



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Γ΄ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ - ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΠΑΠΑΕΥΑΓΓΕΛΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΜΕΛΩΝ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΜΕ ΣΥΝΔΡΟΜΟ ΟΡΡΓ (OSTEOPOROSIS – PSEUDOGLIOMA SYNDROME)

ΙΟΡΔΑΝΗΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ
ΠΑΙΔΙΑΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2019

Ημερομηνία Ορισμού Συμβουλευτικής Επιτροπής για την
εκπόνηση της Διατριβής: 18-12-2012 (Αρ. Πρωτοκόλλου 3256)

Ημερομηνία Ορισμού θέματος Διατριβής και επεξεργασία ακριβούς
ερευνητικού πρωτοκόλλου: 24-02-2014 (Αρ. Πρωτοκόλλου 2775)

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Αχιλλέας Ατιλάκος, Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής
Πανεπιστημίου Αθηνών, Επιβλέπων της Διατριβής

Αργύριος Ντινόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής
Παιδιατρικής Νευρολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Πολυξένη Νικολαΐδου-Καρπαθίου, Ομότιμη Καθηγήτρια
Παιδιατρικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Λόγω αφυπηρέτησης, η κα Νικολαΐδου - Καρπαθίου
Πολυξένη, αντικαταστάθηκε από τον κο **Αναστάσιο**
Παπαδημητρίου, Καθηγητή Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας
Πανεπιστημίου Αθηνών

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Βασιλική Παπαευαγγέλου: Καθηγήτρια Παιδιατρικής
Λοιμωξιολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Αναστάσιος Παπαδημητρίου: Καθηγητής Παιδιατρικής
Ενδοκρινολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Αργύριος Ντινόπουλος: Αναπληρωτής Καθηγητής
Παιδιατρικής Νευρολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Κωνσταντίνος Πρίφτης: Αναπληρωτής Καθηγητής
Παιδιατρικής Πνευμονολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Μελπωμένη Πέππα: Αναπληρώτρια Καθηγήτρια
Ενδοκρινολογίας Πανεπιστημίου Αθηνών

Βασίλειος Κοντογεωργάκος: Επίκουρος Καθηγητής
Ορθοπαιδικής Πανεπιστημίου Αθηνών

Αχιλλέας Ατσιλάκος: Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής
Πανεπιστημίου Αθηνών

ΟΡΚΟΣ

ΟΜΝΥΜΙ ΑΠΟΛΛΩΝΑ ΙΗΤΡΟΝ ΚΑΙ ΑΣΚΛΗΠΙΟΝ ΚΑΙ ΥΓΕΙΑΝ
ΚΑΙ ΠΑΝΑΚΕΙΑΝ ΚΑΙ ΘΕΟΥΣ ΠΑΝΤΑΣ ΤΕ ΚΑΙ ΠΑΣΑΣ, ΙΣΤΟΡΑΣ
ΠΟΙΕΥΜΕΝΟΣ, ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΗΣΕΙΝ ΚΑΤΑ ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ
ΕΜΗΝ ΟΡΚΟΝ ΤΟΝΔΕ ΚΑΙ ΣΥΓΓΡΑΦΗΝ ΤΗΝΔΕ' ΗΓΗΣΕΣΘΑΙ
ΜΕΝ ΤΟΝ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ ΤΑΥΤΗΝ ΙΣΑ ΓΕΝΕΤΗ;
ΣΙΝ ΕΜΟΙΣΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΟΙΝΩΣΕΣΘΑΙ ΚΑΙ ΧΡΕΩΝ ΧΡΗΖΟΝΤΙ
ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ, ΚΑΙ ΓΕΝΟΣ ΤΟ ΕΞ ΕΣΥΤΟΥ ΑΔΕΛ-
ΦΟΙΣ ΙΣΟΝ ΕΠΙΚΡΙΝΕΣΙΝ ΑΡΡΕΣΙ ΚΑΙ ΔΙΔΑΣΧΙΝ ΤΗΝ ΤΕΧΝΗΝ
ΤΑΥΤΗΝ, ΗΝ ΧΡΗΖΩΣΙ ΜΑΘΗΣΑΙΝ, ΑΝΕΥ ΜΙΣΘΟΥ ΚΑΙ ΣΥΓ-
ΓΡΑΦΗΣ, ΠΑΡΑΓΓΕΛΙΗΣ ΤΕ ΚΑΙ ΑΚΡΟΗΣΙΟΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΛΟΙΠΗΣ
ΑΠΑΣΗΣ ΜΑΘΗΣΙΟΣ ΜΕΤΑΔΟΣΙΝ ΠΟΙΗΣΕΣΘΑΙ ΥΙΟΙΣΙ ΤΕ ΕΜΟΙΣ
ΚΑΙ ΤΟΙΣ ΤΟΥ ΕΜΕ ΔΙΔΑΣΚΑΝΤΟΣ ΚΑΙ ΜΑΘΗΤΗΣΙ ΣΥΓΓΕΓΡΑΜ-
ΜΕΝΟΙΣΙ ΤΕ ΚΑΙ ΟΡΚΙΣΜΕΝΟΙΣ ΝΟΜΩ ΙΗΤΡΙΚΩ, ΑΛΛΩ ΔΕ ΟΥΔΕΝΙ.
ΔΙΑΙΤΗΜΑΣΙ ΤΕ ΧΡΗΣΟΜΑΙ ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ ΚΑΤΑ
ΔΥΝΑΜΙΝ ΚΑΙ ΚΡΙΣΙΝ ΕΜΗΝ, ΕΠΙΔΗΛΗΣΕΙ ΔΕ ΚΑΙ ΑΔΙΚΗΝ, ΕΙΡΞΕΙΝ.
ΟΥ ΔΩΣΩ ΔΕ ΟΥΔΕ ΦΑΡΜΑΚΟΝ ΟΥΔΕΝΙ ΑΙΤΗΘΕΙΣ ΘΑΝΑΣΙ-
ΜΟΝ ΟΥΔΕ ΥΠΗΓΗΣΟΜΑΙ ΣΥΜΒΟΥΛΗΝ ΤΟΙΗΝΔΕ' ΟΜΟΙΩΣ ΔΕ
ΟΥΔΕ ΓΥΝΑΙΚΙ ΠΕΣΣΟΝ ΦΘΟΡΙΟΝ ΔΩΣΩ, ΑΓΝΩΣ ΔΕ ΚΑΙ ΟΞΙΩΣ
ΔΙΑΤΗΡΗΣΩ ΒΙΟΝ ΤΟΝ ΕΜΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΝ ΤΗΝ ΕΜΗΝ, ΟΥ ΤΕΜΕΩ
ΔΕ ΟΥΔΕ ΜΗΝ ΛΙΘΙΖΟΝΤΑΣ, ΕΚΧΩΡΗΣΩ ΔΕ ΕΡΓΑΤΗΣΙΝ ΑΝΔΡΑΣΙ
ΠΡΗΒΙΟΣ ΤΗΣΔΕ, ΕΣ ΟΙΚΙΑΣ ΔΕ ΟΚΟΣΑΣ ΑΝ ΕΣΙΩ, ΕΞΕΛΕΥΣΟΜΑΙ
ΕΠ' ΩΦΕΛΕΙΗ, ΚΑΜΝΟΝΤΩΝ, ΕΚΤΟΣ ΕΩΝ ΠΑΣΗΣ ΑΔΙΚΗΣ ΕΚΟΥΣΙ-
ΗΣ ΚΑΙ ΦΘΟΡΙΗΣ ΤΗΣ ΤΕ ΑΛΛΗΣ ΚΑΙ ΑΦΡΟΔΙΣΙΩΝ ΕΡΓΩΝ ΕΠΙ
ΤΕ ΓΥΝΑΙΚΕΙΩΝ ΣΩΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΝΔΡΩΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΤΕ ΚΑΙ
ΔΟΥΛΩΝ. Α ΔΕ ΑΝ ΕΝ ΘΕΡΑΠΕΙΗ, Η ΙΔΩ Η ΑΚΟΥΣΩ, Η ΚΑΙ ΑΝΕΥ
ΘΕΡΑΠΕΙΗΣ ΚΑΤΑ ΒΙΟΝ ΑΝΘΡΩΠΩΝ, Α ΜΗ ΧΡΗ ΠΟΤΕ ΕΚΛΑ-
ΛΕΙΣΘΑΙ ΕΣΩ, ΣΙΓΗΣΟΜΑΙ, ΑΡΡΗΤΑ ΗΓΕΥΜΕΝΟΣ ΕΙΝΑΙ ΤΑ ΤΟΙ-
ΑΥΤΑ. ΟΡΚΟΝ ΜΕΝ ΟΥΝ ΜΟΙ ΤΟΝΔΕ ΕΠΙΤΕΛΕΑ ΠΟΙΕΟΝΤΙ, ΚΑΙ
ΜΗ ΣΥΓΧΕΟΝΤΙ, ΕΙΗ ΕΠΑΥΡΑΣΘΑΙ ΚΑΙ ΒΙΟΥ ΚΑΙ ΤΕΧΝΗΣ ΔΟΞΑ-
ΖΟΜΕΝΩ, ΠΑΡΑ ΠΑΣΙΝ ΑΝΘΡΩΠΟΙΣ ΕΙΣ ΤΟΝ ΑΙΕΙ ΧΡΟΝΟΝ'
ΠΑΡΑΒΑΙΝΟΝΤΙ ΔΕ ΚΑΙ ΕΠΙΟΡΚΟΥΝΤΙ, ΤΑΝΑΝΤΙΑ ΤΟΥΤΕΩΝ.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΗΣ

ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Όνομα	Ιορδάνης
Επώνυμο	Παπαδόπουλος
Όνομα πατρός	Πρόδρομος
Ημ. γέννησης	31-08-1980
Τόπος γέννησης	Μοσχάτο Αττικής
Ειδικότητα	Παιδίατρος
Οικογενειακή κατάσταση	Έγγαμος, πατέρας δύο ανήλικων θυγατέρων
Διεύθυνση	Λαγκάδα, Σύρος
Τηλέφωνο	6936793132
Ηλεκτρονική διεύθυνση	iordanisparado@hotmail.com

ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

- Εισήλθα κατόπιν εισαγωγικών εξετάσεων στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Αθηνών το 1999, από όπου αποφοίτησα τον Νοέμβριο του 2005.
- Έλαβα την άδεια ασκήσεως επαγγέλματος από τη Νομαρχιακή Αυτοδιοίκηση της Ευβοίας, τον Δεκέμβριο του 2005.
- Εκπλήρωσα την υποχρεωτική υπηρεσία υπαίθρου αρχικά στο Γενικό Νοσοκομείο Σύρου από τον Μάρτιο του 2006 έως τον Ιούνιο του 2006, και στη συνέχεια στο Περιφερικό Ιατρείο του Όρμου Κορθίου Άνδρου, από τον Ιούνιο του 2006 έως τον Ιούνιο του 2008.
- Στα πλαίσια της υπηρεσίας υπαίθρου, διοργάνωσα σεμινάρια Αγωγής Υγείας και Πρώτων Βοηθειών υπό την αιγίδα της Νομαρχίας Κυκλάδων, ενώ συμμετείχα ως εκπαιδευόμενος στο πρόγραμμα ΗΡΩΝ «Εκπαίδευση ενηλίκων στην απόκτηση βασικών δεξιοτήτων στις νέες τεχνολογίες», από το Ινστιτούτο Διαρκούς Εκπαίδευσης, Ν. Κυκλάδων.

- Ειδικεύθηκα στην Παιδιατρική στην Γ' Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών, στο Π.Γ.Ν. Αττικόν, από τον Μάρτιο του 2010 έως τον Δεκέμβριο του 2013, ενώ παρέμεινα έως τον Δεκέμβρη του 2014 στην κλινική ως ειδικευόμενος σε παράταση. Κατά την παράταση της ειδικότητας είχα την τιμή να μου ανατεθεί, από την Καθηγήτρια Παιδιατρικής Βασιλική Παπαευαγγέλου, η ευθύνη του Ιατρείου «Well Baby Clinic» στα πρότυπα της Αμερικάνικης Ακαδημίας Παιδιατρικής, με επιβλέποντα τον Επικ. Καθηγητή Παιδιατρικής Αχιλλέα Ατπιάκο.
- Τίτλος Παιδιατρικής ειδικότητας: 19/03/2014 (Αρ. Πρωτ. 3189).
- Στα πλαίσια της ειδικότητας έλαβα πιστοποίηση εκπαίδευσης στον Μητρικό Θηλασμό.
- Μετά την ειδικότητα παρέμεινα στη Γ' Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών ως Πανεπιστημιακός Υπότροφος στο γνωστικό αντικείμενο «Παιδιατρική Αλλεργιολογία», από τον Ιούνιο του 2015 έως τον Φεβρουάριο του 2016.
- Από τον Μάρτιο του 2015 έως τον Μάιο του 2017 εργάστηκα ως ιδιώτης παιδίατρος.
- Παράλληλα με το ιδιωτικό μου ιατρείο, από τον Σεπτέμβριο του 2016 ως τον Ιούνιο του 2017, εργάστηκα έμμισθα ως παιδίατρος στους «Γιατρούς του Κόσμου», σε πρόγραμμα της Ύπατης Αρμοστείας.
- Τον Ιούλιο του 2017 διορίστηκα σε θέση Επιμελητή Β' Παιδιατρικής στο Γ.Ν.Σύρου και πλέον εργάζομαι και διαμένω με την οικογένειά μου στη Σύρο του Ν. Κυκλάδων.

ΜΕΤΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Πρόγραμμα Συμπληρωματικής εξ Αποστάσεως (e-learning) Εκπαίδευσης του Κέντρου Επιμόρφωσης και Δια Βίου Μάθησης (Κ.Ε.ΔΙ.ΒΙ.Μ.) του ΕΚΠΑ: «**Διαχείριση Στρες και Υγεία**», του Καθηγητή Παιδιατρικής Γ. Χρούσου.

- «Εξειδικευμένη Υποστήριξη Ζωής στα παιδιά (**APLS Advanced Pediatric Life Support**)», 02/2017, Εθνική Επιτροπή Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης, Μονάδα Εντατικής Θεραπείας Παιδων, Π. Ν. Ηρακλείου.
- «Υποστήριξη της ζωής του νεογνού (**NLS**)», 03/2019, European Resuscitation Council και Εθνική Επιτροπή Καρδιοαναπνευστικής Αναζωογόνησης ΕΕΚΑΑ.

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Καταγραφή ποσοστού και διάρκειας μητρικού θηλασμού τον 1^ο χρόνο ζωής, στον Νομό των Κυκλάδων (σε εξέλιξη).

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

- Διοργάνωση σεμιναρίων Πρώτων Βοηθειών σε εκπαιδευτικούς Γυμνασίου-Λυκείου της Ερμούπολης Σύρου.
- Επιμόρφωση φοιτητών νοσηλευτικής στα πλαίσια του μεταπτυχιακού εξειδίκευσης στην Παιδο-αλλεργιολογία, της Νοσηλευτικής Σχολής του ΕΚΠΑ, με θέμα «Ατοπική Δερματίτιδα».

ΣΥΓΓΡΑΦΙΚΟ ΕΡΓΟ

2018 Μανθούλα Βάλαρη - **Ιορδάνης Παπαδόπουλος**
«Ατοπική Δερματίτιδα», συλλογικός τόμος
 Παιδιατρικής Πνευμονολογίας, εκδ. Γκότσης.

- 2017 **Ιορδάνης Παπαδόπουλος, «Ατοπική Δερματίτιδα»,**
Πρωτόκολλα Αντιμετώπισης των Συχνότερων
Παιδιατρικών Νοσημάτων, (Γ΄ Παν/κή Παιδ/κή Κλινική ΕΚΠΑ).
- 2014 Φωτεινή Ζαφειροπούλου, **Ιορδάνης Παπαδόπουλος, Αργύριος**
Ντινόπουλος **«Πρωτόκολλο αντιμετώπισης της επιληπτικής**
κατάστασης στα παιδιά», Παιδιατρική, τόμος 77, τεύχος 4.

ΕΙΣΗΓΗΣΕΙΣ σε Συνέδρια

- 2015 **6^ο ετήσιο Πανελλήνιο συνέδριο**
παιδοπνευμολογίας και παιδοαλλεργιολογίας,
με θέμα «Ατοπική δερματίτιδα:
αρχές αντιμετώπισης φλεγμονής, κνησμού και λοίμωξης».
- 2015 **Ετήσια διημερίδα της Γ΄ Παιδ/κής Κλινικής Πανεπιστημίου**
Αθηνών, με θέμα «co-sleeping: η επίπτωση στη σωματική και
ψυχική υγεία των παιδιών».
- 2014 Ημερίδα «Children’s Day», ως μέλος της
Επιστημονικής Επιτροπής της Εταιρείας Φοιτητών
Ιατρικής Ελλάδας, με θέμα «Ποια είναι τα νοσήματα που
οδηγούν τα παιδιά στον ιατρό».

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ σε Συνέδρια (Ελληνικά και Διεθνή)

1. **«Εκδήλωση Ανεμευλογιάς μετά από ανοσοποίηση».**
(Breakthrough Varicella), **Ιορδάνης Παπαδόπουλος,** Μαρούλα
Τριτζαλη, Ειρήνη Δαλεζίου, Αικατερίνη Χύτη, Γ.Ν.Σύρου
Αναρτημένη ανακοίνωση, **56^ο Παν. Παιδιατρικό Συνέδριο, 2018.**

2. **«Clinical and genetic evaluation of 10 new osteoporosis-pseudoglioma (OPPG) cases associated with a LRP5 mutation. Response to treatment».**

Papadopoulou Anna, **Papadopoulos Iordanis**, Bountouvi Evangelia, Gole Evangelia, Dinopoulos Argirios, Papaevangelou Vassiliki, Attilakos Achilleas . 3rd Department of Pediatrics, Medical School, University General Hospital "ΑΤΤΙΚΟΝ"
Euromedlab 2017, ATHENS.

3. **«Περιγραφή οικογένειας με Σύνδρομο ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ-ΨΕΥΔΟΓΛΟΙΩΜΑΤΟΣ».**

Ιορδάνης Παπαδόπουλος. Άννα Παπαδοπούλου, Ευαγγελία Μπουντουβή, Ευαγγελία Γκολέ, Αργύριος Ντινόπουλος, Αχιλλέας Ατιλάκος
Γ΄ Παιδ/κή Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών. Π.Γ.Ν. "Αττικόν"
Ελεύθερη ανακοίνωση-**52^ο Παν. Παιδιατρικό Συνέδριο 2014.**

4. **«Περιγραφή περίπτωσης εφήβου με Νευροϊνωματική Ελεφαντίαση».**

Ιορδάνης Παπαδόπουλος, Κλεάνθης Κλεάνθους, Φωτεινή Ζαφειροπούλου, Ευστάθιος Στεφος, Βασιλική Παπαευαγγέλου
Γ΄ Παιδ/κή Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών.
Π.Γ.Ν. "Αττικόν" Αναρτημένη ανακοίνωση
52^ο Παν. Παιδιατρικό Συνέδριο 2014.

5. **«Περίπτωση γελαστικής επιληψίας σε έφηβη».**

Κλεάνθης Κλεάνθους, **Ιορδάνης Παπαδόπουλος**, Γεωργία Γεωργαντζή, Φωτεινή Ζαφειροπούλου, Αθανασία Μαντζαβίνου, Αργύρης Ντινόπουλος
Γ΄ Παιδ/κή Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών. Π.Γ.Ν. "Αττικόν"
Αναρτημένη ανακοίνωση **52^ο Παν. Παιδιατρικό Συνέδριο 2014.**

6. **«Effect of levetiracetam monotherapy on lipid profile in children with epilepsy: a prospective study».**
Paschalidou M, Attilakos A, Garoufi A, Tsirouda M,
Papadopoulos I, Dinopoulos A.
10th **European Paediatric Neurology Society Congress**,
25-28 September **2013**, Brussels, Belgium.

7. **«Σοβαρή ψυχοκινητική καθυστέρηση σε βρέφος με
μετάλλαξη του γονιδίου του μονοκαρβοξυλικού
μεταφορέα 8 (MCT8)».**
Δρόσος Ε, Δράκου Γ.Α, **Παπαδόπουλος Ι**,
Παπαδημητρίου Α, Ντινόπουλος Α.
Αναρτημένη ανακοίνωση, **7^ο Διεθνές forum φοιτητών Ιατρικής
Ελλάδος, 2013.**

8. **«Έφηβος με οίδημα χειλέων στα πλαίσια νοσου Crohn».**
Γεωργία Γεωργαντζή, **Ιορδανης Παπαδόπουλος**, Φωτεινή
Ζαφειροπούλου, Κλεάνθης Κλεάνθους, Παναγιώτα
Λούμου, Κων/νος Τριανταφύλλου, Σμαραγδή Φεσσάτου
Γ΄ Παιδ/κή Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Π.Γ.Ν. "Αττικόν",
Β΄ Παν/κή Δερματολογική Κλινική, Π.Γ.Ν. "Αττικόν"
Ηπατογαστρεντερολογική Μονάδα, Β΄ Προπαιδευτική
Παθολογική Κλινική, Π.Γ.Ν. "Αττικόν"
Αναρτημένη ανακοίνωση, **51^ο Παν. Παιδιατρικό Συνέδριο 2013.**

9. **«Νευροϊνωματική Ελεφαντίαση».**
Ι. Παπαδόπουλος, Κ. Κλεάνθους, Ε. Μπακάλη,
Α. Ντινόπουλος, Α. Φρετζάγιας
Γ΄ Παιδ/κή Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Π.Γ.Ν. "Αττικόν"
13^ο Παν. Παιδονευρολογικό Συνέδριο, 2013.

10. **«SUNA Syndrome (Short-lasting Unilateral Neuralgiform Attacks)».**
I. Παπαδόπουλος, Κ. Χρέλια, Μ. Τσιρούδα,
Γ. Γεωργαντζή, Α. Ντινόπουλος, Α. Φρετζάγιας
Γ΄ Παιδ/κή Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Π.Γ.Ν. "Αττικόν"
13^ο Παν. Παιδονευρολογικό Συνέδριο, 2013.
11. **«Case report of a full-term healthy neonate showing begin "setting sun" phenomnon».**
Vasiliki Sideri, Anna Daskalaki, Efi Tsekoura, Maria Mendrinou,
Iordanis Papadopoulos, Panagioula Mexi-Bourna, Argyris
Dinopoulos, Andreas Fretzayas
3rd Dep.of Pediatrics,University of Athens,Attikon Hospital, Greece
«2nd Global Congress for Consensus In Pediatrics and Child Health», May 2012, Moscow, Russia.
12. **«Περιγραφή νεογνού με παροδική υπεραμμωνιαμία».**
Β.Σίδερη, **I. Παπαδοπουλος**, Ε.Καψαμπέλη, Γ.Νύκταρη,
Α. Δασκαλάκη, Π. Μέξη-Μπουρνά, Α. Φρετζάγιας
MENN, Γ΄ Παιδ/κής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών,
Π.Γ.Ν. "Αττικόν" Αναρτημένη ανακοίνωση
4^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Νεογνολογίας, 2012.
13. **«Μελέτη των λιπιδίων του αίματος σε παιδιά με επιληψία μετά την έναρξη αγωγής με λεβετιρασετάμη».**
Πασχαλίδου Μ, Ατιλάκος Α, Τσιρούδα Μ, **Παπαδόπουλος Ι**,
Ζαφειροπούλου Φ, Παπαδημητρίου Α, Ντινόπουλος Α.
Γ΄ Παιδ/κή Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Π.Γ.Ν. "Αττικόν"
12^ο Πανελλήνιο Παιδονευρολογικό Συνέδριο, 2012.

14. **«Ανάλυση τοκετών μετά το 35^ο έτος ηλικίας της μητέρας».**
Τσεκούρα Ε., Πολυχρονάκου Α., Κύρκου Ι., Παπαδόπουλος Ι.,
Κασσάνος Δ. ΜΕΝΝ, Γ΄ Παιδ/κής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών,
Π.Γ.Ν. "Αττικόν", **16^ο συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, 2011**
15. **«Απώλεια Βάρους τις πρώτες ημέρες ζωής σε
φυσιολογικά Νεογνά».** Σίδηρη Β., Κύρκου Ι.,
Μπουτοπούλου Β., Καψαμπέλη Ε., Παπαδόπουλος Ι.,
Μπουρνάς Ν., Δασκαλάκη Α., Μέξη Π.
ΜΕΝΝ, Γ΄ Παιδ/κής Κλινικής Πανεπιστημίου Αθηνών,
Π.Γ.Ν. «Αττικόν» **16ο συνέδριο Περιγεννητικής Ιατρικής, 2011.**

στους γονείς του μικρού Μανώλη
και στον παππού του μικρού Παρασκευά...

...των οποίων η υπομονή με δίδαξε
τα ανεξάντλητα όρια της αντοχής του Ανθρώπου, όταν αγαπά

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλλαν στην εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής, άμεσα και έμμεσα, φανερά και μη. Συγκεκριμένα, θα ήθελα να ευχαριστήσω:

Την Ομότιμη Καθηγήτρια Παιδιατρικής Κα Πολυξένη Νικολαΐδου-Καρπαθίου, η οποία μου εμπιστεύθηκε το θέμα της διατριβής. Οφείλω όμως να την ευχαριστήσω κυρίως για τον τρόπο σκέψης που μου δίδαξε μέσα από τη δική της πάντα καθαρή και λογική σκέψη, σε κάθε πρόβλημα που είχα να αντιμετωπίσω είτε ως ειδικευόμενος, είτε κατά την εκπόνηση της διατριβής.

Τον Καθηγητή Παιδιατρικής Ανδρέα Φρετζάγια, του οποίου η κάθε παρατήρηση συνοδεύεται από αγάπη και σοφία. Η καθημερινή βιβλιογραφία που παρείχε απλόχερα σε κάθε ειδικευόμενο ήταν το πιο ισχυρό κίνητρο για τη δια βίου εκπαίδευσή μας και αποτελεί μια εμπειρία για την οποία νοιώθω τυχερός που ήμουν ειδικευόμενός του.

Η επίσκεψη στους θαλάμους με τους δύο προαναφερθέντες καθηγητές ήταν μοναδική εμπειρία μάθησης για κάθε ιατρό.

Τον Επίκουρο Καθηγητή Παιδιατρικής Αχιλλέα Ατσιλάκο, ο οποίος με εμπιστεύθηκε και με στήριξε σε κάθε δύσκολη στιγμή αυτής της πορείας. Η στάση του ως επιβλέπων ήταν διακριτική και ανθρώπινη, πάντα με ενσυναίσθηση όλων των παραμέτρων, κοινωνικών και προσωπικών, της καθημερινότητας ενός ιατρού. Ειδικά η συμβολή του στη διόρθωση του άρθρου ήταν άκρως καθοριστική για την τελική του ξενόγλωσση δημοσίευση, παραδίδοντας μου επιτυχώς τη σκυτάλη στον τελευταίο γύρο αυτής της πορείας.

Τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παιδιατρικής Νευρολογίας Αργύριο Ντινόπουλο, παιδονευρολόγο, για τις πολύτιμες παρατηρήσεις του και τη στήριξη του στην κλινική παρακολούθηση των ασθενών, των οποίων τα ιδιαίτερα νευροαναπτυξιακά προβλήματα δεν θα μπορούσαν να προσεγγιστούν μόνο από γενικό παιδίατρο.

Τον Καθηγητή Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας Αναστάσιο Παπαδημητρίου, που δέχτηκε να συμμετέχει στην τριμελή επιτροπή μετά την αφυπηρέτηση της Καθηγήτριας κ. Πολυξένης Νικολαΐδου-Καρπαθίου. Η σημαντικότερη του, όμως, συμβολή ήταν η προτροπή του να διερευνηθεί το σύνδρομο μέσα και από άλλο μοριακό μονοπάτι (της σεροτονίνης), ξεπερνώντας τα όρια της παγιωμένης θεωρίας που υπήρχε ως τώρα.

Τη Βιολόγο Αννα Παπαδοπούλου, υπεύθυνη του εργαστηρίου μοριακής βιολογίας της Γ' Παιδ/κής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, για την παροχή του εξοπλισμού και την εκμάθηση των εργαστηριακών διαδικασιών της γενετικής ανάλυσης. Πρέπει να τονίσω ότι χωρίς εκείνη, αλλά και χωρίς την αγγόγυστη βοήθεια των δύο συνεργατών της και εξαίρετων νέων παιδιάτρων, της κ. Ευαγγελίας Μπουντουβή και της κ. Ευαγγελίας Γκολέ, η διατριβή αυτή δεν θα είχε υλοποιηθεί.

Την Καθηγήτρια Παιδιατρικής και νυν Διευθύντρια της κλινικής Βασιλική Παπαευαγγέλου, για τις χρήσιμες παρατηρήσεις της και συμβουλές, όποτε τις χρειάστηκα. Την ευχαριστώ, επίσης, για το ενδιαφέρον της και την συμπαράστασή της στο έργο μου, παρά το γεγονός ότι δεν ήταν στη συμβουλευτική επιτροπή.

Τους επιμελητές της κλινικής για τη στήριξή τους και την εκπαίδευση που μου προσέφεραν αγόγγυστα. Κάτω από κάθε προσπάθεια και κάθε μελέτη υπάρχουν σαν θεμέλια όλα αυτά τα έτη γνώσεων και καθημερινού επιστημονικού διαλόγου μαζί τους.

Τους συναδέλφους μου ειδικευόμενους, και ιδιαιτέρως τους Κλεάνθη Κλεάνθους, Φωτεινή Ζαφειροπούλου, Γεωργία Γεωργαντζή, Έλενα Κοντάκη, Κασσιανή Κέκκου και Ιωάννη Αγγουριδάκη για την έμπρακτη και ηθική στήριξή τους. Εκτός από τη συμβολή τους στη συλλογή των δειγμάτων, ήταν πάντα συνεργάσιμοι προς την καλύτερη εξυπηρέτηση των ασθενών, ακόμα και όταν δεν ήμουν παρών στην κλινική.

Τις νοσηλεύτριες της κλινικής, και ιδιαιτέρως τις Μαρία Τσιρούδα, Μαρία Αρώνη και Βαρβάρα Φιλιπποπούλου, καθώς και την προϊσταμένη των

νοσηλευτριών Γεωργία Λιανού για το ενδιαφέρον και τη βοήθειά τους κατά τη νοσηλεία των ασθενών.

Τους γονείς μου που με έμαθαν να προσπαθώ στη ζωή και να σκέφτομαι θετικά.

Τέλος οφείλω ευγνωμοσύνη στη σύζυγό μου που με το ήθος της αποτελεί καθημερινό στήριγμα ζωής, αλλά και τις δύο μικρές μας κόρες, που χωρίς να το καταλαβαίνουν, τα λόγια τους και το βλέμμα τους δρούσαν πάντα αγχολυτικά.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
Πρόλογος	19
Περίληψη	21
Περίληψη στην Αγγλική γλώσσα	22
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Το ORPG σύνδρομο	24
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Ο οφθαλμικός φαινότυπος του ORPG συνδρόμου	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Ο οστικός φαινότυπος του ORPG συνδρόμου	32
3.1. Ο οστίτης ιστός, ο μεταβολισμός του ασβεστίου και η διαταραχή της οστικής μάζας	32
3.2. Η μέθοδος DXA	35
3.3. Η μέθοδος QCT	37
3.4. Τα αίτια της οστεοπόρωσης	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Παθοφυσιολογία του ORPG συνδρόμου	45
4.1. Ο υποδοχέας LRP5	45
α) Μεταλλάξεις του γονιδίου LRP5	46
β) Αναστολείς του υποδοχέα LRP5	49
γ) Η κατάσταση υψηλής οστικής μάζας	50
δ) LRP5 και άλλα νοσήματα του οστίτη ιστού	52
ε) LRP5 και μεταβολισμός	52
στ) LRP5 και κακοήθη νοσήματα	53
ζ) Νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις	54
4.2. Το σήμα Wnt	54
4.3. Ο ρόλος της σεροτονίνης	63
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Θεραπεία του ORPG συνδρόμου	68
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	76
Σκοπός της μελέτης	77
Υλικό και Μεθοδολογία της μελέτης	77
Αποτελέσματα της μελέτης	87
Συζήτηση	95
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	101

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το σύνδρομο Osteoporosis – Pseudoglioma (OPPG) είναι ένα σπάνιο γενετικό νόσημα, που κληρονομείται με τον αυτοσωματικό υπολειπόμενο τύπο και χαρακτηρίζεται από τύφλωση, συχνά συγγενή και νεανική οστεοπόρωση. Η επίπτωση στον πληθυσμό των ΗΠΑ εκτιμάται σε 1/2.000.000 άτομα, ενώ για την Ελλάδα δεν υπάρχουν επιδημιολογικά δεδομένα.

Η γενετική διαταραχή που έχει συνδεθεί με τη νόσο αφορά στο γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη 5 που σχετίζεται με τη χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, LDL receptor-related protein 5 (LRP5 gene). Η πρωτεΐνη LRP5 είναι μέλος της οικογένειας των υποδοχέων της LDL που βρίσκονται στην επιφάνεια των κυττάρων. Ο κύριος ρόλος της στον ανθρώπινο οργανισμό είναι στην υποδοχή ερεθισμάτων, και μάλιστα ως συν-υποδοχέας με άλλους υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης, στη μεταγωγή των εξωκυτταρικών “σημάτων” Norrin και Wnt. Όπως υποστηρίζεται από μελέτες, στην πρόκληση των οφθαλμικών ανωμαλιών του συνδρόμου παίζει ρόλο η διαταραχή στο μονοπάτι του Norrin, ενώ η διαταραχή στη μεταγωγή του σήματος Wnt οδηγεί στην οστική εκφύλιση.

Μελέτες καταδεικνύουν ότι το νόσημα έχει ευρύ φάσμα ανωμαλιών από τους οφθαλμούς και τα οστά. Ο φαινότυπος του συνδρόμου περιλαμβάνει και άλλες εκδηλώσεις, όπως ψυχοκινητική καθυστέρηση, σπασμοί, αυτιστική συμπεριφορά, μυική υποτονία και διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων και των λιπιδίων.

Μέχρι τώρα έχουν περιγραφεί διεθνώς περίπου 60 περιπτώσεις ασθενών, με διαφορετικές μεταλλάξεις του γονιδίου LRP5. Η κλινική και μοριακή διάγνωση δύο ασθενών στην Γ΄ Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών αποτέλεσε έναυσμα για τη διεξαγωγή της μελέτης και σε άλλα μέλη της οικογένειας. Η μελέτη αφορά σε καταγραφή των κλινικών εκδηλώσεων στους ασθενείς, στη μοριακή ανάλυση και την ανίχνευση της υπεύθυνης μετάλλαξης και στη βιοχημική ανάλυση του μεταβολισμού του ασβεστίου, των λιπιδίων και της γλυκόζης. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς υπεβλήθησαν σε έλεγχο της οστικής τους μάζας με οστική πυκνομετρία και, όσοι πληρούσαν τις προϋποθέσεις, ξεκίνησαν αγωγή με διφωσφονικά. Η

παρούσα μελέτη είναι η πρώτη αναφορά ασθενών με OPPG σύνδρομο στην περιοχή της Μεσογείου, αναλύοντας παράλληλα τον φαινότυπο και την ανταπόκρισή τους στη θεραπεία.

Το σύνδρομο OPPG είναι πολύ σπάνιο και αποτελεί μία ιδιαίζουσα κλινική και γενετική οντότητα. Η προσπάθεια κατανόησης του παθογενετικού μηχανισμού και του φαινότυπου του συνδρόμου αναμένεται να φωτίσει περαιτέρω τους μηχανισμούς οστεοπόρωσης στον άνθρωπο και, ενδεχομένως, να οδηγήσει σε νέους τρόπους αντιμετώπισής της.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το σύνδρομο OPPG (Osteoporosis–pseudoglioma Syndrome) είναι μια σπάνια γενετική διαταραχή, η οποία κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο και χαρακτηρίζεται από νεανική οστεοπόρωση και τύφλωση, είτε συγγενή, είτε με έναρξη σε πολύ μικρή ηλικία. Οι υπεύθυνες για το σύνδρομο μεταλλάξεις βρίσκονται στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα για την πρωτεΐνη 5 της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL receptor-related protein 5, LRP5). Το σύνδρομο εκφράζεται είτε σε ομοζυγωτία, είτε σε συνδυαστική ετεροζυγωτία των μεταλλάξεων. Στην παρούσα εργασία γίνεται κλινική, εργαστηριακή και γενετική εκτίμηση 10 νέων περιπτώσεων του συνδρόμου OPPG, σε οκτώ οικογένειες στην Ελλάδα. Η γενετική ανάλυση των ασθενών αποκάλυψε τη μετάλλαξη c.2409_2503+79del σε ομοζυγωτία. Από τα συνολικά 44 μέλη των οικογενειών που εξετάστηκαν, οι 26 έφεραν τη μετάλλαξη στο ένα αλληλόμορφο γονίδιο. Όλοι οι ασθενείς παρουσίαζαν συγγενή τύφλωση. Σε 7 ασθενείς μετρήθηκε η οστική πυκνότητα και βρέθηκε χαμηλή, ενώ 4 από αυτούς τέθηκαν σε αγωγή με διφωσφονικά. Η θεραπεία οδήγησε σε μείωση του οστικού άλγους και βελτίωση της οστικής μάζας. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη αναφορά της μετάλλαξης c.2409_2503+79del σε ομοζυγωτία σε ασθενείς με OPPG σύνδρομο στην περιοχή της Μεσογείου, αναλύοντας παράλληλα τον φαινότυπο των ασθενών και την ανταπόκρισή τους στη θεραπεία.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ ΓΛΩΣΣΑ

The osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG) is a rare autosomal recessive disorder, characterized by impaired bone accrual and congenital or early-onset blindness. Loss of function mutations in the gene encoding low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5), either in homozygous or compound heterozygous state, has been established as the genetic defect of the disease. We report the clinical, biochemical and genetic evaluation of ten new cases of OPPG in eight related nuclear families in Greece. Mutational screening of the patients' *LRP5* gene revealed the c.2409_2503+79del deletion in homozygous state, expected to result in a truncated protein. Among the 44 individuals of the pedigree tested, 26 were identified to harbor one mutant allele. All patients had congenital ocular impairment. Seven patients who underwent DXA evaluation presented with osteopenia and four of them received bisphosphonates. Treatment resulted in BMD improvement, decrease of bone pain and maintenance of normal PTH and calcium homeostasis, without however fully counteracting osteoporosis. This is the first report of the homozygous c.2409_2503+79del (G804_G835delfsX49) deletion in the *LRP5* gene in patients with OPPG in the Mediterranean rim, presenting in detail the clinical characteristics of the patients and their response to treatment.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Το OPPG σύνδρομο

Το OPPG σύνδρομο έχει πάρει την ονομασία του από τις λέξεις Osteoporosis-Pseudoglioma και αφορά σε μία σπάνια γενετική διαταραχή, η οποία περιγράφηκε για πρώτη φορά κλινικά από τον Pellathy το 1931 και κατόπιν γενετικά από τους Gong και συν., το 2001 [1]. Το σύνδρομο κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο και χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση οστεοπόρωσης από τη νηπιακή ηλικία, καθώς και από διαταραχή στην όραση, με προεξάρχουσα τη συγγενή τύφλωση [2,3].

Η συχνότητα του συνδρόμου ανέρχεται περίπου στα 1 προς 2.000.000 ζώντα νεογνά στις ΗΠΑ. Το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για το σύνδρομο είναι το *LRP5*, το οποίο κωδικοποιεί τον ομώνυμο υποδοχέα (LDL receptor-related protein 5). Ο υποδοχέας αυτός ανήκει στην ευρύτερη οικογένεια των υποδοχέων της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης και βρίσκεται στη μεμβράνη κυττάρων διαφορετικών ιστών, όπου το σήμα Wnt επάγει, με τη σύνδεσή του στον υποδοχέα LRP5, μονοπάτια κυτταρικής διαφοροποίησης. Το γονίδιο έχει ανιχνευθεί στο χρωμόσωμα 11 και οι μεταλλάξεις που έχουν περιγραφεί έως τώρα είναι περισσότερες από 50. Καθώς το σύνδρομο κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο, οι ασθενείς μπορεί να είναι ομόζυγοι για τη μετάλλαξη, ή σύνθετοι ετεροζυγώτες. Χαρακτηριστικό των μεταλλάξεων είναι ότι παρατηρούνται στη 2^η και 3^η β-έλικα του γονιδίου, ενώ εκείνες στη 1^η σχετίζονται με την οικογενή εμφάνιση του συνδρόμου Υψηλής Οστικής Μάζας (High Bone Mass Syndrome-HBM) [4].

Ο οστικός φαινότυπος εκτός από τα αυτόματα κατάγματα και τη μειωμένη οστική μάζα, περιλαμβάνει τη κύφωση, τα κυρτά μακρά οστά, την κраниόφθιση από τη γέννηση, την καθυστερημένη οστική ηλικία και το κοντό ανάστημα. Ο οφθαλμικός φαινότυπος περιλαμβάνει ένα εξίσου ευρύ φάσμα διαταραχών από όλες τις δομές του οφθαλμού, όπως περιγράφεται παρακάτω αναλυτικά (πίνακας 1) [5]. Ο φαινότυπος ως προς τα οστά έχει παρατηρηθεί πιο ήπιος για τους σύνθετους ετεροζυγώτες, ενώ ο οφθαλμικός φαινότυπος παραμένει το ίδιο σοβαρός. Οι ετεροζυγώτες φορείς της μετάλλαξης εμφανίζουν συνήθως επίσης ήπια οστεοπενία, ενώ από τους οφθαλμούς δεν εμφανίζουν παθολογικό εύρημα [1]. Ο φαινότυπος του

συνδρόμου, όπως αναλύεται σε αρκετές μελέτες, περικλείει συμπτώματα και σημεία και από άλλα συστήματα, ενώ και τα κατεξοχήν παθολογικά σημεία του συνδρόμου δεν εμφανίζονται σε όλους τους ασθενείς με την ίδια βαρύτητα. Παρακάτω αναφέρονται ορισμένες ενδιαφέρουσες μελέτες που αποκαλύπτουν αυτήν ακριβώς την ποικιλία στον φαινότυπο των ασθενών.

Το 2010 δημοσιεύτηκε από τους Marques-Pinheiro και συν. μια νέα μετάλλαξη του LRP5 σε έναν ασθενή 22 ετών από την Τυνησία, απότοκο αιμομιξίας. Ο ασθενής έφερε τη μετάλλαξη R334FSx51. Ο οστικός φαινότυπος περιελάμβανε κατάγματα από την ηλικία των 6 ετών, σε κνήμη, περόνη και οστά του καρπού. Από τους οφθαλμούς, παρουσίαζε τύφλωση μόνο από τον αριστερό και μάλιστα μετά την ηλικία των 6 μηνών. Επιπρόσθετα, ο ασθενής εμφάνιζε μικροφθαλμία, νανισμό και κύφωση, ενώ η νευρολογική του εξέταση δεν παρουσίαζε κάποιο παθολογικό εύρημα [6].

Οι Streeten και συν. δημοσίευσαν το 2008 μελέτη 9 νέων περιπτώσεων του συνδρόμου, οι οποίες αφορούσαν σε 3 οικογένειες με ηλικία των ασθενών που κυμαινόταν από 3 μηνών έως 8 ετών. Ανάμεσά τους ανιχνεύτηκαν ομόζυγοι και σύνθετοι ετεροζυγώτες. Οι τελευταίοι εμφάνιζαν πιο ήπιο φαινότυπο από τα οστά, ενώ οι διαταραχές από τους οφθαλμούς δεν διέφεραν από εκείνες των ομόζυγων. Από τους ασθενείς, ένας εμφάνιζε επιπρόσθετα διάχυτη αναπτυξιακή διαταραχή. Από τους 6 γονείς, οι 4 παρουσίαζαν χαμηλή οστική μάζα. Αυτό το εύρημα αποδεικνύει ότι η μετάλλαξη του LRP5, ακόμα και σε ετεροζυγωτία, μπορεί να σχετίζεται με το φάσμα των εκδηλώσεων της οστεοπόρωσης [7].

Από το 1988, σε μελέτη των Somer και συν. από το πανεπιστήμιο του Ελσίνκι, περιγράφονται δύο αδέρφια με σύνδρομο OPPG διαφορετικού φύλου. Το κορίτσι εμφάνιζε βραχύ φίλτρο, προγναθισμό, καθίζηση ρινός και χαμηλή πρόσφυση ώτων. Το ανάστημά του ήταν κοντό και τα άνω άκρα ήταν δυσανάλογα μεγάλα. Επίσης, τα δάκτυλα του χεριού ήταν μακριά και με υπερελαστικές αρθρώσεις. Το κορίτσι εμφάνιζε γενικευμένη υποτονία και μυϊκή αδυναμία, σε βαθμό που αδυνατούσε να στηρίξει το κεφάλι και τον κορμό. Από τους οφθαλμούς παρουσίαζε ατροφία των βολβών και αποπιτανώσεις, όπως φάνηκε σε απεικονιστικό έλεγχο με αξονική τομογραφία. Το νοητικό της πηλίκιο ήταν φυσιολογικό. Ο αδελφός της εμφάνιζε παρόμοια στίγματα από το πρόσωπο και τα άκρα, χωρίς όμως υποτονία και μυϊκή

αδυναμία, κάτι που επιβεβαιώνει την κλινική ποικιλία στον φαινότυπο του συνδρόμου, ακόμα και ανάμεσα σε αδέρφια [8].

Ο Levasseur, το 2012, συνοψίζει το φάσμα των εκδηλώσεων στον φαινότυπο του συνδρόμου. Ο οφθαλμικός φαινότυπος περιλαμβάνει την τύφλωση, την αμβλυωπία, την παρουσία λευκωπής μάζας δίκην γλοιώματος όπισθεν των φακών, την επιμένουσα εμβρυική αγγείωση του υαλοειδούς, τη δυσπλασία του αμφιβληστροειδούς, το δευτεροπαθές γλαύκωμα, τη μικροφθαλμία, την ενδοφθάλμια αιμορραγία και τις αποτιτανώσεις. Από το ερειστικό σύστημα, οι εκδηλώσεις που μπορεί να παρατηρηθούν στο σύνδρομο είναι η σοβαρή διάχυτη απομετάλλωση των οστών, τα κατάγματα σε σπονδύλους και μακρά οστά, η κύφωση, η καθυστερημένη οστική ηλικία, το κοντό ανάστημα, ο νανισμός και η κρανιόφθιση. Άλλες εκδηλώσεις του συνδρόμου είναι το έλλειμμα του μεσοκοιλιακού διαφράγματος, η παχυσαρκία, η ήπια νοητική υστέρηση, οι σπασμοί, η υποτονία, η υπερεκτασιμότητα των αρθρώσεων, η χαμηλή πρόσφυση των ώτων, η αραιή ή απύσα τρίχωση της κεφαλής και η μικρογναθία [9].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Ο οφθαλμικός φαινότυπος του OPPG συνδρόμου

Ο όρος ψευδογλοίωμα αναφέρεται στην μάζα που παρατηρείται ενδοφθάλμια στο σύνδρομο και παρεμποδίζει την όραση. Το ψευδογλοίωμα είναι χαρακτηριστική εκδήλωση του συνδρόμου και οφείλεται στην παραμονή της εμβρυικής μορφής του υαλοειδούς σώματος. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναγράφεται μόνο μια περίπτωση ασθενούς με σύνδρομο OPPG χωρίς κάποιου είδους οφθαλμολογική διαταραχή [10].

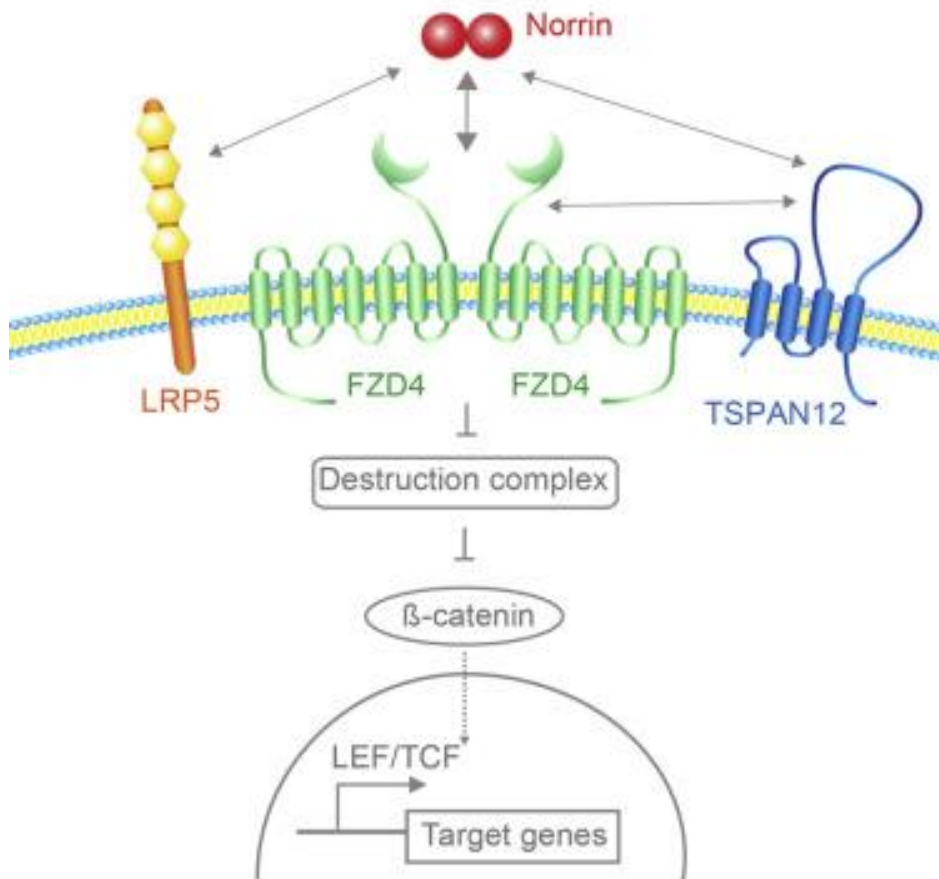
Το ψευδογλοίωμα είναι μια λευκωπή μάζα πίσω από τους φακούς, το οποίο είναι η εμβρυική μορφή του υαλοειδούς σώματος, που φυσιολογικά υποστρέφει πριν τη γέννηση. Η κατάσταση αυτή είναι γνωστή ήδη από το 1949, όπου περιγράφηκε από τον Reese [11], και αποκαλείται είτε ως παραμονή του υπερπλαστικού πρώιμου υαλοειδούς (Persistent Hyperplastic Primary Vitreous-PHPV), είτε ως παραμένον εμβρυικό οφθαλμικό αγγειακό δίκτυο (Persistent Fetal Vasculature Syndrome-PFVS). Η ακριβής παθογένεια του PHPV παραμένει άγνωστη. Ωστόσο, είναι γνωστό πως κατά την εμβρυική ανάπτυξη του οφθαλμού υπάρχει μια αρτηρία στο υαλοειδές σώμα, ανάμεσα στον φακό και στον αμφιβληστροειδή, η οποία φέρει τα απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία στον αναπτυσσόμενο οφθαλμικό βολβό. Φυσιολογικά στο 3^ο τρίμηνο της εγκυμοσύνης το αγγείο αυτό, καθώς και το υαλοειδές σώμα υποστρέφουν και δίνουν τη θέση τους στο ώριμο δευτερογενές υαλοειδές, το οποίο εξωμήτρια προστατεύει τον βολβό. Το PHPV, λοιπόν, είναι το αποτέλεσμα αυτής της ανεπιτυχούς υποστροφής του εμβρυϊκού υαλοειδούς.

Η ακριβής αιτία που δεν ολοκληρώνεται η υποστροφή δεν έχει έως τώρα αποσαφηνιστεί. Έχει διατυπωθεί η θεωρία πως τα μακροφάγα παίζουν σημαντικό ρόλο στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Σε μελέτη των Diez-Roux και Lang, σχεδιάστηκε ο περιορισμός των μακροφάγων, ο οποίος ευνόησε την επιβίωση των ενδοθηλιακών κυττάρων στα τριχοειδή του οφθαλμού στα ποντίκια, τα οποία φυσιολογικά θα απέπιπταν [12]. Μάλιστα το σήμα Wnt φαίνεται πως διαδραματίζει μεσολαβητικό ρόλο στη δράση αυτή των μακροφάγων, με αποτέλεσμα όταν το σήμα δεν επάγεται (λόγω διαταραχής του υποδοχέα LRP5), το ενδοθήλιο δεν αποπίπτει και συνεπώς η αγγείωση του εμβρυϊκού υαλοειδούς διατηρείται [13].

Το PHPV εμφανίζεται, εκτός από το OPPG σύνδρομο, και ως μέρος του φαινότυπου της ομάδας νοσημάτων του οφθαλμού, που αποκαλείται ως οικογενής εξιδρωματική υαλοειδο-αμφιβληστροειδοπάθεια-FEVR (familial exudative vitreous retinopathy) [14,15]. Το σύνολο αυτών των οφθαλμικών νοσημάτων έχει ως κύριο παθογενετικό αίτιο την διαταραχή στην αγγείωση του αμφιβληστροειδούς χιτώνα.

Ο τρόπος με τον οποίο κληρονομούνται τα νοσήματα αυτά είναι είτε αυτοσωμικός υπολειπόμενος ή επικρατής, είτε φυλοσύνδετος υπολειπόμενος. Τα γονίδια που έχουν εντοπιστεί ως υπεύθυνα είναι τα NDP, FZD4, LRP5, TSPAN12, KIF11 και ZN408 [16]. Τα γονίδια NDP, FZD4, LRP5 και TSPAN12 κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο Frizzled4/Norrin μονοπάτι, το οποίο είναι γνωστό πως ευθύνεται για την ομαλή αγγειογένεση του αμφιβληστροειδούς και κατ' επέκταση για τα νοσήματα που περιλαμβάνονται στην ομάδα FEVR.

Ο υποδοχέας Frizzled-4 (FZD-4) βρίσκεται στα ενδοθηλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς χιτώνα και δέχεται το ερέθισμα Norrin (NDP) που παράγεται από τη γλοία του Muller. Η γλοία του Muller είναι σύνολο συγκεκριμένου τύπου κυττάρων του αμφιβληστροειδούς χιτώνα. Το Norrin ερέθισμα είναι πρωτεΐνη που ανήκει σε μία ευρύτερη οικογένεια πρωτεϊνικών παραγόντων κυτταρικής ανάπτυξης, που αποκαλούνται στη βιβλιογραφία ως TGF-beta super family (transforming growth factor-beta super family). Η σύνδεση του Norrin με τον υποδοχέα FZD-4 επάγει το κυτταρικό μονοπάτι της β-catenin, το οποίο παίζει με τη σειρά του σημαντικό ρόλο στην κυτταρική διαφοροποίηση. Η πρωτεΐνη LRP5 αποτελεί συνυποδοχέα του FZD-4, ενώ το μόριο TSPAN12 θεωρείται πως αυξάνει τον πολυμερισμό του FZD-4 και ενισχύει το σήμα που θα επάγει τη δράση της β-catenin στον πυρήνα του κυττάρου, με τελικό αποτέλεσμα τη διαφοροποίησή του (Εικόνα 1) [17,18].



Εικόνα 1. Το σήμα Norrin και οι υποδοχείς του.

(Lai MB, et al. *TSPAN12 Is a Norrin Co-receptor that Amplifies Frizzled4 Ligand Selectivity and Signaling. Cell Rep 2017; 19:2809–22*).

Μελέτες σε ποντίκια στα οποία είχαν αδρανοποιηθεί τα άνωθεν πρωτεϊνικά μόρια (FZD4^{-/-}, NDP^{-/-}, LRP5^{-/-}, and TSPAN12^{-/-}) οδήγησαν σε συγκεκριμένο φαινότυπο, ο οποίος περιελάμβανε: απουσία του τριχοειδικού αγγειακού πλέγματος του αμφιβληστροειδούς, αρτηριακή και φλεβική ελίκωση, ενδοφθάλμια αιμορραγία και καθυστερημένη ή μειωμένη απόπτωση του υαλοειδούς (PHPV). Χαρακτηριστική είναι η εξιδρωματική αλλοίωση που εμφανίζει ο χιτώννας, παρόμοια με εκείνη της αμφιβληστροειδοπάθειας από προωρότητα.

Η διαφορική διάγνωση της νοσολογικής οντότητας FEVR περιλαμβάνει συνεπώς τα εξής:

α. Αμφιβληστροειδοπάθεια της προωρότητας: υπάρχει ιστορικό

προωρότητας, χορήγησης οξυγόνου στη μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών και απουσία οικογενειακού ιστορικού. Το εξίδρωμα στην περίπτωση της προωρότητας αφορά στην περιφέρεια του αμφιβληστροειδούς.

β. Νόσος Norrie: Μεταλλάξεις στο NDP είναι υπεύθυνες επιπλέον για τη νόσο Norrie, στην οποία συνυπάρχει μικροφθαλμία, θολερότητα του κερατοειδούς, κώφωση και ψυχοκινητική καθυστέρηση. Η νόσος κληρονομείται με τον φυλοσύνδετο υπολειπόμενο τρόπο.

γ. Σύνδρομο OPPG: Οι μεταλλάξεις αφορούν στο γονίδιο LRP5, με χαρακτηριστικό φαινότυπο που συνδυάζει PHPV και κατάγματα από τη νηπιακή ηλικία. Στην περίπτωση αυτή, τα μακροφάγα επάγουν τον κυτταρικό θάνατο στα κύτταρα-στόχους μέσω του Wnt μονοπατιού. Στην περίπτωση της προγραμματισμένης απόπτωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων του υαλοειδούς σώματος ο LRP5 είναι υποδοχέας του WNT7b σήματος και συνεπώς η απενεργοποίηση του υποδοχέα αναστέλλει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Ασθενείς με FEVR, στους οποίους ανιχνεύεται μεταλλαξη του LRP5, χρήζουν εκτίμησης για οστεοπόρωση.

δ. Νόσος Coats: Συνήθως η βλάβη του οφθαλμού εντοπίζεται ετερόπλευρα και συνηθέστερα στους άρρενες. Σε αντίθεση με το FEVR, η νεοαγγείωση και το εξίδρωμα απουσιάζουν.

ε. Ακράτεια μελανίνης (incontinentia pigmenti): πρόκειται για φυλοσύνδετο νευροδερματικό νόσημα, όπου ο φαινότυπος από τα μάτια περιλαμβάνει δομικές διαταραχές στον αμφιβληστροειδή, παρόμοιες με του FEVR. Η διαφορά είναι ότι αυτές είναι συνήθως όψιμες (στη νηπιακή ηλικία), ενώ επίσης το σύνδρομο χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα δερματικά στίγματα, ψυχοκινητική καθυστέρηση και σπασμούς [19].

Ο οφθαλμικός φαινότυπος του OPPG περιλαμβάνει πολυάριθμες εκδηλώσεις, πέραν του ψευδογλοιώματος, όπως αναγράφονται στον πίνακα 1 [11].

Πίνακας 1. Οφθαλμικός φαινότυπος του συνδρόμου OPPG.

1. Τύφλωση
 2. Μικροφθαλμία
 3. Μικροκορία
 4. Δευτεροπαθές γλαύκωμα
 5. Αιμορραγία του υαλοειδούς ή του αμφιβληστροειδούς χιτώνα
 6. Ενδοφθάλμιες αποτιτανώσεις
 7. Θολερότητα κερατοειδούς
 8. Συμφύσεις μεταξύ της ίριδας και του φακού
 9. Φθίση (ατροφία) βολβού
 10. Οπισθοφακική μάζα λόγω παραμονής εμβρυικού υαλοειδούς (ψευδογλοίωμα)
-

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Ο οστικός φαινότυπος του OPPG συνδρόμου

Το σύνδρομο OPPG χαρακτηρίζεται από μειωμένη πυκνότητα των οστών, με εκδήλωση κατά κύριο λόγο τα αυτόματα κατάγματα και τα χρόνια οστικά άλγη, ήδη από τη νηπιακή ηλικία. Ο οστικός φαινότυπος συμπληρώνεται, όπως έχει φανεί σε ορισμένους ασθενείς από τη βιβλιογραφία και από άλλες διαταραχές του ερειστικού συστήματος, όπως η κύφωση, τα κυρτά μακρά οστά, η κρανιόφθιση, η καθυστερημένη οστική ηλικία και το κοντό ανάστημα. Εργαστηριακά, το σύνδρομο δεν εμφανίζει παθολογικές τιμές ως προς το ασβέστιο, το φώσφορο, την αλκαλική φωσφατάση και την παραθορμόνη, ενώ και η σύνθεση του κολλαγόνου είναι φυσιολογική. Ωστόσο, οι ασθενείς εμφανίζουν χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D3 και αυτό πιθανώς εξηγείται είτε από τη μειωμένη τους κινητικότητα είτε από τη μειωμένη βιοδιαθεσιμότητά της [8,9].

Παρακάτω θα γίνει αναφορά γενικά στην οντότητα της οστεοπόρωσης, στα αίτια αυτής και στον τρόπο που αξιολογείται η βαρύτητά της, δεδομένου ότι οι γνώσεις αυτές βοήθησαν στην κατανόηση του συνδρόμου, αλλά και αντίστροφα, τα δεδομένα που ανέκυψαν από τη μελέτη του συνδρόμου, άνοιξαν νέους δρόμους στην κατανόηση της παθοφυσιολογίας της οστεοπόρωσης και στη θεραπευτική της προσέγγιση στα παιδιά.

3.1. Ο οστίτης ιστός, ο μεταβολισμός του ασβεστίου και η διαταραχή της οστικής μάζας

Το ερειστικό σύστημα είναι εκείνο το σύστημα του σώματος που στηρίζει το σώμα, ενώ ταυτόχρονα μέσω των οστών, συμμετέχει στην προστασία των εσωτερικών οργάνων, αλλά και στον μεταβολισμό του οργανισμού.

Οι μεταβολικές διαδικασίες που εξυπηρετούνται από τα οστά αφορούν κύρια στην επάρκεια του ασβεστίου. Το ασβέστιο κατά 99% είναι αποθηκευμένο στα οστά και το υπόλοιπο 1% βρίσκεται στο πλάσμα. Παρά το γεγονός ότι το ποσοστό του ασβεστίου που κυκλοφορεί στο αίμα είναι

ελάχιστο, ο ρόλος του στον οστικό μεταβολισμό είναι κομβικός. Όταν το ασβέστιο του πλάσματος μειωθεί, τότε αυξάνεται η οστική επαναρρόφηση, ώστε να αποκατασταθούν τα επίπεδά του στην κυκλοφορία. Συνεπώς, επαρκής πρόσληψη του ασβεστίου είναι απαραίτητη για να διατηρείται ακέραια η ισορροπία μεταξύ ασβεστίου των οστών και του πλάσματος.

Η απορρόφηση του ασβεστίου που λαμβάνει ο άνθρωπος μέσω των τροφών επιτυγχάνεται διαμέσου της δράσης της βιταμίνης D₃, μίας βιταμίνης που πλέον αναγνωρίζεται ως μία πρωτεΐνη με ενδοκρινολογικές, μεταβολικές και ανοσολογικές δράσεις. Οι πηγές πρόσληψης της βιταμίνης D₃ είναι η έκθεση στον ήλιο, οι τροφές και διάφορα υποκατάστατα. Από τις πηγές αυτές, η πιο σημαντική είναι η έκθεση στον ήλιο, αφού η βιταμίνη ευρίσκεται σε πολύ χαμηλά επίπεδα στις τροφές που την περιέχουν. Η έκθεση στον ήλιο του προσώπου για τριάντα λεπτά θεωρείται επαρκής για να καλύψει τις ημερήσιες ανάγκες του οργανισμού σε βιταμίνη D₃. Η ακτινοβολία UVB απορροφάται από την 7-δεϋδροχοληστερόλη στην επιδερμίδα και σχηματίζεται η προ-βιταμίνη D₃, ένα πρόδρομο μόριο. Η τελευταία, υπό την επιρροή της θερμότητας, μετατρέπεται σε βιταμίνη D₃, η οποία ακολούθως συνδέεται με την VD-BP (vitamin D-binding protein) και απορροφάται στην κυκλοφορία μέσω των τριχοειδών. Η υδροξυλίωσή της γίνεται αρχικά στο ήπαρ, όπου μετατρέπεται σε 25-(OH)-βιταμίνη D₃ και κατόπιν στους νεφρούς, όπου στα κύτταρα του νεφρικού σωληναρίου παράγεται η βιολογικά δραστική μορφή της 1,25-(OH)₂-βιταμίνης D₃ [20].

Σε περίπτωση έλλειψης σε βιταμίνη D₃ μειώνεται η απορρόφηση του προσλαμβανόμενου ασβεστίου. Τα χαμηλά επίπεδα του ασβεστίου προκαλούν την οστική επαναρρόφηση, δεδομένου της απουσίας της δράσης της 1,25-(OH)₂-βιταμίνης D₃ στους οστεοβλάστες και την επικράτηση της οστεοκλαστικής δραστηριότητας. Αποτέλεσμα είναι η απελευθέρωση ενζύμων τα οποία καταστρέφουν την οστική ουσία, απελευθερώνοντας στην κυκλοφορία ασβέστιο και άλλα μέταλλα. Στην ενεργοποίηση του οστεοκλάστη συμμετέχουν και οι παραθυροειδείς αδένες, οι οποίοι μέσω της παραθορμόνης αυξάνουν τη νεφρική επαναρρόφηση του ασβεστίου και τον αριθμό των οστεοκλαστών. Συνεπώς, όσο η ανεπάρκεια της βιταμίνης D παραμένει, το ασβέστιο συνεχίζει να επαναρροφάται από τα οστά στο

πλάσμα, τα οστά χάνουν την επιμετάλλωση και την πυκνότητά τους, με αποτέλεσμα τη ραχίτιδα και την οστεοπόρωση.

Η ικανότητα και η επάρκεια των οστών βασίζεται σε συγκεκριμένες παραμέτρους. Οι παράμετροι είναι η μάζα του οστού, δηλ. η οστική ποσότητα, η μορφή του οστού, η οποία εξαρτάται από το μέγεθος και από τη σπογγώδη και φλοιώδη μοίρα του οστού και η οστική ποιότητα. Η τελευταία αναφέρεται στην μικροαρχιτεκτονική του οστού και στην επιμετάλλωσή του.

Η οστική μάζα αρχίζει να φθίνει μετά την εφηβεία, έχοντας φθάσει στην μέγιστη τιμή της στα 21 έτη για τα αγόρια και στα 18 έτη για τα κορίτσια. Στην διαμόρφωση της κορυφαίας οστικής μάζας διαδραματίζουν ρόλο κατά 70% γενετικοί παράγοντες. Η κληρονομικότητα που σχετίζεται με τον οστικό φαινότυπο είναι πολυγονιδιακή και αρκετοί γενετικοί τόποι έχουν ανιχνευτεί και συσχετισθεί με την πρόγνωση της σκελετικής υγείας στην ενήλικη ζωή.

Στην πράξη η οστική μάζα ή πυκνότητα (BMD-bone mineral density), είναι ο δείκτης που χρησιμοποιείται ευρέως για την πρόγνωση της οστικής επάρκειας και για την πιθανότητα εμφάνισης καταγμάτων. Η BMD μετράται ποσοτικά με τη μέθοδο της διπλής ενεργειακής απορρόφησης (DXA ή DEXA, dual-energy x-ray absorptionmetry). Στους ενήλικες, η μειωμένη BMD αποτελεί από μόνη της απόδειξη οστεοπόρωσης. Ωστόσο, στα παιδιά δεν έχει αποδειχθεί ότι η BMD δύναται να προβλέπει την πρόκληση καταγμάτων [21], γι' αυτό και η διάγνωση της οστεοπόρωσης στα παιδιά παραμένει κλινική. Συγκεκριμένα, για να διαγνωσθεί η οντότητα της οστεοπόρωσης στην παιδική ηλικία είναι απαραίτητη η συμπαρουσία της μειωμένης BMD, τουλάχιστον κατά δύο σταθερές αποκλίσεις (-2SD) από τον μέσο όρο για την ηλικία και το φύλο, με παθολογικό ιστορικό κατάγματος. Στο ιστορικό κατάγματος απαιτείται αυτό να αφορά τουλάχιστον σε ένα μακρό οστό των κάτω άκρων ή τουλάχιστον σε δύο μακρά οστά των άνω άκρων ή τέλος σε συμπιεστικό κάταγμα των σπονδύλων. [22, 23, 24]. Στα παιδιά, τα κατάγματα ισχίου και σπονδύλων είναι αρκετά σπάνια, συνεπώς τέτοιας εντόπισης κατάγματα, καθώς και κατάγματα ύστερα από ηπιο τραυματισμό, εγείρουν την υποψία της οστεοπόρωσης [25].

Η μέτρηση της BMD επιτυγχάνεται μέσω μεθόδων όπως είναι η DXA, η QCT και η ιστομορφολογία [25,26].

3.2. Η μέθοδος DXA

Η σάρωση οστικής πυκνότητας, που ονομάζεται επίσης απορροφητικομετρία ακτίνων X διπλής ενέργειας (DXA) ή πυκνομετρία οστού, είναι μια ενισχυμένη μορφή τεχνολογίας ακτίνων X που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της οστικής μάζας. Η μέθοδος DXA είναι σήμερα καθιερωμένη και αποτελεί πρότυπο για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας (Bone Mineral Density, BMD). Μετά την έναρξη χρήσης της μεθόδου το 1987, η απορρόφηση ακτίνων X διπλής ενέργειας (DXA) έχει γίνει ένα ευρέως διαθέσιμο και χρήσιμο εργαλείο για την αξιολόγηση της επάρκειας των οστών ως ιστός στήριξης και προστασίας του σώματος. Μάλιστα πρόσφατα η χρήση του εργαλείου αυτού αυξήθηκε στον παιδιατρικό πληθυσμό, στον οποίο αναγνωρίζονται πλέον όλο και περισσότερες παθολογικές οντότητες του ερειστικού συστήματος.

Η απεικόνιση με ακτίνες X περιλαμβάνει την έκθεση ενός μέρους του σώματος σε μια μικρή δόση ιοντίζουσας ακτινοβολίας για την παραγωγή εικόνων. Η μέτρηση DXA εκτελείται συχνότερα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και στα ισχία [27]. Η DXA είναι απλή, γρήγορη και μη επεμβατική εξέταση. Η διαδικασία διαρκεί από 10 έως 30 λεπτά, ενώ σημαντικό πλεονέκτημά της είναι ότι δεν χρειάζεται αναισθησία. Τα χαρακτηριστικά αυτά καθώς και το γεγονός ότι είναι φθηνή μέθοδος, την καθιστούν σήμερα στην πιο διαδεδομένη επιλογή της οστικής πυκνομετρίας.

Η μέθοδος DXA μπορεί να ποσοτικοποιήσει (σε γραμμάρια) την περιεκτικότητα του μεταλλικού τμήματος του οστού (Bone Mineral Content, BMC) σε διάφορες θέσεις του σώματος. Επιλέγεται μια περιοχή οστού (Bone Area, BA) με μονάδες τετραγωνικού εκατοστού. Η οστική πυκνότητα (BMD) μετράται απευθείας για κάθε εικονοστοιχείο στην επιλεγμένη περιοχή συγκρίνοντας την απορρόφηση των ακτίνων X αυτού του εικονοστοιχείου με ένα πρότυπο αναφοράς. Μετράται σε μονάδες γραμμαρίων ανά τετραγωνικό εκατοστό. Οι περιοχές όλων των εικονοστοιχείων αθροίζονται για να δώσουν όλη την περιοχή του οστού (BA). Έτσι η $BMD = BMC / BA$. Σε αντίθεση με άλλες μετρήσεις πυκνότητας, η BMD που προέρχεται από DXA βασίζεται στη δισδιάστατη προβαλλόμενη επιφάνεια μιας τρισδιάστατης δομής. Η τρίτη

διάσταση, δηλαδή το βάθος, δεν μπορεί να υπολογιστεί άμεσα επειδή είναι στην ίδια κατεύθυνση με τη δέσμη ακτίνων Χ. Επομένως, η BMD που προέρχεται από τη DXA αφορά σε μια περιοχή (areal BMD) και όχι στην μέτρηση του όγκου. Η ιδιότητα αυτή έχει ως συνέπεια να εμφανίζουν μικρότερη οστική μάζα τα μικρότερου μεγέθους οστά, ακόμη και εάν έχουν ίδιο όγκο.

Επιπλέον, σε αντίθεση με τους ενήλικες ασθενείς στους οποίους ο όγκος των οστών δεν αλλάζει με την πάροδο του χρόνου, τα οστά ενός παιδιού μεγαλώνουν με την πάροδο του χρόνου και η ανάπτυξη μεμονωμένων οστών δεν είναι ομοιόμορφη σε τρεις διαστάσεις. Η δυο διαστάσεων μέτρηση της πυκνότητας επηρεάζεται άμεσα από το μέγεθος του οστού, δηλαδή από το ύψος του ατόμου που εξετάζεται. Ένα παιδί λοιπόν με κοντό ανάστημα για την ηλικία και το φύλο του, κινδυνεύει να διαγνωστεί με χαμηλή οστική μάζα. Σε μελέτη μάλιστα φάνηκε ότι σε ποσοστό έως και 50% των παιδιών, είχαν διαγνωσθεί λανθασμένα με οστεοπόρωση, εξαιτίας σφαλμάτων στην ερμηνεία των DXA αποτελεσμάτων [28]. Συνεπώς, από τις επιφανειακές μετρήσεις της BMD μπορεί να προκύψουν σφάλματα τα οποία να κάνουν δύσκολη την ερμηνεία των αποτελεσμάτων σε παιδιατρικούς ασθενείς, γι' αυτό και αποτελεί πιο σοφή επιλογή η παρακολούθηση της μεταβολής της BMD, παρά η εκτίμηση της μεμονωμένα.

Η αποτύπωση των αποτελεσμάτων των μετρήσεων της DXA γίνεται με δύο παραμέτρους, το T-score και το Z-score. Το T-score είναι η βαθμολογία που αφορά στην οστική μάζα του εξεταζόμενου, συγκρινόμενη με την κορυφαία οστική μάζα που εμφανίζει ένας νεαρός ενήλικας του ίδιου φύλου. Η τιμή άνω του -1 κρίνεται ως φυσιολογική, τιμή ανάμεσα σε -1 και -2.5 ως οστεοπενία και κάτω του -2.5 ως οστεοπόρωση. Το T-score χρησιμοποιείται για να εκτιμηθεί το ρίσκο εμφάνισης κατάγματος και ουσιαστικά αποτελεί ένα μέτρο της απώλειας της πυκνότητας του οστού μετά την εφηβεία και την αρχή της ενηλικίωσης, όπου παρατηρείται η κορύφωση της οστικής μάζας. Για τον λόγο αυτό, η χρήση της τιμής αυτής στα παιδιά, των οποίων φυσιολογικά η BMD έχει ακόμα περιθώριο αύξησης, θα αποδώσει ένα χαμηλό αποτέλεσμα, υποεκτιμώντας την οστική τους επάρκεια. Η βαθμολογία T λοιπόν δεν είναι η πιο σωστή επιλογή στη χρήση της DXA σε παιδιατρικό πληθυσμό. Συνεπώς, οι ορισμοί της οστεοπενίας και της οστεοπόρωσης όπως αποτυπώνονται από

τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, στηριζόμενοι στο T-score, χρήζουν διαφοροποίησης στον παιδιατρικό πληθυσμό, ειδάλλως οδηγούν σε υπερδιάγνωση της οστεοπενίας. Το Z-score, η βαθμολόγηση της οστικής μάζας συγκρινόμενη με τον μέσο όρο για την ίδια ηλικία, φύλο και ύψος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την καλύτερη εκτίμηση της οστεοπενίας. Τιμές μικρότερες του -2,5, δηλαδή 2,5 σταθερές αποκλίσεις από τον μέσο όρο, αντιστοιχούν σε οστική μάζα οστεοπόρωσης, τιμές ανάμεσα σε -2,5 και -1 σε οστεοπενία ενώ τιμές άνω του -1 σε φυσιολογική οστική πυκνότητα.

Η διάγνωση της οστεοπόρωσης δεν πρέπει να γίνεται μόνο με τα αποτελέσματα της DXA, αλλά θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι περιορισμοί της μεθόδου στα παιδιά. Το DXA είναι μέτρηση μιας επιφάνειας περιοχής και όχι όγκου και η προγνωστική αξία του σε σχέση με τον κίνδυνο κατάγματος ή την κορυφαία οστική πυκνότητα, δεν έχει εξακριβωθεί. Υπάρχουν πολυάριθμα δημοσιευμένα δεδομένα μετρήσεων σε παιδιά, πολλά από τα οποία έχουν αναπτυχθεί χρησιμοποιώντας μια ποικιλία σαρωτών και λογισμικού επεξεργασίας και βασίζονται σε διάφορους συνδυασμούς δημογραφικών και φυσιολογικών μεταβλητών ασθενών. Ανεξάρτητα από τα δεδομένα που υπάρχουν διαθέσιμα σχετικά με την παιδική ηλικία, αυτό που οφείλει ο κλινικός ιατρός είναι να συνδυάζει και τα δύο κριτήρια, της χαμηλής οστικής μάζας και του ιστορικού κατάγματος, για την προσέγγιση της διάγνωσης.

Η DXA ως μέθοδος που χρησιμοποιεί ακτίνες X ενέχει πάντα τον κίνδυνο της καρκινογένεσης για τον εξεταζόμενο. Ωστόσο, αυτός ο κίνδυνος είναι δόσοεξαρτώμενος και δεδομένου ότι η δόση της ακτινοβολίας που χρησιμοποιείται είναι αρκετά χαμηλή, μικρότερη από το 1/10 μιας συνήθους ακτινογραφίας, το όφελος για τον ασθενή είναι μεγαλύτερο από τις πιθανές παρενέργειες της μεθόδου.

3.3. Η μέθοδος QCT

Το μειονέκτημα που εμφανίζει η μέθοδος DXA, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, μπορεί να διορθώσει η ποσοτική υπολογιστική τομογραφία των οστών (quantitative computed tomography, QCT). Η εξέταση αυτή, σε

αντίθεση με τη DXA, εκτιμά την πυκνότητα μετρώντας τον όγκο του οστού, κυρίως των σπονδύλων, χωρίς να επηρεάζεται από το μέγεθος του σκελετού και το ύψος του εξεταζόμενου.

Η εξέταση QCT χρησιμοποιείται για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας του σπογγώδους εσωτερικού μέρους του οστού ξεχωριστά από το φλοιώδες, που σχηματίζει τα εξωτερικά τοιχώματα των σπονδύλων. Το σπογγώδες τμήμα του οστού έχει πιο έντονη μεταβολική δράση από το φλοιώδες και έτσι επηρεάζεται από την ηλικία, τη νόσο και τη θεραπεία νωρίτερα και σε μεγαλύτερο βαθμό από τον φλοιό. Η QCT στο ισχίο παράγει μετρήσεις BMD και T-βαθμολογίες που είναι ισοδύναμες με τις μετρήσεις DXA [29].

Σήμερα υπάρχει και δυνατότητα για τριών διαστάσεων (3D) QCT, το οποίο χρησιμοποιεί την ικανότητα των σαρωτών CT να παρέχουν ταχέως πολλαπλές τομές για να κατασκευαστούν τρισδιάστατες εικόνες του ανθρώπινου σώματος. Χρησιμοποιώντας τρισδιάστατη απεικόνιση, μειώθηκε ουσιαστικά ο χρόνος πρόσληψης εικόνας, βελτιώθηκε η αναπαραγωγικότητα και εξυπηρετείται η ανάλυση πυκνότητας οστών και του ισχίου, πέραν των σπονδύλων [30].

Η μέθοδος QCT επιτρέπει μετρήσεις της BMD στη σπονδυλική στήλη σε ασθενείς με σκολίωση, οι οποίες συνήθως δεν μπορούν να μετρηθούν με απορρόφηση με ακτίνες X διπλής ενέργειας (DXA) [31]. Επιπλέον, με τη QCT αποφεύγονται οι τεχνητά υψηλές μετρήσεις της BMD που μπορεί να συγχέουν τα αποτελέσματα από το DXA σε ασθενείς με αρθρίτιδα, παχύσαρκους και ασθενείς που υποφέρουν από στένωση του δίσκου ή εκφυλιστικές νόσους της σπονδυλικής στήλης [32,33].

Στην σπονδυλική στήλη η οστική πυκνότητα, με τη χρήση της QCT, μετράται σε μονάδες mg/cm^3 . Σύμφωνα με το Αμερικάνικο Κολλέγιο Ακτινολογίας, φυσιολογικές θεωρούνται οι τιμές μεγαλύτερες από $120 \text{ mg}/\text{cm}^3$, κατάσταση οστεοπενίας οι τιμές μεταξύ 80 και $120 \text{ mg}/\text{cm}^3$, ενώ τιμές οστεπόρωσης οι χαμηλότερες από $80 \text{ mg}/\text{cm}^3$ [34].

Η χρήση της QCT μπορεί να επεκταθεί και στην περιφέρεια, μέσω της μεθόδου pQCT (peripheral quantitative computed tomography), η οποία μετρά την πυκνότητα μακρών οστών, όπως του βραχίονα και της κνήμης. Μια άλλη σημαντική ιδιότητα είναι πως η QCT ή pQCT εκτός από την ογκομετρική του

ικανότητα, δύναται να μετρήσει και τη δύναμη του οστού, μέσω του δείκτη φορτίου–καταπόνησης των οστών (stress-strain index) [35]. Παρά τα πλεονεκτήματα της QCT έναντι της DXA, το υψηλό κόστος της πρώτης παραμένει σημαντικός ανασταλτικός παράγοντας στην εδραίωσή της ως εξέταση εκλογής [36].

3.4. Τα αίτια της οστεοπόρωσης

Η οστεοπόρωση στα παιδιά διακρίνεται αιτιολογικά σε πρωτοπαθή και δευτεροπαθή. Στην ομάδα της πρωτοπαθούς ανήκουν, εκτός του συνδρόμου ORPG, νοσήματα γενετικά όπως είναι η ατελής οστεογένεση αλλά και η ιδιοπαθής νεανική οστεοπόρωση.

Η Ατελής Οστεογένεση (ΑΟ) είναι μια σπάνια γενετική διαταραχή του κολλαγόνου τύπου I, με ευρύ φάσμα εκδηλώσεων, οι οποίες ομαδοποιούνται σε 9 τύπους ανάλογα με τη σοβαρότητα, τα ιστολογικά ευρήματα και το υπεύθυνο γονίδιο. Το κοινό σε όλους τους τύπους της ΑΟ είναι τα συχνά κατάγματα, οι κυανοί σκληροί, η ατελής οδοντοφυΐα, η βαρηκοΐα και η υπερεκτασιμότητα των αρθρώσεων. Οι τύποι I έως IV κληρονομούνται με τον αυτοσωμικό επικρατούντα τρόπο και τα γονίδια που σχετίζονται είναι τα *COL1A1* και *COL1A2*. Παρακάτω, στον πίνακα 2, αναγράφονται όλοι οι τύποι που ως τώρα έχουν διακριθεί, ανάλογα με την κλινική εικόνα και το υπεύθυνο γονίδιο [37,38].

Πίνακας 2. Τύποι ατελούς οστεογένεσης.

Τύπος	Κλινική εικόνα	Γονίδιο	Κληρονομικότητα
I	Ήπια	<i>COL1A1</i>	Αυτοσωμική επικρατούσα
II	Σοβαρή, με συχνή θνησιμότητα στην περιγεννητική περίοδο	<i>COL1A1, COL1A2</i>	Αυτοσωμική επικρατούσα
III	Προοδευτική, με παραμορφώσεις του σκελετού	<i>COL1A1, COL1A2</i>	Αυτοσωμική επικρατούσα
IV	Παραμορφωτική, με φυσιολογικό σκληρό χιτώνα	<i>COL1A1, COL1A2</i>	Αυτοσωμική επικρατούσα
V	Ίδια συμπτώματα με τύπο IV, αλλά ιδιαίτερα ιστολογικά ευρήματα (δίκηνη πλέγματος)	<i>IFITM5</i>	Αυτοσωμική επικρατούσα

Τύπος	Κλινική εικόνα	Γονίδιο	Κληρονομικότητα
VI	Ίδια συμπτώματα με τύπο IV, αλλά ιδιαίτερα ιστολογικά ευρήματα (δίκην ιχθύος)	<i>SERPINF1</i>	Αυτοσωμική υπολειπόμενη
VII	Σχετίζεται με πρωτεΐνη που συνδέεται με χόνδρο	<i>CRTAP</i>	Αυτοσωμική υπολειπόμενη
VIII	Σοβαρή, σχετίζεται με την πρωτεΐνη Ieprecan	<i>LEPRE1, P3H1</i>	Αυτοσωμική υπολειπόμενη
IX		<i>PPIB</i>	Αυτοσωμική υπολειπόμενη

Ιδιοπαθής Νεανική Οστεοπόρωση. Είναι μια σπάνια περίπτωση πρωτοπαθούς οστεοπόρωσης, της οποίας η διάγνωση προκύπτει εξ αποκλεισμού άλλων καταστάσεων. Τυπικά εμφανίζεται πριν την εφηβεία ή στην αρχή της και τα χαρακτηριστικά της είναι οστικά άλγη, κυρίως στην οσφύ, δυσκολία βάδισης και κατάγματα συχνότερα των σπονδύλων ή στην περιοχή της μετάφυσης των μακρών οστών. Γενετική αιτία δεν έχει αναγνωρισθεί, ωστόσο υπάρχει δημοσίευση στην οποία οι ασθενείς ήταν φορείς μετάλλαξης του γονιδίου LRP5 [39].

Δευτεροπαθής οστεοπόρωση. Τα αίτια της δευτεροπαθούς εμφάνισης οστεοπόρωσης είναι ποικίλα. Αφορούν σε διαταραχές του μεταβολισμού του ασβεστίου και της βιταμίνης D, αλλά και καταστάσεις που σχετίζονται με αυξημένη οστική επαναρρόφηση [25].

Η μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D, όπως συναντάται στη νευρογενή ανορεξία ή σε δίαιτες αποκλεισμού των γαλακτοκομικών, οδηγεί σε οστά ευαίσθητα στην εμφάνιση καταγμάτων. Η μειωμένη απορρόφηση ασβεστίου και βιταμίνης D σε νοσήματα όπου πάσχει ο βλεννογόνος του εντέρου ή όπου υπάρχει δυσαπορρόφηση λιποδιαλυτών βιταμινών, αποτελεί, επίσης, αιτία οστεοπόρωσης. Επιπρόσθετα, νοσήματα που επηρεάζουν τη δράση της βιταμίνης D, όπως ενδοκρινολογικά ή μεταβολικά ή ακόμη και η μειωμένη κινητικότητα, όπως συμβαίνει στους ασθενείς με εγκεφαλική παράλυση, σχετίζονται αιτιολογικά με μειωμένη οστική μάζα. Τα οστά, κατά τη διάρκεια της παιδική ηλικίας, αναπτύσσονται όχι μόνο σε μήκος αλλά και σε πλάτος, λόγω της αύξησης του περιόστεου, μια διαδικασία η οποία καθοδηγείται από τη μηχανική φόρτιση των οστών, κατά την κίνηση των μυών. Συνεπώς, καταστάσεις που καθλώνουν τον ασθενή σε ακινησία ευνοούν τα κατάγματα στα μακρά οστά. Τέλος, σε χρόνια νοσήματα μπορεί να εκδηλωθούν οστικά άλγη ή κατάγματα, μέσω έκκρισης κυτταροκινών, χρόνιας αγωγής με φάρμακα, όπως τα κορτικοστεροειδή, ή λόγω μειωμένης ηλιοέκθεσης, εξαιτίας πολυήμερων νοσηλειών. Οι κυτταροκίνες καταστέλλουν την τροφοδότηση με οστεοβλάστες και ενεργοποιούν την οστεοκλαστογένεση, επάγοντας έτσι την επαναρρόφηση του ασβεστίου από τον οστίτη ιστό. Σε ενήλικες μάλιστα ασθενείς με νόσο Crohn έχει διαπιστωθεί πως η θεραπεία με infliximab, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του παράγοντα TNF, βελτιώνει την οστική πυκνότητα [40]. Στον πίνακα 3 αναγράφονται οι καταστάσεις που συνδέονται αιτιολογικά με δευτεροπαθή οστεοπόρωση στα παιδιά.

Πίνακας 3. Καταστάσεις που συνδέονται αιτιολογικά με δευτεροπαθή οστεοπόρωση στα παιδιά.

<p>1. Δίαιτες αποκλεισμού γαλακτοκομικών (μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου)</p>	<p>Αλλεργία στην πρωτεΐνη του αγελαδινού γάλακτος Δυσανεξία στη λακτόζη</p>
<p>2. Πτωχή σίτιση (μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου)</p>	<p>Υποσιτισμός Νευρογενής Ανορεξία</p>
<p>3. Σύνδρομα δυσαπορρόφησης (δυσαπορρόφηση λιποδιαλυτών βιταμινών)</p>	<p>Ινοκυστική νόσος Ιδιοπαθής Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου</p>
<p>4. Διαταραχές κυτταροκινών (TNF, ιντερλευκίνες) (μειώνουν τον οστικό σχηματισμό)</p>	<p>Χρόνια φλεγμονώδη νοσήματα: Νεανική Ιδιοπαθής Αρθρίτιδα Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος Δερματομυοσίτιδα Ιδιοπαθής Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου</p>
<p>5. Φάρμακα – Συστηματική χρήση κορτικοστεροειδών (μειώνουν τον οστικό σχηματισμό / αυξάνουν την οστική επαναρρόφηση)</p>	<p>Ρευματολογικά νοσήματα Ιδιοπαθής Φλεγμονώδης Νόσος του Εντέρου Νεφρωσικό σύνδρομο Μυϊκή δυστροφία Duchenne Λευχαιμία Μεταμόσχευση</p>
<p>6. Φάρμακα - Διουρητικά (απώλεια ασβεστίου στα ούρα)</p>	
<p>7. Χημειοθεραπεία / Ακτινοθεραπεία (οστική φθορά)</p>	
<p>8. Κακοήθειες (μετάσταση και διήθηση σε οστά)</p>	

9. Νοσήματα με καθήλωση (μειωμένη κινητικότητα / μειωμένη έκθεση στον ήλιο)	Εγκεφαλική παράλυση Μυϊκή δυστροφία Duchenne Νωτιαία μυϊκή ατροφία Κρανιοεγκεφαλική κάκωση Δισχιδής ράχη
10. Ενδοκρινολογικές διαταραχές	Υπερπαραθυρεοειδισμός Υπογοναδισμός

Στη διαφορική διάγνωση του OPPG συνδρόμου περιλαμβάνονται κυρίως η ατελής οστεογένεση και η σωματική κακοποίηση του παιδιού. Η σωματική κακοποίηση είναι μια κατάσταση που δεν πρέπει να διαλάθει από την κλινική σκέψη καθώς θέτει σε κίνδυνο τη ζωή του παιδιού. Το κοινό κλινικό εύρημα, με το σύνδρομο OPPG, είναι η αιμορραγία του αμφιβληστροειδούς. Στοιχεία που καθοδηγούν τη σκέψη προς την κακοποίηση είναι η εμφάνιση της αιμορραγίας ετερόπλευρα, το αιμάτωμα γύρω από τα μάτια και η μετατόπιση των φακών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. Παθοφυσιολογία του συνδρόμου OPPG

4.1. Ο υποδοχέας LRP5

Η οικογένεια των LDL υποδοχέων περιλαμβάνει πολλά μέλη, με κοινή δομή η οποία απαρτίζεται από ένα εξωκυττάριο και ένα ενδοκυττάριο κομμάτι. Το εξωκυττάριο αποτελείται από μόρια συνδετικά και μοτίβα έλικας τύπου β (b-propellers motifs). Το ενδοκυττάριο φέρει τα υπεύθυνα μόρια για τη σηματοδότηση των ενδοκυττάρων μονοπατιών. Από όλα τα μέλη της οικογένειας των υποδοχέων LDL, οι υποδοχείς 5 και 6 είναι κατά 71% ομόλογοι σε επίπεδο νουκλεοτιδίων και είναι οι κύριοι υποδοχείς που επάγουν την κυτταρική διαφοροποίηση.

Σημαντική μελέτη που δείχνει τη λειτουργική σχέση των δύο υποδοχέων είναι αυτή των Riddle και συν., η οποία κατέδειξε τη συνεργική αλλά και ταυτόχρονα διακριτή σχέση τους [41]. Οι συγγραφείς μελέτησαν τις συνέπειες της απουσίας των υποδοχέων στους οστεοβλάστες σε ποντίκια και έδειξαν πως ο υποδοχέας LRP6 χρειάζεται στα πρώτα στάδια της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών ενώ ο LRP5 απαιτείται για τα μετέπειτα. Συγκεκριμένα, στα ποντίκια όπου ο LRP5 είχε απαλειφθεί από τους οστεοβλάστες, τα οστά εμφανίζονταν υγιή ως τον 2^ο μήνα ζωής. Στη συνέχεια διαπιστώθηκε σταδιακά μειούμενη επιμετάλλωση των οστών και έκπτωση του οστίτη ιστού. Οι Riddle και συν., κατέληξαν στο συμπέρασμα πως το «κενό» του LRP5 αντισταθμιζόταν στην περίοδο της ραγδαίας ιστικής ανάπτυξης από τη δράση του LRP6, δεδομένου ότι οι μελετητές είδαν πως η απουσία του επηρεάζει τη διαμόρφωση των οστικών δοκίδων, με αποτέλεσμα τα συγκεκριμένα ποντίκια να μην καταφέρουν να φτάσουν την κορυφαία δοκιδωτή οστική μάζα. Η απαλοιφή και των δύο υποδοχέων οδήγησε σε πρόωμο θάνατο τα ποντίκια, τα οποία έπασχαν από εκσεσημασμένη οστεοπενία και οι οστεοβλάστες που απομονώθηκαν από τα οστά του κρανίου είχαν διαφοροποιηθεί σε χονδροκύτταρα [41].

Η δράση του υποδοχέα στους οστεοβλάστες έχει δειχθεί και μέσα από την μελέτη των Kato και συν., όπου σε ποντίκια χωρίς τον υποδοχέα παρατηρήθηκε μειωμένη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών [42]. Επίσης,

στα πειραματόζωα της ίδιας μελέτης, διαπιστώθηκε ότι η απόπτωση του ενδοθηλίου της αγγείωσης του ματιού, όπως αυτή επάγεται φυσιολογικά από τα μακροφάγα, είχε διαταραχθεί, με συνέπεια την παραμονή της εμβρυικής αγγείωσης. Είναι σημαντικό να διευκρινισθεί ότι σε *in vitro* μελέτες έχει διαφανεί η συσχέτιση του υποδοχέα LRP8 με την Wnt3a διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, αλλά μέχρι στιγμής δεν υπάρχει καμία αναφορά οστικής νόσου στον άνθρωπο που να συνδέεται με τον υποδοχέα αυτό [43].

α) Μεταλλάξεις του γονιδίου LRP5

Το γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα LRP5 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 11q13, έχει μοριακό βάρος 180 KDa, μέγεθος 100 Kb και αποτελείται από 23 εξόνια, με 4845 βάσεις νουκλεοτιδίων, οι οποίες κωδικοποιούν 1615 αμινοξέα. Το γονίδιο συναντάται ευρέως ανάμεσα στα είδη. Υπάρχει κατά 95% ταύτιση μεταξύ των πρωτεϊνών που κωδικοποιεί το LRP5 γονίδιο στον άνθρωπο και το ποντίκι, καθώς και κατά 40% ανάμεσα στον άνθρωπο και τη Δροσόφιλα. Οι μεταλλάξεις που έχουν ανιχνευθεί ως υπεύθυνες για τον φαινότυπο του OPPG, είναι περισσότερες των 50 και ορισμένες από αυτές αναγράφονται στον πίνακα 4 [7,8].

Ο υποδοχέας εκφράζεται ευρέως σε πολλούς ιστούς, όπως στα οστά, στα μακροφάγα και στο λίπος, ενώ σε μικρότερο βαθμό συναντάται στον εγκέφαλο, στην καρδιά, στο ήπαρ, στην επιδερμίδα και στο πάγκρεας [42,44]. Στα οστά εκφράζεται μέσω των οστεοβλαστών, αλλά καθόλου στους οστεοκλάστες. Αναλόγως της σύνδεσης ή όχι με το Wnt κανάλι, ο υποδοχέας εμφανίζει πολυποίκιλη λειτουργία, όπως η ηπατική κάθαρση των απολιποπρωτεϊνών, των χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών και των χυλομικρών. Επιπλέον, ο LRP5, όπως και οι υπόλοιποι υποδοχείς της ίδιας οικογένειας, συνδέεται αναστρέψιμα στους παράγοντες πήξης VIII και IX. Τέλος, οι LRP υποδοχείς παίζουν ρόλο και στην κυτταρική είσοδο λοιμωδών παραγόντων και τοξινών, όπως της εξοτοξίνης A της ψευδομονάδας, του ρινοϊού και της HIV-1 Tat πρωτεΐνης [45].

Ο υποδοχέας LRP5 συνδέεται με την οστεοπόρωση, ακόμη και μέσω πολυμορφισμών του γονιδίου. Δημοσιευμένες εργασίες καταδεικνύουν τη συσχέτιση ανάμεσα στη διακύμανση της οστικής πυκνότητας σε παιδιά και ενήλικες και τους πολυμορφισμούς του γονιδίου [46]. Σημαντική είναι επίσης η δημοσίευση μιας περίπτωσης νεαρής εγκύου, η οποία έπασχε από θωρακαλγία, στην οποία η ανάλυση του DNA αποκάλυψε διπλή ετεροζυγωτία σε μετάλλαξη του LRP5 γονιδίου [47].

Είναι σημαντικό να τονιστεί πως οι μεταλλάξεις του γονιδίου LRP5 δεν επηρεάζουν τον αριθμό των οστεοκλαστών, αλλά επιδρούν μόνο στην ποσότητα και την ποιότητα του οστεοβλάστη, γεγονός που αποδεικνύει ότι στο σύνδρομο OPPG η διαταραχή της οστικής μάζας σχετίζεται μόνο με τον οστεοβλάστη [46]. Οι Kato και συν., ασχολήθηκαν με τους ομοιοστατικούς ρόλους του υποδοχέα LRP5 και υπέθεσαν ότι εφόσον η διαταραχή του υποδοχέα οδηγεί σε μειωμένο μεταβολισμό λιπιδίων και ηπατική επαναπορρόφησή τους, αυτό επηρεάζει και την απορρόφηση και βιοδιαθεσιμότητα της λιποδιαλυτής βιταμίνης D. Συνεπώς, ένας λόγος που ακόμη και οι ετεροζυγώτες για μεταλλάξεις του LRP5 εμφανίζουν οστεοπενία ή οστεοπόρωση, είναι η μειωμένη λειτουργικότητα της βιταμίνης D [42].

Πίνακας 4. Μεταλλάξεις του γονιδίου LRP5 στο σύνδρομο OPPG.

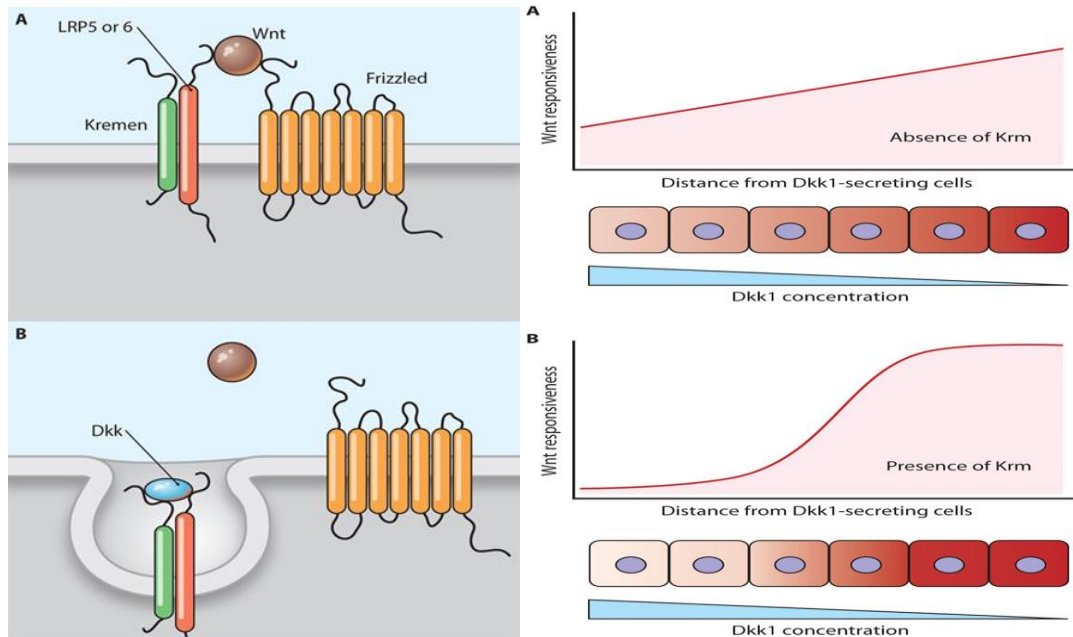
Αντικατάσταση Βάσης	Αλλαγή Αμινοξέος
29GA	W10X
209_210TCAA	F70X
607GA	D203N
765GA	W255X
789CA	C263X
920CT	S307F
1048_1049insGGACA	R334fsX51
1000_1004dupAGGAC	T335fsX385
1058GA	R353Q
1067CT	S356L
1169CA	T390K
1199CA	A400E
1210GA	G404R
1282CT	R428X
1300GA	D434N
1467delG	L489fsX529
1708CT	R570W
1750CT	Q584X
1828GC	G610R
2047GA	D683N
2151_2152insT	D718X718
2197TC	Y733H
2202GA	W734X
2247delG	G749fsX797
3232CT	R1078X
3295GT	D1099Y
3804delA	T1268fsX1438
4105_410delAT	M1369fsX1370
4202GA4586+2TC	G1401Dsplice mutation
4600CT	R1534X

del: Deletion, fs: Frameshift, ins: Insertion

(Levasseur R. Treatment and management of osteoporosis-pseudoglioma syndrome. Expert Rev. Endocrinol.Metab.2008; 3:337-48).

β) Αναστολείς του υποδοχέα LRP5

Υπάρχουν αρκετοί εξωκυττάριοι αναστολείς του υποδοχέα LRP5 και κατ' επέκταση του μονοπατιού που επάγει. Σε αυτούς κυρίως περιλαμβάνονται οι Sclerostin (κωδικοποιούνται από το SOST γονίδιο), η οικογένεια των Dickkopf πρωτεϊνών (Dkk 1-4) και οι Kremen 1 και 2 [48-53]. Οι Sclerostin και Dickkopf εμφανίζουν όμοια ανασταλτική δράση, αφού και οι δύο συνδέονται με την β-έλικα του LRP5 και παρεμποδίζουν το τριμερές σύμπλεγμα Wnt/LRP/Fz. Οι Kremen συνδέονται με τους Dickkopf παράγοντες και τον LRP5 και τον οδηγούν σε ενδοκύτωση, απομακρύνοντάς τον από την κυτταρική μεμβράνη. Το ενδιαφέρον είναι πως σε απουσία των αναστολέων Dickkopf ο παράγοντας Kremen έχει ενισχυτικό ρόλο στο μονοπάτι Wnt (Εικόνα 2). Οι SFRP1-4 αναστέλλουν το Wnt μονοπάτι, εμποδίζοντας τη σύνδεση του LRP5 με τους υποδοχείς Frizzled [54]. Μάλιστα, το γεγονός ότι ο DKK1 υπερ-εκφράζεται στο πολλαπλούν μυέλωμα εξηγεί γιατί σε αυτό το νόσημα η οστεόλυση είναι επικρατούσα του οστικού σχηματισμού.



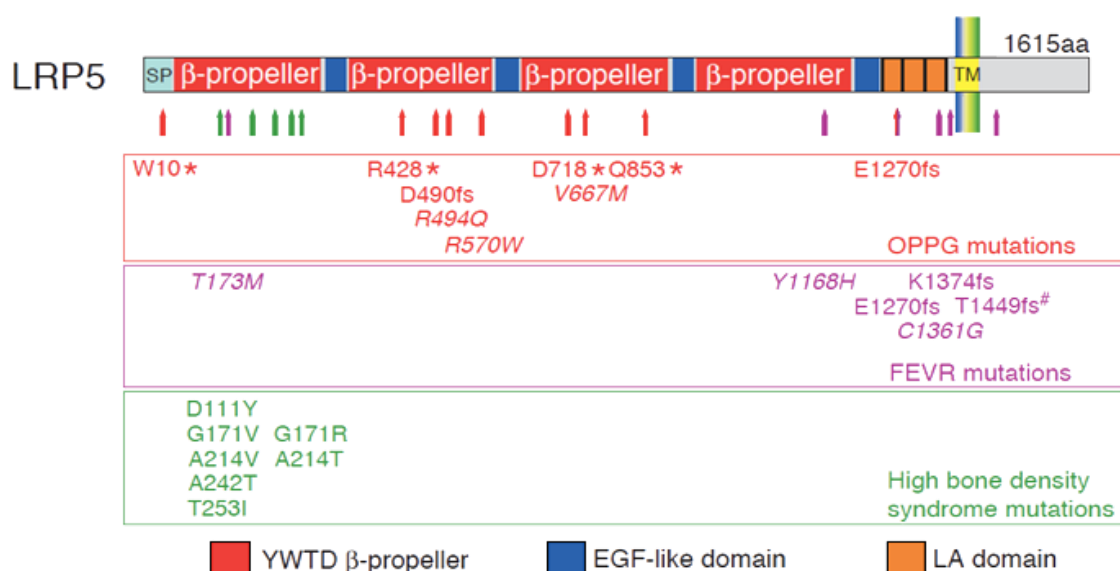
Εικόνα 2. Ο διπλός ρόλος του παράγοντα Kremen. Επί απουσίας του Dkk1 ο Kremen ενισχύει το Wnt σήμα. Η συνύπαρξη με τον παράγοντα Dkk1 οδηγεί σε ισχυρή αναστολή του σήματος.

(Cselenyi CS, Lee E. Context-dependent activation or inhibition of Wnt-beta-catenin signaling by Kremen. *Sci Signal.* 2008;1:pe10).

γ) Η κατάσταση Υψηλής Οστικής Μάζας (High Bone Mass Syndrome-HBM)

Στο φαινότυπο των μεταλλάξεων του LRP5 γονιδίου έχουν περιγραφτεί και περιπτώσεις επικράτησης των οστεοβλαστών έναντι των οστεοκλαστών, με αποτέλεσμα την αυξημένη οστική μάζα. Αυτό συμβαίνει σε μεταλλάξεις ενισχυτικές της δράσης του γονιδίου, όπως είναι η σημειακή μετάλλαξη στο G171v [55] και στο A214v [56], στις οποίες αναστέλλεται η απόπτωση των οστεοβλαστών. Οι μεταλλάξεις στο 1^ο β-propeller οδηγούν σε φαινότυπο HBM, σε αντίθεση με το σύνδρομο OPPG, του οποίου ο φαινότυπος παράγεται από τις μεταλλάξεις στο 2^ο και 3^ο β-propeller (Εικόνα 3). Ο φαινότυπος με υπέρμετρη οστική μάζα HBM είναι μία αυτοσωμική επικρατούσα κατάσταση αυξημένης οστικής πυκνότητας (Z-score στη Σ.Σ. > 5 SD), η οποία αρχικά περιγράφηκε σε δυο αμερικάνικες οικογένειες, Καυκάσιας καταγωγής [57,58].

Οι ασθενείς έχουν αυξημένη οστική σύνθεση, αλλά φυσιολογική οστική επαναρρόφηση και αρχιτεκτονική, καθώς και ασβέστιο ορού, φώσφορο, παραθορμόνη και επίπεδα βιταμίνης D. Τα οστά εμφανίζουν μεγαλύτερο μέγεθος, όγκο και δύναμη, καθώς και αντοχή στον χρόνο. Στις προαναφερθείσες οικογένειες οι ασθενείς έφεραν μια αντικατάσταση της βάσης G από T στο εξώνιο 3 του γονιδίου LRP5, η οποία ήταν απύσασε σε συγγενείς με φυσιολογικό φαινότυπο. Η μετάλλαξη αυτή οδήγούσε σε αντικατάσταση της γλυκίνης από βαλίνη, με αποτέλεσμα την μη κανονική ενεργοποίηση του LRP5-Wnt καναλιού, το οποίο έδειχνε αντίσταση στη DKK1-μεσολαβούμενη αναστολή.



Εικόνα 3. Γονίδιο LRP5 και μεταλλάξεις, συνδεδεμένες με αντίστοιχο φαινότυπο του OPPG, του HBM και της FEVR. Οι μεταλλάξεις που σχετίζονται με τα σύνδρομα OPPG και HBM βρίσκονται σε διαφορετικά β-propeller.

(He X, et al. *LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/beta-catenin signaling: arrows point the way. Development.* 2004; 131:1663-77).

δ) LRP5 και άλλα νοσήματα του οστίτη ιστού

Οστεοαρθρίτιδα. Σάρωση γονιδίων για την ανίχνευση τυχόν υπεύθυνων για τη νόσο της οστεοαρθρίτιδας (OA), έδειξε τελικά συσχέτιση με το χρωμόσωμα 11q12-13 και μάλιστα στην περιοχή του LRP5 γονιδίου. Το εύρημα αυτό ισχυροποιεί την υπόθεση ότι ο υποδοχέας LRP5 συμμετέχει στην παθογένεια και της OA. Πράγματι, μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση συγκεκριμένων πολυμορφισμών του γονιδίου με αυξημένο κίνδυνο για OA [59,60]. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία, δεδομένου ότι ωθεί τη σκέψη σε πιθανή συσχέτιση ανάμεσα στις δύο οντότητες, δηλ. την OA και την οστεοπόρωση.

Ρευματοειδής Αρθρίτιδα. Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (RA) είναι μια ακόμη πάθηση του ερειστικού συστήματος, της οποίας η παθοφυσιολογία παραμένει άγνωστη. Τελευταία, η νόσος έχει συνδεθεί με το κανάλι Wnt. Οι Diavra και συν., έδειξαν ότι ο αναστολέας Dkk-1 διαδραματίζει κύριο ρόλο στην καταστροφή των οστών. Ανάλογες μελέτες κατέληξαν σε παρόμοια συμπεράσματα καταδεικνύοντας την ανασταλτική δράση των SOST και Kremen στη διατήρηση υγιούς οστού στη RA [61].

Ιδιοπαθής Νεανική Οστεοπόρωση. Η Ιδιοπαθής Νεανική Οστεοπόρωση έχει συσχετισθεί με μεταλλάξεις του LRP5. Ο Hartika έχει δημοσιεύσει τρεις ασθενείς, ετερόζυγους για μεταλλάξεις (A29T, P1036Q, frameshiftC913fs). Σε αυτούς οι οφθαλμοί ήταν φυσιολογικοί, κάτι που δείχνει ότι η προσβολή των οφθαλμών προϋποθέτει ομοζυγωτία [39].

ε) LRP5 και μεταβολισμός

Το γονίδιο LRP5 φαίνεται να σχετίζεται με τον μεταβολισμό της γλυκόζης και των λιπιδίων, μέσω του Wnt καναλιού. Το ερέθισμα Wnt3a επάγει την απελευθέρωση ινσουλίνης από τα παγκρεατικά νησίδια και, δεδομένου ότι η ινσουλίνη είναι μιτογόνος για τους οστεοβλάστες, αυτό δείχνει ότι το κανάλι Wnt ρυθμίζει τον οστικό μεταβολισμό και με αυτόν τον τρόπο [62]. Αρκετές μελέτες σάρωσης γονιδίων έχουν δείξει ότι ο LRP5 είναι πιθανώς ο γενετικός τόπος του ΣΔ τύπου 1. Όμως, παρά τις ενδείξεις που υποστηρίζουν την παραπάνω συσχέτιση, η πληροφορία αυτή δεν έχει

τεκμηριωθεί. Ωστόσο, το εύρημα ότι τα ποντίκια με αδρανοποιημένο τον LRP5 εμφανίζουν διαταραγμένο μεταβολισμό υδατανθράκων, στηρίζει την υπόθεση ότι το LRP5 είναι το υπεύθυνο γονίδιο [63,64]. Σε δημοσιευμένη μελέτη έχει περιγραφεί ότι οι ετερόζυγοι για απενεργοποιητικές μεταλλάξεις (loss of function) του LRP5, εμφανίζουν τον φαινότυπο της αυτοσωμικής, επικρατούς οικογενούς υπερχοληστερολαιμίας. Η εξήγηση που δίδεται από τους μελετητές είναι ότι η διαταραχή του LRP5 υποδοχέα οδηγεί σε μειωμένο μεταβολισμό λιπιδίων και ηπατική επαναπορρόφησή τους [42, 65].

στ) LRP5 και κακοήθη νοσήματα

Το γονίδιο και αντίστοιχα ο υποδοχέας LRP5, μέσω του κανονικού Wnt καναλιού, συμμετέχουν στην παθογένεση και πρόγνωση διαφόρων κακοηθών καταστάσεων, όπως το οστεοσάρκωμα και ο καρκίνος του προστάτη, του ορθού και του μαστού [66-70]. Η εκσεσημασμένη έκφραση του Wnt καναλιού είναι γεγονός στο 90% των περιπτώσεων καρκίνου του ορθού και συνδέεται άμεσα με τη συσσώρευση της β -catenin στον πυρήνα. Μάλιστα η έκφραση του γονιδίου LRP5 συνδέεται ως νεος δείκτης με την πιθανότητα μετάστασης και την πρόγνωση επιβίωσης στο οστεοσάρκωμα.

Συγκεκριμένα, ο υποδοχέας όταν ενεργοποιεί το κανάλι Wnt, επάγει την έκφραση ορισμένων γονιδίων, περιλαμβανομένων και εκείνων που εμπλέκονται στην καρκινική μετάσταση και αποκαλούνται μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs). Από μελέτες στο οστεοσάρκωμα έχει φανεί πως στα κύτταρα αυτά ενεργοποιείται ένα πλήθος συνδέσμων και υποδοχέων του καναλιού Wnt και πιθανώς ο υποδοχέας LRP5 αλληλεπιδρά με πολλαπλούς συν-υποδοχείς (π.χ. Frizzleds), μεταδίδοντας μεγαλύτερη ένταση στο Wnt και επάγοντας την υπέρ-διαφοροποίηση των κυττάρων αυτών [71]. Το κανάλι Wnt έχει συσχετιστεί και με το πολλαπλούν μύελωμα, όπου η αυξημένη έκφραση του αναστολέα Dkk1 έχει ως αποτέλεσμα τη μειωμένη δραστηριότητα των οστεοβλαστών, γεγονός που εξηγεί τον σοβαρό οστικό φαινότυπο της νόσου [70].

ζ) Νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις

Κατανοώντας το μονοπάτι LRP5-Wnt-β catenin οι επιστήμονες πλέον αναζητούν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις στα νοσήματα που συνδέονται με χαμηλή οστική μάζα. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η εμπλοκή των φυσικών αναστολέων του Wnt σήματος με βασικό εκπρόσωπο τον παράγοντα SOST. Συγκεκριμένα, anti-sclerostin αντισώματα έχουν δοκιμασθεί σε φαρμακευτικό επίπεδο, με σκοπό να αυξήσουν τον σχηματισμό των οστών, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [72-74]. Η πιο πρόσφατη εφαρμογή των anti-SOST αντισωμάτων έχει σημειωθεί με επιτυχία σε ποντίκια, για την αντιμετώπιση καταστάσεων όπως το OPPG και η ατελής οστεογένεση. Οι Kedlaya και συν. έδειξαν ότι χορηγώντας σε ποντίκια χωρίς LRP5 γονίδιο anti-SOST αντισώματα επί τρεις εβδομάδες η ανταπόκριση ήταν θετική, με αύξηση στην οστική πυκνότητα και στον οστικό σχηματισμό [75]. Οι μελετητές θεωρούν ότι σε αυτήν τη θετική απάντηση παίζει ίσως ρόλο και η θετική δράση του LRP6 υποδοχέα. Ακόμη και στην ατελή οστεογένεση, όπου το κολλαγόνο που παράγεται είναι ανεπαρκές, με συνέπεια τον σχηματισμό εύθραυστων οστών, η θεραπεία με anti-SOST αντισώματα επί 6 εβδομάδες έδρασε αναβολικά, με ενδυνάμωση των οστών [76]. Η προσέγγιση μέσω των anti-SOST αντισωμάτων είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος, αρκεί να εστιάζεται, όπως και κάθε άλλος νέος φαρμακευτικός παράγοντας, στον έλεγχο του οστίτη ιστού, δεδομένου ότι το Wnt μονοπάτι είναι παρόν σχεδόν σε όλα τα κύτταρα του σώματος. Το πλεονέκτημα της χρήσης των anti-SOST, όπως δείχνουν οι μελέτες ως τώρα, είναι ακριβώς αυτή η εξειδικευμένη έκφρασή τους στα οστά.

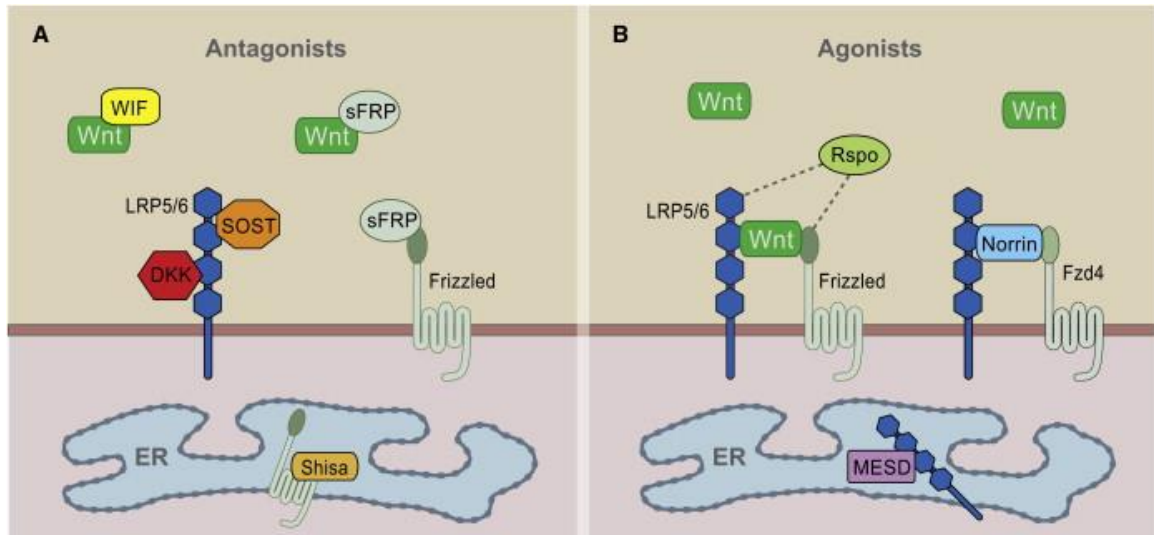
4.2. Το σήμα Wnt

Για τη μορφοποίηση ενός πολυκυτταρικού οργανισμού είναι απαραίτητο να συντονιστούν δύο διαφορετικές, αλλά συμπληρωματικές διαδικασίες, η αύξηση και η σχηματοποίηση. Οι διαδικασίες αυτές διεκπεραιώνονται χάρη στην κυτταρική σηματοδότηση και την κυτταρική εξειδίκευση. Η σηματοδότηση στα κύτταρα μεσολαβείται από μορφογόνα πρωτεϊνικά μόρια. Ένα από τα

κύρια μορφογόνα είναι το Wnt το οποίο διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση και την ιστική ανάπτυξη, τόσο που η διαταραχή του συνδέεται με νοσήματα και σύνδρομα, που περιλαμβάνουν συγγενείς δυσμορφίες, οστεοπόρωση και κακοήθειες [77,78].

Το Wnt σήμα υπάρχει σε όλα τα θηλαστικά και αποτελείται από 19 Wnt ligands, τα οποία είναι πρωτεΐνες πλούσιες σε κυστεΐνη, που αποτελούνται από 400 περίπου αμινοξέα η καθεμία. Το Wnt3a του ποντικού αντιπροσωπεύει το πρώτο που απομονώθηκε και χαρακτηρίστηκε μοριακά ως Wnt [79]. Το Wnt σήμα διακρίνεται στο κανονικό σήμα, το οποίο διαβιβάζει τις πληροφορίες του στον πυρήνα του κυττάρου, μέσω της έκφρασης της β -catenin και στο μη κανονικό, όπου η β -catenin απουσιάζει.

Δύο οικογένειες υποδοχέων παίζουν σημαντικό ρόλο στη σηματοδότηση του κανονικού Wnt σήματος. Οι δύο αυτές οικογένειες είναι των Fz διαμεμβρανικών υποδοχέων και των LRP5/6 υποδοχέων. Η πρώτη οικογένεια μπορεί να ενεργοποιήσει και το μη κανονικό, το ανεξάρτητο από τη β -catenin σήμα, ενώ αντίθετα ο υποδοχέας LRP6 θεωρείται πως ανταγωνίζεται το μονοπάτι αυτό [80-82]. Από την τελευταία οικογένεια υποδοχέων μάλιστα, ο LRP6 είναι υπεύθυνος για την εμβρυογένεση και ο LRP5 για την ομοιόσταση, ειδικά των οστών. Το Wnt σήμα και συγκεκριμένα το εξαρτώμενο από τη β -catenin, έγινε κατανοητό αρχικά στη μύγα *Drosophila*, στα ποντίκια και τελευταία στον άνθρωπο. Στην πορεία του προς το κύτταρο συναντά πρωτεΐνες, οι οποίες παίζουν ρόλο είτε ανταγωνιστή είτε αγωνιστή της έκφρασης του σήματος (Εικόνα 4). Από τους ανταγωνιστές, οι SOST και DKK1 είναι ειδικοί έναντι του κανονικού σήματος. Αυτοί ανταγωνίζονται την οικογένεια των LRP και μάλιστα εμφανίζουν ερευνητικό και κλινικό ενδιαφέρον. Όπως προαναφέρθηκε, τα αντισώματα έναντι του SOST υπόσχονται την αύξηση της οστικής μάζας, ενώ αντισώματα έναντι του DKK1 ήδη έχουν δείξει θεραπευτική δράση σε ποντίκια με πολλαπλούν μυέλωμα [83] και σε περιπτώσεις οστεοαρθρίτιδας ενηλίκων [84].



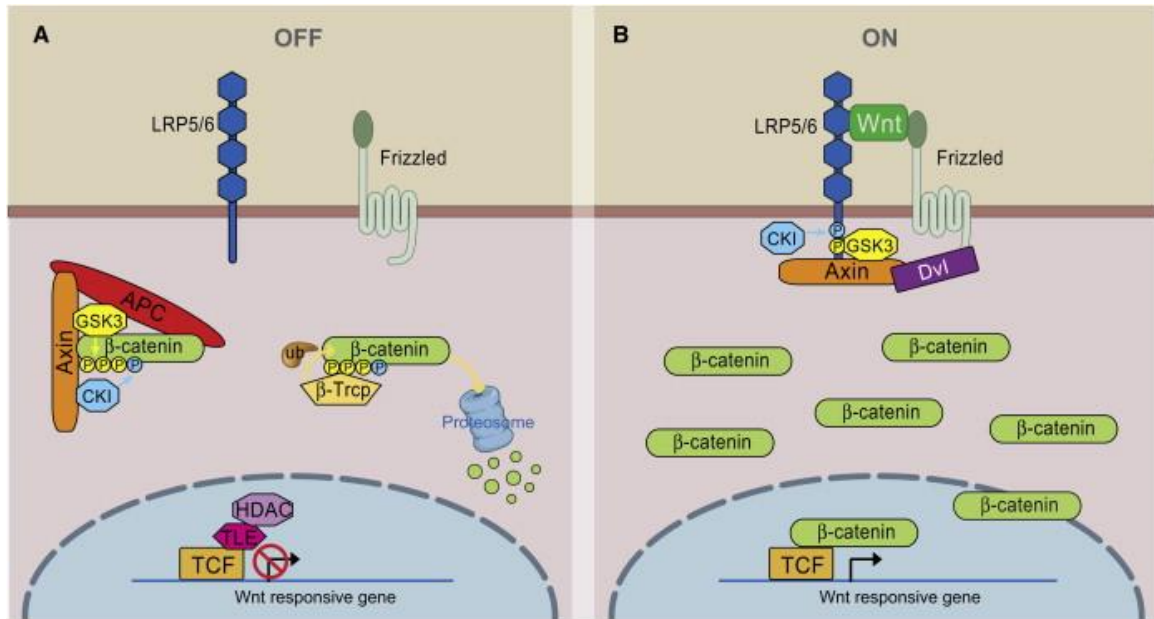
Εικόνα 4. Αγωνιστές και Ανταγωνιστές του Wnt σήματος.

(MacDonald BT. *Wnt/β-Catenin Signaling: Components, Mechanisms, and Diseases*. *Dev Cell*. 2009; 17: 9–26).

Στην διαδρομή του Wnt σήματος σημαντική θέση κατέχει το σύμπλεγμα Axin, το οποίο είναι ένα σύνολο από δομικές πρωτεΐνες-ρυθμιστές ενδοκυττάρων μονοπατιών. Οι πρωτεΐνες αυτές είναι:

- 1) η APC (tumor suppressor Adenomatous Polyposis Coli),
- 2) η CK1(caseine kinase1) και
- 3) η GSK3 (glucogen synthase kinase 3).

Επί απουσίας του Wnt το σύμπλεγμα Axin δεσμεύει τη β-catenin, τη φωσφορυλιώνει και την καθιστά αδρανή, εμποδίζοντας τη να φτάσει στον πυρήνα και να εκφραστεί η γονιδιακή πληροφορία. Όταν το ερέθισμα από το Wnt συνδεθεί στους υποδοχείς Fz και LRP5/6, τότε ο Fz προσλαμβάνει την πρωτεΐνη Dishevelled (Dvl) με αποτέλεσμα ο LRP5 να φωσφορυλιωθεί και να ενεργοποιηθεί. Η ενεργοποίηση του LRP5 οδηγεί στη σύνδεσή του με το σύμπλεγμα Axin, την αποφωσφορυλίωση των μορίων που το αποτελούν και τελικώς στην αποδόμησή του και την απελευθέρωση της β-catenin. Ως ελεύθερη πλέον μπορεί να μετακινηθεί στο κυτταρόπλασμα και να φτάσει στον πυρήνα, όπου θα συνδεθεί με τους παραγοντες TCF/LEF και θα αποτελέσει μεταφραστικό συμπράγοντα (Εικόνα 5).



Εικόνα 5. Το συνδεδεμένο με τη β-catenin Wnt σήμα.

(MacDonald BT. *Wnt/β-Catenin Signaling: Components, Mechanisms, and Diseases*. *Dev Cell*. 2009; 17: 9–26).

Το σήμα Wnt, λοιπόν, επάγει την κυτταρική διαφοροποίηση, μέσω αυτού του καταρράκτη φωσφορυλιώσεων και τελικώς μέσω της εισόδου της β-catenin στον πυρήνα. Συνεπώς, οποιαδήποτε διαταραχή ή παρέκκλιση από αυτή τη σειρά αντιδράσεων (π.χ. η μετάλλαξη κάποιου μορίου) παρεμποδίζει την εύρυθμη λειτουργία του ιστού και μπορεί να οδηγήσει ακόμη και σε κακοήθειες. Σχετικά με το τελευταίο, μεταλλάξεις που προστατεύουν το μόριο της β-catenin από τη φωσφορυλίωσή της, λειτουργούν ως «gain-of-function» μεταλλάξεις και έχουν ανιχνευθεί σε νεοπλασίες του δέρματος, του εντέρου, του προστάτη, του ήπατος και των ωοθηκών. Συγκεκριμένα, μεταλλάξεις της β-catenin στις θέσεις της σερίνης ή της θρεονίνης, έχουν ως αποτέλεσμα την μη φωσφορυλίωση του μορίου και συνεπώς την αποσταθεροποίηση του συμπλέγματος Axin. Με αυτόν τον μηχανισμό η β-catenin, ακόμη και επί απουσίας του Wnt σήματος, είναι ελεύθερη στο κυτταρόπλασμα και τελικώς εκφράζει την πληροφορία της στον πυρήνα, παρά το ότι δεν υπάρχει η αντίστοιχη συγχρονισμένη εντολή από τις πρωτεΐνες του Wnt. Παράδειγμα κακοήθειας που στηρίζεται παθοφυσιολογικά σε αυτόν τον μηχανισμό αποτελεί το νεφροβλάστωμα Wilms. Η πρωτεΐνη WTX (Wilms Tumor gene

στο X-χρωμόσωμα) διαδραματίζει ρόλο στην αποδόμηση (degradation) της β-catenin, μέσω της φωσφορυλίωσης και άρα «loss-of-function» μεταλλάξεις της WTX, οδηγούν στην ενεργοποίηση της β-catenin και την υπερ-έκφραση της πληροφορίας της [85]. Η συσχέτιση του Wnt με την ανάπτυξη όγκων έχει επιβεβαιωθεί και σε μελέτη με ποντίκια, όπου η έκτοπη ενεργοποίησή του στους μαζικούς αδένες, οδήγησε σε εξεργασία αυτών [86].

Ο τρόπος με τον οποίο η β-catenin εισέρχεται μέσα στον πυρήνα δεν είναι ακόμη γνωστός. Παρά το γεγονός ότι το σύμπλεγμα Axin εμπλουτίζει το κυτταρόπλασμα με β-catenin και παρά τη συναγωνιστική δράση ορισμένων παραγόντων στον πυρήνα, δεν φαίνεται αυτοί οι παράγοντες να επιδρούν στην μετακίνηση του μορίου ενδοπυρηνικά, αλλά μόνο στη διατήρηση επαρκών επιπέδων του στο κυτόπλασμα [87]. Ωστόσο, πρόσφατη μελέτη έδειξε την πολύπτυχη αξία του Wnt ερεθίσματος, αφού πρόέκυψε πως το ερέθισμα αυτό αποτελεί τον καθοριστικό παράγοντα για τη μετακίνηση της β-catenin μέσα στον πυρήνα, μέσω ενεργοποίησης της Rac1 GTPase [88]. Οι Wu και συν., έδειξαν ότι η β-catenin δημιουργεί ένα σύμπλοκο μαζί με τις κινάσες Rac1 και JNK2, οι οποίες μέσα από τη διαδικασία της φωσφορυλίωσης, προωθούν την μετακίνηση της β-catenin στον πυρήνα [88].

Η αξία του Wnt σήματος και ειδικότερα του εξαρτώμενου από τη β-catenin (κανονικό Wnt σήμα) φαίνεται όχι μόνο από τις επιπτώσεις της διαταραχής αυτού στον οργανισμό, αλλά και από μελέτες που αποδεικνύουν την άμεση του σύνδεση με φυσιολογικά στάδια της ιστικής ανάπτυξης. Οι Guo και συν. χρησιμοποίησαν ποντίκια στα οποία είχαν τοποθετήσει “markers” του κανονικού σήματος και τελικώς είδαν ότι το “αποτύπωμα” αυτών ήταν επιλεκτικά αυξημένο στις αναπτυσσόμενες αρθρώσεις και στο κρανίο των ποντικών, όπου οι οστεοβλάστες δείχνουν έντονη διαφοροποίηση [89]. Ένα ακόμη σημαντικό εύρημα στο οποίο κατέληξαν οι ερευνητές είναι η ιδιότητα του Wnt σήματος να καθορίζει την κατεύθυνση της κυτταρικής λειτουργίας. Οι Guo και συν., έδειξαν ότι τα μεσεγχυματικά προγονικά κύτταρα εμφανίζουν διπολικό χαρακτήρα και υπεύθυνος παράγοντας για αυτό είναι το ερέθισμα του Wnt. Αυτό σημαίνει πως ανάλογα με τις ανάγκες του εν εξελίξει ιστού, διαφοροποιούνται σε αντίστοιχα κύτταρα, βάσει της έκφρασης της β-catenin και, έτσι, στα σημεία των χόνδρων όπου υπάρχει ανάγκη για ανάπτυξη χονδροκυττάρων, το σήμα βρέθηκε μειωμένο, ενώ στη μεμβράνη του οστού

και τις αρθρώσεις, το Wnt ήταν ενεργό και αυξημένο και αυτό συνδεόταν με την παραγωγή οστεοβλαστών στα σημεία αυτά και την αναστολή της διαφοροποίησης σε χονδροκύτταρα [90]. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι το κανονικό σήμα διαδραματίζει κριτικό ρόλο στην πολικότητα των κύτταρων, δηλαδή στην κατεύθυνση προς την οποία θα διαιρεθεί και θα ωριμάσει το μεσεγχυματικό κύτταρο [89-91].

Στον πίνακα 5 αναγράφονται νόσοι και σύνδρομα στον άνθρωπο σχετιζόμενα με μεταλλάξεις στα συστατικά μέρη του Wnt καναλιού.

Πίνακας 5. Νόσοι και σύνδρομα στον άνθρωπο σχετιζόμενα με μεταλλάξεις στα συστατικά μέρη του Wnt καναλιού.

Γονίδιο	Λειτουργία	Νόσος	Αναφορές
PORCN	+ Wnt lipid modification/processing	LOF X-linked Focal dermal hypoplasia	(Grzeschik et al., 2007; Wang et al., 2007)
Wnt3	+ Ligands for Wnt/ β -catenin signaling	LOF Tetra-amelia	(Niemann et al., 2004)
Wnt4		LOF Mullerian-duct regression and virilization	(Biason-Lauber et al., 2004)
Wnt5b		Type II diabetes	(Kanazawa et al., 2004)
Wnt7a		LOF Fuhrmann syndrome	(Woods et al., 2006)
Wnt10a		LOF Odonto-oncho-dermal hypoplasia	(Adaimy et al., 2007)
Wnt10b		LOF Obesity	(Christodoulides et al., 2006)
RSPO1	+ Wnt agonists	LOF XX sex reversal with palmoplantar hyperkeratosis	(Parma et al., 2006)

Γονίδιο	Λειτουργία	Νόσος	Αναφορές
SOST	- LRP5/6 antagonist predominantly expressed in osteocytes	LOF High bone mass, Sclerosteosis, Van Buchem disease	(Balemans et al., 2001; Balemans et al., 2002; Brunkow et al., 2001)
Norrin (NDP)	+ Specific ligand for FZD4 and LRP5 during eye development	LOF Familial Exudative vitreoretinopathy	(Xu et al., 2004)
LRP5	+ Wnt co-receptors	GOF Hyperparathyroid tumors (alt. splicing)	(Bjorklund et al., 2007; Boyden et al., 2002; Gong et al., 2001; Little et al., 2002; Toomes et al., 2004)
		GOF High bone mass	
		LOF Osteoporosis-pseudoglioma	
		LOF FEVR eye vascular defects	
LRP6		LOF Early coronary disease and osteoporosis	(Mani et al., 2007)

Γονίδιο	Λειτουργία	Νόσος	Αναφορές
FZD4	+ Wnt receptor	LOF Familial Exudative vitreoretinopathy	(Robitaille et al., 2002)
Axin1	- Facilitates β -catenin degradation, <i>Tumor suppressor</i>	LOF Caudal duplication, Cancer	(Oates et al., 2006; Satoh et al., 2000)
Axin2		LOF Tooth agenesis, Cancer	(Lammi et al., 2004; Liu et al., 2000)
APC	- Facilitates β -catenin degradation, <i>Tumor suppressor</i>	LOF Familial adenomatous polyposis, Cancer	(Kinzler et al., 1991; Nishisho et al., 1991)
WTX	- Facilitates β -catenin degradation, <i>Tumor suppressor</i>	LO Wilms tumor	(Major et al., 2007; Rivera et al., 2007)
β -catenin(CTNNB1)	+ Primary Wnt effector, <i>Oncogene</i>	GOF Cancer	(Korinek et al., 1997; Morin et al., 1997)

Γονίδιο	Λειτουργία	Νόσος	Αναφορές
TCF4 (TCF7L2)	+ β-catenin transcriptional partner	(?) Type II diabetes	(Florez et al., 2006; Grant et al., 2006)

LOF: loss-of-function; GOF: gain-of-function

4.3. Ο ρόλος της σεροτονίνης

Στην πρωτοπαθή αιτιολογία της οστεοπόρωσης υπάρχει πλούσια βιβλιογραφία αναφορικά με τη δράση της σεροτονίνης σε σχέση με τη δράση του υποδοχέα LRP5. Η σεροτονίνη είναι ένα μόριο με πολλαπλές δράσεις, αρκετές από τις οποίες έχουν ανακαλυφθεί μόλις τα τελευταία έτη. Από την ανακάλυψή της, περίπου 80 χρόνια πριν, είχε προκαλέσει ενδιαφέρον με τον ρόλο της ως νευροδιαβιβαστής στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), αλλά και με τις δράσεις της εκτός του ΚΝΣ.

Οι Erspamer και Asero, το 1937, ανακάλυψαν μια πρωτεΐνη η οποία προερχόταν από τα κύτταρα εντεροχρωμαφίνης του δωδεκαδακτύλου και ονομάστηκε εντεραμίνη. Έντεκα χρόνια αργότερα οι Rappoport και συν. ανακάλυψαν έναν παράγοντα στον ορό (serum, sero-), την 5-υδροξυ-τρυπταμίνη (5-HT) με αγγειοσυσταλτικές (-tonin) ιδιότητες, τον οποίο ονόμασαν σεροτονίνη. Τελικά, το 1952, η εντεραμίνη και η 5-HT διαπιστώθηκε ότι ήταν το ίδιο μόριο, το οποίο εντοπίστηκε και στον εγκέφαλο των θηλαστικών από τους Twarog και Page. Το μόριο αυτό βρέθηκε να είναι υπεύθυνο για σημαντικές λειτουργίες του νευρικού συστήματος, αποτελώντας όμως στο ΚΝΣ μόλις το 5% του συνολικού ποσού στον οργανισμό, ενώ το υπόλοιπο 95% βρίσκεται στο αίμα και δρα σε περιφερικούς ιστούς [92].

Η σύνθεση της σεροτονίνης. Η σεροτονίνη παράγεται μέσα από δύο στάδια μετατροπής της τρυπτοφάνης. Αρχικά η τρυπτοφάνη υδροξυλιώνεται σε 5-υδροξυ-τρυπτοφάνη (5HTP), από το ένζυμο υδροξυλάση της

τρυπτοφάνης και στη συνέχεια μετατρέπεται στο μόριο της σεροτονίνης 5-HT, χάρη στη δράση ενός L-αμινοξέος αποκαρβοξυλάσης (AADC). Η τρυπτοφάνη λοιπόν αποτελεί τον δείκτη σύνθεσης της σεροτονίνης.

Υπάρχουν δύο γονίδια που κωδικοποιούν την τρυπτοφάνη, το TPH1 και το TPH2. Το πρώτο εκφράζεται αποκλειστικά στα κύτταρα του 12δακτύλου και ευθύνεται για την παραγωγή της περιφερικής σεροτονίνης, η οποία όπως αναφέρθηκε παραπάνω αποτελεί το 95% της συνολικής σεροτονίνης. Η σύνθεση της περιφερικής σεροτονίνης αποτελεί σχεδόν αποκλειστική διαδικασία για το 12δάκτυλο, αφού η έκφραση του TPH1 σε άλλους ιστούς είναι έως και 1000 φορές πιο χαμηλή. Το TPH2 είναι υπεύθυνο μόνο για την κεντρική σεροτονίνη. Συνεπώς, η υδροξυλάση της τρυπτοφάνης υπάρχει κεντρικά και περιφερικά, ενώ υπάρχουν δύο ισομορφές του ενζύμου, η Tph1 (κύρια στο 12δακτυλο) και η Tph2 (μόνο στον εγκέφαλο) [92-95].

Βιολογικές λειτουργίες της σεροτονίνης. Η σεροτονίνη δεν διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και συνεπώς είναι μόριο με διαφορετικές λειτουργίες ανάλογα με τη θέση της σύνθεσής του. Σχετικά με τη δράση της στο νευρικό σύστημα, είναι γνωστό πως επηρεάζει τον ψυχισμό, τη συμπεριφορά και τις γνωστικές λειτουργίες του ατόμου, σε αντίθεση με τη δράση της περιφερικής μορφής της η οποία είναι ακόμη υπό διερεύνηση [95].

Χαρακτηριστική είναι η αντικαταθλιπτική δράση της κεντρικής σεροτονίνης, καθώς και η φαρμακευτική της προσέγγιση. Οι εκλεκτικοί αναστολείς επαναπρόσληψης της σεροτονίνης είναι δημοφιλείς στη θεραπεία της κατάθλιψης, επάγοντας την παραμονή της σεροτονίνης για περισσότερο χρονικό διάστημα στο χάσμα των συνάψεων και έτσι ενισχύεται η δράση της, με αποτέλεσμα να μειώνονται τα καταθλιπτικά συμπτώματα.

Η σεροτονίνη στην περιφέρεια δρα με τρόπο παρακρινή. Φαίνεται ότι δρα μεταγευματικά, με αύξηση του περισταλτισμού του εντέρου και της έκκρισης βλέννης. Ωστόσο, μετά τη σύνθεσή της στο έντερο, περνά στην κυκλοφορία και μεταφέρεται με τα αιμοπετάλια, όπου αποθηκεύεται σε κοκκία από τα οποία απελευθερώνεται όποτε χρειαστεί. Ένα μικρό ποσοστό, περίπου 5%, δεν μεταφέρεται με τα αιμοπετάλια και κυκλοφορεί ελεύθερη στον ορό. Η δράση της τελευταίας δεν είναι καλά γνωστή, ωστόσο πιστεύεται

ότι δρα μέσω υποδοχέων που έχουν βρεθεί σε αλλά κύτταρα, σε απομακρυσμένους ιστούς, παίζοντας πλέον τον ρόλο της ορμόνης.

Η σεροτονίνη ως ρυθμιστής της οστικής μάζας. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι μελέτες που έχουν επικεντρωθεί στον ρόλο της σεροτονίνης στην ωρίμανση του οστίτη ιστού, οι οποίες δίνουν μια διαφορετική προσέγγιση στην παθοφυσιολογία των οστικών διαταραχών. Το μόριο της σεροτονίνης φαίνεται πως επηρεάζει, μέσω των επιπέδων του στον ορό, τη λεπτή ισορροπία ανάμεσα στη δράση των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών, στους οποίους μάλιστα έχουν βρεθεί και αντίστοιχοι υποδοχείς.

Οι μελέτες που αφορούν τη δράση της σεροτονίνης στα οστά είναι πολυάριθμες και ορισμένες αντιφατικές. Οι Karsenty και Gerard χρησιμοποίησαν ποντίκια με μετάλλαξη στο γονίδιο που κωδικοποιεί την τρυπτοφάνη για την εντερική σεροτονίνη (*Tph1*), κάποια εξ αυτών με μεταλλάξεις απώλειας της λειτουργικότητας και κάποια με ενισχυτική μετάλλαξη της λειτουργίας του [96]. Συγκρίνοντας τις οστικές μάζες στις δύο αυτές ομάδες ποντικών, κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η σεροτονίνη είναι ένας ισχυρός αναστολέας της διαφοροποίησης του οστεοβλάστη, χωρίς να παρεμβαίνει στο σκέλος της δράσης του οστεοκλάστη. Επιπρόσθετα, οι ερευνητές έδειξαν πως η σύνθεση της σεροτονίνης στο έντερο από την τρυπτοφάνη ρυθμίζεται από τον υποδοχέα LRP5, κάτι που οδήγησε στην υπόθεση πως ο υποδοχέας LRP5 δεν ρυθμίζει την οστεοποίηση μέσω της δράσης του ευθέως στον οστεοβλάστη, αλλά εμμέσως χάρη στη ρύθμιση της παραγωγής σεροτονίνης. Σε παρόμοια μελέτη των Yada και συν., φάνηκε πως στα ποντίκια που είχε αδρανοποιηθεί το LRP5 ειδικά από το έντερο, το TPH1 ήταν περισσότερο εκφρασμένο και η σεροτονίνη ήταν αυξημένη, ενώ η οστική μάζα χαμηλή [97]. Αντίθετα, σε εκείνα που η αδρανοποίηση του γονιδίου είχε λάβει χώρα μόνο στους οστεοβλάστες, επιπτώσεις στο TPH1, τη σεροτονίνη και την οστική μάζα δεν παρατηρήθηκαν. Το εύρημα αυτό καταδεικνύει, εκτός από τη σχέση του υποδοχέα LRP5 με την έκφραση του γονιδίου της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης και τη σύνθεση της σεροτονίνης, τη δράση του LRP5 στα οστά έμμεσα μέσω της σεροτονίνης και όχι άμεσα στον οστεοβλάστη [96-99].

Από την άλλη, οι Cui και συν., απενεργοποίησαν το γονίδιο LRP5 μόνο στα κύτταρα του εντέρου ποντικών και είδαν ότι δεν υπήρχε καμία επίδραση στην οστική μάζα. Με αυτό το εύρημα κατέληξαν στο συμπέρασμα πως η οστική μάζα ρυθμίζεται μέσα από το μονοπάτι Wnt και όχι μέσω της δράσης της σεροτονίνης στα οστεοκύτταρα, όπως έδειξαν οι Karsenty και Yadav [96,100]. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και μέσω της απενεργοποίησης της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης σε ποντίκια, όπου είδαν πως δεν επηρεάστηκε αρνητικά η οστική μάζα έως την ηλικία των 4 μηνών. Σε μελέτη των Chabbi-Achengli και συν., όπου χρησιμοποίησαν ποντίκια με απενεργοποιημένο το ένζυμο της υδροξυλάσης της τρυπτοφάνης, διατυπώθηκε η υπόθεση ότι υπάρχει ένα σύστημα σεροτονίνης που εκφράζεται τοπικά στους οστεοκλάστες και ρυθμίζει τον οστικό σχηματισμό [101]. Οι συγγραφείς μάλιστα παρατήρησαν μια αυξημένη οστική πυκνότητα στα ποντίκια αυτά, η οποία όμως επιστρέφει σε φυσιολογικά επίπεδα στην ενηλικίωση, κάτι που είχαν σημειώσει και ο Cui και συν., στη δική τους μελέτη. Στην μελέτη των Cui και συν., όπου είχε απενεργοποιηθεί η υδροξυλάση της τρυπτοφάνης, η σύνθεση της σεροτονίνης γινόταν από τους οστεοκλάστες και μπορούσε να δράσει στα οστεοκύτταρα τοπικά [100].

Στα παραπάνω αντιφατικά αποτελέσματα, ήρθε να προστεθεί η μελέτη των Yada και συν., [99], όπου στα ποντίκια με μετάλλαξη απώλειας της λειτουργικότητας, εφαρμόστηκε δίαιτα χαμηλή σε τρυπτοφάνη. Συνέπεια ήταν η μείωση της σεροτονίνης, ενώ αντίθετα η οστική μάζα αυξήθηκε. Αυτό το εύρημα δείχνει πόσο ισχυρή είναι η δράση της σεροτονίνης στον οστικό ιστό, ακόμη και υπό την απουσία του υποδοχέα LRP5. Αυτό οδήγησε στη σκέψη ότι η σεροτονίνη δρα στον οστεοβλάστη ευθέως και μάλιστα ταυτοποιήθηκαν τρεις υποδοχείς της στην μεμβράνη του, οι 5-HTR1B, 2A και 2B. Ωστόσο, οι επιστήμονες είδαν ότι η απόσβεση των υποδοχέων είχε μεταβολές στον φαινότυπο, μόνο όταν η απόσβεση αφορούσε στον 5-HTR1B, με αποτέλεσμα την υψηλή οστική μάζα. Τα πειράματά τους έδειξαν ότι η πρόσδεση της σεροτονίνης στους υποδοχείς των οστεοβλαστών μειώνει την φωσφορυλίωση μεταγραφικών παραγόντων και κατά συνέπεια την οστική διαφοροποίηση.

Επιβεβαίωση της παραπάνω παρατήρησης προήλθε και από πείραμα στο οποίο σε ποντίκια με εγκατεστημένη οστεοπόρωση, δόθηκε ο παράγοντας LP533401, ο οποίος μειώνει τα επίπεδα σεροτονίνης στον ορό,

αναστέλλοντας τη δράση της τρυπτοφάνης στο έντερο. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση της οστικής μάζας, υποδεικνύοντας ένα σημαντικό ρόλο για τη σεροτονίνη ως μοριακό φρένο για την οστεοβλαστογένεση. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρήθηκαν ακόμη και σε μικρή μείωση της σεροτονίνης (λιγότερο από 50%) χωρίς να επηρεάζονται οι άλλες περιφερικές ιδιότητές της, όπως π.χ. η αιμόσταση. Αυτές οι μελέτες οδηγούν σε μια νέα θεώρηση για την ύπαρξη ενός άγνωστου έως τώρα άξονα εντέρου-οστού με σημαντικές βιολογικές ιδιότητες [98].

Ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος της σεροτονίνης που παράγεται στον εγκέφαλο, η οποία εμφανίζει αντίθετη δράση με εκείνη της περιφερικής. Συγκεκριμένα, η κεντρική σεροτονίνη μειώνει τον τόνο του συμπαθητικού συστήματος και αυτό εκφράζεται στα κύτταρα ως μειωμένη σηματοδότηση μέσω του β2-υποδοχέα. Ο υποδοχέας αυτός μειώνει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και αυξάνει την οστική απορρόφηση μέσω ενός μονοπατιού που επάγει τη δράση του RANKL, το οποίο με τη σειρά του ενεργοποιεί τους οστεοκλάστες. Έτσι, η αναστολή του συμπαθητικού, από την κεντρικά παραγόμενη σεροτονίνη, αυξάνει την οστεοβλαστογένεση και μειώνει την οστική επαναρρόφηση. Η κεντρική σεροτονίνη λοιπόν, σε αντίθεση με την περιφερική, δρώντας και στα δύο σκέλη του οστικού «remodeling», ευοδώνει την οστική μάζα.

Τα παραπάνω ευρήματα αφορούν σε μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε ποντίκια. Ωστόσο, η σεροτονίνη δρα με ανάλογο τρόπο και στον άνθρωπο, όπως καταδεικνύουν αντίστοιχες μελέτες. Για παράδειγμα, σε παιδιά που πάσχουν από αυτισμό, στα οποία έχει δειχθεί πως παρουσιάζουν αυξημένη σεροτονίνη, παρατηρείται σημαντική μείωση στο πάχος του οστικού φλοιού [102,103]. Σε ασθενείς με σύνδρομο OPPG έχει συσχετιστεί η χαμηλή οστική μάζα με τα αυξημένα επίπεδα σεροτονίνης στον ορό του αίματος [104]. Σε άλλη μελέτη, μετρήθηκε η σεροτονίνη ορού σε έναν πληθυσμό γυναικών και συσχετίστηκε με σκελετικές παραμέτρους, οι οποίες μετρήθηκαν με DXA και QCT. Βρέθηκε ότι τα επίπεδα σεροτονίνης σχετίζονταν αντίστροφα με την οστική πυκνότητα [105]. Τα παραπάνω ευρήματα αφήνουν υποσχέσεις ότι η αναστολή της σύνθεσης της σεροτονίνης θα μπορούσε να αποτελεί μια νέα θεραπευτική προσέγγιση για την οστεοπόρωση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. Θεραπεία του OPPG συνδρόμου

Η προσέγγιση του ασθενούς με σύνδρομο OPPG περιλαμβάνει ορισμένα σημαντικά βήματα. Το πρώτο βήμα είναι η εκτίμηση των οφθαλμών και των οστών. Ο ασθενής πρέπει να εξετασθεί ως προς την οπτική του οξύτητα και τυχόν δομικές ανωμαλίες των οφθαλμικών βολβών. Δεν υπάρχει αποτελεσματική θεραπεία της τύφλωσης, αλλά ύπαρξη 2παθούς γλαυκώματος, αποκόλλησης ή αιμορραγιών του αμφιβληστροειδούς θα πρέπει να αντιμετωπίζονται [7,9]. Οι παρεμβάσεις στα οστά αφορούν στην αντιμετώπιση του οστικού άλγους με αναλγητικά, στην πρόληψη της υποβιταμίνωσης D, λόγω της μειωμένης κινητικότητας των ασθενών και, τέλος, στην πρόληψη και θεραπεία των καταγμάτων. Χειρουργική παρέμβαση χωρίς την κατάλληλη φαρμακευτική θεραπεία είναι αναποτελεσματική [9].

Δεύτερο βήμα της διαχείρισης του συνδρόμου OPPG είναι η εκτίμηση του παιδιού από ειδικό νευρολόγο και καρδιολόγο. Ο πρώτος θα εξετάσει την ψυχοκινητική εξέλιξη του ασθενούς και τον μυϊκό του τόνο, ενώ ο δεύτερος θα εξετάσει υπερηχογραφικά την καρδιά για τυχόν έλλειμα, μεσοκοιλιακό ή μεσοκοιλιακό.

Τρίτο σημαντικό βήμα αποτελούν οι παρεμβάσεις με φυσιοθεραπεία, οι ορθοπεδικές επεμβάσεις για την πόρωση των καταγμάτων και η φαρμακευτική αγωγή, η οποία στοχεύει στην κάλυψη σε βιταμίνη D και ασβέστιο, στην αναλγησία και στην προστασία από μελλοντικά κατάγματα.

Στα παιδιά με οστεοπόρωση, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με OPPG σύνδρομο, η μόνη φαρμακευτική αγωγή που έχει αποδειχθεί αποτελεσματική είναι τα διφωσφονικά, με παράλληλη κάλυψη των ημερησίων αναγκών σε ασβέστιο και βιταμίνη D [7,9]. Στους πίνακες 6 και 7 αναγράφονται οι ημερήσιες ανάγκες σε ασβέστιο και βιταμίνη D, ανάλογα με την ηλικία, αντίστοιχα.

Πίνακας 6. Ημερήσιες ανάγκες σε ασβέστιο, ανά ηλικία.

Ηλικία	Ασβέστιο (mg)
0-1 ^ο έτος	500
1-5 έτη	800
5-12 ετη	800-1200
Εφηβεία	1200-1500

Πίνακας 7. Ημερήσιες ανάγκες σε βιταμίνη D3, ανά ηλικία.

Ηλικία	Βιτ. D (IU/ημέρα)
0-1 ^ο έτος	400
1-70 έτη	600
>70 έτη	800

Η ποσότητα της βιταμίνης D, που θα μπορούσε να προφυλάξει από πιθανό κάταγμα δεν έχει εξακριβωθεί. Αν και δεν υπάρχει ομοφωνία ως προς τη δοσολογία της βιταμίνης D που θα πρέπει να λαμβάνει ένας ασθενής με οστεοπόρωση, η βιβλιογραφία αναφέρει ως προστατευτική τη δόση των 800 IU ημερησίως. Συγκεκριμένα, ημερήσια δόση βιταμίνης D 700-800 IU την ημέρα, έχει δειχθεί πως μειώνει κατά 25% τον κίνδυνο κατάγματος σε άτομα με παράγοντες κινδύνου (π.χ. οστεοπενία, γήρας), σε αντίθεση με τη δόση των 400 IU, η οποία δεν είναι επαρκής για την προστασία των οστών [106,107].

Η βιβλιογραφία διαθέτει πολυάριθμες μελέτες σχετικές με τη χρήση των διφωσφονικών (bisphosphonates, BPs) σε παιδιά με οστεοπόρωση. Η παθοφυσιολογία του συνδρόμου OPPG, ως προς τον οστικό φαινότυπο, εντοπίζεται στο επίπεδο του οστεοβλάστη, με τη μειωμένη διαφοροποίησή του. Τα διφωσφονικά, αν και δεν δρουν σε αυτό το επίπεδο, μπορούν να βελτιώσουν τον οστικό φαινότυπο, διότι, καταστέλλοντας τους οστεοκλάστες, μπορούν να αντισταθμίσουν τη μειωμένη ανάπτυξη του οστίτη ιστού μέσω της μειωμένης οστικής επαναρρόφησης.

Η χρήση των BPs στα παιδιά έχει αυξηθεί τις τελευταίες δεκαετίες, ειδικά από τότε που φάνηκε η θετική τους δράση στην Ατελή Οστεογένεση,

μια από τις πιο σοβαρές περιπτώσεις οστεοπορωτικής νόσου. Τα BPs είναι χημικά ανάλογα πυροφωσφορικών ενώσεων, όπου το άτομο του οξυγόνου έχει αντικατασταθεί από το άτομο του άνθρακα. Αυτή η αντικατάσταση δημιουργεί αντοχή στη διάσπαση των ενώσεων αυτών από το ενζυμο αλκαλική φωσφατάση, με συνέπεια την οξινοποίηση του μικροπεριβάλλοντος των οστεοκλαστών, τη διάσπαση του υδροξυαπατίτη (φυσικό ορυκτό που αποτελεί σημαντικό μέρος των οστών) και τελικώς την άμεση έκθεση των οστεοκλαστών στα BPs. Η δράση των τελευταίων εκτυλίσσεται σε δύο επίπεδα. Με την R1 πλαϊνή αλυσίδα αυξάνουν τη συνάφειά τους με τα ιόντα ασβεστίου, δρώντας έτσι σαν οστικό άγκυστρο (bonehook). Με την R2 πλαϊνή αλυσίδα εμφανίζουν αντι-επαναρροφητική δράση και, μάλιστα, ανάλογα με τη δομή αυτής της αλυσίδας διακρίνονται σε γενεές. Η πρώτη γενεά των BPs, όπως είναι η κλοδρονάτη, έχει μια απλή R2 αλυσίδα από αλογόνο, μέσω της οποίας δρουν κυτταροτοξικά απευθείας στον οστεοκλάστη. Στη δεύτερη γενεά των BPs, έχει προστεθεί ένα άτομο αζώτου, με το οποίο τα BPs επεμβαίνουν στο μονοπάτι του μεβαλονικού οξέος, αναστέλλοντας τη συνθάση της FPP (farnesyl diphosphonate) και προκαλώντας την απόπτωση των οστεοκλαστών. Σε αυτήν τη γενεά ανήκουν η παμιδρονάτη, η αλεδρονάτη, η νεριδρονάτη και η ολπαδρονάτη [108,109].

Η αντι-επαναρροφητική δράση των BPs οδηγεί σε αύξηση της οστικής πυκνότητας, πάχυνση του οστικού φλοιού, αύξηση του αριθμού των οστικών δοκίδων και αποκατάσταση του σχήματος των σπονδυλικών σωμάτων, με συνέπεια τη μείωση του σκελετικού άλγους και της συχνότητας των καταγμάτων, καθώς και τη βελτίωση της κινητικότητας των ασθενών και της ποιότητας ζωής τους, όπως έχει φανεί από τη χρήση τους στην Ατελή Οστεογένεση [108].

Η θετική δράση των BPs έχει αποδειχθεί όμως και σε περιπτώσεις δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης, όπως σε παιδιά με εγκεφαλική παράλυση. Επίσης, τα BPs φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικά στα παιδιά από ό,τι στους ενήλικες, δεδομένου ότι η δραστηριότητα των οστεοβλαστών παραμένει ακέραια και ο οστίτης ιστός τους είναι ένας ιστός σε ανάπτυξη [108,110].

Τα περισσότερα μελετημένα διφωσφονικά είναι η παμιδρονάτη σε ενδοφλέβια χορήγηση και η αλεδρονάτη από του στόματος. Οι δόσεις που συχνότερα εφαρμόστηκαν σε παιδιά με οστεοπόρωση είναι για την

παμιδρονάτη 0,5-1 mg/Kg/ημέρα για 3 συνεχόμενες ημέρες κάθε 2-4 μήνες, ενώ για την αλεδρονάτη 35 mg την εβδομάδα για βάρος σώματος κάτω των 30 κιλών και η δόση 70 mg την εβδομάδα για βάρος περισσότερο των 30 κιλών [110].

Οι Zacharin και Cundy χρησιμοποίησαν την παμιδρονάτη και την κλοδρονάτη, ενδοφλεβίως, σε τρεις ασθενείς με σύνδρομο OPPG. Η πρώτη τέθηκε στους δύο από τους τρεις ασθενείς, σε δόση 1 mg/kg την ημέρα, επί τρεις συνεχόμενες ημέρες, κάθε έξι μήνες, για δύο έτη. Η δεύτερη χρησιμοποιήθηκε στον τρίτο ασθενή στο ίδιο διάστημα, με σταδιακά αυξανόμενη δόση κάθε 2 μήνες, από 300 σε 900 mg. Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά, αφού μειώθηκε ο πόνος των ασθενών, αμβλύθηκε η γωνία της κύφωσης και αυξήθηκε το Z-score της οστικής πυκνότητας, ενώ δεν σημειώθηκε κανένα νέο κάταγμα. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες που σημειώθηκαν αφορούσαν σε γριππώδη συμπτώματα, χαμηλό πυρετό και επιγαστραλγία [111].

Αντίστοιχα, οι DiGorgi και Maghnie μελέτησαν επί μια τριετία την παμιδρονάτη, ενδοφλέβια, σε δόση 1 mg/kg για τρεις συνεχόμενες ημέρες, ανά τέσσερις μήνες, σε ένα 8χρονο Καυκάσιο αγόρι. Ο ασθενής ήταν καθηλωμένος σε αναπηρικό αμαξίδιο, τυφλός και με σοβαρή οστεοπόρωση και κύφωση. Οι μελετητές σημείωσαν πως με τη θεραπεία το αγόρι βελτιώθηκε ως προς την κινητικότητά του και τη γωνία της κύφωσης, ενώ και η οστική πυκνότητα αυξήθηκε [112]. Στα ίδια αποτελέσματα κατέληξε και ο Bayram και συν., οι οποίοι επίσης χρησιμοποίησαν την παμιδρονάτη σε γυναίκα ασθενή με OPPG, ηλικίας 21 ετών. Η ασθενής ταλαιπωρείτο από συνεχή κατάγματα των μακρών οστών (1-2/έτος) και επίμονο οστικό άλγος. Εντός δύο μηνών από την έναρξη της αγωγής σημειώθηκε υποχώρηση του πόνου και βελτίωση της κινητικότητας. Καθόλη τη διάρκεια της θεραπείας δεν σημειώθηκε νέο κάταγμα [113].

Οι Streeten και συν. μελέτησαν τη ριζεδρονάτη, χορηγούμενη από το στόμα, σε δόση 25 mg δις εβδομαδιαίως, επί δύο έτη, σε τέσσερις ασθενείς με OPPG, όλοι με ιστορικό καταγμάτων. Η οστική πυκνότητα του μεγαλύτερου ασθενούς (8 ετών) έδειξε ελάχιστη άνοδο και οι μελετητές μετέβαλαν την αγωγή σε παμιδρονάτη ενδοφλέβια, σε δόση 1 mg/kg, για τρεις ημέρες, ανα τρεις μήνες και για τρία έτη (12 mg/kg/έτος). Η νέα αγωγή βελτίωσε σημαντικά

την οστική πυκνότητα. Κατόπιν έγινε δοκιμή της τεριπαρατίδης (PTH1-34) σε καθημερινή δόση 20 µg, όμως το z-score μειώθηκε. Τέλος, η επιστημονική ομάδα δοκίμασε την αλεδρονάτη με δόση 1 mg/kg/ημέρα και η οστική μάζα ανέκαμψε και ο ασθενής δεν εμφάνισε νέο κάταγμα στα 8 χρόνια που διήρκεσε η μελέτη. Ο δεύτερος ασθενής (4 ετών) έδειξε καλύτερη ανταπόκριση στη ριζεδρονάτη, αλλά τέθηκε σε αγωγή και με τα άλλα δύο BPs. Το συνολικό αποτέλεσμα ήταν να αυξηθεί σημαντικά το z-score από -4,7 σε -0,4 SD, σε 7 χρόνια. Οι άλλοι δύο ασθενείς (4 και 2 ετών) θεραπεύτηκαν με χρήση μόνο της αλεδρονάτης, επί 4 έτη. Η οστική πυκνότητα αυξήθηκε κατά 82% και 92% αντίστοιχα [7].

Οι Brummen και συν. μελέτησαν, προ 20 ετών, τη θεραπευτική αξία των διφωσφονικών και συγκεκριμένα της παμιδρονάτης και της ολπαδράτης, σε παιδιά με σοβαρή οστεοπόρωση για μακρά περίοδο, από 2 έως και 8 έτη αδιάκοπα. Οι μελετητές συμπέραναν πως η γραμμική ανάπτυξη των οστών συνεχίστηκε φυσιολογικά, τα οστά διαμορφώθηκαν χωρίς διαταραχές επιμετάλλωσης και οι παραμορφώσεις στους σπονδύλους βελτιώθηκαν [114].

Ο Levasseur, σε μία ανασκόπηση της θεραπευτικής προσέγγισης του συνδρόμου OPPG, καταλήγει στην αξία της όσο το δυνατόν νωρίτερης έναρξης θεραπείας με διφωσφονικά, με έμφαση στην ενδοφλέβια χρήση παμιδρονάτης, σε δόση 2-6 mg/Kg/έτος, ανά 3-6 μήνες. Τονίζει, επίσης, την ανάγκη προληπτικής οδοντιατρικής εκτίμησης, ειδικά εάν υπάρχει οδοντιατρική λοίμωξη, προς αποφυγή οστεονέκρωσης της κάτω γνάθου, μιας ανεπιθύμητης ενέργειας που έχει συσχετισθεί κυρίως με τα διφωσφονικά 2ης γενιάς. Μια ακόμη παρενέργεια μπορεί να είναι η γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση καθώς και η εμφάνιση εμπυρέτου [115].

Η αλεδρονάτη έχει μελετηθεί εξίσου με την παμιδρονάτη, με τα περισσότερα αποτελέσματα να είναι ενθαρρυντικά. Στην ανασκόπηση των Bachrach και Ward συγκεντρώθηκαν 129 αγόρια και κορίτσια, ηλικίας βρεφικής έως εφηβικής, με οστεοπόρωση (χαμηλό BMD και ιστορικό κατάγματος). Στους ασθενείς χορηγήθηκε αλεδρονάτη σε δόση 10 mg/ημέρα για βάρος σώματος >30 Kg, ενώ η μισή δόση χρησιμοποιήθηκε για βάρος ≤30 Kg. Η διάρκεια της λήψης του φαρμάκου κυμάνθηκε από 180 έως 672 ημέρες. Στα συμπεράσματα της μελέτης αναφέρεται πως κανείς δεν εμφάνισε κάταγμα

κατά τη λήψη του δισφωσφονικού, ενώ διατήρησε το z-score σταθερό για περισσότερο του ενός έτους. Στις ανεπιθύμητες ενέργειες αναφέρθηκε ένα επεισόδιο επιγαστραλγίας [110]. Σε άλλη μελέτη [116] δοκιμάστηκε η αλεδρονάτη σε παιδιά με ατελή οστεογένεση, επί 4 έτη. Ο μέση ηλικία των ασθενών ήταν $7,9 \pm 4,4$ έτη και η μελετη αφορούσε και στα δύο φύλα. Η δόση που επιλέχθηκε ήταν ίδια με την προηγούμενη μελέτη. Τα αποτελέσματα ήταν η αύξηση της BMD και η μείωση του οστικού άλγους, χωρίς να παρατηρηθεί κάποια κλινική ανεπιθύμητη ενέργεια.

Σε μια ακόμη μελέτη [117] έγινε σύγκριση της αλεδρονάτης με την παμιδρονάτη. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε προοπτικά και σε βάθος δύο ετών, σε παιδιά μεγαλύτερα των 3 χρόνων με ατελή οστεογένεση, η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια των δύο φαρμακευτικών παραγόντων. Η παμιδρονάτη χορηγήθηκε ενδοφλέβια με δόση 3 mg/Kg κάθε 4 μήνες, ενώ η αλεδρονάτη από του στόματος και σε δόση 1 mg/Kg την ημέρα. Η θεραπεία σε όλους τους ασθενείς διήρκεσε 12 μήνες. Τα αποτελέσματα ήταν η ισότιμη δράση και των δύο φαρμάκων ως προς τη βελτίωση της BMD, τη γραμμική ανάπτυξη των οστών, την πρόληψη νέων καταγμάτων και τη μείωση της οστικής επαναρρόφησης. Ωστόσο, σημειώνεται ότι η από του στόματος χορήγηση της αλεδρονάτης είναι πιο αποδεκτή στα παιδιά και βελτιώνει τη συμμόρφωση στη θεραπεία.

Από τις παραπάνω κλινικές δοκιμές φαίνεται το θεραπευτικό όφελος των ασθενών από τη χρήση BPs, αφού σε όλους βελτιώθηκε η οστική μάζα αλλά και η ποιότητα ζωής. Παράλληλα, η χρήση των φαρμάκων αυτών μέχρι και για χρονικό διάστημα 8 ετών φαίνεται ασφαλής, με ελάχιστες παροδικές παρενέργειες [9,115]. Η χρήση των διφωσφονικών στα παιδιά περιορίζεται μόνο στις περιπτώσεις καταγμάτων που συνοδεύονται από χαμηλή οστική πυκνότητα καθώς η χαμηλή οστική μάζα δεν αποτελεί από μόνη της προϋπόθεση έναρξης θεραπείας. Η προγνωστική αξία της οστικής πυκνότητας για την πιθανότητα μελλοντικών καταγμάτων στα παιδιά παραμένει αβέβαιη, κυρίως σε εκείνα με κάποιο χρόνιο νόσημα [21]. Αντίστοιχα, η χρήση των διφωσφονικών ως πρωτογενή πρόληψη των καταγμάτων δεν στηρίζεται βιβλιογραφικά, ακόμη και σε παιδιά με συστηματική χρόνια λήψη κορτικοειδών [118].

Η διάρκεια της χορήγησης των διφωσφονικών δεν έχει αποσαφηνιστεί. Παρά τα ανεπαρκή δεδομένα, η βιβλιογραφία καταλήγει πως τα 8-10 έτη αποτελούν ένα χρονικό διάστημα που έχει δοκιμασθεί και θεωρείται ασφαλές. Η ασφαλής μέγιστη δόση είναι, επίσης, ένα αντικείμενο προς διερεύνηση. Σχετικά με την παμιδρονάτη, το περισσότερο μελετημένο διφωσφονικό, οι Glorieux και συν. εξέτασαν την θεραπευτική αξία και ασφάλειά της σε ασθενείς με Ατελή Οστεογένεση, χρησιμοποιώντας υψηλές δόσεις. Χρησιμοποίησαν το φάρμακο επί 5 έτη, σε δόση $6,8 \pm 1,1$ mg/kg ανά έτος, δηλ. περίπου 3 φορές μεγαλύτερη από την αντίστοιχη σε ασθενείς με σύνδρομο OPPG. Οι ερευνητές συμπέραναν πως η υψηλότερη δόση δεν μετέβαλλε το ρυθμό της επούλωσης καταγμάτων, αλλά μόνο αύξησε την BMD κατά 3-6% ανά έτος στα παιδιά και κατά 15% ανά έτος στην εφηβεία [119]. Από την άλλη πλευρά, όπως έδειξε η ομάδα των Whyte και συν., η χρήση της παμιδρονάτης σε 4-πλάσια δόση τη μέγιστης (9 mg/kg/έτος) οδήγησε σε ιατρογενή οστεοπύρωση και παθολογικά κατάγματα, ύστερα από τη χορήγησή της σε παιδί επί 3 έτη [120].

Οι ανεπιθύμητες ενέργειες των διφωσφονικών, αν και αρκετές δεν είναι απειλητικές για τον ασθενή. Συνήθως περιγράφονται εμπύρετο, μυαλγίες, αρθραλγίες και οστικά άλγη, καθώς και ναυτία, εμετός και διάρροια. Οι παρενέργειες αυτές αφορούν μόνο στις πρώτες 1-3 ημέρες της αγωγής, διαρκούν λίγες ημέρες και σπάνια υποτροπιάζουν. Ηλεκτρολυτικές διαταραχές, όπως υπασβεσταιμία, υποφωσφοραιμία και υπομαγνησταιμία είναι πιο σπάνιες και συνήθως ασυμπτωματικές. Οι πιο σοβαρές ανεπιθυμητές ενέργειες, όπως θρομβοπενία, έλκος στομάχου, οισοφαγίτιδα και ιριδοκυκλίτιδα συναντώνται κύρια στους ενήλικες και σπάνια στα παιδιά. Σημειώνεται ότι ο χρόνος ημίσειας ζωής αυτών των φαρμακευτικών ουσιών είναι αρκετά μακρύς και φαίνεται ότι τα διφωσφονικά αποβάλλονται έως και έτη μετά τη διακοπή τους [121]. Τέλος, η χρήση τους σε εγκύους δεν είναι ασφαλής για το έμβρυο, αφού οι ως τώρα μελέτες δείχνουν τη διέλευσή τους από τον πλακούντα, προκαλώντας, όπως φάνηκε σε νεογνά ποντίκια των οποίων οι μητέρες είχαν τεθεί σε αγωγή, σκελετικές ανωμαλίες και υπασβεσταιμία [122].

Πέραν όμως των διφωσφονικών υπάρχουν και άλλα θεραπευτικά μέσα έναντι της οστεοπόρωσης, τα περισσότερα από τα οποία αποτελούν

αντικείμενο έρευνας. Καταρχήν η παραθορμόνη, η οποία χρησιμοποιείται στους ενήλικες επιτυχώς, λόγω της αναβολικής της δράσης, στην περίπτωση του εν λόγω συνδρόμου θα οδηγούσε σε μεγαλύτερη ανισορροπία ανάμεσα στην επαναρρόφηση και το σχηματισμό νέου οστού, δεδομένου ότι οι οστεοβλάστες είναι σοβαρά ανεπαρκείς στο σύνδρομο OPPG, ενώ οι οστεοκλάστες παραμένουν δραστήριοι. Μάλιστα μελέτη με ανθρώπινη παραθορμόνη σε ποντίκια με ανενεργό το LRP5 γονίδιο, κατέληξε σε αύξηση του πάχους του μηριαίου οστού κατά 11%, αλλά όχι σε αύξηση του όγκου της σπογγώδους μοίρας του.

Νέες θεραπείες αποσκοπούν είτε στην αύξηση του αναβολισμού των οστεοβλαστών, π.χ. μέσω της αυξητικής ορμόνης και του IGF-1, είτε στην αναστολή της δράσης των οστεοκλαστών [109]. Η τελευταία επιτυγχάνεται μέσω διαφόρων παραγόντων, όπως είναι η καλσιτονίνη, η ιντεγκρίνη, ο αναστολέας του καναλίου του χλωρίου και ο αναστολέας του επαγωγέα του NFκB ligand (ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που αποκαλείται denosumab). Δυστυχώς, όλες οι νέες και υποσχόμενες θεραπείες δεν μπορούν να εφαρμοσθούν στο σύνδρομο OPPG. Έτσι, ενώ έχουν δοκιμαστεί αντισώματα έναντι των αναστολέων DDK1 και SOST στην αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης με καλά αποτελέσματα, μια τέτοια προσέγγιση δεν μπορεί να εξασφαλίσει την επιθυμητή δράση στο OPPG, αφού η διαταραχή αφορά στον υποδοχέα LRP5 [9,109]. Ωστόσο, η μελέτη των Kedlaya και συν., οι οποίοι χρησιμοποίησαν αντισώματα anti-SOST σε ποντίκια με OPPG [75], όπως προαναφέρθηκε, αφήνει ελπίδες για ενδεχόμενη αποτελεσματική χρήση και στον άνθρωπο.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το σύνδρομο OPPG (Osteoporosis–Pseudoglioma Syndrome) είναι μια σπάνια γενετική διαταραχή, η οποία κληρονομείται με τον αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο και χαρακτηρίζεται από νεανική οστεοπόρωση και τύφλωση, είτε συγγενή, είτε με έναρξη σε πολύ μικρή ηλικία.

Ο σκοπός της μελέτης ήταν:

1. Να καταγραφεί ο φαινότυπος σε ασθενείς με σύνδρομο OPPG και τους συγγενείς τους.
2. Να ανιχνευτεί η υπεύθυνη μετάλλαξη.
3. Να μελετηθεί η φορεία στους συγγενείς.
4. Να συνεκτιμηθούν τα γενετικά και κλινικά χαρακτηριστικά στους ασθενείς και τους φορείς της μετάλλαξης.
5. Να εκτιμηθεί η ανταπόκριση των ασθενών με OPPG στη θεραπεία της οστεοπόρωσης με διφωσφονικά.

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΕΛΕΓΧΟΥ

Οι ασθενείς προέρχονται από ένα ευρύ γενεαλογικό δέντρο, το οποίο περιλαμβάνει 8 οικογένειες. Αρχικά, στην κλινική μας παραπέμφθηκε η ασθενής Β, η οποία έπασχε από συγγενή τύφλωση και κατάγματα από την νηπιακή ηλικία. Η γενετική εξέταση ανέδειξε μετάλλαξη στο γονίδιο LRP5, συμβατή με τη διάγνωση του συνδρόμου OPPG. Με αφετηρία την ασθενή Β αναζητήθηκαν άλλα συγγενικά άτομα, από ένα ευρύ γενεαλογικό δέντρο. Τα μέλη του γενεαλογικού δέντρου που μελετήθηκαν ήταν 44, ενήλικες και παιδιά, και αφορούσαν σε άτομα που εμφάνιζαν κλινικά χαρακτηριστικά του συνδρόμου και σε συγγενείς τους.

Οι γονείς όλων των παιδιών ενημερώθηκαν σχετικά με τη μελέτη και απεδέχθησαν εγγράφως τη συμμετοχή τους σε αυτή. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από το Επιστημονικό Συμβούλιο του Γενικού Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου «Αττικόν».

Σε όλους τους ασθενείς έγινε λήψη του περιγεννητικού και λοιπού ατομικού ιστορικού τους και λεπτομερής κλινική εξέταση. Στην κλινική εκτίμηση των ασθενών συμμετείχαν παιδίατρος, παιδονευρολόγος και οφθαλμίατρος του Νοσοκομείου «Αττικόν». Για την εκτίμηση των σωματομετρικών χαρακτηριστικών τους χρησιμοποιήθηκαν οι καμπύλες ανάπτυξης του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας.

Γενετική εκτίμηση των ασθενών

Η υπεύθυνη μετάλλαξη που αφορά στο σύνδρομο OPPG διερευνήθηκε στο εργαστήριο μοριακής βιολογίας της Γ' Παιδιατρικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών, με την παρακάτω μέθοδο:

Απομόνωση DNA. Η απομόνωση του DNA από λευκοκύτταρα ολικού αίματος πραγματοποιήθηκε με στήλες (εμπορικό kit: NucleoSpin® Dx Blood, Macherey-Nagel), σύμφωνα με την παρακάτω διαδικασία:

1. Μεταφορά 25 μL πρωτεΐνάσης K σε σωληνάριο erpendorf 1.5 mL.
2. Προσθήκη 200 μL ολικού αίματος και 200 μL διαλύματος B3.
3. Επώαση για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (18–25°C).
4. Επώαση για 10 λεπτά στους 70°C.
5. Προσθήκη 210 μL αιθανόλης στο μείγμα.
6. Μεταφορά του παραπάνω μείγματος σε νέο σωληνάριο στο οποίο έχει προσαρμοστεί η στήλη NucleoSpin.
7. Φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 11,000 g.
8. Απόρριψη του σωληναρίου συλλογής που περιέχει το διάλυμα που φυγοκεντρήθηκε στο προηγούμενο βήμα και τοποθέτηση της στήλης NucleoSpin σε ένα νέο σωληνάριο 2 mL.
9. Προσθήκη 500 μL διαλύματος BW στη στήλη.
10. Φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 11,000 g.
11. Απόρριψη του σωληναρίου συλλογής και τοποθέτηση της στήλης NucleoSpin σε ένα νέο σωληνάριο 2 mL.
12. Προσθήκη 600 μL διαλύματος B5 στη στήλη.

13. Φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 11,000 xg. Το αιθανολικό διάλυμα B5 καθαρίζει το DNA που έχει προσκολληθεί στη μεμβράνη από κυτταρικά ή πρωτεϊνικά υπολείμματα.
14. Τοποθέτηση της στήλης NucleoSpin σε ένα νέο σωληνάριο 2 mL.
15. Φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 11,000 xg. Στο βήμα αυτό στεγνώνει η μεμβράνη της στήλης από την αιθανόλη.
16. Τοποθέτηση της στήλης NucleoSpin σε ένα νέο σωληνάριο erpendorf 1,5 mL.
17. Προσθήκη 100 μ L Buffer BE στο κέντρο της μεμβράνης. Επώαση για 1 λεπτό σε θερμοκρασία δωματίου και φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 14,000 xg.

Έλεγχος ποιότητας του DNA. Ο έλεγχος της ποιότητας του DNA πραγματοποιήθηκε με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης 1%. Η προετοιμασία του πηκτώματος αγαρόζης έγινε ως εξής:

- Μεταφορά 1 gr αγαρόζης σε 100 ml διαλύματος TBE 10X, σε κωνική φιάλη.
- Θέρμανση του διαλύματος σε θερμαντική πλάκα μέχρι βρασμού.
- Προσθήκη διαλύματος βρωμιούχου αιθιδίου σε συγκέντρωση 0,5 μ g/ml και ανάδευση.
- Το διάλυμα αφήνεται να στερεοποιηθεί σε ειδικό εκμαγείο αφού τοποθετηθούν σε αυτό ειδικές «χτένες» έτσι ώστε να δημιουργηθούν οι θέσεις τοποθέτησης του DNA.
- Στη συνέχεια, 5 μ l από κάθε δείγμα DNA αναμειγνύονται με 2 μ l χρωστικής και τοποθετούνται στις αντίστοιχες θέσεις επάνω στο πήκτωμα, το οποίο στη συνέχεια τοποθετείται στη συσκευή ηλεκτροφόρησης. Η ηλεκτροφόρηση έγινε με μέσο το ρυθμιστικό διάλυμα TBE στα 100V/cm για 30 λεπτά. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης το πήκτωμα μεταφέρθηκε σε συσκευή υπεριώδους ακτινοβολίας για παρατήρηση και φωτογράφιση

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR). Η ενίσχυση των 23 εξονίων του LRP5, καθώς και των τμημάτων που τα περιβάλλουν, πραγματοποιήθηκε μέσω αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR).

Για την πραγματοποίηση των PCR των γενωμικών περιοχών του γονιδίου *LRP5* χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω 23 ζεύγη εκκινητών:

Εξόνιο	Ονομασία	Εκκινητές 5'-3'	Μήκος (βάσεις)	Θερμακρασία PCR
<i>LRP5</i> 1	LRP51F LRP51R	CCACAGGTGAGAACAAG TGTCAACTTTCTCGCTGC AACTTC	1091	64
2	LRP52F LRP52R	AGGGCTGTGTATCTTGCT GTCATGCAAATTCGAGAG AGAG	529	62
3	LRP53F LRP53R	CCCAGCTTAAGGCAGGA ATACAATGCCACACAGAC CCTGAC	528	58
4	LRP54F LRP54R	CGACAGACCGAGACTCC ATCGCACTCACAGAAAGG CTGC	313	60
5	LRP55F LRP55R	CGATGAGGCAGGTGGAA TGAGACTTGAATCACCAC ACCC	450	58
6	LRP56F LRP56R	CTGGCTGAGTATTTCCCT TGGACAGTGTCCCAGAAT GACAG	587	60
7	LRP57F LRP57R	GCAGAGACCAGACAGAC TCATGTAACCACAGGACG TTGTATAGC	419	60
8	LRP58F LRP58R	TCTTGGGCATTGAACCCG TCCACTTCCTCCTCATGC AAGTC	392	60
9	LRP59F LRP59R	ACGGCAGCATTTCATTGTG TGGTTGAGGCAGGAACA GAGGCAAG	446	58
10	LRP510F LRP510R	GCAAGAAGAGCGAAACT CCCCCGCACTGTCTCAT AC	372	54
11	LRP511F LRP511R	GAGCAGACTCACTGAGC CGAGCCTCTCCCGACATA AC	446	64

12	LRP512F LRP512R	TCTTGCTGGTTTTCCAAG GTGTCCTGATGAAGCAAC AAGTC	673	60
13	LRP513F LRP513R	AAATTCCCCATAGCGCAC CCAGTCATCATTACCCC AGAGCC	498	62
14	LRP514F LRP514R	GAGACCCCCACACCAATA CGCATTTCGGCAGAAGAC AC	498	62
15	LRP515F LRP515R	ATCCCCACACCCGTCCTT CCACGCTACACACAAAGC CC	358	64
16	LRP516F LRP516R	CCTGTCAACCTCTGTCCT CTGCGGCAAAGAAAACA AC	490	58
17	LRP517F LRP517R	AGTTCTCATTTGGCCCT ACAGAAAAGAAAGGAGG GCAAAG	367	60
18	LRP518F LRP518R	TTGAAGCCCAGTCACGC CAGCCCCAAGCTCGTATC CC	382	64
19	LRP519F LRP519R	AGACTGTACTAGACCACT CCCTCTCCTCCCTAAACT CCAC	334	64
20	LRP520F LRP520R	CCACGTTACCCTGAGGTT GAGACTACTCTCCTGCCT CC	465	62
21	LRP521F LRP521R	TAGTGGGAGCAGAGGAG AGAGGAGGTGGATTTGG GTG	471	58
22	LRP522F LRP522R	TTTGCCTTTCACTGAGAT GACAGCACCCAGAATAC CTCCC	409	62
23	LRP523F LRP523R	TGAGGCTCAGAGAGGGT AAGCCCCATCACAGTTCA CATTTTC	583	64

Σε τελικό όγκο 50 μl αναμειγνύονται:

- 1 μl dNTP's (200μM)
- 1 μl από τα διαλύματα των 2 εκκινήτων για το συγκεκριμένο εξόνιο (0,4μM έκαστο)
- 0,25 μl GoTaq πολυμεράση (Promega) (1,25U)

- 10 μl ρυθμιστικού διαλύματος GoTaq buffer (Promega)
- 1 μl DNA (25-50ng)
- 4μl MgCl₂ 25mM (2mM)
- 32,75 μl dH₂O

Οι συνθήκες PCR για το *LRP5* ήταν:

- Αρχική αποδιάταξη στους 96 °C για 5'
- 40' κύκλοι PCR που περιλαμβάνουν:
- αποδιάταξη στους 96 ° C για 60''
 - ανασύσταση στους Tm για 60'' (Tm= 60 ή 62 °C ανάλογα με τους εκκινητές)
 - επιμήκυνση στους 72 ° C για 60''
 - τελική επιμήκυνση στους 72 ° C για 5'.

Έλεγχος των προϊόντων της PCR. Ο έλεγχος των προϊόντων της PCR έγινε με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης, όπως και παραπάνω. Από κάθε προϊόν PCR 10 μl αναμείχθηκαν με 2 μl χρωστικής και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε ανάλογες θέσεις επάνω στο πήκτωμα. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, το πήκτωμα μεταφέρθηκε σε συσκευή υπεριώδους ακτινοβολίας για παρατήρηση και φωτογράφιση. Η ζώνη που προέκυπτε στην φωτογράφιση αντιστοιχούσε σε μέγεθος στην κάθε περιοχή που πολλαπλασιάσαμε. Το μέγεθος ελέγχονταν με την παράλληλη χρήση ειδικού δείκτη (marker), ο οποίος είχε τοποθετεί και αυτός σε μια από τις θέσεις στο πήκτωμα αγαρόζης και είχε ηλεκτροφορηθεί.

Καθαρισμός των προϊόντων της PCR. Ο καθαρισμός των προϊόντων της PCR, ώστε να ακολουθήσει η περαιτέρω ανάλυσή τους, πραγματοποιήθηκε με στήλες (εμπορικό kit: High Pure PCR Product Purification kit, Roche Diagnostics).

Η διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι η εξής:

1. Ανάμειξη σε καθαρό σωληνάριο erpendorf του συνολικού προϊόντος της PCR με 200 μl διαλύματος Binding Buffer.
2. Μεταφορά του διαλύματος σε νέο σωληνάριο High Pure Filter Tube.
3. Φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 13,000 xg.
4. Τοποθέτηση της στήλης σε νέο σωληνάριο.
5. Καθαρισμός προϊόντος με προσθήκη 500 μl διαλύματος Wash Buffer.
6. Φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 14,000 xg.
7. Τοποθέτηση της στήλης σε νέο σωληνάριο.
8. Καθαρισμός προϊόντος με προσθήκη 200 μl διαλύματος Wash Buffer.
9. Φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 14,000g.
10. Απόρριψη του σωληναρίου συλλογής και τοποθέτηση της στήλης σε καθαρό σωληνάριο erpendorf 1,5 ml.
11. Προσθήκη 100 μl διαλύματος Elution Buffer.
12. Φυγοκέντρηση για 1 λεπτό σε 14,000 xg.
13. Φύλαξη του καθαρισμένου προϊόντος PCR στους -20°C μέχρι την περαιτέρω επεξεργασία του.

Άμεση αλληλούχιση της γενωμικής περιοχής (Sequencing) κατά Sanger. Για τον προσδιορισμό των γενωμικών περιοχών που DNA, που πολλαπλασιάσαμε με PCR, ακολούθησε ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (Sequencing) με τη μέθοδο κατά Sanger.

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, πραγματοποιείται αντίδραση Cycle Sequencing, στην οποία χρησιμοποιούνται τροποποιημένα δεσοξυνουκλεοτίδια, τα οποία ονομάζονται διδεσοξυνουκλεοτίδια (ddNTPs), καθώς και 4 διαφορετικές φθορίζουσες χρωστικές (μία για κάθε βάση). Τα τελικά προϊόντα της ανωτέρω αντίδρασης αναλύονται σε αυτοματοποιημένους γενετικούς αναλυτές (DNA Sequencers), στους οποίους πραγματοποιείται ηλεκτροφόρηση με τριχοειδή. Στη συνέχεια ανιχνεύουν και καταγράφουν τον φθορισμό χρώματος και τα δεδομένα εξόδου ως χρωματογραφήματα κορυφής φθορίζόντων ιχνών, με τη χρήση ειδικών προγραμμάτων. Τελικά, η αλληλουχία που αναλύεται εμφανίζεται με τη μορφή κορυφών (peaks) διαφορετικού χρώματος, καθένα εκ των οποίων αντιστοιχεί σε μία από τις τέσσερις βάσεις του DNA.

Αντίδραση αλληλουχίας Cycle Sequencing (θερμοκύκλοι και σήμανση). Σε τελικό όγκο 20 μl αναμειγνύονται:

- 4 μl Ready Reaction Premix (2,5X)
- 2 μl BigDye Sequencing Buffer (5X)
- 0,3 μl διαλύματος εκκινητή (0,4μM)
- 1 μl Template (καθαρισμένο PCR product)
- 12,7 μl dH₂O

Οι συνθήκες στις οποίες πραγματοποιήθηκε η αντίδραση ήταν οι ακόλουθες για όλες τις γενωμικές περιοχές που ελέχθησαν:

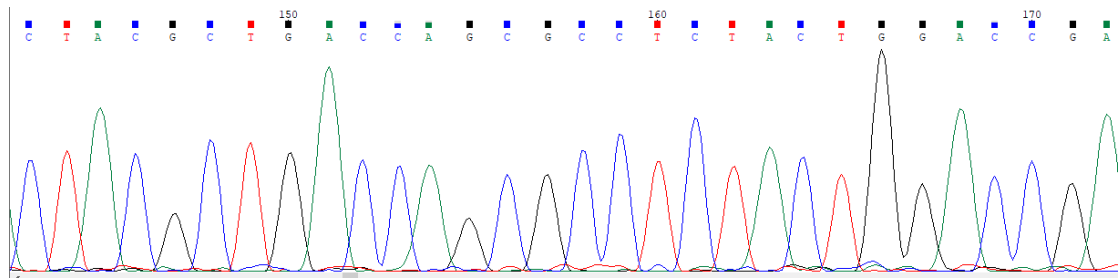
- Αρχική αποδιάταξη στους 96 ° C για 1' και στη συνέχεια 25' κύκλοι PCR που περιλαμβάνουν:
 - αποδιάταξη στους 96 ° C για 10''
 - ανασύσταση στους 50 ° C για 10''
 - επιμήκυνση στους 60° C για 4'

Καθαρισμός προϊόντων Cycle Sequencing. Ακολούθησε καθαρισμός των προϊόντων του Cycle Sequencing σύμφωνα με το παρακάτω πρωτόκολλο:

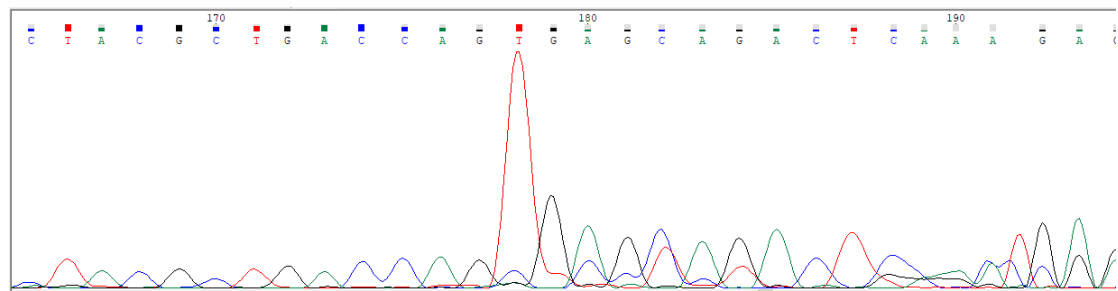
1. Μεταφορά 5 μl διαλύματος EDTA (125 mM) σε σωληνάριο eppendorf 1,5 ml.
2. Προσθήκη του προϊόντος της παραπάνω αντίδρασης.
3. Προσθήκη 60 μl αιθανόλης (100%) και ανάμειξη.
4. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 15'.
5. Φυγοκέντρηση για 10' στους 4 ° C (14000 rpm).
6. Απομάκρυνση του περιεχομένου του σωληναρίου και προσθήκη 60 μl αιθανόλης (75%).
7. Φυγοκέντρηση για 10' στους 4 ° C (14000 rpm).
8. Απομάκρυνση του περιεχομένου.
9. Ανασύσταση σε 15 μl διαλύματος φορμαμιδίου.
10. Θέρμανση των δειγμάτων για 2' στους 92 ° C
11. Άμεση ψύξη σε πάγο για άλλα 2'.

Ανάλυση των δειγμάτων. Η ανάλυση των δειγμάτων για τον προσδιορισμό της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας, πραγματοποιήθηκε σε αυτόματο μηχάνημα αλληλούχισης, ABI 310.

Η άμεση αλληλούχιση όλων των εξονίων του LRP5 γονιδίου του πρώτου ασθενούς (ασθενής B) οδήγησε στην ταυτοποίηση της υπαίτιας γενετικής αλλαγής (εικόνα 6). Με βάση αυτήν, διεξήχθη στοχευμένη μοριακή ανάλυση στα υπόλοιπα μέλη του γενεαλογικού δέντρου. Σε δύο ασθενείς (ασθενείς B και C) διεξήχθη και μελέτη του RNA, ώστε να προσδιοριστεί η επίδραση της γενετικής αλλαγής στο επίπεδο της μεταγραφής. Η απομόνωση του RNA από το περιφερικό αίμα πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του NucleoSpin RNA Blood (Macherey-Nagel). Για την Real Time PCR χρησιμοποιήθηκαν οι εκκινητές 5'-GACGTCAGCCTGAAGACCAT3' και 5'-TGAACAGCAAGAAGGTGGTGGG-3' και το Transcriptor First-Strand cDNA synthesis kit (Roche). Amplicons (αναμενόμενο μήκος 775 και 550 bp για κανονικό και το μεταλλαγμένο αλληλίο, αντιστοίχως).



Απεικόνιση φυσιολογικής αλληλουχίας



Απεικόνιση της μετάλλαξης

Εικόνα 6. Απεικόνιση φυσιολογικής αλληλουχίας και μετάλλαξης στο γονίδιο LRP5.

Εργαστηριακός έλεγχος των ασθενών

Μετρήθηκαν τα επίπεδα του ασβεστίου, του φωσφόρου, της αλκαλικής φωσφατάσης, της παραθορμόνης και της 25-υδροξυ-βιταμίνης D3 στον ορό των ασθενών.

Επίσης, λόγω συσχέτισης του συνδρόμου OPPG με διαταραχές στον μεταβολισμό των λιπιδίων και του σακχάρου [44], μετρήθηκαν τα επίπεδα της ολικής χοληστερόλης (TC), της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (LDL-C), της υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνης (HDL-C), των τριγλυκεριδίων καθώς και της γλυκόζης του ορού σε πρωινό δείγμα νηστείας.

Επιπρόσθετα, έγινε μέτρηση των επιπέδων της σεροτονίνης του ορού, λόγω συσχέτισης της εν λόγω ορμόνης με την οστεοπόρωση, καθώς και της πιθανής συμμετοχής της στην παθοφυσιολογία του συνδρόμου OPPG. Για τη μέτρηση της σεροτονίνης ζητήθηκε από τους ασθενείς να εξαιρέσουν από το

δισαιτολόγιο τους τροφές που περιέχουν σεροτονίνη, 48 ώρες πριν την αιμοληψία [123].

Έλεγχος οστικής πυκνότητας των ασθενών

Η οστική πυκνότητα μετρήθηκε στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης με τη μέθοδο της δυαδικής απορροφησιομετρίας με ακτίνες Χ (DXA), χρησιμοποιώντας παιδιατρικό λογισμικό (Hologic 2005, Bedford, MA).

Η οστική πυκνότητα, σε αυτήν τη μέθοδο, εκφράζεται σε γραμμάρια ανά τετραγωνικό εκατοστό και δίνει αποτελέσματα προσαρμοσμένα στο φύλο και στην ηλικία (Z-scores, σταθερή απόκλιση από τον μέσο όρο της οστικής μάζας, με βάση το φύλο και την ηλικία). Στην παρούσα μελέτη, Z-score μεγαλύτερο του -2 ορίστηκε ως «φυσιολογικό», χαμηλότερο του -2, χωρίς ιστορικό κατάγματος, ορίστηκε ως «χαμηλή οστική μάζα για την ηλικία», ενώ χαμηλότερο του -2, με παράλληλη παρουσία κατάγματος, ορίστηκε ως «οστεοπόρωση». Όλες οι σαρώσεις DXA διενεργήθηκαν και αναλύθηκαν από το ίδιο άτομο, στο εργαστήριο της οστικής πυκνομετρίας της Β' Προπαιδευτικής Παθολογικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Αθηνών.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το γενεαλογικό δέντρο που μελετήθηκε αποτελείται από 6 γενεές (εικόνα 7). Όλα τα μέλη του ανήκουν στην εθνοτική μειονότητα των Ρομά, με μόνιμη κατοικία στην Αθήνα και καταγωγή από τη Λάρισα. Τα μέλη που τελικώς συμμετείχαν στην μελέτη ήταν 44 σε αριθμό (L1-L34, A-H), 21 άρρενα και 23 θήλεα. Οι περισσότεροι είχαν κάποιου βαθμού συγγένεια μεταξύ τους και τουλάχιστον τρεις γάμοι αιμομιξίας παρατηρήθηκαν, ανάμεσα σε συγγενείς 2^{ου} και 3^{ου} βαθμού. Τρεις από τους ασθενείς (E, G1 και G2) ήταν απόγονοι αιμομικτικού γάμου και συνολικά όλοι οι ασθενείς προήλθαν από 8 πυρηνικές οικογένειες του γενεαλογικού δέντρου. Σε μία από τις οικογένειες δεν κατέστη δυνατό να γίνει η εξακρίβωση της σχέσης της με το υπόλοιπο γενεαλογικό δέντρο. Ωστόσο, υπάρχει ισχυρή υποψία κοινού προγόνου από τις

πληροφορίες που έδωσαν οι συγγενείς καθώς και από την ανίχνευση κοινής μετάλλαξης με τα μέλη του υπόλοιπου δέντρου.

Η μοριακή ανάλυση του γονιδίου LRP5 στον πρώτο ασθενή (B) οδήγησε στον προσδιορισμό της γενετικής αλλαγής c.2409_2503 + 79del (G804_G835delfsX49) (εικόνα 6). Η μετάλλαξη αναμένεται θεωρητικά να οδηγήσει σε πρωτεΐνη μικρότερου μεγέθους σε σύγκριση με την κανονική (853 αμινοξέα έναντι 1615). Ο μοριακός έλεγχος των ατόμων του γενεαλογικού δέντρου οδήγησε στην ταυτοποίηση 10 ασθενών (A-H), ομόζυγων για αυτή τη μετάλλαξη (22,7%), ενώ παράλληλα ανιχνεύτηκαν 26 φορείς ενός μεταλλαγμένου αλληλομόρφου (59,1%).

Επίσης, κατά τη διάρκεια της μελέτης πραγματοποιήθηκε προγεννητικός έλεγχος σε δύο οικογένειες. Στο ένα δείγμα εμβρύου ανιχνεύτηκε η μετάλλαξη σε ετεροζυγωτία ενώ στο άλλο σε ομοζυγωτία. Οι γονείς του εμβρύου που έφερε τη μετάλλαξη σε ομοζυγωτία αποφάσισαν να τερματίσουν την εγκυμοσύνη.

Τα κλινικά χαρακτηριστικά και τα αποτελέσματα της οστικής πυκνότητας των 10 ασθενών αναγράφονται στον πίνακα 8. Η ηλικία των ασθενών στην 1η εκτίμηση κυμαινόταν από 6 μηνών έως 9 ετών. Η μέση διάρκεια παρακολούθησης ήταν 3,2 έτη.

Τέσσερις ασθενείς εμφάνιζαν χαμηλή πρόσληψη βάρους, τέσσερις κοντό ανάστημα και πέντε μικροκεφαλία.

Όλοι οι ασθενείς εμφάνιζαν παραμονή της υπερπλασίας του υαλοειδούς σώματος (ψευδογλοΐωμα) και από αυτούς οι 9 παρουσίαζαν τύφλωση από τη γέννηση, ενώ ένας ασθενής (D) είχε υποβληθεί σε χειρουργική διόρθωση αποκόλλησης του αμφιβληστροειδούς και είχε χαμηλή αντίληψη του φωτός. Τα υπόλοιπα ευρήματα από την οφθαλμολογική εξέταση ήταν: αποκόλληση αμφιβληστροειδούς σε 6 ασθενείς, μικροφθαλμία σε 4, καταρράκτης σε 1 και ατροφία βολβού σε 1 ασθενή. Η οφθαλμική επανεκτίμηση, ανά έτος, δεν ανέδειξε κάποια μεταβολή στα παραπάνω ευρήματα. Οι ετεροζυγώτες-φορείς της μετάλλαξης δεν εμφάνιζαν κάποιο παθολογικό οφθαλμολογικό ιστορικό.

Στον έλεγχο του μυοσκελετικού συστήματος, παρατηρήθηκε ένα ευρύ φάσμα παθολογικών εκδηλώσεων, με ποικιλία στα αποτελέσματα της οστικής πυκνομετρίας (πίνακας 8).

Από τους 10 ασθενείς, οι 7 εμφάνιζαν «χαμηλή οστική μάζα για την ηλικία» (Z-score χαμηλότερο του -2). Οι ασθενείς F2 και G2 δεν υπεβλήθησαν σε μέτρηση οστικής μάζας, διότι ο πρώτος είχε μεταφερθεί σε ίδρυμα ατόμων με αναπηρίες εκτός Αθηνών και διεκόπη η παρακολούθησή του ενώ του οι γονείς του δεύτερου δεν συναίνεσαν. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί πως και οι δύο τους υπέφεραν από οστικά άλγη. Σε 6 ασθενείς σημειώθηκε μυϊκή υποτονία κορμού και άκρων, καθώς και καθυστέρηση βάρδισης. Ενδιαφέρον παρουσίαζε ο φαινότυπος το ασθενούς G1, οποίος εμφάνιζε υπερελαστικότητα αρθρώσεων και απουσία οστεοπόρωσης. Επιπρόσθετα, είχε πρωταία λοβία και κλινικά ευρήματα πρώιμης ήβης. Οι ασθενείς B, C, D και H υπέφεραν από κατάγματα από την ηλικία των 2, 3, 2 ετών και 11 μηνών, αντίστοιχα. Οι ετεροζυγώτες δεν παρουσίαζαν ιστορικό κατάγματος.

Από τους 10 ασθενείς, οι 8 παρουσίαζαν γνωστικά ελλείμματα, πτωχή κοινωνική αλληλεπίδραση και καθυστέρηση ομιλίας μετά την ηλικία των 2 ετών. Ωστόσο, κανείς από τους ασθενείς δεν εκτιμήθηκε από παιδοψυχίατρο ή αναπτυξιολόγο παιδίατρο.

Η εργαστηριακή ανάλυση που διενεργήθηκε στην 1η επίσκεψη φαίνεται στον πίνακα 9.

Τα αποτελέσματα σχετικά με τον μεταβολισμό του ασβεστίου και το λιπιδαιμικό προφίλ ήταν εντός φυσιολογικών ορίων. Τα επίπεδα της βιταμίνης D3 ήταν χαμηλά και γι' αυτό όλοι οι ασθενείς έλαβαν συμπλήρωμα βιταμίνης D3 σε δόση 800 IU την ημέρα, καθώς και ασβέστιο χορηγούμενο από το στόμα. Η δόση του ασβεστίου εξατομικεύτηκε αναλογα με την ηλικία του ασθενούς. Οι μικρότεροι των 3 ετών έλαβαν 500 mg/ημέρα, οι μεγαλύτεροι των 3 ετών 750 mg/ημέρα, ενώ όσοι εμφάνισαν κατάγματα 1000 mg ημερησίως. Η εργαστηριακή παρακολούθηση του μεταβολισμού ασβεστίου κατά τη διάρκεια της μελέτης δεν ανέδειξε παθολογικά αποτελέσματα.

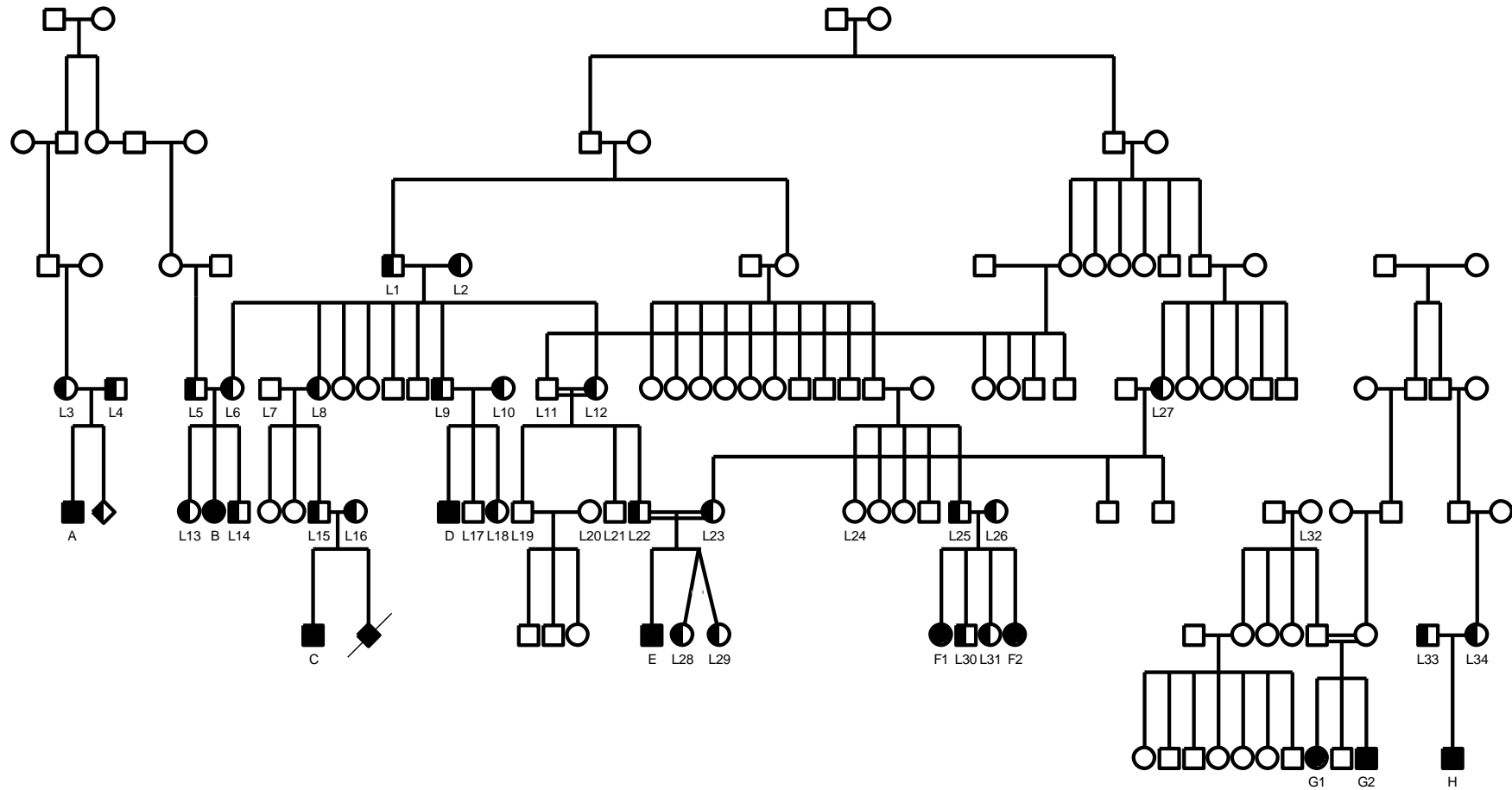
Ενδιαφέρον παρουσιάζει η μέτρηση της σεροτονίνης, τα επίπεδα της οποίας ήταν αυξημένα σε όλους τους ασθενείς, εκτός από τον D, ο οποίος μάλιστα εμφάνιζε και την καλύτερη ψυχοκινητική ανάπτυξη.

Οι ασθενείς που έλαβαν αγωγή για την αντιμετώπιση των καταγμάτων ήταν εκείνοι που πληρούσαν τα κριτήρια της οστεοπόρωσης (ασθενείς B, C,

D και H). Οι αντίστοιχες τέσσερις οικογένειές τους συναίνεσαν στην έναρξη αγωγής με διφωσφονικά. Η θεραπεία ξεκίνησε στους ασθενείς B, C, D και H από τις ηλικίες των 2, 3, 7 και 1 έτους, αντίστοιχα, για συνολική διάρκεια 4, 2, 3 και 2 ετών, αντίστοιχα. Τα διφωσφονικά που επιλέχθηκαν ήταν η παμιδρονάτη σε ενδοφλέβια χορήγηση και η αλεδρονάτη σε per os (από το στόμα) χορήγηση. Η παμιδρονάτη χορηγήθηκε σε δόση 1 mg/kg την ημέρα για 3 συνεχόμενες ημέρες κάθε 3 μήνες και η αλεδρονάτη σε μια εβδομαδιαία δόση των 35 mg στους ασθενείς με βάρος κάτω των 30 κιλών και σε δόση των 70 mg σε ασθενείς με βάρος πάνω των 30 κιλών. Οι ασθενείς B και D θεραπεύτηκαν αρχικά με παμιδρονάτη για 18 μήνες και κατόπιν με αλεδρονάτη. Η μετάβαση στην αλεδρονάτη έγινε επειδή η παμιδρονάτη συνδέθηκε με ανεπιθύμητες ενέργειες από το γαστρεντερικό (επιγαστραλγία, έμετοι), καθώς και επειδή η από του στόματος αγωγή ελαχιστοποίησε τις ημέρες νοσηλείας και βελτίωσε τη συμμόρφωση των ασθενών. Επιπλέον, η αλεδρονάτη θεωρείται ότι έχει πιο ισχυρή δράση έναντι στη λειτουργία των οστεοκλαστών.

Οι ασθενείς έδειξαν θετική ανταπόκριση στην αγωγή με μείωση του οστικού άλγους και βελτίωση της οστικής πυκνότητας, όπως φαίνεται και στον πίνακα 8. Ωστόσο, οι ασθενείς B, C και D παρουσίασαν κατάγμα 2 έτη μετά την έναρξη της θεραπείας με διφωσφονικά. Σημειώνεται ότι ο ασθενής D πρώτα διέκοψε αυτοβούλως τη θεραπεία και στη συνέχεια εμφάνισε κατάγματα.

Εικόνα 7. Γενεαλογικό δένδρο των 10 ασθενών με σύνδρομο OPPG.



Πίνακας 8. Κλινικά χαρακτηριστικά και οστική πυκνότητα των 10 ασθενών με σύνδρομο OPPG

Ασθενείς		A	B	C	D	E	F1	F2	G1	G2	H	
Φύλο		A	Θ	A	Θ	A	Θ	Θ	Θ	A	A	
Ηλικία (αρχική εκτίμηση)		2 ετών	2 ετών	6 μηνών	7 ετών	9 μηνών	5 ετών	8 μηνών	9 ετών	2 ετών	8 μηνών	
Διάρκεια παρακολούθησης		4 έτη	4 έτη	5 έτη	3 έτη	3 έτη	5 έτη	5 έτη	6 μήνες	6 μήνες	2 έτη	
Σωματομετρικά στοιχεία (SD)		B: 9,5 Kg (-2,2) Y: 87 cm (-0,26) ΠΚ: 45 cm (-2,4)	B: 9 Kg (-2) Y: 86 cm (-0,12) ΠΚ: 46 cm (0,85)	B: 5 Kg (-4) M: 60 cm (-3,6) ΠΚ:38 cm (-4,4)	B: 25 Kg (0,7) Y: 117 cm (-0,9) ΠΚ: 52 cm (0)	B: 7 Kg (-2,4) M: 66 cm (-3,2) ΠΚ: 42 cm (-2,7)	B: 15 Kg (-1,4) Y: 115 cm (1,2) ΠΚ:46,5 cm (-2,4)	B: 8,7 Kg (0,47) M: 76 cm (2,44) ΠΚ:43 cm (-0,61)	B: 27 Kg (0,3) Y: 128 cm (-0,73) ΠΚ: 50,5 cm (-1)	B: 11 Kg (-0,87) Y: 79 cm (-2,9) ΠΚ: 46 cm (-1,7)	B: 7 Kg (-2,2) M: 67 cm (-2,2) ΠΚ: 41,5 cm (-2,8)	
Οφθ/κός φαινότυπος	Συγγενής τύφλωση	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
	Ψευδογλοίωμα	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Μικροφθαλμία	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	
	Αποκόλληση αμφιβληστροειδούς	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	
	Ατροφία βολβού	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
	Αντίληψη φωτός	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
	Οφθαλμικός καταρράκτης	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
Οστικός φαινότυπος	Κατάγματα (ηλικία)	Σπονδ. Στήλη (6 ετών)	κλείδα (2 ετών), κνήμη ^c (4 ετών)	πήχης (3 ετών) κνήμη ^c (5 ετών)	κνήμη (7 ετών) πήχης ^c (9 ετών)	-	-	κνήμη (5 ετών)	-	-	πήχης (11 μηνών)	
	BMD z-score (ηλικία)	(a)	-3,8 (3 ετών)	-7,8 (3 ετών)	-3,8 (2 ετών)	-4 (7 ετών)	-3,8 (2 ετών)	-4 (5 ετών)	Χωρίς μέτρηση	-1,2 (9 ετών)	Χωρίς μέτρηση	-4 (1 ετών)
		(b)	-3,5 (4 ετών)	-3,7 (6 ετών)	-1,9 (4,5 ετών)	-2,7 (9 ετών)	-3,3 (3,5 ετών)	-3,4 (7 ετών)	Χωρίς μέτρηση	Χωρίς μέτρηση	Χωρίς μέτρηση	-2,1 (2 ετών)
Θεραπεία		-	+ ^d	+ ^d	+ ^d	-	-	-	-	-	+ ^d	

Πίνακας 8. Κλινικά χαρακτηριστικά και οστική πυκνότητα των 10 ασθενών με σύνδρομο OPPG (συνέχεια)

		A	B	C	D	E	F1	F2	G1	G2	H
Άλλα χαρακ/κά	Καθυστέρηση βάρδισης	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
	Μυϊκή υποτονία	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-
	Υπερελαστικότητα αρθρώσεων	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
	Πρώιμη ήβη	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
	Πρωταίο έπαρμα	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-

(a): πρώτη μέτρηση, (b): τελευταία μέτρηση

°κατάγματα υπό θεραπεία με διφωσφονικά

°οι ασθενείς B, C, D και H έλαβαν θεραπεία με διφωσφονικά (ενδοφλέβια παμιδρονάτη ή/και από του στόματος αλεδρονάτη) από την ηλικία των 2,3,7 και ενός έτους για συνολική διάρκεια 4, 2, 3 και 2 ετών, αντίστοιχα.

Πίνακας 9. Αποτελέσματα βιοχημικού ελέγχου των 10 ασθενών με σύνδρομο OPPG.

Ασθενείς	Μεταβολισμός ασβεστίου					Προφίλ Λιπιδίων				Γλυκόζη ορού	Σεροτονίνη ορού
	Ca (mg/dl)	P (mg/dl)	ALP (U/L)	25(OH)VitD (ng/ml)	PTH (pg/ml)	TC (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	TG (mg/dl)	(mg/dl)	(μg/L)
	(8.6-10.9)	(2,5-5)	(40-290)	(>20)	(15-65)	(<170)	(>40)	(<110)	(<100)	(70-110)	(117-193)
A	10.5	5.3	248	16.4	34	151	57	82	61	76	919
B	10.1	5.4	218	19	21	156	65	91	110	90	414
C	10.9	6.6	185	17	30.4	131	50	81	157	87	222
D	10.8	4.5	149	8.9	30.8	141	64	72	27	94	170
E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
F1	10.1	5.5	149	18	40	129	54	75	78	79	462
F2	10.6	6.6	247	19.4	31	152	39	96	85	96	208
G1	10.3	4.7	178	6.9	43.3	159	63	81	96	102	-
G2	9.9	5.9	128	14	24.7	123	33	90	88	107	-
H	10,5	5,8	163	38,9	23	128	33	45	156	88	556

Συντομογραφίες: Ca: ασβέστιο, P: φώσφορος, ALP: Αλκαλική φωσφατάση, 25(OH)VitD: 25-υδροξυβιταμίνη D, PTH: παραθορμόνη, TC: ολική χοληστερόλη, HDL-C: υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, LDL-C: χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνη, TG: τριγλυκερίδια.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο μοριακός έλεγχος των 44 ατόμων του γενεαλογικού δέντρου οδήγησε στην ταυτοποίηση 10 ασθενών (22,7%), ομόζυγων για τη μετάλλαξη G804_G835defsX49 στο γονίδιο LRP5, ενώ παράλληλα ανιχνεύτηκαν 26 φορείς (59,1%) ενός μεταλλαγμένου αλληλόμορφου. Ο φαινότυπος των ασθενών ήταν τυπικός του συνδρόμου OPPG, περιλαμβάνοντας τύφλωση από τη γέννηση και εμφάνιση νεανικής οστεοπόρωσης. Επίσης, αρκετοί από τους ασθενείς παρουσίαζαν μυϊκή υποτονία και χαμηλό ρυθμό σωματικής ανάπτυξης. Η θεραπεία με διφωσφονικά, η οποία εφαρμόστηκε σε 4 ασθενείς, οδήγησε σε μείωση του οστικού άλγους και αύξηση της οστικής πυκνότητας, ενώ 3 από τους ασθενείς εμφάνισαν ένα κάταγμα μετά την έναρξη της αγωγής.

Στη διεθνή βιβλιογραφία έχει αναφερθεί η μετάλλαξη G804_G835defsX49 μόνο μια φορά, σε ασθενή διπλό ετεροζυγώτη, όπου συνυπήρχε η μετάλλαξη R1708X. Ο εν λόγω ασθενής, αν και δεν παρουσιάστηκε λεπτομερώς, παρουσίαζε σοβαρό φαινότυπο με συγγενή τύφλωση, κατάγματα από την ηλικία των 2 ετών και νοητική υστέρηση [124]. Η παρούσα μελέτη αποτελεί την πρώτη αναφορά 10 συνολικά ασθενών, με σύνδρομο OPPG, ομόζυγων για την παραπάνω μετάλλαξη στο γονίδιο LRP5.

Από τις απενεργοποιητικές μεταλλάξεις που έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα στη βιβλιογραφία, οι μισές περίπου είναι παρερμηνεύσιμες, ενώ οι υπόλοιπες είναι ανερμηνεύσιμες ή οδηγούν σε μετατόπιση του πλαισίου ανάγνωσης [125]. Μεταλλάξεις ματίσματος και απαλοιφές εντός του γονιδίου ανευρίσκονται σε συχνότητα περίπου 5% [125,126]. Η μετάλλαξη που περιγράφουμε εντοπίζεται στη 3^η β-έλικα της πρωτεΐνης LRP5. Η απαλοιφή των 79 νουκλεοτιδίων στο εξόνιο 11 οδηγεί σε μία πρωτεΐνη μικρότερου μεγέθους από τη φυσιολογική, η οποία δεν περιλαμβάνει σημαντικά για τη λειτουργία της τμήματα, τόσο στο κυτταροπλασματικό της άκρο όσο και στο μεμβρανικό τμήμα. Πειραματικά δεδομένα, σε «ακρωτηριασμένες» πρωτεΐνες LRP5 που δεν έχουν τα παραπάνω τμήματα, έχουν δείξει μία αλλοιωμένη μετα-μεταφραστική διαδικασία, η οποία οδηγεί σε μια εξίσου μη φυσιολογική ενδοκυττάρια

μετακίνηση της πρωτεΐνης [125,126] ή σε πρωτεΐνη περισσότερο ευάλωτη σε αποδόμηση [127,128].

Παρά το γεγονός ότι το σύνδρομο OPPG εμφανίζει σημαντική γενετική ετερογένεια, ο οφθαλμικός φαινότυπος των ασθενών δεν παρουσιάζει σημαντική ποικιλομορφία [3,8,11]. Οι ασθενείς μας εμφάνιζαν κοινό φαινότυπο με παραμονή της υπερπλασίας του εμβρυικού υαλοειδούς σώματος, ενώ οι 9 από τους 10 παρουσίαζαν συγγενή τύφλωση. Ο ρόλος του υποδοχέα LRP5 στην ανάπτυξη των οφθαλμών είναι αρκετά πολύπλοκος και όχι καλά αποσαφηνισμένος. Περιλαμβάνει πληθώρα παθοφυσιολογικών μηχανισμών και κυτταρικών οδών, όπως το μονοπάτι Norrin και τη σταθεροποίηση της β -catenin, πιθανώς οδηγώντας σε μειωμένη δράση των μακροφάγων που παίζουν ρόλο στην απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων της αγγείωσης των οφθαλμών [65,124,129,130].

Το γονίδιο LRP5 έχει θεωρηθεί ως γονίδιο-ρυθμιστής του οστικού μεταβολισμού, μέσω του Wnt καναλιού. Πληθώρα μεταλλάξεων του γονιδίου έχουν συσχετισθεί με φαινοτυπικές διαφορές στην οστική πυκνότητα [100]. Ήπια ετερογένεια στον οστικό φαινότυπο έχει περιγραφεί σε OPPG ασθενείς με διπλή ετεροζυγωτία, ακόμη και ανάμεσα σε μέλη της ίδιας οικογένειας [7,126].

Στη μελέτη μας, διαπιστώθηκε σημαντική ετερογένεια ανάμεσα στους 10, ομοζυγώτες για την ίδια μετάλλαξη, ασθενείς. Στους 8 από αυτούς, ο μέσος όρος της οστικής πυκνότητας, στην έναρξη της μελέτης, ήταν -4,05 (με εύρος από -7,8 σε -1,2). Ο ασθενής B παρουσίασε σοβαρή οστεοπόρωση από νωρίς, με κατάγματα χαμηλής μηχανικής έντασης και το Z score της οστικής του πυκνότητας μετρήθηκε -7,8 SD, ήδη από την ηλικία των 2 χρόνων. Ο ασθενής H εμφάνισε κατάγματα από τη βρεφική ηλικία, νωρίτερα από κάθε άλλον της μελέτης. Στον αντίποδα, η ασθενής G1 δεν είχε κανένα ιστορικό κατάγματος μέχρι την ηλικία των 9 ετών και το Z score της οστικής της πυκνότητας ήταν -1,2 SD. Τα άνωθεν ευρήματα υποδηλώνουν την ποικιλία στην εκφραστικότητα του γονότυπου στον τελικό οστικό φαινότυπο, ακόμη και ανάμεσα στα μέλη της ίδιας οικογένειας, κάτι που πιθανώς εξηγείται είτε από παράγοντες που τροποποιούν

τη γονιδιακή έκφραση είτε από επιγενετικούς μηχανισμούς δράσης περιβαλλοντικών ερεθισμάτων στο γονιδιακό δυναμικό [126,131].

Οκτώ από τους 10 ασθενείς παρουσίαζαν καθυστέρηση στη νοητική και γνωστική λειτουργία. Σημειώνεται, όμως, ότι οι ασθενείς δεν εκτιμήθηκαν αναπτυξιακά από ειδικό παιδίατρο ή παιδοψυχίατρο. Στη μεγαλύτερη σειρά ασθενών που έχει περιγραφεί στη διεθνή βιβλιογραφία, καθυστέρηση σε γνωστικές δεξιότητες παρατηρήθηκε σε 8 από 30 ασθενείς με σύνδρομο OPPG [124]. Δεν έχει βρεθεί συσχέτιση συγκεκριμένου τμήματος της πρωτεΐνης με την παρουσία νοητικής δυσλειτουργίας [124]. Ενώ η διαταραχή στην πρωτεΐνη του υποδοχέα LRP5 είναι σαφώς πιο έντονη σε ομοζυγωτία, η νοητική έκπτωση είναι εξίσου παρούσα είτε σε ομοζυγωτία είτε σε συνδυασμένη ετεροζυγωτία. Τα γνωστικά ελλείμματα που παρατηρούνται με μεγάλη συχνότητα μεταξύ των ασθενών με σύνδρομο OPPG, μπορεί να οφείλονται στην επίδραση και άλλων γενετικών παραγόντων. Η τύφλωση και οι περιορισμοί που προκαλούνται από αυτήν δεν φαίνεται να εξηγούν επαρκώς την παρουσία νοητικής υστέρησης στο σύνδρομο, αφού ασθενείς με τύφλωση ήδη από τη γέννηση εμφανίζουν σημαντικές διαφορές στη γνωστική και νοητική τους εξέλιξη [125,131].

Η βιταμίνη D βρέθηκε σε όλους τους ασθενείς μειωμένη, σε επίπεδα κάτω των 20 ng/ml, με εξαίρεση τον ασθενή Η ο οποίος είχε φυσιολογικά επίπεδα, ενώ στον ασθενή Ε δεν έγινε μέτρηση. Με δεδομένη τη δράση της βιταμίνης D στον μεταβολισμό του ασβεστίου, αλλά και της θεωρητικής, έστω επικουρικής, δράσης της στην έκφραση του Wnt καναλιού [132], είναι σημαντικό οι τιμές της να διατηρούνται εντός φυσιολογικών ορίων σε ασθενείς με σύνδρομο OPPG.

Το σύνδρομο OPPG έχει, επίσης, συσχετισθεί και με άλλες μεταβολικές διαταραχές, όπως η δυσλιπιδαιμία και ο σακχαρώδης διαβήτης [133]. Οι ασθενείς της μελέτης μας δεν εμφάνιζαν εργαστηριακά ευρήματα υπερχοληστερολαιμίας, σε αντίθεση με άλλες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία [133,134]. Ωστόσο, 3 από τους 10 ασθενείς είχαν ηπίως αυξημένες τιμές τριγλυκεριδίων. Σημειώνεται, όμως, ότι μέτρηση των λιπιδίων του ορού δεν έγινε στους υγιείς συγγενείς των ασθενών, ώστε να είναι δυνατή η διερεύνηση του παραπάνω ευρήματος.

Έξι από 7 ασθενείς παρουσίαζαν αυξημένες τιμές σεροτονίνης στον ορό του αίματος. Σε ασθενείς με σύνδρομο OPPG έχει συσχετιστεί η χαμηλή οστική μάζα με τα αυξημένα επίπεδα σεροτονίνης στο αίμα [103]. Επίσης, η σεροτονίνη του ορού, σε πληθυσμό γυναικών, φαίνεται να συσχετίζεται με σκελετικές παραμέτρους [105], ενώ σε άλλη μελέτη, βρέθηκε ότι τα επίπεδα σεροτονίνης σχετίζονταν αντίστροφα με την οστική πυκνότητα [104]. Παράλληλα, μελέτες δείχνουν ότι η σεροτονίνη συσχετίζεται και με την ψυχοκοινωνική ανάπτυξη και υψηλά επίπεδά της στο αίμα ανευρίσκονται σε ποσοστό 25% των παιδιών με διάχυτη αναπτυξιακή διαταραχή [135-137]. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι, μεταξύ των ασθενών μας, αυτός με την καλύτερη ψυχοκινητική εξέλιξη (ασθενής D) είχε τη χαμηλότερη τιμή σεροτονίνης στο αίμα. Περαιτέρω μελέτες χρειάζονται για να εξακριβωθεί ο ακριβής ρόλος της σεροτονίνης στην έκφραση του οστικού φαινότυπου και του γνωστικού δυναμικού, σε άτομα που πάσχουν από το σύνδρομο OPPG.

Στα παιδιά με οστεοπόρωση, συμπεριλαμβανομένων των ασθενών με OPPG σύνδρομο, η μόνη φαρμακευτική αγωγή που έχει αποδειχθεί αποτελεσματική είναι τα διφωσφονικά, με παράλληλη κάλυψη των ημερησίων αναγκών σε ασβέστιο και βιταμίνη D [7,9,115]. Τα φάρμακα αυτά αναστέλλουν την οστική επαναρρόφηση, δρώντας στους οστεοκλάστες, μειώνουν το οστικό άλγος, βελτιώνουν την οστική πυκνότητα και δεν προκαλούν σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες [9,115].

Στην παρούσα μελέτη, οι ασθενείς που έλαβαν αγωγή για την αντιμετώπιση των καταγμάτων ήταν εκείνοι που πληρούσαν τα κριτήρια της οστεοπόρωσης (ασθενείς B, C, D και H), δηλαδή Z-score χαμηλότερο του -2, με παράλληλη παρουσία κατάγματος. Η θεραπεία ξεκίνησε στους ασθενείς B, C, D και H από τις ηλικίες των 2, 3, 7 και 1 έτους, αντίστοιχα, για συνολική διάρκεια 4, 2, 3 και 2 ετών, αντίστοιχα. Τα διφωσφονικά που επιλέχθηκαν ήταν η παμιδρονάτη σε ενδοφλέβια χορήγηση και η αλεδρονάτη σε per os (από το στόμα) χορήγηση. Η δεύτερη μείωσε τις ανεπιθύμητες ενέργειες από το γαστρεντερικό και ελαχιστοποίησε τις ημέρες νοσηλείας.

Οι ασθενείς έδειξαν θετική ανταπόκριση στην αγωγή με μείωση του οστικού άλγους και βελτίωση της οστικής πυκνότητας, όπως φαίνεται και στον πίνακα 7. Ωστόσο, οι ασθενείς Β, C και D παρουσίασαν κάταγμα 2 έτη μετά την έναρξη της θεραπείας με διφωσφονικά. Σημειώνεται ότι ο ασθενής D πρώτα διέκοψε αυτοβούλως τη θεραπεία και στη συνέχεια εμφάνισε κατάγματα. Εμφάνιση καταγμάτων σε ασθενείς οι οποίοι βρίσκονταν υπό αγωγή με διφωσφονικά, ακόμη και αν παράλληλα η οστική τους μάζα είχε αυξηθεί, έχει περιγραφεί στη βιβλιογραφία [138,139]. Τα παραπάνω δείχνουν ότι η αγωγή με διφωσφονικά, σε ασθενείς με OPPG, απέχει από το να θεωρηθεί ιδανική θεραπεία της οστεπόρωσης του συνδρόμου. Επιπρόσθετα, είναι υπό διερεύνηση η αξία της μεθόδου DXA στην ακριβή εκτίμηση της οστικής μάζας των ασθενών με σύνδρομο OPPG. Η μελέτη των Streeten και συν., σε ασθενείς με OPPG που έλαβαν θεραπεία με διφωσφονικά, καταλήγει στο συμπέρασμα πως παρότι η περιοχική οστική πυκνότητα αυξήθηκε, η δοκιδωτή ογκομετρική οστική πυκνότητα παρέμεινε χαμηλή και γι' αυτό σε βάθος χρόνου δεν καταγράφεται σημαντική κλινική βελτίωση σε αυτούς τους ασθενείς [140].

Αρκετοί υποστηρίζουν ότι επιπλέον αναβολικοί παράγοντες είναι σημαντικό να δοκιμαστούν για τη βελτίωση της οστικής ποιότητας σε ασθενείς με σύνδρομο OPPG. Η τεριπαρατίδη (συνθετικό ανάλογο της παραθορμόνης), το λίθιο και τα αντι-sclerostin αντισώματα μελετώνται ως υποψήφια θεραπευτικά φάρμακα για την οστεοπόρωση του συνδρόμου OPPG [138,141,142].

Σε αυτήν τη μελέτη υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί: α) η γνωστική αντίληψη και νοητική λειτουργία των ασθενών δεν εκτιμήθηκε από αναπτυξιακό παιδίατρο ή παιδοψυχίατρο και β) παρακολούθηση της οστικής πυκνότητας, με DXA, δεν πραγματοποιήθηκε στους ασθενείς που δεν έλαβαν θεραπεία με διφωσφονικά καθώς και στους ετεροζυγώτες της νόσου.

Συνοπτικά, στην παρούσα εργασία γίνεται κλινική, εργαστηριακή και γενετική εκτίμηση 10 νέων περιπτώσεων του συνδρόμου OPPG, σε οκτώ οικογένειες στην Ελλάδα. Η γενετική ανάλυση των ασθενών αποκάλυψε τη μετάλλαξη c.2409_2503+79del σε ομοζυγωτία. Από τα συνολικά 44 μέλη των οικογενειών

που εξετάστηκαν, οι 26 έφεραν τη μετάλλαξη στο ένα αλληλόμορφο γονίδιο. Όλοι οι ασθενείς παρουσίαζαν συγγενή τύφλωση. Σε 7 ασθενείς μετρήθηκε η οστική πυκνότητα και βρέθηκε χαμηλή, ενώ 4 από αυτούς τέθηκαν σε αγωγή με διφωσφονικά. Η θεραπεία οδήγησε σε μείωση του οστικού άλγους και βελτίωση της οστικής μάζας, ενώ 3 από τους ασθενείς εμφάνισαν ένα κάταγμα μετά την έναρξη της αγωγής. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη αναφορά της μετάλλαξης σε ασθενείς με OPPG σύνδρομο στην περιοχή της Μεσογείου, αναλύοντας παράλληλα τον φαινότυπο των ασθενών και την ανταπόκρισή τους στη θεραπεία.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Gong Y, et al. LDL receptor-related protein 5 affects bone accrual and eye development. *Cell* 2001; 107:513-23.
2. Neuhauser G, et al. Autosomal recessive syndrome of pseudogliomantous blindness, osteoporosis and mild mental retardation. *Clin Genet* 1976; 9:324-32.
3. Lee DH, et al. Congenital blindness and osteoporosis-pseudoglioma syndrome. *J AAPOS* 2003; 7:75-7.
4. Boyden LM, et al. High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5. *N Engl J Med.* 2002; 346:1513-21.
5. Steichen-Gersdorf E, et al. Persistent hyperplastic primary vitreous in a family with osteoporosis-pseudoglioma syndrome. *Clin Dysmorphol.* 1997;6:171–6.
6. Marques-Pinheiro A, et al. Novel LRP5 gene mutation in a patient with OPPG syndrome. *Joint Bone Spine* 2010; 77:151-3.
7. Streeten E, et al. Osteoporosis-pseudoglioma syndrome: Description of 9 new cases and beneficial response to bisphosphonates. *Bone* 2008; 43:584-90.
8. Somer H, et al. Osteoporosis-pseudoglioma syndrome: clinical, morphological, and biochemical studies. *J. Med Genet* 1988; 25:543-9.
9. Levasseur R. Catch-Up of Bone Mineral Density in Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome. In: Preedy V. (eds) *Handbook of Growth and Growth Monitoring in Health and Disease.* 2012; Springer, New York, NY.
10. Neuhauser G, et al. Autosomal recessive syndrome of pseudogliomantous blindness, osteoporosis and mild mental retardation. *Clin. Genet.* 1976; 9:324–32.
11. Reese AB. Persistence and hyperplasia of primary vitreous; retrolental fibroplasia; two entities. *Arch Ophthal.* 1949; 4:527-52.

12. Diez-Roux G and Lang RA. Macrophages induce apoptosis in normal cells in vivo. *Development* 1997; 124:3633-8.
13. Lobov IB, et al. WNT7b mediates macrophage-induced programmed cell death in patterning of the vasculature. *NATURE* 2005; 437:417-21.
14. Benson WE. Familial exudative vitreoretinopathy. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1995; 93:473–521.
15. Ranchod TM, et al. Clinical presentation of familial exudative vitreoretinopathy. *Ophthalmology* 2011; 118:2070-5.
16. Rao FQ, et al. Mutations in LRP5, FZD4, TSPAN12, NDP, ZNF408, or KIF11 Genes Account for 38.7% of Chinese Patients With Familial Exudative Vitreoretinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017; 58:2623-29.
17. Ye X, et al. Norrin, frizzled-4, and Lrp5 signaling in endothelial cells controls a genetic program for retinal vascularization. *Cell.* 2009; 139:285–98.
18. Ye X, et al. The Norrin/Frizzled4 signaling pathway in retinal vascular development and disease. *Trends Mol Med.* 2010; 16:417-25.
19. Gow J. Familial Exudative Vitreoretinopathy. *Archives of Ophthalmology.* 1971; 86:150.
20. Bringhurst R, et al. Bone and Mineral Metabolism in Health and Disease. *Harrison's Principles of Internal Medicine,* 2012.
21. Bachrach LK. Consensus and controversy regarding osteoporosis in the pediatric population. *Endocr Pract* 2007; 13:513-20.
22. Bain S, et al. Official positions of the International society for clinical Densitometry and Executive summary of the 2007 ISCD Position Development Conference. *J Clin Densitom.* 2008 11:75-91.
23. Taskinen M, et al. Bone health in children and adolescents after allogeneic stem cells transplantation: high prevalence of vertebral compression fractures. *Cancer* 2007; 110:442-51.

24. Sinigaglia R, et al. 2008 Musculoskeletal manifestations in pediatric acute leukemia. *J Ped Orthop* 2008; 28:20-8.
25. Ma NS, Gordon CM. Pediatric osteoporosis: Where are we now? *J Pediatr*. 2012; 161:983-90.
26. Lev D, et al. Decreased Bone Density in Carriers and Patients of an Israel Family with the Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome, *IMAJ* 2003; 5:419-21.
27. Binkovitz L and Henwood M. Pediatric DXA: technique and interpretation *Ped. Radiol*. 2007; 37:21–31.
28. Gafni R and Baron J. Overdiagnosis of osteoporosis in children due to misinterpretation of dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). *J of Pediatr* 2004 144: 253-7.
29. Khoo C, et al. Comparison of QCT-derived and DXA-derived areal bone mineral density and T scores. *Osteoporos Int*. 2009; 20: 1539-45.
30. Engelke K, et al. Reanalysis precision of 3D quantitative computed tomography (QCT) of the spine. *Bone* 2009; 44:566-72.
31. Maghraoui EI and Roux C. DXA scanning in clinical practice. *QJM* 2008; 101: 605-17.
32. Thomas J, et al. Simulated increases in body fat and errors in bone mineral density measurements by DXA and QCT. *J Bone Miner Res*. 2011; 27:119-24.
33. Liu G, et al. Effect of osteoarthritis in the lumbar spine and hip on bone mineral density and diagnosis of osteoporosis in elderly men and women. *Osteoporos Int* 1997; 7:564-9.
34. Li N, et al. Comparison of QCT and DXA: Osteoporosis Detection Rates in Postmenopausal Women. *Int J Endocrinol*. 2013; 2013: 895474.
35. Müller A, et al. "Peripheral QCT: a low-risk procedure to identify women predisposed to osteoporosis". *Phys Med Biol*. 1989; 34:741–9.

36. Gilsanz V. Bone density in children: a review of the available techniques and indications. *Eur J Radiol*, 1998; 26:177–82.
37. Venturi G, et al. Osteogenesis imperfecta: clinical, biochemical and molecular findings. *Clin Genet*. 2006; 70:131-9.
38. Rauch F, Glorieux FH. Osteogenesis imperfecta. *Lancet*. 2004 24; 363:1377-85.
39. Hartikka H, et al. Heterozygous Mutations in the LDL receptor related protein 5 (LRP5) gene are associated with primary osteoporosis in children. *Journal of Bone and Mineral Research* 2005; 20:783-9.
40. Shaw NJ. Management of osteoporosis in children. *Eur J Endocrinol* 2008; 159:33-9.
41. Riddle RC, et al. Lrp5 and Lrp6 exert overlapping functions in osteoblasts during postnatal bone acquisition. *PLoS One*. 2009
42. Kato M, et al. Decrease in osteoblast proliferation, osteopenia and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol*. 2002; 157:303-14.
43. Zhang J, et al. Lrp8 mediates Wnt/beta-catenin signaling and controls osteoblast differentiation. *J Bone Miner Res* 2012; 27:2065-74.
44. Figueroa D, et al. Expression of the type I diabetes-associated gene LRP5 in macrophages, vitamin A system cells and the islets of Langerhans suggests multiple potential roles in diabetes. *J Histochem Cytochem*. 2000; 48:1357-68.
45. Liu T, et al. Uptake of HIV-1 tat protein mediated by low-density lipoprotein receptor-related protein disrupts the neuronal metabolic balance of the receptor ligands. *Nat. Med*. 2000; 6:1380-87.
46. Cheung WM, et al. A family with osteoporosis pseudoglioma syndrome due to compound heterozygosity of two novel mutations in the LRP5 gene. *Bone* 2006; 39:470-6.

47. Campos-Obando N, et al. Osteoporotic vertebral fractures during pregnancy : be aware of a potential underlying genetic cause. *J Clin. Endocr. Metab.* 2014; 99:1107-11.
48. Li X, et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem.* 2005; 280:19883–7.
49. Fedi P, et al. Isolation and biochemical characterization of the human Dkk-1 homologue, a novel inhibitor of mammalian Wnt signaling. *J Biol Chem.* 1999; 274:19465–72.
50. Bao J, et al. The structural basis of DKK-mediated inhibition of Wnt/LRP signaling. *Sc Signal.* 2012; 5:pe22.
51. Mao B, et al. Kremen Proteins are Dickkopf Receptors that Regulate Wnt/ β -Catenin Signalling. *Nature.* 2002; 417:664–7.
52. Nakamura T, et al. Molecular cloning and characterization of Kremen, a novel kringle-containing transmembrane protein. *Biochim Biophys Acta.* 2001;1518:63–72.
53. Cselenyi CS and Lee E. Context-dependent activation or inhibition of Wnt-beta-catenin signaling by Kremen. *Science signaling.* 2008; 1:pe10.
54. Galli LM, et al. Differential inhibition of Wnt-3a by Sfrp-1, Sfrp-2, and Sfrp-3. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists.* 2006; 235:681–90.
55. Babij P, et al. High Bone Mass in mice expressing a mutant LRP5 gene. *J Bone Miner Res.* 2003; 18:960-74.
56. Niziolek PJ, et al. Mechanotransduction in bone tissue: The A214V and G171V mutations in Lrp5 enhance load-induced osteogenesis in a surface-selective manner. *Bone.* 2012; 51:459-65.
57. Johnson M, et al. Linkage of a gene causing high bone mass to human chromosome 11 (11q12-13) *Am J Hum Genet.* 1997; 60:1326-32.
58. Boyden L, et al. High Bone Density due to a mutation in a LDL receptor-related protein 5. *N Engl J Med.* 2002; 346:1513-21.

59. Smith AJ, et al. Haplotypes of the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (LRP5) gene: are they a risk factor in osteoarthritis? *Osteoarthritis and cartilage / OARS, Osteoarthritis Research Society*. 2005; 13:608–13.
60. Yerges-Armstrong LM, et al. Association analysis of BMD-associated SNPs with knee osteoarthritis. *J Bone Miner Res*. 2014; 29:1373–9.
61. De Rooy DP, et al. Genetic studies on components of the Wnt signalling pathway and the severity of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013; 72:769–75.
62. Serge L, et al. Pathogenic mutations and polymorphisms in the lipoprotein receptor-related protein 5 reveal a new biological pathway for the control of bone mass. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16:207-14.
63. Eckenrode S, et al. Fine-mapping of the type 1 diabetes locus (IDDM4) on chromosome 11q and evaluation of two candidate genes (FADD and GALN) by affected sibpair and linkage-disequilibrium analyses. *Hum. Genet*. 2000; 106:14-18.
64. Twells RC, et al. Linkage and association mapping of the LRP5 locus on chromosome 11q13 in type 1 diabetes. *Hum Genet* 2003; 113:99-105.
65. Gong Y, et al. LDL receptor-related protein 5 affects bone accrual and eye development. *Cell*. Vol. 2001; 107:513-23.
66. Kuhnen C, et al. β -Catenin in soft tissue sarcomas: expression is related to proliferative activity in high grade sarcomas. *Mod. Pathol*. 2000; 13:1005-13.
67. Ng TL, et al. Nuclear β -catenin in mesenchymal tumours. *Mod. Pathol*. 2005; 18:68-74.
68. Chen G, et al. Up-regulation of Wnt-1 and β -catenin production in patients with advanced metastatic prostate carcinoma: potential pathogenic and prognostic implications. *Cancer* 2004; 101:1345-56.

69. Nagahata T, et al. Amplification, up-regulation and over-expression of Dvl-1, the human counterpart of the Drosophila disheveled gene, in primary breast carcinomas. *Cancer Sci.* 2003; 94:515-18.
70. Tian E, et al. The role of the Wnt-signalling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2003; 349:2483-94.
71. Hoang B, et al. Expression of LRP5 as a novel marker for disease progression in high-grade osteosarcoma. *Int J. Cancer* 2004; 109:106-11.
72. Costa AG, et al. Update on romosozumab: a humanized monoclonal antibody to sclerostin. *Expert Opin Biol Ther* 2014; 14:697–707.
73. McClung MR, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med.* 2014; 370:412–20.
74. Padhi D, et al. Multiple doses of sclerostin antibody romosozumab in healthy men and postmenopausal women with low bone mass: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Pharmacol* 54:168-78.
75. Kedlaya R, et al. Sclerostin inhibition reverses skeletal fragility in an Lrp5-deficient mouse model of OPPG syndrome. *Sci Transl Med.* 2013; 5:211ra158.
76. Grafe I, et al. Sclerostin antibody treatment improves the bone phenotype of *Crtap*^{-/-} mice, a model of recessive Osteogenesis Imperfecta. *J Bone Miner Res.* 2016; 31:1030–40.
77. Ngan KK, et al. The risk of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in children. A case report and literature review. *Dent Update.* 2013; 40:733–4.
78. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell.* 2006; 127:469-80.
79. Angers S, Moon RT. Proximal events in Wnt signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009; 10:468-77.

80. Willert K, et al. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature*. 2003; 423:448–52.
81. He X, et al. LDL receptor-related proteins 5 and 6 in Wnt/beta-catenin signaling: arrows point the way, *Development*. 2004; 131:1663–77.
82. Bryja V, et al. The extracellular domain of Lrp5/6 inhibits noncanonical Wnt signaling in vivo, *Mol. Biol. Cell*. 2009; 20:924–36.
83. Yaccoby S., et al. Antibody-based inhibition of DKK1 suppresses tumor-induced bone resorption and multiple myeloma growth in vivo. *Blood*. 2007; 109:2106–11.
84. Diarra D, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling, *Nat. Med*. 2007; 13:156–63.
85. Rivera MN, et al. An X chromosome gene, WTX, is commonly inactivated in Wilms tumor. *Science*. 2007; 315:642–5.
86. Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*. 1982; 31:99-109.
87. Krieghoff E, et al. Nucleo-cytoplasmic distribution of beta-catenin is regulated by retention J. *Cell Sci*. 2006; 119:1453–63.
88. Wu X, et al. Rac1 activation controls nuclear localization of beta-catenin during canonical Wnt signaling. *Cell*. 2008; 133:340–53.
89. Guo X, et al. Wnt/beta-catenin signaling is sufficient and necessary for synovial joint formation. *Genes Dev*. 2004; 18:2404-17.
90. Guo X, et al. The Wnt/beta-catenin pathway interacts differentially with PTHrP signaling to control chondrocyte hypertrophy and final maturation. *PLoS One*. 2009; 4:e6067.
91. Day TF, et al. Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. *Dev Cell*. 2005; 8:739-50.
92. Erspamer V and Asero B. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature* 1952; 169: 800-1.

93. Twarog BM and Page IH. Serotonin content of some mammalian tissues and urine and a method for its determination. *Am J Physiol* 1953; 175:157-61.
94. Gershon MD. Review article: roles played by 5-hydroxytryptamine in the physiology of the bowel. *Aliment Pharmacol. Ther.* 1999; 13:15-30.
95. Fitzpatrick PF. Mechanism of aromatic amino acid, hydroxylation. *Biochemistry* 2003; 42:14083-91.
96. Karsenty G, Yadav VK. Regulation of bone mass by serotonin: molecular biology and therapeutic implications. *Annu Rev Med.* 2011; 62:323–31.
97. Yadav VK, et al. Lrp5 controls bone formation by inhibiting serotonin synthesis in the duodenum. *Cell* 2008; 135:1825-37.
98. Yadav VK, et al. Pharmacological inhibition of gut-derived serotonin synthesis is a potential bone anabolic treatment for osteoporosis. *Nat. Med.* 2010; 16:308-12.
99. Yadav VK, et al. Genetic analysis of Lrp5 function in osteoblast progenitors. *Calcif. Tissue Int.* 2010; 86:382-8.
100. Cui Y, et al. Lrp5 functions in bone to regulate bone mass. *Nat Med.* 2011; 17:684-91.
101. Chabbi-Achengli Y, et al. Decreased osteoclastogenesis in serotonin-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2012; 2567-72.
102. Hanley HG, et al. Hyperserotonemia and amine metabolites in autistic and retarded children. *Arch Gen Psychiatry.* 1977; 34:521–31.
103. Hediger ML, et al. Reduced bone cortical thickness in boys with autism or autism spectrum disorder. *J Autism Dev Disord.* 2008; 38:848–56.
104. Yadav VK, Ducy P. Lrp5 and Bone formation, A serotonin-dependent pathway. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1192: 103-9.
105. Modder UI, et al. Relation of serum serotonin levels to bone density and structural parameters in women. *J Bone Miner Res.* 2010; 25:415–22.

106. Holick MF, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96:1911–30.
107. Bischoff-Ferrari HA, et al. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA.* 2005; 293:2257-64.
108. Ward ML, et al. Use of bisphosphonates in the treatment of the pediatric osteoporosis. *Int. J. Clin. Rheumatol.* 2009; 657-72.
109. Marrani E, et al. Pediatric Osteoporosis: Diagnosis and Treatment Considerations. *Drugs.* 2017; 77:679-95.
110. Bachrach LK, Ward LM. Clinical review: Bisphosphonate Use in Childhood osteoporosis. *J Clin Endocr Metab* 2009; 94:400-9.
111. Zacharin M, Cundy T. Osteoporosis Pseudoglioma syndrome: treatment of spinal osteoporosis with intravenous bisphosphonates. *J Pediatr.* 2000;137:410-5
112. DiGorgi N and Maghnie M. Motor function improvement after intravenous pamidronate in osteoporosis pseudoglioma syndrome. *J Pediatr.* 2006;149:734
113. Bayram F, et al. Effects of 3 years of intravenous pamidronate treatment on bone markers and bone mineral density in a patient with osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG).
114. Brumsen C, et al. Long-term effects of bisphosphonates on the growing skeleton: studies of young patients with severe osteoporosis. *Medicine* 1997;76:266-83
115. Levasseur R. Treatment and management of osteoporosis–pseudoglioma syndrome. *Expert Rev Endocrinol Metab* 2008; 3:337-48.
116. Akcay T, et al. Aledronate in Osteogenesis Imperfecta. *Indian Pediatr* 2008; 45:105-9.

117. DiMeglio LA and Peacock M. Two-year clinical trial of oral alendronate versus intravenous pamidronate in children with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res.* 2006; 21:132-40.
118. Ward L, et al. Bisphosphonate therapy for children and adolescents with secondary osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007 17:CD005324.
119. Glorieux F, et al. Cyclic Administration of Pamidronate in Children with Severe Osteogenesis Imperfecta *N Engl J Med* 1998; 339:947-952
120. Whyte MP, et al. Bisphosphonate –induced osteopetrosis. *N Eng J Med* 2003; 349:457-63.
121. Rauch F, et al. The effects of intravenous pamidronate on the bone tissue of children and adolescents with osteogenesis imperfecta. *J Clin Invest* 2002; 110:1293-9.
122. Patlas N, et al. Transplacental effects of bisphosphonates on fetal skeletal ossification and mineralization in rats. *Teratology* 1999; 60:68-73.
123. Kema IP, et al. Influence of a serotonin- and dopamine-rich diet on platelet serotonin content and urinary excretion of biogenic amines and their metabolites. *Clin Chem.* 1992; 38:1730-6.
124. Ai M, et al. Clinical and Molecular findings in osteoporosis-pseudoglioma syndrome. *Am J Hum Genet* 2005; 77:741-53.
125. Laine CM, et al. Novel mutations affecting LRP5 splicing in patients with osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG). *Eur J Hum Genet.* 2011; 19:875–81.
126. Chung BD, et al. A mutation in the signal sequence of LRP5 in a family with an osteoporosis-pseudoglioma syndrome (OPPG)-like phenotype indicates a novel disease mechanism for trinucleotide repeats. *Hum Mutat* 2009; 30:641–48.

127. Levasseur R, et al. LRP5 mutations in osteoporosis-pseudoglioma syndrome and high-bone-mass disorders. *Joint Bone Spine* 2005; 72:207–14.
128. Spiegelman VS, et al. Wnt/beta-catenin signaling induces the expression and activity of betaTrCP ubiquitin ligase receptor. *Mol Cell* 2000; 5:877–82.
129. Kato M, et al. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. *J Cell Biol* 2002; 157:303–14.
130. Xia CH, et al. A model for familial exudative vitreoretinopathy caused by LRP5 mutations. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 1605–12.
131. Qin M, et al. Complexity of the genotype-phenotype correlation in familial exudative vitreoretinopathy with mutations in the LRP5 and/or FZD4 genes. *Hum Mutat* 2005; 26:104-12.
132. Fretz JA, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces expression of the Wnt signaling co-regulator LRP5 via regulatory elements located significantly downstream of the gene's transcriptional start site. *J Steroid Biochem Mol. Biol.* 2007; 103:440–5.
133. Saarinen A, et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) mutations and osteoporosis, impaired glucose metabolism and hypercholesterolaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010; 72:481–8.
134. Suwazono, Y, et al. G-protein beta 3 subunit polymorphism C1429T and low-density lipoprotein receptor-related protein 5 polymorphism A1330V are risk factors for hypercholesterolemia in Japanese males—a prospective study over 5 years. *Metabolism* 2006; 55: 751–7.
135. Gabriele S, et al. Blood serotonin levels in autism spectrum disorder: a systematic review and meta-analysis. *Neuropsychopharmacology*. 2014; 24:919–29.

136. Grosse W, et al. Serotonin Biosynthesis and Its Regulation in Seeds of *Juglans regia* L. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 1983; 110: 221-9.
137. Muller C, et al. The serotonin system in autism spectrum disorder: from biomarker to animal models. *Neuroscience*. 2016; 321:24–41.
138. Arantes HP, et al. Teriparatide increases bone mineral density in a man with osteoporosis pseudoglioma. *J Bone Miner Res* 2011; 26:2823–6.
139. Tuysuz B, et al. Osteoporosis-pseudoglioma syndrome: three novel mutations in the LRP5 gene and response to bisphosphonate treatment. *Horm Res Paediatr* 2012; 77:115–20.
140. Streeten EA, et al. Fractures on bisphosphonates in osteoporosis pseudoglioma syndrome (OPPG): pQCT shows poor bone density and structure. *Bone*. 2015; 77:17-23.
141. Jacobsen CM. Application of anti-sclerostin therapy in nonosteoporosis disease models. *Bone* 2017; 96:18–23.
142. Mosekilde L, et al. Emerging anabolic treatments in osteoporosis. *Curr Drug Saf* 2011; 6:62–74.