή της διαδικασίας της οστικής αναδόμησης και των σχετικών θεωρητικών μοντέλων που έχουν προταθεί, καθώς και η ανάπτυξη ενός νέου μοντέλου. Στο πλαίσιο αυτό αυτό, αφού περιγράψουμε ποιοτικά το σύστημα και τις σχετικές με την οστική αναδόμηση αλληλεπιδράσεις, ασχολούμαστε με τη μοντελοποίηση της διαδικασίας. Κάνουμε σύγκριση, αξιολόγηση και ταξινόμηση των προσεγγίσεων της διεθνούς βιβλιογραφίας. Ακολουθώντας, βάσει των δεδομένων αυτών αναπτύσσουμε ένα νέο μαθηματικό μοντέλο οστικής αναδόμησης. Το κύριο βάρος της προσέγγισής μας εστιάζεται στη μαθηματική μοντελοποίηση των κύριων κυτταρικών και μοριακών μηχανισμών, καθώς και της επίδρασης που ασκείται σε αυτούς από εξωτερικό μηχανικό ερέθισμα. Ένα βασικό χαρακτηριστικό είναι η θεώρηση της δυναμικής των συγκεντρώσεων των εμπλεκόμενων μορίων, καθώς της κινητικής των βιοχημικών αντιδράσεων πρόσδεσης μορίων στους κυτταρικούς υποδοχείς, ως βασικούς ρυθμίζοντες παράγοντες.

**Λέξεις Κλειδιά:** οστική αναδόμηση, οστική ανακατασκευή, οστική προσαρμογή, μοντελοποίηση, οστεοκλάστες, οστεοβλάστες

Η σελίδα αυτή είναι σκόπιμα λευκή.

## **Abstract**

Bone is a metabolically active organ and preserves its structure and functionality through the process of bone remodeling. During this process old bone is removed (bone resorption) and replaced by new one (bone formation). The whole progression demands the combined and coordinated action of bone cells, namely osteoclasts and osteoblasts. The process is regulated by both internal and external factors of biological and mechanical nature. Cellular and molecular processes and interactions make up the complex system which is studied in the present thesis. Research on this field may enhance our understanding on the biophysical mechanisms involved and may lead to effective treatment of bone diseases like osteoporosis. This study aims to evaluate the process of bone remodeling through theoretical modelling. First, we describe qualitatively the process of bone remodeling and the respective interactions; then we describe, compare and assess the various theoretical models; finally we develop a new mathematical model of bone remodeling. Our approach mainly rests upon the mathematical modeling of the main cellular and molecular mechanisms along with the influence of external mechanical stimulus on these mechanisms. Molecular dynamics and receptor binding kinetics are taken into account as main factors.

**Keywords:** bone remodeling, bone adaptation, model, osteoclasts, osteoblasts





## **Ευχαριστίες**

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να εκφράσω πολλές ευχαριστίες στην κυρία Μυρσίνη Μακροπούλου, Καθηγήτρια της Σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών Εθνικού Μετσοβίου Πολυτεχνείου, και τον κύριο Νικόλαο Κουρκουμέλη, Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υποψήφιο διδάκτορα Ελευθέριο Παύλου (Εργαστήριο Ιατρικής Φυσικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων) για τις υποδείξεις του στη συγγραφή υπολογιστικού κώδικα.

# Πίνακας περιεχομένων

## Contents

<b>Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης .....</b>	<b>1</b>	
<b>1</b>	<b>Εισαγωγή..... 1</b>	
1.1	Αντικείμενο διπλωματικής.....1	
1.2	Οργάνωση κειμένου.....1	
<b>2</b>	<b>Υπόβαθρο .....</b>	<b>3</b>
2.1	Δομή και Σύσταση του Οστού.....3	
2.1.1	Γενικά.....3	
2.1.2	Μεσοκυττάρια Ουσία.....5	
2.1.3	Οστικά κύτταρα.....6	
2.2	Οστική Αναδόμηση.....8	
2.3	Παράγοντες που ρυθμίζουν και επιδρούν στην οστική αναδόμηση.....13	
<b>3</b>	<b>Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης – Ιστορική Ανασκόπηση – Μοντέλα βάσει</b>	
<b>Μηχανικών Παραγόντων .....</b>	<b>19</b>	
3.1	Εισαγωγή.....19	
3.2	Ιστορική ανασκόπηση.....20	
3.3	Επισκόπηση μοντέλων μηχανικής προσέγγισης.....21	
<b>4</b>	<b>Μαθηματικά Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης Βιολογικής Προσέγγισης.....31</b>	
4.1	Η χρονική επίδραση της παραθορμόνης στην οστική δημιουργία και απορρόφηση.....31	
4.2	Άλλη μια προσέγγιση σχετικά με τη ρύθμιση οστικής δημιουργίας και απορρόφησης από την παραθορμόνη.....34	
4.3	Ο σημαντικός ρόλος της αυτοκρινούς οστεοκλαστικής ρύθμισης στην οστική αναδόμηση όπως προβλέπεται από το μαθηματικό μοντέλο των Komarova et al.....35	
4.4	Μοντελοποιώντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των οστεοβλαστικών και οστεοκλαστικών δραστηριοτήτων στην οστική αναδόμηση.....37	
4.5	Ένα φαινομενολογικό μοντέλο οστικής αναδόμησης που περιλαμβάνει και το ρόλο των οστεοκυττάρων.....41	

4.6	Μοντέλο δυναμικής κυτταρικών πληθυσμών και αυτοκρινών - παρακρινών αλληλεπιδράσεων με χρήση συναρτήσεων Hill .....	42
4.7	Χωροχρονικό μοντέλο σε επίπεδο βασικής πολυκυτταρικής μονάδας.....	47
4.8	Άλλο ένα χωροχρονικό μοντέλο δυναμικής κυτταρικών πληθυσμών σε επίπεδο βασικής πολυκυτταρικής μονάδας.....	50
4.9	Μοντελοποιώντας την επίδραση της παραθορμόνης και της καλσιτονίνης .....	53
4.10	Μοντελοποιώντας την επίδραση της παραθορμόνης και της βιταμίνης D .....	55
4.11	Μοντελοποιώντας τον ρόλο των οστεοκυττάρων .....	56
4.12	Πολυπαραμετρική προσέγγιση.....	59
4.13	Σύνοψη συγκρίσεων.....	67
<b>5</b>	<b>Μαθηματικά Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης βάσει Βιολογικών και Μηχανικών Παραγόντων .....</b>	<b>69</b>
5.1	Συμπεριλαμβάνοντας την επίδραση μηχανικού φορτίου (μέσω των οστεοκυττάρων) 69	
5.2	Επέκταση του μοντέλου των Komarova et al. (2003) ώστε να συμπεριληφθούν τα εξωτερικά μηχανικά φορτία.....	71
5.3	Μαθηματικό μοντέλο οστικής αναδόμησης φλοιώδους οστού υπό μηχανική διέγερση .....	73
5.4	Συνδέοντας τους μηχανικούς παράγοντες με τις κυτταρικές δραστηριότητες .....	79
5.5	Συνδυασμός βιολογικής και μικρομηχανικής προσέγγισης.....	81
5.6	Σύνοψη συγκρίσεων.....	84
<b>6</b>	<b>Θεωρητική Ανάπτυξη Πρωτότυπου Μαθηματικού Μοντέλου Οστικής Αναδόμησης 85</b>	
6.1	Κατάστροφωση .....	85
6.2	Υπολογιστική Δοκιμή .....	93
<b>7</b>	<b>Επίλογος .....</b>	<b>97</b>
7.1	Σύνοψη.....	97
7.2	Συμπεράσματα - Μελλοντικές κατευθύνσεις.....	98
<b>8</b>	<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>101</b>







# 1

## *Εισαγωγή*

### *1.1 Αντικείμενο διπλωματικής*

Η παρούσα διπλωματική εργασία έχει ως αντικείμενο την ποιοτική και ποσοτική περιγραφή με μαθηματικά μοντέλα, της διαδικασίας της οστικής αναδόμησης (οστικής ανακατασκευής). Στο πλαίσιο αυτό, κάνουμε ανασκόπηση, ταξινόμηση και αξιολόγηση των υπαρχόντων μοντέλων στη διεθνή βιβλιογραφία, και επίσης αναπτύσσουμε και προτείνουμε ένα πρωτότυπο μαθηματικό μοντέλο οστικής αναδόμησης.

### *1.2 Οργάνωση κειμένου*

Στο κεφάλαιο 2 παρουσιάζονται στοιχεία για τη δομή και σύσταση του οστού και περιγράφεται ποιοτικά η διαδικασία τη οστικής αναδόμησης και οι εμπλεκόμενοι παράγοντες.

Στο κεφάλαιο 3 εισερχόμαστε στο κύριο αντικείμενο και κάνουμε μια σύντομη ανασκόπηση των μοντέλων οστικής αναδόμησης που προσεγγίζουν το θέμα από μηχανική σκοπιά.

Στο κεφάλαιο 4 γίνεται αναλυτική περιγραφή και σύγκριση των μοντέλων οστικής αναδόμησης που προσεγγίζουν το θέμα από βιολογική σκοπιά, καθώς αποτελούν γενικά πρόσφατες ερευνητικές εργασίες.

Στο κεφάλαιο 5 γίνεται αναλυτική περιγραφή και σύγκριση μοντέλων που συνιστούν προσπάθεια συνδυασμού των προαναφερθεισών προσεγγίσεων, καθώς προς αυτήν την κατεύθυνση κινείται η πιο πρόσφατη έρευνα.

Στο κεφάλαιο 6 αναπτύσσεται πρωτότυπο μαθηματικό μοντέλο οστικής αναδόμησης.

Στο κεφάλαιο 7 συνοψίζονται, ταξινομούνται και αξιολογούνται οι διάφορες προσεγγίσεις.



# 2

## *Υπόβαθρο*

### *2.1 Δομή και Σύσταση του Οστού*

#### *2.1.1 Γενικά*

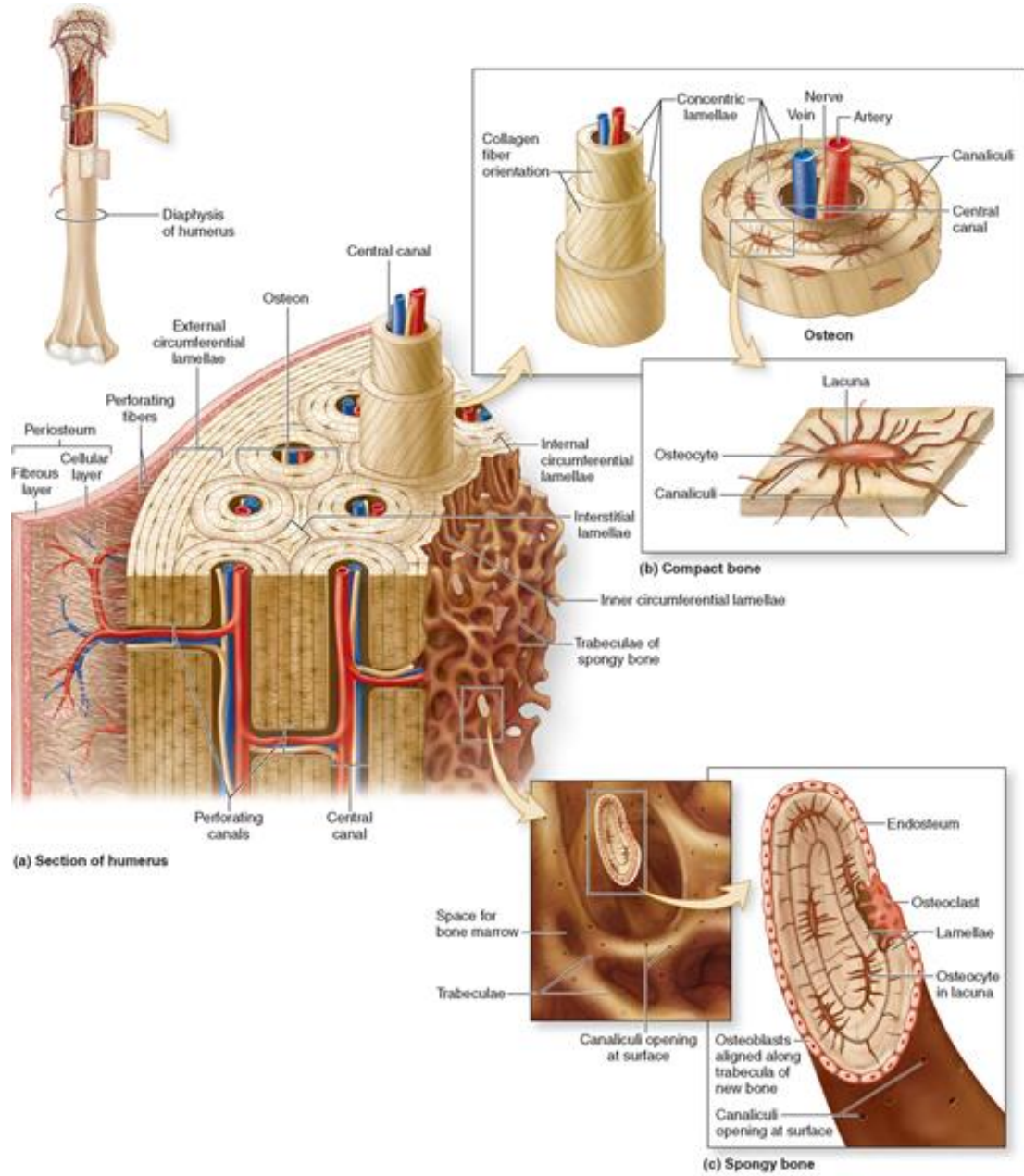
Τα οστά είναι όργανα τα οποία συνθέτουν τον σκελετό και είναι απαραίτητα για τη στήριξη και κίνηση του σώματος, καθώς και για την προστασία ευαίσθητων ιστών και οργάνων. Περικλείουν τον μυελό των οστών, που αποτελεί το κύριο αιμοποιητικό όργανο. Επίσης λειτουργούν ως αποθήκη ασβεστίου και φωσφόρου. Αποτελείται από τον οστίτη ιστό (τύπος συνδετικού ιστού), αλλά και αγγεία, νεύρα και ανόργανους κρυστάλλους υδροξυαπατίτη. Το οστό χαρακτηρίζεται από την ακαμψία και τη σκληρότητά του.

Υπάρχουν 2 τύποι (ζώνες) οστού: α) Το συμπαγές ή φλοιώδες οστό β) Το σπογγώδες ή δικτυωτό οστό

Το συμπαγές ή φλοιώδες οστό αντιπροσωπεύει το 80% της ολικής οστικής μάζας, είναι συμπαγές, πυκνό, παρουσιάζει μεγάλη αντίσταση σε κάμψη και στρέψη και εντοπίζεται στις εξωτερικές περιοχές (κοντά στην επιφάνεια) του οστού. Οι δομικές μονάδες του συμπαγούς οστού είναι οι οστεώνες ή σύστημα Havers (Haversian system), οι οποίοι έχουν κυλινδρικό σχήμα. Το σπογγώδες οστό αντιπροσωπεύει το 20% της οστικής μάζας. Αποτελείται από οστικές δοκίδες ανάμεσα στις οποίες υπάρχουν κοιλότητες. Είναι λιγότερο πυκνό, πιο ελαστικό και αποτελεί τις εσωτερικές περιοχές του οστού. Στο εσωτερικό του σπογγώδους οστού βρίσκεται ο μυελός των οστών. Ο τύπος του σπογγώδους οστού παρουσιάζει μεγαλύτερη και γρηγορότερη μεταβολική δραστηριότητα, ενώ ο τύπος του συμπαγούς (φλοιώδους) οστού έχει μεγαλύτερη μηχανική αντοχή. Παρόλο που οι 2 προαναφερθέντες τύποι οστού διαφέρουν μορφολογικά, έχουν παρόμοια σύσταση.

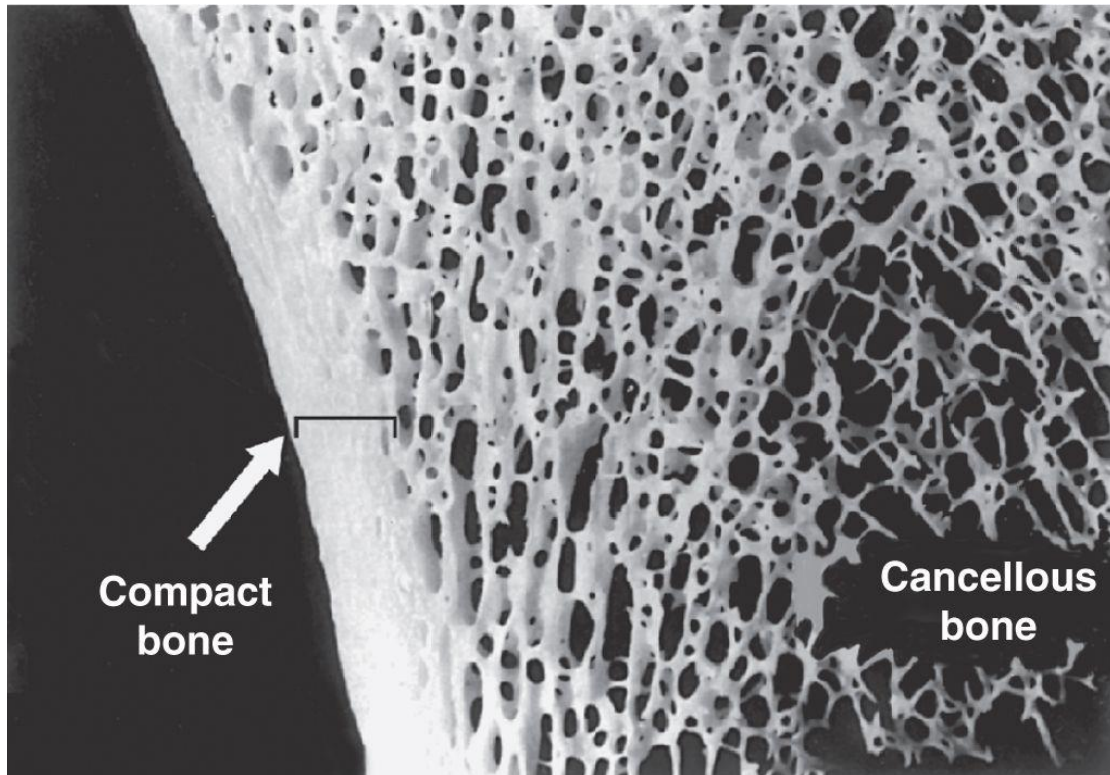
Οι εξωτερικές και εσωτερικές επιφάνειες του οστού αποτελούνται από στρώματα συνδετικού ιστού, που αποτελούν το περίοστεο και το ενδόστεο, αντίστοιχα. Το ενδόστεο καλύπτει τον

εσωτερικό αυλό του οστού όπου βρίσκεται ο μυελός. Το περίοστεο έχει ένα ινώδες εξωτερικό στρώμα που φέρει πολυάριθμα αγγεία και ένα εσωτερικό στρώμα που περιέχει οστικά κύτταρα. Οι παρακάτω εικόνες εμφανίζουν λεπτομέρειες της δομής του οστού.



Source: Mescher AL: Janqueira's Basic Histology, 13th Edition: www.accessmedicine.com  
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

**Εικόνα 2.1** Δομή του οστού (Πηγή: Mescher A. L., Janqueira's Basic Histology, 13<sup>th</sup> edition, McGraw-Hill Education, 2013)



*Εικόνα 2.2 Συμπαγές (Compact) και σπογγώδες (Cancellous) οστό (Πηγή: Mescher A. L., Janqueira's Basic Histology, 13<sup>th</sup> edition, McGraw-Hill Education, 2013)*

Όπως άλλοι συνδετικοί ιστοί, ο οστίτης ιστός αποτελείται από κύτταρα που βρίσκονται μέσα σε μεσοκυττάρια (θεμέλιο) ουσία.

### **2.1.2 Μεσοκυττάρια Ουσία**

Η μεσοκυττάρια ουσία (θεμέλια ουσία) αποτελείται από οργανικά και ανόργανα συστατικά. Το οργανικό μέρος ονομάζεται οστεοειδές. Το μεγαλύτερο μέρος της μεσοκυττάρια ουσίας είναι ανόργανο.

Το οργανικό μέρος αποτελείται από κολλαγόνο τύπου I (κατά 90% περίπου), γλυκοζαμινογλυκάνες, τις πρωτεΐνες οστεοκαλσίνη, οστεοποντίνη, οστεονεκτίνη, Sialoprotein II και άλλες μικρές πρωτεογλυκάνες. Ανάλογα με τη διάταξη των ινιδίων κολλαγόνου, το οστό μπορεί να διακριθεί σε δικτυωτό (πρωτογενές) και πεταλιώδες (δευτερογενές). Το δικτυωτό οστό χαρακτηρίζεται από τυχαία διάταξη των ινιδίων κολλαγόνου, μικρότερο βαθμό κρυσταλλοποίησης και δημιουργείται στον εμβρυικό σκελετό και σε περιοχές καταγμάτων. Είναι προσωρινό και αντικαθίσταται από πεταλιώδες οστό. Έτσι, σε φυσιολογικές συνθήκες, τα ανθρώπινα οστά μετά την ηλικία των πέντε ετών έχουν πεταλιώδη μορφή. Στο πεταλιώδες οστό τα ινίδια κολλαγόνου έχουν παράλληλο προσανατολισμό και ο βαθμός κρυσταλλοποίησης είναι μεγαλύτερος.

Το ανόργανο μέρος της θεμελίου ουσίας αποτελείται κυρίως από άλατα (κρυστάλλους) υδροξυαπατίτη (χημικός τύπος  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) και κάποια ιχνοστοιχεία (μαγνήσιο, νάτριο, κάλιο κ.α.).

Το ανόργανο μέρος προσδίδει σκληρότητα, ακαμψία και δύναμη στο οστό, ενώ το οστεοειδές προσδίδει ελαστικότητα. Ινίδια κολλαγόνου και κρύσταλλοι υδροξυαπατίτη σχηματίζουν ένα οργανωμένο σύμπλεγμα.

### **2.1.3 Οστικά κύτταρα**

Υπάρχουν τρία βασικά είδη οστικών κυττάρων: οι οστεοβλάστες, τα οστεοκύτταρα και οι οστεοκλάστες.

#### **2.1.3.1 Οστεοβλάστες**

Οι οστεοβλάστες προέρχονται από μεσεγγυματικά βλαστοκύτταρα που μετατρέπονται σε οστεοπρογονικά κύτταρα και εν συνεχεία σε οστεοβλάστες. Οι οστεοβλάστες παράγουν διάφορες κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Επίσης, συνθέτουν και εκκρίνουν τα οργανικά συστατικά της μεσοκυτταρίου ουσίας. Τα συστατικά εκκρίνονται από την επιφάνεια του κυττάρου που βρίσκεται σε επαφή με την υπάρχουσα μεσοκυτταρίου ουσία. Παράγεται έτσι ένα καινούργιο στρώμα ουσίας (οστεοειδές) ανάμεσα στο στρώμα των οστεοβλαστών και της προϋπάρχουσας ουσίας. Οι ενεργές οστεοβλάστες έχουν κυβοειδές σχήμα και δρουν ως ομάδες οι οποίες βρίσκονται στην επιφάνεια της ουσίας που παράγουν. Γενικά παίζουν ρόλο και στην απόθεση ανόργανων συστατικών στο οστό. Η οστεοκαλσίνη, την οποία εκκρίνουν, μαζί με τις άλλες γλυκοπρωτεΐνες δεσμεύουν ιόντα ασβεστίου και αυξάνουν τοπικά τη συγκέντρωση. Οι οστεοβλάστες επίσης εκκρίνουν κυστίδια πλούσια σε αλκαλική φωσφατάση και άλλα ένζυμα, τα οποία συντελούν στην αύξηση της συγκέντρωσης ιόντων  $\text{PO}_4^-$ . Έτσι σχηματίζονται οι κρύσταλλοι υδροξυαπατίτη, οι οποίοι μεγαλώνουν γρήγορα με την απόθεση περισσότερου ανόργανου υλικού και συνιστούν μια μάζα ασβεστοποιημένου υλικού. Η σύνθεση της μεσοκυτταρίου ουσίας από τις οστεοβλάστες συνοψίζεται σε δύο βασικά βήματα: δημιουργία του οργανικού μέρους της και η ακόλουθη ασβεστοποίηση.

Οι πληθυσμοί των οστεοβλαστών είναι γενικά ετερογενείς και αντιδρούν διαφορετικά σε διάφορα ερεθίσματα. Όταν σταματάει η δραστηριότητά τους, κάποια οστεοβλαστικά κύτταρα παίρνουν επίπεδο σχήμα και μετατρέπονται σε επενδυτικά κύτταρα (κύτταρα επένδυσης) που βρίσκονται στο ενδόστεο και στο περίοστεο. Οι ανενεργές οστεοβλάστες επίσης διαφοροποιούνται στα οστεοκύτταρα.

### 2.1.3.2 Οστεοκύτταρα

Σε οστεοκύτταρα μετατρέπονται οι οστεοβλάστες στην τελική τους φάση. Στην ουσία είναι ανενεργές οστεοβλάστες που έχουν παγιδευτεί και ακινητοποιούνται στην οστεοποιούμενη μεσοκυττάρια ουσία. Βρίσκονται (το καθένα χωριστά) μέσα σε βοθρία στο ανόργανο μέρος της μεσοκυττάρια ουσίας. Έχουν πολλές νηματοειδείς κυτταροπλασματικές αποφυάδες και μορφολογία δενδρίτη. Αυτές οι νηματοειδείς αποφυάδες συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας ένα δίκτυο «καναλιών» και βοθρίων (osteocyte lacunocanalicular system) μέσω του οποίου τα οστεοκύτταρα επικοινωνούν μεταξύ τους αλλά και με άλλα είδη κυττάρων (οστεοβλάστες, επενδυτικά κύτταρα). Με αυτόν τον τρόπο, ενώ το κυρίως σώμα των οστεοκυττάρων βρίσκεται μέσα στα βοθρία, οι κυτταροπλασματικές τους λειτουργίες επεκτείνονται στο δίκτυο. Σύμφωνα με πιο πρόσφατες μελέτες, τα οστεοκύτταρα, λόγω του δικτύου, λειτουργούν ως μηχανικοί αισθητήρες και έτσι παίζουν ρόλο στην εκκίνηση της διαδικασίας της οστικής αναδόμησης. Επίσης, παράγουν την πρωτεΐνη σκληροστίνη που ελέγχει την οστική αναδόμηση.

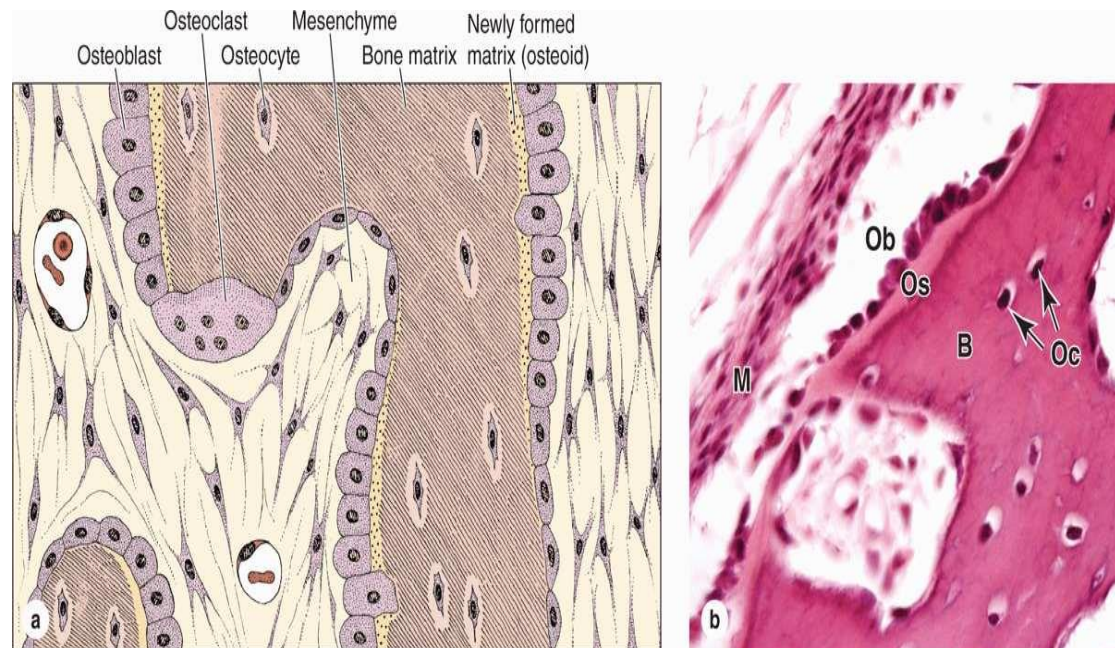
Τα οστεοκύτταρα αποτελούν το 90% των οστικών κυττάρων στον ώριμο ανθρώπινο σκελετό και η μορφολογία τους μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τον τύπο οστού. Το δικτυωτό οστό περιέχει μεγαλύτερη αναλογία οστεοκυττάρων από το πεταλιώδες.

### 2.1.3.3 Οστεοκλάστες

Οι οστεοκλάστες είναι πολύ μεγάλα πολυπύρρηνα κύτταρα που προέρχονται από τη σύντηξη μονοπύρρηνων κυττάρων της σειράς των μονοκύτταρων-μακροφάγων του αίματος και του μυελού των οστών. Η δημιουργία και λειτουργία των οστεοκλαστών εξαρτάται από την τοπική δράση κυτταροκινών που εκκρίνονται κυρίως από τις οστεοβλάστες. Διάφορες ορμόνες επίσης παίζουν ρόλο στη λειτουργία τους. Η δράση των κυτταροκινών M-CSF (Παράγοντας Διέγερσης Αποικιών Μακροφάγων / Macrophage Colony Stimulating Factor) και RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor κB Ligand) είναι απαραίτητη για τη δημιουργία των οστεοκλαστών. Η ουσία RANKL ανήκει στην υπεροικογένεια TNF (Tumor Necrosis Factor - Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων).

Οι οστεοκλάστες είναι υπεύθυνες για την οστική απορρόφηση (οστεόλυση). Σε περιοχές του οστού όπου λαμβάνει χώρα οστική απορρόφηση, οι οστεοκλάστες βρίσκονται στις λεγόμενες κοιλότητες απορρόφησης ή βοθρία του Howship, που σχηματίζονται ως αποτέλεσμα της ίδιας της απορρόφησης. Στις ενεργές οστεοκλάστες, η μεμβράνη σχηματίζει ένα πτυχωτό σύνορο με τη μεσοκυττάρια ουσία στο σημείο που πρόκειται να συμβεί η οστική απορρόφηση. Οι οστεοκλάστες προσκολλώνται στη μεσοκυττάρια ουσία με τη βοήθεια ιντεγκρινικών υποδοχέων, οι οποίοι ενώνονται με τα πεπτιδία της μεσοκυττάρια ουσίας. Εκκρίνοντας ένζυμα

και προσελκύοντας ιόντα υδρογόνου στο σημείο φέρουν εις πέρας τη διαδικασία της οστεόλυσης.



*Εικόνα 2.3 Οστίτης ιστός - Οστικά κύτταρα (Πηγή: Mescher A. L., Janqueira's Basic Histology, 13<sup>th</sup> edition, McGraw-Hill Education, 2013)*

## 2.2 Οστική Αναδόμηση

Το οστό είναι μεταβολικά ενεργό όργανο που παρουσιάζει δυναμικά χαρακτηριστικά και έχει την ικανότητα να προσαρμόζει τη δομή του ανάλογα με τις μηχανικές τάσεις που δέχεται. Αναδομείται συνεχώς, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής, δηλαδή παλιός οστίτης ιστός αφαιρείται και αντικαθίσταται από νέο.

Η οστική αναδόμηση (bone remodeling) λοιπόν είναι η σύνθετη διαδικασία της οστικής απορρόφησης (οστεόλυσης) από τις οστεοκλάστες ακολουθούμενης από οστική παραγωγή από τις οστεοβλάστες, υπό την επίδραση των οστεοκυττάρων (ακόμα και των επενδυτικών κυττάρων σύμφωνα με κάποιες πρόσφατες έρευνες) και πολλών αλληλεπιδρώντων ουσιών/παραγόντων.

Η οστική αναδόμηση είναι απαραίτητη για:

- Τη διατήρηση της δομικής ακεραιότητας και σύστασης του οστού
- Την προσαρμογή του οστού σε μηχανικές καταπονήσεις
- Την αποκατάσταση καταγμάτων
- Την επιδιόρθωση των μικροφθορών του οστού

- Τη σωστή μεταβολική λειτουργία του οστού ως μεταβολική «αποθήκη» ασβεστίου και φωσφόρου
- Τη διατήρηση της ομοιοστασίας του ασβεστίου στο αίμα

Εξωτερικό διεγερτικό ρόλο για τη διαδικασία παίζουν οι μηχανικές πιέσεις που ασκούνται, οι μικροφθορές και μικρορωγμές στον οστίτη ιστό, η υπασβεστιαμία και γενικότερα οι συνθήκες περιβάλλοντος. Μάλιστα, ο Γερμανός ανατόμος και χειρουργός Julius Wolff διατύπωσε πρώτος το 1892 ότι τα οστά σε έναν υγιή οργανισμό προσαρμόζονται στις μηχανικές πιέσεις που δέχονται.

Η διαδικασία της οστικής αναδόμησης λαμβάνει χώρα σε μικρά τμήματα του οστού κάθε φορά. Τα τμήματα αυτά ονομάζονται Βασικές Πολυκυτταρικές Μονάδες και η «επιλογή» του εκάστοτε τμήματος μπορεί να είναι τυχαία (τυχαία οστική αναδόμηση) ή σε σημεία όπου το απαιτούν οι συνθήκες (στοχευμένη οστική αναδόμηση). Οι Βασικές Πολυκυτταρικές Μονάδες, στους δύο τύπους οστού (συμπαγές και φλοιώδες) διαφέρουν κυρίως μορφολογικά και όχι τόσο βιολογικά.

Η διαδικασία μπορεί να διακριθεί σε 5 στάδια: φάση της ηρεμίας, φάση της ενεργοποίησης, φάση της οστεόλυσης (οστικής απορρόφησης), φάση της αντιστροφής, φάση της οστεοπαραγωγής.

Η ενεργοποίηση συνίσταται στη «στρατολόγηση» μονοπύρηνων κυττάρων της σειράς των μονοκύτταρων-μακροφάγων του αίματος και του μυελού των οστών και στη σύντηξη αυτών σε μεγάλα πολυπύρηνα κύτταρα, τους πρώιμους οστεοκλάστες. Αυτό γίνεται με την επίδραση κυρίως δύο ουσιών: του M-CSF (Παράγοντας Διέγερσης Αποικιών Μακροφάγων / Macrophage Colony Stimulating Factor) και του RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor κB Ligand), που ανήκει στην υπεροικογένεια TNF (Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων / Tumor Necrosis Factor). Οι δύο αυτές κυτταροκίνες παράγονται από κύτταρα της οστεοβλαστικής γενεαλογίας, δηλαδή από μεσεγγυματικά οστεοπρογονικά κύτταρα (M-CSF), οστεοβλάστες (M-CSF, RANKL), οστεοκύτταρα (RANKL), επενδυτικά κύτταρα (RANKL). Οι υποδοχείς του προσδέτη RANKL στα κύτταρα της οστεοκλαστικής σειράς λέγονται RANK. Ο RANKL λοιπόν, προσδεόμενος στον υποδοχέα RANK των οστεοκλαστικών κυττάρων, ρυθμίζει τον σχηματισμό, τη διαφοροποίηση και τη δράση τους. Από την άλλη, η πρωτεΐνη OPG (οστεοπροτεγερίνη), που εκκρίνεται κυρίως από τις οστεοβλάστες, συνδέεται με τον RANKL και τον εμποδίζει να προσδεθεί στον υποδοχέα RANK, αναστέλλοντας τη δημιουργία και διαφοροποίηση των οστεοκλαστών. Η OPG δηλαδή μπλοκάρει την επίδραση του RANKL. Επομένως γίνεται σαφές ότι το σύστημα RANK-RANKL-OPG είναι ένας βασικός ρυθμιστικός παράγοντας της διαδικασίας.

Οι διαφοροποιημένοι οστεοκλάστες λοιπόν προσκολλώνται στη μεσοκυττάρια ουσία με τη βοήθεια ιντεγκρινικών υποδοχέων που διαθέτουν και η μεμβράνη τους σχηματίζει ένα πτυχωτό

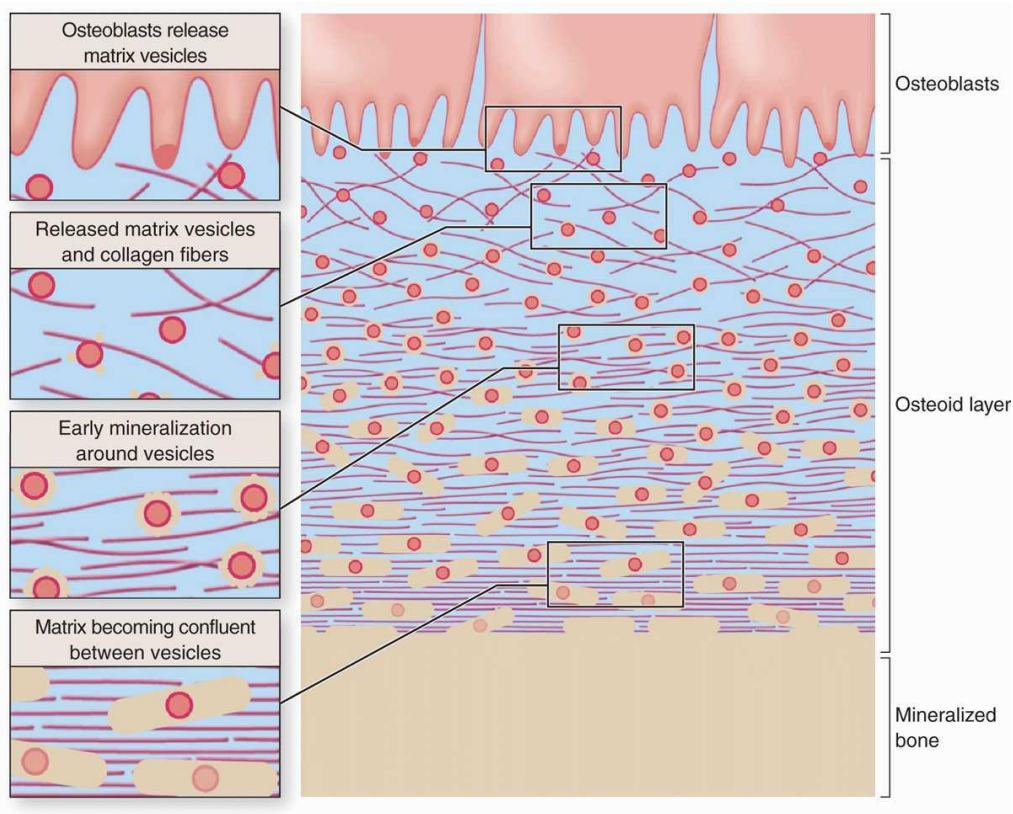
σύνορο με τη μεσοκυττάρια ουσία. Δημιουργείται έτσι μια σφραγισμένη ζώνη και ξεκινάει η διαδικασία της οστικής απορρόφησης. Οι ενεργές οστεοκλάστες, αντλώντας ιόντα υδρογόνου, ρίχνουν το ΡΗ στο σημείο με αποτέλεσμα τη διάλυση των κρυστάλλων (του ανόργανου υλικού) της θεμελίου ουσίας. Ακόμα, εκκρίνουν διάφορα ένζυμα, όπως καθεψίνη Κ, όξινη φωσφατάση, μεταλλοπρωτεϊνάση-9, τα οποία προκαλούν την αποσύνθεση του οργανικού μέρους της θεμελίου ουσίας, δηλαδή του κολλαγόνου και των υπολοίπων πρωτεϊνών. Αυτή η διαδικασία έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό του βοθρίου του Howship γύρω από κάθε οστεοκλάστη. Η οστεόλυση επίσης επιτρέπει την απελευθέρωση κάποιων ουσιών που έχουν παγιδευτεί στη θεμελίου ουσία. Αυτές οι ουσίες είναι οι αυξητικοί παράγοντες TGF-β, IGF-I, IGF-II, PDGF. Ο αυξητικός παράγοντας TGF-β μειώνει έμμεσα τη δράση των οστεοκλαστών αναστέλλοντας την παραγωγή RANKL από τις οστεοβλάστες. Η διαδικασία της οστικής απορρόφησης διαρκεί περίπου 2 με 4 εβδομάδες για κάθε κύκλο οστικής αναδόμησης.

Αφού ολοκληρώσουν τη δράση τους οι οστεοκλάστες απομακρύνονται από το σημείο και κάνουν την εμφάνισή τους οι οστεοβλάστες. Αυτή είναι η φάση της αναστροφής και διαρκεί περίπου 1-2 εβδομάδες. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο συμβαίνει αυτό τελεί υπό διερεύνηση. Διάφοροι αυξητικοί παράγοντες, όπως TGFs, IGFs, Οστικές Μορφογενετικές Πρωτεΐνες, PDGF, FGF θεωρείται ότι παίζουν ρυθμιστικό ρόλο.

Οι οστεοβλάστες αφού «παραταχθούν» στο σημείο, αρχίζουν να εκκρίνουν τα οργανικά συστατικά της μεσοκυττάριας ουσίας (κολλαγόνο τύπου I και τις υπόλοιπες πρωτεΐνες). Δρουν ομαδικά και όχι μεμονωμένα. Με τη δημιουργία και την ωρίμανση του οργανικού μέρους (δηλαδή του οστεοειδούς), αρχίζει η βαθμιαία ασβεστοποίησή του (κρυσταλλοποίηση). Αυτό γίνεται μέσω της αύξησης της τοπικής συγκέντρωσης φωσφόρου και ασβεστίου. Σε αυτή την τοπική αύξηση συγκεντρώσεων βοηθάει η έκκριση από τις οστεοβλάστες κυστιδίων πλούσιων σε αλκαλική φωσφατάση και άλλα ένζυμα. Έτσι, ανάμεσα στα ινίδια κολλαγόνου σχηματίζονται οι κρύσταλλοι του υδροξυαπατίτη ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), οι οποίοι συνιστούν το ανόργανο μέρος της μεσοκυττάριας ουσίας (Εικόνα 2.4). Στο σχηματισμό των κρυστάλλων θεωρείται ότι παίζουν κάποιο ρόλο και οι υπάρχουσες πρωτεΐνες του οργανικού μέρους.

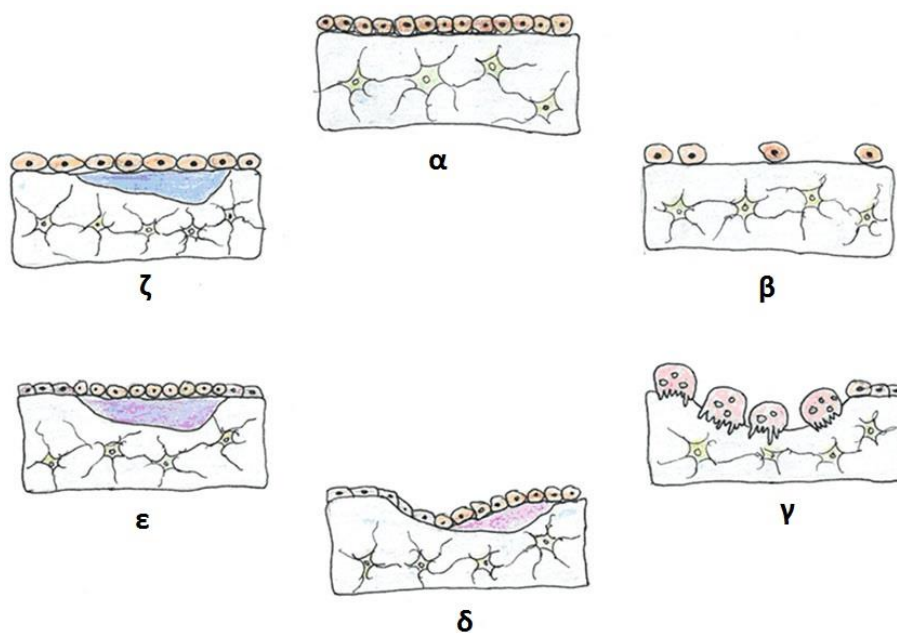
Αφού ολοκληρωθεί η φάση της οστεοπαραγωγής, η οποία διαρκεί μερικούς μήνες, το συγκεκριμένο τμήμα του οστού εισέρχεται σε φάση ηρεμίας.





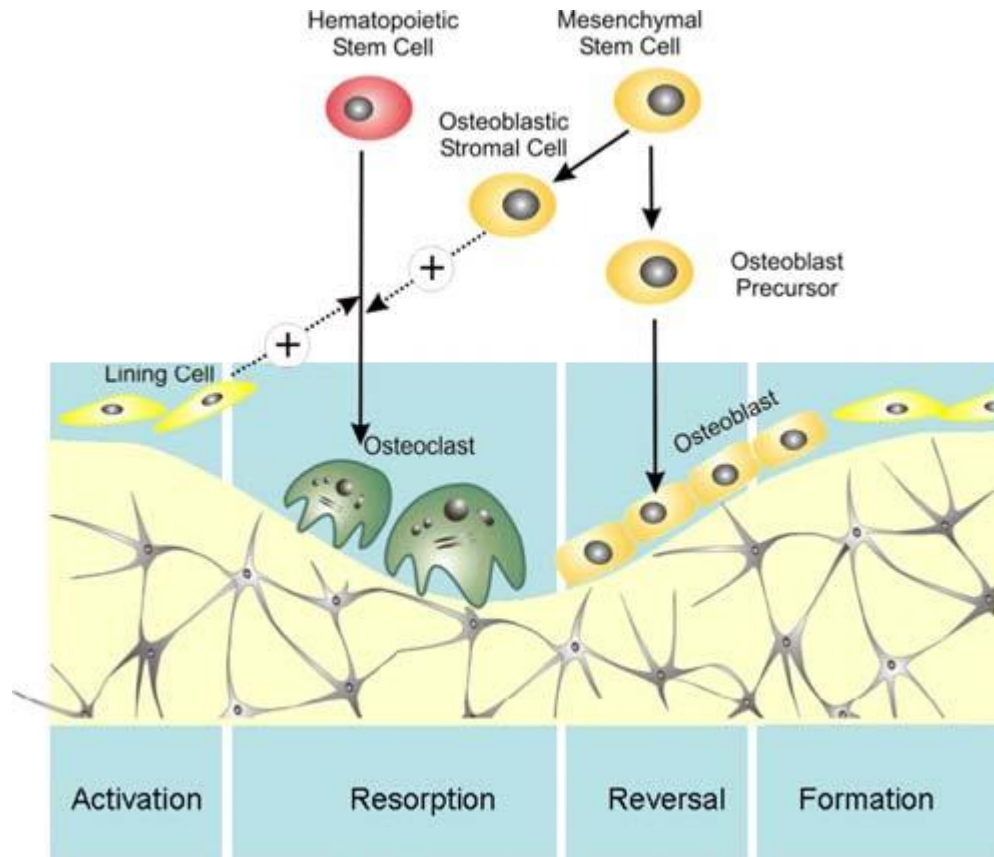
**Εικόνα 2.4** Κρυσταλλοποίηση οστεοειδούς (Πηγή: Mescher A. L., Janqueira's Basic Histology, 13<sup>th</sup> edition, McGraw-Hill Education, 2013)

Στις εικόνες 2.5 και 2.6 δίνεται μια επισκόπηση της διαδικασίας και των σταδίων της οστικής αναδόμησης.



**Εικόνα 2.5** Σταδία Οστικής Αναδόμησης: (α)Στάδιο ηρεμίας όπου τα οστικά κύτταρα επένδυσης βρίσκονται στη ενδοστική επιφάνεια (β)Στάδιο της ενεργοποίησης (γ)Στάδιο της οστεόλυσης όπου οι

οστεοκλάστες απορροφούν οστό (δ)Στάδιο δημιουργίας του οστεοειδούς από τις οστεοβλάστες (ε)Στάδιο κρυσταλλοποίησης του οστεοειδούς (ζ)Στάδιο ολοκλήρωσης της διαδικασίας και μετάβασης στο στάδιο της ηρεμίας (Πηγή:Kini and Nandeesh. *Physiology of Bone Formation, Remodeling and Metabolism. Radionuclide and Hybrid Bone Imaging. Springer 2012*)



Εικόνα 2.6 Επισκόπηση της διαδικασίας (Πηγή: Proff and Römer, *Clin Oral Invest* 13, 2009)

Η διαδικασία της οστικής αναδόμησης είναι μια χαρακτηριστικά πολύπλοκη διαδικασία και απαιτεί τη συντονισμένη δράση των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών, μαζί με τους υπόλοιπους παράγοντες, ώστε να διατηρείται η μάζα και η ποιότητα του οστού. Διαταραχές της φυσιολογικής διαδικασίας συνίστανται κυρίως στην ανισορροπία μεταξύ οστικής απορρόφησης και οστικής δημιουργίας με αποτέλεσμα ασθένειες όπως η οστεοπόρωση, η οστεοπέτρωση και η οστική νόσος Paget. Στην οστεοπόρωση η οστική απορρόφηση υπερέρχει της οστικής δημιουργίας, ενώ στην οστεοπέτρωση συμβαίνει το αντίστροφο. Η οστική νόσος Paget χαρακτηρίζεται από ανεξέλεγκτη δραστηριότητα οστεοκλαστών και οστεοβλαστών και επακόλουθη αποδιοργάνωση της αρχιτεκτονικής και της δομής του οστού.

## 2.3 Παράγοντες που ρυθμίζουν και επιδρούν στην οστική αναδόμηση

Οι παράγοντες που ρυθμίζουν και επιδρούν στην οστική αναδόμηση είναι είτε μηχανικής φύσεως είτε βιολογικής φύσεως, οι οποίοι βέβαια αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Οι παράγοντες βιολογικής φύσεως διακρίνονται σε συστηματικούς (μη τοπικούς) και τοπικούς.

### Μηχανικοί Παράγοντες

Οι μηχανικές φορτίσεις και καταπονήσεις, οι μικροφθορές και μικρορωγμές στα οστά, επιδρούν διεγερτικά στη διαδικασία. Στα επόμενα θα προταθούν διάφορα μηχανικά μεγέθη ως ρυθμιστές της διαδικασίας.

### Συστημικοί (Μη Τοπικοί) Βιολογικοί Παράγοντες

Η παραθυρεοειδής ορμόνη ή παραθορμόνη (PTH) είναι ο πιο σημαντικός συστηματικός παράγοντας που επιδρά στη διαδικασία. Είναι ο βασικός ρυθμιστής σχετικά με την ομοιοστασία του ασβεστίου και διατηρεί τη συγκέντρωση ασβεστίου στο αίμα διεγείροντας την οστική απορρόφηση με αποτέλεσμα να απελευθερώνεται ασβέστιο αποθηκευμένο στο οστό. Η παραθορμόνη προσδένεται σε ειδικούς υποδοχείς στα οστεοβλαστικά κύτταρα και θεωρείται ότι αυξάνει την παραγωγή RANKL ενώ μειώνει την παραγωγή οστεοπροτεγερίνης. Αποτέλεσμα είναι η οστική απορρόφηση όταν εκκρίνεται συνεχόμενα και η οστική δημιουργία όταν εκκρίνεται διακοπτόμενα.

Ένας άλλος σημαντικός συστηματικός παράγοντας είναι η καλσιτονίνη, η οποία προσδένεται στις οστεοκλάστες και μειώνει (για συγκεκριμένο μάλλον χρονικό διάστημα) την οστεοκλαστική κινητικότητα και δραστηριότητα και συνεπώς την οστική απορρόφηση. Η έκκρισή της προκαλείται από υψηλά επίπεδα ασβεστίου στο αίμα. Η δράση της μπορεί να θεωρηθεί ανταγωνιστική της δράσης της παραθορμόνης.

Άλλη μια ουσία που παίζει σημαντικό ρόλο είναι η καλσιτριόλη. Η καλσιτριόλη ή 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> ή 1,25 διυδροξυβιταμίνη D<sub>3</sub> είναι βασικός μεταβολίτης της βιταμίνης D. Παράγεται από τους νεφρούς και ο ρόλος της κυρίως είναι να ρυθμίζει τα επίπεδα ασβεστίου στο αίμα. Η καλσιτριόλη προσδένεται στις οστεοβλάστες και αυξάνει την παραγωγή RANKL και μέσω αυτού επιδρά θετικά στην οστεοκλαστογένεση. Επίσης, βελτιώνει την εντερική απορρόφηση ασβεστίου και φωσφόρου.

Επίσης, τα οιστρογόνα και τα ανδρογόνα ασκούν σημαντική επίδραση στη διαδικασία της οστικής αναδόμησης. Τα οιστρογόνα ευνοούν την οστική δημιουργία και έχουν ανασταλτική

δράση στην οστική απορρόφηση, αναστέλλοντας το σχηματισμό και τη δράση των οστεοκλαστών. Αυτή η ανασταλτική δράση είναι και έμμεση, καθώς τα οιστρογόνα μειώνουν τα επίπεδα ιντερλευκινών και άλλων κυτταροκινών οι οποίες ευνοούν την οστεοκλαστογένεση. Επίσης, τα οιστρογόνα μπορούν να αυξήσουν την τοπική παραγωγή οστεοπροτεγερίνης και αυξητικών παραγόντων. Τα ανδρογόνα είναι σημαντικά για την οστική πυκνότητα και ανάπτυξη και έχουν αναβολική δράση στα οστά.

Άλλοι συστημικοί παράγοντες είναι οι θυρεοειδικές ορμόνες, που ευνοούν και την οστική απορρόφηση αλλά και την οστική δημιουργία, τα γλυκοκορτικοειδή, που ευνοούν τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών αλλά μπορεί να μειώσουν τη δράση τους, η αυξητική ορμόνη, που διεγείρει τη δραστηριότητα των οστεοβλαστών και έμμεσα (μέσω των αυξητικών παραγόντων IGF-I, IGF-II) τη διαφοροποίηση και εξάπλωσή τους, η ινσουλίνη, που διεγείρει τη σύνθεση της μεσοκυτταρίου ουσίας (μέσω και του IGF-I), η προγεστερόνη, που έχει αναβολική δράση στα οστά.

### **Τοπικοί Βιολογικοί Παράγοντες**

Οι τοπικοί παράγοντες περιλαμβάνουν κυρίως διάφορες κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες. Ο πιο σημαντικός ίσως τοπικός παράγοντας είναι το σύστημα RANK/RANK/OPG, το οποίο ανακαλύφθηκε σχετικά πρόσφατα (τη δεκαετία του 1990). Η ουσία RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B Ligand), που ανήκει στην υπερικογενεία TNF (Παράγοντας Νέκρωσης Όγκων / Tumor Necrosis Factor), είναι μια κυτταροκίνη που παράγεται από τα κύτταρα της οστεοβλαστικής γενεαλογίας. Ο RANKL προσδέεται στον υποδοχέα του, τον RANK, που βρίσκεται στα κύτταρα της οστεοκλαστικής σειράς, και διεγείρει τη σύντηξη, τη διαφοροποίηση και δράση τους. Η οστεοπροτεγερίνη (OPG), που παράγεται κυρίως από τις οστεοβλάστες, συνδέεται με τον RANKL και εμποδίζει την πρόσδεση του τελευταίου στον υποδοχέα του (RANK). Η OPG λειτουργεί δηλαδή σαν υποδοχέας-δόλωμα για τον RANKL και επομένως αναστέλλει την επίδραση του RANKL στα οστεοκλαστικά κύτταρα.

Ο αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) είναι μια άλλη σημαντική για την οστική αναδόμηση ουσία. Ο TGF- $\beta$  βρίσκεται σε κάποια ποσότητα αποθηκευμένος και ανενεργός στη μεσοκυτταρίου ουσία και απελευθερώνεται με την οστική απορρόφηση. Η δράση του TGF- $\beta$  περιλαμβάνει την αναστολή της δημιουργίας και διαφοροποίησης νέων οστεοκλαστών από τη μία, τη διέγερση της δημιουργίας και διαφοροποίησης των οστεοβλαστών από την άλλη. Όμως από ένα σημείο ωρίμανσης των οστεοβλαστών και μετά, ο TGF- $\beta$  παίζει ανασταλτικό ρόλο στη διαφοροποίησή τους. Δηλαδή ενώ επιδρά θετικά στη διαφοροποίηση των πρώιμων οστεοβλαστικών κυττάρων, επιδρά αρνητικά στη διαφοροποίηση πιο ώριμων οστεοβλαστών.

Ο παράγοντας διέγερσης αποικιών μακροφάφων (M-CSF), που παράγεται από τις οστεοβλάστες και από μεσεγχυματικά οστεοπρογονικά κύτταρα, είναι απαραίτητος για την οστεοκλαστογένεση αλλά δεν επιδρά στη δραστηριότητα των οστεοκλαστών.

Οι ινσουλινοειδείς αυξητικοί παράγοντες I και II (IGF-I, IGF-II) είναι πολυπεπτίδια παρόμοια με την ινσουλίνη. Η σύνθεσή τους γίνεται από τις οστεοβλάστες αλλά και το ήπαρ. Υψηλές συγκεντρώσεις τους υπάρχουν μέσα στη μεσοκυττάρια ουσία. Επιδρούν θετικά στον πολλαπλασιασμό και τη δράση των οστεοβλαστών και στη σύνθεση του κολλαγόνου του οστεοειδούς.

Οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-6, IL-11 ευνοούν την οστική απορρόφηση κυρίως αυξορυθμίζοντας την παραγωγή RANKL. Η IL-1 διεγείρει την εξάπλωση και διαφοροποίηση των προ-οστεοκλαστών μέσω της αυξορύθμισης του RANKL, την οστεοκλαστική δραστηριότητα, και επιπλέον εμποδίζει την απόπτωση των οστεοκλαστών. Η IL-6 θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στα αρχικά στάδια της οστεοκλαστογένεσης και η παραγωγή της ευνοείται από την παραθορμόνη, την IL-1 και την καλσιτριόλη. Η IL-11 επίσης διεγείρει την οστεοκλαστογένεση.

Η προσταγλανδίνη E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) και το νιτρικό οξύ (NO) ευνοούν την οστεοβλαστική δραστηριότητα και την οστική δημιουργία και θεωρείται ότι η απελευθέρωσή τους εξαρτάται από μηχανικές φορτίσεις. Το νιτρικό οξύ επιδρά αρνητικά στα οστεοκλαστικά κύτταρα.

Οι πρωτεΐνες Wnt αποτελούν μια οικογένεια πρωτεϊνών που γενικά ρυθμίζουν πολλές κυτταρικές λειτουργίες, όπως η ανάπτυξη, η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός, η δράση και ο θάνατος. Όσον αφορά το οστό, μας ενδιαφέρει η σειρά διεργασιών κυτταρικής σηματοδότησης που λέγεται κανονικό μονοπάτι Wnt ή μονοπάτι Wnt/β-κατενίνης, που συνεπάγεται τη σταθεροποίηση της β-κατενίνης και τη ρύθμιση διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων. Το «μονοπάτι» Wnt/β-κατενίνης προωθεί την οστεοβλαστική διαφοροποίηση. Η πρωτεΐνη σκληροστίνη, που παράγεται από τα οστεοκύτταρα, όταν βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα επιδρά ανασταλτικά στο μονοπάτι Wnt και συνεπώς στις οστεοβλάστες και την οστική δημιουργία. Από την άλλη, είναι πιθανό ότι χαμηλά επίπεδα σκληροστίνης παίζουν κάποιο ρόλο στην ενεργοποίηση του «μονοπατιού» Wnt/β-κατενίνης. Η παραγωγή σκληροστίνης αναστέλλεται από τις μηχανικές φορτίσεις και την παραθορμόνη.

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες ανήκουν στην οικογένεια TGF-β και μεταξύ των άλλων συμμετέχουν στην αρχική δημιουργία των οστών στον οργανισμό. Διεγείρουν τη διαφοροποίηση βλαστοκυττάρων σε διάφορα κύτταρα συνδετικού ιστού, όπως κύτταρα του οστίτη ιστού και του χόνδρου. Είναι γνωστό ότι ασκούν θετική επίδραση στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και την οστεογένεση και θεωρείται ότι εμποδίζουν την οστεοκλαστογένεση.

Άλλοι λιγότερο σημαντικοί παράγοντες περιλαμβάνουν τον αιμοπεταλιακό αυξητικό παράγοντα, τον ινοβλαστικό αυξητικό παράγοντα, τον επιδερμικό αυξητικό παράγοντα, χημειοταξικές κυτταροκίνες και άλλες ουσίες. Όλες οι μοριακές αλληλεπιδράσεις που παίζουν κάποιο ρόλο στη διαδικασία δεν έχουν αποκωδικοποιηθεί πλήρως και βρίσκονται υπό διερεύνηση.

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι βιολογικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στη διαδικασία της οστικής αναδόμησης.

*Πίνακας 2.1*

<b>ΣΥΣΤΗΜΙΚΟΙ (ΜΗ ΤΟΠΙΚΟΙ) ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ</b>	<b>ΤΟΠΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Παραθορμόνη (PTH)</li> <li>• Καλσιτονίνη</li> <li>• Καλσιτριόλη</li> <li>• Οιστρογόνα / Ανδρογόνα</li> <li>• Θυρεοειδικές Ορμόνες</li> <li>• Αυξητική Ορμόνη</li> <li>• Γλυκοκορτικοειδή</li> <li>• Ινσουλίνη</li> <li>• Προγεστερόνη</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Σύστημα OPG / RANKL / RANK</li> <li>• M-CSF (Παράγοντας Διέγερσης Αποικιών Μακροφάγων)</li> <li>• Αυξητικοί παράγοντες (Growth Factors): IGF-1, IGF-2 (Ινσουλινοειδείς Αυξητικοί Παράγοντες), TGF-β (Αυξητικός Παράγοντας Μετασχηματισμού β), BMPs ή Οστικές Μορφογενετικές Πρωτεΐνες, PDGF (Αιμοπεταλιακός Αυξητικός Παράγοντας), FGF (Ινοβλαστικός Αυξητικός Παράγοντας), EGF (Επιδερμικός Αυξητικός Παράγοντας)</li> <li>• οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-6, IL-11</li> <li>• Πρωτεΐνες Wnt</li> <li>• PGE<sub>2</sub> (Προσταγλανδίνη E<sub>2</sub>)</li> <li>• NO (Νιτρικό Οξύ)</li> <li>• λευκοτριένια</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Σκληροστίνη, κ.α. λιγότερο σημαντικές ουσίες που παράγουν τα οστεοκύτταρα</b></li> <li>• <b>Χημειοταξικές κυτταροκίνες</b></li> </ul>
--	---

#### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ 2:

1. Mescher A L. Janqueira 's Basic Histology – 13th edition. McGraw-Hill Education. 2013
2. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. Clin J Am Soc Nephrol 3: S131-S139, 2008
3. Froencio-Silva R, Rodrigues da Silva Sasso G, Sasso-Cerri E, Simoes M J, Cerri P S. Biology of bone tissue: structure, function and factors that influence bone cells (Review Article). Biomed Research International. Volume 2015, 2015
4. Hadjidakis D J & Androulakis I I. Bone remodeling. Ann NY Acad Sci. 1092: 385-396, 2006
5. Kini U & Nandeesh B N. Physiology of bone formation, remodeling and metabolism. Radionuclide and Hybrid Bone Imaging. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2012
6. Proff P & Römer P. The molecular mechanism behind bone remodeling: a review. Clin Oral Invest 13: 355-362, 2009
7. Eriksen E F. Cellular mechanisms of bone remodeling. Rev Endocr Metab Disord 11: 219-227, 2010
8. Jin J, Wang Y, Jiang H, Kourkoumelis N, Renaudineau Y, Deng Z. The impact of obesity through fat depots and adipokines on bone homeostasis. AME Medical Journal 3(1), 2018





# 3

## *Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης – Ιστορική*

## *Ανασκόπηση – Μοντέλα βάσει Μηχανικών*

## *Παραγόντων*

### *3.1 Εισαγωγή*

Τα μαθηματικά μοντέλα αποτελούν ένα σημαντικό εργαλείο για την έρευνα στη βιολογία του οστού και γενικότερα βέβαια στη βιολογία. Είναι χρήσιμα στη διερεύνηση του κατά πόσο οι υποθέσεις και τα εννοιολογικά μοντέλα εξηγούν και ταιριάζουν με τα πειραματικά δεδομένα. Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η αξιόπιστη ανάλυση των δεδομένων, η αναγνώριση των πιο σημαντικών στοιχείων μιας θεωρίας, η απόκτηση νέων πληροφοριών, η εξαγωγή νέων υποθέσεων και η υπόδειξη νέων κατευθύνσεων της έρευνας. Η ποσοτικοποίηση στη βιολογία του οστού και την οστική αναδόμηση είναι ιδιαίτερα χρήσιμη στις περιπτώσεις όπου η πολυπλοκότητα και η ταυτόχρονη αλληλεπίδραση πολλών παραγόντων καθιστούν αδύνατη τη διαισθητική κατανόηση του συστήματος και την πρόβλεψη της συμπεριφοράς του. Επίσης, είναι ιδιαίτερα χρήσιμη όταν το υπό διερεύνηση σύστημα εμφανίζει μη γραμμική συμπεριφορά και όταν οι χρονικές κλίμακες διαφόρων γεγονότων διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Τα μαθηματικά – υπολογιστικά μοντέλα αποτελούν επίσης βάση για την εκτέλεση υπολογιστικών προσομοιώσεων των υπό διερεύνηση συστημάτων. Οι προσομοιώσεις συχνά υποδεικνύουν νέες κατευθύνσεις για την έρευνα και τον σχεδιασμό χρήσιμων πειραμάτων. Η μοντελοποίηση λοιπόν είναι ιδιαίτερα σημαντική για τον συνδυασμό των πληροφοριών και τη σύνθεση ολοκληρωμένης συνεπούς θεωρίας.

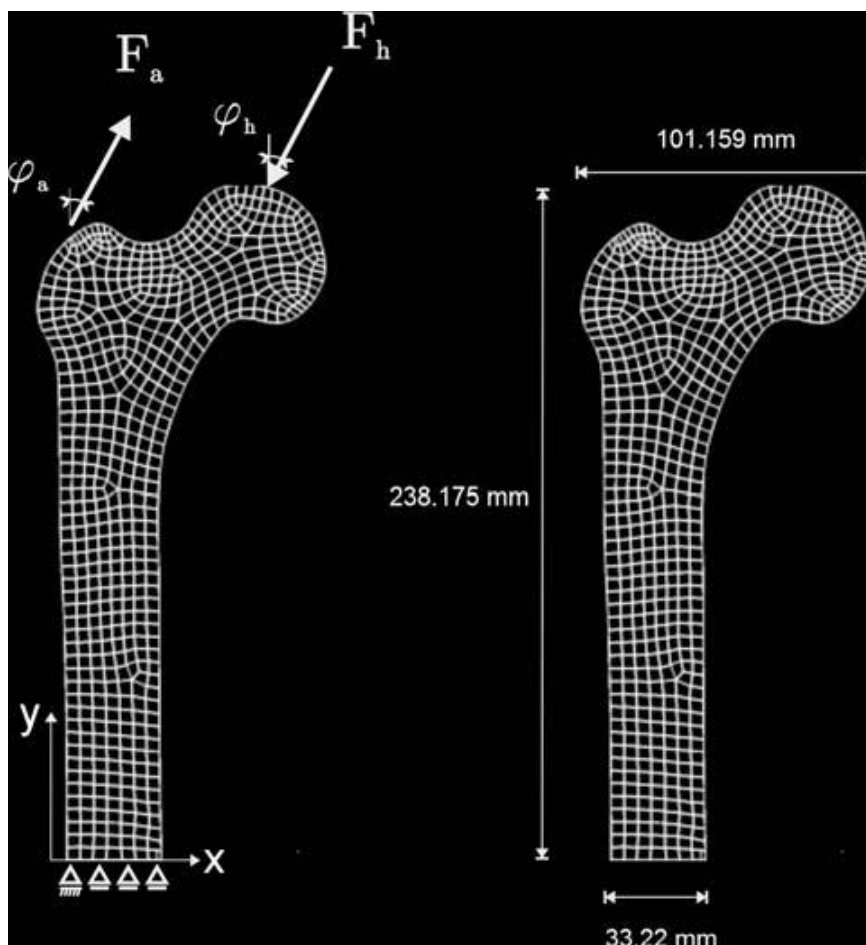
### 3.2 Ιστορική ανασκόπηση

Ο Γερμανός ανατόμος και χειρουργός Julius Wolff από το 1892 στο βιβλίο του «Ο Νόμος Μετασχηματισμού του Οστού», διατυπώνει ότι τα οστά σε έναν υγιή οργανισμό προσαρμόζονται στις μηχανικές πιέσεις που δέχονται, και ότι «Κάθε αλλαγή στη λειτουργία του οστού ακολουθείται από συγκεκριμένες αλλαγές στην εσωτερική αρχιτεκτονική και εξωτερική διαμόρφωση σε συμφωνία με μαθηματικούς νόμους». Από τις πρώτες σχετικές μελέτες ήταν και αυτή του Koch το 1917 που ασχολείται με τους «Νόμους της Αρχιτεκτονικής του Οστού». Την περίοδο 1963-1964 ο Frost στα συγγράματα «Δυναμική της Οστικής Αναδόμησης» και «Οι Νόμοι της Δομής του Οστού», μαζί με παρατηρήσεις για την οστική προσαρμογή, αναπτύσσει τη «Θεωρία Εξουδετέρωσης Κάμψης», καθώς και μοντέλα ολίσθησης οστικού ιστού κατά την ανάπτυξή του. Επίσης, ο Kummer το 1972 στην εργασία του «Εμβιομηχανική του Οστού» περιγράφει με τις μηχανικές ιδιότητες, τη λειτουργική δομή και τη λειτουργική προσαρμογή του οστού. Το 1973 ο Gjelsvik δημοσίευσε δύο επιστημονικά άρθρα με τίτλο «Οστική Αναδόμηση και Πιεζοηλεκτρισμός», όπου προτείνει πιεζοηλεκτρικά μοντέλα θεωρώντας ότι η οστική αναδόμηση επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την πιεζοηλεκτρική πόλωση που αναπτύσσεται στο οστό κατά τις μικρές παραμορφώσεις λόγω μηχανικής τάσης. Την περίοδο 1976-1978 οι Cowin και Hegedus δημοσίευσαν τρία επιστημονικά άρθρα όπου αναπτύσσουν τη θεωρία της «Προσαρμοζόμενης Ελαστικότητας» για την οστική αναδόμηση, όπου το οστό περιγράφεται ως ένα ελαστικό υλικό, το οποίο προσαρμόζει τη δομή του στην εφαρμοζόμενη μηχανική φόρτιση. Οι Carter και Hayes το 1976 μελέτησαν ποσοτικά την επίδραση της πυκνότητας και του ρυθμού μηχανικής καταπόνησης στη μηχανική αντοχή του οστού. Το 1984 ο Cowin πρότεινε τη μηχανική παραμόρφωση ως ρυθμιστή της κατά τόπους οστικής απορρόφησης και δημιουργίας. Οι Hart et al. το 1984 δημοσίευσαν μια γενική μελέτη για τη μαθηματική και υπολογιστική περιγραφή της οστικής αναδόμησης και λειτουργικής προσαρμογής του οστού. Το 1986 οι Fyhrie και Carter διερεύνησαν τη σχέση μεταξύ μεταξύ μηχανικής τάσης, πυκνότητας και προσανατολισμού του σπογγώδους οστού. Το 1987 οι Huijskes et al. χρησιμοποίησαν την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης για τον προσδιορισμό της οστικής πυκνότητας και του σχήματος και θεωρούν την επίτευξη ομοιογένειας της ενέργειας πυκνότητας παραμόρφωσης ως τελικό σημείο της αναδόμησης. Οι Carter et al. το 1987 εξήγαγαν σχέσεις μεταξύ τοπικής πυκνότητας σπογγώδους οστού και ιστορικού μηχανικής φόρτισης του υποθέτοντας ότι η οστική μάζα προσαρμόζεται στις μηχανικές απαιτήσεις. Ως βάση χρησιμοποίησαν τη μηχανική τάση, την οστική φθορά λόγω κόπωσης του οστού και την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης, όλα σε θεωρούμενο συνεχές μέσο. Το 1989 οι Carter et al. χρησιμοποιώντας τη διδιάστατη μέθοδο πεπερασμένων στοιχείων, συνέδεσαν το ιστορικό φόρτισης με την αρχιτεκτονική σπογγώδους

μηριαίου οστού. Από τη δεκαετία του 1990 και μετά έχουν δημοσιευθεί πολυάριθμες ερευνητικές εργασίες για τη μοντελοποίηση της διαδικασίας.

### 3.3 Επισκόπηση μοντέλων μηχανικής προσέγγισης

Οι θεωρίες μηχανικής προσέγγισης συσχετίζουν την αλλαγές στην πυκνότητα, τη μάζα, τη δομή και τη μικροαρχιτεκτονική του οστού με διάφορα μηχανικά μεγέθη και μηχανικές καταστάσεις στο οστό. Ένα βασικό εργαλείο που χρησιμοποιείται από τους ερευνητές για την εφαρμογή – υπολογιστική προσομοίωση αυτών των θεωριών είναι η Μέθοδος Πεπερασμένων Στοιχείων. Κατά τη μέθοδο αυτή, το υπό μελέτη μέσο (το οστό στην προκειμένη περίπτωση) υποδιαιρείται σε πολλά απλούστερα μικρά χωρία (πεπερασμένα στοιχεία) κι γίνεται σε καθένα από αυτά ο υπολογισμός των διαφόρων μεγεθών. Έπειτα γίνεται η σύνθεση της συνολικής κατάστασης.



Εικόνα 3.1 Μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων μηριαίου οστού. (Πηγή: Mercuri et al., *Journal of Medical Imaging and Health Informatics* 4, 2014)

**Βασικά σημεία και βασικές μαθηματικές σχέσεις κάποιων χαρακτηριστικών θεωριών:**

Οι Fyhrie & Carter (1986) θεωρώντας το οστό ως συνεχές μέσο που χαρακτηρίζεται από την κατανομή της πυκνότητάς του και ως υλικό μέσο του οποίου η πυκνότητα  $\rho$  προσαρμόζεται στην «ενεργό μηχανική τάση»  $\sigma_{eff}$ , πρότειναν με κριτήρια βελτιστοποίησης τη σχέση:

$$\rho = A\sigma_{eff}^a$$

με  $A$  και  $a$  σταθερές.

Η «ενεργός μηχανική τάση» μπορεί να θεωρηθεί ως συνάρτηση της πυκνότητας ενέργειας παραμόρφωσης  $U$ :

$$\sigma_{eff}^2 = 2EU$$

όπου  $E$  το μέτρο ελαστικότητας.

Θεωρώντας ότι το μέτρο ελαστικότητας  $E$  είναι συνάρτηση της φαινόμενης πυκνότητας σύμφωνα με τη σχέση (Carter & Hayes, 1977)  $E = c\rho^3$ , όπου  $c$  σταθερά, έχουμε:

$$\rho = c'U$$

όπου  $c'$  σταθερά.

Ο Cowin (1984) χρησιμοποίησαν τον τανυστή των παραμορφώσεων ως το μέγεθος που ρυθμίζει την οστική προσαρμογή, ενώ οι Huiskes et al. (1987) χρησιμοποίησαν την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης ως μέγεθος που ρυθμίζει τον ρυθμό προσαρμογής του οστού. Η πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης  $U$  προσδιορίζεται από τους τανυστές των τάσεων και των παραμορφώσεων,  $\sigma_{ij}$  και  $\varepsilon_{ij}$  αντίστοιχα:

$$U = \frac{1}{2} \varepsilon_{ij} \sigma_{ij}$$

Οι Huiskes et al. (1987), υιοθετώντας την άποψη ότι για την εκκίνηση της αναδόμησης και προσαρμογής του οστού πρέπει να ξεπεραστούν κάποια συγκεκριμένα όρια, πρότειναν τις εξής σχέσεις για τη μεταβολή του μέτρου ελαστικότητας  $E$  του οστού σε κάποιο θεωρούμενο σημείο (εσωτερική οστική αναδόμηση):

$$\frac{dE}{dt} = \begin{cases} C_e(U - (1+s)U_h) & , \quad U > (1+s)U_h \\ 0 & , \quad (1-s)U_h \leq U \leq (1+s)U_h \\ C_e(U - (1+s)U_h) & , \quad U < (1-s)U_h \end{cases}$$

$U_h$  είναι η «ομοιοστατική» τιμή της πυκνότητας ενέργειας παραμόρφωσης και  $s$  κάποιο συγκεκριμένο όριο, εκπερασμένο ως κλάσμα του  $U_h$ . Δηλαδή η πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης  $U$  συγκρίνεται με την τιμή αυτή που αποτελεί το σημείο αναφοράς. Το  $C_e$  είναι η σταθερά που αντιπροσωπεύει τον ρυθμό αναδόμησης και το  $2s$  είναι το εύρος των τιμών της πυκνότητας ενέργειας παραμόρφωσης γύρω από την «ομοιοστατική» τιμή, μέσα στο οποίο δεν υπάρχει κάποια ανταπόκριση του οστού (δεν εκκινείται η διαδικασία της αναδόμησης και προσαρμογής).

Για την αναδόμηση στις εξωτερικές επιφάνειες, το μέτρο ελαστικότητας  $E$  στην παραπάνω εξίσωση αντικαθίσταται από ένα μέγεθος  $X$  που αντιπροσωπεύει την ανάπτυξη του οστού κοντά και κάθετα στην εξωτερική επιφάνεια.

Μια παρόμοια με την παραπάνω εξίσωση πρότειναν οι Beaupré et al. (1990), αλλά αντί για την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης χρησιμοποίησαν το μέγεθος  $\varphi_b = (\sum n_i \sigma_{bi}^m)^{1/m}$ . Στη σχέση αυτή το  $\sigma_{bi}$  αντιπροσωπεύει την ενεργό μηχανική τάση μέσα στον οστίτη ιστό, το  $n_i$  τον αριθμό των κύκλων/περιόδων φόρτισης τύπου  $i$  και το  $m$  μια εμπειρική σταθερά. Το άθροισμα αντιπροσωπεύει περίοδο μιας ημέρας.

Οι Carter et al. (1989) όρισαν το μέγεθος

$$S = \frac{1}{n} \cdot \frac{1}{\rho} \sum_{i=1}^n U_i$$

ως διεγείρον σήμα, για να συμπεριλάβουν τις διάφορες καταστάσεις μηχανικής φόρτισης στο οστό. Το  $U_i$  αντιπροσωπεύει την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης για κάθε κατάσταση - σημείο φόρτισης  $i$ .

Η προσέγγιση αυτή εφαρμόστηκε σε μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων (Weinans et al., 1992), όπου μετράται το μέγεθος  $S$  σε κάθε στοιχείο και προσδιορίζεται η φαινόμενη πυκνότητα  $\rho$ , η οποία σε κάθε στοιχείο προσαρμόζει την τιμή της σύμφωνα με τη σχέση:

$$\frac{d\rho}{dt} = B(S - k) \quad , \quad 0 < \rho \leq \rho_{cb}$$

με  $B$ ,  $k$  σταθερές,  $\rho_{cb}$  μέγιστη πυκνότητα.

Σε άλλες προσεγγίσεις, βασικό ρυθμιστικό ρόλο παίζει η φθορά του οστίτη ιστού. Στις μελέτες των McNamara et al. (1992) και Prendergast & Taylor (1994) γίνεται η υπόθεση ότι ο ρυθμός επιδιόρθωσης σχετίζεται με τον ρυθμό φθοράς. Αν  $X$  η ένταση με την οποία λαμβάνει χώρα η διαδικασία της αναδόμησης, τότε:

$$\frac{dX}{dt} = C \cdot \omega_{eff} = C \int_{t_0}^t (\dot{\omega} - \dot{\omega}_{RE}) dt$$

Το  $\omega_{eff}$  αντιπροσωπεύει την ενεργό φθορά, το  $\dot{\omega}$  τον τρέχοντα ρυθμό φθοράς και το  $\dot{\omega}_{RE}$  τον ρυθμό φθοράς σε κατάσταση ισορροπίας όσον αφορά την αναδόμηση (Remodeling Equilibrium). Στην κατάσταση ισορροπίας είναι  $\omega_{eff} = 0$  και  $\dot{\omega} = \dot{\omega}_{RE}$ . Η παράμετρος  $C$  αλλάζει ανάλογα με το υπό μελέτη σημείο.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό σημείο είναι η συμπερίληψη των οστεοκυττάρων ως μηχανικούς αισθητήρες στο μοντέλο των Mullender et al. (1994). Στο μοντέλο αυτό, κάθε οστεοκύτταρο  $i$  ανιχνεύει ένα τοπικό μηχανικό σήμα  $S_i(t)$  (πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης ανά μονάδα

μάζας) και η επίδρασή του στα άλλα κύτταρα (οστεοκλάστες, οστεοβλάστες) μειώνεται με την απόσταση. Αυτό μαθηματικά το εξέφρασαν μέσω της «συνάρτησης χωρικής επίδρασης»:

$$f_i(\mathbf{x}) = e^{-(d_i(\mathbf{x})/D)}$$

όπου  $d_i(\mathbf{x})$  η απόσταση μεταξύ του οστεοκυττάρου και της θέσης  $\mathbf{x}$  και  $D$  παράμετρος που καθορίζει τη μείωση της επίδρασης με την απόσταση ( $D$  είναι η απόσταση από το οστεοκύτταρο όπου η επίδρασή του έχει μειωθεί στο  $e^{-1}$ ). Το συνολικό ερέθισμα είναι:

$$F(\mathbf{x}, t) = \sum_{i=1}^N f_i(\mathbf{x})(S_i(t) - k)$$

όπου  $k$  η τιμή αναφοράς για την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης. Για τη μεταβολή της πυκνότητας  $\rho(\mathbf{x}, t)$  προτείνεται η εξίσωση:

$$\frac{d\rho(\mathbf{x}, t)}{dt} = \tau F(\mathbf{x}, t)$$

όπου  $\tau$  σταθερά. Το μέτρο ελαστικότητας στη θέση  $\mathbf{x}$ ,  $E(\mathbf{x}, t)$ , υπολογίζεται από την:

$$E(\mathbf{x}, t) = C\rho(\mathbf{x}, t)^\gamma$$

με  $C, \gamma$  σταθερές.

Αρκετές από τις ερευνητικές προσπάθειες έχουν συμπεριλάβει και επεκτείνει τα παραπάνω στοιχεία.

### Ερευνητικές Προσεγγίσεις

Brown et al. (1990): Χρησιμοποιώντας πραγματικό οστό ζώου (γαλοπούλας) σε ελεγχόμενο μηχανικό περιβάλλον και με την εισαγωγή γνωστών φορτίσεων σε τρισδιάστατο γραμμικά ελαστικό μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων βρήκαν ως πιο πιθανούς παράγοντες εκκίνησης της διαδικασίας της οστικής αναδόμησης τα εξής μεγέθη: πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης, κατά μήκος διατμητική τάση και κύρια εφελκυστική τάση/παραμόρφωση.

Beaupre et al. (1990): Δημοσίευσαν δύο μελέτες όπου αναπτύσσουν χρονικά εξαρτώμενη θεωρία για την αποτύπωση της διαδικασίας της οστικής αναδόμησης σε σχέση με το ιστορικό μηχανικής φόρτισης, και εκτελούν υπολογιστική προσομοίωση για τον καθορισμό της κατανομής της οστικής πυκνότητας σε μηριαίο οστό με τη βοήθεια της διδιάστατης μεθόδου πεπερασμένων στοιχείων.

Martin (1991): Ποσοτικοποίησε την επίδραση του μεγέθους των κοιλοτήτων και της πυκνότητας των αβερσιανών καναλιών στην πόρωση του οστού σε διάφορες ηλικίες και την εξάρτηση αυτών από τη συχνότητα ενεργοποίησης των βασικών πολυκυτταρικών μονάδων.

Weinans et al. (1992): Θεωρώντας το οστό ως ένα συνεχές μέσο με μεταβλητή πυκνότητα παρουσίασαν ένα μοντέλο βασισμένο στη διδιάστατη μέθοδο πεπερασμένων στοιχείων και

πρότειναν ότι το οστό προσαρμόζει την κατά τόπους πυκνότητά του ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης ανά μονάδα μάζας.

Cowin et al. (1993): Συνέκριναν τις προβλέψεις μοντέλων προσαρμογής της οστικής πυκνότητας στη μηχανική τάση με τους ανάλογους υπολογιστικούς αλγόριθμους διακριτού χρόνου. Ανακάλυψαν χασοτική συμπεριφορά στον αλγόριθμο διακριτού χρόνου.

Thomsen et al. (1994): Επικεντρώθηκαν στην προσομοίωση της απώλειας οστικής μάζας λόγω οστεοπόρωσης με τη βοήθεια ενός στοχαστικού μοντέλου οστικής αναδόμησης για ανθρώπινο σπογγώδες οστό σπονδύλου. Βασίστηκαν σε κλινικά δεδομένα.

Prendergast & Taylor (1994): Πρότειναν τους μικροτραυματισμούς του οστού και την προσαρμογή του οστού σε αυτούς για τη διατήρηση της βέλτιστης δυνατής αντοχής του ως τα στοιχεία που κυβερνούν τη διαδικασία της αναδόμησης και πρότειναν νόμους βασισμένους στην οστική φθορά ανάλογους με τους νόμους βασισμένους στη μηχανική παραμόρφωση.

Mullender et al. (1994): Ανέπτυξαν μοντέλο για την υπολογιστική προσομοίωση της οστικής αναδόμησης χρησιμοποιώντας τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων. Μέσω αυτού μελέτησαν την εξάρτηση της μορφολογίας του σπογγώδους οστού από τη σχέση μεταξύ τοπικού μηχανικού φορτίου, πυκνότητας αισθητήρων μηχανικού φορτίου (ως αισθητήρες θεώρησαν τα οστεοκύτταρα) και βεληνεκούς επίδρασης αυτών.

Martin (1995): Χρησιμοποίησε υπάρχοντα πειραματικά δεδομένα για να εξάγει μη γραμμικές μαθηματικές σχέσεις μεταξύ μηχανικής φόρτισης, οστικής φθοράς, οστικής δημιουργίας, πόρωσης και μέτρου ελαστικότητας.

Thomsen et al. (1996): Ποσοτικοποίησαν την ευαισθησία των μεταβλητών σχετικά με τις αλλαγές στις παραμέτρους του μοντέλου της προηγούμενης υπολογιστικής προσομοίωσής τους.

Jacobs et al. (1997): Πρότειναν μια σχέση για τον ρυθμό μεταβολής του ανισοτροπικού τανυστή δυσκαμψίας. Βρήκαν ότι μοτίβα ανισοτροπίας και πυκνότητας μάζας αναπτύσσονται με βάση τη βελτιστοποίηση του τανυστή για κάθε σετ μηχανικών φορτίσεων. Εφάρμοσαν αυτήν την προσέγγιση με μια διδιάστατη προσομοίωση πεπερασμένων στοιχείων για το μηριαίο οστό.

Smith et al. (1997): Παρουσίασαν ένα μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων για δοκίδες σπογγώδους οστού βασισμένο στην πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης, «ανιχνευόμενης» από το δίκτυο των οστεοκυττάρων. Εξετάστηκε ο προκαλούμενος προσανατολισμός των δοκίδων.

Adachi et al. (1997): Πρότειναν μια σχέση για τον ρυθμό αναδόμησης στην επιφάνεια σπογγώδους οστού, βασιζόμενοι στην υπόθεση ότι η ανομοιομορφία στην κατανομή της μηχανικής τάσης στην επιφάνεια ρυθμίζει την αναδόμηση. Εκτέλεσαν υπολογιστικές προσομοιώσεις για την προσαρμογή του οστού με βάση τη σχέση αυτή.

Hart & Fritton (1998): Χρησιμοποίησαν τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων για την προσομοίωση της προσαρμογής του οστού στις μηχανικές φορτίσεις.

Langton et al. (1998): Εκτελώντας διδιάστατες προσομοιώσεις της οστικής απορρόφησης σε σπογγώδες ιστό, αντιπροσωπεύοντας τα οστά με διδιάστατη πλεγματοειδή δομή, μελέτησαν τη σχέση πυκνότητας/δυσκαμψίας/πόρωσης.

Ramtani & Zidi (1999): Εφάρμοσαν θερμοδυναμική προσέγγιση για την εξαγωγή σχέσης μεταξύ προκαλούμενων μικρορωγμών και αναδόμησης.

Tayyar et al. (1999): Ανέπτυξαν τριδιάστατη απλοποιημένη προσομοίωση για αναδόμηση σπογγώδους οστού χρησιμοποιώντας πλεγματοειδείς δομές.

Fernandez et al. (1999): Πρότειναν ένα μοντέλο οστικής προσαρμογής σε επίπεδο μικροδομής με βάση τη βελτιστοποίηση της δομής λαμβάνοντας υπόψη τη δυσκαμψία και το «βιολογικό κόστος».

Bagge (2000): Χρησιμοποίησε ένα τριδιάστατο μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων για το μηριαίο οστό και εξήγαγε εξίσωση για το ρυθμό οστικής αναδόμησης με βάση τη μεγιστοποίηση της δυσκαμψίας του οστού σε κάθε βήμα.

Hernandez et al. (2000): Συμπεριέλαβαν μηχανικούς και μεταβολικούς παράγοντες στο προτεινόμενο μοντέλο προσαρμογής σπογγώδους οστού.

Huiskes et al. (2000): Επίσης συμπεριέλαβαν μηχανικούς και μεταβολικούς παράγοντες σε υπολογιστικό μοντέλο προσαρμογής σπογγώδους οστού.

Smit & Burger (2000): Αναπτύσσοντας μοντέλα πεπερασμένων στοιχείων σε μικροσκοπικό επίπεδο διερεύνησαν το κατά πόσο η ενεργοποίηση μιας βασικής πολυκυτταρικής μονάδας ρυθμίζεται από τη μηχανική παραμόρφωση.

Ramtani & Zidi (2001): Ανέπτυξαν ένα μοντέλο για τη επίδραση των οστικών φθορών στην εσωτερική οστική αναδόμηση. Το οστό θεωρείται ως προσαρμοζόμενο στη φθορά ελαστικό υλικό.

Hazelwood et al. (2001): Παρουσίασαν ένα μηχανιστικό μοντέλο εσωτερικής οστικής αναδόμησης που περιλαμβάνει μηχανικούς κυρίως παράγοντες και εξέτασαν τις διαφορές στην ανταπόκριση του οστού μεταξύ μεγάλης μηχανικής φόρτισης και αχρηστίας (απουσίας φορτίου).

Adachi et al. (2001): Έλαβαν υπόψη τη μικροδομή και χρησιμοποίησαν τη μέθοδο πεπερασμένων στοιχείων για την προσομοίωση επιφανειακής αναδόμησης σπογγώδους οστού.

Doblare & Garcia (2002): Παρουσίασαν ένα ανισοτροπικό μοντέλο οστικής αναδόμησης με τη βάση τη θεωρία συνεχούς φθοράς-επιδιόρθωσης.

Taylor and Lee (2003): Ανέπτυξαν μοντέλο που έχει ως βάση την επιδιόρθωση των μικρορωγμών στο συμπαγές οστό.



Taylor et al. (2004): Πρότειναν ένα μοντέλο με βάση την οστική φθορά, την επιδιόρθωση της και την προσαρμογή μέσω οστικής δημιουργίας, με σκοπό την πρόβλεψη καταγμάτων.

Aznar et al. (2005): Ανέπτυξαν μοντέλο οστικής αναδόμησης με βάση τη φθορά του οστού και την ακόλουθη επιδιόρθωση σε επίπεδο βασικής πολυκυτταρικής μονάδας.

Tezuka et al. (2005): Πρότειναν ένα μοντέλο οστικής αναδόμησης βασισμένο σε ένα θεωρούμενο σύστημα αντίδρασης-διάχυσης που ρυθμίζεται από τη μηχανική τάση. Χρησιμοποίησαν τη μέθοδο πεπερασμένων στοιχείων για τον υπολογισμό της κατανομής της τάσης.

Ruimerman et al. (2005): Παρουσίασαν ένα τριδιάστατο μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων βασισμένο στην υπόθεση ότι η οστική δημιουργία προκαλείται από αυξημένη μηχανική παραμόρφωση στην οστική μεσοκυττάρια ουσία και η οστική απορρόφηση προωθείται από οστικές μικρορωγμές και ακινησία.

McNamara et al. (2006): Εξέτασαν την κατανομή μηχανικής τάσης γύρω από κοιλότητα οστικής απορρόφησης μέσω διδιάστατης μεθόδου πεπερασμένων στοιχείων.

McNamara & Prendergast (2007): Εξέτασαν αλγόριθμους για την πρόβλεψη της διαδικασίας της οστικής αναδόμησης σε μια βασική πολυκυτταρική μονάδα όπου το διεγείρον αίτιο ήταν είτε η μηχανική παραμόρφωση, είτε η οστική φθορά είτε ο συνδυασμός τους. Συμπέραναν ότι ο αλγόριθμος για την αναδόμηση με βάση τη μηχανική παραμόρφωση για οστική βλάβη κάτω από ένα συγκεκριμένο όριο και ο αλγόριθμος για την αναδόμηση με βάση την οστική φθορά για μηχανική παραμόρφωση πάνω από ένα συγκεκριμένο όριο, δίνουν την καλύτερη προσομοίωση.

Jang & Kim (2008): Χρησιμοποίησαν ένα διδιάστατο μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων για σπογγώδες μηριαίο οστό και με βάση την ιδέα της βελτιστοποίησης της δομής και τα αποτελέσματα της προσομοίωσης έδειξαν ότι η κατανομή της ενέργειας παραμόρφωσης έχει την τάση να γίνεται ομοιόμορφη.

Tsubota et al. (2009): Μεταξύ των άλλων παραγόντων έλαβαν υπόψη στο μοντέλο και την ενδιάμεση ροή ρευστού εντός των οστών. Εκτέλεσαν υπολογιστική προσομοίωση για σπογγώδες μηριαίο οστό χρησιμοποιώντας τριδιάστατη μέθοδο πεπερασμένων στοιχείων.

Hambli et al. (2009): Έλαβαν υπόψη τη μηχανική τάση και παραμόρφωση και συμπεριέλαβαν μια συνάρτηση χωρικής επίδρασης της «καταστροφής των οστεοκυττάρων» και τα εφάρμοσαν σε μοντέλο πεπερασμένων στοιχείων για σπογγώδες οστό.

Jang & Kim (2010): Εφάρμοσαν έναν αλγόριθμο που έχει ως βάση την τοπολογική βελτίωση της δομής και εκτέλεσαν προσομοίωση χρησιμοποιώντας διδιάστατη μέθοδο πεπερασμένων στοιχείων για σπογγώδες μηριαίο οστό.

Adachi et al. (2010): Στο μαθηματικό μοντέλο τους θεώρησαν τη διατμητική τάση που ασκεί στα οστεοκύτταρα η ροή του ενδιάμεσου υγρού ως κύριο ρυθμιστή. Έπειτα, βάσει αυτού του μοντέλου εκτέλεσαν προσομοίωση για την προσαρμογή σπογγώδους οστού σε μονοαξονική φόρτιση, χρησιμοποιώντας και τη μέθοδο πεπερασμένων στοιχείων.

Jang & Kim (2010): Με τη βοήθεια υπολογιστικού μοντέλου που ανέπτυξαν, επιχείρησαν την προσομοίωση των αλλαγών στη δομή ταυτόχρονα του συμπαγούς και του σπογγώδους μηριαίου οστού, καθώς θεώρησαν ότι οι δομικές αλλαγές στους δύο τύπους οστού αλληλεπιδρούν.

Hambli (2011): Ανέπτυξε μια αριθμητική διαδικασία για τον υπολογιστικό προσδιορισμό αλληλεπιδρώντων δομικών αλλαγών στον συμπαγή και στον σπογγώδη τύπο οστού ταυτόχρονα. Για την προσομοίωση χρησιμοποίησαν τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων.

Hambli et al. (2011): Συνδύασαν προσέγγιση μακροσκοπικής κλίμακας (σε επίπεδο οργάνου) με προσέγγιση μέσης κλίμακας (όπου λαμβάνεται υπόψη η αρχιτεκτονική του σπογγώδους οστού). Έτσι, πρότειναν ένα μοντέλο το οποίο είναι υβρίδιο μοντέλου πεπερασμένων στοιχείων και μοντέλου νευρωνικού δικτύου.

Idhammad et al. (2011): Προσομοίωσαν αριθμητικά τη διαδικασία με βάση μια (μη γραμμική) εξίσωση για την εξέλιξη της οστικής πυκνότητας θεωρώντας το οστό ελαστικό υλικό που υφίσταται φθορές. Η λύση της εξίσωσης με τη μέθοδο των πεπερασμένων διαφορών ανέδειξε την επίδραση της φθοράς στην πυκνότητα και της κατανομής των οστεοκυττάρων στη διαδικασία.

Idhammad & Abdali (2012): Στο πλαίσιο της θεώρησης του οστού ως γραμμικού ελαστικού μέσου και της μηχανικής παραμόρφωσης και οστικής φθοράς ως διεγέρτες της αναδόμησης, υιοθέτησαν θερμοδυναμική προσέγγιση για τις περιπτώσεις μικρών διαταραχών της διαδικασίας.

Το οστό στις παλαιότερες κυρίως προσεγγίσεις θεωρείται ως ένα συνεχές, γενικά ομοιόμορφο μέσο που περιγράφεται από την πυκνότητά του. Σε άλλες προσεγγίσεις λαμβάνονται υπόψη η ανισοτροπικότητά του, η αρχιτεκτονική και οι μικροδομές του σπογγώδους οστού καθώς κατέστη σαφές ότι παίζουν σημαντικό ρόλο.

Συνοψίζοντας, είναι δεδομένο ότι η οστική πυκνότητα και μάζα, καθώς και η αρχιτεκτονική του σπογγώδους οστού, προσαρμόζονται στις εξωτερικές μηχανικές φορτίσεις. Αυτό που πρέπει να απαντηθεί είναι το πώς ακριβώς μεταφράζεται η εξωτερική μηχανική φόρτιση σε αλλαγές στην πυκνότητα και την εσωτερική αρχιτεκτονική του οστού.

Οι υπολογιστικές εφαρμογές αυτών των προσεγγίσεων δίνουν αποτελέσματα που ανταποκρίνονται αρκετά καλά στα εμπειρικά δεδομένα. Τα μοντέλα μηχανικής προσέγγισης έχουν όμως το μειονέκτημα ότι δεν περιλαμβάνουν ρητά τις δραστηριότητες των οστικών

κυττάρων και τις σχετικές μοριακές διεργασίες. Παρακάτω εξηγούνται αναλυτικά προσεγγίσεις μαθηματικής μοντελοποίησης της διαδικασίας, που περιγράφουν τους σχετικούς κυτταρικούς και μοριακούς μηχανισμούς.



# 4

## *Μαθηματικά Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης Βιολογικής Προσέγγισης*

### *4.1 Η χρονική επίδραση της παραθορμόνης στην οστική*

#### *δημιουργία και απορρόφηση*

Ο Kroll (2000) ανέπτυξε ένα μαθηματικό μοντέλο κυτταρικών πληθυσμών (σύστημα διαφορικών εξισώσεων) το οποίο λαμβάνει υπόψιν τη χρονική επίδραση της παραθορμόνης (παραθυρεοειδούς ορμόνης ή PTH) στην οστική απορρόφηση και δημιουργία.

Η παραθορμόνη διεγείρει τη διαφοροποίηση μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων σε προ-οστοβλάστες και έμμεσα, μέσω των οστεοβλαστών, διεγείρει τη διαφοροποίηση προ-οστεοκλαστών σε οστεοκλάστες. Έτσι, η παραθορμόνη θα προκαλέσει αύξηση του αριθμού των οστεοκλαστών αφού προκαλέσει την αύξηση του πλήθους των οστεοβλαστών. Οι οστεοβλάστες μόνο έχουν υποδοχείς για την παραθορμόνη, η οποία διεγείρει την παρακρινή<sup>1</sup> δράση τους, με αποτέλεσμα τη διέγερση της οστεοκλαστικής παραγωγής.

Η παραθορμόνη έχει αυξητικά αποτελέσματα στους πληθυσμούς των οστεοβλαστών και οστεοκλαστών. Όμως προκαλεί οστική απορρόφηση όταν δρα συνεχόμενα και οστική δημιουργία όταν δρα διακοπτόμενα, κάτι που πρέπει να ληφθεί υπόψιν στο μοντέλο.

---

<sup>1</sup> Η παρακρινής ρύθμιση περιγράφει την επίδραση ουσιών που παράγονται από ένα κύτταρο σε άλλα γειτονικά κύτταρα. Η αυτοκρινής ρύθμιση περιγράφει την επίδραση ουσιών στο ίδιο το κύτταρο από το οποίο παράγονται.

Επίσης, η παραθορμόνη, ενώ διεγείρει τη διαφοροποίηση ανώριμων οστεοβλαστικών κυττάρων (από προ-οστεοβλαστικούς προδρόμους σε προ-οστεοβλάστες), αναστέλλει τη διαφοροποίηση πιο ώριμων οστεοβλαστικών κυττάρων (προ-οστεοβλάστες σε οστεοβλάστες). Ακόμα, η ιντερλευκίνη IL-6, η έκκριση της οποίας προκαλείται από την παραθορμόνη, έχει την ίδια ανασταλτική επίδραση στη διαφοροποίηση των πιο ώριμων οστεοβλαστικών κυττάρων. Η IL-6 έχει όμως θετική επίδραση στη διαφοροποίηση των προ-οστεοκλαστών σε οστεοκλάστες. Όσον αφορά τη διαφοροποίηση των κυττάρων είναι σημαντικό επίσης να ληφθεί υπόψιν η χρονική καθυστέρηση που έχει παρατηρηθεί μετά την πρόσδεση της παραθορμόνης στους υποδοχείς. Έτσι, για τη δυναμική προ-οστεοβλαστών, οστεοβλαστών και παραθορμόνης, μπορεί να γραφεί:

$$\begin{aligned} \frac{dY^*}{dt} &= k_1 Eff_p [R]_{0,Y} \frac{P^*}{M_1 + P^*} C(t - \tau) - k_2 Eff_x [R]_{0,X} \left(1 - \frac{P^*}{M_1 + P^*}\right) Y^*(t - \tau) - k_Y Y^* \\ \frac{dX^*}{dt} &= k_2 Eff_x [R]_{0,X} \left(1 - \frac{P^*}{M_1 + P^*}\right) Y^*(t - 2\tau) - k_3 X^* \\ \frac{dP^*}{dt} &= P^*(t) - k_4 P^* \end{aligned}$$

όπου  $Y^*$  ο αριθμός των προ-οστεοβλαστών,  $k_1$  σταθερά που εκφράζει τον ρυθμό σχηματισμού προ-οστεοβλαστών,  $Eff_p$  παράμετρος που εκφράζει την επίδραση της παραθορμόνης στους προδρόμους των προ-οστεοβλαστών,  $[R]_{0,Y}$  ο αριθμός των υποδοχέων στους προδρόμους των προ-οστεοβλαστών,  $P^*$  η συγκέντρωση της παραθορμόνης,  $M$  ο αντίστροφος της σταθεράς δέσμευσης μεταξύ υποδοχέων και παραθορμόνης,  $C(t - \tau)$  η σταθερή συγκέντρωση των προδρόμων των προ-οστεοβλαστών με την υποδεικνυόμενη χρονική καθυστέρηση της δραστηριότητας της παραθορμόνης πριν την απελευθέρωση των προ-οστεοβλαστών,  $k_Y$  σταθερά που εκφράζει τον ρυθμό κυτταρικού θανάτου, αδρανοποίησης ή απομάκρυνσης των προ-οστεοβλαστών από τη «δεξαμενή» των διαθέσιμων προδρόμων,  $X^*$  ο αριθμός των οστεοβλαστών,  $k_2$  σταθερά που εκφράζει τον ρυθμό σχηματισμού οστεοβλαστών,  $Eff_x$  παράμετρος που εκφράζει την επίδραση της παραθορμόνης στις οστεοβλάστες,  $[R]_{0,X}$  ο αριθμός των υποδοχέων στις οστεοβλάστες,  $Y^*(t - 2\tau)$  ο αριθμός των προ-οστεοβλαστών με την υποδεικνυόμενη χρονική καθυστέρηση της δραστηριότητας της παραθορμόνης πριν την απελευθέρωση των οστεοβλαστών,  $k_3$  σταθερά που εκφράζει τον ρυθμό με τον οποίο οι οστεοβλάστες μετατρέπονται σε οστεοκύτταρα ή αδρανοποιούνται,  $P^*(t)$  συνάρτηση για τη δράση της παραθορμόνης.

Για να είναι επεξεργάσιμοι οι αριθμοί στις διαφορικές εξισώσεις ακολουθεί χωρισμός του όγκου σε μικρές περιοχές και διαίρεση των  $Y^*$  και  $X^*$  με την κατάλληλη συγκέντρωση κυττάρων ανά μονάδα όγκου και πολλαπλασιασμός με 1000:

$$Y = 1000Y^*/[Y] \quad \text{και} \quad X = 1000X^*/[X]$$

Επιπλέον γίνεται συγχώνευση της παραμέτρου  $Eff$  και του πλήθους των υποδοχέων σε μια σταθερά ως εξής:

$$C_1 = Eff f_Y [R]_{0,Y} / [Y] \quad \text{και} \quad C_2 = Eff f_X [R]_{0,X} / [X]$$

Επίσης, ορίζεται:

$$P = P^* / [P] \quad \text{και} \quad K = M / [P]$$

Όσον αφορά τις οστεοκλάστες,

$$dZ^* / dt = k_5 Eff f_Z [R]_{0,Z} \frac{IL6(t - \tau)}{M_2 + IL6(t - \tau)} PreC - k_6 Z$$

όπου  $Z^*$  ο αριθμός των οστεοκλαστών,  $k_5$  σταθερά ρυθμού,  $Eff f_Z$  παράμετρος που εκφράζει την επίδραση της δέσμησης της παραθορμόνης στις προ-οστεοκλάστες,  $[R]_{0,Z}$  ο αριθμός των υποδοχέων στις προ-οστεοκλάστες,  $IL6$  η συγκέντρωση της ουσίας  $IL6$ ,  $PreC$  το πλήθος των προ-οστεοκλαστών (θεωρούμενο σταθερό),  $k_6$  σταθερά που εκφράζει τον ρυθμό αδρανοποίησης των οστεοκλαστών.

Ακολουθεί πάλι χωρισμός του όγκου σε μικρές περιοχές και διαίρεση με τον αριθμό των κυττάρων ανά μονάδα όγκου και πολλαπλασιασμός με 1000:

$$Z = 1000Z^* / [Z] \quad ,$$

$$C_3 = Eff f_Z [R]_{0,Z} / [Z]$$

Έτσι, προκύπτει το σύστημα εξισώσεων:

$$dY / dt = k_1 C_1 \frac{P}{K + P} C(t - \tau) - k_2 C_2 \left(1 - \frac{P}{K + P}\right) Y(t - 2\tau) - k_Y Y$$

$$dX / dt = k_2 C_2 \left(1 - \frac{P}{K + P}\right) Y(t - 2\tau) - k_3 X$$

$$dP / dt = P(t) - k_4 P$$

$$dZ / dt = k_5 C_3 \frac{IL6}{K_2 + IL6} - k_6 Z$$

Το πρώτο μέρος του μοντέλου, που αποτελείται από 2 βήματα, περιγράφει την επίδραση της παραθορμόνης στον σχηματισμό των οστεοβλαστών, ενώ το δεύτερο μέρος, που αποτελείται από 1 βήμα, περιγράφει την επίδραση της παραθορμόνης στις οστεοκλάστες μέσω του πληθυσμού των οστεοβλαστών.

Τα χρονικά χαρακτηριστικά της έκκρισης παραθορμόνης (συνεχής ή διακοπτόμενη) καθορίζουν την επίδρασή της, και όχι η συνολική ή η μέγιστη ποσότητα. Το μοντέλο επεξηγεί τις παρατηρήσεις ότι η παραθορμόνη προκαλεί είτε οστική απορρόφηση είτε οστική δημιουργία ανάλογα με τα χρονικά χαρακτηριστικά της έκκρισής της.

## 4.2 Άλλη μια προσέγγιση σχετικά με τη ρύθμιση οστικής δημιουργίας και απορρόφησης από την παραθορμόνη

Άλλο ένα, σχετικά απλό, μαθηματικό μοντέλο (Rattanakul et al., 2003) επιχειρεί να διαφωτίσει τον ακριβή ρόλο που παίζει η παραθορμόνη στην οστική δημιουργία και απορρόφηση. Συνίσταται στην προσπάθεια αποτύπωσης της δυναμικής της παραθορμόνης μαζί με τη δυναμική των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών.

Η δυναμική της παραθορμόνης μπορεί να δοθεί από τη σχέση:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{c_1}{k_1 + C} - d_1 P \quad (1)$$

όπου  $P(t)$  το επίπεδο της παραθορμόνης σε σχέση με το βασικό επίπεδο (πάνω από το βασικό επίπεδο),  $C(t)$  ο αριθμός των ενεργών οστεοκλαστών,  $c_1$  και  $k_1$  θετικές σταθερές. Ο πρώτος όρος στο δεξί μέλος αντιπροσωπεύει τον ρυθμό έκκρισης παραθορμόνης από τον παραθυρεοειδή αδένα. Ο ρυθμός αυτός μειώνεται με την αύξηση του επιπέδου του ασβεστίου στο αίμα. Έτσι, υψηλότερες τιμές της μεταβλητής  $C(t)$  οδηγούν σε χαμηλότερο ρυθμό έκκρισης. Επίσης, γίνεται η υπόθεση ότι η παραθορμόνη απομακρύνεται από το σύστημα με ρυθμό ανάλογο του τρέχοντος επιπέδου της (τελευταίος όρος), οπότε  $d_1$  είναι η σταθερά του ρυθμού απομάκρυνσης.

Η δυναμική του ενεργού οστεοκλαστικού πληθυσμού περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{(c_2 + c_3 P)BC}{k_2 + P^2} - d_2 C \quad (2)$$

όπου  $C(t)$  ο αριθμός των ενεργών οστεοκλαστών,  $B(t)$  ο αριθμός των ενεργών οστεοβλαστών,  $c_2$ ,  $c_3$  και  $k_2$  θετικές σταθερές. Ο πρώτος όρος στο δεξί μέλος αντιπροσωπεύει την αναπαραγωγή των ενεργών οστεοκλαστών, ενώ ο δεύτερος όρος τον ρυθμό απομάκρυνσης με αντίστοιχη σταθερά  $d_2$ . Οι οστεοκλάστες δε διαθέτουν υποδοχείς για την παραθορμόνη. Ο ρυθμός αναπαραγωγής των οστεοκλαστών αυξάνεται με την αύξηση του επιπέδου της παραθορμόνης, όμως έχει παρατηρηθεί κλινικά ότι η περαιτέρω αύξηση του επιπέδου της αναστέλλει την αναπαραγωγή οστεοκλαστών. Η έκφραση  $(c_2 + c_3 P)/(k_2 + P^2)$  χρησιμοποιείται για την αποτύπωση του κορεσμού όσον αφορά τη διεγερτική επίδραση της παραθορμόνης.

Η δυναμική του ενεργού οστεοβλαστικού πληθυσμού περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{dB}{dt} = c_4 P - \frac{c_5 PB}{k_3 + P} - d_3 B \quad (3)$$

$B(t)$  είναι ο αριθμός των ενεργών οστεοβλαστών,  $P(t)$  το επίπεδο της παραθορμόνης σε σχέση με το βασικό επίπεδο (πάνω από το βασικό επίπεδο). Η σταθερά  $c_4$  αντιπροσωπεύει τον ρυθμό



με τον οποίο η παραθορμόνη διεγείρει την αναπαραγωγή ενεργών οστεοβλαστών. Ο δεύτερος όρος στο δεξί μέλος δικαιολογεί την κλινικά παρατηρημένη αναστολή της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης εξαιτίας της παραθορμόνης. Η παραθορμόνη διεγείρει μεν τη διαφοροποίηση πρώιμων οστεοβλαστών, την αναστέλλει δε στα πιο ώριμα κύτταρα. Επίσης, η ιντερλευκίνη  $IL-6$  ισχυροποιεί την ανασταλτική επίδραση της παραθορμόνης. Επομένως, παραθορμόνη και  $IL-6$  επιδρούν ανασταλτικά στη μετατροπή προ-οστεοβλαστών σε οστεοβλάστες, κάτι που περιγράφεται από την έκφραση  $-c_5PB/(k_3 + P)$ . Η έκφραση αυτή τείνει στο  $-c_5B$  για υψηλά επίπεδα παραθορμόνης, έτσι ώστε ο σχηματισμός των οστεοβλαστών να επηρεάζεται κυρίως θετικά σύμφωνα με τον όρο  $c_4P$  της εξίσωσης. Οι παράμετροι  $c_5$  και  $k_3$  είναι προορισμένοι να αλλάζουν ανάλογα με τα δεδομένα που αντιστοιχούν στο εκάστοτε άτομο. Ο τελευταίος όρος αντιπροσωπεύει τον ρυθμό απομάκρυνσης με αντίστοιχη σταθερά  $d_3$ .

Η ανάλυση των Rattanukul et al. (2003) αναδεικνύει τη μη γραμμική συμπεριφορά του συστήματος, κάτι που ταιριάζει με τα κλινικά δεδομένα.

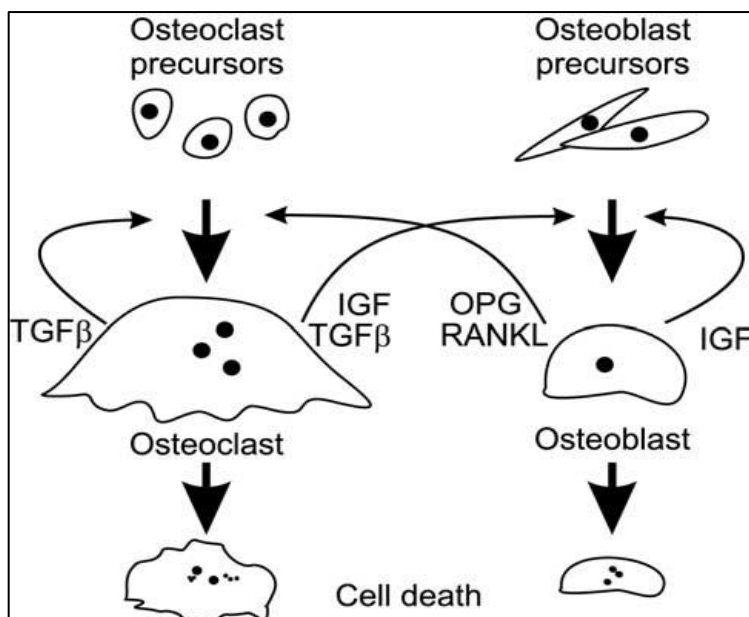
### **4.3 Ο σημαντικός ρόλος της αυτοκρινούς οστεοκλαστικής**

#### ***ρύθμισης στην οστική αναδόμηση όπως προβλέπεται από***

#### ***το μαθηματικό μοντέλο των Komarova et al***

Οι Komarova et al. (2003) πρότειναν ένα μινιμαλιστικό, αλλά σημαντικό στη διεθνή βιβλιογραφία, μοντέλο δυναμικής κυτταρικών πληθυσμών (οστεοκλαστών και οστεοβλαστών) και αυτοκρινών - παρακρινών αλληλεπιδράσεων ανάμεσά τους για τον υπολογισμό των αλλαγών στην οστική μάζα σε συγκεκριμένο σημείο.

Οι οστεοκλάστες και οι οστεοβλάστες παράγουν ουσίες που ενεργοποιούν ή αναστέλλουν τη δράση των κυττάρων του ίδιου ή του άλλου τύπου. Οι παράγοντες που λαμβάνονται υπόψη φαίνονται στο σχήμα 4.1. Ο RANKL (receptor activator factor κB ligand), εκκρινόμενος από τις οστεοβλάστες, βοηθάει στην οστεοκλαστογένεση, ενώ η οστεοπροτεγερίνη (OPG), συνδεδεμένη με τον RANKL, αναστέλλει τη δράση του (εμποδίζοντας την πρόσδεση του RANKL στον υποδοχέα του). Ο αυξητικός παράγοντας TGF- $\beta$  (Αυξητικός Παράγοντας Μετασχηματισμού  $\beta$ ), που απελευθερώνεται με τη δράση των οστεοκλαστών, επιδρά θετικά στο σχηματισμό οστεοκλαστών και οστεοβλαστών, αλλά μπορεί να επιδράσει και αρνητικά στην οστεοκλαστογένεση αναστέλλοντας την έκφραση της ουσίας RANKL. Ο αυξητικός παράγοντας IGF (Ινσουλινοειδής Αυξητικός Παράγοντας), που εκκρίνεται από τις οστεοβλάστες και απελευθερώνεται με τη βοήθεια των οστεοκλαστών, βοηθάει στον σχηματισμό των οστεοβλαστών.



**Σχήμα 4.1** Σχηματική αναπαράσταση των αλληλεπιδράσεων που περιλαμβάνονται στο μοντέλο. Τα παχιά βέλη αντιπροσωπεύουν τη διαφοροποίηση των κυττάρων ενώ τα λεπτά τόξα αντιπροσωπεύουν την αυτοκρινή/παρακρινή δράση. (Πηγή: Komarova et al., Bone 33, 2003)

Γίνεται η υπόθεση ότι οι αυτοκρινείς και παρακρινείς παράγοντες ρυθμίζουν μόνο τους ρυθμούς παραγωγής των οστεοκλαστών και οστεοβλαστών και όχι τους ρυθμούς απομάκρυνσης. Επίσης, θεωρείται ότι η τοπική συγκέντρωση κάποιας ουσίας εξαρτάται από τον τρέχοντα αριθμό των κυττάρων που την παράγουν. Οι παράμετροι  $g_{ij}$  περιγράφουν την αποτελεσματικότητα των αυτοκρινών και παρακρινών δράσεων χωρίς να τίθενται περιορισμοί στις τιμές τους ώστε οι αλληλεπιδράσεις να μπορούν να είναι διεγερτικές, ανασταλτικές ή αμελητέες. Χρησιμοποιείται η προσέγγιση του εκθετικού νόμου, η οποία ενδείκνυται για ανάλυση μη γραμμικών συστημάτων. Έτσι, έχουμε το σύστημα:

$$\frac{dx_1}{dt} = a_1 x_1^{g_{11}} x_2^{g_{21}} - \beta_1 x_1 \quad (1)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = a_2 x_1^{g_{12}} x_2^{g_{22}} - \beta_2 x_2 \quad (2)$$

$$\frac{dz}{dt} = -k_1 y_1 + k_2 y_2 \quad (3) \quad \text{με } y_i = \begin{cases} x_i - \bar{x}_i & \text{αν } x_i > \bar{x}_i \\ 0 & \text{αν } x_i \leq \bar{x}_i \end{cases}$$

όπου  $x_1$  ο αριθμός των οστεοκλαστών,  $x_2$  ο αριθμός των οστεοβλαστών,  $a_i$  παράμετροι για τον ρυθμό παραγωγής κυττάρων,  $\beta_i$  παράμετροι για τον ρυθμό απομάκρυνσης κυττάρων,  $g_{11}$  παράμετρος που περιγράφει την αποτελεσματικότητα της αυτοκρινούς δράσης των οστεοκλαστών,  $g_{12}$  παράμετρος που περιγράφει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης οστεοκλαστικής προέλευσης,  $g_{21}$  παράμετρος που περιγράφει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης οστεοβλαστικής προέλευσης,  $g_{22}$  παράμετρος που περιγράφει την αποτελεσματικότητα της αυτοκρινούς δράσης των οστεοβλαστών,  $z$  η συνολική οστική μάζα,

$k_i$  παράμετρος που αντιπροσωπεύει την κανονικοποιημένη δραστηριότητα οστικής απορρόφησης και παραγωγής,  $y_i$  οι αριθμοί των ενεργών κυττάρων που απορροφούν ή παράγουν οστό (ενεργές οστεοκλάστες ή ενεργές οστεοβλάστες),  $\bar{x}_i$  οι αριθμοί των κυττάρων στη σταθερή κατάσταση.

Τα  $\bar{x}_i$  προκύπτουν από τη λύση της  $dx_i/dt = 0$ :

$$\bar{x}_1 = \left(\frac{\beta_1}{\alpha_1}\right)^{\frac{1-g_{22}}{\gamma}} \left(\frac{\beta_2}{\alpha_2}\right)^{\frac{g_{21}}{\gamma}} \quad \bar{x}_2 = \left(\frac{\beta_1}{\alpha_1}\right)^{\frac{g_{12}}{\gamma}} \left(\frac{\beta_2}{\alpha_2}\right)^{\frac{1-g_{11}}{\gamma}}$$

$$\text{με } \gamma = g_{12}g_{21} - (1 - g_{11})(1 - g_{22})$$

Η ανάλυση του μοντέλου προβλέπει διαφορετικούς τρόπους δυναμικής συμπεριφοράς που παραπέμπουν σε στοχευμένη και τυχαία οστική αναδόμηση, αλλά και δυναμική συμπεριφορά παρόμοια με την παθολογικά επιταχυνόμενη οστική αναδόμηση της νόσου Paget. Άλλο ένα συμπέρασμα είναι ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ οστεοκλαστών και οστεοβλαστών έχουν ως αποτέλεσμα πολύπλοκη μη γραμμική δυναμική συμπεριφορά, η οποία μπορεί να είναι μη αναμενόμενη. Τέλος, το σύστημα είναι περισσότερο ευαίσθητο στην ταχεία αυτοκρινή δράση των οστεοκλαστών, σε σχέση με αυτή των οστεοβλαστών.

#### **4.4 Μοντελοποιώντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των**

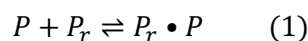
##### ***οστεοβλαστικών και οστεοκλαστικών δραστηριοτήτων***

##### ***στην οστική αναδόμηση***

Ένα μοντέλο που περιγράφει ρητά τις βασικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των οστεοβλαστών, των οστεοκλαστών και των δραστηριοτήτων τους αναπτύχθηκε από τους Lemaire et al. (2004).

Τη βασική κατεύθυνση δίνει η ιδέα ότι οι σχετικές αναλογίες πρώιμων και ώριμων οστεοβλαστών ρυθμίζουν τον βαθμό της οστεοκλαστικής δραστηριότητας και ότι οι οστεοκλάστες επιδρούν στις οστεοβλάστες ανάλογα με το στάδιο διαφοροποίησης των οστεοβλαστών. Η σύνθεση του μαθηματικού μοντέλου βασίζεται στη μοντελοποίηση των διαδικασιών που περιλαμβάνουν την πρόσδεση ουσιών στους κυτταρικούς υποδοχείς και την κυτταρική επικοινωνία. Επίσης, είναι η πρώτη προσπάθεια ρητής περιγραφής του συστήματος RANK-RANKL-OPG στις εξισώσεις.

Από τους μη τοπικούς (συστημικούς) παράγοντες, η παραθορμόνη παίζει τον πιο σημαντικό ρόλο. Η αντίδραση πρόσδεσης της παραθορμόνης (PTH) στον υποδοχέα της γράφεται ως:



όπου  $P$  η PTH,  $P_r$  ο υποδοχέας της και  $P_r \cdot P$  το σύμπλοκο PTH – υποδοχέα, με θεωρούμενες ροές παραγωγής και καταστροφής της PTH,  $p_p$  και  $d_p$  αντίστοιχα, και με θεωρούμενους ρυθμούς πρόσδεσης και αποδέσμευσης  $k_5$  και  $k_6$  αντίστοιχα.

Με βάση τον νόμο δράσης των μαζών όσον αφορά την παραπάνω αντίδραση, ισχύει:

$$\frac{dP}{dt} = S_p + I_p + [k_6 \cdot P_r \cdot P - k_5(R_T^P - P_r \cdot P) \cdot P] \cdot (B + R) - k_p \cdot P$$

και

$$\frac{d(P_r \cdot P)}{dt} = k_5 \cdot (R_T^P - P_r \cdot P) \cdot P - k_6 \cdot P_r \cdot P$$

όπου  $S_p + I_p$  η συνολική παραγωγή PTH,  $k_p$  ο ρυθμός αποδόμησης,  $S_p$  ο βασικός ρυθμός σύνθεσης PTH,  $I_p$  ο ρυθμός εξωτερικής έγχυσης PTH (είτε σταθερός είτε χρονικά μεταβαλλόμενος),  $R_T^P$  ο αριθμός υποδοχέων της PTH ανά κύτταρο,  $B$  η συγκέντρωση ενεργών οστεοβλαστών,  $R$  η συγκέντρωση πρώιμων οστεοβλαστών και προ-οστεοβλαστών (Responding Osteoblasts).

Σε κατάσταση ισορροπίας, το ποσοστό κατειλημμένων PTH υποδοχέων είναι:

$$\pi_p = P_r \cdot P / R_T^P = P / (P + P^S), \text{ με } P^S = k_6 / k_5 \text{ και η συγκέντρωση PTH είναι:}$$

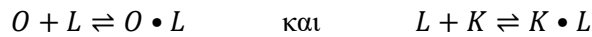
$$P = (S_p + I_p) / k_p = P^0 + \bar{P}, \text{ με } P^0 = S_p / k_p \text{ και } \bar{P} = I_p / k_p.$$

Έτσι:

$$\pi_p = \frac{P}{P + P^S} \approx \frac{\bar{P} + P^0}{\bar{P} + P^S} \quad (2)$$

για  $P^0 \ll P^S$ .

Οι αντιδράσεις δέσμευσης της OPG (O) με τον RANKL (L) και πρόσδεσης του RANKL (L) στον RANK (K) είναι:



όπου  $O \cdot L$  το σύμπλοκο OPG–RANKL,  $K \cdot L$  το σύμπλοκο RANK–RANKL, με θεωρούμενες ροές παραγωγής  $p_o$ ,  $p_L$  και ροές καταστροφής  $d_o$ ,  $d_L$  για την κάθε ουσία αντίστοιχα. Οι θεωρούμενοι ρυθμοί δέσμευσης και αποδέσμευσης για την πρώτη αντίδραση είναι  $k_1$  και  $k_2$  αντίστοιχα. Οι θεωρούμενοι ρυθμοί πρόσδεσης και αποδέσμευσης για τη δεύτερη αντίδραση είναι  $k_3$  και  $k_4$  αντίστοιχα.

Η χρονική εξέλιξη των μεταβλητών,  $O$ ,  $L$ ,  $O \cdot L$ ,  $K \cdot L$  περιγράφεται από τις διαφορικές εξισώσεις:

$$\frac{dO}{dt} = p_o - k_1 \cdot O \cdot L + k_2 \cdot O \cdot L - d_o$$

$$\frac{d(O \cdot L)}{dt} = k_1 \cdot O \cdot L - k_2 \cdot O \cdot L$$

$$\frac{dL}{dt} = p_L - k_1 \cdot O \cdot L + k_2 \cdot O \cdot L - k_3 \cdot K \cdot L + k_4 \cdot K \cdot L - d_L$$

$$d(K \cdot L)/dt = k_3 \cdot K \cdot L - k_4 \cdot K \cdot L \quad (3)$$

όπου  $d_O = k_O \cdot O$  (συνάρτηση αποδόμησης).

Θεωρείται πως ο πολλαπλασιασμός και γενικά η ανταπόκριση των κυττάρων είναι ανάλογη του βαθμού κατάληψης των υποδοχέων. Έτσι, καθώς η παραγωγή οστεοπροτεγερίνης (OPG) μειορρυθμίζεται από την παραθορμόνη (PTH), θα είναι αντιστρόφως ανάλογη του βαθμού κατάληψης των υποδοχέων της PTH:

$$p_O = \frac{K_O^P}{\pi_P} R + I_O \quad (4)$$

όπου  $K_O^P$  ο ελάχιστος ρυθμός παραγωγής OPG ανά κύτταρο,  $\pi_P$  το ποσοστό κατειλημμένων υποδοχέων της PTH που δίνεται από τη (2),  $I_O$  ο ρυθμός εξωτερικής έγχυσης OPG.

Όσον αφορά τον RANKL, ο ρυθμός παραγωγής του ( $p_L$ ) θα αυτοπεριορίζεται ώστε να μην υπερβαίνει το όριο χωρητικότητας των οστεοβλαστικών επιφανειών. Έτσι, για τη συγκέντρωση RANKL στην κυτταρική επιφάνεια θα ισχύει:

$$p_L - d_L = r_L \cdot \left( 1 - \frac{L + O \cdot L + K \cdot L}{K_L^P \cdot \pi_P \cdot B} \right) + I_L \quad (5)$$

όπου  $L + O \cdot L + K \cdot L$  η συνολική συγκέντρωση RANKL (ελεύθερου και δεσμευμένου),  $r_L$  ο ρυθμός παραγωγής και εξάλειψης RANKL,  $I_L$  ο ρυθμός εξωτερικής έγχυσης RANKL,  $K_L^P \cdot \pi_P \cdot B$  η χωρητικότητα της οστεοβλαστικής επιφάνειας. Η χωρητικότητα αυτή εξαρτάται από την ανταπόκριση του κυττάρου στην πρόσδεση της PTH και δεν μπορεί να ξεπεράσει την τιμή της μέγιστης χωρητικότητας  $K_L^P$ .

Από τις εξισώσεις (3)-(5) μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση (ψευδοσταθερή κατάσταση) του RANKL και της OPG:

$$L = \frac{K_L^P \cdot \pi_P \cdot B}{1 + \frac{k_3 K}{k_4} + \frac{k_1 O}{k_2}} \cdot \left( 1 + \frac{I_L}{r_L} \right)$$

$$O = \frac{K_O^P}{k_O \pi_P} \cdot R + \frac{I_O}{k_O}$$

Όσον αφορά τον αυξητικό παράγοντα TGF- $\beta$  (Αυξητικός Παράγοντας Μετασηματισμού  $\beta$ ), η συγκέντρωσή του θεωρείται ανάλογη της συγκέντρωσης των ενεργών οστεοκλαστών, που τον απελευθερώνουν με την οστεόλυση από τη μεσοκυττάρια ουσία, όπου βρίσκεται αποθηκευμένος. Η ανταπόκριση των προγόνων των οστεοβλαστών στην πρόσδεση του TGF- $\beta$ , από την οποία εξαρτάται η διαφοροποίησή τους σε προ-οστεοβλάστες ή πρώιμες οστεοβλάστες, περιγράφεται (με την παραδοχή ότι η κινητική πρόδεση του TGF- $\beta$  στον υποδοχέα είναι ταχύτερη από τις μεταβολές του αριθμού των ενεργών οστεοκλαστών) από τη σχέση:

$$D_R \cdot \pi_C = D_R \cdot \frac{C + C^0}{C + C^S} \quad (6)$$

όπου  $D_R$  ένας παράγοντας αναλογίας,  $C$  η συγκέντρωση των ενεργών οστεοκλαστών,  $C^S$  παράμετρος αποσύνδεσης του TGF- $\beta$  από τον υποδοχέα του και  $C^0 = f_0 C^S$  με  $f_0$  σταθερά αναλογίας.

Οι οστεοβλάστες «εξερχόμενες» από το στάδιο των προ-οστεοβλαστών ή πρώιμων οστεοβλαστών «εισέρχονται» στο στάδιο των ενεργών οστεοβλαστών. Η πρόσδεση του TGF- $\beta$  τώρα επιδρά ανασταλτικά στην κυτταρική διαφοροποίηση και η ανταπόκριση των κυττάρων θα είναι αντιστρόφως ανάλογη του ποσοστού κατάληψης των υποδοχέων του TGF- $\beta$ ,  $\pi_C$ :

$$\frac{D_B}{\pi_C} \cdot R = D_B \cdot \frac{C + C^S}{C + C^0} \cdot R$$

όπου  $D_B$  παράγοντας αναλογίας.

Ο ρυθμός με τον οποίο οι ενεργές οστεοβλάστες μπαίνουν σε κατάσταση απόπτωσης συμβολίζεται με  $k_B \cdot B$ .

Σχετικά με τις οστεοκλάστες, η πρόσδεση του RANKL στον υποδοχέα (RANK) προκαλεί τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστικών προδρόμων σε ενεργές οστεοκλάστες. Έτσι, η διαφοροποίηση θα είναι ανάλογη του βαθμού κατάληψης των υποδοχέων (RANK). Το ποσοστό αυτό είναι  $\pi_L = K \cdot L/K$  και επομένως:

$$\text{Ροή «εισόδου» κυττάρων στο στάδιο ενεργών οστεοκλαστών} = D_C \cdot \frac{K \cdot L}{K}$$

όπου  $D_C$  ρυθμός διαφοροποίησης των προδρόμων σε ενεργές οστεοκλάστες.

Η απόπτωση των οστεοκλαστών, λόγω της πρόσδεσης του TGF- $\beta$  σε ειδικούς κυτταρικούς υποδοχείς, μπορεί να περιγραφεί από τη σχέση:

$$D_A \cdot \pi_A \cdot C = D_A \cdot \frac{C + C^0}{C + C^S} \cdot C$$

όπου  $D_A$  σταθερά αναλογίας.

Έχοντας λοιπόν σαν καταστατικές μεταβλητές τις  $R$  (πλήθος προ-οστεοβλαστών και πρώιμων οστεοβλαστών («responding osteoblasts»)),  $B$  (ενεργές οστεοβλάστες) και  $C$  (ενεργές οστεοκλάστες), το μοντέλο συνοψίζεται στις ακόλουθες εξισώσεις:

$$\frac{dR}{dt} = D_R \pi_C - \frac{D_B}{\pi_C} R$$

$$\frac{dB}{dt} = \frac{D_B}{\pi_C} R - k_B B$$

$$\frac{dC}{dt} = D_C \pi_L - D_A \pi_C C$$

όπου

$$D_B = f_0 d_B \quad , \quad \pi_c = \frac{C + f_0 C^s}{C + C^s} \quad , \quad \pi_L = \frac{K \cdot L}{K}$$

και

$$\frac{K \cdot L}{K} = \frac{k_3}{k_4} \cdot \frac{K_L^P \pi_P B}{1 + \frac{k_3 K}{k_4} + \frac{k_1}{k_2 k_O} \cdot \left( \frac{K_O^P}{\pi_P} R + I_O \right)} \cdot \left( 1 + \frac{I_L}{r_L} \right)$$

όπου

$$\pi_P = \frac{\bar{P} + P^0}{\bar{P} + P^s}$$

$$\mu \varepsilon \quad \bar{P} = \frac{I_P}{k_P} \quad , \quad P^0 = \frac{S_P}{k_P} \quad , \quad P^s = \frac{k_6}{k_5}$$

Το σύστημα RANK-RANKL-OPG, μαζί με τη διττή δράση του TGF-β στις οστεοβλάστες, αποτελούν το κύριο ρυθμιστικό σύστημα της οστικής αναδόμησης, κάτι που αντανακλάται στο παρόν μοντέλο. Οι διακυμάνσεις του λόγου RANKL/OPG ρυθμίζουν την ισορροπία μεταξύ οστικής απορρόφησης και δημιουργίας.

Η ανάλυση και προσομοίωση του μοντέλου επιβεβαιώνουν την καταβολική επίδραση συνεχούς έγχυσης PTH, την καταβολική δράση του RANKL και την αναστολή της από την OPG.

Επίσης επιβεβαιώνονται οι κλινικές παρατηρήσεις ότι οι θεραπείες που επικεντρώνονται στην οστική δημιουργία υπερέχουν των αντι-οστεολυτικών θεραπειών. Τέλος, το μοντέλο υποδεικνύει ότι η αύξηση του προ-οστεοβλαστικού πληθυσμού πρέπει να είναι ένας από τους στόχους για την επίτευξη οστικής δημιουργίας.

## 4.5 Ένα φαινομενολογικό μοντέλο οστικής αναδόμησης που

### περιλαμβάνει και το ρόλο των οστεοκυττάρων

Ένα μινιμαλιστικό ως προς τις παραμέτρους μαθηματικό μοντέλο προτάθηκε από τους Moroz et al. (2006). Το μοντέλο αυτό τροποποιεί το μοντέλο των Komarova et al. (2003) [ενότητα 4.3] ώστε να περιγραφεί καλύτερα η αυτοκρινής και παρακρινής δράση των κυττάρων και το επεκτείνει ώστε να συμπεριληφθεί ο ρόλος των οστεοκυττάρων.

Έτσι, με αυτές τις αλλαγές, το σύστημα εξισώσεων μπορεί να γραφεί ως εξής:

$$dx_1/dt = f_{OCl}^+(x_1, x_{3s} - x_3) - f_{OCl}^-(x_2, x_3) \quad (1)$$

$$dx_2/dt = f_{OBi}^+(x_{4s} - x_4) - f_{OBi}^-(x_3, x_4) \quad (2)$$

$$dx_3/dt = f_{OCl}^+(x_4) - f_{OCl}^-(s, x_3) \quad (3)$$

$$\frac{dx_4}{dt} = f_B^+(x_2 - x_{2s}) - f_B^-(x_1 - x_{1s}) \quad (4)$$

όπου  $x_1$  η σχετική συγκέντρωση των οστεοκλαστών (OC1),  $x_2$  η σχετική συγκέντρωση των οστεοβλαστών (OB1),  $x_3$  η σχετική συγκέντρωση των οστεοκυττάρων (OCt),  $x_4$  η σχετική οστική μάζα,  $s$  το επίπεδο μηχανικής καταπόνησης,  $x_{1s}$ ,  $x_{2s}$ ,  $x_{3s}$ ,  $x_{4s}$  οι τιμές των μεταβλητών στη σταθερή κατάσταση. Οι  $f_i^+$  είναι συναρτήσεις που περιγράφουν τη θετική ανάδραση της αυτοκρινούς και παρακρινούς ρύθμισης. Οι  $f_i^-$  είναι συναρτήσεις που περιγράφουν την αρνητική ανάδραση της αυτοκρινούς και παρακρινούς δράσης. Η εισαγωγή των συναρτήσεων « $f$ » έχει σκοπό τη μείωση του αριθμού των παραμέτρων.

Για γραμμική και τετραγωνική μορφή των συναρτήσεων « $f$ » παρατηρείται περιοδική συμπεριφορά του συστήματος για μεγάλο εύρος τιμών των παραμέτρων. Έτσι, το σύστημα θα μπορούσε να πάρει τη μορφή:

$$\frac{dx_1}{dt} = a_{11}x_1 + a_1x_1(x_{3s} - x_3) - \beta_1x_2x_3 \quad (5)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = a_2(x_{4s} - x_4) - \beta_2x_3 - \beta_{22}x_4 \quad (6)$$

$$\frac{dx_3}{dt} = a_3x_4 - sx_3 \quad (7)$$

$$\frac{dx_4}{dt} = -k_1(x_1 - 1) + k_2(x_2 - 1) \quad (8)$$

όπου  $a_{11}$ ,  $a_1$ ,  $a_2$ ,  $a_3$  σταθερές κυτταρικής παραγωγής,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_{22}$  σταθερές αποδόμησης/απομάκρυνσης,  $k_1$ ,  $k_2$  σταθερές άμεσης οστικής απορρόφησης και δημιουργίας,  $s$  το επίπεδο μηχανικής καταπόνησης.

## 4.6 Μοντέλο δυναμικής κυτταρικών πληθυσμών και

### *αυτοκρινών - παρακρινών αλληλεπιδράσεων με χρήση*

### *συναρτήσεων Hill*

Οι Pivonka et al. (2008) ανέπτυξαν ένα σημαντικό μαθηματικό μοντέλο δυναμικής κυτταρικών πληθυσμών που περιγράφει ρητά το «μονοπάτι» RANK-RANKL-OPG μαζί με τη ρυθμιστική δράση του παράγοντα TGF- $\beta$  στα οστικά κύτταρα. Βασίζεται στη δημοσίευση των Lemaire et al. (2004) [ενότητα 4.4] αλλά γίνονται οι ακόλουθες τροποποιήσεις-προσθήκες: α) Προσθήκη εξίσωσης ρυθμού μεταβολής όγκου. β) Κατάσθρωση εξίσωσης που περιγράφει τη συγκέντρωση του TGF- $\beta$  ως συνάρτηση του απορροφηθέντος οστικού όγκου. γ) Έκφραση των RANKL και OPG στις οστεβλάστες σε όλα τα διαφορετικά στάδια ωρίμανσης. δ) Νέες συναρτήσεις ενεργοποίησης/καταστολής βασισμένες στην κινητική ενζύμων.



Ένα χαρακτηριστικό λοιπόν αυτού του μοντέλου είναι ότι χρησιμοποιούνται συναρτήσεις Hill για την περιγραφή μηχανισμών σχετικών με την πρόσδεση μιας ουσίας στον υποδοχέα της. Οι εξισώσεις Hill για διαδικασίες ενεργοποίησης (act) και ανάσχεσης/καταστολής (rep) εξαρτώμενες από παράγοντα (ουσία) συγκέντρωσης  $X^*$  θα είναι αντίστοιχα:

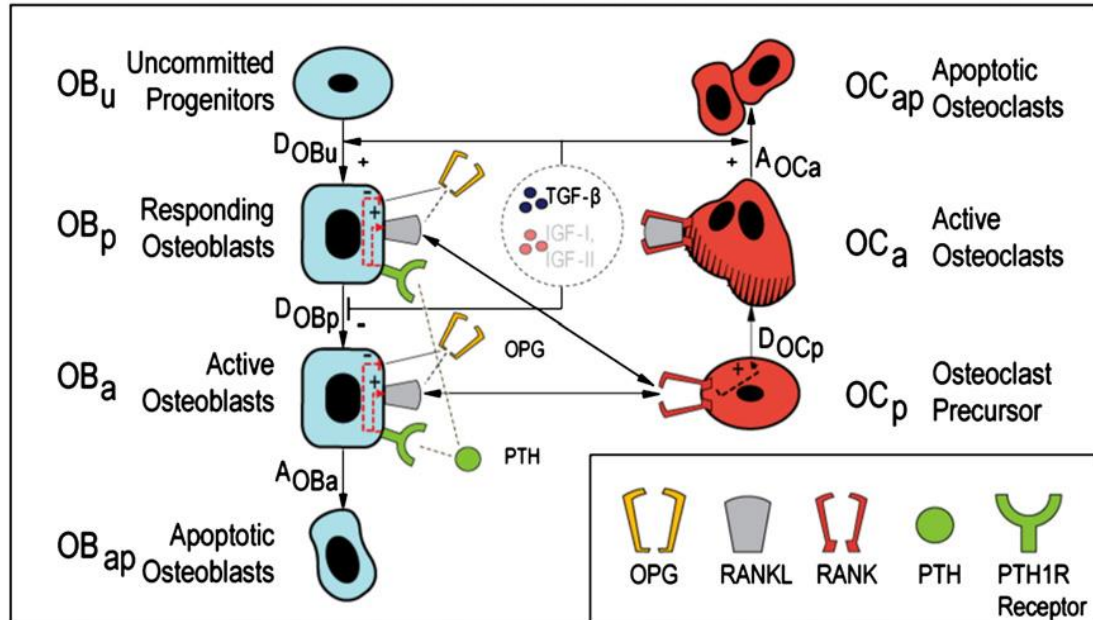
$$f(X^*) = \beta \pi_{act} = \frac{\beta \cdot (X^*)^n}{K_1 + (X^*)^n}$$

$$f(X^*) = \beta \pi_{rep} = \frac{\beta}{1 + \left(\frac{X^*}{K_2}\right)^n}$$

όπου  $K_1$ ,  $K_2$  συντελεστές ενεργοποίησης και καταστολής,  $\beta$  το μέγιστο επίπεδο έκφρασης ουσίας και  $n$  ο συντελεστής Hill που αντικατοπτρίζει την κλίση της συνάρτησης εισόδου  $\pi$ . Το  $n$  θεωρείται ίσο με 1, εκτός αν δηλώνεται διαφορετικά.

Η σχηματική αναπαράσταση του μοντέλου φαίνεται στην Εικόνα 4.2.

Εισάγονται οι ακόλουθες μεταβλητές όσον αφορά τους κυτταρικούς πληθυσμούς:  $OB_p$  (οστεοβλαστικοί πρόδρομοι),  $OB_a$  (ενεργές οστεοβλάστες) και  $OC_a$  (ενεργές οστεοκλάστες). Τα προγονικά κύτταρα θεωρούνται πολύ μεγάλου αριθμού και δεν περιλαμβάνονται άμεσα στο μοντέλο.



**Σχήμα 4.2** Σχηματική αναπαράσταση όπου απεικονίζονται οι κύριες αλληλεπιδράσεις σχετικά με την διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και οστεοκλαστών. Απεικονίζεται ο ρόλος του «μονοπατιού» RANK-RANKL-OPG ως βασικού παράγοντα επίδρασης. (Πηγή: Pivonka et al., Bone 43, 2008)

Οπότε:

$$\frac{dOB_p}{dt} = D_{OB_u} \cdot \pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta} - D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} \quad (1)$$

$$\frac{dOB_a}{dt} = D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta} - A_{OB_a} \cdot OB_a \quad (2)$$

$$\frac{dOC_a}{dt} = D_{OC_p} \cdot OC_p \cdot \pi_{act,OC_p}^{RANKL} - A_{OC_a} \cdot OC_a \cdot \pi_{act,OC_p}^{TGF-\beta} \quad (3)$$

όπου  $D_{OB_u}$ ,  $D_{OB_p}$ ,  $D_{OC_p}$  οι ρυθμοί διαφοροποίησης των προγόνων των οστεοβλαστών, των οστεοβλαστικών προδρόμων και των οστεοκλαστικών προδρόμων αντίστοιχα,  $\pi_{act,OB_u}^{TGF-\beta}$ ,  $\pi_{rep,OB_p}^{TGF-\beta}$ ,  $\pi_{act,OC_p}^{RANKL}$  οι συναρτήσεις ενεργοποίησης (act) - καταστολής (rep) σχετικά με την πρόσδεση του TGF- $\beta$  στους υποδοχείς τους στις οστεοβλάστες και τις οστεοκλάστες,  $\pi_{act,OC_p}^{RANKL}$  η συνάρτηση ενεργοποίησης όσον αφορά την πρόσδεση του RANKL στον υποδοχέα (RANK) των οστεοκλαστικών προδρόμων,  $A_{OB_a}$  και  $A_{OC_a}$  οι ρυθμοί απόπτωσης των ενεργών οστεοβλαστών και οστεοκλαστών αντίστοιχα.

Αν  $BV$  ο συνολικός οστικός όγκος,  $V_{res}$  ο οστικός όγκος που έχει απορροφηθεί,  $V_{form}$  ο οστικός όγκος που έχει δημιουργηθεί και  $AF$  η συχνότητα ενεργοποίησης των βασικών πολυκυτταρικών μονάδων, η μεταβολή του οστικού όγκου θα δίνεται από τη σχέση:

$$dBV/dt = AF \cdot (-V_{res} + V_{form}) \quad (4)$$

Εναλλακτικά, η μεταβολή του οστικού όγκου θα μπορούσε να δοθεί (σε ποσοστό %) από τη σχέση:

$$dBV/dt = -k_{res}\overline{OC}_a + k_{form}\overline{OB}_a \quad (5)$$

όπου  $k_{res}$  και  $k_{form}$  οι σχετικοί ρυθμοί απορρόφησης και δημιουργίας και

$$\overline{OC}_a(t) = OC_a(t) - OC_a(t_0) , \quad (6)$$

$$\overline{OB}_a = OB_a(t) - OB_a(t_0) \quad (7)$$

Ως γνωστόν, μια ουσία που έχει σημαντική επίδραση στα οστικά κύτταρα είναι ο αυξητικός παράγοντας TGF- $\beta$ . Οι αδιαφοροποίητοι πρόγονοι των οστεοβλαστών (μεγάλος πληθυσμός) έχουν υποδοχέα για τον TGF- $\beta$ , του οποίου η πρόσδεση οδηγεί στη διαφοροποίηση σε προ-οστεοβλάστες. Οι διάφοροι αυξητικοί παράγοντες (TGF- $\beta$ , IGF-I, IGF-II κλπ), που θεωρούνται αποθηκευμένοι στη μεσοκυττάρια ουσία, απελευθερώνονται με την οστική απορρόφηση. Επομένως, ο ρυθμός απελευθέρωσης TGF- $\beta$  θα είναι ανάλογος του απορροφηθέντος οστικού όγκου ή των ενεργών οστεοκλαστών:

$$d(TGF\beta)/dt = a \cdot \dot{V}_{res} - \tilde{D}_{TGF\beta} \cdot TGF\beta + S_{TGF\beta} = a \cdot k_{res} \cdot OC_a - \tilde{D}_{TGF\beta} \cdot TGF\beta + S_{TGF\beta} \quad (8)$$

όπου  $a$  σταθερά αναλογίας που αντιπροσωπεύει την αποθηκευμένη ποσότητα TGF- $\beta$  στον οστικό όγκο,  $\tilde{D}_{TGF\beta}$  σταθερά ρυθμού αποδόμησης και  $S_{TGF\beta}$  όρος δημιουργίας/καταβύθισης (source/sink term). Προφανώς θεωρείται ότι η πρόσδεση του TGF- $\beta$  στον υποδοχέα είναι σαφώς ταχύτερη από τη μεταβολή του αριθμού των οστεοκλαστών. Με την υπόθεση μιας ιωνεί σταθερής κατάστασης, η συγκέντρωση του TGF- $\beta$  μπορεί να εκφραστεί ως

$$TGF\beta = \frac{\alpha \cdot k_{res} \cdot OC_a + S_{TGF\beta}}{\tilde{D}_{TGF\beta}} \quad (9)$$

Οι συναρτήσεις ενεργοποίησης/καταστολής σχετικά με την πρόσδεση του TGF- $\beta$  στον υποδοχέα του μπορούν να προκύψουν εισάγοντας την παραπάνω εξίσωση στις σχέσεις Hill. Έτσι:

$$D_{OB_u} \cdot \pi_{act,OB_u}^{TGF\beta} = D_{OB_u} \cdot \frac{TGF\beta}{K_{D1,TGF\beta} + TGF\beta} \quad (10)$$

$$D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta} = D_{OB_p} \cdot OB_p \cdot \frac{1}{1 + \frac{TGF\beta}{K_{D2,TGF\beta}}} \quad (11)$$

$$A_{OC_a} \cdot OC_a \cdot \pi_{act,OC_a}^{TGF\beta} = A_{OC_a} \cdot OC_a \cdot \frac{TGF\beta}{K_{D3,TGF\beta} + TGF\beta} \quad (12)$$

όπου  $K_{D1,TGF\beta}$ ,  $K_{D2,TGF\beta}$ ,  $K_{D3,TGF\beta}$  οι συντελεστές ενεργοποίησης/καταστολής στους οστεοβλαστικούς και οστεοκλαστικούς υποδοχείς του.

Με αυτούς τους όρους, η χρονική μεταβολή των κυτταρικών πληθυσμών (Εξισώσεις (1)-(3)) λόγω της δράσης του TGF- $\beta$  προσδιορίζεται πλήρως.

Έπειτα, πρέπει να εισαχθούν εκφράσεις για τη συγκέντρωση της παραθορμόνης (PTH), οστεοπροτεγερίνης (OPG) και ελεύθερου RANKL, καθώς και για τις  $\pi_{act/rep}$ .

Αν  $\beta_{PTH}$  ο σταθερός ρυθμός ενδογενούς παραγωγής PTH,  $P_{PTH,d(t)}$  ο ρυθμός εξωτερικής έγχυσης PTH και  $\tilde{D}_{PTH}$  ο σταθερός ρυθμός αποδόμησης της, η συγκέντρωση της PTH μπορεί να εκφραστεί ως

$$PTH = \frac{\beta_{PTH} + P_{PTH,d(t)}}{\tilde{D}_{PTH}} \quad (13)$$

Οι συναρτήσεις εισόδου  $\pi_{act/rep}$  (ενεργοποίησης/καταστολής) για τις ουσίες OPG και RANKL θα είναι (εξισώσεις Hill):

$$\pi_{act,OB_p}^{PTH} = \frac{PTH}{K_{D4,PTH} + PTH} \quad (14) \quad , \quad \pi_{act,OB_a}^{PTH} = \frac{PTH}{K_{D5,PTH} + PTH} \quad (15)$$

$$\pi_{rep,OB_p}^{PTH} = \frac{1}{1 + \frac{PTH}{K_{D6,PTH}}} \quad (16) \quad , \quad \pi_{rep,OB_a}^{PTH} = \frac{1}{1 + \frac{PTH}{K_{D7,PTH}}} \quad (17)$$

όπου  $K_{D4,PTH}$ ,  $K_{D5,PTH}$  συντελεστές ενεργοποίησης για την παραγωγή RANKL λόγω της πρόσδεσης PTH στα οστεοβλαστικά κύτταρα και  $K_{D6,PTH}$ ,  $K_{D7,PTH}$  συντελεστές καταστολής για την παραγωγή OPG λόγω της πρόσδεσης PTH στα οστεοβλαστικά κύτταρα.

Μια βασική διαφορά από το μοντέλο των Lemaire et al. είναι η έκφραση των OPG και RANKL και στους οστεοβλαστικούς προδρόμους ( $OB_p$ ) και στις ενεργές οστεοβλάστες ( $OB_a$ ).

Η ενδογενής παραγωγή OPG, η οποία μειορρυθμίζεται από την PTH, μπορεί να εκφραστεί ως

$$P_{OPG,e} = \left( \beta_{1,OPG} \cdot OB_p \cdot \pi_{rep,OB_p}^{PTH} + \beta_{2,OPG} \cdot OB_a \cdot \pi_{rep,OB_a}^{PTH} \right) \cdot \left( 1 - \frac{OPG}{OPG_{max}} \right) \quad (18)$$

όπου  $\beta_{1,OPG}$ ,  $\beta_{2,OPG}$  οι ρυθμοί παραγωγής OPG από τους οστεοβλαστικούς προδρόμους και από τις ενεργές οστεοβλάστες.

$$\text{Θεωρώντας } \pi_{rep,OB_p}^{PTH} = \pi_{rep,OB_a}^{PTH} = \pi_{rep,OB}^{PTH} \quad (19),$$

$$P_{OPG,e} = (\beta_{1,OPG} \cdot OB_p + \beta_{2,OPG} \cdot OB_a) \cdot \pi_{rep,OB}^{PTH} \cdot \left( 1 - \frac{OPG}{OPG_{max}} \right) \quad (20)$$

Έτσι, η συγκέντρωση OPG μπορεί να εκφραστεί ως:

$$OPG = \frac{(\beta_{1,OPG} \cdot OB_p + \beta_{2,OPG} \cdot OB_a) \cdot \pi_{rep,OB}^{PTH} + P_{OPG,d}(t)}{\frac{(\beta_{1,OPG} \cdot OB_p + \beta_{2,OPG} \cdot OB_a) \cdot \pi_{rep,OB}^{PTH}}{OPG_{max}} + \tilde{D}_{OPG}} \quad (21)$$

όπου  $\tilde{D}_{OPG}$  ο ρυθμός αποδόμησης της OPG.

Όσον αφορά την ουσία RANKL, καταρχήν θα υπάρχει ένα όριο στην ποσότητα που μπορούν να δεχτούν οι οστεοβλάστες. Αυτή η μέγιστη ποσότητα (effective carrying capacity), θεωρώντας ότι ρυθμίζεται από την PTH, μπορεί να εκφραστεί ως:

$$RANKL_{eff} = RANKL_{OB_p,eff} + RANKL_{OB_a,eff} = (R_1^{RANKL} \cdot OB_p + R_2^{RANKL} \cdot OB_a) \cdot \pi_{act,OB}^{PTH} \quad (22)$$

όπου  $R_1^{RANKL}$  και  $R_2^{RANKL}$  ο μέγιστος αριθμός υποδοχέων του RANKL στις  $OB_p$  και  $OB_a$ .

Η συνολική συγκέντρωση RANKL είναι:

$$\begin{aligned} RANKL_{tot} &= RANKL + (RANKL - OPG) + (RANKL - RANK) \\ &= RANKL \cdot (1 + K_{A1,RANKL} \cdot OPG + K_{A2,RANKL} \cdot RANK) \end{aligned} \quad (23)$$

όπου  $K_{A1,RANKL}$  σταθερά δέσμευσης RANKL με OPG και  $K_{A2,RANKL}$  σταθερά πρόσδεσης του RANKL στον RANK.

Ο ρυθμός παραγωγής RANKL ισούται με το άθροισμα του ενδογενούς ρυθμού παραγωγής και του ρυθμού εξωτερικής έγχυσης:

$$P_{RANKL} = P_{RANKL,e} + P_{RANKL,d} \quad (24)$$

$$P_{RANKL,e} = \beta_{RANKL} \left( 1 - \frac{RANKL_{tot}}{RANKL_{eff}} \right) \quad (25)$$

Ο ρυθμός αποδόμησης του RANKL, με συντελεστή αποδόμησης  $\tilde{D}_{RANKL}$ , είναι:

$$D_{RANKL} = -\tilde{D}_{RANKL} \cdot RANKL_{tot} \quad (26)$$

Λαμβάνοντας υπόψιν τη συνθήκη σταθερής κατάστασης  $P_{RANKL} + D_{RANKL} = 0$ , η συγκέντρωση του RANKL μπορεί να εκφραστεί ως εξής:

$$RANKL = \frac{RANKL_{eff}}{1 + K_{A1,RANKL}OPG + K_{A2,RANKL}RANK} \left( \frac{\beta_{RANKL,1} + P_{RANKL,d}}{\beta_{RANKL} + \tilde{D}_{RANKL}RANKL_{eff}} \right) \quad (27)$$

Η συνάρτηση ενεργοποίησης (συνάρτηση Hill) σχετικά με τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστικών προδρόμων είναι:

$$\pi_{act,OC_p}^{RANKL} = \frac{RANKL}{K_{D8,RANKL} + RANKL} \quad (28)$$

όπου  $K_{D8,RANKL}$  ο συντελεστής ενεργοποίησης σχετικά με την πρόσδεση του RANKL στον RANK.

Η μελέτη της έκφρασης των RANKL και OPG σε διαφορετικά στάδια διαφοροποίησης των οστεοβλαστικών κυττάρων, στα πλαίσια του μοντέλου υποδεικνύει μεγαλύτερη ανταπόκριση (ευαισθησία) των βασικών πολυκυτταρικών μονάδων όταν ο RANKL εκφράζεται στους οστεοβλαστικούς προδρόμους και η OPG στις ενεργές οστεοβλάστες, κάτι που έχει παρατηρηθεί σε άλλες μελέτες.

## 4.7 Χωροχρονική θεώρηση σε επίπεδο βασικής

### πολυκυτταρικής μονάδας

Οι Ryser et al. (2009) πρότειναν ένα μαθηματικό μοντέλο για την οστική αναδόμηση που περιγράφει τη χωροχρονική εξέλιξη μιας βασικής πολυκυτταρικής μονάδας, επεκτείνοντας το μοντέλο των Komarova et al. (2003) (ενότητα 4.3).

Αποτελείται από ένα σύστημα διαφορικών εξισώσεων που περιγράφει τον ρόλο του συστήματος RANK/RANKL/OPG καθώς και τις αυτοκρινείς και παρακρινείς αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στις οστεοκλάστες και τις οστεοβλάστες. Περιγράφει τις χωροχρονικές μεταβολές των συγκεντρώσεων των RANKL και OPG, του αριθμού των οστεοκλαστών, του αριθμού των οστεοβλαστών, και της οστικής μάζας.

Το μοντέλο των Komarova et al. (2003), όπως έχουμε δει, είναι μόνο χρονικό και η δυναμική των κυττάρων περιγράφεται από το σύστημα:

$$\frac{\partial u_1}{\partial t} = a_1 u_1^{g_{11}} u_2^{g_{21}} - \beta_1 u_1$$

$$\frac{\partial u_2}{\partial t} = a_2 u_1^{g_{12}} u_2^{g_{22}} - \beta_2 u_2 \quad \text{Σύστημα (1)}$$

όπου  $u_1, u_2$  ο αριθμός των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών αντίστοιχα. Τα  $a_i, \beta_i$  αντιπροσωπεύουν τις δραστηριότητες κυτταρικής παραγωγής και κυτταρικού θανάτου, και τα  $g_{ij}$  αντιπροσωπεύουν την αποτελεσματικότητα των αυτοκρινών και παρακρινών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων.

Το σύστημα (1) έχει καλά καθορισμένες λύσεις σταθερής κατάστασης, τις  $\bar{u}_1$  και  $\bar{u}_2$ , και αν  $y_1, y_2$  ο αριθμός των ενεργών οστεοκλαστών και οστεοβλαστών αντίστοιχα, είναι:

$$y_i = \begin{cases} u_i - \bar{u}_i & \text{αν } u_i > \bar{u}_i \\ 0 & \text{αν } u_i \leq \bar{u}_i \end{cases} \quad (2)$$

Ακολουθεί η μετατροπή του μοντέλου από χρονικό σε χωροχρονικό.

Έτσι,  $u_i(t) \rightarrow u_i(\vec{x}, t)$ , όπου  $\vec{x} = (x, y) \in \Omega$

Εισάγονται δύο νέες καταστατικές μεταβλητές: το «πεδίο» RANKL,  $\Phi_R(\vec{x}, t)$  και το «πεδίο» OPG,  $\Phi_O(\vec{x}, t)$ . Θεωρώντας ότι η κίνηση των οστεοκλαστών είναι ανάλογη της κλίσης του  $\Phi_R$ , περιγράφεται από τον όρο  $\zeta \nabla \cdot (y_1 \nabla \Phi_R)$ . Το  $\zeta$  αντιπροσωπεύει την αποτελεσματικότητα της κίνησης. Ο σχηματισμός των οστεοκλαστών εξαρτάται από την ποσότητα του RANKL που έχει προσδεθεί στον υποδοχέα RANK. Το φαινόμενο αυτό αντιπροσωπεύεται από τον όρο  $k_1 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1$ , όπου  $k_1$  ο ρυθμός αντίδρασης,  $\lambda$  η συγκέντρωση σε κατάσταση μισού κορεσμού των υποδοχέων και  $\theta(y_1)$  η συνάρτηση Heaviside.

Οι αλλαγές στον αριθμό των οστεοκλαστών θα σχετίζονται με τη δημιουργία, τον κυτταρικό θάνατο, αλλά και τη μεταφορά τους. Επομένως:

$$\frac{\partial u_1}{\partial t} = a_1 u_1^{g_{11}} + k_1 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1 - \beta_1 u_1 - \zeta \nabla \cdot (y_1 \nabla \Phi_R) \quad (3)$$

Όσον αφορά τις οστεοβλάστες, θεωρώντας ότι επιστρατεύονται από τις οστεοκλάστες, η δυναμική τους θα περιγράφεται από την (1) και επομένως:

$$u_2(\vec{x}, t) = u_2(\vec{x}, t_0) e^{-\beta_2(t-t_0)} + a_2 \int_{t_0}^t e^{\beta_2(s-t)} u_1^{g_{12}}(\vec{x}, s) ds \quad (4)$$

Η δυναμική των RANKL και OPG περιγράφεται από τρεις όρους: παραγωγής, διάχυσης και αντίδρασης.

Ο RANKL παράγεται από τις ενεργές οστεοβλάστες και τα οστεοκύτταρα, διαχέεται στο οστό και προσδένεται στους υποδοχείς (RANK) των οστεοκλαστών. Υποτίθεται ότι ο RANKL παράγεται από οστεοκύτταρα πριν την ενεργοποίηση της βασικής πολυκυτταρικής μονάδας. Έπειτα νέα ουσία RANKL παράγεται μόνο από οστεοβλάστες, όπως περιγράφεται από τον όρο  $a_R y_{2,t_R}(\vec{x}, t)$ , όπου  $a_R$  σταθερά ρυθμού ανταπόκρισης και

$$y_{2,t_R}(\vec{x}, t) = e^{-\beta_2 t_R} y_2(\vec{x}, t - t_R) \quad (5)$$

όπου  $t_R$  ο χρόνος που απαιτείται ώστε οι οστεοβλαστικοί πρόδρομοι να αρχίσουν να παράγουν RANKL.

Η διάχυση του RANKL περιγράφεται από τον όρο  $k_R \Delta(\Phi_R^\xi)$ , όπου  $k_R$  σταθερά διάχυσης και  $\Delta$  ο τελεστής Laplace σε δύο διαστάσεις (η προσέγγιση είναι διδιάστατη). Το  $\varepsilon$  είναι ένα μέτρο του πόσο πορώδες είναι το οστό όπου γίνεται η διάχυση. Η πρόσδεση του RANKL στον υποδοχέα (RANK) περιγράφεται από τον όρο  $k_2 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1$  (όπως και πριν, αλλά με ρυθμό αντίδρασης  $k_2$  αντί  $k_1$ ).

Τέλος, ο όρος για την αντίδραση δέσμωσης των RANKL και OPG είναι  $k_3 \Phi_R \Phi_O$ , με ρυθμό αντίδρασης  $k_3$ .

Επομένως, η δυναμική του RANKL θα περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{\partial \Phi_R}{\partial t} = a_R y_{2,t_R}(\vec{x}, t) + k_R \Delta(\Phi_R^\xi) - k_2 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1 - k_3 \Phi_R \Phi_O \quad (6)$$

Όσον αφορά την OPG, η παραγωγή της από ώριμες οστεοβλάστες περιγράφεται από τον όρο  $a_O y_{2,t_O}(\vec{x}, t)$ , όπου  $a_O$  η αντίστοιχη σταθερά ρυθμού και  $y_{2,t_O}(\vec{x}, t)$  δίνεται από την εξίσωση (5) με τη διαφορά ότι το  $t_O$  είναι μεγαλύτερο του  $t_R$ , αφού οι ανώριμες οστεοβλάστες παράγουν κυρίως RANKL, ενώ η παραγωγή OPG αυξάνεται με την ωρίμανση.

Η διάχυση της OPG περιγράφεται από τον όρο  $k_O \Delta(\Phi_O^\delta)$ , όπου  $k_O$  η σταθερά διάχυσης και  $\delta$  ένα μέτρο του πόσο πορώδες είναι το μέσο όπου γίνεται η διάχυση.

Επομένως, η δυναμική της OPG θα περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{\partial \Phi_O}{\partial t} = a_O y_{2,t_O}(\vec{x}, t) + k_O \Delta(\Phi_O^\delta) - k_3 \Phi_R \Phi_O \quad (7)$$

Ο τελευταίος όρος είναι ίδιος με της εξίσωσης (6).

Τέλος, για την περιγραφή της εξέλιξης της οστικής μάζας, εισάγεται η καταστατική μεταβλητή  $z(\vec{x}, t)$ , με  $0 < z < 100$  (0% - 100%). Έτσι, ο ρυθμός μεταβολής της οστικής μάζας περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{\partial z}{\partial t} = -f_1 y_1 + f_2 y_2 \quad (8)$$

Οι εξισώσεις (3)-(8) περιγράφουν την εξέλιξη μιας βασικής πολυκυτταρικής μονάδας.

Στις εξισώσεις περιγράφεται άμεσα η δυναμική του RANKL και της OPG. Η δράση άλλων ουσιών όπως οι TGF- $\beta$ , IGFs και M-CSF λαμβάνεται υπόψιν στις παραμέτρους που αντιπροσωπεύουν τις αυτοκρινείς και παρακρινείς αλληλεπιδράσεις.

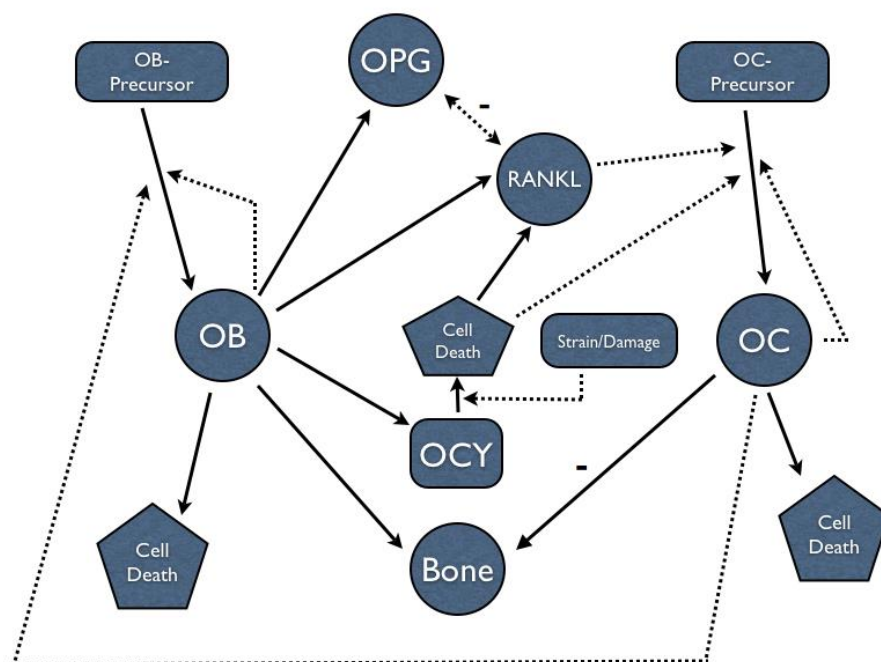
## 4.8 Άλλο ένα χωροχρονικό μοντέλο δυναμικής κυτταρικών

### πληθυσμών σε επίπεδο βασικής πολυκυτταρικής μονάδας

Ένα πιο εξελιγμένο, σε σχέση με το προηγούμενο, μαθηματικό μοντέλο παρόμοιας προσέγγισης, από τους ίδιους ερευνητές (Ryser et al., 2010) περιγράφεται σε αυτήν την ενότητα. Αποτελείται από ένα σύστημα μη γραμμικών διαφορικών εξισώσεων και περιγράφει τη δυναμική των κυτταρικών πληθυσμών μαζί με τις βασικές γνωστές βιοχημικές διεργασίες κυτταρικής επικοινωνίας.

Από τους βιοχημικούς παράγοντες, ο RANKL και η OPG περιλαμβάνονται άμεσα (σαφώς) στη μοντελοποίηση ως οι πιο σημαντικοί, ενώ οι υπόλοιποι (TGF- $\beta$ , IGF, M-SCF, νιτρικό οξύ κλπ) λαμβάνονται υπόψιν στις παραμέτρους. Επίσης, περιλαμβάνονται τα οστεοκύτταρα ως «ανιχνευτές» μηχανικής πίεσης και μικρορωγμών. Αυτοί οι μηχανικοί παράγοντες δεν περιέχονται ως μεταβλητές στις εξισώσεις, αλλά αντιπροσωπεύονται στην κατανομή της συγκέντρωσης του RANKL. Αυτό γίνεται διότι τα οστεοκύτταρα απελευθερώνουν RANKL υπό μηχανική πίεση, σύμφωνα με μελέτες. Η γενική θεώρηση φαίνεται στο σχήμα 4.3.

Επειδή η διαδικασία της οστικής αναδόμησης, εκτός από χρονικά χαρακτηριστικά, εξαρτάται και από χωρικά, αναπτύσσεται ένα χωροχρονικό μοντέλο σε επίπεδο βασικής πολυκυτταρικής μονάδας, που αποτυπώνει τη δυναμική των κυτταρικών πληθυσμών και τη δυναμική του συστήματος RANK-RANKL-OPG.



**Σχήμα 4.3** Κύτταρα και οι βασικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στην οστική αναδόμηση. Στα κύτταρα συμπεριλαμβάνονται οι οστεοκλάστες (OC), οι οστεοβλάστες (OB), τα οστεοκύτταρα (OCY), καθώς και τα προγονικά αυτών. Οι συμπαγείς γραμμές αντιπροσωπεύουν αυξητική διεργασία



(διαφοροποίηση/παραγωγή) και οι διακεκομμένες γραμμές αυξητική ρύθμιση (αυτοκρινή/παρακρινή). Το «-» δίπλα στη γραμμή αντιπροσωπεύει αρνητική επίδραση ή μειορύθμιση. (Πηγή: Ryser et al, SIAM journal on Applied Mathematics 70, 2010)

Σημείο εκκίνησης είναι τα χρονικό μοντέλο των Komarova et al. (2003) [ενότητα 4.4] και αποτυπώνει τη δυναμική των κυτταρικών πληθυσμών σε ένα σημείο της βασικής πολυκυτταρικής μονάδας:

$$\begin{aligned}\frac{\partial u_1}{\partial t} &= a_1 u_1^{g_{11}} u_2^{g_{21}} - \beta_1 u_1 \\ \frac{\partial u_2}{\partial t} &= a_2 u_1^{g_{12}} u_2^{g_{22}} - \beta_2 u_2\end{aligned}\quad (\text{Σύστημα 1})$$

όπου  $u_1$  και  $u_2$  ο αριθμός των οστεοκλαστών και οστεοβλαστών αντίστοιχα,  $a_i$  και  $\beta_i$  παράμετροι που αντιπροσωπεύουν δραστηριότητες κυτταρικής παραγωγής και θανάτου (ανά ημέρα),  $g_{ij}$  αδιάστατες παράμετροι που αντιπροσωπεύουν την αποτελεσματικότητα των αυτοκρινών και παρακρινών αλληλεπιδράσεων. Ο παράγοντας  $g_{11}$  αντιπροσωπεύει την αποτελεσματικότητα των αυτοκρινών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των οστεοκλαστών. Η προερχόμενη από τις οστεοκλάστες παρακρινής δράση ( $g_{12}$ ) στις οστεοβλάστες παίζει σημαντικό ρόλο και η αναστολή της οδηγεί σε μη ισορροπημένη αναδόμηση. Η παράμετρος  $g_{22}$  για την αυτοκρινή δράση των οστεοβλαστών (αυτοδιεγερτικοί παράγοντες όπως οι ουσίες IGF) μπορεί να αγνοηθεί, δηλαδή  $g_{22} = 0$ , καθώς θεωρείται αμελητέα σε σχέση με τη  $g_{12}$ , όσον αφορά τη δυναμική εξέλιξη της βασικής πολυκυτταρικής μονάδας. Τέλος, η προερχόμενη από τις οστεοβλάστες παρακρινής δράση πάνω στις οστεοκλάστες ( $g_{21}$ ) παίζει ρόλο και συνίσταται κυρίως στο μονοπάτι RANK/RANKL/OPG. Επειδή όμως το μοντέλο περιλαμβάνει άμεσα τα «πεδία» RANKL και OPG ως καταστατικές μεταβλητές, τίθεται  $g_{12} = 0$ . Μετά από αυτές τις τροποποιήσεις το σύστημα γίνεται:

$$\begin{aligned}\frac{\partial u_1}{\partial t} &= a_1 u_1^{g_{11}} - \beta_1 u_1 \\ \frac{\partial u_2}{\partial t} &= a_2 u_1^{g_{12}} - \beta_2 u_2\end{aligned}\quad (\text{Σύστημα 2})$$

Θεωρείται ότι κύτταρα αριθμού κάτω από τις τιμές σταθερής κατάστασης (έστω  $u_{i,ss}$ ) είναι προδρομικά κύτταρα (μερικώς διαφοροποιημένα κύτταρα), τα οποία δε συμμετέχουν ενεργά στην οστική απορρόφηση και δημιουργία, συμμετέχουν όμως στην αυτοκρινή και παρακρινή επικοινωνία. Αύξηση των  $u_i$  πάνω από τις τιμές  $u_{i,ss}$  θεωρείται ως πολλαπλασιασμός και διαφοροποίηση των κυττάρων σε ώριμα ενεργά κύτταρα. Ο αριθμός των ενεργών κυττάρων θα είναι

$$y_i = u_i - u_{i,ss}$$

Ακολουθεί η χωρική επέκταση του μοντέλου καθιστώντας τις καταστατικές μεταβλητές, εκτός από χρονικά, και χωρικά εξαρτώμενες:

$$u_i(t) \mapsto u_i(\vec{x}, t), \quad \vec{x} \in \Omega \subset \mathbb{R}^n, n = 1,2,3$$

Εισάγονται νέες καταστατικές μεταβλητές για τα «πεδία» RANKL και OPG με τους συμβολισμούς  $\Phi_R(\vec{x}, t)$  και  $\Phi_O(\vec{x}, t)$  αντίστοιχα. Ο γνωστός ρόλος των RANKL και OPG λοιπόν περιγράφεται άμεσα, εισάγοντας δυο νέους όρους στην εξίσωση για τη δυναμική των οστεοκλαστών, δηλαδή:

$$\frac{\partial u_1}{\partial t} = a_1 u_1^{g_{11}} - \beta_1 u_1 - \zeta \nabla \cdot (y_1 \nabla \Phi_R) + k_1 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1$$

Ο πρώτος από τους εισαχθέντες όρους, δηλαδή ο  $\zeta \nabla \cdot (y_1 \nabla \Phi_R)$ , περιγράφει την κίνηση των ενεργών οστεοκλαστών ανάλογα με τη βαθμίδα του «πεδίου» RANKL και η παράμετρος  $\zeta$  αντιπροσωπεύει την αποτελεσματικότητα αυτής της κίνησης. Ο όρος  $k_1 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1$  αντιπροσωπεύει τη διεγείρουσα επίδραση του RANKL στις οστεοκλάστες μέσω της πρόσδεσης στον υποδοχέα του (RANK) με ρυθμό  $k_1$ . Υποθέτοντας ότι οι υποδοχείς (RANK) έχουν ένα όριο κορεσμού, το  $\lambda$  είναι η συγκέντρωση σε κατάσταση μισού κορεσμού. Η συνάρτηση  $\theta(y_1)$  είναι η μη συνεχής συνάρτηση Heaviside  $\{\theta(x) = 0 \text{ αν } x \leq 0, \theta(x) = 1 \text{ αν } x > 0\}$  και η εισαγωγή της γίνεται ώστε να περιγραφεί το γεγονός ότι η διέγερση των οστεοκλαστών συμβαίνει μόνο υπό την παρουσία ενεργών οστεοβλαστών ( $y_1$ ).

Όσον αφορά τις οστεοβλάστες, επειδή οι ουσίες RANKL και OPG δεν έχουν σημαντική επίδραση πάνω τους, η εξίσωση για τη δυναμική τους παραμένει όπως είναι στο Σύστημα 2.

Ο RANKL ως γνωστόν εκφράζεται στις ενεργές οστεοβλάστες και η δυναμική της συγκέντρωσής του  $\Phi_R$  συνίσταται στην παραγωγή, τη διάχυση διαμέσου του οστού (κυρίως στο σπογγώδες οστό) και την πρόσδεση στους υποδοχείς (RANK) και στην OPG. Η εξίσωση λοιπόν για τη δυναμική του RANKL μπορεί να γραφεί ως εξής:

$$\frac{\partial \Phi_R}{\partial t} = a_R y_{2,t_R} + \kappa_R \Delta(\Phi_R^{\varepsilon_R}) - k_2 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1 - k_3 \Phi_R \Phi_O$$

Ο όρος  $a_R y_{2,t_R}$  αντιπροσωπεύει την παραγωγή RANKL από τις ενεργές οστεοβλάστες.  $t_R$  είναι χρόνος από τη στιγμή δημιουργίας ώριμων οστεοβλαστών μέχρι τη στιγμή εκκίνησης παραγωγής RANKL.  $y_{2,t_R} = y_2(\vec{x}, t - t_R)$  και  $a_R$  σταθερά αναλογίας. Ο όρος  $\kappa_R \Delta(\Phi_R^{\varepsilon_R})$  περιγράφει τη διάχυση μέσω του πορώδους οστού, η οποία μπορεί να είναι από πολύ μικρή έως μεγάλη.  $\kappa_R$  είναι η σταθερά διάχυσης και η αδιάστατη παράμετρος  $\varepsilon_R \geq 1$  αποτελεί ένα μέτρο του πόσο πορώδες είναι το οστό γύρω από τη βασική πολυκυτταρική μονάδα. Ο όρος  $k_2 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1$  περιγράφει την πρόσδεση του RANKL στον RANK με την ίδια λογική του όμοιου όρου της προηγούμενης εξίσωσης, και σταθερά ρυθμού πρόσδεσης  $k_2$ . Στη σταθερά

αυτή ενσωματώνονται οι σχετικοί παράγοντες, όπως η πυκνότητα των υποδοχέων (RANK) στις οστεοκλάστες. Τέλος, ο όρος  $k_3 \Phi_R \Phi_O$  περιγράφει την πρόσδεση της OPG στον RANKL, με σταθερά ρυθμού πρόσδεσης  $k_3$ .

Παρομοίως, για τη δυναμική της OPG έχουμε:

$$\frac{\partial \Phi_O}{\partial t} = a_O y_{2,t_o} + \kappa_O \Delta(\Phi_O^{\varepsilon_O}) - k_3 \Phi_R \Phi_O$$

Ο όρος  $a_O y_{2,t_o}$  αντιπροσωπεύει την παραγωγή OPG από ώριμες οστεοβλάστες με χρονική καθυστέρηση  $t_o > t_R$ . Ο όρος  $\kappa_O \Delta(\Phi_O^{\varepsilon_O})$  περιγράφει τη διάχυση ( $\varepsilon_O \geq 1$ ) της OPG ( $\varepsilon_O \geq 1$ ) εντελώς ανάλογα με τον αντίστοιχο όρο της εξίσωσης για τον RANKL. Ο όρος  $k_3 \Phi_R \Phi_O$  είναι ακριβώς ίδιος με τον τελευταίο όρο της εξίσωσης για τον RANKL.

Εισάγοντας και μια εξίσωση για τη μεταβολή της οστικής πυκνότητας  $z(\vec{x}, t)$  το μοντέλο συνοψίζεται στο εξής σύστημα εξισώσεων:

$$\frac{\partial u_1}{\partial t} = a_1 u_1^{g_{11}} - \beta_1 u_1 - \zeta \nabla \cdot (y_1 \nabla \Phi_R) + k_1 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1$$

$$\frac{\partial u_2}{\partial t} = a_2 u_1^{g_{12}} - \beta_2 u_2$$

$$\frac{\partial \Phi_R}{\partial t} = a_R y_{2,t_R} + \kappa_R \Delta(\Phi_R^{\varepsilon_R}) - k_2 \frac{\Phi_R}{\lambda + \Phi_R} \theta(y_1) u_1 - k_3 \Phi_R \Phi_O$$

$$\frac{\partial \Phi_O}{\partial t} = a_O y_{2,t_o} + \kappa_O \Delta(\Phi_O^{\varepsilon_O}) - k_3 \Phi_R \Phi_O$$

$$\frac{\partial z}{\partial t} = -f_1 y_1 + f_2 y_2$$

## 4.9 Μοντελοποιώντας την επίδραση της παραθορμόνης και της καλσιτονίνης

Για να ληφθεί υπόψη η επίδραση της παραθορμόνης αλλά και της καλσιτονίνης, οι Chaiya et al. (2011) τροποποίησαν το μοντέλο των Rattanakul et al. (2003) [ενότητα 4.2].

Η ποσότητα της παραθορμόνης που εκκρίνεται είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης  $\text{Ca}^{++}$  στο αίμα, κι επομένως αντιστρόφως ανάλογη του αριθμού των ενεργών οστεοκλαστών. Συμβολίζοντας με  $X(t)$  το επίπεδο της παραθορμόνης (σε σχέση με το βασικό επίπεδο) και  $Z(t)$  το πλήθος των ενεργών οστεοκλαστών, σε χρόνο  $t$ , η εξίσωση για τον ρυθμό έκκρισης παραθορμόνης άνω του βασικού επιπέδου μπορεί να θεωρηθεί η εξής:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{a_1}{k_1 + Z} - b_1 X \quad (1)$$

με  $a_1$ ,  $k_1$  θετικές σταθερές και  $b_1$  σταθερά ρυθμού απομάκρυνσης. Ο πρώτος όρος αντιπροσωπεύει τον ρυθμό έκκρισης παραθορμόνης από τον παραθυρεοειδή αδένα, που μειώνεται με την αύξηση του αριθμού των ενεργών οστεοκλαστών.

Η έκκριση καλσιτονίνης είναι αποτέλεσμα αυξημένων επιπέδων ασβεστίου στο αίμα. Η καλσιτονίνη αναστέλλει την οστεοκλαστική δραστηριότητα και συνεπώς την οστική απορρόφηση. Συμβολίζοντας με  $Y(t)$  το επίπεδο καλσιτονίνης (σε σχέση με το βασικό) και  $Z(t)$  το πλήθος των ενεργών οστεοκλαστών, η εξίσωση για τον ρυθμό έκκρισης καλσιτονίνης μπορεί να πάρει τη μορφή:

$$\frac{dY}{dt} = (a_2 - a_3Y)YZ - b_2Y \quad (2)$$

με  $a_2$ ,  $a_3$  θετικές σταθερές και  $b_2$  σταθερά ρυθμού απομάκρυνσης. Ο πρώτος όρος στο δεξί αντιπροσωπεύει τον ρυθμό έκκρισης καλσιτονίνης από τον θυρεοειδή αδένα.

Η παραθορμόνη συμβάλλει στη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών έμμεσα μέσω της ενεργοποίησης των οστεοβλαστών. Αν όμως τα επίπεδα της παραθορμόνης αυξηθούν περαιτέρω, η παραγωγή οστεοκλαστών θα μειωθεί. Έτσι, αν  $W(t)$  το πλήθος των ενεργών οστεοβλαστών, έχουμε την ακόλουθη εξίσωση για τη δυναμική του οστεοκλαστικού πληθυσμού:

$$\frac{dZ}{dt} = \left( \frac{a_4 + a_5X}{k_2 + X^2} - a_6Y \right) ZW - b_3Z \quad (3)$$

με  $a_4$ ,  $a_5$ ,  $a_6$ ,  $k_2$  θετικές σταθερές και  $b_3$  σταθερά ρυθμού απομάκρυνσης. Ο πρώτος όρος στο δεξί μέλος αντιπροσωπεύει τη διεγείρουσα (θετική) επίδραση της παραθορμόνης στην αναπαραγωγή των ενεργών οστεοκλαστών μέσω της διαδικασίας διαφοροποίησης των οστεοκλαστών, η οποία απαιτεί την παρουσία οστεοβλαστών και στρωματικών κυττάρων μυελού των οστών. Ο τελευταίος όρος αντιπροσωπεύει τον ρυθμό απομάκρυνσης των ενεργών οστεοκλαστών από το σύστημα.

Είναι γνωστό ότι η παραθορμόνη προκαλεί αύξηση του αριθμού των οστεοβλαστών και της διάρκειας ζωής τους. Όμως, έχει παρατηρηθεί ότι επιδρά είτε διεγερτικά είτε ανασταλτικά στη διαδικασία διαφοροποίησης των οστεοβλαστών, ανάλογα με το στάδιο. Έτσι, η δυναμική του οστεοβλαστικού πληθυσμού μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση:

$$\frac{dW}{dt} = \frac{a_7X}{k_3 + X} - \frac{a_8XW}{k_4 + X} - b_4W \quad (4)$$

με  $a_7$ ,  $a_8$ ,  $k_3$ ,  $k_4$  θετικές σταθερές και  $b_4$  σταθερά ρυθμού απομάκρυνσης. Ο πρώτος όρος στο δεξί μέλος αντιπροσωπεύει την αναπαραγωγή των ενεργών οστεοβλαστών με τη βοήθεια της παραθορμόνης, ενώ ο δεύτερος όρος του δεξιού μέλους αντιπροσωπεύει την καταστολή της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης λόγω παραθορμόνης. Ο τελευταίος όρος αντιπροσωπεύει τον ρυθμό απομάκρυνσης των οστεοβλαστών από το σύστημα.

Το σύστημα των εξισώσεων (1), (2), (3), (4) αποτελεί ένα μη γραμμικό μαθηματικό μοντέλο οστικής αναδόμησης βασισμένο στην επίδραση της παραθορμόνης και της καλσιτονίνης.

#### **4.10 Μοντελοποιώντας την επίδραση της παραθορμόνης και της βιταμίνης D**

Παρομοίως με την μελέτη που περιγράφηκε στην προηγούμενη ενότητα, μια άλλη μελέτη για να αποτυπωθεί η επίδραση της βιταμίνης D (η ενεργός μορφή της βιταμίνης D είναι η καλσιτριόλη) και της παραθορμόνης στην οστική αναδόμηση, έγινε από τους Rattanukul et al. (2011).

Είναι γνωστό ότι η έκκριση παραθορμόνης εξαρτάται ισχυρά από τη συγκέντρωση ιόντων ασβεστίου στο εξωκυττάριο υγρό. Όταν η συγκέντρωση ασβεστίου στο αίμα αυξάνεται (ανάλογα με τον αριθμό των ενεργών οστεοκλαστών), η έκκριση παραθορμόνης μειώνεται. Πάντως, κάποιες μικρές ποσότητες παραθορμόνης εκκρίνονται και με υψηλές ποσότητες ασβεστίου στο αίμα. Επίσης, είναι γνωστό ότι η βιταμίνη D έχει αρνητική επίδραση στην έκκριση παραθορμόνης.

Έτσι, αν  $X(t)$  η συγκέντρωση της παραθορμόνης πάνω από το θεμελιώδες επίπεδο,  $Y(t)$  η συγκέντρωση της βιταμίνης D στο αίμα και  $Z(t)$  ο αριθμός των ενεργών οστεοκλαστών, σε χρόνο  $t$ , ο ρυθμός έκκρισης παραθορμόνης θα είναι:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{a_1}{(k_1 + Y)(k_2 + Z)} - b_1 X \quad (1)$$

με  $a_1, k_1, k_2, b_1$  θετικές σταθερές.

Επίσης, η βιταμίνη D παίζει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της συγκέντρωσης του ασβεστίου στο αίμα σε φυσιολογικά επίπεδα βελτιώνοντας την αποτελεσματικότητα της απορρόφησης ασβεστίου από το έντερο και υποβοηθώντας έμμεσα τη δημιουργία οστεοκλαστών (συντελώντας στην απελευθέρωση RANKL εκ των οστεοβλαστών). Οι οστεοκλάστες, ως γνωστόν, με την οστική απορρόφηση απελευθερώνουν το αποθηκευμένο στο οστό ασβέστιο. Επιπλέον, η αύξηση στο επίπεδο της παραθορμόνης αυξάνει τη σύνθεση καλσιτριόλης, δηλαδή την ενεργό μορφή της βιταμίνης D. Έτσι, ο ρυθμός μεταβολής της συγκέντρωσης της βιταμίνης θα είναι:

$$\frac{dY}{dt} = \frac{a_2 + a_3 X}{k_3 + Z} - b_2 Y \quad (2)$$

με  $a_2, a_3, k_3, b_2$  θετικές σταθερές.

Η παραθορμόνη και η βιταμίνη D συμβάλλουν στην ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και της οστικής απορρόφησης έμμεσα επιδρώντας στις οστεοβλάστες που ενεργοποιούν τις οστεοκλάστες. Συνεπώς η δυναμική του οστεοκλαστικού πληθυσμού περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{dZ}{dt} = \left( \frac{a_4 + a_5 X}{k_4 + X^2} \right) YZW - b_3 Z \quad (3)$$

με  $a_4, a_5, k_4, b_3$  θετικές σταθερές.

Όσον αφορά τις οστεοβλάστες έχει βρεθεί ότι η βιταμίνη D διεγείρει τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό τους. Αν  $W(t)$  ο αριθμός των ενεργών οστεοβλαστών, η δυναμική του οστεοβλαστικού πληθυσμού περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{dW}{dt} = \left( \frac{a_6 - a_7 W}{k_5 + X} \right) X + \frac{a_8 YW}{k_6 + Y} - b_4 W \quad (4)$$

με  $a_6, a_7, a_8, k_5, k_6, b_4$  θετικές σταθερές.

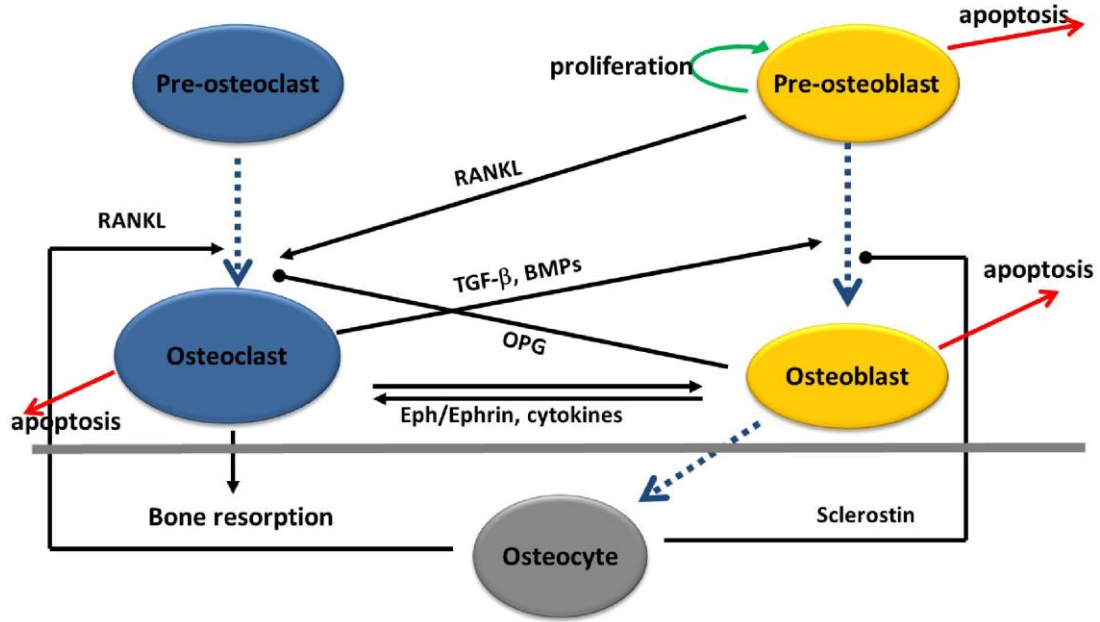
Το σύστημα των διαφορικών εξισώσεων (1), (2), (3), (4) αποτελεί ένα μη γραμμικό μαθηματικό μοντέλο οστικής αναδόμησης βασισμένο στις συγκεντρώσεις της παραθορμόνης και της βιταμίνης D, στον αριθμό των ενεργών οστεοκλαστών και στον αριθμό των ενεργών οστεοβλαστών.

#### ***4.11 Μοντελοποιώντας τον ρόλο των οστεοκυττάρων***

Οι Graham et al. (2013), βασιζόμενοι σε προηγούμενα μοντέλα κυτταρικών πληθυσμών, συμπεριέλαβαν τον ρόλο των οστεοκυττάρων σε ένα νέο μαθηματικό μοντέλο κυτταρικών πληθυσμών, αποτελούμενο από ένα σύστημα μη γραμμικών διαφορικών εξισώσεων. Συμπεριλαμβάνονται οι πληθυσμοί των οστεοκυττάρων και τα αποτελέσματα των δραστηριοτήτων τους, όπως η έκκριση σκληροστίνης και η δράση της.

Θεωρούνται οι πληθυσμοί των προ-οστεοβλαστών, των οστεοβλαστών, των οστεοκλαστών και των οστεοκυττάρων και οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις. Η αυτοκρινής και παρακρινής επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων περιγράφεται από τον εκθετικό νόμο, δηλαδή η σχετική παράμετρος μπαίνει σαν εκθέτης.

Οποσδήποτε περιλαμβάνεται το σύστημα RANK-RANKL-OPG, η δράση του αυξητικού παράγοντα TGF- $\beta$ , η δράση της σκληροστίνης η οποία δρα ανασταλτικά στο «μονοπάτι» Wnt, και γενικά η δράση των υπολοίπων κυτταροκινών (Σχήμα 4.4). Γίνεται η υπόθεση ότι κάποιο ποσοστό προ-οστεοβλαστών αποπίπτει, πριν μετατραπεί σε οστεοβλάστες.



Σχήμα 4.4 Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των οστικών κυττάρων (Πηγή: Graham et al, Plos One, 8(5), 2013)

Το «μονοπάτι» Wnt/ $\beta$ -catenin είναι γνωστό ότι προωθεί τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών. Η σκληροστίνη αναστέλλει αυτή τη δράση. Έτσι, αυτά τα δύο φαινόμενα μπορούν να αντιπροσωπευτούν από έναν όρο του τύπου  $\left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+$ , όπου  $(x)_+ = \max(x, 0)$ ,  $S$  ο πληθυσμός των οστεοκυττάρων και  $K_S$  παράμετρος που περιγράφει τη σχέση μεταξύ της οστεοκυτταρικής απόπτωσης και πώσης στα επίπεδα σκληροστίνης (δηλαδή μέχρι κάποιο όριο  $K_S$  στον οστεοκυτταρικό πληθυσμό υπάρχει επαρκής παραγωγή σκληροστίνης για την αναστολή της σήμανσης Wnt). Με τον θάνατο των οστεοκυττάρων, τα επίπεδα σκληροστίνης μειώνονται, προκαλώντας την εκκίνηση ενός κύκλου στοχευμένης οστικής αναδόμησης. Η αποτελεσματικότητα της ρύθμισης (από τη σκληροστίνη) όσον αφορά τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων σε προ-οστεοβλάστες μπορεί να αντιπροσωπευθεί από τον όρο  $\left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+^{g_{22}}$ , με  $g_{22}$  αδιάστατη παράμετρο.

Το προτεινόμενο σύστημα εξισώσεων είναι το εξής:

$$\frac{dS}{dt} = a_1 B^{g_{31}} \left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+ \quad (1)$$

$$\frac{dP}{dt} = a_2 S^{g_{21}} \left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+^{g_{22}} + a_3 P^{g_{32}} \left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+ - \beta_1 P^{f_{12}} C^{f_{14}} - \delta P \quad (2)$$

$$\frac{dB}{dt} = \beta_1 P^{f_{12}} C^{f_{14}} - \beta_2 B^{f_{23}} - a_1 B^{g_{31}} \left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+ \quad (3)$$

$$\frac{dC}{dt} = a_4 S^{g_{41}} P^{g_{42}} (\varepsilon + B)^{g_{43}} \left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+^{g_{44}} - \beta_3 C^{f_{34}} \quad (4)$$

$$\frac{dz}{dt} = -k_1 C + k_2 B \quad (5)$$

όπου:

$S$  ο αριθμός των οστεοκυττάρων σε συγκεκριμένο χρόνο,

$P$  ο αριθμός των προ-οστεοβλαστών σε συγκεκριμένο χρόνο,

$B$  ο αριθμός των οστεοβλαστών σε συγκεκριμένο χρόνο,

$C$  ο αριθμός των οστεοκλαστών σε συγκεκριμένο χρόνο,

$a_1$  ο ρυθμός ενσωμάτωσης των οστεοβλαστών στη μεσοκυττάρια ουσία ως οστεοκύτταρα,

$a_2$  ο ρυθμός διαφοροποίησης των προδρόμων των προ-οστεοβλαστών,

$a_3$  ο ρυθμός εξάπλωσης των προ-οστεοβλαστών,

$\beta_1$  ο ρυθμός διαφοροποίησης των προ-οστεοβλαστών,

$\delta$  εκφράζει την απόπτωση των προ-οστεοβλαστών,

$a_4$  ο ρυθμός διαφοροποίησης των προδρόμων των οστεοκλαστών,

$K_S$  η κρίσιμη τιμή του πληθυσμού των οστεοκυττάρων,

$k_1$  ο ρυθμός οστικής απορρόφησης,

$k_2$  ο ρυθμός οστικής δημιουργίας,

$g_{31}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της αυτοκρινούς δράσης των οστεοβλαστών,

$g_{21}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης των οστεοκυττάρων στις προ-οστεοβλάστες,

$g_{22}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της ρύθμισης της οστεοβλαστογένεσης από τη σκληροστίνη,

$g_{32}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της αυτοκρινούς δράσης των προ-οστεοβλαστών,

$g_{41}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης των οστεοκυττάρων στις οστεοκλάστες,

$g_{42}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης των προ-οστεοβλαστών στις οστεοκλάστες,

$g_{43}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης των οστεοβλαστών στις οστεοκλάστες,

$g_{44}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της ρύθμισης της οστεοβλαστογένεσης από τη σκληροστίνη,

$f_{12}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της δράσης των προ-οστεοβλαστών στις οστεοβλάστες,



$f_{14}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης των οστεοκλαστών στις οστεοβλάστες,

$f_{23}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της αυτοκρινούς δράσης των οστεοβλαστών σχετικά με την απόπτωση,

$f_{34}$  εκφράζει την αποτελεσματικότητα της αυτοκρινούς δράσης των οστεοκλαστών σχετικά με την απόπτωση,

$$(x)_+ = \max(x, 0) .$$

Έτσι, ο όρος  $a_1 B^{g_{31}} \left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+$  αναπαριστά τη μετατροπή των οστεοβλαστών σε οστεοκύτταρα και ο όρος  $\beta_1 P^{f_{12}} C^{f_{14}}$  αναπαριστά τη διαφοροποίηση των προ-οστεοβλαστών σε ώριμες οστεοβλάστες. Σχετικά με την εξίσωση (4) ο όρος  $(\varepsilon + B)^{g_{43}}$  αναπαριστά τον γνωστό ρόλο της OPG και ο όρος  $S^{g_{41}} P^{g_{42}} (\varepsilon + B)^{g_{43}} \left(1 - \frac{S}{K_S}\right)_+^{g_{44}}$  συνολικά την επίδραση του συστήματος RANK/RANKL/OPG. Στο σύστημα δεν περιλαμβάνεται καταστατική μεταβλητή για τον αριθμό των προ-οστεοκλαστών λόγω της συνηθισμένης υπόθεσης ότι στη θεωρούμενη χρονική διάρκεια υπάρχει επαρκής και σταθερή «διαθέσιμη» ποσότητα.

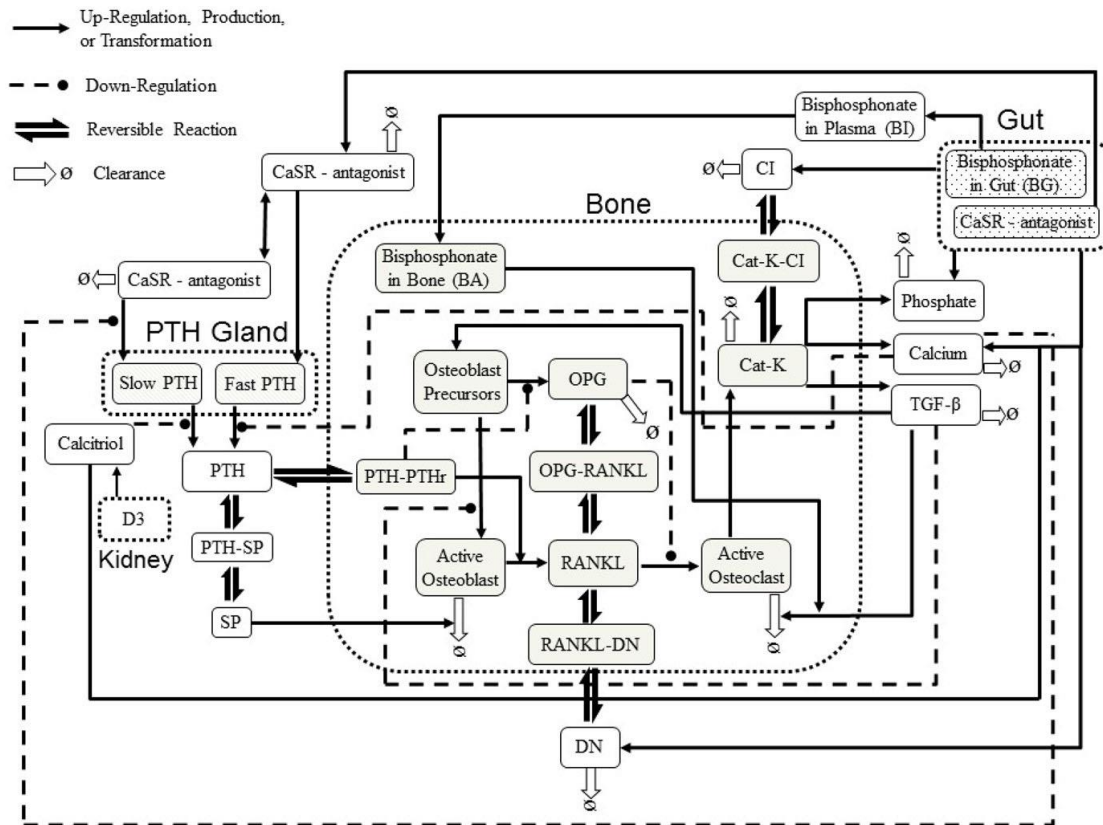
Το μαθηματικό μοντέλο μπορεί να συνοψιστεί λεκτικώς ως εξής:

Η αλλαγή στον αριθμό των οστεοκυττάρων ισούται με την αύξηση λόγω ενσωματωμένων οστεοβλαστών. Η αλλαγή στον αριθμό των προ-οστεοβλαστών οφείλεται την αύξηση λόγω διαφοροποίησης των στρωματικών κυττάρων (υπό την επίδραση σκληροστίνης και αυξητικών παραγόντων) και λόγω πολλαπλασιασμού των προ-οστεοβλαστών (υπό την επίδραση αυξητικών παραγόντων και πρωτεϊνών Wnt), αλλά και στη μείωση λόγω διαφοροποίησης σε οστεοβλάστες (δράση αυξητικών παραγόντων) και λόγω απόπτωσης. Η αλλαγή στον αριθμό των οστεοβλαστών οφείλεται στην αύξηση λόγω διαφοροποίησης των προ-οστεοβλαστών και στη μείωση λόγω απόπτωσης και μετατροπής σε οστεοκύτταρα. Η αλλαγή στον αριθμό των οστεοκλαστών οφείλεται στη αύξηση λόγω διαφοροποίησης των προ-οστεοκλαστών (που ως γνωστόν προκαλείται από τον RANKL και αναστέλλεται από την OPG), αλλά και στη μείωση λόγω απόπτωσης. Τέλος, η μεταβολή της οστικής μάζας οφείλεται στην αύξηση λόγω οστεοβλαστικής δραστηριότητας και στη μείωση λόγω οστεοκλαστικής δραστηριότητας.

## 4.12 Πολυπαραμετρική προσέγγιση

Η παρούσα πολύ πρόσφατη προσέγγιση (Ross et al., 2017) περιλαμβάνει περισσότερους παράγοντες και παραμέτρους, και ποσοτικοποιεί τη δράση κάποιων θεραπειών. Περιλαμβάνεται η συντονισμένη δράση οστεοβλαστών και οστεοκλαστών ρυθμιζόμενη από την παραθορμόνη (PTH), τον RANKL, την οστεοπροτεγερίνη (OPG), τον αυξητικό παράγοντα

μετασηματισμού (TGF- $\beta$ ), το ασβέστιο και την καθεψίνη K. Επίσης, συμπεριλαμβάνονται οστικοί βιοδείκτες απορρόφησης και δημιουργίας. Η λογική δομή φαίνεται στο σχήμα 4.5. Οι ρυθμοί διαφόρων δράσεων αποτελούν μη γραμμικές συναρτήσεις των σχετικών παραγόντων και συμβολίζονται στις εξισώσεις με  $\varphi(x)$  (Hill functions).



**Σχήμα 4.5** Παράγοντες και αλληλεπιδράσεις που ρυθμίζουν τη διαδικασία στο παρόν μοντέλο. Οι συμπαγείς γραμμές παριστάνουν αυξορύθμιση, οι διακεκομμένες γραμμές παριστάνουν μειορύθμιση, τα αμφίδρομα βέλη αντιστρεπτή αντίδραση και τα κενά βέλη «εκκαθάριση». (Πηγή: Ross et al., Bull Math Biol 79, 2017)

Θεωρούνται δύο μηχανισμοί έκκρισης της PTH από τον παραθυρεοειδή αδέν: ένας γρήγορος μηχανισμός που ενεργοποιείται από ξαφνικές αλλαγές στους υποδοχείς ανιχνευτές ασβεστίου CaSR (σε χρονική κλίμακα λεπτών της ώρας), και ένας αργός μηχανισμός που διατηρεί την ομοιοστασία του ασβεστίου στο πλάσμα του αίματος (ενεργεί σε χρονική κλίμακα ωρών). Έτσι, θεωρείται μια πηγή ταχείας απελευθέρωσης PTH και μια πηγή αργής απελευθέρωσης PTH από τον παραθυρεοειδή αδέν. Εισάγονται τα εξής μεγέθη: η συγκέντρωση PTH στο πλάσμα του αίματος ( $PP$ ), η συγκέντρωση PTH στον παραθυρεοειδή αδέν για ταχεία απελευθέρωση ( $PF$ ), η συγκέντρωση PTH στον παραθυρεοειδή αδέν για αργή απελευθέρωση ( $PS$ ), ο ρυθμός εξωτερικής χορήγησης PTH στο πλάσμα του αίματος ( $I_{PP}$ ), η συγκέντρωση ασβεστίου στο πλάσμα του αίματος ( $CA$ ), η συγκέντρωση καλσιτριόλης στο πλάσμα του αίματος ( $CT$ ), η συγκέντρωση του ανταγωνιστή του CaSR ( $MA$ ), η συγκέντρωση του ανταγωνιστή του CaSR στο πλάσμα του αίματος ( $MP$ ). Χρησιμοποιώντας μη γραμμικές

συναρτήσεις των  $CA$ ,  $CT$ ,  $MP$ ,  $MA$ , γίνεται προσαρμογή στα δεδομένα: ο ρυθμός εξάντλησης της πηγής γρήγορης απελευθέρωσης θεωρείται  $\varphi_1(MP, CA)$ , ο ρυθμός ανανέωσης στο επίπεδο αναφοράς της συγκέντρωσης καλσιτριόλης θεωρείται  $k_3 + \varphi_2(MA, CA)$ , και η εξάρτηση της αργής παραγωγής PTH από τη συγκέντρωση καλσιτριόλης εκφράζεται από την  $\varphi_{10}(CT)$ . Θεωρώντας ως  $k_1$  τον ρυθμό ανανέωσης της πηγής γρήγορης απελευθέρωσης PTH,  $k_2$  τον ρυθμό κορεσμού της συγκέντρωσης στην πηγή γρήγορης απελευθέρωσης PTH,  $k_3$  τον ρυθμό κορεσμού στο επίπεδο αναφοράς της πηγής αργής απελευθέρωσης PTH,  $k_4$  τον ρυθμό μεταφοράς στο πλάσμα του αίματος της «αργής» PTH και  $k_5$  τον ρυθμό «εκκαθάρισης» της PTH, έχουμε για τη δυναμική της PTH:

$$\frac{dPP}{dt} = I_{PP}(t) + \varphi_1(MP, CA)PF + k_4PS - k_5PP \quad (1)$$

$$\frac{dPS}{dt} = [k_3 + \varphi_2(MA, CA)]\varphi_{10}(CT) - k_4PS \quad (2)$$

$$\frac{dPF}{dt} = k_1 + k_2(PF_0 - PF) - \varphi_1(MP, CA)PF \quad (3)$$

Όσον αφορά τις οστεοβλάστες, τα κύτταρα ως γνωστόν ωριμάζουν αφού περάσουν από το στάδιο των οστεοβλαστικών προδρόμων, η συγκέντρωση των οποίων είναι  $RR$ . Η πρόσδεση του TGF- $\beta$  στους κυτταρικούς υποδοχείς προωθεί τη διαφοροποίηση μέχρι το στάδιο των οστεοβλαστικών προδρόμων, αλλά αναστέλλει την περαιτέρω ωρίμανση σε ενεργές οστεοβλάστες. Η συγκέντρωση του TGF- $\beta$  στο πλάσμα του αίματος συμβολίζεται με  $TT$ . Η ποσότητα του TGF- $\beta$  που προσδένεται στους υποδοχείς είναι αμελητέα σε σχέση με τη συγκέντρωση του TGF- $\beta$  στο πλάσμα του αίματος και επομένως η τελευταία δεν επηρεάζεται από την πρόσδεση. Αν  $\varphi_3(TT)$  ο ρυθμός διαφοροποίησης των κυττάρων σε οστεοβλαστικούς προδρόμους και  $\varphi_4(TT)$  ο ρυθμός διαφοροποίησης των οστεοβλαστικών προδρόμων σε ενεργές οστεοβλάστες, έχουμε για τη δυναμική των οστεοβλαστικών προδρόμων:

$$\frac{dRR}{dt} = \varphi_3(TT) - \varphi_4(TT)RR \quad (4)$$

Οι οστεοβλαστικοί πρόδρομοι μετατρέπονται ως γνωστόν σε ενεργές οστεοβλάστες και οι ενεργές οστεοβλάστες κάποια στιγμή αποπίπτουν. Η απόπτωση εξαρτάται από μια θεωρούμενη σηματοδοτική πρωτεΐνη. Η επίδραση αυτής της πρωτεΐνης στον ρυθμό απόπτωσης εκφράζεται από τη συνάρτηση  $\varphi_{13}$ . Αν  $k_6$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης για τις ενεργές οστεοβλάστες ( $BB$ ), η εξίσωση για τη δυναμική τους είναι:

$$\frac{dBB}{dt} = \varphi_4(TT)RR - k_6\varphi_{13}(SP)BB \quad (5)$$

Στο μοντέλο αυτό, η PTH που έχει προσδεθεί στις οστεοβλάστες απομακρύνει τη θεωρούμενη σηματοδοτική πρωτεΐνη από το σύστημα, συλλέγοντάς τη και σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο με αυτή, το οποίο δεν επιδρά στην απόπτωση των οστεοβλαστών. Με τη συγκέντρωση της

σηματοδοτικής πρωτεΐνης να είναι  $SP$  και τη συγκέντρωση της προσδεδεμένης στις οστεοβλάστες παραθορμόνης (PTH) να είναι  $PB$ , η ποσότητα της σηματοδοτικής πρωτεΐνης που έχει δεσμευτεί από την PTH θα είναι  $k_{38}SP \cdot PB$ . Πέρα από αυτόν το μηχανισμό η συγκέντρωση της σηματοδοτικής πρωτεΐνης διατηρείται στο επίπεδο αναφοράς  $SP = 1$ . Έτσι,

$$\frac{d(SP + k_{38}SP \cdot PB)}{dt} = k_{35}(1 - SP) \quad \text{ή}$$

$$\frac{dSP}{dt} = \frac{k_{35}(1 - SP)}{1 + k_{38}PB} - \frac{k_{38}SP}{1 + k_{38}PB} \cdot \frac{dPB}{dt} \quad (6)$$

όπου  $k_{35}$  και  $k_{38}$  ρυθμοί εξισορρόπησης.

Η σχέση ισορροπίας μεταξύ της προσδεδεμένης στις οστεοβλάστες παραθορμόνης (PTH) και αυτής στο πλάσμα του αίματος είναι:

$$\frac{dPB}{dt} = k_{33}(1 - PB)PP - k_{34}PB \quad (7)$$

όπου  $k_{33}$  ο ρυθμός προσκόλλησης της PTH και  $k_{34}$  ο ρυθμός αποκόλλησης της PTH.

Η ποσότητα PTH που προσδέεται στις οστεοβλάστες είναι αμελητέα σε σχέση με την ποσότητα PTH στο πλάσμα του αίματος και επομένως η τελευταία δεν επηρεάζεται.

Όσον αφορά τον RANKL (η συγκέντρωση του συμβολίζεται με  $RL$ ), ο ρυθμός παραγωγής του θα είναι ανάλογος της συγκέντρωσης των ενεργών οστεοβλαστών ( $BB$ ) και επίσης αύξουσα συνάρτηση της PTH που έχει προσδεθεί στους οστεοβλαστικούς υποδοχείς, ήτοι  $\varphi_7(PB)$ . Εκτός από τη γνωστή δέσμευση RANKL-OPG, λαμβάνεται υπόψιν και η επίδραση αναστολέων της δράσης του RANKL, όπως η δανοσουμάμπη (denosumab). Συμβολίζοντας με  $OO$  τη συγκέντρωση της OPG,  $RR$  τη συγκέντρωση των οστεοβλαστικών προδρόμων,  $RO$  τη συγκέντρωση του συμπλόκου RANKL-OPG,  $DN$  τη συγκέντρωση αναστολέα του RANKL,  $RD$  τη συγκέντρωση του συμπλόκου RANK-αναστολέα του, η εξίσωση για τη δυναμική του RANKL είναι:

$$\frac{dRL}{dt} = \varphi_7(PB)BB - k_7RL - k_8RL \cdot OO + k_9RO - k_{43}RL \cdot DN + k_{44}RD \quad (8)$$

όπου  $k_7$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» του RANKL,  $k_8$  ο ρυθμός αντίδρασης RANKL με OPG,  $k_9$  ο ρυθμός αποδέσμευσης RANKL και OPG,  $k_{43}$  ο ρυθμός αντίδρασης καθεψίνης K και αναστολέα της,  $k_{44}$  ο ρυθμός της αντίστροφης της προαναφερθείσας αντίδρασης.

Ο ρυθμός παραγωγής της OPG θεωρείται ανάλογος της συγκέντρωσης των ενεργών οστεοβλαστών και είναι φθίνουσα συνάρτηση της PTH που έχει προσδεθεί στους οστεοβλαστικούς υποδοχείς, ήτοι  $\varphi_8(PB)$ . Έτσι, η εξίσωση για τη δυναμική της OPG είναι:

$$\frac{dOO}{dt} = \varphi_8(PB)RR - k_{10}OO - k_8RL \cdot OO + k_9RO \quad (9)$$

όπου  $k_{10}$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» της OPG,  $k_8$  ο ρυθμός αντίδρασης RANKL με OPG,  $k_9$  ο ρυθμός αποδέσμευσης RANKL και OPG.

Για το σύμπλοκο RANKL-OPG έχουμε:

$$\frac{dRO}{dt} = k_8 RL \cdot OO - k_9 RO \quad (10)$$

Για έναν χορηγούμενο αναστολέα του RANKL, με ρυθμό χορήγησης  $I_{DN}(t)$ , θα ισχύει:

$$\frac{dDN}{dt} = I_{DN}(t) - k_{49} DN - k_{47} DN \cdot RL + k_{48} RD \quad (11)$$

όπου  $k_{47}$  ο ρυθμός δέσμευσης RANKL και του αναστολέα του,  $k_{48}$  ο ρυθμός αποδέσμευσης RANKL και αναστολέα του,  $k_{49}$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» του αναστολέα του RANKL.

Για το σύμπλοκο RANKL-αναστολέα του θα ισχύει:

$$\frac{dRD}{dt} = -k_{48} RD + k_{47} DN \cdot RL - k_{50} RD \quad (12)$$

όπου  $k_{50}$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» του συμπλόκου RANKL-αναστολέα του.

Για την εξέλιξη του ενεργού οστεοκλαστικού πληθυσμού λαμβάνονται υπόψιν τα εξής: η εξάρτηση του ρυθμού διαφοροποίησης των προδρόμων σε ενεργά κύτταρα από τον RANKL, που εκφράζεται από μια αύξουσα συνάρτηση  $\varphi_5(RL)$ , η εξάρτηση του ρυθμού απόπτωσης από τον TGF- $\beta$ , που εκφράζεται από μια αύξουσα συνάρτηση  $\varphi_6(TT)$ , και η επίδραση διψωφονικών στην απόπτωση, που εκφράζεται από μια αύξουσα συνάρτηση  $\varphi_{14}(BA)$ , όπου  $BA$  η συγκέντρωση διψωφονικών στο οστό. Επομένως η συγκέντρωση  $CC$  των ενεργών οστεοκλαστών θα μεταβάλλεται σύμφωνα με την:

$$\frac{dCC}{dt} = \varphi_5(RL) - \varphi_{14}(BA)\varphi_6(TT)CC \quad (13)$$

Η κάθε οστεοκλάστη θεωρείται ότι φέρει κάποια ποσότητα καθεψίνης K (η συγκέντρωσή της συμβολίζεται με  $KK$ ) και έτσι ο ρυθμός παραγωγής καθεψίνης K θα είναι ανάλογος του ρυθμού διαφοροποίησης των οστεοκλαστών  $\varphi_5(RL)$  και ο ρυθμός «εκκαθάρισης» της καθεψίνης K θα είναι ίδιος με τον αντίστοιχο των οστεοκλαστών. Επίσης, η καθεψίνη K, αποδομώντας το κολλαγόνο, αποδομείται και η ίδια, κάτι που μπορεί να εκφραστεί με μια αύξουσα συνάρτηση  $\varphi_9(KK)$  ανάλογη του ρυθμού οστικής απορρόφησης. Ο αναστολέας της καθεψίνης K, η συγκέντρωση του οποίου συμβολίζεται με  $CI$ , προσδένεται σε αυτήν και αναστέλλει τη δραστηριότητα αποδόμησης. Η συγκέντρωση του συμπλόκου καθεψίνης K και αναστολέα της συμβολίζεται με  $KI$ . Αν  $k_{11}$  ο ρυθμός παραγωγής της καθεψίνης K,  $k_{43}$  ο ρυθμός αντίδρασης καθεψίνης K και αναστολέα της και  $k_{44}$  ο ρυθμός της αντίστροφης αντίδρασης, θα ισχύει:

$$\frac{dKK}{dt} = k_{11}\varphi_5(RL) - \varphi_{14}(BA)\varphi_6(TT)KK - k_{43}KK \cdot CI + k_{44}KI - \varphi_9(KK) \quad (14)$$

Κατά την οστική απορρόφηση απελευθερώνονται ασβέστιο, φωσφορικό άλας και TGF-β ( $TT$ ), που βρίσκονται αποθηκευμένα στο οστό. Βέβαια, ασβέστιο και φωσφορικό άλας παράγονται και από άλλες διαδικασίες και μπορούν να χορηγηθούν και ως θεραπεία. Έστω  $CA$  η συγκέντρωσή του ασβεστίου στο πλάσμα του αίματος και  $PO$  η συγκέντρωσή του φωσφορικού άλατος στο πλάσμα του αίματος. Θα έχουμε τις εξισώσεις (15), (16), (17):

$$\frac{dTT}{dt} = k_{14}\varphi_9(KK) - k_{15}TT \quad (15)$$

με  $k_{14}$  ρυθμό απελευθέρωσης TGF-β ανά μονάδα αποδομούμενου κολλαγόνου,  $k_{15}$  ρυθμό «εκκαθάρισης» του TGF-β.

$$\frac{dCA}{dt} = I_{CA}(t) + k_{17} + k_{16}\varphi_9(KK) - k_{12}CA \quad (16)$$

με  $I_{CA}(t)$  ρυθμό χορήγησης ασβεστίου,  $k_{17}$  ρυθμό παραγωγής ασβεστίου,  $k_{16}$  ρυθμό απελευθέρωσης ασβεστίου ανά μονάδα αποδομούμενου κολλαγόνου,  $k_{12}$  ρυθμό εξάλειψης του ασβεστίου.

$$\frac{dPO}{dt} = I_{PO}(t) + k_{21} + k_{22}\varphi_9(KK) - k_{23}PO \quad (17)$$

με  $I_{PO}(t)$  ρυθμό χορήγησης φωσφορικού άλατος,  $k_{21}$  ρυθμό παραγωγής φωσφορικού άλατος εκτός οστού,  $k_{22}$  ρυθμό απελευθέρωσης  $PO_4$  ανά μονάδα αποδομούμενου κολλαγόνου,  $k_{23}$  ρυθμό εκκαθάρισης  $PO_4$ .

Σχετικά τώρα με την καλσιτριόλη, αυτή μειορρυθμίζει την έκκριση PTH (από τη θεωρούμενη πηγή αργής απελευθέρωσης). Στο μοντέλο περιλαμβάνεται η μετατροπή του 1-α-OH τύπου της βιταμίνης D3, που παράγεται στα νεφρά, σε καλσιτριόλη. Συμβολίζοντας με  $D3$  τη συγκέντρωση της βιταμίνης D3 (του προαναφερθέντος τύπου) στα νεφρά και  $CT$  τη συγκέντρωση καλσιτριόλης στο πλάσμα του αίματος, έχουμε τις εξισώσεις (18) και (19):

$$\frac{dD3}{dt} = I_{D3}(t) + k_{26} - k_{24}D3 \quad (18)$$

με  $I_{D3}$  ρυθμό χορήγησης βιταμίνης D3,  $k_{26}$  ρυθμό παραγωγής 1-α-OH/D3 στα νεφρά,  $k_{24}$  ρυθμό μετατροπής 1-α-OH/D3 σε καλσιτριόλη.

$$\frac{dCT}{dt} = k_{27} + k_{24}D3 - k_{25}CT \quad (19)$$

με  $k_{27}$  ρυθμό παραγωγής καλσιτριόλης,  $k_{24}$  ρυθμό μετατροπής 1-α-OH/D3 σε καλσιτριόλη,  $k_{25}$  ρυθμό «εκκαθάρισης» της καλσιτριόλης.

Εκτός από τη χορήγηση ασβεστίου, φωσφορικού άλατος, βιταμίνης D και παραθορμόνης, που περιλαμβάνεται στις παραπάνω εξισώσεις, εισάγεται στο μοντέλο η δράση θεραπειών με διφωσφονικά, με ασβεστιολυτικά (calcilytics) και αναστολείς της καθεψίνης K.

Τα ασβεστιολυτικά εισέρχονται στο σύστημα από το στομάχι και μπλοκάρουν τους υποδοχείς  $Ca^{2+}$  στον παραθυροειδή αδένα και συνεπώς προάγουν την παραγωγή PTH. Έστω  $MG$  η ποσότητα ασβεστιολυτικού στο στομάχι,  $f_{MG}(t)$  ο ρυθμός εισαγωγής του στο σύστημα και  $k_{18}$  ο ρυθμός μεταφοράς του από το στομάχι στο πλάσμα του αίματος. Τότε:

$$\frac{dMG}{dt} = f_{MG}(t) - k_{18}MG \quad (20)$$

Για τη συγκέντρωση  $MP$  του ασβεστιολυτικού στο πλάσμα του αίματος, με ρυθμό «εκκαθάρισης»  $k_{19}$ , θα ισχύει:

$$\frac{dMP}{dt} = k_{18}MG - k_{19}MP \quad (21)$$

Επίσης, για να εξηγηθούν κάποια δεδομένα (χωρίς να υπάρχει κάποιος συγκεκριμένος μηχανισμός υπόψιν), οι Ross et al. θεωρούν ότι ένα μέρος του ασβεστιολυτικού επηρεάζει το «ξαναγέμισμα» της πηγής αργής απελευθέρωσης PTH. Για το λόγο αυτό εισάγουν την εξίσωση (22) σχετικά με την απομάκρυνσή του από το πλάσμα του αίματος:

$$\frac{dMA}{dt} = k_{20}(MP - MA) \quad (22)$$

όπου  $MA$  η συγκέντρωση στο πλάσμα του αίματος του περί ου ο λόγος τμήματος του ασβεστιολυτικού και  $k_{20}$  ο ρυθμός μεταφοράς.

Η δράση των διφωσφονικών συνοψίζεται στην προσκόλληση τους στον υδροξυαπατίτη και την αποτροπή της διάλυσής του από τις οστεοκλάστες. Τα διφωσφονικά εισέρχονται στον οργανισμό από το στομάχι και έπειτα εισέρχονται στο αίμα. Έστω  $BG$  η ποσότητα διφωσφονικών στο στομάχι,  $f_{BG}(t)$  ο ρυθμός χορήγησης και  $k_{39}$  ο ρυθμός μεταφοράς από το στομάχι. Τότε:

$$\frac{dBG}{dt} = f_{BG}(t) - k_{39}BG \quad (23)$$

Κάποια ποσότητα διφωσφονικών εισέρχεται μέσα στο οστό και προσκολλάται στον υδροξυαπατίτη, αλλά αυτή η ποσότητα, όντας μικρή, δεν επηρεάζει τη συγκέντρωση στο πλάσμα του αίματος. Έστω  $BI$  η συγκέντρωση διφωσφονικών στο πλάσμα του αίματος και  $k_{40}$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» από το πλάσμα. Τότε:

$$\frac{dBI}{dt} = k_{39}BG - k_{40}BI \quad (24)$$

Επίσης, αν  $BA$  η συγκέντρωση διφωσφονικών στο οστό,  $k_{41}$  ο ρυθμός μεταφοράς από το πλάσμα του αίματος στο οστό και  $k_{42}$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» στο οστό, θα είναι:

$$\frac{dBA}{dt} = k_{41}BI(1 - BA) - k_{42}BA \quad (25)$$

Για τη θεραπεία με αναστολείς της καθεψίνης K έχουμε τις εξισώσεις (26) και (27):

$$\frac{dCI}{dt} = f_{CI}(t) - k_{43}KK \cdot CI + k_{44}KI - k_{45}CI \quad (26)$$

$$\frac{dKI}{dt} = k_{43}KK \cdot CI - k_{44}KI \quad (27)$$

όπου  $CI$  η συγκέντρωση του αναστολέα της καθεψίνης  $K$ ,  $KK$  η συγκέντρωση της καθεψίνης  $K$ ,  $KI$  η συγκέντρωση του συμπλόκου τους,  $k_{43}$  ο ρυθμός αντίδρασης καθεψίνης  $K$  και αναστολέα της,  $k_{44}$  ο ρυθμός της αντίστροφης αντίδρασης,  $k_{45}$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» του αναστολέα.

Οι Ross et al. συμπεριλαμβάνουν και οστικούς βιοδείκτες στο μαθηματικό μοντέλο: το C-τελικό τελοπεπτίδιο (CTX) και το N-τελικό προπολυπεπτίδιο προκολλαγόνου τύπου I (P1NP). Το CTX είναι προϊόν της αποδόμησης του κολλαγόνου, είναι δείκτης οστικής απορρόφησης και παράγεται με ρυθμό ανάλογο της απορρόφησης,  $\varphi_9(KK)$ :

$$\frac{dCX}{dt} = \varphi_{11}(\varphi_9(KK) - \varphi_9(KK_0)) - k_{36}(CX - 1) \quad (28)$$

όπου  $CX$  η συγκέντρωση CTX στον ορό του αίματος,  $KK$  η συγκέντρωση καθεψίνης  $K$ ,  $k_{36}$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» του CTX.

Το P1NP είναι δείκτης οστικής δημιουργίας και ο ρυθμός εισόδου του στο πλάσμα του αίματος θεωρείται ανάλογος της συγκέντρωσης των οστοβλαστών:

$$\frac{dP1}{dt} = k_{28}(BB - BB_0) - k_{29}(P1 - 1) \quad (29)$$

όπου  $P1$  η συγκέντρωση P1NP στον ορό του αίματος,  $BB$  η συγκέντρωση των ενεργών οστεοβλαστών,  $k_{28}$  ο ρυθμός παραγωγής P1NP από τις οστεοβλάστες,  $k_{29}$  ο ρυθμός «εκκαθάρισης» του P1NP.

Τέλος, κύριο σημείο αναφοράς αποτελεί η πυκνότητα κρυσταλλοποιημένου οστού, η οποία θα εξαρτάται βασικά από την αναλογία οστεοβλαστών και οστεοκλαστών:

$$\frac{dBM}{dt} = k_{30} \left( \frac{BB}{CC} - k_{32} \right) - k_{31}(BM - 1) \quad (30)$$

όπου  $BM$  ο λόγος της πυκνότητας κρυσταλλοποιημένου οστού προς την βασική της τιμή αναφοράς,  $k_{30}$  μια παράμετρος,  $k_{31}$  ο ρυθμός εξισορρόπησης της πυκνότητας,  $k_{32}$  βασική τιμή αναφοράς του λόγου των οστεοκλαστών προς τις οστεοβλάστες. Ο τελευταίος όρος εξασφαλίζει ότι απουσία θεραπείας η πυκνότητα κρυσταλλοποιημένου οστού θα επανέλθει στη βασική τιμή αναφοράς της, τη μονάδα. Πρέπει να σημειωθεί ότι οι αλλαγές στην πυκνότητα του οστού, ειδικά εξαιτίας θεραπειών, δεν είναι ομογενείς στα οστά.



### **4.13 Σύνοψη συγκρίσεων**

Τα μαθηματικά μοντέλα οστικής αναδόμησης βιολογικής προσέγγισης είναι γενικά πιο πρόσφατα από τα αντίστοιχα μηχανικής προσέγγισης, καθώς παλαιότερα δεν είχαν ανακαλυφθεί οι μοριακοί μηχανισμοί που κυβερνούν τη διαδικασία.

Τα μοντέλα κυτταρικών πληθυσμών περιγράφουν τη δυναμική των κυτταρικών πληθυσμών και των εμπλεκόμενων ουσιών σχετίζοντάς την με αλλαγές στη μάζα ή την πυκνότητα του οστού. Περιγράφεται ο ρόλος της αυτοκρινούς και παρακρινούς δράσης. Όπως είδαμε κάποια μοντέλα περιγράφουν άμεσα βιοχημικές διεργασίες και ποσότητες, όπως η αλληλεπίδραση κυττάρων και κυταροκινών, ενώ κάποια τις λαμβάνουν έμμεσα υπόψιν στις παραμέτρους. Έτσι, υπάρχει μια διάκριση ως προς τον αριθμό των παραγόντων και των παραμέτρων που περιλαμβάνονται στις εξισώσεις. Τα πιο λιτά μοντέλα μπορεί να είναι πιο εύκολα για διαισθητική κατανόηση αλλά πολλές φορές δεν ταιριάζουν με τα πειραματικά δεδομένα και δε δύνανται να τα εξηγήσουν.

Κάποια μοντέλα περιγράφουν τον ρόλο των οστεοκλαστών και οστεοβλαστών στις εξισώσεις χωρίς να περιλαμβάνουν τα οστεοκύτταρα, ενώ κάποια πιο πρόσφατα περιλαμβάνουν ρητά και τα οστεοκύτταρα, που όπως έχουμε αναφέρει λειτουργούν ως μηχανοαισθητήρες, σύμφωνα με σχετικά πρόσφατες έρευνες.

Επίσης μερικές προσεγγίσεις είναι χωροχρονικές ενώ άλλες απλά χρονικές.



# 5

## *Μαθηματικά Μοντέλα Οστικής Αναδόμησης*

### *βάσει Βιολογικών και Μηχανικών Παραγόντων*

#### *5.1 Συμπεριλαμβάνοντας την επίδραση μηχανικού φορτίου*

##### *(μέσω των οστεοκυττάρων)*

Το μαθηματικό μοντέλο οστικής προσαρμογής και αναδόμησης των Maldonado et al. (2006) περιλαμβάνει βιολογικούς - μεταβολικούς και μηχανικούς παράγοντες και αποτυπώνει τον ρόλο των οστεοκυττάρων ως μηχανοαισθητήρες. Χαρακτηριστικό είναι ότι λαμβάνεται υπόψη η θετική επίδραση του νιτρικού οξέος (NO) και της προσταγλανδίνης E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) διότι ευνοούν την οστεοπαραγωγή έναντι της οστεόλυσης.

Το οστό θεωρείται ως ένας ιδανικός κύλινδρος με κυκλική επιφάνεια  $A_B = \pi r_B^2$  (1)

Η ακτίνα  $r_B$  εξαρτάται από τη δραστηριότητα του οστεοκλαστικού πληθυσμού  $X_c$  με ρυθμό απορρόφησης  $k_{res}$ , τη δραστηριότητα του οστεοβλαστικού πληθυσμού  $X_b$  με ρυθμό δημιουργίας  $k_{for}$ , και τη δραστηριότητα του οστεοκυτταρικού πληθυσμού  $X_y$ . Η μεταβολή της ακτίνας θεωρείται ως μέτρο για την περιγραφή της οστικής προσαρμογής κατά τη διάρκεια ενός κύκλου οστικής αναδόμησης, με διεγείρουσα αιτία κάποιο μηχανικό φορτίο.

$$\frac{dr_B}{dt} = \frac{-k_{res}}{X_c} x_c + \frac{k_{for}}{X_b} x_b + \frac{1}{X_y} x_y - k_{rB} r_B \quad (2)$$

Οι παράμετροι  $X_c$ ,  $X_b$ ,  $X_y$  αφορούν τις οστεοκλάστες, οστεοβλάστες και τα οστεοκύτταρα αντίστοιχα και η  $k_{rB}$  αφορά τη μεταβολή της ακτίνας.

Ο πληθυσμός των οστεοκυττάρων εξαρτάται αποκλειστικά από τη διαφοροποίηση του οστεοβλαστικού πληθυσμού. Επομένως:

$$\frac{dx_y}{dt} = k_{byp}(x_b - X_{bss}) - k_{yd}(x_y - X_{yss}) \quad (3)$$

όπου  $k_{byp}$  σταθερά ρυθμού διαφοροποίησης των οστεοβλαστών,  $k_{yd}$  σταθερά ρυθμού απόπτωσης των οστεοκυττάρων και  $X_{bss}$ ,  $X_{yss}$  παράμετροι.

Τα οστεοκύτταρα, ως μηχανοαισθητήρες, απελευθερώνουν NO (νιτρικό οξύ) και PGE<sub>2</sub> (προσταγλανδίνη E<sub>2</sub>). Το μηχανικό αξονικό φορτίο  $F_a$  εφαρμοζόμενο σε περιοχή εμβαδού  $A_B$  δημιουργεί καταπόνηση  $F_S$ ,  $F_S = \frac{F_a}{A_B}$ . (4)

Η διεγείρουσα δύναμη  $F_{sti}$  θα εξαρτάται από το πλήθος των οστεοκυττάρων  $x_y$  στην περιοχή:

$$F_{sti} = \frac{F_S x_y}{1 + \exp[-(k_{F_S} F_S + k_y x_y)]} \quad (5)$$

Η δυναμική του NO εξαρτάται από την  $F_{sti}$ , τη σταθερά ρυθμού εκκρίσεως (από τα οστεοκύτταρα)  $k_{yno}$ , τη σταθερά ρυθμού αποδόμησης και την εξωτερική παράμετρο  $X_{noe}$ :

$$\frac{dx_{no}}{dt} = k_{yno} F_{sti} - k_{nod} x_{no} + X_{noe} \quad (6)$$

Με την ίδια λογική για την PGE<sub>2</sub>:

$$\frac{dx_{pge}}{dt} = k_{ypge} F_{sti} - k_{norpge} x_{no} - k_{pged} x_{pge} + X_{pge} \quad (7)$$

Το NO αυξάνει τα επίπεδα της OPG όταν υπάρχει μηχανική καταπόνηση. Επίσης το επίπεδο της OPG εξαρτάται από τον όρο αποδόμησης  $x_r$ , από τον βαθμό κατάληψης  $\pi_c$  του TGF- $\beta$  υποδοχέα και από μια εξωτερική παράμετρο:

$$\frac{dx_{opg}}{dt} = K_o^p \pi_c x_r + I_o + k_{norpg} x_{no} - k_{opgd} x_{opg} \quad (8)$$

Το NO μειώνει τα επίπεδα RANKL όταν υπάρχει μηχανική καταπόνηση. Το επίπεδο RANKL  $x_{kl}$  επηρεάζεται από την αναλογία κατάληψης RANKL/RANK και από μια εξωτερική παράμετρο:

$$\frac{dx_{kl}}{dt} = r_l + I_l - k_{nokl} x_{no} - r_l \frac{1 + \frac{k_1}{k_2} x_{opg} + \frac{k_3}{k_4} K}{K_l^p \pi_p x_b} x_{kl} \quad (9)$$

Η PGE<sub>2</sub>, σύμφωνα με μελέτες, επιδρά θετικά στην οστική παραγωγή και ο αριθμός των πρώιμων οστεοβλαστών  $x_r$  αυξάνεται με την PGE<sub>2</sub>:

$$\frac{dx_r}{dt} = D_R \pi_c - \frac{D_B}{\pi_c} x_r - k_{pger} x_{pge} \quad (10)$$

Για τη δυναμική των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών έχουμε αντίστοιχα:

$$\frac{dx_b}{dt} = \frac{D_B}{\pi_c} x_r - k_B x_b \quad (11)$$

$$\frac{dx_c}{dt} = D_c \pi_L - D_A \pi_c x_c \quad (12)$$

όπου  $\pi_c$  ο βαθμός κατάληψης των TGF- $\beta$  υποδοχέων και  $\pi_L$  ο βαθμός κατάληψης των RANK υποδοχέων.

## 5.2 Επέκταση του μοντέλου των Komarova et al. (2003) ώστε να συμπεριληφθούν τα εξωτερικά μηχανικά φορτία

Μια προσπάθεια μοντελοποίησης της προσαρμογής του οστού σε μηχανικά ερεθίσματα έγινε από τους Bonfoh et al. (2011), προσθέτοντας μηχανικούς παράγοντες στο μοντέλο οστικής αναδόμησης των Komarova et al. [ενότητα 4.3].

Το μοντέλο των Komarova et al. (2003), όπως έχουμε δει, περιγράφει τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων χρησιμοποιώντας παραμέτρους που περιγράφουν τις αυτοκρινείς και παρακρινείς δραστηριότητες, σε ένα σύστημα διαφορικών εξισώσεων:

$$\begin{aligned} \frac{dn_1}{dt} &= a_1 n_1^{g_{11}} n_2^{g_{21}} - \beta_1 n_1 \\ \frac{dn_2}{dt} &= a_2 n_1^{g_{12}} n_2^{g_{22}} - \beta_2 n_2 \end{aligned} \quad \text{Σύστημα (1)}$$

Οι δείκτες 1,2 αναφέρονται στις οστεοκλάστες και οστεοβλάστες αντίστοιχα.

$n_i$  είναι το πλήθος των κυττάρων του θεωρούμενου τύπου που υποδεικνύεται από τον δείκτη,  $a_i$  ο ρυθμός παραγωγής του υποδεικνυόμενου τύπου κυττάρων,  $\beta_i$  ο ρυθμός απομάκρυνσής του. Οι παράμετροι  $g_{ij}$  αντιπροσωπεύουν την επίδραση των παραγόντων που εκπορεύονται από τον τύπο κυττάρων και επιδρούν στον τύπο κυττάρων  $j$  ( $i=1,2$  και  $j=1,2$ ).

Για τη μεταβολή της οστικής μάζας ισχύει (σε όρους ποσοστού της αρχικής μάζας):

$$\frac{dm}{dt} = -k_1 N_1 + k_2 N_2 \quad (2)$$

Το  $k_i$  αντιπροσωπεύει τις (κανονικοποιημένες) δραστηριότητες και το  $N_i$  τον αριθμό των ενεργών κυττάρων τύπου  $i$  που ορίζονται ως εξής:

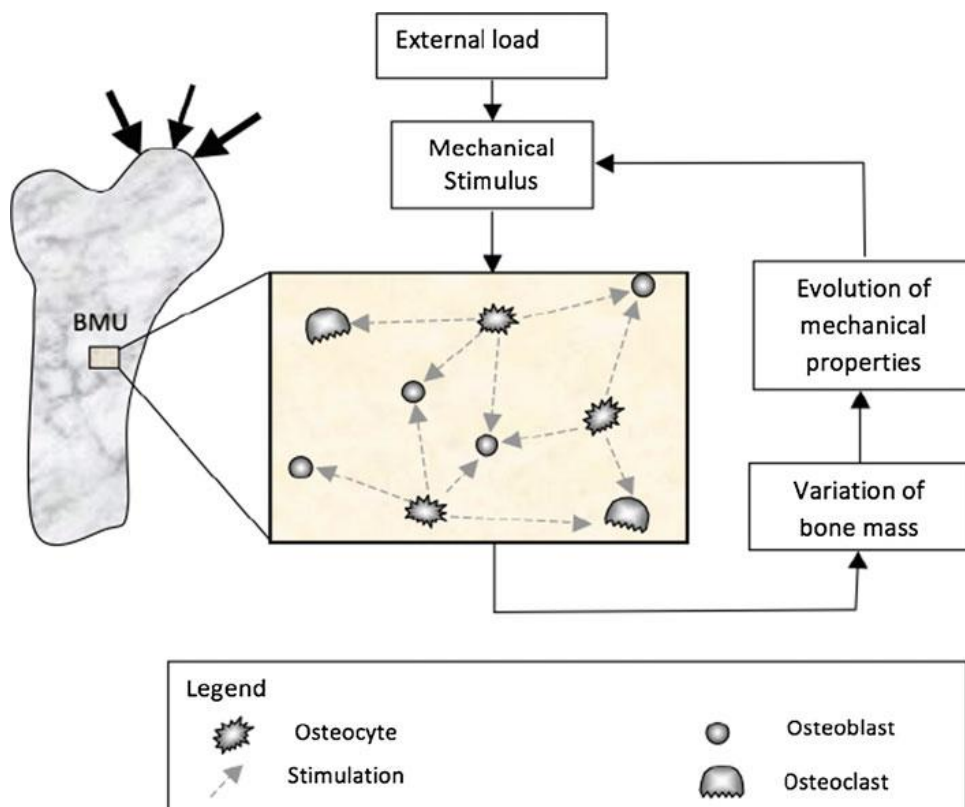
$$N_i = H(n_i - \bar{n}_i) \quad (3)$$

όπου  $\bar{n}_i$  ο αριθμός των κυττάρων τύπου  $i$  στη σταθερή κατάσταση και  $H$  η συνάρτηση ράμπας:

$$H(x - x_0) = \frac{(x - x_0) + \text{abs}(x - x_0)}{2} \quad (4)$$

Οι αλλαγές στην οστική μάζα όμως, που εξαρτώνται από τις δραστηριότητες των οστικών κυττάρων, σχετίζονται και με μηχανικά ερεθίσματα. Το παρόν μοντέλο επιχειρεί να διαφωτίσει τον τρόπο με τον οποίο με τον οποίο επηρεάζονται και μεταβάλλονται οι αυτοκρινείς και

παρακρινείς διαδικασίες εξαιτίας μηχανικών ερεθισμάτων. Είναι γενικά αποδεκτό ότι τα οστεοκύτταρα λειτουργούν ως μηχανικοί αισθητήρες και μεταφέρουν την πληροφορία στις προ-οστεοκλάστες και προ-οστεοβλάστες, που τη μετατρέπουν σε αυτοκρινείς και παρακρινείς δράσεις, οι οποίες με τη σειρά τους επιδρούν στους οστεοκλαστικούς και οστεοβλαστικούς πληθυσμούς μιας βασικής πολυκυτταρικής μονάδας. Η κεντρική ιδέα φαίνεται στο παρακάτω σχήμα.



Σχήμα 5.1 Σχηματική αναπαράσταση της βασικής θεωρήσης (Πηγή: Bonfio et al., *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology* 10, 2011)

Η μηχανική διέγερση μπορεί να εκφραστεί με όρους ενεργειακής πυκνότητας  $w$ . Το μηχανικό σήμα που «αισθάνεται» ένα οστεοκύτταρο (i) στη θέση  $\vec{x}^{(i)}$ , μπορεί να εκφραστεί ως εξής:

$$w(\vec{x}^{(i)}) = \frac{1}{2} \bar{\sigma}(\vec{x}^{(i)}) : \bar{\varepsilon}(\vec{x}^{(i)}) \quad (5)$$

$\bar{\sigma}$  και  $\bar{\varepsilon}$  είναι ο τανυστής τάσης και παραμόρφωσης, αντίστοιχα.

Το σήμα τώρα που θα προέρχεται από το οστεοκύτταρο (i) θα είναι ανάλογο του λόγου  $w(\vec{x}^{(i)})/\rho$ , με το  $\rho$  να αντιπροσωπεύει την οστική πυκνότητα. Το σήμα που θα λαμβάνουν οι προ-οστεοκλάστες και οι προ-οστεοβλάστες σε μια βασική πολυκυτταρική μονάδα στη θέση  $\vec{x}$  είναι το άθροισμα των σημάτων που προέρχονται από όλα τα οστεοκύτταρα σε μια ζώνη επίδρασης. Δηλαδή:

$$\Delta\Psi(\vec{x}) = \sum_{i=1}^{n_T} \left[ \mu_i f(\vec{x}, \vec{x}^{(i)}) \left( \frac{w(\vec{x}^{(i)})}{\rho} - W_0 \right) \right] \quad (6)$$

όπου  $W_0$  η οριακή τιμή του σήματος,  $\mu_i$  η ευαισθησία του οστεοκυττάρου ( $0 \leq \mu_i \leq 1$ ) και  $n_T$  ο συνολικός αριθμός οστεοκυττάρων στη θεωρούμενη βασική πολυκυτταρική μονάδα και

$$f(\vec{x}, \vec{x}^{(i)}) = \begin{cases} \exp\left(-\frac{d(\vec{x}, \vec{x}^{(i)})}{D}\right) & \text{αν } d \leq 3D \\ 0 & \text{αν } d > 3D \end{cases} \quad (7)$$

$3D$  είναι το χαρακτηριστικό μέγεθος μιας σφαιρικής ζώνης επίδρασης και  $d(\vec{x}, \vec{x}^{(i)})$  η απόσταση μεταξύ του θεωρούμενου οστεοκυττάρου και της αντίστοιχης προ-οστεοκλάστης ή προ-οστεοβλάστης. Σε αυτήν την προσέγγιση δε λαμβάνεται σήμα από οστεοκύτταρα εξωτερικά της ζώνης επίδρασης. Έτσι μόνο ένας αριθμός οστεοκυττάρων  $n_0 \leq n_T$  που βρίσκονται μέσα στη ζώνη καθορίζει το σήμα  $\Delta\Psi(\vec{x})$ . Άρα το σήμα που λαμβάνουν οι οστεοκλάστες και οστεοβλάστες επηρεάζει τη δράση των αυτοκρινών και παρακρινών παραγόντων μέσω των  $g_{ij} = g_{ij}(\Delta\Psi)$ .

Όσον αφορά την οστική πυκνότητα  $\rho$ , θεωρώντας ότι η διαδικασία είναι ισόχωρη, η εξίσωση (2) δίνει:

$$\frac{d\rho}{dt} = -K_1 N_1 + K_2 N_2$$

Μειονέκτημα της μελέτης αυτής είναι ότι το οστό θεωρείται ισότροπο μέσο.

### 5.3 Μαθηματικό μοντέλο οστικής αναδόμησης φλοιώδους

#### *οστού υπό μηχανική διέγερση*

Οι Qin & Wang (2012) είναι από τους πρώτους που ποσοτικοποιούν την επίδραση της μηχανικής διέγερσης στη δυναμική κυτταρικών πληθυσμών. Η ανάλυσή τους διακρίνεται από κάποια νέα χαρακτηριστικά στοιχεία:

- Η διατμητική τάση του ρευστού μέσα στο οστεοκυτταρικό δίκτυο «καναλιών» προτείνεται ως ο βασικός παράγοντας σχετικά με τη λειτουργία των οστεοκυττάρων ως αισθητήρες μηχανικών φορτίων.
- Εισάγονται τρεις νέες εξισώσεις που περιγράφουν τη δυναμική των οστεοκυττάρων, της προσταγλανδίνης  $E_2$  ( $PGE_2$ ) και του νιτρικού οξέος (NO).
- Εξετάζεται η επίδραση της συχνότητας της μηχανικής φόρτισης καθώς και του αριθμού και της διάρκειας των περιόδων καταπόνησης.
- Χρησιμοποιούνται εξισώσεις Hill, οι οποίες επεκτείνονται σε δύο προσδέτες για το ίδιο κύτταρο.

- Εισάγεται ως φυσικό μέγεθος η ενέργεια οστικών ρωγμών.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι η πίεση του υγρού στο οστεοκυτταρικό δίκτυο καναλιών διεγείρει τα οστεοκύτταρα ώστε να παράγουν PGE<sub>2</sub> και NO, που με τη σειρά τους επιδρούν στις οστεοβλάστες και οστεοκλάστες. Το NO αναστέλλει σημαντικά την οστική απορρόφηση, διότι αναστέλλει τη «στρατολόγηση» οστοκλαστών μειώνοντας τη συγκέντρωση RANKL και αυξάνοντας τη συγκέντρωση OPG. Αντιθέτως, η PGE<sub>2</sub> υποβοηθάει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και επομένως επιδρά θετικά στην οστική δημιουργία.

Η εξίσωση Hill, όπως έχει αναφερθεί σε προηγούμενη ενότητα, χρησιμοποιείται για να περιγράψει το ποσοστό κορεσμού των υποδοχέων ενός μακρομορίου από τους προσδέτες ως συνάρτηση της συγκέντρωσης των προσδετών:

$$\theta = \frac{L^n}{K_d + L^n} = \frac{L^n}{K_A^n + L^n} \quad (1)$$

όπου  $\theta$  το ποσοστό των κατειλημμένων υποδοχέων,  $L$  η συγκέντρωση του προσδέτη,  $K_d$  η σταθερά διαχωρισμού (διάσπασης) υπολογιζόμενη από τον νόμο δράσης των μαζών,  $K_A$  η συγκέντρωση προσδέτη που δίνει ποσοστό κατάληψης 50%, και  $n$  ο συντελεστής Hill.

Οι συναρτήσεις Hill για διαδικασίες ενεργοποίησης (act) και καταστολής (rep), σχετικά με τη διαφοροποίηση των κυττάρων, είναι αντίστοιχα:

$$f(x^*) = \beta \Pi_{act} = \frac{\beta x^*}{K_1 + x^*} \quad (2)$$

$$f(x^*) = \beta \Pi_{rep} = \frac{\beta x^*}{1 + x^* K_2^{-1}} \quad (3)$$

όπου  $x^*$  η συγκέντρωση της ενεργούς μορφής του προσδέτη,  $\beta$  ο μέγιστος ρυθμός κυτταρικής παραγωγής,  $\Pi$  συνάρτηση εισόδου,  $K_1$  παράμετρος ενεργοποίησης και  $K_2$  παράμετρος καταστολής.

Στη συγκεκριμένη προσέγγιση, η εξίσωση Hill χρησιμοποιείται για δύο προσδέτες ταυτόχρονα (έστω  $x$  και  $y$ ):

$$f(x^*, y^*) = \beta (k_x \Pi_{act/rep}^{x^*} + k_y \Pi_{act/rep}^{y^*}) \quad (4)$$

όπου  $k_x$  και  $k_y$  η σχετική επίδραση των προσδετών  $x$  και  $y$  στην κυτταρική διαδικασία, ως ποσοστό ( $k_x + k_y = 1$ ).

Συμβολίζοντας με OBU τους αδιαφοροποίητους οστεοβλαστικούς προγόνους, OBP τις προ-οστεοβλάστες, OBA τις ώριμες οστεοβλάστες, OCP τους οστεοκλαστικούς προδρόμους, OST τα οστεοκύτταρα, OCA τις ενεργές οστεοκλάστες, RL τον RANKL, RK τον PANK, Tβ τον TGF-β, P2 την PGE<sub>2</sub> και τα OPG, NO και PTH ως έχουν, μπορεί να γραφεί για τη δυναμική των κυτταρικών πληθυσμών:



$$\frac{dN_{OBP}}{dt} = D_{OBU} \left( k_{T\beta} \Pi_{act, OBU}^{T\beta} + k_{P2} \Pi_{act, OBU}^{P2} \right) - D_{OBP} N_{OBP} \Pi_{rep, OBP}^{T\beta} \quad (5)$$

$$\frac{dN_{OBA}}{dt} = D_{OBP} N_{OBP} \Pi_{rep, OBP}^{T\beta} - A_{OBA} N_{OBA} \quad (6)$$

$$\frac{dN_{OST}}{dt} = T_{OBA} N_{OBA} - A_{OST} N_{OST} \quad (7)$$

$$\frac{dN_{OCA}}{dt} = D_{OCP} \Pi_{act, OCP}^{RL} - A_{OCA} N_{OCA} \Pi_{act, OCA}^{T\beta} \quad (8)$$

όπου  $D$  ο ρυθμός διαφοροποίησης των αντίστοιχων κυττάρων που υποδηλώνει ο δείκτης,  $N$  ο ρυθμός εξάλειψης των αντίστοιχων κυττάρων του δείκτη και  $T_{OBA}$  ο ρυθμός παγίδευσης ώριμων οστεοβλαστών μέσα στη μεσοκυττάρια ουσία.

Ο TGF- $\beta$ , όπως έχουμε δει, υποβοηθάει μεν την αρχική διαφοροποίηση και εξάπλωση των οστεοβλαστικών προδρόμων, επιδρά ανασταλτικά δε στην τελική διαφοροποίηση σε ώριμες οστεοβλάστες. Η μεγαλύτερη ποσότητα TGF- $\beta$  βρίσκεται αποθηκευμένη στη μεσοκυττάρια ουσία και απελευθερώνεται κατά την οστική απορρόφηση. Θεωρώντας σταθερό ρυθμό απελευθέρωσης, μικρή χρονική κλίμακα και οιοινεί σταθερή κατάσταση, έχουμε για τον TGF- $\beta$ :

$$A_{T\beta} = \frac{a K_{res} OCA + S_{T\beta}}{\tilde{D}_{T\beta}} \quad (9)$$

όπου  $S_{T\beta}$  όρος εμφάνισης/καταβύθισης (source/sink) για τον TGF- $\beta$ ,  $a$  αποθηκευμένη ποσότητα στη μεσοκυττάρια ουσία,  $K_{res}$  ο σχετικός ρυθμός οστικής απορρόφησης και  $\tilde{D}_{T\beta}$  ο ρυθμός αποδόμησης του TGF- $\beta$ .

Αντικαθιστώντας την (9) στις (2), (3) προκύπτουν οι συναρτήσεις ενεργοποίησης και καταστολής για τον TGF- $\beta$ :

$$\Pi_{act, OBU}^{T\beta} = \frac{N_{T\beta}}{K_{D1, T\beta} + N_{T\beta}} \quad (10)$$

$$\Pi_{rep, OBP}^{T\beta} = \frac{1}{1 + N_{T\beta} K_{D2, T\beta}^{-1}} \quad (11)$$

$$\Pi_{act, OCA}^{T\beta} = \frac{N_{T\beta}}{K_{D3, T\beta} + N_{T\beta}} \quad (12)$$

όπου  $K_{D1, T\beta}$  ο συντελεστής ενεργοποίησης της πρόσδεσης του TGF- $\beta$  στους αδιαφοροποίητους οστεοβλαστικούς προγόνους (OBU),  $K_{D2, T\beta}$  ο συντελεστής ανάσχεσης της πρόσδεσης του TGF- $\beta$  στις προ-οστεοβλάστες (OBP),  $K_{D3, T\beta}$  ο συντελεστής ενεργοποίησης της πρόσδεσης του TGF- $\beta$  στις ενεργές οστεοκλάστες (OCA).

Θεωρώντας τη συγκέντρωση της PTH ( $N_{PTH}$ ) ως παράγοντα ρύθμισης της παραγωγής RANKL και OPG και θεωρώντας συνεχή ενδογενή παραγωγή PTH, οι σχετικές σχέσεις ενεργοποίησης και καταστολής είναι:

$$N_{PTH} = \frac{\beta_{PTH} + P_{PTH,d}(t)}{\tilde{D}_{PTH}} \quad (13)$$

$$\Pi_{act,OBP}^{PTH} = \frac{N_{PTH}}{K_{D4,PTH} + N_{PTH}} \quad (14)$$

$$\Pi_{rep,OBA}^{PTH} = \frac{1}{1 + N_{PTH}K_{D5,PTH}^{-1}} \quad (15)$$

όπου  $\beta_{PTH}$  ο ρυθμός σύνθεσης PTH,  $P_{PTH,d}(t)$  ο ρυθμός εξωτερικής έγχυσης PTH,  $\tilde{D}_{PTH}$  ο ρυθμός αποδόμησης της PTH,  $K_{D4,PTH}$  συντελεστής ενεργοποίησης για τον RANKL στις προ-οστεοβλάστες σχετικά με την πρόσδεση PTH,  $K_{D5,PTH}$  ο συντελεστής καταστολής για την παραγωγή OPG σχετικά με την πρόσδεση PTH στις ώριμες οστεοβλάστες.

Το NO επιδρά θετικά στην παραγωγή OPG από τις ώριμες οστεοβλάστες ενώ η PTH επιδρά αρνητικά. Επομένως, χρησιμοποιώντας την εξίσωση (4), μπορεί να γραφεί για την OPG:

$$N_{OPG} = \frac{\beta_{OPG}N_{OBA}(k_{PTH}\Pi_{rep,OBA}^{PTH} + k_{NO}\Pi_{act,OBA}^{NO}) + P_{OPG,d}(t)}{\beta_{OPG}N_{OBA}(k_{PTH}\Pi_{rep,OBA}^{PTH} + k_{NO}\Pi_{act,OBA}^{NO})N_{OPG,max}^{-1} + \tilde{D}_{OPG}} \quad (16)$$

όπου  $\beta_{OPG}$  ο ρυθμός παραγωγής OPG ανά μονάδα ώριμων οστεοβλαστών,  $k_{PTH}$  η σχετική επίδραση της πρόσδεσης PTH στην παραγωγή OPG από τις ώριμες οστεοβλάστες,  $k_{NO}$  η σχετική επίδραση του NO στην παραγωγή OPG από τις ώριμες οστεοβλάστες,  $P_{OPG,d}(t)$  όρος σχετικός με την εξωτερική χορήγηση OPG,  $\tilde{D}_{OPG}$  ο ρυθμός αποδόμησης της OPG,  $N_{OPG,max}$  η μέγιστη δυνατή συγκέντρωση OPG.

Όσον αφορά τον RANKL, το NO αναστέλλει την έκκριση RANKL από τις προ-οστεοβλάστες και η PTH αυξάνει την ουσιαστική RANKL χωρητικότητα των προ-οστεοβλαστών. Έτσι, και σύμφωνα με τις γνωστές αλληλεπιδράσεις, μπορεί να γραφεί για τη συγκέντρωση RANKL:

$$N_{RL} = \frac{R_{RL}N_{OBP}\Pi_{act,OBP}^{PTH}}{1 + K_{A1,RL}OPG + K_{A2,RL}N_{RK}} \cdot \frac{\beta_{RL}N_{OBP}\Pi_{rep,OBP}^{NO} + P_{RL,d}(t)}{\beta_{RL}N_{OBP}\Pi_{rep,OBP}^{NO} + \tilde{D}_{RL}R_{RL}N_{OBP}\Pi_{act,OBP}^{PTH}} \quad (17)$$

όπου  $R_{RL}$  η μέγιστη συγκέντρωση RANKL στις προ-οστεοβλάστες,  $K_{A1,RL}$  σταθερά σύνδεσης RANKL-RANK,  $\beta_{RL}$  ο ρυθμός παραγωγής RANKL ανά μονάδα προ-οστεοβλαστών,  $P_{RL,d}(t)$  όρος σχετικός με την εξωτερική χορήγηση RANKL,  $\tilde{D}_{RL}$  ο ρυθμός αποδόμησης του RANKL. Από τις εξισώσεις (2) και (17) προκύπτει η συνάρτηση ενεργοποίησης σχετικά με την επίδραση του RANKL στη διαφοροποίηση των οστεοκλαστικών προδρόμων:

$$\Pi_{act,OCP}^{RL} = \frac{N_{RL}}{K_{D6,RL} + N_{RL}} \quad (18)$$

όπου  $K_{D6,RL}$  ο συντελεστής ενεργοποίησης σχετικά με τη σύνδεση RANKL-OPG.

Οι άγνωστες παράμετροι είναι οι  $\Pi_{act,OBA}^{NO}$ ,  $\Pi_{rep,OBP}^{NO}$  και  $\Pi_{act,OBU}^{P2}$  που έχουν άμεση σχέση με τις συγκεντρώσεις NO και PGE<sub>2</sub> οι οποίες με τη σειρά τους είναι αποτέλεσμα μηχανικής φόρτισης.

$$\Pi_{act,OBA}^{NO} = \frac{N_{NO}}{K_{D7,NO} + N_{NO}} \quad (19)$$

$$\Pi_{rep,OBP}^{NO} = \frac{1}{1 + N_{NO}K_{D8,NO}^{-1}} \quad (20)$$

$$\Pi_{act,OBU}^{P2} = \frac{P2}{K_{D9,P2} + P2} \quad (21)$$

όπου  $K_{D7,NO}$  ο συντελεστής ενεργοποίησης σχετικά με την παραγωγή OPG από τις ώριμες οστεοβλάστες λόγω NO,  $K_{D8,NO}$  ο συντελεστής αναστολής σχετικά με την παραγωγή RANKL από τις προ-οστεοβλάστες λόγω NO,  $K_{D9,P2}$  ο συντελεστής ενεργοποίησης σχετικά με τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστικών προγόνων.

Ακολούθως αναλύεται η επίδραση της μηχανικής φόρτισης. Έστω  $N$  ο αριθμός των κύκλων φόρτισης σε μια μέρα,  $T_{rest}$  ο χρόνος ανάπαυσης ανάμεσα στις περιόδους φόρτισης,  $n$  ο αριθμός των περιόδων φόρτισης. Αν το μέτρο της διατμητικής τάσης του ενδιάμεσου ρευστού στο οστεοκυτταρικό δίκτυο «καναλιών» είναι  $A$  και η αντίστοιχη συχνότητα είναι  $f$  (πάντα λόγω της μηχανικής φόρτισης), ο μέγιστος ρυθμός διατμητικής τάσης του ρευστού είναι:

$$R_{IFSS} = 2\pi Af \quad (22)$$

Η ευαισθησία των οστεοκυττάρων σε μηχανικά ερεθίσματα (έστω  $MS_{OST}$ ) εξαρτάται από τη συχνότητα  $f$ , τον αριθμό  $N$  των κύκλων φόρτισης και τον χρόνο ανάπαυσης  $T_{rest}$  ανάμεσα στις περιόδους φόρτισης:

$$MS_{OST} \propto \ln(f + 0,5) \quad (23)$$

$$MS_{OST} \propto \frac{1}{N + 1} \quad (24)$$

$$MS_{OST} \propto \left[ 2 - \exp\left(-\frac{T_{rest}}{\tau}\right) \right] \quad (25)$$

όπου  $\tau$  συγκεκριμένο χρονικό διάστημα ( $\approx 6h$ ).

Επίσης, τα οστεοκύτταρα προσαρμόζονται στον ρυθμό μηχανικής φόρτισης και η  $MS_{OST}$  θα μειώνεται καθώς η περίοδος φόρτισης  $t$  μεγαλώνει:

$$MS_{OST} \propto \exp\left(-\frac{t}{T_{acc}}\right) \quad (26)$$

όπου  $T_{acc}$  χρονική σταθερά σχετική με τον ρυθμό προσαρμογής των οστεοκυττάρων στον ρυθμό φόρτισης.

Λαμβάνοντας υπόψιν τις σχέσεις (23)-(26), μπορεί να γραφεί για την ευαισθησία των οστεοκυττάρων στα μηχανικά ερεθίσματα:

$$MS_{OST} = K_{MS} \frac{\ln(f + 0,5)}{N + 1} [2 - \exp(-T_{rest}/\tau)] \exp(-t/T_{acc}) \quad (27)$$

με  $K_{MS}$  σταθερά αναλογίας.

Για τις αλλαγές στις συγκεντρώσεις των NO και PGE<sub>2</sub>, οι οποίες εξαρτώνται από το μηχανικό ερέθισμα, προτείνονται οι εξής σχέσεις (σύμφωνα και με πειραματικά δεδομένα<sup>2</sup>):

$$\frac{dN_{NO}}{dt} = nK_{NO}R_{IFSS}N_{OST} \int_0^N MS_{OST} dN - \tilde{D}_{NO}N_{NO} \quad (28)$$

$$\frac{dN_{P2}}{dt} = nK_{P2}R_{IFSS}N_{OST} \int_0^N MS_{OST} dN - \tilde{D}_{P2}N_{P2} \quad (29)$$

όπου  $n$  ο αριθμός των περιόδων μηχανικής φόρτισης ανά μέρα,  $K_{NO}$  ο ρυθμός έκκρισης NO από τα οστεοκύτταρα,  $K_{P2}$  ο ρυθμός έκκρισης PGE<sub>2</sub> από τα οστεοκύτταρα,  $\tilde{D}_{NO}$  ο ρυθμός αποδόμησης του NO,  $\tilde{D}_{P2}$  ο ρυθμός αποδόμησης της PGE<sub>2</sub>.

Αν  $N_{BMC}$  το ποσοστό (%) του κρυσταλλοποιημένου οστού και  $K_{for}$ ,  $K_{res}$  ο σχετικός ρυθμός οστικής δημιουργίας και απορρόφησης αντίστοιχα, μπορεί να γραφεί ότι:

$$\frac{dN_{BMC}}{dt} = K_{for}(N_{OBA}(t) - N_{OBA}(t_0)) - K_{res}(N_{OCA}(t) - N_{OCA}(t_0)) \quad (30)$$

Επειδή η μηχανική διέγερση, εκτός από την οστική μάζα, αυξάνει και τη δύναμη (ευρωστία) του οστού επιδρώντας στη δομή των ινών κολλαγόνου, εισάγεται το μέγεθος της ενέργειας οστικών ρωγμών ( $N_{BFE}$ ) ως πιο κατάλληλο για την περιγραφή της επίδρασης των μηχανικών παραγόντων στην οστική αναδόμηση. Προτείνεται η εξής σχέση:

$$\begin{aligned} \frac{dN_{BFE}}{dt} = & K_{for}(N_{OBA}(t) - N_{OBA}(t_0)) - K_{res}(N_{OCA}(t) - N_{OCA}(t_0)) \\ & + K_{to}\sqrt{N_{OBA}(t) + N_{OCA}(t)} \end{aligned} \quad (31)$$

όπου  $K_{to}$  ο σχετικός ρυθμός της διαδικασίας.

Από τις εξισώσεις (31) και (32), προκύπτει η σχέση μεταξύ  $N_{BFE}$  και  $N_{BMC}$ :

$$\frac{dN_{BFE}}{dt} = \frac{dN_{BMC}}{dt} + K_{to}\sqrt{N_{OBA}(t) + N_{OCA}(t)} \quad (32)$$

<sup>2</sup> Bacabac R. G., Smit T. H., Mullender M.G., et al (2004). Nitric oxide production by bone cells is fluid shear stress dependent. Biochemical and biophysical research communication 315, 823-829 και

Bakker, A. D., Soejima K., Klein-Nulend J., et al. (2001). The production of nitric oxide and prostaglandin E<sub>2</sub> by primary bone cells is shear stress dependent. Journal of Biomechanics 34, 671-677

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το μοντέλο αυτό αναφέρεται σε δύο χρονικές κλίμακες: μια μικρή χρονική κλίμακα (<12 hours) όπου περιγράφεται η παραγωγή NO και OPG και μια μεγάλη χρονική κλίμακα όπου περιγράφονται οι αλλαγές στο οστό.

Κατά την ανάπτυξη των εξισώσεων έχει γίνει η συνήθης υπόθεση ότι το πλήθος των αδιαφοροποίητων οστεοβλαστικών προγόνων καθώς και των οστεοκλαστικών προδρόμων είναι πολύ μεγάλο και συνεπώς δεν εμφανίζεται στις εξισώσεις. Επίσης, η ενδογενής παραγωγή παραθορμόνης θεωρείται σταθερή και ανεξάρτητη.

## 5.4 Συνδέοντας τους μηχανικούς παράγοντες με τις

### κυτταρικές δραστηριότητες

Στην προσέγγιση του Hambli (2014) η μηχανική διέγερση συνδέεται με τις αυτοκρινείς και παρακρινείς δράσεις των κυττάρων με σκοπό την προσομοίωση με τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων. Η διαδικασία της οστικής αναδόμησης περιγράφεται πρωτογενώς από την κυτταρική δυναμική σε αντίθεση με τα μοντέλα καθαρά μηχανικής προσέγγισης όπου η διαδικασία περιγράφεται με βάση μηχανικές έννοιες.

Για την περιγραφή της μηχανικής συμπεριφοράς του οστού χρησιμοποιείται η έννοια της βλάβης λόγω κόπωσης, η οποία συνδέεται με άλλα μηχανικά μεγέθη ως εξής<sup>3,4</sup>:

$$\sigma_{ij} = (1 - D^{fat}) a_{ijkl} \varepsilon_{kl}$$

όπου  $\sigma_{ij}$  η μηχανική τάση,  $D^{fat}$  ο βαθμός βλάβης λόγω κόπωσης,  $\varepsilon_{kl}$  η παραμόρφωση και  $a_{ijkl}$  ο ισότροπος τανυστής ελαστικότητας-ακαμψίας. Για μηχανική κόπωση σε κατάσταση ελαστικής παραμόρφωσης το  $D^{fat}$  θα μπορούσε να δοθεί από τη σχέση<sup>5</sup>:

$$D^{fat} = 1 - \left[ 1 - \left( \frac{N}{N_f} \right)^{\frac{1}{1-\gamma}} \right]^{1+\beta}$$

με  $\gamma, \beta$  παραμέτρους του υλικού,  $N_f$  η περίοδος αστοχίας.

<sup>3</sup>Hambli R. (2010). Application of neural networks and finite element computation for multiscale simulation of bone remodeling. J. Biomech. Eng. 132, 114502

<sup>4</sup> Hambli R., Thurner P. J. (2013). Finite element prediction with experimental validation of damage distribution in sin trabeculae during three-point bending tests. J. Mech. Behav. Biomed. Mater. 27, 94-106

<sup>5</sup> Chaboche J. L. (1981). Continuum damage mechanics – a tool to describe phenomena before crack initiation. Nucl. Eng. Des. 64, 233-247

Το μέτρο ελαστικότητας  $E$  σε κάθε περιοχή υπολογίζεται<sup>6</sup> μέσω της οστικής πυκνότητας  $z$ , βαθμού κρυσταλλοποίησης  $a$  και του  $D^{fat}$ :

$$E = C(1 - D^{fat})z^p a^q$$

Το  $p$  είναι ένα μέτρο της πόρωσης του οστού και  $C, q$  σταθερές.

Μια σχέση για τον υπολογισμό του  $p$  είναι η εξής<sup>7,8</sup>:

$$p = 1 - \frac{z}{1,41 + 1,29a}$$

Για την περιγραφή της μηχανικής διέγερσης χρησιμοποιείται η έννοια της πυκνότητας ενέργειας παραμόρφωσης. Η προτεινόμενη σχέση<sup>9</sup> για το μηχανικό σήμα που «αισθάνεται» ένα οστεοκύτταρο  $k$  στη θέση  $x_k$  είναι:

$$S(x, t) = \sum_{k=1}^{N_{oc}} f_k(x) \mu_k (S_k - \bar{S}_k)$$

όπου  $\mu_k$  η μηχανική ευαισθησία του οστεοκυττάρου  $k$ ,  $N_{oc}$  ο αριθμός των οστεοκυττάρων και  $\bar{S}_k$  η οριακή τιμή του σήματος γύρω από την οποία υπάρχει κατάσταση ισορροπίας όσον αφορά τις δραστηριότητες οστικής απορρόφησης και δημιουργίας. Η  $\bar{S}_k$  εξαρτάται εξαρτάται από την ηλικία και το ιστορικό μηχανικής φόρτισης.

Η  $f_k$  είναι συνάρτηση χωρικής επίδρασης<sup>10</sup>:

$$f_k(x) = \exp\left(-\frac{d_k(x)}{d_0}\right)$$

όπου  $d_k(x)$  η απόσταση μεταξύ του οστεοκυττάρου  $k$  και της θεωρούμενης θέσης  $x$  στην επιφάνεια του οστού,  $d_0$  μια παράμετρος κανονικοποίησης σχετικά με την ακτίνα επίδρασης κάθε οστεοκυττάρου.

$S_k$  είναι μεταβλητή για την ποσοτικοποίηση της τοπικής διέγερσης σε όρους πυκνότητας ενέργειας παραμόρφωσης – φθοράς:

<sup>6</sup>Hambli R., Soulat D., Gasser A., Benhamou C. L. (2009). Strain-damage coupled algorithm for cancellous bone mechano-regulation with spatial function influence. *Comput. Methods Appl. Mech. Eng.* 198, 2673-2682

<sup>7</sup> Hernandez C. J., Beaupre G. S., Carter D.R. (2000). A model of mechanobiologic and metabolic influences on bone adaptation. *J. Rehabil. Res. Dev.* 37, 235-244

<sup>8</sup> Hernandez C. J., Beaupre G.S., Keller T. S., Carter D. R. (2001). The influence of bone volume fraction and ash fraction on bone strength and modulus. *Bone* 29, 74-78

<sup>9</sup> και <sup>10</sup> Mullender M. G., Huiskes R. (1995). Proposal for the regulatory mechanism of Wolff 's law, *J. Orthop. Res.* 13, 503-512

$$S_k = \frac{1}{2} (1 - D^{fat}) \sigma_{ij} \varepsilon_{ij}$$

Για την περιγραφή της δυναμικής συμπεριφοράς των κυττάρων και της μεταβολής της οστικής μάζας χρησιμοποιούνται οι εξισώσεις των Komarova et al. (2003) [ενότητα 4.3]:

$$dx_1/dt = a_1 x_1^{g_{11}} x_2^{g_{21}} - \beta_1 x_1$$

$$dx_2/dt = a_2 x_1^{g_{12}} x_2^{g_{22}} - \beta_2 x_2$$

$$dz/dt = -k_1 y_1 + k_2 y_2 \quad \text{με } y_i = \begin{cases} x_i - \bar{x}_i & \text{αν } x_i > \bar{x}_i \\ 0 & \text{αν } x_i \leq \bar{x}_i \end{cases}$$

όπου  $x_1$  ο αριθμός των οστεοκλαστών,  $x_2$  ο αριθμός των οστεοβλαστών,  $a_1$  παράμετρος για τον ρυθμό παραγωγής κυττάρων,  $a_2$  παράμετρος για τον ρυθμό απομάκρυνσης κυττάρων,  $g_{11}$  παράμετρος που περιγράφει την αποτελεσματικότητα της αυτοκρινούς δράσης των οστεοκλαστών,  $g_{12}$  παράμετρος που περιγράφει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης οστεοκλαστικής προέλευσης,  $g_{21}$  παράμετρος που περιγράφει την αποτελεσματικότητα της παρακρινούς δράσης οστεοβλαστικής προέλευσης,  $g_{22}$  παράμετρος που περιγράφει την αποτελεσματικότητα της αυτοκρινούς δράσης των οστεοβλαστών,  $z$  η συνολική οστική μάζα,  $k_i$  παράμετρος που αντιπροσωπεύει την κανονικοποιημένη δραστηριότητα οστικής απορρόφησης και παραγωγής,  $y_i$  οι αριθμοί των ενεργών κυττάρων που απορροφούν ή παράγουν οστό (ενεργές οστεοκλάστες ή ενεργές οστεοβλάστες),  $\bar{x}_i$  οι αριθμοί των κυττάρων στη σταθερή κατάσταση.

Τα  $\bar{x}_i$  προκύπτουν από τη λύση της  $dx_i/dt = 0$ :

$$\bar{x}_1 = \left( \frac{\beta_1}{a_1} \right)^{\frac{1-g_{22}}{\gamma}} \left( \frac{\beta_2}{a_2} \right)^{\frac{g_{21}}{\gamma}} \quad \bar{x}_2 = \left( \frac{\beta_1}{a_1} \right)^{\frac{g_{12}}{\gamma}} \left( \frac{\beta_2}{a_2} \right)^{\frac{1-g_{11}}{\gamma}}$$

$$\text{με } \gamma = g_{12}g_{21} - (1 - g_{11})(1 - g_{22})$$

## 5.5 Συνδυασμός βιολογικής και μικρομηχανικής προσέγγισης

Αυτή η νέα προσέγγιση (Scheider et al., 2014) συνδυάζει ένα μοντέλο κυτταρικών πληθυσμών με ένα μικρο-ελαστικό μοντέλο που αποτυπώνει την οστική ακαμψία (σκληρότητα), βασιζόμενο στην έννοια της πυκνότητας ενέργειας παραμόρφωσης στη μικροσκοπική κλίμακα της μεσοκυτταρίου ουσίας, και όχι σε μακροσκοπικό επίπεδο όπως γίνεται συνήθως.

Χρησιμοποιώντας την ιδέα του διαφορικού στοιχείου όγκου, όπου οι βιοχημικές διεργασίες και το μηχανικό περιβάλλον μπορούν να θεωρηθούν ομοιόμορφα, οι χωρικές παράμετροι μπορούν να αγνοηθούν. Για τη δυναμική των κυτταρικών πληθυσμών χρησιμοποιείται η προσέγγιση των Pivonka et al. (2008) που έχει αναλυθεί στην ενότητα 4.7:

$$\frac{dC_{OB_p}}{dt} = D_{OB_u} C_{OB_u} \pi_{a,T} + P_{OB_p} C_{OB_p} \Pi_{\varepsilon_{bm}} - D_{OB_p} C_{OB_p} \pi_{r,T} \quad (1)$$

$$\frac{dC_{OB_a}}{dt} = D_{OB_p} C_{OB_p} \pi_{r,T} - A_{OB_a} C_{OB_a} \quad (2)$$

$$\frac{dC_{OC_a}}{dt} = D_{OC_p} C_{OC_p} \pi_{a,R} - A_{OC_a} C_{OC_a} \pi_{a,T} \quad (3)$$

όπου  $C_{OB_u}$  η συγκέντρωση των αδιαφοροποίητων προγόνων των οστεοβλαστών,  $C_{OB_p}$  η συγκέντρωση των οστεοβλαστικών προδρόμων,  $C_{OB_a}$  η συγκέντρωση των ενεργών οστεοβλαστών,  $C_{OC_p}$  η συγκέντρωση των οστεοκλαστικών προδρόμων,  $C_{OC_a}$  η συγκέντρωση των ενεργών οστεοκλαστών. Οι παράμετροι  $D_{OB_u}$ ,  $D_{OB_p}$  και  $D_{OC_p}$  συμβολίζουν τον ρυθμό διαφοροποίησης των αδιαφοροποίητων προγόνων των οστεοβλαστών, των οστεοβλαστικών προδρόμων και των οστεοκλαστικών προδρόμων, αντίστοιχα. Η παράμετρος  $P_{OB_p}$  συμβολίζει τον ρυθμό πολλαπλασιασμού των οστεοβλαστικών προδρόμων. Οι παράμετροι  $A_{OB_a}$  και  $A_{OC_a}$  συμβολίζουν τον ρυθμό απόπτωσης των ενεργών οστεοβλαστών και των ενεργών οστεοκλαστών, αντίστοιχα.  $\pi_{a,T}$  και  $\pi_{r,T}$  είναι οι συναρτήσεις ενεργοποίησης (activation) και καταστολής (repression) σχετικά με την επίδραση του TGF- $\beta$  στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση και στην οστεοκλαστική απόπτωση.  $\pi_{a,R}$  είναι η συνάρτηση ενεργοποίησης σχετικά με την επίδραση του συστήματος RANK-RANKL-OPG στην οστεοκλαστική διαφοροποίηση. Η συνάρτηση  $\Pi_{\varepsilon_{bm}} = [0,1]$  περιγράφει τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστικών προδρόμων ως συνάρτηση του ταυστή παραμόρφωσης  $\varepsilon_{bm}$  της μεσοκυτταρίου ουσίας.

Για την ποσοτικοποίηση της οστικής σύνθεσης, το οστό θεωρείται ότι αποτελείται από τον χώρο που καταλαμβάνουν οι πόροι και από την εξωαγγειακή μεσοκυτταρίου ουσία. Αν  $f_{vas}(t)$  ποσοστό όγκου που καταλαμβάνεται από τους πόρους και  $f_{bm}(t)$  το ποσοστό όγκου που καταλαμβάνει η εξωαγγειακή μεσοκυτταρίου ουσία, θα ισχύει:

$$f_{vas}(t) + f_{bm}(t) = 1 \quad (4)$$

Η δράση των ενεργών οστεοκλαστών προκαλεί αύξηση του χώρου των πόρων και η δράση των ενεργών οστεοβλαστών έχει το αντίθετο αποτέλεσμα:

$$\frac{df_{vas}}{dt} = k_{res} C_{OC_a} - k_{form} C_{OB_a} \quad (5)$$

όπου  $k_{res}$  και  $k_{form}$  ρυθμός απορρόφησης και δημιουργίας, αντίστοιχα.

Επίσης, το ποσοστό όγκου που καταλαμβάνει η εξωαγγειακή μεσοκυτταρίου ουσία αυξάνεται με τη δράση των ενεργών οστεοβλαστών και μειώνεται με τη δράση των ενεργών οστεοκλαστών:



$$\frac{df_{bm}}{dt} = k_{form}C_{OBa} - k_{res}C_{OCa} \quad (6)$$

Αυτά τα ποσοστά κατάληψης όγκου χρησιμοποιούνται για την αποτύπωση της ακαμψίας συμπαγούς οστού.

Για τη συσχέτιση των μηχανικών ιδιοτήτων με τα παραπάνω ποσοστά κατάληψης όγκου του οστού, χρησιμοποιείται η προσέγγιση της μικρομηχανικής συνεχούς μέσου. Σε ένα αντιπροσωπευτικό στοιχείο όγκου συμπαγούς οστού, ο ανισοτροπικός τανυστής της (μακροσκοπικής) ακαμψίας, που περιγράφει τις ελαστικές παραμορφώσεις, είναι:

$$\mathbb{C}_{cort}^{hom} = \sum f_r \mathbb{C}_r \mathbb{A}_r^{est} \quad (7)$$

$\mathbb{C}_r$  είναι ο τανυστής τετάρτης τάξεως της μικροσκοπικής ακαμψίας του «συστατικού»  $r$ , το οποίο είναι είτε ο χώρος που καταλαμβάνουν οι πόροι (vas), είτε η εξωαγγειακή μεσοκυττάρια ουσία (bm).  $\mathbb{A}_r^{est}$  είναι ο εκτιμώμενος τετάρτης τάξεως τανυστής (πυκνότητας) παραμόρφωσης. Για την εκτίμηση του  $\mathbb{A}_r^{est}$  είναι χρήσιμες οι παραπομπές.

Η συνάρτηση  $\Pi_{\varepsilon_{bm}}$  της εξίσωσης (1) εξαρτάται από την καταπόνηση της μεσοκυττάρια ουσίας, που περιγράφεται από τον τανυστή  $\varepsilon_{bm}$ . Ο τανυστής μακροσκοπικής μηχανικής πίεσης σε συμπαγές οστό  $\Sigma_{cort}$  συνδέεται με τον τανυστή μακροσκοπικής παραμόρφωσης  $\mathbf{E}_{cort}$ , μέσω του τανυστή μακροσκοπικής ακαμψίας (γραμμική σχέση):

$$\mathbf{E}_{cort} = (\mathbb{C}_{cort}^{hom})^{-1} : \Sigma_{cort} \quad (9)$$

Η καταπόνηση της μεσοκυττάρια ουσίας επηρεάζει τη δραστηριότητα των οστεοκυττάρων, τα οποία θεωρούνται ομοιόμορφα κατανεμημένα στη μεσοκυττάρια ουσία και δέχονται σε γενικά ίσες ποσότητες μηχανικού ερεθίσματος. Από τις σχέσεις (8) και (9), ο τανυστής  $\varepsilon_{bm}$  μπορεί να συνδεθεί και τον  $\mathbf{E}_{cort}$  και με έναν τελεστή μακροσκοπικής μηχανικής τάσης:

$$\varepsilon_{bm} = \mathbb{A}_{bm}^{est} : \mathbf{E}_{cort} \quad (10)$$

Σε αυτήν την προσέγγιση, ως κατάλληλο μέγεθος για την περιγραφή της μηχανικής επίδρασης προτείνεται η πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης, και μάλιστα όχι στην μακροσκοπική του οστού, αλλά στο επίπεδο της μεσοκυττάρια ουσίας. Έτσι, σε μικροσκοπικό επίπεδο, για την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης που «αισθάνεται» η μεσοκυττάρια ουσία, μπορεί να γραφεί:

$$w_{\varepsilon_{bm}} = \frac{1}{2} \varepsilon_{bm} : \mathbb{C}_{bm} : \varepsilon_{bm} \quad (11)$$

Όσον αφορά τη συνάρτηση  $\Pi_{\varepsilon_{bm}}$ , αυτή ορίζεται ως εξής:

$$\Pi_{\varepsilon_{bm}} = \Pi_{\varepsilon_{bm,st}} \left[ 1 + \lambda \left( \frac{w_{\varepsilon_{bm}}}{w_{\varepsilon_{bm,st}}} - 1 \right) \right] \quad (12)$$

όπου  $w_{\varepsilon_{bm, st}}$  το σημείο ρύθμισης της πυκνότητας ενέργειας παραμόρφωσης που αντιστοιχεί σε μια ισορροπημένη διαδικασία αναδόμησης στη σταθερή κατάσταση,  $\Pi_{\varepsilon_{bm, st}}$  η τιμή του  $\Pi_{\varepsilon_{bm}}$  στη σταθερή κατάσταση και  $\lambda$  παράμετρος σχετική με τον ρυθμό πολλαπλασιασμού. Για  $w_{\varepsilon_{bm}} \leq w_{\varepsilon_{bm, st}}$ , τίθεται  $\lambda = 0$ .

Τέλος, εισάγεται ένα ακόμα μέγεθος για την περιγραφή της επίδρασης μηχανικών παραγόντων. Το μέγεθος αυτό είναι η διεγερόμενη από μηχανικά ερεθίσματα παραγωγή RANKL, που ορίζεται ως

$$P_{RL, \varepsilon_{bm}} = \kappa \left( 1 - \frac{w_{\varepsilon_{bm}}}{w_{\varepsilon_{bm, st}}} \right) \quad (13)$$

όπου  $\kappa$  η σχετική παράμετρος. Για  $w_{\varepsilon_{bm}} \geq w_{\varepsilon_{bm, st}}$ , τίθεται  $\kappa = 0$

## 5.6 Σύνοψη συγκρίσεων

Τα μαθηματικά μοντέλα οστικής αναδόμησης που περιλαμβάνουν ρητά βιολογικούς και μηχανικούς παράγοντες είναι αποτέλεσμα γενικά πρόσφατων προσπαθειών για τον συνδυασμό των δύο προσεγγίσεων και την παραγωγή μιας ενοποιημένης θεωρίας. Μερικά μοντέλα αποτελούν επέκταση ή τροποποίηση υπάρχοντων μοντέλων ώστε συμπεριληφθούν οι επιπλέον παράγοντες. Η προσπάθεια να αποτυπωθούν σε ένα συνεπές μοντέλο οι μηχανικοί, βιοχημικοί, βιοφυσικοί, μεταβολικοί παράγοντες που απαιτούνται για την όσο το δυνατόν ακριβέστερη «απεικόνιση» της διαδικασίας είναι πολύ δύσκολη λόγω της μεγάλης πολυπλοκότητας και ανομοιογένειας του οστικού συστήματος

# 6

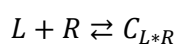
## *Θεωρητική Ανάπτυξη Πρωτότυπου Μαθηματικού Μοντέλου Οστικής Αναδόμησης*

### *6.1 Κατάστροση*

Στο κεφάλαιο αυτό αναπτύσσεται ένα νέο μοντέλο οστικής αναδόμησης με βάση δεδομένα της διεθνούς βιβλιογραφίας και όσα έχουν περιγραφεί στα προηγούμενα κεφάλαια. Σκοπός είναι να αποτυπωθεί μαθηματικά η δυναμική των οστικών κυττάρων μαζί με τη δυναμική των εμπλεκόμενων επιδρυσών ουσιών σε μια Βασική Πολυκυτταρική Μονάδα. Χρησιμοποιούνται διαφορικές εξισώσεις πρώτης τάξης.

Ένα βασικό χαρακτηριστικό είναι η θεώρηση της κινητικής των βιοχημικών αντιδράσεων πρόσδεσης ως έναν από τους βασικούς ρυθμίζοντες παράγοντες. Έτσι, θα συμπεριλάβουμε στο μοντέλο εξισώσεις για τον ρυθμό με τον οποίο εξελίσσονται οι χημικές αντιδράσεις πρόσδεσης στους υποδοχείς των αντίστοιχων προσδετών. Οι συγκεντώσεις των δημιουργούμενων συμπλόκων θα παίζουν βασικό ρόλο στην παρούσα προσέγγιση.

Οι υποδοχείς βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων και προφανώς δεν κατανέμονται ομοιόμορφα στον χώρο αλλά μπορούμε προσεγγιστικά να μιλήσουμε για μια μέση συγκέντρωσή τους που θα είναι ανάλογη της μέσης συγκέντρωσης των κυττάρων-φορέων τους. Αν  $L$  (εκ του αγγλικού Ligand) η (μέση) συγκέντρωση του προσδέτη,  $R$  (εκ του αγγλικού Receptor) η (μέση) συγκέντρωση του αντίστοιχου υποδοχέα και  $C_{L^*R}$  (εκ του αγγλικού Complex) η (μέση) συγκέντρωση του δημιουργούμενου συμπλόκου, η αντίδραση γράφεται:



και ο ρυθμός με τον οποίο εξελίσσεται η αντίδραση περιγράφεται από την εξίσωση:

$$\frac{dC_{L^*R}}{dt} = k_f RL - k_r C_{L^*R}$$

όπου  $k_f$  σταθερά ρυθμού πρόσδεσης και  $k_r$  σταθερά ρυθμού αποδέσμευσης, ο οποίος θα είναι ανάλογος της τρέχουσας συγκέντρωσης  $C_{L^*R}$  του συμπλόκου.

Οι συγκεντρώσεις είναι συναρτήσεις του χρόνου. Αν θεωρήσουμε ότι υπάρχουν κάποιες αρχικές συγκεντρώσεις  $R_0$  και  $L_0$  του υποδοχέα και του προσδέτη και αν  $C_{L^*R}(t)$  η συγκέντρωση του συμπλόκου τη χρονική στιγμή  $t$ , τότε θα είναι  $R_0 - C_{L^*R}(t)$  και  $L_0 - C_{L^*R}(t)$  οι συγκεντρώσεις του υποδοχέα και του προσδέτη τη χρονική στιγμή  $t$ . Έτσι, ο ρυθμός με τον οποίο εξελίσσεται η αντίδραση μπορεί να περιγραφεί από την εξίσωση:

$$\frac{dC_{L^*R}}{dt} = k_f(R_0 - C_{L^*R})(L_0 - C_{L^*R}) - k_r C_{L^*R}$$

Από τους συστημικούς παράγοντες, η παραθορμόνη (PTH), η καλσιτονίνη και η καλσιτριόλη παίζουν σημαντικό ρόλο με την πρόσδεσή τους στους υποδοχείς των οστικών κυττάρων.

Η παραθορμόνη, τη συγκέντρωση της οποίας συμβολίζουμε με  $P_{TH}$ , προσδέεται στους υποδοχείς της που βρίσκονται στα οστεοβλαστικά κύτταρα. Συμβολίζοντας με  $R_{PTH}$  τη συγκέντρωση των υποδοχέων και  $C_{PTH^*R}$  τη συγκέντρωση του σχηματιζόμενου συμπλόκου, έχουμε την αντίδραση:



για την οποία γράφουμε

$$\frac{dC_{PTH^*R}}{dt} = k_{f1}P_{TH}R_{PTH} - k_{r1}C_{PTH^*R}$$

ή

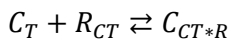
$$\frac{dC_{PTH^*R}}{dt} = k_{f1}(P_{TH,0} - C_{PTH^*R})(R_{PTH,0} - C_{PTH^*R}) - k_{r1}C_{PTH^*R}$$

Η ποσότητα τώρα της PTH που εκκρίνεται από τον παραθυρεοειδή αδένά είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης ασβεστίου στο αίμα, κι επομένως σε πρώτη τουλάχιστον προσέγγιση αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης των ενεργών οστεοκλαστών (έστω  $O_C$ ), που με την οστεόλυση απελευθερώνουν στο αίμα το αποθηκευμένο στο οστό ασβέστιο. Άρα για τη δυναμική της PTH γράφουμε:

$$\frac{dP_{TH}}{dt} = \frac{a_1}{O_C} - d_1 P_{TH}$$

με  $a_1$  θετική σταθερά και  $d_1$  σταθερά ρυθμού απομάκρυνσης από το σύστημα. Ο ρυθμός απομάκρυνσης της PTH θα είναι ανάλογος του τρέχοντος επιπέδου της.

Για την καλσιτονίνη (έστω  $C_T$  η συγκέντρωσή της), οι υποδοχείς της οποίας βρίσκονται στα οστεοκλαστικά κύτταρα, η αντίδραση πρόσδεσης είναι :



για την οποία γράφουμε

$$\frac{dC_{CT^*R}}{dt} = k_{f2}C_T R_{CT} - k_{r2}C_{CT^*R}$$

ή

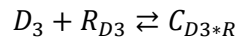
$$\frac{dC_{CT^*R}}{dt} = k_{f2}(C_{T,0} - C_{CT^*R})(R_{CT,0} - C_{CT^*R}) - k_{r1}C_{CT^*R}$$

Η καλσιτονίνη εκκρίνεται κυρίως από τον θυροειδή αδένα ως αποτέλεσμα υψηλής συγκέντρωσης ασβεστίου στο αίμα κι επομένως η έκκρισή της θα είναι σε πρώτη τουλάχιστον προσέγγιση ανάλογη της συγκέντρωσης  $O_C$  των ενεργών οστεοκλαστών, που με την οστεόλυση απελευθερώνουν στο αίμα το αποθηκευμένο στο οστό ασβέστιο. Οπότε γράφουμε:

$$\frac{dC_T}{dt} = a_2 O_C - d_2 C_T$$

με  $a_2$  θετική σταθερά και  $d_2$  σταθερά ρυθμού απομάκρυνσης από το σύστημα.

Για την καλσιτριόλη (έστω  $D_3$  η συγκέντρωσή της), οι υποδοχείς της οποίας βρίσκονται στα οστεοβλαστικά κύτταρα, η αντίδραση πρόσδεσης είναι:



για την οποία γράφουμε

$$\frac{dC_{D3^*R}}{dt} = k_{f3}D_3 R_{D3} - k_{r3}C_{D3^*R}$$

ή

$$\frac{dC_{D3^*R}}{dt} = k_{f3}(D_{3,0} - C_{D3^*R})(R_{D3,0} - C_{D3^*R}) - k_{r1}C_{D3^*R}$$

Η καλσιτριόλη εκκρίνεται από τους νεφρούς και δρα σε συμφωνία με την PTH σχετικά με την αύξηση των επιπέδων του ασβεστίου στο αίμα. Σε μια πρώτη προσέγγιση θεωρούμε την έκκρισή της ανάλογη της συγκέντρωσης της PTH και αντιστρόφως ανάλογη των ενεργών οστεοκλαστών. Οπότε γράφουμε:

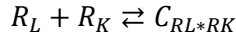
$$\frac{dD_3}{dt} = a_3 \frac{P_{TH}}{O_C} - d_3 D_3$$

με  $a_3$  θετική σταθερά και  $d_3$  σταθερά ρυθμού απομάκρυνσης από το σύστημα.

Την ίδια προσέγγιση υιοθετούμε και για τους σημαντικούς τοπικούς παράγοντες οι οποίοι προσδένονται στους αντίστοιχους υποδοχείς στα οστικά κύτταρα. Ο πιο σημαντικός ίσως τοπικός παράγοντας είναι η ουσία RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor κB Ligand), με υποδοχέα τον RANK στα οστεοκλαστικά κύτταρα και ανταγωνιστικό υποδοχέα-δόλωμα την OPG (οστεοπροτεγερίνη). Οι υπόλοιπες σημαντικές ουσίες την κινητική των οποίων θα εκφράσουμε ρητά είναι ο TGF-β (Αυξητικός Παράγοντας Μετασηματισμού β), ο MCSF (Παράγοντας Διέγερσης Αποικιών Μακροφάγων) και οι IGFs (Ινσουλινοειδείς Αυξητικοί Παράγοντες). Η συγκέντρωση των αντίστοιχων υποδοχέων θα είναι ανάλογη της

συγκέντρωσης των κυττάρων-φορέων τους. Οπότε, για την πρόσδεση κάθε ουσίας στον αντίστοιχο υποδοχέα και τη δυναμική του εκάστοτε σχηματιζόμενου συμπλόκου έχουμε (με  $k_f$  σταθερές ρυθμού πρόσδεσης και  $k_r$  σταθερές ρυθμού αποδέσμευσης):

- Για RANKL – RANK: Συμβολίζουμε τη συγκέντρωση του RANKL με  $R_L$ , του RANK με  $R_K$  και της OPG με  $O_G$ :



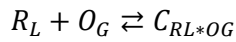
για την οποία

$$\frac{dC_{RL*RK}}{dt} = k_{f4}R_LR_K - k_{r4}C_{RL*RK}$$

ή

$$\frac{dC_{RL*RK}}{dt} = k_{f4}(R_{L,0} - C_{RL*OG} - C_{RL*RK})(R_{K,0} - C_{RL*RK}) - k_{r4}C_{RL*RK}$$

- Για RANKL – OPG: Συμβολίζουμε τη συγκέντρωση του RANKL με  $R_L$  και της OPG με  $O_G$ :



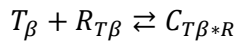
για την οποία

$$\frac{dC_{RL*OG}}{dt} = k_{f5}R_LO_G - k_{r5}C_{RL*OG}$$

ή

$$\frac{dC_{RL*OG}}{dt} = k_{f5}(R_{L,0} - C_{RL*RK} - C_{RL*OG})(O_{G,0} - C_{RL*OG}) - k_{r5}C_{RL*OG}$$

- Για Tgfb – υποδοχέα του: Συμβολίζουμε τη συγκέντρωση του Tgfb με  $T_\beta$  και του υποδοχέα του με  $R_{T\beta}$ :



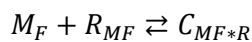
για την οποία

$$\frac{dC_{T\beta*R}}{dt} = k_{f6}T_\beta R_{T\beta} - k_{r6}C_{T\beta*R}$$

ή

$$\frac{dC_{T\beta*R}}{dt} = k_{f6}(T_{\beta,0} - C_{T\beta*R})(R_{T\beta,0} - C_{T\beta*R}) - k_{r6}C_{T\beta*R}$$

- Για MCS-F – υποδοχέα του: Συμβολίζουμε τη συγκέντρωση του MCS-F με  $M_F$  και του υποδοχέα του με  $R_{MF}$ :



για την οποία

$$\frac{dC_{MF*R}}{dt} = k_{f7}M_FR_{MF} - k_{r7}C_{MF*R}$$

ή

$$\frac{dC_{MF^*R}}{dt} = k_{f7}(M_{F,0} - C_{MF^*R})(R_{MF,0} - C_{MF^*R}) - k_{r7}C_{MF^*R}$$

- Για IGF – υποδοχέα του: Συμβολίζουμε τη συγκέντρωση του IGF με  $I_{GF}$  και του υποδοχέα του με  $R_{IGF}$ :

$$I_{GF} + R_{IGF} \rightleftharpoons C_{IGF^*R}$$

για την οποία

$$\frac{dC_{IGF^*R}}{dt} = k_{f8}I_{GF}R_{IGF} - k_{r8}C_{IGF^*R}$$

ή

$$\frac{dC_{IGF^*R}}{dt} = k_{f8}(I_{GF,0} - C_{IGF^*R})(R_{IGF,0} - C_{IGF^*R}) - k_{r8}C_{IGF^*R}$$

Συμπεριλαμβανόμε επίσης την επίδραση της μηχανικής κατάστασης μέσω τριών ουσιών που εκκρίνονται κυρίως ως αποτέλεσμα μηχανικής φόρτισης του οστού. Οι ουσίες αυτές είναι το νιτρικό οξύ (NO), η προσταγλανδίνη E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) και η σκληροστίνη.

Το NO και η PGE<sub>2</sub> απελευθερώνονται από τα οστεοκύτταρα (κυρίως) και τις οστεοβλάστες ως αντίδραση στα μηχανικά ερεθίσματα (Klein-Nulend et al., 1995; Ajubi et al., 1999; Chambers et al., 1999; Zaman et al., 1999; Nomura & Takano-Yamamoto, 2000; Van't Hof & Ralston, 2001; Bonewald, 2011). Οι ρυθμοί απελευθέρωσης NO και PGE<sub>2</sub> λοιπόν είναι συνάρτηση ενός θεωρούμενου μηχανικού μεγέθους  $M$ , σχετικού με την κατάσταση μηχανικής φόρτισης του οστού. Η παραγωγή PGE<sub>2</sub> από τα οστικά κύτταρα επηρεάζεται (θετικά) και από την PTH (Bakker et al., 2003). Δηλαδή

$$\frac{dN_O}{dt} = f_1(M)$$

$$\frac{dP_{GE}}{dt} = f_2(M, P_{TH})$$

Οι συγκεντρώσεις NO και PGE<sub>2</sub> μετρούνται σε σχέση με το βασικό επίπεδο.

Οι  $f_1$  και  $f_2$  είναι αύξουσες συναρτήσεις και η ακριβής μορφή τους θα μπορούσε να προσδιοριστεί πειραματικά. Το καταλληλότερο μηχανικό μέγεθος  $M$ , τουλάχιστον όσον αφορά την απελευθέρωση NO και PGE<sub>2</sub>, είναι μάλλον η διατμητική τάση που ασκεί στα κύτταρα η ροή του ενδιάμεσου υγρού (Smalt et al., 1997; McAllister et al., 2000; Bakker et al., 2001; Bacabac et al., 2004).

Το NO γενικότερα μπορεί να έχει ποικίλα αποτελέσματα στον οστικό μεταβολισμό. Το NO που απελευθερώνεται όταν υπάρχει μηχανική καταπόνηση επιδρά ανασταλτικά στον σχηματισμό και τη δραστηριότητα των οστεοκλαστών (Chambers et al., 1999; Van't Hof & Ralston, 2001; Wimalawansa, 2010). Αυτό σύμφωνα με μελέτες (Fan et al., 2004; Wang et al., 2004; Rahnert et al., 2008) επιτυγχάνεται μέσω της επίδρασής του στην αναλογία RANKL και OPG: αυξάνει τα επίπεδα OPG ενώ μειώνει τα επίπεδα RANKL. Επιπλέον το NO σε μέτρια

επίπεδα ασκεί διεγερτική επίδραση στη διαφοροποίηση κι εξάπλωση των οστεοβλαστικών κυττάρων (Hikiji et al., 1997; Wimalawansa, 2010). Έτσι, στο μοντέλο μας θα συμπεριλάβουμε την επίδραση του νιτρικού οξέος στις εξισώσεις για τη δυναμική του RANKL, της OPG και των οστεοβλαστών. Είναι πιθανό όμως το NO να επιδρά στα οστεοκλαστικά κύτταρα και με άλλους τρόπους, μη σχετικούς με τις ουσίες RANKL και OPG.

Η PGE<sub>2</sub> και ασκεί διεγερτική επίδραση στη δημιουργία κι εξάπλωση των οστεοβλαστών, αλλά αμφιλεγόμενη επίδραση στη δημιουργία και δραστηριότητα των οστεοκλαστών (Norrdin et al., 1990; Kawaguchi et al., 1995; Kaji et al., 1996; Chambers et al., 1999; Kobayashi et al., 2005; Take et al., 2005; Blackwell et al., 2010). Για τον λόγο αυτό, στις εξισώσεις που περιγράφουν τη δυναμική των οστεοκλαστικών κυττάρων αποτυπώνουμε τη δράση της PGE<sub>2</sub> είτε ως διεγερτική είτε ως ανασταλτική ( $\pm$ ).

Η σκληροστίνη, όπως έχουμε πει, παράγεται από τα οστεοκύτταρα και αναστέλλει το «μονοπάτι» Wnt/ $\beta$ -κατενίνης (Van Bezooijen et al., 2007; Bonewald, 2011; Kular et al., 2012) που προωθεί την οστεοβλαστική διαφοροποίηση. Η παραγωγή της σκληροστίνης αναστέλλεται από τις μηχανικές φορτίσεις (Robling et al., 2008; Papanicolaou et al., 2009). Για να περιγράψουμε μαθηματικά αυτό το φαινόμενο χρησιμοποιούμε τη προσέγγιση των Van Oers et al. (2011), που έχουν δημοσιεύσει άρθρο που πραγματεύεται τη μαθηματική περιγραφή των σχετικών με τη σκληροστίνη φαινομένων. Στην προσέγγιση αυτή, θεωρούμε ότι στη θέση  $\vec{x}_i$  υφίσταται ένα μηχανικό ερέθισμα  $R(\vec{x}_i, t)$ . Ένα οστεοκύτταρο  $i$  στη θέση  $\vec{x}_i$ , εκκρίνει τη χρονική στιγμή  $t$  κάποια ποσότητα σκληροστίνης  $sc_i(t)$  όταν το μηχανικό ερέθισμα που «αισθάνεται» είναι κάτω από ένα συγκεκριμένο όριο  $a$ . Αν  $\mu$  η ευαισθησία του οστεοκυττάρου στο μηχανικό ερέθισμα, η ποσότητα σκληροστίνης που εκκρίνει είναι:

$$sc_i(t) = 1 - \frac{R(\vec{x}_i, t) \cdot \mu}{a}$$

Οι ποσότητες σκληροστίνης δηλαδή μειώνονται με την αύξηση του μηχανικού ερεθίσματος.

Εμείς θεωρούμε τον μέσο όρο των εκκρινόμενων ποσοτήτων σκληροστίνης

$$S_C(t) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n sc_i(t)$$

με σκοπό να τον εισάγουμε ως μεταβλητή απευθείας στην εξίσωση για τη δυναμική των οστεοβλαστικών κυττάρων. Στην μαθηματική προσέγγισή μας θα αγνοήσουμε τους μοριακούς μηχανισμούς δια των οποίων η σκληροστίνη αναστέλλει το «μονοπάτι» Wnt/ $\beta$ -κατενίνης και κατά συνέπεια την οστεοβλαστική διαφοροποίηση.

Γενικά τώρα, για να αποτυπώσουμε στις εξισώσεις την επίδραση του κάθε παράγοντα είτε στα κύτταρα είτε στις εμπλεκόμενες στη διαδικασία ουσίες λαμβάνουμε υπόψιν τις σχετικές συγκεντρώσεις και θέτουμε τις αντίστοιχες παραμέτρους ως εκθέτες. Επειδή κάποιες ουσίες



επιδρούν διαφορετικά στα οστικά κύτταρα ανάλογα με το στάδιο ωρίμανσης των κυττάρων και επειδή τα ίδια τα κύτταρα δρουν διαφορετικά ανάλογα το στάδιο διαφοροποίησής τους, θεωρούμε δύο τύπους οστεοβλαστικών και δύο τύπους οστεοκλαστικών κυττάρων. Έτσι εισάγουμε σαν καταστατικές μεταβλητές τη συγκέντρωση των οστεοβλαστών ( $O_B$ ), τη συγκέντρωση των οστεοκλαστών ( $O_C$ ), τη συγκέντρωση των προ-οστεοβλαστών ( $O_{Bp}$ ) και τη συγκέντρωση των προ-οστεοκλαστών ( $O_{Cp}$ ). Ο ρυθμός απομάκρυνσης από το σύστημα κάθε ουσίας θα είναι ανάλογος της τρέχουσας συγκέντρωσής της. Τις σταθερές ρυθμού απομάκρυνσης στις παρακάτω εξισώσεις τις συμβολίζουμε με  $d$ .

Ο ρυθμός έκκρισης RANKL θα είναι ανάλογος του πλήθους των κυττάρων που τον παράγουν, δηλαδή των οστεοβλαστών ( $O_B$ ) αλλά και των οστεοκυττάρων ( $O_{CT}$ ). Επίσης εξαρτάται από την πρόσδεση της PTH, της καλσιτριόλης και του TGF- $\beta$ . Ο TGF- $\beta$  προσδεόμενος στους οστεοβλαστικούς υποδοχείς του στην προκειμένη περίπτωση, επιδρά ανασταλτικά στον RANKL. (δηλαδή στη σχετική αντίδραση πρόσδεσης οι υποδοχείς του TGF- $\beta$  είναι ανάλογοι των οστεοβλαστικών κυττάρων.) Επίσης, επειδή οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-6, IL-11 γενικά αυξορυθμίζουν την παραγωγή RANKL, εισάγουμε σαν μεταβλητή τον μέσο όρο των συγκεντρώσεών τους ( $I_L$ ). Το NO που παράγεται ως αποτέλεσμα μηχανικού ερεθίσματος επιδρά αρνητικά στα επίπεδα RANKL. Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω, γράφουμε :

$$\frac{dR_L}{dt} = a_4(O_B + O_{CT})[(C_{PTH^*R})^{k_1} + (C_{D3^*R})^{k_2} + I_L^{k_3} - (C_{T\beta^*R})^{k_4} - N_O^{k_5}] - d_4R_L$$

όπου  $a_4, k_1, k_2, k_3, k_4, k_5$  οι σχετικές (θετικές) παράμετροι.

Η OPG ( $O_G$ ) επίσης παράγεται από τα κύτταρα της οστεοβλαστικής γενεαλογίας και η παραγωγή της μειώνεται από την πρόσδεση της PTH. Τα επίπεδα όμως της OPG ανεβαίνουν παρουσία μηχανικού ερεθίσματος, μέσω του NO. Άρα:

$$\frac{dO_G}{dt} = a_5(O_{Bp} + O_B)[N_O^{k_6} - (C_{PTH^*R})^{k_7}] - d_7M_F$$

όπου  $a_5, k_6, k_7$  οι σχετικές (θετικές) παράμετροι..

Επειδή τα οστεοκύτταρα έχουν πολύ μεγαλύτερη διάρκεια ζωής (περίπου 25 χρόνια) από τις οστεοκλάστες (περίπου 2 εβδομάδες) και τις οστεοβλάστες (περίπου 3 μήνες), το πλήθος και η συγκέντρωσή τους θεωρούνται σταθερά.

Ο ρυθμός εμφάνισης του TGF- $\beta$  ( $T_\beta$ ) στο σύστημα θα είναι ανάλογος της συγκέντρωσης των οστεοκλαστών, που με τη δράση τους απελευθερώνουν τον αποθηκευμένο στη μεσοκυττάρια ουσία TGF- $\beta$ .

$$\frac{dT_\beta}{dt} = a_6O_C - d_5T_\beta$$

όπου  $a_6$  θετική σταθερά.

Ο ρυθμός έκκρισης του MCS-F ( $M_F$ ) θα είναι ανάλογος της συγκέντρωσης των κυττάρων της οστεοβλαστικής γενεαλογίας που τον παράγουν, δηλαδή των προ-οστεοβλαστών ( $O_{Bp}$ ) και των οστεοβλαστών ( $O_B$ ):

$$\frac{dM_F}{dt} = a_7(O_{Bp} + O_B) - d_6M_F$$

όπου  $a_7$  θετική σταθερά.

Οι ινσουλινοειδείς αυξητικοί παράγοντες IGFs ( $I_{GF}$ ) βρίσκονται αποθηκευμένοι στη μεσοκυττάρια ουσία και απελευθερώνονται με τη δράση των οστεοκλαστών:

$$\frac{dI_{GF}}{dt} = a_8O_C - d_8I_{GF}$$

όπου  $a_8$  θετική σταθερά.

Σχετικά τώρα με τη δυναμική των κυττάρων, όπως είπαμε, θεωρούμε δύο τύπους οστεοκλαστικών κυττάρων (προ-οστεοκλάστες, οστεοκλάστες) και δύο τύπους οστεοβλαστικών (προ-οστεοβλάστες, οστεοβλάστες) κυττάρων. Επίσης κάνουμε την εύλογη παραδοχή ότι υπάρχει πολύ μεγάλο πλήθος (πρακτικά απεριόριστο) μεσεγγυματικών βλαστοκυττάρων και μονοπύρηνων μακροφάγων από τα οποία προέρχονται οι προ-οστεοβλάστες και οι προ-οστεοκλάστες. Οι ρυθμοί απόπτωσης ή απομάκρυνσης από το σύστημα των κυττάρων θα είναι ανάλογοι των αντίστοιχων συγκεντρώσεων με σταθερές ρυθμού απόπτωσης-απομάκρυνσης τις οποίες συμβολίζουμε με  $c$ .

Για την αρχική δημιουργία οστεοκλαστικών κυττάρων είναι απαραίτητη η δράση των ουσιών RANKL και MCS-F. Επειδή ο MCS-F επιδρά στα αρχικά στάδια της οστεοκλαστικής διαφοροποίησης, θεωρούμε την επίδρασή του στις προ-οστεοκλάστες αλλά όχι στις οστεοκλάστες. Αντιθέτως θεωρούμε την επίδραση του RANKL και στους δύο τύπους οστεοκλαστικών κυττάρων. Έτσι η δυναμική των προ-οστεοβλαστών θα εξαρτάται από την πρόσδεση αυτών των ουσιών. Δηλαδή:

$$\frac{dO_{Cp}}{dt} = b_1[(C_{RL*RK})^{g_1} + (C_{MF*R})^{g_2} \pm P_{GE}^{g_3}] - c_1O_{Cp}$$

όπου  $b_1, g_1, g_2, g_3$  οι σχετικές (θετικές) παράμετροι.

Στον πληθυσμό των οστεοκλαστών επιδρά θετικά η πρόσδεση του RANKL και αρνητικά η πρόσδεση του TGF- $\beta$  και της καλσιτονίνης:

$$\frac{dO_C}{dt} = b_2O_{Cp}[(C_{RL*RK})^{g_4} \pm P_{GE}^{g_5} - (C_{T\beta*R})^{g_6} - (C_{CT*R})^{g_7}] - c_2O_C$$

όπου  $b_2, g_4, g_5, g_6, g_7$  οι σχετικές (θετικές) παράμετροι.

Σχετικά τώρα με τα οστεοβλαστικά κύτταρα, έχουμε την επίδραση της πρόσδεσης των IGFs, του TGF- $\beta$  και της PTH. Τα αποτελέσματα όμως της πρόσδεσης του TGF- $\beta$  στα οστεοβλαστικά κύτταρα, είναι διεγερτικά στα αρχικά στάδια διαφοροποίησής τους και ανασταλτικά στα πιο

ώριμα στάδια. Ακόμα, έχουμε την επίδραση του NO, της PGE<sub>2</sub> και της σκληροστίνης, οι συγκεντρώσεις των οποίων ( $N_O, P_{GE}, S_C$ ) είναι συναρτήσεις του μηχανικού ερεθίσματος, όπως αναλύσαμε πιο πριν. Λαμβάνοντας υπόψιν τα παραπάνω, γράφουμε:

$$\frac{dO_{Bp}}{dt} = b_3 [(C_{IGF^*R})^{g_8} + (C_{T\beta^*R})^{g_9} + (C_{PTH^*R})^{g_{10}} + P_{GE}^{g_{11}} - S_C^{g_{12}}] - c_3 O_{Bp}$$

$$\frac{dO_B}{dt} = b_4 O_{Bp} [(C_{IGF^*R})^{g_{13}} + N_O^{g_{14}} + P_{GE}^{g_{15}} - (C_{T\beta^*R})^{g_{16}} - (C_{PTH^*R})^{g_{17}} - S_C^{g_{18}}] - c_4 O_B$$

όπου  $b_3, b_4, g_8, g_9, g_{10}, g_{11}, g_{12}, g_{13}, g_{14}, g_{15}, g_{16}, g_{17}, g_{18}$  οι σχετικές (θετικές) παράμετροι.

Η οστική πυκνότητα (έστω  $\rho$ ) θα αυξάνεται ανάλογα με τη συγκέντρωση των οστεοβλαστών και θα μειώνεται ανάλογα με τη συγκέντρωση των οστεοκλαστών.

Το παρόν μοντέλο επιχειρεί να συμπεριλάβει ρητά τις αλληλεπιδράσεις όλων των κύριων ουσιών που παίζουν σημαντικό ρόλο στο οστικό σύστημα. Επίσης, προσδίδει σχετικά σημαντικό ρόλο στην κινητική των αντιδράσεων πρόσδεσης των ουσιών στους υποδοχείς. Κάποιες μελέτες υιοθετούν παρόμοια προσέγγιση για τον ρόλο των αντιδράσεων πρόσδεσης, με τη διαφορά ότι χρησιμοποιούν συναρτήσεις Hill, για λίγες σημαντικές αντιδράσεις. Ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό είναι ότι περιλαμβάνει την επίδραση μηχανικών ερεθισμάτων μέσω τριών διαφορετικών ουσιών ταυτόχρονα.

Μπορούμε να πούμε ότι το παρόν μοντέλο είναι μέσης πολυπλοκότητας αποσκοπώντας να κρατήσει μια ισορροπία μεταξύ ευχρηστίας και συμφωνίας με την πραγματικότητα και τα δεδομένα. Στο πλαίσιο αυτό συμπεριελήφθησαν στις εξισώσεις όλοι οι σημαντικοί παράγοντες, όμως αποφύγαμε την εισαγωγή πολύ μεγάλου πλήθους παραμέτρων. Έτσι, πιθανόν να έχουν αγνοηθεί κάποιες δευτερεύουσες διεργασίες ή επιμέρους στοιχεία, όπως ειδικά χωρικά χαρακτηριστικά, χρονικές καθυστερήσεις ή αποκλίσεις από σχέσεις αναλογίας.

## 6.2 Υπολογιστική Δοκιμή

Για να πάρουμε μια εικόνα της πιθανής δυναμικής συμπεριφοράς των συγκεντρώσεων των κυττάρων, λύνουμε υπολογιστικά τη διαφορική εξίσωση που αφορά τις προ-οστεοκλάστες θεωρώντας τη ανεξάρτητη των υπολοίπων σχέσεων. Για το λόγο αυτό εισάγουμε κάποιες τυπικές τιμές για τις συγκεντρώσεις των εμπλεκόμενων ουσιών και τις παραμέτρους. Κάνουμε επίσης την προσεγγιστικού τύπου παραδοχή ότι οι τιμές των συγκεντρώσεων των μορίων έχουν σταθερή τιμή κατά το πρώτο μισό του θεωρούμενου χρόνου και διαφορετική (μικρότερη σύμφωνα με τη θεωρία) σταθερή τιμή κατά το δεύτερο μισό του θεωρούμενου χρόνου. Οι τιμές των παραμέτρων και οι τυπικές τιμές των συγκεντρώσεων (τάξεις μεγέθους με βάση τη βιβλιογραφία μας) που χρησιμοποιήσαμε είναι:

$$b_1 = 0,1 \text{ day}^{-1}$$

$$c_1 = 0,1 \text{ day}^{-1}$$

$$g_1 = 1,5 \text{ (αδιάστατο)}$$

$$g_2 = 1,3 \text{ (αδιάστατο)}$$

$$g_3 = 1 \text{ (αδιάστατο)}$$

$$C_{RL*RK} = 0,5 \text{ nmol/L} \quad , \quad C_{RL*RK} = 0,1 \text{ nmol/L}$$

$$C_{MF*R} = 0,3 \text{ nmol/L} \quad , \quad C_{MF*R} = 0,05 \text{ nmol/L}$$

$$P_{GE} = 10 \text{ nmol/L} \quad , \quad P_{GE} = 1 \text{ nmol/L (ως προς το βασικό επίπεδο)}$$

Ακολουθεί ο σχετικός κώδικας σε γλώσσα προγραμματισμού «Python» και το προκύπτον γράφημα της συγκέντρωσης των προ-οστεοκλαστικών κυττάρων συναρτήσει του χρόνου.

Κώδικας σε γλώσσα προγραμματισμού «Python»

```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from scipy.integrate import odeint

# simple model of pre-osteoclasts concentration increasing period
def model_inc(y, t):
    b1 = 0.1
    c1 = 0.1
    g1 = 1.5
    g2 = 1.3
    g3 = 1
    # C_RL*RK
    CR = 0.5
    # C_MF*R
    CM = 0.3
    # P_GE
    P = 10

    dydt = b1 * (CR**g1 + CM**g2 + P**g3) - c1 * y

    return dydt

# simple model of pre-osteoclasts concentration decreasing period
def model_dec(y, t):
    b1 = 0.1
    c1 = 0.1
    g1 = 1.5
    g2 = 1.3
```

```
g3 = 1
# C_RL*RK
CR = 0.1
# C_MF*R
CM = 0.05
# P_GE
P = 1

dydt = b1 * (CR**g1 + CM**g2 + P**g3) - c1 * y

return dydt

# initial condition of osteoclasts concentration (y0 = O_Cp)
y0 = 1

# time for increasing period in days
t1 = np.linspace(0, 50, 100)
# time for increasing period in days
t2 = np.linspace(50, 100, 100)

# solve differential equations
y1 = odeint(model_inc, y0, t1)
y2 = odeint(model_dec, y1[-1], t2)

# plot equations
fig = plt.figure(figsize=(13, 8))

plt.plot(t1, y1, c='blue', linewidth=2)
plt.plot(t2, y2, c='blue', linewidth=2)

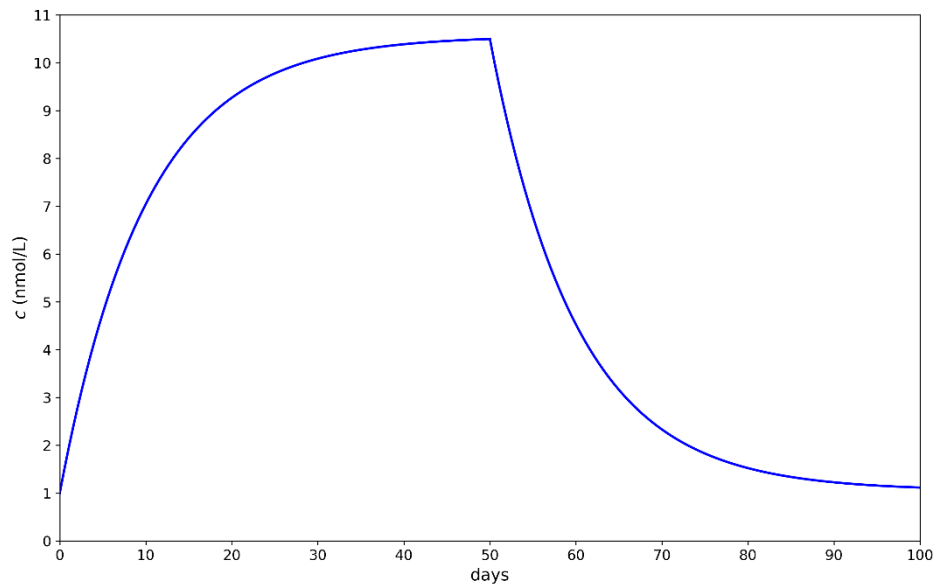
plt.xlabel('days', fontsize=14)
plt.ylabel('$c$ (nmol/L)', fontsize=14)

plt.xlim(0, 100)
plt.ylim(0, 11)

plt.xticks([10 * i for i in range(11)], fontsize=12)
plt.yticks([i for i in range(12)], fontsize=12)

plt.show()

# save plot
fig.savefig('pre-osteoclasts.png', dpi=300)
```



*Σχήμα 6.1* Γράφημα της συγκέντρωσης των προ-οστεοβλαστών ( $C$ ) συναρτήσει του χρόνου

Περαιτέρω διερεύνηση είναι αρκετά απαιτητική και χρήζει προσδιορισμού όλων των παραμέτρων, αριθμητικής - υπολογιστικής επίλυσης του συστήματος των εξισώσεων και σύγκρισης με *in vivo* τιμές των μεταβλητών.

# 7

## *Επίλογος*

### *7.1 Σύνοψη*

Συνοψίζοντας, μεγάλο πλήθος μαθηματικών – υπολογιστικών μοντέλων για την οστική αναδόμηση - προσαρμογή έχουν προταθεί τις τελευταίες δεκαετίες με σκοπό την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που κυβερνούν τη διαδικασία. Μπορούμε να ταξινομήσουμε τα μοντέλα με βάση την κλίμακα της προσέγγισης σε τρεις βασικές κατηγορίες (Webster & Müller, 2010):

- Σε επίπεδο οργάνου
- Σε επίπεδο ιστού
- Σε επίπεδο κυττάρου

Σε επίπεδο οργάνου (παλαιότερες προσεγγίσεις), το οστό θεωρείται ως ένα συνεχές μέσο που περιγράφεται από την πυκνότητά του. Τα μοντέλα επιχειρούν να συσχετίσουν τα μηχανικά ερεθίσματα με την κατανομή της πυκνότητας, συνήθως με βασικά εργαλεία τη μέθοδο πεπερασμένων στοιχείων και στοιχεία της θεωρίας ελαστικότητας. Στα μοντέλα αυτά αγνοούνται η μικροαρχιτεκτονική και οι μικροδομές του οστού, όπως και οι υποκείμενοι βιολογικοί μηχανισμοί. Υπάρχουν διάφορες προσεγγίσεις:

- με βάση τη θεωρία βέλτιστης δομής για κάποιο εφαρμοζόμενο μηχανικό φορτίο
- με βάση τη διατήρηση ομοιόμορφης κατανομής τάσης / παραμόρφωσης / ενέργειας παραμόρφωσης
- με βάση την πυκνότητα ενέργειας παραμόρφωσης
- με βάση τη συσσώρευση μικρορωγματώσεων ή μικροφθορών
- με βάση τη φθορά του οστού λόγω κόπωσης
- με βάση τη ροή του μεσοκυττάρου υγρού και τις διατμητικές τάσεις που ασκεί αυτό

- με βάση το ιστορικό φόρτισης και τα χρονικά χαρακτηριστικά αυτής
- με βάση τη θλιπτική μηχανική τάση
- με βάση την εφελκυστική μηχανική τάση
- με βάση την κλίση της συνάρτησης μηχανικής τάσης
- ακόμα και με βάση πιεζοηλεκτρικές ή θερμοδυναμικές αρχές.

Κάποιες από αυτές τις προσεγγίσεις περιλαμβάνουν και μεταβολικές ή ορμονικές (βιολογικές γενικότερα) επιδράσεις.

Σε επίπεδο ιστού, τα μοντέλα βασίζονται στα προαναφερθέντα στοιχεία, αλλά επιπλέον λαμβάνουν υπόψιν την μικροαρχιτεκτονική και τις μικροδομές του οστού (κυρίως του σπογγώδους), καθώς κατέστη σαφές ότι είναι ανεπαρκής η περιγραφή του οστού ως απλού συνεχούς μέσου. Τα μοντέλα αυτά, συμπεριλαμβάνουν στοιχεία όπως το πάχος του σπογγώδους τμήματος του οστού, το βάθος της οστικής απορρόφησης από τις οστεοκλάστες, η δυναμική των Βασικών Πολυκυτταρικών Μονάδων, η συχνότητα ενεργοποίησης των Βασικών Πολυκυτταρικών Μονάδων, η προσαρμογή των μικροδομών του σπογγώδους οστού στο μηχανικό περιβάλλον και άλλα. Σε αυτό βοήθησαν και εργαλεία υψηλής τεχνολογίας, όπως η μικρο-υπολογιστική τομογραφία και η μέθοδος DEXA (Dual Energy X-Ray Absorptiometry), η οποία χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας.

Σε επίπεδο κυττάρου (πιο πρόσφατες προσεγγίσεις), τα μοντέλα περιγράφουν ρητά τη δυναμική των κυτταρικών πληθυσμών και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους, με σκοπό να διαλευκανθούν κυρίως οι βιοχημικοί μηχανισμοί που κυβερνούν τη διαδικασία. Περιλαμβάνουν την αυτοκρινή και παρακρινή δράση των κυττάρων και τις σημαντικότερες σχετικές βιοχημικές διεργασίες, είτε ρητά είτε έμμεσα στις σχετικές παραμέτρους. Οι εμπλεκόμενες στους μηχανισμούς αυτούς ουσίες βέβαια είναι πάρα πολλές και είναι εξαιρετικά δύσκολο να αποτυπωθεί η δράση όλων των παραγόντων στις εξισώσεις. Ούτως ή άλλως η δράση κάποιων παραγόντων αποτυπώνεται μέσω των παραμέτρων ή είναι αμελητέα σε σχέση με άλλους. Τα περισσότερα μοντέλα περιγράφουν την χρονική εξέλιξη του συστήματος, ενώ είδαμε και προσπάθειες για την αποτύπωση και της χωρικής εξέλιξης του συστήματος, καθώς είναι πιθανό η τελευταία να παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στη διαδικασία συνολικά. Κάποιες μελέτες συμπεριέλαβαν μηχανικές επιδράσεις στα μοντέλα δυναμικής κυτταρικών πληθυσμών, ή επιχείρησαν τον συνδυασμό διαφορετικών προσεγγίσεων.

## **7.2 Συμπεράσματα - Μελλοντικές κατευθύνσεις**

Η οστική αναδόμηση είναι μια εξαιρετικά πολύπλοκη διαδικασία που επηρεάζεται από πολλούς και διαφορετικής φύσεως παράγοντες. Η διαδικασία δεν έχει αποκωδικοποιηθεί



πλήρως και κάποιες διεργασίες δεν είναι ακόμα σε ικανοποιητικό βαθμό κατανοητές. Πολλοί από τους μοριακούς μηχανισμούς ανακαλύφθηκαν σχετικά πρόσφατα και συνεχίζουν να διερευνώνται. Η αποσαφήνιση κάποιων ζητημάτων πιθανόν να καταστήσει δυνατή την πιο αποτελεσματική θεραπεία ασθενειών όπως η οστεοπόρωση.

Οι μηχανισμοί της διαδικασίας λαμβάνουν χώρα σε διαφορετικές χωρικές και χρονικές κλίμακες. Τα διαφορετικής κλίμακας φαινόμενα αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Τα μαθηματικά μοντέλα και οι υπολογιστικές προσομοιώσεις στο μέλλον, όπως σημειώνουν και οι Webster & Müller (2011), θα πρέπει να εστιαστούν στον συνδυασμό προσεγγίσεων διαφορετικών κλιμάκων. Ιδανικά δηλαδή ένα μοντέλο θα πρέπει να αποτυπώνει τις αλληλεπιδράσεις κυττάρων και μορίων, αλλά ταυτόχρονα να λαμβάνει υπόψιν τη μορφολογία και τις μικροδομές του οστού, καθώς και την επίδραση του μηχανικού περιβάλλοντος.



# 8

## *Βιβλιογραφία*

- Adachi T, Kameo Y, Hojo M. Trabecular bone remodeling simulation considering osteocytic response to fluid-induced shear stress. *Philos Trans R Soc A Math Phys Eng Sci* 368: 2669-2682, 2010
- Adachi T, Tomita Y, Sakaue H, Tanaka M. Simulation of trabecular surface remodeling based on local stress nonuniformity. *Jpn Soc Eng* 40: 782-792, 1997
- Adachi T, Tsubota K, Tomita Y, Hollister S J. Trabecular surface remodeling simulation for cancellous bone using microstructural voxel element models. *J Biomech Eng* 123: 403-409, 2001
- Aznar J M, Rueberg T, Doblaré M. A bone remodeling model coupling microdamage growth and repair by 3D BMU-activity. *Biomech Model Mechanobiol* 4: 147-167, 2005
- Ajubi N E, Klein-Nulend J, Alblas M J, Burger E H, Nijweide P J. Signal transduction pathways involved in fluid flow-induced PGE<sub>2</sub> production by cultured osteocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 276(39): 171-178, 1999
- Bacabac R G, Smit T H, Mullender M G, Dijcks S J, Van Loon J J, Klein-Nulend J. Nitric oxide production by bone cells is fluid shear stress rate dependent. *Biochem Biophys Res Commun* 315: 823-829, 2004
- Bagge M. A model of bone adaptation as an optimization process. *J Biomech* 33: 1349-1357, 2000
- Bakker A D, Joldersma M, Klein-Nulend Jenneke Burger E H. Interactive effects of PTH and mechanical stress on nitric oxide and PGE<sub>2</sub> production by primary mouse osteoblastic cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E608-E613, 2003
- Bakker A D, Soejima K, Klein-Nulend J, Burger E H. The production of nitric oxide and prostaglandin E<sub>2</sub> by primary bone cells is shear stress dependent. *J Biomech* 34(5): 671-677, 2001

- Beaupré G S, Orr T E, Carter D R. An approach for time-dependent bone modeling and remodeling – theoretical development. *J Orthop Res* 8: 651-661, 1990
- Beaupré G S, Orr T E, Carter D R. An approach for time-dependent bone modeling and remodeling – application: a preliminary remodeling simulation. *J Orthop Res* 8: 662-670, 1990
- Blackwell K A, Raisz L G, Pilbeam C C. Prostaglandins in bone: Bad cop, good cop? *Trends Endocrinol Metab* 21(5): 294-301, 2010
- Bonewald L. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 26: 229-238, 2011
- Bonfoh N, Novinyo E, Lipinski P. Modeling of bone adaptive behavior based on cells activities. *Biomech Model Mechanobiol* 5: 789-798, 2011
- Brown T D, Pedersen D R, Gray M L, Brand R A, Rubin C T. Towards an identification of mechanical parameters initiating periosteal remodeling: a combined experimental and analytic approach. *J Biomech* 23: 893-905, 1990
- Carter D R, Fyhrie D P, Whalen R T. Trabecular bone density and loading history: regulation of tissue biology by mechanical energy. *J Biomech* 20: 785-795, 1987
- Carter D R, Orr T E, Fyhrie D P. Relationships between loading history and femoral cancellous bone architecture. *J Biomech* 22: 231-144, 1989
- Carter D R & Hayes W C. Fatigue life of compact bone – I. Effects of stress amplitude, temperature and density. *J Biomech* 9(1): 27-34, 1976
- Carter D R & Hayes W C. The behavior of bone as a two-phase porous structure. *J Bone Jt Surg* 59A: 954-962, 1977
- Carter D R, Hayes W C, Schurman D J. Fatigue life of compact bone – II. Effects of microstructure and density. *J Biomech* 9(4): 211-218, 1976
- Chaiya I, Rattamongkonkul S, Rattanakul C. A mathematical model of bone remodeling process: effects of parathyroid hormone and calcitonin. *Proceedings of the 5<sup>th</sup> international conference on applied mathematics, simulation, modelling*. p. 42-47. 2011
- Chambers T J, Fox S, Jagger C J, Lean J M, Chow J W M. The role of prostaglandins and nitric oxide in the response of bone to mechanical forces. *Osteoarthritis and Cartilage* 7(4): 422-423, 1999
- Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol* 3: S131-S139, 2008
- Cowin S C. Mechanical Modeling of the stress adaptation process in bone. *Calcif Tissue Int* 36: 98-103, 1984
- Cowin S C & Nachlinger R R. Bone remodeling III: uniqueness and stability in adaptive elasticity theory. *Journal of Elasticity* 8(3): 285-295, 1978

- Cowin S C, Arramon Y P, Luo G M, Sadegh A M. Chaos in the discrete-time algorithm for bone-density remodeling rate equations. *J Biomech* 26(9): 1077-1089, 1993
- Cowin S C & Hedegus D H. Bone remodeling I: theory of adaptive elasticity. *Journal of Elasticity* 6(3): 313-326, 1976
- Doblaré M & García J M. Anisotropic bone remodeling model based on a continuum damage-repair theory. *Journal of Biomechanics* 35: 1-17, 2002
- Eriksen E F. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endocr Metab Disord* 11:219-227, 2010
- Fan X, Roy E, Zhu L, Murphy T C, Ackert-Bicknell C, Hart C M, Rosen C, Nanes M S, Rubin J. Nitric oxide regulates receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand and osteoprotegerin expression in bone marrow stromal cells. *Endocrinology* 145(2): 751-759, 2004
- Fernandez P, Rodriguez H, Jacobs C. A model of bone adaptation using a global optimization criterion based on the trajectorial theory of Wolff. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 2: 125-138, 1999
- Froencio-Silva R, Rodrigues da Silva Sasso G, Sasso-Cerri E, Simoes M J, Cerri P S. Biology of bone tissue: structure, function and factors that influence bone cells. *Biomed Research International*. Volume 2015, 2015
- Fyhrie D P & Carter D R. A unifying principle relating stress to trabecular bone morphology. *J Orthop Research* 4(3): 304-317, 1986
- Gjelsvik A. Bone remodeling and piezoelectricity - I. *J Biomechanics* 6: 69-77, 1973
- Gjelsvik A. Bone remodeling and piezoelectricity - II. *J Biomechanics* 6: 187-193, 1973
- Graham J M, Ayati B P, Holstein S A, Martin J A. The role of osteocytes in targeted bone remodeling: a mathematical model. *Plos One* 8(5), 2013
- Hadjidakis D J & Androulakis I I. Bone remodeling. *Ann NY Acad Sci*. 1092: 385-396, 2006
- Hart R T, Davy D T, Heiple K G. Mathematical modeling and numerical solutions for functionally dependent bone remodeling. *Calcif Tissue Int* 36: 104-109, 1984
- Hazelwood S J, Martin R B, Rashid M M, Rodrigo J J. A mechanistic model for internal bone remodeling exhibits different dynamic responses in disuse and overload. *J Biomech* 34: 299-308, 2001
- Hambli R. Connecting mechanics and bone cell activities in the bone remodeling process: an integrated finite element modeling. *Frontiers Bioeng Biotech*: p. 6-18, 2014
- Hambli R. Numerical procedure for multiscale bone adaptation prediction based on neural networks and finite element simulation. *Finite Elem Anal Des* 47: 835-842, 2011

- Hambli R, Katerchi H, Benhamou C. Multiscale methodology for bone remodeling simulation using coupled finite element and neural network computation. *Biomech Model Mechanobiol* 10: 133-145, 2011
- Hambli R, Soulat D, Gasser A, Benhamou C L. Strain-damage coupled algorithm for cancellous bone mechano-regulation with spatial function influence. *Comput Methods Appl Mech Eng* 198: 2673-2682, 2009
- Hart R T, Davy D T, Heiple K G. Mathematical modeling and numerical solutions for functionally dependent bone remodeling. *Calc Tis Int* 36: 104-109, 1984
- Hart R T & Fritton S P. Introduction to finite element-based simulation of functional adaptation of cancellous bone. *Forma* 12: 277-299, 1998
- Hedegus D H & Cowin S C. Bone remodeling II: small strain adaptive elasticity. *Journal of elasticity* 6(4): 337-352, 1976
- Hernandez C J, Beaupré G S, Carter D R. A model of mechanobiologic and metabolic influences on bone adaptation. *J Rehabil Res Dev* 37: 235-244, 2000
- Huiskes R, Ruimerman R, van Lethé G H, Janssen J D. Effects of mechanical forces on maintenance and adaptation of form in trabecular bone. *Nature* 405: 704-706, 2000
- Hikiji H, Shin W S, Oida S, Takato T, Koizumi T, Toyo-oka T. Direct action of nitric oxide on osteoblastic differentiation. *FEBS letters* 410: 238-242, 1997
- Huiskes R, Weinans H, Grootenboer H J, Dalstra M, Fudala B, Slooff T J. Adaptive bone - remodeling theory applied to prosthetic-design analysis. *J Biomech* 20(11,12): 1135-1150, 1987
- Idhammad A, Abdali A, Bussy P. Numerical simulation of bone remodeling in the context of damaged elastic. *Int J Adv Sci Tech* 37: 87-98, 2011
- Idhammad A & Abdali A. On a new law of bone remodeling based on damage elasticity: a thermodynamic approach. *Theor Biol Med Model* 9: 51, 2012
- Jacobs C R, Simo J C, Beaupré G S, Carter D R. Adaptive bone remodeling incorporating simultaneous density and anisotropy considerations. *J Biomech* 30: 603-613, 1997
- Jang I G & Kim I Y. Application of design space optimization to bone remodeling simulation of trabecular architecture in human proximal femur for higher computational efficiency. *Finite Elem Anal Des* 4: 311-319, 2010
- Jang I G & Kim I Y. Computational simulation of simultaneous bone change in human proximal femur during bone remodeling. *J Biomech* 43: 294-301, 2010
- Jang I G & Kim I Y. Computational study of Wolff's law with trabecular architecture in the human proximal femur using topology optimization. *J Biomech* 41: 2353-2361, 2008
- Jin J, Wang Y, Jiang H, Kourkoumelis N, Renaudineau Y, Deng Z. The impact of obesity through fat depots and adipokines on bone homeostasis. *AME Medical Journal* 3(1), 2018

- Kaji H, Sugimoto T, Kanatani M, Fusake M, Kumegawa M, Chihara K. Prostaglandin E<sub>2</sub> stimulates osteoclast-like cell formation and bone-resorbing activity via osteoblasts: Role of cAMP-dependent protein kinase. *J Bone Min Res* 11(1): 62-71, 1996
- Kawaguchi H, Pilbeam C C, Harrison J R, Raisz L G. The role of prostaglandins in the regulation of bone metabolism. *Clin Orthop* 313: 36-46, 1995
- Kini U & Nandeesh B N. Physiology of bone formation, remodeling and metabolism. *Radionuclide and Hybrid Bone Imaging*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2012
- Klein-Nulend J, van der Plas A, Semeins C M, Ajubi N F, Frangos J A, Nijweide P, Burger E H. Sensitivity of osteocytes to biomechanical stress in vitro. *FASEB J* 9(5): 441-445, 1995
- Komarova S V, Smith R J, Dixon S J, Sims S M, Wahl L M. Mathematical model predicts a critical role for osteoclast autocrine regulation in the control of bone remodeling. *Bone* 33: 206-215, 2003
- Kobayashi Y, Mizoguchi T, Take I, Kurihara S, Udagawa N, Takahashi N. Prostaglandin E<sub>2</sub> enhances osteoclastic differentiation of precursor cells through protein kinase A dependent phosphorylation of TAK1. *J Biol Chem* 280(12): 11395-11403, 2005
- Kroll M. Parathyroid hormone temporal effects on bone formation and resorption. *Bull Math Biol* 62: 163-188, 2000
- Kummer B. Biomechanics of bone: mechanical properties, functional structure, functional adaptation. *Biomech Found Obj*: 237-271, 1972
- Kular J, Tickner J, Chim S, Xu J. An overview of the regulation of bone remodeling at the cellular level. *Clin Biochem* 45(12): 863-873, 2012
- Langton C M, Haire T J, Ganney P S, Dobson C A, Fagan M J. Dynamic stochastic simulation of cancellous bone resorption. *Bone* 22: 375-380, 1998
- Lemaire V, Tobin F L, Greller L D, Cho C R, Suva L J. Modeling the interactions between osteoblast and osteoclast activities in bone remodeling. *J Theor Biol* 229: 293-309, 2004
- Maldonado S, Findeisen R, Allgöwer F. Mathematical modeling and analysis of force induced bone growth. *Proceedings of the 28<sup>th</sup> International Conference of IEEE-EMBC (New York)*: 3154-3160, 2006
- Martin R B. A mathematical model for fatigue damage repair and stress fracture in osteonal bone. *J Orthop Res* 13: 309-316, 1995
- Martin R B. Determinants of the mechanical properties of bones. *J Biomech* 24: S79-S88, 1991
- McNamara L M & Prendergast P J. Bone remodeling algorithms incorporating both strain and microdamage stimuli. *J Biomech* 40: 1381-1391, 2007

- - McNamara L M, Prendergast P J, Taylor D. Prediction of bone adaptation in the ulnar-osteotomized sheep's forelimb using an anatomical finite element model. *J Biomed Eng* 14: 209-216, 1992
- McNamara L M, Van der Linden J C, Weinans H, Prendergast P J. Stress-concentrating effect of resorption lacunae in trabecular bone. *J Biomech* 39: 734-741, 2006
- McAllister T N, Du T, Frangos J A. Fluid shear stress stimulates prostaglandin and nitric oxide release in bone marrow-derived preosteoclast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun* 270: 643-648, 2000
- Mescher A L. Janqueira 's Basic Histology - 13<sup>th</sup> edition. McGraw-Hill Education. 2013
- Moroz A, Crane M C, Smith G, Wimpenny D I. Phenomenological model of bone remodeling cycle containing osteocyte regulation loop. *Biosystems* 84: 183-190, 2006
- Mullender M G, Huiskes R, Weinans H. A physiological approach to the simulation of bone remodeling as a self-organizational control process. *J Biomech* 27: 1389-1394, 1994
- Nomura S & Takano-Yamamoto T. Molecular events caused by mechanical stress in bone. *Matrix Biol* 19: 91-96, 2000
- Norrdin R W, Jee W S, High W B. The role of prostaglandins in bone in vivo. *Prostag Leukot Essent Fatty Acids* 41: 139-149, 1990
- Papanicolaou S E, Phipps R J, Fyhrie D P, Genetos D C. Modulation of sclerostin expression by mechanical loading and bone morphogenetic proteins in osteogenic cells. *Biorheology* 46(5): 389-399, 2009
- Pivonka P, Zimak J, Smith D W, Gardiner B S, Dunstan C R, Sims N A, Martin T J, Mundy G R. Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study. *Bone* 43: 249-263, 2008
- Prendergast P J & Taylor D. Prediction of bone adaptation using damage accumulation. *J Biomech* 27: 1067-1076, 1994
- Proff P & Römer P. The molecular mechanism behind bone remodeling: a review. *Clin Oral Invest* 13: 355-362, 2009
- Qin Q H & Wang Y N. Amathematical model of cortical bone remodeling at cellular level under mechanical stimulus. *Acta Mech Sin* 28(6): 1678-1692, 2012
- Rahnert J, Fan X, Case N, Murphy T C, Grassi F, Sen B, Rubin J. The role of nitric oxide in the mechanical repression of RANKL in bone stromal cells. *Bone* 43(1): 48-54, 2008
- Ramtani S, Zidi M. A theoretical model of the effect of continuum damage on a bone adaptation model. *J Biomech* 34: 471-479, 2001



- Ramtani S, Zidi M. Damaged-bone remodeling theory: Thermodynamical approach. *Mechanics Research Communications* 26(6): 701-708, 1999
- Rattanakul C, Lenbury Y, Krishnamara N, Wollkind D J. Modeling of bone formation and resorption mediated by parathyroid hormone: response to estrogen/PTH therapy. *BioSystems* 70: 55-72, 2003
- Rattanakul C, Rattanamongkonkul S, Kunpasuruang W. A mathematical model of bone remodeling process: effects of parathyroid hormone and vitamin D. *Int J Math Mod Meth Appl Sci* 5(8). 2011
- Robling A G, Niziolek P J, Baldrige L A, Condon K W, Allen M R, Alam I, Mantila S M, Gluhak-Heinrich J, Bellido T M, Harris S E, Turner C H. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem* 283(9): 5866-5875, 2008
- Ross D S, Mehta K, Cabal A. Mathematical model of bone remodeling captures the antiresorptive and anabolic actions of various therapies. *Bull Math Biol* 79: 117-142, 2017
- Ruimerman R, Hilbers P, van Riebergen B, Huiskes R. A theoretical framework for strain-related trabecular bone maintenance and adaptation. *J Biomech* 38: 931-941, 2005
- Ruimerman R, van Rietbergen B, Hilbers P, Huiskes R. The effects of trabecular bone loading variables on the surface signaling potential for bone remodeling and adaptation. *Ann Biomed Eng* 33:71-78, 2005
- Ryser M D, Komarova S V, Nigam N. The cellular dynamics of bone remodeling: a mathematical model. *SIAM J Appl Math* 70(6): 1899-1921, 2010
- Ryser M D, Nigam N, Komarova S V. Mathematical modeling of spatio-temporal dynamics of a single bone multicellular unit. *J Bone Min Res* 24(5): 860-870, 2009
- Scheiner S, Pivonka P, Hellmich C, Smith D W. A mathematical model of bone remodeling considering mechanoregulatory mechanisms: theoretical model development and numerical studies. *Blucher Mech Eng Proc* 1(1), 2014
- Smalt R, Mitchell F T, Howard R L, Chambers T J. Mechanotransduction in bone cells: induction of nitric oxide and prostaglandin synthesis by fluid shear stress, but not by mechanical strain. *Adv Exp Med Biol* 433: 311-314, 1997
- Smit T H & Burger E H. Is BMU-coupling a strain-regulated phenomenon? A finite element analysis. *J Bone Miner Res* 15: 301-307, 2000
- Taylor D, Casolari E, Bignardi C. Predicting stress fractures using a probabilistic model of damage, repair and adaptation. *J Orthop Res* 22: 487-494, 2004
- Smith T S, Martin R B, Hubbard M, Bay B K. Surface remodeling of trabecular bone using a tissue level model. *J Orthop Res* 15: 593-600, 1997

- Take I, Kobayashi Y, Yamamoto Y, Tsuboi H, Ochi T, Uematsu S, Okafuji N, Kurihara S, Udagawa N, Takahashi N. Prostaglandin E<sub>2</sub> strongly inhibits osteoclast formation. *Endocrinology* 146(12): 5204-5214, 2005
- Taylor D & Lee T C. Microdamage and mechanical behaviour: predicting failure and remodeling in compact bone. *J Anat* 203: 203-211, 2003
- Tayyar S, Weinhold P S, Butler R A, Woodard J C, Zardiachas L D, St John K R, Bledsoe J M, Gilbert J A. Computer simulation of trabecular remodeling using a simplified structural model. *Bone* 25: 733-739, 1999
- Tezuka K, Wada Y, Takahashi A, Kikuchi M. Computer-simulated bone architecture in a simple bone remodeling model based on a reaction-diffusion system. *J Bone Miner Metab* 23: 1-7, 2005
- Thomsen J S, Mosekilde L, Boyce R W, Mosekilde E. Stochastic simulation of vertebral trabecular bone remodeling. *Bone* 15: 655-666, 1994
- Thomsen J S, Mosekilde L, Mosekilde E. Quantification of remodeling parameter sensitivity assessed by a computer simulation model. *Bone* 19: 505-511, 1996
- Tsubota K, Suzuki Y, Yamada T, Hojo M, Makinouchi A, Adachi T. Computer simulation of trabecular remodeling in human proximal femur using large-scale voxel FE models: approach to understanding Wolff's law. *J Biomech* 42: 1088-1094, 2009
- Van Bezooijen R L, Svensson J P, Eefting D, Visser A, Van der Horst G, Karperien M, Quax P, Vrieling H, Papadopoulos S E, ten Dijke P, Löwik C. Wnt but not BMP signaling is involved in the inhibitory action of sclerostin on BMP-stimulated bone formation. *J Bone Min Res* 22(1): 19-28, 2007
- Van Oers R, Van Rietbergen B, Ito K, Hilbers P, Huiskes R. A sclerostin-based theory for strain-induced bone formation. *Biomech Model Mechanobiol* 10: 663-670, 2011
- Van't Hof R J & Ralston S H. Nitric oxide and bone. *Immunology* 103(3): 255-261, 2001
- Wang F S, Wang C J, Chen Y J, Huang Y T, Huang H C, Chang P R, Sun Y C, Yang K D. Nitric oxide donor increases osteoprotegerin production and osteoclastogenesis inhibitory activity in bone marrow stromal cells from ovariectomized rats. *Endocrinology* 145(5): 2148-2156, 2004
- Webster D & Müller R. In silico models of bone remodelling from macro to nano – from organ to cell. *Wiley Interdisc Rev: Systems Biol Med* 3(2): 241-251, 2011
- Weinans H, Huiskes R, Grootenboer H J. The behavior of adaptive bone remodeling simulation models. *J Biomech* 25: 1425-1441, 1992
- Wimalawansa S J. Nitric oxide and bone. *Ann NY Acad Sci* 1192: 391-403, 2010

- Zaman G, Pitsillides A A, Rawlinson S C F, Suswillo R F L, Mosley J R, Cheng M Z, Platts L A M, Hukkanen M, Polak J M, Lanyon L E. Mechanical strain stimulates nitric oxide production by rapid activation of endothelial nitric oxide synthase in osteocytes. *J Bone Miner Res* 14(7): 1123-1131, 1999