МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КАТЕДРА ПО ПЕДИАТРИЯ

КОСТНО ЗДРАВЕ ПРИ ДЕЦА И ЮНОШИ СЪС ЗАХАРЕН ДИАБЕТ ТИП 1

ДОКТОРСКА РАБОТА

за присъждане на образователна и научна степен „Доктор“

Научна специалност: 03.01.50 - Педиатрия

Изготвена от д-р Олга Тошкова Славчева – Проданова

Научен ръководител: Доц. Д-р Радка Савова Христова, дм

Научно жури:

Проф. Д-р Стефан Недев Стефанов, дм

Доц. Д-р Маргарита Алексиева Аршинкова, дм

Доц. Д-р Нарцис Нисим Калева-Ходжева, кмн

Доц. Д-р Живка Бонева Асьова, дм

Доц. Д-р Пламен Радоев Попиванов, дм

Резервни членове:

Доц. Д-р Милка Иванова Дикова, дм

Доц. Д-р Чайка Кирилова Петрова, дм

София, 2024 г.

СЪДЪРЖАНИЕ

I. УВОД 10
II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР 13
1. Особености на костния метаболизъм при деца и подрастващи 13
1.1. Кратки данни за физиологията на костната обмяна 13
1.2. ПКМ - определение, значение, полови различия 15
1.2.1. Определящи фактори на ПКМ – генетични, ендокринни, начало на пубертетно развитие, мускулна маса 16
2. Методи за изследване на костното здраве при деца и юноши 23
2.1. Биохимични – маркери за костен метаболизъм 23
2.2. Образни – DXR 28
2.2.1. Предимства 29
2.2.2. Ограничения 30
2.2.3. Приложение в клиничната практика 30
3. Особености на костното здраве при деца и юноши със ЗДТ1 31
3.1. Засягане на костното здраве 31
3.2. Растеж и развитие 31
3.3. Фрактурен риск при ЗДТ1 33
3.4. Характеристика на костта при ЗДТ1 34
3.4.1. Данни за понижена КМП 34
3.4.2. Засягане на кортикално и трабекуларно костно вещество 34
3.4.3. Междуполови различия 35
3.4.4. Зависимост от продължителността и метаболитния контрол на заболяването 35
3.4.5. Еволюция на измененията в КМП 35
3.4.6. Размер на костта при ЗДТ1 36
3.5. Нарушено възстановяване на костта след фрактури 37
4. Патогенеза на костното засягане при ЗДТ1 37
4.1. Дефицит на инсулин и IGF-1 38
4.2. Гликемичен контрол и късни усложнения на ЗДТ1 40
4.2.1. Диабетна нефропатия 43
4.3. Хипергликемия и натрупване на AGEs 44

4.4. Нарушения в калциево-фосфорния метаболизъм 46
4.4.1. Калциев баланс 46
4.4.2. Хиперкалциурия 47
4.4.3. Нива на PTH 48
4.4.4. Нива на магнезий 48
4.4.5. Роля на витамин D 48
4.5. Значение на инфламаторните медиатори 50
4.6. Влияние на метаболитната ацидоза 51
4.7. Понижено ниво на полови хормони (хипогонадизъм)в периода на достигане на ПКМ 52
5. Препоръки за скрининг и превенция 53
6. Изводи от литературния обзор 55
III. ЦЕЛ 57
IV. ЗАДАЧИ 57
V. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ 59
1. МАТЕРИАЛ 59
2. МЕТОДИ 60
VI. РЕЗУЛТАТИ 69
1. Обща характеристика и антропометрични показатели на изследваните пациенти и контроли 69
1.1. Разпределение по възраст и пол 69
1.2. Разпределение по степен на пубертетно развитие 69
1.2.1. Пациенти 69
1.2.2.Контролна група 70
1.3. Антропометрични показатели 71
1.3.1. Разпределение по показателя ръст 71
1.3.2. Разпределение по показателя BMI 73
1.4. Разпределение по давност на ЗДТ1 75
1.5. Разпределение по метаболитен контрол 76
1.6. Разпределение според метаболитния контрол и давността 78
1.7. Средна дневна инсулинова доза на пациентите 80
1.8. Оценка на бъбречна функция 81

2. Общи характеристики на костната обмяна при изследваните пациенти и контроли..81
2.1. Средни стойности на костните маркери.....81
2.2. Средни стойности на изчислените SDS за костните маркери (остеокалцин, бета крос лапс, IGF-1) при пациенти и контроли 82
3. Характеристика на калциево-фосфорна обмяна при пациенти и контроли 83
3.1. Серумни нива на калций и фосфор.....83
3.1.1. Зависимости на серумните нива на калций и фосфор от маркерите за костна обмяна.....84
3.2. Серумно ниво на магнезий 85
3.3. Ниво на PTH.....85
3.4. Стойности на 24-часова калциурия и нейните зависимости при изследваните пациенти 88
3.5. Изследване на дневния калциев прием 91
3.6 Серумни нива на 25(OH)витамин D 93
3.6.1. Разпределение на изследваните пациенти и контроли според статуса на витамин D 94
4. Анализ на взаимовръзките на изследваните костни маркери – абсолютни стойности.....95
4.1. Пациенти 95
4.2. Контроли 96
5. Зависимост на костните маркери от антропометричните показатели, пола и степента на половото развитие 97
5.1. Влияние на антропометричните показатели – ръст, тегло, BMI при пациентите.....97
5.2. Влияние на пола.....99
5.3. Влияние на пубертетния стадий.....101
5.3.1. SDS стойности на костните маркери според пубертетния стадий 103
6. Влияние на ЗДТ1 върху нивата на костните маркери.....108
6.1. Костни маркери и продължителност на ЗДТ1 108
6.1.1.Корелационен анализ 108
6.1.2. Разпределение на костните маркери според продължителността на ЗДТ1 109
6.2. Костни маркери и гликемичен контрол - настоящ и ретроспективен.....113
6.2.1. Корелационен анализ 113

6.2.2. Сравнителен анализ на костните маркери между пациенти с добър и незадоволителен гликемичен контрол 114
6.3. Костни маркери и инсулинова доза 119
6.4. Влияние на възрастта при начало на ЗДТ1 върху нивата на някои костни маркери 120
6.4.1. Корелационен анализ 120
6.4.2. Регресионен анализ 120
6.4.3. Множествен регресионен анализ 123
7. Структурни характеристики на костта, измерени чрез дигитална рентгенова радиограмметрия (DXR) при пациентите 126
7.1. Обща характеристика на изследваните пациенти 126
7.2. Определяне на костната възраст на изследваните пациенти 127
7.3. Характеристика на изследваните пациенти според стойностите на BHI SDS 128
7.3.1. Разпределение на стойностите на BHI SDS по пол 128
7.3.2. Зависимост на BHI SDS от антропометричните показатели, възрастта и пубертетния стадий 129
7.3.3. Зависимост на BHI и BHI SDS от нивата на костните маркери 129
7.3.4. Зависимост на BHI и BHI SDS от показателите на калциево-фосфорната обмяна (серумните нива на калций, фосфор, калциурия и дневен калциев прием) 130
7.4. Характеристики на пациентите с понижени и нормални стойности на BHI SDS 131
7.4.1. Калциево-фосфорна обмяна и костни маркери при пациентите с нормален и понижен BHI SDS 131
7.5. Зависимост на BHI SDS от продължителността на ЗДТ1 133
7.5.1. Разпределение на стойностите на BHI SDS според продължителността на заболяването 135
7.6. Влияние на възрастта при изява на ЗДТ1 върху стойностите на BHI SDS 136
7.7. Влияние на инсулиновата доза върху стойностите на BHI SDS 136
7.8. Влияние на гликемичния контрол върху стойностите на BHI SDS 136
8. Статистически анализ на факторите, определящи BHI и BHI SDS 136
VII. ОБСЪЖДАНЕ 140
1. Възрастово-полова характеристика и антропометрични показатели 140
2. Анализ на маркерите за костен метаболизъм 141

2.1. Анализ на зависимостта на нивата на костните маркери от антропометричните показатели 144
2.2. Анализ на зависимостите между костните маркери при изследваните деца и юноши 145
2.3. Анализ на влиянието на пола върху нивата на костните маркери 146
2.4. Анализ на данните за костните маркери в зависимост от пубертетния стадий 147
3. Калциево-фосфорна обмяна при изследваните деца и юноши - анализ на нивата на калций, магнезий и PTH и техните зависимости 150
4. Анализ на витамин D статуса при изследваните пациенти и контроли 155
5. Анализ на влиянието на някои фактори, свързани със ЗДТ1, върху нивата на костните маркери 157
5.1. Влияние на гликемичния контрол – ретроспекитвен и настоящ- върху нивата на костните маркери 157
5.2. Влияние на продължителността на ЗДТ1 върху нивата на костните маркери 161
5.2.1. Зависимости и динамика на стойностите на костните маркери според продължителността на ЗДТ1 161
5.3. Влияние на дневната инсулинова доза върху нивата на костните маркери 165
6. Структурни характеристики на костта при деца и подрастващи със ЗДТ1 и анализ на зависимостите им 165
6.1. Ограничения на метода 174
6.2. Изводи 174
7. Препоръки за скрининг и превенция на костни нарушения при деца и подрастващи със ЗДТ1 175
VIII. ОБЩИ ИЗВОДИ 178
IX. ПРИНОСИ 179
X. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДОКТОРСКИЯ ТРУД 181
БИБЛИОГРАФИЯ 182

ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

БДЕ – Българско дружество по еднокринология

ДКА – диабетна кетоацидоза

ЗД – захарен диабет

ЗДТ1 – захарен диабет тип 1

ЗДТ2 – захарен диабет тип 2

КАТ – компютърна аксиална томография

кАФ – костна алкална фосфатаза

КМП – костна минерална плътност

кКМП – кортикална костна минерална плътност

КМС – костно минерално съдържание

ПКМ – пикова костна маса

25(OH) витамин D, 25(OH)D – 25 хидрокси витамин D

AGEs – advanced glycation end-products, крайни продукти на гликозилирането

ALS – Acid labile subunit, киселинно лабилна единица

aP2 – adipocyte lipid binding protein-2, адипоцитен свързващ мастни киселини протеин

BHI – Bone Health Index, Индекс на костно здраве

BHI SDS – Bone Health Index Standard Deviation Score, стандартно отклонение за индекса на костно здраве

BMI – Body Mass Index, индекс на телесна маса

BMP-2 – Bone Morphogenic Protein-2, костен морфогенен протеин

Ca/Cr – calcium creatinine ratio – съотношение калций към креатинин

CaSR – calcium-sensing receptor, калций-чувствителен рецептор

CDC – Center for Disease Control and Prevention, Център за контрол и превенция на заболяванията

CSF-1 – colony - stimulating factor – 1, колония-стимулиращ фактор-1

DXA – dual-energy X-ray absorptiometry – двойно-енергийна рентгенова абсорбциометрия

DXR – Digital X-ray Radiogrammetry,дигитална рентгенова радиограмметрия

GFR – Glomerular Filtration Rate, скорост на гломерулна филтрация

GH – growth hormone, растежен хормон

IFCC – International Federation of Clinical Chemistry ,Международната федерация по клинична химия

IGF-1 – Insulin –like Growth Factor-1, инсулиноподобен растежен фактор - 1

IGFBPs – 1, 2, 3 – IGF-1 Binding Proteins-1,2,3, свързващи инсулиноподобния растежен фактор протеини -1,2,3

IL – Interleukine, интерлевкин

IOF – The International Osteoporosis Foundation, Международна фондация по остеопороза

IRS-1, 2 – Insulin Receptor Substrate-1, 2, инсулин рецепторен субстрат-1,2

ISCD – International Society for Clinical Densitometry, Международно дружество по клинична дензитометрия

ISPAD – International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes, Международно дружество по детски и юношески диабет

MAP/ERK – mitogen-activated protein kinase/ extracellular signal-regulated kinase митоген-активирана протеинкиназа/екстрацелуларно регулирана киназа

OPG – osteoprotegerin, остеопротегерин

PPAR-γ – peroxisome proliferator-activated receptor gamma, пероксизомен пролиферативно-активиран рецептор-γ

pQCT – peripheral quantitative computer tomography, периферна количествена КАТ

PTH – Parathyroid hormone, паратхормон

PTHrP – parathyroid hormone-related protein, протеин, свързан с паратхормона

RAGE – receptor for advanced glycation end-products, рецептор за крайни продукти на гликозилирането

RANKL – Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, рецептор-активатор за ядрен фактор капа

SD – standard deviation, стандартно отклонение

SDS – standard deviation– standard deviation, индекс на стандартно отклонение

SHBG – Sex- hormone binding globulin, глобулин –свързващ половите хормони

TNF-α – Tumor necrosis factor- α, тумор некротизиращ фактор

TSHR – Thyroid-stimulating hormone receptor, рецептор за тиреоид-стимулиращ хормон

VEGF – vascular endothelial growth factor, васкуларен ендотелен растежен фактор

I. УВОД

Захарният диабет (ЗД) представлява сложно метаболитно разстройство, характеризиращо се с хронична хипергликемия, която е резултат от дефект в инсулиновата секреция, инсулиновото действие или и двете. Неадекватната инсулинова секреция води до недостатъчност на инсулиновото действие върху прицелните тъкани и последващи нарушения във въглехидратния, белтъчния и липидния метаболизъм (1).
Захарният диабет тип 1 (ЗДТ1) е едно от най-често срещаните хронични заболявания в детска възраст. В повече от 90% от случаите при децата той е с доказана автоимунна генеза, определяща абсолютен инсулинов дефицит и необходимост от незабавно заместително лечение. (2)

През 2017 година 0,2% от населението на Земята под 20 годишна възраст страда от диабет, това са над 1,1 млн души, като всяка година се откриват около 80 хил нови случаи (3) или приблизително 3% годишно увеличение (4). Заболеваемостта в България също нараства от 6/100 000 през 80-те години на 9,4/100 000 в периода 1990-1999г (5,6,7)

В прединсулиновата ера диагнозата захарен диабет е била равнозначна на смъртен изход при децата за кратък период от време. Напредъкът на технологиите в инсулиновото лечение и цялостната грижа за диабетно болните позволяват значително удължаване на продължителността на живот на тези пациенти, доближаваща се до тази на останалата популация. Въпреки това, със своя нелечим хронично-дегенеративен ход ЗД както при деца, така и при възрастни все още води до редица късни хронични усложнения, включително засягащи и костната система, които са предмет на особено интензивно изучаване и търсене на терапевтични решения през последните години (8).

За пръв път преди повече от 65 год в трудовете на Albright и Reifenstein захарният диабет с лош метаболитен контрол е свързан със загуба на костна маса и остеопороза (9).

През последните десетилетия фокусът на вниманието на специалистите вече не е само върху „спешните", краткотрайни аспекти на хроничните заболявания при деца, но и върху оценката, профилактиката и лечението на средно- и дългосрочните им усложнения. През 50-те и 60-те години на XX век се въвежда и понятието „диабетна остеопения". При пациентите със ЗДТ1 са наблюдавани редица нарушения като:

намалена костна минерална плътност (КМП), промени в костната структура и размери, потисната костна обмяна, нарушено възстановяване на костта след фрактури (10).

Редица трансверзални и проспективни проучвания, обхващащи огромна кохорта от пациенти категорично показват, че ЗДТ1 е свързан с повишен риск от фрактури на която и да е част от скелета, както при мъже, така и при жени (11 - 14). Само рискът от бедрени фрактури при тези пациенти е 6 пъти по-висок в сравнение със здрави контроли (15). Нещо повече – повишеният фрактурен риск е налице още от детска възраст (16). Това е факт с голямо социално значение, имайки предвид увеличаващата се честота на новозаболели от ЗДТ1, както и здравните последици и смъртността от бедрените фрактури.

Проучванията на костното здраве традиционно се фокусират върху костната загуба с възрастта, но не по-малко важни са факторите, формиращи костното здраве в ранните етапи на живота и осигуряващи оптимални условия за натрупване на пикова костна маса (ПКМ). Така преди повече от 40 год, остеопорозата е наречена „педиатрично заболяване с изява в късната възраст“ (17). Създаден е математически модел за определяне на относителното влияние върху фрактурния риск на три показателя: ПКМ, менопауза и костна загуба с възрастта. Чрез него е изчислено, че увеличение на ПКМ с 10% би отложило началото на остеопорозата с 13 години, докато 10%-но увеличение на възрастта на настъпване на менопауза или 10%-но намаление на възрастовата костна загуба, би отложило началото на остеопорозата само с 2 години. Този теоретичен анализ показва, че вероятно най-важният фактор за превенцията на остеопорозата е именно достигането на оптимална ПКМ (18).

Все още обаче не са изяснени всички фактори на патогенезата на костното засягане при тези пациенти. Изследванията в световен мащаб показват разнопосочни резултати, както по отношение на костната минерална плътност (КМП) (19, 20, 21, 22), така и на маркерите на костна обмяна (23, 24, 25, 26). До голяма степен това се дължи на факта, че се обхващат хетерогенни популации от деца и юноши, намиращи се на различен етап от пубертетното си развитие и съответно от натрупването на ПКМ, с различен метаболитен контрол и продължителност на заболяването.

За разлика от останалите усложнения на ЗДТ1, за костното засягане не съществуват единни стандарти за скрининг и лечение както при възрастни, така и при деца. Всичко това налага изработване на стратегии за своевременен скрининг и профилактика на костните изменения още при пациентите в педиатричната възрастова група. Необходими са още проучвания, включително проспективни и интервенционални, които да спомогнат за изясняване на сложната патогенеза на костното засягане при ЗДТ1, както и за оценка на методите за превенция и терапия.

II. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. Особености на костното здраве при деца и подрастващи

1.1. Кратки данни за физиологията на костната обмяна

Костната обмяна на растящия детски организъм има редица специфични особености, отличаващи я от тази при възрастните, при които костният размер и форма остават относително постоянни с времето. При деца и подрастващи костната обмяна включва три процеса: нарастване на дължина, нарастване на ширина и костно ремоделиране (27).

Костта представлява минерализирана съединителна тъкан, която включва четири типа клетки – остеобласти, остеокласти, остеоцити и клетки, ограждащи коста (bone lining cells). Другите два основни компонента са органичния матрикс и минералите. (28).

Съществува разлика в начина на нарстване на различните типове кости. Дългите кости нарастват чрез енхондрална осификация, а плоските – чрез интрамембранозна. Основна роля играят и хондроцитите, които преминават през последователи етапи на почивка, пролиферация, пре-хипертрофичен и хипертрофичен растеж. Паралелно с това започва и ангиогенезата - под влияние на секретирания от хипертрофичните хондроцити васкуларен ендотелен растежен фактор (vascular endothelial growth factor, VEGF). Васкуларизацията се последва от миграция на остеобласти, остеокласти и хемопоетични клетки, които формират т.нар.първичен осификационен център. Хипертрофичните хондроцити претърпяват апоптоза и се заместват от остеобласти, които в последствие формират трабекуларна кост. Тя е се разполага по краищата на дългите кости, прешлените и плоските кости. В зоната на епифизите се формират вторични осификационни центрове и растежна плочка. Чрез нея костите нарастват на дължина. В края на растежа епифизите се сливат под действието на естрогени (27).

Остеобластите и адипоцитите имат общ предшественик - мезенхимна стволова клетка. Диференциацията зависи от финия баланс между Wnt – и PPAR-γ (peroxisome

proliferator-activated receptor-γ) сигналните пътища за остеобластите и адипоцитите съответно (29).

Остеоцитите съставляват 90–95% от костните клетки и произлизат от остеобласти, които са се вградили в костния матрикс. Дендритните израстъци на остеоцитите се разклоняват в мрежи от каналикули. Те служат като механорецептори, които регулират костното моделиране и ремоделиране чрез контрол върху остеобластите посредством Wnt сигналия път и върху остеокластите - чрез рецепторния активатор на NF-κB (RANK) ligand (RANKL) (30).

На клетъчно ниво формирането на костния матрикс и минерализацията се осъществяват от остеобластите, а костната резорбция – от остеокластите. На тъканно ниво координацията на костното формиране и костната резорбция осигурява костното моделиране (формиране на нова кост), както и костното ремоделиране. Чрез него се поддържа и обновява скелета, като първо старата кост се премахва, а в последствие се заменя от нова (31).

В процесите на костно ремоделиране участват клетките на костта, имунни клетки, рецепторният активатор на нукеарния фактор κB (nuclear factor-κB/receptor activator of the NF-κB ligand), остеопротогериновата система и сложна каскада от медиатори като простагландини, интерлевкини, хемокини, левкотриени, растежни фактори, Wnt сигналният път и морфогенни протеини. Сигналът за ремоделиране в една костна единица се задава от остеоцитите. Незрелите остеобласти могат да получават и сигнали от хормонален произход, например от паратхормона (PTH). Активирани, остеобластите по цитокинен път активират остеокластите. Важна роля играят цитокини като CSF-1 (colonystimulating factor 1) and RANKL (receptor activator of NF-B ligand). Osteoprotegerin - 2 (OPG 2) е разтворим рецептор за „примамка“ на RANKL и играе роля на физиологичен негативен регулатор на остеокластогенезата (32).

Отношението RANKL:OPG определя остеокластната диференциация и активност. То се регулира от системни хормони и локални цитокини, които контролират ремоделирането: естрогени, PTH, глюкокортикоиди, тумор-некрозис фактор α (TNF-α), интерлевкин 1 (IL-1), and простагландин E2 .

Остеокластите съставляват 1-2 % от костните клетки, които чрез сложни ензимни химични процеси резорбират костния матрикс и минералите. Те произхождат от хемопоетични стволи клетки (33).

Редица физични и ендокринни фактори регулират костното формиране. Сред най-важните е механичното натоварване, което стимулира осификацията и регулира промените в костната геометрия и плътност (34).

1.2. Пикова костна маса (ПКМ) – определение, значение, полови различия

Процесът на активно натрупване на костна маса от растящия организъм се означава като достигане на „пикова костна маса“ (ПКМ). Тя отразява процесите на по-нататъшно минерализиране и консолидиране на костта след завършване на линеарния растеж през третата-четвъртата декада от живота (35,36).

ПКМ отразява възможността на индивида за достигане на пълния му генетичен потенциал за костна сила – кост, достигнала максимални размери и маса при липса на негативни външни фактори (хранителен дефицит, субоптимално механично натоварване и др.)(37).

Около 80-90% от ПКМ се натрупва през първите две десетилетия от живота, най-интензивно в периода между 12 и 16 годишна възраст (2-4-ти стадий по Танер) – около 40% от ПКМ. Това е около два пъти повече от натрупаната костна маса в периода между раждането и началото на пубертета, и повече от общата костна загуба през по-нататъшния живот (38).

Установени са и междуполови различия. При момичетата темпът на натрупване спада бързо след настъпване на менархе и трае средно 3 години (11-14 год възраст). При момчетата този процес започва по-късно, но трае по-дълго – средно 4 години (13-17годишна възраст) (39). Това води и до редица структурни различия между двата пола с по-голям размер и кортикална дебелина на костите при мъжкия пол. Предполага се, че те имат еволюционна роля - осигуряват по-голяма здравина на мъжкия скелет и

възможност за по-бърза калциева мобилизация за нуждите на растящия фетус и на лактацията при женския (40,41).

Значението на достигането на ПКМ при оптимални условия е потвърдено и при епидемиологични изследвания на фрактурния риск при възрастни (42). Така 10% -но увеличение (около 1 SD) на ПКМ би намалило фрактурния риск с 50% при постменопаузални жени (43).

Осигуряването на оптимални условия за достигане на ПКМ по време на растежа представлява важна стратегия за превенция на остеопороза и фрактури в последващите години (43).

1.2.1. Определящи фактори на ПКМ – генетични, ендокринни, начало на пубертетно развитие, мускулна маса

- **Генетични фактори**

Наследствеността определя 60-80% от вариабилността на костната минерална маса (44).

Провеждат се проучвания в търсене на вероятните гени, пряко регулиращи натрупването на костна маса и свързаните с нея остеопороза и моногенни костни болести, сред тях са: за витамин D рецептора *(VDR)*, за естрогеновия рецептор алфа 1 *(ESR1)*, за тип 1 колаген *(CollA1),* за low-density lipoprotein receptor-related protein 5 *(LRP5)* и др (45).

- **Ендокринни фактори – GH, IGF-1, инсулин, PTH, полови и тиреоидни хормони**

От ендокринните фактори с най-голямо значение са оста растежен хормон (Growth hormone, GH) – инсулиноподобен растежен фактор -1 (Insulin-like Growth Factor, IGF-1)(46,47) и половите хормони (48,49).

Секретираният от хипофизата GH регулира хепаталната синтеза на серумния IGF-1, но упражнява и директен ефект върху остеобластите и остеоцитите. Пролиферацията на хондроцитите в растежната плочка се стимулира директно от GH (50). Много от

ефектите на GH се медиират чрез повишената експресия на IGF-1 в черния дроб или периферните тъкани. От значение за костния растеж са, както нивата на серумния (ендокринен), така и на локално секретираният (авто-/паракринен) IGF-1. Заедно с инсулина, GH и IGF-1 са анаболни фактори и участват в регулацията на въглехидратния и липидния метаболизъм, стимулирайки растежа, развитието и костното минерално натрупване (51).

В съвременни проучвания при миши модели, рестриктирани генетично за чернодробна продукция на IGF-1 и свързващите го протеини- Acid labile subunit (ALS) и Insulin like growth factor binding protein (IGFBP)-3 , както и за локалната продукция на IGF-1 от хондроцитите, се доказва независимата от IGF-1 директна стимулираща роля на GH върху растящата кост (52).

Циркулиращият в кръвообращението IGF-1 оказва ефект върху костта, като посредством Wnt-сигналния път потиска остеобластната апоптоза и стимулира остеобластогенезата (53). Освен това той стимулира остеобластната функция - синтеза на колаген тип I и костна алкална фосфатаза (кАФ). IGF-1 повлиява ендокринните и транспортни функции на бъбреците с цел максимално запазване на минералите, необходими за матриксната минерализация. От една страна увеличава реабсорбцията на фосфор в реналните тубули, от друга стимулира синтезата на 1,25$(OH)_2$витамин D и индиректно увеличава интестиналната абсорбция на калций и фосфор. Свързването на IGF-1 с неговия рецептор е прецизно контролирано от шест високоафинитетни протеини (IGF-1 Binding Proteins, IGFBPs), които осъществяват транспорта му в кръвта.

Отстраняването на рецептора на IGF-1 (IGF1R) от зрели остеобласти води до намален обем на трабекуларната кост и значително намалена скорост на минерализация, без да се засяга размера на костите. Отстраняването му и от незрели остеобласти води до забавяне на растежа с намалена КМП и метафизарни дефекти. Свърхекспресията на този рецептор обратно - води до значително повишена КМП.

По време на пубертетния растежен скок нивата на IGF-1 се увеличават и следват кривата на нарастване на ръста и костната маса (35). През този период действието на IGF-1 се намира в тясно взаимодействие с половите хормони. При животински модели ниски концентрации естроген стимулират хепаталната продукция на IGF-1, докато високите имат противоположен ефект (54).

Двуфазното действие на естрогените и андрогените се състои в това, че първоначално ускоряват растежа, а в последствие предизвикват затваряне на растежните плочки. Главният андроген от тестикуларен произход- тестостеронът, се превръща от ензима ароматаза в мастната тъкан в 17β-естрадиол, който при мъжете също упражнява метаболитните си ефекти върху костите чрез естрогеновите рецептори. Доколкото при мъжете се натрупва много по-голяма костна маса, се предполага и директното действие на тестостерона и андрогените от надбъбречен произход върху растежните плочки. Открити са андрогенови рецептори в костите и е анализирана тяхната роля в различните аспекти на костен растеж. Докато естрогеновият рецептор ERα осигурява линеарният растеж на костите в зоните на растежната плочка и в по-малка степен радиалния при мъже, то андрогеновият рецептор стимулира предимно радиалния растеж. При жените радиалният растеж на костите се стопира от повишените нива на естрогените чрез естрогеновия рецептор ERβ (55).

Не само по време на растежа, но и през целия жизнен цикъл, GH и половите хормони са свързани с поддържането на костната маса чрез адекватно костно ремоделиране, предотвратяващо остеопенията. Последната се наблюдава както при първичен, така и при вторичен хипогонадизъм и/или дефицит на GH при мъже и жени (56).

Инсулин

С анаболните си ефекти инсулинът играе важна роля в пренаталния период на растеж и развитие. Неговият дефицит при неонаталните моногенни форми на захарен диабет е отговорен за значителното интраутеринно изоставане в растежа спрямо гестационната възраст (57,58).

Инсулинът и IGF-1 са малки пептидни хормони с голяма степен на хомоложност. И двата пептида увеличават глюкозната утилизация, като инсулинът има много по-мощен ефект (59). Инсулинът и IGF-1 използват общи пострецепторни медиатори. Това става чрез фосфорилиране на IRS-1 и 2 (Insulin Receptor Substrate) с последващо активиране на фосфатидилинозитол 3-киназа, както и чрез активиране на митоген-активираните протеин кинази – (MAP)/ERK кинази (60). Сигналните пътища на инсулина и IGF-1 взаимодействат с двата големи остеогенни сигнални пътя – Wnt и BMP-

2 (Bone Morphogenic Protein-2). Така синергичното действие на инсулина и IGF-1 има значителен потенциал да стимулира остеогенезата (61).

Инсулинови рецептори се намират в костномозъчни прогениторни клетки, в нормална и регенерираща се костна тъкан. При мишки генетично моделирани без инсулинов рецептор в остеобластите, последните имат компрометирана диференциация и ускорена апоптоза със значително намаление в броя им (79%), свързано и с драматично намаление в развитието на трабекуларната кост. Дефектът не се коригира при приложение на IGF-1, потвърждавайки пряката и независима от IGF- 1 роля на инсулина (62, 63).

Проучване на животински модели (64) с клетъчен мозаицизъм за липсващ инсулинов рецептор (в 98%) показва забавен растеж, наличие на захарен диабет, близо 60 пъти по-висока хепатална експресия на IGFBP-1 и костен фенотип, сходен с този при много тежък диабет с драматичен спад в костните маркери - тежка остеопения с намален брой и функция на остеобласти и остеокласти, водещи до общо потисната костна обмяна.

При пострецепторни инсулинови дефекти (липса на IRS-2 сигналния път) се установява и повишена експресия на RANKL върху остеобластите и съответно стимулирана остеокластогенеза (60). Прилагането на IGF-1 не коригира тези аномалии и показва директен и независим ефект на инсулина (65).

Високото ниво на експресия на инсулинови рецептори върху остеобластите и свързването им с инсулина води до клетъчна пролиферация, продукция на алкална фосфатаза, колаген и повишено глюкозно усвояване. Сумарният анаболен ефект на инсулина се изявява и чрез неговите рецептори върху остеокластите с инхибиторен ефект върху тяхната функция (66).

Инсулинът стимулира директно или чрез IGF-1 и хондроцитната пролиферация и активност (67). Той притежава и индиректен ефект върху костната обмяна. Той потиска синтезата на глобулина, свързващ половите хормони (Sex- hormone binding globulin, SHBG) съответно води до по-високи нива на свободен естроген и тестостерон, които от своя страна оказват положителни ефекти върху КМП (68).

Тиреоидни хормони

Нови проучвания установяват, че извън оста хипоталамо-хипофиза-тиреоидна жлеза рецептори за TSH (TSHR) има в редица други тъкани, сред които е и костната. Експресия на TSHR се открива в мезенхимните клетки, които се диференцират в хондроцити, в зоната на растящата хрущялна плочка, в остеобластите и остеокластите, но значението му все още не е изяснено. Допуска се супресиращото действие на стимулирания TSHR върху остеокластогенезата и костното ремоделиране (69). Отсъствието на TSH при генетично моделирани мишки в еутиреоидно състояние предполага засилен костен катаболизъм (70).

Скелетът е изключително чувствителна прицелна тъкан за щитовидните хормони, която демонстрира критичната им роля по време на развитието още от ембрионалния период, линеарния растеж, както и обновяване и поддръжка на костите при възрастни. Проучванията при генетично променени мишки доказват анаболните ефекти на Т3 по време на растежа и катаболните ефекти при костта на възрастните. Тиреотоксикозата е установена причина за вторична остеопороза (71). In vivo в процеса на енхондралната осификация и линеарния растеж Т3 взаимодейства с още няколко ключови сигнални пътища като Indian hedgehog (IHH), протеин, свързан с паратхормона (parathyroid hormone-related protein PTHrP), IGF-1, Wnt, BMPs, Fibroblast growth factors (FGFs) и лептин (72).

Основната роля на Т3 е да стимулира експресията на гените, отговорни за синтезата на хрущялния матрикс в лицето на матриксните протеогликани и колагена, минерализацията и по-нататъшната деградация на същите. Остеобластите също експресират рецептори за Т3.

Нефизиологично високото ниво на тиреоидни хормони увеличава броя на остеокластите и тяхната активност с резултат костна загуба. Не е ясно дали костната резорбция се дължи на директния стимулиращ ефект на Т3 върху остеокластитие или индиректно чрез ефект, медииран от остеобластите, остеоцитите, стромалните клетки или други клетъчни линии на костния мозък. Допуска се и загубата на протективната роля на TSH върху костната резорбция (73).

Тиреоидните хормони са изключително важни за координирания процес на енхондрално осифициране чрез стимулиране на гените, които контролират хондроцитната матурация и синтезата на хрущялния матрикс, неговата минерализация и деградация. Еутироидното състояние през целия живот е важно за поддържане интегритета и здравето на костите.

Паратхормон (PTH)

PTH е основен регулатор на калциево-фосфорната обмяна. Той повишава нивото на калция с директен ефект на освобождаването му от скелета, директен ефект върху бъбреците с намаляване на реналния му клирънс и индиректно – чрез повлияване на 1α-хидроксилазата в бъбреците и стимулиране синтезата на 1,25$(OH)_2$витамин D. Секрецията на PTH е тонична, пулсатилна и се контролира от калций-сензитивни рецептори (CaSR) върху мембраната на паратироидните клетки (74).

Друг важен ефект на PTH е потискане на реналната тубулна реабсорбция на фосфора. Повишените нива на серумния фосфор могат също да стимулират секрецията на PTH (75).

Рецепторът за PTH (PTHR1) е трансмембранен G протеин, намиращ се в остеобластите, остеоцитите и реналните тубулни клетки. PTH упражнява директен ефект върху остеобластите и остеоцитите и индиректен ефект върху остеокластите, като има двупосочни ефекти върху костна формация и костна резорбция. Крайните резултати - анаболни или катаболни зависят от продължителността и периодичността на неговата експозиция. Докато PTH стимулира костното ремоделиране като цяло, костната резорбция преобладава при излагане на високи нива на PTH за продължителен период от време. Излагането на ниски, интермитентни дози на PTH води до нетно нарастване на костната маса (76).

PTH (1–34) (Teriparatide), биологично активният N - терминален фрагмент на човешкия PTH се прилага клинично за увеличаване на костната маса при остеопорозата (77).

Двете форми на експозиция на хормона -постоянна или интермитентна, регулират в костните клетки експресията на различен набор от гени или алтернативно -едни и същи гени с постоянно или временно въздействие, с което фаворизират или костната

резорбция, или костното формиране. С интермитентно, но не постоянно венозно приложение на PTH е открит при генетично модифицирани мишки механизмът на превключване към костно формиране с експресия на критичен медиатор- секреторен левкоцитен протеазен инхибитор (secretory leukocyte protease inhibitor, SLPI), силно представен при остеобластите. Той индуцира тяхната диференциация, засилва адхезионния контакт остеобласти-остеокласти, с което супресира остеокласната активност. Така той се явява критичен медиатор за индуцирано от PTH костно формиране (78).

При продължително постоянно стимулиране (например постоянна инфузия на PTH в опитни постановки), се експресира RANKL и супресира OPG в първичните остеобласти, нараства отношението RANKL/OPG, което отключва остеокластогенезата и костната резорбция (79).

Проучвания при подрастващи деца и миши модели установяват завишение в нивата на PTH по време на костното нарастване, предполагайки роля в костното формиране по време на растежа (80 - 82).

- **Начало на пубертетно развитие**

Друг важен фактор за натрупването на костната маса е възрастта при започване на пубертета. Физиологично пубертетното съзряване започва в широк възрастов диапазон – 8-12 год за момичета и 9-13год за момчета. Възрастта на менархе се повлиява до голяма степен от наследствеността – около 74% от вариабилността ѝ, докато останалите 26% се дължат на външни фактори (83).

Установено е, че дори и във физиологични граници, възрастта при започване на пубертета е пряко свързана с риска от развитие на остеопороза в зряла възраст и при двата пола. Проспективно проучване при здрави момичета установява негативна корелация на възрастта на менархе с КМП (по-голяма възраст - по-малка КМП) (84).

При мъжкия пол се откриват сходни зависимости между възрастта на максимален растеж (аналогичен на менархето показател за оценка на пубертетното развитие) и костната плътност. Установено е, че „закъснение“ с 1 година на възрастта с максимален растеж води до увеличение на риска от фрактури на горните крайници с 40% (85).

Точните причини не са докрай изяснени - вероятно значение има голямата вариабилност в продължителността на естрогеновата секреция от пубертета до зряла възраст, както и редица генетични фактори (84, 86, 87).

- **Мускулна маса - роля на миокините във функционалната единица кост-мускул**

Дълго време тежестта на тялото (силата на гравитацията) се е считала за главната механична сила, стимулираща костното моделиране/ремоделиране. По-нови проучвания показват, че мускулната сила е количествено по-важен фактор, чието действие започва още по време на вътреутробния живот, паралелно с костната минерализация (88).

Подобно на костта, мускулите са ендокринен орган, пряко участващи в хомеостазата на глюкозата, мазнините и белтъчините чрез усвояване на глюкоза и мастни киселини, инсулинонезависимо при физическа активност, но и чрез доставка на прекурсори за глюконеогенезата и белтъчната синтеза чрез феномена протеолиза.
Костите са подлежащи механични носители и лостове за скелетните мускули при упражняване на тяхното движение и сила. Заедно те формират функционална единица, като непрекъснато си разменят сигнали и взаимно потенцират своето развитие и функционалност. Механичното натоварване е ключов механизъм, свързващ двете тъкани. С редица сигнални молекули (миокини) като IGF-1, basic fibroblast growth factor (FGF-2), interleukin-6 (IL-6), IL-15, myostatin, osteoglycin (OGN) и остеоактивин мускулите упражняват своите ефекти върху костите (89).

2. Методи за изследване на костното здраве при деца и юноши

2.1. Биохимични методи - маркери за костен метаболизъм

Биохимичните маркери за костен метаболизъм са вещества, отделяни от костта в системното кръвообращение, които могат да бъдат количествено измерени чрез изследване на серум или урина. Лабораторните изследвания играят обединяваща роля в оценката и диференциалната диагноза на метаболитните костни заболявания. Техни преимущества са: неинвазивност, сравнително ниска цена, не изискват предварителна

подготвка, имат висока информативна стойност, когато са приложени и интерпретирани коректно (90). Изследването на биохимични костни маркери допълва образните изследвания и позволява ранно откриване на изменения в хода на болестно състояние или при специфично лечение – преди промените в КМП (91), както и оценка на динамиката им.

Костната сила е пряко свързана с костната плътност, но метаболитното състояние на костта е не по-малко значим фактор по отношение на фрактурния риск (92). Кост, която се намира в състояние на повишен обмен - остеопороза, хиперпаратиреоидизъм и др, може да има намалена механична устойчивост в сравнение с кост, която реагира с нормално ремоделиране на физиологични натоварвания (92). Този феномен е независим от костната плътност.

Според препоръките на ISCD (International Society for Clinical Densitometry) комбинираното изследване на физическите показатели и биохимичните костни маркери е информативно и необходимо при оценка на намалената костна маса при деца (93). Все по-голяма част от рутинно използваните при възрастни показатели вече се изследват и при педиатричните пациенти (91). Вероятно най-голямото предимство на изследването на костните маркери в детската възраст е възможността да бъдат оценявани многократно през кратки времеви интервали без негативни последици (94).

Костните маркери в детска възраст следват своя динамика по време на пре- и постнаталното развитие. Секрецията им е значително повлияна както от физиологични – възраст, пол, скорост на растеж, хранителен и пубертетен статус, така и от патологични състояния – дефицит на GH и витамин D, недохранване, малабсорбция (90).

Маркерите за **костно формиране** отразяват дейността на остеобластите и включват междинни продукти от синтезата на колагена, остеобластни ензими или протеини от костния матрикс (94). Най-често изследвани в педиатрията са: изоформите на алкална фосфатаза (АФ), остеокалцин и разпадните продукти на проколагена – P1NP (проколаген тип 1 N-терминален пропептид) и P1CP (проколаген тип 1 C-терминален пропептид).

Остеокалцинът е най-широко разпространеният неколагенов белтък в костния матрикс, който се синтезира и се отделя от остеобластите и остеоцитите по време на минерализацията (91). Смята се за чувствителен и специфичен маркер, чиито нива нарастват през периоди на усилен растеж и корелират добре с темпа на минерализация

(95, 96). Установени са и допълнителни функции, свързани с регулацията на бета клетките, натрупването на мастна тъкан и глюкозния метаболизъм като цяло (97, 98).; Остеокалцинът стимулира бета-клетъчната пролиферация и повишава инсулиновата чувствителност на ниво черен дроб, мускули и мастна тъкан чрез стимулиране експресията на гена на адипонектина в последната (99).

Скорошен голям метаанализ, обхващащ само проучвания в детска и юношеска възраст установява значително понижено ниво на остеокалцина при всички деца и подрастващи със ЗДТ1 (100). Пониженото ниво на остеокалцин отразява понижен брой и/или функция на остеобластите и съответно - понижено костно формиране при ЗДТ1 (101). При възрастни пациенти със ЗДТ1 нивото на остеокалцин е и негативно свързано с продължителността на заболяването, HbA1c и BMI (102).

Костната изоформа на алкална фосфатаза (**кАФ**) е екзоензим, намиращ се на външната повърхност на остеобластите. Той се синтезира и от хипертрофичните хондроцити на епифизарната растежна плочка и отразява лонгитудиналния растеж на костта при деца (103).

Ролята на АФ в костния метаболизъм все още не е докрай изяснена (91). Знае се, че кАФ е главен регулатор на костната минерализация – хидролизира неорганичния пирофосфат (инхибитор на минерализацията) и осигурява неорганичен фосфат, необходим за синтезата на хидроксиапатит (104). В растящия детски организъм преобладава костната изоформа. Липсата ѝ води до хипофосфатазия – тежък и често летален минерализационен дефект. При всички форми на рахит се наблюдава завишено ниво на АФ (91).

Свързаните с възрастта промени в серумната кАФ показват значима положителна корелация със скоростта на растеж и при двата пола. При пациенти с дефицит на GH се наблюдава значимо увеличение на нивото на кАФ след започването на заместителна терапия, което предоставя допълнителна възможност за мониториране на тази терапия (90).

Основната част от маркерите за **костна резорбция** представляват остеокластни ензими и продукти от разграждането на колагена (94). Такива са бета крос лапс, тартарат-

резистентна киселa фосфатаза, уринен хидроксипролин, пиридионолин и деоксипиридинолин.

Международната фондация по остеопороза (The International Osteoporosis Foundation, IOF) и Международната федерация по клинична химия (IFCC) препоръчват изследването на **бета крос лапс** като основен маркер за костна резорбция (105). Той представлява част от молекулата на тип I колаген. Високи нива се наблюдават при всички състояния, свързани с повишена костна резорбция – остеопороза, остеопения, хипертиреоидизъм, хиперпаратиреоидизъм. Рутинно се изследва при проследяване ефекта на антирезорбтивната терапия при възрастни пациенти (90).

Редица изследвания при пациенти и животински модели на ЗДТ1 показват, че костната резорбция е минимално засегната в сравнение с по-сериозните изменения в костното формиране (101).

Обсъжда се и рутинното изследване на нови маркери, отразяващи по-специфично промените, наблюдавани при ЗД – склеростин, остеопротегерин, RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) и др (100).

Остеопротегерин/RANKL системата – остеопротегеринът (OPG) е циркулиращ гликопротеин, принадлежащ към семейството на tumor necrosis factor receptor (TNFR). Системата OPG/RANKL регулира активността на остеокластите и съответно костната резорбция. Редица проучвания при деца и подрастващи със ЗДТ1 показват увеличени нива на разтворимия RANKL и OPG при тези пациенти на фона на значимо понижена КМП. Установява се и положителна корелация с нивото на HbA1c (106, 107, 108). Вероятно в бъдеще OPG би могъл да се използва като нов биохимичен маркер за понижена КМП при деца и подрастващи със ЗДТ1.

Склеростин – маркер за функцията на остеоцитите белтък, кодиран от *SOST* гена. Представлява ендогенен инхибитор на Wnt/beta-catenin анаболния сигнален път, т.е. на костното формиране (253). Проучвания при пациенти със ЗДТ1 показват повишени нива в сравнение със здрави контроли. Редица проучвания при деца и подрастващи със ЗДТ1 съобщават за значително повишени нива на склеростин (109, 255), вероятно свързани с нарушената секреция на PTH, хипергликемията и AGEs (255). Предполага се и положителна връзка с продължителността на заболяването при деца със ЗДТ1 (109, 110).

Лептин - In-vitro проучвания показват,че той действа на ниво прогениторни клетки в костния мозък и стимулира диференциацията им към остеобласти за сметка на тази към адипоцити (111). Резултатите от няколко проучвания при пациенти със ЗДТ1 обаче са противоречиви, вероятно свързани с различния метаболитен статус, нивата на плазмения инсулин, индекса на телесна маса и пр (112-114). Предстои да бъде изяснена пряката връзка между нивата на лептина и КМП при деца и подрастващи със ЗДТ1.

2.2. Образни методи – дигитална рентгенова радиограмметрия, (Digital X-ray Radiogrammetry, DXR)

Златният стандарт за определяне на костната плътност при възрастни е двойно-енергийната рентгенова абсорбциометрия (dual X-ray absorptiometry,DXA). Той е и основен метод, използван при деца и подрастващи. В България възможността за такова изследване на педиатрични пациенти е силно ограничена и е налице само в най-големите университетски центрове. Изисква се не само специален софтуер, но и специфична подготовка и опит с деца от страна на изследващия специалист. Необходимото условие пациентът да е неподвижен е практически неизпълнимо при по-малките деца. От друга страна самото изследване е скъпоструващо, свързано с радиационно натоварване и не отговаря на характеристиките за евтин и лесно достъпен скринингов метод. Друг съществен недостатък в детската възраст е и необходимостта от корекция на получения резултат за възраст и пол, в идеалния вариант- със собствена база данни (115).

От изключителна важност за педатричните пациенти с повишен риск е наличието на широкодостъпен, минимално инвазивен и високоавтоматизиран метод, който да бъде на разположение на детските ендокринолози, без значение от предшестващият им опит с измерване на костна плътност. Много важно е той да осигурява възможност за ранен скрининг чрез висока прецизност на резултатите (116).

През 60-те години на 20. век е разработена радиограмметрията - метод за оценка на костната плътност, базиран на конвенционална рентгенография (117). При този метод мануално, на базата на обикновена рентгенография на китка, се измерват определени параметри на три от метакарпалните кости, вкл. дебелината на кортикалната кост, след което се изчислява т.нар. метакарпален индекс. Главни недостатъци, поради които тя

бързо губи своята популярност са неточностите при субективното определяне на границата на ендостеума и при точното маркиране на средата на метакарпалните кости от оператора. С усъвършенстване на техническите възможности за компютърен анализ на дигитализирани рентгенографии обаче, радиограмметрията отново попада във фокуса на вниманието. Дигиталната рентгенова радиограмметрия (digital X-ray radiogrammetry, DXR) е нов метод, чрез който посочените измервания се правят автоматично, от софтуерна програма. Той поставя мост между класическата радиограмметрия, използваща конвенционални рентгенографски изображения от една страна и възможностите на дензитометрията за определяне на костната плътност от друга.

DXR и в частност компютърната програма BoneXpert® комбинира автоматичната оценка на костната възраст с радиограмметрично измерване на кортикалната костна минерална плътност (кКМП) на 2.-4. метакарпална кост. При този метод програмата автоматично локализира т.нар. области на интерес и изчислява зададените параметри – метакарпален индекс, костна ширина и кортикална дебелина. Това значително намалява вариабилността от 8-11% при мануално измерване на 0,5% при дигиталното (118).

В исторически план радиограмметричният метод е включвал използването на три различни индекса за оценка на костното здраве: метакарпален индекс, метод на кортикалната дебелина и индекса на Exton-Smith, включващи параметри като кортикална зона и дебелина, костна дължина и ширина. Последният индекс е специално създаден за педиатрични пациенти и включва корекция за размера на растящия скелет. Именно върху този индекс, който е с доказана висока прецизност и минимално стандартно отклонение, е базиран методът за измерване на индекса на костното здраве (Bone Health Index, BHI), включен в програмата BoneXpert (119). Получената стойност автоматично се сравнява с разработена специално за педиатричната популация голяма референтна база данни и се изчислява индекса на стандартно отклонение за BHI – BHI SDS, т.е. сравнение с показателя при здрави връстници от същия пол (120, 121).

2.2.1. Предимства на DXR

Важно доказателство за надежността на получените чрез BoneXpert резултати за костна плътност е установената значима корелация с резултатите получени чрез

използване на златния стандарт – DXA (dual energy X-ray absorptiometry, DXA). , както при възрастни, така и при деца (119, 122 - 124).

Голямо проучване (117), включващо 416 жени установява силна корелация на КМП на дисталната предмишница, измерена чрез DXR с тази измерена чрез DXA – r=0,86 (p<0,0001). Подобни са и резултатите за други скелетни области - гръбначен стълб, бедро и бедрена шийка (r=0,62, 0,69 и 0,73 респективно).

Важно предимство пред DXA е по-малката чувствителност към движение и независимост от дебелината на меките тъкани. Освен това самото изследване има изключително малка продължителност-няколко секунди (125).

За разлика от DXA, DXR може да представи по-детайлна информация за единия от двата вида костно вещество. Могат да бъдат разграничени промени в кортикалната кост, напр. периостална апозиция и ендостална резорбция и така предоставя детайлна информация за растежа и стареенето на костите. Възможно е отграничаване на дефектите в цялостното костно формиране и намалената субпериостална ширина от повишената резорбция на ендоста или увеличена ширина на костно-мозъчния канал (118).

Подобно на периферната количествена КТ, DXR осигурява информация за някои геометрични параметри на костта като дължина, външен и вътрешен диаметър (119).

Важно преимущество е, възможността за ретроспективно изследване на огромната база данни, получена при оценка на костната възраст (119).

От изключителна важност за педиатричната популация е и фактът, че включването на размерите на метакарпалните кости във формулата за BHI, компенсира вариациите в ръста на различните индивиди, при което не се налагат допълнителни корекции на резултатите (126). Нещо повече - установено е, че актуалният ръст на индивида оказва много по-малко влияние върху BHI SDS, отколкото върху DXA Z-score (127). Методът има сравнително ниска цена, използването му е значително опростено и не на последно място – има изключително малка радиационна доза в сравнение с останалите широко използвания методи (DXA и количествена КАТ) (128).

Освен това, сравнен с DXA и метаболитните маркери, методът е не по-малко специфичен и чувствителен за предсказване на еволюцията на костните изменения при възрастни пациенти (129). Проспективни проучвания за детската възраст все още липсват.

2.2.2. Ограничения на DXR

Радиограмметрията отразява в по-голяма степен обема на костната тъкан, отколкото минералното ѝ съдържание. Методът не е чувствителен към промени в степента на минерализация. Той може да разграничи остеопения, дефинирана като намалено количество костна тъкан, но не и остеомалация – намалено минерално съдържание на костта (119).

Всички радиограмметрични методи измерват само кортикалната кост и то на места, различни от предилекционните за фрактура гръбначен стълб и фемур. Въпреки това те са подходящи за оценка на общото минерално натрупване по време на растежа (119).

Недостатък на по-ранните версии, който вече е остранен, е намалената чувствителност на метода при деца на възраст под 6 год и ограниченият възрастов диапазон, за който програмата може да изчисли BHI. Горната възрастова граница е увеличена на 18 години за момичета и 19 год за момчета (130).

2.2.3. Приложение в клиничната практика

Първото проучване, използващо DXR при педиатрични пациенти е публикувано през 2004 год и касае пациенти с ювенилен хроничен артрит и хронични възпалителни чревни заболявания (125). Още изследвания от последните няколко години потвърждават лесното и информативно използване на DXR и съответно на софтуерната програма BoneXpert в клиничната практика при деца с различни заболавания като: остра лимфобластна левкемия (131), тежко обездвижване в следствие на неврологично засягане (132), бъбречно трансплантирани пациенти (133), дефицит на растежен хормон (124).

В последствие дигиталният радиограмметричен метод е използван и в проучвания за изучаване ефекта на допълнителния калциев прием върху костта на пубертетни момичета, както и за определяне на детерминантите на костната маса при предпубертетни момичета (134).

Приложението на DXR за проследяване ефекта от лечението с растежен хормон (GH) при пациенти с дефицит на GH и след достигане на ПКМ дава възможност за много по-ранно отразяване на ефекта, в сравнение с DXA (135).

До момента липсват изследвания на DXR при деца и подрастващи със ЗДТ1. Знае се, че при част от тези пациенти, които имат и лош метаболитен контрол е възможно забавяне в растежната скорост (101), водещо и до изменения в костното им съзряване. Освен това често срещани и съпътстващи ЗДТ1 са други автоимунни заболявания като целиакия и хипотиреоидизъм, които налагат периодично скринингово изследване на костната възраст при тази група пациенти

3. Особености на костното здраве при деца и юноши със ЗДТ1

3.1. Засягане на костното здраве

Нарушенията в костното здраве при пациентите със ЗДТ1 от клинична гледна точка могат да бъдат систематизирани по следния начин:

- влошено нарастване на костите на дължина;
- повишен фрактурен риск;
- намалена КМП;
- нарушено костно заздравяване (136);

Разбирането на механизмите на костното засягане при ЗДТ1 дава възможност за разработване на терапевтична и профилактична стратегия, която да предотврати и възстанови в максимална степен както костното, така и метаболитното здраве и качество на живот на тези пациенти (21).

3.2. Растеж и развитие при ЗДТ1

Редица големи ретроспективни проучвания установяват, че децата и подрастващите със ЗДТ1 имат ускорен растеж и наддаване на тегло преди клиничния дебют на Т1ЗД в сравнение със здравите си връстници (137 - 141). Въпреки този изправарващ връстниците им старт, по време на пубертетното си развитие те показват по-ниска растежна скорост (142).

Изоставането в растежа и развитието са характерни за инсулиновия дефицит. В прединсулиновата ера растежът буквално спирал след началото на ЗД, а забавянето му продължава да е често срещан проблем в първите години от въвеждането на инсулинолечението. През 1930г Mauriac описва хепатомегалия и нисък ръст при момиче със ЗДТ1 и лош метаболитен контрол (143). Днес синдромът на Mauriac– изоставане в растежа и пубертетното развитие, кушингоидно разпределение на мастната тъкан и хепатостеатоза, се среща рядко. Изоставането в растежа също е рядко срещано при деца със "средно" ниво на метаболитен контрол. От друга страна съществуват множество данни, че пациенти със субоптимален метаболитен контрол показват намален темп на нарастване на височина, докато тези с по-добър контрол запазват темпа си на растеж. По-късно начало на пубертетното развитие и сериозно изоставане в растежа са характерни само за пациенти с много лош метаболитен контрол (144, 101).

Songer и сътр. сравняват ръста на 200 пациенти с новооткрит ЗДТ1 (възраст 5-9 год) и установяват, че те са значително по-високи от техните връстници. Въпреки това по време на пубертетното си развитие те показват по-ниска растежна скорост (142).

В т.нар. Оксфордско проучване Massa и сътр. (145) откриват връзка между възрастта при изява на ЗДТ1 и промените в ръста. При сравняване на ръста на деца с новооткрит ЗДТ1 (n=73) на възраст 5-10год със здрави контроли, пациентите били значимо по-високи. Друга група, диагностицирани преди да навършат 5 години (n=37) били значимо по-ниски, а тези с диагноза след 10-годишна възраст (n=74) не показали значима разлика от контролите. При всички пациенти обаче, растежната скорост по време на пубертетния скок била понижена, по-изразено при женския пол.

Резултатите относно крайният ръст на пациентите със ЗДТ1 също са противоречиви – установява се както нормален, така и по-нисък ръст. Едно проспективно проучване от края на 90-те години (146) посочва понижение на крайния ръст с 0,5 SDS (2-3 см), изразено чрез разлика между изходния и крайния SDS за ръст. Негативното влияние е по-изразено при предпубертетно начало на заболяването, но основен предиктор е нивото на гликемичен контрол, измерено чрез гликирания хемоглобин (HbA1c). В проучването на Massa и сътр. (145) крайният ръст не се отличава значимо от среднородителския прогностичен ръст, независимо от регистрираната по-ниска растежна скорост по време на пубертетния растежен скок.

Друго проучване от Германия (147) анализира данните на 1685 деца с начало на заболяването преди 10-годишна възраст. Вижда се понижение на SDS за ръст в сравнение с изходната стойност, съответно -0.25 +/− 0.95 SDS при краен среден ръст за момичетата −0.16 +/− 0.97 SDS и −0.17 +/− 1 SDS за момчетата. При разделяне на подгрупи според гликемичния контрол се вижда, че тези с HbA1c < 7% имат краен ръст +0.030 SDS, докато при тези с по-лош гликемичен контрол (HbA1c между 7–8 % и > 8 %) стойностите са по-ниски −0.122 и −0.308 съответно. Това предполага главна роля на гликемичния контрол върху крайния ръст.

Друго проучване (107) също показва сходна зависимост от нивото на гликемичния контрол. При 160 деца на средна възраст 9.4 год се установява значимо по-голяма растежна скорост (0.5 +/− 1.6 срещу −0.3 +/− 1.4) в групата с по-добър гликемичен контрол (8,4% срещу 9%). Влиянието на лошия гликемичен контрол е най-силно изразено по време на пубертетното развитие, на фона на физиологичната инсулинова резистентност (148). От друга страна продължителният добър метаболитен контрол създава условия за нормален растеж и развитие у децата (149).

Има данни и за забавяне на костната възраст при децата и подрастващите със ЗДТ1. При поставяне на диагнозата тя не се различава от тази на здрави контроли, но с увеличаване на продължителността на заболяването се отчита нарастващо изоставане (22). Значение имат по-ниското ниво на IGF-1, половите хормони, гликемичния контрол (150).

3.3. Фрактурен риск при ЗДТ1

Редица трансверзални и проспективни проучвания, обхващащи огромна кохорта от пациенти категорично показват, че ЗДТ1 е свързан с повишен фрактурен риск на която и да е част от скелета и при двата пола (11 – 14).

Два големи мета-анализа (151, 152) включващи проучвания с общо 1,3 млн участници съобщават за 6,3-6,9 пъти по-висок риск за бедрени фрактури при ЗДТ1.

Друго мащабно проучване от последните години (16), обхващащо кохорта от 30 394 пациента със ЗДТ1 на възраст 0-89 год сравнява фрактурния им риск с този на 303 872 здрави контроли. Установява се, че по-голям дял от пациентите имат анамнеза за фрактура – 19,6%, в сравнение с контролите - 17%, както и по-голяма честота на случайни фрактури - 8,6% срещу 6,1% при контролите. Фрактурите на долни крайници

и особено бедрените са по-чести при пациентите от двата пола. Това е едно от малкото проучвания, които включват голям брой пациенти в детска и юношеска възраст и установяват, че повишеният фрактурен риск е налице още при тази група. Този факт има голямо социално значение, предвид увеличаващата се честота на новозаболели от ЗДТ1, както и здравните последици и смъртността от бедрени фрактури.

3.4. Характеристика на костта при ЗДТ1

3.4.1. Данни за понижена КМП

Един от основните фактори, определящи фрактурния риск при възрастни е КМП (153), докато данните за повишения фрактурен риск при пациентите със ЗДТ1 са еднозначни, то тези за нивата на КМП са разнопосочни.

Въпреки това немалко автори (21, 22, 154 – 159) установяват значимо понижена КМП при пациентите със ЗДТ1 – възрастни и деца.

Разнопосочните резултати при проучванията на КМП биха могли да се обяснят с малък брой изследвани, хетерогенност на изследваната популация по редица показатели като гликемичен контрол, давност, трансверзалния характер на повечето от тях (160). Освен това трябва да се има предвид, че измерената чрез DXA КМП не отчита директно размера на костите и съответно ръста, а само ги сравнява с връстниците от същия пол. Това допълнително затруднява интерпретацията на този тип изследвания при деца и юноши. Получават се по-ниски стойности за малките кости и по-високи – съответно за деца с по-висок ръст (160).

Въпреки това, скорошен мета-анализ (161), включващ 46 проучвания с 2 617 пациенти и 3 851 контроли, еднозначно показва, че КМП при пациентите със ЗДТ1, независимо от метода на измерване - DXA, pQCT (периферна количествена КАТ) и количествен ултразвук, е значително по-ниска при пациентите.

3.4.2. Засягане на кортикално и трабекуларно костно вещество

Не са еднозначни данните за това кой тип костно вещество е по-силно засегнат - **кортикалната или трабекуларната кост**. Така например при изследване (162) на група деца на възраст 5-19 год чрез периферна количествена КАТ на лумбални прешлени се

разкрива значимо намаление на костната плътност само в областта на кортикалната кост, без да има засягане на трабекуларната.

Други две проучвания (163, 157), използващи DXA при деца и юноши на с по-малка възраст (12-13год) и средна продължителност на заболяването 4-7 години, сочат предилекционно засягане на трабекуларната кост на гръбначния стълб.

3.4.3. Междуполови различия

По отношение на **междуполовите различия** в измерената при пациентите със ЗДТ1 КМП резултатите отново са разноспосочни. Редица автори откриват по-висока честота на остеопения и остеопороза при пациентите от мъжки пол (65, 164, 165), докато други (166, 167) наблюдават по-изявени костни нарушения при женския пол, а трети (168) не откриват междуполови различия.

3.4.4. Зависимост от продължителността и метаболитния контрол на заболяването

Друг важен аспект от изследването на КМП е зависимостта ѝ от метаболитния контрол. И за този показател наличните данни са разнопосочни. При повечето е налице негативна корелация (157 - 159, 169, 170), докато при други (162, 163, 171) такава връзка не се установява.

Друг важен фактор на ЗДТ1 е неговата продължителност и влиянието ѝ върху КМП, като и за този показател публикуваните до момента данни не са еднозначни. Повечето проучвания (156, 163, 172 -174) не установяват връзка между понижената КМП и давността.

Голям мета анализ (152), включващ 80 проучвания установява, че определеният на базата на измерена КМП фрактурен риск показва лоша корелация с документираните при тези пациенти бедрени фрактури. Предполага се наличието и на други фактори с водещо значение като наличието на микроваскуларни усложнения, хипогликемии.

3.4.5. Еволюция на измененията в КМП

Недокрай изяснен е и въпросът за еволюцията на костните промени при ЗД. Редица автори (65, 154, 158, 159, 175, 176) установяват понижена КМП още при изявата

на заболяването или в първите години след това. При проследяване, част от тях съобщават за стабилизиране на КМП (159, 176).

Вероятно своевременното лечение и доброто ниво на метаболитен контрол също допринасят за обратното развитие на краткотрайни промени в КМП, установени при поставянето на диагнозата, възможно е и включване на компенсаторни механизми (11, 176).

От друга страна немалко са и авторите, които констатират противоположна тенденция в стойностите на КМП – задълбочаване на промените с увеличаване продължителността на заболяването (156, 170, 177). Установени са и някои рискови фактори, способстващи за бърза костна загуба: ранна изява на ЗД, липса на остатъчна инсулинова секреция и високи инсулинови нужди (157, 178).

Данните, получени при проследяване на естествения ход на промените в КМП при млади хора със ЗДТ1 биха дали допълнителна информация за прогресията на заболяването, както и възможност за превенция на значителна костна загуба и евентуално на фрактури.

3.4.6. Размер на костта при ЗДТ1

Важен фактор за определяне на костната сила е костният размер – както „по-тънките" (по-малка за ръста костна площ), така и „по-леките" (по-малко за единица площ костно минерално съдържание, КМС) кости са свързани с понижението ѝ (179). Публикувани са данни от проучвания (22, 180), , както при животински модели, така и при пациенти със ЗДТ1, които сочат че заболяването е свързано с **намален размер на костите**. Това води до съответно понижение на общото количество кост (минерал), докато костната плътност (количество минерал в единица обем) остава постоянно, което е и още една вероятна причина за разноспосочните резултати по отношение на КМП (22). Намален костен размер, макар и в по-малка степен е наблюдаван и при пациенти с добър гликемичен контрол. Предполага се водеща роля на давността на ЗД, като по-ранната му изява води до по-тежки изменения в размера на костите - намалени кортикална КМП, общ, кортикален и мускулен напречен размер (181).

3.5. Нарушено възстановяване на костта след фрактури

Установено е значимо забавяне – с до 87% на заздравяването на костта след фрактура при пациенти със ЗД, в сравнение със здрави контроли (182). Освен това е налице и влошено качество на новосформираната кост. С помощта на животински модели е установено, че калусът на нелекувани диабетни плъхове има 29% по-малка издържливост и с 50% намалена плътност (183).

Точните механизми са недокрай изяснени. За разлика от нормалното заздравяване, при което е налице фаза на остро възпаление, при ЗД съществува хронично умерено възпаление. Значение има и намаления брой и нарушената функция на активираните макрофаги, което съответно води и до по-ниски нива на растежните фактори, продължителна локална цитокинова експресия и инфилтрация от инфламаторни клетки. Всичко това води до нарушена ангиогенеза, дисфункция на ендотелните прогениторни клетки и намален брой тромбоцити (183).

Локалното прилагане на инсулин нормализира ранните (клетъчна пролиферация и хондрогенеза) и късните (количество минерализирана тъкан, хрущялно съдържание и механична сила) параметри на костното заздравяване, при това без да се повлияе плазмената концентрация на глюкозата (184).

4. Патогенеза на костното засягане при ЗДТ1

Въпреки многобройните проучвания за ефекта на захарния диабет върху костното здраве, точните механизми остават недокрай изяснени. Често биохимичните и образни изследвания показват противоречиви резултати. Това се дължи на сложната патофизиология на самото заболяване, предилекционно засягане на определени части на скелета, използването на различни методики за определяне на костна плътност, както и нехомогенност на изследваните по отношение на гликемичен контрол, давност, терапия и възраст (185).

Костта при ЗД може да бъде засегната по няколко механизма едновременно, а комбинацията им може да има противоположен ефект (186). Така инсулиновият дефицит и хипергликемията имат директен ефект върху костните клетки и микросредата на

костния мозък, крайните продукти на гликозилирането (advanced glycation end products, AGEs) - върху костния матрикс, абнормната продукция на адипо- и цитокини - върху костните клетки. Налице са и нарушения в трофиката поради отклонения във вазомоторните реакции при диабетна автономна невропатия, както и нарушения в нервномускулните и скелетни взаимодействия (155).

Широко се обсъждат следните патофизиологични механизми:

1) Дефицит на инсулин и IGF-1;
2) Хипергликемия и натрупване на крайни продукти на гликозилирането (advanced glycation end products, AGEs);
3) Наличие на микроваскуларни усложнения на диабета –невропатия, нефропатия, ретинопатия;
4) Промени в калциево-фосфорния метаболизъм;
5) Дефицит на витамин D;
6) Повишено ниво на възпалителни цитокини;
7) Забавено пубертетно развитие, хипогонадизъм;
8) Негативно влияние на метаболитната ацидоза;
9) Пубертетната възраст като отделен рисков фактор при подрастващи със ЗДТ1;

4.1. Дефицит на инсулин и IGF-1

Дефицитът на инсулин и неговия хомолог IGF-1 заемат централно място в патогенезата на скелетното засягане при деца и подрастващи със ЗДТ1. За поддържане на физиологични серумни концентрации на IGF-1 и свързващите го протеини е необходима и физиологична портална концентрация на инсулина. Въвеждането на базално-болусен режим, инсулинови аналози, както и на нови технологии като инсулиновите помпи спомагат за поддържане на по-физиологични инсулинови концентрации, което подобрява регулацията на оста GH-IGF-1 и съответно растежа по независим от гликемичния контрол път. Дори при пациенти на интензифицирано инсулинолечение и с добър метаболитен контрол обаче, порталните нива на инсулина остават ниски и не могат да достигнат физиологичните. Това води до намалена синтеза

на IGF-1 и IGFBP-3 състояние, описвано като функционална резистентност към GH. Тя се характеризира с ниски нива на IGF-1 при повишен ендогенен GH (187).

Причините се търсят в пострецепторни дефекти на GH в черния дроб, както и в променени нива на свързващите IGF-1 протеини (IGF-1 binding proteins, IGFBPs) (188). Съчетанието на нисък IGF-1 с нормални стойности на основния му преностител - IGFBP-3, но повишени нива на останалите свързващи протеини (IGFBP -1,2 и 4) води до намалена бионаличност в таргетните тъкани и съответно – намалена растежна скорост (189).

Още през 1979г Winter и съавтори установяват негативна корелация между нивата на гликирания хемоглобин и серумната концентрация на IGF-1 (149, 188) .

Нещо повече - пациентите със ЗДТ1 и остеопения имат по-ниски нива на IGF-1 в сравнение с тези без остеопения (190).

Взаимодействието по оста GH- IGF-1 е важно за костното здраве не само при деца и подрастващи - дефицит на GH при възрастни е също се свързва с остеопороза поради потисната костна обмяна и висок фрактурен риск (191).

Безспорната роля на инсулиновия и IGF-1 дефицит в патофизиологията на диабетната остеопатия се потвърждава с помощта на трансгенни животински модели. При стрептозотоцин-предизивикан диабет у мишки е установено не само по-ниско ниво на IGF-1, но и на броя рецептори за инсулин и IGF-1 в растежните плочки, наред с тежки хистологични изменения и забавен растеж. При започване на инсулинова терапия напълно се възстановяват само нивата на инсулиновите рецептори, а тези за IGF-1– само частично (155).

През последните години се разглежда и връзката между нивото на IGF-1 и наличието на диабетни усложнения. Резултатите не са еднозначни – някои автори свързават ниските му нива само с потисната функция на остеобластите и съответно потиснато костно формиране (192), други – с развитие на микроалбуминурия и ограничена ставна подвижност (193, 194), повишен риск от диабетна ретинопатия (195, 196).

Janssen и сътр в критичен обзор (195) предполагат, че ранният и продължителен спад в нивата на IGF-1 води до недостатъчен протективен ефект в таргетните тъкани (бъбреци, ретина, неврони) и съответно по-висок риск от микроваскуларни усложнения.

Проучвания при животни с индуциран диабет показват, че терапията с рекомбинантен IGF-1 стимулира костното формиране и има положителен ефект върху костната микроархитектоника – увеличава дебелината на кортекса, както и трабекуларната дебелина**,** независимо от персистиращата хипергликемия (184). Има данни, че IGF-1 стимулира репликацията на бета-клетките при стрептозотоцин - индуциран диабет при мишки. Възможно е системното прилагане IGF-1 да води до подобрена ендогенна инсулинова продукция и така индиректно да стимулира костното формиране (197).

От друга страна интензивната инсулинотерапия оказва положителен ефект върху скелетното здраве и костната обмяна. Тя води до подобряване на хистоморфометричните и биомеханичните качества на костта, както и нивата на костните маркери. Runx2 (ключов транскрипционен фактор, отговорен за остеобластната диференциация) и регулираните от него остеогенни гени се нормализират при лекувани с инсулин животни (184).

Положителен ефект от инсулинотерапията отчита и друго проучване (198). При преминаване от базално-болусен инсулинов режим към лечение с инсулинова помпа е установено значимо увеличение в нивата на кАФ. Въпреки това редица автори (11, 199) не установяват значимо понижение на фрактурния риск след започване на инсулинолечението, а някои дори съобщават за увеличаване на този риск, вероятно във връзка с увеличения риск от падания в резултат на хипогликемии.

Задълбочените познания за специфичните ефекти на инсулина и IGF-1 върху остеобластогенезата и костното формиране, както и относителния им дял в развитието на диабетната остеопатия са критични за разработването на стратегии за подобряване на костното здраве при тези пациенти (184).

4.2. Гликемичен контрол и късни усложнения на ЗДТ1

Развитието и прогресията на късните усложнения на ЗД са категорично обвързани с контрола на кръвната глюкоза, обобщен с термина метаболитен контрол. Той се измерва чрез нивото на HbA1c (гликиран хемоглобин). Високите нива на този показател включват три възможни причини: 1) пряк инсулинов дефицит; 2) персистираща

хипергликемия поради поведенчески проблеми, свързани с грешки в диетата, при достатъчен от физиологична гледна точка инсулинов внос/бионаличност; 3) повишена глюкозна вариабилност с кратки епизоди на повишени токсични нива на глюкозата. Ето защо е много трудно да се изведат еднопосочни взаимовръзки между обобщения термин "метаболитен контрол" и късните микро- и макроваскуларни усложнения (200).

Освен при молекулата на хемоглобина в еритроцитите, в човешкото тяло протичат процеси на гликозилиране с необратимо отлагане на глюкоза в N-терминала на белтъчните молекули на албумините, липидите и др., с необратимо натрупване на крайни продукти на гликозилирането (AGEs) в редица тъкани. От друга страна широко представени клетки и тъкани в човешкото тяло като невроните и ендотелиите не са защитени от високите нива на глюкозата поради наличие на инсулинонезависими транспортери в тяхната клетъчна мембрана. Именно тези две линии тъкани са засегнати при развитието на микро- и макроваскуларни хронични увреждания (201). След историческите резултати на DCCT (202, 203) и UKPDS (204) не се оспорва значението на стриктния гликемичен контрол за отлагане във времето и редуциране тежестта на късните диабетни усложнения (микро- и макроангиопатия). Въпреки това все още не е докрай изяснен въпроса дали остеопорозата представлява коморбидност на ЗД или е част от спектъра на микровскуларните му увреждания (205). Повечето проучвания се фокусират върху понижената КМП при пациентите със ЗДТ1, но много малко са тези, които я изследват в светлината на установените микроваскуларни усложнения. При изучаване на тази връзка е важно да се отчете и влиянието на факторите давност и гликемичен контрол. В едно от първите подобни проучвания, датиращо от 1976, Ringe и сътр (206) наблюдават съчетание на понижено КМС на предмишница и наличие на микроваскуларни усложнения при пациенти с дългогодишен ЗД (средна продължителност 19 год), като правят извод, че костната загуба е резултат от микроваскуларно увреждане.

Shanbhogue и сътр.(207) определят наличието им като по-важен от продължителността предиктор на КМП. Редица по-нови проучвания потвърждават връзката между ниската КМП и наличието на усложнения като: ретинопатия (208), нефропатия (209) и невропатия (210), независимо от давността на заболяването и метаболитния контрол.

В изследване на Hofbauer и сътр (155), обхващащо 57 пациенти с голяма давност на заболяването (средна възраст 35год, средна продължителност на ЗД 17 год) 72% от пациентите с ретинопатия и 53% от тези без, имат остеопороза. Наличието на други усложнения като микроалбуминурия и периферна невропатия също са по-чести при пациентите с ниска КМП. Авторите подчертават и важността на метаболитния контрол - честотата на ретинопатията е по-ниска при пациенти на интензифициран инсулинов режим.

Голямо популационно проучване от Швеция (211) установява 3-6 пъти по-висок фрактурен риск при пациентите със ЗДТ1 в сравнение с контроли, като рискът при пациентите с налични микроваскуларни усложнения нараства до 17-41 пъти. Авторите обаче не предоставят информация за метаболитния им контрол. В едно проспективно проучване Campos Pastor и сътр. (171) установяват прогресивна костна загуба, независимо от интензивната инсулинотерапия, при група пациенти с диабетна ретинопатия, акцентирайки че микроангиопатията е важен и независим фактор за прогресията на костното засягане. До подобен извод достигат и авторите на друго проспективно проучване, което сравнява костната загуба между две групи пациенти – с и без микроваскуларни усложнения в продължение на 11 години. В групата с усложнения КМС е значимо по-ниско, независимо от сходния гликемичен контрол и инсулинова доза (211).

Обсъждат се няколко възможни патогенетични механизма на костно увреждане при микроангиопатия, сред тях са: абнормен кръвен ток и нарушено ремоделиране, промени в сигналните пътища на васкуларните ендотелни растежни фактори (212) повишено натрупване на AGEs с директен негативен ефект върху костните клетки, костния колаген и/или васкуларни нарушения (213).

Съществува теория, че микроангиопатията ускорява костната загуба по механизъм, сходен с този на процеса на стареене (214). Стареенето е свързано с натрупване на увреждания в митохондриалната ДНК в резултат на оксидативен стрес. Като резултат на натрупване на AGEs, продължителната хипергликемия и остри гликемични флуктуации, е интензифицирано образуването на свободни кислородни радикали. Те от своя страна стимулират по-нататъшното формиране на AGEs и така се получава порочен кръг с краен резултат множество увреждания в митохондриалната ДНК и развитие на костни нарушения (214).

Две от малкото проучвания за детска възраст също не установяват връзка на пониженатa КМП и обмяна, както с наличието на усложнения, така и с метаболитния контрол и давността (215, 216).

Интерес представлява проучването на Maddaloni и сътр. (217) което включва уникална кохорта от 985 възрастни пациенти с над 50-годишна давност на заболяването. Всички те са получили златен медал от Joslin Diabetes Center, т.е. са поддържали отличен метаболитен контрол през годините – среден HbA1c 7,1%. Това позволява да се оцени поотделно влиянието на метаболитния контрол и давността на заболяването. Всички участници са показали неочаквано ниска честота на фрактури и остеопороза – по-ниска от средната за съответната възраст при здрави контроли. Въпреки това честотата на остеопения е по-висока от средната – 66,2% срещу 43,9% при контролите. Не се установява разлика по отношение честотата на микроваскуларните увреждания между пациентите с нормална и тези с понижена КМП.

Някои автори смятат, че наличието на микроваскуларни усложнения и пониженатa КМП са резултат от действието на различни патофизиологични механизми – 10-годишно проспективно проучване на възрастни пациенти със ЗДТ1 установява значимо повишение на микроваскуларните усложнения, особено нефропатията, без да има съпъстващо понижение в КМП на тези пациенти (218).

Заключенията относно влиянието на микроангиопатията върху костната маса следва да се правят много внимателно – изключително трудно е то да се отграничи от това на продължителността на заболяването и метаболитния контрол. Необходими са още проучвания в тази насока.

4.2.1. Диабетна нефропатия

Само наличието на диабетна нефропатия увеличава 12 пъти риска от бедрени фрактури при пациенти със ЗДТ1 (219).

Clausen и сътр. (220) свързват прогресията на диабетната остеопения главно с наличието на диабетна нефропатия, намален креатининов клирънс и повишени нива на РТН при пациенти от мъжки пол с дългогодишен диабет (средна продължителност 27 години). Пациентите с висока албуминова екскреция показват понижена КМП, както на

трабекуларната, така и на кортикалната кост. Установена е и сигнификантна обратна връзка между креатининовия клирънс и плазмения PTH, както и между PTH и КМП.
Диабетната нефропатия влияе негативно върху костното здраве, както директно - чрез засягане на калциево-фосфорния метаболизъм, така и индиректно – чрез повишен оксидативен стрес (221).

4.3. Хипергликемия и натрупване на крайни продукти на гликозилирането (AGEs)

Хипергликемията оказва директно и индиректно негативно влияние на няколко нива едновременно – костен мозък, костни клетки и костен матрикс (222).
На ниво костен мозък хипергликемията стимулира експресията на редица адипогенни фактори като: пероксизомен пролиферативно-активиран рецептор-γ (PPAR-γ), адипоцитен свързващ мастни киселини протеин (aP2), резистин и адипсин. Те насочват диференциацията на мезенхимните стволови клетки към предимно образуване на адипоцити за сметка на остеобласти. Това увеличава липидното отлагане в костния мозък с експанзия на костномозъчния канал и намаляване на кортикалния слой на дългите кости (222). Ролята на хипергликемията като етиологичен агент се потвърждава и от позитивната връзка на костномозъчното липидно отлагане (adiposity) с метаболитния контрол (223).

Посочените локални ефекти не се наблюдават при добавяне на друг осмотично активен агент – напр. манитол и ясно разграничават осмотичния от метаболитния ефект на глюкозата на ниво прогениторни клетки (22).

Високата глюкозна концентрация повлиява директно и костните клетки. В клетъчни култури тя инхибира базалната и IGF-1 – стимулираната остеобластна пролиферация и функция, експресията на специфични остеобластни маркери като Runx2, тип I колаген, остеонектин (222). Хипергликемията нарушава остеобластната функция по няколко механизма: повишен оксидативен стрес, предизивикващ клетъчна смърт (221), увеличено гликиране на важни за остеобластната диференциация и функция ензими (224), повишено гликозилиране на колагена, което инхибира остеобластното зреене и минерализацията на матрикса (225), както и чрез предизвиканото от нея екстрацелуларно хиперосмоларно състояние (226).

Налице е повишено усвояване на енергийните субстрати с последващо увеличение на екстрацелуларното pH, което води до нарушена костна минерализация – процес, изискващ ниво на pH в строги граници за правилното си протичане (227).
По този начин едновременно се засягат остеобластната диференциация и функция (222) с краен резултат понижена костна обмяна и забавен темп на растеж.

Хипергликемията повлиява негативно и костната микроархитектоника - независим от КМП рисков фактор за фрактури. Както КМП, така и качеството на костта са структурни материални характеристики, определящи костната сила. Кръстосаното свързване на колагеновите фибрили (cross-linking) играе важна роля в нормалното функциониране на костта и съответно – в определянето на костната сила. Представлява образуване на ковалентни връзки между отделните субединици на колагена, като част от посттранслационната модификация на молекулата му. Процесът може да се раздели на два типа в зависимост от механизма – ензимно и неензимно. Неензимното е предизивикано от свръхгликиране и води до формиране на крайни продукти на гликирането (advanced glycation end - products, AGEs). Това са протеини или липиди, които се гликират при излагане на повишени глюкозни концентрации. Нормално те се образуват в процеса на стареене или при състояния с повишен оксидативен стрес и водят до нарушена механична сила на костта В неминерализираните тъкани като сухожилия и кожа, натрупването на тези продукти предизвиква значително намаление на еластичността (228).

Двата главни крайни продукта на гликозилирането са пентозидин и глюкозепан. Пентозидинът се натрупва с възрастта в различните видове съединителна тъкан, докато глюкозепанът се открива главно в екстрацелуларния матрикс на кожата и гломерулната базална мембрана но и в костния колаген тип 1 (229). Високото серумно ниво на пентозидин е свързано с повишен риск от случайни и вертебрални фрактури. Показва и негативна корелация с маркерите за костно формиране – остеокалцин и кАФ (229).
Нови данни показват, че синтезата на крос-линкс е част не само от процеса на минерализация, но и от формирането на микроувреждания. При in vitro проучвания повишеното формиране на AGEs крос-линкс в костта прави колагеновите фибрили по-лесночупливи и така води до натрупване на микроувреждания, нарушаващи костната сила (228).

Освен че водят до директни нарушения в структурата на колагена, AGEs намаляват костната сила и индиректно – чрез повлияване активността на остеобластите и остеокластите. Предполага се, че те стимулират действието на остеокластите чрез взаимодействието AGE-RAGE, което активира нуклеарен фактор капа B (nuclear factor κB, NF κB) без да увеличава броя им (228).

Важността на взаимодействието с RAGE се потвърждава от факта, че мишки, при които той липсва имат повишена костна маса. Ексцесивното формиране и натрупване на AGEs е характерно за заболявания с понижен костен обмен като ЗДТ1 (228).

Доказването на ролята на AGEs като връзка между първичната остеопороза и ЗД на молекулярно ниво би дало допълнителна възможност за намаляване на фрактурния риск, както и на честотата на другите диабетни усложнения като нефро- и невропатия чрез конкретни мерки, насочени към инхибиране на тяхното образуване (228).

4.4. Нарушения в калциево-фосфорния метаболизъм

4.4.1. Калциев баланс

ЗДТ1 оказва безспорен негативен ефект и върху калциево-фосфорната обмяна. Съществуват две основни хипотези за тези нарушения – според едната в основата им е първичното засягане на костната обмяна от болестния процес, а според другата – вторичното, дължащо се на негативния ефект на хипергликемията, с основен резултат - намалена калциева реабсорбция в бъбречните тубули (230). В първия случай следва да се очаква наличие на хиперкалциемия поради повишена костна резорбция и вторичен хипопаратиреоидизъм, а във втория - на хипокалциемия и вторичен хиперпаратиреоидизъм (231). В действителност установената лабораторна констелация е по-различна и сложна за интерпретация.

Редица проучвания установяват понижен алиментарен внос на калций при 50 до 60% от изследваните пациенти със ЗДТ1 (232 – 234).

От друга страна изследвания при животински модели установяват нарушения в интестиналната калциева абсробция (235, 236). Все още не е докрай изяснено дали това се дължи на директния ефект на заболяването (повишен оксидативен стрес и свободни радикали) или е резултат от често наблюдавания при тези пациенти дефицит на витамин

D (236). Установена е намалена ефективност на активния калциев транспорт гастроинтестиналния тракт и понижена експресия на калбиндин - свързващия протеин в дуоденалната мукоза. Друг важен фактор е високата честота на целиакия сред пациентите със ЗДТ1.

За физиологичното протичане на натрупването на ПКМ е необходим положителен калциев баланс в организма, т.е. калциева задръжка. Редица проучвания на базата на стабилни изотопи при здрави деца и юноши са установили, че тя е средно около 151мг/ден (161-234,7) за ранните етапи на пубертетното развитие (9-13 год) и около 92мг/ден (44-49,5) за по-късните (14-18 год) (237, 238). Сходно изследване при девойки със ЗДТ1 установява значително по-ниски стойности- съответно 134мг/ден за калциева задръжка в ранния пубертет и 21мг/ден за по-късните етапи. Нещо повече – около 40% от изследваните подрастващи със ЗДТ1 в късния пубертет са имали негативен калциев баланс. Всички участници са на възраст под 18 год и в рамките на 3 год от менархе, т.е. във възрастта, когато се предполагат активни процеси на задръжка и натрупване на калций (232). Авторите не установяват разлики в интестиналната калциева абсорбция, но намират такива по отношение на уринната калциева екскреция като важен фактор за негативния калциев баланс при пациентите.

4.4.2. Хиперкалциурия

Хиперкалциурията също е често срещана при пациенти със ЗДТ1 (239). Тя се дължи на осмотичната диуреза, предизвикана от глюкозурията от една страна и на хемодинамичните изменения в бъбреците, предизивикани от простагландиновата синтеза от друга. Дори умерено увеличение на калциурията би могло да доведе до сериозен негативен ефект върху калциево-фосфорната обмяна. Интересно изчисление на електролитната (калций и магнезий) загуба с урината предлагат Brown и сътр (240) – при съотношение калций (или магнезий) към креатинин 0.7, дневната загуба е около 10ммол (400мг калций или 240мг магнезий). Ако тази загуба продължава достатъчно дълго във времето, би довела до значително понижение на телесните запаси от калций и/или магнезий. По този начин само през първите 5 години от заболяването загубата на калций от предмишницата е около 10% (241). Подобряването на гликемичния контрол е свързано със сигнификантно понижение на калциурията.

4.4.3. Нива на паратхормон (PTH)

Установените при ЗДТ1 завишена уринна загуба, в комбинация с намалена интестинална абсорбция на калций, са предпоставка за компенсаторно повишена секреция на PTH и съответен негативен ефект върху костта при ЗДТ1. Въпреки това резултатите за нивата на PTH при пациенти със ЗДТ1 са разнопосочни. Някои автори установяват повишение (24, 23), други съобщават за намалени стойности (215, 242 – 244), а трети не установяват сигнификантни различия (242, 245).

Въпреки това повечето проучвания потвърждават по-ниски нива. Simmons и сътр. (246) установяват значимо по-ниски нива на PTH при пациентите с дългогодишен влошен метаболитен контрол (HbA1c > 9% за предходните 2 год). Нещо повече – Paula и сътр.(247) съобщават за нарушена регулация на секреция на PTH при пациенти с лош метаболитен контрол. Налице е по-ниска стимулирана секреция, в сравнение със здрави контроли и пациенти с добър контрол – състояние, означено като фукционален хипопаратиреоидизъм.

4.4.4. Нива на магнезий

Смята се, че основна причина за установеният функционален хипопаратиреоидизъм е магнезиевият дефицит (186). Магнезият е вътреклетъчен йон, чийто метаболизъм има пряко отношение, както към секрецията, така и към действието на PTH. Понижените нива на магнезий са често срещани при ЗДТ1 и се съобщават в редица проучвания още от края на миналия век (248, 249).

Вероятна причина е предизивиканата от хипергликемията осмотична диуреза, водеща и до загуба на магнезий. Остро възникналата хипомагнезиемия стимулира секрецията на PTH, докато хроничната има обратен ефект и води до хипопаратитреоидизъм.Освен това хипомагнезиемията води до нарушено действие на PTH върху таргетните клетки поради дисфункция на аденилат циклазната система (250).

4.4.5. Роля на витамин D

Широко обсъждана през последните години е ролята на витамин D и неговия дефицит както за патогенезата на ЗДТ1, така и за развитие на костните му усложения.

Известно е, че хронично болните пациенти имат повишен риск от дефицит на витамин D. Това се обяснява с по-малко време прекарвано на открито, избягване на директна слънчева светлина, увреждане на черния дроб, гастро-интестиналния тракт и бъбреците от основното заболяване, както и прием на медикаменти повлияващи метаболизма и действието на витамин D. Това от своя страна води до намалена калциева абсорбция в гастро-интестиналния тракт, повишена секреция на паратхормон (вторичен хиперпаратиреоидизъм) и съответно – повишена костна резорбция (91). Захарният диабет тип 1 не прави изключение – дори в слънчеви страни като Австралия, честотата на дефицита е висока – при изследване на група от 47 деца със ЗДТ1, нива на 25(OH)витамин D ≤ 50 nmol/L се установяват в 43%. Проучване от Катар, обхващащо 170 пациента, съобщава за средно ниво на 25(OH)витамин D ≤ 39,4±23 nmol/L като 90,6% от изследваните имат стойности под 75 nmol/l (251). Освен това при ЗДТ1 е налице променен метаболизъм на витамин D, тъй като инсулинът повлиява хепаталната синтеза на витамин D-свързващ протеин, реналното 1α-хидроксилиране и концентрацията на витамин D рецепторите в дуоденалната мукоза. Всичко това води до намалена синтеза на калбиндин- D9K и съответно до калциева малабсорбция (24). Това също така допринася за намалена гастро-интестинална абсорбция на калций и заедно с изразенатата калциурия - до недостатъчно количество калций, необходим за натрупване на костна маса (232). Понижената дуоденална абсорбция на калций се дължи и на намалена ефективност на активния калциев транспорт и на нарушената като цяло интестиналната абсорбция (232).

Има доказателства, че активната форма на витамин D - калцитриолът потиска активността на Th1 клетките чрез директно повлияване на диференциацията и матурацията на дендритните клетки и/или чрез увеличаване на броя и функцията на Т-супресорните клетки. Друг потенциален механизъм е индиректен - чрез намаляване честотата на инфекциите, които предразполагат към развитие на ЗД. Възможен е и директен ефект върху бета клетките, които притежават рецептори за калцитриол. Установена е сигнификантната негативна корелация на гликемията с нивото на серумния 25(OH)витамин D при здрави възрастни (186).

Според друга хипотеза витамин D неутрализира свободните радикали, образувани при активиране на макрофагите и Т-клетките, които допринасят за бета клетъчната дисфункция и смърт. Голямо проспективно проучване от Финландия отчита 88%-но

намаление на риска от развитие на ЗДТ1 и установява дозозависим ефект от редовната суплементация през първата година от живота (139).

При здрави индивиди е установена директна връзка на нивото на витамин D с КМП – както с текущата, така и с измененията в КМП и КМС. По-ниска КМП на предмишница и тибия е свързана със серумни нива на 25(OH)витамин D≤ 25-40nmol/L – нива, установени в 62% от здрави момичета на възраст 10-16год, живеещи в Ирландия и Финландия (35, 252).

4.5. Значение на инфламаторните медиатори

Централно място в патогенезата на ЗДТ1 заема автоимунният инфламаторен процес. Захарният диабет е сочен като състояние на ускорено стареене, свързан с повишени нива на проинфаламторните цитокини. Установени са по-високи интрацелуларни нива на TNF-α в CD8+ Т-клетки при новооткрит ЗДТ1 и в CD4+ Т-клетки три месеца след диагнозата (21).

Проучвания при пациенти със ЗДТ1 и лош гликемичен контрол установяват повишени маркери на системно възпаление – С-реактивен протеин, IL-6 (256) и фибриноген, както в първите години след поставяне на диагнозата, така и на по-късен етап – при развитие на микроваскуларни усложнения.

По-високи нива на проинфламаторни цитокини (IL-1β, TNF-α , IL-6, IL-8) се установяват и при деца и подрастващи в сравнение с контроли. Нивата са значимо по-високи при пациенти, както с добър, така и с лош метаболитен контрол.

Повишените нива на проинфламаторните цитокини повияват костното здраве по няколко механизма: инхибиране транскрипцията на IGF-1 и са допълнителен фактор за понижените му нива (257), чрез директно действие върху костните клетки – активират остеокластогенезата, инхибират остеобластната диференциация и предизвикват и остеоцитна апоптоза (258).

На молекулярно ниво потискат костното формиране чрез понижена експресия на RUNX2 (ключов транскрипционен фактор, отговорен за остеобластната диференциация) и гените, които той повлиява – за остеокалцин, колаген, phosphate regulating endopeptidase homolog, X-linked (PHEX), алкална фосфатаза (АФ), рецептор на витамин D (259). IL-6 и TNFs действат като инхибитори на BMP (Bone Morphogenic Proteins),

които са мощни стимулатори на остеобластното образуване и функция. Това води до нарушена микроархитектоника и намалена костна сила, наблюдавани при диабетни животински модели (259).

Освен директното влияние върху костните клетки, възпалителният процес има и индиректно действие - върху прекурсорните клетки в костния мозък. Той, подобно на хипергликемията, води до повишено отлагане на липиди в костния мозък, експанзия на костно-мозъчния канал, намален кръвоток към костта. (260) Налице е увеличено образуване на адипоцити за сметка на остеобласти от общия им мезенхимен прекурсор поради повишена локална експресия – TNFα, peroxisome proliferator-activated receptor-γ (PPAR-γ), adipocyte fatty acid-binding protein (aP2) (260).

В крайна сметка продължителното потискане на костообразуването води до понижена костна маса и остеопороза. Установена е позитивна корелация между нивото на проинфламаторните цитокини, предизвиканата костна загуба и съответно намалената КМП (222).

4.6. Влияние на метаболитната ацидоза

Влиянието на ниското pH е разнопосочно. От една страна нормалното протичане на минерализацията на остеоида и на растежната плочка зависи от наличието на редица фактори като: витамин D, калций, фосфор, АФ и нормално pH. Ако е налице дефицит на който и да е от тези фактори или тежка системна ацидоза, минерализацията няма да бъде пълноценна. Това води до намалено съотношение минерално вещество/остеоид, с клинична изява рахит и съответно остеомалация при възрастни. Освен това пониженото pH на микросредата благоприятства функцията на остеокластите, т.е. костната резорбция (219).

Предполага се, че ацидозата упражнява независим от калциотропните хормони ефект върху костната хомеостаза и повлиява диференциацията на стволовите мезенхимни клетки (261).

Установена е и нарушена активност на 1α-хидроксилазата и съответно синтеза на 1,25(OH)$_2$витамин D при хронична метаболитна ацидоза (262). Ацидозата понижава нивото на витамин D-свързващите протеини и съответно - нивата на 25(OH)витамин D (262).

4.7. Понижено ниво на полови хормони (хипогонадизъм) в периода на достигане на ПКМ

Допълнителен негативен фактор за костните нарушения при ЗДТ1 е установеното по-ниско ниво на полови хормони, както при мъжкия, така и при женския пол (65). При възрастни индивиди половите хормони повлияват не само костното ремоделиране, но и възстановяването на костта след микроувреждания. Въпреки това ефектът на хипогонадизма е най-изразен по време на пубертета, когато се наблюдава растежния скок. Смята се, че хипогонадизъм, клинично изявен преди епифизарното сливане, води до постоянен и необратим дефицит в ПКМ. При физиологични условия естрогените инхибират секрецията на редица проинфламаторни цитокини като IL-1, IL-5, TNF и PGE2, от друга страна индиректно повишават активността на 1α хидроксилазата чрез PTH (179). Установеният при ЗДТ1 дефицит на остеокалцин вероятно също допринася за пониженото ниво на тестостерона при мъжкия пол, тъй като при физиологични условия остеокалцинът стимулира неговата синтеза (219).

Danielson и сътр. (263) установяват, че момичетата със ЗДТ1 имат по-късно менархе от здравите им връстнички, което е тясно сързано с нивото на гликемичен контрол. От своя страна по-късната възраст на менархе е независим фактор за по-ниска КМП (264). Всяка година закъснение на менархе след 12 год възраст, води до значимо намаляване на КМП в сравнение със здрави контрол. По-късната възраст на менархе показва корелация и с нивото на HbA1c (263).

Съществуват няколко теории: за наличие на инсулинови рецептори в яйчниците (265) и съответно нарушения в нормалната овариална функция при ЗД; за нарушения в в оста хипоталамус-хипофиза-яйчници, изразяващи се в намален отговор на лутеинизиращия хормон при стимулация от GnRH (гонадотропин-рилизинг хормон) (266); за наличие на овариални антитела при подрастващи девойки със ЗДТ1 (267), както и за рязка редукция на тегло при дебюта на заболяването (268).

5. Препоръки за скрининг и превенция на костните нарушения при ЗДТ1

За първи път през 2014г. остеопорозата е включена като дългосрочно усложнение на ЗДТ1 в детска и юношеска възраст в ръководството на ISPAD (International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes) за лечение на това заболяване. Авторите препоръчват скринингово изследване на костна минерална плътност на юноши със ЗДТ1, особено при наличие на коморбидни състояния като целиакия и/или дисфункция на щитовидната жлеза (269). При последната редакция от 2022г панелът за костно здраве е разширен и допълнен с препоръки за оптимален хранителен внос на калций и витамин D и изследване на нивото му при вискорисковите пациенти (с целиакия, съпътстващи автоиумнни заболявания, тъмна кожа). На този етап не се препоръчва рутинно провеждане на DXA (270). За разлика от останалите добре познати усложнения на ЗДТ1, все още няма разработени стандартни указания за превенция, скрининг и лечение на костното засягане, както при възрастни, така и при деца. Това отчасти се дължи на все още непълното разбиране на етиопатогенезата им (271). Целите на превенцията и скрининга на костното засягане при растящия скелет са: да предотврати фрактури и инвалидизация, да облекчи болката, да запази двигателната функция, както и да осигури задоволителен костен растеж и развитие.

Въпреки важността му, генетичния потенциал за достигане на ПКМ не би могъл да се изпълни, ако не са налице благоприятни фактори на околната среда (35). Към тях принадлежат физическа активност, хранене (калций, витамин D, протеини), общото здравословно състояние на индивида. Всички тези външни фактори подлежат на промяна и контрол. Определяне влиянието на всеки един от тях е първа стъпка в изработването на стратегия за оптимизиране на костното здраве.

При наличие на хронично заболяване обаче, като правило контролът му е най-добрият начин за превенция на вторичната остеопороза в ранна възраст (272). Безспорен негативен фактор са и наличните усложнения на ЗДТ1, което определя необходимостта от провеждане на редовен скрининг (273), както и за съпътстващи автоимунни заболявания като целиакия и засягане на щитовидната жлеза (155). Не на последно място са и препоръките за подобряване на метаболитния контрол чрез осгуряване на адекватна инсулинова доза (222).

Не съществуват специфични препоръки за дневен калциев прием от деца и подрастващи със ЗДТ1, въпреки данните за по-големи нужди при тях. Важно е да се отбележи, че за корекция на недостъчния калциев прием се предпочита повишена консумация на богати на този минерал храни пред изполването на хранителни добавки. Това осигурява от една страна по-добра интестинална резорбция и по-малък риск от нефролитиаза, а от друга води до формиране на трайни навици за здравословно хранене у подрастващите. В детската възраст къмплаянсът към хранителните добавки е по-лош поради съпътстващи негативни гастро-интестинални симптоми. По този начин се повишава и белтъчния внос, който също има положителен ефект върху костното здраве (272).

Въз основа на все по-често наблюдавания дефицит на витамин D и при здрави индивиди, неадекватното излагане на слънце, ограничените възможности за прием с храната, както и данните за позитивен ефект при допълнителен прием, Българското дружество по ендокринология (БДЕ) възприема стойностите, предложени от Endocrine Society, за деца в риск от дефицит на витамин D, според които за възрастта 0-1год препоръчителният прием е 400IU/дневно, а за възрастта 1-18г – 600IU/дневно. За постигане ниво на 25(OH)витамин Д над 30 ng/mL е необходим прием на най-малко 1000 IU/дневно (274).

Редовната физическа активност е крайъгълен камък в цялостната грижа за диабетно болните, независимо от възрастта. Тя е и един от главните фактори за развитие на костната система при деца и юноши. Въпреки това проучванията върху ефекта на физическата дейност при тези пациенти са оскъдни (275). Установено е, че деца и юноши със ЗДТ1 прекарват значително по-малко време за физическа активност, отколкото техните здрави връстници.

Освен това редовната физическа активност е свързана с по-добър метаболитен контрол и липиден профил, които осигуряват превенция на редица микро- и макроваскуларни усложнения. Повишава се инсулиновата чувствителност, подобрява се състава на тялото (съотношението мастна тъкан/мускулна маса) и качеството на живот и има благоприятен психологически ефект (276).

При наличие на вертебрални или често повтарящи се фрактури на дългите кости или когато е налице риск за качеството и продължителността на живота, е уместно да се

започне медикаментозна терапия. Използването на щадящи костната тъкан медикаменти е препоръчително, когато това е възможно (22).

Медикаментозното лечение на остеопорозата в детска възраст не се свежда само до прилагане на даден медикамент на база на ефектите му, наблюдавани при възрастни. При деца това е много по-сложна задача, свързана с отчитане на множество други фактори, които имат отношение към крехкото равновесие на костната обмяна, както и възможните последствия в по-късна възраст (22). Използвани в детска възраст са бифосфонатите, а при пациентите със ЗДТ1 се обсъжда приложението на медикаменти, подобряващи локалното кръвообращение (пентоксифилин), анаболни препарати (рекомбинанатен PTH) и др. В процес на разработване са и нови терапевтични агенти като например тетрациклин и негови аналози (22).

6. Изводи от литературния обзор

- ✓ Нараства честотата на ЗДТ1 сред педиатричната популация, както и на неговите дългосрочни усложнения, засягащи и костния метаболизъм.
- ✓ Налични са данни за повишен още в детска възраст фрактурен риск при пациенти със ЗДТ1. Това налага търсене на предразполагащи фактори за нарушенията в костното здраве при това заболяване още в детската възраст.
- ✓ За растящия детски организъм ЗД представлява сериозен рисков фактор, ограничаващ достигането на оптимална ПКМ, която определя костната плътност и фрактурния риск през целия по-нататъшен живот.
- ✓ Недостатъчни и противоречиви данни за спецификата на костната обмяна и костно здраве при педиатрични пациенти със ЗДТ1 в световната литература, липсват точни и ясни критерии за оценка на костното здраве при тях.
- ✓ Липсват комплексни и обобщени данни за костното здраве – КМП, ниво на витамин D при педиатричните пациенти и в частност на децата и юношите със ЗДТ1 в България.
- ✓ Няма общоприета стратегия за превенция на костните усложнения при пациентите със ЗДТ1 в световен мащаб.
- ✓ Липса на бърз, неинвазивен и достъпен метод за оценка на костното здраве при деца и юноши със ЗДТ1.

- ✓ При пациентите с повишен риск е необходима ранна диагноза чрез извършване на скрининг, с оглед започване на своевременна интервенция и намаляване на инвалидизацията и разходите за лечение в по-късна възраст.

Всички посочени данни ни дадоха основание за разработването на настоящия дисертационен труд поради необходимостта да се отговори на неизяснени въпроси около костното здраве при деца със ЗД и факторите които го обуславят, да се зададат удобни за ежедневната практика лабораторни и функционални методи за оценка, както и да се изработи стратегия за профилактика на отклоненията в костния метаболизъм при тези деца и подрастващи.

III. ЦЕЛ

Целта на разработката е:

1. Да се изследват показателите на костната обмяна и структура, определящи костното здраве при пациенти със ЗДТ1.
2. Да се изготвят препоръки за скрининг и превенция на костните нарушения при тях.

IV. ЗАДАЧИ

За изпълнението на така определените цели се поставиха следните задачи:

1. Да се определят антропометричните показатели - ръст, тегло, BMI, степен на пубертетно развитие на включените в проучването деца и юноши със ЗДТ1 и здрави контроли и да се изчислят SDS (стандартни отклонения) за числените показатели.

2. Да се анализират основните клинични характеристики на захарния диабет-възраст на заболяване, давност на диабета, инсулинова доза.

3. Да се установи средното ниво на гликемичен контрол, както актуален към датата на изследване, така и ретроспективен чрез осреднена стойност от неколкократни измервания през предходните 1-3 години.

4. Да се изследват показателите на костната и калциево-фосфорната обмяна.

4.1. Да се определят нивата на основни показатели на костния метаболизъм и калциево-фосфорната обмяна**:**

- маркери за костно формиране – остеокалцин, костна АФ (кАФ), IGF-1

- маркер за костно разграждане – бета крос лапс

- калций, фосфор, магнезий, PTH, 25(OH)витамин D

4.2. Да се изчислят индексите на стандартните отклонения (Standard Deviation Score, SDS) за показателите, които показват зависимост от пола и възрастта – остеокалцин, бета крос лапс, кАФ и IGF-1.

4.3. Да се изследва калциурията в 24-часова урина при пациентите, чиято възраст позволява това.

4.4. Да се изчисли дневния калциев прием на пациентите с помощта на специално разработен въпросник.

5. Да се анализират зависимостите на показателите за костен метаболизъм и калциево-фосфорна обмяна.

5.1. Взаимовръзките на изследваните показатели.

5.2. Зависимости от: антропометричните данни, степен на пубертетно развитие, пол.

5.3. Зависимост от специфични за ЗДТ1 фактори: възраст на заболяване, давност, метаболитен контрол и инсулинова доза.

6. Да се определи и анализира кортикалната костна плътност при ЗДТ1 чрез софтуерната програма BoneXpert® и изчисляване на Индекс за костно здраве (Bone Health Index, BHI) чрез:

6.1. Рентгенография на недоминантна ръка за определяне на костна възраст.

6.2. Обработване на полученото изображение от програмата BoneXpert и определяне на КМП на метакарпалните кости чрез автоматично изчисления индекс на костно здраве (BHI, Bone Health Index).

6.3. Изчисляване на стандартни отклонения (SDS) за всяка стойност на BHI, въз основа на наличната референтна база данни в програмата.

6.4. Да се потърсят зависимости на BHI от: степен на пубертетно развитие, пол, показатели на калцивео-фосфорна обмяна и костен метаболизъм и някои специфични за ЗДТ1 фактори: давност, възраст при изява на заболяването, гликемичен контрол, инсулинова доза.

7. Да се определят рисковите фактори, компрометиращи костното здраве при пациентите и да се изработят препоръки за скрининг и профилактика.

V. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Материал

Проучването представлява трансверзално изследване на посочените показатели при група пациенти със захарен диабет тип 1 и 70 контроли без установени заболявания, засягащи костната обмяна. Взети са кръвни проби и антропометрични показатели на общо 256 деца и юноши, хоспитализирани в отделението по диабет на СБАЛДБ „Проф Иван Митев" гр.София за периода 2011-2014г, от тях в проучването са включени 189 пациента.

Критерии за включване: потвърдена диагноза захарен диабет тип 1, основаваща се на клиничните и лабораторни критерии на ISPAD.

Критерии за изключване: наличие на микроваскуларни усложнения; асоциирано с диабета заболяване, повлияващо костния метаболизъм; друг тип диабет освен тип 1.

От изследването отпаднаха 67 пациенти, за които в последствие се установиха асоциирани заболявания, повлияващи костния метаболизъм /целиакия и болести на щитовидната жлеза/, както и пациент с моногенен диабет.

Контролната група се състои от 70 деца и подрастващи, хоспитализирани в СБАЛДБ и УМБАЛСМ „Н.И.Пирогов" по повод на състояния, неповлияващи костната им обмяна.

Критерии за включване на контроли – възраст от 1 до 18г; липса на хронично заболяване.

Критерии за изключване на контроли: заболяване или прием на медикаменти, повлияващи костната обмяна.

2. Методи

2.1. Анамнеза и физикален статус

Анамнеза – събрани са данни за: предходни фрактури, фамилна обремененост за остеопороза (фрактури), началото на заболяването, съпътстващи заболявания, текуща инсулинова доза, последна измерена стойност на HbA1c.

Физикален статус – проведен е стандартен клиничен преглед с фокус върху инжекционните места и повишено внимание към прояви на нарушение в растежа и физическото развитие при пациентите, както и към наличието на евентуални абнормности на опорно-двигателния апарат.

2.2. Антропометрични измервания

Проведени са следните антропометрични изследвания:

- **Ръст** – с ръстомер (Seca), измерен в право положение с фиксиране на тилната част и петите към вертикалната част на ръстомера.
- **Телесна маса** – измерена е сутрин на гладно на електронна везна, като при провеждане на изследването пациентите са облечени с леко облекло.
- **BMI (Body Mass Index)** – изчислен е по стандартната формула:

  BMI = телесна маса (кг)/ръст^2 (m^2)

Оценката на измерените антропометрични параметри се направи въз основа на български нормативи на Станимирова и сътр. (277) и стандартите на на Центъра за контрол и првенция на заболяванията (CDC) (278).

2.3. Документален метод

За 145 от пациентите бе открита и въведена информация и за предишни измервания на HbA1c от предходните 1-3 години.

2.4. Интервю за оценка на хранителния внос на калций

За оценка на хранителния прием на калций при 17 от изследваните пациенти се проведе интервю, базирано на метода на припомняне на диетата през последните 24 часа (24-hour recall method) (279). Участниците бяха помолени да си припомнят всички консумирани продукти, вкл. напитки, през последните 24 часа. Необходимо условие е предходният ден да е типичен за тяхната диета, като при наличие на особено събитие – рожден ден, посещение на ресторант, участниците даваха информация за предходния ден. Включени са всички напитки/ястия, консумирани от периода след събуждане до полунощ на съответния ден. Съдържанието на калций в приетата храна бе изчислено според Български държавен стандарт за всеки пациент поотделно (280). Това е най-често използваният метод за оценка на хранителен прием в големи клинични проучвания, както при възрастни, така и при деца. Важно предимство на метода е възможността за нагледно представяне на приетите количества храна, което осигурява голяма точност на отговорите. Също така методът отразява промените в хранителните навици – вид и количество на приетата храна. Друго предимство при използването му в детската възраст е липсата от необходимост да се помни вида и количеството на приетата храна за дълги периоди в миналото (7 или 10 дена), което допринася за по-голямата точност на резултатите.

2.5. Лабораторни изследвания

Параклиничните изследвания са извършени в клиничните и хормонални лаборатории на СБАЛДБ, УМБАЛ „Александровска” и Лаборатория Синево гр. София.

Биологичният материал от кръв и урина е взет според правилата и изискванията на добрата лабораторна практика, свързани с предварителната подготовка на пациента, условията на вземане, транспорт, съхранение и приготвяне на биологичния материал за изследване.

Изследването на показателите за костно формиране – остеокалцин, кАФ, както и на PTH, IGF-1, 25(OH)витамин D и показателя за костно разграждане – бета крос лапс се реализира по научно-изследователски проекти: Грант Договор № 55/2011 г., Проект

№60/2011г., Млад изследовател Договор № 10-Д/2012 г., Проект № 21-Д/2012 и Млад изследовател Договор №14 - Д/2013 г., Проект № 28 – Д/ 2013г, финансирани от МУ-гр.София.

Всички участници в изследването и техните законни представители бяха информирани за неговите цели, процедурите, на които ще бъдат подложени и последващото им проследяване. Те бяха запознати със стриктната конфиденциалност на техните данни и факта, че медицинските данни могат да бъдат ползвани от оторизирани изследователи освен от техните лекуващи лекари. Всички те са включени доброволно и след подписване на информирано съгласие. (вж. Приложение №1). Проучванията са одобрени от Комисията по етика на научно - изследователската дейност (КЕНИД) към Медицински университет - гр. София.

Серумно ниво на остеокалцин

Изследването е проведено с електрохемилуминисцентен имунотест, предназначен за имунологичен анализатор Cobas e 411 на фирма Roche. Тестът за определяне N-MID фрагмента на остеокалцин (1-43) използва принципа на имунологична реакция тип „сандвич". Резултатите се определят чрез калибрационна крива, която се генерира от анализатора чрез двуточкова калибрация и еталонна крива взета от баркода на реактива. Анализаторът работи на принципа на електрохемилуминесцентния имуноанализ, като изчислява автоматично концентрацията на изследваната субстанция – N-MID фрагмента на остеокалцин (1-43) в съответната проба в ng/mL или µg/L. Долната граница на откриване е 0,500 ng/mL, а горната – 300ng/mL.

Серумно ниво на 25(OH)витамин D

Изследването на 25(OH)Vitamin D3 е извършено с имунологичен тест за in vitro, количествено базиран на конкурентен принцип, предназначен за имунологичен анализатор COBAS 411 на фирма Roche. Анализаторът работи на принципа на електрохемилуминисцентния анализ, като изчислява автоматично концентрацията на изследваната субстанция в съответната проба в ng/mL или nmol/L въз основа на калибрационна крива която се генерира чрез двуточкова калибрация и еталонна крива

взета от баркода на реактива. Точността на използвания кит е до 3 ng/mL с граница на обхват 3 -70 ng/mL (7,50-175 nmol/L) .Долна граница на откриване 3 ng/ml (7,5 nmol/L).

Серумно ниво на IGF-1

Изследването на IGF-1 е извършено с имунологичен тест за in vitro измерване в серум, предназначен за имунологичен анализатор COBAS 411 на фирма Roche. Методът представлява ензимно-свързано имуносорбентно изследване - ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), количествено базирано на конкурентен принцип. Долната граница на откриване е 1,29 ng/mL, а горната – 600ng/mL.

Серумно ниво на бета крос лапс

Изследването е извършено на принципа на електрохемилуминесцентния имуноанализ, предназначен за имунологичен анализатор Cobas e 411 на фирма Roche. Използва се принципа на имунологична реакция тип „сандвич". Резултатите се определят чрез калибрационна крива, която се генерира от анализатора чрез двуточкова калибрация и еталонна крива взета от баркода на реактива. Граници и обхват на измерване:0,010-6,00 ng/mL (10-6000pg/mL). Долна граница на откриване: 0,01 ng/mL.

Серумно ниво на паратхормон (PTH)

Изследването е извършено с електрохемилуминисцентен имунотест предназначен за имунологичен анализатор Cobas e 411 на фирма Roche. Тестът за определяне на интактен PTH използва принципа на имунологична реакция тип „сандвич". Резултатите се определят чрез калибрационна крива, която се генерира от анализатора чрез двуточкова калибрация и еталонна крива взета от баркода на реактива. Граници и обхват на измерване: 1.20 -5000 pg/mL. Долна граница на откриване: 1.18 pg/mL. Оценката на индивидуалните данни за серумно ниво на PTH се направи съобразно препоръчаните според спецификацията на метода:Референтни стойности: 1,18-7,0 pmol/L.

Серумното ниво на костна алкална фосфатаза е определено чрез колориметричен метод анализатор Integra 400 на фирма Roche.

Серумното ниво на HbA1c е определено чрез имунотурбидиметричен метод. За по-пълно и достоверно характеризиране на гликемичния контрол при включените в проучването пациенти се анализираха две стойности за HbA1c:

1. Последната измерена в хода на проучването стойност – при всички пациенти, и
2. Осреднената стойност (ретроспективна) от многократно изследвания HbA1c, проследен за последните три години, предхождащи изследването - при 145 от пациентите.

Изследването на клинико - лабораторните **биохимични показатели** е извършено в Клинична лаборатория на СБАЛДБ „Проф Иван Митев" гр. София като е използван биохимичен анализатор Integra 400 на фирма Roche.

Стойността на **уринния калциево/креатининов клирънс** е определена чрез колориметричен метод анализатор Integra 400 на фирма Roche. Нормални стойности на съотношение калций/креатинин <0,56 mmol/mmol.

Прецизността на резултатите наложи спазването на изискванията за добра лабораторна практика с използване на двойни проби. За по-голяма коректност и достоверност при интерпретацията на резултатите, за зависещите от пола и възрастта показатели бе възможно да бъдат изчислени и SDS (Standard Deviation Score) - сравнение с нормите за съответния пол и възраст, както на контролите, така и на пациентите. Използвани бяха референтните стойности на Rauchenzauner и сътр. (281) за следните показатели: остеокалцин, бета крос лапс, кАФ и IGF-1. Същите бяха получени чрез лична кореспонденция на дисертанта с автора. Ползваната биохимична методика в настоящото проучване не разполага с референтни стойности в зависимост от възрастта.

2.6. Дигитален/компютърен метод

При 65 деца и юноши със ЗДТ1 бе направена рентгенография на недоминантна ръка, записана на електронен носител. Получените изображения бяха обработени от програмата BoneXpert® (версия 2.0.0.6, Visiana, Дания) за определяне на костна възраст и кортикална костна минерална плътност (кКМП) на метакарпалните кости чрез

автоматично изчисления индекс на костно здраве (BHI, Bone Health Index). За част от пациентите не бе възможно изчисление на BHI SDS, поради възрастовите ограничения на референтната база данни.

Програмата BoneXpert се базира на автоматичен, независим от ротацията на ръката анализ на общо на 13 кости: радиус, улна и 2., 3. и 4. метакарпална кост. Чрез този метод може да бъде измерено количеството кортикална костна тъкан в метакарпалните кости - BHI. Изчислението на този индекс се основава на измерването на кортикалната дебелина -T на три междинни метакарпални кости. При дигиталната радиограмметрия програмата BoneXpert извършва едновременно 100 независими измервания на „области представляващи интерес“ от метакарпалните кости, като по този начин осигурява многократно по-голяма прецизност от стария мануален метод. Настоящият метод на BHI обединява някои от използваните в миналото формули и се изчислява на базата на следното уравнение: $BHI = \pi T(1-T/W)/(LW)^{0.33}$, където T е кортикална дебелина (Thickness), W е метакарпална ширина (Width), а L – дължина (Length). Замисълът на тази формула е да се осигури оптимална компенсация на изключително изменчивите размери и пропорции при децата. Програмата изчислява и SDS за всяка стойност на BHI, сравнявайки ги със здрави контроли от същата възраст и пол. Референтните стойности са разработени на базата на голяма кохорта здрави деца (n=2398) и корелират с пола и костната възраст. Точността на метода (coefficient of variation, CV) е 1,4% за възраст 10 год, а за дадена костна възраст – 7,5%, което съответства на 0,19 BHI SDS. Програмата автоматично отхвърля образа, ако костите не са реконструирани правилно или рентгенографията е некачествена. Необходимо условие е и възрастта на изследваните да бъде от 2,5 до 17 год за мъжкия пол и от 2 до 15 год за женския (119).

2.7. Статистически методи

Данните от проучването са обработени със софтуерни статистически пакети SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) версия 25.0 и EXCEL for Windows. Резултатите са описани чрез таблици, графики и числови показатели за структура, честота, средни стойности, корелационни коефициенти и др.

При анализа на резултатите са приложени следните тестове:

1. Дескриптивна статистика

- средна аритметична, медиана (Mean, Median) – мерки за оценка на централната тенденция;
- стандартно отклонение (SD) – мярка за оценка на разсейването;
- честотни таблици - абсолютни честоти (n) – броят на единиците в отделно взета група; относителни честоти (%) – броят на единиците в отделно взета група отнесен към общия брой единици в съвкупността;

2. Непараметричен тест на Колмогоров-Смирнов при една извадка (One-Sample Kolmogorov-Smirnov test) - за проверка на формата на честотното разпределение. Най-често проверката е спрямо формата на нормалното разпределение.

3. Непараметрични тестове - на Ман-Уитни (Mann-Whitney test), Pearson‘ χ^2 - test, Mann-Whitney, Kruscal-Wallis H-test.

4. Рангов корелационен коефициент на Спирмън (Spearman's rho) – за проверка на хипотези за наличие на линейна зависимост между количествени признаци с разпределение различно от нормалното.

5. Параметрични тестове за проверка на хипотези при нормално и близко до нормалното разпределение на случаите - t – test, ANOVA с post hoc tests.

6. Нелинеен еднофакторен регресионен анализ – за търсене на зависимост между количествени признаци.

7. Множествен линеен регресионен анализ - за търсене на линейна зависимост между един зависим и няколко независими количествени признаци, както и за количествена оценка на влиянието на установените предиктори.

За ниво на значимост, при което се отхвърля нулевата хипотеза бе прието $p<0.05$.

ПРИЛОЖЕНИЕ №1

ДЕКЛАРАЦИЯ ЗА ИНФОРМИРАНО СЪГЛАСИЕ

Долуподписаните родители/законни попечители на малолетния ни син/дъщеря .....роден/а на..... се запознахме обстойно със задачите на научния проект "Зависимост между някои показатели на костния метаболизъм и метаболитния контрол на тип 1 диабет в детско-юношеската възраст"/**„**Ниво на витамин Д и някои показатели на костния обмен при деца и юноши със захарен диабет тип 1**"**/ „Зависимост между пубертетния статус и пола и някои показатели на костната обмяна при деца и юноши със захарен диабет тип 1", като за целта проведохме личен разговор с изследователя.

Даваме съгласието за участие на нашето дете по следните причини:

а/ запознати сме с напълно начина на изследване и не намираме, че участието на нашето дете в проекта ще предизвика каквито и да било неблагоприятни последствия.

б/ приемаме по време на предварителния подбор на участниците нашето дете да бъде прегледано от специалисти по детски болети, които ще преценят неговия растеж и развитие в съответствие с възрастта му, както и ще ни уведомят, ако детето има здравословен проблем. Това представлява пряка полза за него.

в/ участието на нашето дете ще има положителен ефект върху неговото възпитание с формиране на съпричасност към съдбата на болните деца и удовлетвореност от помощтта, която косвено ще окаже.

г/ провеждането на изследванията, включени в проекта, след съответния разяснителен коментар, ще обогати общите познания на нашето дете в областта на диабетологията и на собственото му заболяване.

д/ изводите на изследователите могат да допринесат за максимално ранно установяване на рисковете от промени в костната обмяна, които могат да се отразят неблагоприятно в по-късната възраст и биха могли да се профилактират при ранното им установяване.

е/ уведомени сме, че ние или нашето дете няма да получим паричен или друг материален стимул.

ж/ ще имаме право да се запознаем с крайните резултати на проучването, ако пожелаем.

з/ уведомени сме, че резултатите от изследването няма да бъдат предоставени на лица, неучастващи в проекта и с тях няма да се злоупотребява по никакъв начин.
и/ ще оставим нашето дете да вземе крайното решение за участие в проучването, след като му разясним на достъпен език гореизложеното и позволим поставянето на личния му подпис или собственоръчно написано име.
й/ декларираме, че не са ни известни хронични или остри заболявания, от които нашето дете страда и че понастоящем не приема лекарства

Дата:

Майка/попечител.....Подпис.....

Баща/попечител.....Подпис.....

Участник под 18 години.....Подпис.....

VI. РЕЗУЛТАТИ

1. Обща характеристика и антропометрични показатели на изследваните пациенти и здрави контроли

1.1. Разпределение по възраст и пол

Средната възраст на изследваната група пациенти със ЗДТ1 (n=189) е 11,9 ±3,91 години, без значими различия между двата пола: момчета -11,53 ±4,14 години, момичета - 12,21 ± 3,67 години, p>0,05.

Контролната група се състои от 70 здрави деца и подрастващи на средна възраст 9,86 ±4,60години, също без значими възрастови различия между двата пола: 8,68 ±4,15 години и 11,13 ±4,79години съответно за мъжки и женски пол, p>0.05.

Половото съотношение на изследваните пациенти е приблизително 1:1 – 51% са от женски пол (n=96), а 49% - от мъжки (n=93). При контролната група разпределението е много сходно – 50% (n=35) за женския пол и 50% (n=35) за мъжкия.

Възрастовата характеристика на изследваните пациенти съответства на установената за педиатричните пациенти със ЗДТ1 в България (149). Най-голям дял съставят пациентите във възрастовата група 10-14години – около 40%, най-малък - групата 0-4години – 3,7%, останалите пациенти са разпределени съответно – 22% в групата 5-9 години и 34,3% групата 15-18години.

1.2. Разпределение по степен на пубертетно развитие

1.2.1. Пациенти

Оценката на пубертетното развитие е извършена според стадиите, определени от J Tanner. На табл. 1. е показано разпределението на изследваната група пациенти според пола, степента на пубертетно развитие и средната им възраст. Най-голям дял се пада на предпубертетната група (n=52, 27,51%), докато пациентите в останалите стадии на пубертетното си развитие са равномерно разпределени.

Таблица 1. Разпределение на изследваните деца и юноши със ЗДТ 1 по степени на физиологична зрялост, пол и средна възраст

Степени на полово развитие, Tanner	Брой (момчета:момичета)	Средна възраст (години)
1 (предпубертет)	52 (32:20)	6,97 ± 1,86
2	35 (20:15)	10,67 ± 1,31
3	29 (11:18)	12,67 ± 1,23
4	38 (15:23)	14,51±1,09
5 (завършен пубертет)	34 (15:19)	17,13 ± 0,73

1.2.2. Контролна група

Разпределението на контролите по пубертетно развитие е сходно - с най-голям брой в предпубертетната група (n=42, 60%). Най-малък е броят деца в групата с пубертетно развитие 3ст по Танер (n=3, 4.29%), останалите групи показват сравнително равномерно разпределение.

Таблица 2. Разпределение на изследваните контроли деца и юноши по степени на физиологична зрялост, пол, възраст

Степени на полово развитие	Брой (момчета:момичета)	Средна възраст (години)
1 (предпубертет)	42 (25:17)	4,06± 2,56
2	7 (3:4)	9,79±0,98
3	3 (2:1)	12,9 ± 2,35
4	13 (4:9)	14,71±1,38
5 (завършен пубертет)	5 (1:4)	15,5 ± 1,91

1.3. Антропометрични показатели

За всяко дете на базата на направените измервания бе изчислен индивидуален SDS (индекс на стандартно отклонение) за ръст, тегло и индекс на телесна маса (Body mass index, BMI). С цел оценка на растежа на пациентите спрямо български и световни стандарти бяха използвани две нормативни бази данни - българска - на Надежда Станимирова и сътр. (277) и международна - на Центъра за контрол и првенция на заболяванията (CDC) (278). За норма се приемат резултати в рамките на +/- 2 SDS от средната стойност за съответната възраст и пол (277).

1.3.1. Разпределение на изследваните пациенти и контроли по показателя ръст

Средните стойности на SDS за ръст при изследваните пациенти са в рамките на средните за български деца (+0,36 SDS ± 1,09). (Табл.3)

Изключение правят трима пациенти: при един от тях е установен синдром на Мориак – момиче на възраст 15,65 години с 8,19 години продължителност на заболяването и тежко изоставане в растежа и половото развитие (-4,37 SDS за ръст и -3,05 SDS за тегло, Танер 2ст). Състоянието ѝ най-вероятно е резултат от системния инсулинов дефицит при провеждания двукратен инсулинов режим от самото начало на заболяването. Пациентката не е проследявана от детски ендокринолог и бе изключена от общата група при изчислението на средните стойности за ръста.

Единият от другите двама пациенти е с новооткрит ЗД (SDS -2,54), а другият (SDS-2,65) е с 6-годишна давност на заболяването и незадоволителен метаболитен контрол HbA1c 8,61% (70,6 mmol/mol). Вероятно и при двамата се касае за фамилно нисък ръст.

Таблица 3. Разпределение на средните SDS за ръст на изследваните пациенти

Пол	Среден SDS ръст (Станимирова и сътр)	Среден SDS ръст (CDC)
Мъжки (n=93)	0,36±0,999	0,18±1,04
Женски (n=95)	0,41±1,178	-0,02±1,07
Общо (n=188)	0,36 ± 1,091	0,08± 1,06

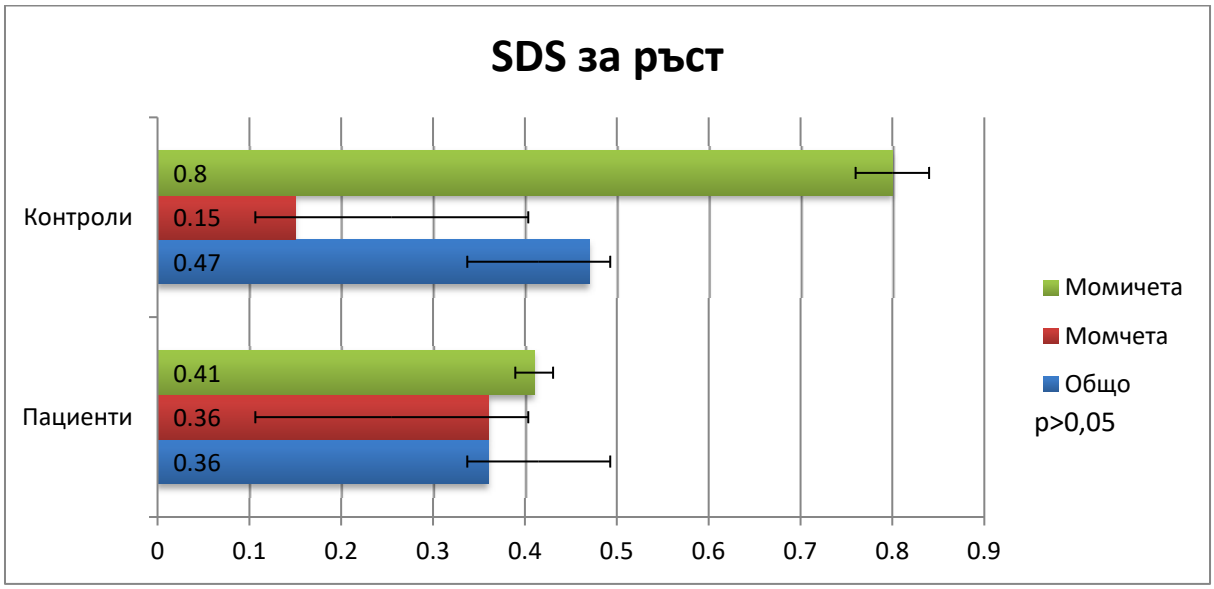
При контролите също няма значими отклонения от референтните нива – български и международни. (Табл.4).

Таблица 4. Разпределение на средните SDS за ръст на изследваните контроли

Пол	Среден SDS за ръст (Станимирова и сътр)	Среден SDS за ръст (CDC)
Мъжки (n=35)	0,15±1,1	0,00±1,08
Женски (n=35)	0,80±1,26	0,64±1,26
Общо (n=70)	0,47±1,21	0,32±1,21

На фиг. 1 се вижда, че макар пациентите да показват тенденция за по-нисък ръст, стойностите при тях са в рамките на две стандартни отклонения от средните и не се различават значимо от тези при контролите.

Фигура 1. Разпределение на средните SDS за ръст при пациенти и контроли според българската референтна база данни (Станимирова и сътр)



1.3.2. Разпределение на изследваните пациенти и контроли според показателите за тегло и индекс на телесна маса (Body Mass Index, BMI)

Средните стойности на SDS за тегло при изследваните пациенти и контроли са в рамките на референтните според българските и международни норми.

Таблица 5. Разпределение на средните стойности на SDS за тегло на изследваните пациенти

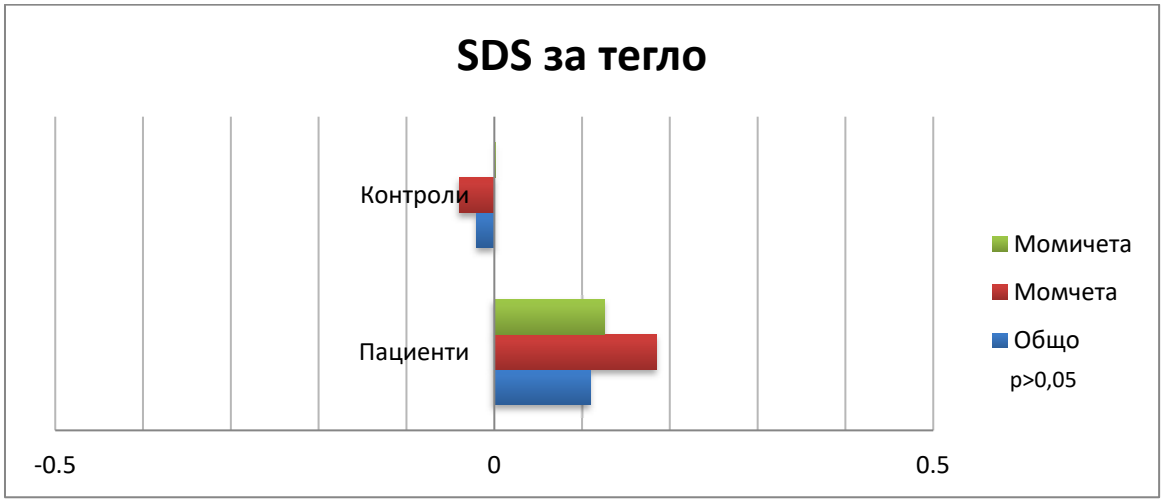
Пол	Среден SDS за тегло (Станимирова и сътр)	Среден SDS за тегло (CDC)
Мъжки (n=93)	0,185±1,056	0,19±1,00
Женски (n=95)	0,126±0,977	-0,04±0,87
Общо (n=188)	0,11± 1,016	0,08±0,94

Таблица 6. Разпределение на средните SDS за тегло на изследваните контроли

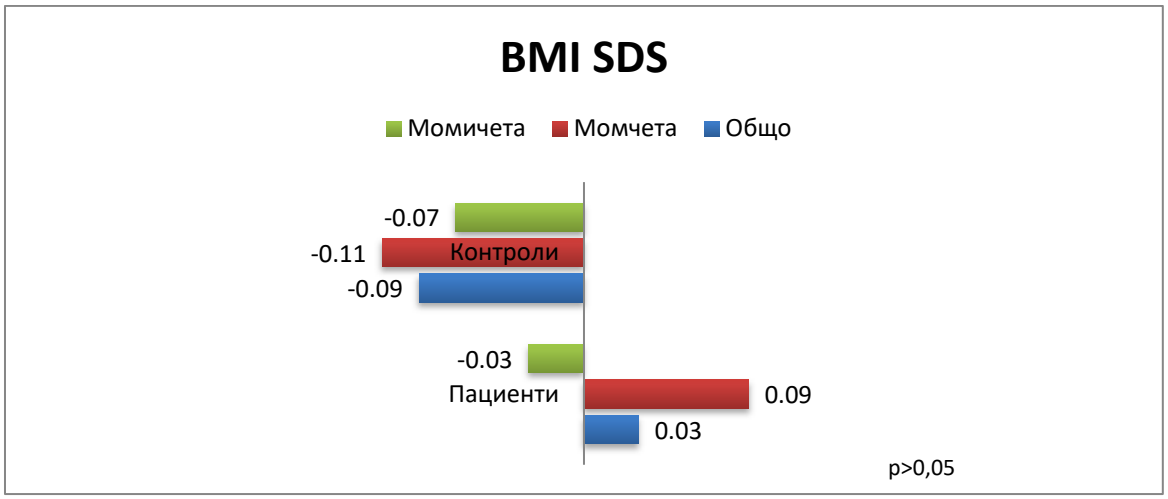
Пол	Среден SDS за тегло (Станимирова и сътр)	Среден SDS за тегло (CDC)
Мъжки (n=35)	-0,04±1,13	0,016±1,008
Женски (n=35)	0,00±1,04	0,061±0,97
Общо (n=70)	-0,02±1,08	0,039±0,983

Поради възрастово специфичните норми за BMI са изчислени индексите на стандартни отклонения (SDS) за този показател спрямо международни норми, поради липса на български такива. В нашето проучване, независимо от наблюдаваната в световен мащаб тенденция за увеличаване честотата на наднорменото тегло и затлъстяването сред пациентите със ЗДТ1, не се установяват статистически значими различия в SDS на теглото и BMI SDS спрямо контролите. Стойностите са в рамките на 0,5 SDS от средните (Фиг. 3).

Фигура 2. Разпределение на средните SDS за тегло на изследваните пациенти (Станимирова и сътр)



Фигура 3. Разпределение на средните BMI SDS при пациенти и контроли



Пациентите с новооткрит ЗДТ1са разпределени в отделна група поради тенденцията към катаболни процеси при изявата на заболяването и съответно по-ниските стойности на BMI SDS. Въпреки това, при всички групи средните стойности на BMI SDS са в рамките на ±2 стандартни отклонения от средните за съответната възраст и пол (табл.7).

Таблица 7. Разпределение на пациентите според BMI и давност на заболяването

	< 6 месеца	6 мес-5год.	5-10 год.	>10 год.
Средна продължителност (години)	0,02±0,09	2,72±1,48	6,99±1,32	12,43±1,9
Средна стойност на BMI SDS	-0,86±1,3 [a] (n=34)	0,17±1,19[bc] (n=60)	0,41±0,90[bc] (n=66)	-0,09±0,64 [b] (n=28)

* - еднаквите букви по хоризонталите указват липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p<0,05)

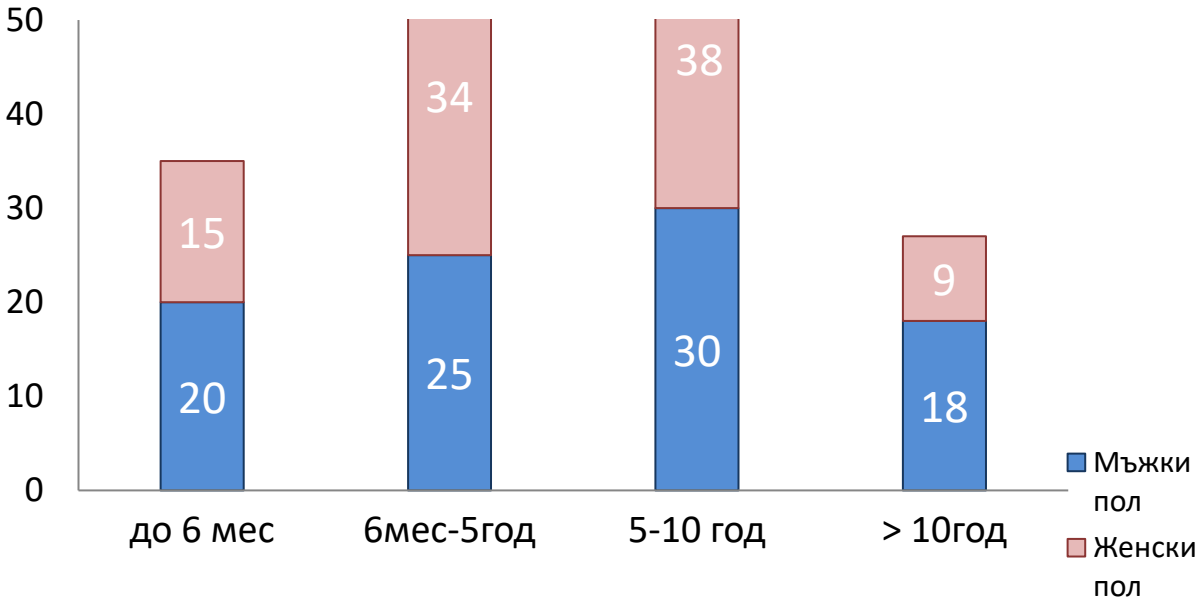
1.4. Разпределение на изследваните пациенти по давност на ЗДТ1

Средната давност на заболяването в общата група е 5,15 год ±4,20 (0 до 16,5 год), медиана 5,03 год. При изключване на пациентите с новооткрит ЗДТ1 средната давност става 6,32год ±3,78 (n=154), от 0,54 до 16,5год. Най-голям е делът на тези с давност 5-10г – 35,9%, сходен, но малко по-нисък е този на пациентите с продължителност 6мес-5год – 31%. Най-малко са пациентите с най-голяма давност на заболяването (>10г) – 14%, докато тези с новооткрит (n=35) представляват 19,1% от всички изследвани (табл. 8, фиг. 4)

Таблица 8. Разпределение на пациентите според давността на заболяването

Давност на диабета	Брой (момчета:момичета)	Процентно разпределение по групи	Средна продължителност (години)
Новооткрит (до 6 месеца)	35 (20:15)	19,1%	0,02 ± 0,09
6 месеца- 5 години	59 (25:34)	31%	2,68 ± 1,46
5-10 години	68 (30:38)	35,9%	7,02 ±1,38
> 10 години	27 (18:9)	14%	12,52 ± 1,87

Фигура 4. Разпределение на пациентите по пол и давност на заболяването



1.5. Разпределение на пациентите според нивото на гликемичния контрол

За момента общоприетият показател за оценка на нивото на гликемичен контрол при пациентите със захарен диабет е HbA1c. Той отразява средните нива на гликемията през последните 3 месеца и се подчинява на следните стандарти за добър и незадоволителен/лош метаболитен контрол:

а/ добър гликемичен контрол - HbA1c< 7,5% (58 mmol/mol) и

б/ незадоволителен гликемичен контрол - HbA1c ≥ 7.5% (58 mmol/mol).

Таргетните нива съответстват на препоръките на ISPAD (Международно дружество по детски и юношески диабет) от 2014г.

Средният актуален към датата на изследването HbA1c на всички пациетни (n=189) е **9,59%** ±1,95, като за момичета е 9,63%±1,99, а за момчета – 9,56%±1,91, p>0,05.

Свързани с живота на еритроцитите, стойностите на HbA1c, особено до третия месец след установяването на ЗДТ1 отразяват предклиничния (преди диагнозата) стадий на декомпенсация и повишените нива не отразяват реално резултата от започнатото инсулинолечение. При изключване на групата с давност до 6 месеца средната стойност на актуалния HbA1c (n=147) намалява значимо - **9,12 ±1,64**%, p<0,001**,** без разлика между

двата пола: за момичета (n=77) е 9,27±1,74%, за момчета (n=70) – 8,97±1,53%, p>0,05. В групата със задоволителен гликемичен контрол момичетата показват по-ниски стойности на HbA1c (съответно 6,88%±0,48 срещу 6,95%±0,5 при момчетата, p>0,05), докато в групата с незадоволителен гликемичен контрол средните нива на HbA1c и при двата пола са идентични – 10,08% (табл.9).

Таблица 9. Разпределение на изследваните пациенти според нивото на настоящия HbA1c:

Настоящ HbA1c	Брой (♂ : ♀)	Средна стойност момчета	Средна стойност момичета	Обща група
<7,5% (58 mmol/mol)	30 (17:13)	6,95±0,5	6,88±0,48	6,92±0,48
≥ 7,5% (58 mmol/mol)	159 (74:77)	10,08 ±1,69	10,08±1,81	10,08±1,75
p		<0,01**	<0,01**	<0,01**

При значителна част от пациентите с давност над 6 месеца (n=145, 94,16%) беше възможно получаване на ретроспективни данни за проследения по време на диспансерното наблюдение HbA1c, изследван през 3 – 6 месечни интервали. Тази информация дава по-достоверна представа за дълготрайния гликемичен контрол. Изчислената средна стойност на ретроспективния HbA1c е **8,95%±1,36**, достоверно по-нисък спрямо актуалния за групата с давност на диабета над 6 месеца **9,12% ±1,64**, p<0,01. Тези 145 пациенти също бяха разпределени в две групи – с добър гликемичен контрол с HbA1c<7,5% (58,5mmol/mol), (n=24) и такива със незадоволителен гликемичен контрол HbA1c>7,5% (58,5mmol/mol), (n=121). Средните нива на HbA1c за всяка група са 7,03±0,34% (от 6,19% - 7,41%) и 9,28 ±1,18% (от 7,58% -13,6%) съответно, p<0,05. Сигнификантна е и разликата в средната възраст на пациентите от двете групи - 9,83 ±3,54 години в групата с добър контрол и 12,23 ±3,88 години в групата с лош, p <0,05. Средната продължителност на заболяването при пациентите с добър гликемичев контрол

е 3,78 ±2,69 години, докато в групата с незадоволителен/лош контрол е 5,39 ±4,38 години, p<0,05.

Таблица 10. Обща характеристика на пациентите според нивото на ретроспективния HbA1c

Групи (HbA1c)	**Брой** (♂:♀)	**HbA1c (%)** ♂ X±SD	**HbA1c (%)** ♀ X±SD	**Общ HbA1c (%)** X±SD	**Възраст (год.)** X±SD	**Давност (год.)** X±SD	**Инсулинова доза (Е/кг)** X±SD
<7,5%	24 (11:13)	6,86 ±0,42	6,94 ±0,31	6,90 ±0,36	9,83 ±3,54	3,78 ±2,69	0,87±0,2
≥ 7,5%	121 (57:64)	9,32 ±1,10	9,16 ±1,30	9,28 ±1,18	12, 23 ±3,88	5,39 ±4,38	0,99±0,29
p		<0,01**	<0,01**	<0,01**	<0,05*	<0,05*	<0,05*

1.6. Разпределение на пациентите според метаболитния контрол и давността на заболяването

Всички пациенти с давност на ЗДТ1 повече от 6 месеца бяха разпределени в три подгрупи според продължителността на заболяването:

1) 6 месеца – 5 години;
2) 5-10 години;
3) Над 10 години.

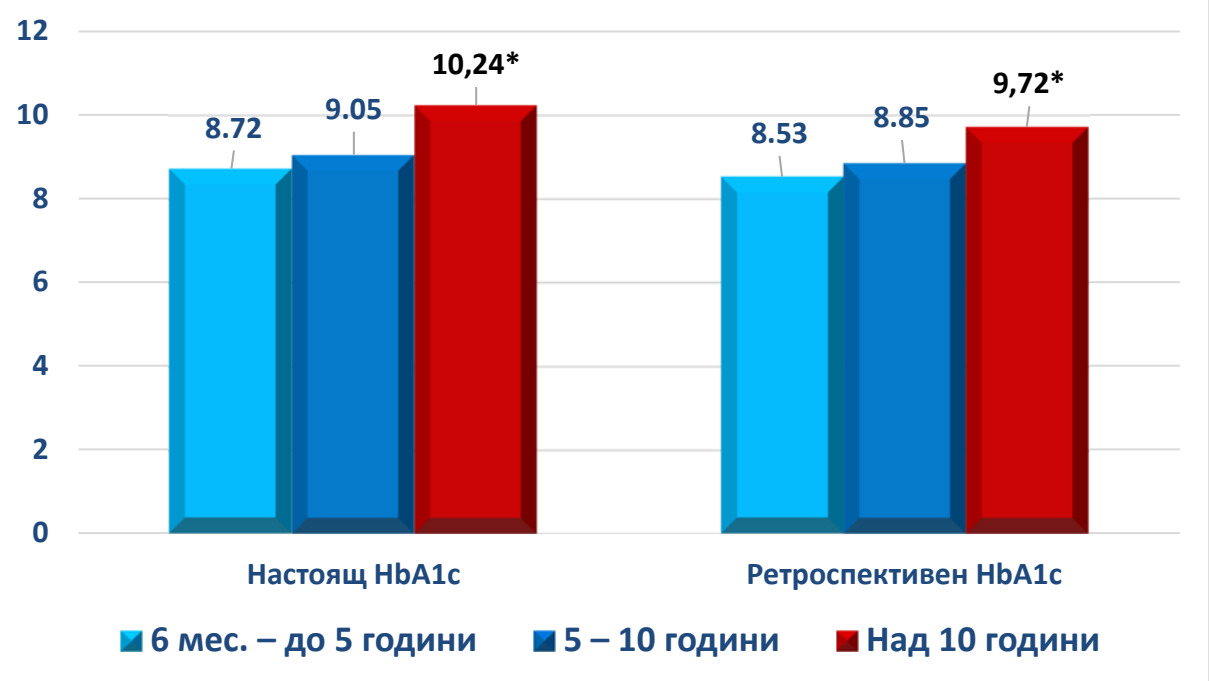
Най -ниски са стойностите на HbA1c в първата група (с давност 6 месеца-5 години): настоящ HbA1c - 8,72%±1,64, ретроспективен HbA1c - 8,46%±1,42. Подгрупите с давност над 10 години се отличават значимо от първите две както по настоящ, така и по ретроспективен HвA1c (p<0.05), докато първите две подгрупи с давност 6 мес-5 години и 5-10 години все още не се различават помежду си както по настоящ, така и по ретроспективен HвA1, p>0.05 (фиг. 5, табл. 11).

Таблица 11. Разпределение на пациентите с давност над 6 месеца според нивата на настоящ и ретроспективен HbA1c

Показатели	Продължителност на заболяването								
	6 мес. – 5 год.			5 – 10 години			>10 години		
	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD
Актуален HbA1c	56	8,72[a]	1,64	66	9,05[a]	1,59	25	10,24[b]	1,31
Ретроспекти-вен HbA1c	53	8,53[a]	1,42	66	8,85[a]	1,37	26	9,72[b]	1,42

* - еднаквите букви по хоризонталите указват на липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p<0,05)

Фигура 5. Разпределение на нивата на настоящия и ретроспективен HbA1c според продължителността на заболяването



Една от причините за по-високите стойности на актуалния HbA1c е изследването на същия при хоспитализирани деца, при част от които причината за хоспитализацията е декомпенсацията на диабета, нуждата от преоценка на лечението и/или смяна на инсулиновия режим. Давността на диабета влошава нивата на HbA1c по причини,

свързани с изчерпването на остатъчната инсулинова секреция, пубертетната физиологична инсулинова резистентност и поведенчески проблеми от страна на подрастващите, свързани с дието- и инсулинолечението, видно от фиг 5.

1.7. Средна дневна инсулинова доза на пациентите

Средната актуална инсулинова доза в общата група (n=173), изчислена на килограм телесна маса е 0,95±0,27 Е/кг (0,35 - 1,78) с медиана 0,94 Е/кг. Пациентите с добър контрол имат и значимо по-ниска инсулинова доза спрямо телесната маса- 0,87±0,20Е/кг срещу 0,99 ±0,29Е/кг в другата група, $p<0,05$). Инсулиновата доза на килограм тегло показва нарастване с давността на заболяването, най-висока е в тази с най-голяма продължителност на заболяването. На фиг. 6 и табл. 12 се вижда, че средните аритметични стойности на инсулиновата доза са сигнификантно по-ниски в групата с продължителност на заболяването до 5 години спрямо групите с по-голяма продължителност, чиито средни аритметични не се различават статистически помежду си ($p>0,05$).

Фигура 6. Средни нива на инсулиновата доза (Е/кг) според продължителността на заболяването

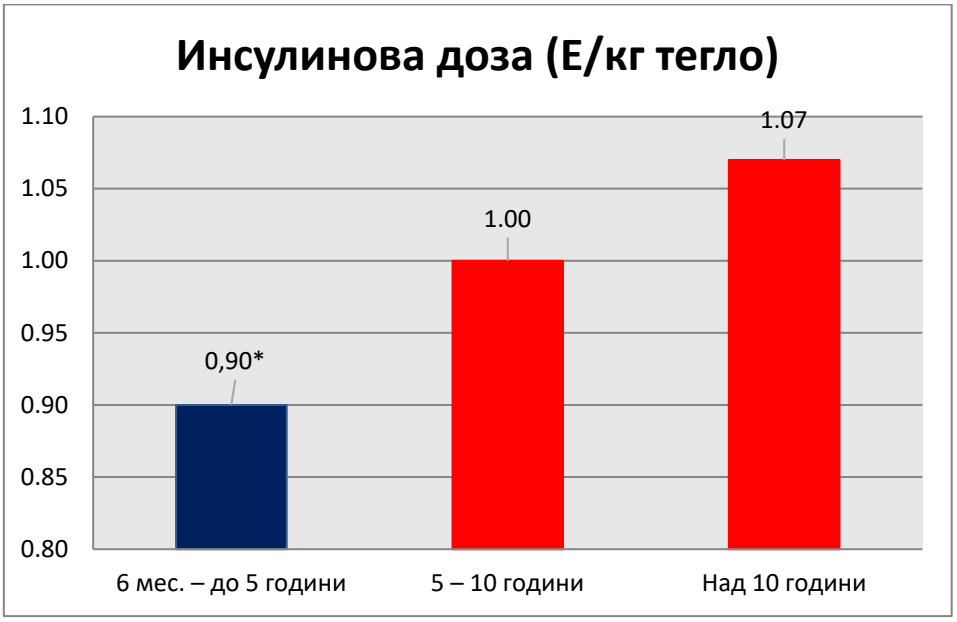


Таблица 12. Сравнителен анализ на инсулиновата доза според продължителността на заболяването

Продължителност на заболяването								
6 мес. – 5 години			5 – 10 години			> 10 години		
n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD
67	0,90[a]	0,27	68	1,00[b]	0,24	37	1,07[b]	0,31

* - еднаквите букви по хоризонтала указват липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава ($p<0,05$)

1.8. Оценка на бъбречна функция (GFR) при изследваните пациенти и контроли

За пълна оценка на бъбречната функция, изчислихме стойностите на гломерулната филтрация (Glomerular Filtration Rate, GFR) при пациенти и контроли, използвайки формулата на Schwarz (282):

Двете групи (деца с диабет и контроли) не се различават значимо по отношение на този показател. Средното ниво при пациентите е 113,19±20,9 ml/min/1,73m2, а при контролите - 113,35±16,16ml/min/1,73m2, $p>0,05$, т.е. на този етап можем да изключим негативното влияние на заболяването върху бъбречната функция и съответно – върху изследваните метаболитни и хормонални показатели.

2. Общи характеристики на костната обмяна при изследваните пациенти и контроли

2.1. Средни стойности на изследваните костни маркери при пациенти и контроли

Изследвани са следните костни маркери: остеокалцин, костна АФ (кАФ), бета крос-лапс, IGF-1. При сравнителен анализ на средните нива на абсолютните им стойности значими различия между пациенти и контроли се наблюдават само по отношение на маркера за костно формиране **остеокалцин**, като при пациентите с диабет стойностите са по-ниски, съответно 63,89±35194 ng/ml спрямо79,28±40,65 ng/ml при контроли, p<0,001.

Таблица 13. Средни стойности на изследваните костни маркери при пациенти и контроли

Показатели	Контроли			Пациенти			P
	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD	
IGF-1, ng/ml	42	249,09	138,69	107	259,68	149,2	>0,05
Остеокалцин, ng/ml	50	79,28	40,65	133	63,89	35,94	**<0,001**
Бета крос лапс, ng/ml	52	1,17	0,54	175	1,04	0,58	>0,05
кАФ, µg/l	30	55,73	30,95	75	60,37	31,75	>0,05

2.2. Средни стойности на изчислените индекси на стандартните отклонения (SDS) за изследваните костни маркери при пациенти и контроли

Нивата на костните маркери остеокалцин, бета крос лапс, кАФ и IGF-1 показват зависимост от възрастта и пола, ето защо в анализа са включени техните индекси на стандартни отклонения (SDS). Това позволява по- прецизно сравняване на тези показатели.

При сравнителния анализ на индексите на стандартни отклонения се установяват сигнификантни различия не само за маркера за костно формиране **остеокалцин SDS**, но и за този за костно разграждане – **бета крос лапс SDS**. И за двата показателя стойностите при пациенти са значително по-ниски спрямо контролите (табл.14 и фиг.7): за остеокалцин SDS - съответно 1,66±0,92 за пациенти спрямо 2,24± 0,86 за контроли,

p<0,0001, а за бета крос лапс -0,74±0,76 за пациенти спрямо 1,01±0,75 за контроли, p<0,05.

Таблица 14. Сравнителен анализ на показателите IGF-1 SDS, остеокалцин SDS, бета крос лапс SDS и костна алкална фосфатаза (кАФ) SDS при контроли и пациенти

Показатели	Контроли			Пациенти			P
	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD	
IGF-1 SDS	43	0,02	1,92	107	-0,44	2,37	0,290
Остеокалцин SDS	50	2,24	0,85	133	1,66	0,92	**<0,001****
Бета крос лапс SDS	52	-0,74	0,76	175	-1,02	0,75	**<0,019***
кАФ SDS	30	-0,51	0,87	75	-0,17	1,82	0,337

3. Характеристики на калциево-фосфорната обмяна при пациенти и контроли

Проведен е анализ на абсолютните стойности на посочените показатели поради унифицираните (без възрастови разлики) референтни стойности при деца и юноши.

3.1. Серумни нива на калций и фосфор при пациенти и контроли

В нашето проучване установихме значимо по-ниски нива на общия калций при изследваните пациенти в сравнение със здравите контроли – 2,36±0,13mmol/L срещу 2,41±0,11mmol/L, p<0,05 (Табл.15)

Таблица 15. Средни нива на серумен калций, йонизиран калций и фосфор при пациенти и контроли

Показатели	Контроли			Пациенти			P
	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD	
Общ калций (mmol/L)	50	2,41	0,11	170	2,36	0,13	**<0,05***
Йонизиран калций (mmol/L)	33	1,27	0,06	157	1,24	0,06	>0,05
Фосфор (mmol/L)	47	1,65	0,23	158	1,64	0,27	>0,05

Както се вижда от Таблица 15 стойностите за йонизирания калций и на фосфора не се различават при децата с диабет спрямо контролите.

3.1.1. Зависимости на серумните нива на калций и фосфор от маркерите за костна обмяна

При пациентите серумното ниво на калций показва значима положителна корелация с маркерите за костно формиране – остеокалцин (r=0,233, p=0,01), кАФ (r=0,361, p=0,02) и 25(OH)витамин D (r=0,354, p<0,001). (Табл.16)

Таблица 16. Корелационна зависимост на серумния калций и фосфор от изследваните костни маркери при пациенти

Показатели	Общ калций	Фосфор
Остеокалцин	0,233*	0,44**
Бета крос лапс	0,087	0,43**
IGF-1	-0,027	0,079
PTH	-0,121	-0,016
25(OH)витамин D	0,354**	0,22*
кАФ	0,361**	0,213

* - p<0,05, ** - p<0,01

Серумният фосфор, подобно на калция, показва положителни корелации с нивото на остеокалцин (r=0,44) и 25(OH)витамин D (r=0,22), p<0,05, но има и положителна такава с маркера за костно разграждане бета крос лапс (r=0,43), p<0,05 (Табл.16)

3.2. Серумно ниво на магнезий при пациенти и контроли

При пациентите средното ниво на серумния магнезий е значително по-ниско от това на контролите- 0,82 ±0,06 mmol/L срещу 0,85 ±0,05 mmol/L, p<0.01.

Таблица 17. Средни нива на серумен магнезий при пациенти и контроли

Магнезий, mmol/l	**Контроли (n=23)**	**Пациенти (n=113)**	**P**
	$\overline{X}$	$\overline{X}$	
Средно ниво	0,85	0,82	**<0,001**
Медиана	0,86	0,82	>0,05
Минимална стойност	0,75	0,66	>0,05
Максимална стойност	0,96	0,97	>0,05

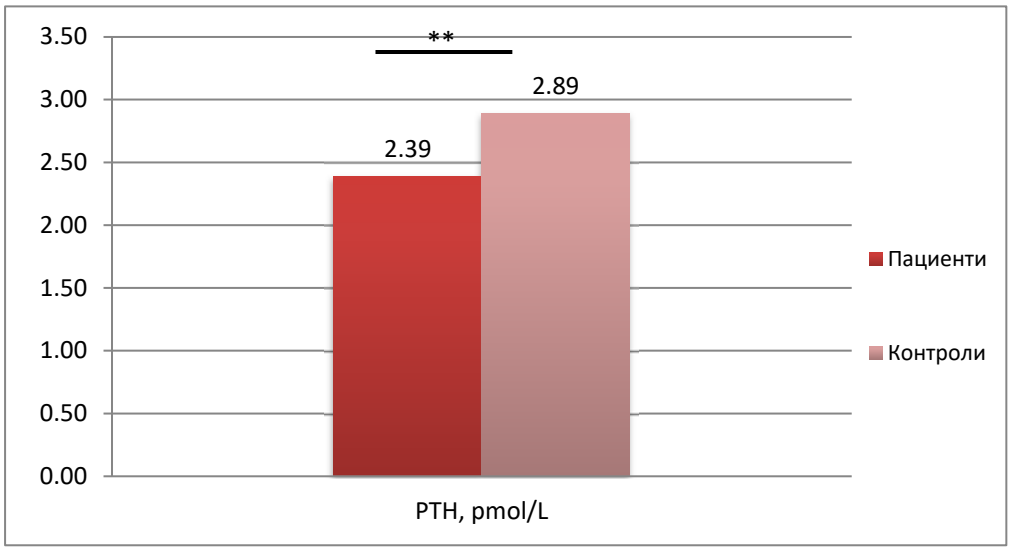
3.3. Нива на паратхормон (PTH) при пациенти и контроли

Сравнителният анализ показва значимо по-ниски нива на PTH при пациентите - съответно 2,39 pmol/L±0,98 срещу 2,89 pmol/L ±1,09 при контролната група, p=0,005. (табл. 18, фиг.9)

Таблица 18. Нива на PTH при пациенти и контроли

	n	Средна стойност	Медиана	Минимална стойност	Максимална стойност	SD
Контроли	44	**2,89***	**2,68**	**1,47**	**5,55**	1,09
Пациенти	124	**2,39***	**2,13**	**0,63**	**7,32**	0,98
p		**0,005****	**0,001****	**0,001****	**0,001****	

Фигура 9. Средни нива на PTH при пациенти и контроли



Нивата на PTH при всички изследвани контроли и при 94% от пациентите (n=116) са в референтни граници (1,18 до 7 pmol/L). От останалите - при седем пациента са налице стойности под долна референтна граница, при един - долногранична, а наднормена стойност е установена също при един пациент (Фиг.10)

Фигура 10. Разпределение на пациентите според средните нива на паратхормон



При по-детайлно разглеждане на двете групи пациенти - с PTH под долна референтна граница и в норма не се установяват разлики в общите характеристики на диабета, но са налице разлики в общия калций и калциурията. Средното ниво на

серумния калций е по-високо в групата с по-нисък PTH - съответно 2,46 mmol/L±0,12 срещу 2,36 mmol/L±0,12, p<0,05. Средната стойност на калциурията (Ca/Cr) в подгрупата с ниски нива на PTH е значимо по-висока от тази на останалите пациенти - съответно 1,08±1,26 срещу 0,44±0,36, p=0,002 (табл.20).

Таблица 20. Характеристики на пациентите с поднормени и нормални нива на PTH

	Ниски нива на PTH	Нормални нива на PTH
Средна възраст (години)	11,74±5,14	11,85±3,82
Средна давност ЗДТ1 (години)	5,07 ± 4,07	5,35±4,11
Пациенти с давност на ЗД <1 година	14% (n=1)	20% (n=24)
Среден ретроспективен HbA1c (%)	9,15 ± 1,83	8,75±3,63
Серумен калций (mmol/L)	2,46±0,12*	2,36±0,12*
Йонизиран калций (mmol/L)	1,26 ± 0,07	1,26±0,06
Фосфор (mmol/L)	1,72±0,18	1,67±0,27
Магнезий (mmol/L)	0,81±0,05	0,82±0,06
PTH (pmol/L)	1,02 ± 0,2**	2,48±0,95**
25(OH)vitD (nmol/L)	75,18±11,13	71,4±27,06
Калциурия (Ca/Cr)	1,08±1,26**	0,44±0,36**

**p<0,01, *p<0,05

3.4. Стойности на 24-часова калциурия и нейните зависимости при изследваните пациенти

При 94 пациенти бе събрана 24-часова урина за оценка на калциурията чрез изчисляване на съотношението калций (mmol/L)/креатинин (mmol/L). За норма се приемат стойности <0,56 mmol/mmol. Средното ниво на калциурия - съотношение калций/креатинин при всички пациенти е 0,47 ±0,46 mmol/mmol (0-3,2 mmol/mmol, медиана - 0,30 mmol/mmol). При приблизително една четвърт от изследваните пациенти (24%, n=23) се установи хиперкалциурия със средна стойност на съотношението Ca/Cr 1,08±0,59mmol/mmol, докато в групата с нормокалциурия средната стойност е 0,28 mmol/mol±0,13, p<0,0001.

Фигура 11. Разпределение на пациентите според стойностите за калциурия



При анализ на двете подгрупи се вижда, че те имат сходни общи характеристики, като полово съотношение и средна възраст. В групата на пациентите с хиперкалциурия 13 са от мъжки пол, а 10 – от женски, в групата с нормокалциурия половото съотношение е 33:38 в полза на женския пол. Средната възраст в групата с хиперкалциурия е сходна с тази на нормокалциуричните пациенти – 11,2год±4,41 срещу 12,49год±3,54, p>0,05.

Таблица 21. Характеристики на пациентите с хиперкалциурия и нормокалциурия

	Хиперкалциурия	Нормокалциурия
Средна възраст, год	11,2 ± 4,41	12,49 ±3,54
Средна продължителност на ЗДТ1, год	3,39 ± 3,59**	6,11±4,01**
Пациенти с давност на ЗД <1год	35% (n=8)	11% (n=8)
HbA1c (%)	10,06 ± 2,08*	9,23±1,53*
Серумен калций, (mmol/L)	2,37 l± 0,10	2,37±0,13
Йонизиран калций, (mmol/L)	1,26 ± 0,05	1,24±0,06
Фософор (mmol/L)	1,60±0,26**	1,68±0,25**
Магнезий (mmol/L)	0,82±0,05	0,82±0,06
PTH (pmol/L)	2,16 ± 0,91	2,52±1,06
25(OH)vitD (nmol/L)	66,69±21,61	72,75±28,92
GFR,ml/min/1,73 m2	119,77±18,21	112,21±19,83

**p<0,01, *p<0,05

Значими различия се установяват по отношение на съществения за ЗД фактор - гликемичен контрол, като в групата с хиперкалциурия HbA1c е значимо по-висок 10,06%±2,08 срещу 9,23±1,53, p<0,05. Значими различия се установяват и по отношение на средната продължителност на заболяването – тя е по-малка в групата с хиперкалциурия – 3,39год±3,59 срещу 6,11год±4,01, p<0,001. В тази група преобладават пациентите с новооткрит ЗД (35%, n=8), също толкова са с давност на заболяването по-голяма от 5 години (5,09 до 11,9 год), за разлика от групата с нормокалциурия, където също осем пациента са с новооткрит ЗД, но те представляват само 11% от групата. Останалите са с давност от 1,09 до 16,5 год.

Както се вижда от Табл. 21, по отношение на показателите на калциево-фосфорната обмяна – общ и йонизиран калций, фософор, магнезий, PTH и 25(OH)витамин D, между двете групи се наблюдават значими различия само по

отношение нивото на серумния фосфор. В групата с хиперкалциурия то е значимо понижено – 1,60 ±0,26mmol/L срещу 1,68 ±0,25mmol/L в групата с нормокалциурия, p<0,001. Няма разлики и по отношение на бъбречната функция на двете групи – стойностите на GFR са сходни.

По отношение на клиничните характеристики на диабета значима негативна корелция установихме само с продължителността на заболяването (r=-0,36, p<0,01), но не и с нивата на ретроспективния гликемичен контрол (HbA1c) и инсулиновата доза. (Табл. 23)

Таблица 23. Корелационен анализ на калциурията с някои характеристики на ЗДТ1

Показатели	Калциурия
Ретроспективен HbA1c	-0,093
Инсулинова доза	0,122
Давност на ЗДТ1	**-0,355****

Зависимости на калциурията от метаболитните показатели за костна обмяна при пациентите

Корелационният анализ установи значима негативна зависимост на калциурията само с един от всички разглеждани костни маркери – остеокалцин, както и от неговия SDS. Налице е почти линейна зависимост на калциурията със серумното ниво на калций r=0,970, p=0,004. (Табл.22)

Таблица 22. Корелационен анализ на калциурията с изследваните костни маркери, техните SDS и серумните електролити при пациентите

Показатели	Калциурия
Остеокалцин	-0,254*
Бета крос лапс	-0,103
IGF-1	-0,191
PTH	-0,170
25(OH)витамин D	0,038
кАФ	0,165
IGF-1 SDS	0,107
Остеокалцин SDS	-0,250*
кАФ SDS	-0,058
Бета крос лапс SDS	-0,056
Серумен калций	0,970*
Фосфор	-0,164

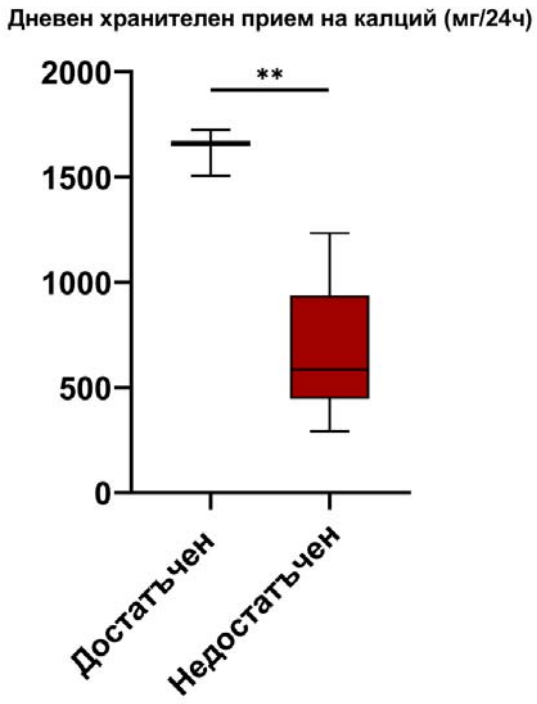
***p<0,05**

3.5. Изследване на на дневния калциев прием

При 17 пациента бе проведено интервю, базирано на т.нар. 24-hour recall метод (279), в който те описват обичайната си диета през един произволен ден от седмицата. На базата на получената информация бе изчислен средният дневен калциев прием. Използвано е средното калциево съдържание на хранителните продукти по БДС (280).

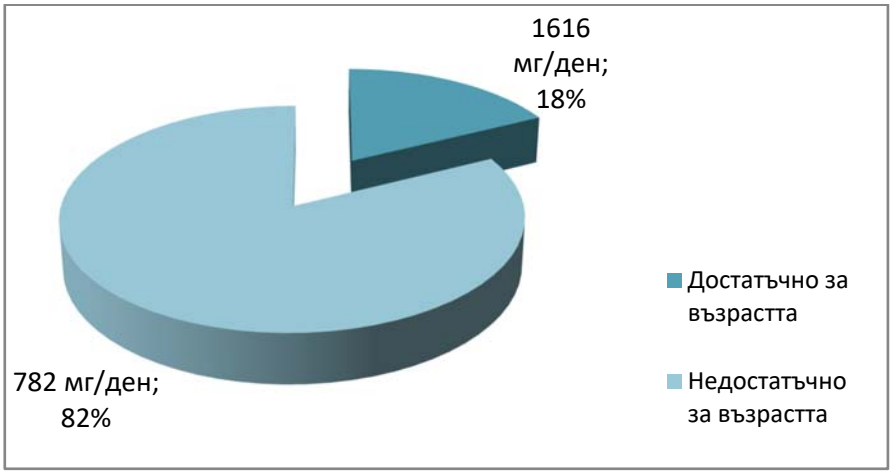
Както се вижда от фиг.12 , повечето пациенти имат значително по-нисък дневен алиментарен внос на калций, съгласно препоръките на Българско дружество по ендокринология (БДЕ) (280). За възрастовата група 9-18 години е 1300мг/ден, а за деца под 8 години – 800мг/ден. Средният дневен прием на калций при интервюираните пациенти е 851,53±459,35mg, при средна възраст – 14,69±2,81 години. Най-ниската стойност е 290,72 mg за девойка на 17,98год., а най-високата – 1724,8 mg за младеж на 16,31год. Всички интервюирани пациенти са на възраст от 7,9 до 17,9г.

Фигура 12. Среден дневен хранителен прием на калций при изследваните пациенти



От всички интервюирани пациенти само трима (18%) имат адекватен за възрастта си калциев прием (Фиг.13) Болшинството (82%) не отговарят на критериите за адекватен калциев внос. Средният дневен прием на калций при пациентите в групата, отговаряща на препоръките на БДЕ е 1616 ±296,15 мг, а на тези с поднормен – 782 ±292,62 мг, $p<0,0001$.

Фигура 13. Относителен дял на пациентите с достатъчен и недостатъчен дневен калциев прием



3.6. Серумни нива на 25(OH)витамин D

Друг съществен фактор за регулацията на калциево-фосфорната обмяна е 25(OH)витамин D. При анализа на данните са използвани референтните стойности, възприети от БДЕ за оценка на витамин D статуса (283):

- Препоръчително нормално ниво ≥20 ng/mL (≥50 nmol/L)
- Недостатъчност – при ниво между 10-19 ng/mL (25 - 49 nmol/L)
- Дефицит - при ниво < 10 ng/mL (<25 nmol/L)

Средните стойности на 25(OH)витамин D при изследваните пациенти и контроли се намират в рамките на препоръчителните, без значими различия между двете групи – съответно 71,61±26,49 nmol/L и 76,87±32,34 nmol/L, p>0,05 (Табл.23).

Таблица 23. Ниво на 25(OH)витамин D при пациенти и контроли

	n	Средна стойност (nmol/L)	Медиана (nmol/L)	Мини-мална стойност (nmol/L)	Макси-мална стойност (nmol/L)	SD	p
Контроли	46	76.87	73,87	14,47	175.75	32,34	0,17
Пациенти	123	71,61	68,27	29,22	175	26,49	

3.6.1. Разпределение на изследваните пациенти и контроли според статуса на витамин D

При оценка на витамин D статуса в групата на пациентите се наблюдава нормално ниво в 81% (n=100) и недостатъчно такова в 19% (n=23). Сходна част от здравите контроли имат нормални нива на 25(OH)витамин D – 87% (n=40), докато тези с недостатъчни нива представляват по-малка част в сравнение с пациентите – 8.7% (n=4). При трима (4.3%) от здравите контроли се наблюдава дефицит на витамин D. При интерпретацията на резултатите следва да се има предвид и още един фактор – сезонността. При пациентите 43% от пробите (n=56) са взети в период на активно слънчево греене (май-септември), в сравнение с 37% при контролите (n=18), което би могло да обясни установения дефицит при контролната група.

Фигура 14. Разпределение на пациенти и контроли според витамин D статуса





4. Анализ на взаимовръзките на изследваните костни маркери - абсолютни стойности при пациенти и контроли

4.1. Пациенти

Множественият корелационен анализ при пациентите, показан на Табл.24, показва много силни положителни корелации между стойностите на остеокалцин с нивата на другия маркер за костно формиране кАФ, както и с тези на маркера за костно разграждане бета крос лапс. Значима, макар и по-слаба корелация е налице и с нивото на PTH. Другите два маркера – кАФ и PTH също показват значима корелация с маркера за костно разграждане бета крос лапс. Стойностите на PTH имат и негативна корелация с нивото на 25(OH)витамин D. От своя страна, освен гореизброените корелации, бета крос лапс показва и значима негативна такава с нивото на 25(OH)витамин D.

Таблица 24. Корелационен анализ между изследваните костни маркери (абсолютни стойности) при пациентите

		Остеокалцин	кАФ	IGF-1	25(OH)D	PTH	Бета крос лапс
Остеокалцин	r p n	-	**,71(**)** **,000** **29**	,066 ,615 60	,120 ,184 123	**,197(*)** **,029** **123**	**,72(**)** **,000** **133**
кАФ	r p n	**,710(**)** **,000** **29**	-	-,025 ,857 53	-,389 ,100 19	,190 ,437 19	**,373(**)** **,001** **71**
IGF-1	r p n	,066 ,615 60	-,025 ,857 53	-	,079 ,583 50	,038 ,793 51	-,071 ,478 102
25(OH)D	r p n	,120 ,184 123	-,389 ,100 19	,079 ,583 50	-	**-,25(**)** **,006** **123**	**-,20(*)** **,024** **123**
PTH	r p n	**,197(*)** **,029** **123**	,190 ,437 19	,038 ,793 51	**-,245(**)** **,006** **123**	-	**,259(**)** **,004** **123**
Бета крос лапс	r p n	**,719(**)** **,000** **133**	**,373(**)** **,001** **71**	-,071 ,478 102	**-,203(*)** **,024** **123**	**,259(**)** **,004** **123**	-

4.2. Контроли

При контролите установяваме сходни значими корелации, показано на Табл.25. Налице е положителна корелация между нивото на остеокалцин и бета крос лапс, между кАФ и бета крос лапс, както и негативна такава между нивото на PTH и 25(OH)витамин D.

Нашето проучване не установи значими корелации на абсолютните стойности на IGF-1 с другите изследвани маркери на костния обмен както при пациенти, така и при контроли.

Таблица 25. Корелационен анализ между изследваните костни маркери (абсолютни стойности) при контролите

		Остеокалцин	кАФ	IGF-1	25(OH)D	PTH	Бета крос лапс
Остеокалцин	r p n	-	,612 ,060 10	-,409 ,053 23	-,083 ,577 48	-,002 ,992 44	**,783(**) ,000 50**
кАФ	r p n	,612 ,060 10	-	,100 ,634 25	,248 ,338 17	-,800 ,200 4	**,400(*) ,035 28**
IGF-1	r p n	-,409 ,053 23	,100 ,634 25	-	-,320 ,085 30	,192 ,445 18	,062 ,698 41
25(OH)D	r p n	-,083 ,577 48	,248 ,338 17	-,320 ,085 30	-	**-,530(**) ,000 44**	-,172 ,206 56
PTH	r p n	-,002 ,992 44	-,800 ,200 4	,192 ,445 18	**-,530(**) ,000 44**	-	-,092 ,553 44
Бета крос лапс	r p n	**,783(**) ,000 50**	**,400(*) ,035 28**	,062 ,698 41	-,172 ,206 56	-,092 ,553 44	-

5. Зависимост на костните маркери от антропометричните показатели, пола и пубертетното развитие при пациенти и контроли

5.1. Влияние на антропометричните показатели – ръст, тегло, BMI при пациентите

В таблица 26 са показани корелационните коефициенти между антропометричните показатели (абсолютни стойности) и изследваните костни маркери, както и тяхната значимост. Показателят за костна минерализация кАФ, както и този за костна резорбция – бета крос лапс показват негативна корелация с ръста, теглото и BMI, докато за IGF-1 тези зависимости са положителни. За остеокалцин, 25(OH)витамин D и PTH не се установяват значими зависимости с посочените антропометрични показатели.

Таблица 26. Корелационен анализ на нивата на костните маркери (абсолютни стойности) с антропометричните показатели при пациенти

		Ръст	Тегло	BMI
Остеокалцин	r p n	-,115 0,187 133	-,140 0,107 133	-,130 ,134 133
кАФ	r p n	**-,361**** **,001** **75**	**-,380 **** **,001** **75**	**-,243*** **,036** **75**
IGF-1	r p n	**,450**** **,000** **107**	**,450**** **,000** **107**	**416**** **,000** **107**
25(OH)D	r p n	,066 ,469 123	,052 ,567 123	,048 ,598 123
PTH	r p n	,125 ,167 124	,103 ,256 124	,035 ,697 124
Бета крос лапс	r p n	**-,153*** **,043** **175**	**-,246**** **,001** **175**	**-,306**** **,000** **175**

В групата на контролите също установяваме значими зависимости на кАФ и IGF-1 с ръста, теглото и BMI. Те са положителни за IGF-1, но негативни за кАФ. За разлика от пациентите, в групата на контролите се наблюдава значима корелация на остеокалцин с антропометричните показатели. (Табл.27)

Таблица 27. Корелационен анализ на нивата на костните маркери (абсолютни стойности) с антропометричните показатели при контроли

		Ръст	Тегло	BMI
Остеокалцин	r p n	**-,297(*)** **,036** **50**	**-,339(*)** **,016** **50**	**-,42(**)** **,002** **50**
кАФ	r p n	-,189 ,317 30	-,249 ,185 30	**-,48(**)** **,007** **30**
IGF-1	r p n	**,813(**)** **,001** **42**	**,82(**)** **,001** **42**	**,382(*)** **,013** **42**
25(OH)Д	r p n	-,002 ,990 57	-,028 ,834 57	-,085 ,531 57
PTH	r p n	,224 ,144 44	,205 ,181 44	,113 ,464 44
Бета крос лапс	r p n	,060 ,625 68	,039 ,752 68	-,193 ,115 68

5.2. Влияние на пола

При пациентите значими различия между двата пола се наблюдават по отношение нивата на кАФ SDS със значимо по-високи стойности при момичетата. Обратно, при маркера за костна резорбция бета крос лапс SDS - стойностите са по-ниски при момичетата (Табл.28).

При контролите единствената разлика между момичета и момчета е в нивата на остеокалцин SDS, който при момичетата е с по-ниски стойности (Табл.29).

Таблица 28. Разпределение по пол на костни маркери при пациентите

		Остеокалцин SDS	25(OH) Vit D ng/ml	PTH pmol/l	IGF-1 SDS	кАФ SDS	Бета крос лапс SDS
МОМЧЕТА	**n**	69	65	66	52	34	89
	Средна стойност	1,53	27,09	2,51	-0,62	0,67	-1,18
	Медиана	1,60	25,72	2,15	-0,002	0,85	-1,21
	Минимална стойност	-0,46	11,69	0,87	-8,348	-2,30	-2,95
	Максимална стойност	3,46	57,81	7,32	4,535	2,5	0,54
	SD	0,87	8,72	1,07	2,80	1,11	0,77
МОмЧЕТА	**n**	64	58	58	55	39	86
	Средна стойност	1,81	30,55152	2,2469	-0,264	-0,90	-0,85
	Медиана	1,98	28,85900	2,0800	-0,143	-0,09	-0,90
	Минимална стойност	-1,04	12,000	,63	-6,46	-5,93	-2,22
	Максимална стойност	3,74	70,11	5,91	3,67	2,53	1,64
	SD	0,95	12,1	0,85	1,88	2,00	0,67
p		**0,08**	**0,13**	**0,13**	**0,45**	**<0,001****	**0,003****

Не установяваме значими междуполови различия по отношение на останалите показатели - IGF-1, 25(OH)витамин D, PTH**,** както при пациентите, така и при контролите.

Таблица 29. Разпределение по пол на изследваните костни маркери при контролната група

		Остеокал-цин SDS	25(OH)Vit D (ng/ml)	PTH (pmol/L)	IGF-1 SDS	кАФ SDS	Бета крос лапс SDS
МОМИЧЕТА	n	24	30	23	21	13	34
	Средна стойност	1,91	32,85	2,94	0,13	-0,22	-0,93
	Медиана	1,95	27,31	3,05	-0,35	-0,19	-0,85
	Минимална стойност	-0,11	5,790	1,47	-1,7	-1,06	-1,81
	Максимална стойност	3,3	70,500	5,34	3,7	0,57	0,16
	SD	0,88	16,07	0,93	1,65	0,73	0,51
МОМЧЕТА	n	26	27	21	21	17	34
	Средна стойност	2,54	30,17	2,84	0,89	-0,86	-0,55
	Медиана	2,48	31,44	2,36	0,97	-0,25	-0,74
	Минимална стойност	1,31	4,00	1,57	-2,4	-4,35	-2,42
	Максимална стойност	3,7	67,70	5,55	4,33	1,77	0,95
	SD	0,72	14,65	1,21	1,69	2,30	0,92
p		***0,008**	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

5.3. Вляние на пубертетния стадий

С цел по-голяма достоверност на резултатите и улесняване на интерпретацията, всички изследвани деца бяха разпределени в три големи групи според степента на пубертетното си развитие: предпубертет (Танер 1ст), начален (Танер 2-3ст) и късен пубертет (Танер 4-5ст). Както при пациентите (табл.30), така и при контролите (табл. 31) всички разглеждани показатели показват значими различия между отделните пубертетни подгрупи.

Таблица 30. Сравнителен анализ на нивата на костните маркери според степента на пубертетно развитие при пациентите

Показатели	Пубертетен стадий 1			Пубертетен стадий 2-3			Пубертетен стадий 4-5		
	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD
Бета крос лапс (ng/ml)	49	1,07[a]	0,40	62	1,32[b]	0,70	64	0,74[c]	0,42
Бета крос лапс SDS	49	-1,06[a]	0,68	62	-0,89[a]	0,87	64	-1,08[a]	0,67
Остеокалцин (ng/ml)	37	65,09[a]	22,85	46	84,85[b]	42,76	50	43,72[c]	24,25
Остеокалцин SDS	37	1,92[a]	0,57	46	2,09[b]	0,86	50	1,08[a]	0,89
кАФ (µg/L)	22	68,10[a]	25,97	30	76,48[a]	28,57	23	31,95[a]	20,31
кАФ SDS	22	0,03[a]	1,49	30	0,34[a]	1,72	23	-1,06[b]	1,99
IGF-1 (ng/ml)	27	154,48[a]	87,90	37	272,95[b]	158,85	43	314,33[b]	139,41
IGF-1 SDS	27	-0,49[a]	2,04	37	-0,62[ac]	2,92	42	-0,88[bc]	1,86

* еднаквите букви по хоризонталите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p<0,05)

Таблица 31. Сравнителен анализ на стойностите на костните маркери според степента на пубертетно развитие при контролите

Показатели	Пубертетен стадий 1			Пубертетен стадий 2-3			Пубертетен стадий 4-5		
	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD	n	$\overline{X}$	SD
Бета крос лапс (ng/ml)	40	1,17[a]	0,57	10	1,08[ac]	0,60	18	0,88[bc]	0,40
Бета крос лапс SDS	40	-0,34[a]	0,76	10	-1,24[b]	0,82	18	-0,99[b]	0,41
Остеокалцин SDS	25	2,58 [a]	0,49	8	2,37 [a]	0,59	17	1,68 [b]	0,85
кАФ (µg/L)	21	59,64[a]	27,74	4	57,18[a]	26,15	5	43,78[a]	37,15
кАФ SDS	21	-0,52[a]	1,72	4	-0,87[a]	2,37	5	-0,72[a]	2,47
IGF-1, ng/ml	11	189,72[a]	103,96	7	220,94[ac]	114,57	12	319,94[bc]	150,78
IGF-1 SDS	11	1,76[a]	2,20	7	0,21[b]	1,05	12	-0,75[b]	1,56

* еднаквите букви по хоризонталите означават липса на сигнификантна разлика, а различните – наличие на такава (p<0,05)

При всички изследвани показатели се наблюдава тенденция за най-високи стойности в пубертетен стадий 2-3 и по-ниски в другите две групи –предпубертетна и късен пубертет.

При контролите значими се установяват между предпубертетната група и късно пубертетната по отношение на абсолютните стойности на бета крос лапс, остеокалцин, IGF-1, бета крос лапс SDS, IGF-1 SDS. Разлики между предпубертет и ранен пубертет се установяват по отношение на бета крос лапс SDS и IGF-1 SDS (Табл.31)

5.3.1. SDS стойности на костните маркери според пубертетния стадий

Отново се разглеждат групите, разделени на предпубертетни, начален пубертет (2+3ст) и напреднал пубертет (4+5ст).

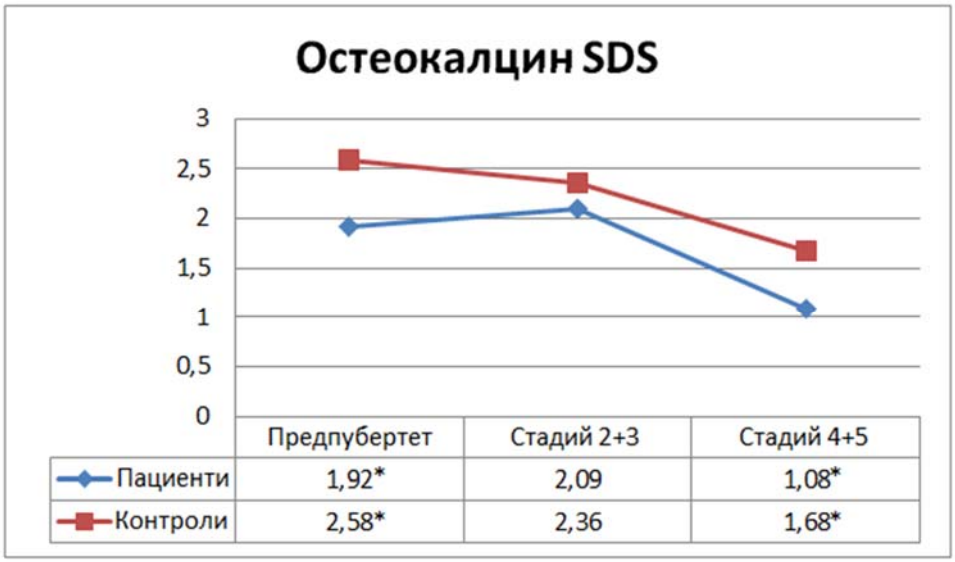
Остеокалцин SDS

При физиологични условия нивата на костните маркери се променят, следвайки периодите на активен растеж. По отношение на остеокалцин SDS значими различия между пациенти и контроли се наблюдават между предпубертетната група и тази с напреднал пубертет (4+5ст). Кривите при двете групи следват еднакъв ход с най-високи нива в предпубертетната група и най-ниски в тази с напреднал пубертет. Във всички стадии пациентите показват тенденция за по-ниски нива на остеокалцин SDS спрямо контролите. (Фиг.15)

Бета крос лапс SDS

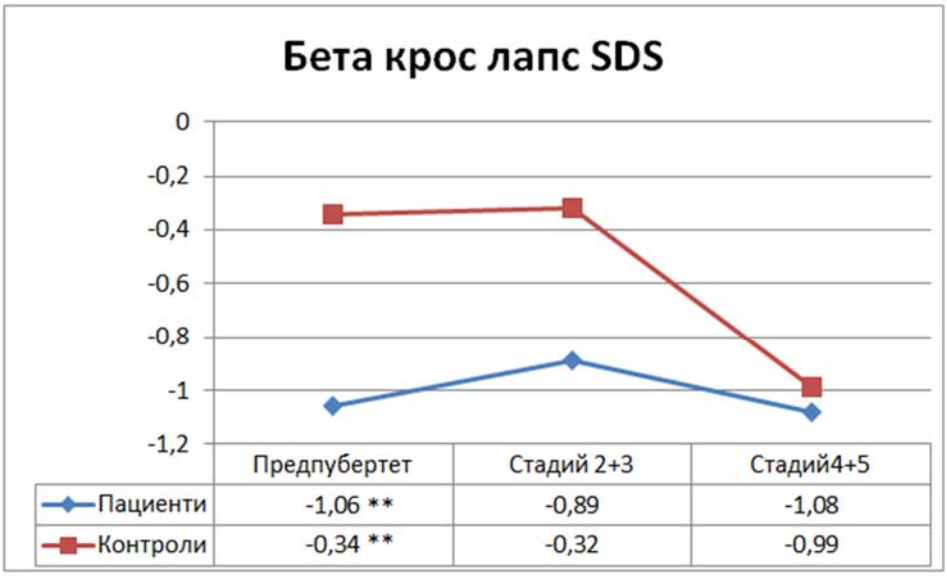
Средните нива на бета крос лапс SDS при пациенти и контроли се различават значимо само в предпубертетната група, като и тук, при пациентите те са значимо по-ниски. При пациентите най-високи са стойностите в 2-3стадий, а най-ниски – при групата с напреднало пубертетно развитие. Разликите между контроли и пациенти намаляват и са незначими при останалите две подгрупи на ранен и напреднал пубертет (фиг. 16).

Фигура 15. Средни нива на остеокалцин SDS в зависимост от пубертетния стадий при пациенти и контроли



*p<0,05

Фигура 16. Средни нива на бета крос лапс SDS в зависимост от пубертетния стадий при пациенти и контроли

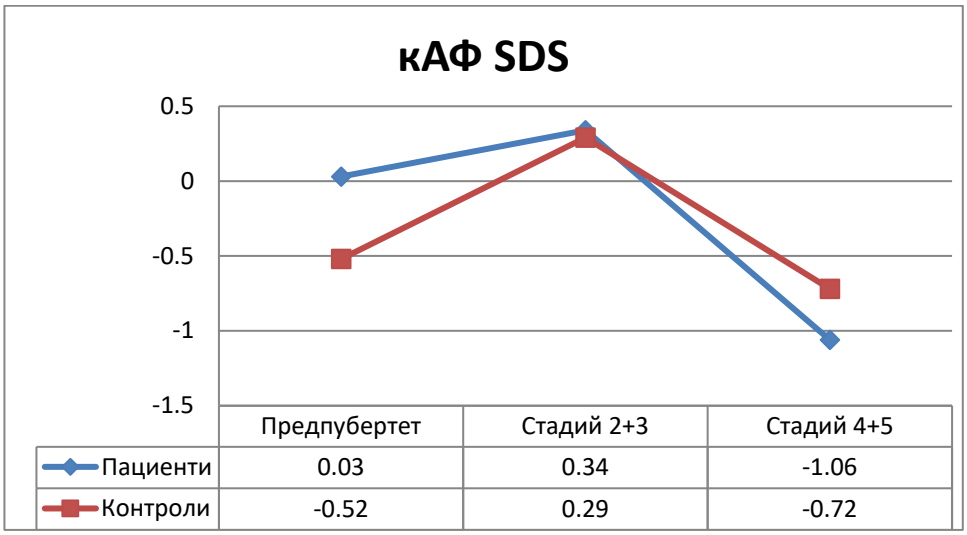


**p<0,001

кАФ SDS

За кАФ SDS кривите на пациентите и контролите са сходни с възходящо рамо и пик в ранната фаза на пубертетно развитие (P2-3) и най-ниски нива в късните пубертетна фаза. Не се наблюдават значими различия между пациентите и контролите (фиг. 17).

Фигура 17. Средни нива на кАФ SDS в зависимост от пубертетния стадий при пациенти и контроли



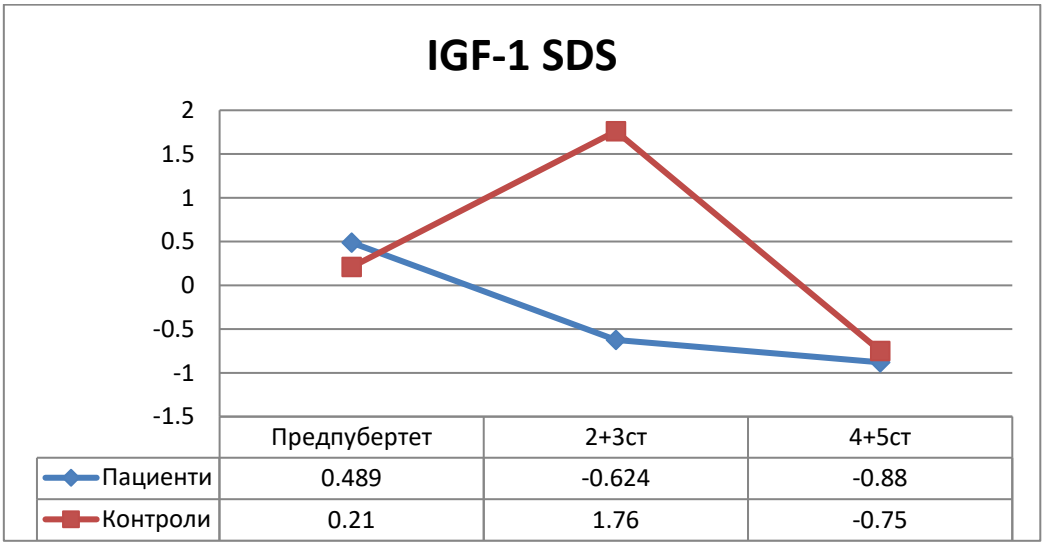
	Предпубертет	Стадий 2+3	Стадий 4+5
Пациенти	0.03	0.34	-1.06
Контроли	-0.52	0.29	-0.72

p>0,05

IGF-1 SDS

При разглеждане на **IGF-1 SDS** също се вижда сходна динамика в стойностите при пациенти и контроли – най-високи стойности се отчитат в началото на пубертета, с постепенно намаляване и достигане на най-ниски стойности след завършването му. Във всички разглеждани подгрупи стойностите при пациентите са незначимо по-ниски от контролите (фиг. 18)

Фигура 18. Средни нива на IGF1 SDS в зависимост от пубертетния стадий при пациенти и контроли

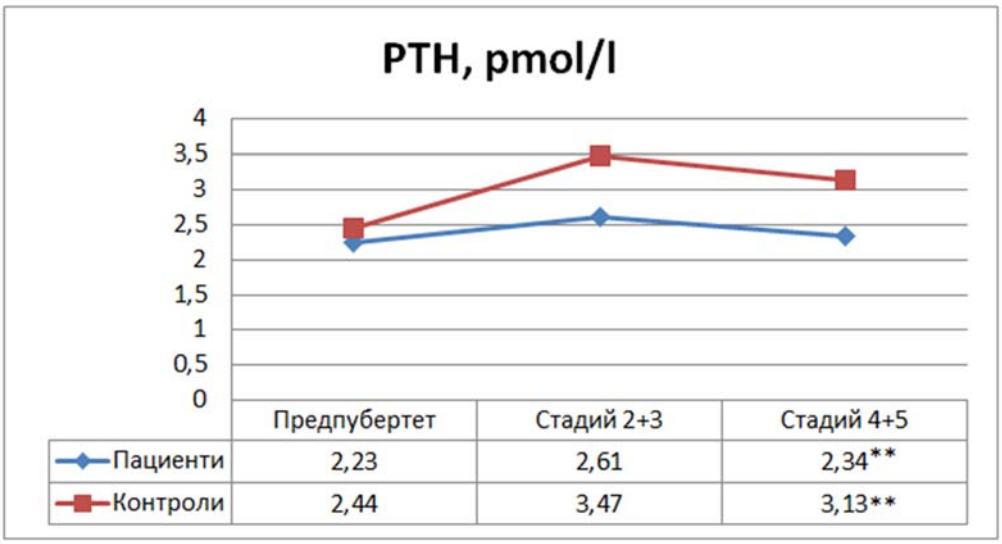


p>0,05

Паратхормон (PTH)

Въпреки, че не се установява зависимост от пубертетното развитие, при проследяване разпределението на нивата на PTH при пациенти и контроли се вижда, че най-високи са стойностите в групата с ранен пубертет (2+3ст), а най-ниски – в групата на напреднал пубертет. Динамиката е по-ясно изразена при контролите, докато при пациентите кривата е почти плоска. Сигнификантни различия между пациенти и контроли се наблюдават между подгрупите с напреднал пубертет (4+5ст)(фиг.19).

Фигура 19. Средни нива на PTH в зависимост от пубертетния стадий при пациенти и контроли

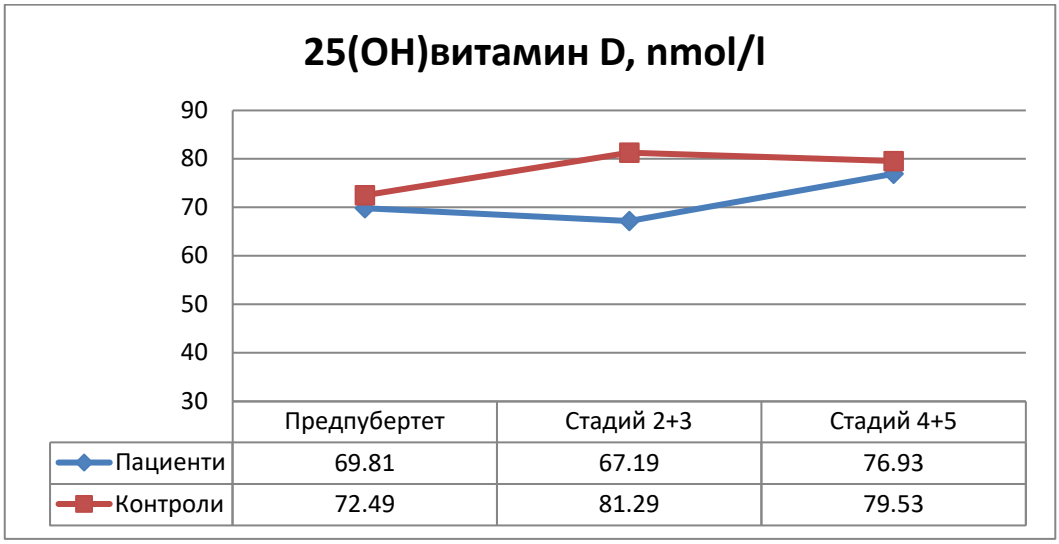


p<0,01**

25(OH)витамин D

Другият показател, за чиито стойности няма установена пряка връзка с пубертетното развитие е 25(OH)витамин D. Кривите на разпределение при пациенти и контроли са сходни, с равен ход, без установени значими различия. И при този показател нивата при пациентите показват тенденция да са по-ниски във всички подгрупи.

Фигура 20. Средни нива на 25(OH) vit D в зависимост от пубертетния стадий при пациенти и контроли



p>0,05

6. Влияние на ЗДТ1 върху нивата на костните маркери

6.1. Костни маркери и продължителност на ЗДТ1

6.1.1. Корелационен анализ

В нашето проучване не установяваме значима корелация между нивата на изследваните маркери и продължителността на ЗДТ1 в общата група пациенти (Табл. 32).

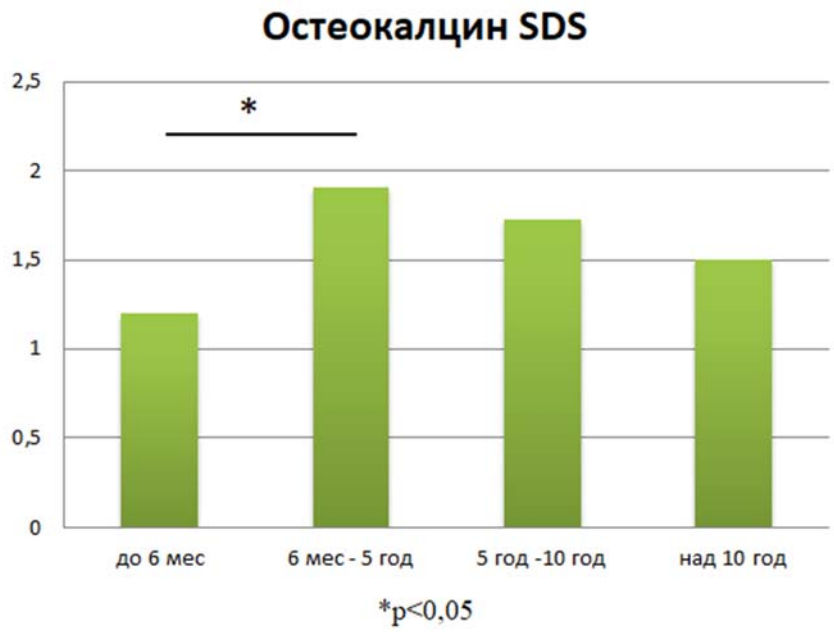
Таблица 32. Зависимости между продължителността на ЗДТ1 и нивата на изследваните костни маркери

Продължителност на ЗДТ1	Бета крослапс	Бета крослапс SDS	Остеокалцин	Остеокалцин SDS	кАФ	кАФ SDS	IGF-1	IGF-1 SDS	25 (OH) D	PTH
r	-0,130	0,0006	0,068	0,028	-0,043	-0,015	0,149	-0,143	0,125	0,050
n	175	175	133	133	75	75	107	107	123	124
p	0,09	0,99	0,44	0,57	0,71	0,90	0,13	0,14	0,17	0,58

6.1.2. Разпределение на костните маркери според продължителността на ЗДТ1

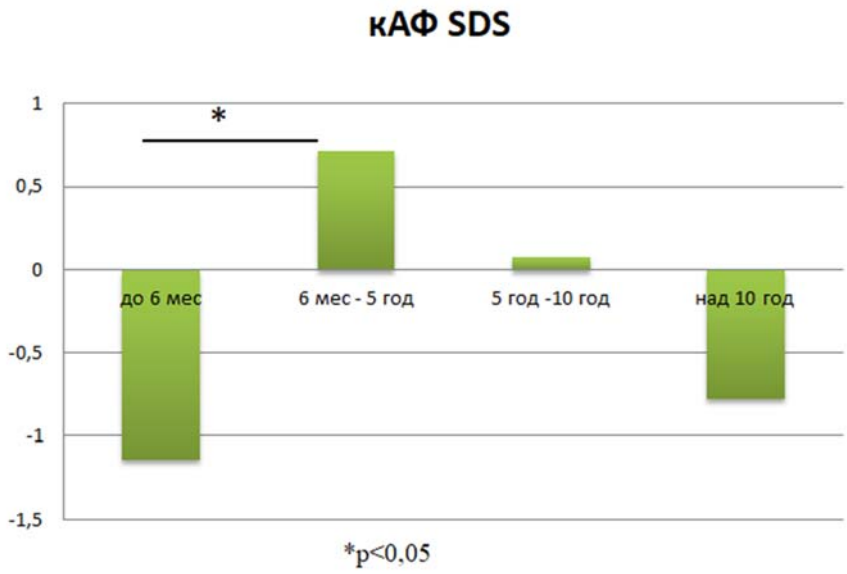
За да се избегне влиянието на възрастта върху нивата на костните маркери, сравнителният анализ на подгрупите по давност на ЗДТ1 включва само изчислените SDS. Така най-ниски стойности за **остеокалцин SDS** се установяват в групата с новооткрит диабет, а най-високи – в групата с продължителност 6 мес-5год. След този период стойностите му се понижават и показват стабилизиране в групите с продължителност 5-10г и >10г. Различията са сигнификантни между групата с новооткрит ЗДТ1 и тази с продължителност на заболяването – от 6 мес до 5 год (фиг. 21).

Фигура 21. Разпределение на стойностите на остеокалцин SDS по групи според продължителността на заболяването



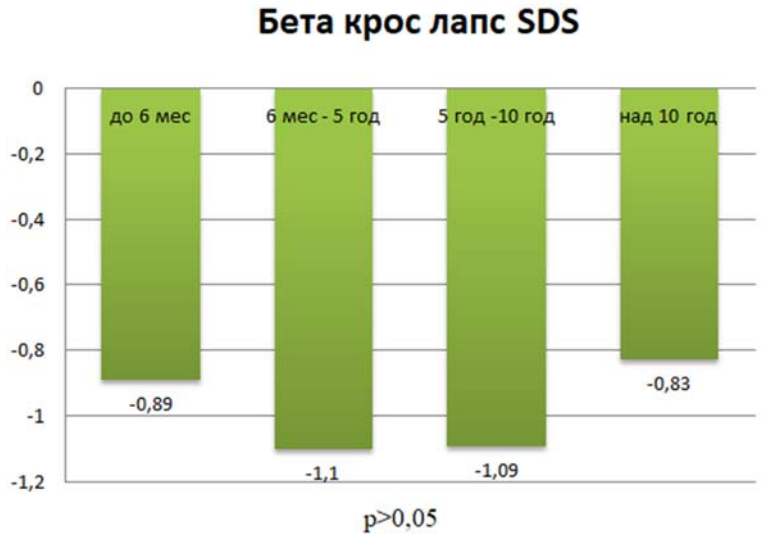
По отношение на **кАФ SDS,** най-ниски стойности отново се наблюдават в групата с новооткрит ЗДТ1, под средните са и нивата в групата с най-голяма продължителност. Най-високи стойности и за този показател се наблюдават в групата с продължителност 6месеца-5години. Сигнификантни са разликите между новооткрит ЗДТ1 и такъв с продължителност до 5 години (Фиг.22).

Фигура 22. Разпределение на стойностите на SDS за кАФ според продължителността на заболяването



Обратно на остеокалцин и кАФ най-ниски стойности на **бета крос лапс SDS** се наблюдават при пациентите със средна продължителност на заболяването – до 5 год, както и в групата с давност на заболяването 5-10г, а най-високи – в тази с най-голяма продължителност на ЗД (фиг.23).

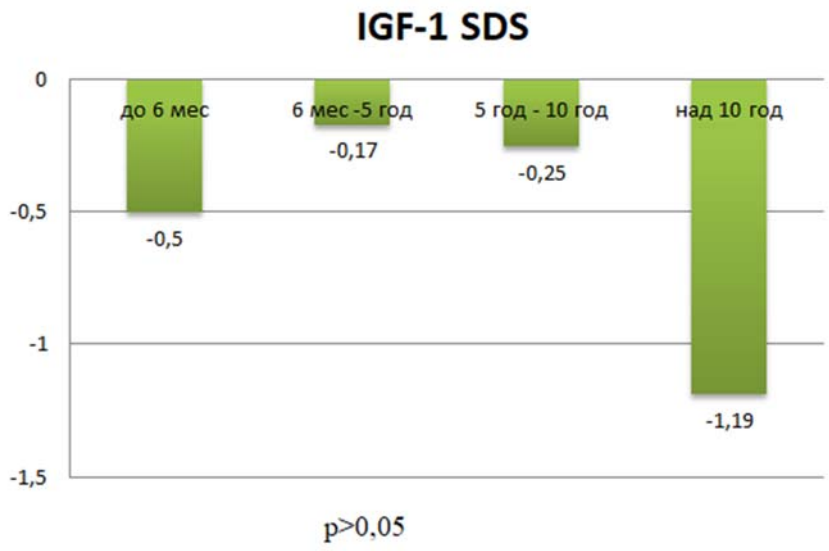
Фигура 23. Разпределение на стойностите на бета крос лапс SDS по групи според продължителността на заболяването, p>0,05 за всички подгрупи



По отношение на **IGF-1 SDS** се вижда, че във всички подгрупи средните стойности са с отрицателен знак сравнени със съответната възраст и пол, като не се установяват значими различия между подгрупите с различна продължителност на диабета.

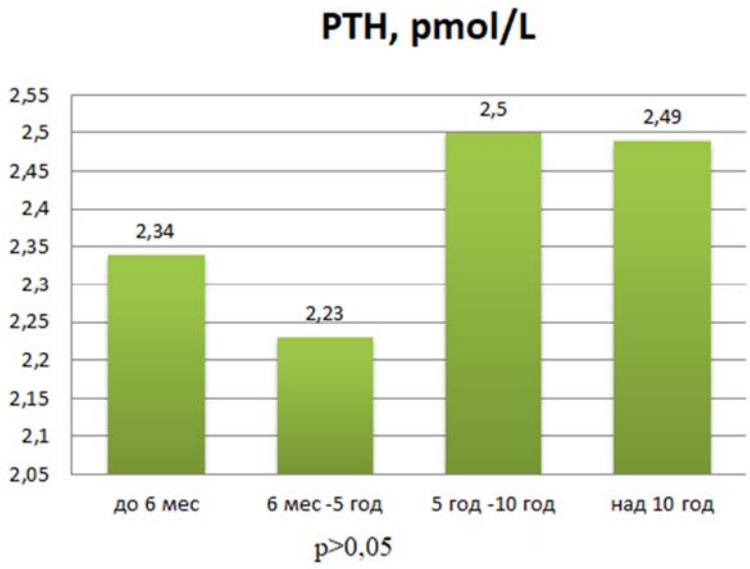
Динамиката в стойностите на IGF-1 SDS показва паралелен ход с тази на маркерите за костно формиране – остеокалцин SDS и кАФ SDS (фиг.24), но разликата между нито една от групите не достига значимост.

Фигура 24. Разпределение на стойностите на IGF-1 SDS според продължителността на заболяването



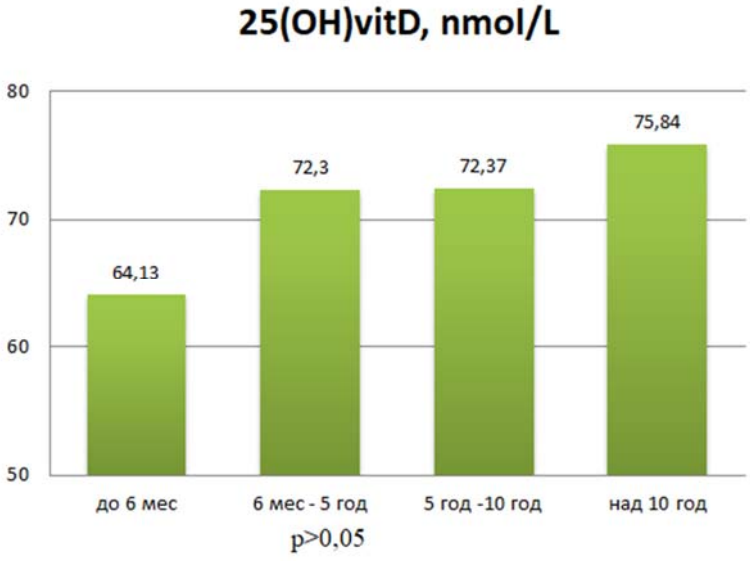
Нивото на **PTH** – показател, който не показва зависимост от възрастта при здрави деца, е най-ниско в групата с продължителност 6 мес-5год и съвпада с по-високите стойности на показателите за костно формиране в тази подгрупа. В подгрупите с продължителност над 5 и над 10 год се наблюдават най-високи стойности, но без статистически значими различия между отделните подгрупи ($p>0.05$)

Фигура 25. Разпределение на стойностите на PTH според продължителността на заболяването



По отношение нивата на 25(OH)витамин D наблюдаваме тенденция за най-ниски стойности в групата с новооткрит ЗД, с постепенно увеличение с нарастване продължителността на заболяването. Най-високи са в групата с най-голяма продължителност >10 год (фиг.26).

Фигура 26. Разпределение на стойностите 25(OH)витамин D според продължителността на заболяването



6.2. Костни маркери и гликемичен контрол - настоящ и ретроспективен

6.2.1. Корелационен анализ

В табл. 33 е представен корелационен анализ на изследваните костни маркери за общата група пациенти с гликемичния контрол (актуален и ретроспективен HbA1c).

Таблица 33. Корелационна зависимост на изследваните костни маркери от HbA1c (актуален и ретроспективен)

		Ретроспективен HbA1c	Настоящ HbA1c
Бета-крос лапс	r	**-,290****	**-,221****
	p	**0,001**	**,004**
	n	**137**	**171**
Бета крос лапс SDS	r	**-,222****	**-,1703***
	p	**0,009**	**0,03**
	n	**137**	**171**
Остеокалцин	r	**-,268****	**-,355****
	P	**,006**	**,000**
	n	**104**	**130**
Остеокалцин SDS	r	**-0,376****	**-0,194***
	P	**<0,001**	**<0,05**
	n	**104**	**171**
кАФ	r	**-,354***	**-,253***
	P	**,012**	**,029**
	n	**50**	**73**
кАФ SDS	r	**-,3815****	**-,289***
	p	**0,0068**	**0,013**
	n	**49**	**73**
IGF-1	r	,104	-,142
	p	,362	,153
	n	79	103
IGF-1 SDS	r	-,074	**-,207***
	p	0,505	**0,036**
	n	83	**103**
25(OH)D	r	,085	-,094
	p	,401	,308
	n	100	120
PTH	r	-,054	-,119
	p	,592	,195
	n	101	121

Установява се **негативна значима корелация между HbA1c, както** актуален, така и ретроспективен и нивата на: **бета крос лапс**, **бета крос лапс SDS**, **остеокалцин, остеокалцин SDS, кАФ и кАФ SDS,** а също така и на **актуалния HbA1c с нивата на IGF-1 SDS.** По отношение на останалите изследвани показатели: IGF-1 в абсолютна стойност, 25(OH)витамин D и PTH, не се открива зависимост от HbA1c – ретроспективен или актуален.

6.2.2. Сравнителен анализ на костните маркери между пациенти с добър и незадоволителен гликемичен контрол

Общата група пациенти бе разделена на две според нивото на ретроспективния HbA1c – такива със задоволителен контрол (HbA1c<7,5%) и пациенти с незадоволителен контрол (HbA1c>7,5%). Проведе се сравнителен анализ на двете групи по отношение на основните метаболитни показатели (Табл. 34). Установиха се значими различия между двете групи по отношение на два от показателите за костно формиране – кАФ и остеокалцин SDS. И за двата показателя стойностите в групата с добър гликемичен контрол са по-високи. Значими са и различията по отношение на средната дневната инсулиновата доза, изчислена на килограм телесна маса – тя е по-висока при пациентите с незадоволителен метаболитен контрол. По отношение на всички останали показатели двете групи не се различават значимо.

Поотделно са разгледани зависимостите от костните и метаболитни маркери от метаболитните и антропометрични характеристики на пациентите в групата с добър (ретроспективен HbA1c <7.5%) (Таб. 35) и тази с незадоволителен гликемичен (ретроспективен HbA1c>7.5%) (Табл. 36)

В групата с добър метаболитен контрол (Табл. 35) установяваме негативна корелация както на общия остеокалцин, така и на остеокалцин SDS с давността на заболяването, значима положителна корелация между нивото на бета крос лапс и бета крос лапс SDS и това на серумния фосфор. От изследваните корелации с антропометрични показатели намираме силна положителна корелация на IGF-1 с BMI SDS.

Табица 34. Сравнителен анализ на костните и метаболитни маркери (Mann-Whitney test) между двете групи с добър и незадоволителен ретроспективен HbA1c

Показател	Групи - HbA1c	N	Средно	SD	p
Бета-крос лапс (ng/ml)	<7.5	21	1,07	0,39	0,09
	>7.5	116	1,00	0,55	
Остеокалцин (ng/ml)	<7.5	22	76,18	24,55	0,08
	>7.5	87	62,91	33,36	
кАФ (µg/L)	**<7.5**	**6**	**90,93**	**18,42**	**0,017***
	>7.5	**45**	**60,16**	**31,41**	
IGF-1 (ng/ml)	<7.5	8	318,13	169,00	0,396
	>7.5	75	264,12	153,21	
25 (OH) VitD (nmol/L)	<7.5	18	66,05	18,72	0,361
	>7.5	83	73,98	26,89	
PTH (pmol/L)	<7.5	18	2,32	0,84	0,664
	>7.5	85	2,48	1,05	
IGF-1 SDS	<7.5	8	0,77	1,65	0,165
	>7.5	75	-0,62	2,56	
Остеокалцин SDS	**<7.5**	**22**	**1,95**	**0,68**	**0,04***
	>7.5	**87**	**1,70**	**0,91**	
Бета крос лапс SDS	<7.5	6	1,14	0,73	0,088
	>7.5	43	0,08	1,61	
кАФ SDS	<7.5	21	-1,02	0,56	0,693
	>7.5	116	-1,04	0,76	
Ca (mmol/L)	<7.5	21	2.40	0,13	0,08
	>7.5	149	2.35	0,13	
Йонизиран калций (mmol/L)	<7.5	20	1.24	0,07	0,09
	>7.5	137	1.24	0,06	
Фосфор (mmol/L)	<7.5	18	1,59	0,34	0,27
	>7.5	140	1,65	0,26	
Mg (mmol/L)	<7.5	19	0,84	0,06	0,14
	>7.5	94	0,81	0,06	
Калциурия, Ca/креатинин	<7.5	12	0,35	0,23	0,32
	>7.5	82	0,49	0,48	
Инсулинова доза, Е/кг/ден	**<7.5**	**22**	**0,87**	**0,21**	**0,05***
	>7.5	**152**	**0,99**	**0,28**	

*p<0,05 SD – стандартно отклонение

Таблица 35. Корелационен анализ (Spearman's rho) на нивата на костните маркери и някои антропометрични и метаболитни характеристики в групата със добър гликемичен контрол

HbA1c < 7.5 %									
		Давност	Инсули-нова доза	Калций	Фосфор	Ръст	Тегло	BMI SDS	HbA1c
Бета-кроslапс (ng/ml)	r	-0,298	0,331	-0,207	**0,687**	-0,088	-0,109	0,005	0,350
	P	0,189	0,166	0,396	**0,002****	0,705	0,638	0,984	0,120
	N	21	19	19	**17**	21	21	21	21
Остеокалцин (ng/ml)	r	**-0,532**	0,103	-0,114	0,247	0,051	0,067	0,132	0,193
	P	**0,019***	0,694	0,663	0,376	0,836	0,786	0,591	0,429
	N	**19**	17	17	15	19	19	19	19
кАФ (µg/L)	r	-0,714	**-0,829**	**0,928**	-0,400	-0,486	-0,486	-0,257	0,143
	P	0,111	**0,042***	**0,008****	0,505	0,329	0,329	0,623	0,787
	N	6	**6**	**6**	5	6	6	6	6
IGF-1 (ng/ml)	r	-0,381	0,286	0,228	0,619	0,667	0,619	**0,714**	-0,310
	P	0,352	0,535	0,588	0,102	0,071	0,102	**0,047***	0,456
	N	8	7	8	8	8	8	**8**	8
25(OH)D (nmol/L)	r	0,098	0,271	0,221	0,160	0,346	0,335	0,255	0,115
	P	0,699	0,311	0,411	0,584	0,159	0,174	0,307	0,651
	N	18	16	16	14	18	18	18	18
PTH (pmol/l)	r	-0,085	-0,297	-0,156	-0,308	-0,073	-0,163	-0,113	-0,030
	P	0,738	0,263	0,565	0,284	0,772	0,518	0,656	0,906
	N	18	16	16	14	18	18	18	18
IGF-1 SDS	r	-0,429	0,321	0,240	0,333	-0,262	-0,286	-0,024	0,262
	P	0,289	0,482	0,568	0,420	0,531	0,493	0,955	0,531
	N	8	7	8	8	8	8	8	8
Остеокалцин SDS	r	**-0,491**	0,093	0,281	0,286	0,051	0,044	0,125	0,384
	P	**0,033***	0,722	0,274	0,301	0,836	0,858	0,611	0,104
	N	**19**	17	17	15	19	19	19	19
кАФ SDS	r	-0,714	**-0,829**	**0,928**	-0,400	-0,486	-0,486	-0,257	0,143
	P	0,111	**0,042***	**0,008****	0,505	0,329	0,329	0,623	0,787
	N	6	**6**	**6**	5	6	6	6	6
Бета крос лапс SDS	r	-0,105	0,089	-0,205	**0,536**	0,116	0,090	0,109	0,287
	P	0,650	0,716	0,400	**0,027***	0,617	0,699	0,638	0,207
	N	21	19	19	**17**	21	21	21	21

**p<0,01; *p<0,05

За разлика от групата с добър контрол при тази с лош контрол (таблица 36) изпъкват значимите отрицателни корелации на НвА1с с **остеокалцин и бета крос лапс** и **техните SDS, отрицателни корелации на кАФ с антропометричните показатели, възрастта на изследване и давността на диабета** Макар и малко по-слаба, положителната зависимостта на **бета крос лапс и бета крос лапс SDS от серумния фосфор** се запазва и в групата с лош контрол- съответно r=0,525, p<0,001 и r=0,426,p<0,001. В групата с **лош гликемичен контрол за разлика от тази с добър,** не се установява зависимост на кАФ от инсулиновата доза, но се открива отрицателна такава от **продължителността** на заболяването (r=-0,321, p=0,032). При пациентите с трайно влошен контрол се установява и връзка между нивото на кАФ и това на серумния **фосфор** (r=0,299, p=0,049),

Таблица 36. Корелационен анализ (Spearman's rho) на нивата на костните маркери и някои антропометрични и метаболитни характеристики в групата с лош метаболитен контрол

HbA1c > 7.5 %										
		Давност	Инсулинова доза	Калций	Фосфор	Ръст	Тегло	BMI	Възраст	HbA1c
Бета-крослапс (ng/ml)	r	-0,084	-0,149	0,144	**0,525**	-0,179	**-0,298**	**-0,390**	**-0,361**	**-0,417**
	P	0,372	0,128	0,138	**<0,001****	0,055	**0,001****	**<0,001****	**<0,001****	**<0,001****
	N	116	106	108	**102**	116	**116**	**116**	**116**	**116**
Остеокалцин (ng/ml)	r	0,009	-0,010	0,179	**0,462**	-0,169	**-0,271**	**-0,335**	**-0,386**	**-0,326**
	P	0,933	0,932	0,115	**<0,001****	0,118	**0,011***	**0,002****	**<0,001****	**0,002****
	N	87	78	79	**73**	87	**87**	**87**	**87**	**87**
кАФ (µg/L)	r	**-0,321**	0,172	**0,297**	**0,299**	**-0,484**	**-0,520**	**-0,459**	**-0,492**	-0,121
	P	**0,032***	0,265	**0,048***	**0,049***	**0,001****	**<0,001****	**0,002***	**0,001****	0,427
	N	**45**	44	**45**	**44**	**45**	**45**	**45**	**45**	45
IGF-1(ng/ml)	r	0,125	0,225	-0,157	0,181	**0,350**	**0,389**	**0,333**	**0,365**	0,025
	P	0,285	0,063	0,201	0,157	**0,002****	**0,001****	**0,004***	**0,001****	0,831
	N	75	69	68	63	**75**	**75**	**75**	**75**	75
25(OH)VitD (nmol/L)	r	0,026	-0,015	**0,398**	0,121	0,067	0,038	0,013	0,034	0,016
	P	0,813	0,900	**<0,001****	0,322	0,548	0,734	0,904	0,759	0,885
	N	83	74	**75**	69	83	83	83	83	83
PTH (pmol/l)	r	0,012	-0,106	-0,124	0,041	0,031	-0,011	-0,029	-0,065	-0,194
	P	0,911	0,366	0,283	0,737	0,777	0,924	0,792	0,555	0,075
	N	85	75	77	70	85	85	85	85	85
IGF1 SDS	r	-0,101	-0,118	0,038	0,241	-0,279	-0,185	-0,076	-0,259	-0,093
	P	0,390	0,335	0,757	0,057	**0,015***	0,112	0,516	0,025	0,426
	N	75	69	68	63	**75**	75	75	75	75
Osteocalcin SDS	r	-0,075	-0,067	0,169	**0,461**	**-0,229**	**-0,338**	**-0,376**	**-0,433**	**-0,327**
	P	0,488	0,562	0,135	**<0,001****	**0,033***	**0,001****	**<0,001****	**<0,001****	**0,002****
	N	87	78	79	**73**	**87**	**87**	**87**	**87**	**87**
кАФ SDS	r	-0,290	0,291	0,171	0,132	-0,087	-0,182	-0,268	-0,029	0,026
	P	0,059	0,062	0,274	0,404	0,580	0,243	0,083	0,854	0,867
	N	43	42	43	42	43	43	43	43	43
Бета крос лапс SDS	r	0,082	-0,072	0,034	**0,426**	0,146	0,021	-0,136	0,061	**-0,351**
	P	0,383	0,460	0,726	**<0,001****	0,117	0,827	0,145	0,516	**<0,001****
	N	116	106	108	**102**	116	116	116	116	**116**

**p<0,01; *p<0,05

6.3. Костни маркери и инсулинова доза

За пациентите с давност на заболяването повече от 6 месеца бе изчислена дневна инсулинова доза на килограм тегло. Не се установиха значими корелации на изследваните костни маркери и техните SDS с този показател (Табл. 37).

Таблица 37. Костни маркери и инсулинова доза

	Инсулинова доза (Е/кг)	
Бета-крос лапс	r	-,064
	p	,423
	n	154
Бета крос лапс SDS	r	-0,0004
	p	0,996
	n	154
Остеокалцин	r	-,027
	P	,766
	n	121
Остеокалцин SDS	r	0,010
	p	0,56
	n	121
кАФ, µg/l	r	,059
	p	,618
	n	73
кАФ SDS	r	0,173
	p	0,147
	n	73
IGF-1	r	,197
	p	,053
	n	97
IGF-1 SDS	r	-,055
	p	0,588
	n	100
25(OH)витамин D	r	,013
	p	,895
	n	111
PTH	r	-,087
	p	,360
	n	112

6.4. Влияние на възрастта при начало на ЗДТ1 върху нивата на някои костни маркери

6.4.1. Корелационен анализ

За маркерите с установена значима разлика между пациенти и контроли (остеокалцин, бета крос лапс и техните SDS) бе проведен корелационен анализ за влиянието на възрастта при начало на заболяването. От таблица 38 се вижда, че значима негативна корелация се установява единствено с абсолютните стойности на остеокалцин.

Таблица 38. Корелационен анализ на SDS на костните маркери с възрастта при начало на ЗДТ1

Показатели	r
Остеокалцин	**-0,261****
Остеокалцин SDS	**0,028**
Бета крос лапс	**-0,090**
Бета крос лапс SDS	**-0,065**

**** - p<0,01**

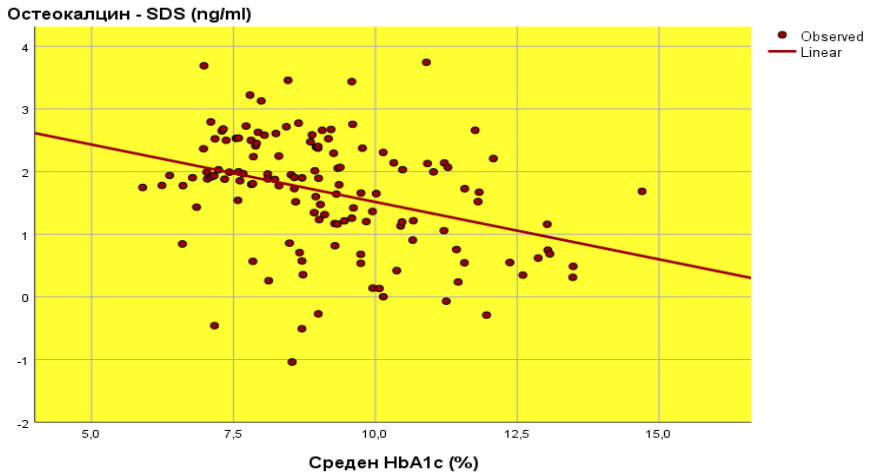
6.4.2. Регресионен анализ

Проведеният регресионен анализ показа, че съществува зависимост на остеокалцин - SDS от HbA1c, която се описва най-добре от линейно регресионно уравнение със следните параметри:

Остеокалцин - SDS = -0,183Среден HbA1c + 3,347

От уравнението и фигура 27 се вижда, че увеличението на HbA1c с 1% води до средностатистическо намаление на остеокалцин SDS с около 0,18.

Фигура 27. Зависимост на остеокалцин SDS от HbA1c



Проведеният регресионен анализ показа, че не съществува зависимост на остеокалцин SDS от инсулиновата доза.

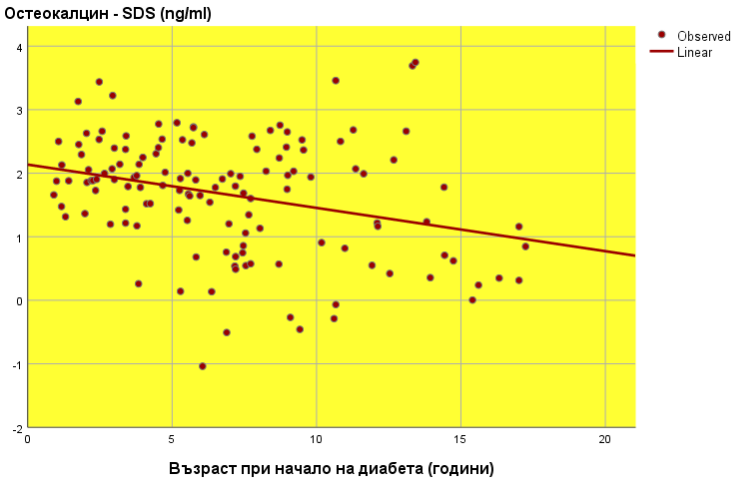
Установи се и зависимост (R2=0,090, p<0,001) на остеокалцин SDS от възрастта при начало на диабета, която се описва най-добре от линейно регресионно уравнение със следните параметри:

Остеокалцин SDS = -0,068Възраст при начало на диабета + 2,135

От уравнението и фигура 28 се вижда, че увеличението на възрастта при начало на диабета с една година води до средностатистическо намаление на остеокалцин SDS с около 0,07.

Проведеният регресионен анализ установи, че не съществува зависимост (p>0,05) на остеокалцин SDS от продължителността на диабета.

Фигура 28.Зависимост на остеокалцин SDS от възрастта при начало на диабета



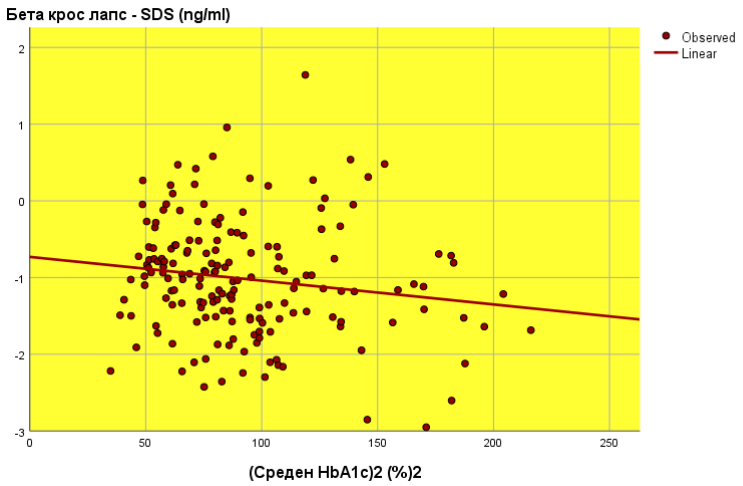
Бета крос лапс SDS

Проведеният регресионен анализ показа, че съществува зависимост (R2=0,024, p<0,001) на бета крос лапс SDS единствено от HbA1c, която се описва най-добре от квадратично регресионно уравнение със следните параметри:

Бета крос лапс SDS = -0,003(Среден HbA1c)2 - 0,731

От уравнението и фигура 29 се вижда, че увеличението на HbA1c с една негова мерна единица води до средностатистическо намаление на бета крос лапс SDS с около 0,003 ng/ml.

Фигура 29. Зависимост на бета крос лапс SDS от среден HbA1c



6.4.3. Множествен регресионен анализ

Остеокалцин SDS

Проведеният множествен линеен регресионен анализ (процедура Backward) показа, че съществува зависимост (R2=0,231, p <0,001) на остеокалцин SDS от изследваните предиктивни фактори, която на стъпка 2 се описва от регресионно уравнение със следните параметри:

Остеокалцин SDS = 3,961 – 0,086Възраст при начало на диабета – 0,152Среден HbA1c - 0,064Продължителност на диабета

От стандартизираните коефициенти β (табл. 39) се вижда, че най-голямо влияние върху остеокалцин SDS оказва възрастта при начало на диабета, следвана от средния HbA1c. Най-слабо е влиянието на продължителността на заболяването. Получените стойности на нестандартизираните коефициенти дават информация относно това, че:

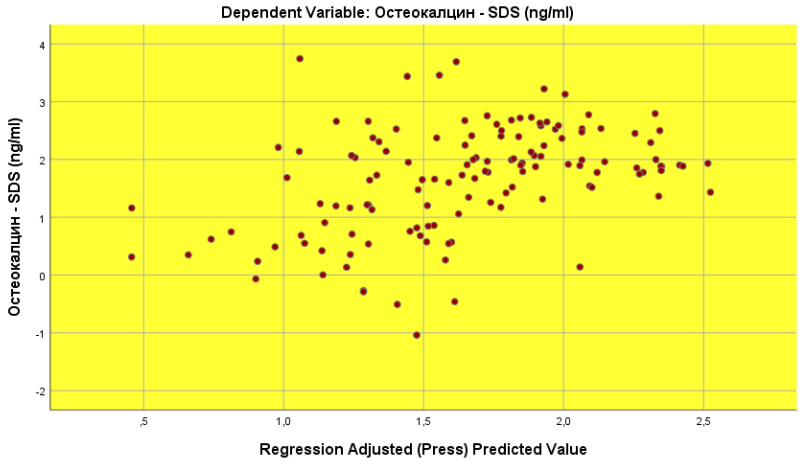
- Увеличението на възрастта при начало на диабета с 1 година води до средностатистическо позитивиране на остеокалцин - SDS с около 0,086 ng/ml;
- Увеличението на средния HbA1c с 1% води до средностатистическо намаление на остеокалцин SDS с около 0,152 ng/ml;
- Увеличението на продължителността на диабета с 1 година води до средностатистическо намаление на остеокалцин - SDS с около 0,064 ng/ml.

Стойността на коефициента на детерминация (R2) 0,231 означава, че според изследвания модел трите показателя определят около 23% от вариациите на остеокалцин SDS. Умерената сила на модела се наблюдава и на диаграмата на разсейване между реалните и предиктирани стойности на остеокалцин SDS (фиг. 30).

Таблица 39. Регресионни коефициенти на множествения регресионен модел между остеокалцин SDS и изследваните предиктивни фактори

Стъпка	Предиктори	Нестандартизирани коефициенти		Стандартизирани коефициенти	P
		B	Std. Error	β	
2	(Constant)	3,961	0,425		<0,001
	Възраст при начало на диабета (год.)	-0,086	0,022	-0,377	<0,001
	Среден HbA1c	-0,152	0,042	-0,299	<0,001
	Продължителност на диабета (год.)	-0,064	0,021	-0,283	0,003

Фигура 30. Диаграма на разсейване между реалните и предиктирани стойности на остеокалцин SDS



Бета крос лапс SDS

Проведеният множествен линеен регресионен анализ (процедура Backward) показа, че съществува зависимост (R2=0,044, p=0,027) на бета крос лапс SDS от изследваните предиктивни фактори, която на стъпка 3 се описва от регресионно уравнение със следните параметри:

Бета крос лапс SDS = -0,531 – 0,073Среден HbA1c + 0,028Възраст при начало на диабета

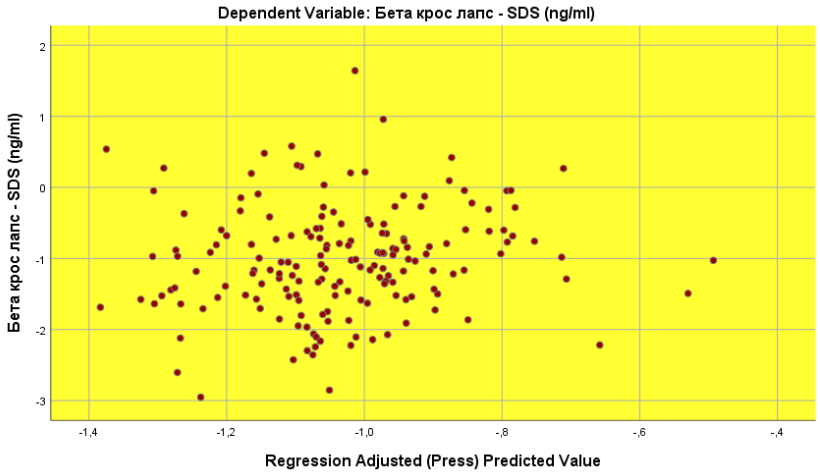
От стандартизираните коефициенти β (табл. 40) се вижда, че по-голямо влияние върху бета крос лапс SDS оказва средния HbA1c, следван от възрастта при начало на диабета. Получените стойности на нестандартизираните коефициенти дават информация относно това, че:

- Увеличението на средния HbA1c с 1% води до средностатистическо намаление на бета крос лапс SDS с около 0,073 ng/ml;
- Увеличението на възрастта при начало на диабета с 1 година води до средностатистическо увеличение на бета крос лапс SDS с около 0,028 ng/ml.

Таблица 40. Регресионни коефициенти на множествения регресионен модел между бета крос лапс SDS и изследваните предиктивни фактори

Стъп-ка	**Предиктори**	**Нестандартизирани коефициенти**		**Стандар-тизирани коефициенти**	**P**
		B	Std. Error	β	
3	(Constant)	-0,531	0,292		0,071
	Среден HbA1c	-0,073	0,031	-0,188	0,020
	Възраст при начало на диабета (год.)	0,028	0,014	0,156	0,052

Фигура 31. Диаграма на разсейване между реалните и предиктирани стойности на бета крос лапс SDS



Стойността на коефициента на детерминация (R^2) 0,044 означава, че според изследвания модел двата показателя определят около 4% от вариациите на бета крос лапс SDS. Неголямата сила на модела се наблюдава и на диаграмата на разсейване между реалните и предиктирани стойности на бета крос лапс SDS (фиг. 31).

7. Структурни характеристики на костта, измерени чрез дигитална рентгенова радиограмметрия (digital X-ray radiogrammetry, DXR) при пациентите

7.1. Обща характеристика на изследваните пациенти

- При 65 пациента бе направена рентегнография на недоминантна ръка за определяне на костна възраст. Получените рентгенографски образи бяха обработени с помощта на програмата BoneXpert® и бе определен Bone Health Index (BHI). За част от тях (n=54) бе изчислен и BHI SDS. При 11 пациента това бе невъзможно поради ограничения възрастов интервал на работа с програмата за момента.
- Средната възраст на изследваните пациенти е 11,23год ±3,89, като на тези от женски пол (n=27) е 11,16год ±3,48, а на тези от мъжки (n=38) – 11,28год±4,20, p>0,05.
- Средната продължителност на заболяването в общата група е 5,23год ±3,76.

- Разпределние по давност на ЗДТ1: с новооткрит ЗДТ1 (до 6 мес) - 16,67% (n=9), с продължителност 6 мес -5 год - 25,93%(n=14), с продължителност 5-10 год - 42,59% (n=23) и тези с продължителност над 10год – 14,81% (n=8).
- Средна стойност на HbA1c в общата група е 9,7% ±1,84
- Средната стойност на BHI е 4,41±0,67 (n=65), при пациентите от женски пол - 4,41±0,58 (n=27), при тези от мъжки - 4,41±0,73 (n=38), p>0,05.

7.2. Определяне на костната възраст на изследваните пациенти

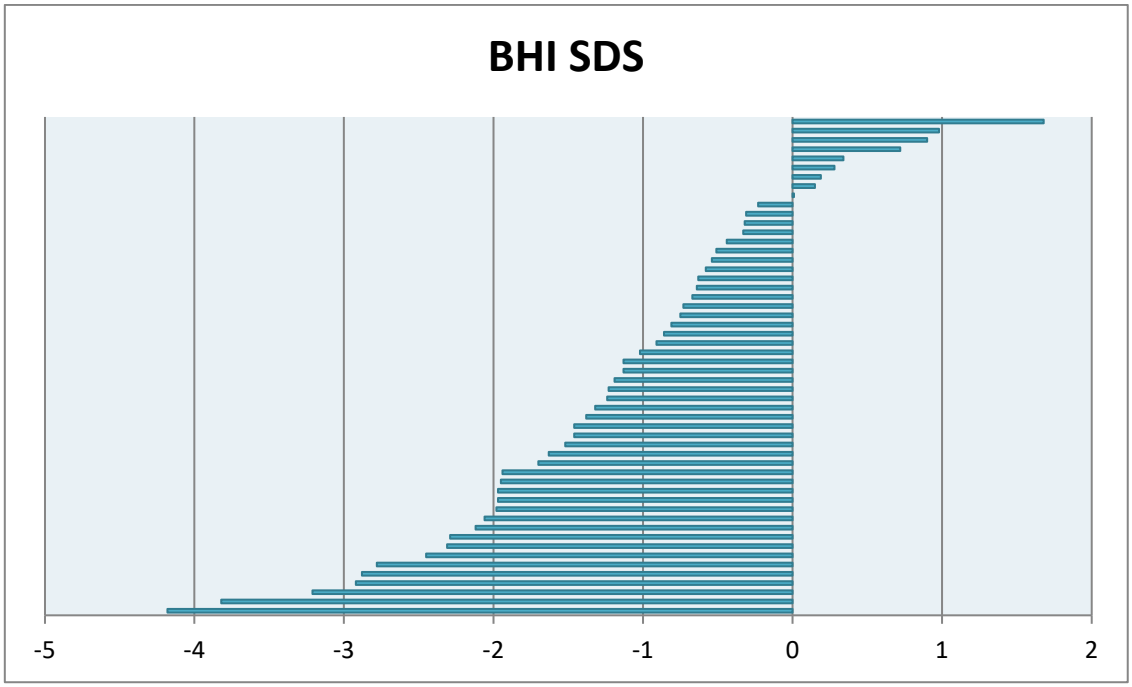
При 65 пациента костната възраст бе изчислена, както мануално, така и от програмата BoneXpert. Средната стойност на определената мануално костна възраст е 11,50год ±4,24, а на автоматично анализираната от програмата – 11,11 год±4,42, p>0,05. Средната разлика между двете е 0,39 год. Разлика по-голяма от 1,5 год бе открита при четири пациента.

При 27,78% (n=15) от всички изследвани пациенти се наблюдава изоставане на костната възраст от хронологичната с повече от 1 год и при толкова 27,78% (n=15) се наблюдава избързване с повече от 1 год. Това означава, че при повече от половината изследвани пациенти (55,56%) се наблюдават отклонения в костното съзряване спрямо хронологичната възраст. Индивидуалните стойности варират от 3,5 год изоставане до 2,99 год избързване. Пациентите с изоставаща и изпреварваща костна възраст не се различават значимо по отношение на метаболитния си контрол -в групата с изоставаща костна възраст средната стойност на HbA1c е 9,80%±1,55 (83,6 mmol/mol), а в тази с изпреварваща – 9,66%±1,91 (82,1 mmol/mol), p>0,05, както и по отношение на щитовидната си функция - средната стойност на TSH в първата група (n=10) е 2,27 mU/L±1,53, а във втората – 2,77 mU/L±0,94, p>0,05. Вероятно влияние оказват и други фактори като конституционални генетични особености на пациентите, пубертетният им статус и др.

7.3. Характеристика на изследваните пациенти според стойностите на BHI SDS

Средната стойност на BHI SDS в общата група е -1,15±1,19 (n=54), медиана -1,13, минимална стойност -4,18, максимална стойност 1,68.

Фигура 32. Разпределение на стойностите на BHI SDS при изследваните пациенти



Както се вижда и от фиг.32 при 83,33% (n=45) от всички изследвани пациенти стойностите на BHI SDS са под средните за съответния пол и възраст. За сигнификантно понижени възприехме нива на BHI SDS под две стандартни отклонения от средното. При 20,37% (n=11) от всички изследвани се наблюдават значимо понижени нива със средна стойност на BHI SDS -2,82±0,69. При останалите пациенти (n=43) средното ниво на BHI SDS е също с негативен знак- (-0,73±0,87).

7.3.1. Разпределение на стойностите на BHI SDS по пол

В общата група не се установиха значими полови различия - средното ниво на BHI SDS за женския пол е -1,32±1,21 (n=22), а за мъжкия -1,04±1,18 (n=32),p>0,05. От подгрупата с понижени стойности на BHI SDS 54,55% (11,11% от всички) са от женски, докато 9,26% са от мъжки пол. Средните стойности на BHI SDS в тази подгрупа са съответно -2,66±0,70 за женския и -3,01±0,70 за мъжкия пол, p>0,05.

7.3.2. Зависимост на BHI SDS от антропометричните показатели, възрастта и пубертетния стадий

В нашето проучване не установихме значима зависимост на BHI SDS от антропометричните показатели - ръст, тегло, BMI, както и от степента на пубертетно развитие на изследваните пациенти. (Табл.41)

Таблица 41. Зависимост на BHI SDS от антропометричните показатели и пубертетния стадий в общата група изследвани

		Ръст (см)	Тегло (кг)	BMI	Пубертетно развитие
BHI SDS	r	0,055	0,103	0,163	-0,039
	p	0,694	0,459	0,237	0,782
	n	54	54	54	54
BHI	r	0,75**	0,79**	0,63**	n/a
	p	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	n	65	65	65	

7.3.3. Зависимост на BHI и BHI SDS от нивата на костните маркери

При проведения корелационен анализ, в общата група пациенти единствено за IGF-1 беше установена силна значима корелация с BHI (r=0,474, p=0,001). (Табл.42) При разглеждане на BHI SDS не се откри сигнификантна зависимост с нивото на нито един от изследваните костни маркери. (Табл.43)

Таблица 42. Корелационен анализ на взаимовръзките на BHI с нивата на костните маркери

BHI	Остео-калцин	кАФ	IGF-1	25(OH) VitD	PTH	IGF1 SDS	Остео калцин SDS	кАФ SDS	Бета крос лапс SDS
r	-0,067	-0,257	0,474	-0,071	-0,100	-0,028	-0,121	0,108	0,178
p	0,637	0,354	0,001**	0,623	0,485	0,849	0,393	0,714	0,177
n	52	15	48	50	51	48	52	14	59

**p<0,001

Таблица 43. Корелационен анализ на взаимовръзките на BHI SDS с нивата на костните маркери

BHI SDS	Бета-крос лапс	Остео-калцин	кАФ	IGF-1	25 (OH) VitD	PTH	IGF1 SDS	Остео калцин SDS	кАФ SDS	Бета-крос лапс SDS
r	0,222	0,204	-0,063	0,073	-0,262	-0,054	0,158	0,189	0,000	0,150
p	0,125	0,190	0,846	0,650	0,098	0,733	0,325	0,225	1,000	0,305
n	49	43	12	41	41	42	41	43	12	49

7.3.4. Зависимост на BHI и BHI SDS от показателите на калциево-фосфорната обмяна (серумните нива на калций, фосфор, калциурия и дневен калциев прием)

Както се вижда и от табл. 44, не се наблюдават значими корелации между нивото на BHI/BHI SDS и това на серумния калций, фосфор, както и с това на калциурията при изследваните пациенти.

Таблица 44. Корелационен анализ на взаимовръзките на BHI и BHI SDS с някои показатели на калциево-фосфорната обмяна (серумно ниво на калций, фосфор, дневен прием на калций, калциурия)

		Серумно ниво на калций	Серумно ниво на фосфор	Дневен прием на калций	Калциурия
BHI SDS	r	-0,125	-0,039	n/a	-0,113
	p	0,385	0,809		0,539
	n	50	42		32
BHI	r	-0,020	n/a	0,616	n/a
	p	0,881		0,269	
	n	61		5	

7.4. Характеристики на пациентите с понижени и нормални стойности на BHI SDS

Въз основа на получените стойности за BHI SDS всички пациенти се разпределиха в две подгрупи: такива със значимо понижени нива – повече от две стандартни отклонения под средното ниво и такива с нива в рамките на референтните (±2 SDS).

Таблица 45. Обща характеристика на пациентите с понижен и нормален BHI SDS

	BHI SDS ≤ 2SD	BHI SDS ± 2SD
Средна възраст (год)	10,19±3,5	10,25±3,5
Пол (жени:мъже)	6:5	16:27
Тегло SDS	-0,513±1,147	-0,031±0,784
Ръст SDS	-0,619±1,743	0,172±1,133
BMI (кг/м^2)	17,04±2,46	17,61±2,17
Средна продължителност на ЗДТ1 (год)	6,65±3,37	4,86±3,8
Дневна инсулинова доза (Е/кг)	0,87±0,18	0,89±0,29
HbA1c % (mmol/mol)	10 (89,5)	9,55 (80,9)
Средна стойност на BHI SDS	**-2,82±0,69**	**-0,73±0,87 ****
Средна костна възраст BoneXpert (год)	9,12±3,25	9,96±3,72
Средно изоставане на хронологичната възраст (год)	-1,07±1,68	-0,29±1,32

** p<0,001

При сравнителен анализ на двете подгрупи не се наблюдават значими различия по отношение на редица общи характеристики като възраст, средна продължителност на заболяването, както и по антропометричните показатели – ръст, тегло и BMI. Двете подгрупи са сходни и по дневна инсулинова доза, ниво на метаболитен контрол и костна възраст, изчислена от програмата BoneXpert. Не се установява значимо различие между хронологичната и изчислената костна възраст за всички изследвани. (Табл.45)

7.4.1. Калциево-фосфорна обмяна и костни маркери при пациентите с нормален и понижен BHI SDS

При сравнителен анализ на метаболитните показатели между двете подгрупи се установяват значими раличия по отношение на калциево-фосфорната обмяна. (Табл.46) В подгрупата с понижена кортикална плътност са налице **по-ниски стойности на серумния фосфор** и **магнезий**, както и **по-високи такива на йонизирания калций** на фона на **значително по-нисък калциев прием** с храната. В тази група се наблюдава и тенденция за по-ниски нива на PTH и 25(OH)витаминD. Следва да се има предвид и

силната зависимост на нивото на 25(OH)D от сезонността - около 63% от пробите в подгрупата с нисък BHI SDS са взети през период на значително слънчево греене (май-септември) в сравнение с 42% от пробите в другата подгрупа.

Таблица 46. Метаболитни показатели при пациентите с понижен и нормален BHI SDS

	BHI SDS ≤ 2SD	BHI SDS ± 2SD
Калций (mmol/L)	2,42±0,15	2,39±0,10
Йонизиран калций (mmol/L)	**1,30±0,04**	**1,26±0,05***
Фосфор (mmol/L)	**1,50±0,29**	**1,71±0,28***
Магнезий (mmol/L)	**0,78±0,05**	**0,83±0,06***
TSH (mU/L)	2,76±1,5	2,32±1,1
Калциурия (Ca/Cr)	0,33±0,10 (n=4)	0,39±0,27 (n=27)
GFR (ml/min/1,73 m2)	125,27±28,1	114,46±16,63
Бета крос лапс (ng/ml)	**0,76±0,33**	**1,17±0,47 ***
Бета крос лапс SDS	-1,47±0,67	-0,96±0,71
Остеокалцин (ng/ml)	**49,02±14,07**	**75,91±32,08***
Остеокалцин SDS	**0,46±0,41**	**1,04±0,69***
IGF-1 (ng/ml)	184,19±166,22	244,51±164,96
25(OH)витамин D (nmol/L)	66,87±19,01 (n=9)	71,21±21,73 (n=33)
PTH (pmol/L)	2,24±0,77	2,35±0,70
IGF-1 SDS	-2,07±4,31	-0,15±2,20
Дневен прием на калций (mg)	**344,50**	**1404,97±360,67 ***

*p<0,05

По отношение на маркерите за костен метаболизъм значими различия се установяват за маркера за костна резорбция **бета крос лапс** и този за костно формиране-**остеокалцин**, както и **остеокалцин SDS**. В подгрупата с намалена кортикална плътност стойностите са **значимо по-ниски**, показващи понижен като цяло костен обмен. IGF-1 показва тенденция за по-ниски стойности в подгрупата с намален BHI SDS.

Имайки предвид, важността на **магнезя** за костната плътност, сравнихме резултатите на пациентите с понижен BHI SDS с тези на общата група пациенти. Въпреки, че показват тенденция да бъдат по-ниски, разликата е несигнификантна. (Табл.47)

Таблица 47. Средни нива на серумния магнезий в общата група пациенти и тази с понижен BHI

Показатели	**Магнезий** (mmol/L)
Понижен BHI SDS (n=11)	0,78±0,05
Обща група пациенти (n=113)	0,82±0,06

p>0,05

Таблица 48. Корелационен анализ на влиянието на ЗДТ1 върху BHI и BHI SDS

Показатели	**BHI SDS**	**BHI**
Настоящ HbA1c	-0,180	-0,118
Инсулинова доза (само при децата с еволюция на диабета ≥5 години)	-0,122	**0,367****
Възраст при начало на диабета	**0,307***	**0,484****
Давност на диабета	**-0,284***	0,225

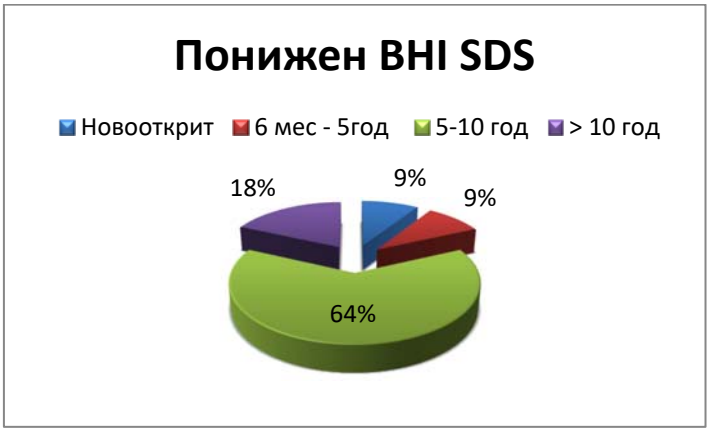
*p<0,05; **p<0,01

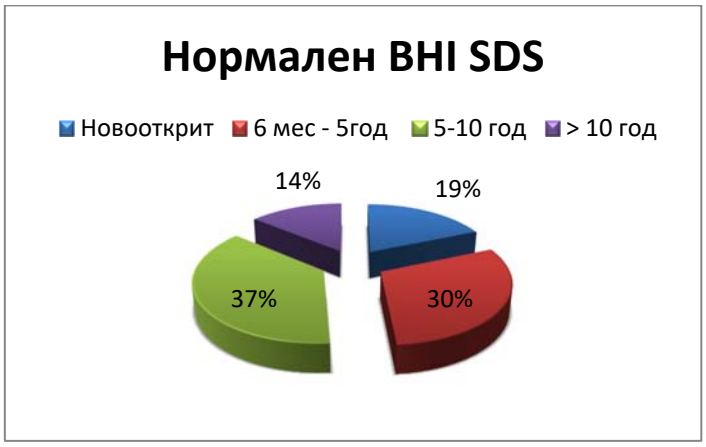
7.5. Зависимост от продължителността на ЗДТ1

В нашето проучване установяваме, че продължителността на заболяването оказва влияние върху стойностите на BHI SDS, съответно – върху кортикалната КМП. В общата група пациенти е налице сигнификантна негативна корелация между BHI SDS и продължителността на заболяването (Табл.48).

Въпреки липсата на значими различия, в подгрупата с понижен BHI SDS е налице тенденция за по-голяма продължителност на ЗДТ1 - 6,65 год±3,37 (0-13,3 год) срещу 4,86 год±3,8 (0-12,2). (Табл.45) В тази група има само един пациент с новооткрит ЗД, а най-голям е делът на пациенти с давност 5-10 год (63,64%), както се вижда и от фиг.33.

Фигура 33. Разпределение на пациентите с понижен BHI SDS според давността на ЗДТ1





В подгрупата с нормални стойности на BHI SDS новооткритите случаи са 8 (18,6%), тези с продължителност 6 мес-5 год са 13 (30,23%), най-голям е делът с давност 5-10 год -37,21% (n=16), пациентите с продължителност >10 год са 6 (13,95%), като най-голямата давност на заболяването е 12,28 год. И в двете подгрупи най-голям е делът на пациентите с продължителност на заболяването 5-10 год.

Единственият пациент с поднормен BHI SDS и новооткрит ЗД е момче на 4,24 год. Заболяването е дебютирало с умерена кетоацидоза: pH 7,27; BE -18 mmol/L; HCO3 8 mmol/L и симптоми на полидипсо-полиурия от предходните 45 дни. Без фамилност за остеопороза.

7.5.1. Разпределение на стойностите на BHI SDS според продължителността на заболяването

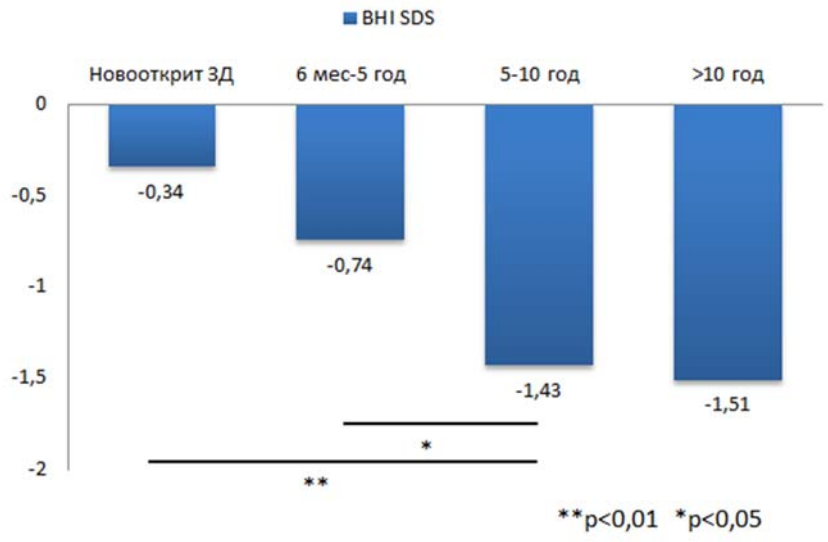
При сравнителен анализ на стойностите на BHI SDS в отделните подгрупи по давност се наблюдава понижение с увеличаване на продължителността на заболяването – най-висока е стойността в групата с най-малка продължителност на заболяването (-0,34±0,99), а най-ниска (-1,51±1,55) – в групата с най-голяма такава. Значими са различията между групата с новооткрит ЗД и тази с давност 5-10г, както и между групата с продължителност 6мес-5 год и тази с 5-10г. Така колкото по-голяма е давността на ЗДТ1, толкова по-малка е кортикалната дебелина на пациентите, сравнена с тази при здрави контроли. (Табл. 49, фиг.34)

Таблица 49. Средна стойност на BHI SDS според продължителността на заболяването

	Новооткрит	**6 мес-5год**	**5-10 год**	**>10 год**
Средна продължителност (год)	0,02±0,05	2,83±1,61	6,59±1,34	11,36±1,13
Средна стойност на BHI SDS	-0,34±0,99 (n=8) **	-0,74±0,91 (n=14)*	-1,43±0,97 (n=23)	-1,51±1,55 (n=8)

****p=0,01 между 1. и 3. група;*p=0,03 между 2. и 3. група**

Фигура 34 Разпределение на средните стойности на BHI SDS според продължителността на заболяването



7.6. Влияние на възрастта при изява на ЗДТ1 върху стойностите на BHI SDS

Възрастта при началото на заболяването се оказва също важен фактор за формирането на кортикалната кост. В общата група се установяват значими положителни корелации и с двата показателя – BHI и BHI SDS. (Табл. 48)

В подгрупата с понижен BHI SDS всички пациенти (72,73%) без трима, са развили заболяването изключително рано – още преди 4-год възраст. От останалите единият е с новооткрит ЗДТ1 и е на 4,24 год, другите двама са развили заболяването съответно на 7,44 и 8,04 год възраст- преди началото на пубертетното си развитие и са от женски пол. В групата с нормален BHI SDS, делът на пациентите, развили заболяването преди 4 год възраст е близо 2 пъти по-малък – 39,53% (n=17). Средната възраст при начало на заболяването в групата с понижен BHI SDS е 3,54 год±2,39 срещу 5,39 год±3,32 в другата, p=0,08.

7.7. Влияние на инсулиновата доза върху стойностите на BHI SDS

Установи се и положителна корелация между абсолютните стойности на BHI и инсулиновата доза в общата група пациенти (r=0,367, p=0,005). При разглеждане на BHI SDS корелацията става несигнификантна (r=-0,122,p=0,413). (Табл.48)

7.8. Влияние на гликемичния контрол върху стойностите на BHI SDS

Не се установява сигнификантна корелация на BHI/BHI SDS с гликемичния контрол - настоящ или ретроспективен.

8. Статистически анализ на факторите, определящи BHI и BHI SDS

BHI

Проведеният множествен линеен регресионен анализ (процедура Backward) показа, че съществува зависимост (R^2=0,556, p <0,001) на BHI от изследваните предиктивни фактори, която на стъпка 3 се описва от регресионно уравнение със следните параметри:

BHI = 2,949 + 0,156Възраст при началото на диабета + 0,106 Продължителност на диабета

От стандартизираните коефициенти β (табл. 50) се вижда, че по-голямо влияние върху BHI оказва възрастта при начало на диабета, следвана от продължителността на диабета. Получените стойности на нестандартизираните коефициенти дават информация относно това, че:

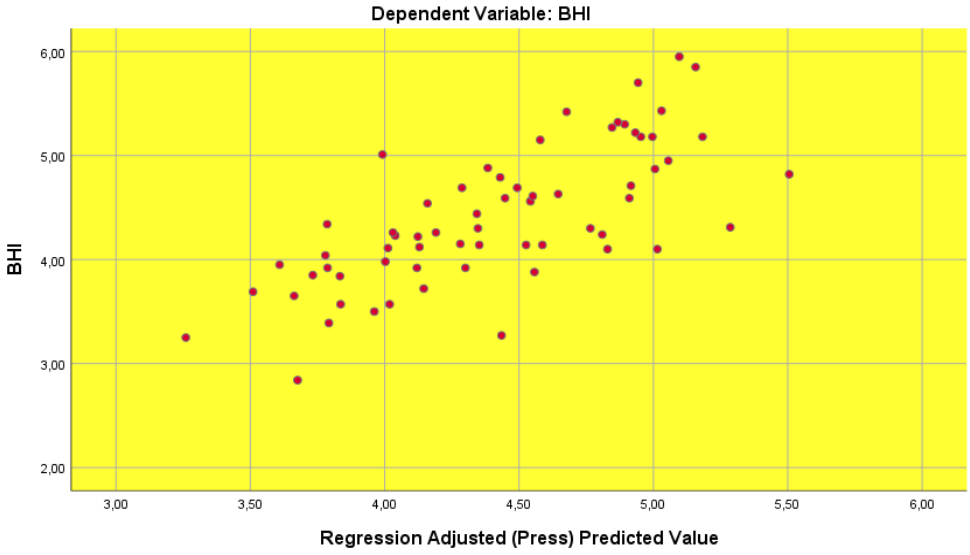
- Увеличението на възрастта при начало на диабета с 1 година води до средностатистическо увеличение на BHI с около 0,156 негови единици;
- Увеличението на продължителността на диабета с 1 година води до средностатистическо увеличение на BHI с около 0,106 негови единици.

Стойността на коефициента на детерминация (R^2) 0,556 означава, че според изследвания модел двата показателя определят около 56% от вариациите на BHI. Изразената сила на модела се наблюдава и на диаграмата на разсейване между реалните и предиктирани стойности на BHI (фиг. 35).

Таблица 50. Регресионни коефициенти на множествения регресионен модел между BHI и изследваните предиктивни фактори

Стъпка	Предиктори	Нестандартизирани коефициенти		Стандартизирани коефициенти	P
		B	Std. Error	β	
3	(Constant)	2,949	0,186		<0,001
	Възраст при началото на диабета (год.)	0,156	0,020	0,777	<0,001
	Продължителност на диабета (год.)	0,106	0,016	0,650	<0,001

Фигура 35. Диаграма на разсейване между реалните и предиктирани стойности на BHI



BHI – SDS

Проведеният множествен линеен регресионен анализ (процедура Backward) показа, че съществува зависимост (R^2=0,064, p=0,048) на BHI – SDS от изследваните предиктивни фактори, която на стъпка 4 се описва от регресионно уравнение със следните параметри:

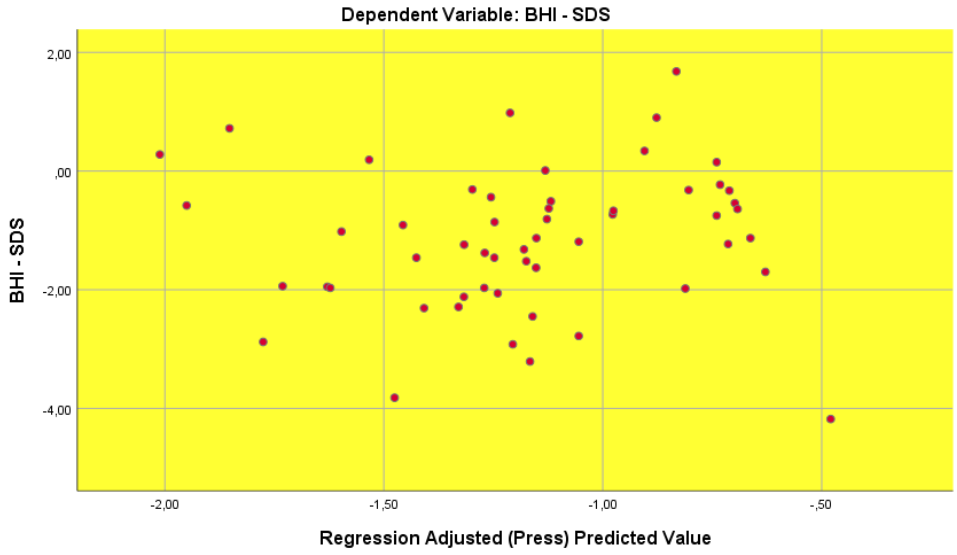
BHI - SDS = -0,689 – 0,092Продължителност на диабета

Получената стойност на нестандартизирания коефициент дава информация относно това, че увеличението на продължителността на диабета с 1 година води до средностатистическо намаление на BHI - SDS с около 0,092 единици. (Табл.51)

Таблица 51. Регресионни коефициенти на множествения регресионен модел между BHI – SDS и изследваните предиктивни фактори

Стъпка	Предиктори	Нестандартизирани коефициенти		Стандар-тизирани коефициенти	P
		B	Std. Error	β	
4	(Constant)	-0,689	0,283		0,019
	Продължителност на диабета (години)	-0,092	0,045	-0,290	0,048

Фигура 16. Диаграма на разсейване между реалните и предиктирани стойности на BHI – SDS



Стойността на коефициента на детерминация (R^2) 0,048 означава, че според изследвания модел продължителността на диабета определя около 5% от вариациите на BHI - SDS. Малката сила на модела се наблюдава и на диаграмата на разсейване между реалните и предиктирани стойности на BHI – SDS (фиг. 3).

VII. ОБСЪЖДАНЕ

1. Възрастово-полова характеристика и антропометрични показатели

Изоставането в **растежа и развитието** на децата със ЗДТ1 са характерни черти на инсулиновия дефицит (284). Фактът, че изоставащите в растежа си деца израстват бързо след подобряване на метаболитния контрол е сериозно доказателство за зависимостта между растежните процеси и оптималната инсулинова доза При изследваните при нас деца средните стойности на SDS за ръст и тегло са в рамките на едно стандартно отклонение от средните за български деца (277) и референтните стойности на CDC (278). Незначими са и разликите спрямо контролите. Можем да твърдим, че в изследваната от нас група няма деца с тежък предхождащ инсулинов дефицит и такива със синдром на Mauriac. Половото разпределение в нашата кохорта съответства на съотношението мъже:жени при тип 1 ЗД в световната база данни (285). Симетрична е и извадката при контролите.

Увеличаването на честотата на затлъстяването в световен мащаб (286) поради факторите на "обезогенната" околна среда (дисбаланс между физическа активност и калориен прием, стрес) задължава проследяване и на пациентите с Т1ЗД, които живеят в същата среда. Въпреки липсата на значими различия между пациенти и контроли, в нашето проучване установяваме нарастване на BMI SDS с увеличаване продължителността на заболяването, подобно на голямо мултицентрово проучване от последните години (287). Наличието на ЗДТ1 и неговото лечение като цяло предразполагат към наднормено телесно тегло поради няколко специфични фактора – допълнителен въглехидратен прием понякога, за корекция на хипогликемия, но и контролиран въглехидратен прием за сметка на белтъчини и мазнини, хроничното излагане на периферните тъкани на хиперинсулинемия при подкожно въвеждане на инсулин с недостиг на същия в порталните пространства. Степента на затлъстяване е свързана с полови различия според някои автори (288) с превалиране на момичетата над момчетата, което влияе на някои от костните маркери. В нашето проучване не установяваме значими различия по отношение на BMI SDS между двата пола, както при пациенти, така и при контроли.

2. Анализ на маркерите за костен метаболизъм

Следвайки препоръките на Международната фондация по остеопороза (The International Osteoporosis Foundation, IOF) и Международната федерация по клинична химия (International Federation of Clinical Chemistry, IFCC) (105) за изследване на повече от един маркер за проследяване на лонгитудиналния растеж и натрупването на костна маса, ние изследвахме едновременно няколко показателя, характеризиращи както костния метаболизъм, така и калциево-фосфорната обмяна, която е свързана пряко с него.

Десетки биохимични, хормонални и функционални показатели в медицината имат отделни референтни стойности в зависимост от възрастта и пола на изследваните пациенти. Това вече е възможно и за някои от маркерите за костната обмяна. Представянето на индивидуалните стойности на даден показател с неговия SDS или позиция в интервалите за доверителност позволява прецизно изключване на физиологичните влияния (възраст/пол/пубертетно развитие) и по-точен анализ на търсените реални външни фактори за отклонение, какъвто е например ЗДТ1 с неговите клинични и биохимични характеристики. Важността на изчисляването на SDS се потвърждава от голям мета анализ (100), при който установените за абсолютните стойности на костните маркери негативни корелации с костната плътност стават незначими, когато се преизчислят чрез техните SDS, т.е. когато се отстранят разликите по възраст, пол и пубертетно развитие. Повечето направени до момента проучвания обаче използват абсолютни стойности на изследваните показатели. Основна причина е липсата на референтна база данни за детска възраст, въз основа на която да се изчислят съответните SDS.

В нашето изследване беше възможно изчисляването SDS за четири показателя: остеокалцин, бета крос лапс, кАФ и IGF-1.

Остеокалцин

Остеокалцинът е основен показател на костното формиране и съвременен обзор (289) го посочва като най-изследваният костен маркер при пациенти със ЗДТ1.

Нашите резултати потвърждават проучвания при пациенти със ЗДТ1 - както възрастни, така и деца и подрастващи, които единодушно установяват значимо по-ниски стойности за остеокалцина в сравнение със здрави контроли (100, 163, 215, 275, 288). По-ниски нива на остеокалцин се откриват дори при деца с новооткрит захарен диабет, предпубертетни деца и такива в ремисия и добре контролирано заболяване (275, 288, 290).

Нашите резултати са в синхрон с тези от световната литература – значимо понижена е както средната стойност, така и изчисленият SDS за остеокалцин, потвърждавайки потисната остеобластна функция още в ранните етапи на заболяването.

По отношение на маркера за костна резорбция **бета крос лапс,** резултатите не са еднопосочни. Някои автори установяват по-ниски стойности (288), за разлика от други (26), изследващи деца и подрастващи със средна продължителност на заболяването 6,3 год, при които се откриват значимо по-високи нива на бета крос лапс в сравнение със здрави контроли при среден HbA1c 8,8%.

Систематичен обзор, обхващащ 26 проучвания (100), изследващи нивата на костните маркери при педиатрични пациенти със ЗДТ1, потвърждава значимо понижени стойности на остеокалцин, докато подобен извод за бета крос лапс не може да се направи поради липса на достатъчно данни. Метаанализ (289) обхващащ около 70 проучвания за нивата на костните маркери при възрастни и педиатрични пациенти със ЗДТ1 установява, че във всички включени проучвания нивата на остеокалцин и бета крос лапс са значимо по-ниски при пациентите в сравнение със здрави контроли.

В оригинално проучване (288) от последните години, включващо 173 деца и подрастващи Madsen и сътр отново доказват по-ниските стойности на бета крос лапс, включвайки в анализа стандартните отклонения на показателя съгласно собствени референтни граници.

Maggio и сътр. (291) откриват понижение в средните стойности на бета крос лапс, но разликите стават незначителни при сравнение на SDS.

По-ниските стойности и на показателя за костна резорбция бета крос лапс в нашето проучване показват наличие и на потисната остеокластна функция, т.е. наличието на заболяване засяга едновременно функцията на двата основи типа клетки в

костта. Еднопосочните изменения в нивата на маркера за костно формиране – остеокалцин и този за костна резорбция – бета крос лапс, показват еднакво засягане на двата основни процеса на костна обмяна при пациентите със ЗДТ1. Тези процеси не са декуплирани, т.е. наблюдава се едновременно понижение на маркерите, които ги характеризират.

IGF-1

В световната литература нивата на IGF-1 при пациенти със ЗДТ1 са обект на проучване от дълго време, но сравнително отскоро се разглеждат и в контекста на патогенезата на костните изменения (292).

Инсулиновият и съответно IGF-1 дефицит играят централна роля в патогенезата на костните изменения при ЗДТ1 и повечето автори установяват значимо по-ниски нива на IGF-1 (192, 292, 293). За разлика от тях ние не установяваме ниски нива на IGF-1 при пациентите, както и сигнификантни различия на изчислените IGF-1 SDS спрямо контролите, но се наблюдава тенденция за понижение при пациентите. Сходни са данните и от други изследователи за намален IGF-1, най-вече при възрастни пациенти с остеопения или при деца и подрастващи (156, 190).

Нашите резултати за нивата на костните маркери потвърждават, че костният обмен при пациентите със ЗДТ1 може бъде нарушен още от детската възраст. Предполага се едновременно засягане на двата основни типа клетки – остеобласти и остеокласти. В дългосрочен план това би могло да доведе до нарушения в костната микроархитектоника и съответно до по-висок фрактурен риск. Наблюдаваната в нашето проучване положителна корелация между нивата на бета крос лапс и остеокалцин показва, че костната резорбция е съпътствана от компенсаторно костно формиране и се потвърждава от други проучвания (294).

При физиологични условия процесите на костно формиране и резорбция са тясно свързани и биохимичните маркери се изменят в синхрон. Съществува мнение, че наблюдаваното понижение в нивата на костните маркери при ЗД, без да е съпътствано от подобни промени в нивата на други маркери, като например кАФ, е изява на

специфичен дефект на дисоциация на процесите в костната обмяна. Потиснатите костно формиране и резорбция на фона на интактна минерализация вероятно са израз на компенсаторен механизъм, насочен към поддържане и дори повишаване на КМП (295). Важно е да се има предвид, че костната обмяна в детска възраст, за разлика от тази при възрастни, включва три процеса – ремоделиране, моделиране и елонгация. И в трите процеса активни участници са остеобластите и остеокластите, ето защо интерпретацията при специфичната група на педиатричните пациенти е затруднена.

2.1. Анализ на зависимостта на нивата на костните маркери от антропометричните показатели

Нашите резултати показват значима положителна връзка на IGF-1 с ръста, теглото и съответно с BMI, но и негативна такава на два от изследваните маркери - за костна резорбция - бета крос лапс и за кАФ. По отношение на остеокалцин, не наблюдаваме значими зависимости с антропометричните показатели при пациентите, за разлика от тях в групата на контролите се установява негативна корелация на остеокалцин с тези показатели. При контролите се запазват корелациите на кАФ и IGF-1, но не се наблюдава такава за бета крос лапс. Негативна корелация между BMI Z-score и изчисления за бета крос лапс SDS при деца и подрастващи със ЗДТ1 установяват и други автори (288).

Маркерите на костна обмяна, както и костната маса са тясно свързани с растежа (296). Хормоналните фактори допълват синергичното си действие с нарастването на телесната маса и хранителния статус и спомагат за натрупване на костната плътност. Установена е положителна корелация между КМП и BMI (292).

В подкрепа на това е и костната загуба, наблюдавана при пациенти с анорексия. Енергийният хранителен прием показва значима корелация с костното натрупване при здрави момичета (297).

По-високи нива на бета крос лапс при по-слаби индивиди, на фона на липса на разлика за нивата на остеоклацин получават и други автори при изследване на здрави деца и подрастващи (298).

Rauchenzauner и сътр. (281) определят нивата на костните маркери в кохорта от 572 здрави деца и юноши с цел изработване на референтни стойности. Изследваните от тях костни маркери – остеокалцин, кАФ, бета крос лапс показват зависимост от ръста и

теглото – по-високите и тежки индивиди имат съответно по-високи нива. Вероятно те отразяват и по-голямата растежна скорост.

От друга страна през последните години се изтъква ролята на остеокалцина в енергийния метаболизъм и затлъстяването. Серумните му нива се определят не само от костната тъкан, но и от мастната (299).

Систематичен обзор (300), публикуван през 2017г, изследва връзката на остеокалцин с антропометричните показатели при здрави възрастни индивиди и обхваща 28 проучвания. Изводите са в синхрон с нашите резултати за контролите и потвърждават наличие на значима негативна корелация на нивото на остеокалцин с BMI. Авторите намират обяснения в ролята на остеокалцина за инсулиновата секреция и чувствителност. Индивиди с по-висок BMI (обезитет) имат и по-ниско ниво на остеокалцин, поради наличната инсулинова резистентност, вкл. на ниво остеобласти, която е резултат от действие на различни фактори като: проинфаламторни цитокини, лептин и адипонектин (301, 302). Липсата на подобни зависимости в групата на пациентите със ЗДТ1, които вече имат значително по-ниско ниво на остеокалцин, предполага по-силно негативно влияние на самото заболяване с нарушена регулация на взимодействието костен-енергиен метаболизъм.

В нашето проучване установяваме негативна корелация на нивото на кАФ с антропометричните показатели в групата на пациентите. Възможни причини са известно „изоставане“ в процеса на минерализация на вече новосформираната кост, както и наличие на дефект в костната минерализация свързан с влиянието на специфични за ЗДТ1 фактори. Установена е дисоциация между темповете на нарастване на дължина и на минерализацията на костите при здрави индивиди. Това се потвърждава и от анализа на контролната ни група (303). Запазването на тези взаимоотношения и при изследваните от нас пациенти би могло да бъде причина за получените зависимости.

2.2. Анализ на зависимостите между костните маркери при изследваните деца и юноши

Установените значими положителни корелации между костните маркери в групата на пациентите (остеокалцин и кАФ; остеокалцин и бета крос лапс;остеокалцин и РТН) показват запазен синергизъм по отношение на двата процеса на костната обмяна. Подобни корелации се установяват и при контролите, което показва, че заболяването не

е променило тези взаимовръзки. Важно е да се отбележат и съхранените взаимовръзки между PTH и 25(OH) витамин D в групата на пациентите.

Установените от нас по-ниски нива на остеокалцин и PTH при пациентите, заедно с положителната корелация между тях е установена и от други автори (304). Тези автори изказват мнение, че посочената лабораторна констелация е свързана с повишен вертебрален фрактурен риск при възрастни пациенти със ЗД. Установените от нас сходни значими корелации между костните маркери в групите на пациентите и на контролите показват една и съща (физиологична) закономерност на протичащите процеси на костната обмяна, както при децата с диабет, така и при здравите деца.

2.3. Анализ на влиянието на пола върху нивата на костните маркери

В настоящото проучване при контролите единствената значима разлика между момичета и момчета е в по-ниските нива на остеокалцин SDS при момичетата. По-ниските нива на остеокалцина като цяло при децата с диабет заличават разликите между момчета и момичета в групата, но се появява значима разлика в нивото на маркера за костно формиране кАФ SDS и на маркера за костно разграждане бета крос лапс SDS. Стойностите за кАФ SDS са по-високи при пациентите от женски пол, докато тези за бета крос лапс SDS при тях са по-ниски, т.е. костното формиране е по-активно при изследваните от нас пациенти от женски пол.

В нашето проучване не установяваме значими различия между двата пола по отношение гликемичния контрол, както на актуалния, така и на ретроспективния метаболитен контрол, следователно установените междуполови различия не могат да бъдат обяснени с различния метаболитен контрол.

Сходни резултати за бета крос лапс установява и Brandao и сътр. (25), но в тяхното проучване са налице не само полови различия, но и такива в метаболитния контрол - с по-нисък HbA1c при женския пол.

Установените от нас междуполови различия в нивата на маркерите за костно фопмиране и разграждане се запазват и при възрастни пациенти с диабет, като при мъжете с потиснато костно формиране те се обсъждат в светлината на по-ниски тестостеронови нива (305).

Авторите на друго проучване при деца и подрастващи със ЗДТ1 също установяват значимо по-ниски нива на бета крос лапс SDS при женския пол. Вероятно е и влиянието на повишеното в хода на пубертетното развитие и при двата пола ниво на естрадиола (288). Ние нямаме данни за нивата на половите хормони, за да анализираме тези вероятни зависимости.

2.4. Анализ на данните за костните маркери в зависимост от пубертетния стадий

Физиологичните процеси на скелетния растеж и пубертетното съзряване са свързани с процеси на интензивна костна обмяна (306) и предизвикват значими изменения в стойностите на всички костни маркери (307).

Пубертетът е важен и независим фактор, определящ нивата на костните маркери. В нашето проучване значима зависимост от пубертетното развитие при пациентите се наблюдава за **остеокалцин, бета крос лапс, кАФ и IGF-1, т.е. за всички изследвани показатели без 25(OH)витамин D и PTH.** При контролите тази зависимост е налице само за **остеокалцин и IGF-1**, най-вероятно поради по-малкия брой изследвани. Нивата на изследваните костни маркери при пациенти и контроли следват сходна крива с напредване на пубертетното съзряване. Пикови нива на всички маркери за костна обмяна (остеокалцин, кАФ и бета крос лапс) се наблюдават в групата с пубертетен растежен скок (2+3 ст по Танер), т.е. кривата на костните маркери е паралелна на растежната крива. Въпреки едновременното увличение на маркера за костна резорбция, това е период, в който преобладават процесите на костно моделиране и изграждане на нова кост. След него нивата на костните маркери спадат и постепенно достигат стойностите при възрастни. Така установената от нас динамика на стойностите при изследваните пациенти и контроли следва физиологичната, установена от редица други автори (296, 306).

От друга страна, въпреки сходната динамика в нивата на костните маркери спрямо пубертетното развитие, всички стойности при пациентите показват обща тенденция да бъдат по-ниски от тези при контролите. Тези резултати са в синхрон с редица подобни проучвания от последните години (25, 192, 215, 288, 308). Наблюдаваните изменения са

значими, независимо от добрия гликемичен контрол и сравнително малката продължителност на заболяването (291).

При контролите наблюдаваната от нас динамика на IGF-1 е сходна с тази на останалите маркери, с увеличение на нивата му през 3-4 стадий по Танер, потвърдено и от други автори (303).

При децата с диабет **IGF-1**, както и при останалите костни маркери, е с по-ниски нива при всички пубертетни подгрупи, което е потвърждение на данните от Munoz MT и сътр. (309). Въпреки нарастването на абсолютните стойности на IGF-1 в хода на ускорения линеарен растеж при децата с диабет, недостатъчния му физиологичен отговор се отчита със засилване на отрицателния знак на IGF-1 SDS спрямо предпубертетната група. Тези резултати се различават от голямо лонгитудинално проучване, което обаче включва пациенти с по-ниско средно ниво на HbA1c (303). Ниските нива на IGF-1 се свързват не само с потисната остеобластна функция (192, 292), но и с наличие на редица съдови усложения като микроалбуминурия и ретинопатия (310). Според Janssen JA и сътр. (195) ранният и по-продължителен във времето спад в нивата на IGF-1 води до недостатъчен протективен ефект за развитие на ангиопатия в таргетните тъкани. Освен това по-ниските нива на IGF-1 корелират с наличието на фрактури при пациентите с диабет и биха могли да играят ролята на потенциален предиктор (289).

Вероятна причина за наблюдаваната от нас динамика е по-силното влияние на ЗДТ1 и характерния за това заболяване дефицит на IGF-1, чието ниво спада още повече с увеличаване давността и/или влошаване на гликемичния контрол на заболяването. Въпреки, че в нашето проучване не установяваме корелация на костните маркери с давността, налице е значима негативна корелация с гликемичния контрол, установена и от други автори (311).

Въпреки липсата на значими различия, динамиката в стойностите на **PTH** следва логиката на промените в нивата на останалите показатели. Това вероятно са компенсаторни изменения, свързани с повишените изисквания на изключително активната костна обмяна в разгара на пубертета в 2.-3.ст по Танер (306). Установената от нас динамика в нивата на PTH е сходна с тази при здрави деца и показва пикови стойности по време на пубертетния растежен скок с постепенен спад след това. Според

някои автори (134) повишеното ниво на PTH би могло да интензифицира интракортикалното ремоделиране и порьозност.

Нашите резултати се потвърждават и от други автори (312), които изследват нивото на PTH при здрави деца и подрастващи и наблюдават значителен спад при прехода от ранен към късен пубертет, дефиниран като месеци след менархе при момичета. В малкото съществуващи лонгитудинални проучвания при момчета подобни изменения не са наблюдавни.

При здрави индивиди пубертетният растежен скок е и времето на максимална концентрация на серумния 25(OH) витамин D, за да може да се подсигури максимална кациева абсорбция за нарастналите скелетни нужди през този период (313).

В нашето проучване установяваме най-ниски стойности на 25(OH)витамин D именно в тази подгрупа с най-активен костен метаболизъм. Въпреки това те не се различават значимо от съответните нива в групата на контролите.

Като цяло стойностите на **25(OH)витамин D** в нашето проучване не показват значими колебания и остават стабилни при всички изследвани при преминаване през различните стадии на пубертетното съзряване от една страна, както и без значими различия между пациенти и контроли от друга. Вероятно въздействието на други фактори, като екзогенен внос, сезон и др. оказват по-голямо въздействие.

В заключение – нашите резултати показват запазена динамика на стойностите на костните маркери по пубертетни стадии, на фона на по-ниски нива в сравнение със здрави контроли. Освен това наличието на силни позитивни корелации между маркерите за костно формиране и за костно разграждане и при двата пола показва паралелен отговор на костната обмяна по време на пубертета. Наблюденията ни потвърждават хипотезата за потисната костна обмяна при пациентите със ЗДТ1 още в детската възраст. Вероятна причина е нарушена функция както на остеобластите, така и на остеокластите вследствие от инсулиновия дефицит и/или други специфични за заболяването фактори.

3. Калциево-фосфорна обмяна при изследваните деца и юноши - анализ на нивата на Ca, Mg и PTH и техните зависимости

Нормалната калциева хомеостаза зависи от два фактора - първият е общото количество калций в организма, което се определя от баланса между абсорбирания в гастроинтестиналния тракт и отделения чрез бъбреците калций. Вторият фактор е свързан с поддържането в тесни граници на йонизирания калций посредством хормонални фактори – главно PTH и 25(OH)витамин D (239).

Нашите изследвания за общата група пациенти с тип 1 ЗД показват значимо по-ниско ниво на серумния калций в сравнение със здравите контроли и с това потвърждават наличните литературни данни (230, 314, 315). От друга страна разликите за йонизирания калций и серумния фосфор са несигнификантни. Възможна причина е зависимостта на йонизирания калций от pH на кръвта, което при пациените със ЗДТ1 и лош контрол е с тенденция към метаболитна ацидоза. Тя „маскира“ хипокалциемията – при изразходване на бикарбонатните йони се освобождава свързаният с тях калций и се повишава нивото на свободния – йонизиран калций (316).

Проведеният от нас корелационен анализ на серумния калций установи положителни зависимости с нивата на маркерите за костно формиране: остеокалцин, кАФ и 25(OH) витамин D. Това отново потвърждава потиснатото костно формиране при децата и подрастващите със ЗДТ1.

Калциевите нужди следват темпа на костен растеж и са най-високи по време на пубертетния растежен скок, когато по-голямата част от усвоения калций участва в изграждането на скелета в хода на лонгитудиналния растеж на костите и периосталната експанзия (317, 318). Ето защо неадекватният калциев внос през този период би нарушил неговото натрупване като костна минерална маса (319).

Проведената от нас оценка на хранителния прием на калций при пациентите със ЗДТ1 установява значително по-нисък такъв от препоръчителния за съответната възраст и пол при 82% от изследваните. Подобни са резултатите и на Maggio и сътр., които за сходни на нашата група пациенти установяват, че близо 92% от тях не приемат препоръчителното дневно количество калций (291).

Вероятна причина за тези резултати е намалената консумация на млечни продукти с цел редуциране на количеството въглехидрати и мазнини в менюто. В нашето проучване не са включени пациенти с данни за хранителни разстройства, които се срещат сравнително често при ЗДТ1 (320).

При проведения корелационен анализ установихме значима положителна корелация на калциевия прием с маркерите за костно формиране - остеокалцин, кАФ, както и с нивото на 25(OH)витамин D. Това е логична връзка и също потвърждава липсата на декупелуване в процесите на костна обмяна при изследваните пациенти (215).

Освен недостатъчния алиментарен внос, друга причина за по-ниското ниво на серумния калций при изследваните от нас пациенти, би могла да бъде и повишената загуба на калций с урината. В зависимост от използвания критерий честотата на клиничната калциурия при педиатрични пациенти със ЗДТ1 варира от 10-20% до 50% (232, 240, 321). За сравнение - при здрави деца и подрастващи честотата е между 5 и 10% (322).

Важно е да се отбележи, че част от проучванията, установяващи по-висока честота на калциурията при пациенти със ЗДТ1 са с по-голяма давност, на фона на не толкова стриктни препоръки за гликемичен контрол (90-те години на 20.век).

В нашето изследване установяваме честота на калциурията, сходна с тази в проучване на Weber и сътр. (232) от последните няколко години – 24%. За разлика от тяхното изследване, установяващо силна позитивна корелация между хипергликемията (HbA1c и глюкозурия) и уринния калций, ние не откриваме такава зависимост с нивото на HbA1c. В нашето изследване не сме включили данни за гликемията. Въпреки липсата на значима корелация, установяваме значимо по-високо ниво на HbA1c в групата с хиперкалциурия в сравнение с тази с нормокалциурия. Важно е да се отбележи, че изследваните от нас пациенти са със съхранена бъбречна функция, установено както чрез серумните нива на азотните тела, така и чрез нормални нива на микроалбуминурия и изчислен GFR (Glomerular Filtration Rate, GFR), който не се различава значимо от средния GFR в групата на контролите.

Проучвания при животински модели установяват, че глюкозното натоварване – интравенозно или орално, предизивиква хиперкалциурия, независимо от гломерулната филтрация и натриевата екскреция (323).

Етиологията на повишената калциурия при ЗДТ1 не е докрай изяснена. Някои автори смятат, че основна роля играе хипергликемията, която нарушава калциевата реабсорбция в бъбреците от една страна и предизвиква осмотична диуреза от друга. Установена е директна връзка между кръвно-захарните нива и калциевата екскреция с урината. По този начин само през първите 5 години от заболяването загубата на калций от предмишницата е около 10% (232). Според други основна причина са нарушения в активността на калциевите транспортни системи в бъбречните тубули (324).

Подобни на нашите данни са установени и за пациенти с лош контрол на захарния диабет (325, 326). Що се отнася до останалите фактори на заболяването (инсулинова доза и давност) установяваме негативна корелация на калциурията само с продължителността му. Това се потвърждава и от факта, че средната давност на заболяването е значимо по-малка при пациентите с хиперкалциурия. В тази група е по-голям делът на пациенти с новооткрит ЗДТ1 (давност < 1 год) – 35% срещу 11% в другата група. Вероятна причина е характерната за пациентите с новооткрито заболяване хипергликемия във връзка с адаптиране дозите на новозапочнатото инсулинолечение.

От изследваните костни маркери единствено остеокалцинът показва значима негативна корелация с калциурията. Вероятно по-ниският темп на костообразуване е свързан с по-голяма загуба на калций с урината. Поради трансверзалния характер на проучването е трудно да се предполага причинно-следствена връзка между тези два фактора.

При здрави индивиди промените в серумния **PTH** отразяват флуктуациите в нивата на калциемията по време на растежа (134). В нашето изследване значимо по-ниските стойности на серумния калций при пациентите, противно на очакванията, не са съпроводени от компенсаторно повишение на серумния **паратхормон.** Нещо повече - при седем пациента (5%) се установяват поднормени нива - средно 1,02±0,20 pmol/L. При тях средното ниво на калция е значимо по-високо спрямо това на пациентите с PTH в референтни граници.

Тези резултати се потвърждават и при редица други проучвания, както при възрастни, така и при педиатрични пациенти със ЗДТ1 (215, 230, 248, 314, 315).

Авторите откриват най-ниски стойности на PTH при пациентите с глюкозурия и най-голяма продължителност на ЗД. Закономерно те се характеризират и с по-висока уринна екскреция на калций (176). Така е и в нашето проучване – стойността на съотношението Ca/Cr е значимо по-висока при пациентите с най-ниски нива на PTH. По отношение на давността на заболяването - само трима пациенти имат продължителност под 2 години, останалите са с по-голяма давност - над 5 години, включително един пациент с давност 10,72 год. Не се открива корелация с нивото на HbA1c, както и значими различия с останалите пациенти по отношение на гликемичния контрол - както ретроспективния, така и актуалния. Въпреки това стойностите на дългогодишния HbA1c в групата с нисък PTH са по-високи – съответно 10,06%±2,08 и 9,23%±1,53, $p>0,05$. Това вероятно се дължи на хомогенността на всички изследвани пациенти по отношение на лошия метаболитен контрол. Би могло да се спекулира, че по-високите нива на серумния калций, наблюдавани в групата с понижен PTH са причина за силно потиснатата му секреция. Влиянието на витамин D не би могло да бъде определящ фактор, тъй като нивата на 25(OH)витамин D и в двете групи са в референтни граници, като при тези с нисък PTH са незначително по-ниски. От друга страна значимата калциурия при тези пациенти би могла да е резултат от дългогодишен влошен метаболитен контрол.

Съществуват два възможни патогенетични механизма - единият е свързан с ефекта на хипергликемията върху физиологичната функция на **PTH**, а другият с ролята на серумния магнезий (232).

Установена е връзка между нивото на гликемия и това на PTH - повишеният орален прием на глюкоза и съответно хипергликемията потискат секрецията на PTH при постменопаузални жени без ЗД (231). Тези резултати са сходни с проучвания при възрастни пациенти със ЗДТ1 и незадоволителен метаболитен контрол, които установяват по-ниски нива на PTH, както и наличие на потиснат отговор на PTH спрямо калциемията (241, 244, 327). Paula и сътр. (250) също констатират по-ниски нива на PTH, както и нарушения в секрецията му при пациентите с лош метаболитен контрол. След стимулация изследваните от тях пациенти показват по-нисък отговор на PTH, отколкото

би се очаквало за поддържане на хомеостазата в подобни ситуации. Това състояние се означава като функционален хипопаратиреоидизъм и се смята, че допринася за наблюдавания при ЗДТ1 понижен костен обмен (328).

Като вероятна причина се сочи промяната в чувствителността на CaSR (calcium sensing receptor), която е свързана с характерната за тези пациенти хипомагнезиемия. **Магнезият** има пряко отношение, както към секрецията, така и към действието на PTH. Остро възникналата хипомагнезиемия стимулира секрецията на PTH, докато хроничната има обратен ефект и води до хипопаратиреоидизъм. Хипомагнезиемията е свързана и с нарушения в действието на PTH върху таргетните клетки, вероятно чрез функционални нарушения в аденилатциклазната система (329).

Ниското серумно ниво на магнезия е често срещано при пациентите със ЗДТ1 (166, 330), като именно наличието на ЗДТ1 се счита за една от най-честите причини за вторична хипомагнезиемия (247, 331).В подкрепа на това са и нашите резултати. Изследваните от нас пациенти показват значимо по-ниски нива на магнезий от контролите, въпреки че и при двете групи стойностите му са в референтни граници. Освен това при пациентите с по-ниски нива на PTH е налице тенденция за по-ниски стойности на магнезиемията. По-ниски нива на PTH и магнезий при деца и юноши със ЗДТ1 установяват и Tsentidis и сътр. (106) в скорошно трансверзално проучване.
Етиологията на хипомагнезиемията е многофакторна, но вероятно най-значимият фактор отново е хипергликемията, водеща до осмотична диуреза и съответно до загуба на магнезий с урината (329). Следва да се има предвид, че тъй като магнезият е предимно вътреклетъчен йон, нормалното му серумно ниво не изключва намален вътреклетъчен магнезий (250).

В своето проучване Lima и сътр (332) установяват, че само вътреклетъчното ниво на магнезия корелира с метаболитния контрол. Все още липсват проучвания за педиатричната популация.

Лабораторната констелация при ЗДТ1 не е толкова ясно отграничена и лесна за интерпретация. Намаленото ниво на калциемията по време на костното изграждане през детството и юношеството се счита за един от механизмите на костно увреждане при това заболяване. В нашето проучване потвърждаваме засягането на калциево-фосфорната обмяна при пациенти със ЗДТ1 още в детска възраст. Смятаме, че наблюдаваното от нас

в общата група по-ниско ниво на PTH, на фона на значимо по-ниските стойности на серумен калций и магнезий, се дължи именно на т.нар. функционален хипопаратиреоидизъм и показва нарушена регулация на секрецията на PTH при пациентите с лош метаболитен контрол. От друга страна ниската степен на задръжка на калций в организма би могла да е резултат от невъзможността на скелета да използва калция поради потиснатото костно формиране. Допълнителен негативен фактор е и значително пониженият алиментарен внос на калций при тези пациенти.

4. Анализ на витамин D статуса при изследваните пациенти и контроли

Друг важен фактор за нормалното протичане на калциево-фосфорната обмяна е нивото на витамин D. Проучването ни на нивата на 25(OH)витамин D при педиатрични пациенти със ЗДТ1 е първо за нашата страна. Ние не намираме сигнификантно понижени нива на 25(OH)витамин D при изследваните пациенти, въпреки набелязаната тенденция. Подобни са резултатите в редица публикации (106, 290, 291, 305, 333, 334). По-голямата част от изследваните от нас деца – пациенти и контроли– съответно 81% при пациенти и 87% при контроли, имат стойности на 25(OH)витамин D в препоръчваните от БДЕ (Българско дружество по ендокринология) референтни граници (283). В групата на пациентите няма нито един с дефицит на 25(OH)витамин D за разлика от тази на контролите (4,3%, n=2), но двойно повече пациенти имат недостатъчно ниво на витамин D (19% срещу 8,7% съответно). Поради изразената зависимост на нивото на 25(OH)витамин D от сезонността, следва да се има предвид, че по-големият брой проби от пациенти са взети в период на активно слънчево греене (43% срещу 37% при контролите), по-малкият брой контроли, както и факта,че това са хоспитализирани деца. Възможно е тяхното ниво на 25(OH)витамин D да е по-ниско от това на общата детска популация. Като цяло броят на пациенти и контроли с нарушения в нивото на витамин D е сходен.

Интерес представляват две проучвания за нивото на витамин D от България – едното е на възрастни пациенти със захарен диабет тип 2 (ЗДТ2) (336), а другото представлява мащабно популационно-базирано изследване на нивото на 25(OH)витамин D сред здрави възрастни индивиди в цялата страна (337). Първото проучване използва

същия метод за определяне нивото на витамин D, което прави възможно директното сравняване на резултатите. При него Бакалов и сътр (336) установяват средно ниво от 27,9 nmol/L ±15,8 (7,5–85,1) при пациенти със ЗДТ2, на фона на измерено средно ниво при здрави възрастни индивди за страната от 38,75nmol/L (337).

Във второто мащабно проучване на Борисова и сътр (337), разпределението на изследваните здрави индивиди според нивото на витамин D е съответно 21,3%, 54,5% и 24,2% за дефицит, недостатъчност и норма. Въпреки наличието на множество допълнителни фактори, бихме могли да кажем, че нивото на витамин D при изследваните деца и подрастващи със ЗДТ1 е по-добро от това на възрастните – както пациенти със ЗДТ2, така и здрави индивиди. Това вероятно се дължи на по-активния начин на живот на децата с прекарване на повече време на открито, както и на по-ефективната стратегия за превенция на витамин D дефицита сред педиатричната популация.

Множественият корелационен анализ установява значима негативна корелация на нивото на 25(OH)витамин D с PTH и бета крос лапс.Thiering и сътр (338) установяват негативна корелация на серумния 25(OH)витамин D с нивата на костните маркери остеокалцин и бета крос лапс при представителна извадка от здрави 10-годишни деца в Германия. Корелацията се засилва в групата с ниво на калция под медианата. Негативна корелация на нивото на 25(OH)витамин D с PTH при български пациенти с нефротичен синдром установява и Божанова (339), която използва нивото на PTH като критерий за прогнозиране на витамин D стауса при тези пациенти.

Ниското ниво на 25(OH)витамин D води до понижена интестинална абсорбция на калций. Като компенсаторна реакция се повишава нивото на PTH, който стимулира костната резорбция. В подкрепа на това е и по-силната корелация при деца с по-ниско ниво на калциемията. Нашите резултати по отношение на 25(OH) витамин D са сходни, което ни дава основание да смятаме, че при изследваните пациенти със ЗДТ1 сложните регулаторни взаимовръзки на костните маркери и витамин D са запазени на фона на значимо по-ниските нива на калциемията.

Противоречиви са данните за влиянието на ЗД върху нивата на 25(OH)витамин D. За разлика от някои автори (339, 340), които откриват негативна корелация на нивото на 25(OH)витамин D с метаболитния контрол (HbA1c), ние не установяваме значими корелации, както с нивото на HbA1c, така и с продължителността на заболяването,

потвърдено от други автори (251, 291) .Вероятна причина за липса на корелация с метаболитния контрол е фактът, че и двата параметъра отразяват временно метаболитно състояние и са обект на различни регулаторни механизми. Важен фактор е и хетерогенността на изследваните пациенти по отношение на еволюцията на заболяването.

При разглеждане на подгрупите по давност, в групата с новооткрит ЗДТ1 се наблюдават най-ниските нива на 25(OH)витамин D, което е в съгласие с теорията за евентуалната му роля при отключване на заболяването, свързан с фенкцията на имунната система. Други автори (341, 342) също установяват по-ниски стойности още в началото на заболяването.Обсъждана е ролята на 25(OH) витамин D като важен фактор в патогенезата на ЗДТ1 (343, 344).

От друга страна по-ниските нива на 25(OH)витамин D при новооткрития ЗДТ1 биха могли да са резултат от отдавна установения директен ефект на ацидозата - чрез понижена активност на 1α-хидроксилазата и/или намалено ниво на вит D-свързващия протеин (71, 345) .

Въпреки наличието на хронично заболяване, изследваните от нас деца и подрастващи от една страна показват средни нива на 25(OH)витамин D в рамките на препоръчителните от БДЕ, а от друга – имат сходно със здравите контроли разпределение по отношение на витамин D статуса си, без значими различия между двете групи. Необходими са повече проспективни проучвания, включващи едновременното изследване на по-голям брой маркери на костната и калциево-фосфорната обмяна, проследявани от самото начало на ЗДТ1.

5. Анализ на влиянието на някои фактори, свързани със ЗДТ1, върху нивата на костните маркери

5.1. Влияние на гликемичния контрол – ретроспекитвен и настоящ- върху нивата на костните маркери

Въпросът за зависимостта на костните маркери от разлините фактори, свързани със ЗДТ1 (давност, метаболитен контрол, инсулинова доза и др.), все още не е намерил

еднозначен отговор. Установената и от нашето проучване нарушена костна обмяна при пациентите със ЗДТ1 прави проблема за определящите я фактори още по-съществен и належащ. И тук, за да разграничим влиянието на ЗДТ1от естествената еволюция на костните маркери, свързани с възрастта, използваме изчислените SDS. При интерпретацията следва да се има предвид трансверзалният характер на изследването.

В нашето проучване използваме данните за ретроспективния (дългогодишния) гликемичен контрол, което прави резултатите по-достоверни. Тъй като HbA1c е краткосрочен показател за нивото на гликемията, дългосрочният, кумулативен гликемичен контрол през целия живот е по-добър индикатор за фрактурния риск. Трайният добър метаболитен контрол е от значение за правилното и оптимално протичане на костните метаболитни процеси и съответно за прогнозиране на вероятни нарушения в костната обмяна. Само актуалният HbA1c не дава реална представа за дълготрайния ефект на гликемичния контрол върху костните обменни процеси.

Ние установяваме негативно влияние на гликемичния контрол върху нивата на **бета крос лапс, остеокалцин** и **кАФ, техните SDS, както и IGF-1 SDS, т.е**. както върху показателите за костно формиране, така и върху тези за костна резорбция. Интересен е фактът, че корелациите са сигнификантни, както за настоящия, така и за дългогодишния метаболитен контрол (с изключение на IGF-1 SDS – само за настоящ). Подобна негативна корелация (по отношение на остеокалцин и бета крос лапс) с метаболитния контрол установяват и Maggio и сътр (291). Изследваните пациенти са със задоволителен гликемичен контрол - HbA1c 7.89% ± 0.69.

Подобни на установените от нас зависимости, се установяват и от скорошно мащабно проучване (288), което включва 173 деца и подрастващи със ЗДТ1 и добър гликемичен контрол (среден HbA1c 7.9%±1.3). Авторите намират негативна връзка с нивото на метаболитния контрол на всички изследвани костни маркери (остеокалцин, бета крос лапс, P1NP), но при изчисление на SDS корелацията се запазва единствено за бета крос лапс SDS.

Тези зависимости предполагат, че по-високите стойности на изчислените за костните маркери SDS са свързани с по-ниски или близки до нормата нива на HbA1c. Това означава по-активна костна обмяна при по-нисък HbA1c. Възможно е това да се

дължи на повишена инсулинова чувствителност - резултат от директното действие на костните маркери (бета крос лапс остеокалцина). Широко дискутиран е положителният ефект на остеокалцина върху инсулиновата синтеза, секреция и чувствителност. При интензивна костна резорбция се увеличава навлизането от костния матрикс в кръвообращението на некарбоксилиран остеокалцин. Именно той е хормонално активен и подобрява инсулиновата синтеза, секреция и чувствителност на периферните тъкани (288). От това би следвало пациентите с по-високи нива на остеокалцин да имат по-добър метаболитен контрол (по-нисък HbA1c), както е в нашето проучване.

Други автори (293, 310) намират негативна корелация на IGF-1 с метаболитния контрол на диабета, тя е налице при диагнозата на заболяването, валидна за двата пола и е независима от възрастта. Това е очаквана връзка, предвид физиологичната зависимост на нивото на IGF-1 от инсулинемията (основна е ролята на инсулина в регулацията на серумното ниво на IGF-1). Наблюдаваната от нас негативна корелация на костните маркери с гликемичния контрол би могла да обясни, поне отчасти, установените от нас най-ниски стойности в подгрупата с новооткрит ЗДТ1. Негативната корелация предполага нарушения в костната обмяна при високи нива на кръвната захар, което се потвърждава от факта, че пациентите с лош метаболитен контрол имат по-висока честота на фрактури от тези с добър. Влошените качествени характеристики на костта при хистоморфологични изследавния също подкрепя ролята на лошия гликемичен контрол в сравнение с добрия такъв (295). Вероятността гликемичният контрол и по-конкретно - стойности на HbA1c над 9% (75mmol/mol) да е основен фактор за риска от фрактури се потвърждава и от други автори (346).

От друга страна при проучването на Akhter MP и сътр. (347) са обхванати пациенти с отличен контрол на диабета (среден HbA1c – 6,8%, 51mmol/mol), без усложнения и при тях не се установяват значими различия. Влияние оказват и други фактори, пряко или косвено, свързани с метаболитния контрол като натрупване на AGEs и оксидативния стрес (224).

Лошият метаболитен контрол не е единственият определящ фактор. Faienza и сътр (109) сравняват нивата на костните маркери при деца и подрастващи, лекувани с инсулинова помпа и значително по-добър гликемичен контрол, с такива на лечение с инсулинови инжекции. Двете групи не се различават значимо по отношение нивата на

остеокалцин и бета крос лапс, но средните стойности на HbA1c и в двете групи са под 9% (съответно 7.66% ± 0.66 и 8.35% ± 0.98).

В нашето проучване разпределихме всички изследвани пациенти в две подгрупи според нивото на дългогодишния гликемичен контрол – добър HbA1c <7,5% и незадоволителен HbA1c >7,5%. Малко са проучванията (25, 26), подобни на нашето, които използват няколко стойности на HbA1c от предходните една или две години за по-точно определяне на зависимостите на гликемичния контрол.

При по-детайлно разглеждане на влиянието на метаболитния контрол върху костните маркери, **зависимостта от нивото на HbA1c се запазва в групата с лош метаболитен контрол за остеокалцин, бета крос лапс и бета крос лапс SDS**, но се губи за другия маркер за костно формиране – кАФ. Интересен е фактът, че в групата с добър гликемичен контрол негативната зависимост от HbA1c се губи за всички маркери. Това вероятно означава протичане на костния метаболизъм в оптимални граници при близка до нормалната гликемия.

При сравнителен анализ на всички изследвани костни маркери и метаболитни показатели при двете подгрупи значими различия има само за кАФ – при пациентите с лош контрол стойностите са по-ниски. Това е в синхрон с предишно проучване (285), което предполага дефект в линеарния растеж на тези пациенти.

В нашето проучване не установяваме значими различия по отношение на SDS за ръст в двете групи. Разлики установяваме по отношение на средната дневна инсулинова доза, която е по-висока в групата с лош гликемичен контрол. Използваната в проучването инсулинова доза е валидна за времето на болничния престой. Не е сигурен факта за пропускане на инсулинови инжекции вкъщи, често констатирано при подрастващите с повишена самостоятелност (инсулинов дефицит, хипергликемия). Възможно е повишената доза да е компенсаторна на диетичните грешки, които пак водят до хипергликемия.

Интерес представлява фактът,че при разглеждане на общата група нито един от показателите не показва значима корелация с продължителността на заболяването, но при разглеждане на подгрупите според нивото на гликемичния контрол, се появяват значими корелации с този показател. Така при пациентите с добър контрол, остеокалцинът и неговият SDS показват негативна корелация с давността, докато в

групата с лош контрол, другият маркер за костно формиране – кАФ също има негативна корелация с нея. Двете групи се различават значимо по средната продължителност на заболяването - в групата с добър контрол тя е 3,36год±2,3г, а в тази с лош – 6,85год±3,76, $p<0,05$.

Бихме могли да спекулираме, че в хода на заболяването с влошаване на метаболитния контрол се засягат различни аспекти от костния метаболизъм. При добър контрол продължителността влияе негативно главно върху костното формиране, докато при влошаване на контрола, с увеличаване давността на заболяването, се нарушава основно процеса на костна минерализация. Това става посредством други, все още недокрай изяснени механизми – натрупване на AGEs, оксидативен стрес и др.

Резултатите от нашето проучване при деца и подрастващи с тип 1 ЗД показват еднопосочно негативно влияние на лошия гликемичен контрол върху костната обмяна. Потиснато е както костното формиране и минерализация, така и костната резорбция. Промените се задълбочават с увеличаване на продължителността на заболяването.

5.2. Влияние на продължителността на ЗДТ1 върху нивата на костните маркери

5.2.1. Зависимости и динамика на стойностите на костните маркери според продължителността на ЗДТ1

В общата група пациенти ние не установяваме значима корелация на нивата на костните маркери и техните SDS с продължителността на заболяването. При по-детайлен анализ по подгрупи по давност се установява единствено значима негативна корелация на SDS за остеокалцин в групата 6 мес – 5год. С увеличаване на давносттта, тази зависимост става несигнификантна. Следва да се отбележи, че подобни негативни корелации се наблюдават и в другите подгрупи, но за „грубите данни“, т.е. за абсолютните стойности на бета крос лапс, остеокалцин и кАФ. Вероятно това се дължи на естествената еволюция на тези маркери, а не на влиянието на ЗДТ1.

Малко на брой са проучванията при деца и подрастващи, които изследват влиянието на давността на заболяването върху костните маркери. Само при две от тях е установена негативна корелация с давността - съответно на бета крос лапс (348) и на остеокалцин (26). Повечето автори (25, 288, 175), подобно на нашето проучване, не

откриват пряка зависимост на костните маркери с давността. Причините следва да се търсят в по-силното влияние на други фактори, като адипозно отлагане костния мозък с нарушена диференциация на остеобластите, натрупване на AGEs и оксидативен стрес, нарушаващи нормалния метаболизъм на остеоцити и остеокласти.

При анализа на динамиката по подгрупи установяваме, че нивата на повечето маркери за костно формиране (остеокалцин SDS, кАФ SDS, 25(OH)витамин D) са най-ниски при пациентите с новооткрит ЗД – давност до 6 мес, т.е. костното формиране е най-силно потиснато в началото на заболяването. Малко на брой са проучванията (288, 349, 350,261) за детска възраст, които изучават нивото на костните маркери при пациенти с новооткрит ЗДТ1. Повечето от тях установяват по-ниски изходни нива на остеокалцин, които постепенно се повишават и нормализират в рамките на 12 месеца от поставяне на диагнозата, паралелно с нормализиране на HbA1c. Подобно на нашите резултати Pater A и сътр. (349) установяват намалени остеокалцин и бета крос лапс при диагнозата, които се нормализират след 3 и 12 месеца съответно, паралелно със значимо понижение на HbA1c- от 11,3% до 5,9%.

Наблюдаваната от нас динамика в нивата на кАФ SDS следва тази на остеокалцин SDS – най-ниски са в групата с новоотркрит, а най-високи – в групата с давност 6мес – 5 год. Вероятна причина за установените по-ниски нива и на двата показателя (остеокалцин и кАФ) при дебют на заболяването са тежкият инсулинов дефцит и свързаните с него хипергликемия и по-ниски нива на IGF-1, предхождащи с поне няколко седмици изявата му. Допълнителен негативен фактор е и пониженото pH на кръвта при децата с новооткрит ЗД.

Сходна е и динамиката в нивата на **IGF-1 SDS**, като във всички подгрупи те са под средните за съответната възраст и пол. Най-ниски са IGF-1 SDS в подгрупата с новооткрит ЗД и в тази с давност над 10 години, а най-високи – в подгрупата с давност 6мес- 5год. Подобна динамика установяват и други автори. В проучването на Bereket и сътр. (351) след започване на заместителна инсулинотерапия стойностите на IGF-1 SDS се повишават и от поднормени при дебюта на заболяването, бързо достигат и дори надвишават референтните в рамките само на няколко месеца. След това се наблюдава стабилизиране, последвано от продължителен (в течение на години) спад.

Вероятна причина за по-ниските изходни нива на IGF-1 е инсулинопенията, наподобяваща състояние на тежко хронично гладуване с потисната пряка стимулация на костната обмяна, съответно - нива на останалите показатели за костно формиране от IGF-1, което води до по-стойности и при тях (351). Това се потвърждава и в проучването на Dills и сътр. (293). Те установяват водеща роля за по-ниските нива на IGF-1 на влошения метаболитен контрол – установява се директна негативна корелация с нивото на гликирания хемоглобин. Такава корелация установяваме и ние, но само за настоящия метаболитен контрол. В тяхното изследване на четвъртата година от поставяне на диагнозата, разликата с началните стойности на IGF-1 отново е несгнификантна. В нашето изследване тенденцията за спад в нивата на IGF-1 се запазва и след петата година, като най-ниски нива се наблюдават в подгрупата с най-голяма продължителност на заболяването. Вероятен определящ фактор е спадът в нивото на ендогенния инсулин, имайки предвид че синтезата на IGF-1 е особено чувствителна към нивото на инсулинемията в порталната вена (352).

Резултатите за динамиката в нивата на маркера за костна резорбция бета крос лапс са противоположни на тези за маркерите на костно формиране. Най-високи нива (най-ниски стойности на SDS) наблюдаваме при пациентите с новооткрит ЗД и тези най-голяма давност на заболяването (>10год). В тези групи е най-активна костната резорбция. Най-ниски са нивата в подгрупата с давност 6 мес – 5 год, т.е. най-потисната е костната резорбция след постигане на подобрен контрол и адекватно инсулиново насищане. Тази подгрупа се характеризира и с най-активните процеси на костно формиране. Така в първите 5 години след установяване на заболяването се отчита повишена, компенсираща метаболитна активност на костното формиране за сметка на костната резорбция. Най-вероятно това е свързано с нормализиране на глюкозния метаболизъм и анаболния остеогенен ефект на инсулина, медииран от повишеното ниво на IGF-1. Така всички изследвани показатели за костно формиране (остеокалцин SDS, кАФ SDS и IGF-1 SDS) показват увеличение и съответно най-високи стойности в групата с най-малка давност на заболяването, като същевременно стойностите на бета крос лапс SDS са силно потиснати.

Стойностите на **PTH и 25(OH)витамин D** правят изключение от общо наблюдаваната тенденция за спад в нивата на костните маркери след петата година на

заболяването – най-високи стойности са налице в подгрупите с най-голяма давност. Вероятно това са компенсаторни изменения, целящи осигуряване на оптимално ниво на серумния калций за костната обмяна. По отношение на PTH най-ниска стойност се наблюдава в групата с най-интензивни процеси на костообразуване – с продължителност до 5 год. Това най-вероятно е свързано с оптималното нивото на калциемията, което води до потискане на секрецията му. Предполага се, че това начално компенсиране на метаболитните изменения след диагнозата е краткотрайно и нарушенията в калциево-фосфорната обмяна, свързани най-вече с хипокалциемията и хиперкалциурията, в крайна сметка водят до стимулиране, макар и неефективно, на секрецията на PTH.

Алкално-киселинното равновесие също следва да се има предвид при интерпретацията на резултатите за някои биохимични показатели особено при новооткрит ЗДТ1. Проучване при деца показва, че по-ниските нива на 25(OH)витамин D при дебюта на заболяването са свързани с ацидемията и се повишават с нормализирането на pH (262).Това се потвърждава и от нашето проучване, при което най-ниските нива на 25(OH)витамин D се наблюдават в групата с новооткрит ЗД – до 6мес, макар че разликата остава несигнификантна.

Предполагаме, че наблюдаваната от нас динамика в нивтаа костните маркери се дължи на компенсаторни механизми, целящи положителен баланс на костната обмяна след започване на адекватна инсулинова терапия. С увеличаване продължителността на заболяването (давност над 5 години), обаче отново е налице тенденция за спад в стойностите на всички костни маркери. Влиянието на пубертета и физиологичната еволюция в стойностите на костните маркери са избегнати чрез използване на SDS, което доказва независимото негативно влияние на ЗД. Тези изменения са най-вероятно сързани с влошаване на метаболитния контрол при навлизане в пубертетната възраст с характерните за нея физиологична инсулинова резистентност и поведенчески особености – пропускане на инсулинови апликации и нарушения в хранителния режим. Влияние оказват и други фактори, като: натрупване на AGEs, кумулиращия ефект на оксидативния стрес и хипергликемията директно върху прогениторните клетки в костния мозък, появата на микро- и макроваскуларни усложнения и др., които пряко или косвено влошават костната обмяна.

Някои автори (206) предлагат двуфазов модел на костното увреждане при ЗДТ1 - през първата фаза, в периода около поставяне на диагнозата, е налице бърза костна

загуба, която постепенно се забавя и спира през следващите години. Втората фаза започва с началото на микроваскуларните увреждания и се характеризира с по-нататъшно понижение на КМП и съответно – на костните маркери. Установените от нас изменения в динамиката на костните маркери са много сходни с посочения модел. Получените от нас резултати за повишение на нивата на маркерите за костообразуване в първите 5 години от началото на заболяването и съпътстващото понижение на маркера за костно разграждане ни дават допълнително основание да смятаме, че при изследваните пациенти няма декуплиране на процесите на костно формиране и костно разграждане, т.е. регулацията на двата вероятно не е засегната от наличното заболяване.

5.3. Влияние на дневната инсулинова доза (изчислена на килограм тегло) върху нивата на костните маркери

В общата група пациенти не установихме значима корелация между нивата на костните маркери от една страна и инсулиновата доза и pH на кръвта от друга. При уеднаквяване според давността на заболяването единствено в групата с продължителност 5-10 г се открива позитивна корелация на нивото на IGF-1 с инсулиновата доза, докато в групата с новооткрит ЗДТ1 се наблюдава негативна корелация с нивото на остеокалцин SDS. Това е в подкрепа на установеното положително въздействие на остеокалцина върху инсулиновата синтеза и чувствителност (97). С увеличаване давността на заболяването, нараства и средната дневна инсулинова доза. Това е свързано най-вече с изчерпване на собствените инсулинови резерви и физиологичната пубертетна инсулинова резистентност.

6. Структурни характеристики на костта при деца и подрастващи със ЗДТ1 и анализ на зависимостта им от антропометрични показатели, костни маркери, както и от специфични за ЗДТ1 фактори – гликемичен контрол, продължителност и възраст при изява на заболяването, инсулинова доза

До момента в световната литература липсват данни за провеждане на DXR сред рисковата популация на педиатричните пациенти със ЗДТ1. В нашето проучване

установяваме, че близо 83% от изследваните пациенти имат BHI SDS под средното за съответния пол и възраст, като сигнификантно понижение (<-2SDS) на кортикалната костна минерална плътност (кКМП) е налице при 20,37% от всички изследвани. Болшинството проучвания, базирани на конвенционална радиограмметрия са от края на XX век. Поради тази причина част от нашите резултати са сравнени с изследвания с голяма давност, използващи обаче сходни индекси за оценка на кортикалната плътност. Повечето по-ранни проучвания (164, 166, 330, 353,354) установяват понижена костна плътност при пациентите със ЗДТ1 в сравнение със здрави контроли. В тези изследвания понижението на костната плътност, най-общо, е около едно стандартно отклонение под средното за съответната възраст и пол, което е съпоставимо и с установеното от нас средно ниво на BHI SDS -1,15 (-4,18 до 1,68). Честотата на понижената костна плътност варира от 9,5% (354) до 22% (164).

Всички посочени проучвания са публикувани преди данните от историческото проучване DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) (202), което отрежда безспорната централна роля на хроничната хипергликемия за ускореното развитие на диабетните удложнения, както и значението на метаболитния контрол и интензифицираното лечение за предотвратяване на същите.

През 1987 Hough (164) е сред първите, които използват радиограмметричния метод при деца и подрастващи със ЗДТ1. Нашите резултати са много сходни с неговите. Той изследва 206 пациента на възраст 7-20 год, като при 85% от тях установява по-ниска костна плътност в сравнение с контроли на същата възраст. При 22% от изследваните намалението на кортикалната плътност е било сигнификантно. Установяват се и междуполови различия в костната загуба – при 16% от мъжкия пол срещу 6% от женския понижението в кортикалната плътност е значимо. При нас половото разпределение е обратно – при 11,11% от женския и пол и при 9,26% от мъжкия пол се установяват значимо по-ниски нива на BHI.

Нашите резултати са в синхрон и с тези на Frazer и сътр (353)– проучване, също публикувано преди данните от DCCT и показват, че въпреки съвременната интензифицирана инсулинотерапия, честотата на костните изменения при пациентите с незадоволителен контрол е доста сходна с тази отпреди 30 години. За разлика от други

автори (164 -166) ние не установяваме полова предиспозиция към костна загуба – съотношението женски:мъжки пол в групата с намалена кортикална дебелина е приблизително 1:1 (6:5). Въпреки набелязаната тенденция за по-ниски стойности на BHI SDS при мъжкия пол, разликата е несигнификантна.

Редица проучвания (152, 208, 242) установяват, че по-ниският BMI е свързан и с по-ниска КМП при пациентите със ЗДТ1.Това потвърждава важността на поддържането на оптимални мускулна маса и тегло при тях. За разлика от тях, в нашето изследване обаче не установяваме корелация между BHI SDS и ръста, теглото и BMI, докато при абсолютните стойности на BHI, корелацията е силна и значима (r=0,75; r=0,79;r=0,63 съответно, p<0,001). Това потвърждава значимостта на използването на SDS и за този показател с цел сравняване на получените резултати, независимо от антропометричните показатели и възрастта.

При разглеждане на двете подгрупи пациенти – с понижен и с нормален BHI SDS, ние не установяваме значими разлики в общите, вкл. антропометрични характеристики – давност, ниво на HbA1c, инсулинова доза, ръст, тегло и BMI. При сравнителен анализ на метаболитните параметри обаче, откриваме редица значителни различия. Те засягат калциево-фосфорната обмяна и маркерите на костния метаболизъм – остеокалцин и бета крос лапс. В подгрупата с нисък BHI SDS, както нивата на маркера за костно разграждане бета крос лапс (абсолютни стойности), така и тези на маркера за костно формиране – остеокалцин (абсолютни стойности) са значимо по-ниски. При сравнение на SDS за тези показатели, се запазва единствено разликата за остеокалцин и неговият SDS, предполгайки по-тежко засягане на костното формиране. Това контрастира с установеното в проучване (354) с по-голяма давност, но сходен дизайн, което не открива разлика в нивата на остеокалцин (абсолютни стойности) при пациентите с понижена костна плътност в сравнение със здрави контроли, но е в съгласие с по-нови проучвания (215, 288, 291) на костния метаболизъм при деца и юноши със ЗДТ1. Вероятно значение има подобреният през последните години метаболитен контрол при всички пациенти с това заболяване.

По отношение на останалите метаболитни показатели, нашето проучване не установява зависимост между структурните параметри на костта, установени чрез DXR

– BHI, BHI SDS и нивото на серумния **калций.** Въпреки, че калциевият прием има директно действие при натрупването на КМП по време на растежа (355), ние не установихме значима корелация и с него, подобно на други автори (291). Въпреки липсата на корелация, установеният от нас калциев прием при пациентите с понижен BHI SDS е значимо по-малък. Това вероятно също допринася за влошения показател при тях.

При деца с клинично изявена **калциурия** е доказана негативна корелация на уринния калций с костното минерално съдържание, измерено чрез DXA (232). Така, всяко увеличение в уринната калциева екскреция би имало негативен ефект върху скелетното здраве. В нашето проучване, обаче, не установяваме корелация на BHI и неговия SDS с калциурията, като същевременно не се наблюдават значими различия по отношение на калциурията между пациентите с нормален и тези с понижен BHI SDS, вероятно поради малкия брой изследвани.

Значими различия, обаче откриваме по отношение на серумния магнезий. По-ниските нива на магнезий в общата група изследвани пациенти са налице и при пациентите, изследвани за BHI, нещо повече – нивото на серумния магнезий е значимо по-ниско при тези с понижен BHI SDS в сравнение с тези с нормален. Според нас това потвърждава вероятната роля на магнезия за натрупване на костната плътност при тази специфична група. Изследване на Carpenter и сътр. (356) при здрави предпубертетни момичета посочва магнезия като важен фактор, определящ костната маса и дори препоръва допълнителен прием на магнезий с цел подобряване на костното натрупване.

Противно на очакванията, пациентите с по-нисък BHI SDS имат значително по-високо ниво на йонизиран калций, на фона на по-ниски серумен фосфор и магнезий. Не установяваме значими различия между пациентите с понижен и нормален BHI SDS по отношение на останалите важни за калциево-фосфорната обмяна фактори – PTH и 25(OH)витамин D. Вероятна причина е потисната костна обмяна, изразена чрез значимо по-ниските нива на бета крос лапс и остеокалцин и невъзможността за пълно утилизиране на серумния калций. По отношение нивото на серумния калций, би могла да се дискутира уместността на най-широко разпространеният лабораторен метод за изследване, тъй като той не отчита влиянието на pH (357). Ето защо цялостното

изясняване на измененията в калциево-фосфорния метаболизъм при ЗДТ1 изисква бъдещи задълбочени проучвания.

По отношение на другите зависимости на BHI SDS, в нашето проучване не установяваме такива с нивата на изследваните костни маркери. Абсолютните стойности на BHI показват сигнификантна положителна корелация само с нивото на IGF-1. Силната положителна корелация на IGF-1 с BHI се губи и става несигнификантна при разглеждане на BHI SDS. Това би могло да се дължи на влиянието на фактора възраст.

В световната литература все още няма единно становище за относителното влияние на специфични за ЗДТ1 характеристики, като възраст при изява на заболяването, продължителност, гликемичен контрол, инсулинов режим и наличие на микроваскуларни усложнения върху костната плътност (26) .

По отношение на зависимостите на BHI от факторите на заболяването, в нашето проучване **не установяваме корелация между BHI SDS и метаболитния контрол**. Това е в синхрон с редица други автори (164, 166, 330, 354), използващи конвенционална рентгенова радиограмметрия, както и с някои скорошни проучвания, включващи DXA измервания на костната плътност (159, 215, 291).

В едно от малкото проучвания (246), които изследват влиянието на дългогодишния гликемичен контрол (HbA1c 9% за предходните 2 год), Simmons и сътр също не откриват корелация, както с костната плътност, така и с нивата на някои костни маркери (IGF-1, PTH) при юноши със ЗДТ1.

Важно е да се отбележи хомогенността на изследваните от нас пациенти по отношение на лошия метаболитен контрол – средният им HbA1c е 9,7% (82 mmol/mol), сравним с този на високорисковата за усложнения група на конвенционално инсулинолечение от DCCT (202).

Важността на добрия метаболитен контрол се потвърждава от скорошно проучване на Maddaloni и сътр (217), което показва, че пациентите с 50-годишна давност на заболяването и добър метаболитен контрол (медалисти) нямат по-висок фрактурен риск и дори показват сходен със здрави контроли Z-score на КМП.

От друга страна, освен по-ниски нива на костни маркери, при пациенти с новооткрит ЗД отдавна е установена и по-ниска КМП (358). Проучване (359) от

последните години, използващо метода на количествената ултрасонография при подрастващи със ЗДТ1 установява изменения на костната плътност сравнително рано в хода на заболяването (средна продължителност 4,75±2,55 год), въпреки добрия метаболитен контрол – HbA1c – 7,23% (56 mmol/mol). Това предполага начало на действие на патогенетичните процеси още преди клиничната изява на ЗДТ1. Вероятно роля играят автоимунните и автоинфаламаторни процеси, които са в основата на това заболяване. От друга страна фактът, че пациентите с тип 1 и тип 2 ЗД имат различен фрактурен риск показва, че има и други важни фактори, допринасящи за нарушеното костно здраве при нашите пациенти (11). Необходими са повече лонгитудинали проучвания, които да проследят динамиката на този показател с времето.

По отношение на зависимостта на BHI SDS от другия фундаментален фактор на ЗД - **продължителността**, **ние установихме значима негативна корелация**, т.е. с увеличаване продължителността на заболяването намалява кортикалната плътност. Това е в синхрон с други изследвания – както при деца (330) ,така и при възрастни, които също отчитат понижение в костната плътност с увеличаване давността на заболяването (171), но се различава от други (164, 354).

Обсъжда се и друг, независим от продължителността на заболяването фактор – възрастта при изявата му. В нашето проучване установяваме, че пациентите с **начало на заболяването в ранна детска възраст** имат значимо по-ниски стойности на BHI SDS, в сравнение с тези с по-късна изява. Промените в костната плътност са налице рано в хода на заболяването, още преди началото на пубертета. Над 70% от пациентите в подгрупата с намалена кортикална плътност са развили заболяването изключително рано – преди навършване на 4год възраст. Нашите резултати се потвърждават и от голям метаанализ, който показва значението на възрастта при изява на ЗДТ1 за костната минерална плътност. Пациените с начало на заболяването преди 20-годишна възраст, имат значимо по-ниска КМП (360).Костната загуба при тези пациенти показва, че промените в костната обмяна възникват сравнително рано в хода на заболяването. Gunczler и сътр. (159) установяват понижена лумбална КМП при деца само няколко месеца след началото на заболяването.Hough (164), който също използва радиограмметрията, открива по-значителна костна загуба (14% срещу 7%) при пациенти с дебют на заболяването в по-ранна възраст (преди 20 год възраст), в сравнение с тези след 25 год възраст. Развитието

на остеопенията при тези пациенти съвпада с клиничното начало на заболяването, като след период от 3-5 год се наблюдава стабилизиране на костната маса. Сходни резултати са получили и Bechtold и сътр. (181), при изследване на КМП и костната геометрия на 88 педиатрични пациенти, използвайки периферна КАТ. Те установяват променена костна геометрия с намалена обща и кортикална трансверзална площ при пациентите с ранно начало на заболяването. Изследваните пациенти са били основно предпубертетни с малка продължителност на заболяването и добър метаболитен контрол. За разлика от тях обаче, в нашето проучване делът на пациентите с по-голяма продължителност на заболяването е значително по-голям в групата с понижена кКМП, в сравнение с тази с нормална кКМП (63.64% и 37.21% съответно). Средната продължителност на заболяването при пациентите с понижена кортикална КМП е по-голяма – 6,65год±3,37 срещу 4,86год±3,8, p>0,05. Те също като нас наблюдават негативна корелация на кКМП с този продължителността.

Въпросът дали наблюдаваните промени в костната плътност се запазват, задълбочават или компенсират с времето е все още неизяснен. Някои автори предполагат наличието на нарушения в костното развитие още в началото на заболяването, които са последвани от „наваксване“ и постепенно нормализиране. Bechtold изследва повторно 41 от първоначално включените в проучването пациенти след период от 5 години (361). Установява се,че костната геометрия е възстановена, като най-голямо е увеличението в групата с най-ранно начало на ЗДТ1. Gunczler (163) също съобщава за стабилизиране на параметрите на КМП след 1-годишно проследяване. Други автори (362) установяват противоположни резултати. Moyer-Mileur и сътр. съобщават за 8%-но понижение в костното минерално съдържание след едногодишно наблюдение на юноши със ЗДТ1. Те откриват и негативно влияние на метаболитния контрол върху тези изменения. По-ранната възраст на диагноза е с предиктивна стойност по отношение на по-ниското ниво на IGF-1, по-високата уринна екскреция на магнезий и намалена плътност на кортикалната кост (измерена на тибия).

Несъмнена роля при изява на заболяването в ранна възраст играе и невъзможността за достигане на пикова костна маса. При разглеждане на подгрупите по давност в нашето проучване най-големи разлики в нивото на BHI SDS установяваме между пациентите с новооткрит ЗДТ1 и тези със сравнително малка продължителност

(група 6мес – 5год) – аналогично на динамиката в нивата на костните маркери. Липсата на значими различия между средните нива на BHI SDS в групата с новооткрит ЗДТ1 и тази с продължителност над 10 години най-вероятно се дължи на по-малкия брой пациенти. Важно е да се отбележи, че именно между тези две групи се наблюдават и най-значими различия по отношение на костните маркери в общата група. За разлика от наблюдаваното там повишение на маркерите за костообразуване в групата с давност 6мес-5год, при нивата на BHI SDS тенденцията е към непрекъснат спад с увеличаване продължителността на заболяването. Лонгитудиналното проследяване на тези пациенти би дало ценна информация за еволюцията на измененията, особено при подобряване на метаболитния контрол.

В заключение нашите резултати установяват, че **продължителността** на ЗДТ1, както и ранната възраст при поставяне на диагнозата са важни фактори за натрупването на костна плътност. Близо 49% от вариабилността на BHI се определя от тези два показателя. Многофакторният регресионен анализ потвърждава влиянието на тези фактора върху костната плътност, като определя и възрастта при изявата му като по-значим.

Пониженатa кКМП, установена при изследваните от нас пациенти с лош метаболитен контрол, би могла да се дължи на понижения костен обмен и по-точно на потиснатото костно формиране, въпреки че не се установи корелация на този показател с нивата на костните маркери. От друга страна, въпреки липсата на значима корелация между BHI SDS и инсулиновата доза, положителна такава се потвърди с абсолютните стойности на BHI. Ролята на инсулина като анаболен фактор за костна сила и плътност е доказана в редица проучвания на клетъчни и животински модели (63,64).

Освен характерния за ЗДТ1 инсулинов дефицит, роля - директна и индиректна за развитието на понижена КМП, имат и други фактори като инфаламоторни цитокини, натрупване на продукти на гликирането (AGEs), ниски нива на IGF-1 и др. Въпреки това трябва да се има предвид трансверзалния характер на проучването и невъзможността за доказване на причинно-следствена връзка.

Сравнително ново проучване (132) също използва програмата BoneXpert за оценка на костното здраве при тежко обездвижени деца с неврологични заболявания. Участниците имат сходна възраст с изследваните от нас пациенти (11,4г срещу 11,23г),

което позволява сравнение между двете групи. Средната стойност на BHI SDS при 60 тежко обездвижени пациенти е -1,85±1,93, като при близо половината (48.3%) от стойностите са под 2 стандартни отклонения от нормата. Вижда се, че измененията при пациентите със ЗДТ1 обхващат значителен, но все пак по-малък процент от изследваните (съответно 20,37% срещу 48,3%) и са по-леко изразени (съответно -1,15 срещу -1,85 за BHI SDS).

Интерес представлява и сравнението BHI SDS при нашите пациенти с този на пациенти с ювенилен идиопатичен артрит - също с повишен риск от костна загуба. Сходно на нашето проучване (126) изучава приложимостта на метода при група такива пациенти на средна възраст 11,0±3,1 год с продължителност на заболяването 1,8год (1,1-3,8). Получената средна отрицателна стойност на BHI SDS при тях е по-висока -0,85±1,15, $p<0,05$.

Така децата и юношите със ЗДТ1 и лош метаболитен контрол заемат междинна позиция по отношение на кКМП – измереното при тях ниво на BHI SDS е по-ниско от това на пациентите с ЮИА и по-малка продължителност на заболяването, и по-високо от това на тежко обездвижените пациенти. Ето защо, въпреки безспорните нарушения в костното здраве те не показват тежки изменения на този етап от развитието на заболяването. Навременно предприети мерки за подобряване на костният им статус биха имали дългсрочен положителен ефект при тях.

Определянето на **костна възраст** намира широко приложение в оценката на съзряването на даден индивид, за проследяване на динамиката ѝ, както и за предсказване на окончателния ръст. Чрез използване на програмата BoneXpert се преодоляват редица негативи на мануалното ѝ определяне като: голяма вариабилност в зависимост от изследващия и това на кои кости акцентира в оценката си, множество случайни грешки, използване на остарели и негъвкави методи като този на Bayley-Pinneau. Програмата използва обективно и стандартизирано оценяване и се базира на съвременни референтни криви за изчисляване на SDS, случайните грешки при ръчно оценяване са в рамките на 0,58 SD, а на програмата – 0,19 SD (119). Нашето проучване потвърждава, че програмата BoneXpert е надежден метод и за определяне на костната възраст – средната разлика с мануално определената е 0,4год. При повече от половината пациенти (55.56%) има установени значими различия между костната и хронологичната възраст. Вероятни

причини са на първо място лошия метаболитен контрол, индивидуални/генетични особености, възраст при началото на пубертета и актуален пубертетен статус.

6.1. Ограничения на метода

Всички включени в изследването пациенти са хоспитализирани за влошен метаболитен контрол и по този критерий не са представителна извадка за цялата педиатрична популация с това заболяване. Освен това включените в проучването пациенти са сравнително хомогенни по отношение на лошия им метаболитен контрол – както настоящ, така и дългогодишен, което не позволява рязко отдиференциране на двете групи пациенти – с лош и добър метаболитен контрол. Трансверзалният тип на изследването не дава възможност за проследяване във времето на наблюдаваните промени в костните маркери и кКМП.

6.2. Изводи

В нашето проучване установяваме намалена кКМП, изразена чрез BHI SDS при 20,37% от всички изследвани пациенти с лош метаболитен контрол. Изявата на ЗДТ1 в по-ранна възраст, както и по-голямата продължителност на заболяването оказват независим негативен ефект върху натрупването на КМП при тези пациенти. Установената от нас липса на корелация на BHI SDS с нивата на костните маркери и с HbA1c от една страна, както и липсата на значими различия в нивото на гликемичния контрол при пациентите с понижен и тези с нормален BHI, най-вероятно са свързани с факта, че метаболитните параметри отразяват моментното състояние на костната обмяна, докато костната плътност е по-стабилен във времето фактор. В подкрепа на това е и фактът, че откриваме асоциация на HbA1c с костните маркери в общата група изследвани пациенти. Предполага се и влиянието и на други фактори, като натрупване на AGEs, оксидативен стрес и др, чието действие се кумулира с времето. Вероятно измененията в костната плътност се повлияват по-бавно и/или индиректно, роля играе и развитието на микроваскуларни усложнения, които действат трайно и променят костната структура. Бъдещо изследване на група пациенти с вече налични усложнения и сравнителен анализ с пациенти с дългогодишен добър метаболитен контрол би могло да даде отговор на този въпрос.

Методът на BHI SDS е полезен и чувствителен за откриване на нарушения в костното здраве при хронично болни деца. Той дава възможност за анализ на евентуалните отклонения с възможни насоки за патогенетичните им механизми. Този метод би могъл да спомогне за ранно откриване на нарушения в костното здраве и при необходимост, пациентите да бъдат насочвани към допълнителни изследвания, включително DXA, както и за евнтуални последващи терапевтични мерки, т.е. би могъл да се използва като скринингов метод.

Необходими са лонгитудинални проучвания за проследяване на промените в BHI, както и за оценка на евентуални интервенции – подобрен метаболитен контрол, прием на витамин D, физически упражения и др, както и дали е налице корелация с фрактурния риск в тази рискова популация.

7. Препоръки за скрининг и превенция на костни нарушения при деца и подрастващи със ЗДТ1

Въз основа на прегледа на литературата и на нашите собствени резултати изработихме следните препоръки за скрининг и превенция на костните нарушения при деца и подрастващи със ЗДТ1, показани схематично и на фигура 37:

1. Рискови пациенти, подходящи за скрининг:
   - С начало на ЗДТ1 в предпубертетния период
   - С давност на заболяването над 5 години
   - Лош гликемичен контрол (HbA1c> 9%)
   - Наличие на микроваскуларни усложнения (ретинопатия, невропатия, нефропатия)
   - Съпътстващи заболявания като целиакия, хипо-/хипертиреоидизъм
   - Анамнеза за предхождаща фрактура
   - Фамилност за остеопороза

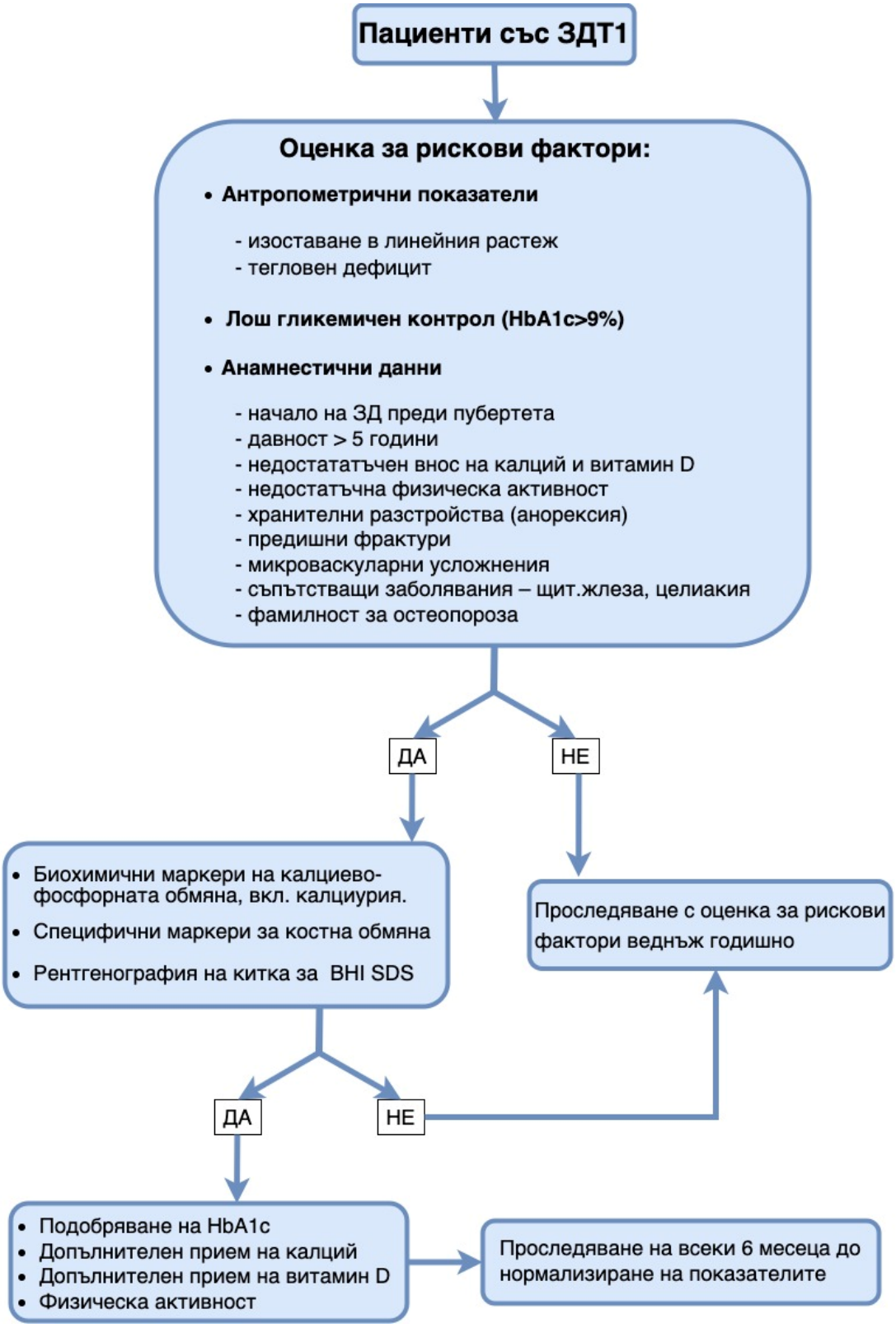
2. Скрининговите изследвания следва да включват:
   - Оценка на хранителния прием

- Показателите на калциево-фосфорната обмяна – серумно ниво на калций, фосфор, магнезий, PTH
- Ниво на 25(OH)витамин D
- Маркери на костна обмяна - костна АФ, остеокалцин, бета крос лапс
- Калциурия
- Дигитална рентгенова радиграмметрия за определяне Индекса на костно здраве (BHI) и неговият SDS

3. Препоръки за превенция на костните изменения
   - Поддържане на добър метаболитен контрол
   - Осигуряване на оптимален хранителен внос – достатъчно калций, протеини
   - Редовна физическа активност
   - Прекарване на достатъчно време на открито през летните месеци
   - Суплементация с витамин D при установен дефицит
   - Избягване на рискови фактори като тютюнопушене, прием на алкохол и др.

4. Проследяване на посочените показатели веднъж на 6 месеца при наличие на значими отклонения или веднъж годишно при липса на такива (Фиг.37)

Фигура 37. Алгоритъм за скрининг и превенция на костно засягане при деца и подрастващи със ЗДТ1



VIII. ОБЩИ ИЗВОДИ

1. Захарният диабет с начало в детската възраст се отразява неблагоприятно върху костното здраве – костни маркери и костна плътност.

2. Захарният диабет потиска едновременно двата основни процеса на костната обмяна - костното формиране и костната резорбция.

3. Пациентите с незадоволителен гликемичен контрол имат по-изразено потискане на костното формиране в сравнение с тези с добър такъв.

4. Калциево-фософорната обмяна при деца и подрастващи със захарен диабет също е засегната независимо от статуса на витамин D.

5. Рисковите фактори за засягане на костното здраве при деца със ЗДТ1 са:
    - Незадоволителен метаболитен контрол.
    - По-малка възраст на изява на захарния диабет.
    - По-голяма продължителност на заболяването.
    - Недостатъчен алиментарен внос на калций.

6. Необходимо е въвеждане на скрининг за установяване на костно засягане при пациентите със ЗДТ1, който да започне от детска възраст.

7. Софтуерната програма BoneXpert е нов, лесно достъпен и безвреден метод за образна диагностика на костни промени при деца и подрастващи със ЗДТ1.

IX. ПРИНОСИ

1. Приноси с оригинален характер:

- Това е първото комплексно проучване на костното здраве при деца и подрастващи със ЗДТ1 в България.

- За първи път в световната литература се използва софтуерната програма BoneXpert за оценка на костното здраве на деца и подрастващи със ЗДТ1.

- Установи се значението на ранното начало на ЗДТ1 като независим фактор, засягащ негативно кортикалната костна плътност.

- Изработени бяха препоръки за скрининг и превенция на нарушено костно здраве при рисковите деца и подрастващи със ЗДТ1.

2. Приноси с потвърдителен характер и практическа насоченост:

- Едно от малкото комплексни проучвания до момента, които изследват едновременно голям брой костни маркери заедно с показателите на калциево-фосфорната обмяна при деца със ЗДТ1.

- Постигна се прецизиране и подобрение достоверността на резултатите чрез приложение на индексите за стандартни отклонения (SDS) на зависимите от пола и възрастта показатели.

- Не се установиха значими отклонения във витамин D статуса при деца и подрастващи със ЗДТ1 в сравнение със здрави контроли.

- Потвърди се риска за нарушено костно здраве и при децата и подрастващите със ЗДТ1 чрез засягане на:
    - Маркерите за костна обмяна.
    - Показателите на калциево-фосфорната обмяна.
    - Кортикалната костна минерална плътност.

- Потвърди се негативното влияние на незадоволителния гликемичен контрол и продължителността на заболяването и върху костното здраве на деца и подрастващи със ЗДТ1.

- Проучването фокусира вниманието върху контролирането на калциевия прием с храната при децата и подрастващите със ЗДТ1.

- Разкрива се необходимостта от провеждане на скрининг за костни усложнения при децата и подрастващите със ЗДТ1.

X. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ПРОЯВИВЪВ ВРЪЗКА С ДОКТОРСКИЯ ТРУД

1. Slavcheva-Prodanova O, Konstantinova M, Tsakova A, Savova R, Archinkova M. Vitamin D Status of Pediatric Patients with Type 1 Diabetes Mellitus. InProceedings of the Bulgarian Academy of Sciences 2022 Sep 30 (Vol. 75, No. 9, pp. 1356-1363.

2. Славчева – Проданова О. Дигиталната рентгенова радиограмметрия (Digital X-ray Radiogrammetry, DXR) - нов и достъпен метод за скрининг на костното здраве в детската възраст. Педиатрия, 2023, 4:2-5.

3. Славчева О. Промени в костния метаболизъм при захарен диабет. Практическа педиатрия, 2011, 11: 6-8.

Slavcheva-Prodanova O, Savova R, Archinkova M, Konstantinova M. Bone turnover markers in newly diagnosed children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. 60th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Endocrinology (ESPE) (Vol. 95, No. 2, p. 53), 15-17th September 2022,Rome, Italy.

O.Slavcheva-Prodanova. Bone Health in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus.5th BNSPE Meeting 11-12th November 2021, Sofia, Bulgaria.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Craig ME, Jefferies C, Dabelea D et al.Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. Pediatric Diabetes 2014: 15 (Suppl. 20): 4–17.

2. Fagot-Campagna A, Pettitt DJ, Engelgau MM, et al. Type 2 diabetes among North American children and adolescents: an epidemiologic review and a public health perspective. J Pediatr2000;136(5):664– 72.

3. Federation ID. IDF Diabetes Atlas, 8th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation. 2017; http://www.diabetesatlas.org.

4. Liu J, Ren ZH, Qiang H, Wu J, Shen M, Zhang L, Lyu J. Trends in the incidence of diabetes mellitus: results from the Global Burden of Disease Study 2017 and implications for diabetes mellitus prevention. BMC public health. 2020 Dec;20:1-2.

5. Цанева В., Дамянова М. Честота и разпространение на захарния диабет в детската възраст в НРБ. Педиатрия , 1986, 25 (4): 30-36.

6. Савова Р., К. Калинов, С.Чавръкова, К.Копривarова, Г.Попова, С.Горанова. Заболеваемост от инсулинозависим захарен диабет сред децата от Западна България (1989-1994). Ендокринология 1998;3(2):23-30.

7. Bessaoud K.,Boudraa,G.,Molinero de Ropolo,M et al. WHO Multinational Project for Childhood Diabetes Research group: Bulgaria: R.Savova, V.Christov (West –Bulgaria). Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes worldwide 1990-1999. Diabetic Medicine 2006; 23(8) 857-866.

8. Donaghue KC, Marcovecchio ML, Wadwa RP, Chew EY, Wong TY, Calliari LE, Zabeen B, Salem MA, Craig ME. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents. Pediatric Diabetes. 2018 Oct;19:262-74.

9. Albright AB, Reifenstein EC. The Parathyroid Glands and Metabolic Bone Disease.Selected Studies. J Bone Joint Surg Am, 1949;31(4):881.

10. Weber D, Schwartz G .Epidemiology of Skeletal Health in Type 1 Diabetes.Curr Osteoporos Rep. 2016;14(6): 327–336.

11. Vestergaard P, Rejnmark L. Mosekilde L. Relative fracture risk in patients with diabetes mellitus, and the impact of insulin and oral antidiabetic medication on relative fracture risk. Diabetologia. 2005;48:1292-1299

12. Ahmed LA; Joakimsen RM, Berntsen GK, Fønnebø V, Joakimsen RM. Diabetes mellitus and the risk of non-vertebral fractures: the Tromsø study. Osteoporos Int. 2006;17:495-500.

13. Kelòsey JL, Browner WS, Seeley DG, Nevitt MC, Cummings SR. Risk factorsfor fractures of the distal forearm and proximal humerus. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. Am J Epidemiol. 1992;135:477-489.

14. Miao J, Brismar K, Nyre´n O, Ugarph-Morawski A, Ye W.Elevated hip fracture risk in type 1 diabetic patients. A population- based cohort study in Sweden. Diab Care 2005;28:2850-5.

15. Forsen L, Meyer HE, Midthjell K, Edna TH. Diabetes mellitus and the incidence of hip fracture: results from the Nord-Trøndelag Health Survey. Diabetologia. 1999 Jul;42:920-5.

16. Weber DR, Haynes K, Leonard MB, Willi SM, Denburg MR. Type 1 diabetes is associated with an increased risk of fracture across the life span: a population-based cohort study using The Health Improvement Network (THIN). Diabetes care. 2015 Oct 1;38(10):1913-20.

17. Dent CE. Problems in metabolic bone disease. In: Frame B, Parfitt AM, Duncan H, editors. Clinical aspects of metabolic bone disease. Amsterdam: Excerpta Medica, 1973:1–7.

18. Hernandez CJ, Beaupre GS, Carter DR. Contributors to osteoporosis development. Osteoporosis International. 2003 Oct 1;14(10):843-7.

19. Ingberg CM, Särnblad S, Palmér M, Schvarcz E, Berne C, Aman J. Body composition in adolescent girls with type 1 diabetes. Diabet Med 2003;20:1005–1011.

20. Tahir A, Shoaib M, Akhtar B, Khalid A, Shahid A, Qureshi HJ. Effect of type 1 diabetes mellitus on bone status of children. Pak J Med Health Sci 2013;7:251–253.

21. McCabe LR. Understanding the pathology and mechanisms of type 1 diabetic bone loss. J Cell Biochem. 2007;102:1343-1357.

22. Verhaeghe J,Bouillon R.Principles of Bone Biology,vol 1,2nd ed,2002,42:741-755.

23. Gennari L, Merlotti D, Valenti R, Ceccarelli E, Ruvio M, Pietrini MG, Capodarca C, Franci MB, Campagna MS, Calabrò A, Cataldo D. Circulating sclerostin levels and bone turnover in type 1 and type 2 diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology. 2012 Mar 7;97(5):1737-44.

24. Hamed, E. A., Faddan, N. H., Elhafeez, H. A., and Sayed, D. (2011). Parathormone–25(OH)-vitamin D axis and bone status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. Pediatr. Diabetes 12, 536–546.

25. Brandao, F. R., Vicente, E. J., Daltro, C. H., Sacramento, M., Moreira, A., and Adan, L. (2007). Bone metabolism is linked to disease duration and metabolic control in type 1 diabetes mellitus. Diabetes Res. Clin. Pract. 78, 334–339.

26. Abd El Dayem, S. M., El-Shehaby, A. M., Abd El Gafar, A., Fawzy, A., and Salama, H. (2011). Bone density, body composition, and markers of bone remodeling in type 1 diabetic patients. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 71, 387–393.

27. Styne DM. Pediatric endocrinology. Lippincott Williams & Wilkins; 2004;7:139-140.

28. Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simões MJ, Cerri PS. Biology of bone tissue: structure, function, and factors that influence bone cells. BioMed research international. 2015 Oct;2015.

29. Napoli N, Strollo R, Paladini A, Briganti SI, Pozzilli P, Epstein S. The alliance of mesenchymal stem cells, bone, and diabetes. International Journal of Endocrinology. 2014 Jul 16;2014.

30. Nakashima T, Hayashi M, Fukunaga T, et al. Evidence for osteocyte regulation of bone homeostasis through RANKL expression. *Nat Med*. 2011;17:1231–1234.

31. Grabowski P. Physiology of bone. Calcium and Bone Disorders in Children and Adolescents. 2009;16:32-48.

32. Wang X, Ji L, Wang J, Liu C. Matrix stiffness regulates osteoclast fate through integrin-dependent mechanotransduction. Bioact Mater. 2023;27:138-153.

33. Zaidi M.Yuen T. Sun Li,Rosen C.J.Regulation of Skeletal Homeostasis. Endocr Rev. 2018 Oct; 39(5): 701–718.Published online 2018. doi: 10.1210/er.2018-00050

34. Robling A.G., Turner C.H. Mechanical Signaling for Bone Modeling and Remodeling.Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 2009; 19(4): 319–338.

35. Bonjour JP, Theintz G, Law F, Slosman D, Rizzoli R. Peak bone mass. Osteoporosis international. 1994 Jan;4:S7-13.

36. Bonjour JP, Chevalley T, Ferrari S, Rizzoli R. The importance and relevance of peak bone mass in the prevalence of osteoporosis. Salud publica de Mexico. 2009;51:s5-17.

37. Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, Weaver C. Peak bone mass. Osteoporosis international. 2000; 11(12):985 .

38. Fung EB, Bachrach LK, Sawyer AJ, editors. Bone health assessment in pediatrics: Guidelines for clinical practice. Springer; 2016 Sep 9.

39. Theintz G, Buchs B, Rizzoli R, et al. Longitudinal monitoring of bone mass accumulation in healthy adolescents: evidence for a marked reduction after 16 years of age at the levels of lumbar spine and femoral neck in female subjects. J Clin Endocrinol Metab 1992;75:1060-5.

40. Aharinejad S, Bertagnoli R, Wicke K, Firbas W, Schneider B. Morphometric analysis of vertebrae and intervertebral discs as a basis of disc replacement. Am J Anat 1990;189:69-76.

41. Fournier PE, Rizzoli R, Slosman DO, Buchs B, Bonjour JP. Relative contribution of vertebral body and posterior arch in female and male lumbar spine peak bone mass. Osteoporosis Int 1994;4:264-72.

42. WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. World Health Organ. Technical Reprt Seres. 1994;843:1-29.

43. Hernandez CJ, Beaupre GS, Carter DR. A theoretical analysis of the relative influences of peak BMD, age-related bone loss and menopause on the development of osteoporosis. Osteoporosis international. 2003 Oct 1;14(10):843-7.

44. Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. J Clin Invest 1987;80:706-10.

45. Ralston, SH.Genetic Control of Susceptibility to Osteoporosis The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2002; 87(6):2460–2466.

46. Rosen CJ. Insulin-like growth factor I and bone mineral density: experience from animal models and human observational studies. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. Volume 18, Issue 3, September 2004, 423-435.

47. Locatelli V., Bianchi V.E. Effect of GH/IGF-1 on Bone Metabolism and Osteoporsosis. Int J Endocrinol. 2014; 235060.

48. Riggs BL, Khosla S, Melton 3rd LJ. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. Endocr Rev 2002;23:279-302.

49. Brown M. Skeletal muscle and bone: effect of sex steroids and aging. Advances in physiology education. 2008 Jun;32(2):120-6.

50. Isaksson OG, Jansson JO, Gause IA. Growth hormone stimulates longitudinal bone growth directly. Science. 1982 Jun 11;216(4551):1237-9.

51. Sims NA, Clément-Lacroix P, Da Ponte F, Bouali Y, Binart N, Moriggl R, Goffin V, Coschigano K, Gaillard-Kelly M, Kopchick J, Baron R. Bone homeostasis in growth hormone receptor–null mice is restored by IGF-I but independent of Stat5. The Journal of clinical investigation. 2000 Nov 1;106(9):1095-103.

52. Dobie R., Ahmed SF., Staines K A. , Pass Ch , Jasim S., MacRae V.E. , 1 and Farquharson C . Increased linear bone growth by GH in the absence of SOCS2 is independent of IGF-1. J Cell Physiol. 2015 Nov; 230(11): 2796–2806.

53. Zhang M, Xuan S, Bouxsein ML, von Stechow D, Akeno N, et al. Osteoblast-specific knockout of the insulin-like growth factor (IGF) receptor gene reveals an essential role of IGF signaling in bone matrix mineralization. J Biol Chem. 2002; 277:44005–44012.

54. Vanderschueren D, Vandenput L, Boonen S. Reversing sex steroid deficiency and optimizing skeletal development in the adolescent with gonadal failure. Abnormalities in Puberty. 2005;8:150-65.

55. Lindberg MK, Vandenput L, Movèrare Skrtic S, Vanderschueren D, Boonen S, Bouillon R, Ohlsson C. Androgens and the skeleton. Minerva Endocrinologica, 2005, 30(1):15-25.

56. Holmes, S. J., Shalet S.M. Role of Growth Hormone and Sex Steroids in Achieving and Maintaining Normal Bone Mass. Hormone Research (1996) 45 (1-2): 86–93.

57. Polak M, Cavé H. Neonatal diabetes mellitus: a disease linked to multiple mechanisms. Orphanet journal of rare diseases. 2007 Dec;2:1-1.

58. Hattersley AT, Greeley SA, Polak M, Rubio-Cabezas O, Njølstad PR, Mlynarski W, Castano L, Carlsson A, Raile K, Chi DV, Ellard S. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents.

59. Jones JI, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. Endocr Rev. 1995; 16:3–34.

60. Akune T, Ogata N, Hoshi K, Kubota N, Terauchi Y, Tobe K,Takagi H, Azuma Y, Kadowaki T, Nakamura K, Kawaguchi H. Insulin receptor substrate-2 maintains predominance of anabolic function over catabolic function of osteoblasts. J Cell Biol 2002; 159(1): 147–156.

61. Zhou N, Li Q, Lin X, Hu N, Liao JY, Lin LB, Zhao C, Hu ZM, Liang X, Xu W, Chen H. BMP2 induces chondrogenic differentiation, osteogenic differentiation and endochondral ossification in stem cells. Cell and tissue research. 2016 Oct;366:101-11.

62. Fulzele K, Riddle RC, DiGirolamo DJ, Cao X, Wan C, Chen D, Faugere MC, Aja S, Hussain MA, Brüning JC, Clemens TL. Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition. Cell. 2010 Jul 23;142(2):309-19.

63. Ferron, M,Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, DePinho R A ,Teti A, Ducy P, and Karsenty G.Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism Cell. 2010 July 23; 142(2): 296–308.

64. Ogata N, Chikazu D, Kubota N, Terauchi Y, Tobe K, Azuma Y,Ohta T, Kadowaki T, Nakamura K, Kawaguchi H. Insulin receptor substrate-1 in osteoblast is indispensable for maintaining bone turnover. J Clin Invest 2000; 105(7): 935–943.

65. Issa C, Zantout MS, Azar ST. Osteoporosis in men with diabetes mellitus. Journal of Osteoporosis. 2011 Jan 1;2011.

66. Thomas DM, Udagawa N, Hards DK, Quinn JM, Moseley JM, Findlay DM, Best JD. Insulin receptor expression in primary and cultured osteoclast-like cells. Bone. 1998 Sep 1;23(3):181-6.

67. Rosa SC, Rufino AT, Judas F, Tenreiro C, Lopes MC, Mendes AF. Expression and function of the insulin receptor in normal and osteoarthritic human chondrocytes: modulation of anabolic gene expression, glucose transport and GLUT-1 content by insulin. Osteoarthritis and Cartilage. 2011 Jun 1;19(6):719-27.

68. Preziosi P, Barrett-Connor E, Papoz L. Interrelation between plasma sex hormone-binding globulin and plasma insulin in healthy adult women: the telecom study. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 1993;76(2):283–287.

69. Abe E, Marians RC, Yu W, Wu XB, Ando T, Li Y, Iqbal J, Eldeiry L, Rajendren G, Blair HC, Davies TF. TSH is a negative regulator of skeletal remodeling. Cell. 2003 Oct 17;115(2):151-62.

70. Hase H, Ando T, Eldeiry L, et al. TNFα mediates the skeletal effects of thyroid-stimulating hormone. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:12849–12854.

71. Reddy P. A.,Harinarayan C. V. , Alok V. S., and Rajagopal G. Bone disease in thyrotoxicosis. Indian J Med Res. 2012 Mar; 135(3): 277–286.

72. Kim Ha-Y., Mohan S. Role and Mechanisms of Actions of Thyroid Hormone on the Skeletal Development. Bone Research (2013) 2: 146-161.

73. Zhu S, Pang Y, Xu J, Chen X, Zhang C, Wu B, Gao J. Endocrine regulation on bone by thyroid. Frontiers in Endocrinology. 2022 Apr 5;13:873820.

74. Egbuna OI, Brown EM. Hypercalcaemic and hypocalcaemic conditions due to calcium-sensing receptor mutations. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2008; 22:129–148.

75. Civitelli R, Ziambaras K. Calcium and phosphate homeostasis: concerted interplay of new regulators. J Endocrinol Invest. 2011; 34:3–7.

76. Dobnig H, Turner RT. The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1–34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. Endocrinology. 1997;138:4607–4612.

77. Nakamura T, Sugimoto T, Nakano T, Kishimoto H, Ito M, Fukunaga M, Hagino H, Sone T, Yoshikawa H, Nishizawa Y, Fujita T. Randomized Teriparatide [human parathyroid hormone (PTH) 1–34] Once-Weekly Efficacy Research (TOWER) trial for examining the reduction in new vertebral fractures in subjects with primary osteoporosis and high fracture risk. The Journal of clinical endocrinology & metabolism. 2012 Sep 1;97(9):3097-106.

78. Morimoto A, Kikuta J, Nishikawa K, Sudo T, Uenaka M, Furuya M, Hasegawa T, Hashimoto K, Tsukazaki H, Seno S, Nakamura A. SLPI is a critical mediator that controls PTH-induced bone formation. Nature Communications. 2021 Apr 9;12(1):2136.

79. Rubin MR, Bilezikian JP. Parathyroid hormone as an anabolic skeletal therapy. Drugs. 2005 Dec;65:2481-98.

80. Liu Z, Kennedy OD, Cardoso L, Basta-Pljakic J, Partridge NC, Schaffler MB, Rosen CJ, Yakar S. DMP-1-mediated Ghr gene recombination compromises skeletal development and impairs skeletal response to intermittent PTH. The FASEB Journal. 2016 Feb;30(2):635.

81. DeBoer MD, Weber DR, Zemel BS, Denburg MR, Herskovitz R, Long J, Leonard MB. Bone mineral accrual is associated with parathyroid hormone and 1, 25-dihydroxyvitamin D levels in children and adolescents. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2015 Oct 1;100(10):3814-21.

82. Stagi S, Cavalli L, Ricci S, Mola M, Marchi C, Seminara S, Brandi ML, de Martino M. Parathyroid hormone levels in healthy children and adolescents. Hormone Research in Paediatrics. 2015 Sep 1;84(2):124-9.

83. Kaprio J, Rimpelä A, Winter T, Viken RJ, Rimpelä M, Rose RJ. Common genetic influences on BMI and age at menarche. Human biology. 1995 Oct 1:739-53.

84. Chevalley T, Bonjour JP, Ferrari S, Rizzoli R. The influence of pubertal timing on bone mass acquisition: a predetermined trajectory detectable five years before menarche. J Clin Endocrinol Metab 2009;94:3424-31.

85. Kindblom JM, Lorentzon M, Norjavaara E, et al. Pubertal timing predicts previous fractures and BMD in young adult men: the GOOD study. J Bone Miner Res 2006;21:790-5.

86. Galuska DA, Sowers MR. Menstrual history and bone density in young women. J Womens Health Gend Based Med 1999;8:647-56.

87. Armamento-Villareal R, Villareal DT, Avioli LV, Civitelli R. Estrogen status and heredity are major determinants of premenopausal bone mass. J Clin Invest 1992;90:2464-71.

88. Schiessl H, Frost HM, Jee WS. Estrogen and bone-muscle strength and mass relationships. Bone. 1998 Jan 1;22(1):1-6.

89. Tagliaferri C., Wittrant Y.,Davicco M-J., Walrand S. Coxam V. Muscle and bone, two interconnected tissues.Ageing Research Reviews, 2015;21:55-70;

90. Eapen E, Grey V, Don-Wauchope A et al.Bone Health in Childhood:Usefulness of Biochemical Biomarkers.IFFC.2008.2:1-14

91. Shaw N, Hogler W.Pediatric Bone.2012.15:361-381

92. Einhorn, T. A. (1992). Bone strength: The bottom line. Calcif. Tissue Int. 51, 333–339.

93. Herrmann D, Intemann T, Lauria F et al.Reference Values of Bone Stiffness Index and C-terminal Telopeptide in Healthy European Children.International Journal of Obesity.2014.38:76-85.

94. Logan J,Bassett D,Cheung M.Bone Drugs in Pediatrics.2014.4:37-65.

95. Szulc P, Delmas P.Osteoporosis, 3rd ed.2008.63:1519-1545

96. Brixen K,Eriksen E.Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism.2006,35:583-594 .

97. Kanazawa I. Osteocalcin as a hormone regulating glucose metabolism. World J Diabetes. 2015; 6:1345–1354.

98. Wei J, Karsenty G. An overview of the metabolic functions of osteocalcin. Rev Endocr Metab Disord. 2015; 16:93–98.

99. Faienza MF, Luce V, Ventura A, Colaianni G, Colucci S, Cavallo L, Grano M, Brunetti G. Skeleton and glucose metabolism: A bone-pancreas loop. International journal of endocrinology. 2015 Oct;2015.

100. Madsen JO, Jørgensen NR, Pociot F, Johannesen J. Bone turnover markers in children and adolescents with Type-1-diabetes—a systematic review. Pediatr Diabetes. 2019;20:510-522.)

101. Raisingani M, Preneet B, Kohn B, Yakar S. Skeletal growth and bone mineral acquisition in type 1 diabetic children; abnormalities of the GH/IGF-1 axis. Growth Hormone & IGF Research. 2017 Jun 1;34:13-21.

102. Maddaloni E, D'Onofrio L, Lauria A, Maurizi AR, Strollo R, Palermo A, Napoli N, Angeletti S, Pozzilli P, Manfrini S. Osteocalcin levels are inversely associated with Hba1c and BMI in adult subjects with long-standing type 1 diabetes. Journal of endocrinological investigation. 2014;37:661–666.

103. Whyte MP. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. Endocr Rev. 1994 Aug;15(4):439-61.

104. Ward L, Bachrach L.Osteoporosis, 3rd ed.2008.43:1095-1133.

105. Vasikaran S, Cooper C, Eastell R, Griesmacher A, Morris HA, et al. International Osteoporosis Foundation and International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine position on bone marker standards in osteoporosis. Clin Chem Lab Med 2011;49:1271.

106. Tsentidis C, Gourgiotis D, Kossiva L, Doulgeraki A, Marmarinos A, Galli-Tsinopoulou A, Karavanaki K. Higher levels of s-RANKL and osteoprotegerin in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus may indicate increased osteoclast signaling and predisposition to lower bone mass: a multivariate cross-sectional analysis. Osteoporos Int. 2016; 27:1631–1643.

107. Parthasarathy L, Khadilkar V, Chiplonkar S, Khadilkar A. Longitudinal Growth in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes. Indian Pediatr. 2016; 53:990–992.

108. Chrysis D, Efthymiadou A, Mermigka A, Kritikou D, Spiliotis BE. Osteoprotegerin, RANKL, ADMA, and Fetuin-A serum levels in children with type I diabetes mellitus. Pediatric Diabetes. 2017 Jun;18(4):277-82.

109. Faienza MF, Ventura A, Delvecchio M, Fusillo A, Piacente L, Aceto G, Colaianni G, Colucci S, Cavallo L, Grano M, Brunetti G. High sclerostin and dickkopf-1 (DKK-1) serum levels in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2017 Apr 1;102(4):1174-81.

110. Neumann T, Hofbauer LC, Rauner M, Lodes S, Kastner B, Franke S, Kiehntopf M, Lehmann T, Muller UA, Wolf G, Hamann C, Samann A. Clinical and endocrine correlates of circulating sclerostin levels in patients with type 1 diabetes mellitus. Clinical endocrinology. 2014; 80:649– 655.

111. Thomas T, Gori F, Khosla S, Jensen MD, Burguera B, Riggs BL. Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. Endocrinology. 1999; 140:1630–1638.

112. Kirel B, Dogruel N, Korkmaz U, Kilic FS, Ozdamar K, Ucar B. Serum leptin levels in type 1 diabetic and obese children: relation to insulin levels. Clinical biochemistry. 2000; 33:475–480.

113. Verrotti A, Basciani F, Morgese G, Chiarelli F. Leptin levels in non-obese and obese children and young adults with type 1 diabetes mellitus. Eur J Endocrinol. 1998; 139:49–53.

114. Luna R, Garcia-Mayor RV, Lage M, Andrade MA, Barreiro J, Pombo M, Dieguez C, Casanueva FF. High serum leptin levels in children with type 1 diabetes mellitus: contribution of age, BMI, pubertal development and metabolic status. Clinical endocrinology. 1999 Nov;51(5):603-10.

115. Bachrach LK, Gordon CM, Sills IN, Lynch JL, Casella SJ, DiMeglio LA, Gonzalez JL, Wintergerst K, Kaplowitz PB. Bone densitometry in children and adolescents. Pediatrics. 2016 Oct 1;138(4).

116. Slavcheva-Prodanova O, Konstantinova M, Tsakova A, Savova R, Archinkova M. Bone health index and bone turnover in pediatric patients with type 1 diabetes mellitus and poor metabolic control. Pediatric Diabetes. 2020 Feb;21(1):88-97.)

117. Rosholm A, Hyldstrup L, Baeksgaard L, Grunkin M, Thodberg HH. Estimation of bone mineral density by digital X-ray radiogrammetry: theoretical background and clinical testing. Osteoporosis international. 2001 Nov 1;12(11):961-9.

118. Ward K, Mughal Z, Adams J.Bone Densitometry in Growing Patients.2007.2:15-40. Leonard M, Bachrach L.Pediatric Bone.2012.13:309-342.

119. Thodberg HH, Van Rijn RR, Tanaka T, Martin DD, Kreiborg S. A paediatric bone index derived by automated radiogrammetry. Osteoporosis international. 2010;21(8):1391-400.

120. van Rijn RR, Lequin MH, Thodberg HH: Automatic determination of Greulich and Pyle bone age in healthy Dutch children. Pediatr Radiol 2009;39:591–597.

121. Thodberg HH, Sävendahl L: Validation and reference values of automated bone age determination for four ethnicities. Acad Radiol 2010;17:1425–1432.

122. Leijten AD, Hampsink B, Janssen M, Klein WM, Draaisma JM. Can digital X-ray radiogrammetry be an alternative for dual-energy X-ray absorptiometry in the diagnosis of secondary low bone quality in children?. European journal of pediatrics. 2019 Sep;178(9):1433-41.

123. Dhainaut A, Rohde GE, Syversen U et al (2010) The ability of hand digital X-ray radiogrammetry to identify middle-aged and elderly women with reduced bone density, as assessed by femoral neck dual-energy X-ray absorptiometry. J Clin Densitom 13:418–425.

124. Blair J, Abernethy L, Povall A, McCoy P, Das U, Didi M, Ramakrishnan R. Bone Health Index is low at diagnosis of growth hormone deficiency, and improves during growth hormone therapy. Age (yrs). 2016;120(11.6):3-5.

125. van Rijn RR, Grootfaam DS, Lequin MH, Boot AM, van Beek RD, Hop WC, van Kuijk C. Digital radiogrammetry of the hand in a pediatric and adolescent Dutch Caucasian population: normative data and measurements in children with inflammatory bowel disease and juvenile chronic arthritis. Calcified tissue international. 2004;74(4):342-50.

126. Anink J, Nusman C, van Suijekom-Smit J et al. Automated Determination of Bone Age and Bone Mineral Density in Patients with Juvenile Idiopathic Arthritis: a Feasibility Study. Arthritis Research and Therapy. 2014, 16:424.

127. Schündeln MM, Marschke L, Bauer JJ, Hauffa PK, Schweiger B, Führer-Sakel D, Lahner H, Poeppel TD, Kiewert C, Hauffa BP, Grasemann C. A piece of the puzzle: the bone health index of the BoneXpert software reflects cortical bone mineral density in pediatric and adolescent patients. PloS one. 2016 Mar 25;11(3):e0151936.

128. BoneXpert.Bone Health Index https://www.bonexpert.com/documentation/bone-health-index.

129. Stewart A, Mackenzie LM, Black AJ, Reid DM. Predicting erosive disease in rheumatoid arthritis. A longitudinal study of changes in bone density using digital X-ray radiogrammetry: a pilot study. Rheumatology. 2004 Dec 1;43(12):1561-4.

130. Thodberg HH, van Rijn RR, Jenni OG, Martin DD. Automated determination of bone age from hand X-rays at the end of puberty and its applicability for age estimation. International journal of legal medicine. 2017 May;131:771-80.

131. van Rijn RR, Boot A, Wittenberg R, van der Sluis IM, van den Heuvel-Eibrink MM et al. Direct X-ray radiogrammetry versus dual-energy X-ray absorptiometry: assessment of bone density in children treated for acute lymphoblastic leukaemia and growth hormone deficiency. Pediatric radiology. 2006;36(3):227-32.

132. Mergler S, Stella A, Boot AM, Bindels-de Heus KG, Huijbers WA et al. Automated radiogrammetry is a feasible method for measuring bone quality and bone maturation in severely disabled children. Pediatric Radiology. 2016;46(7):1017-22.

133. Mentzel HJ, John U, Boettcher J, Malich A, Pfeil A et al. Evaluation of bone-mineral density by digital X-ray radiogrammetry (DXR) in pediatric renal transplant recipients. Pediatric radiology. 2005;35(5):489-94.

134. Matkovic V, Goel PK, Badenhop-Stevens NE, Landoll JD, Li B, Ilich JZ, Skugor M, Nagode LA, Mobley SL, Ha EJ, Hangartner TN. Calcium supplementation and bone mineral density in females from childhood to young adulthood: a randomized controlled trial. The American journal of clinical nutrition. 2005 Jan 1;81(1):175-88.

135. Hyldstrup L, Conway GS, Racz K, Keller A, Chanson P, Zacharin M, Lysgaard AL, Andreasen AH, Kappelgaard AM. Growth hormone effects on cortical bone dimensions in young adults with childhood-onset growth hormone deficiency. Osteoporosis international. 2012 Aug;23:2219-26.

136. Thrailkill K,Lumpkin C,Bunn CR.Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues.Am J Physiol Endocrinol Metab. 2005; 289(5): E735–E745

137. Hypponen E, Virtanen SM, Kenward MG, Knip M, Akerblom HK. Obesity, increased linear growth, and risk of type 1 diabetes in children. Diabetes Care. 2000; 23:1755–1760.

138. Domargard A, Sarnblad S, Kroon M, Karlsson I, Skeppner G, Aman J. Increased prevalence of overweight in adolescent girls with type 1 diabetes mellitus. Acta paediatrica. 1999; 88:1223– 1228.

139. Hypponen E, Kenward MG, Virtanen SM, Piitulainen A, Virta-Autio P, Tuomilehto J, Knip M,Akerblom HK. Infant feeding, early weight gain, and risk of type 1 diabetes. Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study Group. Diabetes Care. 1999; 22:1961–1965.

140. Johansson C, Samuelsson U, Ludvigsson J. A high weight gain early in life is associated with an increased risk of type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia. 1994; 37:91–94.

141. Baum JD, Ounsted M, Smith MA. Letter: Weight gain in infancy and subsequent development of diabetes mellitus in childhood. Lancet. 1975; 2:866.

142. Songer TJ, LaPorte RE, Tajima N, Orchard TJ, Rabin BS, Eberhardt MS, Dorman JS, Cruickshanks KJ, Cavender DE, Becker DJ. Height at diagnosis of insulin dependent diabetes in patients and their non-diabetic family members. Br Med J (Clin Res Ed). 1986 May 31;292(6533):1419-22.

143. Mahesh S, Karp RJ, Castells S, Quintos JB. Mauriac syndrome in a 3-year-old boy. Endocr Pract. 2007; 13:63–66.

144. Norris A,Wolfsdorf J.Clinical Pediatric Endocrinology,5th ed.2005.21:436-473.

145. Massa G, Dooms L, Bouillon R, Vanderschueren-Lodeweyckx M. Serum levels of growth hormone-binding protein and insulin-like growth factor I in children and adolescents with type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabetologia. 1993; 36:239–243.

146. Danne T, Kordonouri O, Enders I, Weber B. Factors influencing height and weight development in children with diabetes: results of the Berlin Retinopathy Study. Diabetes care. 1997 Mar 1;20(3):281-5.

147. Bonfig W, Kapellen T, Dost A, Fritsch M, Rohrer T, Wolf J, Holl RW. Growth in children and adolescents with type 1 diabetes. The Journal of pediatrics. 2012 Jun 1;160(6):900-3.

148. Kordonouri O, Klingensmith G, Knip M et al.Other complications and diabetes-associated conditions in children and adolescents. Pediatric Diabetes 2014: 15 (Suppl. 20): 270–278.

149. Дамянова М, Константинова М.Захарен диабет у деца и юноши-теоретически и практически основи. 2000:238-257.

150. Leger J, Marinovic D, Alberti C, Dorgeret S, Chevenne D, Marchal CL, Tubiana-Rufi N, Sebag G, Czernichow P. Lower bone mineral content in children with type 1 diabetes mellitus is linked to female sex, low insulin-like growth factor type I levels, and high insulin requirement. J Clin Endocrinol Metab. 2006; 91:3947–3953.

151. Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. American journal of epidemiology. 2007 Sep 1;166(5):495-505.

152. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes—a meta-analysis. Osteoporosis international. 2007 Apr;18(4):427-44.

153. van Beresteijn ECH, van Laarhoven JPRM, Smals AGH (1992) Body weight and/or endogenous estradiol as determinants of cortical bone mass and bone loss in healthy early postmenopausal women. Acta Endocrinol 127:226–230.

154. Ботушанов Н, Орбецова М. Костна минерална плътност при пациенти със захарен диабет тип 1. Ендокринология 2014, vol XIX (2): 101-106.

155. Hofbauer L,Brueck C,Singh S et al.Osteoporosis in Patients with Diabetes Mellitus.J Bone Miner Res 2007;22:1317–1328.

156. Mastrandrea LD, Wactawski-Wende J, Donahue RP et al. Young women with type 1 diabetes have lower bone mineral density that persists over time. Diab Care 2008;31:1729-35.

157. Valerio G, Del Puente A, Esposito-del Puente A, Buono P, Mozzillo E, Franzese A. The lumbar bone mineral density is affected by long-term poor metabolic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus. Hormone Research in Paediatrics. 2002 Nov 29;58(6):266-72.

158. Heap J, Murray MA, Miller SC, Jalili T, Moyer-Mileur LJ. Alterations in bone characteristics associated with glycemic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus. The Journal of pediatrics. 2004 Jan 1;144(1):56-62.

159. Gunczler P, Lanes R, Paoli M, Martinis R, Villaroel O, Weisinger JR. Decreased bone mineral density and bone formation markers shortly after diagnosis of clinical type 1 diabetes mellitus. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 2001 May;14(5):525-8.

160. Janner M, Saner C. Impact of Type 1 Diabetes Mellitus on Bone Health in Children. Hormone research in paediatrics. 2022 Aug 4;95(3):205-14.

161. Loxton P, Narayan K, Munns CF, Craig ME. Bone mineral density and type 1 diabetes in children and adolescents: a meta-analysis. Diabetes Care. 2021;44(8):1898–905.

162. Roe TF, Mora S, Costin G, Kaufman F, Carlson ME, Gilsanz V. Vertebral bone density in insulin-dependent diabetic children. Metabolism. 1991 Sep 1;40(9):967-71.

163. Gunczler P, Lanes R, Paz-Martinez V, Martinis R, Esaa S, Colmenares V, Weisinger JR. Decreased lumbar spine bone mass and low bone turnover in children and adolescents with insulin dependent diabetes mellitus followed longitudinally. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 1998 May 1;11(3):413-20.

164. Hough FS.Alterations of bone and mineral metabolism in diabetes mellitus. II. Clinical studies in 206 patients with type I diabetes mellitus. South African Med J 1987;72:120–126.

165. Santiago JV, McAllister WH, Ratzak SK er al. Decreased cortical thickness and osteopenia in children with diabetes mellitus. J Clin Endocn'nol Melab 1977; 45: 845-847.

166. Hui SL, Epstein S, Johnston JR CC. A prospective study of bone mass in patients with type I diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1985 Jan 1;60(1):74-80.

167. Léger J, Mercat I, Alberti C, Chevenne D, Armoogum P, Tichet J, Czernichow P. The relationship between the GH/IGF-I axis and serum markers of bone turnover metabolism in healthy children. European Journal of Endocrinology. 2007 Nov 1;157(5):685-92.

168. Gámez MD, Pérez JM, García MJ, García RM, Martín FA, Cano RP. Evolución de la masa ósea durante la infancia y adolescencia en niños con diabetes mellitus tipo 1. Medicina Clinica. 2008 Apr 1;130(14):526-30.)

169. De Souza KS, Ururahy MA, da Costa Oliveira YM, Loureiro MB, da Silva HP, Bortolin RH, Melo dos Santos F, Luchessi AD, Neto JJ, Arrais RF, Hirata RD. Low bone mineral density in patients with type 1 diabetes: association with reduced expression of IGF1, IGF1R and TGF B 1 in peripheral blood mononuclear cells. Diabetes/metabolism research and reviews. 2016 Sep;32(6):589-95.

170. Moyer-Mileur LJ, Dixon SB, Quick JL, Askew EW, Murray MA. Bone mineral acquisition in adolescents with type 1 diabetes. J Pediatr. 2004; 145:662–669.

171. Campos-Pastor MM, Lopez-Ibarra PJ, Escobar-Jimenez F, Serrano-Pardo MD, Garcia-Cervigon AG. Intensive insulin therapy and bone mineral density in type 1 diabetes mellitus: a prospective study. Osteopor Int 2000;11:455-9.

172. Salvatoni A, Mancassola G, Biasoli R, Cardani R, Salvatore S, Broggini M, Nespoli L. Bone mineral density in diabetic children and adolescents: a follow-up study. Bone. 2004 May 1;34(5):900-4.

173. Liu EY, Wactawski-Wende J, Donahue RP, Dmochowski J, Hovey KM, Quattrin T. Does low bone mineral density start in post-teenage years in women with type 1 diabetes?. Diabetes care. 2003 Aug 1;26(8):2365-9.

174. Joshi A, Varthakavi P, Chadha M, Bhagwat N. A study of bone mineral density and its determinants in type 1 diabetes mellitus. Journal of osteoporosis. 2013 Mar 31;2013.

175. Ersoy B, Goksen D, Darcan S, Mavi E, Ozturk C. Evaluation of bone mineral density in children with diabetes mellitus. Indian J Pediatr 1999;66:375–379.

176. McNair P, Christiansen C, Christensen MS, Madsbad S, Faber OK, Binder C, Transbøl I. Development of bone mineral loss in insulin-treated diabetes: a 1 1/2 years follow-up study in sixty patients. European Journal of Clinical Investigation. 1981 Feb;11(1):55-9.

177. Clausen P, Feldt-Rasmussen B, Jacobsen P, Rossing K, Parving HH, Nielsen PK, Feldt-Rasmussen U, Olgaard K. Microalbuminuria as an early indicator of osteopenia in male insulin-dependent diabetic patients. Diabetic medicine. 1997 Dec;14(12):1038-43.

178. Петкова М,Дукова-Пенева П,Боянов М.Биохимични маркери на костен обмен при пациенти със захарен диабет тип 1.Ендокринология.2001,(6),1:30-34.

179. Misra M. Effects of hypogonadism on bone metabolism in female adolescents and young adults. Nature Reviews Endocrinology. 2012 Jul;8(7):395-404.

180. Saha MT, Sievänen H, Salo MK, Tulokas S, Saha HH. Bone mass and structure in adolescents with type 1 diabetes compared to healthy peers. Osteoporosis International. 2009 Aug 1;20(8):1401-6.

181. Bechtold S, Dirlenbach I, Raile K, Noelle V, Bonfig W, Schwarz HP. Early manifestation of type 1 diabetes in children is a risk factor for changed bone geometry: data using peripheral quantitative computed tomography. Pediatrics. 2006 Sep 1;118(3):e627-34.

182. Casazza K, Hanks LJ, Clines GA, Tse HM, Eberhardt AW. Diabetes- related impairment in bone strength is established early in the life course. World J Diabetes 2013; 4(4): 145-150.

183. Xu MT,Sun S,Zhang L et al.Diabetes mellitus affects the biomechanical function of the callus and the expression of TGF-beta1 and BMP2 in an early stage of fracture healingBrazilian Journal of Medical and Biological Research (2016) 49(1): e4736.

184. Fowlkes JL, Bunn C, Thrailkill KM. Contributions of the insulin/insulin-like growth factor-1 axis to diabetic osteopathy. Journal of diabetes & metabolism. 2011 Nov 11;1(3).

185. Brandi ML. Bone health and diabetes. Medicographia. 2010;32(4):364-9.

186. Raska I Jr,Broulik P.The Impact of Diabetes Mellitus on Skeletal Health: An Established Phenomenon with Inestablished Causes? Prague Medical Report 2005,(106), 2: 137–148.

187. Hourd P, Edge JA, Dunger DB, Dalton N, Edwards R. Urinary growth hormone excretion during puberty in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. Diabet Med. 1991; 8:237–242.

188. Аршинкова М, Копривarова К, Кирилов Г, Абаджиева З.Серумни нива на растежния хормон и инсулиноподобния растежен фактор-1 при деца със захарен диабет тип 1.Ендокринология.2003,(8),2:79-85 .

189. Radetti G, Paganini C, Antoniazzi F, Pasquino B, Valentini R, Gentili L, Tato L. Growth hormone-binding proteins, IGF-I and IGF-binding proteins in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. Horm Res. 1997;47:110–115.

190. Kemink SA, Hermus AR, Swinkels LM, Lutterman JA, Smals AG. Osteopenia in insulindependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology. J Endocrinol Invest. 2000; 23:295–303.

191. Leger J, Mercat I, Alberti C et al. The Relationship Between the Growth Hormone-IGF-1 Axis and Serum Markers of Bone Turnover Metabolism in Healthy Children.European Journal of Endocrinology.2007,157:685-692.

192. Bouillon R, Bex M, van Herck E, et al. Influence of age, sex, and insulin on osteoblast function: osteoblast dysfunction in diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 1995; 80(4): 1194–1202.

193. Amin R, Bahu TK, Widmer B, Dalton RN, Dunger DB. Longitudinal relation between limited joint mobility, height, insulin-like growth factor 1 levels, and risk of developing microalbuminuria: the Oxford Regional Prospective Study. Arch Dis Child 2005; 90(10): 1039–1044.

194. Amin R, Schultz C, Ong K, et al. Low IGF-1 and elevated testosterone during puberty in subjects with T1D developing microalbuminuria in comparison to normoalbuminuric

control subjects. The Oxford Regional Prospective Study. Diabetes Care 2003; 26(5): 1456–1461.

195. Janssen JA, Lamberts SW. Circulating IGF-I and its protective role in the pathogenesis of diabetic angiopathy. Clin Endocrinol (Oxf) 2000; 52(1): 1–9.

196. Payne JF, Tangpricha V, Cleveland J, Lynn MJ, Ray R, Srivastava SK. Serum insulin-like growth factor-I in diabetic retinopathy. Mol Vis 2011; 17: 2318–2324.

197. Agudo J, Ayuso E, Jimenez V, Salavert A, Casellas A, Tafuro S, et al. IGF-I mediates regeneration of endocrine pancreas by increasing beta cell replication through cellcycle protein modulation in mice. Diabetologia 2008;51:1862–72.

198. Downie E, Craig ME, Hing S, Cusumano J, Chan AKF, Donaghue

199. KC. Continued reduction in the prevalence of retinopathy in adolescents with type 1 diabetes: role of insulin therapy and glycemic control. Diabetes Care. 2011;34(11):2368–2373.

200. Dede AD, Tournis S, Dontas I, Trovas G. Type 2 diabetes mellitus and fracture risk. Metabolism. 2014 Dec 1;63(12):1480-90.

201. Danne T, Nimri R, Battelino T, Bergenstal RM, Close KL, DeVries JH, Garg S, Heinemann L, Hirsch I, Amiel SA, Beck R. International consensus on use of continuous glucose monitoring. Diabetes care. 2017 Dec 1;40(12):1631-40.

202. Katsarou A, Gudbjörnsdottir S, Rawshani A, Dabelea D, Bonifacio E, Anderson BJ, Jacobsen LM, Schatz DA, Lernmark Å. Type 1 diabetes mellitus. Nature reviews Disease primers. 2017 Mar 30;3(1):1-7.

203. Nathan DM, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M, Rand L, Siebert C. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The New England journal of medicine. 1993 Sep 1;329(14):977-86.

204. Nathan, D.M.; Cleary, P.A.; Backlund, J.-Y.C.; Genuth, S.M.; Lachin, J.M.; Orchard, T.J.; Raskin, P.; Zinman, B.Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications(DCCT/EDIC) Study Research Group Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. N. Engl. J. Med. 2005, 353, 2643–2653.

205. Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular

complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. Bmj. 2000 Aug 12;321(7258):405-12.)

206. Shanbhogue VV, Hansen S, Frost M, Brixen K, Hermann AP. Bone disease in diabetes: another manifestation of microvascular disease?. The lancet Diabetes & endocrinology. 2017 Oct 1;5(10):827-38.

207. Ringe JD, Kuhlencordt F, Kühnau J Jr. Mineral content of bone in long-standing diabetes: densitometry of "diabetic osteopathy". Dtsch Med Wochenschr 1976; 101: 280–82 (in German)

208. Shanbhogue VV, Hansen S, Frost M, Jorgensen NR, Hermann AP, Henriksen JE, Brixen K. Bone Geometry, Volumetric Density, Microarchitecture, and Estimated Bone Strength Assessed by HRpQCT in Adult Patients With Type 1 Diabetes Mellitus. Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research. 2015; 30:2188–2199.

209. Eller-Vainicher C, Zhukouskaya VV, Tolkachev YV, et al. Low bone mineral density and its predictors in type 1 diabetic patients evaluated by the classic statistics and artificial neural network analysis.Diabetes Care 2011; 34: 2186–91.

210. Muñoz-Torres M, Jódar E, Escobar-Jiménez F, López-Ibarra PJ,Luna JD. Bone mineral density measured by dual X-ray absorptiometry in Spanish patients with insulin-dependent diabetes mellitus. Calcif Tissue Int 1996; 58: 316–19.

211. Kayath MJ, Dib SA, Vieira JG. Prevalence and magnitude of osteopenia associated with insulin-dependent diabetes mellitus. J Diabetes Complications 1994; 8: 97–104.

212. Mathiassen B, Nielsen S, Johansen JS, et al. Long-term bone loss in insulin-dependent diabetic patients with microvascular complications. J Diabet Complications 1990; 4: 145–49.

213. Wang Q, Klein R, Moss SE, et al. The influence of combined kidney-pancreas transplantation on the progression of diabetic retinopathy. A case series. Ophthalmology 1994; 101: 1071–76.

214. Sanguineti R, Storace D, Monacelli F, Federici A, Odetti P. Pentosidine effects on human osteoblasts in vitro. Ann NY Acad Sci 2008; 1126: 166–72.).

215. Pak JW, Herbst A, Bua E, Gokey N, McKenzie D, Aiken JM.Mitochondrial DNA mutations as a fundamental mechanism in physiological declines associated with aging. Aging Cell 2003; 2: 1–7.

216. Karagüzel G, Akçurin S, Ozdem S, Boz A, Bircan I. Bone mineral density and alterations of bone metabolism in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. J Pediatr Endocrinol Metab 2006; 19: 805–14.

217. Vojtková J, Ciljaková M, Vojarová L, Janíková K, Michnová Z, Sagiová V. Hypovitaminosis D in children with type 1 diabetes mellitus and its influence on biochemical and densitometric parameters. Acta Medica 2012; 55: 18–22.

218. Maddaloni E, D'Eon S, Hastings S, Tinsley LJ, Napoli N, Khamaisi M, Bouxsein ML, Fouda SM, Keenan HA. Bone health in subjects with type 1 diabetes for more than 50 years. Acta diabetologica. 2017 May;54:479-88.

219. Hamilton EJ, Drinkwater JJ, Chubb SP, Rakic V, Kamber N, Zhu K, Prince RL, Davis WA, Davis TM. A 10-year prospective study of bone mineral density and bone turnover in males and females with type 1 diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2018 Sep;103(9):3531-9.

220. Hamann C,Kirschner S,Gunther KP.Bone,sweet bone-osteoporotic fractures in diabetes mellitus.Nat. Rev. Endocrinol2012.8(5):297-305.

221. Clausen P, Feldt-Rasmussen B, Jacobsen P, Rossing K, Parving HH, Nielsen PK, Feldt-Rasmussen U, Olgaard K. Microalbuminuria as an early indicator of osteopenia in male insulin-dependent diabetic patients. Diabetic medicine. 1997 Dec;14(12):1038-43.

222. King GL, Loeken MR. Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. Histochem Cell Biol 2004; 122(4): 333– 338.

223. Wongdee K, Charoenphandhu N. Osteoporosis in diabetes mellitus: Possible cellular and molecular mechanisms. World J Diabetes 2011; 2(3): 41-48.

224. Baum T, Yap SP, Karampinos DC, Nardo L, Kuo D, Burghardt AJ, Masharani UB, Schwartz AV, Li X, Link TM. Does vertebral bone marrow fat content correlate with abdominal adipose tissue, lumbar spine bone mineral density, and blood biomarkers in women with type 2 diabetes mellitus? J Magn Reson Imaging. 2012;35(1):117–124.

225. Kume S, Kato S, Yamagishi S, Inagaki Y, Ueda S, Arima N, Okawa T, Kojiro M, Nagata K. Advanced glycation end-products attenuate human mesenchymal stem cells and prevent cognate differentiation into adipose tissue, cartilage, and bone. J Bone Miner Res. 2005; 20:1647–1658.

226. Katayama Y, Akatsu T, Yamamoto M, Kugai N, Nagata N. Role of nonenzymatic glycosylation of type I collagen in diabetic osteopenia. J Bone Miner Res. 1996; 11:931–937.

227. Botolin S, McCabe LR. Chronic hyperglycemia modulates osteoblast gene expression throughosmotic and non-osmotic pathways. J Cell Biochem. 2006; 99:411–424.

228. Brandao-Burch A, Utting JC, Orriss IR, Arnett TR. Acidosis inhibits bone formation by osteoblasts in vitro by preventing mineralization. Calcif Tissue Int. 2005; 77:167–174.

229. Saito M,Fujii K,Mori Y et al. Role of collagen enzymatic and glycation induced cross-links as a determinant of bone quality in spontaneously diabetic WBN/Kob rats.Osteoporos Int (2006) 17:1514–1523.

230. Schwartz AV, Garnero P, Hillier TA, Sellmeyer DE, Strotmeyer ES, Feingold KR, Resnick HE, Tylavsky FA, Black DM, Cummings SR, Harris TB, Bauer DC ; Health, Aging, and Body Composition Study. Pentosidine and increased fracture risk in older adults with type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab 2009; 94 (7): 2380–2386.

231. Schwarz P, Sørensen HA, Momsen G, Friis T, McNair P. Hypocalcemia and parathyroid hormone responsiveness in diabetes mellitus: a tri-sodium-citrate clamp study. European Journal of Endocrinology. 1992 Mar 1;126(3):260-3.

232. Polymeris AD, Doumouchtsis KK, Giagourta I, Karga H. Effect of an oral glucose load on PTH, 250HD3, calcium, and phosphorus homeostasis in postmenopausal women. Endocrine Research. 2011 Jan 1;36(2):45-52.

233. Weber DR, O'Brien KO, Schwartz GJ. Evidence of disordered calcium metabolism in adolescent girls with type 1 diabetes: an observational study using a dual-stable calcium isotope technique. Bone. 2017 Dec 1;105:184-90.

234. Gilbertson HR, Reed K, Clark S, Francis KL, Cameron FJ. An audit of the dietary intake of Australian children with type 1 diabetes. Nutrition & Diabetes. 2018 Mar 9;8(1):10.

235. Mayer-Davis E, Nichols M, Liese A, Bell R, Dabelea D, Johansen J, Pihoker C, Rodriguez B (2006) Thomas J, Williams D: Dietary intake among youth with diabetes: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. J Am Diet Assoc 106:689–697.

236. Rivoira M, Rodrı´guez V, Lo´pez MP, Tolosa de Talamoni N (2015) Time dependent changes in the intestinal Ca2? Absorption in rats with type I diabetes mellitus are associated with alterations in the intestinal redox state. Biochim Biophys Acta 1852:386–394.

237. Nyomba BL, Verhaeghe J, Thomasset M, Lissens W, Bouillon R. Bone mineral homeostasis in spontaneously diabetic BB rats. I. Abnormal vitamin D metabolism and impaired active intestinal calcium absorption. Endocrinology. 1989 Feb 1;124(2):565-72.

238. Vatanparast H, Bailey DA, Baxter-Jones AD, Whiting SJ. Calcium requirements for bone growth in Canadian boys and girls during adolescence. British journal of nutrition. 2010 Feb;103(4):575-80.

239. Abrams SA, Stuff JE. Calcium metabolism in girls: current dietary intakes lead to low rates of calcium absorption and retention during puberty. The American journal of clinical nutrition. 1994 Nov 1;60(5):739-43.

240. Wongdee K, Krishnamra N, Charoenphandhu N. Derangement of calcium metabolism in diabetes mellitus: negative outcome from the synergy between impaired bone turnover and intestinal calcium absorption. The Journal of Physiological Sciences. 2017 Jan;67(1):71-81.

241. Brown IR, McBain AM, Chalmers J, Campbell IW, Brown ER, Lewis MJ. Sex difference in the relationship of calcium and magnesium excretion to glycaemic control in type 1 diabetes mellitus. Clin Chim Acta. 1999;283(1–2):119–28.

242. Thalassinos NC, Hadjiyanni P, Tzanela M, Alevizaki C, Philokiprou D. Calcium metabolism in diabetes mellitus: effect of improved blood glucose control. Diabetic medicine. 1993 May;10(4):341-4.

243. Neumann T, Sämann A, Lodes S, Kästner B, Franke S, Kiehntopf M, Hemmelmann C, Lehmann T, Müller UA, Hein G, Wolf G. Glycaemic control is positively associated with prevalent fractures but not with bone mineral density in patients with Type 1 diabetes. Diabetic Medicine. 2011 Jul;28(7):872-5.

244. Pedrazzoni, M., Ciotti, G., Pioli, G., Girasole, G., Davoli, L., Palummeri, E., et al. (1989). Osteocalcin levels in diabetic subjects. Calcif. Tissue Int. 45, 331–336.

245. McNair P, Christensen MS, Madsbad S, Christiansen C, Transbøl I. Hypoparathyroidism in diabetes mellitus. Acta endocrinologica. 1981 Jan 1;96(1):81-6.

246. Galluzzi F, Stagi S, Salti R, Toni S, Piscitelli E, Simonini G, Falcini F, Chiarelli F. Osteoprotegerin serum levels in children with type 1 diabetes: a potential modulating role in bone status. European Journal of Endocrinology. 2005 Dec 1;153(6):879-85.

247. Simmons J,Raines M,Ness K et al. Metabolic control and bone health in adolescents with type 1 diabetes International Journal of Pediatric Endocrinology 2011, 2011:13.

248. Paula FJ, Horowitz MC, Rosen CJ. Novel insights into the relationship between diabetes and osteoporosis. Diabetes/metabolism research and reviews. 2010 Nov;26(8):622-30.

249. McNair P. Christiansen C. Madsbad S. Lauritzen E. Faber OK. Binder C, Transbol I. Hypomagnesemia. a risk factor in diabetic retinopathy. Diabetes 1978:27:1075-7.

250. Mather HM. Nisbeth JA. Burton OH. Poston CJ. Bland JM. Bailey PA. Pilkington TRE. Hypomagnesemia in diabetes. Clin Chem Acta 1979:95:2 3 5-42.

251. Paula FJ, Lanna CM, Shuhama T, Foss MC. Effect of metabolic control on parathyroid hormone secretion in diabetic patients. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 2001 Sep;34(9):1139-4.

252. Greer RM, Portelli SL, Hung BS, Cleghorn GJ, McMahon SK, Batch JA, Conwell LS. Serum vitamin D levels are lower in Australian children and adolescents with type 1 diabetes than in children without diabetes. Pediatric diabetes. 2013 Feb;14(1):31-41.

253. Al-Qadreh A, Voskaki I, Kassiou C, Athanasopoulou H, Sarafidou E, Bartsocas CS. Treatment of osteopenia in children with insulin-dependent diabetes mellitus: The effect of 1α-hydroxyvitamin D 3. European journal of pediatrics. 1996 Jan;155:15-7.

254. Moester MJ, Papapoulos SE, Löwik CW, Van Bezooijen RL. Sclerostin: current knowledge and future perspectives. Calcified tissue international. 2010 Aug;87:99-107.

255. Mirza FS, Padhi ID, Raisz LG, Lorenzo JA 2010 Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab 95:1991–1997.

256. Gortázar AR, Ardura JA. Osteocytes and diabetes: altered function of diabetic osteocytes. Current osteoporosis reports. 2020 Dec;18:796-802.

257. Schölin A, Siegbahn A, Lind L, Berne C, Sundkvist G, Björk E, Karlsson FA. CRP and IL-6 concentrations are associated with poor glycemic control despite preserved β-cell function during the first year after diagnosis of type 1 diabetes. Diabetes/metabolism research and reviews. 2004 May;20(3):205-10.

258. Van Sickle BJ, Simmons J, Hall R, Raines M, Ness K, Spagnoli A. Increased circulating IL-8 is associated with reduced IGF-1 and related to poor metabolic control in adolescents with type 1 diabetes mellitus. Cytokine. 2009; 48:290–294.

259. Gilbert L, He X, Farmer P, Boden S, Kozlowski M, Rubin J, Nanes MS. Inhibition of osteoblast differentiation by tumor necrosis factor-α. Endocrinology. 2000 Nov 1;141(11):3956-64.

260. Fowlkes JL, Bunn RC, Liu L, Wahl EC, Coleman HN, et al. Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) and RUNX2-related osteogenic genes are down-regulated throughout osteogenesis in type 1 diabetes mellitus. Endocrinology. 2008; 149:1697–1704).

261. Yu EW, Greenblatt L, Eajazi A, Torriani M, Bredella MA.Marrow adipose tissue composition in adults with morbid obesity. Bone. 2017;97:38–42.

262. Topaloglu AK, Yildizdas D, Yilmaz HL, Mungan NO, Yuksel B,Ozer G. Bone calcium changes during diabetic ketoacidosis: a comparison with lactic acidosis due to volume depletion. Bone.2005;37(1):122–127.

263. Huynh T, Greer R, Nyunt O et al. The association between ketoacidosis and 25(OH)-vitamin D3 levels at presentation in children with type 1 diabetes mellitus. Pediatr Diabetes 2009: 10: 38–43.

264. Danielson KK, Palta M, Allen C, D'Alessio DJ. The association of increased total glycosylated hemoglobin levels with delayed age at menarche in young women with type 1 diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2005 Dec 1;90(12):6466-71.

265. Anai T, Miyazaki F, Tomiyasu T, Matsuo T. Risk of irregular menstrual cycles and low peak bone mass during early adulthood associated with age at menarche. Pediatrics International. 2001 Oct 5;43(5):483-8.

266. Poretsky L, Grigorescu F, Seibel M, Moses AC, Flier JS 1985 Distribution and characterization of insulin and insulin-like growth factor I receptors in normal human ovary. J Clin Endocrinol Metab 61:728 –734.

267. Griffin ML, South SA, Yankov VI, Booth Jr RA, Asplin CM, Veldhuis JD, Evans WS 1994 Insulin-dependent diabetes mellitus and menstrual dysfunction. Ann Med 26:331–340 Griffin ML, South SA, Yankov VI, Booth Jr RA, Asplin CM, Veldhuis JD, Evans WS 1994 Insulin-dependent diabetes mellitus and menstrual dysfunction. Ann Med 26:331–340.

268. Snajderova M, Martinek J, Horejsi J, Novakova D, Lebl J, Kolouskova S 1999 Premenarchal and postmenarchal girls with insulin-dependent diabetes mellitus: ovarian and other organ-specific autoantibodies, menstrual cycle. J Pediatr Adolesc Gynecol 12:209 –214.

269. Frisch RE. Fatness and the onset and maintenance of menstrual cycles. Research in reproduction. 1977 Nov;9(6):1.

270. Kordonouri O, Klingensmith G et al. Other complications and diabetes-associated conditions in children and adolescents. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014 Compendium. Vol 15,(20):270–278.

271. Fröhlich-Reiterer E, Elbarbary NS, Simmons K, Buckingham B, Humayun KN, Johannsen J, Holl RW, Betz S, Mahmud FH. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: Other complications and associated conditions in children and adolescents with type 1 diabetes. Pediatric diabetes. 2022 Dec;23(8):1451-67.

272. Gil-Díaz MC, Raynor J, O'Brien KO, Schwartz GJ, Weber DR. Systematic review: associations of calcium intake, vitamin D intake, and physical activity with skeletal outcomes in people with Type 1 diabetes mellitus. Acta diabetologica. 2019 Oct;56:1091-102.

273. Galindo-Zavala R, Bou-Torrent R, Magallares-López B, Mir-Perelló C, Palmou-Fontana N, Sevilla-Pérez B, Medrano-San Ildefonso M, González-Fernández MI, Román-Pascual A, Alcañiz-Rodríguez P, Nieto-Gonzalez JC. Expert panel consensus recommendations for diagnosis and treatment of secondary osteoporosis in children. Pediatric Rheumatology. 2020 Dec;18:1-4.

274. Bjornstad P, Dart A, Donaghue KC, Dost A, Feldman EL, Tan GS, Wadwa RP, Zabeen B, Marcovecchio ML. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2022: Microvascular and macrovascular complications in children and adolescents with diabetes. Pediatric diabetes. 2022 Dec;23(8):1432-50.

275. Българско дружество по ендокринология. Препоръки за диагностика, профилактика и лечение на дефицит и недостатъчност на витамин D. Министерство на здравеопазването. София, 2013, 43-45.

276. Maggio AB, Rizzoli RR, Marchand LM, Ferrari S, Beghetti M, Farpour-Lambert NJ. Physical activity increases bone mineral density in children with type 1 diabetes. Medicine & Science in Sports & Exercise. 2012 Jul 1;44(7):1206-11.

277. Leclair E, de Kerdanet M, Riddell M et al.Type 1 Diabetes and Physical Activity in Children and Adolescents. J Diabetes Metab S 2013,10:004.

278. Станимирова Н, Пенева Л, Балтова Ц. Физическо и пубертетно развитие на български деца от 0 до 18-годишна възраст.София, 2007, 96-100.

279. Kuczmarski RJ. CDC growth charts: United States. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics; 2000.

280. Moore M, Braid S et al. Daily calcium intake in male children and adolescents obtained from the rapid assessment method and the 24-hour recall method. Nutrition Journal 2007, 6:24.

281. Българско дружество по ендокринология. Препоръки за добра практика по остеопороза. София, 2013, 36.

282. Rauchenzauner M, Schmid A, Heinz-Erian P, Kapelari K, Falkensammer G, Griesmacher A, Finkenstedt G, Hogler W. Sex-and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2007 Feb 1;92(2):443-9.

283. https://www. kidney.org/professionals/kdoqi/gfr_calculatorped.

284. Борисова А-М, Шинков А, Влахов Й, Даковска Л, Тодоров Т, Свинаров Д, Касабова Л. Определяне на оптималното ниво на 25/OH/D в България. Ендокринология 2012, 3, 3, 135-142.

285. Chiarelli F, Giannini C, Mohn A. Growth, growth factors and diabetes. European journal of endocrinology. 2004 Nov 1;151(Suppl_3):U109-17.

286. Liu J, Ren ZH, Qiang H, Wu J, Shen M, Zhang L, Lyu J. Trends in the incidence of diabetes mellitus: results from the Global Burden of Disease Study 2017 and implications for diabetes mellitus prevention. BMC public health. 2020 Dec;20:1-2.

287. De Onis M, Blössner M, Borghi E. Global prevalence and trends of overweight and obesity among preschool children. Am J Clin Nutr. 2010; 92(5): 1257-1264.

288. Maffeis C, Birkebaek NH, Konstantinova M, Schwandt A, Vazeou A, Casteels K, Jali S, Limbert C, Pundziute-Lycka A, Toth-Heyn P, de Beaufort C. Prevalence of underweight, overweight, and obesity in children and adolescents with type 1 diabetes: Data from the international SWEET registry. Pediatric diabetes. 2018 Nov;19(7):1211-20.

289. Madsen JO, Herskin CW, Zerahn B, Jørgensen NR, Olsen BS, Pociot F, Johannesen J. Decreased markers of bone turnover in children and adolescents with type 1 diabetes. Pediatric Diabetes. 2020 May;21(3):505-14.

290. Hygum K, Starup-Linde J, Harsløf T, Vestergaard P, Langdahl BL. Mechanisms in endocrinology: diabetes mellitus, a state of low bone turnover—a systematic review and meta-analysis. Eur J Endocrinol. 2017;176(3):R137-R157.

291. Khoshhal KI, Sheweita SA, Al-Maghamsi MS, Habeb AM. Does type 1 diabetes mellitus affect bone quality in prepubertal children? J Taibah Univ Med Sci. 2015; 10(3): 300-305.

292. Maggio AB, Ferrari S, Kraenzlin M, Marchand LM, Schwitzgebel V, Beghetti M, Rizzoli R, Farpour-Lambert NJ. Decreased bone turnover in children and adolescents with well controlled type 1 diabetes. Journal of Pediatric Endocrinology & Metabolism. 2010;23:697-707.

293. Jehle PM, Jehle DR, Mohan S, Bohm BO. Serum levels of insulin-like growth factor system components and relationship to bone metabolism in type 1 and type 2 diabetes mellitus patients. J Endocrinol 1998;159:297–306.

294. Dills DG, Allen C, Palta M, Zaccaro DJ, Klein R & D'Alessio D 1995 Insulin-like growth factor-I is related to glycemic control in children and adolescents with newly diagnosed insulin-dependent diabetes. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 80 2139–2143.

295. Alexopoulou O, Jamart J, Devogelaer JP, Brichard S, De Nayer P, Buysschaert M. Bone density and markers of bone remodeling in type 1 male diabetic patients. Diabetes & metabolism. 2006 Nov 1;32(5):453-8.

296. Starup-Linde J. Diabetes, biochemical markers of bone turnover, diabetes control, and bone. Frontiers in endocrinology. 2013 Mar 8;4:21.

297. Van Coeverden SC, Netelenbos JC, De Ridder CM, Roos JC, Popp-Snijders C, Delemarre-van de Waal HA. Bone metabolism markers and bone mass in healthy pubertal boys and girls. Clinical endocrinology. 2002 Jul;57(1):107-16.

298. Bachrach LK. Bone mineralization in childhood and adolescence. Current opinion in pediatrics. 1993 Aug;5(4):467-73.

299. Ambroszkiewicz J, Gajewska J, Rowicka G, Klemarczyk W, Chelchowska M. Assessment of biochemical bone turnover markers and bone mineral density in thin and normal-weight children. Cartilage. 2018 Jul;9(3):255-62.

300. Foresta C, Strapazzon G, De Toni L, Gianesello L, Calcagno A, Pilon C, Plebani M, Vettor R. Evidence for osteocalcin production by adipose tissue and its role in human

metabolism. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2010 Jul 1;95(7):3502-6.

301. Kord-Varkaneh H, Djafarian K, Khorshidi M, Shab-Bidar S. Association between serum osteocalcin and body mass index: a systematic review and meta-analysis. Endocrine. 2017 Oct;58:24-32.

302. Kawai M, Devlin MJ, Rosen CJ. Fat targets for skeletal health. Nature Reviews Rheumatology. 2009 Jul;5(7):365-72.

303. Hinoi E, Gao N, Jung DY, Yadav V, Yoshizawa T, Myers Jr MG, Chua Jr SC, Kim JK, Kaestner KH, Karsenty G. The sympathetic tone mediates leptin's inhibition of insulin secretion by modulating osteocalcin bioactivity. The Journal of cell biology. 2008 Dec 29;183(7):1235-42.

304. Cadogan J, Blumsohn A, Barker ME, Eastell R. A longitudinal study of bone gain in pubertal girls: anthropometric and biochemical correlates. Journal of Bone and Mineral Research. 1998 Oct;13(10):1602-12.

305. Mamoto M, Yamaguchi T, Nawata K, Yamauchi M, Sugimoto T. Decreased PTH levels accompanied by low bone formation are associated with vertebral fractures in postmenopausal women with type 2 diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2012 Apr 1;97(4):1277-84.

306. Hamilton EJ, Rakic V, Davis WA, Chubb SP, Kamber N, Prince RL, Davis TM. A five-year prospective study of bone mineral density in men and women with diabetes: the Fremantle Diabetes Study. Acta diabetologica. 2012 Apr 1;49(2):153-8.

307. Mora S, Pitukcheewanont P, Kaufman FR, Nelson JC, Gilsanz V. Biochemical markers of bone turnover and the volume and the density of bone in children at different stages of sexual development. J Bone Miner Res 1999;14:1664 – 71.

308. Gracia-Marco L, Ortega FB, Jiménez-Pavón D, Rodríguez G, Valtueña J, Díaz-Marténez ÁE, González-Gross M, Castillo MJ, Vicente-Rodríguez G, Moreno LA. Contribution of bone turnover markers to bone mass in pubertal boys and girls. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 2011 Dec 1;24(11-12):971-4.

309. Cianfarani S, Bonfanti R, Bitti ML, Germani D, Boemi S, Chiumello G, Boscherini B. Growth and insulin-like growth factors (IGFs) in children with insulin-dependent diabetes mellitus at the onset of disease: evidence for normal growth, age dependency of the IGF system alterations, and presence of a small (approximately 18-kilodalton) IGF-binding

protein-3 fragment in serum. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2000 Nov 1;85(11):4162-7.

310. Munoz MT, Barrios V, Pozo J, Argente J. Insulin-like growth factor I, its binding proteins 1 and 3, and growth hormone-binding protein in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus: clinical implications. Pediatr Res. 1996; 39:992–998.

311. Palta M, LeCaire TJ, Sadek-Badawi M, Herrera VM, Danielson KK. The trajectory of IGF-1 across age and duration of type 1 diabetes. Diabetes/metabolism research and reviews. 2014 Nov;30(8):777-83.

312. Rogers DG, Sherman LD, Gabbay KH. Effect of puberty on insulinlike growth factor I and HbA1 in type I diabetes. Diabetes Care. 1991; 14:1031–1035.

313. Krabbe S, Transbøl I, Christiansen C. Bone mineral homeostasis, bone growth, and mineralisation during years of pubertal growth: a unifying concept. Archives of disease in childhood. 1982 May 1;57(5):359-63.

314. Ilich JZ, Badenhop NE, Jelic T, Clairmont AC, Nagode LA, Matkovic V. Calcitriol and bone mass accumulation in females during puberty. Calcified Tissue International. 1997 Aug;61:104-9.

315. Amado JA. Cornez C. Obaya S. Otero M, Conzalez-Macias J. Calcium and calcitonin responses to calcium infusion in type I diabetes mellitus. Postgrad Med J 1987:63:249-52.; Fogh-Anderson N. McNair P, Moller-Petersen J. Madsbad S. Lowered serum ionized calcium in insulin treated diabetic subjects. Scand J Clin Lab Invest 1983,43(suppl 165):93-7.

316. Heath III H. Lambert PW. Service FJ. Arnaud SB. Calcium homeostasis in diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 1979:49:462-6.

317. Боянов М., Влахов Й., Кундурджиев А и съавтори. Паращитовидни жлези, витамин D и калциево-фосфорна обмяна. Клинични основи. Централна медицинска библиотека, МУ София, 2020 (2):57-86.

318. Matkovic V. Calcium metabolism and calcium requirements during skeletal modeling and consolidation of bone mass. The American journal of clinical nutrition. 1991;54(1):S245-60.

319. Matkovic V, Jelic T, Wardlaw GM, Ilich JZ, Goel PK, Wright JK, Andon MB, Smith KT, Heaney RP. Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the

prevention of osteoporosis. Inference from a cross-sectional model. The Journal of clinical investigation. 1994;93(2):799-808.

320. Matkovic V, Fontana D, Tominac C, Goel P, Chesnut 3rd CH. Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. The American journal of clinical nutrition. 1990 Nov 1;52(5):878-88.

321. Colton P, Olmsted M, Daneman D, Rydall A & Rodin G. Disturbed eating behavior and eating disorders in preteen and early teenage girls with type 1 diabetes: a case-controlled study. Diabetes Care 2004 27 1654-1659.

322. Ersoy B, Darcan S, Goksen D, Çoker M, Mavi E. Hypercalciuria and Hyperphosphaturia in Insulin Dependent Diabetes Mellitus. Turk J Endocrinol Metab. 1999;4:177-80.

323. Vezzoli, L. Soldati, G. Gambaro, Update on primary hypercalciuria from a genetic perspective, J. Urol. 179 (5) (2008) 1676–1682.

324. Singh HJ, Garland HO. A comparison of the effects of oral and intravenous glucose administration on renal calcium excretion in the rat. Quarterly Journal of Experimental Physiology: Translation and Integration. 1989 Jul 10;74(4):531-40.

325. Lee CT, Lien YH, Lai LW, Chen JB, Lin CR, Chen HC. Increased renal calcium and magnesium transporter abundance in streptozotocin-induced diabetes mellitus. Kidney international. 2006 May 2;69(10):1786-91.

326. Bognetti E, Riva MC, Bonfanti R, Meschi F, Viscardi M, Chiumello G. Growth changes in children and adolescents with short-term diabetes. Diabetes Care. 1998 Aug 1;21(8):1226-9.

327. Kashef S, Karamizadeh Z. Hypercalciuria, hyperphosphaturia and growth retardation in children with diabetes mellitus. Iran J Med Sci ; 2002 27 (1):11–14.

328. Napoli N, Chandran M, Pierroz DD, Abrahamsen B, Schwartz AV, Ferrari SL, IOF Bone and Diabetes Working Group. Mechanisms of diabetes mellitus-induced bone fragility. Nature Reviews Endocrinology. 2017 Apr;13(4):208-19.

329. Galluzzi F, Stagi S, Salti R, Toni S, Piscitelli E, Simonini G, Falcini F, Chiarelli F. Osteoprotegerin serum levels in children with type 1 diabetes: a potential modulating role in bone status. European Journal of Endocrinology. 2005 Dec 1;153(6):879-85.

330. Rude RK.Magnesium depletion and hypermagnesemia. In: Favas MJ (Editor), Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 3rd edn. Lippincot-Raven, Philadelphia;1996.

331. Wiske PS, Wentworth SM, Norton JA, Epstein S, Johnston CC.Evaluation of bone mass and growth in young diabetics. Metabolism 1982;31:848–854.

332. Elamin A, Tuvemo T. Magnesium and insulin-dependent diabetes mellitus. Diabetes research and clinical practice. 1990;10(3):203-9.

333. Lima MD, Pousada J, Barbosa C, Cruz T. Magnesium deficiency and insulin resistance in patients with type 2 diabetes mellitus. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. 2005 Dec;49(6):959-63.

334. Bierschenk L, Alexander J, Wasserfall C, Haller M, Schatz D et al. (2009) Vitamin D levels in subjects with and without type 1 diabetes residing in a solar rich environment. Diabetes care, 32,(11),1977-9.

335. Franceschi R, Longhi S, Cauvin V, Fassio A, Gallo G, Lupi F, et al. Bone Geometry, Quality, and Bone Markers in Children with Type 1 Diabetes Mellitus. Calcif Tissue Int. 2018;102(6):657–65.

336. Бакалов Д, Боянов М, Цакова А. Липса на корелация на нивата на серумния 25(OH)витамин Д с гликирания хемоглобин и липидния профил при пациенти със захарен диабет тип 2 на перорална терапия – предварителни данни.Acta Medica Bulgarica, 2014, 41(2), 12–19.

337. Борисова АМ, Шинков А, Влахов Й, Даковска Л, Тодоров Л, Свинаров Д, Касабова Л. Определяне на оптималното ниво на 25 (OH) витамин Д в България. Ендокринология. 2012;17(3):135-42.

338. Thiering E, Brüske I, Kratzsch J, Hofbauer LC, Berdel D, Von Berg A, Lehmann I, Hoffmann B, Bauer CP, Koletzko S, Heinrich J. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D and bone turnover markers in a population based sample of German children. Scientific reports. 2015 Dec 15;5:18138.

339. Божанова В. Проучване на серумно ниво на 25-OH- витамин Д и отражението му върху калциево-фосфорната обмяна при и костния метаболизъм на деца с идиопатичен нефротичен синдром (2016). Медицински университет, Плевен

340. Kositsawat J., V. L. Freeman, B. S. Gerber, S. Geraci (2010) Association of A1C levels with vitamin D status in US adults: data from the National Health and Nutrition Examination Survey, Diabetes care, 33(6), 1236–1238.

341. Ford E. S., G. Zhao, J. Tsai, C. Li . Associations between concentrations of vitamin D and concentrations of insulin, glucose, and HbA1c among adolescents in the United States, Diabetes Care, 2011; 34(3), 646–648.

342. Littorin B., Blom P, Scholin A et al. Lower levels ofplasma 25-hydroxyvitamin D among young adults atdiagnosis of autoimmune type 1 diabetes compared withcontrol subjects: results from the nationwide DiabetesIncidence Study in Sweden (DISS). Diabetologia 2006:49 (12): 2847–2852.

343. Pozzili P, Minfrinir S, Crino A et al. Low levels of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3in patients with newly diagnosed type 1 diabetes. Horm Metab Res 2005: 37: 680–683.

344. Kamel MM, Fouad SA, Salaheldin O, Abd El AE, Abd El-Fatah AI. Impact of vitamin D receptor gene polymorphisms in pathogenesis of Type-1 diabetes mellitus. International Journal of Clinical and Experimental Medicine. 2014;7(12):5505.

345. Rak K, Bronkowska M. Immunomodulatory effect of vitamin D and its potential role in the prevention and treatment of type 1 diabetes mellitus—A narrative review. Molecules. 2018 Dec 24;24(1):53.

346. Lee SW, Russell J, Avioli LV. 25-hydroxycholecalciferol to 1, 25-dihydroxycholecalciferol: conversion impaired by systemic metabolic acidosis. Science. 1977 Mar 11;195(4282):994-6.

347. Liu CS, Lin WY, Meng NH, Chen CC, Yang SY, Chen HJ, Lin CC, Li TC. Glycated hemoglobin level and risk of hip fracture in older people with type 2 diabetes: a competing risk analysis of Taiwan Diabetes Cohort Study. Journal of Bone and Mineral Research. 2015 Jul;30(7):1338-46.

348. Akhter MP, Drincic A, Recker RR. Trabecular bone histomorphometry in humans with type 1 diabetes mellitus. Bone. 2012 Jan 1;50(1):91-6.

349. Hashim AA, Ali SA, Emara IA, El-Hefnawy MH. CTX correlation to disease duration and adiponectin in Egyptian children with T1DM. J Med Biochem. 2016;35(1):34-42.

350. Pater A, Sypniewska G, Pilecki O. Biochemical markers of bone cell activity in children with type 1 diabetes mellitus. J Pediatr Endocrinol Metab. 2010; 23(1–2): 81-86.

351. Guarneri MP, Weber G, Gallia P, Chiumello G. Effect of insulin treatment on osteocalcin levels in diabetic children and adolescents. J Endocrinol Invest. 1993; 16(7): 505-509.

352. Bereket A, Lang CH, Blethen SL, Gelato MC, Fan J, Frost RA, Wilson TA. Effect of insulin on the insulin-like growth factor system in children with new-onset insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab. 1995; 80 (4):1312–1317.

353. Hedman CA, Frystyk J, Lindström T, Chen JW, Flyvbjerg A, Ørskov H, Arnqvist HJ. Residual β-cell function more than glycemic control determines abnormalities of the insulin-like growth factor system in type 1 diabetes. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2004 Dec 1;89(12):6305-9.

354. Frazer TE, White NH, Hough S, Santiago JV, McGee BR, Bryce G, Mallon J, Avioli LV.Alterations in circulating vitamin D metabolites in the young insulin-dependent diabetic. J Clin Endocrinol Metab 1981;53:1154–1159.

355. Leon M, Larrodera L, Lledo G, Hawkins F.Study of bone loss in diabetes mellitus type I. Diabetes Res Clin Pract 1989;6:237–242.

356. Flynn A. The role of dietary calcium in bone health. Proc Nutr Soc 2003 62 851-858.

357. Carpenter TO, DeLucia MC, Zhang JH, Bejnerowicz G, Tartamella L, Dziura J, Petersen KF, Befroy D, Cohen D. A randomized controlled study of effects of dietary magnesium oxide supplementation on bone mineral content in healthy girls. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2006;91(12):4866-72.

358. Higgins C. Ionized calcium. www.acutecaretesting.org

359. Shore RM, Chesney RW, Mazess RB, Rose PG, Bargman GJ. Osteopenia in juvenile diabetes. Calcified tissue international. 1981 Dec;33:455-7.

360. Chobot AP, Haffke A, Polanska J, Halaba ZP, Deja G, Jarosz-Chobot P, Pluskiewicz W. Bone status in adolescents with type 1 diabetes. Diabetologia. 2010 Aug 1;53(8):1754-60.

361. Zhu Q, Xu J, Zhou M, Lian X, Xu J, Shi J. Association between type 1 diabetes mellitus and reduced bone mineral density in children: a meta-analysis. Osteoporosis International. 2021 Jun;32:1143-52.

362. Bechtold S, Putzker S, Bonfig W, Fuchs O, Dirlenbach I, Schwarz HP. Bone size normalizes with age in children and adolescents with type 1 diabetes. Diabetes Care. 2007 Aug 1;30(8):2046-50.

363. Moyer-Mileur LJ, Slater H, Jordan KC, Murray MA. IGF-1 and IGF-binding proteins and bone mass, geometry, and strength: relation to metabolic control in adolescent girls with type 1 diabetes. J Bone Miner Res 2008;23:1884e91.