

Wpływ jednorocznego leczenia wziewnym budesonidem na gęstość i gospodarkę mineralną kości u dzieci z astmą oskrzelową

Effect of one year treatment with inhaled budesonide on bone density and mineralization in children with bronchial asthma

EWA NAIJBERG^{1/}, ANNA SMORCZEWSKA-KILJAN^{1/}, JANUSZ KSIĄŻYK^{1/}, ELŻBIETA KACZMAREWICZ^{2/}, PAWEŁ PŁUDOWSKI^{2/}, MACIEJ JAWORSKI^{2/}, HALINA MATUSIK^{2/}, EDYTA KRYŚKIEWICZ^{2/}

^{1/}Klinika Pediatrii, Poradnia Alergologiczna Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

^{2/}Zakład Biochemii i Medycyny Doświadczalnej, Instytut „Pomnik-Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Streszczenie

Wprowadzenie. Podstawą leczenia astmy oskrzelowej są wziewne glikokortykosteroidy (WGCS). Bezpieczeństwo długotrwałego stosowania WGCS szczególnie u dzieci pozostaje przedmiotem kontrowersji.

Cel pracy. Ocena jednorocznego leczenia budesonidem na gęstość kości i gospodarkę mineralną kości.

Materiał i metody. Badanie przeprowadzono u 44 dzieci (26 chłopców i 18 dziewczynek) w wieku 5-11.8 lat (średnia wieku 7,1 lat), ze świeżo rozpoznaną astmą oskrzelową. Zastosowane leczenie było podstawą zakwalifikowania chorych do dwóch grup: Grupa I (30 dzieci) otrzymywała w ciągu 12 miesięcy budesonid wziewnie w dawce 200-400 µg/dobę; grupa II kontrolna (14 dzieci) leczona była bez WGCS. Przed wprowadzeniem leczenia oraz po 6 i 12 miesiącach terapii oznaczano biochemiczne markery obrotu kostnego osteokalcynę (OC) i C-końcowy usieciowany telopeptyd kolagenu typu I (CTx) oraz wykonywano badanie densytometryczne metodą DXA (dual energy x-ray absorptiometry).

Wyniki. Nie stwierdzono różnicy w średnim stężeniu osteokalcyny i CTx po 6 i 12 miesiącach leczenia między grupą leczoną WGCS a grupą kontrolną. U dzieci leczonych budesonidem po 6 miesiącach zanotowano wzrost stężenia CTx ($p=0,028$). W obu grupach po 6 miesiącach stwierdzono istotny wzrost stężenia osteokalcyny. Nie stwierdzono istotnej różnicy w gęstości kości (BMD – bone mineral density) i wskaźniku Z-score między badanymi grupami. W czasie 12 miesięcy leczenia gęstość kości w grupie sterydowej przyrastała tak samo szybko jak w grupie kontrolnej a wartości Z-score u obu grup pozostawały na niezmiennym poziomie.

Wnioski. Choć stosowaniu budesonidu w dawce 200-400 µg/dobę u dzieci z astmą nie zwiększyło zaburzeń mineralizacji kości w ciągu 1 roku, stwierdzone cechy zwiększonej resorpcji tkanki kostnej wskazują na konieczność monitorowania tych dzieci, zwłaszcza w przypadku długiego podawania sterydów wziewnych.

Słowa kluczowe: *astma, dzieci, metabolizm kostny, steroidy wziewne*

Summary

Introduction. The basic agent of treating bronchial asthma is inhaled glucocorticosteroids (IGCS). The safety of the long-term application of IGCS has been a matter of controversy, especially in the case of children.

Aim of the study. Assessment of the effects of one-year treatment with budesonide on bone density and mineralisation.

Material and methods. The study has been conducted on a group of 44 children (26 boys and 18 girls) between 5 and 11.8 years of age (with the average age of 7.1 years) shortly following diagnosed bronchial asthma. The treatment administered served as the rationale for the qualification the patients to be put into two groups: group I (30 children) has received budesonide inhalations at 200-400µg/24h for 12 months; the control group II (of 14 children) has received treatment without IGCS. Prior to the treatment, as well as 6 and 12 months after the treatment started, the following biochemical markers of bone metabolism were checked: osteocalcin (OC) and cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen (CTx). In addition, the DXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry) densitometry was performed.

Results. After 6 and 12 months of therapy, no difference was found in the average OC and CTx levels between the IGCS (I) and non-IGCS (II, control) groups. An increase in the CTx level ($p=0.028$) was noted in the sixth month of the treatment in the children subjected to budesonide. After six months, both groups displayed a significant increase in the OC level. However, there was no major difference in the BMD and Z-score index between the groups. Throughout the 12 months of treatment, the bone density of the IGCS group (I) was increasing at the same ratio as of the control group, while Z-score values remained unchanged for both groups.

Conclusions. Although the administration of budesonide at 200-400 µg/24h to the asthmatic children did not increase the bone mineralisation disorders throughout 1 year of time, the diagnosed characteristics of an increased bone tissue resorption suggest further surveillance of such patients, especially in the context of long-term administration of IGCS.

Key words: *asthma, bone mineralisation, children, inhaled corticosteroids*

Wstęp

Istotą patogenezy astmy oskrzelowej jest przewlekły proces zapalny, w którym biorą udział liczne komórki: limfocyty, mastocyty, eozynofile, makrofagi, neutrofile, komórki nabłonka oraz ich mediatory: interleukiny: IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), cytokina RANTES (*Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*) [1,2]. Skutkiem tego procesu jest obrzęk śluzówki, skurcz oskrzeli, tworzenie czopów śluzowych oraz nadreaktywność dróg oddechowych na różne czynniki swoiste i nieswoiste. Przewlekłe zapalenie może prowadzić do nieodwracalnych zmian strukturalnych, do tzw. remodelingu (przerostu mięśni gładkich, zwłóknienia podnabłonkowego, przerostu gruczołów śluzowych i komórek kubkowych). Badania wskazują, że zjawisko to obecne jest już w chwili rozpoznania choroby, nawet u małych dzieci [3]. Podstawą terapii astmy oskrzelowej są leki przeciwzapalne – steroidy wziewne, stosowane niezależnie od rodzaju i stopnia ciężkości choroby [4,5,6]. Istota ich przeciwzapalnego działania polega na hamowaniu transkrypcji wielu cytokin pozapalnych, skróceniu czasu półtrwania swoistego m-RNA dla różnych mediatorów oraz wpływie na ekspresję tych białek.

Istnieje tendencja, aby steroidy wprowadzać do leczenia jak najwcześniej, nawet u dzieci w pierwszym roku życia. Wczesne użycie niskich dawek steroidów wziewnych może zapobiec rozwojowi nieodwracalnych zmian strukturalnych, a więc poprawić rokowanie w astmie oskrzelowej [7,8,9,10].

Powszechnie uważa się, że profil bezpieczeństwa steroidów wziewnych jest duży, ale pozostają wątpliwości, czy długotrwałe stosowanie tych leków w wieku rozwojowym jest całkowicie bezpieczne, czy nie wpływa negatywnie na rozwój fizyczny i psychiczny dzieci. Problem oceny wpływu przewlekłego leczenia astmy oskrzelowej na metabolizm kostny, na biochemiczne markery obrotu kostnego jest ciągle dyskutowany. Dla właściwej oceny gospodarki mineralnej organizmu wskazane jest oznaczanie biochemicznych markerów obrotu kostnego oraz badanie gęstości kości BMD (*bone mineral density*). Czulym i swoistym markerem kościotworzenia, aktywności osteoblastów jest osteokalcyna (OC) – główne niekolagenowe białko macierzy kostnej. Natomiast dobrym markerem procesu resorpcji kości, czynności osteoklastów, jest C-końcowy usieciowany telopeptyd kolagenu typu I (CTx).

Celem badań była ocena jednorocznego leczenia wziewnym budesonidem w dawce 200-400 µg/dobę na gęstość kości i gospodarkę mineralną kości u dzieci z astmą oskrzelową.

Introduction

The essence of the bronchial asthma pathogenesis is the chronic inflammatory process involving numerous types of cells: lymphocytes, mastocytes, eosinocytes, macrophages, neutrophiles, epithelial cells and their mediators – interleukins: IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), RANTES cytokine (*Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted*) [1,2]. The effects of the process are: mucosal swelling, bronchospasm, formation of mucous plugs and hyperactivity of the respiratory tract to various specific and non-specific factors. A chronic inflammation may result in irreversible structural changes and lesions, i.e. remodeling (hypertrophy of unstriated muscles, superepithelial fibrosis, and hypertrophy of the mucous gland and caliciform cells). Medical studies indicate that the phenomenon is present upon the diagnosis of the disease even in small children [3]. The basic agents in the treatment of bronchial asthma are anti-inflammatory drugs: inhaled steroids, applied independently of the type and gravity of the disease [4,5,6]. The anti-inflammatory action of these drugs lies in the inhibition of the transcription of many extra-inflammatory cytokines, shortening the m-RNA specific half-life for various mediators and the influence on the protein expression.

There is a tendency of administering steroids as soon as possible – even to one-year old children. An early administration of low doses of inhaled steroid may prevent the development of irreversible structural changes, which means better prognosis for bronchial asthma [7,8,9,10].

The safety profile of inhaled steroids is generally recognised to be large; however, there are still doubts whether the long-term administration of the drug in the developmental age is completely safe, or whether it affects physical and mental development of children negatively or not. The assessment of the influence of the chronic bronchial asthma treatment on the bone metabolism and its markers is still a subject of discussion. A proper assessment of the body mineral metabolism requires a determination of the bone metabolism biochemical markers and testing for the BMD. One specific and sensitive marker of osteogenesis and osteoblastic activity is osteocalcin (OC), the major non-collagen bone matrix protein. Cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen (CTx) serves as a good marker of bone resorption process and the osteoclast activity.

The scope of the study was to assess the effects of one-year treatment with inhaled budesonide on bone density and mineralisation in children with bronchial asthma at the dosage of 200-400 µg/24h.

MATERIAŁ I METODY

Pacjenci

Badania przeprowadzono u 44 dzieci (26 chłopców i 18 dziewczynek) w wieku 5-11,8 lat (średnia wieku 7,1 lat), które konsultowano w Poradni Alergologicznej Kliniki Pediatrii IP-CZD. Wszystkie dzieci były w I okresie przedpokwitaniowym wg skali Tannera Do badań kwalifikowano chorych ze świeżo rozpoznaną astmą oskrzelową. U żadnego dziecka nie stosowano wcześniej przewlekłego leczenia przeciwzapalnego. U 9 dzieci podawano steroidy wziewne krótko, maksymalnie przez 5 dni, lecząc obturacyjne zapalenie oskrzeli.

Na podstawie wywiadu, obrazu klinicznego i wyników badania spirometrycznego u 3 dzieci rozpoznano astmę oskrzelową sporadyczną, u 13 – astmę oskrzelową lekką, a u 28 – astmę oskrzelową umiarkowaną. Rozpoznanie oraz określenie stopnia ciężkości choroby ustalono w oparciu o wytyczne zawarte w międzynarodowym Raporcie [11].

U 30 dzieci zalecono stałe podawanie wziewnych glikokortykosteroidów (WGCS) u 11 – inhibitora receptorów leukotrienowych montelukastu, a u 3 – tylko doraźnie salbutamolu. Zgodnie z zastosowaną terapią zakwalifikowano badanych do dwóch grup: grupa I (przyjmująca WGCS) obejmowała 30 dzieci (28 – astma oskrzelowa umiarkowana, 2 – astma oskrzelowa lekka), a grupa II, kontrolna, nie przyjmująca WGCS obejmowała 14 dzieci (11 – astma oskrzelowa lekka, 3 – astma oskrzelowa sporadyczna).

Budesonid podawano w inhalatorach proszkowych lub ciśnieniowych MDI ze spejserem w dawce przewlekłej 200 µg/dobę – 4 dzieci, w dawce 400 µg/dobę – 26 dzieci. Dawki większe (600-800µg) stosowano tylko w okresie zaostrzeń choroby, nie dłużej niż 5-6 dni. Montelukast podawano jeden raz dziennie wieczorem – jedną tabletkę 5 mg. Z badań wykluczono dzieci z innymi chorobami przewlekłymi, które mogłyby mieć wpływ na wyniki zaplanowanych badań.

Badania rozpoczęto po uzyskaniu zgody Komisji Bioetycznej i po wyrażeniu pisemnej zgody przez rodziców.

Oznaczanie biochemicznych markerów obrotu kostnego

Krew do badań pobierano na czczo, przed godziną 9.00. Stężenie OC oraz CTx w surowicy badano w Zakładzie Biochemii i Medycyny Doświadczalnej IP-CZD. Markery oznaczano metodą w pełni automatyczną w immunodiagnostycznym systemie Elecsys, przy użyciu zestawów firmy Roche Diagnostics. System ten oparty jest na elektrochemiluminescencyjnej metodzie pomiarowej (ECLIA) z zastosowaniem paramagnetycznych cząstek opłaszczonych streptawidyną. Zestaw pomiarowy (Elec-

METHODS AND MATERIAL

The patients

The study has been conducted on a group of 44 children (26 boys and 18 girls) between 5 and 11.8 years of age (with the average age of 7.1 years), who have been subjected to a medical council at the Clinic of Pediatrics and Allergology at the Monument Children Healthcare Centre. All children were in the prepubescent Tanner I stage and qualified for the study shortly after being diagnosed with bronchial asthma. None of the patients was subjected to long-term anti-inflammatory therapies. Nine of the children were subjected to a short-term administration of inhaled steroids, i.e. for five days maximum in order to treat obturative bronchitis.

The medical histories, clinical pictures and spirometric results revealed sporadic bronchial asthma in three children, light bronchial asthma in 13 children and moderate bronchial asthma in 28 children. The diagnosis and defining the degree of disease was established upon the directives in the International Report [11].

Constant IGCS administration was ordered for 30 children, montelukast leukotriene receptor inhibitor – for 11 children and emergency administration of salbutamol – for three children. Following the applied course of treatment, the children were divided into two groups: group I (on IGCS) of 30 children (with 28 cases of moderate bronchial asthma and 2 cases of light bronchial asthma) and group II as controls, with no IGCS administered, comprised of 14 children (with 11 cases of light bronchial asthma and 3 cases of sporadic bronchial asthma).

Budesonide was administered via dry powder inhalers and MDI pressure inhalers with a spacer, at a long-term dosage of 200 µg/24h for 4 children and 400 µg/24h for 26 children. Higher doses (600-800 µg) were only administered upon the aggravation of the disease and for no longer than 5 to 6 days. Montelukast was administered once a day, in the evening, at the dosage of one 5 mg tablet each. Other children with other chronic diseases, which might have given a bias to the results, were excluded from the study.

The study began following the acceptance of the Bioetic Committee and written agreements of parents.

Determination of the bone metabolism biochemical markers

The test blood would be drawn before eating, before 9:00 AM. The serum OC and CTx levels were measured by the Institute of Biochemistry and Experimental Medicine at the Monument Children Healthcare Centre. The markers have been determined automatically using Elecsys immunodiagnostic system and Roche Diagnostics test kits. The said system works on the basis of the electrochemiluminescence measurement method (ECLIA) with the use of streptavidin-coated paramagnetic particles.

sys N-MID Osteocalcin) zawiera dwa przeciwciała monoklonalne, skierowane bezpośrednio przeciwko epitopom we fragmencie N-Mid oraz N-końcowym osteokalcyne, co gwarantuje uzyskanie pewnych i powtarzalnych wyników oznaczeń, niezależnych od labilnego C-końcowego fragmentu cząsteczki. Dodatkowo przy każdej serii oznaczeń wykonywano oznaczenia w materiałach kontrolnych (PreciControl Bone) firmy Roche Diagnostics.

Badanie densytometryczne

DXA wykonywano metodą absorpcjometrii promieniowania o podwójnej wiązce energetycznej (aparat DPX-L firmy GE-Lunar, USA) – oznaczano gęstość mineralną kości (BMD w g/cm²) całego szkieletu (total body – TB) i odcinka lędźwiowego kręgosłupa (spine – AP). Określano także wskaźnik Z-score (liczba odchyłeń standardowych od średniej wartości gęstości kości u dzieci zdrowych tej samej płci i w tym samym wieku). Wskaźnik ten obliczano względem dziecięcej bazy referencyjnej.

Ocena aktywności fizycznej oraz diety stosowanej u dzieci

Oceny dokonano na podstawie ankiety ze skalą punktową. Dla aktywności: aktywność: 1 – słaba, 2 – przeciętna, 3 – dodatkowe zajęcia sportowe. Dla diety: 1 – bezmleczna, 2 – zwykła, 3 – zawierająca dużo mleka i przetworów mlecznych.

Wszystkie badania wykonywano wyjściowo przed wprowadzeniem leczenia oraz po 6 i 12 miesiącach terapii.

Analiza statystyczna

W analizie wyników zastosowano następujące testy statystyczne: Anova-Friedmanna i U Manna-Whitney'a z pakietu Statistica 7.1 oraz analizę korelacji. Przyjęto poziom istotności statystycznej $p < 0.05$.

WYNIKI

W I grupie dzieci (leczonych budesonidem) średnie stężenie OC początkowo wynosiło 115,5 ng/ml \pm 33,4, po 6 miesiącach 124,3 ng/ml \pm 38,9, a po 12 miesiącach leczenia budesonidem 124,5 ng/ml \pm 32,0. Między pierwszym i drugim oznaczeniem stwierdzono różnicę znamioną statystycznie – wzrost stężenia OC ($p=0,028$).

W II grupie dzieci (kontrolnej) średnie stężenie OC wynosiło odpowiednio: 113,2 ng/ml \pm 38,2, 143,8 ng/ml \pm 30,4, 124,3 ng/ml \pm 41,4. Również w tej grupie dzieci między pierwszym i drugim oznaczeniem stwierdzono statystycznie znamionny wzrost stężenia OC ($p=0,001$). Nie stwierdzono natomiast różnicy statystycznie znamiennej w średnim stężeniu OC między grupą steroidową i grupą kontrolną w czasie wizyt 1, 2 i 3.

Średnie stężenie CTx u dzieci leczonych budesonidem w kolejnych badaniach wynosiło: 1,29 ng/ml \pm 0,26, 1,42

The measurement kit (Elecsys N-MID Osteocalcin) contains two monoclonal antibodies directed against the epitopes in the N-Mid and N-terminal fragments of osteocalcin, which guarantees certain and reproducible determination results independent of the labile C-terminal fragment of the molecule. Additionally, each determination run was accompanied by the determination of control samples with the use of PreciControl Bone by Roche Diagnostics.

Densitometric tests

The DXA was performed using the method of dual energy X-ray absorptiometry (on a DPX-L machine from GE-Lunar USA). The test was used to determine TB (total body) and AP (lumbar spine section) BMD (in g/cm²). The Z-score index was also determined (i.e. the number of standard deviations from the average BMD of healthy children of the same age and sex).

Assessment of physical activity and diet of the children

The assessment was conducted using a survey with a point scale. Activity scale grades: 1 – low, 2 – average, 3 – additional physical exercise. Diet scale grades: 1 – milk-free, 2 – normal, 3 – rich in milk and dairy products.

All surveys were conducted prior to the treatment, as well as in the sixth and the twelfth month of the therapy.

Statistical analysis

The result analysis was performed with the following statistical tests: Friedmann's ANOVA and Mann-Whitney U test using Statistica 7.1 and correlation analysis. The statistical significance was set at $p < 0.05$.

RESULTS

The average OC level in group I (on budesonide) was initially at 115.5 ng/ml \pm 33.4, 124.3 ng/ml \pm 38.9 following 6 months and 124.5 ng/ml \pm 32.0 after twelve months of treatment. A statistically significant difference was discovered between the first and the second determination, i.e. an increase in the OC level ($p=0.028$).

The average OC level in group II (control) was 113.2 ng/ml \pm 38.2, 143.8 ng/ml \pm 30.4 and 124.3 ng/ml \pm 41.4 accordingly. A statistically-significant difference was also discovered between the first and the second determination, i.e. an increase in the OC level ($p=0.001$). However, no statistically-significant difference was revealed in the average OC levels between the steroid and the control groups during the first, the second and the third visit.

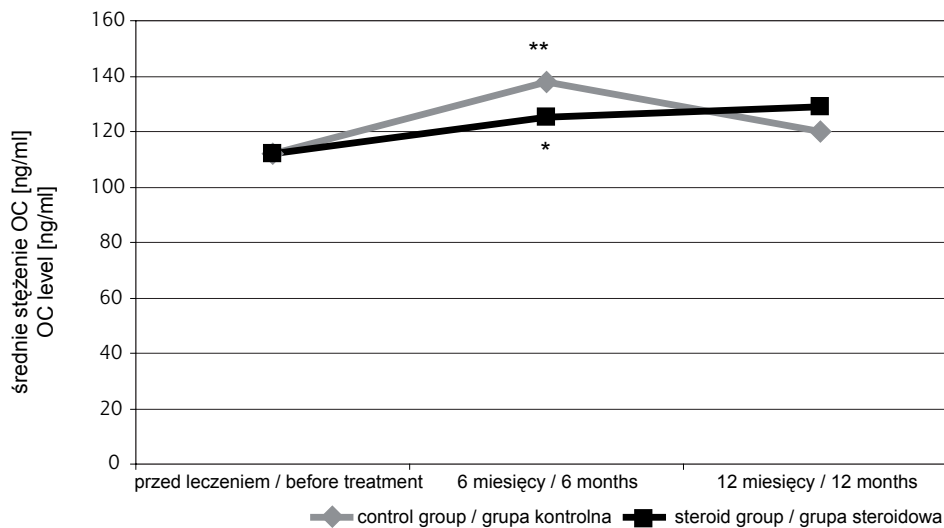
The average CTx level in the children treated with budesonide was in the subsequent tests as follows: 1.29

ng/ml \pm 0,46, 1,56 ng/ml \pm 0,43. Wzrost stężenia CTx był statystycznie znamienne między 1 i 3 ($p=0,028$) oraz między 2 i 3 wizytą, a więc po 6 i 12 miesiącach stosowania budesonidu ($p=0,028$).

W grupie kontrolnej średnie stężenie CTx wynosiło odpowiednio: 1,29 ng/ml \pm 0,29, 1,49 ng/ml \pm 0,36, 1,43 ng/ml \pm 0,45. Różnice były statystycznie niezamienne. Nie stwierdzono również różnic istotnych statystycznie w średnim stężeniu CTx w czasie 1, 2 i 3 wizyty (0, 6, 12 miesięcy leczenia) między grupą steroidową i grupą kontrolną. Mediany stężeń OC i CTx w obu grupach przedstawiono na rycinach 1 i 2.

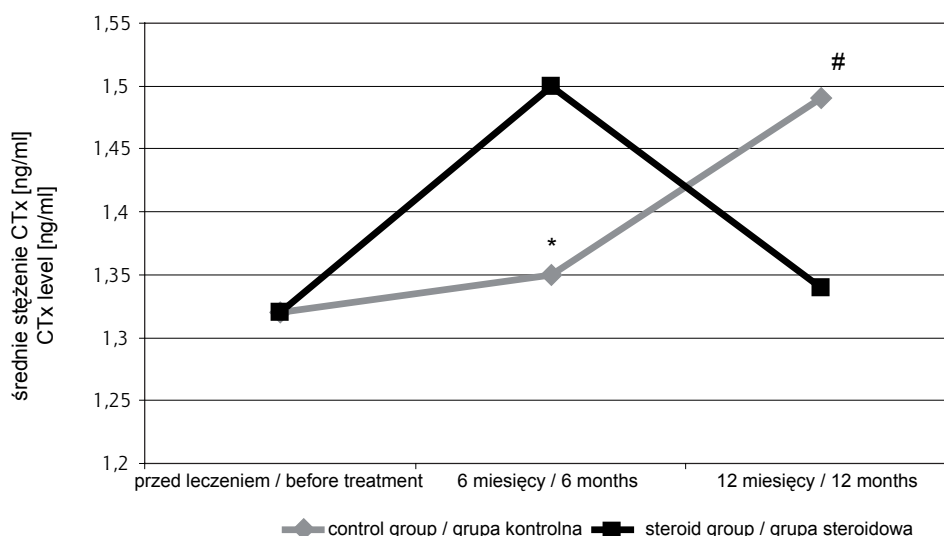
ng/ml \pm 0.26, 1.42 ng/ml \pm 0.46 and 1.56 ng/ml \pm 0.43. The CTx level increase was statistically-significant between the first and the third visit ($p=0,028$) as well as the second and the third visit – after the sixth and the twelfth month of administering budesonide ($p=0,028$).

The average CTx level for the control group was as follows: 1.29 ng/ml \pm 0.29, 1.49 ng/ml \pm 0.36 and 1.43 ng/ml \pm 0.45. The differences were statistically insignificant. There was also no statistically significant difference revealed in the average CTx level during the first, the second and the third visit (0, 6 and 12 months of treatment accordingly) between the steroid group and the control group. The OC and CTx medians for both groups are shown on Figs. 1 and 2.



Ryc. 1. Mediana stężenia osteokalcyny (OC) u dzieci z astmą oskrzelową: wyjściowo oraz po 6 i 12 miesiącach leczenia * $p < 0,03$; ** $p < 0,001$ w porównaniu do badania przed leczeniem

Fig. 1. Median value of osteocalcin (OC) in asthmatic children at the beginning of the study and after 6 and 12 months * $p < 0.03$; ** $p < 0.001$ as compared to before treatment



Ryc. 2. Mediana stężenia C-końcowego usieciowanego telopeptydu łańcucha α kolagenu typu I (CTx) u dzieci z astmą oskrzelową: wyjściowo oraz po 6 i 12 miesiącach leczenia (różnice niezamienne)

* $p < 0,03$ w porównaniu do badania przed leczeniem # $p < 0,03$ w porównaniu do badania po 6 miesiącach

Fig. 2. Median value of collagen type I crosslinked C-telopeptide (CTx) in asthmatic children at the beginning of the study and after 6 and 12 months . * $p < 0.03$ as compared to before treatment; # $p < 0.03$ as compared to assesment at 6 months

W czasie pierwszej wizyty u jednego dziecka stwierdzono znaczne obniżenie gęstości kości BMD – Z-score poniżej -2.0 (od średniej dla wieku i płci). U chłopca rozpoznano astmę oskrzelową lekką i zakwalifikowano do grupy niesteroidowej – zalecono montelukast. W przebiegu 12-miesięcznej obserwacji wartości Z-score dla gęstości minerału kostnego nie zmieniły się. Dziecko to od urodzenia pozostawało na diecie bezmlecznej, być może to wpłynęło na wynik badania densytometrycznego. U 8 dzieci (u 6 w grupie steroidowej i 2 w grupie kontrolnej) stwierdzono nieznaczne: obniżenie wartości Z-score dla BMD (w granicach -1,0 do -2,0 od średniej dla wieku i płci). W ciągu 12 miesięcy obserwacji, w kolejnych badaniach nie stwierdzono u tych dzieci istotnych zmian wskaźnika Z-score.

Nie zanotowano istotnych statystycznie korelacji między obniżoną masą kostną a aktywnością fizyczną oraz podażą produktów mlecznych w diecie.

Wyniki densytometryczne BMD całego ciała – Total Body (BMD TB) oraz BMD odcinka lędźwiowego (BMD AP) w grupie leczonej budesonidem i w grupie kontrolnej przedstawiono w tabeli I i II. Nie stwierdzono różnic statystycznie znamiennej w gęstości kości BMD i wskaźniku Z-score między grupą steroidową i kontrolną w czasie wizyt 1, 2 i 3.

Tabela I. Gęstość minerału kostnego odcinka lędźwiowego kręgosłupa (AP BMD) i całego kośćca (TB BMD) oraz wskaźnik Z-score w grupie steroidowej (30 dzieci)

Table I. Bone mineral density of lumbar spine (AP BMD) and total body bone mineral density (TB BMD) in the steroid group (30 children)

I, II, III badanie I, II, III examination	Mediana Median	Minimum Minimum	Maksimum Maximum
AP BMD I g/cm ²	0,630	0,482	0,822
AP BMD II g/cm ²	0,654	0,507	0,869
AP BMD III g/cm ²	0,674	0,519	0,907
AP z-score I	-0,500	-1,300	1,200
AP z-score II	-0,300	-1,500	1,600
AP z-score III	-0,400	-1,500	1,700
TB BMD I g/cm ²	0,787	0,688	0,922
TB BMD II g/cm ²	0,800	0,695	0,927
TB BMD III g/cm ²	0,817	0,698	0,953
TB z-score I	-0,200	-1,500	1,300
TB z-score II	-0,200	-1,400	1,400
TB z-score III	-0,100	-1,500	1,400

DYSKUSJA

Steroidy poprzez wielokierunkowe działania przeciwzapalne dobrze kontrolują przebieg astmy oskrzelowej [7,12,13,14]. Zmniejszają odpowiedź wczesną i późną reakcji astmatycznej dzięki czemu powodują ustąpienie lub złagodzenie objawów klinicznych choroby.

During the first visit, one of the children displayed a significant decrease in the BMD with Z-score below -2.0 (from the average for age and sex). The boy in question has been diagnosed with light bronchial asthma and qualified to the non-steroid group with the administration of montelukast. During 12 months of observation, the Z-score for BMD remained unchanged. The child has been on a milk-free diet and perhaps this was the factor affecting the densitometric results. A slight decrease in the BMD Z-score was discovered in eight other children (6 in the steroid group and 2 in the control group) at -1.0 to -2.0 from the average for age and sex. During 12 months of observation, the following tests revealed no significant Z-score changes in these children.

No statistically significant correlations were found between the decreased bone mass, physical activity and the supply of dairy products in the diet.

The TB and AP BMD results for the budesonide group and the controls are listed in Tables I and II. During visits 1, 2 and 3, no statistically-significant changes in the BMD and Z-score were discovered between the steroid group and the control group.

Tabela II. Gęstość minerału kostnego odcinka lędźwiowego – AP BMD i całego kośćca – TB BMD oraz wskaźnik Z-score w grupie kontrolnej (14 dzieci)

Table II. Bone mineral density of lumbar spine (AP BMD) and total body bone mineral density (TB BMD) in the control group (14 children)

I, II, III badanie I, II, III examination	Mediana Median	Minimum Minimum	Maksimum Maximum
AP BMD I g/cm ²	0,632	0,433	0,823
AP BMD II g/cm ²	0,645	0,416	0,860
AP BMD III g/cm ²	0,654	0,460	0,927
AP z-score I	-0,400	-2,500	0,500
AP z-score II	-0,350	-2,900	0,600
AP z-score III	-0,200	-2,500	0,700
TB BMD I g/cm ²	0,806	0,702	0,926
TB BMD II g/cm ²	0,816	0,727	0,952
TB BMD III g/cm ²	0,832	0,717	0,952
TB z-score I	0,000	-1,500	0,600
TB z-score II	0,000	-1,400	0,800
TB z-score III	0,200	-1,500	1,000

DISCUSSION

Due to their multidirectional anti-inflammatory action, steroids control the course of bronchial asthma quite well [7, 12, 13, 14]. They decrease early and late responses of the asthmatic reaction, which results in subsidence or moderation of the clinical symptoms of the disease.

U dzieci 100 do 400 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ budesonidu powszechnie uznano za dawkę bezpieczną i skuteczną, a jednocześnie większe dawki leku nie zawsze wiązano z lepszym efektem klinicznym [15,16,17].

W wielu badaniach klinicznych podejmowano problem oceny bezpieczeństwa leków stosowanych przewlekłe w astmie oskrzelowej u dzieci [18,19,20,21]. Badania te przynosiły niejednoznaczne wyniki, niekiedy całkowicie sprzeczne. Opisywano objawy niepożądane ogólnoustrojowe: upośledzenie czynności osi podwzgórze-przysadka-nadnercze, zmniejszenie gęstości mineralnej kości ze zwiększonym ryzykiem osteoporozy i złamań, hamowanie tempa wzrastania, wylewy krwawe na skórze, rzadziej zmiany w narządzie wzroku oraz objawy miejscowe związane z osadzaniem leków w jamie ustnej: chrypkę, dysfonię, grzybicę, kaszel z podrażnienia.

Lipworth [22], przedstawiając metaanalizę prac badających objawy niepożądane po steroidach wziewnych, podkreślał, że najważniejsza jest odpowiednio dobrana dawka leku. Zwykle znacznie więcej objawów ubocznych stwierdzano przy długotrwałym stosowaniu dużych dawek [23,24]. Inni badacze podkreślali, że objawy uboczne częściej występowały po podaniu steroidów wziewnych osobom zdrowym oraz w wyrównanej astmie oskrzelowej. Biodostępność leku zmienia się w czasie, dlatego dawkę leczniczą należy dobierać indywidualnie i zmniejszać z chwilą poprawy stanu zdrowia chorego [25].

Czułymi wskaźnikami metabolizmu kostnego są biochemiczne markery obrotu kostnego. Oznaczanie ich pozwala na szybką ocenę aktywności osteoblastów i osteoklastów. Markery te korelują z szybkością wzrastania, ale charakteryzują się dużą zmiennością osobniczą. Ich stężenie zależy od wieku, płci, stanu odżywienia i gospodarki hormonalnej ustroju [26]. Aby właściwie ocenić gospodarkę mineralną organizmu, poza biochemicznymi markerami, należy również wykonywać badania gęstości kości metodą densytometryczną.

W jednym z badań obserwowano 157 dzieci z astmą oskrzelową, którym podawano budesonid przez 3-6 lat w średniej dawce dobowej 504 μg . Nie stwierdzono niepożądanego działania na gęstość mineralną kości [27]. Również w innych pracach nie stwierdzono negatywnego wpływu steroidów wziewnych na metabolizm kości [28,20,34]. Nie obserwowano wpływu na mineralizację kości nawet przy zastosowaniu dużych dawek steroidów wziewnych [31]. W badaniu Lesleya i wsp. [32] u pacjentów dorosłych badano gęstość kości oraz występowanie osteoporozy i złamań. Złamania były wprawdzie proporcjonalne do dawki kumulacyjnej steroidów, ale nie stwierdzono bezpośredniego związku z pomiarem gęstości kości.

W innym badaniu porównywano grupę dzieci leczonych budesonidem 200 μg na dobę z grupą leczoną

The safe dosage of budesonide for children has been established between 100 and 400 $\mu\text{g}/24\text{h}$, while the increased dosage of the drug has not always been connected to an improved clinical effect [15,16,17].

Many clinical trials and studies attempted at solving the problem of safety assessment of drugs applied in the long-term treatment of children with bronchial asthma [18,19,20,21]. Such research would give ambiguous or even contradictory results. Various adverse systemic effects have been described, including the impairment of activity on the hypothalamus-pituitary-adrenal axis, a decrease in the BMD, with an increased risk of osteoporosis and fracture, inhibited growth ratio and haemorrhages on the skin; among the less frequent symptoms listed are lesions in the organ of sight and topical symptoms connected with the sedimentation of the drugs in the oral cavity: hoarseness, dysphonia, mycosis and coughing related to irritation.

In his meta-analysis of studies on adverse effects of administering inhaled steroids, Lipworth [22] stresses out that a properly selected drug dosage is essential. Effects that are much more adverse have been diagnosed in the long-term administration of large dosages [23,24]. Other researchers point out that side effects would appear more frequently following the administration of inhaled steroids to healthy individuals and for the treatment of balanced bronchial asthma. The bioavailability of the drug changes in time, which is why the treatment dosage should be established individually and decreased upon improvement of the patient's condition [25].

The biochemical markers of bone metabolism are very sensitive indicators. Their determination allows rapid assessment of osteoblastic and osteoclastic activity. The markers correlate with the growth ratio; however, they are also characterised by a large individual variation. Their levels depend on age, sex, nutrition and hormonal metabolism of the system [26]. In order to assess the mineral balance of an organism, the BMD densitometric tests should also be performed.

One of the studies involved an observation of 157 children with bronchial asthma treated with budesonide for 3 to 6 years at an average dose of 504 $\mu\text{g}/24\text{h}$. No undesirable effect on the BMD was found [27]. Other studies also found no evidence of a negative influence of inhaled steroids on bone metabolism [28,20,34]. The influence on bone mineralisation was not observed even upon administering large doses of inhaled steroids [31]. A study by Lesley et al. [32] on adult patients involved the BMD analysis, as well as dealing with the prevalence of osteoporosis and fractures. The fracture count was proportional to the cumulative steroid dosage, but no direct connection to the BMD measurement was found.

Another study involved a comparison between children treated with budesonide at a dosage of 200 $\mu\text{g}/24\text{h}$ and a group treated with nedocromil and a placebo.

nedocromilem oraz z placebo. Po 4 latach nie zanotowano istotnych różnic w pomiarze gęstości kości między tymi grupami [33].

W badanej przez nas grupie dzieci nie stwierdzono różnic statystycznie znamiennej w gęstości mineralnej kości BMD i wskaźniku Z-score między grupą steroidową i kontrolną, po 6 i 12 miesiącach leczenia. Nie stwierdzono również różnic w średnim stężeniu OC między obu grupami. W okresie obserwacji nie tylko nie zanotowano obniżenia stężenia osteokalcyny, a stwierdzono istotny jej wzrost. Należy przypuszczać, że proces kościotworzenia nie uległ zmianie pod wpływem terapii. Wprawdzie u dzieci leczonych budesonidem stwierdzono statystycznie znamiennej wzrost stężenia CTx, co może świadczyć o nadmiernej aktywacji osteoklastów i zwiększonej resorpcji tkanki kostnej u tych chorych, z drugiej jednak strony należy podkreślić, że nie stwierdzono różnic istotnej statystycznie w średnim stężeniu CTx w kolejnych badaniach między grupą steroidową i grupą kontrolną.

W innych doniesieniach stwierdzano zmniejszone tworzenie i zwiększoną resorpcję po zastosowaniu steroidów wziewnych w dużych dawkach [34,35,36,37,38]. Należy jednak zaznaczyć, że badania te obejmowały zwykle krótki okres obserwacji (od 2-4 tygodni) i miały charakter przemijający. Kannisto i wsp. badali u 75 dzieci z nowo rozpoznaną astmą oskrzelową metabolizm kostny, funkcję nadnerczy oraz przyrosty wzrostu. Stwierdzili obniżenie stężenia osteokalcyny w grupie leczonej steroidami wziewnymi. Zmiany w metabolizmie kostnym były większe u dzieci, u których stwierdzano jednocześnie zaburzoną funkcję nadnerczy i zahamowanie wzrostu. Natomiast poziom osteokalcyny nie zależał od stopnia ciężkości choroby. W innym badaniu przeprowadzono analizę u 31 dzieci z astmą oskrzelową o różnym stopniu ciężkości. U 50% z nich stwierdzono zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej, a u 40% obniżoną gęstość mineralną kości. U 3 dzieci z ciężką astmą oskrzelową rozpoznano osteoporozę. Natomiast osteopenię stwierdzono u 10 dzieci i w tej grupie nie wykazano związku mineralizacji kości ze stopniem ciężkości choroby (w trzech przypadkach u dzieci nie leczonych steroidami wziewnymi). Należy podkreślić, że w tej grupie obserwowano złamania kości (9 dzieci, w tym u 5 dzieci aż 3-krotnie) [39]. W innym doniesieniu 37 dzieci z astmą łagodną i umiarkowaną, leczono zmiennymi dawkami budesonidu (stopniowo zmniejszonymi). Stwierdzono obniżone stężenie osteokalcyny po 6 i 12 miesiącach leczenia w całej badanej grupie. Jednak tylko u dzieci z astmą oskrzelową umiarkowaną, gdzie stosowano większe dawki steroidów różnice były statystycznie znaczne [40].

Należy podkreślić, że ocena wpływu leków na metabolizm kostny u dzieci, przed uzyskaniem szczytowej masy kostnej jest trudna. W okresie wzrastania zmiana wielkości, kształtu, tempo przebudowy kości są dużo

Following a four years long course of the study, no significant differences between the groups were found in the BMD measurements [33].

Our group of children revealed no statistically-significant differences in the BMD and Z-score between the steroid group and the control group after six and twelve months of treatment. No difference was also discovered in the average OC level between both groups. Not only no decrease in the OC concentration was registered during the surveillance period, but also a significant OC increase was noted. It is to assume that the osteogenetic process remained unaffected by the therapy. Indeed, a statistically significant increase in the CTx level was noted in the children on budesonide, which may prove an excessive activity of osteoclasts and increased resorption of bone tissue in this group; but, on the other hand, it must be stressed that further tests revealed no statistically significant differences between the steroid group and the controls as far as the average CTx level is concerned.

Some other reports describe decreased osteogenesis and increased resorption following the application of inhaled steroid in large doses [34,35,36,37,38]. However, we should remember that the said studies usually had a short period of surveillance (two to four weeks) and were of a passing character. Kannisto et al. studied 75 children with new occurrences of bronchial asthma for bone metabolism, adrenal function and growth rates. The researchers have established a decrease in the OC levels in the group treated with inhaled steroids. The bone metabolism variations were larger in the children with deranged adrenal function and inhibited growth, while the OC level did not depend on the gravity of the disease. In the course of another study, 31 children with bronchial asthma of varying gravities were assessed. Fifty percent of the group were diagnosed with calcium and phosphate metabolic disorders and 40% were found with decreased BMD. Three children with acute bronchial asthma were found with osteoporosis. Osteopeny was found in 10 children and this group was unable to serve as a substantiation for a relation between bone mineralisation and the gravity of the disease (in three cases of children untreated with inhaled steroids). It needs to be pointed out that there were bone fractures observed in this group (in nine children, including three fractures in five of them) [39]. Another report describes 37 children with light and moderate asthma, who were treated with variable (gradually decreasing) doses of budesonide. Decreased OC levels were discovered in the whole group after six and twelve months of treatment. However, the differences were statistically significant only in children with moderate bronchial asthma, treated with higher doses of steroids [40].

We must remember that the assessment of the drug influence on bone metabolism in children – before they attain their maximum bone mass – is difficult. During the growth period the changes in size, length and shape

większe niż u osób dorosłych. Rozpoznanie osteoporozy powinno być stawiane bardzo ostrożnie [41]. W analizie trzeba uwzględniać inne istotne elementy, takie jak: dieta, stan odżywienia, czynniki dziedziczne, oraz aktywność fizyczna dziecka. W badanej przez nas grupie dzieci już w czasie pierwszej wizyty, a więc przed wprowadzeniem przewlekłego leczenia przeciwastmatycznego, stwierdzono nieprawidłowe wartości BMD u 9 chorych (1 – znaczne obniżenie, 8 – niewielkie obniżenie wartości). Jednak w ciągu 12 miesięcy obserwacji nie obserwowano pogorszenia u tych pacjentów.

Metaanaliza badań przeprowadzona przez Halperna i wsp. dotycząca wpływu przewlekłego stosowania steroidów wziewnych na gęstość mineralną kości wykazała, że obserwowane zmiany często nie są związane ze stosowanymi lekami [42].

Wydaje się, że wrażliwość na steroidy wziewne jest indywidualna i istnieje pewna skłonność osobnicza do występowania objawów niepożądanych, stąd tak różne wyniki badań, nawet przy stosowaniu tych samych dawek. Na badane parametry wpływa nie tylko leczenie, lecz przede wszystkim sama choroba. Źle kontrolowana astma oskrzelowa powoduje wiele powikłań. Ważne, aby w długotrwałym leczeniu u dzieci ustalić tzw. minimalną dawkę skuteczną steroidu wziewnego. Wówczas ryzyko wystąpienia objawów niepożądanych będzie najmniejsze.

Jednocześnie należy podkreślić, że stosując przewlekle steroidy wziewne u dzieci trzeba często kontrolować objawy astmy i przeprowadzać badania związane z potencjalnymi działaniami niepożądanymi.

W naszym badaniu nie wykazano, by stosowanie budesonidu w okresie 1 roku miało wpływ na gęstość minerału kostnego, jednakże obserwowano wykładniki zwiększonej resorpcji tkanki kostnej, co wskazuje na możliwość wystąpienia takich zaburzeń w okresie późniejszym. Dlatego istotne jest dokładne monitorowanie tych dzieci, zwłaszcza w przypadku długiego podawania sterydów wziewnych.

of bones, as well as their reconstruction ratio are much greater than in the case of adults. Thus, the diagnoses of osteoporosis should be made very carefully [41]. The analysis must also involve other significant factors as diet, nutrition, hereditary conditions and physical activity of the child. Our group of study revealed the BMD abnormalities in nine specimens just upon the first medical visit, i.e. prior to the long-term anti-asthmatic treatment (with major BMD decrease in one child and a slight decrease in eight other children). However, no aggravation of the factor was observed during twelve months of the study.

The meta-analysis of research conducted by Halpern et al. relating to the influence of long-term inhaled steroid administration on the BMD has proven that the changes observed are frequently disconnected from the administered drugs [42].

It seems that the sensitivity to inhaled steroid is an individual issue and that there is a certain individual predisposition for exhibiting undesirable effects, which results in such differences between various research results, even if the dosage remains unchanged. The parameters studied are affected not only by the treatment, but also by the disease itself. A badly controlled bronchial asthma results in many complications. It is important to establish a minimum effective dose of inhaled steroids in the long-term therapy of children, so that the risk of undesirable effects is as low as possible.

It must also be noted that long-term application of inhaled steroids in children requires frequent control of asthmatic symptoms and studies for potential undesirable effects.

Our study did not prove that a one-year period of administering budesonide affects the BMD; however, there were increased bone tissue resorption rates observed, which indicated a possibility of such disorders in a further period of time. It is crucial to monitor scrupulously such children – especially in the case of long-term treatment with inhaled steroids.

Piśmiennictwo

1. Plusa T. Epidemiology of allergic diseases. *Rev Allergol Clin Immunol* 1999; 5: 100-103.
2. Chung KF, Barnes PJ. Cytokines in asthma. *Thorax* 1999; 54: 825-857.
3. Laitinen LA, Laitinen A. Remodelling of asthmatic airways by glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 1996; 97: 153-158.
4. Rabe K, Schmidt DT. Pharmacological treatment of asthma today. *Eur Respir J* 2001; 18: 34-40.
5. Doniec Z, Kurzawa R, Bukowszczyk Z, Elbonsefy AI. Leczenie przeciwzapalne w astmie oskrzelowej u dzieci. *Alergia Astma Immunol* 1998; 3: 81-84.
6. Kulus M. Wczesne leczenie przeciwzapalne astmy dziecięcej a standardy jej leczenia. *Alergologia* 2003; 1: 20-25.
7. Suissa S, Ernst P. Inhaled corticosteroids: Impact on asthma morbidity and mortality. *J Allergy Clin Immunol* 2001; 107: 937-944.
8. Pauwels RA, Pedersen S, Busse WW, Tan WC, Chen YZ, Ohlsson SV, Ullman A, Lamm CJ, O'Byrne PM. Early intervention with budesonide in mild persistent asthma: a randomised, double-blind trial. *Lancet* 2003; 361: 1071-1076.
9. Selroos O, Pietnalho A, Lofroos A-B, Riska H. Effect of early vs late intervention with inhaled corticosteroids in asthma. *Chest* 1995; 108: 1228-1234.
10. Laitinen LA, Altraja A, Karjalainen EM, Laitinen A. Early interventions in asthma with inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 582-585.

11. Światowa strategia rozpoznawania, leczenia i prewencji astmy. Raport NHLBI/WHO. Publikacja Nr 02-3569. Medycyna Praktyczna, wydanie specjalne, 2002.
12. Quareshi F, Zaritsky A, Poirier M. Comparative efficacy of oral prednisone in acute pediatric asthma. *J Pediatr* 2001; 139: 20-26.
13. Barnes PJ. Efficacy of inhaled corticosteroids in asthma. 1998; 102: 531-538.
14. Pedersen S, Warner J, Wahn U, Staab D i wsp. Growth, systemic safety, and efficacy during 1 year asthma treatment with different beclomethasone dipropionate formulations: an open-label, randomized comparison of extrafine and conventional aerosols in children. *Pediatrics* 2002; 109: 1-10.
15. Bisgaard H. Use of inhaled corticosteroids in pediatric asthma. *Ped Pulmonol* 1997; suppl. 15: 27-33.
16. Bręborowicz A, Niedziela M. Wybrane aspekty bezpieczeństwa leczenia glikokortykosteroidami wziewnymi dzieci chorych na astmę oskrzelową. *Alergia Astma Immunol* 2004; 9: 11-23.
17. Currie GP, Fowler SJ, Lipworth BJ. Dose response of inhaled corticosteroids on bronchial hyperresponsiveness: a meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 90: 194-198.
18. Agertoft L, Pedersen S. Effect of long-term treatment with an inhaled corticosteroids on growth and pulmonary function in asthmatic children. *Respir Med* 1994; 88: 373-381.
19. Connett GJ, Worde C, Wooler E, Lenney W. Use of budesonide in severe asthmatics aged 1-3 years. *Arch Dis Child* 1993; 69: 351-355.
20. Ledford DK. Adverse effect of inhaled glucocorticoids. *Immunol Allergy Clin North Am* 1999; 19: 819-824.
21. Szeffler S, Pedersen S. Role of budesonide as maintenance therapy for children with asthma. *Pediatr Pulmonol* 2003; 36: 13-21.
22. Lipworth BJ. Systemic adverse effects of inhaled corticosteroid therapy: A systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med* 1999; 159: 941-955.
23. Rao R, Gregson RK, Jones AC, Miles EA, Campbel MJ, Warner JO. Systemic effects of inhaled corticosteroids on growth and bone turnover on childhood asthma: a comparison of fluticasone with beclomethasone. *Eur Respir J* 1999; 13: 87-94.
24. Pedersen S, O'Byrne P. A comparison of the efficacy and safety of inhaled corticosteroid in asthma. *Allergy* 1997; Supp 52: 1-34.
25. Fabbri L, Melara R. Systemic effects of inhaled corticosteroids are milder in asthmatic than in normal subjects. *Thorax* 2001; 56: 165-166.
26. Kaczmarewicz E. Biochemiczne markery obrotu kostnego. *Poradnik dla lekarzy. Osteoforum* 2004: 24-27.
27. Agertoft L, Pedersen S. Bone mineral density in children with asthma receiving long-term treatment with inhaled budesonide. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 178-183.
28. Kouning P, Scheffler S. The effect of drug therapy on long-term outcome of childhood asthma: A possible preview of the international guidelines. *J Allergy Clin. Immunology* 1996; 98: 1103-1111.
29. Hopp RJ, Degan JA, Phelan J i wsp. Cross-sectional study of bone density in asthmatic children. *Pediatr Pulmonol* 1995; 20: 189-192.
30. Martinati LC, Bertoldo F, Gasperi E, Fortunati PI i wsp. Longitudinal evaluation of bone mass in asthmatic children treated with inhaled beclomethasone dipropionate or cromolyn sodium. *Allergy* 1998; 53: 705-708.
31. Reilly SM, Hambleton G, Adams JE, Mughal MZ. Bone density in asthmatic children treated with inhaled corticosteroids. *Arch Dis Child* 2001; 84: 183-184.
32. Lesley J, Lewis SA, Wong CA, Cooper S, Osborne J. The impact of oral corticosteroid use on bone mineral density and vertebral fracture. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 691-695.
33. Childhood Asthma Management Program Research Group. Long-term effects of budesonide or nedocromil in children with asthma. *N Engl J Med* 2000; 343: 1054-1063.
34. Allen DB, Mullen M, Mullen B. A meta-analysis of the effect of oral and inhaled corticosteroids on growth. *J Allergy Clin Immunol* 1994; 93: 967-976.
35. Wong CA, Walsh LJ, Smith CJ, Wiszniewski AF i wsp. Inhaled corticoid use and bone-mineral density in patients with asthma. *Lancet* 2000; 355: 1399-1404.
36. Wothers OD, Riis BJ, Pedersen S. Bone turnover in asthmatic children treated with oral prednisolone or inhaled budesonide. *Pediatr Pulmonol* 1993; 16: 341-346.
37. Hanania NA, Chapman KR, Sturtridge WC i wsp. Dose-related decrease in bone density among asthmatic patients treated with inhaled corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 571-579.
38. Kannisto S, Korppi M, Arikoski P, Kyllikki R, Voutilainen R. Biochemical markers of bone metabolism in relation to adrenocortical and growth suppression during the initiation phase of inhaled steroid therapy. *Pediatr Res* 2002; 52: 258-262.
39. Loba-Jakubowska E, Błaszczak A, Włazłowski J, Chlebna-Sokół D. Wskaźniki przemiany wapniowo-fosforanowej u dzieci chorych na astmę. *Alergia Astma Immunol* 2003; 8: 184-187.
40. Puchnarewicz A, Tobolczyk J, Hofman J. Zachowanie się stężenia osteokalcyny w surowicy dzieci chorych na astmę oskrzelową leczonych budesonidem wziewnym. *Alergia Astma Immunol* 2003; 8: 98-102.
41. Leszczyński P, Bolanowski M. Nowe rekomendacje ISCD dotyczące wykonywania i interpretacji badań densytometrycznych metodą DXA. *Endokrynol Pol* 2004; 55: 744-748.
42. Halpern MT, Scmier JK, Kerkhove MD i wsp. Impact of the long-term inhaled corticosteroid therapy on bone mineral density results of a meta-analysis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 92: 201-207.