

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**  
**ΤΟΜΕΑΣ ΜΗΤΕΡΑΣ - ΠΑΙΔΙΟΥ**  
**ΚΛΙΝΙΚΗ ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΟΓΚΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΙΔΩΝ**



**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**  
**ΗΛΙΑΝΝΑΣ Ι. ΜΑΝΙΑΔΑΚΗ**

**«Αξιολόγηση ρυθμού οστικού μεταβολισμού και οστικής πυκνότητας σε παιδιά με οξεία λευχαιμία και απάντηση των παραμέτρων αυτών σε τυχαιοποιημένη θεραπευτική παρέμβαση»**

**ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2012**

## ΕΠΙΤΑΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. Μαργιωρήs Α., Καθηγητής
2. Λιονής Χ., Καθηγητής
3. Στειακάκη Ε., Αναπλ. Καθηγήτρια
4. Μαυρουδής Δ., Καθηγητής
5. Αλεξανδράκης Μ., Αναπλ.Καθηγητής
6. Καραντάνας Α., Αναπλ. Καθηγητής
7. Κοντάκης Γ., Αναπλ. Καθηγητής

*«Είμαστε ένοχοι για πολλά σφάλματα και πολλά λάθη, αλλά το χειρότερο έγκλημα μας είναι η εγκατάλειψη των παιδιών μας, η παραμέληση της πηγής της ζωής. Πολλά πράγματα που χρειαζόμαστε μπορούν να περιμένουν, το παιδί μας όχι. Τώρα είναι η στιγμή που τα κόκαλα του σχηματίζονται, το αίμα του συντίθεται και οι αισθήσεις του αναπτύσσονται. Σ' αυτό δε μπορούμε να απαντήσουμε «Αύριο». Το όνομα του είναι «Σήμερα».*

*Gabriela Mistral, 1948*

"We are guilty of many errors and many faults, but our worst crime is abandoning the children, neglecting the foundation of life. Many of the things we need can wait. The child cannot. Right now is the time his bones are being formed, his blood is being made and his senses are being developed. To him we cannot answer "Tomorrow". His name is "Today"."

## ***ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ***

Στη χρονική διαδρομή αυτής της διατριβής συμμετείχαν πολλοί άνθρωποι που χάρη στην προσπάθεια και στη βοήθεια τους πραγματοποιήθηκε η ολοκλήρωση της. Θα ήθελα καταρχάς να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Α. Μαργιωρή για την εμπνευσμένη καθοδήγηση, την υπομονή και την ουσιαστική κατανόηση που μου προσέφερε. Τις θερμότερες ευχαριστίες μου θα ήθελα να εκφράσω στην καθηγήτρια κ. Μ.Καλμαντή για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντας μου αυτή τη διατριβή, για τις πολύτιμες συμβουλές της και την ουσιαστική διάθεση της εμπειρίας της κάθε στιγμή. Ανεκτίμητη ήταν η συμβολή της αναπληρώτριας καθηγήτριας κ. Ε.Στειακάκη, που με στιβαρή καθοδήγηση σε κάθε βήμα και εξονυχιστικό έλεγχο κάθε λεπτομέρειας, με ενθάρρυνση και στωικότητα σε κάθε ανεπάρκεια μου, παρέμεινε αγόγγυστα συνοδοιπόρος δίπλα μου σε ένα δύσκολο ταξίδι και είμαι σίγουρη πως χωρίς τη βοήθεια της δε θα φτάναμε στον προορισμό μας. Ευχαριστώ θερμά τον επίκουρο καθηγητή κ.Γ.Γερμανάκη που βοήθησε καθοριστικά στη δημιουργία ανακοινώσεων σε συνέδρια και στην δημοσίευση των αποτελεσμάτων, καθώς και όλους τους συναδέλφους και το νοσηλευτικό προσωπικό της κλινικής Αιματολογίας και Ογκολογίας Παίδων για τη συνδρομή τους στη συλλογή των δειγμάτων, καθώς και το προσωπικό του Ακτινοδιαγνωστικού και Βιοχημικού εργαστηρίου, με ιδιαίτερη μνεία στην κ. Ν.Μαλλιαράκη. Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης την οικογένεια μου για την αμέριστη συμπαράσταση και υπομονή, ιδιαίτερα τους τελευταίους μήνες.

Πάνω από όλους όμως θα ήθελα να ευχαριστήσω τους μικρούς μου ασθενείς, που με περισσή υπομονή συμμετείχαν στη μελέτη σε μια πολύ δύσκολη φάση της ζωής τους και τους εύχομαι να είναι υγιείς και να απολαμβάνουν κάθε στιγμή της ζωής τους γιατί το αξίζουν !

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

### ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Εισαγωγή	σελίδα	7
2. Οστικός μεταβολισμός		8
3. Ταξινόμηση οστεοπόρωσης στην παιδική ηλικία		11
4. Εκτίμηση οστικής μάζας		13
5. Δείκτες οστικού μεταβολισμού (ΔΟΜ)		22
6. Ορισμός οστεοπενίας – οστεοπόρωσης στα παιδιά		38
7. Παράγοντες που επηρεάζουν την υγεία των οστών σε ασθενείς με ΟΛΛ		42
8. Πρόληψη – Θεραπεία επηρεασμένης οστικής μάζας		51

### ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

		63
1. Σκοπός μελέτης		63
2. Ασθενείς –Μεθοδολογία		63
3. Αποτελέσματα		68
Α. Οστική πυκνότητα		68
Β. Δείκτες οστικού μεταβολισμού		71
Γ. Θεραπεία		77
4. Συζήτηση		80
5. Συμπεράσματα		100
6. Προοπτικές		101

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ** (Ελληνική γλώσσα) 104

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ** (Αγγλική γλώσσα) 107

### ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΗ

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ** 109

# **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) αποτελεί τον πιο κοινό παιδιατρικό καρκίνο και αφορά στο ένα τέταρτο όλων των νεοπλασιών που διαγιγνώσκονται σε παιδιά κάτω των 15 ετών. Απαντάται σε συχνότητα 3-4 περιστατικά ανά 100.000 παιδιά της λευκής φυλής, η ηλικία αιχμής είναι 2-5 ετών και μεγαλύτερη επίπτωση εμφανίζουν τα αγόρια, ιδίως την περίοδο της εφηβείας (1)(2). Με τη σύγχρονη θεραπευτική και υποστηρικτική αγωγή η πλειοψηφία των παιδιών με ΟΛΛ έχουν σε ένα ποσοστό >80% μακροχρόνιο επιβίωση (3). Κατά συνέπεια η πρόληψη, διάγνωση και θεραπεία των μακροχρονίων ανεπιθύμητων ενεργειών από την ίδια τη νόσο ή τη θεραπεία οφείλει να αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της ιατρικής παρακολούθησης αυτών των ασθενών. Ως μία από τις σημαντικότερες ανεπιθύμητες ενέργειες αναγνωρίζεται η διαταραχή της οστικής μάζας που προδιαθέτει σε οστεοπόρωση, παθολογικά κατάγματα και ποικίλες οστικές παραμορφώσεις(4)(5)(6). Η μείωση της οστικής μάζας έχει παρατηρηθεί σε όλες τις φάσεις της ΟΛΛ (εκτιμώμενη επίπτωση 10-25%) και μπορεί να παραμένει έως και 20 χρόνια μετά τη διακοπή της θεραπείας (7).

Στα παιδιά με λευχαιμία παράγοντες που οδηγούν σε μείωση της οστικής μάζας είναι κατ' αρχήν η ίδια η νόσος, τα αντινεοπλασματικά φάρμακα, η χρήση κορτικοστεροειδών για μεγάλες χρονικές περιόδους και σε μεγάλες δόσεις και η ακτινοβολία. Η αναφερόμενη θεραπεία επιδρά και στους ενδοκρινείς αδένες (παραθυρεοειδείς, θυρεοειδής, πρόσθια υπόφυση, γονάδες κ.α.), στο μεταβολισμό της βιταμίνης D, στους ινσουλινόμορφους αυξητικούς παράγοντες και τις πρωτεΐνες δέσμευσής τους, άρα δευτεροπαθώς στα οστά των ασθενών. Επίσης ο υποσιτισμός που συχνά παρατηρείται στα παιδιά με λευχαιμία, ως συνέπεια της χορηγούμενης χημειοθεραπείας τους και των ανεπιθύμητων παρενεργειών τους (ανορεξία, ναυτία, έμετοι, βλεννογονίτιδα, δυσασπορρόφηση ουσιών) καθώς και ο περιορισμός της φυσικής άσκησης και της έκθεσης στον ήλιο (νοσηλείες, λοιμώξεις, καταβολή, κοινωνική απομόνωση) αποτελούν επιπλέον παράγοντες αναστολής της οστικής ανάπτυξης. (8)

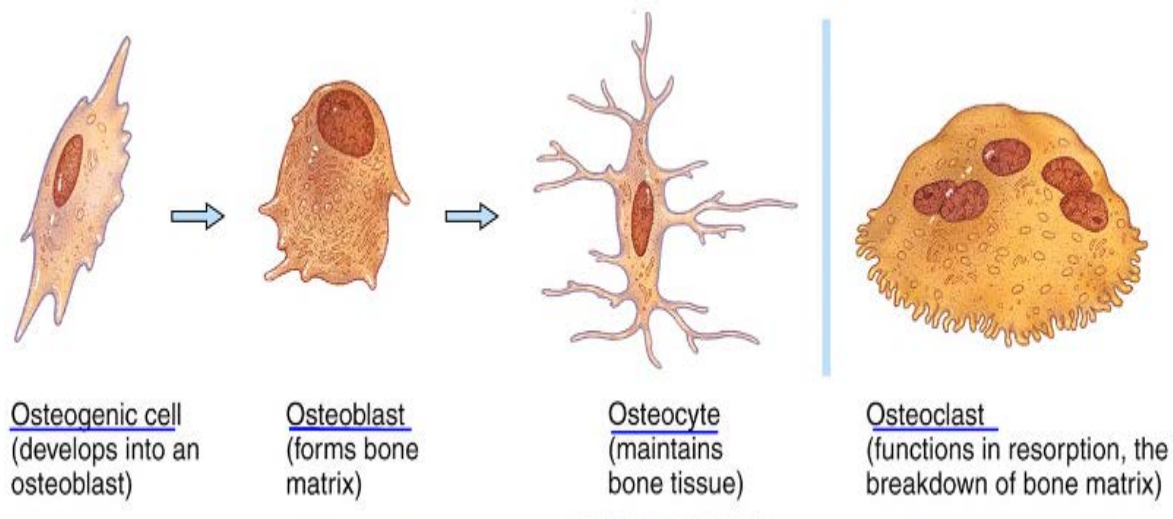
Οι διαταραχές που πιθανόν να παρατηρηθούν μπορούν να σχετίζονται με το μεταβολισμό και την σύσταση των οστών και συνεπακόλουθα με τη μορφολογία και ανθεκτικότητα τους. Έχουν αναφερθεί ως επιπλοκές η εμφάνιση οστεοπενίας και οστεοπόρωσης, οστεονέκρωση, οστεολύσεις, κατάγματα, οστεοσκλήρυνση, άσηπτη νέκρωση και ποικίλες παραμορφώσεις (σκολίωση, κύφωση, ραχιτικές μεταφύσεις, κ.α.) οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα ζωής των ατόμων. Για όλους τους παραπάνω λόγους η εκτίμηση της οστικής υγείας των παιδιών που επιβιώνουν από ΟΛΛ είναι πολύ σημαντικό να λαμβάνει χώρα στο σωστό χρόνο, με τις πιο ακριβείς διαθέσιμες μεθόδους ώστε να είναι εφικτή όχι μόνο η αποκατάσταση των διαταραχών αλλά και η πρόληψη τους. Με αυτό ακριβώς το στόχο σχεδιάστηκε η μελέτη αυτή αποσκοπώντας στην έγκαιρη διάγνωση της απώλειας οστικής μάζας, ώστε να δημιουργηθεί μια βάση αναφοράς για παρακολούθηση, θεραπευτική παρέμβαση αλλά κυρίως το σχεδιασμό πρωτοκόλλων πρόληψης περαιτέρω επιπλοκών που αφορούν στην υγεία του σκελετού σε μία ευαίσθητη αλλά και κρίσιμη ηλικία ανάπτυξης.

## 2. ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Το οστό αποτελείται από δύο τμήματα, το οργανικό που περιλαμβάνει κατά 90% κολλαγόνο τύπου I και κατά 10% άμορφη θεμέλια ουσία, βλεννοπολυσακχαρίτες και μη κολλαγονούχες πρωτεΐνες (οστεοκαλσίνη, οστεονεκτίνη, σιαλοπρωτεΐνες, οστεοποντίνη κ.α.) πάνω στις οποίες επικάθονται τα κρυσταλλικά άλατα του υδροξυαπατίτη ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}_2)$ ) που αποτελούν το ανόργανο τμήμα του οστού. Ο οστίτης ιστός αποτελείται από το εξωτερικό τμήμα, το συμπαγές ή φλοιώδες (cortical) οστό και το εσωτερικό τμήμα, το σπογγώδες ή δοκιδώδες (cancellous) οστό. Κάθε οστό συνήθως περιλαμβάνει και τους δύο τύπους, αλλά σε διαφορετική αναλογία, με αποτέλεσμα ο συνολικός οστίτης ιστός του οργανισμού να αποτελείται κατά 80% από φλοιώδες οστό και κατά 20% από σπογγώδες οστό (κυρίως στη σπονδυλική στήλη και στα άκρα των επιμηκών οστών). Το φλοιώδες οστό σε εγκάρσια διατομή χαρακτηρίζεται από την παρουσία των αβέρσειων συστημάτων και των σωλήνων Volkmann. Το σπογγώδες οστό χαρακτηρίζεται από την παρουσία των δοκίδων και ανάμεσα τους υπάρχει ο μυελός των οστών.



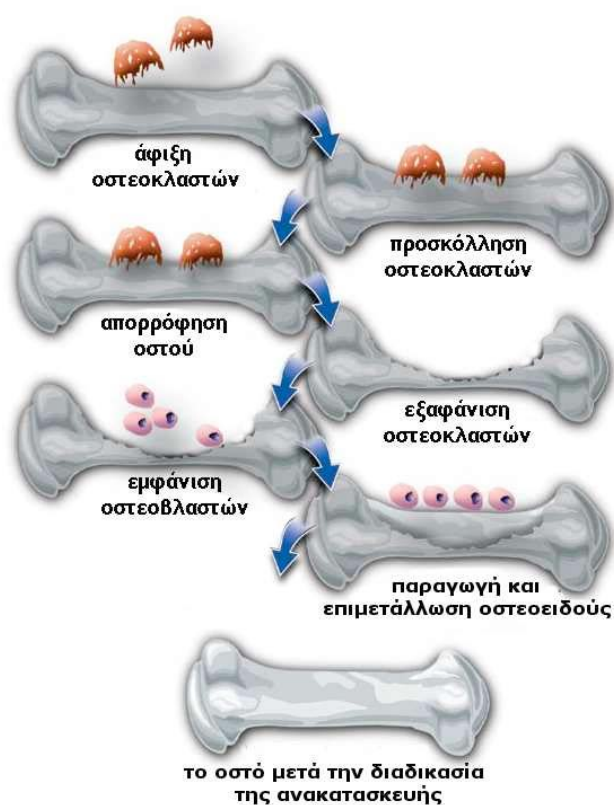
Ο ανθρώπινος σκελετός αποτελείται συνολικά από 206 οστά, τα οποία σχηματίζονται από 4 διαφορετικά είδη κυττάρων: 1) τα αδιαφοροποίητα μεσεγχυματικά κύτταρα, 2) τους οστεοβλάστες, 3) τους οστεοκλάστες και 4) τα οστεοκύτταρα, που είναι η εξέλιξη των οστικών κυττάρων.



**Σχήμα 1:** Οστικά κύτταρα

Υπάρχει μια σύνθετη και πολυπαραγοντική εξεργασία εναλλαγής ανάμεσα στην απορρόφηση του παλαιού οστού από τους οστεοκλάστες και την απόθεση νέου οστού από τους οστεοβλάστες η οποία αναφέρεται διεθνώς με τον όρο **“bone remodeling”** και μεταφράζεται στη γλώσσα μας ως οστικός ανασχηματισμός ή οστική αναδόμηση ή οστική ανακατασκευή. Η διαδικασία αυτή ανανέωσης των μικρομονάδων των οστών BMU (basic multicellular unit - βασική πολυκυτταρική μονάδα), που συμβαίνει κάθε στιγμή και σε όλη τη διάρκεια της ανθρώπινης ζωής, ξεκινάει με κάποιο χημικό ή μηχανικό ερέθισμα που προκαλεί προσκόλληση των οστεοκλαστών πάνω στο οστό και έχει ως επακόλουθο την αποδόμηση του, δημιουργώντας ένα εντύπωμα. Τότε οι οστεοβλάστες προσέρχονται, παράγουν οστεοειδές το οποίο με επασβέστωση δημιουργεί το ώριμο οστό (9)(10). Το οστό που σχηματίζεται επενδύεται από ένα ειδικό τύπο οστεοβλαστών, τα λεγόμενα επενδυτικά κύτταρα (11).

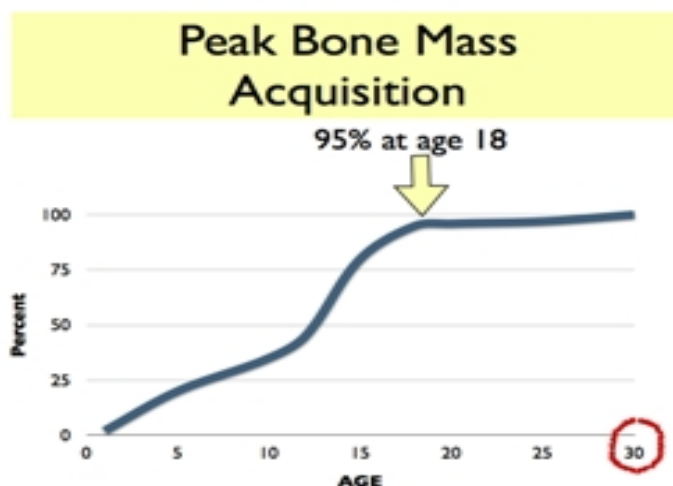
Σημαντική είναι η οστική αναδόμηση σε τρία σημεία του σώματος, τη σπονδυλική στήλη, τον αυχένα του μηριαίου και το περιφερικό άκρο της κερκίδας. Ο ρυθμός του οστικού ανασχηματισμού φθάνει ως το 100% τον πρώτο χρόνο ζωής, ακολουθεί σταδιακή μείωση έως το 10% στο τέλος της παιδικής ηλικίας και έκτοτε διατηρείται σε αυτό το επίπεδο ή και χαμηλότερα στον ενήλικα (12). Η αέναη αυτή διεργασία που καταστρέφει το «γερασμένο» οστό και το αντικαθιστά με καινούριο κατά τα παιδικά χρόνια, οδηγεί στο σχηματισμό μιας μικρής περίσσειας νέου οστού που μακροπρόθεσμα καταλήγει στην ηλικία 20-25 ετών στην απόκτηση της κορυφαίας ή μέγιστης οστικής μάζας. Εάν το ισοζύγιο σύνθεσης – αποδόμησης είναι αρνητικό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της οστικής μάζας.



**Σχήμα 2:** Οστική ανακατασκευή ( bone remodelling)

Στο μεταβολισμό του οστού υπεισέρχεται ένα πλήθος παραγόντων με κυρίαρχους τις ορμόνες (παραθορμόνη, κορτιζόλη, θυροξίνη, αυξητική ορμόνη, ινσουλίνη, ανδρογόνα, καλσιτονίνη, οστεοκαλσίνη), τη βιταμίνη D και τους ηλεκτρολύτες ( Ca, P). Οι παράγοντες αυτοί επιδρούν στην αύξηση της οστικής μάζας για να φτάσει στη μέγιστη τιμή της στην ηλικία των 20 ετών περίπου και για τα

δύο φύλα, ενώ ο μέγιστος ρυθμός αύξησης της οστικής πυκνότητας παρατηρείται στην ηλικία των 11-13 ετών στα κορίτσια και στην ηλικία των 13-17 ετών στα αγόρια (13)(14).



**Σχήμα 3:** Ρυθμός αύξησης οστικής πυκνότητας στη παιδική ηλικία

Η οστική πυκνότητα είναι διαφορετική για το φλοιώδες και το σπογγώδες οστό, όχι μόνο ως προς τη μάζα οστίτη ιστού ανά μονάδα όγκου, αλλά και ως προς τη μικροαρχιτεκτονική τους σύσταση, με αποτέλεσμα τη διαφορετική μηχανική αντοχή και συμπεριφορά. Το σπογγώδες οστό ανταποκρίνεται ταχύτερα σε μεταβολικές διαταραχές λόγω της πλουσιότερης αγγείωσης με αποτέλεσμα οστά με μεγαλύτερη αναλογία σπογγώδους ιστού, όπως η σπονδυλική στήλη, να παρουσιάζουν μεγαλύτερη ευαισθησία σε διαταραχές που αυξάνουν την οστική απορρόφηση όπως η οστεοπόρωση (15).

### 3.ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

#### ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ

(EUROPEAN JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY, 2008) (16)

#### 1.ΠΡΩΤΟΠΑΘΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

- Ατελής οστεογένεση
- Ιδιοπαθής νεανική οστεοπόρωση

- Οστεοπόρωση συνδρόμου ψευδογλοιώματος

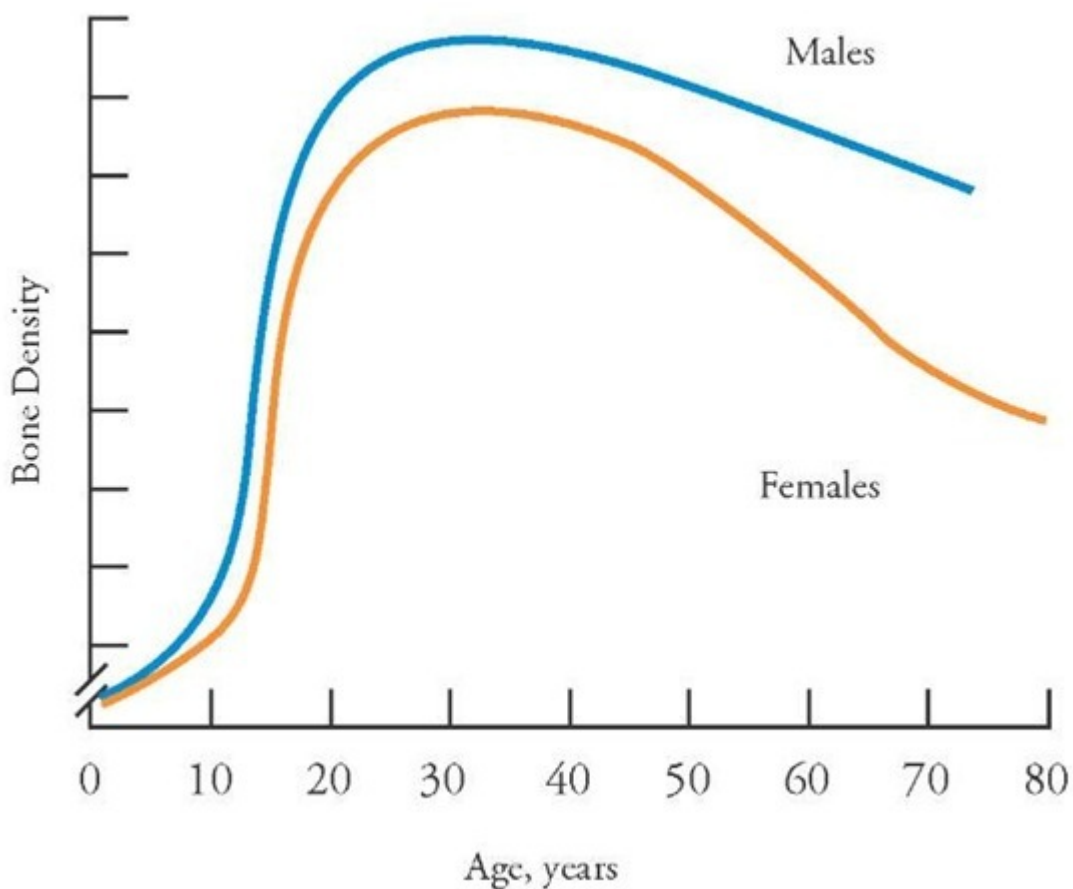
## 2. ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

- ΜΕΙΩΜΕΝΗ ΚΙΝΗΤΙΚΟΤΗΤΑ (Reduced mobility)
  - Εγκεφαλική παράλυση
  - Κάκωση νωτιαίου μυελού και δισχιδής ράχη
  - Μυική δυστροφία Duchenne
  - Μυική ατροφία σπονδυλικής στήλης
  - Κρανιοεγκεφαλική κάκωση
  - Διαταραχές νευράξονα άγνωστης αιτιολογίας
  
- ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΚΥΤΟΚΙΝΕΣ (Inflammatory cytokines)
  - Νεανική ιδιοπαθής αρθρίτις
  - Συστηματικός ερυθρεματώδης λύκος
  - Δερματομυοσίτιδα
  - Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
  
- ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΚΟΡΤΙΚΟΣΤΕΡΟΕΙΔΩΝ (Systemic glucocorticoids)
  - Ρευματικά νοσήματα
  - Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
  - Νεφρωσικό σύνδρομο
  - Μυική δυστροφία Duchenne
  - Κυστική ίνωση
  - Λευχαιμία
  - Μεταμόσχευση οργάνου ή μυελού
  
- ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΕΦΗΒΕΙΑΣ (Disordered puberty)
  - Μεσογειακή αναιμία
  - Νευρογενής ανορεξία
  - Υπογοναδισμός από χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία
  - Σύνδρομο Klinefelter's
  - Γαλακτοζαιμία
  
- ΥΠΟΛΕΙΠΟΜΕΝΗ ΘΡΕΨΗ (Poor nutrition/low body weight)
  - Νευρογενής ανορεξία

- Χρόνια συστηματική νόσος
- Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
- Κυστική ίνωση
- Νεοπλασία

#### 4. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ

Η οστική μάζα αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς κατά την παιδική και την εφηβική ηλικία, φτάνει στη μέγιστη τιμή της στην ηλικία των 20-25 ετών, διατηρείται σχετικά σταθερή με ήπια φθίνουσα πορεία για τις επόμενες δύο δεκαετίες και - ιδίως μετά την εμμηνόπαυση στις γυναίκες - παρουσιάζει σημαντική μείωση που οδηγεί σε οστεοπενία ή και οστεοπόρωση (17).



**Σχήμα 4:** Διακύμανση οστικής μάζας με την ηλικία και το φύλο.

Η εκτίμηση της οστικής μάζας είναι δυνατό να επιτευχθεί με διάφορες μεθόδους (πίνακας 1). Οι τεχνικές αυτές μπορεί να αφορούν μόνο το φλοιώδες ή μόνο το σπογγώδες τμήμα του οστού ή και τα δύο. Από τα 4Kg περίπου του οστίτη ιστού που υπάρχει στο ανθρώπινο σώμα, το 20% της οστικής μάζας αφορά σπογγώδες και το 80% φλοιώδες ή συμπαγές οστό. Η ειδική περιοχή της επιφάνειας όμως, την οποία καταλαμβάνει το σπογγώδες οστό, είναι πολύ μεγαλύτερη από εκείνη του συμπαγούς (20 και 4 mm<sup>2</sup>/ mm<sup>3</sup> αντίστοιχα) (18).

**Πίνακας 1. ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ**

1. ΑΚΤΙΝΟΓΡΑΦΙΑ ΟΣΤΩΝ	
2. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΦΩΤΟΝΙΩΝ	Απλής δέσμης (SPA)
	Διπλής δέσμης(DPA)
3. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΑΚΤΙΝΩΝ Χ	Απλής ενέργειας (SXA)
	Διπλής ενέργειας (DEXA)
	Peripheral (p DEXA)
4. ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΞΟΝΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ	QCT
	Peripheral (p QCT)
5. ΟΣΤΙΚΗ ΥΠΕΡΗΧΟΜΕΤΡΙΑ	Quantitative Ultrasound (QUS)
6. ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (MRI)	
7. ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΝΕΤΡΟΝΙΩΝ	Neutron activation analysis (NAA)
8. ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ	
9. ΒΙΟΨΙΑ ΟΣΤΟΥ	

**1. ΑΚΤΙΝΟΓΡΑΦΙΑ ΟΣΤΩΝ :** παρά το ότι πρόκειται για εξαιρετικά οικονομική λύση, μη τραυματική, με ελάχιστη δόση ακτινοβολίας δε χρησιμοποιείται ευρέως στις μέρες μας, καθώς σε ασυμπτωματικούς ασθενείς για να διαπιστωθεί οστεοπενία απαιτείται απώλεια οστικής πυκνότητας πάνω από 30%. Η χρήση της περιορίζεται σήμερα μόνο σε περιστατικά με υποψία κατάγματος , αν και υπάρχουν κάποια τυπικά σκελετικά ευρήματα στους ασθενείς με ΟΛΛ όπως οι ακτινοδιαυγαστικές ζώνες

εγκάρσιας μετάφυσης γνωστές και ως «λευχαιμικές γραμμές». Άλλα ευρήματα είναι η διάχυτη οστεοπενία, οι ζώνες μετάφυσης, περιοστικός σχηματισμού νέου οστού, οστεόλυση, οστεοσκλήρυνση, μεικτές βλάβες οστεόλυσης και σκλήρυνσης, καθώς και βλάβες με διηθητική καταστροφή (19).

**2. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΦΩΤΟΝΙΩΝ:** στηρίζεται στην αναλογία που υπάρχει ανάμεσα στην περιεκτικότητα του οστού σε άλατα και στην ενέργεια που απορροφάται από τη δέσμη φωτονίων που προσπίπτει σε αυτό (18).

- **Απορρόφηση φωτονίων με μία δέσμη (SPA)** : η εξασθένιση της δέσμης έχει άμεση συνάρτηση με την πυκνότητα των παρεμβαλλόμενων ιστών και προσδιορίζει την οστική πυκνότητα (Bone mineral density, BMD σε grams/cm<sup>2</sup>). Έχει μικρό κόστος όμως υπολείπεται σε ακρίβεια και δε δίνει πληροφορίες για το οργανικό τμήμα των οστών .

- **Απορρόφηση φωτονίων με δύο δέσμες (DPA)** : η εκπομπή των φωτονίων γίνεται σε δύο διαφορετικά επίπεδα ενέργειας (34,44 και 100 keV). Η μία δέσμη ενέργειας απορροφάται κυρίως από τους μαλακούς ιστούς και η άλλη από το οστό. Έτσι προσπαθούμε να καλύψουμε το σφάλμα που προκύπτει στη μέτρηση από τους ιστούς (πχ. λίπος) που περιβάλλουν το οστό. Η ακτινοβολία που δέχεται απ' ευθείας το οστό είναι της τάξεως του 5-15 mrad. Με τη μέθοδο αυτή εκτιμάται το συμπαγές αλλά και το σπογγώδες οστό και μας παρέχει πληροφορίες και για το οργανικό τους τμήμα (25)(18).

**3. ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΑΚΤΙΝΩΝ X:** Όλες οι μη διεισδυτικές συσκευές μέτρησης της πυκνότητας (SXA, DXA, QCT, pQCT κ.ά.) βασίζονται στην αρχή ότι όταν μια δέσμη ακτίνων X περνάει μέσα από το οστό, η ένταση της εξασθενεί από το ανόργανο τμήμα αυτού. Καθώς το ανόργανο τμήμα έχει υψηλό ατομικό αριθμό συγκρινόμενο με το μαλακό ιστό ή τον αέρα, υψηλή πυκνότητα συνεπάγεται και μεγάλη εξασθένιση της δέσμης. Η πιθανότητα πάντως πιθανού οστικού καταγμάτος δε μπορεί να στηριχθεί με ακρίβεια στην οστική πυκνομετρία, καθώς αυτή εκτιμά μόνο την ποσότητα και όχι την ποιότητα του οστού.

- **Απλής ενέργειας (SXA)**

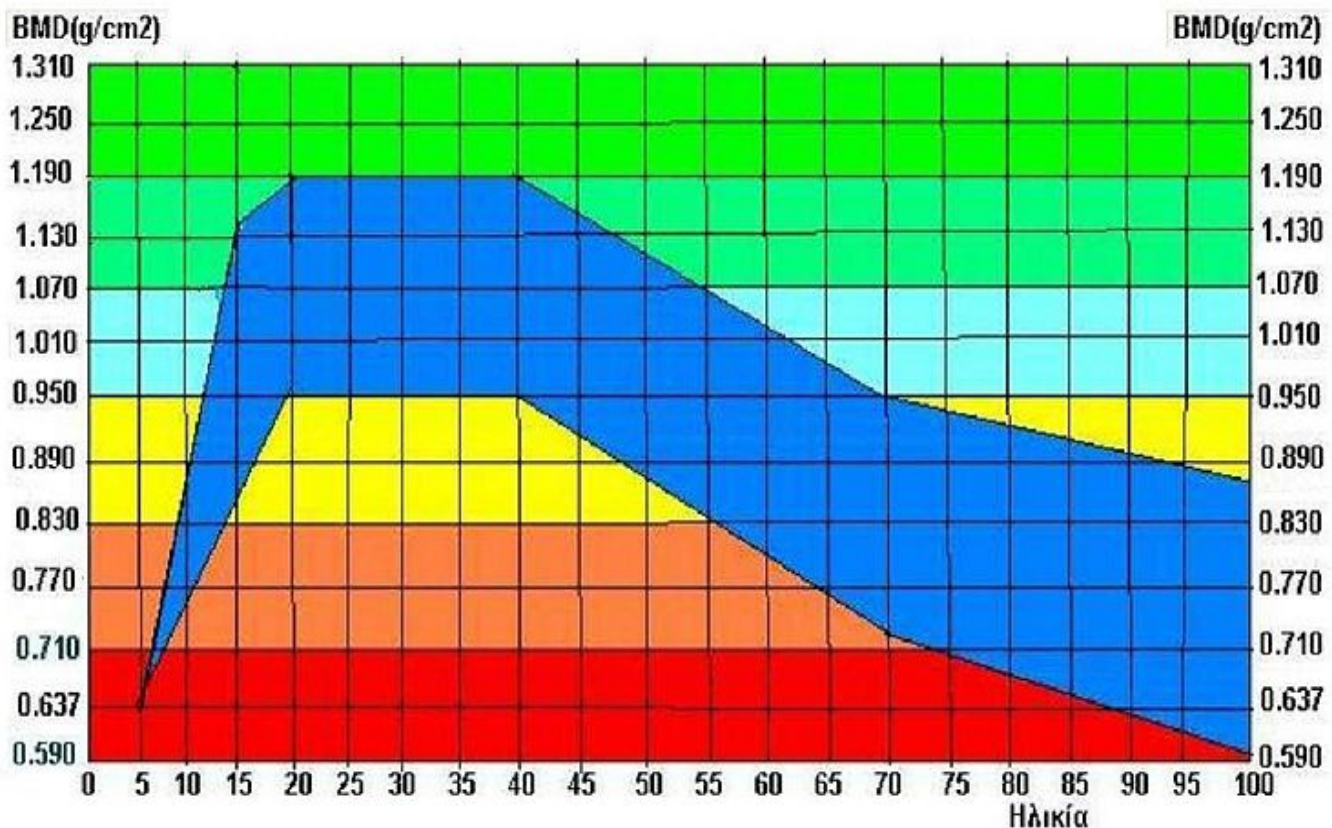
#### - Διπλής ενέργειας (DEXA)

Η μέθοδος της διπλής φωτονιακής απορρόφησης DEXA (Dual Energy X-Ray) ή DXA (Dual X-Ray Absorptiometry): δύο διαφορετικές δέσμες ακτίνων X από συνεχές φάσμα ακτινοβολίας (από υλικό με K αιχμή απορρόφησης μεταξύ 30keV και 45keV) ακτινοβολούν τις οστικές περιοχές και εκτιμούν την περιεκτικότητά τους σε άλατα. Τα φωτόνια που εξέρχονται από την περιοχή που μελετάται ανιχνεύονται και με ένα υπολογιστή οι τιμές απόσβεσης μετατρέπονται σε υπολογισμό της bone mineral content (BMC), η οποία διαιρούμενη με την προβαλλόμενη περιοχή των οστών που εξετάζονται δίνουν την BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) (20). Η πιο αντιπροσωπευτική θέση αποτελείται από τους τρεις (O2-O4) ή τέσσερις (O1-O4) οσφυϊκούς σπονδύλους και προσφάτως από τον αυχένα του μηριαίου οστού. Μας δίνει δε τη δυνατότητα και της πλάγιας εκτίμησης της σπονδυλικής στήλης. Η οστική πυκνότητα που μετρείται (Bone Mineral Density) εξαρτάται και από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του οστού και σχετίζεται μόνο έμμεσα με την πυκνότητα των οστικών αλάτων.

Σήμερα υπάρχει μεγάλη βελτίωση στην απεικόνιση των οστών με τη μέθοδο DEXA με αποτέλεσμα τη καλύτερη απεικονιστική ευκρίνεια και τη μείωση του χρόνου εκτέλεσης της μέτρησης σε λίγα min. Γενικά, είναι μια γρήγορη μέθοδος και έχει μικρή δόση ακτινοβολίας - 1mrem κατά περιοχή ή 60 μέχρι 120 mrad για κάθε εξέταση, περίπου το  $\frac{1}{3}$  της έκθεσης από την ακτινογραφία θώρακος, και ισοδυναμεί με την έκθεση στην ακτινοβολία περιβάλλοντος για ένα 24ωρο - αλλά είναι πιο ακριβή από τους υπερήχους (15)(18). Η έκθεση σε ακτινοβολία συνολικά για τη σπονδυλική στήλη είναι 1 microSv και 4 microSv για μετρήσεις όλου του σώματος. Ο χρόνος που απαιτείται είναι από 2 έως 15 min έως και πρόσφατα 30 sec (18)(21)(20).

Το βασικό μειονέκτημα των μη τομογραφικών τεχνικών είναι ότι η μετρούμενη εξασθένιση εξαρτάται όχι μόνο από τη σύσταση και τα γεωμετρικά στοιχεία του προς μελέτη ιστού, αλλά και από τους υπόλοιπους ιστούς που διαπερνά η δέσμη (15). Έχει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι άλλων τεχνικών, όπως αυξημένη ακρίβεια, μειωμένος χρόνος εξέτασης, μειωμένο κόστος και μεγαλύτερη ευαισθησία στην ανίχνευση μικρών αλλαγών στο περιεχόμενο ενός οστού σε άλατα, αλλά υστερεί στο γεγονός ότι δεν μπορεί να μας δώσει πληροφορίες για το οργανικό τμήμα (κολλαγόνο τύπου I) των οστών (18).





**Οι αλλαγές της Οστικής Πυκνότητας από 5-100 ετών (Lunar, USA)  
Copyright Πίνακα: Δρ. Χαράλαμπος Γκούβας, 1998**

Η εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου απαιτεί φυσικά και τη σύγκριση του ασθενούς με φυσιολογικές τιμές. Σήμερα υπάρχουν επαρκείς φυσιολογικές data για την εκτίμηση της οστικής πυκνότητας των παιδιών, βελτιωμένες συσκευές και λογισμικό προσαρμοσμένο για παιδιά. Τα αποτελέσματα της οστικής πυκνότητας δίνονται ως σταθερή απόκλιση (SD) και ως εκατοστιαίο ποσοστό (%). Επειδή το αποτέλεσμα των μετρήσεων της οστικής πυκνότητας στον ίδιο ασθενή διαφέρει ανάλογα με τη μέθοδο και το ποιά είναι η κατασκευάστρια εταιρεία, για να είναι δυνατή η σύγκριση των αποτελεσμάτων μέτρησης της οστικής πυκνότητας ή για την τυποποίηση των αποτελεσμάτων διαφόρων μελετών, καθιερώθηκε η χρήση της παραμέτρου T-Score. Η παράμετρος T εκφράζει πόσο η μετρηθείσα τιμή της οστικής πυκνότητας της συγκεκριμένης ανατομικής περιοχής του ασθενούς απέχει θετικά ή αρνητικά από την αντιστοιχη μέση φυσιολογική τιμή νέου ενήλικα σε μονάδες σταθερής απόκλισης (SD). Οι τιμές BMD εκφράζονται και ως z-scores. Το Z-Score εκφράζει πόσο απέχει σε μονάδες σταθερής απόκλισης η μετρηθείσα τιμή οστικής

πυκνότητας από τη μέση φυσιολογική τιμή σε άτομα ίδιας ηλικίας, φυλής, φύλου και βάρους με μια reference database από τον κατασκευαστή. Η καλύτερη προσέγγιση είναι ένας αλγόριθμος που υπολογίζει το z-score σύμφωνα με την ηλικία, το φύλο και την εθνικότητα καταρχήν, ακολούθως προσαρμογή με βάση το ύψος και το βάρος και τελικά σύμφωνα με την bone area (22). Το Z-Score εκφράζεται και ως το % ποσοστό επί της φυσιολογικής τιμής. Υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί για αυτήν την τεχνική: είναι μία μέτρηση των οστών σε δύο διαστάσεις σε ένα σκελετό που αναπτύσσεται σε τρεις διαστάσεις άρα υποεκτιμά την οστική πυκνότητα των παιδιών με κοντό ανάστημα, η εκτίμηση των οστών σε άτομα με διαφορετική πυκνότητα μαλακών ιστών μπορεί να επηρεάζεται από τη διαφορετική απόσταση του σκελετού από την πηγή ακτινοβολίας και δεν παρέχονται πληροφορίες για την αρχιτεκτονική του οστού (23)(20).

Η οστική πυκνότητα που υπολογίζεται είναι επιφανειακή, δηλαδή μάζα ανά μονάδα επιφανείας και όχι μάζα ανά μονάδα όγκου. Η μεταβλητή λαμβάνει υπόψη της όχι μόνο την ποσότητα του ανόργανου τμήματος αλλά έμμεσα και τις διαστάσεις του οστού (ποσότητα υδροξυαπατίτη / σκαναρισμένη επιφάνεια). Ακριβώς για αυτό το λόγο, επειδή λαμβάνεται υπόψη το μέγεθος του οστού, μπορεί να εκτιμηθεί και η αντοχή του με βάση την επιφανειακή πυκνότητα. Πάντως η BMD δεν είναι παρά μόνο ένα υποκατάστατο της μηχανικής αντοχής και παράγοντες, όπως η γεωμετρία του οστού, το πάχος και το πορώδες του φλοιώδους οστού, η αρχιτεκτονική δομή του σπογγώδους και η ποιότητα του οστίτη ιστού παίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο (15).

Όσον αφορά το ποιο σημείο του σώματος είναι ενδεδειγμένο για μέτρηση στα παιδιά, η International Society of Clinical Densitometry προτείνει την περιοχή της σπονδυλικής στήλης (lumbar) και όλου του σώματος (total body). Υπάρχουν όμως και ερευνητές που αναφέρουν ότι μια πιο ευρεία προσέγγιση με μετρήσεις σε πολλαπλά «σημεία ενδιαφέροντος» (multiple “regions of interest” –ROI) θα ήταν πιο αποτελεσματική για κάθε ασθενή (24).

**4. Ποσοτική Αξονική Τομογραφία QCT (Quantitative Computed Tomography):** η τεχνική αυτή στηρίζεται στην εξασθένιση της ακτινοβολίας περνώντας μέσα από τους ιστούς και δίνει πληροφορίες για την περιεκτικότητα του οστού σε άλατα όπως και για την ανατομία. Η τεχνική αυτή εφαρμόστηκε για τη μέτρηση του σπογγώδους οστού του κάτω τμήματος της κερκίδας και κυρίως της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης, καθώς επίσης για την ολική περιεκτικότητα των σπονδύλων σε

άλατα και της σπογγώδους μοίρας του αυχένα του μηριαίου οστού (18)(25). Παρόλο που η απεικόνιση είναι σε 2 διαστάσεις, το πάχος που έχει η δέσμη των ακτινών X μας παρέχει τη δυνατότητα να υπολογίσουμε μια πραγματική ογκομετρική πυκνότητα (15). Σημαντικό πλεονέκτημα του υπολογισμού της ογκομετρικής πυκνότητας είναι η ανεξαρτησία που προσφέρει από το μέγεθος του σκελετού. Με την ακριβή μέτρηση των διαστάσεων του οστού (volumetric BMD) επιτρέπεται η διάκριση μεταξύ συμπαγούς και σπογγώδους οστού. Πλεονέκτημα της ποσοτικής αξονικής τομογραφίας είναι η ανάλυση περιοχών υψηλής και χαμηλής πυκνότητας, ακόμα και αν αυτές είναι πολύ κοντά η μία στην άλλη. Η εκπεμπόμενη ακτινοβολία για μονοενεργειακή δέσμη είναι αρκετά υψηλή, 200mrem (15). Η δόση ακτινοβολίας μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 100 και 1000 mR (26). Η υψηλή έκθεση σε ακτινοβολία, που κυμαίνεται από 1.5 mgSv για τη σπονδυλική στήλη έως 30-40 microSv για το ισχίο ή όλο το σώμα (total body) είναι ένα από τα κύρια μειονεκτήματα της μεθόδου. Περιορισμένη εμπειρία στα παιδιά και μικρός αριθμός διαθέσιμων συσκευών λόγω του υψηλού κόστους αποτελούν πρόσθετους περιορισμούς της μεθόδου (20). Περιφερικές τομογραφίες που αφορούν στην κερκίδα ή στην κνήμη έχουν μειώσει την ακτινοβολία σχεδόν στο μισό μιας ακτινογραφίας θώρακος και το χρόνο μελέτης περίπου στα 8min. Η ακρίβεια μετρήσεως (in vitro accuracy) είναι 5% – 10% και η επαναληψιμότητα (in vitro precision) 2% – 4% (15).

Παρά το ότι αποτελεί μια από τις πιο ακριβείς και ευαίσθητες μεθόδους εκτίμησης ακόμη και μικρών απωλειών της οστικής μάζας, εντούτοις δε χρησιμοποιείται ευρέως λόγω υψηλού κόστους και ακτινοβολίας και επειδή πρακτικά δίνει πληροφορίες για το ανόργανο τμήμα των οστών.

## 5. ΟΣΤΙΚΗ ΥΠΕΡΗΧΟΜΕΤΡΙΑ

- **Υπερηχογράφημα κνήμης/πτέρνας (US):** μια εύχρηστη μέθοδος εκτίμησης του οστού, χωρίς ιονίζουσα ακτινοβολία και με χαμηλό κόστος (7,20). Η ταχύτητα των υπερήχων (s) είναι εξαρτώμενη από το μέτρο ελαστικότητας (E) και της πυκνότητας (ρ) ενός υλικού μέσω της σχέσης  $s = \sqrt{E/\rho}$  (ομοιογενές υλικό). Στο οστό, που θεωρείται ανισοτροπικό μέσο διάδοσης, η σχέση διαφοροποιείται. Η τεχνική σχετίζεται με την πυκνότητα και τη δομή του οστού, αν και μέχρι σήμερα δεν έχει καθοριστεί η μαθηματική σχέση εξάρτησης (15).

The ultrasound transmission velocity, γνωστή και ως speed of sound (SOS), είναι η παρατηρούμενη μέτρηση με κεφαλές υπερήχων σχεδιασμένες για ενήλικες,

άρα υπάρχει ένας κίνδυνος παρεμβολής αέρα αν χρησιμοποιείται σε παιδιά (20). Υπάρχει επίσης επίδραση της εφηβείας στις συσκευές US, οι τιμές SOS αυξάνονται στα στάδια εφηβείας κατά Tanner II έως III στα κορίτσια και στα στάδια Tanner I έως V στα αγόρια. Οι τιμές US εξαρτώνται από πολλές κατασκευαστικές παραμέτρους και η εμπειρία είναι περιορισμένη, άρα είναι δύσκολο να το χρησιμοποιήσουμε χωρίς δισταγμό στα παιδιά (20). Είναι πάντως σαφές ότι οι μετρήσεις στην κνήμη δεν μετρούν ανάπτυξη (growth) αλλά πραγματική αλλαγή του φλοιώδους οστού (7). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται, γενικά, και στους ενήλικες σαν ένα αρχικό τεστ, εάν η οστική πυκνότητα βρεθεί επηρεασμένη, είναι απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνηση με DEXA.

**6.ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ (MRI):** μας δίνει στοιχεία για την πυκνότητα αλλά και τη δομή του οστού. Παρέχει διδιάστατη (2D) ή τρισδιάστατη (3D) απεικόνιση της δομής του σπογγώδους οστού με εικόνες υψηλής χωρικής ανάλυσης. Χρειάζεται όμως προηγμένα μηχανήματα με υψηλής τεχνολογίας μαγνητικό πεδίο για να έχουμε μεγάλη χωρική ανάλυση, έτσι αυξάνεται ιδιαίτερα το κόστος (27).

Πέραν της δυσκολίας πρόσβασης σε μαγνητικό τομογράφο, που συνήθως υπάρχει μόνο σε μεγάλα νοσοκομεία και διαγνωστικά κέντρα, το υψηλό κόστος περιορίζει και τη δυνατότητα παρακολούθησης του ασθενούς με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις με τη συγκεκριμένη μέθοδο.

**7.ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΝΕΤΡΟΝΙΩΝ (NAA):** επειδή το 99% του ολικού ασβεστίου βρίσκεται στα οστά, ο προσδιορισμός του ολικού ασβεστίου του σώματος είναι ο μόνος τρόπος μέτρησης της οστικής μάζας με μεγάλη ακρίβεια και η ενεργοποίηση των νετρονίων αποτελεί μία τέτοια μέθοδο. Μπορεί να εφαρμοστεί σε όλο το σώμα ή τμηματικά π.χ. χέρια, αντιβράχια, σπονδυλική στήλη και κορμό. Από τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ο πολύπλοκος και ακριβός εξοπλισμός που δεν είναι ευρέως διαθέσιμος, η μεγάλη ακτινοβολία και ότι ίσως να μη αποτελεί μία από τις καλύτερες τεχνικές αφού το σπογγώδες οστό αποτελεί μόλις το 20% του συνολικού σκελετού με διαφορετικούς ρυθμούς απώλειας οστού στα διάφορα οστά και δεν παρέχονται πληροφορίες για το οργανικό τμήμα των οστών (18).

**8.ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΡΑΔΙΕΝΕΡΓΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ** Με τη χορήγηση ραδιενεργού ασβεστίου και μετρώντας την ειδική ενέργεια στο αίμα, στα ούρα και στα κόπρανα υπολογίζουμε το ποσοστό κατακράτησης του από τα οστά. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι ισχύει υπό την παραδοχή ότι το ισότοπο που αποβάλλεται είναι εκείνο που δεν έχει προσληφθεί από τα νεοσχηματιζόμενα οστό, όμως η ανταλλαγή ασβεστίου μεταξύ των οστών γίνεται ανεξάρτητα από το εάν είναι νεοσχηματισμένα ή όχι. Επίσης δεν μπορεί να αποφευχθεί ο συνυπολογισμός των εναποθέσεων ασβεστίου στα μαλακά μόρια και η αδυναμία για αξιόπιστα αποτελέσματα σε τοπικές παθήσεις του σκελετού (18).

**9.ΒΙΟΨΙΑ ΟΣΤΟΥ – ΟΣΤΙΚΗ ΙΣΤΟΜΟΡΦΟΜΕΤΡΙΑ:** Η βιοψία αποτελεί μια κλασσική μέθοδο εκτίμησης των μορφολογικών μεταβολών που προκαλούνται στη δομή των οστών και παρέχει πολύτιμες πληροφορίες για την ποιότητα και την αρχιτεκτονική του οστού. Επιτρέπει τη μελέτη της δομής του οστού σε δύο διαστάσεις και την εκτίμηση της τρισδιάστατης δομής του οστού και αφορά και το οργανικό και το ανόργανο τμήμα των οστών. Διακρίνεται σε στατική και σε δυναμική. Η προτιμώμενη θέση λήψης οστικής βιοψίας είναι το λαγόνιο οστό (12). Είναι όμως μια πολύ απαιτητική μέθοδος με ιδιαίτερες τεχνικές δυσκολίες που εφαρμόζεται μόνο σε ειδικά κέντρα. Έτσι η εκτίμηση του αριθμού των οστεοβλαστών και οστεοκλαστών μπορεί να είναι ενδεικτική όχι όμως και επαρκής αφού η δραστηριότητα τους μπορεί να διαφέρει ανά μονάδα κυττάρων. Επιπρόσθετα απαντώνται διαφορές της ιστολογικής υφής ανάλογα με την περιοχή της βιοψίας, έτσι τα αποτελέσματα της αφορούν το συγκεκριμένο τμήμα του οστού και όχι το σύνολο του σκελετού (18),49). Το σημαντικότερο όμως μειονέκτημα της είναι ότι πρόκειται για μια επεμβατική, αιματηρή μέθοδος που ιδίως στα παιδιά μπορεί να χρειαστεί ακόμη και χορήγηση ήπιας καταστολής προκειμένου να επιτύχουμε τη συνεργασία των μικρών ασθενών.

## **9.ΑΛΛΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ**

- η υπέρυθρη φασματοσκοπία και
- η περιθλασιμετρία ακτίνων X,

οι οποίες είναι από τις πιο ευρέως διαδεδομένες τεχνικές στην χημική ανάλυση των οστών, αλλά δεν τυγχάνουν κλινικής εφαρμογής.

«ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟΥ ΤΥΠΟΥ» ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ: είναι μετρήσεις σε περιφερικά μέρη του σκελετού ( καρπός, δάχτυλα, πτέρνα, το κατώτερο μέρος του πήχη) που η χρήση τους ουσιαστικά περιορίζεται στο να αποτελέσουν ένδειξη για περαιτέρω διερεύνηση. Τέτοιες μέθοδοι είναι :

- pDEXA (περιφερική DEXA)
- QUS (quantitative ultrasound= ποσοτικοποιημένο υπερηχογράφημα),
- pQCT (peripheral quantitative computed tomography= περιφερική ποσοτικοποιημένη αξονική τομογραφία).

Οι μετρήσεις αυτές έχουν κάποια μειονεκτήματα που αφορούν κυρίως στην ακρίβεια των μετρήσεων, στο κόστος, στην επαναληψιμότητα, στο ποσό της ακτινοβολίας (pQCT) καθώς και στο ότι δεν αφορούν τα οστά που έχουν μεγάλη πιθανότητα να υποστούν κάταγμα (σπονδυλική στήλη, ισχίο). Γίνονται επί του παρόντος, για ερευνητικούς κυρίως σκοπούς και όταν δεν είναι διαθέσιμη η κεντρομελική DXA. Σύμφωνα με την Ελληνική Εταιρεία Μελέτης Μεταβολισμού των Οστών (ΕΕΜΜΟ) οι μέθοδοι αυτές δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης ούτε για την αξιολόγηση της λαμβανόμενης φαρμακευτικής αγωγής και ως εξέταση εκλογής παραμένει η κεντρομελική DEXA.

Η DEXA λοιπόν αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για τη μη επεμβατική διαγνωστική προσπέλαση της οστεοπόρωσης σε ενήλικες (28) και αποτελεί προς το παρόν και τη μέθοδο εκλογής για την εκτίμηση της οστικής πυκνότητας στα παιδιά λόγω χαμηλότερης ακτινοβολίας, ευχερέστερης διάθεσης κατάλληλων συσκευών, λογικό κόστος και επάρκειας τιμών αναφοράς για τα παιδιά.

## **5. ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ – ΔΟΜ (bone markers):**

Οι δείκτες οστικού μεταβολισμού διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες τους δείκτες οστικού ανασχηματισμού (bone formation markers) και τους δείκτες οστικής απορρόφησης (bone resorption markers), αναλόγως σε ποια από τις δύο διεργασίες του οστικού μεταβολισμού παράγονται σε μεγαλύτερο βαθμό. Οι **δείκτες οστικού σχηματισμού** ή οστεοβλαστικοί ή οστεοπαραγωγικοί : παράγονται κατά τη

διάρκεια ανάπτυξης και ωρίμανσης των οστεοβλαστών, προσδιορίζονται στον ορό και περιλαμβάνουν:

**Πίνακας 2:** Δείκτες οστικού μεταβολισμού (ΔΟΜ)- ανασχηματισμού

<b>ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΑΝΑΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ</b>		
1	Οστεοκαλσίνη	OC / BGP
2	Αλκαλική Φωσφατάση	ALP
3	Οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης	Bone –ALP (b.ALP ή BAP)
4	Πεπτίδια προκολλαγόνου τύπου I	
	C-προπεπτίδιο του προκολλαγόνου τύπου I	P1CP
	N-προπεπτίδιο του προκολλαγόνου τύπου I	P1NP
5	Μη κολλαγονούχες πρωτεΐνες	Οστεονεκτίνη

**Α.ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗ**, osteocalcin (OC) ή Gla πρωτεΐνη των οστών (BGP) :

Η οστεοκαλσίνη είναι πρωτεΐνη χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνη (5800 Da), αποτελείται από 49 αμινοξέα και αποτελεί περίπου το 10% έως 20% των οστικών πρωτεϊνών που δεν προέρχονται από το κολλαγόνο. Παράγεται αποκλειστικά από τους ώριμους οστεοβλάστες των οστών και η σύνθεσή της εξαρτάται από την παρουσία 1,25(OH)2D3, βιταμίνης K και βιταμίνης C.

Η OC περιλαμβάνει τρεις επίτοπους του γ-καρβοξυγλουταμικού οξέος (Gla), που παρέχουν τα σημεία αλληλεπίδρασης μεταξύ BGP και υδροξυαπατίτη στην εξωκυττάρια οστική μήτρα (extracellular bone matrix). Οι επίτοποι 19–20 και 43–44 αποτελούν τις θέσεις για την τρυπτική υδρόλυση. Τα πεπτίδια που προκύπτουν μπορεί να είναι παράγωγα του ήπατος, των νεφρών και της διάσπασης του μορίου στο πλάσμα. Ο ρόλος αυτών των τμημάτων παραμένει άγνωστος (29). Τίθεται υπό μετα-μεταφραστική (posttranslational) καρβοξυλίωση από μια K-εξαρτώμενη καρβοξυλάση και αποδίδει δυο μόρια, carboxylated (cOC) και undercarboxylated (ucOC). Η cOC έχει μεγαλύτερη συγγένεια προς τον υδροξυαπατίτη και θεωρείται η

δραστική μορφή στο οστό (30). Η undercarboxylated osteocalcin (ucOC) αποτελεί μια πρόσφατα μελετημένη παράμετρο που αυξάνει την παραγωγή αδιπνεκτίνης και ινσουλίνης, πιθανά παίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση της γλυκόζης (31), δεν χρησιμοποιείται όμως στην εκτίμηση του οστικού μεταβολισμού.

Τα αυξημένα επίπεδα της οστεοκαλσίνης αντανακλούν νέα οστεοβλαστική σύνθεση και όχι οστική απορρόφηση και μεταβάλλονται παράλληλα προς τη δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης. Η οστεοκαλσίνη του ορού έχει ήπια ημερησία διακύμανση με υψηλότερα επίπεδα το βράδυ και χαμηλότερα αργά το πρωί.

Η OC είναι ένας σημαντικός δείκτης του οστικού μεταβολισμού, τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές καταστάσεις. Φυσιολογικά η οστεοκαλσίνη του ορού αυξάνεται στα παιδιά, ειδικά κατά το πρώτο έτος της ζωής και κατά την εφηβεία, σε περιόδους δηλαδή με μεγάλη ταχύτητα σωματικής ανάπτυξης. Η σημαντική συσχέτιση της οστεοκαλσίνης, της τεστοστερόνης και του ινσουλινόμορφου παράγοντα IGF-I συνάδουν με το σημαντικό ρόλο αυτής της πρωτεΐνης στη σκελετική ανάπτυξη (32). Μερικοί συγγραφείς αναφέρουν μείωση της οστεοκαλσίνης σε παιδιά με ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης και αποκατάσταση των επιπέδων μετά τη θεραπεία με αυξητική ορμόνη (33)(34). Η οστεοκαλσίνη εκτός από τη συσχέτιση της με την ανάπτυξη του σκελετού κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, εμπλέκεται και με άλλες καταστάσεις που συνοδεύονται με αυξημένο ρυθμό οστικής ανακατασκευής όπως υπερπαραθυρεοειδισμό, υπερθυρεοειδισμό, νόσο του Paget και μεγαλακρία (35).

## **B. ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ (ALP) & ΟΣΤΙΚΟ ΚΛΑΣΜΑ ΑΛΚΑΛΙΚΗΣ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗΣ**

(bone-specific alkaline phosphatase - BAP)

Η αλκαλική φωσφατάση του ορού είναι ο συχνότερος μέχρι σήμερα χρησιμοποιούμενος οστεοβλαστικός δείκτης ο οποίος στερείται όμως ευαισθησίας και ειδικότητας κυρίως σε ασθενείς με οστεοπόρωση. Τα επίπεδα ALP εμφανίζουν μια τετραφασική πορεία με δύο αιχμές στη νεογνική και εφηβική ηλικία. Δεν υπάρχει διαφορά στην ALP μεταξύ των δύο φύλων έως την εφηβεία. Υψηλότερα επίπεδα παρατηρούνται στα κορίτσια 10-11 ετών ( $p=0.02$ ) και στα αγόρια 12-13, 14-

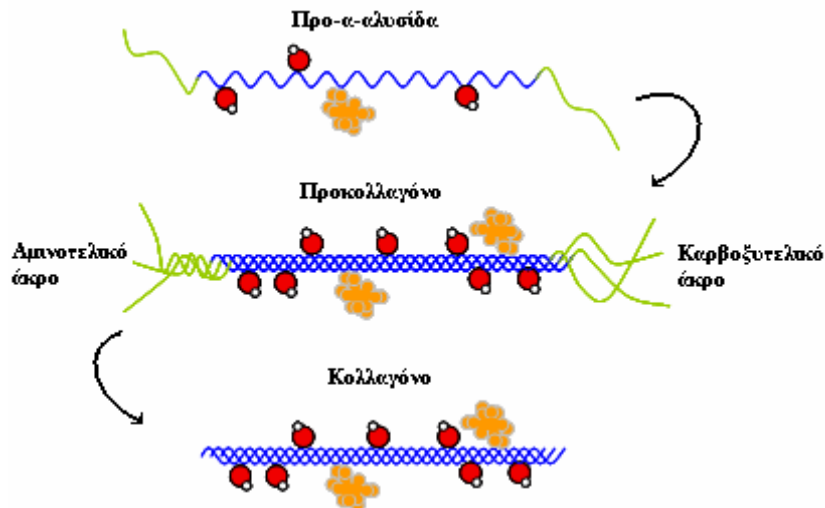


15 και 16-17 ετών ( $p < 0.001$ ). Η πτώση των επιπέδων ξεκινάει μετά τα 12 και τα 14 έτη αντίστοιχα στα κορίτσια και στα αγόρια (36). Η ολική αλκαλική φωσφατάση παράγεται από το ήπαρ, το έντερο, τα νεφρά, τον πλακούντα και τα οστά. Το οστικό της τμήμα στα παιδιά κυμαίνεται από 77% έως 89% της ολικής ALP, επίπεδα υψηλότερα από τους ενήλικες 58-67% (36). Η οστική αλκαλική φωσφατάση αντανακλά την κυτταρική δραστηριότητα των οστεοβλαστών. Το οστικό κλάσμα της αλκαλικής φωσφατάσης μπορεί να μετρηθεί με τεχνική που χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα.

Το οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης έχει τεθεί σε κλινική χρήση από το 1929 και αποτελεί τον πρώτο δείκτη οστικού μεταβολισμού που χρησιμοποιείται έως σήμερα. Το μοριακό της βάρος είναι περίπου 140000 Dal, βρίσκεται στη μεμβράνη των οστεοβλαστών και απελευθερώνεται στη κυκλοφορία στη φάση σχηματισμού των οστών. Είναι ένας πολύ σταθερός δείκτης στο δείγμα αίματος και δεν επηρεάζεται από την αιμόλυση (37). Παρά την ανάπτυξη ειδικών ανοσοιστοχημικών τεχνικών για την bALP εντούτοις υπάρχει μια αλληλεπικάλυψη έως 20% με το ηπατικό κλάσμα, αλλά αυτό έχει σημαντική κλινική σημασία μόνο εφόσον πρόκειται για ασθενείς με σοβαρά ηπατικά νοσήματα (38).

**Γ. C-ΠΡΟΠΕΠΤΙΔΙΟ ΤΟΥ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ:** (procollagene type I C- propeptide - P1CP): καρβοξυ-τελικό προπεπτίδιο του προκολλαγόνου τύπου I

Το 90% του οργανικού τμήματος του οστού αποτελείται από κολλαγόνο τύπου I και το εναπομένει 10% από μικρού μεγέθους πρωτεϊνογλυκάνες, άλλες μη κολλαγονούχες πρωτεΐνες όπως η οστεονεκτίνη και μικρή ποσότητα κολλαγόνου τύπου V. Ο τύπος I του κολλαγόνου παρουσιάζει την πιο ευρεία κατανομή και συναντάται σε όλους σχεδόν τους συνδετικούς ιστούς, όπως τα οστά, το δέρμα, οι τένοντες, οι σύνδεσμοι κ.α. Αποτελεί περίπου το 95% της συνολικής περιεκτικότητας του οστού σε κολλαγόνο και σχεδόν το 80% του συνολικού αριθμού πρωτεϊνών μέσα σε αυτό (15).



**Σχήμα 6:** Σχηματικό διάγραμμα της μετατροπής του προκολλαγόνου σε κολλαγόνο. Οι καρβοξυτελικές περιοχές των τριών αλυσίδων του προκολλαγόνου συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς (16) (18)

Το κολλαγόνο αποτελεί την κυριότερη αδιάλυτη ινώδη πρωτεΐνη της εξωκυτταρίου ουσίας και του συνδετικού ιστού. Υπάρχουν τουλάχιστον 12 τύποι κολλαγόνου. Οι τύποι I, II και III ευρίσκονται σε μεγαλύτερη αφθονία. Παράγεται από τους ινοβλάστες αλλά και από διάφορα επιθηλιακά κύτταρα. Η στοιχειώδης κατασκευαστική μονάδα είναι μία μακριά λεπτή πρωτεΐνη που αποτελείται από 2 α1 αλυσίδες και μία α2 αλυσίδα που περιελισσόμενες σχηματίζουν τριπλή έλικα. Κάθε αλυσίδα αποτελείται ακριβώς από 1050 αμινοξέα. Οι πρόδρομες μορφές του κολλαγόνου καλούνται προκολλαγόνα. Το προκολλαγόνο τύπου I σχηματίζει τριπλή έλικα που περιέχει 150 επιπλέον αμινοξέα στο αμινικό άκρο και 250 αμινοξέα στο καρβοξυτελικό άκρο και των δύο τύπων αλυσίδων (α1 & α2). Τα επιπλέον αυτά αμινοξέα αποτελούν τα προπεπτίδια. Τα προπεπτίδια αποκόπτονται μετά την αποβολή από τα κύτταρα, δια εξωκυττώσεως, των μορίων του προκολλαγόνου στον εξωκυττάριο χώρο. Τα προπεπτίδια αυτά α) το καρβοξυτελικό άκρο του προκολλαγόνου τύπου I (carboxyterminal propeptide of type I procollagen, PICP) και β) το αμινικό άκρο του προκολλαγόνου τύπου I (aminoterminal propeptide of type I procollagen, PINP), προσδιοριζόμενα με RIA, αποτελούν δείκτες της παραγωγής νέου κολλαγόνου, όπως το C-πεπτίδιο είναι δείκτης της ενδογενώς παραγωμένης ινσουλίνης (35).

Το κολλαγόνο τύπου I συντίθεται από τους οστεοβλάστες ως η πρόδρομη μορφή προκολλαγόνου με πεπτίδια προέκτασης στο καρβοξυτελικό (carboxy - C) και στο αμινοτελικό (amino -N) άκρο (37). Τα επίπεδα στον ορό του καρβοξυτελικού και αμινοτελικού προπεπτιδίου του κολλαγόνου τύπου I (PICP και PINP, αντίστοιχα) αντανακλούν τις αλλαγές στην σύνθεση νέου κολλαγόνου από τους οστεοβλάστες (35). Το PINP φαίνεται να είναι ειδικότερο για την σύνθεση του κολλαγόνου των οστών. Η μέτρηση του PINP έχει το πρακτικό πλεονέκτημα της χαμηλής ημερήσιας διακύμανσης ενώ τα επίπεδα του στην κυκλοφορία δεν επηρεάζονται ιδιαίτερα από την πρόσληψη τροφής, άρα δεν απαιτείται νηστεία του ασθενούς και διευκολύνει τον προσδιορισμό του στα παιδιά (39)(40). Το PICP του ορού δεν έχει καλή συσχέτιση με το σχηματισμό του οστού, όπως αυτός προσδιορίζεται με ιστομορφομετρικές μελέτες. Η μέτρησή της έχει χαμηλή ευαισθησία που μπορεί να οφείλεται στη γρήγορη πρόσληψη και κατακερματισμό του PICP από το ήπαρ. Η μέτρηση του PINP έχει μεγαλύτερη ευαισθησία από ότι το PICP στην ανίχνευση αυξημένου ρυθμού οστικής ανακατασκευής όπως στη νόσο Paget και στην ελάττωση που ακολουθεί τη λήψη οιστρογόνων (35).

Το C-προπεπτίδιο του κολλαγόνου έχει βρεθεί σημαντικά αυξημένο στα παιδιά ηλικίας 0-14 ετών συγκριτικά με τους ενήλικες. Οι συγκεντρώσεις είναι σχετικά σταθερές έως την ηλικία των 10 ετών ( 0-10 έτη: 13.6 +/- 1 ng/ml). Στα παιδιά ηλικίας 10-14 ετών, οπότε και συνήθως παρατηρείται η έναρξη της εφηβείας και ακολουθεί η μεγάλη σωματική ανάπτυξη, η μέση συγκέντρωση αυξάνεται (10-14 έτη: 21.6 +/- 0.7 ng/ml) αν και όχι σημαντικά λόγω ιδιοσυστασιακών διαφορών. Συνολικά πάντως σε ηλικίες κάτω των 14 ετών οι τιμές ήταν πολύ μεγαλύτερες από τους εφήβους ηλικίας 14-18 ετών (14-18έτη : 6.3 +/- 0.7 ng/ml), από νεαρούς ενήλικες (8.4 +/- 2.0 ng/ml) και από ενήλικες (5.7 +/- 0.4 ng/ml). Τα επίπεδα στον ορό δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές όσον αφορά τη συσχέτιση με το φύλο (41).

#### **Δ.ΟΣΤΕΟΝΕΚΤΙΝΗ**

Η οστεονεκτίνη (SPARC, BM40) αποτελεί μια εξωκυττάρια γλυκοπρωτεΐνη η οποία βρίσκεται, μεταξύ των άλλων, σε αφθονία στην θεμέλια ουσία του οστού, όπου και συντίθεται από τους οστεοβλάστες. Συνδέεται με το κολλαγόνο και ανήκει σε μια ομάδα πρωτεϊνών οι οποίες επάγουν την διασύνδεση κυττάρου – θεμέλιας ουσίας χωρίς όμως να έχουν οι ίδιες δομικό ρόλο. Επιπλέον αναστέλλει τον κυτταρικό κύκλο, ρυθμίζει την δράση των αυξητικών παραγόντων και ενέχεται στη ιστική

μορφογένεση (42). Πρόσφατα έχει τεθεί υπό διερεύνηση και η πιθανή ανασταλτική δράση που έχει στον καρκίνο του προστάτη, αλλά η ευρεία χρήση της δεν έχει εδραιωθεί όσον αφορά στον οστικό μεταβολισμό (43).

**Οι δείκτες οστικής απορρόφησης** (bone resorption markers ) ή οστεοκλαστικοί ή οστεοαπορροφητικοί : είναι κυρίως προϊόντα αποδόμησης του κολλαγόνου των οστών. Οι μετρήσεις γίνονται στα ούρα με 24ωρη συλλογή, πρόσφατα όμως γίνονται και σε τυχαία μέτρηση στα ούρα ή πρόσφατα νέοι δείκτες προσδιορίζονται στον ορό. Οι δείκτες οστικής απορρόφησης περιλαμβάνουν:

**Πίνακας 3:** Δείκτες οστικού μεταβολισμού (ΔΟΜ) - απορρόφησης

<b>ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ</b>		
1	Ασβέστιο πρωϊνών ούρων μετά από νηστεία	
2	Υδροξυπρολίνη (ούρα)	
3	Δεσμοί κολλαγόνου (ούρα) (πυριδινολίνη & δεοξυπυριδινολίνη)	PYRILINKS – PYD D-PYRILINKS - DPD
4	Διασταυρούμενα (cross- linking) τελοπεπτίδια (ούρα)	1.αμινικό τελοπεπτίδιο – NTX 2.καρβοξυλικό τελοπεπτίδιο – CTX ή CrossLaps
5	Πεπτίδια περιέχοντα πυριδινολίνη (ορός)	ICTP
6	Σιαλοπρωτεΐνη των οστών	BSP
7	Ανθεκτική στο τρυγικό οξύ αλκαλική φωσφατάση	Tartrate resistant acid phosphatase (TRACP) isoform 5b
8	Cathepsin K	
9	Receptor activator of nuclear-factor kappa-B ligand	RANKL
10	Receptor activator of nuclear-factor kappa-B	RANK
11	Osteoprotegerin	OPG

### **1. ΑΣΒΕΣΤΙΟ ΠΡΩΙΝΩΝ ΟΥΡΩΝ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΝΗΣΤΕΙΑ**

Η νεφρική απέκκριση του ασβεστίου εξαρτάται από τον ουδό αποβολής ασβεστίου από τα νεφρά, την παραθορμόνη και το ασβέστιο που προσλαμβάνεται με τη τροφή. Αποτελεί δείκτη της οστικής αποδόμησης αλλά με χαμηλή ευαισθησία. Πρωινό ασβέστιο ούρων μετά από διπλή ούρηση και διορθωμένο με την αποβαλλόμενη κρεατινίνη είναι σίγουρα η φτηνότερη μέτρηση για την εκτίμηση της οστεοκλαστικής λειτουργίας, δεν είναι όμως επαρκώς αξιόπιστο και η χρήση του είναι πλέον σπάνια.

**2.ΥΔΡΟΞΥΠΡΟΛΙΝΗ:** είναι ένα αμινοξύ που χαρακτηρίζει όλους τους τύπους κολλαγόνου. Η υδροξυπρολίνη ούρων αποτελεί τον πιο παλιό δείκτη οστικής απορρόφησης. Όμως η έλλειψη ειδικότητας είναι ευρέως γνωστή αφού εκκρίνεται από το κολλαγόνο του δέρματος ( που μπορεί να μεταβάλλεται ταχέως σε διάφορες καταστάσεις), από νεοσυντιθέμενο κολλαγόνο που δεν έχει ακόμη ενσωματωθεί σε ιστό ακόμη και από κολλαγόνο ή ζελατίνα προσλαμβανόμενα με τη τροφή. Για όλους τους παραπάνω λόγους δε συστήνεται πλέον σήμερα (44).

**3. PYRILINKS (pyridinoline – PYD) και D-PYRILINKS (deoxypyridinoline - DPD - deoxyPYD):** η απώλεια της οστικής μάζας συσχετίζεται άμεσα με την αποδόμηση του κολλαγόνου του οργανισμού. Το επίπεδο της ουρικής απέκκρισης αμινοξέων χιαστών δεσμών κολλαγόνου τύπου I, καθορίζει τον οστικό μετασχηματισμό και είναι πολύ καλός δείκτης της οστικής απορρόφησης στην οστεοπόρωση (45). Οι πυριδιλίνες, υδροξυλυσυπυριδινολίνη και λυσυλπυριδινολίνη είναι αμινοξέα χιαστών δεσμών (cross-linking) που ενδυναμώνουν τις ίνες κολλαγόνου στο εξωκυττάριο στρώμα. Η πυριδινολίνη βρίσκεται σε αφθονία στο κολλαγόνο τύπου I των οστών στο τύπου II των χόνδρων και σε μικρές ποσότητες σε άλλα είδη συνδετικού ιστού εκτός του δέρματος, ενώ μεγάλη ποσότητα δεοξυπυριδινολίνης ευρίσκεται μόνο στα οστά, για αυτό και θεωρείται ως ένας σχετικά εκλεκτικός δείκτης μεταβολισμού των οστών. Οι δεσμοί κολλαγόνου ελευθερώνονται κατά την αποδόμηση της οργανικής φάσης των οστών από τους οστεοκλάστες και δεν μεταβολίζονται περαιτέρω in vivo ούτε επαναχρησιμοποιούνται στη σύνθεση νέου κολλαγόνου. Οι δείκτες αυτοί ακολουθούν ένα κερκάρδιο ρυθμό, είναι υψηλότεροι το πρωί και σπάνια επηρεάζονται από τη διατροφή (46)(47). Αποβάλλονται στα ούρα σε ελεύθερη μορφή (περίπου 40%) και

συνδεδεμένα με πεπτίδια (περίπου 60%). Μέθοδοι ανάλυσης υπάρχουν σήμερα διαθέσιμες και στο αίμα και στα ούρα, αλλά χρησιμοποιούνται συνήθως τα επίπεδα στα ούρα.

Η Pγγ και D-Pγγ των ούρων θεωρούνται ακριβείς δείκτες μέτρησης της οστικής απορρόφησης και της οστεοκλαστικής δραστηριότητας που καθορίζουν εάν ο ρυθμός καταστροφής του οστού είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό αναδόμησης. Είναι υψηλότερες στα παιδιά απ' ό,τι στους ενήλικες και αυξάνονται κατά 50-100% αμέσως μετά την εμμηνόπαυση στις γυναίκες ενώ πέφτουν στα προεμμηνόπαυσιακά επίπεδα με τη χορήγηση οιστρογόνων. Έχει περιγραφεί ότι σε άτομα που υπάρχει μείωση της συγκέντρωσης των χιαστών δεσμών διυδροξυλυσινορλευκίνης στα οστά παρατηρείται αυξημένος κίνδυνος καταγμάτων, παρά το γεγονός ότι η πυκνότητα του κολλαγόνου δεν διαφέρει από αυτή των αντίστοιχων φυσιολογικών ατόμων (48).

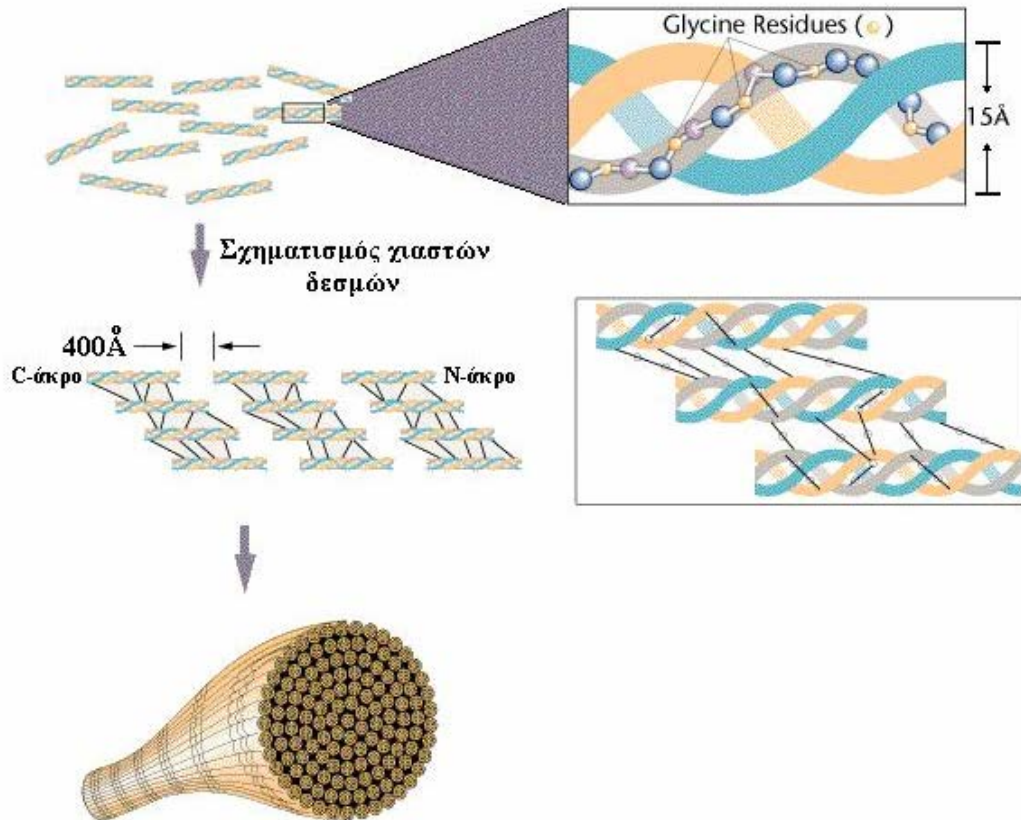
#### **4. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΑ ΤΕΛΟΠΕΠΤΙΔΙΑ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ ΤΥΠΟΥ- I**

**(type 1 collagen cross-linked N /C - telopeptides )**

- Καρβοξυλικό τελοπεπτίδιο – CTX ή CrossLaps
- Αμινικό τελοπεπτίδιο (NTX):

Η διεργασία σταθεροποίησης του κολλαγόνου συντελείται με τη δημιουργία των ινιδίων. Τα μόρια του κολλαγόνου κατά το σχηματισμό των ινιδίων συνδέονται μεταξύ τους με το σχηματισμό των χιαστών δεσμών (cross links) (49)(50). Οι χιαστοί δεσμοί είναι ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ δύο μορίων λυσίνης ή υδροξυλυσίνης του καρβοξυτελικού άκρου μιας αλυσίδας και δύο μορίων του αμινικού άκρου της αλυσίδας που προσκολλάται. Οι δεσμοί αυτοί δημιουργούνται τόσο μέσα στις αλυσίδες, όσο και ανάμεσα στα γειτονικά μόρια του κολλαγόνου. Τα πεπτίδια αυτά αποτελούν τις μη ελικοειδείς περιοχές του κολλαγόνου τύπου-I , όπου προσκολλώνται τα αμινοξέα χιαστών δεσμών (λυσίνης και υδροξυλυσίνη) και σταθεροποιούν την πλευρική ένωση των ινιδίων ώστε να δημιουργηθούν ισχυρές ίνες κολλαγόνου (35). Με αυτόν τον τρόπο οι αλυσίδες και τα γειτονικά μόρια συνδέονται

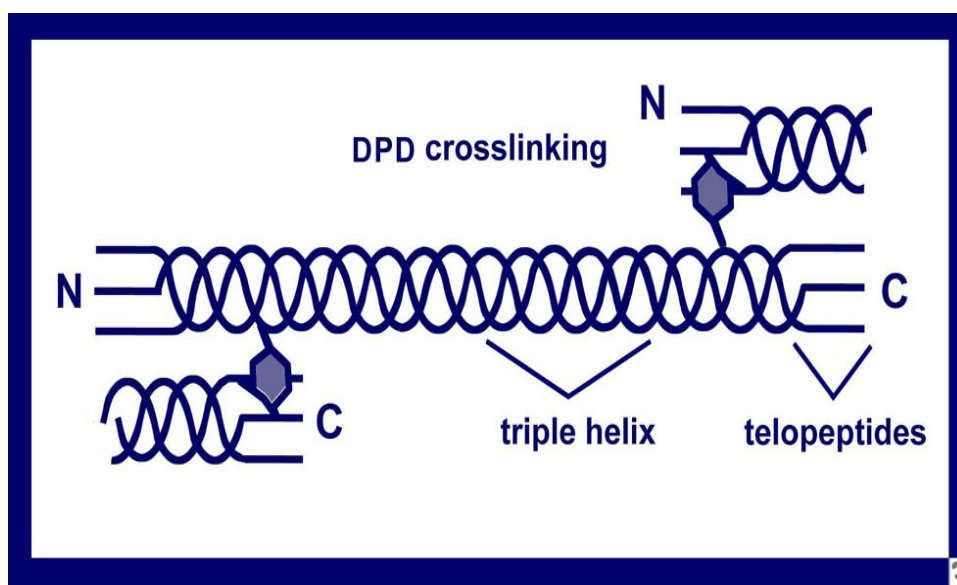
μεταξύ τους και σχηματίζεται ένα πλέγμα το οποίο αυξάνει την αντοχή και τη χημική αντίσταση του κολλαγόνου (Σχήμα 1.8) (18).



**Σχήμα 7:** Σχηματική αναπαράσταση των χιαστών δεσμών ανάμεσα στις αλυσίδες και ανάμεσα στα μόρια του κολλαγόνου .  
([http://www.mun.ca/biology/scarr/Collagen\\_structure.html](http://www.mun.ca/biology/scarr/Collagen_structure.html).)

Όταν κατακερματίζεται το κολλαγόνο ελευθερώνονται, εκτός από τους ελεύθερους δεσμούς (Pyr & D-Pyr), και τμήματα που περιέχουν την αλληλουχία των αμινοξέων του μορίου του κολλαγόνου στο οποίο γίνεται η πλαγιο-πλαγία σύνδεση, είτε του καρβοξυλικού άκρου (καρβοξυλικό τελοπεπτίδιο – CTX) είτε του αμινικού άκρου (αμινικό τελοπεπτίδιο – NTX). Οι δεσμοί αυτοί κολλαγόνου απελευθερώνονται και ανευρίσκονται στον ορό και στα ούρα. Τα μόρια που προσδιορίζονται είναι ή το τριμερές καρβοξυτελικό τελοπεπτίδιο (ICTP), που

υπολογίζεται με ραδιοανοσολογικές μεθόδους στον ορό (51) ή το αμινοτελικό τμήμα (NTX) ή το καρβοξυτελικό τμήμα (CTX). Τα CrossLaps (CTX) π.χ. αποτελούν μια συγκεκριμένη αλληλουχία οκτώ αμινοξέων (οκταπεπτίδιο) του καρβοξυλικού άκρου της πεπτιδικής αλυσίδας α1 της τριπλής έλικας του κολλαγόνου τύπου I στο σημείο του δεσμού (Crosslink) των πυριδινολινών.



**Σχήμα 8:** Δείκτες οστικού μεταβολισμού στην οστεοπόρωση (Sonia A Talwar, Bone Markers in Osteoporosis)

Τα NTX και CTX μπορούν να μετρηθούν και στον ορό και στα ούρα. Τα επίπεδα στον ορό επηρεάζονται από τον κερκάρδιο ρυθμό και την πρόσληψη τροφής, για αυτό ιδανικά θα έπρεπε να μετρώνται σε δεδομένο χρόνο της ημέρας (κατά προτίμηση το πρωί) και με τον ασθενή νηστικό (52). Ο προσδιορισμός της αποβαλλόμενης ποσότητας τους στα ούρα όμως αντιστακλά σχεδόν αποκλειστικά τον ρυθμό της οστικής απορρόφησης χωρίς να επηρεάζεται από την πρόσληψη κολλαγόνου με τις τροφές (35). Η συλλογή ούρων 24ώρου έχει το πλεονέκτημα ότι παρακάμπτει τον κερκάρδιο ρυθμό και είναι λιγότερο ευαίσθητη στη διατροφή, όμως είναι πρακτικά πιο δύσκολη για τους ασθενείς (37). Οι CTX και NTX είναι πολύ καλύτεροι δείκτες της οστεοκλαστικής δραστηριότητας από το ασβέστιο των ούρων και την υδροξυπρολίνη (35). Αυτοματοποιημένες μέθοδοι μέτρησης CTX στον ορό



έχουν πρόσφατα γίνει ευρέως διαθέσιμες και αντικαθιστούν σταδιακά τη μέτρηση NTX στα ούρα λόγω της απλότητας και της ευρωστίας (robustness). Οι τιμές αναφοράς βέβαια πρέπει να είναι ανάλογα με το φύλο και την ηλικία (37).

Μία νέα ομάδα παραγώγων της αποδόμησης του κολλαγόνου Α έχει τραβήξει την προσοχή της ιατρικής κοινότητας τα τελευταία χρόνια, τμήματα με τελοπεπτίδια που περιλαμβάνουν ειδικούς επιτόπους όπως: beta-collagen 1 C-terminal cross linked telopeptides (beta-CTx) και beta-Crosslaps. Ο προσδιορισμός των Beta-CTx και beta-Crosslaps αναγνωρίζει τμήματα του κολλαγόνου-1 που έχουν το β-ισομερές 8AA-οκταπεπτίδιο (EKAMD-beta-GGR) και σχηματίζει ένα επίτοπο στο καρβοξυτελικό τελοπεπτίδιο (C-terminal telopeptides). Συχνά οι όροι beta-CTx και beta-Crosslaps χρησιμοποιούνται ως συνώνυμα. Παρόλα αυτά υπάρχει μια μικρή, εξαρτώμενη από τη μέθοδο προσδιορισμού, διαφορά: το Crosslaps περιλαμβάνει τμήματα που έχουν τουλάχιστον ένα 8AA πεπτίδιο, ενώ το beta-CTx περιλαμβάνει τμήματα που έχουν τουλάχιστον δύο 8AA-πεπτίδια (53). Οι μετρήσεις που αφορούν τα 8AA-πεπτίδια θεωρούνται πιο ειδικά για το οστό, ιδιαίτερα οι μέθοδοι μέτρησης στον ορό που ανιχνεύουν δύο 8AA θεωρούνται πιο ειδικές από τις μεθόδους μέτρησης στα ούρα που ανιχνεύουν ένα 8AA (54).

## **5. ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΠΕΡΙΕΧΟΝΤΑ ΠΥΡΙΔΙΝΟΛΙΝΗ (ορός) – ICTP:**

Όπως ήδη αναφέρθηκε στην προηγούμενη παράγραφο το τριμερές καρβοξυτελικό τελοπεπτίδιο (ICTP), αποτελεί έναν καινούργιο δείκτη που προσδιορίζεται στον ορό και δείχνει το ρυθμό αποδόμησης του κολλαγόνου. Ουσιαστικά πρόκειται για το καρβοξυτελικό άκρο του κολλαγόνου τύπου I που συνδέεται με το ελικοειδές τμήμα ενός άλλου μορίου τύπου I κολλαγόνου (ICTP) (55). Κατά την αποδόμηση του κολλαγόνου απελευθερώνεται και αποβάλλεται με τα ούρα. Μετριέται εύκολα με RIA χρησιμοποιώντας πολυκλωνικό αντίσωμα και η μέθοδος χρειάζεται μόνο 4 ώρες. Η CV της μεθόδου κυμαίνεται μεταξύ 3% και 8% για διάφορες συγκεντρώσεις της μεθόδου. Υψηλά επίπεδα ICTP βρέθηκαν σε ρευματοειδή αρθρίτιδα και πολλαπλούν μυέλωμα. Δεν υπάρχουν μέχρι τώρα πολλά δεδομένα για την αξιοπιστία της μεθόδου αλλά μπορεί να αποτελέσει ένα νέο δείκτη της οστεοκλαστικής λειτουργίας που προσδιορίζεται όχι στα ούρα όπως οι ήδη χρησιμοποιούμενοι αλλά

στον ορό των ασθενών (55). Η παραγωγή των ICTP και CTX εξαρτάται από διαφορετικά μονοπάτια αποδόμησης του κολλαγόνου κι αυτό θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να διαχωρίσει διαφορετικής αιτιολογίας νόσους των οστών (56).

## **6. ΣΙΑΛΟΠΡΩΤΕΙΝΗ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ (BSP)**

Αναφέρεται ότι τα επίπεδα της ελαττώνονται μετά από ενδοφλέβια χορήγηση διφωσφονικών βρίσκεται όμως ακόμη σε ερευνητικό επίπεδο.

## **7. ΑΝΘΕΚΤΙΚΗ ΣΤΟ ΤΡΥΓΙΚΟ ΟΞΥ ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ ΤΥΠΟΥ-5 (TRAP-5b)**

Αποτελεί το ένα από τα δύο ένζυμα των οστεοκλαστών που τελευταία έχει τεθεί στο στόχαστρο των ερευνητών. Πρόκειται για ένα ισοένζυμο οξικής φωσφατάσης που δεν αναστέλλεται με το τρυγικό οξύ, παράγεται εν μέρει από τους οστεοκλάστες και ονομάζεται ανθεκτική στο τρυγικό οξύ αλκαλική φωσφατάση τύπου 5 (type 5 Tartrate Resistant Acid Phosphatase band 5b - TRAP 5b). Αυξημένα επίπεδα TRAP 5b έχουν περιγραφεί σε καταστάσεις με αυξημένο οστικό μεταβολισμό, όπως σε νόσο Paget's, οστικές μεταστάσεις, μετά από ωθηκεκτομή και σε οστεοπόρωση (15)(57). Η χαμηλή ειδικότητα, η αστάθεια του μορίου σε κατεψυγμένα δείγματα και η παρουσία ανασταλτικών ενζύμων του ορού αποτελούν μειονεκτήματα της μέτρησης του TRAP. Η ανάπτυξη ανοσολογικών μεθόδων που χρησιμοποιούν μονοκλωνικά αντισώματα ειδικά για το οστικό ισοένζυμο της TRAP μπορεί να την κάνουν χρήσιμη μέθοδο εκτίμησης της οστεοκλαστικής απορρόφησης.

## **8. ΚΑΘΕΨΙΝΗ- K**

Η cathepsin K αποτελεί το δεύτερο ένζυμο που παράγεται από τους οστεοκλάστες και προκαλεί το ενδιαφέρον ως το πρωτεύων πρωτεολυτικό ένζυμο που χρησιμοποιείται κατά την αποδόμηση του οστικού κολλαγόνου τύπου I. Παρά το

ότι αρκετές μελέτες την προτείνουν ως πιθανό αξιόλογο δείκτη της οστικής απορρόφησης, εντούτοις χρήζει περαιτέρω έρευνας (58).

### **9. RANKL - Receptor activator of nuclear-factor kappa-B ligand**

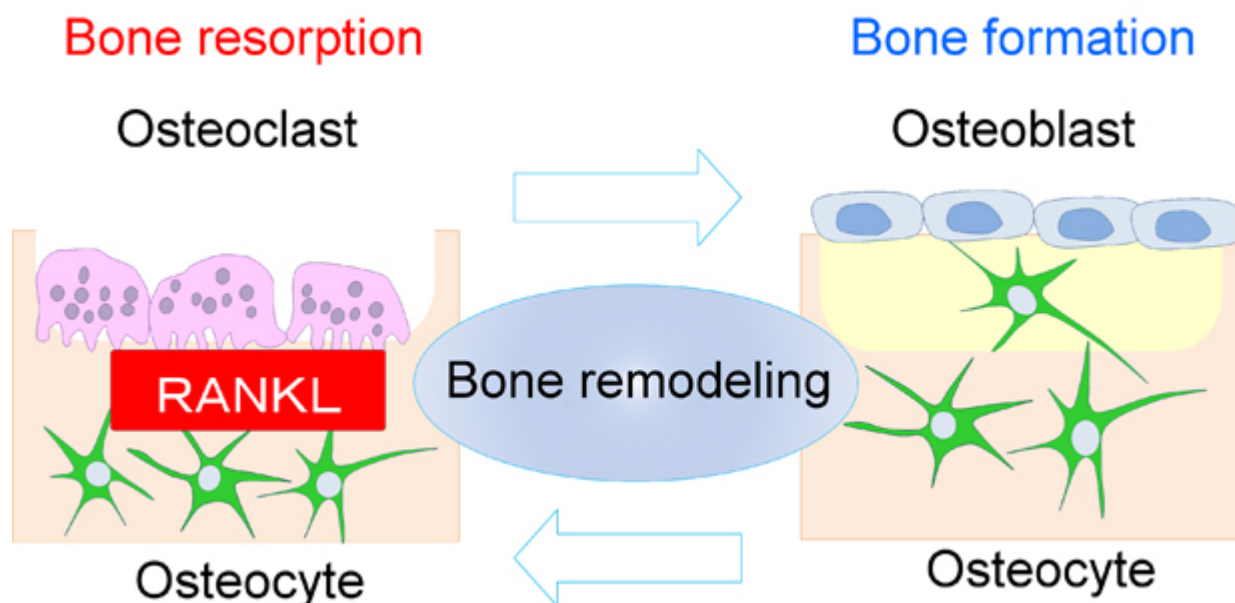
### **10. RANK - Receptor activator of nuclear-factor kappa**

### **11. OPG – Osteoprotegerin**

Η οστική απορρόφηση εξαρτάται από τους οστεοβλάστες μέσω της αλληλεπίδρασης ανάμεσα στο RANK, RANKL και μέσω της OPG που αναστέλει την αλληλεπίδραση RANK–RANKL (59)(60)(61)(62).

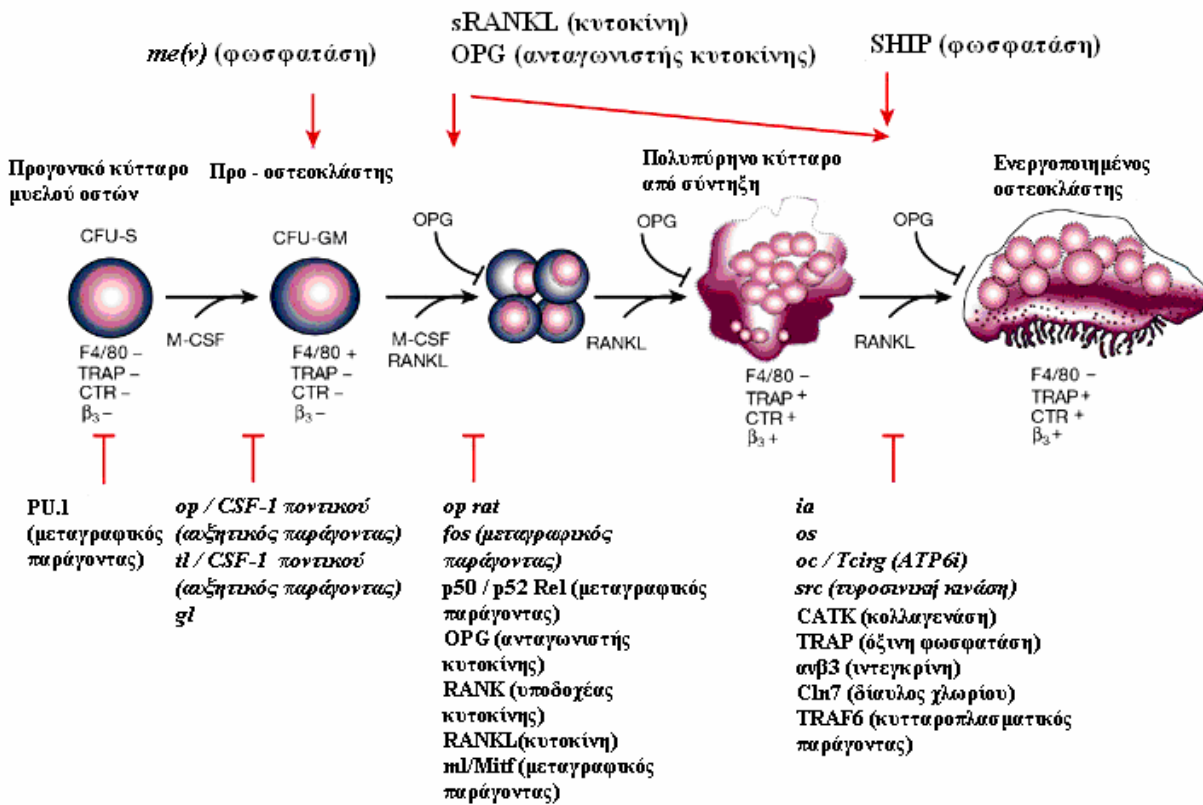
Ο ενεργοποιητής του υποδοχέα του πυρηνικού παράγοντα κ-B συνδέσμου (receptor activator of nuclear-factor kappa-B ligand (RANKL) και η οστεοπροτεγερίνη (osteoprotegerin - OPG), δύο κυτοκίνες της οικογένειας του tumour necrosis factor (TNF) αποτελούν παράγωγα των οστεοβλαστών. Ο Receptor activator of nuclear-factor kappa-B (RANK) βρίσκεται στην επιφάνεια των οστεοκλαστών και προ οστεοκλαστών.

Στη διάρκεια της οστεοκλαστογένεσης απαραίτητη είναι η παρουσία στρωματικών κυττάρων του μυελού και οστεοβλαστικών κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά συμμετέχουν μέσω της έκφρασης δύο κυρίως μορίων, του RANKL και του M-CSF. Ο RANKL είναι ένα μόριο που απαντάται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη των κυττάρων αυτών και εκφράζεται σε απάντηση ποικίλων παραγόντων όπως η βιταμίνη D, η PTH, ο TNF-α, τα γλυκοκορτικοειδή, η PGE<sub>2</sub>, η IL-1, ο FGF-2, η ισταμίνη, ο IGF-1 κ.α. Προσκολλάται στον μεμβρανικό του υποδοχέα RANK και συντελεί στη διαφοροποίηση και στην ενεργοποίηση των οστεοκλαστών. Τη δράση του RANKL ανταγωνίζεται η OPG, ένας διαλυτός υποδοχέας του, ο οποίος παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση του με το RANK και κατ' επέκταση ανταγωνίζεται την οστεοκλαστογένεση. Πολλοί εκ των παραγόντων που επάγουν την έκφραση του RANKL (π.χ. η PTH, η IL-11, η PGE<sub>2</sub>, βιταμίνη D) δρουν με αντίθετο τρόπο για την OPG (42).



**Σχήμα 9:** Κυρίαρχη δράση των οστεοκυττάρων στον οστικό ανασχηματισμό μέσω της έκφρασης του RANKL (Osteocytes are the commander cell at the initiation of the bone remodeling through RANKL expression). (63)

OPG και RANKL έχουν πρωτεύοντα ρόλο στη ρύθμιση του οστικού μεταβολισμού επιδρώντας στη δραστηριότητα των οστεοκλαστών. Τα επίπεδα των OPG και RANKL στη κυκλοφορία είναι σε ανάστροφη συσχέτιση με τη BMD και συμβάλλουν στην ανάπτυξη της οστεοπόρωσης, όπως έχει προς το παρόν διαπιστωθεί σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (64). Μπορεί να χρησιμεύσουν ως πιθανοί δείκτες οστικού μεταβολισμού, αν και ο ευρύς ρόλος του RANK ligand signaling στο ανοσοποιητικό σύστημα μπορεί να περιορίσει την ειδικότητα του (37).



Σχήμα 10: Οστεοκλαστογένεση (42)

#### ΧΡΗΣΗ ΔΕΙΚΤΩΝ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ (ΔΟΜ)

Οι ενήλικες ασθενείς με οστεοπόρωση που παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα δεικτών οστικού μεταβολισμού είναι υποψήφια ομάδα για θεραπεία με παράγοντες που καταστέλλουν την οστεόλυση. Προσδιορισμός των επιπέδων των βιοχημικών δεικτών χρησιμοποιείται για να καθορισθεί η επάρκεια της φαρμακευτικής αγωγής όταν η μείωση των επιπέδων των δεικτών είναι μεγαλύτερη του 25%. Η μεταβολή των βιοχημικών δεικτών μπορεί ακόμα να χρησιμοποιηθεί για τον καθορισμό της ιδανικής δόσης φαρμάκου. Η θεραπεία με φάρμακα κατά της οστικής απορρόφησης ακολουθείται από ταχεία πτώση των δεικτών οστικού μεταβολισμού (3 μήνες για τους δείκτες οστικής απορρόφησης και 6 μήνες για τους δείκτες οστικού σχηματισμού), ενώ οι μετρήσεις οστικής πυκνότητας χρειάζονται τουλάχιστον 2 έτη για να αλλάξουν σημαντικά (65). Όταν υπάρχει ένδειξη προσδιορισμού των ΔΟΜ, συχνά (εκτός εξαιρέσεων) δεν υπάρχει διαφορά, εάν μετρήσουμε οστεοβλαστικό ή

οστεοκλαστικό δείκτη, γιατί και οι δύο σχετίζονται εξίσου καλά με την απώλεια της οστικής μάζας λόγω της σύζευξης της οστεοκλαστικής με την οστεοβλαστική λειτουργία. Η οστική μάζα συσχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με τα επίπεδα των ΔΟΜ.

Οι περιορισμοί στη χρήση των δεικτών αυτών είναι ότι κάποιιοι αντιπροσωπεύουν και το σχηματισμό αλλά και την απορρόφηση του οστού, καθώς ότι κάποιιοι παράγονται και από άλλους ιστούς και δεν αντιπροσωπεύουν μόνο τα οστά. Παρόλα αυτά όμως η χρησιμότητά τους είναι περιορισμένη στη διάγνωση της οστεοπόρωσης, γιατί οστική απώλεια μπορεί να συμβεί σε οιονδήποτε ρυθμό οστικού μεταβολισμού (μικρό ή μεγάλο) αρκεί η οστεοκλαστική απορρόφηση να είναι μεγαλύτερη από το σχηματισμό νέου ιστού. Για το λόγο αυτό δεν συνιστάται η μέτρηση των ΔΟΜ για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης.

Ο έλεγχος των βιοχημικών δεικτών της οστικής αναδόμησης θεωρείται ότι είναι χρήσιμος στις παρακάτω περιπτώσεις:

- (α) Προσδιορισμός του κινδύνου κατάγματος σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας.
- (β) Προσδιορισμός του θεραπευτικού αποτελέσματος μετά χορήγηση αντιοστεοαπορροφητικών φαρμάκων όπως διφωσφονικά, οιστρογόνα, ραλοξιφένη.
- (γ) Εντοπισμός των ασθενών με αυξημένο ρυθμό οστικής ανακατασκευής για την πρόβλεψη της ταχείας οστικής απώλειας, συμβατής με αυξημένο κίνδυνο κατάγματος (35).

Προς το παρόν επομένως υπάρχει η τάση οι δείκτες οστικού μεταβολισμού να χρησιμοποιούνται για εκτίμηση της θεραπευτικής αγωγής και όχι για διαγνωστικούς σκοπούς. Οι δείκτες αυτοί πάντως βρίσκονται σε περιορισμένη χρήση στην κλινική εκτίμηση παιδιατρικών ασθενών (4).

## **6. ΟΡΙΣΜΟΣ ΟΣΤΕΟΠΕΝΙΑΣ - ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ ΣΤΑ ΠΑΙΔΙΑ**

Οστεοπόρωση: «οστό + πορώδες», δηλαδή οστό σαν σπόγγος λόγω αραίωσης της πυκνότητας του με διαταραχή στη σύσταση και στη συνοχή των οστικών δοκίδων (66).

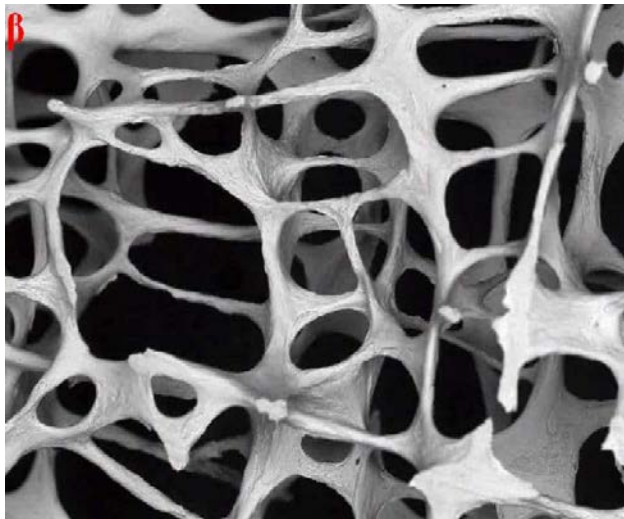
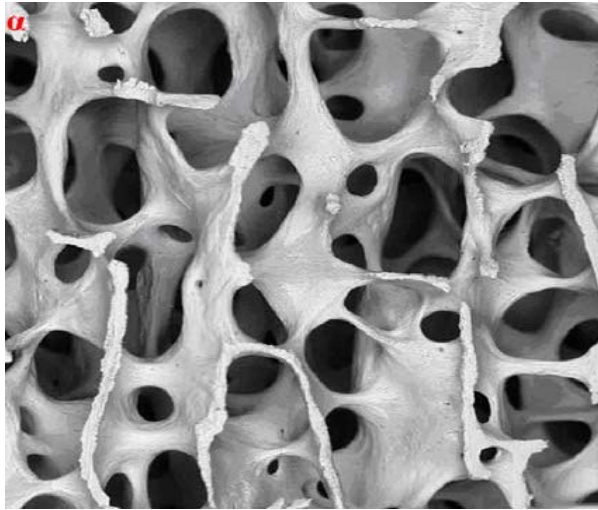
Οστεοπόρωση είναι η ελάττωση της οστικής πυκνότητας, σε βαθμό τέτοιο που ακόμη και φυσιολογικές κινήσεις ή φορτίσεις των οστών να προκαλούν

κατάγματα επειδή έχει μειωθεί σημαντικά η μηχανική αντοχή του οστού. Χαρακτηρίζεται από χαμηλή οστική μάζα και δομική επιδείνωση του οστίτη ιστού, κάνοντας τα οστά πιο εύθραυστα και πιο δεκτικά σε κατάγματα ιδίως του ισχίου, της σπονδυλικής στήλης και του καρπού. Αντιθέτως η οστεοπενία χαρακτηρίζεται μεν από ελάττωση της οστικής πυκνότητας αλλά είναι ασυμπτωματική (15). Με την πάροδο της ηλικίας είναι φυσιολογική εξέλιξη η οστική απώλεια, η οποία έχει μελετηθεί εκτεταμένα στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η οστεοπόρωση θεωρείται “σιωπηλή νόσος”, γιατί η οστική απώλεια προηγείται και εξελίσσεται αθόρυβα χρόνια πριν την τελική διαμόρφωση εκείνης της διαταραχής της ποιότητας του οστού που θα οδηγήσει το οστό στα όρια του καταγματικού κινδύνου (66).

Η απώλεια οστού συμβαίνει αρχικά χωρίς συμπτώματα. Τα συμπτώματα που βιώνουν τα παιδιά με οστεοπόρωση διαφέρουν από παιδί σε παιδί, αλλά τα κοινά συμπτώματα είναι:

- Οστικά άλγη, συνήθως κάτω άκρων και ράχης
- Δυσχέρεια στη βάδιση
- Κατάγματα στα μακρά οστά του σκελετού και στη σπονδυλική στήλη
- Κυρτότητα της σπονδυλικής στήλης ή απώλεια ύψους, όπου τα οστά της σπονδυλικής στήλης έχουν συμπιεστεί ή παραμορφωθεί εξαιτίας μικροκαταγμάτων.

Στο παρελθόν ο μόνος τρόπος για να τεθεί η διάγνωση της οστεοπόρωσης ήταν επί του συμβάντος ενός κατάγματος με ακτινογραφία. Αυτό όμως συμβαίνει όταν ο οργανισμός έχει υποστεί απώλεια της οστικής του μάζας κατά 30%, οπότε η διάγνωση έχει ήδη καθυστερήσει πολύ (18).



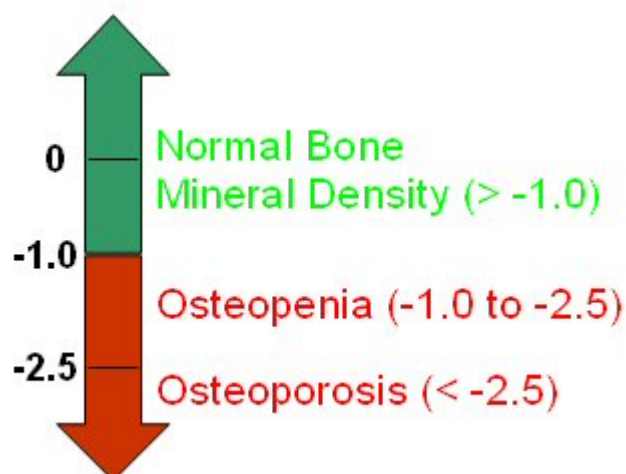
**Σχήμα 11:** Απεικόνιση α) φυσιολογικού και β) οστεοπορωτικού τμήματος σπογγώδους οστού (<http://www.health.state.ny.us/diseases/conditions/osteoporosis/needknow.htm> )

Για να προκληθεί αύξηση της απώλειας οστικής μάζας θα πρέπει ή να αυξηθεί η οστική αποδόμηση ή να μειωθεί η οστική κατασκευή ώστε να υπάρξει οστικό έλλειμμα στο τέλος κάθε κύκλου οστικού ανασχηματισμού. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί και με αύξηση της συχνότητας ενεργοποίησης, του μέσου χρονικού διαστήματος που μεσολαβεί μεταξύ δύο διαδοχικών κύκλων οστικού ανασχηματισμού στην ίδια θέση της οστικής επιφάνειας. Για πολλούς λόγους η αύξηση του ρυθμού οστικής απορρόφησης δεν συνοδεύεται από αντίστοιχη ισόποση αύξηση της οστικής σύνθεσης. Εκτός πάντως από την ποσοτική διαταραχή στο νεοσχηματισθέν οστό εκτιμάται ότι υπάρχει και διαταραχή στην ποιότητα του οστίτη ιστού κατά την οστεοπόρωση (18).



Ο ορισμός της οστεοπόρωσης ιδανικά θα έπρεπε να περιλαμβάνει και τις δύο παραμέτρους της οστικής σύνθεσης που διαταράσσονται, ποσότητα και ποιότητα. Η σύγχρονη ιατρική κοινότητα τείνει προς τη συγκεκριμένη κατεύθυνση, όμως επειδή η δεύτερη παράμετρος, η ποιότητα, είναι δύσκολο να εκτιμηθεί με απλές και προσιτές μεθόδους προς το παρόν όλες οι κατευθυντήριες οδηγίες χρησιμοποιούν ως κριτήριο αναφοράς την ποσότητα.

Ο ορισμός του WHO για τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες βασίζεται στην εκτίμηση της BMD με DXA και υπολογισμό του T-score (ο αριθμός των σταθερών αποκλίσεων (standard deviation) πάνω ή κάτω από το μέσο όρο της τιμής BMD για νεαρές υγιείς λευκές γυναίκες) το οποίο συσχετίζεται με τον κίνδυνο κατάγματος (fracture risk) (33). Οστεοπενία ορίζεται η τιμή του T-score μεταξύ -1.0 και -2.5, οστεοπόρωση ως T-score κάτω από το -2.5 και σοβαρή / εγκατεστημένη (established) οστεοπόρωση επί της παρουσίας τουλάχιστον ενός αποδεδειγμένου κατάγματος.



**Σχήμα 12:** ορισμός οστεοπενίας –οστεοπόρωσης με βάση τη BMD

Αυτός ο ορισμός δεν μπορεί να εφαρμοστεί στα παιδιά που ούτε έχουν αποκτήσει τη μέγιστη οστική μάζα, ούτε έχουν αποκτήσει το τελικό τους ύψος. Αν και υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για την επίπτωση της οστεοπενίας /οστεοπόρωσης στα παιδιά που πάσχουν από καρκίνο και από χρόνια νοσήματα ο ακριβής ορισμός της οστεοπενίας / οστεοπόρωσης των παιδιών παραμένει αμφιλεγόμενος. Το Z-score, που συγκρίνει την τιμή BMD του ασθενούς με τιμές αντίστοιχες για την ηλικία και το φύλο, είναι πιο χρήσιμο για τα παιδιά, αν και μπορεί να καταλήξει σε λανθασμένη ταξινόμηση των ασθενών για παιδιά με εκσεσημασμένες αποκλίσεις του ύψους για

την ηλικία τους (33). Η International Society for Clinical Densitometry (ISCD) στις επίσημες συστάσεις της το 2007 προτείνει ότι « η διάγνωση της οστεοπόρωσης σε παιδιά και εφήβους θα έπρεπε να ΜΗ βασίζεται αποκλειστικά σε πυκνομετρικά (densitometric) κριτήρια. Η διάγνωση της οστεοπόρωσης απαιτεί την παρουσία και κλινικά σημαντικού ιστορικού κατάγμάτων και παράλληλα χαμηλή τιμή BMC ή BMD. Ως κλινικά σημαντικό ιστορικό κατάγματος θεωρείται η ύπαρξη ενός ή περισσότερων από τα κάτωθι:

1. κάταγμα μακρών οστών των κάτω άκρων
2. συμπιεστικό κάταγμα σπονδυλικής στήλης
3. δύο ή περισσότερα κατάγματα μακρών οστών άνω άκρων
4. χαμηλή BMC ή χαμηλή BMD ορίζεται ως areal BMD z-scores που είναι  $\leq -2.0$  ,προσαρμοσμένο για την ηλικία, το φύλο και τα σωματομετρικά στοιχεία του ασθενούς (body size).

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) ανέπτυξε ένα εργαλείο για την πρόβλεψη του απόλυτου κινδύνου κατάγματος σε βάθος 10ετίας, το FRAX® WHO (Fracture Risk Assessment Tool). Αυτό στηρίζεται στην οστική πυκνότητα του αυχένα του μηριαίου –μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η BMD ολικού ισχίου (total hip) - και προβλέπει κυρίως την πιθανότητα κατάγματος του ισχίου. Δυστυχώς ο δείκτης δε μπορεί να χρησιμοποιήσει τιμές εκτός της περιοχής του ισχίου. Ενδείκνυται προς το παρόν μόνο για ενήλικες 40-90 ετών που δεν έχουν λάβει αγωγή για οστεοπόρωση, συμπεριλαμβανομένων των διφωσφονικών, καλσιτονίνης ή τεριπαρατίδης (67). Η τεκμηριωμένη επέκταση της χρήσης του FRAX και στις νεότερες ηλικίες θα μας έδινε ένα πολύτιμο εργαλείο στην αξιολόγηση της σκελετικής υγείας των παιδιών που έχουν πολλές δεκαετίες ζωής μπροστά τους.

## **7. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΥΓΕΙΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΣΤΟΥΣ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΟΛΑ**

Ο οστικός μεταβολισμός είναι μια δυναμική ισορροπία μεταξύ δύο διαφορετικών διεργασιών, της οστικής απορρόφησης και της οστικής σύνθεσης.

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν αυτήν την ισορροπία και σχετίζονται με τη λευχαιμία και τη θεραπεία της.

Λευχαιμία. Μυοσκελετικά άλγη, οστεοπενία σε ακτινογραφίες και κατάγματα έχουν περιγραφεί σε ασθενείς με πρωτοδιάγνωση ΟΛΛ πριν την έναρξη της θεραπείας, υποδηλώνοντας ότι η ίδια η νόσος οδηγεί σε υπολειπόμενη επιμετάλλωση (23)(68). Η διήθηση των ιστών και η επέλαση των λευχαιμικών βλαστών μαζί με την επίδραση παραγόντων όπως ο παράγοντας αναστολής των οστεοβλαστών (osteoblast inhibiting factor), η προσταγλαδίνη E, η έκτοπη παραθορμόνη μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη οστική πυκνότητα (23) (69). Επιπρόσθετα η δέσμευση της 1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> στους υποδοχείς των άωρων λεμφοκυττάρων μπορεί να αποτελεί ένα πιθανό μηχανισμό για τα χαμηλά επίπεδα 1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> που έχουν παρατηρηθεί σε ασθενείς με ΟΛΛ οδηγώντας σε επηρεασμένη εφאלάτωση των οστών (17), (68).

Ανάμεσα στα χημειοθεραπευτικά φάρμακα, τα στεροειδή έχουν μια αυξημένη αρνητική επίδραση στη BMD (7)(23)(70)(71)(72)(73)(74). Η δράση τους αποδίδεται σε μειωμένη εντερική απορρόφηση και αυξημένη νεφρική απέκκριση του ασβεστίου, αναστολή της 1<sup>α</sup>- υδροξυλίωσης της βιταμίνης D στους νεφρούς, αναστολή των οστεοβλαστών, ενεργοποίηση των οστεοκλαστών, αναστολή της παραγωγής της οστεοκαλσίνης, μείωση της τοπικής παραγωγής των κυταροκινών είναι μερικοί μηχανισμοί της δράσης των στεροειδών που επιδρούν στο μεταβολισμό των οστών (23)(75)(76)(77). Η δράση τους αφορά κυρίως το σπογγώδες οστό -που προεξάρχει στα σπονδυλικά σώματα- και η απώλεια οστικής μάζας είναι πιο εκσεσημασμένη τους πρώτους μήνες αγωγής. Υπολογίζεται απώλεια 10-20% απώλεια σπογγώδους τους πρώτους έξι μήνες θεραπείας και έκτοτε 2% ανά έτος. Επιπρόσθετα αναφέρεται ,απώλεια 2-3% στο φλοιώδες οστό – που βρίσκεται περισσότερο στα μακρά οστά- το πρώτο έτος και με πιο αργό ρυθμό στη συνέχεια (78). Μέσα σε 6 ημέρες αγωγής με γλυκοκορτικοειδή μία πρώιμη πτώση κατά 7.4% της BMD της σπονδυλικής στήλης έχει ήδη τεκμηριωθεί (71). Η συχνότητα των σπονδυλικών και μη καταγμάτων κυμαίνεται από 30-50% σε ασθενείς που λαμβάνουν γλυκοκορτικοστεροειδή για διάστημα >3 μηνών (78). Αναφέρεται ότι μια συνολική δόση κορτικοστεροειδών μεγαλύτερη από 9000 mg/m<sup>2</sup> πιθανά να προκαλέσει μη αναστρέψιμη μείωση της οστικής πυκνότητας (22) καθώς και ότι η δεξαμεθαζόνη προκαλεί μεγαλύτερη μείωση στην οστική πυκνότητα από την πρεδνιζόνη (71).

Οι διεθνείς κατευθυντήριες οδηγίες αναφέρουν ότι για κάθε ασθενή που λαμβάνει θεραπεία με γλυκοκορτικοειδή σε δόση ίση ή ανάλογη με 5mg πρεδνιζόνης ανά ημέρα για 3 ή περισσότερους μήνες θα πρέπει να γίνεται μέτρηση οστικής πυκνότητας, να λαμβάνονται μέτρα πρόληψης της οστεοπόρωσης και να αξιολογείται η προοπτική χορήγησης φαρμακευτικής αγωγής για οστεοπόρωση (67, 73). Τα μέτρα πρόληψης πρέπει να συστήνονται και σε όλους τους ασθενείς που λαμβάνουν καθημερινά εισπνεόμενα κορτικοειδή για σειρά ετών. Ο ιδανικός χρόνος για να ληφθούν αυτά τα μέτρα είναι ο χρόνος έναρξης της αγωγής με κορτικοειδή, πρώτον γιατί η μεγαλύτερη απώλεια οστού παρατηρείται τους πρώτους μήνες χορήγησης των στεροειδών και δεύτερον γιατί με την ίδια οστική πυκνότητα ο κίνδυνος κατάγματος είναι μεγαλύτερος για το άτομο που βρίσκεται σε χρόνια αγωγή με κορτικοειδή από ένα άλλο που δε λαμβάνει αντίστοιχη αγωγή. Ο κίνδυνος κατάγματος είναι δυσανάλογα αυξημένος στα άτομα που έχουν μειωμένη οστική πυκνότητα λόγω λήψης στεροειδών από τα άτομα που έχουν μειωμένη οστική πυκνότητα λόγω ηλικίας ή μετεμμηνοπαυσιακά. Βέβαια η μείωση οστικής πυκνότητας λόγω στεροειδών γενικά αποκαθίσταται σχεδόν ολοκληρωτικά μετά από πάροδο μερικών μηνών από τη διακοπή των στεροειδών (67).

Μία πολύ σοβαρή επιπλοκή των γλυκοκορτικοστεροειδών είναι η οστεονέκρωση που μπορεί να οδηγήσει σε κατάρρευση του συνδέσμου (joint collapse) και απαιτεί ολική αντικατάσταση συνδέσμου (79)(80). Ο μηχανισμός δράσης τους που οδηγεί σε οστεονέκρωση βρίσκεται υπό διερεύνηση, και έχει αποδοθεί σε ενδαγγειακές θρομβώσεις, υπερτροφία λιποκυττάρων, ισχαιμία του μυελού και απόπτωση ενδοθηλιακών κυττάρων, οστεοβλαστών και οστεοκλαστών (81). Παράγοντες κινδύνου για την οστεονέκρωση αποτελούν η ηλικία 10-20 ετών, ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος, το θήλυ φύλο και η λευκή φυλή (79)(80)(82). Επίσης έχει βρεθεί ότι η διαλείπουσα χορήγηση δεξαμεθαζόνης ακόμη και σε υψηλότερες δόσεις έχει λιγότερο κίνδυνο εμφάνισης οστεονέκρωσης συγκριτικά με τη συνεχή χορήγηση (83).

Η μεθοτρεξάτη επίσης έχει μία δοσο-εξαρτώμενη αρνητική επίδραση στη BMD (23)(72)(84), με καταστολή της οστεοβλαστικής δραστηριότητας και διέγερση της οστεοκλαστικής στρατολόγησης, με αποτέλεσμα την αυξημένη οστική απορρόφηση (4). Αναφέρεται ότι εάν η ολική δόση μεθοτρεξάτης είναι μεγαλύτερη από 40000 mg/m<sup>2</sup> τότε υπάρχει αυξημένος κίνδυνος η οστική πυκνότητα να μην επανέλθει σε φυσιολογικά επίπεδα μετά την αποθεραπεία (22).

Ιφοσφαμίδη, μπλεομυκίνη, cisplatin και 6-μερκαπτοπουρίνη μπορούν επίσης να έχουν ανάδρομη επίδραση στη BMD καθώς και όλοι οι αλκυλιούντες παράγοντες μέσω του υπογοναδισμού που προκαλούν (8)(23)(76)(85).

Ακτινοβολία. Η ακτινοβολία κρανίου επηρεάζει τον άξονα υποθαλάμου – υπόφυσης οδηγώντας σε ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης, υποθυρεοειδισμό και ανεπάρκεια γοναδοτροπινών που αποτελούν απαραίτητους παράγοντες για την φυσιολογική ανάπτυξη της οστικής μάζας (1)(22)(23)(84). Μόνο λίγες μελέτες ακτινοβοληθέντων ασθενών δεν αναφέρουν συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων αυξητικής ορμόνης και μετρήσεων BMD (76)(84). Θεωρείται ότι δόσεις ακτινοβολίας μικρότερες από 18Gy είναι κάτω από το όριο κινδύνου για την πρόκληση βλάβης στην υπόφυση (22)(76)(86), αν και έχει παρατηρηθεί μία μείωση στη BMD του πήχεως ήδη από 12 Gy ακτινοβολία κρανίου (23).

Μερικές μελέτες προτείνουν ότι η μείωση της BMD συσχετίζεται με την ακτινοβόληση του νευρικού συστήματος (4)(25)(76). Επίσης η ακτινοβολία της σπονδυλικής στήλης μπορεί να επιδρά άμεσα στο μεταβολισμό των οστών με αποτέλεσμα τη μείωση των οστεοβλαστών, καταστροφή των αγγείων και ατροφία του οστού, που ακολουθείται από μειωμένη οστική πυκνότητα και αυξημένη ευθραυστότητα (87). Η ακτινοβολία των γονάδων (ωοθηκών :  $\geq 10\text{Gy}$  σε κορίτσια πριν την εφηβεία,  $\geq 5\text{Gy}$  σε κορίτσια στην εφηβεία και όρχεων: στα αγόρια  $\geq 20\text{Gy}$ ) μέσω του υπογοναδισμού που προκαλεί και τη μειωμένη παραγωγή οιστρογόνων/ανδρογόνων επηρεάζει αρνητικά την οστική πυκνότητα (8). Παράγοντες κινδύνου για επηρεασμένη ανάπτυξη μετά από ακτινοβολία κρανίου περιλαμβάνουν τη μεγαλύτερη αθροιστική δόση, μεγαλύτερο κλασματικό μέγεθος (fraction size), μεγαλύτερη ποσότητα ακτινοβολίας ανά δόση, μικρότερη ηλικία και θήλυ φύλο (84). Οι επιζώντες της ΟΛΛ σε παιδική ηλικία που έλαβαν αγωγή πριν 20-40 χρόνια αντιμετωπίζουν ένα αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας στην ενήλικη ζωή, κατά μία εκτίμηση έχουν μια απώλεια της τάξεως των 10 ετών και το πιο πιθανό είναι αυτό να οφείλεται στην ευρύτερη χρήση της ακτινοβολίας κρανίου (88).

Μεταμόσχευση μυελού των οστών (MMO). Οι ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε MMO βρίσκονται σε υψηλότερο κίνδυνο για εμφάνιση οστεοπόρωσης, ειδικά κατά τη διάρκεια της μεταμόσχευσης και σε σύντομο διάστημα μετά τη διενέργεια της (89), για εμφάνιση οστεοχονδρωμάτων και διαταραχών ανάπτυξης στις μεταφύσεις λόγω της ακτινοβολίας καθώς και οστεονέκρωσης, γεγονός που θα οδηγήσει τους μισούς ασθενείς σε χειρουργική αντικατάσταση των συνδέσμων, ιδιαίτερα του ισχίου

(90)(91). Αλλογενής ΜΜΟ σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο μειωμένης ΒΜD συγκριτικά με την αυτόλογη ΜΜΟ, λόγω της μεγαλύτερης τοξικότητας της αγωγής, της ολοσωματικής ακτινοβολήσης και μιας μακρόχρονης αγωγής με στεροειδή για GVHD (graft versus host disease) (89)(92). Αναφέρονται ποσοστά 24-50% μειωμένης οστικής πυκνότητας 2 με 12 μήνες μετά από αλλογενή μεταμόσχευση, καθώς και 19% άσηπτη νέκρωση έως 3 έτη μετά τη μεταμόσχευση (93). Οι ασθενείς που υποβάλλονται σε μεταμόσχευση μυελού των οστών σε νεαρή ηλικία πιθανά δε θα φτάσουν ποτέ τη μέγιστη αναμενόμενη οστική μάζα και βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο για ανάπτυξη οστεοπόρωσης. Η αλλογενής μεταμόσχευση με αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα (SCT: stem cell transplantation) έχει επιπτώσεις στο μεταβολισμό των οστών (94). Για αυτό συστήνεται να διενεργείται σε όλους τους ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε μεταμόσχευση μυελού των οστών ή μεταμόσχευση οργάνου γενικότερα μία μέτρηση αναφοράς (baseline) για την οστική πυκνότητα με το που τίθενται στη λίστα αναμονής για μεταμόσχευση και ακολούθως ανά έτος μέχρι τη μεταμόσχευση, και ιδίως αν λαμβάνουν υψηλές δόσεις στεροειδών ακόμη και ανά 6 μήνες (67) .

Ηλικία. Πολλαπλές μελέτες υποστηρίζουν ότι τα παιδιά που λαμβάνουν αγωγή για ΟΛΛ κατά τη διάρκεια ή λίγο πριν το άλμα ανάπτυξης της εφηβείας, σε μια ηλικία 9-11 ετών, βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο για μειωμένη ΒΜD (17)(22)(23)(84)(95). Παιδιά μεγαλύτερα από 9 ετών έχουν 2-φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για κατάγματα και τουλάχιστον 5-φορές αυξημένο κίνδυνο για οστεονέκρωση συγκριτικά με νεότερους ασθενείς και αυτό αποδίδεται σε φυσιολογικές διαφορές μεταξύ εφήβων και μικρότερων παιδιών, όπως η σύγκλιση των επιφύσεων και τα επίπεδα αυξητικής ορμόνης που κυκλοφορούν (69). Παρόλα αυτά συσχέτιση μεταξύ της ηλικίας κατά τη διάρκεια της θεραπείας για ΟΛΛ και της ΒΜD δεν επιβεβαιώθηκε από άλλες μελέτες (25)(76)(96)(97).

Στάδια εφηβείας κατά Tanner. Ασθενείς με στάδιο Tanner I έως III έχουν χαμηλότερη ΒΜD από αυτούς με στάδιο Tanner IV έως V. Η ηλικία έναρξης της εφηβείας συμβάλλει επίσης στην τελική διαμόρφωση των οστών (76). Η σύγχρονη βιβλιογραφία τείνει προς την πεποίθηση ότι παθολογική οστική πυκνότητα στην ενήλικη ζωή θα διατηρήσουν μόνο τα παιδιά με συγκεκριμένους προδιαθεσικούς παράγοντες και ανάμεσα στους πιο σημαντικούς είναι ο υπογοναδισμός και η

σύμπτωση της χρονικής περιόδου νόσησης της λευχαιμίας με την περίοδο της εφηβείας, όπου φυσιολογικά αναμένεται η μεγάλη αύξηση της οστικής μάζας (98).

Φύλο. Το άρρεν φύλο σχετίζεται με μικρότερη BMD, πιθανά λόγω καθυστερημένης οστικής ωρίμανσης συγκριτικά με τα κορίτσια, μικρότερης επίδρασης των ανδρογόνων στην εφάλατωση των οστών από τα οιστρογόνα και μερικού υπογοναδισμού λόγω της κυκλοφωσφαμίδης (4)(76)(84)(86). Τα αγόρια έχουν επίσης αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση καταγμάτων επειδή συμμετέχουν σε μεγαλύτερο βαθμό σε ομαδικές αθλητικές δραστηριότητες και παρουσιάζουν πιο ριψοκίνδυνη συμπεριφορά (69).

Μειωμένη φυσική δραστηριότητα. Η φυσική δραστηριότητα είναι ένας καλά αναγνωρισμένος παράγοντας που καθορίζει την οστική μάζα και είναι πολύ περιορισμένη στα παιδιά με ΟΛΛ λόγω της παραμονής στο νοσοκομείο, της ενδοφλέβιας αγωγής, του κινδύνου για σοβαρές λοιμώξεις ως αποτέλεσμα της λευκοπενίας και γενικευμένης αίσθησης κακουχίας «not being well» (72,84,86). Η φυσική δραστηριότητα φαίνεται να έχει πιο σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια απόκτησης της μέγιστης οστικής μάζας, καθώς στους μακροχρόνια επιζήσαντες από ΟΛΛ καμία διαφορά στη BMD δεν παρατηρήθηκε μεταξύ ασθενών με διαφορετικά επίπεδα φυσικής δραστηριότητας κατά τη διάρκεια της μελέτης (4)(25).

Λόγω της μειωμένης δραστηριότητας, της μακρόχρονης νοσηλείας και της παραμονής κατ' οίκον αποτελεί απότοκο και η μειωμένη έκθεση σε ηλιακό φως, που οδηγεί σε ελαττωμένη παραγωγή βιταμίνης D.

Φτωχή διατροφή. Η απορροφητικότητα του ασβεστίου είναι 30–60% σε κατανάλωση 400–1000mg, δηλαδή από το ασβέστιο που παίρνουμε από την διατροφή μας απορροφάται μόνο το  $\frac{1}{3}$  με  $\frac{2}{3}$ . Ο ανθρώπινος οργανισμός μπορεί να χρησιμοποιήσει μέχρι 500 mg κάθε φορά από τα τρόφιμα ή τα συμπληρώματα και γι' αυτό η κατανάλωση ασβεστίου πρέπει να διαμοιράζεται κατά τη διάρκεια της ημέρας για να επιτυγχάνεται μεγαλύτερη απορρόφηση. Αν και η πρόσληψη ασβεστίου συσχετίζεται θετικά με τη BMD, δεν τεκμηριώθηκε συσχέτιση της πρόσληψης ασβεστίου με την τροφή με τη BMD (25)(97). Σε παιδιατρικούς ασθενείς που επιβίωσαν από καρκίνο βρέθηκε ότι συνολικά μόλις 68% λάμβαναν τις απαιτούμενες ποσότητες ασβεστίου, και εάν η ηλικία τους ήταν >18 ετών το ποσοστό ήταν μόλις 57.6% (99), ενώ δεύτερη πιο πρόσφατη μελέτη σε αντίστοιχο πληθυσμό κατέγραψε πτώση των ποσοστών <30% τόσο για το ασβέστιο όσο και τη βιταμίνη D (100).

Η κατανάλωση κάθε μέρα από παιδιά και έφηβους τριών έως τεσσάρων μερίδων γαλακτοκομικών προϊόντων τους προσφέρει όχι μόνο την ποσότητα ασβεστίου που χρειάζονται αλλά ταυτόχρονα και άλλα ουσιώδη θρεπτικά στοιχεία όπως κάλιο, φωσφόρο και πρωτεΐνες. Μια μερίδα γάλατος θεωρείται η ποσότητα που περιέχεται σε ένα φλιτζάνι δηλαδή περίπου 250 ml. Ενδεικτικά, 3 μερίδες γάλατος χωρίς ή χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος προσφέρουν 900 mg ασβεστίου και 300 IU βιταμίνης D.

Ανάλογα με την ηλικία των παιδιών οι ανάγκες σε ασβέστιο είναι:

- 1-3 ετών: 500 mg ημερησίως (περίπου 2 μερίδες γάλατος)
- 4-8 ετών: 800 mg ημερησίως (περίπου 3 μερίδες γάλατος)
- 9-18 ετών: 1300 mg ημερησίως (περίπου 4 μερίδες γάλατος)

Όσον αφορά τις ημερήσιες ανάγκες σε βιταμίνη D αν και η Ελλάδα αποτελεί μια κατεξοχήν ηλιόλουστη χώρα, διαπιστώθηκε από το 1968, ραχίτιδα σε νεογνά και προστέθηκαν 400 IU/L βιταμίνης D σε όλα τα βρεφικά γάλατα (101). Σκευάσματα βιταμίνης D δε χορηγούνται πάντως ως ρουτίνα σε παιδιά >3 ετών και μέχρι πρόσφατα διερεύνηση των επιπέδων της βιταμίνης D γινόταν μόνο σε ειδικές περιπτώσεις. Βέβαια η αυξανόμενη συχνότητα ανεπάρκειας βιταμίνης D που διαπιστώνεται τα τελευταία χρόνια και στη χώρα μας μπορεί να οφείλεται και στη μείωση του χρόνου έκθεσης των παιδιών στο ηλιακό φως λόγω του συγχρόνου τρόπου ζωής καθώς και στη χρήση αντηλιακών.

Η επάρκεια βιταμίνης D είναι επιθυμητή γιατί διασφαλίζει:

1. καταστολή των επιπέδων παραθορμόνης
2. αυξημένη απορρόφηση ασβεστίου
3. μειωμένη απώλεια οστού
4. μειωμένο κίνδυνο πτώσης (22%)
5. καλύτερη λειτουργικότητα κάτω άκρων (67).

Η βιταμίνη D είναι μια προ-ορμόνη σημαντική για τη διατήρηση της ομοιόστασης του ασβεστίου και της προσθήκης των ανόργανων συστατικών του σκελετού. Ο ανθρώπινος οργανισμός αποκτά τη βιταμίνη D από την έκθεση στο



ηλιακό φως, την πρόσληψη με τις τροφές και από τα συμπληρώματα διατροφής. Η βιταμίνη D που παράγεται στο δέρμα και αυτή που πέπτεται με τις τροφές μετατρέπεται στο ήπαρ σε 25-υδροξυβιταμίνη D (25(OH) D), το μόριο της βιταμίνης D που κυρίως κυκλοφορεί και που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της επάρκειας βιταμίνης D στους ασθενείς. Η 25(OH)D υπόκειται σε νέα υδροξυλίωση στους νεφρούς και έτσι σχηματίζεται ο δραστικός μεταβολίτης της 1,25-διυδροξυβιταμίνη D (1,25(OH)<sub>2</sub>D) (102). Η 1,25(OH)<sub>2</sub>D δε θεωρείται καλός βιολογικός δείκτης λόγω του μικρού χρόνου ημίσειας ζωής και του «στενού» ελέγχου ομοιόστασης. Εγκέφαλος, προστάτης, μαστός, έντερο, ακόμη και τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος διαθέτουν υποδοχέα για τη βιταμίνη D (vitamin D receptor, VDR) και ανταποκρίνονται στη δραστική μορφή 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Επιπλέον κάποιοι από αυτούς τους ιστούς και τα κύτταρα εκφράζουν το ένζυμο 25-υδροξυβιταμίνης D-1α-υδροξυλάση που μετατρέπει τη 25(OH)D σε 1,25(OH)<sub>2</sub>D (103),104). Η δραστική μορφή της βιταμίνης D ασκεί ισχυρή ρυθμιστική δράση και σε κύτταρα άλλα πέρα από αυτά που αφορούν την ομοιόσταση του ασβεστίου μέσω του υποδοχέα VDR. Η δέσμευση της 1,25(OH)<sub>2</sub>D στον VDR οδηγεί σε διάφορες κυτταρικές διεργασίες όπως η επαγωγή της διαφοροποίησης και της απόπτωσης και η αναστολή του πολλαπλασιασμού, της αγγειογένεση και της πιθανότητας για μεταστάσεις (105)(106)(107)(108). Για αυτό σήμερα η βιταμίνη D θεωρείται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην αιτιολογία αλλά και τη θεραπεία του καρκίνου (108). Τα παραπάνω στοιχεία υποδεικνύουν ότι η βιταμίνη D επηρεάζει τον επιπολασμό του καρκίνου, την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου και την επιβίωση και επομένως είναι αναγκαίος ο προσδιορισμός της στους ασθενείς με καρκίνο. Αφού ο επιπολασμός της ανεπάρκειας βιταμίνης D φαίνεται να είναι υψηλός σε διαφορετικούς καρκίνους, μελλοντικές μελέτες που θα ερευνούν την επίδραση της διόρθωσης και διατήρησης της βιταμίνης D σε επαρκή επίπεδα όσον αφορά στην επιβίωση αλλά και στη δευτερογενή πρόληψη του καρκίνου είναι απαραίτητες. Άλλωστε όπως ανέδειξε και ο Giovannucci et al (109) με τη μελέτη των επιπέδων 25(OH) D στον ορό >40,000 ατόμων στη Health Professionals Study, μία αύξηση της 25(OH)D σε επίπεδα >62.5 ng/mL συσχετίζεται με μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου εγκεφάλου, τραχήλου, οισοφάγου, παγκρέατος αλλά και οξείας λευχαιμίας κατά ποσοστό >50% (110).

Η βιταμίνη D είναι γνωστό ότι υπεισέρχεται στο μεταβολισμό των οστών επηρεάζοντας την απορρόφηση του ασβεστίου από το έντερο καθώς και την οστική

απορρόφηση και τον ανασχηματισμό των οστών. Η επάρκεια βιταμίνης D μπορεί να εξασφαλίσει ιδανική συγκέντρωση PTH, ακόμη και με χαμηλή πρόσληψη ασβεστίου, ενώ αντίθετα η υψηλή πρόσληψη ασβεστίου δεν είναι αρκετή για διατήρηση ιδανικής συγκέντρωσης PTH, όταν υπάρχει ανεπάρκεια βιταμίνης D (35). Η πρόσληψη βιταμίνης D σχετίζεται θετικά με τη μέγιστη οστική μάζα. Η προστατευτική δράση της βιταμίνης D κατά των καταγμάτων δεν οφείλεται μόνο στη δράση της στα οστά, αλλά και στην ενίσχυση της μυϊκής δύναμης και της ισορροπίας του σώματος, που ελαττώνουν τελικά τον κίνδυνο πτώσεων (111).

Η Clinical Guidelines Subcommittee of The Endocrine Society συστήνει τη χρήση της κυκλοφορούσας στον ορό 25-υδροξυβιταμίνης-D (25(OH)D) για την ανίχνευση των ασθενών που πιθανά να πάσχουν από ανεπάρκεια βιταμίνης-D. Η ανεπάρκεια βιταμίνης-D ορίζεται ως 25(OH)D < 20 ng/ml (50 nmol/liter) και μερική ανεπάρκεια όταν η 25(OH)D βρίσκεται μεταξύ 21–29 ng/ml (52.5–72.5 nmol/liter). Η ομάδα εργασίας της Endocrine Society αντιτίθεται στη χρήση της 1,25-διυδροξυβιταμίνης-D (1,25(OH)2D) για αυτό το σκοπό παρά μόνο σε επίκτητες ή κληρονομούμενες παθήσεις διαταραχών της βιταμίνης D και του μεταβολισμού του φωσφόρου.

Οι συνιστώμενες ανάγκες για βρέφη 0-1 έτους είναι 400 IU/d (IU = 25 ng) βιταμίνης-D και για παιδιά >1 έτους τουλάχιστον 600 IU/d, αν και δε γνωρίζουμε αν οι δόσεις αυτές είναι επαρκείς για να αποκομίσουμε το μέγιστο όφελος στην υγεία των οστών και στη λειτουργία των μυών. Πάντως για να ανεβάσουμε το επίπεδο της 25(OH)D μόνιμα πάνω από 30 ng/ml (75 nmol/liter) μπορεί να χρειαστούν δόσεις >1000 IU/d βιταμίνης-D. Παιδιά παχύσαρκα και ενήλικες που λαμβάνουν αντιεπιληπτική θεραπεία, γλυκοκορτικοειδή, αντιμυκητιασικά όπως η κετοконаζόλη, αγωγή για AIDS συνιστάται να λαμβάνουν 2 με 3 φορές μεγαλύτερη δόση για την ηλικία τους για να καλύψουν τις απαιτήσεις τους.

Η χορήγηση βιταμίνης D θα έπρεπε να μας απασχολεί ιδιαίτερα σε ασθενείς με χρόνια κοκκιωματώδη νόσο, σαρκοείδωση, φυματίωση, χρόνιες μυκητιασικές λοιμώξεις και μερικούς ασθενείς με λέμφωμα που έχουν ενεργοποιημένα μακροφάγα τα οποία παράγουν 1,25(OH)2D με έναν τρόπο που δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί. Αυτοί οι ασθενείς εμφανίζουν μια αυξημένη τάση για επαρκή απορρόφηση ασβεστίου από το έντερο και κινητοποίηση του ασβεστίου από τα οστά που μπορεί να οδηγήσει σε υπερασβεστιαμία και υπερασβεστιουρία (112).

Βιταμίνη Α : διεγείρει τη δραστηριότητα των οστεοβλαστών.

Βιταμίνη C: χρησιμοποιείται στη σύνθεση του κολλαγόνου.

Βιταμίνη K και B12: χρησιμοποιείται στη σύνθεση των πρωτεϊνών του οστού.

Γενετικοί παράγοντες. Η Καυκάσια φυλή θεωρείται ως προδιαθεσικός παράγοντας που ευνοεί την εμφάνιση οστεοπόρωσης (76). Γενετικά η ανίχνευση του MTHFR 677C>T SNP και του MTRR 66A >G SNP πρόσφατα αναγνωρίστηκαν ως καθοριστικοί παράγοντες της επηρεασμένης BMD(TB) στους παιδιατρικούς ασθενείς με ΟΛΛ(113).

## **8. ΠΡΟΛΗΨΗ – ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΕΠΗΡΕΑΣΜΕΝΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ**

Για να μιλήσουμε για πρόληψη της οστεοπόρωσης και των οστεοπορωτικών καταγμάτων πρέπει να εστιάσουμε στους παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση τους:

- Ιστορικό προηγούμενου κατάγματος
- Ιστορικό κατάγματος ισχίου στους γονείς
- Κάπνισμα
- Μακροχρόνια χορήγηση γλυκοκορτικοειδών per os
- Ρευματοειδής αρθρίτις
- Δευτεροπαθή αίτια οστεοπόρωσης
- Καθημερινή κατανάλωση αλκοόλ >3 μονάδες /ημέρα
- Ηλικία > 65 ετών
- Υποθρεψία (βάρος σώματος ενήλικα < 57kg ή BMI ≤ 20)
- Καυκάσια ή Ασιατική φυλή
- Υπογοναδισμός
- Καθιστική ζωή
- Δίαιτα ανεπαρκής σε ασβέστιο ή βιταμίνη D
- Αυξημένη πιθανότητα πτώσης (67).

Ο στόχος που επιζητείται να επιτευχθεί είναι η πρόληψη της καταστροφής της οστικής συνεκτικότητας που συντελείται κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας, με αποτέλεσμα τα χαμηλότερα επίπεδα της μέγιστης οστικής μάζας στην ηλικία των 20 ετών. Η οστική μάζα ευθύνεται για το 75-85% της διακύμανσης στη συνολική δύναμη του οστού (114). Για να επιτευχθεί μία βέλτιστη μέγιστη οστική μάζα στα παιδιά με ΟΛΛ θα έπρεπε να εκτιμώνται η ανάπτυξη, η αυξητική ορμόνη, τα στεροειδή του φύλου και η οστική πυκνότητα. Σύμφωνα με τις θέσεις ομοφωνίας του NIH (National Institute of Health) το 2000 « η μέτρηση της BMD θα έπρεπε να τίθεται υπό σκέψη σε όλους τους ασθενείς που λαμβάνουν γλυκοκορτικοστεροειδή για 2 μήνες ή περισσότερο και στους ασθενείς με άλλες διαταραχές που τους καθιστούν σε υψηλό κίνδυνο για οστεοπορωτικά κατάγματα» (115). Αν και η πλειοψηφία των παιδιών που υπεβλήθησαν στα πρόσφατα βελτιωμένα πρωτοκόλλα για ΟΛΛ, με ελαχιστοποίηση της ακτινοβολίας, δεν αναμένεται να έχουν σοβαρά επηρεασμένη BMD, τα κατάγματα αποτελούν μια πιθανή επιπλοκή για τα παιδιά που έχουν χαμηλή BMD (20)(116).

Οι κυριότεροι τρόποι πρόληψης της οστεοπόρωσης θα μπορούσαν να συνοψιστούν σε παράγοντες που εξαρτώνται από τον ασθενή και το περιβάλλον του:

- Υγιεινή διατροφή
- Άσκηση
- Υγιεινός τρόπος ζωής
- Αποφυγή πτώσεων

ενώ η ιατρική παρέμβαση αφορά σε :

A. Τακτικό έλεγχο της οστικής πυκνότητας

B. Συνήθη φαρμακευτική αγωγή

- Χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης D
- Φαρμακευτική αγωγή, όταν κρίνεται απαραίτητο αναλόγως του περιστατικού με:
  - οιστρογόνα / προγεσταγόνα
  - διφωσφονικά ((alendronate, risedronate, ibandronate, zoledronic acid)

- καλσιτονίνη (υπό αμφισβήτηση τα τελευταία χρόνια)
- Selective estrogen receptor modulator (SERM) (raloxifene)
- παραθορμόνη 1-34 (τεριπαρατίδη)
- Denosumab (δενοσουμάμπη): ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα (IgG2).

Γ. Φαρμακευτική αγωγή, που χρησιμοποιείται σε συγκεκριμένες περιπτώσεις και δε συστήνεται ευρέως :

- Συνδυασμένη θεραπεία (Combination therapy)
- Καλσιτριόλη
- Ταμοξιφαίνη
- Τεστοστερόνη (ως θεραπεία υποκατάστασης ή συμπληρωματική αγωγή σε άρρενες)
- Θειαζιδικά διουρητικά (πχ. Υδροχλωροθειαζίδη)
- Φυτοοιστρογόνα ,όπου περιλαμβάνονται και ισοφλαβονοειδή (67) (117).

Οι κατευθυντήριες γραμμές από το National Osteoporosis Foundation (NOF) συστήνουν ότι θεραπευτική αγωγή πρέπει να χορηγείται σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και άνδρες βασιζόμενη στην εμφάνιση των κατωτέρω:

- κάταγμα ισχίου ή σπονδύλου (κλινικά ή ακτινολογικά διαγνωσμένου)
- T-score  $\leq -2.5$  στον αυχένα του μηριαίου ή στη σπονδυλική στήλη εφόσον έχουν αποκλειστεί άλλα αίτια
- Χαμηλή οστική μάζα (T-score μεταξύ -1.0 και -2.5 στον αυχένα του μηριαίου ή τη σπονδυλική στήλη) και πιθανότητα κατάγματος ισχίου στη 10ετία  $\geq 3\%$   
Η πιθανότητα ενός σοβαρού κατάγματος οφειλόμενου στην οστεοπόρωση στη 10ετία  $\geq 20\%$  με βάση τον US-adapted WHO αλγόριθμο.
- Η κρίση του ιατρού και/ή επιθυμία του ασθενούς μπορούν να υποδείξουν αγωγή για άτομα με 10ετή πιθανότητα κατάγματος πάνω ή κάτω από τα επίπεδα αυτά.

Λίγα δεδομένα είναι διαθέσιμα που αφορούν στις ενδείξεις θεραπείας όταν ένα παιδί έχει ελαττωμένη οστική πυκνότητα ή ακόμη παραπέρα εάν έχει υποστεί ένα κάταγμα. Παρέμβαση θα πρέπει να αναζητείται όταν έχουν διαπιστωθεί ανεπάρκειες

ορμονών (ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης, υπογοναδισμός), όταν το BMD Z-score είναι περισσότερο από δύο σταθερές αποκλίσεις (Z-score <-2.0) κάτω από το μέσο όρο BMD για το φύλο και την ηλικία και όταν υπάρχει συμπτωματολογία με πόνο και κατάγματα. Υπάρχουν λίγες μελέτες με χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης D, αλλά υπάρχουν αμφιλεγόμενα αποτελέσματα για το όφελος τους (28,29). Από την άλλη υπάρχει μία αύξηση στη χρήση των διφωσφονικών, που αποτελούν αναστολείς της οστικής απορρόφησης, αλλά η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητά τους στα παιδιά δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί (115)(118). Θεραπεία υποκατάστασης για ενδοκρινικές διαταραχές όπως και παρεμβάσεις στον τρόπο ζωής, όπως ασκήσεις γυμναστικής με άρση βάρους, υγιής τρόπος διατροφής, αποφυγή ανθρακούχων ποτών, διακοπή καπνίσματος μπορεί να αποτελούν βοηθητικά στοιχεία στην προσπάθεια μας για βελτιωμένη οστική υγεία (118)(119).

#### ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ-ΧΟΡΗΓΗΣΗ – ΠΑΡΕΝΕΡΓΕΙΕΣ

Τα φάρμακα που χορηγούνται σήμερα για τη θεραπεία της οστεοπόρωσης θα μπορούσαν να διαχωριστούν σε δύο βασικές κατηγορίες:

A) τα αντι-οστεοαπορροφητικά φάρμακα, που περιορίζουν την απώλεια του οστού μειώνοντας την απορροφητική ικανότητα των οστεοκλαστών και δίνουν χρόνο στους οστεοβλάστες να αποκαταστήσουν την βλάβη. Στην κατηγορία αυτή εντάσσονται:

- τα διφωσφονικά, θεωρούνται ως φάρμακα πρώτης επιλογής για την διαγνωσμένη οστεοπόρωση των ενηλίκων. Τα διφωσφονικά αποτελούν ισχυρούς αναστολείς της οστικής αποδόμησης (απορρόφησης), αναστέλλοντας την λειτουργία των οστεοκλαστών.

- η Ορμονική θεραπεία

- οι εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων (Selective Estrogen Receptor Modulators, SERMS) όπως η ραλοξιφαίνη

- η Καλσιτονίνη, όμως σύμφωνα με πρόσφατο δελτίο τύπου του ΕΟΦ 23-07-12, το ρινικό εκνέφωμα καλσιτονίνης που χρησιμοποιείται για την θεραπεία της

οστεοπόρωσης συστήνεται να μη συνταγογραφείται πλέον μετά από πρόσφατη σύσταση της Επιτροπής Φαρμάκων για Ανθρώπινη Χρήση (CHMP) του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων ότι τα φαρμακευτικά προϊόντα που περιέχουν καλσιτονίνη θα πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο για σύντομης διάρκειας θεραπεία, λόγω ενδείξεων ότι η μακροχρόνια χρήση αυτών των φαρμάκων συσχετίζεται με έναν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. Μόνο πόσιμη ή ενδοφλέβια μορφή μπορεί να χορηγηθεί για την πρόληψη της οξείας απώλειας οστικής μάζας εξαιτίας αιφνίδιας ακινητοποίησης, με σύσταση για θεραπεία δύο εβδομάδων με μέγιστη διάρκεια τεσσάρων εβδομάδων).

- η δενοσουμάμπη (denosumab) είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα (IgG2) που στοχεύει και συνδέεται με υψηλή συγγένεια και ειδικότητα με το RANKL, προλαμβάνοντας την ενεργοποίηση του υποδοχέα του, του RANK, στην επιφάνεια των πρόδρομων οστεοκλαστών και των οστεοκλαστών. Η παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης RANKL/RANK αναστέλλει τον σχηματισμό, τη λειτουργία και την επιβίωση των οστεοκλαστών, μειώνοντας με αυτόν τον τρόπο την οστική απορρόφηση τόσο στα συμπαγή όσο και στα σπογγώδη οστά (120).

B) τα οστεοπαραγωγά φάρμακα που αυξάνουν τη δραστηριότητα των οστεοβλαστών για την παραγωγή νέου οστού. Στην ομάδα αυτή εντάσσονται:

- η παραθορμόνη (ανασυνδυασμένο μόριο που είναι είτε τμήμα ή είτε ολόκληρο το μόριο της ορμόνης), ) είναι το μοναδικό σκεύασμα που δρα αυξάνοντας τον σχηματισμό νέου οστού. Η δράση της αυτή οφείλεται στη διέγερση των οστεοβλαστών. Χορηγείται σε ασθενείς με σοβαρού βαθμού οστεοπόρωση (με ή χωρίς κατάγματα) στους οποίους η θεραπεία με διφωσφονικά απέδειχθη αναποτελεσματική. Μετά την ολοκλήρωση του κύκλου της αγωγής για την διατήρηση του αποτελέσματος της στην οστική μάζα συνήθως ακολουθεί η χορήγηση αντι-απορροφητικών φαρμάκων (διφωσφονικών) (66). Στη χορήγηση της όμως αποτελεί αντένδειξη η ύπαρξη ανοικτών επιφύσεων, πρακτικά δηλαδή η παιδική και εφηβική ηλικία (67).

- τα άλατα στροντίου ( το Ρανελικό Στρώντιο) : πιθανολογείται ότι διεγείρει την παραγωγή των οστεοβλαστών μειώνοντας ταυτόχρονα την δραστηριότητα των οστεοκλαστών χωρίς όμως να την καταργεί. Έχει θεαματικά αποτελέσματα στη βελτίωση της οστικής πυκνότητας τόσο στην σπονδυλική στήλη όσο και στο ισχίο. Η

αύξηση αυτή παρατηρείται και μετά από τα τρία χρόνια χορήγησης του σε αντίθεση με όλα τα άλλα σκευάσματα. Περιέχει όμως κάποιο χημικό στοιχείο που δεν σχετίζεται με την φυσιολογία του οστίτη ιστού για αυτό και αρκετοί ειδικοί είναι επιφυλακτικοί με τη χρήση του (66).

Ως συμπληρωματική αγωγή στα παραπάνω σκευάσματα χρησιμοποιούνται το ασβέστιο και η βιταμίνη D, συνήθως στη συνδυασμένη τους μορφή.

Στον αρχικό σχεδιασμό της μελέτης μας για την πρόληψη και την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης, όπου κρινόταν απαραίτητο, επιλέχτηκε ως πιθανά χορηγούμενη φαρμακευτική αγωγή – με βάση την τρέχουσα βιβλιογραφία – το ασβέστιο, η βιταμίνη D και τα διφωσφονικά και για αυτό θα αναφερθούν διεξοδικά μόνο τα τρία αυτά σκευάσματα.

## ΑΣΒΕΣΤΙΟ

Το ασβέστιο κυκλοφορεί στη χώρα μας με τη μορφή πόσιμων χαπιών απλών αλάτων ασβεστίου ή σε συνδυασμό με βιταμίνη D.

### Πίνακας 4:συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου

Συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη Ασβεστίου

<b>Ηλικία</b>	<b>mg/ημέρα</b>
Βρέφη 0 - 6 μηνών	200
Βρέφη 6 - 12 μηνών	260
Νήπια 1 - 3 ετών	700
Παιδιά 4 - 8 ετών	1,000
Παιδιά 9 -13 ετών	1,300
Έφηβοι 14 - 18 ετών	1,300
Ενήλικες 19 - 30 ετών	1,000
Ενήλικες 31 - 50 ετών	1,000
Ενήλικες 51 -70 ετών άνδρες	1,000
Ενήλικες 51 -70 ετών γυναίκες	1,200
Ενήλικες >70 ετών	1,200
Κύηση / θηλασμός 14 -18 ετών	1,300
Κύηση / θηλασμός 19 - 50 ετών	1,000

Πηγή : Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy of Sciences, 2010.



Αύξηση στο διαιτητικά προσλαμβανόμενο ασβέστιο αναφέρεται ότι αποφέρει μείωση των δεικτών οστικής απορρόφησης, ειδικά σε άτομα που λάμβαναν προηγουμένως μικρές ποσότητες ασβεστίου (121). Σε φαρμακευτική χορήγηση με δόσεις >600mg όμως η εντερική απορρόφηση του ασβεστίου μειώνεται για αυτό συστήνεται να χορηγείται μαζί με τα γεύματα και σε διαιρεμένες δόσεις. Η πρόσληψη ανθρακικού ασβεστίου (calcium carbonate) σε άδειο στομάχι μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο για εμφάνιση νεφρολιθίασης. Η απορρόφηση του ανθρακικού ασβεστίου μπορεί να μειωθεί σε περιβάλλον αχλωρυδρίας, λήψη υψηλών δόσεων αναστολέων της αντλίας πρωτονίων (PPIs:proton-pump inhibitor) ή αναστολείς των υποδοχέων ισταμίνης όταν το συμπλήρωμα ασβεστίου λαμβάνεται με άδειο στομάχι.

Το κιτρικό ασβέστιο (Calcium citrate) απορροφάται καλύτερα από ασθενείς με φαρμακευτική αχλωρυδρία (PPIs, histamine receptor blockers) (67). Η συνήθης δόση στα παιδιά του στοιχειακού ασβεστίου είναι 45-65 mg/kg ανά ημέρα και όπως αναφέρθηκε είναι καλύτερα να λαμβάνεται σε 3-4 δόσεις (122).

Αντενδείξεις χορήγησης ασβεστίου αποτελούν η υπερασβεστιαμία, υπερασβεστιουρία (πχ σε υπερπαραθυρεοειδισμό, υπερδοσολογία βιταμίνης D, όγκους που προκαλούν απασβέστωση ( όπως πλασμοκύτωμα, οστικές μεταστάσεις), σοβαρή νεφρική ή καρδιακή νόσος , απώλεια ασβεστίου λόγω ακινητοποίησης (122).

Ανεπιθύμητες ενέργειες που μπορεί να παρατηρηθούν είναι από το γαστρεντερικό σύστημα (γαστρικός ερεθισμός, δυσκοιλιότητα), από το ΚΝΣ (ευερεθιστότητα, λήθαργος, κόμα σε χρόνια χορήγηση), από τα νεφρά (συστηματική αλκάλωση, υπερασβεστιαμία, milk-alkali σύνδρομο, νεφρολιθίαση, γενικευμένη ασβέστωση που μπορεί να οδηγήσει σε διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας σε χρόνια χορήγηση), ασβέστωση μαλακών μορίων και καρδιακές αρρυθμίες (122)(123).

Υπερβολική πρόσληψη ασβεστίου θα προκαλέσει υπερασβεστιαμία με πρώιμα συμπτώματα ναυτία, εμετούς, ανορεξία και απώλεια βάρους, ακολουθεί πολουρία, πολυδιψία, αδυναμία, κόπωση, υπνηλία, κεφαλαλγία, ξηροστομία, μεταλλική γεύση, ίλιγγος, εμβοές και αταξία. Διακοπή της λήψης ασβεστίου και βιταμίνης D απαιτείται άμεσα και σε υψηλές τιμές οξίνισσης των ούρων και πιθανά χορήγηση κορτικοστεροειδών.

## ΒΙΤΑΜΙΝΗ D

Ένας από τους ρόλους της βιταμίνης D είναι η συνέργεια αυτής με το ασβέστιο με αποτέλεσμα να σχηματιστούν και να διατηρηθούν υγιή οστά. Συμβάλλει στην απορρόφηση του ασβεστίου και σε όλη τη διαδικασία ανάπτυξης του σκελετού. Αν και οι διατροφικές πηγές της είναι σχετικά περιορισμένες, αναφέρεται ότι βρίσκεται σε μικρές ποσότητες στα γαλακτοκομικά, σε κάποια οστρακοειδή και στα αυγά. Η επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στο δέρμα παράγει σημαντικά ποσά βιταμίνης D. Γι'αυτό και συχνά συστήνεται ο συνδυασμός μιας καλής διατροφής με ποικιλία τροφών και μιας σύντομης έκθεσης στον ήλιο κάθε ημέρα, έτσι ώστε να εξασφαλίζονται επαρκή επίπεδα βιταμίνης D σε παιδιά και εφήβους. Από τη στιγμή που δε μπορούμε όμως να υπολογίσουμε τις ώρες έκθεσης στον ήλιο που χρειαζόμαστε για παραγωγή επαρκούς βιταμίνης D, είναι σημαντική η πρόσληψη μέσω της τροφής και των συμπληρωμάτων διατροφής (67)(111).

Το Institute of Medicine εξέδωσε κατευθυντήριες οδηγίες για τις συνιστώμενες ημερήσιες ανάγκες (recommended daily allowance - RDA) της βιταμίνης D το 2010. Η RDA της βιταμίνης D για τα βρέφη, τα παιδιά και τους ενήλικες, άνδρες και γυναίκες, έως την ηλικία των 70 ετών είναι η ίδια, 15 micrograms (ισοδύναμη με 600 International Units- IU) ανά ημέρα. Παράλληλα εξέδωσε οδηγίες σύμφωνα με τις οποίες συστήνει ως ανώτερη ασφαλή δόση βιταμίνης D (upper intake levels -UL) τις 3,000 IU για παιδιά < 9 ετών και 4,000 IU για άτομα >9 ετών. Πιο αναλυτικά η συνιστώμενη ανώτερη δόση (recommended upper intake levels - ULs) της βιταμίνης D είναι 1,000 IU για βρέφη 0-6 μηνών, 1,500 IU για βρέφη 7-12 μηνών, 2,500 IU για νήπια 1-3 ετών, 3,000 IU για παιδιά 4-8 ετών και 4,000 IU (100 micrograms) για παιδιά πάνω από 9 ετών και ενήλικες.

Η θεραπευτική ημερήσια δόση της βιταμίνης D, σύμφωνα με το Ελληνικό Εθνικό Συνταγολόγιο, είναι 1-5 mg (40.000-200.000 iu) ανάλογα με την περίπτωση. Η ημερησίως συνιστώμενη ποσότητα βιταμίνης D είναι 5-10 μg (200-400 iu) την ημέρα και χορηγείται πάντοτε από το στόμα.

Οι αντενδείξεις χορήγησης της είναι υπερβιταμίνωση D, υπερασβεστιαμία, νεφρική ανεπάρκεια.

Ως πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες σε υπερβιταμίνωση D αναφέρονται: ανορεξία, απώλεια βάρους, ναυτία, έμετοι, δυσκοιλιότητα, δίψα, πολουρία, ιδρώτες, κεφαλαλγία, υπερασβεστιαμία (με κίνδυνο ανακοπής), υπερασβεστιουρία, νεφρολιθίαση, αύξηση κρεατινίνης αυξημένος κίνδυνος για λοιμώξεις του ουροποιητικού συστήματος (ΙΦΕΤ, FDA). Από την American cancer society έχει επίσης αναφερθεί και αυξημένος κίνδυνος για καρκίνο παγκρέατος. Η περίσσεια πάντως βιταμίνης D μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο πτώσεων και καταγμάτων, όταν ο επιθυμητός στόχος είναι ακριβώς η αποτροπή αυτών των συμβαμάτων.

Με βάση τέσσερις RCTs (9083 ασθενείς), ο συγκεντρωτικός σχετικός κίνδυνος (the pooled relative risk - RR) κατάγματος του ισχίου με τη χορήγηση μόνο βιταμίνης D είναι 1.10 {95% confidence intervals (CI) 0.89, 1.36}. Με βάση έξι RCTs (45,509 ασθενείς ) με σύγχρονη χορήγηση βιταμίνης D και ασβεστίου ο συγκεντρωτικός σχετικός κίνδυνος RR για κάταγμα ισχίου είναι 0.82 (95% CI 0.71, 0.94). Δεν υπήρχε ετερογένεια μεταξύ των μελετών. Σε προσαρμοσμένη έμμεση σύγκριση των δύο μετα-αναλύσεων προκύπτει ότι ο σχετικός κίνδυνος για κάταγμα ισχίου για χορήγηση βιταμίνης D και ασβεστίου έναντι χορήγησης μόνο βιταμίνης D είναι 0.75 (95% CI 0.58, 0.96). Συμπερασματικά η από του στόματος χορήγηση βιταμίνης D φαίνεται να μειώνει τον κίνδυνο κατάγματος του ισχίου μόνο όταν συγχωρηγείται με ασβέστιο (124).

## ΔΙΦΩΣΦΟΝΙΚΑ

Σήμερα θεωρούνται ως φάρμακα πρώτης επιλογής για την διαγνωσμένη οστεοπόρωση. Τα διφωσφονικά αποτελούν ισχυρούς αναστολείς της οστικής αποδόμησης (απορρόφησης), αναστέλλοντας την λειτουργία των οστεοκλαστών. Διαχωρίζονται σε δύο κατηγορίες αναλόγως αν περιέχουν ή όχι άζωτο. Η πιο ισχυρή ομάδα που περιέχει άζωτο (παμιδρονάτη, αλενδρονάτη, ριζεδρονάτη, ιμπαδρονάτη, ζολεδρονάτη) αναστέλλει ένζυμα-κλειδιά από το βιοσυνθετικό μονοπάτι μεβαλονικού οξέος / χοληστερόλης (125). Το πεπτικό σύστημα απορροφά σε ποσοστό <1% τα διφωσφονικά, ενώ με την παράλληλη λήψη τροφής το ποσοστό αυτό μειώνεται περαιτέρω. Για αυτό το λόγο συστήνεται η χορήγηση τους με νερό, με τον ασθενή νηστικό πριν αλλά και τουλάχιστον 30 min μετά τη λήψη. Σε διάρκεια περίπου 60

min από τη στιγμή της απορρόφησης τους προσκολλώνται στα σημεία αποδόμησης του οστού, όπου παραμένουν δεσμευμένα για μήνες μετά τη διακοπή τους. Στο γεγονός αυτό της μακροχρόνιας διατήρησης και δράσης τους στον οργανισμό στηρίζεται και η δυνατότητα χορήγησης τους ανά εβδομάδα, μήνα ή ακόμη και ανά έτος, αναλόγως το σκεύασμα. Η χορήγηση τους μπορεί να γίνει και σε ασθενείς με διαταραχές της ηπατικής λειτουργίας καθώς η αποβολή τους γίνεται από τα νεφρά, αναλλοίωτα (66).

Τα δισφωσφονικά που χρησιμοποιούνται συνήθως σήμερα για την οστεοπόρωση είναι η αλενδρονάτη, η ριζεδρονάτη και η ιμπανδρονάτη. Τα δύο πρώτα χορηγούνται μία φορά ανά εβδομάδα, σε δόσεις 70mg και 35mg αντίστοιχα, ενώ η ιμπανδρονάτη χορηγείται μία φορά το μήνα, σε δόση 150 mg. Υπάρχουν επίσης σκευάσματα που χορηγούνται καθημερινά, ανά τρίμηνο ακόμη και ετησίως. Σε ασθενείς με ενεργό πεπτικό έλκος, γαστρίτιδα, γαστρο-οισοφαγική παλινδρόμηση ή οισοφαγίτιδα, ή σε μη συνεργάσιμους ασθενείς μπορεί να χορηγηθεί διφωσφονικό ενδοφλεβίως, είτε η ιμπανδρονάτη 3mg ανά 3μηνο, είτε ζολεδρονικό οξύ 5mg εφάπαξ ετησίως. Η αποτελεσματικότητα τους τόσο στην οστική πυκνότητα όσο και στην αντικαταγματική τους δράση είναι πολύ καλή με μικρές διαφορές μεταξύ τους (66).

Αντενδείξεις για τη χορήγηση διφωσφονικών είναι οι διαταραχές κινητικότητας του γαστρεντερικού συστήματος που μπορεί να οδηγήσουν σε καθυστερημένη διάβαση του οισοφάγου, η αδυναμία του ασθενούς να σταθεί σε όρθια θέση για τουλάχιστον 30-60 min, η υπερευαισθησία στην ίδια τη φαρμακευτική ουσία ή στα έκδοχα, η μη διορθωμένη υπασβεσταιμία και οι ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης <30 – 35 mL/min (67). Καθώς άγνωστες είναι και οι μακροχρόνιες επιπτώσεις στο έμβρυο η χορήγηση σε κορίτσια και γυναίκες που δεν έχουν ακόμη τεκνοποιήσει αφήνει πολλά ερωτηματικά (117).

Ανεπιθύμητες ενέργειες: Το κυρίαρχο πρόβλημα που αντιμετωπίζεται στην από του στόματος χορήγηση, σε ποσοστό 3-5%, είναι γαστρεντερικές διαταραχές από το ανώτερο πεπτικό όπως δυσφαγία, δυσπεψία, επιγαστραλγία, γαστρίτιδα, γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση, οισοφαγίτιδα, έλκη έως και διάτρηση οισοφάγου. Επίσης μπορεί να παρατηρηθούν διάρροια, μυοσκελετικά άλγη, κολπική μαρμαρυγή και παροδική αύξηση κρεατινίνης. Στα σχήματα της μηνιαίας και της ενδοφλέβιας

χορήγησης μπορεί να εκδηλωθεί συμπτωματολογία παρόμοια γριππώδους συνδρομής που προοδευτικά όμως κατά τους επόμενους κύκλους αγωγής μειώνεται (66)(67)(117).

Τελευταία την ιατρική κοινότητα απασχολεί το γεγονός της εμφάνισης, μετά από χορήγηση διφωσφονικών, περιστατικών με οστεονέκρωση της κάτω γνάθου (1:100.000) καθώς και άτυπα κατάγματα μηριαίου χωρίς τραύμα (1:10.000) (117). Όσον αφορά στην οστεονέκρωση της κάτω γνάθου εμφανίζεται κυρίως μετά από ενδοφλέβια χορήγηση για αντιμετώπιση υπερασβεστιαμίας καρκινοπαθών ή σε άτομα με κακοήθεια και κακή στοματική υγιεινή που έλαβαν υψηλές δόσεις διφωσφονικών (126). Έχει όμως αναφερθεί και σε από του στόματος χορήγηση για οστεοπόρωση, ιδίως όταν αυτή χορηγείται >3 έτη ή όταν συνυπάρχουν άλλοι παράγοντες όπως η λήψη κορτικοστεροειδών (127). Η Επιτροπή του Ευρωπαϊκού Οργανισμού Φαρμάκων για τα Φαρμακευτικά Προϊόντα Ανθρώπινης Χρήσης (CHMP) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι άτυπα κατάγματα του μηριαίου μπορεί να συμβούν σπάνια και είναι επακόλουθο όλης της ομάδας των διφωσφονικών. Επιβεβαίωσε δε ότι τα οφέλη των διφωσφονικών, στη θεραπεία και πρόληψη των διαταραχών των οστών, συνεχίζουν να υπερτερούν των κινδύνων (128). Υπό έρευνα από το FDA βρίσκεται και η πιθανή συσχέτιση από του στόματος λήψης διφωσφονικών και καρκίνου του οισοφάγου (117).

Τα στοιχεία που διαθέτουμε σήμερα για τη χορήγηση διφωσφονικών στα παιδιά χαρακτηρίζονται ως ανεπαρκή από τη πρόσφατη Cochrane review για να υποστηρίξουν τη χρήση των διφωσφονικών ως "standard therapy" για τα παιδιά με οστεοπόρωση χρόνιας νόσου (129). Τα μικρής διάρκειας (3 έτων) δεδομένα για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα τους θεωρούνται επαρκή για να δικαιολογήσουν τη χρήση τους σε ανθρωπιστική βάση για παρηγορητική θεραπεία μόνο για τα παιδιά με σοβαρές περιπτώσεις οστεοπόρωσης (κατάγματα και πόνος) (130)(131). Όσο αφορά στη διάρκεια θεραπείας για τα παιδιά εδώ εγείρονται πολλά ερωτηματικά. Η χορήγηση στους ενήλικες θεωρείται ασφαλής για διάστημα 10ετίας, ίσως και περισσότερο (132). Υπάρχουν όμως σκέψεις για πιθανή αύξηση του κινδύνου υπερ-καταστολής του οστικού μεταβολισμού και αρκετοί προτείνουν ένα «διάλλειμα» στη θεραπεία (133), κι αυτό πάντως δεν έχει μελετηθεί ακόμη για τα παιδιά. Φαίνεται όμως τα οφέλη στην BMC να εμφανίζουν ένα "plateau" μετά από

2-4 έτη αγωγής σε παιδιά με ατελή οστεογένεση, όπου υπάρχουν και οι μεγαλύτερες σειρές παιδιατρικών ασθενών (134). Ειδικά για τους ασθενείς μετά από μεταμόσχευση θεωρείται ότι η χορήγηση μόνο ασβεστίου και βιταμίνης D δεν είναι αρκετή για να αποτρέψει την οστική απώλεια, ενώ η συγχορήγηση με διφωσφονικά έχει καλύτερα αποτελέσματα (67).

Συνοψίζοντας την παραπάνω εμπειρία από τη διεθνή βιβλιογραφία σχεδιάσαμε μία μελέτη που να αφορά στον πληθυσμό των παιδιών που προσβάλλονται από οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία με σκοπό να μελετήσουμε τις μεταβολές του οστικού μεταβολισμού κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας αλλά και μετά την ολοκλήρωσή της, να διαπιστώσουμε πιθανά προβλήματα που διαλάχουν έως σήμερα της προσοχής μας και να επεξεργαστούμε τη δυνατότητα θεραπευτικής αποκατάστασης ακόμη και πρόληψης τους. Ο απώτερος στόχος μας είναι η διαφύλαξη της ποιότητας των οστών στον αναπτυσσόμενο σκελετό των παιδιών αλλά και η διασφάλιση της δυνατότητας για επίτευξη της μέγιστης οστικής μάζας μετά την ολοκλήρωση της εφηβείας. Με τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ευελπιστούμε ότι θα μπορούμε πλέον τεκμηριωμένα να «παραδώσουμε» μελλοντικούς υγιείς ενήλικες στην κοινωνία μας.

# **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## 1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στη μελέτη αυτή στόχος ήταν η εκτίμηση της οστικής μάζας σε παιδιά με ΟΛΛ με απεικονιστικό έλεγχο και προσδιορισμό βιοχημικών παραμέτρων σε διάφορες φάσεις της νόσου και της θεραπείας τους και η καταγραφή και πρόληψη απώτερων επιπλοκών στους ασθενείς με σοβαρά επηρεασμένο οστικό μεταβολισμό.

## 2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ - ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Ο πληθυσμός μελέτης αποτελούνταν από παιδιά που νοσηλεύτηκαν στην Κλινική Αιματολογίας - Ογκολογίας Παίδων του Πανεπιστημίου Κρήτης. Από τον Ιανουάριο 2001 έως τον Ιούνιο του 2004 μελετήθηκαν 36 παιδιά με ΟΛΛ τα οποία έλαβαν θεραπεία σύμφωνα με το πρωτόκολλο ALL-BFM. Οι ασθενείς **μελετήθηκαν** σε 3 ομάδες:

- Ομάδα 1: νεοδιαγνωσθέντες – μέτρηση οστικής πυκνότητας στους πρώτους 2 μήνες θεραπείας
- Ομάδα 2: ασθενείς που λάμβαναν χημειοθεραπεία για τουλάχιστον 12 μήνες
- Ομάδα 3: ασθενείς που ολοκλήρωσαν το θεραπευτικό πρωτόκολλο σε < 4 χρόνια από την έναρξη της μελέτης .

Ως **κριτήρια αποκλεισμού** από τη μελέτη περιελήφθησαν:

- Ασθενείς που δεν έλαβαν το πρωτόκολλο ALL-BFM
- Ασθενείς που υπεβλήθησαν σε ακτινοβολία κρανίου ή μεταμόσχευση μυελού των οστών
- Ιστορικό ακτινοβολίας πριν τη διάγνωση ΟΛΛ
- Προϋπάρχουσα οστική νόσος
- Συστηματική χορήγηση κορτικοειδών 6 μήνες πριν τη διάγνωση
- Νοητική καθυστέρηση & ψυχοκινητικές διαταραχές
- Ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης
- Άλλη χρόνια νόσος που επηρεάζει την ανάπτυξη

Η **παρακολούθηση** των ασθενών περιλάμβανε κλινικές παραμέτρους (δημογραφικά στοιχεία , σωματομετρικές παραμέτρους, φάση αγωγής ΟΛΛ, οστικά προβλήματα - συμβάματα), συνήθεις εργαστηριακές εξετάσεις, ειδικές εξετάσεις αξιολόγησης οστικού μεταβολισμού και απεικονιστικές εξετάσεις.



## **ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ**

### **ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ**

Καταγραφή:

1. Ηλικία διάγνωσης.
2. Ηλικία ελέγχου.
3. Φύλο.
4. Σωματικό βάρος.
5. Ύψος.
6. Επιφάνεια σώματος.
7. Δείκτη σωματικής μάζας : (BMI)= βάρος Kg/ (ύψος)m<sup>2</sup>
8. Φάση της αγωγής
9. Χορηγούμενη θεραπεία
10. Χρόνος από το τέλος της θεραπείας
11. Οστικές παραμορφώσεις (σκολίωση, κύφωση, ραχίτιδα, άσηπτη νέκρωση)
12. Κατάγματα

### **ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

ΓΕΝΙΚΕΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ & ΟΡΜΟΝΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ :

Ορός αίματος : Ασβέστιο, Φώσφορος, Ολικά Λευκώματα, Λευκωματίνη, SGOT, SGPT, γ GT, LDH, Ουρία, κρεατινίνη.

- Σωματομεδίνη, TSH, FT<sub>3</sub>, FT<sub>4</sub>

Σε ηλικία >10 ετών : LH, FSH, Τεστοστερόνη / Οιστραδιόλη

ΕΙΔΙΚΕΣ ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΤΟΥ ΡΥΘΜΟΥ

ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

Ορός αίματος: (τιμές αναφοράς από εργαστήριο ΠΑΓΝΗ)

1. Αλκαλική φωσφατάση : μέτρηση φωτομετρική σε αυτόματο βιοχημικό αναλυτή OLYMPUS 2700 (+αντιδραστήριο)

35-125 IU/L

2. Οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης (u/L), Enzyme Immunoassays (EIA), εταιρεία Metra.

Γυναίκες 25-55 ετών :11.6-30.6 u/L ,

Γυναίκες >56 ετών :14.8-43.4 u/L

Άνδρες >25 ετών :15-41.3 u/L

3. Οστεοκαλσίνη intact, με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας Immulite 1000 DPC.

Γυναίκες: 3.8-11ng/ml ,

Άνδρες : 3.4-9.1ng/ml

4. C-προπεπτίδιο κολλαγόνου I, Enzyme Immunoassays (EIA), εταιρεία Metra

Γυναίκες : 69-147 ng/ml

Άνδρες : 76-163 ng/ml

5. Παραθορμόνη intact: με τη μέθοδο χημειοφωταύγειας Architect system.

15-65 pg/m L

#### Ούρα 24ώρου:

1. NTX (N-τελοπεπτίδιο), Enzyme Immunoassays (EIA), εταιρεία Metra

Προεμμηνοπαυσιακά <50 BCE/nmole Cr

Μετεμμηνοπαυσιακά <100 BCE/nmole Cr

2. Pyrilinks (ελεύθερα) , Enzyme Immunoassays (EIA), εταιρεία Metra.

Γ 16-37 n M/m MCreat

A, 12.8- 25.6 n M/m MCreat

3. D-Pyirilinks (ελεύθερα), με τη μέθοδο της χημειοφωταύγειας Immulite 1000 DPC.

Γ 3.0 -7.4 n M/m MCreat

A 2.3 – 5.4 n M/m MCreat

### **ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ**

#### ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ :

Απλή ακτινογραφία επί υποψίας κατάγματος / οστικής αλλοίωσης.

Αξονική τομογραφία σε υποψία άσηπτης νέκρωσης.

### **ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ :**

Η μέτρηση της οστικής πυκνότητας έγινε στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης με τη μέθοδο της διπλής φωτονιακής απορρόφησης **DEXA** (Dual Energy X-Ray) Hologic QDR-1000 TM X-ray Bone densitometry. Οι μετρήσεις εκφράστηκαν ως ειδικά για την ηλικία και το φύλο z-scores. Επανειλημμένες μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε διαστήματα μεγαλύτερα των 12 μηνών, εκτός αν οι ασθενείς είχαν λάβει ακτινοβολία ή είχαν υποβληθεί σε μεταμόσχευση μυελού των οστών οπότε στην ανάλυση συμπεριελήφθησαν μόνο οι μετρήσεις που είχαν προηγηθεί των συγκεκριμένων θεραπειών.

### **ΜΕΣΗ ΔΟΣΗ ΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΩΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΧΜΘ**

Η μέση αθροιστική δόση των στεροειδών σε κάθε ομάδα καταγράφηκε ως ισοδύναμο πρεδνιζόνης / m<sup>2</sup>.

### **ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΑΡΕΜΒΑΣΗ**

Οι ασθενείς με τυχαιοποιημένη κατανομή διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες:

Κατηγορία I : Ασθενείς με BMD Z-score από - 1.0 έως -2.5 κατά τη διάγνωση της ΟΑΛ.

Χορήγηση μόνο ασβεστίου 500 mg per os καθημερινά σε 1 ή 2 δόσεις για παιδιά με βάρος σώματος <40kgr ή >40kgr αντίστοιχα .

Κατηγορία II : Ασθενείς με BMD Z-score από - 1.0 έως -2.5 μετά τους πρώτους 12 μήνες χημειοθεραπείας ή μετά το τέλος της χημειοθεραπείας.

Χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης D per os . Σε παιδιά με βάρος σώματος <40 kgr η δόση καθορίστηκε σε 500mg ασβεστίου+ 0.25mcg δύο φορές ανά ημέρα και σε παιδιά με βάρος σώματος >40kgr σε 500mg ασβεστίου + 0.5 mcg δύο φορές την ημέρα.

Κατηγορία III : Ασθενείς με BMD Z-score <-2.5 σε οποιαδήποτε φάση της αγωγής τους.

Χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης D per os με την προαναφερόμενη δόση και διφωσφονικών αλάτων (αλενδρονάτης ή παμιδρονάτης). Η χορήγηση αλενδρονάτης σε δόση 35 mg ανά εβδομάδα από του στόματος και η χορήγηση παμιδρονάτης ενδοφλέβια μια φορά ανά μήνα σε δόση 15mg/δόση με ρυθμό 20mg/h. Η αγωγή αυτή θα λαμβάνεται αρχικά για 6 μήνες, στη συνέχεια θα

επανελέγχεται η οστική πυκνότητα και οι οστικοί μεταβολίτες για να επαναπροσδιοριστεί η θεραπευτική αγωγή.

## ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Τα BMD z-score και στις 3 ομάδες παρουσιάζονται ως μέση τιμή (mean value)  $\pm$ SEM και διάμεση τιμή (median values with interquartile range). Εφόσον η κατανομή του BMD z-score ήταν εκτός των φυσιολογικών τιμών, ειδικά στην ομάδα 1, χρησιμοποιήθηκαν μη παραμετρικές μέθοδοι. Το unpaired Mann-Whitney test χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση BMD τιμών με σημαντικές αποκλίσεις στην ομάδα 3, ενώ το paired Wilcoxon signed ranks test για να αξιολογήσει τις διαφορές μεταξύ των τιμών BMD z-scores στους ασθενείς που είχαν επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Μία  $p$  value $<0.5$  θεωρήθηκε ως σημαντική.

## 3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### A. ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ

Κατά τη διάρκεια διεξαγωγής της μελέτης συμπεριλήφθησαν αρχικά 36 ασθενείς υπό αγωγή με το πρωτόκολλο χημειοθεραπείας ALL-BFM. Αποκλείστηκαν 4 ασθενείς που έλαβαν ακτινοβολία και υπεβλήθησαν σε μεταμόσχευση μυελού των οστών και 1 ασθενής αρνήθηκε να συμμετάσχει. Ο τελικός αριθμός των ασθενών που μετείχαν στη μελέτη είναι 31 (αγόρια 22, κορίτσια 9). Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών ανά ομάδα περιγράφονται στον **πίνακα 5**. Δεκαεπτά (17) ασθενείς εκτιμήθηκαν με διενέργεια μέτρησης οστικής πυκνότητας εντός των δύο πρώτων μηνών από τη διάγνωση τους (μέσος χρόνος 17 ημέρες από τη διάγνωση) και αποτελούν την Ομάδα 1. Η ομάδα 2 περιλαμβάνει 16 ασθενείς που εκτιμήθηκαν σε μέσο χρόνο 22 μήνες μετά τη διάγνωση. Η ομάδα 3 περιλαμβάνει 10 ασθενείς που εκτιμήθηκαν σε μέσο χρόνο 13 μήνες μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας τους. Στις μετρήσεις περιλαμβάνονται και μετρήσεις των ίδιων ασθενών που κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πρωτοκόλλου μεταπίπτουν από την ομάδα 1 στην ομάδα 2 (n=6) και από την ομάδα 2 στην ομάδα 3 (n=6), υπό την προϋπόθεση ότι δεν έλαβαν αγωγή με ασβέστιο / βιταμίνη D.

**Πίνακας 5:** Δημογραφικά χαρακτηριστικά.

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΟΜΑΔΑ 1	ΟΜΑΔΑ 2	ΟΜΑΔΑ 3
Αριθμός ασθενών	N=17	N=16 (6)*	n=10 (6)*
Αγόρια/κορίτσια	12:5	12:4	6:4
Μέση ηλικία (έτη)	4 (2-13)	5.8 (4.5-14)	8.2(6.5-15.5)
Μέσος χρόνος μέτρησης BMD	17 ημέρες (2-57) από τη διάγνωση	22 μήνες (12-38) από τη διάγνωση	13 μήνες (1-44) από το τέλος ΧΜΘ

( )\*: αριθμός ασθενών από την προηγούμενη ομάδα

Η αθροιστική δόση κορτικοστεροειδών ως ανάλογο πρεδνιζόνης ήταν σταδιακά αυξανόμενη από 0.8 σε 4.3 και 5 g/m<sup>2</sup> αντίστοιχα για τις ομάδες 1, 2 και 3 (πίνακας 6).

**Πίνακας 6 :** Αθροιστική δόση κορτικοστεροειδών

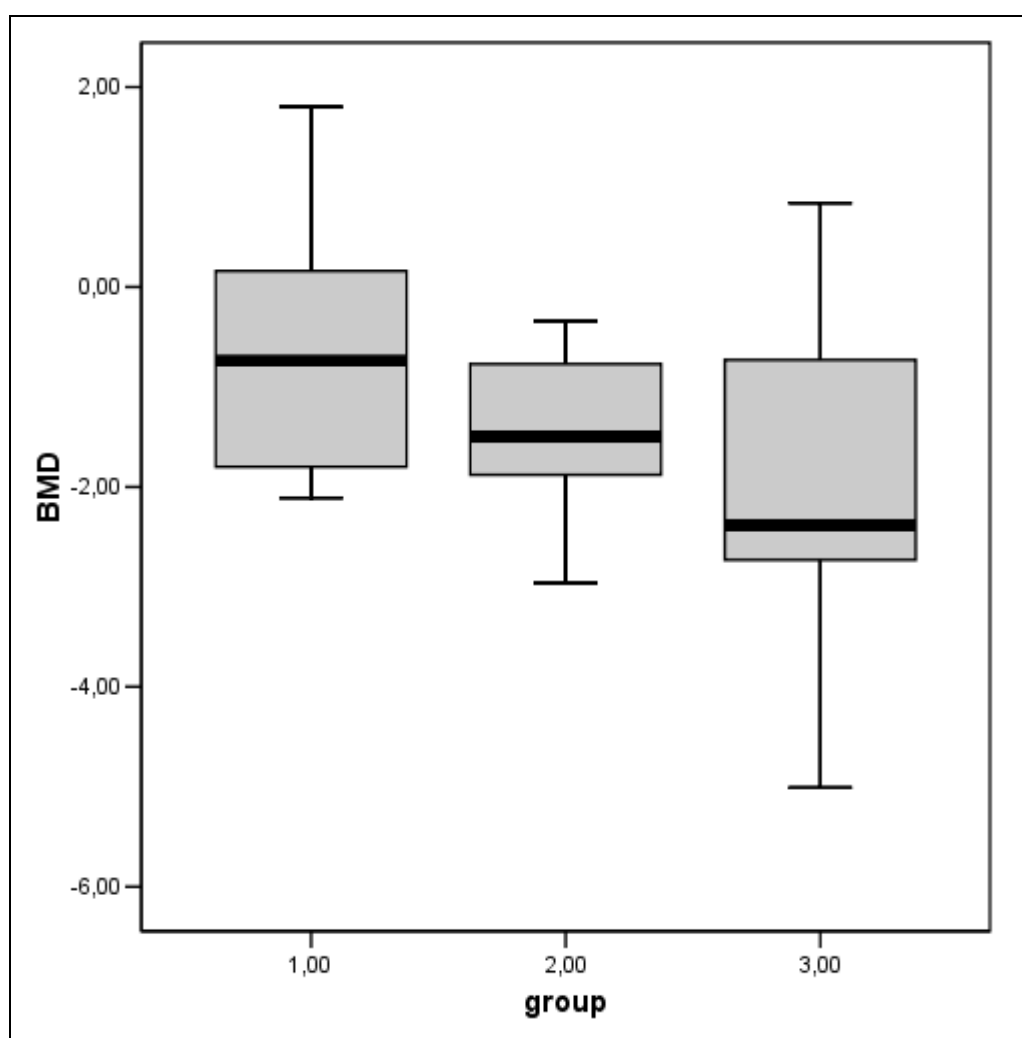
Αθροιστική δόση πρεδνιζόνης (g/m <sup>2</sup> )	ΟΜΑΔΑ 1	ΟΜΑΔΑ 2	ΟΜΑΔΑ 3
Average (SD)	0.83 (0.5)	4.35 (0.9)	5
Median	0.63	4.74	5
Range	0.01 -1.7	1.5-5	

Κανένας ασθενής με μειωμένη BMD δεν εμφάνισε οστικό κάταγμα κατά τη διάρκεια της μελέτης. Καταγράφηκε όμως μια σταδιακή μείωση της οστικής πυκνότητας από την ομάδα 1 προς την ομάδα 3 που τεκμηριώνεται από τις μετρήσεις οστικής πυκνότητας (BMD) (πίνακας 7). Η μέση τιμή BMD z-score για την ομάδα 1 ήταν -0.74 κατά τους πρώτους 2 μήνες από τη διάγνωση της ΟΛΛ, η αντίστοιχη τιμή μειώνεται στο -1.59 για την ομάδα 2 που βρίσκεται υπό χημειοθεραπεία και μειώνεται περαιτέρω στο -2.03 για την ομάδα 3 που έχει ολοκληρώσει το θεραπευτικό πρωτόκολλο ALL-BFM. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική ( $p=.022$ ) ανάμεσα στην ομάδα 1 και στην ομάδα 3, ενώ δεν είναι στατιστικά σημαντική ανάμεσα στην ομάδα 1 και 2 ( $p=.13$ ), ούτε στην ομάδα 2 και 3 ( $p=.25$ ) (Σχήμα 13). Παρά το μικρό αριθμό των ασθενών, το ποσοστό των ασθενών που παρουσιάζει σημαντική μείωση της οστικής πυκνότητας (BMD z-score < -2 )

αυξάνεται από 17% (n=3) στην ομάδα 1 σε 25% (n=4) στην ομάδα 2 και σε 50% (n=5) στην ομάδα 3.

**Πίνακας 7:** Μετρήσεις οστικής πυκνότητας (BMD)

<b>BMD z-score</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 1</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 2</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 3</b>
<b>Average (±SEM)</b>	<b>-0.74 (±0.32)</b>	<b>-1.59 (±0.24)</b>	<b>-2.03 (±0.27)</b>
<b>Median</b>	<b>-0.92</b>	<b>-1.54</b>	<b>-2.1</b>
<b>95%CI</b>	<b>-1.43 ως -0.05</b>	<b>-2.11 ως -1.07</b>	<b>-2.66 ως -1.4</b>
<b>BMD z-score &lt;2%</b>	<b>N=3(17%)</b>	<b>N=4(25%)</b>	<b>n=5 (50%)</b>



**Σχήμα 13:** Σύγκριση οστικής πυκνότητας μεταξύ ομάδων 1,2 και 3.

Ομάδα 1 και 2 (  $p=.13$ ), Ομάδα 2 και 3: (  $p=.25$ ): μη στατιστικά σημαντική

Ομάδα 1 και 3:  $p=.022$  , στατιστικά σημαντική.

Όσον αφορά στους ασθενείς που είχαν επαναλαμβανόμενες μετρήσεις σε διαφορετικά στάδια της νόσου τους, 4 από τους 6 ασθενείς της ομάδας 1 παρουσίασαν περαιτέρω μείωση της οστικής πυκνότητας κατά τη διάρκεια της θεραπείας και παρακολούθησης τους ως ομάδα 2, ενώ οι άλλοι 2 διατήρησαν σταθερές τιμές ( $z\text{-score} < -1.5$ ). Κατ' αντιστοιχία 5 από τους 6 ασθενείς της ομάδας 2 που περιελήφθησαν μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας τους στην ομάδα 3 παρουσίασαν περαιτέρω μείωση της οστικής πυκνότητας και μόνο ένας ασθενής εμφάνισε βελτίωση της οστικής πυκνότητας. Συνολικά στους ασθενείς με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις καταγράφηκε μείωση του BMD  $z\text{-score}$  από την ομάδα 1 στην ομάδα 2 κατά 0.48 και από την ομάδα 2 στην ομάδα 3 κατά 0.2, η οποία όμως δεν είναι στατιστικά σημαντική.

## **B. ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ**

Συνολικά από τους 36 ασθενείς μας, αξιόπιστα αποτελέσματα από τους δείκτες οστικού μεταβολισμού που να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη μελέτη είχαμε σε 26 ασθενείς. Επειδή τιμές αναφοράς για τον ελληνικό παιδιατρικό πληθυσμό δεν υφίσταται για όλους τους δείκτες που μετρήθηκαν χρησιμοποιήσαμε όπου ήταν εφικτό τιμές από τη χώρα μας και στους υπόλοιπους δείκτες τιμές αναφοράς άλλων ευρωπαϊκών, και κατά προτίμηση μεσογειακών παιδιατρικών πληθυσμών. Πιο συγκεκριμένα για

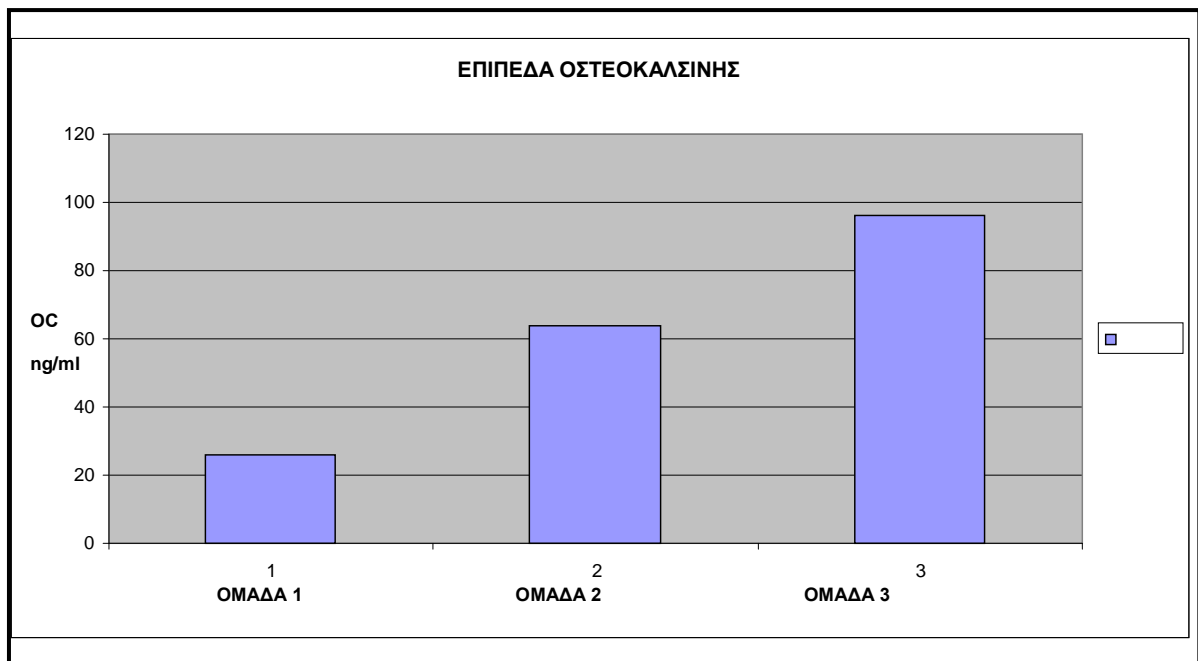
- την οστεοκαλσίνη χρησιμοποιήσαμε τις τιμές από τη μελέτη 1634 παιδιών στην Ιταλία (29),
- την αλκαλική φωσφατάση μια μελέτη από 178 υγιή παιδιά, ηλικίας 3-18 ετών, από τη Βόρεια Ελλάδα, λαμβάνοντας υπόψη εάν οι μετρήσεις έγιναν χειμώνα ή καλοκαίρι (135)
- το οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης, τις τιμές αναφοράς 1741 παιδιών και εφήβων από την Τουρκία (36)
- την παραθορμόνη ως τιμές αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν οι τιμές αναφοράς του εργαστηρίου μας, καθώς πρακτικά δεν υπάρχει διακύμανση με την ηλικία.
- το C- προπεπτίδιο του κολλαγόνου I (PICP) χρησιμοποιήσαμε τις τιμές αναφοράς από τη Σκωτία για 302 παιδιά σχολικής ηλικίας (156 αγόρια , 146 κορίτσια) ηλικίας 4-19 ετών (136).

- τα D-Pyridinyls, χρησιμοποιήσαμε τις τιμές αναφοράς από 176 παιδιά ηλικίας 4-20 ετών από την Ιταλία (137)
- το N-τελοπεπτίδιο των ούρων τις τιμές αναφοράς από τη National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2002 (138) και τις τιμές από 1100 παιδιά στην Washington (139).

#### ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗ (ng/ml)

Η μέση τιμή οστεοκαλσίνης κατά τη διάγνωση είναι 26.1 ng/ml, κατά τη χημειοθεραπεία 64.05 ng/ml και μετά το τέλος της χημειοθεραπείας 95.76 ng/ml.

Παρατηρήσαμε ότι όλες οι μετρήσεις οστεοκαλσίνης κατά τις πρώτες ημέρες ΧΜΘ δίνουν τιμές χαμηλότερες από το αναμενόμενο, οι οποίες διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα και στη φάση της χημειοθεραπείας, ενώ μετά τους 12 μήνες αγωγής οι τιμές αυξάνουν σε φυσιολογικά ή αυξημένα επίπεδα.

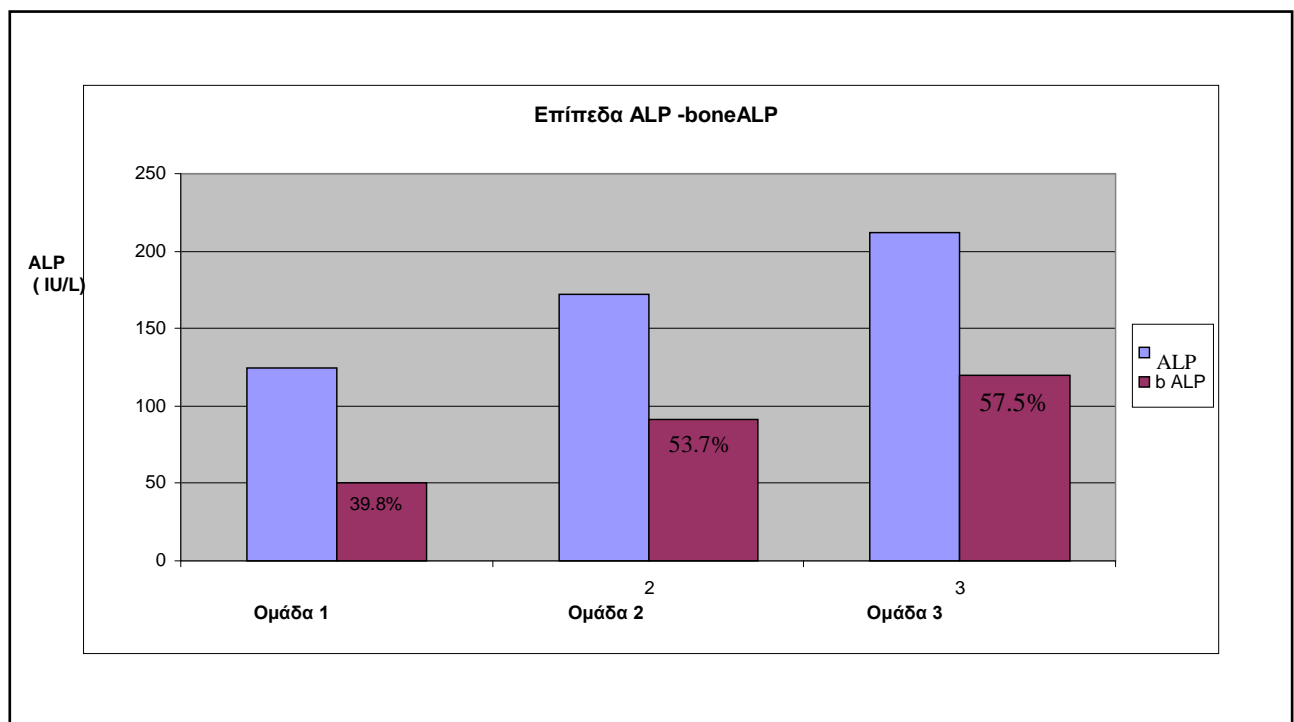


**Σχήμα 14:** Επίπεδα οστεοκαλσίνης (ng/ml) ανά ομάδα ασθενών



## ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ (εργαστήριο ΠΑΓΝΗ 35-125 IU/L)

Η αλκαλική φωσφατάση ακολουθεί την ίδια πορεία με την οστεοκαλσίνη. Στη διάγνωση τα επίπεδα είναι χαμηλότερα των αναμενόμενων τιμών για την ηλικία, το φύλο και την εποχή διενέργειας της μέτρησης, με μέσο όρο 125 IU/L (44-228). Στη φάση χημειοθεραπείας μισά παιδιά συνεχίζουν να έχουν χαμηλές τιμές ενώ τα άλλα μισά ανακτούν φυσιολογικές τιμές, με μέσο όρο 171.72 IU/L (117-234). Στις μετρήσεις μετά το τέλος της θεραπείας υπάρχουν φυσιολογικές ή ήπια αυξημένες τιμές με μέσο όρο 211,87 IU/L (86-369).



**Σχήμα 15:** Επίπεδα αλκαλικής φωσφατάσης (IU/L) – οστικού κλάσματος (% ALP)

## ΟΣΤΙΚΟ ΚΛΑΣΜΑ ΑΛΚΑΛΙΚΗΣ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗΣ (u/L)

Στη διάγνωση βρέθηκε ιδιαίτερα χαμηλό οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης με μέση τιμή 39.8% (31%-55%), με εξαίρεση την τιμή ενός ασθενούς που εμφάνισε φυσιολογική τιμή (88%) αλλά πολύ υψηλή συγκριτικά με τους

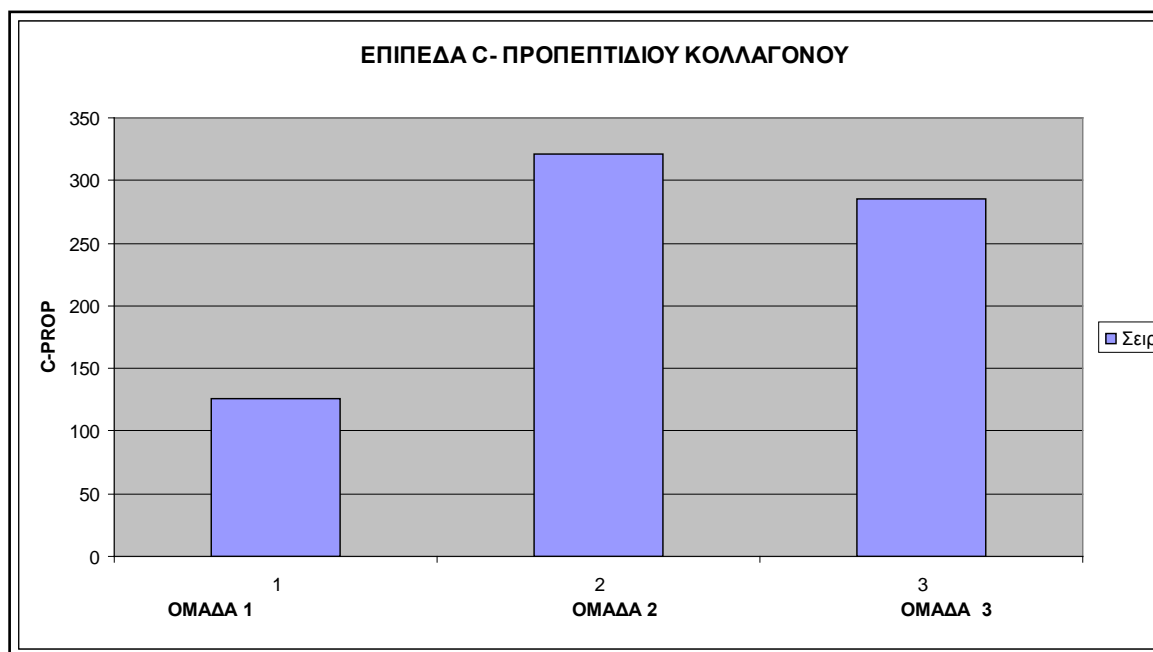
υπόλοιπους ασθενείς και δε συμπεριλήφθηκε στα δεδομένα (φυσιολογικές τιμές στα παιδιά 77-89%).

Στη διάρκεια της χημειοθεραπείας το οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης είχε μέση τιμή 53.7% (47%- 58%).

Μετά το τέλος της χημειοθεραπείας το οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης είχε μέση τιμή 57.5% (50%-77%). Παρά την συνεχόμενη ανοδική του πορεία οι ασθενείς μας δεν αποκατέστησαν πλήρως τα επίπεδα του οστικού κλάσματος της αλκαλικής φωσφατάσης ακόμη και 2 χρόνια μετά το τέλος της χημειοθεραπείας.

#### C-ΠΡΟΠΕΠΤΙΔΙΟ ΤΟΥ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ P1CP (ng/ml )

Στη διάγνωση η μέση τιμή ήταν 126.16 ng/ml (60-261), κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας 321.18 ng/ml (45-1059) και μετά το τέλος της χημειοθεραπείας 285.1 ng/ml (180-424). Παρατηρείται μία μείωση και αυτού του δείκτη οστικής σύνθεσης στα αρχικά στάδια της νόσου , ο οποίος αποκαθίσταται σταδιακά κατά τη διάρκεια της θεραπείας και διατηρείται σε φυσιολογικά επίπεδα μετά την ολοκλήρωση της αγωγής.

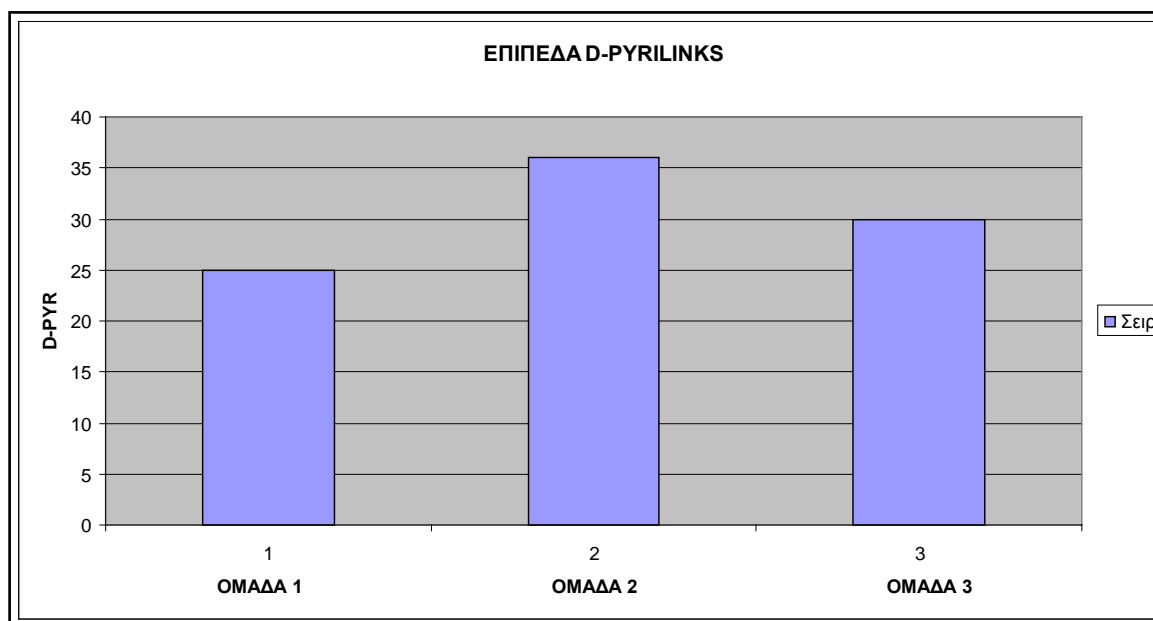


**Σχήμα 16:** Επίπεδα C-προπεπτιδίου του κολλαγόνου (ng/ml ) ανά ομάδα ασθενών

## D-PYRILINKS (n M/m MCreat)

Στη διάγνωση τα επίπεδα έχουν μέση τιμή 24.9 n M/m MCreat (8-67), υπό χημειοθεραπεία 35.7 n M/m MCreat (10.5-71.9) και μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας 30.5 n M/m MCreat (9-48).

Παρά το ότι οι τιμές αναφοράς αφορούν ένα δείγμα ούρων και όχι 24ωρη συλλογή ούρων όπως στους ασθενείς μας, άρα η σύγκριση δεν μπορεί να είναι ταυτόσημη, και επίσης θεωρώντας ότι πρακτικά οι ομάδες 1 και 2 αφορούν παιδιά με στάδιο εφηβείας κατά Tanner I τα επίπεδα των D-pyrilinks είναι κατασταλμένα και στις τρεις ομάδες ασθενών, με τα χαμηλότερα επίπεδα στη διάγνωση, με ανοδική πορεία αποκατάστασης κατά τη χημειοθεραπεία και πτώση των επιπέδων στην ομάδα 3, όπου όμως περιλαμβάνονται και έφηβοι άρα είναι αναμενόμενη η κάθοδος των επιπέδων με την ολοκλήρωση της εφηβείας.

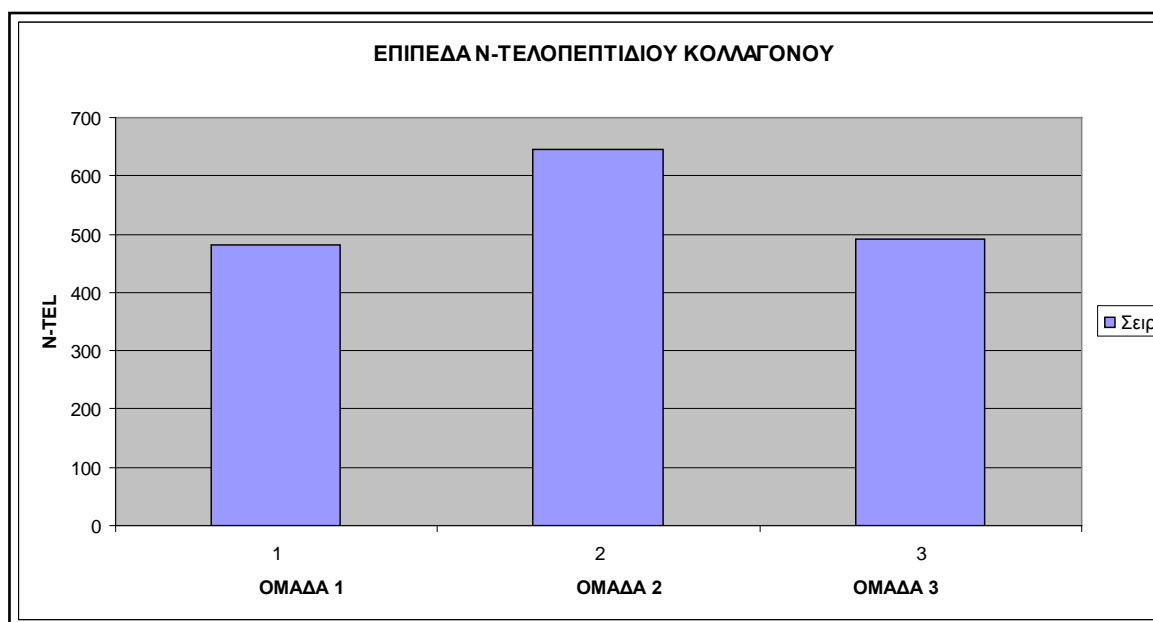


**Σχήμα 17:** Επίπεδα D-PYRILINKS ανά ομάδα ασθενών

## N-ΤΕΛΟΠΕΠΤΙΔΙΟ – NTX (BCE/nmole Cr)

(BCE: Bone Collagen Equivalent, Cr:Creatinine)

Στη διάγνωση τα επίπεδα του NTX είναι 482.7 BCE/nmole Cr (137-1341), υπό χημειοθεραπεία 645.8 BCE/nmole Cr (23-1670) και μετά το τέλος της χημειοθεραπείας 491.47 BCE/nmole Cr (163-918).



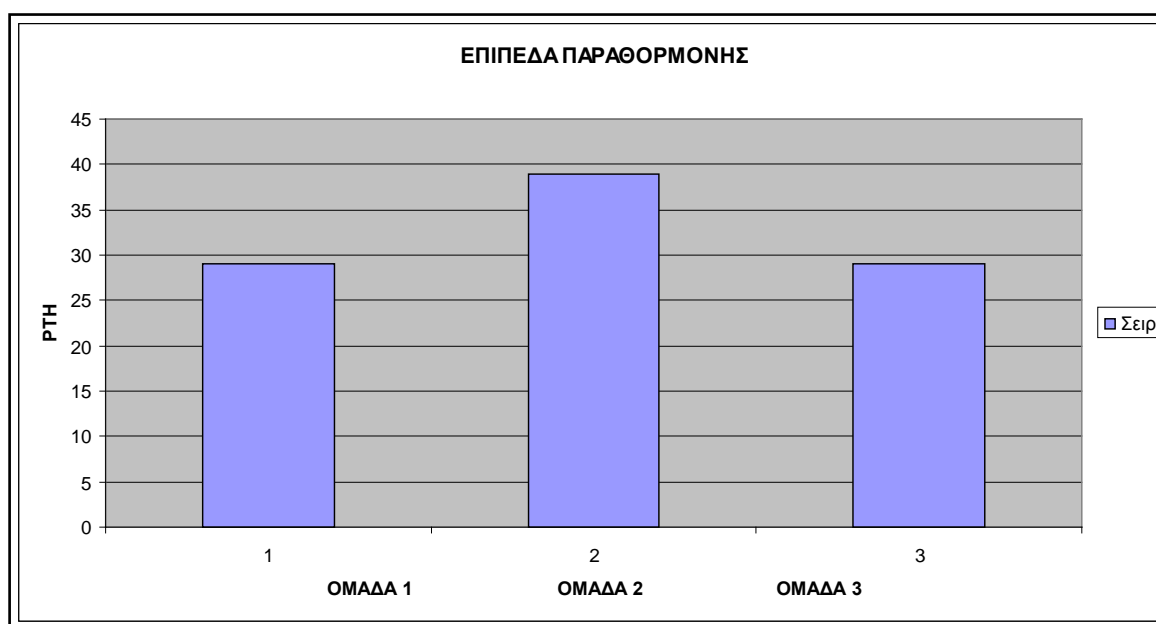
**Σχήμα 18:** Επίπεδα NTX ανά ομάδα ασθενών ( BCE/nmole Cr)

Η πορεία των επιπέδων είναι με χαμηλότερες τιμές στη διάγνωση, τάση αποκατάστασης στην ομάδα χημειοθεραπείας και πτώση των επιπέδων στην ομάδα 3, αλλά παρά ταύτα οι τιμές κυμαίνονται εντός των φυσιολογικών επιπέδων χωρίς εκσεσημασμένες αποκλίσεις.

## ΠΑΡΑΘΟΡΜΟΝΗ (15-65 pg/m L)

Στη διάγνωση η μέση τιμή παραθορμόνης είναι 28.6 pg/m L (9.7-58.2), στη διάρκεια της χημειοθεραπείας 38.97 pg/m L (16.4-83.52) και μετά το τέλος της χημειοθεραπείας 29.1 pg/m L (15.8-35). Εξαιρέθηκε μια τιμή ( 96.3) ασθενούς που είχε ιστορικό με άσηπτη νέκρωση και αργότερα εμφάνισε κάταγμα άνω άκρου. Διαπιστώσαμε ότι σε όλα τα στάδια της νόσου τα επίπεδα της παραθορμόνης

διατηρούνται σε φυσιολογικές τιμές, με μία μικρή αύξηση της τιμής στην Ομάδα 2 κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας πάντα όμως εντός των φυσιολογικών ορίων



**Σχήμα 19:** Επίπεδα παραθομόνης (pg/mL) ανά ομάδα ασθενών

### Γ. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Στην πρώτη ομάδα ασθενών μας που αφορά ασθενείς στη διάγνωση της ΟΛΛ επιλέχτηκε ως θεραπεία μόνο η χορήγηση ασβεστίου, χωρίς βιταμίνη D. Αν και η ανεπάρκεια βιταμίνης D αναφέρεται ως προδιαθεσικός παράγοντας για την ανάπτυξη κακοήθειας και ενώ διάφοροι μεταβολίτες της έχουν χρησιμοποιηθεί σε θεραπευτικά σχήματα αντινεοπλασματικής αγωγής (πχ για AML) από τη μια, από την άλλη υπήρχε αρχικά ο προβληματισμός εάν η βιταμίνη D εμπλέκεται ευοδωτικά στη δράση των λευχαιμικών κυττάρων για αυτό κρίθηκε σκόπιμο να μη χρησιμοποιηθεί παράλληλα με την έναρξη της χημειοθεραπείας, τουλάχιστον μέχρι να επιτευχθεί η ύφεση τους πρώτους μήνες αγωγής. Ακόμη και πρόσφατες μελέτες ασχολούνται με τον πιθανά προστατευτικό ρόλο της βιταμίνης D στα λευχαιμικά κύτταρα από τη δράση της δεξαμεθαζόνης (140).

Τα διαθέσιμα σκευάσματα που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά ως ασβέστιο είναι σε δόση 500mg ή 1000mg και ως καλσιτριόλη 0.25, 0.5, 1.0 mcg. Σε παιδιά με βάρος σώματος < 40 kg η δόση καθορίστηκε σε 500mg ασβεστίου+ 0.25mcg δύο φορές ανά ημέρα και σε παιδιά με βάρος σώματος >40kg σε 500mg ασβεστίου + 0.5 mcg δύο φορές την ημέρα.

Οι δόσεις που επιλέχθηκαν για τα διφωσφονικά (αλενδρονάτη :35 mg ανά εβδομάδα, παμιδρονάτη: 15mg/δόση ανά μήνα) ήταν οι σχετικά μικρότερες, λόγω της μη μακρόχρονης εμπειρίας εφαρμογής τους στα παιδιά. Ως αρχική χρονική διάρκεια χορήγησης των διφωσφονικών ορίστηκαν οι 6 μήνες, με επανεκτίμηση της οστικής πυκνότητας και των οστικών μεταβολιτών για τον περαιτέρω προγραμματισμό της θεραπευτικής προσέγγισης.

Κατά την έναρξη της μελέτης μας δεν υπήρχε η δυνατότητα για προσδιορισμό των επιπέδων της βιταμίνης D στο νοσοκομείο μας , που θα μας έδινε τη δυνατότητα να θεσπίσουμε διαφορετικά κριτήρια χορήγησης των σκευασμάτων της. Σύμφωνα με το πρωτόκολλο μας η χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης έγινε σε ασθενείς που παρουσίασαν BMD Z-score <-1.0 και ήταν συνολικά μόνο 7 (ομάδα 1: 2 ασθενείς, ομάδα2: 3 ασθενείς ,ομάδα 3: 2). Οι δύο ασθενείς της ομάδας 1 είχαν BMD Z-score -1.04 και -1.82 αντίστοιχα, έλαβαν αγωγή μόνο με ασβέστιο και σε 12 μήνες υπό ΧΜΘ είχαν τιμές -0.27 και -1.14 αντίστοιχα. Οι 3 ασθενείς της ομάδας 2 είχαν BMD Z-scores -1.05,-1.26, -1,18 κατά τη διάρκεια της θεραπείας, έλαβαν αγωγή με ασβέστιο και βιταμίνη D και η οστική πυκνότητα παρουσίασε βελτίωση μετά το τέλος της χημειοθεραπείας σε διάστημα 6 μηνών -0.95 για τον πρώτο ασθενή , σε διάστημα 1 έτους σε -0.85 για το δεύτερο ασθενή και σε διάστημα 2 ετών -0.09 για τον τρίτο ασθενή .Οι 2 ασθενείς της ομάδας 3 μετρήθηκαν 6 μήνες μετά το τέλος της ΧΜΘ με τιμές BMD Z-scores -0.96 και -1.07, έλαβαν συνδυασμό ασβεστίου και βιταμίνης D, και ένα χρόνο μετά είχαν βελτιωθεί σε -0.29 και +0.21 αντίστοιχα.

Παρά τη σαφή βελτίωση που διαπιστώθηκε σε όλες τους ασθενείς , ο αριθμός δεν είναι επαρκής για να τεκμηριώσουμε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Συνυπάρχει δε το ενδεχόμενο η παρατηρούμενη βελτίωση η οποία αυξάνεται όσο μεγαλώνει το χρονικό διάστημα από το τέλος της χημειοθεραπείας να μην οφείλεται στη χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης D αλλά να αποτελεί φυσική πορεία αποκατάστασης του οστικού μεταβολισμού όπως και επίδραση της εφηβείας .

Στον αρχικό σχεδιασμό της μελέτης προβλεπόταν και η χορήγηση διφωσφονικών, με κριτήριο χορήγησης BMD Z-score <-2.5 (καθώς κατά τη χρονική στιγμή σχεδιασμού της μελέτης μας δεν είχε ακόμη καθιερωθεί ως όριο χαμηλής οστικής πυκνότητας για τα παιδιά το Z-score <-2.0). Αυτό το τμήμα του πρωτοκόλλου τελικά δεν εφαρμόστηκε γιατί:

α) δεν υπήρχε κανένα παιδί με BMD Z-score <-2.5 στην ομάδα 1 και 2, ενώ μόνο ένα παιδί της ομάδας 3 εμφάνισε οριακά τέτοια τιμή, όμως επειδή η BMD βελτιώνεται μετά το τέλος της ΧΜΘ αποφασίστηκε να χορηγηθεί αρχικά ασβέστιο και βιταμίνη D, επανέλεγχος της οστικής πυκνότητας σε 6 μήνες, οπότε και διαπιστώθηκε βελτίωση της BMD.

β) δεν τεκμηριώθηκε κάταγμα σε κανένα παιδί στις ομάδες 1 και 2. Μόνο στην ομάδα 3 ένα αγόρι 15 ετών, 2 έτη μετά το τέλος της χημειοθεραπείας εμφάνισε κάταγμα ΔΕ πηχεοκαρπικής, στο ίδιο παιδί διαπιστώθηκε ισχαιμική νέκρωση του ΔΕ αστραγάλου 15 μήνες από την έναρξη της αγωγής και είχε γίνει άμεσα διακοπή της δεξαμεθαζόνης από την αγωγή του (με BMD Z-score -1.18). Ο ασθενής βρισκόταν ήδη σε αγωγή με ασβέστιο και βιταμίνη D από 6μήνου. Η οστική του πυκνότητα δεν εμφάνισε σημαντική μείωση που να δικαιολογήσει τη χορήγηση διφωσφονικών καθώς ακόμη και στο τέλος της ΧΜΘ, ένα έτος μετά από την τεκμηρίωση της νέκρωσης του αστραγάλου (που αντιμετωπίστηκε με έγχυση υαλουρονικού οξέος) το BMD Z-score παρέμεινε περίπου σταθερό -1.27. Παρόλα αυτά συνεχίστηκε η ίδια αγωγή προληπτικά για τους 6 πρώτους μήνες μετά το τέλος του χημειοθεραπευτικού πρωτοκόλλου, που σχετίζονται με μεγαλύτερο κίνδυνο για την παρουσίαση καταγμάτων, ακολούθησε αγωγή για ένα ακόμη έτος κατά τη διάρκεια του οποίου εμφάνισε πιθανή άσηπτη νέκρωση κεφαλής ΔΕ μηριαίου. Σε ηλικία 17 ετών, 21 μήνες από το τέλος της αγωγής είχε αποκαταστήσει το BMD Z-score -0.09 (99%) και είχε T-score -0.57 (94%), και τα δύο φυσιολογικά για την ηλικία του, παρά ταύτα 3 μήνες αργότερα εμφάνισε κάταγμα ΔΕ άνω άκρου, πιθανά λόγω διαταραχών στη μικροαρχιτεκτονική του οστού η οποία δεν είναι εύκολο να τεκμηριωθεί.

γ) κατά τη διάρκεια της τρέχουσας μελέτης από την παράλληλη παρακολούθηση της τρέχουσας βιβλιογραφίας ήταν εμφανές ότι με τη μείωση της ακτινοβολίας κρανίου και τη στροφή των χημειοθεραπευτικών πρωτοκόλλων σε σχήματα αποτελεσματικά ως προς την επιβίωση αλλά λιγότερο τοξικά, με

ηπιότερες μακροχρόνιες επιπλοκές για την ποιότητα ζωής του ασθενούς, η οστική πυκνότητα επηρεάζεται πλέον αρνητικά σε μειούμενο βαθμό. Άλλωστε όπως και στη διεθνή βιβλιογραφία και η δική μας εμπειρία από ασθενείς που είτε είχαν ακτινοβοληθεί είτε είχαν λάβει θεραπεία με παλαιότερα πρωτόκολλα και των οποίων οι μετρήσεις δεν περιλαμβάνονται μεν στη μελέτη, τεκμηρίωσαν όμως τη μεγάλη επίδραση της ακτινοβολίας και των βαρύτερων χημειοθεραπειών στον οστικό μεταβολισμό.

Άρα διαπιστώνοντας ότι με τα νεότερα θεραπευτικά πρωτόκολλα υπήρχαν περισσότερες πιθανότητες να αποκτήσουν οι ασθενείς μας φυσιολογική οστική πυκνότητα μετά το τέλος της ΧΜΘ, υπήρξαμε διστακτικοί στη χορήγηση νέων φαρμάκων όπως τα διφωσφονικά, για τα οποία γνωρίζουμε ήδη βασικές παρενέργειες, αλλά δε γνωρίζουμε τις πιθανές απώτερες επιπλοκές για τον αναπτυσσόμενο παιδικό οργανισμό καθώς δεν υπάρχει ακόμη επαρκής εμπειρία.

#### **4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ**

##### **A. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΕΠΗΡΕΑΣΜΕΝΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΤΗΝ ΟΛΛ**

###### **1. ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

Κλασσική κλινική εικόνα της ΟΛΛ στα παιδιά είναι το άλγος οστών και αρθρώσεων που στα πρώτα στάδια της νόσου αναφέρεται σε ποσοστό έως και 60%, ενώ το παιδί με χωλότητα βόδισης (“the limping child”) αποτελεί συχνά την πρώτη εικόνα εκδήλωσης της νόσου. Παρόλα αυτά τα παιδιά με λευχαιμία και συμπτωματολογία από τα οστά μέχρι και 70% παραμένουν αδιάγνωστα στην πρώτη κλινική εκτίμηση (141)(142).

Επομένως κατά τη διάγνωση της ΟΛΛ ο μεταβολισμός των οστών έχει ήδη επηρεαστεί όπως διαφαίνεται από την κλινική συμπτωματολογία αλλά και από ακτινολογικά ευρήματα οστεοπενίας που αναφέρονται σε 13% ασθενών στη διάγνωση (17)(68)(143). Υπερουριχαιμία και υπερφωσφαταιμία με δευτεροπαθή υπασβεστιαιμία παρατηρείται συχνά ακόμη και πριν την έναρξη της αγωγής, ειδικά στους ασθενείς με υψηλό λευχαιμικό φορτίο και αυτούς με T-ΟΛΛ ή ΟΛΛ από ώριμα B-κύτταρα (1).



Η μελέτη της οστικής πυκνότητας στα παιδιά με ΟΛΛ, ως επί το πλείστον με τη μέθοδο DEXA, ξεκίνησε περίπου από τα μέσα της δεκαετίας του '90. Υπάρχουν κυμαινόμενα ποσοστά για τις παθολογικές τιμές αναλόγως των ορίων που θεωρούνταν ως παθολογικά, συνήθως  $z\text{-score} < -2.5$  ή  $z\text{-score} < -2.0$  σε πιο πρόσφατες μελέτες. Με κύρια περιοχή μέτρησης τη σπονδυλική στήλη  $z\text{-score} < -2.0$  καταγράφεται σε ποσοστό 21% των ασθενών σε δύο μελέτες, ενώ σε άλλη μελέτη παρά τη φυσιολογική κατά μέσο όρο τιμή αναφέρεται σημαντική μείωση στην σπονδυλική στήλη και στο ισχίο  $p = 0,043$  και  $p = 0,011$  (118)(144)(145). Άλλη μελέτη με μετρήσεις στον πήχυ αναφέρει ποσοστό 30% για  $z\text{-score} < -1,645$  (116). Σε μελέτη 46 παιδιών με ΟΛΛ στη φάση της διάγνωσης οστεοπενία διαπιστώθηκε στο 30% (14/46) και οστεοπόρωση στο 11% (5/46) (146), ενώ άλλη μελέτη (που συμπεριλαμβάνει όμως και περιστατικά με οξεία μυελογενή λευχαιμία) αναφέρει οστεοπενία στο 62.8% των ασθενών (147). Σε 186 παιδιά ( T-ΟΛΛ 10%) το BMD  $z\text{-score}$  της σπονδυλικής στήλης ήταν -1.2 για τους ασθενείς χωρίς κατάγματα και -2.1 για τους ασθενείς με κάταγμα (148). Σε 42 ασθενείς ( T-ΟΛΛ 14.3%) οστεοπενία εμφάνισαν 24% (10/42), ενώ το BMD  $z\text{-score}$  δεν είχε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο σειρές (B-ΟΛΛ  $-0.503 \pm 0.774$  έναντι T-ΟΛΛ  $-0.145 \pm 0.366$ ) (149).

Στους ασθενείς μας ένα ποσοστό 17% των παιδιών παρουσίαζε στη διάγνωση BMD  $z\text{-score}$  στη σπονδυλική στήλη  $< -2.0$ . Οι διαφορές που υπάρχουν μεταξύ των ποσοστών ανά μελέτη οφείλονται σε ένα βαθμό και στη διαφορετική χρονική περίοδο που εκτελούνται οι μετρήσεις που κυμαίνονται από λίγες ημέρες από τη διάγνωση μέχρι και τους πρώτους δύο μήνες, διάστημα επαρκές για την άμεση επίδραση της χορήγησης των στεροειδών. Στην ομάδα 1, που το χρονικό διάστημα από τη διάγνωση ήταν 17 ημέρες, η αθροιστική δόση κορτικοστεροειδών που είχαν λάβει οι ασθενείς μας ως ανάλογο προδινιζόνης ήταν 0.8 g/m<sup>2</sup>. Συνολικά πάντως οι ασθενείς μας στη διάγνωση έχουν BMD  $z\text{-score}$  ( $-0.74 \pm 0.32$ ) το οποίο είναι εντός των φυσιολογικών τιμών όπως και όλων των υπολοίπων μελετητών με μετρήσεις στη σπονδυλική στήλη, που αφορούσαν ασθενείς μόνο με B-ΟΛΛ, όπως φαίνεται στον πίνακα 8:

**Πίνακας 8:** Μελέτες μέτρησης BMD (LS) κατά τη διάγνωση Β-ΟΛΛ

		Έτος	Ασθενείς	Φύλο	BMD
1	Halton	1995	28	Αγόρια	-0.16
				κορίτσια	-0.76
2	Boot	1999	32		-0.67
3	Van dSluis	2002	41		-0.60
4	Maniadaki	2006	17	A12/ K5	-0.74

## 2. ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας έχει καταγραφεί μία περαιτέρω μείωση της οστικής πυκνότητας σχετικά με τη BMD που παρατηρείται στη διάγνωση. Πτώση της τάξης τουλάχιστον 1 σταθερής απόκλισης (SD) έχει καταγραφεί σε 20% των ασθενών (23), με τα χαμηλότερα επίπεδα να παρατηρούνται κατά το πρώτο έτος της θεραπείας και ειδικά κατά τους 6 πρώτους μήνες της αγωγής (7)(150). Ακόμη και από τον πρώτο μήνα ΧΜΘ καταγράφονται χαμηλές τιμές οστικής πυκνότητας σπονδυλικής στήλης και ισχίου (145). Όπως φαίνεται από 42 ασθενείς που μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια της φάσης χημειοθεραπείας ενίσχυσης και εδραίωσης, η μείωση της οστικής πυκνότητας του αυχένα του μηριαίου (femoral neck BMD) είναι έκδηλη και στις δύο φάσεις, αλλά μεγαλύτερη στην πρώτη περίοδο της εντατικής χημειοθεραπείας (οστεοπενία:36%(15/42), οστεοπόρωση: 2%(1/42) από τη δεύτερη φάση της αγωγής (οστεοπενία:31%(13/42) και στατιστικά σημαντική για τους ασθενείς με Τ-ΟΛΛ (Β-ΟΛΛ:-0.697±0.847 έναντι Τ-ΟΛΛ: -1.63± 0.707) (149).

Με το τέλος των 2 ετών θεραπείας έχει ανιχνευθεί οστεοπενία έως και στο 83% των ασθενών (17)(68)(143). Υπό τη θεραπεία η μείωση της BMD σχετίζεται ισχυρά με την ηλικία του ασθενούς, με την πιο σαφή μείωση BMD να παρατηρείται σε παιδιά μεγαλύτερα των 10 ετών (23). Με τη χρήση της υπερηχογραφίας της κνήμης σε 37 μη ακτινοβολημένους ασθενείς, σημαντική μείωση του SOS SD scores παρατηρήθηκε στους 6 πρώτους μήνες της αγωγής, η οποία παρέμεινε ανιχνεύσιμη στους 12,24,36 μήνες θεραπείας (7). Η μεγαλύτερη αλλαγή ήταν μεταξύ του χρόνου διάγνωσης και 6 μηνών θεραπείας, αλλά τα χαμηλότερα SOS SD scores βρέθηκαν

στους 24 μήνες, στο τέλος της αγωγής. Στην ολοκλήρωση της θεραπείας οι μη ακτινοβολημένοι ασθενείς παρουσίασαν μείωση στην BMD-TB (total body) κατά 84% και στη MBD-LS (lumbar spine) κατά 50% από τη BMD στη διάγνωση (75). Σε 32 ασθενείς, 6 μήνες από την έναρξη της χημειοθεραπείας 81.25% (26 ασθενείς) εμφάνισαν μείωση της BMD (151). Κατά τη διάρκεια της ΧΜΘ 40% (8/20) ασθενείς εμφάνισαν BMD z-score από -1.0 έως -2.5, δηλαδή οστεοπενία, η οποία ήταν εκσεσημασμένη σε 3 ασθενείς που είχαν υποβληθεί σε ακτινοβολία κρανίου (152), ενώ σε άλλη μελέτη αναφέρεται επίσης 39.5% (47/124) ασθενών με οστεοπενία αλλά και 8% (10/124) με οστεοπόρωση ( BMD z-score<-2.0) (146).

Στη μελέτη μας η ομάδα 2, με μέσο χρόνο εκτίμησης των ασθενών τα 2 περίπου χρόνια (22 μήνες) και έχοντας λάβει κορτικοστεροειδή που αντιστοιχούν σε 4.35 (0.9) g/m(2) πρεδνιζόνης, εμφάνισε περαιτέρω μείωση της οστικής πυκνότητας συγκριτικά με τη διάγνωση από  $-0.74 \pm 0.32$  σε  $-1.59 \pm 0.24$ , όμως η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική ( $p=.13$ ). Ποσοστό 25% (4/16) των ασθενών εμφάνισε BMD z-score <-2.0, το οποίο είναι από τα χαμηλότερα ποσοστά που έχουν περιγραφεί. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι δεν συμπεριελήφθησαν τα παιδιά με T-ΟΛΛ, ούτε ασθενείς με ακτινοβολία, ο μέσος όρος ηλικίας ήταν 5.8 έτη δηλαδή προεφηβικά παιδιά και σε όσα παιδιά διαπιστώσαμε παθολογικές τιμές οστικής πυκνότητας έλαβαν συμπληρωματικά ασβέστιο και βιταμίνη D.

### 3.ΜΕΤΑ ΤΟ ΤΕΛΟΣ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Πολλές μελέτες έχουν εκτιμήσει τη BMD σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας. Όσο απομακρυνόμαστε από το τέλος της χημειοθεραπείας τόσο παρατηρείται σημαντική αύξηση στη BMC (bone mineral content) τόσο στη σπονδυλική στήλη όσο και στο ισχίο (85)(150). Η τάση της BMD να αυξάνεται μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας έχει αναφερθεί σε ασθενείς που δεν έχουν υποβληθεί σε θεραπεία για οστεοπόρωση (75).

Σε 9 ασθενείς 1 έτος μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας μειωμένη BMD (<2SDS) διαπιστώθηκε σε 1/9 (11%) στην σπονδυλική στήλη και σε 4/9 (44%) στην ολοσωματική μέτρηση, πρακτικά δηλαδή η οστική πυκνότητα ήταν επηρεασμένη στους μισούς ασθενείς (118). Ανάλογα αποτελέσματα και σε 18 παιδιά με ΟΛΛ (5 υψηλού κινδύνου) σε περίπου το ίδιο χρονικό διάστημα (34 μήνες από τη διάγνωση) είχαν οστεοπενία 39%(7/18) και οστεοπόρωση 11%(2/18) με σημαντικότερο

παράγοντα την ηλικία (<10 ετών z-score:-0.14 ενώ >10 ετών z-score:-1.52) (95). Όμως μια πρόσφατη μελέτη σε 53 ασθενείς, χωρίς ακτινοβολία, με χρήση DXA και pQCT αποκάλυψε ότι με εξαίρεση την κερκίδα, η BMD είναι φυσιολογική ένα έτος μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας (20)(153). Δε διαπιστώθηκαν μακροχρόνιες επιπτώσεις στην οστική πυκνότητα με DXA ή US-κνήμης σε μια ομάδα 21 ασθενών και σε μία ομάδα 23 μη υψηλού κινδύνου και άρα μη ακτινοβοληθέντων ασθενών (25)(154). Όπως και η μελέτη σε 37 ασθενείς 3 έτη μετά την ολοκλήρωση της ΧΜΘ δείχνει πλήρη αποκατάσταση της ολοσωματικής BMD, όμως καταγράφεται ότι ως διαχωριστικό χρονικό όριο για την αποκατάσταση της οστικής πυκνότητας είναι να έχουν παρέλθει > 1.5 έτη από το τέλος της αγωγής (155). Μισό χρόνο παραπάνω δίνει ως περιθώριο άλλη μελέτη με 70 ασθενείς που κατέγραψε αύξηση της οστικής πυκνότητας μετά την παρέλευση 2 ετών από την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας, ενώ αναφέρει μειωμένη οστική πυκνότητα σε ποσοστό 85% (41% οστεοπενία, 44%οστεοπόρωση) (156). Σε άλλη μελέτη αναφέρεται ότι 21% των ασθενών 4 έτη μετά από τη θεραπεία είχαν BMD<1.645 SD, ένα ποσοστό σημαντικά υψηλότερο από το αναμενόμενο 5% για το φυσιολογικό πληθυσμό και 13% με BMD <-2.0SD, μετρημένο με QCT οσφυϊκής μοίρας (76). Σε μια χρονική στιγμή που τα παιδιά θα έπρεπε να έχουν αποκτήσει τη μέγιστη BMD , έχουν BMD κατά 68% χαμηλότερη από το μέσο όρο (76). Έντεκα έτη μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας σε ιαθέντες από ΟΛΛ (με ακτινοβολία 39/95) με ηλικία κάτω των 19 ετών υπήρχε σημαντική μείωση στη οσφυϊκή BMD , ενώ σε μεγαλύτερους ασθενείς βρέθηκαν χαμηλές τιμές BMD τόσο της σπονδυλικής στήλης όσο και όλου του σώματος (157). Αν και φαίνεται ότι μετά το τέλος της ΧΜΘ η ολοσωματική οστική πυκνότητα αποκαθίσταται η BMD του σπογγώδους οστού της σπονδυλικής στήλης (lumbar spine trabecular BMD) παραμένει μειωμένη για πολλά χρόνια (86)(158). Σε 74 ασθενείς με ΟΛΛ 24 έτη μετά τη διάγνωση καταγράφεται BMD z-score<-1.0 στο 24% των ασθενών, μόνο όμως 1 ασθενής με οστεοπόρωση, και παρά τα αναμενόμενα υπερτερούν οι άνδρες (159). Σε 662 επιβιώσαντες από ΟΛΛ, σε μέσο χρόνο 26.1 έτη από τη διάγνωση διαπιστώθηκε QCT BMD Z scores  $\leq$ -2 σε 34 ασθενείς (5.2 %) (160).

Από τη μελέτη BONEII σε παιδιά που επιβίωσαν από ΟΛΛ τουλάχιστον 5 έτη από την ολοκλήρωση της θεραπείας και δεν είχαν υποβληθεί σε ακτινοβολία, βρέθηκε με QCT και με DXA BMD z-score από 0 έως < -1.0 SD : 35%., από -1.0 έως -2.0 SD : 24% και <-2.0 SD : 7% των ασθενών (161).

Σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε ακτινοβολία ή μεταμόσχευση μυελού των οστών η επίδραση στην οστική μάζα είναι πιο εκσεσημασμένη. Οστεοπόρωση σε ποσοστά 24-50% των ασθενών αναφέρεται σε διάστημα 2 έως 12 μηνών μετά από αλλογενή μεταμόσχευση, ενώ άσηπτη νέκρωση στο 19% σε διάστημα 3 ετών μετά τη μεταμόσχευση (93).

Στους ασθενείς της μελέτης μας καταγράψαμε περαιτέρω πτώση στην οστική πυκνότητα σε BMD z-score:  $-2.03(\pm 0.27)$ , σε μέσο χρονικό διάστημα το ένα έτος (13 μήνες) από την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας και έχοντας λάβει κορτικοστεροειδή ανάλογα με  $5\text{g}/\text{m}^2$  πρεδνιζόνης. Στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρείται από την ομάδα 2, κάτι που ισχύει και στις υπόλοιπες μελέτες όπου έχουμε γενικά μία σταθεροποίηση και την έναρξη της αποκατάστασης της οστικής πυκνότητας. Στατιστικά σημαντική ( $p=0.022$ ) είναι η διαφορά από την ομάδα 1 στην ομάδα 3, επιβεβαιώνοντας την αρνητική επίδραση της χημειοθεραπείας αλλά και των υπολοίπων παραγόντων (ελαττωμένη κινητικότητα, πλημμελής έκθεση στον ήλιο, προβληματική σίτιση κ.α. ) που είναι συνεπακόλουθα της νόσου αλλά και της χορηγούμενης φαρμακευτικής αγωγής. Από τους ασθενείς της ομάδας 3 το 50% (5/10) παρουσίασαν BMD z-score  $<-2.0$  στην σπονδυλική στήλη, και αυτό πιθανά οφείλεται στο βραχύ χρονικό διάστημα από την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας.

Αν και φαίνεται ότι με τα νέα πρωτόκολλα οι περισσότεροι ασθενείς με ΟΛΛ θα αποκτήσουν τελικά φυσιολογική BMD μετά την παρέλευση περίπου 2 ετών από την ολοκλήρωση της θεραπείας τους, εντούτοις υπάρχουν κάποιοι προδιαθεσικοί παράγοντες για το αντίθετο όπως η ακτινοβολία κρανίου πάνω από 24Gy (86), η μεταμόσχευση μυελού των οστών (89,92,93), η συνολική δόση μεθοτρεξάτης  $>40.000\text{ mg}/\text{m}^2$ , η συνολική δόση κορτικοστεροειδών  $>9000\text{ mg}/\text{m}^2$  (22), η ηλικία  $>10$  ετών (95)(162), το άρρεν φύλο και η μειωμένη φυσική άσκηση (162), ο υπογοναδισμός και η ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης (163)(164). Με την πάροδο όμως των χρόνων, τον ολοένα και αυξανόμενο αριθμό των παιδιών που επιβιώνουν από την οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, τη συνεχόμενη βελτίωση της παρακολούθησης τους, τις καλύτερα σχεδιασμένες μελέτες και την εξατομίκευση της θεραπείας ακόμα και αυτοί οι παράγοντες τίθενται υπό αμφισβήτηση κάτω από τη διαπίστωση μιας φυσιολογικής οστικής πυκνότητας (165).

## ΚΑΤΑΓΜΑΤΑ & ΟΛΛ

Η συχνότητα καταγμάτων σε παιδιά που λαμβάνουν αγωγή για ΟΛΛ δεν είναι ακόμη γνωστή, καθώς μέχρι σήμερα ως επί το πλείστον υποδιαγιγνώσκονται. Με βάση τα δεδομένα της οστικής πυκνότητας που έχουν προαναφερθεί, το σημείο το οποίο εμφανίζει τη μεγαλύτερη μείωση είναι η σπονδυλική στήλη. Η πιο συνηθισμένη εντόπιση των καταγμάτων, για αυτό ακριβώς το λόγο, είναι η μεσοθωρακική περιοχή και η θωρακο-οσφυϊκή μοίρα της ΣΣ. Στο μεγαλύτερο ποσοστό έχουν σφηνοειδή διαμόρφωση, όπως και στους ενήλικες, λόγω των μηχανικών φορτίσεων που υποβάλλονται τα κυρτώματα της ΣΣ και εντυπωσιακά το 45% είναι ασυμπτωματικά (148). Σε μία σειρά 176 ασθενών (125 ALL-high –risk-protocol) 51 ασθενείς (29%) είχαν τουλάχιστον ένα κάταγμα σε ένα μέσο χρόνο 15 μηνών από τη διάγνωση της ΟΛΛ. Ποσοστό 46% αυτών συνέβη σε μακρά οστά, ενώ το άρρεν φύλο, ηλικία >9ετών και η χορήγηση δεξαμεθαζόνης αποτελούν παράγοντες αυξημένου κινδύνου για την εμφάνιση καταγμάτων (69). Κατάγματα σε ποσοστό 10% παρατηρήθηκαν στη διάγνωση, ενώ μόλις 5% παρουσίασαν BMD Z-score <-1.0 σε άλλη μελέτη (14). Σε 186 παιδιά μέσα στον πρώτο μήνα από τη διάγνωση διαπιστώθηκαν, με προληπτικό έλεγχο με ακτινογραφίες, συμπίεστικά κατάγματα της σπονδυλικής στήλης σε ποσοστό 16% και για κάθε μία SD μείωση της BMD της σπονδυλικής στήλης η επίπτωση για κάταγμα αυξάνεται κατά 80% . Τα παιδιά αυτά ανέφεραν άλγος κατά 36%(5/14) στις ήπιες μορφές ενώ στα μέτρια ή σοβαρά κατάγματα σε ποσοστό 73% (11/15), συνολικά δηλαδή μόνο τα μισά παιδιά (55%) ήταν συμπτωματικά, ενώ τα παιδιά χωρίς κάταγμα ανέφεραν άλγος στη ράχη κατά 20% (148). Άλλη μελέτη επίσης αναφέρει ότι 16% των ασθενών (5/32) είχαν ένα κάταγμα στη διάγνωση ή κατά τη διάρκεια της θεραπείας (84). Το ίδιο ποσοστό 16% (25/155) σε παιδιά με ΟΛΛ, κατά τη διάγνωση αναφέρει και τρίτη μελέτη, όπου οι ασθενείς παρουσίασαν συνολικά 61 κατάγματα στη σπονδυλική στήλη από τα οποία 32(52%) ήταν μέτρια ή σοβαρά. Στα άτομα αυτά σε επανέλεγχο μετά από 12 μήνες η παρουσία ενός κατάγατος αυξάνει την πιθανότητα ενός νέου κατάγατος κατά 7.3 (odds ratio of 7.3 , 95% CI, 2.3 to 23.1; P = .001). Επιπρόσθετα για κάθε μία σταθερή απόκλιση που υπολείπεται το BMD z-score στην σπονδυλική στήλη κατά τη διάγνωση, υπάρχει αύξηση της συχνότητας των καταγμάτων στους 12 μήνες κατά 1.8 φορές (166) .

Κατάγματα διαπιστώθηκαν σε 2 ασθενείς κατά τη διάρκεια της θεραπείας και σε 4 ασθενείς κατά το 1 έτος μετά την ολοκλήρωση της σε ομάδα 53 παιδιών που δεν υπεβλήθησαν σε ακτινοβολία (20). Επίσης σε 124 ασθενείς 23 εμφάνισαν κάταγμα (18.5%) κατά τη διάρκεια της ΧΜΘ με σημαντικότερους παράγοντες κινδύνου τη δεξαμεθαζόνη και τη χαμηλή BMD της σπονδυλικής στήλης (146). Με την ολοκλήρωση των 2 ετών αγωγής 39% των παιδιών εμφάνισαν κάταγμα (9). Σε ομάδα 23 μη ακτινοβοληθέντων μη υψηλού κινδύνου επιζώντων 39% είχαν την εμπειρία ενός κατάγματος κατά τη διάρκεια ή σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά τη χημειοθεραπεία (167). Η συχνότητα των καταγμάτων ήταν 2 φορές μεγαλύτερη σε ασθενείς που λάμβαναν θεραπεία ή είχαν σταματήσει τους τελευταίους 6 μήνες συγκριτικά με ασθενείς που βρίσκονταν εκτός θεραπείας > 6 μήνες (97). Η συχνότητα επίπτωσης των καταγμάτων ήταν υψηλότερη σε ασθενείς με BMD στα πλαίσια οστεοπενίας ( 18 αντί 8 κατάγματα ανά 100 person-years). Άλλη μελέτη αναφέρει 5/141 ασθενείς οι οποίοι είχαν ασυμπτωματικές διαταραχές συμπίεσης στα σπονδυλικά σώματα της οσφυϊκής μοίρας που ανευρέθησαν με QCT (76), ενώ και συμπτωματικά συμπίεστικά οστεοπορωτικά κατάγματα σπονδυλικής στήλης έχουν περιγραφεί στα πρώτα στάδια ΟΛΛ σε παιδιά (168)(169). Έχει ακόμη δημοσιευτεί 6 φορές υψηλότερος κίνδυνος καταγμάτων σε παιδιά με ΟΛΛ συγκριτικά με μάρτυρες, συμπεριλαμβανομένου ότι η αλλαγή στη BMD μπορεί να παίζει ρόλο περισσότερο από την απόλυτη τιμή της SDS, καθώς πιθανές μεταβολές στην ελαστικότητα και τη μικροαρχιτεκτονική των οστών δε μπορούν να εκτιμηθούν με τη DXA (75). Η χορήγηση γλυκοκορτικοειδών σχετίζεται ισχυρά με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καταγμάτων από τους πρώτους μήνες αγωγής λόγω μείωσης της οστικής μάζας, η οποία ανακτάται σταδιακά μετά τη διακοπή της θεραπείας, αλλά ο κίνδυνος κατάγματος μπορεί να μην επανέλθει ποτέ στα επίπεδα προ της χημειοθεραπείας. Οστεονέκρωση είναι μια ακόμη πιθανή επιπλοκή μετά το πρώτο έτος θεραπείας , συνήθως σε παιδιά >9 ετών αλλά με χαμηλότερη συχνότητα από τα κατάγματα σε ασθενείς (13/176 ασθενείς) με ΟΛΛ (69)(91).

Στη μελέτη μας δε διαπιστώθηκε κανένα κάταγμα στις ομάδες 1 και 2 καθώς επίσης κανένα παιδί δεν είχε κλινική συμπτωματολογία που να μας θέσει την υποψία κατάγματος και δεν έχει υιοθετηθεί προληπτικός έλεγχος με ακτινογραφίες. Μόνο στην ομάδα 3, ένα αγόρι 15 ετών 2 έτη μετά το τέλος της χημειοθεραπείας εμφάνισε κάταγμα ΔΕ πηχεοκαρπικής μετά από πτώση με φυσιολογική όμως οστική πυκνότητα.

## **B. ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ**

Οι δείκτες οστικού μεταβολισμού αποτελούν βιολογικούς παράγοντες που εκκρίνονται καθ' όλη τη διάρκεια της ημέρας και ο ρυθμός παραγωγής διαφέρει μέρα με την ημέρα αναλόγως της ισορροπίας μεταξύ σύνθεσης και αποδόμησης του οστίτη ιστού. Τα επίπεδα τους είναι συνήθως υψηλότερα το πρωί και οι τιμές τους στα ούρα μπορεί να ποικίλλουν έως και 30% κατά τη διάρκεια του 24ώρου. Ο προσδιορισμός τους ανάλογα με την τιμή της κρεατινίνης προσπάθησε να μειώσει αυτήν την ποικιλομορφία, αλλά πιθανά να αποτελεί κι αυτό άλλο ένα λόγο που επηρεάζει μη προβλεπόμενα το αποτέλεσμα (51)(170). Τα δείγματα αίματος συνήθως αφορούν πρωινή αιμοληψία με τον ασθενή νηστικό. Η σύγκριση των τιμών πρέπει να γίνεται με την ίδια μέθοδο ανάλυσης και κατά προτίμηση στο ίδιο εργαστήριο. Είναι πολύ σημαντικές οι συνθήκες συλλογής των δειγμάτων, μεταφοράς στο εργαστήριο, φυγοκέντρησης και αποθήκευσης που για τα περισσότερα δείγματα πρέπει να γίνεται <4 ωρών και σε κατάψυξη. Επιπλέον παράγοντες όπως η ηλικία και το φύλο, ιδιαίτερα για τα παιδιά, καθώς και η φυσική δραστηριότητα υπεισέρχονται ενεργά στον οστικό μεταβολισμό (171). Οι τιμές αναφοράς θα έπρεπε να είναι διαθέσιμες με βάση το φύλο και την ηλικία, κάτι που δεν είναι εφικτό ευρέως για τις μικρές ηλικίες.

Ακόμη και σήμερα η παγκόσμια κοινότητα δεν έχει καταλήξει ποιοι δείκτες οστικού μεταβολισμού είναι το “gold standard”, ώστε να χρησιμοποιούνται ευρέως από όλους. Πολλά θέματα της ανάλυσης όπως η βιολογική ποικιλομορφία, η σταθερότητα των μορίων, η έλλειψη κοινών τιμών αναφοράς καθιστούν προβληματική την εφαρμογή των δεικτών και επομένως είναι δύσκολο να συσταθούν σαφείς οδηγίες χρήσης τους. Οι τιμές αναφοράς δεν μπορούν μεμονωμένα να στηρίξουν την κρίση του κλινικού ιατρού και από αυτή την άποψη, η Ελάχιστη Σημαντική Μεταβολή (Least Significant Change - LSC) έχει προταθεί ως ένας τρόπος που θα βελτιώσει την ερμηνεία των αποτελεσμάτων. (37).

Βασική αρχική μέτρηση (baseline) με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις σε καθορισμένα σημεία της θεραπείας είναι αυτό που απαιτείται για τη σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Στη συνέχεια μόνο μείωση μεγαλύτερη από την ελάχιστη



σημαντική μεταβολή – LSC μπορεί να θεωρηθεί ως πιθανή βιολογική επίπτωση (172).

Πρόσφατες κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν ότι μείωση τουλάχιστον κατά 30% για τα επίπεδα στον ορό και 50%-60% για τα επίπεδα στα ούρα πρέπει να διαπιστωθεί για να θεωρηθεί ότι υπάρχει βιολογικό γεγονός (37). Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η διακύμανση των επιπέδων στο ίδιο άτομο είναι γύρω στο 10% για τον ορό και 30% για τα ούρα, αλλά η συσχέτιση με πραγματική μεταβολή είναι καλύτερη για τους δείκτες του ορού (51) για αυτό προτιμώνται οι μετρήσεις στον ορό για τον προσδιορισμό των ΔΟΜ. Η LSC για κάθε ΔΟΜ, πρέπει να καθοριστεί με ακρίβεια λαμβάνοντας υπόψη τις ιδιοσυστασιακές μεταβολές κάθε ατόμου αλλά και τις αποδεκτές μεταβολές μεταξύ διαφορετικών ατόμων.

Πιο ενδεδειγμένα για αυτόν τον τρόπο διερεύνησης του ασθενούς θεωρούνται τα επίπεδα στον ορό του CTX και s-PINP που δείχνουν ανταπόκριση στη θεραπεία και μικρή διακύμανση στον κάθε ασθενή. Έτσι ο προσδιορισμός τους με βάση την LSC θα επέτρεπε την αναγνώριση των ασθενών που ανταποκρίνονται στη θεραπεία (173)(174). Το οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης (bALP) θεωρείται ένας ενδιαφέρων δείκτης που προσδιορίζεται σε πολλά εργαστήρια, ενώ η Tartrate Resistant Acid Phosphatase band 5b (TRAP 5b) φαίνεται ένας πολλά υποσχόμενος δείκτης. Νέο δείκτη αποτελεί και το νατριουρητικό πεπτίδιο τύπου-C (CNP) που αποτελεί σημαντικό παράγοντα της οστικής ανάπτυξης μέσω των χόνδρων και μελετήθηκε πρόσφατα σε παιδιά με ΟΛΛ. Βρέθηκε ότι το αμινοτελικό προ-CNP (NTproCNP) ήταν σημαντικά κατασταλαμένο στη διάγνωση και στη φάση χημειοθεραπείας επαγωγής στην ύφεση. Κατά τη διάρκεια χορήγησης δεξαμεθαζόνης στη φάση της χημειοθεραπείας διατήρησης της ύφεσης παρουσιάζει πτώση και γρήγορη αποκατάσταση, χωρίς να συσχετίζεται με τα άλλα χημειοθεραπευτικά φάρμακα, και ίσως μελλοντικά να χρησιμοποιηθεί ως βιολογικός δείκτης για την οστική τοξικότητα των γλυκοκορτικοστεροειδών (175). Τα N-terminal propeptides of type I collagen (s-PINP) και beta-collagen 1 C-terminal cross linked telopeptides (s-CTX), δεδομένης της χαμηλής βιοποικιλότητας και της ευχερούς μέτρησης από αυτοματοποιημένα μηχανήματα έχουν προταθεί ως την εξέταση εκλογής σε μελλοντικές κλινικές μελέτες ώστε να ξεπεραστεί η σπανιότητα ομοιογενών στοιχείων αναφοράς και θα έπρεπε να χρησιμοποιούνται στην κοινή κλινική πράξη για να παρακολουθούμε την θεραπευτική αγωγή της οστεοπόρωσης (37). Πιο συγκεκριμένα εάν πρόκειται να χορηγηθεί αντιοστεοαπορροφητικός παράγοντας

(διφωσφονικά, ραλοξιφαίνη, καλσιτονίνη, οιστρογόνα, δενοζουμάμπη) προτιμάτε το serum-CTX, ενώ αν επιλεγεί αναβολικός παράγοντας (τεριπαρατίδη, άλατα στροντίου) η παρακολούθηση γίνεται με PINP στον ορό, παρά το ότι πρακτικά και τα δύο θα ακολουθήσουν ανάλογη πορεία πτώσης στην πρώτη περίπτωση ή ανόδου αντίστοιχα στη δεύτερη (176).

Τα δεδομένα που υπάρχουν σήμερα για τους δείκτες οστικού μεταβολισμού στα φυσιολογικά παιδιά, αν και περιορισμένα, δείχνουν ότι υπερτερεί η φάση του οστικού σχηματισμού έναντι της οστικής απορρόφησης (177)(178). Η μέτρηση των δεικτών οστικού μεταβολισμού στα παιδιά έχει αρκετές πρακτικές δυσκολίες. Οι μετρήσεις στον ορό (για την οστεοκαλσίνη, το C-προπεπτιδίο του κολλαγόνου, την αλκαλική φωσφατάση και το οστικό κλάσμα ALP) απαιτούν μία αιμοληψία που είναι σχετικά απλή διαδικασία και μπορεί να συνδυαστεί με κάποια από τις προγραμματισμένες αιμοληψίες του ασθενούς. Συχνά δε επειδή οι ασθενείς αυτοί φέρουν κεντρικό καθετήρα (τύπου Hickman) δεν είναι καν επώδυνη. Οι οστικοί μεταβολίτες όμως pyrilinks, D-pyrilinks και N-τελοπεπτιδίο απαιτούν τη συλλογή ούρων 24ώρου, διαδικασία πολύωρη και δύσκολη τεχνικά καθώς τα παιδιά συχνά χάνουν ουρήσεις ή χάνουν ποσότητα από την ούρηση. Επίσης σε φάσεις της νόσου που έχουν επιστρέψει στην καθημερινότητα τους και δε νοσηλεύονται, τα αναγκάζει να παραμείνουν σπίτι, συνήθως μία ημέρα από το Σαββατοκύριακο τους, ώστε να μη χάσουν το σχολείο τους, στερώντας πιθανά τη βόλτα με τους φίλους ή την οικογένεια τους, τη συμμετοχή τους σε κάποιο άθλημα ή άλλο χόμπι με αποτέλεσμα τα παιδιά με μεγάλη άρνηση να δέχονται να υποβληθούν στην όλη διαδικασία. Το αποτέλεσμα είναι πολλές φορές αναξιόπιστες συλλογές των ούρων, με ελλιπή όγκο που αναπόφευκτα οδηγεί σε λάθος συμπεράσματα.

Πέρα από τις δυσκολίες στη μέτρηση υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί και στη χρήση των ΔΟΜ. Το μεγαλύτερο μειονέκτημα είναι η μεγάλη διακύμανση των επιπέδων στο ίδιο άτομο. Κανένας δείκτης δεν είναι ειδικός για μία μόνο φάση του οστικού μεταβολισμού, δηλαδή να αντιπροσωπεύει μόνο την οστική σύνθεση ή μόνο την οστική απορρόφηση. Ένα παιδί με αυξημένο οστικό μεταβολισμό και καθυστέρηση ανάπτυξης μπορεί να έχει τα ίδια επίπεδα με ένα παιδί της ίδιας ηλικίας με φυσιολογικό ρυθμό ανάπτυξης (179). Η εκτίμηση των ΔΟΜ θα έπρεπε να είναι πιο σφαιρική και να περιλαμβάνει εκτός από τις ακριβείς μετρήσεις, την ηλικία, τον ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης και το στάδιο εφηβείας. Οι μελέτες με τιμές αναφοράς από παιδιατρικούς πληθυσμούς που έχουν δημοσιευτεί, αν και συνεχώς αυξάνεται ο

αριθμός τους, αφορούν επιλεκτικά κάποιους από τους δείκτες, σε μικρό αριθμό παιδιών ανά ηλικία, διαφορετικά δείγματα (πρώτη πρωινή ούρηση, δεύτερη πρωινή ούρηση, τυχαίο δείγμα ούρων, ούρα 24ώρου) , με νηστεία ή χωρίς, που δίνει ένα μεγάλο εύρος τιμών και καθιστά δύσκολη τη διάκριση του «παθολογικού» από το φυσιολογικό.

Σήμερα, σύμφωνα με τις οδηγίες του 2011 από το International Osteoporosis Foundation (IOF) και το International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) συστήνεται να χρησιμοποιείται ως δείκτης αναφοράς ένας δείκτης οστικού σχηματισμού (serum procollagen type I N propeptide, s-PINP) και ένας δείκτης οστικής απορρόφησης (serum C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen, s-CTX) ,οι δείκτες αυτοί να προσδιορίζονται με standardised assays σε μελέτες παρατήρησης και παρέμβασης ώστε να αυξηθεί η διεθνής εμπειρία της χρήσης αυτών των παραμέτρων στην καθημερινή κλινική πράξη και να ελαχιστοποιηθούν οι όποιες ανασφάλειες σχετικά με τη χρήση τους (180).

Πάντως οι μελέτες που ασχολούνται με τη χρησιμότητα των δεικτών οστικού μεταβολισμού, την τελευταία 15ετία τουλάχιστον, τείνουν να τους περιορίζουν μόνο στην παρακολούθηση των ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία για οστεοπόρωση, επειδή οι μεταβολές τους είναι ταχύτερες από τις μεταβολές της BMD, και δεν τους τοποθετούν στη φαρέτρα των διαγνωστικών εργαλείων (176).

## ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ & ΣΤΑΔΙΑ ΧΗΜΕΙΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Παρατηρήσαμε ότι όλες οι μετρήσεις οστεοκαλσίνης κατά τις πρώτες ημέρες ΧΜΘ δίνουν τιμές πολύ χαμηλές, οι οποίες διατηρούνται σε χαμηλά επίπεδα και στη φάση της χημειοθεραπείας, ενώ μετά τους 12 μήνες αγωγής οι τιμές αυξάνουν σε φυσιολογικά ή αυξημένα επίπεδα. Με βάση τις τιμές αναφοράς η μείωση στην ομάδα 1 στις περισσότερες περιπτώσεις είναι μεγαλύτερη του 50% από τις αναμενόμενες τιμές για την ηλικία και το φύλο. Στην ομάδα 2 η οστεοκαλσίνη αποκαθίσταται στα φυσιολογικά για την ηλικία επίπεδα και στην ομάδα 3 είναι σε φυσιολογικά ή και αυξημένα επίπεδα στο 50% των παιδιών , που αντικατοπτρίζουν την προσπάθεια αποκατάστασης της μεταβολικής οδού της οστικής σύνθεσης μετά την ίαση από τη λευχαιμία, καθώς και για μερικά από αυτά την έναρξη της εφηβείας. Είναι γνωστό ότι τα επίπεδα οστεοκαλσίνης αυξάνουν σε περιόδους ταχείας ανάπτυξης, όπως και κατά τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε παιδιά με ανεπάρκεια (181)(182).

Η αλκαλική φωσφατάση ακολουθεί την ίδια πορεία με την οστεοκαλσίνη. Στη διάγνωση τα επίπεδα είναι χαμηλότερα των αναμενόμενων τιμών για την ηλικία, το φύλο και την εποχή διενέργειας της μέτρησης. Στη φάση χημειοθεραπείας τα μισά παιδιά συνεχίζουν να έχουν χαμηλές τιμές ενώ τα άλλα μισά ανακτούν φυσιολογικές τιμές. Στις μετρήσεις μετά το τέλος της θεραπείας υπάρχουν φυσιολογικές ή ήπια αυξημένες τιμές.

Όσον αφορά στο οστικό κλάσμα της αλκαλικής φωσφατάσης στην ομάδα ασθενών στη διάγνωση βρέθηκε ιδιαίτερα χαμηλό οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης με μέση τιμή 39.8% (31%-55%) όταν οι αναμενόμενες φυσιολογικές τιμές στα παιδιά είναι 77%-89% (36). Στη διάρκεια της χημειοθεραπείας το οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης είχε άνοδο των επιπέδων ( μέση τιμή 53.7% (47%-58%) παραμένοντας όμως σε επίπεδα χαμηλότερα του φυσιολογικού. Μετά το τέλος της χημειοθεραπείας η μέση τιμή 57.5% (50%-77%) παρουσίασε περαιτέρω μικρή αύξηση. Παρά την συνεχόμενη αυξητική του πορεία πάντως οι ασθενείς μας δεν αποκατέστησαν πλήρως τα επίπεδα του οστικού κλάσματος της αλκαλικής φωσφατάσης ακόμη και μετά το τέλος της χημειοθεραπείας.

Φυσιολογικά συγκριτικά με τους ενήλικες τα επίπεδα του C-προπεπτιδίου του κολλαγόνου είναι σημαντικά αυξημένα στα παιδιά ηλικίας 0-14 ετών. Τα επίπεδα είναι σταθερά μέχρι την ηλικία των 10 ετών ενώ στην ηλικία 10-14 ετών, οπότε και συμβαίνει η εφηβεία, η μέση τιμή αυξάνεται αν και όχι σημαντικά λόγω της ποικιλομορφίας ανά άτομο. Τα επίπεδα σε όλες πάντως τις ηλικίες <14 ετών είναι σημαντικά μεγαλύτερες από των εφήβων 14-18 ετών, νέων ενηλίκων και ενηλίκων. Δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές σε συσχέτιση με το φύλο (41).

Στους ασθενείς της μελέτης μας οι δύο πρώτες ομάδες 1 και 2 αποτελούνται αποκλειστικά από άτομα <14 ετών, που όφειλαν σύμφωνα με τα διεθνή δεδομένα να έχουν υψηλά επίπεδα C-προπεπτιδίου του κολλαγόνου (PICP). Αυτό όμως που καταγράφηκε είναι μείωση της τάξεως του 65% με βάση τις αναμενόμενες φυσιολογικές τιμές για την ηλικία στην ομάδα 1 της διάγνωσης, και ακολουθεί επάνοδος σε πλήρως φυσιολογικά επίπεδα στην ομάδα 2 της χημειοθεραπείας. Μικρή πτώση παρατηρείται μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας αλλά παραμένει εντός φυσιολογικών επιπέδων. Η μικρή πτώση συμφωνεί με την φυσιολογική πτώση στα επίπεδα των ενηλίκων που συμβαίνει μετά την εφηβεία και η οποία συμβαίνει νωρίτερα στα κορίτσια (136).

Τα επίπεδα των D-Pyridinyls είναι 4-5 φορές υψηλότερα από των ενηλίκων στην προεφηβική ηλικία. Παρατηρείται μείωση με την πάροδο της ηλικίας με μία αιχμή στα πρώτα στάδια της εφηβείας. Τα κορίτσια έχουν υψηλότερα επίπεδα Pyg και Dryg στην έναρξη της εφηβείας (στάδιο 2 κατά Tanner), χωρίς διαφορές στα επόμενα στάδια και φθάνουν στα επίπεδα των ενηλίκων μετά την εφηβεία (137). Στην ομάδα 1 η παρατηρούμενη πτώση των επιπέδων είναι πάνω από το 50% , παρατηρείται τάση αποκατάστασης στην ομάδα 2 χωρίς όμως να φθάνει τα φυσιολογικά επίπεδα και στην ομάδα 3 μία νέα πτώση των επιπέδων. Το γεγονός ότι τα επίπεδα παραμένουν σταθερά κάτω από τις φυσιολογικές τιμές μπορεί να ερμηνευτεί από το ότι το κομμάτι της οστικής απορρόφησης δεν επανέρχεται γρήγορα σε φυσιολογικούς ρυθμούς προκειμένου να εξυπηρετήσει την ανάγκη του οργανισμού για αύξηση.

Από την άλλη το NTX, που είναι επίσης δείκτης οστικής απορρόφησης ακολουθεί την ίδια πορεία με τη διαφορά ότι οι τιμές που καταγράφονται είναι στα φυσιολογικά επίπεδα, στην ομάδα 1 προς τα κατώτερα φυσιολογικά επίπεδα που αποκαθίστανται στην ομάδα 2. Επειδή τα δείγματα των ασθενών μας αφορούν 24ώρες συλλογές ούρων -με το σκεπτικό ότι θα είχαμε πιο αξιόπιστα και αντικειμενικά αποτελέσματα παρακάμπτοντας την ημερήσια διακύμανση- όμως ακόμη και σήμερα για 24ωρες συλλογές ούρων δεν υπάρχουν τιμές αναφοράς στα παιδιά, η σύγκριση των τιμών έγινε με δύο διαφορετικές μελέτες, τη NHANES 2001-20002 και τις τιμές από 1100 παιδιά στις ΗΠΑ που αφορούν όμως μετρήσεις σε ένα δείγμα ούρων και σε διαφορετικές ώρες της ημέρας (139).

Τα επίπεδα NTX στα ούρα γενικά είναι υψηλότερα στα παιδιά ανεξαρτήτως φύλου από τους υγιείς ενήλικες. Οι μεγαλύτερες τιμές καταγράφονται τον πρώτο χρόνο ζωής (~2500 nM BCE /m.M Creatinine), ακολουθεί μείωση στην παιδική ηλικία, πάντα όμως σε επίπεδα πολλαπλάσια των ενηλίκων, και εμφανίζει ένα δεύτερο κύμα αιχμής στην εφηβεία, (στα κορίτσια στο στάδιο 2 και στα αγόρια στο στάδιο 5) (183).

Όσον αφορά στις τιμές της παραθορμόνης στη μελέτη μας εμφανίζουν μικρή αύξηση στην ομάδα 2 χωρίς όμως να φτάνουν σε παθολογικά επίπεδα σε καμία φάση της ΟΛΛ. Αντίστοιχη μελέτη 20 παιδιών από τη Β.Ελλάδα (3 με ακτινοβολία κρανίου), 2 έτη μετά τη διάγνωση, αναφέρει αυξημένες τιμές παραθορμόνης συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, αλλά εντός φυσιολογικών ορίων (152). Αν και οι περισσότερες μελέτες υποδεικνύουν φυσιολογικά επίπεδα παραθορμόνης, έχει

διατυπωθεί η υπόθεση ότι μπορεί τα ίδια τα λευχαιμικά κύτταρα να απελευθερώνουν παραθορμόνη ή να διηθούν το οστό και να εκκρίνουν πεπτίδια ανάλογα της παραθορμόνης (184,185). Ο υπερπαραθυρεοειδισμός κατά κανόνα αποτελεί επιπλοκή που εμφανίζεται σε αυξημένα ποσοστά σε ασθενείς στην ενήλικη ζωή που έχουν υποβληθεί σε ακτινοβολία τραχήλου ως παιδιά (91).

Από τη μελέτη μας παρατηρείται συνολικά κατά τη διάγνωση της ΟΛΛ, στην ομάδα 1, εκσεσημασμένη πτώση σε όλους τους δείκτες οστικού μεταβολισμού, είτε αυτοί αφορούν το σχηματισμό νέου οστού (OC, ALP, bone-ALP, PICP) είτε την αποδόμηση του (NTX, Dpyd) και μάλιστα σε ένα ποσοστό >50%. Πρακτικά ο οστικός μεταβολισμός αναστέλλεται προς όλες τις κατευθύνσεις καθώς ο οργανισμός προσπαθεί να ανταπεξέλθει στη επιθετική προσβολή των λευχαιμικών κυττάρων, σε μια ηλικία όπου φυσιολογικά αναμένεται αύξηση και ανάπτυξη του σκελετού, άρα πρακτικά αναστέλλεται η οστική σύνθεση.

Στη συνέχεια κατά τη φάση της χημειοθεραπείας στην ομάδα 2 διαφαίνεται σταδιακή αύξηση της τιμής των δεικτών οστικής σύνθεσης και οστικής αποδόμησης. Τα δείγματα έναρξης της αποκατάστασης του οστικού μεταβολισμού είναι εμφανή από τον 6<sup>ο</sup> μήνα χημειοθεραπείας, ενώ μετά τους 12 μήνες αρκετοί δείκτες (OC, ALP, PICP, NTX) αποκτούν φυσιολογικές ή και λίγο αυξημένες τιμές. Μόνο το οστικό κλάσμα ALP και τα Dpyd παρά το ότι εμφανίζουν ανοδική πορεία, παρουσιάζουν απόλυτες τιμές που παραμένουν κατώτερες των φυσιολογικών. Η αύξηση των επιπέδων των ΔΟΜ που καταγράφεται στην ομάδα 2 σηματοδοτεί την προσπάθεια του οργανισμού να καλύψει το οστικό έλλειμμα που τεκμηριώνεται με την πτώση της BMD ήδη στον 6<sup>ο</sup> μήνα χημειοθεραπείας και μετά την επίτευξη ύφεσης της νόσου. Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι δείκτες οστικού μεταβολισμού είναι πολύ πιο ευαίσθητοι και οι μεταβολές τους γίνονται εμφανείς πολύ πιο γρήγορα από τις μεταβολές της BMD. Το γεγονός ότι ενεργοποιούνται συγχρόνως και τα δύο μονοπάτια, του ανασχηματισμού αλλά και της αποδόμησης των οστών, μας επιβεβαιώνει την συνεχή αλληλεπίδραση των δύο αυτών διεργασιών, όπου οστικά κύτταρα και μεταβολίτες εμπλέκονται με κυκλωτερή τρόπο. Βέβαια δε γνωρίζουμε με ποια αναλογία ενεργοποιούνται οι δύο μηχανισμοί, ώστε στη φάση αυτή της χημειοθεραπείας το ισοζύγιο να είναι θετικό και να αποφέρει την αποκατάσταση της οστικής πυκνότητας ή να είναι αρνητικό και να οδηγήσει σε περαιτέρω μείωση της οστικής μάζας.

Στην ομάδα 3 η OC, η ALP και το οστικό κλάσμα ALP εμφανίζουν μια σταθερά ανοδική πορεία, αύξηση δηλαδή του οστικού ανασχηματισμού κάτι το οποίο αντικατοπτρίζεται με τη σταδιακή αποκατάσταση και της BMD μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας. Το PICP παραμένει πρακτικά σταθερό και εντός φυσιολογικών ορίων. Από την άλλη τα Dryd και το NTX εμφανίζουν πτώση των επιπέδων τους, που ίσως δικαιολογείται με τη μεγαλύτερη ηλικία των παιδιών της ομάδας 3 και την αναμενόμενη μείωση των ΔΟΜ όσο αφήνουν πίσω τους την εφηβεία προς τις χαμηλότερες τιμές της ενήλικου ζωής. Η διαφορά που προκύπτει ανάμεσα στην ανοδική πορεία των δεικτών οστικής σύνθεσης και την πτωτική πορεία των δεικτών οστικής απορρόφησης -που δεν είχε περιγραφεί έως τώρα στην βιβλιογραφία- είναι που οδηγεί τελικά στην ανάπτυξη του παιδικού οργανισμού.

Από τη διεθνή βιβλιογραφία διαπιστώνεται επίσης ότι οι δείκτες οστικού σχηματισμού είναι ελαττωμένοι κατά τη διάγνωση αλλά αυξημένοι κατά τη διάρκεια της θεραπείας (75)(118)(143)(144). Η οστεοκαλσίνη είναι επηρεασμένη στη διάγνωση στο 73%, η 1,25 διυδροξυβιταμίνη D3 είναι χαμηλή ενώ υπερασβεστιουρία τεκμηριώνεται σε ποσοστό 64% (68) (75) (144)(149). Οι οστεοκαλσίνη, PICP και ICTP βρέθηκαν μειωμένοι στη διάγνωση αλλά αυξημένοι μετά από 6 μήνες θεραπεία και παρέμειναν σταθεροί εφεξής (84). Άλλες μελέτες διαπιστώνουν αύξηση της ALP και της παραθορμόνης κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας (118)(152), ενώ άλλες -όπως και η δική μας μελέτη- χαμηλή οστεοκαλσίνη και τιμές παραθορμόνης με φυσιολογική διακύμανση σε όλα τα στάδια διάγνωσης και θεραπείας (147).

Οι μέσες τιμές 25OH-D3, 1,25(OH)2-D3, παραθορμόνη, οστεοκαλσίνη, Ca, P, Mg, δεοξυπυριδολίνης, δεν έδειξαν συσχέτιση με την ολοσωματική BMD-A Z-score (97). Καμία συσχέτιση μεταξύ ICTP, οστεοκαλσίνης και πραγματικής BMD δεν τεκμηριώθηκε σε μακροχρόνια επιβιώσαντες από ΟΛΛ, ενώ υπήρχε αρνητική συσχέτιση μεταξύ PICP και BMD (186). Δεν υπήρχε διαφορά σε ICTP και οστεοκαλσίνη ανάμεσα σε επιβιώσαντες από ΟΛΛ που είχαν υποβληθεί σε ακτινοβολία και της ομάδας ελέγχου (96). Πρόσφατα αναφέρθηκε ότι τα επίπεδα του ICTP εξαρτώνται από τον τύπο των λευχαιμικών κυττάρων και είναι υψηλότερα στην λευχαιμία από T-κύτταρα συγκριτικά με τα B-κύτταρα κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας (149). Καθώς οι δείκτες οστικού μεταβολισμού έχουν βρεθεί φυσιολογικοί σε ΟΛΛ-επιβιώσαντες σε 13-15 έτη παρακολούθησης, φαίνεται ότι ο οστικός μεταβολισμός αποκαθίσταται μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας (4).

Όσον αφορά τους δείκτες οστικού μεταβολισμού συνολικά στη μελέτη μας, καταγράφηκε μείωση των επιπέδων τους στη διάγνωση όταν ο οστικός μεταβολισμός στα παιδιά έχει κατασταλεί από τη βαριά νεοπλασματική νόσο. Παρατηρείται σταδιακή αποκατάσταση των τιμών τους μετά τον 6<sup>ο</sup> μήνα χημειοθεραπείας, συντομότερα όπως αναμενόταν από την αποκατάσταση της οστικής πυκνότητας που συνήθως αντικειμενικές μεταβολές της διαπιστώνονται με μετρήσεις ανά 1 με 2 έτη. Ενώ παρατηρείται ομαλοποίηση των τιμών, στους περισσότερους δείκτες, όσο το χρονικό διάστημα από την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας αυξάνεται. Μόνο το οστικό κλάσμα της αλκαλικής φωσφατάσης παρέμεινε σε αρκετά χαμηλά επίπεδα παρά την ανοδική του τάση και τα D-pyridinols, δηλαδή ένας δείκτης της οστικής σύνθεσης και ένας δείκτης της οστικής απορρόφησης.

## **Γ. ΘΕΡΑΠΕΙΑ**

Παρά τη μεγάλη εμπειρία που υπάρχει στους ενήλικες για τη χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης D, στα παιδιά είναι περιορισμένη η χρήση τους. Εκτός από περιπτώσεις με τεκμηριωμένη ανεπάρκεια βιταμίνης D ή ανεπαρκή πρόσληψη ασβεστίου διατροφικά, στις οποίες συστήνεται η φαρμακευτική κάλυψη του ασθενούς, γενικά, μέχρι πρόσφατα δεν υπήρχαν σαφείς συστάσεις για προληπτική χορήγηση αυτών των σκευασμάτων, παρά το ότι αυτό θα φαινόταν μια λογική προσέγγιση για τα παιδιά με μειωμένη οστική μάζα, ειδικά για την περίοδο της εφηβείας όπου υπάρχουν αρκετά στοιχεία (fair evidence) για συσχέτιση των επιπέδων 25(OH)D και μεταβολών στη BMD (111).

Θα μπορούσε κανένας να ισχυριστεί ότι η χορήγηση βιταμίνης D σε παιδιά με μειωμένη οστική μάζα που πάσχουν από ΟΛΛ θα έπρεπε να θεωρείται δεδομένη. Παρά το ότι κατά την έναρξη της μελέτης μας υπήρχαν ερωτηματικά ως προς τη δράση της βιταμίνης D στα λευχαιμικά κύτταρα, εντούτοις η τρέχουσα βιβλιογραφία συγκλίνει προς την προληπτική και για κάποιες νεοπλασίες και θεραπευτική δράση της (187,188)(189). Πιο συγκεκριμένα τεκμηριώθηκε μείωση >50% της οξείας λευχαιμίας σε άτομα με επίπεδα χοληκαλσιφερόλης 25(OH) >62.5 ng/mL, πέραν από τη μείωση που παρατηρήθηκε για καρκίνο του κρανίου/τραχήλου, οισοφάγου, παγκρέατος (190). Δυστυχώς πολύ λίγα στοιχεία υπάρχουν που να αποδεικνύουν εάν η χορήγηση ή όχι σκευασμάτων βιταμίνης D μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης



καρκίνου (110). Έχει όμως τεκμηριωθεί η συνεργική δράση της με διάφορα χημειοθεραπευτικά φάρμακα:

**Πίνακας 9:** Ενδυνάμωση (Potentiation) κυτταροτοξικών παραγόντων από την καλσιτριόλη

### Συνεργική δράση

<u>Πλατίνες</u>	<u>Ανθρακυκλίνες</u>
Carboplatin	Doxorubicin
Cisplatin	Mitoxantrone
<u>Ταξάνες</u>	<u>Αντιμεταβολίτες</u>
Docetaxel	Cytosine arabinoside
Paclitaxel	Gemcitabine
	5-fluorouracil
<u>Αναστολείς τοποισομερασών</u>	
Irinotecan	
Etoposide	

### Ανταγωνιστική δράση

carmustine (BCNU)

Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα της στην αποκατάσταση της μειωμένης οστικής πυκνότητας η χορήγηση καλσιτριόλης για ένα έτος σε πρόσφατα διαγνωσμένα παιδιά με ΟΛΛ δεν έδειξε ιδιαίτερη επίδραση στην οστική μάζα. Μεγαλύτερη αύξηση στην οσφυϊκή μοίρα παρατηρήθηκε σε παιδιά που είχαν τις χαμηλότερες τιμές αρχικής BMD και έλαβαν αγωγή (191).

Σχετικά με τους ασθενείς που ολοκληρώνουν επιτυχημένα τη χημειοθεραπεία τους οι μελέτες για τις διατροφικές τους συνήθειες είναι απογοητευτικές, μάλιστα παρουσιάζουν φθίνουσα πορεία με την πάροδο των ετών. Σε επιβιώσαντες από καρκίνο της παιδικής ηλικίας βρέθηκε ότι το 68% λάμβανε τις απαιτούμενες ποσότητες ασβεστίου και για ηλικίες >18 ετών το ποσοστό ήταν μόλις 57.6% (99), ενώ δεύτερη πιο πρόσφατη μελέτη σε αντίστοιχο πληθυσμό κατέγραψε πτώση των ποσοστών <30% τόσο για το ασβέστιο όσο και τη βιταμίνη D (100). Βέβαια, όσον αφορά στη συσχέτιση ασβεστίου, βιταμίνης D και BMD, υπάρχουν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι δεν τεκμηριώνουν συσχέτιση της πρόσληψης ασβεστίου με την τροφή με τη BMD (25, 97) ενώ άλλες

υποστηρίζουν ότι ο κύριος καθοριστικός παράγοντας για τη χαμηλή οστική πυκνότητα είναι η χαμηλή ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου (156).

Σε ένα πρόσφατο άρθρο υποστηρίζεται ότι η 25(OH)D αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αγγειογένεση, προάγει την κυτταρική ωρίμανση και προκαλεί απόπτωση των κυττάρων, δρώντας με αυτόν τον τρόπο προστατευτικά ως προς τον καρκίνο, σε επίπεδα όμως 25(OH)D 40-60 ng/ml (112). Σήμερα πάντως που η έκθεση στον ήλιο έχει περιοριστεί λόγω του προτύπου ζωής που ακολουθούμε και λόγω της καμπάνιας για το μελάνωμα του δέρματος και της ευρείας χρήσης των αντιηλιακών σκευασμάτων, η εξασφάλιση μέσω της διατροφής των ενδεδειγμένων ποσοτήτων για κάθε ηλικία καθίσταται αναγκαία (192).

Θεραπεία προτείνεται σήμερα για τα παιδιά με αποδεδειγμένα οστεοπορωτικά κατάγματα και θεωρείται ότι το μεγαλύτερο όφελος προσφέρουν τα διφωσφονικά. Παρά τη περιορισμένη χρήση τους το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο στα παιδιά είναι η παμιδρονάτη (σε δόση 2-15mg ανά kg ανά έτος) και αυτό που εκτιμάται θεραπευτικά είναι η μεταβολή στην οστική πυκνότητα και η μείωση του κινδύνου καταγμάτων (16). Σε μία καταγραφική μελέτη με χορήγηση παμιδρονάτης σε 30 παιδιά με μέτρια έως σοβαρή ατελή οστεογένεση παρατηρήθηκε μία μέση ετήσια αύξηση στη σπονδυλική στήλη της οστικής πυκνότητας κατά 42% και μείωση του κινδύνου κατάγματος κατά 1.7 ανά έτος (193). Σε μελέτη χορήγησης για 6 μήνες αλενδρονάτης σε ασθενείς με οστεοπόρωση κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας διατήρησης της ύφεσης για ΟΛΛ παρατηρήθηκε αύξηση της areal BMD z-score κατά +0.64 σε 14 από τους 15 ασθενείς (194). Σε άλλη μελέτη με ασθενείς με ΟΛΛ ή μη Hodgkin λέμφωμα κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας διατήρησης της ύφεσης και χορήγηση για 6 μήνες αλενδρονάτης διαπιστώθηκε αύξηση στην ολοσωματική BMC κατά +0.49 σε 7/9 ασθενείς (195). Σε μία ανασκόπηση (1949-2008) αλλά με μόλις 4 κλινικές μελέτες και 2 περιστατικά με χρήση διφωσφονικών σε παιδιά με ΟΛΛ και μη Hodgkin λέμφωμα διαπιστώθηκε ευεργετική επίδραση τους στην αύξηση της οστικής πυκνότητας με καλή ανοχή (196). Καλή ανοχή και αύξηση της οστικής πυκνότητας της σπονδυλικής στήλης κατά  $1.88SD \pm 1.24$  αναφέρεται μετά από χορήγηση zoledronic acid ανά 3μηνο για 2 έτη σε παιδιά με δευτεροπαθή οστεοπόρωση ποικίλης αιτιολογίας και κατάγματα (197).

Η χρήση των διφωσφονικών στην οστεονέκρωση δεν έχει τεκμηριωθεί. Σε μελέτες ολιγάριθμων ασθενών με οστεονέκρωση και χορήγηση αλενδρονάτης ή παμιδρονάτης καταγράφηκε μόνο παρηγορητική δράση από τον πόνο και βελτίωση

της μυοσκελετικής λειτουργικότητας, αλλά δεν τεκμηριώθηκε ακτινολογική βελτίωση, ούτε η χρήση των διφωσφονικών απέτρεψε την καταστροφή του οστού και την αποδόμηση των συνδέσμων (198)(199).

Δεν υπάρχουν στοιχεία ότι τα διφωσφονικά επηρεάζουν μακροχρόνια την ανάπτυξη των μακρών οστών, αν και απέκκριση τους στα ούρα ανευρίσκεται ακόμη και 8 έτη μετά τη διακοπή τους (200). Ακριβώς αυτή η μακροχρόνια παραμονή τους στον ανθρώπινο οργανισμό είναι που συντηρεί τις επιφυλάξεις για τη χορήγηση τους στα παιδιά που αποτελούν εν δυνάμει μέλλοντες γονείς με άγνωστες συνέπειες για το έμβρυο (130). Προς το παρόν πάντως δεν συστήνονται ως “standard therapy” για τη δευτεροπαθή οστεοπόρωση των παιδιών παρά μόνο σε παιδιά με σοβαρή συμπτωματολογία (πόνος και κατάγματα) ως μέτρο ανακούφισης (129) (201).

Η διαπίστωση ότι τα παιδιά με ΟΛΛ με τα σύγχρονα πρωτόκολλα χημειοθεραπευτικής αγωγής έχουν υπολειπόμενη οστική πυκνότητα ουσιαστικά μόνο κατά τη διάρκεια της θεραπείας και για μικρό χρονικό διάστημα (~2 έτη) στη συνέχεια, μας απομακρύνει από την αναγκαιότητα μεγάλων θεραπευτικών παρεμβάσεων για την οστεοπόρωση. Παθολογική οστική πυκνότητα στην ενήλικη ζωή θα διατηρήσουν μόνο τα παιδιά με συγκεκριμένους προδιαθεσικούς παράγοντες (κυρίως ο υπογοναδισμός και αν η χρονική περίοδος νόσησης της λευχαιμίας συμπίπτει με την περίοδο της εφηβείας, όπου φυσιολογικά αναμένεται η μεγάλη αύξηση της οστικής μάζας) (98).

Υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί στην παρούσα μελέτη. Καταρχάς είναι ο μικρός αριθμός του δείγματος των ασθενών καθώς και η έλλειψη τιμών BMD z-score για τον Ελληνικό πληθυσμό. Σύμφωνα πάντως με τις επίσημες οδηγίες του WHO, τα υγιή παιδιά από διαφορετικές χώρες που αναπτύσσονται σε υγιές περιβάλλον και ακολουθούν τις οδηγίες διατροφής και θηλασμού που έχουν συστηθεί έχουν εκπληκτικά όμοιες καμπύλες ανάπτυξης (204). Έτσι χρησιμοποιήσαμε ως τιμές αναφοράς μετρήσεις από παιδιά άλλων χωρών, θεωρώντας ότι οι αποκλίσεις θα ήταν μικρότερες αν επρόκειτο για Νοτιο-ευρωπαίους ή Μεσογειακούς πληθυσμούς. Επίσης οι μετρήσεις με DEXA δεν παρέχουν τρισδιάστατες πληροφορίες για το οστό, όπως η QCT (quantitative computerized tomography) ,όμως είναι μία απλούστερη μέθοδος, γρήγορη, εύκολα αποδεκτή από τα παιδιά, με μικρότερο κόστος και το σημαντικότερο χωρίς την ακτινοβολία που απαιτεί η αξονική τομογραφία. Όσον αφορά στους δείκτες οστικού μεταβολισμού οι μετρήσεις έγιναν με πολλές τεχνικές

δυσκολίες (ιδίως στις 24ώρες συλλογές ούρων), ως τιμές αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν τιμές από άλλες χώρες, συχνά διαφορετικές ανά δείκτη και ο αριθμός των παιδιών για τα οποία τελικά επιτεύχθηκαν οι μετρήσεις είναι μικρός για να διεξάγει κανείς ασφαλή συμπεράσματα. Παρά τους ανωτέρω περιορισμούς είναι σημαντικό το ότι η ανωτέρω μελέτη διεξήχθη σε έναν ομοιογενή αριθμό παιδιών με ίδια εθνικότητα, ίδια νόσο (ΟΛΛ), που έλαβαν το ίδιο πρωτόκολλο θεραπείας

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η επίδραση της ίδιας της λευχαιμίας αλλά και της θεραπείας στο οστό οδηγεί σε διαταραχή του οστικού μεταβολισμού (7). Η εξέταση εκλογής παραμένει η μέτρηση οστικής πυκνότητας με DEXA, η οποία χαρακτηρίζεται ως η «state-of-the-art» τεχνική για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης (203). Σύμφωνα με τις συστάσεις του International Society for Clinical Densitometry η αξιολόγηση στα παιδιά οφείλει να γίνεται με βάση το ανάλογο με την ηλικία BMD z-score και όταν η τιμή είναι <-2 να θεωρείται ως χαμηλή τιμή για την ηλικία του ασθενούς. Στην παρούσα μελέτη 17% των ασθενών με ΟΛΛ παρουσίασαν BMD z-score <-2 κατά τους πρώτους δύο μήνες από τη διάγνωση τους καθώς και μια σημαντική καταστολή του οστικού τους μεταβολισμού όπως φάνηκε από τις μετρήσεις των αντίστοιχων δεικτών οστικής σύνθεσης και οστικής απορρόφησης. Κατά τη διάρκεια της χημειοθεραπείας μία περαιτέρω μείωση της οστικής πυκνότητας παρατηρήθηκε και 25% των ασθενών παρουσίασε BMD z-score <-2, ενώ ο οστικός μεταβολισμός ξεκινάει να ανακάμπτει. Ένα έτος μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας οι μισοί περίπου από τους ασθενείς εμφάνισαν περαιτέρω μείωση της οστικής πυκνότητας και το 50% των ασθενών παρουσίασε BMD z-score <-2, όμως ήδη η πλειοψηφία των ασθενών έχει ανακτήσει φυσιολογικό οστικό μεταβολισμό που μακροπρόθεσμα δείχνει την επερχόμενη αποκατάσταση που λογικά αναμένεται και στην οστική πυκνότητα με την πάροδο μεγαλύτερου χρονικού διαστήματος. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνουν την ανάγκη για παρακολούθηση των παραμέτρων του οστικού μεταβολισμού κατά τη διάρκεια της θεραπευτικής αγωγής στα παιδιά με ΟΛΛ αλλά και μετά την αποθεραπεία τους, ώστε να τα προφυλάξουμε από πιθανές επιπλοκές. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία το κρίσιμο χρονικό διάστημα είναι τα δύο πρώτα χρόνια μετά το τέλος της χημειοθεραπείας, ενώ εφόσον δεν παρίστανται συγκεκριμένοι επιβαρυντικοί παράγοντες, στη συνέχεια ακολουθεί αποκατάσταση της οστικής

πυκνότητας. Στους ασθενείς μας δεν τεκμηριώθηκαν οι ενδείξεις για χορήγηση διφωσφονικών σε κανένα ασθενή, ενώ η χορήγηση ασβεστίου και βιταμίνης D εφαρμόστηκε σε περιορισμένο αριθμό ανά ομάδα ώστε να μη μας παρέχει τη δυνατότητα να εξάγουμε ασφαλή συμπεράσματα για την αποτελεσματικότητά τους.

Η μελέτη αυτή ανέδειξε την αρνητική επίπτωση της ΟΛΛ και της θεραπευτικής αγωγής στο μεταβολισμό των οστών κατά την παιδική και εφηβική ηλικία και αποτελεί το πρώτο βήμα για την μακροχρόνια παρακολούθηση αυτών των ασθενών και την πρόληψη απώτερων επιπλοκών στην ενήλικη ζωή.

## **6. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ**

Κατά τη διάρκεια της παιδικής και εφηβικής ηλικίας επιτελείται φυσιολογικά αύξηση της οστικής πυκνότητας με τελικό αποτέλεσμα τη μέγιστη οστική μάζα κατά τη δεύτερη ή τρίτη δεκαετία της ζωής. Οποιοσδήποτε παράγοντας υπεισέρχεται στον οστικό μεταβολισμό κατά την κρίσιμη αυτή χρονική περίοδο μπορεί να επιφέρει μόνιμες και μη ανατασσόμενες μεταβολές στο σκελετό με απότοκο μείωση της ποιότητας ζωής στον ενήλικα. Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία είτε ως νόσος με λεμφοβλαστική διήθηση των οστών, είτε λόγω της απαιτούμενης αγωγής (χημειοθεραπεία, ακτινοβολία, μεταμόσχευση μυελού των οστών), είτε λόγω των ορμονικών και διατροφικών διαταραχών που την συνοδεύουν, καθώς και του περιορισμού της φυσιολογικής παιδικής δραστηριότητας επιδρά άμεσα στη φυσιολογική ανάπτυξη των οστών. Επειδή κατά τη διάρκεια της εφηβείας αποκτάται το 40% της οστικής μάζας και με το τέλος της εφηβείας έχει αποκτηθεί το 90% της οστικής μάζας του ενήλικα, είναι κριτικής σημασίας η πρόληψη και η θεραπευτική παρέμβαση μας κατά την παιδική και εφηβική ηλικία (8). Επίσης λόγω της αυξανόμενης διαπίστωσης για κατάγματα της σπονδυλικής στήλης από τη στιγμή της διάγνωσης της ΟΛΛ, που διαλάθουν διαγνωστικής επιβεβαίωσης και δυνητικά μπορεί να προκαλέσουν πολύ σοβαρές επιπλοκές, οφείλουμε να εντείνουμε την προσοχή μας στο σκελετικό σύστημα των μικρών μας ασθενών.

Βέβαια στην γενικευμένη πεποίθηση ότι η οστική μάζα που αποκτάται στη διάρκεια της παιδικής ηλικίας αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την κορυφαία οστική μάζα στην ενήλικη ζωή και επομένως για τη πιθανή ανάπτυξη οστεοπόρωσης, υπάρχει και η αντίθετη εν μέρει άποψη, κατά την οποία η οστική μάζα καθορίζεται

από ένα σύστημα ομοιόστασης τέτοιο ώστε υπάρχει ένα συγκεκριμένο σημείο αναφοράς (set point) στο οποίο τείνει να επιστρέφει έπειτα από κάθε διαταραχή στην οποία υποβάλλεται, επομένως μόνο οι πρόσφατες συνθήκες είναι αυτές που πραγματικά έχουν σημασία και όχι γεγονότα που έχουν συμβεί χρόνια πριν. Σε πειράματα σε animal model διαπιστώθηκε ότι καμία συσχέτιση δεν υπάρχει ανάμεσα στην οστική μάζα που αποκτάται στην παιδική ηλικία με την τελική οστική μάζα του ενήλικα καθώς με τη συνεχή διαδικασία του «bone remodeling» πρακτικά όλος ο σκελετός έχει αντικατασταθεί μετά από δεκαετίες (202). Ίσως λοιπόν να έχουμε απλώς την υποχρέωση να *διαφυλάξουμε την ακεραιότητα των παιδικών οστών μόνο για μερικά χρόνια*, όπως άλλωστε φαίνεται από την αποκατάσταση της οστικής πυκνότητας με την χρονική απομάκρυνση από τη διάγνωση και τη θεραπεία της λευχαιμίας.

Από τη στιγμή που σήμερα έχουμε στη διάθεση μας εξαιρετικά πρωτόκολλα χημειοθεραπείας που μας επιτρέπουν την ίαση από την ΟΛΛ σε ποσοστό από 72.1% έως και 93.5% (1), η ιατρική κοινότητα έχει στρέψει το βλέμμα της στην ποιότητα ζωής που προσφέρουμε στους επιβιώσαντες και στα μέτρα αποκατάστασης ή ακόμη καλύτερα στα μέτρα πρόληψης των απώτερων επιπλοκών. Πολλαπλές μελέτες έχουν αντιμετωπίσει το δίλλημα εάν η ελαττωμένη οστική πυκνότητα στους ασθενείς με ΟΛΛ οφείλεται σε επηρεασμένη οστική ανάπτυξη κατά την περίοδο της θεραπείας ή εάν οφείλεται σε μία μόνιμη μετατροπή του οστικού μεταβολισμού (4). Στις μέρες μας υπάρχει μια γενική ομοφωνία στο ότι ο οστικός μεταβολισμός επηρεάζεται στους ασθενείς με ΟΛΛ και ότι μέθοδος εκλογής για την εκτίμηση της σύστασης των οστών είναι η DXA. Θα έπρεπε να καθορίσουμε *κριτήρια για να αναγνωρίζουμε τους ασθενείς υψηλού κινδύνου για χαμηλή BMD* σύμφωνα με την ηλικία κατά τη διάγνωση, τη συνολική δόση των χημειοθεραπευτικών παραγόντων (22), ακτινοβολία κρανίου /σπονδυλικής στήλης / όρχεων, BMD Z-score<-2.0 και τη παρουσία καταγμάτων ή οστεονέκρωσης. Θα έπρεπε να τεθεί υπό διερεύνηση η δυνατότητα να δημιουργηθεί

*κάποιος αλγόριθμος για την έγκαιρη ανίχνευση ασυμπτωματικών καταγμάτων της σπονδυλικής στήλης.* Υπάρχουν ακόμα πολλά ερωτήματα σχετικά με το *ποιος είναι ο σωστός χρόνος για να διενεργηθεί η εκτίμηση της κατάστασης των οστών* στους ασθενείς με ΟΛΛ και σχετικά με την *ανάγκη θεραπείας σε χαμηλή BMD* που μετρήθηκε κατά τη διάγνωση ή κατά η διάρκεια της χημειοθεραπείας. Αυτή είναι μία πολύ δύσκολη απόφαση καθώς υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία για τα *φάρμακα της*

οστεοπόρωσης στα παιδιά καθώς και για πιθανή αλληλεπίδραση τους με τους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες που χρησιμοποιούνται στα πρωτόκολλα της ΟΛΛ. Επίσης χρειαζόμαστε περαιτέρω μελέτες για να καθορίσουμε το χρόνο μετά την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας που αναμένεται να αποκατασταθεί η οστική πυκνότητα. « Ο τελικός στόχος είναι να επιτύχουμε τη μέγιστη δυνατή οστική μάζα, και αυτό είναι η καλύτερη πρόληψη για την ανάπτυξη οστεοπόρωσης στη μετέπειτα ζωή» (7), ώστε η φυσιολογική οστική απώλεια που είναι αναμενόμενη με την πάροδο των χρόνων να μην οδηγήσει σε σοβαρή οστεοπόρωση και στο αρνητικό αντίκτυπο που αυτή έχει στην ποιότητα ζωής.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) αποτελεί τον πιο κοινό παιδιατρικό καρκίνο αλλά η επιβίωση σήμερα αγγίζει ποσοστά >80%. Ως μία από τις σημαντικότερες όμως ανεπιθύμητες ενέργειες της θεραπείας αλλά και της ίδιας της νόσου αναγνωρίζεται η διαταραχή της οστικής μάζας. Η εκτίμηση του οστικού μεταβολισμού γίνεται με απεικονιστικές και βιοχημικές παραμέτρους. Η εξέταση εκλογής για την απεικόνιση παραμένει η μέτρηση οστικής πυκνότητας με DEXA, η αξιολόγηση στα παιδιά οφείλει να γίνεται με βάση το ανάλογο με την ηλικία BMD z-score και όταν η τιμή είναι <-2 να θεωρείται ως χαμηλή τιμή για την ηλικία του ασθενούς. Από τις βιοχημικές παραμέτρους οι πιο βασικοί είναι οι δείκτες οστικού μεταβολισμού (ΔΟΜ) που διακρίνονται σε δείκτες οστικού ανασχηματισμού και δείκτες οστικής απορρόφησης.

Ως οστεοπόρωση κλινικά ορίζεται η ελάττωση της οστικής πυκνότητας, σε βαθμό τέτοιο που ακόμη και φυσιολογικές κινήσεις ή φορτίσεις των οστών να προκαλούν κατάγματα. Η διάγνωση της οστεοπόρωσης στα παιδιά απαιτεί την παρουσία και κλινικά σημαντικού ιστορικού καταγμάτων και παράλληλα χαμηλή τιμή BMC ή BMD.

Η φαρμακευτική αγωγή που σήμερα αφορά στη θεραπεία της οστεοπόρωσης περιλαμβάνει τα αντι-οστεοαπορροφητικά φάρμακα που μειώνουν τη δράση των οστεοκλαστών και τα οστεοπαραγωγά φάρμακα που αυξάνουν τη δραστηριότητα των οστεοβλαστών. Ως συμπληρωματική αγωγή στα παραπάνω σκευάσματα χρησιμοποιούνται το ασβέστιο και η βιταμίνη D. Λίγα δεδομένα όμως είναι διαθέσιμα που αφορούν στις ενδείξεις θεραπείας όταν ένα παιδί έχει ελαττωμένη οστική πυκνότητα ή ακόμη παραπέρα εάν έχει υποστεί ένα κάταγμα και πιο δύσκολη η επιλογή της φαρμακευτικής αγωγής καθώς δεν υπάρχει μακρόχρονη εμπειρία.

Ο πληθυσμός της παρούσας μελέτης αποτελείται από 36 παιδιά με ΟΛΛ τα οποία έλαβαν θεραπεία σύμφωνα με το πρωτόκολλο ALL-BFM. Οι ασθενείς μελετήθηκαν σε τρεις ομάδες: 1) νεοδιαγνωσθέντες, 2) ασθενείς που λάμβαναν χημειοθεραπεία για τουλάχιστον 12 μήνες και 3) ασθενείς που ολοκλήρωσαν το θεραπευτικό πρωτόκολλο σε < 4 χρόνια από την έναρξη της μελέτης. Η



παρακολούθηση αφορούσε κλινικές παραμέτρους και εργαστηριακές παραμέτρους με ειδικές βιοχημικές εξετάσεις του οστικού μεταβολισμού στον ορό (ALP - οστικό κλάσμα, οστεοκαλσίνη, C-προπεπτίδιο του κολλαγόνου-I, PTH) και στα ούρα 24ώρου (NTX, Pyrilinks, D-pyrilinks). Ο απεικονιστικός έλεγχος της οστικής πυκνότητας έγινε στην οσφυϊκή μοίρα ΣΣ με τη μέθοδο DEXA και η εκτίμηση έγινε με βάση το z-score.

Η αθροιστική δόση κορτικοστεροειδών ως ανάλογο πρεδνιζόνης ήταν σταδιακά αυξανόμενη από 0.8 σε 4.3 και 5 g/m<sup>2</sup> αντίστοιχα για τις ομάδες 1, 2 και 3. Κανένας ασθενής με μειωμένη BMD δεν εμφάνισε οστικό κάταγμα κατά τη διάρκεια της μελέτης. Καταγράφηκε όμως μια σταδιακή μείωση της οστικής πυκνότητας (BMD z-score) από την ομάδα 1 (-0.74), στην ομάδα 2 (-1.59) και στην ομάδα 3 (-2.03). Η διαφορά αυτή είναι στατιστικά σημαντική ( $p=.022$ ) ανάμεσα στην ομάδα 1 και στην ομάδα 3, ενώ δεν είναι στατιστικά σημαντική ανάμεσα στην ομάδα 1 και 2 ( $p=.13$ ), ούτε στην ομάδα 2 και 3 ( $p=.25$ ). Παρά το μικρό αριθμό των ασθενών, το ποσοστό των ασθενών που παρουσιάζει σημαντική μείωση της οστικής πυκνότητας (BMD z-score < -2 ) αυξάνεται από 17% (n=3) στην ομάδα 1 σε 25% (n=4) στην ομάδα 2 και σε 50% (n=5) στην ομάδα 3.

Συνολικά από τους 36 ασθενείς μας, αξιόπιστα αποτελέσματα από τους δείκτες οστικού μεταβολισμού είχαμε σε 26 ασθενείς. Καταγράφηκε μείωση των επιπέδων τους στη διάγνωση όταν ο οστικός μεταβολισμός στα παιδιά έχει κατασταλεί από τη βαριά νεοπλασματική νόσο. Παρατηρείται σταδιακή αποκατάσταση των τιμών τους μετά τον 6<sup>ο</sup> μήνα χημειοθεραπείας, συντομότερα όπως αναμενόταν από την αποκατάσταση της οστικής πυκνότητας που συνήθως αντικειμενικές μεταβολές της διαπιστώνονται με μετρήσεις ανά 1 με 2 έτη. Επίσης παρατηρείται ομαλοποίηση των τιμών, στους περισσότερους δείκτες, όσο το χρονικό διάστημα από την ολοκλήρωση της χημειοθεραπείας αυξάνεται. Μόνο το οστικό κλάσμα της αλκαλικής φωσφατάσης παρέμεινε σε αρκετά χαμηλά επίπεδα παρά την ανοδική του τάση και τα D-pyrilinks, δηλαδή ένας δείκτης της οστικής σύνθεσης και ένας δείκτης της οστικής απορρόφησης.

Στους ασθενείς με Z-score < -1.0 χορηγήθηκε ως θεραπεία μόνο ασβέστιο στην ομάδα 1 ενώ στην ομάδα 2 και 3 ασβέστιο και βιταμίνη D, όμως παρά τη σαφή βελτίωση που διαπιστώθηκε σε όλους τους ασθενείς, ο αριθμός (n=7) δεν είναι επαρκής για να τεκμηριώσουμε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Στον αρχικό σχεδιασμό της μελέτης προβλεπόταν και η χορήγηση

διφωσφονικών, με κριτήριο χορήγησης BMD Z-score <-2.5. Αυτό τελικά δεν εφαρμόστηκε γιατί: α) δεν υπήρχε κανένα παιδί με BMD Z-score <-2.5, β) δεν τεκμηριώθηκε κάταγμα σε κανένα παιδί με ελαττωμένη BMD και γ) ήταν εμφανής η μειωμένη επίδραση στην οστική πυκνότητα των νεότερων, λιγότερο τοξικών πρωτοκόλλων χημειοθεραπείας.

Η εκτίμηση της οστικής υγείας των παιδιών που επιβιώνουν από ΟΛΛ είναι πολύ σημαντικό να λαμβάνει χώρα στο σωστό χρόνο, με τις πιο ακριβείς διαθέσιμες μεθόδους ώστε να είναι εφικτή όχι μόνο η αποκατάσταση των διαταραχών αλλά και η πρόληψη τους. Με αυτό ακριβώς το στόχο σχεδιάστηκε η μελέτη αυτή αποσκοπώντας στην έγκαιρη διάγνωση της απώλειας οστικής μάζας, ώστε να δημιουργηθεί μια βάση αναφοράς για παρακολούθηση, θεραπευτική παρέμβαση αλλά κυρίως το σχεδιασμό πρωτοκόλλων πρόληψης περαιτέρω επιπλοκών που αφορούν στην υγεία του σκελετού σε μία ευαίσθητη αλλά και κρίσιμη ηλικία ανάπτυξης

## SUMMARY

Acute lymphoblastic leukemia is the most common pediatric cancer and the survival rates today reaches > 80%. Disorder of bone mass is recognized as one of the most important side effects of treatment and the disease itself. The assessment of bone metabolism is taking place by imaging and biochemical parameters. The test of choice for imaging remains the measurement of bone density by DEXA, the assessment in children should be based according to age BMD z-score and when the value is <-2 to be considered as low value for the patient's age. From the biochemical parameters the most basic are markers of bone metabolism (IOM), which are divided into markers of bone formation and markers of bone resorption.

Clinically osteoporosis is defined as a reduction in bone mineral density to such an extent that even normal movements or loads can cause bone fractures. The diagnosis of osteoporosis in children requires the presence of clinically significant fracture history and low BMC or BMD.

The medications currently on treatment of osteoporosis include antiresorptive agents that reduce the activity of osteoclasts and anabolic agents that increase the activity of osteoblasts. As an adjunct to the above formulations calcium and vitamin D are used. Few data are available concerning the treatment indication when a child has reduced bone density or even further if a fracture has occurred, more over choice of medication is extremely difficult as there is no long-term experience.

The population of our study comprised of 36 children with ALL who were treated according to protocol ALL-BFM. Patients were studied in three groups: 1) newly-diagnosed, 2) patients receiving chemotherapy for at least 12 months and 3) patients completed chemotherapy at <4 years from initiation of the study. Monitoring was based on clinical parameters and laboratory parameters with specific biochemical tests of bone metabolism in serum (ALP - bone ALP, osteocalcin, C-propeptide of collagen-I, PTH) and 24-hr urine (NTX, Pylilinks, D-pylilinks). Bone mineral density assessment was done by DEXA-scan at the lumbar spine and the estimation was based on the z-score. The cumulative dose corticosteroids as analogous prednisone was gradually increased from 0.8 to 4.3 and 5 g/m<sup>2</sup> respectively for groups 1, 2 and 3. No patients experienced bone fracture with low BMD during the study. A gradual decrease in bone density (BMD z-score) was recorded from Group 1 (-0.74) in group 2 (-1.59) and group 3 (-2.03). This difference is statistically significant (p = .022)

between group 1 and group 3, while not statistically significant between group 1 and 2 ( $p = .13$ ), nor in group 2 and 3 ( $p = .25$ ). Despite the small number of patients, the proportion of patients showing a significant decrease in bone mineral density (BMD z-score  $<-2$ ) increased from 17% ( $n = 3$ ) in group 1 to 25% ( $n = 4$ ) in group 2 and 50% ( $n = 5$ ) in group 3.

From a total of 36 patients reliable results of the bone turnover markers had only 26 patients. A decrease in their levels is recorded in diagnosis when bone metabolism in children has been suppressed by neoplastic disease. A gradual recovery in their levels after the 6th month of chemotherapy was noted, sooner as expected from the restoration of bone density which usually has objective changes detected by measurements after 1-2 years. Normalization of prices, in most markers, is observed as the period from the completion of chemotherapy increases. Only bone fraction of alkaline phosphatase remained quite low despite the upward trend and the D-pyrilinks, thus a marker of bone formation and a marker of bone resorption.

When the Z-score was  $<-1.0$  calcium alone was administered as treatment in group 1 and calcium plus vitamin D in group 2 and 3, but despite a clear improvement in all patients, the number ( $n = 7$ ) is not sufficient for statistical analysis of results. For patients with BMD Z-score  $<-2.5$ , in the original study design, administration of bisphosphonates was planned. This never applied because: a) there was no child with BMD Z-score  $<-2.5$ , b) no fracture was documented in patients with low BMD, c) a decreasing influence on bone mineral density of newer, less toxic chemotherapy protocols was obvious.

The assessment of bone health for children ALL-survivors is very important to take place at the right time, with the most accurate method available in order to allow not only the restoration of possible disorders but their prevention too. With this goal in mind this study was designed, aiming at early detection of bone loss in order to create a baseline for monitoring therapeutic intervention but mainly design protocols to prevent further complications on the health status of the skeleton at a delicate and critical age development.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Pui CH. Recent research advances in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Formos Med Assoc*;109:777-787.
2. Poplack G.D., Margolin F.J. ,Acute lymphoblastic leukemia, Principles and practice of pediatric oncology. 6th ed; 2011;ch19;p:518-539
3. Nunez. Risk-based health monitoring of childhood cancer survivors: a report from the Children's Oncology Group. *Curr Oncol Rep*. 2007;9:440-452.
4. Arikoski P, Komulainen J, Voutilainen R, Riikonen P, Parviainen M, Tapanainen P, Knip M, et al. Reduced bone mineral density in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998;20:234-240.
5. Kaste SC, Jones-Wallace D, Rose SR, Boyett JM, Lustig RH, Rivera GK, Pui CH, et al. Bone mineral decrements in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: frequency of occurrence and risk factors for their development. *Leukemia* 2001;15:728-734.
6. Haddy TB, Mosher RB, Reaman GH. Late effects in long-term survivors after treatment for childhood acute leukemia. *Clin Pediatr (Phila)* 2009;48:601-608.
7. Haddy TB, Mosher RB, Reaman GH. Osteoporosis in survivors of acute lymphoblastic leukemia. *Oncologist* 2001;6:278-285.
8. Wasilewski-Masker K, Kaste SC, Hudson MM, Esiashvili N, Mattano LA, Meacham LR. Bone mineral density deficits in survivors of childhood cancer: long-term follow-up guidelines and review of the literature. *Pediatrics* 2008;121:e705-713.
9. Gothlin G, Ericsson JL. The osteoclast: review of ultrastructure, origin, and structure-function relationship. *Clin Orthop Relat Res* 1976:201-231.
10. Alvarez JI, Teitelbaum SL, Blair HC, Greenfield EM, Athanasou NA, Ross FP. Generation of avian cells resembling osteoclasts from mononuclear phagocytes. *Endocrinology* 1991;128:2324-2335.
11. Parfitt AM. The two faces of growth: benefits and risks to bone integrity. *Osteoporos Int* 1994;4:382-398.
12. Γιαννακόπουλος Χ. . Οστική Ιστομορφομετρία: Γενικές αρχές και εφαρμογές Εργαστήριο Έρευνας Παθήσεων του Μυοσκελετικού [Διπλωματική εργασία]: Πανεπιστήμιο Αθηνών.
13. Bachrach LK, Hastie T, Wang MC, Narasimhan B, Marcus R. Bone mineral acquisition in healthy Asian, Hispanic, black, and Caucasian youth: a longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:4702-4712.
14. Faulkner RA, Bailey DA, Drinkwater DT, McKay HA, Arnold C, Wilkinson AA. Bone densitometry in Canadian children 8-17 years of Age. *Calcif Tissue Int* 1996;59:344-351.
15. Ομηρος Έξαρχος. Ανάπτυξη μεθοδολογίας επεξεργασίας εικόνων pQ-CT για την κατασκευή 3-Δ μοντέλων πεπερασμένων στοιχείων μακρών οστών, [Διπλωματική εργασία]. Αθήνα: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Τμήμα Μηχανολόγων Μηχανικών; 2007.
16. Shaw NJ. Management of osteoporosis in children. *Eur J Endocrinol* 2008;159 Suppl 1:S33-39.
17. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *Jama* 2001;285:785-795.

18. Καλονάκης. Ανάλυση οστών με χρήση φασματοσκοπίας RAMAN [Διπλωματική εργασία]. Πάτρα: Τμήμα Φαρμακευτικής Πανεπιστημίου Πατρών; 2007.
19. Gallagher DJ, Phillips DJ, Heinrich SD. Orthopedic manifestations of acute pediatric leukemia. *Orthop Clin North Am* 1996;27:635-644.
20. Gilsanz V. Bone density in children: a review of the available techniques and indications. *Eur J Radiol* 1998;26:177-182.
21. Riggs BL, Wahner HW, Seeman E, Offord KP, Dunn WL, Mazess RB, Johnson KA, et al. Changes in bone mineral density of the proximal femur and spine with aging. Differences between the postmenopausal and senile osteoporosis syndromes. *J Clin Invest* 1982;70:716-723.
22. Mandel K, Atkinson S, Barr RD, Pencharz P. Skeletal morbidity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2004;22:1215-1221.
23. Hoorweg-Nijman JJ, Kardos G, Roos JC, van Dijk HJ, Netelenbos C, Popp-Snijders C, de Ridder CM, et al. Bone mineral density and markers of bone turnover in young adult survivors of childhood lymphoblastic leukaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;50:237-244.
24. Pedrotti L, Bertani B, Tuvo G, Barone F, Crivellari I, Lucanto S, Redento M. Evaluation of bone density in infancy and adolescence. Review of medical literature and personal experience. *Clin Cases Miner Bone Metab*;7:102-108.
25. van der Sluis IM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hahlen K, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Bone mineral density, body composition, and height in long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia in childhood. *Med Pediatr Oncol* 2000;35:415-420.
26. Genant HK, Lang TF, Engelke K, Fuerst T, Gluer C, Majumdar S, Jergas M. Advances in the noninvasive assessment of bone density, quality, and structure. *Calcif Tissue Int* 1996;59 Suppl 1:S10-15.
27. Petrantonaki M TMAJD. MRI Techniques for the Examination of Trabecular Bone Structure. *Current Medical Imaging* 2005;1:35-41.
28. Lequin MH, van der Sluis IM, Van Rijn RR, Hop WC, van den Heuvel-Eibrink MM, MuinckKeizer-Schrama SM, van Kuijk C. Bone mineral assessment with tibial ultrasonometry and dual-energy X-ray absorptiometry in long-term survivors of acute lymphoblastic leukemia in childhood. *J Clin Densitom* 2002;5:167-173.
29. Cioffi M, Molinari AM, Gazzero P, Di Finizio B, Fratta M, Deufemia A, Puca GA. Serum osteocalcin in 1634 healthy children. *Clin Chem* 1997;43:543-545.
30. Lee AJ, Hodges S, Eastell R. Measurement of osteocalcin. *Ann Clin Biochem* 2000;37 ( Pt 4):432-446.
31. Prats-Puig A, Mas-Parareda M, Riera-Perez E, Gonzalez-Forcadell D, Mier C, Mallol-Guisset M, Diaz M, et al. Carboxylation of osteocalcin affects its association with metabolic parameters in healthy children. *Diabetes Care*;33:661-663.
32. Johansen JS, Giwercman A, Hartwell D, Nielsen CT, Price PA, Christiansen C, Skakkebaek NE. Serum bone Gla-protein as a marker of bone growth in children and adolescents: correlation with age, height, serum insulin-like growth factor I, and serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:273-278.
33. Johansen JS, Jensen SB, Riis BJ, Rasmussen L, Zachmann M, Christiansen C. Serum bone Gla protein: a potential marker of growth hormone (GH) deficiency and the response to GH therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:122-126.
34. Delmas PD, Chatelain P, Malaval L, Bonne G. Serum bone GLA-protein in growth hormone deficient children. *J Bone Miner Res* 1986;1:333-338.

35. Κυπριακή Εταιρεία Οστεοπόρωσης. Οστική πυκνομετρία-Βιοχημικοί δείκτες-Θεραπεία οστεοπόρωσης, In; 2012.
36. Turan S, Topcu B, Gokce I, Guran T, Atay Z, Omar A, Akcay T, et al. Serum alkaline phosphatase levels in healthy children and evaluation of alkaline phosphatase z-scores in different types of rickets. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*;3:7-11.
37. Terreni A, Pezzati P. Biochemical markers in the follow-up of the osteoporotic patients. *Clin Cases Miner Bone Metab* 2012;9:80-84.
38. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev* 2005;26:97-122.
39. Clowes JA, Hannon RA, Yap TS, Hoyle NR, Blumsohn A, Eastell R. Effect of feeding on bone turnover markers and its impact on biological variability of measurements. *Bone* 2002;30:886-890.
40. Koivula MK, Risteli L, Risteli J. Measurement of aminoterminal propeptide of type I procollagen (PINP) in serum. *Clin Biochem* 2012;45:920-927.
41. Carey DE, Alini M, Ionescu M, Hyams JS, Rowe JC, Rosenberg LC, Poole AR. Serum content of the C-propeptide of the cartilage molecule type II collagen in children. *Clin Exp Rheumatol* 1997;15:325-328.
42. Παπαθεοδώρου. Μοριακοί μηχανισμοί οστικής μετάστασης [Διπλωματική εργασία]. Πάτρα: Τμήμα Ιατρικής; 2006.
43. Kapinas K, Lowther KM, Kessler CB, Tilbury K, Lieberman JR, Tirnauer JS, Campagnola P, et al. Bone matrix osteonectin limits prostate cancer cell growth and survival. *Matrix Biol* 2012;31:299-307.
44. Pagani F, Francucci CM, Moro L. Markers of bone turnover: biochemical and clinical perspectives. *J Endocrinol Invest* 2005;28:8-13.
45. Knott L, Bailey AJ. Collagen cross-links in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function, and clinical relevance. *Bone* 1998;22:181-187.
46. Eyre DR, Paz MA, Gallop PM. Cross-linking in collagen and elastin. *Annu Rev Biochem* 1984;53:717-748.
47. Kamel S, Brazier M, Neri V, Picard C, Samson L, Desmet G, Sebert JL. Multiple molecular forms of pyridinolines cross-links excreted in human urine evaluated by chromatographic and immunoassay methods. *J Bone Miner Res* 1995;10:1385-1392.
48. Oxlund H, Mosekilde L, Ortoft G. Reduced concentration of collagen reducible cross links in human trabecular bone with respect to age and osteoporosis. *Bone* 1996;19:479-484.
49. Fairweather RB, Tanzer ML, Gallop PM. Aldol-histidine, a new trifunctional collagen crosslink. *Biochem Biophys Res Commun* 1972;48:1311-1315.
50. Housley T, Tanzer ML, Henson E, Gallop PM. Collagen crosslinking: isolation of hydroxyaldol-histidine, a naturally-occurring crosslink. *Biochem Biophys Res Commun* 1975;67:824-830.
51. Bergmann P, Body JJ, Boonen S, Boutsen Y, Devogelaer JP, Goemaere S, Kaufman JM, et al. Evidence-based guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in the selection and monitoring of bisphosphonate treatment in osteoporosis: a consensus document of the Belgian Bone Club. *Int J Clin Pract* 2009;63:19-26.
52. Schlemmer A, Hassager C. Acute fasting diminishes the circadian rhythm of biochemical markers of bone resorption. *Eur J Endocrinol* 1999;140:332-337.
53. M.Theis. Bone markers – their nature and clinical use. . *JMB* 2008;27:117-122.

54. Traba ML, Calero JA, Mendez-Davila C, Garcia-Moreno C, de la Piedra C. Different behaviors of serum and urinary CrossLaps ELISA in the assessment of bone resorption in healthy girls. *Clin Chem* 1999;45:682-683.
55. Risteli J, Elomaa I, Niemi S, Novamo A, Risteli L. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation. *Clin Chem* 1993;39:635-640.
56. Garnero P, Ferreras M, Karsdal MA, Nicamhlaibh R, Risteli J, Borel O, Qvist P, et al. The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. *J Bone Miner Res* 2003;18:859-867.
57. Ivaska KK, Lenora J, Gerdhem P, Akesson K, Vaananen HK, Obrant KJ. Serial assessment of serum bone metabolism markers identifies women with the highest rate of bone loss and osteoporosis risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:2622-2632.
58. Meier C, Meinhardt U, Greenfield JR, De Winter J, Nguyen TV, Dunstan CR, Seibel MJ. Serum cathepsin K concentrations reflect osteoclastic activity in women with postmenopausal osteoporosis and patients with Paget's disease. *Clin Lab* 2006;52:1-10.
59. Henriksen K, Neutzsky-Wulff AV, Bonewald LF, Karsdal MA. Local communication on and within bone controls bone remodeling. *Bone* 2009;44:1026-1033.
60. Kubota T, Michigami T, Ozono K. Wnt signaling in bone metabolism. *J Bone Miner Metab* 2009;27:265-271.
61. Engin F, Lee B. NOTCHing the bone: insights into multi-functionality. *Bone* 46:274-280.
62. O'Brien CA. Control of RANKL gene expression. *Bone*;46:911-919.
63. Takayanagi H. press release. Tokyo: Medical and Dental University.
64. Jabbar S, Drury J, Fordham JN, Datta HK, Francis RM, Tuck SP. Osteoprotegerin, RANKL and bone turnover in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Pathol* 2011;64:354-357.
65. Bahlous A, Kalai E, Hadj Salah M, Bouzid K, Zerelli L. [Biochemical markers of bone remodeling: recent data of their applications in managing postmenopausal osteoporosis]. *Tunis Med* 2006;84:751-757.
66. [www.endo.gr](http://www.endo.gr). Ελληνική Ενδοκρινολογική Εταιρεία. In.
67. [www.icsi.org](http://www.icsi.org). Diagnosis and treatment of osteoporosis. Executive summary. In: page77 IfCSIIWs, editor.: Bloomington (MN): Institute for Clinical Systems Improvement; 2011.
68. Atkinson SA, Halton JM, Bradley C, Wu B, Barr RD. Bone and mineral abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia: influence of disease, drugs and nutrition. *Int J Cancer Suppl* 1998;11:35-39.
69. Kadan-Lottick N, Marshall JA, Baron AE, Krebs NF, Hambidge KM, Albano E. Normal bone mineral density after treatment for childhood acute lymphoblastic leukemia diagnosed between 1991 and 1998. *J Pediatr* 2001;138:898-904.
70. del Rio L, Carrascosa A, Pons F, Gusinye M, Yeste D, Domenech FM. Bone mineral density of the lumbar spine in white Mediterranean Spanish children and adolescents: changes related to age, sex, and puberty. *Pediatr Res* 1994;35:362-366.
71. Strauss AJ, Su JT, Dalton VM, Gelber RD, Sallan SE, Silverman LB. Bony morbidity in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2001;19:3066-3072.
72. Tragiannidis. *Hormone Research* 2004;62:44.



73. Lekamwasam. A framework for the development of guidelines for the management of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2012;23:2257-2276.
74. Ward LM. Osteoporosis due to glucocorticoid use in children with chronic illness. *Horm Res* 2005;64:209-221.
75. Aisenberg J, Hsieh K, Kalaitzoglou G, Whittam E, Heller G, Schneider R, Sklar C. Bone mineral density in young adult survivors of childhood cancer. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998;20:241-245.
76. Crofton PM, Ahmed SF, Wade JC, Stephen R, Elmlinger MW, Ranke MB, Kelnar CJ, et al. Effects of intensive chemotherapy on bone and collagen turnover and the growth hormone axis in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:3121-3129.
77. Leonard MB. Glucocorticoid-induced osteoporosis in children: impact of the underlying disease. *Pediatrics* 2007;119 Suppl 2:S166-174.
78. van Staa TP, Leufkens HG, Cooper C. The epidemiology of corticosteroid-induced osteoporosis: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2002;13:777-787.
79. Kadan-Lottick NS, Dinu I, Wasilewski-Masker K, Kaste S, Meacham LR, Mahajan A, Stovall M, et al. Osteonecrosis in adult survivors of childhood cancer: a report from the childhood cancer survivor study. *J Clin Oncol* 2008;26:3038-3045.
80. Karimova EJ, Rai SN, Howard SC, Neel M, Britton L, Pui CH, Kaste SC. Femoral head osteonecrosis in pediatric and young adult patients with leukemia or lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25:1525-1531.
81. McNeer JL, Nachman JB. The optimal use of steroids in paediatric acute lymphoblastic leukaemia: no easy answers. *Br J Haematol*;149:638-652.
82. Niinimaki RA, Harila-Saari AH, Jartti AE, Seuri RM, Riikonen PV, Paakko EL, Mottonen MI, et al. High body mass index increases the risk for osteonecrosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2007;25:1498-1504.
83. Seibel NL, Steinherz PG, Sather HN, Nachman JB, Delaat C, Ettinger LJ, Freyer DR, et al. Early postinduction intensification therapy improves survival for children and adolescents with high-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood* 2008;111:2548-2555.
84. Nysom K, Holm K, Michaelsen KF, Hertz H, Muller J, Molgaard C. Bone mass after treatment for acute lymphoblastic leukemia in childhood. *J Clin Oncol* 1998;16:3752-3760.
85. Rubin MR, Bilezikian JP. New anabolic therapies in osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003;32:285-307.
86. Crofton PM. Bone and bone turnover. *Endocr Dev* 2009;15:77-100.
87. Tillmann V, Darlington AS, Eiser C, Bishop NJ, Davies HA. Male sex and low physical activity are associated with reduced spine bone mineral density in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Bone Miner Res* 2002;17:1073-1080.
88. Yeh JM, Nekhlyudov L, Goldie SJ, Mertens AC, Diller L. A model-based estimate of cumulative excess mortality in survivors of childhood cancer. *Ann Intern Med* 2010;152:409-417, W131-408.
89. Gafni RI, Baron J. Overdiagnosis of osteoporosis in children due to misinterpretation of dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA). *J Pediatr* 2004;144:253-257.
90. Nathan & Oski's, Hematology of infancy and childhood. 7th ed; 2009, p417-418.

91. Nathan&Oski`s, *Oncology of infancy and childhood*. 7th ed; 2009, p1268-1269.
92. Baker KS, Ness KK, Weisdorf D, Francisco L, Sun CL, Forman S, Bhatia S. Late effects in survivors of acute leukemia treated with hematopoietic cell transplantation: a report from the Bone Marrow Transplant Survivor Study. *Leukemia* 2010;24:2039-2047.
93. Hautmann AH, Elad S, Lawitschka A, Greinix H, Bertz H, Halter J, Faraci M, et al. Metabolic bone diseases in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: report from the Consensus Conference on Clinical Practice in chronic graft-versus-host disease. *Transpl Int* 2011;24:867-879.
94. Lewiecki EM, Watts NB, McClung MR, Petak SM, Bachrach LK, Shepherd JA, Downs RW, Jr. Official positions of the international society for clinical densitometry. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:3651-3655.
95. Athanassiadou F, Tragiannidis A, Rousso I, Katsos G, Sidi V, Papageorgiou T, Papastergiou C, et al. Bone mineral density in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Turk J Pediatr* 2006;48:101-104.
96. Kroger H, Huopio J, Honkanen R, Tuppurainen M, Puntila E, Alhava E, Saarikoski S. Prediction of fracture risk using axial bone mineral density in a perimenopausal population: a prospective study. *J Bone Miner Res* 1995;10:302-306.
97. Boot AM, de Ridder MA, Pols HA, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Bone mineral density in children and adolescents: relation to puberty, calcium intake, and physical activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:57-62.
98. Binkovitz LA, Henwood MJ. Pediatric DXA: technique and interpretation. *Pediatr Radiol* 2007;37:21-31.
99. Demark-Wahnefried W, Werner C, Clipp EC, Guill AB, Bonner M, Jones LW, Rosoff PM. Survivors of childhood cancer and their guardians. *Cancer* 2005;103:2171-2180.
100. Tylavsky FA, Smith K, Surprise H, Garland S, Yan X, McCammon E, Hudson MM, et al. Nutritional intake of long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: evidence for bone health interventional opportunities. *Pediatr Blood Cancer* 2010;55:1362-1369.
101. Lapatsanis P, Deliyanni V, Doxiadis S. Vitamin D deficiency rickets in Greece. *J Pediatr* 1968;73:195-202.
102. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:471-478.
103. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289:F8-28.
104. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest* 2006;116:2062-2072.
105. Fernandez-Garcia NI, Palmer HG, Garcia M, Gonzalez-Martin A, del Rio M, Baretino D, Volpert O, et al. 1alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates the expression of Id1 and Id2 genes and the angiogenic phenotype of human colon carcinoma cells. *Oncogene* 2005;24:6533-6544.
106. Evans SR, Shchepotin EI, Young H, Rochon J, Uskokovic M, Shchepotin IB. 1,25-dihydroxyvitamin D3 synthetic analogs inhibit spontaneous metastases in a 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis model. *Int J Oncol* 2000;16:1249-1254.
107. Lamprecht SA, Lipkin M. Cellular mechanisms of calcium and vitamin D in the inhibition of colorectal carcinogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2001;952:73-87.

108. Gupta D, Vashi PG, Trukova K, Lis CG, Lammersfeld CA. Prevalence of serum vitamin D deficiency and insufficiency in cancer: Review of the epidemiological literature. *Exp Ther Med*;2:181-193.
109. Giovannucci E, Liu Y, Willett WC. Cancer incidence and mortality and vitamin D in black and white male health professionals. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:2467-2472.
110. Trump DL, Deeb KK, Johnson CS. Vitamin D: considerations in the continued development as an agent for cancer prevention and therapy. *Cancer J*;16:1-9.
111. Cranney A, Horsley T, O'Donnell S, Weiler H, Puil L, Ooi D, Atkinson S, et al. Effectiveness and safety of vitamin D in relation to bone health. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2007;1:235.
112. Holick MF. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011; jc.2011-0385
113. te Winkel ML, de Muinck Keizer-Schrama SM, de Jonge R, van Beek RD, van der Sluis IM, Hop WC, Pieters R, et al. Germline variation in the MTHFR and MTRR genes determines the nadir of bone density in pediatric acute lymphoblastic leukemia: a prospective study. *Bone* 2011;48:571-577.
114. Warner JT, Evans WD, Webb DK, Bell W, Gregory JW. Relative osteopenia after treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Res* 1999;45:544-551.
115. Arikoski P, Komulainen J, Riikonen P, Parviainen M, Jurvelin JS, Voutilainen R, Kroger H. Impaired development of bone mineral density during chemotherapy: a prospective analysis of 46 children newly diagnosed with cancer. *J Bone Miner Res* 1999;14:2002-2009.
116. Swiatkiewicz V, Wysocki M, Odrowaz-Sypniewska G, Koltan A, Manysiak S, Dylewska K. Bone mass and bone mineral metabolism at diagnosis and after intensive treatment in children with acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 2003;41:578-580.
117. Arbor A. Osteoporosis: prevention and treatment. University of Michigan Health System 2011:Dec. 16 p.
118. Boot AM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hahlen K, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Bone mineral density in children with acute lymphoblastic leukaemia. *Eur J Cancer* 1999;35:1693-1697.
119. Halton JM, Atkinson SA, Fraher L, Webber C, Gill GJ, Dawson S, Barr RD. Altered mineral metabolism and bone mass in children during treatment for acute lymphoblastic leukemia. *J Bone Miner Res* 1996;11:1774-1783.
120. [www.galinos.gr](http://www.galinos.gr). Οδηγός φαρμάκων. In.
121. Kenny AM, Prestwood KM, Biskup B, Robbins B, Zayas E, Kleppinger A, Burleson JA, et al. Comparison of the effects of calcium loading with calcium citrate or calcium carbonate on bone turnover in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2004;15:290-294.
122. [www.RxMed](http://www.RxMed). Calcium. In.
123. [www.ifet.gr](http://www.ifet.gr). Ινστιτούτο Φαρμακευτικής Έρευνας. In.
124. Boonen S, Lips P, Bouillon R, Bischoff-Ferrari HA, Vanderschueren D, Haentjens P. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin d supplementation: evidence from a comparative metaanalysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:1415-1423.
125. Russell RG. Bisphosphonates: the first 40 years. *Bone*;49:2-19.
126. Bilezikian JP. Osteonecrosis of the jaw--do bisphosphonates pose a risk? *N Engl J Med* 2006;355:2278-2281.

127. Μελακόπουλος. Αντιμετώπιση από τον οδοντίατρο ασθενών που παίρνουν διφωσφονικά. *Στοματολογία* 2008;65:3-12.
128. ΕΟΦ. Δελτίο τύπου 18-04-11- Διφωσφονικά; 2011.
129. Ward L, Tricco AC, Phuong P, Cranney A, Barrowman N, Gaboury I, Rauch F, et al. Bisphosphonate therapy for children and adolescents with secondary osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;CD005324.
130. Bachrach LK, Ward LM. Clinical review 1: Bisphosphonate use in childhood osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:400-409.
131. Boyce AM, Gafni RI. Approach to the child with fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1943-1952.
132. Bone HG, Hosking D, Devogelaer JP, Tucci JR, Emkey RD, Tonino RP, Rodriguez-Portales JA, et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2004;350:1189-1199.
133. Ott SM. Long-term safety of bisphosphonates. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:1897-1899.
134. Rauch F, Plotkin H, Zeitlin L, Glorieux FH. Bone mass, size, and density in children and adolescents with osteogenesis imperfecta: effect of intravenous pamidronate therapy. *J Bone Miner Res* 2003;18:610-614.
135. Lapatsanis D, Moulas A, Cholevas V, Soukagos P, Papadopoulou ZL, Challa A. Vitamin D: a necessity for children and adolescents in Greece. *Calcif Tissue Int* 2005;77:348-355.
136. Crofton PM, Wade JC, Taylor MR, Holland CV. Serum concentrations of carboxyl-terminal propeptide of type I procollagen, amino-terminal propeptide of type III procollagen, cross-linked carboxyl-terminal telopeptide of type I collagen, and their interrelationships in schoolchildren. *Clin Chem* 1997;43:1577-1581.
137. Mora S, Prinster C, Proverbio MC, Bellini A, de Poli SC, Weber G, Abbiati G, et al. Urinary markers of bone turnover in healthy children and adolescents: age-related changes and effect of puberty. *Calcif Tissue Int* 1998;63:369-374.
138. NHANES. N Telopeptide in Urine, 2001–2002.
139. Bollen AM, Eyre DR. Bone resorption rates in children monitored by the urinary assay of collagen type I cross-linked peptides. *Bone* 1994;15:31-34.
140. Antony R, Sheng X, Ehsanipour EA, Ng E, Pramanik R, Klemm L, Ichihara B, et al. Vitamin D protects acute lymphoblastic leukemia cells from dexamethasone. *Leuk Res* 2012;36:591-593.
141. Tuten HR, Gabos PG, Kumar SJ, Harter GD. The limping child: a manifestation of acute leukemia. *J Pediatr Orthop* 1998;18:625-629.
142. Teo WY, Chan MY, Ng KC, Tan AM. Bony presentations of childhood haematological malignancy to the emergency room. *J Paediatr Child Health* 2012;48:311-316.
143. van der Sluis IM, de Ridder MA, Boot AM, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Reference data for bone density and body composition measured with dual energy x ray absorptiometry in white children and young adults. *Arch Dis Child* 2002;87:341-347; discussion 341-347.
144. van der Sluis IM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hahlen K, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Altered bone mineral density and body composition, and increased fracture risk in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr* 2002;141:204-210.
145. Fischer SG. Bone mineral density in leukemic children after completing one month of chemotherapy. *Rev Med Chil* 2005;133:71-76.

146. Rayar MS, Nayiager T, Webber CE, Barr RD, Athale UH. Predictors of bony morbidity in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*;59:77-82.
147. El-Ziny MA, Al-Tonbary YA, Salama OS, Bakr AA, Al-Marsafawy H, Elshar AA. Low turnover bone disease in Egyptian children with acute leukemia. *Hematology* 2005;10:327-333.
148. Halton J, Gaboury I, Grant R, Alos N, Cummings EA, Matzinger M, Shenouda N, et al. Advanced vertebral fracture among newly diagnosed children with acute lymphoblastic leukemia: results of the Canadian Steroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) research program. *J Bone Miner Res* 2009;24:1326-1334.
149. Tragiannidis A, Dokos C, Sidi V, Papageorgiou T, Kolioukas D, Karamouzis M, Papastergiou C, et al. Alterations of bone mineral metabolism of children with different cell lineage types of acute lymphoblastic leukaemia under chemotherapy. *Hippokratia*;15:43-47.
150. Kelly KM, Thornton JC, Hughes D, Osunkwo I, Weiner M, Wang J, Horlick M. Total body bone measurements: a cross-sectional study in children with acute lymphoblastic leukemia during and following completion of therapy. *Pediatr Blood Cancer* 2009;52:33-38.
151. Kaushik A, Bansal D, Khandelwal N, Trehan A, Marwaha RK. Changes in bone mineral density during therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Indian Pediatr* 2009;46:245-248.
152. Athanassiadou F, Tragiannidis A, Rousso I, Katsos G, Sidi V, Kolioukas D, Papastergiou C, et al. Evaluation of bone metabolism in children with acute lymphoblastic leukemia after induction chemotherapy treatment. *Pediatr Hematol Oncol* 2005;22:285-289.
153. Brennan BM, Mughal Z, Roberts SA, Ward K, Shalet SM, Eden TO, Will AM, et al. Bone mineral density in childhood survivors of acute lymphoblastic leukemia treated without cranial irradiation. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:689-694.
154. Halton JM, Atkinson SA, Fraher L, Webber CE, Cockshott WP, Tam C, Barr RD. Mineral homeostasis and bone mass at diagnosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr* 1995;126:557-564.
155. Marinovic D, Dorgeret S, Lescoeur B, Alberti C, Noel M, Czernichow P, Sebag G, et al. Improvement in bone mineral density and body composition in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a 1-year prospective study. *Pediatrics* 2005;116:e102-108.
156. Gunes AM, Can E, Saglam H, Ilcol YO, Baytan B. Assessment of bone mineral density and risk factors in children completing treatment for acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010;32:e102-107.
157. Henderson RC, Madsen CD, Davis C, Gold SH. Bone density in survivors of childhood malignancies. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996;18:367-371.
158. Kaste SC, Rai SN, Fleming K, McCammon EA, Tylavsky FA, Danish RK, Rose SR, et al. Changes in bone mineral density in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2006;46:77-87.
159. Thomas IH, Donohue JE, Ness KK, Dengel DR, Baker KS, Gurney JG. Bone mineral density in young adult survivors of acute lymphoblastic leukemia. *Cancer* 2008;113:3248-3256.

160. Gawade PL, Ness KK, Sharma S, Li Z, Srivastava DK, Spunt SL, Nottage K, et al. Association of bone mineral density with incidental renal stone in long-term survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Cancer Surviv*.
161. Rai SN, Hudson MM, McCammon E, Carbone L, Tylavsky F, Smith K, Surprise H, et al. Implementing an intervention to improve bone mineral density in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: BONEII, a prospective placebo-controlled double-blind randomized interventional longitudinal study design. *Contemp Clin Trials* 2008;29:711-719.
162. Pagano-Therrien J, Santacroce SJ. Bone mineral density decrements and children diagnosed with cancer. *J Pediatr Oncol Nurs* 2005;22:328-338.
163. Blatt J. , Guidelines for pediatric cancer survivors, , 2008. In: [www.survivorshipguidelines.org](http://www.survivorshipguidelines.org); 2008.
164. Follin C, Link K, Wiebe T, Moell C, Bjork J, Erfurth EM. Bone loss after childhood acute lymphoblastic leukaemia: an observational study with and without GH therapy. *Eur J Endocrinol* 2011;164:695-703.
165. Muszynska-Rosla K. Little Evidence of Low Bone Mass in Acute Lymphoblastic Leukemia Survivors. *Journal of Clinical Densitometry* 2012;15:108-115.
166. Alos N, Grant RM, Ramsay T, Halton J, Cummings EA, Miettunen PM, Abish S, et al. High incidence of vertebral fractures in children with acute lymphoblastic leukemia 12 months after the initiation of therapy. *J Clin Oncol* 2012;30:2760-2767.
167. Henderson RC, Madsen CD, Davis C, Gold SH. Longitudinal evaluation of bone mineral density in children receiving chemotherapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 1998;20:322-326.
168. Oliveri MB, Mautalen CA, Rodriguez Fuchs CA, Romanelli MC. Vertebral compression fractures at the onset of acute lymphoblastic leukemia in a child. *Henry Ford Hosp Med J* 1991;39:45-48.
169. Desmond R, McDerra J, Kelly K, Smith O. Multiple vertebral collapse as a presentation of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 2009;144:627.
170. Qvist P, Christgau S, Pedersen BJ, Schlemmer A, Christiansen C. Circadian variation in the serum concentration of C-terminal telopeptide of type I collagen (serum CTx): effects of gender, age, menopausal status, posture, daylight, serum cortisol, and fasting. *Bone* 2002;31:57-61.
171. Marcus R. Exercise: moving in the right direction. *J Bone Miner Res* 1998;13:1793-1796.
172. Smellie WS. What is a significant difference between sequential laboratory results? *J Clin Pathol* 2008;61:419-425.
173. Eastell R, Krege JH, Chen P, Glass EV, Reginster JY. Development of an algorithm for using PINP to monitor treatment of patients with teriparatide. *Curr Med Res Opin* 2006;22:61-66.
174. Rogers A, Glover SJ, Eastell R. A randomised, double-blinded, placebo-controlled, trial to determine the individual response in bone turnover markers to lasofoxifene therapy. *Bone* 2009;45:1044-1052.
175. Prickett TC, Lyver A, Wilson R, Espiner EA, Sullivan MJ. C-type Natriuretic Peptide: a novel biomarker of steroid induced bone toxicity in children with acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Peptides* 2012;36:54-59.
176. Lee J, Vasikaran S. Current recommendations for laboratory testing and use of bone turnover markers in management of osteoporosis. *Ann Lab Med* 2012;32:105-112.

177. van der Sluis IM, de Muinck Keizer-Schrama SM. Osteoporosis in childhood: bone density of children in health and disease. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2001;14:817-832.
178. Crofton PM, Kelnar CJ. Bone and collagen markers in paediatric practice. *Int J Clin Pract* 1998;52:557-565.
179. Rauchenzauner M, Schmid A, Heinz-Erian P, Kapelari K, Falkensammer G, Griesmacher A, Finkenstedt G, et al. Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92:443-449.
180. Vasikaran S, Cooper C, Eastell R, Griesmacher A, Morris HA, Trenti T, Kanis JA. International Osteoporosis Foundation and International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine position on bone marker standards in osteoporosis. *Clin Chem Lab Med* 2011;49:1271-1274.
181. Nielsen HK. Serum osteocalcin and bone isoenzyme alkaline phosphatase in growth hormone-deficient patients: Dose-response studies with biosynthetic human GH. *Calcified Tissue International* 1991;48:82-87.
182. Markowitz ME. Effects of Growth Hormone Therapy on Circadian Osteocalcin Rhythms in Idiopathic Short Stature\*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1989;69:420-425.
183. Sato J, Hasegawa K, Tanaka H, Morishima T. Urinary N-telopeptides of type I collagen in healthy children. *Pediatr Int*;52:398-401.
184. Jamal CY. Alteration in Bone Mineral Metabolism in Children with Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL): A Review Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University Journal 2008;1.
185. S O'Regan. Electrolyte and acid-base disturbances in the management of leukemia, *Blood* 1977;49:345-353.
186. Horlick M, Wang J, Pierson RN, Jr., Thornton JC. Prediction models for evaluation of total-body bone mass with dual-energy X-ray absorptiometry among children and adolescents. *Pediatrics* 2004;114:e337-345.
187. Munker. Vitamin D analogs, leukemia and WAF1. *Leuk Lymphoma* 1998;31:279084.
188. James SY, Williams MA, Newland AC, Colston KW. Leukemia cell differentiation: cellular and molecular interactions of retinoids and vitamin D. *Gen Pharmacol* 1999;32:143-154.
189. Rashid SF, Mountford JC, Gombart AF, Campbell MJ. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) displays divergent growth effects in both normal and malignant cells. *Steroids* 2001;66:433-440.
190. Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB, Hollis BW, Fuchs CS, Stampfer MJ, Willett WC. Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:451-459.
191. Diaz PR, Neira LC, Fischer SG, Teresa Torres MC, Milinarsky AT, Giadrosich VR, Arriagada MM, et al. Effect of 1,25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D on bone mass in children with acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008;30:15-19.
192. Rovner AJ, Miller RS. Vitamin D deficiency and insufficiency in children with osteopenia or osteoporosis. *Pediatrics* 2008;122:907-908; author reply 908-909.
193. Glorieux FH, Bishop NJ, Plotkin H, Chabot G, Lanoue G, Travers R. Cyclic administration of pamidronate in children with severe osteogenesis imperfecta. *N Engl J Med* 1998;339:947-952.
194. Lethaby C, Wiernikowski J, Sala A, Naronha M, Webber C, Barr RD. Bisphosphonate therapy for reduced bone mineral density during treatment of acute

lymphoblastic leukemia in childhood and adolescence: a report of preliminary experience. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007;29:613-616.

195. Wiernikowski JT, Barr RD, Webber C, Guo CY, Wright M, Atkinson SA. Alendronate for steroid-induced osteopenia in children with acute lymphoblastic leukaemia or non-Hodgkin's lymphoma: results of a pilot study. *J Oncol Pharm Pract* 2005;11:51-56.

196. Bryant ML, Worthington MA, Parsons K. Treatment of osteoporosis/osteopenia in pediatric leukemia and lymphoma. *Ann Pharmacother* 2009;43:714-720.

197. Simm PJ, Johannesen J, Briody J, McQuade M, Hsu B, Bridge C, Little DG, et al. Zoledronic acid improves bone mineral density, reduces bone turnover and improves skeletal architecture over 2 years of treatment in children with secondary osteoporosis. *Bone* 2011;49:939-943.

198. Nguyen T, Zacharin MR. Pamidronate treatment of steroid associated osteonecrosis in young patients treated for acute lymphoblastic leukaemia--two-year outcomes. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2006;19:161-167.

199. Kotecha R. Use of bisphosphonates for the treatment of osteonecrosis as a complication of therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL). *Pediatr Blood Cancer* 2010;54:934-940.

200. Papapoulos SE, Cremers SC. Prolonged bisphosphonate release after treatment in children. *N Engl J Med* 2007;356:1075-1076.

201. Papapoulos SE. Bisphosphonate therapy in children with secondary osteoporosis. *Horm Res Paediatr*;76 Suppl 1:24-27.

202. Gafni RI, Baron J. Childhood bone mass acquisition and peak bone mass may not be important determinants of bone mass in late adulthood. *Pediatrics* 2007;119 Suppl 2:S131-136.

203. Link TM. Osteoporosis imaging: state of the art and advanced imaging. *Radiology* 2012;263:3-17.

204. Onis Md. WHO growth standards for infants and young children. *Arch Pediatr*. 2009;16:47-53.