

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΜΣ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑ-ΔΙΑΤΡΟΦΗ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Μελέτη της επίδρασης του θηλασμού σε δείκτες οστικού μεταβολισμού.



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΜΙΧΑΛΟΠΟΥΛΟΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ
ΤΕΝΤΑ ΡΩΞΑΝΗ
ΓΙΑΝΝΑΚΟΥΛΙΑ ΜΑΙΡΗ
ΚΟΝΤΟΓΙΑΝΝΗ ΜΕΡΟΠΗ

ΑΘΗΝΑ 2010

**Μελέτη της επίδρασης του θηλασμού σε δείκτες
οστικού μεταβολισμού.**

Ευχαριστίες

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την πολυαγαπημένη μου σύζυγο Παναγιώτα, που σε 3 περίπου μήνες θα φέρει στο κόσμο την κόρη μας, για την υπομονή, την κατανόηση και την υποστήριξη που μου προσέφερε όλο αυτό το διάστημα .

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την επιβλέπουσα καθηγήτρια κα Τέντα Ρωξάνη όχι μόνο για τον πολύτιμο χρόνο που αφιέρωσε αλλά και για την κατανόηση που έδειξε όλο αυτό το διάστημα και κυρίως για την έμπρακτη διάθεση να ξεπεραστούν τα όποια εμπόδια. Στο σημείο αυτό θα ήταν παράλειψη να μην ευχαριστήσω και την καθηγήτρια κα Γιαννακούλια Μαίρη για την σαφή καθοδήγησή της, που προσέφερε αγόγγυστα.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρα κο Καρή Χρήστο, διευθυντή της παιδιατρικής κλινικής του Γ.Ν. Νίκαιας καθώς και τους συναδέλφους μου, για την όποια μικρή ή μεγάλη βοήθεια μου προσέφεραν όλο αυτό το διάστημα.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	σελ.5
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	σελ.8
1.1.ΟστικήΥγεία	σελ.8
1.1.1 Χαμηλό ανάστημα	σελ.8
1.1.2.Ραχίτιδα & Οστεομαλακία	σελ.8
1.1.3.Οστεοπόρωση	σελ.9
1.1.4.Κάταγμα στην παιδική ηλικία	σελ.9
1.2. Παράγοντες που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό – υγεία	σελ.9
1.2.1 Γενετικοί παράγοντες	σελ.10
1.2.2 Φυσική δραστηριότητα	σελ.10
1.2.3 Παχυσαρκία	σελ.10
1.2.4 Χρόνια νοσήματα	σελ.11
1.2.4.1 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια	σελ.11
1.2.4.2 Γαστρεντερικά νοσήματα	σελ.11
1.2.4.3 Κυστική ίνωση	σελ.12
1.2.4.4 Μυοσκελετικά νοσήματα	σελ.12
1.2.4.5 Άσθμα	σελ.13
1.2.4.6 Ρευματολογικά νοσήματα	σελ.13
1.2.4.7 Αιματολογικά νοσήματα	σελ.13
1.2.4.8 Νεοπλασίες	σελ.13
1.2.4.9 Ενδοκρινοπάθειες	σελ.13
1.2.5 Φάρμακα	σελ.14
1.2.5.1 Γλυκοκορτικοειδή	σελ.14
1.2.5.2 Αντιεπιληπτικά	σελ.15
1.2.5.3 Αντιπηκτικά	σελ.15
1.2.5.4 Αντισυλληπτικά	σελ.15

1.2.6 Διατροφικοί παράγοντες	σελ.16
1.2.6.1 Μητρικός θηλασμός	σελ.18
1.2.6.2 Μητρική διαίτα κατά την εγκυμοσύνη	σελ.20
1.2.6.3 Περιεκτικότητα σε ασβέστιο και φώσφορο σε υποκατάστατα μητρικού γάλακτος	σελ.20
1.2.6.4 Γάλα αγελάδος – Σόγια	σελ.20
1.2.6.5 Φοινικέλαιο	σελ.21
1.2.6.6 Εισαγωγή στερεών τροφών κατα τον απογαλακτισμό	σελ.21
1.2.6.7 Δίαιτα σε νήπια και προσχολική ηλικία	σελ.21
1.3. Σύστημα RANKL-RANK-OPG	σελ.22
1.3.1 Ρόλος στον οστικό μεταβολισμό	σελ.22
1.3.2 Ρύθμιση παραγωγής παραγόντων του συστήματος-κινκάρδιος ρυθμός	σελ.23
1.3.3 Σχέση με άλλους δείκτες οστικού μεταβολισμού και με οστική πυκνότητα	σελ.25
1.3.4 Η επίδραση της ηλικίας στα επίπεδα της OPG.	σελ.26
1.4 Μονοπάτι Wnt β – κατενίνης: ενδοκύτταρα οδός μεταγωγής σήματος και ο ρόλος του παράγοντα DKK 1	σελ.27
2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	σελ.33
2.1 Πληθυσμός	σελ.33
2.2 Ερωτηματολόγιο Υγείας και Συνηθειών θηλασμού	σελ.33
2.3 Δειματοληψία – μετρήσεις	σελ.34
2.4. Σωματομετρικές μετρήσεις	σελ.35
2.5. Στατιστική ανάλυση	σελ.35
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	σελ.37
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	σελ.45
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	σελ.52
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	σελ.62

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Κατά την παιδική ηλικία η ταχεία σωματική ανάπτυξη επιφέρει στους ιστούς του σώματος και ειδικότερα στον οστίτη ιστό ταχύτατες και μεγάλου εύρους μεταβολές. Μεγάλη είναι, επομένως, η σημασία τροφοδότησης του οργανισμού σε επαρκείς ποσότητες με τα κατάλληλα θρεπτικά συστατικά προκειμένου να καλυφθούν οι ανάγκες του αναπτυσσόμενου σκελετού. Ιδιαίτερα σημαντική για την ανάπτυξη των οστών στα παιδιά είναι η επίδραση του μητρικού θηλασμού κατά τη βρεφική ηλικία.

Σκοπός της παρούσας έρευνας είναι να μελετηθεί αν ένα διατροφικό γεγονός όπως ο μητρικός θηλασμός είναι καθοριστικός για το επίπεδο μεταβολικής δραστηριότητας του οστίτη ιστού έτσι όπως αντανakλάται από τη δραστηριότητα του συστήματος RANKL-RANK-OPG και τα επίπεδα του παράγοντα DKK1.

Υλικά και μέθοδοι: Το δείγμα της παρούσας μελέτης αποτελούνταν από 87 παιδιά προσχολικής ηλικίας 3-6 ετών. Από αυτά εξαιρέθηκαν εκείνα τα οποία είχαν ιατρικό ιστορικό χρόνιων νοσημάτων ή λήψης φαρμάκων, που είναι δυνατό να επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό, καθώς και εκείνα στα οποία δεν κατεγράφησαν σημαντικές πληροφορίες όπως π.χ. το ιστορικό θηλασμού.

Το «Ερωτηματολόγιο Υγείας και Συνηθειών Θηλασμού», που σχεδιάστηκε ειδικά για τις ανάγκες της έρευνας αυτής, περιελάμβανε ερωτήσεις κλειστού τύπου και συμπληρώθηκε με τη συνεργασία της μητέρας.

Οι μετρήσεις στον ορό του πλάσματος των δεικτών DKK-1, RANKL, OPG έγιναν με τη μέθοδο Elisa.

Αποτελέσματα: Ο παράγοντας RANKL παρουσίασε χαμηλότερες τιμές στα παιδιά στα οποία η εισαγωγή αγελαδινού γάλακτος έγινε μετά τους 12 μήνες σε σχέση με αυτά που έγινε νωρίτερα ($0,227 \pm 0,254$ έναντι $0,607 \pm 1,081$ pmol/L, $p=0,008$). Η διαφορά παρέμεινε στατιστικά σημαντική μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες όπως την ηλικία, το φύλο και το δείκτη μάζας σώματος των παιδιών, το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης των γονέων και το ιστορικό καπνίσματος της μητέρας κατά την εγκυμοσύνη. Σταθμίζοντας ως προς τους ίδιους

συγκριτικούς παράγοντες, ο παράγοντας RANKL παρουσίασε χαμηλότερες τιμές σε παιδιά με διάρκεια θηλασμού μικρότερη των δύο μηνών σε σχέση με εκείνα με μεγαλύτερη διάρκεια ($0,253 \pm 0,227$ έναντι $0,596 \pm 1,105$ pmol/L, $p=0,020$). Επίσης ο RANKL παρουσίασε χαμηλότερες τιμές στα παιδιά με πατέρες που είχαν θετικό οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης σε σχέση με αυτά που δεν είχαν ιστορικό ($0,191 \pm 0,181$ έναντι $0,513 \pm 0,933$ pmol/L, $p=0,038$) και σε παιδιά με μητέρες ελληνικής καταγωγής σε σχέση με παιδιά άλλης καταγωγής ($0,344 \pm 0,599$ έναντι $0,722 \pm 1,318$ pmol/L, $p=0,040$).

Αντιστοίχως, οι τιμές του DKK-1 αφού έγινε έλεγχος για τους ίδιους συγκριτικούς παράγοντες καθώς και για την εθνικότητα των γονέων, ήταν χαμηλότερες τιμές στην ομάδα των παιδιών με ιστορικό εισαγωγής αγελαδινού γάλακτος πριν από τους 12 μήνες σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές των παιδιών που εισήγαγαν το αγελαδινό γάλα πριν τους 12 μήνες ($2797,8 \pm 1608$ έναντι $3431,8 \pm 1868,1$ pg/ml, $p=0,042$) και επίσης χαμηλότερες τιμές στα παιδιά με πατέρα ελληνικής καταγωγής σε σχέση με τα υπόλοιπα παιδιά ($2921,8 \pm 1628,2$ έναντι $4193,8 \pm 2198,5$ pg/ml, $p=0,018$).

Ο παράγοντας OPG παρουσίασε υψηλότερες τιμές σε παιδιά με μητέρες που κάπνιζαν κατά την εγκυμοσύνη σε σχέση με αυτά που οι μητέρες τους δεν κάπνιζαν ($4,96 \pm 1,4$ έναντι $4,34 \pm 1,00$ pmol/L, $p=0,025$) και στα παιδιά που προέρχονταν από μη πυρηνικές οικογένειες σε σχέση με τα παιδιά από πυρηνικές οικογένειες ($5,51 \pm 1,64$ έναντι $4,48 \pm 1,09$ pmol/L, $p=0,007$).

Τέλος δεν παρουσιάστηκαν διαφορές των βιοχημικών αυτών δεικτών ανάμεσα στα δύο φύλα και δεν προέκυψαν συσχετίσεις με την ηλικία των παιδιών και το χρονικό σημείο εισαγωγής τροφίμων άλλων από το γάλα κατά το στάδιο του απογαλακτισμού στην βρεφική ηλικία.

Συμπεράσματα: Στην παρούσα μελέτη φάνηκε ότι σημαντικά διατροφικά γεγονότα κατά την βρεφική ηλικία είναι δυνατόν να συνοδεύονται από μακροπρόθεσμες επιδράσεις στον μεταβολισμό του οστίτη ιστού, έτσι όπως αντανakλάται από την δραστηριότητα βιοχημικών δεικτών οστικού μεταβολισμού, αφήνοντας ανοιχτή τη δυνατότητα κατάλληλης τροποποίησής τους προς όφελος της ανάπτυξης υγιέστερων οστών.

SUMMARY

Objectives: The purpose of the present study was to examine if breastfeeding is important for bone metabolism in a sample of healthy children.

Materials and methods: Our study comprised of 87 *preschool* children, 3 to 6 years old. Each mother has completed a 'Breastfeeding Questionnaire'. The levels of OPG (Osteoprotegerin), RANKL (Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand) and DKK-1 (Dickkopf related protein-1) in childrens serum were determined by the Elisa method.

Results: The levels of RANKL were significantly lower in breastfed infants with delayed introduction of cow's milk ($>12^{\text{th}}$ month) ($0,227 \pm 0,254$ vs. $0,607 \pm 1,081$ pmol/L, $p=0,008$) as well as in children with breastfeeding duration <2 months ($0,253 \pm 0,227$ vs $0,596 \pm 1,105$ pmol/L, $p=0,020$), after adjusting data for several confounders. In addition, RANKL levels were found lower in children whose fathers had positive family history of osteoporosis ($0,191 \pm 0,181$ vs $0,513 \pm 0,933$ pmol/L, $p = 0,038$). Similarly, DKK-1 levels were found lower in the group of children with history of early introduction of cow's milk <12 months ($2797,8 \pm 1608$ vs. $3431,8 \pm 1868$, 1pg/ml, $p=0,042$). Finally, OPG showed higher values in children whose mothers had a personal history of smoking during pregnancy ($4,96 \pm 1,4$ vs. $4,34 \pm 0,997$ pmol/L, $p = 0,025$)

Conclusions: In the present study it was shown that important nutritional events during infancy may have long term effects on bone metabolism. As the present study is cross-sectional, further studies are needed (intervention and prospective cohort studies) in order to fully elucidate the relationship between breastfeeding and skeleton growth.

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Οστική Υγεία

Ο οστίτης ιστός αποτελείται από ζωντανά κύτταρα που παρουσιάζουν ενεργό μεταβολική δραστηριότητα. Η καλή λειτουργία του οστικού μεταβολισμού επιτρέπει την ανάπτυξη ενός υγιούς σκελετού. Μέσα στα πλαίσια της ευρύτερης Δημόσιας Υγείας, ο όρος «οστική υγεία» περιλαμβάνει την πρόληψη 3 κοινών σκελετικών διαταραχών όπως: 1) χαμηλό ανάστημα, 2) ραχίτιδα και οστεομαλακία 3) οστεοπόρωση [1]. Και στις 3 παραπάνω περιπτώσεις τα ελλείματα του οστίτη ιστού και η ανάπτυξη παθολογικού οστού μπορούν να έχουν ως κοινή κατάληξη την απώλεια της συνοχής του οστού, και την εμφάνιση κατάγματος.

1.1.1.Χαμηλό ανάστημα

Ως χαμηλό ανάστημα ορίζεται το ανάστημα του παιδιού που βρίσκεται κάτω από 2 σταθερές αποκλίσεις ($<2SD$) από την μέση τιμή του αναστήματος για την ηλικία του, το φύλο του και την φυλή του, που παρατηρείται στον γενικό πληθυσμό [2]. Το χαμηλό ανάστημα σχετίζεται με αυξημένη θνητότητα, νοητική υστέρηση και χαμηλές σχολικές επιδόσεις. Επίσης σχετίζεται με δυσχέρειες στον τοκετό, γεγονός που αποτελεί μείζον αίτιο μητρικής αλλά και περιγεννητικής θνησιμότητας στις αναπτυσσόμενες χώρες [1].

1.1.2. Ραχίτιδα & Οστεομαλακία

Στη ραχίτιδα συμβαίνει ανεπαρκής επιμετάλλωση του οστεοειδούς, δηλαδή της πρωτεϊνικής θεμέλιας ουσίας των οστών, με τελικό αποτέλεσμα την ανάπτυξη παθολογικού οστίτη ιστού που έχει σαν συνέπεια τις οστικές παραμορφώσεις, το χαμηλό ανάστημα και τα κατάγματα [3]. Κύριος παθογενετικός μηχανισμός είναι η έλλειψη βιταμίνης D, ασβεστίου ή και φωσφόρου είτε ως αποτέλεσμα διατροφικής ανεπάρκειας είτε ως αποτέλεσμα μειωμένης σύνθεσης της βιταμίνης D λόγω μη επαρκούς έκθεσης στο ηλιακό φως ή λόγω ύπαρξης κληρονομούμενου νοσήματος.

Στην οστεομαλακία, αντίθετα, συμβαίνει αφαλάτωση του προηγούμενως καλώς σχηματισμένου οστού με αποτέλεσμα να έχουμε οστά με φυσιολογικό μέγεθος και μειωμένο περιεχόμενο σε ανόργανα άλατα που οδηγεί σε μαλάκυνση του οστού και σε μείωση της αντοχής του, κάνοντάς το επιρρεπές σε κατάγματα.

Και εδώ τα αίτια είναι κυρίως έλλειψη βιταμίνης D [3]. Η ραχίτιδα αφορά τους ταχέως αναπτυσσόμενους παιδικούς σκελετούς ενώ η οστεομαλακία συνήθως πλήττει ενήλικες. Ωστόσο στα οστά παιδιών με ραχίτιδα σε ιστολογικό επίπεδο είναι παρόντα χαρακτηριστικά οστεομαλακίας [3].

1.1.3. Οστεοπόρωση

Στην οστεοπόρωση ο οστίτης ιστός αν και έχει φυσιολογική σύνθεση η οστική πυκνότητα είναι μειωμένη γεγονός που επηρεάζει αρνητικά την αντοχή των οστών και αυξάνει τον κίνδυνο αναίτιων καταγμάτων [1]. Αν και θεωρείται νόσος που αφορά στην τρίτη ηλικία ωστόσο μπορεί να πλήττει, είτε λόγω χρόνιας νόσου, είτε λόγω πρωτοπαθούς νόσου των οστών, είτε λόγω ελλιπούς διατροφής και παιδιά ή και εφήβους με κακή σκελετική υγεία. Στα παιδιά είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται ο όρος ‘χαμηλή οστική πυκνότητα’ και για την διάγνωση να λαμβάνεται υπόψη το ατομικό ιστορικό καταγματικής νόσου [4]. Τέλος, ερευνητικά δεδομένα δείχνουν ότι η οστεοπόρωση που εμφανίζεται στις μεγαλύτερες ηλικίες ίσως έχει τις απαρχές της στην παιδική και εφηβική ηλικία [4].

1.1.4. Κάταγμα στην παιδική ηλικία

Αν και πολλά παιδιά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξής τους παθαίνουν κάποιο κάταγμα αυτό δεν αποτελεί τον κανόνα για τα υγιή παιδιά. Τα περισσότερα κατάγματα κατά την παιδική ηλικία είναι αποτέλεσμα τραυματισμού κατά το παιχνίδι ή την άθληση. Το 66% όλων των καταγμάτων της παιδικής και της εφηβικής ηλικίας αφορούν σε άτομα που αναφέρουν στο ιστορικό τους και άλλο κάταγμα στο παρελθόν αφήνοντας ανοιχτό το ενδεχόμενο να υπάρχει κάποιου είδους προδιάθεση σε αυτά. Σε αυτά τα άτομα συχνά καταγράφεται κάταγμα σε ηλικία κάτω των 5 ετών. Επίσης η ύπαρξη ιστορικού κατάγματος αυξάνει 2 έως 3 φορές την πιθανότητα νέου κατάγματος. Αν και η ηλικία και το φύλο επηρεάζουν τη θέση και την συχνότητα εμφάνισης η συνολική επίπτωση κορυφώνεται κατά την πρώιμη εφηβική ηλικία όπου η εναπόθεση ανόργανης ουσίας υστερεί ελαφρώς σε σχέση με την αύξηση σε ύψος και σε βάρος [5].

1.2. Παράγοντες που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό – υγεία

Κατά την ενδομήτρια ζωή η επιμετάλλωση των νεοσχηματισθέντων οστών παρατηρείται στο τελευταίο τρίμηνο της εγκυμοσύνης. Στο χρονικό διάστημα αυτό παρατηρείται κυρίως η συσσώρευση ασβεστίου και φωσφόρου στον εμβρυϊκό σκελετό [4]. Κατά την παιδική ηλικία συνεχίζεται η καθαρή εναπόθεση οστίτη ιστού στον αυξανόμενο παιδικό σκελετό. Ο δε ρυθμός αύξησης της οστικής μάζας παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές του κατά τις δύο πρώτες δεκαετίες της ζωής, με αποτέλεσμα η οστική μάζα να προσεγγίζει τις κορυφαίες τιμές στην ηλικία των 20 χρόνων [6].

1.2.1. Γενετικοί παράγοντες

Το ποσό της κορυφαίας οστικής μάζας που αποκτάται είναι ένα ισχυρά γενετικά καθοριζόμενο μέγεθος, γεγονός που καταδεικνύεται από πλήθος μελετών.

Χαρακτηριστικά αναφέρονται αυτές των Seeman E. *et al*, όπου στις κόρες οστεοπορωτικών γυναικών παρατηρήθηκαν χαμηλότερες τιμές κορυφαίας οστικής πυκνότητας [7] και η μελέτη των Soroko SB *et al* όπου παρατηρήθηκε χαμηλότερη οστική πυκνότητα σε άτομα με 1^{ου} βαθμού συγγενείς με οστεοπόρωση [8].

Το πόσο, όμως, καθοριστική είναι η επίδραση του γενετικού παράγοντα διαφαίνεται μέσα από σχετικές επιδημιολογικές και γενετικές μελέτες σύμφωνα με τις οποίες, η γενετική συνιστώσα συνεισφέρει έως 80% [9,10] στη διαμόρφωση της οστικής πυκνότητας.

Επίσης μελέτες που έλαβαν υπόψη τη φυλή και την εθνικότητα αναφέρουν ότι πληθυσμοί με καταγωγή ασιατική ή ισπανική παρουσιάζουν μεγαλύτερη επιρρέπεια στην εμφάνιση οστεοπόρωσης [4].

1.2.2. Φυσική δραστηριότητα

Σχετικές μελέτες αναφέρουν ότι η άσκηση με χρήση βαρών ίσως βελτιώνει την αντοχή των οστών και περιορίζει ενδεχομένως τον κίνδυνο εμφάνισης κατάγματος. Επίσης άλλες μελέτες υποδεικνύουν ότι ειδικά ασκήσεις αναπήδησης προκαλούν σημαντική βελτίωση στην απόκτηση οστικής μάζας σε παιδιά προεφηβικής και εφηβικής ηλικίας [5].

1.2.3. Παχυσαρκία

Τα υψηλά επίπεδα λιπώδους οστού φαίνεται να αποτελούν ένα σημαντικό παράγοντα κινδύνου για κατάγματα σε παιδιά, ιδίως στην περιοχή του αντιβραχίου. Στην παχυσαρκία συχνά παρουσιάζεται μεγαλύτερη αύξηση της περιεκτικότητας του σώματος σε λιπώδη ιστό σε σχέση με την άλιπη μάζα με αποτέλεσμα να παρατηρείται και μικρότερη αύξηση της οστικής τους μάζας σε σχέση με το σωματικό τους βάρος και τελικά να παρουσιάζουν μειωμένο οστικό περιεχόμενο σε άλατα (BMC). Με δεδομένο ότι τα οστά αυξάνονται και αναδιαμορφώνονται περισσότερο υπό την επίδραση των δυνάμεων που ασκούνται σε αυτά από τους μύες παρά από τα στατικά φορτία λόγω του επιπλέον λίπους, ίσως τα υπέρβαρα παιδιά να είναι σε μεγαλύτερο κίνδυνο για εμφάνιση κατάγματος. Επιπλέον φαίνεται ότι στα παχύσαρκα άτομα τα υψηλά επίπεδα λιπώδους ιστού συνδυάζονται με χαμηλότερα επίπεδα αυξητικής ορμόνης και υψηλότερα επίπεδα κορτικοστεροειδών συνδυασμός που ίσως αυξάνει τον κίνδυνο κατάγματος σε αυτά τα παιδιά και ιδιαίτερα σε εκείνα με χαμηλότερη μυϊκή μάζα [5].

1.2.4. Χρόνια νοσήματα

Πολλά χρόνια νοσήματα επηρεάζουν τη σωστή οστική ανάπτυξη με μηχανισμούς που συχνά αλληλεπιδρούν μεταξύ τους. Οι κυριότεροι από αυτούς είναι: (1) μειωμένο ποσό προσλαμβανόμενων θερμίδων, (2) μειωμένη πρόσληψη/ απορρόφηση ασβεστίου, βιταμίνης D, (3) διαταραχές στη σύνθεση της βιταμίνης D ή τη δράση της σε όργανα στόχους, (4) πρωτοπαθείς ή δευτεροπαθείς ενδοκρινικές διαταραχές .

1.2.4.1. Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια

Στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, η οστική απορρόφηση και η παθολογική κατάσταση που εμφανίζεται στα οστά ονομάζεται νεφρική οστεοδυστροφία. Κύρια διαταραχή είναι ο δευτεροπαθής υπερπαραθυροειδισμός λόγω διαταραχών των επιπέδων ασβεστίου και φωσφόρου. Η υποθρεψία, η μεταβολική οξέωση και η αναιμία που συνυπάρχουν με ποικίλουσα βαρύτητα συμβάλλουν επιπλέον στην ανάπτυξη παθολογικού οστίτη ιστού [11].

1.2.4.2. Γαστρεντερικά νοσήματα

Νοσήματα του γαστρεντερικού συστήματος που απαντούν στην παιδική ηλικία και σχετίζονται με διαταραχές του οστικού μεταβολισμού είναι η κοιλιοκάκη, οι φλεγμονώδεις νόσοι του εντέρου και τα ηπατικά νοσήματα. Στην κοιλιοκάκη και στις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου κατα κύριο λόγο επηρεάζεται η απορρόφηση της βιταμίνης D και του ασβεστίου από τον εντερικό βλεννογόνο [4]. Αν και η συσχέτιση της κοιλιοκάκης με την εμφάνιση κατάγματος είναι αμφιλεγόμενη, ωστόσο, σε μελέτες παρακολούθησης, η δίαιτα ελεύθερη γλουτένης σχετίζεται με αποκατάσταση της οστικής πυκνότητας [3]. Σε ηπατική νόσο η διαταραχή στον οστικό μεταβολισμό είναι το αποτέλεσμα πιθανής συνέργειας διαφορετικών μηχανισμών όπως: (1) της απορρόφησης ασβεστίου και βιταμίνης D, (2) μη ενεργοποίηση της βιταμίνης D, (3) έλλειψης χολικών αλάτων και (4) χρόνιας υποθρεψίας [12].

1.2.4.3. Κυστική ίνωση

Στην κυστική ίνωση παρατηρείται μία μείωση στην οστική πυκνότητα [3,4]. Η μειωμένη απορρόφηση ασβεστίου και βιταμίνης D από το γαστρεντερικό σύστημα, η μειωμένη άλιπη μάζα, η χρόνια υποξία, τα μειωμένα επίπεδα τεστοστερόνης και η παρατεταμένη χρήση στερεοειδών ουσιών δρουν συνεργιστικά στη μείωση της οστικής πυκνότητας [4].

1.2.4.4. Μυοσκελετικά νοσήματα

Πρωτοπαθή νοσήματα των οστών με χαρακτηριστικότερο παράδειγμα την ατελή οστεογένεση στην οποία η επικρατούσα διαταραχή αφορά στη σύνθεση του κολλαγόνου, ελαττώνουν την οστική πυκνότητα, αποτελώντας το υπόστρωμα για την εμφάνιση σκελετικών παραμορφώσεων και καταγμάτων [4]. Χρόνια νοσήματα και γενετικές διαταραχές στα οποία η μυϊκή μάζα και η μυϊκή δύναμη είναι μειωμένες γενικά συνοδεύονται από οστά με μειωμένη οστική πυκνότητα. Τέτοια νοσήματα είναι η μυϊκή ατροφία Duchenne, η κυστική ίνωση, η εγκεφαλική παράλυση και η δρεπανοκυτταρική αναιμία [5]. Σε καταστάσεις όπως η προϊούσα νωτιαία ατροφία, η πολιομυελίτιδα και στους πολυτραυματίες η παρατεταμένη ακινητοποίηση είναι ένας καθοριστικός παράγοντας που επηρεάζει τα οστά, μετατοπίζοντας τον οστικό ανασχηματισμό προς το μέρος της οστικής απορρόφησης [3]. Σε παιδιά με εγκεφαλική παράλυση και μυϊκή δυστροφία ο ίδιος μηχανισμός φαίνεται να ευθύνεται για τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης [13].

Παράγοντες που επηρεάζουν το μυϊκό αναβολισμό όπως η μειωμένη πρωτεϊνική πρόσληψη επιδρούν επίσης αρνητικά και στην οστική μάζα [3]. Μεταβολικά νοσήματα όπως οι βλεννοπολυσακχαριδώσεις που οφείλονται σε γενετική έλλειψη ειδικών ενζύμων στα λυσοσώματα προδιαθέτουν σε μειωμένη οστική μάζα. Στα νοσήματα αυτά η επισυσσώρευση στον οστίτη ιστό αδιάσπαστων παθολογικών υποστρωμάτων σε συνέργια και με άλλους παράγοντες όπως η υποθρεψία, η παρατεινόμενη ακινησία και η επιληψία οδηγούν σε οστά με μειωμένη ανθεκτικότητα [14].

1.2.4.5. Άσθμα

Στο χρόνια άσθμα η μειωμένη φυσική δραστηριότητα σε συνδυασμό με τη χρόνια υποξία επηρεάζουν αρνητικά τον οστικό μεταβολισμό [4].

1.2.4.6. Ρευματολογικά νοσήματα

Νοσήματα του συνδετικού ιστού όπως ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος και η Νεανική Δερματομυοσίτιδα σχετίζονται με μειωμένη οστική πυκνότητα. Ωστόσο, λόγω της θεραπευτικής χρήσης των κορτικοστεροειδών είναι δύσκολο να διακριθεί το κατά πόσο η επίδραση αυτή στην οστική πυκνότητα αποτελεί ανεξάρτητη επίδραση του νοσήματος ή οφείλεται σε παρενέργεια της θεραπείας [15].

1.2.4.7. Αιματολογικά νοσήματα

Όλοι οι ασθενείς με θαλασαιμικά σύνδρομα και άλλες αιματολογικές διαταραχές παρουσιάζουν υπογοναδισμό, υπερπλασία του μυελού των οστών, ποικίλου βαθμού οστεοπενία και αύξηση του κινδύνου για κάταγμα [16].

1.2.4.8. Νεοπλασίες

Νεοπλασίες, όπως η λεμφοβλαστική λευχαιμία, το λέμφωμα, το νευροβλάστωμα, έχουν ως αποτέλεσμα τα οστά να γίνονται πιο εθραυστα και πιο επιρρεπή σε κατάγματα. Επίσης συμπαγείς όγκοι στα πλαίσια παρανεοπλασματικού συνδρόμου προκαλούν οστεοπενία λόγω έκτοπης έκκρισης παραθορμόνης [3].

1.2.4.9. Ενδοκρινοπάθειες

Η σωστή λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος είναι καθοριστικής σημασίας για την ανάπτυξη του οργανισμού και συμβάλλει καθοριστικά και στην οστική ανάπτυξη. Η έλλειψη αυξητικής ορμόνης, ο υπερθυρεοειδισμός και ο σακχαρώδης διαβήτης αποτελούν παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπενίας [4]. Η κορτιζολαιμία όπως αυτή παρατηρείται στα πλαίσια συνδρόμου/νόσου Cushing έχει διπλή επίδραση στην ανάπτυξη των οστών: 1. με απευθείας επίδραση στον οστίτη ιστό με αποτέλεσμα την ενίσχυση της οστικής απορρόφησης και τη μείωση της οστικής μάζας και 2. μέσω δευτεροπαθούς υπογοναδισμού.

Οι ορμονικές αλλαγές κατά την εφηβεία παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της οστικής μάζας με ιδιαίτερα σημαντική την επίδραση των οιστρογόνων. Επειδή όμως το μεγαλύτερο ποσοστό της οστικής πυκνότητας, που τελικά επιτυγχάνει ο κάθε οργανισμός, καθορίζεται από τον οστίτη ιστό που εναποτίθεται κατά τη διάρκεια των περιεφηβικών χρόνων, η έγκαιρη αναγνώριση και θεραπεία του υπογοναδισμού είναι πολύ σημαντικό στοιχείο για την σωστή ανάπτυξη των οστών στις περιπτώσεις αυτές [4]. Επίσης, η παρατήρηση ότι σε διαταραχές της ήβης υπάρχει αυξημένη απώλεια οστού καταδεικνύει την μεγάλη σημασία των ορμονικών αλλαγών στην εφηβεία όσον αφορά στην εναπόθεση μεταλλικών στοιχείων στο οστό. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η νόσος McAcune Albright που συνδέεται με εμφάνιση πρόωμης ήβης κατά την οποία, η διαταραχή στο σχηματισμό οστίτη ιστού οδηγεί σε μειωμένης αντοχής οστά με ινώδη δυσπλασία [17].

1.2.5. Φάρμακα

1.2.5.1. Γλυκοκορτικοειδή

Τα γλυκοκορτικοειδή πολύ συχνά χρησιμοποιούνται σε παιδιατρικούς ασθενείς για την αντιμετώπιση ασθενειών όπως π.χ. φλεγμονώδεις/αυτοάνοσες νόσοι ή μετά από μεταμόσχευση, σε μεγάλες δόσεις και για μεγάλο διάστημα. Μία ανεπιθύμητη ενέργεια της χρήσης τους είναι η μείωση της οστικής πυκνότητας, λόγω αύξησης του ρυθμού της οστικής απορρόφησης, η οποία είναι αυστηρά δόσοεξαρτώμενη και αφορά κυρίως τα σπογγώδη οστά και συμβαίνει πιο γρήγορα στο πρώτο εξάμηνο της χρήσης τους [3]. Υπό την επίδραση των γλυκοκορτικοειδών αυξάνεται η απόπτωση των οστεοβλαστών ενώ οι οστεοκλάστες παρουσιάζουν αύξηση της ωρίμανσης και της δραστηριότητάς τους, με αποτέλεσμα να διαταράσσεται αντίστοιχα ο σχηματισμός οστίτη ιστού και να επιταχύνεται η απορρόφησή του [18,19]. Ένας πιθανός μοριακός μηχανισμός για την επαγόμενη

απο τα κορτικοστεροειδή ελάττωση της οστικής πυκνότητας, είναι η επαγωγή της έκφρασης του γονιδίου του παράγοντα DKK-1 από τους οστεοβλάστες υπό την επίδραση της δεξαμεθαζόνης [20]. Εκτός από την άμεση επίδραση των γλυκοκορτικοειδών στον οστικό μεταβολισμό, επηρεάζεται και η ομοιόσταση του ασβεστίου. Έτσι παρατηρείται μειωμένη εντερική απορρόφηση αλλά και αυξημένη νεφρική απέκκριση του ασβεστίου [4].

Τέλος, σε μια μελέτη σε ασθματικά παιδιά που έκαναν χρήση εισπνεόμενων κορτικοστεροειδών αρχικά παρατηρήθηκε μία δοσοεξαρτώμενη αύξηση στον κίνδυνο κατάγματος, η οποία εξαφανίστηκε μετά την προσαρμογή για την βαρύτητα του άσθματος. Το παραπάνω γεγονός δείχνει ότι ο παρατηρούμενος κίνδυνος για εμφάνιση κατάγματος σε παιδιά με άσθμα αποδίδεται κυρίως στη βαρύτητα της ασθένειας παρά στη χρήση εισπνεόμενων στεροειδών [5].

1.2.5.2. Αντιεπιληπτικά

Η χρόνια χρήση φαρμάκων για την αντιμετώπιση επιληπτικών συνδρόμων όπως η φαινοβαρβιτάλη, η καρβαμαζεπίνη και η φαινοτοΐνη συνδέεται με χαμηλή οστική πυκνότητα. Ο κυριότερος μηχανισμός είναι η επιτάχυνση του ηπατικού μεταβολισμού της βιταμίνης D. Επιπλέον εμπλεκόμενοι μηχανισμοί, όπως απευθείας επίδραση στα κύτταρα που συμμετέχουν στον οστικό μεταβολισμό, διαταραχή στην απορρόφηση του ασβεστίου, αντίσταση στη δράση της παραθορμόνης και αναστολή της έκκρισης της καλσιτονίνης, οι οποίοι δρουν συνεργιστικά, συμπληρώνουν την αρνητική επίδραση των παραπάνω ουσιών στην οστική πυκνότητα [21,22].

1.2.5.3. Αντιπηκτικά

Παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν την πήξη του αίματος είναι δυνατό να επηρεάζουν αρνητικά τον οστικό μεταβολισμό. Η ηπαρίνη ενεργοποιεί τους οστεοκλάστες και οδηγεί σε αυξημένη οστική απορρόφηση [3]. Σε παιδιά με συγγενή καρδιοπάθεια η χρήση βαρφαρίνης σχετίζεται με μειωμένη οστική πυκνότητα [5]. Τα κουμαρινικά αντιπηκτικά δρουν ως ανταγωνιστές της βιταμίνης K και επηρεάζουν αρνητικά την καρβοξυλίωση της οστεοκαλσίνης [21]. Η πρόσληψη βιταμίνης D και ασβεστίου καθώς και η τακτική φυσική άσκηση προλαμβάνουν την απομάκρυνση μεταλλικών στοιχείων από το σκελετό λόγω της παρατεταμένης χρήσης των από του στόματος αντιπηκτικών.

1.2.5.4. Αντισυλληπτικά

Η οστική υγεία μπορεί να επηρεαστεί από τη χρήση αντισυλληπτικών φαρμάκων. Η χρήση συνδυασμένων από του στόματος αντισυλληπτικών ενδέχεται να έχει μικρή επίδραση στην οστική πυκνότητα. Όσον αφορά στα αντισυλληπτικά σκευάσματα που περιέχουν μόνο προγεσταγόνα, αν και τα δεδομένα είναι περιορισμένα, φαίνεται ότι δεν έχουν κάποια αρνητική επίδραση στην οστική πυκνότητα. Αντίθετα, η χρήση της μακράς αποδέσμευσης οξικής μεδροξυπρογεστερόνης σχετίζεται με μείωση της οστικής πυκνότητας. Το υποοιστρογονικό περιβάλλον που δημιουργείται από τη χρήση αυτού του σκευάσματος επιφέρει μείωση στην οστική πυκνότητα σε γυναίκες που έχουν φτάσει στην κορυφαία οστική τους μάζα και αντίστοιχα εμποδίζει την εναπόθεση μεταλλικών στοιχείων στα οστά των γυναικών που δεν έχουν φτάσει ακόμα στην κορυφαία οστική τους μάζα. Σύμφωνα με δεδομένα που προκύπτουν από προοπτικές μελέτες παρατήρησης σε έφηβες και ενήλικες γυναίκες μετά από δύο χρόνια συνεχούς χρήσης παρατηρείται απώλεια της οστικής πυκνότητας γύρω στο 5-7% στο μηρό και στη σπονδυλική στήλη. Ο ρυθμός απώλειας είναι φθίνων με το πέρασμα του χρόνου. Όταν σταματάει η χρήση του σκευάσματος, η οστική πυκνότητα αυξάνεται ξανά ανεξαρτήτως ηλικίας, με εξαίρεση τις γυναίκες που έχουν φτάσει στην εμμηνόπαυση. Σε έφηβες δεν είναι ξεκάθαρο αν η χρήση του σκευάσματος αυτού αποτρέπει την απόκτηση της μέγιστης κορυφαίας οστικής μάζας ενώ σε ενήλικες οι τιμές φαίνεται να αποκαθίστανται μετά την πάροδο 2 έως 3 ετών. Τα δεδομένα δεν είναι επαρκή προκειμένου να εκτιμηθεί το αν η χρήση της οξικής μεδροξυπρογεστερόνης επηρεάζει τον κίνδυνο κατάγματος κατά την αναπαραγωγική ηλικία [24].

Το υποοιστρογονικό περιβάλλον που δημιουργείται από τη χρήση αντισυλληπτικών σκευασμάτων επάγει στους οστεοβλάστες το γονίδιο του παράγοντα DKK-1, ο οποίος αναστέλλοντας τη δραστηριότητα της κλασικής οδού στο μονοπάτι της Wnt-β-κατενίνης μετατοπίζει τον οστικό ανασχηματισμό προς την οστική απορρόφηση [20].

1.2.6. Διατροφικοί παράγοντες

Αν και οι γενετικοί παράγοντες παίζουν μεγάλο ρόλο στην ανάπτυξη των οστών οι περιβαλλοντικές παράμετροι είναι οι μόνες στις οποίες μπορούμε να παρέμβουμε με στόχο για τη βελτίωση της οστικής μάζας.

Σύμφωνα με την υπόθεση που διατύπωσε ο Barker, η επίδραση των περιβαλλοντικών παραγόντων σε διάφορες παθοφυσιολογικές καταστάσεις όπως η παχυσαρκία, τα καρδιαγγειακά νοσήματα και ο σακχαρώδης διαβήτης, μπορεί να εντοπίζεται ήδη από την ενδομήτρια περίοδο της ζωής καθώς και από την βρεφική ηλικία [25]. Αυτή η υπόθεση ίσως θα μπορούσε να βρει εφαρμογή και στην ανάπτυξη των οστών [26].

Σε μια σειρά μελετών αναφέρεται συσχέτιση του βάρους γέννησης και του μεγέθους του σώματος κατά την παιδική ηλικία και της οστικής μάζας κατά την ενήλικη ζωή.

Σε μία μελέτη οι Cooper *et al* [27] βρήκαν συσχέτιση του σωματικού βάρους στην ηλικία των 1, 5 και 10 χρόνων με την οστική πυκνότητα στον αυχένα του μηριαίου οστού και στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης στην ηλικία των 21 ετών. Ενώ οι Toshiko Saito *et al* [28] σε μελέτη τους, σε 86 γυναίκες 18-21 ετών βρήκαν συσχέτιση μεταξύ της οστικής μάζας και του βάρους γέννησης και κυρίως της απόκτησης βάρους εντός του πρώτου 1,5 έτους.

Το βάρος γέννησης και η αύξηση κατά τα πρώτα χρόνια της ζωής είναι μεγέθη τα οποία επηρεάζονται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους περιγεννητικούς παράγοντες. Η ύπαρξη συσχέτισης της οστικής μάζας με αυτά τα μεγέθη αφήνει ανοικτό το ενδεχόμενο να επηρεάζεται και αυτή ως κάποιο βαθμό από τους ίδιους παράγοντες. Αυτό είναι σε συμφωνία με την υπόθεση Barker: ότι η σκελετική ανάπτυξη ίσως υπόκειται σε «προγραμματισμό» κατά τη διάρκεια της ενδομητρίου ζωής ή κατά την πρώιμη μεταγεννητική περίοδο. Ένας πιθανός τέτοιος παράγοντας θα μπορούσε να είναι και η διατροφή.

Πράγματι, όπως προκύπτει από σχετικές μελέτες η περίοδος προ του 2^{ου} έτους της ζωής φαίνεται να είναι κρίσιμη και κατά την οποία περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η υποθρεψία μπορεί να επηρεάσουν την ανάπτυξη των οστών [29-32]. Τα θρεπτικά συστατικά ίσως, πέρα από τον ρόλο τους ως δομικά συστατικά ή ως παροχείς ενέργειας, έχουν και σηματοδοτικό ρόλο κατά τις αναφερόμενες κρίσιμες για την ανάπτυξη περιόδους, επιδρώντας σε ευαίσθητους ιστούς είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω πρόσδεσης σε υποδοχείς. Όσον αφορά στον προγραμματισμό ή

στη ρύθμιση μιας απώτερης λειτουργίας, π.χ. ενός σημαντικού μεταβολικού μονοπατιού το ερώτημα που τίθεται είναι πως «αποθηκεύεται» η «μνήμη» ενός τέτοιου πρώιμου συμβάντος για όλη την ζωή. Κάτι τέτοιο θα μπορούσε να προκύψει από προσαρμοστικές επιδράσεις στην έκφραση των γονιδίων ή εναλλακτικά, το διατροφικό περιβάλλον που διαμορφώνεται στα πρώιμα στάδια θα μπορούσε να αποτελεί ερέθισμα για την προσαρμοστική επιλογή συγκεκριμένων κλώνων ή τον πολλαπλασιασμό διαφοροποιημένων κυττάρων με αποτέλεσμα να επηρεάζεται μόνιμα η ποσότητα ή η αναλογία των διαφόρων κυτταρικών πληθυσμών [33].

Το ερώτημα που αφορά τους γονείς αλλά και τους ειδικούς είναι το ποιες είναι οι καταλληλότερες διατροφικές συνήθειες που εξασφαλίζουν την βέλτιστη οστική αύξηση. Η παρούσα μελέτη προσπαθεί να ρίξει φως προς αυτή την κατεύθυνση διερευνώντας την τυχόν επίδραση του μητρικού θηλασμού στον οστικό μεταβολισμό.

1.2.6.1 Μητρικός θηλασμός

Ένα σημαντικό διατροφικό γεγονός της πρώιμης βρεφικής ηλικίας είναι ο μητρικός θηλασμός, για τον οποίο υπάρχουν συγκεκριμένες ενδείξεις όσον αφορά στα οφέλη του για την σωστή ανάπτυξη των βρεφών αλλά και ως προστατευτικού παράγοντα για παθολογικές καταστάσεις που μπορεί να εμφανιστούν αργότερα κατά την παιδική ηλικία ή ακόμα και κατά την ενήλικη ζωή. Όσον αφορά όμως στην επίδραση στην ανάπτυξη των οστών τα αποτελέσματα των μελετών είναι αντικρουόμενα. Ενδεικτικά, στη μελέτη των G. Jones *et al* [34] συμμετείχαν 330 παιδιά 8 ετών από την Βόρεια Τασμανία στα οποία μετρήθηκε η οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και στον αυχένα του μηριαίου και η συνολική οστική πυκνότητα, με την μέθοδο της απορροφησιομετρίας ακτίνων χ διπλής ενέργειας (Dual X-ray Absorptiometry DXA) και τα ευρήματα συσχετίστηκαν με το ιστορικό θηλασμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχε επίδραση στην οστική πυκνότητα για τα παιδιά που θήλασαν παραπάνω από τρεις μήνες. Αντίθετα, σε άλλη μελέτη που αφορούσε σε 599 παιδιά ηλικίας 4 χρονών με στοιχεία που είχαν καταγραφεί στο πλαίσιο της μελέτης Southampton Women's Survey δεν προέκυψε τέτοια συσχέτιση [35]. Επομένως απαιτείται περαιτέρω μελέτη προκειμένου να διερευνηθεί ο ρόλος του μητρικού θηλασμού όσον αφορά την ανάπτυξη των οστών και την επίδρασή του στον οστικό μεταβολισμό.

Οι Haines & Kinter σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη τους έδειξαν ότι υπήρχε σημαντική στατιστική συσχέτιση ανάμεσα στο τελικό σωματικό ύψος και στην βρεφική θνησιμότητα, καθώς και ανάμεσα στην βρεφική θνησιμότητα και στον επιπολασμό του μητρικού θηλασμού. (Τα στοιχεία πάρθηκαν από τα αρχεία των διοικητικών περιφερειών της Αυτοκρατορικής Γερμανίας όσον αφορά στα στοιχεία για την βρεφική θνησιμότητα περί τα έτη 1910 και 1985 και από τα αρχεία του γερμανικού στρατού όσον αφορά στα ύψη των εικοσάχρονων στρατιωτών την χρονιά του 1906.)

Είναι πιθανό ότι ο μεγαλύτερος επιπολασμός του μητρικού θηλασμού να οδήγησε σε βελτίωση της υγείας κατά την βρεφική και πρώιμη παιδική ηλικία και αυτό να είχε επίδραση τουλάχιστον σε μια βιολογική παράμετρο, το τελικό ανάστημα στην ενήλικη ζωή [36].

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές μελέτες που αφορούν σε τελειόμηνα και πρόωρα βρέφη που συγκρίνουν τις αλλαγές στην οστική πυκνότητα σε συγκεκριμένα σημεία του σκελετού όσο και το συνολικό σωματικό απόθεμα σε άλατα, ανάλογα με το είδος της διατροφής. Φαίνεται ότι τα νεογνά που θηλάζουν αποκλειστικά παρουσιάζουν χαμηλότερο συνολικό σωματικό απόθεμα σε άλατα σε σχέση με αυτά που τρέφονται με υποκατάστατα γάλακτος και αυτό φαίνεται να οφείλεται στο χαμηλό περιεχόμενο του γάλακτος σε βιταμίνη D καθώς και στη μείωση των επιπέδων του φωσφόρου που παρατηρείται στο μητρικό γάλα με την πάροδο του χρόνου [37]. Ειδικότερα τα χαμηλά επίπεδα πρόσληψης της βιταμίνης D μέσω του μητρικού γάλακτος θα μπορούσαν να προκαλούν ελάττωση της οστικής πυκνότητας μέσω της παρατηρούμενης αύξησης της παραθορμόνης και της συνεπακόλουθης αύξησης της οστικής απορρόφησης.

Ωστόσο, υπάρχουν λίγες μελέτες σε παιδιά, με αντικρουόμενα αποτελέσματα, που να συσχετίζουν την απορρόφηση της βιταμίνης D με την οστική πυκνότητα. Οι λόγοι για τους οποίους συμβαίνει αυτό: 1) αν και σε νεογνά δεν είναι γνωστή η επίδραση του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού λόγω έλλειψης βιταμίνης D, ωστόσο σε ενήλικες φαίνεται ότι η παραθορμόνη παρουσιάζει μια εκλεκτική επίδραση κυρίως στο φλοιώδες οστό όπου και αυξάνεται η οστική απορρόφηση, 2) παίζουν ρόλο οι μέθοδοι μέτρησης της οστικής πυκνότητας δεδομένου ότι η DXA π.χ. δεν μπορεί να διακρίνει το φλοιώδες από το σπογγώδες οστό με αποτέλεσμα να μην είναι ακριβείς οι μετρήσεις.

Τέλος, τα επίπεδα φωσφόρου στα θηλάζοντα βρέφη καθορίζονται από τα αντίστοιχα επίπεδα στο μητρικό γάλα με αποτέλεσμα η προαναφερόμενη ελάττωση του φωσφόρου στο μητρικό γάλα με την πάροδο να ακολουθείται από αντίστοιχη ελάττωση των επιπέδων του φωσφόρου στο αίμα των βρεφών. Αυτό θα μπορούσε να εξηγεί την χαμηλότερη εναπόθεση οστίτη ιστού σε θηλάζοντα βρέφη. Ωστόσο, μετά την εισαγωγή των στερεών τροφών, που περιέχουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε φώσφορο, παρατηρείται εξίσωση του ολικού σωματικού αποθέματος σε άλατα μεταξύ αυτών που θηλάζουν και αυτών που καταναλώνουν υποκατάστατα μητρικού γάλακτος [38].

1.2.6.2. Μητρική διαίτα κατά την εγκυμοσύνη

Από την πλειονότητα των μελετών προκύπτει ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της βιταμίνης D στη μητέρα με τα επίπεδα ασβεστίου στα νεογνά με αποτέλεσμα να αυξάνει ο κίνδυνος υποασβεστεμίας σε νεογνά που γεννήθηκαν από μητέρες με έλλειψη σε βιταμίνη D. Ωστόσο, σε καμία από τις μελέτες δεν υπήρχε συσχέτιση των επιπέδων βιταμίνης D στις μητέρες με το περιεχόμενο των οστών σε άλατα υδροξυαπατίτη στα νεογνά [38]. Από την άλλη νεώτερες μελέτες υποδεικνύουν ότι ενήλικες με χαμηλή οστική μάζα και αυξημένο ποσοστό καταγμάτων έχουν ιστορικό μειωμένης πρόσληψης βιταμίνης D από τις μητέρες τους κατά την διάρκεια της κύησης [5].

Όσον αφορά στην διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου από τη μητέρα σε σχέση με την εναπόθεση αλάτων στα οστά των νεογνών, διαπιστώθηκε ότι τα νεογνά των μητέρων με χαμηλή πρόσληψη ασβεστίου (κάτα από 600mg ανά ημέρα) παρουσίαζαν μειωμένη εναπόθεση οστίτη ιστού κατά την εμβρυϊκή φάση με αποτέλεσμα να παρουσιάσουν χαμηλό περιεχόμενο σε άλατα στα οστά τους ως νεογέννητα [38].

1.2.6.3. Περιεκτικότητα σε ασβέστιο και φώσφορο σε υποκατάστατα μητρικού γάλακτος

Στη νεογνική περίοδο ένας λόγος Ca:P χαμηλός, λόγω της υψηλής περιεκτικότητας σε φώσφορο των προϊόντων αυτών, οδηγεί σε μείωση του ασβεστίου στον ορό των νεογνών και σε δευτεροπαθή αύξηση των επιπέδων παραθορμόνης. Η αύξηση αυτή της παραθορμόνης, αν και οδηγεί σε αύξηση του οστικού μεταβολισμού και σε μείωση της οστικής μάζας, φαίνεται ότι συμβαίνει στα

αρχικά στάδια. Όταν αργότερα αυξάνεται η πρόσληψη αλάτων, με την εισαγωγή στερεών τροφών, αυτές οι διαφορές παύουν να υφίστανται [38].

1.2.6.4. Γάλα αγελάδος – Σόγια

Παλαιότερες μελέτες είχαν δείξει ότι νεογνά που διατρέφονται με γάλα αγελάδος παρουσιάζουν μεγαλύτερη οστική πυκνότητα στην περιοχή της κερκίδας από εκείνα που διατρέφονταν με υποκατάστατα εμπλουτισμένα με πρωτεΐνη σόγιας. Πιο συγκεκριμένα οι Chan *et al* συνέκριναν δύο ομάδες βρεφών, από τα οποία η μία ομάδα κατανάλωνε υποκατάστατα γάλακτος από σόγια και η άλλη θήλαζε, ως προς το οστικό περιεχόμενο (BMC) σε άλατα και την οστική πυκνότητα. Τα θηλάζοντα βρέφη παρουσίαζαν χαμηλότερες τιμές στους 2 και 4 μήνες [39].

Ωστόσο, σε μια άλλη μελέτη όπου συνεκρίθησαν 3 ομάδες βρεφών που η μία θήλαζε και οι άλλες δύο χρησιμοποιούσαν υποκατάστατα γάλακτος από σόγια ή από γάλα αγελάδος, τα οποία όμως λάμβαναν συμπληρωματικά βιταμίνη D, δεν παρουσίασαν μεταξύ τους διαφορές στο BMC (Laura S.Hillman) [40].

1.2.6.5. Φοινικέλαιο

Προκειμένου να προσομοιωθεί η σύσταση των υποκατάστατων μητρικού γάλακτος σε λιπαρά οξέα με εκείνα του μητρικού γάλακτος προστέθηκε φοινικέλαιο, αυξάνοντας την περιεκτικότητα σε παλμιτικό οξύ το οποίο όμως μειώνει την απορρόφηση ασβεστίου. Σε μια διπλή τυφλή μελέτη 128 βρεφών φάνηκε ότι στους 6 μήνες τα βρέφη που κατανάλωναν γάλατα εμπλουτισμένα σε παλμιτικό οξύ παρουσιάζουν χαμηλότερη εναπόθεση αλάτων στα οστά τους [38].

1.2.6.6. Εισαγωγή στερεών τροφών κατά τον απογαλακτισμό

Η εισαγωγή στερεών τροφίμων κατα τον απογαλακτισμό δεν φαίνεται να επηρεάζει την εναπόθεση οστού. Σε μια μελέτη όπου συμμετείχαν 41 βρέφη χορηγήθηκε, έπειτα από τυχαιοποίηση, στη μία ομάδα υποκατάστατο γάλακτος και στην άλλη ομάδα επιπλέον και δημητριακά από τη 16^η εβδομάδα. Αν και στη δεύτερη ομάδα παρατηρήθηκε μία αύξηση της παραθορμόνης στην 26^η εβδομάδα δεν επηρεάστηκε το οστικό περιεχόμενο σε άλατα στο κάτω τριτημόριο της κερκίδας [41]. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι σύμφωνα με τα αποτελέσματα μιας άλλης μελέτης στην οποία βρέφη στο οποία η εισαγωγή στερεών τροφών ξεκίνησε από τον 3^ο μήνα δεν παρουσίασαν καμία διαφορά στο ολικό σωματικό

απόθεμα σε άλατα στους 6 και στους 12 μήνες σε σχέση με εκείνα στα οποία η εισαγωγή στερεών τροφών ξεκίνησε στους 6 μήνες [42].

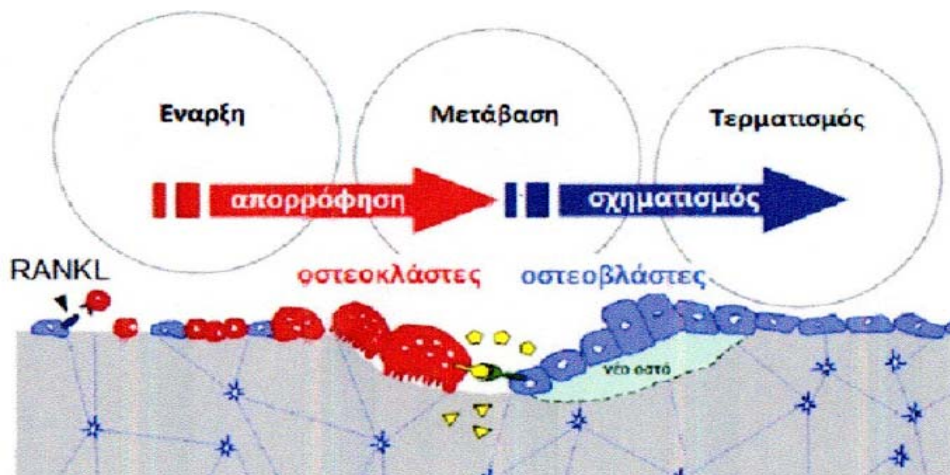
1.2.6.7. Δίαιτα σε νήπια και παιδιά προσχολικής ηλικίας

Οι Lee και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σε ανόργανα στοιχεία στο κάτω τριτημόριο της κερκίδας σε παιδιά ηλικίας 5 χρόνων συσχετίζεται με την συνολική πρόσληψη ασβεστίου εντός των 5 χρόνων της ζωής τους. Μάλιστα έδειξαν ότι η πρόσληψη ασβεστίου ειδικά κατά το 2^ο έτος παρουσιάζει την ισχυρότερη συσχέτιση [43]. Σε μια άλλη μελέτη που διεξήχθη σε 239 παιδιά ηλικίας 3 έως 5 ετών φάνηκε ότι εκείνα που κατανάλωναν συμπληρώματα ασβεστίου παρουσίασαν μεγαλύτερη αύξηση στο μεταλλικό περιεχόμενο των οστών του ποδιού μέσω της αδρής κινητικότητας από εκείνα που δεν λάμβαναν συμπλήρωμα [44].

1.3 Σύστημα RANKL-RANK-OPG

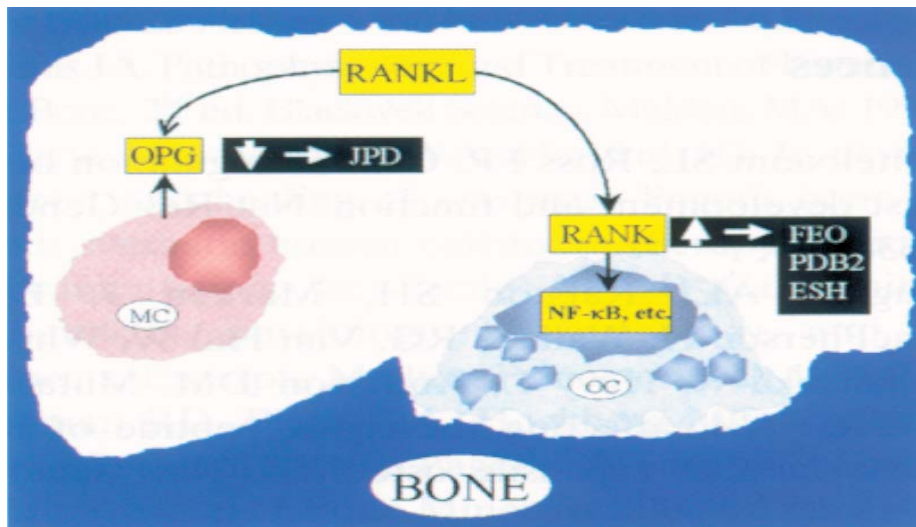
1.3.1 Ρόλος στον οστικό μεταβολισμό

Στον οστίτη ιστό υπάρχουν 2 διαφορετικές ομάδες κυττάρων. Οι οστεοβλάστες που σχηματίζουν και εναποθέτουν οστό και οι οστεοκλάστες που το απορροφούν. Η συνδυασμένη λειτουργία των δύο αυτών κυτταρικών πληθυσμών είναι απαραίτητη τόσο για την ανάπτυξη των οστών κατά την παιδική ηλικία, όσο και για τη διατήρηση της ακεραιότητας του οστίτη ιστού και για τον σκοπό αυτό τα παραπάνω κύτταρα έχουν την δυνατότητα να συνεργάζονται μέσω της διαδικασίας της διαμόρφωσης (modelling) για την ανάπτυξη των οστών και της αναδιαμόρφωσης (remodelling) για την ακεραιότητα του οστού (εικόνα 1). Η διαφορά ανάμεσα στις δύο διαδικασίες είναι ότι στην διαμόρφωση οι οστεοβλάστες και οι οστεοκλάστες δρουν ανεξάρτητα σε διαφορετικά μέρη του οστού ενώ στην αναδιαμόρφωση η συνεργασία των δύο κυτταρικών πληθυσμών λαμβάνει χώρα στο ίδιο σημείο [45].



Εικόνα 1: Οστική αναδιαμόρφωση [Matsuo K, Irie N. *Arch Biochem Biophys*. 2008 May 15; 473(2):201]

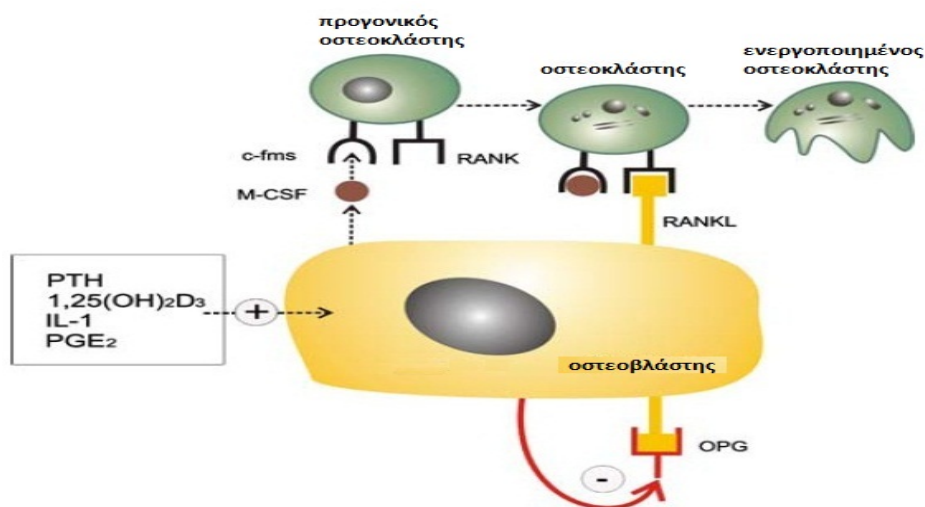
Σημαντικό ρόλο στον συντονισμό της δράσης των δύο αυτών κυτταρικών πληθυσμών παίζει το σύστημα RANKL-RANK-OPG. Η οστεοπροτεγερίνη (OPG) εμποδίζει την οστική απορρόφηση συνδεόμενη με τον παράγοντα RANKL, εμποδίζοντας την σύνδεση του τελευταίου με τον υποδοχέα RANK στην επιφάνεια των οστεοκλαστών και αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση. Οστεοβλάστες στον μυελό των οστών και κύτταρα του στρώματος εκκρίνουν τον παράγοντα RANKL καθώς και την OPG, με αποτέλεσμα η οστεοκλαστογένεση και κατ' επέκταση και η οστική απορρόφηση, να καθορίζεται από την αναλογία των δύο αυτών παραγόντων. [46]. Η σημασία του συστήματος RANKL-RANK-OPG για την ομοιοστασία του οστίτη ιστού καταδεικνύεται από την σύνδεση συγκεκριμένων κληρονομικών σκελετικών διαταραχών με συγκεκριμένες γενετικές ανωμαλίες που αφορούν είτε στην έλλειψη OPG είτε στην ανεξάρτητη ενεργοποίηση του υποδοχέα RANK [47]. (εικόνα 2)



Εικόνα 2: Σύστημα RANKL-RANK-OPG και σχετικά νοσήματα [Whyte MP, Mumm S. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2004 Sep;4(3):254-67].

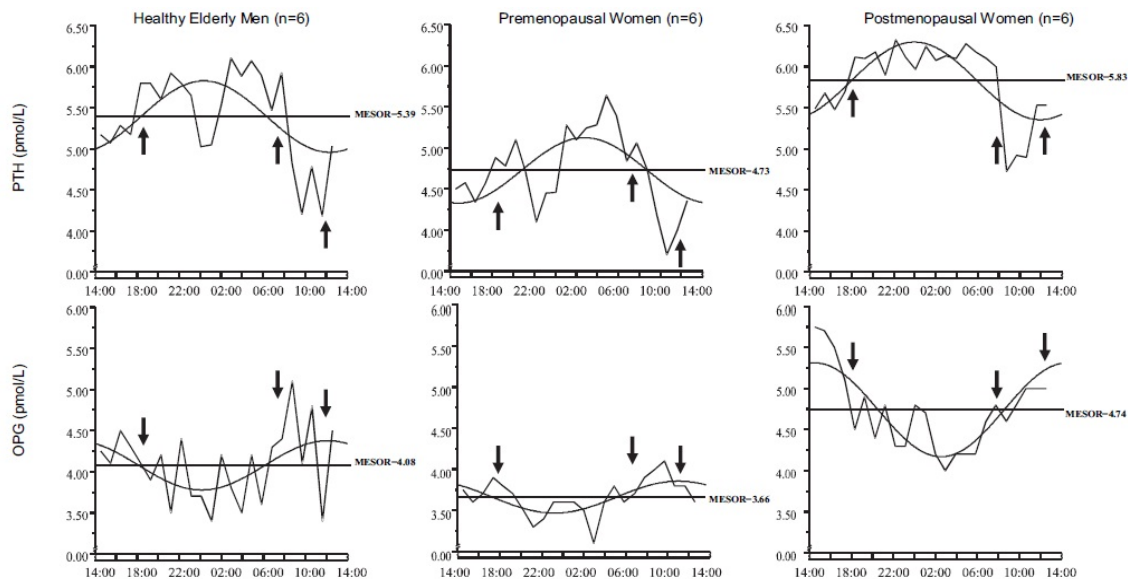
1.3.2 Ρύθμιση παραγωγής παραγόντων του συστήματος - κιρκάδιος ρυθμός

Η συνδυασμένη δράση οστεοβλαστών και οστεοκλαστών ρυθμίζεται τόσο από ορμονικούς παράγοντες όσο και από τοπικούς ρυθμιστικούς παράγοντες. Πολλοί από αυτούς τους παράγοντες επιδρούν τοπικά στο οστικό μικροπεριβάλλον, τροποποιώντας την έκφραση κυτοκινών πχ IL-1, IL-6 και άλλων τοπικών αυξητικών παραγόντων που με την σειρά τους ρυθμίζουν την έκφραση του παράγοντα RANKL καθώς και της OPG, υποδεικνύοντας ότι το σύστημα RANKL-RANK-OPG είναι το τελικό κοινό μοριακό μονοπάτι μέσω του οποίου ρυθμίζεται η οστική απορρόφηση [48] (εικόνα 3).



Εικόνα 3: Αλληλεπίδραση οστικών κυττάρων μέσω RANKL-RANK-OPG *Medicine, Volume 33, Issue 12, 1 December 2005, Pages 58-60. Stuart H Ralston]*

Από μελέτες σε πληθυσμούς ενηλίκων ατόμων όπως αυτή των F Joseph *et al* [49] προκύπτει πως τα επίπεδα της OPG παρουσιάζουν ένα κιρκάδιο ρυθμό με τις χαμηλότερες τιμές να παρουσιάζονται κατά τη διάρκεια της νύκτας (Εικόνα 4).



Εικόνα 4: Κιρκάδιος ρυθμός της OPG [Joseph F *et al*, *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Aug;92(8):3230]

Η δραστηριότητα των οστεοκλαστών να απορροφούν οστό επιδεικνύει ανάλογη κιρκάδια ρυθμικότητα και ελέγχεται από διάφορους παράγοντες όπως ενδοκρινείς ορμόνες και κυτοκίνες. Η παραθορμόνη (PTH) είναι ένας από τους πιο σημαντικούς συστηματικούς ρυθμιστές, ελέγχοντας την οστική ομοιόσταση. Σε υγιή άτομα η αντίστοιχη κιρκάδια ρυθμικότητα στα επίπεδα της PTH είναι καλώς τεκμηριωμένη [50-54]. Σε κυτταρικό επίπεδο η επίδραση της παραθορμόνης στον οστικό μεταβολισμό διαμεσολαβείται από παραγωγή παραγόντων από τους οστεοβλάστες που επηρεάζουν την δραστηριότητα των οστεοκλαστών [55-59]. Όπως επιβεβαιώνεται από την μελέτη των F Joseph *et al*, οι διακυμάνσεις της κυκλοφορούσας παραθορμόνης κατά την διάρκεια του εικοσιτετράωρου παρουσιάζουν αντίστροφη συσχέτιση με την σύγχρονη διακύμανση των επιπέδων της OPG, επηρεάζοντας άμεσα ή έμμεσα την παραγωγή της OPG [49].

1.3.3 Σχέση με άλλους δείκτες οστικού μεταβολισμού και με την οστική πυκνότητα

Οι μοριακοί οστικοί δείκτες μας παρέχουν ένα πολύτιμο μη επεμβατικό εργαλείο όσον αφορά στη διαχείριση των οστικών μεταβολικών νοσημάτων [61,62]. Υπάρχουν δείκτες για την εκτίμηση της οστικής απορρόφησης όσο και του οστικού σχηματισμού. Επειδή στα περισσότερα μεταβολικά νοσήματα των οστών υπάρχει διαταραχή κυρίως στην διαδικασία της οστικής απορρόφησης, οι αντίστοιχοι οστικοί δείκτες παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον [62,63]. Στους ενήλικους οι δείκτες οστικού μεταβολισμού μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της δραστηριότητας της οστικής αναδιαμόρφωσης και για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας των θεραπειών που επηρεάζουν την διαδικασία αυτή [64]. Στα παιδιά, επιπλέον της δραστηριότητας της οστικής αναδιαμόρφωσης, οι κλασικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού αντιπροσωπεύουν την αθροιστική επίδραση του ενδοχόνδριου οστικού σχηματισμού της επιμήκους αύξησης καθώς και της αύξησης της περιφέρειας και του πάχους των οστών [60,65].

Η σχέση μεταξύ του οστικού μεταβολισμού και της συγκέντρωσης στον ορό του πλάσματος της ενδογενούς OPG δεν είναι ακόμη ξεκάθαρος, με διαφορετικές μελέτες να καταλήγουν σε διαφορετικά αποτελέσματα [66,67]. Μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι στους ενήλικες η OPG σχετίζεται με ένα προφίλ οστικών δεικτών μεταβολισμού που ευνοεί τον οστικό σχηματισμό. Επομένως αυτός ο δείκτης ίσως αποτελεί έναν προστατευτικό παράγοντα έναντι της οστικής απορρόφησης και της σχετιζόμενης με την ηλικία οστικής απώλειας [68].

Όσον αφορά την συσχέτιση των επιπέδων της OPG με άλλους δείκτες οστικής απορρόφησης καθώς και με την οστική πυκνότητα, τα δεδομένα από την βιβλιογραφία είναι αντικρουόμενα. Έτσι, όσον αφορά στην συσχέτισή της με άλλους δείκτες οστικής απορρόφησης σε άλλες μελέτες παρουσιάζεται μία αντίστροφη συσχέτιση [69-71] και σε άλλες όχι [72-76]. Όσον αφορά στην συσχέτιση με την οστική πυκνότητα άλλες παρουσιάζουν μία αρνητική συσχέτιση με τα επίπεδα της OPG [68,70,77] και άλλες όχι [72,74-76]. Τα αντικρουόμενα αυτά αποτελέσματα ίσως οφείλονται στο ότι δεν είχε ληφθεί υπόψη η κιρκάδια διακύμανση στις τιμές της OPG.

Ο λόγος της OPG προς τον παράγοντα RANKL, είναι πιο σημαντικά συσχετιζόμενος με την οστική κυτταρική δραστηριότητα απ' ότι οι απόλυτες τιμές

τους. Επειδή η OPG είναι ένας υποδοχέας ‘δόλωμα’ για τον RANKL και μεταξύ τους έχουν μία αντίστροφη συσχέτιση, είναι πιθανό ότι ίσως και ο παράγοντας αυτός να παρουσιάζει μία ημερήσια διακύμανση παρόμοια με αυτή της παραθορμόνης και αντίστροφη της OPG [49].

1.3.4 Η επίδραση της ηλικίας στα επίπεδα της OPG

Φυσιολογικά τα επίπεδα της OPG παρουσιάζουν μία θετική συσχέτιση με την ηλικία, και στα δύο φύλα. Όμως αυτά τα αποτελέσματα αφορούν σε ενήλικες και σε ηλικιωμένα άτομα [78,79]. Μία απότομη αύξηση παρατηρείται στις γυναίκες στην έκτη δεκαετία και στους άντρες αργότερα στην έβδομη δεκαετία της ζωής [79]. Όσον αφορά στα παιδιά, όπως προκύπτει από την βιβλιογραφία, υψηλά επίπεδα OPG παρατηρούνται στη βρεφική ηλικία, με μία μείωση σε σταθερά επίπεδα να λαμβάνει χώρα στην παιδική ηλικία και την ενήλικη ζωή έως στα 45 έτη και έπειτα παρατηρείται μια προοδευτική αύξηση έως το γήρας [79]. Χαρακτηριστικά, αναφέρονται τα αποτελέσματα από μία μελέτη σε 102 υγιή παιδιά ηλικίας 6-14 χρονών που έλαβε χώρα στην Πολωνία από τους Gajewska *et al* [80] σύμφωνα με την οποία σε υγιή παιδιά και εφήβους τα επίπεδα της OPG παρουσιάζουν μείωση και στα δύο φύλα. Τα αποτελέσματα από την παραπάνω μελέτη παρουσιάζουν αντιστοιχία με ευρήματα από παλαιότερες μελέτες όπως αυτή των Buzi *et al* [81] όπου πάλι είχε δειχθεί μια αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της OPG και της ηλικίας.

Επίσης φαίνεται ότι τα επίπεδα της OPG δεν αντανακλούν ακριβώς την παιδιατρική καμπύλη ανάπτυξης. Η τάση αυτού του δείκτη κατά την διάρκεια της εφηβείας παρουσιάζεται να είναι κάπως διαφορετική από εκείνη των υπολοίπων δεικτών οστικής επαναρρόφησης και οστικού σχηματισμού. Για παράδειγμα η συγκέντρωση του Στελοπεπτιδίου του κολλαγόνου τύπου I-sGTX (δείκτης οστικής απορρόφησης) παρουσιάζει μία κορύφωση κατά την εφηβική ηλικία ακολουθώντας την αύξηση της οστικής μάζας [80].

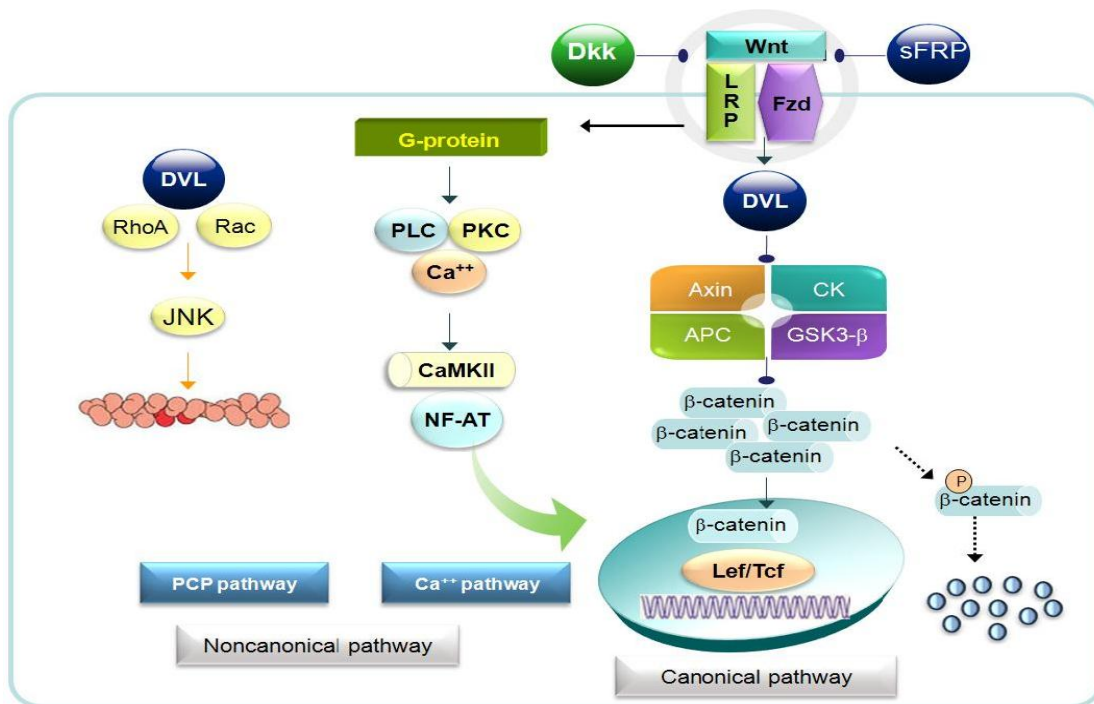
1.4. Μονοπάτι Wnt β – κατενίνης: ενδοκύτταρα οδός μεταγωγής σήματος και ρόλος του παράγοντα DKK 1

Οι Wnt πρωτεΐνες, είναι γλυκοπρωτεΐνες και ανήκουν σε μία οικογένεια σηματοδοτικών μορίων [82]. Η ενδοκυττάρια μεταγωγή σήματος που σχετίζεται με Wnt γλυκοπρωτεΐνες αφορά σε δύο ξεχωριστές οδούς: 1) την κλασική οδό ή αλλιώς

μονοπάτι Wnt/ β -κατενίνης και 2) την μη κλασική οδό ανεξάρτητη από τη δράση της β -κατενίνης [82].

Στην κλασική οδό οι πρωτεΐνες Wnt ενώνονται με δύο διαμεμβραντικές πρωτεΐνες-συνυποδοχείς τους, τις Frizzled (βροστρυχωμένες), Fzd πρωτεΐνες-υποδοχείς και της χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνικούς υποδοχείς LRP5 ή LRP6. Το σύμπλεγμα που δημιουργείται έχει ως αποτέλεσμα να κινητοποιείται στην πλασματική μεμβράνη, μέσω διαντίδρασης με φωσφολιπίδια, η κυτταροπλασματική φωσφοπρωτεΐνη Dishevelled η οποία με την σειρά της ελκύει την αζίνη προκαλώντας την διάλυση ενός τετραμερούς συμπλόκου αποδόμησης της β -κατενίνης [20]. Το σύμπλοκο αυτό απαρτίζεται από την συνένωση αζίνης, της πρωτεΐνης APC και δύο κινασών, της κινάσης 3β της συνθάσης του γλυκογόνου GSK3 β και της κινάσης Ia της καζεΐνης CKIa. Όταν η κλασική οδός δεν είναι ενεργοποιημένη, το παραπάνω σύμπλοκο δραστηριοποιείται και φωσφορυλιώνει την β -κατενίνη. Η φωσφορυλιωμένη β -κατενίνη συνδέεται με το πολυπεπτίδιο της ουμπικιτίνης και ακολουθεί η πρωτεοσωμική καταστροφή της. Αντίθετα, όταν ενεργοποιείται η κλασική οδός διαλύεται το σύμπλοκο καταστροφής της β -κατενίνης, η οποία συσσωρεύεται και μεταναστεύει στον πυρήνα του κυττάρου, όπου σχηματίζει συμπλέγμα με μεταγραφικούς παράγοντες όπως ο LEF/TCF, το οποίο με τη σειρά του προσδένεται στους υποκινητές συγκεκριμένων γονιδίων - στόχων [82].

Στη μη κλασική οδό η δραστηριοποίηση του συστήματος οδηγεί είτε σε αύξηση του ενδοκυττάριου ασβεστίου, ρυθμίζοντας τις κυτταρικές κινήσεις στα πρώιμα στάδια της ανάπτυξης είτε επηρεάζει την πολικότητα του κυττάρου μέσω δραστηριοποίησης των RhoGTPασών επάγοντας αλλαγές στον κυτταροσκελετό και στους μικροσωληνίσκους [82].



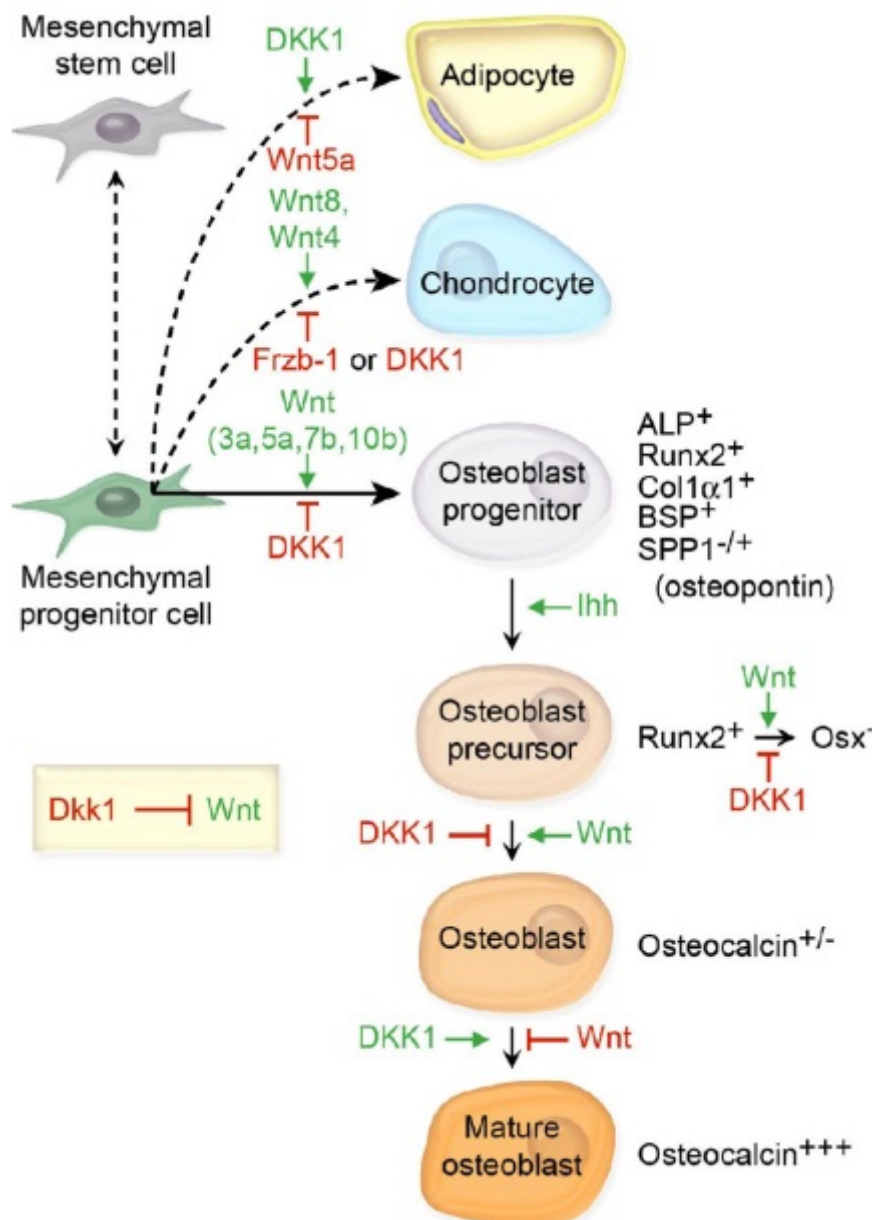
Εικόνα 5 : Wnt - οδός μεταγωγής σήματος *Chun JS, Oh H, Yang S, BMB Rep. 2008 Jul 31;41(7):485-94.*

Στην εικόνα 5 φαίνεται η οδός μεταγωγής σήματος τόσο στην κλασική όσο και στη μη κλασική της μορφή. Η οικογένεια των γλυκοπρωτεϊνών Wnt μπορεί να ταξινομηθεί σε 2 ομάδες: 1) την ομάδα που ενεργοποιεί την κλασική οδό Wnt1,-3α,-7α,-8 και 2) την ομάδα που επάγει τη μη κλασική οδό Wnt4,-5α,-11 [82].

Τόσο η κλασική όσο και η μη κλασική οδός παίζουν ρυθμιστικό ρόλο στην εμβρυϊκή σκελετική ανάπτυξη, συμπεριλαμβανομένης της διαδικασίας της χονδρογένεσης, της υπερτοφικής ωρίμανσης των χονδροκυττάρων, της ενδοχόνδριας οστεοποίησης για την ανάπτυξη των μακρών οστών και την ανάπτυξη των αρθρικών χόνδρων [82]. Επίσης η κανονική οδός (Wnt/β-κατενίνη μονοπάτι) παίζει κεντρικό ρόλο στην ανάπτυξη των οστών αλλά και στην ομοιόσταση του οστίτη ιστού στην ενήλικη ζωή [20].

Ο παράγοντας Dickkopf (DKK-1), σημαίνει «μεγάλο κεφάλι» και ανακαλύφθηκε ως επαγωγέας του σχηματισμού κεφαλής στα έμβρυα των βατράχων *Xenopus*. Η δράση του είναι να ανταγωνίζεται τις πρωτεΐνες Wnt και να αναστέλλει την κανονική οδό του συστήματος Wnt/β-κατενίνης, συνδεδεμένο με τον υποδοχέα LRP5 [82].

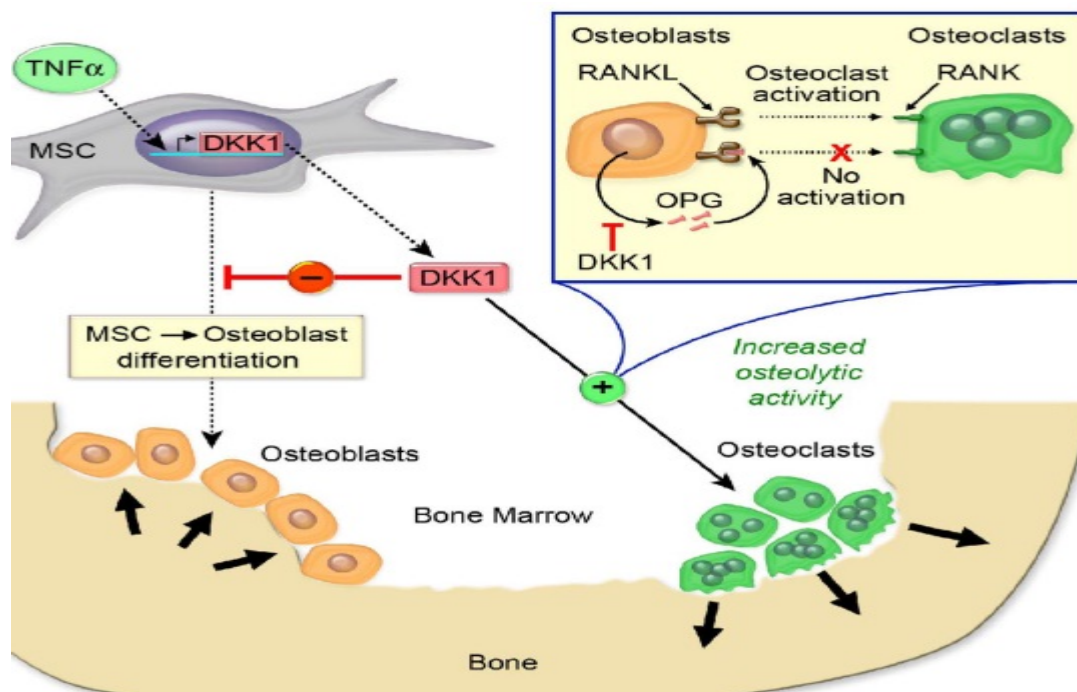
Τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα στον μυελό των οστών είναι δυνατό να διαφοροποιηθούν προς λιποκύτταρα, χονδροκύτταρα ή οστεοβλάστες. Οι πρωτεΐνες Wnt που ενεργοποιούν την κανονική οδό μεταγωγής σήματος παίζουν κεντρικό ρόλο στη διαφοροποίηση αυτών των κυττάρων προς οστεοβλάστες. Ταυτόχρονα, η ενδοκυττάρια συσσώρευση β-κατενίνης παράλληλα με την εκτροπή της διαδικασίας διαφοροποίησης προς οστοβλάστες, εμποδίζει τη διαφοροποίηση προς λιποκύτταρα. Ο DKK-1 ως αναστολέας της κλασικής οδού Wnt/β-κατενίνης έχει την αντίθετη επίδραση όσον αφορά στην λιπογένεση και στην οστεοβλαστογένεση [20] επάγοντας την πρώτη και αναστέλλοντας τη δεύτερη διαδικασία. Η διαφοροποίηση προς χονδροκύτταρα γίνεται υπό την επίδραση συγκεκριμένων γλυκοπρωτεϊνών Wnt της Wnt8 (ενεργοποιητής της κλασικής οδού) και λιγότερο του Wnt4 (ενεργοποιητή της μη κλασικής οδού) [20].



Εικόνα 6: Ο ρόλος του Wnt/β-κατενίνης και DKK-1 στην διαφοροποίηση προς οστεοβλάστες (Pinzone JJ et al Blood. 2009 Jan 15;113(3):517-25).

Ο DKK-1 παίζει ρόλο στο σχηματισμό του διαπλασσόμενου άκρου μέσω επαγωγής της κυτταρικής απόπτωσης [20] και κατά την εμβρυογένεση ανταγωνίζεται τον Wnt7a. Μετά την γέννηση, εκφράζεται κυρίως στους οστεοβλάστες και στα οστεοκύτταρα με την ισορροπία ανάμεσα στη δραστηριότητα του συστήματος Wnt/β-κατενίνης και της αναστολής του από τον DKK-1 να είναι μεγάλης σημασίας για το σχηματισμό του οστίτη ιστού και για την ομοιοστασία των οστών γενικότερα [83].

Παρατηρήσεις από πειράματα σε ζώα και από μελέτες σε ανθρώπους υποστηρίζουν έναν αναβολικό ρόλο του συστήματος Wnt/ β -κατενίνης στην εναπόθεση οστίτη ιστού και στη διατήρηση της οστικής μάζας. Η επίδραση αυτή διαμεσολαβείται από την ενίσχυση της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης και δραστηριότητας με ταυτόχρονη καταστολή της αντίστοιχης διαφοροποίησης και δραστηριότητας των οστεοκλαστών [20]. Όσον αφορά στον παράγοντα DKK-1, η χρωμοσωμιακή περιοχή όπου εδράζεται το σχετικό γονίδιο έχει συνδεθεί με τη ρύθμιση της οστικής μάζας σε άνδρες ηλικίας μικρότερης των 50 ετών [83]. Μεταλλάξεις που αφορούν τον υποδοχέα LRP5 και που είτε τον αδρανοποιούν είτε τον ενεργοποιούν, απευαισθητοποιώντας τον στην επίδραση του παράγοντα DKK-1, καταδεικνύουν τον ρόλο του, ως ένα φυσιολογικό ρυθμιστικό παράγοντα της οστικής μάζας. Τα δεδομένα αυτά αναπαράγονται και σε πειράματα σε ποντίκια. Από τέτοια πειράματα διαπιστώθηκε ότι η επίδραση του DKK-1 στον οστίτη ιστό διαμεσολαβείται από το μονοπάτι Wnt/ β -κατενίνη, η ενεργοποίηση του οποίου διαταράσσει την εναπόθεση οστίτη ιστού περιορίζοντας την έκφραση του παράγοντα OPG από τους οστεοβλάστες, με αποτέλεσμα η αναλογία OPG/RANKL να ευνοεί την οστική απορρόφηση [20].



Εικόνα 7: Η επίδραση του DKK-1 στο σύστημα RANK-RANKL-OPG (Pinzone JJ et al Blood. 2009 Jan 15;113(3):517-25).

Τα δεδομένα αυτά υποστηρίζουν ότι ο DKK-1 έχει διπλή δράση περιορίζοντας τον οστικό σχηματισμό και προάγοντας την οστική απορρόφηση (εικόνα 7) **[20]**.

2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1 Πληθυσμός

Για τη συγκεκριμένη μελέτη, συλλέχθηκαν δεδομένα από παιδιά ηλικίας 3-6 ετών και τις μητέρες τους που προσήλθαν στα τακτικά εξωτερικά ιατρεία της Παιδιατρικής Κλινικής του Γ.Ν. Νίκαιας από τον Οκτώβρη του 2009 μέχρι το Μάιο του 2010. Κριτήρια αποκλεισμού ήταν η ύπαρξη ιατρικού ιστορικού χρόνιων νοσημάτων ή λήψης φαρμάκων που είναι δυνατόν να επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό. Αρχικά προσεγγίστηκαν 113 παιδιά και οι μητέρες τους. Από αυτές 17 αρνήθηκαν να συμμετάσχουν, 12 δεν έδωσαν επαρκή στοιχεία και 4 παρουσίαζαν ιστορικό χρόνιων νοσημάτων/λήψης φαρμάκων. Τελικά το δείγμα αποτέλεσαν 80 δυάδες μητέρων-παιδιών. Από όλες τις συμμετέχουσες μητέρες ζητήθηκε να απαντήσουν στις ερωτήσεις του Ερωτηματολογίου Υγείας και Συνηθειών Θηλασμού.

Η συμμετοχή στη μελέτη ήταν εθελοντική και έγινε μετά την σύμφωνη γνώμη των γονέων/κηδεμόνων, οι οποίοι και ενημερώθηκαν αναλυτικά σχετικά με τον σκοπό της μελέτης και τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν. Η μελέτη είχε την έγκριση της Επιτροπής Βιοηθικής του του Χαροκόπειου Πανεπιστημίου Αθηνών.

2.2 Ερωτηματολόγιο Υγείας και Συνηθειών Θηλασμού

Το «Ερωτηματολόγιο Υγείας και Συνηθειών Θηλασμού», που σχεδιάστηκε ειδικά για τις ανάγκες της έρευνας αυτής (βλέπε Παράρτημα 1), περιελάμβανε ερωτήσεις κλειστού τύπου και συμπληρώθηκε από εξειδικευμένο ερευνητή (ΧΜ) με την συνεργασία της μητέρας είτε στο πλαίσιο προσωπικής συνέντευξης είτε τηλεφωνικά.

Οι πληροφορίες που ζητήθηκαν με το ερωτηματολόγιο αυτό μπορούν να ταξινομηθούν στις παρακάτω κατηγορίες:

- Αυτοδηλούμενα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά γονέων (βάρος, ύψος)
- Ηλικία και κοινωνικο-οικονομικό και μορφωτικό επίπεδο γονέων (καταγωγή, επίπεδο εκπαίδευσης)
- Συμπεριφορές μητέρας προ και κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης (κάπνισμα, χρήση αντισυλληπτικών)
- Πληροφορίες σχετικές με την εγκυμοσύνη (διάρκεια κύησης, τρόπος τοκετού)

- Πληροφορίες σχετικές με τον θηλασμό (διάρκεια μητρικού θηλασμού και αποκλειστικού μητρικού θηλασμού, χρήση υποκατάστατων μητρικού γάλακτος)
- Ανάπτυξη του παιδιού (μήκος και βάρος σώματος κατά την γέννηση όπως ήταν καταγεγραμμένα στο βιβλιάριο υγείας του παιδιού)
- Υγεία του παιδιού (συχνότητα και είδος φαρμακευτικών σκευασμάτων που έχει λάβει)
- Ιστορικό απογαλακτισμού και εισαγωγής στερεών τροφών. Συγκεκριμένα αξιολογήθηκε η αιτία διακοπής του θηλασμού, το χρονικό σημείο πρώτης εισαγωγής τροφίμου/ύγρου άλλου εκτός μητρικού γάλακτος (νερό, τροποποιημένο γάλα, χαμομήλι, αγελαδινό γάλα, λαχανικά, μοσχάρι, ψάρι, φρούτα, ζυμαρικά, ριζάλευρο, φαρίν λακτέ, αυγό)
- Ιατρικό οικογενειακό ιστορικό (ιστορικό οστεοπενίας ή οστεοπορωσης σε συγγενείς 1^{ου} βαθμού των γονέων)

Όσον αφορά στην διατροφή κατά την πρώτη βρεφική ηλικία και σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), ως αποκλειστικός μητρικός θηλασμός ορίστηκε η σίτιση του βρέφους μόνο με μητρικό γάλα από την μητέρα του ή άλλη τροφό ή με μητρικό γάλα που συγκεντρώθηκε με έκθλιψη, χωρίς τη χορήγηση άλλων υγρών ή στερεών, με εξαίρεση σταγόνες ή σιρόπια που περιέχουν βιταμίνες ανόργανα στοιχεία ή φαρμακευτικές ουσίες. Μικτή διατροφή ορίστηκε η σίτιση του βρέφους με μητρικό γάλα και στερεές ή ημιστερεές τροφές ή και υποκατάστατα μητρικού γάλακτος. Τέλος τεχνητή διατροφή χαρακτηρίστηκε όταν το βρέφος δεν σιτιζόταν με μητρικό γάλα.

2.3 Δειματοληψία – μετρήσεις

Οι αιμοληψίες πραγματοποιήθηκαν μετά την πρωινή αφύπνιση μεταξύ 7:00πμ & 9:30πμ και προ του πρωινού γεύματος. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν στις 3900 στρ/λ για 10 λεπτά και ο υπερκείμενος ορός φυλάχθηκε σε ειδικό χώρο στους -84 °C.

Οι μετρήσεις για τον προσδιορισμό των επιπέδων ορού των OPG και RANKL πραγματοποιήθηκαν με την ανοσοενζυμική μέθοδο Elisa με τη χρήση των, Biomedica Gruppe immunoassay kits (Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG), ενώ για τον παράγοντα DKK-1 επίσης με την ανοσοενζυμική μέθοδο Elisa με το Quantikine (R&DSYSTEMS).

2.4. Σωματομετρικές μετρήσεις

Σε όλο το δείγμα ακολουθήθηκαν πιστά οι ίδιες διαδικασίες και μέθοδοι ανθρωπομετρίας και χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια εργαλεία. Οι μετρήσεις έγιναν από εξειδικευμένο ερευνητή.

Το σωματικό βάρος των παιδιών μετρήθηκε με μία ψηφιακή ζυγαριά (Seca). Τα υποκείμενα της μελέτης ζυγίστηκαν χωρίς να φορούν υποδήματα και με την ελάχιστη ένδυση (εσώρουχα). Το ύψος τους μετρήθηκε σε όρθια στάση, χωρίς να φορούν υποδήματα και κρατώντας τους ώμους σε χαλαρή θέση με τα χέρια να κρέμονται ελεύθερα από τους ώμους, στο πλησιέστερο 0,5cm με την χρήση ενός αναστημομέτρου του εμπορίου. Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) τους υπολογίστηκε διαιρώντας το βάρος (kg) με το τετράγωνο του ύψους τους (m^2).

Για την ταξινόμηση των παιδιών σε «ελλιποβαρή», «φυσιολογικού βάρους», «υπέρβαρα» και «παχύσαρκα», υπολογίστηκε ο Δείκτης Μάζας Σώματος [βάρος προς ύψος² (kg/m^2)] και οι συμμετέχοντες κατηγοριοποιήθηκαν βάσει των αντίστοιχων κριτηρίων του International Obesity Task Force [84, 85].

2.5 Στατιστική ανάλυση

Έγινε έλεγχος κανονικότητας των μεταβλητών με το τεστ Kolmogorof-Smirnov, Ιστόγραμμα & Normal Q-Q plo. Επειδή οι τιμές του παράγοντα RANKL δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή λογαριθμίστηκε η συγκεκριμένη μεταβλητή και χρησιμοποιήθηκε ο φυσικός λογάριθμος αυτής, του οποίου οι τιμές ακολουθούσαν την κανονική κατανομή.

Ανάμεσα σε ποσοτικές συνεχείς μεταβλητές (π.χ. ηλικία και βάρος), όπου και οι δυο μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή, χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο για τον έλεγχο αυτής της συσχέτισης ο συντελεστής συσχέτισης του Pearson και όπου χρειάστηκε χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο ο συντελεστής συσχέτισης του Spearman. Ανάμεσα σε ποσοτικές συνεχείς μεταβλητές και σε ποιοτικές μεταβλητές ο έλεγχος ύπαρξης συσχέτισης έγινε με ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (One way ANOVA) με διόρθωση Bonferroni για post hoc πολλαπλές συγκρίσεις. Όπου η προϋπόθεση της ομοσκεδαστικότητας δεν ίσχυε ή μια από τις δύο συγκρινόμενες μεταβλητές δεν ακολουθούσε την κανονική κατανομή χρησιμοποιήθηκε το Kruskal-Wallis test, που είναι ο αντίστοιχος μη παραμετρικός έλεγχος του ελέγχου one-way ANOVA.

Χρησιμοποιήθηκαν μοντέλα γραμμικής παλινδρόμησης για την συσχέτιση της διακύμανσης των τιμών των βιοχημικών δεικτών OPG, RANKL και DKK-1, καθώς και του λόγου OPG/RANKL με διάφορες ανεξάρτητες μεταβλητές και ως προς διάφορους συγκυτικούς παράγοντες. Επίπεδο σημαντικότητας θεωρήθηκε το 5%. Οι συνεχείς μεταβλητές αναγράφονται ως μέσοι όροι με τις τυπικές τους αποκλίσεις. Χρησιμοποιήθηκε για της αναλύσεις το στατιστικό πακέτο SPSS16.0.

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο πίνακας 1 συνοψίζει τα βασικά περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος των 80 παιδιών που συμμετείχαν στην παρούσα μελέτη. Πιο συγκεκριμένα 46,2% ήταν αγόρια, η μέση ηλικία των παιδιών ήταν 4,3 έτη, το μέσο ύψος 106,02 cm, το μέσο βάρος 17,95 kg και το 71,2% φυσιολογικού βάρους με βάση την κατηγοριοποίηση του ΔΜΣ.

ΠΙΝ.1 Περιγραφικά χαρακτηριστικά δείγματος (n = XXX)		
ΦΥΛΟ		
αγόρια	37	46,2%
ΗΛΙΚΙΑ(έτη)	4,3	(±0,94)
ΥΨΟΣ(cm)	106,2	(±9,33)
ΒΑΡΟΣ(kg)	17,95	(±4,49)
ΔΜΣ(kg / m²)	15,73	(±2,33)
ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΒΑΡΟΥΣ		
ελλιποβαρή	8	10%
φυσιολογικό	57	71,2%
υπέρβαρα	15	18,8%
ΠΡΟΩΡΟΤΗΤΑ		
τελειόμηνα	65	81,2%
ΒΑΡΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ(gr)	3153,4	(±532,3)
ΥΨΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ(cm)	50,59	(±2,7)
OPG (pmol/L)	4,6334	(±1,236)
RANKL (pmol/L)	0,424	(±0,811)
OPG/RANKL	0,458	(±26,664)
DKK-1 (pg/ml)	3136,6	(±1786,3)

Επίσης, 81,2% ήταν τελειόμηνα και το μέσο βάρος γέννησης 3153,4gr. Όσον αφορά τις μέσες τιμές των βιοχημικών δεικτών, για την OPG ήταν $4,6334 \pm 1,236$ pmol/L, για τον RANKL $0,424 \pm 0,811$ pmol/L, για τον λόγο OPG/RANKL $30,458 \pm 26,664$ και τέλος για τον DKK-1 $3136,6 \pm 1786,3$ pg/ml.

Στον πίνακα 2 καταγράφονται τα περιγραφικά στοιχεία των γονέων των παιδιών. Η πλειοψηφία των γονέων ήταν ελληνικής καταγωγής με τα ποσοστά για τις μητέρες και τους πατέρες να είναι 78,8% και 83,8% αντίστοιχα. Επίσης, το 85% των παιδιών προέρχονταν από πυρηνικές οικογένειες.

Πιν.2 Περιγραφικά χαρακτηριστικά γονέων - οικογενειών		
	ΜΗΤΕΡΑ	ΠΑΤΕΡΑΣ
ΗΛΙΚΙΑ	33,5 (±5,1)	37,3 (±6,6)
ΥΨΟΣ	163,6 (±6,5)	177,2 (±8)
ΒΑΡΟΣ	67,1 (±13,4)	87,1 (±14)
ΕΘΝΙΚΟΤΗΤΑ		
ελληνική	n= 63	n= 67
	78,8%	83,8%

Θετικό ιστορικό καπνίσματος κατά την εγκυμοσύνη αναφέρεται στο 52,2% των μητέρων. Επίσης θετικό οικογενειακό ιστορικό για οστεοπόρωση/οστεοπενία σε συγγενείς πρώτου βαθμού, είτε στον ένα είτε στον άλλο γονέα, αναφέρεται στο 50% των περιπτώσεων, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για κάθε γονέα ξεχωριστά είναι στις μητέρες 37,5% και στους πατέρες 27,5%. (πίνακας 3)

Πιν.3 Ατομικό ιστορικό καπνίσματος στην εγκυμοσύνη και οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης/οστεοπενίας		
ΘΕΤΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΠΝΙΣΜΑΤΟΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΗ	42	52,5%
ΘΕΤΙΚΟ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ/ΟΣΤΕΟΠΕΝΙΑΣ ΣΤΗΝ ΜΗΤΕΡΑ	30	37,5%
ΘΕΤΙΚΟ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ/ΟΣΤΕΟΠΕΝΙΑΣ ΣΤΟΝ ΠΑΤΕΡΑ	22	27,5%
ΘΕΤΙΚΟ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ/ΟΣΤΕΟΠΕΝΙΑΣ ΕΙΤΕ ΣΤΗΝ ΜΗΤΕΡΑ ΕΙΤΕ ΣΤΟΝ ΠΑΤΕΡΑ	40	50%

Το ποσοστό της πλήρους απουσίας θηλασμού είναι για το συγκεκριμένο δείγμα 20%, σύμφωνα με τις αναφορές των κηδεμόνων. Για το υπόλοιπο 80% του δείγματος ,για το οποίο δηλώθηκε κάποια περίοδος θηλασμού, η μέση διάρκεια του θηλασμού αλλά και του αποκλειστικού θηλασμού ήταν 3,75μήνες και 0,88 μήνες αντίστοιχα. Επίσης ο μέσος χρόνος πρώτης εισαγωγής τροφίμων ή υγρών άλλων πέρα από γάλα ήταν 2,55 μήνες (Πιν. 4).

Πιν. 4 Ιστορικό διατροφής στην βρεφική ηλικία		
ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΘΗΛΑΣΜΟΥ καθόλου	n=16	(20%)
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΘΗΛΑΣΜΟΥ (μήνες)	3,75	(±4,96)
ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΤΙΚΟΥ ΘΗΛΑΣΜΟΥ (μήνες)	0,88	(±1,81)
ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΠΡΩΤΗΣ ΕΙΣΑΓΩΓΗΣ ΤΡΟΦ/ΥΓΡΩΝ (μήνες)	2,55	(±1,93)

Τόσο η ηλικία,όσο και το ύψος και το βάρος των γονέων και το μορφωτικό τους επίπεδο δεν παρουσίασαν στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα επίπεδα των παραγόντων OPG, RANKL και DKK-1, ούτε και με τον λόγο OPG/RANKL.

Τα επίπεδα, όμως, των παραγόντων RANKL και DKK-1 βρέθηκε να διαφοροποιούνται ανάλογα με την εθνικότητα του ενός από τους δύο γονείς. Πιο συγκεκριμένα τα επίπεδα του παράγοντα RANKL ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα στα παιδιά με μητέρες ελληνικής καταγωγής ($0,344 \pm 0,599$ pmol/L) σε σχέση με τα παιδιά από μητέρες με διαφορετική καταγωγή ($0,722 \pm 1,318$ pmol/L, $p = 0,040$). Επίσης, ο παράγοντας DKK-1 είχε χαμηλότερες τιμές στα παιδιά με πατέρες ελληνικής καταγωγής ($2921,8 \pm 1628,188$ pg/ml) σε σχέση με παιδιά από πατέρες με διαφορετική καταγωγή ($4193,8 \pm 2198,485$ pg/ml, $p = 0,018$).

Σχετικά με τις καπνιστικές συνήθειες της μητέρας, τα παιδιά εκείνα των οποίων οι μητέρες κάπνιζαν κατά την διάρκεια της εγκυμοσύνης είχαν στατιστικά υψηλότερες τιμές OPG ($4,956 \pm 1,399$ pmol/L) σε σχέση με εκείνα των οποίων οι μητέρες δεν κάπνιζαν κατά την αντίστοιχη περίοδο ($4,342 \pm 0,997$ pmol/L, $p = 0,025$). Επίσης για τον ίδιο παράγοντα τα παιδιά από πυρηνικές οικογένειες είχαν χαμηλότερες τιμές ($4,479 \pm 1,094$ pmol/L) σε σχέση με εκείνα από μη πυρηνικές οικογένειες ($5,507 \pm 1,645$ pmol/L, $p = 0,007$).

Όσον αφορά το οικογενειακό ιστορικό, χαμηλότερες τιμές στον παράγοντα RANKL μετρήθηκαν στα παιδιά από πατέρες με θετικό οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης ή οστεοπενίας ($0,191 \pm 0,182$ pmol/L) σε σχέση με αυτά χωρίς το αντίστοιχο ιστορικό από τον πατέρα ($0,513 \pm 0,933$ pmol/L, $p = 0,038$).

Οι τιμές των βιοχημικών δεικτών δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα σε αγόρια και κορίτσια (πίνακας 5)

Πιν.5 Διαφορές βιοχημικών δεικτών ανάμεσα στα 2 φύλα			
	ΑΓΟΡΙΑ	ΚΟΡΙΤΣΙΑ	
OPG pmol/L	4,407±1,171	4,897±1,274	p =0,078
RANKL pmol/L	0,432±0,703	0,415±0,931	p = 0,926
OPG/RANKL	27,186±21,691	34,260±31,362	p =0,239
DKK-1 pg/ml	2991,4±1834	3310,8±1737,5	p= 0,438

Στον πίνακα 6 παρουσιάζονται οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των τιμών των βιοχημικών δεικτών OPG, RANKL, DKK-1, και της ηλικίας, ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών των παιδιών και των συνηθειών θηλασμού. Η διάρκεια του θηλασμού ή η διάρκεια του αποκλειστικού θηλασμού δεν βρέθηκε να σχετίζεται σε στατιστικά σημαντικό βαθμό με τα επίπεδα των μελετώμενων δεικτών ούτε και με τον λόγο OPG/RANKL

Πιν. 6 Συσχετίσεις ηλικίας, ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών των παιδιών και των συνηθειών θηλασμού με βιοχημικούς δείκτες						
	ΗΛΙΚΙΑ	ΥΨΟΣ	ΒΑΡΟΣ	BMI	ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΘΗΛΑ- ΣΜΟΥ	ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙ- ΣΤΙΚΟΥ ΘΗΛΑΣΜΟΥ
OPG	r = 0,14 p = 0,216	r = -0,49 P = 0,667	r = -0,12 p = 0,306	r = -0,15 P = 0,194	r = -0,74 p = 0,517	r = -0,107 p = 0,347
RANKL	r = 0,12 p = 0,298	r = 0,11 p = 0,325	r = 0,11 p = 0,317	r = 0,01 p = 0,960	r = 0,59 p = 0,601	r = -0,64 p = 0,575
OPG/ RANKL	r = -0,40 p = 0,722	r = -0,13 p = 0,236	r = -0,15 p = 0,178	r = -0,01 p = 0,398	r = -0,09 p = 0,408	r = 0,022 p = 0,847
DKK-1	r = -0,15 p = 0,895	r = 0,51 p = 0,660	r = -0,10 p = 0,930	r = -0,74 p = 0,523	r = 0,05 p = 0,656	r = 0,028 p = 0,807

Όσον αφορά στον απογαλακτισμό, δεν βρέθηκαν διαφοροποιήσεις στους βιοχημικούς δείκτες ανάλογα με την εισαγωγή συγκεκριμένων τροφίμων, εκτός από την εισαγωγή αγελαδινού γάλακτος (Πίνακας 7). η μόνη στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε μεταξύ των παιδιών που εισήγαγαν το γάλα στην διαίτά τους πριν τους 12 μήνες σε σχέση με αυτά που το εισήγαγαν μετά (πίνακας 7). Πιο συγκεκριμένα τα παιδιά που εισήγαγαν το γάλα μετά τους 12 μήνες είχαν χαμηλότερες τιμές RANKL σε σχέση με αυτά που το εισήγαγαν νωρίτερα ($0,227 \pm 0,254$ έναντι $0,607 \pm 1,081$ pmol/L, $p=0,008$).

Πιν.7 Διαφορές βιοχημικών δεικτών για εισαγωγή γάλακτος <ή>12 μήνες			
	εισαγωγή αγελαδινού γάλακτος		p Value
	<12 ΜΗΝΕΣ	>12 ΜΗΝΕΣ	
OPG pmol/L	4,754±1,253	4,521±1,234	p = 0,408
RANKL pmol/L	0,607±1,081	0,227±0,254	p = 0,008
OPG/RANK L	25,332±21,799	36,560±30,399	p =0,062
DKK-1 pg/ml	2797,8±1608,0	3431,8±1868,1	p= 0,116

Το δείγμα διχοτομήθηκε ανάλογα με τη διάρκεια της διάρκειας θηλασμού, στα παιδιά που θήλασαν < 2 μήνες και σε αυτά που θήλασαν > 2 μήνες και βρέθηκε ότι τα παιδιά που θήλασαν μικρότερο διάστημα παρουσιάζουν στατιστικά μικρότερες τιμές RANKL σε σχέση με αυτά που θήλασαν μεγαλύτερο διάστημα ($0,227 \pm 0,254$ έναντι $0,607 \pm 1,081$ pmol/L, $p=0,008$). Η διαφορά αυτή παρέμεινε στατιστικά σημαντική ακόμα και μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες, και συγκεκριμένα για την ηλικία, το φύλο και τον δείκτη μάζας σώματος του παιδιού, το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης των γονέων και το ιστορικό καπνίσματος της μητέρας κατά την εγκυμοσύνη ($0,253 \pm 0,227$ και $0,596 \pm 1,105$ pmol/L, αντίστοιχα, $p=0,020$).

Όταν στο υπόδειγμα συνυπολογίστηκαν τόσο η διάρκεια θηλασμού (μικρότερη ή μεγαλύτερη από 2μήνες) όσο και η εισαγωγή αγελαδινού γάλακτος (πριν ή μετά τους 12 μήνες), βρέθηκαν και οι δύο παράγοντες στατιστικά σημαντικοί και η αλληλεπίδρασή τους οριακά στατιστικά σημαντική ($p=0,060$).

Ομοίως, εκτιμήθηκε η συσχέτιση της διακύμανσης των επιπέδων του παράγοντα DKK-1 με τις ίδιες ανεξάρτητες μεταβλητές και σταθμίζοντας ως προς

τους ίδιους συγχυτικούς παράγοντες και επιπλέον ως προς την εθνικότητα και των δύο γονέων. Βρέθηκε ότι τα παιδιά που καθυστέρησαν να δοκιμάσουν αγελαδινό γάλα (μετά τους 12 μήνες) παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές DKK-1 σε σχέση με αυτά που δοκίμασαν αγελαδινό γάλα πριν τους 12 μήνες ($3431,8 \pm 1868,1$ έναντι $2797,8 \pm 1608,0$ pg/ml, $p=0,042$), ενώ η επίδραση της διάρκειας θηλασμού (μικρότερη ή μεγαλύτερη από 2μήνες) ήταν μη στατιστικά σημαντική ($p=0,823$).

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η οστική μάζα καθορίζεται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες. Οι γενετικοί παράγοντες εξηγούν το 75% της διακύμανσης της οστικής μάζας, ενώ το υπόλοιπο 25%, αποδίδεται στους περιβαλλοντικούς παράγοντες [20]. Η διάπλαση των οστών ξεκινάει ήδη από την ενδομήτριο ζωή, αρχικά με τον καθορισμό της θέσης και του σχήματος των οστών και μετά ακολουθεί με την επιμετάλλωση η οποία κορυφώνεται στο τελευταίο τρίμηνο της κύησης [4]. Η φυσιολογική εναπόθεση του οστίτη ιστού είναι το αποτέλεσμα δύο διαδικασιών, της διαμόρφωσης και της αναδιαμόρφωσης. Ο ρόλος των μοριακών δεικτών του συστήματος OPG- RANK-RANKL καθώς και του DKK-1 συζητήθηκε παραπάνω και είναι ουσιαστικά ο συντονισμός των οστικών κυττάρων (οστεοβλάστες, οστεοκλάστες) τόσο κατά την ενδομήτριο ζωή όσο και μεταγενετικά.

Στη διεθνή βιβλιογραφία υπάρχει πληθώρα μελετών που εξετάζουν τη σχέση μεταξύ διαφόρων χαρακτηριστικών όπως π.χ. του ύψους, της οστικής πυκνότητας κ.α. με διάφορους γενετικούς ή περιβαλλοντικούς παράγοντες. Απ' όσο γνωρίζουμε όμως, δεν υπάρχουν μελέτες που να εξετάζουν την επίδραση των διατροφικών παραγόντων που εξετάσαμε, σε σχέση με τα επίπεδα των παραπάνω δεικτών του οστικού μεταβολισμού.

Το σημαντικότερο εύρημα αυτής της μελέτης είναι η ανάδειξη στατιστικά σημαντικών διαφορών σε ορισμένους από τους δείκτες οστικού μεταβολισμού που μελετήσαμε, σε παιδιά προσχολικής ηλικίας (3-6 ετών) σε σχέση με κάποιους διατροφικούς παράγοντες του πρώτου έτους της ζωής. Πιο συγκεκριμένα, οι τιμές του RANKL και του DKK-1 παρουσίασαν διαφορές, σε ομάδες παιδιών που διαχωρίστηκαν με βάση τη διάρκεια του θηλασμού (μεγαλύτερη των 2 μηνών ή μικρότερη αυτής) και με βάση το αν καθυστέρησαν ή όχι την εισαγωγή αγελαδινού γάλακτος (πριν ή μετά τους 12 μήνες) στο διαιτολόγιό τους. Παιδιά που στο ιστορικό τους αναφερόταν διάρκεια θηλασμού πάνω από δύο μήνες παρουσίαζαν υψηλότερες τιμές RANKL, έχοντας ελέγξει για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες όπως το φύλο, η ηλικία, ο δείκτης μάζας σώματος του παιδιού, το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης του κάθε γονέα ξεχωριστά και το μητρικό ιστορικό καπνίσματος στην εγκυμοσύνη.

Σε μια μελέτη σε πρόωρα νεογνά που χορηγήθηκε μητρικό γάλα, παρατηρήθηκε αυξημένη οστική μάζα μετά από 20 χρόνια παρακολούθησης.

Δεδομένου ότι η περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά του μητρικού γάλακτος υπολείπεται σε σχέση με τις ανάγκες ενός πρόωρου νεογνού, η επίδραση αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί σε συστατικά που δεν έχουν θρεπτικό ρόλο όπως διάφοροι αυξητικοί παράγοντες ή ορμόνες δίνοντας ένα επιπλέον πλεονέκτημα στο μητρικό γάλα [86].

Τα θηλάζοντα βρέφη, αν και αναπτύσσονται με πιο αργό ρυθμό κατά το πρώτο εξάμηνο, εμφανίζουν μεγαλύτερη αύξηση στο ύψος τους αργότερα κατά την παιδική τους ηλικία αλλά και τελικά κατά την ενήλικη ζωή τους [87]. Κατά την παιδική ηλικία παρουσιάζουν αυξημένη ταχύτητα ανάπτυξης με πιθανό μηχανισμό τα υψηλότερα επίπεδα IGF-1, που είναι αποτέλεσμα επανακαθορισμού της ευαισθησίας της υπόφυση από τα χαμηλά επίπεδα IGF-1 που παρουσιάζουν τα βρέφη που θηλάζουν [88].

Επομένως, τα υψηλότερα επίπεδα του RANKL, που παρατηρήσαμε στα παιδιά προσχολικής ηλικίας με μεγαλύτερη διάρκεια θηλασμού, ίσως να αντανakλούν την μεγαλύτερη ενεργοποίηση της οστικής αναδιαμόρφωσης στα πλαίσια ακριβώς αυτής της μεγαλύτερης ταχύτητας ανάπτυξης.

Μικρότερες τιμές RANKL παρατηρήθηκαν στην ομάδα των παιδιών με καθυστερημένη εισαγωγή αγελαδινού γάλακτος (> 12 μήνες). Η διαφορά αυτή παρέμεινε στατιστικά σημαντική ακόμη και όταν η σχέση αυτή ελέγχθηκε για την επίδραση πιθανών συγχυτικών παραγόντων όπως το φύλο, η ηλικία, ο δείκτης μάζας σώματος του παιδιού, το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης του κάθε γονέα ξεχωριστά και το μητρικό ιστορικό καπνίσματος στην εγκυμοσύνη. Ελέγχοντας για τους ίδιους συγχυτικούς παράγοντες και επιπλέον για την εθνικότητα των γονέων τα παιδιά με εισαγωγή γάλακτος > 12 μηνών παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αύξηση στις τιμές του DKK-1.

Οι μικρότερες τιμές του παράγοντα RANKL απηχούν ένα περιορισμό στη διαδικασία της οστικής απορρόφησης λόγω χαμηλότερου επιπέδου οστεοκλαστικής δραστηριότητας. Οι αυξημένες τιμές του DKK-1 που παρατηρήσαμε σε αυτή την ομάδα παιδιών ίσως να ευθύνονται για τα χαμηλότερα επίπεδα του RANKL. Οι J. Li *et al* σε μελέτη τους σε ποντίκια έδειξαν ότι ο DKK-1 σε καταστάσεις υπερέκκρισης έχει αρνητική επίδραση στους οστεοβλάστες, μειώνοντας και τον αριθμό και τη δραστηριότητά τους [83]. Δεδομένα από μελέτες σε ανθρώπους, στις οποίες εξετάστηκαν μεταλλάξεις του γονιδίου DKK-1 έδειξαν ότι λεπτές διαφοροποιήσεις

που αφορούν στην έκφραση του γονιδίου μπορούν να οδηγήσουν σε μοναδικά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά [89]. Επίσης είναι γνωστό, ότι ο DKK-1 προωθεί τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) σε ένα αναπτυσσόμενο άκρο [20]. Υπό φυσιολογικές συνθήκες το «πρότυπο» έκκρισης του DKK-1, δηλαδή το επίπεδο έκφρασης του γονιδίου και ο χρονικός καθορισμός ενεργοποίησης του, είναι σημαντικό, για να διατηρηθεί η κατάλληλη αλληλουχία των γεγονότων για το σχηματισμό οστού κατά τη διαδικασία της ανάπτυξης [83]. Επομένως τα αυξημένα επίπεδα του DKK-1 στην προκειμένη περίπτωση ίσως να αντιπροσωπεύουν αυτή την ανάγκη συντονισμού των γεγονότων που αφορούν στην παραγωγή οστού κατά την ανάπτυξη.

Σε μια μελέτη των Lee *et al* παρατηρήθηκε ότι σε παιδιά ηλικίας 5 ετών το περιεχόμενο σε άλατα του κάτω τριτημορίου της κερκίδας σχετίζεται ιδιαίτερα με τη διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου που αναφέρεται κατά το δεύτερο έτος [43]. Το αγελαδινό γάλα με την κατάλληλη αναλογία ασβεστίου – φωσφόρου και την περιεκτικότητά του σε κύρια θρεπτικά συστατικά όπως είναι το νάτριο, το μαγνήσιο και η βιταμίνη D αποτελεί μια εξαιρετική διατροφική πηγή που παρέχει στον οργανισμό τα απαραίτητα συστατικά για την αύξηση του σκελετού [90]. Επίσης, συστατικά όπως η λακτοφερίνη είναι δυνατόν να προάγουν τον οστικό σχηματισμό και να περιορίζουν την οστική απορρόφηση [85]. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η εισαγωγή γάλακτος μετά τους 12 μήνες, δηλαδή κατά το δεύτερο έτος, πέραν του ότι μπορεί να καλύπτει τις ανάγκες σε θρεπτικά συστατικά του αναπτυσσόμενου παιδικού σκελετού μπορεί να έχει και πιο μακροχρόνιες επιπτώσεις προωθώντας σε μεταγενέστερο στάδιο τη δημιουργία ενός ευνοϊκού για την οστική ανάπτυξη, περιβάλλοντος.

Σε μια μετανάλυσή από τον Gerstein [91] αναγνωρίζεται η πρόωμη εισαγωγή αγελαδινού γάλακτος ως προγνωστικός παράγοντας για εμφάνιση Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου I. (ΣΔ-I). Σε άλλες μελέτες σε παιδιά με νεοδιαγνωσμένο ΣΔ-I ανευρίσκονται αυξημένες τιμές αντισωμάτων έναντι πρωτεϊνικών αντιγόνων προερχόμενων από το αγελαδινό γάλα [92,93].

Επίσης ερευνητές όπως οι Greer Fr *et al*, [94] αναφέρουν πως καταστάσεις όπως ατοπία και συριγμός (wheezing) είναι πιο συχνά σε παιδιά που κατά την βρεφική τους ηλικία τρέφονται με υποκατάστατα γάλακτος από αγελαδινό γάλα σε σχέση με αυτά που θήλαζαν (τουλάχιστον 4 μήνες).

Από τα παραπάνω φαίνεται πως η πρόωγη εισαγωγή αγελαδινού γάλακτος στο βρεφικό διαιτολόγιο σχετίζεται με την ενεργοποίηση αυτοάνοσων μηχανισμών στον οργανισμό. Ίσως αυτή η αντίδραση του ανοσοποιητικού συστήματος να επηρεάζει και τον οστικό μεταβολισμό κατά τέτοιο τρόπο ώστε να μην διαμορφώνεται τουλάχιστον κάποια θετική επίδραση σε αυτόν, όπως σε αυτά τα παιδιά που καθυστέρησαν την εισαγωγή του αγελαδινού γάλακτος.

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι πέραν του αγελαδινού γάλακτος το χρονικό σημείο εισαγωγής άλλων στερεών ή μη τροφών κατά το στάδιο του απογαλακτισμού δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα. Το δεδομένο αυτό είναι σε συμφωνία με δεδομένα από άλλες μελέτες. Πιο συγκεκριμένα, αν και σύμφωνα με κάποιες μελέτες η εισαγωγή τροφών κατά τον απογαλακτισμό μπορεί να επηρεάζει τη βρεφική ανάπτυξη και την απόκτηση βάρους, τουλάχιστον βραχυπρόθεσμα, αυτό δεν είναι ισχυρώς τεκμηριωμένο [95]. Ένας βασικός λόγος γι' αυτό είναι ότι το χρονικό σημείο έναρξης του απογαλακτισμού επηρεάζεται από την ίδια την ανάπτυξη του βρέφους, καθώς σε βαρύτερα βρέφη οι γονείς έχουν την τάση να κάνουν την εισαγωγή νωρίτερα [96]. Ιδιαίτερα, μελέτες όπως αυτές που αναφέρθηκαν από τους Bainbridge *et al* [41] και Mehta *et al* [42], όπου έγιναν μετρήσεις σε βρέφη χαρακτηριστικών όπως η οστική πυκνότητα του κάτω τριτημορίου της κερκίδας (Bainbridge) ή του ολικού σωματικού απόθεματος σε άλατα (Mehta), καταλήγουν στο ίδιο συμπέρασμα: όσον αφορά στον οστικό ιστό ο απογαλακτισμός δεν φάνηκε, τουλάχιστον βραχυπρόθεσμα, να έχει κάποια επίδραση.

Σύμφωνα με μία μετανάλυση των Paternoster L *et al* στα δεδομένα των μελετών ALSPAC και GOOD οι γενετικοί πολυμορφισμοί του συστήματος OPG-RANK-RANKL αποτελούν σημαντικούς καθοριστές της οστικής πυκνότητας, ιδιαίτερα του φλοιώδους οστού. Αντίθετα για τους πολυμορφισμούς του υποδοχέα LRP5 της κλασικής οδού, στο μονοπάτι της Wnt/β-κατενίνης, δεδομένα από την ίδια μελέτη που αφορούν στη σχέση τους με την οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης, δείχνουν ότι καθορίζουν την οστική πυκνότητα στα σπογγώδη οστά. [97].

Στη μελέτη μας δείξαμε ότι οι παράγοντες RANKL και DKK-1 συσχετίστηκαν με το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης και την εθνική καταγωγή των γονέων. Πιο συγκεκριμένα μικρότερες τιμές του RANKL παρουσιάστηκαν στα παιδιά των οποίων ο πατέρας ανέφερε θετικό οικογενειακό

ιστορικό οστεοπόρωσης. Παρόμοια, μικρότερες τιμές RANKL παρουσιάστηκαν σε παιδιά με μητέρα ελληνικής καταγωγής, ενώ μικρότερες τιμές DKK-1 σε παιδιά με πατέρα ελληνικής καταγωγής. Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι το δείγμα μας παρουσιάζει μία σχετική ομοιογένεια ως προς την εθνικότητα με αποτέλεσμα να αναφέρεται σε ένα σχετικά κοινό γενετικό υπόβαθρο. Δεδομένου το πόσο ισχυρά γενετικά καθοριζόμενο μέγεθος είναι η οστική μάζα ίσως θα ήταν χρήσιμο στο μέλλον να διεξαχθούν γενετικές μελέτες στον ελληνικό χώρο, προκειμένου να αναγνωριστούν συγκεκριμένοι γενετικοί πολυμορφισμοί που απαντώνται στον ελληνικό πληθυσμό και επηρεάζουν την οστική υγεία.

Το δείγμα της παρούσας μελέτης είναι επίσης αρκετά ομοιογενές ως προς την ηλικία. Το ηλικιακό εύρος είναι αρκετά μικρό, ώστε να μην υπάρχουν έντονες διακυμάνσεις στον οστικό μεταβολισμό μεταξύ των ατόμων. Ίσως γι' αυτό το λόγο οι τιμές των δεικτών που μετρήθηκαν δεν βρέθηκαν να παρουσιάζουν διακύμανση με την ηλικία των παιδιών.

Ομοίως δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις τιμές των δεικτών οστικού μεταβολισμού σε σχέση με το φύλο. Αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με ήδη υπάρχοντα δεδομένα από μελέτες π.χ. για τον OPG στις οποίες δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις τιμές ανάμεσα στα δυο φύλα σε παιδιά προσχολικής και προεφηβικής ηλικίας [80,81]. Αντίθετα, τα βιβλιογραφικά δεδομένα δείχνουν ότι τόσο οι τιμές του OPG όσο και οι τιμές του RANKL στους ενήλικες διαφέρουν και αυτή η διαφορά οφείλεται στις ορμόνες του φύλου[49,53,65]. Ίσως αυτός να είναι ο λόγος για τον οποίο δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στις τιμές ανάλογα με το φύλο των παιδιών, καθώς στη μελέτη μας χρησιμοποιήθηκαν παιδιά προσχολικής ηλικίας, στα οποία δεν έχει ενεργοποιηθεί ακόμη ο άξονας γονάδες - υπόφυση.

Τέλος από τα δεδομένα της μελέτης μας όσον αφορά στον παράγοντα OPG μεγαλύτερες τιμές παρατηρήθηκαν σε παιδιά που προέρχονταν από μη πυρηνικές οικογένειες και από μητέρες με θετικό ιστορικό καπνίσματος στην εγκυμοσύνη.

Γνωρίζουμε ότι το κάπνισμα επιδρά ήδη από τη φάση της ενδομήτριας ζωής περιορίζοντας την ανάπτυξη του εμβρύου κατά τη φάση αυτή και επηρεάζοντας αρνητικά το βάρος γέννησης [100]. Επίσης το κάπνισμα της μητέρας κατά την εγκυμοσύνη αναφέρεται ως παράγοντας κινδύνου για την ανάπτυξη χαμηλής οστικής πυκνότητας μεταγενέστερα κατά την παιδική και κατά την εφηβική ηλικία [101]. Στο πλαίσιο των δεδομένων αυτών οι παρατηρούμενες αυξημένες τιμές του

OPG ίσως οφείλονται σε έναν αντιρροπιστικό μηχανισμό. Ο μηχανισμός αυτός «προγραμματίζεται» ήδη από την ενδομήτρια φάση προκειμένου να περιοριστεί η απώλεια οστικής μάζας και να εξουδετερωθεί η αρνητική επίδραση του καπνίσματος.

Από μελέτες που διεξήχθησαν σε διάφορα μέρη του κόσμου με διαφορετικές κοινωνικο-οικονομικές συνθήκες προκύπτει ότι το οικονομικό και κοινωνικό επίπεδο σχετίζεται με κάποιες επιδράσεις στο σκελετό. Όπως προκύπτει από τα δεδομένα, καλύτεροι κοινωνικο-οικονομικοί δείκτες σχετίζονται με καλλίτερες μετρήσεις οστικών χαρακτηριστικών και ότι η επίδραση τους μάλλον, είναι πιο εμφανής κατά την περίοδο της εφηβείας και αφορά κυρίως τον φλοιώδη οστίτη ιστό επηρεάζοντας το μέγεθος των οστών, το συνολικό οστικό απόθεμα σε άλατα (BMC) και το ανάστημα [102-105].

Στην παρούσα μελέτη, ενώ η μόρφωση των γονέων δεν φάνηκε να επηρεάζει τα επίπεδα των βιοχημικών δεικτών του οστικού μεταβολισμού, η οικογενειακή κατάσταση φάνηκε να σχετίζεται με τα επίπεδα του OPG. Αν και αυτό αποτελεί μια ένδειξη, ότι ο οστικός μεταβολισμός μπορεί να επηρεάζεται από κοινωνικο-οικονομικά χαρακτηριστικά που καθορίζουν το περιβάλλον μέσα στο οποίο λαμβάνει χώρα η ανάπτυξη του παιδιού, απαιτούνται και άλλες μελέτες προκειμένου να προσδιοριστούν και να ερμηνευτούν μελλοντικοί δείκτες που μπορούν να έχουν μια τέτοια επίδραση.

Η παρούσα μελέτη είναι μία συγχρονική μελέτη από την οποία δεν μπορούν να προκύψουν αιτιολογικές συσχετίσεις όμως επιτρέπει να διατυπωθούν κάποιες υποθέσεις. Προκειμένου να εξακριβωθούν αιτιολογικές σχέσεις χρειάζονται και άλλες μελέτες προοπτικές ή παρέμβασης. Παρόλο που το δείγμα δεν είναι μεγάλο (ανάλογο πληθυσμιακών μελετών), είναι επαρκές για την ανάδειξη στατιστικά σημαντικών σχέσεων.

Ένας από τους βασικούς περιορισμούς αυτής της μελέτης λόγω του αναδρομικού της χαρακτήρα, αφορά στην αξιοπιστία και στην εγκυρότητα των δεδομένων που συνελέχθησαν από τις μητέρες, μέσω της ανάκλησης, των διατροφικών πρακτικών κατά το πρώτο έτος της ζωής. Με βάση μια σχετική συστηματική ανασκόπηση από τους Ruowei Li *et al* [106], για την εγκυρότητα και την αξιοπιστία των ερωτηματολογίων ανάκλησης που χρησιμοποιούνται για να συλλέξουν πληροφορίες σχετικά με τα διατροφικά πρότυπα κατά την νεογνική και

βρεφική ηλικία από τις ίδιες τις μητέρες, προκύπτουν τα εξής: 1) η μητρική ανάκληση είναι ακριβής στην εκτίμηση της έναρξης και της διάρκειας του θηλασμού, ιδιαίτερα αν η ανάκληση γίνει μέσα σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα (≤ 3 χρόνια) 2) με μικρότερη ακρίβεια εκτιμώνται οι χρόνοι εισαγωγής στερεών τροφών και υγρών, άλλων πέρα από το μητρικό γάλα. Μάλιστα η εισαγωγή στερεών τροφών φαίνεται πως καταγράφεται ακριβέστερα από την εισαγωγή υποκατάστατων μητρικού γάλακτος (formula). Τα προβλήματα που μπορεί να προκύψουν είναι μια μη σωστή καταγραφή που αφορά περισσότερο στα μεγαλύτερα παιδιά που συμμετείχαν στην μελέτη, των οποίων η μητέρες είχαν μεγαλύτερη περίοδο ανάκλησης (> 3 χρόνια) γεγονός που ενδέχεται να επηρεάσει την ακρίβεια της εκτίμησης του αποκλειστικού θηλασμού.

Οι διαφορές που παρατηρούνται φαίνεται ότι αποδίδονται κυρίως σε κοινωνικές ή πολιτιστικές πεποιθήσεις των ατόμων καθώς και στο επίπεδο επικοινωνίας των συνεντευξιζόμενων με τους εξεταστές. Ιδιαίτερα οι διαφορές στην ακρίβεια καταγραφής μεταξύ του μητρικού θηλασμού (έναρξη και διάρκεια) και της εισαγωγής στερεών τροφών και υγρών, άλλων πέρα από το μητρικό γάλα, είναι πιθανό να οφείλονται στην σπουδαιότητα την οποία αποδίδουν οι ίδιες οι μητέρες σε κάθε γεγονός ξεχωριστά. Η έναρξη ή η διακοπή του μητρικού θηλασμού είναι ως γεγονός πιο διακριτό και εκλαμβάνεται από τις μητέρες ως σπουδαιότερο και άρα πιο εύκολα συγκρατείται.

Συμπερασματικά, από την παρούσα μελέτη φάνηκε ότι σημαντικά διατροφικά γεγονότα κατά την βρεφική ηλικία, όπως ο μητρικός θηλασμός είναι δυνατόν να συνοδεύονται από μακροχρόνιες επιδράσεις στον μεταβολισμό του οστίτη ιστού, έτσι όπως αντανακλάται από την δραστηριότητα βιοχημικών δεικτών του οστικού μεταβολισμού, αφήνοντας ανοιχτή τη δυνατότητα κατάλληλης τροποποίησής τους προς όφελος της ανάπτυξης υγιέστερων οστών.

Βιβλιογραφία

1. Prentice A, Schoenmakers I, Laskey MA, de Bono S, Ginty F, Goldberg GR, Nutrition and bone growth and development. Proc Nutr Soc. 2006 Nov. 65(4):348-60.
2. De Onis M, Blössner M, The World Health Organization Global Database on Child Growth a Malnutrition: methodology and applications Int J Epidemiol. 2003 Aug. 32(4):518-26.
3. P. Caradonna, D. Rigante, Bone health as a primary target in the pediatric age, European Review for Medical and Pharmacological Sciences 2009; 13: 117-128
4. Maria J. Henwood, DO Larry Binkovitz, MD, Update on Pediatric Bone Health, J Am Osteopath Assoc. 2009:109:5-12
5. Goulding A Optimizing Bone Mass and Strength. The Role of Physical Activity and Nutrition during Growth In:; Daly R Petit M (eds),Risk Factors for Fractures in Normally Active Children and Adolescents: Med Sport Sci. Basel, Karger, 2007, vol 51, pp 102-120 (DOI: 10.1159/000103007)
6. Teegarden D, Proulx WR, Martin BR, Zhao J, Mc Cabe GP, Lyle RM, et al, Peak bone mass in young women.;J Bone Miner Res. 1995 May;10(5):711-5.
7. Seeman E, Hopper JL,Bach LA, Cooper ME, Parkinson E, McKay J et al. Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. N Engl J Med. 1989 Mar 2;320(9):554-8.
8. Soroko SB, Barrett-Connor E, Edelstein SL, Kritz-Silverstein D. Family history of osteoporosis and bone mineral density at the axial skeleton: the Rancho Bernardo Study. J Bone Miner Res. 1994 Jun. 9(6):761-9.
9. Guéguen R, Jouanny P, Guillemin F, Kuntz C, Pourel J, Siest G. Segregation analysis and variance components analysis of bone mineral density in healthy families. J Bone Miner Res. 1995 Dec. 10(12):2017-22.
10. Nguyen TV, Livshits G, Center JR, Yakovenko K, Eisman JA, Genetic determination of bone mineral density: evidence for a major gene. J Clin Endocrinol Metab. 2003 Aug;88(8):3614-20

11. Pluskiewicz W, Adamczyk P, Drozdowska B, Szprynger K, Szczepanska M, Halaba Z, et al. Skeletal status in adolescents with end-stage renal failure: a longitudinal study. *Osteoporos Int.* 2005;16:289-295
12. Williams SE, Seidner DL. Metabolic bone disease in gastrointestinal illness. *Gastroenterol Clin North Am.* 2007; 36:161-190, viii.
13. Plotkin H, Sueiro R. Minerva, Osteoporosis in children with neuromuscular syndrome. 2007; 59:129-135.
14. Rigante D, Caradonna P. Secondary skeletal involvement in Sanfilippo , *QJM* 2004; 97:205-209.
15. Bishop N, Braillon P, Burnham J, Cimaz R, Davies J, Fewtrell M et al, Dual-energy X-ray absorptiometry assessment in children and adolescents with diseases that may affect the skeleton: the 2007 ISCD Pediatric Official Positions. *J Clin Densitom* 2008; 11: 29-42.
16. Gurevitch O, Slavinv S. The hematological etiology of osteoporosis. *Med Hypotheses* 2006; 67: 729-735.
17. Hamadani M, Chaudhry AI. McCune-Albright syndrome. *Med J Aust* 2006; 185: 597.
18. Canalis E., Mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis [review]. *Curr Opin Rheumatol.* 2003;15: 454-457.
19. Rehman Q, Lane NE. Effect of glucocorticoids on bone density [review]. *Med Pediatr Oncol.* 2003; 41:212-216.
20. Pinzone JJ, Hall BM, Thudi NK, Vonau M, Qiang YW, Rosol TJ, Shaughnessy JD Jr . The role of Dickkopf-1 in bone development, homeostasis, and disease. *Blood* 2009 Jan 15; 113(3):517-25. Epub 2008 Aug 7.
21. Fitzpatrick LA. Pathophysiology of bone loss in patients receiving anticonvulsant therapy. *Epilepsy Behav.* 2004;5(suppl 2):S3-S15.
22. Pack AM, Gidal B, Vazquez B. Cleve, Bone disease associated with antiepileptic drugs [review]. *Clin J Med.* 2004;71(suppl 2):S42-S48.
23. Goodman Sb, Jiranek W, Petrow E, Yasko AW., The effects of medications on bone. *J Am Acad Orthop Surg* 2007 15: 450-460.
24. D' Arcangues C. WHO statement on hormonal contraception and bone health. *Contraception.* 2006 May; 73(5):443-4. Epub 2006 Mar 6.

25. Barker DJ, The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ*. 1990 Nov 17; 301(6761):1111.
26. Cooper C, Fall C, Egger P, Hobbs R, Eastell R, Barker D. Growth in infancy and bone mass in later life. *Rheum Dis*. 1997 Jan; 56(1):17-21.
27. Cooper C, Cawley M, Bhalla A, Egger P, Ring F, Morton L et al, Childhood growth, physical activity, and peak bone mass in women. *J Bone Miner Res*. 1995 Jun;10(6):940-7.
28. Saito T, Nakamura K, Okuda Y, Nashimoto M, Yamamoto N, Yamamoto M. Weight gain in childhood and bone mass in female college students. *J Bone Miner Metab*. 2005; 23(1):69-75.
29. Barker DJ, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS, Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet*. 1993 Apr 10; 341(8850):938-41.
30. Barker DJP, Mothers, Babies, and Disease in later life. In: *Programming the baby*. London: BMJ Publishing Group; 1994 pp 14-36.
31. Dennison EM, Arden NK, Keen RW, Syddall H, Day IN, Spector TD, Cooper C. Birthweight, vitamin D receptor genotype and the programming of osteoporosis. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2001 Jul; 15(3):211-9.
32. Mehta G, Roach HI, Langley-Evans S, Taylor P, Reading I, Oreffo RO et al. Intrauterine exposure to a maternal low protein diet reduces adult bone mass and alters growth plate morphology in rats. *Calcif Tissue Int*. 2002 Dec;71(6):493-8. Epub 2002 Sep 4.
33. Lucas A., Programming by early nutrition: an experimental approach. *J Nutr* 1998; 128: 401S-406S.
34. Jones G, Riley M, Dwyer T. Breastfeeding in early life and bone mass in prepubertal children: a longitudinal study. *Osteoporos Int*. 2000; 11(2):146-52.
35. Harvey NC, Robinson SM, Crozier SR, Marriott LD, Gale CR, Cole ZA et al, Breast-feeding and adherence to infant feeding guidelines do not influence bone mass at age 4 years. *Br J Nutr*. 2009 Apr 2:1-6.

36. Michael R. Haines and Hallie J. Kintner, "Can Breast Feeding Help You in Later Life? Evidence from German Military Heights in the Early 20th Century"*, *Econ Hum Biol.* 2008 December; 6(3): 420–430.
37. Specker, B. L., Tsang, R. C. & Hollis, B. W. Effect of race and diet on human milk vitamin D and 25-hydroxyvitamin D., (1985), *Amer. J. Dis. Child.* 139: 1134–1137.
38. Specker B., Nutrition influences bone development from infancy through toddler years. *J Nutr.* 2004 Mar;134(3):691S-695S.
39. Chan, G. M., Leeper, L. & Book, L. S (1987) Effects of soy formulas on mineral metabolism in term infants. *Amer. J. Dis. Child.* 141: 527-530.
40. Laura S. Hillman, Bone mineral content in term infants fed human milk, cow milk-based formula, or soy-based formula, *J. Pediatr.* 1998 Jul., 113 (1P+2): 208-12.
41. Bainbridge, R. R., Mimouni, F. B., Landi, T., Crossman, M., Harris, L. & Tsang, R. C. Effect of rice cereal feedings on bone mineralization and calcium homeostasis in cow milk formula fed infants. 26 (1996), *Am. Coll. Nutr.* 15:383–388.
42. Mehta, K. C., Specker, B. L., Bartholmey, S., Giddens, J. & Ho, M. L. Trial on timing of introduction to solids and food type on infant growth. . *Pediatrics.* 1998 Sep;102(3 Pt 1):569-73.
43. Lee, W. T., Leung, S. S., Lui, S. S. & Lau, J. Relationship between long-term calcium intake and bone mineral content of children from birth to 5 years. (1993), *Br. J. Nutr.* 70: 235–248.
44. Specker, B. & Binkley, T. Randomized trial of physical activity and calcium supplementation on bone mineral content in 3–5 year old children. (2003), *J. Bone Miner. Res.* 18: 885–892.
45. F. Rauch, The Growing Skeleton is a Busy Place—Can Biochemical Bone Markers Keep Track of the Action? *The Journal of Pediatrics* 2008 Oct, Volume 153, Issue 4, Pages 454-455.
46. Ozkaya O, Buyan N, Bideci A, Gonen S, Ortac E, Fidan K et al, Osteoprotegerin and RANKL Serum Levels and Their Relationship with

- Serum Ghrelin in Children with Chronic Renal Failure and on Dialysis. *Nephron Clin Pract* 2007;105:c153-c158.
47. Michael P. Whyte and Steven Mumm, Heritable disorders of the RANKL/OPG/RANK signaling pathway, *J Musculoskel Neuron Interact* 2004; 4(3):254-267.
 48. Stuart H Ralston. *Medicine*, Volume 33, Issue 12, 1 December 2005, Pages 58-60.
 49. Joseph F, Chan BY, Durham BH, Ahmad AM, Vinjamuri S, Gallagher JA et al, The Circadian Rhythm of Osteoprotegerin and Its Association with Parathyroid Hormone Secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Aug;92(8):3230-8.
 50. El-Hajj Fuleihan G, Klerman EB, Brown EN, Choe Y, Brown EM, Czeisler CA, The parathyroid hormone circadian rhythm is truly endogenous: a general clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 82:281–286.
 51. Jubiz W, Canterbury J, Reiss E, Tyler F, Circadian rhythm in serum parathyroid hormone concentration in human subjects: correlation with serum calcium, phosphate, albumin and growth hormone levels. *J Clin Invest* 1972 51:2040–2046.
 52. Kripke D, Lavie P, Parker D, Huey L, Deftos L, Plasma parathyroid hormone and calcium are related to sleep cycles. *J Clin Endocrinol Metab* 1978 47:1021–1027.
 53. Reiss E, Canterbury J, Bercovitz M, Kaplan E, The role of phosphate in the secretion of parathyroid hormone in man. *J Clin Invest* 1970 49:2146–2149.
 54. Calvo M, Kuman R, Heath H, Persistently elevated parathyroid hormone secretion and action in young women after 4 weeks of ingesting high phosphorus, low calcium diets. *Clin Endocrinol Metab* 1990 70:1334–1340.
 55. Buckley KA, Fraser WD, Receptor activator for nuclear factor κ B ligand and osteoprotegerin: regulators of bone physiology and immune responses/ potential therapeutic agents and biochemical markers. *Ann Clin Biochem* 2002 39:551–556.
 56. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N et al, Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin

- (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998 139:1329–1337.
57. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R et al, Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997 89:309–319.
 58. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T et al, Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998 93:165–176.
 59. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S et al, Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 95:3597–3602.
 60. Szulc P, Seeman E, Delmas PD. Biochemical measurements of bone turnover in children and adolescents. *Osteoporos Int*, 2000; 11: 281-94.
 61. De Ridder CM, Delemarre-van de Waal HA. Clinical utility of markers of bone turnover in children and adolescents. *Current Opinion in Pediatrics*, 1998; 10: 441-8.
 62. Rauch F, Georg M, Stabrey A, Neu C, Blum WF, Remer T et al, Collagen markers deoxypyridinoline and hydroxylysine glycosides: Pediatric reference data and use for growth prediction in growth hormone-deficient children. *Clin Chem*, 2002; 48: 315-22.
 63. Arikoski P, Komulainen J, Riikonen P, Voutilainen R, Knip M, Kroger H., Alterations in bone turnover and impaired development of bone mineral density in newly diagnosed children with cancer: a 1-year prospective study. *Clin Endocrinol Metab*, 1999; 84: 3174-81.
 64. Seibel MJ, Biochemical markers of bone remodeling. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003;32:83-113.
 65. Shönau E, Rauch F. Biochemical markers of bone metabolism. In: Glorieux FH, Pettifor JM, Jüppner H, eds. *Pediatric Bone. Biology and disease*. San Diego: Academic Press, 2003:339-57.
 66. Rogers A, Saleh G, Hannon RA, Greenfield D, Eastell R. Circulating estradiol and osteoprotegerin as determinants of bone turnover and bone

- density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002; 87: 4470-5.
67. Khosla S, Arrighi HM, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Dunstan C et al. Correlates of osteoprotegerin levels in women and men. *Osteoporos Int*, 2002; 13: 394-9.
 68. Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G., Serum osteoprotegerin and its relationship with bone mineral density and markers of bone turnover. *Osteoporos Int*, 2005; 16: 417-23.
 69. Valleala H, Mandelin J, Laasonen L, Koivula MK, Risteli J, Konttinen YT, Effect of cyclical intermittent etidronate therapy on circulating osteoprotegerin levels in patients with rheumatoid arthritis. *Eur J Endocrinol* 2003 148:527–530.
 70. Yano K, Tsuda E, Washida N, Kobayashi F, Goto M, Harada A et al, Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1999 14: 518–527.
 71. Oh KW, Rhee EJ, Lee WY, Kim SW, Oh ES, Baek KH et al, The relationship between circulating osteoprotegerin levels and bone mineral metabolism in healthy women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004 61:244–249.
 72. Browner WS, Lui LY, Cummings SR, Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86:631–637.
 73. Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL, Role of Rank ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest* 2003 111:1221–1230.
 74. Han KO, Choi JT, Choi HA, Moon IG, Yim CH, Park WK et al, The changes in circulating osteoprotegerin after hormone therapy in postmenopausal women and their relationship with oestrogen responsiveness on bone. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005 62:349–353.
 75. Liu JM, Zhao HY, Ning G, Zhao YJ, Chen Y, Zhang Zh et al, Relationships between the changes of serum levels of OPG and RANKL with age,

- menopause, bone biochemical markers and bone mineral density in Chinese women aged 20–75. *Calcif Tissue Int* 2005 76:1–6.
76. Grigorie D, Neacsu E, Marinescu M, Popa O, Circulating osteoprotegerin and leptin levels in postmenopausal women with and without osteoporosis. *Rom J Intern Med* 2003 41:409–415.
 77. Oh KW, Rhee EJ, Lee WY, Kim SW, Baek KH, Kang MI et al, Circulating osteoprotegerin and receptor activator of NF- κ B ligand system are associated with bone metabolism in middle-aged males. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005 62:92–98.
 78. Browner WS, Lui LY, Cummings SR. Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86: 631-7.
 79. Kudlacek S, Schneider W, Wolszczuk W, Pietschmann P, Willvonseder R. Serum levels of osteoprotegerin increase with age in a healthy adult population. *Bone*, 2003; 32: 681-6.
 80. Gajewska J, Ambroszkiewicz J, Laskowska-Klita T., Osteoprotegerin and C-telopeptide of type I collagen in Polish healthy children and adolescents. *Adv Med Sci*. 2006;51:269-72.
 81. Buzi F, Maccarinelli G, Guaragni B, Ruggeri F, Radetti G, Meini A et al, Serum osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factors κ B (RANKL) concentrations in normal children and in children with puberty precocity, Turners syndrome and rheumatoid arthritis. *Clin Endocrinol*, 2004; 60: 87-91
 82. Chun JS, Oh H, Yang S, Park M, Wnt signaling in cartilage development and degeneration. *BMB Rep*. 2008 Jul 31;41(7):485-94.
 83. Li J, Sarosi I, Cattley RC, Pretorius J, Asuncion F, Grisanti M et al, Dkk1-mediated inhibition of Wnt signaling in bone results in osteopenia. *Bone*. 2006 Oct; 39(4):754-66. Epub 2006 May 26.
 84. Tim J Cole, Mary C Bellizzi, Katherine M Flegal, William H Dietz, Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide. international survey. *BMJ* 2000 May 6, 6;320 (7244): 1240-3.
 85. Tim J Cole, Katherine M Flegal, , Dasha Nicholls, Research :Body mass index cut offs to define thinness in children and adolescents: international survey, Alan A Jackson, *BMJ* 2007;335:194 (28 July),

86. Fewtrell MS, Williams JE, Singhal A, Murgatroyd PR, Fuller N, Lucas A., Early diet and peak bone mass: 20 year follow-up of a randomized trial of early diet in infants born preterm. *Bone*. 2009 Jul; 45(1):142-9. Epub 2009 Mar 21.
87. Martin RM, Smith GD, Mangtani P, et al., Associations between breast feeding and growth: the Boyd-Orr cohort study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002;87: F193–201.
88. Wu TC, Chen PH., Health consequences of nutrition in childhood and early infancy. *Pediatr Neonatol*. 2009 Aug; 50(4):135-42.
89. Boyden LM, Mao JH, Belsky J, Mitzner L, Farhi A, Mitnick MA, et al., High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5., *N Engl J Med* 2002;346:1513–21.
90. Huth PJ, Di Rienzo DB, Miller GD., Major scientific advances with dairy foods in nutrition and health., *J Dairy Sci*. 2006 Apr;89(4):1207-21.
91. Gerstein HC. Cow's milk exposure and type I diabetes mellitus. A critical overview of the clinical literature. *Diabetes Care* 1994;17:13–9.
92. Savilahti E, Akerblom HK, Tainio V-M, Koskimies S. Children with newly diagnosed insulin dependent diabetes mellitus have increased levels of cow's milk antibodies. *Diabetes Res* 1988;7:137–40.
93. Saukkonen T, Savilahti E, Vaarala O, et al. Children with newly diagnosed IDDM have increased levels of antibodies to bovine serum albumin but not to ovalbumin. *Diabetes Care* 1994;17:970–6.
94. Greer FR, Sicherer SH, Burks AW; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition; American Academy of Pediatrics Section on Allergy and Immunology., *Pediatrics*. 2008 Jan;121(1):183-91.
95. Agostoni C, Braegger C, Decsi T, Kolacek S, Koletzko B, Michaelsen KF et al, Breast-feeding: A commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. ESPGHAN Committee on Nutrition, *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009 Jul;49(1):112-25.
96. Morgan JB, Lucas A, Fewtrell MS., Does weaning influence growth and health up to 18 months? *Arch Dis Child* 2003;89:728–33.

97. Paternoster L, Ohlsson C, Sayers A, Vandenput L, Lorentzon M, Evans DM et al, Parents and Children and Gothenburg Osteoporosis and Obesity Determinants Cohorts., OPG and RANK Polymorphisms Are Both Associated with Cortical Bone Mineral Density: Findings from a Metaanalysis of the Avon Longitudinal Study of J Clin Endocrinol Metab. 2010 Jun 9.
98. Kerschán-Schindl K, Wendlova J, Kudlacek S, Gleiss A, Woloszczuk W, Pietschmann P., Serum levels of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) in healthy women and men, Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2008 Aug; 116(8):491-5. Epub 2007 Dec 10.
99. Anna Stern, MD, Gail A Laughlin, PhD, Jaclyn Bergstrom, MS, and Elizabeth .Barrett-Connor, MD The Sex-Specific Association of Serum OPG and RANKL with Bone Mineral Density in Older Adults: The Rancho Bernardo Study, Eur J Endocrinol. 2007 May; 156(5): 555–562.
100. Varvarigou AA, Asimakopoulou A, Beratis NG, Neonatology, Impact of Maternal Smoking on Birth Size: Effect of Parity and Sex Dimorphism, Neonatology 2009;95(1):61-7. Epub 2008 Sep 12.
101. Jones IE, Williams SM, Goulding A., Associations of birth weight and length, childhood size, and smoking with bone .fractures during growth: evidence from a birth cohort study, Am J Epidemiol. 2004 Feb 15;159(4):343-50.
102. Norris SA, Sheppard ZA, Griffiths PL, Cameron N, Pettifor JM., Current socio-economic measures, and not those measured during infancy, affect bone mass in poor urban South african children, J Bone Miner Res. 2008 Sep;23(9):1409-16.
103. Clark EM, Ness A, Tobias JH, Social position affects bone mass in childhood through opposing actions on height and weight. J Bone Miner Res 2005 20:2082–2089.
104. Arabi A, Nabulsi M, Maalouf J, Choucair M, Khalife H, ViethR et al, Bone mineral density by age gender, pubertal stages and socioeconomic status in healthy Lebanese children and adolescents. Bone 2004 35:1169–1179.
105. Marwaha RK, Tandon N, Reddy DH, Mani K, Puri S, Aggarwal N et al, Peripheral bone mineral density and its predictors in healthy school girls

from .two different socioeconomic groups in Delhi, Osteoporos Int 2007 18:375–383.

- 106.** Ruowei Li MD, PhD, Kelley S. Scanlon PhD, RD, Mary K. Serdula MD, MPH, The Validity and Reliability of Maternal Recall of Breastfeeding Practice, Nutrition Reviews 2005 Volume 63 Issue 4, Pages 103 – 110.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Ερωτηματολόγιο Υγείας και Συνηθειών Θηλασμού

Ιατρο-δημογραφικές ερωτήσεις που αφορούν τη μητέρα:

1. Ύψος (εκ)

2. Βάρος (κιλά)

3. Ηλικία (χρόνια)

4. Εκπαίδευση: Δημοτικό ☐

Γυμνάσιο ☐

Λύκειο ☐

ΑΕΙ/ΤΕΙ ☐

5. Εθνικότητα:

6. Ιστορικό οστεοπόρωσης/οστεοπενίας στην οικογένεια Ναι ☐

Όχι ☐

7. Παίρνατε αντισυλληπτικά χρόνια πριν την γέννηση: Ναι ☐

Όχι ☐

8. Κάπνισμα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης -- Ποιό από τα παρακάτω ισχύει για εσάς:

α. Δεν κάπνιζα ποτέ ☐

β. Κάπνιζα μέχρι που έμαθα ότι είμαι έγκυος ☐

γ. Κάπνιζα λίγο κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης (μείωση) ☐

δ. Κάπνιζα κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης όπως και πριν ☐

9. Πόσα παιδιά έχετε;

10. Πόσα από τα παιδιά σας έχετε θηλάσει;

Ιατρο-δημογραφικές ερωτήσεις που αφορούν τον πατέρα

11. Ύψος (εκ)

12. Βάρος (κιλά)

13. Ηλικία (χρόνια)

14. Εκπαίδευση: Δημοτικό ☐

Γυμνάσιο ☐

Λύκειο ☐

ΑΕΙ/ΤΕΙ ☐

15. Εθνικότητα:

16. Ιστορικό οστεοπόρωσης/οστεοπενίας στην οικογένεια

Ναι ☐

Όχι ☐

Δημογραφικές ερωτήσεις που αφορούν την οικογένεια

17. Οικογενειακή κατάσταση

Πυρηνική οικογένεια (μητέρα/πατέρας/παιδιά) ☐

Πυρηνική οικογένεια από 2^ο γάμο ☐

Άγαμη/ος μητέρα/πατέρας ☐

Διαζευγμένη/ος μητέρα/πατέρας ☐

Χήρα/ος μητέρα / πατέρας ☐

Ερωτήσεις που αφορούν το παιδί

18. Αγόρι ☐ Κορίτσι ☐

19. Ύψος (εκ)

20. Βάρος (κιλά)

21. Ηλικία (χρόνια)

22. Βάρος γέννησης: γρ.

23. Ύψος γέννησης: εκ.

24. Διάρκεια κύησης: εβδ.

25. Είδος γέννησης:

Φυσιολογικός ☐

Με καισαρική ☐

26. Λήψη φαρμάκων κατά τη διάρκεια της ζωής του παιδιού (καταγράψτε το χρονικό διάστημα λήψης τους).

2 0-6 μήνες 6-12 μήνες 1-3 ετών 3-6 ετών

Αντιφλεγμονώδη – αντιπυρετικά (π.χ.
Ε depen)

Ρ Αντιβιοτικά (π.χ. augmentin, amoxil)
ω

τ Αντιϊσταμινικά (π.χ. claritin)

ή Εισπνεόμενα
σ

ε Άλλα

ι

ς

σχετικά με το θηλασμό και τον απογαλακτισμό του παιδιού

27. Θηλάσατε το (συγκεκριμένο) παιδί; Ναι ☐ Όχι ☐

28. Διάρκεια θηλασμού: μήνες

29. Διάρκεια αποκλειστικού θηλασμού: μήνες (μόνο μητρικό γάλα).

30. Αιτία διακοπής του θηλασμού:

α. Αδυναμία θηλασμού ☐

β. Ανεπάρκεια γάλακτος ☐

γ. Ασθένεια/λήψη φαρμάκων ☐

δ. Επάνοδος στην εργασία ☐

ε. Άλλο ☐

31. Ποιον μήνα δώσατε στο (συγκεκριμένο) παιδί κάτι άλλο εκτός από γάλα;
..... μήνας

32. Καταγράψτε πότε περίπου δώσατε στο (συγκεκριμένο) παιδί σας για πρώτη φορά τα παρακάτω:

Είδος τροφής

Χρόνος

Νερό	
Τροποποιημένο γάλα («ξένο» γάλα)	
Αφεψήματα (Χαμομήλι)	
Αγελαδινό γάλα	
Πατάτα, καρότο, κολοκύθι	
Κρέας μοσχαρίσιο	
Ψάρι	
Μήλο, αχλάδι, μπανάνα, πορτοκάλι	
Ζυμαρικά	
Ρυζάλευρο / κρέμα ρυζάλευρου	
Φαρίν λακτέ / κρέμα	
Αυγό	