

Evolución a largo plazo de los niveles de parathormona de los diabéticos en diálisis

J. Aubiá, J. Bosch, A. Oliveras, A. Merin, I. Llorach, J. Lloveras y J. Masramón

Servicio Nefrología. Hospital L'Esperança. Institut Municipal Investigació Mèdica (IMIM). Departamento de Medicina. Universitat Autònoma. Barcelona.

RESUMEN

Los diabéticos urémicos en programa de diálisis presentan una baja incidencia de hiperparatiroidismo secundario. La fisiopatología de esta resistencia del diabético urémico a desarrollar hiperparatiroidismo no está bien establecida. Tampoco se conoce la historia natural del hiperparatiroidismo en estos pacientes ni se conoce una descripción de la evolución del hiperparatiroidismo a largo plazo después del inicio de los programas de diálisis. Para estudiar esta evolutividad hemos realizado el presente trabajo, que describe la progresión del hiperparatiroidismo en una población de diabéticos insulino-dependientes mantenidos en diálisis durante cinco años (D), comparándola con la de un grupo control de no diabéticos escogidos por presentar un nivel equivalente de hiperparatiroidismo al inicio del programa de diálisis en base a valores equivalentes iniciales de parathormona c-terminal-PTHc ($1,39 \pm 0,68$ ng/ml en D y $1,51 \pm 0,54$ ng/ml en C) y de fosfatasas alcalinas: 267 ± 81 en D y 204 ± 98 en los controles. Los resultados muestran que, a pesar de que el tipo de tratamiento quelante, el tipo de diálisis y el calcio del dializado han sido idénticos, a partir del segundo año el grupo C tiende a aumentar los niveles de parathormona, mientras que no son evidentes los incrementos en el grupo D. De tal forma que al final de los cinco años los valores de C han pasado de $3,63 \pm 1,3$ ng/ml, mientras que en el grupo D sólo han llegado a $1,9 \pm 1,05$ ng/ml ($t: 3,68$; $p = 0,007$). Los valores medios de Gla-BGP fueron más elevados en los controles ($15,5 \pm 7,8$ ng/ml) que en los diabéticos ($10,3 \pm 5,6$ ng/ml) y también los valores de PTH-I (medidos sólo en los dos últimos años del estudio) son más elevados: 416 ± 333 pg/ml vs 175 ± 107 pg/ml. En cambio, la calcemia fue idéntica en ambos grupos, y tampoco pudieron observarse diferencias entre los valores de fosfatasas alcalinas en ningún momento de la evolución. Se concluye con la confirmación de la resistencia del urémico diabético al hiperparatiroidismo y se especula con las diferentes hipótesis propuestas para explicar la incapacidad de la glándula paratiroidea diabética de responder a los estímulos habituales.

Palabras clave: **Diabetes. Diálisis. PTH.**

Correspondencia: Dr. J. Aubiá.
Servei Nefrologia Hospital de l'Esperança.
S. Josep de la Muntanya, 12.
08034 Barcelona.

Recibido: 10-VII-1991.
En versión definitiva: 4-V-1992.
Aceptado: 5-V-1992.

LONG TERM EVOLUTION OF PTH LEVELS IN DIABETIC PATIENTS ON DIALYSIS

SUMMARY

Uremic diabetics on regular dialysis have a low incidence of secondary hyperparathyroidism, the pathogenesis of which is unknown. A full description of the natural history of this abnormality is lacking and even reports on its course after the start of dialysis are rare. We describe the (lack of) progression of hyperparathyroidism in 12 diabetics maintained on regular hemodialysis for more than 5 years and compare them with a control group, chosen because they started hemodialysis with very similar concentrations of serum C-terminal parathormone (PTHc) (1.39 ± 0.68 ng/ml in the diabetics and 1.51 ± 0.54 ng/ml in controls) and alkaline phosphatase (267 ± 81 U/ml in the diabetics and 204 ± 98 U/ml in controls). After 5 years of identical dialysis, with the same dialysis fluid calcium concentration and similar phosphate binder treatment the groups diverged. After two years the PTHc concentration had started to rise in the control group but not in the diabetics. At the end of the fifth year, serum PTHc was 3.63 ± 1.3 ng/ml in the controls and 1.9 ± 1.05 in the diabetics ($t = 3.68$; $p = 0.007$). The mean value of Gla-BGP was also higher in controls than diabetics (15.5 ± 7.8 vs 10.3 ± 5.6 ng/ml), as was serum intact PTH, measured only in the last two years (416 ± 333 vs 175 ± 107 pg/ml). There were no significant differences between the diabetics and controls in serum calcium or alkaline phosphatase.

In conclusion, we show that diabetics on regular hemodialysis remain resistant to the development of hyperparathyroidism even during prolonged survival. We have revised a previous hypothesis to explain why the diabetic parathyroid gland is «unable» to respond to normal stimuli and hyperparathyroidism is therefore prevented in these patients.

Key words: *Diabetes. PTH levels. Dialysis.*

Introducción

Los diabéticos urémicos en programa de diálisis presentan una baja incidencia de hiperparatiroidismo secundario¹⁻⁵ y la histología ósea de estos pacientes muy a menudo presenta formas de bajo turnover⁶ y adinámicas⁷ potencialmente graves. La fisiopatología de esta resistencia del diabético urémico al hiperparatiroidismo no está bien establecida, a pesar de que se ha comprobado la existencia de diversos trastornos que podrían contribuir a esta característica: una respuesta glandular disminuida a la hipocalcemia⁸, la influencia de la concentración de glucosa y de insulina en la respuesta paratiroidea⁹, la protección que la hiperfosfatemia en la fase de insuficiencia renal progresiva produce sobre la progresión del hiperparatiroidismo¹⁰, etc. De hecho tampoco se conoce la historia natural del hiperparatiroidismo en estos pacientes ni se conoce una descripción de la evolutividad del hiperparatiroidismo a largo plazo después del inicio de los programas de diálisis. Una causa obvia de la rareza de tales estudios puede estar en los pobres resultados sobre la supervivencia que los programas de diálisis ofrecen a los diabéticos urémicos. Para estudiar esta evolutividad hemos realizado el presente trabajo, que describe la progresión del hiperparatiroidismo en una población de diabéticos insulino-dependientes mantenidos en diálisis durante cin-

co años, comparándola con la de un grupo control de no diabéticos escogidos por presentar un nivel equivalente de hiperparatiroidismo al inicio del programa de diálisis.

Material y métodos

Pacientes

Se monitorizaron dos grupos de pacientes en hemodiálisis. Un grupo lo constituyen 12 pacientes diabéticos insulino-dependientes con clínica prediálisis compatible con nefropatía diabética que habían sobrevivido en hemodiálisis más de cinco años (D). El grupo control de urémicos no diabéticos lo constituyen asimismo 12 pacientes que habían sido dializados simultáneamente durante este mismo período de tiempo (C), con diálisis de iguales características: tres diálisis a la semana de cuatro horas con dializador de Cuprophan®. El dializado contenía 6,5 mg/dl de calcio. No había diferencias entre ambos grupos respecto a la edad, $60,1 \pm 8,8$ años los D y $58,6 \pm 10,1$ los C; sexo V/H: 8/4 y 7/5. Tampoco había diferencias en los niveles de hiperparatiroidismo en el momento de iniciar el programa, puesto que el criterio de selección para incluir un paciente en C fue que sus niveles

de PTHc y de fosfatasas alcalinas no superasen una desviación estándar de la media de los valores del grupo D. Durante este tiempo se utilizó el hidróxido de aluminio como quelante del fósforo tanto en los diabéticos como en los controles; las dosis se ajustaron bimensualmente a medida que se recibían resultados de fosforemia que se intentaban establecer entre 5 y 5,5 mg/dl. Se monitorizó la aluminemia cada seis a doce meses. Ningún paciente de estas series ha recibido tratamiento con 1-25-vitamina D₃.

La PTH se ha medido por medio de un RIA C-terminal durante todos estos años y con C-terminal y PTH-intacta durante los dos años últimos. La PTH-intacta fue determinada por IRMA también mediante un kit comercial Immunonuclear®. Valores normales de 0,3-1,4 ng/ml para la PTHc y 10-50 pg/ml para PTH-I. Los niveles de calcio, fósforo y fosfatasa alcalina se determinaron por autoanalizador y la Gla-BGP por RIA comercial. Valores normales de 0,68-6,6 ng/ml.

Los valores se expresan en el texto como media ± 1 desviación estándar ($\bar{x} \pm SD$); para los cálculos estadísticos se ha utilizado el programa Statview®, cuyos resultados de significación se valoran como significativos si $p < 0,05$. Se ha utilizado la prueba de t de Student para la comparación entre D y C en cada punto y ANOVA para las comparaciones de más de dos series.

Resultados

Los valores de fosfatasas alcalinas y PTHc al inicio del programa fueron similares en los dos grupos, de acuerdo con las condiciones de la inclusión en el estudio: PTHc de 1,39 ± 0,68 ng/ml en D y 1,51 ± 0,54 ng/ml en C; las fosfatasas alcalinas, de 267 ± 81 en D y de 204 ± 98 en los controles. También los valores de calcio eran comparables: Ca, 8,95 ± 0,8 mg/dl en D y 8,7 ± 0,7 mg/dl en C. Los valores de fosforemia entre ambos grupos al inicio del programa no mostraban tampoco diferencias significativas, con valores de 5,03 ± 1,14 mg/dl en los C y 4,6 ± 1,3 mg/dl en los D.

La evolución de los valores de PTHc a lo largo de los cinco años de programa pueden observarse en la figura 1, en la que se observa que a partir del segundo año el grupo C tiende a aumentar los niveles de parathormona, mientras que no son evidentes los incrementos en el grupo D. De tal forma que al final de los cinco años los valores de C han pasado a 3,63 ± 1,3 ng/ml, mientras que en el grupo D sólo han llegado a 1,9 ± 1,05 ng/ml (t: 3,68; $p = 0,007$).

Los valores medios de todos los parámetros analizados y los resultados de su comparación entre grupos se expresan en la tabla I. En ella podemos observar que los valores medios de fosforemia en los diabéticos han sido inferiores a la fosforemia del grupo C: 4,61 ± 1,4 mg/dl vs 5,5 ± 1,3 mg/dl ($p < 0,001$). Estos resultados se obtuvieron con unas dosis de OHAl respectivas de 1,12 ± 0,2 g/día

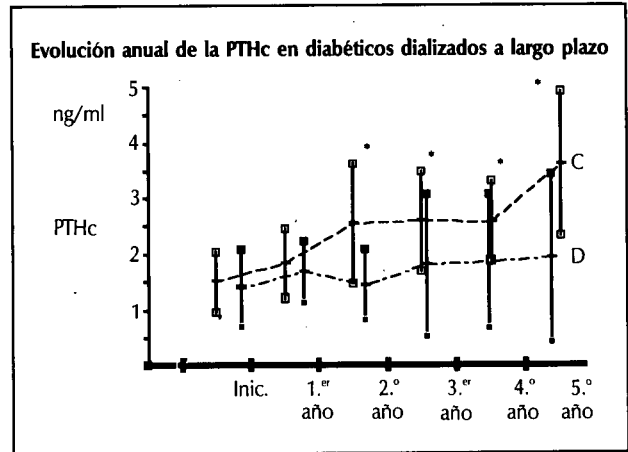


Fig. 1.—Evolución de los valores ($\bar{x} \pm 1 SD$) de PTHc en los pacientes diabéticos en diálisis (D) comparado con los controles urémicos no diabéticos (C). (* = $p < 0,05$).

Tabla I. Valores medios de bioquímica de los diabéticos y no diabéticos en hemodiálisis durante más de cinco años ($\bar{x} \pm 1$ desviación estándar)

	Diabéticos	Controles	P
Calcemia (mg/100 ml) ..	9,3 ± 0,8	9,01 ± 0,6	NS
Fosforemia (mg/100 ml)	4,61 ± 1,4	5,5 ± 1,3	0,001
Fosfatasas alcalinas (U/ml).....	247 ± 94	250 ± 149	NS
Aluminemia (µg/l)	40,6 ± 21,9	54,9 ± 22,3	NS
Gla-BGP (ng/ml).....	10,3 ± 5,6	15,5 ± 7,8	0,05
PTH-I (pg/ml).....	175 ± 107	416 ± 333	0,0005

en el grupo C y 1,09 ± 0,22 g/día en los D (p: NS). En cambio, no se pudo observar ninguna diferencia en los otros parámetros analizados: calcemia, aluminemia y fosfatasas alcalinas, cuyas evoluciones pueden observarse en la figura 2. Los datos de la Gla-BGP y de PTH intacta (PTH-I) corresponden a los valores medios de los valores disponibles, que son sólo los correspondientes a los dos últimos años. La Gla-BGP fue más elevada en los controles (15,5 ± 7,8 ng/ml), que en los diabéticos (10,3 ± 5,6 ng/ml), y también los valores de PTH-I son más elevados (416 ± 333 pg/ml vs 175 ± 107 pg/ml).

Discusión

Este estudio confirma una vez más las diferencias que los dializados diabéticos presentan respecto a los no diabéticos en la respuesta paratiroidea. Las series publicadas en las que se han demostrado las alteraciones específicas del metabolismo mineral y de osteodistrofia de los diabéticos dializados han sido estudios seccionales¹⁻⁷. Los

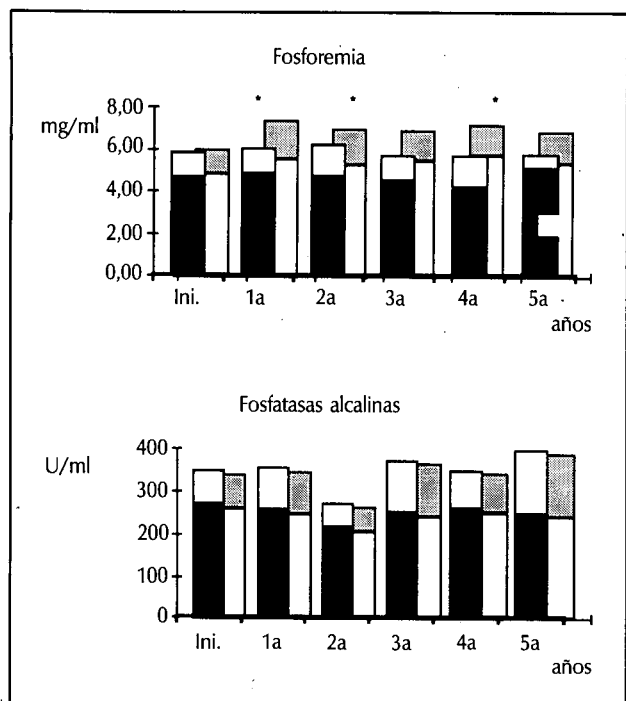


Fig. 2.—Evolución de los valores anuales ($\bar{x} \pm 1$ SD) de fosforemia y fosfatasas alcalinas en los pacientes diabéticos en diálisis ■ (D) comparado con los controles urémicos no diabéticos □ (C). (* = $p < 0,05$).

pocos estudios longitudinales publicados creemos que presentan problemas metodológicos para poder concluir con certeza que los diabéticos incluidos en programa presentan una inhibición paratiroidea incluso cuando son dializados en idénticas condiciones que los diabéticos. El primer estudio que conocemos que pretendía el estudio longitudinal de esta situación es el de Nilsson y cols.¹¹ con diabéticos en DPCA, que pudieron seguir a sus pacientes sólo durante catorce meses, un tiempo muy corto para observar diferencias, tanto más cuanto su grupo control de no diabéticos era un grupo no seleccionado y, por consiguiente, tenían ya al inicio del programa de diálisis unos valores de PTH mayores que los diabéticos, con las lógicas dificultades de comparación en esta situación. Una dificultad parecida presenta el trabajo de Coronel y cols.¹² en diabéticos en DPCA. Otro estudio reciente, el de Kikunami y cols.¹³, que dispone de un seguimiento de tres años para un grupo de 11 diabéticos en diálisis, llega a conclusiones parecidas a las nuestras: en los diabéticos urémicos no parece observarse el progresivo agravamiento del hiperparatiroidismo que es observable en los no diabéticos. Sin embargo, este trabajo también incurre en el mismo problema de diseño, puesto que los valores de PTHc ya estaban más elevados en los controles que en los diabéticos desde el inicio del estudio, por lo que no podía descartarse un efecto «de arrastre» de la inhibición paratiroidea desde la fase pretermi-

nal hacia la fase de diálisis. En nuestro estudio, en cambio, se ha tenido en cuenta este factor y hemos diseñado el grupo control con pacientes que en el momento de entrar en diálisis partiesen de situaciones de estimulación paratiroidea equivalentes en términos de PTHc y también de fosfatasas alcalinas. Puesto que ambos grupos de pacientes han estado sometidos a una diálisis equivalente en términos de duración y de concentración de calcio en el baño de diálisis y que han presentado valores medios de calcemia comparables, se debe concluir que debe existir un defecto directo de la capacidad de estimulación paratiroidea que es operativo en los pacientes en diálisis.

Entre los factores potenciales que en la fase preterminal pueden influir en la menor estimulación paratiroidea basal existen al menos dos que merecen comentarse. En primer lugar, el tiempo de insuficiencia renal; es conocido que la nefropatía diabética suele evolucionar como una enfermedad con una muy importante tendencia progresiva, especialmente en los pacientes con una hipertensión no controlada, y al ser el hiperparatiroidismo también una manifestación progresiva que requiere un tiempo para desarrollarse y manifestarse, las enfermedades renales de evolución rápida dan menos manifestaciones de hiperparatiroidismo que las de los pacientes con patologías renales de larga evolución. El segundo factor que podría explicar una menor estimulación paratiroidea sería la existencia de una hiperfosfaturia relativa de los diabéticos en fase de insuficiencia renal¹⁰ debida probablemente al efecto combinado de la insulinopenia y de la glucosuria sobre el transporte tubular de fósforo¹⁴. Al diseñar el estudio igualando la actividad paratiroidea inicial del grupo control a la de los diabéticos, estos efectos de arrastre se han eliminado en nuestra serie.

La confirmación de que los diabéticos dializados desarrollan un hiperparatiroidismo más lento que sus controles no significa de ningún modo que se haya avanzado en su explicación. El bajo nivel de Gla-BGP del período final de observación de nuestra serie es coherente con los resultados descritos en diabéticos sin insuficiencia renal¹⁵⁻¹⁷ y sería una manifestación del bajo nivel de actividad osteoblástica consustancial con la osteodistrofia de bajo turnover descrito en estos pacientes^{6,7,17}. Bajo turnover que sería la causa de la acumulación de aluminio en el hueso de estos pacientes¹⁸. Pero los depósitos óseos de aluminio, que por otra parte nosotros no hemos confirmado en nuestra serie anteriormente publicada, no pueden justificar por sí solos una histología que es similar en los pacientes diabéticos con y sin depósitos de aluminio en la biopsia. En el estudio actual sin biopsia observamos que los niveles de aluminemia han sido similares entre D y controles que tomaron también una cantidad similar de hidróxido de aluminio. En esta situación parece difícil encontrar una justificación para las diferencias de fosforemia observadas. Sin embargo, el hecho que este dato no recibe confirmación de otras series publicadas de diabéticos y que nosotros mismos no lo habíamos observado en otros estudios nos hace permanecer escépticos en la

valoración de la misma. El diferente estado de hiperparatiroidismo o puede quizá explicar una parte de las diferencias.

La respuesta paratiroidea deficiente en la diabetes parece ser un fenómeno no circunscrito a la uremia¹⁹. Se ha descrito también relacionado con el embarazo²⁰ y en los hijos recién nacidos de madre diabética²¹. Las causas de esta deficiente capacidad de respuesta ha sido atribuida a la microangiopatía que puede provocar daño estructural sobre la glándula. En el único trabajo que conocemos sobre histología de la glándula paratiroidea de diabéticos urémicos², éstos no tenían lesiones de hiperplasia glandular, sino fibrosis con infiltración de colágena que podrían tener este origen microangiopático. Recientemente se ha comprobado la interacción que la glucosa y la insulina tienen sobre la secreción de PTH en tejido *in vitro*⁹, de manera que los altos niveles de glucosa en el medio de cultivo inhiben la secreción espontánea o inducida de PTH. Este hecho podría explicar la existencia de este trastorno glandular en los diabéticos como una incapacidad de dar una respuesta hormonal paratiroidea adecuada en las diversas situaciones en que es necesaria: uremia, embarazo, etc. Se ha sugerido en estudios experimentales en ratas que la insulina pudiera ser necesaria no sólo para una adecuada secreción hormonal, sino que incluso puede ser imprescindible para mantener la estructura acinar de algunas glándulas como las parótidas²².

Parece razonable dudar, sin embargo, que el hipoparatiroidismo relativo explique por sí solo la totalidad del cuadro histológico del hueso de la osteodistrofia del diabético, por cuanto la osteopenia o el elevado porcentaje de casos con comportamientos adinámicos sugieren que existan alteraciones asociadas en el metabolismo de la colágena o de otras funciones osteoblásticas que por otra parte han empezado a ser descritas en situaciones de diabetes experimental²³⁻²⁵.

En resumen, presentamos datos adicionales que confirman la existencia de una falta de respuesta paratiroidea del diabético dializado, y ello refuerza la necesidad de seguir investigando en la fisiopatología de la osteodistrofia del urémico diabético, por cuanto ello puede no sólo reportar beneficios a este grupo de pacientes urémicos, sino que el conocimiento del mecanismo de resistencia al hiperparatiroidismo puede ayudar a encontrar caminos nuevos en la prevención de la osteodistrofia en los urémicos no diabéticos.

Bibliografía

- Vincenti F, Hattner R, Amend WJ Jr, Feduska NJ, Duca RM y Salvatierra O Jr: Decreased secondary hyperparathyroidism in diabetic patients receiving hemodialysis. *JAMA*, 245:930-933, 1981.
- Pabico RC, Rivero AJ, McKenna BA y Freeman RB: Parathyroid hormone in patients with diabetes mellitus and end-stage renal disease on chronic hemodialysis. *Proc EDTA*, 19:221-226, 1982.
- Mori H, Kazuko I, Nishizawa Y, Kikunami K e Inohue T: Abnormal calcium metabolism in hemodialyzed patients with Diabetic Nephropathy. *Nephron*, 38:22-25, 1984.
- Aubia J, Bosch J, Lloveras J, Mariñoso LI, Masramón J, Serrano S, Cuevas X, Orfila, Llorach I y Llorach M: Low incidence of hyperparathyroidism in diabetic renal failure. *Proc EDTA*, 21:902-908, 1984.
- Kurtz SB, McCarthy JT y Johnson WJ: Absence of hyperparathyroidism in diabetic dialysis patients. *Kidney Int*, 25:258A, 1984.
- Vincenti F, Arnaud SB, Recker R, Genant H, Amend WJC Jr, Feduska NJ y Salvatierra O: Parathyroid and bone response of diabetic patient to uremia. *Kidney Int*, 25:677-682, 1984.
- Aubia J, Serrano S, Mariñoso LI, Hojman L, Díez A, Lloveras J y Masramón J: Osteodystrophy of diabetics in chronic dialysis: a histomorphometric study. *Calcif Tissue Int*, 42:297-301, 1988.
- Götz R, Heidbreder E, Schafferhans K y Heidland A: Diminished parathyroid gland responsiveness to hypocalcemia in diabetic patients with end-stage renal disease. *Mineral Electrolyte Metab*, 11:324A, 1985.
- Sugimoto T, Ritter C, Morrissey J, Hayes C y Slatopolsky E: Effects of high concentrations of glucose on PTH secretion in parathyroid cells. *Kidney Int*, 37:1522-1527, 1990.
- Aubia J, Bosch J, Lloveras J, Chine M, Hojman L y Masramón J: Relative hyperphosphaturia in diabetic chronic renal failure: a protective factor of hyperparathyroidism. *Mineral Electrolyte Metab*, 13:311-315, 1987.
- Nilsson P, Danielson BG, Grefberg N y Wide L: Secondary hyperparathyroidism in diabetic and non diabetic patients on long-term continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Scand J Urol Nephrol*, 19:59-65, 1985.
- Coronel F, Naranjo P, Gallego E, Cruceyra A, Torrente J y Barrientos A: Metabolismo óseo del paciente diabético en diálisis peritoneal continua ambulatoria. *Nefrología*, 8:338-344, 1988.
- Kikinami K, Nishizawa Y, Nakatsuka K, Matsushita Y, Inoue T, Maki T y Morii H: Changes in parathyroid hormone in diabetics in long term hemodialysis. *Nephron*, 54:318-321, 1990.
- De Fronzo RA, Goldberg M y Agus ZS: The effects of glucose and insulin on renal electrolyte transport. *J Clin Invest*, 58:83-89, 1976.
- Rapado A, La Piedra C, Díaz Curiel M, Toural V, Palacios N y Herrera JL: Serum osteocalcin (BGP) in insulin dependent diabetes mellitus associated with diminished bone mineral content. En Cohn DV, Martin TJ y Meunier PJ (eds.). *Calcium Regulation and Bone Metabolism Excerpta Medica*, p. 690, Amsterdam.
- Rico H, Hernández ER, Cabranes JA y Gómez-Castresana F: Suggestion of a deficient osteoblastic function in diabetes mellitus: the possible cause of osteopenia in diabetes. *Calcif Tissue Int*, 45:71-73, 1989.
- Pedrazzoni M, Ciotti G, Pioli G, Girasole G, Davoli L, Palummeri E y Passeri M: Osteocalcin levels in diabetic subjects. *Calcif Tissue Int*, 45:331-336, 1989.
- Andress DL, Kopp JB, Maloney NA, Coburn JW y Sherrard DJ: Early deposition of aluminium in bone in diabetic patients on hemodialysis. *N Engl J Med*, 316:292-296, 1987.
- McNair P, Christensen MS, Madsbad S, Christiansen C y Transbol I: Hypoparathyroidism in diabetes mellitus. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 96:81-86, 1981.
- Cruishank DP, Pitkin RM, Reynolds WA, Williams GA y Hargis GK: Altered maternal calcium homeostasis in diabetic pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab*, 50:264-267, 1980.
- Venkataraman PS, Blick KE, Dasharathy G y Parker MK: Lowered serum Ca, blood ionized Ca, and unresponsive serum parathyroid hormone with oral glucose ingestion in infants of diabetic mothers. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 6:931-935, 1987.
- Hand AR y Weiss RE: Effects of streptozocin-induced diabetes on parotid gland. *Lab Invest*, 51:429-440, 1984.
- Goodman WG y Hori MT: Diminished bone formation in experimental diabetes. *Diabetes*, 33:825-831, 1984.
- Levy J, Reid I, Halstad L, Gavin JR III y Avioli LV: Abnormal cell calcium concentration in cultured bone cells obtained from femurs of obese and non-insulin-dependent diabetic rats. *Calcif Tissue Int*, 44:131-137, 1989.
- Ituarte EA, Halstead LR, Ida-Klein A, Ituarte AG y Hahn TJ: Glucose transport in UMR-106-01 osteoblastic osteosarcoma cells: regulation by insulin. *Calcif Tissue Int*, 45:27-33, 1989.