



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΚΤΙΝΟΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗΣ &  
ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ**

**Διευθύντρια: Καθηγήτρια Μαριάννα Βλυχού**

**Διδακτορική Διατριβή**

**«Διερεύνηση της οστικής πυκνότητας, της σύστασης μάζας σώματος και των δεικτών του οστικού μεταβολισμού σε ελληνικό πληθυσμό με ομόζυγη μεσογειακή αναιμία»**

**Υπό**

**Ευαγγέλου Γ. Αλεξίου**

Ιατρού Ακτινολόγου

Διευθυντή Ε.Σ.Υ.

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των  
απαιτήσεων για την απόκτηση του  
Διδακτορικού Διπλώματος  
Λάρισα, 2021

© 2021 Ευάγγελος Γ. Αλεξίου

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

**Εγκρίθηκε από τα Μέλη της Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής**

- 1<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Βλυχού Μαριάννα**, Καθηγήτρια Ακτινοδιαγνωστικής  
Τμ. Ιατρικής Π.Θ. (**Επιβλέπουσα**)
- 2<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Φεζουλίδης Ιωάννης**, Ομότιμος Καθηγητής  
Ακτινολογίας Τμ. Ιατρικής Π.Θ.
- 3<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Βάσιου Αικατερίνη**, Καθηγήτρια Ανατομίας Τμ.  
Ιατρικής Π.Θ.
- 4<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Ρούντας Χρήστος**, Αν. Καθηγητής Ακτινολογίας &  
Επεμβατικής Ακτινολογίας, Τμ. Ιατρικής Π.Θ.
- 5<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Γεωργούλιας Παναγιώτης**, Καθηγητής Πυρηνικής  
Ιατρικής, Τμ. Ιατρικής Π.Θ.
- 6<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Γιαννακούλας Νικόλαος**, Καθηγητής Παθολογίας -  
Αιματολογίας, Τμήμα Ιατρικής Π.Θ.
- 7<sup>ος</sup> Εξεταστής**      **Κώτση Παρασκευή**, Επίκουρος Καθηγήτρια Ιατρικής  
των Μεταγγίσεων, Τμήμα Ιατρικής Π.Θ.

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θέλω να εκφράσω θερμές ευχαριστίες και την ευγνωμοσύνη μου,

στην σύζυγο μου **Φιλιώ** και τις λατρεμένες μου κόρες **Δέσποινα** και **Κωνσταντίνα-Ειρήνη** για την συνεχή υποστήριξη τους σε όλη μου την πορεία

στην κα **Μαριάννα Βλυχού**, Καθηγήτρια Ακτινολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την ενθάρρυνση καθ' όλη της διάρκεια της διατριβής αλλά και για την συμβολή της στην επιμέλεια των κειμένων και την ολοκλήρωση της συγγραφής

στον κ. **Ιωάννη Φεζουλίδη**, Ομότιμο Καθηγητή Ακτινολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την καθοδήγηση του

στην κα **Αικατερίνη Βάσιου**, Καθηγήτρια Ανατομίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την συμβολή της ως μέλος της τριμελούς επιτροπής

στον κ. **Παναγιώτη Γεωργούλια**, Καθηγητή Πυρηνικής Ιατρικής της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου του Θεσσαλίας, για την καθοριστική συμβολή στην διενέργεια μετρήσεων των αιματολογικών δεικτών και των παραμέτρων οστικού μεταβολισμού

στον κ. **Μιχάλη Διαμαντίδη**, Αιματολόγο Επιμελητή Α΄ της Μονάδας Θαλασσαιμίας & Δρεπανοκυτταρικής νόσου του ΓΝ Λάρισας, για την άριστη επιστημονική συνεργασία

στον κ. **Αχιλλέα Μανάφα**, Τεχνολόγο Ιατρικών Εργαστηρίων του ΓΝ Λάρισας, για την πολύτιμη βοήθεια στην συλλογή των δειγμάτων

στην κα **Ρένα Ναβροζίδου**, Τεχνολόγο Ακτινολόγο του ΠΙΠΓΝ Λάρισας, για την βοήθεια στην εκτέλεση των μετρήσεων οστικής πυκνομετρίας.

Ευάγγελος Γ. Αλεξίου

## **ΣΥΝΤΟΜΟ ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

**Ευάγγελος Γ. Αλεξίου**

(Ημ. Γεν. 04 Ιουνίου 1975)

### **Επαγγελματική Σταδιοδρομία**

- 22.10.2021 – Σήμερα: Διευθυντής Ακτινολογικού Τμήματος, ΓΝ Λάρισας
- 12.03.2007 – 22.10.2021: Μονάδα Αξονικής και Μαγνητικής Τομογραφίας, Ακτινολογικό Τμήμα ΓΝ Λάρισας σε θέσεις Επιμελητού Β΄, Επιμελητού Α΄ και Διευθυντού ΕΣΥ.
- 12.03.2001 – 10.06.2006: Ειδικότητα Ακτινολογίας στο ΓΝ Λάρισας και ΠΓΝ Λάρισας
- 10.1993 – 07/2000: Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

### **Υποξείδικεύσεις**

- 04.04.2019 – 12.04.2019: Fellowship in Prostate MRI Cancer Staging TMC Clinic Academy Barcelona – Spain
- 2017 – valid until 2021: Level II Certificate of Excellence in Abdominal Radiology, European Society of Abdominal and Gastrointestinal Radiology (ESGAR)
- 01.02.2016 – 30.04.2016: Fellowship in Musculoskeletal Radiology Bradford Teaching Hospitals, NHS Foundation Trust Bradford – United Kingdom

### **Συνεχιζόμενη Ιατρική Εκπαίδευση**

Μετεκπαιδευτικά Courses:	31
Ανακοινώσεις σε Ελληνικά και Διεθνή συνέδρια:	9
Posters σε Ελληνικά και Διεθνή συνέδρια:	9
Προσκεκλημένες διαλέξεις σε συνέδρια	35
Παρακολούθηση συνεδρίων:	92 Ελληνικά - 23 Διεθνή

## **12 Δημοσιεύσεις σε Ιατρικά Περιοδικά**

12. Case Report & Review of the Literature: “Anorectal Avulsion: Reporting a Rare Case of Rectal Trauma and Review of the Literature” Konstantinos Bouliaris, Evangelos Alexiou , Konstantinos Malizos , Panagiotis Papamichalis , Dimitrios Papadopoulos , Ioannis Staikos , Antonios Koutalos, Paraskevi Hatzikomnitsa, Anna Ziogkou and Matthaïos Efthimiou Surgical Case Reports, 2019, doi: 10.31487/j.SCR.2019.06.14

11. Article: “Neurological Manifestations Due to Extramedullary Haematopoiesis in Greek Patients with Thalassemia Intermedia: Not Such a Rare Clinical Finding” Michael D. Diamantidis, Alexandra Kourakli, Efthymia Vlachaki, Despoina Pantelidou, Evgenia Verigou, Evangelos Alexiou, Fotios Girtovitis, Paraskevi Fotiou, Elissavet Grouzi and Argiris Symeonidis.  
Blood 2018, 132: 2349; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-119376>

10. Original Article: “Metastasectomy of pancreatic and periampullary adenocarcinoma to solid organ: The current evidence” Mahmud Saedon, Ioannis Maroulis, Adam Brooks, Evangelos Alexiou, Konstantinos Bouliaris, Theofilos Amanatidis, Stylianos Germanos JBUON 2018; 23(6): 1648-1654, ISSN: 1107-0625, online ISSN: 2241-6293

09. “Vertebral erosion: a rare complication of tracheostomy tube” Konstantinos Bouliaris, Evangelos Alexiou, Spyridon Karagiannis, Tilemachos Zafeiridis Intensive Care Medicine, September 2016, PMID: 27686359

08. Research Article: “Body composition in adult patients with Thalassaemia major” Marianna Vlychou, Evangelos Alexiou, Paschalis Thriskos, Ioannis Fezoulidis, Katerina Vassiou International Journal of Endocrinology, August 2016, Volume 2016, Article ID 6218437

07. Original article: “Laparoscopic nephrectomy: primary results of two-year experience in our center” Konstantinos Skriapas, Zacharias Chousianitis, Konstantinos Galanoulis, Eleftherios Tsiakoulis, Dimitrios Danieliants, Evangelos Alexiou.

Hellenic Urology 2016, 28 (3): 40-44

06. Clinical Challenge: “Woman with Abdominal pain and anaemia” Vasileios Mitrousias, Evangelos Alexiou, Anargyros Giaglaras JAMA Surgery, July 2016, Vol. 151, No 7. PMID: 27145429

05. Image of issue: “The helix sign in the peritoneal encapsulation syndrome: A new sign in a rare cause of bowel obstruction?” Vasileios Mitrousias, Evangelos Alexiou, Apostolos Katsanas, Konstantinos Batzalexis, Stylianos Germanos Journal of Gastrointestinal and liver disease, June 2015, Vol. 24, No 2: 144 PMID: 26114169

04. Correspondence: “Multifocal septic osteomyelitis mimicking skeletal metastatic disease in a patient with prostate cancer” Evangelos Alexiou MD, Panagiotis Georgoulis MD, PhD, Varvara Valotassiou MD, Evangelia Georgiou MD, Ioannis Fezoulidis MD, PhD, Marianna Vlychou MD, PhD Hellenic Journal of Nuclear Medicine, January – April 2015 (Peer Reviewed) PMID: 25679079

03. “Methodologies and Tools used today for measuring iron load” Evangelos Alexiou Thalassemia Reports 2014; 4:4861 doi: 10.4081/thal. 2014.4861 (Conference long text)

02. Correspondence: “Renal artery embolism: a rare cause of acute abdominal or flank pain and the significance of early diagnosis” Z. Kratiras, V. Papaioannou, D. Kalogiannis, E. Alexiou, K. Skriapas Minerva Urologica E Nefrologica 2014; 66:0-0 (Peer Reviewed) PMID: 25531197

01. Case report: “Ileosigmoid fistula and delayed ileal obstruction secondary to blunt abdominal trauma: a case report” Bouliaris K, Karangelis D, Spanos

K, Germanos S, Alexiou E, Giaglaras A. Journal of Medical Case Reports, October 5 2011; 5:507, PMID 21974825 (Peer Reviewed)

**Ξένες Γλώσσες:**

Αγγλικά Επίπεδο Proficiency



**«Διερεύνηση της οστικής πυκνότητας, της σύστασης μάζας σώματος και των δεικτών του οστικού μεταβολισμού σε ελληνικό πληθυσμό με ομόζυγη μεσογειακή αναιμία»**

**ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ Γ. ΑΛΕΞΙΟΥ**

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2021

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

1. **Βλυχού Μαριάννα**, Καθηγήτρια Ακτινοδιαγνωστικής Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (**Επιβλέπουσα**)
2. **Φεξουλίδης Ιωάννης**, Ομότιμος Καθηγητής Ακτινολογίας Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
3. **Βάσιου Αικατερίνη**, Καθηγήτρια Ανατομίας Τμήμα Ιατρικής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

## Περίληψη

Οι ασθενείς με θαλασσαιμία εμφανίζουν μια πολυπαραγοντική διαταραχή των οστών με προεξάρχουσα αιτία την υπερπλασία του ερυθρού μυελού που καταλαμβάνει τις μυελικές κοιλότητες και προκαλεί διαταραχή της οστικής μικροαρχιτεκτονικής και εκλεπτισμό της φλοιώδους μοίρας. Ιστολογικά, αυτοί οι ασθενείς παρουσιάζουν ένα φάσμα από την οστεοπενία στην οστεοπόρωση και είναι επιρρεπείς σε κατάγματα (92), (93). Η αξιολόγηση της οστικής πυκνότητας (BMD) σε ασθενείς με θαλασσαιμία αποκτά μεγαλύτερη σημασία, καθώς οι ασθενείς έχουν μακρότερο προσδόκιμο επιβίωσης.

Η μέθοδος DXA και η ποσοτική υπολογιστική τομογραφία (QCT) είναι αποδεκτές μέθοδοι για την αξιολόγηση της BMD. Η DXA είναι πιο δημοφιλής και αναφέρεται ως η προτιμώμενη μέθοδος. Λόγω της χαμηλότερης έκθεσης σε ακτινοβολία, της ευκολίας πρόσβασης και της ταχύτητας απόδοσης, αποτελεί τη μέθοδο εκλογής “gold standard” για τη μέτρηση της πυκνότητας των οστών, ειδικά στα παιδιά. Ωστόσο, οι μετρήσεις της DXA είναι διδιάστατες και δεν παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την αρχιτεκτονική των οστών, ενώ η QCT περιγράφει την BMD ανά μονάδα όγκου του οστού, εκτιμά και τις τρεις διαστάσεις των οστών και παρέχει την δυνατότητα διάκρισης μεταξύ του φλοιώδους και του σπογγώδους μοίρας του οστού. Η QCT επιτρέπει μια σαφή διάκριση μεταξύ των επιδράσεων στο μέγεθος των οστών και στην πυκνότητά του. Η DXA αδυνατεί να απεικονίσει μεταβολές σε τρισδιάστατο επίπεδο, γεγονός που οδηγεί σε υποεκτίμηση της BMD σε οστά μικρότερου μεγέθους.

Η μέθοδος QCT γίνεται αποδεκτή ως αξιόπιστη, ακριβής και απλή μέθοδος αξιολόγησης της οστεοπόρωσης. Αν και σε πολλά κέντρα η QCT εξακολουθεί να είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική, ειδικά για τις μετεμμηνοπαυσιακές ασθενείς με οστεοπόρωση, οι γνώσεις σχετικά με την ακρίβεια των μεθόδων μέτρησης της οστικής μάζας σε διαφορετικές κλινικές καταστάσεις είναι πολύ περιορισμένες. Το πιο συχνά αναφερόμενο κλινικό γεγονός είναι η λιπώδης μεταστροφή του μυελού των οστών, που οδηγεί σε υποεκτίμηση της ποσότητας της οστικής μάζας σε ηλικιωμένους ασθενείς. Ο προσδιορισμός της BMD σε ασθενείς με θαλασσαιμία εξαρτάται από την τεχνική που χρησιμοποιείται. Υπάρχει διχογνωμία στη βιβλιογραφία σχετικά με την αξία της DXA ή της QCT σε αυτόν τον πληθυσμό ασθενών. Χρησιμοποιώντας τον αριθμό των δοκίδων ως δείκτη της οστεοπόρωσης, φαίνεται ότι η QCT θα μπορούσε να αξιολογήσει την οστική νόσο καλύτερα από την DXA, με δεδομένο ότι η μέθοδος

έχει τη δυνατότητα να μετρά χωριστά την πυκνότητα στο σπογγώδες και το φλοιώδες οστό. Ωστόσο, η υπερπλασία του ερυθρού μυελού από την μια και η εναπόθεση σιδήρου στον μυελό των οστών περιπλέκει την εικόνα και συχνά η BMD υπερεκτιμάται.

Τα ευρήματα αυτά όμως υποδηλώνουν ότι οι δύο μέθοδοι δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά στην αξιολόγηση της BMD σε ασθενείς με θαλασσαιμία. Το ποια από τις δύο αυτές τεχνικές προσδιορίζει με ακρίβεια τη συνολική αντοχή των σπονδύλων, που είναι και το κλινικό ζητούμενο, σε ασθενείς με β-θαλασσαιμία χρήζει διερεύνησης. Προβάλλει λοιπόν η ανάγκη για διενέργεια μελετών που θα εκτιμούν την οστική πυκνότητα με ποικίλες ή/και καινοτόμες μεθόδους στον ίδιο ασθενή και σε ομάδα ελέγχου με στόχο την εξαγωγή συμπερασμάτων τα οποία να σχετίζονται όχι μόνο με τη μεταβολή της ποσότητας αλλά και της μικροαρχιτεκτονικής του οστού σε ποικίλες θέσεις. Έτσι θα αντιμετωπιστούν ενδεχομένως προβλήματα που σχετίζονται με τη δισδιάστατη απεικόνιση και τις επιπροβολές των οστικών δομών που αλλοιώνουν την πραγματική τιμή της οστικής μάζας. Επιπρόσθετα θα ληφθούν ξεχωριστά δεδομένα για το φλοιώδες και το σπογγώδες οστό, καθώς αυτοί οι δύο αυτοί τύποι αντιδρούν διαφορετικά στις αλλαγές του οστικού μεταβολισμού.

Επιπρόσθετα, η σύνθεση μάζας σώματος επηρεάζεται από πολλές παραμέτρους όπως η ηλικία, το φύλο, η κατάσταση του ενδοκρινικού συστήματος, η διατροφή και η άσκηση (94). Είναι γνωστό ότι οι παραπάνω παράμετροι παρουσιάζουν διαταραχή σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία επιπροσθέτως της υπερπλασίας του μυελού των οστών, της υπερφόρτωσης με σίδηρο και της μειωμένης οστικής πυκνότητας (95), (96). Ωστόσο, υπάρχουν περιορισμένα δημοσιευμένα δεδομένα σχετικά με την κατάσταση της σύνθεσης του σώματος σε αυτόν τον πληθυσμό, ειδικά κατά την ενηλικίωση. Η μυϊκή μάζα έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την οστική πυκνότητα μέχρι τη μέση ηλικία οπότε η μάζα του λιπώδους ιστού αρχίζει να αντιπροσωπεύει το μεγαλύτερο ποσοστό (96). Η μέθοδος DXA έχει αναφερθεί ως αξιόπιστη μέθοδος για την αξιολόγηση της σύνθεσης μάζας σώματος σε διάφορες ομάδες ασθενών, συμπεριλαμβανομένης της θαλασσαιμίας (97), (98), (99), (100).

Η παρούσα μελέτη φιλοδοξεί να συμβάλει στην κάλυψη του κενού αυτού στη βιβλιογραφία και να συνδράμει σε κλινικές εφαρμογές που βελτιώνουν την ποιότητα ζωής των ασθενών με θαλασσαιμία.

## Πίνακας Περιεχομένων

### **A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

#### **Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή στις αιμοσφαιρινοπάθειες**

#### **Κεφάλαιο 2. Γενετική και παθοφυσιολογία της θαλασσαιμίας**

- 2.1           Οι α-θαλασσαιμίες**
- 2.2           Οι β-θαλασσαιμίες**
- 2.3           Άλλες θαλασσαιμίες**

#### **Κεφάλαιο 3. Επιπλοκές της θαλασσαιμίας**

- 3.1           Ενδοκρινικές επιπλοκές**
  - 3.1.1        Ανάπτυξη**
  - 3.1.2        Καθυστερημένη εφηβεία και υπογοναδισμός**
  - 3.1.3        Υποθυρεοειδισμός**
  - 3.1.4        Διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων**
  - 3.1.5        Υποπαραθυρεοειδισμός**
- 3.2           Ηπατικές επιπλοκές**
- 3.3           Καρδιακές επιπλοκές**
- 3.4           Λοιμώξεις**
  - 3.4.1        Ιογενείς λοιμώξεις**
  - 3.4.2        Βακτηριακές λοιμώξεις**
- 3.5           Διαταραχές του οστικού μεταβολισμού**

#### **Κεφάλαιο 4. Θεραπεία**

- 4.1           Μετάγγιση αίματος και παραγώγων αίματος**
- 4.2           Σπληνεκτομή**
- 4.3           Αιμοσιδήρωση και θεραπεία αποσιδήρωσης**
- 4.4           Επαγωγείς εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης**
- 4.5           Μεταμόσχευση μυελού οστών**
- 4.6           Γονιδιακή θεραπεία**

## **Κεφάλαιο 5. Οστεοπόρωση**

- 5.1 Εισαγωγή**
- 5.2 Επιδημιολογία**
- 5.3 Παθοφυσιολογία**
- 5.4 Κλινικοεργαστηριακός έλεγχος**
- 5.5 Διάγνωση**
- 5.6 Θεραπεία**

## **Κεφάλαιο 6. Οστική πυκνότητα – Οστεοπυκνόμετρία**

- 6.1 Απορροφησιμετρία διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X (DXA)**
- 6.2 Ποσοτική Υπερηχοτομογραφία (QUS)**
- 6.3 Ποσοτική Υπολογιστική Τομογραφία (QCT)**

## **Κεφάλαιο 7. Ιστομορφομετρία και σύσταση μάζας σώματος στην θαλασσαιμία**

- 7.1 Απορροφησιμετρία διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X (DXA)**
- 7.2 Ποσοτική Υπολογιστική Τομογραφία (QCT)**
- 7.3 Σύσταση μάζας σώματος με χρήση απορροφησιμετρίας**
- 7.4 Οστική παραμόρφωση στη θαλασσαιμία**

## **B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **Κεφάλαιο 1. Σκοπός της μελέτης**

### **Κεφάλαιο 2. Υλικό και μέθοδος**

- 2.1 Πληθυσμός της μελέτης**
- 2.2 Μετρήσεις οστικής πυκνότητας και σύστασης μάζας σώματος με την μέθοδο DXA**
- 2.3 Μετρήσεις οστικής πυκνότητας με την μέθοδο QCT**
- 2.4 Μετρήσεις αιματολογικών δεικτών οστικού μεταβολισμού**
- 2.5 Στατιστική ανάλυση**

### **Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα**

### **Κεφάλαιο 4. Συζήτηση**

### **Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα - Σύνοψη**

### **Κεφάλαιο 6. Εργασία 1**

#### **6.1 Περίληψη 1**

#### **6.2 Abstract 1**

#### **6.3 Πίνακες**

### **Κεφάλαιο 7. Εργασία 2**

#### **7.1 Περίληψη 2**

#### **7.2 Abstract 2**

#### **7.3 Πίνακες**

### **Κεφάλαιο 8. Ανακοινώσεις – Δημοσίευση**

### **Κεφάλαιο 9. Παράρτημα**

### **Βιβλιογραφία**

# ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή στις Αιμοσφαιρινοπάθειες

Η αιμοσφαιρίνη είναι μια πρωτεΐνη, η δομή της οποίας αποτελείται από δύο τμήματα, το άλφα (α) τμήμα και το βήτα (β) τμήμα (τις επονομαζόμενες αλυσίδες). Οι αλυσίδες αυτές, παράγονται από τα γονίδια της α-σφαιρίνης και της β-σφαιρίνης, αντίστοιχα. Κατ' επέκταση, οι ασθένειες που προκαλούνται από ανωμαλία είτε στην παραγωγή είτε στη δομή της αιμοσφαιρίνης χωρίζονται σε ασθένειες της α-αλυσίδας (ή του γονιδίου της α-σφαιρίνης) όπως η α-θαλασσαιμία και σε ασθένειες της β-αλυσίδας (του γονιδίου της β-σφαιρίνης) όπως η μείζων β-θαλασσαιμία και η δρεπανοκυτταρική νόσος. Τα γονίδια της α-σφαιρίνης και της β-σφαιρίνης εντοπίζονται στα χρωμοσώματα 16 και 11 αντίστοιχα και ευοδώνουν την παραγωγή ίσων ποσοτήτων α και β αλυσίδων αντίστοιχα, οι οποίες συνδυαζόμενες σε σύμπλοκο μόριο α2β2 αποτελούν την φυσιολογική αιμοσφαιρίνη των ενηλίκων (HbA, α2β2).

Οι αιμοσφαιρινοπάθειες αποτελούν διαταραχές στην σύνθεση της αιμοσφαιρίνης και είναι είτε ποιοτικές που αφορούν στο είδος των αμινοξέων που συγκροτούν τις πεπτιδικές αλυσίδες της αιμοσφαιρίνης, είτε ποσοτικές υπό την έννοια της ανεπαρκούς παραγωγής μιας ή περισσοτέρων αιμοσφαιρινικών αλύσεων. Στις αιμοσφαιρινοπάθειες που προκαλούνται από ποιοτικές διαταραχές της αιμοσφαιρίνης ανήκουν η δρεπανοκυτταρική αναιμία, οι αιμοσφαιρινοπάθειες C, E και D και οι λεγόμενες αιμολυτικές αναιμίες από «ασταθείς αιμοσφαιρίνες». Πρόκειται για αιμοσφαιρινοπάθειες που προκύπτουν από συγκεκριμένες σημειακές μεταλλάξεις στους γόνους των α και β-αλύσεων. Στις αιμοσφαιρινοπάθειες αυτές, η σύνθεση των α-αλύσεων και των δύο β-αλύσεων είναι ισόρροπη, μία όμως ή περισσότερες από τις αλύσεις είναι παθολογικές με την έννοια ότι φέρουν σε κάποια θέση της αμινοξικής τους αλληλουχίας ένα διαφορετικό, σε σχέση με τη φυσιολογική αλυσό, αμινοξύ. Οι ποσοτικές διαταραχές της αιμοσφαιρίνης προκαλούν κλινικά σύνδρομα που ονομάζονται θαλασσαιμίες. Ονομάστηκαν έτσι γιατί η συχνότητά τους ήταν ιδιαίτερα υψηλή στις χώρες γύρω από τη Μεσόγειο Θάλασσα, εξ ου και η συνώνυμη ονομασία Μεσογειακή Αναιμία.<sup>1</sup> (1)



## Κεφάλαιο 2. Γενετική και παθοφυσιολογία της Θαλασσαιμίας

Το σύνολο των ανθρώπινων γονιδίων των αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης ακολουθεί την ίδια βασική δομή. Αριθμεί 1500 νουκλεοτίδια περίπου και διαθέτει 3 εξώνια και 2 ιντρόνια. Το εξώνιο 2 κωδικοποιεί τους τομείς των αιμοσφαιρινικών αλυσίδων που συνδέονται με την αίμη καθώς και εκείνους που συμμετέχουν στη σύνδεση μεταξύ  $\alpha/\beta$  αλυσίδων. Οι συντηρημένες αλληλουχίες (πολύ σημαντικές για τη λειτουργικότητα των γονιδίων) εδράζονται σε συγκεκριμένες θέσεις, τρεις από τις οποίες ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων. Τα γονίδια των αιμοσφαιρινικών αλυσίδων εδράζονται σε δυο γονιδιακά συμπλέγματα, πάνω στα χρωμοσώματα 11 και 16. Το σύμπλεγμα των  $\alpha$  γονιδίων συναντάται κοντά στο τελομερικό άκρο του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 16 (16p13.3, GenBank NG 000006) και περιέχει ένα εμβρυονικό γονίδιο  $\zeta$  αλυσίδας (*HBZ* ή  $\zeta 2$ ), δύο γονίδια  $\alpha$  αλυσίδας (*HBA2*, *HBA1*, ή  $\alpha 2$ ,  $\alpha 1$ ), τρία ψευδογονίδια (*HBZps*, *HBD*, *HBA1PS* ή  $\psi\zeta 1$ ,  $\psi\alpha 2$ ,  $\psi\alpha 1$ ) και το γονίδιο  $\theta$  αλυσίδας, με άγνωστη προς το παρόν λειτουργία. Τα γονίδια  $\alpha 1$  και  $\alpha 2$  (*HBA1* και *HBA2*) διαφέρουν κατά επτά νουκλεοτίδια στο τέλος του ιντρονίου 2 στο  $\alpha 2$  γονίδιο, ενώ έχουν γίνει δύο αντικαταστάσεις στο ιντρονιο 2 και αρκετές νουκλεοτιδικές αλλαγές μετά το 3' άκρο του εξωνίου 3. Τα δύο  $\alpha$  γονίδια περιλαμβάνονται μέσα σε 3 μεγαλύτερες ομόλογες αλληλουχίες γνωστές ως περιοχές X, Y και Z, οι οποίες και ευθύνονται για τη δημιουργία των συχνότερων  $\alpha^+$  ελλειμμάτων. Αν και η ομολογία των 2 γονιδίων είναι υψηλή (98.5%), το γονίδιο  $\alpha 2$  οδηγεί σε παραγωγή δύο με τρεις φορές περισσότερη  $\alpha$  αλυσίδα αιμοσφαιρίνης από το γονίδιο  $\alpha 1$ . Το γονίδιο της  $\beta$  αλυσίδας αιμοσφαιρίνης (*HBB*) εδράζεται στο σύμπλεγμα των  $\beta$  γονιδίων στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 11 (11p15.5, GenBank: NM\_000518), όπου επίσης βρίσκεται και το εμβρυονικό γονίδιο της  $\epsilon$  αλυσίδας (*HBE*), τα δύο εμβρυϊκά γονίδια των  $\gamma$  αλυσίδων (*HBG2* και *HBG1* ή  $G\gamma$  και  $A\gamma$ ), το γονίδιο της  $\delta$  αλυσίδας (*HBD*) που εκφράζεται περιορισμένα στην ενήλικη ζωή καθώς και ένα ψευδογονίδιο.

Έχουν περιγραφεί περισσότερες από 80 διαφορετικές μεταλλάξεις παγκοσμίως στην  $\alpha$ -θαλασσαιμία (ή  $\alpha$ -μεσογειακή αναιμία,  $\alpha$ -MA). Κυρίως πρόκειται για ελλείμματα στο σύμπλεγμα των  $\alpha$  γονιδίων. Πιο σπάνια συναντώνται οι σημειακές μεταλλάξεις ή μικρά ελλείμματα μέσα στα δυο  $\alpha$  γονίδια αιμοσφαιρίνης. Ως μεταλλάξεις  $\alpha^+$  (ή  $\alpha$  MA 2) λέγονται οι μεταλλάξεις που ευθύνονται για μερική απώλεια στη σύνθεση των  $\alpha$  αλυσίδων από το παθολογικό χρωμόσωμα. Στην

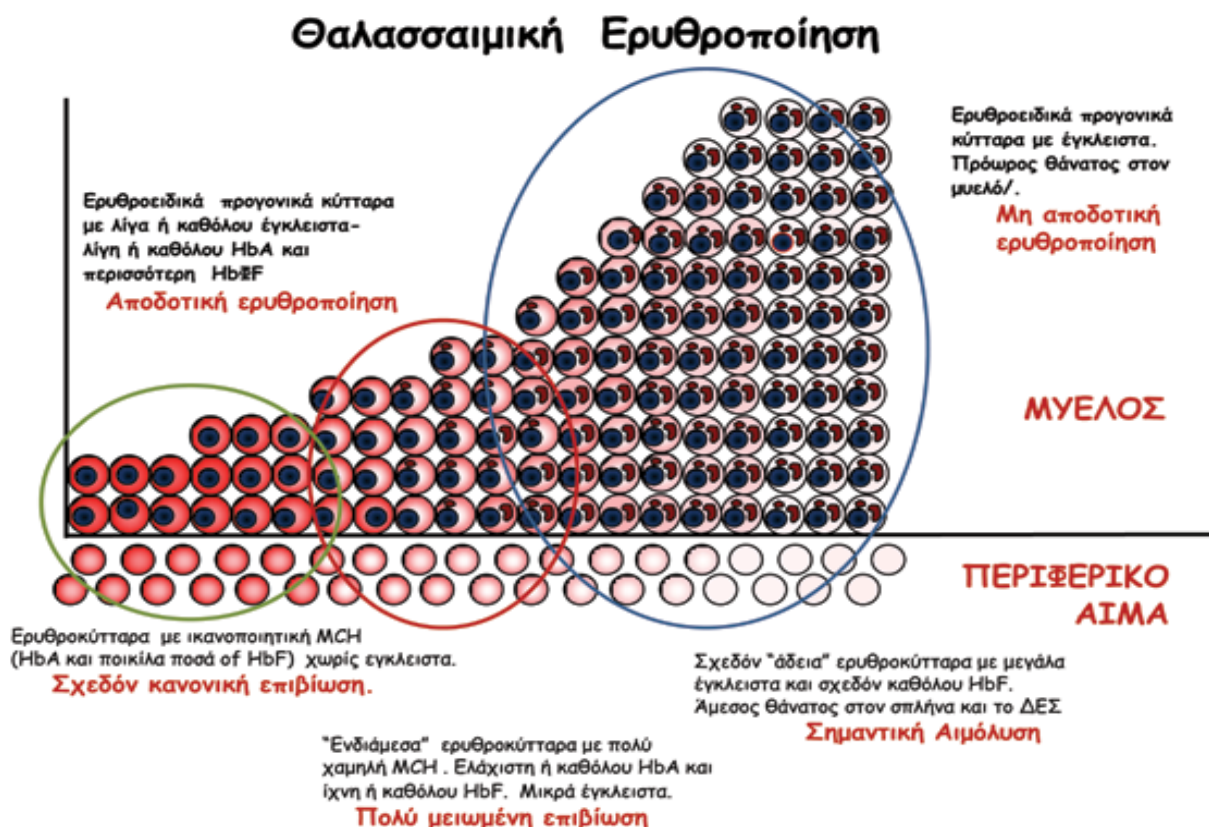
περίπτωση που προκαλείται ολοκληρωτική απώλεια της σύνθεσης των  $\alpha$  γονιδίων, τότε λέγονται μεταλλάξεις  $\alpha 0$  (ή  $\alpha MA 1$ ). Οι διάφοροι τύποι μεταλλάξεων περιγράφονται με κώδικα συμβολισμού ως εξής: Ο συμβολισμός « $\alpha\alpha$ » αντιστοιχεί σε ένα φυσιολογικό αλληλόμορφο με δυο  $\alpha$  γονίδια, ο συμβολισμός « $-\alpha$ » συμβολίζει το έλλειμμα ενός  $\alpha$  γονιδίου, ο συμβολισμός « $--$ » αναφέρεται σε έλλειμμα και των δύο  $\alpha$  γονιδίων από το ίδιο αλληλόμορφο, ενώ ο « $\alpha T\alpha$ » ή « $\alpha\alpha T$ » αντιστοιχεί σε γονίδια με σημειακή μετάλλαξη στο  $\alpha 2$  ή στο  $\alpha 1$  γονίδιο, αντίστοιχα. Το μέγεθος του ελλείμματος, η φύση της σημειακής μετάλλαξης ή ο πληθυσμός στον οποίο πρωτοπεριγράφηκε η μετάλλαξη δηλώνονται με τη χρήση αριθμού (εκθέτη) π.χ.  $-\alpha 3.7$  δηλώνει ένα έλλειμμα  $\alpha+$  στο οποίο λείπουν 3.7kb, ή  $--SEA$ , δηλώνει ένα κοινό έλλειμμα  $\alpha 0$  που πρωτοπεριγράφηκε σε πληθυσμό της ΝΑ Ασίας (South-east Asia), ή  $\alpha PolyA\alpha$  δηλώνει μια σημειακή μετάλλαξη στο  $\alpha 2$  γονίδιο που επηρεάζει τη θέση πολυαδενυλίωσης, (2).

Σε αντίθεση με την  $\alpha$ -θαλασσαιμία, οι περισσότερες μεταλλάξεις στη  $\beta$ -θαλασσαιμία (ή  $\beta$ -μεσογειακή αναιμία,  $\beta MA$ ) είναι σημειακές νουκλεοτιδικές αλλαγές (αντικαταστάσεις μιας βάσης, ελλείμματα ή ενθέσεις λίγων νουκλεοτιδίων). Πρόκειται κυρίως για λιγοστές κοινές μεταλλάξεις, αλλά και κάποιες σπάνιες. Ως μεταλλάξεις  $\beta+$   $MA$  χαρακτηρίζονται οι μεταλλάξεις που περιορίζουν τη σύνθεση των  $\beta$  αλυσίδων αιμοσφαιρίνης, ενώ αυτές που οδηγούν σε πλήρη αναστολή της σύνθεσής τους χαρακτηρίζονται ως μεταλλάξεις  $\beta 0 MA$ . Ως μεταλλάξεις  $\beta++$  χαρακτηρίζονται μεταλλάξεις που οδηγούν σε μικρή μόνο απώλεια των  $\beta$  αλυσίδων. Αντίθετα, οι μεταλλάξεις  $\beta 0$  και  $\beta+$  έχουν αισθητό αντίκτυπο στους φορείς. Ως συνέπεια, διαπιστώνεται σχετική αύξηση του αριθμού των ερυθροκυττάρων με μειωμένο μέσο όγκο, (MCV 60-70 fl) και μειωμένη ποσότητα αιμοσφαιρίνης ανά κύτταρο (MCH 19-23 pg) (μικροκυττάρωση και υποχρωμία), αλλά και χαρακτηριστική αύξηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης A2, (Hb A2) συνήθως μεταξύ 4-6%. Υπάρχουν και «σιωπηροί φορείς» με φυσιολογικό ή σχεδόν φυσιολογικό φαινότυπο ή φορείς με μειωμένο MCV και MCH άλλες φορές με φυσιολογικά επίπεδα Hb A2 (<3.4%) ή συχνά με αυξημένα επίπεδα Hb A2 (>6%). Σε κάποιες περιπτώσεις μεταλλάξεων  $\beta MA$  παρατηρούνται ελαφρώς αυξημένα επίπεδα Hb F (>2% - <5%), ενώ οι φορείς  $\delta\beta MA$  εμφανίζουν ελαφρώς μειωμένους ερυθροκυτταρικούς δείκτες με αξιοσημείωτη αύξηση της Hb F (>5% και <10%) και φυσιολογικά ή ελαφρώς μειωμένα επίπεδα Hb A2. (3)

Η ανισορροπία στη σύνθεση των αλυσίδων αιμοσφαιρίνης που οδηγεί σε μη αποδοτική ερυθροποίηση (συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων αδέσμευτων  $\alpha$ -αλυσίδων που κατακρημνίζονται ενδοκυτταρίως με σχηματισμό εγκλείστων) είναι η

βάση της παθοφυσιολογίας της νόσου. Ως αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας, εκλύονται τοξικές ελεύθερες ρίζες που καταστρέφουν τα δομικά κυτταρικά στοιχεία και οδηγούν σε πρόωρο ενδομυελικό θάνατο τους ερυθροβλάστες και πρόωρη αιμόλυση των ερυθρών αιμοσφαιρίων στην περιφέρεια. Αντιρροπιστικά, ο οργανισμός προσπαθεί να αυξήσει την ερυθροποίηση η οποία ωστόσο παραμένει «μη αποδοτική» γεγονός που οδηγεί σε αναιμία ποικίλης βαρύτητας και διάφορες επιπλοκές. Η ανεπάρκεια στη σύνθεση των β-αλυσίδων συναρτάται με τη βαρύτητα της νόσου.

Συνεπώς, στις θαλασσαιμίες παράγονται τελικά μικρά και υπόχρωμα ερυθροκύτταρα. Σε πολλά ερυθροκύτταρα το ποσό της περιεχόμενης αιμοσφαιρίνης είναι πολύ μικρό και κατανέμεται κυρίως περιφερικά και όχι στο κέντρο (στοχοκυττάρωση). Η μικροκυττάρωση είναι σταθερό εύρημα σε όλες τις θαλασσαιμίες, είτε ομόζυγες, είτε ετερόζυγες.



Η κατακρήμνιση στο πρωτόπλασμα των ερυθροβλαστών και των ερυθροκυττάρων μέρους των αιμοσφαιρινικών αλυσίδων που πλεονάζουν προκαλεί την ενδομυελική καταστροφή τους και το θάνατο τους στο σπλήνα (αιμόλυση). Η ιστοική υποξία, αποτέλεσμα της αναιμίας επάγει έντονη ερυθροβλαστική υπερπλασία στο μυελό των οστών. Συνεπώς πρόκειται για υπόχρωμες, μικροκυτταρικές αναιμίες που συνοδεύονται από αιμόλυση και μη αποδοτική ερυθροποίηση.

Το οξειδωτικό στρες παίζει σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία της θαλασσαιμίας. Η οξειδωτική κατάσταση των κυττάρων ρυθμίζεται από την ισορροπία μεταξύ οξειδωτικών παραγόντων, όπως τις δραστικές μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) που παράγονται κυρίως ως υποπροϊόντα της κυτταρικής αναπνοής (π.χ. ελεύθερες ρίζες, ιόντα, υπεροξειδία) και αντιοξειδωτικών παραγόντων όπως η γλουταθειόνη. Μια ισορροπημένη οξειδωτική κατάσταση είναι ζωτικής σημασίας για την φυσιολογική φυσιολογία. Οι δραστικές μορφές οξυγόνου ROS, χρησιμεύουν ως ρυθμιστές σε πολλές διαδικασίες, συμπεριλαμβανομένου του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των ερυθροκυτταρικών προβαθμίδων. Όταν η ισορροπία αυτή διαταραχτεί, όπως σε πολλές παθολογικές διεργασίες, προκύπτει οξειδωτικό στρες. Η περίσσεια των ROS συνδέεται με κυτταρικά συστατικά όπως το DNA, τις πρωτεΐνες και τα μεμβρανικά λιπίδια, οδηγώντας σε κυτταροτοξικότητα. Στη β-θαλασσαιμία, το οξειδωτικό στρες είναι κυρίως απόρροια των ασταθών αιμοσφαιρινών και ευθύνεται για την οξειδωτική βλάβη στα ερυθρά αιμοσφαίρια (αναιμία), στα αιμοπετάλια (υπερπηκτική κατάσταση) και στα λευκοκύτταρα (επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις), σε κύτταρα διαφόρων ζωτικών οργάνων (καρδιά και ήπαρ) καθώς και στους ενδοκρινείς αδένες. (4)

Κοινό χαρακτηριστικό στους διάφορους τύπους θαλασσαιμιών είναι πως όλοι καταλήγουν σε πλήρη αναστολή ή μείωση της απόδοσης των γονιδίων σφαιρίνης που χαρακτηρίζεται ως α-, ή β-, ή γ- κ.ο.κ. (το μείον δηλώνει το μειονεκτικό γονίδιο). Ανάλογα με τα γονίδια που ευθύνονται, η μορφή χαρακτηρίζεται ως ετερόζυγη όταν η βλάβη εντοπίζεται στο ένα αλληλίο ή ομόζυγη όταν η βλάβη εντοπίζεται και τα δύο αλληλία. Οι δύο βασικοί τύποι θαλασσαιμιών είναι οι α και β και ο τύπος καθορίζεται από το ποια από τις δύο αλυσίδες α ή β υπολείπεται στην παραγωγή της. Η β-θαλασσαιμία χαρακτηρίζεται είτε από πλήρη έλλειψη β-αλυσίδων (β0 θαλασσαιμία), είτε από παραγωγή άλλοτε άλλων ποσοτήτων β-αλυσίδων (β+ θαλασσαιμία). Σε μερικές περιπτώσεις, η έλλειψη ή μειωμένη παραγωγή β-αλυσίδων συνδυάζεται με μειωμένη παραγωγή και δ-αλυσίδων (β+δ+, β+δ0, β0δ0- θαλασσαιμίες). Σε άλλες

περιπτώσεις δεν παράγονται ακέραιες αλυσίδες, αλλά αλυσίδες-υβρίδια με καρβοξυτελικό τμήμα β-αλυσίδων και αμινικό δ-αλυσίδων (Hb $\alpha_2\beta/\delta$  ή αλλιώς αιμοσφαιρινοπάθεια Lepore).

## 2.1 Οι α-θαλασσαιμίες

Οι α-θαλασσαιμίες διακρίνονται σε α<sup>0</sup> και α<sup>+</sup> -θαλασσαιμίες ανάλογα με το εάν λείπουν παντελώς ή παράγονται σε μικρά ποσά, αντίστοιχα α-αλύσεις. Στις ομόζυγες καταστάσεις και των δύο τύπων α-θαλασσαιμίας η επιβίωση είναι αδύνατη για το λόγο ότι οι α-αλύσεις συμμετέχουν στη σύνθεση όλων των αιμοσφαιρινών. Έτσι το έμβρυο πεθαίνει *in utero* ή γεννιέται θνησιγενές με ύδρωπα ανά σάρκα. Η αιμοσφαιρίνη του είναι κατά 90% Hb Bart's (τετραμερή γ<sub>4</sub>) και κατά 10% HbH (τετραμερή β<sub>4</sub>).

Οι ετερόζυγες α-θαλασσαιμίες παρουσιάζονται με διαφορετική εκάστοτε βαρύτητα, ανάλογα με το πόσοι είναι οι παθολογικοί α-γόνιοι. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι γόνιοι που ρυθμίζουν τη σύνθεση των α-αλύσεων είναι διπλασιασμένοι. Οι ετεροζυγώτες με ένα μόνο α-γόνιο θαλασσαιμικό είναι κλινικά υγιείς και χαρακτηρίζονται από Hb Bart's (γ<sub>4</sub>) 1-2% κατά τη γέννηση και φυσιολογικό ηλεκτροφορόγραμμα κατά την μετέπειτα ζωή. Το μόνο εύρημα από του αίματος είναι η μικροκυττάρωση. Οι ετεροζυγώτες με δύο α-γόνους θαλασσαιμικούς είναι επίσης κλινικά υγιείς και έχουν Hb Bart's 5-10% κατά τη γέννηση και φυσιολογικό ηλεκτροφορόγραμμα κατά την ενήλικη ζωή. Έχουν και αυτοί σημαντική μικροκυττάρωση. Τέλος οι ετεροζυγώτες που φέρουν τρεις α-γόνους θαλασσαιμικούς παρουσιάζονται με σπληνομεγαλία, αιμόλυση και αναιμία με μικροκυττάρωση και ποικιλοκυττάρωση. Στην ενήλικη ζωή η Hb H αποτελεί το 10-30% και η Hb A το 70% περίπου του συνόλου των αιμοσφαιρινών, (5).

## 2.2 Οι β-θαλασσαιμίες

Στην Ελλάδα συχνότερες είναι οι β-θαλασσαιμίες, που αποτελούν και σοβαρό κλινικό πρόβλημα. Ο θαλασσαιμικός γόνος χαρακτηρίζεται ως β<sup>0</sup> όταν η σύνθεση των β αλύσεων αναστέλλεται ολοσχερώς, β<sup>+</sup> όταν η σύνθεση μειώνεται σοβαρά και β<sup>++</sup> όταν η σύνθεση μειώνεται ήπια.

Η ετερόζυγη β-θαλασσαιμία εσφαλμένα αποκαλείται συχνά και «στίγμα» β-μεσογειακής αναιμίας. Οι ετεροζυγώτες φορείς δεν έχουν αναιμία, μπορεί όμως να παρουσιάσουν αναιμία εάν υπάρχει σιδηροπενία ή έχει προηγηθεί κάποια λοίμωξη.

Στην εξέταση του αίματος έχουν μια χαρακτηριστική μικροκυττάρωση. Η διάγνωση της διαταραχής γίνεται με την ηλεκτροφόρηση της αιμοσφαιρίνης, στην οποία παρατηρείται αυξημένη τιμή Hb A2 (πάνω από 3,5%) χωρίς αύξηση της τιμής της Hb F. Το ηλεκτροφορόγραμμα αποβαίνει φυσιολογικό εάν πρόκειται για «σιωπηρό» γόνο. Στις περιπτώσεις αυτές η διάγνωση επιτυγχάνεται με τη βιοσύνθεση αιμοσφαιρίνης *in vitro*, κατά την οποία εκτιμάται η ισόρροπη ή όχι παραγωγή α- και β-αλυσέων. Σε άλλες όμως περιπτώσεις, η ετερόζυγη β-θαλασσαιμία παρουσιάζεται με μέτρια αναιμία (βαρύ στίγμα) που παλαιότερα αποκαλείτο και «ελάσσων θαλασσαιμία». Στα επιχρίσματα του περιφερικού αίματος των πασχόντων δεσπόζουν η μικροκυττάρωση και η ποικιλοκυττάρωση.

Το ερυθροκύτταρο ενός ατόμου με ετερόζυγη β0 αναιμία, περιέχει φυσιολογικό ποσό α αλυσέων (600,000,000 μόρια) αλλά το ήμισυ του αναμενομένου από το ποσό αλυσέων β (300,000,000 μόρια), ή και περισσότερο λόγω αντιρροπιστικής δράσης από το υγιές αλληλίο. Στην β+ ή β++ θαλασσαιμία, το ποσό των β-αλυσίδων είναι μεν κάπως μεγαλύτερο, απέχει όμως πολύ από το φυσιολογικό. Συνεπώς, το ώριμο ερυθροκύτταρο θα περιέχει μικρότερη ποσότητα αιμοσφαιρίνης από την κανονική, οπότε θα έχει MCH μικρότερη από το φυσιολογικό, περίπου  $20 \pm 2$  pg (υποχρωμία). Θα έχει ακόμη και σημαντική περίσσεια ελεύθερων α-αλυσίδων, οι οποίες απομακρύνονται με πρωτεολυτικούς μηχανισμούς. Τα υπόχρωμα ερυθροκύτταρα έχουν μικρότερο χρόνο επιβίωσης του αναμενομένου. Ο οργανισμός προσπαθεί να εξασφαλίσει ένα ικανοποιητικό συνολικό ποσό αιμοσφαιρίνης στην κυκλοφορία αυξάνοντας τον ρυθμό της ερυθροποίησης (περισσότερα ερυθροκύτταρα). Αυτό άλλοτε το επιτυγχάνει (αιματοκρίτης σε φυσιολογικά όρια, αλλά χαμηλή MCH) και άλλοτε όχι (ήπια αναιμία, χαμηλή MCH), χωρίς ωστόσο κλινικές συνέπειες. Αν όμως η βλάβη αφορά και τα δύο γονίδια των β-αλυσίδων, τότε η ποσότητα της αιμοσφαιρίνης ελαττώνεται δραματικά ή μηδενίζεται. Πρόκειται για ομόζυγη κατάσταση, όταν και τα δύο γονίδια έχουν υποστεί την ίδια ακριβώς μοριακή βλάβη, και διπλή ετεροζυγωτία, όταν ή μοριακή βλάβη είναι διαφορετική σε κάθε γονίδιο. Δημιουργείται ένα μεγάλο πλεόνασμα αδέσμευτων α-αλυσίδων που δεν συναντούν τις συμπληρωματικές τους β-αλυσίδες για να σχηματίσουν τετραμερή. Αυτές είναι πολλές για να απομακρυνθούν με πρωτεόλυση, με αποτέλεσμα να κατακρημνίζονται στο εσωτερικό του κυττάρου. Αυτό επιφέρει μηχανική παραμόρφωση του ερυθρού κυττάρου και τοξική βλάβη των δομικών του συστατικών από ελεύθερες οξειδωτικές ρίζες που εκλύονται μαζικά κατά την κατακρήμνιση. Ο μυελός προσπαθεί να

αντιρροπίσει υπερπαράγοντας «άχρηστα» στην πράξη ερυθρά, γεμάτα με τα έγκλειστα σωμάτια Heinz (κατακρημνισμένες α-αλυσίδες). Πρόκειται για τη λεγόμενη «μη αποτελεσματική» ερυθροποίηση. (6)

Ωστόσο, το θαλασσαιμικό ερυθροκύτταρο περιέχει και μικρά ποσά γ-αλυσίδων που συνδέονται με ισάριθμες α-αλυσίδες σχηματίζοντας αιμοσφαιρίνη F. Οι εμβρυϊκές αλυσίδες συντίθενται σε μερικά πρόδρομα κύτταρα, που ενυπάρχουν στον ανθρώπινο μυελό και διατηρούν, σε άλλοτε άλλο βαθμό, τη δυνατότητα σύνθεσης γ-αλυσίδων. Υπό φυσιολογικές συνθήκες δεν ενεργοποιούνται, γιατί δεν χρειάζονται. Η εντατική όμως ερυθροποιητική προσπάθεια στην θαλασσαιμία, οδηγεί στη δραστηριοποίησή τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να συντίθεται λίγη HbF και τα ερυθροκύτταρα να αποκτούν καλύτερη επιβίωση. Οποσδήποτε, το τελικό αποτέλεσμα της θαλασσαιμικής διαταραχής είναι ο πρόωρος μαζικός θάνατος ερυθροβλαστών στον μυελό και η παραγωγή ελάχιστων μισοάδειων ερυθροκυττάρων, που καταστρέφονται επίσης πρόωρα στον σπλήνα και το δικτυοενδοθηλιακό σύστημα (ΔΕΣ) .

Η ομόζυγη β θαλασσαιμία λέγεται και νόσος του Cooley. Εμφανίζεται σε πολύ μικρή ηλικία, εκτός από κάποιες περιπτώσεις που μπορεί να εμφανιστούν και αργότερα (ήπια μορφή). Τη νόσο προδίδουν η ωχρότητα του προσώπου εξαιτίας της οποίας το παιδί υποβάλλεται σε έλεγχο για να προκύψει μια μη-σιδηροπενική υπόχρωμη μικροκυτταρική αναιμία. Στη συνέχεια, η ηλεκτροφόρηση της αιμοσφαιρίνης αποκαλύπτει τα εξής: α) πλήρη έλλειψη HbB αν πρόκειται για β0 θαλασσαιμία, μικρή ή μεγαλύτερη ελάττωση αυτής αν πρόκειται για β+ θαλασσαιμία β) αύξηση της Hb F από 10% έως και 90%, καθώς και αύξηση της HbA2 από 5% έως 10%, γ) αύξηση της HbA2 από 5% έως 10%.

Χωρίς την εφαρμογή κατάλληλης θεραπευτικής αντιμετώπισης με πρόγραμμα συστηματικών μεταγγίσεων, η κλινική εικόνα της νόσου χαρακτηρίζεται από αναιμία, υπίκτηρο, διόγκωση του ήπατος και μεγάλη διόγκωση του σπληνός. Τα διογκωμένα υποχόνδρια όργανα ασκούν πίεση στα κοιλιακά τοιχώματα εκ των έσω καθώς και στις κατώτερες πλευρές και με αυτόν τον τρόπο προκαλούν μια χαρακτηριστική προπέτεια στην άνω κοιλία και συνοδό κωδωνοειδή παραμόρφωση του θώρακα. Διαμορφώνεται το αποκαλούμενο μογγολοειδές προσωπείο με προπέτεια των μετωπιαίων και ζυγωματικών οστών και συχνά και των γνάθων. Στην απλή ακτινογραφία κρανίου αναδεικνύεται πάχυνση της διπλής και ψηκτροειδές κρανίο. Υπάρχει εξωμυελική αιμοποίηση, η οποία δεν περιορίζεται μόνο στο σπλήνα, αλλά επεκτείνεται παρά τα οστά, ιδίως στον παρασπονδυλικό και προϊερό χώρο.

Τα εργαστηριακά ευρήματα της νόσου περιλαμβάνουν τα ακόλουθα: Έκδηλη ανισοκυττάρωση, ποικιλοκυττάρωση και στοχοκυττάρωση, με την παρουσία πολλών οξύφιλων και πολυχρωματόφιλων ερυθροβλαστών. Ο αριθμός των ερυθροβλαστών στο αίμα αυξάνεται μετά από σπληνεκτομή και μπορεί να υπερβαίνει τα 1000%. Τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα αυξάνονται ελαφρώς, όπως και τα αιμοπετάλια, εκτός αν υπάρχει υπερσπληνισμός, οπότε ο αριθμός τους ελαττώνεται με τάση για λοιμώξεις και αιμορραγίες αντίστοιχα. Παρατηρείται αύξηση των τιμών του σιδήρου του πλάσματος και γενικότερα του σιδήρου στον οργανισμό. Η αύξηση οφείλεται στις συχνές μεταγγίσεις και κατά κανόνα οδηγεί σε αιμοχρωμάτωση. Παρατηρείται αιμόλυση και αυξημένη αντίσταση των ερυθροκυττάρων στα υποτονικά διαλύματα, ενώ στο μυελό διαπιστώνεται έντονη ερυθροβλαστική υπερπλασία που προκαλεί οστικές παραμορφώσεις κυρίως στα οστά του κρανίου και τις πλευρές. Η ερυθροποίηση είναι μη αποδοτική.

Η εξέλιξη είχε κακή πρόγνωση κατά το παρελθόν. Στην πλειονότητά τους οι ασθενείς κατέληγαν πριν την ηλικία των 25 ετών. Όσοι απ' αυτούς κατόρθωναν να φτάσουν σε μεγαλύτερες ηλικίες, είχαν αυξημένη θνητότητα από τις επιπλοκές της αιμοχρωμάτωσης συνέπεια των πολλών μεταγγίσεων. Οι μεταγγίσεις ήταν απαραίτητο να γίνονται με απολύτως συμβατά αίματα όχι μόνο στα αντιγόνα ABO και Rhesus, αλλά και τα αντιγόνα των άλλων αντιγονικών συστημάτων έναντι των ερυθροκυττάρων. Στην περίπτωση ανάπτυξης υπερσπληνισμού συνίστατο σπληνεκτομή. Ωστόσο οι σύγχρονες θεραπευτικές προσεγγίσεις έχουν μεταβάλλει ριζικά την εξέλιξη της νόσου και το προσδόκιμο επιβίωσης.

Στο επίπεδο της πρόληψης, αυτή μπορεί να επιτευχθεί αφενός μεν με την εξέταση των υποψήφιων γονέων και την ενημέρωσή τους σχετικά με το εάν και οι δύο τους είναι φορείς του παθολογικού γόνου και αφετέρου με την προεμφυτευτική διάγνωση της νόσου ώστε να αποφεύγεται πλέον διακοπή της κύησης. Τα μέτρα αυτά εφαρμόζονται στην Ελλάδα από μερικά χρόνια και φαίνεται ότι έχουν πράγματι δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα, (7).

Ο όρος «ενδιάμεση θαλασσαιμία ή μεσογειακή αναιμία» αναφέρεται σε ασθενείς με ενδιάμεσης βαρύτητας μορφή της β θαλασσαιμίας. Αυτή παρουσιάζει ένα ευρύ κλινικό φάσμα το οποίο κινείται ανάμεσα στην ασυμπτωματική φορεία και τη μεταγγισιοεξαρτώμενη μείζονα β θαλασσαιμία. Η ενδιάμεση θαλασσαιμία παρουσιάζει σημαντική ετερογένεια που οφείλεται στη γονιδιακή ετερογένεια, αλλά και σε επιρόσθετους ρυθμιστικούς παράγοντες. Οι περισσότεροι ασθενείς με β



ενδιάμεση θαλασσαιμία είναι ομοζυγώτες ή διπλοί ετεροζυγώτες μεταλλάξεων του β-γονιδίου, δηλαδή φέρουν βλάβη και στα δύο β-γονίδια που ευθύνονται για την παραγωγή των β-αλυσίδων. Εμφανίζουν ηπιότερη κλινική εικόνα, επειδή λειτουργούν μηχανισμοί που επιφέρουν ισορροπία στη σύνθεση των αλυσίδων της σφαιρίνης, ακόμα και αν δεν παράγονται σε επιθυμητή ποσότητα. Μια σιωπηλή ή ήπια μετάλλαξη έχει ως αποτέλεσμα ήπια μόνο μείωση στη σύνθεση των β-αλυσίδων και συνοδεύονται από μη τυπικό φαινότυπο σε ετερόζυγη κατάσταση. Όλες οι μεταλλάξεις που αφορούν τη «σιωπηρού» τύπου β θαλασσαιμία εκδηλώνονται φαινοτυπικά μόνον όταν κληρονομούνται συγχρόνως με μία βαριά β-μετάλλαξη και η πλειονότητα αυτών των ασθενών παρουσιάζει μία ήπια μη-εξαρτώμενη από μεταγίσεις ενδιάμεση αναιμία, με σπάνιες εξαιρέσεις. Στην περίπτωση συν-κληρονόμησης ομόζυγης β θαλασσαιμίας και παραγόντων που σχετίζονται με αυξημένη παραγωγή γ-αλυσίδων (πχ HPFH) ή συν-κληρονόμησης ομόζυγης β θαλασσαιμίας με κάποια μορφή α θαλασσαιμίας, η παραγωγή α-αλυσίδων καταστέλλεται και περιορίζεται η ανισότητα μεταξύ των α- και β- αλυσίδων. Άλλες περιπτώσεις αφορούν στην παρουσία διπλής ετεροζυγωτίας β θαλασσαιμίας και δβ θαλασσαιμίας ή ομοζυγωτίας δβ θαλασσαιμίας, όπως και μερικές ακόμη σπάνιες καταστάσεις (διπλή ετεροζυγωτία για β ή δβ θαλασσαιμία και δομικές παραλλαγές της β-αλυσίδας όπως αιμοσφαιρίνη E ή βλάβη σε ένα μόνον από τα δύο β-γονίδια).

Η ενδιάμεση θαλασσαιμία σε ασθενείς που φέρουν μετάλλαξη μόνο στο ένα β-γονίδιο μπορεί να σχετίζεται με συν-κληρονόμηση ετεροζυγωτίας β θαλασσαιμίας και τριπλασιασμένου ή τετραπλασιασμένου α-γονιδίου. Σε ετεροζυγώτες β θαλασσαιμίας, η συνύπαρξη τριπλασιασμένου α-γονιδίου και επομένως η αύξηση της περισσειας των α-αλυσίδων που ήδη υπάρχει, επιβαρύνει τις αιματολογικές παραμέτρους που συνήθως χαρακτηρίζουν τους απλούς φορείς της νόσου. Άλλες περιπτώσεις αφορούν σε κληρονόμηση μορφών β θαλασσαιμίας που μεταδίδονται με τον κυρίαρχο σωματικό χαρακτήρα και σε μεταλλάξεις που οδηγούν σε ασταθείς β-αλυσίδες γίνονται εμφανείς κλινικά ακόμη και σε ετερόζυγο μορφή με εικόνα ενδιάμεσης θαλασσαιμίας με βαριά δυσερυθροποιητική αναιμία και σπληνομεγαλία, (8).

### **2.3 Άλλες θαλασσαιμίες**

Εκτός από την α- και β- θαλασσαιμία, υπάρχουν δύο ακόμα αιμοσφαιρινικές διαταραχές, η δ0-θαλασσαιμία με μηδενική παραγωγή δ-αλυσίδων και η κληρονομική παραμονή εμβρυικής αιμοσφαιρίνης (Hereditary Persistence of Foetal Haemoglobin-

HPFH), κατά την οποία διατηρείται η παραγωγή HbF στους ενήλικες. Η HPFH οφείλεται είτε σε έλλειψη β και δ γόνων, είτε σε διαταραχή στη μετάπτωση της HbF σε HbA. Η έλλειψη ή μειωμένη παραγωγή β-αλυσίδων στις β θαλασσαιμίες οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή γ και δ αλυσίδων, η οποία όμως δεν φθάνει για να αναπληρωθεί το έλλειμμα σε β-αλυσίδες. Συνεπώς οι α αλυσίδες πλεονάζουν και σχηματίζουν τετραμερή μόρια α<sub>4</sub> και κατακρημνίζονται στο πρωτόπλασμα του ερυθροβλάστη δίνοντας γένεση σε ποικίλου μεγέθους κυτταροπλασματικά έγκλειστα. Επίσης, η έλλειψη ή η μειωμένη παραγωγή α αλυσίδων στην α θαλασσαιμία έχει ως αποτέλεσμα την περίσσεια, κατά μεν την εμβρυική ζωή γ αλυσίδων που σχηματίζουν τετραμερή μόρια γ<sub>4</sub> (Hb Bart's), κατά δε την μετεμβρυική ζωή β αλυσίδων που και αυτά σχηματίζουν τετραμερή μόρια β<sub>4</sub> (Hb H) και κατακρημνίζονται στο πρωτόπλασμα δίνοντας γένεση σε κυτταροπλασματικά έγκλειστα.

Η ομόζυγη βδ θαλασσαιμία είναι μια ενδιάμεσης βαρύτητας θαλασσαιμία που χαρακτηρίζεται από χρόνια αιμόλυση, υπόχρωμη μικροκυτταρική αναιμία, και σπληνομεγαλία. Το μέγεθος της σπληνός είναι κατά κανόνα μικρότερο από αυτό της ομόζυγης β-θαλασσαιμίας. Στην ηλεκτροφόρηση βρίσκεται μόνο Hb F.

Η ετερόζυγη βδ θαλασσαιμία είναι όμοια από πλευράς κλινικής έκφρασης με την ετερόζυγη β θαλασσαιμία. Σταθερό εργαστηριακό εύρημα αποτελεί και εδώ η μικροκυττάρωση και ποικιλοκυττάρωση. Στην ηλεκτροφόρηση της αιμοσφαιρίνης βρίσκεται αυξημένη η Hb F.

Η αιμοσφαιρινοπάθεια Lepore παρουσιάζεται στην ομόζυγη μορφή της με την κλινική εικόνα της ομόζυγης β-θαλασσαιμίας και στην ετερόζυγη μορφή της με την εικόνα της ετερόζυγης β θαλασσαιμίας. Η διάγνωση στηρίζεται στην ανεύρεση της Hb Lepore που κινείται ηλεκτροφορητικά με την Hb S. Στην ομόζυγη μορφή περίπου 20% της αιμοσφαιρίνης είναι Hb Lepore και 80% είναι Hb F. Η αιμοσφαιρίνη Hb A και Hb A<sub>2</sub> δεν υπάρχουν. Στην ετερόζυγη μορφή η Hb Lepore είναι περίπου τα 8% του συνόλου της αιμοσφαιρίνης. Η αιμοσφαιρίνη Hb A<sub>2</sub> είναι ελαττωμένη και η Hb F αυξημένη. Στην Ελλάδα, περιπτώσεις αιμοσφαιρινοπάθειας Lepore έχουν παρατηρηθεί στην περιοχή της Πύλου (Hb Πύλος). Εξ άλλου έχουν περιγραφεί και περιπτώσεις διπλών ετεροζυγωτών που φέρουν στο ένα χρωμόσωμα το γόνο της Hb Lepore και στο άλλο το γόνο της β-θαλασσαιμίας ή αιμοσφαιρινοπάθεια S.

Η κληρονομική παραμονή της εμβρυικής αιμοσφαιρίνης (HPFH) χαρακτηρίζεται από πλήρη έλλειψη β-αλύσεων λόγω γονιδιακής βλάβης, σε συνδυασμό με εξακολούθηση της λειτουργίας του γόνου που ορίζει τη σύνθεση των γ-

αλύσεων. Έτσι στην ομόζυγη κατάσταση η αιμοσφαιρίνη είναι σχεδόν εξ ολοκλήρου Hb F (μέχρι 98%) ενώ η Hb A2 είναι φυσιολογική ή ελαφρώς ελαττωμένη. Στην ετερόζυγη κατάσταση η Hb F αποτελεί περίπου τα 15-20% του συνόλου ποσού της αιμοσφαιρίνης.

Η δρεπανοκυτταρική νόσος, ή κοινά αποκαλούμενη «μικροδρεπανοκυτταρική αναιμία» είναι συνδυασμός ετερόζυγης β-θαλασσαιμίας και ετερόζυγης δρεπανοκυτταρικής αναιμίας (Hb α2B -th/β-S). Στην Ελλάδα είναι αρκετά συχνή σε ορισμένες περιοχές που απαντώνται και οι δυο φορείες, θαλασσαιμίας και δρεπανοκυτταρικής νόσου. Η κλινική εικόνα της νόσου καθορίζεται από το είδος της βλάβης στις β-αλύσεις. Στην περίπτωση του β0-γόνου δεν υπάρχουν β-αλύσεις αλλά μόνο βS-αλύσεις. Αυτό σημαίνει ότι όλη η αιμοσφαιρίνη στα ερυθροκύτταρα είναι Hb S. Οι αιμοσφαιρίνες A2 και F είναι αυξημένες. Έτσι το κλινικό σύνδρομο θα είναι αυτό της δρεπανοκυτταρικής νόσου με τα αγγειοαποφρακτικά επεισόδια και τους ισχυρούς οστικούς πόνους. Στην περίπτωση που ο θαλασσαιμικός γόνος είναι β+, είναι προφανές ότι θα υπάρχει κάποια σύνθεση Hb A που συνήθως είναι της τάξης των 10-25%. Το κλινικό σύνδρομο σε τέτοιες περιπτώσεις είναι ηπιότερο σε σχέση με το προηγούμενο με μέτρια αναιμία και σπανιότερες επώδυνες και αγγειοαποφρακτικές κρίσεις.

Η αιμοσφαιρινοπάθεια C / θαλασσαιμία (Hb α2β- c/β - th) είναι επίσης μια μέσης βαρύτητας αιμολυτική αναιμία με σπληνομεγαλία. Εάν ο γόνος της β-θαλασσαιμίας είναι β0, δεν υπάρχει καθόλου Hb A, αλλά Hb C με αύξηση των Hb A2 και F. Εάν ο γόνος της θαλασσαιμίας είναι β+ είναι προφανές ότι θα υπάρχει κάποιο ποσό Hb A που θα κάνει τη νόσο ηπιότερες εκδηλώσεις.

Τέλος η αιμοσφαιρινοπάθεια E / θαλασσαιμία (Hb α2β- E/β - th) απαντάται κυρίως στη νότιο-ανατολική Ασία. Εάν ο γόνος της θαλασσαιμίας είναι β0, η ηλεκτροφόρηση θα δίνει Hb E χωρίς Hb A και αύξηση των Hb A2 Hb F, ενώ αν ο γόνος της θαλασσαιμίας είναι β+, η αιμοσφαιρίνη θα είναι κυρίως Hb E αλλά με την παρουσία μικρών ποσοτήτων Hb A. Οι Hb A2 και F θα είναι κι εδώ αυξημένες. Από κλινική άποψη η νόσος εκδηλώνεται με την εικόνα της ομόζυγης β-θαλασσαιμίας, (1).

### Κεφάλαιο 3. Επιπλοκές της Θαλασσαιμίας

Προ πενήνταετίας, οι ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία κατέληγαν μέσα στην πρώτη δεκαετία της ζωής. Αυτή η κακή πρόγνωση άλλαξε από τότε που τα ποσοστά επιβίωσης άρχισαν να αυξάνονται σταδιακά χάρη στην εφαρμογή συνεχούς και σημαντικής βελτίωσης των διαγνωστικών και θεραπευτικών μεθόδων που συνίστατο κυρίως σε ένα πρόγραμμα εντατικής μετάγγισης σε συνδυασμό με τη θεραπεία αποσιδήρωσης και τις μεθόδους απεικόνισης. Οι τακτικές μεταγγίσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων εξαλείφουν τις επιπλοκές της αναιμίας, την αναποτελεσματική ερυθροποίηση, την υπερπλασία του ερυθρού μυελού και την διόγκωση των οστών, τις διαταραχές του οστικού μεταβολισμού, την οργανομεγαλία, ενώ αποκαθιστούν την φυσιολογική ανάπτυξη σε όλη την παιδική ηλικία με αποτέλεσμα την επέκταση της επιβίωσης.

Πλειάδα παραγόντων έχουν ενοχοποιηθεί για τις επιπλοκές της νόσου. Σε αυτούς ανήκουν η εναπόθεση σιδήρου, σιδήρου και η οξειδωτική επίδραση των ελεύθερων ριζών που προκύπτουν κατά τον πρόωρο θάνατο των ερυθροκυττάρων. Στην μεμβράνη των ερυθροκυττάρων αποκαλύπτονται «νέα» αντιγόνα, που οδηγούν στην απομάκρυνση των ερυθροκυττάρων με ανοσιακούς μηχανισμούς και συνακόλουθη διόγκωση του ήπατος και του σπληνός, αύξηση της μη συνδεδεμένης χολερυθρίνης και τελικά στην ανάπτυξη χολολίθων, με τη νόσο Gilbert να επιβαρύνει σημαντικά το φαινόμενο (9), (10). Η βλάβη της μεμβράνης προκαλεί αναστροφή των λιπιδίων της (flip-flop φαινόμενο), με αποτέλεσμα την εμφάνιση στην επιφάνεια του κυττάρου, των εξαιρετικά θρομβογόνων αρνητικά φορτισμένων μορίων φωσφοσερίνης, (11).

Το φαινόμενο αυτό ευθύνεται από κοινού με άλλες διεργασίες για την αυξημένη συχνότητα θρομβώσεων στην θαλασσαιμία. Άλλοι συνυπεύθυνοι παράγοντες είναι η παρουσία αυξημένου αριθμού αιμοπεταλίων και η μείωση των αντιθρομβωτικών πρωτεϊνών C και S, λόγω ηπατικής δυσλειτουργίας ή γενετικών παραγόντων θρομβοφιλίας. Άλλη συνέπεια της αιμόλυσης είναι η δέσμευση του μονοξειδίου του αζώτου από την αιμοσφαιρίνη που απελευθερώνεται. Ως αποτέλεσμα, μειονεκτεί η αγγειοδιαστολή, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει-σε συνδυασμό με άλλους παράγοντες (υψηλός αριθμός αιμοπεταλίων, ενεργοποίηση ενδοθηλίων με έκλυση ενδοθηλίνης και μορίων προσκόλλησης, τοπικές μικροθρομβώσεις)- σε πνευμονική υπέρταση, (12). Τελευταία, αλλά σημαντική πτυχή της παθοφυσιολογίας της θαλασσαιμίας είναι η ανώμαλα αυξημένη απορρόφηση σιδήρου από τις τροφές, η

οποία επιπροστίθεται στην ήδη υπάρχουσα δευτεροπαθή αιμοσιδήρωση λόγω των μεταγγίσεων. Όμως, η ανωμαλία αυτή διαπιστώνεται και στους πάσχοντες από ενδιάμεση θαλασσαιμία, που δεν μεταγγίζονται, και συχνά απολήγει σε επίπεδα ιστικού σιδήρου (και φερριτίνης) που επιβάλλουν αγωγή με χηλικούς παράγοντες.

Το πιο σοβαρό μειονέκτημα των μεταγγίσεων είναι η αδιάλειπτη συσσώρευση σιδήρου στους ιστούς. Ο σίδηρος αποθηκεύεται φυσιολογικά ενδοκυττάρια με τη μορφή φερριτίνης, μιας πρωτεΐνης η σύνθεση της οποίας επάγεται από την αύξηση των επιπέδων σιδήρου. Όταν ξεπεραστεί η ικανότητα αποθήκευσης της φερριτίνης, παθολογικές ποσότητες μεταβολικά ενεργού σιδήρου απελευθερώνονται ενδοκυτταρίως με τη μορφή αιμοσιδηρίνης και ελεύθερου σιδήρου. Αυτός ο μεταβολικά ενεργός σίδηρος καταλύει τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών, οι οποίοι βλάπτουν τα μεμβρανικά λιπίδια και άλλα μακρομόρια, οδηγώντας σε κυτταρικό θάνατο και τελικά σε ανεπάρκεια οργάνων. Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στην υπερφόρτωση των κυττάρων με σίδηρο είναι: α) οι υποδοχείς τρανσφερίνης στην κυτταρική επιφάνεια και η ικανότητα των κυττάρων να αναπτύξουν μηχανισμούς άμυνας έναντι ανόργανου σιδήρου, β) η ατομική ευαισθησία στο τοξικό φαινόμενο του σιδήρου. γ) η δευτεροπαθής ανάπτυξη βλάβης των οργάνων λόγω υπερφόρτωσης σιδήρου κατά τα έτη πριν από τη θεραπεία αποσιδήρωσης· και δ) ηπατικές διαταραχές, χρόνια υποξία και σχετιζόμενες ενδοκρινικές επιπλοκές. Οι ασθενείς με θαλασσαιμία και πολλαπλές μεταγγίσεις συχνά εμφανίζουν σοβαρές ενδοκρινικές επιπλοκές κυρίως λόγω υπερφόρτωσης σιδήρου, αναιμίας και χρόνιας ηπατικής νόσου, οι οποίες απαιτούν άμεση διάγνωση, θεραπεία και στενή παρακολούθηση από ειδικούς.

### **3.1 Ενδοκρινικές επιπλοκές**

Οι ενδοκρινικές ανωμαλίες συγκαταλέγονται στις πιο συχνές επιπλοκές της θαλασσαιμίας. Παρά την έγκαιρη καθιέρωση κατάλληλης θεραπείας αποσιδήρωσης, προβλήματα όπως η καθυστερημένη σεξουαλική ωρίμανση και η μειωμένη γονιμότητα μπορεί να επιμένουν. Ο προσδιορισμός του επιπολασμού των ενδοκρινικών επιπλοκών είναι δύσκολος εξαιτίας των διαφορών στην ηλικία έναρξης της αποσιδήρωσης και της συνεχιζόμενης βελτίωσης της επιβίωσης σε καλά αντιμετωπιζόμενους ασθενείς.

Οι ρυθμοί ανάπτυξης και οι ενδοκρινικές επιπλοκές ενός δείγματος 3.817 ασθενών με θαλασσαιμία σε 29 χώρες αναφέρονται στον Πίνακα 1, (13).

**Πίνακας 1. Ενδοκρινικές διαταραχές στη θαλασσαιμία**

		<b>Αριθμός ασθενών</b>	<b>%</b>
Μείωση ύψους	Άνδρες	664	31,1
	Γυναίκες	513	30,5
Πρωτοπαθής υποθυρεοειδισμός	Άνδρες	60	2,8
	Γυναίκες	64	3,8
Ινσουλινοεξαρτώμενος σακχαρώδης διαβήτης	Γυναίκες	75	3,5
	Άνδρες	46	2,7
Διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη	Άνδρες	109	5,1
	Γυναίκες	136	8
Υποπαραθυρεοειδισμός	Γυναίκες	40	6,5
	Άνδρες	125	7,4
Υπογοναδισμός	Άνδρες	353	43,3
	Γυναίκες	243	37,7
Ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης	Γυναίκες	53	7,1
	Άνδρες	148	8,8
<i>Αποτελέσματα από δείγμα 3.817 ασθενών με θαλασσαιμία 29 χωρών</i>			

### 3.1.1 Ανάπτυξη

Η επιβράδυνση της ανάπτυξης είναι συχνή στη μείζονα θαλασσαιμία. Τα μοτίβα ανάπτυξης είναι σχετικά κανονικά μέχρι την ηλικία των 9-10 ετών, οπότε η ταχύτητα ανάπτυξης αρχίζει να επιβραδύνεται. Οι κύριοι παράγοντες που συμβάλλουν στην επιβράδυνση της ανάπτυξης σε ασθενείς με θαλασσαιμία μπορεί να περιλαμβάνουν χρόνια αναιμία, υπερφόρτωση σιδήρου με μεταγγίσεις, υπερευαισθησία και χηλοτοξικότητα, (14). Άλλοι παράγοντες, που συνδέονται και με τους προαναφερθέντες, περιλαμβάνουν τον υποθυρεοειδισμό, τον υπογοναδισμό, την ανεπάρκεια αυξητικής ορμόνης, την ανεπάρκεια ψευδαργύρου, τη χρόνια ηπατική νόσο, την υποσιτισμό και το ψυχοκοινωνικό στρες. Η διερεύνηση ενός παιδιού με θαλασσαιμία που υπολείπεται στην ανάπτυξη είναι γενικά παρόμοια με εκείνη ενός παιδιού χωρίς θαλασσαιμία.

### 3.1.2 Καθυστερημένη εφηβεία και υπογοναδισμός

Η καθυστερημένη εφηβεία και ο υπογοναδισμός είναι οι πιο προφανείς κλινικές συνέπειες της υπερφόρτωσης σιδήρου. Ως καθυστερημένη εφηβεία ορίζεται ως η πλήρης έλλειψη εφηβικής ανάπτυξης σε κορίτσια μέχρι την ηλικία των 13 ετών και σε αγόρια μέχρι την ηλικία των 14 ετών. Ο υπογοναδισμός ορίζεται στα αγόρια ως απουσία διεύρυνσης των όρχεων (κάτω των 4 ml) και στα κορίτσια η απουσία ανάπτυξης του μαστού μέχρι την ηλικία των 16 ετών, (15).

Η αναστολή της ενήβωσης είναι μια σχετικά συχνή επιπλοκή σε μετρίως ή σε μεγάλο βαθμό υπερφορτωμένους με σίδηρο ασθενείς με θαλασσαιμία και χαρακτηρίζεται από έλλειψη προόδου της ήβης κατά τη διάρκεια ενός έτους ή και περισσότερο. Σε αυτές τις περιπτώσεις, το μέγεθος των όρχεων παραμένει 6-8 ml, και το μέγεθος του μαστού στο B3. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η ετήσια ταχύτητα ανάπτυξης είτε μειώνεται αισθητά είτε απουσιάζει εντελώς, (15).

Οι περισσότερες γυναίκες με μείζονα θαλασσαιμία παρουσιάζουν πρωτοπαθή αμηνόρροια, με δευτερογενή αμηνόρροια να αναπτύσσεται με την πάροδο του χρόνου, ιδιαίτερα σε ασθενείς με πλημμελή αποσιδήρωση. Η λειτουργία των ωθηκών σε τέτοιες περιπτώσεις είναι γενικά φυσιολογική, αλλά η απόκριση γοναδοτροφίνης στην ορμόνη απελευθέρωσης γοναδοτροφίνης (Gn-RH) είναι χαμηλή σε σύγκριση με ασθενείς με φυσιολογικούς κύκλους εμμήνου ρύσεως.

### **3.1.3 Υποθυρεοειδισμός**

Μπορεί να συμβεί σε ασθενείς με εκσεσημασμένη αναιμία ή /και υπερφόρτωση με σίδηρο και συνήθως εμφανίζεται στη δεύτερη δεκαετία της ζωής. Η κατάσταση είναι ασυνήθης σε ασθενείς με βέλτιστη συμμόρφωση στην θεραπεία, (15), (16).

Ο υποκλινικός υποθυρεοειδισμός είναι ασυμπτωματικός. Στον ήπιο και εμφανή υποθυρεοειδισμό, μπορεί να παρατηρηθούν συμπτώματα όπως επιβράδυνση της ανάπτυξης, μειωμένη δραστηριότητα, υπερβολικό βάρος, δυσκοιλιότητα, μειωμένη σχολική απόδοση, καρδιακή ανεπάρκεια και περικαρδιακή συλλογή.

Η επίπτωση του υποθυρεοειδισμού είναι ελαφρώς υψηλότερη στις γυναίκες. Συνήθως, ο θυρεοειδής αδένας δεν είναι ψηλαφητός, τα αντιθυρεοειδικά αντισώματα είναι αρνητικά και το υπερηχογράφημα του θυρεοειδούς δείχνει ένα ακανόνιστο πρότυπο με πάχυνση της κάψας του αδένα.

### **3.1.4 Διαταραχές του μεταβολισμού των υδατανθράκων**

Η μειωμένη ανοχή στη γλυκόζη και ο σακχαρώδης διαβήτης μπορεί να είναι συνέπεια της καταστροφής β-κυττάρων του παγκρέατος δευτερογενώς λόγω υπερφόρτωσης σιδήρου, χρόνιας ηπατικής νόσου, ιογενούς λοίμωξης σε συνδυασμό με γενετική προδιάθεση. Η παθογένεση μοιάζει με αυτή του διαβήτη τύπου 2, με διαφορές στην ηλικία έναρξης (μπορεί να ξεκινήσει νωρίς στη δεύτερη δεκαετία της ζωής) και αργή πρόοδο των διαταραχών στο μεταβολισμό της γλυκόζης και στην έκκριση ινσουλίνης.

### **3.1.5 Υποπαραθυρεοειδισμός**

Η υπασβεστιαμία, λόγω του υποπαραθυρεοειδισμού, είναι μια όψιμη επιπλοκή της υπερφόρτωσης σιδήρου και / ή της αναιμίας και αρχίζει συνήθως μετά την ηλικία των 16 ετών, (15). Η πλειοψηφία των ασθενών εμφανίζει σχετικά ήπια μορφή της νόσου συνοδευόμενη από παραισθησία. Σε πιο σοβαρές περιπτώσεις μπορεί να εμφανιστούν τετανία, επιληπτικές κρίσεις ή καρδιακή ανεπάρκεια.

Η διερεύνηση θα πρέπει να ξεκινά από την ηλικία των 16 ετών και περιλαμβάνει τη μέτρηση ασβεστίου και φωσφόρου ορού. Σε περιπτώσεις χαμηλού ασβεστίου ορού και υψηλών επιπέδων φωσφορικών θα πρέπει επίσης να αξιολογηθεί η παραθορμόνη. Η παραθορμόνη μπορεί να είναι φυσιολογική ή χαμηλή, με χαμηλές τιμές α 1,25 διυδροξυχοληκαλσιφερόλη (βιταμίνη D). Η οστική απεικόνιση δείχνει οστεοπόρωση και δυσπλασίες.



### 3.2 Ηπατικές επιπλοκές

Υπό κανονικές συνθήκες, περίπου το ένα τρίτο του αποθηκευμένου σιδήρου (φερριτίνη και αιμοσιδηρίνη) στο σώμα βρίσκεται στο ήπαρ. Περίπου 98% του ηπατικού σιδήρου βρίσκεται στα ηπατοκύτταρα, τα οποία αποτελούν το 80% της συνολικής μάζας του ήπατος. το υπόλοιπο 1,5-2% του συνολικού σιδήρου του ήπατος βρίσκεται στα δικτυοενδοθηλιακά κύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα κύτταρα του χοληφόρου συστήματος και τους ινοβλάστες. Η προοδευτική συσσώρευση σιδήρου σχετίζεται με την κυτταρική τοξικότητα, αν και οι συγκεκριμένοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί για τη βλάβη των ηπατοκυττάρων και την ίνωση του ήπατος δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Αυτές περιλαμβάνουν υπεροξειδωση των μεμβρανικών λιπιδίων των οργανιδίων, αυξημένη λυσοσωμική ευαισθησία και μειωμένο μιτοχονδριακό οξειδωτικό μεταβολισμό. Ο σίδηρος έχει επίσης άμεση επίδραση στη σύνθεση και / ή αποδόμηση κολλαγόνου και στις αλλοιώσεις των μικροσωμικών ενζύμων.

Το ήπαρ παίζει κεντρικό ρόλο στην ομοιόσταση σιδήρου. Εκτός από το σίδηρο που απελευθερώνεται από τα ερυθροκύτταρα που έχουν μεταγγιστεί, έχει προταθεί ένας αυξημένος ρυθμός απορρόφησης σιδήρου από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Αυτή η περίσσεια σιδήρου αρχικά περιορίζεται στα κύτταρα Kupffer. Όταν ο αυξημένος ρυθμός μετάγγισης προκαλεί μαζική υπερφόρτωση με σίδηρο, ευοδώνεται η ανάπτυξη ίνωσης και κίρρωσης. Σε ασθενείς με β-θαλασσαιμία, η συνύπαρξη λοίμωξης με το ιό HCV και η παρουσία σιδήρωσης με LIC πάνω από 16 mg/gr ξηρού βάρους ήπατος, αποτελούν ανεξάρτητους παράγοντες προόδου της ηπατικής κίρρωσης, (17), ενώ υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του ηπατικού σιδήρου και της ανάπτυξης της επαγόμενης από σίδηρο ηπατοτοξικότητας.

#### *HCV λοίμωξη*

Οι πολυμεταγγιζόμενοι ασθενείς με θαλασσαιμία είναι ευάλωτοι σε ιογενείς λοιμώξεις (ηπατίτιδα Β και C, τον HIV κ.α). Στην ηλικία των 7 ετών περίπου, το HBsAg ανιχνεύεται σε ποσοστό που κυμαίνεται μεταξύ 7-14% και τα αντισώματα έναντι του HCV σε ποσοστό 12.5%. Η συχνότητα ανίχνευσης anti-HCV αντισωμάτων σε ασθενείς με ομόζυγο β-θαλασσαιμία αυξάνεται συναρτήσει της ηλικίας, έτσι ώστε στη δεκαετία 20-30 ετών να εκτιμάται μεταξύ 35-90%. HCV-RNA(+) στο αίμα ανιχνεύεται στο 70% των anti-HCV(+) ασθενών, με επικράτηση των γονοτύπων 1 και 4 (>60%). Το ένα τρίτο των ασθενών έχει φυσιολογικές αμινοτρανσφεράσες. Ο βαθμός της αιμοσιδήρωσης ( $Fe > 7mg/g$ ) επηρεάζει την φυσική πορεία της ηπατικής

νόσου . Στην ηλικία των 25-35 ετών απαντάται σημαντικού βαθμού ίνωση (score >3) στο 45% και κίρρωση στο 8%, ενώ υπάρχει αυξημένος κίνδυνος ανάπτυξης ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, (18), (19).

### 3.3 Καρδιακές επιπλοκές

Οι επιπλοκές από την καρδιά στους ασθενείς με θαλασσαιμία αφορούν κυρίως στην αύξηση της καρδιακής παροχής και στις λοιμώξεις (μυοκαρδίτιδα). Η αυξημένη καρδιακή παροχή οφείλεται στο συνδυασμό της χρόνιας αναιμίας με άλλους παράγοντες. Σε αυτούς ανήκουν το αυξημένο ποσοστό αιμοσφαιρίνης F, (διαθέτει αυξημένη συγγένεια με το οξυγόνο, άρα και μειωμένη δυνατότητα απόδοσής του στους ιστούς), η αντιρροπιστική επέκταση του μυελού των οστών, η τυχόν συνύπαρξη ηπατικής βλάβης λόγω αιματογενών λοιμώξεων, η εναπόθεση σιδήρου, η εξωμυελική αιμοποίηση, καθώς και η επιρρέπεια των αγγείων σε διάταση εξαιτίας ανωμαλίας στη σύνθεση της ελαστίνης. Κλινικά σημαντική αύξηση της καρδιακής παροχής δεν παρατηρείται στους τακτικά μεταγγιζόμενους ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία. Ωστόσο, είναι ο βασικός παθογενετικός μηχανισμός στους μη μεταγγιζόμενους ασθενείς με ενδιάμεσο θαλασσαιμία, (20), (21).

Οι επαναλαμβανόμενες μεταγγίσεις οδηγούν σε υπερφόρτωση με σίδηρο, ενώ στους μη μεταγγιζόμενους ασθενείς υπερφόρτωση με σίδηρο προκαλείται από την αντιρροπιστική αύξηση της απορρόφησης του σιδήρου από τον πεπτικό σωλήνα. Η περίσσεια σιδήρου προσλαμβάνεται αρχικά από τα ιστικά μακροφάγα και στη συνέχεια εναποτίθεται στα ηπατοκύτταρα, στα μυοκαρδιακά κύτταρα και στα κύτταρα των ενδοκρινών αδένων προκαλώντας πλέον ιστική βλάβη. Ο πλήρης κορεσμός της τρανσφερίνης, οδηγεί στην εμφάνιση τοξικού ελεύθερου σιδήρου που εισέρχεται στα μυοκαρδιακά κύτταρα μέσω των διαύλων ασβεστίου. Ο εισερχόμενος σίδηρος εναποτίθεται με τη μορφή φερριτίνης, αιμοσιδηρίνης και ελεύθερου σιδήρου. Ο ελεύθερος σίδηρος προκαλεί το σχηματισμό δραστικών ριζών οξυγόνου και συνακόλουθες βλάβες στις κυτταρικές δομές όταν καταβληθούν οι αντισταθμιστικοί αντιοξειδωτικοί μηχανισμοί άμυνας του κυττάρου. Ως συνέπεια, προκαλείται ειδικού τύπου μυοπάθεια.

Κάποιες καρδιαγγειακές επιπλοκές δεν σχετίζονται με την υπερφόρτωση σιδήρου. Τέτοιες είναι η πνευμονική υπέρταση και το θρομβοεμβολικό αγγειακό επεισόδιο (εξαιτίας κολπικής μαρμαρυγής). Η καρδιακή λειτουργία μπορεί να επιδεινωθεί περαιτέρω από ανεπάρκεια βιταμινών, όπως θειαμίνης, βιταμίνης D, αλλά

και ιγνοστοιχείων που συναντώνται συχνά σε ασθενείς με θαλασσαιμία (22), (23), Συνοδές παθήσεις (υποπαραθυρεοειδισμός, υπογοναδισμός και υποθυρεοειδισμός), επίσης συμβάλλουν στην επιδείνωση της κατάστασης (24,25). Η οξεία μυοκαρδίτιδα, αν και σπάνια, επίσης μπορεί να επιδεινώσει την καρδιακή ανεπάρκεια και τον καρδιακό αποκλεισμό, (26).

### 3.4 Λοιμώξεις

Οι λοιμώξεις είναι η δεύτερη συχνότερη αιτία θανάτου στη μείζονα θαλασσαιμία. Οι κλινικοί που εμπλέκονται στη φροντίδα της θαλασσαιμίας θα πρέπει να έχουν πλήρη επίγνωση αυτού του κινδύνου και της σημασίας οποιασδήποτε πρώιμης παρέμβασης που μπορεί να τον περιορίσει, (27). Ωστόσο, όλο το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που έρχονται σε αραιή επαφή με ασθενείς με θαλασσαιμία, θα πρέπει να έχει την ίδια ευαισθησία, όπως και οι ίδιοι οι ασθενείς. Ένας ασθενής με μείζονα θαλασσαιμία δεν πρέπει να θεωρείται ως ανοσοκατασταλμένος *per se*, ιδιαίτερα αν η νόσος αντιμετωπίζεται ικανοποιητικά με την θεραπεία. Από την άλλη πλευρά, έχουν περιγραφεί πολλές τροποποιήσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα των ασθενών, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης των αριθμών των ουδετερόφιλων, αλλαγές στον αριθμό και τη λειτουργία των φυσικών κυττάρων φονέων, αύξηση του αριθμού και λειτουργία των CD8 κατασταλτικών κυττάρων, στην λειτουργία των μακροφάγων, στην χημειοταξία και φαγοκυττάρωση και στην παραγωγή ιντερφερόνης. Πολλοί παράγοντες που συνδέονται με την ασθένεια, τις επιπλοκές και τη θεραπεία της μπορεί να διευκολύνουν ή να επιδεινώσουν τη σοβαρότητα των λοιμώξεων. Η σπληνεκτομή, η μετάδοση παθογόνων με μετάγγιση αίματος, η υπερφόρτωση σιδήρου και οι χηλικοί παράγοντες ευοδώνουν την ευαισθησία στις λοιμώξεις. Ο σημαντικότερος μακροπρόθεσμος κίνδυνος μετά από σπληνεκτομή είναι η σήψη. Σε παλαιότερες μελέτες, ο κίνδυνος σηψαιμίας μετά τη σπληνεκτομή στη μείζονα θαλασσαιμία αυξάνεται περισσότερο από 30 φορές σε σύγκριση με τον κανονικό πληθυσμό, (28). Τα σύγχρονα προληπτικά μέτρα έχουν μειώσει αυτόν τον κίνδυνο, αλλά ο συνολικός αντίκτυπος αυτών των μέτρων είναι ασαφής.

Τα παθογόνα που συνηθέστερα συνδέονται με τη σηψαιμία μετά τη σπληνεκτομή είναι τα εξής: *Streptococcus pneumoniae* (που αντιπροσωπεύει πάνω από το 75% των τεκμηριωμένων βακτηριακών λοιμώξεων), *Haemophilus influenzae* και *Neisseria meningitidis*.

Ο ρόλος του φορτίου σιδήρου στην ευαισθησία σε λοίμωξη δεν έχει ακόμη αποδειχθεί πλήρως σε κλινικές δοκιμές. Είναι σαφές, ωστόσο, ότι μια ποικιλία μικροοργανισμών είναι περισσότερο παθογόνοι παρουσία υπερφόρτωσης σιδήρου. Η καλύτερη περιγραφή της συσχέτισης μεταξύ της βακτηριακής λοίμωξης, του ηλικιακού παράγοντα σιδήρου και του σιδήρου αφορά στην *Yersinia enterocolitica*. Πολλοί άλλοι οργανισμοί, όπως τα είδη *Klebsiella*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aerogenosa*, *Legionella pneumophila* και *Listeria monocytogenes*, έχει δειχθεί ότι έχουν αυξημένη μολυσματικότητα παρουσία περίσσειας σιδήρου. Από την άλλη πλευρά, η εξασθενημένη φαγοκυτταρική ικανότητα σε ασθενείς με θαλασσαιμία και η υπερφόρτωση σιδήρου αποτελούν επιβαρυντικούς παράγοντες, ενώ ένας πιθανός κίνδυνος των ηλικιακών παραγόντων είναι ότι μπορούν να χρησιμοποιηθούν από μικροοργανισμούς ως πηγή σιδήρου και έτσι να γίνουν πιο μολυσματικοί.

### **3.4.1 Ιογενείς λοιμώξεις**

#### *Ο ανθρώπινος παρβοϊός B-19 (HPV B19)*

Ο παρβοϊός B-19 είναι ένα κοινό παθογόνο που μπορεί να προκαλέσει ένα ευρύ φάσμα κλινικών εκδηλώσεων ήπιων έως σοβαρών, όπως απλαστικές κρίσεις και μυοκαρδίτιδα., ειδικά σε ασθενείς με ήδη μειωμένο το χρόνο ημίσειας ζωής των ερυθρών, (29).

#### *Ο ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV)*

Παρά τα προληπτικά μέτρα, πολλοί ασθενείς μολύνονται ακόμα σε χώρες όπου δεν έχουν ακόμη εφαρμοστεί αποτελεσματικά προστατευτικά μέτρα για την ασφάλεια του αίματος, συμπεριλαμβανομένης της επιλογής και του ελέγχου των αιμοδοτών.

#### *Ο ανθρώπινος κυτταρομεγαλοϊός (HCMV)*

Ο CMV που σχετίζεται με τη μετάγγιση έχει ένα ευρύ κλινικό φάσμα. Στον ανοσοκατασταλαμένο ξενιστή, όπως οι λήπτες μυελού των οστών ή των μοσχευμάτων οργάνων, η CMV λοίμωξη αποτελεί σημαντική, αν όχι μία από τις σημαντικότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας.

### 3.4.2 Βακτηριακές λοιμώξεις

Ο μικροοργανισμός *Yersinia* μεταδίδεται συχνότερα από την κατάποση μολυσμένων τροφίμων, κρέατος, γάλακτος ή νερού, αν και είναι συνήθης συμβιωτικός σε υγιή άτομα. Ο πιο γνωστός παράγοντας που προδιαθέτει τον οργανισμό σε λοιμογόνο δράση είναι η διαθεσιμότητα μιας μεγάλης ποσότητας σιδήρου, όπως συμβαίνει με τους ασθενείς με υπερβολική κατανάλωση τροφών πλούσιων σε ζωικό σίδηρο ή με εκείνους που υποβάλλονται σε αγωγή με δεσφερριζαμίνη, (30).

Οι λοιμώξεις *Klebsiella* στη μείζονα θαλασσαιμία και ακόμη περισσότερο στην HbE / b- thal σχετίζονται με υψηλά ποσοστά θνησιμότητας και νοσηρότητας. Σε μια μεγάλη αναδρομική μελέτη που περιελάμβανε 160 ασθενείς, ο επιπολασμός αναφέρθηκε ότι ήταν 7,5%, με κλινικές εκδηλώσεις που περιελάμβαναν την ιγμορίτιδα, την ενδοκρανιακή λοίμωξη, τη μηνιγγίτιδα, τη σηψαιμία και τα αποστήματα του ήπατος, του πνεύμονα και των νεφρών. Το ποσοστό θνησιμότητας ήταν 16% και τα μόνιμα νευρολογικά επακόλουθα ήταν 25%. Οι παράγοντες που προδιαθέτουν φαίνεται να είναι η υπερφόρτωση σιδήρου και η διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας, (31)

Η *Pseudomonas aeruginosa* στη θαλασσαιμία αποτελεί τη συνηθέστερη παθογόνο λοίμωξη σχετιζόμενη με κεντρικό φλεβικό καθετήρα. Μπορεί να προκαλέσει σοβαρές λοιμώξεις όπως η μηνιγγίτιδα, (32). Η σπληνεκτομή φαίνεται να είναι ο κύριος προδιαθεσικός παράγοντας.

Πολλά *in vitro* δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι ασθενείς με θαλασσαιμία, ιδιαίτερα εκείνοι που έχουν σπληνεκτομηθεί, έχουν μειωμένη οψωνική δραστηριότητα και φαγοκυτταρική αποτελεσματικότητα έναντι ειδών *Salmonella*. Συνολικά ωστόσο, ο *in vivo* επιπολασμός των μολύνσεων από τη σαλμονέλα δεν φαίνεται να είναι υψηλότερος σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα.

Όσον αφορά στον αιμόφιλο, οι ασθενείς με θαλασσαιμία εμφανίζονται να έχουν χαμηλότερη φυσική ανοσία σε αυτόν τον μικροοργανισμό, ωστόσο η ανοσία που προκαλείται από εμβόλια φαίνεται να είναι αποτελεσματική. Ευκαιριακές σοβαρές μυκητιασικές λοιμώξεις στη θαλασσαιμία παρατηρήθηκαν μόνο σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα και μετά από μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι στις περισσότερες περιπτώσεις, η ύπαρξη ενός υγιούς φορέα με αιμοσφαιρινική πάθηση παρέχει προστασία έναντι της κλινικής σοβαρότητας της ελονοσίας. Ωστόσο, το ίδιο δεν ισχύει για την ομόζυγη κατάσταση. Ασθενείς με β-θαλασσαιμία ή μεσομεγέθη δεν προστατεύονται από σοβαρή ελονοσία και

μπορεί να είναι πιο επιρρεπείς σε σοβαρές μορφές της νόσου, ανάλογα με την κλινική τους κατάσταση (αναιμία, σπληνομεγαλία, υπερφόρτωση σιδήρου και άλλες επιπλοκές).

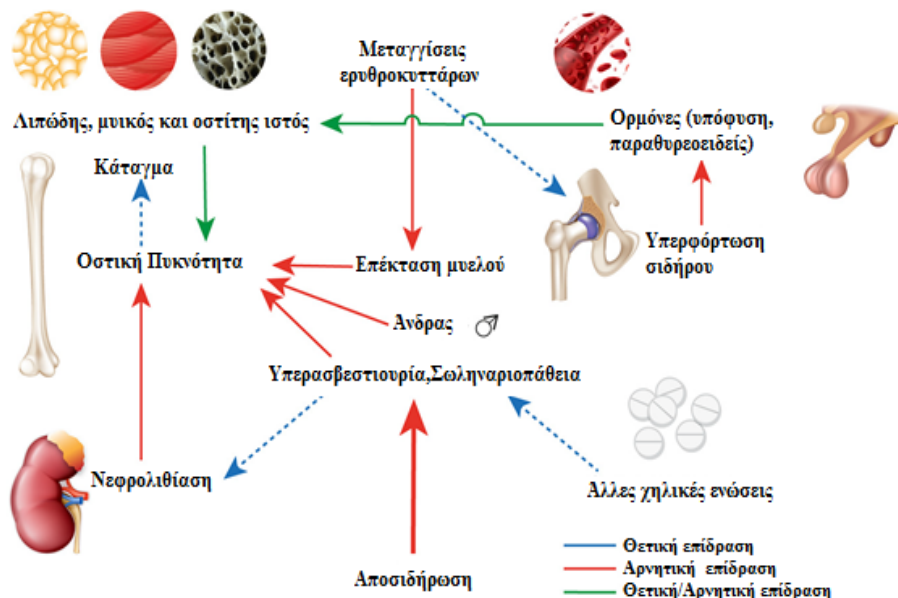
**Πίνακας 2. Σύνοψη των επιπτώσεων των λοιμώξεων στη θαλασσαιμία**

	Αιματογενής μετάδοση	Προδιαθεσικοί παράγοντες σοβαρότητας				Κλινικός προσανατολισμός			
		Αναμία	Σπληνεκτομή	Υπερφόρτιση σιδήρου	Χηλικοί παράγοντες	Διαθέσιμο εμβόλιο	Ευαισθησία σε αντιβιοτικά ευρέως φάσματος	Διακοπή χηλικών σε υποψία λοίμωξης	Παρατήρηση
Parvovirus B19	++	++	-	-	-	OXI	-	OXI	Κύηση
HIV	+++	-	+?	+	-	OXI	-	OXI	
HBV	+++		-	+?	-	NAI	-	OXI	
HCV	+++		-	++	-	OXI	-	OXI	
CMV	++		-	?	-	OXI	-	OXI	Μεταμόσχευση μυελού
Πνευμονόκοκκος	-	?	+++	-	-	NAI	NAI	NAI	
Μηνιγγιτιδόκοκκος	-		+++	-	-	NAI	NAI	NAI	
Αιμόφιλος	-		+++	-	-	NAI	NAI	NAI	
Klebsiella	-		-	+	-	OXI	NAI	NAI	
Pseudomonas	-		++	+	-	OXI	NAI	NAI	
Vibrio vulnificus	-		-	+	-	OXI	NAI	NAI	
Escherichia coli	-		-	+	-	OXI	NAI	NAI	
Salmonella	-		+	+	-	OXI	NAI	NAI	
Yersinia enterocolitica	+		-	+++	+++	OXI	OXI	NAI	deferroxamine
Μύκητες	-		-	++	++	OXI	OXI	NAI	Deferroxamine ανοσοκαταστολή

### 3.5 Διαταραχές του οστικού μεταβολισμού

Η οστεοπενία και η οστεοπόρωση, με τα συνοδά οστικά άλγη και τον αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων επηρεάζουν σημαντικά την ποιότητα ζωής των ασθενών και των δύο φύλων. Η συχνότητα καταγμάτων σε ασθενείς με θαλασσαιμία στη Β. Αμερική εκτιμάται στο 16,6% (μέσο Z/T score -2.78) με τον κίνδυνο να αυξάνεται με την ηλικία. (33).

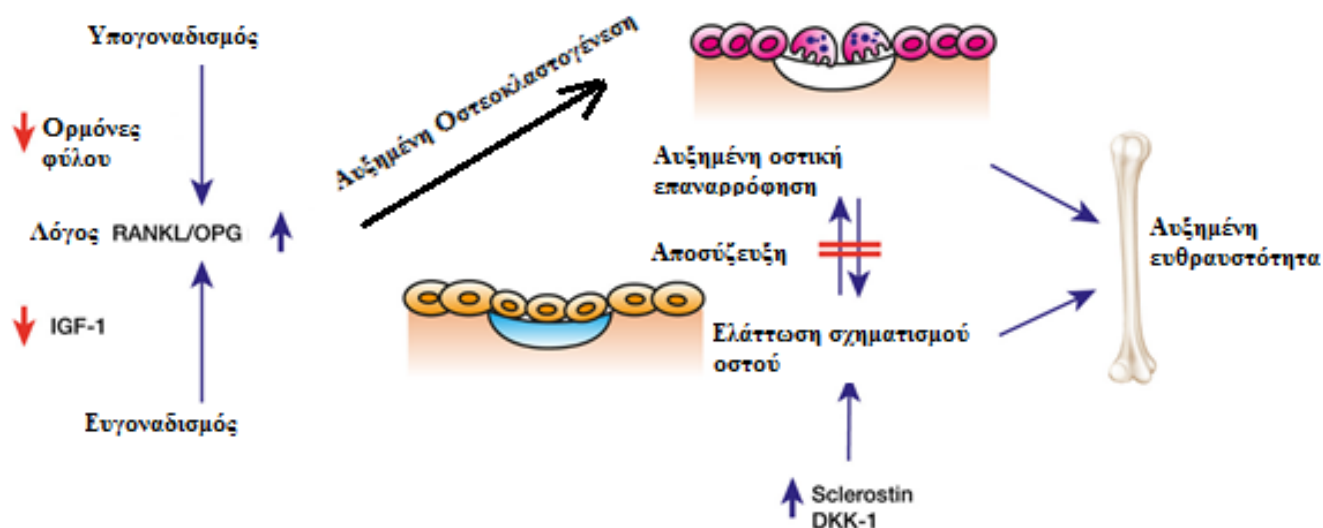
Η αιτιοπαθογένεια των διαταραχών του οστικού μεταβολισμού είναι σύνθετη και πολυπαραγοντική και ενοχοποιούνται μεταξύ άλλων η τοξικότητα από την εναπόθεση του σιδήρου (αναστολή οστεοβλαστών και οστικής ωρίμανσης - οστεομαλακία) και η κατάληψη χώρων λόγω αντιρροπιστικής επέκτασης του μυελού των οστών (μη αποδοτική ερυθροποίηση). Επίσης οι υψηλές δόσεις δεσφερριόξαμίνης σχετίζονται με αναστολή της δραστηριότητας των οστεοβλαστών και απόπτωσή τους. Περαιτέρω, η έλλειψη ψευδαργύρου (αυξημένη απέκκριση εξαιτίας της δράσης των χηλικών παραγόντων), είναι δυνατόν επίσης να μειώσει την οστική πυκνότητα, ειδικά σε συνδυασμό με την ανεπάρκεια βιταμίνης D. Για το λόγο αυτό απαιτείται επαρκής πρόσληψη ασβεστίου και χορήγηση βιταμίνης D κατά την εφηβεία, ώστε να διαφυλαχθεί κατά το δυνατόν η οστική μάζα στη μετέπειτα ζωή. (34), (35).



Σχήμα. Δυνητικοί μηχανισμοί απώλειας οστού στη θαλασσαιμία



Ο υπογοναδισμός είναι επίσης σημαντικό αίτιο οστεοπενίας- οστεοπόρωσης. Πιθανολογείται ότι οι στεροειδείς ορμόνες του φύλου αυξάνουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα μέσα από το σύστημα RANK/RANKL/OPG. Επιπλέον, η μείωση της αυξητικής ορμόνης και των στεροειδών του φύλου δεν επιτρέπει την πλήρη ανάκαμψη της οστικής μάζας, ενώ τα χαμηλά επίπεδα αυξητικού παράγοντα της ινσουλίνης (IGF) στους ασθενείς με θαλασσαιμία επιδρούν ανασταλτικά στους οστεοβλάστες.



### Σχήμα. Ο ρόλος της οδού σηματοδότησης RANKL στη θαλασσαιμία

Σύμφωνα με τον WHO, για τον ορισμό της οστεοπενίας και της οστεοπόρωσης χρησιμοποιείται ο δείκτης T-score. Ο δείκτης αυτός αναφέρεται στον αριθμό των σταθερών αποκλίσεων (SD) μείωσης της οστικής μάζας σε σχέση με υγιείς νέους ενήλικες του ίδιου φύλου. Έτσι, ως οστεοπενία ορίζεται τιμή T-score από -1 SD έως -2,5 SD (μείωση της οστικής μάζας από 1 έως 2,5 σταθερές αποκλίσεις) και οστεοπόρωση ορίζεται τιμή T-score  $\leq$  -2,5 (μείωση της οστικής μάζας πάνω από 2,5 σταθερές αποκλίσεις). Η μείωση μιας σταθερής απόκλισης αυξάνει τον κίνδυνο κατάγματος κατά 1,55-3 φορές. Τα ανωτέρω κριτήρια ωστόσο έχουν εφαρμογή σε γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση και άνδρες άνω των 50 ετών, (36), (37). Λόγω όμως των ιδιαιτεροτήτων που παρουσιάζουν οι ασθενείς με θαλασσαιμία (μειωμένη οστική μάζα και αδυναμία επίτευξης της μέγιστης οστικής πυκνότητας) είναι υπό συζήτηση κατά πόσο ο διεθνής ορισμός του WHO για την οστεοπενία και την οστεοπόρωση μπορεί να εφαρμοσθεί στην θαλασσαιμία. Επίσης αμφισβητείται η διαγνωστική αξία της απεικονιστικής μεθόδου DXA (απορροφησιομετρία ακτίνων X διπλής ενεργείας)

στους ασθενείς με θαλασσαιμία και χαμηλό ανάστημα, όπου υποεκτιμάται η οστική πυκνότητα και κατά συνέπεια υπερεκτιμάται η διάγνωση της οστεοπενίας ή της οστεοπόρωσης. Μία συγκριτική μελέτη μέτρησης της οστικής πυκνότητας με Z-scores στην ΟΜΣΣ (οσφυϊκή μοίρα σπονδυλικής στήλης) με την τεχνική DXA και την τεχνική της ποσοτικής υπολογιστικής τομογραφίας (QCT), επικεντρώνοντας στο προσδιορισμό της αρχιτεκτονικής του οστού με την υψηλής ευκρίνειας Υπολογιστική Τομογραφία (HRCT), έδειξε ότι ο συνολικός επιπολασμός της οστεοπόρωσης με την μέθοδο DXA ήταν 44 % ενώ με την QCT μόνον 6 %. Η εκτίμηση του φλοιού με την HRCT έδειξε διακοπές στη συνέχειά του σε 15/48 ασθενείς με θαλασσαιμία. Φαίνεται ότι η QCT παρέχει πρώιμες ενδείξεις για τις μεταβολές του σπογγώδους και του φλοιώδους οστού, διευκολύνοντας την πρόγνωση και την παρακολούθηση της θεραπείας, (38). Επιπλέον, η σύσταση του οστικού μυελού στους ασθενείς με θαλασσαιμία διαφέρει σημαντικά από τον υγιή πληθυσμό. Έτσι είναι δυνατή η παρουσία υπερπλαστικού ερυθρού μυελού σε ασθενείς που δεν μεταγγίζονται ικανοποιητικά, η παρουσία κάποιου βαθμού ερυθρού μυελού και αιμοσιδηρίνης σε ασθενείς που μεταγγίζονται μεν αλλά δεν υποβάλλονται σε συστηματική θεραπεία αποσιδήρωσης και τέλος η παρουσία διαφόρου βαθμού υπερπλαστικού ερυθρού μυελού και αιμοσιδηρίνης σε ασθενείς που μεταγγίζονται και αποσιδηρώνονται, (39). Η μεγάλη αυτή ετερογένεια στην παρουσία σιδήρου και υπερπλαστικού ερυθρού μυελού έχει ως αποτέλεσμα την απρόβλεπτη επίδραση στην απορρόφηση των ακτίνων X που χρησιμοποιούνται στις τεχνικές οστικής πυκνομετρίας κάτι που λειτουργεί ως συγχυτικός παράγοντας.

## **Κεφάλαιο 4. Θεραπεία**

Η βασική θεραπευτική αντιμετώπιση της θαλασσαιμίας περιλαμβάνει τη διενέργεια προγράμματος συχνών μεταγγίσεων, την αποσιδήρωση και την περιστασιακά την σπληνεκτομή. Ωστόσο, οι πραγματικά θεραπευτικές επιλογές στη θαλασσαιμία αφορούν στους επαγωγείς της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης HbF, στην μεταμόσχευση του μυελού των οστών και στην γονιδιακή θεραπεία.

### **4.1 Μετάγγιση αίματος και παραγώγων αίματος**

Οι τακτικές μεταγγίσεις αίματος αποσκοπούν στη διατήρηση επιπέδων αιμοσφαιρίνης σε βαθμό τέτοιο που να επιτρέπει την ικανοποιητική ιστική οξυγόνωση των ιστών, έτσι ώστε να περιορίζονται φαινόμενα όπως η μη αποδοτική ερυθροποίηση και να συνακόλουθά της (μυελική υπερπλασία, βράχυνση του χρόνου ζωής ερυθρών αιμοσφαιρίων), καθώς και η αυξημένη, αντιρροπιστική, απορρόφηση σιδήρου από το γαστρεντερικό σύστημα. Επειδή στους ασθενείς θα πρέπει να περιορίζονται φαινόμενα αλλοανοσοποίησης και τυχόν επιβλαβείς δράσεις των λευκοκυττάρων, οι μεταγγίσεις πραγματοποιούνται με λευκαφαιρέμένα λευκοκύτταρα, (40). Σε κάποιους ωστόσο ασθενείς πραγματοποιούνται μεταγγίσεις με συγκεκριμένες κατηγορίες ερυθροκυττάρων, όπως είναι τα πλυμένα ερυθροκύτταρα, τα κατεψυγμένα ερυθρά και τα νεοκύτταρα (νεαρά ερυθροκύτταρα) (41). Τα πλυμένα ερυθροκύτταρα δίνονται σε ασθενείς με υποτροπιάζουσες αλλεργικές αντιδράσεις λόγω μετάγγισης ή με έλλειψη ανοσοσφαιρίνης A (IgA). Τα κατεψυγμένα ερυθροκύτταρα χορηγούνται προκειμένου να διατηρηθεί ένα απόθεμα μονάδων αίματος από σπάνιους δωρητές και για ασθενείς που φέρουν ασυνήθη ερυθροκυτταρικά αντιγόνα, ενώ τα δε νεοκύτταρα χρησιμοποιούνται με την προσδοκία να περιορίσουν τον αριθμό και το μεσοδιάστημα των μεταγγίσεων. Ενέχουν όμως τον κίνδυνο λοιμώξεων και αλλοανοσοποίησης, επειδή ο λήπτης εκτίθεται σε μεγαλύτερο αριθμό δοτών. Προκειμένου να περιοριστεί το συνηθισμένο φαινόμενο της αλλοανοσοποίησης πραγματοποιούνται συστηματικοί έλεγχοι για την ανίχνευση νέων αντισωμάτων στους ασθενείς, με παράλληλο περιορισμό των δοτών με τα αντίστοιχα αντιγόνα, (40).

Προτού οι ασθενείς υποβληθούν σε μετάγγιση, γίνεται τυποποίηση των ερυθροκυτταρικών αντιγόνων, μεταξύ των οποίων και τα C, c, E, e και Kell. Η τυποποίηση επιτρέπει την αναγνώριση των αντισωμάτων, αν οι ασθενείς ευαισθητοποιηθούν σε αυτά σε δεύτερο χρόνο. Προκειμένου δε να αποφευχθεί η αλλοανοσοποίηση συνιστάται χρήση αίματος στο οποίο δεν περιέχονται τα αντιγόνα

C, E και Kell,. Συντάσσεται λεπτομερής αναφορά τυποποίησης αντιγόνων, ερυθροκυτταρικών αντισωμάτων και αντιδράσεων στις μεταγγίσεις για κάθε ασθενή, ενώ αποφεύγεται η μετάγγιση αίματος από συγγενή πρώτου βαθμού, έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος ανάπτυξης αντισωμάτων και να μπορεί ο συγγενής να γίνει δότης στην περίπτωση πιθανής μεταμόσχευσης μυελού των οστών, (42). Στόχος είναι η διατήρηση της αιμοσφαιρίνης στα μεσοδιαστήματα των μεταγγίσεων σε συγκέντρωση περίπου 12 g/dl και να μην ελαττώνεται κάτω από το επίπεδο των 9 - 10 g/dl πριν από την μετάγγιση. Ό,τι ισχύει για τη μείζονα β-μεσογειακή αναιμία εφαρμόζεται και στην ενδιάμεση β-θαλασσαιμία.

#### **4.2 Σπληνεκτομή**

Η σπληνεκτομή εφαρμόζεται στις περιπτώσεις που υπάρχει κίνδυνος ρήξης του, ή υπέρμετρες εκδηλώσεις υπερσπληνισμού με πτώση του αριθμού και των τριών σειρών (αιμοπετάλια ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια) λόγω αυξημένης καταστροφής εντός των σπληνικών κολποειδών. Η απόφαση πρέπει να λαμβάνεται πάντοτε μετά από περίσκεψη και εκτίμηση κόστους/οφέλους λόγω επιπλοκών της σπληνεκτομή, όπως επιρρέπεια σε λοιμώξεις, θρομβοεμβολικά επεισόδια και πνευμονική υπέρταση. Η υπερπλασία του σπληνός οφείλεται κυρίως στην χρόνια αιμόλυση αλλά και στην εξωμυελική αιμοποίηση. Η σωστή κλινική αντιμετώπιση με αύξηση της αποδοτικότητας των μεταγγίσεων μπορεί να καθυστερήσει ή ακόμα και να υποστρέψει τον υπερσπληνισμό. Το μέγεθος του σπλήνα παρακολουθείται με φυσική εξέταση ή/και με υπερηχογράφημα, (43).

#### **4.3 Αιμοσιδήρωση και θεραπεία αποσιδήρωσης**

Το πρόγραμμα υπερμετάγγισης στα άτομα με θαλασσαιμία οδηγεί σε συσσώρευση σιδήρου και εναπόθεση αυτού στον μυελό των οστών και στα διάφορα συμπαγή όργανα στα οποία και εκδηλώνονται τοξικές δράσεις, ιδιαίτερα δε στην καρδιά. Άλλωστε, οι καρδιακές επιπλοκές αποτελούσαν την κύρια αιτία νοσηρότητας και θνησιμότητας των ατόμων με β-θαλασσαιμία την προηγούμενη δεκαετία. Οι επιπλοκές αυτές εκδηλώνονται σχετικά όψιμα (μετά το 20ο έτος της ηλικίας), και σε αυτές ανήκουν η περικαρδίτιδα, η μυοκαρδίτιδα, οι αρρυθμίες και η διατακτική μυοκαρδιοπάθεια που οδηγεί σε συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια. Για τους ανωτέρω λόγους, ο στόχος της θεραπείας αποσιδήρωσης είναι η επίτευξη ασφαλών επιπέδων σιδήρου και η εξάλειψη της τοξικής δράσης. Οι μεταγγιζόμενοι ασθενείς

υπόκεινται σε καρδιολογικό έλεγχο υποχρεωτικά μία φορά ετησίως (κλινική εξέταση, τεστ κοπώσεως, απεικονιστικό έλεγχο καρδιάς κ.α.), (44).

Η ουσία δεσφερριόξαμίνη αποτέλεσε τον πρώτο χηλικό παράγοντα που χρησιμοποιήθηκε για την αποσιδήρωση, ήδη από τις αρχές της δεκαετίας του 1960. Η ουσία χορηγείται υποδορίως με ειδική αντλία βραδείας έγχυσης σε διάστημα τουλάχιστον 12 ωρών, δεσμεύει εκλεκτικά το σίδηρο και οδηγεί στην αποβολή του κυρίως μέσω των ούρων. Ευθύνεται για την αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης και καλή εικόνα των σημερινών πασχόντων. Το μεγαλύτερο πρόβλημα είναι η πτωχή συμμόρφωση των ασθενών λόγω της δυσκολίας στον τρόπο χορήγησης (υποδορίως με ανάγκη καθετηριασμού, πολύωρη διάρκεια χορήγησης σε καθημερινή βάση).

Η ουσία δεφεριπρόνη αποτέλεσε τον πρώτο χηλικό παράγοντα αποσιδήρωσης per os και μπήκε σε κλινική χρήση περί τις αρχές του 2000. Ως ουσία με μικρότερο μοριακό βάρος διαθέτει μεγαλύτερη ικανότητα διείσδυσης στο κύτταρο και αποτέλεσε την θεραπευτική επιλογή εκλογής στην περίπτωση υπερφόρτωσης σιδήρου στην καρδιά, (45). Εμφανίζει ωστόσο το μειονέκτημα της ουδετεροπενίας.

Η δραστική ουσία δεφερασιρόξη είναι η πιο πρόσφατη χηλική ένωση που κυκλοφορεί και αρχικά χρησιμοποιήθηκε σε περιπτώσεις που η θεραπεία με δεσφερριόξαμίνη είχε αντενδείξεις. Χορηγείται από του στόματος και έχει το πλεονέκτημα της εφάπαξ χορήγησης λόγω του μεγαλύτερου χρόνου ημιζωής με αποτέλεσμα να έχει την καλύτερη συμμόρφωση.

Η δεσφερριόξαμίνη χορηγείται υποδόρια σε 8-12 ώρες, σε δόση 40- 50 mg/kg, τουλάχιστον πέντε φορές την εβδομάδα για ασθενείς με μείζονα β- μεσογειακή αναιμία και 2-3 φορές την εβδομάδα για ασθενείς με ενδιάμεση β-μεσογειακή αναιμία. Σε ασθενείς υψηλού κινδύνου χρησιμοποιείται και η συνεχής 24ωρη ενδοφλέβια ή υποδόρια χορήγηση με υποκλείδιο καθετήρα ή αντλίες έγχυσης αντίστοιχα. Η συνδυαστική χορήγηση δεφεριπρόνης και δεσφερριόξαμίνης έχει αποδειχθεί πως έχει δώσει τα καλύτερα αποτελέσματα καρδιοπροστατευτικής δράσης, (46), (47). Συνίσταται επιπλέον και προσεκτική χορήγηση βιταμίνης C (200-300 mg ημερησίως ως διατροφικό συμπλήρωμα), η οποία επάγει την δέσμευση του σιδήρου από την δεσφερριόξαμίνη και την αποσιδηρωτική ικανότητα πλην όμως σε μεγάλες δόσεις αυξάνει δυνητικά τον κίνδυνο καρδιοτοξικότητας.

#### 4.4 Επαγωγείς εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης

Τιχη της εμβρυϊκής αιμοσφαιρίνης (HbF) παραμένουν στην ενηλικίωση, και αναλογούν σε ποσοστό μικρότερο από το 1% της συνολικής Hb στους περισσότερους ενήλικες. Ωστόσο, τα επίπεδα HbF ενδέχεται να υπερβούν αυτό το όριο σε ορισμένα άτομα. Ασθενείς με β-θαλασσαιμία και κληρονομική παραμονή υψηλών επιπέδων παραγωγής HbF έχουν μια ηπιότερη κλινική πορεία σε σχέση με άλλους ασθενείς με αυτή την ασθένεια και πολλοί δεν απαιτούν μεταγγίσεις. Οι θεραπευτικές προσεγγίσεις που ενεργοποιούν την παραγωγή HbF είναι επομένως μια ελκυστική επιλογή. Τα επίπεδα συγκεντρώσεων της HbF έχουν κληρονομική βάση. Μελέτες γονιδιώματος έχουν συγκρίνει τα άτομα με χαμηλά και επίμονα υψηλά επίπεδα HbF, με στόχο να εντοπίσουν ρυθμιστικές περιοχές της γονιδιακής έκφρασης της σφαιρίνης. Έχουν βρεθεί ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ του επιπέδου HbF και του μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNPs) για τουλάχιστον τέσσερις γονιδιωματικούς τόπους στο χρωμόσωμα 11p15.4, το χρωμόσωμα 6q23.3 στο χρωμόσωμα 2p16.1 και στο χρωμόσωμα 19p13.13, (48).

Η υδροξυουρία (HU) είναι ένας αναστολέας του κυτταρικού κύκλου (S-φάση) που έχει αποδειχθεί κλινικά αποτελεσματική σε ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο. Έχει επίσης κλινικό όφελος για ορισμένους ασθενείς με ενδιάμεση θαλασσαιμία και μειώνει την ανάγκη για μεταγγίσεις σε μια υποομάδα ατόμων με β-θαλασσαιμία. Ωστόσο, ανεπιθύμητες ενέργειες έχουν αναφερθεί, μεταξύ άλλων κυτταροπενία, υπερχρωματισμός, αύξηση βάρους, ευκαιριακές λοιμώξεις, αζωοσπερμία σε περίπου 80% των ανδρών (ακόμη και έτη μετά τη λήξη της θεραπείας) καθώς και υπομαγνησιαίμια. Υπάρχει μικρός ή καθόλου κίνδυνος για λευχαιμία, αλλά η υδροξυουρία πιστεύεται ότι είναι τερατογόνος, (49), (50).

Λαμβάνοντας υπόψη τις πιθανές δυσμενείς επιπτώσεις και την αποτελεσματικότητα μόνο σε ένα υποσύνολο ασθενών, είναι σημαντικό να εντοπιστούν οι ασθενείς που πιθανώς θα ανταποκριθούν πριν από την έναρξη της θεραπείας. Η αύξηση των επιπέδων HbF μετά από χορήγηση HU σε ασθενείς με β-θαλασσαιμία είναι σημαντική και συσχετίζεται με τον πολυμορφισμό XmnI, αν και αυτό το αποτέλεσμα δεν έχει επιβεβαιωθεί από όλες τις μελέτες. Η συσχέτιση είναι λιγότερο εμφανής για τη θαλασσαιμία που δεν εξαρτάται από τη μετάγγιση. Αυτό εγείρει προβληματισμούς, καθώς οι θεραπείες στοχεύουν στην αύξηση των επιπέδων Hb κατά λίγα γραμμάρια κυρίως σε ασθενείς με ενδιάμεση μη-μεταγγισιοεξαρτώμενη θαλασσαιμία παρά για ασθενείς με μεταγγισιοεξαρτώμενη β-θαλασσαιμία. Το αρχικό

επίπεδο HbF συσχετίζεται σαφώς με τον δείκτη πολυμορφισμού BCL11A, τους δείκτες SNP και τα επίπεδα του καταστολέα γ-σφαιρίνης BCL11A, τόσο σε φυσιολογικά άτομα όσο και σε ασθενείς με β- αιμοσφαιρινοπάθειες. Ωστόσο, μόνο μερικές μελέτες έχουν διερευνήσει τη συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών του HbF και την απάντηση στη θεραπεία με HU, ενώ τα αποτελέσματα ποικίλουν. Σε μια μελέτη ασθενών με β-θαλασσαιμία, ιρανικής καταγωγής, οι πολυμορφισμοί του ιντρονίου 2 του BCL11A βρέθηκαν να συσχετίζονται με την ανταπόκριση στη θεραπεία με HU. Αντίθετα, σε μελέτες που περιελάμβαναν ασθενείς με δρεπανοκυτταρική νόσο (SCA), τα επίπεδα BCL11A και τα SNPs δεν βρέθηκαν να συσχετίζονται με την επαγωγή της HbF μετά από HU θεραπεία, υποδηλώνοντας έναν σημαντικό ρόλο για τον BCL11A τόσο ως προς τον έλεγχο των επιπέδων HbF, αλλά άλλων παραγόντων που απαιτούνται προκειμένου η HU να αυξήσει τα επίπεδα HbF, (51).

Μια σειρά από άλλες, μη εκλεκτικές κυτταροτοξικές ενώσεις, παράγωγα λιπαρών οξέων βραχείας αλυσίδας (SCFAD) και η ερυθροποιητίνη (Epo) έχουν επίσης αξιολογηθεί σε κλινικές δοκιμές. Ορισμένοι πιστεύεται ότι ενεργούν μέσω επιγενετικών μηχανισμών. Αυτό δεν προκαλεί έκπληξη δεδομένης της συσχέτιση ανάμεσα στην επιγενετική τροποποίηση και το αναπτυξιακό πρότυπο έκφρασης της σφαιρίνης, ενώ κάποιες από τις παραλλαγές της σύνθεσης HbF στους ενήλικες μπορεί να συνδέονται με γονιδιακούς τόπους ευαίσθητους σε επιγενετική ρύθμιση.

Ωστόσο, οι μηχανισμοί δράσης αυτών των ενώσεων δεν είναι πλήρως κατανοητοί, επειδή ανήκουν σε πολλές κατηγορίες, συμπεριλαμβανομένων εκείνες των κυτταροτοξικών και υπομεθυλιωτικών παραγόντων (5- αζακυτιδίνη, δεσιταβίνη, HU), των αναστολέων ιστονών όπως βουτυρικά παράγωγα, και αντιαποπτωτικά (Epo ή Kit ligand). Συμβατικές θεραπείες (μετάγγιση ερυθρών αιμοσφαιρίων και χηλικοί παράγοντες αποσιδήρωσης) βελτιώνουν την ποιότητα ζωής και την επιβίωση των ασθενών. Η μεταμόσχευση αλλογενών αιμοποιητικών αρχέγονων κυττάρων (HSCT) προσφέρει σήμερα μια οριστική θεραπεία για ασθενείς με β-θαλασσαιμία. Η HSCT αποτελεί μια επιτυχημένη τεχνική και εφαρμόζεται για περισσότερα από 30 χρόνια. Έχουν γίνει πολλές προσπάθειες ώστε να κατηγοριοποιηθούν οι παράγοντες κινδύνου ανάλογα με τα διαφορετικά στάδια και διαδικασίες της HSCT, με στόχο την μείωση των ποσοστών νοσηρότητας και θνησιμότητας και την επέκταση των ενδείξεων θεραπείας σε περισσότερους ασθενείς με στόχο βελτίωση της συνολικής επιβίωσης. Αρκετοί παράγοντες έχουν αποδειχθεί ότι επηρεάζουν την τελική έκβαση

της διαδικασίας: κριτήρια βαρύτητας νόσου πριν από τη μεταμόσχευση (ηπατομεγαλία, πυλαία υπέρταση, ηπατική ίνωση και ασαφές/ασυνεπές ιστορικό αποσιδήρωσης), ηλικία κατά τη μεταμόσχευση, πηγή των βλαστικών κυττάρων (περιφερικό αίμα, μυελός των οστών, αίμα ομφάλιου λώρου), ιστοσυμβατότητα, προπαρασκευαστική θεραπευτική αγωγή και εκρίζωση της υπερπλασίας του μυελού πριν από τη μεταμόσχευση. Παρά την έλλειψη στοιχείων από τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες συγκρίνοντας πηγές δότη και / ή θεραπευτικά σχήματα, η HSCT είναι πλέον ευρέως αποδεκτή ως θεραπευτική αγωγή με αποτέλεσμα μια μακροπρόθεσμη ποιότητα ζωής παρόμοια με εκείνη του γενικού πληθυσμού και υψηλότερη εκείνων που αντιμετωπίστηκαν συμβατικά και δεν έχουν ενεργό νόσο, (48).

#### 4.5 Μεταμόσχευση μυελού οστών

Σε μια πρωτοποριακή για την εποχή μελέτη, η ομάδα του Pesaro κατένειμε νέους ασθενείς σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με την απουσία ή παρουσία ενός, δύο ή τριών παραγόντων κινδύνου πριν από τη μεταμόσχευση: ηπατομεγαλία > 2 cm, ίνωση / πυλαία υπέρταση και μη-συμμορφούμενο ιστορικό αποσιδήρωσης (κατηγορία 1: κανένας παράγοντας κινδύνου, κατηγορίας 2 ένα ή δύο παράγοντες κινδύνου και την κατηγορία 3 τρεις παράγοντες κινδύνου). Η μεταμόσχευση HLA (ανθρώπινου λευκοκυτταρικού αντιγόνου) συμβατών κυττάρων από αδελφό σε νεαρά άτομα κατηγορίας 1 ή κατηγορίας 2 σε συνθήκες μυελο-αφανισμού (14 mg / kg βουσουλφάνης & 200 mg / kg κυκλοφωσφαμίδης) και κυκλοσπορίνη για προφύλαξη από τη νόσο του μοσχεύματος έναντι του ξενιστή (GVDH), έδωσε εξαιρετικά αποτελέσματα (82-90% η επιβίωση χωρίς ασθένεια). Η θεραπεία ήταν εξαιρετικά τοξική σε παιδιατρικούς ασθενείς κατηγορίας 3 (μόνο 55% επιβίωσαν). Η συνολική επιβίωση αυξήθηκε στο 74% μειώνοντας τη δόση της κυκλοφωσφαμίδης κάτω από 200 mg / kg, αλλά η πιθανότητα εμφάνισης απόρριψη μοσχεύματος (GR) παρέμεινε υψηλή (35%) και η επιβίωση άνευ συμβαμάτων παρέμεινε χαμηλή (49%), πιθανώς λόγω ανεπαρκούς ανοσοκαταστολής και / ή αποτυχίας εξάλειψης της μαζική ερυθροειδούς υπερπλασίας, (52), (53), (54).

Λόγω της μακροχρόνιας έκθεσης σε υπερφόρτωση σιδήρου, οι περισσότεροι ασθενείς πάνω από την ηλικία των 16 ετών έχουν χαρακτηριστικά κατηγορίας 3, και οι πρώιμες προσπάθειες να αντιμετωπιστούν με μεταμόσχευση, με υψηλές δόσεις κυκλοφωσφαμιδίου, ήταν απογοητευτικές. Συνολικά έξι ασθενείς πέθαναν από



αποτυχία μοσχεύματος ή GVDH σε μία μελέτη, (55). Η χρήση προπαρασκευαστικού σχήματος προσαρμοσμένου στους παράγοντες κινδύνου που εντοπίζονται σε νέους ασθενείς βελτίωσε το αποτέλεσμα για τα ενήλικα άτομα, αλλά η συνολική επιβίωση παρέμεινε χαμηλή (63-65%). Η επιβίωση χωρίς απόρριψη ήταν ελαφρώς καλύτερη σε σύγκριση με αυτή για τους νέους ασθενείς κατηγορίας 3 (60-62%), κυρίως επειδή τα ποσοστά απόρριψης ήταν χαμηλότερα στους ενήλικους απ' ό,τι στα παιδιά, για άγνωστους λόγους. Συνολικά, τα αποτελέσματα για ασθενείς κατηγορίας 3 ήταν πολύ χειρότερα από τους ασθενείς κατηγορίας 1 ή 2. Η παρουσία χρόνιας ενεργού ηπατίτιδας κατά το χρόνο μεταμόσχευσης είχε ισχυρή αρνητική επίδραση στην επιβίωση. Η ηπατομεγαλία > 5 cm (κατηγορία III υψηλού κινδύνου) βρέθηκε να σχετίζεται με φτωχή κλινική έκβαση μετά από HSCT με συμβατικό σχήμα θεραπείας σε σύγκριση με άλλους ασθενείς κατηγορίας III. Αυτή η υποομάδα ασθενών είχε πολύ υψηλό κίνδυνο απόρριψης και τοξικότητα σχετιζόμενη με το θεραπευτικό σχήμα. Αντικρουόμενα ήταν τα αποτελέσματα για τη θνησιμότητα που σχετίζεται με τη μεταμόσχευση όταν άλλαξε το μυελοκαταστατικό σχήμα από βουσουλφάνη και κυκλοφωσφαμίδη σε τριοσουλφάνη, φλουδαραβίνη και θειοτέπα (TreoFluT), θεραπεία που ωστόσο δεν βελτίωσε τα ποσοστά απόρριψης. Ωστόσο, σε καλά επιλεγμένες ομάδες ασθενών κατηγορίας III και, ακόμη πιο σημαντικά, στην υποομάδα της τάξης III υψηλού κινδύνου, η χρήση ενός συνδυασμού TreoFluT συσχετίστηκε με σημαντική βελτίωση στην επιβίωση, (56). Σε αυτή τη μελέτη, η αύξηση του κινδύνου απόρριψης λόγω της μικρότερης έντασης της χημειοθεραπείας εξουδετερώθηκε με τη χρήση βλαστικών κυττάρων περιφερικού αίματος (PBSC) αντι μυελού. Σε παιδιατρικούς ασθενείς κατηγορίας 3, ο αφανισμός του θαλασσαιμικού μυελού και η ισχυρότερη προπαρασκευαστική ανοσοκαταστολή συμπεριλαμβανομένης της HU, της αζαθειοπρίνης, της φλουδαραβίνης και της υπερ-μετάγγισης οδήγησε σε αυξημένη επιβίωση χωρίς συμβάματα σε ποσοστό 80-85% .

Η χρήση αυτού του πρωτοκόλλου σε ενήλικες δεν μείωσε τη σχετιζόμενη με τη μεταμόσχευση θνησιμότητα, και η επιβίωση χωρίς θαλασσαιμία παρέμεινε χαμηλή. Η συμπερίληψη της αντι-θυμοκυτταρικής σφαιρίνης (ATG) στο προπαρασκευαστική αγωγή παιδιατρικών ασθενών από όλες τις κατηγορίες, μαζί με την προσαρμογή των συγκεντρώσεων βουσουλφάνης και κυκλοφωσφαμιδίου, μείωσε τη συχνότητα εμφάνισης της GVHD, ελαχιστοποίησε την απόρριψη και τη θνησιμότητα που σχετίζεται με τη μεταμόσχευση και φάνηκε να αμβλύνει τις διαφορές μεταξύ ασθενών από διαφορετικές κατηγορίες Pesaro, σε έρευνα που διεξήχθη στην Ελλάδα και τη

Γαλλία. Η μεταμόσχευση αίματος ομφάλιου λώρου και κυττάρων μυελού των οστών προσφέρουν παρόμοια πιθανότητα μακροπρόθεσμης θεραπείας, αλλά με χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης GVHD, (57).

Ένα από τα κύρια εμπόδια στην HSCT με κύτταρα από HLA πανομοιότυπα αδέρφια είναι η περιορισμένη διαθεσιμότητα δωρητών, η οποία είναι, θεωρητικά, 25% για κάθε αδελφό. Ο συνδυασμός της προεμφυτευτικής γενετικής διάγνωσης και η HLA συμβατότητα παρέχει μια αξιόπιστη πηγή βλαστικών κυττάρων από υγιή αδέρφια, αλλά τα ποσοστά επιτυχούς μεταμόσχευσης μετά από διέγερση των ωοθηκών παραμένουν χαμηλά. Η πιθανότητα εύρεσης ενός μη συγγενικού δότη (UD) με 9/10 ή 10/10 HLA-συμβατότητα (HLA-A, -B, -C, eDRB1 και -DQB1) υπερβαίνει το 70% για τους ασθενείς με Ευρωπαϊκή καταγωγή, αλλά αυτή η πιθανότητα εξαρτάται από την εθνικότητα. Αυτή η προσέγγιση δεν χρησιμοποιείται ευρέως σε ενήλικες, λόγω της υψηλής συχνότητας εμφάνισης του GVHD, αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία των παιδιών με κατηγορίας I/ II β-θαλασσαιμία με την προϋπόθεση ότι χορηγείται ATG, (58).

Κύτταρα δωρητών μπορούν επίσης να ληφθούν από δείγματα ομφάλιου λώρου. Η μεταμόσχευση κυττάρων ομφάλιου λώρου που προέρχονται από HLA-πανομοιότυπα αδέρφια είναι μια βιώσιμη εναλλακτική λύση σε ασθενείς κατηγορίας I / II. Επιπλέον, αυτά τα κύτταρα έχουν το θεωρητικό πλεονέκτημα της ανοχής σε υψηλότερο βαθμό HLA ασυμβατότητας σε σχέση με τα ενήλικα κύτταρα προκαλώντας χαμηλότερο επίπεδο συχνότητα εμφάνισης οξείας και χρόνιας GVHD. Ωστόσο, σε μια μελέτη που συγκέντρωσε δεδομένα από 32 κέντρα μεταμόσχευσης από το 1996 έως το 2009, η επιβίωση και η επιβίωση χωρίς νόσο ήταν αρκετά χαμηλές (62% και 20%), αντίστοιχα, σε ασθενείς με β-θαλασσαιμία και με λήψη κυττάρων ομφάλιου λώρου από ασύμβατους δότες μετά από μυελοκαταστολή. Πλην του θανάτου, η αποτυχία του μοσχεύματος ήταν η κύρια αιτία αποτυχίας της θεραπείας. Αυτά τα αποτελέσματα διέφεραν από εκείνα μιας μελέτης της Ταϊβάν αναφέροντας την επιβίωση του 88% των νεαρών ασθενών που έλαβαν μια ή δύο μονάδες ομφάλιου λώρου μετά από ένα πλήρες μυελοκαταστατικό σχήμα. Το 74% αυτών των ασθενών παρέμενε ελεύθερο νόσου πέντε χρόνια μετά την εμφύτευση. Τόσο η χρόνια όσο και οξεία GVHD εμφανίστηκαν, αλλά οι περισσότερες περιπτώσεις ήταν μέτριες, (48).

#### 4.6 Γονιδιακή θεραπεία

Η έννοια της γονιδιακής θεραπείας για την β-θαλασσαιμία εμφανίστηκε ήδη από το 1978 στο Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια στο Λος Άντζελες (UCLA). Πρώιμες προσπάθειες για τη θεραπεία των ασθενών με βήτα-θαλασσαιμία με την εισαγωγή του γονιδίου β-σφαιρίνης σε κύτταρα μυελού των οστών, το 1980, ήταν εντελώς ανεπιτυχείς. Η επιτυχία της γονιδιακής θεραπείας έγκειται στον προσεκτικό σχεδιασμό αποτελεσματικών και λειτουργικών φορέων (vectors), μέσω των οποίων επιτυγχάνεται η μεταφορά και ένθεση του γονιδίου στο γενετικό υλικό του κυτταρικού στόχου, τα οποία στην περίπτωση της β-θαλασσαιμίας είναι τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα. Αυτή η ενσωμάτωση πρέπει να είναι στοχευμένη και να πραγματοποιείται έτσι ώστε να αποφεύγεται η χαμηλή γονιδιακή έκφραση. Στην περίπτωση της β-θαλασσαιμίας, για να είναι αποτελεσματική και ρεαλιστική η μοριακή θεραπευτική προσέγγιση, οι φορείς πρέπει να χαρακτηρίζονται από:

1. Ιστική, δηλαδή ερυθροποιητική εξειδίκευση ως προς την ικανότητα μεταγωγής αλλά και της έκφρασης του γονιδίου
2. Ασφαλής και ακριβής μεταφορά του γονιδίου στα προγονικά αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα από τον φορέα χωρίς ενδείξεις ογκογένεσης λόγω ένθεσης
3. Αυξημένη αλλά και ρυθμιζόμενη έκφραση του γονιδίου ώστε να επιτυγχάνονται θεραπευτικά επίπεδα
4. Έκφραση ανεξάρτητη από την θέση εισαγωγής
5. Μακροπρόθεσμη διατήρηση της έκφρασης του γονιδίου, δηλαδή απουσία αποσιώπησης.

##### *Ογκορετροϊικοί φορείς*

Οι πρώτες προσπάθειες για σταθερή υψηλή διαγονιδιακή έκφραση με τη βοήθεια φορέα πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση ογκορετροϊών ή αλλιώς γ-ρετροϊών, που μαζί με τους λεντι-ιούς είναι οι δύο πιο σημαντικές γενιές της συγκεκριμένης οικογένειας. Πιο συγκεκριμένα, οι Williams et al.(1984), (59) κατόρθωσαν να εισαγάγουν ένα γονίδιο-δείκτη σε αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα ποντικού, χρησιμοποιώντας φορέα προερχόμενο από τον ιό της λευχαιμίας του ποντικού (MLV- μυϊκή λευχαιμία του ιού), μετά από αντικατάσταση των γονιδίων *gag*, *pol* και *env* με το διαγόνιο επιλογής. Στη συνέχεια, ανάλογοι φορείς χρησιμοποιήθηκαν για να εκφράσουν τη β-σφαιρίνη σε αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα ποντικού, δυστυχώς όμως χωρίς ικανοποιητικό αποτέλεσμα, δεδομένου ότι έδωσαν χαμηλά επίπεδα έκφρασης, με τα επίπεδα της β-σφαιρίνης να αποτελούν μόνο το 0-2% του

συνολικού ενδογενούς mRNA. Προκειμένου να αυξήσουν τα επίπεδα έκφρασης της β-σφαιρίνης, η Novak και οι συνεργάτες της ενσωμάτωσαν στον ιικό φορέα MLV, το LCR από τον γονιδιακό τόπο των β-σφαιρινών (στοιχείο απαραίτητο για την υψηλή έκφραση αυτών των γονιδίων). Ωστόσο, τα αποτελέσματα ήταν φτωχά, επειδή ο φορέας είχε χαμηλό τίτλο και ήταν γενετικά ασταθής (πιθανόν λόγω του μεγάλου μεγέθους του τμήματος του LCR που ενσωματώθηκε στον ιικό φορέα), (60). Μεταγενέστερες έρευνες επέτρεψαν την επίλυση του προβλήματος της χαμηλής έκφρασης του διαγονιδίου και της σταθερότητας των ιικών φορέων.

#### *Λεντικοί φορείς*

Οι λεντιϊκοί φορείς αντικατέστησαν τους ρετροϊκούς φορείς με αποτέλεσμα την βελτίωση της γονιδιακής έκφρασης.

#### *Φορείς β-σφαιρίνης*

Οι πρώτοι φορείς που σχεδιάστηκαν για τη γονιδιακή θεραπεία της β-θαλασσαιμίας, ήταν φορείς β-σφαιρίνης, φορείς δηλαδή που έφεραν την διαγονίδιο της ανθρώπινης β-σφαιρίνης, σε μεταλλάξεις του οποίου οφείλεται και η παθογένεια της ασθένειας. Στη συνέχεια σχεδιάστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν φορείς γ-σφαιρίνης, με βάση την παρατήρηση ότι θαλασσαιμικοί ασθενείς με το σύνδρομο της HPFH έχουν χαμηλότερα επίπεδα αναιμίας, περισσότερο ήπια κλινικά συμπτώματα και συνήθως δεν απαιτούν μετάγγιση.

Η εισαγωγή στη θεραπεία των λεντιϊκών φορέων είχε ως αποτέλεσμα την επιτυχημένη έκφραση του θεραπευτικού διαγονιδίου της β- ή γ-σφαιρίνης του ανθρώπου σε ποντίκια και συνακόλουθα την φαινοτυπική βελτίωση της νόσου *in vivo*. Με τον τρόπο αυτό έγινε δυνατή και η αποκατάσταση της ερυθροποίησης *in vitro*, αφού η έκφραση επετεύχθη και σε ανθρώπινα αρχέγοντα αιμοποιητικά CD34 + κύτταρα απομονωμένα από το μυελό των οστών ή περιφερικό αίμα ασθενών με β-θαλασσαιμία. Ορόσημο ήταν η πρώτη επιτυχημένη κλινική δοκιμή στη Γαλλία τον Ιούνιο του 2007 κατά την οποία ένας 18χρονος ασθενής με μείζονα β-θαλασσαιμία ανεξαρτητοποιήθηκε από τις μεταγγίσεις, μόλις ένα χρόνο μετά από την μεταμοσχεύσεις αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων που είχαν υποστεί μεταμόσχευση με λεντιϊκό φορέα της β-σφαιρίνης. Η βελτίωση των συνθηκών καλλιέργειας των CD34 + των κυττάρων *in vitro* με σκοπό την εμπλουτισμό τους, καθώς και η αναζήτηση εναλλακτικών πηγών βλαστικών κυττάρων-στόχων, θα οδηγήσουν σε ακόμα πιο επιτυχημένες και ασφαλείς κλινικές μελέτες στο εγγύς μέλλον, καθώς υπάρχει η επιφύλαξη για την ενεργοποίηση ογκογονιδίων, (61).

## Κεφάλαιο 5. Οστεοπόρωση

### 5.1 Εισαγωγή

Ως οστεοπόρωση ορίζεται η σκελετική διαταραχή, η οποία χαρακτηρίζεται από μείωση και απώλεια της οστικής μάζας, καθώς και αποδιοργάνωση της μικροαρχιτεκτονικής του οστίτη ιστού, με αποτέλεσμα την ευθραυστότητα του οστίτη ιστού και την ευπάθεια σε κατάγματα. Κλινικό της χαρακτηριστικό είναι η εμφάνιση καταγμάτων μετά από ελαφρύ τραυματισμό (τραύμα χαμηλής βίας). Μια απλή πτώση ή μια μικρή κάκωση μπορεί να προκαλέσει κάταγμα, με συνηθέστερη εντόπιση στη σπονδυλική στήλη, στο ισχίο και στον καρπό. Στις ηλικίες κάτω των 65 ετών η πάθηση είναι σαφώς συχνότερη στις γυναίκες, με αναλογία 8 προς 1. Η μεγάλη αυτή διαφορά αποδίδεται στο γεγονός ότι μετά την εμμηνόπαυση, η μέση ετήσια απώλεια της οστικής μάζας για τις γυναίκες είναι της τάξεως του 3%, ενώ αντίστοιχα για τους άνδρες στις ίδιες ηλικίες η ετήσια απώλεια είναι 1%, (62).

Η οστεοπόρωση μπορεί να ταξινομηθεί σε δύο γενικές κατηγορίες, την πρωτοπαθή οστεοπόρωση και τη δευτεροπαθή οστεοπόρωση. Η πρωτοπαθής οστεοπόρωση σχετίζεται με τη γήρανση, ενώ η δευτεροπαθής οστεοπόρωση προκαλείται από ορισμένες ιατρικές παθήσεις ή φάρμακα, όπως συμβαίνει σε υπογοναδισμό, υπερασβεστιουρία, υπερπαραθυροειδισμό, υπερθυροειδισμό, ρευματοειδή αρθρίτιδα και χρόνια νεφρική νόσο κλπ., οι οποίες οδηγούν σε αυξημένο κίνδυνο για κάταγμα.

Η πρωτοπαθής οστεοπόρωση υποδιαιρείται ανάλογα με την ηλικία στον τύπο 1 (ηλικία <70 ετών) και τύπου 2 (ηλικία > 70 ετών). Η οστεοπόρωση τύπου 1 είναι πιο συχνή στις γυναίκες και είναι συνήθως ορμονοεξαρτώμενη. Η οστεοπόρωση τύπου 1 ονομάζεται επίσης μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση. Χαρακτηρίζεται από υπερβολική απορρόφηση οστού και μεγαλύτερη αναλογικά απώλεια σπογγώδους οστού σε σχέση με το φλοιώδες οστό. Η οστεοπόρωση τύπου 2, η οποία είναι επίσης γνωστή ως γεροντική οστεοπόρωση, συναντάται και στα δύο φύλα. Η οστεοπόρωση τύπου 2 χαρακτηρίζεται συνήθως από μειωμένο σχηματισμό οστού και επηρεάζει τόσο το σπογγώδες, όσο και το φλοιώδες οστό. Μια άλλη σημαντική μορφή οστεοπόρωσης που είναι γνωστή ως οστεοπόρωση από δυσχρησία συμβαίνει λόγω σκελετικής αποφόρτισης. Ο μακροχρόνιος κλινοστατισμός, η ακινητοποίηση λόγω κινητικής παράλυσης, η εφαρμογή γυψοαρθρα για την αποκατάσταση καταγμάτων και η παρατεταμένη έλλειψη βαρύτητας κατά τη διάρκεια της διαστημικής πτήσης

αποτελούν συνηθισμένες αιτίες αυτού του τύπου της οστεοπόρωσης. Κατά την παρατεταμένη ακινητοποίηση, η απώλεια μηχανικής καταπόνησης στο οστό προκαλεί επαναρρόφηση οστού και αναστέλλει τον σχηματισμό οστού. Σε παιδιά ηλικίας 8 έως 14 ετών, μια σπάνια μορφή οστεοπόρωσης γνωστή ως νεανική οστεοπόρωση προκαλείται συχνά από υπερασβεστιουρία και κακή απορρόφηση ασβεστίου, (63).

## 5.2 Επιδημιολογία

Με την πρόοδο της ηλικίας, η μείωση της οστικής πυκνότητας (BMD) και η επικράτηση της οστεοπόρωσης αυξάνονται. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, Ευρώπη και Ιαπωνία, η οστεοπόρωση επηρεάζει περίπου 75 εκατομμύρια ανθρώπους. Χρησιμοποιώντας τα κριτήρια του παγκόσμιου οργανισμού υγείας (ΠΟΥ), το 30% των Καυκάσιων μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών έχει οστεοπόρωση στο ισχίο, στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης ή στο άπω αντιβράχιο. Αυτό είναι συγκρίσιμο με το ποσοστό κινδύνου κατάγματος για μια γυναίκα ηλικίας 50 ετών σε μία από αυτές τις τρεις θέσεις. Μέχρι την ηλικία των 80 ετών, το 70% των γυναικών είναι οστεοπορωτικές στο ισχίο, στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης ή στο άπω αντιβράχιο. Ο επιπολασμός της οστεοπόρωσης, που εκτιμάται με βάση τις τιμές αναφοράς από τον νεαρό πληθυσμό, ποικίλλει ανάλογα με την περιοχή. Στη Σουηδία, 6,3% των ανδρών και 21,2% των γυναικών ηλικίας 50 έως 80 ετών ταξινομούνται ως οστεοπορωτικοί. Η οστεοπόρωση προκαλεί περίπου 9 εκατομμύρια κατάγματα ετησίως ανά τον κόσμο, από τα οποία περισσότερα από 4,5 εκατομμύρια εμφανίζονται στην Αμερική και την Ευρώπη. Ο εκτιμώμενος κίνδυνος μείωσης της διάρκειας ζωής για καρπό, ισχίο ή σπονδυλικό κάταγμα είναι περίπου 30 έως 40% στις ανεπτυγμένες χώρες, αριθμός κοντά στον αντίστοιχο της στεφανιαίας καρδιακής νόσου. Ως εκ τούτου, στην ηλικία των 50 ετών, ο εκτιμώμενος κίνδυνος μιας καυκάσιας γυναίκας για πρόκληση ενός οστεοπορωτικού κατάγματος είναι 46-53%. Αντίστοιχα, ο εκτιμώμενος κίνδυνος κατάγματος κατά τη διάρκεια ζωής για καυκάσιους άνδρες είναι 13 έως 21%. Ο εκτιμώμενος κίνδυνος κατά τη διάρκεια ζωής σε κάταγμα ισχίου σε καυκάσιους ηλικίας 50 ετών κυμαίνεται από 17% έως 23% στις γυναίκες και από 6% και 11% στους άνδρες. Ο κίνδυνος σπονδυλικού κατάγματος είναι ελαφρώς χαμηλότερος στην ηλικία των 50 ετών, περίπου 15% στις γυναίκες, (64), (65), (66).

### 5.3 Παθοφυσιολογία

Η συντονισμένη δράση των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών που λειτουργούν επί της οστικής επιφάνειας αποτελεί τη βάση του υγιούς οστού στον ενήλικο πληθυσμό. Εντός περίπου 10 χρόνων, ένας ώριμος σκελετός θα υποστεί πλήρη αναδιαμόρφωση κατά την οποία το παλαιό οστό αντικαθίστανται από νέο και με τον τρόπο αυτό διατηρείται η ομοιόσταση και η αντοχή των οστών καθ' όλη τη διάρκεια του κύκλου ζωής ενός ενήλικου ανθρώπου. Κατά τη διάρκεια της αναμόρφωσης των οστών (bone remodelling), οι οστεοκλάστες και οι οστεοβλάστες συνεργάζονται στενά, που σημαίνει ότι όταν αυξάνεται ή μειώνεται η δραστηριότητα του ενός, άλλος συνήθως ακολουθεί. Στην κυτταρική ρύθμιση της οστικής αναδιαμόρφωσης συμμετέχει η είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη RANKL η οποία εκφράζεται σε οστεοβλάστες, ενεργοποιημένα T-λεμφοκύτταρα και στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών. Η RANKL δεσμεύεται στον υποδοχέα RANK σε προ-οστεοκλάστες και επάγει την διαφοροποίησή τους σε οστεοκλάστες, με επακόλουθη αύξηση της οστικής απορρόφησης. Όπως και ο RANKL, ο παράγοντας διέγερσης αποικιών μακροφάγων (M-CSF) εκφράζεται επίσης στην επιφάνεια των οστεοβλαστών και παίζει σημαντικό ρόλο, καθώς επάγει την έκφραση γονιδίων που προάγουν τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών. Η αύξηση της δραστηριότητας των οστεοκλαστών και η μείωση της δραστηριότητας των οστεοβλαστών ελαττώνει τη θεμέλια ουσία των οστών και εντείνει την αφαλάτωσή τους, γεγονός που οδηγεί σε οστεοπόρωση. Είναι γνωστό ότι η καθαρή οστική μάζα διατηρείται εφ' όσον υπάρχει συζευγμένη ή ισορροπημένη δραστηριότητα μεταξύ οστεοβλαστών και οστεοκλαστών, ωστόσο οι ακριβείς μηχανισμοί που εμπλέκονται στη σύζευξη σημάτων που συνδέουν την οστική επαναρρόφηση και τον σχηματισμό δεν είναι πλήρως γνωστοί. Θεωρείται ότι η απελευθέρωση αυξητικών παραγόντων από τη θεμέλια ουσία, καθώς και ο εκκρινόμενοι από τους οστεοκλάστες παράγοντες, όπως και παράγοντες που συνδέονται με την μεμβράνη είναι μεταξύ των σημαντικότερων συντελεστών στη διαδικασία σύζευξης οστεοκλαστών-οστεοβλαστών, (67).

### 5.4 Κλινικοεργαστηριακός έλεγχος

Όταν πιθανολογείται «οστεοπόρωση», επιβάλλεται πλήρης κλινικοεργαστηριακός έλεγχος προκειμένου να αξιολογηθούν συγκεκριμένοι παράγοντες κινδύνου που σχετίζονται με τα λεγόμενα κατάγματα χαμηλής βίας και να ταυτοποιηθεί η απώλεια οστικής μάζας. Με τον τρόπο αυτό καθίσταται δυνατή και η

αιτιολογική θεραπεία της νόσου. Οι εξεταζόμενοι παράγοντες είναι ανθρωπομετρικοί, κληρονομικοί, παθογενετικοί, φαρμακευτικοί, του τρόπου ζωής ενώ συμμετέχουν συνεργικά και παθογενετικά στην ανάπτυξη της. Κάποιοι είναι μείζονος σημασίας και σχετίζονται ευθέως και με την συχνότητα των καταγμάτων, ενώ άλλοι, όπως οι διατροφικοί είναι μικρότερης σημασίας. Στο πλαίσιο αυτό αξιολογούνται η ηλικία, το φύλο, ο δείκτης μάζας σώματος, η χρήση καπνού και οινοπνεύματος, η αγωγή με κορτικοειδή, και το ιστορικό καταγμάτων χαμηλής βίας. Πιο συγκεκριμένα και σε σχέση με την ηλικία αναμένεται σταθερά ανοδική συχνότητα των σπονδυλικών καταγμάτων μετά την ηλικία των 50 ετών και μεγάλη αύξηση της συχνότητας των καταγμάτων του ισχίου μετά την ηλικία των 70 ετών. Αναφορικά με το φύλο, παρατηρείται αύξηση των σπονδυλικών καταγμάτων στις γυναίκες, ήδη από τα πρώτα μετεμμηνοπαυσιακά χρόνια ενώ στους άνδρες, αυτό συμβαίνει μετά την ηλικία των 65 ετών. Χαμηλός δείκτης (<20) μάζας σώματος έχει συσχετιστεί με αυξημένη πιθανότητα κατάγματος ισχίου (>10% στα επόμενα δέκα χρόνια για γυναίκες >65 ετών), ανεξαρτήτως αποδιδόμενης αιτίας του χαμηλού BMI ή άλλων παραγόντων κινδύνου. Οποιοδήποτε κάταγμα χαμηλής ενέργειας (πτώση από ύψος ορθίου ή χαμηλότερο) αυξάνει τον κίνδυνο για επόμενο κάταγμα. Ο σχετικός κίνδυνος αυξάνεται κατά 1,5 έως 9,5 φορές, ανάλογα με τον αριθμό των προηγούμενων καταγμάτων, την ανατομική θέση εμφάνισής τους και την ηλικία του ασθενούς. Επίσης, το ιστορικό κατάγματος ισχίου των γονέων αυξάνει τον κίνδυνο για κάθε οστεοπορωτικό κάταγμα κατά 17% αλλά και κατά 49% τον κίνδυνο ειδικά για κάταγμα ισχίου. Τα κορτικοειδή σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο σπονδυλικών καταγμάτων. Ως όριο θεωρείται η δόση τουλάχιστον 5 mg πρεδνιζολόνης την ημέρα για τουλάχιστον 3 μήνες. Η επίδραση στον καταγματικό κίνδυνο παραμένει και μετά τη διακοπή της αγωγής. Το κάπνισμα, ακόμα και το περιστασιακό διαταράσσει το φυσιολογικό ρυθμό οστικού μεταβολισμού εις βάρος της οστεοπαραγωγής, με αποτέλεσμα τον (αναστρέψιμο μετά τη διακοπή) αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων, (68). Η κατανάλωση περισσότερων από τρεις μονάδες (30 gr καθαρού οινοπνεύματος) την ημέρα, έχει πολλαπλές επιδράσεις στον οστικό μεταβολισμό (τοξική δράση στα κύτταρα του οστού, δυσαπορρόφηση ασβεστίου-βιτ. D, αύξηση συχνότητας πτώσεων κ.ά.), (69).

Οι ακόλουθες εργαστηριακές βιοχημικές εξετάσεις πρώτης γραμμής θεωρούνται απαραίτητες και ενδείκνυνται για την καλύτερη διερεύνηση του ασθενούς με οστεοπόρωση: Μέτρηση του ασβεστίου και του φωσφόρου στον ορό (και σε συλλογές ούρων 24ώρου), της αλβουμίνης του ορού για τον υπολογισμό του



διορθωμένου ασβεστίου ορού, ουρία και κρεατινίνη, ολική αλκαλική φωσφατάση, ηλεκτροφόρηση λευκωμάτων ορού, γενική αίματος, T.K.E, παραθορμόνη (PTH), και βιταμίνη D.

## 5.5 Διάγνωση

Στην μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση η διάγνωση τίθεται με τη μέτρηση οστικής πυκνότητας/BMD χρησιμοποιώντας τη μέθοδο DXA (απορροφησιομετρίας διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X). Αντίθετα, στην προεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση δεν υπάρχει ομοφωνία σχετικά με τα διαγνωστικά κριτήρια. Ο λόγος είναι ότι τα άτομα που έχουν οστεοπόρωση με συνοδό οστική ευθραυστότητα δεν μπορούν εύκολα να διακριθούν από εκείνα τα υγιή άτομα με χαμηλή επιφανειακή οστική πυκνότητα / sBMD λόγω χαμηλής κορυφαίας οστικής μάζας. Η τελευταία μπορεί να είναι κληρονομική, να συνοδεύεται από χαμηλό σωματικό βάρος και υπάρχει ιστορικό καθυστερημένης ήβης, ή να αναφέρεται η επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων κατά την ανάπτυξη. Στους νέους ενήλικες, η διάγνωση της οστεοπόρωσης τίθεται από την παρουσία καταγμάτων ευθραυστότητας και δεν στηρίζεται μόνο στην BMD. Δευτερογενής αιτιολογία συναντάται στο 44-90% των νέων ενηλίκων με οστεοπόρωση ή κατάγματα, ανεξαρτήτως φύλου. Πιθανόν τα δευτερογενή αίτια χαμηλής οστικής μάζας και αυξημένου καταγματικού κινδύνου να είναι τροποποιήσιμα με την ανάλογη θεραπευτική αγωγή. Προκειμένου να αξιολογηθεί ο καταγματικός κίνδυνος στους ασθενείς, έχει εκπονηθεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) το εργαλείο FRAX. Έχει στηριχτεί σε ατομικά μοντέλα ασθενών στα οποία ενσωματώνονται οι κίνδυνοι που σχετίζονται τόσο με κλινικούς παράγοντες κινδύνου όσο και με την οστική πυκνότητα (BMD) στον αυχένα του μηριαίου, (70), (71).

## 5.6 Θεραπεία

Η οστική πυκνότητα, όπως αυτή εκφράζεται από τα αποτελέσματα της οστικής πυκνομετρίας με μέθοδο DXA, αναφέρεται στην ποσότητα ανόργανης οστικής ουσίας (gr) ανά μονάδα προβαλλόμενης επιφανείας οστού (cm<sup>2</sup>). Συνεπώς, μια σειρά από παθολογικές καταστάσεις (τα περισσότερα μεταβολικά νοσήματα των οστών - πρωτοπαθής οστεοπόρωση, οστεομαλακία, υπερπαραθυρεοειδισμός, υπερκορτιζολαιμία, ομοκυστινουρία, υποφωσφατασία, ατελής οστεογένεση κ.ά. - άλλα νοσήματα, όπως κακοήθειες του οστίτη ή του αιμοποιητικού ιστού, πρωτοπαθείς

ή μεταστατικές) ευθύνονται για τη χαμηλή οστική πυκνότητα, όπως αυτή αποτυπώνεται απεικονιστικά. Αν και η ότι η μέθοδος δεν είναι παθογνωμονική για κάποια παθολογική κατάσταση και πάρα τις παραπάνω αδυναμίες, η «οστεοπόρωση» αξιολογείται με κριτήριο το T-score της DXA όπως ορίστηκε από τον WHO (1994). Η «γκρίζα» περιοχή της νόσου (T-score μεγαλύτερο του -2,5 και μικρότερο του -1) χαρακτηρίστηκε ως «οστεοπενία» και τα άτομα με «οστεοπενική» πυκνομετρία προτείνεται να λαμβάνουν θεραπεία με βάση την ύπαρξη των εκάστοτε αναγνωρισμένων παραγόντων κινδύνου για κάταγμα. Πλέον ο όρος «οστεοπενία» τείνει να αντικατασταθεί από τον όρο «χαμηλή οστική πυκνότητα» ή «χαμηλή οστική μάζα». Προκειμένου για λευκές μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, η χαμηλή οστική πυκνότητα που προσδιορίζεται με την μέθοδο DXA σε οποιαδήποτε ανατομική θέση, συναρτάται με αυξημένη πιθανότητα κατάγματος σε αυτή τη θέση. Η αύξηση του σχετικού καταγματικού κινδύνου εκτιμάται από 1,2 έως και 4,4 φορές για κάθε ελάττωση της οστικής πυκνότητας κατά μία σταθερή απόκλιση (standard deviation, SD) συγκριτικά με την μέση τιμή υγιών νεαρών γυναικών (T-score) για την αντίστοιχη θέση μέτρησης, (71).

#### **Ενδείξεις αγωγής υπάρχουν στις ακόλουθες περιπτώσεις:**

- Σπονδυλικό κάταγμα χαμηλής βίας
- Κάταγμα ισχίου χαμηλής βίας
- Περισσότερα από ένα κατάγματα χαμηλής βίας σε διαφορετική ανατομική θέση (π.χ. κάταγμα κερκίδας)
- Οστική πυκνότητα ισχίου (ολικό ισχίο ή αυχένιας μηριαίου) ή/και Ο.Μ.Σ.Σ. με T score  $\leq -2,5$
- T score οστικής πυκνότητας ανάμεσα στο -1,0 και -2,5 (οστεοπενία) αλλά με 10-ετή καταγματικό κίνδυνο  $\geq 10\%$  για μείζον οστεοπορωτικό κάταγμα ή/και  $\geq 2,5\%$  για κάταγμα ισχίου, για άτομα ηλικίας 50-75 ετών.
- T score οστικής πυκνότητας ανάμεσα στο -1,0 και -2,5 (οστεοπενία) αλλά με 10-ετή καταγματικό κίνδυνο  $\geq 15\%$  για μείζον οστεοπορωτικό κάταγμα ή/και  $\geq 5\%$  για κάταγμα ισχίου, για άτομα ηλικίας άνω των 75 ετών.

Η θεραπεία της οστεοπόρωσης αποσκοπεί στο να μειώσει τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα που σχετίζεται με το πρώτο κάταγμα και με όλα τα επόμενα πιθανά κατάγματα. Αν υπάρχει ιστορικό προηγούμενου κατάγματος στον περιφερικό σκελετό η πιθανότητα κατάγματος σε οποιαδήποτε άλλη περιοχή του σκελετού αυξάνεται κατά 2-8 φορές. Το σύνολο των φαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη για

την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης έχουν συσχετιστεί με ελάττωση των σπονδυλικών καταγμάτων, ενώ για ορισμένα αναφέρεται και μείωση των μη σπονδυλικών καταγμάτων ή/και των καταγμάτων του ισχίου. Παρόλο που φαρμακευτική αγωγή της οστεοπόρωσης θα έπρεπε να συνεχίζεται εφόρου ζωής προκειμένου να αποφεύγεται η περαιτέρω διαταραχή της μικροαρχιτεκτονικής των οστών και η αύξηση του καταγματικού κινδύνου, όταν η BMD φθάσει τη φυσιολογική τιμή, η θεραπεία διακόπτεται με την προϋπόθεση ότι θα παρακολουθούνται η οστική πυκνότητα και οι δείκτες οστικού μεταβολισμού του ασθενούς, αφού η διακοπή της αγωγής θα αυξήσει την οστική απώλεια. Στη φαρέτρα έναντι της οστεοπόρωσης περιλαμβάνονται τα δισφωσφονικά, οι εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων, ανάλογα της παραθορμόνης και μονοκλωνικά αντισώματα. Τα διφωσφονικά ελαττώνουν το ρυθμό οστικής ανακατασκευής, περιορίζουν την οστική απορρόφηση και τελικά την οστική παραγωγή. Οι εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων συναγωνίζονται τα οιστρογόνα σε ορισμένους ιστούς ενώ τα ανταγωνίζονται σε άλλους. Η τεριπαρατίδη είναι ένα συνθετικό ανάλογο της παραθορμόνης (PTH) της οποίας η διαλείπουσα χρήση έχει ως αποτέλεσμα αναβολική δράση, αντί της καταβολικής δράσης που αναμένεται φυσιολογικά, ιδιαίτερα στο σπογγώδες οστό. Η δενοσουμάμπη (Denosumab), είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα, που αναστέλλει ειδικά τον παράγοντα RANKL (71). Μη φαρμακευτικό μέτρο και αποτελεσματικό παραμένει η άσκηση (μέτρια) η οποία και έχει συσχετιστεί στις γυναίκες με 30% μείωση του κινδύνου κατάγματος του ισχίου συγκριτικά με τις μη δραστήριες γυναίκες (μέσης ηλικίας και ηλικιωμένες) και τους ηλικιωμένους άνδρες (Leisure World Study, που περιλάμβανε γυναίκες μέσης ηλικίας και ηλικιωμένες και ηλικιωμένους άνδρες), (72).

## **Κεφάλαιο 6. Οστική πυκνότητα – οστεοπυκνομετρία**

### **6.1 Απορροφησιομετρία διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X (DXA)**

Η μέθοδος της απορροφησιομετρίας διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X (DXA) και η ογκομετρική ποσοτική υπολογιστική τομογραφία/vQCT ανήκουν στις κύριες μεθόδους μέτρησης της οστικής πυκνότητας, (73). Στις δευτερεύουσες μεθόδους ανήκουν η μέθοδος της περιφερικής DXA/pDXA, η μέθοδος της περιφερικής ποσοτικής υπολογιστικής τομογραφίας/pQCT και η μέθοδος της ποσοτικής υπερηχοτομογραφίας/QUS, (74).

Η DXA αποτελεί την μέθοδο εκλογής για τους παρακάτω λόγους: είναι ευρέως διαθέσιμη, η έκθεση στην ακτινοβολία είναι χαμηλή, η υψηλή ακρίβεια και επαναληψιμότητα. Η μέθοδος προσδιορίζει την περιεκτικότητα του οστού σε μεταλλικά στοιχεία και έμμεσα εκτιμά την οστική πυκνότητα. Μειονεκτεί στην εκτίμηση του πάχους, ενώ το αποτέλεσμα δεν αναφέρεται στην ποσότητα των ανόργανων αλάτων ανά μονάδα όγκου, αλλά ανά μονάδα επιφανείας. Το αποτέλεσμα ονομάζεται μέση τιμή οστικής πυκνότητας (BMD/bone mineral density) και εκφράζεται σε g/cm<sup>2</sup>. Η τιμή είναι ανάλογη της πραγματικής οστικής μάζας, με την προϋπόθεση ότι η σχέση κολλαγόνου προς υδροξυαπατίτη παραμένει σταθερή. Η ακρίβεια της μεθόδου κυμαίνεται μεταξύ 0,5 έως 2% (πρόκειται για την απόκλιση της μετρούμενης τιμής της BMD από την αντίστοιχη πραγματική τιμή της) (75).

Η BMD είναι ένας μόνο από τους παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο κατάγματος. Συνεπώς απαιτείται συνεκτίμηση και άλλων παραγόντων κινδύνου, ώστε να είναι δυνατή η διάκριση των ατόμων που κινδυνεύουν να εμφανίσουν οστεοπορωτικό κάταγμα

Οι φυσιολογικές τιμές T-score σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και άνδρες ηλικίας μεγαλύτερης των 50 ετών κυμαίνονται έως -1 σταθερή απόκλιση (SD) κάτω από αυτή των νεαρών ατόμων αναφοράς, ενώ προκειμένου για οστεοπενία οι τιμές T-score κυμαίνονται από -1 έως -2,5 σταθερές αποκλίσεις (SD) κάτω από αυτή των νεαρών ατόμων αναφοράς και για οστεοπόρωση είναι μικρότερες των -2,5 σταθερών αποκλίσεων (SD) κάτω από αυτή των νεαρών ατόμων αναφοράς. Εγκατεστημένη θεωρείται η οστεοπόρωση όταν οι τιμές T-score είναι μικρότερες από -2,5 σταθερές αποκλίσεις κάτω από αυτή των νεαρών ατόμων αναφοράς και όταν συνυπάρχουν ένα ή περισσότερα οστεοπορωτικά κατάγματα.

Το Z-score εφαρμόζεται σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και άνδρες ηλικίας μικρότερης των 50 ετών. Το αποτέλεσμα των μετρήσεων θεωρείται «μέσα στο αναμενόμενο για την ηλικία αν ο εξεταζόμενος έχει τιμές Z-score μεγαλύτερες του -2 σταθερών αποκλίσεων κάτω από αυτή των ατόμων ίδιας ηλικίας και φύλλου και κατώτερο του αναμενόμενου για την ηλικία αν έχει τιμές Z-score μικρότερες του -2 σταθερών αποκλίσεων». Στα παιδιά και εφήβους χρησιμοποιείται αποκλειστικά παιδιατρικό ή βρεφικό πρόγραμμα (αναλόγως της ηλικίας) και η κατάταξη γίνεται βάση του Z-score.

## 6.2 Ποσοτική Υπερηχοτομογραφία (QUS)

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί την παραγωγή και ανίχνευση δέσμης υπερήχων, μέσω ηχοβολέων/transducers με τις μετρήσεις να πραγματοποιούνται κυρίως στο οπίσθιο τμήμα της πτέρνας. Η μέθοδος υπολογίζει κατά προσέγγιση την μέση τιμή οστικής πυκνότητας/BMD, καθώς και άλλες παραμέτρους, όπως την εξασθένηση της δέσμης ηχητικών κυμάτων/Broad Ultrasound Attenuation/BUA και την ταχύτητα μετάδοσης του ήχου/Speed Of Sound/SOS. Από τις παραμέτρους αυτές, η BUA αξιοποιείται για την κατά προσέγγιση εκτίμηση του καταγματικού κινδύνου, ενώ και οι δύο σχετίζονται άμεσα με την ποσότητα της οστικής μάζας/Bone Mineral Content/BMC και την BMD και έμμεσα με στοιχεία αρχιτεκτονικής και μηχανικών ιδιοτήτων των οστών (παράμετρος BUA), την ελαστικότητα και ακαμψία (παράμετρος SOS), παράγοντες που μαρτυρούν την μηχανική αντοχή και την αστοχία υλικού, (74), (71).

## 6.3 Ποσοτική Υπολογιστική Τομογραφία (QCT)

Πρόκειται για τεχνική Υπολογιστικής Τομογραφίας, η οποία βασίζεται στην μεγαλύτερη απορρόφηση των ακτίνων-X από τα μεταλλικά στοιχεία του σκελετού και χρησιμοποιεί τις μονάδες Hounsfield/HU για τον υπολογισμό της ολικής οστικής μάζας. Η ανάλυση των εικόνων παρέχει και επιπλέον εκτίμηση ποσοτικών παραμέτρων μέσω ειδικού λογισμικού. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνται στη σπονδυλική στήλη, στον αυχένα του μηριαίου οστού, στη κάτω γνάθο, στη κνήμη και στο αντιβράχιο. Σημαντικό πλεονέκτημα της μεθόδου είναι η δυνατότητα απομόνωσης του σπογγώδους οστού από το φλοιώδες οστό. Ως εκ τούτου, η μέθοδος χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της οστικής πυκνότητας και στο σπογγώδες και στο φλοιώδες τμήμα των οστικών δομών. Υπολογίζει την οστική πυκνότητα ανά μονάδα όγκου και το αποτέλεσμα εκφράζεται σε  $\text{g}/\text{cm}^3$ . Εκτός από την παλαιότερη διδιάστατη εκδοχή της, υπάρχει πλέον και η τρισδιάστατη (3D: ανάλυση περιοχής ενδιαφέροντος ανά voxel/VOI) ή ογκομετρική (vQCT).

Η μέση τιμή οστικής πυκνότητας/ BMD των σπονδύλων του εξεταζόμενου συγκρίνεται γραμμικά με καμπύλες υγιών ατόμων ίδιας ηλικίας, φύλου και λοιπών χαρακτηριστικών (το Z-score θεωρείται πιο αξιόπιστο του T-score). Μια τιμή Z-score  $>-2,0$  θεωρείται παθολογική. Αξιολογούνται επίσης οι τιμές της mid trabecular BMD σε 2D ή 3D QCT τεχνική ως εξής :  $80-110 \text{ mg}/\text{cm}^3$  δείχνουν μικρό κίνδυνο κατάγματος,  $50-80 \text{ mg}/\text{cm}^3$  μέτριο κίνδυνο ενώ τιμές  $<50 \text{ mg}/\text{cm}^3$  θεωρούνται

ενδεικτικές υψηλού κινδύνου κατάγματος (κριτήρια του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας/WHO), (73), (76), (77).

Στα σημαντικά πλεονεκτήματα της μεθόδου περιλαμβάνονται η δυνατότητα για τρισδιάστατη απεικόνιση, η μέτρηση ξεχωριστά του σπογγώδους και του φλοιώδους οστού, η ανάλυση της αρχιτεκτονικής των οστικών δοκίδων, η δυνατότητα εφαρμογής σε εμβιομηχανικές μελέτες και η υψηλή ακρίβεια και ευαισθησία. Στα μειονεκτήματα ανήκουν η σχετικά υψηλή δόση ακτινοβολίας, η μεγάλη διάρκεια της εξέτασης και η αμφιλεγόμενη επαναληψιμότητα της μεθόδου, συνάρτηση της εμπειρίας και της κατάρτισης του εξεταστή, όπως και το σχετικά υψηλό κόστος. Η μέθοδος δεν εφαρμόζεται στην μελέτη παιδιών και εφήβων, (77).

## **Κεφάλαιο 7. Ιστομορφομετρία/οστεοπυκνομετρία και σύσταση μάζας σώματος στην θαλασσαιμία**

Η ιστομορφομετρία των οστών αναφέρεται στη μέτρηση και αξιολόγηση της μικροσκοπικής οργάνωσης και δομής του οστού. Έχει εφαρμογή στη μελέτη των οστών στη θαλασσαιμία, γιατί επιτρέπει τρισδιάστατη αξιολόγηση του οστού με συνεκτίμηση σειράς παραγόντων της νόσου. Η λεγόμενη στατική ιστομορφομετρία εφαρμόζεται για τη μελέτη των συστατικών μετρώντας μήκος (mm), επιφάνεια (mm<sup>2</sup>) και αριθμό κυττάρων ανά μονάδα μήκους ή επιφάνειας (#/mm ή#/mm<sup>2</sup>).

Η δυναμική ιστομορφομετρία χρησιμοποιείται στη δυναμική μελέτη του οστικού μεταβολισμού υπό την έννοια ότι αναδεικνύει την ενσωμάτωση φθοριζόντων ουσιών στο οστό, οπότε και καθίσταται δυνατή η παρατήρηση της οστικής ανταπόκρισης σε διάφορα ερεθίσματα, καθώς και η διερεύνηση της τοξικότητας και της οστικής ανακατασκευής. Με τη μέθοδο αυτή διερευνώνται η εμφάνιση των κυττάρων και η μικροαρχιτεκτονική του οστού, η εφάλατωση και η οστική παραγωγή σε επίπεδο κυττάρου και ιστού. (78).

Σε μια μελέτη 18 ασθενών με θαλασσαιμία / Ηβ E, οι Domrongkitchaiporn et al. (2003) εξέτασαν ιστομορφομετρία των οστών μετά από διπλή σήμανση με τετρακυκλίνη. Παρατηρήθηκε μείωση του όγκου του σπογγώδους οστού, με φυσιολογικές τις άλλες παραμέτρους. Αυτοί οι ασθενείς είχαν φυσιολογικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού και χαμηλή βιταμίνη 1,25 D, χωρίς ενδείξεις διαταραχής του οστεοειδούς, (79). Αν και η έλλειψη οστεομαλακίας συναντάται και σε άλλες μελέτες, ωστόσο οι μεταβολές στο φλοιώδες οστό τείνουν να είναι σοβαρές με εμφάνιση ρωγμών και προβλήματα στην εφάλατωση, (80). Ωστόσο, ο αυξημένος επιπολασμός

της νεφρικής σωληναριακής δυσλειτουργίας και ιδιαίτερα η υπερασβεστιουρία, σε πολλούς ασθενείς με β-θαλασσαιμία μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα στη δευτερογενή εφαλάτωση του οστεοειδούς. Η συμβολή της τοξικότητας του σιδήρου στα οστά είναι ασαφής. Τα *in vitro* μοντέλα έχουν δείξει ότι η τοξικότητα του σιδήρου μπορεί να προάγει τη δράση των οστεοκλαστών και να μειώνει τη λειτουργία των οστεοβλαστών, (81). Τα μοντέλα υπερφόρτωσης σιδήρου σε πειραματόζωα έχουν καταδείξει μείωση σχηματισμού οστού. Η τοξικότητα του σιδήρου στη θαλασσαιμία μπορεί να είναι έμμεση, λόγω υπογοναδισμού. Η μεταβλητότητα που παρατηρείται στην ιστομορφομετρία των οστών στην εξαρτώμενη από τη μετάγγιση θαλασσαιμία μπορεί να αποδοθεί στους πολλούς παράγοντες που σχετίζονται με την υποβάθμιση της ποιότητας των οστών και τα διαφορετικά πρωτόκολλα θεραπείας που ακολουθούνται σε κάθε μονάδα θαλασσαιμίας, (82).

### **7.1 Απορροφησιμετρία διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X (DXA)**

Η μέθοδος DXA είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την αξιολόγηση της εφαλάτωσης των οστών στην κλινική πρακτική. Χρησιμοποιείται στην ταυτοποίηση των ασθενών που διατρέχουν τον μεγαλύτερο κίνδυνο καταγμάτων ευθραυστότητας, προκειμένου να ληφθούν αποφάσεις σχετικά με τη θεραπεία, ενώ συμβάλλει στην παρακολούθηση της και να παρακολουθήσει την ανταπόκριση στη θεραπεία. Το σχετικά χαμηλό κόστος ανά μελέτη και έκθεση στην ακτινοβολία, στο εύρος 2-5 mrem, κατέστησε τη συγκεκριμένη μέθοδο ένα ασφαλές εργαλείο για τη διαχείριση της οστεοπόρωσης. Η ακρίβεια της μεθόδου, που εκφράζεται ως συντελεστής διακύμανσης, έχει αναφερθεί ότι είναι τόσο χαμηλή όσο 0,48% για την οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και 0,85% για τον αυχένα του μηριαίου, (83). Αυτό επιτρέπει την αξιόπιστη μακροπρόθεσμη παρακολούθηση των ασθενών με μειωμένη οστική πυκνότητα. Πολλές μεγάλες προοπτικές μελέτες επιβεβαίωσαν την ακρίβεια της DXA για την πρόβλεψη κινδύνου κατάγματος. Σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, για κάθε μείωση μιας τυπικής απόκλισης (SD) στην πυκνότητα οστού του μηριαίου οστού, ο προσαρμοσμένος για την ηλικία κίνδυνος κατάγματος του ισχίου αυξήθηκε 2,6 φορές. Οι παράγοντες κινδύνου για κατάγματα οστού όπως το φύλο, η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης, η χρήση γλυκοκορτικοειδών και ο υπογοναδισμός είναι σημαντικοί και κοινοί τόσο για τον γενικό πληθυσμό όσο και για τα άτομα με θαλασσαιμία. Σε άτομα με θαλασσαιμία έρχονται να προστεθούν και άλλοι παράγοντες, πιο ειδικοί, που σχετίζονται με τη νόσο και τη θεραπεία της, όπως είναι η

επέκταση του μυελού των οστών, η υπερφόρτωση σιδήρου και η νεφρολιθίαση, (84). Υπάρχουν αρκετοί περιορισμοί στη χρήση του DXA, οι οποίοι είναι ιδιαίτερα σημαντικοί για τον πληθυσμό των ασθενών με θαλασσαιμία. Η οστική πυκνότητα (BMD), όπως μετράται με την μέθοδο DXA, λαμβάνει υπ' όψιν την επιφάνεια (ύψος και πλάτος) αλλά όχι για τον όγκο (ύψος, πλάτος και πάχος) των οστών. Επομένως, αν συγκριθούν δύο άτομα με την ίδια "πραγματική" ογκομετρική οστική πυκνότητα, το πιο κοντό άτομο θα μετρηθεί εσφαλμένα με χαμηλότερη BMD από το υψηλότερο. Δεν υπάρχει ομοφωνία σχετικά με την ακολουθητέα μέθοδο βελτιστοποίησης της διόρθωσης για τις διακυμάνσεις στο μέγεθος των οστών, τη σύνθεση του σώματος και την ωριμότητα. Η οστεοαρθρίτιδα της θαλασσαιμίας εξακολουθεί να αποτελεί πρόβλημα των νεαρών ενηλίκων. Ο υπογοναδισμός, σε συνδυασμό με τη σημαντική επίδραση της αναιμίας και της ανάγκης χρόνιας μετάγγισης, συμβάλλουν στη μείωση του μεγέθους του σκελετού και στην αποτυχία επίτευξης της μέγιστης οστικής μάζας στην μείζονα θαλασσαιμία. Πράγματι, η διατροφή, η σωματική δραστηριότητα, το στάδιο της εφηβείας, η σοβαρότητα της νόσου, το ιστορικό καταγμάτων του ασθενούς και της οικογένειας και η έκθεση σε φαρμακευτική αγωγή πρέπει να ληφθούν υπόψη στην αξιολόγηση της παιδιατρικής οστικής νόσου. Η οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και ο αυχέννας του μηριαίου είναι οι δύο συνηθέστερες θέσεις μέτρησης της BMD χρησιμοποιώντας DXA. Η παρουσία πολλαπλών εκφυλιστικών αλλαγών στην σπονδυλική στήλη μπορεί να επηρεάσει την ακρίβεια της μεθόδου. Η σπονδυλική στήλη σε ασθενείς με θαλασσαιμία είναι επίσης μια θέση σημαντικής οστικής δυσπλασίας που οφείλεται στην επέκταση του μυελού και στην προκαλούμενη από τη δεσφερριοξαμίνη οστική δυσπλασία, (34). Επομένως, η ακρίβεια της μεθόδου DXA στις μεταβολές της BMD στην σπονδυλική στήλη σε εξαρτώμενη από τη μετάγγιση θαλασσαιμία μπορεί να επηρεαστεί σημαντικά από αυτές τις μορφολογικές αυτές αλλαγές. Ο αυχέννας του μηριαίου θεωρείται πιο ακριβές σημείο για την παρακολούθηση των μεταβολών της BMD σε ασθενείς με θαλασσαιμία. Μια εκτίμηση της ποιότητας των οστών μπορεί να προέλθει από τη χρήση βαθμονόμησης του αριθμού των δοκίδων του σπογγώδους οστού (TBS), η οποία υπολογίζεται στην σπονδυλική στήλη από τα δεδομένα που λαμβάνονται με την μέθοδο DXA και χρησιμοποιείται στην πρόβλεψη του κινδύνου κατάγματος. Η TBS έχει αποδειχθεί ότι είναι χαμηλότερη σε ασθενείς με θαλασσαιμία σε σύγκριση με τους μάρτυρες και επίσης συσχετίζεται με την BMD, αλλά δεν έχει ακόμη καθοριστεί η σχέση μεταξύ της βαθμολογίας TBS και κατάγματος, (85).



## 7.2 Ποσοτική αξονική τομογραφία (QCT)

Η απώλεια οστού που εμφανίζεται στη θαλασσαιμία επηρεάζει σε διαφορετικό βαθμό το φλοιώδες και το σπογγώδες οστό. Το γεγονός αυτό δημιουργεί προφανείς περιορισμούς στην μέθοδο DXA η οποία παρέχει διδιάστατες μετρήσεις πυκνότητας των και επομένως ενσωματώνει την φλοιώδη και δοκιδώδη μοίρα του οστού σε μία μόνο παράμετρο. Η ποσοτική υπολογιστική τομογραφία (QCT) είναι μια τεχνική που παρέχει τρισδιάστατο ποσοτικό προσδιορισμό της BMD στη σπονδυλική στήλη, τον αυχένα του μηριαίου οστού, το αντιβράχιο και την κνήμη. Η διαγνωστική αυτή μέθοδος εμφανίζει κάποια πλεονεκτήματα έναντι του συμβατικού DXA: το φλοιώδες και το σπογγώδες οστό μπορούν να διαχωριστούν, ενώ οι περιοχές ενδιαφέροντος του σπογγώδους οστού (Volumes Of Interest) είναι σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητες από εκφυλιστικές μεταβολές της σπονδυλικής στήλης και μπορούν να προσδιοριστούν 3D γεωμετρικές παράμετροι. Κάποιες μελέτες έχουν διερευνήσει την σκελετική κατάσταση στη θαλασσαιμία με QCT. Σε μία μελέτη 48 ασθενών, ο συντελεστής συσχέτισης μεταξύ της DXA-BMD και της QCT-BMD του σπογγώδους οστού ήταν 0,545 ( $p < 0,001$ ). Η ταξινόμηση των ασθενών σε φυσιολογικούς, οστεοπενικούς και οστεοπορωτικούς χρησιμοποιώντας βαθμολογίες Z-score QCT, ήταν σε καλύτερη συμφωνία με τον αριθμό των δοκίδων, από ό, τι με την ταξινόμηση χρησιμοποιώντας βαθμολογίες Z-score DXA, (86). Μια άλλη μελέτη χρησιμοποίησε περιφερική QCT (pQCT) για τον υπολογισμό της οστικής πυκνότητας στο φλοιώδες και το σπογγώδες οστό της κερκίδας και της ωλένης και την μέθοδο DXA για τον υπολογισμό της οστικής πυκνότητας στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης. Η μελέτη έδειξε χαμηλότερη πυκνότητα σπογγώδους οστού σε σχέση με το φλοιώδες οστό στην περιφέρεια και για αυτόν τον λόγο η μέτρηση Z-score πιθανόν να υποεκτιμά τον κίνδυνο κατάγματος, (87). Παρόλο που υπάρχουν σχετικά λίγες μελέτες που χρησιμοποίησαν τεχνικές QCT για την εκτίμηση της οστικής νόσου της θαλασσαιμίας, αυτή η τεχνική φαίνεται να έχει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της συμβατικής DXA που αξιολογεί την κατάσταση των οστών στην παιδιατρική ομάδα και στην σπονδυλική στήλη. Παραμένει ωστόσο το ερώτημα αν οι ποσοτικές παράμετροι της αξονικής τομογραφίας υπερτερούν των παραμέτρων της DXA στην πρόβλεψη του κινδύνου κατάγματος.

### 7.3 Σύσταση μάζας σώματος με χρήση απορροφησιομετρίας

Η μελέτη της σύστασης μάζας σώματος αφορά το ποσοστό και την κατανομή του λίπους, της μυϊκής μάζας και της οστικής μάζας στο σώμα. Αυτό μπορεί να εξαχθεί με την DXA μετά από μια μελέτη συνολικής σωματικής πυκνότητας. Ωστόσο παρά την διαθεσιμότητά της, η αξιολόγηση της σύστασης σωματικής μάζας με χρήση DXA δεν χρησιμοποιείται συχνά. Η μελέτη της σύστασης μάζας σώματος έχει ιδιαίτερη σημασία στη θαλασσαιμία επειδή υπάρχει μειωμένη μυϊκή μάζα και καθυστερημένη ωρίμανση του σκελετού. Ωστόσο, η φύση των οστικών ανωμαλιών δεν έχει κατανοηθεί επαρκώς. Στον γενικό πληθυσμό, η σύνθεση του σώματος επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες όπως η ηλικία, το φύλο, η γεννητική κατάσταση, η διατροφή, η άσκηση και οι ορμονικοί παράγοντες. Η οστική μάζα του ισχίου έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την BMD έως τη μέση ηλικία οπότε η μάζα του λιπώδους ιστού αρχίζει να ευθύνεται για τη μεγαλύτερη διακύμανση στην BMD. Η ανάγκη για χρόνια μετάγγιση σε μείζονα θαλασσαιμία μπορεί να έχει σημαντικές μακροπρόθεσμες συνέπειες στην θρέψη, τη σωματική δραστηριότητα και την ανάπτυξη. Η ηπατοσπληνομεγαλία είναι μια σημαντική επιπλοκή της αναποτελεσματικής ερυθροποίησης και είναι δυνατόν να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση της ολικής μυϊκής μάζας ενός λεπτού ατόμου, εάν μετρηθεί με DXA. Η ανάγκη να ληφθούν υπόψη πολλαπλοί συγχυτικοί παράγοντες σε μια τέτοια ανάλυση αποτελεί πρόκληση, καθώς πολλοί από αυτούς εμπλέκονται στον καθορισμό της σωματικής σύστασης και της πυκνότητας των οστών σε ασθενείς με μεταγγισιοεξαρτώμενη θαλασσαιμία. Ενώ η επίδραση του υπογοναδισμού στη BMD και τη σύνθεση του σώματος έχει περιγραφεί καλά στον γενικό πληθυσμό, η επίδραση του υπογοναδισμού στην σύσταση της μάζας σε μεταγγισιοεξαρτώμενη θαλασσαιμία είναι αβέβαιη. Σε μια παιδιατρική κοόρτη, ο υπογοναδισμός δεν συσχετίστηκε με παραμέτρους σωματικής σύστασης σε άτομα με μεταγγισιοεξαρτώμενη θαλασσαιμία. Σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία, ο υπογοναδισμός βρέθηκε ότι αποδυναμώνει τη συσχέτιση μυός-οστού στους άνδρες, αλλά ενισχύει τη θετική συσχέτιση της μάζας των σκελετικών μυών και της λιπώδους μάζας σε γυναίκες, (88). Η επίδραση της μειωμένης μυϊκής μάζας και της μειωμένης οστικής πυκνότητας σε περίπτωση πτώσης και ο κίνδυνος για κατάγματα έχει περιγραφεί στο γενικό πληθυσμό. Η διερεύνηση της αλληλεξάρτησης μεταξύ μυϊκής μάζας, λιπώδους ιστού και οστικής πυκνότητας σε ασθενείς με θαλασσαιμία και υπογοναδισμό μπορεί να δώσει πληροφορίες για την επίδραση της ορμονικής υποκατάστασης, της διατροφής και της άσκησης στην οστική πυκνότητα.

Πολλές μελέτες ανέφεραν ασυνεπή ευρήματα στην περιγραφή της σχέσης μεταξύ λίπους, μυών και οστών. Ένας λόγος μπορεί να είναι η αποτυχία στο να ληφθεί υπόψη η πολύπαραγοντικότητα στην σχέση μεταξύ σωματικού βάρους, λιπώδους ιστού, μυϊκού ιστού και άλλων μεταβλητών με την οστική πυκνότητα. Η πολυπαραγοντικότητα είναι ένα κοινό αλλά σημαντικό στατιστικό πρόβλημα στην ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης-στάθμισης και μπορεί να παρατηρηθεί σε πολλές αναλύσεις της σωματικής σύστασης. Αυτό μπορεί να συμβεί όταν οι συσχετισμοί μεταξύ των ανεξάρτητων μεταβλητών δηλαδή του βάρους, του λίπους και του άπαχου-μυϊκού ιστού (lean tissue) συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό σε μια ανάλυση πολλαπλής παλινδρόμησης όπου η BMD είναι η εξαρτημένη μεταβλητή. Όταν δύο ή περισσότερες μεταβλητές συσχετίζονται σε μεγάλο βαθμό, μεταφέρουν ουσιαστικά τις ίδιες πληροφορίες από στατιστική άποψη. Αυτό μπορεί να οδηγήσει στην παράδοση κατάσταση όπου το συνολικό στατιστικό μοντέλο είναι σημαντικό, αλλά καμία από τις ανεξάρτητες μεταβλητές που έχουν ρυθμιστεί στο μοντέλο πολλαπλής παλινδρόμησης να μην είναι σημαντική. Επομένως, κάποιες μεταβλητές είναι στατιστικά ασήμαντες στις περιπτώσεις όπου διαφορετικά θα έπρεπε να είναι, και αντίστροφα, (89), (90).

#### **7.4 Οστική παραμόρφωση στη θαλασσαιμία**

Η κυτταρική υποξία που ενυπάρχει στις πιο σοβαρές μορφές θαλασσαιμίας έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της παραγωγής ερυθροποιητίνης. Τα υψηλά επίπεδα ερυθροποιητίνης οδηγούν σε σημαντική αύξηση του μυελού σε θέσεις εξωμυελικής ερυθροποίησης. Αυτό οδηγεί σε παραμορφώσεις των οστών του κρανίου, του προσώπου, των σπονδύλων και των μακρικών οστών με συνέπεια τον αυξημένο κίνδυνο κατάγματος. Πράγματι, η συνολική οστική πυκνότητα του σώματος, στον αυχένα του μηριαίου και στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης βρέθηκε να συσχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα του υποδοχέα της τρανσφερίνης στον ορό, δείκτη της ερυθροποιητικής δραστηριότητας. Η χρόνια ραχιαλγία είναι συχνή στη εξαρτώμενη από τη μετάγγιση θαλασσαιμία. Στα άτομα με μείζονα και ενδιάμεση θαλασσαιμία υπάρχει εκτεταμένη, σοβαρή και πολυεπίπεδη εκφύλιση των μεσοσπονδυλίων δίσκων. Η σκολίωση είναι επίσης συχνότερη και σχετίζεται με χαμηλότερα επίπεδα αιμοσφαιρίνης σε ασθενείς συγκριτικά με υγιείς. Επιπλέον, η επίπτωση, η εξέλιξη και η αιτιολογία της σκολίωσης στη θαλασσαιμία διαφέρει από εκείνη της ιδιοπαθούς σκολίωσης, υποδηλώνοντας ότι η σκολίωση σε θαλασσαιμία αντιπροσωπεύει μια ξεχωριστή οντότητα. Τα σπονδυλικά σώματα επίσης εμφανίζουν πάχυνση του φλοιού

και χαρακτηριστική ραβδωτή εμφάνιση που προκύπτει από την απορρόφηση των δευτερογενών οστικών δοκίδων και την εκσήμανση των πρωτογενών. Η χρήση δεφεροξαμίνης συνδέεται επίσης με δυσπλασία του οστού που οδηγεί σε μειωμένο τελικό ύψος, διεύρυνση της αναπτυξιακής επιφυσιακής πλάκας, αμφίκοιλη διαμόρφωση του περιγράμματος των σπονδυλικών σωμάτων και μειωμένο ύψος, (89). Η ηλικία κατά την οποία αρχίζει η θεραπεία με δεφεροξαμίνη φαίνεται να επηρεάζει τον κίνδυνο οστικής παραμόρφωσης. Σε μια αναδρομική μελέτη, η θεραπεία με δεφεροξαμίνη που ξεκίνησε μετά την ηλικία των 3 ετών και μόνο μετά από την υπερφόρτωση του σιδήρου, δεν οδήγησε σε διαταραγμένη κατά μήκος ανάπτυξη, (91) Ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία έχουν βραχύ ανάστημα που μπορεί να οφείλεται σε δυσανάλογη βράχυνση του κορμού. Οι αιτίες είναι πολυπαραγοντικές και αφορούν μεταξύ άλλων στον υπογοναδισμό και στη θεραπεία αποσιδήρωσης. Η παρουσία δυσμορφίας της σπονδυλικής στήλης μπορεί να επηρεάσει την ακρίβεια της μέτρησης της οσφυϊκής σπονδυλικής στήλης χρησιμοποιώντας DXA. Αυτός είναι ένας σημαντικός παράγοντας που δεν έχει ακόμη διερευνηθεί σε κλινικές μελέτες οστικής νόσου της θαλασσαιμίας, (89).

# ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## **Κεφάλαιο 1. Σκοπός της μελέτης**

Στο πρώτο σκέλος της παρούσας μελέτης (σκέλος 1), ο σκοπός ήταν να μετρηθεί η οστική πυκνότητα σε ενήλικες ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία δια της τεχνικής αναφοράς (gold standard) δηλαδή την απορροφησιομετρία διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων Χ (DXA) στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και τον αυχένα του δεξιού μηριαίου οστού καθώς και δια της τεχνικής της ποσοτικής υπολογιστικής τομογραφίας (QCT) στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων της μεθόδου DXA, συσχετίστηκαν με αυτά της μεθόδου QCT καθώς και με τις αιματολογικές παραμέτρους οστικού μεταβολισμού ώστε να αξιολογηθεί εάν η μέθοδος QCT είναι πιο αξιόπιστη ή όχι σε σχέση με την μέθοδο DXA.

Στο δεύτερο σκέλος της παρούσας μελέτης (σκέλος 2), ο σκοπός ήταν να διερευνηθεί η κατάσταση της σύστασης του σώματος σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία κατά την ενηλικίωση με τη χρήση του DXA και να συσχετισθούν τα ευρήματα με αντίστοιχους μάρτυρες ίδιας ηλικίας. Προσπαθήσαμε επίσης να προσδιορίσουμε εάν η τοπική κατανομή λίπους στην περιοχή του κορμού γύρω από την κοιλία σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία είναι παρόμοια με εκείνη των υγιών μαρτύρων και συζητήσαμε την υπόθεση ότι οι ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία ενδέχεται να διατρέχουν κίνδυνο να είναι ελλειποβαρείς.

## **Κεφάλαιο 2. Υλικό και μέθοδος**

### **2.1 Πληθυσμός της μελέτης**

Εβδομήντα τέσσερις (75) ενήλικες ασθενείς με διάγνωση μείζονος θαλασσαιμίας παραπέμφθηκαν στο εργαστήριο μας από τη μονάδα θαλασσαιμίας του Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας για διενέργεια DXA και συγκρότησαν την ομάδα του σκέλους 1 της μελέτης μας. Η ομάδα περιελάμβανε 31 άντρες (μέση ηλικία 35 έτη, ηλικιακό εύρος 22-53 έτη) και 44 γυναίκες (μέση ηλικία 36 έτη, εύρος ηλικίας 21-47 έτη). Στο σκέλος 2 της μελέτης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση σε εξήντα δύο (62) ενήλικες ασθενείς με διάγνωση μείζονος θαλασσαιμίας. Η ομάδα περιελάμβανε 27 άντρες (μέση ηλικία 36 ετών, ηλικιακό εύρος 26-53 ετών) και 35 γυναίκες (μέση ηλικία 36,4 ετών, εύρος ηλικίας 21-47 ετών).

Όλοι οι ασθενείς είχαν τεκμηριωμένη διάγνωση μείζονος θαλασσαιμίας και ακολουθούσαν τακτικό πρόγραμμα μεταγγίσεων αίματος από την παιδική ηλικία. δηλ.

συστηματική μετάγγιση δύο μονάδων συμπυκνωμένων και λευκαφαιρεμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων με μεσοδιαστήματα 2 έως 3 εβδομάδων. Όλοι οι ασθενείς ήταν υπό θεραπεία αποσιδήρωσης με μεταβλητή όμως συμμόρφωση. Όλες οι γυναίκες είχαν εμμηνορρυσιακό κύκλο. Η σπληνεκτομή αναφέρθηκε σε 23/74 ασθενείς. Η ομάδα ελέγχου περιελάμβανε 5 υγιείς άρρενες και 10 υγιείς θήλειες παρόμοιας ηλικιακής κατανομής. Οι διαδικασίες που σχετίζονται με τη μελέτη εγκρίθηκαν από το επιστημονικό συμβούλιο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας. Οι συμμετέχοντες ενημερώθηκαν για τις απαιτήσεις της μελέτης και έδωσαν συγκατάθεση μετά από ενημέρωση, πριν από τη συμμετοχή.

## **2.2 Μετρήσεις οστικής πυκνότητας και σύστασης μάζας σώματος με την μέθοδο DXA**

Το σωματικό βάρος στρογγυλοποιήθηκε στο πλησιέστερο δέκατο του κιλού με τους ασθενείς ενδεδυμένους με ελαφρύ ρουχισμό. Το ύψος μετρήθηκε χρησιμοποιώντας ένα επιτοίχιο αναστημόμετρο και καταγράφηκε στα πλησιέστερα δέκατα του εκατοστού. Η εξέταση DXA πραγματοποιήθηκε σε μηχανήματα Hologic Discovery QDR Series Densitometer (Hologic Inc., Bedford, MA). Η συσκευή βαθμονομείται καθημερινά, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή για έλεγχο ποιότητας με συντελεστές διακύμανσης 0,2-0,5%. Ο δείκτης μάζας σώματος (BMI) υπολογίστηκε ως  $\text{kg}/\text{m}^2$ . Οι τέσσερις πρώτοι σφυϊκοί σπόνδυλοι (O1-O4) και το δεξί ισχίο σαρώθηκαν ενώ στη συνέχεια διενεργήθηκε ολοσωματική DXA με σκοπό να εκτιμηθεί η σύσταση του σώματος, δηλαδή σωματικό λίπος (kg, %) και άπαχη μυϊκή μάζα (kg). Οι τοπικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση μιας αυθαίρετης περιοχής ενδιαφέροντος (ROI) που τοποθετήθηκε χειροκίνητα καλύπτοντας την περιοχή της κοιλιάς. Τα τοπικά δεδομένα σχετικά με το λίπος του κορμού γύρω από την κοιλιά (kg, %) και η μυϊκή μάζα (kg) υπολογίστηκαν τόσο στους ασθενείς όσο και στους μάρτυρες. Υπολογίστηκαν επίσης οι τιμές BMD και BMC για ολόκληρο το σώμα και την περιοχή του κορμού γύρω από την κοιλιά. Όλοι οι ασθενείς και οι μάρτυρες τοποθετήθηκαν στην τυπική θέση για σάρωση ολόκληρου του σώματος με το άτομο σε ύπτια θέση, τα πόδια δεμένα μαζί, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και τα χέρια τοποθετημένα επίπεδα στο τραπέζι στο πλάι του σώματος. Ο μέσος χρόνος σάρωσης ήταν περίπου 7 λεπτά. Για να μειωθεί η διακύμανση στα δεδομένα, πραγματοποιήθηκαν σαρώσεις DXA και αναλύθηκαν από έναν μόνο χειριστή.

Ο δείκτης μάζας σώματος υπολογίστηκε για κάθε άτομο.

### 2.3 Μετρήσεις οστικής πυκνότητας με την μέθοδο QCT

Η οστική πυκνότητα (BMD) μετρήθηκε με την χρήση της μεθόδου της Ποσοτικής Υπολογιστικής Τομογραφίας (quantitative Computed Tomography – QCT).

Χρησιμοποιήθηκε αξονικός τομογράφος Toshiba Aquillion 16, (Toshiba Medical Systems), με μονοενεργειακή δέσμη (single energy).

Η εξέταση έγινε με τον εξεταζόμενο ξαπλωμένο σε ύπτια θέση ενώ τα γόνατα και τα ισχία τοποθετήθηκαν σε κάμψη 90° με τη χρήση ειδικού μαξιλαριού ώστε να μειωθεί η κυρτότητα της οσφυϊκής μοίρας και να ελαχιστοποιηθεί η ανάγκη για κλίση της εξεταστικής λυχνίας. Μεταξύ της εξεταστικής τράπεζας και της ράχης του εξεταζόμενου στην περιοχή της οσφυϊκής μοίρας Θ12-O5, τοποθετήθηκε ειδικό calibration phantom τύπου B-MAS 200 που εμπεριείχε κυλίνδρους με υλικό ανάλογο υδροξυαπατίτη με πυκνότητα γνωστής βαθμονόμησης. Το phantom συμπεριλήφθηκε στην περιοχή σάρωσης με σκοπό την διαμόρφωση της γραμμής παλινδρόμησης και τον υπολογισμό της οστικής πυκνότητας από τις μετρούμενες τιμές Hounsfield. Ελήφθη σχολαστική μέριμνα ώστε να μην υπάρχουν κενά μεταξύ του phantom και του εξεταζόμενου, αυτό να είναι τοποθετημένο ακριβώς κατά την μέση γραμμή και ο εξεταζόμενος να τοποθετηθεί στο ισόκεντρο του Gantry ώστε να ελαχιστοποιηθούν τεχνικά σφάλματα.

Διενεργήθηκε τομή πάχους 10 χιλ. κατά την μεσότητα του σπονδυλικού σώματος από τον πρώτο έως και τον τέταρτο οσφυϊκό σπόνδυλο (O1 έως O4), με 120 kVp, 80 mAs και χρόνο σάρωσης 2 sec.

Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της δια χειρός ελεύθερης επιλογής της περιοχής ενδιαφέροντος (free-hand region of interest – ROI) για την μέτρηση των πυκνοτήτων του σπονδύλου, αποφεύγοντας την περιοχή του φλοιώδους οστού, εστιακές υπέρπυκνες αλλά και υπόπυκνες περιοχές καθώς και το σπονδυλικό φλεβικό πλέγμα στην οπίσθια μοίρα των σπονδύλων.

Μετρήθηκε η τιμή BMD με την τυπική απόκλιση SD, η τιμή Z-score αλλά και T-score για τον κάθε σπόνδυλο ξεχωριστά από τον O1 έως και τον O4. Από αυτές τις μετρήσεις, εξήχθη η μέση τιμή BMD και SD, το Z-score και T-score για τους τέσσερις οσφυϊκούς σπονδύλους O1-O4.

Οι τιμές BMD εκφράστηκαν σε ισοδύναμο  $K_2HPO_4$  mg/cm<sup>3</sup>.



Οι μετρήσεις αυτές διενεργήθηκαν με τον ίδιο τρόπο τόσο στους ασθενείς όσο και στους υγιείς εθελοντές μάρτυρες και έγινε σύγκριση μετά ομαδοποίηση αναλόγως φύλλου και ηλικίας.

#### **2.4 Μετρήσεις αιματολογικών δεικτών οστικού μεταβολισμού**

Οι ασθενείς και οι μάρτυρες παρέμειναν νήστες καθ' όλη τη νύχτα (τουλάχιστον για 12 ώρες). Δείγματα φλεβικού αίματος ελήφθησαν από την βασιλική φλέβα σε πρωινή ώρα μεταξύ 8:00 και 9:00 π.μ., με τους ασθενείς και τους μάρτυρες εν ηρεμία και σε ύπτια θέση. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν αμέσως και αποθηκεύτηκαν στους -50 C° για περαιτέρω ανάλυση. Τα ολικά επίπεδα αυξητικού παράγοντα I (IGF-I) και παραθυρεοειδικής ορμόνης (hPTH) μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας ανθρώπινα IRMA (Immunoradiometric assay) διαγνωστικά κιτ (A15729 και A11930 αντίστοιχα), που παράγονται από την IMMUNOTECH SA εταιρία του ομίλου BECKMAN COULTER (Τσεχία). Το κιτ IGF-1 έχει ευαισθησία ανάλυσης 2,0 ng/ml, εύρος βαθμονόμησης 0-1.200 ng/ml και εξαιρετικά χαμηλή διασταυρούμενη αντιδραστικότητα έναντι αρκετών μορίων (ινσουλίνη, προΐνσουλίνη, IGF II, GH). Οι συντελεστές διακύμανσης μεταξύ και εντός της ανάλυσης βρέθηκαν κάτω ή ίσοι με 6,3% και 6,8% αντίστοιχα. Το κιτ hPTH έχει ευαισθησία ανάλυσης 3,7 pg/ml, εύρος βαθμονόμησης 0-2,621 pg/ml και εξαιρετικά χαμηλή διασταυρούμενη αντιδραστικότητα έναντι πολλών θραυσμάτων (1-34, 56-84, 46-68). Οι συντελεστές διακύμανσης μεταξύ και εντός της ανάλυσης βρέθηκαν κάτω ή ίσοι με 12,2% και 9,7% αντίστοιχα. Τα επίπεδα της ακέραιης (intact) οστεοκαλσίνης στον ορό (hOST) και της καλσιτονίνης (hCT) μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας διαγνωστικά κιτ ανθρώπινου IRMA (Immunoradiometric assay) (KIP1381 και KIP0429, αντίστοιχα), που παράγονται από την DIASource Europe SA, (Βέλγιο). Το κιτ HOST έχει ευαισθησία ανάλυσης 0,22 ng/ml και εύρος βαθμονόμησης 0-69 ng/ml, χωρίς διασταυρούμενη αντιδραστικότητα σε N-τερματικά και O-τερματικά θραύσματα. Οι συντελεστές διακύμανσης μεταξύ και εντός της ανάλυσης είναι κάτω ή ίσοι με 2,0% και 5,9%, αντίστοιχα. Το κιτ hCT έχει ευαισθησία ανάλυσης 0,9 pg/ml και εύρος βαθμονόμησης 0-674 pg/ml. Δεν έχει βρεθεί σημαντική αλληλεπίδραση (σε συγκεντρώσεις έως 100 ng/ml) με το πεπτίδιο που σχετίζεται με το γονίδιο καλσιτονίνης (CGRP), την καλσιτονίνη-σολομού, την κατακαλσίνη (PDN-21) και τελικό N προκαλσιτονίνης. Οι συντελεστές διακύμανσης μεταξύ και εντός της ανάλυσης βρέθηκαν κάτω ή ίσοι με 2,7% και 9,3% αντίστοιχα. Τα επίπεδα της 25-υδροξυβιταμίνης D (25-OH-D) ορού

μετρήθηκαν χρησιμοποιώντας διαγνωστικά κιτ ανθρώπινου RIA (Radioimmunoassay) (68100E), που παράγονται από την DiaSorin SA, (USA). Το κιτ 25-OH-D έχει ευαισθησία ανάλυσης 1,5 ng/ml και εύρος βαθμονόμησης 0-100 ng / ml, με εξαιρετικά χαμηλή διασταυρούμενη αντιδραστικότητα έναντι πολλών θραυσμάτων (D2, D3, 1,25-(OH) 2-D2, 1,25- (OH) 2-D3). Οι συντελεστές διακύμανσης ενδο- και ολικής ανάλυσης είναι κάτω ή ίσοι με 12,5% και 9,4%, αντίστοιχα. Επιπλέον, όλα τα κιτ RIA και IRMA (λεπτίνη, IGF-1, αδιπονεκτίνη, hOST, hPTH, hCT) βαθμονομούνται σύμφωνα με έγκυρα διεθνή πρότυπα. Το ραδιοφάρμακο που χρησιμοποιείται σε όλα τα κιτ είναι Ιώδιο-125 (I-125, χρόνος ημιζωής T1/2 60 ημέρες, ακτινοβολία γάμμα 35,5 keV, ακτίνες X 27-32, χωρίς ακτινοβολία βήτα). Όλες οι δοκιμασίες δείγματος πραγματοποιήθηκαν εις διπλούν, περιλαμβανόμενες στην ίδια εκτέλεση για κάθε βιολογική παράμετρο. Εάν η διαφορά μεταξύ των διπλών αποτελεσμάτων ενός δείγματος ήταν μεγαλύτερη από 5%, η δοκιμασία δείγματος επαναλήφθηκε, ενώ οι συντελεστές διακύμανσης κατά την εκτέλεση ήταν 3,6% για IGF-1, 3,4% για hPTH, 3,1% για hOST, 2,9% για hCT και 3,8% για 25-OH-D. Χρησιμοποιήθηκε ένας αυτόματος μετρητής γάμμα (τύπος: Cobra II / 5010, εταιρεία: Packard, ΗΠΑ), για την μέτρηση της ραδιενέργειας και τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων.

## 2.5 Στατιστική ανάλυση

Στο πρώτο σκέλος της παρούσας μελέτης (σκέλος 1), τα χαρακτηριστικά της ομάδας παρουσιάστηκαν με κατανομή συχνότητας, για άνδρες και γυναίκες ξεχωριστά. Η σύγκριση μεταξύ των ομάδων πραγματοποιήθηκε με τη δοκιμή Student t-test ή τη δοκιμή κατάταξης αθροίσματος Wilcoxon. Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson υπολογίστηκε για να αξιολογηθεί η συσχέτιση μεταξύ δύο μεταβλητών. Μια τιμή  $p < 0,05$  θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

Στο δεύτερο σκέλος της μελέτης (σκέλος 2), χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικά (Student t-test) και μη παραμετρικά (Wilcoxon) στατιστικά τεστ για την ποσοτικοποίηση των επιδράσεων που μελετήθηκαν μεταξύ των ομάδων ασθενών και ελέγχου. Τα αποτελέσματα που εμφανίζουν τιμή  $p$  μικρότερη από 0,05 θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικά.

Το πακέτο λογισμικού «R για Στατιστική Ανάλυση» χρησιμοποιήθηκε για την εκτέλεση όλων των υπολογισμών.

### Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα

Αναφορικά με το σκέλος 1 της μελέτης, εξετάσαμε 75 άτομα, εκ των οποίων 31 (42%) ήταν άνδρες και 44 (58%) γυναίκες. Η ηλικία τους ήταν μεταξύ 22 και 49 ετών ( $35\pm 7,22$ ) και 21 και 47 ετών ( $35,7\pm 6,33$ ), αντίστοιχα. Οι άνδρες είχαν τιμές ΔΜΣ που κυμαίνονταν μεταξύ 16,1 και 30,4 ( $23\pm 2,98$ ) και οι γυναίκες είχαν τιμές ΔΜΣ που κυμαίνονταν μεταξύ 17,2 και 33,2 ( $22,4\pm 3,27$ ). Ομοίως, το βάρος τους κυμαινόταν μεταξύ 53 και 94 Kgr ( $68,7\pm 10,1$ ) και 44 και 92 Kgr ( $61\pm 10,4$ ). Τέλος, το ύψος τους ήταν μεταξύ 154 και 186 cm ( $173\pm 7,26$ ) και μεταξύ 150 και 177 ( $161\pm 6,79$ ), αντίστοιχα. Τα εργαστηριακά ευρήματα απεικονίζονται στον Πίνακα 1.1.

Αρχικά, εξετάσαμε τη σχέση των τιμών Z-score στην οσφυϊκή μοίρα στο επίπεδο των σπονδυλικών σωμάτων L1, L2 και L3, μεταξύ των μετρήσεων DXA και QCT. Οι συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των τιμών DXA Z-score και τιμών QCT Z-score βρέθηκαν  $<0,1$  ( $0,000000284$  για τις γυναίκες και  $0,0102$  για τους άνδρες). Αυτές οι τιμές δεν δείχνουν καμία ένδειξη συμφωνίας μεταξύ των δύο πυκνομετρικών μεθόδων. Οι μετρήσεις QCT εξέφρασαν είτε φυσιολογικές είτε αυξημένες τιμές BMD που αντανακλούσαν φυσιολογικές ή αυξημένες τιμές Z-score, ενώ οι μετρήσεις με DXA ήταν πολύ κάτω από τις κανονικές. Αυτό ήταν ένα παράδοξο που οδήγησε στο συμπέρασμα ότι οι μετρήσεις QCT βρέθηκαν αναξιόπιστες σε ασθενείς με θαλασσαιμία.

Οι μετρήσεις DXA της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης όπως εκφράζονται με τις τιμές Z-score, ανίχνευσαν 24/75 ασθενείς με οστεοπόρωση (32%). Οι μετρήσεις DXA του αυχένα του μηριαίου, όπως εκφράζονται με τις τιμές Z-score ανίχνευσαν 10/75 ασθενείς με οστεοπόρωση (10%).

Στη συνέχεια, αναλύσαμε τη συσχέτιση μεταξύ των μετρήσεων DXA και διάφορων παραγόντων μεταβολισμού των οστών. Παρατηρήσαμε μια στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση ( $p=0,03$ ) μεταξύ της τιμής φερριτίνης ορού και τιμής DXA Z-score του αυχένα του μηριαίου στην ομάδα των ανδρών. Βρήκαμε επίσης μια στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση ( $p=0,02$ ) μεταξύ της τιμής της οστεοκαλσίνης ορού και τιμής DXA Z-score του αυχένα του μηριαίου στην ομάδα των ανδρών. Βρήκαμε επίσης μια θετική συσχέτιση ( $p=0,01$ ) μεταξύ της τιμής φερριτίνης ορού και τιμής DXA Z-score των L1-L4 σπονδυλικών σωμάτων στη ομάδα των γυναικών. Οι συσχετίσεις μεταξύ των τιμών DXA Z-score, IGF-1 και βιταμίνης D τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες δεν έδειξαν στατιστικά σημαντική διαφορά.

Αναφορικά με το σκέλος 2 της μελέτης, ο Πίνακας 2.1 δείχνει τα δημογραφικά και κλινικά χαρακτηριστικά των ασθενών με μείζονα θαλασσαιμία. Ο Πίνακας 2.2 δείχνει τις μεταβλητές της σύνθεσης μάζας σώματος ενηλίκων ανδρών και γυναικών ασθενών με θαλασσαιμία καθώς και υγιών μαρτύρων.

Τα επίπεδα φερριτίνης βρέθηκαν παθολογικά με τη χρήση μη-παραμετρικού στατιστικού τεστ Wilcoxon σε άνδρες και γυναίκες ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Η στατιστική σημασία εκτιμήθηκε ότι ήταν  $p = 0,028$  στην ομάδα ανδρών και  $p < 0,0001$  στη γυναικεία ομάδα σε σύγκριση με τους μάρτυρες, αντίστοιχα.

Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ/BMI) ήταν χαμηλότερος μόνο στους άνδρες ασθενείς, σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p = 0,015$ ). Η ομάδα των γυναικών ασθενών παρουσίασε μη στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Η οστική πυκνότητα (BMD) ολόκληρου του σώματος βρέθηκε να παρουσιάζει μεγάλου βαθμού μείωση τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες, με στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p = 0,001$  για την ομάδα των ανδρών και  $p < 0,0001$  για τη γυναικεία ομάδα, αντίστοιχα) (Σχήμα 2.1).

Το ολικό σωματικό λίπος, εκφραζόμενο σε ποσοστό λίπους ολόκληρου του σώματος και σε Kg, είναι χαμηλότερο σε άνδρες ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία σε σύγκριση με τους μάρτυρες αλλά δεν εμφανίζει στατιστική σημαντικότητα ( $p = 0,07$ ). Ομοίως, το συνολικό σωματικό λίπος στις γυναίκες δεν δείχνει καμία διαφορά μεταξύ των ασθενών και των μαρτύρων ( $p = 0,89$ ). Όσον αφορά το περιφερειακό λίπος γύρω από την κοιλιά, το οποίο εκφράστηκε ως ποσοστό λίπους κορμού, οι άνδρες ασθενείς βρέθηκαν να έχουν στατιστικά σημαντικά λιγότερο λίπος σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p = 0,02$ ), ενώ δεν παρατηρήθηκε διαφορά μεταξύ γυναικών ασθενών και μαρτύρων. Η συνολική μυϊκή μάζα σώματος βρέθηκε να μειώνεται σοβαρά τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες, σε σύγκριση με τους μάρτυρες, ( $p < 0,01$  για άνδρες και γυναίκες, αντίστοιχα). (Σχήμα. 2.2, 2.3).

#### **Κεφάλαιο 4. Συζήτηση**

Οι ασθενείς με μείζονα β-θαλασσαιμία πάσχουν από διαταραχή του μεταβολισμού των οστών που οδηγεί σε μειωμένη οστική πυκνότητα σε όλο τον σκελετό. Πολλοί παράγοντες συμβάλλουν σε αυτή την ανισορροπία, όπως η διατροφική δυσαπορρόφηση, η δυσλειτουργία των ενδοκρινών αδένων λόγω εναπόθεσης σιδήρου, η μειωμένη άσκηση, η τοξικότητα από τη δεσφεριοξαμίνη και η επίμονη υπερπλασία του μυελού των οστών, (101), (102), (103), (104). Η αύξηση του

προσδόκιμου επιβίωσης των ασθενών με μείζονα θαλασσαιμία κάνει την οστεοπόρωση πιο εμφανή κατά την ενήλικη ζωή, αν και μελέτες σε παιδιατρικούς θαλασσαιμικούς ασθενείς υποδηλώνουν επίσης μειωμένη οστική πυκνότητα. Παρά τη βελτίωση των στρατηγικών θεραπείας τις τελευταίες δεκαετίες, έχει υπολογιστεί ότι το 60 έως 90% των ενηλίκων ασθενών με θαλασσαιμία παρουσιάζουν οστεοπενία ή οστεοπόρωση.

Ο αυξημένος κίνδυνος κατάγματος μπορεί να προληφθεί σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία εάν αναγνωριστεί εγκαίρως. Ωστόσο, οι τυπικές και προηγμένες μέθοδοι πυκνομετρίας φαίνεται να μην λειτουργούν σωστά στους παραπάνω ασθενείς, επειδή η υπερφόρτωση σιδήρου που οδηγεί σε ηπατική και καρδιακή αιμοσιδήρωση δημιουργεί φαινόμενο αποθήκευσης σιδήρου και στον μυελό των οστών. Επομένως, οι μετρήσεις DXA λειτουργούν σχετικά καλά, αλλά οι μετρήσεις QCT αποκλίνουν ουσιαστικά από την πραγματική οστική πυκνότητα των θαλασσαιμικών σπονδυλικών σωμάτων (105), (106), (107).

Προηγούμενες αναφορές με χρήση (DXA) υποδηλώνουν ότι έως και το 70% των ενηλίκων με μείζονα θαλασσαιμία έχουν χαμηλή οστική μάζα. Με βάση τα ευρήματά μας, το ποσοστό των ασθενών με τιμή Zscore κάτω από -2,0 ήταν 32%. Το ποσοστό αυτό, αν και υψηλό για μια ομάδα ασθενών με διάμεση ηλικία 35 ετών σε σύγκριση με τον φυσιολογικό πληθυσμό, θεωρείται σχετικά βελτιωμένο σε σχέση με άλλα δημοσιευμένα δεδομένα. Η συνολική κλινική φροντίδα που λαμβάνουν αυτοί οι ασθενείς κατά τη διάρκεια της ζωής τους έχει βελτιωθεί και επομένως η πρόιμη απώλεια οστικής μάζας έχει αποτραπεί σε κάποιο βαθμό.

Η QCT έχει αναφερθεί ως αναξιόπιστη μέθοδος εκτίμησης της οστικής πυκνότητας στη μείζονα θαλασσαιμία επειδή δεν μπορεί να κάνει σωστή διάκριση μεταξύ οστικών ανόργανων ουσιών και του σιδήρου (106). Η αποθήκευση του σιδήρου στο μυελό των οστών, παρά την αποτελεσματική αποσιδήρωση, φαίνεται να είναι ένας σημαντικός παράγοντας που καθιστά την QCT μη ευαίσθητη μέθοδο στις οστικές μεταβολές. Τα ευρήματά μας είναι συνεπή με αυτά που αναφέρθηκαν σε προηγούμενες μελέτες και υποστηρίζουν την πρόταση ότι οι μετρήσεις QCT μπορούν να συγκριθούν εσφαλμένα με τα ευρήματα DXA (Εικ. 1.1) (Εικ. 1.2). Ως εκ τούτου, η QCT μπορεί να θεωρηθεί αναξιόπιστη για την ανίχνευση οστικών διαταραχών σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία.

Ωστόσο, η απομετάλλωση των οστών εμφανίζεται σε ασθενείς με θαλασσαιμία παρά τις αποτελεσματικές θεραπείες. Ένα σημαντικό ερώτημα είναι εάν ο κίνδυνος κατάγματος υποτιμάται με τις μετρήσεις DXA. Μια πρόσφατη μελέτη υποδηλώνει ότι

ακόμη και η μέθοδος DXA μπορεί να υπόκειται σε ανακρίβειες που οδηγούν σε υποεκτίμηση της οστεοπόρωσης στους παραπάνω ασθενείς. Η θεραπεία με χηλικούς παράγοντες διαδραματίζει προστατευτικό ρόλο έναντι της αφαλάτωσης του σκελετού. Ωστόσο, λόγω μιας πολυπαραγοντικής διαδικασίας που δρα εναντίον της διατήρησης της ακεραιότητας του σκελετού, η οστεοπενία καθίσταται αναπόφευκτη κατά τη διάρκεια της ζωής αυτών των ασθενών (103), (105).

Οι παράγοντες της οστικής ανακατασκευής φαίνεται να σχετίζονται με την οστική πυκνότητα (105), (108). Τα ευρήματά μας υποδηλώνουν ότι τα επίπεδα φερριτίνης έχουν θετική στατιστική συσχέτιση με τις τιμές Z-score της σπονδυλικής στήλης τόσο στην υποομάδα των ανδρών όσο και των γυναικών. Επομένως, όσο υψηλότερο είναι το επίπεδο της φερριτίνης, τόσο πιο πιθανή είναι η ανάπτυξη οστεοπόρωσης. Τα επίπεδα φερριτίνης αντικατοπτρίζουν την κατάσταση της υπερφόρτωσης σιδήρου και εξαρτώνται άμεσα από τη θεραπεία αποσιδήρωσης (101), (105), (109), (110), (111). Παρόλο που οι θαλασσαιμικοί ασθενείς περιλαμβάνουν τη αγωγή αποσιδήρωσης στη θεραπεία ρουτίνας τους, η περιοδική ή πιο μόνιμη έλλειψη συμμόρφωσης με το σχήμα αποσιδήρωσης μπορεί να συμβάλει στην αιμοσιδήρωση και τη μειωμένη οστική πυκνότητα. Τα ευρήματά μας υποδηλώνουν επίσης μια θετική συσχέτιση μεταξύ οστεοκαλσίνης και οστεοπόρωσης που είναι εμφανής στους άνδρες ασθενείς. Μπορεί να προταθεί ότι η οστεοκαλσίνη παίζει το ρόλο ενός βιοδείκτη στην οστεοπόρωση που επάγεται από την θαλασσαιμία στους άνδρες ασθενείς, αν και το δείγμα ασθενών μας είναι περιορισμένο.

Αναφορικά με το δεύτερο σκέλος της μελέτης, διερευνήθηκε η σύσταση του σώματος σε ένα δείγμα ενήλικων ανδρών και γυναικών ασθενών με μείζονα θαλασσαιμία με τη χρήση DXA και συγκρίθηκαν τα ευρήματα με υγιείς μάρτυρες παρόμοιας ηλικιακής κατανομής. Υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα στη βιβλιογραφία που διερευνούν την κατάσταση της σύνθεσης του σώματος σε αυτούς τους ασθενείς (112), αν και είναι καλά μελετημένο το γεγονός πως το υπόβαθρο της οστεοπόρωσης είναι πολυπαραγοντικό και προκαλείται κυρίως από την υπερφόρτωση με σίδηρο και δευτερογενείς ενδοκρινολογικές παθήσεις που παρεμβαίνουν σε μοριακές οδούς μεταβολισμού των οστών (113), (113). Υπάρχουν επίσης αναφορές σχετικά με μειωμένο σωματικό βάρος στους θαλασσαιμικούς ασθενείς, ιδιαίτερα μεταξύ της παιδικής ηλικίας και της εφηβείας, λόγω διατροφικών διαταραχών και της μειωμένης σωματικής δραστηριότητας (113).

Η παρούσα εκτίμηση της σύστασης της σωματικής μάζας σε ενήλικες ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία έδωσε μερικές παρατηρήσεις σχετικά με το λίπος και την μυϊκή μάζα. Αρχικά, το ποσοστό συνολικού σωματικού λίπους δεν έδειξε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών και των μαρτύρων. Αυτά τα ευρήματα συμφωνούν με προηγούμενες αναφορές, οι οποίες παρατήρησαν ότι τα άτομα με μεταγγισιοεξαρτώμενη θαλασσαιμία είχαν υψηλότερο ποσοστό σωματικού λίπους σε σύγκριση με άτομα που δεν είχαν μεταγγιστεί (113). Ωστόσο, οι άνδρες ασθενείς βρέθηκαν να έχουν λιγότερο σωματικό λίπος σε σύγκριση με τους μάρτυρες οι οποίοι, αν και δεν είναι στατιστικά σημαντικό, έδειξαν μια τάση μειωμένου λιπώδους ιστού. Υπήρχε ένας άρρεν ασθενής με  $\Delta\text{M}\Sigma = 30,4$  (κατηγορία παχυσαρκίας) και ένας άρρεν ασθενής με  $\Delta\text{M}\Sigma = 16,1$  (κατηγορία ελλιπούς σωματικού βάρους). Όλοι οι υπόλοιποι ασθενείς βρέθηκαν να βρίσκονται εντός υγιών ορίων σωματικού βάρους. Οι γυναίκες ασθενείς βρέθηκαν να έχουν παρόμοιο ποσοστό συνολικού λίπους σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Υπήρχε μια παχύσαρκη γυναίκα ασθενής με  $\Delta\text{M}\Sigma = 33,2$  και έξι γυναίκες ασθενείς με  $\Delta\text{M}\Sigma > 25$  (κατηγορία υπέρβαρου ατόμου). Αυτό το εύρημα δεν έχει αναφερθεί προηγουμένως, πιθανώς επειδή μελέτες για ασθενείς με θαλασσαιμία εστιάζουν κυρίως σε νεότερες ηλικιακές ομάδες.

Ωστόσο, υπάρχουν μερικές μελέτες που έχουν διερευνήσει τη συνύπαρξη του μεταβολικού συνδρόμου σε ασθενείς με ελάσσονα θαλασσαιμία και έχει προταθεί ότι ο επιπολασμός του μεταβολικού συνδρόμου δεν έδειξε καμία σχέση με το φύλο και την ηλικία και ότι αυτοί οι ασθενείς είχαν μόλις υψηλότερο  $\Delta\text{M}\Sigma$  (114). Έχει επίσης αναφερθεί ότι οι ασθενείς με ελάσσονα θαλασσαιμία έχουν καλύτερο λιπιδαιμικό και μεταβολικό προφίλ. Ωστόσο, οι γυναίκες φαίνεται να προστατεύονται τουλάχιστον εξίσου από τον καρδιαγγειακό κίνδυνο σε σύγκριση με τους Άνδρες (115). Είναι ενδιαφέρον ότι η περιφερειακή κατανομή του λίπους του κορμού γύρω από την κοιλιά δείχνει μια στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ανδρών ασθενών και των μαρτύρων ( $p = 0,02$ ), η οποία δεν παρατηρείται μεταξύ των γυναικών ασθενών και των μαρτύρων ( $p = 0,46$ ). Μπορεί να υποστηριχθεί ότι το φύλλο μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας, αλλά η κατανόηση των μηχανισμών των μεταβολικών οδών σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω.

Μια άλλη παρατήρηση είναι ότι η μυϊκή μάζα είναι χαμηλότερη τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες ενήλικες ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p < 0,01$  και στις δύο ομάδες). Περίπου τα δύο τρίτα των ασθενών μας (41/62) δεν έχουν κάνει σπληνεκτομή. Παρ' όλα αυτά, η μυϊκή μάζα είναι ένας παράγοντας που φαίνεται να

μειώνεται σε ενήλικες ασθενείς και των δύο φύλων με μείζονα θαλασσαιμία. Τα δεδομένα μας επιβεβαίωσαν επίσης ότι το συνολικό BMD των ασθενών είναι χαμηλότερο σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Υπάρχουν δημοσιευμένα δεδομένα στη βιβλιογραφία που αποδεικνύουν ότι η οστεοπόρωση είναι μια καλά αναγνωρισμένη οντότητα σε θαλασσαιμικούς ασθενείς και αναλύουν τις μοριακές οδούς που εμπλέκονται σε αυτήν τη διαδικασία (116), (117), (118), (119).

Οι Wong et al, (120) ανέφεραν πρόσφατα μια συσχέτιση του υπογοναδισμού με τη σύσταση του σώματος σε ασθενείς με θαλασσαιμία και διαπίστωσαν ότι αυτή η ενδοκρινική διαταραχή εξασθενεί την δύναμη της συσχέτισης μυϊκής – οστικής μάζας στους άνδρες αλλά ενισχύει τη θετική συσχέτιση της σκελετικής μυϊκής μάζας και της μάζας λίπους στις γυναίκες. Ο υπογοναδισμός, ο σακχαρώδης διαβήτης, ο υποθυρεοειδισμός και ο υποπαραθυρεοειδισμός είναι αναγνωρισμένες επιπλοκές μεταξύ των ασθενών με θαλασσαιμία, (121). Έχει αναφερθεί πως η καλύτερη συμμόρφωση στην θεραπεία αποσιδήρωσης προκαλεί μείωση του ποσοστού εμφάνισης νέων ενδοκρινικών διαταραχών και σταθεροποίηση προϋπάρχουσας νόσου, (96), (122). Οι ασθενείς με κακή συμμόρφωση όσον αφορά τη θεραπεία αποσιδήρωσης έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ενδοκρινικών διαταραχών που επηρεάζουν την κατάσταση της σύνθεσης του σώματος.

Οι Shehramian et al, (123) συσχέτισαν το επίπεδο της λεπτίνης στον ορό με τις ορμόνες του θυρεοειδούς σε παιδιά με μείζονα θαλασσαιμία και διαπίστωσαν ότι υπήρχε σημαντική συσχέτιση μεταξύ του επιπέδου λεπτίνης του ορού και του ΔΜΣ σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία. Οι Karachaliou et al, (124) ανέφεραν ότι παρατηρήθηκαν χαμηλά επίπεδα λεπτίνης σε παιδιά με μείζονα θαλασσαιμία, τα οποία μπορεί να οφείλονται σε μια τοξική επίδραση του σιδήρου στα λιποκύτταρα. Οι γυναίκες ασθενείς, ωστόσο, κατάφεραν να ανακτήσουν λιπώδη ιστό κατά την ενηλικίωση, με βάση τα ευρήματά μας. Η λεπτίνη, αλλά όχι η λιπονεκτίνη, συσχετίστηκε αρνητικά με τη φερριτίνη σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία, (125). Τα επίπεδα της λεπτίνης κατά τη διάρκεια της νόσου σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω.



## Κεφάλαιο 5. Συμπεράσματα - Σύνοψη

Συμπερασματικά, τα ευρήματά μας υποστηρίζουν τα ακόλουθα:

- Η DXA είναι η οστεοπυκνομετρική μέθοδος που φάνηκε να είναι πιο ακριβής για την ανίχνευση και την παρακολούθηση των οστικών αλλοιώσεων και της επακόλουθης οστεοπενίας και οστεοπόρωσης σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία. Η εφαρμογή της μεθόδου QCT σε αυτούς τους ασθενείς δεν είναι αξιόπιστη όσον αφορά την ακριβή μέτρηση της οστικής πυκνότητας και μπορεί να οδηγήσει σε ψευδείς ερμηνείες.

- Η οστεοπόρωση είναι εμφανής σε σημαντικό ποσοστό ενηλίκων ασθενών με μείζονα θαλασσαιμία. Παράγοντες που φαίνεται να συμβάλλουν σε αυτό, περιλαμβάνουν την συσσώρευση σιδήρου, όπως εκφράζεται με υψηλά επίπεδα φερριτίνης που αντικατοπτρίζουν την μακροχρόνια υπερφόρτωση του σκελετού με σίδηρο και αλλαγές στην οστεοκαλσίνη που είναι πιο εμφανείς στους άνδρες. Επομένως, τα υποδεικνύουν ότι ο διαταραγμένος μεταβολισμός των οστών σε ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία θα πρέπει να βρίσκεται υπό ιατρική παρακολούθηση και θεραπευτική πρόληψη.

- Η σύνθεση μάζας σώματος σε ενήλικες ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία φαίνεται να έχει ξεχωριστά χαρακτηριστικά σε σύγκριση με εκείνη των παιδιατρικών πληθυσμών και των εφήβων που πάσχουν από αυτή την ασθένεια. Μπορεί να υποθεθεί ότι μια σοβαρή μείωση της συνολικής οστικής πυκνότητας του σώματος και της μυϊκής μάζας είναι ένα σταθερό εύρημα τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες ασθενείς, ενώ το περιφερειακό λίπος του κορμού γύρω από την κοιλιά είναι χαμηλότερο μόνο σε άνδρες ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες.

Υπάρχουν ορισμένοι περιορισμοί σε αυτήν τη μελέτη. Πρώτον, ο αριθμός των ασθενών είναι σχετικά μικρός επειδή η μονάδα παραπομπής στο νοσοκομείο είναι υπεύθυνη για το πολύ 100 ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία. Δεύτερον, καταφέραμε να προσελκύσουμε μόνο δεκαπέντε εθελοντές ως controls λόγω περιορισμένης διαθεσιμότητας εκτέλεσης των παραπάνω εξετάσεων για ερευνητικούς σκοπούς. Η έλλειψη ψηφιακού αρχείου για κάθε ασθενή κατέστησε επίσης δύσκολη τη συλλογή κλινικών πληροφοριών σχετικά με την ενδοκρινική κατάσταση όλων των ασθενών που σχημάτισαν την ομάδα μελέτης μας και τους συσχετίζουν με τα ευρήματα της σύνθεσης του σώματος. Τρίτον, δεν ήταν διαθέσιμη σας εμάς κατά την περίοδο

διενέργειας της μελέτης, η τεχνική ποσοτικοποίηση της αιμοσιδήρωσης στον μυελό των οστών, ώστε να εκτιμήσουμε την επίδραση του σιδήρου στις μετρήσεις DXA και QCT.

## **Κεφάλαιο 6. Εργασία 1**

### **6.1 Τίτλος - Περίληψη**

Η τεχνική της διπλοενεργειακής απορροφησιομετρίας Ακτίνων Χ (DXA) είναι ανώτερη στην ανίχνευση των μεταβολών οστικής πυκνότητας σε ενήλικες ασθενείς με μείζονα Θαλασσαιμία, συγκριτικά με την ποσοτική υπολογιστική τομογραφία (QCT).

#### **Σκοπός**

Οι ασθενείς με μείζονα β-θαλασσαιμία, λόγω της αύξησης του προσδόκιμου επιβίωσης, είναι επιρρεπείς στη ανάπτυξη οστεοπόρωσης παρά την αποτελεσματική και συστηματική θεραπεία αποσιδήρωσης με χηλικούς παράγοντες. Η παρούσα μελέτη στοχεύει, στην αξιολόγηση της οστικής πυκνότητας σε θαλασσαιμικούς ασθενείς με την μέθοδο της απορρόφησης ακτίνων Χ (DXA) διπλής ενέργειας και την μέθοδο της ποσοτικής αξονικής τομογραφίας (QCT), στην αξιολόγηση της διαγνωστικής απόδοσης της κάθε μεθόδου και στην συσχέτιση των οστικών αλλοιώσεων με διάφορες κλινικές παραμέτρους και δείκτες οστικού μεταβολισμού.

#### **Υλικό και Μέθοδοι**

Η μελέτη συμπεριέλαβε 75 ενήλικες ασθενείς με ομόζυγο β-θαλασσαιμία (31 άνδρες, 44 γυναίκες, εύρος ηλικίας 22-49 ετών) που βρίσκονταν σε πρόγραμμα συστηματικής μεταγγισιοθεραπείας και θεραπείας αποσιδήρωσης. Όλοι οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε μετρήσεις DXA και QCT καθώς και αιματολογικές εργαστηριακές εξετάσεις.

#### **Αποτελέσματα**

Αρχικά, εξετάσαμε τη σχέση του δείκτη Z-score στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης μεταξύ των μετρήσεων DXA και QCT όπου δεν υπήρξε ένδειξη συμφωνίας μεταξύ των δύο πυκνομετρικών μεθόδων, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις. Οι μετρήσεις DXA της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης και του αυχένα του μηριαίου οστού ανίχνευσαν 24/75 ασθενείς (32%) και 10/75 ασθενείς αντίστοιχα κάτω από το αναμενόμενο για την ηλικία εύρος (10%), ενδεικτικό μειωμένης οστικής πυκνότητας. Όσον αφορά τους αιματολογικούς δείκτες και την BMD, βρήκαμε ότι η φερριτίνη έχει στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την οστική πυκνότητα του αυχένα του μηριαίου τόσο σε άνδρες όσο και σε γυναίκες. Ομοίως, η οστεοκαλσίνη

έχει στατιστικά σημαντική θετική συσχέτιση με την BMD του αυχένα του μηριαίου μόνο σε άνδρες ασθενείς.

### **Συμπεράσματα**

Η οστεοπόρωση θα πρέπει να αξιολογείται μόνο με DXA και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κλινικά για την παρακολούθηση και θεραπεία σε ενήλικες ασθενείς με θαλασσαιμία.

### **Λέξεις κλειδιά**

Οστική πυκνότητα, διπλή απορρόφηση ακτίνων X, ποσοτική αξονική τομογραφία, μείζονα θαλασσαιμία

## **6.2 Title - Abstract**

### **Title**

Dual X-Ray Absorptiometry is superior in detecting bone mineral density alterations in adult patients with Thalassaemia major compared to quantitative computed tomography

### **Purpose**

Patients with Beta Thalassaemia major are prone to develop osteoporosis during prolonged lifespan despite effective and regular chelation treatment. The present study aims to assess the bone mineral density in thalassaemic patients with dual x ray absorptiometry (DXA) and quantitative computed tomography (QCT), to assess the diagnostic performance of each method and correlate bone alterations with various clinical parameters and bone markers.

### **Material and Methods**

The study included 75 homozygous thalassaemic adult patients (31 men, 44 women, age range 22-49 years) that were in regular transfusion and chelation therapy. All patients underwent DXA and QCT measurements and laboratory examinations.

## **Results**

First, we examined the relationship of lumbar Z scores at the lumbar spine between DXA and QCT measurements and there was no evidence of agreement between the two densitometric methods, in almost all cases. DXA measurements of the lumbar spine and femoral neck detected 24/75 patients (32%) and 10/75 patients, respectively below the expected range for age (10%), indicative of diminished bone mineral density. Regarding bone markers and BMD, we found that ferritin has a statistically significant positive correlation with BMD of the femoral neck in both male and females. Similarly, osteocalcin has a statistically significant positive correlation with BMD of the femoral neck in male patients only.

## **Conclusions**

Osteoporosis should be assessed only with DXA and should be taken into clinical consideration for monitoring and therapy in adult patients with thalassemia.

## **Keywords**

bone mineral density, dual x ray absorptiometry, quantitative computed tomography, thalassemia major

### 6.3 Πίνακες

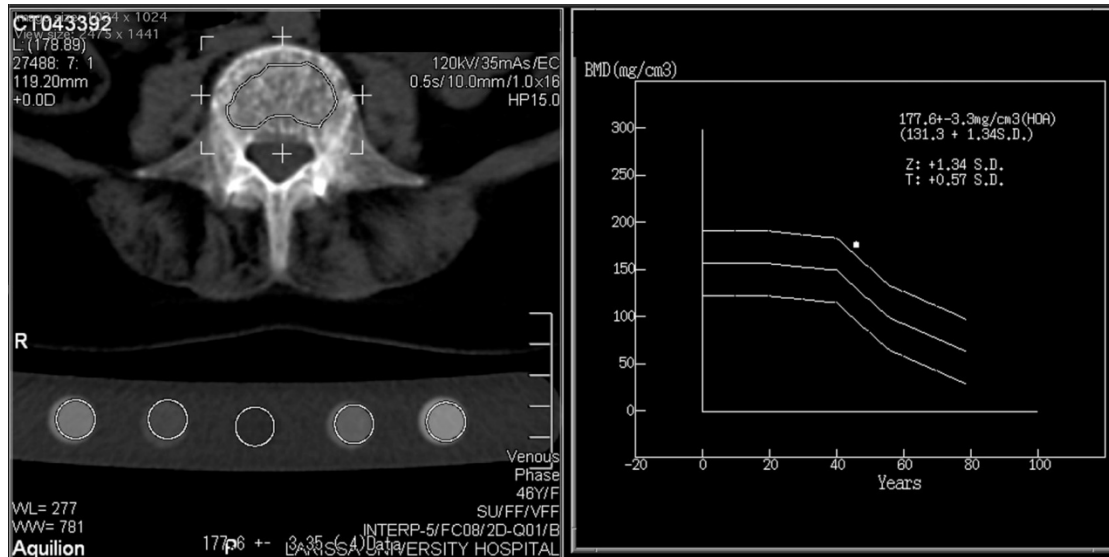
<b>Table 1.1 – Εργαστηριακές Μετρήσεις</b>	
<b>Παράμετρος</b>	<b>Τιμή±SD</b>
Ferritin (ng/mL)	1295.2±1630.7
Calcitonin (ng/mL)	2.19±0.95
Osteocalcin (ng/mL)	8.9±4.4
PTH (pg/mL)	36.6±19.3
IGF-1 (ng/mL)	126.9±88.5
Vitamin D	18.2±7.76

**Table 1.2- Correlation Tests between BMD and parameters of bone turnover in patients with thalassemia**

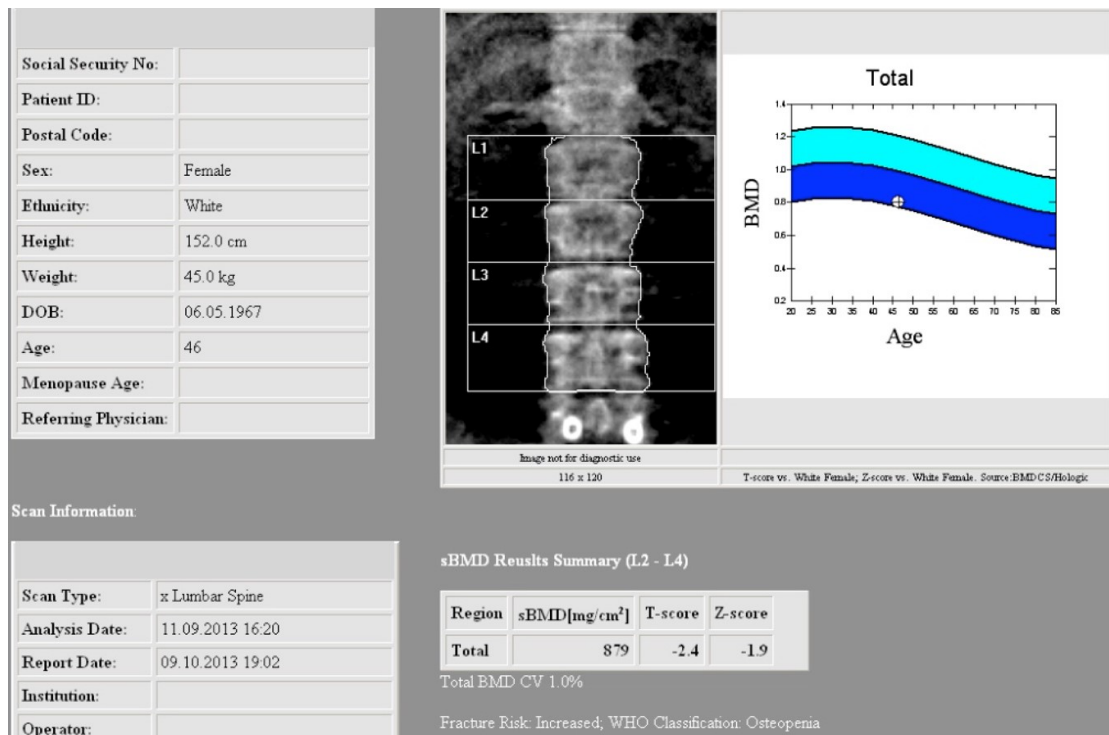
Gender	DXA	FERRITIN	CALCITONIN	OSTEOCALCIN	PTH	IGF-1	VITD
	<b>Neck Z Score</b>						
Male		0.39 ( <b>0.03</b> ) <sup>‡</sup>	0.13 (0.45)	-0.41 ( <b>0.02</b> ) <sup>‡</sup>	0.18 (0.32)	-0.03 (0.867)	-0.11 (0.55)
Female		0.22 (0.15)	-0.14 (0.35)	0.04 (0.78)	0.09 (0.54)	0.002 (0.98)	0.12 (0.44)
	<b>L1-L4 Z Score</b>						
Male		0.23 (0.21)	0.24 (0.19)	-0.26 (0.16)	0.01 (0.61)	-0.24 (0.19)	0.09 (0.64)
Female		0.37 ( <b>0.01</b> ) <sup>‡</sup>	-0.02 (0.91)	-0.06 (0.69)	0.234 (0.18)	-0.11 (0.49)	-.024 (0.12)

<sup>‡</sup> Statistically Significant,  $p < 0.05$

Values between  $-0.3$  and  $-0.7$  indicate a moderate negative linear relationship through a fuzzy-firm linear rule.



**Figure 1.1:** Μέτρηση οστικής πυκνότητας με την μέθοδο QCT στο σπονδυλικό σώμα ασθενούς με μείζονα θαλασσαιμία. Οι τιμές BMD είναι παράδοξα υψηλές.



**Figure 1.2:** Μέτρηση οστικής πυκνότητας με την μέθοδο DXA στην οσφυϊκή μοίρα του ίδιου ασθενούς, που δείχνει την μειωμένη τιμή BMD και τον αυξημένο κίνδυνο κατάγματος.

## **Κεφάλαιο 7. Εργασία 2.**

### **7.1 Τίτλος - Περίληψη**

#### **Τίτλος**

Σύσταση μάζας σώματος σε ασθενείς με θαλασσαιμία

#### **Σκοπός**

Να εκτιμηθεί η σύσταση μάζας σώματος σε άνδρες και γυναίκες ενήλικες ασθενείς που πάσχουν από μεταγγισιοεξαρτώμενη μείζονα β-θαλασσαιμία, με την μέθοδο της απορροφησιομετρίας διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X (Dual energy x-ray absorptiometry – DXA) και να συγκριθούν τα ευρήματα με ομάδα υγιών εθελοντών ίδιας ηλικίας.

#### **Υλικό και μέθοδος**

Η ομάδα της μελέτης μας περιελάμβανε εξήντα δύο ασθενείς (27 άνδρες με μέση ηλικία 36 ετών και 35 γυναίκες με μέση ηλικία 36,4 ετών) και δεκαπέντε υγιείς μάρτυρες ίδιας ηλικιακής κατανομής. Όλοι οι ασθενείς είχαν διάγνωση μείζονος β-θαλασσαιμίας και ακολουθούσαν πρόγραμμα συστηματικών μεταγγίσεων αίματος από την παιδική ηλικία καθώς και θεραπεία αποσιδήρωσης. Η αναλογία σύστασης σε λιπώδη ιστική μάζα, μυϊκή μάζα και οστική πυκνότητα (BMD) αξιολογήθηκε με απορροφησιομετρία διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X (DXA). Κατεγράφησαν επίσης τα επίπεδα φερριτίνης και ο δείκτης μάζας σώματος όλων των ασθενών και υγιών μαρτύρων. Διεξήχθη η δοκιμασία t-Student και Wilcoxon και η στατιστική σημαντικότητα καθορίστηκε σε  $p < 0,05$ .

#### **Αποτελέσματα**

Η οστική πυκνότητα (BMD) και η συνολική μυϊκή μάζα σώματος βρέθηκε να είναι χαμηλότερη τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες ενήλικες ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p < 0,01$  και στις δύο ομάδες), ενώ η συνολική μάζα του σωματικού λίπους βρέθηκε να μην έχει στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Το περιφερειακό λίπος του κορμού στην περιοχή γύρω από την κοιλιά βρέθηκε να είναι χαμηλότερο στους άνδρες ασθενείς σε σύγκριση με τους μάρτυρες ( $p = 0,02$ )

#### **Συμπέρασμα**



Μεγάλου βαθμού απώλεια οστικής μάζας και μειωμένη συνολική μυϊκή μάζα αναμένεται σε ενήλικες ασθενείς, άνδρες και γυναίκες, που πάσχουν από μείζονα β-θαλασσαιμία. Οι μεταβολές του λίπους φαίνεται να επηρεάζουν κυρίως τους άνδρες ασθενείς.

#### **Λέξεις κλειδιά:**

σύσταση μάζας σώματος, μείζων θαλασσαιμία, DXA

## **7.2 Abstract**

### **Title**

Body composition in adult patients with thalassemia major

### **Purpose**

To assess body composition in adult male and female patients with thalassemia major by dual energy x-ray absorptiometry (DXA) and to compare the findings with a group of healthy age-matched controls

### **Materials and methods**

Our study group included sixty-two patients (27 males, mean age 36 years and 35 females, mean age 36.4years) and fifteen age-matched healthy controls. All patients had an established diagnosis of thalassemia major and followed a regular blood transfusion scheme since childhood and chelation treatment. Fat, lean, and bone mineral density (BMD) were assessed with dual-energy x-ray absorptiometry. Ferritin levels and Body Mass Index of all patients and controls were also recorded. Student t test and Wilcoxon test were performed and statistical significance was set at  $p < 0.05$

### **Results**

BMD and whole body lean mass is lower in both male and female adult patients compared with controls ( $p < 0.01$  in both groups), whereas whole body fat mass found to have no statistically significant difference compared to controls. Regional trunk fat around the abdomen found to be lower in male patients compared to controls ( $p = 0.02$ )

**Conclusion**

Severe bone loss and diminished lean mass is expected in adult male and female patients with thalassemia major. Fat changes seem to affect mainly male patients.

**Key words:**

body composition, thalassemia major, DXA

### 7.3 Πίνακες

**Πίνακας 2.1. Χαρακτηριστικά ασθενών με μείζονα θαλασσαιμία**

	Άρρενες (n= 27)	Θήλειες (n=35)
Ύψος(cm)	173.3 (154-186)	160.4 (150-174)
Βάρος (kg)	69.7 (53-94)	59 (44-80)
BMI (m/kg <sup>2</sup> )	23.2 (16.1-30.4)	22.7 (17.2-33.2)
Ηλικία (έτη)	36 (26-53)	36.4 (21-47)
Φερριτίνη ορού (ng/mL)	1120.43 (103- 3688)	1354.2 (80-4388)

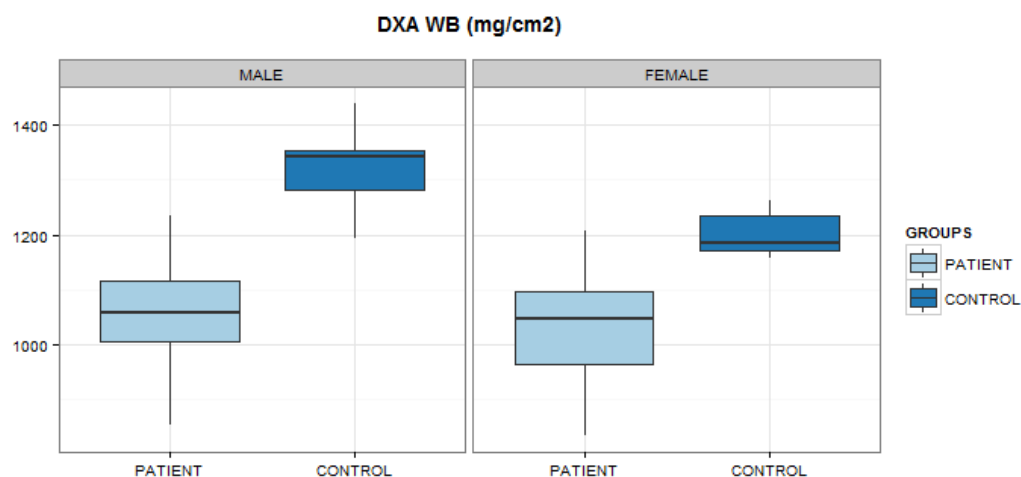
*Φυσιολογικές τιμές φερριτίνης ορού*

*άρρενες: 12-300 ng/mL (nanograms per milliliter), θήλειες: 12-150 ng/mL*

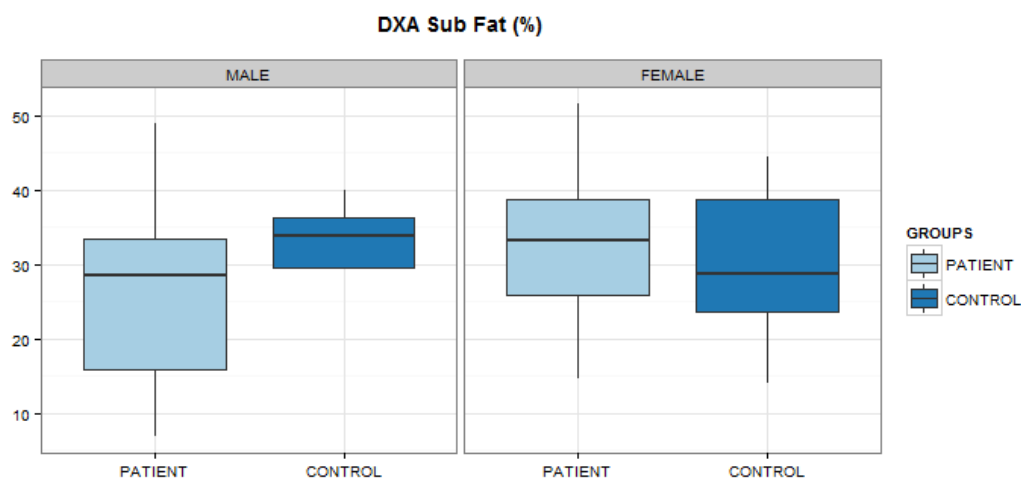
**Πίνακας 2.2. P-values μεταβλητών σύστασης μάζας σώματος μεταξύ ανδρών, γυναικών και controls**

METABΛΗΤΗ	p values Άνδρες ασθενείς- Controls (n= 27)	p values Γυναίκες ασθενείς- Controls (n=35)
Επίπεδα φερριτίνης (ng/mL)	<b>0.028</b>	<b>&lt;0.0001</b>
BMD WB (mg/cm <sup>2</sup> )	<b>0.001</b>	<b>&lt;0.0001</b>
WB (T-score)	<b>0.001</b>	<b>&lt;0.0001</b>
WB Fat (%)	0.07	0.87
WB Fat (gr)	0.07	0.89
WB Lean (gr)	<b>&lt;0.01</b>	<b>&lt;0.01</b>
Sub Trunk Fat (%)	<b>0.02</b>	0.46
BMD Sub trunk (mg/cm <sup>2</sup> )	0.06	<b>&lt;0.0001</b>
BMI (Kgr/m <sup>2</sup> )	<b>0.015</b>	0.38

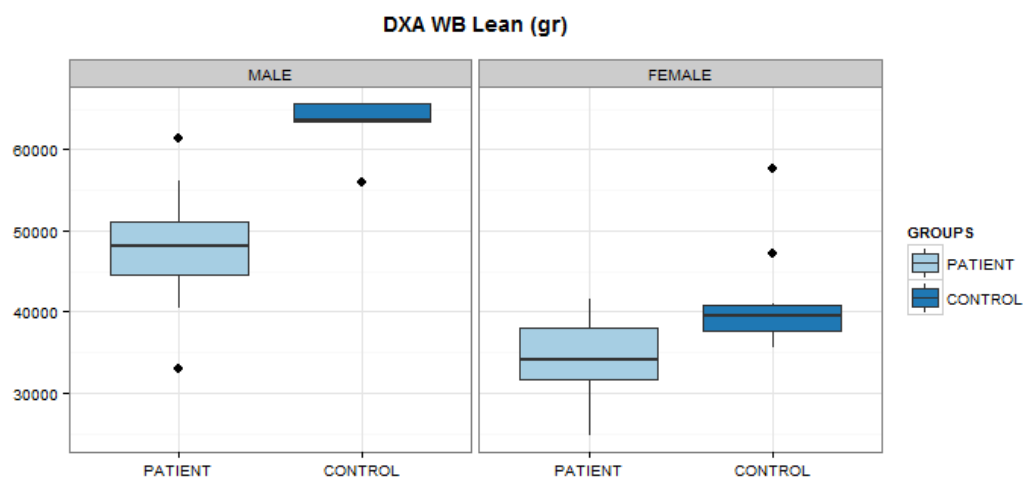
*P<0.05 στατιστική σημαντικότητα*



Σχήμα 2.1. Μετρήσεις ολικής οστικής πυκνότητας σώματος με την μέθοδο DXA σε άνδρες και γυναίκες ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες. Υπάρχει εγκατεστημένη οστεοπόρωση στις ομάδες των ανδρών και γυναικών σε σύγκριση με την ομάδα των μαρτύρων ( $p=0.001$  στους άνδρες,  $p<0.0001$  στις γυναίκες, αντίστοιχα).



Σχήμα 2.2. Επί τοις εκατό (%) ποσοστό λιπώδους μάζας κορμού στην περιοχή της κοιλίας όπως μετρήθηκε με την μέθοδο DXA σε άνδρες και γυναίκες ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες. Υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στην ομάδα των ανδρών ( $p=0.02$ ) αλλά όχι στην ομάδα των γυναικών.



Σχήμα 2.3. Ολική μυϊκή μάζα σώματος όπως μετρήθηκε με την μέθοδο DXA σε άνδρες και γυναίκες ασθενείς με μείζονα θαλασσαιμία σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες. Σε αμφότερες τις ομάδες των ανδρών και γυναικών υπάρχει στατιστικά σημαντική μείωση της μυϊκής μάζας ( $p < 0.01$ ).

## **Κεφάλαιο 8. Ανακοινώσεις – Δημοσιεύσεις**

### **8.1. Προφορική ανακοίνωση:**

Ερευνητική Συνεδρία στο 22<sup>ο</sup> Διαπανεπιστημιακό Συνέδριο Ακτινολογίας, 15 Νοεμβρίου 2015, Αθήνα με τίτλο «Διερεύνηση της οστικής μάζας και της σύστασης μάζας σώματος σε ενήλικες ασθενείς με Μείζονα Θαλασσαιμία: Πρώτα αποτελέσματα»

### **8.2 Δημοσίευση σε διεθνές ξενόγλωσσο περιοδικό:**

Research Article: «Body Composition in Adult Patients with Thalassemia Major», Marianna Vlychou, Evangelos Alexiou, Paschalis Thriskos, Ioannis Fezoulidis, and Katerina Vassiou  
International Journal of Endocrinology, 2016, Article ID 6218437.

### **8.3 Δημοσίευση στο ξενόγλωσσο περιοδικό της Ελληνικής Ακτινολογικής Εταιρείας, Hellenic Journal of Radiology (HJR):**

Research article: «Dual X-Ray Absorptiometry is superior in detecting bone mineral density alterations in adult patients with Thalassaemia major compared to quantitative computed tomography»

## **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

### **ΕΡΓΑΣΙΑ 1**

## ORIGINAL ARTICLE Musculoskeletal Imaging

# Dual X Ray absorptiometry is superior in detecting bone mineral density alterations in adult patients with thalassaemia major compared to quantitative computed tomography

Evangelos Alexiou<sup>1</sup>, Michael Diamantidis<sup>2</sup>, Katerina Vassiou<sup>3</sup>, Ioannis Fezoulidis<sup>1</sup>,  
Marianna Vlychou<sup>3</sup>

<sup>1</sup> CT & MRI Department, General Hospital of Larissa, Greece

<sup>2</sup> Department of Haematology, Thalassaemia Unit, General Hospital of Larissa, Greece

<sup>3</sup> Department of Radiology, University Hospital of Larissa, Greece

SUBMISSION: 25/10/2021 - ACCEPTANCE: 3/12/2021

## ABSTRACT

**Purpose:** Patients with beta thalassaemia major are prone to develop osteoporosis during prolonged lifespan despite effective and regular chelation treatment. The present study aims to assess the bone mineral density in thalassaemic patients with dual x ray absorptiometry (DXA) and quantitative computed tomography (QCT), to assess the diagnostic performance of each method and correlate bone alterations with various clinical parameters and bone markers.

**Material and Methods:** The study included 75 homozygous thalassaemic adult patients (31 men, 44 women, age range 22-49 years) that were in regular transfusion and chelation therapy. All patients underwent DXA and QCT measurements and laboratory examinations.

**Results:** First, we examined the relationship of lumbar Z

scores at the lumbar spine between DXA and QCT measurements and there was no evidence of agreement between the two densitometric methods, in almost all cases. DXA measurements of the lumbar spine and femoral neck detected 24/75 patients (32%) and 10/75 patients (10%), respectively, below the expected range for age, indicative of diminished bone mineral density. Regarding bone markers and BMD, we found that ferritin has a statistically significant positive correlation with BMD of the femoral neck in both males and females. Similarly, osteocalcin has a statistically significant positive correlation with BMD of the femoral neck in male patients only.

**Conclusions:** Osteoporosis should be assessed only with DXA and should be taken into clinical consideration for monitoring and therapy in adult patients with thalassaemia.



CORRESPONDING  
AUTHOR,  
GUARANTOR

Marianna Vlychou,  
Department of Radiology, University Hospital of Larissa,  
Mezourlo, Larissa 41110, Greece.  
E-mail: mvlychou@med.uth.gr





KEY WORDS

bone mineral density; dual x ray absorptiometry; quantitative computed tomography; thalassaemia major

**Introduction**

Beta thalassaemia major is a genetic disorder characterized by decreased or absent production of b-globin chains leading to abnormal haemoglobin formation, chronic haemolytic anaemia, ineffective erythropoiesis, compensatory haematopoietic expansion, hypercoagulability, metabolic bone changes and increased intestinal iron absorption [1,2]. Conventional management primarily relies on a regular hyper-transfusion regime and iron-chelation therapy. Osteoporosis remains one of the serious complications, even in patients fully complied with red blood cell (RBC) transfusions and chelation treatment [1,3].

DXA is the standard of reference regarding the estimation of bone mineral density (BMD). Alternative methods, such as quantitative computed tomography (QCT) and peripheral quantitative computed tomography (pQCT) can be used for assessment of BMD as well as bone strength [4,5]. Based on previous publications having studied various osteoporotic populations, it has been shown that BMD values measured by QCT are usually higher than those measured by DXA [6,7]. On the contrary, some others have found no statistically significant difference between the two methods. This observation may be reversed among patients with decreased BMD with systemic thalassaemia. It has been suggested that the increased iron accumulation in the over-expanded red bone marrow in thalassaemic patients, may influence BMD measurements of the vertebral bodies due to "spilling over" effect of the iron in the bone marrow. This observation is particularly important for patients with thalassaemia major in whom an abnormal bone turnover has been well documented [8].

Bone demineralization in thalassaemia is the endpoint of a complex path of defects that coexist during skeletal maturation and adulthood. Several factors seem to contribute to low BMD, including genetic susceptibility, partial persistence of ineffective erythropoiesis, various endocrine dysregulations, negative

**Table 1. Laboratory measurements**

Parameter	Mean ± SD
Ferritin (ng/mL)	1295.2 ± 1630.7
Calcitonin (ng/mL)	2.19 ± 0.95
Osteocalcin (ng/mL)	8.9 ± 4.4
PTH (pg/mL)	36.6 ± 19.3
IGF-1 (ng/mL)	126.9 ± 88.5
Vitamin D	18.2 ± 7.76

effects of iron overload and/or chelation therapy on osteoblast function [1,2,6,9].

In the present study we aimed to explore the diagnostic capabilities of QCT and DXA measurements in lumbar spine and hip in an adult group of patients with b-thalassaemia major and correlate various clinical parameters as well as bone markers with our findings, with emphasis on the clinical relevance of possible increased fracture risk.

**Material and Methods**

**A. Patients**

This is an observational, cross-sectional study. Patient recruitment was performed by the referral clinicians. Our study group was formed by a total of 75 patients (31 men, 44 women, median age 35 years old, age range 22-49 years). Mean height of the patients was 165 cm, mean weight was 64 kg and mean Body Mass Index (BMI) was 22.7. All patients were diagnosed with beta-thalassaemia major and were on stable transfusion regime. Splenectomy has been performed in 22/75 (45.3%) patients. Another subgroup of 13 patients (13/75, 17.3%) had a history of bone fracture, either in upper or lower limb.

Blood samples from all patients in the above study group were collected for the measurement of serum

**Table 2. Correlation Tests between BMD and parameters of bone turnover in patients with thalassaemia**

Gender	DXA						
	Neck Z Score	FERRITIN	CALCITONIN	OSTEOCALCIN	PTH	IGF-1	VITD
Male		0.39 (0.03) <sup>†</sup>	0.13 (0.45)	-0.41 (0.02) <sup>†</sup>	0.18 (0.32)	-0.03 (0.867)	-0.11 (0.55)
Female		0.22 (0.15)	-0.14 (0.35)	0.04 (0.78)	0.09 (0.54)	0.002 (0.98)	0.12 (0.44)
Gender	L1-L4 Z Score						
	L1-L4 Z Score	FERRITIN	CALCITONIN	OSTEOCALCIN	PTH	IGF-1	VITD
Male		0.23 (0.21)	0.24 (0.19)	-0.26 (0.16)	0.01 (0.61)	-0.24 (0.19)	0.09 (0.64)
Female		0.37 (0.01) <sup>†</sup>	-0.02 (0.91)	-0.06 (0.69)	0.234 (0.18)	-0.11 (0.49)	-0.024 (0.12)

<sup>†</sup> Statistically Significant,  $p < 0.05$

Values between -0.3 and -0.7 indicate a moderate negative linear relationship through a fuzzy-firm linear rule.

biochemical parameters including ferritin and various markers of bone turnover. Calcitonin, osteocalcin (OC), serum total parathyroid hormone (PTH), insulin like growth factor 1 (IGF-1) and 25-hydroxyvitamin D (25-OH vitamin D) were recorded in the above study group preferably after an overnight fasting on the transfusion day.

After the recruitment and initial assessment, all patients were further referred to the Radiology Department for the assessment of bone mineral density values by DXA and QCT. All patients gave their informed consent to participate in the study. The referral Thalassaemia Unit is the reference centre for patients with thalassaemia for an area of about 1,000,000 inhabitants.

### B. Methods

BMD of the total right hip, right hip neck, and lumbar spine (L1-L4) was determined by DXA in all patients. In case that the right hip was not eligible for scanning, the left hip was scanned instead. The available equipment was a Hologic Discovery QDR Series Densitometer (Hologic Inc, Bedford, MA), and all scans were performed with a standard technique according to the manufacturer's instructions. The device was calibrated daily in the morning with a coefficient of variation (CV) of 1% for the spine phantom. After each scan, images were analysed manually. In agreement with the latest official position of the International Society for Clinical Densitometry, only Z scores were calculated in our study group, because in females prior to menopause and in males younger than the age of 50,

Z scores are preferred in BMD reporting. In such patients, a Z-score of -2.0 or lower is defined as "below the expected range for age".

Subsequently all patients underwent QCT examination by using a Toshiba (Tokyo, Europe) Aquilion 16-slice computed tomography scanner. All patients were scanned in the supine position, with a solid QCT phantom (Mindways Software Inc., Austin, TX, USA) placed below them, on the midline in the thoracolumbar region. The scanning protocol was the same for all patients. Scan parameters were 120 kV, 100 mAs, 1 mm (slice thickness), and 40 cm (field of view (FOV)). According to our quality control, this protocol has an in vitro coefficient of variation of  $3.8 \pm 2.2\%$  for the phantom we use, which states in agreement with other researchers. After the scan, images were reviewed in the sagittal plane to identify any loss of vertebral height or wedge deformity, indicating an osteoporotic fracture. Then, 10 mm thick non-angled reconstructions were made through the centre of each T12-L3 vertebra. Trabecular BMD measurement was performed using a software package: QCT PRO 4.2.3. An oval region of interest (ROI) was placed in the trabecular bone at the anterior part of three vertebral bodies (L1-L3), excluding areas of sclerosis, the area of the basivertebral vein, and the vertebral cortex. A vertebral BMD of above  $120 \text{ mg/cm}^3$  of hydroxyapatite was classified as normal, a vertebral BMD within  $80\text{--}120 \text{ mg/cm}^3$  was classified as osteopenic, and a BMD below  $80 \text{ mg/cm}^3$  was classified as osteoporotic. The patients did not receive any intravenous or oral contrast media three days prior to the study. None of the patients had pri-

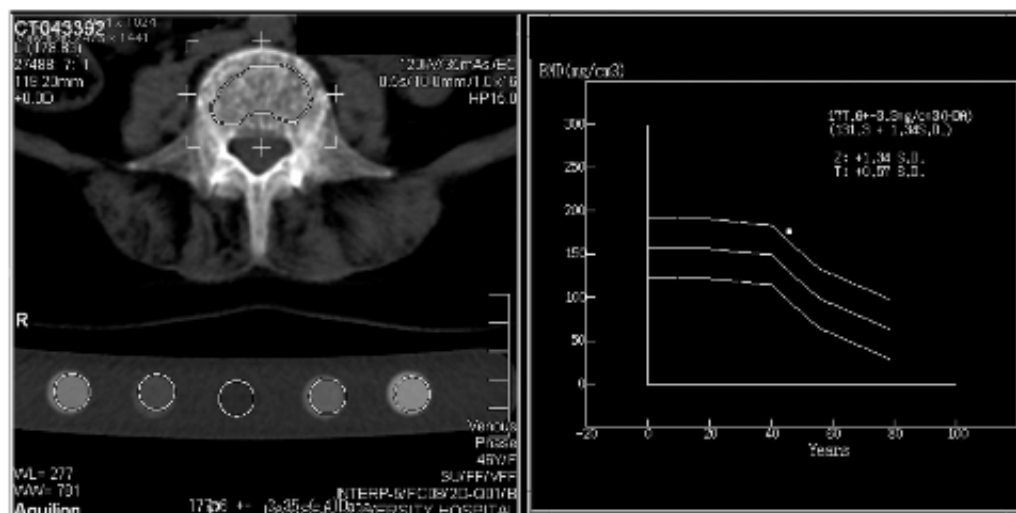


Fig. 1. QCT measurement of an osteoporotic vertebral body in a patient with thalassaemia major. The BMD findings are ironically above normal.

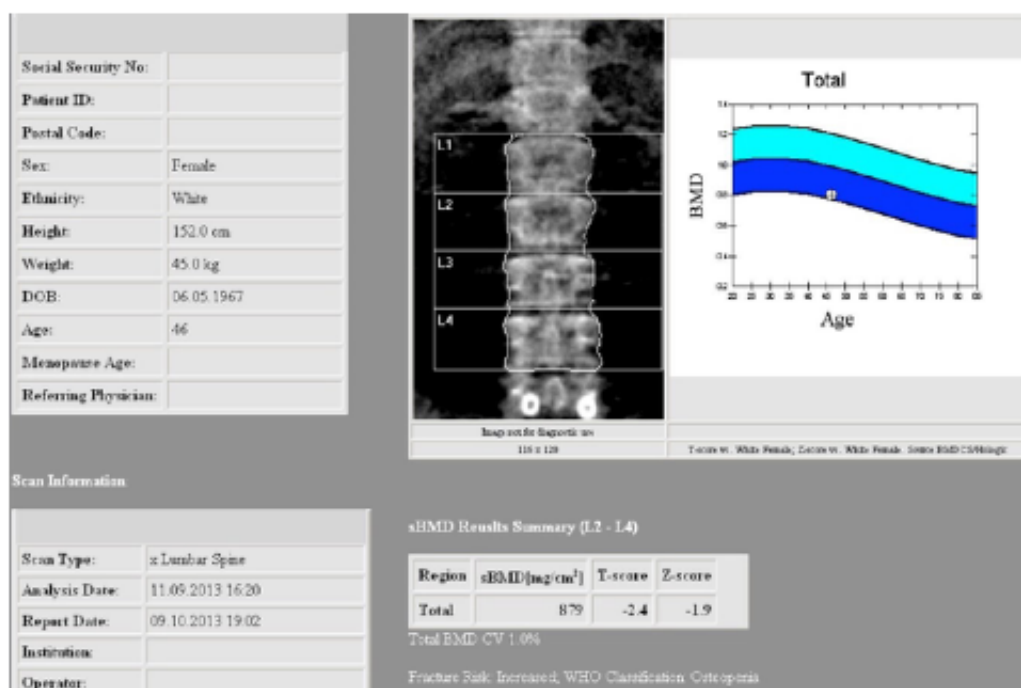


Fig. 2. DXA measurements of the lumbar spine at the same patient, which show that BMD is diminished and the fracture risk is increased.

or surgery with metal implants. As the reference data in the QCT machine was restricted to individuals older than 20 years, Z-scores were reported for patients older than this cut-off value.

### C. Statistical Analysis

Characteristics of the group were presented by frequency distribution, for males and females separately. Comparison between groups was performed by Student's t-test or Wilcoxon rank-sum test. Pearson's correlation coefficient was calculated to evaluate the correlation between two variables. A p-value <0.05 was considered statistically significant. Analysis was performed on R statistical program, version 3.2.3.

### Results

We examined 75 subjects, 31(42%) of which were men and 44(58%) were women. Their age was between 22 and 49 years (35±7.22) and 21 and 47 years (35.7±6.33), respectively. Men had BMI values which ranged between 16.1 and 30.4 (23±2.98) and women had BMI values that ranged between 17.2 and 33.2 (22.4±3.27). Similarly, their weight ranged between 53 and 94kg (68.7±10.1) and 44 and 92kg (61±10.4). Finally, their height was between 154 and 186cm (173±7.26) and between 150 and 177 cm (161±6.79), respectively. Laboratory characteristics are depicted in **Table 1**.

First, we examined the relationship of lumbar Z scores, at the level of L1, L2 and L3 vertebral bodies between DXA and QCT measurements. The correlation coefficients between DXA Z scores and QCT Z scores was found <0.1 (0.000000284 for females and 0.0102 for males). These values indicate no evidence of agreement between the two densitometric methods. QCT measurements expressed either normal or increased BMD values which reflected normal or increased Z scores, while measurements with DXA were far below normal. This was a paradox that led to the conclusion that QCT measurements were found to be unreliable in patients with thalassaemia.

DXA measurements of the lumbar spine as expressed by Z scores, detected 24/75 patients with osteoporosis (32%). The DXA measurements of the femoral neck as expressed by Z scores detected 10/75 patients with osteoporosis (10%).

Then, we analysed the correlation between DXA measurements and various bone turnover factors. We noticed a statistically significant positive correlation

(p=0.03) between ferritin and DXA Z score of the femoral neck in the male group. We also found a statistically significant positive correlation (p=0.02) between osteocalcin and DXA Z score of the femoral neck in the male group. We also found a positive correlation (p=0.01) between ferritin and DXA Z score of L1-L4 vertebral bodies in the female group. Correlations between DXA Z scores, IGF-1 and vitamin D in both male and female groups showed no statistical significance.

### Discussion

Patients with beta - thalassaemia major suffer from impaired bone metabolism that leads to decreased bone mineral density throughout the skeleton. Multiple factors contribute to this imbalance including nutritional malabsorption, dysfunction of endocrine glands due to iron deposition, reduced exercise, desferrioxamine toxicity and persistent bone-marrow expansion [1,2,9,10]. The prolonged life span of patients with thalassaemia major makes osteoporosis more prominent during adulthood, although studies in paediatric thalassaemic patients also suggest decreased bone mineral density. Despite improvement in treatment strategies over the last few decades, it has been estimated that 60 to 90% of adult patients with thalassaemia present with osteopenia or osteoporosis.

The increased risk of fracture can be prevented in patients with thalassaemia major if adequately recognized. However, the standard and advanced densitometric methods seem to work improperly among the above patients, because the iron overload that leads to liver and cardiac haemosiderosis creates a storage phenomenon into the bone marrow. Therefore, DXA measurements work relatively well but QCT measurements deviate substantially from the true bone mineral density of thalassaemic vertebral bodies [6-8].

Previous reports using dual x-ray absorptiometry (DXA) suggest that up to 70% of adults with thalassaemia major have low bone mass. Based on our findings, the percentage of patients with Z scores below -2.0 was 32%. This percentage, although high for a group of patients with a median age of 35 years compared to normal population, is considered relatively improved to other published data. The overall clinical care these patients receive during lifespan has been improved and therefore early bone loss has been prevented to some extent.

QCT has been reported as an unreliable method of

estimation of bone mineral status in thalassaemia major because it cannot discriminate between osseous minerals and iron [7]. The storage of iron in bone marrow, despite effective iron chelation, seems to be an important factor that renders QCT insensitive in bone mineral alterations. Our findings are consistent to those reported in previous studies and support the suggestion that QCT measurements can be falsely compared to DXA findings (Fig 1) (Fig 2). Therefore, QCT may be considered unreliable in detection of bone mineral alterations in patients with thalassaemia major.

However, bone demineralization occurs in patients with thalassaemia despite effective treatments. An important question is whether the fracture risk is underestimated with DXA measurements. A recent study implies that even the DXA method may suffer from inaccuracies leading to underestimation of osteoporosis in the above patients. Chelation therapy plays a protective role against demineralization of the skeleton; however, the multifactorial process against skeletal integrity renders osteopenia unavoidable during the lifespan of these patients [9,11].

Factors of bone turnover seem to be related with bone mineral density [11,12]. Our findings suggest that ferritin levels have a positive statistical correlation with Z scores of the spine in both male and female subgroups. Therefore, the higher the level of ferritin, the more likely the development of osteoporosis. Ferritin levels reflect the status of iron overload and are directly depended on chelation therapy [1,11,13,14,15]. Although thalassaemic patients include chelation therapy in their routine treatment, periodic or more permanent lack of compliance to the chelation regime, may contribute to haemosiderosis and impaired bone

mineral density. Our findings also suggest a positive correlation between osteocalcin and osteoporosis that is evident among male patients. It may be suggested that osteocalcin plays the role of a biomarker in thalassaemia-induced osteoporosis in males, although our sample of patients is limited.

In conclusion, our findings support the following:

- DXA is the densitometric method that seemed to be more precise for detection and monitoring of bone alterations and subsequent osteopenia and osteoporosis among patients with thalassaemia major. The implementation of QCT in these patients is not reliable in terms of accurately measuring the bone mineral density and may lead to false interpretations.

- Osteoporosis is evident in a substantial percentage of adult patients with thalassaemia major. Factors that contribute to this suggestion include iron accumulation as expressed with high ferritin levels that reflect long-standing skeletal iron overload and alterations in osteocalcin that is more prominent in males.

Therefore, the findings of the present study indicate that the impaired bone metabolism in patients with thalassaemia major should be under medical monitoring and therapeutic prevention. **R**

#### **Funding**

*This project did not receive any specific funding*

#### **Ethical approval**

*Institutional Review Board, General Hospital of Larissa and University Hospital of Larissa, Greece.*

#### **Conflict of interest**

*The authors declared no conflicts of interest.*

## **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

### **ΕΡΓΑΣΙΑ 2**

## Research Article

# Body Composition in Adult Patients with Thalassemia Major

Marianna Vlychou,<sup>1</sup> Evangelos Alexiou,<sup>1,2</sup> Paschalis Thriskos,<sup>1</sup>  
Ioannis Fezoulidis,<sup>1</sup> and Katerina Vassiou<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Radiology, University Hospital of Larissa, Medical School of Thessaly, Larissa, Greece

<sup>2</sup>Department of Radiology, General Hospital of Larissa, Greece

Correspondence should be addressed to Marianna Vlychou; [mvlychou@med.uth.gr](mailto:mvlychou@med.uth.gr)

Received 14 May 2016; Accepted 7 August 2016

Academic Editor: Michael Horowitz

Copyright © 2016 Marianna Vlychou et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Objective.** To assess body composition in adult male and female patients with thalassemia major by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) and to compare the findings with a group of healthy age-matched controls. **Methods.** Our study group included sixty-two patients (27 males, mean age 36 years, and 35 females, mean age 36.4 years) and fifteen age-matched healthy controls. All patients had an established diagnosis of thalassemia major and followed a regular blood transfusion scheme since childhood and chelation treatment. Fat, lean, and bone mineral density (BMD) were assessed with dual-energy X-ray absorptiometry. Ferritin levels and body mass index of all patients and controls were also recorded. Student *t*-test and Wilcoxon test were performed and statistical significance was set at  $p < 0.05$ . **Results.** BMD and whole body lean mass are lower in both male and female adult patients compared with controls ( $p < 0.01$  in both groups), whereas whole body fat mass was found to have no statistically significant difference compared to controls. Regional trunk fat around the abdomen was found to be lower in male patients compared to controls ( $p = 0.02$ ). **Conclusion.** Severe bone loss and diminished lean mass are expected in adult male and female patients with thalassemia major. Fat changes seem to affect mainly male patients.

## 1. Introduction

Thalassemia major, also known as Cooley's anemia, is a severe transfusion-dependent anemia and belongs to the group of beta-thalassemia autosomal recessive disorders. Beta-thalassemia is caused by the reduced ( $\beta^+$ ) or absent ( $\beta^0$ ) synthesis of the beta globin chains of the hemoglobin (Hb) tetramer, which is made up of two alpha globin and two beta globin chains ( $\alpha_2\beta_2$ ) [1, 2]. Three clinical and hematological conditions of increasing severity are recognized and include beta-thalassemia carrier state, thalassemia intermedia, and thalassemia major. The beta-thalassemia carrier state is clinically asymptomatic. Apart from the rare dominant forms, subjects with thalassemia major are homozygotes or compound heterozygotes for  $\beta^0$  or  $\beta^+$  genes, subjects with thalassemia intermedia are mostly homozygotes or compound heterozygotes, and subjects with thalassemia minor are mostly heterozygotes. The incidence of the above disease is increased among Mediterranean countries and also in Middle East, Transcaucasus,

Central Asia, Indian subcontinent, Far East, and Africa. There is a recognized protection of beta-thalassemia carriers against *Plasmodium falciparum* responsible for malaria, as it is indicated by its geographical distribution. However, the migration of populations has spread the gene worldwide [1, 2].

People suffering from thalassemia major require regular blood transfusions to survive and manage to reach quite prolonged life expectancy by virtue of modern therapy [2]. The major side effect of multiple transfusions is iron overload leading to secondary hemochromatosis that affects multiple organs such as heart, liver, and endocrine glands and is responsible for deficits in bone mineral acquisition [3–8]. Various studies have shown that children with thalassemia major suffer from growth retardation, impaired immune function, and low body mass index [8–10]. The above treatment-related complications disrupt the balance between osteoblasts and osteoclasts by interfering with various molecular mechanisms leading to osteoporosis and increased fracture risk during adulthood [11, 12]. Chelation

treatment should be added routinely in order to prevent iron overload and its toxic effects [12, 13]. However, parenteral administration of chelate agents reduces patients' compliance and the longer survival rates lead to some degree of toxic systemic iron overload.

Body composition is influenced by many parameters including age, gender, endocrine system status, nutrition, and exercise [14]. It is well established that all the above parameters are impaired in patients with thalassemia major in addition to hyperactivity of bone marrow, iron overload, and diminished bone mineral density [7, 12]. However, there is limited published data regarding the body composition status in this population, especially during adulthood. Lean tissue mass has been shown to be highly correlated with bone mineral density until the middle age when fat mass begins to account for a larger variance thereafter [12]. DXA has been reported as a reliable modality to assess body composition in various patient groups, including thalassemia [15–18].

The purpose of the present study was to investigate body composition status in patients with thalassemia major during adulthood by the use of DXA and to correlate the findings with age-matched controls. We also sought to determine whether regional fat distribution at the trunk region around abdomen in patients with thalassemia major is comparable with those in controls and discuss the hypothesis that patients with thalassemia major may appear at risk for being underweight.

## 2. Materials and Methods

**2.1. Study Populations.** Sixty-two adult patients with the diagnosis of thalassemia major were referred to our laboratory from the Thalassemia Unit of our General Hospital for DXA assessment and formed our study group. The group included 27 males (mean age 36 years, age range 26–53 years) and 35 females (mean age 36.4 years, age range 21–47 years). All women had menstrual cycle. All patients had an established diagnosis of thalassemia major and followed a regular blood transfusion scheme since childhood, that is, systematic transfusion of two units of leukoreduced, packed red blood cells at 2- to 3-week intervals. All patients were instructed to undergo chelation treatment with variable compliance. Splenectomy was reported in 21/62 patients. The control group included 5 healthy age-matched males and 10 healthy age-matched females. The procedures related to the study were approved by the Institutional Review Board at the University Hospital. The participants were informed of the study requirements and informed consent was obtained prior to participation.

**2.2. Body Composition and Bone Measurements.** Body weight was measured to the nearest 0.1 Kg with patient in light clothing and shoes removed. Height was measured using a wall-mounted stadiometer and recorded to the nearest 0.1 cm. DXA examination was performed in a Hologic Discovery QDR Series Densitometer (Hologic Inc., Bedford, MA). The device was calibrated daily, according to the manufacturer's instructions for quality control with coefficients of variation of 0.2–0.5%. Body mass index (BMI) was calculated as  $\text{kg}/\text{m}^2$ .

Lumbar vertebrae L1–L4 and right hip were scanned and subsequently whole body DXA was performed to assess body composition, for example, body fat (kg, %) and lean mass (kg). Regional measurements were performed by the use of an arbitrary region of interest that was placed manually covering the abdomen and regional data regarding trunk fat around the abdomen (kg, %) and lean mass (kg) were calculated in both patients and controls. BMD and BMC were also calculated regarding the whole body and the subregion of the trunk around the abdomen. All patients and controls were placed at the standard positioning for whole body scanning with the subject in supine position, feet strapped together, per manufacturer's guidelines, and hands placed flat on the table adjacent to the side of the body. Average scanning time was approximately 7 min. To reduce variance in the data, DXA scans were performed and analyzed by a single operator.

Serum ferritin levels were determined in all patients and controls by blood samples. Body mass index was calculated for each subject manually.

**2.3. Statistical Analysis.** In this case-control study, parametric (Student *t*-test) and nonparametric (Wilcoxon) statistical tests were used to quantify the effects studied between patient and control groups. Height *z* score was calculated for patients and controls among men and women. Mean and standard deviation data are found in Benetou et al. [19]. Pearson correlation was estimated in order to quantify the dependence between lean body mass, bone mineral density *z* scores, height *z* scores, and serum ferritin. In addition to that whole body lean mass and regional lean mass at the abdominal area were correlated with calcitonin, osteocalcin, parathormone (PTH), IGF-1, and 25-OH vitamin D. Typically, correlation between two variables with values greater than 0.6 shows positive dependence, meaning that both variables increase or decrease together; values less than –0.6 indicate that if one variable increases the other decreases and values in between indicate independence. *p* values less than 0.05 were considered statistically significant. The software package R for statistical analysis was used to carry out all calculations.

## 3. Results

Table 1 shows demographic and clinical characteristics of patients with thalassemia major. Table 2 shows the body composition variables of adult male and female patients with thalassemia major and controls. Table 3 shows height and height *z* scores in patients and controls. Various correlations between ferritin, calcium hormones, lean body mass, and bone mineral density are shown in Tables 4, 5, and 6.

Ferritin levels were found to be abnormal by the use of nonparametric statistical Wilcoxon test in both male and female patients compared to controls. The statistical significance was estimated to be  $p = 0.028$  in the male group and  $p < 0.0001$  in the female group compared to controls, respectively.

Body mass index (BMI) was lower only in the male patients, compared to controls ( $p = 0.015$ ). The female patient group exhibited non-statistically significant difference compared to healthy age-matched controls. Bone mineral



TABLE 1: Characteristics of patients with thalassemia major.

	Male patients (n = 27)	Female patients (n = 35)
Height (cm)	173.3 (154–186)	160.4 (150–174)
Weight (kg)	69.7 (53–94)	59 (44–80)
BMI (m/kg <sup>2</sup> )	23.2 (16.1–30.4)	22.7 (17.2–33.2)
Age (years)	36 (26–53)	36.4 (21–47)
Ferritin levels (ng/mL)	1120.43 (103–3688)	1354.2 (80–4388)

Normal value range for ferritin levels.

Males: 12–300 ng/mL (nanograms per milliliter) and females: 12–150 ng/mL.

TABLE 2: *p* values of body composition variables between male and female patients and controls.

Variable	<i>p</i> values Male patients-controls (n = 27)	<i>p</i> values Female patients-controls (n = 35)
Ferritin levels (ng/mL)	<b>0.028</b>	<b>&lt;0.0001</b>
BMD WB (mg/cm <sup>2</sup> )	<b>0.001</b>	<b>&lt;0.0001</b>
WB ( <i>T</i> -score)	<b>0.001</b>	<b>&lt;0.0001</b>
WB fat (%)	0.07	0.87
WB fat (gr)	0.07	0.89
WB lean (gr)	<b>&lt;0.01</b>	<b>&lt;0.01</b>
Subtrunk fat (%)	<b>0.02</b>	0.46
BMD subtrunk (mg/cm <sup>2</sup> )	0.06	<b>&lt;0.0001</b>
BMI (Kgr/m <sup>2</sup> )	<b>0.015</b>	0.38

*p* < 0.05 is statistically significant.

TABLE 3: Height and height *z* score.

Group	Gender	N	Height	
			Actual	<i>z</i> score
Patients	Male	27	172.37 ± 7.29	0.73 ± 1.00
	Female	35	160.48 ± 6.57	0.96 ± 1.06
Controls	Male	5	172.80 ± 11.18	0.79 ± 1.54
	Female	10	164.90 ± 5.30	1.69 ± 0.85

density (BMD) of the whole body was found to be severely diminished in both male and female patients compared to controls, with statistically significant difference (*p* = 0.001 for the male group and *p* < 0.0001 for the female group, resp.) (Figure 1).

The overall fat, expressed in whole body fat percentage and in Kg, is lower in male patients with thalassemia major compared to controls but is not showing a statistical effect (*p* = 0.07). Likewise, the whole body fat in women shows no difference between patients and controls (*p* = 0.89). Regarding the regional fat around the abdomen that was expressed as trunk fat percentage, male patients were found to have statistically significantly less fat compared to controls (*p* = 0.02), whereas no difference was observed between

female patients and controls. The whole body lean mass was found to be severely diminished in both male and female groups, compared to controls (*p* < 0.01 for males and females, resp.) (Figures 2 and 3).

#### 4. Discussion

This study investigated body composition in a sample of adult male and female patients with thalassemia major by use of DXA and compared the findings with healthy age-matched controls. There is limited data in the literature exploring body composition status in such patients [20], although the fact of multifactorial osteoporosis mainly induced by iron overload and secondary endocrinopathies that interfere with molecular paths of bone metabolism is well established [21, 22]. The majority of our patients suffered from hypothyroidism and received thyroxine and more than half of the female patients were under estrogen therapy in order to maintain menstrual cycle. There is also a reported concept of underweight status of thalassaemic patients, especially among childhood and adolescence, due to impaired nutrition and reduced physical activity [21].

The present assessment of body composition among adult patients with thalassemia major yielded some observations regarding fat and lean mass. At first, whole body fat percentage showed no statistically significant difference between patients and controls. These findings agree with previously reported data, which observed that transfused subjects with thalassemia had a higher percentage of body fat compared with nontransfused subjects after controlling for age, sex, and ethnicity [21]. However, male patients were found to have less body fat compared to controls which though not statistically significant showed a trend of diminished adipose tissue. There was one male patient with BMI = 30.4, consistent with obesity and one male patient with BMI = 16.1, consistent with being underweight. All other patients were found to be within healthy weight limits. Female patients were found to have similar percentage of overall fat compared to controls. There was one obese female patient with BMI = 33.2 and six female patients with BMI > 25, consistent with being overweight. This finding has not been previously reported, possibly because studies for patients with thalassemia major focus on younger age groups.

However, there are some studies that have explored the coexistence of metabolic syndrome in patients with thalassemia minor and it has been suggested that the prevalence of metabolic syndrome showed no relationship with sex and age and these patients had just higher BMI [23]. It has also been reported that patients with thalassemia minor have a better lipidemic and metabolic profile; however, women seem to be at least equally protected against cardiovascular risk compared with men [24]. Interestingly, the regional distribution of trunk fat around the abdomen shows a statistically significant difference between male patients and controls (*p* = 0.02), which is not observed among female patients and controls (*p* = 0.46). It may be postulated that sex can be an important factor but understanding the mechanisms of metabolic paths in patients with thalassemia major needs further to be explored.

TABLE 4: Correlation between ferritin and lean body mass, bone mineral density z scores, and height z scores.

Group	Gender	Ferritin and lean body mass	Ferritin and BMD (z score)	Ferritin and height (z score)
Patients	Male	0.04 ( $p = 0.84$ )	0.13 ( $p = 0.49$ )	-0.10 ( $p = 0.59$ )
	Female	0.22 ( $p = 0.21$ )	0.02 ( $p = 0.93$ )	0.03 ( $p = 0.89$ )
Controls	Male	0.27 ( $p = 0.66$ )	0.51 ( $p = 0.38$ )	0.40 ( $p = 0.5$ )
	Female	0.17 ( $p = 0.64$ )	0.13 ( $p = 0.72$ )	0.34 ( $p = 0.32$ )

TABLE 5: Correlation between lean body mass and calcium hormones.

Group	Gender	Calcitonin	Osteocalcin	PTH	IGF-1	25-OH vitamin D
Patients	Male	0.02 ( $p = 0.92$ )	0.10 ( $p = 0.63$ )	0.05 ( $p = 0.81$ )	0.00 ( $p = 0.98$ )	-0.27 ( $p = 0.17$ )
	Female	0.00 ( $p = 0.95$ )	-0.07 ( $p = 0.66$ )	0.11 ( $p = 0.52$ )	-0.0 ( $p = 0.57$ )	-0.26 ( $p = 0.12$ )
Controls	Male	-0.67 ( $p = 0.21$ )	0.67 ( $p = 0.21$ )	0.37 ( $p = 0.53$ )	0.31 ( $p = 0.60$ )	0.38 ( $p = 0.52$ )
	Female	-0.55 ( $p = 0.10$ )	-0.05 ( $p = 0.9$ )	0.25 ( $p = 0.48$ )	-0.05 ( $p = 0.87$ )	0.32 ( $p = 0.35$ )

TABLE 6: Correlation between abdominal lean mass and calcium hormones.

Group	Gender	Calcitonin	Osteocalcin	PTH	IGF-1	Vitamin D
Patients	Male	0.13 ( $p = 0.48$ )	0.30 ( $p = 0.12$ )	0.14 ( $p = 0.48$ )	0.12 ( $p = 0.53$ )	-0.14 ( $p = 0.48$ )
	Female	0.04 ( $p = 0.81$ )	0.01 ( $p = 0.94$ )	-0.30 ( $p = 0.15$ )	0.91 ( $p = 0.29$ )	0.83 ( $p = 0.25$ )
Controls	Male	-0.66 ( $p = 0.22$ )	0.34 ( $p = 0.57$ )	-0.30 ( $p = 0.62$ )	0.91 ( $p = 0.02$ ) <sup>†</sup>	0.83 ( $p = 0.07$ )
	Female	-0.42 ( $p = 0.22$ )	-0.13 ( $p = 0.71$ )	0.39 ( $p = 0.26$ )	-0.03 ( $p = 0.91$ )	0.27 ( $p = 0.43$ )

<sup>†</sup> Statistically significant,  $p < 0.05$ .

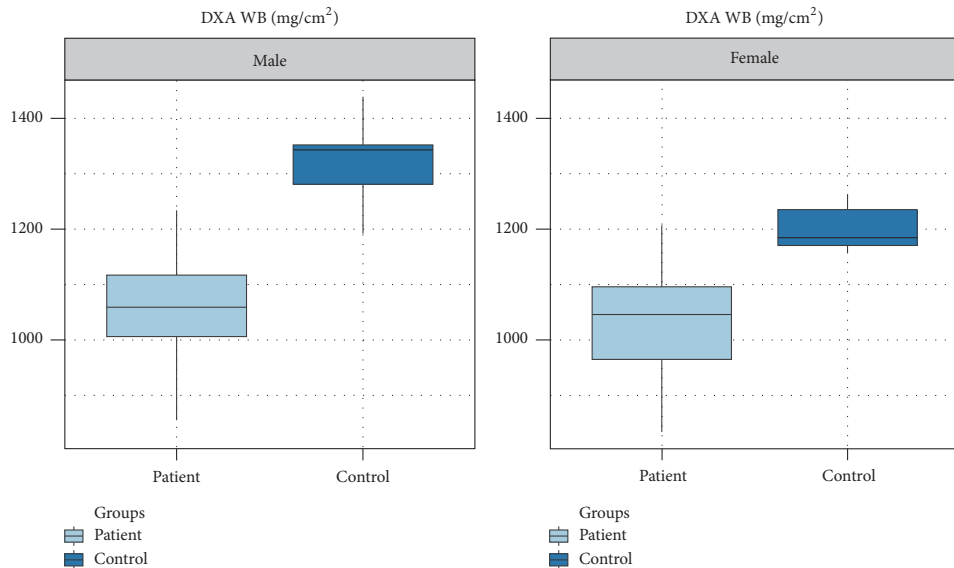


FIGURE 1: Bone mineral density of the whole body determined with DXA in male and female patients with thalassemia major compared with controls. There is established osteoporosis in both male and female patient groups, compared to controls ( $p = 0.001$  in males,  $p < 0.0001$  in females, resp.).

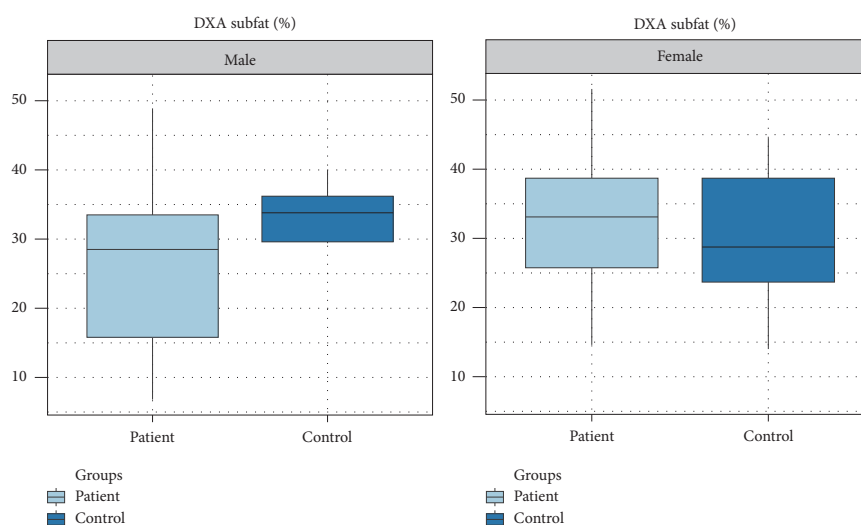


FIGURE 2: Percentage of regional trunk fat determined with DXA in male and female patients with thalassemia major compared with controls. There is a statistically significant difference in the male group ( $p = 0.02$ ) but there is no difference in the female group of patients.

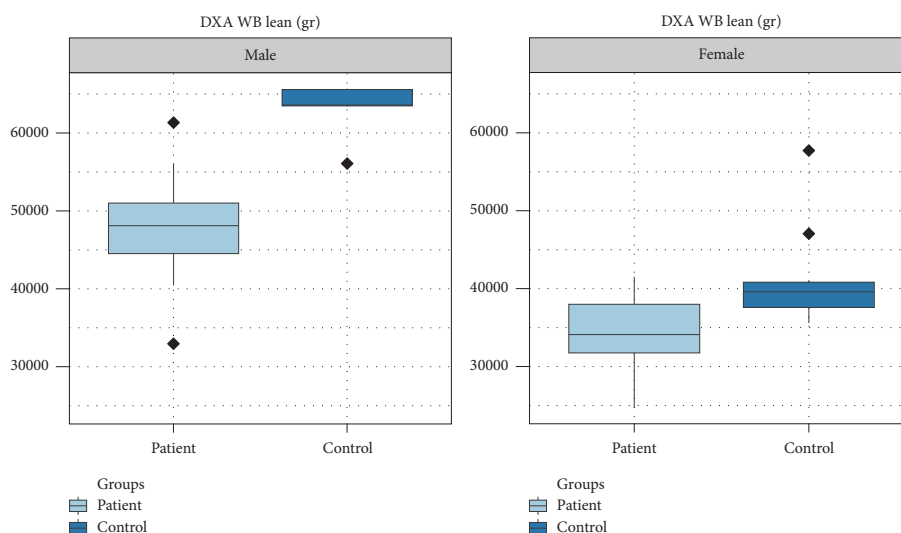


FIGURE 3: Lean mass of the whole body determined with DXA in male and female patients with thalassemia major compared with controls. Both male and female patients show a statistically significant reduction of the lean mass ( $p < 0.01$  in both groups).

The final stature between patients and controls was found to be significantly different ( $p = 0.04$ ) between female patients and controls; namely, patients with thalassemia major reached a shorter height as adults (Table 3). However, this was not observed among male patients and controls

( $p = 0.94$ ). The small sample of male controls may affect this observation that needs to be further investigated in larger groups.

Another observation is that lean mass is lower in both male and female adult patients compared with controls

( $p < 0.01$  in both groups). Approximately two-thirds of our patients (41/62) have not performed splenectomy. Despite that, lean mass is a factor that seems to be impaired in adult patients of both sexes with thalassemia major. Our data also confirmed that the total BMD of patients is lower compared to controls. There are published data in the literature which prove that osteoporosis is a well-recognized side effect in thalassemic patients and explain the molecular paths that are implicated in this procedure [8, 11, 16, 25].

Correlation studies were performed between calcium hormones and lean body mass of thalassemic patients (Table 5), which showed no statistically significant correlation. Interestingly, there was a statistically significant correlation among male patients between abdominal lean mass and IGF-1 ( $p = 0.02$ ) (Table 6).

Wong et al. [22] recently reported a correlation of hypogonadism with body composition in patients with thalassemia and found that this endocrine disorder attenuates the strength of the muscle-bone relationship in males but strengthens the positive correlation of skeletal muscle mass and fat mass in females. Hypogonadism, diabetes mellitus, hypothyroidism, and hypoparathyroidism are recognized complications among patients with thalassemia [5]. Improved chelation therapy has been reported to improve the rate of new endocrine disorders and stabilize preexisting disease [12, 13]. Patients with poor compliance regarding chelation therapy have an increased risk of developing endocrine disorders that affect body composition status. Correlation studies between lean body mass, bone mineral density z scores, and height z scores serum ferritin levels between male and female patients showed no statistical significance (Table 4).

There are some limitations in this study. First, the number of patients is relatively small because the referral Hospital Unit is responsible for a maximum of 100 patients with thalassemia major. Second, we were able to recruit only fifteen controls due to restricted availability of performing the above scans for research purposes. The lack of a digital archive for each patient also made it difficult to gather clinical information regarding endocrine status of all patients that formed our study group and correlate them with body composition findings.

Body composition in adult patients with thalassemia major seems to have distinct features compared to that among pediatric populations and adolescents who suffer from this disease. It may be suggested that a severe decrease of whole body bone mineral density and lean mass is a constant finding in both male and female patients whereas regional trunk fat around the abdomen is lower only in male patients compared to controls.

### Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

### References

[1] R. Galanello and R. Origa, "Beta-thalassemia," *Orphanet Journal of Rare Diseases*, vol. 5, no. 1, article 11, 2010.

- [2] E. A. Rachmilewitz and P. J. Giardina, "How I treat thalassemia," *Blood*, vol. 118, no. 13, pp. 3479–3488, 2011.
- [3] A. A. Shamshirsaz, M. R. Bekheirnia, M. Kamgar et al., "Metabolic and endocrinologic complications in beta-thalassemia major: a multicenter study in Tehran," *BMC Endocrine Disorders*, vol. 3, article 4, 2003.
- [4] E. Carmina, G. Di Fede, N. Napoli et al., "Hypogonadism and hormone replacement therapy on bone mass of adult women with thalassemia major," *Calcified Tissue International*, vol. 74, no. 1, pp. 68–71, 2004.
- [5] M. R. Gamberini, V. de Sanctis, and G. Gilli, "Hypogonadism, diabetes mellitus, hypothyroidism, hypoparathyroidism: incidence and prevalence related to iron overload and chelation therapy in patients with thalassaemia major followed from 1980 to 2007 in the Ferrara centre," *Pediatric Endocrinology Reviews*, vol. 6, supplement 1, pp. 158–169, 2008.
- [6] M. Toumba, A. Sergis, C. Kanaris, and N. Skordis, "Endocrine complications in patients with thalassaemia major," *Pediatric Endocrinology Reviews*, vol. 5, no. 2, pp. 642–648, 2007.
- [7] V. De Sanctis, A. T. Soliman, H. Elsedfy et al., "Growth and endocrine disorders in thalassemia: the international network on endocrine complications in thalassemia (I-CET) position statement and guidelines," *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, vol. 17, no. 1, pp. 8–18, 2013.
- [8] A. T. Soliman, N. El Banna, M. Abdel Fattah, M. M. ElZalabani, and B. M. Ansari, "Bone mineral density in prepubertal children with  $\beta$ -thalassemia: correlation with growth and hormonal data," *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 47, no. 5, pp. 541–548, 1998.
- [9] F. Mohseni, M. R. Mohajeri-Tehrani, B. Larjani, and Z. Hamidi, "Relation between BMD and biochemical, transfusion and endocrinological parameters in pediatric thalassemic patients," *Archives of Osteoporosis*, vol. 9, article 174, 2014.
- [10] G. J. Fuchs, P. Tienboon, M. A. Khaled et al., "Nutritional support and growth in thalassaemia major," *Archives of Disease in Childhood*, vol. 76, no. 6, pp. 509–512, 1997.
- [11] N. Saki, S. Abroun, F. Salari, F. Rahim, M. Shahjahani, and J. Mohammadi-Asl, "Molecular aspects of bone resorption in  $\beta$ -thalassemia major," *Cell Journal*, vol. 17, no. 2, pp. 193–200, 2015.
- [12] M. Casale, S. Citarella, A. Filosa et al., "Endocrine function and bone disease during long-term chelation therapy with deferasirox in patients with  $\beta$ -thalassemia major," *American Journal of Hematology*, vol. 89, no. 12, pp. 1102–1106, 2014.
- [13] M. Baldini, S. Forti, A. Marcon et al., "Endocrine and bone disease in appropriately treated adult patients with beta-thalassemia major," *Annals of Hematology*, vol. 89, no. 12, pp. 1207–1213, 2010.
- [14] C. J. Rosen and A. Klibanski, "Bone, fat, and body composition: evolving concepts in the pathogenesis of osteoporosis," *The American Journal of Medicine*, vol. 122, no. 5, pp. 409–414, 2009.
- [15] A. Andreoli, G. Scalzo, S. Masala, U. Tarantino, and G. Guglielmi, "Body composition assessment by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA)," *Radiologia Medica*, vol. 114, no. 2, pp. 286–300, 2009.
- [16] M. G. Vogiatzi, E. A. Macklin, E. B. Fung et al., "Bone disease in Thalassemia: a frequent and still unresolved problem," *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 24, no. 3, pp. 543–557, 2009.
- [17] D. L. Kendler, J. L. C. Borges, R. A. Fielding et al., "The official positions of the International Society for Clinical Densitometry: indications of use and reporting of DXA for body composition," *Journal of Clinical Densitometry*, vol. 16, no. 4, pp. 496–507, 2013.

- [18] M. A. Laskey, "Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition," *Nutrition*, vol. 12, no. 1, pp. 45–51, 1996.
- [19] V. Benetou, C. Bamia, D. Trichopoulos, and A. Trichopoulou, "Associations of anthropometric characteristics with blood cholesterol fractions among adults. The Greek EPIC study," *European Journal of Clinical Nutrition*, vol. 60, no. 8, pp. 942–948, 2006.
- [20] J. Kalef-Ezra, A. Zibis, N. Chaliassos, I. Hatzikonstantinou, and A. Karantanas, "Body composition in homozygous  $\beta$ -thalassemia," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 904, pp. 621–624, 2000.
- [21] E. B. Fung, Y. Xu, J. L. Kwiatkowski et al., "Relationship between chronic transfusion therapy and body composition in subjects with thalassemia," *Journal of Pediatrics*, vol. 157, no. 4, pp. 641–647.e2, 2010.
- [22] P. Wong, P. J. Fuller, M. T. Gillespie et al., "The effect of gonadal status on body composition and bone mineral density in transfusion-dependent thalassemia," *Osteoporosis International*, vol. 25, no. 2, pp. 597–604, 2014.
- [23] M. H. Gozashti, A. Hasanzadeh, and M. Mashrouteh, "Prevalence of metabolic syndrome in patients with minor beta thalassemia and its related factors: a cross-sectional study," *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, vol. 13, article 108, 2014.
- [24] A. I. Triantafyllou, G. P. Vyssoulis, E. A. Karpanou et al., "Impact of  $\beta$ -thalassemia trait carrier state on cardiovascular risk factors and metabolic profile in patients with newly diagnosed hypertension," *Journal of Human Hypertension*, vol. 28, no. 5, pp. 328–332, 2014.
- [25] E. B. Fung, E. P. Vichinsky, J. L. Kwiatkowski et al., "Characterization of low bone mass in young patients with thalassemia by DXA, pQCT and markers of bone turnover," *Bone*, vol. 48, no. 6, pp. 1305–1312, 2011.

## Βιβλιογραφία

1. Kohne E. Hemoglobinopathies. Deutsches Aerzteblatt Online [Internet]. 2011 Aug 8;108(31–32):532–40. Available from: <https://www.aerzteblatt.de/10.3238/arztebl.2011.0532>
2. Thein SL. The Molecular Basis of  $\beta$ -Thalassemia. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine [Internet]. 2013 May 1;3(5):a011700–a011700. Available from: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a011700>
3. Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. Genetics in Medicine. 2010;12(2):61–76.
4. Fibach E, Rachmilewitz EA. Pathophysiology and treatment of patients with beta-thalassemia – an update. F1000Research [Internet]. 2017 Dec 20;6(0):2156. Available from: <https://f1000research.com/articles/6-2156/v1>
5. Higgs DR, Weatherall DJ. The Alpha Thalassaemias. Cellular and Molecular Life Sciences [Internet]. 2009 Apr 17;66(7):1154–62. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00018-008-8529-9>
6. Rivella S. Ineffective erythropoiesis and thalassemias. Current Opinion in Hematology [Internet]. 2009 May;16(3):187–94. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
7. Nienhuis AW, Nathan DG. Pathophysiology and Clinical Manifestations of the  $\beta$ -Thalassemias. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine [Internet]. 2012 Dec 1;2(12):a011726–a011726. Available from: <http://perspectivesinmedicine.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/cshperspect.a011726>
8. Shawky RM, Kamal TM. Thalassemia intermedia: An overview. Egyptian Journal of Medical Human Genetics [Internet]. 2012 Oct;13(3):245–55. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmhg.2012.03.006>
9. Borgna-Pignatti C, Marsella M, Zanforlin N. The natural history of thalassemia intermedia. Annals of the New York Academy of Sciences [Internet]. 2010 Aug;1202(1):214–20. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.2010.05550.x>

10. Shahramian I, Behzadmehr R, Afshari M, Allahdadi A, Delaramnasab M, Bazi A. Cholelithiasis in Thalassemia Major Patients: A Report from the South-East of Iran. *International journal of hematology-oncology and stem cell research* [Internet]. 2018 Apr 1;12(2):117–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30233773>
11. Succar J, Musallam KM, Taher AT. Thalassemia and venous thromboembolism. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases* [Internet]. 2011 May 25;3(1):e2011025. Available from: <http://www.mjhid.org/index.php/mjhid/article/view/2011.025>
12. Fraidenburg DR, Machado RF. Pulmonary hypertension associated with thalassemia syndromes. *Annals of the New York Academy of Sciences* [Internet]. 2016 Mar;1368(1):127–39. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/nyas.13037>
13. de Sanctis V, Eleftheriou A, Malaventura C, Thalassaemia International Federation Study Group on Growth and Endocrine Complications in Thalassaemia. Prevalence of endocrine complications and short stature in patients with thalassaemia major: a multicenter study by the Thalassaemia International Federation (TIF). *Pediatric endocrinology reviews : PER* [Internet]. 2004 Dec;2 Suppl 2:249–55. Available from: <http://europepmc.org/abstract/MED/16462705>
14. de Sanctis V, Galimberti M, Lucarelli G, Polchi P, Ruggiero L, Vullo C. Gonadal function after allogenic bone marrow transplantation for thalassaemia. *Archives of disease in childhood* [Internet]. 1991 Apr 1;66(4):517–20. Available from: <https://adc.bmj.com/lookup/doi/10.1136/adc.66.4.517>
15. de Sanctis V, Pinamonti A, di Palma A, Sprocati M, Atti G, Gamberini MR, et al. Growth and development in thalassaemia major patients with severe bone lesions due to desferrioxamine. *European Journal of Pediatrics*. 1996;155(5):368–72.
16. Sabato AR, de Sanctis V, Atti G, Capra L, Bagni B, Vullo C. Primary hypothyroidism and the low T3 syndrome in thalassaemia major. *Archives of Disease in Childhood* [Internet]. 1983 Feb 1;58(2):120–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6830288>

17. Angelucci E, Muretto P, Nicolucci A, Baronciani D, Erer B, Gaziev J, et al. Effects of iron overload and hepatitis C virus positivity in determining progression of liver fibrosis in thalassemia following bone marrow transplantation. *Blood* [Internet]. 2002 Jul 1;100(1):17–21. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/100/1/17/133960/Effects-of-iron-overload-and-hepatitis-C-virus>
18. Williams TN, Wonke B, Donohue SM. A study of hepatitis B and C prevalence and liver function in multiply transfused thalassemic and their parents. *Indian pediatrics* [Internet]. 1992 Sep;29(9):1119–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1452308>
19. Ardalan FA, Osquei MR, Toosi MN, Irvanloo G. Synergic effect of chronic hepatitis C infection and beta thalassemia major with marked hepatic iron overload on liver fibrosis: a retrospective cross-sectional study. *BMC Gastroenterology* [Internet]. 2004 Dec 12;4(1):17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15307893>
20. Aessopos A, Tsironi M, Andreopoulos A, Farmakis D. Heart Disease in Thalassemia Intermedia. *Hemoglobin* [Internet]. 2009 Jan 13;33(sup1):S170–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20001622>
21. Wood JC. Cardiac Complications in Thalassemia Major. *Hemoglobin* [Internet]. 2009 Jan 13;33(sup1):S81–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20001637>
22. Claster S, Wood JC, Noetzli L, Carson SM, Hofstra TC, Khanna R, et al. Nutritional deficiencies in iron overloaded patients with hemoglobinopathies. *American Journal of Hematology* [Internet]. 2009 Jun;84(6):344–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19415722>
23. Wang AY-M, Lam CW-K, Sanderson JE, Wang M, Chan IH-S, Lui S-F, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D status and cardiovascular outcomes in chronic peritoneal dialysis patients: a 3-y prospective cohort study. *The American Journal of Clinical Nutrition* [Internet]. 2008 Jun 1;87(6):1631–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18541550>
24. de Sanctis V, Borsari G, Brachi S, Gubellini E, Gamberini MR, Carandina G. A rare cause of heart failure in iron-overload thalassaemic patients-



primary hypoparathyroidism. Georgian medical news [Internet]. 2008 Mar;(156):111–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18403823>

25. de Sanctis V, Govoni MR, Sprocati M, Marsella M, Conti E. Cardiomyopathy and pericardial effusion in a 7 year-old boy with beta-thalassaemia major, severe primary hypothyroidism and hypoparathyroidism due to iron overload. Pediatric endocrinology reviews: PER [Internet]. 2008 Oct;6 Suppl 1:181–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19337175>

26. Kremastinos DTh, Tiniakos G, Theodorakis GN, Katritsis DG, Toutouzas PK. Myocarditis in  $\beta$ -Thalassemia Major. Circulation [Internet]. 1995 Jan 1;91(1):66–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7805220>

27. Rahav G, Volach V, Shapiro M, Rund D, Rachmilewitz EA, Goldfarb A. Severe infections in thalassaemic patients: prevalence and predisposing factors. British Journal of Haematology [Internet]. 2006 Jun;133(6):667–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16704445>

28. Singer DB. Postsplenectomy sepsis. Perspectives in pediatric pathology [Internet]. 1973;1:285–311. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4596312>

29. Lefrère J-J, Maniez-Montreuil M, Morel P, Defer C, Laperche S. Sécurité des produits sanguins labiles et parvovirus B19. Transfusion Clinique et Biologique [Internet]. 2006 Oct;13(4):235–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16822687>

30. Vento S, Cainelli F, Cesario F. Infections and thalassaemia. The Lancet Infectious Diseases [Internet]. 2006 Apr;6(4):226–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16554247>

31. Chung BHY, Ha SY, Chan GCF, Chiang A, Lee TL, Ho HK, et al. Klebsiella Infection in Patients with Thalassemia. Clinical Infectious Diseases [Internet]. 2003 Mar 1;36(5):575–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12594637>

32. Wang S-C, Lin K-H, Chern JPS, Lu M-Y, Jou S-T, Lin D-T, et al. Severe Bacterial Infection in Transfusion-Dependent Patients with

Thalassemia Major. *Clinical Infectious Diseases* [Internet]. 2003 Oct 1;37(7):984–8. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13130412>

33. Vogiatzi MG, Macklin EA, Fung EB, Vichinsky E, Olivieri N, Kwiatkowski J, et al. Prevalence of fractures among the Thalassemia syndromes in North America. *Bone* [Internet]. 2006 Apr;38(4):571–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16298178>

34. Chan Y-L, Pang L-M, Chik K-W, Cheng JC, Li C-K. Patterns of bone diseases in transfusion-dependent homozygous thalassaemia major: predominance of osteoporosis and desferrioxamine-induced bone dysplasia. *Pediatric Radiology* [Internet]. 2002 Jul 10;32(7):492–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12107582>

35. Lasco A, Morabito N, Gaudio A, Crisafulli A, Meo A, Denuzzo G, et al. Osteoporosis and  $\beta$ -thalassemia major: Role of the IGF-I/IGFBP-III axis. *Journal of Endocrinological Investigation* [Internet]. 2002 Apr 11;25(4):338–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12030605>

36. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. World Health Organization technical report series [Internet]. 1994;843:1–129. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7941614>

37. Kanis JA, Melton LJ, Christiansen C, Johnston CC, Khaltsev N. The diagnosis of osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research* [Internet]. 2009 Dec 3;9(8):1137–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7976495>

38. Wong P, Fuller PJ, Gillespie MT, Milat F. Bone Disease in Thalassemia: A Molecular and Clinical Overview. *Endocrine Reviews* [Internet]. 2016 Aug;37(4):320–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27309522>

39. Tyler PA, Madani G, Chaudhuri R, Wilson LF, Dick EA. The radiological appearances of thalassaemia. Vol. 61, *Clinical Radiology*. 2006. p. 40–52.

40. Danjou F, Cabantchik ZI, Origa R, Moi P, Marcias M, Barella S, et al. A decisional algorithm to start iron chelation in patients with beta

thalassemia. *Haematologica* [Internet]. 2014 Mar 1;99(3):e38-40. Available from: <http://www.haematologica.org/cgi/doi/10.3324/haematol.2013.098202>

41. Taher AT, Musallam KM, Karimi M, Cappellini MD. Contemporary approaches to treatment of beta-thalassemia intermedia. *Blood reviews* [Internet]. 2012 Apr;26 Suppl 1:S24-7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268960X12700085>

42. Karimi M, Cohan N, de Sanctis V, Mallat NS, Taher A. Guidelines for diagnosis and management of Beta-thalassemia intermedia. *Pediatric hematology and oncology* [Internet]. 2014 Oct 23;31(7):583–96. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/08880018.2014.937884>

43. Bansal D. Splenectomy for  $\beta$ -Thalassemia Major in Resource Challenged Settings: Often a Hobson's Choice! *The Indian Journal of Pediatrics* [Internet]. 2015 Dec 29;82(12):1082–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26316215>

44. Langhi D, Ubiali EMA, Marques JFC, Verissimo M de A, Loggetto SR, Silvinato A, et al. Guidelines on Beta-thalassemia major – regular blood transfusion therapy: Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular: project guidelines: Associação Médica Brasileira – 2016. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* [Internet]. 2016 Oct;38(4):341–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27863763>

45. Anderson LJ, Wonke B, Prescott E, Holden S, Malcolm Walker J, Pennell DJ. Comparison of effects of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentrations and ventricular function in beta-thalassaemia. *The Lancet* [Internet]. 2002 Aug 17;360(9332):516–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12241655>

46. Piga A, Gaglioti C, Fogliacco E, Tricta F. Comparative effects of deferiprone and deferoxamine on survival and cardiac disease in patients with thalassemia major: a retrospective analysis. *Haematologica* [Internet]. 2003 May;88(5):489–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12745268>

47. Cassinerio E, Roghi A, Pedrotti P, Brevi F, Zanaboni L, Graziadei G, et al. Cardiac iron removal and functional cardiac improvement by

different iron chelation regimens in thalassemia major patients. *Annals of Hematology* [Internet]. 2012 Sep 10;91(9):1443–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22572843>

48. de Dreuz E, Bhukhai K, Leboulch P, Payen E. Current and future alternative therapies for beta-thalassemia major. *Biomedical Journal* [Internet]. 2016 Feb;39(1):24–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27105596>

49. Voskaridou E, Christoulas D, Bilalis A, Plata E, Varvagiannis K, Stamatopoulos G, et al. The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cell syndromes: results of a 17-year, single-center trial (LaSHS). *Blood* [Internet]. 2010 Mar 25;115(12):2354–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19903897>

50. Kohne E. Hemoglobinopathies. *Deutsches Aerzteblatt Online* [Internet]. 2011 Aug 8;108(31–32):532–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21886666>

51. Flanagan JM, Steward S, Howard TA, Mortier NA, Kimble AC, Aygun B, et al. Hydroxycarbamide alters erythroid gene expression in children with sickle cell anaemia. *British Journal of Haematology* [Internet]. 2012 Apr;157(2):240–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22360576>

52. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Giardini C, et al. Bone Marrow Transplantation in Patients with Thalassemia. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 1990 Feb 15;322(7):417–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2300104>

53. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Durazzi SM, et al. New approach to bone marrow transplantation in thalassemia. *Haematologica* [Internet]. 75 Suppl 5:111–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2086371>

54. Lucarelli G, Clift RA, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, et al. Marrow transplantation for patients with thalassemia: results in class 3 patients. *Blood* [Internet]. 1996 Mar 1;87(5):2082–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8634461>

55. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, Angelucci E, Baronciani D, Durazzi SM, et al. Bone marrow transplantation in adult thalassemia. *Blood* [Internet]. 1992 Sep 15;80(6):1603–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1520885>
56. Mathews V, George B, Viswabandya A, Abraham A, Ahmed R, Ganapule A, et al. Improved Clinical Outcomes of High Risk  $\beta$  Thalassemia Major Patients Undergoing a HLA Matched Related Allogeneic Stem Cell Transplant with a Treosulfan Based Conditioning Regimen and Peripheral Blood Stem Cell Grafts. Lam W, editor. *PLoS ONE* [Internet]. 2013 Apr 26;8(4):e61637. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23637873>
57. Goussetis E, Peristeri I, Kitra V, Vessalas G, Paisiou A, Theodosaki M, et al. HLA-matched sibling stem cell transplantation in children with  $\beta$ -thalassemia with anti-thymocyte globulin as part of the preparative regimen: the Greek experience. *Bone Marrow Transplantation* [Internet]. 2012 Aug 14;47(8):1061–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22080966>
58. Chen H, Li X, Zhan L-P, Fang J-P, Huang K, Li Y, et al. Prediction, management, and prognosis of mixed chimerism after hematopoietic stem cell transplantation in transfusion-dependent pediatric thalassemia patients. *Pediatric Transplantation* [Internet]. 2020 Oct 24;e13876. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33098346>
59. Williams DA, Lemischka IR, Nathan DG, Mulligan RC. Introduction of new genetic material into pluripotent haematopoietic stem cells of the mouse. *Nature* [Internet]. 1984 Aug;310(5977):476–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6087158>
60. GELINAS R, NOVAK U. Retroviral Vectors for the  $\beta$ -Globin Gene That Demonstrate Improved Titer and Expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* [Internet]. 1990 Dec;612(1 Sixth Cooley):427–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2291569>
61. Markt S, Scaramuzza S, Cicalese MP, Giglio F, Galimberti S, Lidonnici MR, et al. Intrabone hematopoietic stem cell gene therapy for adult and pediatric patients affected by transfusion-dependent  $\beta$ -thalassemia. *Nature*

Medicine [Internet]. 2019 Feb 21;25(2):234–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30664781>

62. Alswat KA. Gender Disparities in Osteoporosis. *Journal of Clinical Medicine Research* [Internet]. 2017 May;9(5):382–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28392857>

63. Lau RY-C, Guo X. A Review on Current Osteoporosis Research: With Special Focus on Disuse Bone Loss. *Journal of Osteoporosis* [Internet]. 2011;2011:1–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21876833>

64. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Jonsson B, de Laet C, Dawson A. Risk of hip fracture according to the World Health Organization criteria for osteopenia and osteoporosis. *Bone* [Internet]. 2000 Nov;27(5):585–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11062343>

65. Elliott ME, Meek PD, Kanous NL, Schill GR, Weinswig PA, Bohlman JP, et al. Osteoporosis Screening by Community Pharmacists: Use of National Osteoporosis Foundation Resources. *Journal of the American Pharmaceutical Association (1996)* [Internet]. 2002 Jan;42(1):101–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11833500>

66. Rosen CJ. The Epidemiology and Pathogenesis of Osteoporosis [Internet]. Vol. 29, Endotext. 2000. 910–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13106595>

67. Sandhu SK, Hampson G. The pathogenesis, diagnosis, investigation and management of osteoporosis. *Journal of Clinical Pathology* [Internet]. 2011 Dec;64(12):1042–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21896577>

68. Trevisan C, Alessi A, Girotti G, Zanforlini BM, Bertocco A, Mazzochin M, et al. The Impact of Smoking on Bone Metabolism, Bone Mineral Density and Vertebral Fractures in Postmenopausal Women. *Journal of Clinical Densitometry* [Internet]. 2020 Jul;23(3):381–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31350204>

69. Mukherjee S, Sorrell MF. Effects of alcohol consumption on bone metabolism in elderly women. *The American Journal of Clinical Nutrition* [Internet]. 2000 Nov 1;72(5):1073–1073. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11063430>

70. Kanis JA, Johansson H, Harvey NC, McCloskey E v. A brief history of FRAX. *Archives of Osteoporosis* [Internet]. 2018 Dec 31;13(1):118. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30382424>
71. Kanis JA, Cooper C, Rizzoli R, Reginster J-Y. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporosis International* [Internet]. 2019 Jan 18;30(1):3–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30324412>
72. Paganini-Hill A, Chao A, Ross RK, Henderson BE. Exercise and Other Factors in the Prevention of Hip Fracture. *Epidemiology* [Internet]. 1991 Jan;2(1):16–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2021661>
73. Guglielmi G, Muscarella S, Leone A, Peh WCG. Imaging of Metabolic Bone Diseases. *Radiologic Clinics of North America* [Internet]. 2008 Jul;46(4):735–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18922290>
74. Guglielmi G, de Terlizzi F. Quantitative Ultrasonod in the assessment of Osteoporosis. *European Journal of Radiology* [Internet]. 2009 Sep;71(3):425–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19651483>
75. Baltas CS, Balanika AP, Raptou PD, Tournis S, Lyritis GP, Hellenic guidelines on bone densitometry working group. Clinical practice guidelines proposed by the Hellenic Foundation of Osteoporosis for the management of osteoporosis based on DXA results. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions* [Internet]. 5(4):388–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16340144>
76. Engelke K. Quantitative Computed Tomography—Current Status and New Developments. *Journal of Clinical Densitometry* [Internet]. 2017 Jul;20(3):309–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28712984>
77. Engelke K, Lang T, Khosla S, Qin L, Zysset P, Leslie WD, et al. Clinical Use of Quantitative Computed Tomography–Based Advanced Techniques in the Management of Osteoporosis in Adults: the 2015 ISCD Official Positions—Part III. *Journal of Clinical Densitometry* [Internet]. 2015 Jul;18(3):393–407. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26277853>

78. Slyfield CR, Tkachenko E v, Wilson DL, Hernandez CJ. Three-dimensional dynamic bone histomorphometry. *Journal of Bone and Mineral Research* [Internet]. 2012 Feb;27(2):486–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22028195>
79. Domrongkitchaiporn S, Sirikulchayanonta V, Angchaisuksiri P, Stitchantrakul W, Kanokkantapong C, Rajatanavin R. Abnormalities in Bone Mineral Density and Bone Histology in Thalassemia. *Journal of Bone and Mineral Research* [Internet]. 2003 Sep 1;18(9):1682–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12968678>
80. Rioja L, Girot R, Garabédian M, Cournot-Witmer G. Bone disease in children with homozygous  $\beta$ -thalassemia. *Bone and Mineral* [Internet]. 1990 Jan;8(1):69–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2306556>
81. Yamasaki K, Hagiwara H. Excess iron inhibits osteoblast metabolism. *Toxicology Letters* [Internet]. 2009 Dec 15;191(2–3):211–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19735707>
82. Wong P, Fuller PJ, Gillespie MT, Milat F. Bone Disease in Thalassemia: A Molecular and Clinical Overview. *Endocrine Reviews* [Internet]. 2016 Aug;37(4):320–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27309522>
83. Mazess R, Chesnut CH, McClung M, Genant H. Enhanced precision with dual-energy x-ray absorptiometry. *Calcified Tissue International* [Internet]. 1992 Jul;51(1):14–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1393769>
84. Wong P, Fuller PJ, Gillespie MT, Kartsogiannis V, Strauss BJ, Bowden D, et al. Thalassemia bone disease: The association between nephrolithiasis, bone mineral density and fractures. *Osteoporosis International*. 2013 Jul;24(7):1965–71.
85. Baldini M, Ulivieri FM, Forti S, Serafino S, Seghezzi S, Marcon A, et al. Spine Bone Texture Assessed by Trabecular Bone Score (TBS) to Evaluate Bone Health in Thalassemia Major. *Calcified Tissue International* [Internet]. 2014 Dec 28;95(6):540–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25348077>



86. Mylona M, Leotsinides M, Alexandrides T, Zoumbos N, Dimopoulos PA. Comparison of DXA, QCT and trabecular structure in  $\beta$ -thalassaemia. *European Journal of Haematology*. 2005 May;74(5):430–7.
87. Frieling I, Grosse R, Fung EB, Fischer R, Kruse HP, Janka GE. Evaluation of Bone Microarchitecture with High Resolution-pQCT in Patients with Thalassemia. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 2007;22:2025.
88. Wong P, Fuller PJ, Gillespie MT, Kartsogiannis V, Milat F, Bowden DK, et al. The effect of gonadal status on body composition and bone mineral density in transfusion-dependent thalassemia. *Osteoporosis International* [Internet]. 2014 Feb 1;25(2):597–604. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23903954>
89. Wong P, Fuller PJ, Gillespie MT, Milat F. Bone Disease in Thalassemia: A Molecular and Clinical Overview. *Endocrine Reviews* [Internet]. 2016 Aug;37(4):320–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27309522>
90. Wong AKO. A Comparison of Peripheral Imaging Technologies for Bone and Muscle Quantification: a Mixed Methods Clinical Review. *Current Osteoporosis Reports* [Internet]. 2016 Dec 28;14(6):359–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27796924>
91. Virgillis S de, Congia M, Frau F, Argiolu F, Diana G, Cucca F, et al. Deferoxamine-induced growth retardation in patients with thalassemia major. *The Journal of Pediatrics* [Internet]. 1988 Oct;113(4):661–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3171791>
92. Saki N, Abroun S, Salari F, Rahim F, Shahjahani M, Mohammadi-Asl J. Molecular aspects of bone resorption in  $\beta$ -thalassemia major. *Cell Journal*. 2015;17(2):193–200.
93. Casale M, Citarella S, Filosa A, de Michele E, Palmieri F, Ragozzino A, et al. Endocrine function and bone disease during long-term chelation therapy with deferasirox in patients with  $\beta$ -thalassemia major. *American journal of hematology* [Internet]. 2014 Dec;89(12):1102–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ajh.23844>
94. Rosen CJ, Klibanski A. Bone, fat, and body composition: evolving concepts in the pathogenesis of osteoporosis. *The American journal of*

medicine [Internet]. 2009 May;122(5):409–14. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934309000503>

95. de Sanctis V, Soliman A, Elsedfy H, Skordis N, Kattamis C, Angastiniotis M, et al. Growth and endocrine disorders in thalassemia: The international network on endocrine complications in thalassemia (I-CET) position statement and guidelines. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism* [Internet]. 2013 Jan;17(1):8. Available from: <http://www.ijem.in/text.asp?2013/17/1/8/107808>

96. Casale M, Citarella S, Filosa A, de Michele E, Palmieri F, Ragozzino A, et al. Endocrine function and bone disease during long-term chelation therapy with deferasirox in patients with  $\beta$ -thalassemia major. *American journal of hematology* [Internet]. 2014 Dec;89(12):1102–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/ajh.23844>

97. Andreoli A, Scalzo G, Masala S, Tarantino U, Guglielmi G. Body composition assessment by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). *La Radiologia medica* [Internet]. 2009 Mar 5;114(2):286–300. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11547-009-0369-7>

98. Vogiatzi MG, Macklin EA, Fung EB, Cheung AM, Vichinsky E, Olivieri N, et al. Bone disease in thalassemia: a frequent and still unresolved problem. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* [Internet]. 2009 Mar;24(3):543–57. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.080505>

99. Kendler DL, Borges JLC, Fielding RA, Itabashi A, Krueger D, Mulligan K, et al. The Official Positions of the International Society for Clinical Densitometry: Indications of Use and Reporting of DXA for Body Composition. *Journal of clinical densitometry: the official journal of the International Society for Clinical Densitometry* [Internet]. 2013 Oct;16(4):496–507. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1094695013001625>

100. Laskey MA. Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)* [Internet]. 1996 Jan;12(1):45–51. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0899900795000178>

101. Gaudio A, Morabito N, Catalano A, Rapisarda R, Xourafa A, Lasco A. Pathogenesis of Thalassemia Major-associated Osteoporosis: A

Review with Insights from Clinical Experience. *Journal of clinical research in pediatric endocrinology* [Internet]. 2019 Jun 28;11(2):110–7. Available from: [http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article\\_19095/JCRPE-11-110-En.pdf](http://cms.galenos.com.tr/Uploads/Article_19095/JCRPE-11-110-En.pdf)

102. Christenson RA, Pootrakul P, Burnell JM, Teubner EJ, Finch CA, Baylink DJ. Patients with thalassemia develop osteoporosis, osteomalacia, and hypoparathyroidism, all of which are corrected by transfusion. *Birth defects original article series* [Internet]. 1987;23(5A):409–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3689925>

103. Tsartsalis AN, Lambrou GI, Tsartsalis DN, Papassotiriou I, Vlachou E, Terpos E, et al. Bone Metabolism Markers in Thalassemia Major-Induced Osteoporosis: Results from a Cross-Sectional Observational Study. *Current Molecular Medicine* [Internet]. 2019 Jun 20;19(5):335–41. Available from: <http://www.eurekaselect.com/170720/article>

104. Ekbote V, Khadilkar A, Chauthmal S, Padidela R, Khadilkar S, Mughal Z, et al. Assessment of Bone Density by DXA in Poorly Controlled Children With  $\beta$ -Thalassemia: Correction for Hepatic Iron Overload by Manual Analysis. *Journal of Clinical Densitometry* [Internet]. 2021 Jul;24(3):383–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1094695020301141>

105. Angelopoulos NG, Katounda E, Rombopoulos G, Goula A, Kaltzidou V, Kaltsas D, et al. Evaluation of Bone Mineral Density of the Lumbar Spine in Patients With  $\beta$ -Thalassemia Major With Dual-Energy X-Ray Absorptiometry and Quantitative Computed Tomography. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology* [Internet]. 2006 Feb;28(2):73–8. Available from: <https://journals.lww.com/00043426-200602000-00006>

106. Akpek S, Canatan D, Araç M, Ilgit ET. Evaluation of osteoporosis in thalassemia by quantitative computed tomography: Is it reliable? *Pediatric Hematology and Oncology*. 2001;18(2):111–6.

107. Allard HM, Calvelli L, Weyhmiller MG, Gildengorin G, Fung EB. Vertebral Bone Density Measurements by DXA are Influenced by Hepatic Iron Overload in Patients with Hemoglobinopathies. *Journal of Clinical Densitometry* [Internet]. 2019 Jul;22(3):329–37. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1094695017302858>

108. Dede AD, Trovas G, Chronopoulos E, Triantafyllopoulos IK, Dontas I, Papaioannou N, et al. Thalassemia-associated osteoporosis: a systematic review on treatment and brief overview of the disease. *Osteoporosis International* [Internet]. 2016 Dec 8;27(12):3409–25. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00198-016-3719-z>
109. Punzo F, Tortora C, Argenziano M, Casale M, Perrotta S, Rossi F. Iron chelating properties of Eltrombopag: Investigating its role in thalassemia-induced osteoporosis. Freedman JH, editor. *PLOS ONE* [Internet]. 2018 Dec 3;13(12):e0208102. Available from: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0208102>
110. Rossi F, Perrotta S, Bellini G, Luongo L, Tortora C, Siniscalco D, et al. Iron overload causes osteoporosis in thalassemia major patients through interaction with transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channels. *Haematologica* [Internet]. 2014 Dec 1;99(12):1876–84. Available from: <http://www.haematologica.org/cgi/doi/10.3324/haematol.2014.104463>
111. Tzoulis P, Ang AL, Shah FT, Berovic M, Prescott E, Jones R, et al. Prevalence of Low Bone Mass and Vitamin D Deficiency in  $\beta$ -Thalassemia Major. *Hemoglobin* [Internet]. 2014 Jun 24;38(3):173–8. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/03630269.2014.905792>
112. Kalef-Ezra J, Zibis A, Chaliassos N, Hatzikonstantinou I, Karantanas A. Body composition in homozygous beta-thalassemia. *Annals of the New York Academy of Sciences* [Internet]. 2000 May 25;904(1):621–4. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06527.x>
113. Fung EB, Xu Y, Kwiatkowski JL, Vogiatzi MG, Neufeld E, Olivieri N, et al. Relationship between chronic transfusion therapy and body composition in subjects with thalassemia. *The Journal of pediatrics* [Internet]. 2010 Oct;157(4):641–7, 647.e1-2. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022347610003835>
114. Gozashti MH, Hasanzadeh A, Mashrouteh M. Prevalence of metabolic syndrome in patients with minor beta thalassemia and its related factors: a cross-sectional study. *Journal of diabetes and metabolic disorders* [Internet]. 2014 Dec 31;13(1):108. Available from: <http://link.springer.com/10.1186/s40200-014-0108-z>

115. Triantafyllou AI, Vyssoulis GP, Karpanou EA, Karkalousos PL, Triantafyllou EA, Aessopos A, et al. Impact of  $\beta$ -thalassemia trait carrier state on cardiovascular risk factors and metabolic profile in patients with newly diagnosed hypertension. *Journal of human hypertension* [Internet]. 2014 May 24;28(5):328–32. Available from: <http://www.nature.com/articles/jhh2013102>
116. Soliman AT, el Banna N, Abdel Fattah M, ElZalabani MM, Ansari BM. Bone mineral density in prepubertal children with beta-thalassemia: correlation with growth and hormonal data. *Metabolism: clinical and experimental* [Internet]. 1998 May;47(5):541–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026049598902372>
117. Saki N, Abroun S, Salari F, Rahim F, Shahjahani M, Javad M-A. Molecular Aspects of Bone Resorption in  $\beta$ -Thalassemia Major. *Cell journal* [Internet]. 2015;17(2):193–200. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26199898>
118. Fung EB, Vichinsky EP, Kwiatkowski JL, Huang J, Bachrach LK, Sawyer AJ, et al. Characterization of low bone mass in young patients with thalassemia by DXA, pQCT and markers of bone turnover. *Bone* [Internet]. 2011 Jun 1;48(6):1305–12. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S8756328211008738>
119. Vogiatzi MG, Macklin EA, Fung EB, Cheung AM, Vichinsky E, Olivieri N, et al. Bone disease in thalassemia: a frequent and still unresolved problem. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* [Internet]. 2009 Mar;24(3):543–57. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.080505>
120. Wong P, Fuller PJ, Gillespie MT, Kartsogiannis V, Milat F, Bowden DK, et al. The effect of gonadal status on body composition and bone mineral density in transfusion-dependent thalassemia. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* [Internet]. 2014 Feb 1;25(2):597–604. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00198-013-2454-y>
121. Gamberini MR, de Sanctis V, Gilli G. Hypogonadism, diabetes mellitus, hypothyroidism, hypoparathyroidism: incidence and prevalence related to iron overload and chelation therapy in patients with thalassaemia major

followed from 1980 to 2007 in the Ferrara Centre. *Pediatric endocrinology reviews: PER* [Internet]. 2008 Oct;6 Suppl 1:158–69. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19337172>

122. Baldini M, Forti S, Marcon A, Olivieri FM, Orsatti A, Tampieri B, et al. Endocrine and bone disease in appropriately treated adult patients with beta-thalassemia major. *Annals of hematology* [Internet]. 2010 Dec 26;89(12):1207–13. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00277-010-1007-0>

123. Shahramian I, Noori N, Ramezani A, Sharafi E, Akhlaghi E. Correlation between serum leptin level and thyroid hormones in children with major beta-thalassemia . *Iranian journal of pediatric hematology and oncology* [Internet]. 2013;3(4):149–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24575288>

124. Karachaliou F, Vlachopapadopoulou E, Theochari M, Konstandellou E, Michalados S. Leptin levels in patients with thalassemia major. *Minerva pediatrica* [Internet]. 2006 Aug;58(4):373–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17008846>

125. Chaliasos N, Challa A, Hatzimichael E, Koutsouka F, Bourantas DK, Vlahos AP, et al. Serum Adipocytokine and Vascular Inflammation Marker Levels in Beta-Thalassaemia Major Patients. *Acta Haematologica* [Internet]. 2010;124(4):191–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21042009>