

Znižana kostna masa pri novorojenčku: od presnovnih dejavnikov do genetskih mutacij

Decreased bone mass in the newborn: from metabolic factors to genetic mutations

Sandra Cerar

Izvleček

Kostnina je presnovno aktivno tkivo, v katerem se vseživljenjsko vršijo procesi kostne izgradnje in razgradnje. Kostna masa sestoji iz osteoida, mineralnega dela in kostnih celic. Mineralizacijo kosti uravnavajo razpoložljivost mineralov, parathormon, kalcitonin, rastni hormon, rastni faktorji ter vitamin D in drugi. V nosečnosti je razvoj skeleta pri plodu pod vplivom endokrinih, okoljskih, genetskih in epigenetskih dejavnikov. Napredek znanja na tem področju pa pomeni poznavanje delovanja encimov, transkripcijskih faktorjev in signalnih molekul ter epigenetskih mehanizmov na kostno presnovo. Genetski dejavniki, kot so mutacije v genih COL1A1, COL1A2, LGR4, LGR6, PTK2B, WNT1, PLS3, XYLT2, SOST, WNT16, ESR1 in RANKL, Sox9, RUNX2, osteriks, osteokalcin, kostni sialoprotein, PTH, PTHLH in PTHR1, igrajo pomembno vlogo pri diferenciaciji osteoblastov, tvorbi in vzdrževanju kostnine. Tveganje za presnovno bolezen kosti imajo nedonošenčki, neustrezno prehranjeni ali hudo bolni novorojenčki, zdravljeni s kortikosteroidi ali diuretiki, in tisti, ki imajo premalo mehanske stimulacije za rast kosti. Obravnava presnovne bolezni kosti temelji na identificiranju dejavnikov tveganja in kvantitativni oceni mineralne kostne gostote z radiološkimi in biokemičnimi metodami. Pri zdravljenju se izogibamo dejavnikom tveganja, in optimiziramo prehrano. Obstaja pa možnost uporabe zdravil, ki ciljajo na signalne poti za povečanje kostne izgradnje ali preprečevanje razgradnje, pri čemer se nekatera že uporabljajo pri otrocih.

Ključne besede: kost, kostna masa, dejavniki, genetika, osteogeneza, novorojenček, mineralna kostna gostota, presnovna bolezen kosti.

Abstract

Bone is metabolically active tissue where bone formation and bone resorption processes occur throughout life. Bone mass consists of osteoid, mineral component, and bone cells. Bone mineralization is regulated by mineral availability, parathyroid hormone, calcitonin, growth hormone, growth factors, and vitamin D, among others. During pregnancy, fetal skeletal development is influenced by endocrine, environmental, genetic, and epigenetic factors. Advances have been made in understanding the role of enzymes, transcription factors, signaling molecules, and epigenetic mechanisms in bone metabolism. Genetic factors, such as mutations in genes COL1A1, COL1A2, LGR4, LGR6, PTK2B, WNT1, PLS3, XYLT2, SOST, WNT16, ESR1, and RANKL, Sox9, RUNX2, osterix, osteocalcin, bone sialoprotein, PTH, PTHLH, and PTHR1, play an important role in osteoblast differentiation, bone formation, and maintenance. Preterm infants, malnourished or severely ill newborns, those treated with corticosteroids or diuretics, and those lacking mechanical bone growth stimulation are at risk of metabolic bone disease. Management of metabolic bone disease is based on identifying risk factors and quantitatively assessing mineral bone density using radiological and biochemical methods. Treatment involves avoiding risk factors, optimizing nutrition, and the possibility of using medications targeting signaling pathways to increase bone formation or prevent degradation, some of which have been already used in children.

Key words: bone, bone mass, genetics, osteogenesis, newborn, bone mineral density, metabolic bone disease.

Uvod

Zdravje kosti igra ključno vlogo v razvoju otrok, saj kostni skelet poleg sodelovanja pri podpori in gibanju telesa ter mehanski zaščiti notranjih organov predstavlja tudi telesno zalogo kalcija, fosfata in magnezija (1). Kljub rigidnemu izgledu pa je kost presnovno dinamično in aktivno tkivo, v katerem nepretrgoma poteka na eni strani razgradnja in na drugi strani tvorba nove kosti (2). Pregrajevanje kosti se začne že v obdobju ploda in traja celotno življenje.

V članku so predstavljene najnovejše ugotovitve s področja kostne presnove ter vplivi genetskih in epigenetskih dejavnikov na razvoj kostnih bolezni pri otrocih. Opisani so diagnostične metode in terapevtski pristopi, ki temeljijo na podlagi patofizioloških spoznanj.

Fiziologija kosti

Kostnina oz. kostna masa sestoji iz proteinskega matriksa (osteoida), ki v večini vsebuje kolagen (90 %) in glikoproteine; slednji s svojimi lastnostmi določajo obliko in elastičnost kosti. V osteoid se odlagajo kristali kalcija in fosfata (hidroksiapatit) in drugi minerali; ta anorganski del določa trdnost in čvrstost kosti. Okrog 70 % teže kosti predstavlja anorganska snov, 30 % pa organska. V kostnini najdemo 3 vrste celic: osteoblaste, osteoklaste in osteocite. Zreli osteoklasti staro kost razgradijo, osteoblasti pa po končani razgradnji in apoptozi osteoklastov prično tvoriti novo kostnino (1, 2).

Do zakostenevanja oz. osifikacije lahko pride z intramembransko ali z enhondralno osifikacijo. Pri intramembranski ali direktni osifikaciji prihaja do neposredne pretvorbe mezenhimskih celic v osteoblaste, ki nato tvorijo kostno tkivo. Ta način zakostenevanja je značilen za lobanjske kosti, spodnjo čeljustnico in ključnico (2). Mezenhimske celice sprva proliferirajo in se zgostijo. Nekatere tvorijo kapilare, druge se pod vplivom kostnega morfogenega protei-

na (*angl.* bone morphogenetic protein, BMP) in izražanja transkripcijskega faktorja Runx2 diferencirajo v osteoblaste, ki tvorijo osteoid (3).

Pri enhondralni ali indirektni osifikaciji se preko zbiranja mezenhimskih celic sprva stvori hrustančno tkivo, ki ga postopoma nadomešča kostno. Na ta način zakosteni večina kosti v človeškem telesu. Zaporedne faze tvorbe, proliferacije, hipertrofije in apoptoze hondrocitov ter njihove zamenjave za osteoblaste uravnavajo sistemski in parakrini dejavniki, ki preko aktiviranja transkripcijskih faktorjev povzročijo izražanje za hrustanec specifične gene (4).

Za ustrezno oblikovanje skeleta je potrebna ustrezna mineralizacija, za kar je nujno potrebna zadostna razpoložljivost mineralov. Le-ti se absorbirajo iz prebavil, izločajo ali ponovno privzemajo pa se preko ledvic. Ob primarni mineralizaciji se v osteoid odlagajo amorfnosti soli kalcija in fosfata, ki nato ob sekundarni mineralizaciji zorijo in tvorijo hidroksiapatit. Poleg ustreznega vnosa mineralov je pomembna presnova mineralov v prebavilih in ledvicah ter uravnoteženo delovanje regulatorjev mineralizacije: parathormona (PTH), kalcitonina, vitamina D, fibroblastnega rastnega faktorja 23 (*angl.* fibroblast growth factor 23, FGF23) in encima fosfataze. Nezanemarljivo vlogo igra vitamin K s svojimi anaboličnimi lastnostmi, s spodbujanjem diferenciacije osteoblastov in z zaviranjem delovanja osteoklastov (2, 5).

Rast in mineralizacijo kostnine uravnavajo tudi drugi hormoni: rastni hormon, inzulinu podoben rastni faktor (*angl.* insulin-like growth factor, IGF), ščitnični hormoni, inzulin, leptin, grelin in med puberteto tudi spolni hormoni (1). Kortizol na nadfiziološki ravni zavira delovanje osteoblastov in neugodno deluje na kostno izgradnjo (5). Mineralna kostna gostota (MKG) se nanaša na količino mineralov v določeni prostornini kosti.

Endokrini rastni hormon-inzulinu podobni rastni faktor (*angl.* growth hormone/insulin-like growth factor 1, GH/IGF-1) odločilno vpliva na pridobivanje

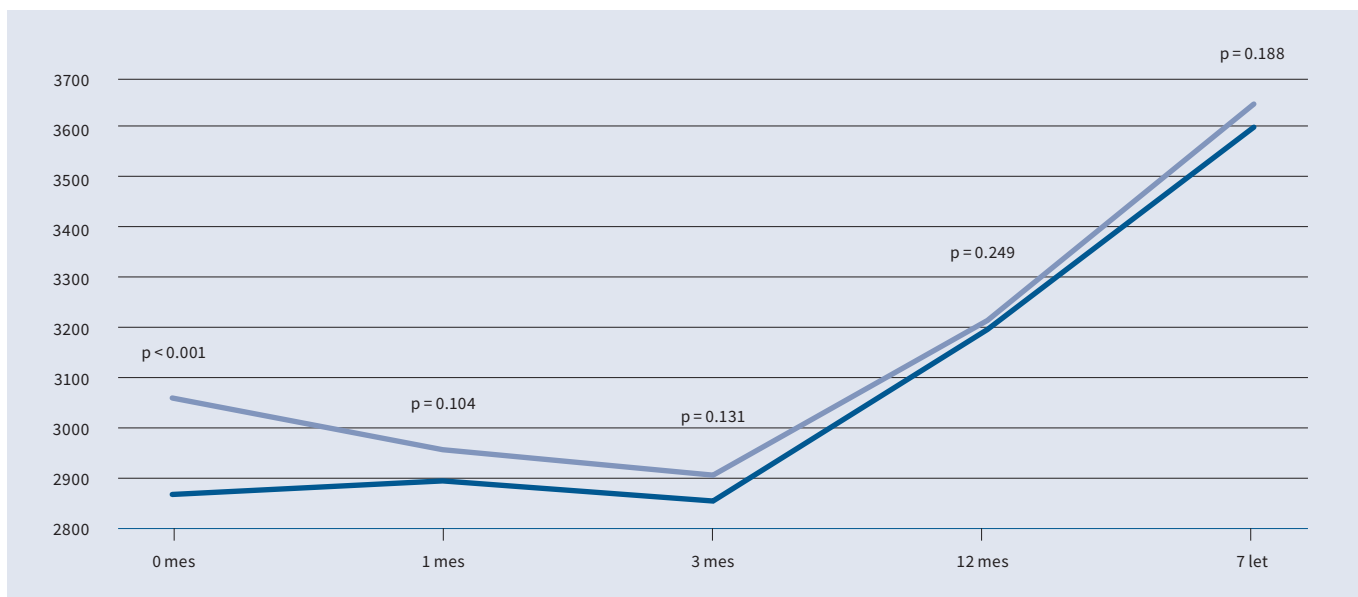
kostne mase. Znotrajmaternični zastoj rasti negativno učinkuje na to os (6). IGF-1 vzpodbuja mitozo diferenciranih hondrocitov v obdobju ploda in kasneje v otroštvu. Neizpolnjenost izločanja povzroči nezadostno rast, najverjetneje pa tudi nižjo kostno gostoto pri novorojenčkih, rojenih z nizko porodno težo (7).

Razvoj kostnine pri plodu

Ob koncu 5. tedna nosečnosti je pri zarodku docela izoblikovan hrustančni skelet, ki predstavlja zasnovo za kostni skelet. Okrog 7. tedna starosti zarodka pride do vdora žilja v hrustančasto zasnovo udov. V 1. trimesečju je zaključen razvoj hrustančastega skeleta z oblikovanjem primarnih osifikacijskih središč dolgih kosti in vretenc (8). Prva kost, v kateri se pojavi osifikacijsko središče, je stegnenica, zadnja (okrog 36. tedna nosečnosti) pa hiodina kost. Diafize so zakostenele že ob rojstvu, medtem ko konci kosti (epifize) s pojavom sekundarnih osifikacijskih središč pričnejo zakostenevati šele po rojstvu. Med epifizo in diafizo se nahaja epifizni hrustanec (epifizna plošča), ki tudi po rojstvu omogoča podaljševanje diafiz in rast v dolžino. Zakostenevanje se zaključi v epifiznih ploščah okrog 20. leta in s čimer se zaključi skeletna rast (9).

Za ustrezno mineralizacijo skeleta pri plodu, ki je najintenzivnejša v 3. trimesečju nosečnosti, so potrebne zadostne količine beljakovin in mineralov ter primeren energijski vnos. Minerali – predvsem kalcij in fosfor – prehajajo v plodov obtoč s pomočjo aktivnega prenosa preko posteljice; prenos je stabilen in nedovisen od prehranskega stanja matere. Dnevni privzem kalcija pri 24-tedenskem plodu znaša 60 mg, medtem ko plod med 35. in 40. tednom dnevno privzame 300–350 mg.

Glavnina (80 %) prenosa kalcija in fosfata skozi posteljico k plodu poteče v zadnjem trimesečju nosečnosti in znaša 120–140 mg/kg/dan kalcija in 75–90 mg/kg/dan fosfata (4, 10, 11).



SLIKA 1. TREND SPREMINJANJA MINERALNE KOSTNE GOSTOTE V ČASU (VIR: CERAR, SOLTIROVSKA, BENEDIK. LONGITUDINAL CHANGES OF BONE ULTRASOUND MEASUREMENTS IN HEALTHY PRE-SCHOOL CHILDREN: MATERNAL AND CHILD DETERMINANTS – ČLANEK V POSTOPKU OBJAVE).

FIGURE 1. TREND OF CHANGING BONE MINERAL DENSITY OVER TIME.

Fiziološki razvoj mineralne kostne gostote

Glavnina kostne mase je izgrajena v zadnjem trimesečju nosečnosti. Z naraščajočo gestacijsko starostjo se pa povečuje tudi vsebnost mineralov oziroma MKG. Ne glede na metodo določanja pa se pri otrocih v prvih mesecih življenja prehodno relativno zmanjša MKG (12, 13). Zaporedne meritve MKG v času izrišejo krivuljo, ki se odkloni navzdol in najnižjo vrednost doseže nekaj tednov (6–12 tednov) po rojstvu, kar prikazuje Slika 1.

Do tega fiziološkega pojava pride zaradi spremembe v količini kortikalne kostnine. Ob rojstvu kar 90 % vse kostnine v prerezu dolge kosti predstavlja kortikalna kost. S povečevanjem votlega sredinskega dela kosti (votline kostnega mozga) se zmanjšuje delež kortikalne kostnine, zato MKG upade do 30 % (14). Drugi razlog je nagla telesna rast in z njo prostornina kostnine, ki pa še ni v celoti mineralizirana. Kljub začetnemu upadu MKG pa količina kostne mase v 1. letu enakomerno narašča in

se nadaljuje vse do konca telesne rasti, razen v obdobjih med 1. in 2. letom starosti in v času pubertete, ko se povečevanje MKG pospeši (15). Nagib krivulje MKG navzdol, kot ga prikazuje Slika 1, je poudarjen pri novorojenčkih, katerih izhodiščna vrednost MKG je že bila nižja: to so stanja nedonošenosti ali znotrajmaterničnega zastoja rasti (12, 13, 16). Okrog 20. leta, po zaključku telesne rasti, posameznik doseže vrh v pridobljeni kostni masi. Kasneje se preoblikovanje kostnine prevesi v prid razgradnje.

Vloga epigenetike pri uravnavanju delovanja posteljice in razvoju kosti pri plodu

Na razvoj skeleta, ki se začne v prvih tednih nosečnosti, vplivajo genetski in endokrini dejavniki ter dejavniki okolja. Proliferacijo in diferenciacijo hrustančnih prekurzorjev ter osifikacijskih procesov uravnavajo hormoni, kot je PTH in citokini.

Ključni dejavnik za skeletni razvoj je ustrezna ožiljenost (vaskularizacija), ki omogoča zadostno preskrbo z minerali. Stanja, kot so preeklampsija, horioamnionitis ali znotrajmaternični zastoj rasti, odslkavajo nezadostno delovanje posteljice in so dejavnik tveganja za presnovno bolezen kosti (*angl.* metabolic bone disease, PBK) (17). Številni okoljski dejavniki, kot je stanje prehranjenosti nosečnice in njena izpostavljenost psihoaktivnim snovem ali toksinom, predstavljajo epigenetske dejavnike, ki vplivajo na pridobljeno kostno maso in kostno gostoto ploda, posredno tudi odraslega (18).

V nosečnosti je nastajanje prostih radikalov večje od antioksidativne zmoglosti organizma. Prosti radikali preko epigenetskih mehanizmov uravnavajo izražanje genov (19). Zaradi povečanega oksidativnega stresa, ki spremlja pogoste nosečnostne bolezni (nosečnostna sladkorna bolezen, preeklampsija, horioamnionitis), pride do zastoja rasti ploda in s tem negativnega vpliva na razvoj kosti.

RUNX2 (Runt-related transcription factor 2)	ALK2 (Activin A receptor, type II-like kinase 2)
COL1A1 in COL1A2 (Collagen, type I, $\alpha 1$ and $\alpha 2$)	ALK3 (Activin A receptor, type I)
BMP2 (Bone Morphogenetic Protein 2) BMP4 (Bone Morphogenetic Protein 4) BMP7 (Bone Morphogenetic Protein 7)	SMADs (SMAD family members, including SMAD1, SMAD4)
WNT3A (Wnt family member 3A)	FGF23 (Fibroblast growth factor 23)
LRP5 (Low-density lipoprotein receptor-related protein 5)	TNFSF11 (Tumor necrosis factor ligand superfamily mr 11)
LRP6 (Low-density lipoprotein receptor-related protein 6)	TNFRSF11A (Tumor necrosis factor receptor superfamily mr 11A)
SOX9 (SRY-box transcription factor 9)	ENPP1 (Ectonucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1)
PTH1R (Parathyroid hormone 1 receptor)	MEPE (Matrix extracellular phosphoglycoprotein)
PTHrP (Parathyroid hormone-related protein)	CDH11 (Cadherin 11)
SOST (Sclerostin)	AXIN2 (Axis inhibition protein 2)
OPG (Osteoprotegerin)	HDAC4 (Histone deacetylase 4)
RANK (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)	MGP (Matrix Gla protein)
RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand)	NOTCH1 (Notch homolog 1)

TABELA 1. SEZNAM NEKATERIH KANDIDATNIH GENOV V POVEZAVI S PATOGENEZO ZNIŽANE KOSTNE MASE (34).

TABLE 1. LIST OF CANDIDATE GENES ASSOCIATED WITH THE PATHOGENESIS OF DECREASED BONE MASS (34).

Vsako stopnjo v razvoju skeleta uravnavajo številni transkripcijski faktorji (SOX9, RUNX2, COL1A1 Sp1), rastni faktorji (FGF, IGF, VEGF, BMP) in signalne molekule (Wnt/ β -catenin, Hedgehog, PTHrP) (20–22).

Eno temeljnih vlog pri razvoju skeleta imajo encimi, ki preko strukture histonov uravnavajo metilacijo DNK. Kot epigenetski dejavniki delujejo na transkripcijski in posttranskripcijski ravni izražanja genov (23).

Mikro-RNA so mali deli nekodirajoče RNA, ki deluje kot transkripcijski in posttranskripcijski regulator. Molekularni mehanizem delovanja mikro-RNA pri longitudinalni rasti kosti je usmerjanje proliferacije in diferenciacije hondrocitov v rastnih ploščah (24) ter vpliv na hipotalamo-hipofizno os in izločanje ravnega hormona. Čezmer-no izražanje nekaterih skupin mikro-RNA (miR-10b, miR-19a-3p, miR-29a, miR26b) in vitro spodbudijo diferenciacijo osteoblastov, medtem ko druge skupine (miR-9-5p, miR-16-2-3p) osteogenezo zavirajo.

Geni WNT2 kodirajo celični signalni protein, ki je v veliki meri izražen v posteljici. Dokazana je povezava med WNT2 promotorjem metilacije v humani posteljici in nizko porodno težo (25).

Sistem RANKL/RANK/OPG (*angl.* nuclear factor-kappaB activating receptor, RANKL) in osteoprotegerinski receptor (OPG) predstavlja pomembno molekularno signalno pot osteogeneze. Od razmerja signalnih molekul je odvisno ravnovesje med kostno izgradnjo in razgradnjo. Ob povečanem izražanju RANKL pride do večje kostne resorpcije, ob povečanem razmerju OPG/RANKL pa prevladuje kostna izgradnja. Konstelacijo zmanjšane vrednosti RANKL in povečanega razmerja OPG/RANKL ugotavljajo pri novorojenčkih, ki so bili rojeni kot lahki za gestacijsko starost (*angl.* small for gestational age, SGA). Z aktivacijo sistema v prid kostni izgradnji in pospešene postnatalne nadomestne rasti so kosti zaščitene pred negativnimi vplivi zastoja plodove rasti (26).

Genetski dejavniki pri razvoju kosti

Poleg okoljskih tudi genetski dejavniki igrajo ključno vlogo pri izgradnji in vzdrževanju količine kostne mase, saj določajo procese, ki vplivajo na oblikovanje, gostoto in trdnost kosti. Geni nosijo zapis za beljakovine, ki določajo učinkovitost absorpcije kalcija, presnovo vitamina D, aktivnost osteoblastov in osteoklastov ter uravnavanje hormone, ki so ključnega pomena za zdravje kosti. Raziskave so pokazale, da lahko dedni dejavniki pojasnijo do 60–80 % variabilnosti v kostni masi med posamezniki in na izgradnjo kostnine vplivajo bolj od okoljskih dejavnikov (27). Poleg tega genske mutacije in polimorfizmi lahko povečajo tveganje za bolezni kosti, kot je osteoporoza.

Intrinzične motnje kostnine lahko prizadanejo tako donošene kot nedonošene otroke in so genetskega ali idiopatskega izvora (28). Najpogostejša oblika monogenske oblike znižane kostne mase je osteogenesis imperfecta, ki je povezana z mutacijami v genih za kolagen tipa

1. V 90 % sta to COL1A1 in COL1A2, ostali prizadeti geni pa so redkejši (21).

Tehnološki napredek pri razvoju genetskih preiskav je omogočil odkritje številnih genskih lokusov, ki so povezani s prirojeno znižano kostno maso; večina gre za gene, ki kodirajo proteine signalnih poti. Sekvencioniranje celotnega eksoma je v zadnjih letih glavna osnovna metoda izbire za določanje nukleotidnega zaporedja, saj omogoča masovno vzporedno sekvencioniranje večjih genomskih regij.

Kandidatni geni, ki so se pri raziskavah izkazali kot značilno povezani s kostno maso, in izmed katerih posamezni predstavljajo možen razvoj zdravljenja znižane kostne mase, so: LGR4 in LGR6, PTK2B, WNT1, PLS3 in XYLT2, SOST, WNT16, ESR1 in RANKL (29). Preučevane genetske različice se pojavljajo tako pri odraslih kot pri otrocih; nekatere novejšje različice, kot je PTK2B, pa so odkrili samo pri otrocih (22).

Vlogo pri diferenciaciji osteoblastov in zato pri tvorbi kostnine imajo naslednji geni: Sox9, RUNX2, osteriks, osteokalcin, kostni sialoprotein (30). Polimorfizmi v poti PTH, PTH-like hormona (PTHrP) in njegovem receptorju PTH1 (PTHrP) so kandidati za genetsko reguliranje kostnega pregrajevanja (21, 31, 32).

Ker je vitamin D vključen v pomembne procese celične proliferacije in diferenciacije ter homeostaze kalcija, je njegova epigenetska vloga pri kritičnih procesih kostnega zdravja razumljiva (33). Genetski dejavniki tveganja za presnovno bolezen kosti pri nedonošenčkih so polimorfizmi gena za receptor za vitamin D in polimorfizmi gena za receptor za estrogen.

Čeprav je število kandidatnih genov v porastu, pa do danes večine genov v povezavi s patogenezo znižane kostne mase še ne poznamo.

V Tabeli 1 je naveden seznam nekaterih kandidatnih genov v povezavi s patogenezo znižane kostne mase.

Presnovni dejavniki pri razvoju kosti po rojstvu in presnovna bolezen kosti

Presnovna bolezen kosti (PBK) je bolezen, pri kateri je znižana vsebnost mineralne kostne mase od pričakovane za določeno telesno maso ali gestacijsko starost (35). Gre za raznoliko skupino motenj na področju skeletne homeostaze. Poleg nezrele tvorbe skeleta zaradi nedonošenosti so udeleženi tudi okoljski, mehanski in genetski dejavniki. Najpogostejše je povezana z aktivnostjo kostnih celic, proteini kostnega matriksa in z neustreznimi koncentracijami kalcija, fosfata in vitamina D. Običajno se pojavi med 6. in 16. tednom po rojstvu. Izrazi se zaradi nezadostnih zalog in nezadostnega vnosa kalcija in fosfata ob sočasni pospešeni telesni rasti, ki je najbolj izrazita v prvih tednih po rojstvu (5).

Med novorojenčki imajo največje tveganje za PBK nedonošenčki, saj se mineralizacija kosti s prirastom vsebnosti kalcija in fosforja vrši najizraziteje v zadnjem trimesečju nosečnosti, zato se prezgodaj rojeni otroci rodijo z manjšimi zalogami mineralov (36, 37). Hkrati imajo zaradi pomanjkanja komponente gibanja proti upor, ki ga predstavlja maternica, v zunajmaterničnem okolju ob namestitvi v inkubatorje pa nezadostno mehansko stimulacijo za rast kosti (38). Dodatno tveganje predstavljajo bolezni, povezane z nedonošenostjo (sepsa, holestaza, bronhopulmonalna displazija, nekrotizirajoči enterokolitis). Tudi novorojenčki, rojeni materam z boleznimi nosečnosti (preeklampsija, horioamnionitis), so podvrženi slabši mineralizaciji kostnine (5). Tveganje za PBK predstavlja tudi zmanjšan vnos mineralov pri boleznih, ki zmanjšujejo resorpcijo iz prebavil, ter neustrezna mineralna sestava parenteralne prehrane pri hudo bolnih novorojenčkih. Pri otrocih po dolgotrajnem parenteralnem hranjenju opisujejo močno znižano MKG (36). Znižana MKG je pogosta tudi pri otrocih po znotrajmaterničnem zastoju rasti, saj kronično pomanj-

kljivo delovanje posteljice spremeni prenos mineralov in s tem vpliva na spremenjeno presnovo kosti pri plodu (39). Povezava med ravnijsko vitamina D pri nosečnici in PBK novorojenčka je na podlagi študij še neenotna (40–42). Obstajajo dokazi, da je preeklampsija, povezana s pomanjkanjem vitamina D med nosečnostjo, saj vitamin D uravnava prepis in delovanje genov, ki so povezani z normalnim ugneždenjem in angiogenezo posteljice. Novorojenčki mater s preeklampsijo imajo večje tveganje nedonošenosti in so pogostejše majhni za gestacijsko starost (43). V slovenski raziskavi sta bila pomanjkanje in nezadostna raven vitamina D odkrita pri 14 % oz. 41 % nosečnic, optimalno raven vitamina D pa je imelo manj kot polovica nosečnic (44). Kljub veliki razširjenosti pa pomanjkanje vitamina D pri nosečnicah ni vplivalo na telesno rast njihovih potomcev (45). Vitamin D ima poleg vloge pri vzdrževanju homeostaze kalcija vpliv tudi v procesu imunomodulacije, celične proliferacije in diferenciacije ter v številnih drugih fizioloških funkcijah v različnih tkivih in organih (43). Večina priporočil za preprečevanje znižane MKG vsebuje skrb za zadosten vnos vitamina D pri nosečnicah.

Veliko je opisov nastanka znižane MKG pri novorojenčkih, ki prejemajo zdravila. Ob dolgotrajnem zdravljenju z metilksantinskimi pripravki (46) in diuretiki, kot je furosemid, se lahko z urinom poveča izločanje mineralov, ki so potrebni za kostno mineralizacijo (17). Kortikosteroidna zdravila zmanjšujejo kostno maso z vplivanjem na zmanjšano delovanje in pospešeno apoptozo osteoblastov, zmanjšano tvorbo rastnih faktorjev, zmanjšano absorpcijo kalcija v črevesni sluznici in povečano izločanje kalcija skozi ledvice (37). Moč mehanskih sil in sposobnost prilagajanja kosti na njihovo delovanje sta glavna dejavnika, ki vplivata na vsebnost mineralov in arhitekturno zgradbo kosti in s tem na njihovo trdnost. Osteoblastna aktivnost narašča z mehanično stimulacijo. Znižano kostno maso imajo zato pogosto novorojenčki z

Mineralizacija kosti	
Plodovi in materini dejavniki tveganja	Zaščitni dejavniki
• znotrajmaternični zastoj rasti ploda; • pomanjkanje vitamina D pri nosečnici; • preeklampsija, horioamnionitis, nosečnostna sladkorna bolezen; • endokrine motnje; • hormonski dejavniki (motnja v osi GH/IGF-1, kortizola, leptina); • oksidativni stres.	• zadostno nadomeščanje vitamina D pri nosečnicah.
Neonatalni dejavniki tveganja	Neonatalni zaščitni dejavniki
• nedonošenost; • nizka porodna teža • bolezni (sepsa,olestaza, bronhopulmonalna displazija, nekrotizantni enterokolitis, zdravljenje z diuretiki in kortikosteroidi); • dolgotrajna parenteralna prehrana; • prenizek vnos kalcija, fosfata in vitamina D.	• ustrezno nadomeščanje mineralov v parenteralni in enteralni prehrani; • rojstvo ob terminu; • čimprejšnji prehod z parenteralnega na polno enteralno hranjenje; • prepoznavanje novorojenčkov z dejavniki tveganja; • preprečevanje in zdravljenje sepse.

TABELA 2. PRIKAZ DEJAVNIKOV TVEGANJA, KI VPLIVAJO NA MINERALIZACIJO KOSTNINE V NOSEČNOSTI IN V NEONATALNEM OBDOBJU IN POTENCIALNIH ZAŠČITNIH DEJAVNIKOV IN UKREPOV. POVZETO PO (19).

TABLE 2. RISK FACTORS AFFECTING BONE MINERALIZATION IN PREGNANCY AND THE NEONATAL PERIOD, AND POTENTIAL PROTECTIVE FACTORS AND MEASURES. ADAPTED FROM (19).

motnjo v delovanju osrednjega in perifernega živčevja ali mišic (47).

Z opisanimi znanimi dejavniki tveganja za zmanjšano MKG ter z razumevanjem mehanizmov njihovega delovanja lahko prepoznamo stanja, na katera lahko vplivamo ali jih skušamo preprečevati; prikazana so v Tabeli 2.

Napredek pri obravnavi presnovne bolezni kosti

Izhodišče obravnave PBK je prepoznavanje novorojenčkov z dejavniki tveganja (Tabela 2) ter določanje MKG z radiološkimi kvantitativnimi in semikvantitativnimi metodami in biokemičnimi kazalniki.

Za referenčno metodo merjenja MKG velja dvoenergijska rentgenska absorpcijometrija (denzitometrija), vendar zaradi vrste zadržkov, kot je pomanjkanje referenčnih vrednosti za novorojenčke in nedonošenčke, prisotnosti ionizirajočega sevanja, velikos-

ti in neprenosljivosti opreme, pojavov artefaktov zaradi gibanja, uporabljamo komplementarno metodo merjenja MKG s kvantitativnim ultrazvokom (48). Meritev lahko izvajamo ob bolniškovi postelji. Čeprav je hitra, varna in enostavna za izvedbo, pa tudi pri tej metodi obstajajo pomanjkljivosti zaradi pomanjkanja referenčnih vrednosti za najnižje starostne skupine otrok (48).

Laboratorijska diagnoza PBK temelji na analizi serumskih vrednosti kalcija, fosfata, alkalne fosfataze, parathormona in 25-hidroksivitamina D v kombinaciji z vrednostmi izločenih mineralov v urinu (10). Zaenkrat ne poznamo nobenega povsem natančnega in specifičnega biokemičnega kazalnika za PBK (49, 50). Za razliko od serumske koncentracije kalcija, ki je skrbno hormonsko uravnavana in kot kazalnik PBK ni primerna, pa je nizka koncentracija serumskega fosfata povezana z nezadostnim vnosom fosforja in s povečanim tveganjem PBK (38). Alkalna fosfataza (AF) je v telesu vsepovsod prisoten in na membrano celic vezan

encim, ki v kosti sodeluje pri kalcifikaciji kosti in je dober kazalnik kostnega pregrajevanja. Kostnospecifična alkalna fosfataza se nahaja na površini osteoblastov. Vrednosti obeh encimov po rojstvu fiziološko naraščajo do 6. oz. 12. tedna starosti. Čeprav se AF določa najpogosteje, pa ni še izbrana meja, ki bi nedvomno predstavljala diagnostično vrednost (51).

Na PBK lahko kaže povišana koncentracija parathormona (> 100 pg/ml), saj z mobilizacijo kalcija iz kostnine z namenom uravnavati homeostazo kalcija pride do nezadostne mineralizacije kostnine (50). Tubulna reabsorpcija fosfata (TRP) določa delež v ledvičnih tubulih filtriranega in resorbiranega fosfata; ob hipofosfatemiji je TRP povišan. Visoka vrednost TRP ob nizki ali normalni vrednosti parathormona kaže na pomanjkanje fosfata. Nizka vrednost TRP ob visoki vrednosti parathormona kaže na pomanjkanje kalcija in/ali vitamina D (38).

Pri diagnosticiranju kostnega pregrajevanja pri otrocih in odraslih se upo-

rabljata tudi novejša kazalnika kostne tvorbe, to sta PINP (*angl.* procollagen type I Nterminal propeptide, PINP) in CTX-I (*angl.* cross-linked C-terminal telopeptide type I collagen, CTX-I), kazalnik kostne resorpcije (52). Zaradi cirkadiane variabilnosti, metodoloških omejitev in pomanjkljivosti referenčnih vrednosti za novorojenčke zaenkrat nista v rutinski uporabi.

Po opisani patofiziologiji in diagnostični oceni PBK je odločilnega pomena hitro preiti k načrtovanju in izvajanju ustreznih ukrepov. Pri novorojenčku s PBK se v prvi vrsti skušamo izogibati dejanikom tveganja. Poleg optimiziranja vnosa hranil, mineralov in vitamina D težimo k smotrni rabi diuretikov in kortikosteroidov. Pri nedonošenčkih humano mleko obogatimo s pripravo mineralov in beljakovin (t. i. human milk fortification) in stremimo k zgodnji vzpostavitvi enteralnega hranjenja. Pri novorojenčkih, ogroženih za PBK, se izogibamo dolgotrajni nemobilnosti, tudi z ustrezno fizioterapijo (51).

Z izboljšanim poznavanjem molekularnih in molekularnogenetskih dejavnikov se odpirajo možnosti širšega odkrivanja in prepoznavanja kostnih bolezni ter tudi usmerjenega zdravljenja. Kot možna tarčno zdravljenje se uporabljajo zdravila, ki vplivajo na signalne poti in bodisi povečujejo kostno izgradnjo bodisi preprečujejo razgradnjo. Večina je namenjena uporabi pri odraslih bolnikih, vendar nekatere tudi pri otrocih (53).

Glavno zdravilo, ki vpliva na kostno resorpcijo, so bisfosfonati. Od novejših zdravil s protiresorptivnim vplivom se tudi pri otrocih že uporablja denosumab (54), humano monoklonsko protitelo razreda IgG2, ki se veže na primarnem mestu uravnavanja kostne resorpcije – RANKL. Z zaviranjem delovanja RANKL je manj izraženo delovanje osteoklastov (53). Za 2 redki kostni bolezni sta na voljo 2 novejši zdravili. Prvo je burosumab, monoklonsko protitelo proti FGF-23, ki se uporablja za zdravljenje otrok z na kromo-

som X vezanim hipofosfatatemičnim rahitisom. Pri tej bolezni je FGF-23 povišan, kar vodi v hipofosfatemijo zaradi ledvične izgube fosfata, znižano serumsko vrednost 1,25(OH)2D in zato neustrezno mineralizacijo (55). Drugi primer zdravila je vosoritid (56), analog natriuretičnega peptida tipa C. Uporablja se za zdravljenje otrok z ahondroplazijo, pri kateri zaradi utišanja številnih znotrajceličnih signalnih poti osteogeneze pride do motene tvorbe hrustančnega tkiva in skeletnih nepravilnosti. Ena od poti, ki vpliva na proliferacijo hondrocitov, je ERK-MAPK (*angl.* extracellular signal-regulated kinase-mitogen-activated protein kinases, ERK-MAPK). S ciljanim delovanjem vosoritida to signalno pot se izboljša proliferacija hondrocitov, enhondralna osifikacija in longitudinalna rast (56).

Zaključek

Pri obvladovanju presnovne bolezni kosti je pomembno poznavanje dejavnikov tveganja, upoštevanje preventivnih strategij, zgodnje odkrivanje in pravočasno zdravljenje. S težnjo po optimalni izgradnji kostnine v najzgodnejšem obdobju rasti posameznika pomembno vplivamo na zmanjšano pojavnost osteoporoze, ki je pogosta in po vsem svetu prisotna kronična skeletna bolezen. Z razumevanjem genetskih in epigenetskih patofizioloških mehanizmov pa poleg boljšega odkrivanja omogočamo tudi možnost usmerjenega zdravljenja. Nadaljnje raziskave in izboljšanje diagnostičnih metod bodo ključnega pomena za razvoj novih terapevtskih pristopov, ki bodo izboljšali kakovost življenja prizadetih bolnikov ter zmanjšali breme te bolezni.

Literatura

- Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Textbook of pediatrics. 16th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2000.
- Kavus H, Polin R, Chung W, Schierding W, Vickers M, O'Sullivan J, et al. Fetal and Neonatal Physiology; 2021. p. 303–10.

- Cooper C, Westlake S, Harvey N, Javaid K, Dennison E, Hanson M. Review: developmental origins of osteoporotic fracture. *Osteoporos Int*. 2006;17(3):337–47.
- Sethi A, Priyadarshi M, Agarwal R. Mineral and bone physiology in the fetus, preterm and full-term neonates. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2020 Feb;25(1):101076.
- Perrone S, Caporilli C, Grassi F, Ferrocino M, Biagi E, Dell'Orto V, Beretta V, Petrolini C, Gambini L, Street M.E., et al. Prenatal and Neonatal Bone Health: Updated Review on Early Identification of Newborns at High Risk for Osteopenia. *Nutrients* 2023, 15, 3515.
- Setia S, Sridhar MG. Changes in GH/IGF-1 axis in intrauterine growth retardation: consequences of fetal programming? *Horm Metab Res*. 2009 Nov;41(11):791–8.
- Jones IE, Williams SM, Goulding A. Associations of birth weight and length, childhood size, and smoking with bone fractures during growth: evidence from a birth cohort study. *Am J Epidemiol* 2004; 159(4):343–50.
- Mackie EJ, Ahmed YA, Tatarczuch L, Chen KS, Mirams M. Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40(1):46–62.
- Caetano-Lopes J, Canhão H, Fonseca JE. Osteoblasts and bone formation. *Acta Reumatol Port*. 2007; 32(2):103–10.
- Rayannavar A, Calabria AC. Screening for Metabolic Bone Disease of prematurity. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2020 Feb;25(1):101086.
- Vannucci L, Fossi C, Quattrini S, Guasti L, Pampaloni B, Gronchi G, Giusti F, Romagnoli C, Cianferotti L, Marcucci G, Brandi ML. Calcium Intake in Bone Health: A Focus on Calcium-Rich Mineral Waters. *Nutrients*. 2018 Dec 5;10(12):1930.
- Liao XP, Zhang WL, He J, Sun JH, Huang P. Bone measurements of infants in the first 3 months of life by quantitative ultrasound: the influence of gestational age, season, and postnatal age. *Pediatr Radiol* 2005;35(9):847–53.
- Ritschl E, Wehmeier K, De Terlizzi F, Wipfler E, Cadossi R, Douma D, et al. Assessment of skeletal development in preterm and term infants by quantitative ultrasound. *Pediatr Res* 2005;58(2):341–6.
- Rauch F, Schoenau E. Changes in Bone Density During Childhood and Adolescence: An Approach Based on Bone's Biological Organization. *Journal of Bone and Mineral Research*. 2001;16(4).
- Zadik Z, Price D, Diamond G. Pediatric reference curves for multi-site quantitative ultrasound and its modulators. *Osteoporos Int* 2003;14(10):857–62.
- Chen HL, Lee W Te, Lee PL, Liu PL, Yang RC. Postnatal Changes in Tibial Bone Speed of Sound of Preterm and Term Infants during Infancy. *PLoS One* 2016;11(11).
- Chinoy A, Mughal MZ, Padidela R. Metabolic bone disease of prematurity: causes, recognition, prevention, treatment and long-term consequences. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2019 Sep;104(5):F560–F566.
- Bocheva G, Boyadjieva N. Epigenetic regulation of fetal bone development and placental transfer of nutrients: progress for osteoporosis. *Interdiscip Toxicol* 2011;4(4):167–72.
- Perrone S, Santacroce A, Picardi A, Buonocore G. Fetal programming and early identification of newborns at high risk of free radical-mediated diseases. *World J Clin Pediatr* 2016;5(2):172.
- Mäkitie RE, Kämpe AJ, Taylan F, Mäkitie O. Recent Discoveries in Monogenic Disorders of Childhood Bone Fragility. Vol. 15, Current Osteoporosis Reports. Current Medicine Group LLC 1; 2017. p. 303–10.

21. Mäkitie RE, Costantini A, Kämpe A, Alm JJ, Mäkitie O. New Insights Into Monogenic Causes of Osteoporosis. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019;10.
22. Mitchell JA, Cousminer DL, Zemel BS, Grant SFA, Chesi A. Genetics of pediatric bone strength. *Bonekey Rep* 2016;5:823.
23. Hensley AP, McAlinden A. The role of microRNAs in bone development. *Bone* 2021;143.
24. Lui JC, Garrison P, Nguyen Q, Ad M, Keembiyehetty C, Chen W, et al. EZH1 and EZH2 promote skeletal growth by repressing inhibitors of chondrocyte proliferation and hypertrophy. *Nat Commun* 2016;7.
25. Ferreira JC, Choufani S, Grafodatskaya D, Butcher DT, Zhao C, Chitayat D, et al. WNT2 promoter methylation in human placenta is associated with low birthweight percentile in the neonate. *Epigenetics* 2011;6(4):440–9.
26. Tenta R, Bourgiezi I, Aliferis E, Papadopoulou M, Gounaris A, Skouroliakou M. Bone metabolism compensates for the delayed growth in small for gestational age neonates. *Organogenesis* 2013;9(1):55–9.
27. Nguyen T V., Livshits G, Center JR, Yakovenko K, Eisman JA. Genetic determination of bone mineral density: evidence for a major gene. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(8):3614–20.
28. Montaner Ramón A. Risk factors of bone mineral metabolic disorders. *Semin Fetal Neonatal Med* 2020;25(1).
29. Lovšin N, Zupan J, Marc J. Genetic effects on bone health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2018;21(4):233–9.
30. Baek WY, Kim JE. Transcriptional regulation of bone formation. *Front Biosci (Schol Ed)* 2011;3(1):126–35.
31. Gupta A, Välimäki VV, Välimäki MJ, Löyttyniemi E, Richard M, Bukka PL, et al. Variable number of tandem repeats polymorphism in parathyroid hormone-related protein as predictor of peak bone mass in young healthy Finnish males. *Eur J Endocrinol* 2008;158(5):755–64.
32. Funke S, Morava E, Czako M, Vida G, Ertl T, Kosztolányi G. Influence of genetic polymorphisms on bone disease of preterm infants. *Pediatr Res* 2006;60(5):607–12.
33. Sundar IK, Rahman I. Vitamin d and susceptibility of chronic lung diseases: role of epigenetics. *Front Pharmacol* 2011;2.
34. OMIM <https://omim.org/graph/linear/166200>
35. Soltirovska Šalamon A, Paro-Panjan D. Osteopenija pri novorojenčku: možnosti diagnosticiranja in zdravljenja. 25. Derčevi dnevi - Zbornik predavanj. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Katedra za pediatrijo; 2013: 102–110.
36. Wood CL, Wood AM, Harker C, Embleton ND. Bone mineral density and osteoporosis after preterm birth: The role of early life factors and nutrition. *Int J Endocrinol* 2013;2013:902513.
37. Karpen HE. Mineral Homeostasis and Effects on Bone Mineralization in the Preterm Neonate. *Clin Perinatol*. 2018 Mar;45(1):129–141.
38. Majoranc N, Soltirovska Šalamon A. Osteopenija nedonošenčka. *Slov pediatr* 2021;28(3):147–53.
39. Kitazawa S, Itabashi K, Umeda Y, Inoue M, Nishioka T. Growth and bone mineralization in small-for-gestational-age preterm infants. *Pediatr Int*. 2014;56(1):67–71.
40. Balasuriya CND, Larose TL, Mosti MP, Evensen KAI, Jacobsen GW, Thorsby PM, Stunes AK, Syversen U. Maternal serum retinol, 25(OH)D and 1,25(OH)2D concentrations during pregnancy and peak bone mass and trabecular bone score in adult offspring at 26-year follow-up. *PLoS One*. 2019;14(9):e0222712.
41. Velkavrh M, Paro-Panjan D, Benedik E, Mis NF, Godnov U, Salamon AS. The Influence of Maternal Levels of Vitamin D and Adiponectin on Anthropometrical Measures and Bone Health in Offspring. *Pril (Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki)*. 2019;40(3):91–98.
42. Zhu K, Whitehouse AJ, Hart PH, Kusel M, Mountain J, Lye S, Pennell C, Walsh JP. Maternal vitamin D status during pregnancy and bone mass in offspring at 20 years of age: a prospective cohort study. *J Bone Miner Res*. 2014;29(5):1088–95.
43. Peček J, Soltirovska Šalamon A. Vloga vitamina D: od ploda do dojenčka. *Slov pediatr* 2018;25:367–76.
44. Soltirovska Salamon A, Benedik E, Bratanič B, Velkavrh M, Rogelj I, Fidler Mis N, Bogovič Matijašič B, Paro-Panjan D. Vitamin D Status and Its Determinants in Healthy Slovenian Pregnant Women. *Ann Nutr Metab*. 2015;67(2):96–103.
45. Budič P, Paro-Panjan D, Duh K, Soltirovska-Šalamon A. The influence of maternal levels of vitamin D and adiponectin on offspring's health. *Pediatr Neonatol*. 2022 Jul;63(4):394–401.
46. Ali E, Rockman-Greenberg C, Moffatt M, Narvey M, Reed M, Jiang D. Caffeine is a risk factor for osteopenia of prematurity in preterm infants: a cohort study. *BMC Pediatr*. 2018 Jan 22;18(1):9.
47. Alvarez Zaragoza C, Vasquez Garibay EM, García Contreras AA, Larrosa Haro A, Romero Velarde E, Rea Rosas A, Cabrales de Anda JL, Vega Olea I. Bone mineral density and nutritional status in children with quadriplegic cerebral palsy. *Arch Osteoporos*. 2018 Mar 4;13(1):17.
48. Cerar S, Paro-Panjan D, Soltirovska-Šalamon A. The role of quantitative ultrasound in diagnosing severe bone metabolic diseases in newborns. *Front Pediatr*. 2023 Apr 11;11:1109553.
49. Tinnion RJ, Embleton ND. How to use... alkaline phosphatase in neonatology. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2012 Aug;97(4):157–63.
50. Visser F, Sprij AJ, Brus F. The validity of biochemical markers in metabolic bone disease in preterm infants: a systematic review. *Acta Paediatr*. 2012 Jun;101(6):562–8.
51. Faienza MF, D'Amato E, Natale MP, Grano M, Chiarioto M, Brunetti G, D'Amato G. Metabolic Bone Disease of Prematurity: Diagnosis and Management. *Front Pediatr*. 2019 Apr 12;7:143.
52. Czech-Kowalska J, Czekuc-Kryskiewicz E, Pludowski P, Zaniuk K, Jaworski M, Łuba A, Grzybowska K, Piłat K, Dobrzanska A. The Clinical and Biochemical Predictors of Bone Mass in Preterm Infants. *PLoS One*. 2016 Nov 2;11(11):e0165727.
53. Jazbinšek S, Koce M, Kotnik P. Novel Treatment Options in Childhood Bone Diseases. *Horm Res Paediatr*. 2023;96(6):590–598.
54. Boyce AM. Denosumab: an Emerging Therapy in Pediatric Bone Disorders. *Curr Osteoporos Rep*. 2017 Aug;15(4):283–292. doi: 10.1007/s11914-017-0380-1. PMID: 28643220; PMCID: PMC5554707.
55. Imel EA, Glorieux FH, Whyte MP, Munns CF, Ward LM, Nilsson O, et al. Burosumab versus conventional therapy in children with X-linked hypophosphataemia: a randomised, active-controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2019;393(10189):2416–2427.
56. Savarirayan R, Irving M, Maixner W, Thompson D, Offiah AC, Connolly DJ, et al. Rationale, design, and methods of a randomized, controlled, open-label clinical trial with open-label extension to investigate the safety of vosoritide in infants, and young children with achondroplasia at risk of requiring cervicomedullary decompression surgery. *Sci Prog*. 2021;104(1):368504211003782.

asist. Sandra Cerar, dr. med.

(kontaktna oseba / *contact person*)

Klinični oddelek za neonatologijo,

Pediatrična klinika,

Univerzitetni klinični center Ljubljana,

Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana,

Slovenija

e-naslov: sandra.cerar@kclj.si

prispelo / received: 20. 5. 2024

sprejeto / accepted: 26. 6. 2024

Cerar S. Znižana kostna masa pri novorojenčku: od presnovnih dejavnikov do genetskih mutacij. *Slov Pediatr* 2024; 31(3): 155–162. <https://doi.org/10.38031/slovpediatr-2024-3-09>.