Řízení metabolismu vápníku

Homeostáza vápníku a fosforu

Základními prvky kostní tkáně jsou vápník (Ca) a fosfor (P)

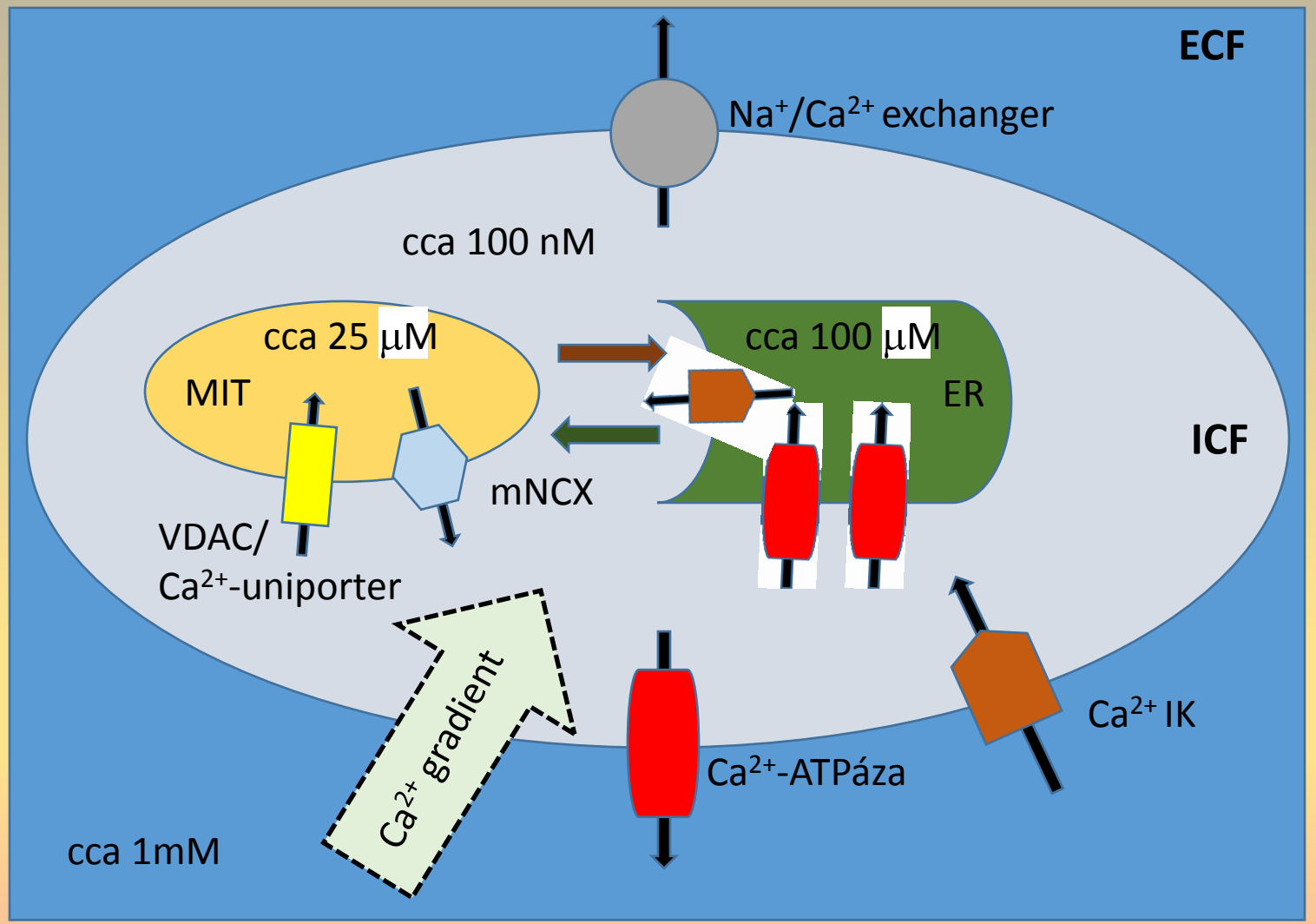
- Až 65 % hmotnosti
- Téměř veškeré zásoby Ca a P, a polovina Mg v lidském těle
- Zásadní význam těchto prvků ve fyziologických procesech

Kostní tkáň
- 99 % celkového Ca, z toho 99 % v minerální složce
- 1 % - rychle mobilizovatelná a směnitelná část (ICF - ECF)

Extra- a intracelulární vápník

Extracelulární vápník
- Mineralizace chrupavek a kostí
- Kofaktor enzymů včetně proteinů srážecí kaskády
- „zdroj“ intracelulárního vápníku
- Excitabilní tkáně

Intracelulární vápník
- Signální význam
- Kontraktilita
- Excitabilita
- Neurosekrece
- Endokrinní a exokrinní sekrece
- Buněčná diferenciace a proliferace
- Buněčné smrti a jejich regulace

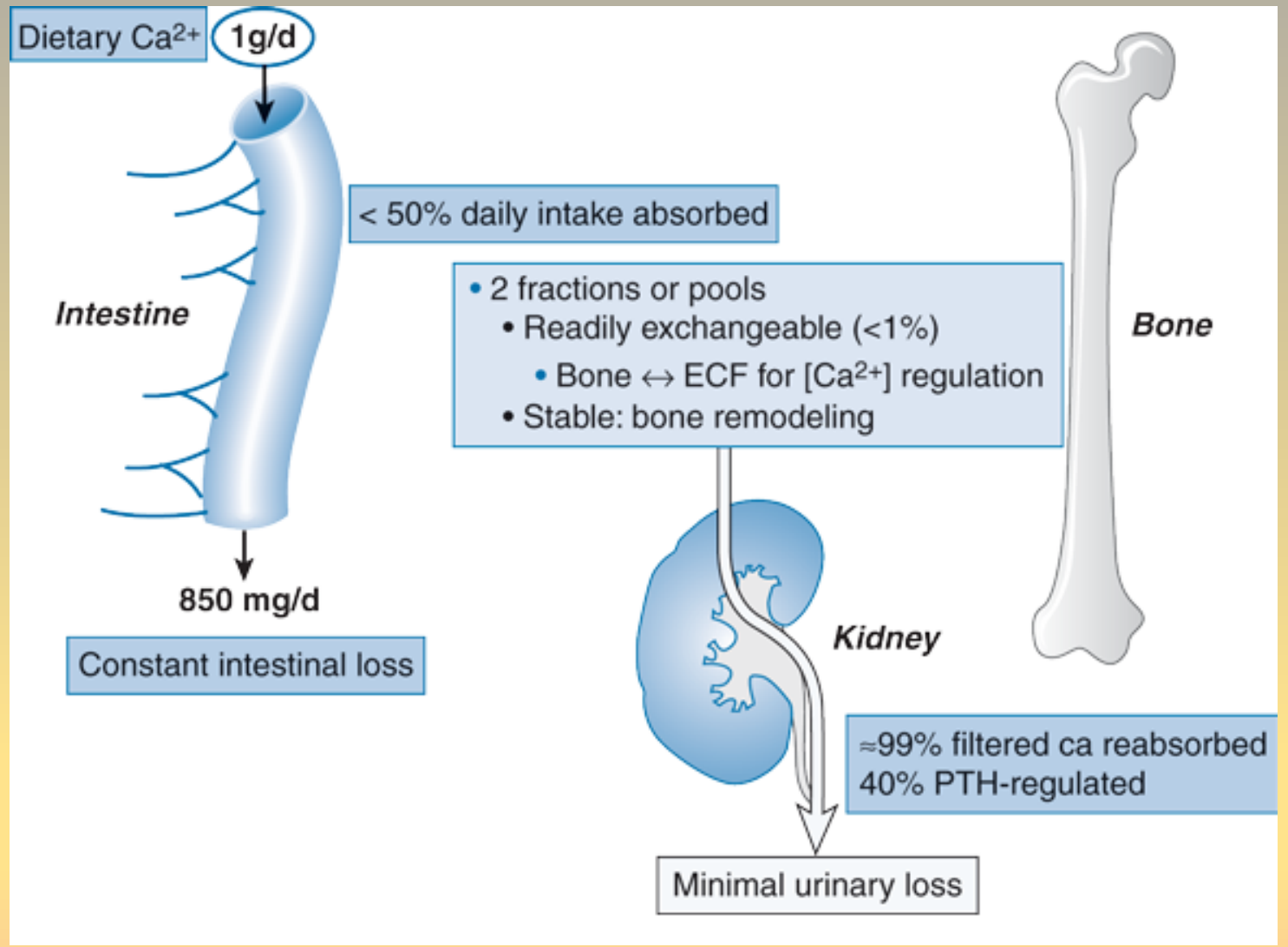


Vápník a jeho příjem

Absorpce vápníku
- 25 – 60 %
- Věk
- Stravovací návyky a obsah vápníku v potravě
- Požadavky kostní tkáně
- Vitamín D

Žaludek
- Žaludeční šťáva a HCl
- Produkce HCl

Tenké střevo
- Duodenum a jejunum – 90 %
- Adaptivní příjem – duodenum a ileum



Negativní bilance vápníku spojená s věkem je rizikovým faktorem osteoporózy.

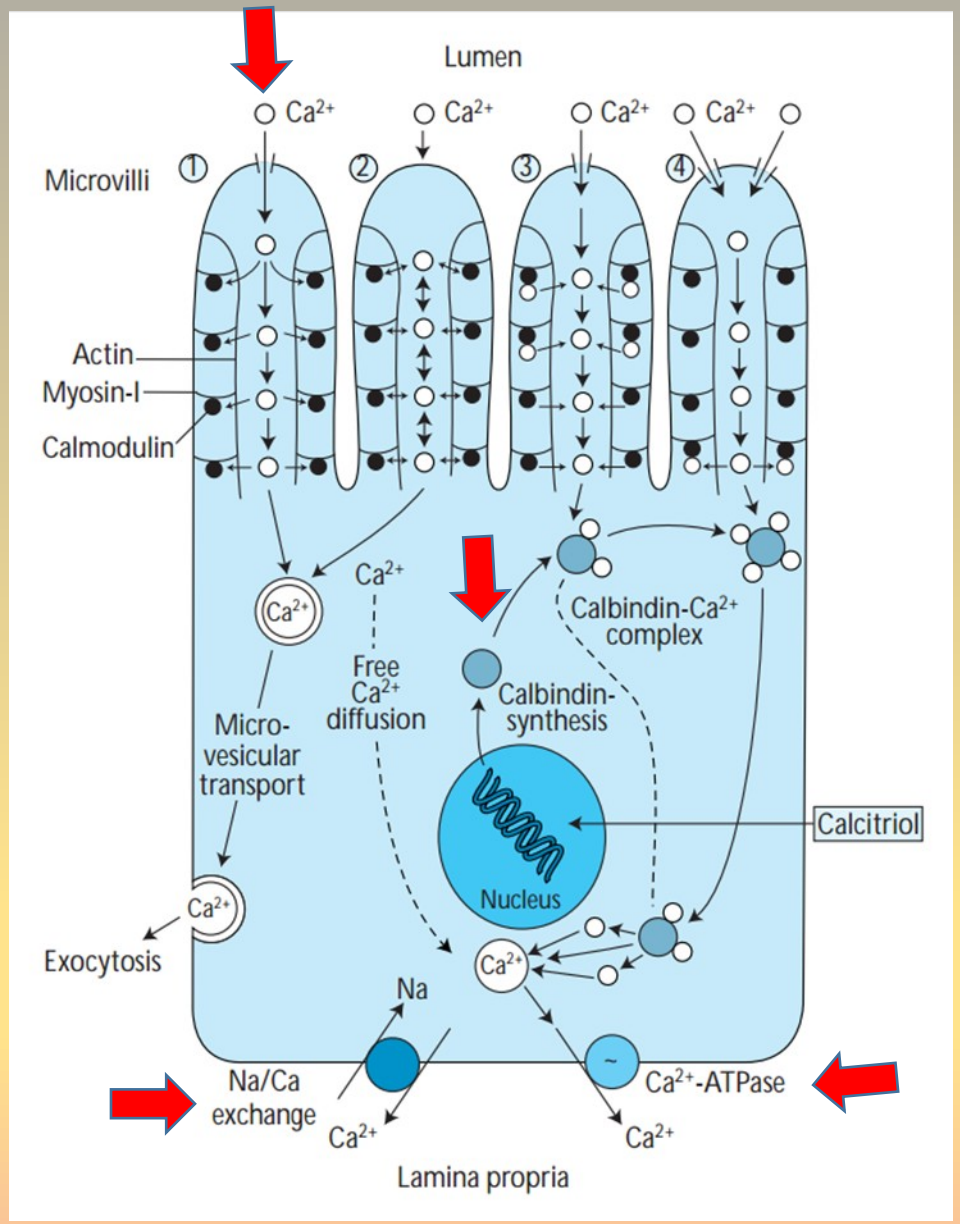
Mechanismy absorpce vápníku

Vitamín D

Paracelulární
- Luminální elektrochemický gradient
- Integrita mezibuněčných spojení
- Klaudiny

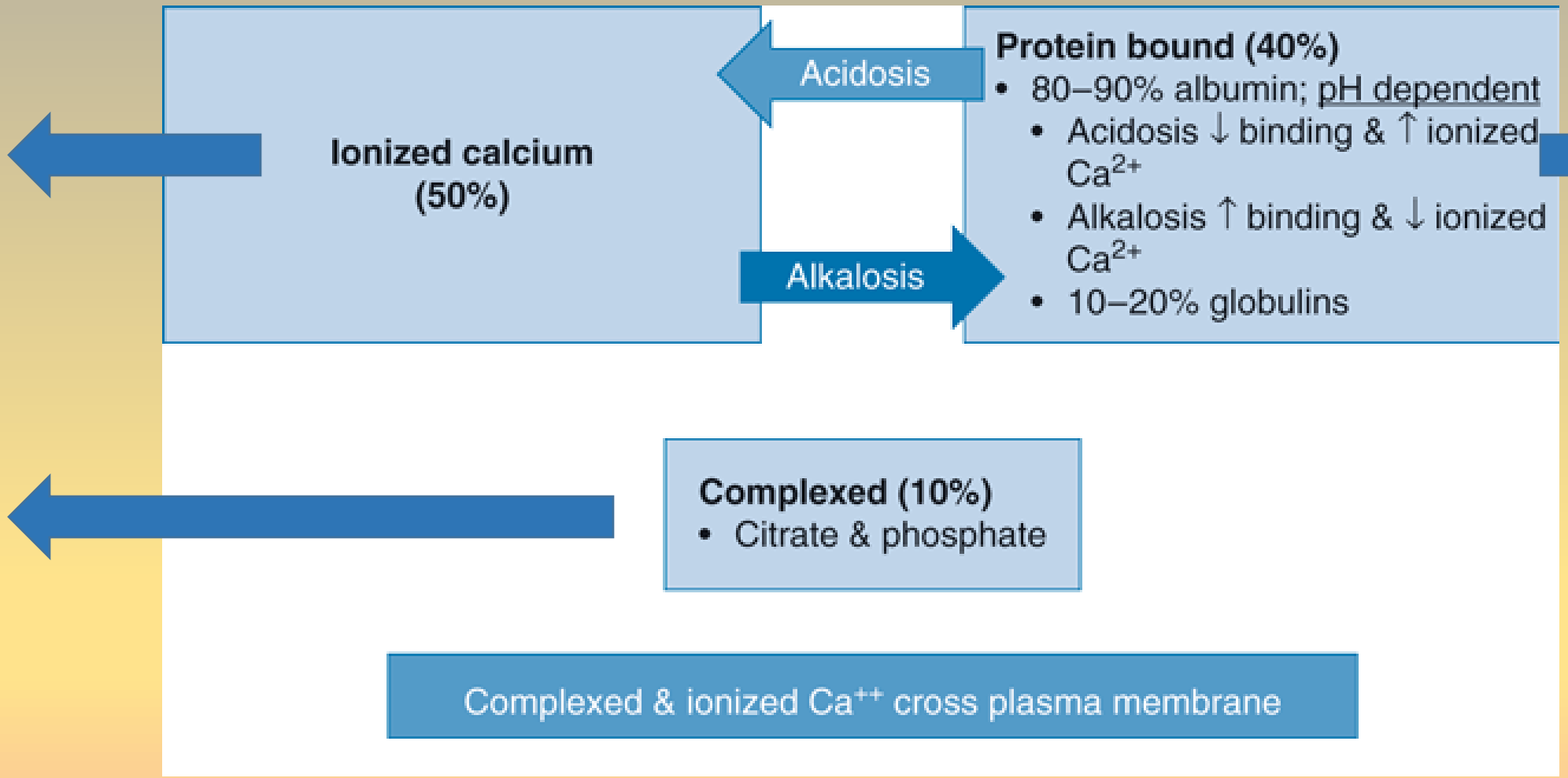
Transcelulární
- TRPV6 a asociované proteiny
- Recyklace TRPV6
- Alternativní mechanismy?

Glukokortikoidy	Estradiol	Prolaktin
-	+	+



Vápník v krvi (kalcémie)

Glomerulární filtrace ANO
Endokrinní kontrola

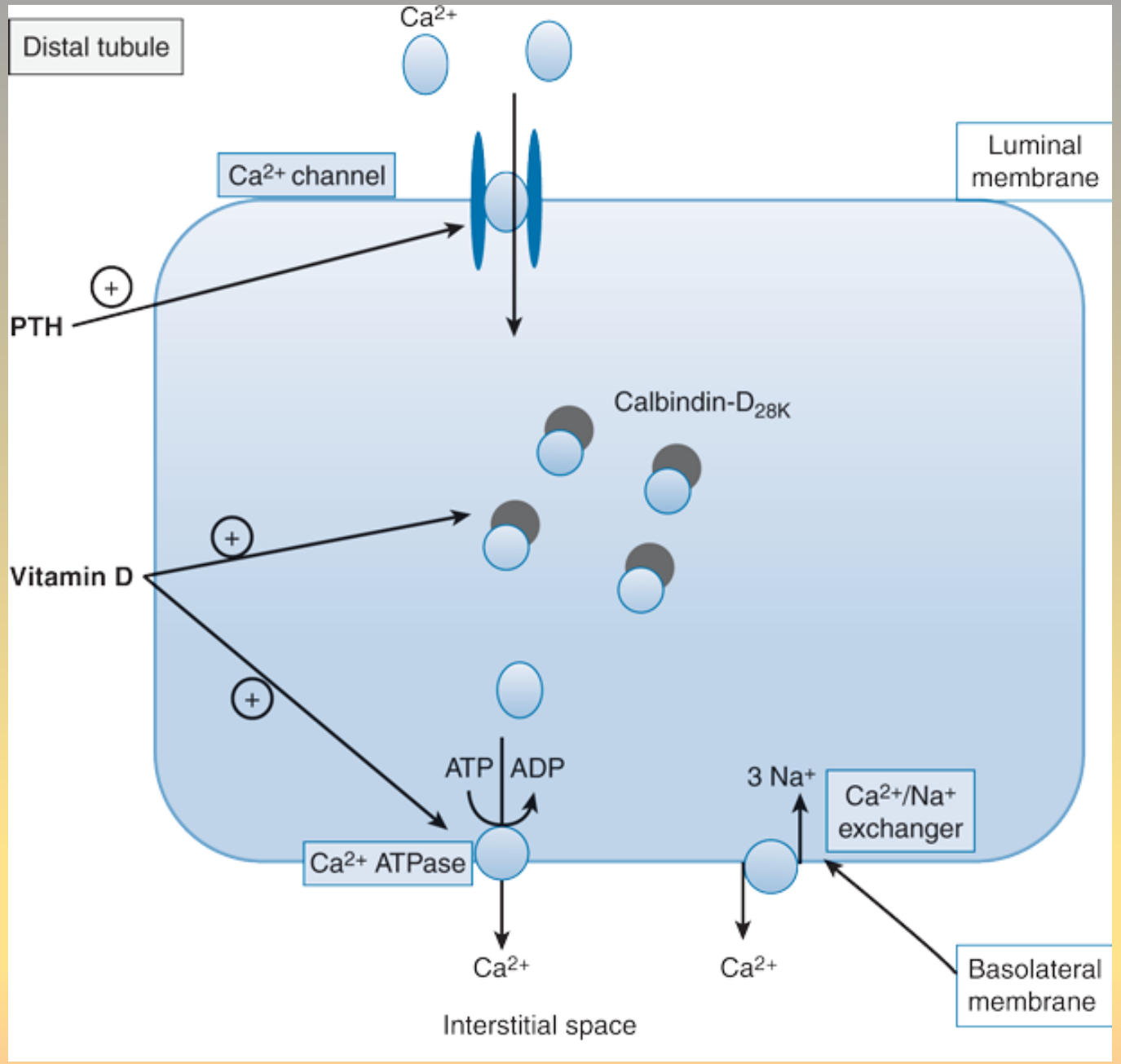


Glomerulární filtrace NE

Exkrece vápníku

- 98 % filtrovaného Ca podléhá reabsorpci
- 70 % proximální tubulus
- 20 % tlusté vzestupné raménko HK
- 5 % sběrací kanálek
- 2 % moč

- CaSR (TALH)
- Paracellin-1
- PTH



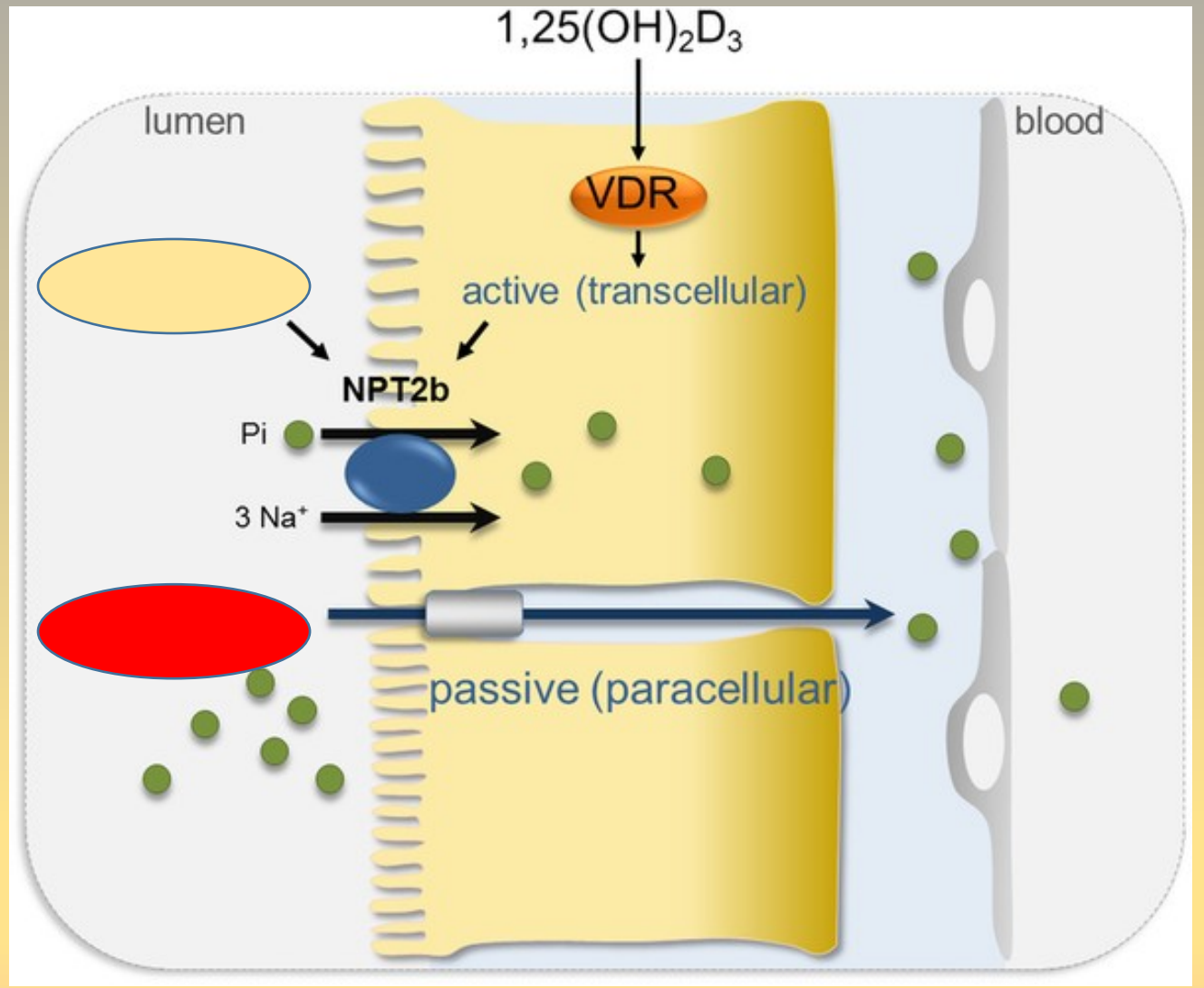
Fosfor

Distribuce
- Kosti cca 45 % - $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$
- V organické i anorganické podobě v ICF a ECF
- Věk, pohlaví, růst

Krev
- Koncentrace 1 mM (sérum)
- Ionizovaná forma (HPO_4^{2-}, $H_2PO_4^-$)
- 12 % komplexy s proteiny
- Intracelulární koncentrace je přibližně stejná jako extracelulární
- Kotransport se sodíkem

Funkce
- Strukturální – NK, fosfolipidy
- Modifikované sacharidy, fosfoproteiny, kofaktory, G proteiny
- Makroergní sloučeniny (ATP)
- Regulační role – signální kaskády, energetické procesy

Ledviny
- Reabsorpce proximální tubulus (85 %) – *Npt1-3*



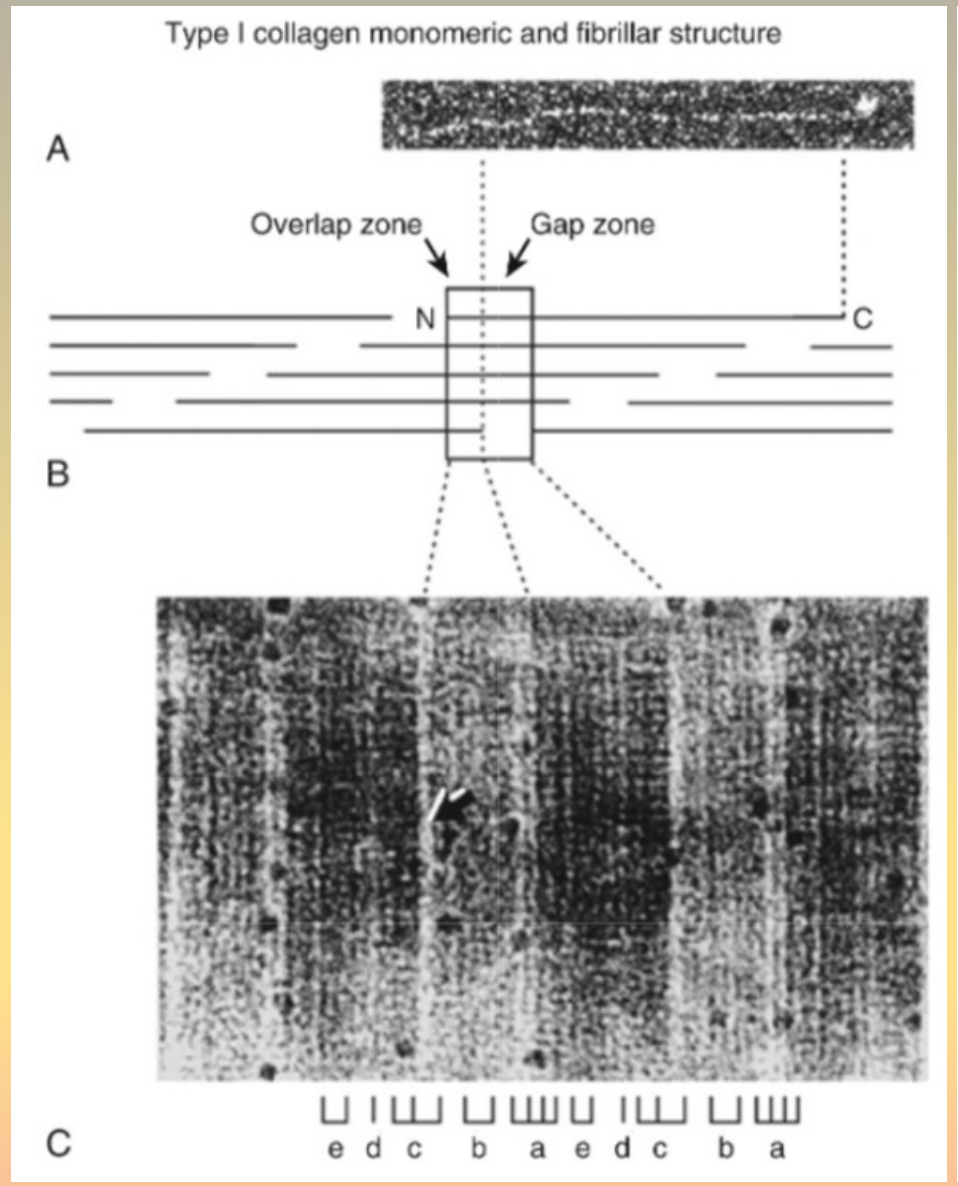
Vitamín D

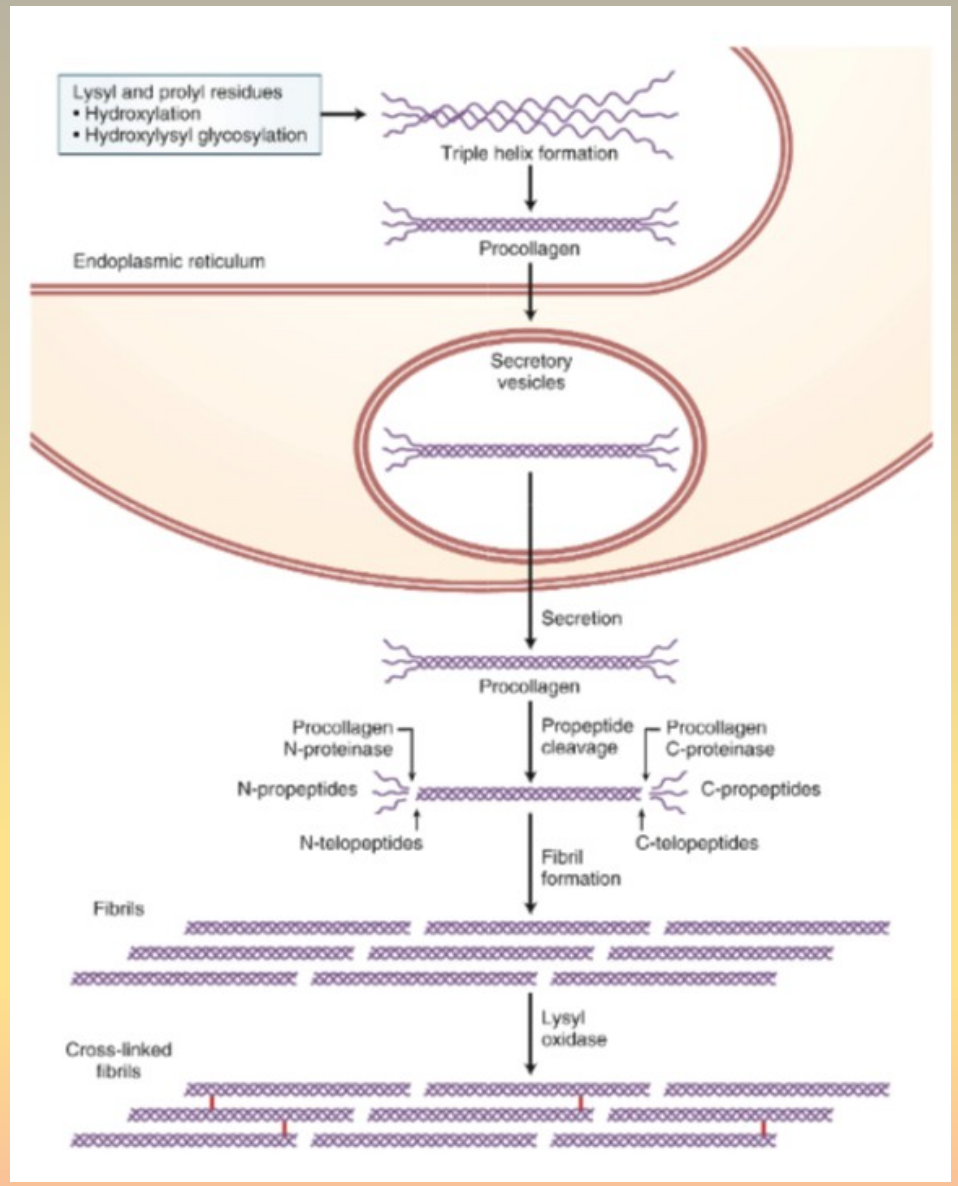
PTH

IGF-1

FGF23

Kostní matrix a kostní minerál





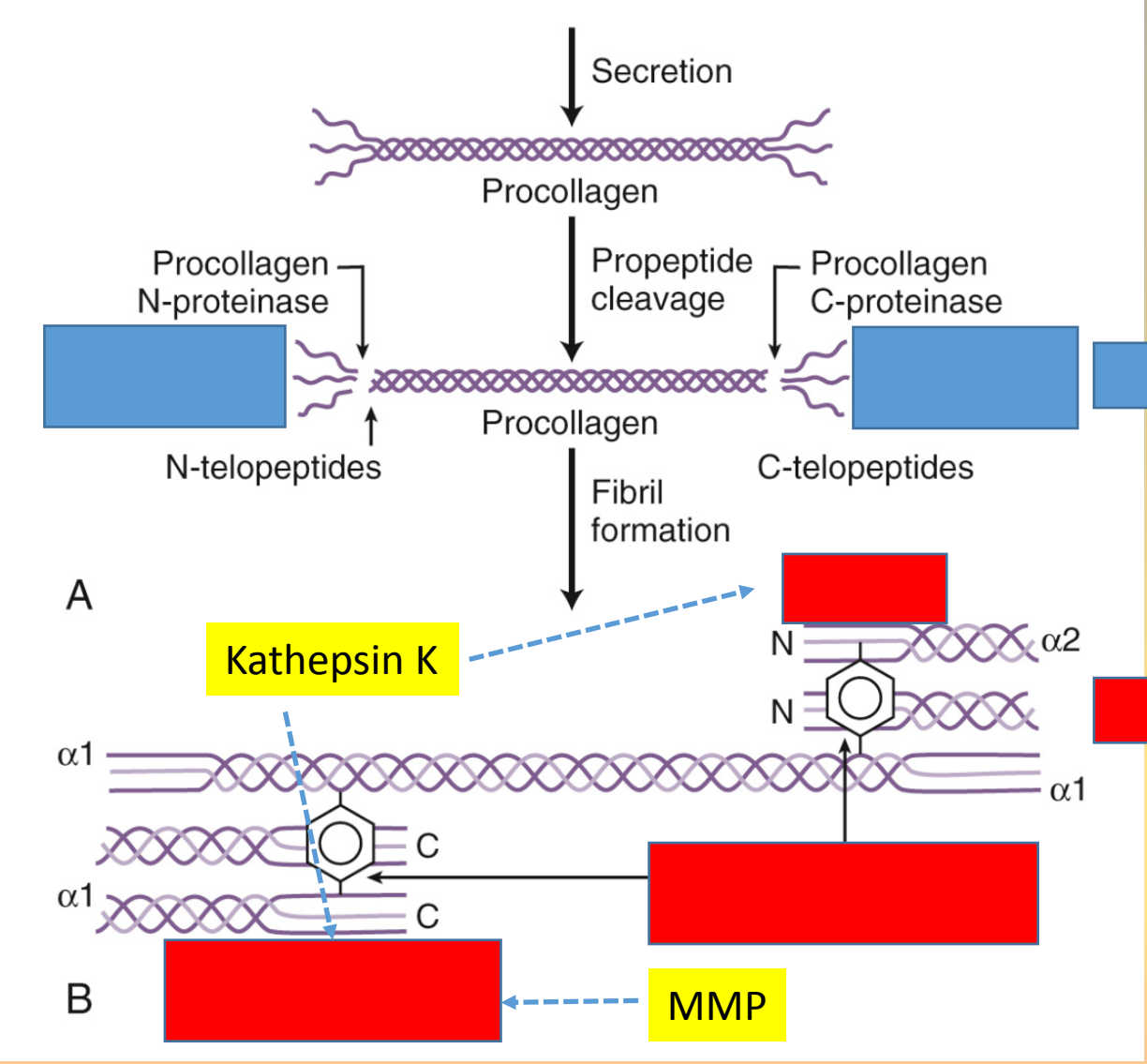
Trombospondin
Fibronektin
Matrixový Gla protein
Osteokalcin

Signální fce. + hematopoéza

Vitamín K-dependentní γ karboxylace a fosforylace

Afinita k Ca a mineralizace

Kolagen a jeho syntéza



Kolagen typu I = nejvýznamnější protein kostní matrix

Syntéza kolagenu

Degradace kolagenu

Kolagenázy – MMP

- MMP1 a MMP13 – osteoblasty
- Vliv hormonů a cytokinů

Mineralizace

= tvorba malých krystalů hydroxyapatitu (Ca, fosfáty, uhličitan, Mg, Na, K)

Vnější mechanismus – alkalická fosfatáza

Vnitřní mechanismus – phospho1 (Phosphoethanolamine/ phosphocholine phosphatase)

Endopeptidázy, PHEX – FGF23

Dostupnost Ca, P a AF

Vezikulární útvary (matrix)

Kolagen a jeho uspořádání

Depozice vápníku

SIEBLINGs
- Osteopontin, DMP-1 (OC)
- Kostní sialoprotein, MEPE

Štěpení pyrofosfátu

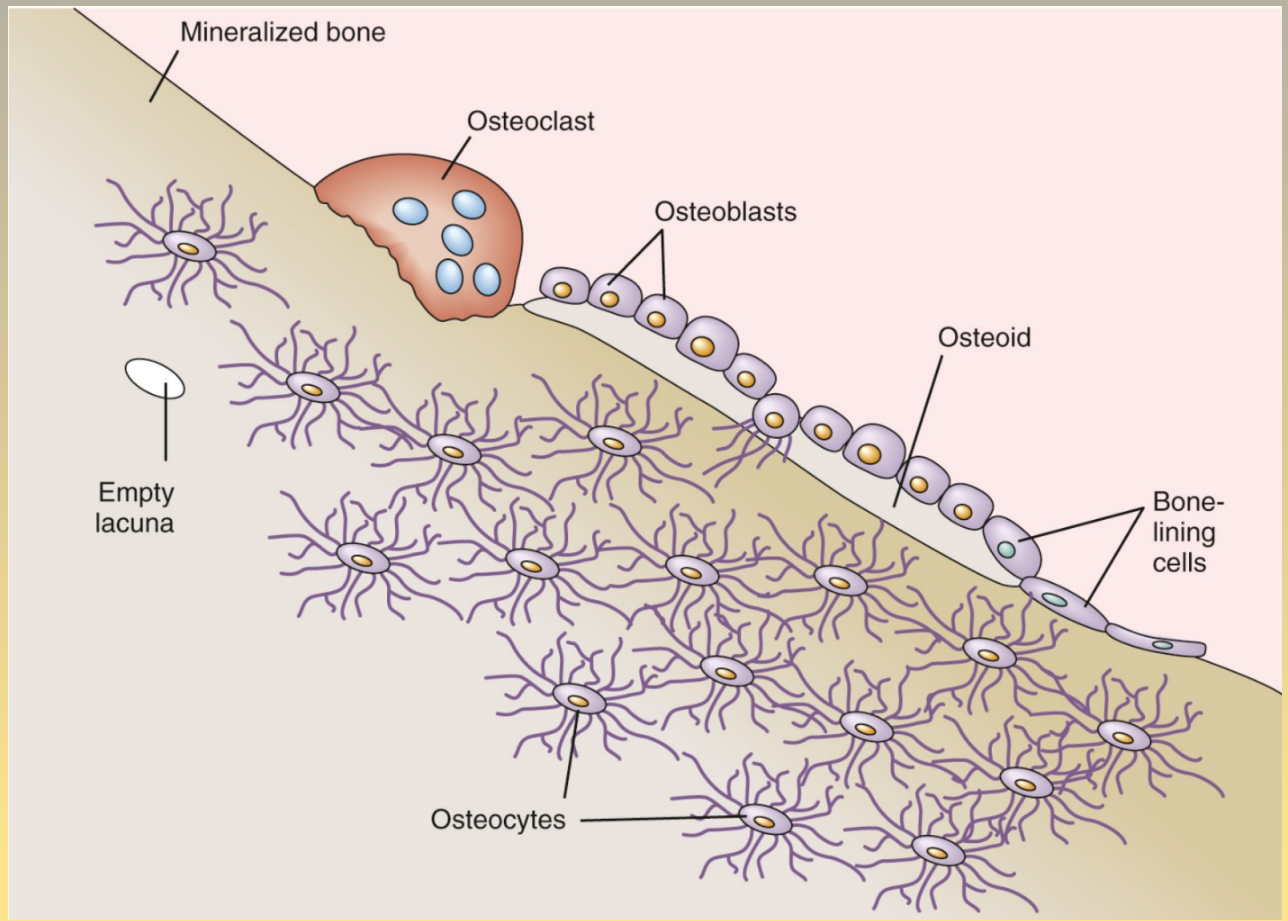
Dostupnost fosfátu pro mineralizaci

Stav výživy, vápník v potravě, vápník/fosfor v ECT

Kostní tkáň a její remodelace

Osteocyty (OC)
- Metabolická aktivita
- Receptory pro PTH
- Komunikace s kostním povrchem
- Mechanický sensing
- Produkce RANKL
- Přímá degradace kostní tkáně (osteocytická osteolýza)
- Adaptivní remodelace

Osteoblasty (OB)
- Produkce kostní matrix
- Produkce kolagenu a nekolagenních peptidů + jejich orientace
- Regulace hormony, lokálními faktory a cytokiny
- Diferenciace a jejich další osud – apotóza, osteocyty, liniové buňky
- „nábor“ jiných buněk – IGF-1, IGF-2, TGF-β



Liniové buňky
- Stimulace diferenciace OB
- Komunikace s OC
- Diferenciace do OB stimulovaná PTH

Osteoklasty (OK)
- Resorpce kostní tkáně

Kostní resorpce → osteoklasty, mononukleární buňky

Výstavba kostní tkáně → preosteoblasty, osteoblasty

Osteoklast

Klíčovým faktorem regulujícím kostní resorpci je poměr RANKL/OPG

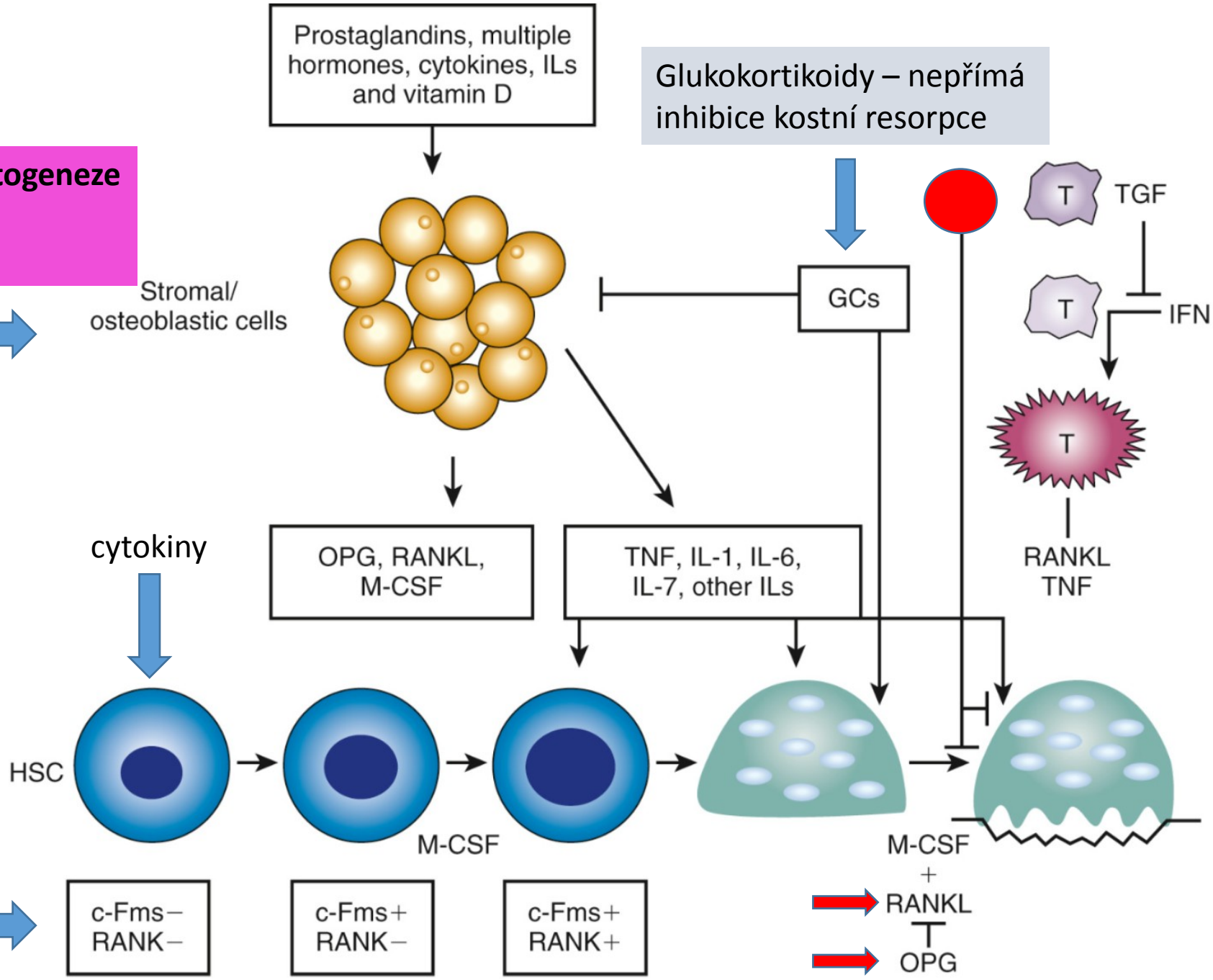
Osteoklastogeneze
(+) RANKL
(-) OPG

Produkce směsi pro- a antiklastogenních faktorů (různá v čase)

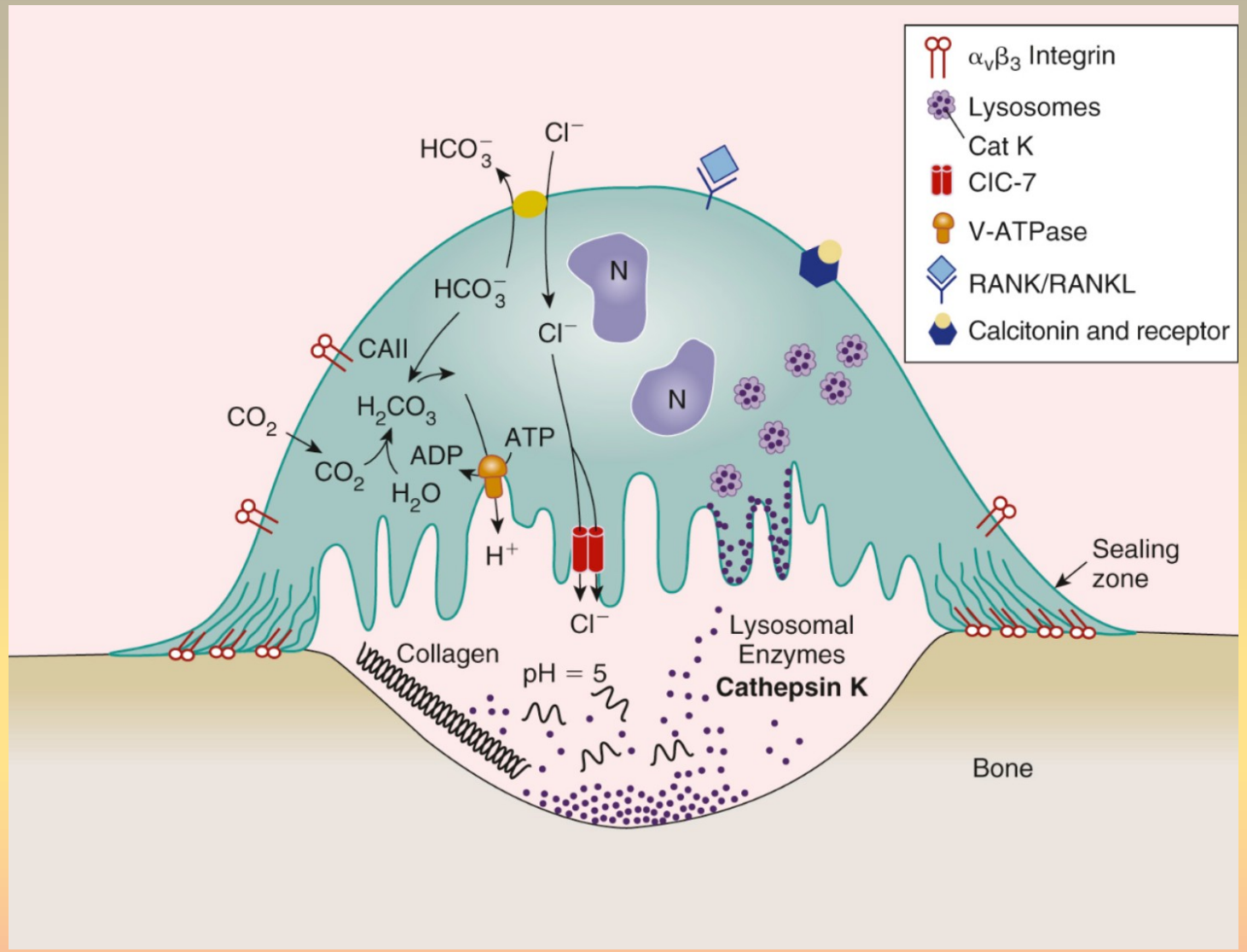
E2 (estrogeny) – inhibice aktivace T buněk = inhibice sekrece RANKL a TNF-α

Pohlavní hormony – regulace diferenciace osteoblastů i osteoklastů včetně délky jejich života

Exprese různých receptorů v čase
(vliv různých stimulů)



Resorpce kostní tkáně osteoklasty



Význam kompartmentalizace pro kostní resorpci - *podosomy*

Resorpce a sekrece produktů kostní resorpce - transcytóza

Zásadní význam pH pro resorpci kostní tkáně

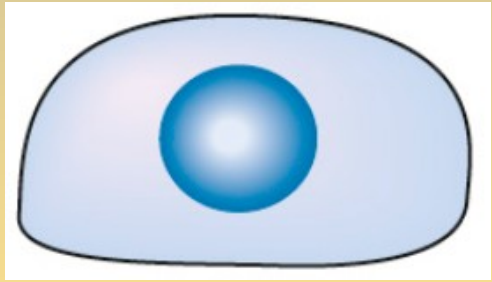
Faktory ovlivňující remodelaci kostní tkáně

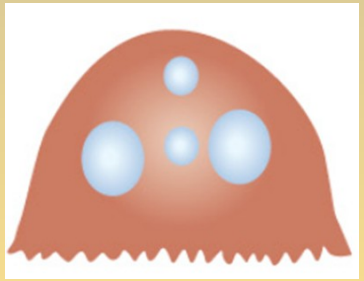
Resorpce trvá cca 2 týdny
Mineralizace a formace cca 12 týdnů

Za patofyziologických podmínek je narušena návaznost mezi resorpcí a formací kostní tkáně.

Systemické signály + Lokální signály

Remodelace kostní tkáně





Osteoblasty
Liniové buňky

Osteoklasty

Trabekulární kost

Okamžitá potřeba vápníku - homeostáza

Zajištění mechanických požadavků

−	+
Cytokiny - IL-1α, IL-1β, TNF-α, TNF-β, prozánětlivé IL (7, 15, 17)	Cytokiny - IL-4, IL-13, IL-10, IL-18
TGF-α a EGF, FGF21, FGF23	Prostaglandiny
Prostaglandiny	VEGFA, HIF-1α (+/-)
PDGF	IGF-1 (endo-/parakr.)
	BMPs (OB, autokr.)

Endokrinní regulace kostní tkáně

Hormon	Působení	Cílové buňky
PTH	- Stimulace resorpce (dlouhodobé působení) - Stimulace kostní formace (pulzní působení) - Stimulace lokální sekrece IL-1 a IL-6	Osteoblasty, liniové buňky, osteocyty
Vitamín D	- Stimulace resorpce (vyšší koncentrace) - Inhibice mineralizace (vyšší koncentrace) - Stimulace kostní formace (nízké koncentrace, spolu s PTH)	Osteoblasty (primárně)
Kalcitonin	- Inhibice resorpce - Regulace remodelace kostní tkáně	Osteoklasty
Růstový hormon IGF-1	- Stimulace kostního obratu - Stimulace proliferace a diferenciace osteoblastů - Zvýšená syntéza kolagenu a dalších proteinů	Osteoblasty – primárně GH Osteioblasty i osteoklasty – IGF-1
Glukokortikoidy	- Snížení absorpce Ca v GIT - Indukce osteoklastogeneze - Zvýšení kostní resorpce (+ RANKL) - Potlačení remodelace kostní tkáně - Indukce apoptózy osteoblastů a osteocytů - Inhibice syntézy IGF-1	Osteoblasty, osteocyty, osteoklasty
Hormony štítné žlázy	- Děti – stimulace mineralizace a epifyzeální maturace - Dospělí – zvýšení resorpce - Růst a proliferace chondrocytů (permisivní účinek na růstový hormon) - Zvýšení transkripce kolagenázy a gelatinázy	Osteoblasty, osteoklasty (i nepřímý přes TSH)
Inzulín	- Stimulace formace kostní tkáně a mineralizace - Zvýšení syntézy kolagenu - Stimulace sekrece IGF-1	Primárně osteoblasty
Pohlavní hormony	- Uzávěr epifýz (E) - Inhibice sekrece RANKL - Změny rychlosti kostní resorpce a formace (stimulace formace a mineralizace)	Primárně osteoblasty, ale i další kostní buňky
Prolaktin	- Nepřímý účinek	

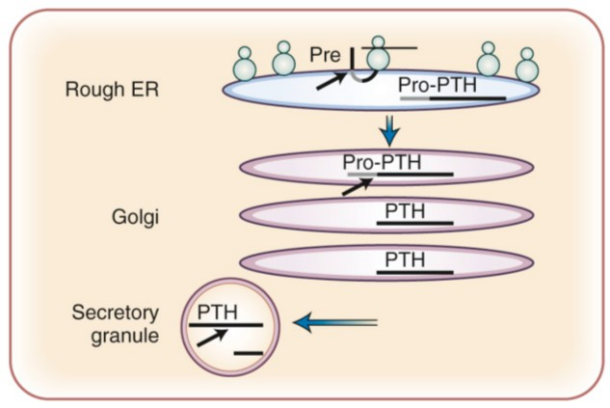
Klinický přesah

- Osteogenesis imperfecta
- Osteopetróza
- Osteomalácie
- Rachitis
- Osteopenie – T skóre -1 – -2.5
- Osteoporóza – T skóre pod -2.5

Parathormon a jeho sekrece

Charakteristika

- Příštítná tělíska – hlavní buňky
  - Syntéza a skladování PTH
  - Velmi rychlá sekrece PTH
  - Schopnost proliferace při dlouhodobé stimulaci



Parathormon (PTH)

- Syntetizován jako pre-pro-PTH
- Sekreční granula několika typů (PTH; PTH+katepsin B a H)
- Velmi rychlá metabolizace (70 % játra, 20 % ledviny) – 2 min

Buněčná proliferace hlavních buněk je významným adaptačním mechanismem na:

- Hypokalcémii
- Nízké hladiny vitamínu D ($1,25(OH)_2D_3$)
- Hyperfosfatémii (urémii)
- Neoplastický růst

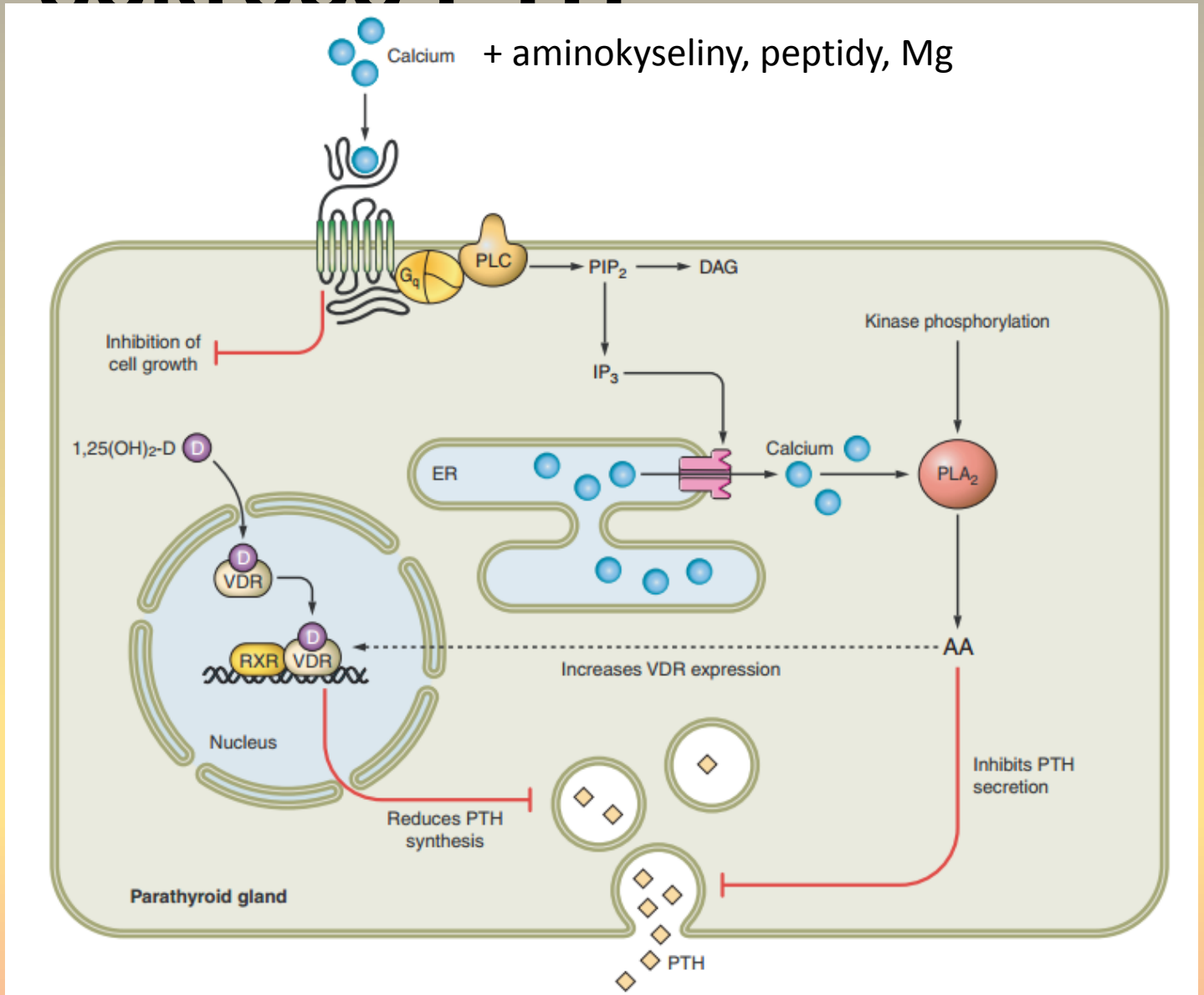
Hladina ionizovaného vápníku v krvi je klíčovým parametrem pro sekreci PTH

Při náhlém poklesu hladiny ionizovaného vápníku je sekrece PTH výraznější

Vitamín D snižuje sekreci PTH (a inhibuje expresi a tvorbu PTH), u chronické hypokalcemie NE

Fosfáty opožděně stimulují tvorbu a sekreci PTH

Kalcémie a vitamín D = hlavní regulátory sekrece PTH



CaSR – receptor spřažený s G proteinem
- Aktivace PLC
- Inhibice tvorby cAMP

Různá distribuce v tkáních – všechny tkáně podílející se na udržování homeostázy vápníku
- Příštítná tělíska
- Ledviny
- Kůže
- Epitel GIT, enterocyty
- G buňky žaludku
- CNS

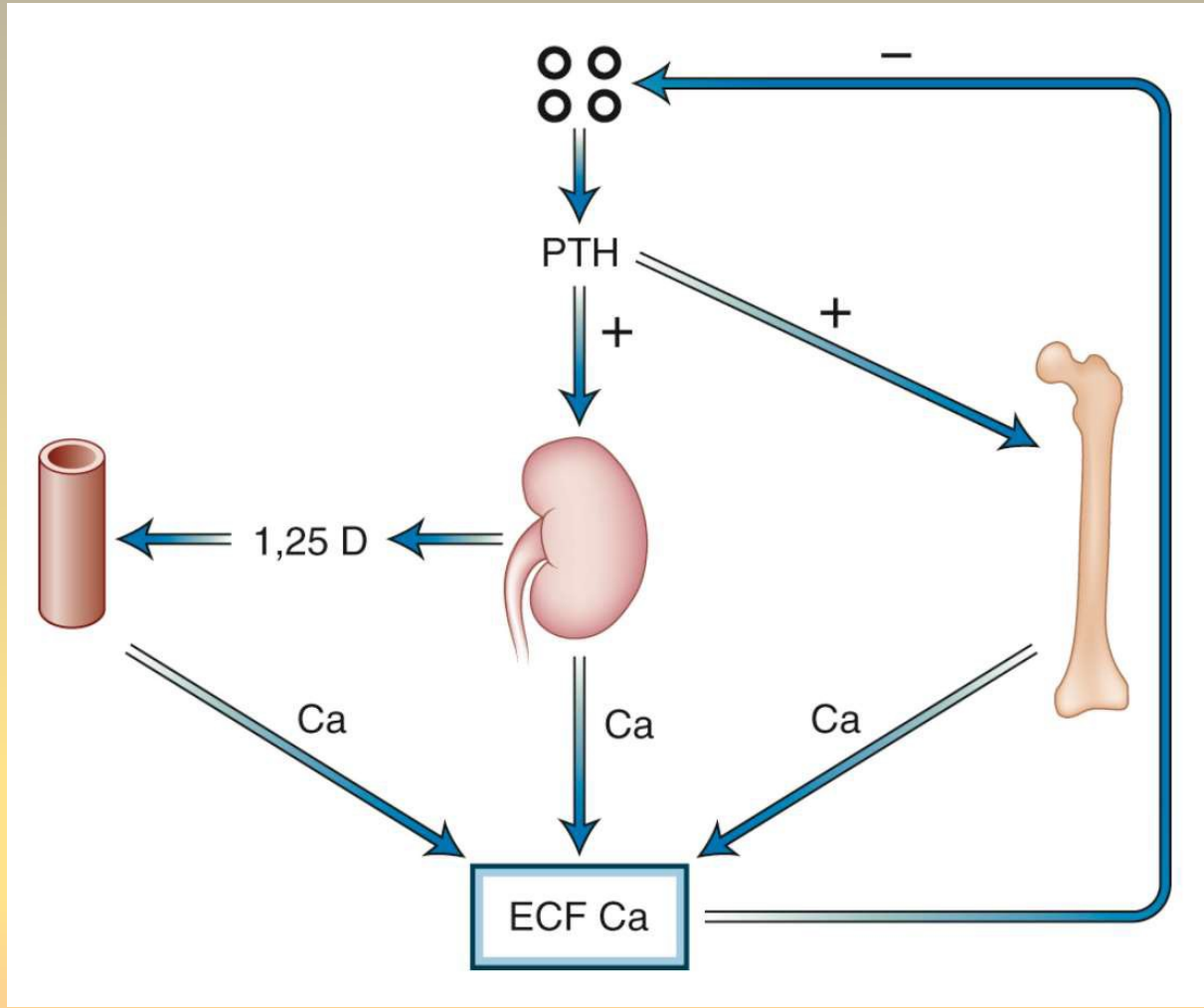
Klinické aspekty
- Mutace inaktivační a aktivační
- familiární hypokalciurická hyperkalcémie (in.)
- Familiární hypoparathyroidismus s hyperkalciurií (ak.)
- Kalcimimetika – inhibice sekrece PTH

Hlavní účinkek PTH = regulace kalcemie

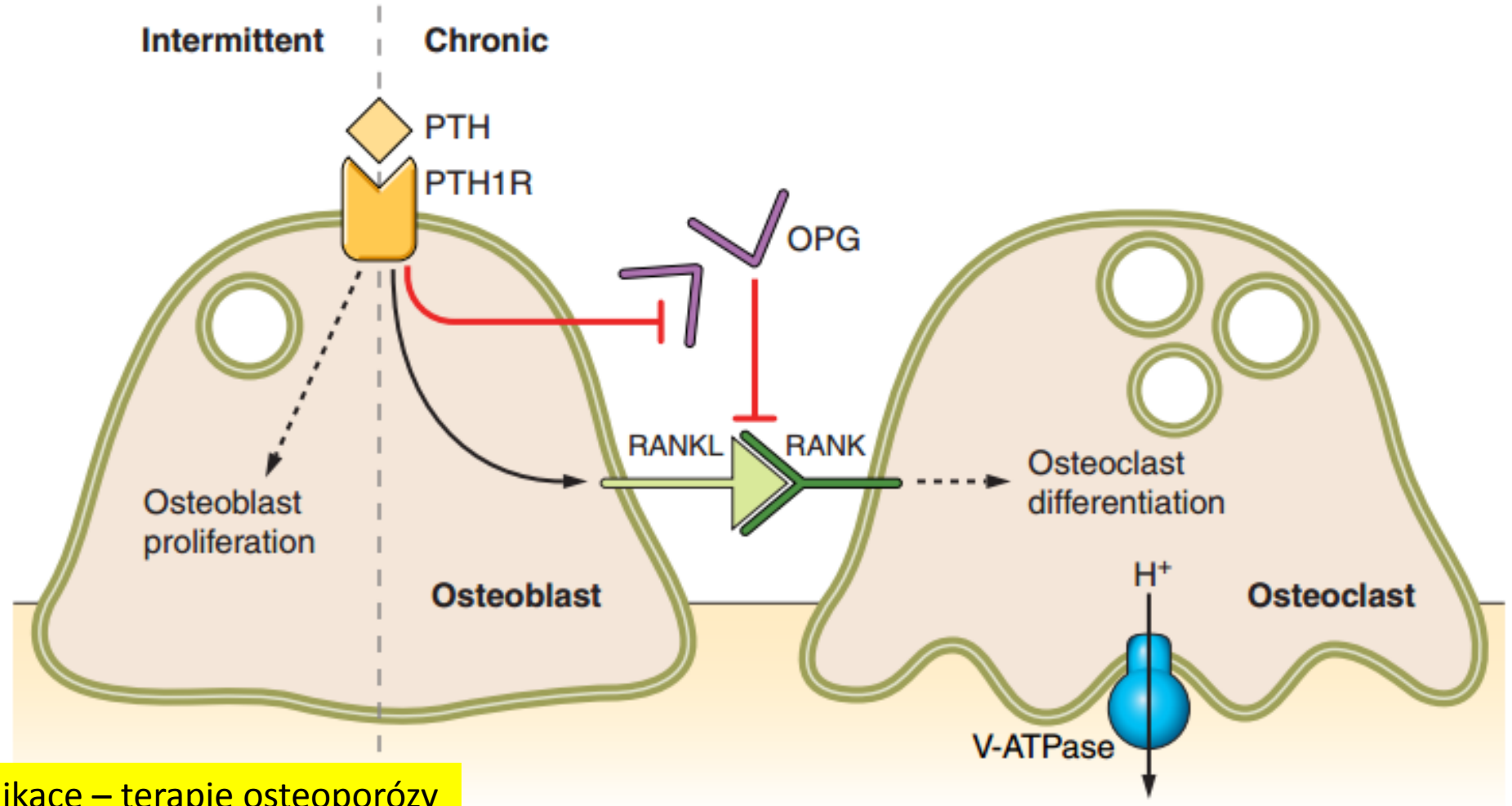
(+) reabsorpce vápníku
- cTAHL, **DT**
- transcelulární i paracelulární transport
- TRPV5 a TRPV6 – inhibice Ca^{2+}
- Kalbindin-D28K
- NCX1 a PMCA

(+) exkrece fosfátu
- PT i DT
- Inhibice resorpce
- NaPi kotransportéry – internalizace, degradace

(+) aktivita 1α-hydroxylázy - PT
(-) resorpce Na, vody a hydrogenuhličitanu – PT
(-) Na^+/K^+-APTáza (bazolaterální membrána)
(+) glukoneogeneze – PT
(-) GFR - podocyty



PTH a fyziologie kostní tkáně



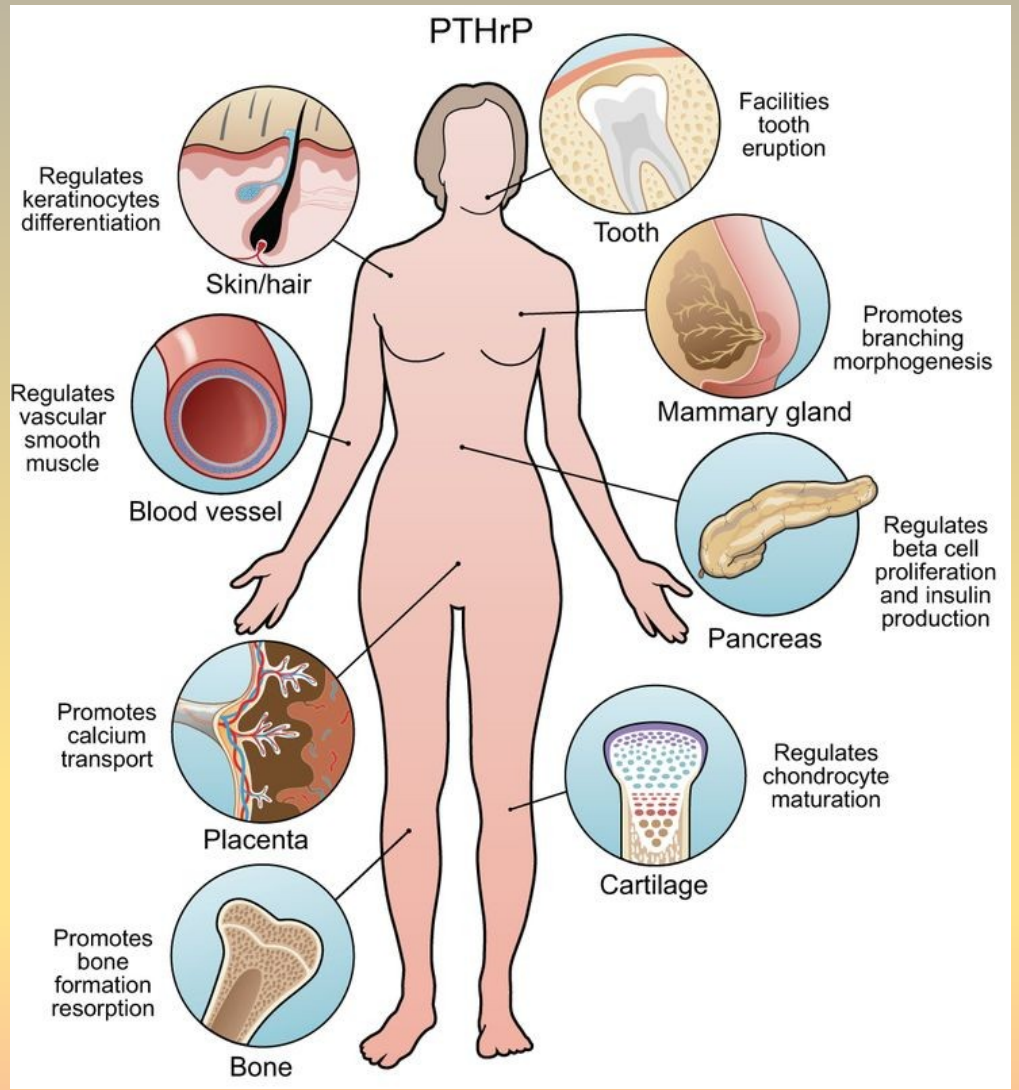
Klinická aplikace – terapie osteoporózy

Účinek PTH na osteoklasty je nepřímý. Pulzní dávkování stimuluje osteoblasty, chronické kontinuální osteoklasty.

Parathormonu příbuzný peptid - PTHrP

Charakteristika
- Zprvu jako nádory produkovaný peptid – endokrinní působení – ledviny + kosti
- Působení i parakrinní – lokální zvýšení koncentrace Ca
- Poté nalezen v řadě tkání

Funkce
- Kalciotropní hormon
- Vývoj plodu - proliferace a diferenciace buněk
- Laktace – (+) resorpce kostní tkáně bez možnosti ovlivnění suplementací Ca
- Kůže – proliferace a diferenciace
- GIT, močový měchýř, uterus– (+) relaxace hladké svaloviny
- CNS - neuroprotekce
- Para-/auto-/intrakrinní působení



Kalcitonin

Charakteristika
- C buňky štítné žlázy
- Rodina peptidů (amylin, CGRPs, adrenomedulin)
- Různá distribuce ve tkáních
- Sekrece je determinována hladinou ionizovaného vápníku (CaSR)
- Stimulace sekrece:
  - Glukokortikoidy
  - CGRP
  - Glukagon
  - Enteroglukagon
  - Gastrin
  - Pentagastrin
  - Pankreozymin
  - β-sympatomimetika

Funkce nejasná

- Inhibice sekrece - somatostatin

Funkce
- Kostní tkáň
  - inhibice motility a diferenciace osteoklastů
  - Inhibice sekrece osteoklastů
  - Inhibice ATPáz
- Ledviny
  - Zvýšení exkrece Ca – inhibice resorpce (Ca^{2+} iontové kanály – LS, Na^{+}/Ca^{2+} - BM)
- Vývoj skeletu?
- Protekce skeletu během těhotenství?

Klinický význam
- Terapie osteoporózy
- Terapie Pagetovy choroby
- Léčba bolesti (kostní metastázy)
- ! Zvýšené riziko nádorových onemocnění

Vitamín D….hormon?...vitamín?

Charakteristika
- Přijímán v potravě nebo syntéza (UV)
- V krvi vazba na VDBP a albumin
- Velmi malá volná frakce 1,25$(OH)_2$D – cca 0,4 %

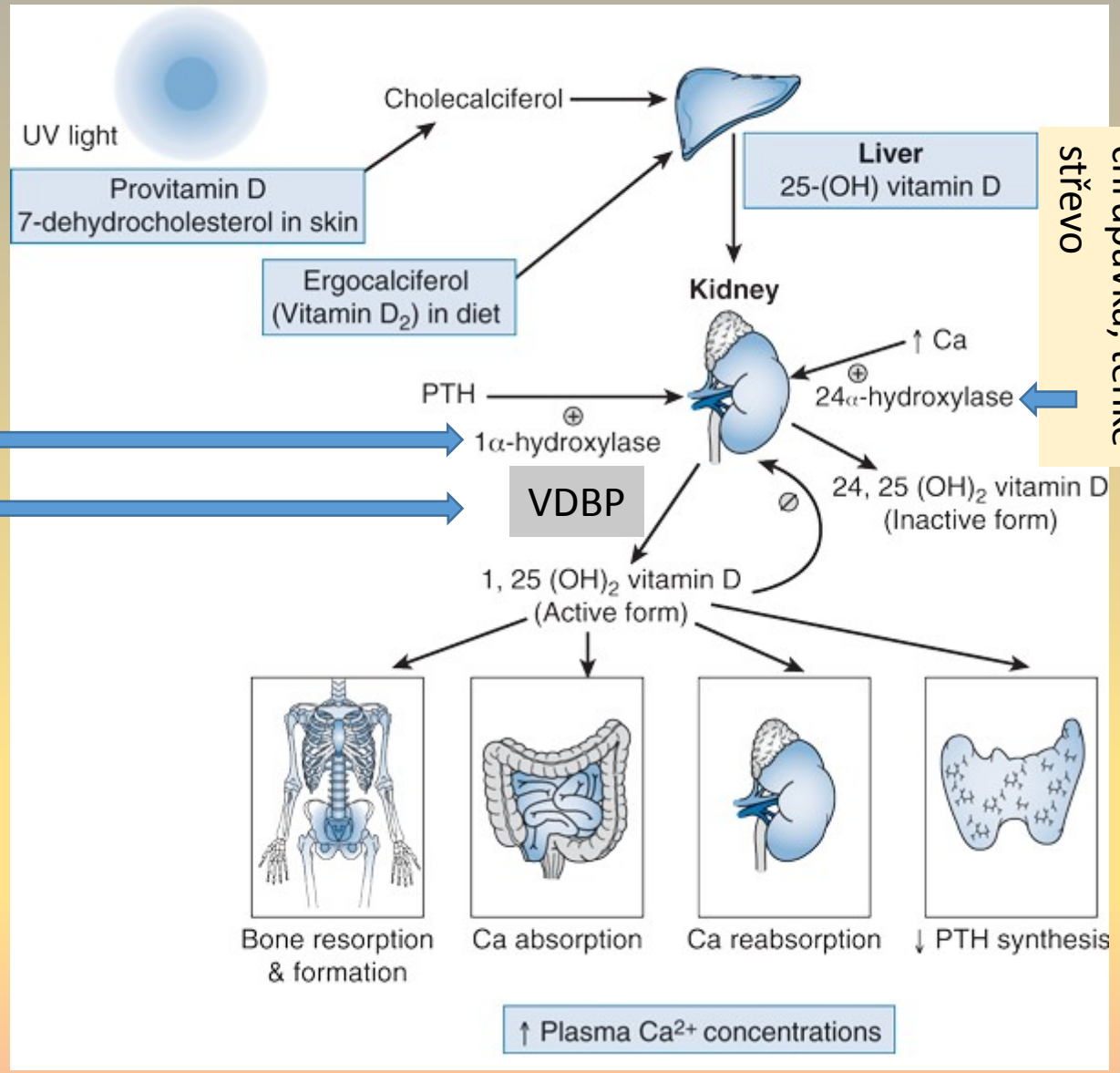
PTH, prolaktin, *kalcitonin*, *GH* (+)
T3/T4, metabolická acidóza (-)
Ca, fosfáty, 1,25$(OH)_2$D, FGF23 (-)
Ketokonazol

Estrogeny (+)

1α-hydroxyláza
- Exprese v různých tkáních
- Keratinocyty
- Placenta
- Makrofágy

Různá míra zpětnovazebné regulace

Rozdílná exprese 1α-hydroxylázy = lokální tkáňová homeostáza



Fyziologické účinky vitamínu D

VDR
- Vysoká afinita k 1,25$(OH)_2$D
- Hladina cirkulujícího 1,25$(OH)_2$D
- Heterotrimer s RXR – koaktivátory a korepresory

Negenomické účinky
- Rychlé zvýšení koncentrace intracelulárního Ca
- Aktivace PLC
- Otevření některých Ca iontových kanálů
- Nutná přítomnost VDR

Vitamín D a absorpce/reabsorpce Ca
- (+) CBP, AP, Ca^{2+}/Mg^{2+}-ATPáza
- (+) TRPV6 – absorpce (GIT)
- (+/-) TRPV5 – reabsorpce (ledviny)
- Kalbindin-9K
- 1,25$(OH)_2$D-inducibilní ATP-dependentní Ca^{2+} pumpa
- Na^+/Ca^{2+} exchanger

Příštítná tělíska
- Regulace genové exprese
- Regulace buněčné proliferace
- (-) transkripce PTH genu

Kosti a kostní tkáň
- (-) syntézy kolagenu
- (+) syntézy osteokalcinu
- (+) diferenciace osteoklastů – osteoklastogeneze
- (+) RANKL
- Hlavní funkce – zajištění stability kostního mikroprostředí pro mineralizaci normalizovaným příjmem a dostupností Ca a fosfátů

Svalová tkáň
- (+) uptake Aas
- (+) troponin C
- Metabolismus fosfolipidů

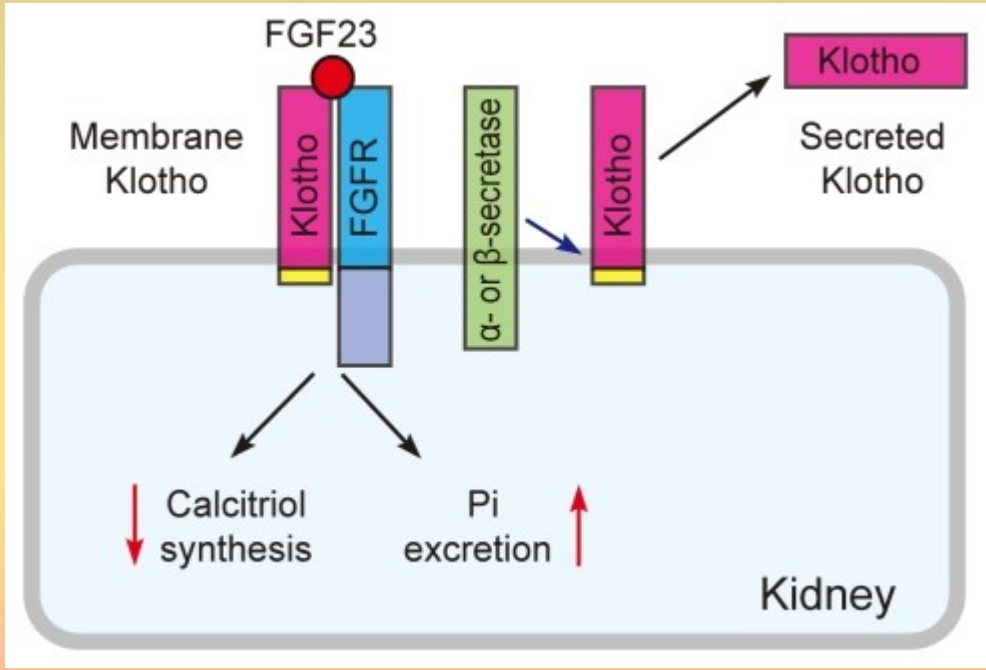
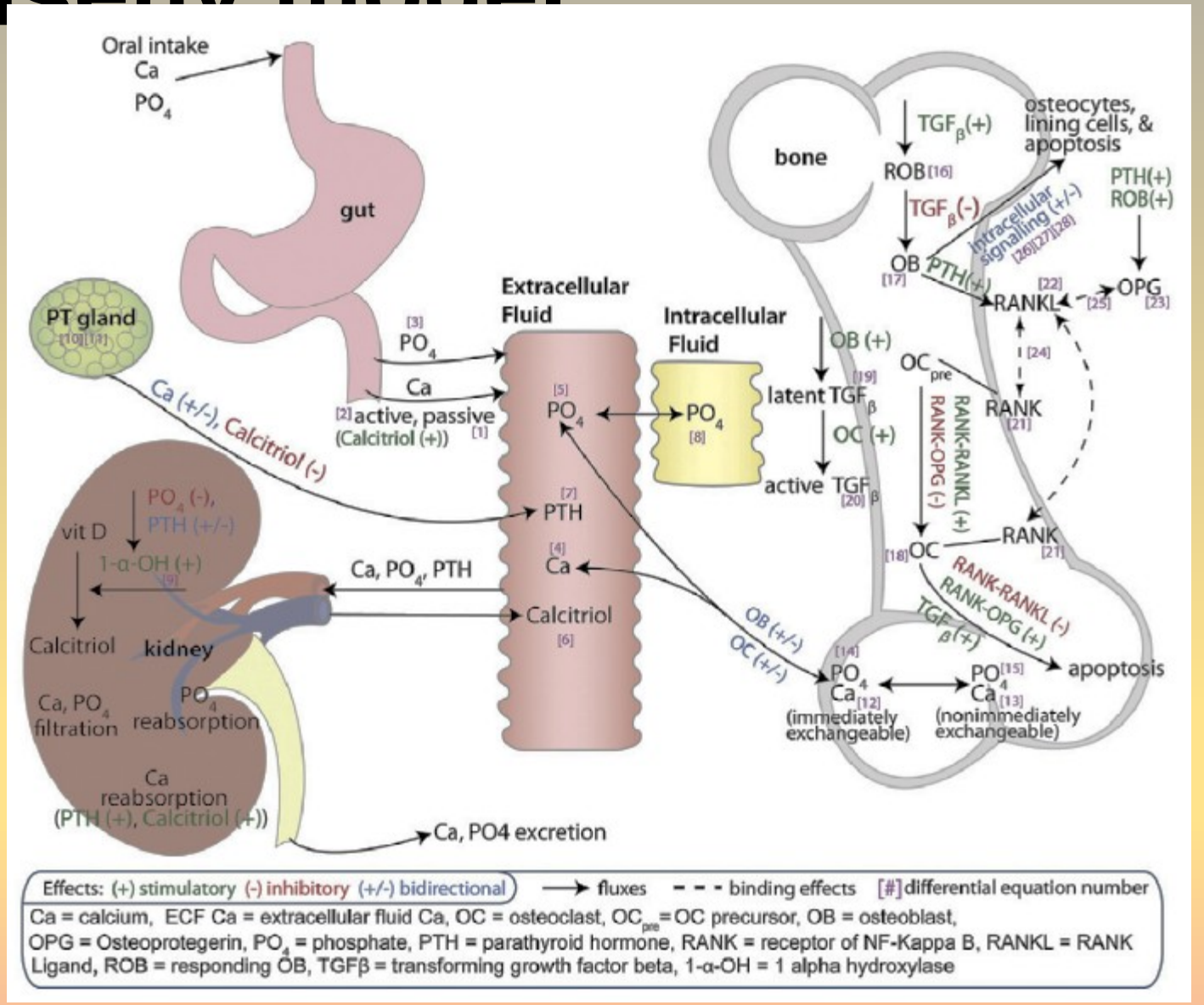
FGF23 – fibroblast growth factor 23

Charakteristika
- Hormon kostní tkáně

Funkce
- udržování normofosfatémie a regulace metabolismu vitamínu D
- Snížení exprese IIa, IIb, a IIc (NPT) – **transport fosfátu**
- Zvýšení exprese 24-hydroxylázy – **neaktivní forma**
- Klotho = koreceptor, v cirkulující formě regulátor sekrece FGF23

Regulace
- Dostupnost fosforu v potravě (-)
- Sérový fosfor
- $1,25(OH)_2D$
- železo

Klinický význam:
- Autosomálně dominantní hypofosfatemická křivice (ADHR)
- Tumorem indukovaná osteomalacie (TIO)
- Mutace Klotho
- Predikce prognózy chronického selhání ledvin



Homeostáza vápníku – stále jen zjednodušený model