

UNIVERSITETI I MJEKESISE, TIRANE
REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I MJEKËSISË TIRANË
FAKULTETI I MJEKËSISË
DEPARTAMENTI I LABORATORIT

DISERTACION

I PARAQITUR NGA

JORIDA ZOGA

PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE

“DOKTOR”

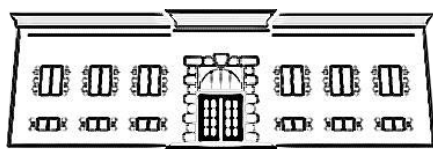
SPECIALITETI: *LABORATOR KLINIK-BIOKIMIK*

**TEMA: VLERËSIMI LABORATORIK I ÇRREGULLIMEVE ENDOKRINE
DHE NDIKIMI I TYRE NË ZHVILLIMIN KOCKOR
NË HEMOGLOBINOPATI**

UDHËHEQËS SHKENCOR:

Prof. Asc. ETLVA REFATLLARI

Tiranë, 2021



UNIVERSITETI I MJEKËSISË, TIRANË

REPUBLIKA E SHQIPËRISË
UNIVERSITETI I MJEKËSISË TIRANËS
FAKULTETI I MJEKËSISË
DEPARTAMENTI I MORFOLOGJISË

DISERTACION

I PARAQITUR NGA

JORIDA ZOGA

PËR MARRJEN E GRADËS SHKENCORE
“DOKTOR”

SPECIALITETI: *LABORATOR KLINIK-BIOKIMIK*

**TEMA: VLERËSIMI LABORATORIK I ÇRREGULLIMEVE
ENDOKRINE DHE NDIKIMI I TYRE NË ZHVILLIMIN KOÇKOR
NË HEMOGLOBINOPATI**

UDHËHEQËS SHKENCOR: **Prof. Asc. ETLEVA REFATLLARI**

MBROHET NË DATË ____/ ____/____ PARA JURISË

- | | |
|----------------------------------|-------------------------|
| 1. Prof. Anyla Bulo | KRYETARE |
| 2. Prof. Agron Ylli | ANËTAR (Oponent) |
| 3. Prof. Dr. Ndok Marku | ANËTAR (Oponent) |
| 4. Prof. Asc. Teuta Dedej | ANËTARE |
| 5. Prof. Polikron Pulluqi | ANËTAR |

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

PËRMBAJTJA

Shkurtime	VII
Abstrakt	IX
Figura 1. Shperndarja e hemoglobinopative ne rrethin e Lushnje	X
II. PJESA TEORIKE	xi
Çrregullimet endokrine dhe roli i tyre në rimodelimin kockor	xi
a. Roli i GH dhe steroideve seksuale në rimodelimin kockor dhe mbajtjen e arkitekturës gjatë jetës .	xi
b. Roli i hypotireozës në zhvillimin kockor	xiii
c. Roli i hypogonadizmit në zhvillimin kockor	xiii
d. Roli i hypoparatiroidizmit dhe mungesa e vitaminës D në zhvillimin kockor	xiv
e. Osteopenia dhe Osteoporozë	xv
f. Një vështrim i përgjithshëm mbi funksionin dhe rimodelimin kockor	xvi
g. Cikli i rimodelimit kockor	xvi
h. Roli i RANK dhe OPG në zhvillimin kockor	xvii
Figura 2.Rregullimi i rimodelimit kockor.....	xx
i. Testet laboratorike për diagnozën e osteoporozës	xxi
□ Testosteroni/Estrogjen/LH/FSH	xxi
□ PTH.....	xxi
□ Niveli i kalçiumit në gjak në osteoporozë në përgjithësi është normal ose i ulët.	xxii
□ Testet e tiroides si T4 dhe TSH shërbejnë për të zbuluar sëmundje të tiroides.....	xxii
□ Fosfataza alkaline (ALP) – test i rëndësishëm, ku rritja e nivelit të saj tregon dëmtim të kockës.	xxii
j. Markuesit kockor.....	xxiii
Figura 3 – Markuesit e resorbimit dhe formimit kockor.....	xxiv
Osteocalcina	xxvii
III . MATERIALI DHE METODA	1
3.1 Tipi i studimit	1
3.2 Popullata në studim	1
3.4 Studimi laboratorik.....	2
3.5 Vlerësimi në serum i OPG dhe RANKL të tretshëm (sRANKL)	3
IV. PËRPUNIMI STATISTIKOR.....	9
4.1 Përkufizimi i ndryshoreve (variablove)	9
4.2 Analiza statistikore e të dhënave	9
V. REZULTATET.....	10
5.1 Të dhëna të përgjithshme rreth subjekteve në studim.....	10

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Grafiku 5.1. Paraqitja grafike sipas gjinisë e individëve në tre grupet e përfshira në studim.....	10
Tabela 5.1. Individët në studim të ndarë sipas gjinisë, moshës dhe diagnozës.....	11
Tabela nr 5.2 Shpërndarja e BMD sipas diagnozës dhe gjinisë.....	11
Grafiku 5.2. Shpërndarja e subjekteve në studim sipas diagnozave	12
5.2 Përshkrimi i variablave në studim	12
Tabela nr.5.3. Shpërndarja e vlerave mesatare të parametrave në studim sipas kategorisë: Analiza e variancës (ANOVA).....	13
Tabela5.4. Raporti RANKL/OPG sipas grupeve në studim	15
Grafiku 5.3: Shpërndarja e vlerave të OPG sipas grupeve në studim.....	16
Grafiku 5.4: Shpërndarja e vlerave të RANKL sipas grupeve në studim	16
Tabela nr. 5.6 Lidhjet bivariate ndërmjet parametrave në studim sipas testitSperman* ρ	19
5.3 Identifikimi i korrelacionit OPG/RANKL dhe BMD (densiteti kockor)	20
Tabela 5.7 Korrelacioni OPG/RANKL me BMD	20
Grafiku 5.5. Paraqitja vizuale e korrelacionit midis OPG dhe RANKL	20
Tabela. 5.8 Korrelacioni OPG/RANKL me T-score	21
Grafiku 5.6. Paraqitja vizuale korrelacionit OPG-Tscore.....	22
Grafiku 5.7 Paraqitja vizuale e korrelacionit RANKL-Tscore	22
5.4 Vlerësimi i lidhjes midis markuesve të metabolizmit kockor dhe statusit të zhvillimit seksual.....	23
Tab.5.9 Korrelacioni Rank/OPG me hormone seksuale femërore.....	23
Tab.5.10 Korrelacioni OPG/Rank me hormone seksuale mashkullore	23
Grafiku.5.8 Paraqitja vizuale e korrelacionit FSH-LH në gjininë femërore	24
Grafiku.5.9 Paraqitja vizuale e korrelacionit LH-E2 në gjininë femërore	25
Grafiku. 5.10 Paraqitja vizuale e korrelacionit LH-FSH në gjininë mashkullore.....	25
Grafiku.5.11 Paraqitja vizuale e korrelaconit LH-Testosteron në gjininë mashkullore.....	26
5.5 Paraqitja e korrelacionit β -CrossLaps – hormone seksuale në gjininë femërore dhe mashkullore.....	27
Tabela 5.11 Korrelacioni β -CrossLaps – hormone seksuale në gjininë mashkullore	27
Tabela 5.12 Korrelacioni β -CrossLaps – hormone seksuale në gjininë femërore	27
Tabela 5.13 Korrelacioni BMD – hormone seksuale mashkullore	29
Tabela 5.14.Lidhja midis hormoneve seksuale dhe markuesve kockore në gjininë femërore	29
5.6 Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe PTH –vitamina D.....	30
Tabela.5.15 Korrelacioni RANKL/OPG-Vitaminë D-PTH.....	30
5.7 Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe GH	31
Tabela.5.16 Korrelacioni i GH me markues të metabolizmit kockor sipas Spearman’s ρ	31
5.8 Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe çrregullimeve endokrine në hemoglobinopati.	32

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Tabela 5.17	Komplikacionet endokrine në pacientët në studim	32
Tabela 5.18	Korrelacionet e OPG/RANKL me çrregullimet endokrine.....	33
5.9	Përcaktimi i sensitivitetit dhe specificitetit të parametrave në studim, nëpërmjet kurbave ROC (Receiver Operating Characteristic).	33
Tabela 5.19	Kombinimi sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të vlerave të β -CrossLaps, në pacientët me hemoglobinopati dhe BMD normale.	33
Grafiku 5.12	Kurba ROC për variablin b-CrossLaps	34
Tabela 5.20	Kombinimi sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të vlerave të OPG në pacientët hemoglobinopate me BMD normale.	34
Grafiku 5.13	Kurba ROC për variablin OPG	35
Tabela 5.21	Kombinimet sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të RANKL	35
Grafiku 5.14	Kurba ROC për variablin RANKL.....	36
VI .	DISKUTIMI.....	37
VII.	KONKLUSIONE.....	42
BIBLIOGRAFIA	44

Indeksi I figurave,tabelave dhe grafikeve

Figura 1. Shpërndarja e hemoglobinopative në rrethin Lushnje	VI
Figura 2.Rregullimi i rimodelimit kockor	xx
Figura 3 – Markuesit e resorbimit dhe formimit kockor	xxiv
Tabela5.1. Individët në studim të ndarë sipas gjinisë, moshës dhe diagnozës	11
Tabela5.2 Shpërndarja e BMD sipas diagnozës dhe gjinisë.....	11
Tabela5.3. Shpërndarja e vlerave mesatare të parametrave në studim sipas kategorisë: Analiza e variancës (ANOVA).....	13
Tabela5.4. Raporti RANKL/OPG sipas grupeve në studim.....	15
Tabela.5.5 Testi Tukey HSD Krahasimet multiple të variablave sipas grupeve	176
Tabela5.6 Lidhjet bivariate ndërmjet parametrave në studim,testi Spearman* ρ	18
Tabela5.7 Korrelacioni OPG/RANKL me BMD	20
Tabela5.8 Korrelacioni OPG/RANKL me T-score.....	20
Tabela5.9 Korrelacioni Rank/OPG me hormone seksuale femerore.....	23
Tabela5.10 Korrelacioni OPG/Rank me hormone seksuale mashkullore.....	23
Tabela5.11 Korrelacioni β -CrossLaps – hormone seksuale në gjininë mashkullore ...	27
Tabela5.12 Korrelacioni β -CrossLaps – hormone seksuale në gjininë femërore.....	27
Tabela5.13 Korrelacioni BMD – hormone seksuale mashkullore	29
Tabela5.14.Lidhja midis hormoneve seksuale femerore dhe markuesve kockore në...25	
Tabela.5.15 Korrelacioni RANKL/OPG-Vitaminë D-PTH.....	26
Tabela.5.16 Korrelacioni GH-markues të metabolizmit kockor sipas Spearman’s.....	27
Tabela 5.17 Komplikacionet endokrine në pacientët në studim.....	32
Tabela 5.18 Korrelacionet e OPG/RANKL me çrregullimet endokrine	33
Tabela 5.19 Kombinimi sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të vlerave të β -CrossLaps, në pacientët me hemoglobinopati dhe BMD normale.	33
Tabela 5.20 Kombinimi sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të vlerave të OPG në pacientët hemoglobinopate me BMD normale.	34
Tabela 5.21 Kombinimet sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të RANKL	35
Grafiku 5.1. Paraqitja grafike sipas gjinisë e individëve në tre grupet ne studim.....	10
Grafiku 5.2. Shpërndarja e subjekteve në studim sipas diagnozave.....	12
Grafiku 5.3: Shpërndarja e vlerave të OPG sipas grupeve në studim	16
Grafiku 5.4: Shpërndarja e vlerave të RANKL sipas grupeve në studim.....	16
Grafiku 5.5. Paraqitja vizuale e korrelacionit midis OPG dhe RANKL	20
Grafiku 5.6. Paraqitja vizuale korrelacionit OPG-Tscore.....	22
Grafiku 5.7 Paraqitja vizuale e korrelacionit RANKL-Tscore.....	22
Grafiku.5.8 Paraqitja vizuale e korrelacionit FSH-LH në gjininë femërore	24
Grafiku.5.9 Paraqitja vizuale e korrelacionit LH-E2 në gjininë femërore	25
Grafiku.5.10Paraqitja vizuale e korrelacionit LH-FSH në gjininë mashkullore	25
Grafiku.5.11 Paraqitja vizuale e korrelaconit LH-Testosteron në gjininë mashkullore	26
Grafiku 5.12 Kurba ROC për variablin b-CrossLaps	34
Grafiku 5.13 Kurba ROC për variablin OPG	35
Grafiku 5.14 Kurba ROC për variablin RANKL	36

FALENDERIME

Falenderoj të gjithë miqtë e mi të cilët më mbështetën në realizimin e këtij punimi shkencor!

Falenderoj, veçanërisht udhëheqësen time shkencore Prof. Etleva Refatllari për mbështetjen dhe ndihmesën e saj të madhe në realizimin e kësaj teme doktorature!

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor
në hemoglobinopati

Me shumë dashuri për Islën, Emin, Lionën dhe Raelin

SHKURTIME

BALP = fosfataza alkaline kockore

BMD = densiteti mineral kockor

B-CrossLaps = beta cross Laps

SD = deviacion standart

DEXA = densitometria kockore

E2 = estrogjeni

FT4 = tiroksina e lirë

FSH = hormoni folikulo-stimulues

FE = ferritina

HB = hemoglobina

GH = hormoni i rritjes

IGF1= faktori i rritjes i ngjashëm me insulinën

LH = hormoni luteinizues

PTH = parathormoni

RANKL = ligandet e receptorëve të faktorit të nekrozës tumorale

OPG = osteoprotegerin

OC = osteokalcin

SCD = sindromi i drepanocitozës

TM = talasemi major

TSH = hormoni tiroidstimulues

TESTO = testosteroni

VIT D = vitamina D

WHO = Organizata Botërore e Shëndetësisë (world health organisation)

I. STUDIMI

a. Qëllimi i studimit

Studimi dhe vlerësimi laboratorik i citokinave OPG/RANKL në pacientët me hemoglobinopati të komplikuar me osteoporozë.

b. Objektivat e studimit

1. Vlerësimi laboratorik i metabolizmit kockor në pacientët me hemoglobinopati përmes dozimit të markuesve të rinj të rezorbimit kockor, β -CrossLaps
2. Vlerësimi i RANKL/ OPG si markues të modelimit kockor
3. Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të modelimit kockor dhe BMD (densiteti kockor)
4. Vlerësimi i lidhjes midis markuesve të modelimit kockor dhe statusit të zhvillimit seksual (testosteron, estradiol, FSH, LH)
5. Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe PTH-vitaminë D
6. Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe aksit GH-IGF1
7. Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe çrregullimeve endokrine në pacientët me hemoglobinopati.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

ABSTRAKT

Në hemoglobinopati, sëmundja kockore përbën një element kyç i cili ndërhyr në cilësinë e jetës së pacientit, duke kërkuar një menaxhim shumëdisiplinar si në diagnozë, në trajtim dhe në ndjekjen e tij.

Patogjeneza e prekjes kockore në hemoglobinopati është komplekse dhe shumë faktoriale.

Hypogonadizmi dhe komplikacionet e tjera endokrine nga mbingarkesa me hekur (si diabeti), hypovitaminoza D, konsumi i alkoolit dhe duhani konsiderohen si faktorë risku për uljen e masës kockore në pacientët me hemoglobinopati.

Qëllimi: Studimi dhe vlerësimi laboratorik i citokinave OPG/RANKL në pacientët me hemoglobinopati të komplikuar me osteoporozë.

Materiale dhe metoda: Matem në 102 pacientë me TM dhe SCD si dhe në 67 raste kontrolli, vlerat në serum të OPG/RANKL dhe përcaktuam lidhjet midis markuesve të turnoverit kockor , BMD, β -CrossLaps dhe ferritinës.

Rezultate: 31.1% e pacientëve me TM & SCD paraqiten me osteoporozë dhe 21.6 % me osteopeni. U gjet korrelacion midis OPG-BMD ($r=-0.768$, $p=0.000$ dhe RANKL-BMD ($r=0.468$; $p=0.000$). OPG-T-score ($r=0.729$. $p=0.000$ dhe Rankl-T-score $r=-0.409$; $p=0.000$). U gjet korrelacion midis β -CrossLaps dhe ferritin, OPG, Rankl, vitamine D, calcium. OPG-Rankl ($r=-0.491$, $p<0.01$). Nuk u gjet korrelacion midis OPG-hormone seksuale($p=0.75$). OPG-Vit.D($r=0.430$; $p=0.000$); GH-gjatesi($p=0.01$)**Konkluzioni:** OPG dhe RANKL në pacientët me TM & SCD duhet konsideruar si faktor përgjegjës për aktivizimin e osteoklasteve. B-CrossLaps duhet konsideruar si një markues i rëndësishëm i rezorbimit kockor**Fjalë kyçe: talasemi, drepanocitozë, OPG,RANKL,osteoporozë**

Abstract

Introduction: Osteoporosis is an important cause of morbidity in hemoglobinopathy patients. It is characterized by low bone mass and disruption of bone architecture, resulting in reduced bone strength and increased risk of fractures. Osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of NF-kappa-B ligand (RANKL) have been recently implicated in the pathogenesis of various types of osteoporosis.

The aim of this study is to evaluate the role of serum OPG/RANKL in patients suffering from hemoglobinopathy complicated with osteoporosis.

Materials and Methods. We measured in 102 patients with TM & SCD and in 67 healthy control subjects serum OPG and RANKL levels and determined correlations with bone turnover markers, BMD, β -CrossLaps and ferritin.

Results. 31.1% of our patients with TM & SCD have osteoporosis and 21.6 % have osteopenia. We find a correlation between OPG-BMD ($r=-0.768$, $p=0.000$ and RANKL-BMD ($r=0.468$; $p=0.000$). OPG-T-score ($r=0.729$. $p=0.000$ and Rankl-T-score $r=-0.409$; $p=0.000$). We find correlation between β -CrossLaps and ferritin, OPG, Rankl, vitamine D, calcium. OPG-Rankl ($r=-0.491$, $p<0.01$). We don't find correlation between OPG-sexual hormone ($p=0.75$). We find correlation: OPG-Vit.D($r=0.430$; $p=0.000$); GH-height($p=0.01$);

Conclusion: OPG and RANKL in TM & SCD patients should be consider as a main factor responsible for osteoclast activation. B-CrossLaps should be consider as a useful marker of bone resorption.

Keywords- Thalassemia, SCD, RANKL, OPG, osteopor

Hyrje

Hemoglobinopatitë (talasemia dhe drepanocitoza) janë ndër çrregullimet më të shpeshta gjenetike të trashëguara, me afërsisht 240 000 fëmijë të lindur çdo vit me hemoglobinopati madhore dhe me së paku 190 milion bartës në gjithë botën^[1]

Hemoglobinopatitë paraqesin një grup të çrregullimeve gjenetike sasiore/cilësore të shkaktuara nga mutacionet e gjeneve përgjegjëse të sintezës së vargjeve globinike.

Në hemoglobinopati, sëmundja kockore përbën një element kyç i cili ndërhyt në cilësinë e jetës së pacientit, duke kërkuar një menaxhim shumëdisiplinar si në diagnoze, në trajtim dhe në ndjekjen e tij.

Patogjeneza e prekjes kockore në hemoglobinopati është komplekse dhe shumë faktoriale. Hypogonadizmi dhe komplikacionet e tjera endokrine nga mbingarkesa me hekur (si diabeti), hypovitaminaza D, konsumi i alkoolit dhe duhani konsiderohen si faktorë risku për uljen e masës kockore në pacientët me hemoglobinopati.

Nga të dhënat e marra në 2006, mbi Depistimin e bartësve të talasemisë në shkollat e mesme të rrethit Lushnje, rezulton se bartshmëria e talasemisë është mjaft e lartë në të gjithë rrethin. Në zona të veçanta, rezulton dhe një bartshmëri e lartë e drepanocitozës. Bartshmëria e talasemisë rezulton më e lartë në zonat fushore dhe bregdetare 10-11%, ndërsa drepanocitoza haset më shumë në zonat kodrinore 8.57%.^[2]



Figura 1. Shpërndarja e hemoglobinopative ne rrethin e Lushnje

II. PJESA TEORIKE

ÇRREGULLIMET ENDOKRINE DHE ROLI I TYRE NË RIMODELIMIN KOCKOR

Sistemi endokrin përbëhet nga disa gjëndra pituitare, tiroide, paratiroide, adrenale dhe qelizat β të pankreasit, ashtu si dhe testet tek meshkujt dhe ovaret tek femrat.^[3]

Këto gjëndra janë përgjegjëse për prodhimin dhe sekretimin e hormoneve: ato janë gjithashtu, të ndjeshme ndaj efekteve toksike të mbingarkesës me hekur në keto qeliza, të cilat ndërhyjnë me prodhimin e hormoneve. Komplikacionet në sistemin endokrin janë për më shumë një problem i përgjithshëm në pacientët me hemoglobinopati, edhe tek ata të cilët fillojnë terapinë ferrokelante në vitet e para të jetës. Çrregullimet endokrine përfshijnë ngadalësimin në rritje, pubertetin e vonuar, diabetin, hypotiroidizmin, hypoparatiroidizmin dhe në të rriturit rënie e funksioneve seksuale.^[4,5]

a. Roli i GH dhe steroideve seksuale në rimodelimin kockor dhe mbajtjen e arkitekturës gjatë jetës

Hormoni i rritjes është ai që prodhohet në sasi më të madha nga të gjithë hormonet pituitare. Rritja lineare kockore është rezultat i reaksioneve hormonale, në veçanti i efektit të IGF1 (insulin-like growth factor I). Hormoni i rritjes (GH) ka një rol kyç në rritjen e kockave të gjata dhe në arritjen e pikut të masës kockore (PBM) gjatë fëmijërisë dhe adoleshencës. PBM është një parashikues i rëndësishëm rreziku për fraktura osteoporotike. Pavarësisht mbylljes së pllakave të rritjes epifizeale, efekti i GH / IGF1 në qarkullimin kockor, në masën kockore, në dendësinë dhe fortësinë kockore zgjatet nëpërmjet rregullimit të rimodelimit kockor.^[6]

GH njihet për efektet e tij anabolike në muskuj si dhe pacientët me defiçit të GH karakterizohen nga reduktimi i masës kockore, por, gjithashtu, edhe nga reduktimi i densitetit mineral kockor (BMD), si dhe i përmbajtjes minerale kockore (BMC).^[7]

Rritja e vonuar është një e dhënë e raportuar në fëmijët dhe adoleshentët me TM. Ndonëse disa pacientë kanë rritje dhe zhvillim normal, ata mund të kenë anomali të rënda gjatë fëmijërisë së vonuar për shkak të dështimit të arritjes së pubertetit.^[8,9] Patogjeneza e dështimit të rritjes është shumëfaktorialëshe.^[10] Faktorët kyç që kontribuojnë në mos zhvillimin e pacientëve me TM përfshijnë aneminë kronike, mbingarkesën me hekur dhe toksicitetin nga terapia kelante.^[11,12] Faktorë të tjerë nxitës janë hypothyroidizmi, hypogonadizmi, mungesa e GH, mungesa e zinkut, sëmundjet kronike të mëlçisë, stresi psikologjik.^[13] Siç tregohet në fiziologjinë kockore, IGF-s luan një rol të rëndësishëm në rimodelimin kockor. Nivele të ulëta të IGF1 ulin proliferimin osteoblastik, formimin e matriksit kockor dhe reduktojnë aktivitetin e osteoklasteve.^[14] Është dokumentuar që aksi GH-IGF është defektiv në TM. Pacientët me talasemi kanë nivele të ulta në qarkullim e IGF-1 në krahasim me pacientët e shëndoshë, duke çuar në këtë mënyrë në rritje të rezorbimit kockor, ulje të formimit kockor dhe në fund në humbje të masës kockore.^{[15,16,17,].}

Hormonet seksuale janë thelbësore për ruajtjen e BMD gjatë adoleshencës dhe moshës madhore.^[19,20]

Testosteroni (T) është steroidi seksual dominant tek burrat dhe estrogeni (E) është steroid seksual dominant tek gratë, që rregullojnë metabolizmin kockor në gjinitë respektive.^[21]

Estrogeni dhe progesteroni duket se frenojnë aktivitetin osteoklastik^[22] dhe nxisin formimin kockor, ndërsa testosteroni ka një efekt direkt në proliferimin dhe diferencimin osteoblastik. Mungesa e estrogenit (E) shkakton format e hershme dhe të vonshme të osteoporozës tek gratë në postmenopauzë dhe kontribuon në zhvillimin e osteoporozës tek burrat. Ajo lidhet me rritjen e rezorbimit kockor të shkaktuar nga rritja e numrit të osteoklasteve (OC)^[23] Grumbullimi i hekurit në gjendrën pituitare shkakton deficitin në hormonin e rritjes (siç evidentohet nga reduktimi i niveleve të faktorit rritës së insulinës tip 1) dhe pubertet të vonuar, të cilët në mënyrë të kthyeshme prekin masën kockore. Efektet anabolike të GH dhe IGF-1 në kocka janë të rëndësishme për fitimin e masës kockore gjatë adoleshencës dhe mundësisht për të mbajtur arkitekturën skeletike gjatë moshës së rritur.

Ndryshimet në sekretimin e GH dhe IGF-1, të cilat ndodhin me rritjen e moshës shkojnë paralel me humbjen e masës kockore, me rënie të performancës fizike, me rritje të masës dhjamore dhe ulje të BMD^[24]. Efektet skeletike të GH dhe IGF-1 rregullohen nëpërmjet ndërveprimeve komplekse midis IGF-1 qarkulluese dhe proteinave lidhëse të IGF-1 (IGFBPs) dhe lokalisht prodhohen IGF-1 dhe IGFBPs. Hormoni i rritjes nxit proliferimin e qelizave të linjës osteoblastike,^[25] ndonëse IGF-1 kërkohet për efektet anabolike të zgjedhura të GH në osteoblaste^[26]. Në mënyrë specifike, GH prek prekursorët mezenkimale, duke favorizuar osteoblastogjenezën, kondrogjenezën dhe efektet e kundërta të adipogjenezës^[27]. Për më shumë, ai stimulon shprehjen e proteinave morfogjenike kockore, të cilat janë të rëndësishme për diferencimin e osteoblasteve, formimin kockor^[28], prodhimin e OPG dhe grumbullimin në matriksin kockor^[29]. Përmes këtyre mekanizmave, GH nxit rritjen e kockave të gjata, qoftë në mënyrë direkte, qoftë përmes një efekti të nxitur nëpërmjet IGF-1 lokal^[30].

Roli thelbësor i IGF-1 është stimulimi i funksionit osteoblastik dhe i formimit kockor. IGF-1 ka efekte modeste në proliferimin qelizor të linjës osteoblastike dhe rrit funksionin e osteoblasteve të pjekura^[31]. Për më tepër, IGF-1 rregullon sintezën e kolagjenit dhe ul degradimet e tij i cili është i rëndësishëm për të mbajtur nivelet e përshtatshme të matriksit kockor dhe masës kockore. Pak i qartë është funksioni i IGF-1 në osteoklaste. Osteoklastet shprehin receptorët e IGF-1 dhe IGF-1 ka efekte direkte në funksionet e tyre.^[32] Dëmtimi i sekretimit të GH nuk është një ndodhi e rrallë në talasemikët, i cili kontribuon në osteopenia dhe osteoporozë. Megjithatë, siç është provuar dhe në të shkuarën, pjesa më e madhe e talasemikëve ka të njëjtin sekretim të GH si në popullsinë normale.^[33] Së fundi, është raportuar që sekretimi defektoz i GH dhe ulja e niveleve në serum të IGF-1, mund të kontribuojë në demineralizimin femoral të pacientëve me talasemi.^[34] Në favor të investigimeve të mëtejshme, është vlerësuar që gjëndja e GH, duhet të ritestohet në pacientët me talasemi, tek të cilët është vënë re mungesa e GH në fëmijëri.^[35] Nëse vendoset diagnoza e deficitit të GH, trajtimi i tij duhet filluar sa më shpejt, pasi përmirëson densitetin mineral kockor.

b. Roli i hypotireozës në zhvillimin kockor

Gjendra tiroide është e lokalizuar në qafë dhe luan një rol të rëndësishëm në sigurimin e zhvillimit të trurit në vitet e para të jetës dhe më vonë në rritjen dhe zhvillimin e fëmijës. Tiroksina, hormoni që prodhohet dhe hidhet në qarkullim nga gjendra tiroide, kontribuon në nivelin e energjisë dhe metabolizmin e çdo individi. Kur hekuri depozitohet në gjendra, aftësia e tij për të prodhuar këtë hormon reduktohet, duke çuar në hypotiroidizëm.^[3;36] Pacientët të cilët vuajnë nga hypotiroidoza primare, mund të ndjehen shumë të përgjumur, kanë shumë të ftohtë dhe shpesh kanë ngurtësim fizik dhe mendor me rritje në peshë. Shkatërrimi i tiroides i shkaktuar nga depozitimi i hekurit mund të prekë, gjithashtu, funksionin kardiak. Sidoqoftë, kushti nuk shoqërohet gjithnjë me shënjat klinike dhe diagnostikohet më mirë me testet laboratorike (TSH, T3, T4), të cilat bëhen rregullisht çdo vit pas moshës 10-vjeçare. Kur testet laboratorike konfirmojnë praninë e hypotiroidizmit (TSH i rritur me FT4 normal ose të ulur), atëherë tiroksina jepet si terapi edhe në rastet, kur pacienti nuk ka zhvilluar shënjat klinike.^[37]

c. Roli i hypogonadizmit në zhvillimin kockor

Puberteti i vonuar dhe hypogonadizmi, janë pasojat klinike më të shpeshta të mbingarkesës me hekur.^[38] Depozitimi i hekurit në qelizat gonadotropike pituitare çon në shkatërrim të prodhimit të gonadotropinave (LH dhe FSH). Në pjesën më të madhe të pacientëve të kelatuar mirë, funksioni gonadal është normal; sidoqoftë, depozitimi i hekurit në gonade ndodh. Mungesa e pubertetit përkufizohet si mungesë totale e zhvillimit pubertal tek vajzat, pas moshës 13 vjeç dhe tek djemtë, pas moshës 14 vjeç. Hypogonadizmi përkufizohet si mungesë e zhvillimit të testeve (më pak se 4 ml) tek djemtë dhe nga mungesa e shfaqjes së gjoksit tek vajzat, pas moshës 16 vjeç.^[39] Ndalimi i pubertetit është një komplikacion i shpeshtë në pacientët me mbingarkesë të hekurit. Kjo karakterizohet nga mungesa progresive e pubertetit për një vit ose më gjatë.^[40,41] Pjesa më e madhe e grave me TM paraqiten me amenorre primare (PA), ndërsa amenorreja sekondare (SA), mund të zhvillohet me kohë, sidomos në pacientët me efekt të dobët ndaj terapisë kelante. Funksioni ovarian në këto gra është normal, pasi ato prodhojnë numrin e pritur të vezëve pas terapisë stimuluese. Shkatërrimi i vezëve nga depozitimi i hekurit në to, është i rrallë dhe mendohet se shfaqet në gratë e moshës 25-30 vjeç, për shkak të aktivitetit të lartë vaskular në ovare në këtë moshë.^[42]

Ndarja e shkallëve sipas Tanner, duhet të bëhet çdo 6 muaj, duke u nisur nga mosha 12 vjeç^[43]

Vajzat pa shënja puberteti nga mosha 13 vjeç dhe djemtë nga mosha 14 vjeç, kërkojnë kontroll me matje në serum të nivelit të: LH, FSH, dhe estradiol/testosterone:

1. FSH dhe LH i ulët për moshën tregon hypogonadizëm hypogonadotropik (HH), (hypothalamic-pituitary lesion) dhe rekomandohet të kryhet MRI (T2*) e hypofizës.
2. FSH dhe LH i rritur sugjerojnë për hypogonadism primar (shumë e rrallë).

- Nëse LH dhe/ose FSH janë të ulët, rekomandohet nxitja me GnRH, për të konfirmuar diagnozën e HH.
- Vlerësimi i moshës kockore është i domosdoshëm për përcaktimin e gjatësisë finale të këtyre pacientëve.
- Eko pelvike është e domosdoshme për vlerësimin e ovareve dhe të pjekurisë uterine

d. Roli i hypoparatiroidizmit dhe mungesa e vitaminës D në zhvillimin kockor

Hypoparathyroidismi dhe mungesa e vitaminës D janë komplikacione endokrine, të cilat mund të zhvillohen në adoleshencë dhe kontribuojnë në shfaqjen e osteopenisë dhe më pas të osteoporozës.^[44]

Hypoparatiroidizmi është komplikacion i rrallë, i cili haset në mënyrë të njëjtë në të dy sekset pas moshës 16 vjeç. Pjesa më e madhe e pacientëve paraqiten me hypokalçemi dhe rrallë me tetani dhe arrest kardiak.^[45]

Hypoparatiroidizmi mendohet të jetë pasojë e depozitimit të hekurit në gjëndrat paratiroide ose si pasojë e shtypjes së sekretimit paratiroid të nxitur nga reabsorbimi kockor, duke rezultuar nga hematopoeza dytësore e rritur në anemi kronike.^[46,47]

Tabloja biokimike e hypoparatiroidizmit paraqitet nivel të ulët të kalçiumit dhe rritje të fosfateve. PTH mund të jetë normal ose i ulët dhe vitamina D është e ulët.^[48]

Mungesa e vitaminës D mund të fillojë herët në pacientët me talasemi, përpara se hypoparatiroidizmi të vendoset. Mungesa e vitaminës D kontribuon në uljen e masës kockore në talasemi.^[49] Vihet re, që këta pacientë zhvillojnë mbingarkesë me hekur dhe është e mundur që mungesa në mëlçi e hidroksilimit të vitaminës D ose mungesa në thithjen e saj, të jëtë më e dukshme në pacientët e vjetër me talasemi. Për më tepër, në vendet me ndriçim të diellit të pakët, mungesa e vitaminës D është më e shpeshtë, sesa në popullsinë normale. Është shumë e rëndësishme të theksohet rrezatimi diellor si një faktor jetësor në metabolizmin e vitaminës D. Përveç vitaminës D, vitamina C dhe elementët si zinku dhe bakri, janë të përfshirë në metabolizmin kockor. Depozitimet e vitaminës dhe elementëve gjurmë, mendohet se frenohen nga desferoksamina në talasemikët të cilët marrin doza të larta të këtij agjenti kelator.^[50]

e. Osteopenia dhe Osteoporozë

Osteopenia dhe osteoporozë janë komplikacionet kockore më të shpeshta të TM, megjithë transfuzionet e rregullta dhe terapinë kelante. ^[51] Osteoporozë është një problem universal mjekësor, e cila prek të dy sekset. ^[49]

Shkaqet kryesore të saj janë: ^[53;54;55]

- Plakja
- Çrregullimet gjenetike të osteogjenezës
- Mungesa e disa elementëve ushqyes
- Mungesa e aktivitetit fizik
- Çrregullimet endokrine, kryesisht mungesa e estrogenit
- Çrregullime neoplastike
- Çrregullime gastrointestinale që shkaktojnë keqthithje
- Sëmundje kronike të mëlçisë
- Kushtet inflamatore
- Medikamente të ndryshme.
- Mungesa e vitaminës D

Osteoporozë është një shkak i rëndësishëm i vdekshmërisë së pacientëve me talasemi major. Patogjeneza e saj në talasemi major është shumë faktorialëshe dhe përfshin ^[51]:

- ✓ Shtrirjen e palcës së kockës
- ✓ Çrregullime endokrine
- ✓ Mbingarkesa me hekur

(1) Shtrirja e palcës së kockës shkakton shkëputje mekanike të formimit kockor, duke çuar në hollim kortikal dhe kjo konsiderohet si shkak kryesor i distorcionit dhe fraxhilitetit kockor në pacientët me talasemi. ^[56]

(2) Hypotiroidizmi, hypoparatiroidizmi, diabeti melitus dhe kryesisht hypogonadizmi (siç është puberteti i vonuar, apo hypogonadizmi sekondar) janë shkaqet kryesore të osteopenisë/osteoporozës. ^[57;58] Meqënëse hypogonadizmi është shumë i pranishëm në adultet me TM, defiçitet hormonale mendohen si mekanizëm kryesor për reduktimin e masës kockore ^[59]. Hemosiderozë e qelizave gonadotropike pituitare dhe depozitimi i hekurit në teste dhe ovare përfshihen në komplikacionet endokrine në talasemi major ^[60]. Për më tepër, depozitimi i hekurit në kocka ndërhyr direkt me mineralizim, numrin dhe aktivitetin osteoblastik ^[61].

(3) Depozitimi me hekur në kocka prek pjekjen osteoide dhe frenon lokalisht mineralizimin, duke rezultuar në osteomalaci fokale. Mekanizmi nëpërmjet të cilit mbingarkesa me hekur ndërhyr në pjekurinë osteoide dhe mineralizim përfshin futjen e hekurit në kristale të kalçium hidroksiapatite, i cili si pasojë prek rritjen e kristaleve hidroksiapatite dhe redukton unitet e metabolizmit kockor. Për më tepër, desferoksamina frenon sintezën e ADN-së, proliferimin e osteoblasteve dhe

fibroblasteve, diferencimin e prekursoreve osteoblastike dhe formimit të kolagjenit, në këtë mënyrë rrit vdekjen osteoblastike, kryesisht në pacientët të cilët marrin doza të larta dhe të papërshtatshme të desferoksaminës [52;62].

f. Një vështrim i përgjithshëm mbi funksionin dhe rimodelimin kockor

Përpara se të shpjegojmë procesin e rezorbimit kockor, fillimisht është e rëndësishme të kuptohet struktura e kockës dhe përbërësit e saj. Në përgjithësi kocka përbëhet nga:

- Qelizat
- Matriksi jo-mineral kolagjenoz
- Depozitat minerale

Përmes qelizave të pranishme në matriksin kockor, disa kontribuojnë në formimin dhe ruajtjen kockore, ndërsa disa të tjera lehtësojnë ndarjen kockore. Qelizat që kujdesen për formimin dhe ruajtjen kockore përfshijnë osteoblastet dhe osteocitet. Tipi qelizor që merr pjesë në ndarjen kockore janë osteoklastet.

Nëse bëjmë një prerje tërthore të kockës, sipërfaqja e jashtme quhet zona kortikale, ndërsa zona e brendshme quhet pjesa trabekulare ose zona e sfungjertë. Për më tepër, periosteumi dhe endosteumi vijëzojnë sipërfaqen kockore dhe hapësirat trabekulare në mënyrë respektive. Këto dy linja janë disi të holla dhe konsistojnë në komplekse vaskulare që furnizojnë me ushqim elementet qelizore. Matriksi kockor i cili përbëhet kryesisht nga material kolagjenoz, e fiton fortësinë në sajë të depozitave të kriprave minerale. Përmes këtyre mineraleve, kalçiumi dhe fosfori janë më domethënës dhe njihen me emrin hidroksiapatite.^[63]

g. Cikli i rimodelimit kockor

Kocka është një ind dinamik që rimodelohet vazhdimisht në përgjigje të streseve mekanike dhe ndryshimeve hormonale. Funksionet metabolike të skeletit janë realizuar në pjesën më të madhe nga dy hormonet e mëdha kalçium-rregulluese, hormoni paratiroidien (PTH) dhe 1,25-dihidroksi vitamina D. Hormoni i tretë, kalçitonina, e cila mund të frenojë rezorbimin kockor, mund të jetë e rëndësishme në zhvillimin e skeletit, por luan një rol të vogël në fiziologjinë e rregullimit të kalçiumit në personat e rritur. Ajo është një frenues i fuqishëm i rezorbimit kockor dhe përdoret klinikisht në trajtimin e osteoporozës.^[64]

PTH rregullon përqëndrimin e kalçiumit në serum. Ai është një stimulues i fuqishëm i rezorbimit kockor dhe ka efekte bifazike në formacionin kockor.^[65] PTH në plazëm shkon drejt rritjes me rritjen e moshës dhe kjo gjë mund të prodhojë një rritje në turnoverin kockor dhe humbje të masës kockore, veçanërisht në kockën kortikale. 1,25-Dihidroksi vitamina D ka efektin e saj më të madh në përthithjen e kalçiumit intestinal dhe fosfatit, por ajo mund të ketë, gjithashtu, efekt të drejtpërdrejtë në kocka dhe në inde të tjera.^[66]

Në mënyrë që të ruhet integriteti dhe stabiliteti kockor, ajo kalon me mënyrë të vazhdueshme në proces rimodelimi me rreth 10% të materialit kockor të rinovuar çdo vit.^[63] Rimodelimi kockor është një proces kompleks që përfshin rezorbimin kockor të kryer nga osteoklastet, të ndjekur nga formimi kockor i cili kryhet nga osteoblastet. Në këtë proces, këto qeliza veprojnë ngushtësisht me unitete multiqelizore (BMU).^[67;68] Cikli i rimodelimit kockor përfshin disa hapa të njëpasnjëshëm dhe të ndryshëm, të quajtur

rezorbim, kthim dhe formim. Faza e rezorbimit ndiqet nga faza reversibël, që nënkupton diferencimin e prekursorëve osteoblastik dhe ndërprerjen e rezorbimit kockor me apoptozën osteoklastike.

Pas aktivizimit të osteoblasteve, ato hedhin poshtë materialin e ri kockor (psh. kolagjen tip 1, osteokalçin, osteopontin), derisa e tërë kocka është rezorbuar dhe zëvendësuar nga një e re. Osteoblastet e përfshira në matriksin e ri gjatë formimit kockor transferohen në osteocite, komponenti qelizor më i bollshëm i kockës. Osteocitet në kocka mbështjellin qelizat spider dhe vlejnjë për të kuptuar mikrokraket dhe mikrofrakturat, të cilat marrin pjesë në diferencimin dhe rezorbimin kockor.^[69] Osteocitet lidhen me qelizat e tjera në sipërfaqen kockore ose me njëra-tjetrën nëpërmjet procesit citoplazmik i cili përshkon kockën. Mendohet që osteocitet mund të rregullojnë shprehjen e RANKL në osteoblaste, pra, të influencojë në osteoklastogjenezë.^[70]

Osteoblastet bëhen të qeta në fund të rimodelimit dhe formojnë një linjë të rrafshuar qelizore në sipërfaqen kockore, derisa të ndodhë, cikli i ri i rimodelimit kockor. Turnoveri kockor koordinon faktorët e ndryshëm që kontribuojnë në cilësinë kockore. Balanca midis rezorbimit dhe formimit është komponenti kyç në ruajtjen e cilësisë kockore, riparimin mikroarkitekturale të dëmtimeve, mbajtjen e BMD dhe reduktimin e riskut për fraktura kockore. Rritja e turnoverit kockor çon në humbje të pakthyeshme të disa trabekulave, duke rezultuar në dobësim kockor dhe rritje të riskut për fraktura. Meqënëse nuk është e mundur matja e bashkimit trabekular në pacientët me osteoporozë, turnoveri kockor, përgjithësisht vlerësohet në praktikën klinike nëpërmjet matjes së markuesve biokimikë kockor.¹

h. Roli i RANK dhe OPG në zhvillimin kockor

Dy tipe qelizash përfshihen në mbajtjen dhe rinovimin kockor.

- (A) Osteoblastet - qeliza të linjës mezenkimale, përgjegjëse për formimin kockor
- (B) Osteoklastet - qeliza të linjës hematopoetike, përgjegjëse për rezorbimin dhe rimodelimin kockor.

Osteoklastet janë qeliza multibërthamore, të formuara nga fuzionimi i progenitorëve mononukleare të familjes së monociteve/makrofagëve.^[71; 72;73;] Osteoklastet rezorbojnë kockën nëpërmjet sekretimit të proteazave që shkrijnë matriksin kockor dhe prodhojnë acide që lëshojnë mineralet kockore në hapësirat ekstra qelizore nën sipërfaqen e ashpër të membranës plazmatike të osteoklasteve.^[74] Osteoklastogjeneza kërkon kontakte midis prekursorëve osteoklastik dhe stromës qelizore ose osteoblasteve. Ngjitja e osteoklasteve në sipërfaqen kockore është kritike për procesin e rezorbimit, që kur agjentët që interferojnë në ngjitjen e osteoklasteve, siç është katepsina – K, bllokojnë rezorbimin kockor. Qelizat e palcës së kockës shprehin dy molekula që janë kryesore për nxitjen e osteoklastogjenezës: M-CSF (faktorët makrofagë nxitës) dhe RANKL (aktivizuesit e receptorëve të faktorëve nuklearë kapa B), i cili është pjesëtar i familjes së faktorëve nekrozë tumorale (TNF). Qelizat stromale dhe osteoblastet janë qeliza target të faktorëve osteoklastogjenike që ushtrojnë aktivitetin e tyre, duke rritur shprehjen e RANKL. Agjentë

të tillë përfshijnë PTH, tiroksinën, vitaminën D dhe citokinat që përdorin gp 130 si pjesë e receptorëve të tyre, si interleukina - 6 (IL-6) dhe onkostatina. Pra, kjo është balanca midis shprehjes së RANKL dhe OPG, e cila përcakton shtrirjen e rezorbimit kockor.^[75]

Osteoblastet janë qeliza kockëformuese. Ata rriten nga qelizat mezenkimale, përmes një serie progenitore të matriksit të pjekur, duke sekretuar osteoblaste dhe qeliza muskulare.^[76] Ekziston një prekursor i osteoblasteve që prodhon fosfatazën alkaline dhe një prekursor më të diferencuar që prodhon në sasi të madhe osteokalçinën dhe matriksin e kalçifikuar. Osteoblastet kthehen në osteocite. Proteinat kockore morfometrike janë faktorë kritik që nxisin rritjen dhe diferencimin e osteoblasteve.^[77] Përveç rolit në formimin kockor, osteoblastet përfshihen në diferencimin e osteoklasteve, pasi prodhojnë RANKL ose OPG për të moduluar aktivitetin osteoklastik.^[73] Alterimet në sistemin RANK/RANKL/OPG në favor të osteoklasteve janë karakteristike në talasemi për shkak të mekanizmave të ndërlikuar që përfshijnë aneminë kronike, toksicitetin nga hekuri dhe komplikacionet endokrine. Rritja e RANKL, e ndjekur nga nivele të pamodifikuara të OPG, me pasojë rritjen e raportit RANKL/OPG mund të jetë shkaku i turnoverit kockor në talasemi^[78].

RANKL është pjesëtar i:^[79]

- (a) familjes së faktorëve të nekrozës tumorale
- (b) sekretohet nga qelizat stromale/osteoblastet, kondrocitet, limfocitet T,
- (c) është tipi II i glikoproteinës transmembranore
- (d) ndërtohet nga 317 aminoacide

Osteoprotegerin (OPG)^[80]

U zbulua në 1997 nga 3 grupe studiuesish në zona të ndryshme^[81]

- ▶ është pjesëtar i familjes së receptorëve të faktorëve të nekrozës tumorale
- ▶ sekretohet nga qelizat stromale/osteoblastet
- ▶ Shërben si receptor kapës i RANKL.
- ▶ OPG bllokon veprimin RANKL–RANK dhe në këtë mënyrë frenon diferencimin dhe aktivizimin e osteoklasteve, duke frenuar osteoklastogenezën.

Rëndësia e rrugës RANK/RANKL/OPG në formimin e osteoklasteve është demonstruar mirë tek minjtë. Minjtë që kanë mungesë të RANKL dhe RANK ose që kanë mbiprodhim të OPG zhvillojnë osteoporosis, për shkak të uljes së aktiviteti të osteoklasteve^[82;83]. Në të kundërt, minjtë osteoporotik zhvillojnë fraktura të shumta dhe kanë ulje të volumit kockor trabekular dhe shumë osteoklaste, përsa kohë që OPG nuk mund të frenojë aktivitetin e RANKL.^[84] Pra, kjo është balanca midis shprehjes së RANKL dhe OPG, e cila përcakton shtrirjen e rezorbimit kockor. Raporti RANKL/OPG rregullon formimin dhe aktivitetin e osteoklasteve.

Rëndësia e RANKL në shkatërrimin kockor lidhet me zhvillimin e rikombinimit të OPG me antikorpët, kundrejt RANKL si një trajtim i fuqishëm për sëmundjet kockore me rritje të fazës rezorbuese.^[86] Protonet duket se luajnë një rol të rëndësishëm për aktivitetin osteoklastik, si HCO₃⁻ nxit rezorbimin nëpërmjet aktivizimit të osteoklasteve të maturuara,

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

duke treguar për një rol të rëndësishëm të balancës acido-bazike në kontrollin e funksionit osteoklastik.^[87;88] Së fundmi, pjesëtarët e familjes së TNF dhe TNF- receptorëve, RANKL, RANK dhe OPG, kanë treguar se luajnë një rol kyç në formimin dhe aktivizimin e osteoklasteve në lidhje me citokinat e ndryshme dhe hormonet kalçiotropike. Ndërveprimi ndërmjet RANKL dhe RANK stimulon formimin osteoklastik dhe bën diferencimin^[89;90], duke aktivizuar veçimin e faktorëve transkriptues që rregullojnë osteoklastogenezën.^[91] OPG prodhohet nga osteoblastet dhe shërben si një receptor tërheqës që konkuron me RANKL për RANK^[92;93] Ky ndërveprim frenon shtimin dhe diferencimin e osteoklasteve dhe për rrjedhim, parandalon rezorbimin kockor.

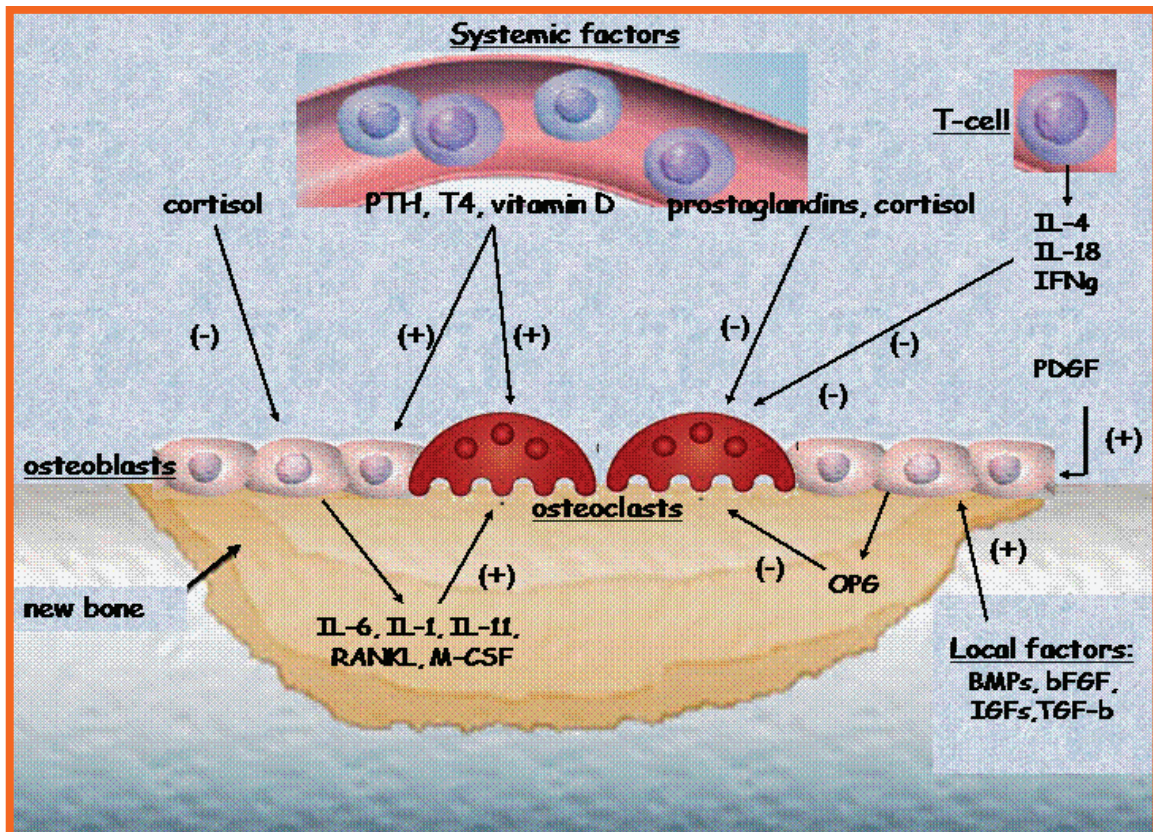


Figura 2. Rregullimi i rimodelimit kockor. Faktorët sistematikë, mund të rrisin proliferimin dhe diferencimin e osteoblasteve. Këtu përfshihen PTH, estrogeni, progesteroni, prostaglandinat, faktorët e rritjes, citokinat. Për më tepër, lokalisht prodhimi i faktorëve të rritjes, mund të rrisë proliferimin dhe funksionin e osteoblasteve, duke përfshirë proteinat morfogjenike kockore (BMP-s), IGF-1, FGFs (Faktorët e rritjes se fibroblasteve) dhe faktorin transformues të rritjes beta (TGF-b). Në anën e kundërt, kortikosteroidet, mund të indukojnë apoptosën e osteoblasteve dhe të bllokojnë formimin kockor. Si faktorët sistematikë dhe lokalë prodhojnë faktorë që nxisin formimin dhe aktivitetin e osteoklasteve. Osteoklastogjeneza kërkon kontakte të ngushta midis prekursorëve osteoklastik dhe qelizave stromale ose osteoblasteve. Hormonet sistemike, si PTH, vitamina D, tiroksina (T4) stimulojnë formimin e osteoklasteve nëpërmjet rregullimit të shprehjes së RANKL në sipërfaqe të qelizave stromale të palcës dhe osteoblasteve të papjekura. RANKL, atëherë lidh receptorët e tij, RANK, në sipërfaqe të prekursorëve osteoklastike indukon formimin e osteoklasteve dhe nxit mbijetesën e tyre. Përveç RANK, një receptor tjetër, osteoprotegerina (OPG), frenon RANKL e lidhur me RANK. Raporti RANKL/OPG përcakton shkallën e osteoklastogjenezës. Osteoblastet, gjithashtu, prodhojnë IL-6, IL-1, prostaglandina dhe M-CSF, të cilët indukojnë formimin e osteoklasteve. Nga ana tjetër qelizat T, mund të prodhojnë citokina që frenojnë formimin e osteoklasteve, si IL-4, IL-18 dhe IFN-c.^[94]

i. Testet laboratorike për diagnozën e osteoporozës

Sipas Organizatës Botërore të Shëndetit (WHO 1994), osteoporoza është një sëmundje e karakterizuar nga ulja e masës kockore dhe përkeqësim i arkitekturës kockore, duke çuar në rritje të fraxhilitetit kockor dhe si rrjedhojë, në rritje të riskut për fraktura. WHO mbështet diagnozën e osteoporozës në prezencën e BMD me T-score që është < -2.5 SD.^[95;96] Ulja e BMD me T-score midis -1 dhe -2.5 konsiderohet osteopeni.^[97] Sidoqoftë, matja e BMD nuk vlerëson të gjithë faktorët e riskut për fraktura. Turnoveri kockor mund të vlerësohet lehtësisht dhe jo në mënyrë invasive nëpërmjet matjes në serum dhe në urinë të markuesve biokimikë (BTM - s).

Diagnoza e osteoporozës vendoset në bazë të:

- Të dhënave klinike
- Testeve laboratorike
- Densitetit kockor
- Markuesit biokimikë të aktivitetit kockor
- X-rays

Në pacientët osteoporotik me hemoglobinopati problem klinik që haset më shpesh, janë dhimbjet e kurrizit dhe shtypja e vertebrave.

Observimi i osteoporozës në hemoglobinopati jep informacion mbi përdorimin e terapisë kelante dhe për më tepër është pasojë e vetë sëmundjes.

Testet laboratorike për diagnozën e osteoporozës janë:

A. Paneli biokimik përfshin:

- a- Kalçiumin në gjak
- b- Fosfatin në gjak
- c- Magneziumin në gjak
- d- Fosfatazën alkaline
- e- Transaminazat (SGOT, SGPT)

B. Gjaku komplet

C. Elektroforeza e proteinës

D. Vlerësimi hormonal:

- Testosteroni/Estrogjen/LH/FSH
- TSH, FT4
- Vitamina D
- PTH
- CTX (β -CrossLaps), N-MID-Osteocalcina

Në testet laboratorike do të vëmë re këto ndryshime:

- ✓ Niveli i kalçiumit në gjak në osteoporozë në përgjithësi është normal ose i ulët.
- ✓ Vitamina D, mungesa e saj mund të lidhet me uljen e thithjes së kalçiumit.
- ✓ Testet e tiroides si T4 dhe TSH shërbejnë për të zbuluar sëmundje të tiroides.
- ✓ PTH (hormone paratiroid) shërben për të diagnostikuar hiperparatiroidizmin.
- ✓ FSH (hormone folikulo-stimulues) shërben për të zbuluar menopauzën
- ✓ Testosteroni- për të zbuluar mungesat në meshkuj
- ✓ Elektroforeza e proteinës-identifikon proteinat anormale të prodhuara nga tipe të ndryshme të tumoreve (të quajtura mielomë multiple), të cilat bëjnë ndarjen kockore.
- ✓ Fosfataza alkaline (ALP) – test i rëndësishëm, ku rritja e nivelit të saj tregon dëmtim të kockës.

4. Osteoporozë diagnostikohet nëpërmjet matjeve të densitetit mineral kockor (**BMD**) dhe densitometri të ndryshme që ekzistojnë:

Metodat që përdoren mund të ndahen në dy grupe kryesore:

1. Metodat që përdorin rrezatimin jonizues, ku burimi kryesor i rrezatimit janë rrezet X
2. Metodat, ku burimi i energjisë janë ultratingujt dhe rezonanca.

SPA (Absorptimeria me foton të vetëm energjie) përcakton përmbajtjen minerale kockore në trup dhe lidhet me izotopin radioaktiv. Ajo është e përshtatshme për parakrahun dhe thembrën (skelet periferik). Kjo metodë varet nga sasia e yndyrës në pjesën e trupit, të matura. Prandaj, saktësia e tij është 9% dhe precizioni është 1- 2% me një kohë të gjatë matjeje. (Swedish Council on Technology Assessment in Healthcare, 1997).

SXA (Absorptimetria Single-energy X-ray) është e njëjtë me SPA, por më e shpejtë, me një saktësi 9%.

DPA (Dual- energy photon absorptiometry) përdor 2 energji nga një ose dy isotope radioaktive. Është e përshtatshme për matjen e zonës lumbare dhe femorit (zona qendrore të skeletit). Kjo metodë ka një saktësi 10% në lumbare dhe 8-9% në femor. Precizioni i kësaj metode është 2-4% me një kohë të gjatë matjeje.

DXA (Dual-energy X-ray absorptiometry) mund të masë përmbajtjen minerale kockore në pjesën lumbare, femor, parakrah, thembër dhe në të gjithë trupin. Në pjesën lumbare matjet merren në nivelin L1-L4 dhe çdo vertebër vlerësohet më vete. Koha e matjes është e shkurtër dhe doza e rrezatimit është relativisht e ulët. Saktësia 1%. QCT (tomografia e kompjuterizuar) është e përshtatshme për të përcaktuar përmbajtjen minerale kockore të zonës lumbare dhe femorit dhe ka avantazhin se mund të masë zonën kortikale dhe trabekulare të skeletit në mënyrë të veçantë. Precizioni 1,5-4% dhe saktësia 10-20%. Doza radioaktive e lartë.

Ultratingujt masin densitetin mineral kockor në thembër. Kjo teknikë jep informacion për elasticitetin kockor dhe masën kockore. Preçizioni 2-4% dhe saktësia 20%.

MRT (rezonanca magnetike) është e shtrenjtë dhe kërkon staf të specializuar, për më shumë mbetet ende një mjet në kërkim.^[98]

j. Markuesit kockor

Markuesit biokimikë të turnoverit kockor janë fragmente të elementëve proteinike të skeletit (ose produkte të degradimit të tyre), ose enzima dhe proteina që hidhen në qarkullim gjatë aktivitetit metabolik. Përqendrimi i tyre në urinë dhe plazëm na jep informacion rreth të gjithë proceseve të aktivitetit metabolik në të gjithë trupin. Duke matur përqendrimin e markuesve biokimikë të turnoverit kockor, ne vlerësojmë shpejtësinë e procesit të osteogjenezës. Turnoveri kockor mund të vlerësohet nëpërmjet matjes në serum dhe urinë të markuesve kockor.^[99]

Këtu përfshihen:

1. **Markuesit e formimit kockor** të cilët janë produkte të sintezës së kolagjenit.
 - b) Osteokalçin (N-MID-Osteocalcin)
 - c) Fosfataza alkaline
 - d) Prokolagjen tip 1N – propeptide dhe tip 1C- propeptide (PICP dhe PINP)
2. **Markuesit e rezorbimit kockor** të cilët janë produkte të degradimit të kolagjenit.
 - a) Izoenzima 5-b e fosfatazës acide rezistente të tartratit (TRACP 5b)
 - b) Fragmente proteolitike të matriksit kolagjenoz kockor, ku përfshihen kolagjen tip 1 kroslink (piridinolina, PYD dhe deoksipiridinolina, DPD)
 - c) Telopeptidet e skajit fundor N (të azotit) dhe C (të karbonit) NTX dhe CTX. Peptidi CTX egziston në dy forma izometrike, formën native (CTX) dhe në formën e lidhur me moshën.

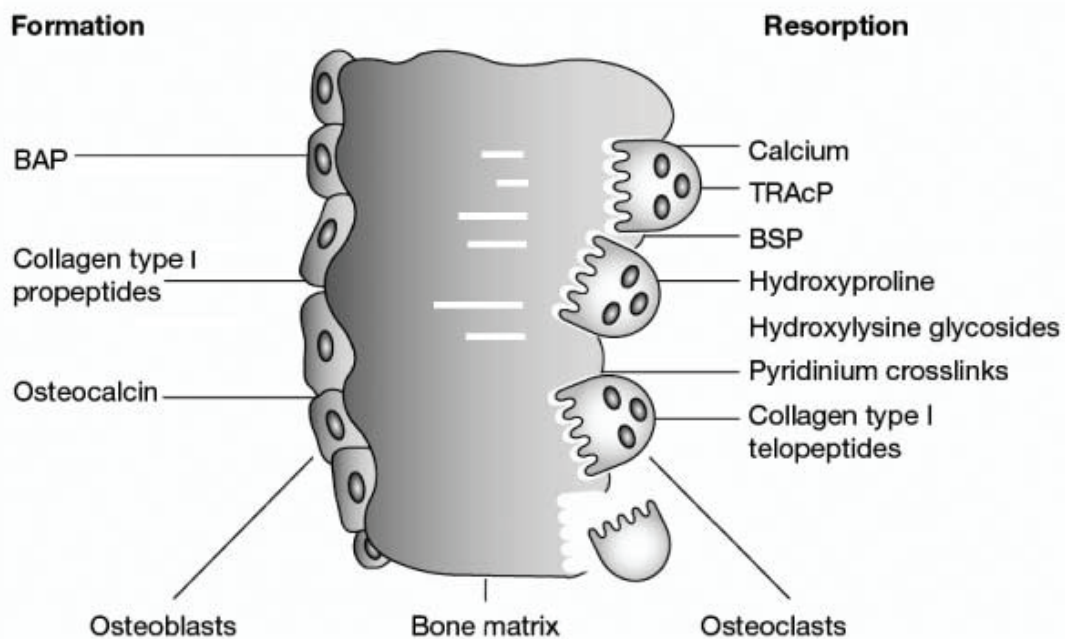


Figura 3 – Markuesit e resorbimit dhe formimit kockor

Markuesit e rezorbimit kockor

β -CTX(β -crosslink)

Markuesi referent i rezorbimit kockor është **s-CTX**. Antitruapat e përdorur në imunoanalizator për CTX në serum ngrihen kundrejt oktapeptidit - β izomerizuar (EKAH(β)DGGR) të molekulës së telopeptidit tip 1 të kollagjenit në karbonin terminal johelikal. Sot, dy analizatorë përdoren: Beta crossLaps i Roche Elexys 2100 (ECLIA) dhe CTX-1 (CrossLaps) IDS-Isys(CLIA). Metoda ELISA është, gjithashtu, e vlefshme për CTX. S-CTX influencohet nga funksioni renal, ai, gjithashtu, tregon ndryshime diurnal me një pikë në mëngjes herët dhe rënie pasdite dhe marrja e ushqimit çon në ulje të nivelit. Për më tepër, mostrat e mbledhura kanë nevojë të standartizohen dhe të kryhen në gjendje esëll në mëngjes. Serume dhe plazma mund të përdoren, por stabilitetin më të lartë e ka plazma e mbledhur me K3EDTA.

Nga një këndvështrim teknik, CTX ka disa përparësi mbi markuesit urinarë si uCTX, uNTX dhe uDPD.

- ✓ Së pari, CTX nuk kërkon matjen në urinë të kreatininës.
- ✓ Së dyti, është gjerësisht i përdorshëm në laboratorët klinikë, qoftë dhe me metodë manuale ELISA, ose me metodën imunokemiluminishente të adaptuar për platformën automatike, më e përshtatshme për t`u përdorur, sesa metoda manuale.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

- ✓ Së treti, normat referente të vendosura në popullatë të gjerë dhe të dokumentuar mirë për gratë e shëndosha në premenopauzë dhe postmenopauzë janë të vlefshme, megjithëse rangu normal në burra është i limituar.
- ✓ Së katërti, s CTX ka një periudhë të shkurtër dhe një periudhë të gjatë brënda variabilitetit të subjektit i cili është afërsisht dy herë më i ulët se markuesit urinarë.

Sidoqoftë, duhet theksuar që kjo duhet matur në personat esëll, pasi ushqimi ul nivelin e s CTX dhe rrit ndryshueshmërinë e tij.

Matja e CTX realizohet me metodën elektrokemiluminishente me reagentin Elexys β -CrossLaps, në aparatën Elexys 2010. Norma e β -CrossLaps është <0.3 ng/ml.

N-TELOPEPTIDE (NTX)

Kur tipi 1 i kolagjenit shkatërrohet nga osteoklastet gjatë procesit të rezorbimit, fragmentet NTX të tipit 1 të kolagjenit lëshohen në qarkullim. Këto fragmente, relativisht të vegjël në madhësi, kalojnë lirisht nga glomeruli në urinë. NTXs është specifik për ndarjen kockore, pasi inde të tjera që përfshijnë tipin 1 të kolagjenit, si psh lëkura, nuk metabolizohen nga osteoklastet, dhe për më tepër, fragmente të ndryshme formohen gjatë ndarjes së indeve jo skeletike.^[100;101] Analiza e urinës për NTX bazohet në antitrupe monoklonale të cilët në mënyrë specifike shënojnë fragmentin e vargut α -2 të N-telopeptidit.^[101] Ky fragment përmban kroslinkun piridinium, por kjo analizë nuk kujton pyridinolinë dhe deoxyypyridinolinë nga ana e saj.^[102]

Për burrat normat referente janë: mosha > 18 vjeç 21-66 nmol NTX/mmol creatininë

Për gratë normat referente janë: mosha > 18 vjeç 19-63 nmol NTX/mmol creatininë

FOSFATAZA ACIDE

Ekzistojnë 5 izoenzima të enzimave lizozomale të fosfatazës acide në gjak, burimi kryesor i të cilave janë kocka, prostatë, trombocitet, eritrocitet dhe shpretka.^[103] Izoenzima kockore rrjedh nga osteoklastet, kur është në përqëndrime të larta dhe ekskretohet në mikrorrethina midis zonës së membranës dhe matriksit kockor. Fosfataza acide është një enzimë e fuqishme që luan një rol të rëndësishëm në procesin e rezorbimit kockor. Për shkak të përmasave molekulare, analiza realizohet në serum ose plazëm. Mostrat paratrajtohen me L1 tartrate dhe më pas matet aktiviteti i fosfatazës acide. Ajo rrjedh nga kocka dhe burime të tjera rimarrin aktivitetin e tyre pas trajtimit me L-tartrate, ndaj dhe quhen fosfatazë acide tartratë rezistente (TRAP). Ekziston edhe metoda e ndarjes së izoenzimave nëpërmjet ndarjes elektroforetike, por nëpërmjet kësaj metode ajo humb specificitetin dhe sensitivitetin analitik.^[104] Egzaminimi imunologjik me antitrupe monoklonal është zhvilluar, por nuk konsiderohet specifik për izoenzimën kockore.^[104] Vështirësi të tjera lidhur me matjen e fosfatazës acide lidhen me aktivitetin e lartë të enzimës në serum, krahasuar me plazmën për shkak të lëshimit të fosfatazës acide nga eritrocitet gjatë procesit të koagulimit invitro. Për më tepër, enzima është e paqëndrueshme në serum/plazëm të ngjirë pa trajtim special për të ulur pH. Norma e fosfatazës acide <2 ng/ml.

Markuesit e formimit kockor

Markuesit e formimit kockor janë produkte të osteoblasteve aktive të shprehura gjatë fazave të zhvillimit osteoblastik. Ata konsiderohen se reflektojnë aspekte të ndryshme të funksionit osteoblastik dhe të formimit kockor. Të gjithë markuesit e formimit kockor maten si në serum dhe në plazëm.

Fosfataza alkaline

Fosfataza alkaline gjendet kudo, në enzimë tetramerike e lidhur me membranën, e ngjitur në glikosil-fosfatidil inositolin të lokalizuar në sipërfaqen e jashtme qelizore.^[105] Funksioni i saktë i enzimave ende nuk dihet, por është e qartë se luajnë një rol të rëndësishëm në formimin dhe mineralizimin e osteoideve.^[106] Në kocka, ALP mund të përfshihet në ndarjen e pirofosfatit, një frenues i fuqishëm i depozitimit të kalçium-fosfatit në nivel extraqelizor.^[107] Mekanikisht, enzima mund të shkëputet nga membrana dhe të lëshohet në qarkullim. Izoenzima kockore e ALP (B-ALP) mbizotëron gjatë fëmijërisë dhe adoleshencës, ndërsa izoforma hepatike mbizotëron gjatë rritjes.^[108] ALP-totale përdoret për monitorimin e sëmundjeve kockore. Ajo prodhohet nga osteoblastet dhe shfaqet në matriks e depozituar si “syth”, e cila rrjedh nga membrana qelizore.^[109] Këto depozita duket se luajnë një rol thelbësor në procesin e formimit kockor. B-ALP prodhohet në sasi të madhe gjatë fazës së formimit kockor dhe për më tepër është një tregues i shkëlqyer i aktivitetit të formimit kockor.^[110]

Fosfataza totale përbëhet nga disa forma izomerike të cilat rrjedhin nga inde të ndryshme: hepar, kockë, zorrë, shpretkë, veshka dhe placentë. Izoformat fiziologjike të AP kodohen nga 4 gjene, përfshirë 3 inde specifike dhe 1 ind jo specifik në kromozomin 1. Në të rriturit me funksion normal, afërsisht 50% e ALP totale është me origjinë nga hepari, ndërsa 50% vjen nga kocka.^[111] Në fëmijët dhe adoleshentët izoenzima specifike kockore predominon në më shumë se 90% të rasteve për shkak të rritjes skeletike. Shumë teknika janë zhvilluar për të bërë diferencën midis dy izo formave kryesore qarkulluese të ALP, duke përfshirë denaturimin në ngrohje, elektroforezën, precipitimin, frenimin selektiv dhe së fundi testet imunologjike.^[112] Në të rriturit e shëndoshë, pjesa më e madhe e metodave tregojnë një lidhje të mirë midis fosfatazës specifike dhe asaj totale. Testet e reja lejojnë matjen e shpejtë dhe të saktë të aktivitetit enzimatik ose të masës së enzimës. Sidoqoftë, ashtu si të gjitha metodat e tjera, edhe këto metoda tregojnë një kryqëzim reaktiviteti midis kockës dhe ALP hepatike (15-20%). Për më shumë, në subjekte me ALP shumë të lartë hepatike, rezultatet e ALP kockore, mund të jenë artificialisht të larta, duke çuar në rezultate fals pozitive.^[113]

ALP totale është markuesi i metabolizmit kockor më i përdorshëm, kjo për shkak të kostos së ulët dhe metodave të thjeshta përdoruese. Sapo përjashtohen sëmundjet e heparit, niveli në serum i ALP na jep një informacion të mirë të shtrirjes së formacionit të ri kockor dhe aktivitetit osteoblastik. Nga një këndvështrim klinik, zbulimi i izoenzimës së ALP kockore së rritur, preferohet për shkak të specificitetit të lartë.^[114;115]

Norma 80-280 U/L

OSTEOCALCINA

OC (e quajtur ndryshe Gla-proteina kockore BGP) është një molekulë me peshë 5.8 kDa, lidhëse e hidroxyapatiteve, proteinë e sintetizuar ekskluzivisht nga osteoblastet, odontoblastet dhe kondrocitet hipertrofike.^[116] Proteina përmban 49 aminoacide, nga të cilat pozicionet 17, 21, 24 janë mbetje të acidit gama karboksiglutamik (Gla), i cili në prani të kalçiumit, përfshihet në lidhje nga hidroksiapatitet dhe si pasojë grumbullohet në matriksin kockor. Shprehja e saj kontrollohet nga 1,25 OH-vitamin D; në mungesë të vitaminës, sinteza e OC është e paperfillshme.^[107] OC konsiderohet si markues specifik i funksionit osteoblastik.^[117] Vlerësohet që direkt pas lëshimit nga osteoblastet, pjesa më e madhe e proteinës së re, të sintetizuar, inkorporohet në matriksin kockor ekstrajelikor, ku përbën afërsisht 15% të fraksionit proteinik jo-kolagjenoz. Një fraksion i vogël hidhet në qarkullim, ku mund të zbulohet nëpërmjet testeve imune.^[118] Niveli në serum i OC tregon lidhje të mira me formimin kockor të vlerësuar nëpërmjet histomorfometrisë.^[119] Sidoqoftë, peptidi është subjekt i degradimit të shpejtë në serum, kështu që si peptidi intakt dhe fragmentet e OC në përmasa të ndryshme bashkëjetojnë në qarkullim.^[120] Për më tepër, që kur OC është inkorporuar në matriksin kockor, disa investigime kanë sugjeruar se fragmente të OC mund të lëshohen edhe gjatë rezorbimit kockor. Kjo mund të jetë e vërtetë, kryesisht për disa fragmente të vogla të skajit fundor -N të OC, të cilat janë gjetur në individë me turnover të lartë kockor.^[120] Dy site testesh, që përdorin antitruapat që zbulojnë pjesë të ndryshme të molekulës së OC, janë prezantuar që zbulojnë molekulën intakte 1-49 OC. Por, vetëm 1/3 e OC totale në serum, paraqet OC intakte, dhe për shkak të paqëndrueshmërisë së OC në serum, humbje e shpejtë e imunoreaktivitetit është parë me këto analiza, ku mostrat lihen për më shumë se 1 orë në temperaturë dhome. Për të shmangur këtë problem, testet më të reja masin produktet më të gjera të degradimit të OC, fragmentin 1-43 (N-terminal). Ky fragment, i cili prezanton 1/3 e OC qarkulluese, është rezultat i degradimit proteolitik të molekulës intakte dhe mundet në veçanti të gjenerohet nga osteoblastet aktive. Ndonëse, pak njihet për funksionin e fragmentit N-terminal, matja e tij eleminon në pjesë problemin e paqëndrueshmërisë preanalitike.^[121] Megjithëse procesimi i shpejtë i mostrës së gjakut pas marrjes, ishte thelbësore për pjesën më të madhe të testeve, pasi humbja e reaktivitetit vihet re, brenda pak orëve në temperaturën e dhomës. Rekomandohet ruajtja e serumit në temperaturë -25° C. Osteokalcina eleminohet nëpërmjet veshkave, ndaj mund të vërehet rritje e saj në pacientët me insufiçencë renale. Rritja e nivelit të osteokalcinës tregon rritje të turnoverit kockor. Norma 11-43 ng/ml.

Propeptide të kolagjenit tip 1

Propeptidet e kolagjenit tip 1, rrjedhin nga kolagjeni tip 1, forma më e madhe e kolagjenit që gjendet në kocka. ^[121] Sidoqoftë, kolagjeni tip 1 është gjithashtu, prezent në inde të tjera si lekurë, dentin, vaza, fibrokartilago dhe tendinë. Në kocka, kolagjeni sintetizohet nga osteoblastet në formën e pre-prokolagjenit. Këto prekursorë molekularë karakterizohen nga propeptidet me skaj fundor –N (PINP) dhe propeptidet me skaj fundor –C (PICP). ^[122] Pas sekretimit në hapësirat ekstraqelizore, propeptidet trimerike globulare janë enzimatisht të pastruar dhe të lira në qarkullim.

PICP është një proteinë globulare me peshë molekulare 115 kDa, stabilizohet nga lidhjet disulfide, pastrohet nga qelizat endoteliale të heparit nëpërmjet receptorëve manoze dhe për më tepër, ka një jetëgjatësi në serum 6-8 minuta. ^[123]

PINP ka peshë molekulare 70 kDa, është e pasur në prolinë dhe hidroksoprolinë dhe eleminohet nga qarkullimi nëpërmjet qelizave endoteliale të heparit, nëpërmjet receptorëve scavenger. Struktura e tij përmban një zonë në formë heliksi të ngjashme me kolagjenin. Megjithatë propeptidet mund të vijnë dhe nga burime të tjera, pjesa më e madhe e indeve jo-skeletike shfaq një turnover më të ulët se kocka dhe kontribuon shumë ngadalë në qarkullimin e propeptideve. Të gjitha propeptidet maten nëpërmjet testeve imune ^[124] Studime të ndryshme kanë treguar lidhje të mira midis nivelit në serum të PICP dhe përqindjes së formimit kockor. ^[125] Ndërkohë që vlerësimi klinik i PICP në vlerësimin metabolik të sëmundjeve kockore ende shihet me skepticizëm, PINP në serum duhet të jetë me vlefshmëri diagnostike të lartë. Ekzistojnë dy forma të PINP në gjak: “intakte” ose molekula trimerike dhe monomeri. Analizat të cilat janë të vlefshme, sot matin si formën trimerike (intakte) të vetme ose edhe të dyja format (total PINP). Kjo e fundit, matet me aparatit ELEXYS. PINP intakt matet në IDS-Isys (imunodiagnostik system); radioimunoanalizator është, gjithashtu, në përdorim. Avantazhet preanalitike të PINP përfshijnë ndryshueshmëri të ulët diurnal dhe intra individuale. Si serumi dhe plazma janë të pranueshme. Normat janë të vendosura për pacientët mbi 18 vjeç. Burrat 22-85 mg/L; femrat në premenopauz: 15-60 mg/L dhe femrat në post menopauz: 20-115 mg/L ^[126]

III. MATERIALI DHE METODA

3.1 Tipi i studimit

Studimi përbëhet nga dy komponentë:

a.-Rast-kontroll: vlerësimi laboratorik i parametrave hormonale në pacientët me hemoglobinopati dhe krahasimi i tyre me vlerat e gjetura në pacientët e grup kontrollit.

b-Prospektiv: vlerësimi i korrelacionit midis citokinave OPG/RANKL dhe diagnozës (talasemi major, drepanocitozë) dhe demonstrimi i lidhjes shkak-pasojë dhe jo rastësore midis tyre. Një studim prospektiv mund të përfshijë dy ose disa variabla (si në studimin tonë) dhe përfshin një grup të zgjedhur në fillim të studimit dhe të ndjekur në ditët në vijim.

3.2 Popullata në studim

U morën në studim 106 pacientë dhe 67 raste kontrolli, të cilët u paraqitën në Qendrën e Talasemisë Lushnjë. Pacientët paraqiten në Qendrën e Talasemisë çdo 21 ditë, për të marrë transfuzione. Ata janë diagnostikuar me diagnozën talasemi major/drepanocitozë homozigotë në bazë të elektroforezës së hemoglobinës që prej moshës 2 vjeçare. Rastet e kontrollit u përzgjedhën në mënyrë rastësore.

Për secilin pacient u plotësua një kartelë tip, në të cilën janë përfshirë të dhënat demografike si mosha, seksi, prania ose jo e sëmundjeve të tjera shoqëruese, përdorimi i medikamenteve për trajtimin e osteoporozës, egzaminimet rutinë (gjaku komplet, bilanci biokimik, elektrolitet, paneli hormonal). Të dhënat u plotësuan me egzaminimet specifike të parametrave të citokinave OPG/RANKL.

3.3 Mbledhja dhe përpunimi i mostrave

Gjaku venoz u mblodh në tri tuba: me K3EDTA për vlerësimin e hemogramës, tub me xhel për dozimet biokimike dhe hormonale dhe tub pa antikoagulant për dozimet e parametrave specifike. Ndarja e serumit dhe plazmës nga masa eritrocitare është bërë menjëherë pas centrifugimit për 15 minuta me 3000 rrotullime/minutë. Centrifugimi i mostrave është realizuar vetëm pas formimit të plotë të koagulit, për të mënjanuar pasaktësinë në rezultate, që mund të shkaktojë prezencën e fibrinës. Dozimet e parametrave rutinë janë realizuar brenda 2 orëve nga marrja e gjakut, ndërsa mostrat për dozimin e testeve specifike janë ruajtur në -20°C deri në momentin e dozimit. Ruajtja e mostrave është realizuar e ndarë në tre ependorfe për të mënjanuar efektet e padëshiruara të procesit të përsëritur ngrirje-shkrirje. (protokolli i marrjes së mostrës)

3.4 Studimi laboratorik

Studimi laboratorik është realizuar në Laboratorin Klinik-Biokimik pranë Qendrës së Hemoglobinopative Lushnje. Matja e OPG/RANK u realizua pranë laboratorit klinik-biokimik të Qendrës Spitalore Universitare “Nënë Tereza” Tiranë. Studimi laboratorik i mostrave përfshin:

Vlerësimin e gjakut komplet, ku përfshihen: rruazat e bardha, rruazat e kuqe, hemoglobina, hematokriti, trombocitet.

Vlerësimi i parametrave rutinë të bilancit biokimik: transaminazave (SGPT,SGOT), bilirubina, glicemia, uremia, creatinemia.

Vlerësimi i panelit hormonal: hormonet seksuale (testosteron, estrogen, FSH, LH), hormonet e gjendrave tiroide (TSH, FT4), hormoni i rritjes (GH), gjendra paratiroide (PTH), ferritinemia, vitamina D, N-MID - osteocalcina, B-CrossLaps.

Vlerësimi i citokinave nëpërmjet dozimit të OPG/RANK.

Matja e gjakut komplet u realizua në cell counterin Mythic 18, i cili përdor dy metoda të pavarura matjeje:

Metodën e impedancës elektrike për matjen e eritrociteve, leukociteve dhe trombociteve

Metodën e methemoglobinës së modifikuar për përcaktimin e hemoglobinës.

Metoda e impedancës elektrike përdoret për matjen e numrit dhe madhësisë së qelizave të gjakut. Kjo metodë bazohet në matjen e ndryshimeve të rezistencës elektrike të prodhuar nga një grimcë e suspenduar në një solución hollues në momentin e kalimit të saj përmes një aperturë me dimensione të njohura. Elektrodat e vendosura në likid në dy anët e aperturës krijojnë një rrymë elektrike. Kur një grimcë kalon përmes aperturës, ndodh një ndryshim i përkohshëm i rezistencës elektrike, midis elektrodave, duke prodhuar një impuls elektrik të matshëm. Numri i impulseve të gjeneruara tregon numrin e grimcave që kalojnë përmes aperturës. Amplituda e çdo impulsi është në përpjestim të drejtë me volumin e grimcës. Çdo impuls amplifikohet dhe krahasohet me kanalet e brendshme referente të voltazhit, të cilat janë të kalibruara për të pranuar vetëm impulse të një voltazhi të caktuar. Më pas impulset ndahen në kanale me madhësi të ndryshme, në përputhje me amplitudën e tyre. (Marrë nga manuali mythic)

Matja e hemoglobinës (HGB) përdor metodën e modifikuar të methemoglobinës. Një porción i holluar dhe i lizuar nga dhoma e përzierjes së leukocitit përdoret për matjen e HGB. Si burim drite përdoret një diodë që emeton një dritë me energji të ulët. Një fotodetektor me gjatësi vale 540 nm, mat dritën e transmetuar. Përcaktimi i përqendrimit të HGB bëhet, duke krahasuar absorbancën e analizës me atë referente (të blankut). Rezultati shprehet në gram/decilitër (gr/dl) të gjakut total. Norma e Hgb është 12-17 gr/dl. (Marrë nga manuali mythic)

Dozimi i parametrave rutinë biokimik u realizua në autoanalizatorin A-15. Sistemi i tij analitik është i automatizuar për egzaminimet rutinë. Ai ka një sistem fotometrik mono dhe bikromatik që pozicionohet direkt në kyvetën e reaksionit (0-2,5 OD). Ky sistem mund të kryejë matje me kohë të fiksuara apo në mënyrë kinetike në 13 gjatësi vale nga 340-800nm. Ai kryen edhe dozimin e elektroliteve (Na⁺, Ca⁺, P⁺, Mg⁺, K), duke përdorur elektrodën jonoselektive. Kapaciteti maksimal i analizatorit është 150 teste/orë. Normat e parametrave biokimike, të cilët matem janë:

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

SGPT 0-46 U/L; SGOT 0-40 U/L; ALP-DEA 180-280 U/L; Bilirubinë totale 0,3-1,2 mg/dl; Glicemi 70-110 mg/dl; uremia 15-50 mg/dl; creatinemia 0,6-1,3 mg/dl; Na⁺ 136-146 nmol/L; Ca⁺ 8,5-10.1 mg/dl; P⁺ 2.5-4.5 mg/dl Mg⁺

Matja e parametrave hormonale u realizua në sistemin e automatizuar Elexys 2010, i cili përdor metodën elektrokemiluminishente. Principi i testeve është metoda sanduic.

Normat e analizave të matura janë:

Ferritinemia 10-110 ng/ml; GH <5 ng/ml; estrogjeni (E2) 10-50 pg/ml; testosteroni 2,5-8 ng/ml; LH 1,8-12 mIU/ml për meshkuj dhe LH 1-18 mIU/ml për femra; FSH 1,5-12,4 mIU/ml për meshkuj dhe FSH 4,7-21,5 mIU/ml për femra. PTH 15-65 pg/ml; vitamina D >30 ng/ml; NMID-osteocalina (OC) 11-43 ng/ml; B-CrossLaps < 0,3 ng/ml.

3.5 Vlerësimi në serum i OPG dhe RANKL të tretshëm (sRANKL)

Testet për OPG dhe sRANKL në qarkullim tek njerezit, kanë ardhur, duke u zhvilluar. OPG është një glikoprotein që qarkullon si një monomer ose homodimer dhe mund të jetë e lidhur me RANKL^[127] OPG prodhohet në inde të ndryshme, duke përfshirë kockat (osteoblaste), lëkurën, stomakun, zorrë, mushkri, zemër dhe placentë^[128] Megjithatë, përqendrimi në serum i OPG mund të mos pasqyrojë me saktësi vlerat e saj në gjëndjen e kockës. ELISA komerciale zbulon të gjitha format e fragmenteve në qarkullim të OPG. Matjet laboratorike të sRANKL janë bërë nga testime që janë pakësuar nga paqëndrueshmëria relative në serum e RANKL.^[129] Faktorët fiziologjik, si ndryshimet ciklike, gjëndja gjatë menstruacioneve, mosha dhe gjinia, duhet gjithashtu, të merren në konsideratë në interpretimin e rezultateve të analizave të RANKL.

Si përfundim, aplikimet klinike të testeve sRANKL dhe OPG janë shfaqur të limituara për shkak të vështirësive metodologjike, vlerat në qarkullim të cilat mund të mos pasqyrojnë vlerat në inde dhe ndikimi i shumë faktorëve fiziologjik (*p.sh.* mosha, etniciteti, gjinia, funksioni i veshkave dhe gjëndja hormonale). Megjithatë, përcaktimi i OPG dhe sRANKL, ndoshta janë të dobishme në studimet kross-sektionale kohorte, siguria e tyre në pacientë të vecantë mbetet për t'u vlerësuar në vazhdim.^[130]

Serum OPG^[131]

Analiza për matjen e OPG në serum përdor metodën sanduic në formatin ELISA me një kapje monoklonale dhe zbulim poliklonal të antikorpeve. Vlera mediane, sipas kompanisë Biomedica, Vienë, është 2.7 pmol/litër. OPG është e qëndrueshme në -20⁰ C në serum dhe EDTA, citrat, plazëm me heparin dhe qëndron në 4 C⁰ për 14 ditë (Biovendor, ELISA version 07 131204).

OPG qarkullon si monomer, homodimer dhe lidhet me RANKL.

Karakteristikat e analizës:

Cat.No.:	BI-20403
Metoda:	Sandwich ELISA, HRP/TMB, 12x8-well strips
Tipi i mostrës:	Serum, plasma (EDTA, heparin, citrate)
Standard range:	0-20 pmol/l (6 serum të bazuar në standarte)

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Pikët e standartit:	0/1.25/2.5/5/10/20 pmol/l
Kontrolli:	1 serum kontrolli
Sasia e mostrës:	20 µl / kyveta
Koha e inkubimit:	4 h / 1 h / 30 min
Kthimi i njësisë:	1 pg/ml = 0.05 pmol/l (MW: 19.9 kDa)

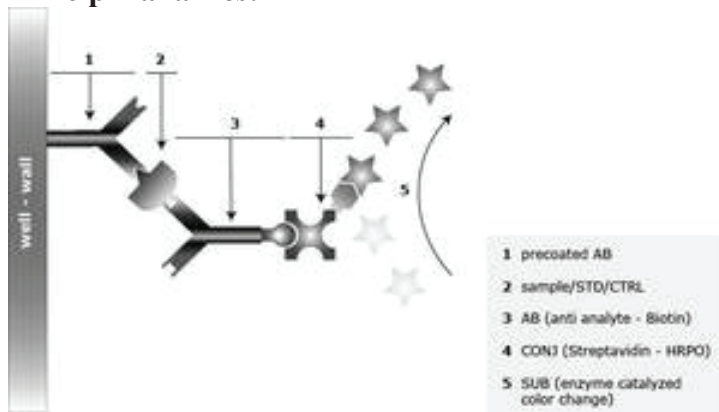
Ndjeshmëria:

LOD: 0.07 pmol/l (0 pmol/l + 3 SD); LLOQ: < 0.08 pmol/l

Precizioni:

Intra-assay (n=5) ≤ 3%, Inter-assay (n=12) ≤ 5%

Principi i analizës:



Përmbajtja e kitit:

Përmbajtja	Përbërësit e kitit	sasia
Plate (pllakëza)	Antitrupa anti OPG	12*8 teste
WASHBUF	Bufer shpëlarës e përqëndruar 20X, kapa natyrale	1*50 ml
AB	Antitrupa anti-OPG të miut, kapa jeshile, e gatshme	1*7 ml
STD	Standart 1-6(0;1.25;2.5;5;10;20 pmol/l), kapa të bardha, të gatshme për t'u përdorur	6*300 µl
CTRL	Kontroll kapa të verdha, të gatshme për t'u përdorur	1*300 µl

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

ASYBUF	Bufer analize, kape e kuqe, e gatshme për t`u përdorur	1*25 ml
CONJ	Konjugat (streptavidine-HRPO), shishe amber, e gatshme për t`u përdorur	1*22 ml
SUB	Substrat(solucionTMB), i gatshëm për t`u përdorur, kup blu, shishe amber	1*22 ml
STOP	Solucion frenues, kapa të bardha, të gatshme për t`u përdorur	1*7 ml

Materialet e përdorura:

Pipeta të kalibruara 20µl,50µl, 150µl, 200µl, 300µ

Ujë destile

Shpëlarës pllakëzash

Frigorifer me 4°C

Lexues ELISA, i aftë për të lexuar në gjatësinë e valës 450 nm

Software për të llogaritur rezultatet

Protokolli i analizës:

Të gjithë reagentet dhe mostrat duhet të jenë në temperaturë (18-24 °C) para fillimit të punës.

Shënojmë në fletën e protokollit pozicionet për blank, standart, analiza, kontroll.

Nxjerrim nga kutia e aluminit stripet.

1.pipeto 150 µl ASYBUF (assay bufer, kape e kuqe) në çdo kyvete. Pipeto 100 µl shtesë në kyvetat e emërtuara blank.

2. shto 20µl STD/Sample/CTRL (standart, mostër, kontroll) në dubël në kyvetat respektive, përveç blankut

3. shto 50 µl AB (antitropa biotiniluar anti-OPG, tape jeshile), në çdo kyvete, përveç blankut.

4. mbulo dhe inkubo për 4 orë në temperaturë dhome (18-24 °C).

5. aspiro dhe shpëla 5X me 300 µl WASHBUF(shpëlarës buferi). Pas shpëlarjes së fundit, largo WASHBUF e mbetur.

6. shto 200 µl CONJ (konjugat, kap amber) në çdo kyvetë.

7. mbulo me kujdes dhe inkubo për 1 orë në temperaturë dhome (18-24 °C).

8. thith dhe shpëla 5 herë me 300 µl WASHBUF(shpëlarës buferi). Pas shpëlarjes së fundit, largo WASHBUF e mbetur.

9. shto 200 µl SUB (substrate, kap blu) në çdo kyvete.

10. inkubo për 30 minuta në temperaturë dhomë (18-24 °C) në errësirë.

11. shto 50 µl STOP (solucion frenues, kape e bardhë) në çdo kyvetë.

12. mat menjëherë absorbancën në 450 nm.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Karakteristikat e analizës:

Vlera në individë të shëndoshë	Mediana 2.7 pmol/l
Limiti standart	0-20 pmol/l
Faktori i konversionit nga pg/ml në pmol/l	1 pg/ml=0.05 pmol/l
Volumi i mostrës për t`u analizuar	20 µl serum, plazëm EDTA, heparin, citrat
Limiti i dedektimit	(0 pmol/l+3 SD):0.07 pmol/l
Koha e inkubimit	4h/1h/30 min

Preçizioni:

Intra –assay: 2 mostra me përqendrime të njohura u testuan 5 herë për të vlerësuar preçizionin intra-assay.

Inter- assay: 2 mostra me përqendrime të njohura u testuan 12 herë në 2 kite me lotë të ndryshme nga 3 operatorë të ndryshëm për të vlerësuar preçizionin inter-assay.

Intra-assay(n=5)	Mostra 1	Mostra 2
Mesatarja(pmol/l)	3.2	10.1
SD(pmol/l)	0.05	0.34
CV	2%	3%

Inter-assay(n=12)	Mostra 1	Mostra 2
Mesatarja(pmol/l)	3.2	9.9
SD(pmol/l)	0.1	0.50
CV	3%	5%

Analiza për matjen në serum të RANKLs

Analiza për matjen e RANKL në serum përdor metodën sanduic në formatin ELISA me një kapje monoklonale dhe zbulim poliklonal të antikorpeve.(Biomedica). Limiti i poshtëm i zbulimit për këtë analizë është 0.08 pmol/liter. Saktësia për RANKLs(Biomedika) është: **intraassay** CV nga 3% (në 3.2 pmol/litër) në 5% (në 1.0 pmol/litër) dhe **interassay** CV nga 6% (në 1.78 pmol/ litër) në 9% (në 0.80 pmol/litër).

Karakteristikat e analizës:

Cat.No.:	BI-20462
Metoda:	Sandwich ELISA, HRP/TMB, 12x8-well strips
Tipi i mostrës:	Serum, heparin plasma
Standard range:	0-2 pmol/l (7 serum based standards)
Pikët e standartit:	0/0.0625/0.125/0.25/0.5/1/2 pmol/l
Kontrollet:	2 serum based controls
Sasia e mostrës:	150 µl / well
Koha e inkubimit:	2 h / overnight / 1 h / 30 min
Kthimi i njësisë:	1 pg/ml = 0.05 pmol/l (MW: 20 kDa, monomer)

Sensitiviteti:

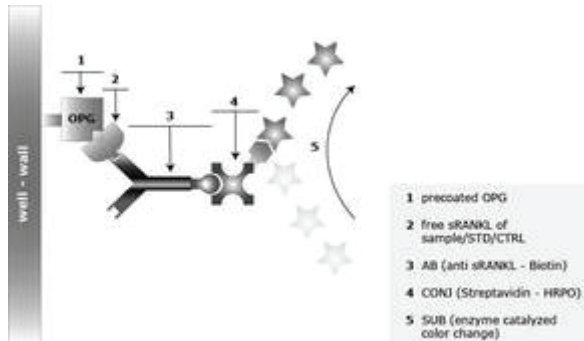
LOD: 0.01 pmol/l (0 pmol/l + 3 SD); LLOQ: 0.008 pmol/l

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Preçizioni:

Intra-assay (n=5) ≤ 5%, Inter-assay (n=12) ≤ 3%

Principi i analizës:



Përmbajtja e kitit:

Përmbajtja	Përbërësit e kitit	sasia
Plate (pllakëza)	OPG humane e rekombinuar pre-coated mikrotiter stripe	12*8 teste
WASHBUF	Bufer shpëlarës e përqëndruar 20X, kapa natyrale	1*50 ml
AB	Antitrupa anti-sRANKL te dhisë, kapa jeshile, e gatshme për përdorim	1*22ml
STD	Standart(0;0.0625;0.125;0.25;0.5;1;2 pmol/l), kapa të bardha	7 flakone të liofilizuar
CTRL	Kontrolle, RANKL human i rekombinuar në serum human, kapa të verdha,	2 flakone të liofilizuar
ASYBUF	Bufer analize, kape e kuqe, e gatshme për t`u përdorur	1*7 ml
CONJ	Konjugat(streptavidine-HRPO), kap amber, e gatshme për t`u përdorur	1*22 ml
SUB	Substrat(solucionTMB), i gatshëm për t`u përdorur, kup blu, shishe amber	1*22 ml
STOP	Solucion frenues, kapa të bardha, të gatshme për t`u përdorur	1*7 ml

Materialet e përdorura:

Pipeta të kalibruara 50µl, 150µl, 200µl, 300µ dhe majat përkatëse
 Ujë destile
 Shpëlarës pllakëzash
 Frigorifer me 4°C
 Lexues ELISA, i aftë për të lexuar në gjatësinë e valës 450 nm
 Software për të llogaritur rezultatet

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Protokolli i analizës:

Të gjithë reagentët dhe mostrat duhet të jenë në temperaturë (18-24 °C) para fillimit të punës.

Shënojmë në fletën e protokollit pozicionet për blank, standart, analiza, kontroll.

Nxjerrim nga kutia e aluminit stripet.

1. parashpëlarje e kyvetave me 300µl WASHBUF (shpëlarës buferi, kape natyrale) 5X. Hiq washbuferin e mbetur, duke shtypur pllakëzat me ndihmën e një letre tualeti.

2. shto 50µl ASYBUF (bufer analize, kape e kuqe) në çdo kyvete. Pipeto shtesë 150 µl ASYBUF në çdo kyvete të shënuar si blank

3. pipeto 150µl STD/SAMPLE/CTRL (standart, mostër, kontroll) në dubël në kyvetat respektive, përveç blankut

4. mbulo dhe inkubo për 2 orë në temperaturë dhomë (18-24 °C).

5. aspiro dhe shpëla 5 herë me 300 µl WASHBUF(shpëlarës buferi). Pas shpëlarjes së fundit, largo WASHBUF e mbetur.

6. shto 200 µl AB (antitropa të biotilinar anti Srankl, kape jeshile) në çdo kyvetë, përveç blankut. Tunde lehtësisht. Pipeto 200µl ASYBUF, në kyvetat e shënuara si blank.

7. mbulo me kujdes dhe inkubo në 4°C gjithë natën.

8. thith dhe shpëla 5 herë me 300 µl WASHBUF(shpëlarës buferi). Pas shpëlarjes së fundit, largo WASHBUF e mbetur.

9. shto 200 µl CONJ (konjugat, kap e shndritshme) në çdo kyvete.

10. mbulo lehtë dhe inkubo për 1 orë në temperaturë dhomë (18-24 °C) në errësi.

11. aspiro dhe shpëla 5 herë me 300 µl WASHBUF(shpëlarës buferi). Pas shpëlarjes së fundit, largo WASHBUF e mbetur.

12. shto 200µl SUB (substrat, kapa blu) në çdo kyvetë

13. inkubo në temperaturë dhomë për 30 minuta në errësi

14. shto 50 µl STOP (solucion frenues, kape e bardhë) në çdo kyvetë.

15. mat menjëherë absorbancën në 450 nm.

Karakteristikat e analizës

Vlera në individë të shëndoshë	Mediana 0.14 pmol/l
Limiti standart	0;0.0625;0.125;0.25;0.5;1;2 pmol/l
Faktori i konversionit nga pg/ml në pmol/l	1 pg/ml=0.05 pmol/l
Volumi i mostrës për t'u analizuar	150 µl serum ose plazëm e heparinizar,
Limiti i dedektimit	(0 pmol/l+3 SD):0.01 pmol/l/0.008 pmol/l
Koha e inkubimit	2h/gjithë natën/1h/30 min

Precizioni:

Intra – assay: 2 mostra me përqendrime të njohura u testuan 5 herë brenda të njëjtit kit nga vetëm një operator.

Inter - assay: 2 mostra me përqendrime të njohura u testuan 12 herë në 2 kite me lotë të ndryshme nga 3 operatorë të ndryshëm për të vlerësuar precizionin inter-assay.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Intra-assay(n=5)	Mostra 1	Mostra 2
Mesatarja(pmol/l)	0.12	1.00
SD(pmol/l)	0.05	0.04
CV	4%	4%

Inter-assay(n=12)	Mostra 1	Mostra 2
Mesatarja(pmol/l)	0.12	1.00
SD(pmol/l)	0.004	0.02
CV	3%	2%

IV. PËRPUNIMI STATISTIKOR

4.1 Përkufizimi i ndryshoreve (variablave)

Mosha: në analizën statistikore mosha u trajtua si ndryshore numerike e vazhdueshme.

Gjinia: mashkull përkundrejt femër (variabël dikotomik)

Parametrat laboratorik:

WBC: (rruazat e bardha të gakt), RBC (rruazat e kuqe të gjakut), Hemoglobina (HGB) u trajtuan si variabla numerike të vazhdueshme.

Të gjitha analizat biokimike dhe hormonale u trajtuan si variabla numerike të vazhdueshme.

Kategoria: osteopeni/osteoporozë përkundrejt normal (variabël dikotomik)

4.2 Analiza statistikore e të dhënave

Analiza statistikore e të dhënave u krye në SPSS (Statistical Package for Social Science, version 20). Për ndryshoret (variablet) numerike u raportuan madhësitë e prerjës qëndrore (mesatarja) dhe madhësitë e dispërsionit (varianca, deviacioni standart). Për ndryshoret kategorike u raportuan numrat dhe përqindjet respektive.

Për të përshkruar në detaje secilin parameter laboratorik në studim, u përdoren tabela dhe grafikë të shumëllojshëm. U përdorën Box-plot për të shfaqur në mënyrë të saktë shpërndarjen e vlerave të parametrave laboratorikë të përdorur dhe për të evidentuar vlerat ekstreme.

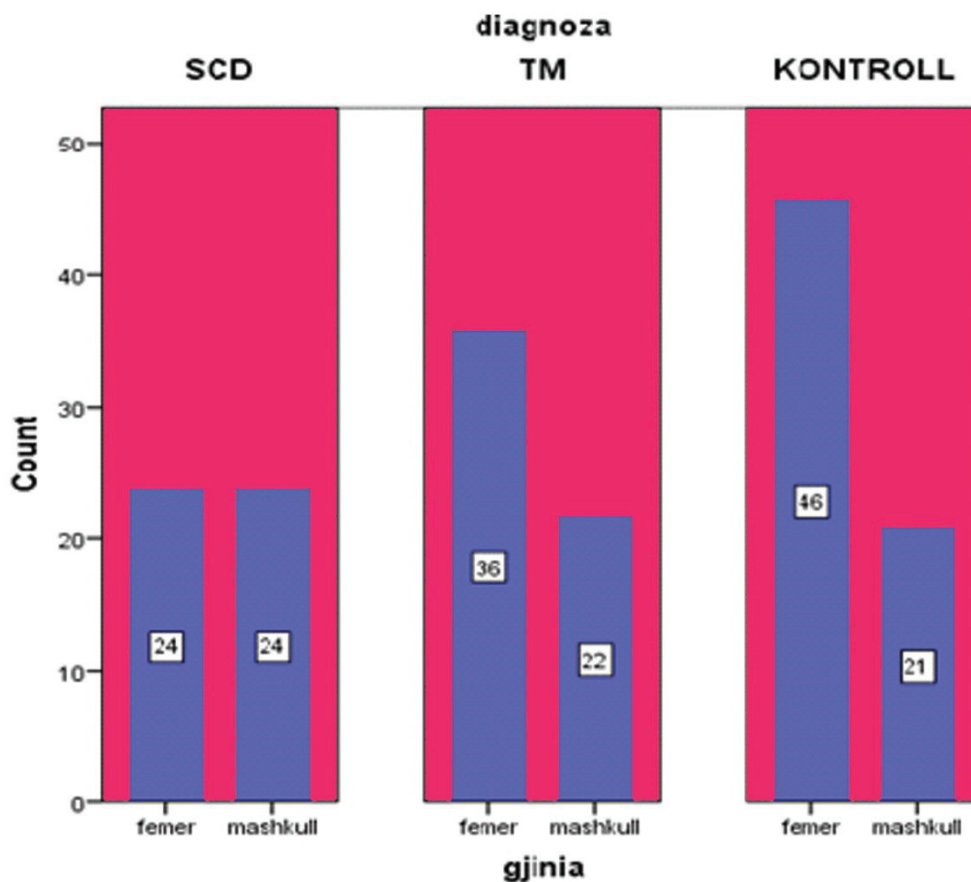
ANOVA (analiza e variancës) u përdor për krahasimin e vlerave mesatare mes më shumë së dy grupeve. Në SPSS kjo procedurë bën të mundur krahasimin e drejtë të grupeve në studim edhe kur variancat e grupeve ndryshojnë. Koeficientët e korrelacionit Spearman u përdorën për vlerësimin e lidhjeve mes variablave numerike (dhe /ose ordinale).

U përdorën Scatter-plotet në rastin e shfaqjes së korrelacioneve midis dy variablave numerike të vazhdueshme dhe u raportua statistika R², e cila tregon shkallën në të cilën variabiliteti i një variabli numerik parashikon shkallën e variabilitetit të variablit tjetër numerik. U treguan linjat e regresionit linear në kuadër të parashikimit të një variable bazuar në vlerat e variablit tjetër.

V. REZULTATET

5.1 Të dhëna të përgjithshme rreth subjekteve në studim

Në total kampioni përfaqësues i pacientëve në studim përbëhet nga 173 raste: 106 (61.2%) femra dhe 67 (38.8%) meshkuj.



Grafiku 5.1. Paraqitja grafike sipas gjinisë e individëve në tre grupet e përfshira në studim

Në studimin tonë u përfshinë 106 pacientë me diagnozë TM dhe SCD, me moshë mesatare 28.3 ± 13.7 (18-74 vjec), ku 56.6% janë femra dhe 43.4 % janë meshkuj. Si grup kontrolli u morën 67 raste, me moshë mesatare 32.3 ± 14 (19-65 vjec), ku 72,2% janë femra dhe 27.8 % janë meshkuj.

Tabela 5.1. Individët në studim të ndarë sipas gjinisë, moshës dhe diagnozës

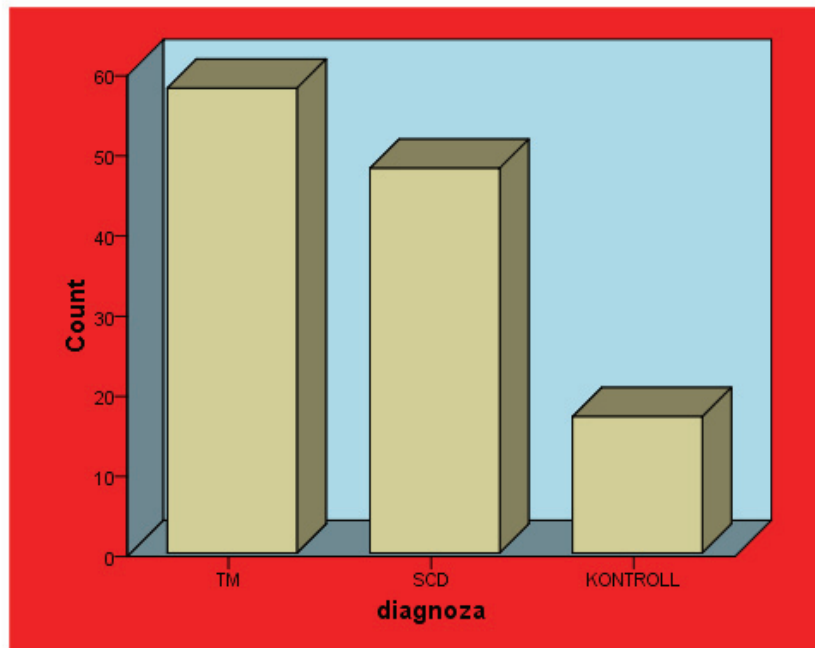
<i>Variablet</i>	<i>TM (n=58)</i>	<i>SCD (n=48)</i>	<i>KONTROLL (n=67)</i>
<i>Mosha</i>	<i>25±13</i>	<i>32±14</i>	<i>32.3±14</i>
<i>Gjinia</i>			
<i>Femër</i>	<i>36</i>	<i>24</i>	<i>38</i>
<i>Meshkuj</i>	<i>22</i>	<i>24</i>	<i>29</i>

Në tabelën 5.1 bëhet ndarja e pacientëve dhe kontrolleve sipas gjinisë, moshës dhe diagnozës. U studiuan 58 pacientë me TM, ku 36 janë femra dhe 22 janë meshkuj me moshë mesatare 25±13 vjeç. Në grupin me SCD, kemi një numër të njëjtë midis femrave dhe meshkujve, përkatësisht 24 me moshë mesatare 32±14 vjeç. Në grupin e kontrollit u përfshinë 67 raste ku 38 janë femra dhe 29 janë meshkuj me moshë mesatare 32.3 ±14 vjeç.

Tabela nr 5.2 Shpërndarja e BMD sipas diagnozës dhe gjinisë

		GJINIA					
		FEMER			MASHKULL		
		DIAGNOZA			DIAGNOZA		
		TM	SCD	KONTROLL	TM	SCD	KONTROLL
		NR	NR	NR	NR	NR	NR
BMD	NORMAL	20	6	26	13	11	12
	OSTEOPENI	6	8	5	4	5	3
	OSTEOPOROZE	10	10	15	5	8	6

Në tabelën 5.2 bëhet ndarja e rasteve duke u bazuar në BMD(densitetin mineral kockor), diagnozë dhe gjini. Nga rastet në studim, u vu re që 20 prej tyre me TM kanë BMD normale, 6 janë me osteopeni dhe 10 me osteoporozë, te gjitha këto raste të gjinisë femërore. Në gjininë mashkullore, rastet me osteoporozë janë më të pakët në numer krahasuar me gjininë femërore, përkatësisht 5; osteopeni janë 4 raste dhe me BMD normale 13 raste. Në grupin me SCD kemi 6 raste të gjinisë femërore me BMD normale kundrejt 11 meshkujve; 8 femra janë me osteopeni SCD kundrejt 5 meshkujve; 10 femra janë me osteoporozë kundrejt 8 meshkujve. Në grupin e kontrollit kemi 26 femra me BMD normale kundrejt 12 meshkujve, 5 femra me osteopeni kundrejt 3 meshkujve dhe 15 femra paraqiten me osteoporozë kundrejt 6 meshkujve.



Grafiku 5.2. Shpërndarja e subjekteve në studim sipas diagnozave

Grafiku 5.2 paraqet shpërndarjen e rasteve në studim sipas diagnozës, ku pjesën më të madhe e kanë rastet me TM.

5.2 Përshkrimi i variablave në studim

Në tabelat e mëposhtme jepet një paraqitje e informacionit të shpërndarjes së vlerave mesatare +/- deviacionin standart, me një interval besueshmërie 95%(±95%CI), vlerave minimale dhe maksimale. Ky informacion jepet për të gjithë parametrat laboratorike, sipas kategorisë (tab.5.3). Kjo paraqitje u realizua nëpërmjet analizës së variancës ANOVA.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Tabela nr.5.3. Shpërndarja e vlerave mesatare të parametrave në studim sipas kategorisë: Analiza e variancës (ANOVA)

variabli	N	Mesatarja	Shmangia standarte	Gabimi standart	95% CI i vlerës mesatare		Min	Max	
					Kufiri i poshtëm	Kufiri i sipërm			
HB	TM	58	7.362	1.0501	.1379	7.086	7.638	5.0	11.5
	SCD	48	7.273	1.1882	.1715	6.928	7.618	5.0	10.0
	Kontroll	67	12.576	2.2706	.5507	11.409	13.744	9.7	17.0
	Total	173	8.048	2.2478	.2027	7.647	8.449	5.0	17.0
Testo	TM	58	1.810	2.5469	.3344	1.140	2.479	.0	11.5
	SCD	48	3.937	3.0968	.4517	3.028	4.846	.0	10.2
	Kontroll	67	3.396	1.5482	.1860	3.024	3.767	1.0	6.1
	Total	173	3.009	2.5337	.1932	2.627	3.390	.0	11.5
E2	TM	58	63.856	71.2901	9.3608	45.111	82.601	6.7	300.0
	SCD	48	69.600	70.7808	10.2163	49.048	90.153	5.5	245.0
	Kontroll	67	34.706	13.6142	3.3019	27.706	41.706	11.0	57.0
	Total	173	62.069	66.7610	6.0196	50.152	73.985	5.5	300.0
LH	TM	58	10.797	13.9892	1.8369	7.118	14.475	.1	90.0
	SCD	48	15.243	16.5041	2.4074	10.397	20.088	.2	81.0
	Kontroll	67	9.306	4.6801	1.1351	6.900	11.712	2.0	17.0
	Total	173	12.302	14.2949	1.2942	9.740	14.864	.1	90.0
FSH	TM	58	29.335	46.9288	6.1621	16.996	41.674	.6	150.0
	SCD	48	10.973	12.6981	1.8328	7.286	14.660	2.0	85.0
	Kontroll	67	41.559	48.9636	11.8754	16.384	66.734	3.0	136.0
	Total	173	23.859	39.0989	3.5254	16.880	30.838	.6	150.0
TSH	TM	58	2.906	1.4965	.1965	2.512	3.299	.1	8.5
	SCD	48	3.033	2.1190	.3058	2.418	3.649	.6	14.6
	Kontroll	67	2.941	.6783	.1645	2.592	3.290	1.2	4.1
	Total	173	2.960	1.6852	.1520	2.659	3.261	.1	14.6
FT4	TM	58	17.404	3.5043	.4601	16.482	18.325	1.0	24.3
	SCD	48	17.746	3.0613	.4419	16.857	18.635	10.1	24.2
	Kontroll	67	15.888	1.2859	.3119	15.227	16.549	13.0	18.0
	Total	173	17.328	3.1504	.2841	16.766	17.890	1.0	24.3
B-CrossLaps	TM	58	.748	.5514	.0724	.603	.893	.2	3.7
	SCD	48	1.166	1.1646	.1681	.828	1.505	.1	4.3
	Kontroll	67	.271	.1759	.0427	.180	.361	.1	.6
	Total	173	.845	.8716	.0786	.690	1.001	.1	4.3
PTH	TM	58	44.794	28.7273	3.7721	37.241	52.347	7.9	168.0
	SCD	48	79.459	163.1813	23.5532	32.076	126.841	13.9	1051.0
	Kontroll	67	55.412	13.6979	3.3222	48.369	62.455	38.0	82.0
	Total	173	59.789	104.5483	9.4268	41.128	78.450	7.9	1051.0
Vit. D	TM	58	25.872	10.7321	1.4092	23.051	28.694	6.9	70.0
	SCD	48	24.779	9.6805	1.3973	21.968	27.590	8.7	45.4

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

	Kontroll	67	29.247	12.3399	2.9929	22.902	35.592	12.0	56.0
	Total	173	25.912	10.5802	.9540	24.024	27.801	6.9	70.0
Kalçium	TM	58	8.478	1.2688	.1666	8.144	8.812	4.8	12.0
	SCD	48	8.419	1.0634	.1535	8.110	8.727	5.9	11.6
	Kontroll	67	8.141	1.1560	.2804	7.547	8.736	6.5	10.1
	Total	173	8.408	1.1728	.1057	8.199	8.618	4.8	12.0
Fosfori	TM	58	2.847	.7064	.0928	2.661	3.033	2.0	4.9
	SCD	48	3.184	.8853	.1278	2.927	3.441	1.6	4.6
	Kontroll	67	3.282	.9895	.2400	2.774	3.791	1.7	4.5
	Total	173	3.039	.8352	.0753	2.890	3.188	1.6	4.9
Ferritina	TM	58	1318.52	1072.061	140.769	1036.63	1600.40	130	5970
	SCD	48	919.44	1071.764	154.696	608.23	1230.65	55	5000
	Kontroll	67	46.51	28.768	6.977	31.72	61.30	8	99
	Total	173	986.97	1075.595	96.983	794.99	1178.96	8	5970
OPG	TM	58	3.24007	1.482231	.194626	2.85034	3.62980	1.386	11.848
	SCD	48	3.26698	1.299156	.187517	2.88974	3.64421	1.350	6.916
	Kontroll	67	10.20235	7.506152	1.820509	6.34305	14.06166	3.350	23.631
	Total	173	4.21284	3.855721	.347659	3.52461	4.90106	1.350	23.631
RANKL	TM	58	.26229	.171355	.022500	.21724	.30735	.016	.750
	SCD	48	.27506	.227866	.032890	.20890	.34123	.021	.870
	Kontroll	67	.11547	.089105	.021611	.06966	.16128	.028	.396
	Total	173	.24698	.193893	.017483	.21237	.28159	.016	.870
OC	TM	58	33.9455	19.88990	2.60909	28.7000	39.1536	6.89	72.6
	SCD	48	48.4148	58.23450	8.40000	31.4456	65.3034	6.89	300.00
	Kontroll	67	30.4841	15.48480	1.88956	26.6897	34.2987	12.65	69.70
	Total	173	35.5956	34.71345	2.60987	31.3098	41.8098	6.89	300.00
GJATËSI	TM	58	158.34	11.7	1.5	155.27	161.42	125	180
	SCD	48	164.04	9.3	1.3	166.75	166.75	140	179
	Kontroll	67	166.24	8.5	2.08	170.65	170.65	154	182
	Total	173	161.66	10.8	0.977	163.59	163.59	125	182
GH	TM	58	1.5334	1.35074	0.17736	1.1783	1.8886	0.01	4.28
	SCD	48	2.1952	1.62279	0.23423	1.7240	2.6664	0.04	9.00
	Kontroll	67	3.9925	0.66340	0.08105	3.8307	4.1544	2.4	5.00
	Total	173	2.6694	1.63492	0.12430	2.4241	2.9148	0.01	9.00

Duke analizuar të dhënat e tabelës 5.3 vërejmë se shpërndarja e vlerave mesatare të hemoglobinës (Hb) sipas grupeve në studim është përkatësisht në grupin TM 7.3 ± 1.05 gr/dl krahasuar me 7.2 ± 1.1 gr/dl në SCD dhe 12.5 ± 2.2 gr/dl në grupin e kontrollit. Pra, kemi një diferencë të vogël midis Hb në TM dhe SCD, por një diferencë të shprehur krahasuar me grupin e kontrollit.

Në grupin e hormoneve seksuale kemi një diferencë të shprehur midis vlerave në grupin TM dhe SCD krahasuar me grupin e kontrollit; E2 ka një vlerë 63.8 ± 71.2 pg/ml në TM dhe 69.6 ± 70.7 pg/ml në SCD krahasuar me grupin e kontrollit 34.7 ± 13.6 pg/ml; LH ka vlera 10.7 ± 13.9 m iu/ml në TM, 15.2 ± 16.5 m iu/ml në SCD krahasuar me 9.3 ± 4.6 m iu/ml në grupin e kontrollit.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

β CrossLaps në TM ka vlera 0.7 ± 0.55 ng/ml, në SCD 1.1 ± 1.1 ng/ml dhe në grupin e kontrollit 0.2 ± 0.17 ng/ml, pra vihet re që β CrossLaps ka vlera më të larta në SCD krahasuar me TM dhe grupin e kontrollit.

Vitamina D ka një diferencë të shpërndarjes së vlerave mesatare midis grupit TM dhe SCD krahasuar me grupin e kontrollit, përkatësisht: 25.8 ± 10.7 ng/ml në TM, 24.7 ± 9.6 ng/ml në SCD kundrejt vlerave 29.2 ± 12.3 ng/ml në grupin e kontrollit.

Në lidhje me ferritinën kemi një diferencë të shprehur të mesatares midis grupit TM dhe SCD nga njëra anë dhe grupit të kontrollit nga ana tjetër. Ferritina ka përkatësisht këto vlera 1318 ± 1072 ng/ml TM, 919 ± 1071 ng/ml SCD dhe 46.5 ± 28.7 ng/ml grupi i kontrollit.

Shpërndarja e vlerave mesatare të OPG dhe RANKL sipas grupeve në studim ka një diferencë të shprehur dhe është përkatësisht në TM 3.2 ± 1.4 pmol/L, 3.2 ± 1.29 pmol/L në SCD dhe 10.2 ± 7.5 pmol/L në grupin e kontrollit, ndërsa për RANKL kemi; 0.26 ± 0.17 pmol/L në TM, 0.27 ± 0.22 pmol/L në SCD dhe 0.11 ± 0.08 pmol/L në grupin e kontrollit.

Të dhënat e tabelës 5.3 janë të ilustruara me pamje grafike me anë të box-ploteve, ku paraqitet grafikisht shpërndarja e vlerave të OPG dhe RANKL, sipas grupeve në studim.(grafiku 5.3 dhe 5.4).

Tabela5.4. Raporti RANKL/OPG sipas grupeve në studim

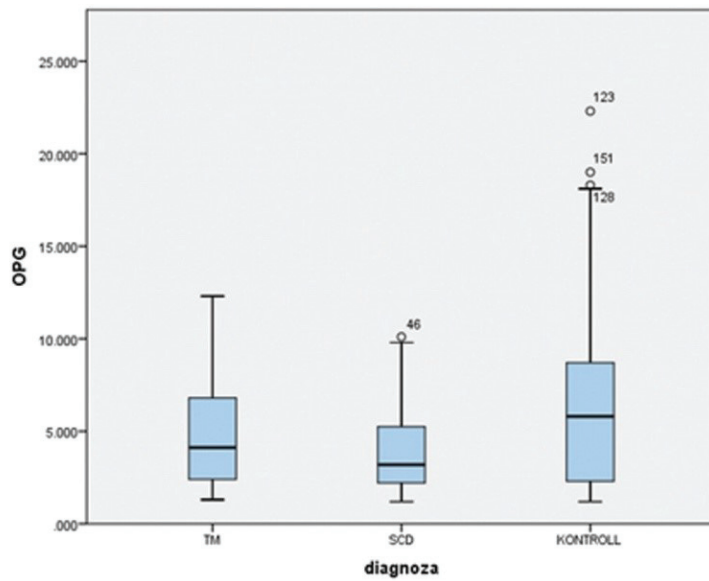
(mesatarja, shmangia standarte, sinjifikanca)

	N	MESATARJA	SHMANGIA STANDARTE	95% CL		P
TM	58	.0968	.07166	.078-0.11	<0.001	
SCD	48	.0974	.08566	.072-0.12	<0.001	
KONTROLL	67	.0211	.02529	.008-0.03	<0.001	
TOTAL	173	.0866	.07748	.072-0.10	<0.001	

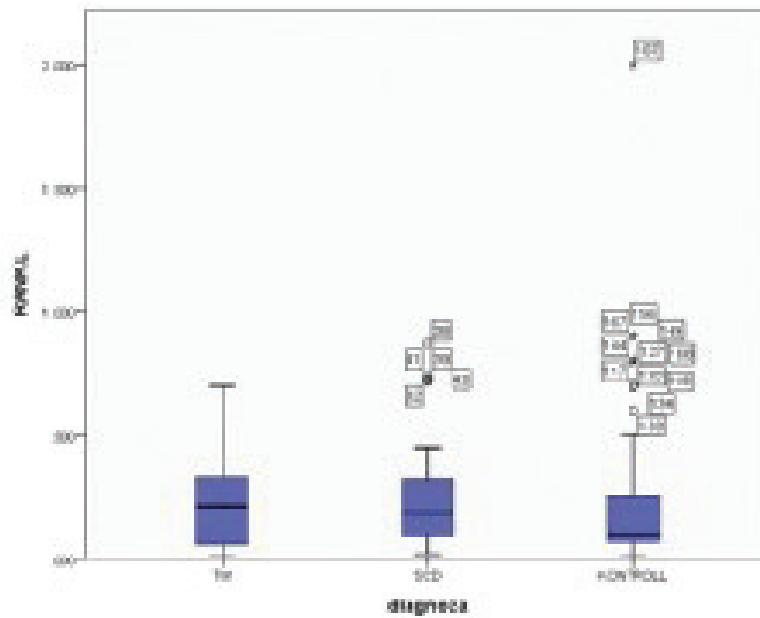
Në tabelën 5.4 bëhet raporti RANKL/OPG sipas grupeve në studim ku në TM raporti është 0.0968 ± 0.071 kundrejt vlerave 0.097 ± 0.08 në SCD dhe 0.02 ± 0.02 në grupin e kontrollit. Lidhja e raportit RANKL/OPG me grupet në studim është një lidhje sinjifikante ($p < 0.001$).

Për krahasimet e variablave kategorike sipas grupeve në studim u përdor testi Tukey HSD dhe testi ANOVA. Në tabelën e mëposhtme kemi krahasimet multiple të variablave kategorike, me saktë të diferencës së vlerave mesatare të tyre, ndërmjet grupeve në studim, si dhe brenda grupeve, në një interval besimi 95%CI si dhe sinjifikancë $p < 0.05$.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati



Grafiku 5.3: Shpërndarja e vlerave të OPG sipas grupeve në studim



Grafiku 5.4: Shpërndarja e vlerave të RANKL sipas grupeve në studim

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Për krahasimet e variablave kategorike sipas grupeve në studim u përdor testi Tukey HSD dhe testi ANOVA. Në tabelën e mëposhtme kemi krahasimet multiple të variablave kategorike, me saktë të diferencës së vlerave mesatare të tyre, ndërmjet grupeve në studim, si dhe brenda grupeve, në një interval besimi 95%CI si dhe sinjifikancë $p < 0.05$. Tabela.5.5 Testi Tukey HSD Krahasimet multiple të variablave sipas grupeve në studim

Variabel	(I) diagnoza	(J) diagnoza	Diferenca e mesatareve (I-J)	Gabimi standart	Sig.	95% Interval konfidence	
						Kufiri i poshtem	Kufiri i siperm
B-CrossLaps	TM	SCD	-.4184*	0.1609	0.028	-0.8	-0.037
		Kontroll	0.4774	0.2274	0.094	-0.062	1.017
	SCD	TM	.4184*	0.1609	0.028	0.037	0.8
		Kontroll	.8958*	0.2327	0.001	0.344	1.448
	Kontroll	TM	-0.4774	0.2274	0.094	-1.017	0.062
		SCD	-.8958*	0.2327	0.001	-1.448	-0.344
PTH	TM	SCD	-34.6646	20.3217	0.207	-82.891	13.562
		Kontroll	-10.6178	28.7233	0.927	-78.782	57.547
	SCD	TM	34.6646	20.3217	0.207	-13.562	82.891
		Kontroll	24.0468	29.3937	0.693	-45.709	93.802
	Kontroll	TM	10.6178	28.7233	0.927	-57.547	78.782
		SCD	-24.0468	29.3937	0.693	-93.802	45.709
Vitamina D	TM	SCD	1.0935	2.0624	0.857	-3.801	5.988
		Kontroll	-3.3746	2.9151	0.481	-10.293	3.543
	SCD	TM	-1.0935	2.0624	0.857	-5.988	3.801
		Kontroll	-4.4681	2.9831	0.296	-11.547	2.611
	Kontroll	TM	3.3746	2.9151	0.481	-3.543	10.293
		SCD	4.4681	2.9831	0.296	-2.611	11.547
Kalcium	TM	SCD	0.0594	0.2297	0.964	-0.486	0.605
		Kontroll	0.3368	0.3247	0.555	-0.434	1.107
	SCD	TM	-0.0594	0.2297	0.964	-0.605	0.486
		Kontroll	0.2774	0.3322	0.682	-0.511	1.066
	Kontroll	TM	-0.3368	0.3247	0.555	-1.107	0.434
		SCD	-0.2774	0.3322	0.682	-1.066	0.511
Fosfori	TM	SCD	-0.3373	0.1603	0.093	-0.718	0.043
		Kontroll	-0.4353	0.2265	0.137	-0.973	0.102
	SCD	TM	0.3373	0.1603	0.093	-0.043	0.718
		Kontroll	-0.098	0.2318	0.906	-0.648	0.452
	Kontroll	TM	0.4353	0.2265	0.137	-0.102	0.973

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

		SCD	0.098	0.2318	0.906	-0.452	0.648
Ferritina	TM	SCD	399.08	194.73	0.105	-63.04	861.2
		Kontroll	1272.005*	275.237	0	618.83	1925.18
	SCD	TM	-399.08	194.73	0.105	-861.2	63.04
		Kontroll	872.926*	281.661	0.007	204.5	1541.35
	Kontroll	TM	-1272.005*	275.237	0	-1925.1	-618.83
		SCD	-872.926*	281.661	0.007	-1541.3	-204.5
OPG	TM	SCD	-0.02691	0.592396	0.999	-1.4327	1.37893
		Kontroll	-6.962284*	0.837309	0	-8.9493	-4.9752
	SCD	TM	0.02691	0.592396	0.999	-1.3789	1.43275
		Kontroll	-6.935374*	0.856851	0	-8.9688	-4.9019
	Kontroll	TM	6.962284*	0.837309	0	4.97523	8.94934
		SCD	6.935374*	0.856851	0	4.90194	8.96881
RANKL	TM	SCD	-0.012769	0.036683	0.935	-0.0998	0.07428
		Kontroll	.146823*	0.051849	0.015	0.02378	0.26987
	SCD	TM	0.012769	0.036683	0.935	-0.0742	0.09982
		Kontroll	.159592*	0.053059	0.009	0.03368	0.28551
	Kontroll	TM	-.146823*	0.051849	0.015	-0.2698	-0.0237
		SCD	-.159592*	0.053059	0.009	-0.2855	-0.0336
BMD	TM	SCD	-0.256	0.122	0.095	-0.55	0.03
		Kontroll	-.496*	0.172	0.013	-0.91	-0.09
	SCD	TM	0.256	0.122	.095	-0.03	0.55
		Kontroll	-0.24	0.176	0.365	-0.66	0.18
	Kontroll	TM	.496*	0.172	0.013	0.09	0.91
		SCD	0.24	0.176	0.365	-0.18	0.66

*. Diferenca e vlerave mesatare është sinjifikante në pragun $P < 0.05$

Nga të dhënat e tabelës 5.5 vihet re që kemi një ndryshim sinjifikant midis grupeve për β -CrossLaps, ferritinën, OPG dhe RANKL ($P < 0.05$). Variablat e tjera kanë ndryshime jo sinjifikante. Në lidhje me variablin β -CrossLaps vihet re një ndryshim 0.4184 ng/ml midis grupit SCD dhe TM, i cili rezulton sinjifikant, sepse $p < 0.05$. Diferenca midis grupit SCD dhe kontroll për këtë parametër është 0.8958 ng/ml, i cili përbën gjithashtu një ndryshim sinjifikant ($p = 0.01$).

-për ferritinën, vihet re një ndryshim i vlerave 1272 ng/ml midis grupit TM dhe kontroll, i cili rezulton sinjifikant, sepse $p < 0.005$. Diferenca midis SCD dhe kontrollit është 872 ng/ml, i cili rezulton sinjifikant, sepse $p < 0.007$.

-për OPG vihet re një ndryshim shumë sinjifikant midis grupit të kontrollit nga njëra anë dhe SCD dhe TM nga ana tjetër, me vlerë 6.962284 dhe $p = 0.000$

-për RANKL vihet re një ndryshim sinjifikant midis vlerave të grupit kontroll-TM me vlerë -0.146823 dhe $p = 0.015$ dhe grupit kontroll-SCD me vlerë respektive -0.159592 dhe $p = 0.009$

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Në tabelën e mëposhtme, paraqiten lidhjet bivariate ndërmjet parametrave, sipas grupeve në studim. U përdor testi Spearman*s, nëpërmjet të cilit përcaktohet koeficienti i korrelacionit (r), midis dy parametrave si dhe sinjifikanca statistikore e këtij korrelacioni (p). Korrelacioni është sinjifikant për p<0.01

Tabela nr. 5.6 Lidhjet bivariate ndërmjet parametrave në studim sipas testitSperman*rho

		B-CrossLaps	PTH	FE	OPG	RANKL	OC	V.D	Ca	TSH
BCrossLaps	Koeficient korrelacioni	1.000	-0.07	.472**	-.35**	.260**	0.00	-.43**	-.23**	0.07
	Sinjifikanca		0.33	0	0	0.001	0.979	0	0.002	0.33
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
PTH	Koeficient korrelacioni	-.059	1.00	.017	-.105	-.118	-.19*	-.038	.007	-.038
	Sinjifikanca	.550		.863	.286	.228	.041	.698	.942	.696
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
FE	Koeficient korrelacioni	.025	.017	1.000	.038	-.061	-.062	-.123	.096	.089
	Sinjifikanca	.801	.863		.699	.537	.526	.208	.326	.366
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
OPG	Koeficient korrelacioni	-.074	-.105	.038	1.000	-.377**	.068	.123	.37**	-.113
	Sinjifikanca	.450	.286	.699		.000	.487	.210	.000	.250
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
RANKL	Koeficient korrelacioni	.052	-.118	-.061	-.37**	1.000	.048	.001	-.185	.132
	Sinjifikanca	.595	.228	.537	.000		.626	.993	.057	.179
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
OC	Koeficient korrelacioni	-.023	-.199*	-.062	.068	.048	1.000	.065	.071	-.006
	Sinjifikanca	.815	.041	.526	.487	.626		.507	.467	.954
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
V.D	Koeficient korrelacioni	-.163	-.038	-.123	.123	.001	.065	1.000	.184	.074
	Sinjifikanca	.094	.698	.208	.210	.993	.507		.059	.451
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
Ca	Koeficient korrelacioni	-.072	.007	.096	.374**	-.185	.071	.184	1.000	.013
	Sinjifikanca	.464	.942	.326	.000	.057	.467	.059		.892
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

TSH	Koeficient korrelacioni	.156	-.038	.089	-.113	.132	-.006	.074	.013	1.00
	Sinjifikanca	.110	.696	.366	.250	.179	.954	.451	.892	
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106

*. korrelacioni është domethënës në nivelin 0.05 (2-tailed).

**korrelacioni është domethënës në nivelin 0.01 (2-tailed).

Në tabelën 5.6 vihen re korrelacione midis PTH-OC ($r=0.199$; $p<0.04$); OPG-RANKL ($r=0.377$; $p<0$); OPG-Ca ($r=0.374$; $p<0$); β CrossLaps-ferritina ($r=0.472$; $p<0$); β CrossLaps-OPG ($r=0.349$, $p<0$); β CrossLaps-Rankl ($r=0.26$; $p<0.001$) dhe β CrossLaps-Vitamin D ($r=0.43$; $p<0$)

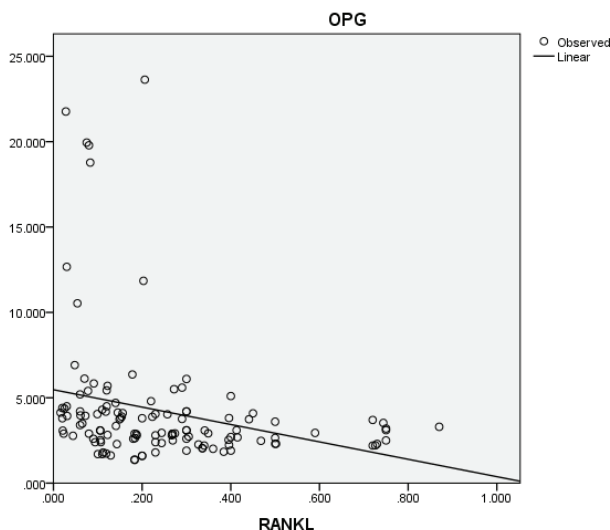
5.3 Identifikimi i korrelacionit OPG/RANKL dhe BMD (densiteti kockor)

Tabela 5.7 Korrelacioni OPG/RANKL me BMD

Variabli		OPG	RANKL	BMD
OPG	Koeficienti i lidhjes	1	-.491**	-.768**
	Sinjifikanca		.000	.000
RANKL	Koeficienti i lidhjes	-.491**	1	.468**
	Sinjifikanca	.000		.000
BMD	Koeficienti I lidhjes	-.768**	0.468**	1
	Sinjifikanca	.000	.000	

** . korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01

Në tabelën e mësipërme vihet re që kemi korrelacione të forta midis OPG -BMD ($r=-0.768$; $p=0.000$); RANKL-BMD ($r=0.468$; $p=0.000$) dhe OPG-RANKL ($r=-0.491$; $p=0.000$)



Grafiku 5.5. Paraqitja vizuale e korrelacionit midis OPG dhe RANKL

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

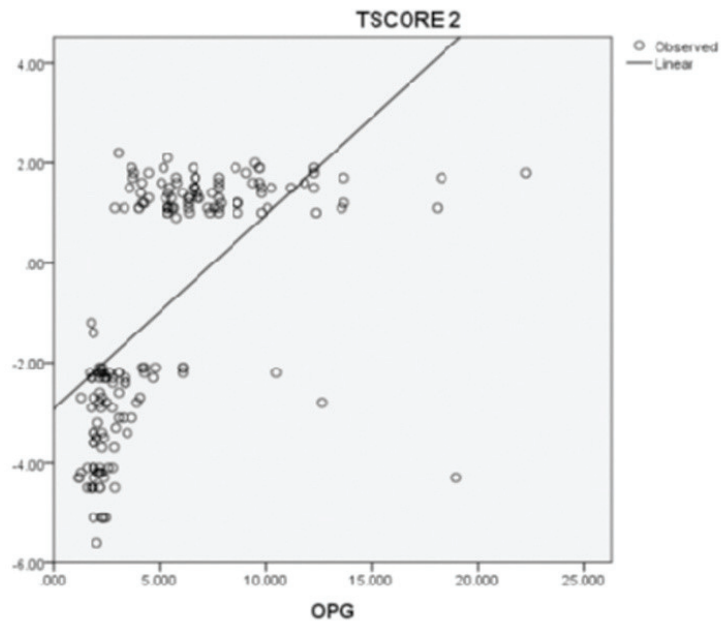
Lidhja sinjifikante midis OPG dhe RANKL vihet re dhe në kurbën e regresionit linear.

Tabela. 5.8 Korrelacioni OPG/RANKL me T-score

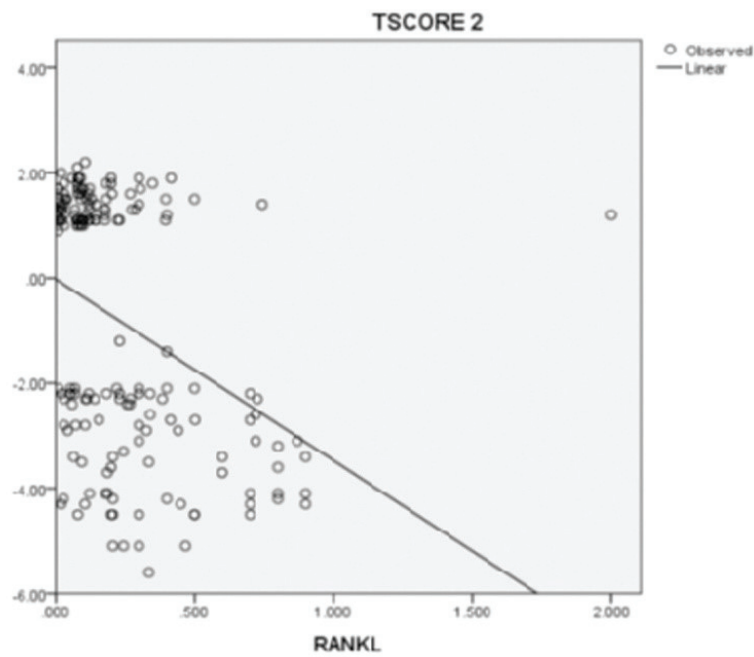
		T-score	OPG	RANKL	Vitamina D	mosha
T-score	Koeficient korrelacioni	1	.488**	-.241*	.331**	-.562**
	Sinjifikanca		.000	.013	.001	.000
	N	106	106	106	106	106
OPG	Koeficient korrelacioni	.488**	1	-.233*	.142	-.278**
	Sinjifikanca	.000		.016	.146	.004
	N	106	106	106	106	106
RANKL	Koeficient korrelacioni	-.241*	-.233*	1	-.031	.168
	Sinjifikanca	.013	.016		.753	.086
	N	106	106	106	106	106
Vitamina D	Koeficient korrelacioni	.331**	.142	-.031	1	-.353**
	Sinjifikanca	.001	.146	.753		.000
	N	106	106	106	106	106
mosha	Koeficient korrelacioni	-.562**	-.278**	.168	-.353**	1
	Sinjifikanca	.000	.004	.086	.000	
	N	106	106	106	106	106

Nga tabela e mësipërme vihet re një lidhje negative midis OPG-RANKL ($r=-0.233$; $p=0.016$). Lidhje e fortë dhe pozitive midis OPG-Tscore($r=0.488$; $p=0.000$); lidhje negative midis RANKL-Tscore ($r=-0.241$; $p=0.013$).

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati



Grafiku 5.6. Paraqitja vizuale korrelacionit OPG-Tscore



Grafiku 5.7 Paraqitja vizuale e korrelacionit RANKL-Tscore

5.4 Vlerësimi i lidhjes midis markuesve të metabolizmit kockor dhe statusit të zhvillimit seksual

Tab.5.9 Korrelacioni Rank/OPG me hormone seksuale femerore

		LH	FSH	E2	OPG	RANKL
LH	Koeficient korrelacioni	1.000	.524**	.286*	-.083	-.051
	Sinjifikanca		.000	.027	.526	.701
	N	60	60	60	60	60
FSH	Koeficient korrelacioni	.524**	1.000	-.094	.166	-.034
	Sinjifikanca	.000		.474	.205	.798
	N	60	60	60	60	60
E2	Koeficient korrelacioni	.286*	-.094	1.000	-.025	-.147
	Sinjifikanca	.027	.474		.847	.261
	N	60	60	60	60	60
OPG	Koeficient korrelacioni	-.083	.166	-.025	1.000	-.477**
	Sinjifikanca	.526	.205	.847		.000
	N	60	60	60	60	60
RANKL	Koeficient korrelacioni	-.051	-.034	-.147	-.477**	1.000
	Sinjifikanca	.701	.798	.261	.000	
	N	60	60	60	60	60

** . korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01

* . Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.05

Tab.5.10 Korrelacioni OPG/Rank me hormone seksuale mashkullore

		LH	FSH	OPG	RANKL	TESTO
LH	Koeficient korrelacioni	1.000	.615**	.083	-.087	.341*
	Sinjifikanca		.000	.589	.570	.022
	N	46	46	46	46	46
FSH	Koeficient korrelacioni	.615**	1.000	.265	-.172	.117
	Sinjifikanca	.000		.075	.254	.438
	N	46	46	46	46	46
OPG	Koeficient korrelacioni	.083	.265	1.000	-.313*	-.025
	Sinjifikanca	.589	.075		.034	.869
	N	46	46	46	46	46

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

RANKL	Koeficient korrelacioni	-.087	-.172	-.313*	1.000	.121
	Sinjifikanca	.570	.254	.034		.424
	N	46	46	46	46	46
TESTO	Koeficient korrelacioni	.341*	.117	-.025	.121	1.000
	Sinjifikanca	.022	.438	.869	.424	
	N	46	46	46	46	46

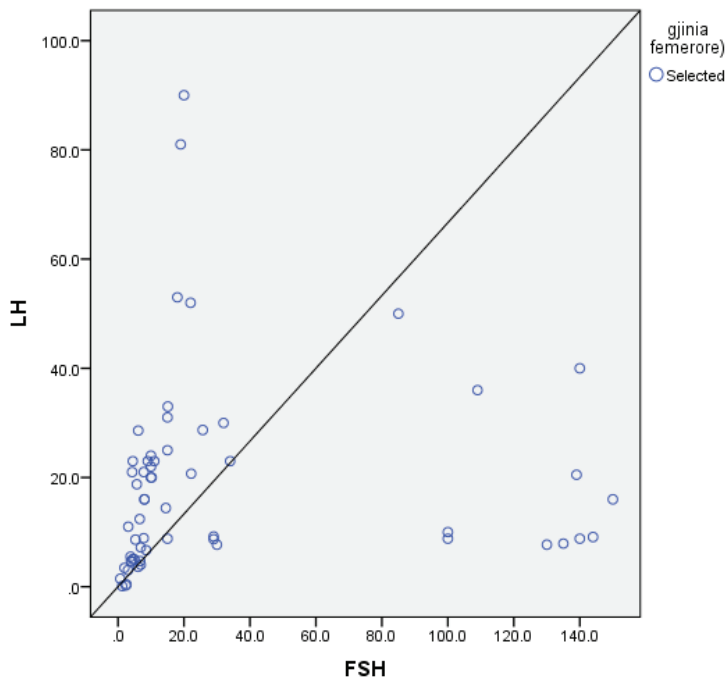
** . korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01

*. Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.05

Nga tabelat e mësipërme vihet re që nuk ka korrelacione midis OPG/RANKL dhe hormoneve seksuale femërore/mashkullore.

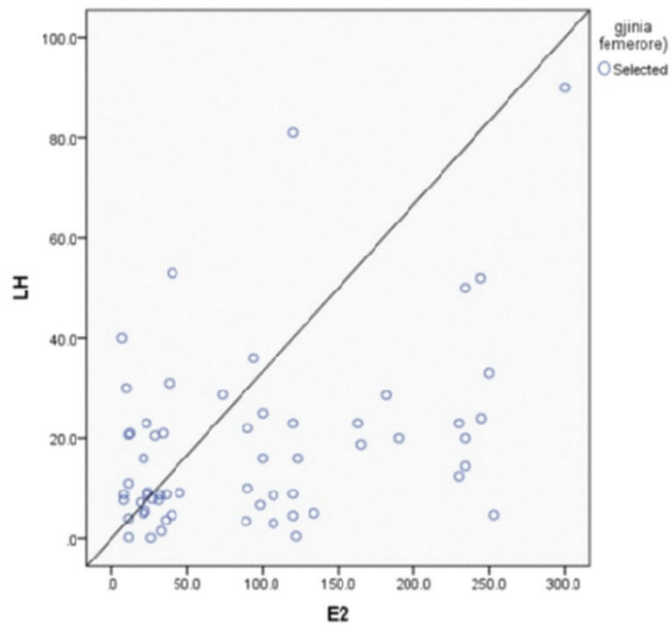
Nga tabela 5.9 vihet re një lidhje shumë sinjifikante midis FSH-LH ($r=0.524$; $p=0.000$) dhe LH-E2 ($r=-0.286$; $p=0.027$).

Nga tabela 5.10 vihet re një lidhje shumë sinjifikante midis LH-FSH ($r=0.615$; $p=0.000$) dhe LH-Testosteron ($r=0.341$; $p=0.022$)

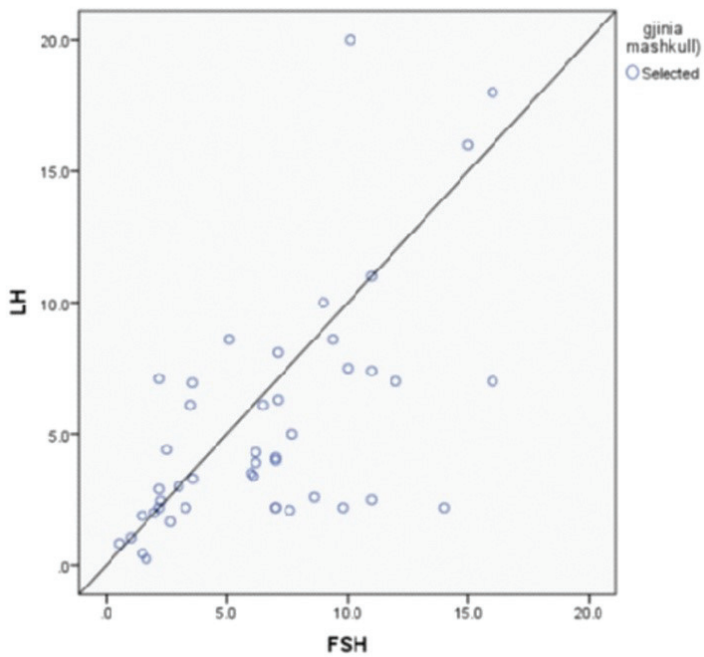


Grafiku.5.8 Paraqitja vizuale e korrelacionit FSH-LH në gjininë femërore

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

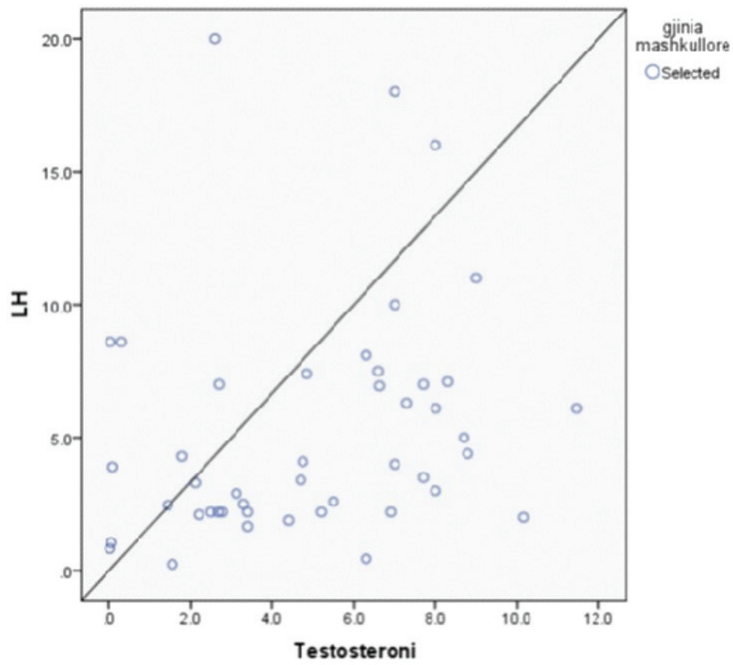


Grafiku.5.9 Paraqitja vizuale e korrelacionit LH-E2 në gjininë femërore



Grafiku. 5.10 Paraqitja vizuale e korrelacionit LH-FSH në gjininë mashkullore

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati



Grafiku.5.11 Paraqitja vizuale e korrelaconit LH-Testosteron në gjininë mashkullore

5.5 Paraqitja e korrelacionit β -CrossLaps – hormone seksuale në gjininë femërore dhe mashkullore

Tabela 5.11 Korrelacioni β -CrossLaps – hormone seksuale në gjininë mashkullore

VARIABLI		LH	FSH	Testosteron	β -CrossLap
LH	Koeficient korrelacioni	1.000	.615**	.341*	-.111
	Sinjifikanca		.000	.022	.468
	N	46	46	46	46
FSH	Koeficient korrelacioni	.615**	1.000	.117	.138
	Sinjifikanca	.000		.438	.362
	N	46	46	46	46
Testosteroni	Koeficient korrelacioni	.341*	.117	1.000	-.105
	Sinjifikanca	.022	.438		.489
	N	46	46	46	46
B-CrossLaps	Koeficient korrelacioni	-.111	.138	-.105	1.000
	Sinjifikanca	.468	.362	.489	
	N	46	46	46	46

*. *. korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01

*. Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.05

Tabela 5.12 Korrelacioni β -CrossLaps – hormone seksuale në gjininë femërore

VARIABLI		LH	FSH	B-CrossLaps	E2
LH	Koeficienti korrelacioni	1.000	.524**	.035	.286*
	Sinjifikanca		.000	.793	.027
	N	60	60	60	60
FSH	Koeficienti korrelacioni	.524**	1.000	-.168	-.094
	Sinjifikanca	.000		.200	.474
	N	60	60	60	60
B-CrossLaps	Koeficienti korrelacioni	.035	-.168	1.000	-.169
	Sinjifikanca	.793	.200		.197
	N	60	60	60	60
E2	Koeficienti korrelacioni	.286*	-.094	-.169	1.000
	Sinjifikanca	.027	.474	.197	
	N	60	60	60	60

*. *. korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01

*. Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.05

Nga tabelat e mësipërme, vihet re që nuk ka lidhje midis B-CrossLaps dhe hormoneve seksuale.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

VARIABLI		LH	FSH	B-CrossLaps	E2
LH	Koeficient korrelacioni	1.000	.524**	.035	.286*
	sinjifikanca		.000	.793	.027
	N	60	60	60	60
FSH	Koeficient korrelacioni	.524**	1.000	-.168	-.094
	sinjifikanca	.000		.200	.474
	N	60	60	60	60
B-CrossLaps	Koeficient korrelacioni	.035	-.168	1.000	-.169
	sinjifikanca	.793	.200		.197
	N	60	60	60	60
E2	Koeficient korrelacioni	.286*	-.094	-.169	1.000
	sinjifikanca	.027	.474	.197	
	N	60	60	60	60

Në tabelën e mësipërme vihet një korrelacion midis β -CrossLaps dhe LH ($r=0.182$; $p=0.045$), ndërsa midis β -CrossLaps dhe FSH nuk ka lidhje sinjifikante ($p=0.085$); β -CrossLaps dhe E2 ($p=0.764$) nuk ka lidhje sinjifikante; β -CrossLaps-Testosteron ($p=0.555$) nuk ka lidhje sinjifikante.

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Tabela 5.13 Korrelacioni BMD – hormone seksuale mashkullore

Variabli		LH	FSH	Testosteron	BMD
LH	Koeficient korrelacioni	1.000	.615**	.341*	.215
	Sinjifikanca		.000	.022	.157
	N	46	46	46	46
FSH	Koeficient korrelacioni	.615**	1.000	.117	-.100
	Sinjifikanca	.000		.438	.508
	N	46	46	46	46
Testosteroni	Koeficient korrelacioni	.341*	.117	1.000	.260
	Sinjifikanca	.022	.438		.081
	N	46	46	46	46
BMD	Koeficient korrelacioni	.215	-.100	.260	1.000
	Sinjifikanca	.157	.508	.081	
	N	46	46	46	46

*. *. korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01

*. Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.05

Nga tabelat e mësipërme vihet re vetëm një lidhje e lehtë midis LH-BMD në gjininë femërore ($r=0.288$; $p=0.026$).

Tabela 5.14. Lidhja midis hormoneve seksuale dhe markuesve kockore në gjininë femërore

	<i>Diagnoza</i>			
	<i>TM</i>		<i>KONTROLL</i>	
	<i>gjinia</i>		<i>Gjinia</i>	
	<i>femer</i>		<i>Femer</i>	
	<i>Mesatare</i>	<i>Deviacion standart</i>	<i>Mesatare</i>	<i>Deviacion standart</i>
<i>LH</i>	14.6	5.6	9.5	4.5
<i>FSH</i>	44.0	36.1	40.3	37.8
<i>E2</i>	82.7	25.6	36.3	13.1
<i>T-score</i>	-1.58	0.2	-.82	0.5
<i>OC</i>	34.85	20.5	30.02	18.5
<i>PTH</i>	41.6	31.4	45.5	34.2
<i>B-CrossLaps</i>	.6	.3	.3	.2

Nga tabela e mësipërme vihet re, që hormonet seksuale janë më të rritura në grupin e kontrollit krahasuar me grupin e femrave me TM. β -CrossLaps paraqitet më i lartë në TM krahasuar me kontrollin. Vlerat e OC dhe PTH janë pothuajse të ngjashme.

5.6 Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe PTH –vitamina D

Tabela.5.15 Korrelacioni RANKL/OPG-Vitaminë D-PTH

			BMD 2	PTH	Vitamina D	OPG	RANKL
Spearman's rho	BMD 2	Koeficienti lidhjes	1.000	.252**	-.538**	-.768**	.468**
		Sinjifikanca		.001	.000	.000	.000
		N	173	173	173	173	173
	PTH	Koeficienti lidhjes	.252**	1.000	-.170*	-.199**	.032
		Sinjifikanca	.001		.025	.009	.672
		N	173	173	173	173	173
	Vitamina D	Koeficienti lidhjes	-.538**	-.170*	1.000	.431**	-.241**
		Sinjifikanca	.000	.025		.000	.001
		N	173	173	173	173	173
	OPG	Koeficienti lidhjes	-.768**	-.199**	.431**	1.000	-.491**
		Sinjifikanca	.000	.009	.000		.000
		N	173	173	173	173	173
	RANKL	Koeficienti lidhjes	.468**	.032	-.241**	-.491**	1.000
		Sinjifikanca	.000	.672	.001	.000	
		N	173	173	173	173	173
**. Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01 (2-tailed).							
*. Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.05 (2-tailed).							

Nga tabela e mësipërme shohim që ekziston një lidhje e fortë midis BMD-OPG ($p=-0.768$; $r=0.000$) dhe BMD-RANKL ($p=0.468$; $r=0.000$).

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

5.7 Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe GH

Tabela.5.16 Korrelacioni i GH me markues të metabolizmit kockor sipas Spearman's rho

Variabël		GH	Fe	gjatesia	TSH	BCrossLap	OC	OPG	Rankl	Tscore
GH	koef.	1.00	.034	.247*	-.04	-.001	-.08	-.020	.007	.009
	sinj		.733	.011	.673	.988	.378	.838	.942	.925
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
Fe	koef.k	.034	1.000	.074	.089	.025	-.06	.038	-.061	.041
	sinj	.733		.452	.366	.801	.526	.699	.537	.674
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
Gjatesia	koef.k	.24*	.074	1.000	.007	-.091	-.11	-.070	-.039	-.057
	sinj	.011	.452		.940	.354	.262	.474	.690	.562
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
TSH	koef.k	-.04	.089	.007	1.00	.156	-.00	-.113	.132	-.185
	sinj	.673	.366	.940		.110	.954	.250	.179	.057
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
B-Cross	koef.k	-.00	.025	-.091	.156	1.000	-.02	-.074	.052	-.090
	sinj	.988	.801	.354	.110		.815	.450	.595	.357
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
OC	koef.k	-.08	-.062	-.110	-.00	-.023	1.00	.068	.048	-.023
	sinj	.378	.526	.262	.954	.815		.487	.626	.817
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
OPG	koef.k	-.02	.038	-.070	-.11	-.074	.068	1.000	-.377**	.745**
	sinj	.838	.699	.474	.250	.450	.487		.000	.000
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
RANKL	koef.k	.007	-.061	-.039	.132	.052	.048	-.37**	1.000	-.319**
	sinj	.942	.537	.690	.179	.595	.626	.000		.001
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106
T-score	koef.k	.009	.041	-.057	-.18	-.090	-.02	.745**	-.319**	1.000
	sinj.	.925	.674	.562	.057	.357	.817	.000	.001	
	N	106	106	106	106	106	106	106	106	106

** . Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01 (2-tailed)

Nga tabela e mësipërme, sipas korrelacionit Spearman*rho, vihet në dukje që GH ka lidhje të forta vetëm me gjatësinë, por nuk ka lidhje me OC, TSH, RANKL, OPG

5.8 Identifikimi i korrelacionit midis markuesve të metabolizmit kockor dhe çrregullimeve endokrine në hemoglobinopati.

Në studimin tonë, komplikacionet më të shpeshta janë: mungesa e vitaminës D, rritja e vonuar, diabeti, hypotiroidizmi, hypoparatiroidizmi, hiperparatiroidizmi sekondar, puberteti i vonuar dhe hypogonadizmi

Tabela 5.17 Komplikacionet endokrine në pacientët në studim

<i>komplikacione</i>	<i>pacient</i>	<i>%</i>
<i>Vonesë në rritje</i>	<i>8/106</i>	<i>10</i>
<i>Hypothyroidisëm</i>	<i>13/106</i>	<i>12.2</i>
<i>Diabeti</i>	<i>5/106</i>	<i>4.7</i>
<i>Mungesa e vitaminës D</i>	<i>72/106</i>	<i>67.9</i>
<i>Hypoparathyroidizëm</i>	<i>5/106</i>	<i>4.7</i>
<i>Hiperparathyroidizëm sekondar</i>	<i>1/106</i>	<i>0.9</i>
<i>Pubertet i vonuar</i>	<i>30/106</i>	<i>28.3</i>
<i>Hypogonadizëm</i>	<i>28/106</i>	<i>26.4</i>

Në studimin tonë, hypothyroidizmi është venë re në 13 raste (12.2%), hypoparathyroidizmi në 5 raste (4.7%). Deficiti i Vitaminës D haset në 72 paciente (67.9%).

Vonesa në rritje është një komplikacion i shprehur në pacientët me talasemi. Statura e vogël është venë re në 8 pacientë (7.5%), me një standart deviacion të gjatësisë më të vogël se -2SD dhe në 12 pacientë (11.3%) me një standard deviacion të gjatësisë më të vogël se -3SD.

Mungesa e pubertetit është një komplikacion endokrin, i shprehur në grupin e pacientëve me talasemi dhe SCD. Të gjitha femrat në studimin tonë, kanë një moshë më të madhe se 13 vjeç, dhe vetëm 6 prej tyre (10%) me mediane të moshës 18.8 vjeç dhe me vlerë mesatare të ferritinës 989 ± 904 ng/ml kanë pubertet të vonuar. Në 24 meshkuj me moshë më të madhe se 18 vjeç, vetëm 9 (37%) prej tyre nuk kanë shenja të pubertetit, me mesatare të moshës 18.2 ± 4.4 vjeç dhe mesatare të ferritinës 1459 ± 914 ng/ml. Në studimin tonë 28 pacientë (246.%) kanë hypogonadizëm, në të cilët testosteroni në djem dhe estradioli në vajza është më i ulët se norma dhe mesatarja e ferritinës për këtë grup është 1733 ± 1577 ng/ml.

Tabela 5.18 Korrelacionet e OPG/RANKL me çrregullimet endokrine

			Vitamina D	TSH	PTH	TESTO	GJATESIA	GH
Spearman's rho	OPG	Koeficienti lidhjes	.249*	0.536	0.667	0.097	-0.005	0.007
		Sinjifikanca	.012	0.058	0.219	0.436	0.667	0.238
		N	72	13	5	15	8	8
	RANKL	Koeficienti lidhjes	-.234*	0.829*	0.2	-0.17	-0.005	0.554
		Sinjifikanca	.018	.00000	0.747	0.168	0.667	0.067
		N	72	13	5	15	8	18

*Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.05

** Korrelacioni është sinjifikant në nivelin 0.01

Nga tabela e mësipërme vihet re, që kemi korrelacione midis Vitaminës D dhe OPG ($r=0.249;p=0.012$) dhe RANKL-TSH ($r=0.829;p=0.000$). Midis markuesve të metabolizmit kockor OPG/RANKL dhe çrregullimeve të tjera endokrine nuk hasen korrelacione.

5.9 Përcaktimi i sensitivitetit dhe specificitetit të parametrave në studim, nëpërmjet kurbave ROC (Receiver Operating Characteristic).

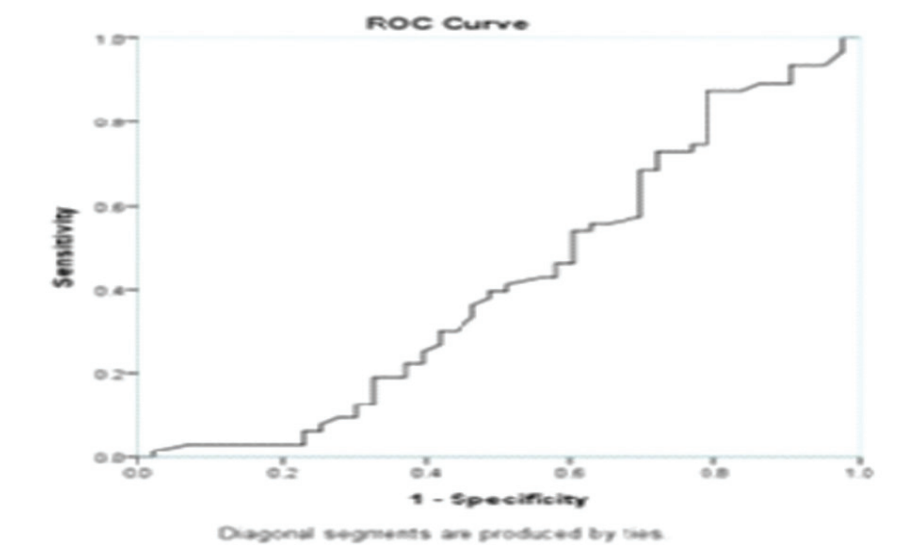
Duke përdorur kurbat ROC (Receiver Operating Characteristic) u përcaktua sensitiviteti dhe specificiteti i parametrave në studim, në osteoporozë dhe osteopeni.

Tabela 5.19 Kombinimi sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të vlerave të β -CrossLaps, në pacientët me hemoglobinopati dhe BMD normale.

Cut-off të mundshëm	Sensitiviteti	Specificiteti
.124	100%	98%
.168	98%	98%
.294	87%	81%
.570	54%	60%
1.350	79%	26%

Nga analiza e tabelës 5.19 shohim që për vlerat e β -CrossLaps 0.124 ng/ml kemi kombinimet më të mira sensitivitet- specificitet respektivisht 100 %, 98% .

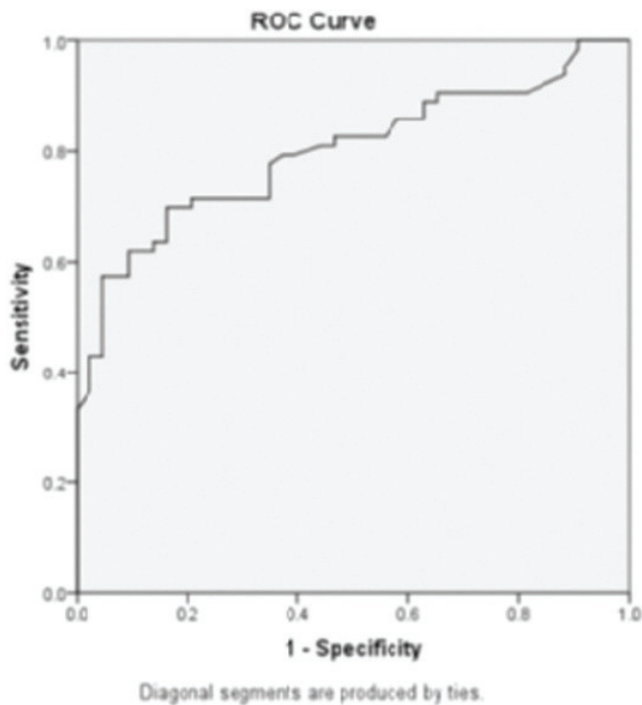
Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati



Grafiku 5.12 Kurba ROC për variablin b-CrossLaps

Tabela 5.20 Kombinimi sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të vlerave të OPG në pacientët hemoglobinopate me BMD normale.

Cut-off të mundshëm	Sensitivitet	Specificitet
.20000	100%	100%
1.25000	100%	98%
1.45000	100%	93%
2.55700	83%	49%
4.07500	63%	16%
8.25000	19%	0%
8.65000	17%	0%

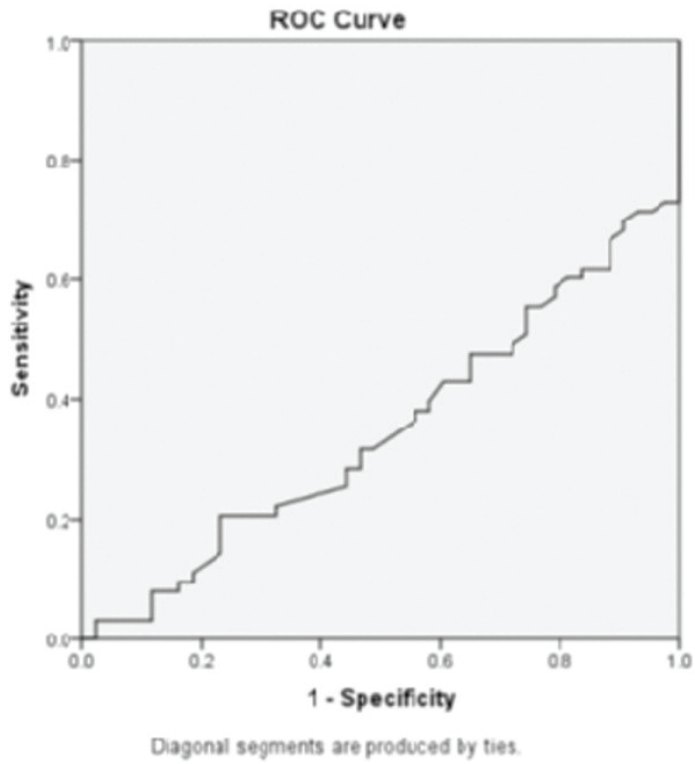


Grafiku 5.13 Kurba ROC për variablin OPG

Tabela 5.21 Kombinimet sensitivitet-specificitet për cut-off të ndryshëm të RANKL

Cut-off të mundshëm	Sensitivity	Specificity
.01000	92%	100%
0.01550	90%	100%
0.04200	73%	100%
0.76000	68%	90%
0.18300	44%	65%

Nga të dhënat e tabelës 5.21 që paraqesin kordinatat e kurbës ROC për variablin RANKL shohim që cut-off me kombinimet më të mira sensitivitet-specificitet, janë për vlerat 0.01 ng/ml respektivisht 92% dhe 100%. Nga këto të dhëna arrijmë në konkluzionin që RANKL është një parametër i ndjeshëm dhe specifik në diagnozën e osteoporozës.



Grafiku 5.14 Kurba ROC për variablin RANKL

VI . DISKUTIMI

Ky studim ka për qëllim të vëre në dukje rolin e sistemit RANKL/OPG në osteoporozë në pacientët me hemoglobinopati. Kjo u realizua përmes matjes në serum të nivelit të citokinave OPG dhe RANKL.

Sistemi OPG/RANKL-s luan një rol të rëndësishëm në aktivizimin dhe proliferimin e prekursorëve të osteoklasteve.

Duke analizuar të dhënat tona mbi vlerën e citokinave OPG dhe RANKL, nëpërmjet analizës së variancës ANOVA, ne vëmë re, se kemi një vlerë mesatare më të ulët të OPG në grupin TM dhe SCD krahasuar me grupin e kontrollit. (OPG në TM 3.2 ± 1.4 pmol/l: SCD 3.2 ± 1.29 pmol/l: kontrolli 10.2 ± 7.5 pmol/l). Nga krahasimet multiple me testin Tukey HSD vërejmë që ka një ndryshim shumë sinjifikant të diferencës së vlerave mesatare, ndërmjet grupit të kontrollit dhe grupit me TM dhe SCD ($p < 0.000$). Të dhëna të ngjashme vihen re edhe në studimin^[132]. Kjo tregon që OPG dhe Rankl luajnë një rol të rëndësishëm si markues të modelimit kockor.

Në 2007, Angelopoulos et al^[133] studioi 74 pacientë me TM dhe rezultoi që OPG është në mënyrë domethënëse më e rritur në subjektet e shëndoshë ($p < 0.0001$) krahasuar me TM. (e ngjashme me studimin tonë). Në studimin tonë, nivelet e RANKL-s janë më të larta në TM dhe SCD (0.26 ± 0.17 dhe 0.27 ± 0.22) krahasuar me grupin e kontrollit (0.11 ± 0.089). Si pasojë vihet re një rënie e theksuar e raportit OPG/RANKL-s në TM dhe SCD krahasuar me grupin e kontrollit (raporti OPG/RANKL është 24 dhe 11.8 kundrejt 92 në grupin e kontrollit). Të dhëna të ngjashme raportohen edhe në studimin e Voskaridou et al 2003^[134] dhe Morabito et al 2004.^[135]

Sipas testit Spearman*s, studimi ynë tregoi një korrelacion negativ midis OPG dhe markuesve të formimit kockor β -CrossLaps ($r = -0.349$; $p = 0.000$) dhe një korrelacion pozitiv midis OPG dhe kalçiumit ($r = 0.483$; $p = 0.000$).

Të dhënat tona nuk përputhen me të dhënat e SZULC 2001,^[136] në të cilin nuk ka korrelacion, por përputhen me të dhënat e YANO ET AL1999,^[137] i cili tregon që ka korrelacion midis OPG dhe markuesëve të formimit kockor, por ky korrelacion është pozitiv.

Duke analizuar të dhënat tona mbi vlerën e markuesit të rezorbimit kockor β -CrossLaps, nëpërmjet analizës së variancës ANOVA, ne vëmë re se kemi një vlerë mesatare më të ulët të β -CrossLaps në grupin e kontrollit, krahasuar me grupin TM/SCD (0.27 ± 0.17 ng/ml vs 1.1 ± 1.16 ng/ml në SCD dhe 0.74 ± 0.55 ng/ml në TM).

Nga krahasimet multiple me testin Tukey HSD, vërejmë që ka një ndryshim shumë sinjifikant të diferencës së vlerave mesatare, ndërmjet grupit të kontrollit dhe grupit me SCD ($p < 0.001$).

Kjo vë në dukje rëndësinë e β -CrossLaps si markues i rezorbimit kockor.

Në studimin tonë, pacientët me TM/SCD kanë nivel të lartë të ferritinës, krahasuar me rastet e kontrollit, ndonëse janë me terapi ferrokelaente. Rezultatet tona përputhen me rezultatet e Angelopoulos et al 2007. Mbingarkesa me hekur, mund të induktojë formimin e osteoklasteve nëpërmjet stresit oksidativ^[138] ose nëpërmjet rritjes së prodhimit të RANKL, kjo mund të shpjegojë rritjen e ferritinës në pacientët me TM/SDC.

Në studimin tonë, u vu në dukje një korrelacion negativ midis OPG dhe BMD ($r=-0.768$; $p=0.000$) dhe një korrelacion pozitiv midis OPG dhe T-score ($r=0.729$; $p=0.000$), ashtu si dhe në studimin e Rogers et al 2002.^[139] Në studimin tonë, u vu re, që pacientët me hemoglobinopati të shoqëruar me osteopeni/osteoporozë, kanë nivele më të ulëta të OPG dhe një raport OPG/RANKL më të ulët, krahasuar me pacientët me BMD normale.

Në 31 pacientët me TM në studimin e tij, Pietrapertosa et al 2009^[140] referon që ka ulje të BMD dhe 35.5 % paraqiten me osteoporozë dhe osteopeni, kjo e dhënë përputhet edhe me studimin tonë, ku 27.3% e pacientëve me TM kanë osteoporozë dhe osteopeni. Në studimin e tij, nuk ka korrelacion midis OPG dhe T-Score, ndërsa në studimin tonë ekziston një lidhje e fortë midis OPG-T-score ($r=-0.477$; $p=0.000$).

Në studimin e tij, El-Edel RH^[141] tregon që ekziston një lidhje negative midis BMD Z-score dhe moshës së pacientëve, duke treguar që BMD preket nga moshja. Një lidhje tjetër negative haset edhe në studimin e LO&Singer 2002.^[142] Këto të dhëna, pasqyrohen qartë edhe në studimin tonë, ku sipas testit Spearman ekziston një lidhje e fortë, por negative midis moshës së pacientëve dhe T-score ($r=-0.292$; $p=0.000$). Në studim tonë, gjejmë një lidhje të fortë midis T-score dhe vitaminës D ($r=0.436$; $p=0.000$), kjo lidhje nuk gjendet në studimin e El-Edel RH^[141]

Në studimin e Nakamura et al (2005)^[143] u raportua një lidhje midis nivelit të ulët të vitaminës D dhe BMD T-score e ulët. Të dhëna që përputhen dhe me studimin tonë.

Chen and chow (2001)^[144] demonstroi që administrimi oral i vitaminës D shoqëruar me kalçium përmirëson ndjeshëm BMD.

Hormonet seksuale luajnë një rol kyç në patogjenezën e osteoporozës në pacientët me TM/SCD, pasi estrogeni dhe progesteroni kanë një efekt të fortë në pikun e masës kockore, mungesa e tyre shkakton rritje të turnoverit kockor. Në studimin tonë, kemi një korrelacion negativ midis RANKL-E2 ($p=0.046$); RANKL-LH ($p=0.03$). Këto të dhëna përputhen me të dhënat e Morabito et al 2007^[152], por nuk kemi korrelacion midis OPG-E2 ($p=0.370$), OPG-Testosteron ($p=0.844$), ashtu si nuk haset korrelacion edhe në studimin e Pietrapertosa 2009,^[140] por një korrelacion pozitiv midis estradiolit dhe OPG është raportuar në studimin e Khosla 2002.^[145]

Në studimin tonë vlerat e testosteronit në pacientët me SCD janë brenda normës (5.9 ± 2.6 ng/ml), ndërsa në studimin Singhal1995^[146] kemi ulje të testosteronit në grupin e pacientëve me SCD, kjo shpjegon dhe rritjen e prevalencës së BMD të ulët në meshkujt me SCD.

Në studimin tonë nuk ka korrelacion midis BMD dhe hormoneve seksuale, këto të dhëna raportohen edhe në studimin e et al 1998.^[147]

Carmina et al^[159] krahasoi hormoneve seksuale dhe markuesit kockore në 30 paciente femra me TM dhe një grup kontrolli. Nga krahasimi rezultoi që vlerat e LH, FSH, E2 janë më të ulëta në grupin e TM/gjinia femërore, sesa në grupin e kontrollit/gjinia femërore. Nga këto të dhëna vetëm vlera e E2 përputhet me studimin tonë. Në lidhje me markuesit kockore kemi përputhje midis 2 studimeve, pasi edhe në studimin tonë vlerat e PTH dhe OC janë në normë. Pacientët me TM edhe në studimin tonë kanë ulje të BMD krahasuar me kontrollin, vlera të β -CrossLaps më të rritur dhe ferritinë më të rritur (tabela 12).

Në studimin tonë nuk ka korrelacion midis RANKL dhe OC, ndërsa në studimin e LIU 2004,^[148] vihet re një korrelacion midis RANKL dhe OC ($r=-0.1928$, $P < 0.001$).

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Duke analizuar të dhënat e variablit osteocalcinë (OC), markues i formimit kockor, sipas testit ANOVA, në studimin tonë vihet re se vlerat e OC në pacientët me TM janë më të larta krahasuar me kontrollin (33.9 ± 9.8 vs 30 ± 15.4 ng/ml), të dhëna të cilat nuk përputhen me studimin e Fung 2011,^[149] ku OC është e ulët në pacientët me TM krahasuar me rastet e kontrollit. Të dhënat tona përputhen me ato të studimit të Baldini et al,^[158] ku OC është më e lartë në talasemi krahasuar me grupin e kontrollit.

Në studimin tonë, vihet në dukje që BMD është më e ulët në pacientët SCD në seksin femër krahasuar me seksin mashkull (55% femra vs 45% meshkuj), ndërsa në studimin e Miller 2006,^[150] nga matjet e BMD në pacientët me SCD vihet re që seksi mashkull ka BMD më të ulët (92% vs 55% femra, $p=0.02$). Studimi i Miller^[150] tregon një prevalencë të lartë të osteopenisë dhe osteoporozës në SCD (72%), ndërsa në studimin tonë prevalenca është 29.2%.

Në grupin e pacientëve me TM dhe SCD, vihet re që numrin më të madh të rasteve me osteopeni dhe osteoporozë e kanë femrat (32% vs 20% meshkuj). Kjo gjë nuk vihet re në studimin e Voskaridou et al,^[159] Giardina et al,^[160] ku nuk shfaqen ndryshimi midis gjinive në lidhje me BMD, ndërsa Jensen et al^[58] në studimin e tij konfirmon që problemet kockore janë më të shpeshta në gjininë mashkullore, të njëjtën gjë konfirmon edhe Origa R et al 2005^[162] në studimin e saj.

Duke analizuar të dhënat e kalciumit, fosforit, sipas testit ANOVA, ne vëmë re se rezultatet e kalciumit dhe të fosforit janë të njëjta si në pacientët me TM/SCD dhe në grupin e kontrollit, po e njëjta gjë vihet re edhe në studimin e Garofalo et al.^[162]

Në pacientët e studimit tonë vihen re vlera normale të kalciumit dhe fosforit, të njëjtat të dhëna raportohen dhe në studimin e Eren et al.^[163]

Deficiti i vitaminës D mund të luajë rol në reduktimin e masës kockore në talasemi, Vogiatzi 2009 & Fung 2010^[149;154], ku ndonëse pjesa më e madhe e pacientëve marrin shtesë kalciumi në dietë, përseri vlerat e vitaminës D janë të ulura në krahasim me rastet e kontrollit. Këto të dhëna përputhen më të dhënat e studimit tonë, ku sipas testit ANOVA, vlerat e vitaminës D në pacientët me TM janë 25.8 ± 10.7 vs 29.2 ± 12.3 ng/ml të kontrollit, ndërsa në studimin e Fung 2011^[149] vlerat e vitaminës D janë 24.8 ± 11.1 vs 32.8 ± 8.7 ng/ml, të përputhshme edhe me studimin tonë.

Rritja e vonuar është një e dhënë që raportohet më shumë në të sëmurët me talasemi major, sesa në ata me drepanocitozë. Ata kanë një shtat të shkurtër dhe faktorët që kontribuojnë në rritjen e vonuar janë anemia kronike, ku në pacientët tanë vlera mesatare e Hb është 7.3 ± 1.05 g/dl, mbingarkesa me hekur, ku niveli mesatar i ferritinës në pacientët tanë është 1318 ± 1072 ng/ml. Në TM, kemi ulje në qarkullim të IGF1, duke çuar në rritje të rezorbimit kockor, ulje të formimit kockor dhe në fund në humbje të masës kockore.^[15] Në studimin tonë, 8 paciente ose 10% shfaqen me rritje të vonuar, ndërsa në studimin e Massimo Schachi 2016^[34] 27.9% kanë ulje të GH. Në studimin e tij nuk u gjet asnjë korrelacion midis GH dhe OC, e dhënë kjo që përputhet dhe me studimin tonë, ku $p=0.204$.

Në studimin e tij nuk ka korrelacion midis GH dhe β -CrossLaps, as në studimin tonë nuk ka.

Në studimin tonë nuk ka korrelacion midis GH dhe hormoneve të tiroides ($p=0.38$), kjo e dhënë përputhet dhe me studimin e Vidergor 2007.^[155]

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Në studimin e tij Pincelli 2011^[157], deklaroi se vetëm 8 % e pacientëve kanë ulje të GH, si në studimin tonë dhe ka një korrelacion midis GH dhe ferritinës, ndërsa në studimin tonë GH ka lidhje vetme me gjatesinë.

Në studimin e Pincelli^[157] cilësohet që IGF1 ulet në pacientët HCV pozitiv, e njëjta gjë vihet re edhe në studimin tonë, ku vetëm 4 pacientë janë bartës të hepatit C dhe kanë ulje të IGF1.

Në studimin e El-Edel RH,^[141] hypogonadizmi/puberteti i vonuar u gjet në 9 pacientë nga 42 të cilët janë në studim. Në këta pacientë u gjet ulje e BMD. Kjo tregon që hypogonadizmi mund të jetë një nga faktorët përgjegjës të osteoporozës.

Në studimin e Soliman et al 2000 dhe Skordis et al 2006^[164;165] hypogonadizmi dhe puberteti i vonuar raportohen në 30-50% të pacientëve me TM. Kjo i atribuohet depozitimit të hekurit dhe shkatërrimit oksidativ të nxitur nga radikalet e lira që prekin hypofizën anterior, follikujt ovarian dhe testet.

Çrregullimet e metabolizmit të glukozës shpesh gradualisht në diabet mellitus.

Faktor ky që kontribuon në osteoporozë, i raportuar si komplikacion i rëndësishëm i pacientëve me talasemi.^[142] Në studimin e tij El-Edel RH,^[141] raportoi vetëm një pacient me diabet mellitus, i cili paraqitet me osteoporozë me BMD Z-score -2.8. Në studimin tonë, i cili përfshin një numër më të madh rastesh, evidentohen 5 pacientë me diabet mellitus, të cilët paraqiten me BMD T-score -3.2. Këto rezultate mund të tregojnë që ulja e T-score lidhet me praninë e çrregullimeve endokrine.^[161]

Në studimin e saj, Baldini referon që metabolizmi i glukozës është i prekur dhe 18 % e pacientëve paraqiten me diabet. Nuk ka një korrelacion midis T-Score dhe DM, as në studimin tonë nuk haset një gjë e tillë.

Hypoparatiroidizmi bën pjesë në grupin e endokrinopative, që njihet si komplikacion në hemoglobinopati, për shkak të anemisë, hypoksisë dhe mbingarkesës me hekur.^[166] Në studimin e tij Sleem et al^[156] vë në dukje që prevalencë e hypoparatiroidizmit është 19 %, vlerë kjo e lartë krahasuar me ato të studimit të Gabutti et al^[167] dhe Chern JP^[168], ku prevalencë shfaqet në vlera respektivisht 2.5 % dhe 10.7 %, ndërsa në studimin tonë, ky komplikacion zë 4,7 % .

Në studimin e tij Angelopoulos et al 2006^[153], nuk gjeti korrelacion midis nivelit të hormonit paratiroid dhe ferritinës, kjo e dhënë nuk përputhet me të dhënat e studimit tonë, ku ekziston një lidhje e fortë, por negative midis PTH dhe ferritinës ($r=-0.301$; $p=0.000$). Edhe Sleem et al^[156] në studimin e tij nuk gjeti korrelacion midis PTH dhe ferritinës ($r=-0.015$; $p=0.935$).

Në studimin e Baldini et al^[158], PTH është i lidhur në mënyrë negative me T-score, e njëjta gjë vihet re edhe në studimin tonë ($r=-0.274$; $p=0.000$), duke treguar efektin mbrojtës të kockës në këtë çrregullim endokrin.^[153]

Në studimin e Khalida Parveen Basha,^[151] vihet re një korrelacion midis uljes së PTH dhe uljes së BMD ($p<0.000$); niveli i ALP-DEA është në mënyrë domethënëse më i rritur në TM krahasuar me kontrollin. Në studimin tonë, vihen re 5 raste me hypoparatiroidizëm, dallohet një korrelacion negative me T-score ($r=-0.943$; $p=0.016$), nuk ka përputhje me studimin e mësipërm, as në lidhje me ALP-DEA. Në studimin^[151], nuk u gjet korrelacion midis HTP dhe ferritinës, në studimin tonë korrelacioni është sinjifikant ($p=0.000$).

Vlerësimi laboratorik i çrregullimeve endokrine dhe ndikimi i tyre në zhvillimin kockor në hemoglobinopati

Pacientët me hemoglobinopati mund të zhvillojnë çrregullime të tiroides, të shkallëve të ndryshme. Në studimin e tij Aydinol et al 2002^[169], referon se 16% e pacientëve të tij të përfshirë në studim, kanë të zhvilluar hypotireidozë, të dhëna këto të përputhshme edhe me studimin tonë, ku 16 % e pacientëve kanë të zhvilluar hypotireidozë nga të cilët 13,3 % janë me talasemi dhe 2.7 % janë pacientë me SCD.

VII. KONKLUZIONE

1. Osteoporozja është një komplikacion i shpeshtë në hemoglobinopati, e cila shoqërohet me invalidizim të pacientit në një kohë të shpejtë.
2. Vihen re ndryshime shumë sinjifikante të OPG midis grupit të kontrollit dhe pacientëve në studim.
3. Vihen re ndryshime sinjifikante të RANKL midis grupit të kontrollit dhe pacientëve në studim.
4. Vihen re ndryshime sinjifikante të ferritinës midis grupit të kontrollit dhe pacientëve në studim.
5. Vihen re korrelacione të forta midis OPG, BMD, Rankl midis grupeve në studim.
6. Vihen re lidhje të forta midis OPG dhe T-score, Rankl-T-score midis grupeve në studim.
7. Vihen re korrelacione të forta midis hormoneve seksuale brenda grupeve, por nuk ka korrelacione midis tyre dhe aksit OPG-Rankl.
8. Vihen re korrelacione midis BMD-LH në grupin e pacientëve femra me TM dhe SCD, por nuk ka korrelacione me hormonet e tjera seksuale femërore.
9. Nuk vihen re korrelacione midis BMD-hormoneve seksuale mashkullore.
10. Vihen re rritje të vlerave të β CrossLaps në pacientet me TM krahasuar me grupin e kontrollit.
11. Vihen re vlera të ngjashme të OC dhe PTH në grupin e pacientëve krahasuar me grupin e kontrollit.
12. Mungesa e vitaminës D është komplikacioni më i shpeshtë në grupin e pacientëve me hemoglobinopati.
13. Vihen re korrelacione midis vitaminës D dhe OPG në grupin e pacientëve në studim.
14. Vihen re korrelacione midis RANKL-TSH në grupin e pacientëve në studim.
15. Nuk vihen re korrelacione midis aksit OPG/Rankl dhe PTH, TSH.
16. Vihen re korrelacione shumë sinjifikante midis β CrossLaps dhe ferritinës në grupet në studim.
17. Nuk vihen re korrelacione midis GH dhe markuesve kockorë, OC, Rankl dhe OPG.
18. Vihen re korrelacione midis β CrossLaps dhe aksit OPG-Rankl në grupet në studim.
19. Vihen re korrelacione midis β CrossLaps dhe vitaminës D në grupet në studim.

VIII. Rekomandime

Nga përfundimet e arritura në studimin tonë mund të sugjerojmë disa rekomandime:

.

- Diagnoza e hershme është një faktor shumë i rëndësishëm në mjekimin me sukses të osteoporozës në pacientët me hemoglobinopati, pasi redukton invalidizimin e tyre dhe në të njëjtën kohë ul koston e mjekimit. Diagnoza e osteoporozës ndihmohet në mënyrë të konsiderueshme me testimin e markuesit të rezorbimit kockor, β -CrossLaps.

- Rekomandohet matja në praktikën klinike e vitaminës D, krahas egzaminimit të densitometrise, pasi parandalon avancimin e osteoporozes.

- Matja e citokinave OPG/RANKL dhe përdorimi i tyre në praktikën e përditshme si tregues me vlerë në ndjekjen dhe trajtimin e osteoporozës, jo vetëm në hemoglobinopati, por dhe më gjerë.

BIBLIOGRAFIA

1. Weatherall DJ, Clegg JB. Thalassemia--a global public health problem. *Nat Med.* 1996;2(8):847-849.
2. Refatllari.E.Bulo.A. The prevalence of beta thalassemia in students screening in the Lushnja district, Albania. BCLF conference Antalya 2007
3. Dr. Androulla Eleftheriou About thalassemia. ISBN: 9963-623-40-9
4. Cunningham MJ, Macklin EA, Neufeld EJ, Cohen AR, Network TCR. Complications of beta-thalassemia major in North America. *Blood.* 2004;104(1):34-39.
5. Raiola G, Galati MC, De Sanctis V, Caruso Nicoletti M, Pintor C, De Simone M, et al. Growth and puberty in thalassemia major. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003;16:259-66
6. Kuzma M, Payer J. [Growth hormone deficiency, its influence on bone mineral density and risk of osteoporotic fractures]. *Cas Lek Cesk.* 2010;149(5):211-216.
7. Klefter O, Feldt-Rasmussen U. Is increase in bone mineral content caused by increase in skeletal muscle mass/strength in adult patients with GH-treated GH deficiency? A systematic literature analysis. *Eur J Endocrinol.* 2009;161(2):213-221.
8. De Sanctis V. Growth and puberty and its management in thalassaemia. *Horm Res.* 2002;58 Suppl 1:72-79.
9. Soliman AT, Khalafallah H, Ashour R. Growth and factors affecting it in thalassemia major. *Hemoglobin.* 2009;33 Suppl 1:S116-126.
10. Wonke B. Bone disease in beta-thalassaemia major. *Br J Haematol.* 1998;103(4):897-901.
11. Hershko C, Konijn AM, Link G. Iron chelators for thalassaemia. *Br J Haematol.* 1998;101(3):399-406.
12. Hershko C, Link G, Cabantchik I. Pathophysiology of iron overload. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;850:191-201.
13. Skordis N, Kyriakou A. The multifactorial origin of growth failure in thalassaemia. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2011;8 Suppl 2:271-277.
14. Geusens PP, Boonen S. Osteoporosis and the growth hormone-insulin-like growth factor axis. *Horm Res.* 2002;58 Suppl 3:49-55.
15. Soliman AT, Bererhi H, Darwish A, Alzalabani MM, Wali Y, Ansari B. Decreased bone mineral density in prepubertal children with sickle cell disease: correlation with growth parameters, degree of siderosis and secretion of growth factors. *J Trop Pediatr.* 1998;44(4):194-198.
16. Lasco A, Morabito N, Gaudio A, et al. Osteoporosis and beta-thalassemia major: role of the IGF-I/IGFBP-III axis. *J Endocrinol Invest.* 2002;25(4):338-344.
17. Morabito N, Gaudio A, Lasco A, et al. Osteoprotegerin and RANKL in the pathogenesis of thalassemia-induced osteoporosis: new pieces of the puzzle. *J Bone Miner Res.* 2004;19(5):722-727.

18. Perifanis V, Economou M, Christoforides A, Koussi A, Tsitourides I, Athanassiou-Metaxa M. Evaluation of iron overload in beta-thalassemia patients using magnetic resonance imaging. *Hemoglobin*. 2004;28(1):45-49.
19. Toumba M, Kanaris C, Simamonian K, Skordis N. Outcome and management of pregnancy in women with thalassaemia in Cyprus. *East Mediterr Health J*. 2008;14(3):628-635.
20. Toumba M, Sergis A, Kanaris C, Skordis N. Endocrine complications in patients with Thalassaemia Major. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2007;5(2):642-648.
21. Kyriakou A, Skordis N. Thalassaemia and aberrations of growth and puberty. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2009;1(1):e2009003
22. Riggs BL. The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. *J Clin Invest*. 2000;106(10):1203-1204.
23. Olszynski WP, Shawn Davison K, Adachi JD, et al. Osteoporosis in men: epidemiology, diagnosis, prevention, and treatment. *Clin Ther*. 2004;26(1):15-28.
24. Richard Savine Peter Sönksen Growth Hormone – Hormone Replacement for the Somatopause? *Horm Res* 2000;53(suppl 3):37–41
25. Kassem M, Blum W, Ristelli J, Mosekilde L, Eriksen EF. Growth hormone stimulates proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. *Calcif Tissue Int*. 1993;52(3):222-226.
26. DiGirolamo DJ, Mukherjee A, Fulzele K, et al. Mode of growth hormone action in osteoblasts. *J Biol Chem*. 2007;282(43):31666-31674.
27. De Sanctis V. Growth and puberty and its management in thalassaemia. *Horm Res* 2002;58:72-9.
28. Li H, Bartold PM, Zhang CZ, Clarkson RW, Young WG, Waters MJ. Growth hormone and insulin-like growth factor I induce bone morphogenetic proteins 2 and 4: a mediator role in bone and tooth formation? *Endocrinology*. 1998;139(9):3855-3862.
29. Mrak E, Villa I, Lanzi R, Losa M, Guidobono F, Rubinacci A. Growth hormone stimulates osteoprotegerin expression and secretion in human osteoblast-like cells. *J Endocrinol*. 2007;192(3):639-645.
30. McCarthy TL, Centrella M, Canalis E. Regulatory effects of insulin-like growth factors I and II on bone collagen synthesis in rat calvarial cultures. *Endocrinology*. 1989;124(1):301-309.
31. Chrysis DC, Alexandrides TK, Koromantzou E, Georgopoulos N, Vassilakos P, Kiess W, et al. Novel application of IGF-I and IGFBP-3 generation tests in the diagnosis of growth hormone axis disturbances in children with beta-thalassaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001;54:253-9.
32. Mochizuki H, Hakeda Y, Wakatsuki N, et al. Insulin-like growth factor-I supports formation and activation of osteoclasts. *Endocrinology*. 1992;131(3):1075-1080.
33. Leger J, Girot R, Crosnier H, Postel-Vinay MC, Rappaport R. Normal growth hormone (GH) response to GH-releasing hormone in children with thalassaemia major before puberty: a possible age-related effect. *J Clin Endocrinol Metab*. 1989;69(2):453-456.

34. Scacchi M, Danesi L, Cattaneo A, et al. Bone turnover and mineral density in adult thalassemic patients: relationships with growth hormone secretory status and circulating somatomedins. *Endocrine*. 2016;53(2):551-557.
35. La Rosa C, De Sanctis V, Mangiagli A, et al. Growth hormone secretion in adult patients with thalassaemia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;62(6):667-671.
36. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2010;5:11.
37. Evered DC, Ormston BJ, Smith PA, Hall R, Bird T. Grades of hypothyroidism. *Br Med J*. 1973;1(5854):657-662.
38. De Sanctis V, Vullo C, Katz M, et al. Endocrine complications in thalassaemia major. *Prog Clin Biol Res*. 1989;309:77-83.
39. De Sanctis V, Soliman AT, Elsedfy H, et al. Growth and endocrine disorders in thalassemia: The international network on endocrine complications in thalassemia (I-CET) position statement and guidelines. *Indian J Endocrinol Metab*. 2013;17(1):8-18.
40. De Sanctis V, Soliman AT, Elsedfy H, et al. Osteoporosis in thalassemia major: an update and the I-CET 2013 recommendations for surveillance and treatment. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2013;11(2):167-180.
41. Wonke B, De Sanctis V. Clinical aspects of transfusional iron overload. *Clin Exp Hematol* 2001;12:322-34
42. Toumba M, Kanaris C, Simamonian K, Skordis N. Outcome and management of pregnancy in women with thalassaemia in Cyprus. *East Mediterr Health J* 2008;14:628-35.
43. Tanner JM, Whitehouse RH. Clinical longitudinal standards for height, weight, height velocity, weight velocity, and stages of puberty. *Arch Dis Child*. 1976;51(3):170-179.
44. Toumba M, Sergis A, Kanaris C, Skordis N. Endocrine complications in patients with Thalassaemia Major. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2007;5(2):642-648.
45. De Sanctis V, Vullo C, Bagni B, Chiccoli L. Hypoparathyroidism in beta-thalassemia major. Clinical and laboratory observations in 24 patients. *Acta Haematol* 1992;88:105-8.
46. Hershko C, Link G, Cabantchik I. Pathophysiology of iron overload. *Ann N Y Acad Sci* 1998;30:191-201.
47. Karimi M, Habibzadeh F, De Sanctis V. Hypoparathyroidism with extensive intracerebral calcification in patients with beta-thalassemia major. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2003;16(6):883-886.
48. De Sanctis V, Wonke B. Growth and endocrine complications in thalassaemia. Rome: Mediprint; 1998.
49. Toumba M, Skordis N. Osteoporosis syndrome in thalassaemia major: an overview. *J Osteoporos*. 2010;2010:537673.
50. Johnston CC, Slemenda CW. Diagnosis of osteoporosis. *South Med J*. 1992;85(8):2S7-9.
51. Voskaridou E, Terpos E. New insights into the pathophysiology and management of osteoporosis in patients with beta thalassaemia. *Br J Haematol*. 2004;127(2):127-139.

52. P.Mahachoklertwattana, V. Sirikulchayanonta, A. Chuansumrit, et al., "Bone histomorphometry in children and adolescents with β -thalassemia disease: iron-associated focal osteomalacia," *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 88, no. 8, pp. 3966–3972, 2003.
53. Arisal O, Deviren A, Fenerci EY, et al. Polymorphism analysis in the COLIA1 gene of patients with thalassemia major and intermedia. *Haematologia (Budap)*. 2002;32(4):475-482.
54. Gaudio A, Morabito N, Xourafa A, et al. Bisphosphonates in the treatment of thalassemia-associated osteoporosis. *J Endocrinol Invest*. 2008;31(2):181-184.
55. Domrongkitchaiporn S, Sirikulchayanonta V, Angchaisuksiri P, Stitchantrakul W, Kanokkantapong C, Rajatanavin R. Abnormalities in bone mineral density and bone histology in thalassemia. *J Bone Miner Res*. 2003;18(9):1682-1688
56. Pootrakul P, Hungsprenges S, Fucharoen S, et al. Relation between erythropoiesis and bone metabolism in thalassemia. *N Engl J Med*. 1981;304(24):1470-1473.
57. Anapliotou ML, Kastanias IT, Psara P, Evangelou EA, Liparaki M, Dimitriou P. The contribution of hypogonadism to the development of osteoporosis in thalassaemia major: new therapeutic approaches. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;42(3):279-287.
58. Jensen CE, Tuck SM, Old J, et al. Incidence of endocrine complications and clinical disease severity related to genotype analysis and iron overload in patients with beta-thalassaemia. *Eur J Haematol*. 1997;59(2):76-81.
59. Carmina E, Di Fede G, Napoli N, et al. Hypogonadism and hormone replacement therapy on bone mass of adult women with thalassemia major. *Calcif Tissue Int*. 2004;74(1):6871.
60. Berkovitch M, Bistrizter T, Milone SD, Perlman K, Kucharczyk W, Olivieri NF. Iron deposition in the anterior pituitary in homozygous beta-thalassemia: MRI evaluation and correlation with gonadal function. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2000;13(2):179-184.
61. Gabutti V, Borgna-Pignatti C. Clinical manifestations and therapy of transfusional haemosiderosis. *Baillieres Clin Haematol*. 1994;7(4):919-940.
62. De Sanctis V, Pinamonti A, Di Palma A, et al. Growth and development in thalassaemia major patients with severe bone lesions due to desferrioxamine. *Eur J Pediatr*. 1996;155(5):368-372.
63. Proff P, Römer P. The molecular mechanism behind bone remodelling: a review. *Clin Oral Investig*. 2009;13(4):355-362.
64. Raisz LG. Physiology and pathophysiology of bone remodeling. *Clin Chem*. 1999;45(8 Pt 2):1353-1358.
65. Dempster DW, Cosman F, Parisien M, Shen V, Lindsay R. Anabolic actions of parathyroid hormone on bone. *Endocr Rev*. 1993;14(6):690-709.
66. Liu SH, Yang RS, al-Shaikh R, Lane JM. Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review. *Clin Orthop Relat Res*. 1995(318):265-278
67. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1092:385-396.
68. Hill PA. Bone remodelling. *Br J Orthod*. 1998;25(2):101-107.
69. Matsuo K, Irie N. Osteoclast-osteoblast communication. *Arch Biochem Biophys*. 2008;473(2):201-209.

70. Boyce BF, Yao Z, Zhang Q, et al. New roles for osteoclasts in bone. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1116:245-254
71. Hodge JM, Kirkland MA, Aitken CJ, et al. Osteoclastic potential of human CFU-GM: biphasic effect of GM-CSF. *J Bone Miner Res.* 2004;19(2):190-199.
72. Suda T, Takahashi N, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation. *Endocr Rev.* 1992;13(1):66-80.
73. Takahashi N, Udagawa N, Suda T. [Role of osteoclast differentiation factor, the new member of the TNF ligand family, in osteoclast differentiation and function]. *Seikagaku.* 1999;71(4):241-253.
74. Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med.* 2004;350(16):1655-1664.
75. Terpos E, Voskaridou E. Interactions between osteoclasts, osteoblasts and immune cells: implications for the pathogenesis of bone loss in thalassemia. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2008;6 Suppl 1:94-106.
76. Aubin JE. Bone stem cells. *J Cell Biochem Suppl.* 1998;30-31:73-82.
77. Lacey DL, Timms E, Tan HL, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 1998;93(2):165-176.
78. Wozney JM. Overview of bone morphogenetic proteins. *Spine (Phila Pa 1976).* 2002;27(16 Suppl 1):S2-8.
79. Toumba M, Skordis N. Osteoporosis syndrome in thalassaemia major: an overview. *J Osteoporos.* 2010;2010:537673
80. Voskaridou E, Terpos E, Spina G, et al. Pamidronate is an effective treatment for osteoporosis in patients with beta-thalassaemia. *Br J Haematol.* 2003;123(4):730-737.
81. Morabito N, Gaudio A, Lasco A, et al. Osteoprotegerin and RANKL in the pathogenesis of thalassemia-induced osteoporosis: new pieces of the puzzle. *J Bone Miner Res.* 2004;19(5):722-727.
82. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997;89(2):309-319.
83. Kim N, Odgren PR, Kim DK, Marks SC, Choi Y. Diverse roles of the tumor necrosis factor family member TRANCE in skeletal physiology revealed by TRANCE deficiency and partial rescue by a lymphocyte-expressed TRANCE transgene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(20):10905-10910
84. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature.* 1999;397(6717):315-323
85. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev.* 1998;12(9):1260-1268.
86. Body JJ. Bisphosphonates. *Eur J Cancer.* 1998;34(2):263-269.
87. Meghji S, Morrison MS, Henderson B, Arnett TR. pH dependence of bone resorption: mouse calvarial osteoclasts are activated by acidosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;280(1):E112-119.
88. Mori H, Sakai H, Morihata H, et al. Regulatory mechanisms and physiological relevance of a voltage-gated H⁺ channel in murine osteoclasts: phorbol myristate acetate induces cell acidosis and the channel activation. *J Bone Miner Res.* 2003;18(11):2069-2076

89. Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, et al. Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function. *J Immunol.* 1999;163(1):434-442.
90. Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol.* 1999;145(3):527-538.
91. Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(7):3540-3545.
92. Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22(4):549-553
93. Hofbauer LC, Kühne CA, Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2004;4(3):268-275.
94. Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem.* 1997;30(8):573-593.
95. Nguyen TV, Center JR, Eisman JA. Osteoporosis in elderly men and women: effects of dietary calcium, physical activity, and body mass index. *J Bone Miner Res.* 2000;15(2):322-331.
96. Bonjour JP, Ammann P, Rizzoli R. Importance of preclinical studies in the development of drugs for treatment of osteoporosis: a review related to the 1998 WHO guidelines. *Osteoporos Int.* 1999;9(5):379-393.
97. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Oden A, Melton LJ, Khaltaev N. A reference standard for the description of osteoporosis. *Bone.* 2008;42(3):467-475.
98. Dr B. Wonke, Department of Haematology, Whittington Hospital, Highgate Hill, London N19 5NF. BONE DISEASE IN b-THALASSAEMIA MAJOR *British Journal of Haematology*, 1998, 103, 897–901
99. Seibel MJ. Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem Rev.* 2005;26(4):97-122.
100. Gertz BJ, Shao P, Hanson DA, et al. Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *J Bone Miner Res.* 1994;9(2):135-142.
101. Rosen HN, Dresner-Pollak R, Moses AC, et al. Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tissue Int.* 1994;54(1):26-29.
102. Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *J Bone Miner Res.* 1992;7(11):1251-1258.
103. Moss DW. Enzyme reference materials: their place in diagnostic enzymology. *Clin Chim Acta.* 1994;225(1):S5-11
104. Kraenzlin ME, Lau KH, Liang L, et al. Development of an immunoassay for human serum osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71(2):442-451
105. Stinson RA, Hamilton BA. Human liver plasma membranes contain an enzyme activity that removes membrane anchor from alkaline phosphatase and converts it to a plasma-like form. *Clin Biochem.* 1994;27(1):49-55.

106. Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta*. 1990;186(2):133-150.
107. Risteli L, Risteli J. Biochemical markers of bone metabolism. *Ann Med*. 1993;25(4):385-393.
108. Schiele F, Henny J, Hitz J, Petitclerc C, Gueguen R, Siest G. Total bone and liver alkaline phosphatases in plasma: biological variations and reference limits. *Clin Chem*. 1983;29(4):634-641.
109. Christenson, R.H. (1997) Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clinical Biochemistry*, 30, 573–593.
110. Epstein S. Serum and urinary markers of bone remodeling: assessment of bone turnover. *Endocr Rev*. 1988;9(4):437-449.
111. Green S, Anstiss CL, Fishman WH. Automated differential isoenzyme analysis. II. The fractionation of serum alkaline phosphatases into "liver", "intestinal" and "other" components. *Enzymologia*. 1971;41(1):9-26.
112. Gomez B, Ardakani S, Ju J, et al. Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin Chem*. 1995;41(11):1560-1566.
113. Woitge HW, Seibel MJ, Ziegler R. Comparison of total and bone-specific alkaline phosphatase in patients with nonskeletal disorder or metabolic bone diseases. *Clin Chem*. 1996;42(11):1796-1804.
114. Farley JR, Chesnut CH, Baylink DJ. Improved method for quantitative determination in serum of alkaline phosphatase of skeletal origin. *Clin Chem*. 1981;27(12):2002-2007
115. Gorman L, Statland BE. Clinical usefulness of alkaline phosphatase isoenzyme determinations. *Clin Biochem*. 1977;10(5):171-174.
116. Gallop PM, Lian JB, Hauschka PV. Carboxylated calcium-binding proteins and vitamin K. *N Engl J Med*. 1980;302(26):1460-1466.
117. Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Edouard C, Chapuy MC, Meunier PJ. Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet*. 1984;1(8386):1091-1093.
118. Bouillon R, Vanderschueren D, Van Herck E, et al. Homologous radioimmunoassay of human osteocalcin. *Clin Chem*. 1992;38(10):2055-2060.
119. Delmas PD, Malaval L, Arlot ME, Meunier PJ. Serum bone Gla-protein compared to bone histomorphometry in endocrine diseases. *Bone*. 1985;6(5):339-341.
120. Fournier B, Gineyts E, Delmas PD. Evidence that free gamma carboxyglutamic acid circulates in serum. *Clin Chim Acta*. 1989;182(2):173-181.
121. Liu SH, Yang RS, al-Shaikh R, Lane JM. Collagen in tendon, ligament, and bone healing. A current review. *Clin Orthop Relat Res*. 1995(318):265-278.
122. Merry AH, Harwood R, Woolley DE, Grant ME, Jackson DS. Identification and partial characterisation of the non-collagenous amino- and carboxyl-terminal extension peptides of cartilage procollagen. *Biochem Biophys Res Commun*. 1976;71(1):83-90.
123. Olsen BR, Guzman NA, Engel J, Condit C, Aase S. Purification and characterization of a peptide from the carboxy-terminal region of chick tendon procollagen type I. *Biochemistry*. 1977;16(13):3030-3036

124. Taubman MB, Goldberg B, Sherr C. Radioimmunoassay for human procollagen. *Science*. 1974;186(4169):1115-1117.
125. Eriksen EF, Charles P, Melsen F, Mosekilde L, Risteli L, Risteli J. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation with bone histomorphometry. *J Bone Miner Res*. 1993;8(2):127-132.
126. Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem*. 2008;54(1):188-196.
127. Furuya D, Kaneko R, Yagihashi A, et al. Immuno-PCR assay for homodimeric osteoprotegerin. *Clin Chem*. 2001;47(8):1475-1477.
128. Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22(4):549-553.
129. Hannon R, Eastell R. Preanalytical variability of biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos Int*. 2000;11 Suppl 6:S30-44.
130. Vega D, Maalouf NM, Sakhae K. CLINICAL Review #: the role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(12):4514-4521.
131. Rogers A, Eastell R. Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor kappaB ligand: clinical utility in metabolic bone disease assessment. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(11):6323-6331.
132. Salah H, Atfy M, Fathy A, Mansor H, Saeed J. The clinical significance of OPG/sRANKL ratio in thalassemia patients suffering from osteopenia or osteoporosis in Egyptian patients. *Immunol Invest*. 2010;39(8):820-832.
133. Angelopoulos NG, Goula A, Katounda E, et al. Circulating osteoprotegerin and receptor activator of NF-kappaB ligand system in patients with beta-thalassemia major. *J Bone Miner Metab*. 2007;25(1):60-67.
134. Voskaridou E, Terpos E, Spina G, et al. Pamidronate is an effective treatment for osteoporosis in patients with beta-thalassaemia. *Br J Haematol*. 2003;123(4):730-737
135. Morabito N, Russo GT, Gaudio A, et al. The "lively" cytokines network in beta-Thalassemia Major-related osteoporosis. *Bone*. 2007;40(6):1588-1594
136. Szulc P, Hofbauer LC, Heufelder AE, Roth S, Delmas PD. Osteoprotegerin serum levels in men: correlation with age, estrogen, and testosterone status. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(7):3162-3165.
137. Yano K, Tsuda E, Washida N, Kobayashi F, Goto M, Harada A, Ikeda K, Higashio K, Yamada Y. Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesisinhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1999; 14:518-527.
138. Isomura H, Fujie K, Shibata K, et al. Bone metabolism and oxidative stress in postmenopausal rats with iron overload. *Toxicology*. 2004;197(2):93-100.
139. Rogers A, Saleh G, Hannon RA, Greenfield D, Eastell R. Circulating estradiol and osteoprotegerin as determinants of bone turnover and bone density in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:4470-4475

140. Pietrapertosa AC, Minenna G, Colella SM, Santeramo TM, Renni R, D'Amore M. Osteoprotegerin and RANKL in the pathogenesis of osteoporosis in patients with thalassaemia major. *Panminerva Med.* 2009;51(1):17-23.
141. El-Edel RH, Ghonaim MM, Abo-Salem OM, El-Nemr FM. Bone mineral density and vitamin D receptor polymorphism in beta-thalassemia major. *Pak J Pharm Sci.* 2010;23(1):89-96.
142. Lo L and Singer ST (2002). Thalassaemia: current approach to an old disease. *Pediatr. Clinic North America*, **49**(6):1278-1303.
143. Nakamura K, Ueno K, Nishiwaki T, Okuda Y, Saito T, Tsuchiya Y and Yamamoto M (2005). Nutrition, mild hyperparathyroidism, and bone mineral density in young Japanese women. *Am. J. Clin. Nutr.*, **82**(5):1127-1133.
144. Chen M and Chow SN (2001). Additive effect of alfacalcidol on bone mineral density of the lumbar spine in Taiwanese postmenopausal women treated with hormone replacement therapy and calcium supplementation: a randomized 2-year study. *Clin. Endocrinol., (Oxf)*. **55**(2): 253-258.
145. Khosla S, Arrighi HM, Melton LJ III, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Dunstan CR, Riggs BL Correlates of osteoprotegerin levels in women and men. *Osteoporos Int* 2002; 13:394-399
146. Singhal A, Gabay L, Serjeant GR. Testosterone deficiency and extremeretardation of puberty in homozygous sickle-cell disease. *West Indian Med J* 1995;44:20-23
147. E. Molyvda-Athanasopoulou,1 A. Sioundas,1 N. Karatzas,1 M. Aggellaki,2 K. Pazaitou,2 I. Vainas2 Bone Mineral Density of Patients with Thalassaemia Major:Four-Year Follow-Up *Calcif Tissue Int* (1999) 64:481–484
148. Liu JM, Zhao HY, Ning Guang (2004) Relationship between body composition and bone mineral density in healthy young and premenopausal Chinese women. *OsteoporosInt* 15:238–242
149. Ellen B. Fung Elliott P. Vichinsky , Janet L. Kwiatkowski , James Huang , Laura K. Bachrach Aenor J. Sawyer , Babette S. Zemel Characterization of low bone mass in young patients with thalassaemia by DXA, Pqct and markers of bone turnover *Bone* 48 (2011) 1305–1312
150. Miller RG, Segal JB, Ashar BH, et al. High prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. *Am J Hematol.* 2006;81(4):236-241.
151. Basha N KP, Shetty B, Shenoy UV. Prevalence of Hypoparathyroidism (HPT) in Beta Thalassaemia Major. *J Clin Diagn Res.* 2014;8(2):24-26
152. Nunziata Morabito, Agostino Gaudio, Antonino Lasco, Marco Atteritano, Osteoprotegerin and RANKL in the Pathogenesis of Thalassaemia-Induced Osteoporosis: New Pieces of the Puzzle *JBone Miner Res* 2004;19:722–727
153. Angelopoulos NG, Goula A, Rombopoulos G, et al. Hypoparathyroidism in transfusion-dependent patients with beta-thalassaemia. *J Bone Mine Metab.* 2006;24(2):138-145.
154. Vogiatzi MG, Macklin EA, Trachtenberg FL, et al. Differences in the prevalence of growth endocrine and vitamin D abnormalities among the various Thalassaemia Syndromes in North America. *Br J Hematol* 2009;146:546–56.
155. Vidergor G, Goldfarb AW, Glaser B, Dresner-Pollak R. Growth hormone reserve in adult beta thalassaemia patients. *Endocrine.* 2007;31(1):33-37.

156. Sleem GA, Al-Zakwani IS, Almuslahi M. Hypoparathyroidism in adult patients with Beta-thalassemia major. *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2007;7(3):215-218
157. Pincelli AI, Masera N, Tavecchia L, et al. GH deficiency in adult B-thalassemia major patients and its relationship with IGF-1 production. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2011;8 Suppl 2:284-289.
158. M. Baldini ;S. Forti , A. Orsatti , A.Marcon , F.M. Ulivieri , L. Airaghi , L. Zanaboni , M.D. Cappellini Thalassaemic osteopathy: A new marker of bone deposition Blood Cells, Molecules and Diseases 52 (2014) 91–94
159. Voskaridou E, Kyrtsolis MC, Terpos E et al. Bone resorption is increased in young adults with thalassaemia major. *Br J Haematol*2001; 112: 36–41.
160. Giardina PJ, Grady RW. Chelation therapy in beta-thalassemia:the benefits and limitations of desferrioxamine. *Semin Hematol* 1995; 32 (4): 304–12.
161. Origa R, Fiumana E, Gamberini MR, et al. Osteoporosis in beta-thalassemia: Clinical and genetic aspects. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1054:451-456.
162. Garofalo F, Piga A, Lala R, Chiabotto S, Di Stefano M, Isaia GC. Bone metabolism in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;850:475-478.
163. E. EREN, 1 N. YILMAZ2 AKHAV-TAG Gaziantep, Turkey Biochemical markers of bone turnover and bone mineral density in patients with *b*-thalassaemia major doi : 10.1111/j.1368-5031.2004.0035 8
164. Soliman AT, elZalabany MM, Ragab M, Abdel Fattah M, Hassab H, Rogol AD and Ansari BM (2000). Spontaneous and GnRH-provoked gonadotropin secretion and testosterone response to human chorionic gonadotropin in adolescent boys with thalassaemia major and delayed puberty. *J. Trop. Pediatr.*, **46**(2): 79-85.
165. Skordis N, Michaelidou M, Savva SC, Ioannou Y, Rousounides A, Kleanthous M, Skordos G and Christou S (2006). The impact of genotype on endocrine complications in thalassaemia major. *Eur. J. Haematol.*,**77**(2): 150-156.
166. Sonakal D. Endocrine pathology. In: Brancati C, ed. *Thalassemia, Endocrine Disorders.* Berlin: Springer-Verlag, 1995. p. 75-82.
167. Gabutti V, Piga A. Results of long-term iron–chelating therapy. *Acta Hematol* 1996; 95:6-36.
168. Chern JP, Lin KH. Hypoparathyroidism in transfusiondependent patients with beta-thalassemia. *J Pediatr Hematol*
169. Aydinok Y, Dacran S, Plat A, Kavakli K, Nigli G, Coker M, et al. Endocrine Complications in patients with betathalassemia major. *J Trop Pediatr* 2002; 48:50-54.