

Christiane Friedel Gisela Cloos
Dr. med.

Pyridinium-Crosslinks (glykosyliertes, freies und Gesamt-Pyridinolin sowie freies und Gesamt-Desoxypyridinolin) im Urin bei Gesunden und Patienten mit Diabetes mellitus

Geboren am 22. Juni 1971 in Maisières, Belgien

Reifeprüfung am 25. Mai 1990

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1991 bis SS 1999

Physikum am 01. April 1993

Klinisches Studium an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Praktisches Jahr an: Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, University Hospital Nottingham, GB

Staatsexamen am 19. Mai 1999 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Labormedizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. H. Schmidt-Gayk

Das Auftreten sekundärer Osteoporose bei Diabetes mellitus wird seit langem diskutiert. Studien stellten häufig Osteopenie bei Diabetes mellitus Typ I fest, die Tendenz zur vermehrten Knochendichte bei Diabetes mellitus Typ II.

Bei Diabetes mellitus zeichnet sich Kollagen durch erhöhte Stabilität und verlangsamten Umsatz aus, was bedingt sein kann durch einen vermehrten Gehalt an Quervernetzungsbestandteilen (Crosslinks), die während der Kollagenreifung einerseits durch nicht-enzymatische Glykierung und andererseits durch Lysyl-Oxidase-Vermittlung entstehen. Pyridinium-Crosslinks (Pyridinolin und Desoxypyridinolin) werden auf enzymatische Weise gebildet.

Pyridinium-Crosslinks wurden als spezifische Marker zur Bestimmung von Knochenresorption und -umsatz bei Diabetes mellitus untersucht. Glykosyliertes, freies und Pyridinolin nach Hydrolyse (Gesamt-Pyridinolin) sowie freies und Desoxypyridinolin nach Hydrolyse (Gesamt-Desoxypyridinolin) wurden im Urin von 154 Patienten mit Typ I-, Typ II- und sekundärem Diabetes mellitus, ferner von 99 Gesunden durch die Hochleistungs-Säulenflüssig-Chromatographie (HPLC) analysiert. Von besonderem Interesse war die Frage, ob Pyridinolin bei Diabetes mellitus vermehrt in glykosylierter Form, als Galaktosyl-Glucosyl-Pyridinolin, vorliegt.

Gesamt-Desoxypyridinolin wird bei Diabetes mellitus in signifikant erniedrigtem Ausmaß ausgeschieden, was eine geringere Knochenresorptionsrate und einen verminderten Knochenumsatz ('low turnover') bei Diabetes mellitus widerspiegelt. Besonders dieses Ergebnis betrifft den Kernpunkt einer seit langem bestehenden und kontroversen Diskussion.

Der von glykosyliertem Pyridinolin gebildete Anteil an der Gesamt-Pyridinolin-Konzentration ist bei Diabetes mellitus nicht vergrößert, sondern signifikant verringert, vermutlich bedingt durch verminderte Aktivität von Glykosyl-Transferasen oder renalen Proteasen. Herauszustellen ist deshalb der Unterschied zwischen Glykosylierung von Pyridinolin durch Glykosyl-Transferasen gegenüber der nicht-enzymatischen Glykierung von Proteinen. Letztere findet bei Diabetes mellitus infolge chronischer Hyperglykämie vermehrt statt. Es ergab sich keine Korrelation zwischen glykosyliertem Pyridinolin bzw. Pyridinium-Crosslinks und glykiertem Hämoglobin bzw. HbA_{1c}.

Die Ausscheidung der freien Crosslinks (freies Pyridinolin und freies Desoxypyridinolin) ist bei Diabetes mellitus signifikant erniedrigt. Ihr Anteil am Gesamt-Pyridinolin bzw. Gesamt-Desoxypyridinolin ist gegenüber dem der peptidgebundenen Pyridinium-Crosslinks im Verhältnis reduziert. Dies kann bedingt sein entweder durch verminderte Aktivität jener Enzyme, die die Bildung der freien Crosslinks aus den peptidgebundenen katalysieren, oder durch erhöhte Resistenz der peptidgebundenen Pyridinium-Crosslinks gegenüber dem enzymatischen Abbau.

Analog zu glykosyliertem Pyridinolin werden signifikant weniger freie Crosslinks bei Diabetikern mit stark ausgeprägter Glucosurie ausgeschieden im Vergleich zu Patienten ohne bzw. mit geringer Glucosurie. Dies läßt darauf schließen, daß stark ausgeprägte Glucosurie die Aktivität tubulärer Nierenenzyme einschränkt, welche am Abbau der peptidgebundenen Pyridinium-Crosslinks beteiligt sind, und somit zu einem verminderten Anteil an den finalen Produkten (glykosyliertem und freiem Pyridinolin sowie freiem Desoxypyridinolin) und zu erhöhtem Gehalt an peptidgebundenem Pyridinolin und Desoxypyridinolin führt. Es besteht jedoch kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Ausscheidung der Pyridinium-Crosslinks und der Nierenfunktion. Die Pyridinium-Crosslinks korrelieren nicht bzw. nur schwach mit Serumkreatinin, Urinkreatinin und Urinalbumin.

Normalerweise entspricht das molare Verhältnis von Gesamt-Pyridinolin zu Gesamt-Desoxypyridinolin im Urin in etwa demjenigen im Knochen. Bei Diabetikern ist das Verhältnis im Urin signifikant erhöht; eine vollständige Klärung der Ursache steht noch aus.

Im Gegensatz zu Studien, die Unterschiede in Knochendichte und -umsatz zwischen Diabetes mellitus Typ I und II fanden, unterscheiden sich die Untersuchungsergebnisse der Pyridinium-Crosslinks nicht signifikant bezüglich des Diabetes-Typs. Eine Ausnahme bildet das molare Verhältnis von Gesamt-Pyridinolin zu Gesamt-Desoxypyridinolin, welches bei Typ I-Diabetikern signifikant niedriger ist als bei Typ II-Diabetikern.

Die ermittelten Referenzbereiche von Gesamt-Pyridinolin und Gesamt-Desoxypyridinolin, die sich auf Spontanurinproben aus der Zeit zwischen 11⁰⁰ und 13⁰⁰ beziehen, stimmen mit denjenigen aus 24h-Sammelurin weitgehend überein. Dies legt nahe, daß Pyridinium-Crosslinks statt in 24h-Sammelurin in Urin der Mittagszeit gemessen werden können.

Die Ausscheidung der Pyridinium-Crosslinks differiert bei Diabetikern in mehrfacher Hinsicht von Gesunden und zeigt somit einen veränderten Kollagen- bzw. Knochenstoffwechsel bei Diabetes mellitus an.

Im Verlauf dieser Studie sind Fragen entstanden. Sie betreffen die Verteilung der Pyridinium-Crosslinks in Knochenkollagen, eine eventuell vermehrte Freisetzung von Pyridinolin aus Knorpel und die Beziehung zwischen einerseits Glucosurie und andererseits glykosyliertem bzw. freiem Pyridinolin sowie freiem Desoxypyridinolin. Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, daß die Messung der Pyridinium-Crosslinks im Urin mit der HPLC eine nicht-invasive und empfehlenswerte Methode ist, um Knochenresorption und -umsatz bei Diabetes mellitus spezifisch zu bestimmen.