



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ «Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ : ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΣΜΗΝΗ ΔΟΝΤΑ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΥΠΟ:

ΜΑΡΙΑΣ ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΟΥ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΗΣ ΦΑΙΝΥΛΚΕΤΟΝΟΥΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΟΖΑΙΜΙΑΣ ΜΕ ΤΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗ ΥΓΕΙΑ:
ΜΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Γ.Π. ΛΥΡΙΤΗΣ

Ομότιμος καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2017



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ «Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»
ΔΙΕΥΘΥΝΤΡΙΑ : ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΙΣΜΗΝΗ ΔΟΝΤΑ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΥΠΟ:

ΜΑΡΙΑΣ ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΟΥ

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΤΗΣ ΦΑΙΝΥΛΚΕΤΟΝΟΥΡΙΑΣ
ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΟΖΑΙΜΙΑΣ ΜΕ ΤΗ ΣΚΕΛΕΤΙΚΗ ΥΓΕΙΑ:
ΜΙΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: Γ.Π. ΛΥΡΙΤΗΣ

Ομότιμος καθηγητής Ορθοπαιδικής Ιατρικής Σχολής ΕΚΠΑ

ΑΘΗΝΑ 2017

Βιογραφικό σημείωμα

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ:

Όνοματεπώνυμο : **Καλογεράκου Μαρία**
Διεύθυνση κατοικίας : Γρηγορίου Λαμπράκη 61, Πειραιάς, 185 34
Τηλέφωνα : 210-42.86.229 / 694557662
Ημερομηνίας γέννησης : 01/11/1967
Εθνικότητα : Ελληνική

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑ : Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

17/08/1989 έως σήμερα : Τεχνολόγος Ιατρικών Εργαστηρίων στη Διεύθυνση Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού.
10/1988 έως 04/1989 : Εξάμηνη πρακτική άσκηση στο Τζάνειο Νομαρχιακό Νοσοκομείο Πειραιά (Βιοχημικό, Αιματολογικό, Παθολογοανατομικό εργαστήριο)
05/1989 έως 06/1989 : Άμισθη εργασία στο βιοχημικό εργαστήριο του Τζανείου Νομαρχιακού Νοσοκομείου Πειραιά

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

1985-1988 : Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Θεσσαλονίκης Σχολή Επαγγελματιών Υγείας και Πρόνοιας Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων.
Πτυχιακή εργασία : «Ουρολοιμώξεις»
Βαθμός πτυχιακής εργασίας : Άριστα δέκα (10)
Βαθμός πτυχίου : «Λίαν Καλώς» επτά και πενήντα τρία (7,53)
Ημερομηνία κτήσης πτυχίου : 11/04/1989
1979-1985 : Γυμνάσιο-Λύκειο Ιωνίδειος Πρότυπος Σχολή Πειραιά

ΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

<i>Αγγλικά :</i>	(ETS) TOEIC CERTIFICATE OF ACHIEVEMENT, level C1 (2014).
<i>Γαλλικά :</i>	Certificat de la langue Francaise (1983).
<i>Ιταλικά :</i>	CertificatoSuperiore (1994)
<i>Η/Υ :</i>	Πολύ καλός χειρισμός των εργαλείων Microsoft Office.

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ

Στο διάστημα Απρίλιος 1991 έως Απρίλιος 1992 εργάστηκα ως εκπαιδευόμενη στην Μοριακή Βιολογία στο Χωρέμειο Ερευνητικό Εργαστήριο. Ήταν μια συνεργασία της Διεύθυνσης Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων – SCREENING του Ινστιτούτου Υγείας του Παιδιού και της Διεύθυνσης Αιμολυτικών Αναιμιών του Χωρέμειου Ερευνητικού Εργαστηρίου (Νοσοκομείο Παιδων Αγία Σοφία), με σκοπό την ανάλυση του γονιδίου που είναι υπεύθυνο για τη νόσο φαινυλκετονουρία στο Μοριακό επίπεδο, σε παιδιά με κλασσική PKU και επίμονη υπερφαινουλαανιαιμία. Τα αποτελέσματα αυτής της συνεργασίας ανακοινώθηκαν στο περιοδικό HumanGenetics.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΤΟΝ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΤΥΠΟ

1. Kalogerakou M., Schulpis K., Doulgeraki A. and Lambrou G. (2017) Basic laboratory bone profile in Greek patients with galactose metabolic disorders. Journal of Research and Practice on the Musculoskeletal System. 1(2), 55-64.
2. Schulpis K., Kalogerakou M. and Monopolis I. (2016) Incidence of galactose metabolic disorders in Greece. Edizioni Minerva Medica. 6,505-507.
3. Doulgeraki A., Monopolis I., Deligianni D., Kalogerakou M. and Schulpis K. (2014) Body composition in young patients with galactose metabolic disorders: a preliminary report. J Pediatr Endocr Met. 1(27), 1-2.
4. Schulpis K., Karikas G., Bartzeliotou A., Papakonstantinou E., Kalogerakou M., and Tsakiris S. (2007) The effect of diet on paraoxonase 1/arylesterase activities in patients with disorders of galactose metabolism. Clinical Endocrinology. 67(5), 687-692.
5. Schulpis K., Kalogerakou M., Gioni V., Papastamataki M. and Papassotiriou I. (2011) Glutamine, ornithine, citrulline and arginine levels in children with phenylketonuria: the diet effect. Clinical Biochemistry. 44(10-11), 821-82.
6. Schulpis K., Gioni V., Platis D., Kalogerakou M., Karikas G., Afordakou D. and Papassotiriou I. (2013) The beneficial effect of adherence to the therapeutic diet on the main protein-energy wasting and several other biomarkers in

children with phenylketonuria. *Journal of Pediatric Biochemistry*, 3, 99-106.

7. Traeger-Synodinos J., Kanavakis E., Kalogerakou M., Schulpis K., Missiou-Tsangaraki S., Kattamis C. (1994) Preliminary mutation analysis in the phenylalanine hydroxylase gene in Greek pku and hpa patients. *Hum. Genet.* 94(5), 573-575.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. Gavrili S., Kalogerakou M., Baroutis G., Sevastiadou S., Vasilakos D., Gounaropoulou M. and Schulpis K. (2015) The beneficial of galactosemia screening program in perinatology: a newborn with duarte 2 and udp-galactose epimerase deficiency. 12th World Congress of Perinatal Medicine: Madrid, Spain, www.wcpm2015.com.
2. Doulgeraki A., Monopolis I., Deligianni D., Kalogerakou M., and Shulpis K. (2013) The relationship between bone health and body composition profile in patients with galactose metabolic disorders: implications for practice. 6th International Conference on Children's Bone Health. Book of abstracts.
3. Βασιλάκος Δ., Καλογεράκου Μ., Γουναροπούλου Μ., Γκιώνη Β., Σούλπη Κ. (2013) Εθνικό Πρόγραμμα Προληπτικού Ελέγχου Νεογνών (Ε.Π.Ε.Ν.): Επιδημιολογική διερεύνηση ενζυμικών τύπων γαλακτοζαιμίας 2006-2012. Regional European Congress of Biomedical Laboratory Science & 4th Greek Medical Laboratory Technologists Conference.
4. Grigoriadou M., Kokotas H., Schulpis K.H., Skarpalezou A., Papakonstantinou E.D., Kalogerakou M., Giannoulia-Karantana A. and Petersen M.B. (2009) Mutation screening of the pah gene causing phenylalanine hydroxylase deficiency in Greek patients with phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. 59th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics. Book of abstracts.
5. Schulpis K., Georgala S., Michas T., Papakonstantinou E., Chadjidakis J., Kalogerakou M., Stratigos J. (1994) Raised galactose plus galactose-1-phosphate blood levels in patients under puva therapy. 5th Congress of the European Academy of Dermatology and Venereology. Book of abstracts.
6. Traeger-Συνοδινού J., Καναβάκης Ε., Καλογεράκου Μ., Σούλπη Κ., Τσαγκαράκη Σ., Καπάμης Χ. (1993) Μελέτη της μοριακής διαταραχής της φαινυλοκετονουρίας στην Ελλάδα. 31^ο Πανελλήνιο Παιδιατρικό Συνέδριο, περιλήψεις συνεδρίου 189α.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ-ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

- Ευρωπαϊκή Ημερίδα Συνεχιζόμενης Επαγγελματικής Εκπαίδευσης των τεχνολόγων Ιατρικών Εργαστηρίων και Βιοιατρικών Εργαστηριακών Επιστημόνων. Αθήνα, 6 Οκτωβρίου 2016.
- 9th ISNS International Meeting 10th ISNS European Regional Meeting 11-14 September 2016, World Forum Convention Centre, The Hague, NL.
- Επιστημονική Ημερίδα του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών «Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών» σε συνεργασία με το Ελληνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης με θέμα: «Ειδικά Θέματα στα Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών» 11 Ιουνίου 2016. Χωρέμειο Αμφιθέατρο, Νοσοκομείου Παιδών «Η Αγία Σοφία» Αθήνα.
- Επιστημονικό Σεμινάριο που διοργάνωσε το Ελληνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης με θέμα: «Αναθεωρήσεις στη διαγνωστική & θεραπευτική προσέγγιση των Μεταβολικών Νοσημάτων των Οστών». 13 & 14 Φεβρουαρίου 2016, ξενοδοχείο Radisson Blu PARK HOTEL, Αθήνα.
- Ημερίδα «Υγεία & Ποιότητα Ζωής στην Εμμηνόπαυση: Παρουσίαση του Οδηγού Εμμηνόπαυσης για τους Επαγγελματίες Υγείας». 10 Οκτωβρίου 2015, Αίγλη Ζαππείου, Αθήνα.
- Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SSIEM). Lyon ,France 1-4 September 2015.
- Επιστημονική διημερίδα με θέμα: «Ειδικά θέματα στα Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών» διοργάνωση Ελληνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης. 13 & 14 Ιουνίου 2015, Αμφιθέατρο του Νοσοκομείου «NIMITΣ» Αθήνα.
- 2^η Συνάντηση Μελών Δικτύου Ιατρείου Οστεοπόρωσης με θέμα: «Αντιπαραθέσεις σε διαγνωστικά & θεραπευτικά προβλήματα οστεοπορωτικών ασθενών» που διοργάνωσε το Ελληνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης στις 20 & 21 Δεκεμβρίου 2014 στο ξενοδοχείο MediterraneanPalaceHotel στη Θεσσαλονίκη.
- Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (SSIEM) Innsbruck, Austria 2-5 September 2014.
- 14^η Εκπαιδευτική Διημερίδα «Πρακτικά Παιδιατρικά Θέματα» 3-4 Μαΐου 2014, Συνεδριακό και Πολιτιστικό Κέντρο του Πανεπιστημίου Πατρών, υπό την αιγίδα του Πανελληνίου Ιατρικού Συλλόγου.
- 1^η Εκπαιδευτική Ημερίδα Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων με θέμα «Διαταραχές Μεταβολισμού Αμινοξέων», Αίγλη Ζαππείου, 9 Νοεμβρίου 2013.
- 2nd European Congress of Nutritional Medicine. Athens, 30 November 2013.
- 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism ICIEM. Barcelona, 3-6 September 2013.

- Regional European Congress of Biomedical Laboratory Science & 4th Greek Medical Laboratory Technologists Conference. Athens, Greece, 5-7 December 2013.
- 25^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Κοινωνικής Παιδιατρικής & Προαγωγής της Υγείας με θέμα: «Η Κοινωνική Παιδιατρική στον δρόμο για την Ιθάκη: αγωγή υγείας και περίθαλψη στις απομονωμένες νησιωτικές περιοχές». Βαθύ Ιθάκης, 29 Αυγούστου – 1 Σεπτεμβρίου 2013.
- Μετεκπαιδευτικό σεμινάριο με θέμα «Οι μέθοδοι: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) & Constant Denaturing Gel Electrophoresis (CDGE) στην ανάλυση μεταλλάξεων DNA» που πραγματοποιήθηκε στο ξενοδοχείο «ΧΙΛΤΟΝ» στις 26 Σεπτεμβρίου 1995, και πρακτική εφαρμογή με το σύστημα DGeneSystem της εταιρείας BIO-RAD, στο Κέντρο Μεσογειακής αναιμίας, στις 27 Σεπτεμβρίου 1995.

Περίληψη

Σκοπός: Η διερεύνηση της συσχέτισης μεταξύ των βασικών βιοχημικών παραμέτρων του οστικού μεταβολισμού, σε ασθενείς που πάσχουν από τις νόσους φαινυλκετονουρία και γαλακτοζαιμία.

Ασθενείς και μέθοδος: Δύο ομάδες ασθενών αποτελούν τον υπό μελέτη πληθυσμό. Η ομάδα που πάσχει από κάποια μορφή της φαινυλκετονουρίας (κλασσική, ενδιάμεση, ήπια υπερφαινυλαλανιναιμία) και αποτελείται από 100 αγόρια και κορίτσια με μέσο όρο ηλικίας $11,82 \pm 10,21$ και η ομάδα που πάσχει από κάποια μορφή διαταραχής του μεταβολισμού της γαλακτόζης, που αποτελείται από 22 αγόρια και κορίτσια, με μέσο όρο ηλικίας $7,97 \pm 5,1$ ετών. Όλοι οι ασθενείς διαγνώστηκαν έγκαιρα μέσω του Εθνικού Προγράμματος Προληπτικού Ελέγχου Νεογνών (ΕΠΠΕΝ) της Ελλάδας και άμεσα εφαρμόστηκε η κατάλληλη θεραπευτική αγωγή. Οι δείκτες που μετρήθηκαν σε ορό αίματος των πασχόντων ήταν: ασβέστιο, φωσφόρος, μαγνήσιο, κρεατινίνη, αλκαλική φωσφατάση, αλβουμίνη, χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL, LDL, βιταμίνη D, αιμοσφαιρίνη και φερριτίνη, στα πλαίσια του προγραμματισμένου ελέγχου παρακολούθησής τους. Επίσης, υπολογίστηκαν τα Z-scores των: Δ.Μ.Σ (BMI), βάρους σώματος και ύψους, προκειμένου να αξιολογηθεί η σωματική τους ανάπτυξη.

Αποτελέσματα: Για τη γαλακτοζαιμία: οι βιοχημικοί δείκτες που μετρήθηκαν δεν έδειξαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων των ασθενών (αγόρια/κορίτσια, τρεις τύποι της νόσου: κινάση, επιμεράση και κλασσική γαλακτοζαιμία). Η κρεατινίνη εμφάνισε τιμές στα χαμηλότερα φυσιολογικά επίπεδα σε αντίθεση με την αλκαλική φωσφατάση που παρουσίασε τιμές στα ανώτερα φυσιολογικά επίπεδα. Στατιστικά σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν όσον αφορά τις τιμές του BMI, μεταξύ των τύπων της νόσου και της βιταμίνης D ως προς την ηλικία, το βάρος σώματος και το ύψος, στα κορίτσια. Αρνητική γραμμική συσχέτιση εμφανίστηκε μεταξύ της βιταμίνης D με την κρεατινίνη και την HDL και του ασβεστίου με την κρεατινίνη, σε όλους τους ασθενείς.

Όσον αφορά την φαινυλκετονουρία, τα αποτελέσματα των μετρήσεων των Z-scores για BMI, βάρος σώματος και ύψος, δεν εμφάνισαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά σε όλες τις ομάδες των ασθενών: PKU/HPA, καλή-κακή συμμόρφωση στη δίαιτα. Όλες οι μετρήσεις των βιοχημικών/αιματολογικών δεικτών ήταν μέσα στα φυσιολογικά όρια. Στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) εμφανίστηκε στις τιμές φαινυλαλανίνης (Phe) στις ομάδες καλή/κακή συμμόρφωση στη δίαιτα. Μεταξύ των ομάδων PKU και HPA, στατιστικά σημαντικές διαφορές εμφανίστηκαν ως προς τις τιμές των: τριγλυκεριδίων, φωσφόρου και αλκαλικής φωσφατάσης. Η σύγκριση

ομάδων ασθενών στο στάδιο της προεφηβείας (<11 ετών) και της εφηβείας (>11 ετών), εμφάνισε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα για τους παρακάτω δείκτες, στο σύνολο του πληθυσμού: βιταμίνη D, ασβέστιο, φωσφόρος, χοληστερόλη, κρεατινίνη και επίπεδα φαιουλαανίνης. Αρνητική γραμμική συσχέτιση, ως προς τα επίπεδα Phe, παρατηρήθηκε για τη βιταμίνη D, τον φωσφόρο και την αλκαλική φωσφατάση και θετική για την κρεατινίνη σε όλους τους ασθενείς. Αρνητική γραμμική συσχέτιση εμφανίστηκε για το ασβέστιο και θετική για το Z-BMI μόνο για τους ασθενείς με PKU.

Συμπέρασμα: Τα παραπάνω αποτελέσματα δημιουργούν ένα πεδίο πιο συστηματικής διερεύνησης των βασικών βιοχημικών δεικτών του οστικού προφίλ, με σκοπό την έγκαιρη ανίχνευση αλλαγών που πιθανώς να σχετίζονται με τον οστικό μεταβολισμό των ασθενών που πάσχουν από Γαλακτοζαιμία και Φαιυλκετονουρία.

Abstract

Aim: To investigate the relationship between different basic bone profile biochemical parameters in Galactosaemia and Phenylketonuria patients.

Methods: Study participants included: 22 galactosaemia patients, males-females, with an average age $7,97 \pm 5,1$ years and 100 phenylketonuria patients, males and females, with an average age $11,82 \pm 10,21$ years, early diagnosed by Newborn Screening and dietary treated. Serum calcium, phosphate, magnesium, alkaline phosphatase, creatinine, albumin, triglycerides, cholesterol, HDL, LDL, vitamin D, hemoglobin and ferritin were determined for a routine biochemistry and total blood count. Z-BMI, Z-Wt and Z-Ht were estimated for the assessment of normal or delayed growth.

Results: In galactosaemia group: the mean values estimation of biochemical factors demonstrate no significant differences among the groups such males-females as well as all galactosaemia subtypes. Creatinine manifested values in the lower normal reference ranges whereas ALP was higher. Significant differences were observed to BMI patterns (Z-BMI, Z- Wt, Z-Ht) between the subtypes and between Vitamin D and age, body weight and height, in females. Vitamin D was negatively correlated to creatinine and HDL and calcium was negatively correlated to creatinine, in all patients.

In phenylketonuria group: no significant differences were observed to BMI, weight and height (Z-scores) in all subtypes of the disease (PKU-HPA), as well as in groups with good or poor compliance to diet. All the biochemical/hematological measurements were within normal ranges. Significant differences ($p < 0.05$) were presented with respect to phenylalanine levels (Phe) between the patients with good and poor compliance and to triglycerides, phosphorus and alkaline phosphatase between the subtypes of the disease. Interestingly, significant statistical differences were observed, between different age groups, such as prepubertal < 11 years and pubertal > 11 years, in the follow biochemical factors: calcium, phosphorus, cholesterol, creatinine, phenylalanine levels and vitamin D. A negative correlation was found between vitamin D, phosphorus and ALP with Phe levels and a positive correlation between creatinine and Phe levels, in all patients. Finally, only in PKU patients, calcium was negatively correlated and Z-BMI was positively correlated to Phe levels. **Conclusion:** These findings suggest that a systematic and periodic biochemical monitoring of basic bone profile may be useful in order to detect and

evaluate subtle changes in bone metabolism in Galactosaemic and Phenylketonuric patients.

Πίνακας Περιεχομένων

Βιογραφικό σημείωμα	III
Περίληψη	VIII
Abstract	X
Πίνακας Περιεχομένων	XII
Κατάλογος Εικόνων	XV
Κατάλογος Πινάκων	XVII
Κατάλογος Διαγραμμάτων	XIX
Πρόλογος.....	XX
ΜΕΡΟΣ Ι-ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1. Εισαγωγικά Σχόλια	2
1.1 Σκοπός	3
2. Μεταβολικά νοσήματα.....	4
2.1 Ορισμός.....	4
2.2 Κλινικές εκδηλώσεις των E.M.N.....	4
2.3 Συσχετισμός E.M.N. με τη σκελετική υγεία	5
2.4 Διάγνωση (Newborn Screening-NBS)	5
3. Φαινυλκετονουρία (OMIM 261600)	7
3.1 Μεταβολισμός της Φαινυλαλανίνης.....	7
3.2 Ιστορικό-Διάγνωση	7
3.3 Διαταραχές του ενζύμου υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH)	8
3.3.1 Ανεπάρκεια τετραϋδροβιοπτερίνης (BH4-Deficiency):	9
3.3.2 PAH ανεπάρκεια με ένδειξη θεραπείας	9
3.4 Αιτιολογία-Παθοφυσιολογία	9
3.5 Κλινική εικόνα	9
3.6 Θεραπευτική αντιμετώπιση.....	10
3.7 Φαινυλκετονουρία και οστική υγεία.....	11
3.8 Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης χαμηλής Οστικής Πυκνότητας σε ασθενείς με PKU	13

4. Γαλακτοζαιμία	15
4.1 Μεταβολισμός της γαλακτόζης.....	15
4.2 Διαταραχές του μεταβολισμού της Γαλακτόζης.....	15
4.3 Ιστορικό-Διάγνωση	18
4.4 Αιτιολογία-Παθοφυσιολογία	18
4.5 Κλινική εικόνα	19
4.5.1 Έλλειψη του ενζύμου γαλακτοκινάση (GALK-Galactokinase)	21
4.5.2 Έλλειψη ενζύμου UDP-επιμεράσης (GALE-Galactose 4 epimerase)	21
4.5.3 Κλασσική Γαλακτοζαιμία (GALT-Galactose-1-phosphate uridylyltransferase) ...	21
4.6 Θεραπευτική αντιμετώπιση.....	22
4.7 Γαλακτοζαιμία και οστική υγεία	22
4.8 Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης χαμηλής οστικής πυκνότητας (Ο.Π.) σε ασθενείς με γαλακτοζαιμία.....	23
5. Δείκτες σκελετικής υγείας	25
5.1 Ανθρωπομετρικοί: βάρος-ύψος, Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ-BMI), ηλικία, φύλο	25
5.1.1 Μέτρηση σωματικού βάρους (ΒΣ) και ύψους	25
5.1.2 Ηλικία	25
5.1.3 Φύλο.....	27
5.2 Βιοχημικοί: ασβέστιο, φωσφόρος, μαγνήσιο, αλκαλική φωσφατάση, κρεατινίνη, χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL, LDL, πρωτεΐνη και βιταμίνη D	27
5.2.1 Ασβέστιο (Ca).....	28
5.2.2 Φωσφόρος (P).....	29
5.2.3 Μαγνήσιο (Mg)	30
5.2.4 Αλκαλική φωσφατάση (ALP).....	31
5.2.5 Κρεατινίνη.....	31
5.2.6 Τριγλυκερίδια, HDL, LDL, χοληστερόλη	32
5.2.7 Πρωτεΐνη	32
5.3 Βιταμίνη D.....	33
ΜΕΡΟΣ ΙΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	36
6. Ασθενείς	37
6.1 Ασθενείς με γαλακτοζαιμία.....	38
6.2 Ασθενείς με φαινυλκετονουρία.....	38
7. Μέθοδοι	40
7.1 Κλινική εξέταση.....	40
7.2 Προσδιορισμός βιοχημικών-αιματολογικών παραμέτρων.....	41

7.3	Προσδιορισμός ορμονολογικών παραμέτρων	41
7.4	Στατιστική ανάλυση.....	41
ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ		43
8.	Γαλακτοζαιμία	44
9.	Φαινυλκετονουρία	45
ΜΕΡΟΣ ΙV-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....		67
10.	Γαλακτοζαιμία.....	68
11.	Φαινυλκετονουρία.....	71
12.	Γενικά συμπεράσματα	76
13.	Βιβλιογραφία	77

Κατάλογος Εικόνων

- Εικόνα 1.** Ισοζύγιο ασβεστίου (προσαρμοσμένο από Favus MJ (2013)^[64])..... 29
- Εικόνα 2.** Στατιστική περιγραφή αποτελεσμάτων BMI (A) και z-scores BMI, Wt,Ht (B-C), ως προς όλο τον πληθυσμό (Total), τους τύπους της γαλακτοζαιμίας (GALT,GALK,GALE) και το φύλο (Males=αγόρια; Females=κορίτσια) (* :p value<0,05). 45
- Εικόνα 3.** Στατιστική περιγραφή αποτελεσμάτων: Βιταμίνης D (A), Αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) (B), Κρεατινίνης (creatinine) (C) και Φερριτίνης(ferritin) (D) ως προς όλο τον πληθυσμό (Total), τους τύπους της γαλακτοζαιμίας (GALT,GALK,GALE) και το φύλο (Males=αγόρια, Females=κορίτσια)..... 46
- Εικόνα 4.** Στατιστική περιγραφή αποτελεσμάτων: Αιμοσφαιρίνης (Hb) (A), λευκωματίνης (ALB) (B) και χοληστερόλη (CHOL) (C), τριγλυκεριδίων (Triglycerides) (C), υψηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνη (HDL) (C) και χαμηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνη (LDL) (C) ως προς όλο τον πληθυσμό (Total), τους τύπους της γαλακτοζαιμίας (GALT,GALK,GALE) και το φύλο (Males=αγόρια, Females=κορίτσια). 47
- Εικόνα 5.** Συσχέτιση μεταξύ: ηλικίας και βιταμίνης D (age vs. vitamin D; $R^2=0.75$) (A), βιταμίνης D και σωματικού βάρους (vitamin D vs.body weight; $R^2=0.69$) (B) και βιταμίνης D και ύψους (vitamin D vs. height; $R^2=0.64$) (C). 49
- Εικόνα 6.** Βιταμίνη D vs κρεατινίνη ($p=0,023$, $R^2=0,233$). 50
- Εικόνα 7.** Ασβέστιο vs κρεατινίνη ($p=0,034$, $R^2=0,20$). 50
- Εικόνα 8.** Βιταμίνη D vs HDL ($p=0,04$, $R^2=0,19$). 51
- Εικόνα 9.** Στατιστικά περιγραφικά για τις μετρήσεις του ΔΜΣ (BMI) (A) και των Z-scores ΔΜΣ (Z- BMI), βάρους (Z-Wt) και ύψους (Z-Ht), σε όλες τις ομάδες (B) (males: αγόρια, females: κορίτσια; HPA:υπερφαινυλαλανιαιμία (<10mg/dl). Classic: κλασσική και διάμεση φαινυλκετονουρία (>10mg/dl), Good: καλή συμμόρφωση στη διαίτα, Poor: κακή συμμόρφωση στη διαίτα, Total:σύνολο). 53
- Εικόνα 10.** Περιγραφική στατιστική των βιοχημικών παραγόντων σε ασθενείς με PKU. Ειδικότερα, οι μετρήσεις περιελάμβαναν μετρήσεις των επιπέδων phenylalanine (A), 25-OH-Vitamin D (B), Alkaline Phosphatase (ALP) (C), Creatinine (D), Albumin (E), Hemoglobin (F), Ferritine (G), Ca^{+2} , P^{+4} και Mg^{+2} (H), ενώ ταυτόχρονα αξιολογήθηκε το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών, το οποίο περιελάμβανε τη μέτρηση της ολικής χολεστερόλης (CHOL), των τριγλυκεριδίων (TRIG), της HDL και της LDL (I) (ο * υποδηλώνει σημαντικότητα $p<0.05$.) (Λεζάντα: BMI: Body-Mass Index, HPA: Hyperphenylalaninemia, CLASSIC: Classical PKU type, GOOD: subjects with good diet compliance, POOR: subjects with poor diet compliance, 25(OH)D: 25-OH-Vitamin D, ALP: Alkaline Phosphatase, CHOL: Cholesterol, TRIG: triglycerides, HDL: High-Density Lipoprotein, LDL: Low-Density Lipoprotein). 55
- Εικόνα 11.** ANOVA ανάλυση των τιμών φαινυλαλανίνης-phenylalanine-(A), Δείκτη μάζας σώματος-BMI (B, C, G) και των βιοχημικών παραμέτρων: φωσφόρου (D), αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) (E) και τριγλυκερίδια (TRIG) (F) αντίστοιχα, μεταξύ των ομάδων: κλασσικής φαινυλκετονουρίας (PKU) και υπερφαινυλαλανιαιμίας (HPA) και καλής (Good) και κακής (Poor) συμμόρφωσης στη διαίτα. I=αγόρια με καλή συμμόρφωση, II=κορίτσια με καλή συμμόρφωση, III=αγόρια με κακή συμμόρφωση, IV=κορίτσια με κακή συμμόρφωση.. 56
- Εικόνα 12.** ANOVA ανάλυση των τιμών Z-BMI σε αγόρια (επάνω) και κορίτσια (κάτω) με καλή (1) και κακή (2) συμμόρφωση στη διαίτα (compliance). 57
- Εικόνα 13.** ANOVA ανάλυση των τιμών Z-scores BMI σε ασθενείς με PKU και HPA. 58

Εικόνα 14. VITD vs. PHE σε PKU ασθενείς ($p<0,01$; $R^2=0,291$).....	61
Εικόνα 15. Ca^{+2} vs PHE σε PKU ασθενείς ($p=0,019$; $R^2=0,093$).....	61
Εικόνα 16. P^{+4} vs PHE σε PKU ασθενείς ($p<0,01$; $R^2=0,213$).....	62
Εικόνα 17. ALP vs PHE σε PKU ασθενείς ($p<0,01$; $R^2=0,174$).....	62
Εικόνα 18. Cr vs PHE σε PKU ασθενείς ($p<0,01$; $R^2=0,316$).....	63
Εικόνα 19. Hb vs PHE σε PKU ασθενείς ($p=0,002$; $R^2=0,181$).....	63
Εικόνα 20. Z-BMI vs PHE σε PKU ασθενείς ($p=0,015$; $R^2=0,126$).....	64
Εικόνα 21. VITD vs PHE σε HPA ασθενείς ($p=0,017$, $R^2=0,144$).....	64
Εικόνα 22. P^{+4} vs PHE σε HPA ασθενείς ($p=0,002$; $R^2=0,255$).....	65
Εικόνα 23. ALP vs PHE σε HPA ασθενείς ($p=0,007$; $R^2=0,176$).....	65
Εικόνα 24. Creatinine vs PHE σε HPA ασθενείς ($p=0,003$; $R^2=0,379$).....	66

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Κλινική κατάταξη των Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων (προσαρμοσμένο από <i>Ezgu, F</i> 2016) ^[1]	5
Πίνακας 2. Κλινική εικόνα της Φαινυλκετονουρίας και θεραπευτική αντιμετώπιση ανάλογα με τον τύπο της νόσου, όπως εφαρμόζεται στο ΕΠΠΕΝ. Ανακτήθηκε και τροποποιήθηκε από: <i>Pediatric Endocrinology and Inborn Errors of Metabolism, Phenylketonuria; Chapter 13, p:163-168, P. Burgard, Xiaoping Luo, G.F. Hoffman</i>	10
Πίνακας 3. Μέγιστες τιμές συγκέντρωσης φαινυλαλανίνης στο αίμα ανά ηλικία, για όλους τους τύπους φαινυλκετονουρίας, σύμφωνα με το πρωτόκολλο παρακολούθησης του ΕΠΠΕΝ.....	11
Πίνακας 4. Συγγενείς ανωμαλίες στη μητρική PKU (MPKU) (Πηγή: <i>Lenke & Levy (1980)</i> ^[17]).....	11
Πίνακας 5. Συχνότητα Εμφάνισης Μορφών Γαλακτοζαιμίας στα Νεογέννητα της Ελλάδας (2 ^ο 6/μηνό 2006-2012). ^[41]	19
Πίνακας 6. Μορφές της νόσου Γαλακτοζαιμίας: κλινική εικόνα και συχνότητα εμφάνισης (προσαρμοσμένο από <i>Roth, C (2009)</i> ^[36]).....	19
Πίνακας 7. Διεθνείς οριακές τιμές του Δείκτη Μάζας Σώματος για λιποβαρή, υπέρβαρα και Παχύσαρκα αγόρια και κορίτσια, ηλικίας 2-18 ετών (Πηγή: <i>Cole et al, 2000</i> [61]).	26
Πίνακας 8. BMI: Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) για ενήλικες και για τα δύο φύλα (πηγή: <i>World Health Organization (WHO)</i>).....	26
Πίνακας 9. Επιπτώσεις στην υγεία για κάθε κατηγορία βάρους.....	27
Πίνακας 10. Τιμές αναφοράς των βιοχημικών και αιματολογικών δεικτών σε παιδιά και ενήλικες.....	28
Πίνακας 11. Συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου (ΣΗΠ) ανάλογα με την ηλικία και το φύλο (Πηγή: http://ods.od.nih.gov).....	29
Πίνακας 12. Κατάταξη επιπέδων 25(OH)D στο αίμα (Πηγή: <i>Institute of Medicine (IOM); Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets, 2016</i> ^[75]).....	33
Πίνακας 13. ΣΗΠ βιταμίνης D ανά ηλικία (Πηγή: <i>Institute of Medicine (IOM); Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets, 2016</i> ^[75]).....	33
Πίνακας 14. Τύποι της Γαλακτοζαιμίας και ο αριθμός των ασθενών ανάλογα με το φύλο....	38
Πίνακας 15. Ανθρωπομετρικά στοιχεία των ασθενών της μελέτης.....	38
Πίνακας 16. Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων όλων των ανθρωπομετρικών, βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων και της βιταμίνης D, στους ασθενείς με γαλακτοζαιμία.....	1
Πίνακας 17. Ανάλυση κατά Pearson όλων των ανθρωπομετρικών, βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων και της βιταμίνης D, στους ασθενείς με γαλακτοζαιμία (πράσινο κουτί: θετική στατιστικά συσχέτιση, κόκκινο κουτί: αρνητική στατιστική συσχέτιση).....	49

Πίνακας 18. Στατιστικά περιγραφικά στοιχεία ασθενών με PKU.	52
Πίνακας 19. Στατιστικά περιγραφικά στοιχεία ασθενών με HPA.	52
Πίνακας 20. Στατιστικά στοιχεία βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων σε ασθενείς με PKU.	53
Πίνακας 21. Στατιστικά στοιχεία βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων σε ασθενείς με HPA.	54
Πίνακας 22. T-Test μεταξύ των ηλικιακών ομάδων <11 ετών PREPUBERTAL και >11 ετών PUBERTAL, ασθενών με φαινυλκετονουρία.	60

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1. Παθοφυσιολογία των Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων : 1) δυσλειτουργία μεταφορές ή υποδοχέα, 2) δυσλειτουργία ενζύμου, 3) έλλειψη συνενζύμου, 4) αναστολή λειτουργίας βιοχημικού μονοπατιού από το υπόστρωμα (προσαρμοσμένο από Ezgu, F (2016) ^[1]).	4
Διάγραμμα 2. Σηματοδοτικό μονοπάτι μετατροπής της φαινυλαλανίνης σε τυροσίνη.....	8
Διάγραμμα 3. Σηματοδοτικό μονοπάτι Leloir: GALK=γαλακτοκινάση (OMIM230200), GALE=επιμεράση (OMIM230350), GALT=ουριδυλτρανφεράση (OMIM230400).	15
Διάγραμμα 4. Σηματοδοτικό μονοπάτι <i>Leloir</i> : ανεπάρκεια ή έλλειψη του ενζύμου GALK και τα αποτελέσματα αυτών	16
Διάγραμμα 5. Σηματοδοτικό μονοπάτι <i>Leloir</i> : ανεπάρκεια ή έλλειψη του ενζύμου GALT και τα αποτελέσματα αυτών. Η συσσώρευση της GAL-1-P και η μειωμένη σύνθεση της UDP GAL, προκαλούν βασικά την τοξικότητα της ασθένειας.....	17
Διάγραμμα 6. Σηματοδοτικό μονοπάτι <i>Leloir</i> : ανεπάρκεια ή έλλειψη του ενζύμου GALE και τα επακόλουθα αυτών	17
Διάγραμμα 7. Μεταβολισμός βιταμίνης D.	34

Πρόλογος

Τα Ενδογενή Μεταβολικά Νοσήματα (EMN) είναι μια ομάδα σπάνιων νοσημάτων που συνολικά θεωρούμενα αποτελούν ένα σημαντικό πρόβλημα της Δημόσιας Υγείας. Εκδηλώνονται από τη νεογνική έως την ενήλικη περίοδο της ζωής του ανθρώπου και η κλινική τους έκφραση εμφανίζεται στο σύνολο των συστημάτων του ανθρώπινου οργανισμού, συμπεριλαμβανομένου και του σκελετικού. Στα πλαίσια της εφαρμογής του προσυμπτωματικού-προληπτικού ελέγχου των νεογνών στην Ελλάδα (Newborn screening, NBS), η διερεύνηση σειράς μεταβολικών νοσημάτων, πραγματοποιείται στο Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού (Ι.Υ.Π.), στο Νοσοκομείο Παίδων “Η Αγία Σοφία” (Εθνικό Πρόγραμμα Προληπτικού Ελέγχου Νεογνών-ΕΠΠΕΝ). Τέσσερα είναι τα νοσήματα για τα οποία ελέγχονται τα νεογέννητα της χώρας (ποσοστό κάλυψης περίπου 98%) και αυτά είναι: φαινυλκετονουρία, γαλακτοζαιμία, υποθυρεοειδισμός και έλλειψη ενζύμου G6PD.

Η επί 25 χρόνια συμμετοχή μου στην επιστημονική ομάδα των εργαστηριακών αναλύσεων και διερεύνησης των νοσημάτων φαινυλκετονουρίας και γαλακτοζαιμίας, σε συνδυασμό με την παρακολούθηση του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών “Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών”, οδήγησαν στην εκπόνηση της συγκεκριμένης διπλωματικής πρωτότυπης εργασίας με σκοπό την διερεύνηση της επίδρασης των νοσημάτων αυτών στη σκελετική υγεία των πασχόντων.

Από τη θέση αυτή θα ήθελα, πρωτίστως, να ευχαριστήσω τον εμπνευστή του συγκεκριμένου μεταπτυχιακού προγράμματος, Ομότιμο Καθηγητή Ορθοπαιδικής, στην Ιατρική Σχολή Αθηνών, ΕΚΠΑ, κ. Γεώργιο Λυρίτη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετάσχω ως μεταπτυχιακή φοιτήτρια στο πρόγραμμα “Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών”, καθώς επίσης και όλους τους διδάσκοντες και συνεργάτες του προγράμματος.

Τέλος, η εργασία αυτή θα ήταν αδύνατο να πραγματοποιηθεί χωρίς την επιστημονική καθοδήγηση και συμπαράσταση της Δρ. Κλ. Σούλπη, Διευθύντριας στη Δ/ση EMN του ΙΥΠ, της Δρ. Αρτ. Δουλγεράκη, Διευθύντριας στον Τομέα Μεταβολισμού μετάλλων και οστών του ΙΥΠ και φυσικά του επιστημονικού επιβλέποντα της συγκεκριμένης διπλωματικής εργασίας, κ. Γεωρ. Λάμπρου, Βιολόγου στο Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Παίδων “Η Αγία.Σοφία”.

Αθήνα, Δεκέμβριος 2017

ΜΕΡΟΣ Ι-ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Εισαγωγικά Σχόλια

Η Φαινυλκετονουρία και Γαλακτοζαιμία είναι νοσήματα που ανήκουν στην μεγάλη οικογένεια των Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων (EMN). Κληρονομούνται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο και η συχνότητα εμφάνισης είναι 1:10-20.000 γεννήσεις στην Ευρώπη και Αμερική, για τη φαινυλκετονουρία και 1:23-44.000, για τη Γαλακτοζαιμία. Η εφαρμογή του Προληπτικού Ελέγχου Νεογνών (Newborn Screening-NBS) τη δεκαετία του '60 και μετά, αρχικά για τη φαινυλκετονουρία, που έχει και τη μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης ανάμεσα στα υπόλοιπα EMN, βοήθησε πολύ στην έγκαιρη διάγνωση των ασθενών αυτών και στην άμεση εφαρμογή της θεραπείας. Η θεραπευτική παρέμβαση και για τα δύο παραπάνω νοσήματα είναι διατροφική και άμεση, που όταν εφαρμόζεται σωστά και με συνέπεια, έχει σαν αποτέλεσμα την αποφυγή πολλών σοβαρών και μη αναστρέψιμων παθολογικών καταστάσεων, ειδικά στις πιο βαριές μορφές των νόσων: κλασσική φαινυλκετονουρία (ψυχοκινητική καθυστέρηση, νευρολογικές διαταραχές κ.ά.) και κλασσική γαλακτοζαιμία (ψυχοκινητική καθυστέρηση, οφθαλμικός καταρράκτης, ηπατική ανεπάρκεια κ.ά.). Για τη μεν φαινυλκετονουρία συνιστάται μερική απαγόρευση πρόσληψης φυσικής πρωτεΐνης μέσω της τροφής και αντικατάστασης αυτής από ειδικά σκευάσματα (φόρμουλα) με μηδενική περιεκτικότητα σε φαινυλαλανίνη, για τη δε γαλακτοζαιμία διακοπή πρόσληψης διατροφικών προϊόντων που περιέχουν λακτόζη/γαλακτόζη.

Παρ' όλα τα θετικά αποτελέσματα της θεραπείας και για τα δύο νοσήματα, κάποιες μακροπρόθεσμες επιπλοκές στους ασθενείς έχουν αναφερθεί από τους ερευνητές, που αφορούν σε διάφορα συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού: νευρικό, ανοσοποιητικό, νεφρικό, σκελετικό κ.ά.

Η σκελετική ευθραυστότητα που χαρακτηρίζεται από το εύρημα της χαμηλής οστικής πυκνότητας ή γενικότερα η εμφάνιση οστεοπενίας, έχει παρουσιαστεί σε πολλές μελέτες ως μία από τις μακροπρόθεσμες επιπλοκές σε ασθενείς (παιδιά, έφηβους, ενήλικες), που πάσχουν από φαινυλκετονουρία και γαλακτοζαιμία, χωρίς όμως να έχει διευκρινιστεί η αιτιολογία της παθοφυσιολογίας της.

Οι ασθενείς που πήραν μέρος στη μελέτη διαγνώστηκαν μέσω του Εθνικού Προγράμματος Προληπτικού Ελέγχου Νεογνών της Ελλάδας (ΕΠΠΕΝ) ή με κάποια μορφή φαινυλκετονουρίας (κλασσική, διάμεση /υπερφαινυλαλανιναιμία) ή με κάποιο τύπο διαταραχής του μεταβολισμού της Γαλακτόζης (γαλακτοκινάση, επιμεράση, κλασσική γαλακτοζαιμία). Σε όλους τους ασθενείς εφαρμόστηκε άμεσα η κατάλληλη θεραπευτική αγωγή ανάλογα του τύπου της νόσου.

Προκειμένου να διερευνηθεί η συσχέτιση των προαναφερόμενων νοσημάτων με τη σκελετική υγεία των πασχόντων, στην εργασία αυτή επιχειρείται μια κλινικό-εργαστηριακή προσέγγιση, μελετώντας ανθρωπομετρικούς και βιοχημικούς δείκτες του βασικού οστικού προφίλ του συγκεκριμένου πληθυσμού.

1.1 Σκοπός

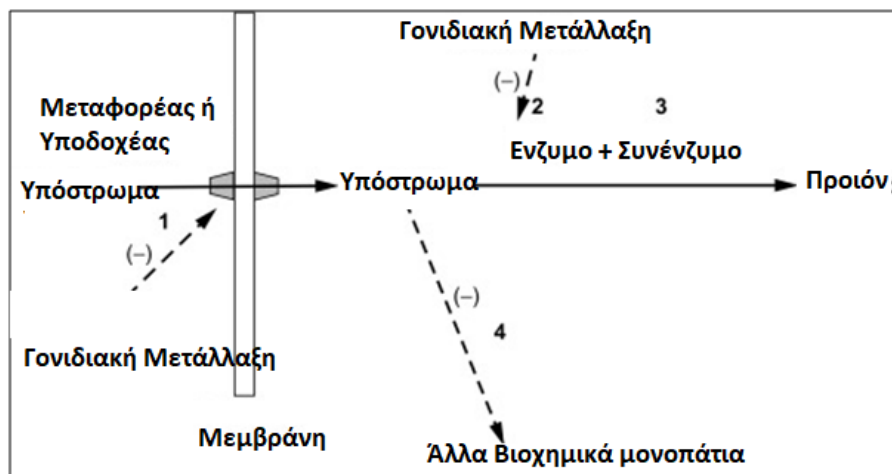
Πολλές μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν δημοσιεύσει στοιχεία όπου παρουσιάζουν τους ασθενείς (ενήλικες-παιδιά/έφηβοι) που πάσχουν από τις νόσους φαινυλκετονουρία και γαλακτοζαιμία, ιδιαίτερα στην κλασσική τους μορφή, να εμφανίζουν χαμηλή τιμή οστικής πυκνότητας σε μετρήσεις που έγιναν κυρίως με τη μέθοδο αναφοράς DXA (απορροφησιομετρία διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων Χ). Το συγκεκριμένο εύρημα, ως γνωστόν, αποτελεί παράγοντα αύξησης κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης και κατάγματος στην ενήλικη ζωή. Σκοπός της συγκεκριμένης μελέτης είναι να επιχειρήσει να διερευνήσει τη συσχέτιση της σκελετικής υγείας των ασθενών, που πάσχουν από φαινυλκετονουρία και γαλακτοζαιμία, με τις κατάλληλες βιοχημικές παραμέτρους, του βασικού οστικού προφίλ.

2. Μεταβολικά νοσήματα

2.1 Ορισμός

Τα Ενδογενή Μεταβολικά Νοσήματα (EMN) είναι σπάνιες μονογονιδιακές διαταραχές που κληρονομούνται συνήθως με τον υπολειπόμενο αυτοσωμικό τρόπο. Οφείλονται στην έλλειψη ή δυσλειτουργία κάποιου ενζύμου ή συνενζύμου ή μεταφορέα, με αποτέλεσμα την αυξημένη συγκέντρωση μεταβολιτών /υπόστρωμάτων ή την έλλειψη ενός αναγκαίου προϊόντος (**Διάγραμμα 1**).

Ως σύνολο, αποτελούν ένα σημαντικό ποσοστό γενετικών νοσημάτων στην παιδική ηλικία και η έγκαιρη διάγνωσή τους, πριν την εκδήλωση κλινικών συμπτωμάτων, αποτελεί βασική προϋπόθεση για την αντιμετώπισή τους.^[1]



Διάγραμμα 1. Παθοφυσιολογία των Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων : 1) δυσλειτουργία μεταφορέα ή υποδοχέα, 2) δυσλειτουργία ενζύμου, 3) έλλειψη συνενζύμου, 4) αναστολή λειτουργίας βιοχημικού μονοπατιού από το υπόστρωμα (προσαρμοσμένο από Ezgu, F (2016)^[1]).

2.2 Κλινικές εκδηλώσεις των Ε.Μ.Ν.

Η κλινική κατηγοριοποίηση των Ε.Μ.Ν. παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 1**).

ΤΥΠΟΣ	ΟΡΙΣΜΟΣ	ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ
Τύπου “δηλητηρίασης” (intoxication)	Παθολογία οφειλόμενη στην συσσώρευση τοξικού υποστρώματος.	Αμινοξεοπάθειες: Φαινυλκετονουρία, MSUD, διαταραχές κύκλου της ουρίας, τυροσιναιμία κλπ. οργανικές οξυουρίες, διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων (Γαλακτοζαιμία).
Τύπου “ενεργειακού ελλείματος” (deficiency)	Παθολογία οφειλόμενη σε έλλειψη προϊόντος.	Μιτοχονδριακές διαταραχές, διαταραχές οξειδωσης λιπαρών οξέων.
Τύπου “αποθήκευσης” (storage)	Παθολογία οφειλόμενη σε συσσώρευση μεταβολιτών, λόγω ελλιπούς (defective) καταβολισμού πολύπλοκων μορίων σε κυτταρικά οργανίδια.	Λυσσωσομιακά νοσήματα, υπεροξυσωμιακά νοσήματα.

Πίνακας 1. Κλινική κατάταξη των Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων (προσαρμοσμένο από *Ezgu, F 2016*)^[1].

2.3 Συσχετισμός E.M.N. με τη σκελετική υγεία

Ανάλογα με τον τύπο του μεταβολικού νοσήματος, τα κλινικά συμπτώματα μπορεί να εμφανιστούν είτε νωρίς, δηλαδή στη νεογνική περίοδο του ανθρώπου, είτε αργότερα στη διάρκεια της ζωής του (παιδική ηλικία, εφηβεία ή ακόμα και στην ενηλικίωση). Στη δεύτερη περίπτωση, ενδέχεται να προσβληθούν τα περισσότερα συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού: νευρολογικό, ανοσολογικό, μυϊκό, καρδιολογικό κ.α. Στο σκελετικό σύστημα, ασθένειες όπως τυροσιναιμία τύπου I, ομοκυστινουρία, νόσος Gaucher και νόσος Fabry, αποδεδειγμένα επιφέρουν αλλοιώσεις στα οστά.^[1]

2.4 Διάγνωση (Newborn Screening-NBS)

Ο Προληπτικός Έλεγχος Νεογνών (ΠΕΝ) –όπως αποδίδεται στα Ελληνικά το NBS- είναι πολύ σημαντικός για την έγκαιρη διάγνωση των Ενδογενών Μεταβολικών Νοσημάτων και την άμεση θεραπευτική παρέμβαση προκειμένου να προληφθούν μη αναστρέψιμες βλάβες, νοσηρότητα ακόμα και ο θάνατος. Η πρώτη προσπάθεια εφαρμογής του ΠΕΝ έγινε το 1959, για τη νόσο φαινυλκετονουρία, από τον *Robert Guthrie*.

Από τις διαταραχές που οφείλονται σε συσσώρευση υποστρωμάτων, η φαινυλκετονουρία (PKU), που ανήκει στις αμινοξεοπάθειες και η Γαλακτοζαιμία (διαταραχή του μεταβολισμού υδατανθράκων), είναι από τα πλέον συχνά

απαντώμενα μεταβολικά νοσήματα και ο ΠΕΝ πραγματοποιείται διεθνώς γι' αυτά. Στην Ελλάδα το Εθνικό Πρόγραμμα Προληπτικού Ελέγχου Νεογνών (ΕΠΠΕΝ), περιλαμβάνει τη διερεύνηση τεσσάρων νοσημάτων.

- Φαινυλκετονουρία (1973)
- Γαλακτοζαιμία (2^ο εξάμηνο 2006)
- Υποθυρεοειδισμός (1979)
- Έλλειψη ενζύμου G6PD (1979)

και διενεργείται στο Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού, στο Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία». Μέσω του νεογνικού screening, ο εντοπισμός κάποιου ύποπτου νεογνού για φαινυλκετονουρία ή γαλακτοζαιμία γίνεται έγκαιρα, την 7^η έως 10^η ημέρα ζωής.

3. Φαινυλκετονουρία (OMIM 261600)

3.1 Μεταβολισμός της Φαινυλαλανίνης

Η νόσος φαινυλκετονουρία είναι η πιο γνωστή ενδογενής διαταραχή του μεταβολισμού (1:10.000 νεογνά σε Ευρώπη και Αμερική)^[2, 3] και κληρονομείται με τον υπολειπόμενο αυτοσωμικό τρόπο. Προκαλείται λόγω της ανεπάρκειας ή έλλειψης του ηπατικού ενζύμου, υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης (PAH), που είναι απαραίτητο για την μετατροπή της φαινυλαλανίνης σε τυροσίνη (**Διάγραμμα 2**). Αποτέλεσμα της παραπάνω ανεπάρκειας είναι η αύξηση της συγκέντρωσης της φαινυλαλανίνης στο αίμα και σε διάφορους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου και του εγκεφάλου, προκαλώντας απομυελινώσεις με συνέπεια προοδευτικά σοβαρές νευρολογικές διαταραχές, όπως σπασμοί, αταξία, διανοητική καθυστέρηση και προβλήματα συμπεριφοράς.^[4, 5] Το εύρος και η σοβαρότητα των φαινότυπων της νόσου εξαρτάται από τον βαθμό της ανεπάρκειας του ενζύμου PAH, αλλά και του συνενζύμου της, τετραϋδροβιοπτερίνη (BH4) που ρυθμίζουν την αποδόμηση της φαινυλαλανίνης. Ειδικότερα για την τετραϋδροβιοπτερίνη, διαταραχές στη βιοσύνθεση ή την επανακύκλωσή της οδηγούν επίσης στις περισσότερες περιπτώσεις σε αύξηση φαινυλαλανίνης και διαταραχές στην παραγωγή των νευροδιαβιβαστών. Οι διαταραχές αυτές (άτυπες μορφές φαινυλκετονουρίας) είναι πολύ πιο σπάνιες από την κλασική μορφή PKU και στην πλειοψηφία τους ανιχνεύονται στα πλαίσια του ΠΕΝ.^[2]

Το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για τη λειτουργία της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH), εδράζεται στο χρωμόσωμα 12. Έως σήμερα έχουν βρεθεί περίπου 800 μεταλλάξεις. (www.pahdb.mcgill.ca).

3.2 Ιστορικό-Διάγνωση

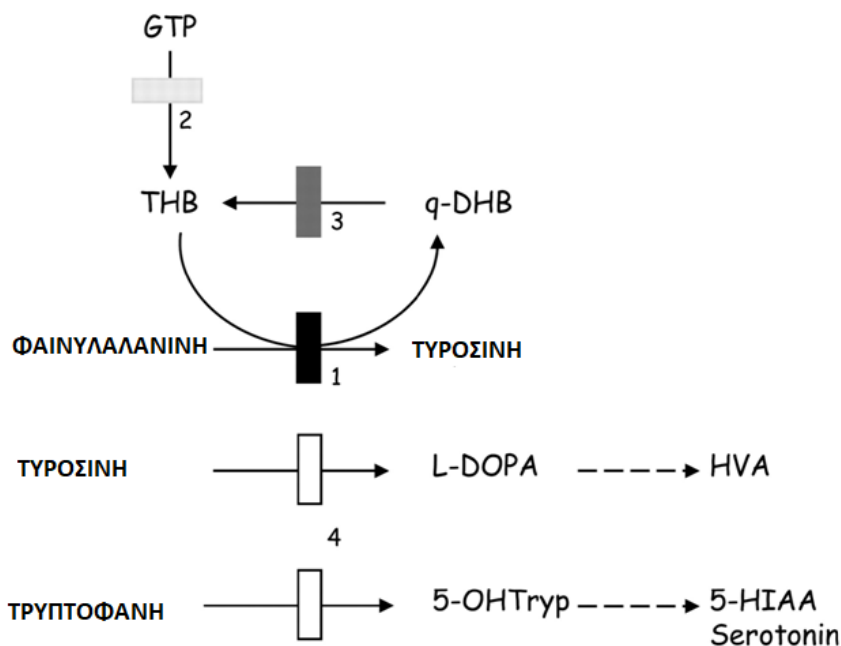
Η Φαινυλκετονουρία (PKU) αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1934 από τον Νορβηγό γιατρό Άσμπορν Φέλιγκ.^[6] Αργότερα, το 1951, οι *Woolf & Vulliamy* (1951) ήταν οι πρώτοι που ανακάλυψαν πως τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης μπορούν να μειωθούν, αν διακοπεί καθολικά η διατροφική πρόσληψη της.^[7] Περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι νεογέννητα με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, αν ακολουθούσαν έγκαιρα τη συγκεκριμένη διαίτα, απέφευγαν την εμφάνιση διανοητικής καθυστέρησης.^[8]

Έτσι η ανίχνευση της νόσου φαινυλκετονουρίας εντάχθηκε στα προγράμματα νεογνικού ελέγχου (Newborn screening) των Η.Π.Α στα μέσα της δεκαετίας το 1960

και αργότερα, αρχές της δεκαετίας του 1970, ξεκίνησε σταδιακά σε όλες τις αναπτυγμένες χώρες.^[9, 10]

Ο προσδιορισμός των επιπέδων φαινυλαλάνινης στα νεογέννητα, μέσω του Π.Ε.Ν., γίνεται σε αποξηραμένες σταγόνες αίματος, που λαμβάνονται σε ειδικό απορροφητικό χαρτί (Guthrie card)^[11] και η εργαστηριακή μέθοδος μπορεί να είναι ποσοτική φωτομετρική, ανοσοφθορισμού ή φασματοφωτομετρία μάζας (Tandem-Ms). Τα θετικά αποτελέσματα από το νεογνικό screening (NBS) πρέπει να επιβεβαιωθούν απαραίτητως με:^[12]

- 1) ποσοτικό προσδιορισμό των αμινοξέων αίματος
- 2) ποσοτικό προσδιορισμό του συνενζύμου της ρεδοκτάσης σε αποξηραμένες σταγόνες αίματος
- 3) φόρτιση τετραϋδροβιοπτερίνης (BH4), για διαφορική διάγνωση της νόσου (άτυπη-κλασσική μορφή)
- 4) και τέλος γονιδιακό έλεγχο



Διάγραμμα 2. Σηματοδοτικό μονοπάτι μετατροπής της φαινυλαλάνινης σε τυροσίνη. 1.υδροξυλάση της φαινυλαλάνινης, 2.Σύνθεση τετραϋδροβιοπτερίνης(BH4), 3.ανακύκλωση BH4, 4.υδροξυλάση τυροσίνης και τρυπτοφάνης. HVA:ομοβανιλλικό οξύ, 5-HIAA:5-υδρόξυ-ινδολοξικό οξύ.

3.3 Διαταραχές του ενζύμου υδροξυλάσης της φαινυλαλάνινης (PAH)

Το κλασσικό σχήμα κατηγοριοποίησης για τις μορφές του PKU βασίζεται στα επίπεδα φαινυλαλάνινης πριν την έναρξη της θεραπείας, όπως αποτυπώνεται παρακάτω:^[13]

3.3.1 Ανεπάρκεια τετραϋδροβιοπτερίνης (BH4-Deficiency):

Φυσιολογικά έως αυξημένα επίπεδα φαινυλαλανίνης (2-35mg/dl). Η θεραπεία εξαρτάται από τον τύπο.

3.3.2 PAH ανεπάρκεια με ένδειξη θεραπείας

- Classical PKU >20 mg/dl
- Mild PKU: 10-15mg/dl
- Moderate PKU:15-20 mg/dl
- Mild HPA-gray zone: 6-10mg/dl

PAH ανεπάρκεια χωρίς ένδειξη θεραπείας:

- Mild HPA (υπερφαινυλαλανιναιμία): 2-6mg/dl

Για κάθε κέντρο παρακολούθησης (screening) όμως –πολλές φορές ακόμα και στην ίδια χώρα- ενδέχεται να ακολουθείται διαφοροποιημένη πολιτική ως προς τις τιμές έναρξης της θεραπείας και τη διάρκεια αυτής ανάλογα με τα στατιστικά-επιδημιολογικά στοιχεία που προκύπτουν για τον αντίστοιχο πληθυσμό.

3.4 Αιτιολογία-Παθοφυσιολογία

Το ένζυμο της υδροξυλάσης της φαινυλαλανίνης (PAH) παράγεται στο ήπαρ και η δραστηριότητά του ελέγχεται από τα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα. Όταν τα επίπεδα αυτά αυξάνονται, ενεργοποιείται η γενετική μεταγραφή του ενζύμου με αποτέλεσμα την ελάττωση της συγκέντρωσης της φαινυλαλανίνης.

Στους ασθενείς με φαινυλκετονουρία, η πλήρης ή μερική έλλειψη του ενζύμου της υδροξυλάσης (PAH), οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα φαινυλαλανίνης στο αίμα και στον εγκέφαλο, μέσω της σίτισης-πρόσληψης φυσικών πρωτεϊνών ή σε περίπτωση καταβολισμού των πρωτεϊνών (νηστεία).^[2]

Γενικώς πάντως ο μηχανισμός μέσω του οποίου διενεργούνται οι παραπάνω διαδικασίες, δεν είναι πλήρως γνωστός(**Διάγραμμα 2**).

3.5 Κλινική εικόνα

Η νόσος φαινυλκετονουρία προκαλεί σοβαρές δομικές και λειτουργικές διαταραχές του εγκεφάλου, όπως για παράδειγμα σπασμούς, σοβαρή διανοητική και κινητική καθυστέρηση, προβλήματα συμπεριφοράς και άλλα. Η σοβαρότητα των κλινικών εκδηλώσεων εξαρτάται από τον βαθμό ανεπάρκειας του ενζύμου υδροξυλάση της φαινυλαλανίνης (PAH) (**Πίνακας 2**).^[2]

ΤΥΠΟΣ ΡΚΥ	ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ (παιδική ηλικία/ενηλικίωση)	ΘΕΡΑΠΕΙΑ
Κλασική (classic): PHE >20mg/dl (Φ.Τ.: 0.4-1.7 στη νεογνική περίοδο)	Σπασμοί, μικροκεφαλία, σπαστικότητα, διανοητική καθυστέρηση, αδυναμία συγκέντρωσης, δυσάρεστη οσμή ούρων (mousy odor).	Εφ' όρου ζωής.
Διάμεση (intermediate): PHE 10-20mg/dl	Ίδια εικόνα με τον τύπο 1, εάν δεν υπάρξει θεραπεία. Ηπιότερη διατροφική απαγόρευση πρόσληψης φαινυλαλανίνης για την επίτευξη μεταβολικού ελέγχου.	Τουλάχιστον έως την ενηλικίωση. Τα κορίτσια εφ' όρου ζωής.
Μη ΡΚΥ-HPA/mild HPA: PHE 6-10mg/dl (Non ΡΚΥ-HPA/m-HPA)	Φυσιολογική.	Τουλάχιστον έως την ενηλικίωση. Τα κορίτσια εφ' όρου ζωής.
ΒΗ4: PHE 2-35mg/dl	Εξαρτάται από τον τύπο.	Εξαρτάται από τον τύπο.

Πίνακας 2. Κλινική εικόνα της Φαινυλκετονουρίας και θεραπευτική αντιμετώπιση ανάλογα με τον τύπο της νόσου, όπως εφαρμόζεται στο ΕΠΠΕΝ. Ανακτήθηκε και τροποποιήθηκε από: Pediatric Endocrinology and Inborn Errors of Metabolism, Phenylketonuria; Chapter 13, p:163-168, P. Burgard, Xiaoping Luo, G.F. Hoffman.

3.6 Θεραπευτική αντιμετώπιση

Παρόλο που υπάρχουν διαφωνίες στη διεθνή επιστημονική κοινότητα σχετικά με τα επίπεδα φαινυλαλανίνης για την έναρξη της θεραπείας στους ασθενείς (Ηνωμένο Βασίλειο 6,6mg/dl, Η.Π.Α 5,9-6,6mg/dl, Γαλλία-Γερμανία 9,9mg/dl), υπάρχει ομοφωνία σχετικά με τον χρόνο έναρξης και αυτός δεν πρέπει να υπερβαίνει τις τέσσερις (4) εβδομάδες ζωής του νεογέννητου.

Η θεραπευτική προσέγγιση της φαινυλκετονουρίας^[14, 15] περιλαμβάνει τη μείωση πρόσληψης όλων των πρωτεϊνούχων τροφών αφού οι πρωτεΐνες περιέχουν φαινυλαλανίνη. Ως αντικατάσταση προτείνεται μια συνθετική «φόρμουλα» (Amino Acid-Medical Food/AA-MF), που περιέχει όλα τα αμινοξέα εκτός της φαινυλαλανίνης και είναι εμπλουτισμένη σε βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Στην περίπτωση της κλασσικής φαινυλκετονουρίας, η δίαιτα θα πρέπει να εφαρμόζεται σε όλη τη διάρκεια της ζωής. Οι ανάγκες του οργανισμού σε φαινυλαλανίνη και η ανοχή του στο συγκεκριμένο αμινοξύ, αλλάζουν ανάλογα με τη σωματική ανάπτυξη και την ηλικία. Επομένως, είναι απαραίτητη η συχνή παρακολούθηση των επιπέδων της στους ασθενείς αυτούς, προκειμένου να διαπιστωθεί η σωστή ή μη συμμόρφωσή τους με τη δίαιτα. Οι μέγιστες επιτρεπόμενες τιμές συγκέντρωσης φαινυλαλανίνης στο αίμα ανά ηλικία, για όλους τους τύπους φαινυλκετονουρίας, αποτυπώνονται στον παρακάτω πίνακα

(Πίνακας 3). Η κλινική, διατροφική και βιοχημική παρακολούθηση των ασθενών είναι απαραίτητη, ανεξάρτητα από τη θεραπεία.

Ηλικία (έτη)	Phe (συγκέντρωση σε mgr/dl)
0-3	3,0
3-5	5,0
6-12	7,0
13-18	<10
>18	<10

Πίνακας 3. Μέγιστες τιμές συγκέντρωσης φαινυλαλανίνης στο αίμα ανά ηλικία, για όλους τους τύπους φαινυλκετονουρίας, σύμφωνα με το πρωτόκολλο παρακολούθησης του ΕΠΠΕΝ.

Επίσης, είναι ιδιαίτερα σημαντικό να αναφερθεί μια συγκεκριμένη κατηγορία γυναικών που πάσχουν από τη νόσο και προτίθενται να βρεθούν σε κατάσταση εγκυμοσύνης, γνωστή ως maternal PKU (MPKU). Σε αυτή την περίπτωση θα πρέπει να τηρούνται τα όρια φαινυλαλανίνης στο αίμα της μητέρας αυστηρά σε χαμηλά επίπεδα: μεταξύ 2,0-4,0 mg/dl και αρκετό χρονικό διάστημα πριν τη σύλληψη. Σε διαφορετική περίπτωση, οποιαδήποτε αύξηση των επιπέδων εμπεριέχει υψηλό κίνδυνο για το έμβρυο ^[16]

(Πίνακας 4).

Συγγενείς ανωμαλίες	MPKU
Διανοητική καθυστέρηση	92,00%
Μικροκεφαλία	73,00%
Καθυστέρηση ενδομήτρια ανάπτυξης	40,00%
Συγγενείς καρδιακές ανωμαλίες	12,00%

Πίνακας 4. Συγγενείς ανωμαλίες στη μητρική PKU (MPKU) (Πηγή: Lenke & Levy (1980)^[17]).

3.7 Φαινυλκετονουρία και οστική υγεία

Στους ασθενείς με φαινυλκετονουρία και ιδιαίτερα στα παιδιά, υπάρχουν ειδικές παράμετροι στις οποίες πρέπει να δοθεί η απαραίτητη προσοχή και ιατρική παρακολούθηση. Ένα από αυτά είναι η εκτίμηση της υγείας των οστών.

Τα σκελετικά προβλήματα είναι μια επιπλοκή της φαινυλκετονουρίας, χωρίς να είναι ιδιαίτερα κατανοητή και ερμηνεύσιμη από τους ερευνητές του συγκεκριμένου πεδίου.

Διάφορες σχετικές μελέτες αναφέρουν:

- 1) Χαμηλές τιμές οστικής πυκνότητας σε ασθενείς με φαινυλκετονουρία σε σχέση με υγιή πληθυσμό ίδιας ηλικίας, γεγονός που ενδεχομένως αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης

κατάγματος στο μέλλον.^[18, 19]

- 2) Υψηλότερο ποσοστό εμφάνισης κατάγματος σε ασθενείς, ιδιαίτερα μετά τα 8 χρόνια ζωής, σε σύγκριση με ομάδα ελέγχου. Το συγκεκριμένο αποτέλεσμα πιθανώς να συνδέεται και με υψηλές τιμές φαινυλαανίνης, λόγω μη καλής συμμόρφωσης στη θεραπεία στις συγκεκριμένες ηλικίες.^[20]
- 3) Μη επίτευξη κορυφαίας οστικής μάζας (KOM) χωρίς να διευκρινίζεται όμως αν είναι αποτέλεσμα της ίδιας της νόσου ή/και της διαιτητικής θεραπείας.^[21]
- 4) Εμφάνιση οστεοπενίας ή/και οστεοπόρωσης σε ενήλικες ασθενείς με φαινυλκετονουρία^[21, 22], γεγονός που μπορεί να οφείλεται: στην έλλειψη φυσικής πρωτεΐνης, βιταμίνης D ή/και άλλων ιχνοστοιχείων^[23] λόγω της δια βίου απαγόρευσης λήψης φυσικών πρωτεϊνών μέσω της διατροφής ή να είναι ένα αποτέλεσμα κάποιας διαταραχής της οστικής ανακατασκευής που να συνδέεται άμεσα με την ίδια τη νόσο^[24].

Η οστεοπενία/οστεοπόρωση χαρακτηρίζονται από μειωμένη οστική μάζα και αντοχή, γεγονός που μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης κατάγματος. Οι τιμές της οστικής πυκνότητας (BMD) καθορίζονται από την επίτευξη της KOM και το μέγεθος της οστικής απώλειας προϋούσης της ηλικίας του ανθρώπου. Από την άλλη πλευρά, η οστική ποιότητα σχετίζεται με τη μάκρο και μικροαρχιτεκτονική των οστών, το μέγεθός τους, τον ρυθμό οστικής εναλλαγής, τη φυσιολογική επιμετάλλωσή τους και τις μικροκαταπονήσεις που δέχονται.^[25] Η παθοφυσιολογία της οστεοπενίας/οστεοπόρωσης χαρακτηρίζεται από τους παρακάτω παράγοντες.^[25]

- 1) ελαττωμένη οστική μάζα: 80% των περιπτώσεων έχουν γενετική προδιάθεση, ενώ το υπόλοιπο 20% οφείλεται σε εξωγενείς παράγοντες (πτωχή πρόσληψη ασβεστίου, καθιστική ζωή κ.α.).
- 2) αποσύζευξη της οστικής ανακατασκευής: δηλαδή η οστική απώλεια να υπερέρχει της οστικής παραγωγής, με αποτέλεσμα την αλλοίωση της μικροαρχιτεκτονικής του οστού.

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), η BMD εκτιμάται με βάση το T-score, δηλαδή τις σταθερές αποκλίσεις/SD από τις οποίες διαφέρει η BMD του εξεταζόμενου ασθενούς από τη BMD υγιών νεαρών ατόμων αναφοράς.

Η μέθοδος DXA θεωρείται η μέθοδος εκλογής για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας, έχοντας την μεγαλύτερη διαθεσιμότητα παγκοσμίως αλλά και τις εκτενέστερες επιδημιολογικές και κλινικές μελέτες¹.

¹Τα όρια του T-score για άνδρες και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες >50 ετών είναι: τιμές <-2.5 υποδεικνύουν οστεοπόρωση και τιμές -2.5<T-score<-1.0 υποδεικνύουν οστεοπενία.

Σε προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες και άνδρες ηλικίας μικρότερης των 50 ετών η κατάταξη γίνεται βάση του Z-score που χρησιμοποιείται για τον καθορισμό της ηλικιοεξαρτώμενης σταθερής απόκλισης (SD) της οστικής πυκνότητας (BMD) μιας συγκεκριμένης περιοχής του σκελετού από τον μέσο όρο της τιμής της οστικής πυκνότητας ατόμων του ίδιου φύλου και ηλικίας. Το αποτέλεσμα των μετρήσεων θεωρείται «μέσα στο αναμενόμενο για την ηλικία» αν ο εξεταζόμενος έχει τιμές Z-score μεγαλύτερες του -2 και «κατώτερο του αναμενόμενου για την ηλικία» αν έχει τιμές Z-score μικρότερες του -2.

Στα παιδιά χρησιμοποιείται αποκλειστικά παιδιατρικό ή βρεφικό πρόγραμμα (αναλόγως της ηλικίας) και η κατάταξη γίνεται βάση του Z-score. Το αποτέλεσμα των μετρήσεων θεωρείται «μέσα στο αναμενόμενο για την ηλικία» αν το παιδί έχει τιμή Z-score μεγαλύτερη του -2 και «κατώτερο του αναμενόμενου για την ηλικία» αν έχει τιμή Z-score μικρότερη του -2 και δεν χρησιμοποιούνται οι όροι «οστεοπόρωση/οστεοπενία».

Παρόλα αυτά το βασικό ερώτημα που παραμένει είναι, αν η σκελετική ευθραυστότητα που εμφανίζεται σε ασθενείς με φαινυλκετονουρία σχετίζεται με τον γονότυπο της νόσου ή είναι αποτέλεσμα της θεραπείας. Η πρόληψη των νευρολογικών διαταραχών (διανοητική καθυστέρηση) και άλλων τυπικών, για την ασθένεια, επιπλοκών μέσω της απαγόρευσης πρόληψης φυσικής πρωτεΐνης, μπορεί να οδηγήσει σε άλλες επιπλοκές και ελάττωση της ποιότητας ζωής (quality of life-QOL), συμπεριλαμβανομένης και της εμφάνισης κάποιας οστικής επιπλοκής.

Σ' αυτό το σημείο αξίζει να γίνει αναφορά σε δύο μελέτες: Η πρώτη αναφέρει ότι σε κάποιους ασθενείς με φαινυλκετονουρία, εντοπίστηκε αυξημένος αριθμός πρόδρομων οστεοκλαστών, με αποτέλεσμα την αύξηση της οστικής απορρόφησης και της πιθανότητας εμφάνισης οστικής διαταραχής^[26] και η δεύτερη είναι μια πειραματική εργασία σε ποντίκια, όπου οι ερευνητές προσπάθησαν να απαντήσουν στο κρίσιμο ερώτημα, αν η σκελετική ευθραυστότητα που εμφανίζεται στους ασθενείς με φαινυλκετονουρία, είναι αποτέλεσμα του γονότυπου της νόσου ή της εφαρμοζόμενης θεραπείας ή και των δύο, διερευνώντας την επίδραση των παραπάνω στην εμβιομηχανική του οστού.^[27]

3.8 Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης χαμηλής Οστικής Πυκνότητας σε ασθενείς με PKU

Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης χαμηλής οστικής πυκνότητας σε ασθενείς με PKU αποτελούν:

- 1) Η Απαγόρευση πρόσληψης φυσικής πρωτεΐνης, η οποία ευνοεί την έκκριση του ινσουλινοειδή αυξητικού παράγοντα (IGF-1), με αποτέλεσμα την αύξηση της οστεοβλαστικής δραστηριότητας και επομένως και της οστικής μάζας, αλλά και της απορρόφησης βασικών θρεπτικών ουσιών, ιδιαίτερα στην παιδική ηλικία.^[28]
- 2) Μη συμμόρφωση στη θεραπεία με αποτέλεσμα τα υψηλά επίπεδα φαινολαλανίνης στο αίμα.^[23]
- 3) Έλλειψη φυσικής δραστηριότητας.^[16]
- 4) Έλλειψη των πολυακόρεστων λιπαρών οξέων μακράς αλύσου (LCPUFA), που εν δυνάμει εμπλέκονται στη διαδικασία του οστικού σχηματισμού και της οστικής ανακατασκευής.^[29]
- 5) Γενετικοί παράγοντες που σχετίζονται άμεσα με τη νόσο και ενδεχομένως να εμπλέκονται στην εμφάνιση οστικής διαταραχής στους συγκεκριμένους ασθενείς, προκαλώντας κάποια διαταραχή στη διαδικασία της οστικής ανακατασκευής.^[30]
- 6) Μειωμένη βιοσύνθεση των πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας, λόγω έλλειψης αμινοξέων απαραίτητων για τη σύνθεση του κολλαγόνου (λυσίνη, γλυκίνη, προλίνη). Σε αυτή την περίπτωση ενδέχεται να τροποποιείται η δημιουργία των διασταυρούμενων δεσμών του κολλαγόνου, με αποτέλεσμα τη μειωμένη ελαστικότητα της θεμέλιας ουσίας.^[31]

Επίσης, η συγκεκριμένη διατροφή που είναι υψηλή σε περιεκτικότητα συνθετικών αμινοξέων, ενδέχεται να προκαλέσει:

- Μεταβολική οξέωση.^[32]
- Αυξημένη οστική απορρόφηση και αυξημένη νεφρική απέκκριση ασβεστίου (υπερασβεστιουρία), λόγω υψηλής συγκέντρωσης ιόντων υδρογόνου (H^+) με αποτέλεσμα την αύξηση της οστικής απορρόφησης και τη χαμηλή οστική πυκνότητα.^[33]
- Ανεπάρκεια νεφρικής λειτουργίας, ελάττωσης του GFR (ρυθμός σπειραματικής διήθησης), λόγω πρόσληψης υψηλών ποσοτήτων τεχνητής πρωτεΐνης. Η μειωμένη νεφρική λειτουργία είναι γνωστό ότι προκαλεί ελάττωση στη σύνθεση της 1,25 Vit-D στους νεφρούς, μείωση εντερικής απορρόφησης Ca, αύξηση οστικής απορρόφησης με αποτέλεσμα τη μείωση της BMD.^[34]

Η αύξηση των ιόντων H^+ και η έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας έχουν ποικίλα αρνητικά αποτελέσματα για την σκελετική υγεία.^[34, 35] Καταστάσεις οξείας ή χρόνιας οξέωσης δημιουργούν αύξηση του ρυθμού οστικής εναλλαγής, προς την πλευρά της οστικής απορρόφησης και αυξημένη ασβεστιουρία. Επίσης και ο μεταβολισμός της βιταμίνης D μπορεί να επηρεαστεί αν το PH είναι χαμηλό.

4. Γαλακτοζαιμία

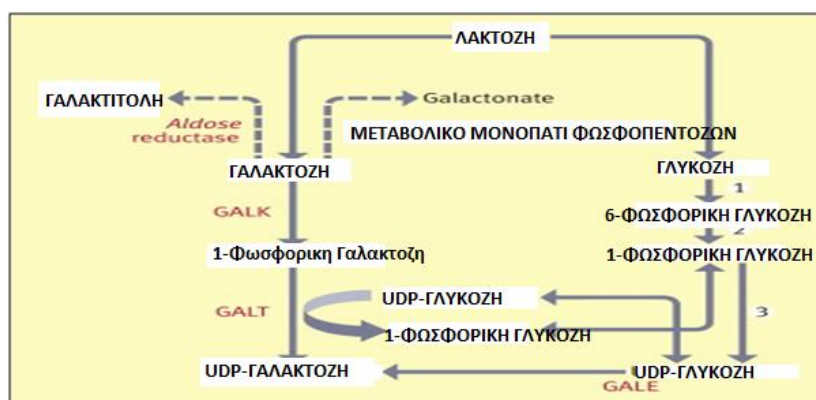
4.1 Μεταβολισμός της γαλακτόζης

Η λακτόζη είναι ένας δισακχαρίτης που αποτελείται από γλυκόζη και γαλακτόζη. Κύρια πηγή πρόσληψής της είναι η διατροφή και κυρίως το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Στον άνθρωπο η προσλαμβανόμενη γαλακτόζη μετατρέπεται σε GLUC-1-P μέσω της ενεργοποίησης τριών ενζύμων:^[36]

- 1) της γαλακτοκινάσης (GALK-galactokinase)
- 2) της γαλακτόζης-1-ουριδυλτρανσφεράσης (GALT-galactose-1-phosphateuridylyltransferase και
- 3) της επιμεράσης (GALE-galactose 4'epimerase)

4.2 Διαταραχές του μεταβολισμού της Γαλακτόζης

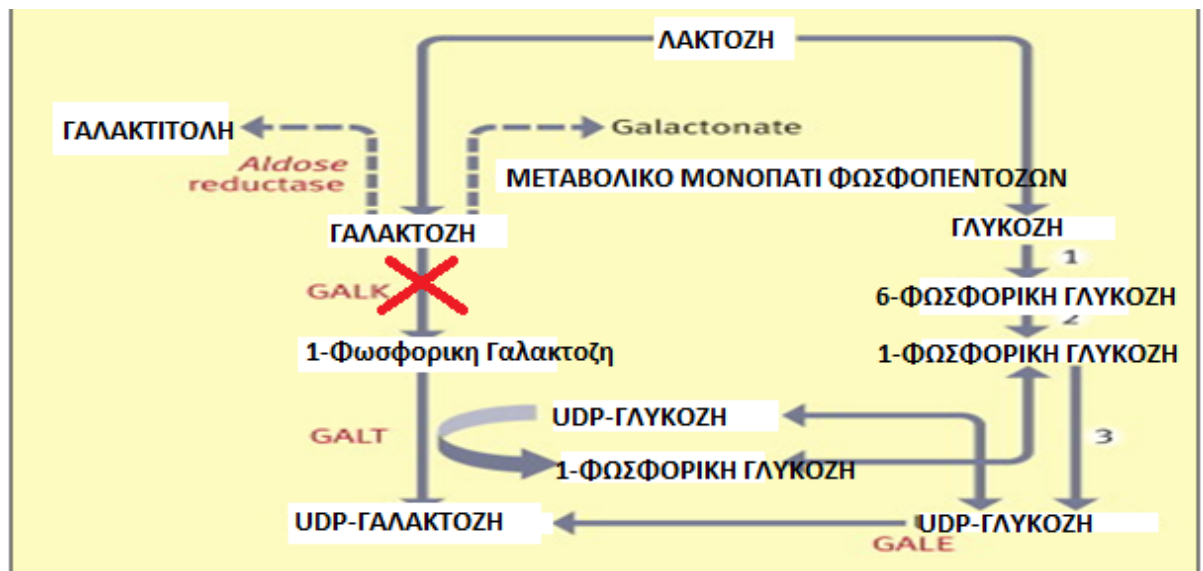
Γαλακτοζαιμία είναι διαταραχή μεταβολισμού της γαλακτόζης, η οποία ταξινομείται περαιτέρω σε τρεις (3) τύπους, βάσει του μηχανισμού εμφάνισης. Κοινό χαρακτηριστικό όλων των μορφών της νόσου είναι τα αυξημένα επίπεδα γαλακτόζης στο αίμα, λόγω κάποιας μεταβολής στο βιοχημικό μονοπάτι μετατροπής της γαλακτόζης σε γλυκόζη (*Leloir pathway*) (**Διάγραμμα 3**).^[36]



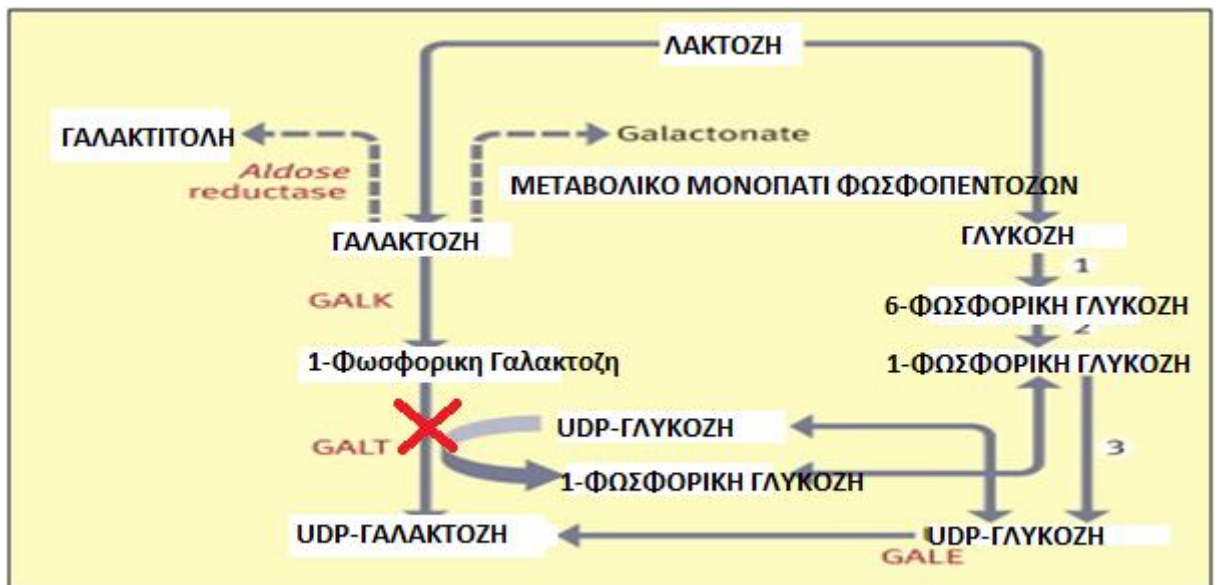
Διάγραμμα 3. Σηματοδοτικό μονοπάτι Leloir: GALK=γαλακτοκινάση (OMIM230200), GALE=επιμεράση (OMIM230350), GALT=ουριδυλτρανσφεράση (OMIM230400).

Όταν κάποιο από τα παραπάνω ένζυμα –τα οποία συνθέτουν το βιοχημικό μονοπάτι Leloir-, βρίσκεται σε ανεπάρκεια ή έλλειψη, λόγω κάποιας μετάλλαξης στο γονίδιο που τα κωδικοποιεί, εμφανίζονται οι εξής μορφές της νόσου:

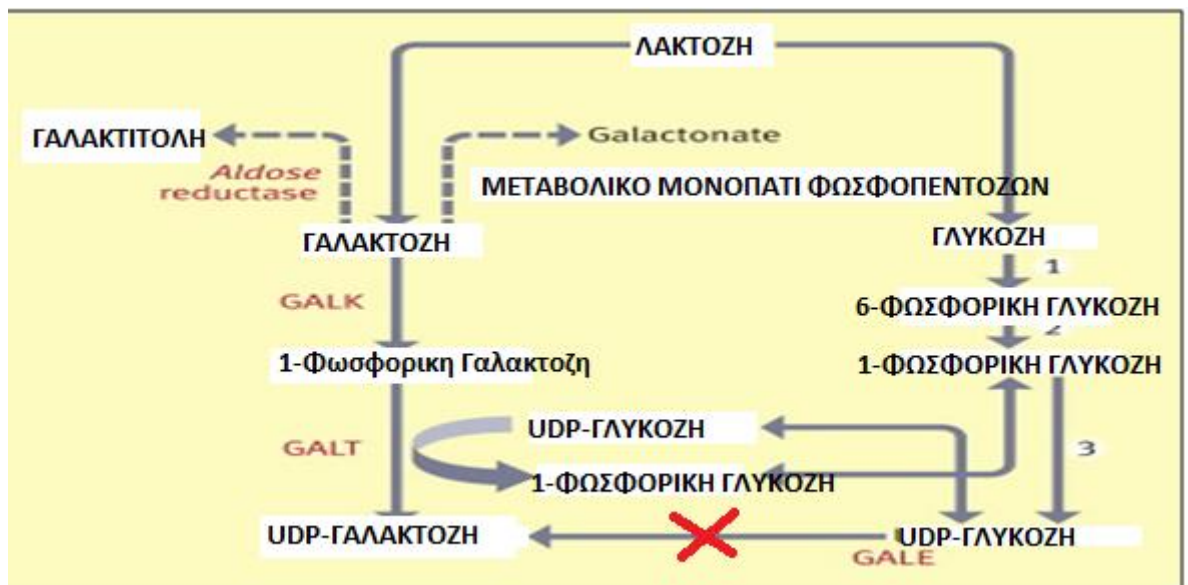
- 1) Γαλακτοζαιμία λόγω έλλειψης γαλακτοκινάσης (GALK): η γαλακτοκινάση είναι το υπεύθυνο ένζυμο για τη φωσφορυλίωση της γαλακτόζης. Σε περίπτωση ανεπάρκειας ή έλλειψης αυτού του ενζύμου προκαλείται συσσώρευση γαλακτόζης και γαλακτιτόλης (**Διάγραμμα 4**).^[36]
- 2) Γαλακτοζαιμία λόγω έλλειψης ουριδυλτρανφεράσης (GALT): ή αλλιώς κλασική γαλακτοζαιμία. Είναι και η πιο σοβαρή μορφή της νόσου. Το ένζυμο GALT είναι υπεύθυνο για την μετατροπή της GAL-1-P σε UDP-GAL και αυτής σε GLUC-1-P. Σε περίπτωση έλλειψης ή ανεπάρκειας της ουριδυλ-τρανσφεράσης δημιουργείται συσσώρευση γαλακτόζης, γαλακτιτόλης, GAL-1-P και μειώνεται η παραγωγή UDP-GAL (**Διάγραμμα 5**).^[36]
- 3) Γαλακτοζαιμία λόγω έλλειψης της UDP-επιμεράσης (GALE). Όταν το συγκεκριμένο ένζυμο βρίσκεται σε έλλειψη ή ανεπάρκεια, τότε δημιουργείται συσσώρευση UDP-GAL, GAL-1-P και γαλακτόζης (παρόμοια εικόνα με την κλασική μορφή), η οποία μετατρέπεται κατά το ήμισυ σε γλυκόζη, επιτρέποντας να συνεχιστεί ο κύκλος (**Διάγραμμα 6**).^[36]



Διάγραμμα 4. Σηματοδοτικό μονοπάτι Leloir, ανεπάρκεια ή έλλειψη του ενζύμου GALK και τα αποτελέσματα αυτών.



Διάγραμμα 5. Σηματοδοτικό μονοπάτι *Leloir*, ανεπάρκεια ή έλλειψη του ενζύμου GALT και τα αποτελέσματα αυτών. Η συσσώρευση της GAL-1-P και η μειωμένη σύνθεση της UDP GAL, προκαλούν βασικά την τοξικότητα της ασθένειας.



Διάγραμμα 6. Σηματοδοτικό μονοπάτι *Leloir*, ανεπάρκεια ή έλλειψη του ενζύμου GALE και τα επακόλουθα αυτών.

Τα κύρια ένζυμα του μονοπατιού *Leloir*, βρίσκονται σε πολλούς ιστούς και τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων και των ερυθροκυττάρων, η παραγωγή δε UDP-galactose και UDP-glucose είναι απαραίτητη για την βιοσύνθεση γλυκολιπιδίων και γλυκοπρωτεϊνών. Έχουν περιγραφεί επίσης τρία ακόμα συμπληρωματικά μονοπάτια

μεταβολισμού της γαλακτόζης, με σημαντικότερο αυτό της ρεδουκτάσης της αλδόζης, που φαίνεται να είναι υπεύθυνο για την παθογένεση του καταράκτη στην κλασική μορφή της νόσου.^[37]

4.3 Ιστορικό-Διάγνωση

Παρόλο που η Γαλακτοζαιμία πρωτοαναφέρθηκε 100 χρόνια πριν, οι μηχανισμοί που ορίζουν την παθοφυσιολογία της δεν είναι πλήρως κατανοητοί, ακόμα και σήμερα.^[38] Η εξέταση για τη νόσο γαλακτοζαιμία συμπεριλαμβάνεται στα προγράμματα προληπτικού νεογνικού ελέγχου (Newborn Screening) που εφαρμόζονται σε πολλές χώρες του κόσμου, μειώνοντας τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα των ασθενών αυτών.

Στην Ελλάδα, όλα τα νεογέννητα, ελέγχονται για την γαλακτοζαιμία στα πλαίσια της λειτουργίας του Εθνικού Προγράμματος Προληπτικού Ελέγχου Νεογνών (Ε.Π.Π.Ε.Ν) που διενεργείται στο Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού (**Πίνακας 5**). Το ποσοστό γεννήσεων που ελέγχονται από το πρόγραμμα είναι περίπου 98%. Ο εντοπισμός των ύποπτων για τη νόσο νεογνών γίνεται με προσδιορισμό των επιπέδων ολικής γαλακτόζης (t-Gal) και galactose 1-phosphate (Gal-1-P), χρησιμοποιώντας φωτομετρική-χρωματομετρική μέθοδο (Gal MMR 2000 R&D Diagnostics).^[39] Στα νεογέννητα που εντοπίζονται με αυξημένα επίπεδα γαλακτόζης στο αίμα ($\Phi.T < 7 \text{mg/dl}$), διακόπτεται άμεσα η χορήγηση λακτόζης/γαλακτόζης (μητρικός θηλασμός, γάλα σε σκόνη), έως ότου γίνει η επιβεβαίωση μέσω ενζυμικού ελέγχου με τη μέτρηση της δραστηριότητας του ενζύμου ουριδυλ-τρανσφεράση, που αποτελεί και το gold standard για την διάγνωση της κλασικής μορφής της νόσου ή μέσω γονιδιακού ελέγχου. Επίσης, αν χρειαστεί, οι υπόλοιπες δύο ενζυμικές μορφές προσδιορίζονται σε εργαστήρια του εξωτερικού και επιβεβαιώνονται μοριακά.

4.4 Αιτιολογία-Παθοφυσιολογία

Όπως έχει αναφερθεί η λακτόζη είναι δισακχαρίτης που αποτελείται από γαλακτόζη και γλυκόζη και είναι η κύρια πηγή πρόσληψης γαλακτόζης στη διατροφή του ανθρώπου μέσω των γαλακτοκομικών προϊόντων. Μετά την πρόσληψή της, στο έντερο λαμβάνει χώρα υδρόλυση, με τη μεσολάβηση της λακτάσης, σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Η απορροφούμενη γαλακτόζη μεταφέρεται, μέσω της κυκλοφορίας του αίματος, στο ήπαρ όπου και μεταβολίζεται σε UDP-GAL που είναι απαραίτητη για το σχηματισμό γλυκοπρωτεϊνών και γλυκολιπιδίων σε διάφορους ιστούς όπως ο εγκέφαλος.^[40] Στις διάφορες μορφές της νόσου, η συγκεκριμένη μετατροπή

διακόπτεται, λόγω των διαταραχών που λαμβάνουν χώρα στο βιοχημικό μονοπάτι του μεταβολισμού της γαλακτόζης (*Leloir pathway*), με αποτέλεσμα την αυξημένη συγκέντρωση γαλακτόζης, που αν δεν αντιμετωπιστεί έγκαιρα, οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα γαλακτιτόλης και γαλακτονείτ, που είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση των βράχου ή και μακροπρόθεσμων επιπλοκών της γαλακτοζαιμίας.^[38]

ΕΤΟΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΝΕΟΓΝΩΝ	GALT	GALK	GALE
2006 (2 ^ο εξάμηνο)	50720	1	0	0
2007	108526	1	0	1
2008	117304	3	1	1
2009	116859	4	0	0
2010	113323	1	1	0
2011	105096	3	4	1
2012	101229	2	1	1
ΣΥΝΟΛΟ	713057	14	7	4
ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ		1/50933	1/101865	1/178264

Πίνακας 5. Συχνότητα Εμφάνισης Μορφών Γαλακτοζαιμίας στα Νεογέννητα της Ελλάδας (2^ο 6/μηνο 2006-2012).^[41]

4.5 Κλινική εικόνα

Η κλινική εικόνα της γαλακτοζαιμίας συνοψίζεται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 6**).

	ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ (περιγεννητικά)	ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ (παιδική ηλικία, ενηλικίωση)	ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ
GALK: ανεπάρκεια γαλακτοκινάσης	Καταράκτης	Καταράκτης	1:50.000-1:1.000.000
GALT: ανεπάρκεια ουριδυλτρανφεράσης (κλασσική γαλακ/μια)	Καταράκτης, ίκτερος, ηπατική ανεπάρκεια, νεφρικό σύνδρομο Fanconi, εμετοί, διάρροια, ηπατομεγαλία.	Καταράκτης, ψυχοκινητική καθυστέρηση, διαταραχές μάθησης, πρώιμη ωθηκική ανεπάρκεια, μειωμένη οστική πυκνότητα.	1:23.000-1:44.000
GALE: ανεπάρκεια επιμεράσης.	Χωρίς συμπτώματα, ή εμφάνιση καταράκτη, ηπατομεγαλία, ίκτερο, υποτονία.	Καθυστέρηση ανάπτυξης	1:6.200-1:64.800

Πίνακας 6. Μορφές της νόσου Γαλακτοζαιμίας: κλινική εικόνα και συχνότητα εμφάνισης (προσαρμοσμένο από Roth, C (2009)^[36]).

4.5.1 Έλλειψη του ενζύμου γαλακτοκινάση (GALK-Galactokinase)

Τα κλινικά ευρήματα στη συγκεκριμένη κατηγορία περιλαμβάνουν την εμφάνιση καταράκτη και σπανιότερα ίσως εγκεφαλικό ψευδοόγκο (pseudo tumor cerebri) με εκδήλωση κρανιακού οιδήματος και ακολούθως διόγκωση κρανιακών ραφών. Βιοχημικά ευρήματα περιλαμβάνουν αυξημένα επίπεδα γαλακτόζης και γαλακτιτόλης.

4.5.2 Έλλειψη ενζύμου UDP-επιμεράσης (GALE-Galactose 4 epimerase)

Συνήθως οι ασθενείς αυτοί είναι ασυμπτωματικοί. Η βαριά μορφή προκύπτει από την συστηματική απώλεια της δραστηριότητας του ενζύμου στα ερυθροκύτταρα, στους ινοβλάστες, στα ηπατικά κύτταρα και σε άλλους ιστούς. Ασθενείς με αυτή τη μορφή, εμφανίζουν στη νεογνική περίοδο συμπτώματα ανάλογα με αυτά της κλασσικής γαλακτοζαιμίας, όπως καταράκτης, ίκτερος, εμετός, απώλεια βάρους, ηπατομεγαλία, γαλακτοζουρία, διάχυτη αμινοξεουρία και νοητική ή/και κινητική καθυστέρηση. Τα εργαστηριακά ευρήματα περιλαμβάνουν: αυξημένα επίπεδα γαλακτόζης, γαλακτιτόλης και UDP-GAL και μειωμένα επίπεδα UDP-GLUC. Γενικά έχουν καταγραφεί λίγες περιπτώσεις με αυτή τη μορφή της νόσου.

4.5.3 Κλασσική Γαλακτοζαιμία (GALT-Galactose-1-phosphate uridylyltransferase)

Είναι η πιο σοβαρή μορφή της νόσου και εμφανίζεται ως απειλή για τη ζωή του νεογνού, αν ενδεχομένως έχει την έλλειψη του συγκεκριμένου ενζύμου και συνεχίζει να τρέφεται με γάλα που περιέχει γαλακτόζη/λακτόζη. Κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο και το γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο ουριδυλ-τρανσφεράση, εδράζεται στο χρωμόσωμα 9p13, το οποίο κλωνοποιήθηκε το 1992 και ταυτοποιήθηκαν πάνω από 180 διαφορετικές μεταλλάξεις μέχρι σήμερα (*Tyfield & Carmichael*, GALT DataBase²). Οι πιο συχνές μεταλλάξεις στον καυκάσιο πληθυσμό (70%), είναι οι Q188R και K285N, ενώ η S135L, απαντάται κυρίως στους Άφρο-Αμερικανούς (62%). Τα κλινικά ευρήματα περιλαμβάνουν εμετούς, υποτονία, υπογλυκαιμία και λήθαργο, ίκτερο, ηπατομεγαλία, θρομβώσεις, εγκεφαλικό ψευδοόγκο, σηψαιμία από *E. Coli*, σύνδρομο *Fanconi* και καταράκτη. Στην παιδική και εφηβική ηλικία μπορούν να εμφανιστούν επίσης πρωτοπαθής ωθηκική ανεπάρκεια (στα κορίτσια) και ελαττωμένη οστική πυκνότητα. Επίσης, μαθησιακές δυσκολίες και ψυχοκινητική καθυστέρηση σε περίπτωση απουσίας ή μη καλής συμμόρφωσης στη θεραπευτική αγωγή.

² www.ich.bris.ac.uk/galtdb

Τα εργαστηριακά ευρήματα περιλαμβάνουν πλήρη έλλειψη δραστηριότητας του ενζύμου GALT στα ερυθροκύτταρα, αυξημένα επίπεδα γαλακτόζης και γαλακτιτόλης (αίμα και ούρα), υπογλυκαιμία, γενικευμένη αμινοξεουρία, μεταβολική οξέωση, φωσφατουρία, υποφωσφαταιμία και υπερχολερυθριναιμία καθώς και αυξημένα επίπεδα γοναδοτροπινών (FSH,LH) στις γυναίκες αναπαραγωγικής ηλικίας λόγω ωθηκικής ανεπάρκειας. Γενικώς η εργαστηριακή έρευνα καταδεικνύει ηπατική, νεφρική δυσλειτουργία και αιμόλυση.^[37]

4.6 Θεραπευτική αντιμετώπιση

Σε παιδιά ύποπτα για κλασσική γαλακτοζαιμία (έλλειψη GALT), διακόπτεται άμεσα και χωρίς καθυστέρηση η χορήγηση διατροφής (θηλασμός, γάλα σε σκόνη) που περιέχει λακτόζη/γαλακτόζη, ακόμα και αν η διάγνωση δεν έχει επιβεβαιωθεί με ενζυμικό ή γονιδιακό έλεγχο και αντικαθίσταται με γάλα ελεύθερο λακτόζης/γαλακτόζης.

Προκειμένου να διαπιστωθεί η καλή ή μη συμμόρφωση με τη δίαιτα, θα πρέπει να γίνεται συχνός έλεγχος των επιπέδων γαλακτόζης ή/και GAL-1-P. Σε περίπτωση αδυναμίας διεξαγωγής εργαστηριακού ελέγχου, συστήνεται ετήσιος οφθαλμολογικός έλεγχος για καταράκτη.

Επίσης, προσδιορίζονται σε ετήσια βάση τα επίπεδα ασβεστίου (Ca) και βιταμίνης D και σε περίπτωση καθυστέρησης της ανάπτυξης και τα επίπεδα του αυξητικού παράγοντα της ινσουλίνης (IGF-1), της δεσμευτικής πρωτεΐνης αυτού (IGFBP3), της free-T₄ και της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH). Γίνεται ετήσιος οφθαλμολογικός έλεγχος όπως και έλεγχος για την έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση ψυχοκινητικών και άλλων δυσλειτουργιών (π.χ. του λόγου). Τα κορίτσια από 7 ετών και μετά, θα πρέπει να ελέγχονται ετησίως για συμπτώματα πρωτοπαθούς ωθηκικής ανεπάρκειας (ΠΩΑ) με υπερηχογράφημα ελάσσονος πυέλου και προσδιορισμό ορμονών του φύλου. Σε περίπτωση οιστρογονικής θεραπείας, η έναρξη πρέπει να γίνει από 12 ετών σε μικρές και σταδιακά αυξανόμενες δόσεις.^[36]

Στις υπόλοιπες μορφές χορηγείται διατροφή χωρίς λακτόζη/γαλακτόζη και γίνεται παρακολούθηση των επιπέδων γαλακτόζης και οφθαλμολογικός έλεγχος για την διαπίστωση της σωστής συμμόρφωσης στη δίαιτα.

4.7 Γαλακτοζαιμία και οστική υγεία

Παρόλο που έχει διατυπωθεί η άποψη πως το newborn screening για τη Γαλακτοζαιμία «σώζει ζωές», η συχνότητα εμφάνισης μακροπρόθεσμων επιπλοκών

στους συγκεκριμένους ασθενείς δεν αλλάζει ακόμα και στην περίπτωση που η συμμόρφωσή τους στην ενδεδειγμένη διατροφή είναι πολύ καλή. Στις παραπάνω επιπλοκές περιλαμβάνονται: διανοητική καθυστέρηση, δυσχέρεια προφορικού λόγου, κινητική δυσλειτουργία, καταράκτης, υπεργοναδοτροφικός υπογοναδισμός (πρωτοπαθής ωοθηκική ανεπάρκεια στα κορίτσια) και ελαττωμένη οστική πυκνότητα.^[42-44]

Έρευνες πάνω στο συγκεκριμένο θέμα έχουν αποδείξει ότι η ενδογενής σύνθεση γαλακτόζης, ενδεχομένως να ευθύνεται για την εκδήλωση των συγκεκριμένων οστικών επιπλοκών^[45-47], όπως επίσης και ανωμαλίες που παρατηρούνται στη διαδικασία της γλυκοζυλίωσης.^[48, 49]

4.8 Παράγοντες κινδύνου εμφάνισης χαμηλής οστικής πυκνότητας (Ο.Π.) σε ασθενείς με γαλακτοζαιμία

Η μείωση της οστικής μάζας σε άτομα με κλασική γαλακτοζαιμία είναι ένα φαινόμενο που παρατηρείται περισσότερο συχνά σε ενήλικες αλλά και σε παιδιά στην προεφηβική ηλικία.^[50-52]

Είναι γνωστό πως στην προεφηβεία και εφηβεία παρατηρείται ταχεία αύξηση της οστικής μάζας, με σκοπό την επίτευξη της κορυφαίας οστικής μάζας (ΚΟΜ), περίπου στο τέλος της τρίτης δεκαετίας της ζωής του ανθρώπου. Είναι αυτονόητο λοιπόν, ότι οποιαδήποτε διαταραχή στη διαδικασία αυτή προδιαθέτει την εμφάνιση οστεοπόρωσης και την αύξηση κινδύνου εμφάνισης κατάγματος στην μετέπειτα ενήλικη ζωή.

Παρόλο που ακόμα ο παθογενετικός μηχανισμός της γαλακτοζαιμίας δεν είναι πλήρως γνωστός, πολλοί παράγοντες θα μπορούσαν να επηρεάσουν αρνητικά τον οστικό μεταβολισμό στη συγκεκριμένη ασθένεια:

Η γαλακτόζη είναι συστατικό της λακτόζης, η οποία είναι απαραίτητη για την απορρόφηση του ασβεστίου στον ανθρώπινο οργανισμό. Η ελεύθερη γαλακτόζης διατροφή μπορεί να δημιουργήσει διατροφικές ελλείψεις, συμπεριλαμβανομένης και της έλλειψης ασβεστίου.^[53]

Οι γυναίκες με γαλακτοζαιμία πιθανώς να εμφανίσουν πρωτοπαθή ωοθηκική ανεπάρκεια (ΠΩΑ) λόγω υπεργοναδοτροφικού υπογοναδισμού, με χαμηλά επίπεδα οστραδιόλης (E₂). Τα οιστρογόνα είναι ισχυροί αναστολείς της οστικής απορρόφησης μέσω των υποδοχέων τους στους οστεοβλάστες και στις οστεοκλάστες. Επομένως οποιαδήποτε μείωση των επιπέδων τους, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τον οστικό μεταβολισμό.^[54]

Έχει αναφερθεί χαμηλή οστική πυκνότητα σε παιδιά με τη νόσο, παρόλο που τα επίπεδα ασβεστίου και βιταμίνης D ήταν φυσιολογικά.^[51] Οι δείκτες οστικού μεταβολισμού (IGF-1,cOC,NTX,CTX) ήταν χαμηλότεροι σε αυτά τα παιδιά απ' ό τι σε υγιή ομάδα ελέγχου. Τα παραπάνω αποτελέσματα οδηγούν στο συμπέρασμα πως η χαμηλή οστική πυκνότητα είναι αποτέλεσμα καταστολής της οστικής εναλλαγής (low bone turnover).^[37] Μια άλλη πιθανή εξήγηση του φαινομένου αυτού, δόθηκε από τους *Kaufman et al.* (1993) που θεωρούν ότι εμπλέκεται κάποιος ενδογενής παράγοντας στη διαδικασία της γλυκοζυλίωσης του κολλαγόνου της θεμέλιας ουσίας των οστών, με αποτέλεσμα τη μειωμένη επιμετάλλωση.^[50] Η ανεπαρκής παραγωγή ή η έλλειψη της UDP-GALACTOSE, που είναι ο πιο βασικός παράγοντας της γλυκοζυλίωσης, οδηγεί σε σχηματισμό ελλειμματικού κολλαγόνου των οστών και επομένως σε χαμηλή οστική πυκνότητα.^[51]

Ένας παράγοντας που βοηθάει πολύ στην επίτευξη κορυφαίας οστικής μάζας, είναι η φυσική δραστηριότητα. Υπάρχουν κάποιοι ασθενείς με γαλακτοζαιμία που εμφανίζουν μειωμένη φυσική δραστηριότητα λόγω κινητικής ή νευρολογικής δυσλειτουργίας^[55] όπως και μικρή συμμετοχή σε κοινωνικές δραστηριότητες.^[56] Επίσης, οι *Batey et al.* 2013, αναφέρουν ότι από τους 32 ενήλικες ασθενείς που συμπεριέλαβαν στη μελέτη τους, μόνο το 10% αυτών παρακολουθούνταν συστηματικά από διαιτολόγο, με αποτέλεσμα τη μη καλή συμμόρφωσή τους με τη δίαιτα, γεγονός που επηρεάζει αρνητικά την επίτευξη κορυφαίας οστικής μάζας (KOM) κατά τη διάρκεια της εφηβείας.^[57]

Είναι γνωστό ότι η οστεοκαλσίνη (OC) είναι μια μη κολλαγονική πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια των GLA πρωτεϊνών και περιέχουν γ-καρβοξυγλουταμικό οξύ. Προκειμένου να καρβοξυλιωθεί το γλουταμικό οξύ σε γ-καρβοξυγλουταμικό οξύ είναι απαραίτητη η βιταμίνη K ως συνένζυμο. Η οστεοκαλσίνη, που περιέχει 3 καρβοξυλιωμένες ομάδες του γλουταμικού οξέος, έχει μεγάλη συγγένεια με τον υδροξυαπατίτη και αποτελεί βασικό ρυθμιστή της οστικής επιμετάλλωσης. Επομένως, η οστεοκαλσίνη (καρβοξυλιωμένη) μπορεί να θεωρηθεί δείκτης επάρκειας ή μη της βιταμίνης K στον ανθρώπινο οργανισμό. Έτσι λοιπόν, σχεδιάστηκε μια κλινική μελέτη, διάρκειας 2 ετών^[58], προκειμένου να διερευνηθεί εάν χορηγώντας βιταμίνη K σε συνδυασμό με ασβέστιο και βιταμίνη D ως συμπλήρωμα διατροφής, θα έπαιζε κάποιο ρόλο στην παθοφυσιολογία της γαλακτοζαιμίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν μια στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων της οστεοκαλσίνης σε παιδιά προεφηβικής-εφηβικής ηλικίας που ελάμβαναν το παραπάνω συνδυασμένο συμπλήρωμα.

5. Δείκτες σκελετικής υγείας

5.1 Ανθρωπομετρικοί: βάρος-ύψος, Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ- BMI), ηλικία, φύλο

5.1.1 Μέτρηση σωματικού βάρους (ΒΣ) και ύψους

Η γνώση της φυσιολογικής ή μη αύξησης και ανάπτυξης των παιδιών, έχει μεγάλη σημασία για την πρόληψη και διάγνωση πολλών νοσημάτων. Η αξιολόγηση της ανάπτυξης ενός παιδιού περιλαμβάνει μεταξύ των άλλων: τη μέτρηση βάρους και τη μέτρηση μήκους (<2 ετών) / ύψους (>2 ετών).^[59]

Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ, BMI) είναι ένας σημαντικός ανθρωπομετρικός δείκτης που δίνει πληροφορίες αναφορικά με το αν η ανάπτυξη και η ωρίμανση ακολουθούν τη φυσιολογική πορεία. Ο υπολογισμός του δε, προκύπτει από τον μαθηματικό τύπο:

$$BMI = \frac{m}{h^2}, \text{ όπου } m \text{ είναι το βάρος σώματος σε } kg \text{ και } h \text{ είναι το ύψος σε } m.$$

Όταν η τιμή του είναι μικρότερη από 18, τότε το βάρος σώματος θεωρείται χαμηλό και αντιστοιχεί σε οργανισμό με αυξημένες διατροφικές ελλείψεις και ανεπάρκεια σε θρεπτικά συστατικά. Αποτελεί δε, παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση μελλοντικού κατάγματος και στα δύο φύλα.^[60] Η κατά ύψος αύξηση αποτελεί παράμετρο ένδειξης για τη φυσιολογική ανάπτυξη ενός οργανισμού, μετριέται σε όρθια θέση και υπολογίζεται σε εκατοστόμετρα. Ένα χαμηλότερο ύψος παιδιού από το φυσιολογικό για παράδειγμα, μπορεί να κινήσει υποψίες σχετικά με κάποια διαταραχή στην εξέλιξη της ήβης του (ενδοκρινικά αίτια) ή ενδεχόμενη σκελετική διαταραχή (παραμόρφωση της σπονδυλικής στήλης, κύφωση, σκολίωση).

Στους παρακάτω πίνακες (**Πίνακας 7**, **Πίνακας 8**, **Πίνακας 9**) αντίστοιχα, παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα όρια του ΔΜΣ για παιδιά - εφήβους (2-18 ετών), για ενήλικες (>18 ετών) και οι επιπτώσεις στην υγεία, ανά κατηγορία βάρους.

5.1.2 Ηλικία

Η καταγραφή της ηλικίας είναι απαραίτητη διότι ανάλογα εκτιμάται και το στάδιο της ήβης του ανθρώπου. Μια καθυστερημένη ήβη ίσως να υποδηλώνει κάποια διαταραχή στις γονάδες ή στην υπόφυση ή ακόμα να είναι αποτέλεσμα κακής θρέψης. Όλα τα παραπάνω αποτελούν παράγοντες κινδύνου μη επίτευξης της κορυφαίας οστικής μάζας (ΚΟΜ) κατά τη διάρκεια της εφηβείας με τα γνωστά αρνητικά αποτελέσματα για τη σκελετική υγεία σε μεγαλύτερη ηλικία.

Ηλικία	ΔΜΣ λιποβαρές		ΔΜΣ υπέρβαρο		ΔΜΣ παχυσαρκία	
	Αγόρια	Κορίτσια	Αγόρια	Κορίτσια	Αγόρια	Κορίτσια
2	15,14	14,83	18,41	18,02	20,09	19,81
2,5	14,92	14,63	18,13	17,76	19,80	19,55
3	14,74	14,47	17,89	17,56	19,57	19,36
3,5	14,57	14,32	17,69	17,40	19,39	19,23
4	14,43	14,19	17,55	17,28	19,29	19,15
4,5	14,31	14,06	17,47	17,19	19,26	19,12
5	14,21	13,94	17,42	17,15	19,30	19,17
5,5	14,13	13,86	17,45	17,20	19,47	19,34
6	14,07	13,82	17,55	17,34	19,78	19,65
6,5	14,04	13,82	17,71	17,53	20,23	20,08
7	14,04	13,86	17,72	17,75	20,63	20,51
7,5	14,08	13,93	18,16	18,03	21,09	21,01
8	14,15	14,02	18,44	18,35	21,60	21,57
8,5	14,24	14,14	18,76	18,69	22,17	22,18
9	14,35	14,28	19,10	19,07	22,77	22,81
9,5	14,49	14,43	19,46	19,45	23,39	23,46
10	14,64	14,61	19,84	19,86	24,00	24,11
10,5	14,80	14,81	20,20	20,29	24,57	24,77
11	14,97	15,05	20,55	20,74	25,10	25,42
11,5	15,16	15,32	20,89	21,20	25,58	26,05
12	15,35	15,62	21,22	21,68	26,02	26,67
12,5	15,58	15,93	21,56	22,14	26,43	27,24
13	15,84	16,26	21,91	22,58	26,84	27,76
13,5	16,12	16,57	22,27	22,98	27,25	28,20
14	16,41	16,88	22,62	23,34	27,63	28,57
14,5	16,69	17,18	22,96	23,66	27,98	28,87
15	16,98	17,45	23,29	23,94	28,30	29,11
15,5	17,26	17,69	23,60	24,17	28,60	29,29
16	17,54	17,91	23,90	24,37	28,88	29,43
16,5	17,80	18,09	24,19	24,54	29,14	29,56
17	18,05	18,25	24,46	24,70	29,41	29,69
17,5	18,28	18,38	24,73	24,85	29,70	29,84
18	18,50	18,50	25,00	25,00	30,00	30,00

Πίνακας 7. Διεθνείς οριακές τιμές του Δείκτη Μάζας Σώματος για λιποβαρή, υπέρβαρο και Παχύσαρκα αγόρια και κορίτσια, ηλικίας 2-18 ετών (Πηγή: Cole et al, 2000[61]).

Κατηγορία	Τιμές BMI (kg/m ²)
Σοβαρή ανεπάρκεια πρόσληψης βάρους	< 16
Μετρίου βαθμού ανεπάρκεια πρόσληψης βάρους	16 - 17
Μικρού βαθμού ανεπάρκεια πρόσληψης βάρους	17 - 18.5
Φυσιολογικός	18.5 - 25
Υπέρβαρος	25 - 30
Παχύσαρκος Βαθμού I	30 - 35
Παχύσαρκος Βαθμού II	35 - 40
Παχύσαρκος Βαθμού III	> 40

Πίνακας 8. BMI: Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) για ενήλικες και για τα δύο φύλα (πηγή: World Health Organization (WHO)).

Κατηγορία βάρους	Επίπτωση
Λιποβαρές	Το βάρος βρίσκεται κάτω από τις φυσιολογικές τιμές, με αποτέλεσμα αυξημένο κίνδυνο διατροφικών ελλείψεων και ανεπαρκειών σε θρεπτικά συστατικά. Υπάρχει ο κίνδυνος προβλημάτων στην ανάπτυξη και αδυναμίας του ανοσοποιητικού συστήματος.
Φυσιολογικό	Το βάρος βρίσκεται σε φυσιολογικά επίπεδα. Η διατήρηση ενός υγιούς βάρους ελαττώνει τον κίνδυνο εμφάνισης παθήσεων που σχετίζονται με το υπέρβαρο και την παχυσαρκία στην ενήλικη ζωή, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρταση και ο καρκίνος.
Υπέρβαρο	«Μέτριος κίνδυνος» για την εμφάνιση χρόνιων παθήσεων στην ενήλικη ζωή, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρταση και ο καρκίνος.
Παχύσαρκο	«Υψηλός» κίνδυνος για την εμφάνιση χρόνιων παθήσεων στην ενήλικη ζωή, όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο σακχαρώδης διαβήτης, η υπέρταση και ο καρκίνος.

Πίνακας 9. Επιπτώσεις στην υγεία για κάθε κατηγορία βάρους.

5.1.3 Φύλο

Τα στεροειδή του φύλου είναι υπεύθυνα για την ωρίμανση και τον φυλετικό διμορφισμό του σκελετού, αποτελούν δε, έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν την επίτευξη της κορυφαίας οστικής μάζας (ΚΟΜ) στον άνθρωπο. Η δράση της αυξητικής ορμόνης, των οιστρογόνων και ανδρογόνων, επηρεάζουν θετικά την ανάπτυξη του σκελετού, αλληλεπιδρώντας και με άλλους παράγοντες, όπως για παράδειγμα περιβαλλοντικούς και κληρονομικούς.

Είναι γνωστό ότι η απώλεια των οιστρογόνων πυροδοτεί αύξηση του ρυθμού οστικής ανακατασκευής προς όφελος της οστικής απορρόφησης, με αποτέλεσμα οι γυναίκες να χάνουν περισσότερη οστική μάζα σε σχέση με τους άνδρες της ίδιας ηλικίας.

Ειδικά για τις γυναίκες λοιπόν, τα οιστρογόνα παίζουν καθοριστικό ρόλο στη σκελετική τους υγεία, λόγω της προστατευτικής τους δράσης και επομένως είναι πολύ σημαντικό να διατηρηθεί υψηλή η οστική μάζα έως και την περίοδο της εμμηνόπαυσης.^[62, 63]

5.2 Βιοχημικοί: ασβέστιο, φωσφόρος, μαγνήσιο, αλκαλική φωσφατάση, κρεατινίνη, χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL, LDL, πρωτεΐνη και βιταμίνη D (Πίνακας 10):

Η ομοιοστασία των μετάλλων ασβεστίου, φωσφόρου και μαγνησίου (Ca-P-Mg), είναι πολύ σημαντική για την σκελετική υγεία, επιτυγχάνεται δε με τρεις μηχανισμούς:

- εντερική απορρόφηση
- νεφρική λειτουργία (επαναρρόφηση και απέκκριση) και

- οστική ανακατασκευή.

Και οι τρεις αυτοί μηχανισμοί ρυθμίζονται από πολύπλοκες διαδικασίες που επηρεάζονται από συστηματικούς παράγοντες όπως η παραθορμόνη (PTH), που διεγείρει την απορρόφηση του ασβεστίου από τα οστά και η 1,25 διυδροξυ-βιταμίνη D₃, που αυξάνει την απορρόφηση του ασβεστίου από το έντερο.

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	ΤΙΜΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ
ΑΣΒΕΣΤΙΟ ΟΡΟΥ(mg/dl)	8,5-10,5(<12 ετών 8,7-10,8)
ΦΩΣΦΟΡΟΣ ΟΡΟΥ(mg/dl)	2,4-5,1 (Παιδιά:4,0-6,0)
ΑΛΚΑΛ.ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ ΟΡΟΥ(iu/l)	45-129(Παιδιά:60-240)
ΑΛΒΟΥΜΙΝΗ ΟΡΟΥ(g/dl)	3,4-4,8
ΚΡΕΑΤΙΝΙΝΗ ΟΡΟΥ(mg/dl)	0,7-1,3(Παιδιά:0,20-1,0)
ΟΛ.ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ ΟΡΟΥ(mg/dl)	<200(Παιδιά:120-200)
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ- HDL -ΟΡΟΥ(mg/dl)	Ενήλικες>40,Παιδιά:35-84
ΧΟΛΗΣΤΕΡΟΛΗ -LDL-ΟΡΟΥ(mg/dl)	Ενήλικες<130,Παιδιά<150
ΤΡΙΓΛΥΚΕΡΙΔΙΑ ΟΡΟΥ(mg/dl)	Ενήλικες<150,Παιδιά:30-130
ΜΑΓΝΗΣΙΟ ΟΡΟΥ (mg/dl)	1,5-2,3
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ (Hb-g/dl)	11.5-14.5
ΦΕΡΡΙΤΙΝΗ (Fe-μg/L)	Ενήλικες : 22-322 Παιδιά : 10-150

Πίνακας 10. Τιμές αναφοράς των βιοχημικών και αιματολογικών δεικτών σε παιδιά και ενήλικες.

5.2.1 Ασβέστιο (Ca)

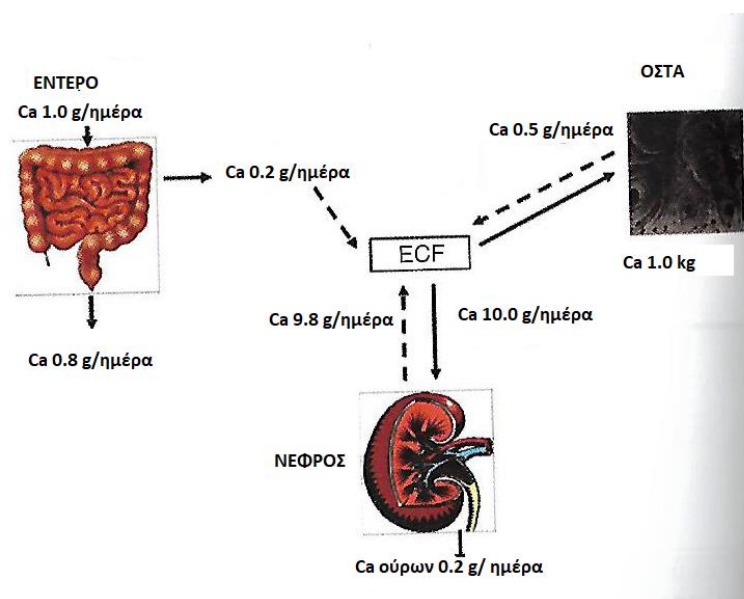
Η έλλειψη ή/και η χρόνια μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου αποτελεί παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης.

Το 99% του ασβεστίου στο ανθρώπινο σώμα είναι αποθηκευμένο στα οστά με τη μορφή κρυστάλλων υδροξυαπατίτη [Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂]. Το υπόλοιπο 1% κυκλοφορεί στο αίμα και υποστηρίζει ιδιαίτερα σημαντικές λειτουργίες των νεύρων και των μυών, όπως ο καρδιακός παλμός, η πήξη του αίματος και η μυϊκή σύσπαση. Όταν η λήψη του ασβεστίου μέσω της διατροφής είναι επαρκής τότε υπάρχει επαρκής προμήθεια στα οστά, στο αίμα και στους άλλους ιστούς. Διαφορετικά το φυσιολογικό ισοζύγιο μεταξύ οστεοσύνθεσης και οστικής απορρόφησης (οστική ανακατασκευή), θα διαταραχθεί με αποτέλεσμα την αύξηση της οστικής απορρόφησης προκειμένου να εξασφαλιστούν επαρκή επίπεδα ασβεστίου στο αίμα. Ο ανθρώπινος οργανισμός ενός ενήλικα χρειάζεται να προσλαμβάνει καθημερινά περίπου 1000mg ασβεστίου, προκειμένου να πραγματοποιηθεί η οστική ανακατασκευή, να διατηρηθούν σταθερά τα επίπεδά του στο αίμα και να πραγματοποιηθεί η αναπλήρωση των απωλειών^[64]

Όσον αφορά στη νεογνική, παιδική και εφηβική ηλικία η αναγκαία ποσότητα πρόσληψης ασβεστίου ποικίλει ανάλογα με το ηλικιακό στάδιο (Πίνακας 11, Εικόνα 1).

Ηλικία (έτη)	Συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου (ΣΗΠ-mg)
1-3	700
4-8	1000
9-13	1300
14-18	1300
19-30	1000
31-50	1000
51-70 (άντρες)	1000
51-70 (γυναίκες)	1200
>71	1200
Εγκυμοσύνη-θηλασμός	1000
Νεογνά 0-6 μηνών	200
Βρέφη 6-12 μηνών	260

Πίνακας 11. Συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου (ΣΗΠ) ανάλογα με την ηλικία και το φύλο (Πηγή: <http://ods.od.nih.gov>).



Εικόνα 1. Ισοζύγιο ασβεστίου (προσαρμοσμένο από Favus MJ (2013)^[64]).

5.2.2 Φωσφόρος (P)

Ο ανόργανος φωσφόρος του ορού υπάρχει σε τρεις μορφές: ιονισμένη, δεσμευμένη σε πρωτεΐνες (10%) και σε σύμπλοκα άλατα. Στο ανθρώπινο σώμα, η μεγαλύτερη ποσότητα του φωσφόρου βρίσκεται στα οστά (600-700gr) και η υπόλοιπη είναι

κατανεμημένη σε μαλακούς ιστούς (100-200gr). Επίσης, το 90% διηθείται στους νεφρούς, οι οποίοι ανταποκρίνονται άμεσα σε οποιαδήποτε μεταβολή της συγκέντρωσης του φωσφόρου στον ορό, απ' όπου κι αν αυτή προκαλείται. Με λίγα λόγια, οι νεφροί είναι ο βασικός ρυθμιστής της ομοιοστασίας του φωσφόρου, διατηρώντας τη συγκέντρωσή του στον ορό σε επίπεδα κοντά στο θεωρητικό νεφρικό ουδό του φωσφόρου (TmP/GFR). Σε αντίθεση με το ασβέστιο, ο φωσφόρος παρουσιάζει μεγάλη διακύμανση ανάλογα με την ηλικία, τη διαίτα, το φύλο, το PH του ορού και τη δράση των ασβεστιοτρόπων ορμονών: παραθορμόνη (PTH) και βιταμίνη D, αλλά και του αυξητικού παράγοντα των ινοβλαστών FGF-23 (Fibroblast Growth Factor-23).

Γενικά, σε φυσιολογικά επίπεδα, δεν παρουσιάζονται προβλήματα στα επίπεδα φωσφόρου στο αίμα. Οι περισσότερες τροφές περιέχουν επαρκείς ποσότητες αυτού όπως για παράδειγμα το κρέας, τα γαλακτοκομικά, οι ξηροί καρποί κ.α. Συνήθως η ημερήσια διατροφή περιέχει 800-2000 mg φωσφόρου (P) και από αυτό απορροφάται το 65% περίπου. Σημαντικό ρόλο στην εντερική απορρόφηση του φωσφόρου παίζει ο ενεργός μεταβολίτης της βιταμίνης D[1,25(OH)₂D]. Αντίθετα, η εντερική απορρόφηση του εμποδίζεται ανάμεσα σε άλλα, και από την υψηλή πρόσληψη ασβεστίου. Η έλλειψη ή η υπερβολική λήψη φωσφόρου αποτελούν παράγοντες κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης.^[65]

5.2.3 Μαγνήσιο (Mg)

Το μαγνήσιο είναι το τέταρτο σε ποσότητα κατιόν στον ανθρώπινο οργανισμό, μετά το νάτριο, το κάλιο και το ασβέστιο. Βρίσκεται σε πολλά τρόφιμα, όπως: ξηροί καρποί, πράσινα φυλλώδη λαχανικά και δημητριακά ολικής άλεσης. Η ομοιοστασία του μαγνησίου επιτυγχάνεται μέσω της εντερικής απορρόφησης, αλλά και της νεφρικής απέκκρισής του. Η απορρόφησή του βρίσκεται σε απόλυτη γραμμική συσχέτιση με την ποσότητα που προσλαμβάνεται και το ποσό του μαγνησίου που απεκκρίνεται στα ούρα είναι περίπου 100mg την ημέρα και είναι ίσο με το ποσό που απορροφάται από το έντερο καθημερινά. Όσον αφορά τον ρόλο της βιταμίνης D στη γαστρεντερική απορρόφηση του μαγνησίου δεν φαίνεται να διαδραματίζει κάποιο σημαντικό ρόλο, όπως στην περίπτωση του ασβεστίου και του φωσφόρου.^[64]

Το μεγαλύτερο ποσοστό του μαγνησίου είναι κατανεμημένο στα οστά, στους μύες και στους μαλακούς ιστούς. Περίπου το 65% του μαγνησίου βρίσκεται στον οστίτη ιστό. Μαζί με το ασβέστιο και τον φωσφόρο συμμετέχουν στον σχηματισμό των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη, της ανόργανης φάσης της θεμέλιας ουσίας των

οστών. Ως εκ τούτου η συγκέντρωση του παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του σκελετού.^[66] Ανεπάρκεια του μαγνησίου, μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη οστική μάζα, σκελετική ευθραυστότητα και αυξημένο κίνδυνο εκδήλωσης οστεοπόρωσης.

5.2.4 Αλκαλική φωσφατάση (ALP)

Η αλκαλική φωσφατάση είναι ένα γλυκοπρωτεϊνικό ένζυμο που βρίσκεται στις κυτταροπλασματικές μεμβράνες ή πλησίον αυτών στους περισσότερους ιστούς και καταλύει την αλκαλική υδρόλυση των μονοφωσφορικών εστερικών ομάδων. Βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στο ήπαρ, στο εντερικό επιθήλιο, στον πλακούντα, στα οστά και στα νεφρικά σωληνάκια. Από την ολική αλκαλική φωσφατάση που κυκλοφορεί στο αίμα, το 95% προέρχεται είτε από το ήπαρ είτε από τα οστά. Σε φυσιολογικές συνθήκες δε, η αναλογία τους είναι 1:1.

Ο κύριος ρόλος της στην φυσιολογία του οστού σχετίζεται με την μετάλλωση του. Συγκεκριμένα η ALP καταλύει την υδρόλυση των φωσφορικών εστέρων στην επιφάνεια των οστεοβλαστών ώστε να παρέχεται υψηλή συγκέντρωση φωσφορικού άλατος στη διεργασία επιμετάλλωσης του οστού. Αυτό αποτελεί την οστεοβλαστική συμμετοχή της στην διαδικασία της οστικής ανακατασκευής. Γι' αυτόν ακριβώς τον λόγο, τα επίπεδα της αλκαλικής φωσφατάσης στο αίμα, αυξάνονται κατά την παιδική και εφηβική ηλικία, όπου συντελείται η αύξηση των οστών.^[67]

5.2.5 Κρεατινίνη

Η νεφρική λειτουργία αποτελεί βασικό ρυθμιστή της ομοιοστασίας των ασβεστίου, μαγνησίου και φωσφόρου.

Προκειμένου να διατηρηθεί το ισοζύγιο του *ασβεστίου* στον ανθρώπινο οργανισμό, σε πρόσληψη 1000mg από το στόμα, μόνο τα 200mg απορροφώνται από το έντερο, ενώ ισόποσο ασβέστιο αποβάλλεται από τους νεφρούς. Οι μηχανισμοί νεφρικής απέκκρισης και σωληναριακής επαναρρόφησης του ασβεστίου είναι αρκετά πολύπλοκοι. Η νεφρική απέκκριση του *μαγνησίου* είναι παρεμφερής με αυτή του ασβεστίου. Το 97% του εξωκυττάριου μαγνησίου επαναρροφάται από τους νεφρούς και μόνο το 3% απεκκρίνεται στα ούρα.

Ο προσλαμβανόμενος με την τροφή *φωσφόρος* απορροφάται κατά 65% από το έντερο, ενώ η νεφρική του απέκκριση ρυθμίζεται με συγκεκριμένους μηχανισμούς. Το 80% του διηθημένου στους νεφρούς, φωσφόρου επαναρροφάται στον νεφρώνα παθητικά, μέχρι τουλάχιστον τον κορεσμό των ούρων σε φωσφόρο. Η μέγιστη δυνατότητα επαναρρόφησης του φωσφόρου ονομάζεται TmP/GFR (θεωρητικός

νεφρικός ουδός του φωσφόρου). Κύρια ορμόνη που ρυθμίζει την νεφρική επαναρρόφηση του φωσφόρου είναι η παραθορμόνη (PTH), η οποία και την ελαττώνει, με προκαλούμενη ασβεστιουρία, γεγονός που οδηγεί σε φωσφατουρία. Επίσης, η αυξητική ορμόνη αυξάνει την επαναρρόφηση του φωσφόρου και η δράση της αυτή είναι εμφανής στην περίοδο της σκελετικής ανάπτυξης.

Είναι φανερό λοιπόν ότι αν συμβεί οποιαδήποτε διαταραχή της ομαλής νεφρικής λειτουργίας, θα έχει σαν αποτέλεσμα και διαταραχή στην ομοιοστασία των μετάλλων Ca, Mg, P με αρνητικές συνέπειες στην σκελετική ανάπτυξη, ιδιαίτερα στην παιδική-εφηβική ηλικία του ανθρώπου.

Σύμφωνα με δημοσιευμένη έρευνα^[34], σε ασθενείς με φαιυλκετονουρία, που ακολουθούν δια βίου δίαιτα απουσία φυσικής πρωτεΐνης, ποσοστό 19% αυτών εμφάνισε νεφρική δυσλειτουργία, γεγονός που αποδεικνύει πως οι συγκεκριμένοι ασθενείς πρέπει να ελέγχονται συστηματικά με τεστ ρουτίνας για τη νεφρική τους λειτουργία καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους.

5.2.6 Τριγλυκερίδια, HDL, LDL, χοληστερόλη

Η κυριότερη πηγή προέλευσης της βιταμίνης D είναι η χοληστερόλη (7β-δευδροχοληστερόλη), καθώς και οι οξυστερόλες, που είναι οι μεταβολίτες της.^[68,69]

Πρόσφατες έρευνες μάλιστα, έχουν δείξει ότι κάποιες οξυστερόλες (24S-OHC, 7β-OHC) έχουν σημαντική βιολογική επίδραση στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα.^[70]

Επομένως, μελετώντας και συσχετίζοντας συγκεκριμένους βιοχημικούς δείκτες, όπως τριγλυκερίδια, χοληστερόλη, HDL και LDL, ενδεχομένως να οδηγηθούμε σε κάποια συμπεράσματα και συσχετισμούς όσον αφορά τα επίπεδα βιταμίνης D και την σκελετική υγεία των ασθενών που πάσχουν από φαιυλκετονουρία και γαλακτοζαιμία.

5.2.7 Πρωτεΐνη

Η επαρκής πρόσληψη πρωτεΐνης είναι απαραίτητη –μαζί με το ασβέστιο και επαρκείς ποσότητες βιταμίνης D-για τη σωστή σκελετική ανάπτυξη και την πρόληψη οστεοπόρωσης.^[28] Η πρόσληψη διαιτητικής πρωτεΐνης αυξάνει την συγκέντρωση του ινσουλινοειδή αυξητικού παράγοντα (IGF-1), που με τη σειρά του προάγει την διαφοροποίηση, την ωρίμανση και τη δράση των οστεοβλαστών. Νεότερα επιστημονικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι χαμηλή πρωτεϊνική πρόσληψη σχετίζεται με αυξημένο ρυθμό οστικής απώλειας και αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων.^[71]

5.3 Βιταμίνη D

Η βιταμίνη D παίζει σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό του ασβεστίου και του φωσφόρου, επομένως και στην υγεία των οστών.^[72] Αυτό επιτυγχάνεται με δύο τρόπους: α) κυρίως με την αύξηση της εντερικής απορρόφησης του ασβεστίου και β) με την πρόκληση οστεοκλαστογένεσης.

Οι δύο βασικές μορφές της είναι: η D2 εργοκαλσιφερόλη, πηγή της οποίας είναι κάποιες τροφές, όπως ζωικά λίπη κυρίως ψαριών (π.χ. σολομός, τόνος, σαρδέλα) και η D3 χοληκαλσιφερόλη, της οποίας η κύρια πηγή πρόσληψης είναι η δερματική απορρόφηση της ηλιακής ακτινοβολίας (UVB).^[73]

Η βιταμίνη D ουσιαστικά είναι μια στεροειδική προορμόνη, που έκτος από τον ρυθμιστικό ρόλο που παίζει στον μεταβολισμό του ασβεστίου και του φωσφόρου, έχει και άλλες πλειοτροπικές δράσεις που αφορούν στην κυτταρική διαφοροποίηση, το ανοσοποιητικό σύστημα, το καρδιαγγειακό σύστημα κ.α. Η παραγωγή της στο δέρμα αποτελεί το 70-80% της συνολικής ημερήσιας παραγωγής. Επηρεάζεται δε από πολλούς παράγοντες όπως: έκθεση στον ήλιο, φυλή, εποχή του έτους, ηλικία, γεωγραφικό μήκος και πλάτος, χρήση αντιηλιακών.

Η κατάταξη των επιπέδων της βιταμίνης D στο αίμα και η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψή της ανά ηλικία (ΣΗΠ) αναφέρονται αντίστοιχα στους παρακάτω (**Πίνακας 12, Πίνακας 13**).

25(OH)vitD σε ng/ml	Κατάσταση
<12	έλλειψη
12-20	ανεπάρκεια
>20	επάρκεια

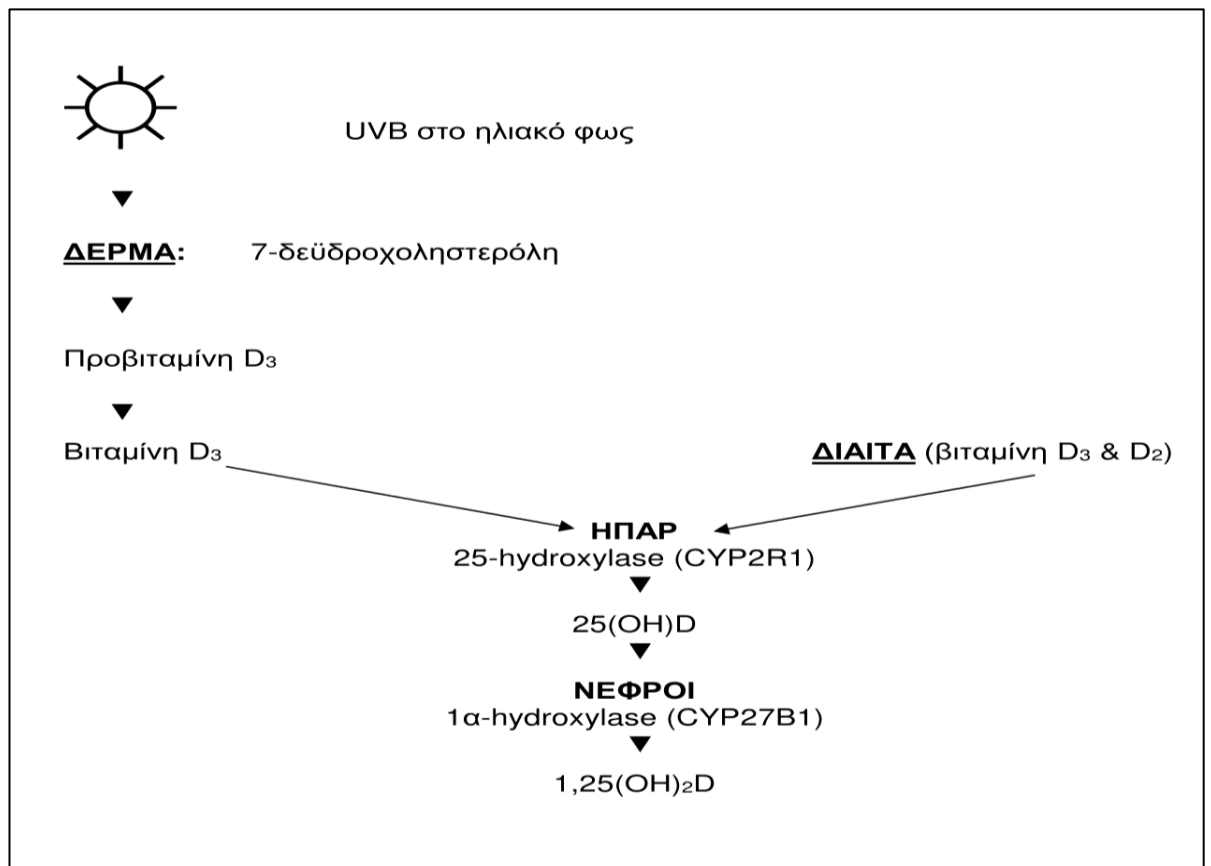
Πίνακας 12. Κατάταξη επιπέδων 25(OH)D στο αίμα (Πηγή: Institute of Medicine (IOM); Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets, 2016^[74]).

ΗΛΙΚΙΑ	ΣΗΠ
0-12 μήνες	400 IU
1-13 ετών	600 IU
14-18 ετών	600 IU
19-70 ετών	600 IU
>71 ετών	800 IU
εγκυμοσύνη-θηλασμός	600 IU

Πίνακας 13. ΣΗΠ βιταμίνης D ανά ηλικία (Πηγή: Institute of Medicine (IOM); Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets, 2016^[74]).

Η μετατροπή της βιταμίνης D στον ενεργό της μεταβολίτη, που είναι η 1,25 (OH)₂D, προϋποθέτει δύο στάδια υδροξυλίωσης^[75] (**Διάγραμμα 7**). Στο 1^ο στάδιο μεταφέρεται στο ήπαρ, όπου και υφίσταται την 1^η υδροξυλίωση με την επίδραση του ενζύμου 25-υδροξυλάση, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό της 25(OH)D.

Στη συνέχεια, 2^ο στάδιο, μεταφέρεται στους νεφρούς όπου με την επίδραση του ενζύμου 1^α-υδροξυλάση, υφίσταται την δεύτερη υδροξυλίωση και μετατρέπεται σε 1,25(OH)₂D, τον ενεργό μεταβολίτη που δρα στα όργανα στόχους, έντερο και οστά.



Διάγραμμα 7. Μεταβολισμός βιταμίνης D.

Η σύνθεση της 1,25(OH)₂D στους νεφρούς είναι αυστηρά ρυθμισμένη και η παραγωγή της εξαρτάται έμμεσα από τα επίπεδα του ασβεστίου στο αίμα μέσω της παραγωγής της παραθορμόνης. Συγκεκριμένα, όταν το ιονισμένο ασβέστιο μειωθεί, παράγεται παραθορμόνη από τους παραθυροειδείς αδένες και αυξάνεται η σύνθεση της 1,25(OH)₂D. Η παραπάνω διαδικασία γίνεται έμμεσα, μέσω αύξησης της απέκκρισης φωσφόρου από το νεφρό, με αποτέλεσμα την πρόκληση υποφωσφαταιμίας, η οποία με τη σειρά της προκαλεί αύξηση της παραγωγής της 1,25(OH)₂D. Επίσης και άλλοι παράγοντες όπως η αυξητική ορμόνη και η

προλακτίνη μπορούν να επιδράσουν θετικά στην σύνθεση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, ενώ η παραγωγή της μειώνεται με την γήρανση.

Εάν δεν επαρκούν οι ποσότητες του ασβεστίου που απορροφώνται από το έντερο, κύρια βιολογική δράση της βιταμίνης D είναι η απελευθέρωση ασβεστίου από τα οστά με τη διαδικασία της οστικής απορρόφησης, μέσω έκκρισης κυτοκινών από τους οστεοβλάστες που προάγουν την οστεοκλαστογένεση.^[72]

Είναι φανερό λοιπόν, πόσο βασικό ρόλο παίζει η βιταμίνη D και στην επιμετάλλωση του οστού, εφόσον ρυθμίζει την ομοιοστασία του ασβεστίου και του φωσφόρου. Αντίθετα, η έλλειψή της οδηγεί σε αποτυχία της διαδικασίας της επιμετάλλωσης του χόνδρου, αποτιάνωσης του οστεοειδούς και προκαλεί ραχιτισμό στα παιδιά και οστεομαλακία στους ενήλικες.

ΜΕΡΟΣ ΙΙ-ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

6. Ασθενείς

Όλοι οι ασθενείς που πήραν μέρος στη μελέτη είναι έγκαιρα διαγνωσμένοι (early diagnosed), μέσω του ΕΠΠΕΝ (Neonatal screening) για τις νόσους γαλακτοζαιμία και φαινυλκετονουρία. Η έρευνα διεξήχθη στο Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού, στο Νοσοκομείο Παιδών «Η Αγία Σοφία» στην Αθήνα. Οι συμμετέχοντες είναι παιδιά που γεννήθηκαν στη χώρα μας και τα στοιχεία ελήφθησαν από τον τακτικό προγραμματισμένο έλεγχο που κάνουν στο κέντρο μας στα πλαίσια της δια βίου παρακολούθησής τους (follow up) και ο οποίος περιλαμβάνει:

- Κλινική εξέταση και αξιολόγηση: έως 1 έτους ανά 3 μήνες, 2-10 ετών ανά 6 μήνες, >10 ετών ετησίως.
- Αιματολογικός-βιοχημικός έλεγχος, ο οποίος πραγματοποιείται ανά 3 μήνες έως την ηλικία των 2 ετών, ανά 6 μήνες έως 6 ετών και ετησίως σε ασθενείς μεγαλύτερους των 6 ετών.
- Προσδιορισμός των επιπέδων φαινυλαλανίνης και ολικής γαλακτόζης (αντίστοιχα για τα δύο νοσήματα): ανά 15 μέρες σε ασθενείς έως 2 ετών και μετά ανά μήνα εφόρου ζωής, εκτός εάν συντρέχει κάποιος ειδικός λόγος που απαιτεί συχνότερη παρακολούθηση (π.χ. εγκυμοσύνη).
- Ψυχοκινητική αξιολόγηση, ανά έτος. Τα τεστ που χρησιμοποιούνται είναι:
 - 0-3 ετών: Denver test-3, Stanford-Benet.
 - 3-6 ετών: Pea-Body test.
 - >6 ετών: Wisc-3
 - έλεγχος ανάπτυξης ομιλίας: ERTL
- Μέτρηση Οστικής Πυκνότητας μετά το 5^ο έτος ζωής με την μέθοδο αναφοράς DXA (απορροφησιμετρία διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X), GE Lunar Prodigy Pediatric Proedition (GE Healthcare, Little Chalont, UK). Η συγκεκριμένη εξέταση γίνεται σε ασθενείς που έχουν συμπληρώσει το 5^ο έτος ζωής και μέχρι την ηλικία των 18 ετών (Τομέας Μεταβολισμού Μετάλλων των Οστών, Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού).
- Ορμονολογικός έλεγχος (FSH, LH, οιστραδιόλη E2) καθώς και υπερηχογράφημα ελάσσονος πυέλου για τα κορίτσια που πάσχουν από γαλακτοζαιμία και σε ηλικία μεγαλύτερη των 7 ετών, ώστε να διερευνηθεί η τυχόν ύπαρξη Πρωτοπαθούς Ωοθηκικής Ανεπάρκειας (ΠΩΑ) (Τμήμα Παιδικής-Εφηβικής Γυναικολογίας, Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», Αθήνα).

6.1 Ασθενείς με γαλακτοζαιμία

Στην εργασία πήραν μέρος 22 ασθενείς που νοσούν με κάποια από τις μορφές της Γαλακτοζαιμίας: GALT, GALK, GALE (μέσος όρος ηλικίας $7,97\pm 5,1$ ετών) (Πίνακας 14). Όλοι διαγνώστηκαν έγκαιρα μέσω του ΠΕΝ και άμεσα τους χορηγήθηκε ειδική διατροφή με γάλα ελεύθερο λακτόζης/γαλακτόζης Galactomin-17 (SHS-Scientific Hospital Supplies, Liverpool, UK), η οποία διατηρείται ως σήμερα. Οι σωματομετρικές μετρήσεις αποτυπώνονται στον πίνακα 15. Πρέπει να σημειωθεί ότι κανένας από τους ασθενείς δεν λαμβάνει συμπλήρωμα ασβεστίου ή/και βιταμίνης D. Η μόνη πηγή πρόσληψης αυτών και άλλων ιχνοστοιχείων είναι ότι περιέχεται στο ειδικό γάλα με το οποίο διατρέφονται. Επομένως, η τακτική παρακολούθησή τους στον προγραμματισμένο βιοχημικό έλεγχο, δίνει εκτός των άλλων πληροφορίες για τυχόν διατροφικές ελλείψεις τέτοιου τύπου.

	ΤΥΠΟΣ ΓΑΛΑΚΤΟΖΑΙΜΙΑΣ		
	GALT	GALK	GALE
Αγόρια	8	0	1
Κορίτσια	7	5	1
Σύνολο	15	5	2

Πίνακας 14. Τύποι της Γαλακτοζαιμίας και ο αριθμός των ασθενών ανάλογα με το φύλο.

	n	Ηλικία(έτη)	Βάρος σώματος (kg)	Ύψος (m)	ΔΜΣ(BMI) kg/m ²
Ανδρες	9	8.78±5.31	28.18±15.55	1.25±0.21	16.58±3.1
Γυναίκες	13	7.42±4.9	23.31±12.1	1.11±0.3	18.38±3.8
GALT	15	9.7±5.04	29.04±14.6	1.28±0.2	16.67±2.96
GALK	5	4.2±2.4	18.3±7.2	0.92±0.24	21.73±2.68
GALE	2	4.5±3.5	14.8±6.25	0.99±0.27	14.7±1.7
Σύνολο	22	7.97±5.2	25.3±13.82	1.17±0.27	17.65±3.62

Πίνακας 15. Ανθρωπομετρικά στοιχεία των ασθενών της μελέτης.

6.2 Ασθενείς με φαινυλκετονουρία

Στη συγκεκριμένη μελέτη πήραν μέρος 100 ασθενείς, ηλικίας από 1 έτους έως 40 ετών που πάσχουν από φαινυλκετονουρία (κλασσική-διάμεση, με επίπεδα φαινυλαλανίνης >10mg/dl) (PKU-59) και υπερφαινυλαλανιναιμία (Non PKU/mildHPA, με επίπεδα φαινυλαλανίνης 6-10mg/dl) (HPA-41). Η κατηγοριοποίησή τους έγινε με βάση τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης που βρέθηκαν στο screening νεογνών^[13]. Τα αποτελέσματα δε, επιβεβαιώθηκαν με μοριακή ανάλυση. Από αυτούς, τα αγόρια με

PKU είναι 26 και τα κορίτσια 33, ενώ τα αγόρια με HPA είναι 27 και τα κορίτσια 14 (πίνακες 18 & 19).

Το συγκεκριμένο δείγμα, επίσης, χωρίστηκε σε 2 ομάδες ανάλογα με την ηλικία:

- *Ηλικιακή ομάδα 1 : προεφηβεία <11 ετών (prepubertal) (πίνακας 22)*
- *Ηλικιακή ομάδα 2: εφηβεία >11 ετών (pubertal) (πίνακας 22)*

Η θεραπεία με ειδική διατροφή ξεκίνησε για όλους τους ασθενείς στις πρώτες δύο εβδομάδες της ζωής τους. Τα προϊόντα που συστήνονται είναι σκευάσματα ελεύθερα φυσικής πρωτεΐνης, εμπλουτισμένα σε βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Για την κάλυψη των θερμιδικών αναγκών τους, γίνεται συμπληρωματική χορήγηση με προϊόντα χαμηλής περιεκτικότητας σε φυσική πρωτεΐνη, όπως για παράδειγμα μακαρόνια, ρύζι και ψωμί. Η καλή ή μη συμμόρφωση με τη διαίτα προκύπτει από τη μέτρηση των επιπέδων της φαινυλαλανίνης, που διαφοροποιούνται ανάλογα με την ηλικία (Πίνακας 2).

7. Μέθοδοι

7.1 Κλινική εξέταση

Μεγάλη σημασία για τους ασθενείς που πάσχουν από Φαινυλκετονουρία/Υπερφαινυλαλανιναιμία ή Γαλακτοζαιμία, έχει η κλινική αξιολόγηση ως προς:

- α. Την ανάπτυξη του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος (ΚΝΣ), ελέγχοντας τα εκλυόμενα αντανακλαστικά, τη στήριξη της κεφαλής και τη στάση του σώματος.
- β. Τον ρυθμό ανάπτυξης: Γι' αυτό τον λόγο και υποβάλλονται σε σωματομετρικές μετρήσεις όπως: α) μέτρηση βάρους σώματος, β) μέτρησης μήκους/ύψους (<2 ετών, >2 ετών αντίστοιχα), γ) μέτρηση περιμέτρου της κεφαλής. Τέλος υπολογίζεται και ο Δείκτης Μάζας Σώματος μετά το 2^ο έτος ζωής.
- γ. Το μυοσκελετικό σύστημα: ελέγχονται οι αρθρώσεις (εκτασιμότητα), τα ισχία (ατελής απαγωγή ισχίων-hip dislocation) και αργότερα (> 2 ετών) η βάδιση και η μορφολογία της σπονδυλικής στήλης.

Η εξέταση για τυχόν ύπαρξη βλαισογονίας/ραιβοποδίας, κύφωσης ή σκολίωσης έχει μεγάλη σημασία για την πρώιμη διάγνωση αυτών. Επίσης, ζητούνται πληροφορίες-ιστορικό για την ενδεχόμενη ύπαρξη ασυμπτωματικών καταγμάτων. Τέλος, η εμφάνιση της ήβης, τόσο στα αγόρια όσο και στα κορίτσια, έχει μεγάλη σημασία και για τα δύο νοσήματα. Ιδιαίτερως, για τη νόσο Γαλακτοζαιμία όλα τα νεογνά που διαγνώσκονται περιγεννητικά –ανεξάρτητα από τον τύπο της νόσου- ελέγχονται οφθαλμολογικά, ανά 6 ή 12 μήνες εφόρου ζωής για τυχόν εμφάνιση καταράκτη. Επίσης, τα κορίτσια με κλασσική Γαλακτοζαιμία παραπέμπονται σε εξειδικευμένο τμήμα Εφηβικής Παιδιατρικής για έλεγχο Πρωτοπαθούς Ωοθηκικής Ανεπάρκειας, μετά το 7^ο έτος της ζωής τους.

Όλα τα προαναφερόμενα κλινικά σημεία ελέγχονται στους ασθενείς μας κάθε φορά που επισκέπτονται το Ι.Υ.Π. στα πλαίσια της προγραμματισμένης παρακολούθησης (follow-up). Φυσικά, ο κλινικός έλεγχος συμπληρώνεται με την εκτίμηση της φυσικής τους δραστηριότητας και με σύγχρονη αιματολογική/βιοχημική αξιολόγηση.

Τέλος, καταγράφεται η λήψη ή μη διατροφικών συμπληρωμάτων ασβεστίου και βιταμίνης D.

Προσδιορισμός της φαινυλαλανίνης και γαλακτόζης

Ο προσδιορισμός των επιπέδων φαινυλαλανίνης (PHE) και της ολικής γαλακτόζης (Gal, Gal-1-P), γίνεται σε αποξηραμένες σταγόνες αίματος (blood spot), σε κάρτες (Guthrie card) με ειδικό απορροφητικό χαρτί (whatman 902) τις οποίες

προμηθεύονται όλα τα μαιευτήρια και οι μαιευτικές κλινικές της Ελλάδας από το Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού. Η αιμοληψία γίνεται το 3^ο 24/ωρο της ζωής του νεογνού και η κάρτα συμπληρωμένη με όλα τα ζητούμενα στοιχεία αποστέλλεται στο κέντρο μας.

Για τη φαινυλακτονουρία, ο ποσοτικός προσδιορισμός των επιπέδων της φαινυλαλανίνης γίνεται με τη μέθοδο του ανοσοφθορισμού (μήκος κύματος διέγερσης 390nm και εκπομπής 486nm)^[76] Αντίστοιχα, για γαλακτοζαιμία, ο ποσοτικός προσδιορισμός της ολικής γαλακτόζης γίνεται μέσω ενζυμικής χρωματομετρικής δοκιμασίας με φωτομέτρηση στα 550nm.^[39]

7.2 Προσδιορισμός βιοχημικών-αιματολογικών παραμέτρων

Πλήρης αιματολογικός έλεγχος (Αιματολογικό εργαστήριο Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία», αναλυτής Advia-2120i, Siemens) και βιοχημικός έλεγχος (Βιοχημικό εργαστήριο Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία», αυτόματος αναλυτής Advia-1800, Siemens) ζητείται στα πλαίσια της παρακολούθησης της φυσιολογικής ή μη ανάπτυξης των ασθενών ανά 3/μηνο έως 2 ετών, ανά εξάμηνο από 2-6 ετών και ανά έτος για παιδιά μεγαλύτερα των 6 ετών (**Πίνακας 10**).

7.3 Προσδιορισμός ορμονολογικών παραμέτρων

Ο προσδιορισμός των επιπέδων της βιταμίνης D-25(OH) διενεργείται με ποσοτική ανοσοενζυμική εργαστηριακή μέθοδο σε δείγμα ορού αίματος και φωτομέτρηση σε μήκος κύματος 450nm (**Πίνακας 12**).

Οι Δείκτες που συμπεριλήφθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη είναι οι παρακάτω:

- Ανθρωπομετρικοί: ηλικία (έτη), ύψος (cm), βάρος (kg), BMI (kg/m²).
- Βιοχημικοί: ασβέστιο (mg/dl), φωσφόρος (mg/dl), μαγνήσιο (mg/dl), κρεατινίνη (mg/dl), αλκαλική φωσφατάση (iu/l), αλβουμίνη (g/l), ολική χοληστερόλη (mg/dl), HDL (mg/dl), LDL (mg/dl) και τριγλυκερίδια (mg/dl).
- Επίπεδα βιταμίνης D: 25(OH)D-(IU/L).
- Αιματολογικοί: τιμές Αιμοσφαιρίνης [Hb-gr/dl] και Φερριτίνης [Fe-ng/ml].
- Επίπεδα ολικής γαλακτόζης και φαινυλαλανίνης (mg/dl).

7.4 Στατιστική ανάλυση

Όλες οι πολυμετρικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο περιβάλλον του MATLAB[®] (The Mathworks, Inc., Natick, MA) και SPSS (version 17.0). Για τον έλεγχο των

μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων, χρησιμοποιήθηκαν δοκιμές ANOVA μίας και δύο κατευθύνσεων. Για την διευκόλυνση των συγκρίσεων μεταξύ των διαφορετικών ομάδων ηλικιών, όλες οι παράμετροι που σχετίζονται με τη σωματική ανάπτυξη των ασθενών, μετασχηματίστηκαν σε Z-scores, χρησιμοποιώντας τους Ελληνικούς πίνακες (charts) ανάπτυξης. Οι συνεχείς μεταβλητές εκφράζονται ως διάμεσοι \pm τυπική απόκλιση, εκτός αν αναφέρεται διαφορετικά. Οι συσχετίσεις μεταξύ μεταβλητών υπολογίστηκαν με τον συντελεστή συσχέτισης Pearson. Οι γραμμικές παλινδρομήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση των συναρτήσεων $y=ax+b$, $y=ax^2+bx+c$ και οι αντίστοιχες καμπύλες εκτιμήθηκαν με την μέθοδο χ^2 .

ΜΕΡΟΣ ΙΙΙ-ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

8. Γαλακτοζαιμία

Όλοι οι ασθενείς που πήραν μέρος στη μελέτη βρίσκονται σε δίαιτα ελεύθερης λακτόζης/γαλακτόζης, ειδικά αυτοί που έχουν τον κλασσικό τύπο της νόσου. Επομένως οι συγκεντρώσεις ολικής γαλακτόζης στο αίμα είναι μέσα στα φυσιολογικά όρια (<7mg/dl).

Η σύγκριση όλων των ανθρωπομετρικών και βιοχημικών παραμέτρων που σχετίζονται με τον οστικό μεταβολισμό αλλά και τον μεταβολισμό των λιπιδίων των συμμετεχόντων ασθενών της μελέτης σε σχέση με υγιή πληθυσμό παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 16**).

Μελετώντας τα παραπάνω, μπορούν να γίνουν κάποιες ενδιαφέρουσες παρατηρήσεις:

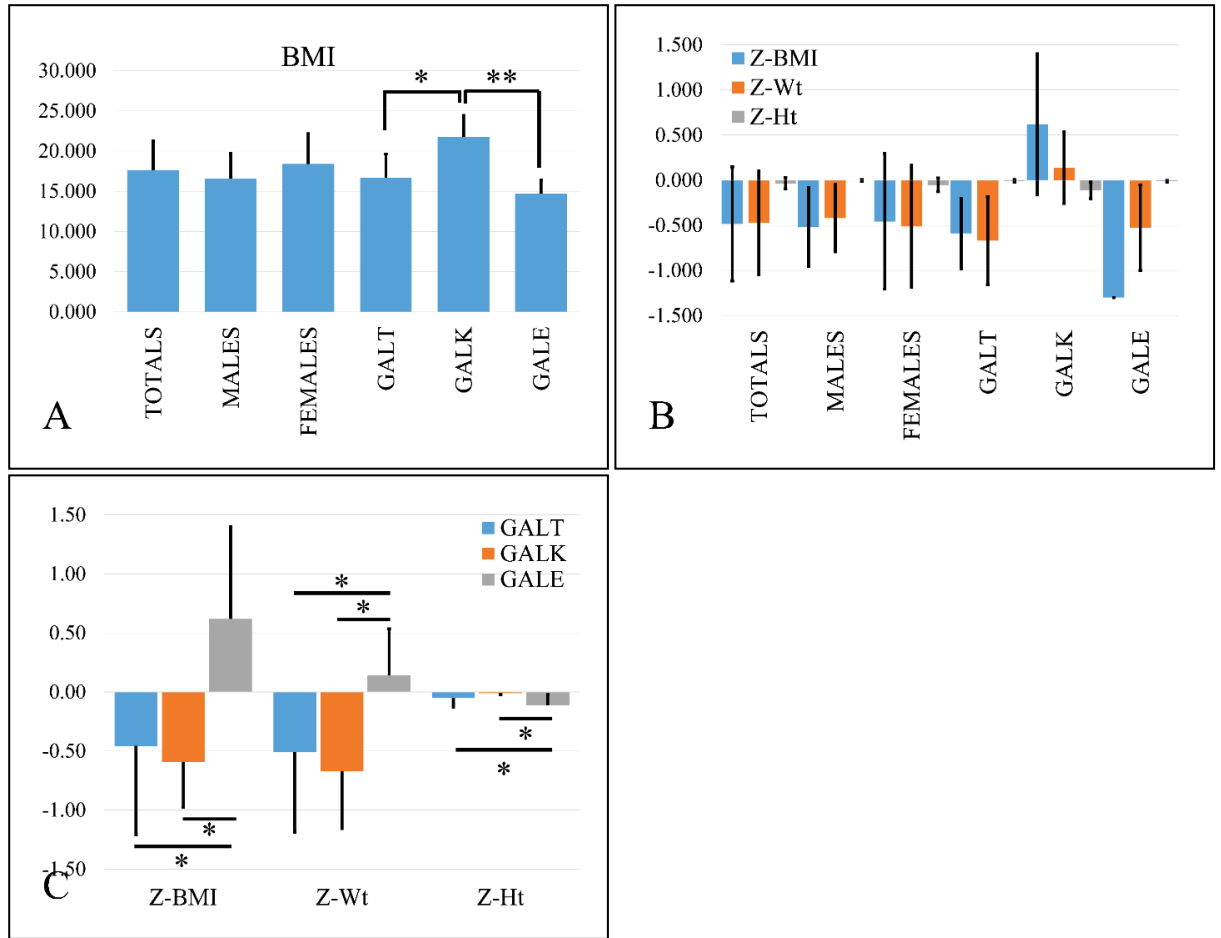
Όλες οι τιμές της κρεατινίνης του ορού είναι στα κατώτερα φυσιολογικά επίπεδα.

Το 26% των ασθενών με την κλασσική μορφή της νόσου, έχει επίπεδα βιταμίνης D χαμηλότερα από 20ng/ml.

Τα επίπεδα της αλκαλικής φωσφατάσης είναι στα υψηλότερα των φυσιολογικών τιμών.

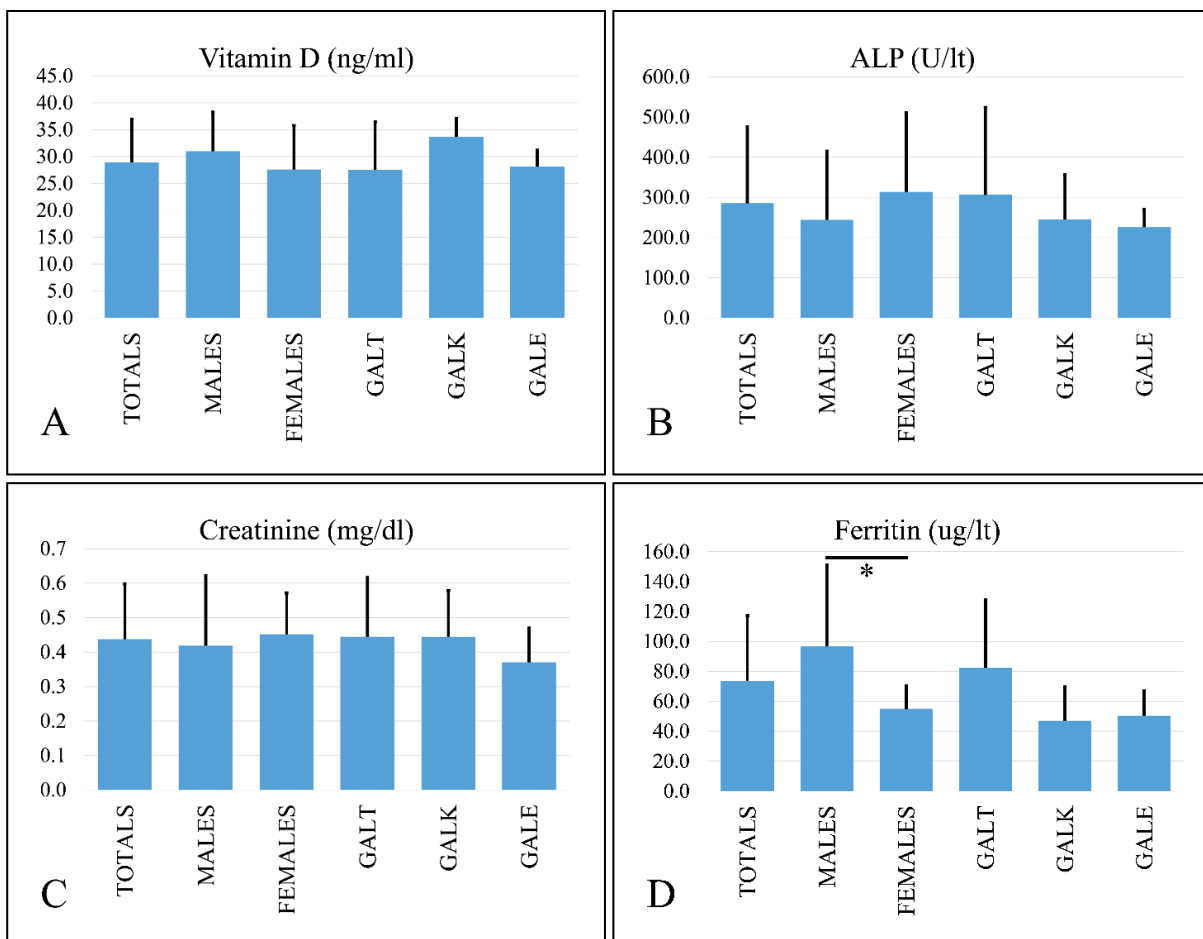
Καμία σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε ανάμεσα στις ομάδες που ερευνηθήκαν: αγόρια/κορίτσια και οι τρεις τύποι της νόσου (GALT/GALK/GALE),όσον αφορά στους βιοχημικούς δείκτες.

Υπολογίστηκαν οι μέσες τιμές του ΔΜΣ (BMI) για όλους τους ασθενείς. Κατόπιν έγινε μια λεπτομερέστερη ανάλυση του BMI και βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς τους υπό μελέτη τύπους της νόσου (**Εικόνα 2A**). Επίσης υπολογίστηκαν οι μέσες τιμές για τα Z-scores των: βάρος, ύψος και BMI (Z-Wt,Z-Ht,Z-BMI) (**Εικόνα 2B**). Από την παραπάνω ανάλυση των Z-scores, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά όσον αφορά στο δείκτη Z-BMI,Z-Wt και Z-Ht μεταξύ των τύπων GALT/GALK όπως επίσης και μεταξύ των τύπων GALK/GALE (**Εικόνα 2C**).



Εικόνα 2. Στατιστική περιγραφή αποτελεσμάτων BMI (A) και z-scores BMI, Wt,Ht (B-C), ως προς όλο τον πληθυσμό (Total), τους τύπους της γαλακτοζαιμίας (GALT,GALK,GALE) και το φύλο (Males=αγόρια; Females=κορίτσια) (* :p value<0,05).

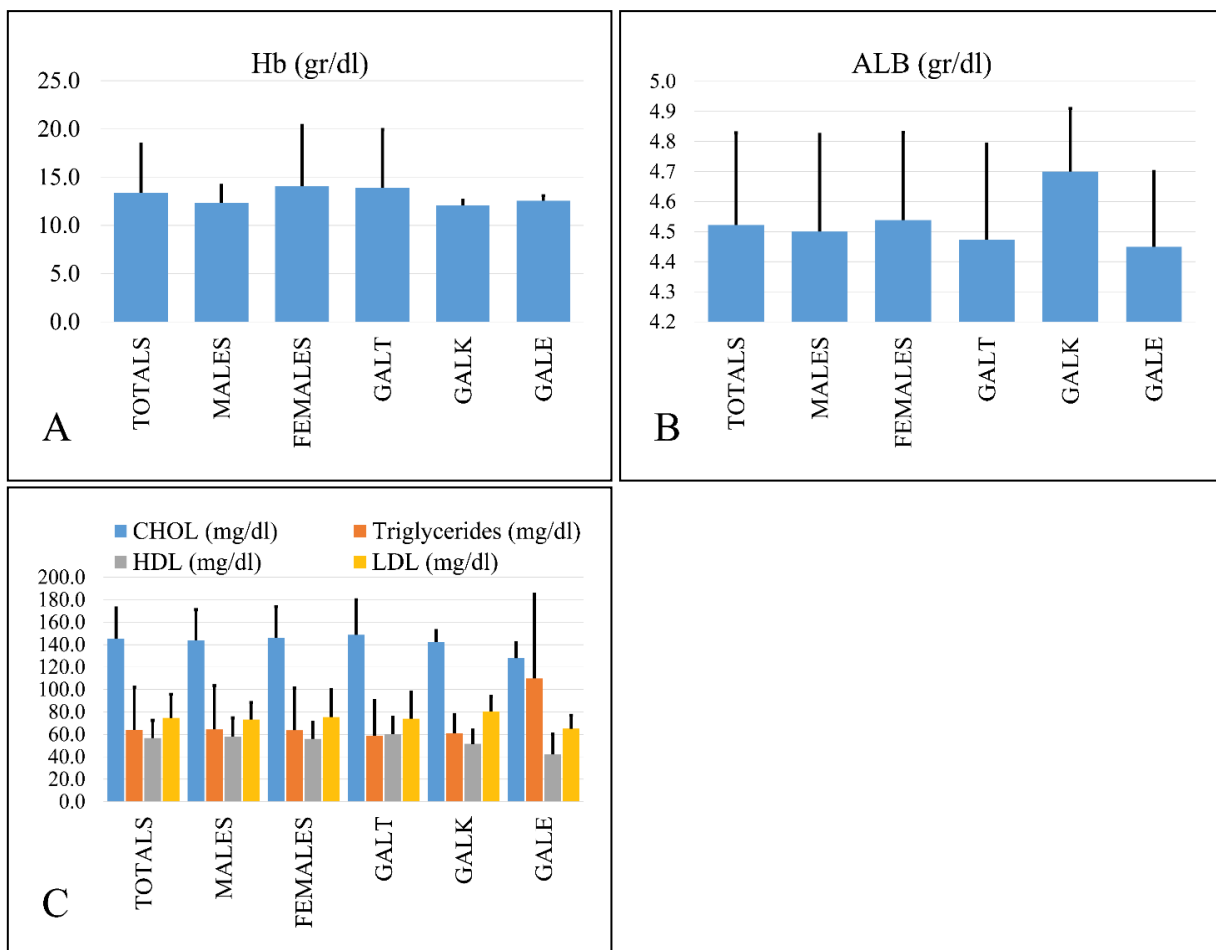
Επίσης, προσδιορίστηκαν οι μέσες τιμές όλων των βιοχημικών/αιματολογικών δεικτών που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη: Βιταμίνη D, αλκαλική φωσφατάση, κρεατινίνη, ασβέστιο, φωσφόρος, μαγνήσιο, αλβουμίνη, χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, HDL και LDL, φερριτίνη και αιμοσφαιρίνη. Καμία σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στις ομάδες τόσο του φύλου όσο και των τύπων της νόσου (Εικόνα 3, Εικόνα 4), εκτός από μία που αφορούσε σε υψηλότερα επίπεδα φερριτίνης στα κορίτσια σε σχέση με τα αγόρια (Εικόνα 3D).



Εικόνα 3. Στατιστική περιγραφή αποτελεσμάτων: Βιταμίνης D (A), Αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) (B), Κρεατινίνης (creatinine) (C) και Φερριτίνης(ferritin) (D) ως προς όλο τον πληθυσμό (Total), τους τύπους της γαλακτοζαιμίας (GALT,GALK,GALE) και το φύλο (Males=αγόρια, Females=κορίτσια).

Biomarker units, referene ranges	Vitamin D (ng/ml πιν.12)	Ca ⁺² (mg/dl 8,7-10,8)	P ⁺⁴ (mg/dl 4,0-6,0)	Mg ⁺² (mg/dl 1,5-2,3)	ALP (U/lt) 60-240	ALB (gr/dl) 3,4-4,8	CHOL (mg/dl) 120-200	Creatinine (mg/dl) 0,20-1,0	Triglycerides (mg/dl) 30-130	HDL (mg/dl) 35-84	LDL (mg/dl) <150	Hb (gr/dl) 11.5-14.5	Feritin (ug/lt) 10-150	Z-BMI	Z-Wt	Z-Ht
Males	30.98±7.3	9.8±0.2	4.6±0.4	1.97±0.02	243.78±171.02	4.5±0.32	144±27.06	0.42±0.2	64.44±39.03	57.89±16.82	73.11±15.3	12.33±1.82	96.79±54.4	0.52±0.43	0.42±0.37	0.004±0.01
Females	27.6±8.2	9.93±0.33	4.92±0.65	1.9±0.055	313.46±197.6	4.54±0.3	146.15±27.63	0.45±0.12	63.84±37.51	56±14.79	75.46±24.54	14.06±6.3	55±5.28	0.46±0.75	0.51±0.68	-0.05±0.07
GALT	27.53±8.9	9.82±0.22	4.82±0.44	1.94±0.05	306.2±217.45	4.5±0.32	148.6±31.42	0.44±0.17	59±31.32	60.53±14.58	73.8±23.69	13.89±6.04	82.32±45.74	0.59±0.39	0.67±0.49	0.009±0.01
GALK	33.66±3.37	9.88±0.25	4.44±0.48	NaN	245±110.99	4.7±0.21	142.2±10.28	0.44±0.13	61±16.68	51.4±12.48	80.4±13.36	12.08±0.51	46.89±22.63	0.62±0.78	0.14±0.39	-0.11±0.1
GALE	28.1±3.1	10.25±0.55	5.45±0.48	NaN	225.5±44.5	4.45±0.25	128±14	0.37±0.1	110±75	42±18	65±12	12.55±0.55	50.3±16.7	-1.3±0	0.52±0.47	0.01±0.008
TOTAL	28.98±8.01	9.9±0.3	4.8±0.6	1.94±0.05	284.95±190.29	4.52±0.3	145.28±27.42	0.43±0.16	641±38.14	56.77±15.68	74.5±21.28	13.35±5.05	73.8±43.5	0.48±0.63	0.47±0.57	-0.03±0.06

Πίνακας 16. Συγκεντρωτικός πίνακας αποτελεσμάτων όλων των ανθρωπομετρικών, βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων και της βιταμίνης D, στους ασθενείς με γαλακτοζαιμία.



Εικόνα 4. Στατιστική περιγραφή αποτελεσμάτων: Αιμοσφαιρίνης (Hb) (A), λευκωματίνης (ALB) (B) και χοληστερόλη (CHOL) (C), τριγλυκεριδίων (Triglycerides) (C), υψηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνη (HDL) (C) και χαμηλής περιεκτικότητας λιποπρωτεΐνη (LDL) (C) ως προς όλο τον πληθυσμό (Total), τους τύπους της γαλακτοζαιμίας (GALT,GALK,GALE) και το φύλο (Males=αγόρια, Females=κορίτσια).

Ανάλυση κατά Pearson (Pearson's correlation analysis): προκειμένου να διαπιστωθεί αν υπάρχει κάποια πιθανή στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ διαφορετικών παραμέτρων, εφαρμόστηκε η ανάλυση κατά Pearson. Αρνητική συσχέτιση παρουσιάστηκε μεταξύ ηλικίας και βιταμίνης D ($\rho=-0.67$), ενώ θετική μεταξύ της ηλικίας και κρεατινίνης ($\rho=0.79$), σωματικού βάρους ($\rho=0.94$), ύψους ($\rho=0.97$) και Z-score βάρους ($\rho=0.56$). Στη συνέχεια, αρνητική συσχέτιση εμφανίστηκε μεταξύ βιταμίνης D και κρεατινίνης ($\rho=-0.61$), HDL ($\rho=-0.41$), Hb ($\rho=-0.42$), σωματικού βάρους ($\rho=-0.64$) και ύψους ($\rho=-0.69$) καθώς επίσης και μεταξύ των ασβεστίου και κρεατινίνης ($\rho=-0.48$) και σωματικού βάρους ($\rho=-0.41$). Τέλος, θετική συσχέτιση εμφανίστηκε μεταξύ των: αλκαλική φωσφατάση και χοληστερόλη ($\rho=0.6$), χοληστερόλη και HDL ($\rho=0.65$), LDL ($\rho=0.81$), κρεατινίνη και βάρος σώματος ($\rho=0.73$), ύψους ($\rho=0.75$).

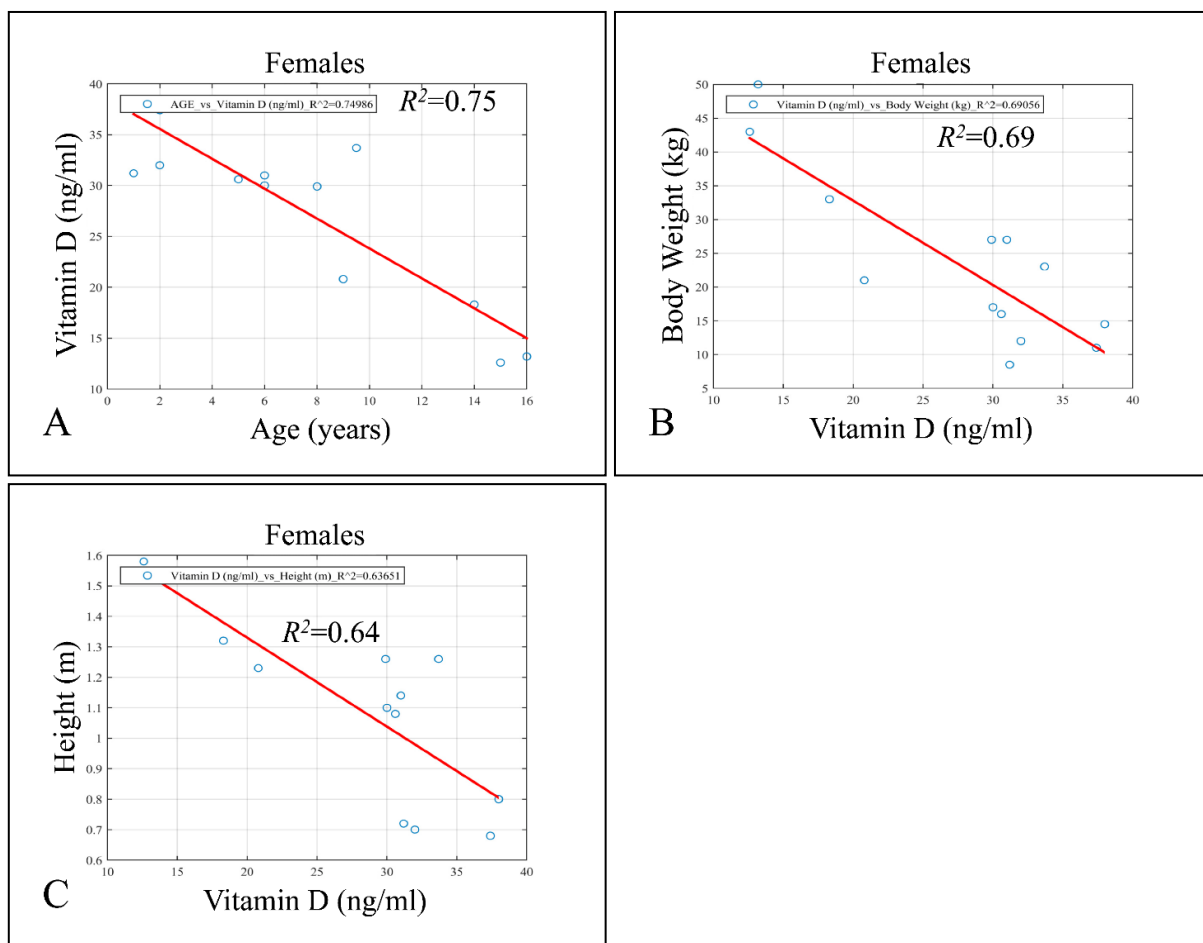
Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν βρέθηκε μεταξύ βιταμίνης D και BMI, τόσο στα αγόρια όσο και στα κορίτσια. Οι παραπάνω στατιστικές μετρήσεις παρουσιάζονται όλες στον παρακάτω πίνακα (**Πίνακας 17**).

	AGE	Vitamin D (ng/ml)	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	ALP (U/lt)	ALB (gr/dl)	CHOL (mg/dl)	Creatinine (mg/dl)	Triglycerides (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)	Hb (gr/dl)	Body Weight (kg)	Height (m)	BMI	Z-Wt	Z-Ht
AGE	1.0000																
Vitamin D (ng/ml)	-0.6729	1.0000															
Ca (mg/dl)	-0.4145	-0.0085	1.0000														
P (mg/dl)	0.1001	-0.1229	0.1796	1.0000													
ALP (U/lt)	0.3272	-0.3852	0.1891	0.0677	1.0000												
ALB (gr/dl)	-0.3008	0.0774	0.0643	-0.2353	-0.1010	1.0000											
CHOL (mg/dl)	0.3695	-0.3124	0.0803	-0.2561	0.6084	-0.0786	1.0000										
Creatinine (mg/dl)	0.7884	-0.6126	-0.4800	-0.0390	0.2849	-0.0986	0.2292	1.0000									
Triglycerides (mg/dl)	-0.4317	0.2509	-0.0234	0.2323	-0.3276	0.3457	-0.2496	-0.3883	1.0000								
HDL (mg/dl)	0.2667	-0.4158	0.3364	-0.3001	0.3645	-0.0425	0.6502	0.0686	-0.4524	1.0000							
LDL (mg/dl)	0.3367	-0.2080	-0.0958	-0.1264	0.3556	-0.0023	0.8199	0.2680	-0.0939	0.2806	1.0000						
Hb (gr/dl)	0.4111	-0.4282	0.2048	0.2553	0.3035	-0.1644	0.0212	0.5025	-0.5140	0.1791	-0.0113	1.0000					
Body Weight (kg)	0.9408	-0.6414	-0.4158	0.0313	0.2691	-0.2423	0.3237	0.7373	-0.3507	0.2160	0.3563	0.3029	1.0000				
Height (m)	0.9737	-0.6915	-0.3974	0.0729	0.2758	-0.3080	0.3301	0.7572	-0.4416	0.2454	0.3280	0.3817	0.9508	1.0000			
BMI	-0.0411	-0.0497	0.0330	-0.2313	-0.0305	0.2615	-0.0407	0.2274	0.3163	-0.0444	-0.0435	0.0792	0.1049	-0.0619	1.0000		
Z-Wt	-0.5633	0.3917	0.3206	-0.3348	-0.2896	0.2008	-0.1654	-0.4196	0.3833	-0.1197	-0.1331	-0.2986	-0.3130	-0.4792	0.5113	1.0000	

Πίνακας 17. Ανάλυση κατά Pearson όλων των ανθρωπομετρικών, βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων και της βιταμίνης D, στους ασθενείς με γαλακτοζαιμία (πράσινο κουτί: θετική στατιστική συσχέτιση, κόκκινο κουτί: αρνητική στατιστική συσχέτιση).

Με βάση τα προηγούμενα αποτελέσματα της συσχέτισης κατά Pearson, χρησιμοποιήσαμε υποδείγματα γραμμικής παλινδρόμησης, τα οποία εφαρμόστηκαν σε όσους δείκτες εμφάνισαν μεταξύ τους συσχέτιση και βρέθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

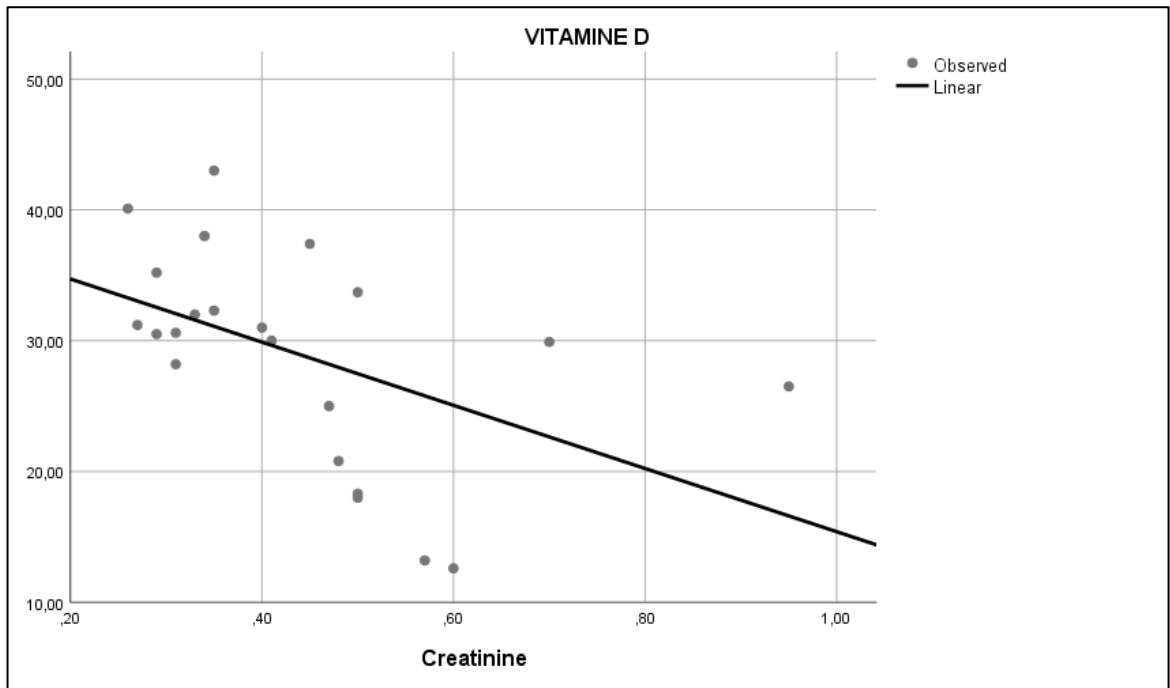
Αρνητική γραμμική συσχέτιση βρέθηκε μεταξύ των δεικτών: ηλικία και βιταμίνη D ($R^2=0,75$), βιταμίνη D και σωματικό βάρος ($R^2 =0,69$) και βιταμίνη D και ύψος ($R^2=0,64$), στον γυναικείο πληθυσμό της μελέτης (**Εικόνα 5**).



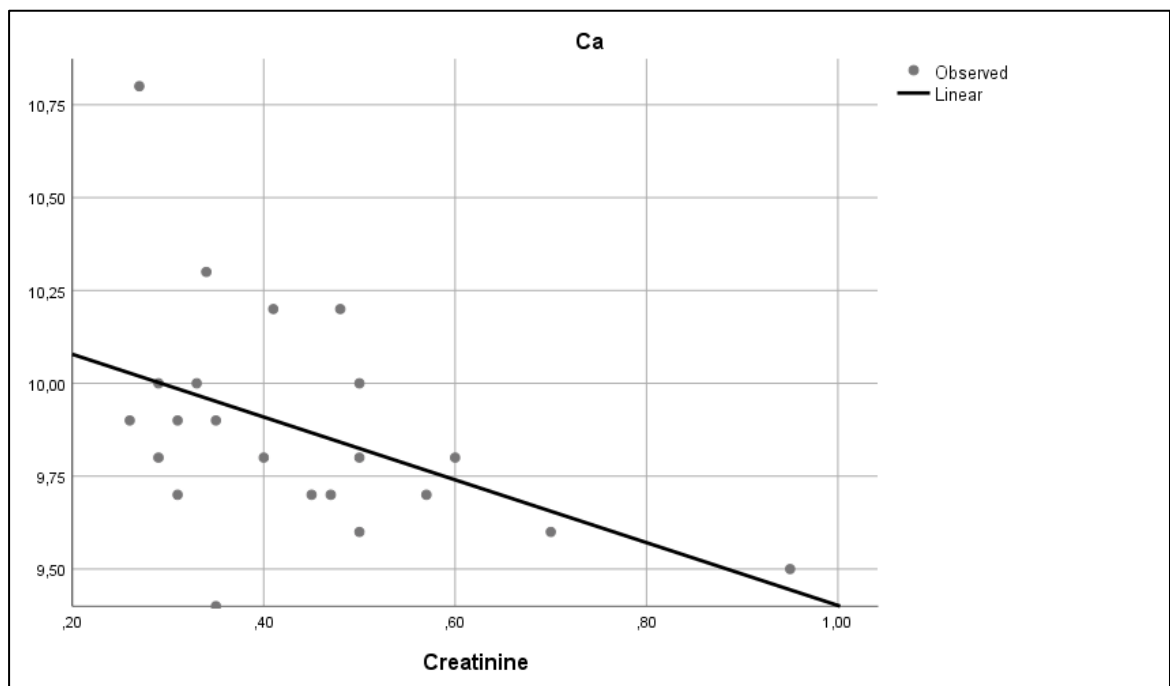
Εικόνα 5. Συσχέτιση μεταξύ: ηλικίας και βιταμίνης D (age vs. vitamin D; $R^2=0.75$) (**A**), βιταμίνης D και σωματικού βάρους (vitamin D vs. body weight; $R^2=0.69$) (**B**) και βιταμίνης D και ύψους (vitamin D vs. height; $R^2=0.64$) (**C**).

Επίσης παρατηρήθηκαν και οι παρακάτω συσχετίσεις:

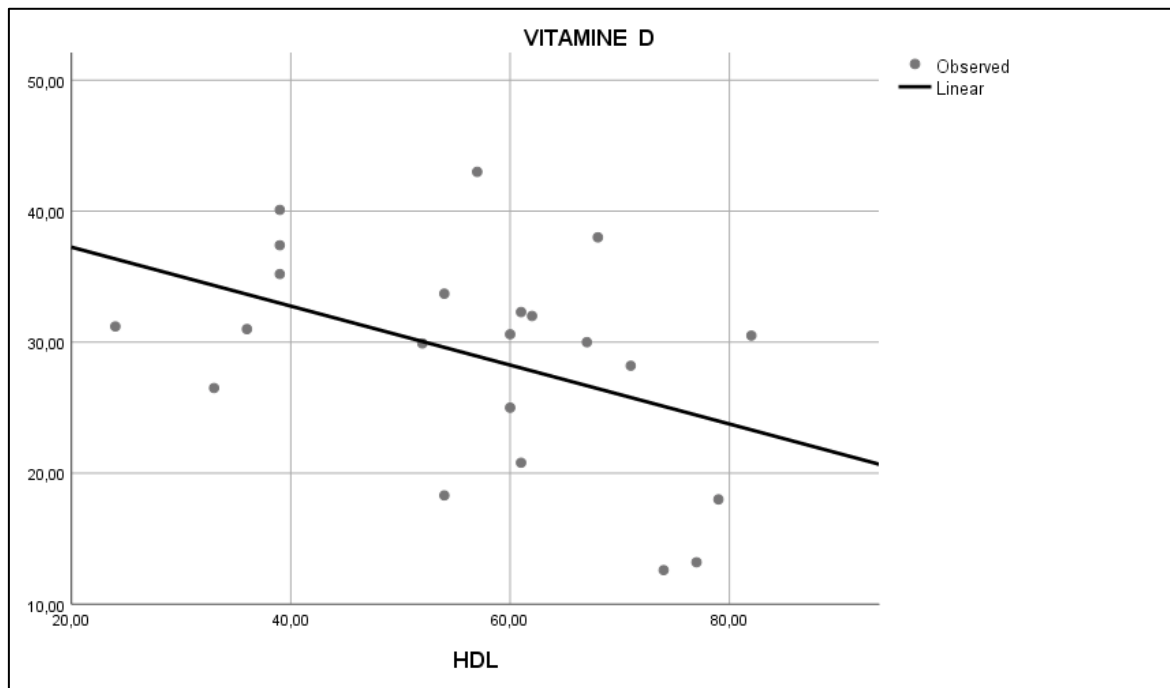
Βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ Βιταμίνης D και κρεατινίνης ($p=0,023$, $R^2=0,233$)
Επίσης, βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ ασβεστίου και κρεατινίνης ($p=0,034$, $R^2=0,20$). Τέλος, βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ Βιταμίνης D και HDL ($p=0,04$, $R^2=0,19$). (Εικόνες 6,7,8 αντίστοιχα.)



Εικόνα 6. Βιταμίνη D vs κρεατινίνη ($p=0,023$, $R^2=0,233$)



Εικόνα 7. Ασβέστιο vs κρεατινίνη ($p=0,034$, $R^2=0,20$).



Εικόνα 8.Βιταμίνη D vs HDL($p=0,04$, $R^2=0,19$)

9. Φαινυλκετονουρία

Στη συγκεκριμένη μελέτη πήραν μέρος 59 ασθενείς (26 αγόρια, 33κορίτσια) με μέσο όρο ηλικίας $13,93\pm 11,6$ με φαινυλκετονουρία-PKU (επίπεδα φαινυλαλανίνης περιγεννητικά $>10\text{mg/dl}$) και 41 ασθενείς με HPA (27αγόρια, 14κορίτσια) με μέσο όρο ηλικίας $8,73\pm 6,75$ (επίπεδα φαινυλαλανίνης περιγεννητικά $6-10\text{mg/dl}$). Οι ανθρωπομετρικές μετρήσεις για ΔΜΣ (BMI), ύψος και βάρος μετατράπηκαν σε Z-scores, ώστε να είναι πιο εύκολη και αξιόπιστη η σύγκριση των παραμέτρων μεταξύ διαφορετικών ηλικιακών ομάδων. Επίσης, υπολογίστηκε και ο μέσος όρος των ετήσιων μετρήσεων επιπέδων φαινυλαλανίνης ξεχωριστά για κάθε ομάδα (PKU/HPA). Λόγω του ότι η ειδική φόρμουλα διατροφής (Amino Acid-Medical Food) των συγκεκριμένων ασθενών είναι εμπλουτισμένη σε ασβέστιο, το μόνο συμπλήρωμα διατροφής που τους χορηγείται, εάν χρειάζεται, είναι η βιταμίνη D (Πίνακας 18, Πίνακας 19).

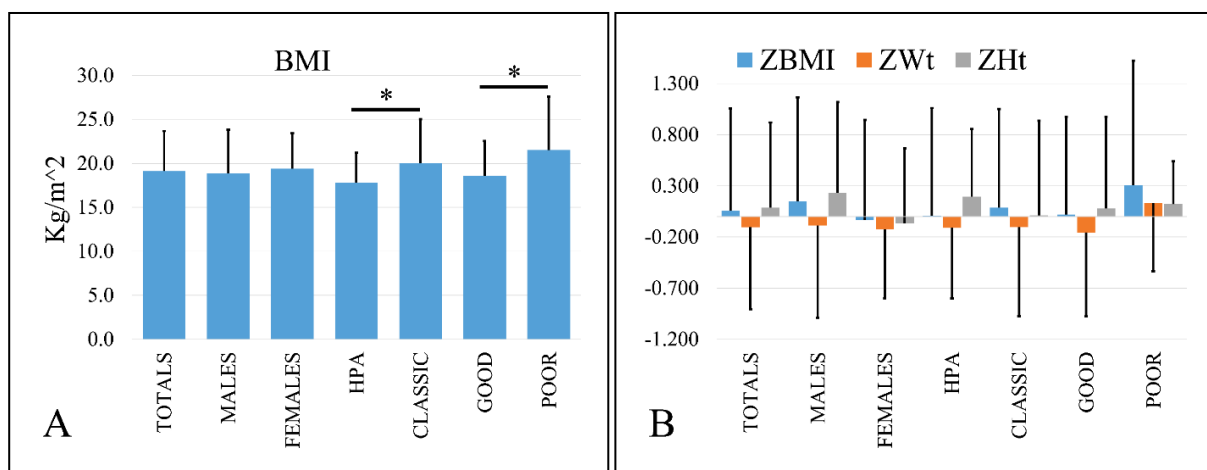
	Μικρότερη τιμή	Μεγαλύτερη τιμή	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
Ηλικία (έτη)	1.00	40.00	13.93	11.6
ZHt	-2.6	1.6	-0.03	0.67
ZWt	-1.5	2.4	-0.007	0.69
ZBMI	-1.8	2.1	0.01	0.84
Phe (mg/dl)	1.00	18.50	5.425	4.00

Πίνακας 18. Στατιστικά περιγραφικά στοιχεία ασθενών με PKU.

	Μικρότερη τιμή	Μεγαλύτερη τιμή	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
Ηλικία(έτη)	1.00	29.00	8.73	6.75
ZHt	-0.78	2.1	0.1	0.52
ZWt	-1.50	3.5	-0.02	0.90
ZBMI	-1.90	2.9	-0.1	1.05
Phe(mg/dl)	1.50	13.50	4.72	2.45

Πίνακας 19. Στατιστικά περιγραφικά στοιχεία ασθενών με HPA.

Τα αποτελέσματα μέτρησης για το BMI έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($p<0,05$) μεταξύ των ομάδων ασθενών με φαινυλκετονουρία και υπερφαινυλαλανιναιμία, όπως και μεταξύ των ομάδων ασθενών με κακή και καλή συμμόρφωση στη δίαιτα (Εικόνα 9A). Αντίθετα, τα Z-scores για τα: BMI, ύψος και βάρος δεν εμφάνισαν καμία στατιστικά σημαντική διαφορά στις παραπάνω υποομάδες ασθενών (Εικόνα 9B).



Εικόνα 9. Στατιστικά περιγραφικά για τις μετρήσεις του ΔΜΣ (BMI) (Α) και των Z-scores ΔΜΣ (Z-BMI), βάρους (Z-Wt) και ύψους (Z-Ht), σε όλες τις ομάδες (Β) (males: αγόρια, females: κορίτσια; HPA: υπερφαινωλαλιναιμία (6-10mg/dl). Classic: κλασσική και διάμεση φαινυλκετονουρία (>10mg/dl), Good: καλή συμμόρφωση στη διαίτα, Poor: κακή συμμόρφωση στη διαίτα, Total: σύνολο).

Όλες οι μετρήσεις των βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ήταν μέσα στις φυσιολογικές τιμές (Πίνακας 20, Πίνακας 21).

	Μικρότερη τιμή	Μεγαλύτερη τιμή	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Φυσιολογικές τιμές
Phe(mg/dl)	1.0	18.5	5.449	4.03	Πίνακας 3
VitD(ng/ml)	15.5	65.2	36.514	10.85	Πίνακας 12
Ca(mg/dl)	8.5	10.8	9.754	.52	8,5-10,5 (<12 ετών: 8,7-10,8)
P(mg/dl)	1.1	6.4	4.433	.92	2,4-5,1 (Παιδιά:4,0-6,0)
ALP(U/lit)	42	929	228.86	176.51	45-129 (Παιδιά:60-240)
ALB(gr/dl)	3.6	6.3	4.512	.53	3,4-4,8
Cr(mg/dl)	.18	.98	.5360	.20	0,7-1,3 (Παιδιά:0,20-1,0)
CHOL(mg/dl)	95	249	147.34	27.43	<200 (Παιδιά:120-200)
TRIG(mg/dl)	30	310	96.02	54.82	Ενήλικες<150(Παιδιά:30-130)
HDL(mg/dl)	31	106	49.56	12.53	Ενήλικες>40(Παιδιά:35-84)
LDL(mg/dl)	42	128	79.14	18.65	Ενήλικες<130(Παιδιά<150)
Mg(mg/dl)	1.70	3.40	2.2830	.43	1,5-2,3
HB(g/dl)	11.4	16.2	13.452	1.28	11,5-14,5
FERRITINE(μg/L)	12	232	64.22	52.09	Ενήλικες : 22-322 Παιδιά : 10-150

Πίνακας 20. Στατιστικά στοιχεία βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων σε ασθενείς με PKU.

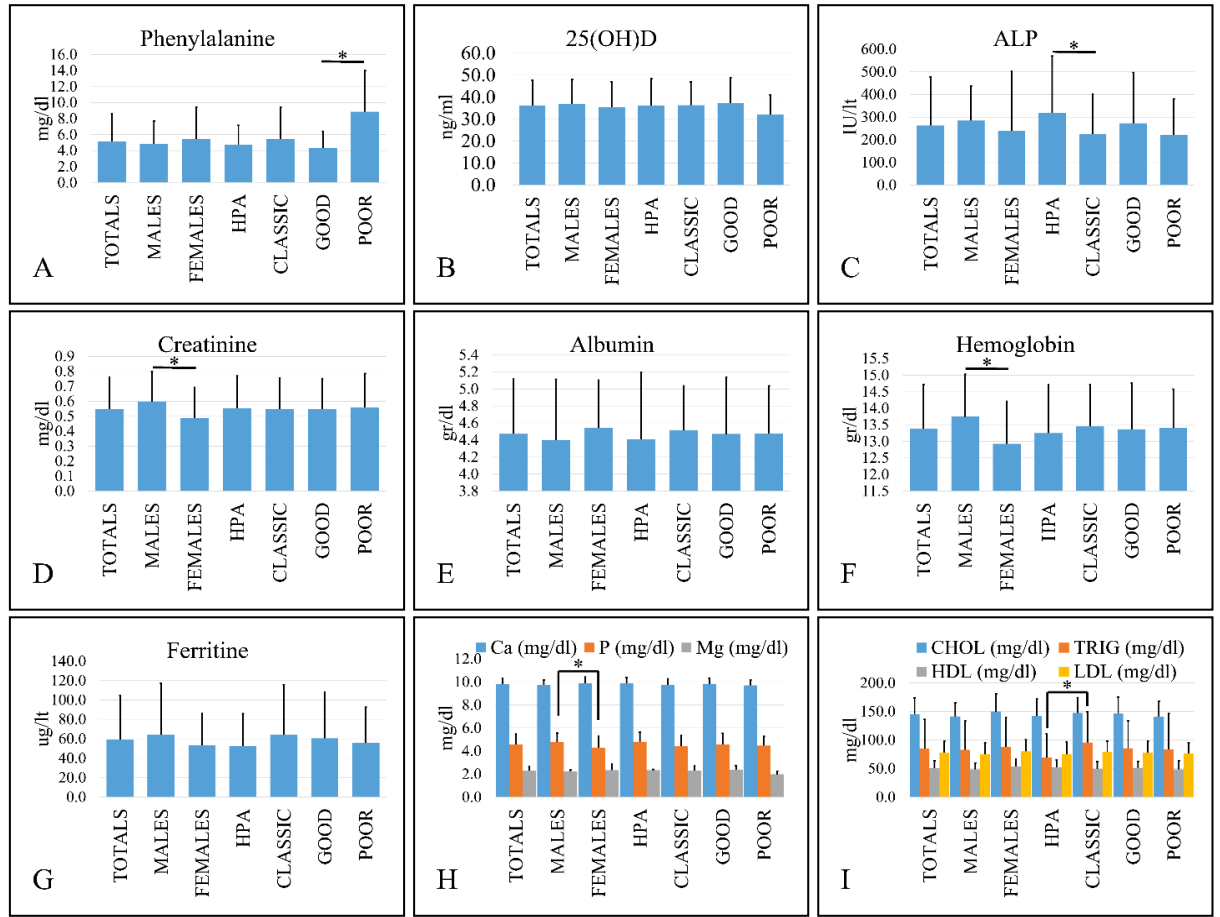
	Μικρότερη τιμή	Μεγαλύτερη τιμή	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση
phe(mg/dl)	1.5	13.5	4.727	2.45
VITD(ng/ml)	13.2	65.3	36.128	12.40
Ca(mg/dl)	9.0	11.0	9.877	.48
P(mg/dl)	3.0	6.3	4.801	.83
ALP(U/lt)	42	1494	317.93	255.17
ALB(gr/dl)	1.8	7.3	4.406	.80
Cr(mg/dl)	.21	1.04	.5533	.22
CHOL(mg/dl)	92	222	142.40	29.86
TRIG(mg/dl)	30	221	68.93	42.10
HDL(mg/dl)	27	92	52.71	12.17
LDL(mg/dl)	44	130	75.33	22.01
Mg(mg/dl)	2.25	2.40	2.3250	.10
HB(g/dl)	10.2	16.9	13.248	1.49
FERRITINE(μg/L)	24	198	52.45	33.95

Πίνακας 21. Στατιστικά στοιχεία βιοχημικών/αιματολογικών παραμέτρων σε ασθενείς με ΗΡΑ.

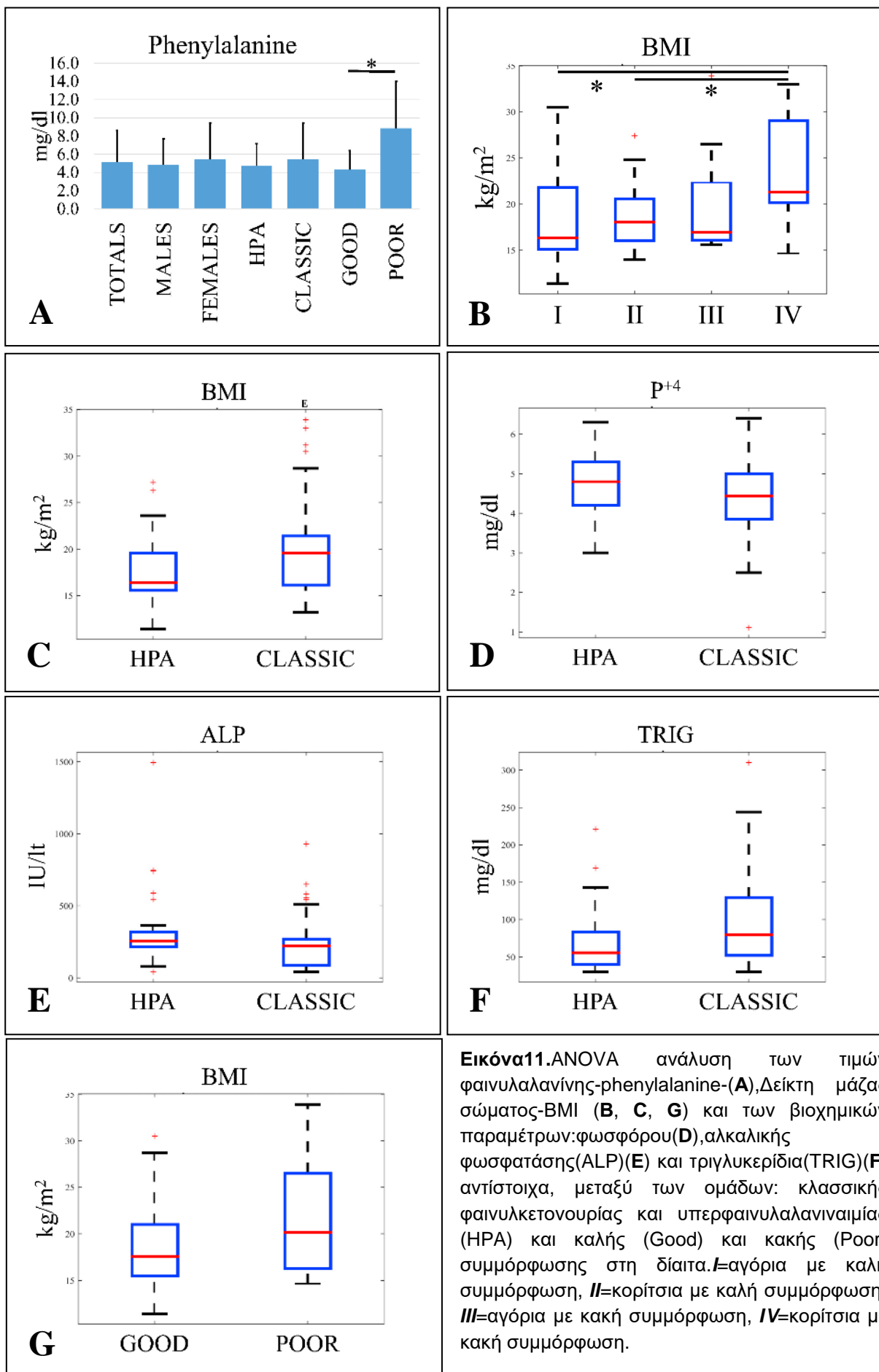
Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη των βιοχημικών παραμέτρων, όπως ταυτοποιήθηκαν από την περιγραφική στατιστική των παραγόντων (**Εικόνα 10**) αυτών και ειδικότερα με παραμετρική ANOVA, στις παρακάτω ομάδες: PKU-ΗΡΑ, καλή-κακή συμμόρφωση στη δίαιτα. Τα αποτελέσματα που έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) είναι: Οι τιμές φαινυλαλανίνης: υψηλότερες στην ομάδα ασθενών με κακή σε σχέση με την ομάδα με καλή συμμόρφωση στη δίαιτα (**Εικόνα 11Α**). Οι τιμές BMI: υψηλότερες στην ομάδα ασθενών με κακή σε σχέση με την ομάδα με καλή συμμόρφωση (**Εικόνα 11Γ**) και ειδικότερα στην ομάδα των κοριτσιών (**Εικόνα 11Β**). Η αντίστοιχη ανάλυση για τα Z-scores BMI δεν εμφάνισε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά (**Εικόνα 12**).

Οι τιμές του BMI και των τριγλυκεριδίων (**Εικόνα 11C**, **Εικόνα 11F**): υψηλότερες στην ομάδα των ασθενών με φαινυλκετονουρία (PKU) σε σχέση με την ομάδα ασθενών με υπερφαινυλαλανιναιμία (ΗΡΑ), ενώ η μελέτη για τα Z-BMI δεν παρουσίασε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά (**Εικόνα 13**).

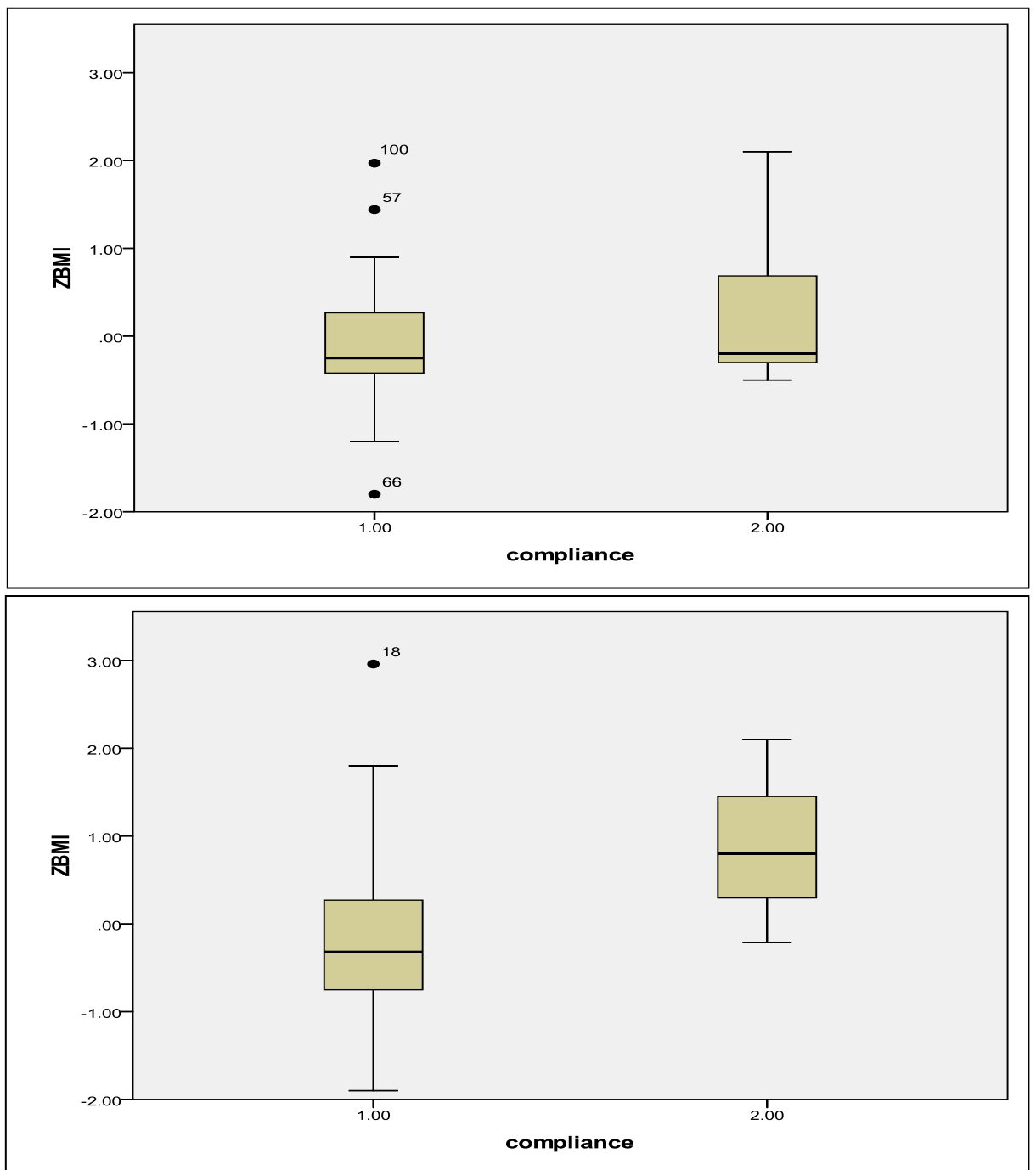
Οι τιμές του φωσφόρου (**Εικόνα 11D**) και της αλκαλικής φωσφατάσης (**Εικόνα 11E**): χαμηλότερες στην ομάδα των ασθενών με φαινυλκετονουρία (PKU) σε σχέση με την ομάδα ασθενών με υπερφαινυλαλανιναιμία (ΗΡΑ).



Εικόνα 10. Περιγραφική στατιστική των βιοχημικών παραγόντων σε ασθενείς με PKU. Ειδικότερα, οι μετρήσεις περιελάμβαναν μετρήσεις των επιπέδων phenylalanine (A), 25-OH-Vitamin D (B), Alkaline Phosphatase (ALP) (C), Creatinine (D), Albumin (E), Hemoglobin (F), Ferritine (G), Ca²⁺, P⁴⁺ και Mg²⁺ (H), ενώ ταυτόχρονα αξιολογήθηκε το λιπιδαιμικό προφίλ των ασθενών, το οποίο περιελάμβανε τη μέτρηση της ολικής χολεστερόλης (CHOL), των τριγλυκεριδίων (TRIG), της HDL και της LDL (I) (ο * υποδηλώνει σημαντικότητα $p < 0.05$). (Λεζάντα: **BMI**: Body-Mass Index, **HPA**: Hyperphenylalaninemia (phe: 6-10mg/dl), **CLASSIC**: Classical –Moderate PKU type (phe>10mg/dl), **GOOD**: subjects with good diet compliance, **POOR**: subjects with poor diet compliance, **25(OH)D**: 25-OH-Vitamin D, **ALP**: Alkaline Phosphatase, **CHOL**: Cholesterol, **TRIG**: triglycerides, **HDL**: High-Density Lipoprotein, **LDL**: Low-Density Lipoprotein).



Εικόνα11. ANOVA ανάλυση των τιμών φαινυλαλανίνης-phenylalanine-(**A**), Δείκτη μάζας σώματος-BMI (**B**, **C**, **G**) και των βιοχημικών παραμέτρων: φωσφόρου(**D**), αλκαλικής φωσφατάσης(ALP)(**E**) και τριγλυκερίδια(TRIG)(**F**) αντίστοιχα, μεταξύ των ομάδων: κλασσικής φαινυλκετονουρίας και υπερφαινυλαλανιναιμίας (HPA) και καλής (Good) και κακής (Poor) συμμόρφωσης στη διαίτα. **I**=αγόρια με καλή συμμόρφωση, **II**=κορίτσια με καλή συμμόρφωση, **III**=αγόρια με κακή συμμόρφωση, **IV**=κορίτσια με κακή συμμόρφωση.

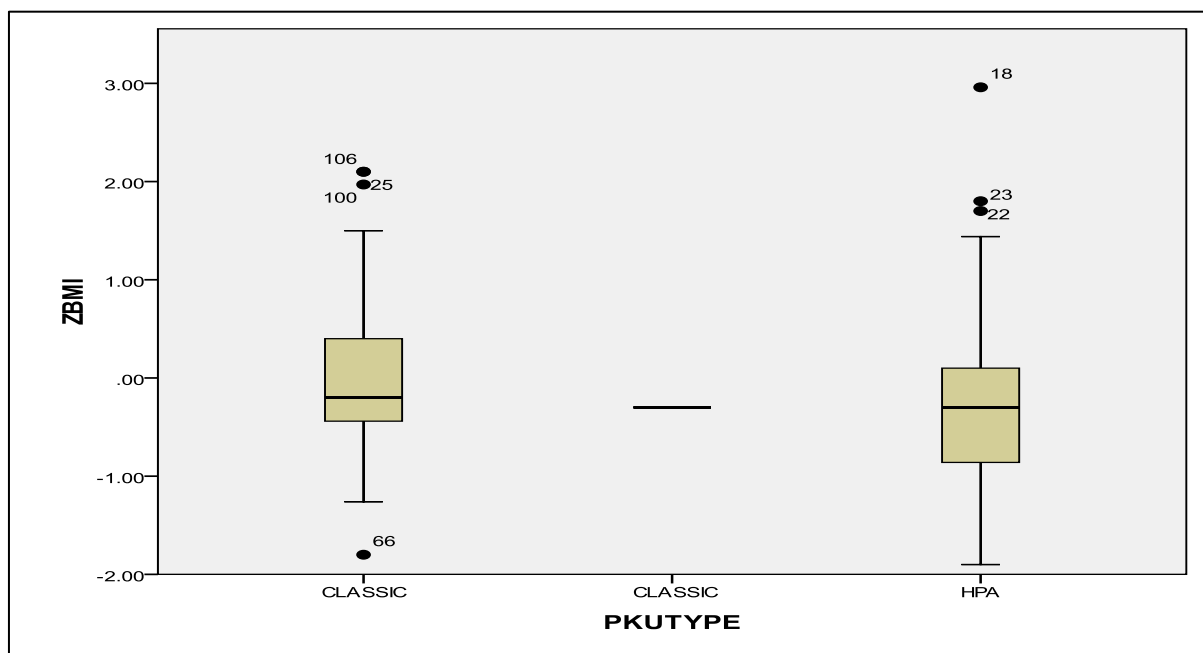


Εικόνα 12. ANOVA ανάλυση των τιμών Z-BMI σε αγόρια (κάτω) και κορίτσια (επάνω) με καλή (1) και κακή (2) συμμόρφωση στη διαίτα (compliance).

Προκειμένου να διερευνηθούν ενδεχόμενες διαφορές μεταξύ των υπό μελέτη παραμέτρων σε διαφορετικές ηλικιακές ομάδες (προεφηβεία < 11 ετών, στάδιο Tanner I-II, εφηβεία > 11 ετών, στάδιο Tanner III-V), εφαρμόστηκε το T-test για την στατιστική ανάλυση των συγκεκριμένων δεδομένων.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν έδειξαν ότι υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0,05$) στους παρακάτω δείκτες, μεταξύ των ηλικιακών ομάδων προεφηβείας

(prepubertal) και εφηβείας (pubertal), στο σύνολο του υπό μελέτη πληθυσμού (Πίνακας 22).



Εικόνα 13. ANOVA ανάλυση των τιμών Z-scores BMI σε ασθενείς με PKU και HPA.

Βιταμίνη D ($p<0,01$), Ασβέστιο ($p=0,005$), Φωσφόρος ($p<0,01$), Αλκαλική φωσφατάση ($p<0,01$), Χοληστερόλη ($p=0,016$), Κρεατινίνη ($p<0,01$) και επίπεδα φαιτυλαλανίνης ($p<0,01$). Για την βιταμίνη D, το ασβέστιο, τον φωσφόρο και την αλκαλική φωσφατάση οι τιμές στο προεφηβικό στάδιο ήταν υψηλότερες σε σχέση με το εφηβικό στάδιο. Ενώ για την χοληστερόλη, την κρεατινίνη και τα επίπεδα φαιτυλαλανίνης παρατηρήθηκαν υψηλότερες τιμές στο εφηβικό σε σχέση με το προεφηβικό στάδιο. Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν εμφανίστηκε για τις τιμές Z-BMI, σ' αυτές τις ηλικιακές ομάδες.

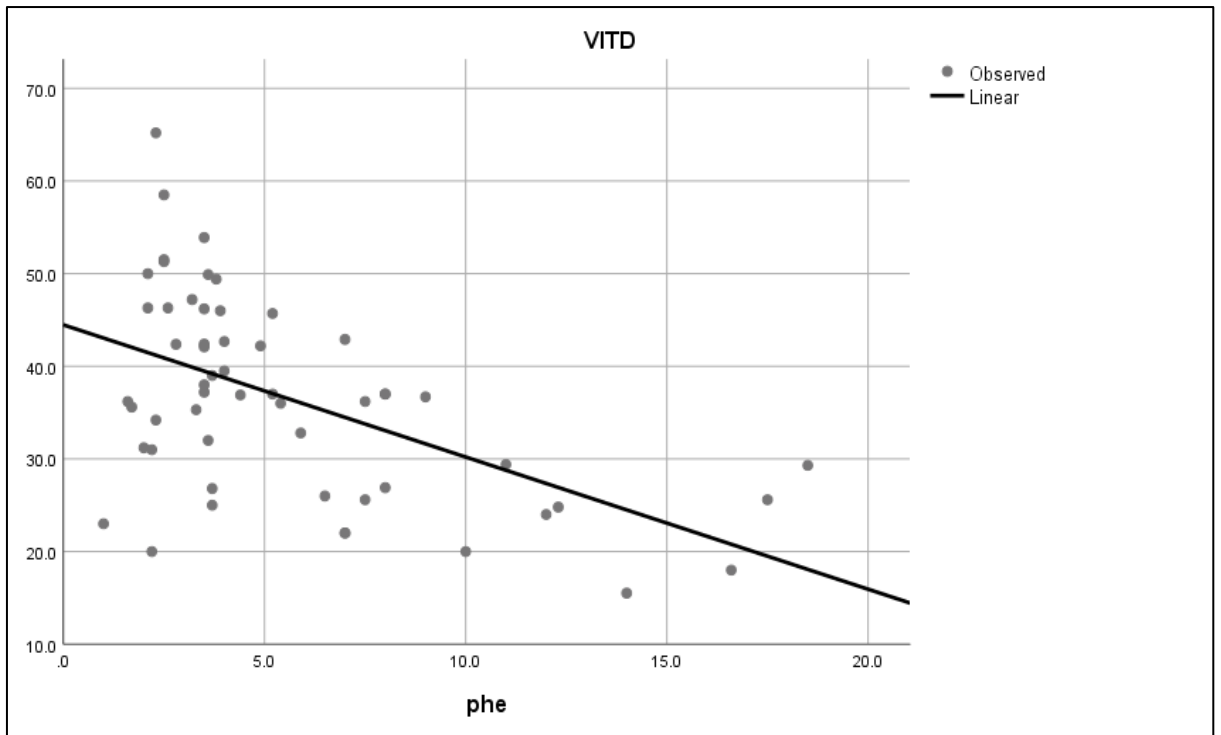
Τέλος, διερευνήθηκε η γραμμική συσχέτιση (regression analysis) μεταξύ των παραμέτρων της μελέτης και προέκυψαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

- Στους ασθενείς με φαιτυλκετονουρία (PKU):
 - Βιταμίνη D vs. PHE: αρνητική συσχέτιση ($p<0,001$; $R^2=0,291$)(**Εικόνα 14**).
 - Ασβέστιο vs PHE: αρνητική συσχέτιση ($p=0,019$; $R^2=0,093$)(**Εικόνα 15**).
 - Φωσφόρος vs PHE: αρνητική συσχέτιση ($p<0,001$; $R^2=0,213$)(**Εικόνα 16**).
 - Αλκαλική φωσφατάση vs PHE: αρνητική συσχέτιση ($p=0,001$; $R^2=0,174$)(**Εικόνα 17**)

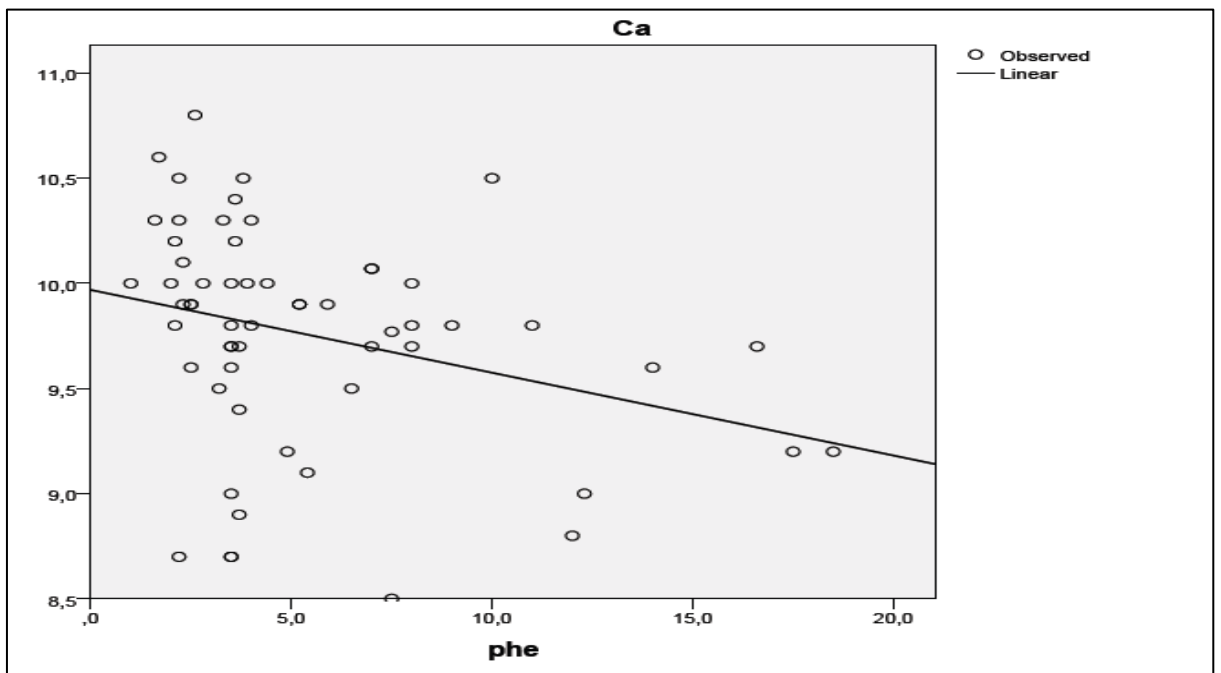
- Κρεατινίνη vs PHE: θετική συσχέτιση ($p < 0,001$; $R^2 = 0,316$) **(Εικόνα 18)**
- Αιμοσφαιρίνη vs PHE: θετική συσχέτιση ($p = 0,002$; $R^2 = 0,181$) **(Εικόνα 19)**
- Z-BMI vs PHE: θετική συσχέτιση ($p = 0,015$; $R^2 = 0,126$) **(Εικόνα 20)**
- Στους ασθενείς με Υπερφαινυλαανιναιμία (HPA):
 - Βιταμίνη D vs. PHE: αρνητική συσχέτιση ($p = 0,017$; $R^2 = 0,144$) **(Εικόνα 21)**
 - Φωσφόρος vs. PHE : αρνητική συσχέτιση ($p = 0,002$; $R^2 = 0,255$) **(Εικόνα 22)**
 - Αλκαλική φωσφατάση vs. PHE: αρνητική συσχέτιση ($p = 0,007$; $R^2 = 0,176$) **(Εικόνα 23)**
 - Κρεατινίνη vs. PHE: θετική συσχέτιση ($p = 0,003$; $R^2 = 0,379$) **(Εικόνα 24)**

	Ηλικία	N	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	P-value
VITD	>= 11	40	29.592	9.48	.000
	< 11	56	41.034	10.30	.000
Ca	>= 11	43	9.640	.51	.005
	< 11	57	9.922	.46	.006
P	>= 11	38	4.050	.87	.000
	< 11	52	4.923	.78	.000
ALP	>= 11	43	141.51	102.17	.000
	< 11	56	356.80	232.49	.000
ALB	>= 11	28	4.595	.76	.214
	< 11	52	4.404	.57	.255
CHOL	>= 11	43	153.26	34.05	.016
	< 11	57	139.54	21.45	.024
Cr	>= 11	32	.6903	.17	.000
	< 11	33	.4103	.14	.000
TRIG	>= 11	43	85.33	50.97	.960
	< 11	57	84.81	52.06	.960
HDL	>= 11	43	52.31	14.36	.297
	< 11	57	49.69	10.61	.318
LDL	>= 11	41	83.71	20.73	.010
	< 11	56	73.26	18.47	.012
Mg	>= 11	5	2.2060	.29	.560
	< 11	7	2.3500	.46	.528
HB	>= 11	39	14.021	1.32	.000
	< 11	3	12.791	1.09	.000
FERRITINE	>= 11	35	77.01	58.96	.001
	< 11	37	42.90	16.25	.002
phe	>= 11	44	7.095	4.22	.000
	< 11	57	3.633	1.54	.000

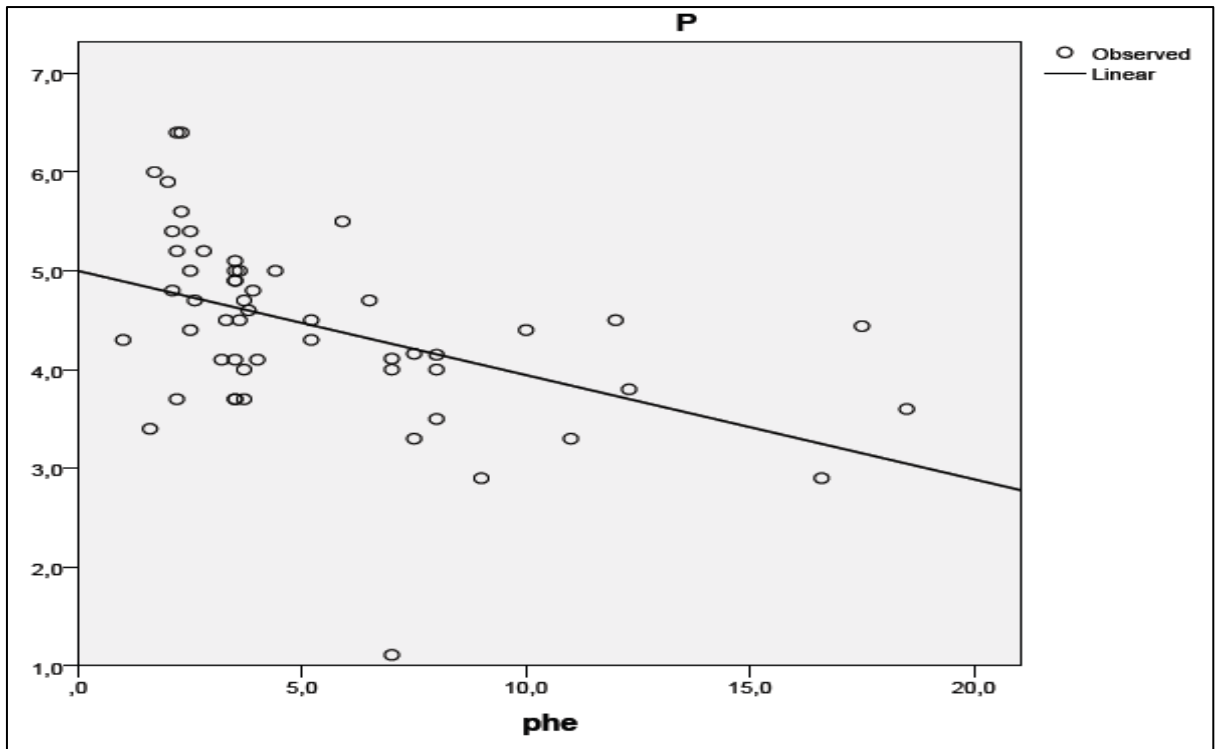
Πίνακας 22. T-Test μεταξύ των ηλικιακών ομάδων <11 ετών PREPUBERTAL και >11 ετών PUBERTAL, ασθενών με φαινυλκετονουρία.



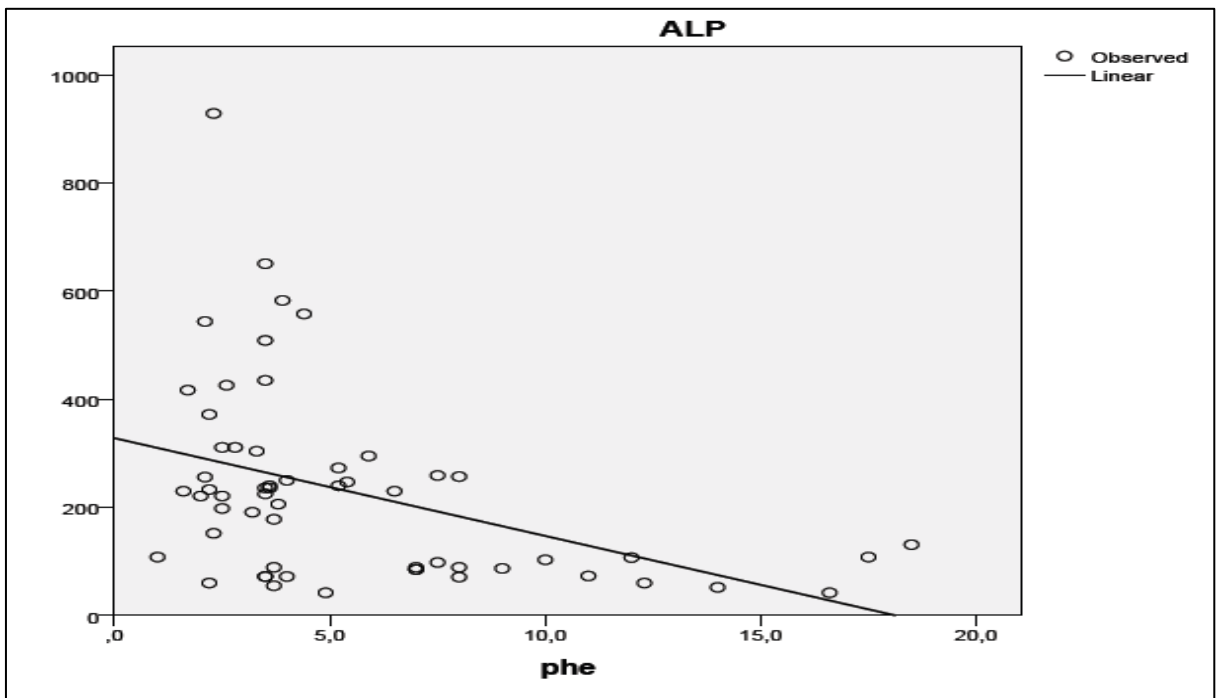
Εικόνα 14. VITD vs. PHE σε PKU ασθενείς ($\rho < 0,01$; $R^2 = 0,291$).



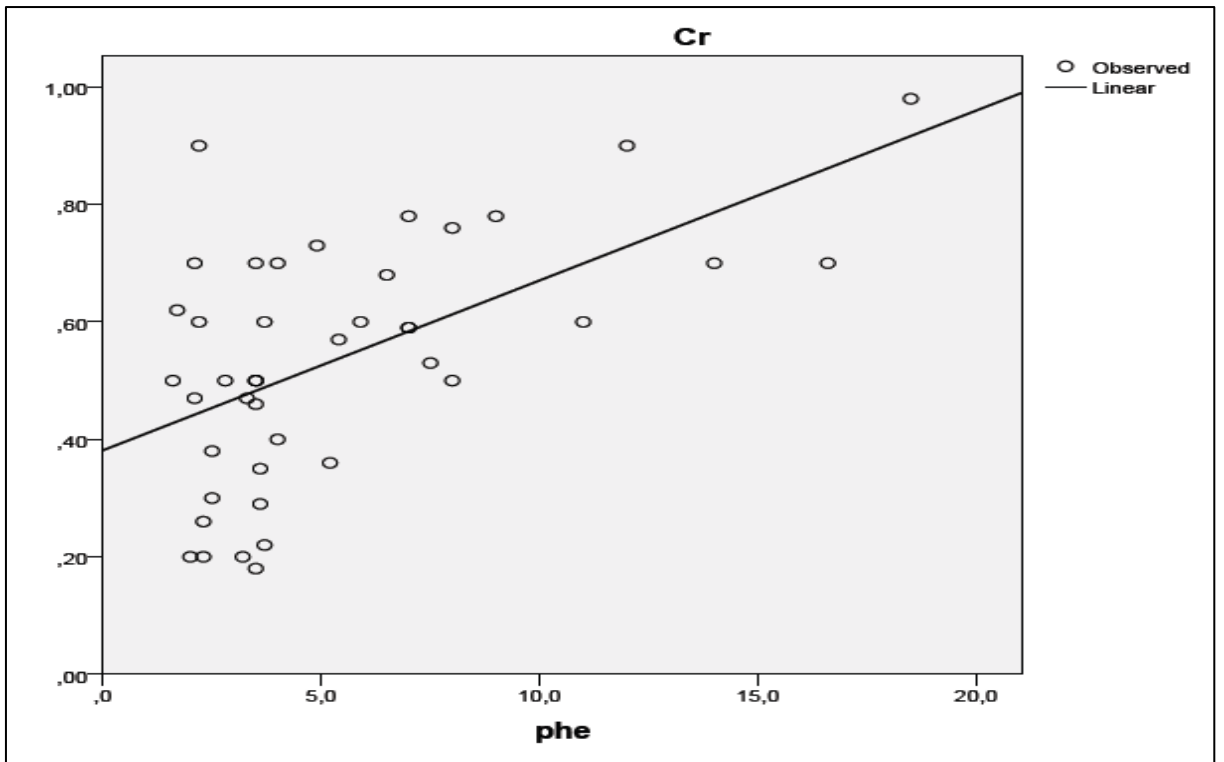
Εικόνα 15. Ca^{+2} vs PHE σε PKU ασθενείς ($\rho = 0,019$; $R^2 = 0,093$).



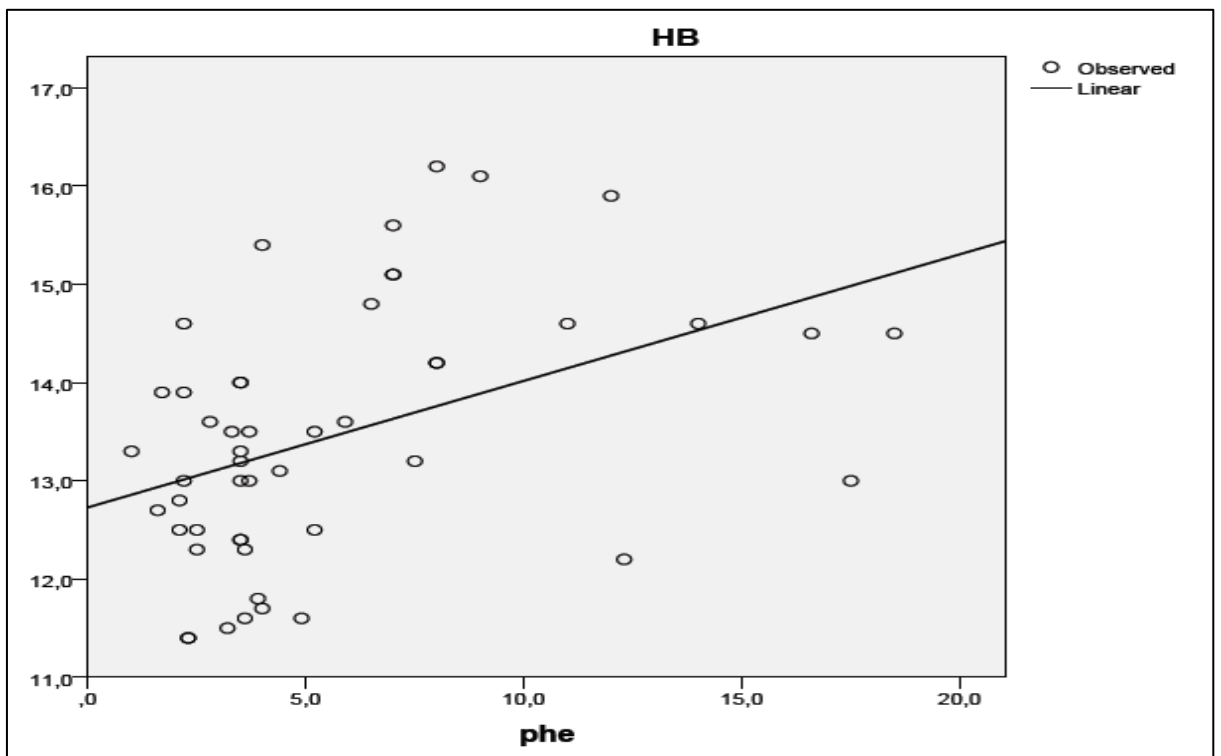
Εικόνα 16. P⁺ vs PHE σε PKU ασθενείς ($p < 0,01$; $R^2 = 0,213$).



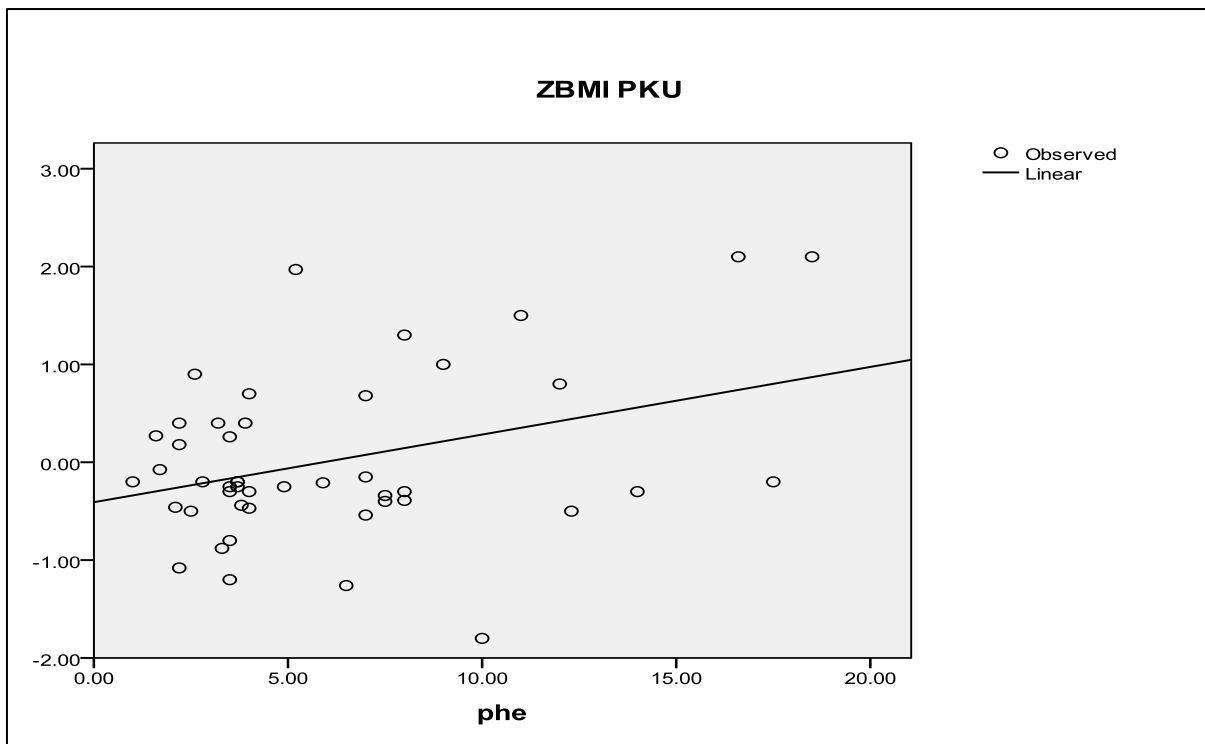
Εικόνα 17. ALP vs PHE σε PKU ασθενείς ($p < 0,01$; $R^2 = 0,174$).



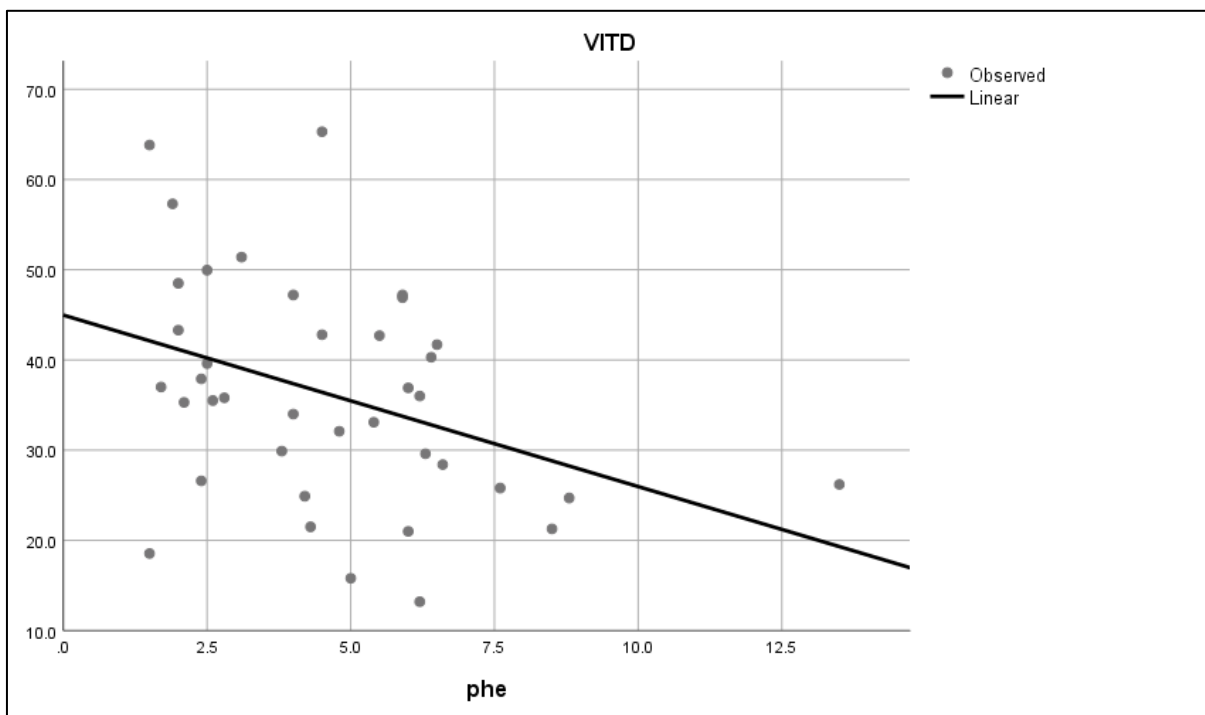
Εικόνα 18. Cr vs PHE σε PKU ασθενείς ($p < 0,01$; $R^2 = 0,316$).



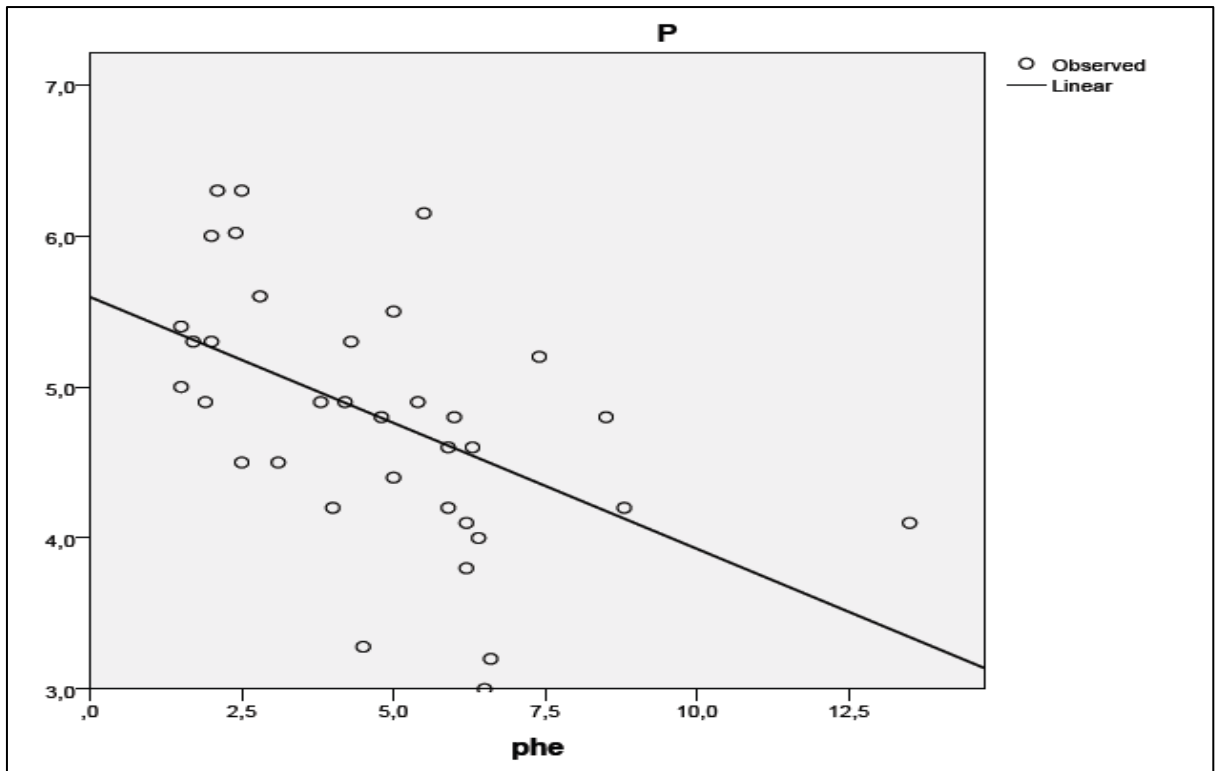
Εικόνα 19. Hb vs PHE σε PKU ασθενείς ($p = 0,002$; $R^2 = 0,181$).



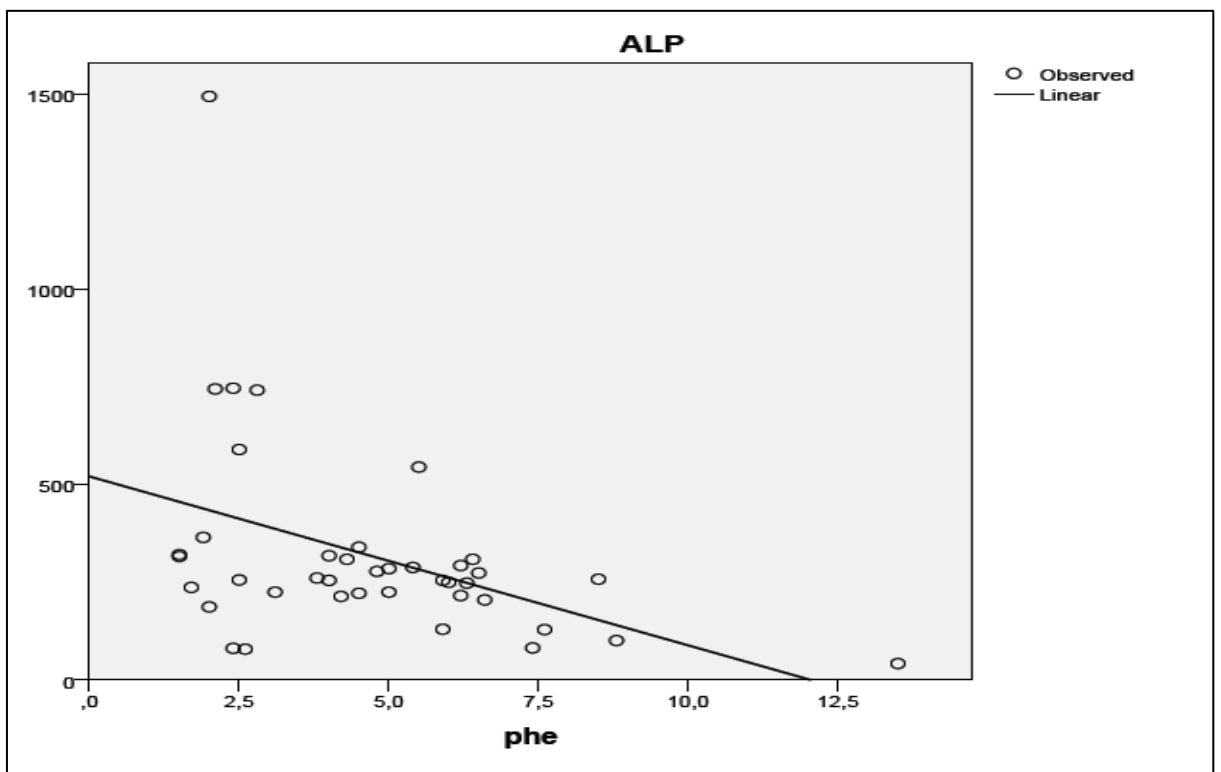
Εικόνα 20. Z-BMI vs PHE σε PKU ασθενείς ($p=0,015$; $R^2=0,126$).



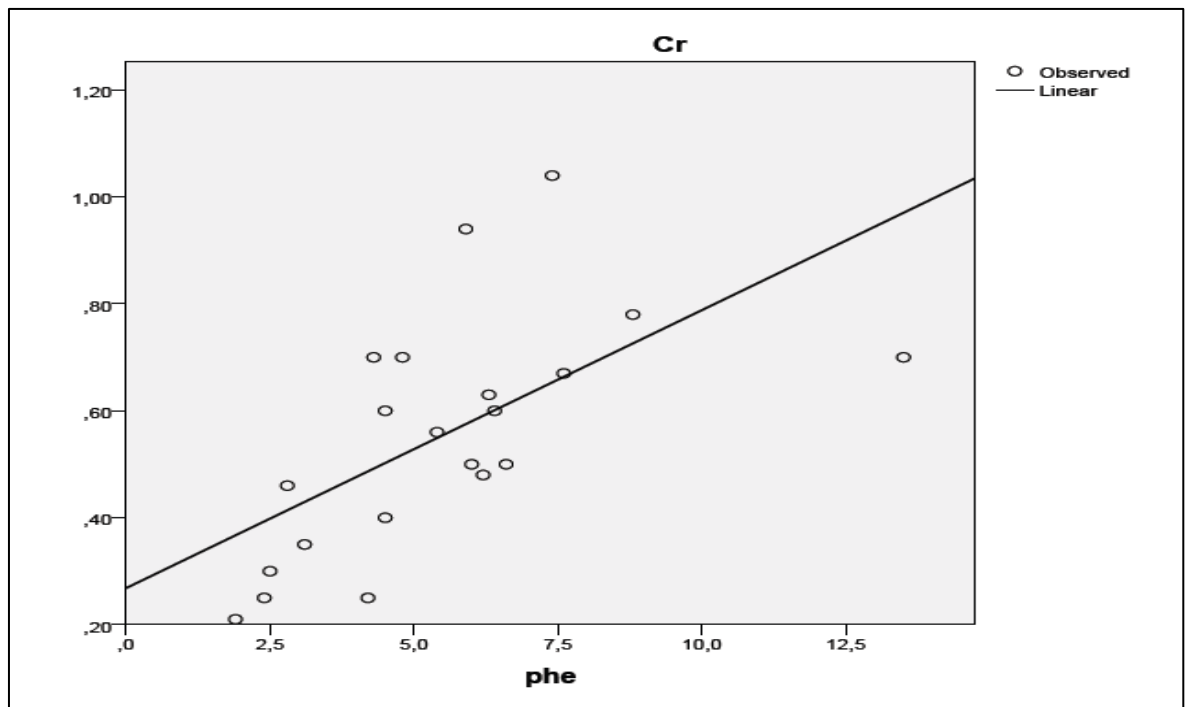
Εικόνα 21. VITD vs PHE σε ΗΡΑ ασθενείς ($p=0,017$, $R^2=0,144$).



Εικόνα 22. P⁺ vs PHE σε ΗΠΑ ασθενείς ($p=0,002$; $R^2=0,255$).



Εικόνα 23. ALP vs PHE σε ΗΠΑ ασθενείς ($p=0,007$; $R^2=0,176$).



Εικόνα 24. Creatinine vs PHE σε ΗΡΑ ασθενείς ($p=0,003$; $R^2=0,379$).

ΜΕΡΟΣ IV-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

10. Γαλακτοζαιμία

Στο μικρό δείγμα των ασθενών που αποτελούν τη συγκεκριμένη μελέτη, καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των τιμών των βιοχημικών δεικτών που μετρήθηκαν. Επίσης, στις υποομάδες της γαλακτοζαιμίας (GALT/GALK/GALE), παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά ανάμεσα στα Z-scores BMI. Το συγκεκριμένο αποτέλεσμα θα μπορούσε να είναι σημαντικό, λαμβάνοντας υπόψη ότι το BMI σχετίζεται θετικά με την οστική πυκνότητα, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία.^[57, 77] Το μικρό μέγεθος όμως των υπό μελέτη ασθενών δεν μας επιτρέπει να βγάλουμε ασφαλή συμπεράσματα (GALE_{n=2}, GALK_{n=5}).

Οι τιμές της βιταμίνης D βρέθηκαν να συσχετίζονται αρνητικά με την ηλικία, το σωματικό βάρος και το ύψος στον γυναικείο πληθυσμό, επίσης. Προηγούμενες μελέτες αναφέρουν κάποια καθυστέρηση στην ανάπτυξη κατά τη διάρκεια της παιδικής και εφηβικής ηλικίας, χωρίς όμως να ξεκαθαρίζεται αν το συγκεκριμένο εύρημα αντανακλά διατροφικές ελλείψεις ή σχετίζεται με ενδογενείς παράγοντες της νόσου.^[51, 57, 78] Ειδικά για τα κορίτσια η επίτευξη του στόχου για το ύψος ανάλογα με την ηλικία, δείχνει να καθυστερεί, ίσως λόγω των ενδοκρινολογικών επιπλοκών. Η ισορροπημένη διατροφή που περιλαμβάνει την επαρκή πρόσληψη ασβεστίου και τη στενή παρακολούθηση των επιπέδων αυτού, σε συνδυασμό με τη σωστή θεραπευτική συμμόρφωση αλλά και την περιοδική άσκηση, είναι παράγοντες που βοηθούν στην ικανοποιητική ανάπτυξη του συγκεκριμένου πληθυσμού.

Σε όλους τους ασθενείς οι τιμές κρεατινίνης ορού ήταν στα κατώτερα φυσιολογικά. Το σύνδρομο Fanconi, έχει περιγραφεί σαν μία από τις κλινικές εκδηλώσεις της γαλακτοζαιμίας, ιδιαίτερα στην κλασική μορφή (GALT).^[36] Στο συγκεκριμένο σύνδρομο, η συσσώρευση Gal-1-phosphate στα κύτταρα, όταν ο ασθενής δεν ακολουθεί διατροφή ελεύθερη λακτόζης/γαλακτόζης, είναι δυνατόν να προκαλέσει βαριά ζημιά στον εγκέφαλο, στο ήπαρ και στα νεφρά.^[36] Φυσικά, το συγκεκριμένο εύρημα δεν συνδέεται άμεσα με το σύνδρομο Fanconi. Βασικές όμως μετρήσεις όπως η κρεατινίνη ορού, σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες όπως η ανίχνευση μόνο-δισακχαριτών στα ούρα, θα μπορούσαν να αποτελέσουν έναν χρήσιμο οδηγό για την έγκαιρη διάγνωση αυτού του συνδρόμου, το οποίο αν υφίσταται, μπορεί να συμμετάσχει στην εκδήλωση σκελετικών αλλοιώσεων.

Στην ομάδα των ασθενών με κλασική μορφή της νόσου (GALT), ποσοστό 26% αυτών, εμφάνισε συγκεντρώσεις βιταμίνης D χαμηλότερες από 20ng/ml. Διάφορες μελέτες επίσης στο παρελθόν έχουν υπολογίσει τα επίπεδα της βιταμίνης D, στη

συγκεκριμένη ομάδα. Κάποιες από αυτές ανέφεραν συγκεντρώσεις στα χαμηλότερα φυσιολογικά επίπεδα^[79], ενώ άλλες συγκεντρώσεις μέσα στα φυσιολογικά όρια.^[80, 81] Η διαφορετική προσέγγιση των ερευνητών όσον αφορά τις τιμές αναφοράς και τις μονάδες μέτρησης της βιταμίνης D είναι ένα ζήτημα και δημιουργεί προβλήματα στην αξιολόγηση των επιπέδων αυτής. Οι ασθενείς με κλασική γαλακτοζαιμία μπορεί να εμφανίσουν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης D από τα φυσιολογικά λόγω:

- Μειωμένης φυσικής δραστηριότητας^[55] με αποτέλεσμα τη μειωμένη έκθεση στον ήλιο ή
- Διατροφικών ελλείψεων (μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου ή/και βιταμίνης D).^[53]

Σε αυτό το σημείο είναι χρήσιμο να αναφερθεί ότι και η βιταμίνη K έχει διερευνηθεί ως ένας πιθανός πρόσθετος παράγοντας που να βοηθά στην αύξηση της οστικής πυκνότητας.^[50-52, 57, 75] Συγκεκριμένα, η Panis και οι συνεργάτες της^[58], αναφέρουν σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης της καρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης (cOC), σε παιδιά προεφηβικής και εφηβικής ηλικίας με γαλακτοζαιμία, όταν ελάμβαναν συμπλήρωμα βιταμίνης K σε συνδυασμό με ασβέστιο και βιταμίνη D. Η καρβοξυλιωμένη οστεοκαλσίνη είναι ένας δείκτης του οστικού σχηματισμού που η παρουσία της είναι απαραίτητη για τη δέσμευση του ασβεστίου στον υδροξυαπατίτη στο οστό.^[82]

Οι μέσες τιμές της αλκαλικής φωσφατάσης (ALP) είναι στα ανώτερα φυσιολογικά επίπεδα, ένα εύρημα που πιθανώς να αντανακλά την αύξηση του οστικού σχηματισμού στην παιδική και εφηβική ηλικία, προκειμένου να επιτευχθεί η απόκτηση κορυφαίας οστικής μάζας.^[83] Εξαιρώντας την περίπτωση ηπατικής δυσλειτουργίας, τα συγκεκριμένα ευρήματα ενδεχομένως συμφωνούν με τα αποτελέσματα προηγούμενης μελέτης, όπου αναφέρεται ότι ο οστικός μεταβολισμός μπορεί να είναι αυξημένος στους συγκεκριμένους ασθενείς.^[81]

Είναι γνωστό ότι η 7-δευδροχοληστερόλη είναι η κοινή πρόδρομος ουσία της 25(OH)D και της χοληστερόλης. Πρόσφατες μελέτες έχουν ασχοληθεί να διερευνήσουν τη σχέση που διέπει τα επίπεδα της βιταμίνης και της χοληστερόλης, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι υπάρχει μία αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ τους, δηλαδή τα αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης συνδέονται με χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D, χωρίς να ισχύει και το αντίστροφο.^[84, 85] Παρόλα αυτά, οι περισσότερες από τις μελέτες που συμπεριλαμβάνονται σε πρόσφατη σχετική μετά-ανάλυση, αναφέρουν ότι υπάρχει μία θετική συσχέτιση της βιταμίνης D και της HDL^[86],

οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η συγκεκριμένη συσχέτιση δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως.

Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε ότι η αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ τους, δηλαδή στους ασθενείς με γαλακτοζαιμία, όταν τα επίπεδα της HDL αυξάνονται, τα επίπεδα της βιταμίνης D μειώνονται. Άλλοι μελετητές, όπως ο *Vtezova* και οι συνεργάτες του αναφέρουν την αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών δεικτών, η οποία μάλιστα μπορεί να είναι και αμφίδρομη.^[84] Επίσης, ο *Patwarham* και οι συνεργάτες του^[87], προσπάθησαν να διερευνήσουν τη συσχέτιση μεταξύ των: βιταμίνη D, HDL και του ενζύμου ρεδοκτάση της 7-δεϋδροχοληστερόλης (DHCR7)-που είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή της 7-δεϋδροχοληστερόλης σε χοληστερόλη-με την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία. Μία αρνητική στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) βρέθηκε μεταξύ των επιπέδων της βιταμίνης D και HDL στο ορό, σε μεγάλης χρονικής διάρκειας έκθεση στον ήλιο, ενώ θετική συσχέτιση ($p < 0.05$) βρέθηκε μεταξύ τους σε μικρής διάρκειας έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία. Το συγκεκριμένο εύρημα μάλιστα, δεν είχε αναφερθεί σε προηγούμενες αντίστοιχες μελέτες. Προφανώς, σε διαφορετικές συνθήκες έκθεσης στον ήλιο, η συσχέτιση των επιπέδων HDL και βιταμίνης D στον ορό φαίνεται να μεταβάλλεται. Τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής είναι σε συμφωνία με τα παραπάνω και λαμβάνοντας τα υπόψη καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι χρειάζεται να γίνουν περαιτέρω έρευνες στο συγκεκριμένο πεδίο και στον συγκεκριμένο πληθυσμό προκειμένου να επιβεβαιωθούν ή όχι και να διευκρινιστεί η αιτιολογία τους.

Οι συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν μεταξύ των επιπέδων της βιταμίνης D και του ασβεστίου ως προς την κρεατινίνη, ενδεχομένως να υπογραμμίζουν την σημαντικότητα της νεφρικής λειτουργίας ως έναν από τους βασικούς ρυθμιστές της ομοιοστασίας των ασβεστίου, φωσφόρου και μαγνησίου, με τη συμμετοχή και άλλων παραγόντων όπως η παραθορμόνη (PTH) και η βιταμίνη D. Επομένως, οποιαδήποτε διαταραχή στη νεφρική λειτουργία ενδέχεται να επηρεάσει αρνητικά τη σκελετική υγεία των ασθενών που πάσχουν από τη νόσο Γαλακτοζαιμία.

Σχετικά με τη συγκεκριμένη μελέτη, θα ήταν χρήσιμο να αναφερθούν κάποιοι περιορισμοί:

- Το μέγεθος των υπό μελέτη ασθενών είναι μικρό, κάτι που είναι αναμενόμενο λόγω του ότι η γαλακτοζαιμία είναι ένα σπάνιο μεταβολικό νόσημα του μεταβολισμού των υδατανθράκων.

- Θα πρέπει να γίνουν σειριακές βιοχημικές μετρήσεις με σκοπό την εξαγωγή πιο εμπειριστατωμένων συμπερασμάτων.
- Λείπουν λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τη διατροφή, την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών, την αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας, την ύπαρξη τυχόν σκελετικών ανωμαλιών και της οιστρογονικής θεραπείας (για τα κορίτσια).

11. Φαινυλκετονουρία

Έχει συχνά αναφερθεί στην Διεθνή βιβλιογραφία, ότι μία από τις πιο γνωστές μακροπρόθεσμες επιπλοκές στους ασθενείς (παιδιά και ενήλικες) που πάσχουν από φαινυλκετονουρία είναι η μεταβολή του ρυθμού της οστικής εναλλαγής και η ελαττωμένη οστική πυκνότητα, τα οποία μπορεί να οδηγήσουν σε σκελετική ευθραυστότητα, αυξάνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης κατάγματος στο μέλλον.^[18, 88, 89]

Η παθοφυσιολογία της συγκεκριμένης επιπλοκής είναι προς το παρόν άγνωστη. Υπάρχουν όμως πολλές υποθέσεις ερευνητών σχετικά με το θέμα. Κάποιες συνοψίζονται στα παρακάτω: η ανεπαρκής πρόσληψη βασικών θρεπτικών στοιχείων, λόγω της συγκεκριμένης διατροφής που ακολουθούν οι ασθενείς, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της υδροξυλάσης της φανυλαλανίνης (PAH) που ευθύνονται για την απώλεια της δραστηριότητας του ενζύμου και ενδεχομένως να δημιουργούν κάποια προδιάθεση εμφάνισης οστεοπόρωσης, ανεξάρτητα από την διαιτητική θεραπεία^[90] και τέλος τα αυξημένα επίπεδα φανυλαλανίνης στο αίμα που πιθανώς να ενοχοποιούνται για την μείωση της οστικής πυκνότητας.^[91, 92]

Στη συγκεκριμένη μελέτη διερευνήθηκαν οι ανθρωπομετρικοί και βασικοί δείκτες του οστικού προφίλ στα πλαίσια της εφαρμογής του πρωτόκολλου παρακολούθησης των ασθενών με φαινυλκετονουρία και υπερφαινυλαλανιναιμία. Οι μετρήσεις για το BMI, ενός δείκτη που αντανακλά την φυσιολογική ή μη, σωματική ανάπτυξη, αλλά και την ενδεχόμενη εμφάνιση παχυσαρκίας, κυρίως σε παιδιά και έφηβους, έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά ($p < 0.05$) μεταξύ των ομάδων με φαινυλκετονουρία και με υπερφαινυλαλανιναιμία, αλλά και μεταξύ των ομάδων που είχαν καλή και κακή συμμόρφωση στη δίαιτα. Έχει αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες ότι οι ασθενείς με PKU έχουν μια τάση εμφάνισης παχυσαρκίας σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό, δίχως όμως αυτή η άποψη να τεκμηριώνεται επαρκώς.^[93] Στο συγκεκριμένο δείγμα όμως, το εύρος της ηλικίας είναι μεγάλο, 1-40 ετών και ενδεχομένως η αξιολόγηση των απόλυτων τιμών του BMI να μην οδηγήσει σε ασφαλή συμπεράσματα, σε αντίθεση με την ανάλυση των τιμών Z-BMI, που είναι πιο αξιόπιστη. Γενικά, διάφοροι

παράγοντες μπορεί να εμπλέκονται ως αιτίες εμφάνισης της, όπως γενετικοί, διατροφικοί, περιβαλλοντικοί, κοινωνικοί κ.ά. Στους PKU-ασθενείς της συγκεκριμένης μελέτης, εμφανίστηκε θετική γραμμική συσχέτιση μεταξύ των τιμών Z-BMI και των επιπέδων φαινυλαανίνης. Έχει αναφερθεί, ότι οι ασθενείς με φαινυλκετονουρία, εμφανίζουν μια μη φυσιολογική διατροφική συμπεριφορά σε σχέση με υγιή πληθυσμό.^[94, 95] Η συχνότητα εμφάνισης του παραπάνω αποτελέσματος είναι μεγαλύτερη στις ηλικίες άνω των 10 ετών, ίσως γιατί μειώνεται η γονεϊκή επίβλεψη της προετοιμασίας των γευμάτων, με αποτέλεσμα: α. την μειωμένη κατανάλωση των ειδικών τροφών (formula), η οποία δημιουργεί και το αίσθημα του κορεσμού και β. την αυξημένη πρόσληψη θερμίδων από την επιλογή μη υγιεινών προϊόντων διατροφής. Επίσης, τα υψηλά επίπεδα φαινυλαανίνης συνδέονται με αρνητική επίδραση στη διάθεση του ασθενή, με αποτέλεσμα να μη μπορεί να οργανώσει με τον ενδεδειγμένο τρόπο και αποτελεσματικά την διατροφή του.^[96] Η συμμετοχή στις φυσικές δραστηριότητες είναι ακόμα ένα πεδίο που βοηθά στην αποτροπή εμφάνισης παχυσαρκίας και φαίνεται να επηρεάζεται και αυτό αρνητικά στους συγκεκριμένους ασθενείς, αν και δεν υπάρχουν διαθέσιμα επαρκή δεδομένα στην διεθνή βιβλιογραφία.^[97-99] Τα αυξημένα επίπεδα φαινυλαανίνης επίσης, που βρέθηκαν στη παρούσα μελέτη, σε παιδιά μεγαλύτερα των 11 ετών, επιβεβαιώνονται από προηγούμενες μελέτες.^[14, 100] Όταν τα επίπεδα της φαινυλαανίνης είναι αυξημένα, ενδέχεται να επηρεαστούν αρνητικά κάποιες οργανωτικές ικανότητες, εκτελεστικές λειτουργίες, αλλά και η ψυχολογική διάθεση των συγκεκριμένων ατόμων, με συνέπεια την αρνητική επίδραση και στις διατροφικές επιλογές τους (έτοιμο και γρήγορο φαγητό, αυξημένο σε λιπαρά και σε θερμίδες).^[97] Τα επίπεδα βιταμίνης D εμφάνισαν αρνητική γραμμική συσχέτιση με τα επίπεδα φαινυλαανίνης και στις δύο ομάδες (PKU-HPA), ένα αποτέλεσμα ιδιαίτερης κλινικής σημασίας. Εκτός από την διατροφή και άλλοι παράγοντες ενδέχεται να συμβάλλουν στα συγκεκριμένα αποτελέσματα, όπως είναι ο τρόπος ζωής, η φυσική δραστηριότητα και η έκθεση στον ήλιο. Το ερώτημα που παραμένει είναι αν αυτά τα ευρήματα ερμηνεύονται μόνο από την διαιτητική προσήλωση ή μη, ή/και ενέχονται παράγοντες που αφορούν στη γενετική της νόσου, ανεξάρτητοι από τη δίαιτα.^[90-92]

Οι ασθενείς που βρίσκονται στο ηλικιακό στάδιο της εφηβείας >11ετών σε σχέση με τους αντίστοιχους στο στάδιο της προεφηβείας <11 ετών, εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης D, ασβεστίου, φωσφόρου και αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης μέσα όμως στα πλαίσια των τιμών αναφοράς. Παλαιότερες μελέτες έχουν δείξει ότι

ασθενείς με φαιυλκετονουρία που ακολουθούσαν σωστά την δίαιτα, είχαν χαμηλότερα επίπεδα χοληστερόλης από τους ασθενείς που ακολουθούσαν μια πιο ελεύθερη διατροφή^[101], λόγω προφανώς της ειδικής διαιτητικής αγωγής που είναι απαλλαγμένη από ζωική πρωτεΐνη (vegan-vegetarian). Το συγκεκριμένο εύρημα ενδεχομένως αντανακλά τη δυσκολία των εφήβων στην εναρμόνισή τους με αυτή την συγκεκριμένη διατροφική αγωγή. Είναι γνωστό ότι η συγκέντρωση της χοληστερόλης στο αίμα εξαρτάται τόσο από την διατροφική πρόσληψή της όσο και από την βιοσύνθεσή της. Νεότερα δεδομένα αναφέρουν και πιθανή συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της φαιυλαλανίνης και της εμφανιζόμενης υποχοληστεριναιμίας στο συγκεκριμένο πληθυσμό.^[102, 103] Επίσης, τα επίπεδα των τριγλυκεριδίων, στην PKU ομάδα, ήταν πιο αυξημένα από την αντίστοιχη της υπερφαιυλαλανιναιμίας, προφανώς λόγω της λήψης των ειδικών σκευασμάτων υψηλής περιεκτικότητας σε υδατάνθρακες.^[102, 104]

Οι γραμμικές συσχετίσεις που παρατηρήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη, έχουν σαν κοινό παρανομαστή τα επίπεδα της φαιυλαλανίνης που αντανακλούν κυρίως την καλή ή κακή συμμόρφωση με την θεραπεία και τα επακόλουθα αυτής. Τα επίπεδα του φωσφόρου εμφανίζουν αρνητική γραμμική συσχέτιση και στους δύο τύπους της φαιυλκετονουρίας (PKU-HPA). Ίσως, θα ήταν αναμενόμενο, στους ασθενείς με υπερφαιυλαλανιναιμία τα επίπεδα του φωσφόρου να μην ήταν αντιστρόφως ανάλογα με τα επίπεδα της φαιυλαλανίνης, εφόσον οι πάσχοντες έχουν πιο ελεύθερη διατροφή. Από τη άλλη πλευρά, είναι γνωστό ότι ο φωσφόρος περιέχεται σε αφθονία στις περισσότερες τροφές και βεβαίως, αποτελεί βασικό συστατικό του σκελετού και των δοντιών. Μήπως, λοιπόν, η ίδια η νόσος εμπλέκεται στην ερμηνεία τέτοιων ευρημάτων, ακόμα και στην πιο ήπια έκφρασή της; Αυτό είναι ένα ερώτημα που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

Η αρνητική γραμμική συσχέτιση των επιπέδων ασβεστίου σε σχέση με τα επίπεδα της φαιυλαλανίνης στους ασθενείς με κλασσική φαιυλκετονουρία, είναι σε συμφωνία και με άλλες μελέτες που αναφέρονται σε: 1) διατροφικές ελλείψεις (βιταμίνη D, βιταμίνη B12, ασβέστιο) που πιθανά να υπάρχουν, στο συγκεκριμένο πληθυσμό, λόγω της αυστηρής δίαιτας που ακολουθούν, με αποτέλεσμα την εμφάνιση μακροπρόθεσμων επιπλοκών όπως η χαμηλή οστική πυκνότητα^[105, 106], 2) αυξημένη απέκκριση ασβεστίου από τα ούρα των ασθενών με υψηλά επίπεδα φαιυλαλανίνης και αυξημένη αποβολή των μεταβολιτών της στα ούρα.^[19] Η χρόνια χορήγηση της ειδικής διατροφής με υψηλή περιεκτικότητα σε τεχνητή πρωτεΐνη

(AminoAcid-MedicalFood/AA-MF), ενδέχεται να προκαλέσει αυξημένη οστική απορρόφηση, λόγω της υψηλής συγκέντρωσης ιόντων υδρογόνου(H^+) και επομένως της δημιουργίας όξινου PH, με αποτέλεσμα την εκδήλωση ασβεστιουρίας. Επίσης, η νεφρική λειτουργία επηρεάζεται αρνητικά με την υψηλή συγκέντρωση ιόντων υδρογόνου(H^+), μέσω της ελάττωσης του GFR (ρυθμός σπειραματικής διήθησης), με αποτέλεσμα την μειωμένη σύνθεση της 1,25 βιταμίνης D, την ελάττωση στην εντερική απορρόφηση του ασβεστίου, την αύξηση της οστικής απορρόφησης και τέλος την εμφάνιση ασβεστιουρίας.^[32, 107]

Αρνητική γραμμική συσχέτιση, με τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης, παρατηρήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη για τους δείκτες της αλκαλικής φωσφατάσης και θετική για τον δείκτη της κρεατινίνης και στις δύο ομάδες ασθενών (PKU-HPA). Το αποτέλεσμα της αλκαλικής φωσφατάσης, είναι σε συμφωνία με την υπόθεση ορισμένων ερευνητών ότι τα αυξημένα επίπεδα της φαινυλαλανίνης ενδέχεται να επηρεάζουν αρνητικά τον οστικό μεταβολισμό του ασθενή.^[92,108, 109] Όσον αφορά στην κρεατινίνη, ως έναν αδρό δείκτη για την νεφρική λειτουργία των συγκεκριμένων ασθενών, παρατηρήθηκε τάση αύξησης των επιπέδων της σε γραμμική συσχέτιση με τα επίπεδα της φαινυλαλανίνης. Το εύρημα αυτό έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα τελευταίων εργασιών, όπου αναφέρεται ότι η δια βίου πρόσληψη τεχνητής πρωτεΐνης, μέσω ειδικής διατροφής, από τον συγκεκριμένο πληθυσμό μπορεί να δημιουργήσει κάποια μορφή ανεπάρκειας στη νεφρική λειτουργία αυτού. Προτρέπουν μάλιστα τους ειδικούς που παρακολουθούν αυτούς τους ασθενείς να εντάξουν στην προγραμματισμένη εργαστηριακή παρακολούθηση τους απλά τεστ ρουτίνας της νεφρικής λειτουργίας.^[107, 110]

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έχουν κάποιους περιορισμούς, που θα ήταν χρήσιμο να αναφερθούν:

1. Η φαινυλκετονουρία είναι ένα χρόνιο νόσημα. Επομένως οι πληροφορίες που ελήφθησαν σχετικά με την διατροφή των ασθενών αφορούν σε μία βραχεία χρονική περίοδο της χρόνιας θεραπείας τους.
2. Η εκτίμηση του βαθμού φυσικής δραστηριότητας, τρόπου ζωής, άσκησης και διατροφικών επιλογών θα έπρεπε να είναι συνεχής και επαναλαμβανόμενη.
3. Θα πρέπει να γίνουν σειριακές βιοχημικές μετρήσεις για την εξαγωγή ασφαλέστερων αποτελεσμάτων.

Πολλοί ερευνητές στις μελέτες τους έχουν παρατηρήσει την ύπαρξη οστεοπενίας σε ασθενείς με φαιυλκετονουρία^[19, 22, 30, 90, 108, 111, 112], χωρίς όμως να αναφέρεται από όλους το εύρημα της χαμηλής οστικής πυκνότητας.^[29, 113, 114] Οι παραπάνω ορισμοί επιδεικνύουν μεγάλη ετερογένεια ανάμεσα στις διάφορες μελέτες και δεν βρίσκονται σε συμφωνία με τις θέσεις του WHO (World Health Organization) και του ISCD (International Society for Clinical Densitometry), σχετικά με τις μετρήσεις της οστικής πυκνότητας^[115] Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα πρόσφατης μετά-ανάλυσης σχετικά με την εμφάνιση οστεοπόρωσης σε ασθενείς με φαιυλκετονουρία, δείχνουν ότι μόνο ένα 10% μπορεί να εμφανίσει χαμηλές τιμές οστικής πυκνότητας (Z-score<-2) και επομένως κίνδυνο για μελλοντικό κάταγμα.^[116]

Στην παρούσα μελέτη η διερεύνηση των ανθρωπομετρικών και βιοχημικών δεικτών που σχετίζονται με το βασικό προφίλ της σκελετικής ανάπτυξης, έδειξε κάποιες ενδιαφέρουσες συσχετίσεις και ιδιαίτερα αυτές που έχουν σαν ανεξάρτητη μεταβλητή τα επίπεδα της φαιυλαλανίνης. Αναδεικνύεται επομένως ο θεμελιώδης ρόλος της σωστής συμμόρφωσης στην ειδική δίαιτα και ως προς την κατάσταση της σκελετικής υγείας των ασθενών αυτών. Η επαρκής πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D, η συχνή και συστηματική άσκηση και η βελτίωση, ενδεχομένως, της θεραπευτικής αγωγής με σκευάσματα εμπλουτισμένα περισσότερο σε φυσική πρωτεΐνη, θα πρέπει να επιβεβαιωθούν με περαιτέρω έρευνες, ως οι πιθανοί λόγοι που βοηθούν στην αποτροπή εμφάνισης οστικών επιπλοκών σε ασθενείς με φαιυλκετονουρία αλλά και στην βελτιστοποίηση της οστικής τους πυκνότητας.

12. Γενικά συμπεράσματα

Η μέτρηση της 25(OH)D συμπεριλήφθηκε στο πρωτόκολλο παρακολούθησης (follow-up) όλων των ασθενών (φαινυλκετονουρίας-γαλακτοζαιμίας) πολύ πρόσφατα, βοηθώντας στην καλύτερη αξιολόγηση αυτών σχετικά με την σκελετική τους κατάσταση.

Η περαιτέρω και πιο μακροπρόθεσμη διερεύνηση των ευρημάτων της παρούσας μελέτης, είναι απαραίτητη και μπορεί να βοηθήσει στη δημιουργία νέων εργαλείων στο πρωτόκολλο παρακολούθησης των ασθενών αυτών, με σκοπό την ανίχνευση, αξιολόγηση και ενδεχομένως την πρόληψη σκελετικών επιπλοκών των ατόμων που πάσχουν από φαινυλκετονουρία/γαλακτοζαιμία.

13. Βιβλιογραφία

1. Ezgu F. Inborn errors of metabolism. Advances in clinical chemistry. 73: Elsevier; 2016. p. 195-250.
2. Sarafoglou K, et al. Pediatric endocrinology and inborn errors of metabolism: McGraw Hill Professional; 2017.
3. Loeber JG. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. Journal of inherited metabolic disease 2007;30(4):430-8.
4. Mitchell JJ, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency. Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics 2011;13(8):697-707.
5. Scriver CR. Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. The metabolic & molecular bases of inherited disease 2002:1667-724.
6. Christ SE. Asbjorn Folling and the discovery of phenylketonuria. Journal of the history of the neurosciences 2003;12(1):44-54.
7. Woolf LI, et al. Phenylketonuria with a study of the effect upon it of glutamic acid. Archives of disease in childhood 1951;26(130):487-94.
8. Knox WE. An evaluation of the treatment of phenylketonuria with diets low in phenylalanine. Pediatrics 1960;26:1-11.
9. Levy HL. Genetic screening. Advances in human genetics 1973;4:1-104.
10. Levy HL. Neonatal screening for inborn errors of amino acid metabolism. Clinics in endocrinology and metabolism 1974;3(1):153-66.
11. Guthrie R, et al. A SIMPLE PHENYLALANINE METHOD FOR DETECTING PHENYLKETONURIA IN LARGE POPULATIONS OF NEWBORN INFANTS. Pediatrics 1963;32:338-43.
12. de Baulny HO, et al. Management of phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. The Journal of nutrition 2007;137(6 Suppl 1):1561S-3S; discussion 73S-75S.
13. Camp KM, et al. Phenylketonuria Scientific Review Conference: state of the science and future research needs. Molecular genetics and metabolism 2014;112(2):87-122.
14. Walter JH, et al. How practical are recommendations for dietary control in phenylketonuria? Lancet (London, England) 2002;360(9326):55-7.
15. Singh RH, et al. Recommendations for the nutrition management of phenylalanine hydroxylase deficiency. Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics 2014;16(2):121-31.
16. van Spronsen FJ, et al. Key European guidelines for the diagnosis and management of patients with phenylketonuria. The lancet Diabetes & endocrinology 2017;5(9):743-56.
17. Lenke RR, et al. Maternal phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. An international survey of the outcome of untreated and treated pregnancies. The New England journal of medicine 1980;303(21):1202-8.

18. Hansen KE, et al. A systematic review of bone mineral density and fractures in phenylketonuria. *Journal of inherited metabolic disease* 2014;37(6):875-80.
19. Al-Qadreh A, et al. Bone mineral status in children with phenylketonuria under treatment. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 1998;87(11):1162-6.
20. Greeves LG, et al. Fractures and phenylketonuria. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 1997;86(3):242-4.
21. Modan-Moses D, et al. Peak bone mass in patients with phenylketonuria. *Journal of inherited metabolic disease* 2007;30(2):202-8.
22. Perez-Duenas B, et al. New approach to osteopenia in phenylketonuric patients. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 2002;91(8):899-904.
23. Adamczyk P, et al. Bone metabolism and the muscle-bone relationship in children, adolescents and young adults with phenylketonuria. *Journal of bone and mineral metabolism* 2011;29(2):236-44.
24. Enns GM, et al. Suboptimal outcomes in patients with PKU treated early with diet alone: revisiting the evidence. *Molecular genetics and metabolism* 2010;101(2-3):99-109.
25. National Institutes of Health Consensus Development Panel on osteoporosis prevention, diagnosis and therapy, *JAMA* 285(2001) ; 785 -95.
26. Roato I, et al. Bone impairment in phenylketonuria is characterized by circulating osteoclast precursors and activated T cell increase. *PloS one* 2010;5(11):e14167.
27. Solverson P, et al. Low bone strength is a manifestation of phenylketonuria in mice and is attenuated by a glycomacropeptide diet. *PloS one* 2012;7(9):e45165.
28. Bonjour JP. Dietary protein: an essential nutrient for bone health. *Journal of the American College of Nutrition* 2005;24(6 Suppl):526S-36S.
29. Lage S, et al. Fatty acid profile in patients with phenylketonuria and its relationship with bone mineral density. *Journal of inherited metabolic disease* 2010;33 Suppl 3:S363-71.
30. Miras A, et al. Risk factors for developing mineral bone disease in phenylketonuric patients. *Molecular genetics and metabolism* 2013;108(3):149-54.
31. Saito M, et al. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2010;21(2):195-214.
32. Manz F, et al. Acid-base status in dietary treatment of phenylketonuria. *Pediatric research* 1977;11(10 Pt 2):1084-7.
33. Adeva MM, et al. Diet-induced metabolic acidosis. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* 2011;30(4):416-21.
34. Hennermann JB, et al. Chronic kidney disease in adolescent and adult patients with phenylketonuria. *Journal of inherited metabolic disease* 2013;36(5):747-56.

35. Ney DM. Does the PKU diet contribute to impaired renal function? *Journal of inherited metabolic disease* 2013;36(5):903-4.
36. Roth KS, et al. *The galactosemias*. Pediatric endocrinology and inborn errors of metabolism New York: McGraw-Hill 2009:127-34.
37. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *Journal of inherited metabolic disease* 2006;29(4):516-25.
38. Broomfield A, et al. Galactosaemia an update. *Paediatrics and Child Health* 2011;21(2):65-70.
39. Diepenbrock F, et al. Colorimetric determination of galactose and galactose-1-phosphate from dried blood. *Clinical biochemistry* 1992;25(1):37-9.
40. Coelho AI, et al. Sweet and sour: an update on classic galactosemia. *Journal of inherited metabolic disease* 2017;40(3):325-42.
41. Schulpis K, et al. Incidence of galactose metabolic disorders in Greece. *Minerva pediatrica* 2016;68(6):505-7.
42. Kaufman FR, et al. Cognitive functioning, neurologic status and brain imaging in classical galactosemia. *European journal of pediatrics* 1995;154(7 Suppl 2):S2-5.
43. Nelson D. Verbal dyspraxia in children with galactosemia. *European journal of pediatrics* 1995;154(7 Suppl 2):S6-7.
44. Waggoner DD, et al. Long-term prognosis in galactosaemia: results of a survey of 350 cases. *Journal of inherited metabolic disease* 1990;13(6):802-18.
45. Berry GT, et al. The rate of de novo galactose synthesis in patients with galactose-1-phosphate uridylyltransferase deficiency. *Molecular genetics and metabolism* 2004;81(1):22-30.
46. Berry GT, et al. Endogenous synthesis of galactose in normal men and patients with hereditary galactosaemia. *Lancet (London, England)* 1995;346(8982):1073-4.
47. Ning C, et al. Plasma galactose and galactitol concentration in patients with galactose-1-phosphate uridylyltransferase deficiency galactosemia: determination by gas chromatography/mass spectrometry. *Metabolism: clinical and experimental* 2000;49(11):1460-6.
48. Lai K, et al. GALT deficiency causes UDP-hexose deficit in human galactosemic cells. *Glycobiology* 2003;13(4):285-94.
49. Ornstein KS, et al. Abnormal galactosylation of complex carbohydrates in cultured fibroblasts from patients with galactose-1-phosphate uridylyltransferase deficiency. *Pediatric research* 1992;31(5):508-11.
50. Kaufman FR, et al. Effect of hypogonadism and deficient calcium intake on bone density in patients with galactosemia. *The Journal of pediatrics* 1993;123(3):365-70.
51. Panis B, et al. Bone metabolism in galactosemia. *Bone* 2004;35(4):982-7.
52. Rubio-Gozalbo ME, et al. Bone mineral density in patients with classic galactosaemia. *Archives of disease in childhood* 2002;87(1):57-60.

53. Lewis MJ. The measurement and significance of ionic calcium in milk—a review. *International Journal of Dairy Technology* 2011;64(1):1-13.
54. van Erven B, et al. Revised proposal for the prevention of low bone mass in patients with classic galactosemia. *JIMD reports* 2014;17:41-6.
55. Rubio-Agusti I, et al. Movement disorders in adult patients with classical galactosemia. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society* 2013;28(6):804-10.
56. Gubbels CS, et al. Psychosocial developmental milestones in men with classic galactosemia. *Journal of inherited metabolic disease* 2011;34(2):415-9.
57. Batey LA, et al. Skeletal health in adult patients with classic galactosemia. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2013;24(2):501-9.
58. Panis B, et al. Effect of calcium, vitamins K1 and D3 on bone in galactosemia. *Bone* 2006;39(5):1123-9.
59. Αντωνιάδου-Κουμάτου Ι, et al. Ανάπτυξη κατευθυντήριων οδηγιών για τη συστηματική παρακολούθηση της υγείας και ανάπτυξης των παιδιών ηλικίας 0-18 ετών. Αθήνα: Ινστιτούτο Υγείας του Παιδιού, 2015.
60. Λυρίτης Γ. Κατευθυντήριες γραμμές για τη διάγνωση και αντιμετώπιση της Οστεοπόρωσης στην Ελλάδα. Αθήνα: Ελληνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης, 2013.
61. Cole TJ, et al. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ (Clinical research ed)* 2000;320(7244):1240-3.
62. Drake MT, et al. . Role of Sex Steroids in the Pathogenesis of Osteoporosis. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, Eighth Edition* 2013:367-75
63. Manolagas SC, et al. Gonadal steroids. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, Eighth Edition* 2013:195-207.
64. Favus MJ, et al. Regulation of calcium and magnesium. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism Eighth Edition* 2013:171-9.
65. Shaker JL, et al. Calcium and phosphate homeostasis. 2014.
66. Wallach S. Effects of magnesium on skeletal metabolism. *Magnesium and trace elements* 1990;9(1):1-14.67.
67. Boskey AL, et al. The composition of bone. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, Eighth Edition* 2013:49-58.
68. Alkazemi D, et al. Oxysterol as a marker of atherogenic dyslipidemia in adolescence. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2008;93(11):4282-9.
69. Russell DW. Oxysterol biosynthetic enzymes. *Biochimica et biophysica acta* 2000;1529(1-3):126-35.

70. Lutjohann D. Cholesterol metabolism in the brain: importance of 24S-hydroxylation. *Acta neurologica Scandinavica Supplementum* 2006;185:33-42.
71. Shams-White MM, et al. Dietary protein and bone health: a systematic review and meta-analysis from the National Osteoporosis Foundation. *The American journal of clinical nutrition* 2017;105(6):1528-43.
72. Jones G, et al. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiological reviews* 1998;78(4):1193-231.
73. Holick MF, et al. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science (New York, NY)* 1980;210(4466):203-5.
74. Munns CF, et al. Global Consensus Recommendations on Prevention and Management of Nutritional Rickets. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2016;101(2):394-415.
75. DeLuca HF. Vitamin D: the vitamin and the hormone. *Federation proceedings* 1974;33(11):2211-9.
76. Mc Caman M.W et al (1962): Fluorimetric method for determination of phenylalanine in serum. *J Lab. Clin. Med*, 1232-7.
77. Doulgeraki A, et al. Body composition in young patients with galactose metabolic disorders: a preliminary report. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM* 2014;27(1-2):81-6.
78. van Erven B, et al. Bone Health in Classic Galactosemia: Systematic Review and Meta-Analysis. *JIMD reports* 2017;35:87-96.
79. Waisbren SE, et al. The adult galactosemic phenotype. *Journal of inherited metabolic disease* 2012;35(2):279-86.
80. Gajewska J, et al. Bone turnover markers in prepubertal children with classical galactosemia. *Indian journal of gastroenterology : official journal of the Indian Society of Gastroenterology* 2006;25(4):221-2.
81. Gajewska J, et al. Serum markers of bone turnover in children and adolescents with classic galactosemia. *Advances in medical sciences* 2008;53(2):214-20.
82. Braam LA, et al. Vitamin K1 supplementation retards bone loss in postmenopausal women between 50 and 60 years of age. *Calcified tissue international* 2003;73(1):21-6.
83. Panis B, et al. Proposal for the prevention of osteoporosis in paediatric patients with classical galactosaemia. *Journal of inherited metabolic disease* 2007;30(6):982.
84. Vitezova A, et al. Bidirectional associations between circulating vitamin D and cholesterol levels: The Rotterdam Study. *Maturitas* 2015;82(4):411-7.
85. Ooi EM, et al. Elevated remnant cholesterol in 25-hydroxyvitamin D deficiency in the general population: Mendelian randomization study. *Circulation Cardiovascular genetics* 2014;7(5):650-8.
86. Jorde R, et al. Vitamin D and metabolic health with special reference to the effect of vitamin D on serum lipids. *Progress in lipid research* 2011;50(4):303-12.

87. Patwardhan VG, et al. Varying relationship between 25-hydroxy-vitamin D, high density lipoprotein cholesterol, and serum 7-dehydrocholesterol reductase with sunlight exposure. *Journal of clinical lipidology* 2015;9(5):652-7.
88. de Groot MJ, et al. Relationships between lumbar bone mineral density and biochemical parameters in phenylketonuria patients. *Molecular genetics and metabolism* 2012;105(4):566-70.
89. Gajewska J, et al. [Effects of elimination diets on bone metabolism in children and adolescents with phenylketonuria, galactosemia and celiac disease]. *Medycyna wieku rozwojowego* 2012;16(1):61-9.
90. Zeman J, et al. Bone mineral density in patients with phenylketonuria. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 1999;88(12):1348-51.
91. Hillman L, et al. Decreased bone mineralization in children with phenylketonuria under treatment. *European journal of pediatrics* 1996;155 Suppl 1:S148-52.
92. McMurry MP, et al. Bone mineral status in children with phenylketonuria--relationship to nutritional intake and phenylalanine control. *The American journal of clinical nutrition* 1992;55(5):997-1004.
93. Gokmen Ozel H, et al. Overweight and obesity in PKU: The results from 8 centres in Europe and Turkey. *Molecular genetics and metabolism reports* 2014;1:483-6.
94. MacDonald A, et al. Feeding problems in young PKU children. *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992) Supplement* 1994;407:73-4.
95. Holm VA, et al. Physical growth in phenylketonuria: I. A retrospective study. *Pediatrics* 1979;63(5):694-9.
96. Anjema K, et al. PKU: high plasma phenylalanine concentrations are associated with increased prevalence of mood swings. *Molecular genetics and metabolism* 2011;104(3):231-4.
97. Robertson LV, et al. Body mass index in adult patients with diet-treated phenylketonuria. *Journal of human nutrition and dietetics : the official journal of the British Dietetic Association* 2013;26 Suppl 1:1-6.
98. Rocha JC, et al. Dietary treatment in phenylketonuria does not lead to increased risk of obesity or metabolic syndrome. *Molecular genetics and metabolism* 2012;107(4):659-63.
99. Burrage LC, et al. High prevalence of overweight and obesity in females with phenylketonuria. *Molecular genetics and metabolism* 2012;107(1-2):43-8.
100. Walter JH, et al. Blood phenylalanine control in adolescents with phenylketonuria. *International journal of adolescent medicine and health* 2004;16(1):41-5.
101. Schulpis KH, et al. The association of serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins with selected trace elements and minerals in phenylketonuric patients on diet. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* 2004;23(3):401-7.
102. Williams RA, et al. Plasma cholesterol in adults with phenylketonuria. *Pathology* 2015;47(2):134-7.

103. Colome C, et al. Is there a relationship between plasma phenylalanine and cholesterol in phenylketonuric patients under dietary treatment? *Clinical biochemistry* 2001;34(5):373-6.
104. Schulpi KH, et al. Triglycerides, cholesterol, HDL, LDL, and VLDL cholesterol in serum of phenylketonuric children under dietary control. *Clinical pediatrics* 1989;28(10):466-9.
105. MacDonald A, et al. Nutrition in phenylketonuria. *Molecular genetics and metabolism* 2011;104 Suppl:S10-8.
106. Robert M, et al. Micronutrient status in phenylketonuria. *Molecular genetics and metabolism* 2013;110 Suppl:S6-17.
107. Stroup BM, et al. Amino Acid Medical Foods Provide a High Dietary Acid Load and Increase Urinary Excretion of Renal Net Acid, Calcium, and Magnesium Compared with Glycomacropeptide Medical Foods in Phenylketonuria. *Journal of nutrition and metabolism* 2017;2017:1909101.
108. Miras A, et al. [Utility of bone turnover markers in metabolic bone disease detection in patients with phenylketonuria]. *Medicina clinica* 2015;144(5):193-7.
109. Yannicelli S, et al. Elevated plasma phenylalanine concentrations may adversely affect bone status of phenylketonuric mice. *Journal of inherited metabolic disease* 2002;25(5):347-61.
110. Hennermann JB, et al. Long-term treatment with tetrahydrobiopterin in phenylketonuria: treatment strategies and prediction of long-term responders. *Molecular genetics and metabolism* 2012;107(3):294-301.
111. Barat P, et al. The impact of the control of serum phenylalanine levels on osteopenia in patients with phenylketonuria. *European journal of pediatrics* 2002;161(12):687-8.
112. Carson DJ, et al. Osteopenia and phenylketonuria. *Pediatric radiology* 1990;20(8):598-9.
113. Doulgeraki A, et al. Body composition profile of young patients with phenylketonuria and mild hyperphenylalaninemia. *International journal of endocrinology and metabolism* 2014;12(3):e16061.
114. Porta F, et al. Impact of metabolic control on bone quality in phenylketonuria and mild hyperphenylalaninemia. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2011;52(3):345-50.
115. Schousboe JT, et al. Executive summary of the 2013 International Society for Clinical Densitometry Position Development Conference on bone densitometry. *Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry* 2013;16(4):455-66.
116. Demirdas S, et al. Bone health in phenylketonuria: a systematic review and meta-analysis. *Orphanet journal of rare diseases* 2015;10:17.