

Řízení metabolismu vápníku.
Endokrinní pankreas

Metabolismus vápníku

- V lidském těle cca 1000 – 1100 g vápníku
 - Většina - tvrdé tkáně (98 – 99 %)
 - Zbytek zejména extracelulárně
- Velmi malé množství vápníku intracelulárně
 - 55 % endoplasmatické retikulum, dále mitochondrie
 - Cytoplasmatická koncentrace (10^{-7} mol.L⁻¹) X krevní plasma (10^{-3} mol.L⁻¹)
 - Nutnost striktní regulace – signální role vápenatých iontů
 - Svalová kontrakce, přenos nervového vzruchu, sekreční mechanismy, buněčný cyklus a proliferace, buněčná smrt, hemokoagulace, atd.
 - Ligandem řízené nebo napětově řízené kanály (typ T – transient/typ L – long lasting), případně kanály aktivované mechanickým natažením
 - Ca²⁺/H⁺ ATPáza
 - Antiport řízený Na⁺ gradientem
 - + další

Příjem vápníku

- Denní příjem cca 1.0 g denně
- Zvyšuje se během těhotenství, laktace, růstu, atd. (až na 1.5 g)
- Za fyziologických okolností se vstřebává cca 25 – 40 % přijatého vápníku (duodenum – 15 %, jejunum – 20 %, ileum – 65 %)
- Paracelulární/transcelulární transport
 - Paracelulární transport – kladin 2 a kladin 12
- Role 1,25-dihydroxycholecalciferolu!
 - Snížená hladina plasmatického Ca^{2+} zvyšuje tvorbu 1,25-dihydroxycholecalciferolu a naopak
- TRPV6/kalbindin, PMCA1 (1:1 Ca^{2+} /ATP), Na^{+} - Ca^{2+} exchanger (NCX1)
- Inhibován oxaláty a fosfáty (tvorba nerozpustných solí)

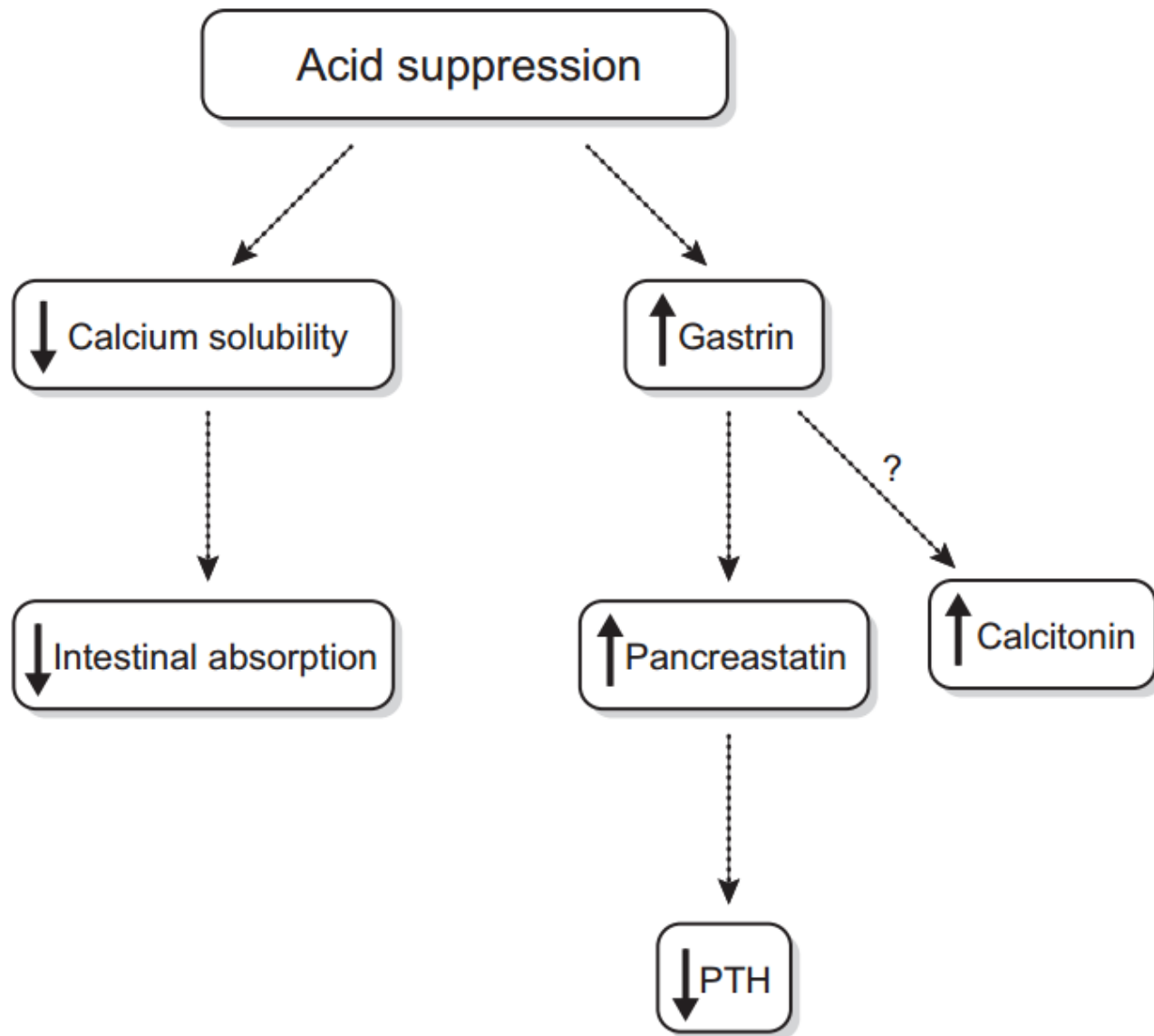


FIGURE 9. Model summarizing the potential impact of acid suppression on calcium homeostasis.

Kopic S, Geibel JP: **GASTRIC ACID, CALCIUM ABSORPTION, AND THEIR IMPACT ON BONE HEALTH.** *Physiol Rev* 2013, 93(1):189-268.

TRPV6

- Iontový TRP (transient receptor potential) kanál
- Glykosylovaný transmembránový protein, Mr cca 70 000
- 6 transmembránových domén, N- a C- konce v intracelulárně v cytoplasmě
 - Vazebná místa pro kalmodulin = Ca²⁺-dependentní inaktivace
 - Ankyrinové repetice – regulace funkce?
- Výrazná exprese v tenkém střevě indukovaná 1,25-dihydroxycholecalciferolem
- Dále placenta, exokrinní pankreas, prsní žláza, slinné žlázy
 - placentární transport vápenatých iontů matka-plod
 - diferenciaci keratinocytů?
 - Zvýšená exprese u některých typů nádorových onemocnění - zvýšená buněčná proliferace a rezistence k apoptickým signálům (prostata, prsní žláza)
- Pozn. TRPV5 – ledviny, reabsorbce Ca²⁺

Kalbindin

- skupina proteinů s vysokou afinitou k vápenatým iontům
- Původně jako na vitamínu D závislé vápník vázající proteiny
- Vysoká afinita k vápenatým iontům v cytoplasmě
- Kalbindin-D9K (*S100G*)
 - Rodina savčích S100 proteinů (nízkomolekulární proteiny s dvěma vazebnými místy pro vápenaté ionty, řada extra a intracelulárních funkcí)
 - Savčí enterocyty
 - Transport vápenatých iontů z apikální oblasti enterocytu k bazolaterální membráně
 - Stimulace PMCA1?
- Pozn.
 - Kalbindin-D28K – neuronální/endokrinní tkáň (cerebellum)
 - nezávisle na 1,25-dihydroxycholecalciferolu!
 - Kalretinin – nervová tkáň

Vápník v séru

- 2.5 mmol.L⁻¹ , resp. 2.2 – 2.6 mmol.L⁻¹ (100 mg.L⁻¹)
- Horní mez 4 – 5 mmol.L⁻¹
- Dolní mez 1 mmol.L⁻¹
- Cca 60 % v difuzibilní formě:
 - Filtrována ledvinami
 - 50 % ionizované – volné (Ca²⁺) (1.1 – 1.3 mmol.L⁻¹)
 - 10 % v nízkomolekulárních komplexech (citráty, fosfáty, hydrogenuhličitan)
- Cca 40 % v nedifuzibilní formě:
 - Proteinově vázané vápenaté ionty
 - Albumin 90 %, globuliny 10 %
 - Neprochází glomeruly
 - Biologicky neaktivní, ALE snadno se uvolní při hypokalcemii
 - Hypoalbuminemie – klesá frakce vázaná na albumin (pokles o 10 g.L⁻¹ nevede ke změně koncentrace ionizovaného vápníku)
 - Hyperproteinémie (maligní myelom) – vzestup celkové kalcemie (bez změny koncentrace volného ionizovaného vápníku)
- pH:
 - Alkalóza – klesá množství ionizovaného vápníku
 - Acidóza – stoupá množství ionizovaného vápníku
 - Kompetice H⁺ a Ca²⁺ o vazebná místa albuminu

Fosfor

- Cca 500 – 800 g, z toho 85 – 90 % ve skeletu, zbytek ECT a měkké tkáně
 - Organické sloučeniny (2/3) + anorganický fosfor (fosforečnany, 1/3)
- Nukleové kyseliny, ATP, cAMP, 2,3-difosfoglycerol, PROTEINY (kinázy, fosfatázy)...
- Potravinou cca 800 – 1400 mg fosforu
- pasivní transport v duodenu a tenkém střevě (60 – 80 %)
- aktivní transport regulovaný 1,25-dihydroxycholekalCIFerolem (kalCIFtriolem) – NaPi-IIb
- Cca 3 mg/kg/den vstupuje do kostí, ale přibližně stejné množství je uvolněno kostní resorpcí
- Anorganický fosfor filtrován v glomerulech
 - 85 – 90 % zpětně resorbováno (proximální tubuly, Na⁺ dependentní P kotransportéry NaPi-IIa (hlavní, *SLC34A1*, hyperfosfaturie, nefrolitiáza) /IIc (*SLC34A3*, hyperkalciurie), adaptační mechanismy na hladinu fosforu v dietě up-/down regulace, inhibice PTH)

Fosfor

- Referenční meze:
 - Sérum 0.7 – 1.5 mmol.L⁻¹
 - Moč 15 – 90 mmol.L⁻¹
 - Hypofosfatemie – < 0,97 mmol.L⁻¹ u dospělých, < 0,6 mmol.L⁻¹ u starších dětí a < 1.2 mmol.L⁻¹ u kojenců, nejčastěji v důsledku alkalózy, chronického používání antacid, malabsorpce, hyperkalcémie, alkoholismus
 - Hyperfosfatémie – renální selhání, hojení rozsáhlých fraktur, hypervitaminóza D, hyperparathyreóza, akromegalie a další

- Pozn. FGF23 (Fibroblast growth factor 23)
 - regulace fosfatemie
 - Uvolňován osteocyty (odpověď na zvýšenou hladinu kalcitriolu)
 - V ledvinách snižuje expresi genu pro Na⁺ dependentní P kotransportéry = zvýšení exkrece fosfátu
 - Mutace v genu *FGF23* - autozomálně dominantní hypofosfatemická křivice
 - Další funkce
 - snížení syntézy 1 α -hydroxylázy, a tím hladiny 1,25-dihydroxycholecalciferolu v séru
 - Zvýšení exprese 24-hydroxylázy – snížení hladiny 1,25-dihydroxycholecalciferolu v séru
 - Inhibice PTH – regulace homeostázy vápníku a fosforu

Fyziologie kostí

- Kompaktní (kortikální) kost – zevní vrstva většiny kostí, cca 80 %
 - Nízký poměr povrchu k objemu, osteocyty v klidovém stavu
 - Živiny dodávány Haversovými kanálky
 - Kolem každého kanálku koncentrické vrstvy kolagenu – osteony (Haversovy systémy)
 - Kolagenní matrix impregnována kostními minerálními krystaly
 - 20 x 3-7 nm, většinou hydroxyapatity
- Trabekulární (houbovitá) kost – uvnitř kostí kortikálních, cca 20 %
 - Vysoký poměr povrchu k objemu
 - Vysoká metabolická aktivita
 - Živiny difundují z ECT to trabekul

Kostní tkáň

- 1/3 bílkovinná matrix a 2/3 minerální složka (kostní minerál)
 - Kostní minerál – malé krystalky hydroxyapatitu $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ spolu s příměsí – uhličitan vápenatý, fluorid vápenatý, fosforečnan vápenatý
 - Matrix – cca 90 % kolagen typu I a minoritně další proteiny (osteokalcin, osteonektin, osteopontin, a řada dalších)
- Metabolická aktivita zajištěna kostními buňkami
 - Osteoblasty (tvorba matrix)
 - Osteoklasty (resorpce)
 - Osteocyty (regulace kostní resorpce)
- Stálá přestavba – remodelace
 - Osteoklastická resorpce versus osteoblastická kostní tvorba
 - Úzké spojení s metabolismem vápníku a fosforu

Kolagen typu I – nejvýznamnější protein kostní matrix

- Kolagen
 - skupina extracelulárních, ve vodě nerozpustných proteinů
 - Pojivové tkáně
 - Cca 28 typů kolagenu
- Kolagen typu I
 - Tři polypeptidy – dva identické $\alpha 1$ (*COL1A1*) a odlišný $\alpha 2$ (*COL1A2*)
 - Proformy extracelulárně enzymaticky upraveny do finální podoby
 - Polypeptidy se vzájemně ovíjí a mají společnou osu, celková délka 1 – 20 μm
 - Mutace *COL1A1* (často změna jediné AMK):
 - Ehlersův-Danlosův syndrom – hypermobilita kloubů, hyperelastická kůže a mnoho dalších
 - Osteogenesis imperfecta různých typů
 - Polymorfismus v *COL1A1* genu – zvýšené riziko osteoporózy.

Osteoblasty

- Původ v mezenchymálních kmenových buňkách
- Periost/kostní dřev
- Progenitorové buňky – regulační transkripční faktor Cbfa1/Runx2
- Další transkripční faktor osterix – diferenciaci osteoblastů
- Vliv růstových faktorů
- Jednotlivé osteoblasty spojeny:
 - Tight junctions - kompartmentace ECT
 - Gap junctions –spojení jednotlivých osteoblastů do jednoho funkčního celku
- Produkce kolagenu typu I, řady proteinů kostní matrix (osteokalcin, osteonektin, osteopontin)
- + alkalická fosfatáza
- Mineralizace kostní matrix
- Tvorba osteoprotegerinu = bazický glykoprotein, 401 AMK, vazba s RANKL a inhibice diferenciaci osteoklastů

Osteocyty

- Zralá kost, typický hvězdovitý tvar
- Velmi dlouhá životnost (poločas až 25 let)
- Lakuny kostní tkáně
- Vzájemná komunikace
- Metabolicky málo aktivní
- Možná diferenciaci do osteoblastů
- Role v remodelaci a reparaci kostní tkáně (produkce nervového růstového faktoru NGF)
- Kontrola funkce osteoblastů a osteoblastů? (apoptóza = RANKL = zvýšená tvorba osteoklastů)
- Role v mineralizaci kostní tkáně
 - PHEX, DMP-1, MEPE, FGF-23
 - Sklerostin – *SOST*, snížení tvorby kostní tkáně
 - PTH inhibuje tvorbu sklerostinu
 - Inhibice rovněž mechanickou zátěží, prostaglandin E2, onkostatin M, kardiotropin-1, LIF (leukemia inhibitory factor)

Osteoklasty

- Mnohoaderné buňky erodující již dříve vytvořenou kost
- Interakce s kostí prostřednictvím integrinů ve výběžcích membrán (kontaktní zóna)
- Protonové pumpy (H^+ dependentní ATPázy) následně okyselují takto izolovanou oblast (pH 4)
- Rozpouštění hydroxyapatitu vlivem nízkého pH
- Kyselé proteázy destruuji kolagen (katepsin K)
- Vznik resorpčních lagun
- Produkty kostní resorpce se následně endocytují a procházejí přes osteoklasty transcytózou a uvolňují se do intersticiální tekutiny
- Pozn.
 - MMP-9 – kostní mikroprostředí, exprimována v osteoklastech, nezbytná pro migraci osteoklastů
 - MMP-13 – role v diferenciaci osteoklastů
 - Protein RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) – TNF superrodina, kontrola proliferace a diferenciaci osteoklastů
 - RANK (Receptor Activator of Nuclear Factor κ B) – skupina TNF receptorů, regulace diferenciaci a aktivace osteoklastů
 - Osteoprotegerin – viz výše

BMP proteiny (kostní morfogenetické proteiny)

- Celá skupina proteinů (cca 20), u kterých byla identifikována stimulační role na růst kostní tkáně
- Nyní zkoumány v souvislosti s jejich regulační úlohou v tvorbě řady tkání (narušená BMP signalizace u řady patologických procesů, zejména nádorových onemocnění)
- V metabolismu kostí (chrupavky):
 - BMP1 – *BMP1* gen, několik izoforem, indukuje růst chrupavek. Identický s prokolagen C proteázou (PCP). Patří do skupiny metaloproteáz.
 - BMP2 – superrodina TGF- β (transforming growth factor-beta), růst kostí, ale také diferenciaci kardiomyocytů a transformace epiteliálních buněk na mesenchymatické. Zvýšení produkce extracelulární chrupavčité matrix
 - BMP3 – negativně ovlivňuje hustotu kostní tkáně (antagonista k ostatním BMPs)
 - BMP4 – vznik osteoblastů z multipotentních kmenových buněk, jinak významná role v diferenciacích procesech časného embryonálního vývoje. *In vitro* osteogeneze a chondrogenese
 - BMP5 – trabekulární kost a její výstavba
 - BMP6 – indukce osteogenních prekurzorů, regulace absorpce železa u savců (hepcidin)
 - BMP7 – homeostáza kostní tkáně, vývoj ledvin. *In vitro* inhibice proliferace mezenchymálních kmenových buněk a stimulace produkce chrupavčité tkáně
 - BMP8a – homeostáza kostní tkáně

Matrixové Gla proteiny

- Pozn. Co jsou proteiny s Gla doménou?
 - Proteiny „bohaté“ na glutamátové zbytky, které jsou posttranslačně modifikovány vitamín K dependentní karboxylací na γ -karboxyglutamát
 - Pro připomenutí – které proteiny patří do této kategorie?
 - Koagulační faktory VII, IX, X, XIV + protrombin
 - Vitamín K dependentní protein S
 - Vitamín K dependentní protein Z
 - Transtyrelin
 - *Osteokalcin*
 - *Matrixový Gla protein*
 - Gas-6 protein (growth arrest-specific protein 6)
 - a některé další
 - Gla proteiny zapojené do hemokoagulace syntetizovány hepatocyty

Osteokalcin

- = BGLAP (bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein)
- 49 AMK, MR = 5800
- Produkován výhradně osteoblasty – kostní tkáň/dentin
 - Produkce stimulována 1,25-dihydroxycholekalCIFerolem, závislá rovněž na vitamínu K
 - Uvolňován kostní resorpcí
 - Regulace velikosti a tvaru hydroxyapatitu
 - Prostřednictvím α helikální Gla domény asociace s kostní mineralizovanou matrix
- Kódován *BGLAP* genem
- Receptor – GPRC6A (G protein-coupled receptor family C group 6 member A)
 - Ligandy – některé aminokyseliny (nejsilnější agonista L-ornitin; alifatické, neutrální, zásadité AMK), vápník (Ca^{2+}), osteokalcin, některé steroidy = duální sensitivita (extracelulární kationty + aminokyseliny)
 - Blízce příbuzný CASR (calcium-sensing receptor; G protein), pro aktivaci však nutné daleko vyšší koncentrace vápenatých iontů
 - Osteokalcin pravděpodobně modifikuje, resp. zvyšuje odpověď receptoru na vápenaté ionty
 - Exprimován v řadě tkání – plíce, játra, slezina, srdce, ledviny, kosterní svalstvo, testes, mozek, kostní tkáň
 - „sensing mechanism“ pro extracelulární vápenaté ionty v osteoblastech
 - V případě L-ornitinu ovlivňují pozitivně odpověď hořečnaté ionty
 - Pozn. aplikace iontů stroncia pro jejich anabolický účinek na kostní tkáň zprostředkován CASR

Osteokalcin

- Význam:
 - Stimulace kostního růstu
 - Stimulace sekrece inzulínu
 - Stimulace sekrece adiponektinu tukovou tkání, resp. adipocyty
 - Význam v regulaci plodnosti mužů – pravděpodobně zvyšuje syntézu testosteronu
- Marker metabolismu (formace) kostní tkáně:
 - Cca 20 % nově syntetizovaného osteokalcinu cirkulující
 - 9-42 ng/mL⁻¹
 - Zvýšená hladina - osteoporóza, osteomalacie, Pagetova choroba, rachitis, hyperparathyreoidismus, renální osteodystrofie, tyreotoxikóza, kostní metastázy, akromegalie, ale také fraktury
 - Snížená hladina – hypoparathyreoidismus, hypothyreoidismus
 - Marker terapie bisfosfonáty, případně hormonální substituční terapií
 - ? Marker statusu vitamínu K

Matrixový Gla protein

- Mr = 9600, vysoký podíl hydrofilních AMK
- ALE velmi omezená rozpustnost ve vodě
- V řadě tkání – hladiny mRNA nejvyšší v ledvinách, plicích, játrech, slezině, srdci, cévní stěně
 - Regulátor a inhibitor kalcifikace cévní stěny
 - Uvolňování do krevního oběhu (cirkulující frakce)
 - Významná součinnost s vitamínem K
- Poměrně výrazná frakce mRNA i v kostní a chrupavčité tkáni
 - Zde produkce zvýšena v závislosti na vitamínu D
 - Interakce s jinými proteinovými molekulami kostní a chrupavčité tkáně (kolagen, proteoglykany, glykosaminoglykany)
 - Vysoká afinita k vápenatým iontům
 - Pozn. Keutelův syndrom
 - Difuzní kalcifikace chrupavčité tkáně a další abnormality (brachytelefalangie)
 - Kalcifikace srdečních chlopní
 - Mutace *MPG* genu
 - Pozn. Nekarboxylovaný MGP – marker kalcifikace cévní stěny
- Pozn. Protein S?
 - Kofaktor pro aktivovaný protein C
 - Deficience spojena s osteopenií?
 - Osteoblasty, podíl na mineralizaci kostní tkáně

Osteonektin (SPARC, BM-40)

- Mr = cca 40 000, kyselý, na cysteiny bohatý glykoprotein
- 3 domény:
 - Vysoce kyselá doména
 - Poměrně nízká afinita k vápenatým iontům
 - Interakce s hydroxyapatitem
 - Mineralizace kostní a chrupavčité tkáně
 - Doména bohatá na cysteinové zbytky
 - Extracelulární vápník vázající doména
 - Vazba s kolagenem regulovaná vápenatými ionty
- *SPARC* gen
- Exprimován u řady buněk
 - Chondrocyty, fibroblasty, trombocyty, endoteliální buňky, epiteliální buňky, Leydigovy buňky, Sertoliho buňky, atd.
 - Overexprimován u některých nádorů (angiogeneze, buněčná proliferace, migrace)
- Glykoprotein s afinitou k vápenatým iontům a kolagenu
- Extracelulární matrix
- Tvořen osteoblasty během formace kostní tkáně
- Iniciace mineralizace a tvorby kostních minerálních krystalů
- Interakce s matrix (zvyšuje tvorbu matrixových metaloproteáz a moduluje jejich aktivitu)

Osteopontin

- = kostní sialoprotein I (BSP, BNSP), ETA-1, SPP1, Ric
- Skupina SIBLING proteinů (small integrin-binding ligand, N-linked glycoprotein)
- Identifikován 1986 v osteoblastech
- Extracelulární strukturní protein
 - CCA 300 AMK (lidský 314 AMK), 30 cukerných zbytků, z toho 10 kys. sialové
 - Kyselý protein (cca 30 – 36 % kys. glutamová nebo asparagová)
- *SPP1* gen
- Silná vazba na dostupné vápenaté ionty
 - Inhibitor mineralizace
 - Regulace velikosti kostních krystalů
 - Remodelace kostní tkáně – „uchycení“ osteoklastů na kostní minerální matrix
 - Nalezen v moči – inhibice tvorby krystalů a ledvinových kamenů?
- Další funkce:
 - Regulace buněčné adheze a migrace
 - Chemotaktické vlastnosti
 - Modulace imunitních odpovědí
 - Pravděpodobný význam v myokardiální dysfunkci (apoptóza myocytů)
 - Role v patologických procesech (kalcifikace, zánětlivé procesy, nádorová onemocnění, alergické reakce/astma)

SIBLING proteiny

- Osteopontin
- Kostní sialoprotein (BSP)
- DMP1 (dentin matrix acidic phosphoprotein 1)
 - Protein extracelulární matrix
 - Kostní tkáň/dentin
 - U nediferencovaných osteoblastů jaderný protein = regulace exprese osteoblast-specifických genů
 - Během maturace osteoblastů je fosforylován a transportován do extracelulární matrix
 - Zde moduluje mineralizaci kostní tkáně
- DSPP (dentin sialophosphoprotein)
 - Pouze odontoblasty!
 - Štěpen na tři funkční proteiny:
 - Dentinový fosfoprotein (C-terminální konec) - regulace mineralizace dentinu
 - Dentinový sialoprotein (N-terminální konec)
 - Dentinový glykoprotein (střední část molekuly)
 - Pozn. dentinogenesis imperfecta iii. typu – mutace v části dentinového sialoproteinu

SIBLING proteiny

- Matrixový extracelulární fosfoglykoprotein (MEPE)
- Pozn. Zubní sklovina
 - Vysoce organizované krystaly hydroxyapatitu (až 85 %)
 - Ameloblasty a jejich interakce s peptidy/proteiny
 - Enamelin – *ENAM*, mutace – amelogenesis imperfecta
 - Amelogenin - skupina proteinů extracelulární matrix
 - Ameloblastin – kontrola mineralizace
 - Tuftelin – kyselý fosforylovaný glykoprotein
- Pozn. Dentin
 - Reelin – protein extracelulární matrix produkován odontoblasty
 - Možný přenos signálů bolesti

Růst kosti. Tvorba a resorpce kosti.

- Růst kosti
 - Osifikace membrán (intramembranózní) versus chrupavky (enchondrální)
 - Epifýzy, epifyzární štěrbin
 - Uzávěr epifyzárních štěrbin
- Stálé odbourávání a tvorba nové kosti
- Obměna až 100 % vápníku u kojenců
- U dospělých cca 18 %
- Osteoklasty – osteoblasty
- Stálá remodelace cca 5 % kostní tkáně, ovlivnění řadou faktorů
- Inkorporace jiných minerálů do kostní tkáně
 - Zejména prvky chemicky podobné vápníku
 - Olovo
 - Rychlé kostní vychytávání – detoxifikační mechanismus?
 - Vychytávání fluoridů – tvorba nové kostní hmoty, zabudování do zubní skloviny (rezistence k zubnímu kazu)
 - Velké dávky způsobují diskoloraci zubní skloviny

Faktory ovlivňující remodelaci kostní tkáně

- Genetické faktory
 - 60 – 80 % množství kostní tkáně determinováno geneticky
 - Rozdíly mezi rasami (nejvíce Černoši, nejméně Asiati)
- Mechanické faktory
 - Remodelace kostní struktury vzhledem k mechanickým požadavkům
 - Fyzická aktivita nezbytná pro správný vývoj kostí
- Cévní/nervové faktory
 - Vaskularizace nezbytná pro správný vývoj kosti, zejména pro ossifikaci
 - Inervace – neuropeptidy a jejich receptory
- Výživové faktory
 - Příjem vápníku
 - Návyky – káva, kouření, alkohol, nadbytek soli – rizikové faktory osteopenie
- Funkce endokrinního systému
 - Kromě výše uvedených také:
 - Androgeny – anabolický efekt, stimulace osteoblastů, změna kostní density
 - Estrogeny – estrogení receptory nalezeny v osteoblastech, osteocytech, i osteoklastech, duální efekt – stimulace osteoblastů, zvýšení hladiny osteoprotegerinu, redukce resorpce
 - Progesteron – anabolický efekt na kostní tkáň, osteoblasty – receptory - přímý/nepřímý účinek (kompetice s glukokortikoidy)
 - Inzulin – stimulace tvorby matrix
 - Glukokortikoidy – diferenciaci během vývoje, ale postnatálně inhibují tvorbu kostní tkáně, inhibice IGF-1/BMP-2, které jsou významné pro osteoblastogenezi
 - Růstový hormon – přímý účinek (stimulace osteoblastů,), nepřímý účinek přes zvýšení syntézy IGF-1/2 osteoblasty = stimulace proliferace a diferenciaci

Lokální remodelace kostní tkáně

- Zejména růstové faktory a cytokiny
- Růstové faktory:
 - Polypeptidy produkovány kostní tkání nebo extraoseálně
 - Modulace růstu, proliferace, diferenciace
 - IGF-1/2
 - Játra/osteoblasty
 - Ve vysoké koncentraci v kostní matrix
 - Stimulace syntézy kolagenu
 - Regulace interakce mezi osteoblasty a osteoklasty
 - TGF- β (Transforming growth factor - β)
 - Inhibice resorpce inhibicí diferenciace osteoklastů a indukci jejich apoptózy
 - Stimulace tvorby kostní tkáně, indukce diferenciace a proliferace osteoblastů
 - Inhibice syntézy matrixové proteázy (MMP)
 - BMP
 - PDGF (Platelet - derived growth factor)
 - Stimulace proteosyntézy
 - Proliferace fibroblastů, neovaskularizace, syntéza kolagenu
 - FGF (Fibroblastic growth factor) – mitogenní účinek na osteoblasty, mutace v receptorech – např. Apertův syndrom (předčasný uzavěr švů, syndaktylie, prodloužení lebky - turicefalie)
 - EGF (Epidermal growth factor)
 - VEGF (Vascular endothelial growth factor) – stimulace angiogeneze a proliferace endotelu, význam zejména v prvních fázích regenerace (fraktury)
 - GM-CSF (Granulocyte / macrophage - colony stimulating factor) – osteoklastogeneze, osteopetróza
 - M-CSF (Macrophage - colony stimulating factor) – první fáze osteoklastogeneze, bez přímého účinku na osteoklasty
 - TNF (Tumor necrosis factor) – stimulace kostní resorpce

Lokální remodelace kostní tkáně

- Cytokiny – buňky imunitního systému, celá řada úloh (imunitní odpověď, zánět, hematopoéza, autokrinní/parakrinní efekt, pleiotropní efekt)
- Interleukin 1
 - Přímá stimulace osteoklastické resorpce
 - Stimulace proliferace a diferenciace preosteoblastů
 - Inhibice apoptózy osteoklastů
- Interleukin 6
 - Stimulace resorpce kosti
 - Role v Pagetově chorobě
 - Iniciální fáze osteoklastogeneze
- Interleukin 11
 - Kostní dřeň, stimulace osteoklastogeneze
- Prostaglandiny
 - Zejména PGE2
 - Stimulace resorpce kostní tkáně
 - Experimentálně – inhibice COX2 = inhibice tvorby kostní tkáně v závislosti na mechanickém stresu
- Leukotrieny

Kostní nemoci

- Osteogenesis imperfecta
- Osteopetróza
 - Defektní osteoklasty
 - Nefunkční resorpce kostí
 - Poměrně rozsáhlý molekulárně biologický podklad
- Rachitis/osteomalacie – nedostatečná akrece vápníku na jednotku kostní matrix
- Osteoporóza – ztráta kostní matrix i minerální složky – estrogeny!

Markery metabolismu kostní tkáně

- Markery tvorby kostní tkáně
 - Alkalická fosfatáza
 - „přichycena“ na vnějším povrchu osteoblastů pomocí glykofosfatidylinositolu (ektoenzym)
 - ALP je nespecifická
 - Funkce - zvýšení lokální koncentrace anorganického fosfátu (= promoter mineralizace) a současně snížení lokální koncentrace pyrofosfátu (inhibitor formace kostního minerálu)
 - Význam v kardiovaskulární kalcifikaci
 - Osteokalcin
 - N- a C- terminální prokolagenní propeptidy
 - Zvýšeny při Pagetově chorobě a zvýšené hladině růstového hormonu
- Markery kostní resorpce
 - Proteiny obsahující hydroxyprolin
 - Pyridinolin, deoxypyridinolin
 - Stabilizace řetězců kolagenu v extracelulární matrix
 - Galaktosylhydroxylysin
 - Kyselá fosfatáza
 - = tartarát rezistentní kyselá fosfatáza (TRAP) 5b
 - 5b izoforma specifická pro osteoklasty

Marker	Tissue origin	Analytical sample	Analytical method
Hydroxyproline, total and dialyzable (OH-Pro, OHP); specific for all fibrillar collagens and a part of collagen proteins, including C1q and elastin; present in newly synthesized and mature collagen	bone, skin, cartilage, soft tissues	urine	colorimetry, HPLC
Pyridinoline (PYD, Pyr); high concentrations in cartilage and bone collagen: not present in skin; present only in mature collagen	bone, tendon, cartilage	urine	HPLC, ELISA
Deoxypyridinoline (DPD, d-Pyr); high concentrations only in bone collagen: not present in cartilage or in skin; present only in mature collagen	bone, dentine	urine	HPLC, ELISA
Cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen (ICTP); high proportion from bone collagen in type I collagen; can partly originate from newly synthesized collagen	bone, skin	serum	RIA
Cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen (fragments alpha-CTX, beta-CTX); in type I collagen; probably high proportion from bone collagen	all tissue containing type I collagen	urine, serum	ELISA, RIA, ECLIA
Cross-linked N-terminal telopeptide of type I collagen (fragments NTX); in type I collagen; big proportion from bone	all tissue containing type I collagen	urine (alpha/beta), serum (only beta)	ELISA, RIA, ICMA
Hydroxylysine-glycosides (Hyl-Glyc); collagens and collagen proteins; glucogalactosyl- hydroxylysine is highly represented in soft tissue collagens and C1q; galactosil-OHLys is highly represented in bone collagen	bone, skin, soft tissue, serum complement	urine	HPLC, ELISA
Bone sialoprotein (BSP); synthesized by active osteoblasts and lay in extracellular bone matrix; it seems to express osteoclast activity	bone, dentine, hypertrophic cartilage	serum	RIA, ELISA
Tartaric-resistant acid phosphatase (TR-ACP); osteoclasts, thrombocytes, erythrocytes	bone, blood	plasma/serum	colorimetry, RIA, ELISA
Free gamma carboxyglutamin acid (GLA); resulted from bone proteins (e.g. osteocalcin, matrix Gla protein) and from coagulation factor	blood, bone	serum/urine	HPLC

HPLC – high performance liquid chromatography; ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay; RIA – radio immuno assay; ECLIA – electrochemiluminescence immunoassay; ICMA – immunochemiluminometric assay

Vitamín D a hydroxycholekalCIFeroly

- Vitamín D = skupina příbuzných sterolů, které vznikají při působení UV (290 – 315 nm)
- D3 biologicky neaktivní!
- 1,25-dihydroxycholekalCIFerol = kalcitriol se tvoří rovněž v placentě, kožních keratinocytech a makrofázích
- 25-hydroxycholekalCIFerol je hlavní cirkulující forma, navázán na plasmatický DBP
 - 25 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
 - Kalcitriol – 30 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$
- Regulace syntézy
 - Tvorba 1,25-dihydroxycholekalCIFerolu je katalyzovaná 1α -hydroxylázou je regulována zpětnou vazbou plasmatickými Ca^{2+} a PO_4^{3-}
 - Dále usnadněna PTH jako odpověď na nízkou plasmatickou hladinu vápníku
 - Při vysoké plasmatické hladině vápníku nebo vysoké hladině PO_4^{3-} naopak tvorba poměrně biologicky neaktivního 24,25-dihydroxycholekalCIFerolu
 - Aktivita 1α -hydroxylázy se zvyšuje prolaktinem
 - Estrogeny – zvýšená hladina vazebného proteinu (a tím zvýšená i hladina celkového 1,25-dihydroxycholekalCIFerolu, ne však volného
 - Hladina 1,25-dihydroxycholekalCIFerolu se snižuje při hypertyreóze a metabolické acidóze
- Pozn.
 - Na vitamin D rezistentní rachitis I. typu - mutace genu pro renální 1α -hydroxylázu
 - Na vitamin D rezistentní rachitis II . typu – mutace genu pro receptor 1,25-dihydroxycholekalCIFerolu

Mechanismus působení

- 1,25-dihydroxycholekalciferol = steroid
- Regulace tvorby proteinů kalbindinů
- Zvýšení počtu molekul $\text{Ca}^{2+}\text{H}^+\text{ATPázy}$ v enterocytech = zvýšený transport vápenatých iontů do intersticia
- Zvýšení zpětné resorpce vápníku v ledvinách
- Zvýšení počtu osteoklastů – mobilizace Ca^{2+} a PO_4^{3-}
- Receptory
 - V řadě tkání (kůže, lymfocyty, monocyty, kosterní a srdeční sval, mléčná žláza, adenohipofýza)
 - Indukce diferenciacie imunitních buněk a keratinocytů v kůži
 - V jiných tkáních regulace růstu regulace tvorby růstových faktorů

Příštítná tělíska

- Obvykle 4 příštítná tělíska (značná variabilita)
- 3 x 6 x 2 mm bohatě vaskularizovaná diskovitá struktura
- Hlavní buňky
 - Tvorba a secernování parathormonu (PTH)
- Oxyfilní buňky
 - Počet se zvyšuje s věkem
 - Funkce doposud neznámá
 - Produkce PTHrP?

Syntéza a metabolismus PTH

- Lineární peptid, 84 AMK, Mr = 9500
- 10 – 55 ng.L⁻¹
- Poločas cca 10 min, odštěpení fragmentu ze střední oblasti a z C- konce v Kupfferových buňkách a následné vyloučení ledvinami
- Působení přímo v kostní tkáni
 - Zvýšení kostní resorpce a mobilizace vápníku = zvýšení plazmatické hladiny
 - Snížení plazmatické hladiny fosfátu – zvýšení sekrece fosfátu ledvinami na základě snížení zpětné resorpce fosfátu v proximálních tubulech
 - Zvýšení resorpce vápenatých iontů v distálních tubulech
 - Zvýšení tvorby 1,25-dihydroxycholecalciferolu zvýšením aktivity 1 α -hydroxylázy
- Dlouhodobé působení – stimulace osteoblastů i osteoklastů, ale převažující vliv na osteoklasty
 - ! Krátkodobý účinek přes PTH receptory osteoblastů!
- Sekrece PTH regulována negativní zpětnou vazbou vápenatými ionty (membránový receptor – serpentinový receptor spřažený s G proteinem)
 - Zvýšení hladiny fosfátu v plazmě = snížení hladiny vápenatých iontů a inhibice tvorby 1,25-dihydroxycholecalciferolu
- 1,25-dihydroxycholecalciferol působí přímo v příštítých těliscích
 - Snížení hladiny mRNA preproPTH
- Role hořečnatých iontů – mírné zvýšení hladiny stimuluje tvorbu PTH
- Pozn. Protein příbuzný s parathormonem – PTHrP
 - Exprimován v řadě tkání
 - 140 AMK
 - Výrazná homologie s PTH v koncových oblastech
 - Stimulace proliferace chondrocytů a inhibice jejich mineralizace
 - Růstový faktor pro vývoj kůže, vlasových folikulů a prsů?
 - Vylučován mateřským mlékem – nejasný význam
 - Mozková kůra, hipokampus, granulární vrstva mozečku

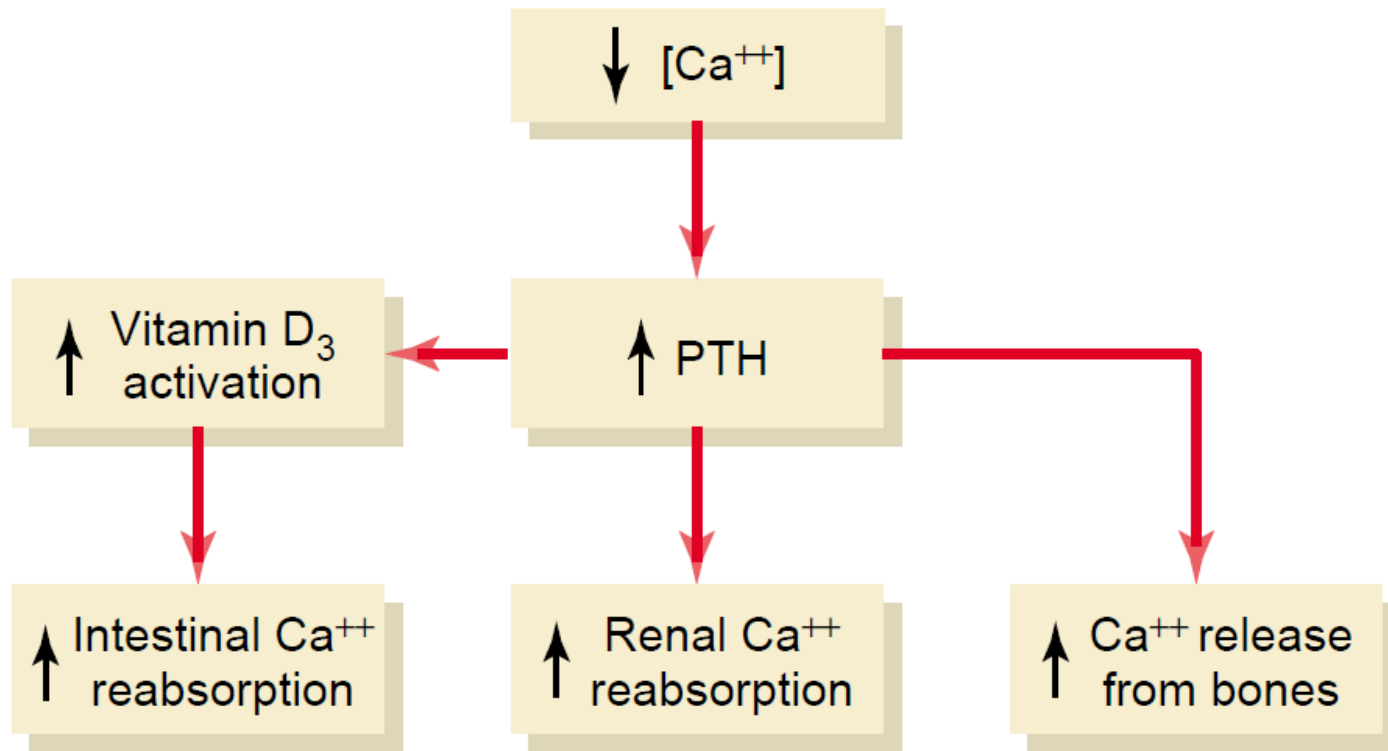


Figure 29–10

Compensatory responses to decreased plasma ionized calcium concentration mediated by parathyroid hormone (PTH) and vitamin D.

Factors That Alter Renal Calcium Excretion

↓ Calcium Excretion

↑ Parathyroid hormone (PTH)
 ↓ Extracellular fluid volume
 ↓ Blood pressure
 ↑ Plasma phosphate
 Metabolic acidosis
 Vitamin D₃

↑ Calcium Excretion

↓ PTH
 ↑ Extracellular fluid volume
 ↑ Blood pressure
 ↓ Plasma phosphate
 Metabolic alkalosis

Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. 12th Ed.
Elsevier 2006

Mechanismus účinku PTH

- Nejméně tři různé receptory pro PTH
- G protein
- Různá exprese v různých tkáních
- Pro regulaci metabolismu vápníku patrně nejdůležitější PTH1R s afinitou PTHrP, serpentinový receptor
- PTH2R v různých (CNC, pankreas, testes, placenta) bez afinity k PTHrP, serpentinový tkáňový receptor
- CPTHr? – ligandem je C-terminální část PTH
- Pozn. Pseudohypoparatyreóza
 - Mutace receptorů?
- Pozn. Paratyreoidektomie
 - Trvalý pokles hladiny vápníku v krvi a současný vzestup hladiny fosfátů
 - Tetanie, Chvostekův příznak, Trousseauův příznak
- Pozn. Nadbytek PTH
 - Hyperkalcémie, hypofosfatémie, demineralizace kostí, hyperkalciurie, tvorba ledvinových kamenů
 - Osteitis fibrosa
 - Sekundární hyperparatyreóza – při chronicky snížených hladinách vápenatých iontů v krvi, stimulace příštítných tělísek, kompenzační hypertrofie, hyperfosfatémie
 - Familiární hyperkalcémie/hypokalcémie

Kalcitonin

- Hormon snižující hladinu vápenatých iontů
- parafolikulární buňky (buňky C)
- Mr = 3500, 32 AMK, významná variabilita u různých druhů v AMK, *CALC1*
- Tvorba peptidu spřízněného s kalcitoninovým genem (CGRP)
- Sekrece se zvyšuje až při poměrně vysoké hladině vápníku (vyšší než 95 mg.L⁻¹)
 - Sekreci zvyšují β-andrenergní agonisté, dopamin, estrogeny
 - Dále gastrin, cholecystokinin, glukagon, sekretin
 - Pravděpodobně je secernován i jinými tkáněmi
- Poločas cca 10 minut
- Serpentinové receptory v kostech a ledvinách
 - Inhibice kostní resorpce - inhibice aktivity osteoklastů
 - ALE pouze zanedbatelné dlouhodobé účinky na kalcémii (žádný syndrom deficitu kalcitoninu, medulární karcinom štítné žlázy – vysoké hladiny kalcitoninu, ale bez symptomů)
 - U mladších vyšší hladiny – význam při vývoji skeletu?
 - Ochrana matky před nadměrnými ztrátami vápníku v těhotenství
 - Ochrana před postprandiální hyperkalcemií (gastin)
- Pozn. CGRP - Calcitonin gene-related peptide
 - 37 AMK
 - Produkce centrálními i periferními neurony
 - Vasodilatace, úloha v přenosu signálu bolesti (senzorická funkce)
 - Funkce efektorová
 - Pravděpodobně daleko více fyziologických funkcí
- Použití – léčba Pagetovy choroby

Endokrinní pankreas

- Langerhansovy ostrůvky pankreatu
 - Inzulín
 - Glukagon
 - Somatostatin
 - Pankreatický polypeptid (PP)
- Zejména v ocasu pankreatu
- Pouze 2 % celého pankreatu
- 1 – 2 milióny
- Bohaté krevní zásobení, jaterní portální žíla
- Buněčná struktura
 - A, B, D a F buňky
 - A – glukagon, obklopují buňky B, cca 20 %
 - B – inzulín, nejpočetnější, 60 – 75 % buněk ostrůvků
 - D – somatostatin
 - F – pankreatický polypeptid, zejména zadní část hlavy pankreatu
- Humorální, cell-cell, a neurální komunikace

Inzulín

- Polypeptid, 2 řetězce, vzniká z prepropeptidu, který je kódován *INS*
- Vysoce konzervativní
- Pozn. Frederick Sanger 1951
- Chromozom 11
- Několik regulačních sekvencí v promotoru – vazba transkripčních faktorů (Par1, Pdx2, Oct1, ISF, Pax4, USF1/USF2, CREB, CREME2A, NeuroD1, HEB)
- Další regulace působení inzulínu
 - Stabilita mRNA
 - Translační procesy
 - Posttranslační modifikace
- Po úpravách v granulách původem v GA
- Ty jsou dále transportovány, exocytóza
- Přejít přes bazální membránu B buněk, fenestracemi se dostává dále do krevního oběhu
- NSILA – Nonsuppressible Insulin-Like Activity, IGF-I/II
- Poločas cca 5 min
- Vazba na inzulínové receptory a částečná internalizace
- Rozkládán endozomy, zejména inzulínovou proteázou, která je internalizována spolu s inzulínem
- 80 % secernovaného inzulínu degradováno v játrech a v ledvinách

Inzulínový receptor

- Transmembránový, skupina receptorů s tyrosinkinázovou aktivitou
- Aktivace inzulínem, IGF-I a IGF-II
- *INSR* gen, alternativní sestřih, vznik IR-A (exon 11+ = + 12 AMK) a IR-B (exon 11-) isoformy
- Tetramer, $M_r = 340\ 000$, dva alfa a dva beta řetězce, které jsou glykosylované
- Velká podobnost s receptorem pro IGF-I, ale odlišný od receptoru pro IGF-II

- Po vazbě ligandu (α řetězec) autofosforylace tyrosinových zbytků intracelulární TK katalytické domény β řetězce
- Dále nábor adapterových proteinů
 - IRS (insulin receptor substrate proteins) – IRS1 - IRS4
 - SH-2B (SH2 domain-containing adapter protein B)
 - APS
 - PTP1B (protein-tyrosine phosphatase 1B)
- IRS-1 aktivuje PI3 kinázu, která katalyzuje fosforylaci PIP2 za vzniku PIP3
- PTEN (phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate 3- phosphatase) katalyzuje zpětnou konverzi PIP3 na PIP2
- Následuje vazba a aktivace proteinkinázy Akt (proteinkináza B, serin/threonin specifická kináza)
- Fosforylace dalších proteinů:
 - GSK3 (Glycogen synthase kinase 3) a následná aktivace glykogen syntázy
- Aktivace transportu vezikul s GLUT-4, transport a splynutí s plazmatickou membránou a jejich vystavení
- Pozn. Vstup GLUT-4 rovněž po fyzické námaze mechanismem kinázy aktivované 5'-AMP

Účinky inzulínu

- Velmi komplexní
- Rychlé/středně rychlé/zpožděné
- Nejznámější je hypoglykemický účinek
- Vliv na transport aminokyselin a elektrolytů
- Výsledkem je ukládání cukrů, proteinů a tuků
- Další účinky
 - Vstup draslíku do buněk =
příčina hypokalémie u
diabetických nemocných s
acidózou po léčbě inzulínem
 - Zvýšení aktivity Na^+K^+ ATPázy

Hlavní účinky inzulínu

- Příjem a utilizace Glu kosterními svaly během tělesné námahy a postprandiálně
 - Usnadnění transportu Glu
- „uskladnění“ Glu ve formě energie v játrech
 - Inaktivace jaterní fosforylázy, která štěpí jaterní glykogen na Glu
 - Zvýšený příjem Glu mechanismem zvýšení aktivity glukokinázy – fosforylovaná Glu není schopna přejít zpět přes plasmatickou membránu
 - Zvýšení enzymů syntézy glykogenu, zejména glykogensyntázy
 - Zvýšená konverze nadbytečné Glu na MK
 - Inhibice glukoneogeneze inhibicí příslušných jaterních enzymů
- ! Inzulín nemá vliv na příjem Glu neurony (pasivní transport)
- Inzulín zvyšuje utilizaci Glu periferními tkáněmi
- Vliv inzulínu na tukovou tkáň
 - Zvýšení transportu Glu do jater, nad určitou koncentraci glykogenu (5 – 6 %) je jeho další syntéza blokována – Glu je konvertována na pyruvát a ten následně na acetyl-Coa, který je výchozím substrátem pro syntézu MK
 - MK jsou uvolňovány z jater ve formě triglyceridů v lipoproteinech
 - Inzulín aktivuje lipoproteinovou lipázu ve stěnách kapilár tukové tkáně – štěpení triglyceridů a uvolnění MK, následně vstup do adipocytů a konverze na triglyceridy
 - Inzulín inhibuje hormon-senzitivní lipázu = inhibice uvolňování triglyceridů z tukové tkáně do krve
 - Zvýšení transportu Glu do adipocytů – minoritně použita na syntézu MK, majoritně α -glycerolfosfát
- Inzulín a metabolismus proteinů
 - Inzulín indukuje proteosyntézu
 - Stimulace transportu (zvýšení kapacity transportních systémů) mnoha AMK do buněk (zejména valin, leucin, izoleucin, tyrosin a fenylalanin)
 - Zvýšení translace mRNA – tvorba proteinů
 - Zvýšení transkripce DNA
 - Inhibice katabolismu proteinů – snížení celulární degradace proteinů
 - Snížení glukoneogeneze v játrech – substrátem jsou plasmatické AMK!

Glukózové transportéry

- Facilitovaná difúze, sekundární aktivní transport s Na^+ ve střevech a ledvinách
- Svaly, tuková tkáň a další – glukózové transportéry
- 12 transmembránových úseků, N- a C- terminální konce intracelulárně
- U savců popsáno 12 různých glukozových transportérů rozděleno do tří tříd, běžně uváděno 7
 - Liší se afinitou ke glukóze, stejně jako expresí v jednotlivých tkáních
 - Př. GLUT-1 – zejména ve fetální tkáni, u dospělých zejména v Ery a enterocytech a zodpovědný za bazální hladinu Glu pro zajištění základních buněčných pochodů
- GLUT-4
 - Svalová a tuková tkáň
 - Výrazná stimulace inzulínem
 - Po vstupu Glu do buněk je dále regulována rychlost fosforylace (růstový hormon a kortizol ji v některých tkáních inhibují)
- Zvýšení vstupu Glu inzulínem do jater mechanismem zvýšené fosforylace Glu

	Function	K_m (mM) ^a	Major Sites of Expression
Secondary active transport (Na⁺-glucose cotransport)			
SGLT 1	Absorption of glucose	0.1–1.0	Small intestine, renal tubules
SGLT 2	Absorption of glucose	1.6	Renal tubules
Facilitated diffusion			
GLUT 1	Basal glucose uptake	1–2	Placenta, blood-brain barrier, brain, red cells, kidneys, colon, many other organs
GLUT 2	B-cell glucose sensor; transport out of intestinal and renal epithelial cells	12–20	B cells of islets, liver, epithelial cells of small intestine, kidneys
GLUT 3	Basal glucose uptake	<1	Brain, placenta, kidneys, many other organs
GLUT 4	Insulin-stimulated glucose uptake	5	Skeletal and cardiac muscle, adipose tissue, other tissues
GLUT 5	Fructose transport	1–2	Jejunum, sperm
GLUT 6	None	—	Pseudogene
GLUT 7	Glucose 6-phosphate transporter in endoplasmic reticulum	—	Liver, ? other tissues

Nedostatek inzulínu

- Diabetes mellitus
 - Experimentálně aloxan, streptozocin
 - Inhibice sekrece inzulínu
 - Protilátky
 - Polyurie, polydipsie, ztráta na váze přes polyfagii, hyperglykémie, glykosurie, ketóza, acidóza, kóma
 - Snížený vstup Glu do periferních tkání
 - Zvýšené uvolňování Glu do krve z jater
 - Nadbytek extracelulární Glu a naopak nedostatek Glu intracelulární – „hladovění uprostřed nadbytku“
 - Dále absolutní nebo relativní hypersekrece glukagonu
 - Test tolerance glukózy, porušená glukózová tolerance
 - Snížená periferní utilizace Glu bez změny střevní resorpce a zpětné resorpce v ledvinách
 - Porucha glukostatické funkce jater (inzulin podporuje syntézu glykogenu a inhibuje výdej Glu játry)
 - Inaktivace jaterní fosforylázy
 - Snížený příjem Glu hepatocyty (snížení aktivity glukokinázy)
 - Snížená syntéza glykogenu
 - Účinky hyperglykémie
 - Hyperosmolarita krve
 - Glykosurie
 - Značné ztráty vody (osmotická diuréza) – polydipsie
 - Neenzymová glykosilace hemoglobinu A (HbA_{1c}) – marker
 - Intracelulární deficit glukózy
 - Zvýšení katabolismu tuků a proteinů – ketoacidóza
 - Pravděpodobně příčinou diabetické hyperfagie

Nadbytek inzulínu

- Zejména účinky hypoglykémie na nervový systém – proč?
 - Omezené zásoby sacharidů
 - Dále příjem Glu
 - Palpitace, pocení, nervozita = aktivita vegetativního nervstva – proč?
 - Neuroglykopenické příznaky
 - Pocity hladu, zmatenost, letargie, kóma, křeče, smrt
- Kompenzační mechanismy
 - Inhibice sekrece inzulínu
 - Sekrece glukagonu, adrenalinu (zvýšený výdej Glu z jater), růstového hormonu a kortizolu (snížení utilizace Glu tkáněmi)

Diabetes mellitus a změny v metabolismu

- Metabolismus proteinů
 - Zvýšená rychlost katabolismu AMK a jejich zvýšená konverze na Glu v játrech
 - Měření poměru Glu k dusíku v moči (D/N poměr)
 - Význam glukagonu a hyperglukagonémie (stimulace glukoneogeneze) a adrenálních glukokortikoidů
 - Negativní dusíková bilance (glukoneogeneze versus snížená proteosyntéza) spojena se sníženou rezistencí k infekcím
- Metabolismus tuků
 - Zrychlení katabolismu tuků se zvýšenou tvorbou ketolátek
 - Snížená syntéza mastných kyselin a triacylglycerolů (30-40 % versus 5 % u DM; snížená konverze Glu na MK v tukových zásobách)
 - Zvýšení hladiny volných MK (NEFA, UFA, FFA) – nepřítomnost inhibice hormonálně senzitivní lipázy v tukové tkáni
 - Hladina FFA mění paralelně s hladinou Glu
 - Katabolizace MK na acetyl-CoA, nadbytečný acetyl-CoA je přeměněn na ketolátky
 - Vznik acetacetyl-CoA a konverze na acetacetát a aceton a β -hydroxybutyrát
 - Významný zdroj energie při hladovění, nicméně velmi vysoká hladina ketolátek spolu se sníženou utilizací ketonů
 - Inzulin zvyšuje utilizaci ketonů ve svalech
 - β -hydroxybutyrát je příčinou acidózy (stimulace respiračního centra, Kussmaulovo dýchání), následně ztráty Na^+ a K^+
 - Kóma nastává dehydratací a acidózou (laktátová acidóza, hyperosmolární kóma)
- Metabolismus cholesterolu

Obvykle zvýšená plasmatická hladina, zejména VLD a VLDL

Diabetes mellitus

- Lidé, ale také jiní živočichové
- Četné komplikace
 - Cévní změny
 - Konverze intracelulární glukózy na Amadoriho produkty
 - Ty tvoří AGE (Advanced Glycosylation Products) – změny proteinů matrix
 - Mikrovaskulární změny
 - Diabetická retinopatie
 - Diabetická nefropatie
 - Makrovaskulární změny
 - Zrychlený průběh aterosklerózy – vyšší četnost některých dalších onemocnění (IM)
 - Diabetická neuropatie
 - Snížená rezistence k infekcím
- DM I. typu = inzulín dependentní (deficit inzulínu), autoimunní onemocnění ? Protilátky proti B bunkám
- DM II. typu = rezistence na inzulín + poruchy sekrece inzulínu (vyčerpání buněk B)
- Sekundární diabetes – chronická pankreatitida, totální pankreatektomie, Cushingův syndrom, akromegálie

Regulace sekrece inzulínu

- U zdravých jedinců nalačno je hladina inzulínu do 502 pmol.L⁻¹
- Po požití potravy nastává až 10násobný vzestup
- Denně se secernuje cca 287 mmol
- Regulace – zejména zpětnovazebná působením krevní Glu přímo v B buňkách pankreatu
 - GLUT-2
- Stimulace také některými AMK, acetacetátem
 - Pravděpodobný mechanismus zprostředkovan NO (arginin =prekurzor NO)
- Inzulín a vegetativní nervy
 - α 2-adrenergní receptory inhibují sekreci inzulínu
 - β -adrenergní receptory stimulují sekreci inzulínu
 - M4 receptory – stimulace sekrece inzulínu *n. vagus*, opět zvýšení Ca²⁺ + uvolnění z ER
- Střevní hormony
 - Glukagon, sekretin, cholecystokinin, gastin, žaludeční inhibiční peptid (GIP)
 - Glukagonu podobný polypeptid 1 (GLP-1)
 - Influx Ca²⁺ přes napěťově řízené vápníkové kanály
- Deplece K⁺ - snížení sekrece inzulínu
- Pozn. Perorální hypoglykemika – stimulace sekrece inzulínu
 - Pouze u pacientů se zachovanými B buňkami
 - Inhibice K⁺ kanálů
 - Biguanidiny fenformin a metformin
 - Snížení glukoneogeneze
 - Thiazolidindiony
 - Zvyšují periferní utilizaci Glu, snižují rezistenci na inzulín
 - Mechanismus účinku přes PPAR- γ receptor

Adipokiny

- Tuková tkáň = endokrinní, produkce proteinů (peptidů) s autokrinním, parakrinním, nebo endokrinním účinkem
- Adipokiny – zapojeny do regulace energetické homeostázy
- Adipokiny podporující činnost inzulínu
 - Leptin – převážně adipocyty, regulace příjmu potravy? (adaptační reakce organismu na dlouhodobé hladovění)
 - Adiponektin – adipocyty, vztah k inzulínové rezistenci
 - Visfatin – produkován zejména adipocyty viscerální tukové tkáně, aktivace inzulínové signální kaskády – zvýšení transportu Glu v myocytech, stimuluje lipogenezi a diferenciaci adipocytů a snižuje produkci Glu v hepatocytech
- Adipokiny inhibující činnost inzulínu
 - TNF- α – produkce adipocyty koreluje s mírou obezity, hladinami inzulínu a inzulínovou rezistencí, přímé působení na inzulínovou kaskádu (fosforylace substrátu inzulínového receptoru), zvýšení uvolňování FAA
 - Rezistin – adipocyty, buňky imunitního systému, vliv rezistinu na inzulínovou rezistenci není tak výrazný, jak se dříve soudilo
 - IL-6 – adipocyty, buňky imunitního systému, endoteliální buňky, myocyty, fibroblasty, sekrece výraznější ve viscerálním tuku, podílí se na rozvoji inzulínové rezistence

Glukagon

- A buňky pankreatu, Lineární peptid, Mr = 3485, 29 AMK
- Preproglukagon – 179 AMK
 - A buňky, L buňky dolní části trávicího ústrojí a v mozku
 - V A buňkách se preproglukagon štěpí na větší proglukagonový fragment MPGF
 - V L buňkách se zpracovává primárně na glicentin
 - V A a L buňkách se tvoří rovněž oxyntomodulin a zachovává se glicentinu příbuzný polypeptid GRPP (zvyšuje hladinu inzulínu, snižuje hladinu glukagonu)
- GLP-1 (7-36) je silný stimulátor sekrece inzulínu, spolu s GLP-2 se tvoří také v mozku
 - Indukce sekrece somatostatinu
 - Trofické účinky na B buňky, snížení chuti k jídlu
 - Výrazně snižuje postprandiální glykémii
 - Pozn. Analoga – liraglutid/

Působení glukagonu

- Glykogenolýza (ne ve svalech!), stimulace glukoneogeneze z dostupných AMK, lipolytický a ketogenní účinek (lipolytická aktivita)
 - Receptor – Mr = 62000, 485 AMK, serpentinový receptor, *GCGR* gen
 - V játrech prostřednictvím Gs aktivuje adenylátcyklázu = zvýšení intracelulární koncentrace cAMP
 - cAMP přes protein kinázu A aktivuje fosforylázy (aktivace fosforyláza b kinázy a vznik fosforylázy a) – štěpení glykogenu na Glu-1P, vzestup glykémie po odštěpení P
 - Aktivace fosfolipázy C, zvýšení koncentrace volných vápenatých iontů a stimulace glykogenolýzy
 - Proteinkináza A snižuje metabolismus Glu-6P = zvýšení Glu
 - Inhibice konverze Fru-6P na Fru-1,6-PP
 - Dále inhibice skladování triglyceridů v játrech
 - ! Aktivuje adipocytární lipázu = zvýšené množství MK v krvi
 - Pozitivně inotropní účinek na srdce (zvýšení obsahu cAMP)
 - Stimulace sekrece růstového hormonu
 - Zvýšení krevní cirkulace (ledviny)
 - Inhibice sekrece HCl v žaludku a žluči
-
- Poločas v cirkulující krvi 5 -10 min
 - Degradován zejména v játrech, ale i dalších tkáních
 - Secernován do portální žíly

Receptor Location	Effect
Liver	Stimulates glycogenolysis and glyconeogenesis Inhibits glycolysis and glycogenesis
Adrenal gland	Inhibits ACTH-stimulated cortisol production
Kidney	Stimulates bicarbonate secretion Reduces urinary acidification Increases glomerular mesangial cell proliferation Promotes natriuresis Stimulates K ⁺ excretion Increases glomerular filtration rate
Adipose tissue	Stimulates brown fat thermogenesis Stimulates brown fat cell growth
Duodenum	Inhibits gastrointestinal motility Promotes relaxation of Sphincter of Oddi
Stomach	Stimulates ghrelin secretion
Heart	Increases heart rate and myocardial contractility and improves atrioventricular conduction
Brain	Suppresses ghrelin secretion Stimulates somatostatin release from hypothalamus Stimulates neuronal ketone metabolism Suppresses feeding Stimulates sympathetic nervous activity
β-Cell	Promotes glucose-stimulated insulin secretion
α-Cell	Stimulates α-cell exocytosis

Bansal P, Wang Q: **Insulin as a physiological modulator of glucagon secretion. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2008, 295(4):E751-E761.**

Regulace sekrece glukagonu

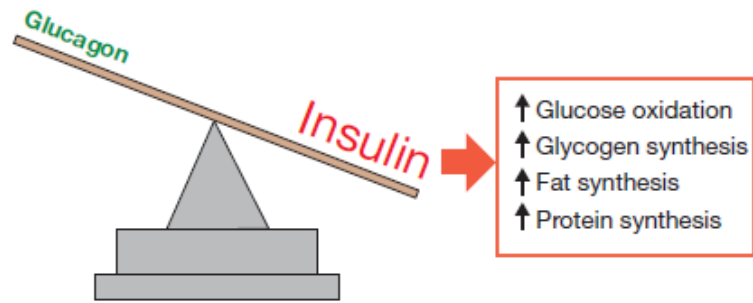
- Zvýšení sekrece při hypoglykémii
- Spolu se sekrecí glukagonu se uvolňuje i GABA, která inhibuje v buňkách A sekreci glukagonu aktivací GABA_A receptorů
- Zvýšená po stimulaci sympatické inervaci pankreatu (β -adrenergní receptory, cAMP)
- vagová stimulace
- Inhibice po aktivaci α -adrenergních receptorů
- Zvýšená sekrece po na proteiny bohatém jídle
 - Pozn. Protektivní význam, zabránění vzniku hypoglykémie
- Zvýšená při hladovění

Inzulín versus glukagon

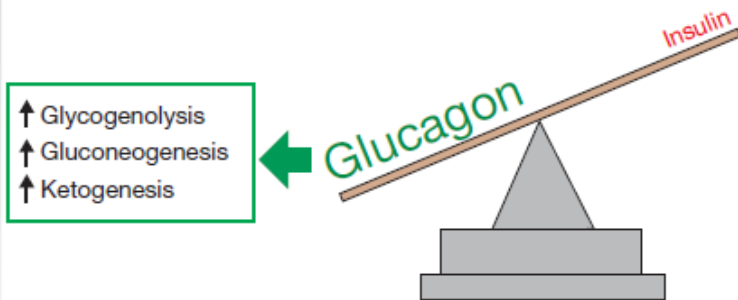
INSULIN AND GLUCAGON

Metabolism is controlled by the insulin : glucagon ratio.

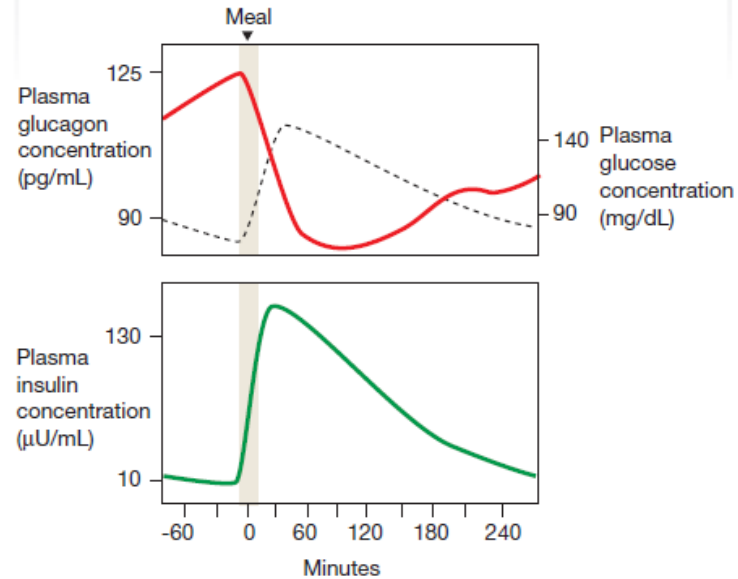
(a) Fed state: insulin dominates



(b) Fasted state: glucagon dominates



(c) Glucose, glucagon, and insulin levels before and after a meal



Condition	Hepatic Glucose Storage (S) or Production (P) ^a	I/G
Glucose availability		
Large carbohydrate meal	4+ (S)	70
Intravenous glucose	2+ (S)	25
Small meal	1+ (S)	7
Glucose need		
Overnight fast	1+ (P)	2.3
Low-carbohydrate diet	2+ (P)	1.8
Starvation	4+ (P)	0.4

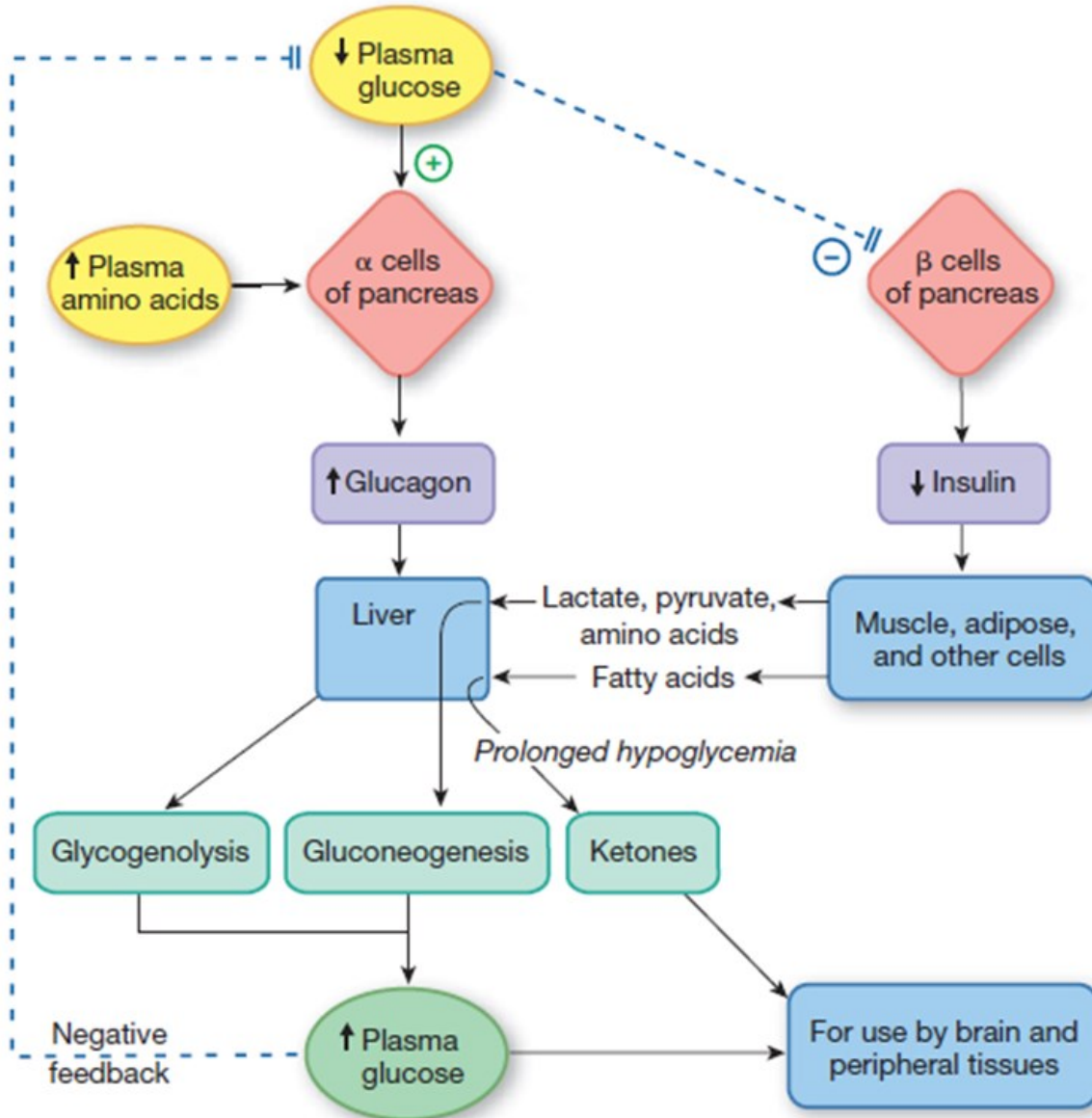
^a1+ to 4+ indicate relative magnitude.

Courtesy of RH Unger.

Silverthorn, D. U. Human Physiology – an Integrated Approach. 6th. edition. Pearson Education, Inc. 2012.

ENDOCRINE RESPONSE TO HYPOGLYCEMIA

Glucagon helps maintain adequate plasma glucose levels by promoting glycogenolysis and gluconeogenesis.



Silverthorn, D. U. Human Physiology – an Integrated Approach. 6th. edition. Pearson Education, Inc. 2012.

Somatostatin

- D buňky pankreatických ostrůvků
- 14 AMK
- Extrémně krátký poločas (cca 3 min)
- Sekreci zvyšuje:
 - Zvýšení hladiny glukózy v krvi
 - Zvýšení hladiny AMK, zejména argininu a leucinu
 - Zvýšení hladiny FAA
 - Zvýšená koncentrace některých hormonů horní části GIT jako odpověď na příjem potravy
- Funkce:
 - Snižuje sekreci glukagonu a inzulínu, ale také pankreatického hormonu
 - Snížení utilizace přijatých živin tkáněmi – adaptace pro jejich delší dostupnost a utilizaci?
 - Snižuje motilitu žaludku, duodena a žlučníku a žlučových cest
 - Snižuje sekreci a absorpci v GIT
 - Proč? – pravděpodobně zvýšení doby pro příjem živin z GIT

Pankreatický polypeptid

- Lineární peptid, 36 AMK, tvořen buňkami F
- Příbuzný polypeptidu YY (PYY, střevo, GIT hormon) a neuropeptidu Y
- Cholinergní regulace, plasmatické hladiny klesají po podání atropinu
- Sekrece se zvyšuje po jídle s vysokým podílem proteinů, ale také po tělesné námaze a při akutní hypoglykémii
- Hladinu snižuje somatostatin a i.v. podaná glukóza
- Zpomalení adsorpce živin (vyrovnávání „vrcholů“?)
- Zvýšená hladina při anorexia nervosa – regulace příjmu potravy?