

A
Α.Δ. 52.....7/2.....4.

299

**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΥΓΕΙΑΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΗ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΜΕΤΑΛΛΩΝ**

**ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ
ΖΩΗ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ-ΚΟΥΛΟΥΜΠΗ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

**ΟΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D
ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ**

ΔΗΜΗΤΡΗΣ Π. ΛΑΠΑΤΣΑΝΗΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2002



Η έγκριση της Διδακτορικής Διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

(Νόμος 5343/1932, Άρθρο 202, παρ.2 και Νόμος 1268/82, Άρθρο 50, παρ.8)

105/2003



ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ**

ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ-ΚΟΥΛΟΥΜΠΗ ΖΩΗ
ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΜΕΛΗ

ΣΟΥΚΑΚΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΕΔΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΧΑΛΛΑ ΑΝΝΑ
ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΤΟΥ ΤΟΜΕΑ ΥΓΕΙΑΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΥ-ΚΟΥΛΟΥΜΠΗ ΖΩΗ**ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗΣ ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**ΣΟΥΚΑΚΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΕΔΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
(νυν ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΕΔΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ)**ΧΑΛΛΑ ΑΝΝΑ**ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ
ΤΟΥ ΤΟΜΕΑ ΥΓΕΙΑΣ ΤΟΥ ΠΑΙΔΙΟΥ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**ΤΣΟΛΑΣ ΟΡΕΣΤΗΣ**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**ΣΙΑΜΟΠΟΥΛΟΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ – ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**ΤΣΙΑΝΙΟΣ ΕΠΑΜΕΙΝΩΝΔΑΣ**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**ΞΕΝΑΚΗΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ**ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΟΡΘΟΠΕΔΙΚΗΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η έκδοσή της πραγματοποιήθηκε στην Πανεπιστημιακή Βιβλιοθήκη - Κέντρο
α) επιμελημένη με τη Συμπύκνωση της Βουλγαρικής Μετάφρασης του Τζόρτζι Υακίς
του Λονδίνου, με την υπέρβαση του κειμένου και μετέφρασε, κριτικά
αναμεταφράστηκε και διορθώθηκε. Η εργασία επιμελημένη από τον κ. Τζώρτζι
Παναγιώτη, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς
κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς
κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς

Τίτλος της έκδοσης: Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΨΥΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΗΡΩΣΕΙΣ: Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς
Ρωσική Έκδοση: Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΨΥΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΤΗΤΑΣ
Στ' Επιστημονική Έκδοση: Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΨΥΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΤΗΤΑΣ
Πανεπιστημιακή Βιβλιοθήκη - Κέντρο

Τίτλος της έκδοσης: Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΨΥΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΤΗΤΑΣ
1981

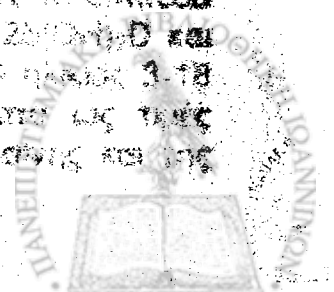
Η έκδοσή της πραγματοποιήθηκε στην Πανεπιστημιακή Βιβλιοθήκη - Κέντρο
α) επιμελημένη με τη Συμπύκνωση της Βουλγαρικής Μετάφρασης του Τζόρτζι Υακίς
του Λονδίνου, με την υπέρβαση του κειμένου και μετέφρασε, κριτικά
αναμεταφράστηκε και διορθώθηκε. Η εργασία επιμελημένη από τον κ. Τζώρτζι
Παναγιώτη, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς
κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς
κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς

Στοιχεία μου

Η έκδοσή της πραγματοποιήθηκε στην Πανεπιστημιακή Βιβλιοθήκη - Κέντρο
α) επιμελημένη με τη Συμπύκνωση της Βουλγαρικής Μετάφρασης του Τζόρτζι Υακίς
του Λονδίνου, με την υπέρβαση του κειμένου και μετέφρασε, κριτικά
αναμεταφράστηκε και διορθώθηκε. Η εργασία επιμελημένη από τον κ. Τζώρτζι
Παναγιώτη, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς
κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς
κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς

Τίτλος της έκδοσης: Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΨΥΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΤΗΤΑΣ
ΗΡΩΣΕΙΣ: Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς, κ. Τζώρτζι Υακίς
Ρωσική Έκδοση: Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΨΥΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΤΗΤΑΣ
Στ' Επιστημονική Έκδοση: Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΨΥΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΤΗΤΑΣ
Πανεπιστημιακή Βιβλιοθήκη - Κέντρο

Τίτλος της έκδοσης: Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΨΥΧΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΠΡΟΣΩΠΙΚΟΤΗΤΑΣ
1981



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η διατριβή αυτή εκπονήθηκε στην Πανεπιστημιακή Παιδιατρική κλινική σε συνεργασία με το Εργαστήριο Μεταβολισμού Μετάλλων του Τομέα Υγείας του Παιδιού, υπό την άμεση καθοδήγηση και επίβλεψη τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής. Η επιτροπή αποτελούνταν από την κυρία Ζωή Παπαδοπούλου - Κουλουμπή, Καθηγήτρια Παιδιατρικής Νεφρολογίας, τον κύριο Παναγιώτη Σουκάκο, Καθηγητή Ορθοπαιδικής, και την κυρία Άννα Χάλλα, Επίκουρο Καθηγήτρια του Τομέα Υγείας του Παιδιού.

Τμήμα της έχει ανακοινωθεί στο 29^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, Ηράκλειο Κρήτης, Μάιος 1991, στο Annual meeting of European Society for Paediatric Research (ESPR) Zurich, Switzerland, September 1991, και στην 8^η Επιστημονική Εκδήλωση Παιδιατρικής του Τομέα Υγείας του Παιδιού του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Οκτώβριος 1998.

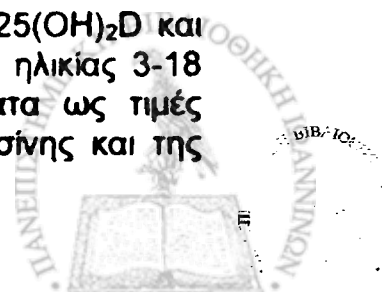
Τμήμα της επίσης δημοσιεύτηκε στο *Pediatric Research*, 30 (6):654, Dec 1991.

Η βιταμίνη D είναι ορμόνη κι όχι βιταμίνη, η οποία ρυθμίζει την ομοίωση του ασβεστίου (Ca) και φωσφόρου (P) στον οργανισμό. Η πρόσληψή της γίνεται με δυο τρόπους: από την τροφή και με ενδογενή παραγωγή στο δέρμα με την επίδραση της υπερκώδους ακτινοβολίας. Η σημαντικότερη φυσιολογική της λειτουργία είναι η εντερική απορρόφηση Ca και P, η επαναρρόφησή τους από τα νεφρικά σωληνάκια και η εναπόθεση των ιόντων αυτών στα οστά. Επιπλέον η βιταμίνη D σε συνδυασμό με την παραθορμόνη και την καλσιπονίνη ρυθμίζουν τις τιμές του ιονισμένου Ca στο αίμα. Ανεπάρκειά της, προκαλεί ραχίτιση ή οστεομαλακία, ανάλογα με την ηλικία που θα εμφανιστεί.

Μέχρι στιγμής, η 1,25 (OH)₂D θεωρείται ο πιο δραστήριος μεταβολίτης της βιταμίνης D, η οποία συντίθεται στους νεφρούς και δρα σε μια σειρά από όργανα - στόχους όπως τα οστά, το έντερο, οι νεφροί και οι παραθυρεοειδείς αδένες. Παρά το γεγονός ότι η δράση της δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένη, η επίδραση της 1,25(OH)₂D στην αύξηση και μετάλλωση των οστών πιστεύεται ότι είναι κυρίως έμμεση, μέσω της ρύθμισης των εξωκυττάρκων συγκεντρώσεων ασβεστίου και φωσφορικών ιόντων.

Σύμφωνα με τα βιβλιογραφικά δεδομένα (30,31,32,34), φαίνεται ότι ανεπάρκεια βιταμίνης D μπορεί να είναι αποτέλεσμα μιας σειράς επιδράσεων μεταξύ γενετικών στοιχείων και επιδράσεων του περιβάλλοντος (διατροφή, ελλιπής ακτινοβολία, δυσαπορρόφηση βιταμίνης D κ.τ.λ.). Επίσης κατά την εφηβεία, η ταχεία αύξηση του σκελετού απαιτεί μεγαλύτερες ποσότητες βιταμίνης D. Αναφέρεται στην βιβλιογραφία (127) ότι τα μέταλλα που είναι πιο πιθανό να παρουσιάζουν ανεπάρκεια πρόσληψη στη διαίτα του εφήβου είναι το ασβέστιο, ο σίδηρος και ο ψευδάργυρος.

Στόχος λοιπόν της μελέτης αυτής ήταν να προσδιοριστούν τα επίπεδα των τριών κύριων μεταβολιτών της βιταμίνης D [25(OH)D, 24,25(OH)₂D και 1,25(OH)₂D] σε υγιή παιδιά τα οποία δεν παίρνουν βιταμίνη D ηλικίας 3-18 ετών στην Ελλάδα και να χρησιμοποιηθούν τα αποτελέσματα ως τιμές αναφοράς. Επίσης, να προσδιοριστούν οι τιμές της οστεοκαλσίνης και της



αλκαλικής φωσφατάσης στα παραπάνω παιδιά, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως τιμές αναφοράς. Στην συνέχεια να συσχετιστούν οι τιμές των τριών κύριων μεταβολιτών της βιταμίνης D με τις υπόλοιπες παραμέτρους που αφορούν την μετάλλωση των οστών. Τέλος εφόσον τα επίπεδα της 25(OH)D στον ορό είναι δείκτης επάρκειας βιταμίνης D στον οργανισμό, από τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής θα ήταν δυνατόν να γίνουν προτάσεις για το αν είναι απαραίτητη και πότε η χορήγηση βιταμίνης D σε παιδιά ηλικίας 3-18 ετών στην Ελλάδα.

Η μελέτη αυτή όμως θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί, χωρίς τη συνδρομή, την εμπειρία και τις πολύτιμες συμβουλές ορισμένων ανθρώπων, προς τους οποίους θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες και την αμέριστη ευγνωμοσύνη μου.

Στην καθηγήτρια Παιδονεφρολογίας κυρία Ζωή Παπαδοπούλου-Κουλουμπή, για την παροχή πολύτιμου χρόνου και τις πάντα εύστοχες υποδείξεις της προκειμένου να επιτευχθεί μια όσο το δυνατό αρτιότερη και τεκμηριωμένη μελέτη.

Στον καθηγητή Ορθοπαιδικής κύριο Παναγιώτη Σουκάκο για τις χρήσιμες συμβουλές του και την κατανόησή του. Θερμές ευχαριστίες επίσης θα ήθελα να εκφράσω στον καθηγητή Βιοχημίας κύριο Ορέστη Τσόλα, στον καθηγητή Παθολογίας - Νεφρολογίας κύριο Κων/νο Σιαμόπουλο, στον καθηγητή Παθολογίας κύριο Επαμεινώνδα Τσιάνο και στον καθηγητή Ορθοπαιδικής κύριο Θεόδωρο Ξενάκη.

Στον κύριο Νικόλαο Υφαντή, Λυκειαρχή του Πολυκλαδικού Λυκείου Ιωαννίνων, ο οποίος αναγνωρίζοντας τη σημασία της εργασίας αυτής, διέθεσε ώρες και χώρους του σχολείου, προκειμένου να γίνουν οι αιμοληψίες και να εξετασθούν τα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών. Χωρίς την ενεργό συμμετοχή του, στην ενημέρωση των παιδιών αυτών και στην οργάνωση της όλης διαδικασίας, ώστε να έχει τη κατά το δυνατόν λιγότερη επίπτωση στην ομαλή λειτουργία του σχολείου, ένα αρκετά σημαντικό και ενδιαφέρον τμήμα της μελέτης αυτής δεν θα ήταν δυνατόν να πραγματοποιηθεί.

Στην επίκουρη καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής κυρία Άννα Χάλλα για την ενεργό πολύτιμη και καθοριστική συμβολή της σ' όλα τα στάδια της μελέτης, τη ουσιαστική και αγόγγυστη ενίσχυση και καθοδήγησή της.

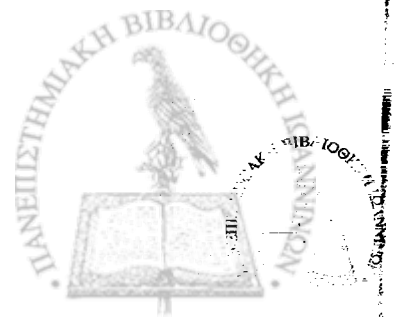
Στον Βασίλη Χολέβα, ο οποίος ήταν πάντα διαθέσιμος προκειμένου να προσφέρει την ουσιαστική βοήθειά του στην τεχνική επεξεργασία των δεδομένων.

Στον επιμελητή Β' της Νεογνολογικής κλινικής κύριο Νικόλαο Κράλλη, για την ενεργό συμμετοχή του στη συλλογή του υλικού των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών.



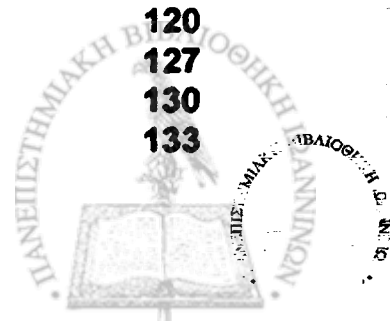
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

1α,25(OH)₂D [1,25(OH)₂D]	1α,25-Διυδροξυβπαμίνη D (D2 και D3 αδιακρίτως)
24,25(OH)₂D	24,25-Διυδροξυβπαμίνη D
25(OH)D	25-Υδροξυβπαμίνη D
Ca	Ολικό ασβέστιο
DBP	Δεσμευτική πρωτεΐνη της βπαμίνης D (D Binding Protein)
EDTA	Αιθυλενογλυκολ-δισ (β-αμινοαιθυλαιθέρας) -N,N'-τετραοξικό οξύ
Gla	γ-Καρβοξυγλουταμικό οξύ - οστεοκαλσίνη
HPLC	Χρωματογραφία υψηλής πίεσης (High Pressure Liquid Chromatography)
m-RNA	Αγγελιαφόρο (messenger) RNA
PTH	Παραθορμόνη
P	Φωσφόρος ορού
ΑΦ	Αλκαλική φωσφατάση



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελ.
1. ΠΡΟΛΟΓΟΣ	11
2. ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ	13
3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	17
Πηγές βιταμίνης D	18
Δερματική σύνθεση της βιταμίνης D ₃	18
Απορρόφηση, μεταφορά και εναπόθεση βιταμίνης D	19
Μεταβολισμός βιταμίνης D	20
Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή 1,25(OH) ₂ D και 24,25(OH) ₂ D	26
Καταβολισμός βιταμίνης D	28
Βιταμίνη D και μεταβολισμός μετάλλων	30
Παράγοντες που προδιαθέτουν στην ανάπτυξη διαταραχών βιταμίνης D	33
Υπερβιταμίνωση D	34
Παραθυρεοειδείς αδένες – παραθορμόνη	35
Οστεοκαλσίνη	36
Σχέση οστεοκαλσίνης ορού προς οστικό σχηματισμό	37
Καλσιπονίνη	47
Βιταμίνες και μέταλλα στην εφηβεία	48
4. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	52
5. ΥΛΙΚΟ – ΜΕΘΟΔΟΙ	53
Προσδιορισμός ασβεστίου, φωσφόρου, αλκαλικής φωσφατάσης, παραθορμόνης και οστεοκαλσίνης	56
Προσδιορισμός των επιπέδων των μεταβολιτών της βιταμίνης D [25(OH)D, 24,25(OH) ₂ D και 1,25(OH) ₂ D] στο αίμα	57
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	62
Εποχιακή διακύμανση των δεικτών του μεταβολισμού των οστών	63
Σχόλια των παραμέτρων του οστικού μεταβολισμού των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών	72
Συσχέτιση των παραμέτρων του μεταβολισμού των οστών σε σχέση με το φύλο	72
Συσχέτιση δεικτών (markers) του οστικού μεταβολισμού με την ηλικία	79
Αλληλοσυσχέτιση των παραμέτρων του μεταβολισμού των οστών στις τρεις ομάδες παιδιών που μελετήθηκαν	85
Χορήγηση βιταμίνης D	89
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	95
8. ΠΙΝΑΚΕΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	120
9. ΠΕΡΙΛΗΨΗ	127
10. ABSTRACT	130
11. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	133



Ο ΗΜΕΡΗΣΙΟΣ

In order to facilitate the understanding of the text...

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

The following text discusses the importance of...

It is noted that the data presented in this study...

The results of the analysis indicate a significant correlation...

These findings are consistent with previous research...

It is concluded that the proposed model offers a comprehensive...

Further research is required to validate these results...

The authors would like to thank the reviewers for their constructive...

The work was supported by the National Science Foundation...

Correspondence should be addressed to the author at the following...



ΒΙΤΑΜΙΝΗ D

Το όνομα της βιταμίνης D συνδυάζεται με την αντιραχίτικη της δράση. Είναι ένα στεροειδές και ρυθμίζει την ομοιόσταση του ασβεστίου (Ca) και φωσφόρου (P) στον οργανισμό [1]. Η πιο σημαντική φυσιολογική λειτουργία της βιταμίνης D είναι η εντερική απορρόφηση Ca και P, η επαναρρόφησή τους από τα νεφρικά σωληνάκια και η εναπόθεση αυτών των ιόντων στα οστά. Επιπλέον η βιταμίνη D μαζί με την παραθορμόνη (PTH) και την καλσιτονίνη ρυθμίζει τις τιμές του ιονισμένου Ca στο αίμα. Η ανεπαρκής χορήγηση βιταμίνης D προκαλεί ραχισμό ή οστεομαλακία, που εξαρτάται από την ηλικία που θα δημιουργηθεί η ανεπάρκεια.

Πηγές βιταμίνης D

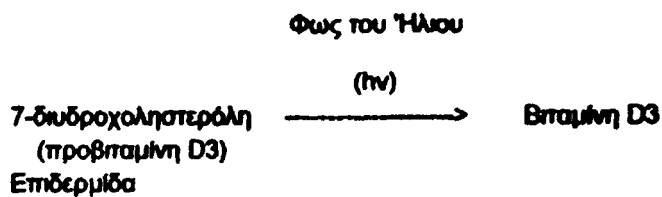
Από δύο πηγές αποκτάται η βιταμίνη D: από την τροφή (εργοκαλσιφερόλη ή βιταμίνη D₂ και χοληκαλσιφερόλη ή βιταμίνη D₃) και από ενδογενή παραγωγή (7-διυδροχοληκαλσιφερόλη) που συντίθεται στο δέρμα με την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας.

Η βιταμίνη D₃ είναι ζωικής και η D₂ φυτικής προελεύσεως. Οι κυριότερες τροφές που περιέχουν βιταμίνη D είναι το γάλα (μικρή ποσότητα), το ήπαρ, το τυρί, τα αυγά, ο σολωμός και οι ρέγγες. Πολλές χώρες της Δυτικής Ευρώπης και των ΗΠΑ έχουν εμπλουτίσει το γάλα αγελάδος με βιταμίνη D. Και οι δύο βιταμίνες (D₂-D₃) έχουν αντιραχίτικη δράση.

Δερματική σύνθεση της βιταμίνης D₃

Η βιοσύνθεση της βιταμίνης D₃ γίνεται στο δέρμα με την επίδραση της υπεριώδους ακτινοβολίας (290-320 nm) επί της 7-διυδροχοληστερόλης (7DHC) που είναι η προβιταμίνη D. Με την ενέργεια της ακτινοβολίας διασπάται ο δακτύλιος B του στεροειδούς (7-DHC) και σχηματίζεται η βιταμίνη D₃ ή χοληκαλσιφερόλη που αποθηκεύεται στην επιδερμίδα και από εκεί αποδίδεται στην κυκλοφορία.





Αίμα

Πρωτεΐνη που δεσμεύει τη βιταμίνη D
(DBP)

DBP-D₃

(Holick et al 1980, Specker and Tsang 1986) [2,3]

Όταν η βιταμίνη D₃ απομακρυνθεί από την επιδερμίδα, ενώνεται με πρωτεΐνη (DBP) και μπαίνει στην κυκλοφορία του αίματος. Διάφοροι παράγοντες επιδρούν στο σχηματισμό της βιταμίνης D₃ στο δέρμα όπως π.χ. διάρκεια έκθεσης στον ήλιο, μήκος κύματος της υπεριώδους ακτινοβολίας και χρώση του δέρματος. Το μελανό χρώμα δέρματος μειώνει το σχηματισμό βιταμίνης D επειδή η μελανίνη απορροφά την ηλιακή ακτινοβολία από 270-700 nm [2].

Απορρόφηση, μεταφορά και εναπόθεση βιταμίνης D

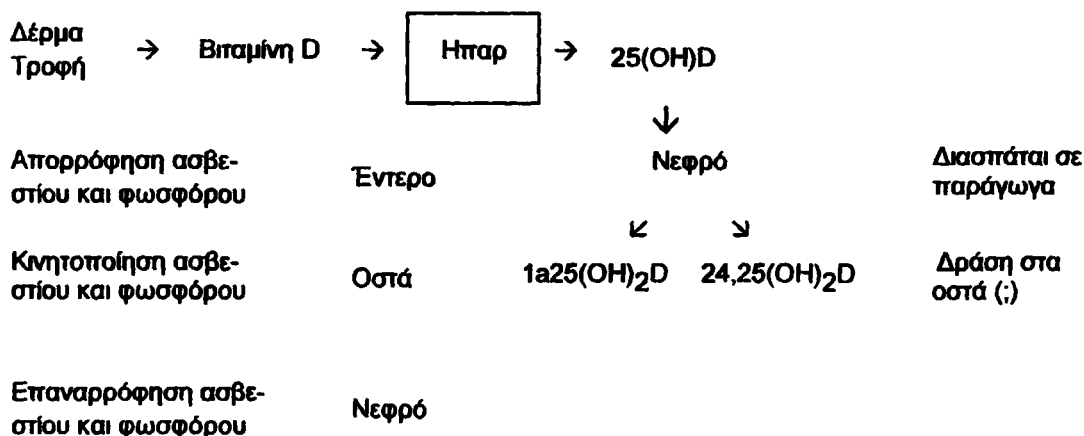
Η προσλαμβανόμενη με τη τροφή βιταμίνη D απορροφάται από το λεπτό έντερο μαζί με άλλα λιποειδή και απαιτεί την παρουσία χολικών αλάτων και παγκρεατικής λιπάσης. Κατά τη χορήγηση από το στόμα το 50 % της δόσης απορροφάται και με τα λεμφικά αγγεία εισέρχεται στην κυκλοφορία. Στο ήπαρ ένα μέρος της βιταμίνης D υδροξυλιώνεται και ένα άλλο μέρος αποβάλλεται ως μη δραστήσιος μεταβολίτης στη χολή [4]. Στο αίμα κυκλοφορεί η διαιτητική βιταμίνη D, η ενδογενής, καθώς και οι υδροξυλιωμένοι μεταβολίτες της βιταμίνης D που μεταφέρονται με τη δεσμευτική πρωτεΐνη της βιταμίνης D (Vitamin D Binding Protein-DBP).

Το γονίδιο της DBP βρίσκεται στο χρωμόσωμα 4 [5,6,7]. Η χημική συγγένεια των μεταβολιτών της βιταμίνης D με την DBP ποικίλει. Είναι ίδια για την 25(OH)D και 24,25(OH)₂ D και μικρότερη για την 1,25(OH)₂D [8]. Στο

πλάσμα ο χρόνος ημισείας ζωής της DBP είναι περίπου 2-3 μέρες, σημαντικά μικρότερος από το χρόνο ημισείας ζωής της 25(OH)D που είναι 5-20 ημέρες. Μικρά κλάσματα της DBP έχουν προσδιορισθεί στα ούρα. Η σύνθεση της DBP αυξάνει μέχρι την 34-36 εβδομάδα της κυήσεως. Η αντιραχίτικη δράση του μητρικού γάλακτος εξαρτάται από την περιεκτικότητα σε βιταμίνη D, καθώς και των μεταβολιτών 25(OH)D, 24,25(OH)₂D και 1,25(OH)₂D, των οποίων η εκατοστιαία αναλογία στο μητρικό γάλα ανέρχεται σε 10-12%, 1-2% και 6-11% αντίστοιχα. Το ανθρώπινο γάλα περιέχει και DBP [9,10]. Η μεγαλύτερη αποθήκη της 25(OH)D στον οργανισμό είναι στην κυκλοφορία και μόνο μικρές ποσότητες υπάρχουν στους ιστούς [4]. Ο Lawson [11] αναφέρει ότι αυξημένες ποσότητες βιταμίνης D₃ εναποτίθενται στο δέρμα, υποδόριο λίπος και σε άλλους ιστούς όταν η τιμή του πλάσματος αυξηθεί πάνω από 30 ng/ml, και ελευθερώνεται όταν υπάρχει έλλειψη βιταμίνης D στον οργανισμό.

Μεταβολισμός βιταμίνης D

Ο μεταβολισμός της βιταμίνης D συνίσταται κυρίως από την υδροξυλίωση στη θέση 25 στο ήπαρ και στην συνέχεια από την 1α και την 24R-υδροξυλίωση στους νεφρούς όπως φαίνεται στο Σχήμα 2.



Σχήμα 2. Μεταβολισμός βιταμίνης D (Reddy and Tsang 1983) [12]

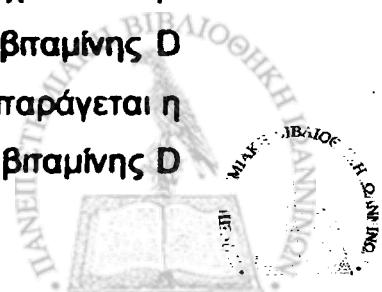


Από την εποχή ακόμη των πειραμάτων του Nicholson and Shepherd [13] είναι γνωστό ότι η βιταμίνη D προάγει την απορρόφηση φωσφορικών ιόντων και ασβεστίου από το έντερο. Η δράση αυτή της βιταμίνης D παρατηρήθηκε κατά τη χορήγηση της βιταμίνης σε πειραματόζωα με ανεπάρκεια βιταμίνης D. Όταν χορηγήθηκε βιταμίνη D σε πειραματόζωα χωρίς ανεπάρκεια βιταμίνης D δεν προκλήθηκε αύξηση της απορρόφησης ασβεστίου. Η εξήγηση για τον περιορισμένο ρόλο της βιταμίνης D δόθηκε με την ανακάλυψη ότι η δράση της στην απορρόφηση ασβεστίου συντελείται μέσω της $1,25-(OH)_2D$.

Η σύνθεση της $1,25(OH)_2D$ από την πρόδρομή της $25(OH)D$ βρίσκεται υπό στενό μεταβολικό έλεγχο, ώστε τα επίπεδά της να ανταποκρίνονται στις εκάστοτε ανάγκες του οργανισμού. Η ρύθμιση της παραγωγής της $1,25(OH)_2D$ θα μπορούσε να γίνεται είτε στην ηπατική 25-υδροξυλάση της χοληκαλσιφερόλης είτε στη νεφρική 1α-υδροξυλάση της $25(OH)D$. Όπως προαναφέρθηκε, δεν υπάρχουν αποδείξεις για κάποιο μηχανισμό αναστολής της δράσης της 25-υδροξυλάσης της χοληκαλσιφερόλης από το προϊόν της αντίδρασης υδροξυλίωσης όπως αρχικά είχε προταθεί. Η σύνθεση της $25(OH)D$ εξαρτάται κυρίως από την πρόσληψη βιταμίνης D με την τροφή και την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία. Η ρύθμιση λοιπόν της παραγωγής της $1,25(OH)_2D$ πρέπει να γίνεται στο στάδιο της νεφρικής 1α-υδροξυλίωσης. Πράγματι, βρέθηκε ότι σε ποντίκια με τοξικότητα από βιταμίνη D καθώς και στον άνθρωπο, ότι τα επίπεδα της $1,25(OH)_2D$ στον ορό ήταν φυσιολογικά ή και μειωμένα σε καταστάσεις που τα επίπεδα της $25(OH)D$ ήταν μέχρι και 30 φορές υψηλότερα του φυσιολογικού.

Στο ήπαρ η πρώτη υδροξυλίωση γίνεται στη θέση C-25 και το προϊόν κυκλοφορεί ως $25(OH)D$ [14]. Το ένζυμο 25-υδροξυλάση βρίσκεται στα μικροσωμάτια και στα μποχόνδρια του ήπατος [15]. Σε πολλά θηλαστικά υπάρχουν ενδείξεις για σύνθεση της $25(OH)D$ και εκτός ήπατος, όπως στο έντερο, νεφρό και πνεύμονα [16].

Μετά το σχηματισμό της στο ήπαρ η $25(OH)D$ εισέρχεται στην κυκλοφορία, όπου μεταφέρεται με την δεσμευτική πρωτεΐνη της βιταμίνης D (DBP) στο νεφρό. Εκεί υδροξυλώνεται στη θέση C-24 ή C-1 και παράγεται η $24,25(OH)_2D$ ή η $1,25(OH)_2D$ αντίστοιχα. Άλλοι μεταβολίτες της βιταμίνης D



έχουν επίσης ταυτοποιηθεί, αλλά η βιολογική τους δράση δεν είναι γνωστή. Η 24,25(OH)₂D είναι ο κύριος μεταβολίτης της 25(OH)D και σχηματίζεται σε καταστάσεις όπου υπάρχει φυσιολογικό ή αυξημένο ασβέστιο ή φωσφόρος [17,18]. Η μεγαλύτερη παραγωγή του μεταβολίτη 24,25(OH)₂D είναι στο νεφρό αλλά και στο έντερο, χόνδρο και σε καλλιέργειες οστικών κυττάρων. Οι συγκεντρώσεις του στο αίμα είναι περίπου το 1/10 αυτών της κυκλοφορούσης 25(OH)D και η σύνθεσή του επηρεάζεται άμεσα από τα επίπεδα της 25(OH)D [17,18]. Ο βιολογικός ρόλος του μεταβολίτη δεν είναι γνωστός. Μπορεί να είναι το πρώτο παράγωγο στο μεταβολισμό της βιταμίνης D [1], αλλά έχει αναφερθεί ότι έχει και κάποιο ρόλο στη μετάλλωση των οστών.

Η βιολογικά πιο δραστική μορφή της βιταμίνης D είναι η 1,25(OH)₂D [19]. Σχηματίζεται από την 25(OH)D στα μιτοχόνδρια των κυττάρων των εγγύς σωληναρίων του νεφρού [20]. Η 1,25(OH)₂D δεν έχει μόνο δράση απευθείας στη μεταφορά μετάλλων ή στη μετάλλωση. Δρα επίσης δια μέσου του μεταβολισμού των στεροειδών του δέρματος, διεγείρει το ανοσοβιολογικό σύστημα και επηρεάζει τις εκκρίσεις πεπτιδικών ορμονών, παραθορμόνης, καλσιπονίνης, προλακτίνης και ινσουλίνης [21,22,23]. Ο τρόπος δράσεως της 1,25(OH)₂D είναι όμοιος με τις άλλες στεροειδείς ορμόνες και ενώνεται με ειδικούς πυρηνικούς υποδοχείς των πρωτεϊνών και σε ειδικά τμήματα του DNA. Αυτές οι διεργασίες είναι αναγκαίες για τη σύνθεση των πρωτεϊνών που ευνοούν τη φυσιολογική δράση της βιταμίνης D.

Μελέτες αναφέρουν ότι η βιταμίνη D κατανέμεται σε όλους τους ιστούς αλλά κυρίως στο λιπώδη ιστό, [24,25]. Οι σημαντικότεροι παράγοντες που ρυθμίζουν τη νεφρική 1α-υδροξυλάση είναι:

- α) Η παραθορμόνη και τα επίπεδα ασβεστίου στον ορό
- β) Τα ανόργανα φωσφορικά ιόντα
- γ) Η ίδια η 1,25 (OH)₂D.

Ασβέστιο-Παρθορμόνη. Έρευνες σε πειραματόζωα έδειξαν ότι η παραθορμόνη αυξάνει την ενεργότητα της 1α-υδροξυλάσης της 25(OH)D. Ποντίκια που μετά από δίαιτες χαμηλού ασβεστίου είχαν αυξημένα επίπεδα 1,25(OH)₂D παρουσίασαν μια γρήγορη μείωση των επιπέδων της 1,25(OH)₂D μετά από παραθυρεοειδεκτομή. Άμεση διέγερση της μετατροπής



της 25(OH)D σε 1,25(OH)₂D παρατηρήθηκε σε καλλιέργειες νεφρικών κυττάρων. Η δράση αυτή της παραθορμόνης πιθανόν να συντελείται με τη σύνθεση ενδοκυττάρου c-AMP. Το c-AMP και το διβουτυρυλο-c-AMP μιμούνται τη δράση της παραθορμόνης in vitro. Η ρυθμιστική δράση της παραθορμόνης στην 1α-υδροξυλάση της 25(OH)D βρέθηκε και με μέτρηση του ενζύμου σε πειραματόζωα με επάρκεια και ανεπάρκεια βιταμίνης D.

Όταν η πρόσληψη ασβεστίου με τις τροφές είναι χαμηλή, παρατηρείται μια αύξηση της απορρόφησης ασβεστίου από το έντερο. Προηγείται μια ελάττωση της συγκέντρωσης των ιόντων Ca⁺⁺ στο αίμα που προκαλεί αύξηση της σύνθεσης της παραθορμόνης και συνεπώς αύξηση της σύνθεσης της 1,25(OH)₂D. Στον πρωτοπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό η συγκέντρωση της παραθορμόνης στον ορό αυξάνει και προκαλεί αύξηση των επιπέδων της 1,25(OH)₂D και αύξηση της απορρόφησης ασβεστίου από το έντερο. Αντίθετα σε παιδιά με μειωμένες τιμές παραθορμόνης, παρατηρούνται χαμηλά επίπεδα 1,25(OH)₂D και δυσσπορρόφηση ασβεστίου. Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η παραθορμόνη είναι ένας σημαντικός ρυθμιστικός παράγοντας της 1α-υδροξυλάσης της 25(OH)D in vivo, αν και πειράματα με καλλιέργειες κυττάρων, για άγνωστους λόγους, δεν έδωσαν ανάλογα αποτελέσματα.

Δίαιτες χαμηλού ασβεστίου και υπασβεστιαμία σε πειραματόζωα αυξάνουν σημαντικά την 1α-υδροξυλάση της 25(OH)D. Έχει βρεθεί μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης ιόντων ασβεστίου στον ορό και στην ενεργότητα της 1α-υδροξυλάσης. Η επίδραση των χαμηλών επιπέδων ασβεστίου στην 1α-υδροξυλάση γίνεται κυρίως μέσω της παραθορμόνης, δεδομένου ότι σε πειραματόζωα μετά από παραθυρεοειδεκτομή δεν παρατηρείται η σχέση που προαναφέρθηκε. Ο μηχανισμός αυτός είναι σχετικά αργός, της τάξης των μερικών ωρών.

Δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένο αν η συγκέντρωση των ιόντων ασβεστίου στον ορό επηρεάζει την ενεργότητα της 1α-υδροξυλάσης και με κάποιο μηχανισμό ανεξάρτητο από την παραθορμόνη. Προσθήκη ιόντων Ca⁺⁺ σε διάφορα παρασκευάσματα μιτοχονδρίων σε συγκεντρώσεις 10⁻⁶ έως 10⁻⁵ M προκάλεσε διέγερση της 1α-υδροξυλάσης, ενώ συγκεντρώσεις της τάξης των 3×10⁻⁶ M είχαν αντίθετο αποτέλεσμα. Από τα παραπάνω



φαίνεται ότι τα ιόντα Ca^{++} , ανάλογα με την εξωμποχονδριακή τους συγκέντρωση, επηρεάζουν με διαφορετικό τρόπο την 1α-υδροξυλάση. Αύξηση της πρόσληψης ασβεστίου από τα μποχόνδρια, μέχρι κάποιο όριο, αυξάνει την ενεργότητα της 1α-υδροξυλάσης. Μεγαλύτερη πρόσληψη έχει αντίθετα αποτελέσματα.

Ανόργανα φωσφορικά ιόντα: Δίαιτες χαμηλές σε φωσφόρο και υποφωσφαταιμία προκαλούν αύξηση της συγκέντρωσης της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στον ορό και συσσώρευση $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στον εντερικό βλεννογόνο. Επίσης, παρατηρείται αύξηση της 1α-υδροξυλάσης *in vivo* και *in vitro*. Τα αποτελέσματα αυτά της χαμηλής σε φωσφόρο διαίτας δεν παρατηρούνται σε ποντίκια που τους έχει αφαιρεθεί η υπόφυση. Ίσως κάποια ορμόνη της υπόφυσης, που δρα άμεσα ή έμμεσα στους νεφρούς, δρα σαν ενδιάμεσος παράγοντας για την αύξηση της σύνθεσης της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

$1,25(\text{OH})_2\text{D}$: Η ίδια η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ είναι ένας σημαντικός ρυθμιστικός παράγοντας της νεφρικής 1α-υδροξυλάσης, όπως έχει δείχθει *in vivo*. Ανεπάρκεια βιταμίνης D που συνοδεύεται από έλλειψη μετάλλων και δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό προκαλεί αύξηση της παραγωγής $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ και αύξηση της ενεργότητας του ενζύμου της 1α-υδροξυλάσης. Αντίθετα, χορήγηση $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ σε ποντίκια ή κοτόπουλα με ανεπάρκεια βιταμίνης D μειώνει τη σύνθεση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Αρχικά, θεωρήθηκε ότι η ρυθμιστική δράση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ πάνω στη σύνθεσή της επιτελείται μέσω της μείωσης της σύνθεσης της παραθορμόνης και επομένως του περιορισμού της ενεργοποίησης της 1α-υδροξυλάσης. Προσθήκη όμως $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ σε νεφρικά σωληνάρια *in vitro*, απουσία παραθορμόνης, βρέθηκε ότι μειώνει σημαντικά τη σύνθεση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ έχει ρυθμιστική δράση πάνω στην ίδια της τη σύνθεση. Η δράση αυτή πιθανόν να είναι και έμμεση, δηλαδή να επηρεάζεται από τα αποτελέσματα της ίδιας της δράσης της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ πάνω στα νεφρικά κύτταρα που περιέχουν την 1α-υδροξυλάση της $25(\text{OH})\text{D}$.

Άλλοι παράγοντες: Ρύθμιση της 1α-υδροξυλάσης έχει αναφερθεί ή προταθεί ότι συντελείται και από άλλες ενδοκρινείς ορμόνες.



Τα γλυκοκορτικοειδή φαίνεται ότι περιορίζουν την απορρόφηση ασβεστίου από το έντερο, πιθανόν επηρεάζοντας με κάποιο τρόπο το μεταβολισμό της βιταμίνης D. Τα ως τώρα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Έχουν αναφερθεί χαμηλά επίπεδα $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ σε παιδιά που έπαιρναν στεροειδή για θεραπευτικούς λόγους, ενώ αντίθετα έχουν παρατηρηθεί αυξημένα επίπεδα $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ σε υγιείς ενήλικες που τους χορηγήθηκε πρεδνιζόνη για δύο εβδομάδες. Αύξηση της ενεργότητας της 1α-υδροξυλάσης που προκλήθηκε από κορτιζόλη αναφέρθηκε *in vitro* σε παρασκευάσματα από νεφρούς. Αντίθετα, ο Seeman και συν. [26] παρατήρησαν ότι η περίσσεια γλυκοκορτικοειδών δεν είχε αποτέλεσμα στα επίπεδα, την παραγωγή και τον καταβολισμό της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Έχει αναφερθεί ότι η προλακτίνη ενεργοποιεί σημαντικά την 1α-υδροξυλάση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ και αυξάνει τα επίπεδα της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στον ορό του αίματος. Η χορήγηση βρωμοκρυπτίνης, που μειώνει την έκκριση προλακτίνης, μειώνει τα επίπεδα της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ σε ποντίκια που θηλάζουν, υποδεικνύοντας ότι η προλακτίνη είναι ρυθμιστικός παράγοντας της ενεργότητας της 1α-υδροξυλάσης. Υπάρχουν ωστόσο ενδείξεις που αντίκεινται στην υπόθεση αυτή. Σε ποντίκια με ανεπάρκεια βιταμίνης D η προλακτίνη αυξάνει τα επίπεδα του ασβεστίου στο αίμα με μηχανισμό ανεξάρτητο από τη βιταμίνη D. Ο ακριβής ρόλος και τρόπος δράσης της προλακτίνης στο μεταβολισμό του ασβεστίου και της βιταμίνης D δεν είναι προς το παρόν πλήρως διευκρινισμένος.

Η αυξητική ορμόνη, όπως και η προλακτίνη, επηρεάζει το μεταβολισμό του ασβεστίου. Αρσενικά ποντίκια που τους αφαιρέθηκε η υπόφυση παρουσιάζουν χαμηλά επίπεδα $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ που αποκαθίστανται με τη χορήγηση αυξητικής ορμόνης, όχι όμως και προλακτίνης. Η υπόφυση ρυθμίζει κατά κάποιο τρόπο την ενεργότητα της 1α-υδροξυλάσης και φαίνεται πως η αυξητική ορμόνη είναι άμεσα ή έμμεσα ένας από τους παράγοντες που συμμετέχουν στη δράση αυτή. Αν και ο ακριβής ρόλος της αυξητικής ορμόνης δεν είναι απόλυτα εξακριβωμένος, είναι γνωστό ότι σε περιόδους γρήγορης ανάπτυξης του σκελετού, όπως στην εφηβεία, τα επίπεδα της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ είναι αυξημένα.



Σαν παράγοντες ρύθμισης του μεταβολισμού της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ έχουν επίσης προταθεί τα στεροειδή του φύλου. Έχει βρεθεί αύξηση της 1α-υδροξυλάσης σε πτηνά κατά την ωοτοκία μετά από χορήγηση οιστρογόνων, προγεστερόνης και τεστοστερόνης. Εντούτοις, παρά την ξεκάθαρη και άμεση αύξηση των επιπέδων της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στον ορό, τα στεροειδή του φύλου φαίνεται να μην έχουν άμεση δράση πάνω στην 1α-υδροξυλάση, αφού προσθήκη των ορμονών αυτών σε καλλιέργειες κυττάρων δεν προκαλεί ενεργοποίηση της 1α-υδροξυλάσης.

Ο χρόνος ημίσειας ζωής της βιταμίνης D στο πλάσμα είναι 1-2 ημέρες ενώ στους ιστούς μεγαλύτερος, μέχρι εβδομάδες [27,28]. Η $25(\text{OH})\text{D}$ έχει μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής στο πλάσμα (5-20 ημέρες) και αποβάλλεται στη χολή ως γλυκουρονοειδές και ως θειϊκές ενώσεις [27]. Επομένως, η $25(\text{OH})\text{D}$ παραμένει ο κύριος μεταβολίτης που κυκλοφορεί και η συγκέντρωσή του στο αίμα χρησιμοποιείται ως δείκτης επάρκειας ή μη του οργανισμού σε βιταμίνη D. Στον άνθρωπο, η παραγωγή της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ είναι 1,5 μg ημερησίως [26] και η διάρκεια ημισείας ζωής είναι 1-3 ημέρες. Η διάρκεια ημίσειας ζωής της $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ είναι 13-31 ημέρες [27]. Η χορήγηση ραδιενεργού $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ και $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ έδειξε ότι αποβάλλονται στη χολή ακολουθώντας την εντεροηπατική κυκλοφορία και τελικά απεκκρίνονται στα κόπρανα και ούρα [28,29]. Οι δημοσιεύσεις είναι αντικρουόμενες σχετικά με το μεταβολισμό της βιταμίνης D, πού οφείλεται κατά ένα μέρος στη μεθοδολογική εξέλιξη σχετικά με τον προσδιορισμό της βιταμίνης D και των μεταβολιτών της στο αίμα και στους ιστούς. Ο συνδυασμός των διαφόρων μεθόδων αέριας (gas) χρωματογραφίας, υψηλής πίεσης υγρής χρωματογραφίας (HPLC), εκτίμηση δεσμευτικής πρωτεΐνης κ.τ.λ. θα προσφέρουν περισσότερες πληροφορίες για το μεταβολισμό και τους μηχανισμούς δράσεως της βιταμίνης D και των μεταβολιτών της.

Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ και $24,25(\text{OH})_2\text{D}$

Οι ιδιότητες της 1α-υδροξυλάσης και της 24R-υδροξυλάσης της $25(\text{OH})\text{D}$ παρουσιάζουν σημαντικές ομοιότητες. Και οι δύο βρίσκονται στο ίδιο κλάσμα



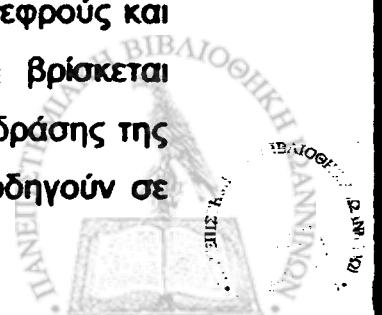
ομογενοποιήματος νεφρού κοτόπουλου και η δράση τους συντελείται μέσω της οξυγόνωσης του κυτοχρώματος P₄₅₀.

Η δράση της 24-υδροξυλάσης συσχετίστηκε αρχικά με αυτή της 1α-υδροξυλάσης. Όταν σε ποντίκια με ανεπάρκεια ασβεστίου χορηγήθηκε βιταμίνη D₃, η τελευταία μεταβολίστηκε κυρίως προς 1α,25(OH)₂D₃ και κατά δεύτερο λόγο προς 24,25(OH)₂D₃ ενώ με επαρκή πρόσληψη ασβεστίου η αναλογία αυτή σχεδόν αντιστράφηκε. Ανάλογα αποτελέσματα έδωσαν και τα *in vitro* πειράματα με καλλιέργειες νεφρικών κυττάρων.

Αυτή η αντίστροφη σχέση μεταξύ των δύο ενζύμων έχει αναφερθεί σε μια ποικιλία πειραματικών συνθηκών. Παραθυρεοειδεκτομή ποντικών με ανεπάρκεια βιταμίνης D βρέθηκε ότι ελαττώνει την ενεργότητα της 1α-υδροξυλάσης και αυξάνει αυτή της 24R-υδροξυλάσης, ενώ χορήγηση παραθορμόνης μετά την εκτομή απέτρεψε ανάλογο αποτέλεσμα. Χορήγηση χοληκαλσιφερόλης ή 1α,25(OH)₂D₃ σε κοτόπουλα με ανεπάρκεια βιταμίνης D επίσης αντέστρεψε τη σχέση ανάμεσα στις δύο υδροξυλάσες της 25(OH)D. Άλλοι ερευνητές παρουσίασαν ανάλογα αποτελέσματα.

Τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών εκλήφθηκαν αρχικά σαν έκφραση "αντιστρόφως ανάλογων" μηχανισμών ρύθμισης. Εντούτοις, έχουν βρεθεί στοιχεία που αντικάσκουν με την παραπάνω εξήγηση και οδηγούν σε μια διαφορετική εξήγηση για τις αλλαγές στις ενεργότητες των ενζύμων. Σε κοτόπουλα που διατρέφονταν με διαίτα 3% σε Ca, βρέθηκε μειωμένη ενεργότητα τόσο της 1α όσο και της 24-υδροξυλάσης. Ακόμη, ενώ βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της πτώσης του Ca στον ορό και της ενεργότητας της 1α-υδροξυλάσης, δεν βρέθηκε ανάλογη συσχέτιση με την ενεργότητα της 24-υδροξυλάσης, όπως θα περίμενε κανείς αν υπήρχε ένας αντίστροφος μηχανισμός ρύθμισης. Επίσης, τα επίπεδα της 1,25(OH)₂D στο αίμα δεν επηρεάζονται από αυτά της 25(OH)D, ενώ έχει δείχθει μια σαφής θετική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων της 25(OH)D και της 24,25(OH)₂D, με την 24,25(OH)₂D να είναι το 10% περίπου της 25(OH)D.

Η 1α-υδροξυλάση εξάλλου, εντοπίζεται αποκλειστικά στους νεφρούς και βρίσκεται υπό ομοιοστατική ρύθμιση, ενώ η 24R-υδροξυλάση βρίσκεται τουλάχιστον σε τρεις ιστούς και δεν έχει βρεθεί σχέση μεταξύ της δράσης της 24,25(OH)₂D και της ενεργότητας του ενζύμου. Τα παραπάνω οδηγούν σε

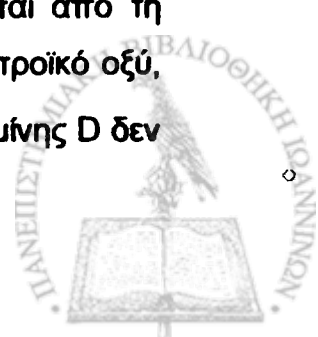


αμφισβήτηση για το αν υπάρχει ρύθμιση της 24-υδροξυλάσης. Ο Fraser [28] προτείνει το παρακάτω μοντέλο για την εξήγηση των παραπάνω δεδομένων. Το μοντέλο προβλέπει δυο σημεία ρύθμισης των νεφρικών μιτοχονδριακών υδροξυλιώσεων. Το πρώτο είναι η διαθεσιμότητα του υποστρώματος $25(\text{OH})\text{D}_3$ στο άμεσο περιβάλλον των υδροξυλασών στα μιτοχόνδρια. Το δεύτερο είναι η ειδική ενεργοποίηση της 1α-υδροξυλάσης και μόνο. Σε συνθήκες που δεν υπάρχει απαίτηση για παραγωγή $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ και τα δύο σημεία ρύθμισης δεν διεγείρονται, οπότε παράγονται μικρές ποσότητες $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ και το μεγαλύτερο μέρος του διαθέσιμου υποστρώματος μετατρέπεται σε $24,25(\text{OH})_2\text{D}$. Όταν τα επίπεδα του εξωκυττάρου Ca^{++} τείνουν να πέσουν, ενεργοποιούνται και οι δυο μηχανισμοί. Μεγαλύτερες ποσότητες $25(\text{OH})\text{D}_3$ εισέρχονται στο σημείο της υδροξυλίωσης και δεδομένου ότι η K_m της 1α-υδροξυλάσης είναι χαμηλότερη απ' αυτή της 24-υδροξυλάσης, παράγεται μεγαλύτερη συγκριτικά ποσότητα $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Καταβολισμός της βιταμίνης D: Μετά από χορήγηση $25(\text{OH})[26,27^{14}\text{C}]\text{D}_3$ σε ζώα με ανεπάρκεια βιταμίνης D, περίπου 7% του ^{14}C βρέθηκαν στο CO_2 της εκπνοής. Εκτομή των νεφρών σταμάτησε την παραγωγή του CO_2 από τον ^{14}C της $25(\text{OH})\text{D}$, υποδεικνύοντας ότι ο μεταβολίτης αυτός πρέπει να μεταβολιστεί πρώτα προς $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ πριν υποστεί οξειδωση της πλευρικής αλυσίδας. Το κύριο προϊόν της οξειδωσης της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ είναι το καλσιπροϊκό οξύ (1α-3β-διυδροξυ-24-νορ-5,7,10(19)-χολατριεν-23-ικό οξύ), το οποίο βρέθηκε βιολογικά ανενεργό.

Ένας άλλος πιθανός μεταβολικός δρόμος της $25(\text{OH})\text{D}$ είναι η υδροξυλίωση στον C-23 προς $23,25(\text{OH})_2\text{D}$ και η οξειδωση προς $25(\text{OH})\text{D}-26,23$ -λακτόνη. Τα δυο τελευταία προϊόντα πιστεύεται ότι είναι βιολογικά ανενεργά.

Η κύρια οδός απέκκρισης της βιταμίνης D είναι η χολή ενώ στα ούρα βρίσκεται λιγότερο από το 4% της ραδιενέργειας που προέρχεται από τη βιταμίνη. Κύριο προϊόν απέκκρισης της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ είναι το καλσιπροϊκό οξύ, αλλά τα περισσότερα υδατοδιαλυτά προϊόντα απέκκρισης της βιταμίνης D δεν έχουν ακόμα ταυτοποιηθεί.



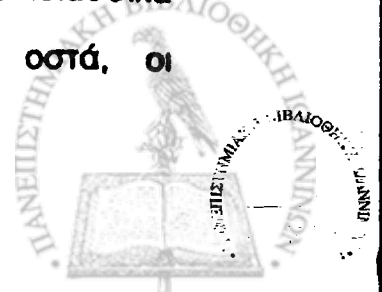
Βιολογική δράση της βιταμίνης D. Η βιταμίνη D είναι ορμόνη και όχι βιταμίνη. Η επιστήμη της χημείας από την αρχή την κατέταξε στα παράγωγα των στεροειδών, λόγω της χημικής της δομής. Η ανακάλυψη του τρόπου δράσης της απέδειξε την αντιστοιχία με τη χημική δομή. Το ότι ταξινομήθηκε στις βιταμίνες οφείλεται σε λόγους ιστορικούς και στο γεγονός ότι η φυσιολογική της σημασία και ο τρόπος δράσης της δεν αποσαφηνίστηκαν παρά σχετικά πρόσφατα.

Σαν ορμόνη ορίζεται ένας φυσιολογικός ρυθμιστής που είναι αποτελεσματικός σε πολύ μικρές ποσότητες. Συντίθεται από κύτταρα σε ειδικούς αδένες ή ιστούς από όπου εκκρίνεται στην κυκλοφορία του αίματος και μεταφέρεται σε ειδικά όργανα-στόχους, στα οποία επιδρά ώστε να προκληθούν μια σειρά από ειδικές βιολογικές αποκρίσεις.

Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, ο ως τώρα θεωρούμενος ο πιο δραστήριος μεταβολίτης της βιταμίνης D, συντίθεται στους νεφρούς και δρα σε μια σειρά όργανα-στόχους, όπως τα οστά, το έντερο, οι νεφροί και οι παραθυρεοειδείς αδένες. Από την άποψη αυτή η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ κατατάσσεται στις ορμόνες και ειδικότερα στην κατηγορία των στεροειδών ορμονών. Υπάρχουν αποδείξεις ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ δρα στα όργανα στόχους, τουλάχιστον εν μέρει, με μηχανισμό ανάλογο μ' αυτό των στεροειδών ορμονών.

Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ συνδέεται στεροειδικά με μια ενδοκυττάρια πρωτεΐνη υποδοχέα των κυττάρων στόχων. Το σύμπλεγμα υποδοχέα-στεροειδούς μεταφέρεται στον πυρήνα όπου αλληλεπιδρά με το DNA και είτε προκαλεί τη σύνθεση ειδικών mRNA που κωδικοποιούν ειδικές πρωτεΐνες οι οποίες προκαλούν ένα σύνολο βιολογικών αποκρίσεων, ή προκαλεί μια επιλεκτική καταστολή της μεταγραφής ορισμένων γονιδίων.

Οι υποδοχείς της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ από διάφορα είδη έχουν χαρακτηριστεί σαν πρωτεΐνες που συνδέονται με το DNA (DNA binding proteins). Οι πρωτεΐνες αυτές συνδέονται με την $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ με μεγάλη συγγένεια και έχουν μοριακό βάρος 50.000 έως 60.000 Daltons και K_D της τάξης από 10^{-10} έως 50×10^{-11} M. Υποδοχείς της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ έχουν βρεθεί στα κλασσικά όργανα στόχους της βιταμίνης D, όπως το έντερο, τα οστά, οι



παραθυρεοειδείς αδένες και οι νεφροί, αλλά και σε πληθώρα άλλων ιστών και κυττάρων όπως η υπόφυση, το δέρμα, το πάγκρεας και τα μονοκύτταρα.

Ένα μεγάλο μέρος της αλληλουχίας αμινοξέων του εντερικού υποδοχέα του κοτόπουλου και η πλήρης πρωτοταγής δομή του ανθρώπινου εντερικού υποδοχέα, έχουν βρεθεί πρόσφατα και διαπιστώθηκε ομοιότητα της περιοχής του υποδοχέα που συνδέεται με το DNA και των αντίστοιχων περιοχών των υποδοχέων όλων των άλλων στεροειδών και του ογκογονιδίου V-erb A.

Ορισμένοι ερευνητές αναφέρουν ότι σε ορισμένες περιπτώσεις η 1,25(OH)₂D έχει πολύ γρήγορα αποτελέσματα (εμφανίζονται σε χρονικό διάστημα της τάξης των 1-15'), που ενδεχομένως δεν μπορούν να εξηγηθούν με έκφραση γονιδίων. Ακόμη, άλλοι μεταβολίτες όπως η 25(OH)D και η 24,25(OH)₂D πιθανόν να δρουν με διαφορετικό μηχανισμό.

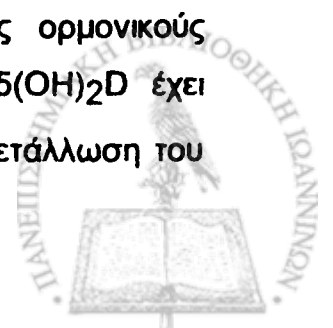
Η πιο καλά ως τώρα μελετημένη δράση της βιταμίνης D είναι η ρύθμιση της ομοιόστασης των μετάλλων. Σχετικά πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι παίζει ρόλο στη διαφοροποίηση και ανάπτυξη διαφόρων τύπων κυττάρων, όπως τα κύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος, της επιδερμίδας και του εντέρου.

ΒΙΤΑΜΙΝΗ D ΚΑΙ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

Η ομοιόσταση Ca, P και βιταμίνης D στην ενδομήτρια ζωή ρυθμίζεται από τον πλακούντα. Έτσι εξηγείται ότι η τιμή του Ca, P και της 25(OH)D του ομφαλίου λώρου είναι μεγαλύτερη από την τιμή του αίματος του ενζύμου. Στην εξωμήτρια ζωή, η ομοιόστασή τους ρυθμίζεται από το έντερο, το νεφρό και τα οστά [29].

Η 1,25(OH)₂D, σε συνδυασμό με την παραθορμόνη και την καλσιτονίνη, είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της ομοιόστασης των μετάλλων και του μεταβολισμού των οστών. Από την άποψη αυτή, κλασσικά όργανα στόχοι της 1,25(OH)₂D είναι τα οστά, οι νεφροί και το έντερο.

Οστά: Ο οστικός ιστός υφίσταται διαρκή ανασχηματισμό (remodelling) και υπό φυσιολογικές συνθήκες ο ρυθμός αποικοδόμησης των οστών από τους οστεοκλάστες είναι ίδιος με το ρυθμό σύνθεσης νέου οστού από τους οστεοβλάστες. Μια σειρά από τοπικούς και συστηματικούς ορμονικούς παράγοντες επηρεάζουν τη διπλή αυτή διαδικασία. Η 1,25(OH)₂D έχει αναγνωριστεί ως μια ορμόνη απαραίτητη για τη φυσιολογική μετάλλωση του



νέου οστού και σε μεγάλες συγκεντρώσεις, ως παράγοντας αφαλάτωσης των οστών. Αυτή η δπλή δράση της βπαμίνης D αρχικά φαίνεται παράδοξη. Η δράση της όμως στην αφαλάτωση των οστών έχει σαν σκοπό ακριβώς τη διατήρηση σταθερών επιπέδων ασβεστίου και φωσφορικών ιόντων στο πλάσμα που είναι απαραίτητα για τη μετάλλωση των οστών.

Η επίδραση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στην αύξηση και μετάλλωση των οστών, πιστεύεται ότι είναι κυρίως έμμεση, δηλαδή συντελείται μέσω της ρύθμισης των εξωκυττάρικων συγκεντρώσεων ασβεστίου και φωσφορικών ιόντων.

Αφετέρου, οι οστεοβλάστες που διαθέτουν υποδοχείς της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ είναι πιθανόν τα κύρια κύτταρα στόχοι της ορμόνης στα οστά. Έχει βρεθεί ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ επηρεάζει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών σε καλλιέργεια και τη σύνθεση της αλκαλικής φωσφατάσης από αυτούς, ότι αυξάνει τη σύνθεση της οστεοκαλσίνης (πρωτεΐνης των οστών που περιέχει γ-καρβοξυγλουταμικό οξύ) και της πρωτεΐνης της θεμελιώδους ουσίας των οστών που περιέχει γ-καρβοξυγλουταμικό οξύ, ενώ μειώνει τη σύνθεση του κολλαγόνου τύπου I από εμβρυικά κρανιακά οστά ποντικών.

Φαίνεται λοιπόν, ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ παίζει κάποιο ρόλο στη ρύθμιση της δράσης των οστεοβλαστών, αλλά η φυσιολογική σημασία της δεν είναι επακριβώς διευκρινισμένη. In vivo και in vitro πειράματα έδειξαν ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ αυξάνει τον αριθμό των οστεοκλαστών, πιθανόν επηρεάζοντας τη διαφοροποίηση πρόδρομων κυττάρων, αλλά μάλλον δεν επηρεάζει άμεσα τη δράση των οστεοκλαστών, αφού σε οστεοκλάστες κοτόπουλου δεν βρέθηκαν υποδοχείς της ορμόνης. Η δράση της $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ στα οστά είναι ποιοτικά διαφορετική από αυτή της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Έντερο: Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ αυξάνει την ενεργό μεταφορά ασβεστίου στο έντερο. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ μέσω ενός υποδοχέα των εντερικών κυττάρων προκαλεί αύξηση στη σύνθεση της καλβινδίνης-D (calbindin-D), μιας πρωτεΐνης που συνδέεται με το ασβέστιο. Τα ποσά της καλβινδίνης-D έχουν θετική συσχέτιση με το ρυθμό της απορρόφησης και μεταφοράς ασβεστίου στον άνθρωπο και σε πειραματόζωα. Ακόμη, έχει αναφερθεί αύξηση της μεταφοράς ασβεστίου από το έντερο με ένα μηχανισμό



που λόγω της μεγάλης ταχύτητάς του δεν μπορεί να εξηγηθεί με γονιδιακή έκφραση.

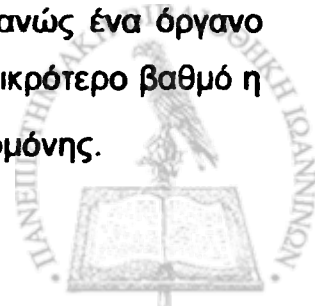
Νεφροί: Η βιταμίνη D και οι μεταβολίτες της αυξάνουν την επαναρρόφηση των φωσφορικών, του ασβεστίου, του νατρίου και των όξινων ανθρακικών ιόντων όπως έδειξαν πειράματα σε ποντίκια και σκύλους. Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ δρα στους νεφρούς μόνο παρουσία παραθορμόνης. Ακόμη, η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ μπορεί να προκαλέσει φωσφατουρία σε ποντίκια που τους αφαιρέθηκαν οι θυρεοειδείς και παραθυρεοειδείς αδένες. Το άπρω νεφρικό σωληνάριο και πιθανόν το εγγύς διαθέτουν υποδοχείς της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στους νεφρούς αναστέλλει τη δράση της 1 α -υδροξυλάσης της $25(\text{OH})\text{D}$, συμβάλλοντας έτσι στη διατήρηση σταθερών επιπέδων της ορμόνης στο αίμα.

Παραθυρεοειδείς αδένες: Η παραθορμόνη είναι ένας σημαντικός ρυθμιστικός παράγοντας που αυξάνει τη σύνθεση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Αντίστροφα υψηλά επίπεδα $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ προκαλούν μείωση στην έκκριση της παραθορμόνης με δύο διαφορετικούς μηχανισμούς.

Κατά τον πρώτο μηχανισμό, που είναι σχετικά πιο αργός, η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ προκαλεί αύξηση των επιπέδων του ασβεστίου στο αίμα, αυξάνοντας την απορρόφηση Ca^{++} από το έντερο και την απελευθέρωση Ca^{++} από τα οστά. Η αύξηση των επιπέδων του Ca^{++} στο αίμα είναι γνωστό ότι προκαλεί μείωση της έκκρισης της παραθορμόνης. Η χορήγηση $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια ή πρωτοπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό μειώνει τα επίπεδα της παραθορμόνης στο πλάσμα.

Κατά το δεύτερο και πιο σύντομο χρονικά μηχανισμό, η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ αναστέλλει απευθείας τη σύνθεση της παραθορμόνης, επιδρώντας πάνω στους παραθυρεοειδείς αδένες. Ορισμένοι ερευνητές πάντως, αμφισβητούν ότι η βιταμίνη D ή οι μεταβολίτες της έχουν κάποια άμεση δράση πάνω στους παραθυρεοειδείς αδένες. Οι παραθυρεοειδείς αδένες όμως έχουν υποδοχείς της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ και μια πρωτεΐνη που συνδέεται με το ασβέστιο, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι αδένες αυτοί είναι πιθανώς ένα όργανο στόχος της δράσης της βιταμίνης D. Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ και σε μικρότερο βαθμό η $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ καταστέλλουν το m-RNA της προπροπαραθορμόνης.



ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΠΡΟΔΙΑΘΕΤΟΥΝ ΣΤΗΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΩΝ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D

Ο Childs και συν [30,31], παραδέχονται ότι τα γενετικά στοιχεία που εντοπίζονται στο χρωμόσωμα X, προδιαθέτουν στην ανεπάρκεια βιταμίνης D και επομένως τα αγόρια είναι πιο επιρρεπή στην εμφάνιση υποβιταμινώσεως. Ο Lapatsanis και συν [32], που θεώρησαν ως ένδειξη υποβιταμινώσεως D τιμές αλκαλικής φωσφατάσης μεγαλύτερες από 30 μονάδες King Armstrong, βρήκαν ότι η σχέση αγόρια προς κορίτσια ήταν 2,25. Ο Doxiadis και συν [33], ερεύνησαν 21 ραχτικά βρέφη και τους 22 γονείς τους, εκ των οποίων κανένας δεν είχε ευρήματα κλινικού και βιοχημικού ραχτισμού εν ενεργεία. Οι ερευνητές βρήκαν ότι 1) Το ένα τρίτο των ραχτικών παιδιών είχαν επίμονη αμινοξουρία και φωσφατουρία περισσότερο από 8 εβδομάδες μετά την κλινική και βιοχημική ίαση του ραχτισμού, 2) υπήρχε παθολογικά αυξημένη αμινοξουρία και φωσφατουρία σε πολλούς γονείς, και 3) υπήρχε μια καλή συσχέτιση μεταξύ εκκρίσεων ατομικής αμινοξουρίας του νηπίου και των γονιών του.

Σε επιδημιολογική έρευνα στην Ελλάδα για τροφικό ραχτισμό [32] βρέθηκε ότι το 25 % των βρεφών που δεν εκτέθηκαν στον ήλιο και δεν πήραν βιταμίνη D παρουσίασαν ραχτισμό. Από τα παραπάνω στοιχεία της βιβλιογραφίας φαίνεται ότι και μια γενετική προδιάθεση συντελεί στην εμφάνιση του ραχτισμού. Στο κύριο άρθρο του περιοδικού *British Medical Journal* αναφέρθηκε [34] ότι τα παιδιά από τη Ασία προδιατίθενται για την εμφάνιση του ραχτισμού, αν και η κατάσταση διαβίωσης στην Αγγλία ήταν σχεδόν όμοια με τα παιδιά της Βρετανίας, της Ινδίας και των άλλων ομάδων μεταναστών που κατοικούσαν στο Ενωμένο Βασίλειο. Οι αιτίες γι' αυτή την προδιάθεση των παιδιών της Ασίας δεν έχουν διευκρινιστεί. Φαίνεται ότι η έλλειψη βιταμίνης D δεν είναι η μόνη αιτία, αλλά αποτέλεσμα ενός συμπλέγματος επιδράσεων μεταξύ γενετικών στοιχείων και επιδράσεων του περιβάλλοντος (διατροφή, ελλειπής ακτινοβολία, δυσσπορόρροφηση βιταμίνης D κ.τ.λ.). Ο Benson και συν [35] αναφέρουν ότι ο νηπιακός ραχτισμός συμβαίνει συνήθως στις πτωχές αγροτικές οικογένειες που δεν ελάμβαναν βιταμίνη D. Τα παιδιά από την Ασία παρουσίασαν ραχτισμό ανεξαρτήτως κοινωνικοοικονομικής τάξης. Ο Lapatsanis και συν [32] βρήκαν ότι η

χορήγηση βιταμίνης D ήταν πιο σημαντική για την προφύλαξη του ραχιτισμού από τον τρόπο διατροφής ή την κοινωνικοοικονομική κατάσταση. Οι ίδιοι συγγραφείς αναφέρουν ότι το 65% όλων των εξετασθέντων νηπίων δεν έλαβε βιταμίνη D και υπεύθυνοι για τη μη χορήγηση της βιταμίνης στο 60 % ήταν οι γιατροί και στο υπόλοιπο οι γονείς των παιδιών. Οι συγγραφείς συμπεραίνουν [32] ότι, τουλάχιστον για την Ελλάδα, δεν έχει μεγάλη σημασία η δωρεάν χορήγηση της βιταμίνης, όσο οι οδηγίες προς τους γιατρούς, αδελφές, υγειονομικές υπηρεσίες, για την ανάγκη χορήγησης βιταμίνης D. Σε παιδιά από την Ασία ο μεταβολίτης 25(OH)D βρέθηκε σε χαμηλά επίπεδα και η χορήγηση 400 μονάδων βιταμίνης D προκάλεσε αύξηση των τιμών του μεταβολίτη. Αυτό το πρόβλημα δεν παρατηρήθηκε σε παιδιά από την Ινδία και από άλλες ομάδες μεταναστών. Αυτές οι παρατηρήσεις δείχνουν ότι η κουλτούρα και η κοινωνικότητα της κοινότητας πρέπει να λαμβάνονται υπόψη για τις προφυλακτικές υγειονομικές υπηρεσίες, επειδή και η ιατρική φροντίδα είναι όπως και η βιομηχανία, όπου το προϊόν πρέπει να φθάσει στον καταναλωτή [36].

ΥΠΕΡΒΙΤΑΜΙΝΩΣΗ D

Όπως η έλλειψη βιταμίνης D προδιαθέτει σε ραχιτισμό, έτσι και η μακροχρόνια χορήγηση μεγάλων δόσεων βιταμίνης προδιαθέτει για υπερβιταμίνωση D, που χαρακτηρίζεται από υπερασβεστιαμία και αύξηση της οστικής πυκνότητας. Τα κλινικά συμπτώματα είναι ανορεξία, δυσκοιλιότητα, ναυτία, έμετοι, πολυδιψία και απώλεια βάρους. Τα νήπια παρουσιάζουν νωθρότητα ή ευερεθιστικότητα και ηπατομεγαλία [37]. Ο φωσφόρος αίματος είναι φυσιολογικός ή αυξημένος, ανάλογα με το βαθμό της υπερασβεστιαμίας. Η αλκαλική φωσφατάση είναι φυσιολογική ή αυξημένη, ανάλογα αν υπάρχει απομετάλλωση των οστών με δευτεροπαθή υπερόστωση [38]. Τα επίπεδα της 25(OH)D στον ορό είναι αυξημένα και της 1,25(OH)₂D εντός των φυσιολογικών ορίων ή μειωμένα [39]. Ακτινολογικά, εμφανίζεται αύξηση της μετάλλωσης των μεταφύσεων των μακρών οστών, της βάσεως του κρανίου και των οφθαλμικών κόγχων. Οι υπέρηχοι και οι ακτινογραφίες των μαλακών μορίων και νεφρών παρουσιάζουν ασβεστοποίηση [40]. Υπερβιταμίνωση D σπάνια παρουσιάζεται στα μεγαλύτερα παιδιά και ενήλικες, ακόμη και αν τους



χορηγούνται 40.000 μονάδες ημερησίως για μακρύ χρονικό διάστημα [41]. Η υπερευαισθησία στη βιταμίνη D στα νεογέννητα εξαρτάται από τη λήψη βιταμίνης D από τη μητέρα κατά τη διάρκεια της κύησης. Πάντως, κατά τη χορήγηση μεγάλων δόσεων βιταμίνης D σε 15 υποπαραθυρεοειδικές μητέρες κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, κανένα από τα νεογέννητα δεν παρουσίασε υπερβιταμίνωση D [42]. Τελευταία, η βιβλιογραφία αναφέρει δύο περιπτώσεις ενηλίκων (πατέρας και γιος) που παρουσίασαν τοξικά συμπτώματα υπερβιταμίνωσης D από ζάχαρη που είχε εμπλουτισθεί με βιταμίνη D [43].

ΠΑΡΑΘΥΡΕΟΕΙΔΕΙΣ ΑΔΕΝΕΣ - ΠΑΡΑΘΟΡΜΟΝΗ

Οι παραθυρεοειδείς αδένες ονομάστηκαν έτσι από τον Σουηδό ανατόμο Ivar Sandstrom [44], επειδή βρίσκονται πλησίον του θυρεοειδούς αδένος. Ο Gley [45] απέδειξε ότι αφαίρεση των παραθυρεοειδών αδένων προκάλεσε θανατηφόρο τετανία σε νεαρά πειραματόζωα. Η σχέση των παραθυρεοειδών προς το μεταβολισμό του ασβεστίου αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά από τους MacCallum και Voegtlin [46]. Ο Collip [47] αναφέρει αύξηση του ασβεστίου σε φυσιολογικούς και παραθυρεοειδεκτομηθέντες σκύλους μετά τη χορήγηση εκχυλισμάτων παραθυρεοειδών αδένων. Οι παραθυρεοειδείς αδένες είναι μικρά ζεύγη σωματίων που προέρχονται από το ενδόδερμα του βραγχιακού σάκκου. Στον άνθρωπο αμφότερα τα ζεύγη των αδένων εντοπίζονται στην οπίσθια επιφάνεια του θυρεοειδούς. Η παραθορμόνη (PTH) είναι ένα πολυπεπτίδιο με 84 αμινοξέα και με μοριακό βάρος 9500. Το γονίδιο της PTH εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 11 [48]. Το αμινοτελικό άκρο της PTH (1-34) είναι το ενεργό μέρος και το καρβοξυλικό (35-85) το ανεργές. Η PTH ενεργοποιεί την αδενυλο-κυκλάση στη μεμβράνη των οστικών κυττάρων και αυτή, με τη σειρά της, μετατρέπει την τριφωσφορική αδενοσίνη (ATP) σε κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP). Αυτή η τελευταία δρα στη σύνθεση ειδικών ενζύμων στα λυσοσωμάτια που κινητοποιούν το ασβέστιο από τα οστά. Έχει αποδειχτεί ότι η καλσιπονίνη ενεργοποιεί τη φωσφοδιεστεράση που ενεργοποιεί το cAMP. Οι παραθυρεοειδείς εκκρίνουν ολόκληρη την PTH και μερικά κλάσματα της ορμόνης. Η μέθοδος προσδιορισμού της ορμόνης στον ορό είναι ραδιοανοσολογική και σχετίζεται

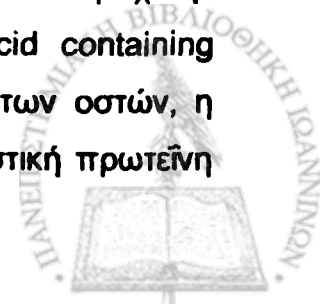
με τα αμινοξέα 44-68 του καρβοξυτελικού μέρους (c-PTH) και έχει αποδειχθεί η κλινική της σημασία [49].

Η PTH κινητοποιεί το Ca από τα οστά, αυξάνει τη νεφρική επαναρρόφηση του ασβεστίου και την εντερική απορρόφησή του [50]. Επίσης ευνοεί την νεφρική απέκκριση του P, αυξάνει την εντερική απορρόφηση και κινητοποιεί P από τα οστά [50]. Η παραγωγή της PTH ρυθμίζεται πιθανόν από το ιονισμένο Ca. Ο Lavender και συν [51] βρήκαν ότι η ένεση παραθορμόνης στη νεφρική αρτηρία του ενός νεφρού προκάλεσε φωσφατουρία, ενώ στο νεφρό της άλλης πλευράς η ποσοτική απέκκριση του P ήταν αμετάβλητη. Η PTH δρα στο άπω νεφρικό σωληνάριο και προκαλεί φωσφατουρία [13]. Η έλλειψη βιταμίνης D μπορεί να προκαλέσει δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, που οφείλεται στην ανεπαρκή εντερική απορρόφηση Ca, με αποτέλεσμα μείωση του Ca στον ορό. Η PTH σε μεγάλες δόσεις προκαλεί αμινοξουρία [52]. Μεγάλες δόσεις βιταμίνης D αναστέλλουν την έκκριση της PTH. Από μελέτες φαίνεται ότι η χορήγηση της PTH κινητοποιεί το Ca από τις μόνιμες εναποθέσεις ασβεστίου στα οστά και δεν επηρεάζει τις επιφανειακές και πρόσφατες εναποθέσεις σε αυτά. Φαίνεται ότι η δράση της PTH είναι όμοια με της βιταμίνης D [53]. Η χορήγηση της παραθορμόνης προκαλεί αύξηση των επιπέδων της υδροξυπρολίνης στο αίμα και στα ούρα που πιθανόν οφείλεται στην αύξηση της αποικοδόμησης του κολλαγόνου της φλοιώδους ουσίας των οστών [54].

Ο καταβολισμός της PTH γίνεται κυρίως στο ήπαρ και τους νεφρούς. Οι παραθυρεοειδείς του ανθρώπινου εμβρύου λειτουργούν από την 10η εβδομάδα της κύησης [55]. Ο μητρικός υπερπαραθυρεοειδισμός οδηγεί σε υπολειπουργία των παραθυρεοειδών αδένων του εμβρύου [56] και αντιθέτως ο μητρικός υποπαραθυρεοειδισμός μπορεί να προκαλέσει υπερπαραθυρεοειδισμό στο έμβρυο και στο νεογνό [57].

ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗ

Η οστεοκαλσίνη, που ονομάζεται και οστική πρωτεΐνη που περιέχει γ-καρβοξυ-γλουταμικό οξύ (bone gamma-carboxy-glutamate acid containing protein, BGP) είναι μια δεσμευτική πρωτεΐνη του ασβεστίου των οστών, η σύνθεση της οποίας εξαρτάται από τη βιταμίνη K. Είναι μια οστική πρωτεΐνη



με μοριακό βάρος 5700 daltons και συντίθεται από τους οστεοβλάστες των οστών [58]. Το μόριό της αποτελείται από 49 αμινοξέα εκ των οποίων τα τρία στις θέσεις 17, 21 και 24 είναι γ-καρβοξυγλουταμικό οξύ (Gla). Αυτό το οξύ μπορεί να δεσμεύει ιόντα Ca προσδίδοντας και στην οστεοκαλσίνη τη δεσμευτική της ικανότητα για Ca. Έτσι η οστεοκαλσίνη συνδέεται με τον υδροξυαπατίτη και εναποτίθεται στη θεμελιώδη ουσία του οστίτη ιστού [59].

Η οστεοκαλσίνη του ορού προέρχεται κυρίως από τη κυτταρική σύνθεση, παρά από την αποικοδόμηση του οστού. Ένα μικρό ποσοστό (10-25%) της συντιθέμενης πρωτεΐνης αποδίδεται στην κυκλοφορία και το υπόλοιπο παραμένει στο οστό [59,60].

Από τα στοιχεία της βιβλιογραφίας [61,62] φαίνεται ότι η συγκέντρωση της οστεοκαλσίνης του ορού αντανακλά την οστεοβλαστική σύνθεση της πρωτεΐνης και τους παράγοντες που επηρεάζουν τη σύνθεση και την κάθαρση της οστεοκαλσίνης. Η ανεπάρκεια της βιταμίνης K συντελεί στην ανεπαρκή σύνθεση οστεοκαλσίνης, όπως και στη σύνθεση του γ-καρβοξυγλουταμικού οξέος (Gla). Στα περισσότερα εργαστήρια τα φυσιολογικά όρια της οστεοκαλσίνης για τους ενήλικες είναι $7 \pm 2,5$ ng/ml. Επιπλέον η οστεοκαλσίνη στον ορό εμφανίζει κικάρδιο ρυθμό με χαμηλά επίπεδα τις πρωινές ώρες (ελάχιστη τιμή περί το μεσημέρι) και υψηλότερα τις βραδυνές με μέγιστη τιμή γύρω στις 04.00 π.μ. [63].

Υψηλά επίπεδα οστεοκαλσίνης στον ορό παρατηρούνται σε ταχέως αυξανόμενα ζώα, σε παιδιά και μεγαλύτερα επίπεδα στην περίοδο της ήβης [63,64,65]. Χαμηλά επίπεδα οστεοκαλσίνης στον ορό σε κλινικές καταστάσεις αποτελεί ένδειξη μειωμένου οστικού σχηματισμού και αυξημένη οστεοκαλσίνη στον ορό παρατηρείται σε αύξηση του οστικού σχηματισμού [66,67,68].

ΣΧΕΣΗ ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗΣ ΟΡΟΥ ΠΡΟΣ ΟΣΤΙΚΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟ

Μελέτες από διάφορες ομάδες ερευνητών έδειξαν ότι αλλαγές στις τιμές της οστεοκαλσίνης στον ορό σχετίζονται άμεσα με τις ιστομορφομετρικές παραμέτρους του οστικού σχηματισμού ($R \geq 0,72$). Αυτές οι συσχετίσεις έχουν παρατηρηθεί σε καταστάσεις μεταεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης [66,68], διαταραχές του θυρεοειδούς [69], πρωτοπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό [67], χρόνια νεφρική ανεπάρκεια [68,70] και υπερασβεστιαμία που οφείλεται σε

νεοπλασίες. Εκτίμηση του σχηματισμού των οστών με τη μέθοδο της κινητικής του ασβεστίου σε ασθενείς με υπερπαραθυρεοειδισμό, υπερθυρεοειδισμό και υποθυρεοειδισμό, απέδειξε υψηλή συσχέτιση της οστεοκαλσίνης με την οστική μετάλλωση αλλά όχι με την οστική αποικοδόμηση.

Τα επίπεδα της κυκλοφορούσης οστεοκαλσίνης είναι αυξημένα στο νεοσχηματισμένο οστό (με υψηλό οστικό μεταβολισμό). Οι συγκεντρώσεις της κυκλοφορούσης οστεοκαλσίνης είναι αυξημένες σε ασθενείς με έκτοπο οστικό σχηματισμό, οστεομυοσίτιδος, οστεοαρθροπάθειας και σε ασθενείς με κατάγματα ισχίου που χρειάζονται ανοικτή διόρθωση και προσθήκη ήλου (καρφί) για τη στήριξη του κατάγματος. Όταν δεν γίνει προσθήκη ήλου η οστεοκαλσίνη δεν αυξάνει [64].

Μελέτες σε ποντικούς ενισχύουν την άποψη ότι αλλαγές στον ορό της οστεοκαλσίνης αντανακλούν την δραστηριότητα των οστεοβλαστών [60,71].

Κατά την ανάλυση των οστών των ποντικών πριν και μετά την τοποθέτηση αυτών σε διαστημικό εργαστήριο παρατηρήθηκε μείωση της οστεοκαλσίνης του ορού και των οστών κατά 40% και αύξηση της ευθραυστότητας των οστών. Μείωση της οστεοκαλσίνης φαίνεται να αντανακλά ελάττωση του οστικού σχηματισμού και του αριθμού των οστεοβλαστών, όπως εκτιμάται με ιστομορφομετρικές μεθόδους [72]. Σε αναπτυσσόμενους ποντικούς τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης του ορού αυξάνουν και φθάνουν ένα σταθερό επίπεδο όταν αποπερατωθεί η περίοδος της σωματικής ανάπτυξης [71,73]. Η περίοδος της αύξησης συνδυάζεται με την συσσώρευση της οστεοκαλσίνης στο οστό. Όταν η οστεοκαλσίνη του οστού φθάσει μια σταθερή τιμή και η οστεοκαλσίνη του ορού είναι σταθερή. Στους ανθρώπους η συγκέντρωση της οστικής οστεοκαλσίνης είναι μεγαλύτερη στα νέα παιδιά που αντανακλάται και στην οστεοκαλσίνη του ορού. Οι τιμές της οστικής οστεοκαλσίνης είναι ελαφρώς υψηλότερες στο ανδρικό από το γυναικείο φύλο. Επίσης η συγκέντρωση της οστεοκαλσίνης στα παιδιά είναι υψηλότερη από των ενηλίκων. Είναι πιθανόν ότι η μείωση της οστεοκαλσίνης στα οστά, που συσχετίζεται με την ηλικία, μπορεί να σχετίζεται με την μειωμένη οστική μάζα.

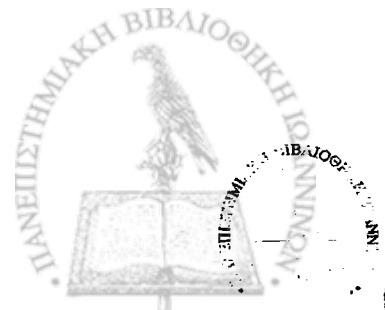


ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

Η οστεοκαλσίνη του ορού μπορεί να θεωρηθεί ένας ικανοποιητικός δείκτης της δραστηριότητας του οστεοβλάστη, που όμως επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες και αυτό έχει επίπτωση στην οστεοκαλσίνη του ορού.

Παράγοντες που προκαλούν αύξηση της οστεοκαλσίνης στον ορό είναι η 1,25(OH)₂D, η νεφρική ανεπάρκεια, η γαλουχία, αντιεπιληπτικά φάρμακα, θυρεοειδικές ορμόνες, η μεταεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση, η νόσος του Paget, ο πρωτοπαθής και δευτεροπαθής υπερθυρεοειδισμός.

Παράγοντες που προκαλούν μείωση της οστεοκαλσίνης του ορού είναι η ηλικία (υψηλότερη στα παιδιά μέχρι τη συμπλήρωση της ανάπτυξης), καλσπονίνη, παραθορμόνη, κορτικοστεροειδή, κύηση, ανεπάρκεια αυξητικών ορμονών, οιστρογόνα. Η ηλικιακή εξάρτηση (age-related) στις αλλαγές των τιμών της οστεοκαλσίνης έχει μελετηθεί εκτεταμένα [65,68,74,75,76,77,78] και έχει αποδειχθεί ότι η οστεοκαλσίνη του ορού είναι ένας ευαίσθητος δείκτης της δραστηριότητας των οστεοβλαστών και του οστικού σχηματισμού. Οι συγκεντρώσεις της οστεοκαλσίνης στη νεογνική περίοδο αναφέρονται να είναι 20-40 ng/ml [63,79]. Αυτές οι τιμές σημαντικά επηρεάζονται από την διατροφή των νεογνών και τα θηλάζοντα νεογνά έχουν κατά 66 % υψηλότερη τιμή της οστεοκαλσίνης ορού από ότι τα νεογνά που λαμβάνουν τεχνητή διατροφή. Οι τιμές μειώνονται μετά τη νεογνική περίοδο και παραμένουν σταθερές μέχρι την ήβη (10-25 ng/ml) [63,76]. Κατά τη διάρκεια της ήβης παρατηρήθηκε μια σημαντική αύξηση της οστεοκαλσίνης, που σχετίζεται με το φύλο και κυμαίνεται στα αγόρια από 40-80 ng/ml. Αυτές οι αλλαγές της οστεοκαλσίνης σχετίζονται με την ηλικία, όπως συμβαίνει με την αλκαλική φωσφατάση [80], καλσπονίνη [81] και υδροξυπρολίνη των ούρων [82]. Μετά την ήβη και μέχρι την ηλικία των 40 ετών, παραμένει σταθερή: 2-12 ng/ml (μέσος όρος 7,0 ng/ml). Κατά την ηλικία λοιπόν των 30-60 ετών οι τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού είναι σταθερές. Μετά την ηλικία των 60 χρόνων τα στοιχεία της βιβλιογραφίας είναι αντικρουόμενα και άλλα αναφέρουν αύξηση, άλλα μείωση και άλλα καμία αλλαγή [63,77,78,83,84].



ΔΙΑΙΤΑ ΚΑΙ ΦΥΛΕΤΙΚΕΣ ΔΙΑΦΟΡΕΣ

Υπάρχουν ανεπαρκή στοιχεία στη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση της διαίτας στην τιμή της οστεοκαλσίνης του ορού. Υπάρχουν δύο κλινικές μελέτες [85,86] που δείχνουν ότι η φόρτιση με φωσφορικά και η παχυσαρκία προκαλούν αύξηση των τιμών της οστεοκαλσίνης του ορού που πιθανόν να οφείλεται στην αυξημένη έκκριση της παραθορμόνης. Φυλετικές διαφορές ίσως να υπάρχουν. Αν και δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού στα παιδιά λευκών και μαύρων στην Αμερική, αναφέρονται όμως τιμές χαμηλότερες στους μαύρους ενήλικες της Αμερικής από τους λευκούς [79,85].

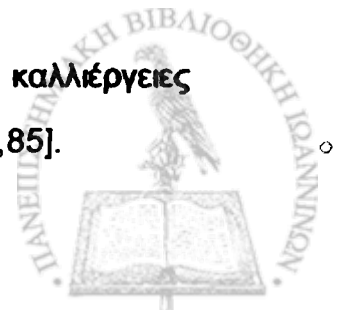
ΝΕΦΡΙΚΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Η νεφρική λειτουργία παίζει σημαντικό ρόλο στις τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού, αφού μέσω της νεφρικής οδού μεταβολίζεται και απεκκρίνεται. Όταν η νεφρική λειτουργία είναι μειωμένη (κάθαρση κρεατινίνης είναι μικρότερη από 30 ml/min/173m ή η κρεατινίνη ορού μεγαλύτερη από 1,8 mg/dl), οι τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού αυξάνονται [74,77]. Φαίνεται να υπάρχει διαφορά μεταξύ ενηλίκων και παιδιών ως προς το βαθμό νεφρικής ανεπάρκειας που αρχίζει να επηρεάζει τα επίπεδα οστεοκαλσίνης ορού (μικρότερος στα παιδιά).

Σε ενήλικες με νεφρική οστεοδυστροφία, τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης ορού συμφωνούν με τα ιστομορφομετρικά ευρήματα οστικού σχηματισμού. Αυτό είναι αποτέλεσμα δύο φυσιολογικών διεργασιών: της νεφρικής λειτουργίας και του αυξημένου μεταβολισμού των οστών [87,88]. Οι τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού δεν επηρεάζονται πριν και μετά την αιμοδιάλυση σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια· αντιθέτως οι τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού μετά τη συνεχή περιτοναϊκή διάλυση σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια είναι χαμηλότερες από αυτές των αιμοκαθαρόμαινων ασθενών [65,89].

ΕΝΔΟΚΡΙΝΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΕΠΙ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗΣ ΤΟΥ ΟΡΟΥ

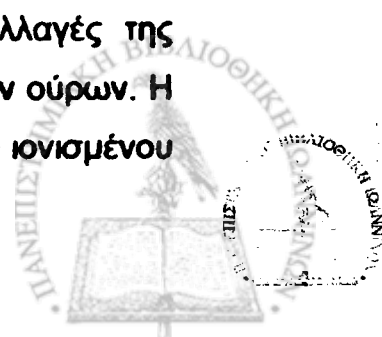
Η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ διεγείρει τη σύνθεση της οστεοκαλσίνης σε καλλιέργειες οστεοβλαστών που προέρχονται από ζώα και ανθρώπους [58,59,85].



Επίσης φαρμακολογικές δόσεις καλοπριόλης [$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$] σε ποντίκια οδηγούν σε δόσοεξαρτώμενη αύξηση της οστεοκαλσίνης ορού. Παρ' όλα αυτά, η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ δεν είναι ο μόνος παράγοντας για τη σύνθεση της οστεοκαλσίνης ή του καρβοξυγλουταμικού οξέος (Gla), αφού βρέθηκε ότι σε όρνιθες και σε ποντικούς με υποβιταμίνωση D, οι τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού και των οστών ήταν κατά 50-70% χαμηλότερες από αυτές των μαρτύρων [59,90]. Αύξηση της ενδογενούς $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ σε ποντικούς και ανθρώπους που βρίσκονται σε υπασβεστιαϊμία ή υποφωσφαταιμία, προκάλεσε αύξηση των τιμών της οστεοκαλσίνης του ορού κατά 150% [59,91]. Αντίθετα, άλλες μελέτες σε ανθρώπους, δεν επαλήθευσαν την παραπάνω παρατήρηση, αλλά βρήκαν φυσιολογική οστεοκαλσίνη ορού σε ασθενείς με υποβιταμίνωση D, που συνδυαζόταν με χαμηλή, φυσιολογική ή αυξημένη $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [63,92].

Σε ασθενείς με βιταμινοεξαρτώμενο ραχισμό τύπου I, που οι τιμές της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ήταν χαμηλές, η οστεοκαλσίνη του ορού ήταν υψηλή. Σε ασθενείς με βιταμινοεξαρτώμενο ραχισμό τύπου II, που η βλάβη είναι στους υπόδοχες των οστεοβλαστών, οι τιμές της οστεοκαλσίνης ήταν φυσιολογικές. Τελικά, σε ασθενείς με υποφωσφαταιμικό ραχισμό (XLH) που είχαν $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ σε φυσιολογικά επίπεδα, οι τιμές της οστεοκαλσίνης βρέθηκαν αυξημένες [63,93]. Φαίνεται ότι και άλλοι παράγοντες επηρεάζουν την σύνθεση της οστεοκαλσίνης, ανεξάρτητα της δραστηρικής ορμόνης της βιταμίνης D. Σε ασθματικούς ασθενείς, που θεραπεύονταν με γλυκοκορτικοειδή, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση των τιμών της οστεοκαλσίνης του ορού, που επανήλθαν στο φυσιολογικό μετά τη χορήγηση θεραπείας με $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Παρατηρήθηκε μια σαφής σχέση μεταξύ επιπέδων οστεοκαλσίνης και $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ σε αυτούς τους πάσχοντες, που δεν βρέθηκε στους μάρτυρες.

Σε γυναίκες που βρίσκονται στη μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο η χορήγηση $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ προκάλεσε αύξηση των τιμών της οστεοκαλσίνης του ορού, 6-14 ημέρες μετά την έναρξη της χορήγησης, χωρίς αλλαγές της αλκαλικής φωσφατάσης, PTH του αίματος και υδροξυπρολίνης των ούρων. Η αύξηση της οστεοκαλσίνης του ορού, συνοδευόταν με αύξηση του ιονισμένου



Ca στον ορό, Ca στα ούρα και $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ στο πλάσμα [94]. Σε νεογνά με μικρό βάρος γέννησης (Low birth weight), που χορηγήθηκε $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ χρειάστηκαν 3 μg ημερησίως της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ για να παρατηρηθεί αύξηση των τιμών της οστεοκαλσίνης [95,96]. Σε ασθενείς ενήλικες με οστεοδυστροφία, η χορήγηση $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ δεν προκάλεσε αύξηση της οστεοκαλσίνης του ορού· αντίθετα παρατηρήθηκε αύξηση σε παιδιά με οστεοδυστροφία [97,98]. Από τις μελέτες φαίνεται ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ προκαλεί αύξηση των επιπέδων της οστεοκαλσίνης στον ορό και σε κλινικές καταστάσεις η οστεοκαλσίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης ανταπόκρισης στη θεραπεία με $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

ΠΑΡΑΘΟΡΜΟΝΗ (PTH)

Η άμεση δράση της PTH στην οστεοκαλσίνη είναι η μείωση της σύνθεσης. Σε ασθενείς με υποφωσφαταιμικό ραχιτισμό παρατηρήθηκε μείωση της οστεοκαλσίνης του ορού μετά την έγχυση PTH. Σε 18 γυναίκες μάρτυρες παρατηρήθηκε μείωση κατά 23% των τιμών της οστεοκαλσίνης κατά τη διάρκεια 24ωρης έγχυσης παραθορμόνης [96]. Αντίθετα, σε ασθενείς με υπερπαραθυρεοειδισμό παρατηρήθηκαν σημαντικά αυξημένες τιμές της οστεοκαλσίνης [67,100,101,102]. Σε ασθενείς με πρωτοπαθή ή δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, η παραθυρεοειδεκτομή προκάλεσε σημαντική μείωση των συγκεντρώσεων της οστεοκαλσίνης του ορού [98,101]. Αυτή η πτώση συνοδεύεται με αλλαγές στα επίπεδα της PTH και της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ στο αίμα. Ενήλικες με υποπαραθυρεοειδισμό έχουν χαμηλά επίπεδα οστεοκαλσίνης στον ορό [100]. Αυτές οι αλλαγές δεν έχουν παρατηρηθεί σε παιδιά με υποπαραθυρεοειδισμό. Η χορήγηση βιταμίνης D σε αυτούς τους ασθενείς προκαλεί αύξηση της οστεοκαλσίνης του ορού. Τα παραπάνω ευρήματα εξηγούνται από την αρχική δράση της PTH, που οδηγεί σε μείωση της δραστηριότητας των οστεοβλαστών και κατ' επέκταση μείωση της σύνθεσης της οστεοκαλσίνης. Σε χρονιότητα όμως, ενεργοποιούνται οι μηχανισμοί του οστικού σχηματισμού και τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης αυξάνονται παράλληλα [59].



ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ

Φαίνεται ότι η κύηση τροποποιεί τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης του ορού. Μελέτες έδειξαν ότι η οστεοκαλσίνη του ορού μειώνεται το πρώτο τρίμηνο της κύησης και αυξάνεται στο τελευταίο [96,103]. Τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης στις έγκυες γυναίκες τους πρώτους μήνες είναι κατά 50% μικρότερα από τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης του ορού σε γυναίκες που δεν ήταν έγκυες [96]. Το αμνιακό υγρό περιέχει οστεοκαλσίνη σε μικρές ποσότητες [96]. Η χορήγηση κορτικοστεροειδών σε ασθενείς έχει δείξει ότι προκαλεί μείωση της οστεοκαλσίνης του ορού [104,105]. Χαμηλά επίπεδα οστεοκαλσίνης του ορού παρατηρήθηκαν σε παιδιά που είχαν ανεπαρκή έκκριση αυξητικής ορμόνης σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Θεραπεία με αυξητική ορμόνη προκάλεσε αύξηση της οστεοκαλσίνης του ορού [106,107]. Μειωμένη οστεοκαλσίνη ορού παρατηρήθηκε σε ασθενείς με υποθυρεοειδισμό, που η αύξηση του οστού και ο οστικός σχηματισμός ήταν μειωμένος. Τα ευρήματα αυτά επαληθεύτηκαν και σε ποντικούς [108,109].

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Κ

Υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι η κατάσταση της βιταμίνης Κ στον οργανισμό επηρεάζει την σύνθεση της οστεοκαλσίνης. Η υδροκινόνη της βιταμίνης Κ είναι απόλυτα αναγκαία για τη σύνθεση της οστεοκαλσίνης. Σίτιση ποντικών με τροφή ανεπαρκή σε βιταμίνη Κ προκάλεσε μείωση κατά 70% του γ-καρβοξυγλουταμικού οξέος (Gla) και της οστεοκαλσίνης των οστών, ενώ η χορήγηση βιταμίνης Κ σε αναπτυσσόμενα κοτόπουλα, οδήγησε σε αύξηση 10% στην συγκέντρωση της οστεοκαλσίνης των οστών [110]. Το εύρημα ότι η οστεοκαλσίνη που απομονώθηκε από άνδρα 77 ετών έδειξε μόνο δύο μόρια Gla στο μόριό της, αντί των τριών, μπορεί να σχετίζεται με την ανεπαρκή καρβοξυλίωση ή με την ελάττωση της παραγωγής βιταμίνης Κ στα μεγάλης ηλικίας άτομα. Πράγματι, χαμηλά επίπεδα βιταμίνης Κ παρατηρήθηκαν σε οστεοπορωτικούς ασθενείς με συντριπτικά κατάγματα ή κατάγματα της κεφαλής του μηρού σε σύγκριση με τους μάρτυρες [111]. Μείωση της βιταμίνης Κ μειώνει τη σύνθεση του οστικού Gla και οστεοκαλσίνης, όπως αναφέρεται στο εμβρυϊκό αντιπηκτικό σύνδρομο (Fetal Warfarin syndrome) και στις γενετικές διαταραχές συνθέσεως βιταμίνης Κ [112, 113]. Η χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής στη μητέρα (sodium Warfarin) κατά τη διάρκεια του

τρίτου τριμήνου της κύησης, είχε σαν αποτέλεσμα τα γεννηθέντα νεογνά να παρουσιάζουν διαταραχές από τη μύτη, φάλαγγες δακτύλων και σπονδύλων [112]. Ένας ασθενής που παρουσίαζε γενετική διαταραχή στη σύνθεση της βιταμίνης K, είχε οστικές ανωμαλίες παρόμοιες με το εμβρυϊκό αντιπηκτικό σύνδρομο [113]. Η οστεοκαλσίνη του ορού που απομονώθηκε από αυτό το παιδί ήταν παθολογική, στο ότι αποτελούνταν από δύο είδη, το ένα φυσιολογικό και το άλλο υποκαρβοξυλιωμένο και συμπεριφερόταν όπως η οστεοκαλσίνη που παρατηρήθηκε σε ζώα και ασθενείς που θεραπεύτηκαν με αντιπηκτική αγωγή (Warfarin treated) [62,64,114,115].

ΑΝΤΙΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗΣ

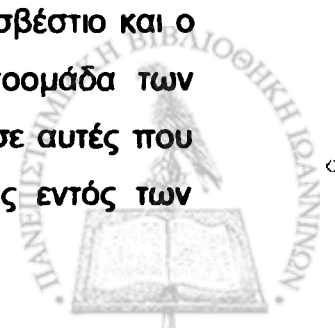
Φαίνεται από τη βιβλιογραφία ότι ορισμένες ουσίες μπορούν να αντικαταστήσουν την οστεοκαλσίνη του οστού, ως προς τη σύνδεση με τον υδροξυαπατίτη. Τέτοιες ουσίες είναι τα διφωσφονικά που χρησιμοποιούνται στη νόσο του Paget και ο μόλυβδος [59,116].

ΝΟΣΟΣ ΤΟΥ PAGET

Όλες οι εργασίες δείχνουν ότι υπάρχει αύξηση της πυκνότητας της οστεοκαλσίνης σε ασθενείς με τη νόσο. Η αλκαλική φωσφατάση και η οστεοκαλσίνη, είναι καλοί δείκτες για την απάντηση στη θεραπεία με καλσιπονίνη, οπότε εντός ολίγων ωρών παρατηρήθηκε μείωση της οστεοκαλσίνης του ορού. Η χρόνια χορήγηση καλσιτονίνης προκάλεσε μείωση των επιπέδων της οστεοκαλσίνης του ορού για μήνες [101].

ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

Διάφορες μελέτες έδειξαν αύξηση της μέσης τιμής οστεοκαλσίνης σε φυσιολογικές γυναίκες μετά την εμφάνιση της εμμηνόπαυσης, η οποία σχετίστηκε με τη μείωση της οστικής πυκνότητας στους σπονδύλους και τις κερκίδες [74,75]. Σε μελέτη 51 φυσιολογικών προεμμηνόπαυσιακών και 114 μεταεμμηνόπαυσιακών γυναικών, αύξηση της οστεοκαλσίνης βρέθηκε στις γυναίκες στα πρώτα 15 χρόνια της εμμηνόπαυσης. Το ολικό ασβέστιο και ο φώσφορος του σώματος ήταν σημαντικά μειωμένα στην υποομάδα των γυναικών που είχαν αυξημένα επίπεδα οστεοκαλσίνης απ' ότι σε αυτές που είχαν φυσιολογικά [68]. Τα υψηλά επίπεδα της οστεοκαλσίνης εντός των



πρώτων 15 χρόνων μετά την έναρξη της εμμηνόπαυσης συνηγορούν στο ότι η ταχεία απώλεια του οστού επέρχεται τα πρώτα χρόνια και στη συνέχεια υπάρχει επιβράδυνση της οστικής απώλειας. Ο προσδιορισμός της οστεοκαλσίνης στις γυναίκες μετά την παύση της εμμηνόρρυσιας, ίσως είναι ένας δείκτης για τις γυναίκες που προδιατίθενται να αναπτύξουν οστεοπόρωση. Άλλοι ερευνητές δεν δέχονται ότι οι βιοχημικοί παράμετροι βοηθούν για να εντοπισθούν οι γυναίκες που προδιατίθενται να αναπτύξουν οστεοπόρωση [117]. Σε μια άλλη μελέτη βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ επιπέδων οστεοκαλσίνης του ορού και οστικού σχηματισμού, όπως εκτιμάται με ιστομορφομετρικές μεθόδους [66]. Από τις μελέτες φαίνεται ότι αυξημένα επίπεδα οστεοκαλσίνης, που αντανακλούν την υψηλή ταχύτητα του μεταβολισμού των οστών, είναι ένας δείκτης μειωμένης οστικής μάζας. Η οστεοκαλσίνη του ορού σε οστεοπορωτικές γυναίκες ανταποκρίνεται στη χορήγηση της $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ δύο φορές περισσότερο από ότι στους μάρτυρες [94,118,119]. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η οστεοβλαστική απάντηση σε αυτές τις γυναίκες είναι καλύτερη όταν δέχεται εξωτερικό ερέθισμα. Τα οιστρογόνα προκαλούν μείωση της οστεοκαλσίνης. Ο συνδυασμός οιστρογόνων και προγεστερόνης προκαλεί αύξηση της τιμής της οστεοκαλσίνης [120].

ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Υπάρχουν στοιχεία στη βιβλιογραφία που δείχνουν ότι η οστεοκαλσίνη δίνει πληροφορίες όταν ο καρκίνος συνδυάζεται με υπερασβεσταιμία [67,121,122]. Σε αυτές τις μελέτες φαίνεται ότι οι τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού είναι αυξημένες, όταν οι ασθενείς έχουν καρκίνο και υπερασβεσταιμία (πολλαπλούν μύελωμα, δερμοειδής καρκίνος του πνεύμονος). Μετά τη θεραπεία με καλσιπονίνη, το ασβέστιο και η οστεοκαλσίνη επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα [121]. Σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη και οστικές μεταστάσεις μόνον το 1/5 των ασθενών παρουσίασαν αύξηση της οστεοκαλσίνης [122]. Τελικά, φαίνεται ότι υπάρχει ευρεία συσχέτιση μεταξύ των τιμών της οστεοκαλσίνης σε ασθενείς που έχουν όγκους που συνδυάζονται με υπερασβεσταιμία. Ίσως οι μετρήσεις της οστεοκαλσίνης του



ορού να βοηθούν για την εκτίμηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας [59].

ΡΕΥΜΑΤΟΕΙΔΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

Σχετικά με τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης στον ορό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα, άλλες μελέτες έδειξαν αύξηση της οστεοκαλσίνης και άλλες μείωση [123,124,125]. Μια τελευταία εργασία στα παιδιά, έδειξε μείωση της οστεοκαλσίνης στη συστηματική μορφή της νόσου ενώ στη μόνο και πολυαρθρική δεν παρατηρήθηκε αλλαγή στο επίπεδο της οστεοκαλσίνης [126]. Αυτά τα αντικρουόμενα αποτελέσματα, όπως και στην οστεοπόρωση, πιθανόν αντανακλούν την ετερογενή προσβολή των αρθρώσεων.

Τα επίπεδα στον ορό τροποποιούνται από πολλούς παράγοντες που επηρεάζουν την δραστηριότητα και τον αριθμό των οστεοβλαστών, όπως είναι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Η οστεοκαλσίνη της θεμελιώδους ουσίας των οστών ελευθερώνεται στη κυκλοφορία με την αποικοδόμηση από την οστεοκλαστική δραστηριότητα και αποβάλλεται υπό μορφή κλασμάτων εφόσον η νεφρική λειτουργία είναι φυσιολογική. Επομένως, μέτρηση της οστεοκαλσίνης του ορού αντανακλά και την οστεοκλαστική δραστηριότητα. Αύξηση των επιπέδων της οστεοκαλσίνης συνοδεύεται με αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης [65,91]. Μερικές φορές όμως υπάρχει διαφοροποίηση ως προς τις μεταβολές των δύο παραμέτρων, είτε διότι η αλκαλική φωσφατάση προέρχεται και από άλλους ιστούς εκτός του οστίου ιστού, ή επειδή οι δύο παράμετροι αντανακλούν διαφορετική οστεοβλαστική δραστηριότητα [67,93,97]. Σε φυσιολογικά κύτταρα οστεοβλαστών από πειραματόζωα βρέθηκε ότι η σύνθεση της οστικής αλκαλικής φωσφατάσης και οστεοκαλσίνης μπορεί να συμβαδίζει ή όχι, ανάλογα με το στάδιο διαφοροποίησης των κυττάρων [3]. Φαίνεται ότι η δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης μειώνεται μετά την εναπόθεση αλάτων στο οστεοειδές, ενώ η σύνθεση της οστεοκαλσίνης διατηρείται [59]. Μελέτες των επιπέδων της οστεοκαλσίνης του ορού σε φυσιολογικά άτομα και σε ασθενείς με μεταβολικά νοσήματα των οστών, έδειξαν ότι η οστεοκαλσίνη του ορού είναι ένας καλός δείκτης του οστικού σχηματισμού. Βεβαίως, πολλοί παράγοντες επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις της οστεοκαλσίνης στο αίμα, όπως ηλικία, φύλο, φυλή, ορμονική κατάσταση,



νεφρική λειτουργία κ.λ.π. Χρειάζεται περαιτέρω έρευνα για την κατανόηση της σύνθεσης και του μεταβολισμού της οστεοκαλσίνης στον ανθρώπινο οργανισμό.

ΚΑΛΣΠΟΝΙΝΗ

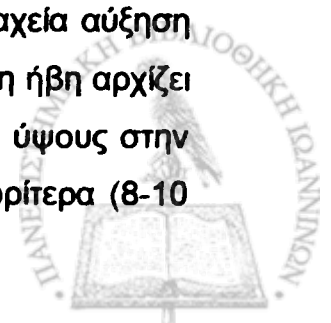
Η καλσπονίνη παράγεται από τους θυρεοειδείς αδένες, αλλά η συγκέντρωσή της είναι μικρή στα ποντίκια, τα βόδια και τους χοίρους [44]. Στον άνθρωπο κυκλοφορούν μεγάλες δόσεις καλσπονίνης στο αίμα μετά από αφαίρεση των θυρεοειδών αδένων χειρουργικά, στον ψευδοϋποπαραθυρεοειδισμό και στο μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς [46]. Έχουν παρατηρηθεί ψηλές τιμές καλσπονίνης στον ομφάλιο λώρο των νεογνών [50,51]. Χορήγηση καλσπονίνης στον φυσιολογικό άνθρωπο προκάλεσε μικρή αλλά σημαντική ελάττωση του Ca του ορού. Η καλσπονίνη βοηθά στην υπερασβεστιαμία και σε οστεολυτικά νοσήματα των οστών. Κάποιοι συγγραφείς [54] παρατήρησαν μείωση του ασβεστίου στο αίμα μετά τη χορήγηση καλσπονίνης στη νόσο του Paget και σε τρεις περιπτώσεις θύρεοτοξίκωσης. Φαίνεται ότι η καλσπονίνη ρυθμίζει την ομοίωση του Ca, αλλά αυτό εξαρτάται από την προηγούμενη κατάσταση της οστικής αποικοδόμησης. Ίσως η καλσπονίνη είναι το φάρμακο εκλογής σε τέτοιες καταστάσεις (Paget, οστεολυτικά νοσήματα, κ.λ.π) [54,55]. Αναφέρεται ότι η υπερασβεστιαμία προκαλεί αύξηση της καλσπονίνης και παρατηρήθηκε αντίθετη επίδραση στο Ca του ορού μεταξύ παραθορμόνης και καλσπονίνης σε χοίρους. Μικρές ποσότητες και των δύο ορμονών κυκλοφορούν φυσιολογικά στο αίμα [50]. Ορισμένοι συγγραφείς [50] καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι η ενδογενής καλσπονίνη πιθανόν δεν επιδρά στην ομοίωση του Ca στο πλάσμα, αλλά μεκώνει το χρόνο επιστροφής του Ca στα φυσιολογικά επίπεδα μετά από υπερασβεστιαμία. Φαίνεται ότι το ιονισμένο Ca παίζει κάποιο ρόλο στην έκκριση των δυο ορμονών, της PTH και της καλσπονίνης.

Παρά την ομοιότητα των δύο ενδοκρινικών ορμονών υπάρχουν ορισμένες σημαντικές βιολογικές διαφορές. Η καλσπονίνη είναι πιο ισχυρή βιολογικά, έτσι δόση 0,005 μg αρκεί για να προκαλέσει πτώση του Ca κατά 1mg/dl, ενώ απαιτούνται 2 μg PTH για να προκαλέσουν αύξηση του Ca κατά

1mg/dl [47]. Η καλσιπονίνη είναι εναποθηκευμένη στα κύτταρα του θυρεοειδούς και μικρές ποσότητες ελευθερώνονται στην υπερασβεστιαμία. Ερευνητές βρήκαν ότι μόνο το 4% της καλσιπονίνης ελευθερώνεται ανά ώρα από το θυρεοειδή σε καταστάσεις υπερασβεστιαμίας, ενώ την ίδια ώρα σε υπασβεστιαμία ελευθερώνεται από τους παραθυρεοειδείς το 50% της περιεκτικότητάς τους σε PTH [42]. Η παραθορμόνη ελευθερώνει Ca από τα οστά. Στα ενήλικα ζώα η δράση των δύο ορμονών είναι αμφίβολη, ειδικά όταν τα ζώα παίρνουν τροφή πλούσια σε Ca [42,50]. Η πραγματική σημασία του συστήματος ελέγχου φαίνεται σε περιόδους stress ασβεστίου στο αίμα, όπως κατά την περίοδο της ταχείας αύξησης που συμβαίνει γρήγορος σχηματισμός του οστού, κατά τη διάρκεια της κύησης και της γαλουχίας [50]. Σε πειραματικές μελέτες [46,50] χορηγήθηκε σε σκύλους EDTA ενδοφλεβίως για μια ώρα, οπότε προκάλεσε στο τέλος της έγχυσης πτώση του Ca, με αποτέλεσμα μετά την έγχυση αύξηση του Ca στον ορό λόγω αύξησης του επιπέδου της παραθορμόνης και στη συνέχεια επιστροφή του Ca στα φυσιολογικά επίπεδα λόγω εκκρίσεως της καλσιπονίνης. Όταν το πείραμα επαναλήφθηκε και μετά την έγχυση του EDTA αφαιρέθηκαν οι παραθυρεοειδείς και οι θυρεοειδείς αδένες, τότε η υπερασβεστιαμία παρέμεινε, διότι είχε αφαιρεθεί το σύστημα ελέγχου [46,47]. Εκτός όμως από αυτό, στο σύστημα ελέγχου της ομοιόστασης του Ca φαίνεται ότι και άλλοι παράγοντες παίζουν το ρόλο τους, όπως η κανονιστική δράση του αποθηκευμένου Ca στα οστά, η αυξημένη αποβολή Ca από τα ούρα επί υπερασβεστιαμίας και η σχέση Ca – P στα οστά. Τα νοσήματα που σχετίζονται με τις διαταραχές της παραθορμόνης και της καλσιπονίνης είναι σπάνια.

ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑ ΣΤΗΝ ΕΦΗΒΕΙΑ

Η εφηβεία είναι περίοδος της ανθρώπινης ζωής με δραματική αύξηση και ανάπτυξη. Το παιδί για να εξελιχθεί σε ενήλικα, διέρχεται μια περίοδο φυσιολογικών και ψυχολογικών αλλαγών. Αυτές οι αλλαγές, δημιουργούν ειδικές σιτιστικές ανάγκες στην ήβη που χαρακτηρίζονται από ταχεία αύξηση του ύψους και του βάρους σώματος. Κατά μέσο όρο στα αγόρια η ήβη αρχίζει στην ηλικία των 12 και φθάνει τη μέγιστη ταχύτητα αύξησης του ύψους στην ηλικία των 14 χρονών, ενώ στα κορίτσια αρχίζει δύο χρόνια νωρίτερα (8-10



χρονών) και φθάνει το μέγιστο της ταχύτητας αύξησης στα 12 χρόνια. Το τελικό ύψος θεωρείται ότι συμπληρώνεται στην ηλικία των 18-20 χρονών, φαίνεται όμως ότι η αύξηση συνεχίζεται μέχρι την ηλικία των 21 ετών. Έτσι, τα αγόρια αυξάνουν κατά 2-3 εκ. και τα κορίτσια κατά 1-2 εκ. το ύψος τους μετά την ηλικία των 18 χρονών. Η μυϊκή και η σκελετική μάζα μπορεί να συνεχίζει την αύξηση μέχρι την ηλικία των 30-40 χρονών αντίστοιχα [127].

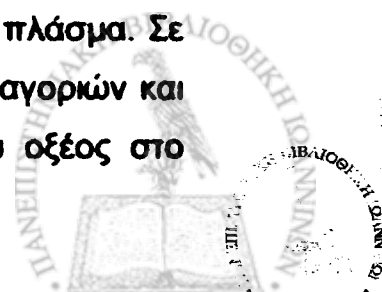
Αν και η αύξηση του βάρους σώματος είναι χαρακτηριστικό και στα δύο φύλα στην περίοδο της εφηβείας, γενικά η αύξηση των ιστών διαφέρει μεταξύ των δύο φύλων. Τα αγόρια κερδίζουν περισσότερο και ταχύτερα βάρος από τα κορίτσια. Τα αγόρια έχουν έκδηλη αύξηση της μυϊκής μάζας, ενώ συγχρόνως παρουσιάζουν μείωση του ολικού λίπους του σώματος. Αντίθετα, τα κορίτσια αυξάνουν και το μυϊκό και τον υποδόριο λιπώδη ιστό. Έτσι στην ηλικία των 20 χρονών τα κορίτσια παρουσιάζουν περίπου διπλάσιο λιπώδη ιστό από τα αγόρια και αυτό εξηγεί τις υψηλότερες ανάγκες σε ενέργεια και πρωτεΐνες που έχουν τα αγόρια σε σχέση με τα κορίτσια [128,129].

ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ

Η δόση σε βιταμίνες πρέπει να είναι μεγαλύτερη στην εφηβική περίοδο από ότι είναι στα αυξανόμενα νήπια και παιδιά, επειδή υπάρχει μεγάλη ενεργητικότητα και χρειάζονται μεγάλες ποσότητες ριβοφλαβίνης, θειαμίνης και νιασίνης για να ελευθερώνεται ενέργεια από τους υδατάνθρακες. Η ταχεία αύξηση του σκελετού απαιτεί μεγαλύτερη ποσότητα βιταμίνης D. Οι βιταμίνες A, C και E είναι απαραίτητες για τη δομή και λειτουργία των νέων κυττάρων κατά τη διάρκεια της αύξησης.

Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι οι προσλήψεις των βιταμινών A, B₆, C και φυλικού οξέος βρέθηκαν χαμηλότερες για τους Αμερικανούς εφήβους σε σχέση με αυτές που συνιστώνται [130]. Η διατροφή των εφήβων σχετικά με τη λήψη αυτών των βιταμινών πιστοποιείται από τη μείωση των επιπέδων στο πλάσμα των εφήβων.

Επιδημιολογικές μελέτες στην Πολιτεία της Νέας Υόρκης έδειξαν ότι το 10% των εφήβων παρουσίαζαν χαμηλά επίπεδα βιταμίνης A στο πλάσμα. Σε χαμηλού κοινωνικού επιπέδου οικογένειες των ΗΠΑ, το 9% των αγοριών και το 5% των κοριτσιών, βρέθηκαν ότι είχαν πικνότητες φυλικού οξέος στο



πλάσμα χαμηλότερες του φυσιολογικού [131]. Χαμηλές προσλήψεις βιταμίνης C έχουν επίσης αναφερθεί [131].

Είναι σκόπιμο να συνιστάται στους εφήβους ειδικό διαιτολόγιο για την πρόσληψη των απαραίτητων βιταμινών, π.χ. καρότα για τη βιταμίνη A, πράσινα χόρτα και εσπεριδοειδή για το φυλικό οξύ, δημητριακά ολικής αλέσεως, πατάτες, ξηροί καρποί, κρέας και ψάρι για τη βιταμίνη B₆.

ΜΕΤΑΛΛΑ

Από τα μέταλλα τα πιο πιθανά να παρουσιάζουν ανεπαρκή πρόσληψη στη διαίτα του εφήβου είναι το ασβέστιο (Ca), ο σίδηρος (Fe) και ο ψευδάργυρος (Zn). Οι ανάγκες για αυτά τα τρία μέταλλα αυξάνουν κατά τη διάρκεια της εφηβείας: Το Ca για την αύξηση του σκελετού, ο Fe για την αύξηση της μυϊκής μάζας και του όγκου αίματος και ο Zn για την υφή του σκελετικού και μυϊκού ιστού [127].

Η κατακράτηση του Ca εξαρτάται από την ταχύτητα αύξησης του εφήβου. Στη γρήγορη αύξηση των εφήβων κατακρατείται περισσότερο Ca απ' ότι στη βραδεία αύξηση. Βρέθηκε ότι τα αγόρια κατακρατούν περίπου 290-400 mg Ca την ημέρα κατά την περίοδο της ταχείας αύξησης και τα κορίτσια 210-240 mg ημερησίως [132]. Οι ημερήσιες ανάγκες Ca είναι 1.200 mg στην περίοδο της εφηβείας, πράγμα που δεν επιτυγχάνεται με τη συνήθη Αμερικανική διαίτα: ψωμί, βούτυρο, κρέας, πατάτες και χόρτα. Όλα αυτά προσεγγίζουν τα 300 mg Ca ημερησίως [132]. Πρέπει ο έφηβος να λαμβάνει με την τροφή του 6 κούπες γάλα την ημέρα για να φθάσει τα 1.200 mg Ca. Επίσης έχει βρεθεί ότι το 50% των κοριτσιών καταναλώνουν μόνο τα 2/3 από την αναγκαία ημερήσια ποσότητα Ca [132].

Η σχέση ασβεστίου προς φωσφόρο στη διαίτα του εφήβου συνήθως είναι μικρότερη του 1. Αυτό συμβαίνει επειδή αφενός το κρέας είναι πλούσιο σε φωσφόρο και αφετέρου τα διάφορα ποτά (πορτοκαλάδες, λεμονάδες, κ.λ.π. soft drinks) περιέχουν μεγάλες ποσότητες P. Έχει προσδιορισθεί ότι η σχέση ασβεστίου / φωσφόρου στην Αμερικανική διαίτα είναι 1:3 και μερικές φορές χαμηλότερη (1:4). Έχει βρεθεί ότι για μικρά ζώα η σχέση 1:1 είναι η ιδεώδης για τη μετάλλωση των οστών. Αυτή η σχέση στον άνθρωπο δεν επιτυγχάνεται, λόγω αυξημένης πρόσληψης φωσφόρου [133].



Η ανεπάρκεια σιδήρου στους εφήβους ανταναικλάται με τη χαμηλή αιμοσφαιρίνη ή αιματοκρίτη. Έχει παρατηρηθεί από μελέτες σε εφήβους ότι ανεξαρτήτως κοινωνικοοικονομικής τάξης, η συχνότητα της αναιμίας ανέρχεται στο 5-15%. Φαίνεται ότι γενετικοί, ορμονικοί, περιβαλλοντικοί και διαιτητικοί παράγοντες παίζουν ρόλο στην εμφάνιση της αναιμίας από ανεπαρκή πρόσληψη σιδήρου [134]. Οι ημερήσιες ανάγκες σε Fe είναι μεγαλύτερες στα αγόρια απ' ότι στα κορίτσια [127]. Επειδή όμως τα κορίτσια έχουν απώλειες σιδήρου λόγω της εμμηνορρυσίας, οι ανάγκες σε σίδηρο στα δύο φύλα εξισώνονται και ανέρχονται σε τουλάχιστον 18 mg ημερησίως [127].

Συνιστάται στους εφήβους για τη βελτίωση της πρόσληψης του σιδήρου, η διαίτα τους να περιέχει κρέας, φασόλια, πράσινα λαχανικά και δημητριακά εμπλουτισμένα σε σίδηρο. Τελευταία βρέθηκε ότι τροφές που έχουν μεγάλες ποσότητες ασκορβικού οξέος, καθώς και τροφές που περιέχουν σίδηρο μη δεσμευμένο στην αίμη (non-heme-iron), ευνοούν την απορρόφηση σιδήρου.

Ο ψευδάργυρος είναι βασικό στοιχείο για τη σεξουαλική ωριμότητα του εφήβου. Μεγάλη ανεπάρκεια ψευδαργύρου παρουσιάστηκε σε εφήβους από την Αίγυπτο και το Ιράν με αποτέλεσμα να προκληθεί νανισμός, υπόγοναδισμός, αναιμία και ηπατοσπληνομεγαλία [135]. Η ημερήσια κατακράτηση ψευδαργύρου ανέρχεται στα 400 μg στη διάρκεια της εφηβικής περιόδου.

Επιδημιολογική μελέτη εφήβων κοριτσιών των ΗΠΑ έδειξε ότι τα 2/3 των εξετασθέντων ελάμβαναν ποσότητες ψευδαργύρου μικρότερες από 15 mg ημερησίως, που είναι απαραίτητα για τη φυσιολογική αύξηση [136].

Πηγές πλούσιες σε ψευδάργυρο υπάρχουν στα προϊόντα του ζωικού βασιλείου, όπως κρέας, ψάρι, αυγά, γάλα. Οι χορτοφάγοι έφηβοι προσλαμβάνουν μικρές ποσότητες ψευδαργύρου και χρειάζονται εμπλουτισμό της διατροφής τους με προϊόντα ζωικά [137].



ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Ο στόχος της παρούσης μελέτης ήταν:

1. Να προσδιοριστούν τα επίπεδα των τριών κύριων μεταβολιτών της βιταμίνης D [25(OH)D, 24, 25(OH)₂D και 1,25(OH)₂D] στα παιδιά ηλικίας 3-18 ετών στην Ελλάδα, που δεν παίρνουν βιταμίνη D και να χρησιμοποιηθούν τα αποτελέσματα ως τιμές αναφοράς.
2. Να μελετηθεί η εποχιακή διακύμανση, τόσο των τριών κύριων μεταβολιτών της βιταμίνης D, όσο και των υπολοίπων παραμέτρων (Ca, P, αλκαλικής φωσφατάσης, οστεοκαλσίνης και παραθορμόνης) που σχετίζονται με την μετάλωση των οστών.
3. Να προσδιοριστούν οι τιμές της οστεοκαλσίνης και της αλκαλικής φωσφατάσης στο πλάσμα των παιδιών 3-18 ετών στην Ελλάδα που δεν βρίσκονται υπό προσθήκη βιταμίνης D, ώστε να χρησιμοποιηθούν ως τιμές αναφοράς.
4. Να συσχετισθούν τα επίπεδα των τριών κύριων μεταβολιτών της βιταμίνης D με τις υπόλοιπες παραμέτρους (Ca, P, αλκαλική φωσφατάση, οστεοκαλσίνη και παραθορμόνη), που αφορούν την μετάλωση των οστών.
5. Εφ' όσον τα επίπεδα της 25(OH)D στον ορό του ανθρώπου είναι δείκτης επάρκειας βιταμίνης D στον οργανισμό από τα αποτελέσματα της μελέτης θα είναι δυνατόν να γίνουν προτάσεις για το αν είναι απαραίτητη η χορήγηση βιταμίνης D στην ηλικία των 3-11 ετών τη χειμερινή περίοδο.
6. Αν ενδείκνυται η χορήγηση βιταμίνης D στα παιδιά ηλικίας 11-18 ετών τη χειμερινή περίοδο.



Στην εργασία αυτή μελετήθηκαν ομάδες παιδιών ηλικίας 3-18 ετών τη χειμερινή και την θερινή περίοδο, επειδή είναι γνωστό ότι η βιταμίνη D στον ανθρώπινο οργανισμό εξαρτάται από την εποχή του έτους. Θεωρήθηκε ως χειμερινή περίοδος η συγκέντρωση του υλικού από Δεκέμβριο έως τέλη Μαΐου και ως θερινή περίοδος από τον Ιούνιο ως το τέλος Νοεμβρίου. Σε κανένα από τα παιδιά δεν χορηγούνταν σκεύασμα βιταμίνης D και το γάλα που λάμβαναν δεν ήταν εμπλουτισμένο με βιταμίνη D.

Τα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών εξετάστηκαν στα εξωτερικά ιατρεία του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων και ήταν παιδιά που προσήλθαν λόγω λοιμώξεων των ανώτερων αναπνευστικών οδών, προβλήματα διατροφής, ωτίτιδες, αμυγδαλίτιδες και ιογενείς λοιμώξεις.

Τα παιδιά 11-18 ετών ήταν μαθητές του Γυμνασίου και Λυκείου και εξετάστηκαν στα σχολεία τους. Κατά την εξέταση των παιδιών αυτών προσδιορίστηκε το φύλο και το στάδιο ηβικής ωρίμανσης, με βάση τα αναφερόμενα κριτήρια από τους Tanner και συν (137) και Marshall and Tanner (138,139). Έτσι στα αγόρια διακρίνουμε τα εξής στάδια ανάπτυξης:

1. Προ της ήβης. Δεν υπάρχουν στοιχεία ηβικής ωρίμανσης στα γεννητικά όργανα.
2. Έναρξη διογκώσεως οσχέου και πέους.
3. Επιμήκυνση του πέους.
4. Αύξηση του πέους και των σπυραγγωδών σωμάτων, τρίχωση του εφηβαίου και αρχόμενο κεχρωσμένο όσχεο.
5. Ενήλικας. Η τρίχωση της ηβικής σύμφυσης γίνεται πιο πυκνή, κεχρωσμένη και επεκτείνεται στην επιφάνεια των μηρών. Το όσχεο γίνεται πιο μαύρο όπως του ενήλικα.

Για τα κορίτσια τα στάδια ωρίμανσης είναι τα ακόλουθα:

1. Στο μαστό υπάρχει μικρή υπέγερση της θηλής.
2. Διόγκωση και προβολή των μαστών.
3. Περαιτέρω διόγκωση των μαστών και της άλω.

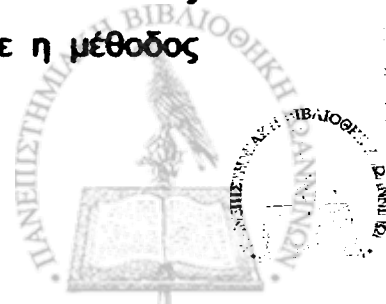


4. Προβολή της θηλής και της θηλαίας άλω πάνω από την επιφάνεια των μαστών.
5. Στάδιο ώριμης γυναίκας. Η άλω γίνεται μαύρη και εισέρχεται, ενώ η θηλή προβάλλει.

Επίσης στα κορίτσια συνυπολογιζόταν η τριχωση του εφηβαίου και η ηλικία έναρξης της εμμήνου ρύσης (138). Η παραπάνω ταξινόμηση έγινε σε όλα τα εξετασθέντα παιδιά.

Μελετήθηκαν 56 παιδιά ηλικίας 11 έως 14 ετών (25 το χειμώνα και 31 το καλοκαίρι) και 78 παιδιά ηλικίας 3 έως 10 ετών (45 το χειμώνα και 33 το καλοκαίρι). Εξετάστηκαν επίσης 45 παιδιά ηλικίας 15 μέχρι 18 ετών. Από τα 45 αυτά παιδιά, 25 ήταν κορίτσια και 20 αγόρια. Συνολικά εξετάστηκαν 179 παιδιά ηλικίας 3-18 ετών καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Η μέση ηλικία ήταν 7 έτη για τα παιδιά 3-10 ετών και 12 έτη για τα παιδιά 11-14 ετών. Τα 45 παιδιά ηλικίας 15-18 ετών εξετάστηκαν δύο φορές. Τη μία στις αρχές του σχολικού έτους (Οκτώβριος), η οποία θεωρήθηκε ως περίοδος θέρους, και τη δεύτερη προς το τέλος του σχολικού έτους προ της έναρξης των εξετάσεων (Μάιος) η οποία θεωρήθηκε ως περίοδος χειμερινή. Συνεπώς τα εξετασθέντα δείγματα των παιδιών 15-18 ετών ήταν 90. Θεωρήθηκε σκόπιμο να εξετασθούν τα ίδια παιδιά ηλικίας 15-18 ετών χειμώνα και καλοκαίρι για να είναι τα στοιχεία πιο αξιόπιστα, λαμβάνοντας υπόψη και την πτωχή ελληνική βιβλιογραφία στο συγκεκριμένο θέμα. Συνεστήθη χορήγηση βιταμίνης D σε 44 παιδιά ηλικίας 15-18 ετών τη χειμερινή περίοδο (Ιανουάριος 1991) και έγινε συλλογή δειγμάτων το Μάιο του ίδιου έτους. Βρέθηκε ότι κανένα παιδί αυτής της ηλικίας δεν έλαβε τη βιταμίνη σε όλη τη διάρκεια της χειμερινής περιόδου (Ιανουάριος – Μάιος 1991). Μόνο 12 από τα 44 παιδιά ηλικίας 15-18 ετών στα οποία συνεστήθη η χορήγηση βιταμίνης D έλαβαν το σκεύασμα, και αυτά από μία ως τέσσερις εβδομάδες.

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μέθοδοι: paired t-test, unpaired t-test και Anova. Στις γραφικές παραστάσεις και τις συσχετίσεις χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος Simple Regression.



Προσδιορισμός ασβεστίου, φωσφόρου, αλκαλικής φωσφατάσης, παραθορμόνης και οστεοκαλσίνης

Οι βιοχημικοί προσδιορισμοί των παραμέτρων του μεταβολισμού των οστών εκτελέστηκαν στο εργαστήριο της Παιδιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Το ασβέστιο του αίματος προσδιορίστηκε με την μικρομέθοδο του οργάνου Calcette, Model 4008, Precision Systems Inc., NATICK, MA, ΗΠΑ. Η μέθοδος βασίζεται στην τιτλοδότηση του ορού με δινατριούχο άλας του αιθυλοδιαμινικού τετραοξικού οξέος (EDTA) (140). Το αρχικό σύμπλεγμα (ασβεστίου – καλσεΐνης) από πράσινο και φωσφορίζον μετατρέπεται σε ρόδινο χρώμα και δεν φωσφορίζει. Το ασβέστιο ταυτόχρονα έχει κάνει σύμπλεγμα με το EDTA.

Ο ανόργανος φωσφόρος προσδιορίστηκε με φωτομετρική μέθοδο βασισμένη στην αρχή των Fiske και Subbarow (141), τροποποιημένη από τους Challa και συν (142). Το φωσφορικό σχηματίζει σύμπλεγμα με μολυβδικό αμμώνιο το οποίο μετά ανάγεται με χλωριούχο κασσίτερο (SnCl_2) και δίνει μπλε χρώμα. Η ένταση του χρώματος μετράται φασματοφωτομετρικά (725 nm) και είναι ανάλογη με την περιεκτικότητα του φωσφόρου στον ορό.

Ο προσδιορισμός της αλκαλικής φωσφατάσης έγινε με φωτομετρική μέθοδο κινητικής, χρησιμοποιώντας αντιδραστήρια της Elitech Diagnostics, Sees, France. Η αρχή της μεθόδου βασίζεται στη διάσπαση του υποστρώματος παρανιτρο-φαινολικοφωσφορικού οξέος από το ένζυμο σε ελεύθερη παρανιτροφαινόλη και φωσφορικό οξύ. Σε αλκαλικό pH η παρανιτροφαινόλη μετατρέπεται σε ιόν του παρανιτροφαινοξειδίου το οποίο δίνει κίτρινο χρώμα. Η ένταση του χρώματος, που μετράται φασματοφωτομετρικά στα 405 nm, είναι ανάλογη με την ενεργότητα του ενζύμου, η οποία εκφράζεται σε διεθνείς μονάδες ανά λίτρο ορού (U/l). Ο ορισμός μιας διεθνούς μονάδας είναι η ενεργότητα του ενζύμου που μετατρέπει 1 μmol υποστρώματος ανά λεπτό σε 1 μmol προϊόντος στους 37°C. Οι συνθήκες προσδιορισμού της αλκαλικής φωσφατάσης ήταν σε θερμοκρασία δωματίου (25°C).



Ο προσδιορισμός του καρβοξυτελικού άκρου της παραθορμόνης έγινε με ραδιοανοσολογική μέθοδο και τη χρησιμοποίηση αντισώματος κοτόπουλου (Incstar Co, ΗΠΑ) που αναγνωρίζει την αλληλουχία 65-84 της ανθρώπινης PTH (143).

Η αρχή της μεθόδου στηρίζεται στον ανταγωνισμό της ενδογενούς παραθορμόνης ή της γνωστής ποσότητας που βρίσκεται στα πρότυπα διαλύματα με την ραδιοσημασμένη με κώδιο (^{125}I) συνθετική C-PTH για τις θέσεις σύνδεσης του αντισώματος. Μετά την επώαση το σύμπλεγμα ραδιενεργού C-PTH - αντισώματος που σχηματίζεται κατακρημνίζεται με σύμπλεγμα καταβύθισης και το κζημα μετράται σε μετρητή γ' ακτινοβολίας.

Όριο ανίχνευσης της μεθόδου είναι 0,1 ng/ml και οι συντελεστές διακύμανσης μεταξύ προσδιορισμών, και στον ίδιο προσδιορισμό είναι αντίστοιχα 11% και 5%.

Η οστεοκαλσίνη μετρήθηκε με ραδιοανοσολογική μέθοδο χρησιμοποιώντας αντιδραστήρια της Incstar Co, ΗΠΑ.

Η μέθοδος περιλαμβάνει ταυτόχρονη επώαση δείγματος αντισώματος κουνελιού και της ρηνηθετημένης με ^{125}I οστεοκαλσίνης στους 4°C. Ο διαχωρισμός συνδεδεμένης και ελεύθερης μορφής γίνεται με την προσθήκη ενός συμπλόκου από ορό κατσίκας κατά του ορού κουνελιού, ορό κουνελιού και πολυαιθυλενογλυκόλη.

Απαιτούνται 50 μl δείγματος ή προτύπου (25, 12,5, 6,25, 3,12, 1,56, 0,78 και 0 ng/ml) και όλα γίνονται εις δπλούν.

Με βάση την πρότυπη καμπύλη υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων. Όριο ανίχνευσης της μεθόδου είναι 0,2 ng/ml και οι συντελεστές διακύμανσης μεταξύ προσδιορισμών και στον ίδιο προσδιορισμό είναι αντίστοιχα 7,5% και 5,3%.

Προσδιορισμός των επιπέδων των μεταβολιτών της βιταμίνης D [25(OH)D, 24,25 (OH)₂D και 1,25 (OH)₂D]

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των μεταβολιτών της βιταμίνης D αναπτύχθηκαν στο Εργαστήριο της Παιδιατρικής από τους Μουλά και συν (144). Τροποποιήθηκαν από ήδη



υπάρχουσες μεθόδους (145, 146) αξιοποιώντας επίσης και νεώτερες τεχνικές υγρής χρωματογραφίας (147, 148).

Οι μέθοδοι περιλαμβάνουν την εκχύλιση των μεταβολιτών από ορό ή πλάσμα με ακετονιτρίλιο και διαχωρισμό του κλάσματος των μεταβολιτών της βιταμίνης D από άλλα λιπίδια με χρωματογραφία σε μικροστήλες Sep-Pak 18. Ο διαχωρισμός των μεταβολιτών μεταξύ τους επιτυγχάνεται με ευθείας φάσης υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) σε στήλη Zorbax sil και με διαλύτη μείγμα n-εξανίου : ισοπροπανόλης : μεθανόλης σε αναλογία 95:10:3 κατ' όγκο. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των 25(OH)D και 24,25(OH)₂D γίνεται με τη μέθοδο ανταγωνιστικής δέσμευσης και τη χρήση της δεσμευτικής πρωτεΐνης της βιταμίνης D (DBP) ανθρώπινου ορού. Ο προσδιορισμός της 1,25(OH)₂D γίνεται με ραδιοανοσολογική μέθοδο με τη χρήση πρωτεϊνικού υποδοχέα της 1,25(OH)₂D από θύμο αδένα μόσχου. Η μέθοδος παρουσιάζει συντελεστή διακύμανσης μεταξύ διαφορετικών προσδιορισμών 10,5% για την 25(OH)D, 12,9% για την 24,25(OH)₂D και 8,7% για την 1,25(OH)₂D. Στον ίδιο προσδιορισμό οι συντελεστές διακύμανσης είναι 7,8%, 5,6% και 6,7% αντίστοιχα. Η μέθοδος είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό των επιπέδων των 25(OH)D, 24,25(OH)₂D και 1,25(OH)₂D στο ίδιο δείγμα ορού όγκου 0,5 έως 1,2 ml.

Χημικά αντιδραστήρια: Ακετονιτρίλιο >99,5%, ισοπροπανόλη 99,7%, μεθανόλη 99,8%, n-εξάνιο 99%, αιθανόλη 99,8%, οξικό νάτριο, βαρβιτουρικό νάτριο, proanalysis (Merck), χλωριούχο νάτριο, ζελατίνη, άνθρακας σε σκόνη, όξινο φωσφορικό κάλιο, δεξτράνη T-10, υγρό σπινθηρισμού rifofluor. Υποδοχέας της 1,25(OH)₂D από θύμο αδένα μόσχου (λυοφιλοποιημένος) και εναιώρημα άνθρακα με επικάλυψη δεξτράνης σε διάλυμα φωσφορικών/βορικών με αλβουμίνη, 25-υδροξυ - [23,24(n)³H] - χοληκαλσιφερόλη (118 Ci/mmol) 24,25-διϋδροξυ - [23,24(n)³H] - χοληκαλσιφερόλη (79,1Ci/mmol) και 1α, 25-διϋδροξυ [26,27 μεθυλ-³H] - χοληκαλσιφερόλη (180Ci/mmol). Συνθετικοί κρυσταλλικοί μεταβολίτες 25(OH)D, 24R,25(OH)₂D₃ και 1α,25(OH)₂D.



Πυκνό διάλυμα οξικών/βαρβιτουρικών. (0.12M και 0.08M). Διάλυμα εργασίας: Το πυκνό διάλυμα αραιώθηκε 20 φορές σε NaCl (0,9%), pH 8,6.

Διάλυμα ζελατίνης: Ζελατίνη (0,1% w/v) σε διάλυμα εργασίας, pH 8,6.

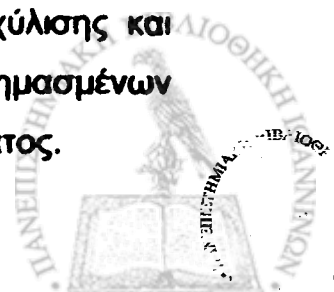
Ενακώρημα άνθρακα: Σκόνη άνθρακα σε ακώρημα διαλύματος εργασίας (1,5% w/v) που περιέχει και δεξτράνη T40 (0,15 w/v). Διάλυμα όξινου φωσφορικού καλίου (K_2PO_4 , 0,4 M, pH 10,5).

Εκχύλιση και χρωματογραφία με Sep-Pak C18.

Η εκχύλιση των δειγμάτων γίνεται με ίση ποσότητα ακετονιτρίλιου και το υπερκείμενο μετά τη φυγοκέντρωση διέρχεται από στήλες Sep-Pak C-18 για τον πρώτο χρωματογραφικό διαχωρισμό. Σε αυτό το στάδιο απομακρύνονται τα περισσότερα λιπίδια, άλατα και χρωστικές ουσίες. Το κλάσμα των μεταβολιτών της βιταμίνης D παραλαμβάνεται πάλι με ακετονιτρίλιο.

Χρωματογραφία υψηλής πίεσης

Ο διαχωρισμός των τριών μεταβολιτών της βιταμίνης D γίνεται με χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC) ευθείας φάσης, σε στήλη πυριτικού οξέος και διάλυμα από μίγμα n-εξανίου : ισοπροπανόλης : μεθανόλης (95:10:3 κατ' όγκον) και με ταχύτητα ροής 2 ml/min. Τα δείγματα που έχουν παραλειφθεί από το πρώτο χρωματογραφικό στάδιο εξατμίζονται και παραλαμβάνονται σε διάλυμα του μείγματος του HPLC. Οι χρόνοι έκπλυσης των μεταβολιτών προσδιορίζονται με σημασμένα διαλύματα και είναι $4,12 \pm 0,17$ – $5,47 \pm 0,11$ λεπτά για την 25(OH)D, $6,4 \pm 0,07$ – $8,08 \pm 0,09$ για την 24,25(OH)₂D και $11,25 \pm 0,22$ – $13,37 \pm 0,32$ για την 1,25(OH)₂D. Μετά την έκπλυση τα δείγματα εξατμίζονται και παραλαμβάνονται σε αιθανόλη 2500, 240 και 170 ml αντίστοιχα. Από αυτά τα δείγματα γίνεται ο ποσοτικός προσδιορισμός των μεταβολιτών. Η ανάκτηση των τριών μεταβολιτών μετά από τα στάδια εκχύλισης και χρωματογραφικών υπολογίζεται με τη βοήθεια εσωτερικών σημασμένων προτύπων που προστίθενται στον ορό ή το πλάσμα του δείγματος.



Ποσοτικός προσδιορισμός των 25(OH)D και 24,25(OH)₂D

Δείγματα των 1000 μl από κάθε κλάσμα της 25(OH)D και των 160 μl από καθένα της 24,25(OH)₂D τοποθετούνται σε φιαλίδια με 5 ml υγρό σπινθηρισμού για τη μέτρησή τους σε μετρητή β-ακτινοβολίας και τον υπολογισμό του ποσοστού ανάκτησης. Δείγμα των 20 μl από κάθε αντίστοιχο κλάσμα χρησιμοποιείται για τον ποσοτικό προσδιορισμό των 25(OH)D και 24,25(OH)₂D και όλη η διαδικασία εκτελείται εις δπλούν σε θερμοκρασία 4°C.

Και για τους δύο μεταβολίτες χρησιμοποιείται πρότυπη καμπύλη της 25(OH)D εφ' όσον η 24,25(OH)₂D παρουσιάζει την ίδια δεσμευτική ικανότητα με την 25(OH)D στα σημεία πρόσδεσης με τη δεσμευτική πρωτεΐνη της βιταμίνης D (DBP) του ανθρώπινου ορού. Τα δείγματα επωάζονται με τους αντίστοιχους τριτωμένους μεταβολίτες και ζελατινούχο διάλυμα DBP (1:60.000 αραιώση ανθρώπινου ορού, pH 8,6).

Για τον διαχωρισμό των δεσμευμένων κλασμάτων των μεταβολιτών από τα μη δεσμευμένα, χρησιμοποιείται εναιώρημα άνθρακα με επικάλυψη δεξτράνης (100 μl). Το ραδιενεργό υπερκείμενο μετράται σε μετρητή β-ακτινοβολίας, και με την βοήθεια της πρότυπης καμπύλης (0-40 ng/ml) και των ανακτήσεων υπολογίζονται ποσοτικά οι μεταβολίτες. Τα όρια ανίχνευσης αυτών των μεταβολιτών είναι 0,1 ng/ml.

Ποσοτικός προσδιορισμός της 1,25(OH)₂D

Δείγματα των 50 μl από κάθε κλάσμα της 1,25(OH)₂D φέρονται σε ειδικά φιαλίδια με 5 ml υγρό σπινθηρισμού και μετρούνται σε μετρητή β-ακτινοβολίας για τον υπολογισμό της ανάκτησης. Δείγματα των 50 μl από κάθε κλάσμα ή πρότυπο διάλυμα κρυσταλλικής 1,25(OH)₂D σε αιθανόλη χρησιμοποιούνται για τον ποσοτικό προσδιορισμό και όλη η διαδικασία εκτελείται εις δπλούν στους 18-20°C.

Τα δείγματα επωάζονται αρχικά με διάλυμα υποδοχέα από θύμο αδένες και κατόπιν με τριτωμένη 1,25(OH)₂D. Και εδώ ο διαχωρισμός δεσμευμένων από μη δεσμευμένων κλασμάτων γίνεται με την προσθήκη



εναιωρήματος άνθρακα και το υπερκείμενο μετράται σε μετρητή β- ακτινοβολίας. Με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης (1-40 pg/ml) και των ανακτήσεων υπολογίζεται ποσοτικά η 1,25(OH)₂D του δείγματος. Όριο ανίχνευσης είναι 3 pg/ml.

Η μέθοδος αυτή είναι κατάλληλη για τον έλεγχο της περιεκτικότητας σε 1,25(OH)₂D των παρασκευασμάτων που περιέχουν αυτό το σκευαστικό. Η μέθοδος είναι κατάλληλη για τον έλεγχο της περιεκτικότητας σε 1,25(OH)₂D των παρασκευασμάτων που περιέχουν αυτό το σκευαστικό. Η μέθοδος είναι κατάλληλη για τον έλεγχο της περιεκτικότητας σε 1,25(OH)₂D των παρασκευασμάτων που περιέχουν αυτό το σκευαστικό.

ΑΝΑΛΥΣΗ

Table with 4 columns and 4 rows of data, likely representing analytical results or calibration data. The text is very faint and difficult to read.



Η πρόταση του παρόντος αναφέρεται σε μια ομάδα βιολογικών ειδών που ανήκουν στην οικογένεια των ...

από κλίμα της ... στην ... και ...

και για τους ...

25(ΟΗ)D ...

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

... της ...

... των ...

... της ...

... από ...

... από ...



Στην Ελλάδα, στα παιδιά ηλικίας άνω των τριών χρόνων δεν χορηγούνται σκευάσματα βιταμίνης D ως ρουτίνα και οι τροφές (γάλα, βούτυρο κλπ) δεν είναι επαρκώς εμπλουτισμένες με βιταμίνη D. Επομένως, οι έκδηλες εποχιακές διακυμάνσεις της 25(OH)D σε παιδιά που δεν παίρνουν βιταμίνη D, δείχνουν την κατάσταση του γενικού πληθυσμού των παιδικών ως προς την βιταμίνη D.

Η μέση ηλικία των παιδικών της κάθε ηλικιακής ομάδας χειμώνα και καλοκαίρι φαίνεται στον Πίνακα 1 και ήταν $7,3 \pm 0,4$, $12,4 \pm 0,2$ και $16,7 \pm 0,1$ έτη και $6,8 \pm 0,4$, $12,3 \pm 0,2$ και $16,3 \pm 0,9$ έτη αντίστοιχα. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 1 μεταξύ χειμώνα και καλοκαιριού η μέση ηλικία των παιδικών της κάθε ομάδας δεν διέφερε.

Πίνακας 1. Μέση ηλικία των τριών ομάδων παιδικών

Ηλικιακή ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδικών	Μέσος όρος ηλικίας (χρόνια)	Αριθμός παιδικών	Μέσος όρος ηλικίας (χρόνια)
3-10 ετών	45	$7,3 \pm 0,4$	33	$6,8 \pm 0,4$
11-14 ετών	25	$12,4 \pm 0,2$	31	$12,3 \pm 0,2$
15-18 ετών	45	$16,7 \pm 0,1$	42	$16,3 \pm 0,9$

A. Εποχιακή διακύμανση των δεικτών του μεταβολισμού των οστών:

Ο Πίνακας 2 δείχνει την εποχιακή διακύμανση της 25(OH)D και στις τρεις ομάδες ηλικιών. Οι τιμές της ήταν χαμηλότερες τη χειμερινή περίοδο ($17,2 \pm 0,8$ ng/ml) και στατιστικά σημαντικά ψηλότερες ($p < 0,001$) και στις τρεις ομάδες παιδικών τη θερινή περίοδο ($28,0 \pm 0,9$ ng/ml).



Πίνακας 2. Μέση τιμή της 25(OH)D στον ορό των τρκών ομάδων παιδικών (Φυσιολογικές τιμές: 10-50 ng/ml)

Ηλικιακή ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδιών	25(OH)D (ng/ml)	Αριθμός παιδιών	25(OH)D (ng/ml)
3-10 ετών	43	18,5±1,3 ^{*,c}	32	29,4±1,8 [*]
11-14 ετών	22	21,0±1,9 ^{**_{,b}}	27	26,6±1,4 ^{**}
15-18 ετών	45	12,7±0,9 ^{+,a}	41	27,7±1,3 ⁺

*p<0,001, **p<0,05, +p<0,001
a vs b p<0,001, a vs c p<0,01

Η διαφορά τη χειμερινή και θερινή περίοδο ανά ηλικία ήταν στατιστικά σημαντική και για τις τρεις ομάδες ηλικιών. Στα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών οι τιμές ήταν 18,5±1,3 και 29,4±1,8 ng/ml αντίστοιχα για τις δύο περιόδους (p<0,001). Για τα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών οι τιμές που βρέθηκαν ήταν 21,0±1,9 και 26,6±1,4 ng/ml (p<0,05) και για την ομάδα 15-18 ετών ήταν 12,7±0,9 και 27,7±7,3 ng/ml αντίστοιχα (p<0,001). Όπως φαίνεται στον Πίνακα 2, τη χειμερινή περίοδο παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων της 25(OH)D των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών και αυτών ηλικίας 11-14 ετών (p<0,001) με αντίστοιχες τιμές 12,7±0,9 και 21,0±1,9 ng/ml. Το ίδιο παρατηρήθηκε και ανάμεσα στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών κι αυτών ηλικίας 3-10 ετών με τιμές 25(OH)D στον ορό 12,7±0,9 και 18,5±1,3 ng/ml (p<0,01). Τα παιδιά 3-10 ετών είχαν μια τάση χαμηλότερων τιμών 25(OH)D στον ορό το χειμώνα σε σύγκριση με αυτά ηλικίας 11-14 ετών (18,5 προς 21 ng/ml αντίστοιχα). Δεν υπήρχε όμως στατιστικά σημαντική διαφορά. Επομένως τη χειμερινή περίοδο οι μικρότερες τιμές 25(OH)D παρατηρήθηκαν στην ηλικία 15-18 ετών και πλησίαζαν τα όρια της υποβιταμίνωσης D.

Τη χειμερινή περίοδο τα 6/45 παιδιά 15-18 ετών (ποσοστό 13,6%) είχαν τιμές 25(OH)D μικρότερες των 7 ng/ml, ενώ σε δύο από αυτά η 25(OH)D ήταν <5 ng/ml, δηλαδή το 4,5% των εξετασθέντων παιδιών ηλικίας 15-18 ετών είχε



25(OH)D πολύ χαμηλή (≤ 5 ng/ml). Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι το 13,6% των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών βρίσκονταν στο στάδιο της υποβιταμίνωσης D και το 47,7% σε τιμές 25(OH)D παθολογικά χαμηλές, δηλαδή μικρότερες από 10 ng/ml. Αντίθετα στα μικρότερα παιδιά (3-10 χρόνων) σε κανένα δεν παρατηρήθηκαν τιμές 25(OH)D < 10 ng/ml το χειμώνα.

Κατά τη θερινή περίοδο οι τιμές της 25(OH)D δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις τρεις ηλικιακές ομάδες, όπως φαίνεται από τον Πίνακα 2.

Ο Πίνακας 3 δείχνει τις τιμές της 24,25(OH)₂D χειμώνα και καλοκαίρι και στις τρεις ηλικιακές ομάδες παιδιών. Όπως και με την 25(OH)D, οι συγκεντρώσεις της 24,25(OH)₂D συνολικά ήταν χαμηλότερες το χειμώνα σε

Πίνακας 3. Η μέση τιμή της 24,25(OH)₂D στον ορό στις τρεις ομάδες των παιδιών (Φυσιολογικές τιμές 1,0-4,0 ng/ml)

Ηλικιακή ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδιών	24,25(OH) ₂ D (ng/ml)	Αριθμός παιδιών	24,25(OH) ₂ D (ng/ml)
3-10 ετών	44	1,31 \pm 0,12 ^c	26	2,17 \pm 0,19 ^e
11-14 ετών	21	1,47 \pm 0,17 ^b	26	1,79 \pm 0,16 ^e
15-18 ετών	40	0,73 \pm 0,10 ^{**a}	39	2,41 \pm 0,20 ^{**d}

*p<0,001, **p<0,001

a vs b p<0,01, a vs c p<0,01, d vs e p<0,01

σχέση με το καλοκαίρι (1,60 \pm 0,21 και 2,39 \pm 0,35 ng/ml αντίστοιχα) (p<0,05).

Τα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις του μεταβολίτη τη χειμερινή περίοδο σε σύγκριση με τη θερινή. Στη χειμερινή περίοδο η μέση τιμή της 24,25(OH)₂D ήταν 1,31 \pm 0,12 ng/ml για τα παιδιά αυτής της ηλικίας, ενώ στη θερινή περίοδο ήταν 2,17 \pm 0,19 ng/ml, διαφορά που βρίσκεται σε υψηλό επίπεδο σημαντικότητας (p<0,001). Αυτή η διαφορά δεν παρατηρήθηκε στα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών που οι τιμές ήταν αντίστοιχα



1,47±0,17 και 1,79±0,16 ng/ml για χειμώνα και καλοκαίρι. Στην ηλικιακή ομάδα των 15-18 ετών παρατηρήθηκαν ακόμη μεγαλύτερες διαφορές στα επίπεδα της 24,25(OH)₂D μεταξύ χειμώνα (0,73±0,10ng/ml) και καλοκαιριού (2,41±0,20ng/ml) (p<0,001).

Επίσης, διαφορές στον ίδιο μεταβολίτη παρατηρήθηκαν μεταξύ των παιδιών ηλικίας 3-10 ετών και αυτών ηλικίας 15-18 ετών καθώς και μεταξύ παιδιών 11-14 ετών και των μεγαλύτερων ηλικίας 15-18 ετών. Από τον Πίνακα 3 φαίνεται ότι στη χειμερινή περίοδο τα παιδιά 15-18 ετών είχαν τιμές 24,25(OH)₂D μικρότερες σε σύγκριση με αυτά των 3-10 ετών καθώς και με αυτά των 11-14 ετών (p<0,01). Η τιμή της 24,25(OH)₂D στην ηλικία των 15-18 ετών τη χειμερινή περίοδο βρέθηκε 0,73±0,10 ng/ml και ήταν σαφώς μικρότερη από την τιμή αυτού του μεταβολίτη στις δύο άλλες ηλικιακές ομάδες που βρέθηκε 1,31±0,12 και 1,47±0,17 ng/ml για τις ηλικίες 3-10 ετών και 11-14 ετών αντίστοιχα (p<0,01).

Αντίθετα, κατά τη θερινή περίοδο στην ηλικία των 15-18 ετών βρέθηκαν ψηλότερες τιμές 24,25(OH)₂D απ' ότι στα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών (τιμή 2,41±0,20 και 1,79±0,16 ng/ml) (p<0,01). Την ίδια περίοδο η τιμή της 24,25(OH)₂D για την ηλικία των 3-10 ετών ήταν 2,17±0,19 ng/ml και δεν διέφερε σημαντικά από τα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών (1,79±0,16 ng/ml) και από αυτά ηλικίας 15-18 ετών (2,41±0,20 ng/ml). Από τα παραπάνω προκύπτει ότι κατά τη θερινή περίοδο στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών, ενώ βρέθηκαν ψηλότερες τιμές 24,25(OH)₂D σε σύγκριση με αυτές των παιδιών ηλικίας 11-14 ετών (p<0,01), δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τις τιμές των παιδιών ηλικίας 3-10 ετών.

Οι τιμές της 1,25(OH)₂D στα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών ήταν 23,0±1,9 το χειμώνα και 26,2±1,9 pg/ml το καλοκαίρι και η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική, ενώ στα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών ήταν 25,8±3,4 και 32,4±3,0 pg/ml αντίστοιχα (Πίνακας 4). Στην ομάδα παιδιών ηλικίας 15-18 ετών οι



Πίνακας 4. Η μέση τιμή της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στον ορό στις τρεις ομάδες των παιδιών (Φυσιολογικές τιμές: 12-40 pg/ml)

Ηλικιακή ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδιών	$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (pg/ml)	Αριθμός παιδιών	$1,25(\text{OH})_2\text{D}$ (pg/ml)
3-10 ετών	28	$23,0 \pm 1,9$	30	$26,2 \pm 1,9$
11-14 ετών	15	$25,8 \pm 3,4$	17	$32,4 \pm 3,0^a$
15-18 ετών	39	$26,7 \pm 1,5$	26	$25,7 \pm 1,9^b$

a vs b $p < 0,05$

αντίστοιχες τιμές ήταν $26,7 \pm 1,5$ και $25,7 \pm 1,9$ pg/ml. Δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών του χειμώνα και του καλοκαιριού. Τη χειμερινή περίοδο οι τιμές της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ δεν διέφεραν και στις τρεις ομάδες παιδιών που εξετάστηκαν. Τη θερινή περίοδο όμως, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ παιδιών ηλικίας 11-14 ετών και των μεγαλύτερων 15-18 ετών, όπου οι τιμές της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ήταν ψηλότερες στα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών ($32,4 \pm 3,0$ και $25,7 \pm 1,9$ pg/ml αντίστοιχα, $p < 0,05$).

Οι τιμές του Ca του ορού (Πίνακας 5) στα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών ήταν $9,7 \pm 0,1$ mg/dl την χειμερινή περίοδο και $9,1 \pm 0,3$ mg/dl την περίοδο του θέρους και η διαφορά αυτή ήταν σημαντική ($p < 0,01$). Αντίθετα, δεν

Πίνακας 5. Η μέση τιμή του Ca στον ορό στις τρεις ομάδες των παιδιών (Φυσιολογικές τιμές: 8,5-10,5 mg/dl)

Ηλικιακή ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδιών	Ca ορού (mg/dl)	Αριθμός παιδιών	Ca ορού (mg/dl)
3-10 ετών	26	$9,7 \pm 0,1^*$	17	$9,1 \pm 0,3^{*,a}$
11-14 ετών	14	$9,4 \pm 0,2$	21	$9,4 \pm 0,1$
15-18 ετών	39	$9,7 \pm 0,1$	41	$9,6 \pm 0,1^b$

* $p < 0,01$
a vs b $p < 0,01$



παρατηρήθηκε διαφορά στο Ca αίματος μεταξύ χειμώνα και θερινής περιόδου για τα παιδιά ηλικίας 11-14 και 15-18 ετών. Οι τιμές ήταν αντίστοιχα $9,4 \pm 0,2$ και $9,4 \pm 0,1$ mg/dl (11-14 ετών) και $9,7 \pm 0,1$ και $9,6 \pm 0,1$ mg/dl (15-18 ετών). Τη θερινή περίοδο τα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών είχαν τιμές Ca ορού χαμηλότερες σε σύγκριση με τις τιμές των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών ($9,1 \pm 0,3$ και $9,6 \pm 0,1$ mg/dl αντίστοιχα), διαφορά στατιστικά σημαντική ($p < 0,01$).

Στα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών ο P του ορού ήταν $4,5 \pm 0,2$ και $4,2 \pm 0,2$ mg/dl αντίστοιχα χειμώνα και καλοκαίρι και δεν διέφερε σημαντικά από τις τιμές των παιδιών ηλικίας 11-14 ετών ($4,4 \pm 0,2$ και $4,3 \pm 0,2$ mg/dl) (Πίνακας 6). Οι τιμές του P στον ορό των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών κατά το χειμώνα ήταν $3,9 \pm 0,1$ mg/dl ενώ το καλοκαίρι ήταν σημαντικά ψηλότερες ($4,3 \pm 0,1$ mg/dl) ($p < 0,001$). Από τα παραπάνω προκύπτει ότι ο φωσφόρος του ορού στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών είναι στατιστικά σημαντικά μικρότερος το χειμώνα σε σύγκριση με το καλοκαίρι. Στη χειμερινή περίοδο η τιμή του P του ορού των παιδιών 15-18 ετών ήταν σημαντικά μικρότερη ($3,9 \pm 0,1$ mg/dl) από την

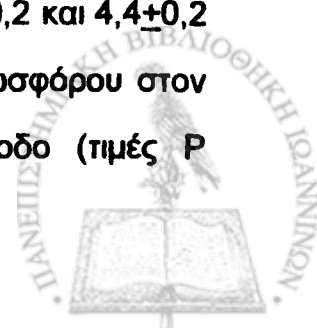
Πίνακας 6. Η μέση τιμή του φωσφόρου στον ορό στις τρεις ομάδες των παιδιών (Φυσιολογικές τιμές: 3,5-6,0 mg/dl)

Ηλικιακή ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδιών	Pi (mg/dl)	Αριθμός παιδιών	Pi (mg/dl)
3-10 ετών	19	$4,5 \pm 0,2^c$	18	$4,2 \pm 0,2$
11-14 ετών	14	$4,4 \pm 0,2^b$	21	$4,3 \pm 0,2$
15-18 ετών	45	$3,9 \pm 0,1^{*,a}$	43	$4,3 \pm 0,1^*$

* $p < 0,001$

a vs b $p < 0,05$, a vs c $p < 0,001$

αντίστοιχη τιμή των παιδιών ηλικίας 3-10 και 11-14 ετών ($4,5 \pm 0,2$ και $4,4 \pm 0,2$ mg/dl, $p < 0,001$ και $p < 0,05$ αντίστοιχα). Οι μικρότερες τιμές φωσφόρου στον ορό των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών την χειμερινή περίοδο (τιμές P



μικρότερες από 4 mg/dl), σε συνδυασμό με τις χαμηλές συγκεντρώσεις της 25(OH)D στον ορό αυτών των παιδιών (Πίνακας 2) πιθανόν να προδιαθέτουν για την εμφάνιση υποβιταμίνωσης D.

Οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης στα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών ήταν 203 ± 10 και 187 ± 17 IU/L χειμώνα και καλοκαίρι αντίστοιχα, ενώ στα παιδιά 11-14 χρόνων βρέθηκαν πιο ψηλές τιμές και στις δύο εποχές (240 ± 37 και 264 ± 30 IU/L αντίστοιχα) (Πίνακας 7). Οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης στον ορό (ALP) των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών ήταν 156 ± 15 και 180 ± 18 IU/L χειμώνα και καλοκαίρι αντίστοιχα.

Πίνακας 7. Η μέση τιμή της αλκαλικής φωσφατάσης στον ορό στις τρεις ομάδες των παιδιών (Φυσιολογικές τιμές: 100-700 U/L)

Ηλικιακή Ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδιών	ALP (U/L)	Αριθμός παιδιών	ALP (U/L)
3-10 ετών	38	203 ± 10	20	187 ± 17^b
11-14 ετών	13	240 ± 37	23	264 ± 30^a
15-18 ετών	39	156 ± 15	42	180 ± 18^c

a vs b $p < 0,05$, a vs c $p < 0,01$

Δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην αλκαλική φωσφατάση στην χειμερινή περίοδο μεταξύ παιδιών 3-10, 11-14 και 15-18 ετών. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σ' αυτές τις ηλικίες τη θερινή περίοδο και συγκεκριμένα η αλκαλική φωσφατάση των παιδιών ηλικίας 11-14 ετών βρέθηκε υψηλότερη (264 ± 30 IU/L) από αυτή των παιδιών ηλικίας 3-10 ετών (187 ± 17 IU/L, $p < 0,05$) και των παιδιών 15-18 ετών (180 ± 18 IU/L, $p < 0,01$).

Οι μέσες τιμές της οστεοκαλσίνης στον ορό (Πίνακας 8) κυμαίνονται από $7,5 \pm 0,7$ το χειμώνα σε $10,3 \pm 1,0$ ng/ml το καλοκαίρι για τα παιδιά ηλικίας 3-10



χρόνων και για τα παιδιά 11-14 ετών $9,4 \pm 1,2$ και $12,7 \pm 1,2$ ng/ml χειμώνα και καλοκαίρι αντίστοιχα. Για τα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών οι τιμές της οστεοκαλσίνης ήταν $7,0 \pm 0,4$ και $5,9 \pm 0,3$ ng/ml αντίστοιχα. Οι τιμές της οστεοκαλσίνης στα παιδιά των δύο ηλικιακών ομάδων 3-10 και 11-14 ετών ήταν χαμηλότερες το χειμώνα από το καλοκαίρι ($7,5 \pm 0,7$ και $10,3 \pm 1,0$ ng/ml, $p < 0,01$ και $9,4 \pm 1,2$ και $12,7 \pm 1,2$ ng/ml, $p < 0,01$ αντίστοιχα). Αυτή η διαφορά δεν παρατηρήθηκε στην ομάδα παιδιών 15-18 ετών.

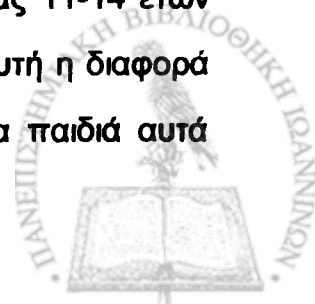
Πίνακας 8. Η μέση τιμή της οστεοκαλσίνης στον ορό στις τρεις ομάδες των παιδιών (Φυσιολογικές ομάδες: 2,5-20 ng/ml)

Ηλικιακή ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδιών	Ost/cin (ng/ml)	Αριθμός παιδιών	Ost/cin (ng/ml)
3-10 ετών	31	$7,5 \pm 0,7^*$	21	$10,3 \pm 1,0^{*,e}$
11-14 ετών	15	$9,4 \pm 1,2^{**,a}$	22	$12,7 \pm 1,2^{**,d}$
15-18 ετών	27	$7,0 \pm 0,4^b$	39	$5,9 \pm 0,3^c$

* $p < 0,01$, ** $p < 0,01$

a vs b $p < 0,05$, c vs d $p < 0,001$, c vs e $p < 0,001$

Οι τιμές της οστεοκαλσίνης στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών ήταν μικρότερες από τα παιδιά των δύο άλλων ομάδων και συγκεκριμένα τη χειμερινή περίοδο βρέθηκε μικρότερη από τα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών ($p < 0,05$), ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά με τις τιμές της οστεοκαλσίνης των παιδιών 3-10 ετών στατιστικά σημαντική. Οι τιμές της οστεοκαλσίνης τη θερινή περίοδο στα παιδιά 15-18 ετών βρέθηκε μικρότερη ($5,9 \pm 0,3$ ng/ml) σε σύγκριση με τα παιδιά των δύο άλλων ηλικιακών ομάδων 3-10 και 11-14 ετών ($10,3 \pm 1$ και $12,7 \pm 1,2$ ng/ml, $p < 0,001$ αντίστοιχα). Η οστεοκαλσίνη παρουσίασε μεγαλύτερες τιμές στα παιδιά της ηλικιακής ομάδας 11-14 ετών (χειμώνα και καλοκαίρι) σε επίπεδο στατιστικά σημαντικό και αυτή η διαφορά ήταν πιο έκδηλη τη θερινή περίοδο (τιμές οστεοκαλσίνης στα παιδιά αυτά



12,7±1,2 ng/ml σε σύγκριση με τα παιδιά 3-10 χρόνων 10,3±1,0 ng/ml, $p<0,001$ και τα παιδιά 15-18 ετών 5,9±0,3 ng/ml, $p<0,001$). Τόσο η ALP όσο και η οστεοκαλσίνη παρουσίασαν τις μεγαλύτερες τιμές στα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών (ALP: 240±37 IU/L το χειμώνα, 264±30 IU/L το καλοκαίρι και οστεοκαλσίνη 9,4±1,2 ng/ml το χειμώνα και 12,7±1,2 ng/ml το καλοκαίρι αντίστοιχα), γεγονός που σχετίζεται με μεγαλύτερη οστεοβλαστική δραστηριότητα των παιδιών αυτής της ηλικίας.

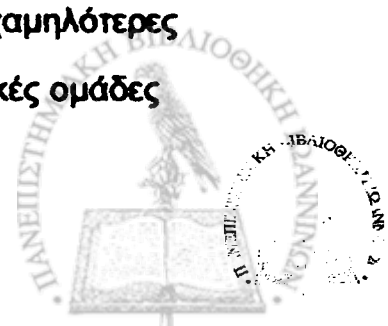
Ο Πίνακας 9 δείχνει τις τιμές της παραθορμόνης (C-PTH) στα παιδιά 3-10 ετών που ήταν 0,7±0,07 ng/ml το χειμώνα και 0,7±0,07 ng/ml το καλοκαίρι και για τα παιδιά 11-14 χρόνων οι τιμές ήταν 0,7±0,04 και 0,8±0,14 ng/ml αντίστοιχα. Στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων οι τιμές της παραθορμόνης βρέθηκαν 0,4±0,06 και 0,6±0,06 ng/ml αντίστοιχα χειμώνα και καλοκαίρι. Δεν υπάρχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των δύο εποχών του έτους (χειμώνα-καλοκαίρι) ούτε και μεταξύ παιδιών ηλικίας 3-10 και 11-14 χρόνων.

Πίνακας 9. Η μέση τιμή της παραθορμόνης στον ορό στις τρεις ομάδες των παιδιών (Φυσιολογικές τιμές: 0-0,9 ng/ml)

Ηλικιακή ομάδα	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αριθμός παιδιών	C-PTH (ng/ml)	Αριθμός παιδιών	C-PTH (ng/ml)
3-10 ετών	10	0,7±0,07 ^c	8	0,7±0,07
11-14 ετών	8	0,7±0,04 ^b	12	0,8±0,14
15-18 ετών	31	0,4±0,06 ^a	28	0,6±0,06

a vs b $p<0,05$, a vs c $p<0,05$

Αντίθετα οι τιμές της παραθορμόνης το χειμώνα βρέθηκαν χαμηλότερες στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών σε σύγκριση με τις δύο άλλες ηλικιακές ομάδες



σε επίπεδο στατιστικά σημαντικό ($p < 0,05$). Οι μικρότερες τιμές παραθορμόνης που παρατηρήθηκαν στην ηλικία 15-18 ετών σε σύγκριση με τις δύο άλλες ομάδες, βρέθηκαν μόνο στην χειμερινή περίοδο ($p < 0,05$), ενώ η διαφορά αυτή δεν υπήρχε τους θερινούς μήνες.

Β. Σχόλια των παραμέτρων του οστικού μεταβολισμού των παιδιών ηλικίας 15-18 ετών

Τη χειμερινή περίοδο στα 21/45 παιδιά ηλικίας 15-18 ετών η 25(OH)D ήταν μικρότερη των 10 ng/ml, ενώ κανένα παιδί δεν είχε Ca ορού χαμηλότερο από 8,5 mg/dl. Την ίδια περίοδο στα 18/45 παιδιά αυτής της ηλικίας (ποσοστό 40%) ο φωσφόρος του ορού ήταν μικρότερος των 3,5 mg/dl, ενώ σε τρία από αυτά τα παιδιά η τιμή του φωσφόρου στον ορό ήταν μικρότερη των 3,0 mg/dl. Από αυτά τα παιδιά, τα 9 βρέθηκαν να έχουν τιμές 25(OH)D μικρότερες των 10 ng/ml και φωσφόρο ορού χαμηλότερο των 3,5 mg/dl, δηλαδή το 20% των παιδιών 15-18 ετών τη χειμερινή περίοδο είχε 25(OH)D και φωσφόρο ορού στα κατώτερα φυσιολογικά όρια. Από τα 45 παιδιά αυτής της ηλικίας δύο είχαν τη χειμερινή περίοδο τιμές αλκαλικής φωσφατάσης μεγαλύτερες από 400 IU/L και ένα εξ αυτών είχε τιμή 25(OH)D μικρότερη των 10 ng/ml.

Αντίθετα το καλοκαίρι μόνο σε δύο παιδιά αυτής της ηλικιακής ομάδας (15-18 ετών) βρέθηκε φωσφόρος ορού μικρότερος των 3,5 mg/dl, ενώ σε κανένα δεν βρέθηκε τιμή φωσφόρου στον ορό μικρότερη των 3,0 mg/dl, ούτε τιμή 25(OH)D μικρότερη των 10 ng/ml. Την ίδια χρονική περίοδο και στην ίδια ηλικιακή ομάδα δεν βρέθηκε καμία τιμή Ca ορού μικρότερη των 8,5 mg/dl, ενώ υπήρξαν τρεις τιμές αλκαλικής φωσφατάσης ψηλότερες από 400 IU/L με φυσιολογική 25(OH)D (> 10 ng/ml).

Γ. Συσχέτιση των παραμέτρων του μεταβολισμού των οστών σε σχέση με το φύλο



Δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων στις παραμέτρους του οστικού μεταβολισμού στα παιδιά 3-10 χρόνων, αλλά παρατηρήθηκαν στα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών και στα μεγαλύτερα 15-18 ετών. Στην ηλικιακή ομάδα των 11-14 ετών δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ των δύο φύλων ως προς τους τρεις μεταβολίτες της βιταμίνης D [25(OH)D, 24,25(OH)₂D και 1,25(OH)₂D] όπως και ως προς το ασβέστιο, φωσφόρο και οστεοκαλσίνη, ενώ βρέθηκε διαφορά ως προς την αλκαλική φωσφατάση ($p < 0,06$) που στα αγόρια είχε ψηλότερες τιμές από τα κορίτσια, χωρίς όμως να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά. Στα αγόρια ηλικίας 15-18 ετών ο φωσφόρος, η αλκαλική φωσφατάση, η οστεοκαλσίνη και η 1,25(OH)₂D δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ χειμώνα και θέρους (Πίνακας 10). Αντίθετα οι τιμές της 25(OH)D και της 24,25(OH)₂D ήταν σαφώς χαμηλότερες τη χειμερινή περίοδο ($p < 0,001$ και για τους δύο μεταβολίτες). Στα κορίτσια ηλικίας 15-18 ετών οι τιμές της 1,25(OH)₂D δεν παρουσίασαν διαφορά μεταξύ χειμώνα και θέρους. Η οστεοκαλσίνη του ορού ήταν ψηλότερη τη χειμερινή περίοδο σε σύγκριση με το θέρος ($p < 0,02$). Στα κορίτσια αυτής της ηλικίας οι τιμές στον ορό του φωσφόρου, της 25(OH)D και της 24,25(OH)₂D ήταν χαμηλότερες την χειμερινή περίοδο σε σχέση με τη θερινή ($p < 0,001$ και για τις τρεις παραμέτρους). Τα κορίτσια σε σχέση με τα αγόρια παρουσίασαν πιο έκδηλες διαταραχές υποβιταμίνωσης D, αφού και οι τέσσερις παράμετροι του ορού [οστεοκαλσίνη, φωσφόρος, 25(OH)D και 24,25(OH)₂D] παρουσίασαν χαμηλές τιμές τη χειμερινή περίοδο. Επομένως στην ηλικία των 15-18 ετών, τα κορίτσια ήταν πιο επιρρεπή τη χειμερινή περίοδο για την εμφάνιση υποβιταμίνωσης D. Αυτό άλλωστε επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι το χειμώνα 14/25 κορίτσια (ποσοστό 56%) που εξετάστηκαν, ηλικίας 15-18 ετών, εμφάνισαν τιμές 25(OH)D < 10 ng/ml, ενώ την ίδια εποχή μόνο 7/20 αγόρια (ποσοστό 35%) είχαν τόσο χαμηλή τιμή 25(OH)D (< 10 ng/ml). Αφ' ενός η απώλεια αίματος λόγω της εμμηνορρυσίας, που μπορεί να προκαλεί πτώση του φωσφόρου στον ορό, αφού ο φωσφόρος

είναι ενδοκυττάριο στοιχείο και αφ' ετέρου η χρόνια δίαιτα των κορπισκών λόγω καλαισθησίας, ίσως αποτελούν προδιαθεσικούς παράγοντες για την εμφάνιση του βιοχημικού ραχιτισμού.

Πίνακας 10. Οι μέσες τιμές των παραμέτρων που μετρήθηκαν στα αγόρια και κορίτσια ηλικίας 15-18 ετών για το χειμώνα και το καλοκαίρι

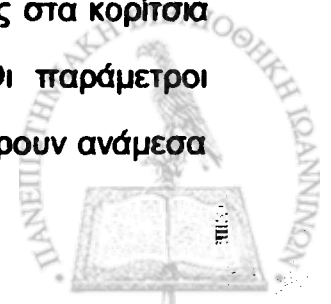
	Χειμώνας		Καλοκαίρι	
	Αγόρια	Κορίτσια	Αγόρια	Κορίτσια
N	21	25	21	25
Ηλικία (χρ.)	16,5 \pm 0,2	16,9 \pm 0,2	16,0 \pm 0,2	16,4 \pm 0,2
Ca (mg/dl)	9,7 \pm 0,1	9,8 \pm 0,1	9,5 \pm 0,1	9,7 \pm 0,1
Pi (mg/dl)	4,0 \pm 0,2	3,7 \pm 0,1 ^a	4,3 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1 ^b
A.Φ. (U/l)	212 \pm 28 ^b	108 \pm 48 ^a	248 \pm 3 ^a	116 \pm 7 ^b
Οστεο/σίνη (ng/ml)	8,7 \pm 0,6 ^b	5,8 \pm 0,3 ^a	7,3 \pm 0,5 ^a	4,6 \pm 0,3 ^b
C-PTH (ng/ml)	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1
25(OH)D (ng/ml)	13,4 \pm 1,5 ^a	12,4 \pm 1,2 ^a	28,4 \pm 0,2 ^b	26,7 \pm 1,5 ^b
24,25(OH) ₂ D (ng/ml)	0,7 \pm 0,1 ^a	0,7 \pm 0,1 ^a	2,8 \pm 0,3 ^b	2,2 \pm 0,3 ^b
1,25(OH) ₂ D (pg/ml)	27,7 \pm 2,1	23,4 \pm 1,3	23,2 \pm 2,2	24,0 \pm 1,8

a vs b $p < 0,001$

Όπως φαίνεται στον Πίνακα 10 οι τιμές του φωσφόρου ορού στα αγόρια ηλικίας 15-18 ετών δεν διέφεραν μεταξύ χειμώνα και καλοκαιριού. Αντίθετα στα κορίτσια οι τιμές του φωσφόρου στον ορό το χειμώνα ήταν μικρότερες απ' ότι το καλοκαίρι ($p < 0,001$) και μικρότερες και από τα αντίστοιχα αγόρια (χειμώνα και καλοκαίρι).

Οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης στον ορό βρέθηκαν μικρότερες χειμώνα-καλοκαίρι στα κορίτσια σε σύγκριση με τα συνομήλικά τους αγόρια ($p < 0,001$).

Οι τιμές της οστεοκαλσίνης στον ορό βρέθηκαν μικρότερες στα κορίτσια σε σύγκριση με τα αγόρια χειμώνα-καλοκαίρι ($p < 0,001$). Οι παράμετροι αλκαλική φωσφατάση και οστεοκαλσίνη δεν βρέθηκαν να διαφέρουν ανάμεσα



σε αγόρια και κορίτσια στα παιδιά των δύο άλλων ηλικιακών ομάδων 3-10 και 11-14 ετών. (Πίνακας 11, 12, 13).

Η οστεοκαλσίνη και η αλκαλική φωσφατάση είναι δείκτες της δραστηριότητας του οστεοβλάστη. Φαίνεται ότι τα κορίτσια 15-18 ετών παρουσιάζουν μικρότερη οστεοβλαστική δραστηριότητα από τα συνομήλικά τους αγόρια. Οι παραπάνω δύο παράμετροι ίσως είναι ενδεικτικοί προδιάθεσης στα κορίτσια για διαταραχές του οστικού μεταβολισμού, που δεν φαίνεται να ισχύει για τα αγόρια. Αυτή η μειωμένη οστεοβλαστική δραστηριότητα στα κορίτσια σε σύγκριση με τα αγόρια, ίσως σχετίζεται με ορμονικούς παράγοντες, αφού δεν παρατηρήθηκε στις δύο άλλες ηλικιακές ομάδες που μελετήθηκαν. Το εύρημα αυτό για πρώτη φορά αναφέρεται στη βιβλιογραφία και χρήζει περαιτέρω έρευνας και τεκμηρίωσης.

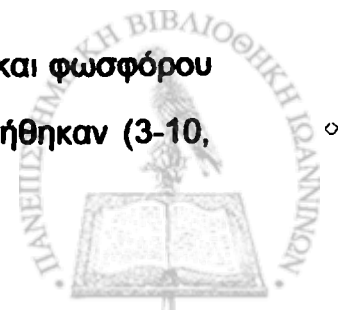


Πίνακας 11. Οι μέσες τιμές των μεταβολικών της βιταμίνης D [25(OH)D, 24,25(OH)₂D και 1,25(OH)₂D] σε αγόρια και κορίτσια των ηλικιακών ομάδων που μελετήθηκαν (3-10, 11-14 και 15-18 χρόνων) το χειμώνα και το καλοκαίρι (σε παρένθεση οι τιμές των κοριτσιών)

Χειμώνας:				
N	Ηλικία (Χρόνια)	25(OH)D (ng/ml)	24,25(OH)₂D (ng/ml)	1,25(OH)₂D (pg/ml)
28 (17)	7.0 _± 0,5 (7.3 _± 0,7)	19.4 _± 1.4 ^e (18.5 _± 2.0)	1.4 _± 0,1 ^e (1.2 _± 0.2)	22.8 _± 2 (21.7 _± 3.5)
10 (15)	12.5 _± 0.4 (12.4 _± 0.3)	20.1 _± 3.6 (20.9 _± 2.4)	1.4 _± 0.3 (1.5 _± 0.2)	27.6 _± 7.0 (21.4 _± 3.6)
21 (25)	16.5 _± 0.2 (16.9 _± 0,2)	13.4 _± 1.53 ^e (12.4 _± 1.2) ^e	0.7 _± 0.1 ^e (0.7 _± 0.1) ^e	27.7 _± 2.1 (23.4 _± 1.3)
Καλοκαίρι :				
19 (14)	6.4 _± 0.6 (7.3 _± 0.6)	29.6 _± 2.2 ^f (30.0 _± 3.1)	2.2 _± 0,3 ^f (2.1 _± 0.3)	25.0 _± 2.5 (27.4 _± 2.8)
17 (12)	12.1 _± 0.2 (12.5 _± 0.3)	24.5 _± 1.4 (29.6 _± 2.6)	1.9 _± 0.3 (1.7 _± 0.2)	28.6 _± 3.9 (37.9 _± 3.9)
20 (24)	16.0 _± 0,2 (16.4 _± 0.2)	28.4 _± 2.0 ^f (26.7 _± 1.5) ^f	2.8 _± 0.3 ^{*,f} (2.2 _± 0.3) ^{*,f}	23.2 _± 2.2 (24.0 _± 1.8)

* $p < 0.05$, στατιστική μεταξύ αγοριών και κοριτσιών ίδιας ηλικίας και εποχής
 e vs f $p < 0.001$, στατιστική μεταξύ εποχών (χειμώνα-καλοκαίρι) της ίδιας ηλικιακής ομάδας και φύλου

Πίνακας 12. Οι μέσες τιμές των παραμέτρων ασβεστίου (Ca) και φωσφόρου (Pi) σε αγόρια και κορίτσια των ηλικιακών ομάδων που μελετήθηκαν (3-10,



Πίνακας 12. Οι μέσες τιμές των παραμέτρων ασβεστίου (Ca) και φωσφόρου (Pi) σε αγόρια και κορίτσια των ηλικιακών ομάδων που μελετήθηκαν (3-10, 11-14 και 15-18 χρόνων) το χειμώνα και το καλοκαίρι (σε παρένθεση οι τιμές των κοριτσιών)

Χειμώνας:			
N	Ηλικία (Χρόνια)	Ca (mg/dl)	Pi (mg/dl)
28	7.0 \pm 0.5	9.9 \pm 0.2	4.4 \pm 0.2
(17)	(7.3 \pm 0.7)	(9.6 \pm 0.2)	(4.5 \pm 0.2)
10	12.5 \pm 0.4	9.5 \pm 0.4	4.7 \pm 0.4
(15)	(12.4 \pm 0.3)	(9.4 \pm 0.2)	(4.2 \pm 0.2)
21	16.5 \pm 0.2	9.7 \pm 0.1	4.0 \pm 0.2
(25)	(16.9 \pm 0.2)	(9.8 \pm 0.1)	(3.7 \pm 0.1) ^c
Καλοκαίρι :			
19	6.4 \pm 0.6	9.2 \pm 0.1	4.5 \pm 0.2 [*]
(14)	(7.3 \pm 0.6)	(9.4 \pm 0.4)	(3.8 \pm 0.2) [*]
17	12.1 \pm 0.2	9.4 \pm 0.2	4.3 \pm 0.3
(12)	(12.5 \pm 0.3)	(9.5 \pm 0.1)	(4.4 \pm 0.3)
20	16.0 \pm 0.2	9.5 \pm 0.1	4.3 \pm 0.2
(24)	(16.4 \pm 0.2)	(9.7 \pm 0.1)	(4.3 \pm 0.2) ^d

* $p < 0.05$, στατιστική μεταξύ αγοριών και κοριτσιών ίδιας ηλικίας και εποχής

c vs d $p < 0.01$, στατιστική μεταξύ εποχών (χειμώνα-καλοκαίρι) της ίδιας ηλικιακής ομάδας και φύλου



Πίνακας 13. Οι μέσες τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης (Α.Φ.), οστεοκαλσίνης και C-PTH σε αγόρια και κορίτσια των ηλικιακών ομάδων που μελετήθηκαν (3-10, 11-14 και 15-18 χρόνων) το χειμώνα και το καλοκαίρι (σε παρένθεση οι τιμές των κοριτσιών)

Χειμώνας:				
N	Ηλικία (Χρόνια)	ALP (U/l)	Ost/cin (ng/ml)	C-PTH (ng/ml)
28 (17)	7.0±0,5 (7.3±0,7)	219±15 (187±12)	6.8±1.0 ^c (9.0±1.0)	0.7±0.1 (0.7±0.2)
10 (15)	12.5±0.4 (12.4±0.3)	267±58 (228±48)	11.5±2.3 (8.9±1.2)	0.7±0.1 (0.7±0.1)
21 (25)	16.5±0.2 (16.9±0,2)	212±28 ⁺ (108±5) ⁺	8.7±0.6 [*] (5.8±0.3) [*]	0.6±0.1 (0.5±0.1)
Καλοκαίρι :				
19 (14)	6.4±0.6 (7.3±0.6)	222±19 (131±23)	11.0±1.1 ^d (7.4±1.5)	0.6±0.1 (0.6±0.1)
17 (12)	12.1±0.2 (12.5±0.3)	285±41 (233±46)	12.7±1.5 (13.3±2.0)	1.0±0.3 [*] (0.6±0.1) [*]
20 (24)	16.0±0,2 (16.4±0.2)	248±31 ⁺ (116±7) ⁺	7.3±0.5 [*] (4.6±0.3) [*]	0.6±0.1 (0.6±0.1)

* $p < 0.05$, + $p < 0.01$ στατιστική μεταξύ αγορικών και κοριτσιών ίδιας ηλικίας και εποχής

c vs d $p < 0.01$, στατιστική μεταξύ εποχών (χειμώνα-καλοκαίρι) της ίδιας ηλικιακής ομάδας και φύλου



Δ. Συσχέτιση δεικτών (markers) του οστικού μεταβολισμού με την ηλικία

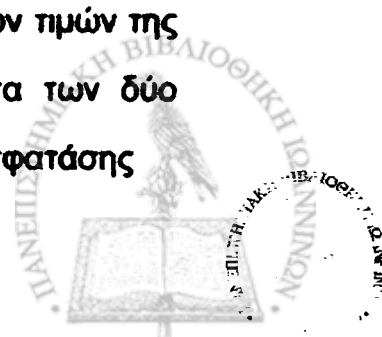
Από το Σχήμα 1 φαίνεται ότι οι τιμές του Ρ ορού μειώνονται με την ηλικία, δηλαδή ο Ρ ορού είναι ηλικιοεξαρτώμενος. Όσο αυξάνεται η ηλικία, τόσο οι τιμές του φωσφόρου μειώνονται από 4,6 mg/dl στην ηλικία 3-10 ετών στο 4,25 mg/dl στην ηλικία 15-18 ετών και ακολουθούν την εξίσωση $\psi = -0,032x + 4,637$ $r^2 = 0,03$ ($R = -0,18$) όπου x τα έτη και ψ οι τιμές του Ρ ορού ($p < 0,02$). Όπως φαίνεται από το Σχήμα 1 οι τιμές του Ρ μειώνονται με την ηλικία και η μείωση αυτή είναι πιο έκδηλη μετά την ηλικία των 15 χρόνων.

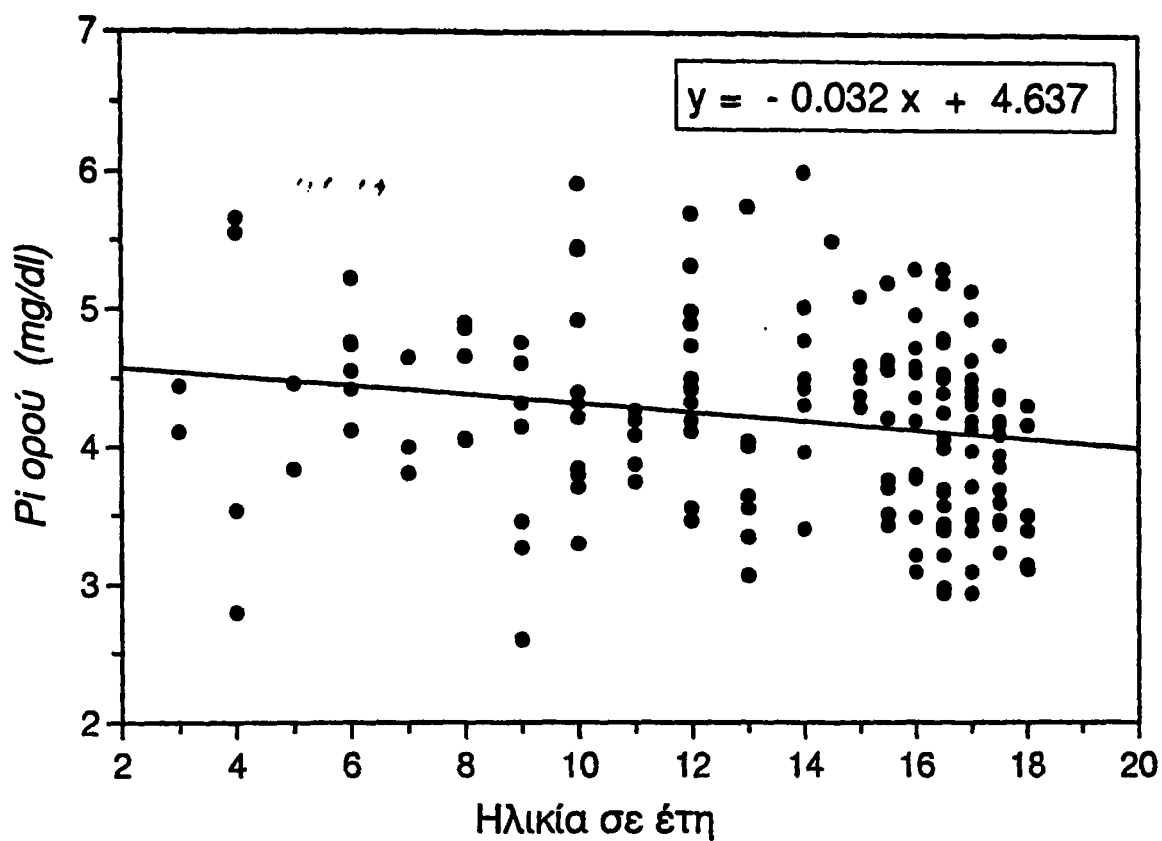
Στις τιμές του Ca του ορού δεν βρέθηκε συσχέτιση με την ηλικία ($R = 0,13$, $p < 0,1$).

Το Σχήμα 2 παρουσιάζει τις τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης σε IU/L σε σχέση με την ηλικία. Όπως φαίνεται, οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης μειώνονται με την ηλικία, αλλά υπάρχει μια έκδηλη αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης στην ηλικία των 12-14 χρόνων. Σαφής μείωση της αλκαλικής φωσφατάσης παρατηρείται μετά την ηλικία των 16 χρόνων. Οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης σε σχέση με την ηλικία ακολουθούν την εξίσωση $\psi = -4,125x + 248$, $r^2 = 0,03$, $R = -0,17$, $p < 0,05$.

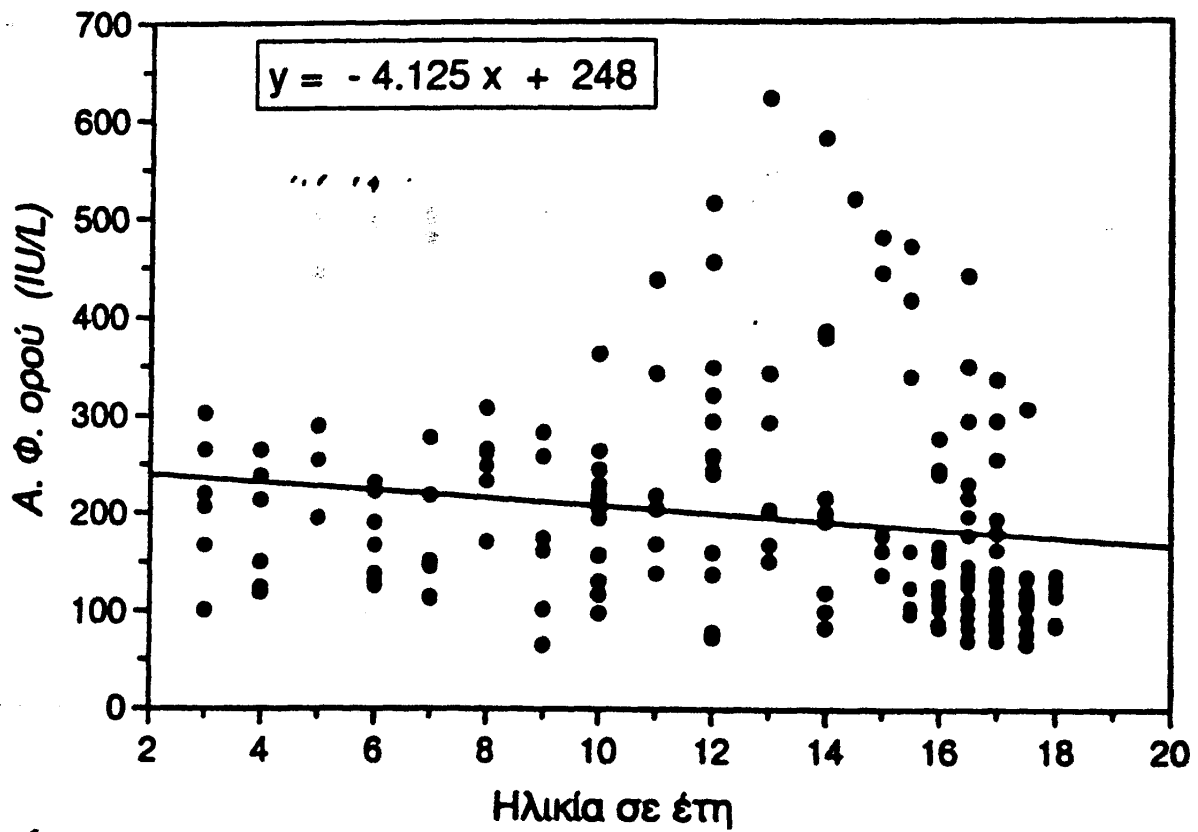
Το Σχήμα 3 δείχνει ότι οι τιμές της οστεοκαλσίνης του ορού μειώνονται με την ηλικία και παρουσιάζουν μια αύξηση στην ηλικία των 12-14 χρόνων, όπως και της αλκαλικής φωσφατάσης. Οι τιμές της οστεοκαλσίνης ακολουθούν την εξίσωση $\psi = -0,191x + 10,6$, $r^2 = 0,04$, $R = -0,19$, $p < 0,02$.

Το Σχήμα 4 δείχνει ότι η τιμή της παραθορμόνης του ορού έχει αρνητική γραμμική συσχέτιση με την ηλικία που έκδηλα μειώνεται μετά την ηλικία των 15 χρόνων και ακολουθεί την εξίσωση: $\psi = -0,030x + 0,997$, $r^2 = 0,008$, $R = -0,28$, $p < 0,01$. Στην ηλικία των 12 χρόνων βρέθηκε μια τάση αύξησης των τιμών της παραθορμόνης, που συμπίπτει με την αυξημένη δραστηριότητα των δύο άλλων παραμέτρων του μεταβολισμού των οστών (αλκαλικής φωσφατάσης



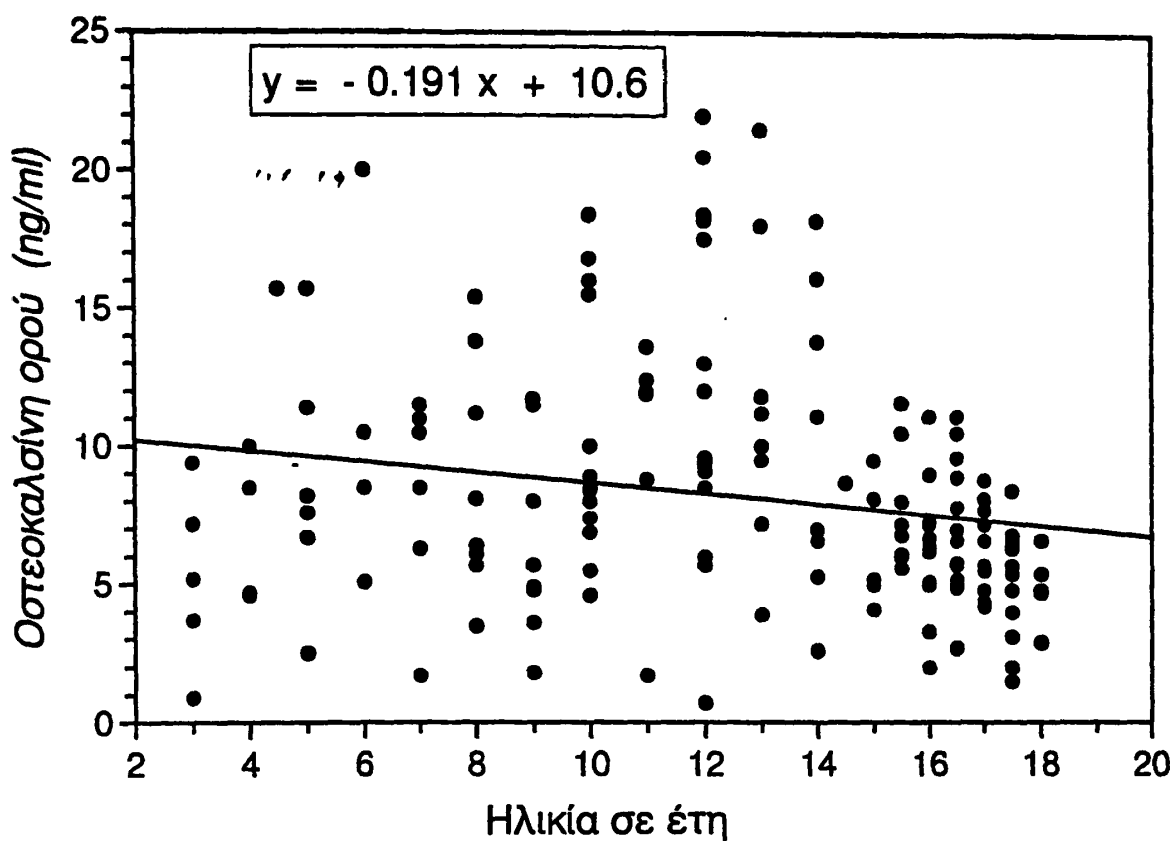


Σχήμα 1. Οι τιμές του φωσφόρου ορού (Pi) σε συνάρτηση με την ηλικία στο σύνολο των παιδιών που εξετάστηκαν ($R = -0.18$, $p < 0.02$).

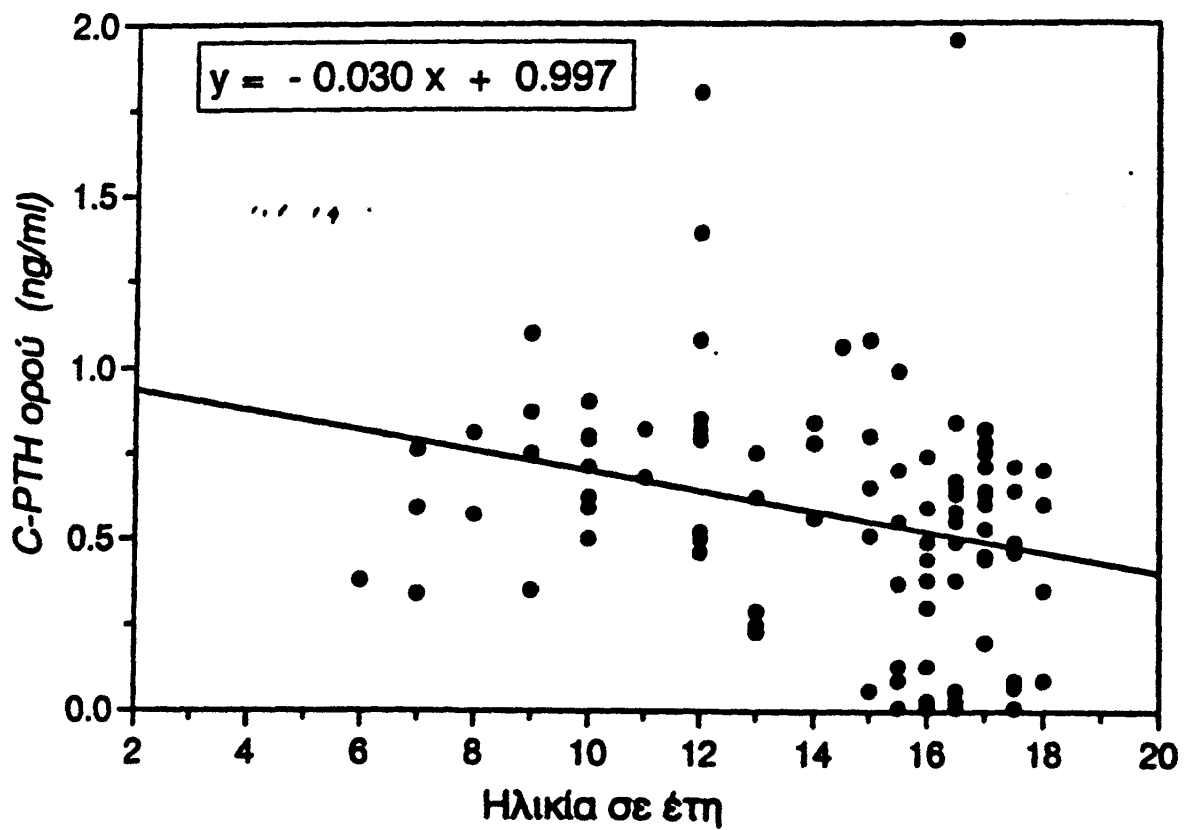


Σχήμα 2. Οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης (Α. Φ.) ορού σε συνάρτηση με την ηλικία στο σύνολο των παιδιών που εξετάστηκαν ($R = -0.17$, $p < 0.05$).

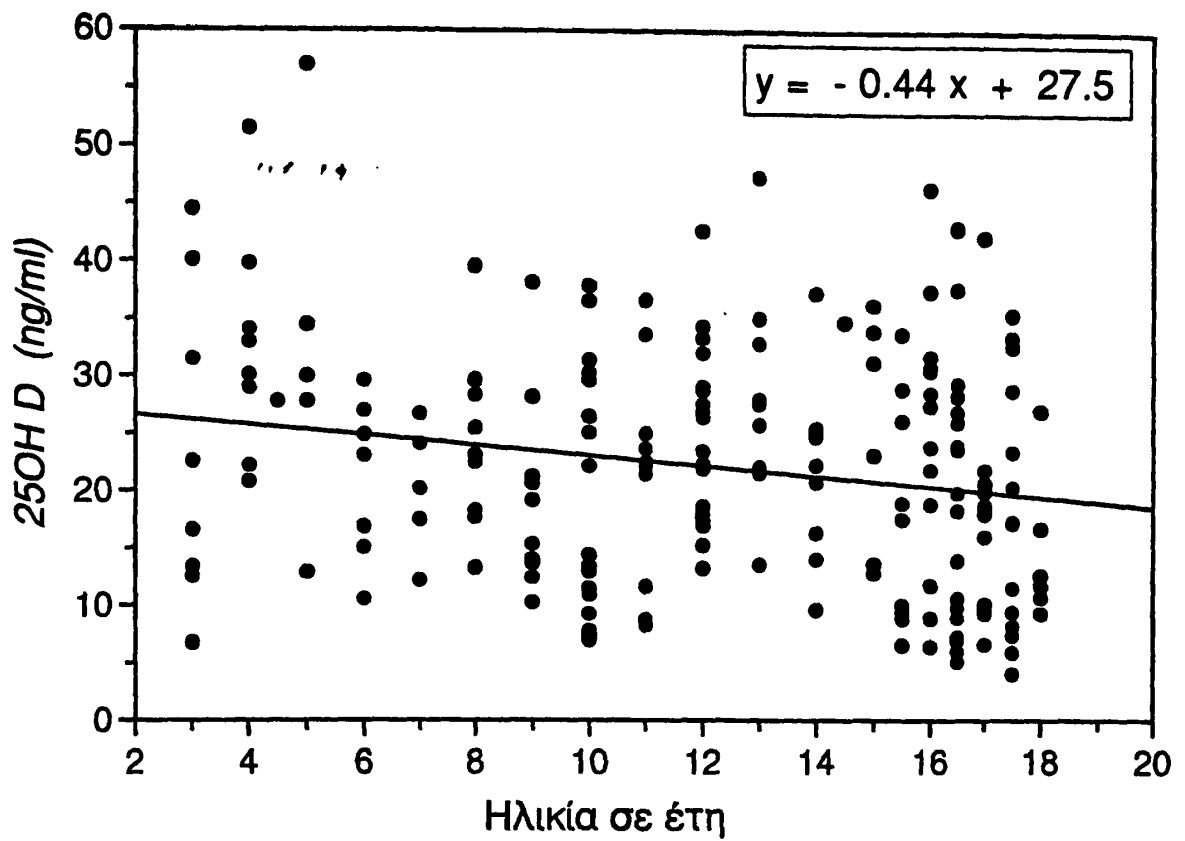




Σχήμα 3. Οι τιμές της οστεοκαλίνης ορού σε συνάρτηση με την ηλικία στο σύνολο των παιδιών που εξετάστηκαν ($R = - 0.19$, $p < 0.02$).



Σχήμα 4. Οι τιμές της παραθορμόνης ορού (C-PTH) σε συνάρτηση με την ηλικία στο σύνολο των παιδιών που εξετάσθηκαν ($R = -0.28$, $p < 0.01$).



Σχήμα 5. Οι τιμές του μεταβολίτη 25OH D της βιταμίνης D σε συνάρτηση με την ηλικία στο σύνολο των παιδιών που εξετάσθηκαν ($R = -0.19$, $p < 0.01$).



και οστεοκαλσίνης). Φαίνεται ότι ο οστικός μεταβολισμός "turnover" είναι αυξημένος στον ελληνικό πληθυσμό περί την ηλικία των 12 χρόνων.

Οι τιμές του μεταβολίτη 25(OH)D της βιταμίνης D μειώνονται με την ηλικία (Σχήμα 5) και ακολουθούν αρνητική γραμμική συσχέτιση σύμφωνα με την εξίσωση $\psi = -0,44x + 27,51$ $r^2 = 0,04$ ($R = -0,19$ και $p < 0,01$). Όπως φαίνεται από το Σχήμα 5, οι τιμές της 25(OH)D στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών βρέθηκαν να είναι μικρότερες απ' ό,τι στις άλλες δύο ομάδες που εξετάστηκαν (3-10 και 11-14 ετών). Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με την ηλικία στους άλλους δύο μεταβολίτες [24,25(OH)₂D και 1,25(OH)₂D] στα παιδιά που εξετάστηκαν.

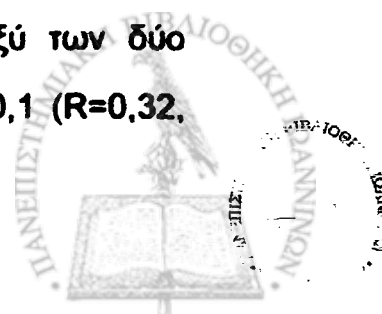
Ε. Αλληλοσυσχέτιση των παραμέτρων του μεταβολισμού των οστών στις τρεις ομάδες παιδιών που μελετήθηκαν

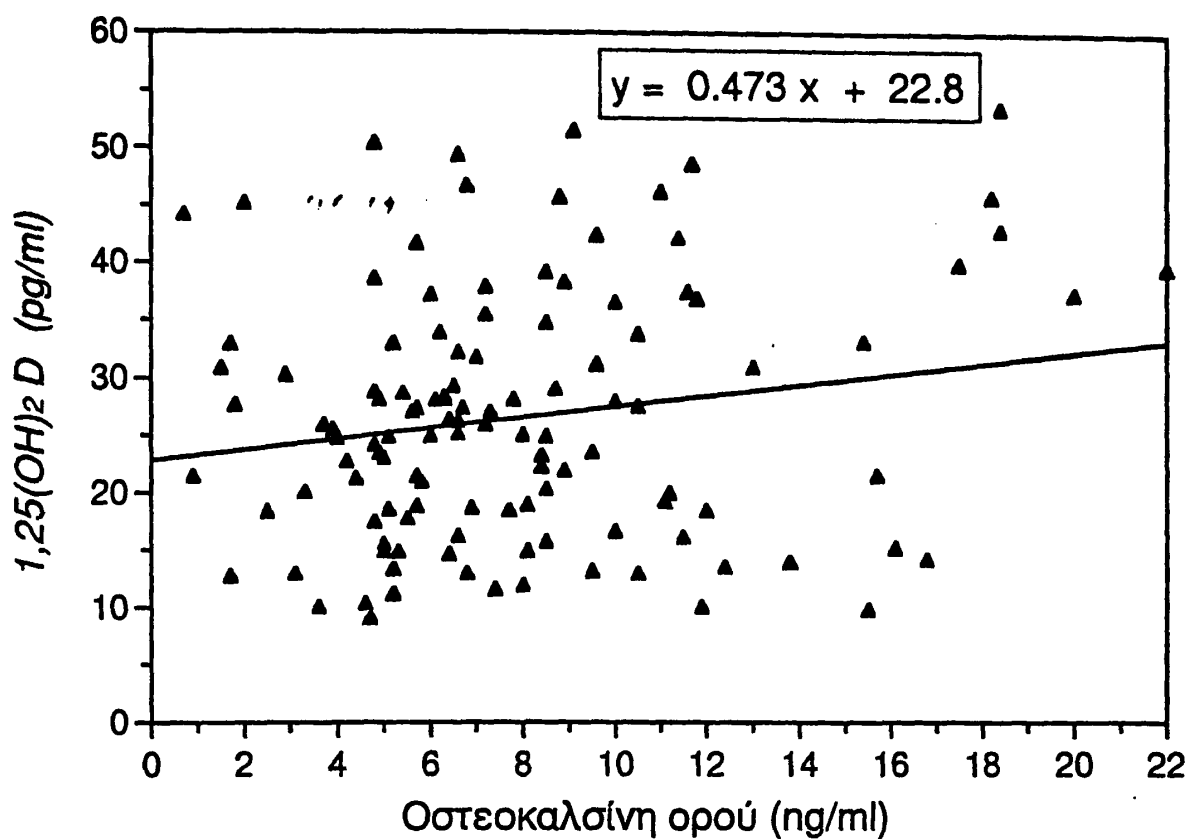
Συσχετίστηκαν οι παρακάτω παράμετροι στον ορό και δεν βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ των τιμών: αλκαλικής φωσφατάσης και 1,25(OH)₂D, οστεοκαλσίνης και φωσφόρου, παραθορμόνης και 1,25(OH)₂D, φωσφόρου και 1,25(OH)₂D, ασβεστίου και 1,25(OH)₂D και 25(OH)D και 1,25(OH)₂D.

Γραμμική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των παρακάτω παραμέτρων του ορού: οστεοκαλσίνης προς 1,25(OH)₂D, οστεοκαλσίνης προς αλκαλική φωσφατάση, 25(OH)D προς 24,25(OH)₂D και φωσφόρου προς 25(OH)D.

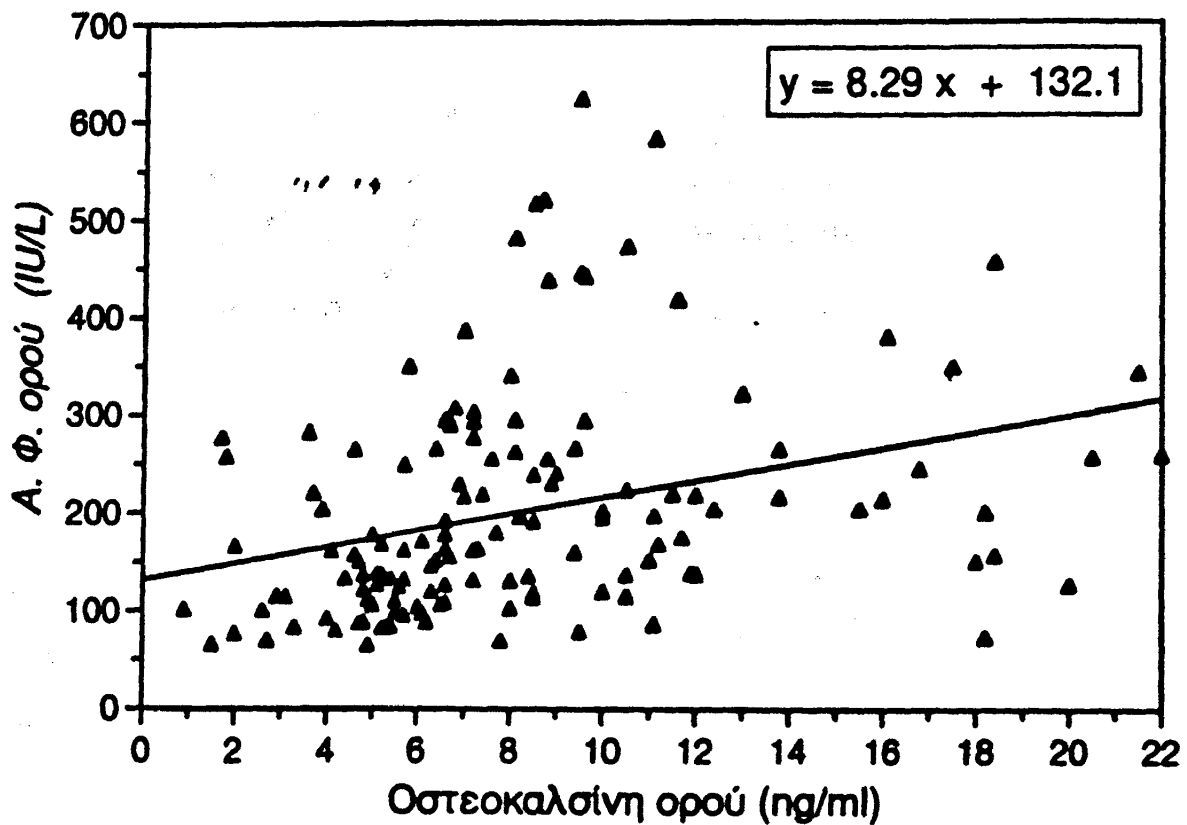
Στο Σχήμα 6 φαίνεται ότι οι τιμές στον ορό του μεταβολίτη 1,25(OH)₂D ακολουθούν γραμμική συσχέτιση σε σχέση με τις τιμές της οστεοκαλσίνης σύμφωνα με την εξίσωση $\psi = 0,47x + 22,81$ $r^2 = 0,03$ ($R = 0,18$, $p < 0,05$), δηλαδή αυξανόμενη της οστεοκαλσίνης στον ορό αυξάνει και η 1,25(OH)₂D.

Το Σχήμα 7 δείχνει τη σχέση των τιμών της οστεοκαλσίνης προς την αλκαλική φωσφατάση, δηλαδή των δύο δεικτών της δραστηριότητας του οστεοβλάστη. Φαίνεται ότι υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ των δύο παραμέτρων που ακολουθεί την εξίσωση $\psi = 8,29x + 132,14$ $r^2 = 0,1$ ($R = 0,32$, $p < 0,0001$).



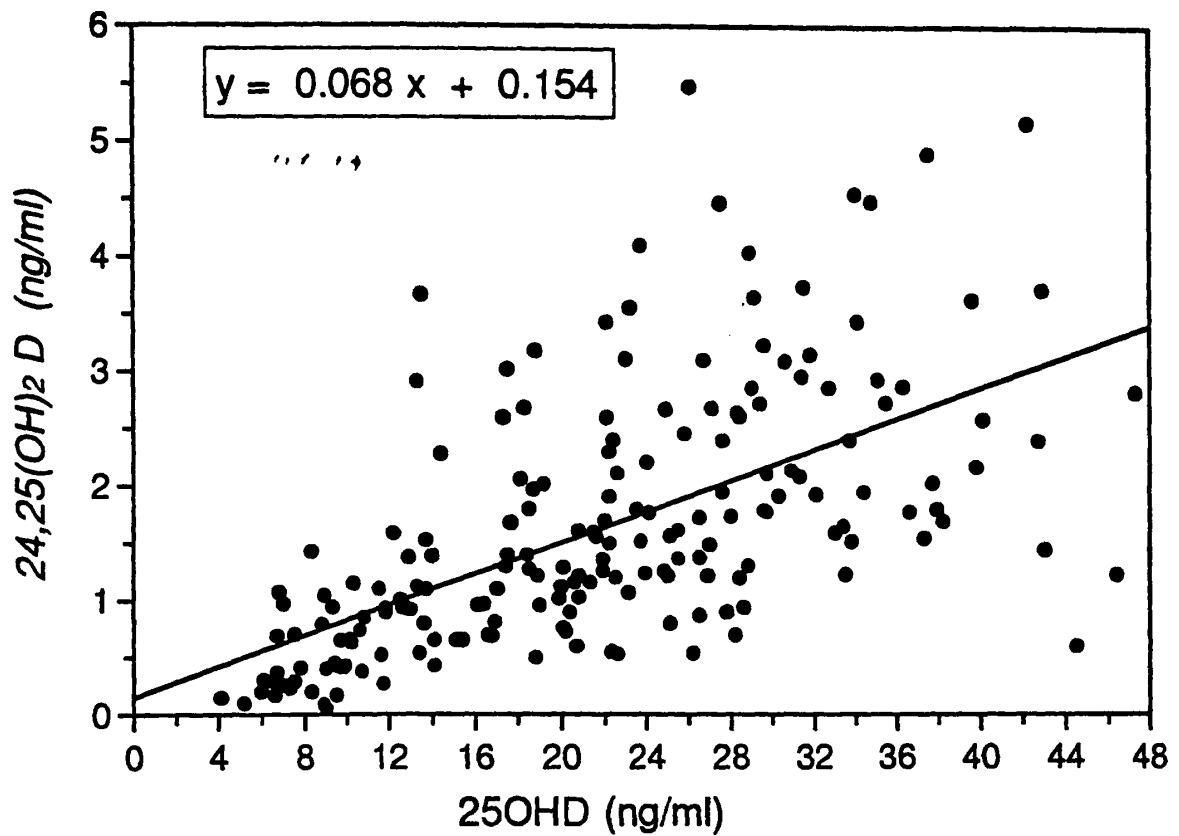


Σχήμα 6. Συσχέτιση των τιμών της οστεοκαλσίνης ορού με τις τιμές της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στο σύνολο των παιδιών που εξετάσθηκαν ($R = 0.18$, $p < 0.05$).



Σχήμα 7. Συσχέτιση των τιμών της οστεοκαλσίνης με τις τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης ορού στο σύνολο των παιδιών που εξετάσθηκαν ($R = 0.32$, $p < 0.0001$).





Σχήμα 8. Συσχέτιση των τιμών της 25OHD με τις τιμές της 24,25(OH)₂D ορού στο σύνολο των παιδιών που εξετάσθηκαν ($R = 0.61$, $p < 0.0001$).

Το Σχήμα 8 δείχνει τις τιμές της 25(OH)D σε ng/ml σε σχέση με τις τιμές της 24,25(OH)₂D στον ορό σε όλα τα παιδιά που μελετήθηκαν. Υπάρχει γραμμική συσχέτιση σύμφωνα με την εξίσωση $\psi=0,068x+0,154$ $r^2=0,37$ ($R=0,61$, $p<0,0001$). Αυτή η συσχέτιση υφίσταται συνολικά για όλες τις ηλικίες που μελετήθηκαν (3-18 ετών) για χειμώνα και καλοκαίρι μαζί (Σχήμα 8). Η συσχέτιση αυτή μεταξύ 24,25(OH)₂D και 25(OH)D βρέθηκε και μεμονωμένα για το χειμώνα και το καλοκαίρι στο σύνολο των παιδιών που εξετάστηκαν, κι όπως δείχνει το Σχήμα 9 ακολουθούν αντίστοιχα τις εξισώσεις $\psi=0,06x+0,09$, $r^2=0,49$ ($R=0,64$, $p<0,0001$) και $\psi=0,04x+0,96$ $r^2=0,11$ ($R=0,33$, $p<0,002$). Η συσχέτιση αυτή είναι λοιπόν πιο ισχυρή το χειμώνα απ' όπi το καλοκαίρι.

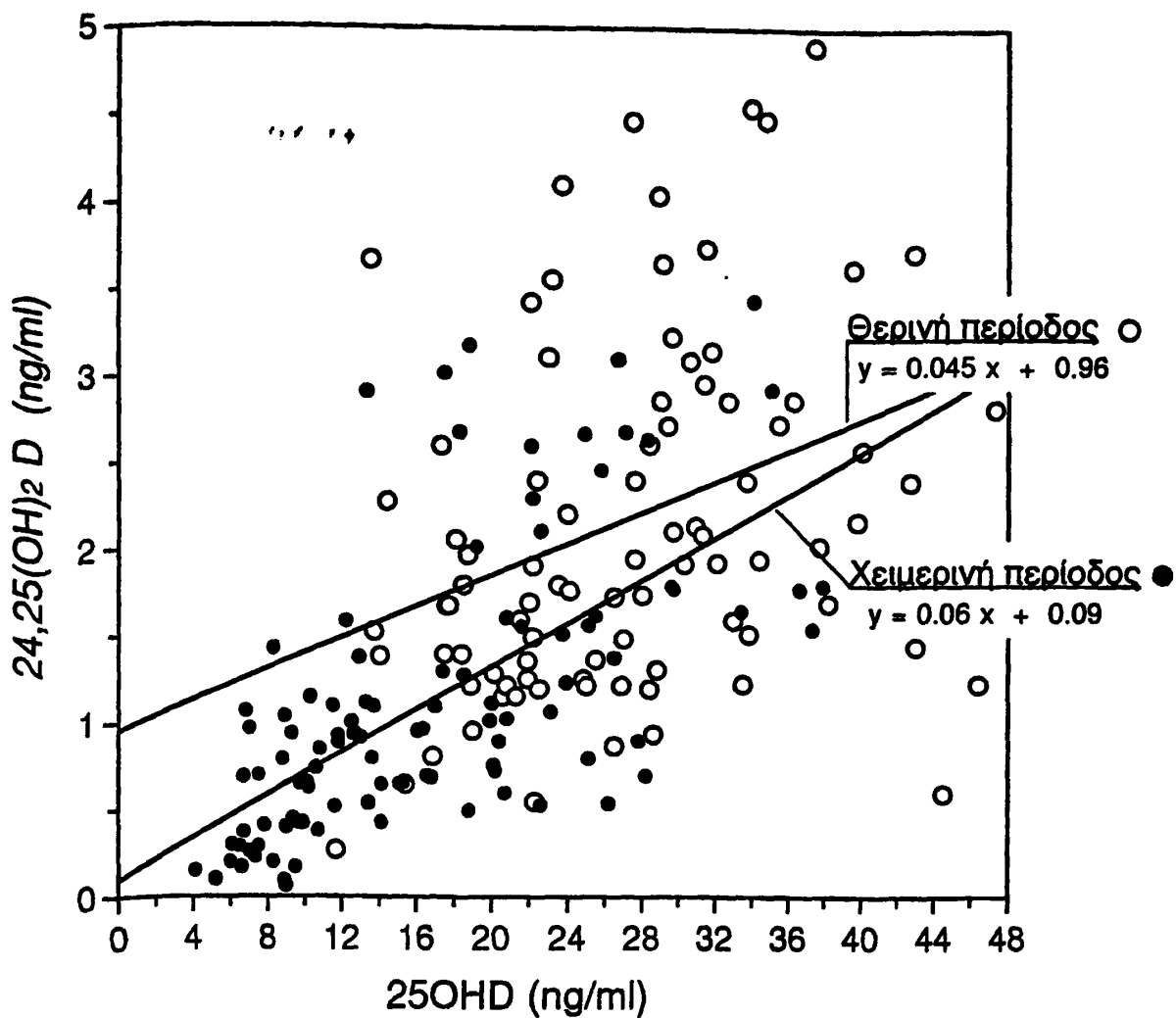
Το Σχήμα 10 δείχνει τη σχέση των τιμών του φωσφόρου στον ορό προς την 25(OH)D στο σύνολο των παιδιών που μελετήθηκαν. Βρέθηκε γραμμική συσχέτιση μεταξύ των τιμών των δύο αυτών παραμέτρων που ακολουθεί την εξίσωση: $\psi=2,62x+10,8$, $r^2=0,03$, $R=0,18$, $p<0,05$.

Το Σχήμα 11 δείχνει όπi στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης και της οστεοκαλσίνης του ορού βρέθηκαν χαμηλότερες στα κορίτσια απ' όπi στα αγόρια. Τα κορίτσια πρέπει να έχουν μικρότερη οστεοβλαστική δραστηριότητα απ' όπi τα αγόρια.

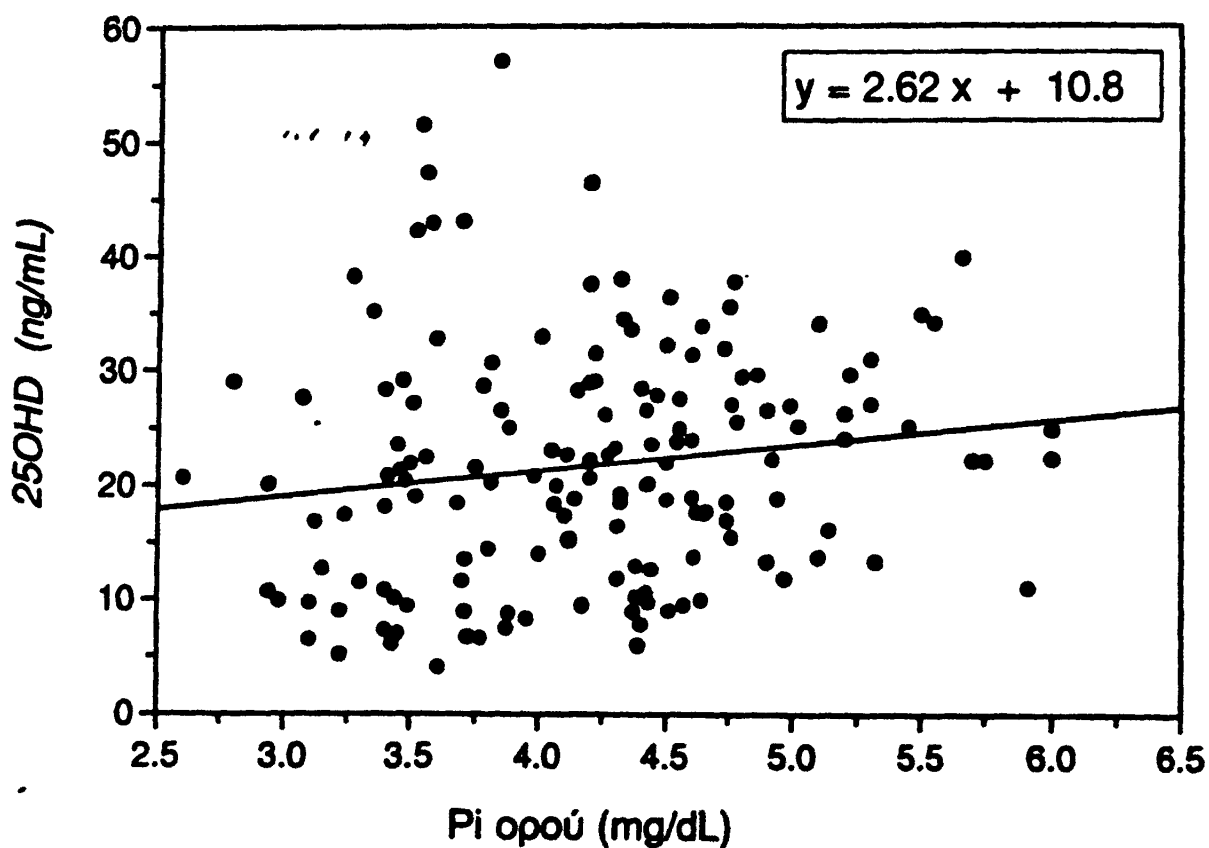
ΣΤ. Χορήγηση βιταμίνης D

Από τα 45 παιδιά ηλικίας 15-18 ετών που μελετήθηκαν, χορηγήθηκε βιταμίνη D στα 31, διόπi τα άλλα 14 αποφοίτησαν από το Λύκειο το επόμενο σχολικό έτος. Απ' αυτά τα 31 παιδιά κανένα δεν έλαβε βιταμίνη D καθ' όλη τη διάρκεια του σχολικού έτους (από το Φεβρουάριο μέχρι και το Μάιο). Βιταμίνη D δεν έλαβαν καθόλου ή έλαβαν λιγότερο από μία εβδομάδα τα 20 παιδιά, ενώ 12 πήραν βιταμίνη μόνο για διάστημα 2-4 εβδομάδων. Τα παιδιά δέκοψαν τη λήψη βιταμίνης D αυτόβουλα δύο μήνες προ του προγραμματισμένου ελέγχου (30/5/91). Το παραπάνω συμβάν, σε συνδυασμό με το χρόνο ημίσειας ζωής της βιταμίνης D, καθιστούν τη



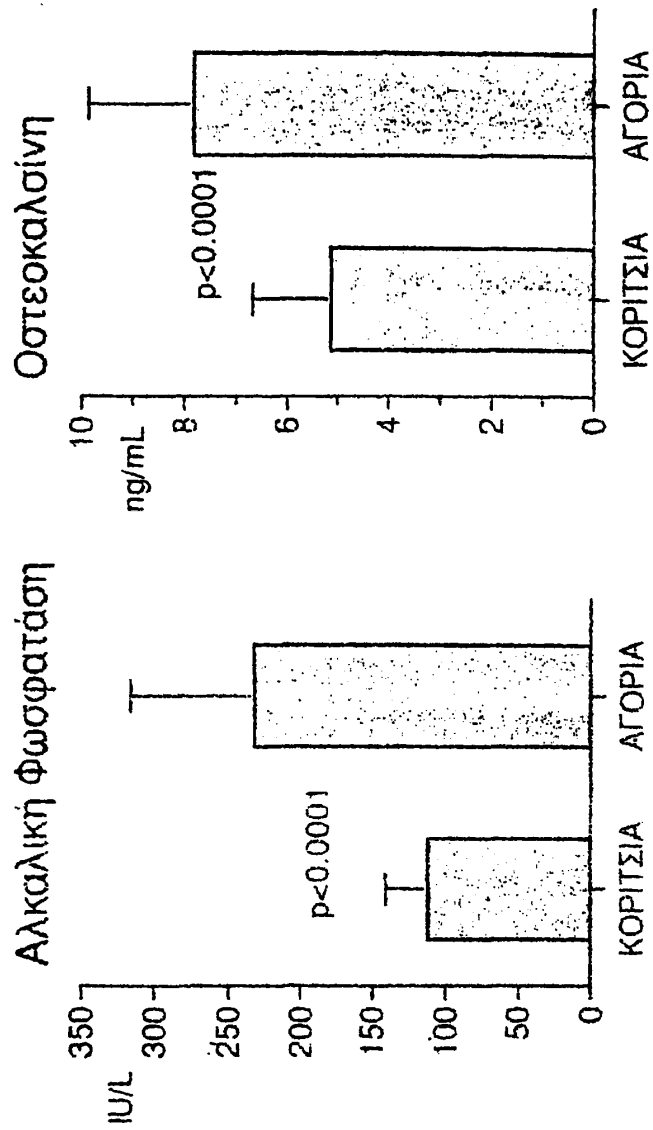


Σχήμα 9. Συσχέτιση των τιμών της 25OHD με τις τιμές της 24,25(OH)₂D ορού στα παιδιά που μελετήθηκαν κατά την χειμερινή ($R = 0.64$, $p < 0.0001$) και κατά την θερινή ($R = 0.33$, $p < 0.002$) περίοδο.



Σχήμα 10. Συσχέτιση των τιμών του Pi ορού με τις τιμές της 25OHD ορού στο σύνολο των παιδιών που εξετάσθηκαν ($R = 0.18$, $p < 0.05$).

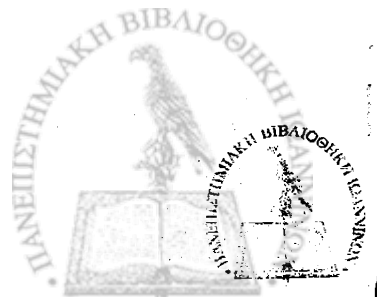




Σχήμα 11. Οι διαφορές στις μέσες τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης και της οστεοκαλσίνης που παρατηρήθηκαν μεταξύ κοριτσιών και αγοριών κατά την ηλικία 15-18 ετών (mean \pm SD)

στατιστική αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της χορήγησης βιταμίνης D μη αξιολογήσιμη. Τα ευρήματα του ελέγχου των δύο ομάδων παιδικών 15-18 ετών (Πίνακας 14), με και χωρίς λήψη βιταμίνης D, έδειξαν ότι η ομάδα που δεν έλαβε βιταμίνη παρουσίασε αύξηση του φωσφόρου. Μείωση της οστεοκαλσίνης του ορού παρατηρήθηκε και στις δύο ομάδες ($R=0,05$). Όλες οι άλλες παράμετροι [ασβέστιο, $25(OH)D$, $24,25(OH)_2D$, $1,25(OH)_2D$] δεν σημείωσαν καμία στατιστικά αξιολογη διαφορά.

Παράμετρος	Με βιταμίνη D	Χωρίς βιταμίνη D
Ca (mg/dl)	9,5 ± 0,2	9,5 ± 0,2
P (mg/dl)	4,5 ± 0,1	4,5 ± 0,1
25(OH)D (ng/ml)	20 ± 1	20 ± 1
24,25(OH) ₂ D (pg/ml)	10 ± 1	10 ± 1
1,25(OH) ₂ D (pg/ml)	50 ± 2	50 ± 2
OC (U/ml)	10 ± 1	10 ± 1
ALP (U/l)	100 ± 5	100 ± 5
Ca ²⁺ (mg/dl)	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1
P ³⁺ (mg/dl)	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
25(OH)D ₃ (ng/ml)	15 ± 1	15 ± 1
24,25(OH) ₂ D ₃ (pg/ml)	8 ± 1	8 ± 1
1,25(OH) ₂ D ₃ (pg/ml)	40 ± 2	40 ± 2
OC (U/ml)	8 ± 1	8 ± 1
ALP (U/l)	80 ± 4	80 ± 4



Πίνακας 14. Οι δύο ομάδες παιδικών ηλικίας 15-18 ετών με και χωρίς λήψη βιταμίνης D.

Με λήψη βιταμίνης D			
	Προ	Μετά	P
N	12	12	
Ηλικία (χρ.)	15.8 \pm 0.2		
Ca (mg/dl)	9.8 \pm 0.2	9.9 \pm 0.1	NS
Pi (mg/dl)	4.0 \pm 0.2	4.5 \pm 0.2	NS
A.φ. (U/l)	202 \pm 54	224 \pm 41	NS
Οστεο/σίνη (ng/ml)	7.5 \pm 0.8	3.5 \pm 1.2	0.05
C-PTH (ng/ml)	0.6 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	NS
250HD (ng/ml)	14.0 \pm 1.8	16.9 \pm 1.3	NS
24,25(OH) ₂ D (ng/ml)	0.7 \pm 0.1	0.9 \pm 0.1	NS
1,25(OH) ₂ D (pg/ml)	24.0 \pm 2.3	26.6 \pm 2.9	NS
Χωρίς λήψη βιταμίνης D			
	Προ	Μετά	P
N	12	12	
Ηλικία (χρ.)	16.2 \pm 0.2		
Ca (mg/dl)	9.4 \pm 0.2	9.8 \pm 0.2	NS
Pi (mg/dl)	3.6 \pm 0.2	4.2 \pm 0.2	0.05
A.φ. (U/l)	150 \pm 27	180 \pm 41	NS
Οστεο/σίνη (ng/ml)	8.3 \pm 1.0	3.7 \pm 0.9	0.05
C-PTH (ng/ml)	0.6 \pm 0.04	0.4 \pm 0.1	NS
250HD (ng/ml)	11.1 \pm 1.5	13.4 \pm 2.5	NS
24,25(OH) ₂ D (ng/ml)	0.4 \pm 0.1	1.0 \pm 0.2	NS
1,25(OH) ₂ D (pg/ml)	25.4 \pm 2.6	28.1 \pm 2.7	NS



Η άπαιξη τροφικού φαχτισμού στη βρεφική - πρώτη παιδική ηλικία είναι πλέον στην Ελλάδα και στις ευρωπαϊκές χώρες, ποσοστό 100% (1980). Η άπαιξη τροφικού φαχτισμού στην Ελλάδα είναι πλέον στην Ελλάδα και στις ευρωπαϊκές χώρες, ποσοστό 100% (1980).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η άπαιξη τροφικού φαχτισμού στην Ελλάδα είναι πλέον στην Ελλάδα και στις ευρωπαϊκές χώρες, ποσοστό 100% (1980). Η άπαιξη τροφικού φαχτισμού στην Ελλάδα είναι πλέον στην Ελλάδα και στις ευρωπαϊκές χώρες, ποσοστό 100% (1980).

Το καλύτερο όφελος τα παιδιά όλων των ηλικιών είναι να έχουν πρόσβαση σε τροφές πλούσιες σε βιταμίνες και μέταλλα.



Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν και αναλύθηκαν οι παράμετροι του μεταβολισμού των οστών σε παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων που κατά τεκμήριο δεν χορηγείται βιταμίνη D, επειδή τόσο τα περισσότερα γάλατα που κυκλοφορούν, όσο και οι τροφές, δεν είναι επαρκώς εμπλουτισμένες σε βιταμίνη D, ενώ οι τροφές και κυρίως τα γάλατα που τα παιδιά τρέφονται τους πρώτους μήνες της ζωής, έχουν επάρκεια βιταμίνης D. Από τη μελέτη αυτή θα δοθούν οι τιμές δεικτών μεταβολισμού των οστών για τα αυξανόμενα παιδιά του ελληνικού πληθυσμού και θα συγκριθούν με την περίοδο της μη ταχείας αύξησης, που είναι μεταξύ ηλικίας 3-10 χρόνων. Επομένως, θα δοθούν οι τιμές παραμέτρων του οστικού μεταβολισμού σε παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων και θα χρησιμοποιηθούν ως δείκτες αναφοράς για τα ελληνόπουλα. Στοιχεία για κλινικά υγιείς ενήλικες διεθνώς και πανελληνίως υπάρχουν. Για παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων τα δεδομένα σπανίζουν και η κλινική ερμηνεία για τα παιδιά και τους εφήβους είναι δύσκολη, επομένως η μελέτη θα βοηθήσει στην ταξινόμηση της κατάστασης και θα μειώσει την συχνότητα της διαγνωστικής σύγχυσης στους παθολογικούς, παιδιατρικούς και χειρουργικούς ασθενείς. Για πρώτη φορά στην Ελλάδα γίνεται περιγραφή των βιοχημικών παραμέτρων του οστικού μεταβολισμού σε όλο το φάσμα της παιδικής ηλικίας 3-18 χρόνων. Θα συσχετισθούν με την εποχή (χειμώνας, καλοκαίρι) και με τις διάφορες ηλικίες που μελετήθηκαν.



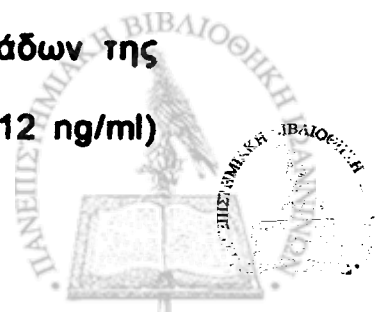
Η ύπαρξη τροφικού ραχιτισμού στη βρεφική -πρώτη νηπιακή- ηλικία είναι σπάνια στην Ελλάδα και στις ευρωπαϊκές χώρες, αφού χορηγείται βιταμίνη D με το γάλα (μητρικό και με τεχνητή διατροφή) από την ηλικία των δύο εβδομάδων μέχρι και το δεύτερο χρόνο της ζωής.

Μετά από αυτή την ηλικία η επάρκεια βιταμίνης D στον ελληνικό παιδικό πληθυσμό ηλικίας 3-18 χρόνων, εξαρτάται κυρίως από την έκθεση στον ήλιο και λιγότερο από τη διατροφή, εφ' όσον στην Ελλάδα οι τροφές δεν είναι εμπλουτισμένες με βιταμίνη D, σε αντίθεση με άλλες ευρωπαϊκές χώρες (φυτικά λίπη) και Αμερική (γάλα και φυτικά λίπη).

Οι συγκεντρώσεις της 25(OH)D στο αίμα είναι δείκτης επάρκειας βιταμίνης D του ανθρώπινου οργανισμού [149] γι' αυτό και είναι σημαντικός ο προσδιορισμός της στα παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων.

Στην παρούσα μελέτη τα παιδιά ηλικίας 3-14 χρόνων σαν σύνολο φαίνεται να έχουν επάρκεια βιταμίνης D, ακόμη και το χειμώνα (20 ng/ml) και κατά πολύ υψηλότερα των μεγαλύτερων παιδιών (15-18 χρόνων, 13 ng/ml). Παρ' όλα αυτά, υπήρχαν περιπτώσεις (14%) όπου η 25(OH)D ήταν μεταξύ 7 και 10 ng/ml ακόμη και στα μικρότερης ηλικίας παιδιά (3-14), έναντι του 47% των ηλικίας 15-18 χρόνων, που είχαν τιμές μεταξύ 4 και 10 ng/ml. Οι συγκεντρώσεις των 5 ng/ml για την 25(OH)D στον ορό, θεωρούνται το όριο υποβιταμίνωσης, κάτω του οποίου υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης ραχιτισμού [150]. Επίπεδα από 5 μέχρι 7 ng/ml 25(OH)D υποδηλώνουν πιθανή υποβιταμίνωση.

Το καλοκαίρι όμως, τα παιδιά όλων των ηλικιακών ομάδων της παρούσης μελέτης, είχαν ικανοποιητικά επίπεδα 25(OH)D (>12 ng/ml)



και δεν υπήρχαν διαφορές ως προς τις συγκεντρώσεις της 25(OH)D μεταξύ των τριών ομάδων.

Άλλες δύο εργασίες που έχουν πραγματοποιηθεί στον ελληνικό χώρο μελέτησαν παιδιά μέχρι την ηλικία των 15 χρόνων. Στη μία που πραγματοποιήθηκε από τους Sbyrakis και συν. [151], βρέθηκε ότι στα παιδιά των αστικών περιοχών (6-11 χρόνων) τα επίπεδα της 25(OH)D το χειμώνα ήταν 6,7 ng/ml και πλησίαζαν τα παθολογικά όρια, σε αντίθεση με τα παιδιά των αγροτικών περιοχών, τα οποία παρουσίαζαν επάρκεια (15,6 ng/ml). Η Γιαννακού και συν. [152] αναφέρουν κατά μέσο όρο 17 ng/ml 25(OH)D σε βρέφη και παιδιά 0,1-15 χρόνων και για τις δύο εποχές.

Η σύγκριση των τριών ελληνικών μελετών για αστικές περιοχές δείχνει ότι τα παιδιά της παρούσας μελέτης (<14 χρόνων) είχαν σαφώς υψηλότερα επίπεδα 25(OH)D. Η μεγαλύτερη διαφορά που παρατηρήθηκε από τα παιδιά της μελέτης των Sbyrakis και συν. [151], που είχε πραγματοποιηθεί πριν 17 χρόνια, υποδηλώνει μάλλον την βελτίωση των κοινωνικοοικονομικών συνθηκών στο μεταξύ στον ελληνικό αστικό πληθυσμό.

Ελληνικές μελέτες για την ηλικία 15-18 χρόνων δεν έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Υπάρχουν όμως αρκετές μελέτες σε παιδιά ηλικίας 2-18 χρόνων άλλων ευρωπαϊκών χωρών, Ιαπωνίας και Αμερικής. Παρ' ότι ο τρόπος ομαδοποίησης των ηλικιακών ομάδων της κάθε μελέτης δεν είναι ίδιος και πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στη σύγκριση των δεδομένων μεταξύ τους, αλλά και με αυτά της παρούσης



εργασίας, δίνουν όμως πληροφορίες για τους παιδικούς πληθυσμούς τους ηλικίας 2-18 χρόνων.

Σε μελέτες από τη Φιλανδία και την Αμερική [153,154,155] αναφέρονται διαφορές ως προς τα επίπεδα της 25(OH)D μεταξύ των ομάδων παιδιών 2-10 και 11-17 χρόνων το χειμώνα, όντας χαμηλότερα στη δεύτερη ομάδα, γεγονός που συμφωνεί και με τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης. Ο Fugisawa και συν. [156] από την Ιαπωνία αναφέρουν παρόμοιες διαφορές για όλο το χρόνο εφ' όσον δεν είχαν ξεχωρίσει τις εποχές. Ο Aksnes and Aarskog [157] από τη Νορβηγία αναφέρουν συσχέτιση των επιπέδων της 25(OH)D με τα στάδια της εφηβείας με χαμηλότερα επίπεδα στο στάδιο III και στα δύο φύλα.

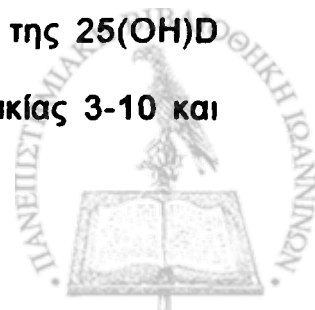
Η Ala-Houhala και συν. [153] βρήκαν μεγαλύτερο ποσοστό (22,4%) παιδιών με 25(OH)D <5ng/ml στην ηλικιακή ομάδα 11-17 χρόνων απ' ότι στις μικρότερες ηλικιακές ομάδες (16,8% στα 6-10 χρόνια και 7,5% στα 2-5 χρόνια). Σε μια μελέτη στη Γαλλία [158] σε αστικό κυρίως πληθυσμό παιδιών 10-17 χρόνων αναφέρουν επίπεδα 25(OH)D < 6 ng/ml σε ποσοστό 24,5%, ενώ η συχνότητα αυξήθηκε στο 38% στα τελευταία στάδια της εφηβείας (IV και V).

Στον πληθυσμό των ελληνοπαίδων της μεγαλύτερης ηλικίας (15-18 χρόνων) οι συγκεντρώσεις της 25(OH)D ($12,7 \pm 0,9$ ng/ml) το χειμώνα βρέθηκαν πολύ χαμηλότερες από των άλλων ηλικιών και σε ποσοστό 37,5% στα όρια υποβιταμίνωσης (<10ng/ml). Αυτή είναι η πρώτη μελέτη στην Ελλάδα γι' αυτή την ηλικιακή ομάδα. Παρά τα χαμηλά επίπεδα 25(OH)D, οι τιμές ασβεστίου, φωσφόρου και αλκαλικής



φωσφατάσης στον ορό αυτών των παιδιών δεν ήταν παθολογικές, ευρήματα που συμφωνούν και με άλλες μελέτες [153,154,158].

Οι χαμηλότερες τιμές της 25(OH)D στα ελληνόπουλα (15-18 χρόνων) σε σχέση με τα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων των Ευρωπαϊκών χωρών και των ΗΠΑ, πιθανόν να σχετίζονται με παράγοντες όπως η διατροφή, που καταναλίσκουν περισσότερο βούτυρο και οι τροφές τους είναι εμπλουτισμένες σε βιταμίνη D. Οι χαμηλότερες τιμές της 25(OH)D των παιδιών ηλικίας 15-18 χρόνων σε σχέση με τα παιδιά των άλλων δύο ηλικιακών ομάδων (3-10 και 11-14 χρόνων) της παρούσης μελέτης στη χειμερινή περίοδο, ίσως οφείλονται στο ότι τα μεγάλα παιδιά (15-18 χρόνων) αποφεύγουν το πρωινό και προτιμούν τροφές μικρής βιολογικής αξίας όπως είναι τα ταχείας παρασκευής φαγητά (fast food) και επομένως στερούνται των απαραίτητων βιταμινών και μετάλλων [133,159,160,164]. Επίσης πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι 1) οι τροφές στην Ελλάδα δεν έχουν εμπλουτισθεί με βιταμίνη D όπως και ορισμένα γάλατα π.χ. το γάλα Δωδώνης και άλλα γάλατα άλλων εταιρειών και 2) τα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων φοιτούν στις τάξεις του Λυκείου, που ο φόρτος σχολικής εργασίας είναι μεγάλος (φροντιστήρια για γενικές εξετάσεις, ξένων γλωσσών κτλ) και δεν εκτίθενται στον ήλιο τη σχολική περίοδο, με αποτέλεσμα τις λίαν μειωμένες τιμές της 25(OH)D στον ορό σε σχέση με τα παιδιά 3-14 χρόνων [160]. Από τα στοιχεία φαίνεται ότι το 13% των παιδιών ηλικίας 15-18 χρόνων τη χειμερινή περίοδο βρισκόταν σε στάδιο υποβιταμίνωσης (6/43) με επίπεδα 25(OH)D <7 ng/ml και στο 37,5% (17/43) των εξετασθέντων οι τιμές της 25(OH)D βρέθηκαν χαμηλότερες των 10ng/ml. Σε κανένα παιδί ηλικίας 3-10 και



11-14 δεν παρατηρήθηκαν τιμές 25(OH)D μικρότερες από 10ng/ml τη χειμερινή περίοδο. Η Ala-Houhala [154] αναφέρει ότι οι τιμές της 25(OH)D τη χειμερινή περίοδο σε 27 παιδιά ηλικίας 11-17 χρόνων βρέθηκαν $17,3 \pm 7,8$ ng/ml ενώ στη θερινή $23,6 \pm 7,1$ ng/ml. Φαίνεται ότι καλό θα είναι στα παιδιά της ηλικίας 15-18 χρόνων να χορηγείται βιταμίνη D τη χειμερινή περίοδο (Νοέμβριο-Απρίλιο).

Διαπιστώθηκε εποχιακή εξάρτηση και στις τρεις ηλικιακές ομάδες και το καλοκαίρι οι τιμές της 25(OH)D ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες από τη χειμερινή περίοδο. Αυτή η εποχιακή εξάρτηση αναφέρεται τόσο στην ελληνική εργασία [152], όσο και στις ξένες μελέτες [154,155,161,162]. Στην παρούσα μελέτη, οι περισσότερες τιμές της 25(OH)D το καλοκαίρι ήταν ≥ 20 ng/ml αλλά υπήρχαν και αρκετές (16%) μεταξύ 12 και 20 ng/ml.

Η Γιαννακού και συν. [152] σε παιδιά της Αττικής δεν βρήκαν μεταβολές ανάλογες με την ηλικία από ενός μηνός μέχρι 15 χρόνων, που συμφωνεί και με τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης, για την ίδια ηλικία. Δεν εξέτασαν παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων και οι τιμές της 25(OH)D βρέθηκαν χαμηλότερες από της παρούσης μελέτης (17,2 ng/ml μέσος όρος καλοκαίρι-χειμώνα).

Επίσης, όπως αναφέρουν και άλλοι ερευνητές [154,155,163], αλλά και στην παρούσα εργασία, αυτές οι διαφορές για την 25(OH)D δεν υπάρχουν το καλοκαίρι μέχρι την ενηλικίωση. Επί πλέον, σε όλες τις παραπάνω μελέτες και στην παρούσα, δεν φαίνεται να υπάρχουν διαφορές στις συγκεντρώσεις της 25(OH)D μεταξύ αγοριών και κοριτσιών για όλες τις εποχές μέχρι την ενηλικίωση.



Σχετικά με την εξάρτηση των επιπέδων της 25(OH)D με την ηλικία, οι μελέτες δεν συμφωνούν όλες μεταξύ τους. Άλλες αναφέρουν ηλικιακή εξάρτηση [153,154,155,157] όπως και στην παρούσα, ενώ σε άλλες δεν παρατηρήθηκε αυτή η συσχέτιση [165,166]. Αυτές οι διαφορές μάλλον οφείλονται στο μικρό αριθμό περιπτώσεων ή στον τρόπο ομαδοποίησης, οπότε αυτές οι διαφορές δεν παρατηρούνται.

Οι εποχιακές διακυμάνσεις της 25(OH)D που παρατηρήθηκαν και στην παρούσα εργασία, επιβεβαιώνουν για μία ακόμη φορά τις παρατηρήσεις και τα ευρήματα που αναφέρονται από πολλούς ερευνητές ήδη από το 1974 [154,155,166,167]. Υπάρχουν δε ενδείξεις πως άτομα που παίρνουν συμπλήρωμα βιταμίνης D, δεν εμφανίζουν εποχιακή διακύμανση στα επίπεδα της 25(OH)D [154, 168].

Στα παιδιά ηλικίας 3 - 10 χρόνων της παρούσης μελέτης που ήταν αστικής περιοχής, οι τιμές ήταν $18,5 \pm 1,3$ ng/ml τη χειμερινή και $29,4 \pm 1,8$ ng/ml τη θερινή περίοδο. Οι άλλοι οστικοί δείκτες βρέθηκαν φυσιολογικοί (ασβέστιο, αλκαλική φωσφατάση, οστεοκαλσίνη, φωσφόρος και παραθορμόνη). Επομένως, τα παιδιά της σχολικής ηλικίας στην αστική περιοχή δεν χρειάζονται βιταμίνη D τη χειμερινή και τη θερινή περίοδο. Η Ala-Houhala [154] δεν βρήκε χαμηλά επίπεδα 25(OH)D στα παιδιά της Φιλανδίας ηλικίας 11-17 χρόνων ($17,3 \pm 7,8$ ng και $23,6 \pm 7,1$ ng/ml χειμώνα-καλοκαίρι αντίστοιχα). Στα παιδιά ηλικίας 11-14 χρόνων που μελετήθηκαν στην αστική περιοχή της παρούσης μελέτης οι τιμές της 25(OH)D ήταν $21,01 \pm 1,9$ και $26,6 \pm 1,4$ ng/ml αντίστοιχα χειμώνα-καλοκαίρι. Οι άλλοι οστικοί δείκτες (ασβέστιο, αλκαλική φωσφατάση, οστεοκαλσίνη, παραθορμόνη και φωσφόρος) που

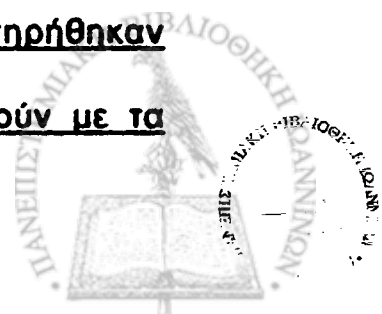


μελετήθηκαν ήταν μέσα στα φυσιολογικά όρια και δεν διέφεραν μεταξύ χειμώνα και θέρους. Από την παρούσα μελέτη φαίνεται ότι τα παιδιά της ηλικίας 11-14 χρόνων δεν χρειάζονται βιταμίνη D τη χειμερινή και θερινή περίοδο.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία οι συγκεντρώσεις της 24,25 (OH)₂D σε φυσιολογικά άτομα αποτελούν το 5 με 10% των συγκεντρώσεων της 25(OH)D [155,169] και παρουσιάζεται θετική συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβολιτών για όλες τις εποχές και ηλικίες [154,155,156,157,163,165]. Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν στην παρούσα μελέτη (R=0,61, p<0,0001) όπου βρέθηκε η συσχέτιση μεταξύ των δύο μεταβολιτών το χειμώνα (R=0,64) να είναι μεγαλύτερη απ' ό τι το καλοκαίρι (R=0,33).

Το χειμώνα όπως και με την 25(OH)D οι συγκεντρώσεις της 24,25 (OH)₂D στις δύο μικρότερες ηλικιακές ομάδες ήταν σε ικανοποιητικά επίπεδα, ενώ στην ομάδα των 15-18 χρόνων ήταν σημαντικά χαμηλότερες. Αντίθετα, το καλοκαίρι τα επίπεδα του μεταβολίτη [24,25 (OH)₂D] έδειχναν σημαντική αύξηση και δεν διέφεραν ή ακόμη ήταν και υψηλότερα από των μικρότερων ηλικιακών ομάδων. Ηλικιακή εξάρτηση για την 24,25 (OH)₂D σε παιδιά 3-18 χρόνων δεν αναφέρεται σε άλλες εργασίες, ούτε για το χειμώνα εκτός από νεογνά και βρέφη (<1 χρόνου), όπου βρέθηκαν να είναι σημαντικά χαμηλότερα το καλοκαίρι [163] ή όλο το χρόνο (169) από των παιδιών μεγαλύτερων ηλικιών. Αυτό ίσως να οφείλεται σε μη ανάλογη ανάλυση των αποτελεσμάτων.

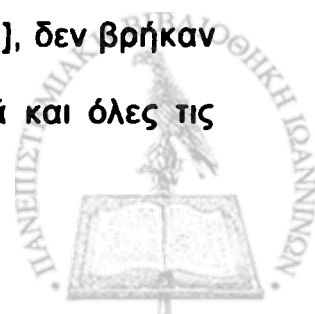
Και στις τρεις ομάδες παιδιών που μελετήθηκαν παρατηρήθηκαν εποχιακές διακυμάνσεις για την 24,25(OH)₂D που συμφωνούν με τα



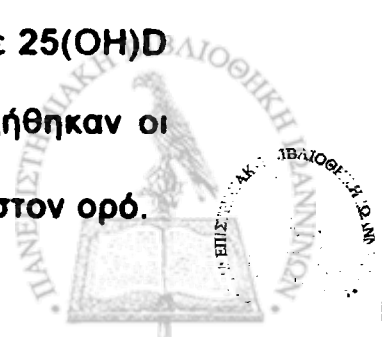
ευρήματα και άλλων ερευνητών [154,155,165]. Στην παρούσα εργασία, αλλά ούτε και σε άλλες, βρέθηκαν διαφορές μεταξύ αγοριών και κοριτσιών γι' αυτόν τον μεταβολίτη και για τις ηλικίες των παιδιών που μελετήθηκαν. Παρόμοια μελέτη δεν έχει αναφερθεί στην Ελληνική βιβλιογραφία. Από τα ευρήματα φαίνεται ότι οι τιμές της $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ ακολουθούν τις διακυμάνσεις της $25(\text{OH})\text{D}$, τουλάχιστον στα παιδιά που μελετήθηκαν ηλικίας 3-18 χρόνων (Σχήμα 8) και η συσχέτιση αυτή είναι πιο ισχυρή το χειμώνα απ' ότι το καλοκαίρι (Σχήμα 9). Παρά την αμφισβητούμενη από πολλούς δράση της $24,25(\text{OH})_2\text{D}$, υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν τη σημασία της στη σύνθεση των οστών παράλληλα με τη δράση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ [170,171]. Επίσης, έχει βρεθεί ότι η $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ επαναφέρει στα φυσιολογικά όρια την οστεοκαλσίνη ραχιατικών πειραματόζωων [172].

Ο μέχρι σήμερα δραστικός μεταβολίτης της βιταμίνης D θεωρείται η $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Από άλλες μελέτες [152,154,155,166], αλλά και από τα ευρήματα αυτής της μελέτης, φαίνεται ότι η σύνθεσή του είναι στενά ρυθμιζόμενη και ανεξάρτητη από την εποχή ή τον χρόνο έκθεσης στον ήλιο.

Μερικές αναφορές σε σχέση με την ηλικία, τουλάχιστον μέχρι την ενηλικίωση, υποστηρίζουν ότι στην περίοδο της ταχείας αύξησης σε ύψος (growth spurt), παρατηρείται και μια αύξηση των συγκεντρώσεων της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Αυτή η αύξηση εντοπίζεται στην ηλικία 11 με 14 χρόνων [157,166,168,173]. Άλλοι πάλι ερευνητές [155,156], δεν βρήκαν τέτοια συσχέτιση. Συσχέτιση των τιμών σε όλα τα παιδιά και όλες τις



εποχές δεν υπήρχε και στην παρούσα μελέτη. Όμως οι μέσες τιμές της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ στα παιδιά 11-14 χρόνων το καλοκαίρι βρέθηκαν σημαντικά υψηλότερες από των άλλων δύο ηλικιακών ομάδων. Τέτοια διαφορά δεν παρατηρήθηκε τους χειμερινούς μήνες. Επειδή η Ελλάδα ανήκει στο βόρειο ημισφαίριο και η ταχεία αύξηση του ύψους (growth spurts) συμβαίνει στο δεύτερο εξάμηνο του έτους, ίσως η ταχεία αύξηση του ύψους να συνδυάζεται με την αυξημένη πυκνότητα της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ το καλοκαίρι στα παιδιά ηλικίας 11-14 χρόνων [166,168]. Η Ala-Houhala [154] έδειξε ότι ακόμη και σε χορήγηση συμπληρώματος βιταμίνης D (400 IU βιταμίνης D_2 5-7 ημέρες την εβδομάδα) για ένα χρόνο, όπου τα επίπεδα της $25(\text{OH})\text{D}$ αυξάνονταν σημαντικά, οι συγκεντρώσεις της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ δεν μεταβλήθηκαν σε σύγκριση με αυτές πριν τη χορήγηση βιταμίνης D, ή της ομάδας ελέγχου που δεν χορηγήθηκε βιταμίνη D. Αυτό δε συνέβη τους χειμερινούς και τους καλοκαιρινούς μήνες. Ίσως αυτό να εξηγεί και την απουσία μεταβολών στο μεταβολισμό ασβεστίου και φωσφόρου, αλλά και της οστικής πυκνότητας αυτών των παιδιών που μελέτησαν. Η μακροχρόνια χορήγηση βιταμίνης D, ή χορήγηση μεγάλων δόσεων βιταμίνης τουλάχιστον για τους χειμερινούς μήνες, ή στα παιδιά με τα πολύ χαμηλά επίπεδα $25(\text{OH})\text{D}$ (<10 ng/ml), δεν διερευνήθηκε από τους παραπάνω ερευνητές. Ο Zeghoud και συν. [158] μετά από εφάπαξ χορήγηση μεγάλης δόσης βιταμίνης D από το στόμα (100.000 IU βιταμίνης D_3 ή 2,5 mg D_3) σε παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων με $25(\text{OH})\text{D}$ <10 ng/ml, παρατήρησαν ότι τους δύο επόμενους μήνες αυξήθηκαν οι συγκεντρώσεις της $25(\text{OH})\text{D}$, $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ και του ασβεστίου στον ορό.



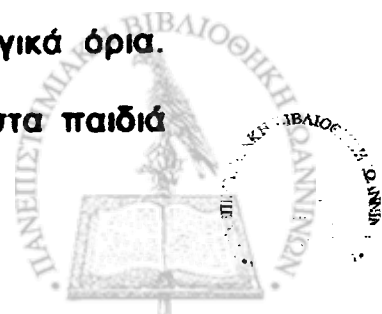
Μελέτες στην Ευρώπη [174,175,176], ανέφεραν ότι πληθυσμοί μειονοτικών παιδιών ηλικίας 15-18 χρόνων από Ασία, Ινδία, Πακιστάν, Βόρειο Αφρική και Τουρκία, παρ' ότι κατοικούσαν σε ευρωπαϊκές χώρες, παρουσίαζαν ανεπάρκεια βιταμίνης D. Από ευρωπαϊκές μελέτες τα τελευταία χρόνια [153,158], αλλά και από την παρούσα εργασία, φαίνεται ότι μεγάλο ποσοστό γηγενών ευρωπαϊδών ηλικίας 15-18 χρόνων, παρά τη βελτίωση του κοινωνικοοικονομικού επιπέδου και την αυξημένη ηλιοφάνεια στις νότιες ευρωπαϊκές χώρες, εμφανίζουν ανεπάρκεια βιταμίνης D. Πιθανόν αυτό να οφείλεται στις τροφικές συνήθειες των μεγάλων παιδιών (εφήβων) που προτιμούν τροφές μικρής βιολογικής αξίας και ταχείας παρασκευής (fast food), αλλά και της μη επαρκούς έκθεσής τους στον ήλιο, κυρίως κατά τη διάρκεια του σχολικού έτους [133,159,160,164]. Αυτά τα ευρήματα χρήζουν εγρήγορσης από την πολιτεία για τον εμπλουτισμό τροφών με βιταμίνη D και από τους παθολόγους, παιδιάτρους και χειρουργούς για τον εντοπισμό υποκλινικού ραχιτισμού.

Για τα παιδιά μέχρι δύο χρόνων τα γάλατα που τρέφονται είναι εμπλουτισμένα με βιταμίνη D, ή δίνονται προφυλακτικές δόσεις βιταμίνης D σε όλες τις Δυτικοευρωπαϊκές χώρες και ΗΠΑ και ως εκ τούτου ο τροφικός ραχιτισμός έχει εκλείψει. Για τα μεγαλύτερα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων δεν υπάρχει συστηματική μέριμνα προφύλαξης ή πρόληψης υποβιταμίνωσης D, ακόμη και στις βόρειες ευρωπαϊκές χώρες. Στη Φιλανδία, όταν χρειάζεται, συνιστάται η δόση των 500-1000 IU βιταμίνης D/ημέρα (12,5-25 mg/ημέρα) για παιδιά άνω των δύο χρόνων, καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης. Στις Σκανδιναβικές χώρες



(Νορβηγία, Σουηδία), από το 1978 για τα παιδιά μέχρι 6 χρόνων συνιστάται η λήψη βιταμίνης D 400 IU/ημέρα (10 µg/ημέρα), ενώ στη Δανία η δόση είναι 600 IU/ημέρα (15µg/ημέρα) [177]. Από τις αρχές της δεκαετίας του 1990 στη Νορβηγία συνιστώνται 200 IU/ημέρα (5 µg/ημέρα) βιταμίνης D για παιδιά άνω των 3 χρόνων και ενήλικες [178].

Ασβέστιο: Στα 280 παιδιά που μελετήθηκαν στην Φιλανδία [154] οι τιμές του Ca στον ορό δεν διέφεραν στις διάφορες ηλικίες και κυμάνθηκαν μέσα στα φυσιολογικά όρια ($9,7 \pm 0,4$ μέχρι $10,1 \pm 0,4$ mg/dl). Το ίδιο παρατηρήθηκε από τον Round [179] σε 624 παιδιά και εφήβους του Λονδίνου. Οι τιμές του Ca δεν διέφεραν από των ενηλίκων και κυμαίνονταν από 9,0-10,2mg/100ml. Ο Sbyrakis και συν. [151] βρήκαν τιμές Ca στον ορό των 111 παιδιών αστικής περιοχής (Αθηνών) και αγροτικής (Εύβοιας) που ήταν $9,9 \pm 0,7$ mg/dl και η ηλικία των παιδιών κυμαινόταν από 6-11 χρόνων. Στην παρούσα εργασία, οι τιμές του Ca στο πλάσμα και στις τρεις ηλικιακές ομάδες των 224 παιδιών, κυμάνθηκαν από $9,1 \pm 0,3$ μέχρι $9,7 \pm 0,1$ mg/dl που δεν διαφέρουν από τις άλλες ελληνικές και ξένες μελέτες. Βρέθηκαν αυξημένες τιμές Ca (εντός φυσιολογικών ορίων) στα παιδιά της σχολικής ηλικίας τη χειμερινή περίοδο ($9,7 \pm 0,1$ mg/dl) σε σύγκριση με τη θερινή ($9,1 \pm 0,3$ mg/dl, $p < 0,05$), παρατηρήθηκε ωσαύτως τη θερινή περίοδο τα παιδιά της ηλικίας 3-10 χρόνων να έχουν μικρότερες τιμές Ca στον ορό από τα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων ($9,1 \pm 0,3$ και $9,6 \pm 0,3$ mg/dl αντίστοιχα, $p < 0,01$). Δεν δύναται να δοθεί σαφής εξήγηση γι αυτές τις μικρές διαφορές του Ca στον ορό, που κυμαίνονται στα φυσιολογικά όρια. Ίσως η αυξημένη διακίνηση (turnover) του Ca των οστών στα παιδιά



μικρής ηλικίας να εξηγεί αυτή τη διαφορά, αφού και οι τιμές στον ορό της ΡΤΗ ήταν μεγαλύτερες στα παιδιά ηλικίας 3-10 χρόνων από τα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων (Πίνακας 9, Σχήμα 4). Συσχέτιση της παραθορμόνης με την ηλικία δεν αναφέρεται στις άλλες ελληνικές και ξένες μελέτες.

Φωσφόρος: Οι τιμές του φωσφόρου του ορού στα παιδιά ηλικίας 3-10 χρόνων ήταν μεγαλύτερες από τα παιδιά ηλικίας μεγαλύτερης των 11 ετών. Φαίνεται ότι με την ηλικία (Σχήμα 1) οι τιμές του φωσφόρου μειώνονται και αυτό αναφέρεται και από τον Round [179]. Ο συγγραφέας αναφέρει ότι οι τιμές του φωσφόρου του ορού στα κορίτσια ήταν μικρότερες από τα αγόρια και αυτό παρατηρήθηκε μετά την ηλικία των 13 χρόνων και ήταν πιο εμφανές στην ηλικία των 16 χρόνων. Στην παρούσα μελέτη, βρέθηκε ότι οι τιμές του φωσφόρου του ορού στα κορίτσια της ηλικίας 15-18 χρόνων και δη τη χειμερινή περίοδο ήταν μικρότερες από τα αγόρια ($3,7 \pm 0,1$ και $4,0 \pm 0,2$ mg/dl αντίστοιχα, $p < 0,001$). Τα ευρήματα αυτά δεν αναφέρονται σε άλλες ελληνικές και ξένες μελέτες, αλλά μόνο στη μελέτη του Round [179] και στην παρούσα εργασία. Ο Round [179] πιθανολογεί ότι αυτό οφείλεται στην οψιμότερη ωρίμανση των αγοριών που πρέπει να ισχύει και για τα ελληνόπουλα.

Τόσο στην παρούσα εργασία (χειμερινή περίοδο) όσο και στη Βρετανική [179], βρέθηκε ότι οι τιμές του φωσφόρου του ορού μειώνονται με την ηλικία (Σχήμα 1) και οι τιμές του ήταν μικρότερες στα παιδιά της ηλικίας 15-18 χρόνων. Ο Aksnes and Aarskog [157] βρήκαν



μείωση του φωσφόρου και κατά τη διάρκεια της εφηβείας, όπου στο στάδιο V οι συγκεντρώσεις του δεν διέφεραν από αυτές του ενήλικα.

Στη Βρετανική μελέτη δεν παρατηρήθηκε εποχιακή διακύμανση για το φωσφόρο του ορού στα παιδιά ηλικίας 7-17 χρόνων. Στα παιδιά της παρούσης μελέτης δεν βρέθηκαν διακυμάνσεις εποχιακές, για τα παιδιά ηλικίας 3-14 χρόνων, παρατηρήθηκε όμως μετρίου βαθμού υποφωσφαταιμία στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων και οι τιμές του φωσφόρου ήταν χαμηλότερες το χειμώνα από το καλοκαίρι (Πίνακας 6) και αυτή η διαφορά ήταν πιο έκδηλη στα κορίτσια (Πίνακας 10). Δεν παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών της PTH και της $1,25(OH)_2D$, διότι πιθανόν η ήπια πτώση του φωσφόρου δεν προκάλεσε διαταραχές της PTH και επομένως και της $1,25(OH)_2D$ [180].

Άλλοι ερευνητές [181,182,183] παρατήρησαν εποχιακή διακύμανση του φωσφόρου σε ενήλικες που οι τιμές του ήταν χαμηλές το χειμώνα-άνοιξη και υψηλές τον Ιούλιο-Αύγουστο. Σε παιδιά και ενήλικες της Κεντρικής Ευρώπης (Ολλανδίας - Δανίας), αναφέρονται εποχιακές διακυμάνσεις του φωσφόρου, με υψηλότερες τιμές το καλοκαίρι από τον χειμώνα [181,182,184]. Στην παρούσα μελέτη φαίνεται ότι οι τιμές του φωσφόρου του ορού στα παιδιά ηλικίας 3-14 χρόνων δεν υπόκεινται σε εποχιακή διακύμανση, απεναντίας παιδιά ηλικίας 15-18 ετών παρουσιάζουν εποχιακή διακύμανση στατιστικά σημαντική ($P < 0,001$). Η εποχιακή αυτή διακύμανση ήταν πιο έκδηλη στα κορίτσια. Οι τιμές του P του ορού εξαρτώνται από την ηλικία και ήταν μεγαλύτερες στα παιδιά 3-10 και μικρότερες στα παιδιά 15-18 χρόνων που φθάνουν σταδιακά τις τιμές του ενήλικα.



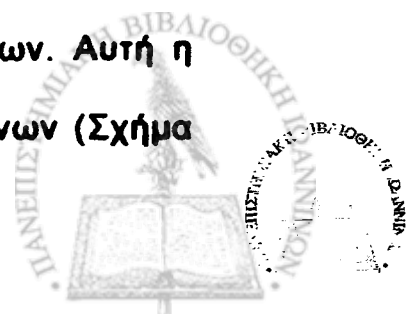
Αλκαλική φωσφατάση: Οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης του ορού ήταν υψηλότερες στα παιδιά ηλικίας 3-14 και μικρότερες στα 15-18 χρόνων. Δηλαδή βρέθηκε αρνητική γραμμική συσχέτιση με την ηλικία. Στατιστικά σημαντική διαφορά δεν βρέθηκε την περίοδο του χειμώνα, αλλά υπήρχε τάση να είναι μικρότερη στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων, ενώ υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά τη θερινή περίοδο. Υψηλότερες τιμές αλκαλικής φωσφατάσης βρέθηκαν στα παιδιά ηλικίας 11-14 χρόνων σε σύγκριση με τις άλλες δύο ομάδες παιδιών 3-10 και 15-18 χρόνων και υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά τους καλοκαιρινούς μήνες ($p < 0,05$ και $0,01$ αντίστοιχα) για τα παιδιά 3-10 και 15-18 ετών (Σχήμα 2, Πίνακας 7). Σημαντική αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης αναφέρεται και από τον Round [179] σε αγόρια ηλικίας 10-14 χρόνων, ενώ ήταν λιγότερο έκδηλη η αύξηση στα κορίτσια της ίδιας ηλικίας. Πτώση της αλκαλικής φωσφατάσης βρέθηκε και στα δύο φύλα μετά την ηλικία των 14 χρόνων [157,179]. Παρόμοια ευρήματα στις τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης βρέθηκαν και στην παρούσα εργασία, που ήταν πιο έκδηλη στα κορίτσια ηλικίας 15-18 χρόνων και ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη στα κορίτσια χειμώνα και καλοκαίρι ($p < 0,01$). Τα ευρήματα της παρούσης μελέτης και των άλλων ερευνητών, δείχνουν ότι αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης στην ηλικία 11-14 χρόνων στα ελληνόπουλα και γενικότερα σε παιδιά της καυκάσιας φυλής, δεν πρέπει να θεωρείται ως «βιοχημικός ραχιτισμός», εφόσον οι τιμές του ασβεστίου και του φωσφόρου είναι φυσιολογικές. Σε πολλά ελληνικά και ξένα συγγράμματα δεν αναφέρουν τις τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης σε



σχέση με το φύλο και την ηλικία στα παιδιά 3-18 χρόνων, με αποτέλεσμα να επέρχεται διαγνωστική σύγχυση για την ορθή αντιμετώπιση του παιδιού που βρίσκεται στην ηλικία των 11-14 χρόνων (ήβη) ή στην ηλικία 15-18 χρόνων (εφηβεία) [185,186,187,188,189]. Αν και ο αριθμός των παιδιών που εξετάσθηκαν είναι σχετικά μικρός (224 παιδιά), επειδή συμπίπτουν με τα ευρήματα του Round [179] που μελέτησε 624 παιδιά στο Λονδίνο, η παρατήρηση αυτή καθίσταται αξιόπιστη. Φαίνεται ότι τα ευρήματα της παρούσης εργασίας θα βοηθήσουν στην διευκρίνιση των διαγνωστικών συγχύσεων στα ελληνόπουλα ηλικίας 11-18 χρόνων (ήβη-εφηβεία).

Επειδή η αλκαλική φωσφατάση είναι δείκτης οστικής αύξησης (bone formation) [190], η αυξημένη αλκαλική φωσφατάση που βρέθηκε στα παιδιά 11-14 χρόνων δείχνει ότι η αύξηση των οστών είναι μεγαλύτερη σε αυτή την ηλικία και ιδιαίτερα στα αγόρια ενώ στα κορίτσια 15-18 χρόνων είναι μικρότερη. Η οστική αύξηση στα παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων είναι μεγαλύτερη το καλοκαίρι από το χειμώνα, επειδή οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης στον ορό είναι μεγαλύτερες το καλοκαίρι.

Με βάση το φύλο ο Round [179] και οι Aksnes and Aarskong [157] αναφέρουν χαμηλότερες τιμές αλκαλικής φωσφατάσης στα κορίτσια σε σχέση με τα αγόρια μετά την ηλικία των 13 χρόνων, που γίνεται πιο έκδηλη η διαφορά αυτή στην ηλικία των 15-17 χρόνων. Στην παρούσα εργασία βρέθηκε ότι οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης ήταν μικρότερες στα κορίτσια από τα αγόρια ηλικίας 3-18 χρόνων. Αυτή η διαφορά βρέθηκε πιο έκδηλη στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων (Σχήμα



11). Τέσσερα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων παρουσίασαν αλκαλική φωσφατάση μεγαλύτερη από 300 IU/L και ήταν αγόρια με φυσιολογικές τιμές στον ορό ασβεστίου, φωσφόρου και 25(OH)D, ενώ κανένα κορίτσι δεν παρουσίασε τιμή αλκαλικής φωσφατάσης μεγαλύτερη από 300 IU/L. Ο Round [179] αναφέρει ωσαύτως, ότι κανένα κορίτσι δεν παρουσίασε αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης μεγαλύτερη από 30 μονάδες King-Amstrong (KA), ενώ δύο αγόρια είχαν αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης 32 μονάδες KA και ήταν ηλικίας 15 χρόνων αλλά δεν παρουσίασαν άλλες βιοχημικές διαταραχές (ασβέστιο και φωσφόρος εντός φυσιολογικών ορίων).

Ο Widhalm και Holzl [191] αναφέρουν ότι μελέτησαν 111 υγιή παιδιά ηλικίας 11-17 χρόνων και βρήκαν στα κορίτσια αύξηση των τιμών αλκαλικής φωσφατάσης στον ορό στην ηλικία των 11 χρόνων ($470,9 \pm 114,8$ U/L) και στα αγόρια στην ηλικία των 13 χρόνων ($514,4 \pm 135,7$ U/L). Οι συγγραφείς υποστηρίζουν ότι οι αλλαγές αυτές των τιμών της αλκαλικής φωσφατάσης πρέπει να οφείλονται στην αυξητική ορμόνη και δευτεροπαθώς στις αλλαγές των φυλετικών ορμονών. Από τα στοιχεία της βιβλιογραφίας [179, 191] και από τα ευρήματα της παρούσης εργασίας, φαίνεται ότι η χαμηλή αλκαλική φωσφατάση στα κορίτσια της ηλικίας 15-18 χρόνων οφείλεται στην ταχύτητα αύξησης (growth spurt) που στα κορίτσια αναστέλλεται νωρίτερα στην εφηβεία, ενώ στα αγόρια συνεχίζεται και μετά την ήβη (11-14 χρόνων).

Ο Dursman και συν. [190] αναφέρουν την υψηλή συσχέτιση μεταξύ της αλκαλικής φωσφατάσης του ορού και της επιφάνειας του



οστεοβλάστη, δηλαδή αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης, οφείλεται στην μεγαλύτερη δράση του οστεοβλάστη. Από τα ευρήματα της παρούσης μελέτης φαίνεται ότι οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης είναι ψηλότερες στην ηλικία των 11-14 χρόνων. Επομένως, αύξηση των τιμών της αλκαλικής φωσφατάσης του ορού, χωρίς άλλες βιοχημικές διαταραχές (Ca, P, 25(OH)D, PTH) δεν πρέπει να θεωρείται στα άτομα ηλικίας 11-18 χρόνων ότι πάσχουν από βιοχημικό ραχιτισμό.

Δεν υπάρχουν στοιχεία στην Ελληνική βιβλιογραφία για τα ελληνόπουλα σχετικά με τις διακυμάνσεις της αλκαλικής φωσφατάσης με την ηλικία, το φύλο και την εποχή [187,188,189]. Η διαφορά αυτή εξακολουθεί να υφίσταται μέχρι και την ηλικία των 18 χρόνων που τα παιδιά εισέρχονται στην περίοδο του ενήλικα.

Ο Thomsen και συν. [181] και Douglas και συν. [183] αναφέρουν εποχιακή διακύμανση των τιμών της αλκαλικής φωσφατάσης σε 15 ενήλικες και ήταν χαμηλές το χειμώνα και υψηλές το καλοκαίρι. Αντίθετα, στην εργασία του Round [179] και στην παρούσα μελέτη, δεν παρατηρήθηκε εποχιακή διακύμανση της αλκαλικής φωσφατάσης στατιστικά σημαντική, αλλά υπήρχε τάση να είναι υψηλότερη το καλοκαίρι στα παιδιά ηλικίας 11-18 χρόνων.

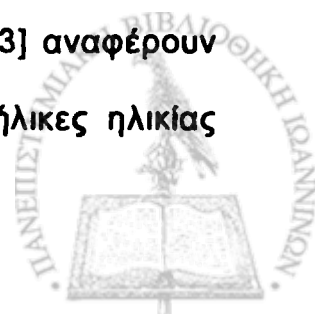
Οστεοκαλσίνη: Μικρή προσοχή έχει δοθεί στην κλινική αξία της οστεοκαλσίνης στα παιδιά, αν και ευρέως χρησιμοποιείται στους ενήλικες ως δείκτης του οστικού σχηματισμού [192]. Ο προσδιορισμός της αλκαλικής φωσφατάσης και της οστεοκαλσίνης, που θεωρούνται ως δείκτες της δραστηριότητας του οστεοβλάστη, έχει γίνει σε ενήλικες και κυρίως σε γυναίκες που βρίσκονται στη μεταεμμηνοπαυσιακή περίοδο



για να προσδιορίσουν την κατάσταση του οστού. Μελέτες της οστεοκαλσίνης για φυσιολογικά παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων δεν βρέθηκαν στην ελληνική βιβλιογραφία. Εργασίες για την οστεοκαλσίνη σε παιδιά και εφήβους με διαταραχές του μεταβολισμού των οστών [υποφωσφαταιμικό ραχιτισμό (XLH), βιταμινο-εξαρτώμενο ραχιτισμό τύπου 1, νεφρική οστεοδυστροφία, ρευματοειδή αρθρίτιδα, εγκυμοσύνη κλπ] έχουν αναφερθεί από Αμερικανούς και Ευρωπαίους συγγραφείς [65,93,96,126, 193]. Οι ψηλότερες τιμές παρατηρήθηκαν στα παιδιά ηλικίας 11-14 και οι μικρότερες στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών (έφηβοι). Στην ίδια ηλικία τα παιδιά 11-14 χρόνων παρουσίασαν ωσαύτως τις μεγαλύτερες τιμές αλκαλικής φωσφατάσης. Οι τιμές της οστεοκαλσίνης στον ορό αυξάνουν από την ηλικία των 3-10 χρόνων στα αγόρια και κορίτσια και μετά την ηλικία των 14 ετών μειώνεται. Η διαχρονική πορεία της οστεοκαλσίνης παρουσιάζεται σχεδόν παράλληλη με την αλκαλική φωσφατάση (Σχήμα 2,3). Αμερικανοί και Ευρωπαίοι συγγραφείς αναφέρουν ότι το φυσιολογικό εύρος στις τιμές της οστεοκαλσίνης είναι ψηλότερο στα παιδιά και φθάνει το επίπεδο των ενηλίκων όταν συμπληρωθεί η ήβη [65,193,194].

Στην παρούσα εργασία βρέθηκε γραμμική συσχέτιση μεταξύ αλκαλικής φωσφατάσης και οστεοκαλσίνης στα παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων (Σχήμα 7) που ακολούθησε την εξίσωση $Y=8,29X+132,1$ ($R=0,32$, $p<0,0001$). Οι μεγαλύτερες τιμές οστεοκαλσίνης και αλκαλικής φωσφατάσης βρέθηκαν στην ηλικία των 11-14 χρόνων (Σχήμα 2,3,7).

Ο Thomsen και συν. [181] και Douglas και συν. [183] αναφέρουν εποχιακές διακυμάνσεις της οστεοκαλσίνης σε υγιείς ενήλικες ηλικίας



27-39 ετών και ήταν υψηλότερες τον Φεβρουάριο και χαμηλότερες τον Ιούλιο. Παρόμοια εποχιακή διακύμανση αναφέρουν και για την αλκαλική φωσφατάση και τον φωσφόρο του ορού. Ο Douglas και συν [183] διαπίστωσαν εποχιακή διακύμανση της οστεοκαλσίνης που ήταν χαμηλότερη το φθινόπωρο από την άνοιξη σε 20 υγιείς ενήλικες ηλικίας 52-73 χρόνων. Στην παρούσα μελέτη στα παιδιά που μελετήθηκαν ηλικίας 11-14 ετών, βρέθηκε αυξημένη οστεοκαλσίνη το καλοκαίρι (Πίνακας 8). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά των τιμών της οστεοκαλσίνης στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων μεταξύ χειμώνα και καλοκαιριού, με τάση όμως μείωσης το καλοκαίρι. Αντίθετα, οι τιμές για τα παιδιά 3-10 χρόνων ήταν $7,5 \pm 0,7$ και $10,3 \pm 1,0$ ng/ml αντίστοιχα χειμώνα, καλοκαίρι ($p < 0,01$) και για τα παιδιά ηλικίας 11-14 χρόνων ήταν $9,4 \pm 1,2$ και $12,7 \pm 1,2$ ng/ml επίσης χειμώνα - καλοκαίρι ($p < 0,01$). Δεν διαπιστώθηκε διαφορά μεταξύ αγοριών και κοριτσιών από την ηλικία των 3-14 χρόνων. Η αλκαλική φωσφατάση και η οστεοκαλσίνη είναι δείκτες οστικού σχηματισμού (bone formation) [190,195]. Οι τιμές οστεοκαλσίνης στον ορό στα παιδιά ηλικίας 3-14 χρόνων βρέθηκαν αυξημένες, ιδιαίτερα δε σε παιδιά ηλικίας 11-14 χρόνων και πιο έκδηλη το καλοκαίρι από το χειμώνα. Οι τιμές της οστεοκαλσίνης στον ορό βρέθηκαν πιο χαμηλές στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων και ήταν χαμηλότερες το καλοκαίρι από το χειμώνα (Πίνακας 10). Τα ευρήματα στα κορίτσια ηλικίας 15-18 ετών συμπίπτουν με τον Douglas και συν. [183] όσον αφορά την εποχιακή διακύμανση. Ίσως οφείλεται στη μείωση της οστεοβλαστικής δραστηριότητας στα κορίτσια σε σύγκριση



με τα αγόρια που έχουν σχεδόν συμπληρώσει πρωιμότερα την αύξηση σε ύψος στην ήβη από τα αγόρια.

Δεν αναφέρονται τιμές οστεοκαλσίνης στον ορό σε ελληνικά και διεθνή παιδιατρικά συγγράμματα [29,187,188,189,196] για παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων. Δεδομένου ότι η οστεοκαλσίνη θεωρείται μια αξιόπιστη παράμετρος οστικού σχηματισμού του φλοιού του οστού [155], ο προσδιορισμός της θα δώσει στοιχεία για τα παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων που πάσχουν από μεταβολικά νοσήματα των οστών. Με την παρούσα μελέτη τα ευρήματα της αλκαλικής φωσφατάσης και της οστεοκαλσίνης πρέπει να βοηθήσουν τους ιατρούς ώστε να μειωθεί η συχνότητα των διαγνωστικών συγχύσεων στην ηλικία των 3-18 χρόνων σχετικά με το μεταβολισμό των οστών στα παιδιά όπως τροφικό και υποφωσφαταιμικό ραχιτισμό, ατελή οστεογένεση, ρευματοειδή αρθρίτιδα, οστεοδυστροφία κτλ.

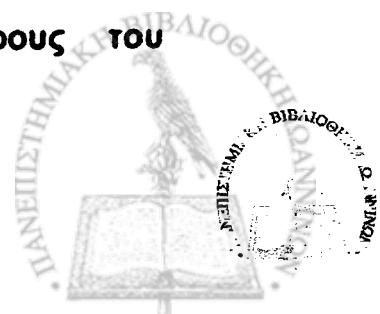
Οι τιμές των δύο βιοχημικών παραμέτρων του οστεοβλάστη (αλκαλική φωσφατάση και οστεοκαλσίνη) βρέθηκαν στα κορίτσια ηλικίας 15-18 χρόνων χαμηλότερες από τα αγόρια αντίστοιχης ηλικίας σε επίπεδο στατιστικά σημαντικό (Πίνακας 10, Σχήμα 11). Βρέθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ οστεοκαλσίνης και αλκαλικής φωσφατάσης στα παιδιά ηλικίας 3-18 χρόνων (Σχήμα 7). Ο Epstein και συν. [197] αναφέρουν θετική συσχέτιση μεταξύ οστεοκαλσίνης και αλκαλικής φωσφατάσης σε 166 άνδρες και γυναίκες ηλικίας 30-90 ετών. Ο Mora και συν. [198] μελέτησαν την αλκαλική φωσφατάση και την οστεοκαλσίνη στον ορό σε 269 παιδιά ηλικίας 7-18 ετών και παρατήρησαν αύξηση και των δύο παραμέτρων νωρίς στην ήβη, που



μειώθηκαν στα τελικά στάδια της ήβης. Η συσχέτιση αλκαλικής φωσφατάσης και οστεοκαλσίνης αναφέρεται για πρώτη φορά στην ελληνική βιβλιογραφία ενώ δύο είναι οι αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία [194,198].

Παραθορμόνη: Οι τιμές της παραθορμόνης στα παιδιά που μελετήθηκαν ηλικίας 3-18 χρόνων βρέθηκαν εντός φυσιολογικών ορίων 0,34-0,9 ng/ml. Η Ala-Houhala [154] σε παιδιά από την Φιλανδία ηλικίας 2-17 ετών δεν διαπίστωσε αύξηση της PTH, ενώ άλλοι ερευνητές [53,174] αναφέρουν αύξηση της PTH στην ηλικία των 15-18 ετών και το απέδωσαν στην υποβιταμίνωση D. Στην παρούσα μελέτη τα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων τη χειμερινή περίοδο παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές C-PTH σε σύγκριση με τα παιδιά ηλικίας 3-14 χρόνων και στο σύνολό τους οι τιμές της C-PTH έδειξαν μια αρνητική συσχέτιση με την ηλικία (Σχήμα 4). Πιθανόν αυτό να οφείλεται στη μικρότερη οστεοβλαστική δραστηριότητα στα παιδιά της ηλικίας 15-18 χρόνων τη χειμερινή περίοδο, επειδή οι τιμές του P, αλκαλικής φωσφατάσης και οστεοκαλσίνης βρέθηκαν χαμηλότερες στα παιδιά της ηλικίας 15-18 χρόνων.

Χορήγηση βιταμίνης D: Στη Φιλανδία [154] το χαμηλό επίπεδο της 25(OH)D σε 16% των παιδιών ηλικίας 2-17 οδήγησε στη χορήγηση βιταμίνης D τη χειμερινή περίοδο και επανεκτίμησαν το ασβέστιο, την οστική πυκνότητα των οστών και την C-PTH στα παιδιά που χορηγήθηκε βιταμίνη σε σύγκριση με μάρτυρες που δεν χορήγησαν βιταμίνη D. Δεν αναφέρουν διαφορές στις παραμέτρους του



μεταβολισμού των οστών, παρατηρήθηκε μόνο αύξηση της 25(OH)D σε σύγκριση με τους μάρτυρες που δεν χορήγησαν βιταμίνη D [154].

Στην Δανία [164] δεν αναφέρεται βελτίωση της οστικής αύξησης, οστικής πυκνότητας και γενικά του οστικού μεταβολισμού στα παιδιά που χορήγησαν βιταμίνη D, σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Αντίθετα, εργασίες από την Αγγλία αναφέρουν βελτίωση του βάρους και του ύψους σε ομάδες παιδιών από την Ασία που κατοικούν στη Βρετανία και γι' αυτό συνιστούν τη χορήγηση βιταμίνης D στα παιδιά των μεταναστών [199, 200, 201].

Στην παρούσα εργασία βρέθηκε ότι τα παιδιά ηλικίας 3-14 χρόνων δεν παρουσίασαν ευρήματα υποβιταμίνωσης D, αφού τα επίπεδα της 25(OH)D ήταν μεγαλύτερα από $18,5 \pm 1,3$ ng/ml χειμώνα και καλοκαίρι. Αντίθετα, στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων οι τιμές της 25(OH)D βρέθηκαν τη χειμερινή περίοδο σε επίπεδο χαμηλό ($12,7 \pm 0,9$ ng/ml) και σε αρκετά παιδιά, συνοδευόταν με χαμηλές τιμές P (3,7 mg/dl), ιδίως στα κορίτσια (Πίνακας 10).

Με αυτά τα ευρήματα αποφασίσθηκε η χορήγηση βιταμίνης D στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων τη χειμερινή περίοδο (από Φεβρουάριο μέχρι Μάιο). Από τους 45 εφήβους που μελετήθηκαν, χορηγήθηκε βιταμίνη D στους 21, διότι οι 15 αποφοίτησαν από το Λύκειο. Από τους 26 ουδείς έλαβε τη βιταμίνη D καθ' όλη τη διάρκεια του σχολικού έτους (Φεβρουάριο-Μάιο). Οι 12 έλαβαν τη βιταμίνη D για μία εβδομάδα ή καθόλου και οι 14 για διάστημα 2-4 εβδομάδων. Οι έφηβοι διέκοψαν τη βιταμίνη D τουλάχιστον 2 μήνες προ του προγραμματισμένου ελέγχου. Τα ευρήματα του ελέγχου και των δύο ομάδων των παιδιών (Πίνακας 14), με και χωρίς λήψη βιταμίνης D, παρουσίασαν



αύξηση του φωσφόρου και μείωση της οστεοκαλσίνης στον ορό. Οι άλλες παράμετροι [Ca, 25(OH)D, 24,25(OH)₂D και 1,25(OH)₂D] δεν σημείωσαν διαφορά. Τα αποτελέσματα της χορήγησης βιταμίνης D δεν είναι αξιόπιστα τη χειμερινή περίοδο διότι όλα τα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων σχεδόν αρνήθηκαν τη λήψη βιταμίνης. Από τη βιβλιογραφία είναι γνωστό ότι οι έφηβοι αρνούνται τη λήψη βιταμινών, φαρμάκων κ.λ.π. [159]. Άρα άλλοι τρόποι πρέπει να εφαρμοσθούν για τη λήψη της βιταμίνης D στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων τη χειμερινή περίοδο και ιδίως στα κορίτσια.

Ο εμπλουτισμός όλων των γαλάτων και των προϊόντων του γάλατος που κυκλοφορούν στην Ελλάδα με μικρές δόσεις βιταμίνης D (400 μονάδες στο λίτρο) ίσως θα βοηθήσει για την εξαφάνιση της υποβιταμίνωσης D στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων και ιδιαίτερα των κοριτσιών. Έχει αναφερθεί ότι η χορήγηση βιταμίνης D σε δόση 400-500 μονάδες την ημέρα σε παιδιά και ενήλικες διορθώνει τροφική ανεπάρκεια βιταμίνης D [180,202,203,204].



ΠΙΝΑΚΕΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Παρουσιάζονται αναλυτικά η ηλικία, τα βιοχημικά στοιχεία, το φύλο και η εποχή του κάθε παιδιού που ερευνήθηκε



Περιπτώσεις παιδιών ηλικίας 3-10 ετών - Χειμερινή περίοδος

	Ηλικία Έτη	Se Ca	Se Pi	AIP	Ost/cin	C-PTH	250HD	24,25D	1,25D	φύλο
1	3.0	Ξ	4.44	Ξ	Ξ	Ξ	12.6	.94	Ξ	α
2	3.0	9.46	Ξ	220	3.70	Ξ	13.4	.54	26.0	θ
3	3.0	10.40	4.11	302	7.20	Ξ	22.6	.53	26.0	θ
4	3.0	Ξ	Ξ	101	.90	Ξ	6.8	1.07	21.5	α
5	3.0	Ξ	Ξ	167	5.20	Ξ	6.7	.69	13.4	α
6	3.0	9.24	Ξ	207	Ξ	Ξ	16.6	.70	29.2	θ
7	3.0	Ξ	Ξ	285	Ξ	Ξ	35.0	2.59	21.2	α
8	4.0	9.93	5.55	238	8.50	Ξ	34.1	3.44	20.4	α
9	4.0	Ξ	Ξ	119	10.00	Ξ	20.8	1.61	16.7	α
10	4.0	10.59	Ξ	264	4.60	Ξ	30.1	Ξ	Ξ	α
11	5.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	29.3	.73	Ξ	θ
12	5.0	10.62	Ξ	254	7.60	Ξ	12.9	1.38	Ξ	α
13	6.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	22.0	1.60	22.0	α
14	6.0	8.84	4.55	190	8.50	Ξ	24.9	2.67	Ξ	θ
15	6.0	9.91	4.12	222	10.50	Ξ	15.1	.65	Ξ	θ
16	6.0	9.70	5.22	131	Ξ	Ξ	29.6	1.79	Ξ	α
17	6.0	9.15	Ξ	138	5.10	Ξ	23.1	1.07	18.6	θ
18	7.0	9.66	4.65	145	6.30	.76	17.5	3.02	28.2	α
19	7.0	Ξ	Ξ	150	10.50	Ξ	24.7	1.45	Ξ	θ
20	7.0	Ξ	Ξ	114	10.50	.34	26.7	3.10	27.6	θ
21	7.0	8.81	Ξ	277	1.70	Ξ	12.2	1.59	33.0	α
22	7.0	Ξ	3.81	218	11.50	Ξ	20.2	.73	Ξ	α
23	7.0	10.90	4.00	113	8.50	.59	Ξ	1.12	15.8	α
24	8.0	Ξ	Ξ	232	Ξ	.57	25.5	1.62	23.8	α
25	8.0	Ξ	4.90	248	5.70	Ξ	13.3	1.12	Ξ	α
26	8.0	10.33	4.06	170	6.10	.81	18.3	2.68	Ξ	α
27	8.0	Ξ	Ξ	307	Ξ	Ξ	Ξ	.48	16.9	α
28	9.0	Ξ	Ξ	282	Ξ	Ξ	21.7	1.37	Ξ	α
29	9.0	9.55	4.32	282	3.60	Ξ	19.2	2.02	10.1	α
30	9.0	10.21	4.15	161	5.70	Ξ	28.2	.70	Ξ	α
31	9.0	10.24	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	14.1	.65	Ξ	α
32	9.0	8.95	Ξ	257	1.80	Ξ	10.3	1.15	27.7	α
33	9.0	9.21	4.61	102	8.00	.75	13.7	1.10	12.0	θ
34	9.0	Ξ	Ξ	174	11.70	1.10	12.5	1.01	48.6	θ
35	10.0	9.02	Ξ	263	Ξ	Ξ	36.6	1.78	17.8	α
36	10.0	Ξ	Ξ	203	15.50	Ξ	7.5	.70	9.9	θ
37	10.0	9.35	Ξ	362	Ξ	Ξ	9.3	.94	Ξ	α
38	10.0	9.99	3.30	156	18.40	.50	11.5	1.10	42.9	α
39	10.0	9.14	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	13.0	.92	Ξ	θ
40	10.0	Ξ	Ξ	218	7.40	Ξ	7.0	.97	11.6	θ
41	10.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	29.7	1.78	34.4	α
42	10.0	Ξ	4.32	228	6.90	.71	37.9	1.80	18.7	θ
43	10.0	9.57	5.45	157	4.60	Ξ	25.1	.80	10.4	θ
44	10.0	10.65	4.40	213	16.00	Ξ	7.8	.41	Ξ	θ
45	10.0	10.22	4.92	Ξ	8.90	.90	22.2	2.30	22.0	α

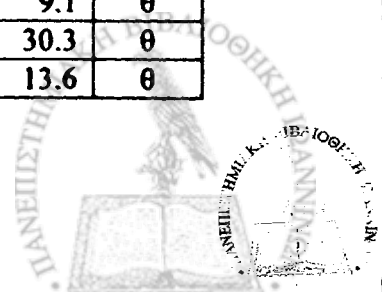
Περιπτώσεις παιδιών ηλικίας 11-14 ετών - Χειμερινή περίοδος

	Ηλικία Έτη	Se Ca	Se Pi	AIP	Ost/cin	C-PTH	250HD	24,25D	1,25D	φύλο
46	11.0	9.76	4.27	217	12.00	.82	22.6	2.11	18.5	θ
47	11.0	Ξ	4.09	Ξ	Ξ	.68	Ξ	Ξ	27.7	θ
48	11.0	9.76	Ξ	138	11.90	Ξ	8.3	1.43	10.1	θ
49	11.0	10.21	Ξ	168	Ξ	Ξ	23.7	1.52	Ξ	θ
50	11.0	9.58	3.88	203	12.40	Ξ	8.8	.79	13.6	α
51	11.0	Ξ	Ξ	Ξ	1.70	Ξ	36.7	Ξ	12.8	α
52	12.0	10.45	5.70	348	17.50	.46	22.1	2.60	39.9	α
53	12.0	8.90	4.74	137	12.00	.79	18.5	1.28	Ξ	α
54	12.0	8.85	4.12	159	9.40	Ξ	15.3	.66	Ξ	θ
55	12.0	9.01	5.32	Ξ	9.20	.82	13.3	2.91	Ξ	α
56	12.0	Ξ	Ξ	Ξ	5.70	Ξ	17.0	1.10	41.7	θ
57	12.0	8.94	4.42	Ξ	Ξ	Ξ	26.5	1.38	14.9	θ
58	12.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	33.4	1.65	21.4	α
59	12.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	18.0	Ξ	44.2	θ
60	13.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	25.8	2.46	Ξ	θ
61	13.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	13.6	.80	Ξ	α
62	13.0	9.01	3.35	292	7.20	.75	35.1	2.93	37.9	θ
63	13.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	21.6	1.56	Ξ	θ
64	13.0	10.00	3.65	203	3.90	.62	Ξ	Ξ	25.6	θ
65	14.0	9.35	4.31	215	13.80	Ξ	16.4	.97	Ξ	θ
66	14.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	14.1	.43	Ξ	α
67	14.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	37.3	1.55	48.0	α
68	14.0	8.79	5.02	83	5.30	.78	25.1	1.57	14.9	θ
69	14.0	9.30	4.43	581	11.10	Ξ	9.7	.42	Ξ	θ
70	14.0	Ξ	3.97	379	16.10	Ξ	Ξ	.76	15.3	α



Περιπτώσεις παιδιών ηλικίας 15-18 ετών - Χειμερινή περίοδος

	Ηλικία Έτη	Se Ca	Se Pi	AIP	Ost/cin	C-PTH	250HD	24,25D	1,25D	φύλο
71	15.0	Ξ	4.38	Ξ	Ξ	1.08	12.9	.92	Ξ	α
72	15.5	8.56	4.57	417	11.60	.55	9.5	.43	37.5	α
73	15.5	9.83	5.20	471	10.50	.42	26.2	Ξ	33.8	α
74	15.5	9.17	3.71	Ξ	Ξ	.24	8.9	1.04	27.0	θ
75	15.5	Ξ	3.77	104	6.00	.99	6.6	.17	25.0	θ
76	15.5	10.12	3.44	Ξ	6.80	Ξ	10.1	.66	Ξ	α
77	16.0	10.00	3.22	117	Ξ	.32	9.0	.40	17.6	θ
78	16.0	Ξ	4.37	163	7.30	.10	8.9	.09	27.1	θ
79	16.0	9.83	4.97	Ξ	11.10	Ξ	11.8	.93	Ξ	α
80	16.0	8.90	4.60	244	Ξ	Ξ	23.9	1.24	Ξ	α
81	16.0	9.05	3.10	103	Ξ	.44	6.5	.29	27.0	θ
82	16.5	9.50	2.94	215	7.00	Ξ	10.7	.38	31.8	α
83	16.5	9.53	4.51	196	11.10	.63	9.0	.06	19.3	α
84	16.5	9.40	3.43	93	Ξ	.65	6.1	.30	22.4	α
85	16.5	Ξ	3.45	132	5.70	.10	7.0	.26	21.5	θ
86	16.5	10.20	4.07	Ξ	5.80	.32	19.9	1.02	21.0	θ
87	16.5	10.64	3.40	126	6.60	Ξ	28.3	2.64	16.3	θ
88	16.5	9.11	3.40	69	7.80	.54	7.3	.23	28.2	θ
89	16.5	9.18	2.98	104	Ξ	.38	9.9	.42	21.4	θ
90	16.5	9.30	3.22	146	Ξ	.10	5.2	.10	31.5	α
91	17.0	10.20	4.14	80	4.20	Ξ	18.8	Ξ	22.8	θ
92	17.0	10.30	4.94	254	8.80	Ξ	18.8	Ξ	Ξ	α
93	17.0	10.70	3.98	108	Ξ	.62	20.8	1.03	20.0	θ
94	17.0	8.84	3.72	97	Ξ	.78	6.7	.37	Ξ	θ
95	17.0	9.72	5.14	336	Ξ	.82	16.1	.96	41.0	α
96	17.0	10.60	4.38	139	Ξ	.60	10.2	.63	16.4	α
97	17.0	9.29	3.10	70	Ξ	.53	9.7	.65	21.0	θ
98	17.0	9.20	2.94	193	Ξ	.64	20.1	.76	34.4	α
99	17.0	10.20	4.42	95	5.70	Ξ	20.0	1.12	27.4	θ
100	17.0	9.74	3.49	135	Ξ	.54	9.4	.45	29.5	α
101	17.0	10.30	4.64	131	7.20	.71	9.9	.43	35.5	θ
102	17.5	9.90	3.70	306	6.80	.47	11.6	.52	13.0	α
103	17.5	10.10	4.17	119	6.30	.10	9.5	.17	28.4	θ
104	17.5	10.10	3.95	110	Ξ	Ξ	8.3	.20	16.7	θ
105	17.5	8.90	3.61	135	8.40	Ξ	4.1	.15	22.3	α
106	17.5	9.51	3.24	91	Ξ	.48	17.4	1.30	24.7	α
107	17.5	10.40	3.48	106	6.50	Ξ	20.4	.90	29.3	θ
108	17.5	Ξ	4.39	Ξ	5.70	Ξ	Ξ	Ξ	18.9	θ
109	17.5	10.15	3.87	108	6.60	.46	7.5	.29	32.2	α
110	18.0	10.47	3.51	126	6.60	Ξ	27.1	2.68	25.2	α
111	18.0	10.04	3.15	84	5.40	.60	12.7	.94	28.7	θ
112	18.0	9.47	4.17	136	4.80	.70	9.4	Ξ	28.8	θ
113	18.0	10.15	4.31	87	4.70	Ξ	11.8	.89	9.1	θ
114	18.0	Ξ	3.40	115	2.90	.35	10.8	.85	30.3	θ
115	18.0	9.71	3.12	116	Ξ	.60	16.8	.69	13.6	θ



Περιπτώσεις παιδιών ηλικίας 3-10 ετών - Θερινή περίοδος

	Ηλικία Έτη	Se Ca	Se Pi	AIP	Ost/cin	C-PTH	250HD	24,25D	1,25D	φύλο
116	3.0	10.50	Ξ	265	9.40	Ξ	31.5	3.74	Ξ	α
117	3.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	44.5	.60	33.2	α
118	3.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	40.1	2.58	20.1	α
119	4.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	33.0	1.60	31.6	θ
120	4.0	9.11	3.54	150	4.70	Ξ	51.5	Ξ	Ξ	α
121	4.0	9.49	5.66	213	Ξ	Ξ	39.8	2.17	10.0	α
122	4.0	Ξ	Ξ	Ξ	8.50	Ξ	22.2	1.50	34.8	α
123	4.0	9.82	2.80	124	Ξ	Ξ	29.0	2.86	32.9	θ
124	4.5	Ξ	3.83	188	15.70	Ξ	27.8	Ξ	21.6	α
125	5.0	Ξ	3.84	Ξ	11.40	Ξ	57.0	Ξ	42.2	θ
126	5.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	38.4	Ξ	20.0	θ
127	5.0	9.71	Ξ	289	6.70	Ξ	30.0	Ξ	Ξ	α
128	5.0	Ξ	Ξ	151	2.50	Ξ	34.5	Ξ	18.4	θ
129	6.0	10.18	4.76	231	Ξ	Ξ	27.0	1.49	28.6	θ
130	6.0	9.30	4.74	126	20.00	.38	16.9	.81	37.3	α
131	7.0	9.15	Ξ	151	11.00	Ξ	24.1	1.77	46.2	α
132	8.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	28.4	2.61	50.1	θ
133	8.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	39.6	3.63	16.4	θ
134	8.0	8.72	4.66	Ξ	Ξ	Ξ	17.7	1.68	28.4	α
135	8.0	9.68	Ξ	264	13.80	Ξ	23.2	3.56	14.0	α
136	8.0	Ξ	Ξ	373	15.40	Ξ	22.5	1.20	33.2	α
137	8.0	Ξ	4.86	265	6.40	Ξ	29.6	3.23	14.7	α
138	8.0	9.67	4.05	261	8.10	Ξ	23.0	3.11	19.0	α
139	8.0	Ξ	Ξ	Ξ	11.20	Ξ	29.7	2.11	20.0	α
140	9.0	Ξ	3.27	Ξ	11.50	Ξ	38.2	1.70	16.2	θ
141	9.0	8.57	3.46	Ξ	Ξ	.87	21.3	1.16	19.9	θ
142	9.0	Ξ	4.76	65	4.90	.35	15.4	.65	23.5	θ
143	10.0	8.82	5.43	244	16.80	.79	Ξ	Ξ	14.3	α
144	10.0	9.87	3.71	98	5.50	.59	13.5	3.67	17.8	θ
145	10.0	8.83	4.22	130	8.00	.80	31.4	2.96	25.1	α
146	10.0	8.52	3.80	117	8.50	.79	14.4	2.28	39.2	θ
147	10.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	30.3	1.92	26.7	θ
148	10.0	9.16	3.85	194	10.00	.62	26.5	1.73	28.0	α



Περιπτώσεις παιδιών ηλικίας 11-14 ετών - Θερινή περίοδος

	Ηλικία	Se Ca	Se Pi	AIP	Ost/cin	C-PTH	250HD	24,25D	1,25D	φύλο
	Έτη									
149	11.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	33.7	2.40	31.8	α
150	11.0	8.77	3.88	342	Ξ	Ξ	25.0	1.22	18.9	α
151	11.0	9.61	4.20	437	8.80	Ξ	22.2	1.91	Ξ	α
152	11.0	Ξ	3.75	Ξ	13.60	Ξ	21.5	1.60	Ξ	θ
153	11.0	Ξ	Ξ	205	Ξ	Ξ	11.7	.27	24.3	α
154	11.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	1.86	24.1	θ
155	12.0	9.56	4.20	293	9.60	.85	22.0	1.70	42.4	θ
156	12.0	9.57	4.50	258	22.00	.50	32.1	1.93	39.6	θ
157	12.0	10.56	4.99	455	18.40	.80	26.9	1.22	53.6	α
158	12.0	9.14	3.47	239	Ξ	Ξ	29.1	3.65	13.0	α
159	12.0	9.70	4.33	515	8.50	1.08	34.4	1.95	25.0	θ
160	12.0	10.50	Ξ	Ξ	6.00	Ξ	17.5	1.40	37.2	α
161	12.0	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	27.6	1.95	Ξ	α
162	12.0	8.85	Ξ	320	13.00	1.39	28.8	1.31	31.0	α
163	12.0	9.13	3.56	256	20.50	Ξ	22.4	2.40	Ξ	α
164	12.0	Ξ	Ξ	243	Ξ	Ξ	18.7	Ξ	Ξ	α
165	12.0	9.10	4.90	73	18.20	.52	26.5	.87	45.8	θ
166	12.0	Ξ	Ξ	Ξ	9.10	Ξ	42.7	2.40	51.5	θ
167	12.0	9.02	4.44	78	9.50	1.80	23.5	Ξ	13.2	α
168	13.0	8.53	4.05	150	18.00	Ξ	Ξ	Ξ	Ξ	α
169	13.0	8.54	5.75	622	9.50	Ξ	22.1	3.43	Ξ	α
170	13.0	9.13	Ξ	342	21.50	.23	28.0	1.74	Ξ	θ
171	13.0	10.41	3.07	167	11.20	.25	27.6	2.40	Ξ	α
172	13.0	9.28	3.56	201	10.00	.29	47.3	2.82	36.6	θ
173	13.0	Ξ	4.01	Ξ	11.80	Ξ	32.9	Ξ	36.9	α
174	14.0	9.68	6.00	100	2.60	Ξ	24.8	1.26	Ξ	θ
175	14.0	Ξ	6.00	191	6.60	.56	22.3	.55	26.3	α
176	14.0	9.83	3.41	200	18.20	.84	20.8	1.22	Ξ	θ
177	14.0	9.21	4.78	119	Ξ	Ξ	25.5	1.37	Ξ	θ
178	14.0	9.95	4.50	385	7.00	Ξ	Ξ	1.03	Ξ	α
179	14.5	9.73	5.50	519	Ξ	1.06	34.8	4.48	29.1	α



Περιπτώσεις παιδιών ηλικίας 15-18 ετών - Θερινή περίοδος

	Ηλικία Έτη	Se Ca	Se Pi	AIP	Ost/cin	C-PTH	250HD	24,25D	1,25D	φύλο
180	15.0	9.67	4.51	137	5.20	.65	36.3	2.87	33.0	θ
181	15.0	9.10	5.10	444	9.50	.51	34.0	4.55	23.6	α
182	15.0	8.92	4.60	161	4.10	Ξ	31.3	2.09	Ξ	α
183	15.0	9.80	5.10	177	5.00	.80	13.7	1.53	15.0	θ
184	15.0	9.00	4.30	480	8.10	Ξ	23.2	Ξ	Ξ	α
185	15.5	9.69	4.22	161	7.20	.10	29.0	Ξ	Ξ	θ
186	15.5	9.70	4.62	339	8.00	Ξ	17.6	1.68	Ξ	α
187	15.5	9.77	4.64	97	Ξ	.37	33.8	1.52	28.1	θ
188	15.5	9.55	3.52	124	5.60	.70	19.0	.96	27.1	θ
189	16.0	Ξ	5.30	239	9.00	.49	30.9	2.14	Ξ	α
190	16.0	9.14	3.81	107	5.00	.74	30.6	3.09	23.1	α
191	16.0	10.25	4.73	154	6.70	.38	31.8	3.15	27.4	θ
192	16.0	10.23	4.20	276	7.20	Ξ	37.5	4.90	Ξ	α
193	16.0	9.48	4.20	83	3.30	.43	Ξ	1.23	20.1	θ
194	16.0	9.96	3.50	88	6.20	.59	21.9	1.26	33.9	θ
195	16.0	10.26	3.78	126	5.10	Ξ	28.6	Ξ	24.9	θ
196	16.0	8.72	4.60	166	2.00	Ξ	18.9	1.22	Ξ	θ
197	16.0	9.36	4.55	151	6.40	.30	27.5	4.47	26.4	α
198	16.5	Ξ	3.68	108	Ξ	.55	18.4	1.40	11.7	α
199	16.5	10.20	4.40	177	6.60	.84	28.4	1.20	Ξ	θ
200	16.5	9.19	5.30	294	6.60	Ξ	27.0	Ξ	Ξ	α
201	16.5	9.72	4.80	70	2.70	.67	29.4	2.72	Ξ	θ
202	16.5	9.73	4.00	136	10.50	Ξ	14.0	1.39	13.0	α
203	16.5	9.81	4.54	111	4.90	.58	23.7	4.10	28.2	θ
204	16.5	9.75	4.77	Ξ	9.60	.96	37.7	2.03	31.2	α
205	16.5	9.78	4.26	82	5.20	.49	26.1	5.48	Ξ	θ
206	16.5	10.20	5.20	105	5.00	Ξ	24.0	2.21	15.6	θ
207	16.5	9.04	3.70	107	Ξ	Ξ	43.0	1.45	Ξ	θ
208	16.5	9.99	3.58	229	8.90	Ξ	42.9	3.72	38.3	α
209	17.0	8.92	3.40	294	8.10	.45	18.1	2.06	15.0	α
210	17.0	9.61	4.20	162	6.60	.60	20.6	1.16	Ξ	α
211	17.0	9.69	4.50	88	4.80	Ξ	21.9	1.36	Ξ	θ
212	17.0	9.47	4.43	133	4.40	.63	20.1	1.29	21.3	θ
213	17.0	9.79	4.50	110	5.50	Ξ	Ξ	1.97	Ξ	θ
214	17.0	9.38	4.32	179	7.70	.75	18.5	1.80	18.5	α
215	17.0	9.89	3.52	121	4.80	.44	42.2	5.17	24.2	α
216	17.5	9.78	4.36	133	5.40	.64	33.5	1.23	Ξ	θ
217	17.5	9.85	4.20	89	4.80	.49	28.9	4.04	17.5	θ
218	17.5	9.12	4.75	66	1.50	.71	35.5	2.73	30.9	θ
219	17.5	9.58	3.60	92	4.00	Ξ	32.7	2.86	24.8	α
220	17.5	9.01	3.45	77	2.00	.49	23.5	1.80	Ξ	θ
221	17.5	9.65	4.10	114	3.10	Ξ	17.3	2.60	13.0	θ



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελετήθηκε ο οστικός μεταβολισμός σε παιδιά ηλικίας 3-18 ετών με σκοπό τον έλεγχο τυχόν ανεπάρκειας βιταμίνης D, την κλινική αξιολόγηση των συμπερασμάτων που προέκυψαν και τη συσχέτιση του οστικού μεταβολισμού με το φύλο, την ηλικία και την εποχή του έτους. Επειδή οι περιπτώσεις των παιδιών που εξετάστηκαν δεν παρουσίαζαν κλινικά μεταβολικά νοσήματα των οστών, οι ανευρεθείσες τιμές μπορούν να θεωρηθούν ως δείκτες αναφοράς για τα Ελληνόπουλα.

Μελετήθηκαν συνολικά 224 περιπτώσεις παιδιών. Από αυτά, τα 78 ήταν ηλικίας 3-10 ετών, τα 54 ηλικίας 11-14 ετών και 92 παιδιά είχαν ηλικία 15-18 ετών. Οι παράμετροι του οστικού μεταβολισμού που μελετήθηκαν στον ορό των παραπάνω παιδιών ήταν οι εξής: 25-υδροξύ-βιταμίνη D [25(OH)D], 24,25-διυδροξύ-βιταμίνη D [24,25(OH)₂D], 1,25-διυδροξύ-βιταμίνη D [1,25(OH)₂D], ασβέστιο (Ca), φωσφόρος (P), αλκαλική φωσφατάση (ALP), οστεοκαλσίνη (BGP) και παραθορμόνη (PTH). Οι παραπάνω παράμετροι μετρήθηκαν χειμώνα και καλοκαίρι.

Ο μέσος όρος της ηλικίας και στις τρεις ομάδες παιδιών δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ χειμώνα και καλοκαιριού. Αναλυτικά, για τα παιδιά 3-10 χρόνων, ο μέσος όρος ηλικίας ήταν 7,3±0,4 χρόνια το χειμώνα και 6,8±0,4 το καλοκαίρι. Για τα παιδιά 11-14 ετών οι αντίστοιχες τιμές ήταν 12,4±0,2 το χειμώνα και 12,3±0,2 το καλοκαίρι, ενώ τέλος στην ομάδα παιδιών 15-18 ετών οι τιμές ήταν 16,7±0,1 και 16,3±0,9 αντίστοιχα το χειμώνα και το καλοκαίρι.

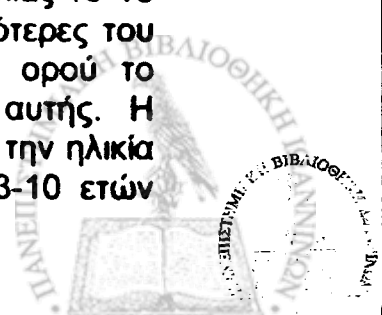
Συνολικά και στις τρεις ομάδες παιδιών οι τιμές της 25(OH)D στον ορό βρέθηκαν χαμηλότερες κατά τη χειμερινή περίοδο (19,4±2,1ng/ml) και ψηλότερες κατά τη θερινή (26,5±2,4ng/ml) (p<0,05). Αυτή η διαφορά ήταν ακόμα πιο έκδηλη στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών με τιμές 12,7±0,9ng/ml το χειμώνα και 27,7±1,3ng/ml το καλοκαίρι (p<0,001).

Ο μεταβολίτης 24,25(OH)₂D ακολούθησε και αυτός την εποχιακή διακύμανση της 25(OH)D σε όλες τις ομάδες παιδιών με χαμηλότερες τιμές τη χειμερινή και ψηλότερες τη θερινή περίοδο. Στο σύνολο των παιδιών οι τιμές του μεταβολίτη αυτού ήταν 1,60±0,21ng/ml το χειμώνα και 2,39±0,35ng/ml το καλοκαίρι.

Αντίθετα οι τιμές της 1,25(OH)₂D δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντική εποχιακή διακύμανση σε καμία από τις τρεις ομάδες, αλλά ούτε και στο σύνολο των παιδιών που μελετήθηκαν.

Οι τιμές του ασβεστίου στον ορό κυμάνθηκαν μέσα στα φυσιολογικά επίπεδα (από 9,1±0,3mg/dl μέχρι 9,7±0,1 mg/dl) χειμώνα και καλοκαίρι και στις τρεις ομάδες παιδιών που μελετήθηκαν.

Όσο για τις τιμές του φωσφόρου, αυτές βρέθηκαν μέσα στα φυσιολογικά όρια (από 4,3±0,2mg/dl μέχρι 4,5±0,22mg/dl) στα παιδιά ηλικίας 3-10 και 11-14 ετών τόσο το χειμώνα όσο και το καλοκαίρι. Αντίθετα στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών κατά τη χειμερινή περίοδο οι τιμές του φωσφόρου ήταν μικρότερες του 4mg/dl (3,9±0,1mg/dl). Οι χαμηλές αυτές τιμές του φωσφόρου ορού το χειμώνα ήταν ακόμα πιο έκδηλες στα κορίτσια της ομάδας αυτής. Η συγκέντρωση του φωσφόρου στον ορό βρέθηκε να συσχετίζεται με την ηλικία των παιδιών και εμφάνισε την ψηλότερή του τιμή στην ομάδα 3-10 ετών



($4,5 \pm 0,2$ mg/dl) και τη χαμηλότερη στην ομάδα παιδιών ηλικίας 15-18 ετών ($3,9 \pm 0,1$ mg/dl).

Η αλκαλική φωσφατάση εμφάνισε τις ψηλότερες της τιμές στην ομάδα παιδιών ηλικίας 11-14 ετών (240 ± 37 u/l το χειμώνα και 264 ± 30 u/l το καλοκαίρι). Τα παιδιά ηλικίας 3-10 ετών είχαν πιο χαμηλές τιμές αλκαλικής φωσφατάσης (203 ± 10 u/l) ενώ ακόμα χαμηλότερες τιμές βρέθηκαν στα παιδιά 15-18 ετών (156 ± 15 u/l). Κατά συνέπεια, σε παιδιά ηλικίας 11-14 ετών, η αυξημένη αλκαλική φωσφατάση δεν πρέπει να θεωρείται ως δείκτης ραχιτισμού, με την προϋπόθεση ότι οι άλλοι βιοχημικοί παράμετροι του οστικού μεταβολισμού είναι εντός των φυσιολογικών ορίων. Μελετώντας τις τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης και στις τρεις ομάδες (παιδιά 3-18 χρόνων) παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ των τιμών της και της ηλικίας των παιδιών. Υπάρχει πάντως έκδηλη αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης στην ηλικία 11-14 ετών, καθώς και σαφής μείωσή της μετά την ηλικία των 15 ετών. Τις χαμηλότερες τιμές οστεοκαλσίνης εμφάνισαν τα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων ($5,9$ ως 7 ng/ml). Αντίθετα η οστεοκαλσίνη των παιδιών των δύο άλλων ομάδων (3-10 και 11-14 ετών) ήταν σαφώς ψηλότερη ($7,5$ ως $12,7$ ng/ml). Στο σύνολο των παιδιών, η μεγαλύτερη τιμή οστεοκαλσίνης εμφανίστηκε στην ομάδα ηλικίας 11-14 χρόνων κατά τη θερινή περίοδο ($12,7 \pm 1,2$ ng/ml). Οι ψηλότερες τιμές οστεοκαλσίνης και αλκαλικής φωσφατάσης που μετρήθηκαν στην ομάδα παιδιών 11-14 χρόνων, εξηγούνται από την έντονη οστεοβλαστική δραστηριότητα αυτής της ηλικίας (αύξηση της ταχύτητας του ύψους κατά την ήβη).

Η παραθορμόνη κυμάνθηκε από $0,4 \pm 0,06$ ως $0,8 \pm 0,14$ ng/ml και στις τρεις ηλικιακές ομάδες. Οι μικρότερες τιμές παραθορμόνης παρατηρήθηκαν στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών κατά τη χειμερινή περίοδο. Ίσως ο αυξημένος μεταβολισμός ασβεστίου στις μικρότερες ηλικίες (Ca turnover), να σχετίζεται με τις μεγαλύτερες τιμές παραθορμόνης στον ορό αυτών των παιδιών.

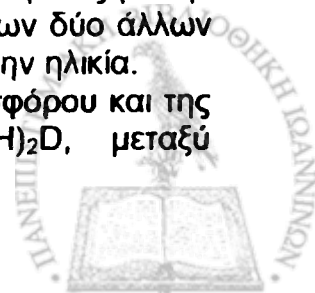
Ο φωσφόρος (P) ορού στα παιδιά ηλικίας 15-18 χρόνων, εμφάνισε χαμηλότερες τιμές το χειμώνα από ότι το καλοκαίρι. Μάλιστα, τα κορίτσια αυτής της ομάδας εμφάνισαν ακόμα χαμηλότερες τιμές από τα συνομήλικά τους αγόρια ($3,7 \pm 0,1$ vs $4,0 \pm 0,2$ mg/dl το χειμώνα και $4,3 \pm 0,1$ vs $4,3 \pm 0,1$ mg/dl το καλοκαίρι αντίστοιχα).

Παράλληλη διακύμανση εμφάνισε και η αλκαλική φωσφατάση, η οποία βρέθηκε χαμηλότερη τόσο το χειμώνα όσο και το καλοκαίρι στα κορίτσια ηλικίας 15-18 ετών (108 ± 48 και 116 ± 7 u/l αντίστοιχα) από ότι στα αγόρια της ίδιας ομάδας (212 ± 28 και 248 ± 3 u/l αντίστοιχα).

Στην ίδια ηλικιακή ομάδα (15-18 ετών), τα κορίτσια εμφάνισαν μικρότερες τιμές και στην οστεοκαλσίνη τόσο το χειμώνα όσο και το καλοκαίρι ($5,8 \pm 0,3$ και $4,6 \pm 0,3$ ng/ml αντίστοιχα) σε σχέση με τα αγόρια της ίδιας ομάδας ($8,7 \pm 0,6$ και $7,3 \pm 0,5$ ng/ml αντίστοιχα).

Η τιμή της παραθορμόνης στον ορό εμφάνισε αρνητική γραμμική συσχέτιση με την ηλικία. Στην ηλικία των 11-14 χρόνων βρέθηκε μια τάση αύξησης των τιμών της, που συμπίπτει με την αυξημένη συγκέντρωση και των δύο άλλων παραμέτρων του μεταβολισμού των οστών (αλκαλικής φωσφατάσης και οστεοκαλσίνης). Οι τιμές της 25(OH)D βρέθηκε ότι βαίνουν μειούμενες με την αύξηση της ηλικίας, ενώ δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση των δύο άλλων μεταβολιτών της βιταμίνης D [$24,25(\text{OH})_2\text{D}$ και $1,25(\text{OH})_2\text{D}$] με την ηλικία.

Γραμμική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ των τιμών του φωσφόρου και της 25(OH)D, μεταξύ της οστεοκαλσίνης και της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, μεταξύ



οστεοκαλσίνης και αλκαλικής φωσφατάσης και τέλος μεταξύ 25(OH)D και 24,25(OH)₂D. Συνεπώς όταν αυξάνει η οστεοβλαστική δραστηριότητα (οστεοκαλσίνη), είναι αυξημένες και οι ανάγκες σε 1,25(OH)₂D.

Η χορήγηση βιταμίνης D, δηλαδή 25(OH)D, προκάλεσε αύξηση της 24,25(OH)₂D, που θεωρείται ότι είναι ο μεταβολίτης των οστών. Συνολικά βιταμίνη D χορηγήθηκε σε 31 παιδιά κατά τη διάρκεια του σχολικού έτους (από το Φεβρουάριο μέχρι το Μάιο). Τα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών σταμάτησαν αυτόβουλα τη λήψη της βιταμίνης D περίπου δύο μήνες προ του προγραμματισμένου ελέγχου. Επομένως, τα ευρήματα των μετρήσεων μετά τη χορήγηση βιταμίνης D, δεν μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστα.

Εποχιακή διακύμανση εμφάνισε η 25(OH)D και στις τρεις ηλικιακές ομάδες, με στατιστικά σημαντικά ψηλότερες τιμές το καλοκαίρι σε σχέση με τον χειμώνα. Από τις ανευρεθείσες τιμές της 25(OH)D, προκύπτει ότι τα παιδιά ηλικίας 3-14 ετών δεν χρειάζονται πρόσθετη λήψη βιταμίνης D την χειμερινή περίοδο. Αντίθετα, στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών παρατηρήθηκε ανεπάρκεια βιταμίνης D τον χειμώνα και ίσως ενδείκνυται ο προφυλακτικός εμπλουτισμός των τροφών τους με βιταμίνη D (400-500 μονάδες ημερησίως).

Ο μεταβολίτης 24,25(OH)₂D ακολουθεί την εποχιακή διακύμανση της 25(OH)D, ενώ αντίθετα οι τιμές της 1,25(OH)₂D βρέθηκαν να είναι ανεξάρτητες από την εποχή και την έκθεση στον ήλιο.

Οι τιμές του φωσφόρου εμφάνισαν εποχιακή διακύμανση μόνο στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών και η διακύμανση αυτή ήταν πιο έντονη στα κορίτσια. Ο φωσφόρος στον ορό εμφάνισε τις μεγαλύτερες τιμές του στα παιδιά 3-10 χρόνων ενώ οι μικρότερες ήταν αυτές στα παιδιά 15-18 χρόνων.

Οι τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης δεν παρουσίασαν εποχιακή διακύμανση και ήταν ψηλότερες στα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών. Επομένως αύξηση των τιμών της αλκαλικής φωσφατάσης, σε παιδιά αυτής της ηλικίας, χωρίς να συνοδεύεται από άλλες βιοχημικές διαταραχές, δεν πρέπει να θεωρείται ως ένδειξη βιοχημικού ραχιτισμού. Δεν υπάρχουν στοιχεία στην ελληνική βιβλιογραφία σχετικά με τις διακυμάνσεις της αλκαλικής φωσφατάσης ανάλογα με την ηλικία, το φύλο και την εποχή. Το στοιχείο λοιπόν αυτό μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο βοήθημα για τους γιατρούς όλων των ειδικοτήτων, προκειμένου να αποφευχθούν διαγνωστικά προβλήματα στα Ελληνόπουλα της ηλικίας αυτής.

Υπάρχουν ελάχιστες αναφορές (δύο) στην διεθνή και καμία στην ελληνική βιβλιογραφία όσον αφορά τις φυσιολογικές τιμές της οστεοκαλσίνης σε παιδιά του φάσματος ηλικιών που μελετήθηκε. Η οστεοκαλσίνη στην παρούσα μελέτη εμφάνισε τις ψηλότερες τιμές της στα παιδιά ηλικίας 11-14 ετών και τις χαμηλότερες στα παιδιά ηλικίας 15-18 ετών. Παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ των τιμών της οστεοκαλσίνης και της αλκαλικής φωσφατάσης. Συγκεκριμένα βρέθηκε πως η τιμή της οστεοκαλσίνης μειώνεται με την ηλικία, εμφανίζει όμως τις ψηλότερες τιμές της στα παιδιά ηλικίας 11-14 χρόνων, όπως ακριβώς συμβαίνει και με την αλκαλική φωσφατάση. Η οστεοκαλσίνη λοιπόν είναι μια άλλη παράμετρος του μεταβολισμού των οστών και ιδιαίτερα του οστεοβλάστη, που μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο βοήθημα, ώστε να αποφευχθούν διαγνωστικές συγχύσεις σε παιδιά ηλικίας 3-18 ετών.

Τέλος, παρατηρήθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ των τιμών της παραθορμόνης και της ηλικίας. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στην μικρότερη οστεοβλαστική δραστηριότητα με την αύξηση της ηλικίας.



ABSTRACT

This was a study of the bone metabolism in 179 children aged 3-18 years. The purpose of this research was to identify any vitamin D deficiency in these clinically healthy children, and to find out if there is any correlation between bone metabolism and age, sex and season of the year.

The 179 children that were studied did not have any clinical symptoms of bone diseases, and therefore the bone parameters measured can be considered as a reference index for the Greek children of that age. These children were divided in three groups according to their age: the first group included children aged 3-10 years (n=78), the second group consisted of children 11-14 years old (n=54) and the third group consisted of children 15-18 years old (n=92).

The bone parameters that were measured in the serum of the above children were the following: 25(OH)D, 24,25(OH)₂D, 1,25(OH)₂D, calcium (Ca), phosphorus (P), alkaline phosphatase (SAP), osteocalcin and parathyroid hormone (c-PTH). All these parameters were measured twice per year: winter and summer.

There was no significant difference between the mean age of the children studied in the winter and those in the summer. Thus, for children aged 3-10 years, the mean age was 7,3±0,4 years in winter and 6,8±0,4 years in the summer. The group of children 11-14 years old, had a mean age 12,4±0,2 years in the winter and 12,3±0,2 years at summer, and that of 15-18 years old, had a mean age 16,7±0,9 and 16,3±0,9 years respectively.

In all three groups of children the serum values of 25(OH)D were found to be lower during winter (19,4±2,1ng/ml) and higher in summer (26,5±2,4ng/ml) (p<0,05). This difference was more obvious in children aged 15-18 years and the values were 12,7±0,9 and 27,7±1,3 ng/ml respectively (p<0,001).

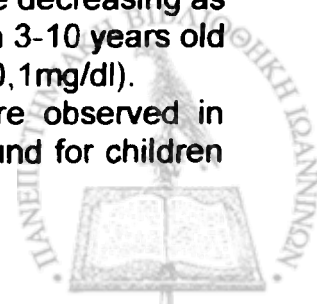
The serum values of 24,25(OH)₂D in all groups followed the seasonal variations of 25(OH)D and so they were lower in winter and higher in summer (1,6±0,21ng/ml and 2,39±0,35ng/ml respectively).

On the contrary, no difference was observed in the serum values of 1,25(OH)₂D in all groups between the two different seasons.

Serum calcium values were within normal limits in all groups in both seasons and they varied between 9,1±0,3 to 9,7±0,1mg/dl.

The children aged 3-10 and 11-14 years, had serum phosphorus levels within normal limits in both seasons (4,3±0,2 until 4,5±0,22mg/dl). On the other hand, for children 15-18 years old, the serum values of P were found below 4mg/dl during winter (3,9±0,1mg/dl). The above-mentioned decrease in winter was even more obvious in the girls of that age group (15-18 years old) in comparison to the boys of the same age (3,7±0,1 vs 4,0±0,2mg/dl respectively). In both sexes the values of serum P in summer time were within normal limits (4,3±0,1mg/dl for girls and 4,3±0,1 mg/dl for boys). Phosphorus levels were found to depend on age and in particular they were decreasing as the age increased, so the higher values were found for children 3-10 years old (4,5±0,2mg/dl) and the lower in children 15-18 years old (3,9±0,1mg/dl).

The lower levels of serum alkaline phosphatase (SAP) were observed in children aged 15-18 years (156±15u/l), higher levels were found for children



3-10 years old ($203 \pm 10 \text{ u/l}$) and the highest levels of SAP were observed in children 11-14 years old, both in winter and summer ($240 \pm 37 \text{ u/l}$ and $264 \pm 30 \text{ u/l}$ respectively). So, in children 11-14 years old, increased values of SAP should not be considered as rickets since the other biochemical parameters of bone metabolism were within normal limits. A negative correlation was found between SAP and age, since SAP levels were higher in children 3-10 and 11-14 years old and lower in children 15-18 years old.

Osteocalcin values were lower in children 15-18 years old ($7 \pm 0.4 \text{ ng/ml}$ and $5.9 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ in winter and summer respectively) and higher for children 3-10 years old (7.5 ± 0.7 and $10.3 \pm 1 \text{ ng/ml}$ in winter and summer respectively) and even higher for children aged 11-14 years old ($9.4 \pm 1.2 \text{ ng/ml}$ and $12.7 \pm 1.2 \text{ ng/ml}$ respectively in winter and summer). Both osteocalcin and SAP levels were higher for children aged 11-14 years. This fact could be due to the increased osteoblastic activity in that age.

Parathormone (C-PTH) levels were found within normal limits in all groups of children (between $0.4 \pm 0.06 \text{ ng/ml}$ and $0.8 \pm 0.14 \text{ ng/ml}$). The lowest values of C-PTH were observed in children 15-18 years old during winter ($0.4 \pm 0.06 \text{ ng/ml}$). The increased metabolism of calcium turnover in younger children (3-14 years old) might be the cause of higher values of C-PTH at these children.

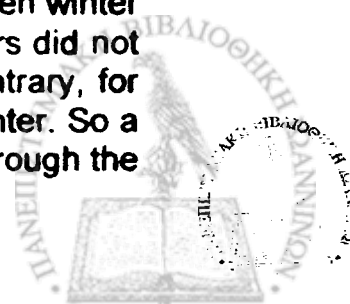
As mentioned above, serum phosphorus levels for children aged 15-18 years were lower in winter than in summer. In fact, the girls of this group had lower P levels than the boys of the same age ($3.7 \pm 0.1 \text{ mg/dl}$ vs $4.0 \pm 0.2 \text{ mg/dl}$ respectively in winter and $4.3 \pm 0.1 \text{ mg/dl}$ vs $4.3 \pm 0.1 \text{ mg/dl}$ respectively in summer). Similar variations were observed in the values of SAP of the same group (15-18 years old) at both seasons ($108 \pm 48 \text{ u/l}$ for girls vs $212 \pm 28 \text{ u/l}$ for boys in winter and $116 \pm 7 \text{ u/l}$ vs $248 \pm 3 \text{ u/l}$ respectively in summer). Exactly the same kind of variations were found in serum osteocalcin levels with lower values in girls ($4.6 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$ and $5.8 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$) in comparison to boys ($7.3 \pm 0.5 \text{ ng/ml}$ and $8.7 \pm 0.6 \text{ ng/ml}$ in summer and winter respectively)

A negative correlation was found between C-PTH levels and age of the children. In the group of 11-14 years old, a small increase of C-PTH levels was observed. Exactly the same trend was also observed for SAP and osteocalcin levels. A negative correlation was also found between age and serum 25(OH)D levels, but it was not noticed between age and the other two metabolites of vitamin D [$24,25(\text{OH})_2\text{D}$ and $1,25(\text{OH})_2\text{D}$].

A positive linear correlation was observed between serum P and 25(OH)D, osteocalcin and $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, SAP and osteocalcin and between 25(OH)D and $24,25(\text{OH})_2\text{D}$. So when osteoblastic activity increases (osteocalcin) $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ levels increase also.

In 31 children aged 15-18 years, vitamin D was given during winter (February until May), but these children stopped the vitamin D supplement by themselves at least two months before the date of the scheduled check-up, so the measured values cannot be considered reliable. Despite this fact, the administration of vitamin D increased the levels of $24,25(\text{OH})_2\text{D}$, since the latter is considered as the bone metabolite of vitamin D.

In conclusion, a seasonal variation of 25(OH)D was observed between winter and summer in all three groups of children. Children aged 3-14 years did not seem to need vitamin D supplementation during winter. On the contrary, for children 15-18 years old, a vitamin D deficiency was observed in winter. So a vitamin D supplement (400-500 units daily) is probably necessary through the



foods or milk during winter. $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ followed the seasonal variations of $25(\text{OH})\text{D}$ but this did not occur with $1,25(\text{OH})_2\text{D}$.

Serum P levels were higher in children 3-10 years old, and the lowest values of P were found in children 15-18 years old and in particular in the girls of that age.

A positive linear correlation was found between SAP and osteocalcin overall. The values of serum osteocalcin were reduced as the age increased, although the higher levels of osteocalcin were observed in children 11-14 years old.

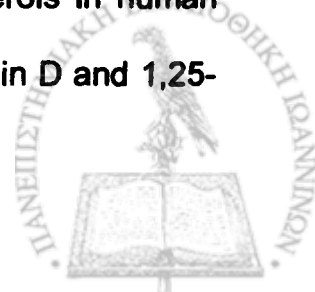
A negative correlation was noticed between C-PTH and age. This finding might be due to the decrease of osteoblastic activity as the children grow up.

A seasonal variation was not observed in SAP levels. On the other hand children aged 11-14 years had higher values of SAP. Therefore, an increase of SAP in children of that age, without any other clinical or biochemical abnormal findings, should not be considered as an indication sign of bone disease. No Greek publications were found concerning SAP and its relation to age, sex and season. The above finding concerning SAP could probably be helpful to physicians in order not to be misled and make the right diagnosis when dealing with patients of that age.

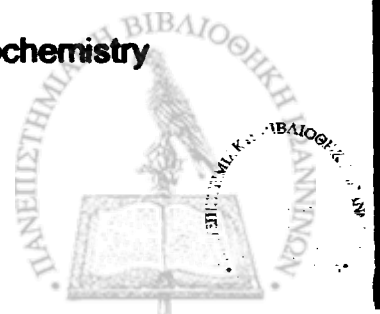
Serum osteocalcin values were higher in children 11-14 years old, and lower in the older children. Only a few data was found in the literature, and none of them was Greek, concerning the levels of osteocalcin in clinically healthy children.



1. DeLuca HF (1984): The metabolism, physiology and function of vitamin D.
In: Kumar R (ed): Vitamin D. Basic and Clinical Aspects. Boston, Martinus Nijhoff, pp 1-68.
2. Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT Jr, Anderson RR, Blank JH, Parrish JA and Elias P (1980): Photosynthesis of previtamin D₃ in human skin and the physiologic consequences. Science 210:203-5.
3. Specker BL and Tsang RC (1986): Vitamin D in infancy and childhood : Factors determining vitamin status. Adv Pediatr 33:1-22.
4. Flodin NW (1988): Vitamin D. In: Pharmacology of Micronutrients. Eds: Albanese AA, Kutchevsky D. Current topics in nutrition and disease, Vol. 20. Alan R. Liss Inc., New York, pp 31.
5. Haddad JC Jr and Walgate J (1976): Radioimmunoassay of the binding protein for vitamin D and its metabolites in human serum concentrations in normal subjects and patients with disorders of mineral homeostasis. J Clin Invest 38:1217-22.
6. Inawari M, Kida K and Goodman DS (1976): The transport of Vitamin D and its 25-hydroxymetabolite in human plasma. Isolation and partial characterization of Vitamin D and 25-hydroxyvitamin D binding protein. J Clin Invest 58:514-23.
7. Cooke NE and Haddad JC (1989): Vitamin D binding protein (Gc Globulin). Endocrin Rev. 10:294-301.
8. Silver J and Fainary M (1979): Transport of vitamin D sterols in human plasma: effect of excess vitamin D, 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D. Eur J Clin Invest 9:433-8.



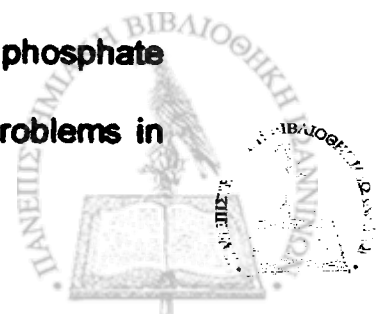
9. Hollis BW, Lambert PW and Horst RK (1983): Factors affecting the antirachitic sterol content of native milk. In: Perinatal Calcium and Phosphorus Metabolism, Holick MF, Gray TK, Anast CS (eds). Amsterdam, Elsevier, pp 157-82.
10. Hollis BW, Pittard III WB and Reinhard TA (1986): Relationship among vitamin D, 25-hydroxyvitamin D, and vitamin D-binding protein concentrations in the plasma and milk of human subjects. *J Clin Endocrin Metab* 62:41-4.
11. Lawson E (1985): Vitamin D. In: *Fat Soluble Vitamins. Their Biochemistry and Applications*. Diplock AE (ed). London, Heineman, pp 76-163.
12. Reddy GS and Tsang RC (1983): Vitamin physiology during the perinatal period. In: *Perinatal Medicine*. Boyd R, Battaglia FC (eds), London, Butterworths, pp 201-224.
13. Nicholson TF and Shepherd GW (1959): The effect of damage to various parts of the renal tube on the excretion of phosphate by dog's kidney. *Can J Biochem Physiol* 37:113-20.
14. DeLuca HF and Schnoes HK (1976): Metabolism and mechanism of action of vitamin D. *Ann Rev Biochem* 45:631-66.
15. Bhattacharya MH and DeLuca HF (1973): The regulation of rat liver calciferol 25-hydroxylase. *J Biol Chem* 248:2989-93.
16. Henry HL and Norman AW (1984): Vitamin D: Metabolism and biological actions. *Ann Rev Nutr* 4:493-520.
17. Kruston JC and DeLuca HF (1974): 25-hydroxyvitamin D₃-24-hydroxylase. Subcellular location and properties. *Biochemistry* 13:1543-6.



18. DeLuca HF and Schnoes HK (1983): Vitamin D: Recent advances. *Ann Rev Biochem* 52:441-9.
19. Lawson DEM, Fraser DR, Morris HR and Williams DH (1971): Identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a new kidney hormone controlling calcium metabolism. *Nature* 230:228-30.
20. Brunette MG, Chan M, Ferriere C and Roberts KD (1978): Site of 1,25(OH)₂ vitamin D₃-synthesis in the kidney. *Nature* 276:287-9.
21. Esvelt RP, DeLuca HF, Wichman JK, Yoshizawa S, Zurcher J, Sar M and Stumpf WE (1980): 1,25-dihydroxyvitamin D₃ stimulated increase of 7,8-didehydrocholesterol levels in rat skin. *Biochemistry* 19:6158-61.
22. Manolagas SC, Hustmyer FG and Yu X-P (1989): 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and the immune system. *Proc Soc Exp Biol Med* 191:238-45.
23. Bouillon R and van Baelen H (1989): The biological roles of vitamin D. *Scand Med J* 10:260-6.
24. Rosenstreich SJ, Rich C and Volwiler W (1971): Deposition in and release of vitamin D₃ from body fat: evidence for a storage site in the rat. *J Clin Invest* 50:679-87.
25. Mawer EB, Backhouse J, Halman CA, Lumb GA and Stanbury SW (1972). The distribution and storage of vitamin D and its metabolites in human tissues. *Clin Sci* 43:413-31.
26. Seeman E, Kumar R, Hunder CG, Scott M, Heath H and Riggs BL (1980): Production, degradation and circulation levels of 1,25-dihydroxyvitamin D in health and chronic glucocorticoid excess. *J Clin Invest* 66:664-9.



27. Kanis JAC (1982): Vitamin D metabolism and its clinical application. *J Bone Joint Surg* 69:542-60.
28. Fraser DR (1983): The physiological economy of vitamin D. *Lancet* i:969-72.
29. Kumar R, Weisner R, Scott M and Go VL (1982): Physiology of 24,25-dihydroxyvitamin D₃ in normal human subjects. *Am J Physiol* 243:E370-4.
30. Childs B, Contollino S and Dyke MK (1962): Observations on sex differences in human biology. *Bull Johns Hopkins Hosp* 110:134-8.
31. Childs B (1965): Genetic origin of some sex differences among human beings. *Pediatrics* 35:798-812.
32. Lapatsanis P, Deliyanni V and Doxiadis S (1968): Vitamin D deficiency rickets in Greece. *J Pediatr* 73:195-202.
33. Doxiadis S, Angelis C, Karatzas P, Vretos C and Lapatsanis P (1976): Genetic aspects of nutritional rickets. *Arch Dis Child* 51:83-90.
34. Leading Article (1976): Rickets in British children. *Brit Med J* 558-9.
35. Benson PF, Stroud EC, Mitchell JN and Nikolaides A (1963): Rickets in immigrant children in London. *Br Med J* 1:1054-7.
36. Medory H (1968): Lapses in prophylaxis: errors of omission. *J Pediatr* 73:307-8.
37. Lukaszewicz J, Prozynska K, Lorenc RS and Ludwiczka KH (1987): Hepatic microsomal enzyme induction: treatment of vitamin D poisoning in a 7-month old baby. *Brit Med J* 295:1173-6.
38. Harrison HE and Harrison HC (1979): Disorders of calcium and phosphate metabolism in childhood and adolescence. In: *Major Problems in*

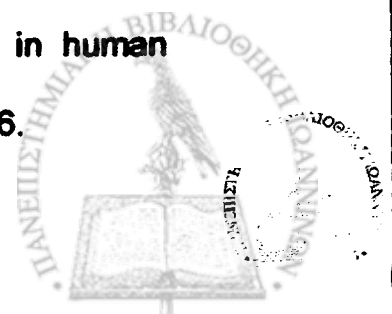


Clinical Pediatrics. Eds A.J. Schaffer and M. Markowitz, W.B. Saunders and Company, Philadelphia, pp 141-256.

39. Hughes MR, Baylink DJ and Jones PG (1976): Radio ligand receptor assay for 25-hydroxyvitamin D₂/D₃ and a-1,25-dihydroxyvitamin D₂/D₃. J Clin Invest 58:61-70.
40. Cote G, Jequier S and Kaplan P (1989): Increase renal medullary echogenity in patients with Williams syndrome. Pediatr Radiol 19:481-3.
41. Peterson CR (1980): Vitamin D poisoning: Survey of causes in 21 patients with hypercalcaemia. Lancet I:1164-5.
42. Greer FR, Hollis BW and Napoli JL (1984): High concentration of vitamin D₂ in human milk associated with pharmacologic doses of vitamin D₂. J Pediatr 105:61-4.
43. Vienth R, Pinto T, Reen B (2002): Vitamin poisoning by table sugar. Lancet 359:672.
44. Sandstrom I (1880): Glandulae parathyroideae. Uppsalalak-Fork 15: 441-4.
45. Gley E (1891): Note sur les fonctions de la glande thyroide chez le lapin et chez le chien. Compt Rend Soc Biol 43 :843-7.
46. MacCallum WG and Voegtlin C (1909): On the relation of tetany to the parathyroid glands and to calcium metabolism. J Exp Med ii:118-20.
47. Collip JB (1925): The extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the level of blood calcium. J Biol Chem 73:395-9.



48. Vasicek TJ, McDecitt BE, Freeman MW, Fernick BJ, Hendy GH, Potts JT Jr and Rich A (1983): Nucleotide sequence of the human parathyroid hormone gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 80:2127-31.
49. Ivie WM, Orwoll ES, McCollung MR, Kenny TA and Swanson JR (1986): Mid-molecular parathyroid hormone assay comparison. *Clin Biochem* 19:41-5.
50. Chan GM, Venkatamaran P and Tsang RC (1983): The physiology of calcium in the neonate. In: *Perinatal Calcium and Phosphorus Metabolism*, pp 331, Eds MF Holic, CS Anast and TK Gray, Elsevier, Amsterdam.
51. Lavender R, Aho I, Rasmussen H and Pullman T (1959): Evidence for direct renal tubular action of parathyroid extract. *J Lab Clin Med* 54:916-20.
52. Fraser DR, Kooh SW and Scriver CR (1967): Hyperparathyroidism as a cause of hyperaminoaciduria and phosphaturia in human vitamin D deficiency. *Pediatr Res* 1:425-35.
53. Elliott JR and Talmage RV (1958): Removal of Ca^{10} and Ca^{45} from bone by citrate as influenced by the parathyroids. *Endocrinology* 62:709-881.
54. Bates WK, Mc Cowen J and Talmage RV (1962): Influence of parathyroids on plasma hydroxyproline levels. *Endocrinology* 71:189-93.
55. Leroyer-Alizon E, David L, Anast CS and Dubois PM (1981): Immunocytological evidence for parathyroid hormone in human fetal parathyroid gland. *J Clin Endocrinol Metab* 52:513-6.



56. Venkataraman P, Koo W, Tsang RC (1985): Calcium and phosphorus in infant nutrition. In: Nutrition of Pediatrics, Eds. W.A. Walker and J.B.Watkins. Little, Brown and Company, Boston, pp 631-78.
57. Bainbridge R, Mughal Z, Mimouni F and Tsang RC (1987): Transient congenital hypoparathyroidism. J Pediatr 111:866-8.
58. Beresford JN, Gallagher JA, Poser JW and Russell RGG (1984): Production of osteocalcin by human bone cells in vitro. Effects of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, parathyroid hormone and glucocorticoids. Metab Bone Dis Rel Res 5:229-33.
59. Lian JB, Carnes DL and Glimoher MJ (1987): Bone and serum concentrations of osteocalcin as a function of 1,25-dihydroxyvitamin D_3 circulating levels in bone disorders in rats. Endocrinology 120:2123-9.
60. Patterson-Buckendahl PE, Grindeland RE, Martins B, Cann CE and Arraud SB (1985): Osteocalcin as an indicator of bone metabolism during space flight. Physiologist 28:5227-30.
61. Hauschka PV (1985): Osteocalcin and its functional domains. In: Bulter WT (ed). The Chemistry and Biology of Mineralized Tissue, Ebsco Media, Birmingham, Alabama pp 149-57.
62. Lian JB, Couttes MC and Canalis E (1985): Studies of hormonal regulation of osteocalcin synthesis in cultured fetal rat calvaria. J Biol Chem 260:8706-10.
63. Gundberg CM, Lian JB, Gallop PM and Steinberg JJ (1983): Urinary γ -carboxyglutamic acid and serum osteocalcin as bone markers:



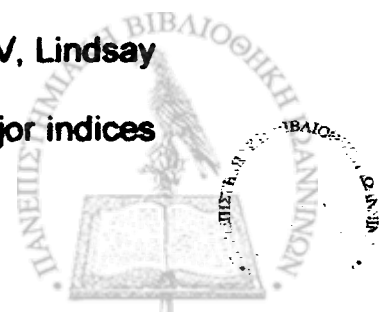
- Studies in osteoporosis and Paget's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 57:1221-5.
64. Price PA and Baukol BA (1981): 1,25-dihydroxyvitamin D₃ increases serum levels of the vitamin K-dependent bone protein. *Biochem Biophys Res Commun* 99:928-31.
65. Cole DEC and Gundberg CM (1985): Changes in serum osteocalcin associated with parathyroid hormone infusion in X-linked hypophosphatemic rickets. *Clin Chem Acta* 151:1-6.
66. Brown JP, Delmas PD, Malaval I, Edyaord C, Chapuy MC and Meunier PJ (1984): Serum bone Gla-protein: A specific marker for bone in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1:1091-2.
67. Delmas PD, Chatelain P, Malaval L and Bonne G (1986): Serum bone Gla-protein in growth hormone deficient children. *J Bone Min Res* 1:333-6.
68. Yasumura S, Alora J and Gundberg CM (1987): Serum osteocalcin and total body calcium in normal pre-and postmenopausal women and postmenopausal osteoporotic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 64:681-5.
69. Charles P, Poser JW, Moseklide L and Jensen FT (1985): Estimation of bone turnover evaluated by 47 Ca-Kinetics. Efficiency of serum bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein serum alkaline phosphatase and urinary hydroxyproline excretion. *J Clin Invest* 76:2254-9.



70. Malluche HH, Faugere MC, Fanti P and Price P (1984): Plasma levels of bone Gla protein reflect bone formation in patients on chronic maintenance dialysis. *Kidney Int* 25:869-72.
71. Patterson-Allen PE, Brantigan CE, Geindeland RE, Asling CW and Callahan PX (1982): A specific radioimmunoassay for osteocalcin with advantageous species cross reactivity. *Anal Biochem* 120:1-10.
72. Morey ER and Baylink DJ (1978): Inhibition of bone formation during space flight. *Science* 201:1138-41.
73. Price PA, Otsuka AS, Poser JW, Kristaponis J and Rama N (1976): Characterization of a γ -carboxyglutamic acid-containing protein from bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 73:1447-9.
74. Delmas PD, Wahner HW, Mann KG and Riggs BL (1983): Assessment of bone turnover in postmenopausal osteoporosis by measurement of serum bone Gla-protein. *J Lab Clin Med* 102:470-3.
75. Epstein S, McClintock R, Bryce G, Poser J, Johnston JS Jr and Hui S (1984): Differences in serum bone gla protein with age and sex. *Lancet* 1:307-10.
76. Riis BJ, Krable S, Christiansen C, Catherwood BD and Deftos LJ (1985): Bone turnover in male puberty. A longitudinal study. *Calcif Tissue Int* 37:213-9.
77. Catherwood BD, Marcus R, Madrig P and Cheung AK (1985): Determinants of bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein in plasma of healthy aging subjects. *Bone* 6:9-13.



78. Dandono P, Menon RK, Shene R, Houlder S, Thomas M and Mallinson WJ (1986): Low 1,25-dihydroxyvitamin D secondary hyperparathyroidism and normal osteocalcin in elderly subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 63:459-63.
79. Lichtenstein P, Gombey C, Martinex R, Poser J, Specker B and Tsang R (1983): Elevated serum gla protein in infancy: Higher values in breast milk vs cow milk formula feeding. *Pediatr Res* 17:2927-31.
80. Wolf PL (1978): Clinical significance of increased or decreased serum alkaline phosphatase level. *Arch Pathol Lab Med* 102:497-80.
81. Klein GL, Wadlington EL, Collins ED, Catherwood BD and Deftos LJ (1984): Calcitonin levels in serum of infants and children: Relations to age and periods of bone growth. *Calcif Tissue Int* 36:635-40.
82. Stephan JJ, Tesarova A, Havranek T, Jodi J, Formankova J and Pacovsky V (1985): Age and sex dependency of the biochemical indices of bone remodeling. *Clin Chim Acta* 151:273-7.
83. Melick RA, Farrugia W and Quelch KJ (1985): Plasma osteocalcin in man. *Aust NZ J Med* 15:410-5.
84. Epstein S, Traberg H, Raja R and Poser J (1985): Serum and dialysate osteocalcin levels in hemodialyses and peritoneal dialysis patients after renal transplantation. *J Clin Endocrinol Metab* 60:1253-5.
85. Bell NH, Green A, Epstein S, Oemann J, Shaw S and Shary J (1985): Evidence for alteration of the vitamin D endocrine system in blacks. *J Clin Invest* 76:470-2.
86. Silverberg SJ, Shane E, Clements TS, Dempster DW, Serge GV, Lindsay R and Bebezikian JP (1986): Oral phosphate affects major indices



- of skeletal metabolism in normal human subjects. *J Bone Min Res* 1:88A.
87. Gundberg CM and Weinstein RS (1986): Osteocalcin in uremic serum: Multiple immunoreactive forms. *J Clin Invest* 77:1762-3.
88. Charhon SA, Delmas PD, Malaval L, Charassieux PM, Arlot M, Chapuy MC and Meunier PJ (1986): Serum bone gla-protein in renal osteodystrophy : Comparison with bone histomorphometry. *J Clin Endocrinol Metab* 63:892-5.
89. Gundberg CM, Hanning RM, Liu A, Zlotkin AH, Balfe JW and Cole DEC (1987): Clearance of osteocalcin by peritoneal dialysis in children with end-stage renal disease. *Pediatr Res* 21:296-300.
90. Lian JB, Glimcher MJ, Roufosse AH, Hauschka N, Gablop PM, Cohen-Solal L and Reit B (1982): Alterations of the γ -carboxyglutamic acid and osteocalcin concentrations in vitamin D deficient chick bone. *J Biol Chem* 257:4999-5005.
91. Price PA (1985): Vitamin K-dependent formation of bone Gla protein (osteocalcin) and its function. *Vitam Horm* 42:65-70.
92. Garabedian M, Vainsei M, Mallet E, Guillozo H, Toppet M, Grimberg R, Nacigen TM and Balsan S (1983): Circulating vitamin D metabolite concentrations in children with nutritional rickets. *J Pediatr* 103:381-4.
93. Greig F, Casas J and Castells S (1986): Plasma osteocalcin: Before and during treatment of various forms of rickets. *Pediatr Res* 20:329A.



94. Zerwekh JE, Sakhase K and Pak CYC (1985): Short-term 1,25-dehydroxy vitamin D₃ administration raises serum osteocalcin in patients with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 60:615-9.
95. Koo WWK, Tsang RC, Poser JW, Kazzewski P, Buckbey D, Johnson R and Steichen JJ (1986): Elevated serum calcium and osteocalcin levels from calcitriol in preterm infants. *Am J Dis Child* 140:1152-5.
96. Cole DEC, Gundberg CM, Strik LJ, Atkinson SA, Hanley DA, Ayer LM and Baldwin LS (1987): Changing osteocalcin concentrations during pregnancy and lactation: Implications for maternal mineral metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 65:290-5.
97. Cole DEC, Carpenter TD and Gundberg CM (1985): Serum osteocalcin concentration in children with metabolic bone disease. *J Pediatr* 106:770-6.
98. Fanti P, Smith A, Price PA, Reitz RE and Malluche HH (1986): Effects of parathyroidectomy on circulating levels of 1,25-dihydroxyvitamin D and bone Gla protein in dialyzed patients. *J Clin Endocrinol Metab* 62:869-74.
99. Riggs BL, Tsai KS and Mann KG (1986): Effect of acute increases in bone matrix degradation on circulation levels of bone-gla protein. *J Bone Min Res* 1:539-43.
100. Price PA, Parthemove JB and Deftos LJ (1980): New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone Gla protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest* 66:878-81.



101. Price PA, Williamson MK, Hala T, Dell RB and Jee WS (1982): Excessive mineralisation with growth plate in chronic warfarin treatment. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:7734-8.
102. Stracke H, Schatz C, Pralle H, Ullmann J and Schatz H (1985): Osteocalcin: a marker in diseases with elevated bone metabolism. *Dtsch Med Wochenschr* 110:1442-7.
103. Martinez ME, dePedro C, Catalan P, Salinas M, Balaguer G and Ordas J (1985): Levels of osteocalcin in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 153:708-10.
104. Ekenstam EA, Liunghall S and Hallogren R (1986): Serum osteocalcin in rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritis. Relation between inflammatory activity and the effect of glucocorticoids and remission inducing drugs. *Ann Rheum Dis* 45:484-9.
105. Reid IR, Chapman GE, Fraser TRC, Davies AD, Surus AS, Meyer J, Hyg NL and Ibbertson HK (1986): Low serum osteocalcin levels in glucocorticoid-treated asthmatics. *J Clin Endocrinol Metab* 62:379-85.
106. Lindstedt G, Weikum L, Lundberg PA (1986): Increase in serum osteocalcin concentration is a slow indicator of therapeutic effect in children treated for somatotropin deficiency. *Clin Chem* 32:1589-92.
107. Delmas PD, Demiaux B, Malaval L, Chapuy MC and Meunier PJ (1986): Serum bone Gla-protein is not a sensitive marker of bone turnover in Paget's disease of bone. *Calcif Tissue Int* 38:60-5.



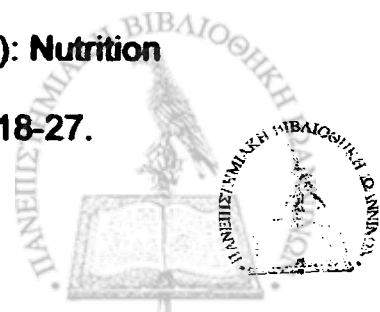
108. Mackowiak S, Gerstenfeld L, Hauschka PV and Lian JB (1985): Cell free transplantation of the vitamin K-dependent bone protein osteocalcin. *Biochem Biophys Res Com* 132:722-5.
109. Martinez ME, Herranz L, de Pedro C and Pallardo LF (1986): Osteocalcin levels in patients with hyper and hypothyroidism. *Horm Metab Res* 18:212-5.
110. Hauschka PV and Reid ML (1978): Vitamin K dependence of a calcium binding protein containing gamma-carboxyglutamic acid in chicken bone. *J Biol Chem* 253:9063-7.
111. Hart JP, Shearer MJ, Klemmerman L, Catterall A, Reeve J, Sambrook PN, Dodos RA, Bitensky L and Chayen J (1985): Electrochemical detection of depressed circulating levels of vitamin K in osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 60:1268-70.
112. Hall J, Pault RM and Wilson KM (1980): Maternal and fetal sequelae of anticoagulation during pregnancy. *Am J Med* 68:122-5.
113. Pault RM, Lian JB, Mosher DF and Suttie JW (1987): Association of congenital deficiency of multiple vitamin K dependent coagulation factors and the phenotype of the Warfarin embryopathy: clues to the mechanism of teratogenicity of coumarin derivatives. *Am J Hum Genet* 41:259-63.
114. Levy RJ, Gundberg CM and Scheinman R (1983): The presence of bone specific vitamin K dependent protein, osteocalcin, in calcified atherosclerotic plaque and mineralized heart valves. *Atherosclerosis* 46:49-53.



115. Menon RK, Gill DS, Thomas M, Kernoff PBA and Dandoma P (1987): Impaired carboxylation of osteocalcin in warfarin-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab* 64:59-63.
116. Markowitz ME, Gundberg CM and Rosen JF (1984): 24-hour variations in serum osteocalcin concentrations in teenage males. *Pediatr Res* 18:98A.
117. Whyte MP, Bergfeld MA, Murphy WA, Amoli LV and Teitelbaum SL (1982): Postmenopausal osteoporosis - A heterogeneous disorder as assessed by histometric analysis of iliac bone from untreated patients. *Am J Med* 81:193-9.
118. Caniggia A, Nuti R, Galli M, Lore F, Turohetti V and Righi GA (1986): Effect of a long-term treatment with 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on osteocalcin in postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 38:328-31.
119. Duda RJ, Kunar R, Neiso KI, Zinsmeister AR, Mann KG and Rigas BL (1987): 1,25-dihydroxyvitamin D stimulation test for osteoblast function in normal and osteoporotic postmenopausal women. *J Clin Invest* 79:1249-53.
120. Dannuci GA, Martin RB and Patterson-Buckendahl P (1987): Ovariectomy and trabecular bone remodeling in the dog. *Calcif Tissue Int* 40:194-8.
121. Deftos LJ, Parthemore JG and Price PA (1982): Changes in plasma bone GLA protein during treatment of bone disease. *Calcif Tissue Int* 34:121-4.



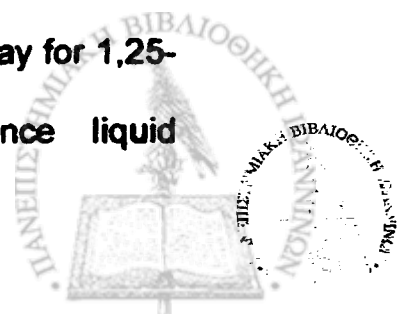
122. Lewenhaupt A, Ekman P, Eneroth P, Eridsson A and Nordstrom L (1985): Serum levels of prostatic acid phosphatase (PAP) tissue polypeptide antigen (TPA). CA-50, neopterin and of osteocalcin in patients with prostatic carcinoma. *Scand J Clin Lab Invest (Suppl. 45)* 179:75-80.
123. Sambrook PN, Ansell BM, Foster S, Gummel JM, Hesp R, Reeve J and Zanelli JM (1985): Bone turnover in early rheumatoid arthritis. *J Biochemical and Kinetic Indexes. Ann Rheum Dis* 44:575-9.
124. Gevers G, Devos P, DeRoo M and Dequeker J (1986): Increased levels of osteocalcin (serum bone Gla-protein) in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 25:260-5.
125. Also S, Rits BJ, Gotfredsen A, Christiansen C and Deftos LJ (1986): Biochemical markers of bone turnover in rheumatoid arthritis. *Acta Med Scand* 219:309-11.
126. Tzoufi M, Siammopoulou-Mavridou A, Challa A and Lapatsanis P (1994). Changes of mineral metabolism in juvenile chronic arthritis. *Acta Paediatr Suppl.* 394:52-8.
127. Garn SM and Wagner B (1969): The adolescent growth of the skeletal mass and its implications to mineral requirements. In: Heald FP (ed): *Adolescent Nutrition and Growth*. New York, Appleton-Century-Crofts, pp 32-5.
128. Head FP and Kahn MA (1973): Teenage obesity. *Pediat Clin North Am* 20:807-12.
129. Lucas B (1977): Nutrition and the adolescent. In: Pipes PL (ed): *Nutrition in Infancy and Childhood*. St. Louis, C.V. Mosby Co., pp 18-27.



130. Kirksey A, Keaton K, Abernathy RP and Greger J (1978): Vitamin B₆ nutritional status of a group of female adolescents. *Am J Clin Nutr* 31:946-9.
131. Schorr BC, Sanjur D and Erickson EC (1972): Teenage food habits. *J Am Diet Assoc* 61:415-9.
132. Briggs GM and Calloway DH (eds) (1979) *Bogert's Nutrition and Physical Fitness*, Edition 10. Philadelphia, W.B. Saunders Co., pp 103-5.
133. Linkswiler HM and Zemel MB (1979): Calcium to phosphorus ratios. *Contemp Nutr* 4:5-8.
134. Faigel HC (1973): Hematocrits in suburban adolescents: A research for anemia. *Clin Pediat* 12:494-6.
135. Sandstead HH, Prasad A and Schubert AR (1967): Human zinc deficiency. Endocrine manifestations and response to treatment. *Am J Clin Nutr* 20:422-6.
136. Greger JL, Higgins MM and Abernathy RP (1978): Nutritional status of adolescent girls in regard to zinc, copper and iron. *Am J Clin Nutr* 31:269-72.
137. Tanner JM, Whitehouse RH, Takaishim (1965): Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity in British Children. *Arch. Dis Child* 41:613-635.
138. Marshall WA, Tanner JM (1969): Variations in the pattern of pubertal change in girls. *Arch. Dis Child*, 44:291-97.
139. Marshall WA, Tanner JM (1970): Variations in pattern of pubertal change in boys. *Arch. Dis Child* 45:13-17.



140. Diehl H. and Ellingboe J (1956): The use of flourescein deriative calcein as the fluorescent indicator in the calcium determination J. Anal Chem 28:882-289.
141. Fiske GH and Subbarow V. (1925): The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem 66:375-400.
142. Challa A, Bevington A, Angier CM, Asbury AJ, Preston CJ and Russel RGG (1985): A technique for the measurement of orthophosphate in human and erythrocytes and some studies of its determinants. Clin Sci 69:429-434.
143. Arnaud CD, Tsao HS. and Littledike T (1971): Radioimmunoassay of human parathyroid hormone in serum. J Clin Investig 50:21-27.
144. Μουλάς Α, Χάλλα Α, Λαπατσάνης Π.Δ. (1996): Μέθοδος προσδιορισμού των επιπέδων των μεταβολιτών της βιταμίνης D στο ίδιο δείγμα ορού ή πλάσματος, Οστούν 7:17-24.
145. Haddad JG and Ghyu KJ (1971): Competitive protein binding radioassay for 25-hydroxycholecalciferol. J Clin. Endocrinol Metab 33:992-995.
146. Shepard RM, Horst RL, Hamstra AJ, DeLuca HF (1979): Determination of vitamin D and its metabolites in plasma from normal and anephric man. J Bioch 182:55-69.
147. Rhodes CJ, Claridge PA, Trafford DJH, Makin HLJ (1983): An evaluation of the use of SepPak C cartridges for the extraction of vitamin D and some of its metabolites from plasma and urine. J. Steroid Biochem 193:1349-55.
148. Reinhardt TM, Horst R. Orf JW, Hollis BW (1984): Microassay for 1,25-dihydroxyvitamin D not requiring high performance liquid

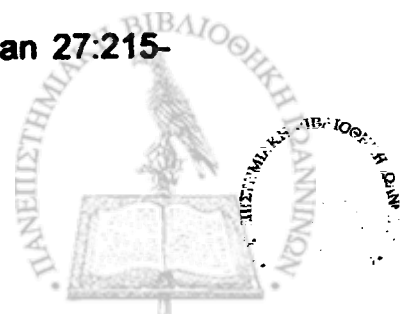


chromatography. Application to clinical studies. *J Clin Endocrinol Metab* 58:91-98.

149. Hollis BW (1996): Assessment of vitamin D nutritional and hormonal status: What to measure and how to do it. *Calc Tissue* 58:4-5.
150. Mawer EB (1980): Clinical applications of measurements of circulating vitamin D metabolites. *Clin Endocrinol Metab* 9:63-79.
151. Sbyrakis S, Diavastis N, Megreli Ch, Pantelakis S and Lapatsanis P (1981): The serum values of 25-hydroxycholecalciferol in school children. XVI European Symposium on Calcified Tissues, Knokke, Belgium, September 13-17.
152. Γιαννακού Λ, Περογαμβράκης Γ, Σαραφίδου Ε και Μεγγρέλη Χ (1996): Επίπεδα ορού των μεταβολιτών της βιταμίνης D25-υδροξυχοληκαλσιφερόλης και 1,25-διυδροξυχοληκαλσιφερόλης από τη γέννηση μέχρι την εφηβεία σε Ελληνικό πληθυσμό (Περίληψη). 1^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Κλινικής Χημείας, Αθήνα, 18-20 Οκτωβρίου.
153. Ala-Houhala M, Korpela R, Koirikko M, Koskinen T, Koskinen M and Koirula T (1986): Long-term anticonvulsant therapy and vitamin D metabolism in ambulatory pubertal children. *Neuropediatrics* 17:212-6.
154. Ala-Houhala M (1991): Need for vitamin D during infancy and childhood. *Acta Universitatis Tamperensis Ser A Vol. 312*, University of Tampere, Tampere, pp 39-103.
155. Taylor AF and Norman ME (1984): Vitamin D metabolite levels in normal children. *Pediatr Res* 18:886-90.



156. Fugisawa I, Kida K, Matsuda H (1984): Role of change in vitamin D metabolism with age in calcium and phosphorus metabolism in normal human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 59:719-25.
157. Aksnes L and Aarskog D (1982): Plasma concentrations of vitamin D metabolites in puberty. Effect of sexual maturation and implications for growth. *J Clin Endocrinol Metab* 55:94-101.
158. Zeghoud F, Delaveyne R, Rehel P, Chalas J, Carabetian M., Odièvre M (1995): Vitamine D et maturation pubertaire. Intéret et tolérance d'une supplémentation vitaminique D en periode hivernale. *Arch Pediatr* 2:221-6.
159. Lewis M and Volkmar F (1990): *Clinical Aspects of Child and Adolescent Development*. Lea and Febiger, Philadelphia-London, pp. 258-9.
160. Λαγός Π (1994): Διατροφή και αθλούμενος έφηβος. 5^ο Πανελλήνιο Συνέδριο. Εφηβεία Πρακτικά, Εκδ. Πετρίδου Ε- Ντάβου Μπ σ. 23-26.
161. Arnaud B, Matthusen M, Gilikson JB and Goldsmith R (1977): Components of 25-hydroxyvitamin D in serum of young children in upper Midwestern United States. *Am J Clin Nutr* 30:1082-6.
162. Lambert-Allardt C, Ala-Houhala M, Ahola M, Parviainen MT, Rasanen L and Visakopri (1986) : Vitamin D status of children and adolescents in Finland. *Ann Nutr Metab* 30:267-72.
163. Kano K, Yoshida H, Vada J, Suda T (1980): Age and seasonal variations in the serum levels of 25-hydroxyvitamin D and 24,25 dihydroxyvitamin D in normal humans. *Endocrinol Japan* 27:215-21.



164. Krabbe S (1989): Calcium homeostasis and mineralization in puberty. *Dennis Medical Bulletin* 32:113-24.
165. Nguyen TM, Guillozo H, Garabedian M, Mallet E and Balsan S (1979): Serum concentration of 24,25-dehydroxyvitamin D in normal children and in children with rickets. *Pediat Res* 13:973-6.
166. Chesney RW, Rose JF, Hamstra AJ, Smith C, Mahaffey K, DeLuca HF (1981): Absence of seasonal variation in serum concentration of 1,25 dihydroxyvitamin D in summer. *J Clin Endocrinol Metab* 53:139-142.
167. Stamp TC, Round JM (1974): Seasonal changes in human plasma levels of 25-hydroxyvitamin D. *Nature* 247:563-67.
168. Lund B, Sorensen OH (1979): Measurement of 25-hydroxyvitamin D in serum and its relation to sunshine, age and vitamin D intake in the Danish population. *Scand J Clin Invest* 39:23-30.
169. Weisman Y, Reiter E, Root A, (1977): Measurement of 24,25-dihydroxyvitamin D in sera of neonates and children. *J Pediatr* 91:904-8.
170. Ornoy A, Goodwin D, Noff D, Edelstein S (1978): 24,25-dihydroxyvitamin D is a metabolite of vitamin D essential for bone formation. *Nature* 276:517-9.
171. Binderman I, Somjen D (1984): 24, 25 D-hydroxycholecalciferol induces the growth of chick cartilage in vitro. *Endocrinology* 115:430-32.
172. Wientroub S, Price PA, Reddi AH (1987): The dichotomy in the effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and 24,25 dihydroxyvitamin D₃ on bone γ -



carboxyglutamic acid-containing protein in serum and bone in vitamin D deficient rats. *Calcif Tissue Int* 40:166-72.

173. Rose JF, Chesney RW (1983): Circulating calcitriol concentrations in health and disease. *J Pediatr.* 103: 1-17.
174. Ford JA, McIntosh WB, Butterfield R, Preece MA, Pietrek J, Arrow-Smith WA, Arthurton MW, Turner W, O'Riordan JLH and Dunnigan MG (1976): Clinical and subclinical vitamin D efficiency in Bradford children. *Arch Dis Child* 51:939-43.
175. Freycon MT, Pouyan G, Abeille A (1983): Rachitisme carentiel chez le grand enfant. A propos de deux observations. *Pédiatrie* 38:485-90.
176. O' Hare AE, Uttley WS, Belton NR (1984): Persisting vitamin D deficiency in the Asian adolescent. *Arch Dis Child* 56:766-70.
177. Sjölin (1979): Hur Bor Barns Vitaminbehov till go doses? *Nordisk Medicin* 94:215-16.
178. Nordisk Ministerrad (1989): Nordiska naringsrekommendationer. Permanente nordiske utvalg for naeringmiddlesporsmal (PNUN): 1-16.
179. Round JM (1973): Plasma calcium, magnesium, phosphorus, and alkaline phosphatase levels in normal British schoolchildren. *Brit Med J* 3:137-40.
180. Bushinsky D, Monk RD (1998): Calcium. *Lancet* 352:206-311.
181. Thomsen K, Eriksen EF, Jorgensen JCR, Charles P and Mosekilde L (1989): Seasonal variation of serum bone GLA protein. *Scand J Clin Lab Invest* 49:605-11.



200. Goel KM, Logan RW, Arneil GC, Sweet WM, Warren JM and Shanks RA (1976): Florid and subclinical rickets among immigrant children in Glasgow. *Lancet* 1: 1141-5.
- 201 Pietrek J, Preece MA, Windo J and O'Riordam JLP (1976): Prevention of vitamin D deficiency in Asians. *Lancet* 1:1145-8.
202. Λαπατσάνης Π (1970): Ισοζύγιο ασβεστίου, φωσφόρου και μαγνησίου επί βρεφών πασχόντων εκ ραχίτιδος. Διατριβή επί Υψηγεία, Αθήνα, σελ. 77-82.
203. Davies M, Mawer EB, Krawitt EL (1980): Comparative absorption of vitamin D₃ and 25-hydroxyvitamin D₃ in intestinal disease. *Gut* 21:287-92.
204. Fuleihan Gh El-Ha, Nabulsi Mona, Chouchair M., Salamoum Mar, Shahine Car Ha, Kizizian A and Tannous R (2001) Hypovitaminosis D in healthy school children. *Pediatrics* 107:762-763.

