

ZÁVĚREČNÁ ZPRÁVA GRANTU SPOLEČNOSTI AQUALIFE  
INSTITUTU

Název projektu:

*Hypomagnezurie a osmolalita u diabetické nefropatie.*

Vedoucí projektu:

RNDr. Mgr. Alena Tichá, Ph.D.

Řešitel:

Ing. Adéla Tomášová

Spolupracovníci:

MUDr. Radomír Hyšpler, Ph.D.

Marcela Vacková

Výzkum realizován v:

Ústav klinické biochemie a diagnostiky, Fakultní nemocnice Hradec  
Králové, Sokolská 581, Hradec Králové, 500 05

## Úvod

Diabetem mellitem jakožto jednou z civilizačních chorob v České republice trpí přibližně 950 000 lidí (1). Každý rok je nově diagnostikováno zhruba 10 000 případů tohoto onemocnění, diabetes melitus představuje čtvrtou nejčastější příčinu úmrtí (2). Naprostou většinu nemocných tvoří pacienti s diabetem 2. typu, diabetem mellitem 1. typu trpí zhruba 7 % nemocných (1).

V důsledku tohoto onemocnění se objevují nejprve akutní komplikace, mezi které patří hyperglykemické a hypoglykemické stavy a jejich následky, dále se mohou objevovat závažné pozdní komplikace, mezi které patří například diabetická retinopatie, neuropatie a nefropatie. Zhruba u 25 % diabetiků se nakonec vyvine onemocnění ledvin (3).

Diabetická nefropatie patří k jedné z hlavních příčin terminálního selhání ledvin. Při tomto onemocnění dochází k závažnému poškození bazální glomerulární membrány, což vede ke zvýšené permeabilitě glomerulární kapilární stěny pro makromolekuly (4). Mezi klinické projevy tohoto onemocnění patří hypertenze, narůstající proteinurie resp. albuminurie dále progresivní pokles glomerulární filtrace až terminální selhání ledvin. Hlavní léčebnou metodou při terminálním selhání ledvin jsou dialyzační strategie-hemodialýza, peritoneální dialýza, příp. transplantace ledvin. Prognóza dialyzovaných pacientů s diabetickou nefropatií vzniklou na podkladě diabetu není příznivá. V důsledku vysoké komorbidity a kumulace rizikových faktorů na dialyzační léčbě přežívá 30,2 % diabetiků po dobu 5 let (5).

Včasná diagnóza a léčba diabetické nefropatie má zásadní význam v prognóze nemocných. Recentní studie (6,7) popisují hypomagnezémii jako možný prediktor diabetické nefropatie. Zároveň bývá snížená hladina magnézia v séru diabetiků považována za jeden z hlavních důvodů rozvoje terminálního renálního onemocnění a hypomagnezémie je navíc také spojena s diabetickými komplikacemi jako je albuminurie (7). Vzhledem k tomu, že krevní plazma, tedy magnezémie, není vhodným ukazatelem hladiny tohoto intracelulárního minerálu, taktéž hodnoty v erytrocytech nemají validní výpovědní hodnotu, je v praxi často využíváno stanovení magnezurie, resp. poměr magnézia ku kreatininu v moči.

## **Cíle studie**

Cílem tohoto projektu bylo studium deficitu hořčíku, který by byl možným markerem u diabetické nefropatie, dále také hydratace u pacientů s diabetem mellitem a následné navržení optimálního rehydratačního schématu s obsahem hořčíku.

## **Charakteristika sledovaných skupin**

V rámci řešení projektu bylo postupováno dle harmonogramu přiloženého k přihlášce. Byla provedena monocentrická, prospektivní, otevřená kohortní studie. Všechny postupy a vyšetření byly schváleny Etickou komisí (Ref. číslo: 201912 SO4O, podle Helsinské deklarace (červen 1964 a jejích pozdějších novel). Studovanou skupinu tvořilo 258 pacientů starších 18 let s diagnózou diabetes mellitus. Tato skupina byla tvořena 92 ženami a 166 muži, věkový průměr skupiny je  $55,59 \pm 16,33$  let. A následně byla tato skupina ještě rozdělena na dvě podskupiny, a to na pacienty s diabetem a mikroalbuminurií, z celkového počtu 258 bylo těchto pacientů 100 -25 žen a 75 mužů, průměrný věk je  $57,4 \pm 14,60$  let. Druhou podskupinu tvořilo zbývajících 158 pacientů trpících diabetem, ale s negativní mikroalbuminurií, z tohoto počtu bylo 67 žen a 91 mužů, průměrný věk je  $54,41 \pm 17,21$  let.

Dále byla vyšetřena kontrolní skupina, kterou tvořilo 105 zdravých jedinců-55 žen a 50 mužů. Průměrný věk kontrolní skupiny je  $52,19 \pm 15,13$  let.

## **Metodika**

U studované skupiny pacientů s onemocněním diabetes mellitus byla vyšetřena mikroalbuminurie kvůli diagnostice diabetické nefropatie. Albumin v moči byl měřen na přístroji Optilite (The Binding Site Group Ltd, Birmingham, United Kingdom). Dále byla u těchto pacientů stanovena magnezurie pomocí přístroje Cobas 8000 (Roche AG, Basel, Switzerland) a osmolalita moče na přístroji Osmo Station Om-6050 (Arkray, Amstelveen, Netherland) kvůli zhodnocení stavu hydratace organismu. Také byly stanoveny hladiny kreatininu v moči, který posloužil k výpočtu poměrů ACR a Mg/Krea, glykovaný hemoglobin, glukóza, kreatinin v séru, urea a byla vypočtena glomerulární filtrace, tyto analyty byly taktéž stanoveny na přístroji Cobas 8000.

U zdravých jedinců tvořících kontrolní skupinu byla pro porovnání stanovena hladina hořčíku a kreatininu v moči.

Referenční rozmezí jednotlivých analytů pro moč jsou uvedena v tabulce 1.

**Tabulka 1:** Referenční rozmezí stanovených analytů v moči

Analyt	Referenční meze
Mg/Krea	> 0,25 *
ACR (g/mol) muž	0 - 2,5
ACR (g/mol) žena	0-3,5
OSM-U (mmol/kg) 19-30 let	50-1028
OSM-U (mmol/kg) 30-40 let	50-970
OSM-U (mmol/kg) 40-50 let	50-912
OSM-U (mmol/kg) 50-60 let	50-854
OSM-U (mmol/kg) > 60 let	50-796

\* Mg/Krea < 0,1 – nedostatek hořčíku

Mg/Krea 0,1 – 0,25 – pravděpodobný nedostatek hořčíku

## Statistika

Získaná data byla statisticky zpracována pomocí software SigmaStat verze 14.5 (Systat Software Inc., US). Získaná data jsou prezentována jako medián (1.; 3. kvartil) nebo jako průměr ± směrodatná odchylka. Statistický rozdíl mezi skupinami byl testován pomocí Mann-Whitney rank-sum test a  $p \leq 0,05$  je považováno za statisticky významné. Korelace parametrů byla testována pomocí Pearsonova nebo Spearmanova korelačního koeficientu.

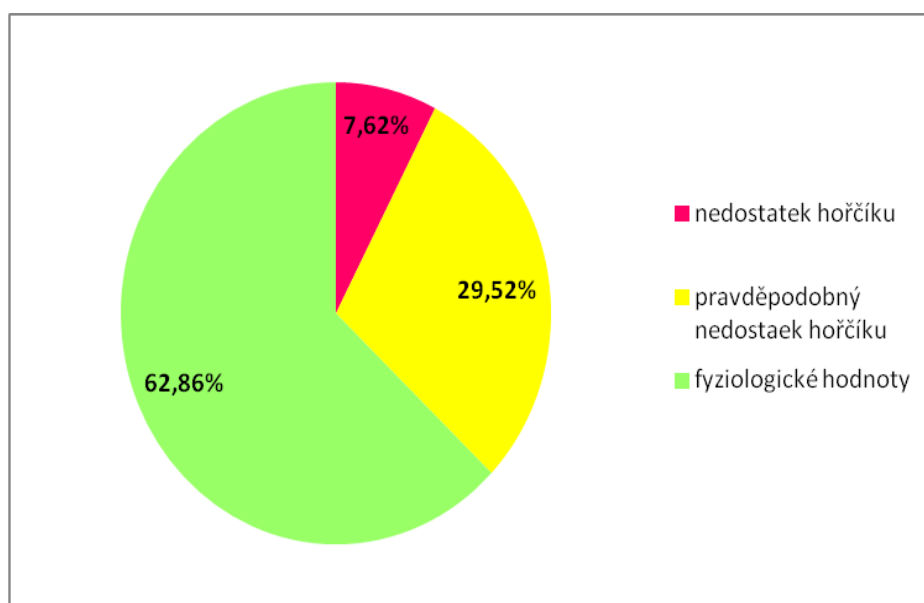
## Výsledky

### Kontrolní skupina

Kontrolní skupinu tvořilo 105 zdravých jedinců, 55 žen a 50 mužů. Průměrný věk skupiny je  $52,19 \pm 15,13$  let. Deskriptivní statistika získaných hodnot je uvedena v tab. 2 a graf znázorňující procentuální zastoupení v nedostatku či dostatku hořčíku je na obr. 1.

**Tabulka 2:** Měřené a kalkulované hodnoty analytů pro kontrolní skupinu

	Průměr	SD	Max	Min	Median	25 %	75 %	Šikmost	Špičatost
Věk (roky)	52,19	15,132	79	23	55	40	64,5	-0,263	-1,088
Mg-U (mmol/l).	2,972	1,797	8,87	0,36	2,42	1,775	3,52	1,302	1,41
Krea-U (mmol/l)	10,556	5,805	29,1	1,718	10,163	5,938	14,391	0,773	0,618
Mg/Krea	0,334	0,185	0,97	0,059	0,298	0,197	0,457	0,778	0,581



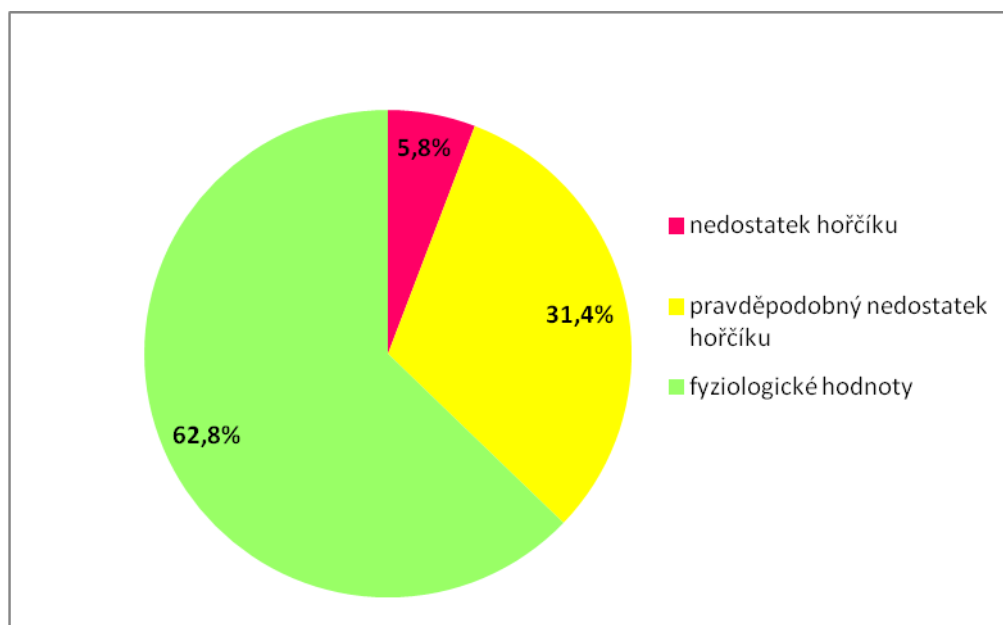
**Obr.1:** Procentuální rozdělení kontrolní skupiny na základě magnezurie

### Studovaná skupina pacientů s diabetem

Studovanou skupinu tvořilo 258 jedinců, 92 žen a 166 mužů. Průměrný věk skupiny je 55,59 ± 16,33 let. Deskriptivní statistika získaných hodnot je uvedena v tab. 3 a graf znázorňující procentuální zastoupení v nedostatku či dostatku hořčíku je na obr. 2.

**Tabulka 3:** Měřené a kalkulované hodnoty analytů pro studovanou skupinu pacientů s diabetem

	Průměr	SD	Max	Min	Median	25 %	75 %	Šikmost	Špičatost
Věk (roky)	55,585	16,325	89	18	59	43,5	68	-0,515	-0,584
Mg-U (mmol/l)	2,864	1,766	12	0,17	2,37	1,605	3,793	1,46	3,235
Osm-U (mmol/kg)	579,461	216,767	1245	62	568	419,25	733,25	0,241	-0,392
Alb-U (mg/l)	146,442	388,011	2533,1	5,6	22,75	12,475	73,9	4,836	26,025
Krea-U (mmol/l)-	9,449	6,035	33,7	0,91	7,645	5,173	11,788	1,452	2,205
ACR (g/mol)	14,586	55,808	540,7	0,4	2,15	1,1	4,85	7,081	56,818
Mg/Krea	0,354	0,188	0,972	0,0181	0,31	0,217	0,466	0,82	0,267
Glu-S (mmol/l)	9,084	3,397	24,5	2,06	8,575	6,9	10,953	0,898	1,461
HA1c (mmol/mol)	63,307	17,54	140	34	59	52	71	1,543	3,359
Krea-S (μmol/l)	88,528	39,381	404	5	82	67,25	96,75	3,881	23,601
Urea-S (mmol/l)	6,315	6,379	97	2,2	5,4	4,125	7	11,878	166,724
GFR (ml/s/l)	1,374	0,401	2,261	0,248	1,422	1,103	1,652	-0,35	-0,186



**Obr.2:** Procentuální rozdělení studované skupiny pacientů s diabetem na základě magnezurie

Tato skupina byla dále rozdělena na pacienty s pozitivní a negativní mikroalbuminurií.

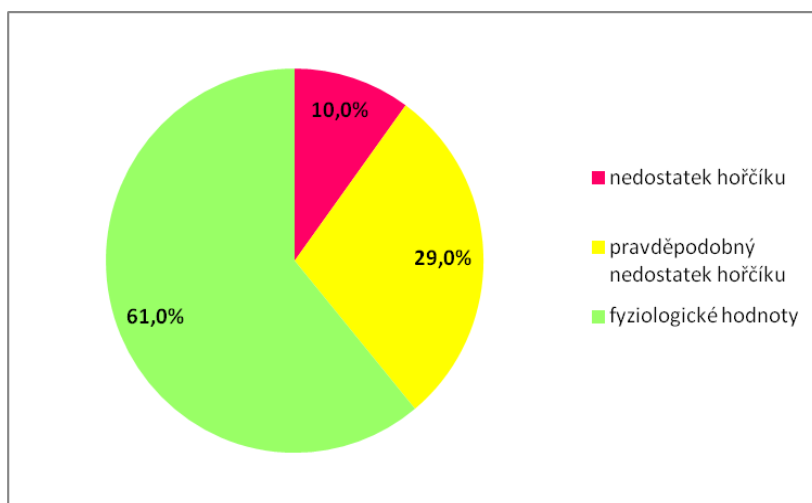
#### Pacienti s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií

Tato podskupina je tvořena 100 diabetiky s pozitivní mikroalbuminurií, z tohoto počtu je 25 žen a 75 mužů, průměrný věk je 57,4 ±14,60 let. Deskriptivní statistika získaných hodnot je

uvedena v tab. 4 a graf znázorňující procentuální zastoupení v nedostatku či dostatku hořčičku je na obr. 3. Hyperosmolalita moče byla nalezena u 2,3 % pacientů.

**Tabulka 4:** Měřené a kalkulované hodnoty analytů pro studovanou skupinu pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií

	Průměr	SD	Max	Min	Median	25 %	75 %	Šikmost	Špičatost
Věk (roky)	57,64	14,601	89	18	60	51,25	67	-0,608	-0,0124
Mg-U (mmol/l)	2,894	1,991	12	0,17	2,305	1,652	3,203	1,962	4,818
Osm-U (mmol/kg)	614,84	187,533	1205	260	602	447	744	0,566	-0,0062
Alb-U (mg/l)	160,124	404,574	2533,1	10,6	24,75	13,7	81,125	4,607	23,516
Krea-U (mmol/l)-	10,867	7,05	33,7	2,77	8,46	5,907	14,095	1,339	1,322
ACR (g/mol)	23,224	71,102	540,7	0,4	3,2	1,6	12,9	5,444	33,28
Mg/Krea	0,309	0,167	0,88	0,03	0,27	0,2	0,408	0,876	0,759
Glu-S (mmol/l)	9,259	3,348	24,5	3,38	8,745	6,99	10,952	1,441	4,086
HA1c (mmol/mol)	65,939	16,849	116	41	63	53	74	0,848	0,0923
Krea-S (μmol/l)	100,625	51,67	33,7	2,77	8,46	5,907	14,095	1,339	1,322
Urea-S (mmol/l)	6,827	3,274	23,6	2,4	6	4,7	7,925	2,105	7,067
GFR (ml/s/l)	1,25	0,417	23,6	2,4	6	4,7	7,925	-0,322	-0,582



**Obr.3:** Procentuální rozdělení studované skupiny pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií na základě magnezurie

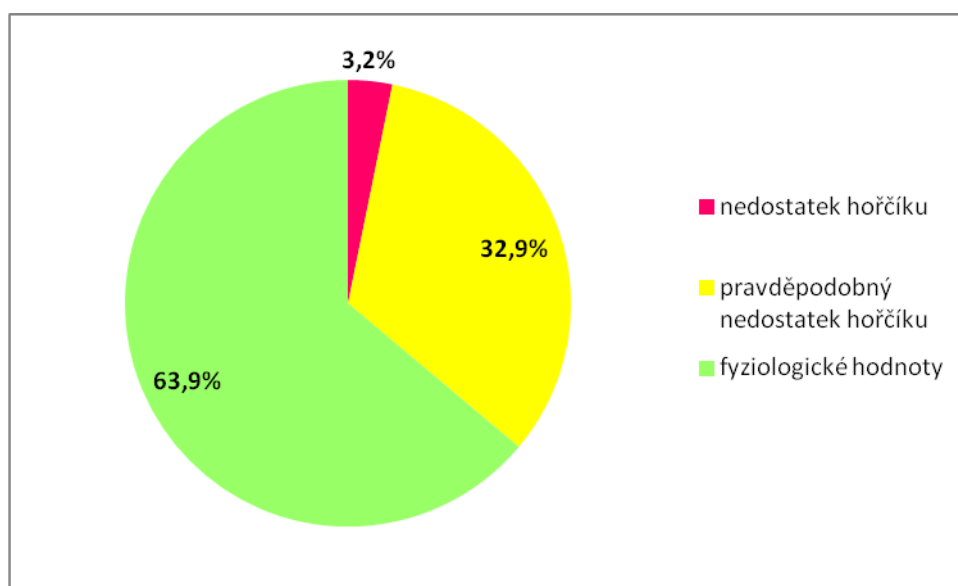
#### Pacienti s diabetem a negativní mikroalbuminurií

Tato podskupina je tvořena 158 diabetiky bez mikroalbuminurie, z tohoto počtu je 67 žen a 91 mužů, průměrný věk je 54,41 ±17,21 let. Deskriptivní statistika získaných hodnot je uvedena v tab. 5 a graf znázorňující procentuální zastoupení v nedostatku či dostatku hořčičku je na obr. 4.

**Tabulka 5:** Měřené a kalkulované hodnoty analytů pro studovanou skupinu pacientů s diabetem a negativní mikroalbuminurií

	Průměr	SD	Max	Min	Median	25 %	75 %	Šikmost	Špičatost
Věk (roky)	54,411	17,214	89	18	58,5	41	68,25	-0,444	-0,831
Mg-U (mmol/l)	2,846	1,614	8,8	0,35	2,505	1,527	3,882	0,822	0,441
Osm-U (mmol/kg)	557,07	231,167	1245	62	534,5	371	731,75	0,238	-0,63
Alb-U (mg/l)	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Krea-U (mmol/l)-	81,083	26,993	27,79	0,91	7,395	4,787	10,77	1,245	1,614
ACR (g/mol)	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Mg/Krea	0,382	0,196	0,97	0,02	0,34	0,23	0,5	0,732	-0,0524
Glu-S (mmol/l)	8,977	3,433	18,04	2,06	8,47	6,878	10,953	0,609	0,0345
HA1c (mmol/mol)	61,658	17,814	140	34	57	50,75	69	1,999	5,692
Krea-S (μmol/l)	81,083	26,993	248	5	78	64	89,75	1,245	1,614
Urea-S (mmol/l)	6,003	7,676	97	2,2	5	3,9	6,225	11,064	131,246
GFR (ml/s/l)	1,45	0,373	2,261	0,348	1,475	1,183	1,697	-0,27	-0,0641

x- hodnoty albuminu (tudíž i ACR) neuvedeny, protože se nacházely pod mezí stanovitelnosti <10,1 mg/l.



**Obr.4:** Procentuální rozdělení studované skupiny pacientů s diabetem a negativní mikroalbuminurií na základě magnezurie

Výše uvedené skupiny byly statisticky hodnoceny na deficit hořčíku. Poměr hořčíku a kreatininu byl porovnán testem One Way Anova. Výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách (tab. 6, 7) a grafu (obr. 5).



**Tabulka 6:** Jednocestná Anova – mediany skupin

Skupina	Median	25 %	75 %
Mg/Krea CTRL	0,298	0,197	0,457
Mg/Krea uALB+	0,271	0,199	0,41
Mg/Krea uALB-	0,338	0,232	0,5

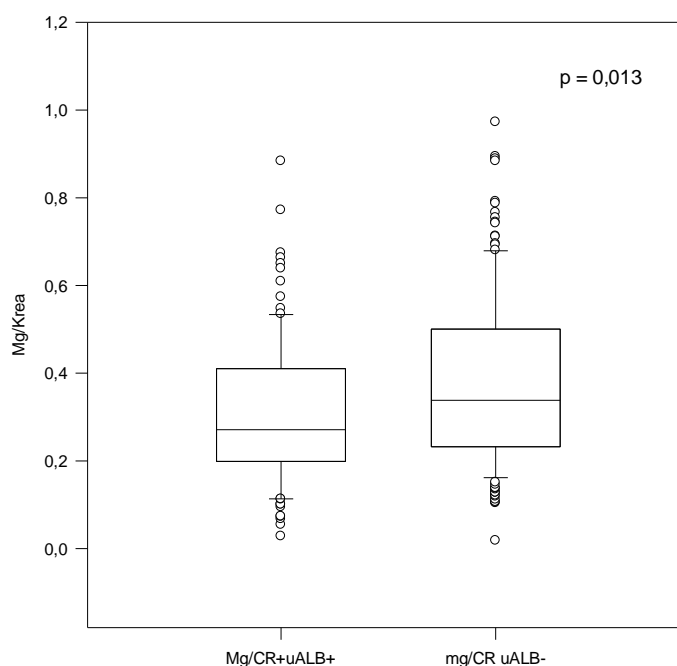
CTRL – kontrolní skupina, uALB+ - skupina s pozitivní albuminurií, uALB- - skupina s negativní albuminurií

**Tabulka 7:** Jednocestná Anova - signifiknce

Srovnání	p value	P<0,05
Mg/Krea uALB- vs Mg/Krea uALB+	<b>0,013</b>	<b>Yes</b>
Mg/Krea uALB- vs Mg/Krea CTRL	0,064	No
Mg/Krea CTRL vs Mg/Krea uALB+	0,356	No

CTRL – kontrolní skupina, uALB+ - skupina s pozitivní albuminurií, uALB- - skupina s negativní albuminurií

**Box Plot**



**Obr. 5:** Krabicový diagram – Jednocestná Anova

CTRL – kontrolní skupina, uALB+ - skupina s pozitivní albuminurií, uALB- - skupina s negativní albuminurií

**Získaná data z močových analýz byla dále korelována v jednotlivých souvislostech pro objasnění vlivu hydratace a hořčiku na diabetickou nefropatii.**

Korelace a p hodnoty jsou uvedeny v tabulce 8 a grafy regrese na obr. 6 – 13.

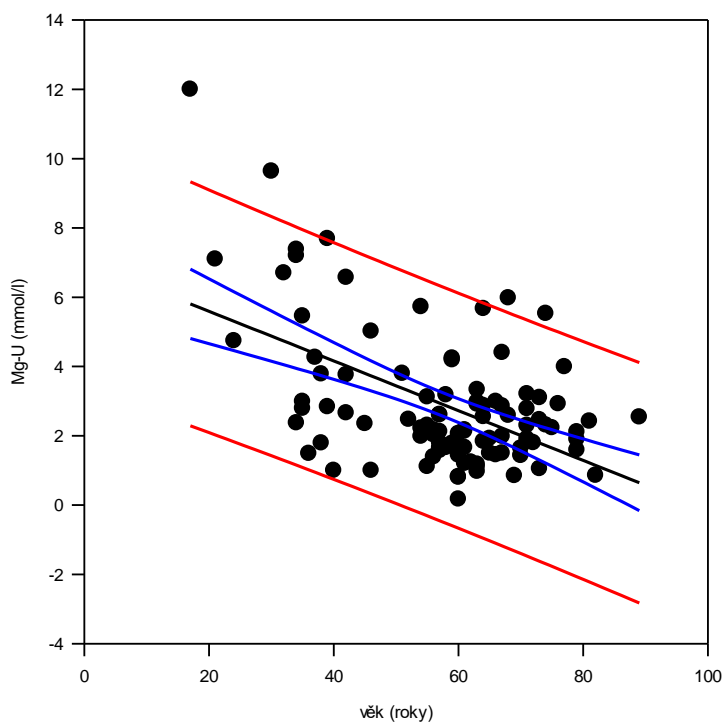
**Tabulka 8:** Data korelace – studovaná skupina diabetiků

	p hodnota	korelační koeficient	p hodnota	korelační koeficient
	s mikroalbuminurií		bez mikroalbuminurie	
<b>OSMO-ALB</b>	0,0408	-0,205	x	x
<b>OSMO-GFR</b>	0,000004	0,418	0,876	0,0126
<b>GFR-Mg-U</b>	0,0022	0,311	0,171	0,111
<b>Mg/Krea-OSMO</b>	0,0281	-0,22	0,216	-0,098
<b>Mg-U-věk</b>	0,0025	-0,3	0,0074	-0,214
<b>Mg-U- ALB</b>	0,0372	-0,209	x	x
<b>OSMO-ACR</b>	0,0068	-0,27	x	x
<b>OSMO-věk</b>	korelační koeficient pro celou skupinu -0,199 p hodnota 0,0135			

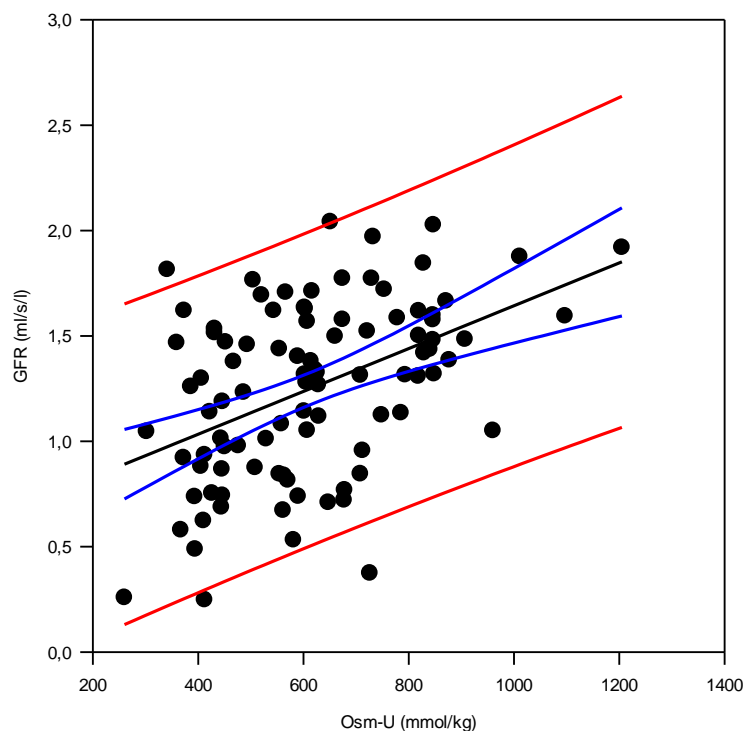
Močové analyty: OSMO – osmolalita, Mg-U – magnezurie, ALB – albuminurie, ACR – poměr albumin kreatinin, GFR – glomerulární filtrace – dopočítávaný parametr

x- hodnoty albuminu, tudíž i ACR, a s nimi související parametry neuvedeny, protože se nacházely pod mezí stanovitelnosti <10,1 mg/l.

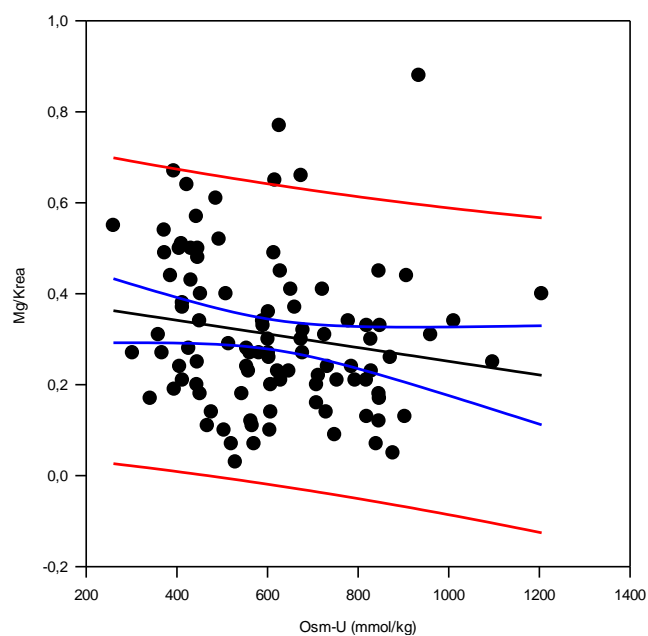
Regresní grafy:



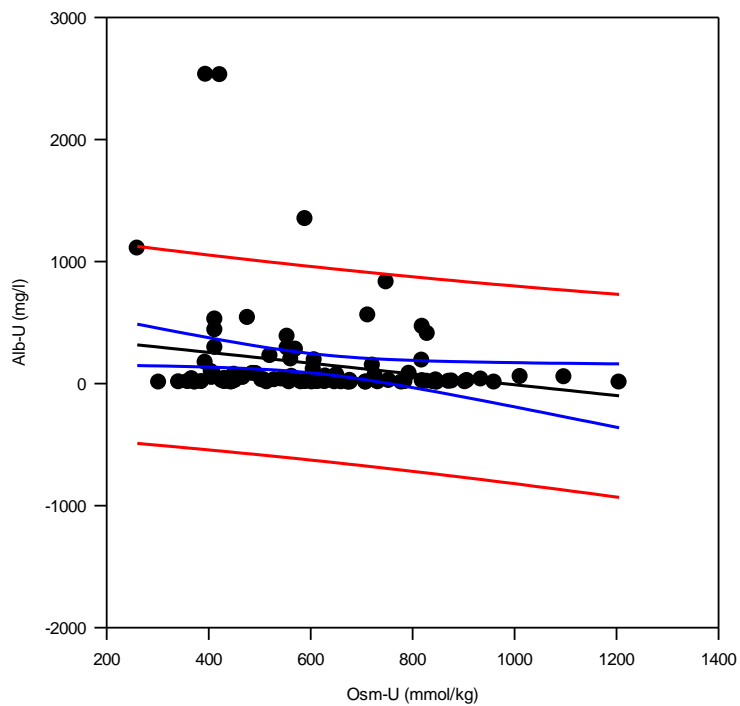
**Obr. 6:** Závislost magnezurie na věku u studovaných pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií (p=0,0025)



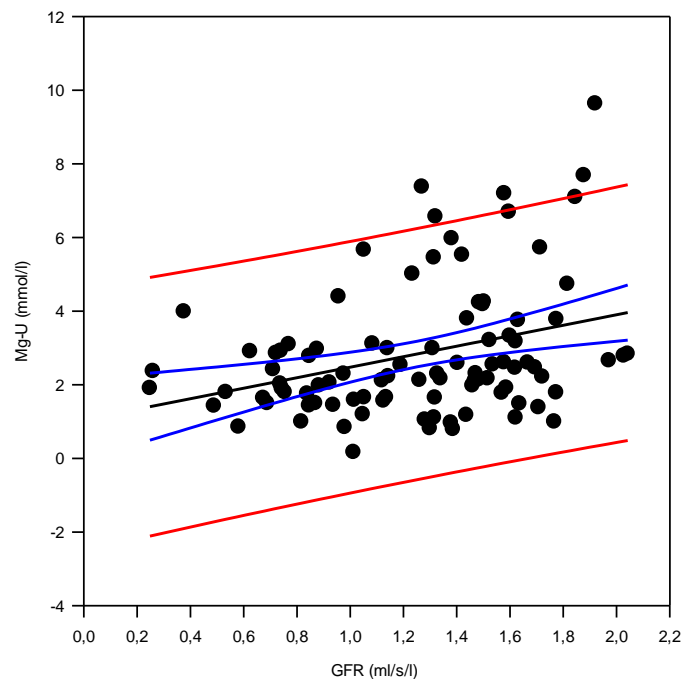
**Obr. 7:** Závislost glomerulární filtrace na osmolalitě u studovaných pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií ( $p < 0,001$ )



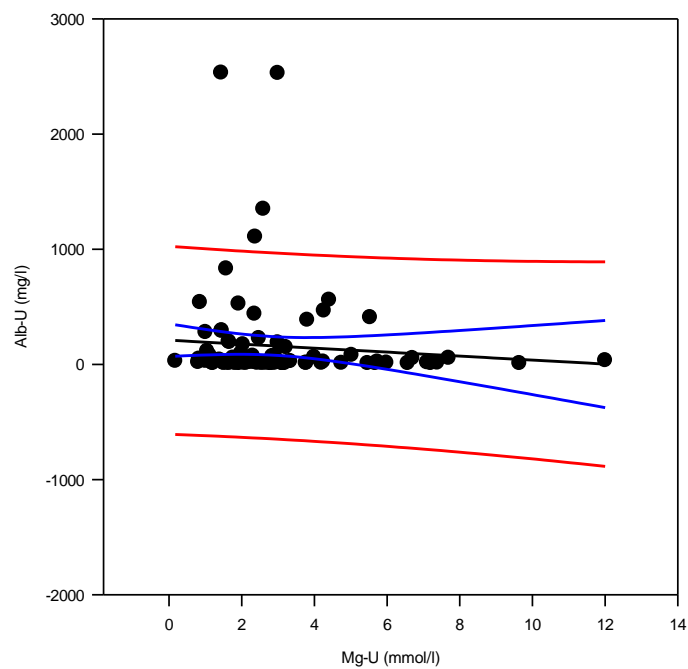
**Obr. 8:** Závislost poměru Mg/Krea na osmolalitě u studovaných pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií ( $p = 0,0281$ )



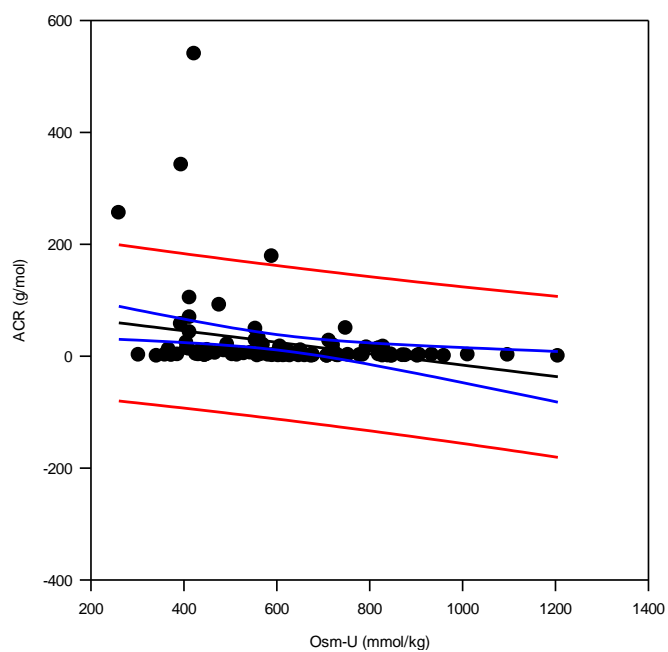
**Obr. 9:** Závislost albuminurie na osmolalitě u studovaných pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií ( $p=0,0408$ )



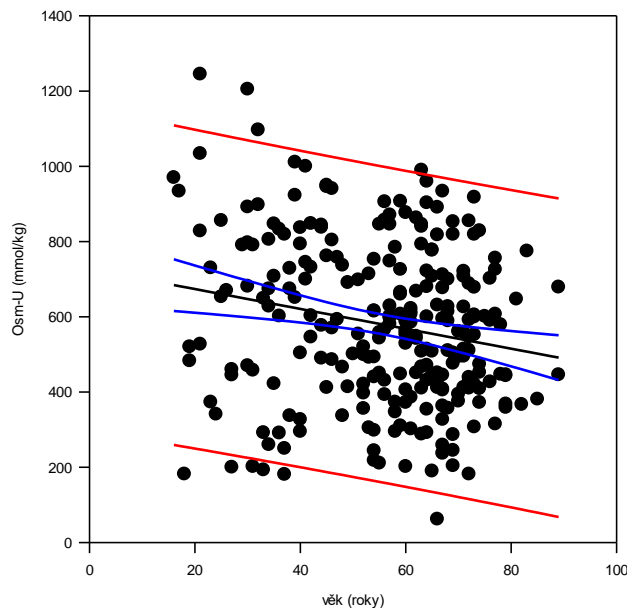
**Obr. 10:** Závislost magnezurie na glomerulární filtraci u studovaných pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií ( $p=0,0022$ )



**Obr. 11:** Závislost albuminurie na magnezurii u studovaných pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií ( $p=0,0372$ )



**Obr. 12:** Závislost poměru ACR na osmolalitě u studovaných pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií ( $p=0,0068$ )



**Obr. 13:** Závislost osmolality na věku u pacientů s diabetem. ( $p=0,00135$ )

## Diskuze

Hydratační stav sledované skupiny byl v normě na základě našich výsledků ze stanovení. Co se týče doporučení prostého hydratačního schématu, lze se na základě našich výsledků domnívat, že edukace diabetiků v poradně FN HK v tomto ohledu je dostačující.

Otazné jsou však magnezurie a suplementace doplňky s hořčíkem. V souladu s literaturou (7) jsme shledali významný nedostatek hořčíku pouze ve skupině s pozitivní mikroalbuminurií (viz. obr. 3). U těchto pacientů lze doporučit zvýšený příjem hořčíku v biologicky dostupné formě.

Z obr. 6 je zřejmé, že s rostoucím věkem vzrůstá nedostatek hořčíku v organismu, tento trend je výraznější u diabetiků s pozitivní mikroalbuminurií, nicméně je ale patrný v celé skupině diabetiků. Lze tedy předpokládat, že s rostoucím věkem může být rizikovým faktorem pro vznik nefropatie. Obdobně byla nalezena negativní korelace osmolality moče k věku diabetiků (obr. 13).

Dále z obr. 7 vyplývá, že s klesající glomerulární filtrací, která svědčí pro postižení ledvin, klesá osmolalita u pacientů s diabetem a pozitivní mikroalbuminurií. Zároveň je z obr. 8 patrné, že s rostoucím nedostatkem hořčíku vzrůstá osmolalita moče. Z obr. 9 je zřejmé, že

s klesající albuminurií vzrůstá osmolalita, což potvrzuje i obr. 12, ze kterého je patrné, že s klesajícím poměrem ACR vzrůstá osmolalita. Na základě obr. 10 se dá usuzovat na to, že s klesající glomerulární filtrací vzrůstá nedostatek hořčíku v organismu. Z obr. 11 vyplývá, že s rostoucím nedostatkem hořčíku rovněž vzrůstá albuminurie.

Společným jmenovatelem těchto změn může být nemocí a věkem podmíněné snížení koncentrační schopnosti ledvin tubulární dysfunkcí, což vede k nižší koncentraci solutů v moči, riziku dehydratace a nižší schopnosti tubulů šetřit s magnéziem. Tato populace pacientů má tedy vyšší potřebu dostatečné hydratace i příjmu magnézia k zajištění potřeb organismu.

## **Závěr**

Cílem tohoto projektu bylo studium deficitu hořčíku, který by byl testován jako možný marker u diabetické nefropatie. Podle dosažených výsledků byly shledány výraznější rozdíly u skupiny s postižením ledvin.

Hydratace u pacientů s diabetem mellitem byla shledána na základě stanovení osmolality moče u většiny pacientů v referenčním rozmezí. Dehydrataci lze předpokládat pouze u 2,3 % pacientů. Hydratační stav studované skupiny byl dostačující.

Optimálního rehydratačního schéma s obsahem hořčíku pro pacienty s DM je vhodné navrhnout vždy na základě stanovení jednoduchou a neinvazivní metodou stanovení poměru hořčíku ke kreatininu v moči.

U pacientů s pozitivní mikroalbuminurií doporučit zvýšený příjem hořčíku v biologicky dostupné formě.

**Výsledky projektu budou prezentovány na X. odborné konferenci – Téma: nové cesty vývoje infuzních roztoků, konané v Třeboni, 4. – 6. 5. 2021.**

**Dále předpokládáme sepsání publikace do časopisu NutriNews.**

## Literatura

1. Böhmová O. Za posledních deset let přibylo 15 procent diabetiků. Pokud to půjde stejným tempem, v roce 2035 bude nemocný každý desátý Čech [online]. Zdravotnický deník, 2018 [cit. 2021-1-28]. Dostupné z: <https://www.zdravotnickydenik.cz/2018/11/za-poslednich-deset-let-pribylo-15-procent-diabetiku-pokud-pujde-stejnym-tempem-roce-2035-bude-nemocny-kazdy-desaty-cech/>.
2. Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky. Regionální zpravodajství Národního zdravotnického informačního systému [online]. Praha: ÚZIS ČR, 2016 [cit. 2021-1-28]. Dostupné z: <http://reporting.uzis.cz/bm>.
3. Tesař V. Diabetická nefropatie-nové možnosti léčby. Interní medicína 2002; 2: 50-55.
4. Ayodele OE, Olugbenga E, Salako BL. et al. "Diabetic nephropathy-a review of the natural history, burden, risk factors and treatment." Journal of the National Medical Association 2004; 96,11: 1445-54.
5. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. The Diabetes Control and Complications (DCCT) Research Group. Kidney Int. 1995; 47(6):1703-20.
6. Sakaguchi Y, Shoji T, Hayashi T. et al. Hypomagnesemia in type 2 diabetic nephropathy: a novel predictor of end-stage renal disease. Diabetes Care 2012; 35(7):1591-7.
7. Sadeghian M., Azadbakht L., Khalili N. et al. Oral Magnesium Supplementation Improved Lipid Profile but Increased Insulin Resistance in Patients with Diabetic Nephropathy: a Double-Blind Randomized Controlled Clinical Trial. Biol Trace Elem Res 2020; 193: 23–35.