

Kosti: metabolismus, hormony, Ca, P, lab. markery

Vladimír Soška



Oddělení klinické biochemie

Kost

- Kost - 2 složky
 - ▶ Organická (35 % hmoty) - kolagen, proteoglykany
 - ▶ Anorganická - krystaly hydroxyapatitu
- Kost = živá tkáň - trvale přestavba
 - ▶ Tvorba i odbourávání - remodelace kosti
 - ▶ Fysiologicky
 - ★ Dětství - nárůst, dospělost - úbytek
- Převaha odbourávání - osteoporóza
- Převaha novotvorby - růst, mineralizace kosti

Osteoporóza

- Redukce kostní hmoty
 - ▶ Organické + anorganické
 - ▶ Zvýšená křehkost a lomivost
- Celospolečenský problém
 - ▶ Fraktury krčku femuru
 - ★ 20 % úmrtnost, invalidita
- Dělení osteoporózy
 - ▶ Sekundární
 - ★ Při jiném onemocnění (steroidy, revm. arthritis,..)
 - ▶ Primární

Primární osteoporóza

- Typ I - postmenopauzální (estrogeny)
 - ▶ Ženy 50 - 65 r.
 - ▶ Zvýšená resorpce při normální novotvorbě
- Typ II - senilní
 - ▶ M+Ž, Po 65 r.
 - ▶ Snížená novotvorba při nezměněné resorpci

Diagnostika osteoporózy

- Kostní biopsie
 - ▶ Nejlepší, agresivní
- Zobrazovací techniky
 - ▶ Ultrasono, denzitometrie, CT
 - ★ Měření pouze aktuální hustoty tkáně
 - ★ Chyba měření často větší než roční změna
- Laboratorní vyšetření
 - ▶ Markery kostního metabolismu
 - ▶ Měření aktivity procesu
 - ▶ Nutná kombinace metod

Kostní buňky

- Osteoblasty
 - ▶ Osteocyty
- Osteoklasty

Kostní buňky

- Osteoblasty - tvorba kostní tkáně
 - ▶ Mezenchymální kmenové buňky
 - ★ Po ukončení formace přeměna na osteocyty
 - Tvorba osteoidu, mineralizace
 - ▶ Vychytávání Ca a P z krve, tvorba hydroxyapatitu
 - ▶ Obsahují ALP

Kostní buňky

- Osteoklasty - odbourávání (resorpce) kostní hmoty
 - ▶ Z hematopoetických bb.
 - ★ Tkáňové růstové faktory (cytokiny)
 - ▶ Enzymy a protony (pH)
 - ★ Pokles pH - rozpouštění krystalů hydroxyapatitu
 - Z krystalu hydroxyapatitu uvolňují Ca a P
 - ★ Enzymy - proteolýza organické matrix
 - Obsahují ACP

Kostní matrix

- Složení

- ▶ Kolageny, především kolagen typu I (90 %)
 - ★ Molekuly spojeny příčnými vazbami „cross-linky“
 - ★ Pyridinolinové, deoxypyridinolinové vazby
- ▶ Osteokalcin
 - ★ 20 % nekolagenních bílkovin
 - ★ Vytvářen v osteoblastech
 - Ukazatel remodelace
 - Syntéza - vit. K

Novotvorba x odbourávání kosti

- Novotvorbu zvyšuje
 - ▶ STH, insulin, vit. D
 - ▶ Fyzická aktivita !
- Odbourávání zvyšuje
 - ▶ PTH, glukokortikoidy, T3, T4, TNF, interleukiny
 - ★ Vit. D (zvýšení „obratu“ kosti)
 - ▶ Fyzická inaktivita !
- Odbourávání snižuje
 - ▶ Kalcitonin, estrogeny

Minerály, hormony, markery metabolismu

- Minerály: Ca, P, Mg
- Hormony: Parathormon, Calcitonin, D₃
- Markery kostního metabolismu

Vápník - Kalcium - Ca

- Zásoba: kosti: 30 000 mmol (1,2 kg)
 - ▶ 99 % tělesného Ca (hydroxyapatit)
 - ▶ Mechanická pevnost kostí
 - ▶ Pohotovává zásoba Ca pro extracelul. tekutinu

- Denní bilance
 - ▶ Příjem asi 25 mmol (= 1 g.)
 - ★ Resorpce 35-50 %
 - ▶ Výdej: ledviny
 - ★ Filtrace, zpětná resorpce 98-99 % Ca

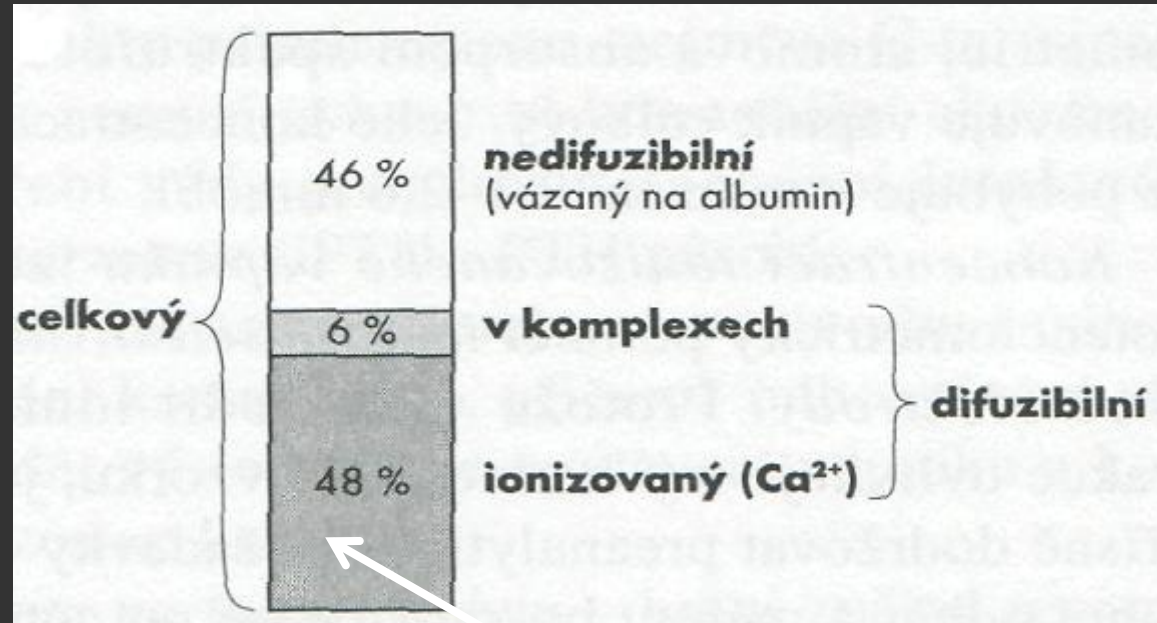
Plazmatický Ca: 2,1 - 2,6 mmol/l

- Nedifuzibilní

- ▶ Vázané na bílk.
(albumin) - 46 %

- Difuzibilní

- ▶ V komplexních
sloučeninách
(6 %)
 - ★ Citráty, fosfáty,
laktáty, sulfáty
- ▶ Ca volné -
ionizované (48 %)



Biologicky aktivní Ca

0,9 - 1,3 mmol/l

Ionizované (Ca^{2+}) x celkové (Ca)

- Změny Ca^{2+} při nezměněném celkovém Ca
- Koncentrace bílkovin (albumin)
 - ▶ ↓ bílk. = ↑ podílu Ca^{2+}
 - ▶ ↑ bílk. = ↓ podílu Ca^{2+}
- Hodnota pH
 - ▶ ↓ pH (acidóza) = ↑ Ca^{2+}
 - ▶ ↑ pH (alkalóza) = ↓ Ca^{2+}
- Koncentrace P
 - ▶ ↑ P = ↓ Ca^{2+} (nerozpustné komplexy Ca)
 - ▶ ↓ P = ↑ Ca^{2+}

Ionizované (Ca^{2+}) x celkové (Ca)

- ↓ podílu Ca^{2+}
 - ▶ ↑ albuminu, pH, P
- ↑ podílu Ca^{2+}
 - ▶ ↓ albuminu, pH, P
- Měření celkového x ionizovaného Ca

Význam Ca^{2+}

- ↓ nervosvalovou dráždivost
- ↓ propustnost bb. membrán a kapilár cév
- Tvorba kostní hmoty
- Svalová kontrakce
- Hemokoagulace
- Laktace

Řízení metabolismu Ca

- Parathormon
- Kalcitonin
- Vitamin D

Parathormon: 1,5 - 7,6 pmol/l

- Polypeptid, příštítná tělíska (4)
 - ▶ Řízení sekrece: hladina Ca^{2+} , kalcitriol
- Metabolizmus
 - ▶ Játra, ledviny
- Játra - štěpení na:
 - ▶ C-terminální a N-terminální fragment
- Krev: intaktní + c-terminální fragment
 - ▶ C-terminální fragment - neúčinný
 - ▶ Intaktní PTH - účinná látka
- Ledviny
 - ▶ Vylučování obou fragmentů

Parathormon

- Základní regulační hormon Ca-P metabolismu.
 - ▶ Hladina ionizovaného Ca v extracelulární tekutině
 - ★ ↓ Ca = ↑ sekrece PTH
 - ★ ↑ Ca = ↓ sekrece PTH

Cílové tkáně pro PTH

- ▶ Kostí, ledviny: přímo
- ▶ Střevo: nepřímo přes vit. D₃

Parathormon - cílové tkáně

- Kost - ↑ novotvorby, ↑↑ odbourávání
 - ▶ Vyplavení Ca do krve, ↑ Ca
- Ledviny
 - ▶ Tubuly ledvin
 - ★ ↑ reabsorpce Ca, ↓ reabsorpce P a HCO_3^-
 - ▶ ↑ hydroxylace D vit. (syntézy 1,25-OH-vit. D)
- Střevo
 - ▶ 1,25-OH vit. D - ↑ vstřebávání Ca

Problematika stanovení PTH

- Degradace v krevní cirkulaci
 - ▶ Fragmenty - inaktivní
 - ▶ Fragment 7-84 AMK
 - ★ u HD pacientů, inaktivní, zachycován většinou souprav na stanovení PTH

Hyperparathyreóza

- Primární
 - ▶ Adenom příštítných tělísek
 - ★ Hyperplázie, karcinom
 - ▶ Příznaky
 - ★ Polyurie, polydipsie, sval. slabost, nausea
 - ▶ Laboratoř:
 - ★ Hyperkalciúrie, hypofosfatémie, ↑ ALP
 - ★ Oxalátová nefrolitiáza
- Sekundární
 - ▶ Dlouhodobá stimulace příštit. tělísek
 - ★ Chron. selhání ledvin
 - Normální nebo snížené Ca, ↑ P

Hypoparathyreóza

- Primární
 - ▶ Chybění příštítných tělísek
 - ★ Operace, zánět
- Pseudohypoparathyreóza
 - ▶ Sekrece PTH v normě
 - ▶ Vadné receptory pro PTH (kost, ledviny)
- Klinika
 - ▶ Pokles Ca, ALP, vzestup P
 - ▶ Osteomalacie, křivice

Kalcitonin: 0-10 ng/l

- Polypeptid, parafolikulární bb. thyroidey
- Sekrece - hladina Ca^{2+}
 - ▶ $\uparrow \text{Ca}^{2+}$ = zvýšení tvorby
 - ▶ $\downarrow \text{Ca}^{2+}$ = útlum tvorby
- Cílové tkáně: kost, ledviny
 - ▶ Kost - \uparrow ukládání Ca do kostní hmoty
 - ▶ Ledviny - \downarrow rezorpce fosfátů

Kalcitonin

- Vliv na metabol. Ca u člověka
 - ▶ Zanedbatelný
 - ▶ Význam - léčba osteoporózy

- Zvýšení - nádorový marker
 - ▶ Některé tumory štítnice
 - ▶ Tumory jiných tkání

Vitamin D (cholecalciferol = prohormon)

- Cholecalciferol (D_3) - živočišný původ
 - ▶ Ergocalciferol (D_2) - rostlinný původ
- Zdroj: potrava, tvorba v kůži

- Tvorba v kůži vlivem UV záření
 - ▶ Syntéza z 7-dehydrocholesterolu
 - ★ Tepelná izomerace
 - ★ Krev - transportní protein
 - ▶ Ergocalciferol (D_2)
 - ★ Syntéza z ergosterolu (potrava)

Aktivní vit. D = steroidní hormon

- Další metabolismus = hydroxylace
 - ▶ Nutný vit. C
 - ▶ Játra: 25-hydroxyvitamín D (kalcidiol)
 - ▶ Ledviny: 1,25- dihydroxyvitamín D (kalcitriol)
 - ★ Řízeno PTH - stimulace
 - ▶ Stanovení - Sezónní variabilita !!!

Aktivní vit. D = steroidní hormon

- Funkce kalcitriolu
- Střevo
 - ▶ Stimulace resorbce Ca a P
 - ★ Calbidin - Ca vázající protein
- Příštítná tělíska
 - ▶ ↓ D3 ↑ syntézu PTH, ↑ D3 ↓ syntézu PTH
- Kost - ↑ remodelace
 - ▶ ↑ diferenciaci osteoblastů
 - ★ Syntéza organické kostní matrix
 - ▶ ↑ aktivitu osteoklastů
 - ★ Odbourávání kostní hmoty

Změny hladiny Ca v krvi

- Hypokalcémie

- ▶ Příčiny

- ★ Dlouhodobý nedostatečný přívod

- ★ Porucha vstřebávání: nedostatek vitamínu D

- ★ Nedostatek parathormonu

- ▶ Příznaky: parestézie, tetanie, křeče, dušnost

- Hyperkalcémie

- ▶ Příčiny

- ★ Zvýšené vstřebávání (nadbytek vitamínu D)

- ★ Nadbytek parathormonu

- ▶ Příznaky: Svalová slabost, nausea, polyurie

Ca v séru - preanalytika

- Odběrové soupravy: ne EDTA, Na-citrát !!
- Měřit ionizované Ca

Ca v moči/24 hod - preanalytika

- Ca/24 hod v moči
 - ▶ Sběr bez acidifikace
 - ★ Riziko precipitace
 - ▶ Nepromíchání vzorku
 - ▶ Měření MM

- P
 - ▶ Mytí sběrné nádoby - fosfáty v mycích prostř.

Fosfor - P

- Zásoba: 600 g
 - ▶ 85 % - skelet (hydroxyapatit, 85 % P, 20 mol)
 - ▶ 15 % - měkké tkáně, ECT
- Anorganický P v plazmě
 - ▶ Hydrogen- a dihydrogen-fosforečnany (4 : 1)
 - ▶ Dospělí 0,7 - 1,6 mmol/l
 - ▶ Děti do 2,2 mmol/l
- Vylučování močí: 25 - 50 mmol

Význam P

- Minerální součást kostní hmoty
- Klíčové organické sloučeniny
 - ▶ DNA, RNA, fosfolipidy, koenzymy (ATP..),.....
- Esterifikace glycidů
 - ▶ Nutné pro jejich metabolismus
- Anorganické fosfáty v krvi i moči
 - ▶ Pufrovací vlastnosti

Změny koncentrace P v krvi

- Zvýšení
 - ▶ Růst (fysiol)
 - ▶ Chronické selhání ledvin
 - ▶ Hypoparathyreóza
 - ▶ Intoxikace vit. D
- Snížení
 - ▶ Poruchy vstřebávání, anacida
 - ▶ Hyperparathyreóza
 - ▶ Hypovitaminóza D

Hořčík - Mg

- Distribuce

- ▶ 55 % v kostech (1 000 mmol = 25 g)
- ▶ 45 % intracelulárně (vazba na ATP, GTP...)
- ▶ 2 % ECT (plasma 0,3 %)

- Plasma

- ▶ 33 % vazba na bílkoviny
- ▶ 57 % ionizovaná frakce
- ▶ 10 % komplexy
 - ★ Citráty, fosfáty, další anionty

Hořčík - význam

- Kofaktor asi 300 enzymů
 - ▶ ATPázy, fosforyláza, Na-K-ATPáza
- Stabilizace bb. membrán
- Sekrece parathormonu
- Podpora fibrinolýzy
- ↓ nervosvalovou dráždivost
- Tvorba kostní hmoty
- Brání tvorbě močových konkrementů

Mg - změny v krvi

- Hypermagnezémie
 - ▶ Selhání ledvin
 - ▶ Acidóza
 - ▶ Příznaky: slabost svalů, útlum CNS, arytmie
- Hypomagnezémie
 - ▶ Snížený příjem nebo absorpce
 - ▶ Zvýšené ztráty (průjmy, zvracení, ledviny)
 - ▶ Příznaky: tetanie, křeče

Minerály, hormony, markery metabolismu

- Minerály: Ca, P, Mg (sérum, odpady v moči)
- Hormony: Parathormon, vitamin D
- Ukazatele kostního metabolismu
 - ▶ **Novotvorba kosti**
 - ★ Osteokalcin
 - ★ Kostní ALP, PICP
 - ▶ **Resorpce kosti**
 - ★ ICTP (β -Crosslaps)
 - ★ TRACP (tartát-rezistentní ACP)
 - ★ Hydroxyprolin, Deoxypyridinolin

Osteokalcin

- Vedle kolagenu hlavní bílkovina kostní tkáně
 - ▶ Syntéza - kalcitriol + vit. K., vazba hydroxyapatitu
- Vlastnosti
 - ▶ Velmi malá molekula, rychle vyloučen močí
 - ★ Zvýšená hladina při renální insuficienci
 - ▶ Diurnální rytmus - nejvíce v noci
- Stanovení v krvi - dnes hlavní marker novotvorby kosti
 - ▶ μl
- *Ve vývoji je stanovení Osteonektinu*

Kostní ALP

- Membrána osteoblastů
 - ▶ Aktivita osteoblastů - přestup do krve
- Izoenzymy ALP
- Obtížné odlišení kostní a jaterní ALP
 - ▶ Stejná skladba molekul AMK

PICP: Karboxyterminální propeptid prokolagenu I

- Kolagen typu I = 90 % organické kostní hmoty
 - ▶ Syntéza - prokolagen I
 - ▶ Před zabudováním do kostní hmoty
 - ★ Odštěpení propeptidů
 - N-terminální: nestálý, méně vhodný
 - C-terminální (PICP): stabilní
- Dnes již prakticky nepoužívaný
 - ▶ Problém stanovení v moči

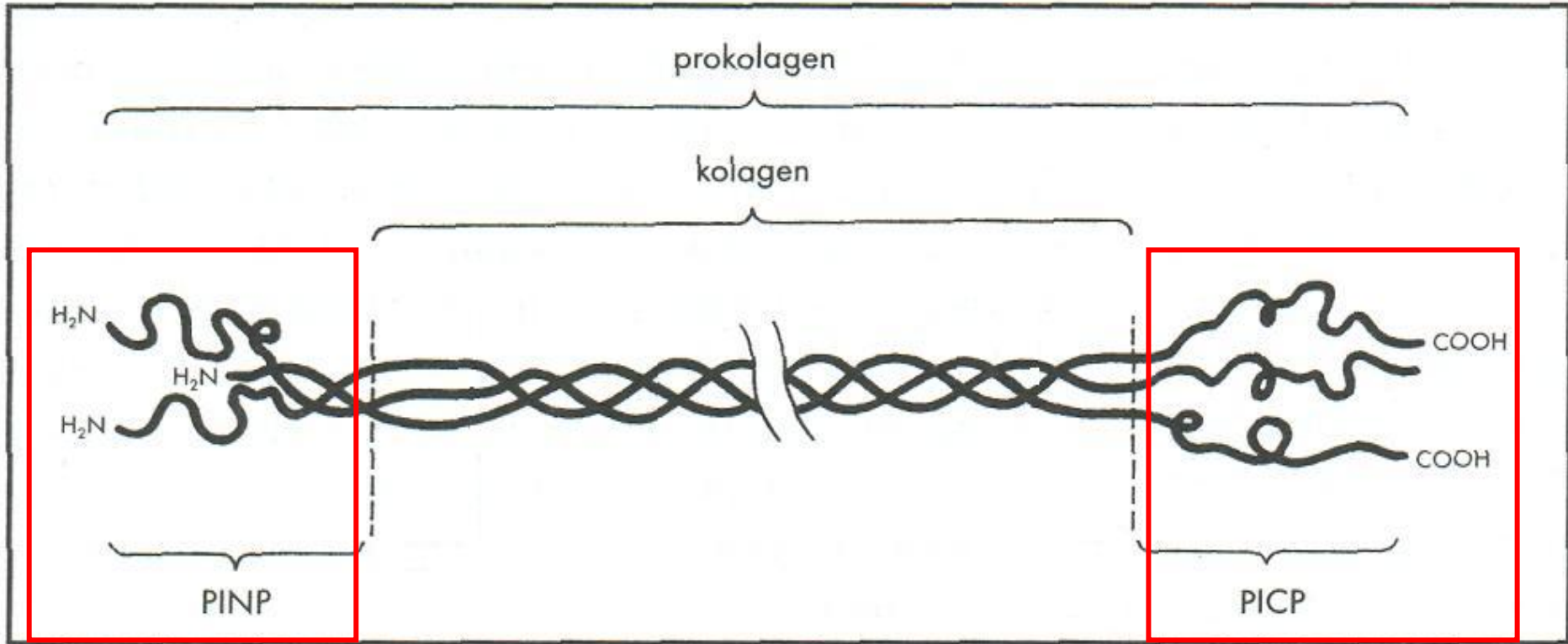


Schéma vzniku molekuly kolagenu typu I z prokolagenu a jeho další odbourávání: PICP = karboxyterminální propeptid prokolagenu I; ICTP = karboxyterminální telopeptid kolagenu I; PINP a INTP jsou obdobné N-terminální peptidy.

Minerály, hormony, markery metabolismu

- Minerály: Ca, P, Mg (sérum, odpady v moči)
- Hormony: Parathormon, vitamin D
- Ukazatele kostního metabolismu
 - ▶ Novotvorba kosti
 - ★ Osteokalcin
 - ★ Kostní ALP, PICP
 - ▶ **Resorpce kosti**
 - ★ ICTP (β -Crosslaps)
 - ★ TRACP (tartát-rezistentní ACP)
 - ★ Hydroxyprolin, Deoxypyridinolin

C- terminální fragment telopeptid kolagenu I (ICTP, CTX, beta-CrossLaps)

- Při degradaci kolagenu typu I uvolňovány
 - ▶ Aminoterminální telopeptid (NTX-I)
 - ▶ Karboxyterminální telopeptid (CTX-I)
 - ▶ Specifické pro kost
 - ★ CTX-I (ICTP, CrossLaps), α nebo β
 - ★ Malá molekula, filtrován ledvinami
 - ★ Míra resorpce kosti
- V současné době nejpoužívanější marker kostní resorbce
 - ▶ Imunochemické stanovení v krvi
 - ▶ Do 0,3 ug/l

Telopeptidy kolagenu typu I

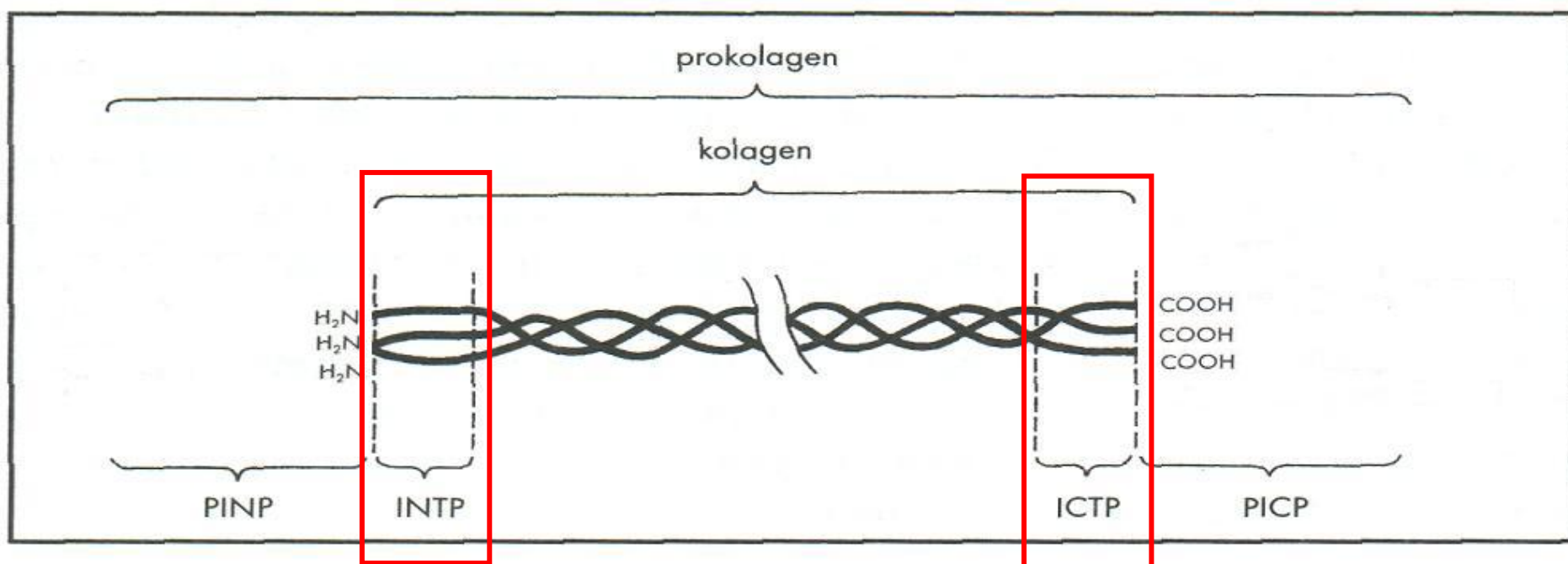


Schéma vzniku ICTP (karboxyterminálního telopeptidu kolagenu I) a INTP (aminoterminálního telopeptidu kolagenu I)

Tartarát-rezistentní ACP (TRACP)

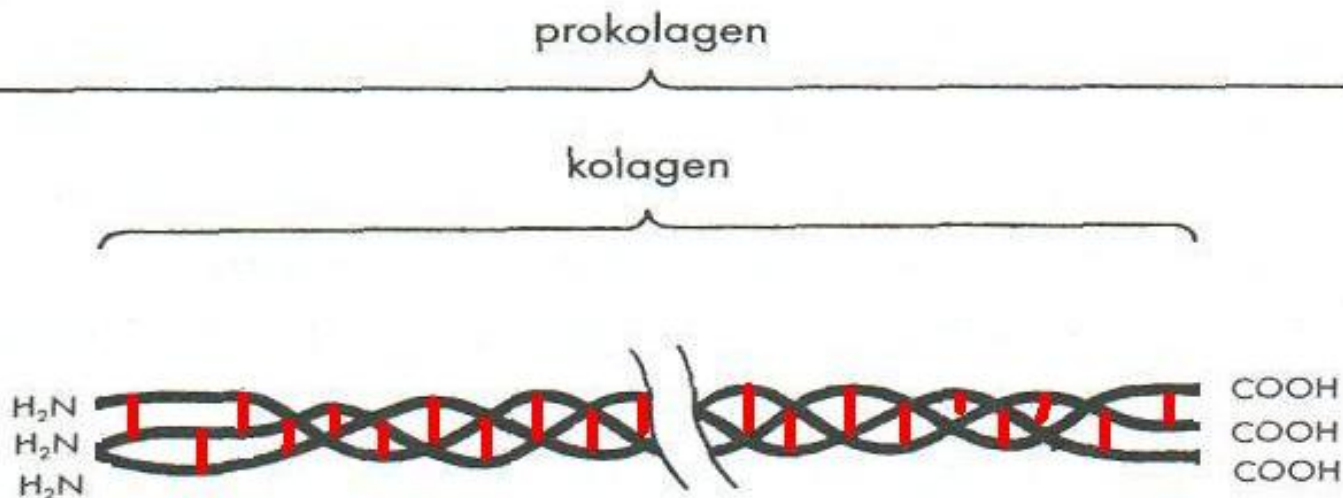
- ACP izoenzymy
 - ▶ Prostata, trombocyty, erytrocyty, kost-osteoklasty
 - ▶ ACP v osteoklastech
 - ★ Součinnost při odbourávání kostní hmoty
 - ★ Aktivita ACP = intenzita kostní resorpce
 - ★ Není inhibována tartarátem
- Stanovení
 - ▶ Tartarát inhibuje prostatickou ACP
 - ▶ Stanovení v plasmě - zábrana vzestupu thr. ACP
 - ▶ Není-li hemolýza, není ani ery. ACP

Hydroxyprolin

- *AMK v kolagenu, uvolněn při odbourání*
 - ▶ *Vylučován do moče*
- *Nevýhody*
 - ▶ *Sběr moče, hydrolýza peptidů*
 - ▶ *Není specifický pro kost*
 - ★ *Kolagen, C1 složce komplementu*
- *Dnes obsoletní, nepoužívá se*

Pyridinolin, deoxypyridinolin (cross-links)

- Spojky - příčné vazby mezi kolagenními vlákny
 - Tvorba z hydroxylyzinu
- Odbourávání kolagenu
 - Uvolnění těchto složek do krve, přechod do moče
- Pyridinolin - nespecifický (kost, chrupavka)



Pyridinolin, deoxypyridinolin (cross-links)

- Vazby mezi kolagenními vlákny
 - ▶ Tvorba z hydroxylyzinu
 - ▶ Odbourávání kolagenu
- Pyridinolin - nespecifický (kost, chrupavka)
- Deoxypyridinolin - specifický pro kost
 - ▶ Vylučování do moče
 - ★ Nezávislé na dietě, funkci ledvin
 - ▶ Diurnální kolísání
- Dnes již málo používán (problém moče)

Minerály, hormony, markery metabolismu

- Minerály: Ca, P, Mg (sérum, odpady v moči)
- Hormony: **Parathormon**, vitamin D
- Ukazatele kostního metabolismu
 - ▶ Novotvorba kosti
 - ★ **Osteokalcin**
 - ★ Kostní ALP, PICP
 - ▶ **Resorpce kosti**
 - ★ **ICTP (β -Crosslaps)**
 - ★ TRACP (tartát-rezistentní ACP)
 - ★ Hydroxyprolin, Deoxypyridinolin