

Master Thesis

Research article

Translational Medicine

The Faculty of Health and Medicine

September 2018 – May 2019

By: Iris Hrustanovic
Study no. 2014-6208



AALBORG UNIVERSITET
STUDENTERRAPPORT

AALBORG UNIVERSITY

Title:

Bone Health Index in children with mild to moderate cerebral palsy – A pilot study

Knoglesundhedsindex hos børn med mild til moderat cerebral parese – et pilotstudie.

Semester:

9th and 10th

Semester theme:

Master thesis

Group:

9040 (TM)

Period:

September 2018 – May 2019

Supervisors:

Jesper Johannessen, Parisa Gazerani & John Dirk Nieland

Faculty:

The Faculty of Health and Medicine

ECTS:

60

Pages:

42

Appendix:

2 (24 pages)

By signing this document, each member of the group confirms participation on equal terms in the process of writing the project. Thus, each member of the group is responsible for all contents in the project.



Iris Hrustanovic
20146208

Abstract - dansk

Baggrund: Uregelmæssig vækst er forekommende hos børn med cerebral parese (CP). Disse børn har en tendens til at være lavere og mindre sammenenlignet med raske børn. Det er blevet bevist at fejlernæring, forstyrret pubertetsmodning og nedsat stykke af knoglerne bidrager med forsinket vækst og øget risiko af frakturer hos børn med CP. Dette pilotstudie har ønsket at undersøge forholdet mellem kronologisk alder og knoglealder ved at analysere knoglesundheden hos børn med CP. Derudover ønsker studiet at identificere om variabler såsom Gross Motor Function Classification Score (GMFCS), pubertalestatus, køn, type CP eller ernæringsmæssige status (Body Mass Index og vitamin D status) kan påvirke knoglernes sundhed.

Metode: Tredive børn (14 kvinder, gennemsnits alder: 9.64 år, SD 5.23) med CP, blev rekrutteret fra den pædiatriske afdeling på Herlev Universitetshospital ved deres årlige kontrol hos egen behandlingsansvarlig læge. Under deltagelsen i studiet skulle børnene igennem en eksperimentiel session hvor en gennemgang af deres journal, samt vurdering af deres ernæringsstatus fandt sted. Derudover bestod sessionen af en undersøgelse af børnenes pubertetsstatus ved brug af Tanner-skalaen og sluttede af med en blodprøve, for at afklare vitamin-D niveauet, samt et røntgen af venstre hånd og håndled til bestemmelse af barnets knoglealder og knoglesundhed (BHI) ved brug af BoneXpert. Alle børnene med CP blev scoret ifølge GMFCS og havde alle mild til moderat CP. De brugte statistiske analyser i studiet var parret-t test, samt multiple regression og var vurderet signifikante ved $p < 0.05$.

Resultater: Studiet fandt ingen forskel mellem den kronologiske alder og knoglealder for børn deltagende i projektet, dette gælder begge køn ($p = 0.360$, $p = 0.644$). Studiets fund viser at BHI var afvigende fra det normative data præsenteret i BoneXpert, hvilket kunne tyde på at nogle børn med mild CP har nedsat BHI sammenlignet med raske børn. Der blev ikke fundet nogen signifikant forskel for BHI mellem kønnene ($p = 0.714$). Variabler såsom pubertetsstatus og GMFCS viste sig at have en indflydelse på knoglesundheden ($p < 0.05$). Den gennemsnitlige BHI var lavere hos postpubertale børn med CP, sammenlignet med præpubertale børn med CP ($p < 0.05$).

Konklusion: Dette studie viser at børn med mild til moderat CP ikke har ændret BHI sammenlignet med raske børn. Mere forskning er nødvendigt for at udvide viden inden for knoglesundhed hos børn med mild til moderat CP, samt hvis ændret behandling i klinikken bør overvejes.

Bone Health Index in children with mild to moderate cerebral palsy – A pilot study

Iris Hrustanovic

Abstract

Introduction: Growth abnormalities are prevalent in children with cerebral palsy (CP). These children tend to be smaller in size compared to typically developing children. It is shown that malnutrition, disturbed pubertal maturation, reduced muscular strength, and decreased weight of the bones contribute to delayed growth and increased risk of fractures in CP. This pilot study aimed to assess the relationship between bone age and chronological age, by analysing the bone health in children with CP, and to identify if variables such as Gross Motor Function Classification Score (GMFCS), pubertal status, sex, type of CP or nutritional status (Body Mass Index and vitamin-D status) could influence on the bone health.

Method: Thirty children (14 females, overall mean age: 9.64 years, SD: 5.23) with CP were recruited from the paediatric department, Herlev University Hospital, at their annual review to participate in the study. The children went through a clinical assessment where medical history and nutritional status were obtained. The process was followed by an examination of the pubertal status by using Tanner scale, and ended with a blood sample collection to clarify the vitamin-D level, and an X-ray of their left hand and wrist to assess bone age and bone health index (BHI) evaluated by BoneXpert. All children with CP were scored according to the GMFCS and had mild to moderate CP. Statistical analysis included descriptive statistics, paired *t*-test, and multiple regression. Significance was considered at $p < 0.05$.

Results: The study found no significant difference between chronological age and bone age for each sex separately ($p = 0.360$, $p = 0.644$). Findings demonstrated that BHI differed from the normative data presented in BoneXpert, indicating that children with mild to moderate CP could have decreased BHI compared with healthy children. However, no significant difference was observed for BHI between sexes ($p = 0.714$). Variables as pubertal status and GMFCS were found to have an influence on bone health ($p < 0.05$). The mean BHI was found to be lower in postpubertal children with CP, compared with prepubertal CP children.

Conclusion: The study demonstrated that children with mild to moderate CP do not have changed BHI compared to normal children, even though mean BHI indicated to be below average for the CP children, but not significantly lower than healthy children. More research is needed to expand our knowledge of BMD in children with mild to moderate CP, and if changed treatment in the clinic should be considered.

1. INTRODUCTION

Cerebral palsy (CP) is a physical disability caused by a non-progressive and permanent

brain injury, occurring in the prenatal, perinatal or postnatal life. The incidence rate of CP is 2.7 per 1000 livebirths, and due to

increased survival of infants with low birth weight, the incidence has increased over the years (1). In Denmark, the incidence rate is approximately the same as in rest of the Europe (2). More than 90% of the brain injuries are congenital and occur either from degeneration of the brain tissue, or by a cerebrovascular accident in utero. If the injury happened postnatally, an infarct or infection can cause the brain injury and development of CP (3, 4). Depending on the location of the brain injury, several symptoms are present, often characterized by posture and movement dysfunction, and are mostly noticeable in the early months of life (5). The child with CP is typically diagnosed around the age of 2 years, as motoric ability is not present in the affected child, similar to what is seen in age-matched healthy children. Children with CP typically have reduced muscular strength, decreased fine- and gross motor functionality, posture problems, and reduced walking function (4). Motor disability in CP is divided into three subtypes of spastic, ataxic, and dyskinetic; but, some children have a combination of the three subtypes (3, 4). To classify the severity of CP, Gross Motor Function Classification Score (GMFCS) is used. It grades the motor severity of CP from level I, being the highest functioning group, to level V, being the lowest (8). Although CP is considered the most common motor disability in childhood, many

affected children also suffer from associated complications. Epilepsy, for example, is a common problem, but mental retardation, impaired sensation, perception, and cognition are also seen (9).

Growth failure in children with CP is a common problem, and it is shown that undernutrition, disturbed pubertal maturation, reduced muscular strength, and decreased weight of the bones contribute to delayed growth and increased risk of fractures (10). The delayed growth may be presented among all children with CP; but, is more pronounced in those with a higher GMFCS (11). Moreover, it has been noticed that children with CP grow more slowly compared to age-related healthy children (11). In healthy children, the accrual of peak bone mass follows the peak height velocity, increasing gradually during puberty, whereupon the bone mass decreases after the age of 40 years (1, 5). During puberty, bone tissue is renewed to provide peak skeleton growth, both in mineral density and in size (10). However, growth differences are observed in children with CP, compared with healthy children as the skeletal development and peak bone mass differ, whereby the linear growth becomes more accentuated over time (1). The slow growth affects the bone mineral density (BMD) as it falls below the normal range, and can lead to painful fractures due to

poor mineralization of the bone (5, 12). Manifestation of slow growth and delayed development are caused by low body weight for age, delayed pubertal progression, and low BMD (13). A study by Henderson et al. (14) showed that optimizing bone growth in children with CP is an important factor to improve the overall health. This can be done by studying the nutritional status to improve the overall health in children with CP, and furthermore, study specific factors affecting BMD. These factors, e.g. motor impairment, poor nutritional status, endocrine-, and oral-motor dysfunction are factors that might affect BMD in children with CP (8, 6). However, many other factors such as sex hormones, and altered bone age can also associate poor growth and changed BMD status (14). It is known that growth during puberty involves an interplay between several factors including hormones (thyroid, growth, and sex hormones), genetics, and environment. The physical changes during puberty is initiated by the activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis (HPG-axis), leading to increased production of estrogen and testosterone, which contribute to development of breasts in females and male genitalia (16). The physical maturation varies greatly based on sex, ethnicity, and environmental factors. To measure secondary sex characteristics of children during puberty, Tanner scale is used,

which is an objective classification system that assesses pubertal development (16). The difference in physical maturation varies between children with and without CP. Healthy children undergo a growth spurt, while the literature claims that children with CP shows a reduced growth spurt during puberty (17). Some studies have demonstrated that growth in children with CP is associated with dysfunction of the HPG-axis, but more research is needed to substantiate this finding (17).

As growth and bone health are highly associated to skeletal maturation, assessment hereof is crucial. Bone age is used as a surrogate marker for assessment of skeletal maturation and is associated with linear growth rate in healthy children. Bone age indicates a better understanding of the child's stage of development rather than the chronological age, e.g. the menarche and growth spurt occurs in a tight interval of bone age (18, 19) and is often identified by obtaining an X-ray of the left hand and wrist (14, 15). Children with CP, however, have skeletal growth abnormalities, presented as a delay in bone age compared with their chronological age (21). The estimation of bone age in our department has lately been automated by the BoneXpert Software, which also estimates a Bone Health Index (BHI) by assessing bones in the hand, and assigns a bone age value to each bone (18).

Literature shows that optimization of the nutritional status, by increasing the vitamin-D intake, and weight bearing load have been used to reduce the consequence of low BMD (1). Some children with CP are being treated with bisphosphonate to improve their BMD and to prevent fractures, but current data are limited (1). Given the fact that CP is a permanent brain injury, the disease cannot be cured. However, an improvement in growth and decreasing the risk of fractures can be achieved; but structured assessment will be needed.

Thus, the lack of knowledge about relations between bone age, bone health, chronological age, nutritional status, pubertal status, type of CP and GMFCS have formed the basis of the present study. The purpose of this study, as part of a larger study at Herlev University Hospital, Denmark, was to assess the relationship between bone age and chronological age, by analysing the bone health expressed as BHI in children with CP. Variables of vitamin-D status, Body Mass Index (BMI), pubertal status, sex, type of CP, and GMFCS were included to characterise the relation to bone health. It was hypothesized that children with CP have a lower BHI z-score, and a reduced bone age. Furthermore, it was hypothesized that variables as GMFCS, pubertal status, BMI, type of CP, and vitamin-D status have an influence on bone age and

BHI. Findings from this study will help clarify if children with CP have a poor bone health and which variables have an influence on the BHI. Ultimately, this study will advance our understanding on treatment that might be required to consider at earlier stages for children with CP to enhance their quality of life.

2. METHODS

This study is a pilot investigation within a larger study that was designed as a cross-sectional examination of children with CP, referred to the paediatric department at Herlev University Hospital, Denmark. The larger study applies several methods including DXA-scan, collection of blood samples to analyse specific bone markers, and Oral Glucose Tolerance Test (appendix A). The present study, however, only focused on examination of the puberty status, blood sample collection of the vitamin-D status, and X-ray of the left hand and wrist. The study protocol was approved by The Capital Region Committee on Health and Research Ethics, ID-number: H-18045336 (appendix B). A consent form was signed by either both parents or legal guardians, on behalf of the child, before the experimental session. The study was conducted at Herlev University Hospital,

Denmark, and followed the declaration of Helsinki version 2013 (22).

2.1 Participants

Children with CP were recruited at their annual review. Parents were asked by their physician for participation, and afterwards contacted by the researcher for further information. 30 out of 88 children were recruited to participate in the pilot study (14 females, overall mean age: 9.64 years, SD: 5.23). The inclusion criteria consisted of a diagnosis of CP, regardless of the GMFCS and CP classification, aged between 2 to 18 years, and the child's and parent's acceptance to participate in the study. If the child was majorly affected by another condition, leaving them unable to participate in the study, the participation was not accepted.

2.2 Experimental session

The experimental session consisted of one session lasting 3 hours. The session started by obtaining the medical history and nutritional status by the investigator, followed by an examination of the puberty status according to the Tanner scale. Afterwards, a blood sample (4 ml) was collected to measure the vitamin-D level and finally, an X-ray of the left hand and wrist for bone age examination (Fig. 1). All the children participating in the study had a GMFCS score, which was defined by their physician. By obtaining the weight in kilograms and height in meters, BMI was calculated as part of the nutritional status. The participants were instructed to fast 10 hours prior to the study. Additionally, they were asked to avoid intake of any fluids 2 hours before the experimental session.

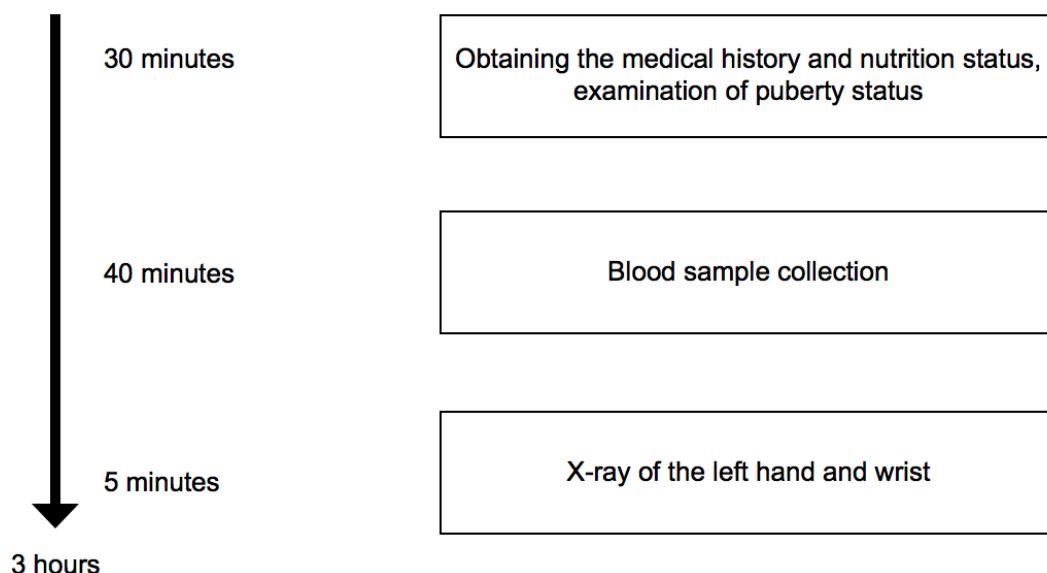


Figure 1: Overview of the experimental session, including a timeline of the setup. Similar procedure was followed for all participants.

2.3 Assessment of bone age and BHI

Bone age was determined at the radiology department at Herlev University Hospital, Denmark. To assess the bone age, an X-ray of the left hand and wrist was obtained. All radiographs were scored by the computer program BoneXpert Software (Version 2, Visiana, Hørsholm, Denmark), which calculated the bone age as Greulich-Pyle bone age (GP) and Tanner-Whitehouse-3 bone age (TW3), standard deviation (SD), BHI and BHI SD. BoneXpert has a normative data reference for comparison.

BoneXpert calculates the bone age and BHI by using two-dimensionally radiographs. The method determines three middle metacarpals, and measures the cortical thickness (T), length (L), and width (W) and expresses the $BHI = T/(LW)^{0.33}$ (18) and is considered a surrogate marker for BMD. BHI is presented as a z-score adjusted for sex and bone age. It is the preferred index for diagnosis of disorders and can indicate affected BMD. The index have a SD minimum at 0 in healthy children.

2.4 Assessment of puberty

Development of physical maturation varies greatly between children; therefore, sex characteristics including breast size, pubic hair, and testicle volume were assessed according to the Tanner scale. This scale is

divided into three sites of development, 1. pubic hair development both for males and females, 2. breast development scale, and 3. male external genitalia scale. For all sites of development, stage 1 corresponds to the pre-pubertal status and progress to stage 5, which is the final adult status. Females were also asked if they had their first menstruation and when their menarche was.

2.5 Measurement of functional impairment

Participants were evaluated by their paediatrician for the type and severity of CP, using the GMFCS. GMFCS is a validated and reliable method that classifies the severity of CP based on their mobility. This classification system is divided into five levels: I. Classifies the child to walk without any limitations, II. The child walks with limitations, III. Hand-held mobility device is applied, IV. The child has self-mobility with limitations and may use powered mobility, and V. The child is transported in a manual wheelchair. Children with mild to severe CP (GMFCS I-V) were recruited in this study, but only one child with severe CP (GMFCS level V) was recruited in this pilot study. Most of the children in this study had mild to moderate CP (GMFCS level I-III).

2.6 Measurement of vitamin-D

To measure the vitamin-D status, two forms of vitamin-D were measured. Five subjects got measured the 25(OH)vitamin-D status, while for 17 subjects the biologically active form of vitamin-D, namely 1,25(OH)vitamin-D was measured. These two types of measurements were done due to complications and procedure changes in the laboratory department at the hospital.

A fasting venous blood sample (4 ml) was obtained for analyzation of the vitamin-D status. The sample was sent to the laboratory department at Herlev University Hospital, and Siemens ADVIA Centaur® Vitamin-D Total-analysis (Siemens, Erlangen, Germany) was used to measure the 25(OH)vitamin-D status in 5 out of 22 blood samples. Whole blood samples were taken into 4 ml EDTA tubes and stored by the laboratory department at 4-8°C until analysis. ADVIA Centaur® is an 18-minute long competitive chemiluminescent immunoassay that uses antibodies to analyse the quantity of vitamin-D in human serum. The reference interval for vitamin-D in serum is 50 -160 nmol/l in humans. The last 17 samples were analysed as 1,25(OH)vitamin-D. These samples were sent to Rigshospitalet Glostrup, Denmark, where IDS-iSYS1,25 VitD assay was used to measure the 1,25(OH)vitamin-D level. The IDS-iSYS Multi-Discipline Auto-

mated System is also a chemiluminescence immunoassay, which takes 4.5 hours to analyse and measures the 1,25(OH)vitamin-D in human serum. The IDS-iSYS 1,25 VitD assay uses logistic curve fit to calculate the 1,25(OH)vitamin-D concentration and ranges the values between 18 - 360 pmol/l. The determination of the vitamin-D status was made to clarify if children with CP have a normal level of vitamin-D and furthermore if the child was malnourished.

2.7 Statistical analysis

Statistical analysis was made in IBM SPSS 25.0 Software (Armonk, New York, USA). Data are presented as mean \pm standard deviation (SD), unless otherwise stated. Performed analysis of the data included descriptive statistics, paired *t*-test, and multiple regression analysis. Effect size and sample size was calculated with G*Power (version 3.1.9.3, Franz Faul, Kiel University, Germany). Test of normality was used to determine data distribution and was considered significant at $p < 0.05$. Paired *t*-test was used to analyse the difference between chronological age and bone age. This was done for each sex separately, and for the whole sample. The bone age and BHI status was compared with the normative data from BoneXpert. Additionally, a multiple regression analysis was performed

to demonstrate if any difference was present between the studied parameters and if some covariances e.g. GMFCS, pubertal status, sex, type of CP or nutritional status (BMI and vitamin-D status), could have an influence on the measured BHI. The results hereof are presented as number of degrees of freedom, p-value and coefficient of determination (R^2).

3. RESULTS

3.1 Demographics

30 participants completed the study; no safety issues were reported or recorded. Table 1 summarizes the demographics of the children with CP. A total of 25 participants had the spastic type of CP (11 girls), two ataxic (1 girl), one girl had the mixed type of CP, and for two children the type of CP was unknown. No children in this study had the dyskinetic type of CP. All 30 participants were scored according to the GMFCS, and a total of 25 GMFCS I (11 girls), three GMFCS II (2 girls), one GMFCS III (1 boy), and one GMFCS V (1 girl) of participants were present in the study. Only 8 out of 25 children were postpubertal and were scored according to development of pubic hair (PH) (table 1). All postpubertal girls had had menarche. BMI was calculated for both sexes, separately. The boys' BMI was 16.46 (± 0.649), and BMI of the girls was 17.55 (± 0.816) ($p = 0.298$).

	Boys	Girls
N	16	14
Age (years)	7.84 ± 3.38	9.69 ± 5.23
Bone age (years)	8.55 ± 3.49	10.51 ± 4.87
Type of CP		
Spastic	14	11
Ataxic	1	1
Dyskinetic	0	0
Mixed	0	1
Unknown	1	1
GMFCS		
1	14	11
2	1	2
3	1	0
4	0	0
5	0	1
Prepuberty		
Yes	15	7
No	1	7
Tanner		
PH1	15	8
PH2	0	0
PH3	0	1
PH4	0	4
PH5	1	1
BMI	16.46 ± 0.649	17.55 ± 0.816

Table 1: Demographics of children with cerebral palsy (CP). Values are given as N or as mean values \pm Standard deviation (SD). Bone age is presented as Greulich-Pyle bone age (GP). Tanner stage is demonstrated as pubic hair (PH). Body Mass Index (BMI) is calculated for both sexes.

3.2 Vitamin-D status

A blood sample was obtained from 22 participants. Level of 25(OH)vitamin-D were obtained for five participants, and the mean concentration was 63.8 nmol/l (± 36.40). Two children had a 25(OH)vitamin-D concentration below 50 nmol/l and one child was close to the lower limit of 25(OH)vitamin-D. The last two children had a concentration in the normal range of 50 – 160 nmol/l.

The status of 1,25(OH)vitamin-D was obtained for 17 participants, and the mean concentration was 123.24 pmol/l (± 32.42). All participants

had a normal range of 1,25(OH)vitamin-D concentration between 18 – 360 pmol/l.

3.3 Bone age

Data from five participants were excluded due to poor quality of X-rays, which made BoneXpert unable to calculate a bone age for these participants. There were 13 boys and 12 girls who were able to get an X-ray of the left hand. The mean chronological age was 9.64 years (± 5.23) for the girls, and 7.84 years (± 3.38) for the boys ($p = 0.047$). Additionally, the output from BoneXpert was calculated in two different ways, ad modum Greulich-Pyle (GP) and Tanner-Whitehouse-3 (TW3), respectively. The mean GP for the girls was 10.51 years (± 4.87), and the mean GP for the boys was 8.55 years (± 3.49) ($p = 0.030$). The mean TW3 for the girls was 9.99 years (± 4.43), and for the boys the mean TW3 was 8.62 years (± 3.26) ($p = 0.034$). Since no significant difference between GP and TW3 was found; subsequently, GP data were used in the following analyses, as GP is the most familiar and applied assessment of skeletal maturity. Since bone age was only measured at the experimental session, no comparison with previous X-rays of the left hand and wrist could be carried out. A paired t -test was performed and showed no statistical difference between the girls' chronological age and bone

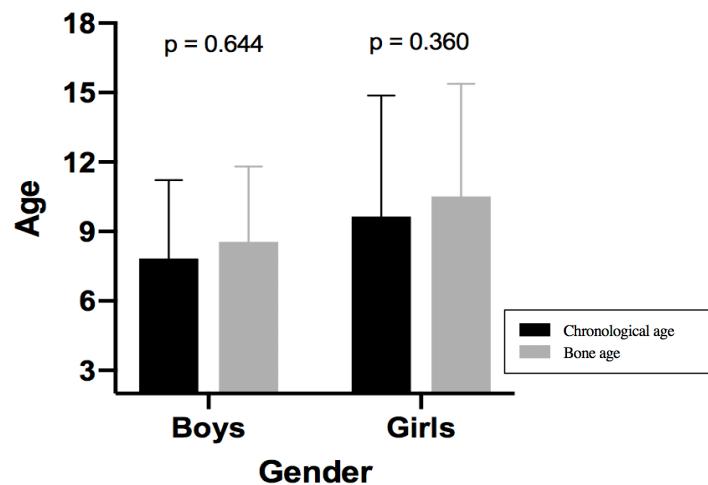


Figure 2: Comparison of the mean chronological age and bone age in boys and girls. No significant difference was observed for the boys ($p = 0.644$), nor the girls ($p = 0.360$).

age ($p = 0.360$) (Fig. 2). The same result was observed for the boys, when comparing their chronological age to their bone age ($p = 0.644$) (Fig. 2). Additionally, no significant difference was observed between the chronological age and bone age for the whole population ($p = 0.318$).

3.3 BHI

From BoneXpert, the mean of BHI and BHI SD was calculated. The mean BHI was $4.51 \mu\text{m}^{0.33}$ (± 0.574), while the BHI SD was -0.32 (± 0.959). The mean of BHI SD indicated to be lower than 0, but the paired- t test indicated no significant difference of BHI SD ($p = 0.106$). Furthermore, BHI SD was calculated for the boys (-0.252 ± 0.931), and the girls (-0.398 ± 1.024), separately, and showed no statistical difference between the sexes ($p = 0.714$).

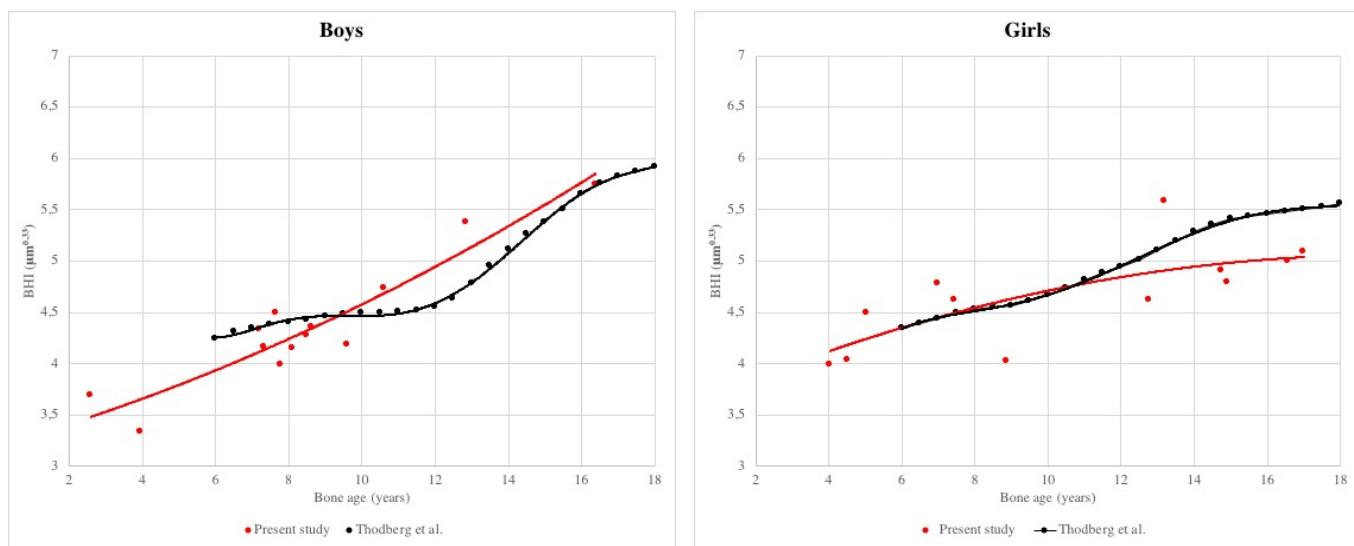


Figure 3: A visualization of the bone age versus BHI (bone health index). The black curve visualizes the standard curve of bone age versus BHI from BoneXpert. The red curve indicated the measured BHI of children with CP form the present study.

Furthermore no significant difference was found for the boys' BHI SD ($p = 0.348$), nor the girls' BHI SD ($p = 0.206$).

Additionally, as data of BHI showed a negative mean z-score in children with CP, a comparison with the normative data from BoneXpert was outlined (fig. 3). The black curve indicates the normative data from BoneXpert, while the red curve is the obtained data of children with CP included in this study (fig. 3). The boys indicate to have a lower BHI until the age of 8 years compared with the normal data, while the girls have a decreased BHI in puberty, compared with the normal data from BoneXpert. However, no significant difference was found for the whole population and between sexes, although figure 3 could indicate this.

It seems that BHI depends on the pubertal status, a calculation of the BHI and BHI SD mean for pre- and postpubertal children was made, separately. Prepubertal children showed to have a BHI at $4.249 \mu\text{m}^{0.33}$ (± 0.472) and a BHI SD mean at -0.176 (± 0.951). Postpubertal children had a mean BHI $5.106 \mu\text{m}^{0.33}$ (± 0.413) and a BHI SD mean value at -0.699 (± 0.942). A paired- t test was carried out and showed no statistical difference for BHI SD ($p = 0.228$), when comparing pre- and postpubertal children. Additionally, a significant difference was found for BHI between pre- and postpubertal children ($p < 0.005$) which was expected, as BHI increases during puberty.

The multiple regression was performed to predict BHI from the following co-variables: sex, bone age, chronological age, type of CP,

GMFCS, BMI, vitamin-D status, and prepubertal status. All variables showed to be significant predictors of BHI ($F(8, 21) = 78.869, p < 0.05, R^2 = 0.968$). The effect size of the multiple regression was tested, resulting in an effect size of 0.705, with a significance level at 0.05, sample size of 30, power of 0.80 and 8 number of predictors. Variables as prepubertal status, GMFCS and bone age added to be statistically significant in the prediction of BHI ($p < 0.05$) and showed to be independently associated to BHI.

Other variables as sex, BMI, vitamin-D status, and type of CP did not show to have significantly influence in the prediction of BHI.

4. DISCUSSION

This study focused on the assessment of bone health in children with CP using BoneXpert, clinical evaluation of the puberty status, and blood tests. The clinical examination and evaluation of the pubertal status was obtained using Tanner scale, followed by an X-ray of the left hand and wrist to measure the bone age and BHI using BoneXpert. A blood sample was collected to measure the vitamin-D status to evaluate if the child was malnourished. BHI showed to be below average for the CP children in the present study, but not significantly lower than healthy children.

4.1 Overall health

This study found no statistically difference between bone age and chronological age in children with CP. However, the elucidation of bone age in children with mild to moderate CP has not been clarified widely as number of studies have defined conflicting results. A study by Gollapudi et al. (21) has demonstrated advanced bone age in children with moderate to severe CP (GMFCS IV-V) compared to their chronological age, and 35% of the children had an altered bone age of more than 3 years. In contrast, Kuperminc et al. (17) found a significant delay between the bone age and chronological age, and concluded that children with CP had a decreased height velocity compared with healthy children. Findings from these two studies are in opposite to the results from the present study as we did not find any statistical difference between bone age and chronological age. This was also found by other research groups (20) (13), however, one of these studies only investigated children with the quadriplegic type of CP.

Since no paediatric cutoff value of the active form of vitamin-D exists, it is difficult to conclude if the children have low, normal or high concentration of vitamin-D. It is difficult to conclude much from only five vitamin-D measures, but our data are in line with observations of others that CP patients tend to

be vitamin-D deficient (23). Henderson et al. (13) found both advanced and delayed bone maturation, and claimed that poor nutritional status has an influence on the BMD and bone health. This implies that further research on the vitamin-D level is required, since this pilot study did not find any correlation between vitamin-D status and BMD in children with CP. Furthermore, a larger sample size is required in a future study, to make the data of vitamin-D status in children with CP more valid.

4.2 Bone health

There is limited knowledge about the bone health in children with mild to moderate CP, and furthermore, about their bone age including BHI compared to healthy children.

BHI is the preferred diagnostic tool for analyzation of BMD during childhood. It is widely used in the clinic as an indicator of the general bone health in healthy children, but not many researchers have used it for children with mild to moderate CP (18).

It is known that children with mild CP does not have as many motoric challenges as children with severe CP, and thereby do researchers assume that these children do not differ markedly in BHI from normal children. This study found no significant difference for BHI in children with mild to moderate CP, for both sexes. When comparing the findings to

the normative data from BoneXpert, both boys and girls with CP showed a lower BHI. This could indicate that low BHI can be found in some children with mild to moderate CP with GMFCS I – III. The children who had low BHI could indicate a poor bone health and might grow slowly compared with age-matched healthy children. It is remarkable that bone health and growth rate are not necessarily associated, and the children who indicated a low BHI could grow normally, but have a poor bone health. However, one must consider that this phenomenon might be sex-specific, because different changes were observed in BHI as a function of bone age in either sex, but to elucidate this, more participants of each sex is needed. Furthermore, BHI showed a significant difference between pre- and postpubertal children, which was expected as BHI increases during puberty. Stevenson et al. (24) outlined that the knowledge about children with CP and how they progress through puberty needs more investigation, as it is unclear how the effect of puberty and hormonal change influence on BMD in children with CP. Additionally, Henderson et al. (13) demonstrated that most children with CP enter puberty earlier, and complete puberty later than the normal population, but elucidated that some complete puberty at an early age. This might explain advanced bone age and BHI in some children.

On the contrary, Kuperminc et al. (17) found a delay in pubertal progression in girls, and indicated that the height velocity for the girls and boys with CP across Tanner stages was low. This indicates that in a future study, data of growth rate should be included to present if children with CP have healthy bones compared to healthy children.

Variables such as GMFCS, prepubertal status and bone age were found to influence on BHI. Finbråten et al. (23) found significantly low BMD in children with high GMFCS and subsequently, decreased BMD-levels when the GMFCS increased. Our study did not find a significantly difference for BHI in children with low GMFCS, but since GMFCS showed to be a contributing factor to BHI, is it assumed that less weight bearing activity of the bones, due to greater GMFCS, will be present as low BHI when including the severe CP children in the future study. Although it is known that low BMD is linked to poor nutritional status, our study did not find an effect of BMI and vitamin-D on bone health. The present study calls for further research in the field of nutritional status, as the study did not find an effect of BMI and vitamin-D status as assumed, since the literature claims that many children with CP are malnourished. Studies indicate that children with GMFCS I-III have a good growth and nutritional status, and

thereby are more likely to have normal BMD, while children with higher GMFCS typically have oral difficulties and thereby, poor BMD and nutritional status (25). It is difficult to draw conclusions about the influence of nutritional status on BMD in the current study, but an intervention with some relevant treatments should be considered when treating mild to moderate children with CP in the clinic. A yearly control of the vitamin-D status could be offered to keep track of the vitamin-D concentration. BHI in children with mild to moderate CP has not been investigated before, as all studies have focused on children who have moderate to severe CP. The present study calls for further research in this field, to elucidate a better treatment for the children with mild CP.

4.3 Limitations and further investigation

An important limitation in this pilot study is the sample size of only 30 participants recruited for the study so far. The optimal sample size was calculated by G*power to 54 participants with mild to moderate CP, with a power of 0.80, and an effect size at the minimum of 0.25. There were only 25 out of 30 participants who underwent assessment of their bone age and BHI, since five X-rays were excluded due to poor quality of data. To make the data more reliable, a new X-ray of the left

hand and wrist is necessary. In those children who had difficulties stretching the hand in the right manner, due to their spasticity, anesthesia should be considered. Furthermore, only 22 participants completed a blood test. Due to challenges in the laboratory, which arose throughout the study, two different types of vitamin-D were analyzed. For seventeen participants the primary active form of vitamin-D: 1,25(OH)vitamin-D, was measured; but, since no reliable pediatric reference intervals exist for 1,25(OH)vitamin-D, no conclusions of the active vitamin-D concentration could be drawn. All the vitamin-D data should be analyzed as 25(OH)vitamin-D to make the study more reliable and comparable to other research studies.

Considering that CP is a heterogeneous disease, the small sample size and limited diversity of GMFCS, limits the generalization of these findings for all children with CP. This study only recruited children with the GMFCS I – III, but it would be more reliable to recruit children with all GMFCS scores. This is planned to be done in the near future. Since children with GMFCS IV – V might have

involuntary movements, anesthesia should be considered in order to perform the experimental session in this study. In general, many of the recruited participants were prepubertal, making it difficult to elucidate if children with CP enter puberty earlier or later than healthy children.

This is a pilot study of a larger study aiming to last three years. Thereby, a larger sample size will be presented with more diversity in both pubertal status and GMFCS data in the near future.

The intention of this study was (i) to substantiate the relation between bone age and chronological age, and (ii) analysing the bone health expressed as BHI from an X-ray using BoneXpert. The limitation hereof was crucial as X-rays use two-dimensional radiograph, leaving only an indirect assessment of BMD. To overcome this challenge, another method such as DXA-scans to assess BMD might be considered. Furthermore, it would be ideal to compare the DXA-data to the X-rays to elucidate if same results will be found.

5. CONCLUSION

This study investigated the bone health in children with CP, by studying the bone age, BHI, nutritional- and pubertal status, and GMFCS. The study found no significant difference in BHI in children with mild to moderate CP, even though mean BHI indicated to be below average for the CP children in the study, but not significantly lower than healthy children. This clarifies that BHI is associated to GMFCS, even though BHI was found to be in the normal range for children with mild to moderate CP. More research is needed to expand our knowledge of BMD in children with mild to moderate CP. Attention should be given in the clinic to the nutritional status and

pubertal maturation, as these factors could contribute to the overall bone health in children with cerebral palsy.

Abbreviation

BHI: Bone Health Index, **BMD:** Bone Mineral Density, **BMI:** Body Mass Index, **CP:** Cerebral Palsy, **GMFCS:** Gross Motor Function Classification Score, **GP:** Greulich-Pyle Bone Age, **HPG:** Hypothalamic Pituitary Gondonal Axis, **TW3:** Tanner-Whitehouse-3 Bone Age.

Acknowledgment

The researcher would like to thank the research group at Herlev University Hospital for sharing their project and useful knowledge during the study. The researcher would also like to thank the supervisors at Aalborg University for their helpfulness and interest in the study.

6. REFERENCES

1. Houlihan, CM; Stevenson R. Bone Density in Cerebral Palsy. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2009;20(3):493–508.
2. Gram Petersen T, Andersen A-MN, Uldall P, Paneth N, Feldt-Rasmussen U, Tollånes MC, et al. Maternal thyroid disorder in pregnancy and risk of cerebral palsy in the child: a population-based cohort study.
3. Colver A, Fairhurst C, Pharoah POD. Cerebral palsy. In: *The Lancet* [Internet].
4. Korzeniewski SJ, Slaughter J, Lenski M, Haak P, Paneth N. The complex aetiology of cerebral palsy. *Nat Rev Neurol* [Internet].
5. Houlihan CM. Bone health in cerebral palsy: Who's at risk and what to do about it? *J Pediatr Rehabil Med An Interdiscip Approach* [Internet]. 2014.
6. McIntyre S, Taitz D, Keogh J, Goldsmith S, Badawi N, Blair E. A systematic review of risk factors for cerebral palsy in children born at term in developed countries. *Dev Med Child Neurol.* 2013;55(6):499–508.
7. Mus-Peters CTR, Huisstede BMA, Noten S, Hitters MWMGC, Van Der Slot WMA, Van Den Berg-Emons RJG, et al. Low bone mineral density in ambulatory persons with cerebral palsy? A systematic review.
8. Vargus-Adams J. Health-Related Quality of Life in Childhood Cerebral Palsy. 2005.
9. Okumura A, Hayakawa F, Kato T, Kuno K, Watanabe K. Epilepsy in patients with spastic cerebral palsy: correlation with MRI findings at 5 years of age [Internet].
10. Yas E, Adigü Zel E, Arslan M, Matthews DJ. Basics of bone metabolism and osteoporosis in common pediatric neuromuscular disabilities. 2018.
11. Kuperminc MN, Stevenson RD. Growth and nutrition disorders in children with cerebral palsy. *Dev Disabil Res Rev* [Internet]. 2008 Jan 1.
12. Scheinberg -Avenida MA, Einstein A. Bone health in cerebral palsy and introduction of a novel therapy. 2015 [cited 2019 Feb 18];13(4):555–64.
13. Henderson RC, Gilbert SR, Clement ME, Abbas A, Worley G, Stevenson RD. Altered skeletal maturation in moderate to severe cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol.* 2005;47(4):229–36.
14. Henderson RC, Lark RK, Gurka MJ, Worley G, Fung EB, Conaway M, et al. Bone Density and Metabolism in Children and Adolescents With Moderate to Severe Cerebral Palsy.

- Pediatrics [Internet]. 2002;110(1):e5–e5.
15. Henderson RC, Lark RK, Gurka MJ, Worley G, Fung EB, Conaway M, et al. Bone Density and Metabolism in Children and Adolescents With Moderate to Severe Cerebral Palsy [Internet]. 2002.
 16. Emmanuel M, Bokor BR. Tanner Stages [Internet]. StatPearls. StatPearls Publishing; 2019.
 17. Kuperminc MN, Gurka MJ, Houlihan CM, Henderson RC, Roemmich JN, Rogol AD, et al. Puberty, statural growth, and growth hormone release in children with cerebral palsy. *J Pediatr Rehabil Med* [Internet]. 2009.
 18. Thodberg HH, Van Rijn RR, Tanaka T, Martin DD, Kreiborg S. A paediatric bone index derived by automated radiogrammetry. *Osteoporos Int* [Internet]. 2010 Aug 24;21(8):1391–400.
 19. van Eck M, Dallmeijer AJ, Voorman JM, Becher JG. Skeletal maturation in children with cerebral palsy and its relationship with motor functioning. *Dev Med Child Neurol*. 2008;50(7):515–9.
 20. Gilbert SR, Gilbert AC, Henderson RC. Skeletal Maturation in Children with Quadriplegic Cerebral Palsy. *J Pediatr Orthop*. 2004;24(3):292–7.
 21. Gollapudi K, Feeley BT, Otsuka NY. Advanced skeletal maturity in ambulatory cerebral palsy patients. *J Pediatr Orthop*. 2007;27(3):295–8.
 22. Emanuel EJ. Perspectives The art of medicine Reconsidering the Declaration of Helsinki [Internet]. Vol. 381, *The Lancet*. 2013.
 23. Finbråten A-K, Syversen U, Skranes J, Andersen GL, Stevenson RD, Vik T. Bone mineral density and vitamin D status in ambulatory and non-ambulatory children with cerebral palsy. *Osteoporos Int* [Internet]. 2015 Jan 14;26(1):141–50.
 24. Stevenson RD, Conaway M, Barrington JW, Cuthill SL, Worley G, Henderson RC. Pediatric Rehabilitation Fracture rate in children with cerebral palsy. 2009.
 25. Henderson RC, Kairalla J, Abbas A, Stevenson RD. Predicting low bone density in children and young adults with quadriplegic cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol* [Internet]. 2004 Jun 20;46(06):416–9.

Apéndix A

Anmeldelse af videnskabeligt forskningsprojekt – tillægsprotokol 31.1.19

Forebyggelse af lav knoglemasse hos børn med cerebral parese

FORSKNINGSGRUPPE

1. Jesper Johannessen, klinisk lektor, overlæge, dr.med. Overlæge, Herlev Hospital
Børne- og Unge afdelingen
2. Nanette Mol Debes, Afdelingslæge, Ph.d., Herlev Hospital Børne- og Unge
afdelingen
3. Malene Boas, Overlæge, Ph.d. Herlev Hospital Børne- og Unge afdelingen
4. Marianne Lindblad Pedersen, Ph.d. Studerende, Herlev Hospital Børne- og
Unge afdelingen
5. Projektsygeplejerske Christina Nilsson Duegaard
6. Fysioterapeut Lena Conny Hautopp
7. Kandidatstuderende Iris Hrustanovic stud. scient. med.

Projektleder og hovedvejeleder er Jesper Johannesen, overlæge dr.med., Herlev Hospitals Børne- og Ungeafdeling og klinisk lektor på Københavns Universitet. Jesper Johannesen har 20 års erfaring i pædiatrisk endokrinologi og hans CV er vedlagt som bilag.

Projektansvarlige er reservalæge, Ph.d.-studerende Marianne Lindblad Pedersen Hennes CV er vedlagt som bilag.

Kliniske vejledere er læge Ph.d. Nanette Mol Debes og læge Ph.d. Malene Boas Læge, Ph.d.-studerende Marianne Lindblad Pedersen og læge Ph.d. Nanette Mol Debes er ansvarlige for udførelse af de kliniske undersøgelser.

Projektet gennemføres som et nystartet projekt uden relation til tidligere ansøgninger.

Dette er en tillægsprotokol og de markerede ændringer i protokollen er tydeliggjort med gul overstregning.

De ændringer der ønskes vurderet omhandler: 1) ændring af lokalt bedøvelsesmiddel fra EMLA-creme til ametop gel og 2) anvendelse af let eller dyb sedation ved DXA-scanning til udvalgte børn. 3) Rettelser i "Deltagerinformationen" mhp. tydeliggørelse af detaljer vi har erfaret forældre overser. 4) Anvendelse af plakat til opsætning i venteværelse

FORSØGSProtokol

Forsøgets formål

Formålet med dette projekt er (1) at undersøge og beskrive prævalensen af lav BMD blandt danske børn med cerebral parese (CP), (2) at identificere mulige risikofaktorer for lav BMD og deres indflydelse på knoglemetabolisme, og (3) undersøge hvilken påvirkning kendte og endnu ikke undersøgte faktorer har på knoglemetabolismen, herunder glukose metabolisme og stofskifte. Efter identifikation og karakterisering af faktorer der påvirker BMD hos CP-børn er det vores formål (4) at udvikle en ”risiko profil score” der kan bruges i klinikken på alle børn med CP til at forudsige hvilke børn der er i øget risiko for lav BMD. Hermed vil man kunne forebygge udvikling af lav BMD, igangsætte tidlig intervention og rådgivning til familier med børn med CP, herunder f.eks. speciel tilrettelagt fysisk træning og forsøge at minimere behov for medicinsk behandling af BMD.

Baggrund

CP er en gruppe af bevægelsesforstyrrelser der skyldes en permanent og non-progressiv skade i den udviklende hjerne, der påvirker kroppens bevægelse og stilling (1). CP har en prævalens 2-3.5 per 1000 levende fødte og er hermed det mest almindelige fysiske handikap blandt børn.(1) CP forårsager bevæge- og koordinationsforstyrrelser så som spasticitet, rigiditet, ataxi og forsinket motorisk udvikling. Der er 4 primære typer af CP: spastisk, dyskinetisk, ataxisk og blandet.(1) Afhængig af graden og lokalisering af skaden kan børn med CP have andre symptomer så som epileptiske anfalder, abnorm smerteoplevelse, intellektuelle udfordringer, hørenedsættelse, påvirket syn og taleproblemer.(1) CP kan opstå både præ-, peri- og postnatalt. Prænatale årsager inkluderer medfødte hjerne malformationer og genetiske subtyper. Perinatale årsager inkluderer præterm fødsel, small for gestational age (SGA), infektioner og asfyksi. Postnatale årsager inkluderer infektioner, traume og cerebrovaskulære skader.(2) Når det aktuelle motoriske funktionsniveau hos børn med CP vurderes benyttes et standardiseret internationalt klassifikationssystem: Gross Motor Function Classification system (GMFC), der vurderer barnets motoriske evner og begrænsninger. Systemet inddeler børnene i 5 niveauer, hvor niveau I repræsenterer

de børn, der er mildest ramt af deres CP og bl.a. har fuld selvstændig gangfunktion, mens niveau V repræsenterer de hårdest ramte børn, der har meget begrænset selvstændig motorisk funktion.(3)

BMD: Internationale studier har vist at børn med CP har nedsat BMD sammenlignet med raske børn.(4) Normal knogle består af 50-70% mineraler, 20-40% organisk materiale, 5-10% vand og <3% lipider. Kalk og fosfor er de vigtigste mineraler der findes i knoglevæv sammen med en mindre mængde carbonat og magnesium. Mineralindholdet i knogen er for det meste hydroxyapatit [Ca₁₀ (PO₄)₆ (OH)₂]. BMD er mængden af knoglemineral i knoglevæv. Knoglemineralisering er en velreguleret proces med aflejring af mineraler på fibrøs knoglematrix. Krystaller af calciumphosphat fremstilles af knogledannende celler kaldet osteoblater og lægges ned i en præcis mængde inden i den fibrøse matrix. Denne proces antagoniseres af celler kaldet osteoklaster og således udgør de to celler sammen den kontinuerlige proces af knoglemodellering.(5)

BMD og glukose stofskifte: Knoglemodelleringsprocessen påvirkes yderligere af adskillige proteiner og hormoner der er associeret til glukosemetabolismen. I knogleomsætningen er der inkorporeret mekanismer, der sørger for reguleringen af energitilbuddet til disse processer. Mekanismer som dermed i perioder med sparsom energi kan nedregulere knoglevæksten. Osteocalcin (OCN) produceres af osteoblater og er involveret i samspillet mellem knogleomsætning og glukose metabolismen.(6) OCN menes at stimulere betaceller i pancreas til at frigive insulin og øge insulin følsomheden i væv. Insulin påvirker knoglevæv og øger via positiv feedback frigivelse af OCN.(6) Denne proces moduleres af leptin der produceres i fedtvæv, og som nedregulerer både produktion og frigivelse af OCN gennem aktivering af det sympatiske nervesystem.(7) Hos mennesker øger OCN sekretionen af både insulin og adiponectin og reducerer desuden mængden af fedtvæv og lipolyse, hvormed insulinfølsomheden øges.(8)

BMD og stofskifte: Subklinisk hypothyroidisme er associeret med lavt BMD og øget risiko for frakturer.(9)(10) Manglende thyroideahormon er blevet beskrevet som en mulig årsag til CP,(11) men der er stadig ingen tegn på, at behandling af præterme

børn med thyroideahormon kan ændre barnets neurologiske udvikling.(12) Så vidt vides er der ingen undersøgelser, der beskriver stofskifte hos børn med CP og mulig påvirkning af BMD, knoglemetabolisme og frakturrate.

CP og BMD: BMD falder mere med alderen hos børn med CP sammenlignet med raske børn på grund af manglende knoglevækst.(13) Nedsat mobilitet er relateret til lav BMD og kan være en risikofaktor for lav BMD hos mange børn med CP men er ikke den eneste risikofaktor for lav BMD hos børn med CP. Lav BMD blevet påvist at have relation til barnets vægt, spiseforstyrrelser, brugen af antikonvulsiv medicin og tidlige knoglefrakturer.(4,14) Lav BMD øger risikoen for lavenergi frakturer og sekundær osteoporose, nedsat mobilitet, øget smerteoplevelse og hermed nedsat livskvalitet. Frakturraten for børn med CP er 4-6%, hvilket er dobbelt så meget som alderssammenlignende sunde børn.(15)

Det er derfor vigtigt at kunne forudsige hvilke børn der har øget risiko for at udvikle lav BMD for at kunne forebygge og behandle lav BMD hurtigst muligt og på den måde minimere livslange konsekvenser af lav BMD, nedsat livskvalitet og optimere knogle udvikling under kritiske stadier af børnenes vækst.(5) Prævalensen af lav BMD er ikke tidligere blevet undersøgt blandt danske børn med CP. Det er yderst vigtigt at screene for lav BMD da tidlige intervention og forebyggelse kan hindre udvikling af de negative følger af lav BMD.

Metode

Der vil blive foretaget en deskriptiv tværsnitsundersøgelse af børn med CP fulgt ambulant i Børne Neuro Centret, Børne- og Ungeafdelingen, Herlev Hospital. Undersøgelsen omfatter journalgennemgang og journaloptagelse, spørgeskema samt klinisk undersøgelse, en blodprøve, en DXA scanning og evt. et røntgenbillede af venstre hånd i forbindelse med vanlige kontroller i så vidt muligt omfang.

Journalgennemgang og journaloptagelse

Evaluere følgende formodede risikofaktorer for lav BMD ved oplysninger om følgende data ved journaloptagelse og journalgennemgang:

1. GMFC score / MACS score
2. Alder
3. Etnicitet
4. Socioøkonomisk status
5. Højde
6. Vægt
7. BMI
8. Vækst og pubertal udvikling
9. Gestationsalder, Apgar score, Fødselsvægt, Fødselslængde, Hovedomfang,
10. Ætiologi til CP
11. Familiær disposition til CP
12. Tidlige MR scanninger af cerebrum
13. Tidlige røntgen verificerede frakter inkl. lokalisation
14. Andre diagnoser
15. Grad af mobilisering
16. Mængden af fysioterapi
17. Kost og kalorieindtag samt vitamin tilskud
18. Grad af "Day Light Exposure"
19. Brug af medicin og type

Udover de oplysninger der findes ved journalgennemgang og journaloptagelse, vil der i visse tilfælde suppleres med oplysninger fra CPOP databasen.

Spørgeskema

Evaluere følger af lav BMD ved oplysninger om følgende parametre:

1. Smertescore i hvile og aktiv (r-FLACC, Wong-Baker FACES, VAS)
2. Livskvalitet (DISABKIDS)
3. Helbred og velbefindende (CPCHILD)
4. Kommunikation (CFCS)

Følgende undersøgelser foretages:

Undersøgelse af BMD ved DXA scanning: Der vil blive foretaget helkropsskanning til vurdering af knoglestatus på de inkluderede børn. Scanningen varer mellem 5-10 minutter. I tilfælde af at barnet, som følge af sin cerebrale parese, har svær motorisk uro, som kan påvirke resultatet af scanningen, vil det være relevant og med forældrenes accept at anvende bedøvelse i form af lattergas, Midazolam eller Propofol i den periode scanningen varer. Sedation med lattergas og Midazolam er en velkendt procedure hos både børn og forældre, da det ofte bruges når de får taget invasive procedurer såsom blodprøver og botox behandling i forbindelse med deres ambulante besøg. Skulle nogle børn have større motorisk uro, vil barnet og forældrene blive tilbuddt dyb sedation med Propofol hvilket ligeledes er en velkendt procedure hos disse patienter, i forbindelse med rutinemæssige invasive procedurer hos de børn der har størst motorisk uro grundet deres CP.

I disse tilfælde vil blodprøvetagningen forgå under sedationen for ikke at skåne barnet mest muligt

Biokemiske markører for knoglemetabolisme, glukosemetabolisme og stofskifte: Alle de inkluderede børn vil få foretaget en blodprøve og materialet bliver gemt i biobank mhp. analysering når alle børn er inkluderet. Der undersøges: hæmoglobin, leukocytter, trombocytter, natrium, kalium, kreatinin, carbamid, albumin, calcium, fosfat, magnesium, PTH (parathyreoidea-hormon), Vitamin D, basisk fosfatase, knoglespecifik basisk fosfatase, osteocalcin, Type 1 prokollagen N-terminale propeptid (PINP) og Type 1 prokollagen C-terminale propeptid (PICP), N-terminale og C-terminale cross-linked telopeptid af type 1 kollagen (NTX, CTX), TRAP5b, TSH (thyreoideastimulerende-hormon), T3, T4, fritT4, insulin-like growth factor 1 (IGF1), Insulin-like growth factor-binding protein 3 (IGFBP3) samt kønshormoner leptin og adiponectin. Der foretages Oral Glucose Tolerance test (OGTT) på alle inkluderede børn.

Undersøgelse af knoglealder: Der vil blive foretaget et røntgenbillede af venstre hånd til bestemmelse af knoglealder hos de børn der endnu ikke har fået dette foretaget

BESKRIVELSE AF INTSTRUMENTER:

GMFC score

Gross Motor Function Classification System (GMFCS) for cerebral parese er baseret på selv-initierende bevægelser, hvor der er lagt fokus på barnets evne til at sidde, flytte og bevæge sig. Formålet med at skabe et kvalifikationssystem på fem niveauer, er at gøre forskellene på niveauerne så meningsfulde som muligt i forhold til en almindelig hverdag. Derfor er forskellene baserede på funktionelle begrænsninger, behovet for håndholdte ganghjælpemidler (såsom gåvogne, albuestokke eller stokke) eller køretøjer og i meget mindre udstrækning på kvalitet i bevægelse. Forskellene mellem niveau I og II er ikke så tydelige som forskellene mellem de øvrige niveauer, specielt hvad angår børn yngre end 2 år. Den udvidede GMFCS (2007) inkluderer et afsnit for unge 12-18 år og lægger vægt på WHO's internationale ICF-klassifikation(16).

MACS score

Manual Ability Classification System (MACS) beskriver hvordan børn med cerebral parese bruger deres hænder til at håndtere genstande i daglige aktiviteter. MACS beskriver fem niveauer. Niveauerne er baseret på barnets evne til at håndtere genstande på eget initiativ, samt deres behov for assistance eller tilpasning for at kunne udføre manuelle aktiviteter i hverdagen. MACS anvendes fra 4- 18 år og sætte i relation til aktuelle alder (17).

Smertescore i hvile og aktiv (r-FLACC)

Den reviderede face Legs Activity Cry and Consolability (r-FLACC) inkluderer kerne smerteadfærd for børn med CP og den reviderede version giver mulighed for at score barnets potentielle individuelle smerteadfærd. Scoren består af 5 kategorier hvor der kan tildeles fra 0-2 point således at en samlet score på 0 angiver ingen smerte og en samlet score på 10 angiver maksimal smerte (18)

Wong-Baker FACES

Smerteskala lavet til børn der er ældre end 4-5 år til beskrivelse af smerteoplevelse baseret på tegnede ansigtsudtryk. Ansigerne passer til en numerisk rating skala fra 0-10. 1. ansigt: Man kan gøre fuldstændig, som man plejer uden at tænke på, at det gør

ondt.2. ansigt: Man kan gøre, som man plejer, men af og til må man standse op, fordi det gør ondt.3. ansigt: Man har mest lyst til at sidde stille og få læst en historie eller se fjernsyn, fordi det gør ondt.4. ansigt: Man tænker på, at det gør ondt hele tiden.5. ansigt: Man har så ondt, at man har lyst til at græde, fordi det gør ondt.6. ansigt: Man har så ondt, at man slet ikke kan holde det ud (19)

Visual analog scala (VAS)

VAS er en linie med markeringer, såkaldt ”anker ord” i enderne: ”værst tænkelig smerte” og ”ingen smerter”. Skalaen er 100mm lang og patienten angiver smerte ved at sætte et mærke på stregen. VAS scores ved at måle længden i mm fra ”ingen smerter” til patientens mærke (20)

Livskvalitet (DISABKIDS)

Spørgeskema til at opnå et mål for helbredsrelateret livskvalitet. Det består af 30 spørgsmål og giver et mål for generel livskvalitet og niveau af belastning forårsaget af kronisk sygdom (21)

Caregiver Priorities and Child Health Index of Life with Disabilities (CPCHILD)

CPCHILD er et spørgeskema der omhandler barnets helbred og velbefindende og omsorgen for hans/hendes behov indenfor de sidste to uger. Det er opdelt i 9 dele: Del 1: personlig pleje og daglige gøremål. 2: stilling, forflytning og mobilitet 3: velvære og følelser. 4: kommunikation og social interaktion. 5: helbred. 6: barnets generelle livskvalitet. 7: vigtigheden af aktiviteter for barnets livskvalitet. 8: generelle oplysninger om barnet. 9: oplysninger om forælderen(22).

Communication Function Classification System (CFCS)

Er et redskab til at klassificere kommunikationen i hverdagen hos personer med cerebral parese. Kommunikationen inddeltes i fem niveauer 1-5 fra effektiv afsender og modtager med ukendte og velkendte samtalepartnere (1) til sjældent effektiv afsender og modtager med velkendte samtalepartnere (5)(23).

DXA-Scanning:

Dual Energy X-ray Absorptiometry er en måling af knogletæthed (BMD). Der sendes ioniserende stråling gennem patienten fra et velkalibreret røntgenrør. Ved skanningen bruges to energier (dual energy), som svækkes forskelligt i forskelligt væv. Den del af strålingen, som passerer gennem vævet (ikke-dæmpet stråling) registreres med en strålingsdetektor placeret direkte modsat strålekilden. Ved hjælp af matematiske algoritmer kan dæmpningen af strålingen omregnes til et mål for knogletæthed udtrykt i g/cm² (Bone Mineral Density, BMD) eller g (Bone Mineral Content, BMC). Man mäter således ikke tæthed (g/cm³), men massen korrigeres for størrelse udtrykt ved arealet af det skannede område (g/cm²). Scanningen varer op til 10 minutter. Mængden af røntgenstråler er beskeden, 0.01mSv hvilket svarer svarende til 10 minutters flyvning i 10000m højre. (24). Nogle børn med CP kan have svær motorisk uro. Dette er især børn med en GMFC score på 4 og 5, hvilket er de børn der formodes at have den laveste z-score og dermed den laveste knoglemasse. For at resultatet af DXA-scanningen er brugbar, er det vigtigt at barnet ligger stille. Til disse børn vil blive tilbuddet let sedation i form af lattergas eller Midazolam, alternativt dyb sedation med Propofol så længe scanningen varer, således at de bedst mulige resultater af scanningen fås. Mange børn med CP bliver let sederet med lattergas eller Midazolam når de skal have foretaget rutine blodprøver eller foretaget andre procedurer i forbindelse med deres ambulante besøg, hvilket gør proceduren velkendt for både barnet og dets forældre. Ved let sedation bruges lattergas(Livopan) en medicinsk gasblanding bestående af 50% ilt og 50% kvælstofilte. Lattergas er et let sedativt anxiolytikum med analgetiske og amnestiske egenskaber. Spontan respiration er bevaret og luftvejsrefleksen er intakte. Hæmodynamikken er upåvirket. 80 % af børnene har amnesi for den smertefulde procedure efter lattergas administration. Midazolam som administreres oralt 20 minutter før scanningen. Til oral administration anvendes Inj. Midazolam 5 mg/ml, efter at være blandet op i sød saft. Den anvendte dosis er 0,4 – 0,8 mg/kg, hvor effekten indtræder efter ca. 10 minutter. Sedation med Midazolam er velkendt da det ofte bruges i en række korte indgreb. Mulige bivirkninger der kan opstå ved let sedation med Midazolam er hovedpine og søvnighed. Derudover kan der i visse tilfælde forekomme

kardiovaskulære bivirkninger som hypertension, bradykardi, vasodilatation og gastrointetinale gener som kvalme, opkastning og hikke.

Hvis forældrene eller den projektansvarlige vurderer at barnet ikke kan ligge stille under scanningen ved let sedering, vil der blive tilbuddt dyb sedation med Propofol.

Proceduren med dyb sedation er velkendt for både barnet og forældrene, når de scannes i forhold til rutine kontrol. Propofol er et anæstetikum med kortvarig virkning til intravenøs anæstesi. Derudover er det tilladt at anvende på børn over 1 måned gammel. Anvendes dyb sedation vil en speciallæge og anæstesisygeplejerske varetage opgaven. Der vil anlægges et PVK og administrationsdosis på 5 mg/ml. Effekten indtræder typisk efter får minutter og har en virkningsvarighed på 10-15 minutter.

Efter endt sedation vil barnet blive observeret indtil det er vågent og er uden behov for iltilskud. Mulige bivirkninger er ubehag på indstiksstedet, samt kvalme og opkast i forbindelse med opvågningen. Der vil blive indhentet samtykke til proceduren og sedationen fra forældrene.

Der kan opstå inklusionsbias hvis børn med en høj GMFC scorer ikke kan inkluderes i studiet.

Oral glucose tolerance test (OCTT)

Oral glucose tolerance test er en undersøgelsesmetode til bestemmelse af hvordan kroppen omsætter glukose. Den er udviklet til at stille diagnosen diabetes. I nærværende undersøgelse anvendes testen som et mål for sukkeromsætningen og ikke med henblik på at stille diagnosen diabetes. Der måles et startblodsukker via en blodprøve taget som et fingerprik og efterfølgende indtages et glas med sukkervand. Herefter måles blodsukkeret igen efter 30 minutter via et fingerprik. Testen afsluttes efter 30 minutter(25).

CPOP-databasen:

CPOP er et opfølgningsprogram for børn og unge med cerebral parese der har eksisteret siden 1994. Der er udviklet i samarbejde mellem børneneurologer, ortopædkirurger, fysioterapeuter og ergoterapeuter. I CPOP følges børn og unge med CP og CP lignende symptomer kontinuerligt. Der anvendes diagnostiske kriterier som

beskrevet af SCPE (Surveillance of Cerebral Palsy in Europe) og senest i barnets 5. leveår skal der tages stilling til den endelige CP diagnose. Fysio- og ergoterapeuter undersøger og registrerer grovmotorisk og finmotorisk funktion, ledbevægelighed og spasticitet. Der er lægelige kontroller hver halve år til barnet fylder 6 år og herefter er der lægelige kontroller hvert år. CPOP i Region Hovedstaden har foreløbigt implementeret programmet for børn født i 2008 og senere. Børnene følges på kontakthospital med pædiatrisk afdeling i et tværfagligt og tværsektionelt samarbejde mellem de involverede faggrupper.

Forskningsbiobank

Der bliver taget ca. 2 mL blod/kg kropsvægt fra forsøgspersonerne i henhold til instruks fra regionH. Blodprøverne vil blive taget som en veneblodprøve, hyppigst fra albuebøjningen. Alle vil blive tilbuddt forudgående bedøvelse af det pågældende område med Tetracain gel 4% (Ametop gel) Undersøgelser har vist at korrekt anvendt Ametop gel nedsætter ubehaget ved blodprøvetagning. Ametop er godkendt til anvendelse på børn fra 3 måneder. Det påføres i albuebøjningen og virker i 30 minutter før det aftørres og der foretages stikprocedure. Børn fra 3 mdr. – 5 år: Der anvendes maksimalt 1 tube Tetracain 4 % gel af gangen. Tubens indhold kan dog fordeles på flere steder på kroppen samtidig. Ved behov kan påføringen gentages efter 5 timer. Der må dog maksimalt bruges 2 tuber i løbet af 24 timer.
Fra 5 år: Der må maksimalt påføres 5 tuber Tetracain 4 % gel på en gang. Indholdet kan dog fordeles på flere steder på kroppen samtidig. Ved behov kan påføringen gentages efter 5 timer. Der må dog maksimalt bruges 7 tuber i løbet af 24 timer.
I nogle tilfælde kan der komme et lille hæmatom på indstiksstedet. Formålet med forskningsbiobanken er, at have mulighed for at gemme materialet til senere analyser. Materialet bliver ikke givet videre til andre lande. Materialet destrueres efter 20 år.

Tidsplan

- Rekruttering af kohorten: fra 1. oktober 2018
- Kliniske undersøgelser 1. december 2018- 31 december 2019
- Analyse af data: løbende
- Artikel skrivning 1 januar 2020- 31 august 2021

Arbejdsfremgang

Sideløbende med ansøgning om VEK godkendelse har vi anmeldt projektet til Videnscenter for Dataanmelder i Region Hovedstaden.

Alle børn og unge som er diagnosticeret med CP og følges på børne- og ungeafdeling, Herlev Hospital, vil blive forespurgt om deltagelse i projektet.

De pågældende personer informeres om projektet når de møder til deres planlagte ambulante kontrol ved deres behandlingsansvarlige læge. Forsøgsansvarlig vil få videregivet oplysning om tilsagn fra behandlingsansvarlig læge og vil tage kontakt til forældre til mulig forsøgsdeltager og give skriftligt informationsmateriale. Der vil desuden blive hængt en annonce op i venteværelse 1 Bygning 83, 2. sal, ambulatorium 2 Børne og Ungeafdelingen. der informerer om projektet og kontaktinformation til forsøgsansvarlige læge og rekruttering kan såedes også ske ved at forældre kontakter den forsøgsansvarlige læge. Den indledende kontakt kan foregå telefonisk hvor samtalen alene er kort information om studiet med henblik på at interesserede får en tid til en egentlig mundtlig informationssamtale ved et personligt møde med forsøgsansvarlige/forsøgspersonalet. Forsøgspersonerne vil blive tilbudt en informationssamtale på Herlev Hospital efter gennemlæsning af informationsmaterialet. De vil få mulighed for at få en bisidder med. Der vil blive reserveret et lokale i børneambulatorium både for voksne og børn på Herlev Hospital til informationssamtalen for at sikre at samtalen foregår uforstyrret. Hvis barnet og forældre initialt takker nej til skriftligt informationsmateriale kan de kontakte forsøgsansvarlige på et senere tidspunkt og anmode om informationsmateriale såfremt dette måtte ønskes. Umyndige forsøgspersoner vil informeres og inddrages i samtalen i det omfang, personen forstår forsøgssituationen, med mindre dette kan skade forsøgspersonen. Forsøgspersoners tilkendegivelser tillægges betydning, i det omfang de er aktuelle og relevante. Projektet kan ikke indledes eller fortsætte hvis forsøgspersonen protesterer herimod. Forsøgspersonerne vil få mulighed for en betænkningstid på et døgn efter udlevering af informationsmateriale eller efter den eventuelle uddybende informationssamtale med projektsygeplejersken før der gives besked om eventuel deltagelse. Samtykkeerklæringer vil blive underskrevet efter informationssamtalen eller på den dag, familien kommer til blodprøverne.

Både blodprøvetagning og de kliniske undersøgelser samt DXA scanning og evt. røntgen af venstre hånd vil søges at foregå på en dag hvis barnet og forældre ønsker dette. Skønnes det mere hensigtsmæssigt at dele besøget op over to besøg kan dette imødekommes. Den forventede undersøgelses tid for hver person er maksimalt 6 timer, og det kan fordeles på 2 dage af 3 timers varighed hvis dette ønskes.

Statistiske analyser

Alle data vil blive samlet i en database og analyseret. Da variansen ikke er kendt, kan der ikke foretages en power beregning, men undersøgelsen kan danne grundlag for en sådan med henblik på videre forskning, herunder et eventuelt interventionsstudie. Alle data samles i en database, Redcap, og analyseres i SPSS. Deskriptive analyser vil blive benyttet. Non-parametriske tests vil blive brugt afhængigt af distributionen af data.

Forsøgspersonerne, herunder inklusions- og eksklusionskriterier

Alle de identificerede børn der følges med diagnosen CP på Herlev Hospital vil blive forespurgt om de vil deltage. CP stille tidligst fra barnet er 2 år hvorfor inklusionskriterier er børn i alderen 2 år – 18 år. Der er ingen eksklusionskriterier. Der inddrages ikke gravide mindreårige.

Bivirkninger, risici og ulemper

Blodprøverne vil blive taget som en veneblodprøve, hyppigst fra albuebøjningen. Alle vil blive tilbuddt forudgående bedøvelse af det pågældende område med ametop gel. Undersøgelser har vist at korrekt anvendelse af ametop gel nedsætter ubehaget ved blodprøvetagning. Mulige bivirkninger er rødme og kløe.

Blodprøven kan blive taget på samme dag som de kliniske undersøgelser finder sted af reservalæge/klinisk assistent eller af bioanalytiker. Deltagelsen i projektet kan være af tidsmæssig ulejlighed for familierne. Ulemerne ved deltagelse i projektet er mindre end de forventelige fordele der er forbundet med deltagelse. I videst mulig omfang foregår undersøgelserne til børnenes vanlig årlige kontroller på Herlev Hospital og i de

tilfælde hvor der bliver nødvendigt med et ekstra besøg sørges for transportrefusion for familierne.

Ved både DXA scanning og røntgen til bestemmelse af knoglealder vil kroppen eksponeres for røntgenstråler. Mængden af røntgenstråler fra DXA scanning svarer til 0.01mSv svarende til 10 minutters flyvning i 10000m højre. Mængden af stråler ved røntgen af venstre hånd svarer til 0.00026mSv. Ved DXA-scanningen kan motorisk uro påvirke scanningsresultatet og i disse tilfælde vil børnene, med accept fra forældre, blive informeret om bedøvelse i form af sedation med enten lattergas, Midazolam eller Propofol under scanningen. Mulige bivirkninger ved anvendelse af lattergas er få. Hyppigst er kvalme og opkastning, som opleves af under 5 % af børnene. Alle bivirkninger er forbigående og er borte 5 minutter efter at masken fjernes. Mulige bivirkninger der kan opstå ved let sedation med Midazolam er hovedpine og søvnighed. Derudover kan der i visse tilfælde forekomme kardiovaskulære bivirkninger som hypertension, bradykardi, vasodilatation og gastrointetinale gener som kvalme, opkastning og hikke. Mulige bivirkninger der kan opstå ved sedation med Propofol er ubehag på indstiksstedet, samt kvalme og opkast i forbindelse med opvågning efter dyb sedation med Propofol. Andre almindelige bivirkninger i forbindelse med sedation kan være gastrointetinale gener som hikke, kvalme og opkastning. Under sedationen vil speciallægen i anæstesi og anæstesisygeplejersken observere saturation, puls og respirationsfrekvens og patienten vil blive observeret efter endt sedation, indtil barnet er vågent og er uden behov for ilt.

Fordelene ved deltagelse vurderes større end ulempene.

Respekten for barnets eller den unges fysiske og mentale integritet samt privatlivets fred

Oplysningerne om forsøgspersoner beskyttes efter lov om behandling af personoplysninger og sundhedsloven.

Etiske overvejelser

Undersøgelsen og indsamling af data af den enkelte vil ikke blive påbegyndt, før der foreligger informeret samtykke. Information om mulige egnede forsøgspersoner videregives fra behandlingsansvarlige læge.

Til blodprøvetagning bruges ametop gel som bedøvelse, da undersøgelser har vist at korrekt anvendelse af ametop gel nedsætter ubehag ved blodprøvetagning.

Ved DXA-scanning kan motorisk uro påvirke scanningen og i disse tilfælde, og med accept og samtykke fra forældre, blive informeret om brugen af sedation med enten lattergas, Midazolam eller Propofol under scanningen. Denne procedure er meget velkendt og brugt i anæstesien og der er derfor draget meget erfaring i brugen af både Midazolam og Propofol på børn. Effekten af anæstesien er kortvarig, uden mange bivirkninger. Yderligere kan der forekomme inklusionsbias hvis børn med en høj GMFC scorer ikke inkluderes i studiet. Derfor er fordelen ved deltagelse større end ulemperne. Samtidig er anvendelse af ovenfor nævnte sedation velkendt for de fleste af børnene med CP da det i forvejen anvendes i forbindelse med deres ambulante besøg under rutine blodprøvetagning, ved behandling med Botox og ved andre procedurer så som MR scanninger og eventuelle operationer.

Deltagerne har altid mulighed og uden nogen grund ret til at trække deres deltagelse og samtykke tilbage i projektet, hvis de føler sig usikre ved deltagelse i projektet.

Økonomiske forhold

Klinisk lektor, dr.med. Jesper Johannesen, afdelingslæge Ph.d. Nanette Mol Debes, overlæge, Ph.d. Malene Boas og reservalæge ph.d. Marianne Lindblad Pedersen har taget initiativ til Knogleprojektet og har modtaget 1.400.000kr fra Elsass Fonden. Der bliver løbende søgt økonomisk støtte til Knogleprojektet fra flere fonde. De Videnskabsetiske Komiteer vil blive orienteret, såfremt der tilkendes støtte efter godkendelsen af projektet.

Vederlag eller andre ydelser

Der vil ikke ydes vederlag.

Hervning af deltagere

De pågældende personer informeres om projektet når de møder til deres planlagte ambulante kontrol ved deres behandlingsansvarlige læge. Forsøgsansvarlig vil få videregivet oplysning om tilsagn fra behandlingsansvarlig læge og vil tage kontakt til forældre til mulig forsøgsdeltager og give skriftligt informationsmateriale. Der vil

desuden blive hængt en annonce op i venteværelse 1 Bygning 83, 2. sal, ambulatorium 2 Børne og Ungeafdelingen. der informerer om projektet og kontaktinformation til forsøgsansvarlige læge og rekruttering kan såedes også ske ved at forældre kontakter den forsøgsansvarlige læge. Forsøgspersonerne vil få både mundtlig og skriftlig information, tilpasset den enkeltes alder. Undersøgelsen af den enkelte vil ikke blive påbegyndt, før der foreligger informeret samtykke. Information om mulige egnede forsøgspersoner videregives fra behandlingsansvarlige læge.

Tilgængeligheden af oplysninger

Forsøgspersonerne eller deres stedfortræder henvises til Marianne Lindblad Pedersen, Nanette Mol Debes eller Jesper Johannesen for yderligere oplysninger om projektet udover hvad der er oplyst i den mundtlige og skriftlige information. Deres telefonnumre og e-mailadresser vil fremgå i det skriftlige informationsmateriale.

Offentliggørelse af forsøgsresultater

Forsøgsresultaterne offentliggøres uanset om de er positive eller negative. De vil offentliggøres i internationale tidsskrifter, samt til CP-patienterne og deres pårørende ved møder. Desuden vil vi formidle vores resultater via artikler i Spastikerforeningens medlemsblad og via foredrag i Spastikerforeningens og for professionelle.

Videnskabelisk redegørelse

Projektet gennemføres med børn med CP der følges på Herlev Hospital.

Formålet med dette projekt er (1) at undersøge og beskrive prævalensen af lav BMD blandt danske børn med cerebral parese (CP), (2) at identificere mulige risikofaktorer for lav BMD og deres indflydelse på knoglemetabolisme, og (3) undersøge hvilken påvirkning kendte og endnu ikke undersøgte faktorer har på knoglemetabolismen, herunder glukose metabolisme og stofskifte. Efter identifikation og karakterisering af faktorer der påvirker BMD hos CP-børn er det vores formål (4) at udvikle en "risiko profil score" der kan bruges i klinikken på alle børn med CP til at forudsige hvilke børn der er i øget risiko for lav BMD. Hermed vil man kunne forebygge udvikling af lav BMD,

igangsætte tidlig intervention og rådgivning til familier med børn med CP, herunder f.eks. speciel tilrettelagt fysisk træning og forsøge at minimere behov for medicinsk behandling af BMD.

Deltagerne vil få både mundtlig og skriftlig information, tilpasset det enkelte barns alder. Undersøgelsen af den enkelte vil ikke blive påbegyndt, før der foreligger informeret samtykke.

Deltagerne vil få taget en blodprøve, som bliver taget som en veneblodprøve, hyppigst fra albuebøjningen. Alle vil blive tilbudt forudgående bedøvelse af det pågældende område med EMLA-creme. Undersøgelser har vist at korrekt anvendt EMLA-creme nedsætter ubehaget ved blodprøvetagning. Blodprøven bliver enten taget ved undersøgelsen på Herlev Hospital af en læge eller af en bioanalytiker Desuden foretages en DXA scanning på alle inkluderetes børn samt en røntgenundersøgelse af venstre hånd til bestemmelse af knoglealder hvor dette ikke allerede forelægger. Ved både DXA scanning og røntgen til bestemmelse af knoglealder vil kroppen eksponeres for røntgenstråler.

Desuden vil deltagerne vil blive bedt om at gennemgå nogle spørgeskemaer og et interview og undersøgelse ved en læge. Deltagelsen i projektet kan være af tidsmæssig ulejlighed for deltagerne, da Herlev Hospital, hvor den kliniske undersøgelse foretages, kan ligge langt fra forsøgspersonernes bopæl, dog planlægges undersøgelserne ved deres vanlige årlige kontrolbesøg.

Ulempene ved deltagelse i projektet vejer ikke op imod de forventelige fordele der er forbundet med deltagelse, nemlig at opnå større forståelse for knoglestatus blandt børn med CP samt at udvikle en risiko score profil der skal være med til at forebygge at børn med CP udvikler for lav knoglemasse.

Referencer

1. Colver A, Fairhurst C, Pharoah POD. Cerebral palsy. *Lancet* (London, England). 2014 Apr;383(9924):1240–9.
2. Rackauskaite G, Balslev T, Hertz JM. [Cerebral palsy--what is the influence of genetic factors?]. *Ugeskr Laeger*. 2005 Apr;167(15):1625–9.
3. Palisano R, Rosenbaum P, Walter S, Russell D, Wood E, Galuppi B. Development and reliability of a system to classify gross motor function in children with cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 1997 Apr;39(4):214–23.
4. Henderson RC, Kairalla J, Abbas A, Stevenson RD. Predicting low bone density in children and young adults with quadriplegic cerebral palsy. *Dev Med Child Neurol*. 2004 Jun;46(6):416–9.
5. Houlihan CM. Bone health in cerebral palsy: who's at risk and what to do about it? *J Pediatr Rehabil Med*. 2014;7(2):143–53.
6. Zanatta LCB, Boguszewski CL, Borba VZC, Kulak CAM. Osteocalcin, energy and glucose metabolism. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2014 Jul;58(5):444–51.
7. Ducy P. The role of osteocalcin in the endocrine cross-talk between bone remodelling and energy metabolism. *Diabetologia*. 2011 Jun;54(6):1291–7.
8. Ng KW. Regulation of glucose metabolism and the skeleton. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011 Aug;75(2):147–55.
9. Yang R, Yao L, Fang Y, Sun J, Guo T, Yang K, et al. The relationship between subclinical thyroid dysfunction and the risk of fracture or low bone mineral density: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *J Bone Miner Metab*. 2017 Mar;
10. Yan Z, Huang H, Li J, Wang J. Relationship between subclinical thyroid dysfunction and the risk of fracture: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Osteoporos Int*. 2016 Jan;27(1):115–25.
11. Hong T, Paneth N. Maternal and infant thyroid disorders and cerebral palsy. *Semin Perinatol*. 2008 Dec;32(6):438–45.
12. van Wassenaer-Leemhuis A, Ares S, Golombok S, Kok J, Paneth N, Kase J, et al. Thyroid hormone supplementation in preterm infants born before 28 weeks gestational age and neurodevelopmental outcome at age 36 months. *Thyroid*. 2014 Jul;24(7):1162–9.

13. Henderson RC, Kairalla JA, Barrington JW, Abbas A, Stevenson RD. Longitudinal changes in bone density in children and adolescents with moderate to severe cerebral palsy. *J Pediatr.* 2005 Jun;146(6):769–75.
14. Henderson RC. Bone density and other possible predictors of fracture risk in children and adolescents with spastic quadriplegia. *Dev Med Child Neurol.* 1997 Apr;39(4):224–7.
15. Henderson RC, Berglund LM, May R, Zemel BS, Grossberg RI, Johnson J, et al. The relationship between fractures and DXA measures of BMD in the distal femur of children and adolescents with cerebral palsy or muscular dystrophy. *J Bone Miner Res.* 2010;
16. Palisano RJ, Hanna SE, Rosenbaum PL, Russell DJ, Walter SD, Wood EP, et al. Validation of a model of gross motor function for children with cerebral palsy. *Phys Ther.* 2000 Oct;80(10):974–85.
17. Jeevanantham D, Dyszuk E, Bartlett D. The Manual Ability Classification System: A Scoping Review. *Pediatr Phys Ther.* 2015;27(3):236–41.
18. Pedersen LK, Rahbek O, Nikolajsen L, Moller-Madsen B. Assessment of pain in children with cerebral palsy focused on translation and clinical feasibility of the revised FLACC score. *Scand J pain.* 2015 Oct;9(1):49–54.
19. Garra G, Singer AJ, Taira BR, Chohan J, Cardoz H, Chisena E, et al. Validation of the Wong-Baker FACES Pain Rating Scale in pediatric emergency department patients. *Acad Emerg Med.* 2010 Jan;17(1):50–4.
20. Williamson A, Hoggart B. Pain: a review of three commonly used pain rating scales. *J Clin Nurs.* 2005 Aug;14(7):798–804.
21. Mueller-Godeffroy E, Thyen U, Bullinger M. Health-Related Quality of Life in Children and Adolescents with Cerebral Palsy: A Secondary Analysis of the DISABKIDS Questionnaire in the Field-Study Cerebral Palsy Subgroup. *Neuropediatrics.* 2016 Apr;47(2):97–106.
22. Narayanan UG, Fehlings D, Weir S, Knights S, Kiran S, Campbell K. Initial development and validation of the Caregiver Priorities and Child Health Index of Life with Disabilities (CPCHILD). *Dev Med Child Neurol.* 2006 Oct;48(10):804–12.
23. Cunningham BJ, Rosenbaum P, Hidecker MJC. Promoting consistent use of the communication function classification system (CFCS). *Disabil Rehabil.*

- 2016;38(2):195–204.
24. Lee SY, Gallagher D. Assessment methods in human body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2008 Sep;11(5):566–72.
 25. Ong KK, Petry CJ, Emmett PM, Sandhu MS, Kiess W, Hales CN, et al. Insulin sensitivity and secretion in normal children related to size at birth, postnatal growth, and plasma insulin-like growth factor-I levels. *Diabetologia*. 2004 Jun;47(6):1064–70.

Appendix B

De Videnskabsetiske Komiteer
for Region Hovedstaden
Regionsgården
Kongens Vænge 2
3400 Hillerød

Herlev, den 5.2.2019

Anmøde til de Videnskabsetiske Komitéer - Tillægsprotokol

Alle oplysninger på denne blanket kan blive offentliggjort.

Komité

Primærkomité: De Videnskabsetiske Komiteer for Region Hovedstaden
Projekt-ID: H-18045336
Anmeldelsesnr.: 67168
Tillægsprotokolnr.: 1

A. Forsøgsansvarlig

1. Titel:	Reservelæge
2. Navn:	Marianne Lindblad Pedersen
3. Hospital/institution:	Herlev Hospital
4. Afdeling/institut	Herlev Hospital
5. Vejnavn og nr.	Danmark
6. Postnummer/7. by:	2730 Herlev
8. Telefonnr.:	38683868
9. E-mail:	marianne.lindblad.pedersen@regionh.dk

B. Evt. anden kontaktperson

1. Titel:	Overlæge
2. Navn:	Jesper Johannesen
3. Hospital/institution:	Herlev Hospital
4. Afdeling/institut	Herlev Hospital
5. Vejnavn og nr.	Danmark
6. Postnummer/7. by:	2730 Herlev
8. Telefonnr.:	38689970
9. E-mail:	jesper.johannesen@regionh.dk

C. Projektinformation

1. Projekttitel:

Forebyggelse af lav knoglemasse hos børn med cerebral parese

2. Ændring:

1. Anvendelse af lokal bedøvelsesmiddel Ametop i stedet for EMLA for at skåne børnene for 30 minutters faste 2. Anvendelse af let eller dyb sedation til udvalgte børn i forbindelse med DXA scanning. 3. Rettelser i deltagerinformationen i henhold til ovenstående 4. Anvendelse af plakat i venteværelse

3. Begrundelse for ændring:

1. Anvendelse af lokal bedøvelsesmiddel Ametop i stedet for EMLA for at skåne børnene for 30 minutters faste. 2. Anvendelse af let til dyb sedation på udvalgte børn er nødvendigt da især børn med høj GMFC score kan have stor motorisk uro hvilket umuliggøre en brugbar DXA scanning. Det er ofte børn med høj GMFC score der har lav BMD. Samtidig vil der opstå inklusionsbias hvis de børn med høj GMFC må ekskluderes. 3. Der rettes i deltagerinformationen i henhold til ovenstående samt stavfejl der er fundet efter sidste gidskendelse 4. Anvendelse af plakat i venteværelset således at forældre selv kan kontakte forsøgsansvarlige hvis de skulle have interesse i at de og deres børn deltager i projektet.

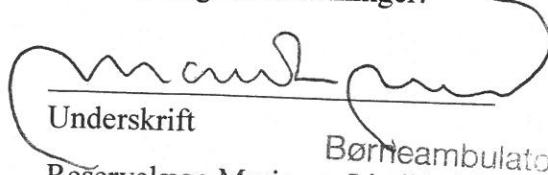
Til blodprøvetagning bruges ametop gel som bedøvelse, da undersøgelser har vist at korrekt anvendelse af ametop gel nedsætter ubehag ved blodprøvetagning. Ved DXA-scanning kan motorisk uro påvirke scanningen og i disse tilfælde, og med accept og samtykke fra forældre, blive informeret om brugen af sedation med enten lattergas, Midazolam eller Propofol under scanningen. Effekten af anæstesien er kortvarig, uden mange bivirkninger.

Yderligere kan der forekomme inklusionsbias hvis børn med en høj GMFC scorer ikke inkluderes i studiet. Derfor er fordelen ved deltagelse større end ulempene. Samtidig er anvendelse af ovenfor nævnte sedation velkendt for de fleste af børnene med CP da det i forvejen anvendes i forbindelse med deres ambulante besøg under rutine blodprøvetagning, ved behandling med Botox og ved andre procedurer så som MR scanninger og eventuelle operationer

Ja

5. Medfører ændringerne at deltagerinformationen ændres ?
(Hvis ja, skal den reviderede deltagerinformation medsendes):

6. Evt. øvrige bemærkninger:



Underskrift

Børneambulatoriet EA31/1
Reservelæge Marianne Lindblad Pederesen
Herlev Hospital Herlev Ringvej 75
Herlev Hospital 2730 Herlev

Danmark
2730 Herlev