

# ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΡΟΥ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ Β<sub>12</sub> ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ ΥΠΟ ΑΓΩΓΗ ΜΕ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΛΕΝΗ ΠΑΣΧΑΛΙΔΟΥ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ: 4700



ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:

ΜΑΡΙΑ ΓΡΑΜΜΑΤΙΚΟΠΟΥΛΟΥ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2023

# ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΡΟΥ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ B<sub>12</sub> ΣΕ ΠΑΙΔΙΑ ΚΑΙ ΕΦΗΒΟΥΣ ΥΠΟ ΑΓΩΓΗ ΜΕ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΛΕΝΗ ΠΑΣΧΑΛΙΔΟΥ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ: 4700



ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:

ΜΑΡΙΑ ΓΡΑΜΜΑΤΙΚΟΠΟΥΛΟΥ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ

ΙΟΥΝΙΟΣ 2023

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στο προσωπικό της Παιδοενδοκρινολογικής Μονάδας της Γ΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Ιπποκράτειου Γενικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης, την παιδίατρο- παιδοενδοκρινολόγο κύρια Κωνσταντίνα Κώστα, τον διαιτολόγο- διατροφολόγο κύριο Αναστάσιο Βαμβάκη, τον νοσηλευτή κύριο Αντώνη Μπογιατζόλογου και τη γραμματέα κυρία Κωνσταντίνα Μαντζιάνα. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Κυριακή Τσιρουκίδου, παιδίατρο- παιδοενδοκρινολόγο του τμήματος, για την αμέριστη υποστήριξη και την πολύτιμη βοήθειά της. Η συνεισφορά της διαδραμάτισε καταλυτικό ρόλο στην εκπόνηση και την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον στατιστικολόγο κύριο Χρήστο Τζήμο, για την επεξεργασία και την ανάλυση των δεδομένων.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ:** Η Διεθνής Διαβητολογική Εταιρεία Παιδιών και Εφήβων (International Society of Pediatric and Adolescent Diabetes - ISPAD) συστήνει την έναρξη μετφορμίνης για την διαχείριση καταστάσεων που χαρακτηρίζονται από Ινσουλινοαντίσταση και την ομαλοποίηση εμμηνορροϊκών διαταραχών που παρατηρούνται σε έφηβες με Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών. Ανεπιθύμητη δράση της προαναφερόμενης θεραπείας συνιστά η εκδήλωση βιοχημικής ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub>, η οποία αναδείχτηκε κυρίως σε μελέτες που διενεργήθηκαν σε ενήλικες.

**ΣΚΟΠΟΣ:** Σκοπός της παρούσας μελέτης πασχόντων- μαρτύρων ήταν η αξιολόγηση της επάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> σε παιδιατρικούς ασθενείς που λάμβαναν μετφορμίνη, σε σύγκριση με συνομηλικούς τους, στους οποίους δεν χορηγούταν η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία.

**ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ:** Το δείγμα συγκροτήθηκε από 69 παιδιά και εφήβους, που χωρίστηκαν σε δύο ομάδες με κριτήριο τη λήψη (n=23) ή μη (n=46) μετφορμίνης. Ανθρωπομετρικά, αιματολογικά και δεδομένα διατροφικής πρόσληψης συλλέχθηκαν από όλους τους συμμετέχοντες.

**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:** Τα παιδιά που λάμβαναν μετφορμίνη ήταν μεγαλύτερα ηλικιακά (p<0,001), είχαν υψηλότερο βάρος (p≤0,001) και ύψος (p≤0,001) σε σχέση με εκείνα που δεν βρίσκονταν υπό θεραπεία. Ωστόσο, διαφορά δεν σημειώθηκε στο ΔΜΣ (z-scores) τους. Οι συγκεντρώσεις Βιταμίνης B<sub>12</sub>, 25(OH)Βιταμίνης D, Γλυκόζης και Ινσουλίνης νηστείας, Ασβεστίου, SHBG και HOMA-IR, δεν διέφεραν ανάμεσα στους ασθενείς που έλαβαν ή όχι μετφορμίνη. Ωστόσο, οι συμμετέχοντες της πρώτης ομάδας είχαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις Φωσφόρου (p≤0,001) και Αλκαλικής Φωσφατάσης (p<0,001) και υψηλότερα επίπεδα Δ4 Ανδροστενδιόνης (p<0,001) και DHEA-S (p<0,001) σε σχέση με εκείνους που δεν λάμβαναν θεραπεία. Βιοχημική ανεπάρκεια Βιταμίνης B<sub>12</sub> (<140 pg/ml) εντοπίστηκε μόνο σε 4 μέλη (17%) της ομάδας των πασχόντων. Στην ομάδα αυτή καταγράφηκε υψηλότερη διαιτητική πρόσληψη Βιταμίνης B<sub>12</sub>, που προερχόταν εξ

ολοκλήρου από διατροφικές πηγές, μιας και κανένα από τα μέλη της δεν λάμβανε κάποιο από του στόματος συμπλήρωμα διατροφής, που να περιέχει κοβαλαμίνη. Το παραπάνω εύρημα πιθανώς αντιστάθμισε τα χαμηλά επίπεδα B<sub>12</sub> ορού, που ενδεχομένως εμφανίστηκαν εξαιτίας της χορηγούμενης θεραπείας.

**ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:** Παρά την απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς στις συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων και την υψηλότερη κατανάλωση Βιταμίνης B<sub>12</sub> από τους πρώτους, βιοχημική ανεπάρκεια εντοπίστηκε μόνο σε συμμετέχοντες που λάμβαναν μετφορμίνη. Για το λόγο αυτό, προτείνεται τακτική παρακολούθηση των επίπεδων βιταμίνης B<sub>12</sub> σε παιδιατρικούς ασθενείς που βρίσκονται υπό αγωγή με μετφορμίνη.

**Λέξεις- Κλειδιά:** Ινσουλινοαντίσταση, Προδιαβήτης, Παχυσαρκία, Εμμηνορροϊκές διαταραχές, Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών

# **“Serum Concentrations and Dietary Intake of Vitamin B<sub>12</sub> in Children and Adolescents on Metformin”**

## **ABSTRACT**

**INTRODUCTION:** The International Society of Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD) suggests the initiation of metformin for the management of conditions characterized by insulin resistance and normalization of menstrual disturbances in adolescent girls with Polycystic Ovary Syndrome. The adverse effect of the aforementioned treatment is the manifestation of biochemical vitamin B<sub>12</sub> deficiency, which emerged mainly in studies conducted on adults.

**OBJECTIVE:** The purpose of this case- control study was to evaluate the vitamin B<sub>12</sub> status in pediatric metformin-receiving patients, compared to their peers, who were not administered this medical substance.

**RESULTS:** Children on metformin were older ( $p < 0,001$ ), and had higher weight ( $p \leq 0,001$ ) and height ( $p \leq 0,001$ ) than those who were not on treatment. However, no difference was noted in their BMI (z-scores). Concentrations of Vitamin B<sub>12</sub>, 25(OH)Vitamin D, Fasting Glucose and Insulin, Calcium, SHBG and HOMA-IR did not differ between patients receiving or not metformin. However, participants in the first group had lower concentrations of Phosphorus ( $p \leq 0,001$ ) and Alkaline Phosphatase ( $p < 0,001$ ) and higher levels of d4 Androstenedione ( $p < 0,001$ ) and DHEA-S ( $p < 0,001$ ) than those who were not receiving treatment. Biochemical Vitamin B<sub>12</sub> deficiency ( $< 140$  pg/ml) was detected only in 4 members (17%) of the patients group. In this group, a higher dietary intake of Vitamin B<sub>12</sub> was recorded, which came entirely from dietary sources, since none of its members took any cobalamin-enriched oral nutritional supplement. This finding probably compensated for the low serum B<sub>12</sub> levels, which may have occurred due to the administered treatment.

**CONCLUSIONS:** Despite the absence of a statistical significant difference in cobalamin concentrations between patients and controls and the higher Vitamin B<sub>12</sub> consumption by

the former, biochemical deficiency was detected only in participants receiving metformin. That's why regular monitoring of Vitamin B<sub>12</sub> levels is recommended in pediatric patients treated with metformin.

**Keywords:** Insulin Resistance, Prediabetes, Obesity, Menstrual Disorders, Polycystic Ovary Syndrome

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ (ξενόγλωσσες).....	4
ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ (ελληνικές) .....	5
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	6
1.1 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση .....	6
1.1.1 ΒΙΤΑΜΙΝΗ B <sub>12</sub> – ΚΟΒΑΛΑΜΙΝΗ.....	6
1.1.1.1 ΧΗΜΕΙΑ.....	6
1.1.1.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ.....	7
1.1.1.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ.....	9
1.1.1.4 ΠΗΓΕΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ.....	10
1.1.1.4.1 Κρέας.....	11
1.1.1.4.2 Γαλακτοκομικά προϊόντα.....	11
1.1.1.4.3 Αυγά .....	12
1.1.1.4.4 Οστρακοειδή.....	12
1.1.1.4.5 Ψάρια.....	12
1.1.1.4.6 Δημητριακά πρωινού εμπλουτισμένα με B <sub>12</sub> .....	12
1.1.1.5 ΗΜΕΡΗΣΙΕΣ ΑΝΑΓΚΕΣ- ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΕΣ ΠΡΟΣΛΗΨΕΙΣ .....	13
1.1.1.6 ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ B <sub>12</sub> .....	14
1.1.1.6.1 Αιτίες ανεπάρκειας βιταμίνης B <sub>12</sub> .....	14
1.1.1.6.2 Επιπτώσεις ανεπάρκειας βιταμίνης B <sub>12</sub> .....	15
1.1.1.6.3 Διάγνωση Βιοχημικής Ανεπάρκειας βιταμίνης B <sub>12</sub> .....	17
1.1.2 ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ.....	19
1.1.2.1 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ- ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ .....	19
1.1.2.2 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ.....	19
1.1.2.3 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ.....	21
1.1.2.4 ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ- ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗ (INSULIN RESISTANCE, IR) .....	24
1.1.2.5 ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ- PCOS.....	25
1.1.2.6 ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗΣ .....	27
1.1.2.6.1 Γαστρεντερικές Διαταραχές.....	27
1.1.2.6.2 Γαλακτική Οξέωση .....	28
1.1.2.6.3 Ανεπάρκεια Βιταμίνης B <sub>12</sub> .....	28
1.1.3 ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	29



1.2	Σκοπός.....	34
2.	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	35
2.1	Δείγμα.....	35
2.2	Εργαλεία Μέτρησης.....	37
2.2.1	Εργαλεία Μέτρησης Ανθρωπομετρικών Χαρακτηριστικών.....	38
2.2.2	Εργαλεία Προσδιορισμού Αιματολογικών Δεικτών.....	38
2.2.3	Εργαλεία Συλλογής και Αξιολόγησης Δεδομένων Διατροφικής Πρόσληψης...39	
2.3	Διαδικασία Συλλογής Δεδομένων.....	40
2.3.1	Έγκριση Επιτροπής Βιοηθικής και Έντυπο Συγκατάθεσης.....	40
2.3.2	Ένταξη Συμμετεχόντων στη μελέτη.....	40
2.3.3	Διαδικασία Συλλογής Δημογραφικών Δεδομένων και Λήψη Ιατρικού-φαρμακευτικού Ιστορικού.....	41
2.3.4	Διαδικασία Συλλογής Ανθρωπομετρικών Δεδομένων.....	41
2.3.5	Διαδικασία Συλλογής Δειγμάτων Αίματος.....	42
2.3.6	Διαδικασία Συλλογής Δεδομένων Διατροφικής Πρόσληψης.....	42
2.3.7	Ορισμός Βιοχημικής Ανεπάρκειας Βιταμίνης B <sub>12</sub> .....	44
2.4	Στατιστική Ανάλυση.....	44
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	46
3.1	Κατηγοριοποίηση ασθενών ως προς τη λήψη μετφορμίνης.....	46
3.1.1	Αιματολογικά Αποτελέσματα.....	46
3.1.2	Αποτελέσματα Διατροφικής Πρόσληψης.....	47
3.2	Κατηγοριοποίηση ασθενών ως προς το φύλο.....	50
3.2.1	Αιματολογικά Αποτελέσματα.....	51
3.2.2	Αποτελέσματα Διατροφικής Πρόσληψης.....	52
3.3	Κατηγοριοποίηση ασθενών ως προς το ΔΜΣ (z-scores).....	54
3.3.1	Αιματολογικά Αποτελέσματα.....	55
3.3.2	Αποτελέσματα Διατροφικής Πρόσληψης.....	56
3.4	Διερεύνηση μεταβλητότητας ως προς το Φύλο και το ΔΜΣ (z-scores).....	57
3.5	Διερεύνηση Στατιστικά Σημαντικών Συσχετίσεων ανάμεσα σε Μεταβλητές της μελέτης και το ΔΜΣ (z-scores) των συμμετεχόντων.....	61
3.6	Κατανομή Συχνότητας Κατανάλωσης Διατροφικών Πηγών Βιταμίνης B <sub>12</sub> του δείγματος.....	63
4.	ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	65

4.1	Συνοπτική αναφορά στο σκοπό της έρευνας, τα κυριότερα ευρήματά της και σχολιασμός αυτών.....	65
4.2	Σύγκριση αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης που αφορούν στην βιταμίνη B <sub>12</sub> με τα αντίστοιχα άλλων ερευνών.....	66
4.3	Αξιολόγηση επιπέδων και διάγνωση βιοχημικής ανεπάρκειας Βιταμίνης B <sub>12</sub> .....	68
4.4	Μηχανισμός Απορρόφησης Βιταμίνης B <sub>12</sub> .....	70
4.5	Συσχέτιση Βιταμίνης B <sub>12</sub> με την Παχυσαρκία.....	70
4.6	Πολυμορφισμός στο γονίδιο που κωδικοποιεί τη σύνθεση του ενζύμου MTHFR.....	71
4.7	Σύγκριση αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης που αφορούν στην βιταμίνη D με τα αντίστοιχα άλλων ερευνών.....	72
4.8	Περιορισμοί και Πλεονεκτήματα.....	73
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	74
6.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	76
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α- ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	82
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β- ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ.....	84

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ (ξενόγλωσσες)

ADA	American Diabetes Association
ISPAD	International Society of Pediatric Diabetes
PCOS	Polycystic Ovary Syndrome
IF	Intrinsic Factor
TC	Transcobalamin
USDA	United States Department of Agriculture
DRI	Dietary Reference Intake
AI	Adequate Intake
holo-TC	holotranscobalamin
MMA	methylmalonic acid
tHcy	total Homocystein
PMAT	Plasma Membrane Monoamine Transporter
OCT	Organic Cation Transporter
AMPK	Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase
MATE	Multidrug and Toxin Extrusion
GLP-1	Glucagon Like Peptide-1
IR	Insulin Resistance
FDA	Food and Drug Administration
DPP	Diabetes Prevention Program
RCT	Randomized Controlled Trial
DSRAs	Dopamine and Serotonin Receptor Antagonists
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance
WHO	World Health Organization
ALP	Alkaline Phosphatase
SHBG	Sex Hormone Binding Globulin
DHEA-S	Sulfate Dehydroepiandrosterone
ONS	Oral Nutritional Supplements
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
RMR	Rest Metabolic Rate
PAL	Physical Activity Level
PUFA	Polyunsaturated Fatty Acids
MUFA	Monounsaturated Fatty Acids
SFA	Saturated Fatty Acids
SNP	Single-Nucleotide Polymorphism
MTHFR	methylene tetrahydrofolate reductase
AAP	American Academy of Pediatrics

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ (ελληνικές)

ΣΔτ2	Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2
ΔΜΣ	Δείκτης Μάζας Σώματος
ΣΒ	Σωματικό Βάρος
ΑΟ	Αυξητική Ορμόνη
ΗΣΚΤ	Ημερολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων
ΕΗΕΔ	Εκτιμώμενη Ημερήσια Ενεργειακή Δαπάνη

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σύμφωνα με τις συστάσεις της Αμερικανικής Ένωσης Διαβήτη (American Diabetes Association- ADA), η μετφορμίνη συνιστά φάρμακο εκλογής για τη διαχείριση του Σακχαρώδους Διαβήτη τύπου 2 (ΣΔτ2) εδώ και πολλές δεκαετίες (American Diabetes Association, 2022). Για τους νεότερους ασθενείς, η Διεθνής Διαβητολογική Εταιρεία Παιδιών και Εφήβων (International Society of Pediatric and Adolescent Diabetes- ISPAD) συστήνει την έναρξη φαρμακευτικής θεραπείας με μετφορμίνη και ινσουλίνη, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό, αναλόγως με το μεταβολικό προφίλ του εκάστοτε ατόμου και τον κίνδυνο εμφάνισης διαβητικής κετοξέωσης (Shah et al., 2022). Παράλληλα, η χρήση μετφορμίνης φαίνεται ότι συμβάλλει στην ομαλοποίηση των εμμηνορροϊκών διαταραχών, που παρατηρούνται συχνά σε έφηβες οι οποίες πάσχουν από Σύνδρομο Πολυκυστικών Ωοθηκών (Polycystic Ovary Syndrome, PCOS) (Shah et al., 2022). Ωστόσο, σύμφωνα με την ADA, η μακροχρόνια χορήγηση της προαναφερόμενης φαρμακευτικής ουσίας ενδέχεται να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης βιοχημικής ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> (American Diabetes Association, 2022). Η ISPAD έχει επισημάνει την αυξημένη πιθανότητα εκδήλωσης της παραπάνω επιπλοκής και στους παιδιατρικούς ασθενείς που θεραπεύονται με μετφορμίνη, παρά το γεγονός ότι τα διαθέσιμα ερευνητικά δεδομένα είναι πολύ λιγότερα σε σχέση με τα αντίστοιχα που προέρχονται από μελέτες στον ενήλικο πληθυσμό (Shah et al., 2022).

## 1.1 Βιβλιογραφική Ανασκόπηση

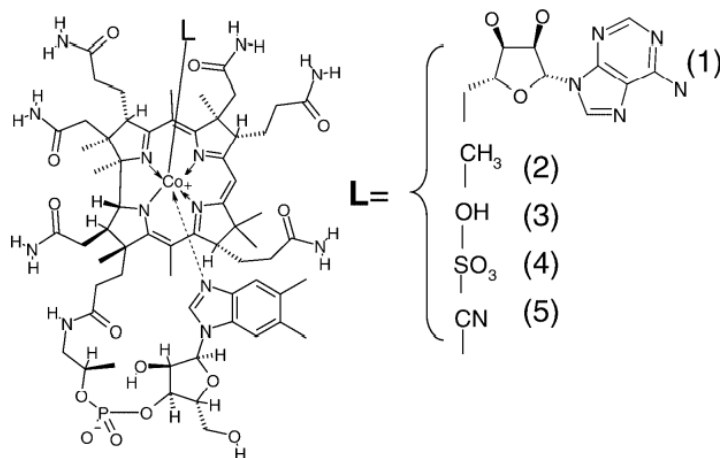
Το κεφάλαιο αυτό έχει ως σκοπό να παρουσιάσει τις έννοιες που είναι αναγκαίες για την κατανόηση αυτής της έρευνας (υποκεφάλαια 1.1.1 και 1.1.2) αλλά και την βιβλιογραφία που είναι σχετική με την παρούσα μελέτη (υποκεφάλαιο 1.1.3).

### 1.1.1 ΒΙΤΑΜΙΝΗ B<sub>12</sub> – ΚΟΒΑΛΑΜΙΝΗ

#### 1.1.1.1 ΧΗΜΕΙΑ

Η Βιταμίνη B<sub>12</sub>, γνωστή και ως κοβαλαμίνη, δεν είχε ανακαλυφθεί μέχρι το 1948 και η δομή της έγινε γνωστή το 1955 (Allen et al., 2018). Χημικά, η κοβαλαμίνη είναι ένα σύστημα δακτυλίου κορρίνης, που αποτελείται από δακτυλίους πυρρόλης, οι οποίοι συγκρατούν στο

κέντρο τους ένα άτομο κοβαλτίου (Co). Η Βιταμίνη B<sub>12</sub> είναι ένας γενικός όρος, που χρησιμοποιείται για μία σειρά κορρινοειδών (ενώσεων που περιέχουν κοβάλτιο), στα οποία είναι προσκολλημένες διάφορες πλευρικές ομάδες (L), με βάση τις οποίες διαφοροποιούνται τα ανάλογα της B<sub>12</sub> (Allen et al., 2018). Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η 5-δεοξυ-αδενοσυλο-κοβαλαμίνη, η μεθυλο-κοβαλαμίνη, η υδροξυ-κοβαλαμίνη, η σουλφίτο-κοβαλαμίνη και η κυανο-κοβαλαμίνη (Allen et al., 2018). Η χημική δομή του βασικού μορίου και των αναλόγων του παρουσιάζεται στην [Εικόνα 1](#) (Watanabe, 2007). Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι οι δραστικές ουσίες που απαντώνται στη φύση είναι η 5-δεοξυ-αδενοσυλο- και η μεθυλο-κοβαλαμίνη, ενώ σε συμπληρώματα και φαρμακευτικά σκευάσματα χρησιμοποιούνται η κυανο- και η υδροξυ-κοβαλαμίνη (Allen et al., 2018).

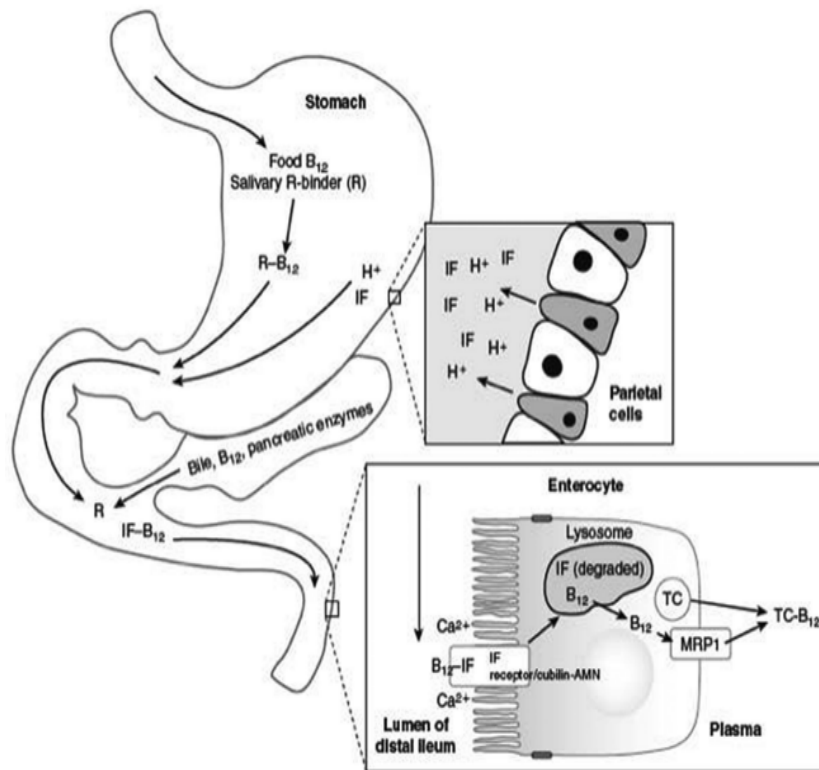


Εικόνα 1: Χημική δομή Βιταμίνης B<sub>12</sub> και χημική δομή αναλόγων της. Σχετικά, με την δομή των υποενώσεων της B<sub>12</sub> παρουσιάζονται μόνο τα τμήματά τους που διαφέρουν από το βασικό μόριο της συγκεκριμένης βιταμίνης. 1: 5- δεοξυ-αδενοσυλο-κοβαλαμίνη, 2: μεθυλο-κοβαλαμίνη, 3: υδροξυ-κοβαλαμίνη, 4: σουλφίτο-κοβαλαμίνη, 5: κυανο-κοβαλαμίνη. (Watanabe, 2007)

### 1.1.1.2 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Στις τροφές η βιταμίνη B<sub>12</sub> απαντάται κυρίως συνδεδεμένη με πρωτεΐνες, αλλά και σε ελεύθερη μορφή. Καθώς προσλαμβάνεται η τροφή, η ελεύθερη B<sub>12</sub> συνδέεται με τις γλυκοπρωτεΐνες του σιέλου, οι οποίες ονομάζονται απτοκορρίνες ή πρωτεΐνες R. Η συνδεδεμένη με πρωτεΐνη B<sub>12</sub> απελευθερώνεται από την πεψίνη του στομάχου και μέρος της συνδέεται εκ νέου στις απτοκορρίνες (πρωτεΐνες R) στο εγγύς λεπτό έντερο. Η δραστηριότητα της παγκρεατικής θρυψίνης απελευθερώνει και πάλι την B<sub>12</sub>, η οποία

συνδέεται τελικά με τον ενδογενή παράγοντα (intrinsic factor-IF), που παράγεται από τα τοιχωματικά κύτταρα του γαστρικού βλεννογόνου. Όταν βρεθεί στον ειλεό, το σύμπλεγμα κοβαλαμίνης- IF συνδέεται με ειδικούς υποδοχείς του βλεννογόνου, οι οποίοι διευκολύνουν την ενεργητική της απορρόφηση. Η παθητική διάχυση, όταν έχουμε μεγάλες συγκεντρώσεις την εν λόγω βιταμίνης, είναι περιορισμένη. Στον εντερικό βλεννογόνο, η B<sub>12</sub> είναι συνδεδεμένη με την τρανσκοβαλαμίνη II (TC-II), μία πρωτεΐνη δέσμευσης του πλάσματος, που τη μεταφέρει μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. Η πέψη και η απορρόφηση της B<sub>12</sub> παρουσιάζονται σχηματικά στην [Εικόνα 2](#) (Allen et al., 2018).



Εικόνα 2: Πέψη και απορρόφηση της διατροφικής κοβαλαμίνης. Στην ενεργητική απορρόφηση (με τη μεσολάβηση υποδοχέα- μεταφορά εξαρτώμενη από τα κατιόντα Ασβεστίου) η διατροφική B<sub>12</sub> απελευθερώνεται στον στόμαχο και συνδέεται με την δεσμευτική πρωτεΐνη R του σιέλου. Το σύμπλεγμα πρωτεΐνης R-B<sub>12</sub> και ο IF μεταφέρονται στον ειλεό όπου η B<sub>12</sub> αποδεσμεύεται από την πρωτεΐνη R και συνδέεται με τον IF. Το σύμπλεγμα IF-B<sub>12</sub> εισέρχεται στο εντεροκύτταρο του ειλεού, όπου ο IF αποικοδομείται και η B<sub>12</sub> απελευθερώνεται στο πλάσμα. Κατόπιν, προσκολλάται και μεταφέρεται με την TC μέσω της κυκλοφορίας του αίματος. (IF: ενδογενής παράγοντας, TC: τρανσκοβαλαμίνη). (Allen et al., 2018)

Η κυτταρική πρόσληψη συμβαίνει μέσω ενδοκυττάτωσης με την μεσολάβηση υποδοχέων. Το ήπαρ την μετατρέπει στις δραστικές μορφές των συνενζύμων 5-δεοξυ-αδενοσυλοκοβαλαμίνη και μεθυλο-κοβαλαμίνη. Το ήπαρ αποθηκεύει το 60% της συνολικής B<sub>12</sub> του σώματος (2-5 mg). Μέρος της απεκκρίνεται συνεχώς μέσω της χολής και ανακυκλώνεται αποτελεσματικά μέσω της εντεροηπατικής κυκλοφορίας (Allen et al., 2018).

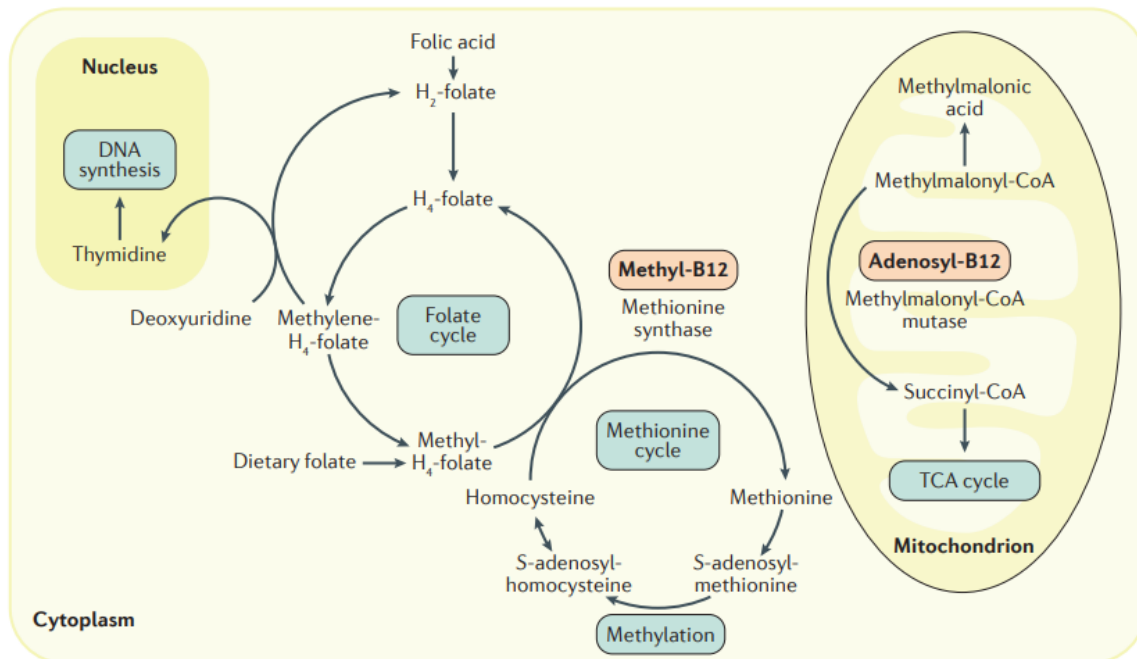
#### 1.1.1.3 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ

Η βιταμίνη B<sub>12</sub>, ως συνένζυμο, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στον κυτταρικό μεταβολισμό και ειδικότερα στην σύνθεση DNA, την μεθυλίωση και την παραγωγή ενέργειας. Στο κυτταρόπλασμα η δραστική μορφή της είναι η μεθυλοκοβαλαμίνη, η οποία συνδεδεμένη με ένζυμο (που ονομάζεται συνθάση της μεθειονίνης), συμμετέχει στη μεταφορά μεθυλικών ομάδων, για τη σύνθεση της μεθειονίνης από την ομοκυστεΐνη. Αυτή η αντίδραση αναγεννά το μεθυλο-τετραϋδροφολικό οξύ και σχηματίζεται το δραστικό τετραϋδροφολικό οξύ. Έτσι, ο μεταβολισμός της B<sub>12</sub> συνδέεται με το μεταβολισμό του φολικού οξέος. Το τετραϋδροφολικό οξύ μετατρέπεται σε μεθυλενο-τετραϋδροφολικό οξύ, το οποίο μπορεί να αξιοποιηθεί στον πυρήνα για τη παραγωγή θυμιδίνης, που είναι απαραίτητη για την σύνθεση DNA. Ως εκ τούτου, η ανεπάρκεια είτε φολικού οξέος, είτε B<sub>12</sub> έχει ως αποτέλεσμα την ίδια βιοχημική διαταραχή, δηλαδή αδυναμία σύνθεσης θυμιδίνης και κατ' επέκταση DNA (Green et al., 2017).

Στο μιτοχόνδριο η δραστική μορφή της B<sub>12</sub> είναι η αδενοσυλοκοβαλαμίνη, η οποία συνδεδεμένη με ένζυμο, συμμετέχει στη μετατροπή του μεθυλομαλονυλο-CoA (μεθυλομαλονικό οξύ που συνδέεται με το ακέτυλο συνένζυμο A) στο σουκινυλο-CoA. Το τελευταίο, συμμετέχει στον κύκλο του Krebs και την παραγωγή ενέργειας στα μιτοχόνδρια (Green et al., 2017).

Στην [Εικόνα 3](#) παρουσιάζονται συνοπτικά οι μεταβολικές διεργασίες που αναφέρθηκαν παραπάνω (Green et al., 2017).





Εικόνα 3: Μεταβολισμός και λειτουργίες βιταμίνης B<sub>12</sub> και φολικού οξέος. (Green et al., 2017)

#### 1.1.1.4 ΠΗΓΕΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ

Ο ανθρώπινος οργανισμός αδυνατεί να συνθέσει βιταμίνη B<sub>12</sub> από άλλες ενώσεις και για το λόγο αυτό εξαρτάται ολοκληρωτικά από την διαιτητική πρόσληψη της εν λόγω ουσίας. Η Εθνική Βάση Δεδομένων Θρεπτικών Συστατικών του Υπουργείου Γεωργίας των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (United States Department of Agriculture- USDA), στην 25η δημοσίευσή της, παραθέτει με τον πιο επικαιροποιημένο και εκτενή τρόπο πληροφορίες σχετικά με την περιεκτικότητα των τροφίμων σε B<sub>12</sub>. Στον Πίνακα 1 συνοψίζονται τα τρέχοντα δεδομένα για επιλεγμένα τρόφιμα. Ελάχιστα μόνο παρουσιάζουν εξαιρετικά υψηλή περιεκτικότητα σε B<sub>12</sub>, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται τα οστρακοειδή και το συκώτι. Οι μόνες φυσικές διατροφικές πηγές κοβαλαμίνης, που καταναλώνονται ευρέως από τον γενικό πληθυσμό, είναι τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης στα οποία συμπεριλαμβάνονται το κρέας, το συκώτι, το ψάρι, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και τα αυγά (Allen et al., 2018).

Πίνακας 1: Περιεκτικότητα σε βιταμίνη B<sub>12</sub> επιλεγμένων τροφίμων. (Allen et al., 2018)

ΤΡΟΦΙΜΟ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	μg/ποσότητα αναφοράς
μύδια (μαγειρεμένα)	100g	84
σुकώτι μοσχαρίσιο (μαγειρεμένο)	100g	71
πέστροφα (μαγειρεμένη)	100g	3,5
σολομός (μαγειρεμένος)	100g	5
δημητριακά πρωινού εμπλουτισμένα με B <sub>12</sub> (100% της ημερήσιας δόσης)	1 μερίδα (σύμφωνα με τη συσκευασία)	6
τόνος (κονσέρβα σε νερό)	100g	2,5
μοσχαρίσιο φιλέτο (ψημένο)	100g	1,4
γάλα (χαμηλών λιπαρών)	1 κούπα=247 ml	1,2
γιαούρτι (χαμηλών λιπαρών)	227g	1,1
τυρί (ελβετικό)	100g	0,9
αυγό (μαγειρεμένο)	1 (μεγάλο)	0,6
κοτόπουλο (στήθος, μαγειρεμένο)	100g	0,3

Ακολούθως, παρατίθεται ορισμένες επιπλέον πληροφορίες σχετικά με την περιεκτικότητα σε B<sub>12</sub> των τροφίμων που αναφέρθηκαν στον Πίνακα 1.

#### 1.1.1.4.1 Κρέας

Σύμφωνα με την βάση δεδομένων του USDA, η περιεκτικότητα σε B<sub>12</sub> του μοσχαρίσιου σукωτιού, του καθαρού κρέατος και της γαλοπούλας υπολογίζεται στα 83, 3 και 33 μg/100g μαγειρεμένου προϊόντος, αντιστοίχως. Οι απώλειες κατά τη διάρκεια του μαγειρέματος, εξαιτίας της θερμικής επεξεργασίας που υφίσταται το κρέας, είναι σημαντικές και ανέρχονται σε ποσοστό 33% της αρχικής περιεκτικότητας σε B<sub>12</sub> (Watanabe, 2007).

#### 1.1.1.4.2 Γαλακτοκομικά προϊόντα

Μολονότι τα γαλακτοκομικά προϊόντα δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλή περιεκτικότητα σε B<sub>12</sub>, συνιστούν σημαντική πηγή πρόσληψης της εν λόγω βιταμίνης, λόγω της ευρείας κατανάλωσής τους από τον γενικό πληθυσμό. Όπως και στο κρέας έτσι και στο γάλα, σημαντικές απώλειες έχουν αναφερθεί κατά την επεξεργασία του. Αντιθέτως, η διατήρηση

παστεριωμένου γάλακτος για 9 μέρες, υπό συνθήκες που προσομοιάζουν εκείνες που επικρατούν στα οικιακά ψυγεία ή τα αντίστοιχα των σουπερ μάρκετ, δεν οδήγησε σε αισθητή μείωση της συγκέντρωσης της B<sub>12</sub> του προϊόντος. Επιπλέον, τυριά τύπου cottage, μπλε και σκληρά διατηρούν το 20-60% της αρχικής περιεκτικότητάς τους σε B<sub>12</sub>. Η απώλεια αυτή αποδίδεται στη δράση του γαλακτικού οξέος κατά τη ζύμωση (Watanabe, 2007).

#### *1.1.1.4.3 Αυγά*

Το αυγό αποτελεί εξαιρετικά δημοφιλές τρόφιμο και για τον λόγο αυτό η πρόσληψη της εν λόγω βιταμίνης μέσω αυτού, είναι σημαντική. Η περιεκτικότητα σε B<sub>12</sub> ολόκληρου του αυγού κυμαίνεται στα 0,9- 1,4 μg/100g, και το μεγαλύτερο μέρος της βρίσκεται στον κρόκο. Ωστόσο αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι η B<sub>12</sub> που προέρχεται από τα αυγά, απορροφάται λιγότερο σε σχέση με εκείνη που προέρχεται από άλλα τρόφιμα ζωικής προέλευσης (Watanabe, 2007).

#### *1.1.1.4.4 Οστρακοειδή*

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, τα οστρακοειδή, κυρίως τα μύδια και τα στρείδια, αποτελούν εξαιρετική πηγή πρόσληψης B<sub>12</sub>. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στην ικανότητά τους να απορροφούν και να συγκρατούν μεγάλες ποσότητες μικροοργανισμών που συνθέτουν την συγκεκριμένη βιταμίνη στη θάλασσα (Watanabe, 2007).

#### *1.1.1.4.5 Ψάρια*

Η περιεκτικότητα σε B<sub>12</sub> συγκεκριμένων ειδών ψαριού (όπως ο σολομός, η πέστροφα και ο τόνος) κυμαίνεται από 3,0- 8,9 μg/100g. Εν αντιθέσει με το κρέας και το γάλα, οι απώλειες που προκαλούνται με τις διάφορες μεθόδους μαγειρέματος του ψαριού είναι αμελητέες και εκτιμώνται στο 2,3- 14,8% της αρχικής περιεκτικότητας του συγκεκριμένου τροφίμου σε B<sub>12</sub> (Watanabe, 2007).

#### *1.1.1.4.6 Δημητριακά πρωινού εμπλουτισμένα με B<sub>12</sub>*

Η κατανάλωση δημητριακών πρωινού εμπλουτισμένων με φολικό οξύ, κοβαλαμίνη και βιταμίνη B<sub>6</sub> δύναται να αυξήσει τα επίπεδα των συγκεκριμένων βιταμινών στο γενικό πληθυσμό. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι τα παραπάνω τρόφιμα συνιστούν

ιδιαίτερως πολύτιμη πηγή βιταμίνης B<sub>12</sub> για άτομα που έχουν υιοθετήσει κάποιο χορτοφαγικό μοντέλο διατροφής (Watanabe, 2007).

#### *1.1.1.5 ΗΜΕΡΗΣΙΕΣ ΑΝΑΓΚΕΣ- ΣΥΝΙΣΤΩΜΕΝΕΣ ΠΡΟΣΛΗΨΕΙΣ*

Οι ανάγκες σε βιταμίνη B<sub>12</sub> των υγιών ενηλίκων είναι 1-2 μg/ ημέρα. Επειδή το 10-30% των ηλικιωμένων παρουσιάζει απώλεια περίπου 50% της προσλαμβανόμενης B<sub>12</sub>, λόγω δυσασπορόφησης, η Διαιτητική Πρόσληψη Αναφοράς (Dietary Reference Intake, DRI) αυξάνεται στα 2,4 μg/ημέρα. Μάλιστα συστήνεται η χορήγηση αυτών των ποσοτήτων μέσω συμπληρωμάτων ή εμπλουτισμένων τροφίμων, που περιέχουν B<sub>12</sub> σε κρυσταλλική, ευκόλως απορροφούμενη μορφή (Allen et al., 2018).

Το DRI για τις γυναίκες κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης αυξάνεται κατά 0,2 μg/ημέρα, προκειμένου να καλυφθούν και οι απαιτήσεις του εμβρύου. Κατά την περίοδο του θηλασμού, παρουσιάζει περεταίρω αύξηση ώστε να αναπληρωθούν οι ποσότητες που εκκρίνονται μέσω του μητρικού γάλακτος. Η Επαρκής Πρόσληψη (Adequate Intake, AI) για τα βρέφη βασίζεται στην εκτιμώμενη πρόσληψη μέσω του μητρικού γάλακτος, η οποία υπολογίζεται στα 300 pmol/L. Οι συστάσεις για τα παιδιά κινούνται σε παρόμοια επίπεδα με αντίστοιχες των ενηλίκων, αλλά ελαφρώς μειωμένα (Allen et al., 2018).

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται επιλεγμένα παραδείγματα συστάσεων πρόσληψης B<sub>12</sub> ανάλογα με την ηλικία, το φύλο και το στάδιο ζωής, με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες διαφόρων οργανισμών παγκοσμίως (Allen et al., 2018).

Πίνακας 2: Επιλεγμένα παραδείγματα συστάσεων πρόσληψης B<sub>12</sub> παγκοσμίως (μg/ημέρα). (Allen et al., 2018)

Age/gender/life-stage	Dietary Reference	Nutrient Reference	Dietary Reference	Nordic Nutrition	Indian		
	Intakes, United States/Canada (15)	Recommended Nutrient Intakes, FAO/WHO (120)	Values, Australia/New Zealand (121)	Reference Values, United Kingdom (122)	Recommended Dietary Allowances, European Community (123)	Recommendations (124)	Recommended Dietary Allowances (125)
	RDA/AI	RNI	RDI	RNI	AI	RI	
Infants							
0–6 mo	0.4 <sup>2</sup>	0.4 <sup>2</sup>	0.4 <sup>2</sup>	0.3	—	—	
7–12 mo	0.5 <sup>2</sup>	0.5 <sup>2</sup>	0.5 <sup>2</sup>	0.4	1.5 <sup>2</sup>	0.5	0.2
Children							
1–3 y	0.9	0.9	0.9	0.5	1.5 <sup>2</sup>		0.2–1.0
4–8 y	1.2	1.2	1.2	0.8	1.5 <sup>2</sup>	1.3	0.2–1.0
Males							
9–13 y	1.8	1.8	1.8	1.0	3.5 <sup>2</sup>	2.0	0.2–1.0
≥14 y	2.4	2.4	2.4	1.5	4.0 <sup>2</sup>	2.0	1.0
Females							
9–13 y	1.8	1.8	1.8	1.0	3.5 <sup>2</sup>	2.0	0.2–1.0
≥14 y	2.4	2.4	2.4	1.5	4.0 <sup>2</sup>	2.0	1.0
Pregnancy (all ages)	2.6	2.6	2.6	1.5	4.5 <sup>2</sup>	2.0	1.2
Lactation (all ages)	2.8	2.8	2.8	2.0	5.0 <sup>2</sup>	2.6	1.5

<sup>1</sup>AI, Adequate Intake; RDI, Recommended Dietary Intake; RI, Recommended Intake; RNI, Recommended Nutrient Intake for FAO/WHO and Reference Nutrient Intake for United Kingdom.

<sup>2</sup>Indicates an AI that is estimated to cover the needs of all in the group, but lack of data prevents being able to specify the percentage actually covered by this intake.

### 1.1.1.6 ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ B<sub>12</sub>

Κλινική ανεπάρκεια B<sub>12</sub>, που χαρακτηρίζεται από αιματολογικές και νευρολογικές δυσλειτουργίες, είναι σχετικά ασυνήθιστη. Ωστόσο, η υποκλινική ανεπάρκεια της εν λόγω βιταμίνης επηρεάζει το 2,5-26% του γενικού πληθυσμού, αναλόγως με τον ορισμό που έχει τεθεί για τη διάγνωσή της (Green et al., 2017). Η κατάσταση αυτή μπορεί να εμφανιστεί σε άτομα όλων των ηλικιών και σχετίζεται με διάφορους παθογενετικούς μηχανισμούς οι οποίοι αναλύονται παρακάτω.

#### 1.1.1.6.1 Αιτίες ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub>

Η ανεπάρκεια B<sub>12</sub> προκαλείται γενικά είτε από χαμηλή πρόσληψη είτε από δυσαπορρόφηση. Γαστρικό χειρουργείο (μερική ή πλήρης γαστρεκτομή) ή βαριατρική επέμβαση (όπως το γαστρικό μανίκι) μπορούν να οδηγήσουν σε ανεπαρκή έκκριση IF και

κατ' επέκταση μειωμένη απορρόφηση B<sub>12</sub>. Επιπλέον, χρόνια ατροφική γαστρίτιδα (η οποία χαρακτηρίζεται από χρόνια φλεγμονή που προκαλεί απώλεια κυττάρων του γαστρικού βλεννογόνου τα οποία παράγουν γαστρικό οξύ) και λήψη φαρμάκων που επηρεάζουν την έκκριση του τελευταίου ή το γαστρικό pH (όπως αναστολείς αντλίας πρωτονίων, ανταγωνιστές υποδοχέα ισταμίνης και αντιόξινα), οδηγούν σε ανεπαρκή παραγωγή υδροχλωρικού οξέος και μειώνουν τη δραστικότητα της πεψίνης. Έτσι, το σύμπλεγμα πρωτεΐνης R- B<sub>12</sub> δεν διασπάται και η απορρόφηση της βιταμίνης καθίσταται αδύνατη. Ακόμη, νόσος του παγκρέατος ή παγκρεατεκτομή συνεπάγονται ανεπαρκή έκκριση παγκρεατικών ενζύμων, αδυναμία διάσπασης του συμπλόκου πρωτεΐνης R- B<sub>12</sub> και ανεπαρκή απορρόφηση της βιταμίνης. Επίσης, άλλες εντερικές παθήσεις, όπως εκτομή ειλεού, προσβολή από παράσιτα και βακτηριακή υπερανάπτυξη, οδηγούν σε μειωμένη απορρόφηση του συμπλέγματος IF-B<sub>12</sub>. Επιπροσθέτως, ορισμένες φαρμακευτικές ουσίες όπως η χολεστυραμίνη και η μετφορμίνη επηρεάζουν το μεταβολισμό και την απορρόφηση της B<sub>12</sub> (Green et al., 2017).

Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι διάφοροι διατροφικοί παράγοντες όπως ο ευρύτερος υποσιτισμός, χορτοφαγικά μοντέλα διατροφής και ο χρόνιος αλκοολισμός συνδέονται με μειωμένη πρόσληψη κοβαλαμίνης και εντείνουν τον κίνδυνο ανεπάρκειας. Πιο σπάνια, γονιδιακές διαταραχές που εμπλέκονται στην έκφραση, τη δράση και την λειτουργικότητα των υποδοχέων των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στη μεταφορά και το μεταβολισμό της B<sub>12</sub>, μπορούν να οδηγήσουν σε καταστάσεις ανεπάρκειας. Ακόμα και η μόλυνση από τον ιό HIV και η έκθεση σε οξείδιο του αζώτου, είναι καταστάσεις οι οποίες, με πολύ μικρότερη συχνότητα σε σχέση με τις προαναφερόμενες, μπορούν να οδηγήσουν σε ανεπάρκεια B<sub>12</sub> (Green et al., 2017).

#### *1.1.1.6.2 Επιπτώσεις ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub>*

Ανεπαρκή επίπεδα B<sub>12</sub> σχετίζονται με διάφορες επιπλοκές στον ανθρώπινο οργανισμό. Η κλασική κλινική εκδήλωση είναι η εμφάνιση μακροκυτταρικής ή μεγαλοβλαστικής αναιμίας, η οποία χαρακτηρίζεται από ερυθροκύτταρα μεγάλου μεγέθους και κατακερματισμένα ουδετερόφιλα. Η μεγαλοβλαστική αναιμία που σχετίζεται με χαμηλά

επίπεδα B<sub>12</sub> είναι ουσιαστικά πανομοιότυπη με εκείνη που αποδίδεται στην ανεπάρκεια φολικού οξέος. Πιο συγκεκριμένα, το φολικό οξύ, με την μορφή του μεθυλενο-τετραϋδρο-φολικού οξέος, είναι απαραίτητο υπόστρωμα για την σύνθεση DNA, όπως αναφέρθηκε και νωρίτερα. Σε καταστάσεις ανεπάρκειας φολικού οξέος, αναστέλλεται η σύνθεση DNA στα ανώριμα ερυθροκύτταρα, που βρίσκονται στον μυελό των οστών, εμποδίζεται η μίτωση και προάγεται η κυτταροπλασματική ωρίμανση. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε μικρού αριθμού και μεγάλου μεγέθους Ερυθρά Αιμοσφαίρια στην κυκλοφορία του αίματος, γεγονός που οδηγεί στην εμφάνιση μεγαλοβλαστικής αναιμίας. Η πάθηση αυτή μπορεί να παρουσιαστεί και μέσω ενός άλλου μηχανισμού, σύμφωνα με τον οποίο, όταν τα επίπεδα της B<sub>12</sub> είναι ανεπαρκή, η μετατροπή της ομοκυστεΐνης και του μεθυλο-τετραϋδρο-φολικού οξέος σε μεθειονίνη και τετραϋδρο-φολικό οξύ αντίστοιχα, αναστέλλεται. Το φολικό οξύ παραμένει στην μορφή του μεθυλο-τετραϋδροφολικού οξέος και δεν μπορεί να αποτελέσει υπόστρωμα για τη σύνθεση DNA. Με τον τρόπο αυτό εμφανίζεται και πάλι λειτουργική ανεπάρκεια φολικού οξέος, αυξάνοντας τον κίνδυνο εκδήλωσης μεγαλοβλαστικής αναιμίας (Allen et al., 2018). Ανεπαρκή επίπεδα B<sub>12</sub> σχετίζονται με διαταραχές και στις υπόλοιπες κατηγορίες των κυττάρων του αίματος, όπως λευκοπενία, θρομβοπενία, πανκυτταροπενία ακόμα και εμφάνιση νεοπλασματικών παθήσεων στο κυκλοφορικό σύστημα (Rasmussen et al., 2001).

Παράλληλα, είναι πιθανόν να εμφανιστούν νευρολογικά προβλήματα ακόμα και επί απουσίας αιματολογικών ανωμαλιών. Σε αυτά περιλαμβάνονται παραισθήσεις, αισθητηριακά ελλείμματα, μη φυσιολογικές κινήσεις, υποτονία, αταξία ακόμα και παράλυση. Επίσης, χαμηλά επίπεδα της συγκεκριμένης βιταμίνης σχετίζονται με απώλεια μνήμης, άνοια, αλλαγές προσωπικότητας και κατάθλιψη. Μάλιστα ανεπαρκείς συγκεντρώσεις B<sub>12</sub> κατά την παιδική ηλικία συνδέονται με αναπτυξιακή καθυστέρηση, κακή σχολική επίδοση μέχρι και εκδήλωση επιληπτικών κρίσεων (Rasmussen et al., 2001).

Άλλες γενικότερες εκδηλώσεις ανεπάρκειας B<sub>12</sub> είναι αδυναμία, κόπωση, ανορεξία και ευερεθιστότητα. Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι μεταξύ των κλινικών χαρακτηριστικών

που εμφανίζονται στην κατάσταση αυτή περιλαμβάνονται γλωσσίτιδα, υπεμελάγχρωση του δέρματος, έμετος, διάρροια και ίκτερος (Rasmussen et al., 2001).

#### 1.1.1.6.3 Διάγνωση Βιοχημικής Ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub>

Η αξιολόγηση των επιπέδων B<sub>12</sub> μπορεί να πραγματοποιηθεί με τον προσδιορισμό των ακόλουθων βιοδεικτών (Allen et al., 2018):

- a) συγκέντρωση Βιταμίνης B<sub>12</sub> στον ορό ή στο πλάσμα του αίματος
- b) συγκέντρωση ολο-τρανσκοβαλαμίνης ορού (holotranscobalamin, holoTC)
- c) συγκέντρωση μεθυλμαλονικού οξέος ορού (methylmalonic acid, MMA)
- d) συγκέντρωση ολικής ομοκυστεΐνης πλάσματος (total homocystein, tHcy)

Τα διαγνωστικά κατώφλια μπορούν να αξιοποιηθούν για την εκτίμηση του επιπολασμού της ανεπάρκειας B<sub>12</sub> στην πληθυσμιακή ομάδα από την οποία προέρχεται το δείγμα της μελέτης. Ωστόσο, στην κλινική πράξη, στην πλειονότητα των περιπτώσεων, είναι πιο σωστό να γίνει αναφορά στο φυσιολογικό εύρος τιμών που έχει οριστεί ανάλογα με τον βιοδείκτη που χρησιμοποιείται στη μελέτη και τη μέθοδο προσδιορισμού που εφαρμόστηκε. Στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται συνοπτικά τα διαγνωστικά κατώφλια ανεπαρκών, οριακών και επαρκών επιπέδων B<sub>12</sub>, σε διάφορες ηλικιακές ομάδες, με βάση τα επίπεδα B<sub>12</sub> ορού ή πλάσματος (Allen et al., 2018).

Πίνακας 3: Διαγνωστικά κατώφλια ανεπαρκών, οριακών και επαρκών επιπέδων B<sub>12</sub> (ορού ή πλάσματος) σε διάφορες ηλικιακές ομάδες. (Allen et al., 2018)

Age group	Serum B12		
	Deficient pmol/L	Depleted pmol/L	Adequate/normal pmol/L
Newborn (cord blood)			120–690
6 mo			121–520
12 mo			165–580
24 mo			183–260
Adults	Severe <75, deficient 75–<150	150–221	>221

<sup>1</sup>Values are ranges. B12, vitamin B-12.



Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3, τα φυσιολογικά εύρη συγκεντρώσεων B<sub>12</sub> διαφοροποιούνται αρκετά κατά την διάρκεια των πρώτων 2 ετών ζωής. Πιο συγκεκριμένα, οι συνιστώμενες συγκεντρώσεις μειώνονται με την πάροδο του χρόνου από την γέννηση μέχρι τους 6 μήνες ζωής και έκτοτε αυξάνονται (Allen et al., 2018). Κατά την παιδική ηλικία δεν έχουν οριστεί σαφή όρια μιας και αυτά εξαρτώνται από τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν παραπάνω (Ueland and Mosen, 2003). Σε γενικές γραμμές, οι φυσιολογικές τιμές κυμαίνονται από 200-900 pg/ml και τιμές κάτω από 80 pg/ml θεωρούνται σχεδόν πάντα ανεπαρκείς στα παιδιά (Rasmussen et al., 2001).

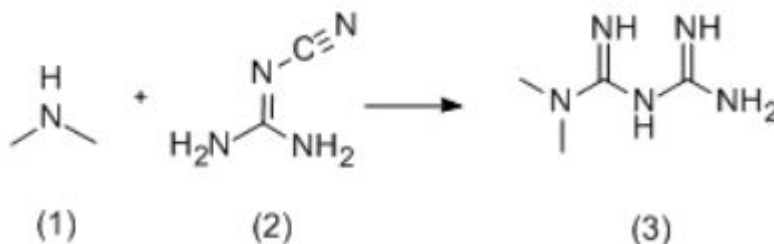
Για το 50% περίπου των ενηλίκων ατόμων, επίπεδα B<sub>12</sub> κάτω από 75 pmol/L σηματοδοτούν σοβαρή ανεπάρκεια και αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης κλινικών επιπλοκών. Τα όρια για τη διάγνωση ανεπάρκειας κυμαίνονται από 120-180 pmol/L, αναλόγως με την τεχνική που χρησιμοποιείται, και το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο κατώφλι χαμηλών επιπέδων βιταμίνης B<sub>12</sub> στον ενήλικο πληθυσμό, θεωρείται η τιμή 148 pmol/L. Τιμές εντός του εύρους 150-250 pmol/L θεωρούνται χαμηλές και σε ορισμένα άτομα δυνητικά ανεπαρκείς, αυξάνοντας τον κίνδυνο εμφάνισης επιπλοκών. Τα επιθυμητά επίπεδα κυμαίνονται σε τιμές >250 pmol/L στους ενήλικες (Allen et al., 2018).

Στον αντίποδα καταστάσεων ανεπάρκειας B<sub>12</sub>, περιπτώσεις υπερβολικής πρόσληψης της εν λόγω βιταμίνης φαίνεται να είναι σπάνιες και αβλαβείς, καθώς δεν σχετίζονται με την εμφάνιση λειτουργικών διαταραχών και δυσμενών συνεπειών στην ανθρώπινη υγεία (Viteri and Gonzalez, 2002).

## 1.1.2 ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ

### 1.1.2.1 ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ- ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Η μετφορμίνη είναι ένα διγουανίδιο το οποίο σχηματίζεται μέσω της σύντηξης δύο μορίων γουανιδίνης, συγκεκριμένα του υδροχλωριδίου διμεθυλαμίνης και της 2-κυανογουανιδίνης (Adak et al., 2018; Kim and Abbasi, 2019). Η χημική σύνθεση της μετφορμίνης παρουσιάζεται στην [Εικόνα 4](#). Η επίδρασή της στη μείωση των επιπέδων γλυκόζης έχει αναγνωριστεί από τη δεκαετία του 1920. Παρόλο που η μετφορμίνη ήταν διαθέσιμη στην Ευρώπη από τη δεκαετία του 1950, η ίδια δεν είχε λάβει έγκριση κυκλοφορίας στις Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής (ΗΠΑ) μέχρι το 1994. Έκτοτε, συνιστά το φάρμακο εκλογής για την διαχείριση του ΣΔτ2, λόγω της ρυθμιστικής της ικανότητας στις συγκεντρώσεις γλυκόζης αίματος (Kim and Abbasi, 2019).



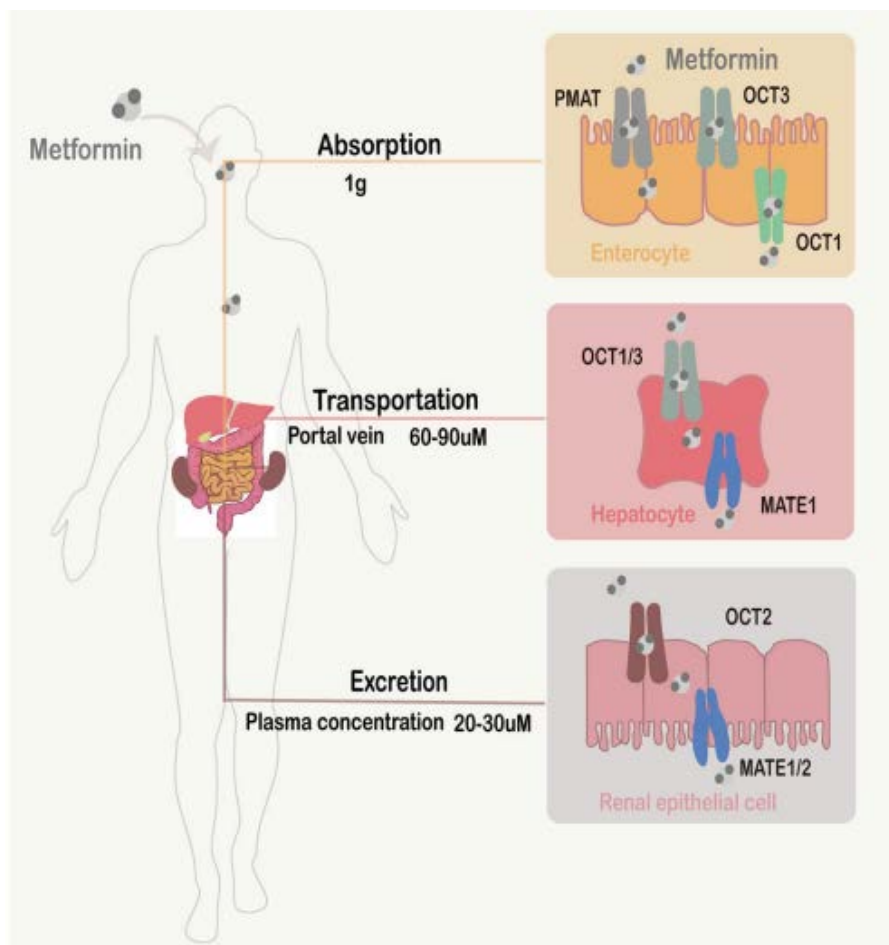
Εικόνα 4: Χημική σύνθεση μετφορμίνης (1: υδροχλωρίδιο διμεθυλαμίνης, 2: 2-κυανογουανιδίνη, 3: μετφορμίνη). (Adak et al., 2018)

### 1.1.2.2 ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ

Η μετφορμίνη δεν μεταβολίζεται και αποβάλλεται αμετάβλητη μέσω της νεφρικής απέκκρισης, αφού πρώτα κατανεμηθεί σε διάφορα όργανα. Μετά την από του στόματος χορήγηση του φαρμάκου, η μετφορμίνη απορροφάται πρώτα από το έντερο, με την μεσολάβηση μεταφορέων πρωτεϊνικής προέλευσης και πιο συγκεκριμένα του μεταφορέα μονοαμίνης της πλασματικής μεμβράνης (Plasma Membrane Monoamine Transporter, PMAT) ή του μεταφορέα οργανικών κατιόντων 3 (Organic Cation Transporter 3, OCT-3). Η απέκκρισή της από τα κύτταρα του εντέρου πραγματοποιείται με την βοήθεια των

πρωτεϊνών OCT-1. Στη συνέχεια, μεταφέρεται μέσω της πυλαίας φλέβας στο ήπαρ, όπου απορροφάται από τα ηπατοκύτταρα με την μεσολάβηση των OCT-3 και OCT-1 και κατόπιν απεκκρίνεται στην κυκλοφορία του αίματος μέσω πρωτεϊνών εξώθησης πολλαπλών φαρμάκων και τοξινών 1 (Multidrug and Toxin Extrusion 1, MATE-1). Τέλος, η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία απορροφάται από τα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρών, με τη μεσολάβηση των OCT-2 και μετά αποβάλλεται με τα ούρα μέσω των πρωτεϊνών MATE-1 και MATE-2 (Du et al., 2022).

Συνεπώς, μετά την από του στόματος χορήγηση 1g μετφορμίνης η συγκέντρωση της συγκεκριμένης φαρμακευτικής ουσίας στο πλάσμα κυμαίνεται από 20-30 μmol/L και η αντίστοιχη στην πυλαία φλέβα υπολογίζεται χοντρικά ότι θα είναι τριπλάσια (Du et al., 2022). Στην [Εικόνα 5](#) που ακολουθεί παρουσιάζονται σχηματικά όλα όσα αναλύθηκαν στην ενότητα αυτή.



Εικόνα 5: Φαρμακοκινητική μετφορμίνης. Μετά τη χορήγηση 1g μετφορμίνης, η απορρόφηση αυτής στα κύτταρα του εντέρου, του ήπατος και των νεφρών μεσολαβείται από τις πρωτεΐνες PMAT/OCT-3, OCT-1/OCT-3, OCT-2 αντίστοιχα. Η απέκκρισή της από τα κύτταρα του εντέρου, του ήπατος και των νεφρών μεσολαβείται από OCT-1, MATE-1 και MATE-1/MATE-2, αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις πλάσματος είναι μεταξύ 20-30  $\mu\text{mol/L}$ , και οι συγκεντρώσεις στην πυλαία φλέβα κυμαίνονται από 60-90  $\mu\text{mol/L}$ . (Du et al., 2022)

### 1.1.2.3 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ

Η μετφορμίνη ασκεί τη θεραπευτική της επίδραση, επεμβαίνοντας σε διάφορα συστήματα οργάνων και μοριακούς μηχανισμούς. Αρχικά, παρεμβαίνει στο μεταβολισμό των κυττάρων του ήπατος, αναστέλλοντας την οξειδωτική φωσφορυλίωση στα μιτοχόνδριά τους και αυξάνοντας την δράση του ενζύμου που ονομάζεται πρωτεϊνική κινάση της μονοφωσφορικής αδενοσίνης (Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase, AMPK). Με τον τρόπο αυτό μειώνεται η έκφραση γλυκονεογενετικών γονιδίων και κατ' επέκταση αναστέλλονται η γλυκονεογένεση, η γλυκογονόλυση και προάγεται η σύνθεση

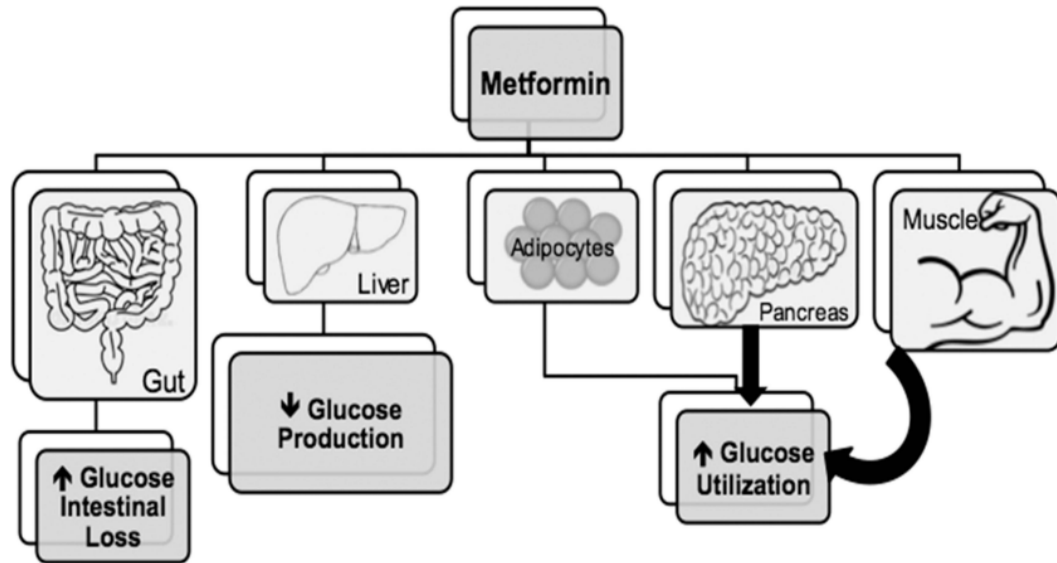
γλυκογόνου. Όλες οι προαναφερόμενες παρεμβάσεις στις μεταβολικές διεργασίες οδηγούν σε μειωμένη παραγωγή γλυκόζης από το ήπαρ (Soliman et al., 2020).

Παράλληλα, στους σκελετικούς μυς, η αυξημένη δράση της AMPK ενισχύει την ευαισθησία των ιστών στην ινσουλίνη επομένως και την πρόσληψη γλυκόζης από τα μυϊκά κύτταρα. Ακόμη, αυξάνει τη φωσφορύλιωση της καρβοξυλάσης του ακέτυλο-συνενζύμου Α (Ακετυλ-CoA), άρα και την οξείδωση των λιπιδίων, περιορίζοντας τα αποθέματα λίπους στους μυς. Στον καρδιακό μυ, η επίδραση της μετφορμίνης οδηγεί επίσης σε αυξημένη πρόσληψη λιπαρών οξέων και γλυκόζης από τα κύτταρα των ιστών, προάγοντας την οξείδωση των λιπιδίων και τη γλυκόλυση. Επομένως, γίνεται εύκολα αντιληπτό το γεγονός ότι η λήψη μετφορμίνης αυξάνει την αξιοποίηση της γλυκόζης και των λιπαρών οξέων από τα μυϊκά κύτταρα (Soliman et al., 2020).

Παρόμοια επίδραση έχει και στον λιπώδη ιστό, μιας και η αυξημένη δράση της AMPK μειώνει τη λιπόλυση και τη λιπογένεση, αναγκάζοντας τον οργανισμό να στραφεί σε αλλά μεταβολικά υποστρώματα, και συγκεκριμένα στην ελεύθερη στην κυκλοφορία γλυκόζη, για την κάλυψη των ενεργειακών του απαιτήσεων. Ταυτόχρονα, η μετφορμίνη διεγείρει την έκκριση ινσουλίνης από τα β-παγκρεατικά κύτταρα, διευκολύνοντας την απορρόφηση και την αξιοποίηση της διαθέσιμης γλυκόζης από τα κύτταρα για την παραγωγή ενέργειας (Soliman et al., 2020).

Η δράση της μετφορμίνης επεκτείνεται και στα κύτταρα του εντέρου, όπου αυξάνει την παραγωγή ενέργειας μέσω του αναερόβιου μεταβολισμού, άρα και την αξιοποίηση της γλυκόζης. Επιπλέον, αυξάνει την πρόσληψη και το μεταβολισμό γλυκόζης στο παχύ έντερο. Συνεπώς, οι ποσότητες γλυκόζης που απορροφώνται, εισέρχονται στην κυκλοφορία του αίματος και μεταφέρονται στο ήπαρ, μειώνονται με την επίδραση της μετφορμίνης. Ακόμα, ενδέχεται να παρεμβαίνει στο μεταβολισμό της γλυκόζης και μέσω ενός άλλου μηχανισμού, μιας και έχει βρεθεί ότι η χορήγησή της συνδέεται με αυξημένη έκκριση αναλόγων γλυκαγονόμορφων πεπτιδίων όπως το GLP-1 (Glucagon Like Peptide- 1), το οποίο προάγει τη μεταφορά γλυκόζης από την κυκλοφορία του αίματος στα κόπρανα. Με βάση όλα τα παραπάνω, εξάγεται το συμπέρασμα ότι η μετφορμίνη αυξάνει την εντερική

απομάκρυνση της γλυκόζης (Soliman et al., 2020). Οι κύριοι μηχανισμοί δράσης της μετφορμίνης στο ήπαρ, τους μυς, το λιπώδη ιστό, το πάγκρεας και το έντερο παρουσιάζονται συνοπτικά στην **Εικόνα 6**.



Εικόνα 6: Κύριοι μηχανισμοί δράσης μετφορμίνης σε διαφορετικά όργανα. Η μετφορμίνη προκαλεί μείωση της ηπατικής παραγωγής γλυκόζης στην κυκλοφορία του αίματος, αύξηση της εντερικής απώλειας γλυκόζης και προάγει την αξιοποίηση της γλυκόζης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος, τα λιποκύτταρα και τον μυϊκό ιστό. (Esquivel Zuniga and DeBoer, 2021)

Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι η λήψη μετφορμίνης δύναται να επηρεάσει τη σύσταση του εντερικού μικροβιώματος και πιο συγκεκριμένα να αυξήσει τις συγκεντρώσεις των «*Escherichia spp*» και των «*Intestinibacter spp*». Έχει επισημανθεί, επίσης, η πιθανή επίδραση της προαναφερόμενης φαρμακευτικής ουσίας στη ρύθμιση της όρεξης, που ενδεχομένως σχετίζεται με την αύξηση των επιπέδων του GLP-1 και την επίδραση που ασκεί στην έκκριση ορμονών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται η ινσουλίνη που αναφέρθηκε παραπάνω αλλά και η γκρελίνη και η λεπτίνη. Οι δύο τελευταίες έχουν ανταγωνιστική δράση, μιας και η γκρελίνη διεγείρει το αίσθημα της πείνας, ενώ η λεπτίνη το καταστέλλει. Τέλος, η μετφορμίνη θα μπορούσε να συνεισφέρει στην κάμψη την φλεγμονής που παρατηρείται σε περιπτώσεις χρόνιας παχυσαρκίας (Soliman et al., 2020).

#### 1.1.2.4 ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ- ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΑΝΤΙΣΤΑΣΗ (INSULIN RESISTANCE, IR)

Η μετφορμίνη αποτελεί το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο φάρμακο για την διαχείριση παθολογικών καταστάσεων, οι οποίες συνδέονται με την εμφάνιση IR (Herman et al., 2022).

Η IR συνιστά παθολογική κατάσταση που χαρακτηρίζεται από μειωμένη ευαισθησία των ιστών στην ινσουλίνη, καθιστώντας την παραπάνω ορμόνη λιγότερο αποτελεσματική. Ως εκ τούτου, το πάγκρεας παράγει μεγαλύτερες ποσότητες ινσουλίνης προκειμένου τα κύτταρα να συνεχίσουν να αξιοποιούν τη διαθέσιμη γλυκόζη σε διάφορες μεταβολικές διεργασίες και η συγκέντρωση της τελευταίας στο αίμα να παραμένει υπό έλεγχο. Το πρώτο διάστημα, η αυξημένη έκκριση ινσουλίνης από το πάγκρεας, συντελεί στην επιτυχή διαχείριση της IR και στον περιορισμό των συμπτωμάτων της. Ωστόσο, με την πάροδο του χρόνου, η λειτουργικότητα των β-κυττάρων του παγκρέατος φθίνει και ο οργανισμός αδυνατεί να εξακολουθήσει να παράγει επιπλέον ποσότητες ινσουλίνης, για να υπερνικήσει την αντίσταση των κυττάρων σε αυτή. Η κατάσταση που περιγράφηκε επιφέρει άνοδο των επιπέδων γλυκόζης στο αίμα και, αν δεν διαχειριστεί εγκαίρως, μπορεί να εξελιχθεί σε Προδιαβήτη ή μετέπειτα σε ΣΔτ2 (American Diabetes Association, 2020).

Τα διαγνωστικά κριτήρια των δύο προαναφερόμενων παθολογικών καταστάσεων συνοψίζονται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Διαγνωστικά κριτήρια Ευγλυκαιμίας, Προδιαβήτη και Σακχαρώδους Διαβήτη. (American Diabetes Association, 2020)

Diabetes Test	Normal	Prediabetes	Diabetes
Hemoglobin A <sub>1c</sub> , % (HbA <sub>1c</sub> )	< 5.7	5.7–6.4	≥ 6.5
Fasting blood glucose, mg/dL	< 100	100–125	> 125
Oral glucose tolerance, mg/dL	< 140	140–199	≥ 200

Τα αποτελέσματα αρκετών κλινικών δοκιμών σε ασθενείς διαφόρων ηλικιακών ομάδων (συμπεριλαμβανομένων παιδιών, εφήβων και ενηλίκων), υποστηρίζουν ότι η χορήγηση της εν λόγω φαρμακευτικής ουσίας δύναται να καθυστερήσει ή να σταματήσει την εξέλιξη του Προδιαβήτη σε ΣΔτ2. Επιπλέον, σύμφωνα με τις τρέχουσες συστάσεις, η μετφορμίνη μπορεί να χορηγηθεί σε Προδιαβητικούς ασθενείς υψηλού κινδύνου που δεν εφάρμοσαν επιτυχώς τις υγειονομιακές συστάσεις και δεν κατάφεραν να ομαλοποιήσουν τις τιμές γλυκόζης τους. Στους ασθενείς αυτούς περιλαμβάνονται άτομα με υψηλό κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών διαταραχών, υπέρταση, δυσλιπιδαιμία, PCOS, παχυσαρκία ή οικογενειακό ιστορικό Σακχαρώδους Διαβήτη (Soliman et al., 2020; Esquivel Zuniga and DeBoer, 2021).

Η ευεργετική επίδραση της μετφορμίνης στη διαχείριση του ΣΔτ2 σε ενήλικους ασθενείς είναι ευρέως γνωστή εδώ και πολλές δεκαετίες. Προσφάτως, ο Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration, FDA) ενέκρινε την χρήση μετφορμίνης και σε άτομα ηλικίας 10 ετών και άνω με ΣΔτ2. Σύμφωνα με τις συστάσεις των ADA και ISPAD, η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία συνιστά πρώτη γραμμή θεραπεία σε έφηβους ασθενείς με ΣΔτ2 και φυσιολογική νεφρική λειτουργία. Η χορήγησή της συνοδεύεται πάντα από συστάσεις βελτίωσης των διατροφικών συνηθειών και αύξησης της φυσικής δραστηριότητας. Συνεπώς, γίνεται εύκολα αντιληπτό το γεγονός ότι, ενώ στο ΣΔτ2 η μετφορμίνη συνιστά φάρμακο εκλογής, σε άτομα με Προδιαβήτη η χορήγησή της γίνεται πιο επιλεκτικά και εξαρτάται από την ταυτόχρονη ύπαρξη και άλλων παραγόντων κινδύνου (Soliman et al., 2020).

#### *1.1.2.5 ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ- PCOS*

Η μετφορμίνη, σε συνδυασμό με παρεμβάσεις στον τρόπο ζωής, συστήνεται επίσης σε ενήλικες και έφηβες ασθενείς με PCOS, με στόχο την ομαλοποίηση του βάρους τους και την διαχείριση των ορμονικών και μεταβολικών διαταραχών που χαρακτηρίζουν το προαναφερόμενο σύνδρομο (Teede et al., 2018).



Η διάγνωση του PCOS σε ενήλικες γυναίκες στηρίζεται στα κριτήρια του Ρότερνταμ και για να τεθεί απαιτείται η ταυτόχρονη παρουσία τουλάχιστον δύο από τις ακόλουθες παθολογικές καταστάσεις (Teede et al., 2018):

- a) ολιγο- ή αμηνόρροια
- b) κλινική ή/και βιοχημική υπερανδρογοναιμία
- c) μορφολογία πολυκυστικών ωοθηκών

Ωστόσο, η διάγνωση του PCOS στις έφηβες είναι περισσότερο σύνθετη σε σχέση με τις ενήλικες γυναίκες μιας και τα κριτήρια που αναφέρθηκαν παραπάνω, περιγράφουν καταστάσεις που παρατηρούνται συχνά κατά την περίοδο της εφηβείας. Για να τεθεί διάγνωση PCOS σε έφηβες απαιτείται η ταυτόχρονη παρουσία δύο κριτηρίων (Peña et al., 2022):

- a) ακανόνιστοι εμμηνορροϊκοί κύκλοι (οι διαταραχές εμμήνου ρύσεως στις έφηβες ορίζονται ανάλογα με τα έτη που έχουν παρέλθει από την εμμηναρχή) και
- b) κλινική ή/και βιοχημική υπερανδρογοναιμία

Στο σημείο αυτό τονίζεται το γεγονός ότι η διενέργεια υπερηχογραφήματος δεν συνιστά αξιόπιστο διαγνωστικό κριτήριο, μιας και πληθώρα επιστημονικών δεδομένων δείχνουν ότι και σε υγιείς έφηβες παρατηρήθηκε μορφολογία πολυκυστικών ωοθηκών, τα πρώτα χρόνια μετά την έναρξη της εμμήνου ρύσεως. Ως εκ τούτου, η αξιοποίηση των κριτηρίων του Ρότερνταμ σε έφηβες ασθενείς για την διάγνωση του εν λόγω συνδρόμου αποκλείεται (Peña et al., 2022).

Το PCOS αποτελεί μία από τις πιο συχνά παρατηρούμενες διαταραχές στον γυναικείο πληθυσμό και επηρεάζει τη λειτουργία διαφόρων συστημάτων του οργανισμού. Μακροπρόθεσμα σχετίζεται με την εμφάνιση σοβαρών επιπλοκών, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται η παχυσαρκία, η IR και ο ΣΔτ2. Πιο συγκεκριμένα, η υπερανδρογοναιμία, που εμφανίζουν οι ασθενείς, σχετίζεται και με αυξημένη παραγωγή τεστοστερόνης. Η τελευταία διεγείρει την παραγωγή ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος, προκαλώντας υπερινσουλιναιμία και αυξάνοντας την πιθανότητα εμφάνισης Προδιαβήτη

και ΣΔτ2. Η διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης σε συνδυασμό με την αυξημένη έκκριση ανδρογόνων, ενισχύουν την συσσώρευση λίπους, κυρίως κοιλιακού. Επομένως, οι γυναίκες με PCOS διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης παχυσαρκίας, σε σχέση με υγιή άτομα. Η παχυσαρκία επίσης εντείνει την εκδήλωση IR και ΣΔτ2 (Somagutta et al., 2022).

Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι το 50-70% των ασθενών με PCOS παρουσιάζει και IR (Street et al., 2020). Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με όλα τα παραπάνω ενθαρρύνουν την χρήση παραγόντων αύξησης ευαισθησίας στην ινσουλίνη, εν προκειμένω της μετφορμίνης, για τη διαχείριση των PCOS (Macut et al., 2017; Armanini et al., 2022). Σε ασθενείς στις οποίες η διατροφική παρέμβαση και η φυσική δραστηριότητα δεν επέφεραν τα επιθυμητά αποτελέσματα, προτείνεται η έναρξη της εν λόγω φαρμακευτικής αγωγής. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται σε ενήλικες και έφηβες γυναίκες με υπερβάλλον σωματικό βάρος, διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης και υψηλό κίνδυνο εμφάνισης διαβήτη (Teede et al., 2018). Η χορήγηση μετφορμίνης και η συμμόρφωση στις προτεινόμενες παρεμβάσεις του τρόπου ζωής συντελούν στην ομαλοποίηση του εμμηνορροϊκού κύκλου, την διαχείριση της υπερανδρογοναιμίας, την κάμψη της ινσουλινοαντίστασης και κατ' επέκταση την ευκολότερη απώλεια βάρους (Romualdi et al., 2020).

#### *1.1.2.6 ΑΝΕΠΙΘΥΜΗΤΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗΣ*

Η χορήγηση μετφορμίνης, πέρα από την συμβολή της στη θεραπεία και τη διαχείριση παθολογικών καταστάσεων συνδέεται και με την εμφάνιση ορισμένων ανεπιθύμητων επιδράσεων.

##### *1.1.2.6.1 Γαστρεντερικές Διαταραχές*

Η πιο συχνά αναφερόμενη παρενέργεια, η οποία οδηγεί και σε διακοπή της θεραπείας, είναι η εκδήλωση γαστρεντερικών διαταραχών, όπως ναυτία, διάρροια και έκπτωση της όρεξης. Η μετφορμίνη, αυξάνει την πρόσληψη και το μεταβολισμό της γλυκόζης από τα κύτταρα του παχέος εντέρου και αναστέλλει τη δράση της φωσφορικής δεϋδρογονάσης της γλυκερόλης στα μιτοχόνδρια, οδηγώντας σε συσσώρευση γαλακτικού οξέος. Η αυξημένη εντερική παραγωγή γαλακτικού οξέος ενδέχεται να οφείλεται για την εμφάνιση διαρροϊκών επεισοδίων. Παράλληλα, η εν λόγω φαρμακευτική ουσία μπορεί να αυξήσει

την έκκριση ορμονών όπως η σεροτονίνη και η ισταμίνη, οι οποίες εντείνουν τις περισταλτικές κινήσεις του εντέρου. Επιπλέον, η μειωμένη επαναρρόφηση χολικών αλάτων και η αυξημένη έκκριση GLP-1 επηρεάζει την ωσμωτική πίεση στον εντερικό αυλό, επομένως και τη σύσταση των κοπράνων. Τέλος, οι ανεπιθύμητες επιδράσεις στο γαστρεντερικό σύστημα ενδεχομένων αποδίδονται στην τροποποίηση της σύστασης του εντερικού μικροβιώματος. Η λήψη μετφορμίνης μαζί με τα γεύματα και η σταδιακή αύξηση της χορηγούμενης δόσης, φάνηκε ότι συνεισφέρουν στον περιορισμό των γαστρεντερικών διαταραχών (Mbara et al., 2021).

#### *1.1.2.6.2 Γαλακτική Οξέωση*

Η πιθανή συσχέτιση της μετφορμίνης με την αύξηση του κινδύνου εμφάνισης γαλακτικής οξέωσης, συνιστά ακόμα αντικείμενο διερεύνησης. Η γαλακτική οξέωση είναι μία μορφή μεταβολικής οξέωσης που χαρακτηρίζεται από υπερβολική παραγωγή ή μειωμένη κατανάλωση γαλακτικού οξέος από τον οργανισμό. Σε καταστάσεις ανεπάρκειας οξυγόνου στα μυϊκά κύτταρα, ευνοείται η παραγωγή ενέργειας μέσω της αναερόβιας γλυκόλυσης και αυξάνεται η παραγωγή γαλακτικού οξέος. Η συσσώρευσή του προκαλεί ανισορροπία στο pH του αίματος, το οποίο φυσιολογικά θα πρέπει να είναι ελαφρώς αλκαλικό. Ειδικά σε περιπτώσεις ασθενών με διαταραχές στη λειτουργία των νεφρών, η απομάκρυνση της περίσσειας γαλακτικού οξέος καθίσταται ακόμα πιο δύσκολη. Ωστόσο, με βάση τα διαθέσιμα επιστημονικά δεδομένα, διαπιστώνεται ότι ο κίνδυνος εμφάνισης της γαλακτικής οξέωσης σε άτομα που λαμβάνουν μετφορμίνη είναι περιορισμένος. Προληπτικά, η θεραπευτική αγωγή αναστέλλεται προσωρινά μόνο σε περιπτώσεις ασθενών με σοβαρή νεφρική ή/και καρδιακή ανεπάρκεια και σηψαιμία (Mbara et al., 2021).

#### *1.1.2.6.3 Ανεπάρκεια Βιταμίνης B<sub>12</sub>*

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η χορήγηση μετφορμίνης δύναται να επηρεάσει το μεταβολισμό και να οδηγήσει σε ανεπάρκεια βιταμίνης B<sub>12</sub>. Η χορήγηση μετφορμίνης ενδέχεται να προκαλεί απόφραξη των διαύλων ασβεστίου στον ειλεό, γεγονός που εμποδίζει την απορρόφηση του συμπλέγματος IF-B<sub>12</sub>. Παράλληλα, η τροποποίηση της

σύστασης της μικροβιακής χλωρίδας, η οποία σχετίζεται με την λήψη της συγκεκριμένης φαρμακευτικής αγωγής, ενδέχεται να εμποδίζει, επίσης, την απορρόφηση και τη διέλευση της B<sub>12</sub> στην κυκλοφορία του αίματος. Εν αντιθέσει με την τυπική ανεπάρκεια B<sub>12</sub>, οι κλινικές εκδηλώσεις που σχετίζονται με τις χαμηλές συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης και επάγονται από την χορήγηση μετφορμίνης, φαίνεται ότι είναι λιγότερο σοβαρές και δεν συνοδεύονται από νευρολογικές διαταραχές. Περιοδικοί έλεγχοι των επιπέδων B<sub>12</sub> στο πλάσμα του αίματος και χορήγηση συμπληρωμάτων της συγκεκριμένης βιταμίνης, συστήνονται ειδικά σε περιπτώσεις ασθενών που λαμβάνουν υψηλές δόσεις μετφορμίνης και για πολλά χρόνια (Mbara et al., 2021).

### **1.1.3 ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ**

Είναι γνωστή η συσχέτιση της μετφορμίνης με την δυσαπορρόφηση B<sub>12</sub> και την αύξηση του κινδύνου ανεπάρκειας της (Jager et al., 2010).

Στα πλαίσια του Προγράμματος Πρόληψης του Διαβήτη (Diabetes Prevention Program-DPP) αξιολογήθηκε ο κίνδυνος εμφάνισης ανεπάρκειας B<sub>12</sub> σε περιπτώσεις μακροχρόνιας χορήγησης μετφορμίνης (Aroda et al., 2016). Στη συγκεκριμένη μελέτη συμπεριλήφθησαν 2.155 ασθενείς, ηλικίας μεγαλύτερης των 25 ετών, με αυξημένη γλυκόζη νηστείας, διαταραγμένη ανοχή στην γλυκόζη και υπερβαρότητα ή παχυσαρκία. Από το δείγμα αυτό, 1.082 ασθενείς έλαβαν εικονικό φάρμακο και στους υπόλοιπους (n=1.073) χορηγήθηκε μετφορμίνη. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν ότι τα επίπεδα της B<sub>12</sub> τόσο στα 5 όσο και στα 13 χρόνια παρέμβασης ήταν χαμηλά ( $\leq 203$  pg/ml) και οριακά χαμηλά ( $\leq 298$  pg/ml) στην ομάδα που έλαβε μετφορμίνη. Ακόμη, η εν λόγω μελέτη ανέδειξε 13% υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης ανεπάρκειας κοβαλαμίνης ανά έτος χορήγησης του φαρμάκου.

Στην (Jager et al., 2010) διερευνήθηκε ο κίνδυνος εμφάνισης ανεπαρκών ( $<150$  pmol/L) ή χαμηλών (150-220 pmol/L) επιπέδων B<sub>12</sub> σε ασθενείς με ΣΔτ2 που θεραπεύονται με ινσουλίνη και στους οποίους συνταγογραφήθηκε συμπληρωματικά μετφορμίνη. Ειδικότερα, σε 390 ασθενείς, ηλικίας 30-80 ετών, χορηγήθηκε είτε μετφορμίνη, είτε εικονικό φάρμακο. Σύμφωνα με την εν λόγω μελέτη, τα άτομα της πρώτης ομάδας παρέμβασης παρουσίασαν μείωση των επιπέδων B<sub>12</sub> κατά 19% και διέτρεχαν 7%

υψηλότερο κίνδυνο ανεπάρκειας B<sub>12</sub> κατά τη διάρκεια των 4,3 ετών παρακολούθησης. Επιπλέον, φάνηκε πως η μείωση της συγκέντρωσης κοβαλαμίνης που συνδέεται με την χρήση μετφορμίνης, αυξήθηκε περαιτέρω σε περιπτώσεις μακροχρόνιας χορήγησης του φαρμάκου.

Στο σημείο αυτό αξίζει να επισημανθεί το γεγονός ότι η πλειονότητα των ερευνητικών δεδομένων προέρχονται από μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε ενήλικες. Η διερεύνηση του κινδύνου εμφάνισης ανεπάρκειας B<sub>12</sub> σε παιδιατρικούς ασθενείς στους οποίους χορηγείται μετφορμίνη συνιστά, μέχρι στιγμής, αντικείμενο ελάχιστων μελετών (Yu et al., 2022; Tas et al., 2022).

Στην (Azcona-Sanjulián et al., 2015) αξιολογήθηκε η επίδραση της μετφορμίνης σε διάφορες ανθρωπομετρικές και βιοχημικές παραμέτρους, μεταξύ των οποίων ήταν και η συγκέντρωση B<sub>12</sub>, σε παχύσαρκα παιδιά και εφήβους. Η μελέτη συμπεριέλαβε 21 ασθενείς, ηλικίας 5-18 ετών, με Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) πάνω από την 95<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση και χαμηλή ανταπόκριση σε παρεμβάσεις τρόπου ζωής. Σε όλους τους ασθενείς συνταγογραφήθηκε μετφορμίνη για έξι μήνες. Τα επίπεδα B<sub>12</sub> παρέμειναν εντός φυσιολογικού εύρους για όλους τους συμμετέχοντες, καθ' όλη την διάρκεια της παρέμβασης.

Στην (Burgert et al., 2008), η οποία αποτελεί διπλά τυφλή τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη κλινική δοκιμή (Randomized Controlled Trial, RCT), συμμετείχαν 28 έφηβοι, ηλικίας 13-18 ετών, με παχυσαρκία και αυξημένη αντίσταση στην ινσουλίνη. Στους 15 από αυτούς χορηγήθηκε μετφορμίνη, ενώ οι υπόλοιποι 13 έλαβαν εικονικό φάρμακο. Η φαρμακευτική παρέμβαση συνοδεύτηκε από συστάσεις διατροφής και άσκησης. Μετά την πάροδο των 4 μηνών παρέμβασης δεν σημειώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά (p=0,3) στις συγκεντρώσεις B<sub>12</sub> ανάμεσα στα μέλη των δύο ομάδων.

Στην (Levy-Shraga et al., 2021) διερευνήθηκε η επίδραση της μετφορμίνης στην ομαλοποίηση του ΔΜΣ και μεταβολικών παραμέτρων, σε παιδιατρικούς ασθενείς που λαμβάνουν ανταγωνιστές των υποδοχέων ντοπαμίνης, σεροτονίνης (Dopamine and

Serotonin Receptor Antagonists, DSRAs). Στη μελέτη συμμετείχαν 49 άτομα, ηλικίας 8-21 ετών, με ΔΜΣ πάνω από την 85<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση. Σε 31 ασθενείς, παράλληλα με τα αντιψυχωσικά φάρμακα, χορηγήθηκε και μετφορμίνη, ενώ οι υπόλοιποι 18 συνέχισαν να λαμβάνουν μόνο DSRAs. Ανάμεσα στην πρώτη και την τελευταία επίσκεψη των ασθενών στην παιδοψυχιατρική κλινική, στα πλαίσια της μελέτης, δεν παρατηρήθηκε στατικά σημαντική μεταβολή των μέσων συγκεντρώσεων B<sub>12</sub> στην ομάδα παρέμβασης (368,0 ± 139,2 pg/ml vs 393,7 ± 194,9 pg/ml, p= 0,322). Σημαντικές διαφορές στα επίπεδα B<sub>12</sub> δεν εντοπίστηκαν ούτε ανάμεσα στις δύο ομάδες.

Στην (Τας et al., 2022) αξιολογήθηκαν τα επίπεδα B<sub>12</sub> σε 24 άτομα, ηλικίας 10-19 ετών, τα οποία βρίσκονταν υπό αγωγή με μετφορμίνη για την διαχείριση παθολογικών καταστάσεων που χαρακτηρίζονται από IR και/ή διαταραγμένη ανοχή γλυκόζης, όπως το Μεταβολικό Σύνδρομο, οι PCOS και ο ΣΔτ2. Στον έλεγχο που πραγματοποιήθηκε μετά από 6 μήνες παρακολούθησης, δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις B<sub>12</sub>, tHcy, MMA και holo-TC σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές κατά την έναρξη της μελέτης. Η μείωση των επιπέδων B<sub>12</sub> κυμάνθηκε στο 0,6%. Στον αντίστοιχο έλεγχο που διεξήχθη έπειτα από 12 μήνες, επίσης δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε κανέναν από τους προαναφερόμενους βιοδείκτες. Ωστόσο, η μείωση των επιπέδων B<sub>12</sub> ανήλθε στο 6%, της holo-TC στο 5,4% και σημειώθηκε αύξηση της tHcy κατά 10,9%.

Στην (Yu et al., 2022) συγκεντρώθηκαν δεδομένα από 151 ασθενείς, ηλικίας 6-17 ετών, οι οποίοι βρίσκονταν υπό συνεχή θεραπεία με μετφορμίνη για τουλάχιστον 3 μήνες και αξιολογήθηκαν τα επίπεδα B<sub>12</sub> στους 6,12,24 και 36 μήνες από την έναρξη της μελέτης. Δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική μείωση στη μέση συγκέντρωση B<sub>12</sub> σε κανένα από τα χρονικά σημεία αξιολόγησης που προαναφέρθηκαν. Αξιοσημείωτη πτώση των επιπέδων κοβαλαμίνης (p<0,05) παρατηρήθηκε μόνο σε περιπτώσεις ασθενών που λάμβαναν υψηλές δόσεις μετφορμίνης, με καλή συμμόρφωση. Παρά την μείωση αυτή, η μέση συγκέντρωση B<sub>12</sub> παρέμεινε μέσα στα φυσιολογικά εύρη αναφοράς (για παιδιά ηλικίας 5-9

ετών: 250-1.205 pg/ml και για εφήβους ηλικίας 10-17 ετών: 200-935 pg/ml). Ανεπάρκεια B<sub>12</sub> (<200 pg/ml) καταγράφηκε μόνο σε 1 άτομο, στους 12 μήνες παρακολούθησης.

Στην (van der Aa et al., 2016), η οποία συνιστά διπλά τυφλή RCT, συμμετείχαν 42 έφηβοι, ηλικίας 10-16 ετών, με παχυσαρκία [ΔΜΣ (z-scores) > 2,3 τυπικές αποκλίσεις] και IR (Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance, HOMA-IR ≥ 3,4). Στους 23 από αυτούς χορηγήθηκε μετφορμίνη, ενώ οι υπόλοιποι συμμετέχοντες (n=19) έλαβαν εικονικό φάρμακο. Σε όλους τους εφήβους δόθηκε η δυνατότητα συμμετοχής σε προγράμματα εκγύμνασης, 2 φορές την εβδομάδα. Μετά από 18 μήνες θεραπείας, μόνο σε 3 άτομα (13%) από την ομάδα παρέμβασης εντοπίστηκαν ανεπαρκείς συγκεντρώσεις B<sub>12</sub> (<140 pmol/L).

Αξιοποιώντας το δείγμα της παραπάνω μελέτης, ήτοι (van der Aa et al., 2016) η έρευνα (Lentferink et al., 2018) επέκτεινε την τυχαιοποιημένη χορήγηση μετφορμίνης ή εικονικού φαρμάκου για επιπλέον 18 μήνες, σε 31 από τα 42 άτομα που συμμετείχαν αρχικά. Στο τέλος της συμπληρωματικής αυτής παρέμβασης, ανεπάρκεια B<sub>12</sub> σημειώθηκε μόνο σε 2 εφήβους. Και στους δύο ασθενείς χορηγήθηκε μετφορμίνη στην αρχική φάση της παρέμβασης, ωστόσο στην επέκταση της μελέτης, ο ένας συνέχισε να λαμβάνει φαρμακευτική αγωγή ενώ στον άλλο δόθηκε εικονικό φάρμακο.

Στην (Yanovski et al., 2011) διερευνήθηκε η επίδραση της μετφορμίνης στις συγκεντρώσεις B<sub>12</sub> σε 100 παιδιά, ηλικίας 6-12 ετών, με παχυσαρκία και IR. Οι ασθενείς συμμετείχαν για 6 μήνες σε μία διπλά τυφλή RCT, στα πλαίσια της οποίας 53 άτομα έλαβαν μετφορμίνη, ενώ στα υπόλοιπα 47 χορηγήθηκε εικονικό φάρμακο. Κατόπιν, στα 85 παιδιά που ολοκλήρωσαν την αρχική παρέμβαση, δόθηκε μετφορμίνη και συνεχίστηκε η παρακολούθηση για επιπλέον 6 μήνες. Τα επίπεδα κοβαλαμίνης ορού παρέμειναν εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών (220-960 pg/ml) σε όλους τους συμμετέχοντες, καθ' όλη την διάρκεια της παρέμβασης. Ωστόσο, στο αρχικό στάδιο της μελέτης, η μέση συγκέντρωση B<sub>12</sub> παρουσίασε μείωση στην ομάδα που έλαβε μετφορμίνη και αύξηση σε εκείνη που χορηγήθηκε εικονικό φάρμακο (-57 ± 58 vs 173 ± 67 pg/ml, p<0,001).

Στην (Anderson et al., 2017), η οποία αποτελεί διπλά τυφλή RCT, συμμετείχαν 90 άτομα, ηλικίας 8-18 ετών, με Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου 1 και ΔΜΣ> 50<sup>η</sup> εκατοστιαία θέση. Οι μισοί από τους συμμετέχοντες έλαβαν θεραπεία με μετφορμίνη, ενώ στους υπόλοιπους χορηγήθηκε εικονικό φάρμακο, για 12 μήνες. Η μέση συγκέντρωση B<sub>12</sub> ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη στην πρώτη ομάδα εν συγκρίσει με τη δεύτερη (347±34 vs 451±33 pmol/L, p=0,01). Ωστόσο, τα επίπεδα κοβαλαμίνης όλων των ασθενών βρίσκονταν εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών (140-700 pmol/L). Στις μέσες συγκεντρώσεις tHcy δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες (ομάδα μετφορμίνης: 7,1 ±0,3 vs ομάδα placebo: 6,3±0,3 μmol/L, p= 0,2).

Στην (Gourgari et al., 2014), η οποία συνιστά μελέτη περιστατικού, παρουσιάστηκαν τα αποτελέσματα χορήγησης συμπληρώματος B<sub>12</sub>, σε έφηβη 15 ½ ετών με PCOS και παχυσαρκία, που βρισκόταν υπό θεραπεία με μετφορμίνη (2.000 mg/ημέρα). Η ασθενής εμφάνισε ανεπάρκεια στην συγκεκριμένη βιταμίνη (B<sub>12</sub> ορού: 177 pg/ml), για την αντιμετώπιση της οποίας άρχισε να λαμβάνει συμπλήρωμα κυανοκοβαλαμίνης από το στόμα, με δοσολογία 1.000 μg ημερησίως. Μετά την πάροδο ενός μήνα θεραπείας, επιτεύχθηκε ομαλοποίηση της συγκέντρωσης B<sub>12</sub> (532 pg/ml). Στην συνέχεια, η ασθενής διέκοψε τη λήψη του συμπληρώματος και προσήλθε για επαναξιολόγηση μετά από 5 μήνες. Διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση κοβαλαμίνης στον ορό μειώθηκε (236 pg/ml) αλλά παρέμεινε εντός του φυσιολογικού εύρους τιμών (193-982 pg/ml).

Περαιτέρω ανησυχία εγείρει το γεγονός ότι παιδιά και έφηβοι με υπερβαρότητα ή παχυσαρκία διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης χαμηλών ή ανεπαρκών επιπέδων B<sub>12</sub>, ανεξαρτήτως της χορήγησης μετφορμίνης (Ho et al., 2014). Αντικείμενο της μελέτης (Ho et al., 2014) ήταν η διερεύνηση της παραπάνω παρατήρησης. Σε 103 άτομα, ηλικίας 10-17 ετών, με παχυσαρκία, προδιαβήτη και/ή κλινικά χαρακτηριστικά IR, αξιολογήθηκαν οι συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης. Χαμηλά επίπεδα B<sub>12</sub> (<148 pmol/L) εντοπίστηκαν σε 8 συμμετέχοντες (7,8%) και οριακά χαμηλά (148-221 pmol/L) σε επιπλέον 25 (24,3%) άτομα. Ακόμη, οι έφηβοι με οριακά χαμηλές συγκεντρώσεις της συγκεκριμένης βιταμίνης είχαν υψηλότερο ΔΜΣ (z-scores) εν συγκρίσει με εκείνους στους οποίους παρατηρήθηκαν



φυσιολογικές ( $2,50 \pm 0,22$  vs.  $2,32 \pm 0,30$ ,  $p = 0,008$ ) ή χαμηλές τιμές  $B_{12}$  ( $2,50 \pm 0,22$  vs.  $2,27 \pm 0,226$ ,  $p = 0,041$ ). Έτσι εξάγεται εύκολα το συμπέρασμα ότι οι παιδιατρικοί ασθενείς με υπερβάλλον σωματικό βάρος που λαμβάνουν μετφορμίνη, «βάλλονται» από δύο μέτωπα και παρουσιάζουν αυξημένες πιθανότητες εμφάνισης ανεπάρκειας βιταμίνης  $B_{12}$ .

## **1.2 Σκοπός**

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση της επάρκειας βιταμίνης  $B_{12}$  σε παιδιά και εφήβους που θεραπεύονται με μετφορμίνη, σε σύγκριση με συνομηλίκους τους, στους οποίους δεν χορηγείται η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία. Η μεθοδολογία και μέρος των αποτελεσμάτων της εν λόγω έρευνας έχουν δημοσιευτεί στην (Tsiroukidou et al., 2023).

## 2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

### 2.1 Δείγμα

Στη μελέτη συμμετείχαν 69 παιδιά και έφηβοι, οι οποίοι προσήλθαν στην Παιδοενδοκρινολογική Μονάδα της Γ' Παιδιατρικής Κλινικής στο Ιπποκράτειο Γενικό Νοσοκομείο Θεσσαλονίκης, κατά το πρώτο εξάμηνο του 2022. Το δείγμα συμπεριέλαβε παιδιατρικούς ασθενείς (ηλικίας έως 18 ετών), με οποιαδήποτε διάγνωση που άπτεται στο αντικείμενο της Παιδοενδοκρινολογίας, κατόπιν παροχής συγκατάθεσης τουλάχιστον ενός γονέα ή κηδεμόνα και δυνατότητα τηλεφωνικής επικοινωνίας με τις οικογένειες των συμμετεχόντων. Τα κριτήρια αποκλεισμού περιελάμβαναν: ηλικία μεγαλύτερη των 18 ετών και έλλειψη διάθεσης συμμετοχής στην μελέτη από την πλευρά του παιδιού ή/και του γονέα/ κηδεμόνα. Από το σύνολο του δείγματος, το 64% ήταν κορίτσια και το 36% αγόρια. Από τα 69 παιδιά, 67 άνηκαν στην Καυκάσια φυλή και 2 ήταν φυλής Ρομά. Κατηγοριοποιώντας τα παιδιά με κριτήριο το ΔΜΣ (z-scores) τους, το 26% αυτών είχε φυσιολογικό βάρος για το ύψος του και το 74% εντασσόταν στο φάσμα της υπερβαρότητας και παχυσαρκίας. Η κατανομή των συμμετεχόντων ως προς το φύλο, τη φυλή και το ΔΜΣ (z-scores) παρουσιάζεται στο Πίνακα 5.

Πίνακας 5: Κατανομή συμμετεχόντων ως προς το φύλο, τη φυλή και το ΔΜΣ (z-scores)

	n	%
<b>Φύλο</b>		
Αγόρι	25	36%
Κορίτσι	44	64%
<b>Φυλή</b>		
Καυκάσια	67	97%
Ρομά	2	3%
<b>ΔΜΣ (z-scores)</b>		
Φυσιολογικό	18	26%
Υπερβαρότητα και Παχυσαρκία	51	74%

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος

Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν σε δύο ομάδες με κριτήριο τη λήψη ή όχι μετφορμίνης. Οι συμμετέχοντες που λάμβαναν το συγκεκριμένο φάρμακο συγκρότησαν την ομάδα των πασχόντων (n=23, 33% του δείγματος), ενώ εκείνοι που δεν βρίσκονταν υπό αγωγή, την ομάδα των μαρτύρων (n=46, 67% του δείγματος). Οι τελευταίοι επιλέχθηκαν τυχαία μεταξύ των ασθενών που επισκέπτονταν την μονάδα και στους οποίους τέθηκαν διάφορες διαγνώσεις, όπως αδρεναρχή, θηλαρχή, πρώιμη ήβη, ιδιοπαθές χαμηλό ανάστημα, ανεπάρκεια Αυξητικής Ορμόνης, μικροφαλλία, γυναικομαστία, υπερβαρότητα/παχυσαρκία και διαταραχές του θυρεοειδούς αδένος. Τα μέλη της ομάδας πασχόντων λάμβαναν μετφορμίνη για την διαχείριση ποικίλων παθολογικών καταστάσεων, όπως υπερβαρότητα/παχυσαρκία και/ή διαταραχές εμμήνου ρύσεως/ PCOS και/ή IR/Προδιαβήτη. Η αναλογία πασχόντων: μαρτύρων στο εν λόγω δείγμα ήταν 1:2. Η μέση ηλικία των συμμετεχόντων υπό αγωγή με μετφορμίνη ήταν  $15,39 \pm 1,57$  έτη και διέφερε στατιστικά σημαντικά από την ηλικία των εκείνων στους οποίους δεν χορηγήθηκε η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία ( $12,38 \pm 2,66$ ). Επίσης, το μέσο βάρος και το μέσο ύψος των παιδιών της πρώτης ομάδας ήταν υψηλότερο κατά 20 κιλά και κατά 10 cm αντίστοιχα και διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες ασθενών ( $p < 0,05$ ). Ακόμη, τα παιδιά που λάμβαναν μετφορμίνη παρουσίαζαν στατιστικά υψηλότερη μέσο ΔΜΣ ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) σε σχέση με εκείνα στα οποία δεν γινόταν χρήση του φαρμάκου. Ωστόσο, η παραπάνω παρατήρηση δεν επιβεβαιώθηκε όταν ο ΔΜΣ εκφράστηκε σε z-scores. Στον Πίνακα 6 παρουσιάζονται τα χαρακτηριστικά των παιδιών και των εφήβων της κάθε ομάδας.

Πίνακας 6: Χαρακτηριστικά συμμετεχόντων της κάθε ομάδας \*

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΜΑΔΑ ΜΕΤΦΡΟΜΙΝΗΣ	ΟΜΑΔΑ ΕΛΕΓΧΟΥ	p- value
	(n=23)	(n=46)	
Ηλικία (έτη)	15,39 ± 1,57	12,38 ± 2,66	0,000
Αγόρια/Κορίτσια (n)	5/18	20/26	NS
Βάρος Σώματος (kg)	82,46 ± 18,17	62,96 ± 22,88	0,001
Ύψος (cm)	165,4 ± 9,78	153,89 ± 13,22	0,001
ΔΜΣ (kg/m <sup>2</sup> )	30,33 ± 7,75	25,82 ± 6,66	0,032
ΔΜΣ (z-scores)	2,16 ± 1,37	1,97 ± 1,52	NS
Καυκάσιοι/ Ρομά (n)	22/1	45/1	NS
Φυσιολογικό ΣΒ/Υπερβαρότητα/Παχυσαρκία (n)	4/7/12	14/9/23	NS
Διαταραχές Εμμήνου Ρύσεως /Πρώιμη Αδρεναρχή/Αδρεναρχή/Θηλαρχή/Πρώιμη Ήβη (n)	2/0/0/0	0/4/1/1	
Ανεπάρκεια ΑΟ/Χαμηλό Ανάστημα/Μικροφαλλία/Γυναικομαστία (n)	1/0/0/0	0/1/1/1	
PCOS/Προδιαβήτης/IR/Υπέρισσουλιαιμία (n)	2/3/14/0	1/0/12/1	
Υποθυρεοειδισμός/Θυρεοειδική Δυσλειτουργία (n)	0/0	7/1	
Διάρκεια Χορήγησης Μετφορμίνης (μήνες)	22,7 ± 13,3	-	
Ημερήσια Δόση Μετφορμίνης (mg/ημέρα)	1.494 ± 443	-	

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος, ΣΒ: Σωματικό Βάρος, ΑΟ: Αυξητική Ορμόνη, PCOS: Polycystic Ovary Syndrome, IR: Insulin Resistance, NS: Not Significant. \*Τα δεδομένα παρουσιάζονται σαν απόλυτες συχνότητες ή Μέση Τιμή ± Τυπική Απόκλιση.

## 2.2 Εργαλεία Μέτρησης

Για την συλλογή των δεδομένων αξιοποιήθηκε κλινικό ερωτηματολόγιο το οποίο παρατίθεται στο Παράρτημα Α.

### **2.2.1 Εργαλεία Μέτρησης Ανθρωπομετρικών Χαρακτηριστικών**

Για όλους τους συμμετέχοντες καταγράφηκαν δεδομένα που αφορούσαν στο βάρος, το ύψος και υπολογίστηκε ο ΔΜΣ τους, τόσο σε  $\text{kg}/\text{m}^2$  όσο και σε z-scores. Το βάρος σώματος μετρήθηκε με ψηφιακό ζυγό (Seca 700, Seca Group, Hamburg, Germany) ακρίβειας 0,01 κιλών. Για την μέτρηση του ύψους τους χρησιμοποιήθηκε επιτοίχιο αναστημόμετρο (Harpenden, Holtain, Crymych, United Kingdom) ακρίβειας 1 χιλιοστού. Ο ΔΜΣ υπολογίστηκε για κάθε ασθενή από τον τύπο: Βάρος ( $\text{kg}$ )/Ύψος<sup>2</sup> ( $\text{m}$ ) (WHO Consultation on Obesity, 1999: Geneva and Organization, 2000). Για τον υπολογισμό του ΔΜΣ (z-scores) αξιοποιήθηκε το λογισμικό του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (World Health Organization, WHO) Anthro Plus v.3.2 (WHO, Geneva, Switzerland) (“WHO Anthro Survey Analyser and other tools,” 2019), το οποίο βασίζεται στις καμπύλες ανάπτυξης του προαναφερόμενου οργανισμού για παιδιά και εφήβους (de Onis et al., 2007; de Onis et al., 2009).

### **2.2.2 Εργαλεία Προσδιορισμού Αιματολογικών Δεικτών**

Σε όλους τους συμμετέχοντες διενεργήθηκε αιματολογικός, βιοχημικός και ορμονολογικός έλεγχος ο οποίος περιελάμβανε τα εξής:

- a) επίπεδα βιταμίνης B<sub>12</sub> ορού [ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ]
- b) 25- υδροξύ- βιταμίνης D [ $\text{ng}/\text{ml}$ ]
- c) Γλυκόζη νηστείας [ $\text{mg}/\text{dl}$ ]
- d) Ινσουλίνη νηστείας [ $\mu\text{IU}/\text{ml}$ ]
- e) Ασβέστιο [ $\text{mg}/\text{dl}$ ]
- f) Φώσφορο [ $\text{mg}/\text{dl}$ ]
- g) Αλκαλική Φωσφατάση (Alkaline Phosphatase, ALP) [ $\text{IU}/\text{l}$ ]
- h) Δεσμευτική Σφαιρίνη των Φυλετικών Ορμονών (Sex Hormone Binding Globulin, SHBG) [ $\text{nmol}/\text{l}$ ]
- i) Δ4 Ανδροστενδιόνη [ $\text{ng}/\text{dl}$ ]
- j) Θεϊκή Διϋδροεπιανδροστερόνη (Sulfate Dehydroepiandrosterone, DHEA-S) [ $\mu\text{g}/\text{dl}$ ]
- k) και υπολογίστηκε το HOMA-IR

Για τον προσδιορισμό των επιπέδων βιταμίνης B<sub>12</sub>, 25-υδροξύ- βιταμίνης D, SHBG και DHEA-S αξιοποιήθηκε η μέθοδος της Ενζυμικής Ανοσοδοκιμασίας Χημειοφωταύγειας με χρήση του Zenit RA (Zenit RA, Menarini Diagnostics, Florence, Italy). Τα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας αξιολογήθηκαν χρησιμοποιώντας το Human Insulin ELISA kit (ALPCO Diagnostics). Οι ενζυματικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό των τιμών γλυκόζης νηστείας πραγματοποιήθηκαν στον αναλυτή Abbot ALinity I. Οι συγκεντρώσεις Ασβεστίου, Φωσφόρου και ALP εκτιμήθηκαν χρησιμοποιώντας την συσκευή ανάλυσης Abbot ALinity C (Abbott, Abbott Park, Chicago, IL, USA). Τα επίπεδα Δ4 Ανδροστενδιόνης των συμμετεχόντων προσδιορίστηκαν με χρήση του αναλυτή Immulite Siemens (Siemens Healthcare GmbH, Erlangen, Germany). Τέλος, το HOMA-IR, το οποίο συνιστά δείκτη αξιολόγησης της συνολικής ευαισθησίας του οργανισμού στην ινσουλίνη, υπολογίστηκε μέσω του παρακάτω μαθηματικού τύπου:

$$HOMA - IR = (\text{γλυκόζης νηστείας} * \text{ινσουλίνη νηστείας})/405$$

όπου η συγκέντρωση γλυκόζης νηστείας εκφράζεται σε mg/dl και η ινσουλίνη νηστείας σε μIU/ml (Matthews et al., 1985) .

### **2.2.3 Εργαλεία Συλλογής και Αξιολόγησης Δεδομένων Διατροφικής Πρόσληψης**

Για την συλλογή και την ανάλυση δεδομένων που σχετίζονταν με τη διαιτητική πρόσληψη αξιοποιήθηκαν διάφορα εργαλεία. Για όλους τους συμμετέχοντες στη μελέτη συμπληρώθηκε Ημερολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων (ΗΣΚΤ) που συνιστούν πηγές πρόσληψης βιταμίνης B<sub>12</sub>. Το παραπάνω εργαλείο περιελάμβανε τα εξής τρόφιμα: μύδια, συκώτι, δημητριακά πρωινού εμπλουτισμένα σε βιταμίνη B<sub>12</sub>, σολομός, πέστροφα, τόνος, μοσχαρίσιο κρέας, γάλα, γιαούρτι, τυρί, αυγό και κοτόπουλο. Οι προεπιλογές στην συχνότητα κατανάλωσης ήταν: πολλές φορές την ημέρα, καθημερινά, 2-3 φορές την εβδομάδα, σπάνια ή ποτέ. Επιπλέον, για όλους τους συμμετέχοντες συμπληρώθηκε ιστορικό διαιτητικής ανάκλησης 24ώρου. Το λογισμικό διατροφικής αξιολόγησης Cronometer (Cronometer Software Inc., Vancouver, BC , Canada) χρησιμοποιήθηκε για τη διατροφική ανάλυση των δεδομένων που προέρχονταν από την ανάκληση 24ώρου του κάθε ασθενή. Αξίζει να επισημανθεί το γεγονός ότι η πρόσληψη από του στόματος

συμπληρωμάτων διατροφής (Oral Nutritional Supplements, ONS), η κατηγορία και η εμπορική ονομασία των σκευασμάτων, καταγράφηκαν σε όσα παιδιά και εφήβους λάμβαναν ONS.

### **2.3 Διαδικασία Συλλογής Δεδομένων**

Η συγκεκριμένη μελέτη είναι μία μελέτη παρατήρησης (πασχόντων- μαρτύρων) που έλαβε χώρα στην Παιδοενδοκρινολογική Μονάδα της Γ΄ Παιδιατρικής Κλινικής του Ιπποκράτειου Γενικού Νοσοκομείου Θεσσαλονίκης, κατά το πρώτο εξάμηνο του 2022.

#### **2.3.1 Έγκριση Επιτροπής Βιοηθικής και Έντυπο Συγκατάθεσης**

Η μελέτη διεξήχθη με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες και τις αρχές της διακήρυξης του Ελσίνκι. Το πρωτόκολλο και τα λοιπά απαραίτητα δικαιολογητικά κατατέθηκαν στο Αυτοτελές Τμήμα Ελέγχου Ποιότητας, Έρευνας και Συνεχιζόμενης Εκπαίδευσης (ΑΤΕΠΕΣΕ) του Ιπποκράτειου Νοσοκομείου και η εκπόνηση της μελέτης εγκρίθηκε με αριθμό έγκριση (28690/ 06-06-2022). Οι γονείς/κηδεμόνες όλων των συμμετεχόντων, αφού ενημερώθηκαν πλήρως προφορικά και γραπτά για την εν λόγω μελέτη, έδωσαν εγγράφως και ελεύθερα τη συγκατάθεσή τους για τη συμμετοχή των παιδιών τους, πριν την έναρξη οποιασδήποτε διαδικασίας του πρωτοκόλλου. Το έντυπο συγκατάθεσης παρατίθεται στο [Παράρτημα Β](#).

#### **2.3.2 Ένταξη Συμμετεχόντων στη μελέτη**

Οι συνεντεύξεις πραγματοποιήθηκαν δια ζώσης, στο χώρο της Παιδοενδοκρινολογικής Μονάδας του Ιπποκράτειου Νοσοκομείου, στα πλαίσια των προγραμματισμένων ραντεβού ή των τακτικών επανελέγχων των ασθενών. Η φύση και ο σκοπός της μελέτης εξηγήθηκαν λεπτομερώς στους υποψήφιους συμμετέχοντες και τις οικογένειες τους από την κυρία Τσιρουκίδου Κυριακή, έμπειρη Παιδοενδοκρινολόγο του Τμήματος. Η ένταξή τους στο δείγμα της μελέτης πραγματοποιήθηκε μόνο κατόπιν παραχώρησης έγγραφης συγκατάθεσης, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Η συνέντευξη με τους συμμετέχοντες και τις οικογένειές τους και η συμπλήρωση του ερωτηματολογίου πραγματοποιήθηκαν από την συγγραφέα της συγκεκριμένης εργασίας με την ταυτόχρονη παρουσία και συμβολή της γιατρού, όποτε κρινόταν αναγκαίο.

### **2.3.3 Διαδικασία Συλλογής Δημογραφικών Δεδομένων και Λήψη Ιατρικού-φαρμακευτικού Ιστορικού**

Τα στοιχεία των συμμετεχόντων στη μελέτη κωδικοποιήθηκαν/ανωνυμοποιήθηκαν, με στόχο την διαφύλαξη της ανωνυμίας και την προστασία των προσωπικών δεδομένων τους. Ωστόσο, κατά τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου καταγράφηκαν ορισμένα δημογραφικά χαρακτηριστικά των παιδιών και των εφήβων, όπως το φύλο, η φυλή, η ημερομηνία γέννησης και η ηλικία τους. Επιπλέον, από το ιατρικό ιστορικό των ασθενών ανακλήθηκαν πληροφορίες που σχετίζονταν με την κύρια και την δευτερεύουσα διάγνωσή τους (αν υπήρχε) και την ημερομηνία που τέθηκε η πρώτη. Η λήψη ή μη μετφορμίνης σημειώθηκε σαν πληροφορία και με βάση αυτή έγινε και η διάκριση των ασθενών σε ομάδα πασχόντων και μαρτύρων. Για τα μέλη της πρώτης ομάδας, καταγράφηκαν περεταίρω πληροφορίες σχετικά με την συγκεκριμένη φαρμακευτική αγωγή, όπως η εμπορική ονομασία του σκευάσματος που λάμβαναν, η χορηγούμενη δόση, η έναρξη και η διάρκεια χορήγησης. Τα προαναφερόμενα δεδομένα δεν κωδικοποιήθηκαν/ανωνυμοποιήθηκαν, μιας και ήταν απαραίτητα για τη διενέργεια της παρούσας μελέτης.

### **2.3.4 Διαδικασία Συλλογής Ανθρωπομετρικών Δεδομένων**

Οι ανθρωπομετρικές μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τη (Marfell-Jones et al., 2012). Ειδικότερα, ζητήθηκε από τους συμμετέχοντες να αφαιρέσουν τα υποδήματά τους και να φορούν ελαφρύ ρουχισμό. Για την μέτρηση του βάρους, οι ασθενείς ανέβηκαν στο κέντρο της ζυγαριάς, χωρίς υποστήριξη και με το βάρος όσο το δυνατόν ομοιόμορφα κατανεμημένο και στα δύο πόδια. Για την μέτρηση του ύψους, ζητήθηκε από τους συμμετέχοντες να σταθούν έτσι ώστε η πλάτη τους να ακουμπά στο αναστημόμετρο, τα πέλματά τους να είναι ενωμένα και να κοιτούν ευθεία. Αφού έλαβαν τη συγκεκριμένη θέση, η εξεταστής τοποθέτησε τα χέρια της κάτω από την κεφαλή του εξεταζόμενου, του ζήτησε να πάρει και να κρατήσει μία βαθιά ανάσα ενώ ταυτόχρονα η ίδια άσκησε ελαφριά πίεση της κεφαλής προς τα επάνω. Στη θέση αυτή, και αφού βεβαιώθηκε ότι οι φτέρνες του εξεταζόμενου βρίσκονταν σε επαφή με το έδαφος, κατέβασε το κινητό κεφαλάρι του αναστημόμετρου, τοποθέτησε το βαρίδιο και έλαβε την τιμή του ύψους.



### **2.3.5 Διαδικασία Συλλογής Δειγμάτων Αίματος**

Σε όλα και παιδιά που έλαβαν μέρος στη μελέτη διενεργήθηκε αιματολογικός έλεγχος. Ειδικότερα, για την ανάλυση του βιοχημικού και ορμονολογικού προφίλ τους, φρέσκα δείγματα ολικού αίματος, όγκου 20ml, συλλέχθηκαν από κάθε συμμετέχοντα. Η αιμοληψία έλαβε χώρα τις πρωινές ώρες και αφού προηγήθηκε ολονύχτια νηστεία. Για τον διαχωρισμό του πλάσματος από τα υπόλοιπα συστατικά του αίματος χρησιμοποιήθηκε αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid, EDTA). Για την απομόνωση του ορού, το δείγμα ολικού αίματος, αφέθηκε προηγουμένως να πήξει σε θερμοκρασία δωματίου, για 20 λεπτά και εν συνεχεία φυγοκεντρήθηκε στις 3.000 rpm (revolution per minute) σε θερμοκρασία 4°C, για 10 λεπτά.

### **2.3.6 Διαδικασία Συλλογής Δεδομένων Διατροφικής Πρόσληψης**

Η συμπλήρωση των εργαλείων συλλογής και αξιολόγησης δεδομένων διατροφικής πρόσληψης πραγματοποιήθηκε από τη συγγραφέα της παρούσας εργασίας, στα πλαίσια των συνεντεύξεων με τους συμμετέχοντες και τις οικογένειές τους. Στο ΗΣΚΤ ζητήθηκε από τους συμμετέχοντες να σημειώσουν το πλαίσιο με τις προεπιλογές συχνότητας κατανάλωσης των διατροφικών πηγών B<sub>12</sub> που αναφέρονταν και ταίριαζαν περισσότερο στις συνήθειές τους. Στο ιστορικό Διαιτητικής Ανάκλησης Προηγούμενου 24ώρου περιγράφηκε η διατροφική πρόσληψη τροφίμων και ποτών της προηγούμενης ημέρας από την συμπλήρωση του ερωτηματολογίου. Στην περίπτωση που αυτή δεν ήταν αντιπροσωπευτική των συνηθειών του παιδιού, ζητήθηκε να περιγραφεί η διαιτητική πρόσληψη μίας συνηθισμένης ημέρας. Το ιστορικό αυτό περιελάμβανε τόσο ποιοτική όσο και ποσοτική περιγραφή των προσλαμβανόμενων τροφίμων και ποτών. Για την διασφάλιση της μεγαλύτερης δυνατής αξιοπιστίας των δεδομένων, κατά τη συμπλήρωσή του υπήρχαν διαθέσιμα προπλάσματα τροφίμων και σκευών (όπως πιάτα, μπολ, ποτήρια, κουτάλια), προκειμένου να επιτευχθεί ακρίβεια στην ποσοτικοποίηση. Παράλληλα, ζητήθηκε από τους ασθενείς και τους γονείς τους να δηλώσουν την ποσότητα λαδιού και πρόσθετου αλατιού που κατανάλωναν την ημέρα η οποία αποτυπώθηκε στην ανάκληση 24ώρου. Η προσλαμβανόμενη ποσότητα νερού καταγράφηκε σε κοινά ποτήρια των 250ml.

Για την ανάλυση των ιστορικών Διαιτητικής Ανάκλησης 24ωρου των 69 συμμετεχόντων, αξιοποιήθηκε το λογισμικό διατροφικής αξιολόγησης Cronometer. Το λογισμικό αυτό παρείχε δυνατότητα εισαγωγής δεδομένων που αφορούσαν το φύλο, την ημερομηνία γέννησης, το ύψος και το βάρος τους. Με βάση τα παραπάνω δεδομένα υπολογιζόταν ο Μεταβολικός Ρυθμός Ηρεμίας (Rest Metabolic Rate, RMR), μέσω της εξίσωσης του Mifflin St. Jeor, η οποία παρατίθεται παρακάτω (Frankenfield et al., 2005):

$$\text{Για άντρες: } RMR = (10 * B) + (6,25 * Y) - (5 * H) + 5$$

$$\text{Για γυναίκες: } RMR = (10 * B) + (6,25 * Y) - (5 * H) - 161$$

όπου: B= Βάρος σε kg (χρησιμοποιείται το παρόν βάρος), Y= ύψος σε cm, H= ηλικία σε έτη

Επιπλέον, το λογισμικό παρείχε την δυνατότητα προσδιορισμού του Επιπέδου Φυσικής Δραστηριότητας (Physical Activity Level, PAL), με βάση την εξής κατηγοριοποίηση:

- κανένα PAL
- καθιστικό (RMR\*0,2)
- ελαφρώς δραστήριο (RMR\*0,375)
- μετρίως δραστήριο (RMR\*0,5)
- πολύ δραστήριο (RMR\*0,9)

Αξιοποιώντας όλα τα παραπάνω δεδομένα, το Cronometer υπολόγιζε την Εκτιμώμενη Ημερήσια Ενεργειακή Δαπάνη (EHEΔ) του εκάστοτε ασθενούς, μέσω του τύπου:

$$EHEΔ (kcal/ημέρα) = RMR + (RMR * PAL)$$

Κατόπιν, συνέκρινε την παραπάνω τιμή με την Ημερήσια Ενεργειακή Πρόσληψη (HEΠ) που προέκυπτε από την ανάλυση της ανάκλησης 24ωρου. Παράλληλα, η παραμετροποίηση που αναφέρθηκε παραπάνω επέτρεπε την εξατομικευμένη εκτίμηση των αναγκών σε μακρο- (υδατάνθρακες, λίπη, πρωτεΐνες) και μικρο-θρεπτικά συστατικά (DRIs) κάθε συμμετέχοντα και τον υπολογισμό του ποσοστού κάλυψης αυτών, με βάση τα δεδομένα που προέκυπταν από την ανάλυση του διαιτολογίου του.

Για την επίτευξη της μεγαλύτερης δυνατής ακρίβειας, η βάση δεδομένων του Cronometer εμπλουτίστηκε με τρόφιμα που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά και παραδοσιακές συνταγές της εγχώριας κουζίνας. Τα δεδομένα αυτά αντλήθηκαν από τις διατροφικές ετικέτες των συσκευασμένων προϊόντων και από τον Οδηγό Διατροφής της Ελληνικής Διαβητολογικής Εταιρείας (“Οδηγός Διατροφής για τη ρύθμιση του Διαβήτη – Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία – Σακχαρώδης Διαβήτης,” 2013). Τέλος, στη βάση δεδομένων του λογισμικού προστέθηκαν πληροφορίες για τη σύσταση ONS, προκειμένου η συνεισφορά τους να συνεκτιμηθεί στην συνολική διαιτητική πρόσληψη μικροθρεπτικών συστατικών (βιταμινών και ιχνοστοιχείων). Οι πληροφορίες αυτές αντλήθηκαν από ψηφιακό οδηγό φαρμάκων «Γαληνός» (“Γαληνός - Αρχική σελίδα,” n.d.).

### **2.3.7 Ορισμός Βιοχημικής Ανεπάρκειας Βιταμίνης B<sub>12</sub>**

Συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub> ορού κάτω από 140 pg/ml χαρακτηρίστηκαν ως ανεπαρκείς (Lentferink et al., 2018; Anderson et al., 2017).

## **2.4 Στατιστική Ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με χρήση του λογισμικού πακέτου IBM SPSS Statistics, έκδοση 25 για τα Windows (IBM, Armonk NY, USA). Για την περιγραφή των ποιοτικών/ κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκαν πίνακες κατανομής συχνοτήτων (με απόλυτες ή/και σχετικές συχνότητες) και ραβδογράμματα. Τα αποτελέσματα για τις ποσοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (mean ± standard deviation), όταν αυτές ακολουθούσαν την Κανονική Κατανομή και ως διάμεσος (median) και ενδοτεταρτημοριακό εύρος, δηλαδή εύρος μεταξύ 1<sup>ου</sup> και 3<sup>ου</sup> τεταρτημορίου (interquartile range), όταν οι μεταβλητές δεν κατανέμονταν κανονικά. Αφού δόθηκε μία πλήρης εικόνα των μέτρων θέσης και διασποράς για κάθε μεταβλητή, στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε διερεύνηση- έλεγχος διαφορών, ως προς τα δημογραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος. Κατόπιν, η κανονικότητα των τιμών για κάθε ποσοτική (συνεχή) μεταβλητή ελέγχθηκε με τη δοκιμασία Kolmogorov- Smirnov (για δείγματα ≥ 50 ατόμων) και με Shapiro- Wilk (για δείγματα < 50 ατόμων). Από τις παραπάνω δοκιμασίες διαπιστώθηκε ότι οι μεταβλητές, τόσο στο σύνολό τους όσο και ανά ομάδα, δεν

ακολουθούσαν την Κανονική Κατανομή. Συνεπώς, για τον έλεγχο των διαφορών εφαρμόστηκαν οι μη Παραμετρικές δοκιμασίες Mann-Whitney U test για Ανεξάρτητα δείγματα ή Έλεγχος Ανεξαρτησίας  $\chi^2$ . Για την σύγκριση συχνοτήτων ανάμεσα στις δύο ομάδες συμμετεχόντων εφαρμόστηκε η δοκιμασία ακριβείας του Fisher. Επίσης, πραγματοποιήθηκε μη Παραμετρική Ανάλυση Συσχέτισης με το συντελεστή  $r$  του Spearman. Το επίπεδο σημαντικότητας, για όλες τις δοκιμασίες που αναφέρθηκαν, ορίστηκε στο 5% ( $\alpha = 0,05$ ).

## 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 3.1 Κατηγοριοποίηση συμμετεχόντων ως προς τη λήψη μετφορμίνης

Με κριτήριο τη λήψη ή μη μετφορμίνης οι συμμετέχοντες χωρίστηκαν σε δύο ομάδες: άτομα που βρίσκονταν υπό θεραπεία (n=23) και εκείνα στα οποία δεν χορηγούταν η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία (n=46).

#### 3.1.1 Αιματολογικά Αποτελέσματα

Στον Πίνακα 7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της σύγκρισης των Διαμέσων (Median, M) και των Ενδοτεταρτημοριακών Εύρων ( $Q_1$ - $Q_3$ ) των βιοχημικών και των ορμονολογικών δεικτών, που αξιολογήθηκαν, ανάμεσα στους συμμετέχοντες υπό και χωρίς αγωγή με μετφορμίνη. Οι διάμεσοι των συγκεντρώσεων Βιταμίνης B<sub>12</sub>, 25(OH)Βιταμίνης D, Γλυκόζης και Ινσουλίνης νηστείας, Ασβεστίου, SHBG και των τιμών HOMA-IR, δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στους ασθενείς που έλαβαν ή όχι την προαναφερόμενη φαρμακευτική ουσία. Ωστόσο, οι συμμετέχοντες της δεύτερης ομάδας είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες συγκεντρώσεις Φωσφόρου και Αλκαλικής Φωσφατάσης (ALP). Αντιθέτως, τα επίπεδα Δ4 Ανδροστενδιόνης και DHEA-S ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα στην ομάδα παιδιών και εφήβων που βρίσκονταν υπό αγωγή με μετφορμίνη. Παράλληλα, το 17% (n=4) αυτών διαγνώστηκε με βιοχημική ανεπάρκεια βιταμίνης B<sub>12</sub>, εν αντιθέσει με την ομάδα μαρτύρων στην οποία, σε κανένα μέλος της, δεν εντοπίστηκαν συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης μικρότερες των 140 pg/ml.

Πίνακας 7: Σύγκριση Διαμέσων (M) και Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) Βιοχημικών και Ορμονολογικών Δεικτών ανάμεσα σε συμμετέχοντες υπό και χωρίς αγωγή με μετφορμίνη

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΚΑΙ ΟΡΜΟΝΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	ΟΜΑΔΑ ΥΠΟ ΑΓΩΓΗ ΜΕ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ (n=23)	ΟΜΑΔΑ ΜΑΡΤΥΡΩΝ (n=46)	p-value
	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (pg/ml)	284 [197 - 420,8]	362,5 [234,8 - 521,9]	0,135
Βιοχημική Ανεπάρκεια Βιταμίνης B <sub>12</sub> (n,%) *	4 (17%)	0 (0)	<b>0,016</b> °
25(OH) Βιταμίνη D (ng/ml)	26 [22,7 - 30,4]	25,5 [17,7 - 28,3]	0,330
Γλυκόζη νηστείας (mg/dl)	88 [81 - 95]	86 [82,3 - 93]	0,994
Ινσουλίνη νηστείας (μIU/ml)	10,9 [7,7 - 18]	9,4 [8,1 - 13,8]	0,485
HOMA- IR	2,4 [1,8 - 4]	2 [1,5 - 2,8]	0,357
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	10 [9,6 - 10,2]	9,8 [9,5 - 10]	0,197
P (mg/dl)	3,9 [3,6 - 4,3]	4,7 [4 - 5,1]	<b>0,001</b>
ALP (IU/L)	91 [79 - 128]	230 [132 - 293,5]	<b>&lt;0,001</b>
SHBG (nmol/L)	22,9 [15,2 - 37,6]	30,2 [16,5 - 38,3]	0,626
Δ4- Ανδροστενδιόνη (ng/ml)	2,1 [1,4 - 2,9]	0,7 [0,4 - 1,2]	<b>&lt; 0,001</b>
DHEA-S (μg/dl)	263,8 [225,3 - 333,5]	170,7 [87,5 - 223,5]	<b>&lt; 0,001</b>

25(OH)Βιταμίνη D: 25- υδρόξυ- βιταμίνη D, ALP: Alkaline Phosphatase (Αλκαλική Φωσφατάση), Ca<sup>2+</sup>: Calcium (Ασβέστιο), DHEA-S: dehydroepiandrosterone sulfate (Θεϊκή Διϋδροεπιανδροστερόνη), HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (Matthews et al., 1985), P: Phosphorus (Φώσφορος), SHBG: Sex Hormone-Binding Globulin (Δεσμευτική Σφαιρίνη των Φυλετικών Ορμονών). \*Συγκεντρώσεις Βιταμίνης B<sub>12</sub>< 140 pg/ml. °Δοκιμασία Ακρίβειας του Fisher.

### 3.1.2 Αποτελέσματα Διατροφικής Πρόσληψης

Στον Πίνακα 8 παρατίθενται τα αποτελέσματα της σύγκρισης των Διαμέσων (Median, M) και των Ενδοτεταρτημοριακών Εύρων (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) διαφόρων παραμέτρων αξιολόγησης της ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης ανάμεσα στους συμμετέχοντες υπό και χωρίς αγωγή με μετφορμίνη. Σύμφωνα με τον Πίνακα 10 τα ποσοστά της ΗΕΠ που καλύπτονταν από την κατανάλωση Υδατανθράκων και Πρωτεϊνών, δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στα μέλη των δύο ομάδων. Το ίδιο ίσχυε και για την διαιτητική πρόσληψη PUFA (Polyunsaturated Fatty Acids, Πολυακόρεστα Λιπαρά Οξέα) και Χοληστερόλης. Ακόμη, τα

ποσοστά κάλυψης των DRIs για τις βιταμίνες B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub>, B<sub>9</sub>, A και D δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των συμμετεχόντων που βρίσκονταν ή όχι υπό αγωγή με μετφορμίνη. Η παραπάνω παρατήρηση επιβεβαιώθηκε και για τη διαιτητική πρόσληψη Ασβεστίου και Φωσφόρου.

Εν αντιθέσει με τα προαναφερόμενα, η ΗΕΠ και η κατανάλωση Λιπαρών, συμπεριλαμβανομένων των MUFA (Monounsaturated Fatty Acids, Μονοακόρεστα Λιπαρά Οξέα), ω-3 λιπαρών οξέων, SFA (Saturated Fatty Acids, Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα) και trans λιπαρών οξέων, ήταν υψηλότερη στην ομάδα ασθενών που λάμβαναν μετφορμίνη. Επιπλέον, στους ίδιους ασθενείς καταγράφηκε στατιστικά σημαντικά υψηλότερη διαιτητική πρόσληψη βιταμινών B<sub>6</sub> και B<sub>12</sub>. Ωστόσο, τα ποσοστά κάλυψης των DRIs που αναφέρονταν στην Βιταμίνη E, το σίδηρο, το μαγνήσιο, τον ψευδάργυρο και το νάτριο, ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα στα παιδιά και τους εφήβους που δεν χορηγούταν η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία.

Στα μέλη της παραπάνω ομάδας ασθενών, η ΗΕΠ δεν ήταν η βέλτιστη δυνατή, μιας και επαρκούσε για την κάλυψη του 60% της ΕΗΕΔ, που είχε υπολογισθεί για τον κάθε συμμετέχοντα. Επιπροσθέτως, στο σύνολο του το δείγμα δεν ανταποκρίθηκε στις συστάσεις πρόσληψης ω-3 λιπαρών οξέων. Ειδικότερα, η διάμεσος του ποσοστού κάλυψης της συνιστώμενης πρόσληψης ω-3 λιπαρών οξέων των συμμετεχόντων που ακολουθούσαν αγωγή με μετφορμίνη υπολογίστηκε στο 66,5% [Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub> (49,0-90,5)] και εκείνων που δεν λάμβαναν θεραπεία κυμάνθηκε στο 39% [Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>(25,0-59,0)]. Μη ικανοποιητική ήταν και η διαιτητική πρόσληψη των βιταμινών B<sub>9</sub>, A, D, E όπως επίσης και ασβεστίου, σιδήρου, μαγνησίου, φωσφόρου και ψευδαργύρου σε όλους τους συμμετέχοντες, ανεξαρτήτως της λήψης ή μη μετφορμίνης. Τέλος, σε κανένα από τα μέλη της πρώτης ομάδας δεν καταγράφηκε χρήση ONS, και μόνο 3 παιδιά (7%) από την ομάδα των μαρτύρων λάμβαναν κάποιο πολυβιταμινούχο συμπλήρωμα διατροφής, το διάστημα που διενεργήθηκε η συλλογή των δεδομένων.

Πίνακας 8: Σύγκριση Διαμέσων (M) και Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) Παραμέτρων Αξιολόγησης της Ημερήσιας Διατροφικής Πρόσληψης ανάμεσα σε συμμετέχοντες υπό και χωρίς αγωγή με μετφορμίνη

ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΗΜΕΡΗΣΙΑΣ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ	ΟΜΑΔΑ ΥΠΟ ΑΓΩΓΗ ΜΕ ΜΕΤΦΟΡΜΙΝΗ (n=23)	ΟΜΑΔΑ ΜΑΡΤΥΡΩΝ (n=46)	p-value
	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Ημερήσια Ενεργειακή Πρόσληψη [HEΠ] (kcal/ημέρα)	1522 [1183–1814]	1162 [823–1452]	<b>0,004</b>
Εκτιμώμενη Ημερήσια Ενεργειακή Δαπάνη [ΕΗΕΔ] (kcal/ημέρα)	1753 [1471–1969]	2008 [1699–2171]	<b>0,007</b>
HEΠ (% από την ΕΗΕΔ)	99,4 [58,5–119,0]	59,8 [40,3–74,2]	<b>0,001</b>
Υδατάνθρακες (% από την HEΠ)	45 [36–50]	50 [40–53]	NS
Πρωτεΐνες (% από την HEΠ)	16 [13–18]	15 [13–21]	NS
Λιπαρά (% από την HEΠ)	40 [35–45]	33 [29–43]	<b>0,032</b>
MUFA (g)	20 [16–32]	14 [10–19]	<b>0,004</b>
PUFA (g)	6,4 [4,4–8,4]	4,8 [2,8–8,3]	NS
ω-3 Λιπαρά Οξέα (g)	0,8 [0,5–0,9]	0,4 [0,3–0,7]	<b>0,001</b>
SFA (g)	23,4 [15,0–30,7]	16,8 [7,8–23,3]	<b>0,006</b>
trans Λιπαρά Οξέα (g)	1,2 [0,6–2,2]	0,6 [0,2–1,1]	<b>0,002</b>
Χοληστερόλη (mg)	143 [74–197]	89 [59–133]	NS
Βιταμίνη B <sub>1</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	101,5 [64,5 - 127]	81 [74 - 128]	NS
Βιταμίνη B <sub>2</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	115 [71,5 - 158]	109 [54 - 144]	NS
Βιταμίνη B <sub>3</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	108 [58,8 - 147]	81 [46 - 116]	NS
Βιταμίνη B <sub>5</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	75,5 [53 - 97,5]	66 [39 - 85]	NS
Βιταμίνη B <sub>6</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	112 [74,8 - 162,3]	91 [42 - 122]	<b>0,025</b>
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	112 [55,3 - 181,3]	54 [19,8 - 118]	<b>0,010</b>
Βιταμίνη B <sub>9</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	73,5 [47,5 - 110]	64 [39 - 99]	NS
Βιταμίνη A (% κάλυψης με βάση το DRI)	46 [27–75]	37 [20–54]	NS



Βιταμίνη D (% κάλυψης με βάση το DRI)	9 [4–27]	8 [2–32]	NS
Βιταμίνη E (% κάλυψης με βάση το DRI)	30 [15–49]	52 [29–66]	<b>0,009</b>
Ασβέστιο [Ca] (% κάλυψης με βάση το DRI)	47 [28–66]	44,5 [28–74]	NS
Σίδηρος [Fe] (% κάλυψης με βάση το DRI)	54 [37–82]	80 [54–124]	<b>0,037</b>
Μαγνήσιο [Mg] (% κάλυψης με βάση το DRI)	50 [30–59]	63,5 [41–76]	<b>0,010</b>
Φώσφορος [P] (% κάλυψης με βάση το DRI)	52 [34–73]	60 [38–83]	NS
Ψευδάργυρος [Zn] (% κάλυψης με βάση το DRI)	54 [30–66]	71 [43–108]	<b>0,025</b>
Νάτριο [Na] (% κάλυψης με βάση το DRI)	96 [65–152]	138 [93–201]	<b>0,028</b>

ΕΗΕΔ: Εκτιμώμενη Ημερήσια Ενεργειακή Δαπάνη, ΗΕΠ: Ημερήσια Ενεργειακή Πρόσληψη, DRI: Dietary Reference Intake, MUFA: Monounsaturated Fatty Acids (Μονοακόρεστα Λιπαρά Οξέα), NS: Not Significant, PUFA: Polyunsaturated Fatty Acids (Πολυακόρεστα Λιπαρά Οξέα), SFA: Saturated Fatty Acids (Κορεσμένα Λιπαρά Οξέα).

### 3.2 Κατηγοριοποίηση συμμετεχόντων ως προς το φύλο

Μεταξύ των παιδιών και των εφήβων που έλαβαν μέρος στη εν λόγω μελέτη, 25 ήταν αγόρια και 44 κορίτσια. Με βάση τα αποτελέσματα του Πίνακα 9, διαπιστώνεται ότι, στο συγκεκριμένο δείγμα, η λήψη μετφορμίνης ήταν ανεξάρτητη από το φύλο των συμμετεχόντων. Τόσο στα αγόρια όσο και στα κορίτσια, οι πιθανότητες λήψης της παραπάνω φαρμακευτικής ουσίας ήταν ίδιες.

Πίνακας 9: Έλεγχος Ανεξαρτησίας Λήψης Μετφορμίνης ως προς το Φύλο

	Φύλο		$\chi^2$	<i>p</i>
	Αγόρι n (%)	Κορίτσι n (%)		
Λήψη Μετφορμίνης				
Όχι	20 (43,5)	26 (56,5)	3,136	0,077
Ναι	5 (21,7)	18 (78,3)		

Στον Πίνακα 10 παρουσιάζεται η κατανομή των δημογραφικών, ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών και των πληροφοριών σχετικά με τη λήψη μετφορμίνης, ως προς το φύλο των συμμετεχόντων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των παραπάνω συγκρίσεων, δεν εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ αγοριών και κοριτσιών, σε καμία από τις μεταβλητές που αναφέρθηκαν νωρίτερα.

Πίνακας 10: Κατανομή Δημογραφικών, Ανθρωπομετρικών Χαρακτηριστικών και Πληροφοριών Λήψης Μετφορμίνης ως προς το φύλο των συμμετεχόντων \*

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΦΥΛΟ		p-value
	ΑΓΟΡΙΑ (n=25)	ΚΟΡΙΤΣΙΑ (n=44)	
	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Ηλικία (έτη)	13,1 [11,4 - 16]	14,1 [11,9 - 15,7]	0,662
Βάρος Σώματος (kg)	69,6 [51,9 - 90,7]	74,1 [48,3 - 86,9]	0,930
Ύψος (cm)	159,7 [148,7 - 174,8]	159,7 [146,2 - 165,8]	0,315
ΔΜΣ (kg/m <sup>2</sup> )	28 [21,5 - 30,6]	27,4 [20,8 - 33,3]	0,722
ΔΜΣ (z-scores)	2,3 [1,3 - 2,9]	2,1 [0,8 - 3,1]	0,537
Δοσολογία Μετφορμίνης (mg δραστικής ουσίας/ ημέρα)	1700 [1700 - 1700]	1700 [850 - 1700]	0,289
Διάρκεια Χορήγησης Μετφορμίνης (μήνες)	17 [13,5 - 21,5]	24 [12 - 36]	0,525

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος. \*Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως Διάμεσος (Median) και Ενδοτεταρτημοριακό Εύρος (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>).

### 3.2.1 Αιματολογικά Αποτελέσματα

Στον Πίνακα 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της σύγκρισης των Διαμέσων (M) και των Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) βιοχημικών και ορμονολογικών δεικτών, που αξιολογήθηκαν, ανάμεσα στα αγόρια και τα κορίτσια του δείγματος. Οι διάμεσοι των συγκεντρώσεων Βιταμίνης B<sub>12</sub>, 25(OH)Βιταμίνης D, Γλυκόζης Νηστείας, Ασβεστίου, Φωσφόρου, ALP και DHEA-S δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα σε άτομα διαφορετικού φύλου. Ωστόσο, στην ομάδα των κοριτσιών εντοπίστηκαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα ισουλίνης νηστείας, SHBG και Δ4 Ανδροστενδιόνης. Παράλληλα, η διάμεση τιμή HOMA-IR ήταν μεγαλύτερη στην ομάδα αυτή εν συγκρίσει με την αντίστοιχη των αγοριών.

Πίνακας 11: Σύγκριση Διαμέσων (M) και Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) Βιοχημικών και Ορμονολογικών Δεικτών ανάμεσα σε αγόρια και κορίτσια

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΚΑΙ ΟΡΜΟΝΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	ΦΥΛΟ		p-value
	ΑΓΟΡΙΑ (n=25)	ΚΟΡΙΤΣΙΑ (n=44)	
	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (pg/ml)	241 [213,5 - 450,6]	377,5 [254,8 - 468,5]	0,166
25(OH) Βιταμίνη D (ng/ml)	26,7 [23,5 - 29,1]	23,9 [18,1 - 28,9]	0,176
Γλυκόζη νηστείας (mg/dl)	90 [80 - 94,5]	86 [82 - 92]	0,599
Ινσουλίνη νηστείας (μIU/ml)	8,3 [7 - 10,4]	11,3 [9,2 - 19,4]	<b>0,004</b>
HOMA- IR	2 [1,5 - 2,2]	2,5 [1,9 - 4,4]	<b>0,027</b>
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	9,8 [9,6 - 10,1]	9,8 [9,5 - 10]	0,594
P (mg/dl)	4,3 [4 - 5,2]	4,3 [3,9 - 4,9]	0,357
ALP (IU/L)	181 [102 - 281]	121 [85 - 253]	0,108
SHBG (nmol/L)	17,4 [12,1 - 28,5]	30,2 [19,8 - 42,1]	<b>0,025</b>
Δ4- Ανδροστενδιόνη (ng/ml)	0,6 [0,3 - 1]	1,5 [0,8 - 2,7]	<b>0,005</b>
DHEA-S (μg/dl)	225,4 [109,8 - 304]	212,7 [127 - 267]	0,847

25(OH)Βιταμίνη D: 25- υδρόξυ- βιταμίνη D, ALP: Alkaline Phosphatase (Αλκαλική Φωσφατάση), Ca<sup>2+</sup>: Calcium (Ασβέστιο), DHEA-S: dehydroepiandrosterone sulfate (Θεϊκή Διϋδροεπιανδροστερόνη), HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (Matthews et al., 1985), P: Phosphorus (Φώσφορος), SHBG: Sex Hormone-Binding Globulin (Δεσμευτική Σφαιρίνη των Φυλετικών Ορμονών).

### 3.2.2 Αποτελέσματα Διατροφικής Πρόσληψης

Στον Πίνακα 12 παρατίθενται τα αποτελέσματα της σύγκρισης των Διαμέσων (M) και των Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) της ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης και του ποσοστού κάλυψης (με βάση τα DRIs) βιταμινών του συμπλέγματος Β, ανάμεσα σε αγόρια και κορίτσια. Στατιστικά σημαντική διαφορά δεν εντοπίστηκε σε καμία από τις μεταβλητές που εξετάστηκαν. Η διαιτητική πρόσληψη βιταμίνης Β<sub>12</sub> ήταν ικανοποιητική τόσο στα αγόρια όσο και στα κορίτσια. Ωστόσο, τα ποσοστά κάλυψης των Βιταμινών Β<sub>5</sub> και Β<sub>9</sub>, με βάση τα αντίστοιχα DRIs, ήταν σχετικά χαμηλά και η συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων

πλούσιων στις δύο προαναφερόμενες βιταμίνες επιδέχεται βελτίωση σε όλους τους συμμετέχοντες, ανεξαρτήτως φύλου.

Πίνακας 12: Σύγκριση Διαμέσων (M) και Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) Ημερήσιας Διατροφικής Πρόσληψης και Ποσοστών Κάλυψης (% με βάση το DRI) Βιταμινών του Συμπλέγματος Β ανάμεσα σε αγόρια και κορίτσια

ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ Β	ΦΥΛΟ		p-value
	ΑΓΟΡΙΑ (n=25)	ΚΟΡΙΤΣΙΑ (n=44)	
	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Βιταμίνη Β <sub>1</sub> (mg)	1 [0,7 - 1,6]	0,8 [0,6 - 1,1]	0,113
Βιταμίνη Β <sub>1</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	102 [67 - 158]	91 [71,8 - 113,8]	0,321
Βιταμίνη Β <sub>2</sub> (mg)	1 [0,5 - 1,6]	1,1 [0,6 - 1,5]	0,990
Βιταμίνη Β <sub>2</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	99 [61 - 143,5]	114,5 [68,5 - 150,3]	0,392
Βιταμίνη Β <sub>3</sub> (mg)	14,3 [7,1 - 21,2]	10,8 [7 - 16,2]	0,137
Βιταμίνη Β <sub>3</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	108 [68 - 150,5]	87,5 [56,5 - 134,8]	0,352
Βιταμίνη Β <sub>5</sub> (mg)	3,3 [2,2 - 4]	3,2 [1,9 - 4,4]	0,856
Βιταμίνη Β <sub>5</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	67 [53 - 88]	71,5 [43 - 95,5]	0,975
Βιταμίνη Β <sub>6</sub> (mg)	1,2 [0,7 - 1,5]	1,1 [0,7 - 1,6]	0,876
Βιταμίνη Β <sub>6</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	95 [74 - 143]	95 [63,5 - 155,3]	0,915
Βιταμίνη Β <sub>12</sub> (μg)	2,1 [0,5 - 3,2]	2 [0,9 - 3,2]	0,975
Βιταμίνη Β <sub>12</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	101 [26 - 142,5]	94 [42 - 164]	0,975
Βιταμίνη Β <sub>9</sub> (μg)	238 [150,7 - 409,6]	233,6 [156 - 346,1]	0,746
Βιταμίνη Β <sub>9</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	71 [46 - 124]	72 [39,5 - 99]	0,635

DRI: Dietary Reference Intake

### 3.3 Κατηγοριοποίηση συμμετεχόντων ως προς το ΔΜΣ (z-scores)

Με κριτήριο το ΔΜΣ (z-scores) τα παιδιά και οι έφηβοι που έλαβαν μέρος στη μελέτη ταξινομήθηκαν σε δύο ομάδες: 18 συμμετέχοντες είχαν φυσιολογική αναλογία βάρους/ύψους και 51 εντάσσονταν στο φάσμα της υπερβαρότητας και της παχυσαρκίας. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του Πίνακα 13, η λήψη μετφορμίνης δεν επηρεάζεται από το ΔΜΣ (z-scores) των παιδιών και των εφήβων που έλαβαν μέρος στη συγκεκριμένη μελέτη.

Πίνακας 13: Έλεγχος Ανεξαρτησίας Λήψης Μετφορμίνης ως προς το ΔΜΣ (z-scores)

Λήψη Μετφορμίνης	ΔΜΣ (z-scores)		$\chi^2$	<i>p</i>
	Φυσιολογικό	Υπερβαρότητα/ Παχυσαρκία		
Όχι	n (%)	n (%)		
	14 (30,4)	32 (69,6)	1,353	0,245
Ναι	4 (17,4)	19 (82,6)		

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος

Στον Πίνακα 14 παρουσιάζεται η κατανομή των δημογραφικών χαρακτηριστικών και των πληροφοριών σχετικά με τη λήψη μετφορμίνης, ως προς το ΔΜΣ (z-scores) των συμμετεχόντων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των παραπάνω συγκρίσεων, οι διάμεσοι των ηλικιών, της δοσολογία και της διάρκειας χορήγησης της εν λόγω φαρμακευτικής ουσίας δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες ασθενών.

Πίνακας 14: Κατανομή Δημογραφικών Χαρακτηριστικών και Πληροφοριών Λήψης Μετφορμίνης ως προς το ΔΜΣ (z-scores) \*

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΔΜΣ (z-scores)		p-value
	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ (n=18)	ΥΠΕΡΒΑΡΟΤΗΤΑ και ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ (n=51)	
	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Ηλικία (έτη)	12,9 [10,9 - 14,7]	14,2 [11,6 - 16]	0,274
Δοσολογία Μετφορμίνης (mg δραστικής ουσίας/ ημέρα)	1700 [1550 - 1700]	1700 [850 - 1700]	0,854
Διάρκεια Χορήγησης Μετφορμίνης (μήνες)	16,5 [6,3 - 25,3]	24 [12 - 36]	0,463

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος. \*Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως Διάμεσος (Median) και Ενδοτεταρτημοριακό Εύρος (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>).

### 3.3.1 Αιματολογικά Αποτελέσματα

Στον Πίνακα 15 παρατίθενται τα αποτελέσματα της σύγκρισης των Διαμέσων (M) και των Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) βιοχημικών και ορμονολογικών δεικτών, που αξιολογήθηκαν ανάμεσα σε συμμετέχοντες με φυσιολογικό και υπερβάλλον σωματικό βάρος. Οι διάμεσοι των συγκεντρώσεων 25(OH)Βιταμίνης D, Γλυκόζης νηστείας, Ασβεστίου, Δ4 Ανδροστενδιόνης και DHEA-S δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στα μέλη των δύο προαναφερόμενων ομάδων. Ωστόσο, τα άτομα με φυσιολογικό ΔΜΣ είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα Βιταμίνης B<sub>12</sub> εν συγκρίσει με εκείνα που εντάσσονταν στο φάσμα της υπερβαρότητας και της παχυσαρκίας. Το ίδιο διαπιστώθηκε και για τις συγκεντρώσεις Φωσφόρου, ALP και SHBG. Αντιθέτως, τα παιδιά και οι έφηβοι με υπερβάλλον σωματικό βάρος είχαν στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερες τιμές ινσουλίνης νηστείας και HOMA-IR.

Πίνακας 15: Σύγκριση Διαμέσων (M) και Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) Βιοχημικών και Ορμονολογικών Δεικτών ανάμεσα σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΚΑΙ ΟΡΜΟΝΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	ΔΜΣ (z-scores)		p-value
	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ (n=18)	ΥΠΕΡΒΑΡΟΤΗΤΑ και ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ (n=51)	
	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (pg/ml)	428,5 [301,4 - 559,6]	284 [214 - 433]	<b>0,029</b>
25(OH) Βιταμίνη D (ng/ml)	26,7 [23,2 - 35,3]	24,1 [17,8 - 28,1]	0,091
Γλυκόζη νηστείας (mg/dl)	89 [84 - 94]	85,5 [81 - 92,8]	0,283
Ινσουλίνη νηστείας (μIU/ml)	7 [6,1 - 10,6]	10,4 [8,3 - 15,3]	<b>0,035</b>
HOMA- IR	1,6 [1,1 - 2,1]	2,2 [1,7 - 3,5]	<b>0,039</b>
Ca <sup>2+</sup> (mg/dl)	9,7 [9,6 - 10]	9,8 [9,5 - 10,1]	0,574
P (mg/dl)	5,1 [4,2 - 5,6]	4,3 [3,9 - 4,8]	<b>0,024</b>
ALP (IU/L)	233 [165,8 - 314,8]	129 [87,5 - 235,8]	<b>0,029</b>
SHBG (nmol/L)	39,6 [30,7 - 43,5]	21,6 [15,5 - 36,4]	<b>0,017</b>
Δ4- Ανδροστενδιόνη (ng/ml)	0,7 [0,6 - 2,1]	1,2 [0,5 - 2,2]	0,718
DHEA-S (μg/dl)	199 [81 - 296,3]	212,7 [129 - 287,4]	0,477

25(OH)Βιταμίνη D: 25- υδρόξυ- βιταμίνη D, ALP: Alkaline Phosphatase (Αλκαλική Φωσφατάση), Ca<sup>2+</sup>: Calcium (Ασβέστιο), DHEA-S: dehydroepiandrosterone sulfate (Θεϊκή Διϋδροεπιανδροστερόνη), HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (Matthews et al., 1985), P: Phosphorus (Φώσφορος), SHBG: Sex Hormone-Binding Globulin (Δεσμευτική Σφαιρίνη των Φυλετικών Ορμονών).

### 3.3.2 Αποτελέσματα Διατροφικής Πρόσληψης

Στον Πίνακα 16 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της σύγκρισης των Διαμέσων (M) και των Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) της ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης και του ποσοστού κάλυψης (με βάση τα DRIs) βιταμινών του συμπλέγματος Β, ανάμεσα σε συμμετέχοντες με φυσιολογικό και υπερβάλλον σωματικό βάρος. Στατιστικά σημαντική διαφορά δεν εντοπίστηκε σε καμία από τις μεταβλητές που εξετάστηκαν. Η διαιτητική πρόσληψη βιταμίνης Β<sub>12</sub> ήταν ικανοποιητική στα μέλη και των δύο ομάδων. Ωστόσο, τα ποσοστά κάλυψης των βιταμινών Β<sub>5</sub> και Β<sub>9</sub>, με βάση τα αντίστοιχα DRIs, ήταν σχετικά χαμηλά και η συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων πλούσιων στις δύο παραπάνω βιταμίνες θα μπορούσε να εντατικοποιηθεί για όλους τους συμμετέχοντες, ανεξαρτήτως ΔΜΣ (z-scores) και φύλου, όπως επισημάνθηκε και στο υποκεφάλαιο 3.2.2.

Πίνακας 16: Σύγκριση Διαμέσων (M) και Ενδοτεταρτημοριακών Ευρών (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>) Ημερήσιας Διατροφικής Πρόσληψης και Ποσοστών Κάλυψης (% με βάση το DRI) Βιταμινών του Συμπλέγματος Β, ανάμεσα σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος

ΒΙΤΑΜΙΝΕΣ ΤΟΥ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΟΣ Β	ΔΜΣ (z-scores)		p-value
	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟ (n=18)	ΥΠΕΡΒΑΡΟΤΗΤΑ και ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ (n=51)	
	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	M [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Βιταμίνη Β <sub>1</sub> (mg)	1 [0,8 - 1,5]	0,9 [0,6 - 1,1]	0,422
Βιταμίνη Β <sub>1</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	106,5 [84,5 - 160,3]	89 [66 - 126]	0,204
Βιταμίνη Β <sub>2</sub> (mg)	1,2 [0,6 - 1,6]	1 [0,6 - 1,5]	0,396
Βιταμίνη Β <sub>2</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	127,5 [77,3 - 160,8]	104 [67 - 144]	0,240
Βιταμίνη Β <sub>3</sub> (mg)	14,8 [6,9 - 18,2]	10,9 [6,9 - 18]	0,548
Βιταμίνη Β <sub>3</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	117 [58,8 - 147,5]	86 [56 - 136]	0,349
Βιταμίνη Β <sub>5</sub> (mg)	3,5 [2,9 - 4,6]	2,9 [1,9 - 4,1]	0,204
Βιταμίνη Β <sub>5</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	79 [66,8 - 110,5]	62 [44 - 89]	0,079
Βιταμίνη Β <sub>6</sub> (mg)	1,2 [0,8 - 1,7]	1,2 [0,7 - 1,5]	0,589
Βιταμίνη Β <sub>6</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	100 [77 - 168,8]	93 [57 - 142]	0,315
Βιταμίνη Β <sub>12</sub> (μg)	2,5 [1 - 4,3]	1,8 [0,7 - 3]	0,175
Βιταμίνη Β <sub>12</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	114,5 [72,5 - 234,8]	91,5 [36,5 - 136,5]	0,097
Βιταμίνη Β <sub>9</sub> (μg)	284,5 [187,6 - 357]	198,5 [144,6 - 357]	0,181
Βιταμίνη Β <sub>9</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	79,5 [62,3 - 110,5]	64 [39 - 105]	0,183

DRI: Dietary Reference Intake

### 3.4 Διερεύνηση μεταβλητότητας ως προς το Φύλο και το ΔΜΣ (z-scores)

Στον Πίνακα 17 παρατίθενται τα αποτελέσματα της σύγκρισης των συγκεντρώσεων βιταμίνης Β<sub>12</sub>, Ανδρογόνων και πληροφοριών σχετικά με τη λήψη μετφορμίνης, ανάμεσα σε συμμετέχοντες με φυσιολογικό και υπερβάλλον σωματικό βάρος, ανάλογα με το φύλο



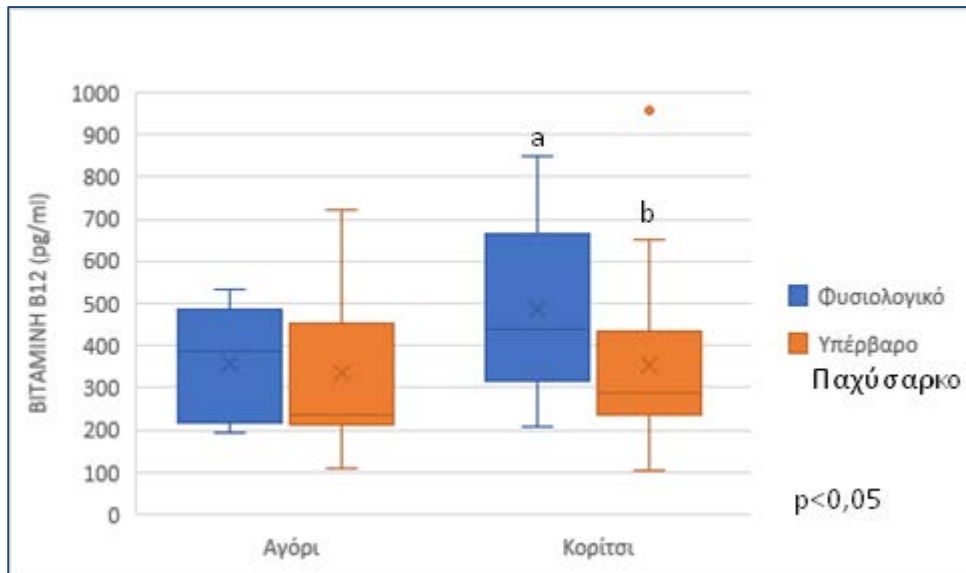
τους. Στατιστικά σημαντικές διαφορές δεν εντοπίστηκαν στην πλειονότητα των μεταβλητών που εξετάστηκαν. Μοναδική εξαίρεση αποτέλεσε η σύγκριση των διαμέσων των επιπέδων βιταμίνης B<sub>12</sub> ανάμεσα σε κορίτσια με φυσιολογικό και υπερβάλλον σωματικό βάρος, καθώς οι συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες στις έφηβες που εντάσσονταν στο φάσμα της υπερβαρότητας και της παχυσαρκίας.

Πίνακας 17: Σύγκριση Συγκεντρώσεων Βιταμίνης B<sub>12</sub> , Ανδρογόνων και πληροφοριών λήψης Μετφορμίνης ανάμεσα σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος, ανάλογα με το φύλο τους\*

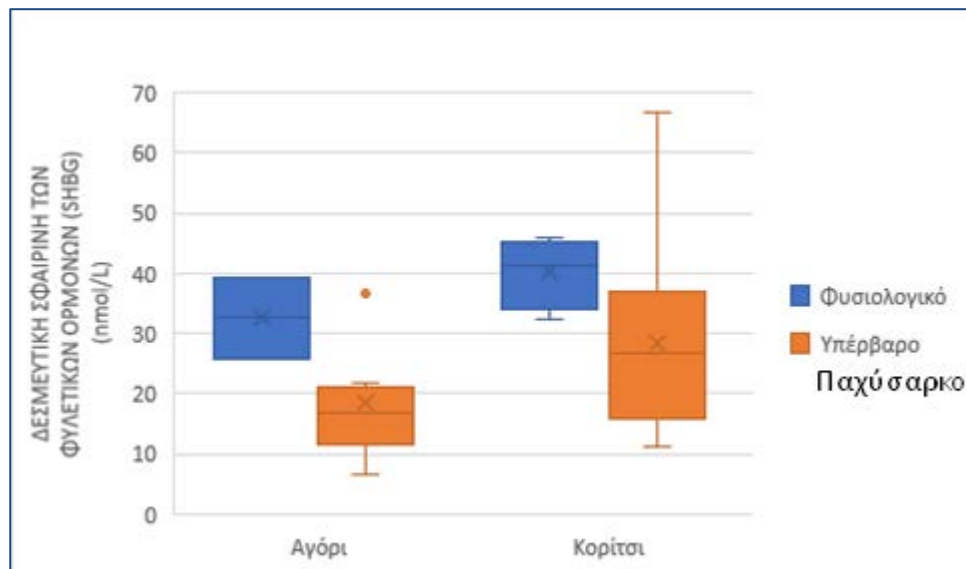
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ	ΑΓΟΡΙΑ		p-value	ΚΟΡΙΤΣΙΑ		p-value
	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ (ΔΜΣ z-scores)	ΥΠΕΡΒΑΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ (ΔΜΣ z-scores)		ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΟΣ (ΔΜΣ z-scores)	ΥΠΕΡΒΑΡΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΠΑΧΥΣΑΡΚΙΑ (ΔΜΣ z-scores)	
	Μ [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	Μ [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]		Μ [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	Μ [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ]	
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (pg/ml)	386 [217,1-485,2]	238 [213,25-450,5]	0,805	437,7 [318,35-667,15]	289,5 [234-433]	<b>0,037</b>
SHBG (nmol/L)	32,6 [25,8-39,7]	16,95 [11,7-21,125]	0,079	41,15 [34,15-45,15]	28,65 [16-39,425]	0,554
Δ4- Ανδροστενδιόνη (ng/ml)	0,595 [0,38-0,675]	0,6 [0,27-1,41]	0,505	1,44 [0,6825-2,6775]	1,51 [1,02-2,69]	0,834
DHEA-S (μg/dl)	209 [100-306,75]	225,35 [114-291,35]	0,917	199 [68,5-257,25]	212,7 [149,8-287,4]	0,273
Δοσολογία Μετφορμίνης (mg δραστικής ουσίας/ ημέρα)	1700 [1700-1700]	1700 [1700-1700]	1,000	1700 [1500-1700]	1700 [850-1700]	0,461
Διάρκεια Χορήγησης Μετφορμίνης (μήνες)	17 [17-17]	16 [12,75-23,75]	0,946	16 [3-28]	24 [12-36]	0,275

DHEA-S: dehydroepiandrosterone sulfate (Θεϊκή Διϋδροεπιανδροστερόνη), SHBG: Sex Hormone-Binding Globulin (Δεσμευτική Σφαιρίνη των Φυλετικών Ορμονών). \*Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως Διάμεσος (Median) και Ενδοτεταρτημοριακό Εύρος (Q<sub>1</sub>-Q<sub>3</sub>).

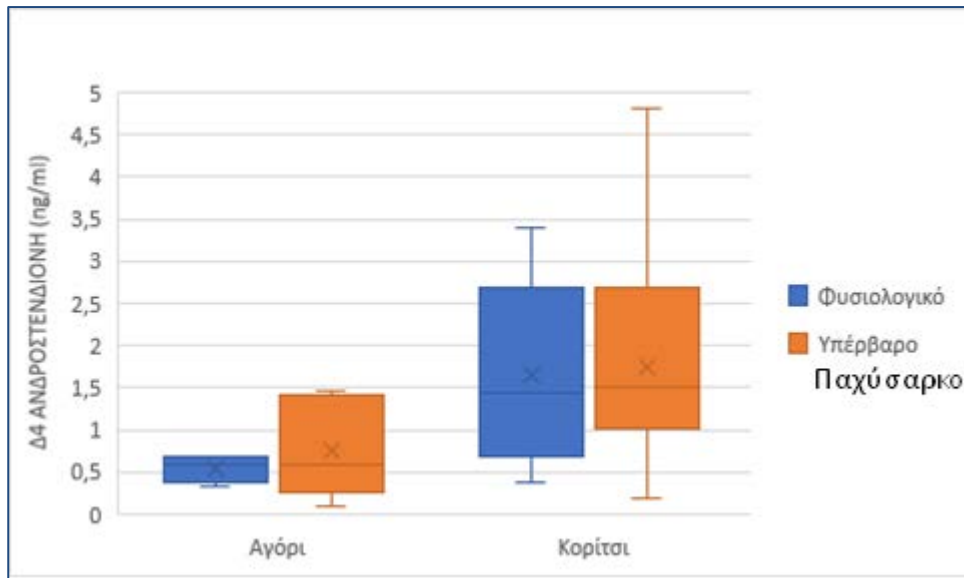
Τα δεδομένα του Πίνακα 17 παρουσιάζονται σχηματικά στα Θηκογράμματα (Box-Plots) που ακολουθούν (Γράφημα 1-6).



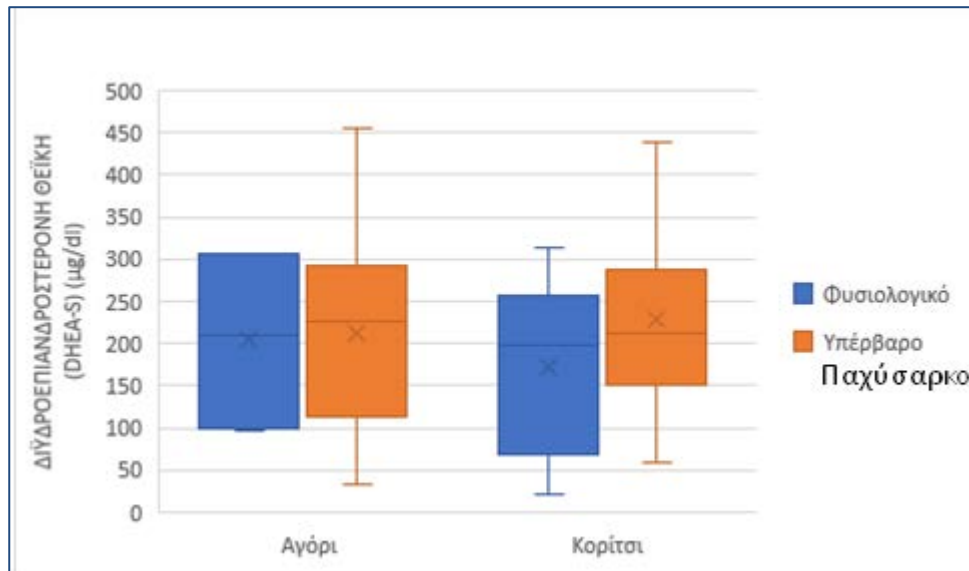
Γράφημα 1: Κατανομή συγκεντρώσεων Βιταμίνης B<sub>12</sub> σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος, ανάλογα με το Φύλο τους



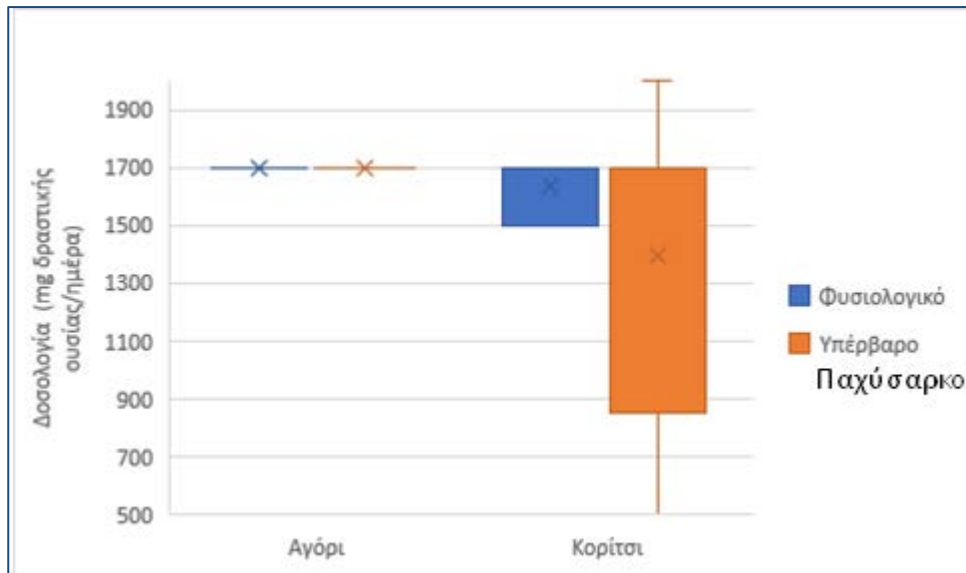
Γράφημα 2: Κατανομή συγκεντρώσεων SHBG (Sex Hormone-Binding Globulin) σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος, ανάλογα με το Φύλο τους



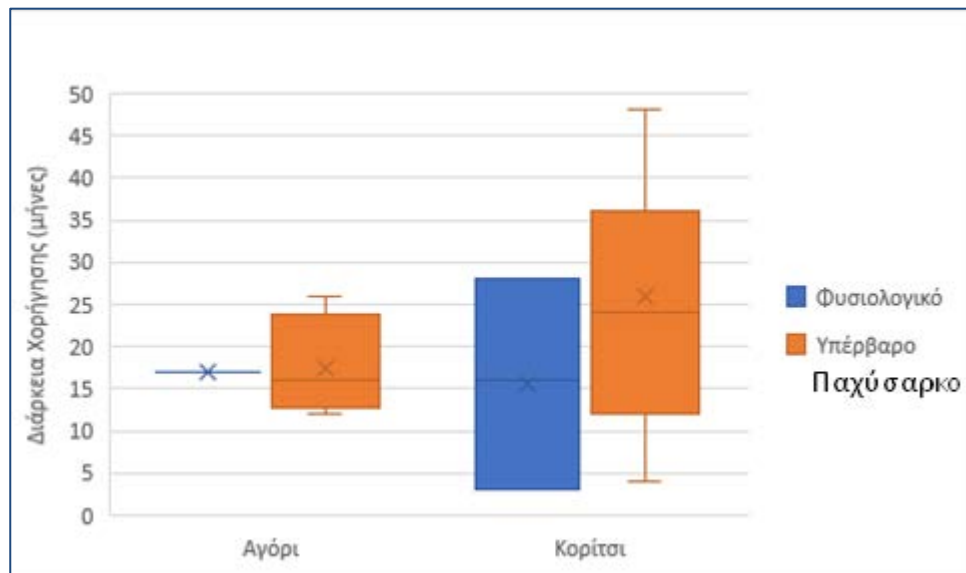
Γράφημα 3: Κατανομή συγκεντρώσεων Δ4 Ανδροστενδιόνης σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος, ανάλογα με το Φύλο τους



Γράφημα 4: Κατανομή συγκεντρώσεων DHEA-S (dehydroepiandrosterone sulfate) σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος, ανάλογα με το Φύλο τους



Γράφημα 5: Κατανομή Χορηγούμενης Δόσης Μετφορμίνης σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος, ανάλογα με το Φύλο τους



Γράφημα 6: Κατανομή Διάρκειας Χορήγησης Μετφορμίνης σε συμμετέχοντες με Φυσιολογικό και Υπερβάλλον Σωματικό Βάρος, ανάλογα με το Φύλο τους

### 3.5 Διερεύνηση Στατιστικά Σημαντικών Συσχετίσεων ανάμεσα σε Μεταβλητές της μελέτης και το ΔΜΣ (z-scores) των συμμετεχόντων

Στον Πίνακα 18 παρατίθενται οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις βιοχημικών και ορμονολογικών δεικτών με το ΔΜΣ (z-scores). Θετική συσχέτιση του ΔΜΣ (z-scores) εντοπίστηκε με τις τιμές Ινσουλίνης νηστείας και HOMA-IR των συμμετεχόντων. Αντιθέτως,

όσο πιο υψηλό ήταν το z-score του ΔΜΣ των παιδιών και των εφήβων που έλαβαν μέρος στη μελέτη, τόσο πιο χαμηλές ήταν οι συγκεντρώσεις των βιταμινών B<sub>12</sub>, D και της SHBG.

Πίνακας 18: Συσχέτιση Βιοχημικών και Ορμονολογικών Δεικτών με το ΔΜΣ (z-scores) των συμμετεχόντων

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΚΑΙ ΟΡΜΟΝΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ	ΔΜΣ (z-scores)	
	r <sub>s</sub>	p-value
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (pg/ml)	-,354	0,003
25(OH) Βιταμίνη D (ng/ml)	-,284	0,025
Ινσουλίνη νηστείας (μIU/ml)	,318	0,025
HOMA- IR	,297	0,038
SHBG (nmol/L)	-,461	0,003

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος, 25(OH)Βιταμίνη D: 25- υδρόξυ- βιταμίνη D, HOMA-IR: Homeostatic Model Assessment of Insulin Resistance (Matthews et al., 1985), SHBG: Sex Hormone-Binding Globulin (Δεσμευτική Σφαιρίνη των Φυλετικών Ορμονών), r<sub>s</sub>: μη παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης του Spearman

Στον Πίνακα 19 παρουσιάζονται οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις της ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης βιταμινών και ιχνοστοιχείων με το ΔΜΣ (z-scores). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του παρακάτω πίνακα, διαπιστώθηκε ότι όσο πιο αυξημένος ήταν ο ΔΜΣ του εκάστοτε συμμετέχοντα, τόσο πιο «φτωχή» ήταν η διατροφή του σε Βιταμίνη B<sub>12</sub>, Ασβέστιο και Φώσφορο. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώθηκε τόσο από την διαιτητική πρόσληψη όσο και από τα ποσοστά κάλυψης (με βάση τα αντίστοιχα DRI) των τριών, προαναφερομένων μικροθρεπτικών συστατικών.

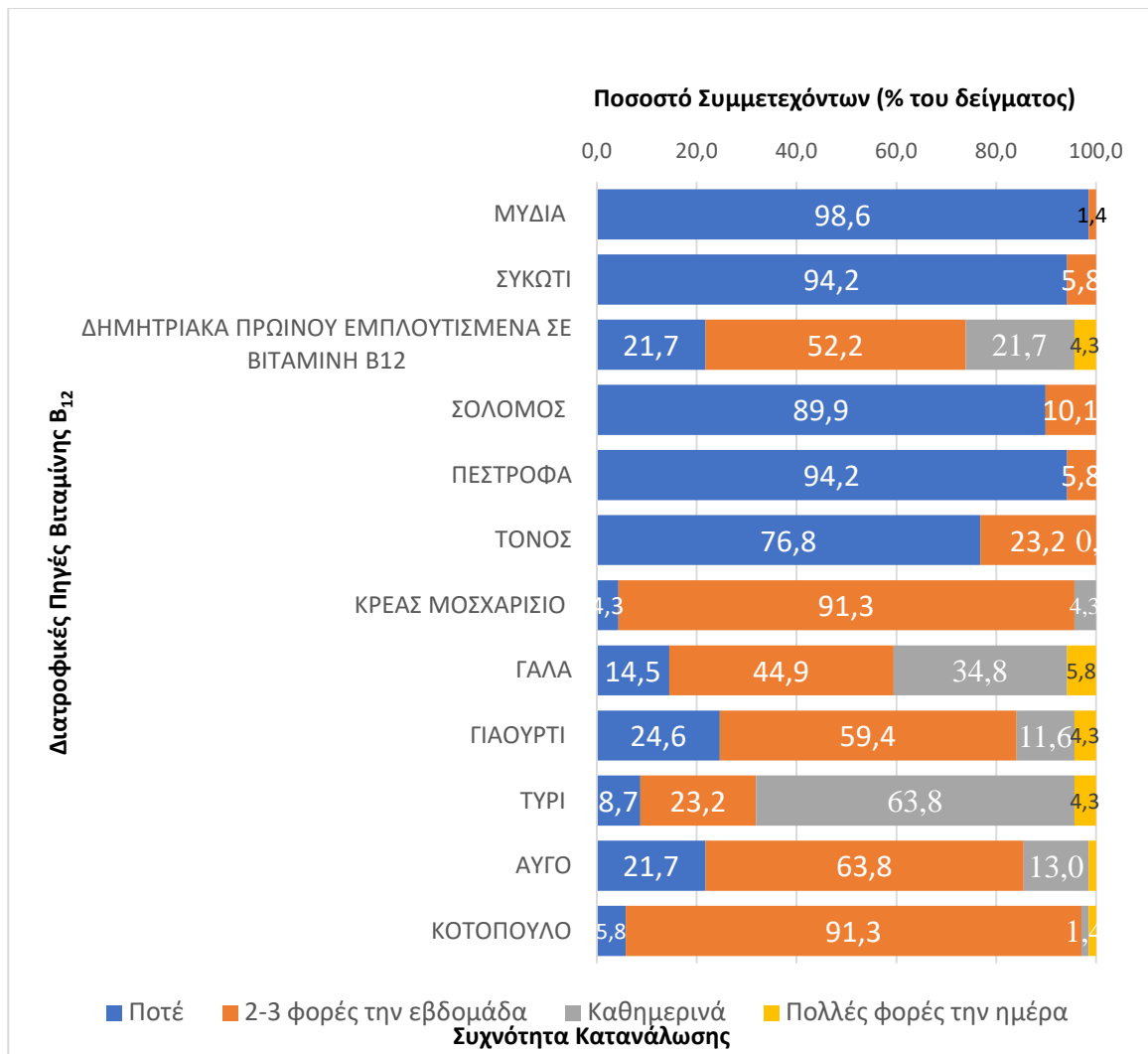
Πίνακας 19: Συσχέτιση Ημερήσιας Διατροφικής Πρόσληψης Βιταμινών και Ιχνοστοιχείων με το ΔΜΣ (z-scores) των συμμετεχόντων

ΗΜΕΡΗΣΙΑ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗ ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΒΙΤΑΜΙΝΩΝ ΚΑΙ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ	ΔΜΣ (z-scores)	
	$r_s$	p-value
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (μg)	-,310	0,010
Βιταμίνη B <sub>12</sub> (% κάλυψης με βάση το DRI)	-,305	0,011
Ασβέστιο (mg)	-,322	0,007
Ασβέστιο [Ca] (% κάλυψης με βάση το DRI)	-,314	0,009
Φώσφορος (mg)	-,317	0,008
Φώσφορος [P] (% κάλυψης με βάση το DRI)	-,267	0,027

ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος,  $r_s$ : μη παραμετρικός συντελεστής συσχέτισης του Spearman

### 3.6 Κατανομή Συχνότητας Κατανάλωσης Διατροφικών Πηγών Βιταμίνης B<sub>12</sub> του δείγματος

Στο Διάγραμμα 7 που ακολουθεί αποτυπώνεται η κατανομή της συχνότητας κατανάλωσης διατροφικών πηγών βιταμίνης B<sub>12</sub> του δείγματος. Τα δεδομένα για την κατασκευή του συγκεκριμένου ραβδογράμματος αντλήθηκαν από τα ΗΣΚΤ, που συμπληρώθηκαν στα πλαίσια της μελέτης. Στο συγκεκριμένο δείγμα παρατηρήθηκε ότι η συχνότητα κατανάλωσης μυδιών, συκωτιού, πέστροφας, σολομού και τόνου ήταν περιορισμένη. Αντιθέτως, η συχνότητα πρόσληψης μοσχαρίσιου κρέατος, κοτόπουλου, αυγού, δημητριακών πρωινού εμπλουτισμένων σε Βιταμίνη B<sub>12</sub> και γαλακτοκομικών προϊόντων (γάλα, γιαούρτι και τυρί) ήταν ικανοποιητική.



Διάγραμμα 7: Κατανομή Συχνότητας Κατανάλωσης Διατροφικών Πηγών Βιταμίνης B<sub>12</sub> του δείγματος

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 4.1 Συνοπτική αναφορά στο σκοπό της έρευνας, τα κυριότερα ευρήματά της και σχολιασμός αυτών

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η αξιολόγηση της επάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> σε παιδιά και εφήβους που θεραπεύονται με μετφορμίνη, σε σύγκριση με συνομηλίκους τους, στους οποίους δεν χορηγείται η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία. Οι διάμεσοι των συγκεντρώσεων κοβαλαμίνης δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πασχόντων και των μαρτύρων, που έλαβαν μέρος στην μελέτη. Ωστόσο η διαιτητική πρόσληψη κοβαλαμίνης που καταγράφηκε, ήταν υψηλότερη στα μέλη της πρώτης ομάδας. Αξίζει να επισημανθεί το γεγονός ότι, αυτή προερχόταν εξ ολοκλήρου από τρόφιμα, μιας και κανένας από τους συμμετέχοντες της ομάδας αυτής δεν λάμβανε κάποιο ONS. Η παραπάνω παρατήρηση θα μπορούσε να ερμηνεύσει την απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς στις συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub> ανάμεσα στα άτομα υπό και χωρίς αγωγή με μετφορμίνη. Ειδικότερα, είναι πιθανό η υψηλότερη διαιτητική πρόσληψη κοβαλαμίνης, που καταγράφηκε στους συμμετέχοντες της πρώτης ομάδας, να αντιστάθμισε τα χαμηλά επίπεδα B<sub>12</sub> ορού, που ενδεχομένως εμφανίστηκαν εξαιτίας της χορηγούμενης θεραπείας. Ωστόσο, παρά την απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς στις συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub> μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων και την υψηλότερη κατανάλωση κοβαλαμίνης από τους πρώτους, βιοχημική ανεπάρκεια της εν λόγω βιταμίνης (συγκέντρωση B<sub>12</sub> <140 pg/ml) εντοπίστηκε σε 4 ασθενείς (17%) που λάμβαναν μετφορμίνη.

Επιπλέον, στα παιδιά και τους εφήβους που συγκρότησαν το δείγμα της παρούσας μελέτης, η διαιτητική πρόσληψη διαφόρων θρεπτικών συστατικών δεν ήταν η ιδανική, ανεξαρτήτως της λήψης ή μη θεραπείας. Ακόμη, οι συμμετέχοντες της πρώτης ομάδας, με βάση τις καταγραφές τους στο ιστορικό διαιτητικής ανάκλησης προηγούμενου 24ώρου, φαίνεται ότι υιοθέτησαν ένα διατροφικό μοντέλο που εντείνει τον κίνδυνο αθηρογένεσης, μιας και η κατανάλωση λιπαρών και διαφόρων υποκατηγοριών αυτών, ήταν υψηλότερη σε σχέση με τα παιδιά που δεν βρίσκονταν υπό θεραπεία.



Όπως αναφέρθηκε και στο [υποκεφάλαιο 2.1](#), η μέση ηλικία των συμμετεχόντων υπό αγωγή με μετφορμίνη ήταν  $15,39 \pm 1,57$  έτη και διέφερε στατιστικά σημαντικά ( $p < 0,001$ ) από την ηλικία των εκείνων στους οποίους δεν χορηγήθηκε η συγκεκριμένη φαρμακευτική ουσία ( $12,38 \pm 2,66$ ). Επίσης, το μέσο βάρος και το μέσο ύψος των παιδιών της πρώτης ομάδας ήταν υψηλότερο κατά 20 κιλά ( $82,46 \pm 18,17$  vs  $62,96 \pm 22,88$ ) και κατά 10 cm ( $165,4 \pm 9,78$  vs  $153,89 \pm 13,22$ ) αντίστοιχα και διέφεραν στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες ασθενών ( $p < 0,01$ ). Ακόμη, τα παιδιά που λάμβαναν μετφορμίνη παρουσίαζαν στατιστικά υψηλότερη μέσο ΔΜΣ ( $\text{kg/m}^2$ ) σε σχέση με εκείνα στα οποία δεν γινόταν χρήση του φαρμάκου ( $30,33 \pm 7,75$  vs  $25,82 \pm 6,66$ ,  $p = 0,032 < 0,05$ ). Ωστόσο, η παραπάνω παρατήρηση δεν επιβεβαιώθηκε όταν ο ΔΜΣ εκφράστηκε σε z-scores (ομάδα πασχόντων:  $2,16 \pm 1,37$  vs ομάδα μαρτύρων:  $1,97 \pm 1,52$ ,  $p = 0,670 > 0,05$ ).

Από τη σύγκριση των δημογραφικών χαρακτηριστικών των μελών των δύο ομάδων στην εν λόγω μελέτη, διαπιστώνεται ότι τα παιδιά που λαμβάνουν μετφορμίνη είναι μεγαλύτερα ηλικιακά, έχουν υψηλότερο βάρος και ύψος σε σχέση με εκείνα που δεν βρίσκονται υπό φαρμακευτική αγωγή. Ωστόσο, ο ΔΜΣ (z-scores), ο οποίος συνεκτιμά τις δύο προαναφερόμενες ανθρωπομετρικές παραμέτρους, δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στις δύο ομάδες συμμετεχόντων, καθιστώντας το δείγμα της παρούσας έρευνας ομοιογενές, ποιοτικό και παρέχοντας τη δυνατότητα εξαγωγής αξιόπιστων και ασφαλών συμπερασμάτων.

## **4.2 Σύγκριση αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης που αφορούν στην βιταμίνη B<sub>12</sub> με τα αντίστοιχα άλλων ερευνών**

Η αξιολόγηση της επάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> σε παιδιά και εφήβους που θεραπεύονται με μετφορμίνη, αποτελεί αντικείμενο και άλλων μελετών, πέραν της παρούσας, και τα αποτελέσματά τους είναι αντικρουόμενα μεταξύ τους. Τα ευρήματα ορισμένων εξ αυτών, όπως των (Burgert et al., 2008; Azcona-Sanjulián et al., 2015 ;Levy-Shraga et al., 2021) ήταν σύμφωνα με τα αντίστοιχα της εν λόγω έρευνας, καθώς δεν κατόρθωσαν να αναδείξουν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στις συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub> των συμμετεχόντων στους οποίους χορηγήθηκε η παραπάνω φαρμακευτική ουσία. Ειδικότερα, στη (Azcona-

Sanjulián et al., 2015) η μέση συγκέντρωση βιταμίνης B12 πριν την έναρξη της παρέμβασης ήταν 650 pg/ml και μετά από 6 μήνες θεραπείας 690 pg/ml. Στην (Burgert et al., 2008) δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της παραπάνω βιταμίνης μεταξύ των συμμετεχόντων που έλαβαν μετφορμίνη ή εικονικό φάρμακο ( $p=0,3 > 0,05$ ). Παρόμοια αποτελέσματα σχετικά με τις συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης παρατηρήθηκαν και όταν μελετήθηκε η επίδραση μεμονωμένης χορήγησης DSRAs ή συνδυασμού της προαναφερόμενης αντιψυχωσικής αγωγής με μετφορμίνη στη μελέτη (Levy-Shraga et al., 2021).

Η αδυναμία ανάδειξης στατιστικά σημαντικών αλλαγών στις συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub> στις δύο τελευταίες μελέτες, δηλαδή στις (Burgert et al., 2008; Levy-Shraga et al., 2021), ενδεχομένως αποδίδεται στην προκαταβολική χορήγηση πολυβιταμινούχου σκευάσματος που περιείχε και κυανοκοβαλαμίνη, κατά την έναρξη της θεραπείας με μετφορμίνη. Το γεγονός αυτό αποσκοπούσε στο περιορισμό του κινδύνου εμφάνισης ανεπάρκειας της εν λόγω βιταμίνης που σχετίζεται με την παραπάνω φαρμακευτική ουσία (Burgert et al., 2008; Levy-Shraga et al., 2021) . Αξίζει να επισημανθεί το γεγονός ότι, στην παρούσα έρευνα, κανένα από τα μέλη της ομάδας πασχόντων δεν χρησιμοποίησε κάποιο ONS που να περιέχει βιταμίνη B<sub>12</sub>.

Σε αντιδιαστολή με τα προαναφερόμενα, οι (Yanovski et al., 2011; Anderson et al., 2017; Yu et al., 2022; Τας et al., 2022) οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι υψηλές δόσεις και παρατεταμένη χορήγηση μετφορμίνης συνδέονται με χαμηλότερες συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub> σε παιδιά και εφήβους. Ειδικότερα, στην (Yanovski et al., 2011) η μέση συγκέντρωση B<sub>12</sub> παρουσίασε μείωση στην ομάδα που έλαβε μετφορμίνη και αύξηση σε εκείνη που χορηγήθηκε εικονικό φάρμακο, μετά από 6 μήνες παρακολούθησης ( $-57 \pm 58$  vs  $173 \pm 67$  pg/ml,  $p < 0,001$ ). Στην (Anderson et al., 2017), μετά το πέρας 1 έτους παρέμβασης, τα επίπεδα κοβαλαμίνης ήταν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα στην πρώτη ομάδα εν συγκρίσει με τη δεύτερη ( $347 \pm 34$  vs  $451 \pm 33$  pmol/L,  $p=0,01$ ). Στην (Yu et al., 2022), αξιοσημείωτη πτώση των τιμών της εν λόγω βιταμίνης ( $p < 0,05$ ) παρατηρήθηκε μόνο σε περιπτώσεις ασθενών που λάμβαναν υψηλές δόσεις φαρμακευτικής ουσίας, με καλή

συμμόρφωση. Τέλος, στην (Ταξ et al., 2022), στους βιοχημικούς ελέγχους που πραγματοποιήθηκαν μετά από 6 και 12 μήνες χορήγησης μετφορμίνης, εντοπίστηκε μείωση των επιπέδων βιταμίνης B<sub>12</sub> κατά 0,6 και 6% αντίστοιχα. Αξίζει να επισημανθεί το γεγονός ότι, σε όλες τις προαναφερόμενες μελέτες, παρά την παρατηρούμενη μείωση, τα επίπεδα κοβαλαμίνης όλων των συμμετεχόντων παρέμειναν εντός του φυσιολογικού εύρους αναφοράς, που είχε οριστεί σε κάθε περίπτωση.

Ωστόσο, βιοχημική ανεπάρκεια βιταμίνης B<sub>12</sub> εντοπίστηκε τόσο σε συμμετέχοντες της παρούσας μελέτης όσο και σε άλλες με παρόμοιο αντικείμενο και συγκεκριμένα στις (Gourgari et al., 2014; van der Aa et al., 2016; Lentferink et al., 2018; Yu et al., 2022). Ειδικότερα, στην (van der Aa et al., 2016), μετά από 18 μήνες παρακολούθησης, σε 3 άτομα (13%) από την ομάδα παρέμβασης εντοπίστηκαν ανεπαρκείς συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης. Επεκτείνοντας την τυχαιοποιημένη χορήγηση μετφορμίνης και εικονικού φαρμάκου για επιπλέον, 18 μήνες, ανεπάρκεια B<sub>12</sub> σημειώθηκε σε 2 εφήβους (Lentferink et al., 2018). Στην (Yu et al., 2022), παθολογικά χαμηλή συγκέντρωση της εν λόγω βιταμίνης καταγράφηκε σε 1 συμμετέχοντα, μετά την πάροδο 1 έτους παρέμβασης. Τέλος, μελέτη περιστατικού ανέδειξε ανεπαρκή επίπεδα κοβαλαμίνης σε έφηβη 15 ½ ετών με PCOS και παχυσαρκία, που βρισκόταν υπό θεραπεία με μετφορμίνη (2.000 mg/ημέρα) (Gourgari et al., 2014).

### **4.3 Αξιολόγηση επιπέδων και διάγνωση βιοχημικής ανεπάρκειας Βιταμίνης B<sub>12</sub>**

Όπως αναφέρθηκε και στο [υποκεφάλαιο 1.1.1.6.3](#), κατά την παιδική ηλικία δεν έχουν οριστεί ιδανικός βιοδείκτης (ή συνδυασμός περισσότερων του ενός) και σαφή «κατώφλια» για την διάγνωση βιοχημικής ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> (Ueland and Monsen, 2003; Allen et al., 2018). Το γεγονός αυτό αποτελεί επιστημονικό κενό και καθιστά εξαιρετικά δύσκολη τόσο την αξιολόγηση των επιπέδων της εν λόγω βιταμίνης με ακριβή και αξιόπιστο τρόπο, όσο και την συγκριτική μελέτη αποτελεσμάτων μελετών με παρόμοια ερευνητικά ερωτήματα (Hannibal et al., 2016; Obeid et al., 2019; Infante et al., 2021).

Η αξιολόγηση των επιπέδων κοβαλαμίνης μπορεί να πραγματοποιηθεί με τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων βιταμίνης B<sub>12</sub>, holo-TC ή με την αξιοποίηση μεταβολικών παραγώγων και συγκεκριμένα του MMA και της tHcy (Yetley et al., 2011). Στην παρούσα μελέτη, όπως και στην πλειονότητα των ήδη δημοσιευμένων ερευνών, ήτοι στις (Burgert et al., 2008; Yanovski et al., 2011; Gourgari et al., 2014; Azcona-Sanjulián et al., 2015; van der Aa et al., 2016; Lentferink et al., 2018; Levy-Shraga et al., 2021; Yu et al., 2022) ο βιοδείκτης που αξιοποιήθηκε για την αξιολόγηση της επάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> ήταν η συγκέντρωση αυτής στον ορό του αίματος. Εξαιρέση συνιστούν οι (Anderson et al., 2017) και (Τας et al., 2022), στα πλαίσια των οποίων αξιοποιήθηκαν και άλλες βιοχημικές παράμετροι για την εκτίμηση των επιπέδων κοβαλαμίνης των συμμετεχόντων.

Επιπλέον, αξίζει να επισημανθεί το γεγονός ότι το διαγνωστικό «κατώφλι» που τέθηκε για τον ορισμό βιοχημικής ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> στην παρούσα μελέτη ήταν τα 140 pg/ml (ή 103,32 pmol/L). Στον Πίνακα 20 παρουσιάζονται συνοπτικά τα αντίστοιχα όρια, εκφρασμένα στις συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες μονάδες μέτρησης (pg/ml και pmol/L), που τέθηκαν από έρευνες, οι οποίες επίσης αξιολόγησαν τα επίπεδα κοβαλαμίνης σε παιδιά και εφήβους υπό θεραπεία με μετφορμίνη.

Πίνακας 20: Διαγνωστικά «κατώφλια» (pg/ml και pmol/L) ορισμού ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> μελετών που αξιολόγησαν την επάρκειά της σε παιδιά και εφήβους υπό θεραπεία με μετφορμίνη

ΜΕΛΕΤΕΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ B <sub>12</sub> (ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟ "ΚΑΤΩΦΛΙ")	
	pg/ml	pmol/L
Yanovski et al., 2011	220	162,36
Gourgari et al., 2014	193	142,434
der Aa et al., 2016	189,7	140
Anderson et al., 2017	189,7	140
Lentferink et al., 2018	189,7	140
Levy-Shraga et al., 2021	187	138
Yu et al., 2022	200	147,6

1 pg/ml= 0,738 pmol/L και 1 pmol/L≈1,355 pg/ml

Η περιορισμένη διαγνωστική αξία της συγκέντρωσης βιταμίνης B<sub>12</sub> ορού, εξαιτίας της χαμηλής ευαισθησίας και ειδικότητας στην αξιολόγηση της πραγματικής επάρκειας της εν

λόγω βιταμίνης στους ιστούς, έχει αναγνωρισθεί και επισημανθεί (Hannibal et al., 2016; Green et al., 2017; Infante et al., 2021). Παράλληλα, η αξιοποίηση του προαναφερόμενου βιοδείκτη ενδέχεται να οδηγήσει σε υπερεκτίμηση των επιπέδων κοβαλαμίνης στον οργανισμό, μιας και, από τη συνολική συγκέντρωση βιταμίνης B<sub>12</sub> στην κυκλοφορία του αίματος, το 80% είναι συνδεδεμένο με απτοκορρίνες (πρωτεΐνες R), που συμμετέχουν στη μεταφορά και την διάχυση αυτής στον οργανισμό. Το παραπάνω γεγονός, περιορίζει την κυτταρική πρόσληψη και κατ' επέκταση τη βιοδιαθεσιμότητά της (Infante et al., 2021).

#### **4.4 Μηχανισμός Απορρόφησης Βιταμίνης B<sub>12</sub>**

Όπως αναφέρθηκε και στο [υποκεφάλαιο 1.1.1.2](#), η απορρόφηση της βιταμίνης B<sub>12</sub> που προσλαμβάνεται μέσω της τροφής γίνεται, ως επί το πλείστον, ενεργητικά, δηλαδή με τη μεσολάβηση υποδοχέα και εξαρτάται από τη συγκέντρωση κατιόντων Ασβεστίου (Ca<sup>2+</sup>) (Allen et al., 2018). Ωστόσο, η μετφορμίνη φαίνεται ότι αναστέλλει τον προαναφερόμενο μηχανισμό και κατ' επέκταση την απορρόφηση του συμπλέγματος B<sub>12</sub>- IF στον κατώτερο ειλεό (Fatima and Noor, 2013). Με βάση την παραπάνω παρατήρηση, στα πλαίσια της (Bauman et al., 2000) προτάθηκε η χρήση ONS Ασβεστίου, για την αντιστροφή της μειωμένης έκκρισης holo- TC και την αντιμετώπιση της ανεπάρκειας κοβαλαμίνης που αποδίδεται στην χορήγηση της συγκεκριμένης φαρμακευτικής ουσίας. Παρόλα αυτά, τονίζεται το γεγονός ότι στην παρούσα μελέτη κανένας από τους συμμετέχοντες στην ομάδα πασχόντων δεν λάμβανε κάποιο συμπλήρωμα διατροφής που να περιέχει Ασβέστιο. Επιπλέον, η διαιτητική πρόσληψη του εν λόγω ιχνοστοιχείου δεν ήταν η βέλτιστη τόσο στα παιδιά υπό όσο και σε εκείνα που δεν λάμβαναν μετφορμίνη. Συνεπώς, η απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς στις συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub> ανάμεσα στα μέλη των δύο ομάδων δεν μπορεί να αποδοθεί στον μηχανισμό που περιγράφηκε παραπάνω.

#### **4.5 Συσχέτιση Βιταμίνης B<sub>12</sub> με την Παχυσαρκία**

Στην παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι οι συμμετέχοντες με φυσιολογικό ΔΜΣ είχαν στατιστικά σημαντικά υψηλότερα επίπεδα βιταμίνης B<sub>12</sub> εν συγκρίσει με εκείνους που εντάσσονταν στο φάσμα της υπερβαρότητας και της παχυσαρκίας [428,5 (301,4-559,6) vs 284 (214-433), p=0,029]. Επιπλέον, από τον έλεγχο συσχέτισης που πραγματοποιήθηκε,

βρέθηκε ότι όσο πιο υψηλό ήταν το z-score του ΔΜΣ των παιδιών και των εφήβων που συγκρότησαν το δείγμα, τόσο πιο χαμηλές ήταν οι συγκεντρώσεις κοβαλαμίνης ορού ( $r_s = -0,354$ ,  $p=0,003$ ) και τόσο πιο «φτωχή» ήταν η διατροφική πρόσληψη της εν λόγω βιταμίνης ( $r_s = -0,310$ ,  $p=0,010$ ). Τα παραπάνω ευρήματα συμφωνούν με τα αντίστοιχα της (Ho et al., 2014) στην οποία διαπιστώθηκε ότι παιδιατρικοί ασθενείς με υπερβάλλον σωματικό βάρος παρουσιάζουν μεγαλύτερες πιθανότητες εμφάνισης χαμηλών ή ανεπαρκών επιπέδων κοβαλαμίνης, ανεξαρτήτως της χορήγησης μετφορμίνης.

Η (Poursalehi et al., 2022) ανέδειξε πως τα παιδιά και οι έφηβοι που λαμβάνουν υψηλές δόσεις θρεπτικών συστατικών που είναι δότες μεθυλικών ομάδων (μεταξύ των οποίων περιλαμβάνεται και η βιταμίνη B<sub>12</sub>), διατρέχουν μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης μεταβολικά νοσογόνου παχυσαρκίας. Παράλληλα, οι συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub> σχετίζονται αντιστρόφως ανάλογα με το δείκτη μεταβολικού κινδύνου τόσο των παιδιών όσο και των γονέων τους. Ο παραπάνω δείκτης εκτιμά την πιθανότητα εμφάνισης διαταραχών που σχετίζονται με την αρτηριακή πίεση, τα επίπεδα λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (High Density Lipoprotein, HDL) και τριγλυκεριδίων (Villatoro-Santos et al., 2021). Αρνητική συσχέτιση εντοπίζεται και ανάμεσα στα επίπεδα κοβαλαμίνης και την IR σε παιδιά και εφήβους, ανεξαρτήτως της λήψης ή μη μετφορμίνης (Dursun and Gerenli, 2019).

Στο σημείο αυτό αξίζει να επισημανθεί το γεγονός ότι, πέρα από την παχυσαρκία και τις διαταραχές που αυτή συνεπάγεται, υπάρχουν και άλλες καταστάσεις που εντείνουν τον κίνδυνο εμφάνισης χαμηλών ή ανεπαρκών συγκεντρώσεων βιταμίνης B<sub>12</sub> (Green et al., 2017). Οι παράγοντες αυτοί παρουσιάζονται εκτενώς στο [υποκεφάλαιο 1.1.1.6.1](#) και θα πρέπει να αξιολογούνται προσεκτικά σε κάθε υποψήφιο ασθενή για έναρξη θεραπείας με μετφορμίνη.

#### **4.6 Πολυμορφισμός στο γονίδιο που κωδικοποιεί τη σύνθεση του ενζύμου MTHFR**

Η επάρκεια βιταμίνης B<sub>12</sub> επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες. Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (Single-Nucleotide Polymorphism, SNP) σε διάφορα γονίδια αλληλεπιδρούν

με περιβαλλοντικές παραμέτρους και μπορούν να διαταράξουν τα επίπεδα κοβαλαμίνης στον οργανισμό (Lloyd-Wright et al., 2003). Το ένζυμο μεθυλενο-τετραϋδρο-φολαρεδουκτάση (methylene tetrahydrofolate reductase, MTHFR) δρα ως καταλύτης, συμμετέχοντας στην απομάκρυνση μίας μεθυλικής ομάδας από τη θέση N10 του 5,10-μεθυλενο-τετραϋδροφολικού οξέος, για τη δημιουργία του 5-μεθυλ-τετραϋδροφολικού οξέος. Η μεθυλομάδα που αποσπάστηκε από το αρχικό μόριο, δωρίζεται στην ομοκυστεΐνη και τη μετατρέπει σε μεθειονίνη. Η βιταμίνη B<sub>12</sub> δρα, επίσης, ως συμπαραάγοντας στην προαναφερόμενη αντίδραση (Vayά et al., 2012), όπως αναφέρθηκε και στο [υποκεφάλαιο 1.1.1.3](#).

Στην (Cassinadane et al., 2021), που διενεργήθηκε σε ενήλικους ασθενείς με ΣΔτ2 και υπό αγωγή με μετφορμίνη, διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση των επιπέδων βιταμίνης B<sub>12</sub> με συγκεκριμένο πολυμορφισμό στο γονίδιο που κωδικοποιεί τη σύνθεση του ενζύμου MTHFR. Ειδικότερα, άτομα που λαμβάνουν μετφορμίνη και φέρουν την γονιδιακή τροποποίηση rs180133, 677C > T, παρουσίασαν μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης χαμηλών συγκεντρώσεων μεθυλοκοβαλαμίνης και μεθυλοφολικού οξέος. Παράλληλα, διέτρεχαν υψηλότερο κίνδυνο εκδήλωσης αυξημένων επιπέδων tHcy και MMA, τα οποία υποδηλώνουν ανεπάρκεια βιταμίνης B<sub>12</sub>. Στους ασθενείς αυτούς συστήθηκε συνδυαστική λήψη ONS με κυανοκοβαλαμίνη και μεθυλοφολικό οξύ, με στόχο την αποκατάσταση των χαμηλών επιπέδων τους στην κυκλοφορία του αίματος (Cassinadane et al., 2021). Η πιθανή ύπαρξη του πολυμορφισμού αυτού δεν αξιολογήθηκε στα παιδιά και τους εφήβους που έλαβαν μέρος στην παρούσα μελέτη.

#### **4.7 Σύγκριση αποτελεσμάτων της παρούσας μελέτης που αφορούν στην βιταμίνη D με τα αντίστοιχα άλλων ερευνών**

Στην παρούσα μελέτη δεν εντοπίστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στις συγκεντρώσεις 25(OH)βιταμίνης D ανάμεσα στους συμμετέχοντες υπό και χωρίς αγωγή με μετφορμίνη [26 (22,7-30,4) vs 25,5 (17,7-28,3), p=0,33]. Τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν τα αντίστοιχα προγενέστερων ερευνών, όπως των (Kos et al., 2012; Out et al., 2018). σύμφωνα με τα

οποία η χορήγηση της προαναφερόμενης φαρμακευτικής ουσίας δεν εγείρει ανησυχία σχετικά με την επάρκεια βιταμίνης D.

#### **4.8 Περιορισμοί και Πλεονεκτήματα**

Σημαντικός περιορισμός στην παρούσα μελέτη είναι το σχετικά μικρό μέγεθος του δείγματος, μιας και η εξαγωγή των αποτελεσμάτων βασίστηκε σε δεδομένα που προήλθαν από 69 παιδιά και εφήβους. Μεγαλύτερο πλήθος συμμετεχόντων πιθανότατα θα επέτρεπε την ανάδειξη στατιστικά σημαντικών διαφορών, κυρίως όσον αφορά τη συγκέντρωση βιταμίνης B<sub>12</sub>, ανάμεσα στα μέλη των ομάδων υπό και χωρίς αγωγή με μετφορμίνη. Παράλληλα, η χρήση της συγκέντρωσης βιταμίνης B<sub>12</sub> ορού, ως μοναδικό βιοδείκτη για την εκτίμηση επάρκειας της εν λόγω βιταμίνης, συνιστά έναν επιπλέον περιορισμό. Ακόμη, η πιθανή ύπαρξη του συγκεκριμένου πολυμορφισμού στο γονίδιο που κωδικοποιεί τη σύνθεση του ενζύμου MTHFR δεν αξιολογήθηκε στα παιδιά και τους εφήβους που έλαβαν μέρος στην εργασία αυτή, λόγω έλλειψης συγκατάθεσης από τους γονείς και τους κηδεμόνες. Ο προσδιορισμός αυτού ενδεχομένως παρείχε σημαντικά αξιοποιήσιμα δεδομένα, τα οποία θα συνέβαλλαν στην ερμηνεία των ευρημάτων και των παρατηρούμενων συσχετίσεων.

Ωστόσο, η αξιοποίηση εργαλείων συλλογής και αξιολόγησης δεδομένων διατροφικής πρόσληψης αποτελεί σημαντική προσθήκη στη μεθοδολογία της παρούσας μελέτης. Το γεγονός αυτό αποκτά ιδιαίτερη σημασία, μιας και καμία αντίστοιχη έρευνα δεν συνεκτίμησε την επίδραση της διαιτητικής πρόσληψης στην επάρκεια κοβαλαμίνης και η πλειονότητα αυτών βασίστηκε μόνο σε αιματολογικές παραμέτρους.



## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, οι συγκεντρώσεις Βιταμίνης B<sub>12</sub> δεν είναι στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες σε ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με μετφορμίνη, εν συγκρίσει με εκείνους που δεν λαμβάνουν την προαναφερόμενη φαρμακευτική ουσία. Το γεγονός αυτό, ενδεχομένως, αποδίδεται στην υψηλότερη κατανάλωση κοβαλαμίνης που καταγράφηκε στα μέλη της ομάδας των πασχόντων. Μάλιστα, η διαιτητική πρόσληψη Βιταμίνης B<sub>12</sub> προερχόταν εξ' ολοκλήρου από διατροφικές πηγές, μιας και κανένα από τα μέλη της προαναφερόμενης ομάδας δεν χρησιμοποιούσε κάποιο συμπλήρωμα διατροφής που να περιέχει την εν λόγω βιταμίνη. Ωστόσο, τα παιδιά και οι έφηβοι που λαμβάνουν μετφορμίνη διατρέχουν υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης βιοχημικής ανεπάρκειας κοβαλαμίνης (συγκέντρωση Βιταμίνης B<sub>12</sub> < 140 pg/ml).

Παράλληλα, με βάση τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας, τα άτομα που εντάσσονται στο φάσμα της υπερβαρότητας και της παχυσαρκίας έχουν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα Βιταμίνης B<sub>12</sub>, σε σχέση με εκείνα που έχουν φυσιολογικό Δείκτη Μάζας Σώματος (z-scores). Μάλιστα, όσο πιο υψηλό είναι το z-score του Δείκτη Μάζας Σώματος των παιδιών και των εφήβων που έλαβαν μέρος στη μελέτη, τόσο πιο χαμηλές είναι οι συγκεντρώσεις στον ορό αίματος και τόσο πιο «φτωχή» είναι η διατροφή τους στην εν λόγω βιταμίνη. Έτσι εξάγεται εύκολα το συμπέρασμα ότι οι παιδιατρικοί ασθενείς με υπερβάλλον σωματικό βάρος που λαμβάνουν μετφορμίνη, «βάλλονται» από δύο μέτωπα και παρουσιάζουν αυξημένες πιθανότητες εμφάνισης βιοχημικής ανεπάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub>.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες που δημοσιεύτηκαν από την Αμερικανική Ακαδημία Παιδιάτρων (American Academy of Pediatrics), όταν συστήνεται η έναρξη αγωγής με μετφορμίνη, οι επαγγελματίες υγείας οφείλουν να ενημερώσουν επαρκώς τους ασθενείς και τους γονείς/ κηδεμόνες τους σχετικά με τα μειονεκτήματα και τα πλεονεκτήματα της παραπάνω θεραπείας. Επίσης, οι πάροχοι υγείας θα πρέπει να έχουν

επικαιροποιημένες γνώσεις σε ότι αφορά στα κριτήρια επιλογής των ασθενών, την αποτελεσματικότητα και πιθανές παρενέργειες της παραπάνω φαρμακευτικής ουσίας και τις συστάσεις σχετικά με την παρακολούθηση των ατόμων, μετά την έναρξη της χορήγησής της. Για το λόγο αυτό, προτείνεται τακτική αξιολόγηση των συγκεντρώσεων βιταμίνης B<sub>12</sub> και καταγραφή συμπτωμάτων και ενδείξεων που σχετίζονται με βιοχημική ανεπάρκεια της εν λόγω βιταμίνης, σε παιδιά και εφήβους οι οποίοι βρίσκονται υπό αγωγή με μετφορμίνη (Hampl et al., 2023).

Η αξιολόγηση της επάρκειας βιταμίνης B<sub>12</sub> σε παιδιά και εφήβους που θεραπεύονται με μετφορμίνη, αποτελεί αντικείμενο και άλλων ερευνητικών εργασιών, πέραν της παρούσας, και τα αποτελέσματά τους είναι αντικρουόμενα μεταξύ τους. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται στο πεδίο αυτό, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν η χορήγηση μετφορμίνης οδηγεί με μείωση των επιπέδων κοβαλαμίνης και εντείνει τον κίνδυνο εμφάνισης βιοχημικής ανεπάρκειας της συγκεκριμένης βιταμίνης στον παιδιατρικό πληθυσμό. Τέλος, η επίδραση του υπερβάλλοντος σωματικού βάρους, μεμονωμένα ή σε συνδυασμό με την προαναφερόμενη παράμετρο, στις συγκεντρώσεις βιταμίνης B<sub>12</sub>, αξίζει να διερευνηθεί περαιτέρω σε ανήλικους ασθενείς.

## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adak, T., Samadi, A., Ünal, A.Z., Sabuncuoğlu, S., 2018. A reappraisal on metformin. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 92, 324–332. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2017.12.023>
2. Allen, L.H., Miller, J.W., de Groot, L., Rosenberg, I.H., Smith, A.D., Refsum, H., Raiten, D.J., 2018. Biomarkers of Nutrition for Development (BOND): Vitamin B-12 Review. *J Nutr* 148, 1995S-2027S. <https://doi.org/10.1093/jn/nxy201>
3. American Diabetes Association, 2022. Standards of Medical Care in Diabetes—2022 Abridged for Primary Care Providers. *Clinical Diabetes* 40, 10–38. <https://doi.org/10.2337/cd22-as01>
4. American Diabetes Association, 2020. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care* 44, S15–S33. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>
5. Anderson, J.J.A., Couper, J.J., Giles, L.C., Leggett, C.E., Gent, R., Coppin, B., Peña, A.S., 2017. Effect of Metformin on Vascular Function in Children With Type 1 Diabetes: A 12-Month Randomized Controlled Trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 102, 4448–4456. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00781>
6. Armanini, D., Boscaro, M., Bordin, L., Sabbadin, C., 2022. Controversies in the Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of PCOS: Focus on Insulin Resistance, Inflammation, and Hyperandrogenism. *Int J Mol Sci* 23, 4110. <https://doi.org/10.3390/ijms23084110>
7. Aroda, V.R., Edelstein, S.L., Goldberg, R.B., Knowler, W.C., Marcovina, S.M., Orchard, T.J., Bray, G.A., Schade, D.S., Temprosa, M.G., White, N.H., Crandall, J.P., 2016. Long-term Metformin Use and Vitamin B12 Deficiency in the Diabetes Prevention Program Outcomes Study. *J Clin Endocrinol Metab* 101, 1754–1761. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3754>
8. Bauman, W.A., Shaw, S., Jayatileke, E., Spungen, A.M., Herbert, V., 2000. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 23, 1227–1231. <https://doi.org/10.2337/diacare.23.9.1227>
9. Burgert, T.S., Duran, E.J., Goldberg-Gell, R., Dziura, J., Yeckel, C.W., Katz, S., Tamborlane, W.V., Caprio, S., 2008. Short-term metabolic and cardiovascular effects of metformin in markedly obese adolescents with normal glucose tolerance. *Pediatric Diabetes* 9, 567–576. <https://doi.org/10.1111/j.1399-5448.2008.00434.x>
10. Cassinadane, A.V., Ramasamy, R., Lenin, M., Velu, K., Hussain, S.A., 2021. Association of MTHFR (rs 1801133) gene polymorphism with biochemical markers of B12 deficiency in type 2 diabetes mellitus patients on metformin therapy. *Meta Gene* 29, 100938. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2021.100938>

11. de Onis, M., Garza, C., Onyango, A.W., Rolland-Cachera, M.-F., le Comité de nutrition de la Société française de pédiatrie, 2009. [WHO growth standards for infants and young children]. *Arch Pediatr* 16, 47–53. <https://doi.org/10.1016/j.arcped.2008.10.010>
12. de Onis, M., Onyango, A.W., Borghi, E., Siyam, A., Nishida, C., Siekmann, J., 2007. Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. *Bull World Health Organ* 85, 660–667. <https://doi.org/10.2471/BLT.07.043497>
13. Du, Y., Zhu, Y.-J., Zhou, Y.-X., Ding, J., Liu, J.-Y., 2022. Metformin in therapeutic applications in human diseases: its mechanism of action and clinical study. *Mol Biomed* 3, 41. <https://doi.org/10.1186/s43556-022-00108-w>
14. Dursun, F., Gerenli, N., 2019. Relationship Between Insulin Resistance and Vitamin B12 Deficiency in Obese Children. *HAYDARPAŞA NUMUNE MEDICAL JOURNAL* 59, 84–87. <https://doi.org/10.14744/hnhj.2018.19970>
15. Esquivel Zuniga, R., DeBoer, M.D., 2021. Prediabetes in Adolescents: Prevalence, Management and Diabetes Prevention Strategies. *Diabetes Metab Syndr Obes* 14, 4609–4619. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S284401>
16. Fatima, S., Noor, S., 2013. A Review on Effects of Metformin on Vitamin B12 Status. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics* 1.
17. Frankenfield, D., Roth-Yousey, L., Compher, C., 2005. Comparison of Predictive Equations for Resting Metabolic Rate in Healthy Nonobese and Obese Adults: A Systematic Review. *Journal of the American Dietetic Association* 105, 775–789. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2005.02.005>
18. Gourgari, E., Nella, A.A., Lodish, M., Stratakis, C.A., Yanovski, J.A., 2014. Case Report: Vitamin B12 deficiency in an adolescent female with Polycystic Ovarian Syndrome. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology* 179, 254. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.04.036>
19. Green, R., Allen, L.H., Bjørke-Monsen, A.-L., Brito, A., Guéant, J.-L., Miller, J.W., Molloy, A.M., Nexø, E., Stabler, S., Toh, B.-H., Ueland, P.M., Yajnik, C., 2017. Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Primers* 3, 1–20. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.40>
20. Hampl, S.E., Hassink, S.G., Skinner, A.C., Armstrong, S.C., Barlow, S.E., Bolling, C.F., Avila Edwards, K.C., Eneli, I., Hamre, R., Joseph, M.M., Lunsford, D., Mendonca, E., Michalsky, M.P., Mirza, N., Ochoa, E.R., Jr, Sharifi, M., Staiano, A.E., Weedn, A.E., Flinn, S.K., Lindros, J., Okechukwu, K., 2023. Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Treatment of Children and Adolescents With Obesity. *Pediatrics* 151, e2022060640. <https://doi.org/10.1542/peds.2022-060640>
21. Hannibal, L., Lysne, V., Bjørke-Monsen, A.-L., Behringer, S., Grünert, S.C., Spiekerkoetter, U., Jacobsen, D.W., Blom, H.J., 2016. Biomarkers and Algorithms for the

Diagnosis of Vitamin B12 Deficiency. *Front Mol Biosci* 3, 27. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2016.00027>

22. Herman, R., Kravos, N.A., Jensterle, M., Janež, A., Dolžan, V., 2022. Metformin and Insulin Resistance: A Review of the Underlying Mechanisms behind Changes in GLUT4-Mediated Glucose Transport. *Int J Mol Sci* 23, 1264. <https://doi.org/10.3390/ijms23031264>

23. Ho, M., Halim, J.H., Gow, M.L., El-Haddad, N., Marzulli, T., Baur, L.A., Cowell, C.T., Garnett, S.P., 2014. Vitamin B12 in Obese Adolescents with Clinical Features of Insulin Resistance. *Nutrients* 6, 5611–5618. <https://doi.org/10.3390/nu6125611>

24. Infante, M., Leoni, M., Caprio, M., Fabbri, A., 2021. Long-term metformin therapy and vitamin B12 deficiency: An association to bear in mind. *World J Diabetes* 12, 916–931. <https://doi.org/10.4239/wjd.v12.i7.916>

25. Jager, J. de, Kooy, A., Lehert, P., Wulffelé, M.G., Kolk, J. van der, Bets, D., Verburg, J., Donker, A.J.M., Stehouwer, C.D.A., 2010. Long term treatment with metformin in patients with type 2 diabetes and risk of vitamin B-12 deficiency: randomised placebo controlled trial. *BMJ* 340, c2181. <https://doi.org/10.1136/bmj.c2181>

26. Kim, S.H., Abbasi, F., 2019. Myths about Insulin Resistance: Tribute to Gerald Reaven. *Endocrinol Metab (Seoul)* 34, 47–52. <https://doi.org/10.3803/EnM.2019.34.1.47>

27. Kos, E., Lizek, M.J., Emanuele, M.A., Durazo-Arvizu, R., Camacho, P., 2012. Effect of Metformin Therapy on Vitamin D and Vitamin B12 Levels in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrine Practice* 18, 179–184. <https://doi.org/10.4158/EP11009.OR>

28. Lentferink, Y.E., van der Aa, M.P., van Mill, E.G.A.H., Knibbe, C.A.J., van der Vorst, M.M.J., 2018. Long-term metformin treatment in adolescents with obesity and insulin resistance, results of an open label extension study. *Nutr Diabetes* 8, 47. <https://doi.org/10.1038/s41387-018-0057-6>

29. Levy-Shraga, Y., Madi, L.R., Shalev, M., Mazor-Aronovitch, K., Schwartz-Lifshitz, M., Gothelf, D., 2021. Effectiveness of Metformin for Weight Reduction in Children and Adolescents Treated with Mixed Dopamine and Serotonin Receptor Antagonists: A Naturalistic Cohort Study. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology* 31, 376–380. <https://doi.org/10.1089/cap.2021.0006>

30. Lloyd-Wright, Z., Hvas, A.-M., Møller, J., Sanders, T.A.B., Nexø, E., 2003. Holotranscobalamin as an Indicator of Dietary Vitamin B12 Deficiency. *Clinical Chemistry* 49, 2076–2078. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2003.020743>

31. Macut, D., Bjekić-Macut, J., Rahelić, D., Doknić, M., 2017. Insulin and the polycystic ovary syndrome. *Diabetes Research and Clinical Practice* 130, 163–170. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.06.011>

32. Marfell-Jones, M.J., Stewart, A.D., de Ridder, J.H., 2012. International standards for anthropometric assessment.
33. María Cristina Azcona-Sanjulián, Ana Catalán Lambán, Borja Laña Ruiz, 2015. Six-Month Therapy with Metformin in Association with Nutritional and Life Style Changes in Children and Adolescents with Obesity.
34. Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F., Turner, R.C., 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28, 412–419. <https://doi.org/10.1007/BF00280883>
35. Mbara, K.C., Mofo Mato, P.E., Driver, C., Nzuza, S., Mkhombo, N.T., Gcwensa, S.KP., Mcobothi, E.N., Owira, P.MO., 2021. Metformin turns 62 in pharmacotherapy: Emergence of non-glycaemic effects and potential novel therapeutic applications. *European Journal of Pharmacology* 898, 173934. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.173934>
36. Obeid, R., Heil, S.G., Verhoeven, M.M.A., van den Heuvel, E.G.H.M., de Groot, L.C.P.G.M., Eussen, S.J.P.M., 2019. Vitamin B12 Intake From Animal Foods, Biomarkers, and Health Aspects. *Front Nutr* 6, 93. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00093>
37. Out, M., Top, W.M.C., Lehert, P., Schalkwijk, C.A., Stehouwer, C.D.A., Kooy, A., 2018. Long-term treatment with metformin in type 2 diabetes and vitamin D levels: A post-hoc analysis of a randomized placebo-controlled trial. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 20, 1951–1956. <https://doi.org/10.1111/dom.13327>
38. Peña, A.S., Codner, E., Witchel, S., 2022. Criteria for Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome during Adolescence: Literature Review. *Diagnostics* 12, 1931. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12081931>
39. Poursalehi, D., Lotfi, K., Mirzaei, S., Asadi, A., Akhlaghi, M., Saneei, P., 2022. Association between methyl donor nutrients and metabolic health status in overweight and obese adolescents. *Sci Rep* 12, 17045. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21602-9>
40. Rasmussen, S.A., Fernhoff, P.M., Scanlon, K.S., 2001. Vitamin B12 deficiency in children and adolescents. *The Journal of Pediatrics* 138, 10–17. <https://doi.org/10.1067/mpd.2001.112160>
41. Romualdi, D., Versace, V., Lanzone, A., 2020. What is new in the landscape of insulin-sensitizing agents for polycystic ovary syndrome treatment. *Therapeutic Advances in Reproductive Health* 14. <https://doi.org/10.1177/2633494120908709>
42. Shah, A.S., Zeitler, P.S., Wong, J., Pena, A.S., Wicklow, B., Arslanian, S., Chang, N., Fu, J., Dabadghao, P., Pinhas-Hamiel, O., Urakami, T., Craig, M.E., 2022. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: Type 2 diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 23, 872–902. <https://doi.org/10.1111/pedi.13409>

43. Soliman, A., De Sanctis, V., Alaaraj, N., Hamed, N., 2020. The clinical application of metformin in children and adolescents: A short update. *Acta Biomed* 91, e2020086. <https://doi.org/10.23750/abm.v91i3.10127>
44. Somagutta, M.R., Jain, M., Uday, U., Pendyala, S.K., Mahadevaiah, A., Mahmutaj, G., Jarapala, N., Gad, M.A., Srinivas, P.M., Sasidharan, N., Mustafa, N., 2022. Novel Antidiabetic Medications in Polycystic Ovary Syndrome. *Discoveries (Craiova)* 10, e145. <https://doi.org/10.15190/d.2022.4>
45. Street, M.E., Cirillo, F., Catellani, C., Dauriz, M., Lazzeroni, P., Sartori, C., Moghetti, P., 2020. Current treatment for polycystic ovary syndrome: focus on adolescence. *Minerva Pediatr* 72, 288–311. <https://doi.org/10.23736/s0026-4946.20.05861-2>
46. Taş, Ö., Kontbay, T., Dogan, O., Kose, E., Berberoglu, M., Siklar, Z., Tumer, L., Eminoglu, F.T., 2022. Does Metformin Treatment in Pediatric Population Cause Vitamin B12 Deficiency? *Klin Padiatr* 234, 221–227. <https://doi.org/10.1055/a-1702-2614>
47. Teede, H.J., Misso, M.L., Costello, M.F., Dokras, A., Laven, J., Moran, L., Piltonen, T., Norman, R.J., 2018. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 33, 1602–1618. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey256>
48. Tsiroukidou, K., Paschalidou, E.G., Grammatikopoulou, M.G., Androulakis, J., Vamvakis, A., Gkouskou, K.K., Tzimos, C., Sergentanis, T.N., Vassilakou, T., Roilides, E., Bogdanos, D.P., Goulis, D.G., 2023. Serum Concentrations and Dietary Intake of Vitamin B12 in Children and Adolescents on Metformin: A Case–Control Study. *International Journal of Molecular Sciences* 24, 4205. <https://doi.org/10.3390/ijms24044205>
49. Ueland, P.M., Mosen, A.L.B., 2003. Hyperhomocysteinemia and B-Vitamin Deficiencies in Infants and Children 41, 1418–1426. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2003.218>
50. van der Aa, M.P., Elst, M.A.J., van de Garde, E.M.W., van Mil, E.G.A.H., Knibbe, C.A.J., van der Vorst, M.M.J., 2016. Long-term treatment with metformin in obese, insulin-resistant adolescents: results of a randomized double-blinded placebo-controlled trial. *Nutr Diabetes* 6, e228. <https://doi.org/10.1038/nutd.2016.37>
51. Vayá, A., Rivera, L., Hernández-Mijares, A., de la Fuente, M., Solá, E., Romagnoli, M., Alis, R., Laiz, B., 2012. Homocysteine levels in morbidly obese patients. Its association with waist circumference and insulin resistance. *Clinical Hemorheology and Microcirculation* 52, 49–56. <https://doi.org/10.3233/CH-2012-1544>
52. Villatoro-Santos, C.R., Ramirez-Zea, M., Villamor, E., 2021. B-vitamins and metabolic syndrome in Mesoamerican children and their adult parents. *Public Health Nutr* 24, 4537–4545. <https://doi.org/10.1017/S1368980020003936>

53. Viteri, F.E., Gonzalez, H., 2002. Adverse Outcomes of Poor Micronutrient Status in Childhood and Adolescence. *Nutrition Reviews* 60, S77–S83. <https://doi.org/10.1301/00296640260130795>
54. Watanabe, F., 2007. Vitamin B12 Sources and Bioavailability. *Exp Biol Med (Maywood)* 232, 1266–1274. <https://doi.org/10.3181/0703-MR-67>
55. WHO Anthro Survey Analyser and other tools [WWW Document], 2019. URL <https://www.who.int/tools/child-growth-standards/software> (accessed 2.18.23).
56. Yanovski, J.A., Krakoff, J., Salaita, C.G., McDuffie, J.R., Kozlosky, M., Sebring, N.G., Reynolds, J.C., Brady, S.M., Calis, K.A., 2011. Effects of Metformin on Body Weight and Body Composition in Obese Insulin-Resistant Children: A Randomized Clinical Trial. *Diabetes* 60, 477–485. <https://doi.org/10.2337/db10-1185>
57. Yetley, E.A., Pfeiffer, C.M., Phinney, K.W., Bailey, R.L., Blackmore, S., Bock, J.L., Brody, L.C., Carmel, R., Curtin, L.R., Durazo-Arvizu, R.A., Eckfeldt, J.H., Green, R., Gregory, J.F., Hoofnagle, A.N., Jacobsen, D.W., Jacques, P.F., Lacher, D.A., Molloy, A.M., Massaro, J., Mills, J.L., Nexo, E., Rader, J.I., Selhub, J., Sempos, C., Shane, B., Stabler, S., Stover, P., Tamura, T., Tedstone, A., Thorpe, S.J., Coates, P.M., Johnson, C.L., Picciano, M.F., 2011. Biomarkers of vitamin B-12 status in NHANES: a roundtable summary123456. *Am J Clin Nutr* 94, 313S-321S. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.013243>
58. Yu, Y.M., So, S.K.C., Khallouq, B.B., 2022. The effect of metformin on vitamin B12 level in pediatric patients. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* 27, 223–228. <https://doi.org/10.6065/apem.2142210.105>
59. Γαληνός - Αρχική σελίδα [WWW Document], n.d. URL <https://www.galinos.gr/> (accessed 2.20.23).
60. Οδηγός Διατροφής για τη ρύθμιση του Διαβήτη – Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία – Σακχαρώδης Διαβήτης, 2013. URL <https://www.ede.gr/>(accessed 2.20.23).



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α- ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ



1. Κωδικός Ασθενούς					2. Ημερομηνία			
3. Κύρια Διάγνωση		4. Δευτερεύουσα Διάγνωση		5. Ημερομηνία Διάγνωσης				
6. Φύλο		<input type="checkbox"/> Αγόρι <input type="checkbox"/> Κορίτσι		7. Ημερομηνία Γέννησης		8. Ηλικία		
9. Φυλή		<input type="checkbox"/> Καυκάσια <input type="checkbox"/> Αφροαμερικανή		<input type="checkbox"/> Ρομά <input type="checkbox"/> Κινεζική				
10. Βάρος Σώματος (kg)		11. Ύψος (cm)		12. BMI (kg/m <sup>2</sup> )				
13. Λήψη Μετφορμίνης		<input type="checkbox"/> Ναι <input type="checkbox"/> Όχι		13α. Σκεύασμα		13β. Δοσολογία		
13γ. Έναρξη χορήγησης				13δ. Διάρκεια Χορήγησης				
14. Λήψη Συμπληρωμάτων Διατροφής		<input type="checkbox"/> Ναι <input type="checkbox"/> Όχι		14α. Κατηγορία		14β. Σκεύασμα		
15. Βιταμίνη Β12 (pg/ml):		16. 25-OH Βιταμίνη D (ολική) ορού (ng/ml):		17. Πλυκώζη νηστείας (mg/dl):		18. Ινσουλίνη νηστείας (μIU/ml):		19. HOMA-1R [(γλυκόζη νηστείας* ινσουλίνη νηστείας)/405]:
20. Ασβέστιο (mg/dl):		21. Φώσφορος (mg/dl):		22. Αλκαλική Φωσφατάση (IU/l):		23. Δεσμητική σφαιρίνη των φυλετικών ορμονών (SHBG) (nmol/l):		
24. Δ4 Ανδροστενδιόνη (ng/ml):		25. Τεστοστερόνη ολική (ng/dl):		26. Διϋδροεπιανδροστερόνη θεική (DHEA-S) (μg/dl):				
Στις παρακάτω ερωτήσεις σημειώστε τη συχνότητα κατανάλωσης των τροφίμων ανά εβδομάδα				πολλές φορές την ημέρα	καθημερινά	2-3 φορές την εβδομάδα	ποτέ	
27. ΜΥΔΙΑ								
28. ΣΥΚΟΤΙ								
29. ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ ΠΡΩΙΝΟΥ ΕΜΠΛΟΥΤΙΣΜΕΝΑ ΣΕ ΒΙΤΑΜΙΝΗ Β12								
30. ΣΟΛΟΜΟΣ								
31. ΠΕΣΤΡΟΦΑ								
32. ΤΟΝΟΣ								
33. ΚΡΕΑΣ ΜΟΣΧΑΡΙΣΙΟ								
34. ΓΑΛΛΑ								
35. ΠΑΟΥΡΤΙ								
36. ΤΥΡΙ								
37. ΑΥΓΟ								
38. ΚΟΤΟΠΟΥΛΟ								

<b>39. Ανάκληση Προηγούμενου 24ώρου</b>			
<b>ΓΕΥΜΑ</b>	<b>ΩΡΑ</b>	<b>ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΦΑΓΗΤΟΥ (ΠΟΙΟΤΙΚΗ)</b>	<b>ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΦΑΓΗΤΟΥ (ΠΟΣΟΤΙΚΗ)</b>
Πρωινό			
Δεκατιανό			
Μεσημεριανό			
Απογευματινό			
Δείπνο			
Προ Ύπνου			

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β- ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ



### **ΕΝΤΥΠΟ ΣΥΓΚΑΤΑΘΕΣΗΣ**

Ο/Η γονέας/κηδεμόνας .....  
του/της ..... συναινώ να γίνει  
καταγραφή των διαιτητικών συνηθειών του παιδιού μου, καθώς και εργαστηριακός  
έλεγχος που να συμπεριλαμβάνει, μεταξύ των άλλων, προσδιορισμό των επιπέδων  
βιταμίνης B<sub>12</sub> προκειμένου να διαπιστωθεί εάν υπάρχει ανεπάρκεια της εν λόγω  
βιταμίνης και τα ανωτέρω στοιχεία να χρησιμοποιηθούν για ερευνητικούς  
σκοπούς.

Θεσσαλονίκη ...../...../.....

Ο/Η γονέας/κηδεμόνας