

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)

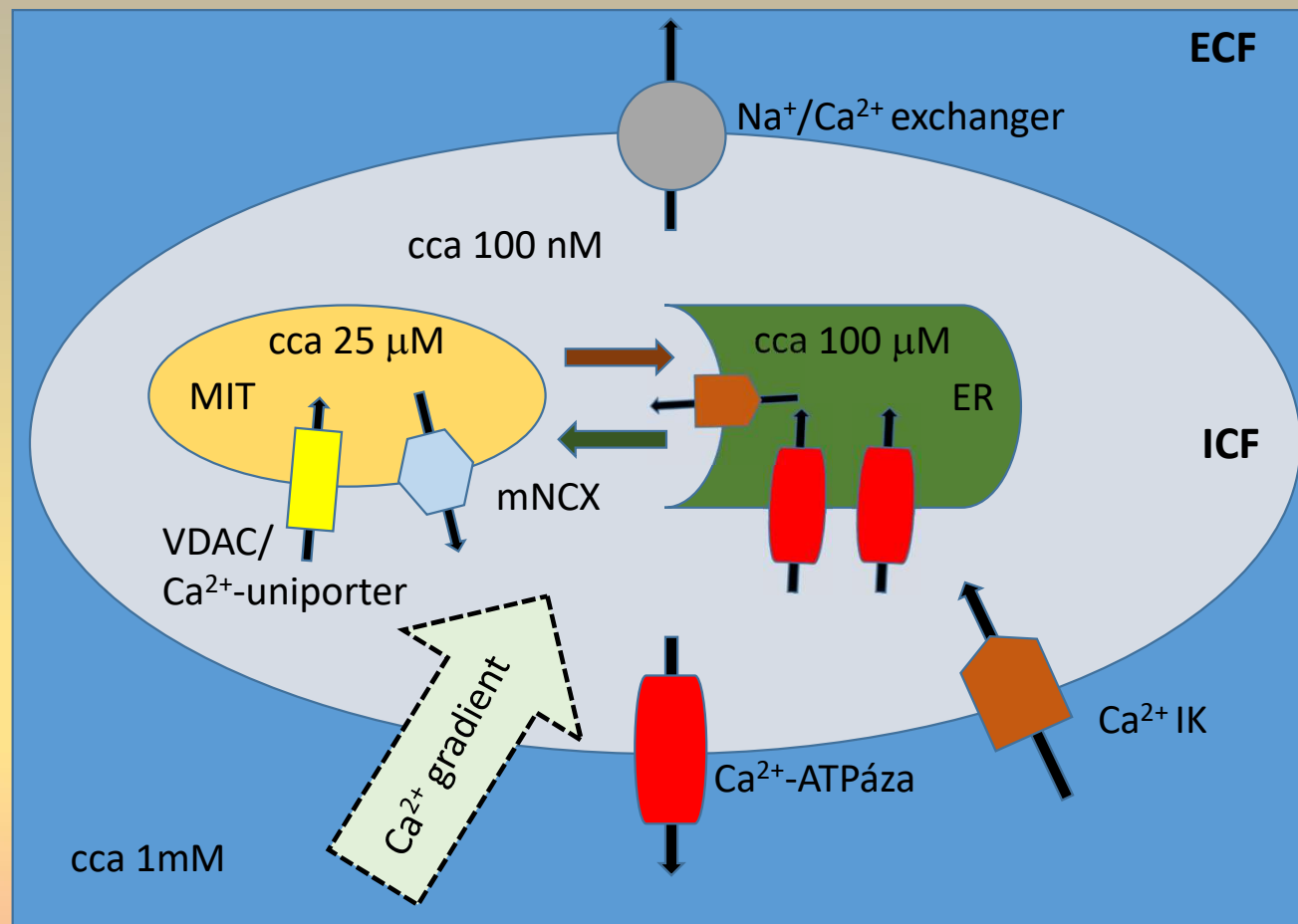
Extra- a intracelulární vápník

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 diferenciacce a proliferace
- Buněčné smrti a jejich regulace



Vápník a jeho příjem

Absorpce vápníku

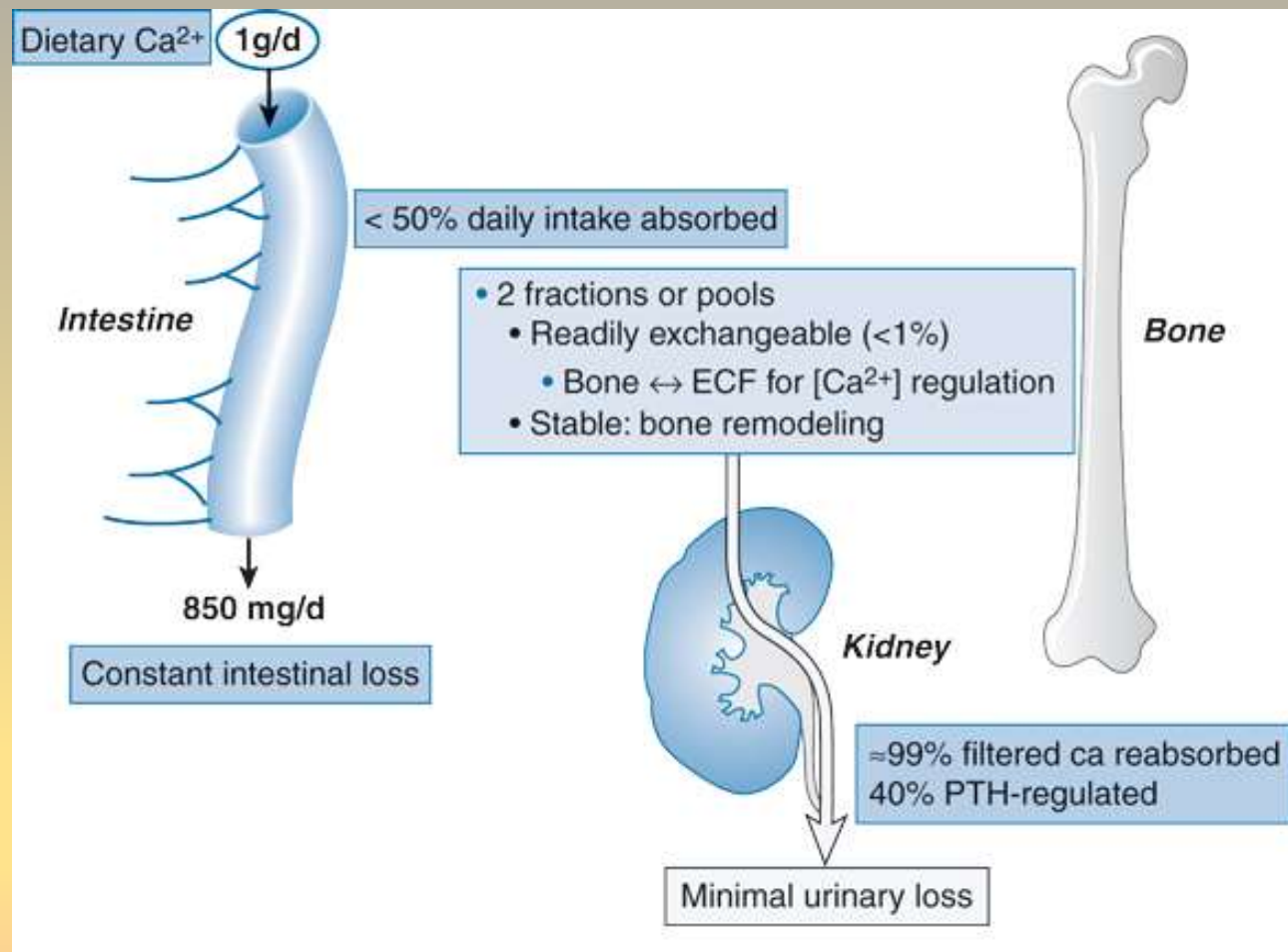
- 25 – 60 %
- Věk
- Stravovací návyky a obsah vápníku v potravě
- Požadavky kostní tkáně
- Vitamín D

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

Vitamin D

Paracelulární

- Luminální elektrochemický gradient
- Integrita mezibuněčných spojení
- Klaudiny

Transcelulární

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

Glukokortikoidy

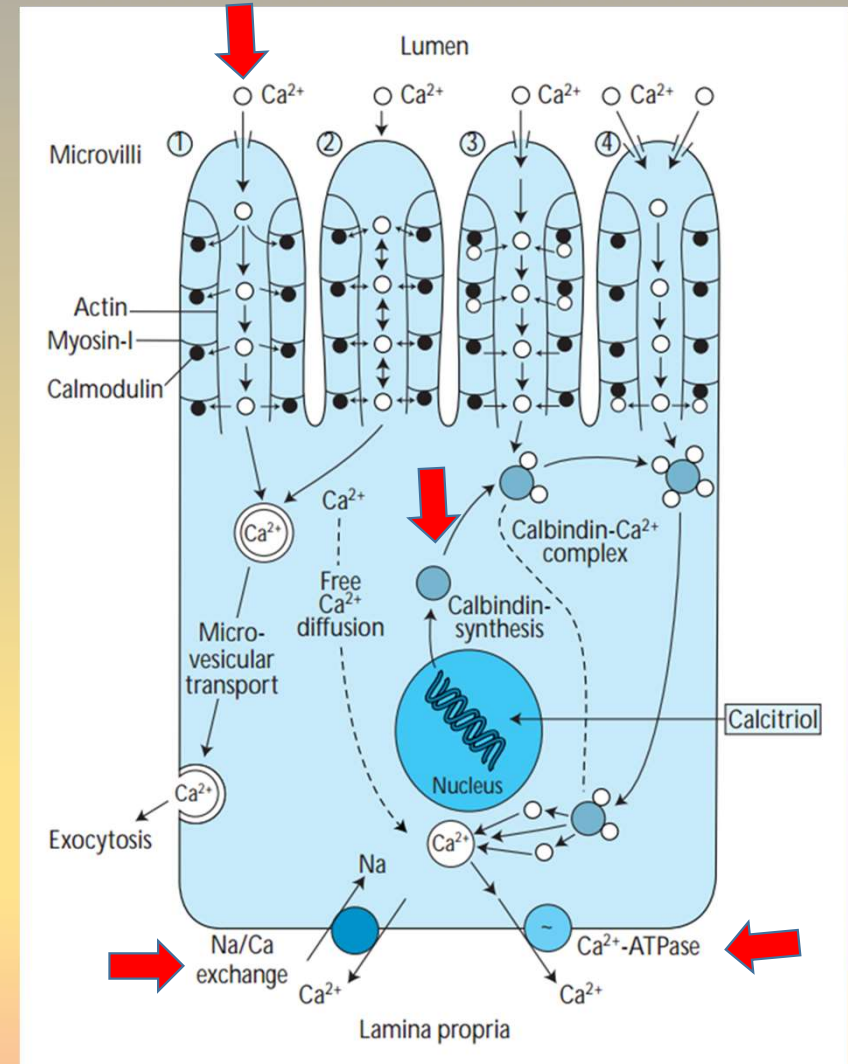
-

Estradiol

+

Prolaktin

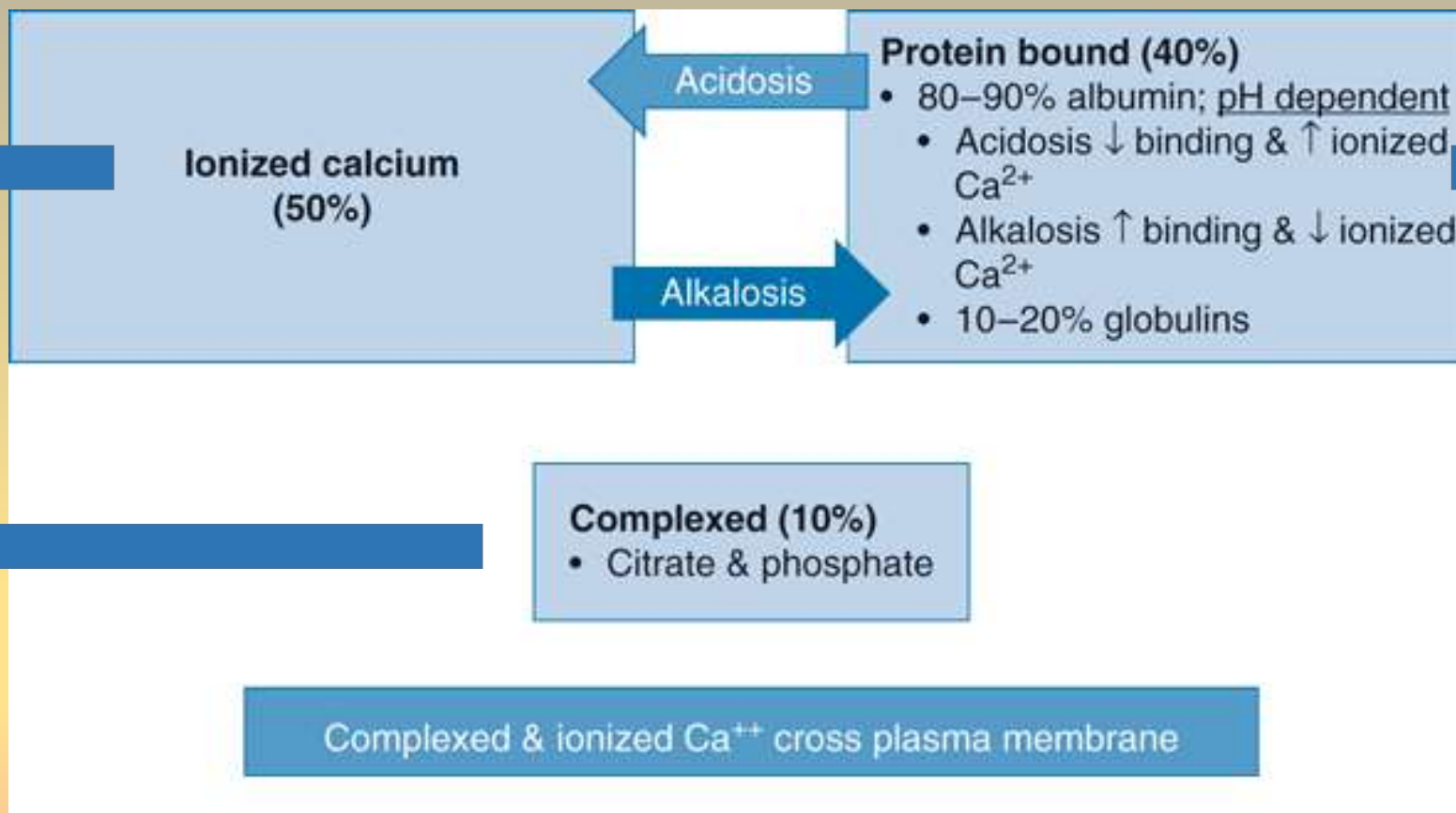
+



Vápník v krvi (kalcémie)

Glomerulární filtrace ANO
Endokrinní kontrola

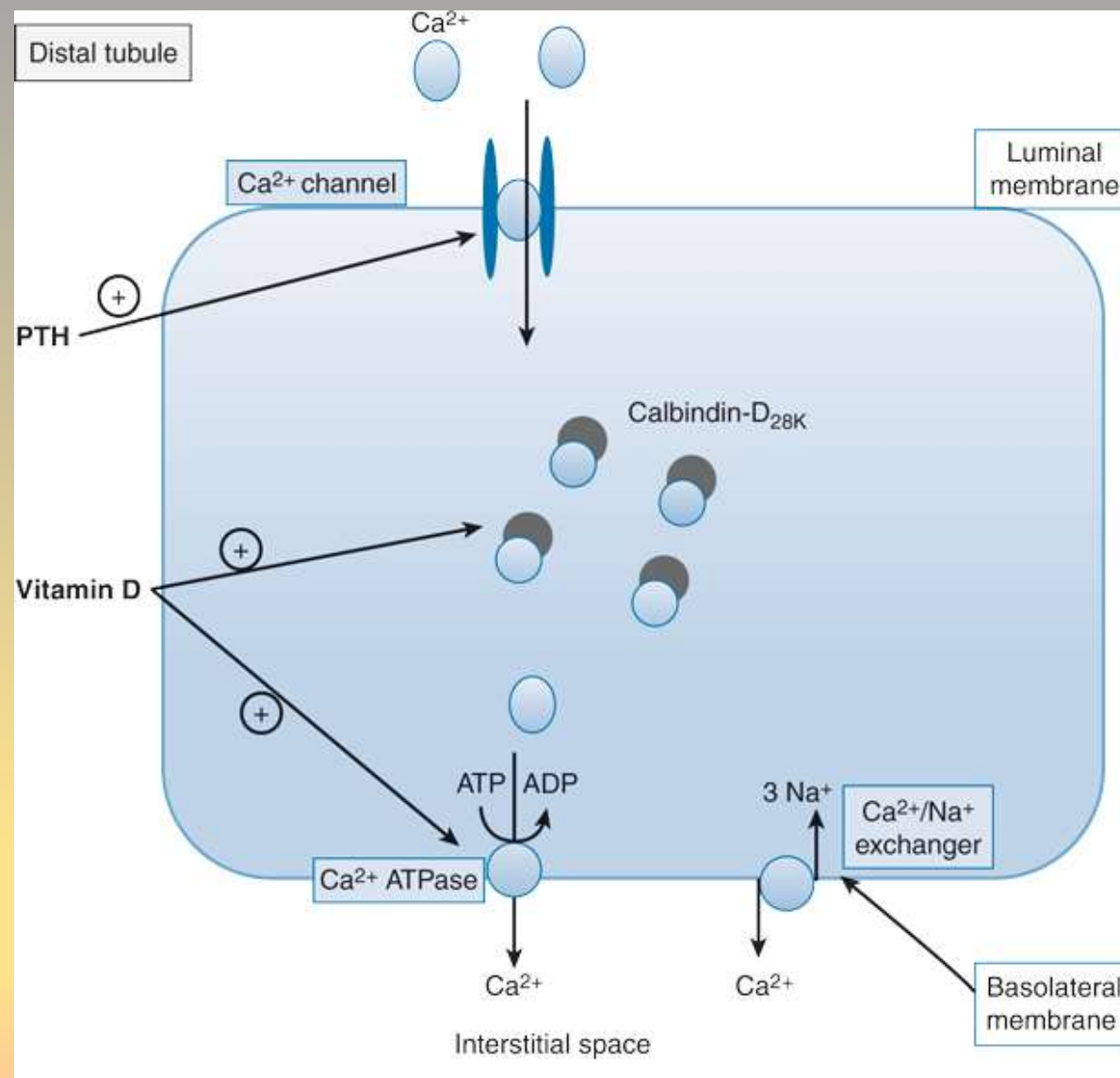
Glomerulární filtrace NE



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

- Kostí cca 45 % - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
- V organické i anorganické podobě v ICF a ECF
- Věk, pohlaví, růst

Krev

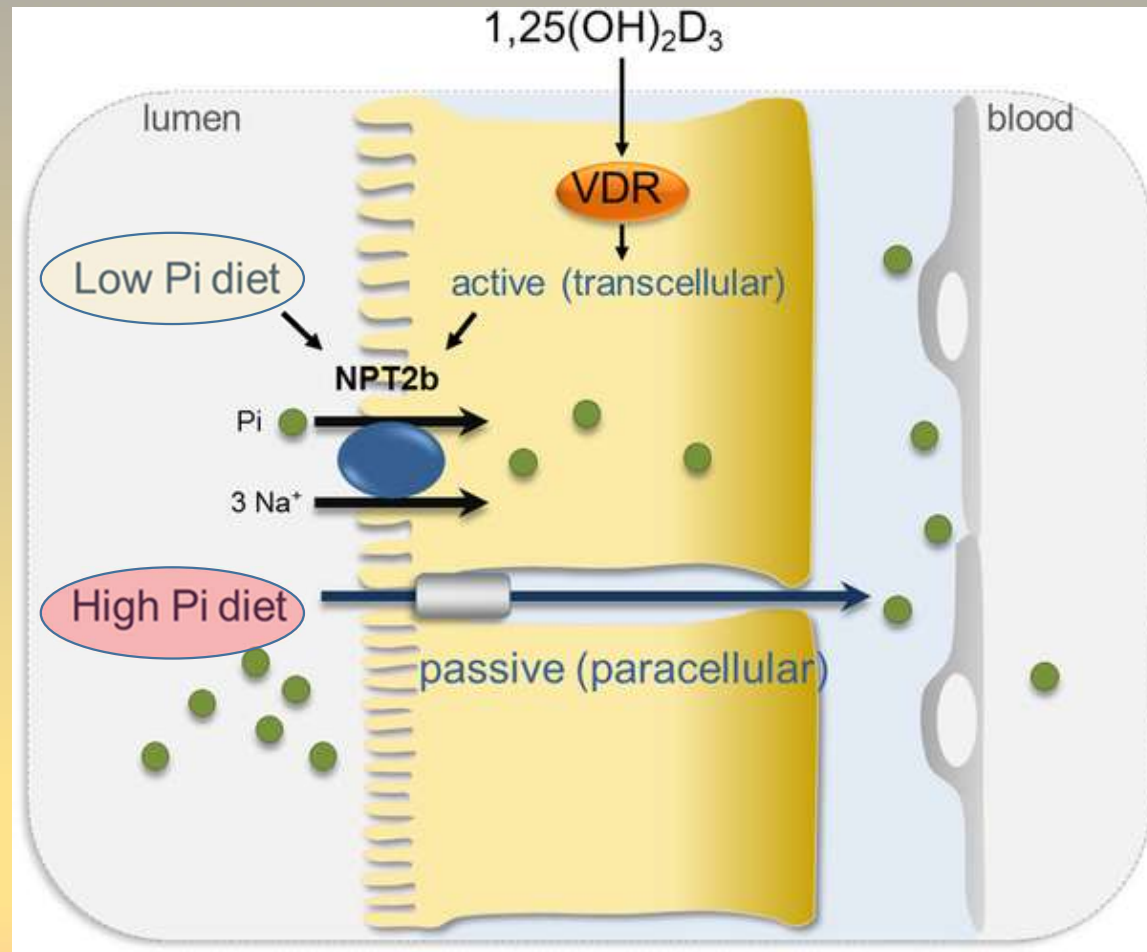
- Koncentrace 1 mM (sérum)
- Ionizovaná forma (HPO_4^{2-} , H_2PO_4^-)
- 12 % komplexy s proteiny
- Intracelulární koncentrace je přibližně stejná jako extracelulární
- Kotransport se sodíkem

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

Hořčík

Distribuce

- 1 mol - kosti cca 54 %, svaly a měkké tkáně cca 56 %
- ECF – 0.5 mM

Krev

- 0.7 – 1 mM
- Cca 30 % v komplexech s proteiny
- 15 % v komplexech s fosfáty a nízkomolekulárními anionty
- 55 % volných

Buňka

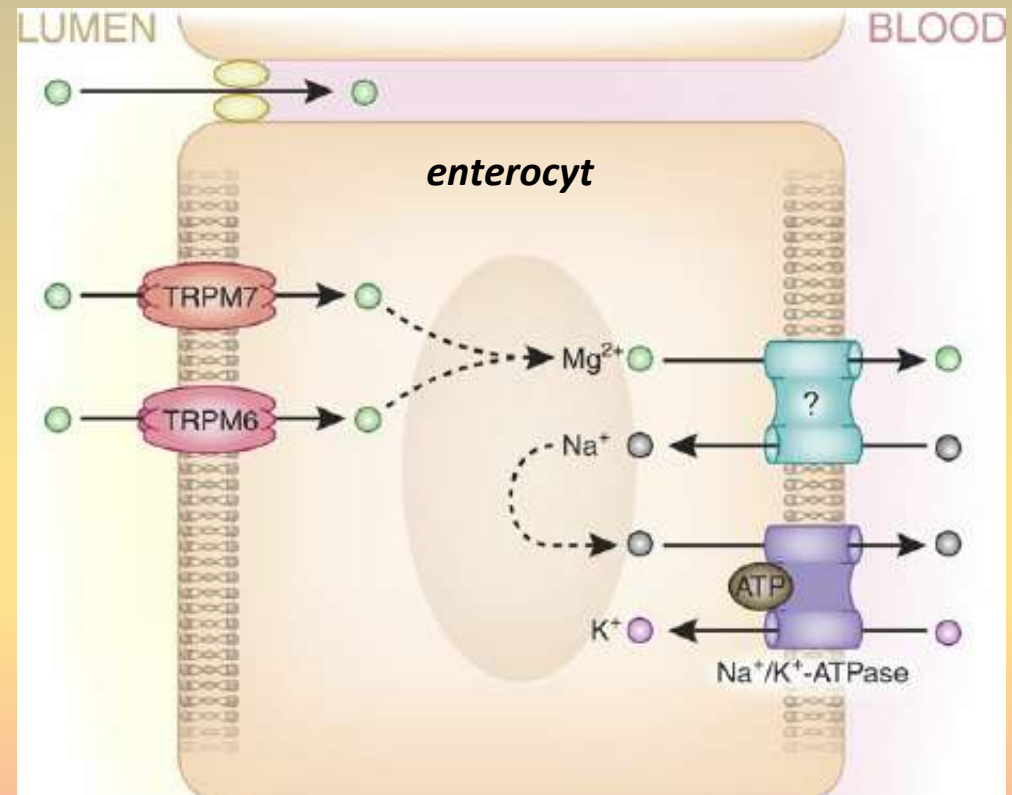
- 95 % v podobě ATP a další podobné molekuly
- Koncentrace 0.5 mM
- Iontové kanály?

Ledviny

- 95 % filtrovaného množství reabsorbováno
- 15 % PT, 70 % kortikální TAHL, 10 % DT
- Regulace – magnesémie, kalcémie, objem ECF

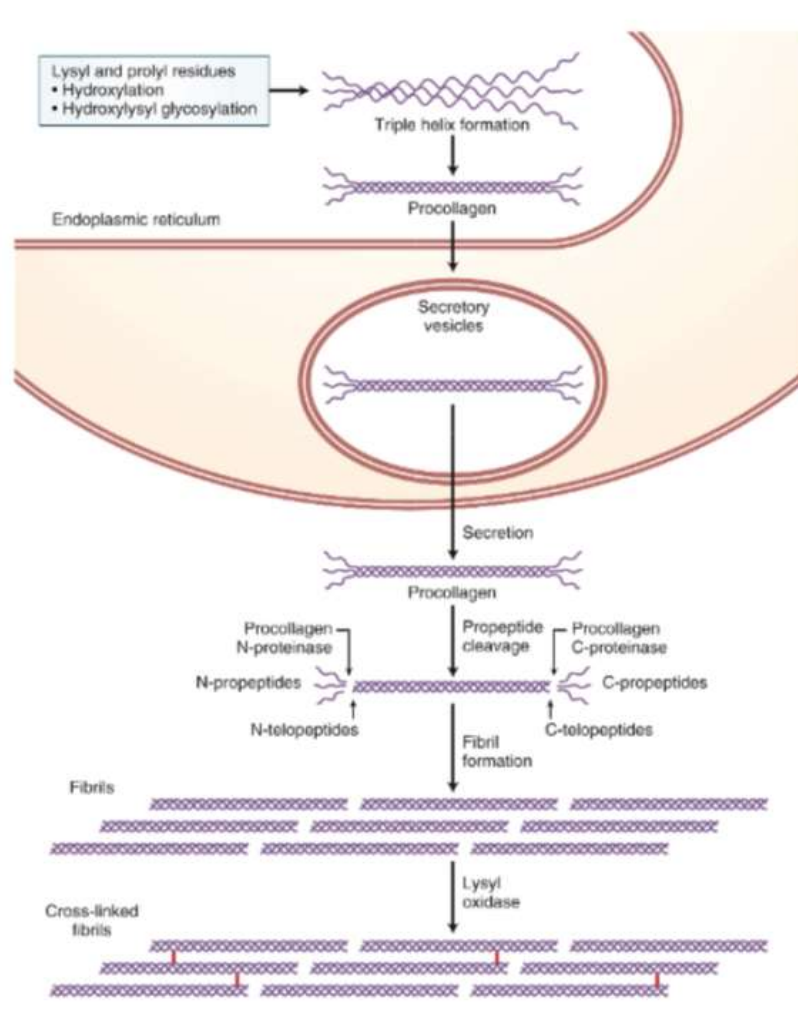
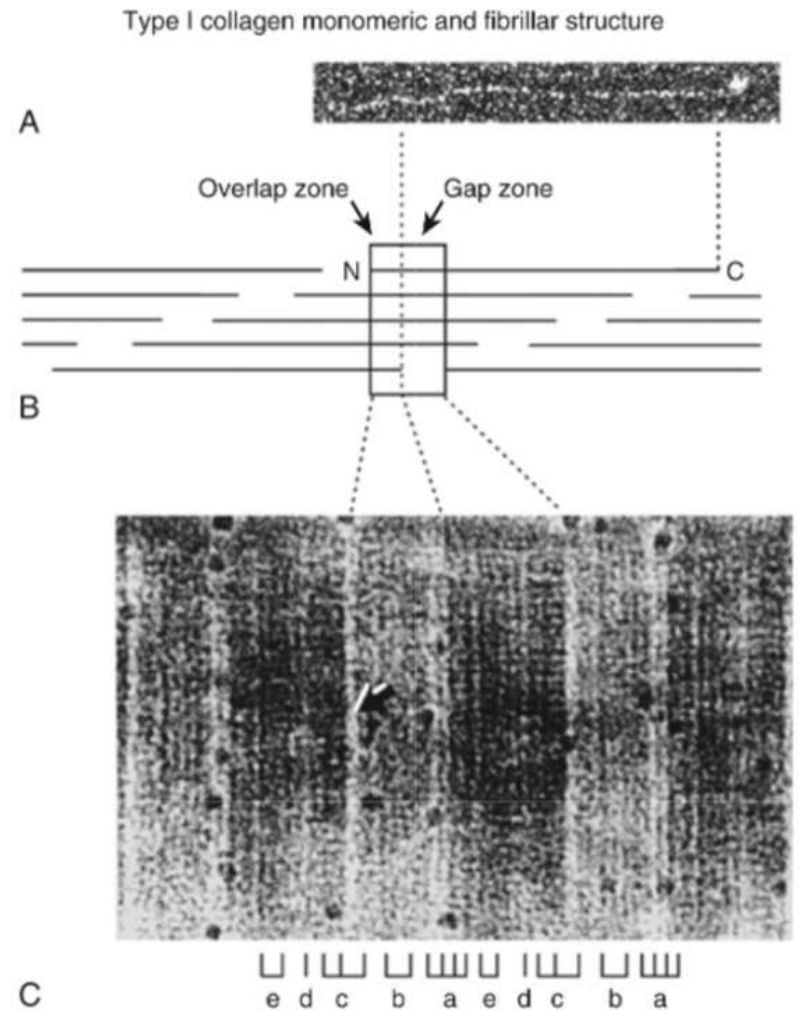
Funkce

- Kofaktor (glykolytické, kinázové a fosfatázové systémy)
- Stabilizační funkce (DNA, RNA, ribozomy)
- Aktivátor ATP transportérů
- Neuromuskulární excitabilita



Kolagen typu I =
nejvýznamnější
protein kostní matrix

Kostní matrix a kostní minerál



Trombospondin
Fibronektin
Matrixový Gla protein
Osteokalcin

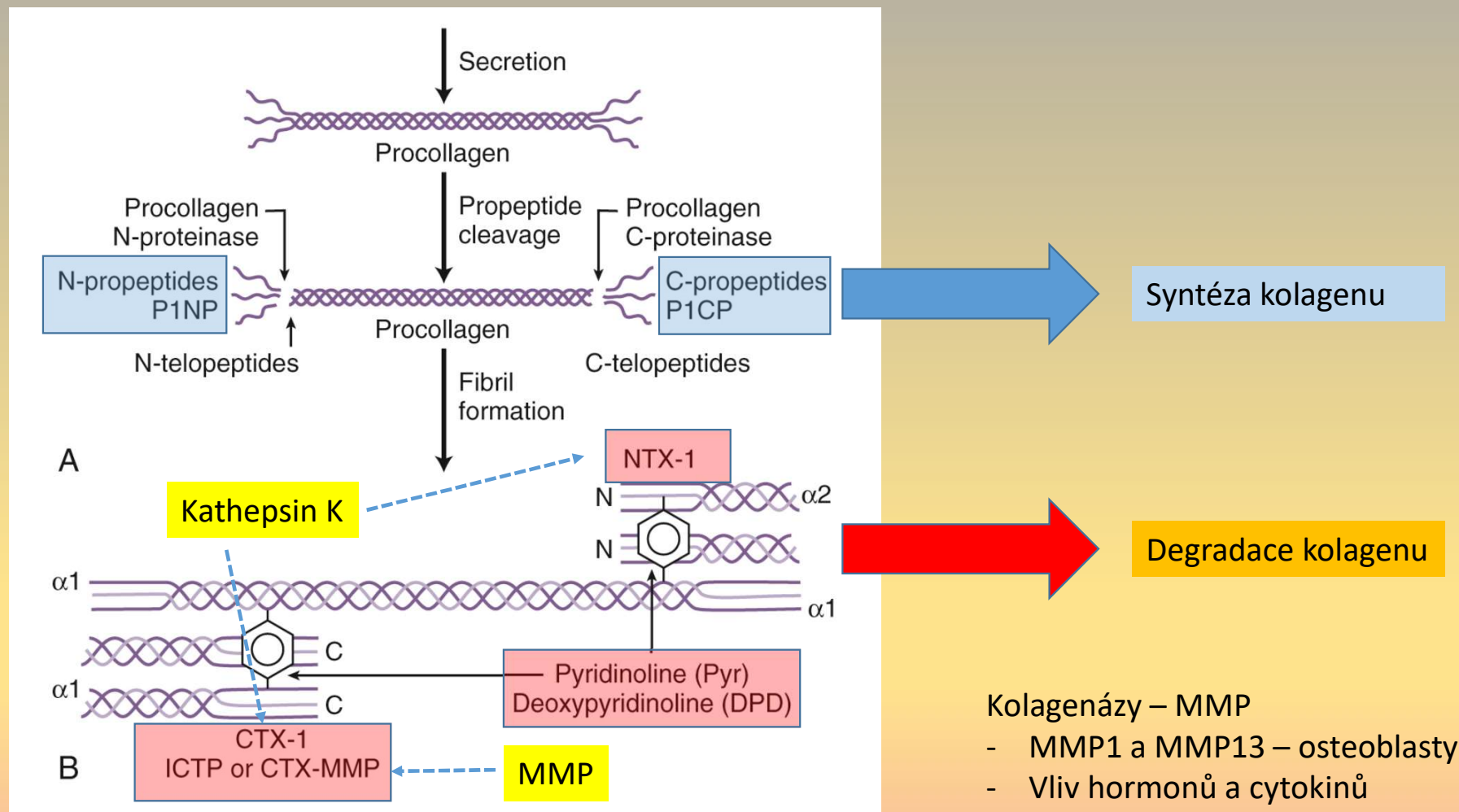
Biglykan
Dekarin
Kostní sialoprotein
Osteopontin
Osteoadherin

Signální fce. + hematopoéza

Vitamín K-dependentní γ
karboxylace a fosforylace

Afinita k Ca a
mineralizace

Kolagen a jeho syntéza



Mineralizace

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

Vnější mechanismus – alkalická fosfatáza

Vnitřní mechanismus – phospho1 (Phosphoethanolamine/ phosphocholine phosphatase)

Endopeptidázy, PHEX – FGF23

Depozice vápníku

SIEBLINGs

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

Dostupnost Ca, P a AF

Vezikulární útvary (matrix)

Kolagen a jeho uspořádání

Štěpení pyrofosfátu

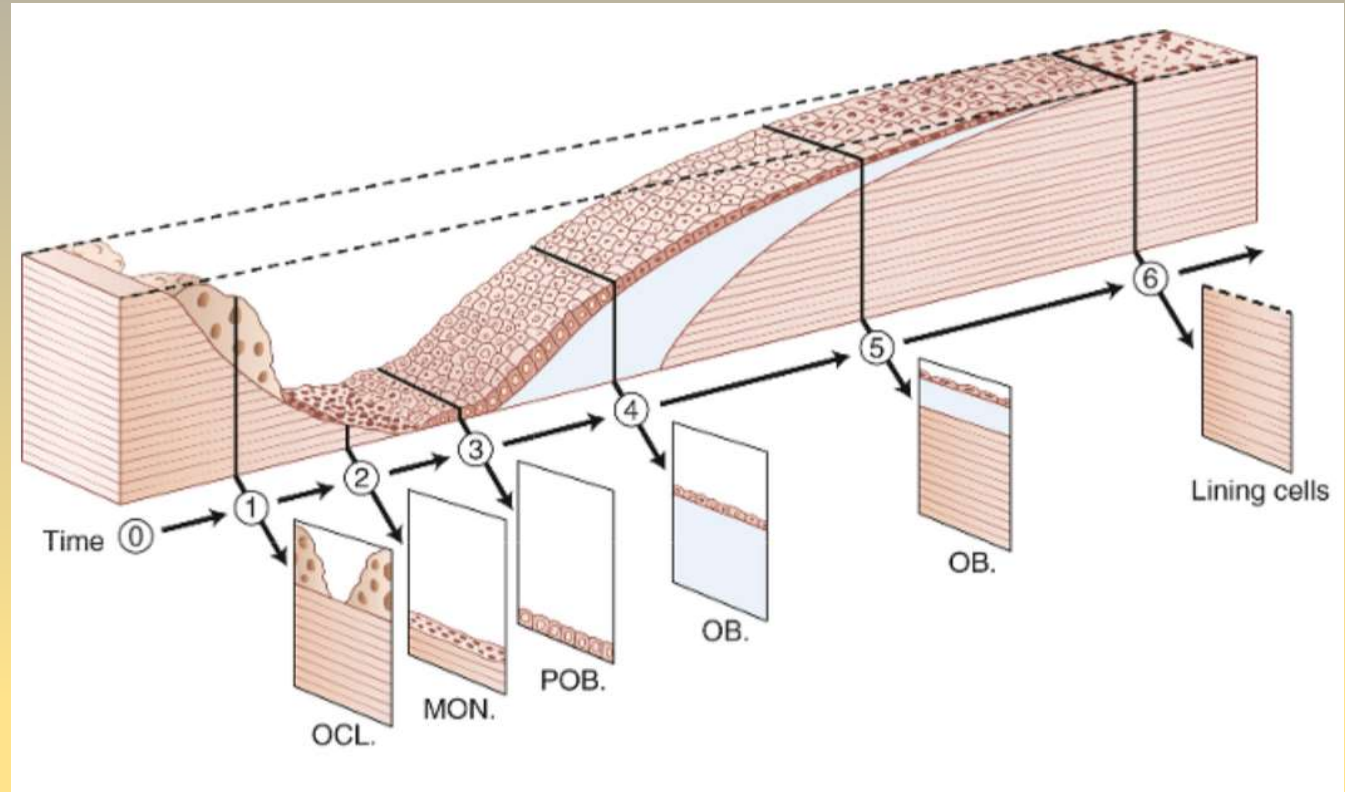
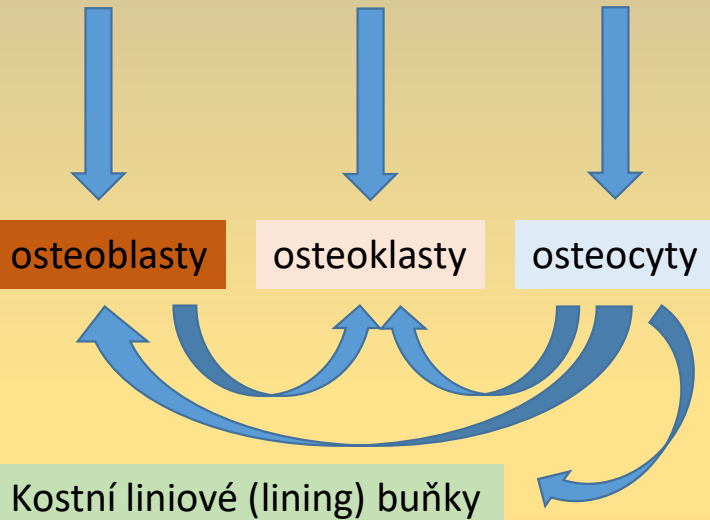
Dostupnost fosfátu pro mineralizaci

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

Kostní tkáň a její remodelace

Modelling
versus remodelling
kostní tkáň

REMODELAČNÍ JEDNOTKA - BMU



Kostní resorpce

Výstavba kostní tkáň

osteoklasty

mononukleární buňky

preosteoblasty

osteoblasty

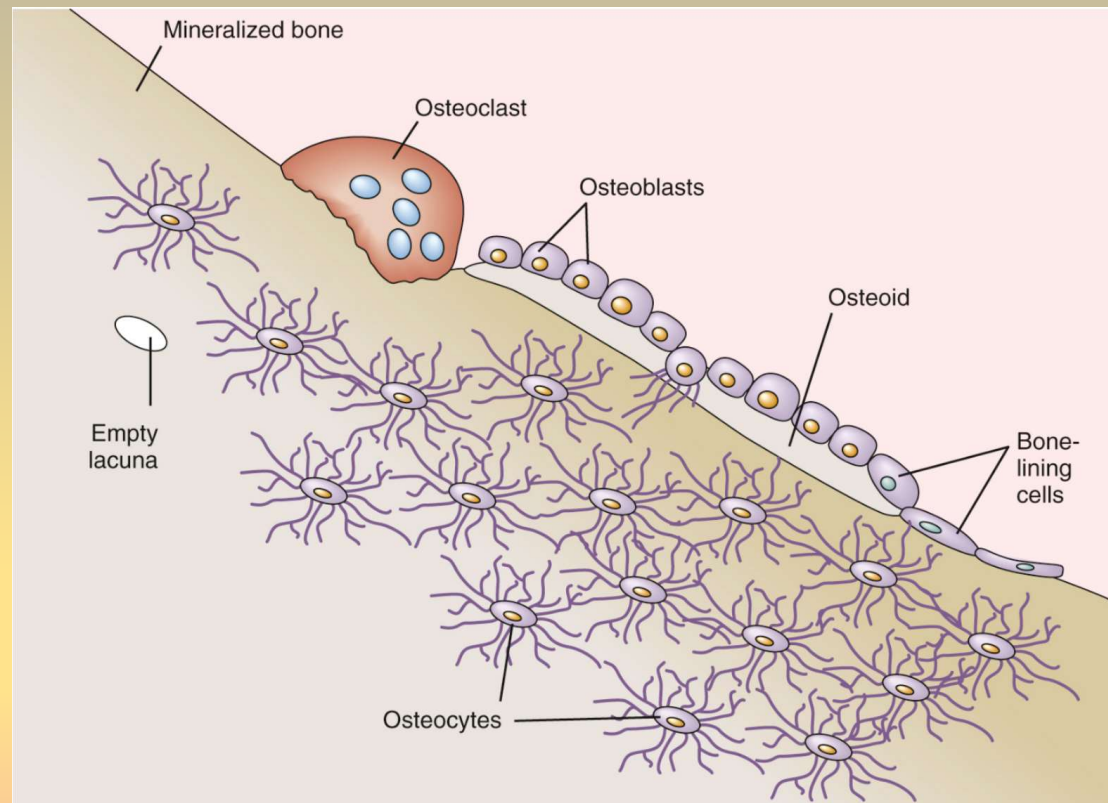
Kostní tkáň a její remodelace

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 – apoptóza, 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

Osteoklasty

Klíčovým faktorem regulujícím kostní resorpci je poměr RANKL/OPG

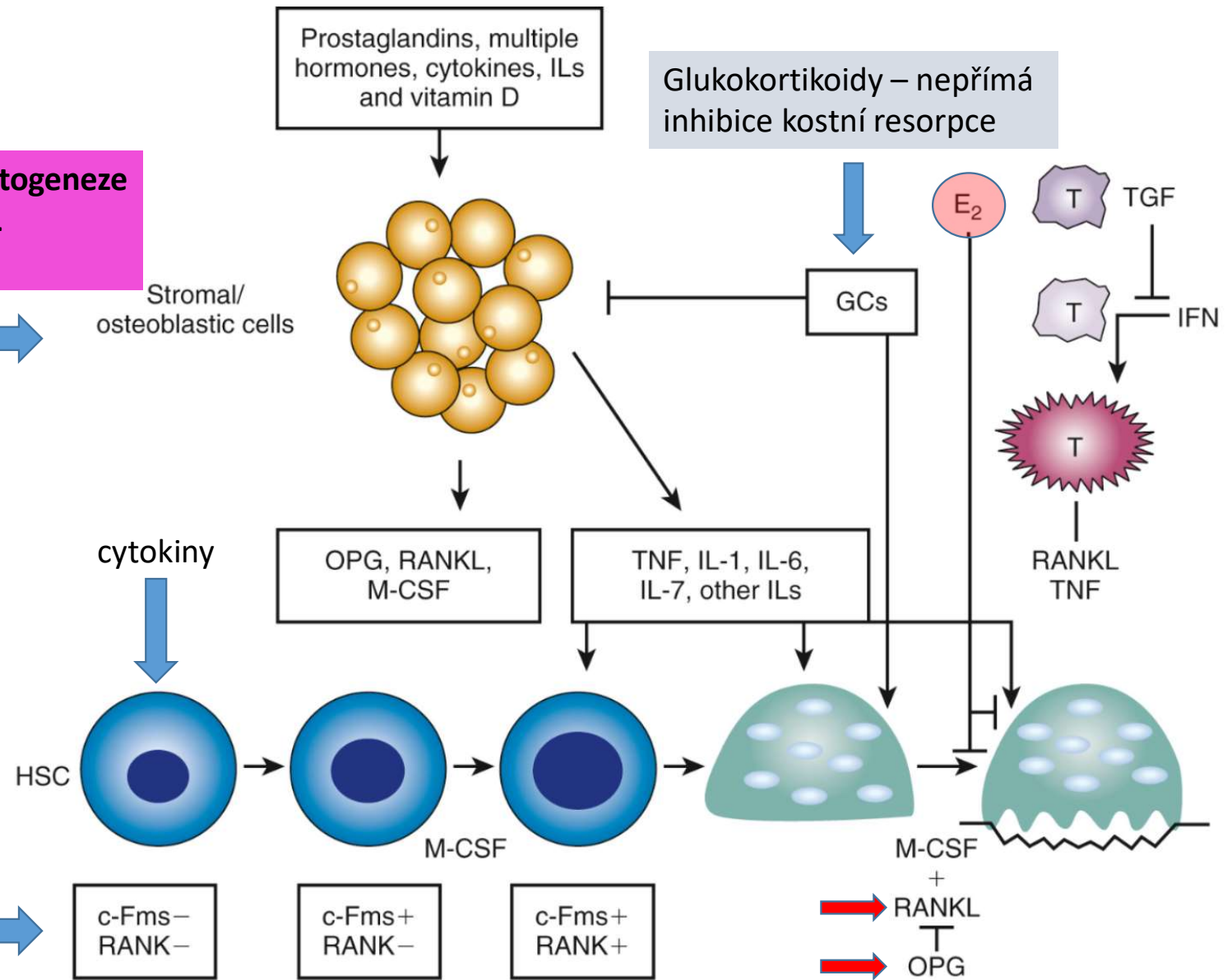
Osteoklastogeneze (+) RANKL (-) OPG

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

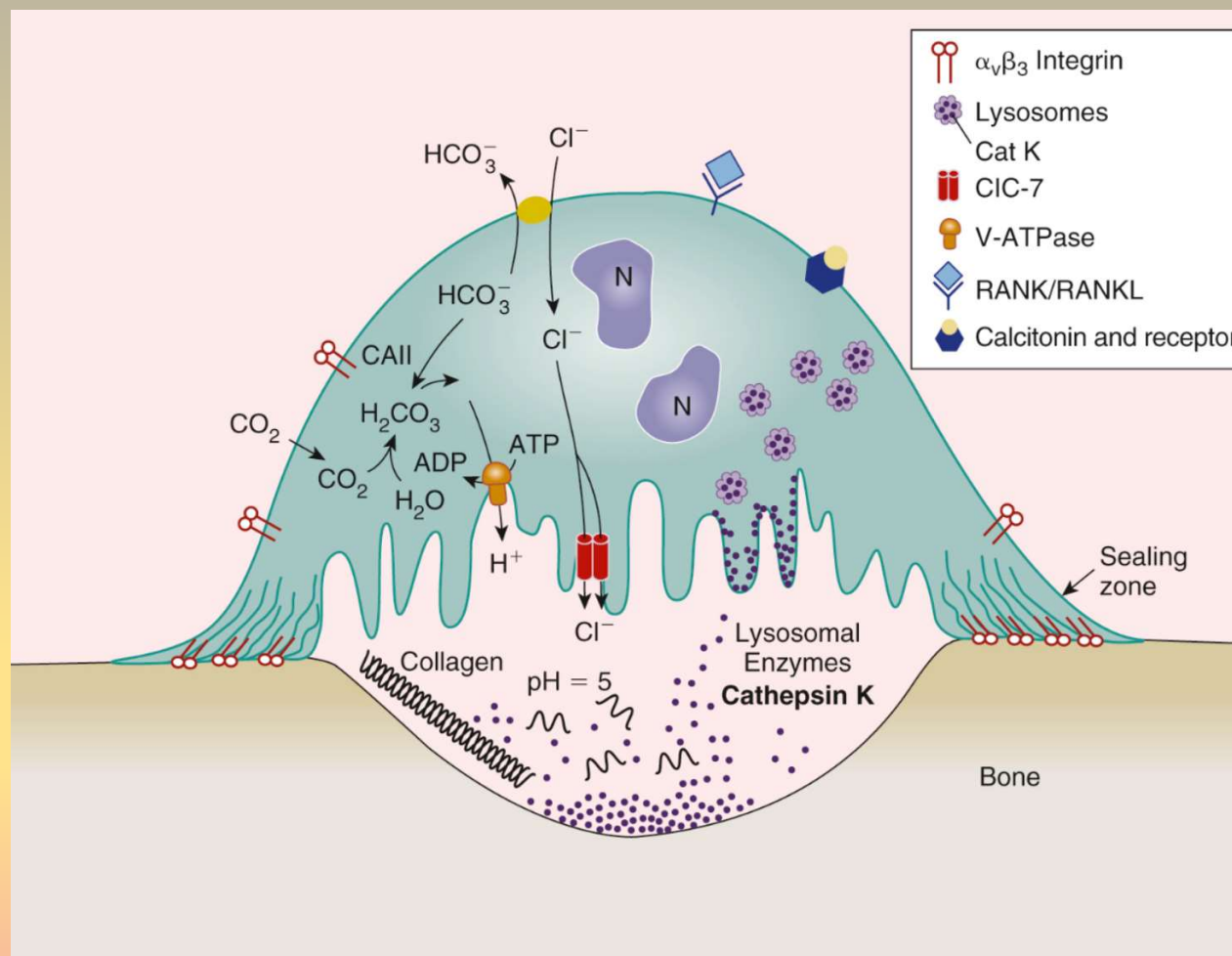
E2 (estrogeny) – inhibice aktivace T buněk = inhibice sekrece RANKL a TNF- α

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

Exprese různých receptorů v čase (vliv různých stimulů)



Resorpce kostní tkáně osteoklasty



Význam kompartmentalizace pro kostní resorpci - *podosome*

Resorpce a sekrece produktů kostní resorpce - transcytóza

Zásadní význam pH pro resorpci kostní tkáně

Faktory ovlivňující remodelaci kostní tkáně

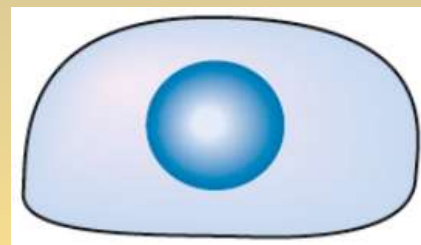
Resorpce trvá cca 2 týdny
Mineralizace a formace cca 12 týdnů

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

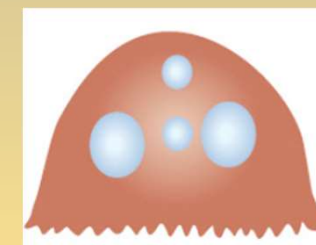
Systemické signály + Lokální signály



Remodelace kostní tkáně



Osteoblasty
Liniové buňky



Osteoklasty

-
Cytokiny - IL-1 α , IL-1 β ,
TNF- α , TNF- β ,
prozánětlivé IL (7, 15, 17)

TGF- α a EGF, FGF21,
FGF23

Prostaglandiny

PDGF

+
Cytokiny - IL-4, IL-13, IL-10, IL-18

Prostaglandiny

VEGFA, HIF-1 α (+/-)

IGF-1 (endo-/parakr.)

BMPs (OB, autokr.)

Trabekulární kost

Okamžitá potřeba vápníku - homeostáza

Zajištění mechanických požadavků

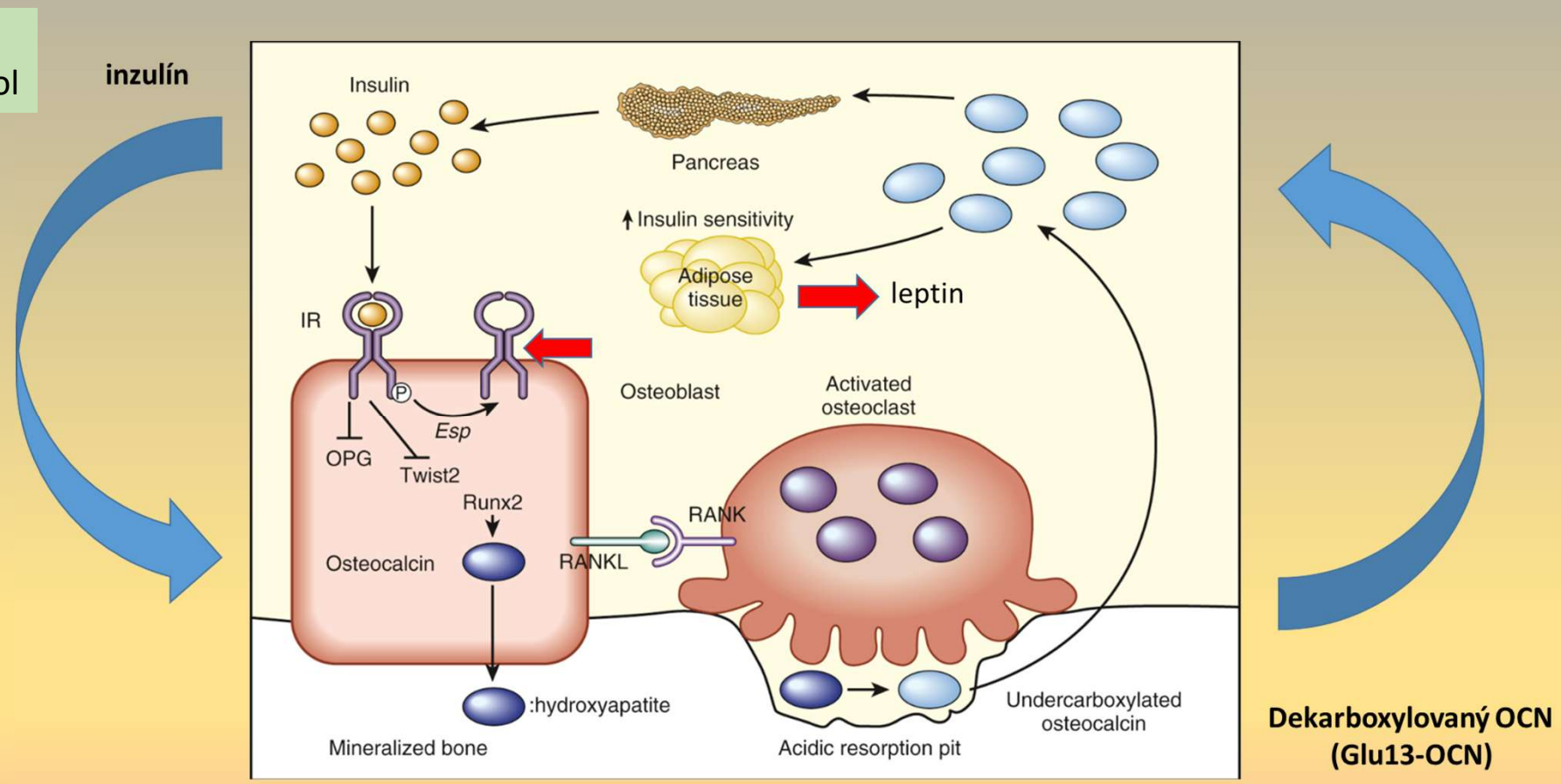
Endokrinní regulace kostní tkáně

Hormon	Působení	Cílové buňky
PTH	<ul style="list-style-type: none"> - Stimulace resorpce (dlouhodobé působení) - Stimulace kostní formace (pulzní působení) - Stimulace lokální sekrece IL-1 a IL-6 	Osteoblasty, liniové buňky, osteocyty
Vitamín D	<ul style="list-style-type: none"> - Stimulace resorpce (vyšší koncentrace) - Inhibice mineralizace (vyšší koncentrace) - Stimulace kostní formace (nízké koncentrace, spolu s PTH) 	Osteoblasty (primárně)
Kalcitonin	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibice resorpce - Regulace remodelace kostní tkáně 	Osteoklasty
Růstový hormon IGF-1	<ul style="list-style-type: none"> - Stimulace kostního obratu - Stimulace proliferace a diferenciací osteoblastů - Zvýšená syntéza kolagenu a dalších proteinů 	Osteoblasty – primárně GH Osteoblasty i osteoklasty – IGF-1
Glukokortikoidy	<ul style="list-style-type: none"> - 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	<ul style="list-style-type: none"> - Děti – stimulace mineralizace a epifyzeální maturace - Dospělí – zvýšení resorpce - Růst a proliferace chondrocytů (permissivní účinek na růstový hormon) - Zvýšení transkripce kolagenázy a gelatinázy 	Osteoblasty, osteoklasty (i nepřímý přes TSH)
Inzulín	<ul style="list-style-type: none"> - Stimulace formace kostní tkáně a mineralizace - Zvýšení syntézy kolagenu - Stimulace sekrece IGF-1 	Primárně osteoblasty
Pohlavní hormony	<ul style="list-style-type: none"> - Uzávěr epifýz (E) - Inhibice sekrece RANKL - Změny rychlosti kostní resorpce a formace (stimulace formace a mineralizace) 	Primárně osteoblasty, ale i další kostní buňky
Prolaktin	<ul style="list-style-type: none"> - Nepřímý účinek 	

Osa inzulín - osteokalcín

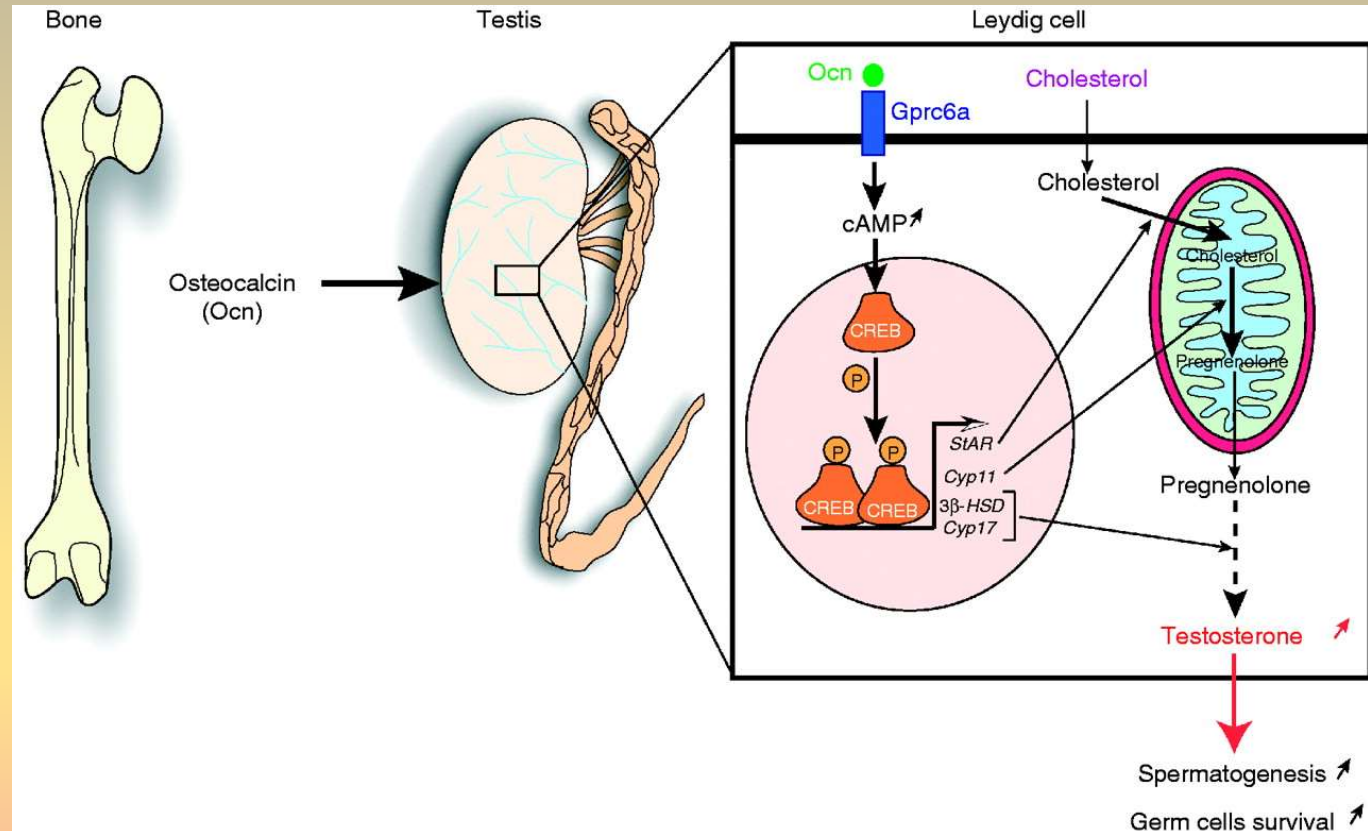
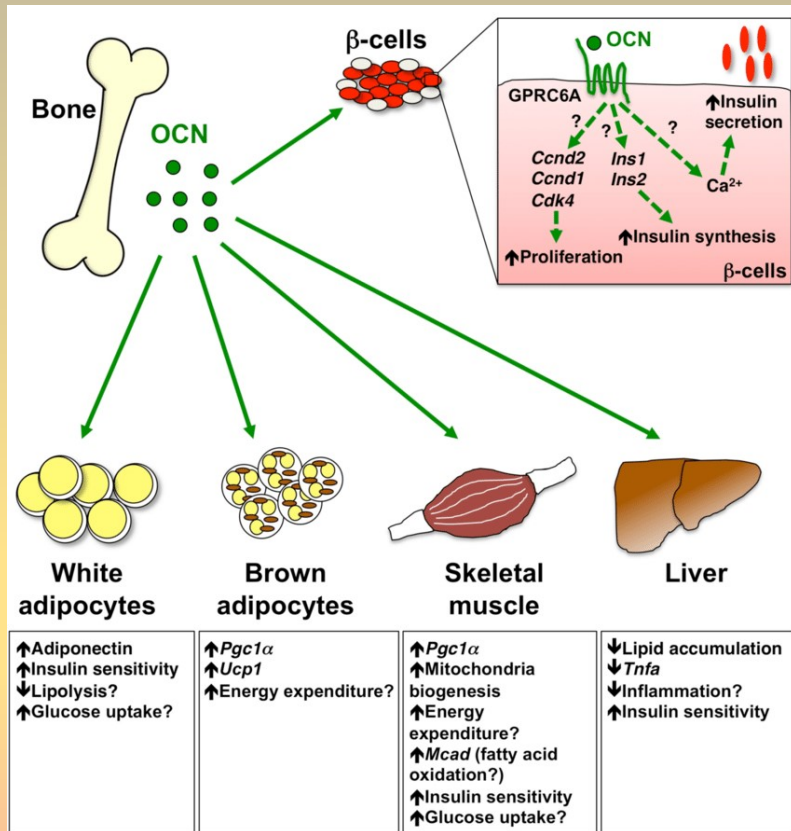
Stimulace:
parathormon a kalcitriol

Inhibice
glukokortikoidy

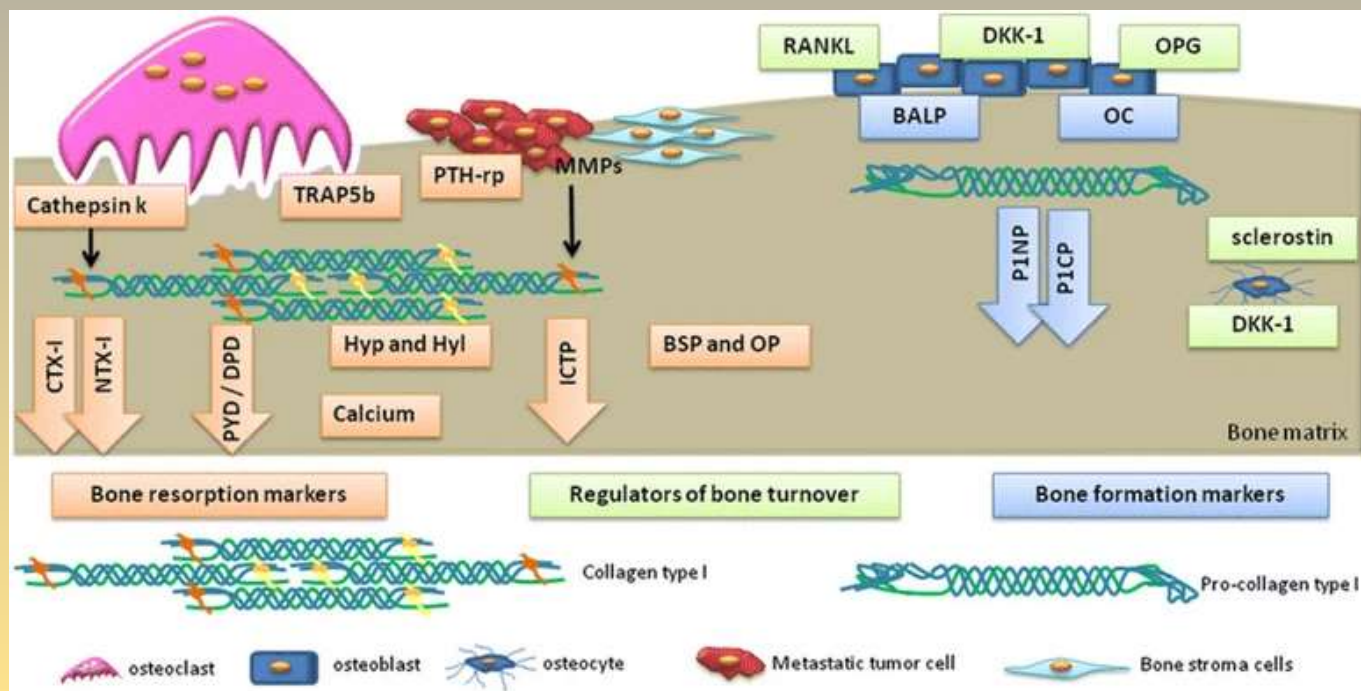


Osa osteokalcin-skelet-pankreas-tuková tkáň

Osa osteokalcin-skelet-testes



Markery metabolismu kostní tkáně



Ionizovaný vápník	8.5 – 10.5 mg/dL
Plasmatické fosfáty	3 – 4.5 mg/dL
PTH	10 – 65 pg/mL
Vitamín D	30 – 100 ng/mL

Klinický přesah

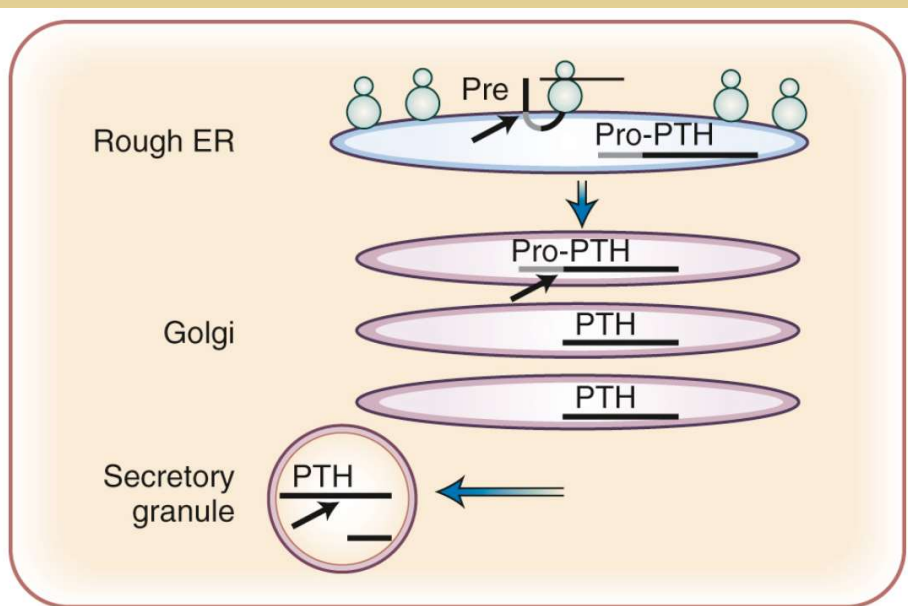
- Osteogenesis imperfecta
- Osteopetróza
- Osteomalácie
- Rachitis
- Osteopenie – T skóre -1 – -2.5
- Osteoporóza – T skóre pod -2.5



Parathormon

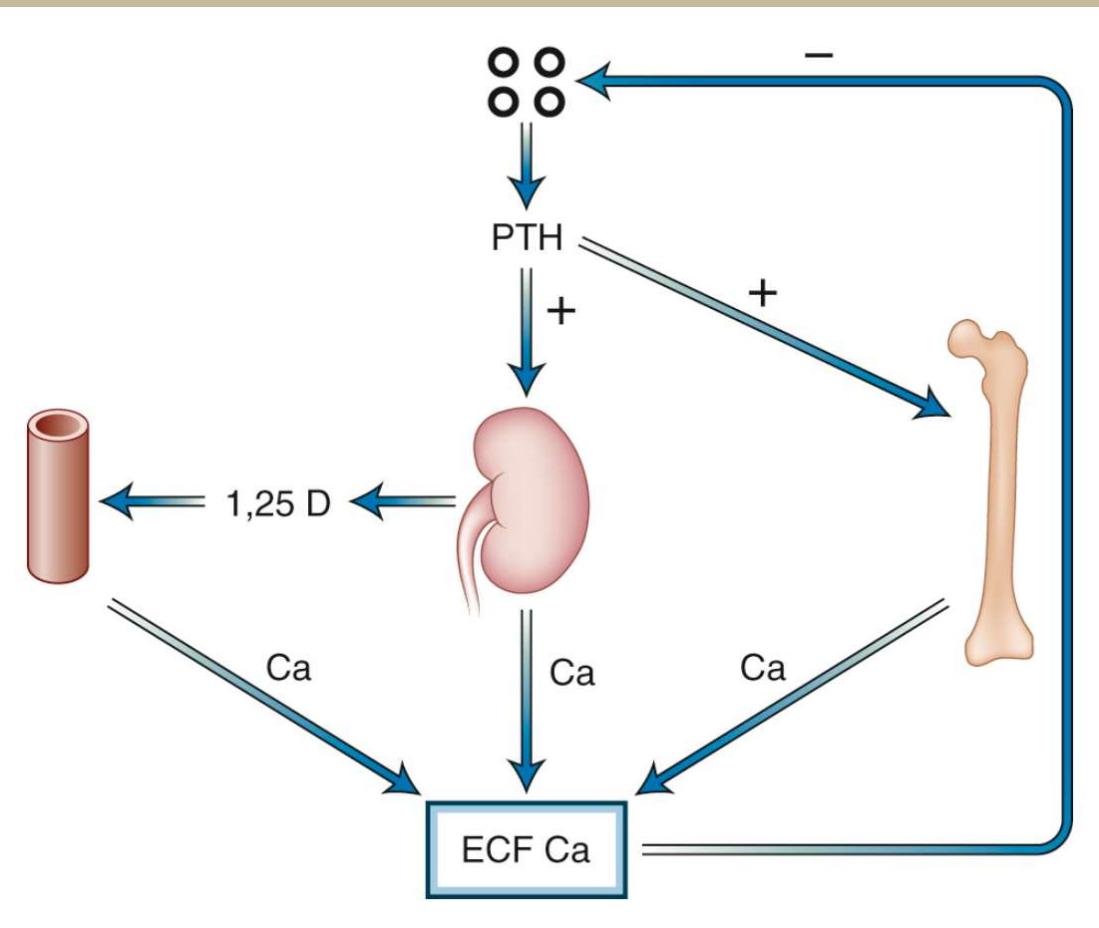
Charakteristika

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



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



Sekrece PTH

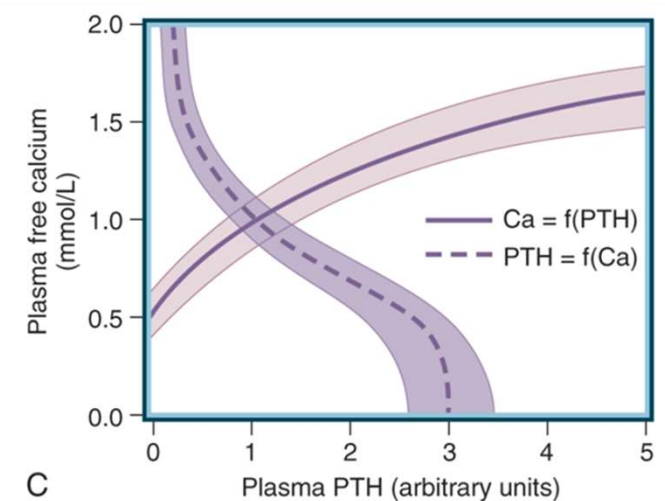
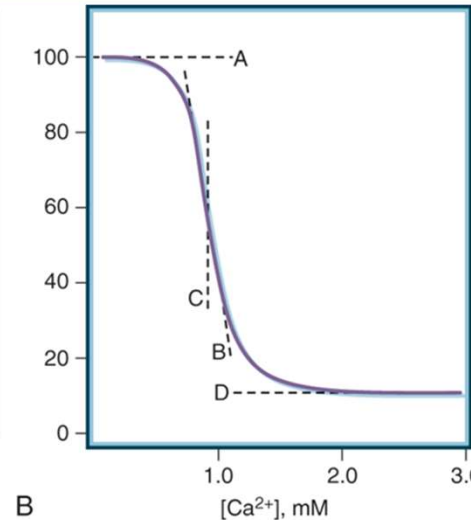
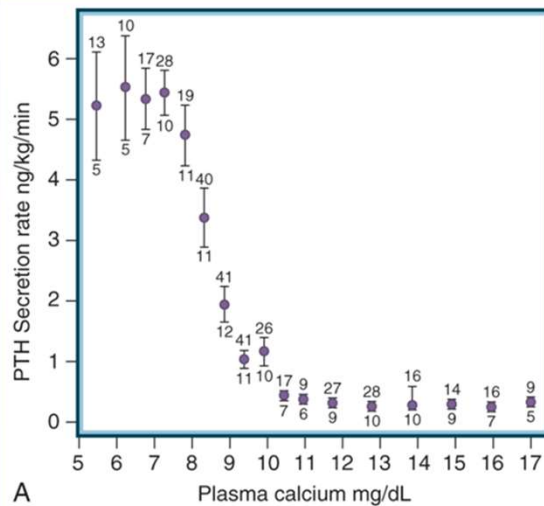
Buněčná proliferace hlavních buněk je významným adaptačním mechanismem na:

- Hypokalcémii
- Nízké hladiny vitamínu D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$)
- Hyperfosfatémii (urémii)
- Neoplastický růst

Maximální sekrece (rezervní kapacita)



Minimální sekrece



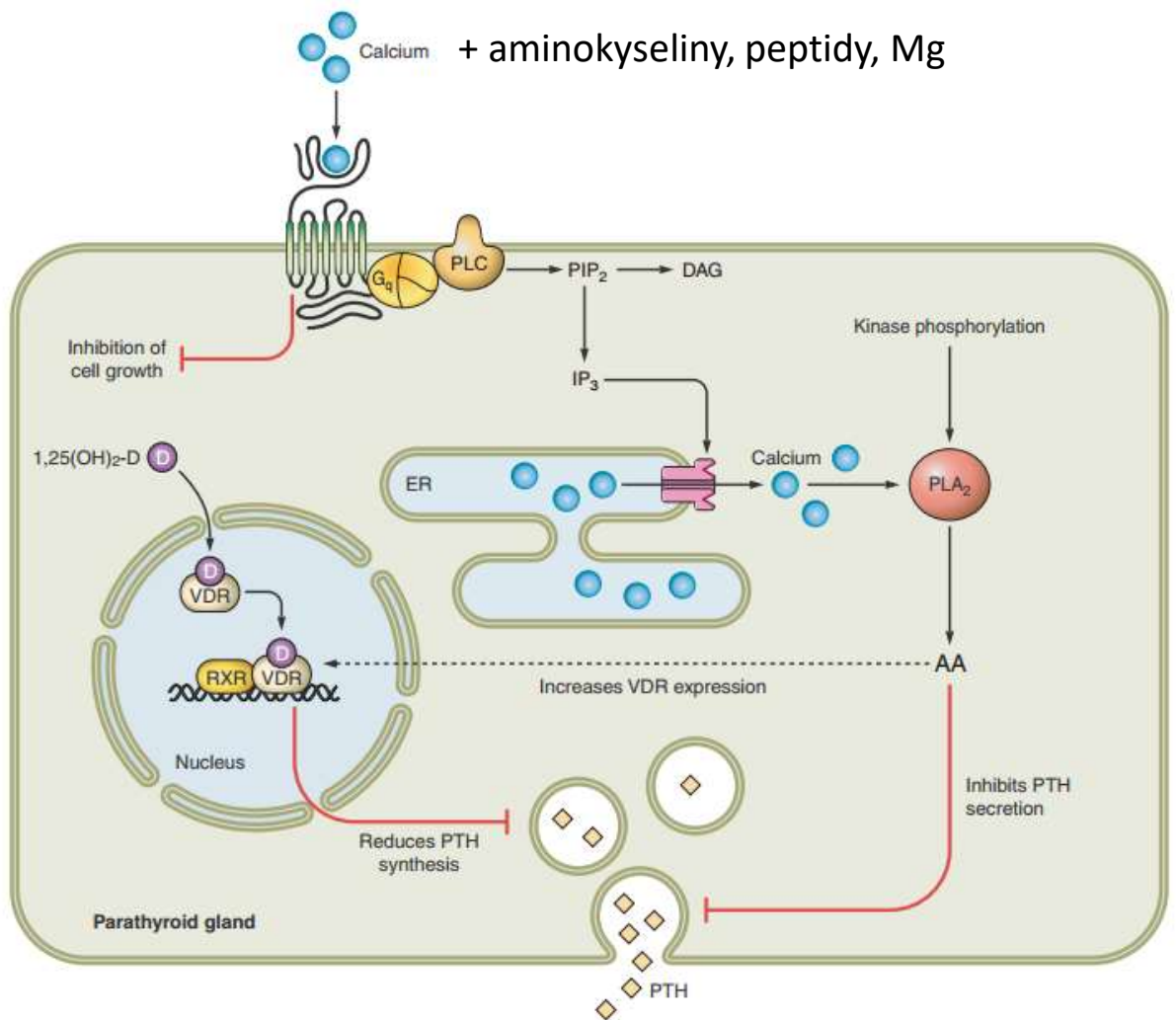
Hladina ionizovaného vápníku v krvi je klíčovým parametrem pro sekreci PTH

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

Calcium sensing receptors – CaSR – a 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 hyperkalcemií (ak.)
- Kalcimimetika – inhibice sekrece PTH

Hlavní účinky PTH

(+) reabsorpce vápníku

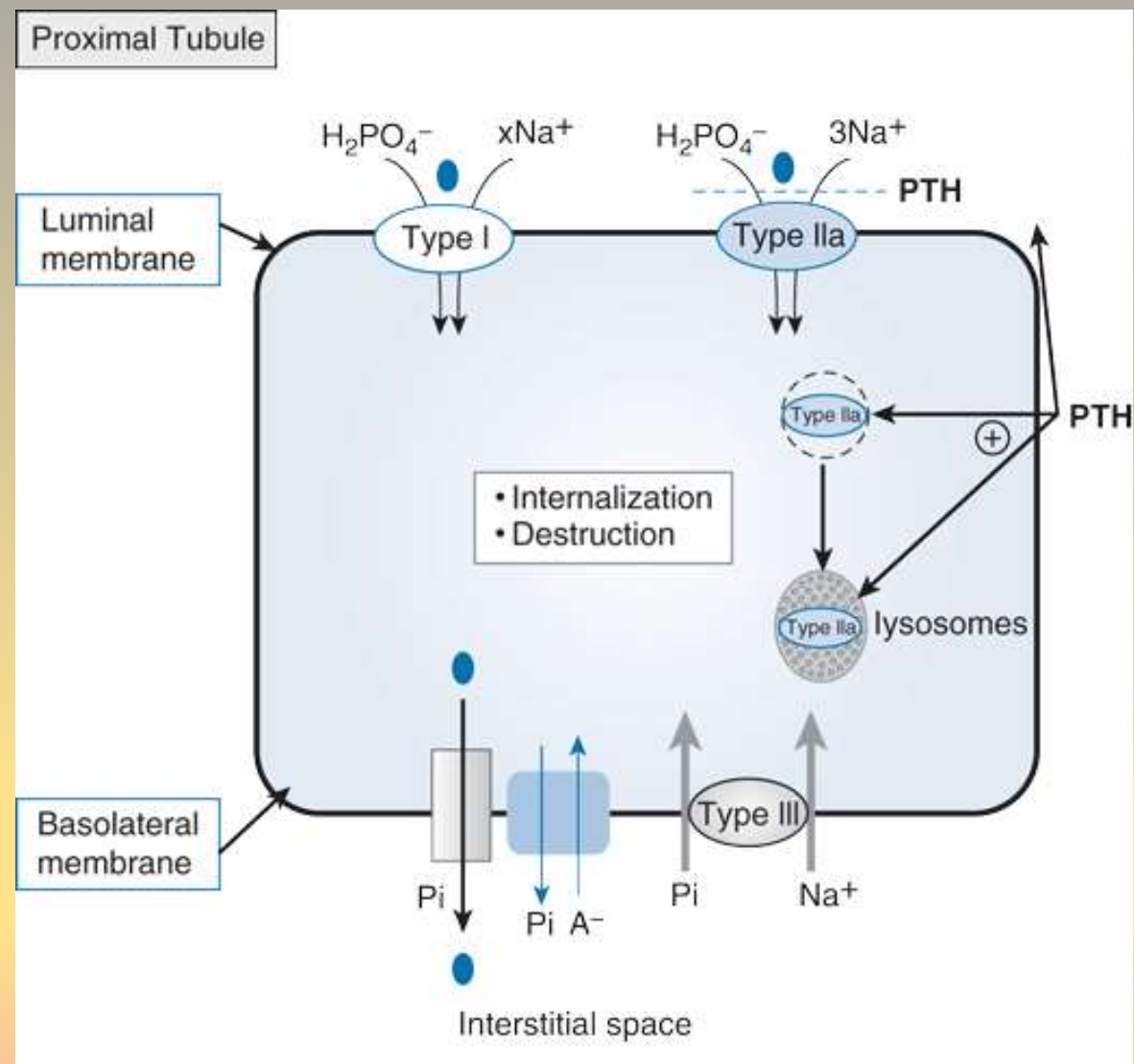
- cTAHL, DT
- transcelulární i paracelulární transport
- TRPV5 a TRPV6 – inhibice Ca^{2+}
- Kalbindin-D28K
- NCX1 a PMCA

(+) exkrece fosfátu

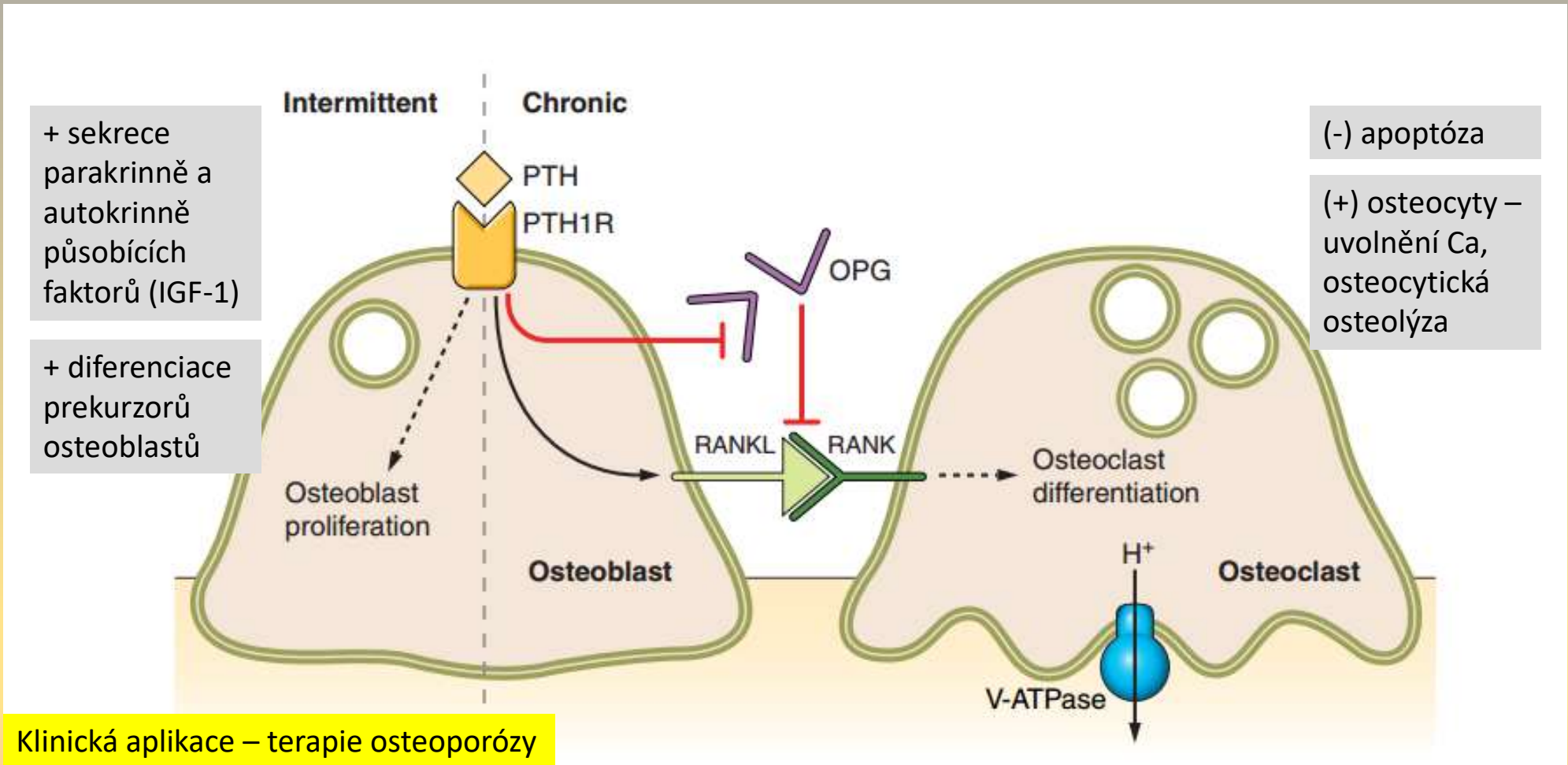
- PT i DT
- Inhibice resorpce
- NaPi kotransportéry – internalizace, degradace

(+) 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.

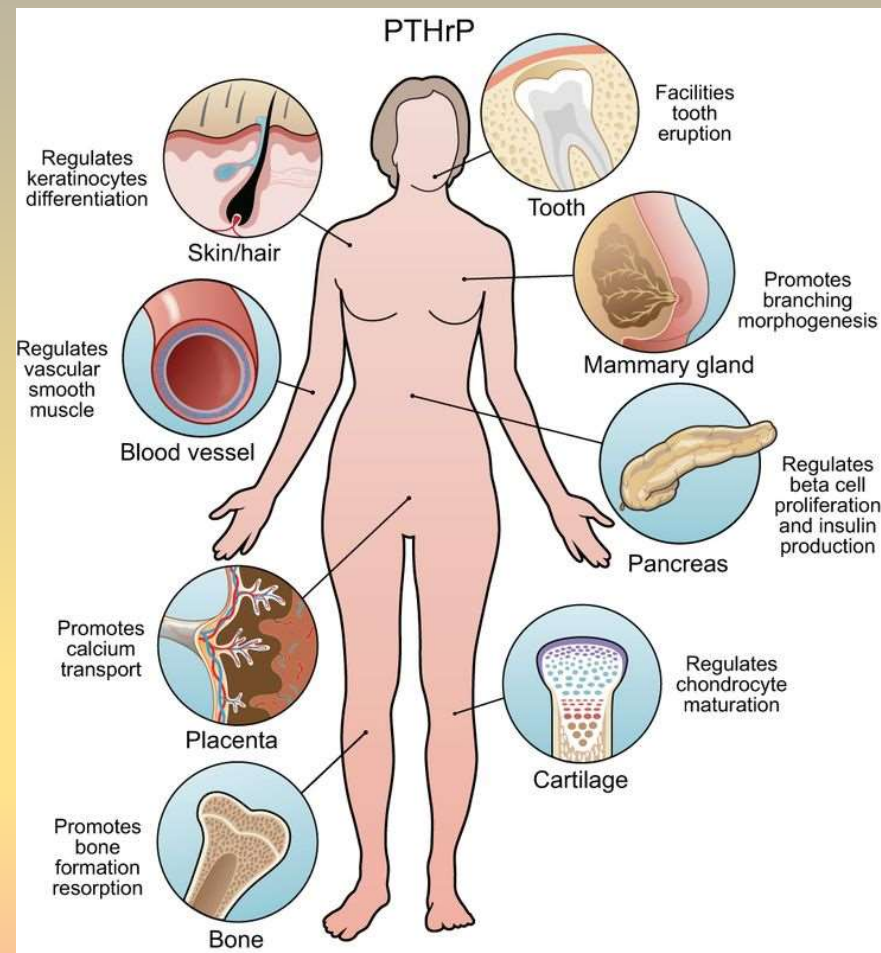
Parathormonu příbuzný peptid - PTHrP

Charakteristika

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

Funkce

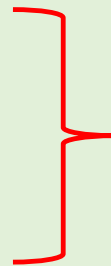
- Kalciotropní hormon
- Vývoj plodu - proliferace a diferenciacie buněk
- Laktace – (+) resorpce kostní tkáně bez možnosti ovlivnění suplementací Ca
- Kůže – proliferace a diferenciacie
- GIT, močový měchýř, uterus– (+) relaxace hladké svaloviny
- CNS - neuroprotekce
- Para-/auto-/intrakrinní působení



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
 - Pankreozymín
 - β -sympatomimetika
- Inhibice sekrece - somatostatin



Funkce nejasná

Funkce

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

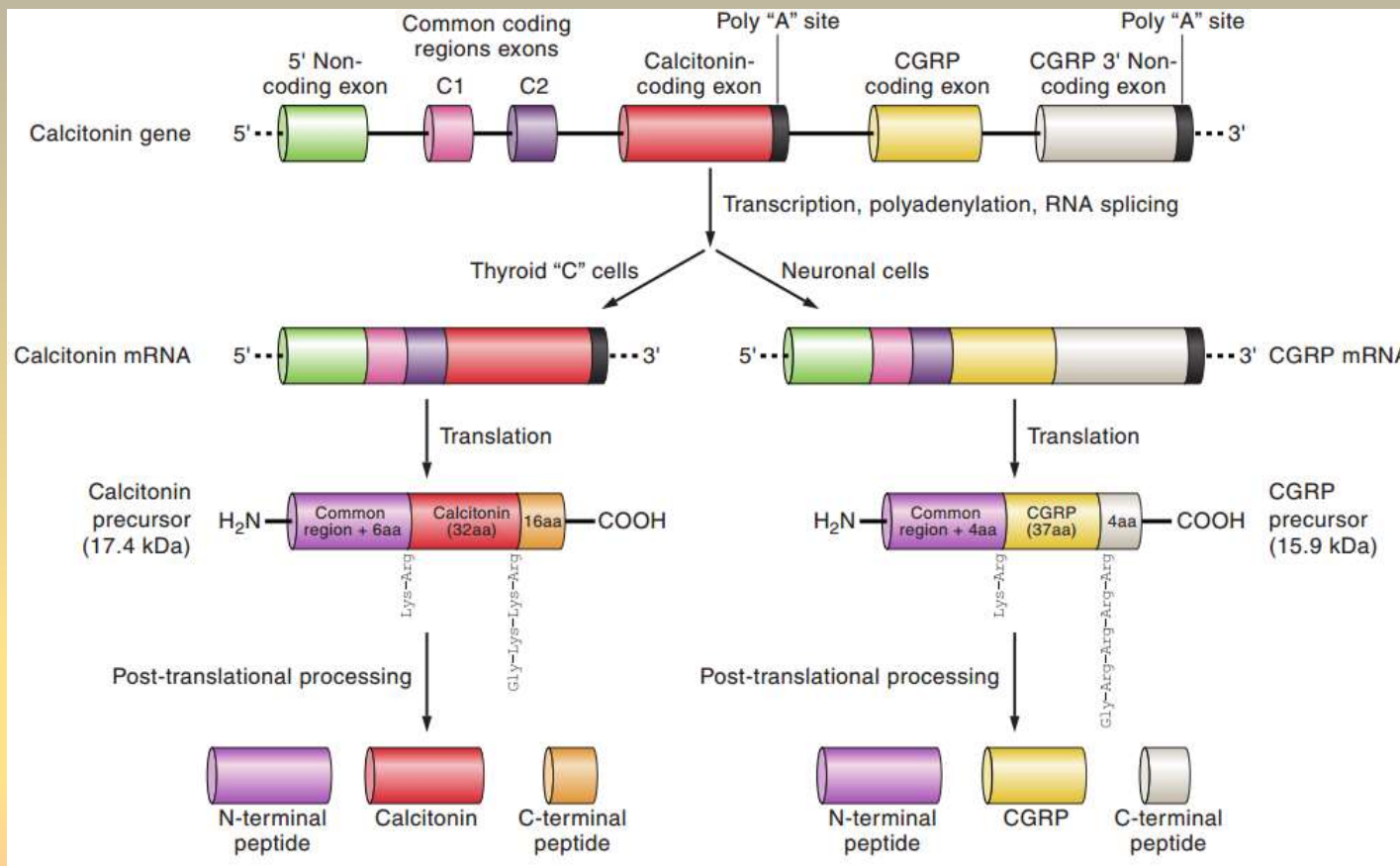
Klinický význam

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

Gen pro kalcitonin, sestřih mRNA a posttranslační úpravy

CNS a obecně neurony

C buňky



Vitamín D...hormon?...vitamín?

Charakteristika

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

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

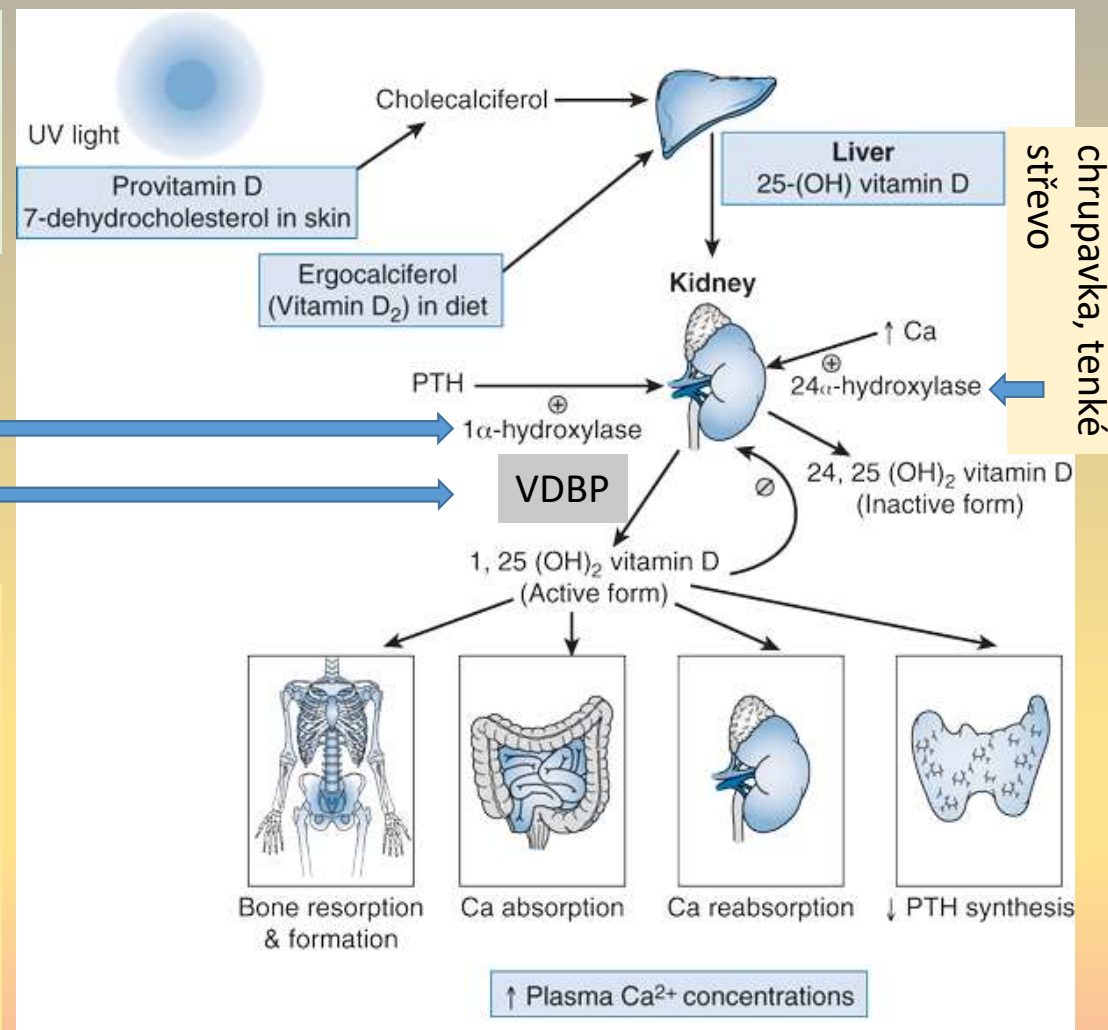
Estrogeny (+)

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

Příštítná tělíska

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

Kosti a kostní tkáň

- (-) syntézy kolagenu
- (+) syntézy osteokalcinu
- (+) diferenciaci 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

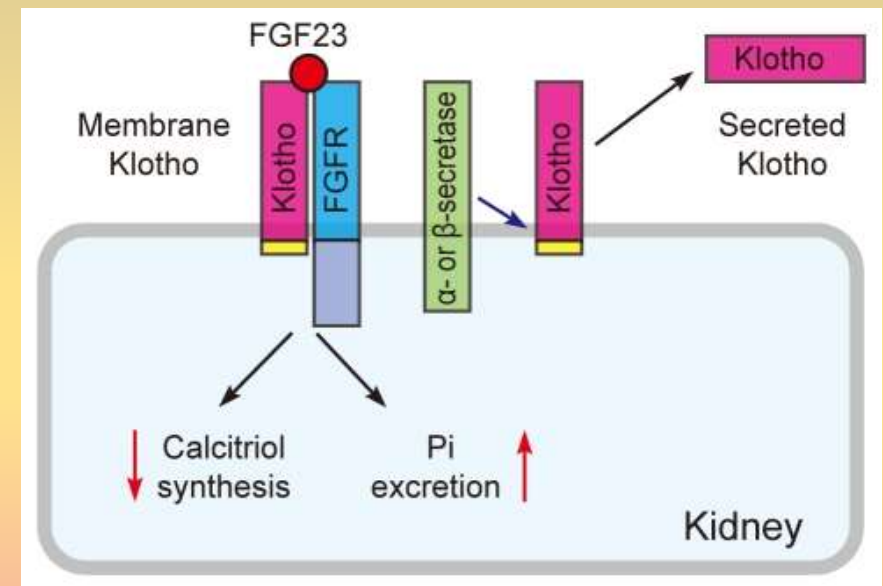
- udržování normofosfatémie a regulace metabolismu vitamínu D
- Snížení exprese IIa, IIb, a IIc (NPT) – **transport fosfátu**
- Zvýšení exprese 24-hydroxylázy – **neaktivní forma**
- Klotho = koreceptor, v cirkulující formě regulátor sekrece FGF23

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

