

BONE TURNOVER AND BONE MINERAL DENSITY IN TYPE I DIABETIC PATIENTS IN INITIAL STAGE OF DIABETIC NEPHROPATHY

PONTUCH P, PAYER J, KILLINGER Z, TOSEROVA E, LISTIAKOVA D

KOSTNÝ OBRAT A KOSTNÁ DENZITA U DIABETIKOV 1. TYPU V ZAČIATOČNOM ŠTÁDIU DIABETICKEJ NEFROPATIE

Abstract

Pontuch P, Payer J, Killinger Z, Toserova E, Listiakova D:
Bone turnover and bone mineral density in type I diabetic patients in initial stage of diabetic nephropathy
Bratisl Lek Listy 1999; 100 (8): 445–448

Objective: To compare the bone turnover and bone mineral density in type 1 diabetic patients with normoalbuminuria and type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy with microalbuminuria or mild proteinuria.

Methods: We studied 18 type 1 diabetic patients (Group A) with normoalbuminuria (UAE < 10 µg/min) and 8 type 1 diabetic patients (Group B) with UAE 100–1000 µg/min and serum creatinine below 150 µmol/l. Markers of bone formation (bone alkaline phosphatase — ALP-B, serum osteocalcin) and bone resorption (serum tartrate-resistant acid phosphatase — ACP-TR, urinary hydroxyproline) were determined. Bone mineral density (BMD) was measured at lumbar spine and right femoral neck.

Results: Serum ALP-B was higher in group B [median (95 % CI), 518 (405–1070) nkat/l] compared with group A [380 (355–510) nkat/l] ($p < 0.05$). Urinary hydroxyproline excretion was higher in group B [U-Hxp/AL-creat 46.7 (22.9–80) µmol/mmol] compared with group A [18.3 (8.9–22.7) µmol/mmol] ($p < 0.001$). No difference was found in serum osteocalcin and ACP-TR and in BMD at L2–L4 and femoral neck.

Conclusions: We conclude that bone turnover was increased in type 1 diabetic patients with incipient stage of diabetic nephropathy but there was no difference in BMD as compared with type 1 diabetic patients without nephropathy. This finding might indicate that biochemical markers unlike densitometry reflect initial changes in bone metabolism in pre-clinical diabetic nephropathy earlier. (Tab. 2, Ref. 17.)

Key words: bone turnover, bone mineral density, type 1 diabetes mellitus, diabetic nephropathy, microalbuminuria, bone density.

Abstrakt

Pontuch P., Payer J., Killinger Z., Tošerová E., Lištiaková D.:
Kostný obrat a kostná denzita u diabetikov 1. typu v začiatocnom štádiu diabetickej nefropatie
Bratisl. lek. Listy, 100, 1999, č. 8, s. 445–448

Ciel: Porovnať kostný obrat a kostnú denzitu u diabetikov 1. typu s normoalbuminúriou a u diabetikov 1. typu s diabeticou nefropatiou s mikroalbuminúriou alebo miernou proteinúriou.

Metódy: Vyšetřili sme 18 diabetikov 1. typu (skupina A) s normoalbuminúriou (UAE < 10 µg/min) a 8 diabetikov 1. typu (skupina B) s mikroalbuminúriou a miernou proteinúriou (UAE 100–1000 µg/min) a kreatinínémiou nižšou ako 150 µmol/l. Stanovili sme dva ukazovatele kostnej novotvorby (kostnú alkalickú fosfatázu a osteokalcín v sére) a dva ukazovatele kostnej resorpcie (kyslú fosfatázu rezistentnú proti tartarátu v sére a exkréciu hydroxyprolínu močom). Kostnú denzitu sme merali v oblasti lumbálnej chrbtice (L2–L4) a krčka pravej stehnej kosti.

Výsledky: Kostná alkalická fosfatáza v sére bola vyššia v skupine B [medián (95 % KI), 518 (405–1070) nkat/l] ako v skupine A [380 (355–510) nkat/l] ($p < 0,05$). Exkrécia hydroxyprolínu močom bola vyššia v skupine B [pomer m-hydroxyprolín/m-kreatinín 46,7 (22,9–80) µmol/mmol] ako v skupine A [18,3 (8,9–22,7) µmol/mmol] ($p < 0,001$). Nezistili sme rozdiel v sérových hladinách osteokalcínu a kyslej fosfatázy a v kostnej denzite L2–L4 a krčku stehnej kosti.

Záver: U diabetikov 1. typu so začiatocným štádiom diabetickej nefropatie je vyšší kostný obrat ako u diabetikov 1. typu bez nefropatie, no bez rozdielu v kostnej denzite, čo naznačuje, že biochemické ukazovatele zachytávajú skôr včasné zmeny kostného metabolizmu ako densitometria v predklinických štádiách diabetickej nefropatie. (Tab. 2, lit. 17.)

Kľúčové slová: kostný obrat, kostná denzita, diabetes mellitus 1. typu, diabetická nefropatia, mikroalbuminúria, kostná denzita.

IVth Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava, St. Cyril and Method Hospital, Bratislava and Ist Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Comenius University, Bratislava

Address for correspondence: P. Pontuch, MD, PhD, IVth Dpt of Internal Medicine, St. Cyril and Method Hospital, Antolska 11, SK-851 07 Bratislava, Slovakia.

Phone: +421.7.6867 2033, Fax: +421.7.6381 2196

IV. interná klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave a Nemocnice sv. Cyrila a Metoda v Bratislave a I. interná klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského a Fakultnej nemocnice v Bratislave

Adresa: Doc. MUDr. P. Pontuch, CSc., IV. interná klinika LFUK, Nemocnica sv. Cyrila a Metoda, Antolská 11, 851 07 Bratislava.

Častým nálezom u pacientov s chronickým zlyhaním obličiek je renálna osteodystrofia, ktorú spôsobuje znížená syntéza aktívneho vitamínu D kalcitriolu v postihnutých obličkách. Vlastný diabetes mellitus prispieva k osteopénii nedostatčným anabolickým účinkom inzulínu na kostné štruktúry a zvýšenou resorpciou kostí podmienenou znížením obličkových funkcií (Seino, 1995). Kostný metabolizmus u diabetikov ovplyvňujú zmeny v cievnom zásobovaní pri mikroangiopatii a makroangiopatii. Zvýšenie kostného obratu sa pozorovalo už u diabetikov s miernou renálnou insuficienciou (Rix a spol., 1996). Keďže vo väčšine prác boli diabetici s rôznym štádiom nefropatie vyhodnotení spolu, zamerali sme sa na vyšetrenie zmien kostného obratu a kostnej denzity u diabetikov 1. typu s diabetickou nefropatiou v začínajúcom predklinickom štádiu.

Cieľom práce bolo porovnať kostnú novotvorbu, kostnú resorpciu a kostnú denzitu u diabetikov 1. typu bez nefropatie a u diabetikov 1. typu s diabetickou nefropatiou s mikroalbuminúriou alebo miernou proteinúriou, ktorí mali normálnu alebo len ľahko zníženú glomerulárnu filtráciu.

Pacienti a metódy

Z celkového počtu 35 vyšetrených diabetikov 1. typu sme do skupiny A zaradili 18 diabetikov 1. typu (10 mužov, 8 žien) s albuminúriou (UAE) v normálnom rozpätí do 10 µg/min a do skupiny B 8 diabetikov 1. typu (4 mužov, 4 ženy) s albuminúriou v rozpätí 100–1000 µg/min (UAE 100–200 µg/min je v hornom rozpätí mikroalbuminúrie, UAE 200–1000 µg/min je mierne proteinúria) s kreatinínémiou nižšou ako 150 µmol/l. UAE bola vyjadrená ako medián troch hodnôt albuminúrie z troch 24-hodinových zberov moču počas 12 mesiacov. Keďže medzidenná variácia albuminúrie môže dosiahnuť až 30 %, medzi normoalbuminúriou a mikroalbuminúriou sme vytvorili širšie diskriminačné pásmo na vylúčenie hraničných hodnôt. Preto neboli do štúdie zaradení diabetici s normoalbuminúriou v jej hornom rozpätí (UAE 10–20 µg/min) a mikroalbuminúriou v jej dolnom rozpätí (UAE 20–100 µg/min). Žiadny z diabetikov neužíval glukokortikoidy, hormonálnu liečbu alebo lieky interferujúce s metabolizmom kalcia. Všetky diabetičky mali menštruačný cyklus. Pacienti zbierali 8-hodinový nočný moč (22.00–06.00 h) a nasledujúce ráno prišli do ambulancie nalačno na odber krvi na biochemické vyšetrenie. V predchádzajúci deň nejedli jedlá bohaté na kolagén.

Aktivita kyslej fosfatázy rezistentnej proti tartrátu v sére sa určovala pomocou 4-nitrofenylfosfátu ako substrátu v citrátovom tlmivom roztoku pri pH 5,5 meraním uvoľneného 4-nitrofenolu fotometrickou metódou (Štěpán a spol., 1983). Aktivita kostnej alkalickéj fosfatázy v sére sa určovala pomocou 4-nitrofenylfosfátu ako substrátu pri pH 9,8 meraním uvoľneného 4-nitrofenolu inaktivačno-inhibičnou fotometrickou metódou (Štěpán a spol., 1983). Osteokalcín v sére sa meral pomocou metódy RIA s magnetickým imunosorbentom (Izinta, Maďarsko). Parathormón v sére sa určoval pomocou metódy RIA s protilátkami produkovanými proti intaktnému hovädziemu parathormónu (Incstar, USA). Hydroxyprolín v moči sa stanovil v hydrolyzovanej vzorke moču kvantitatívnu fluorometriou po extrakcii celulóзовou chromatografickou separáciou pomocou HPLC (Reed a spol., 1991). Exkrécia hydroxyprolínu v rannom moči je vyjadrená pomerom m-hyd-

roxyprolínu a m-kreatinínu. Celkové kalcium v sére bolo stanovené plameňovou fotometriou Eppendorf, celkové magnézium v sére fotometrickou metódou (Randox, Cobas Mira Plus), anorganický fosfor v sére fotometrickou metódou (Hoffmann-La-Roche, Cobas Mira Plus) a ionizované kalcium a magnézium v sére elektrolytovým analyzátorom AVL-988 s iónselektívnymi elektródami pri pH 7,4 (AVL List, Rakúsko).

Vyšetrenie kostnej denzity sa robilo v oblasti lumbálnej chrčtice (L2–L4) a krčka pravej stehnej kosti denzitometrom metódou absorpciometrie na dvoch energetických hladinách (Norland XR-36, USA). Kostná denzita (BMD) sa vyjadruje ako Z-skóre (štandardná deviácia pod priemernou BMD pre kontrolnú skupinu s porovnateľným vekom a pohlavím). Presnosť merania BMD bola 1,1 % v oblasti lumbálnych stavcov a 1,6 % v oblasti krčka stehnej kosti. Na štatistickú analýzu rozdielov medzi skupinami sa použil Mannov–Whitneyho neparametrický test.

Výsledky

Skupiny diabetikov sa významne nelíšili vo veku, zastúpení mužov a žien, indexe telesnej hmotnosti (BMI), trvaní diabetu 1. typu, glykovanom hemoglobíne (HbA1c) a 8-hodinovom klírense kreatinínu (tab. 1). Z ukazovateľov kostnej novotvorby sme našli vyššiu kostnú alkalickú fosfatázu v skupine B v porovnaní so skupinou A ($p < 0,05$) a mierne zvýšený, no štatisticky nevýznamne, osteokalcín v skupine B (tab. 2). Z ukazovateľov kostnej resorpcie bol v skupine B vyšší pomer koncentrácie hydroxypro-

Tab. 1. Characteristics of type 1 diabetic patients.
Tab. 1. Základné údaje o diabetikoch 1. typu.

	Group A Skupina A (UAE < 10 µg/min) n=18	Group B Skupina B (100 < UAE < 1000 µg/min) n=8
Age (yrs)		
Vek (roky)	36 (32-44)	44,5 (31-50)
Males/females		
Muži/Ženy	10/8	4/4
BMI (kg/m ²)	24,1 (20,8-26,6)	23,6 (20,6-27,4)
Diabetes duration (yrs)		
Trvanie diabetu (roky)	21,5 (12-27)	22 (16-26)
Hemoglobín A1c (%)	7,2 (5,9-7,7)	8,2 (6,5-9,9)
S-kreatinín (µmol/l)	80 (77-87)	102 (71-143)
8-h KK (ml/s)	1,62 (1,28-1,75)	1,19 (0,78-1,78)
UAE – urinary albumin excretion rate albuminúria		
BMI – body mass index index telesnej hmotnosti		
8-h KK – 8-h overnight creatinine clearance 8-h nočný klírens kreatinínu		
Medián (95% confidence interval) (95% konfidenčný interval)		

Tab. 2. Biochemical markers of bone turnover and bone mineral density measurement in type 1 diabetic patients.**Tab. 2. Biochemické ukazovatele kostného obratu a meranie kostnej denzity u diabetikov 1. typu.**

	Group A Skupina A (UAE<10 µg/min) n=18	Group B Skupina B (100<UAE<1000 µg/min) n=8
S-ALP-B (nkat/l)	380 (355-510)	518 (405-1070) *
S-osteokalcín (ng/ml)	9,6 (8,7-11,6)	14 (3,1-24,4)
S-ACP-TR (nkat/l)	160 (148-177)	175 (125-243)
U-Hxp/U-kreat (µmol/mmol)	18,3 (8,9-22,7)	46,7 (22,9-80) **
S-parathormón (ng/ml)	0,01 (0,01-0,07)	0,3 (0,01-0,53)
S-kalcium (mmol/l)	2,3 (2,2-2,4)	2,2 (2,1-2,3)
S-ioniz. kalcium (mmol/l)	1,3 (1,2-1,3)	1,2 (1,2-1,3)
S-fosfor (mmol/l)	1,1 (0,9-1,3)	1,2 (0,9-1,4)
S-magnézium (mmol/l)	0,75 (0,7-0,8)	0,8 (0,7-0,9)
S-ioniz. magnézium (mmol/l)	0,4 (0,4-0,5)	0,5 (0,4-0,5)
Femoral neck (Z-score)		
Krčok femuru (Z-skóre)	-0,56 (-1,24; 0,76)	-1,08 (-2,61; 0,42)
Lumbar spine L2-L4 (Z-score)		
Stavce L2-L4 (Z-skóre)	-0,62 (-1,15;-0,11)	-0,45 (-2,32;-0,17)

* p<0.05, ** p<0.001

Medián	(95% confidence interval) (95% konfidenčný interval)
UAE –	urinary albumin excretion rate albuminúria
S-ALP-B –	serum bone alkaline phosphatase kostná alkalická fosfatáza v sére
S-ACP-TR –	serum tartrate-resistant acid phosphatase kyslá fosfatáza rezistentná proti tartarátu v sére
U-Hxp –	urinary hydroxyproline hydroxyprolín v moči
U-creat –	urinary creatinine kreatinín v moči

línu a kreatinínu v moči (p<0,001). Medzi skupinami nebol významný rozdiel v sérovej koncentrácii kyslej fosfatázy rezistentnej proti tartarátu. Skupiny sa nelíšili v sérových koncentráciách parathormónu, celkového a ionizovaného kalcia, magnézia a fosforu. Pri hodnotení kostnej denzity v oblasti stavcov L2—L4 a krčka stehrovej kosti sme nezistili rozdiely v Z-skóre.

Diskusia

Procesy kostnej novotvorby a resorpcie sú za normálnych okolností v rovnováhe a ich dynamika sa posudzuje na základe špecifických biochemických ukazovateľov. Kostnú novotvorbu určujú sérové hladiny kostnej alkalické fosfatázy, enzýmu membrány osteoblastov a sérové hladiny osteokalcínu, nekologénového proteínu špecifického pre kostné štruktúry, ktorý sa syntetizuje osteoblastmi a následne inkorporuje do extracelulárnej kostnej matrix. Resorpcia kostí sa dá určiť na základe sérových hladín kyslej fosfatázy rezistentnej proti tartarátu, ktorá je lyzozómovým enzýmom osteoklastov, a podľa exkrécie hydroxyprolínu močom.

Kostná novotvorba nie je porušená u diabetikov 1. typu v čase manifestácie choroby. U prepupertálnych detí sa po 12-mesačnej dobrej metabolickej kompenzácií zistil vzostup novotvorby kostnej matrix spolu s poklesom kostnej resorpcie (Bonfanti a spol., 1997).

Zlá metabolická kompenzácia diabetických detí ovplyvňuje tubulárne funkcie a vedie k zvýšeným stratám fosforu močom, čo sa môže odraziť v poruchách osteogenézy (Šufliarska a spol., 1998). Zvýšenie kostnej alkalické fosfatázy v sére a exkrécie hydroxyprolínu močom sa našlo u premenopauzálnych diabetičiek 1. typu s dlhším trvaním diabetu, čo poukazuje na zvýšený kostný obrat (Gallacher a spol., 1993). V inej štúdií sa u diabetikov 1. typu zistili vyššie koncentrácie kostnej alkalické fosfatázy v sére, ale nižšie koncentrácie osteokalcínu (Olmos a spol., 1994). U diabetikov 1. a 2. typu sa našli nižšie hladiny kalcia v sére a zvýšená aktivita kostnej alkalické fosfatázy v sére (Kocián a Brunová, 1990). V našej práci sme zistili vyššiu kostnú alkalickú fosfatázu, čo svedčí o zvýšenej novotvorbe kostí v začiatocnom štádiu diabetickej nefropatie.

U diabetikov 1. a 2. typu, ktorí boli dlhší čas zle metabolicky kompenzovaní, sa po 8—12 rokoch zistila znížená kostná novotvorba a zvýšená kostná resorpcia vedúca k strate kostnej hmoty (Krokauer a spol., 1995). Zlepšenie glykemické kompenzácie diabetikov 2. typu znižuje kostný obrat pomerne za krátky čas (Okazaki a spol., 1997). V našej práci sme zistili známky svedčiace o zvýšenej kostnej resorpcii u diabetikov 1. typu so začínajúcou diabeticou nefropatiou. Naše výsledky sú podobné zisteniam iných autorov, ktorí našli väčšiu exkréciu hydroxyprolínu u mikroalbuminurických diabetikov ako u diabetikov s normálnou proteinúriou (Selby, 1996). V inej práci sa nezistil rozdiel v exkrécii hydroxyprolínu u pacientov s exkréciou viac alebo menej ako 25 µg proteínov/mg kreatinínu (Olmos a spol., 1996).

Kostná denzita koreluje s rozsahom diabetickej komplikácií, zvyčajne sa však nenájde korelácia s biochemickými ukazovateľmi (Munoz-Torres a spol., 1996). U pacientov s dlhotrvajúcim diabetom 1. typu sa zistila denzita kostí predlaktia nižšia a hodnoty osteokalcínu vyššie v sére ako u kontrolných osôb, nenašla sa však korelácia medzi denzitou a glykemickou kompenzáciou (Miazgowski a spol., 1995). V diabetickej skupine sa našlo 10 % zníženie denzity krčka stehrovej kosti a 12 % zníženie v distálnych častiach končatín v porovnaní s kontrolnými osobami, no bez rozdielu v denzite lumbálnej chrbtice (Forst a spol., 1995). Je pravdepodobné, že zvýšený krvný prietok kosťou v distálnych častiach končatín má vplyv na zvýšenú aktivitu osteoklastov.

V našej práci sme zistili zvýšený kostný obrat u diabetikov so začínajúcou diabeticou nefropatiou, ale žiadny rozdiel v kostnej denzite. Domnievame sa, že biochemické ukazovatele odrážajú skôr ako denzitometria iniciálne zmeny kostného metabolizmu v predklinickom štádiu diabetickej nefropatie. Preto je dôležité určiť kostný obrat u diabetikov 1. typu s dlhotrvajúcim diabetom a hlavne u diabetikov v začiatocnom štádiu diabetickej nefropatie, niekedy prehliadnutých pre nevýrazné klinické príznaky. Tu má opodstatnenie preventívne podávanie kalcia, vitamínu D a hormonálnej replenej liečby (Dzúrik a spol., 1997).*

Literatúra

Bonfanti R., Mora S., Prinster C. a spol.: Bone modeling indexes at onset and during the first year of follow-up in insulin-dependent diabetic children. *Calcif. Tissue Int.*, 60, 1997, s. 397—400.

* Ďakujeme za vykonanie laboratórnych vyšetrení Ing. H. Kratochvílovej a kolektívu biochemického laboratória I. internej kliniky LFUK a FN a RNDr. K. Rábovej z Onkologického ústavu sv. Alžbety v Bratislave.

- Dzúrik R., Štefíková K., Spustová V.:** Osteoporóza — súčasné možnosti jej diagnostiky, prevencie a terapie. *Slovakofarma Rev.*, 7, 1997, č. 1, s. 2–6.
- Forst T., Pftzner A., Kann P. a spol.:** Peripheral osteopenia in adult patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet. Med.*, 12, 1995, s. 874–879.
- Gallacher S.J., Fenner J.A., Fisher B.M., Quin J.D., Fraser W.D., Logue F.C., Cowan R.A., Boyle I.T., MacCuish A.C.:** An evaluation of bone density and turnover in premenopausal women with type 1 diabetes mellitus. *Diabet. Med.*, 10, 1993, s. 129–133.
- Kocián J., Brunová J.:** Diabetické osteopatie. 4. Laboratorní nálezy. *Vnitřní Lék.*, 36, 1990, s. 460–466.
- Krakauer J.C., McKenna M.J., Buderer N.F., Rao D.S., Whitehouse F.W., Parfitt M.A.:** Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes*, 44, 1995, s. 775–782.
- Miazgowski T., Andrysiak-Mamos E., Czekalski S. a spol.:** Decreased bone mineral density in patients with insulin-dependent diabetes. *Pol. Tyg. Lek.*, 50, 1995, s. 14–15.
- Munoz-Torres M., Jodar E., Escobar-Jimenez F. a spol.:** Bone mineral density measured by dual X-ray absorptiometry in Spanish patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Calcif. Tissue Int.*, 58, 1996, s. 316–319.
- Okazaki R., Totsuka Y., Hamano K. a spol.:** Metabolic improvement of poorly controlled noninsulin-dependent diabetes mellitus decreases bone turnover. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82, 1997, s. 2915–2920.
- Olmos J.M., Garcia M.T., Amado J.A. a spol.:** Urine hydroxyproline increase in patients with diabetes mellitus (letter). *Diabet. Med.*, 13, 1996, s. 284–285.
- Olmos J.M., Perez-Castrillon J.L., Garcia M.T., Garrido J.C., Amado J.A., Gonzales-Macias J.:** Bone densitometry and biochemical bone remodeling markers in type 1 diabetes mellitus. *Bone Miner.*, 26, 1994, s. 1–8.
- Reed P., Holbrook I.B., Gardner M.L., McMurray J.R.:** Simple optimized liquid chromatography method for measuring total hydroxyproline in urine evaluated. *Clin. Chem.*, 37, 1991, č. 2, s. 285–290.
- Rix M., Andreassen H., Langdahl B., Eskildsen P.:** Low bone mineral density in diabetic patients with mild to moderate renal failure. *Diabetologia*, 1996, 39, Suppl. 1, s. A291.
- Seino Y., Ishida H.:** Diabetic osteopenia: pathophysiology and clinical aspects. *Diabetes Metab. Rev.*, 11, 1995, s. 21–35.
- Selby P.:** Urine hydroxyproline in patients with diabetes mellitus. *Diabet. Med.*, 13, 1996, s. 284–285.
- Štěpán J., Šilinková-Málková E., Havránek T., Formánková J., Zichová M., Lachmanová J., Straková M., Broulík P., Pacovský V.:** Relationship of plasma tartarate-resistant acid phosphatase to the bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase in hyperparathyroidism. *Clin. Chim. Acta*, 133, 1983, s. 189–200.
- Šufliarska A., Michalková D., Tomečková E., Sílešová J., Lenková N., Kovács L.:** Mikroalbuminúria a tubulárna reabsorpcia minerálov u detí s diabetes mellitus 1. typu. *Bratisl. lek. Listy*, 99, 1998, s. 26–32.

Received May 12, 1999.

Accepted July 9, 1999.