

HORMONI U REGULACIJI ENERGETSKOG METABOLIZMA

- INSULIN I GLUKAGON -

Ćelijama je potreban stalan priliv hranljivih materija, čijom oksidacijom dobijaju ATP. Odnos između potreba ćelije za hranljivim materijama i njihove dostupnosti zavisi od:

1. Koncentracije hranljivih materija u krvi
2. Fiziološkog stanja organizma i potreba za hranljivim materijama, o čemu informaciju prenose hormoni
3. Signala iz CNS-a

Sve ćelije stalno koriste ATP i zahtevaju stalno dopremanje hranljivih materija

Mnogi hormoni utiču na metabolizam hranljivih materija, što podrazumeva apsorpciju, transport i oksidaciju hranljivih materija:

Insulin

Glukagon,

a takođe i

adrenalin

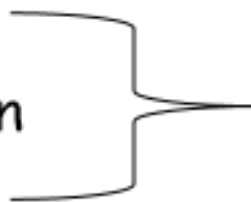
noradrenalin

kortizol

somatostatin

hormon rasta

jodotironini



Hormoni stresa

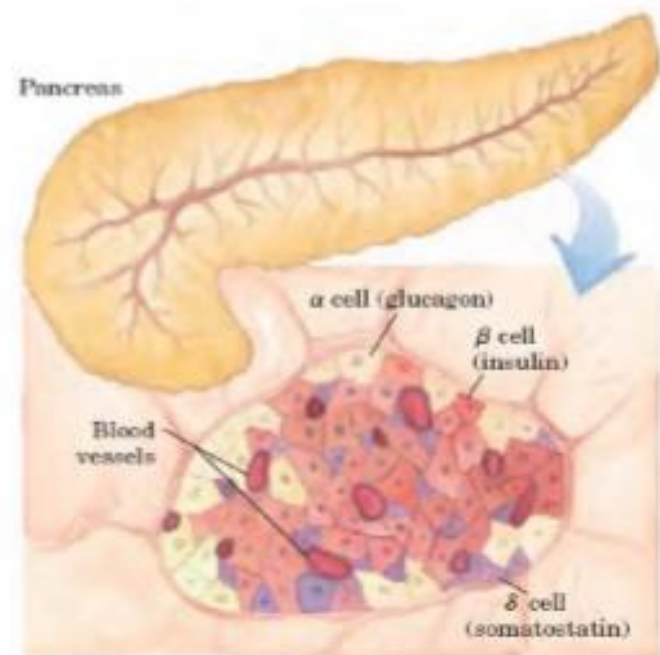
Efekti ovih hormona se ispoljavaju na dva nivoa:

- **Kratkoročni** (unutar minuta ili sati od interakcije hormona i receptora) i rezultiraju u promeni katalitičke aktivnosti ili kinetičkih osobina enzima prisutnih u ćeliji
- **Dugoročni** (reda veličine sati ili dana) regulacijom sinteze ključnih enzima, delovanjem na ekspresiju odgovarajućih gena

Sinteza i oslobađanje insulina i glukagona

Insulin i glukagon se sintetiziraju u Langerhansovim ostrvcima endokrinog pankreasa. Glukagon sekretuju α -ćelije, a insulin β -ćelije i oba hormona ulaze u cirkulaciju preko pankreasnih vena.

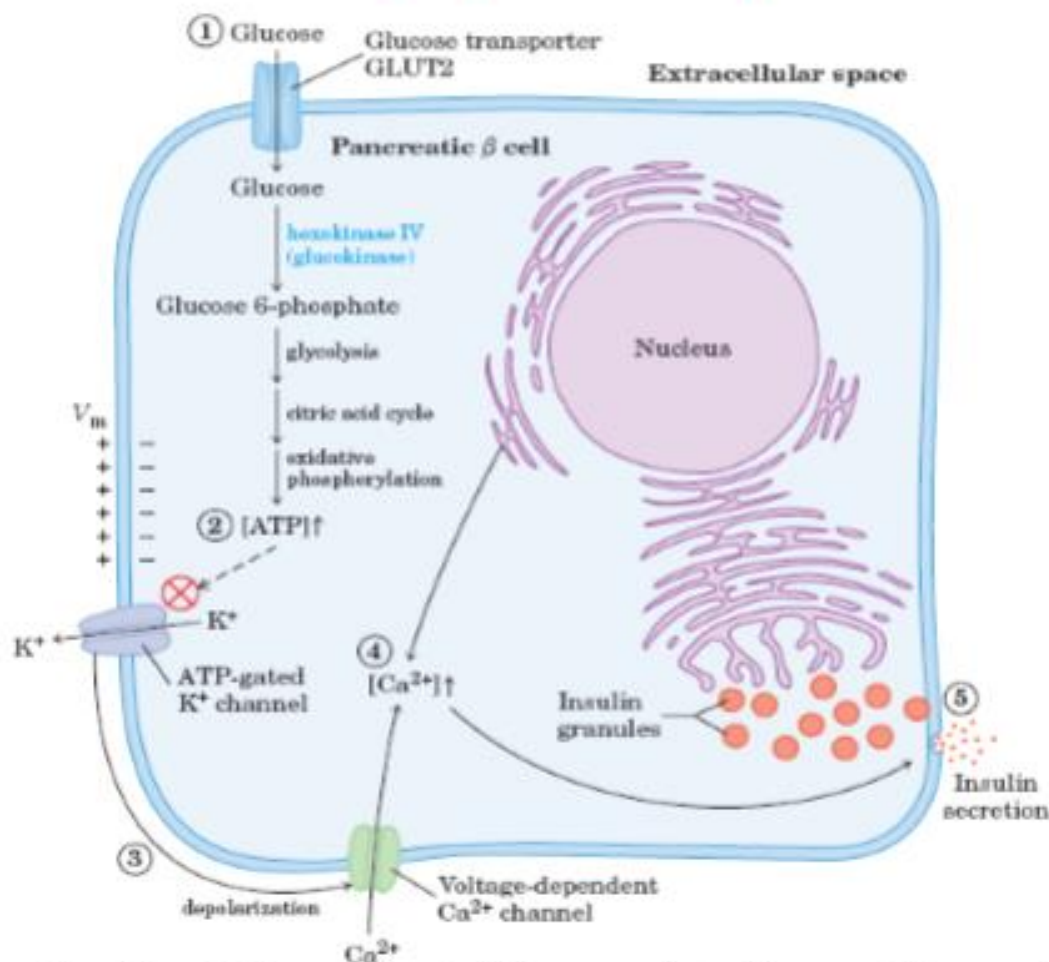
Oba hormona su polipeptidi, i sintetiziraju se iz preprohormona, od kojih se u zrnastom endoplazmatskom retikulumu odvaja fragment i nastaje prohormon.



Insulin

- Insulin se u ljudi i drugih sisara sintetize u beta ćelijama (B-ćelijama) Langerhansovih ostrvaca pankreasa, koja čine endokrini deo pankreasa.
- Insulin je polipeptid izgrađen od dva lanca A i B.
 - Llanac A je građen iz 21. aminokiseline
 - Llanac B sastoji od 30 amino kiselina.
 - Llanaci A i B su međusobno povezani sa dva disulfidna mosta. Treća disulfidna veza u molekulu insulina se formira unutar A lanca.
- Struktura insulina je vrlo slična u različitim vrstama: insulin govečeta se razlikuje od humanog insulina u tri amino kiseline, insulin svinje u jednoj amino kiselini, čak je i insulin riba dovoljno sličan humanom insulinu i ima efekat u ljudi.

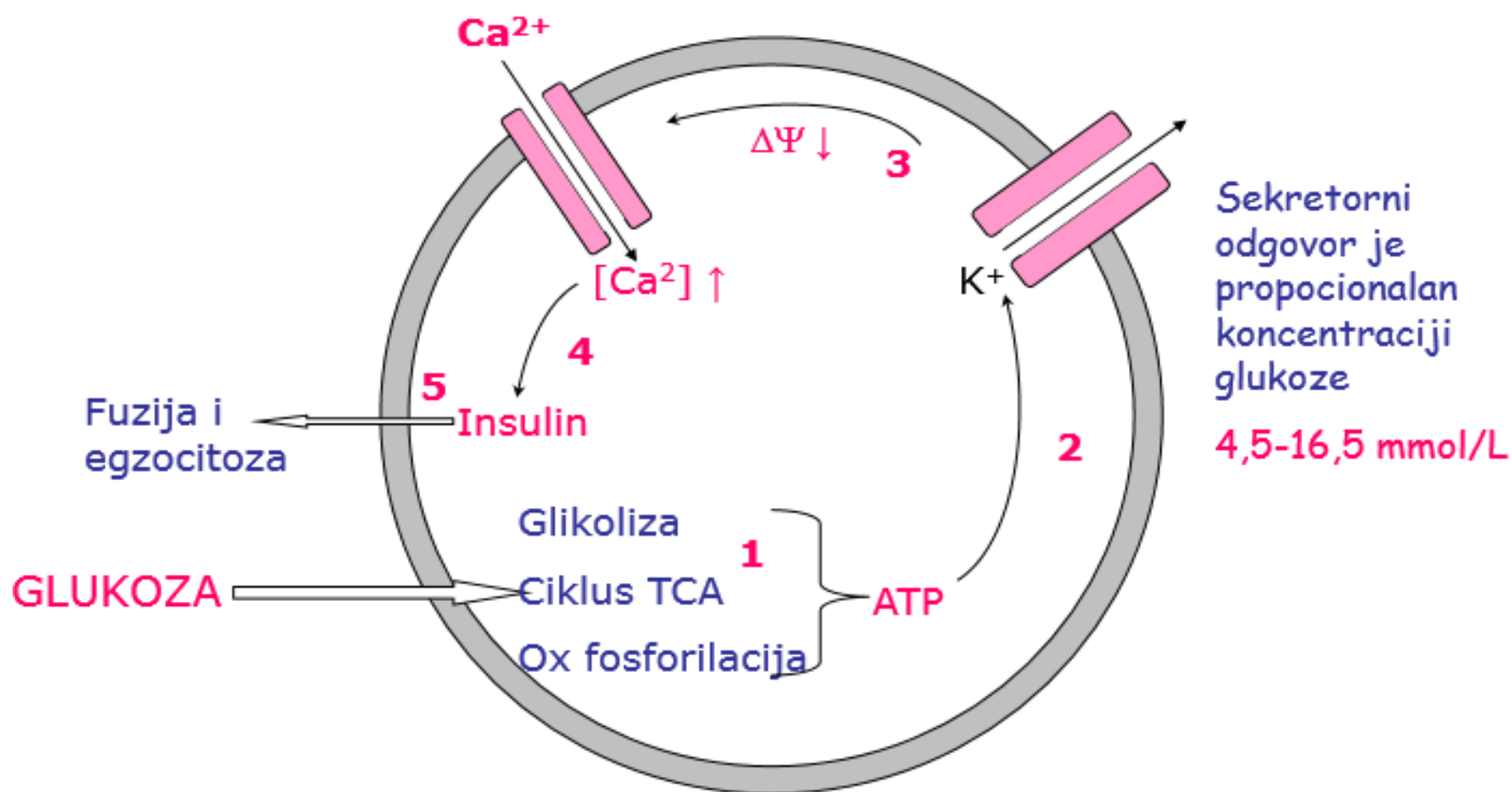
Sekrecija insulina iz ćelija pankreasa pod kontrolom glukoze.



Pri porastu koncentracije glukoze u krvi, aktivan metabolizam glukoze u ćelijama povećava nivo ATP-a zbog čega se zatvaraju K^+ kanali na plazma membrani, čime se membrana depolarizuje. Kao odgovor na promenu membranskog potencijala, "voltage" zavisni Ca^{++} kanali se otvaraju, Ca^{++} ulazi u ćeliju i ovaj porast citosolnog Ca^{++} je dovoljan da inicira oslobađanje insulina egzocitozom.

Oslobađanje insulina iz β -ćelija

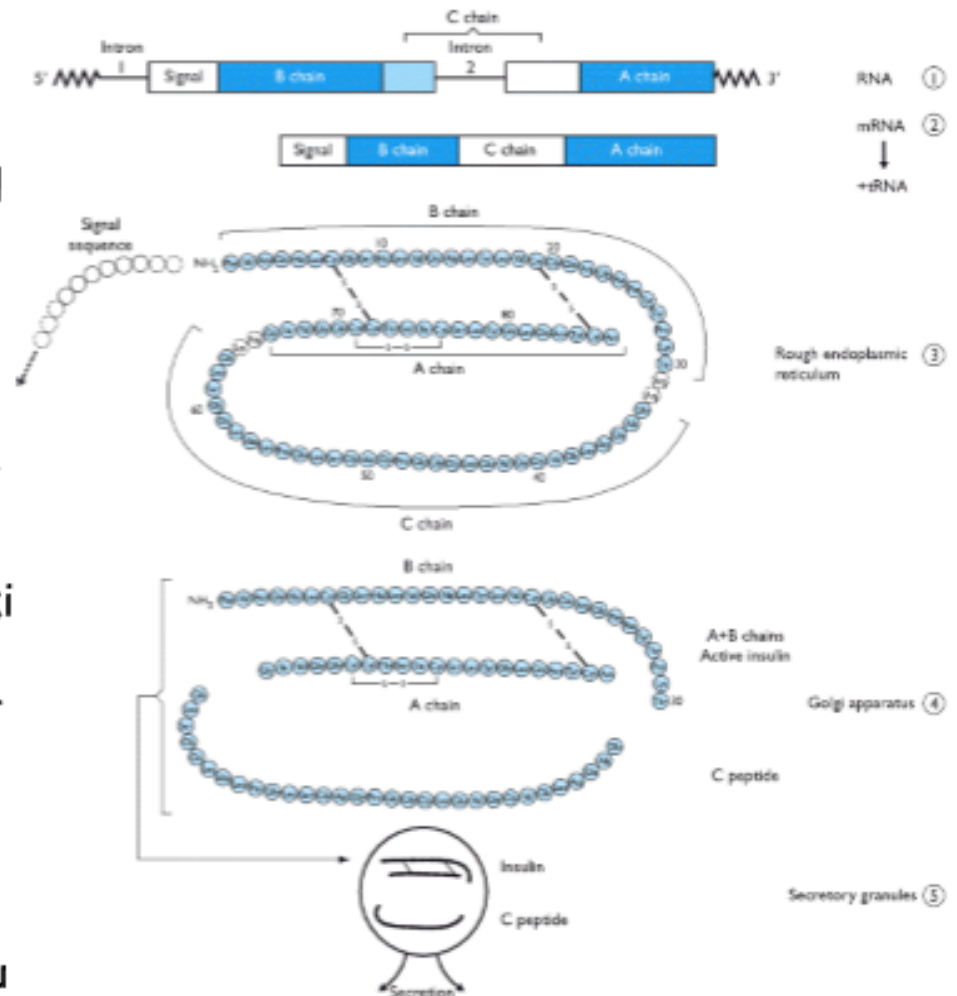
Događa se u minutima posle povećanja koncentracije glukoze oko pankreasa



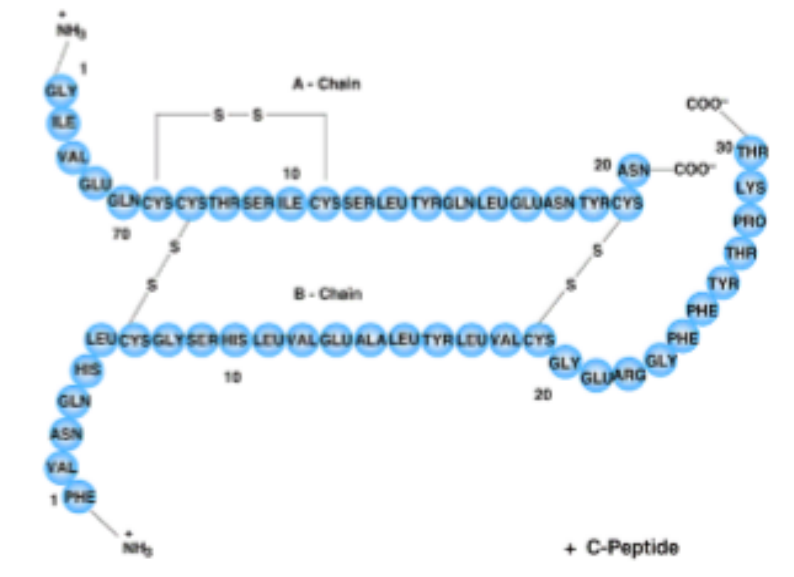
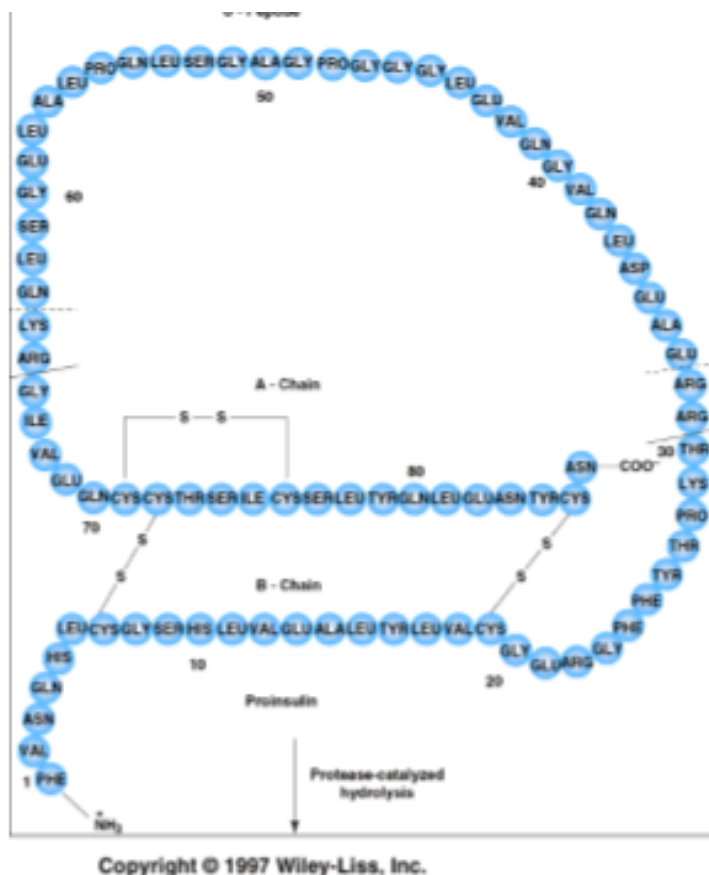
Vrlo brzo se uklanja iz cirkulacije i razgrađuje u jetri (i manje u bubrezima)

Insulin

- Insulin se sintetishe kao **preprohormon**.
- Signalna sekvenca na amino terminalnom kraju usmerava molekul u endoplazmatični retikulum.
- Uklanjanjem signalne sekvence u endoplazmatičnom retikulumu nastaje **proinsulin** koji obezbeđuje uspostavljanje odgovarajuće konformacije za pravilno formiranje disulfidnih mostova.
- Proinsulin se zatim transportuje u Goldžijev aparat gde se proteolitički obrađuje tako da se stvaraju jednake količine insulina i C-peptida.
- U Goldžijevom aparatu se pakuje u sekretorne granule.
- Pod uticajem odgovarajuće stimulacije zrele granule se spajaju sa plazma membranom i njihov sadržaj se oslobađa u ekstraćelijsku tečnost.



Povećanje koncentracije glukoze u krvi je najznačajniji fiziološki regulator sekrecije insulina.



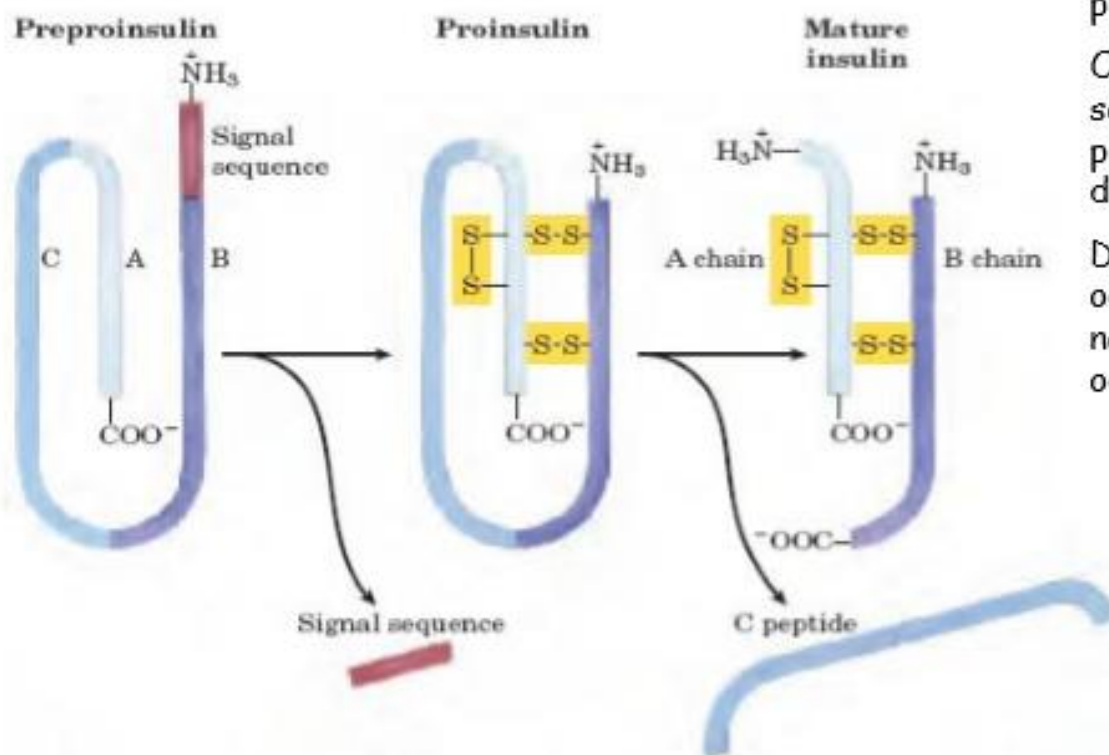
Aktivni oblik se sastoji od dva polipeptidna lanca (A i B) koji su povezani disulfidnim vezama.

U zrnastom endoplazmatskom retikulumu proinsulin zauzima odgovarajuću konformaciju i stvaraju se S-S veze.

Dolazi u Goldži aparat u mikrovezikulama (zajedno sa Zn), i u Goldži aparatu se pakuje u sekretorne vezikule, gde proteaza odvaja C-peptid, nekoliko malih fragmenata i aktivni insulin.

Stimulus za egzocitozu je povećan nivo glukoze u krvi oko β ćelija

Ima manje od 5%
biološke aktivnosti
insulina



Zreli insulin nastaje iz većeg
prekursora-preproinsulina
proteolitičkim razlaganjem,

Odvajanjem 23 AK ostatka (signalna
sekvencija) na amino kraju
preproinsulina i formiranjem 3
disulfidna mosta, nastaje proinsulin.

Dalje proteolitičko razlaganje
odvaja C peptid od proinsulina i
nastaje zreli insulin, koji se sastoji
od lanaca A i B.

Humani insulinski gen- kratak krak hr 11

Lanac A- 21AK

Lanac B- 30AK

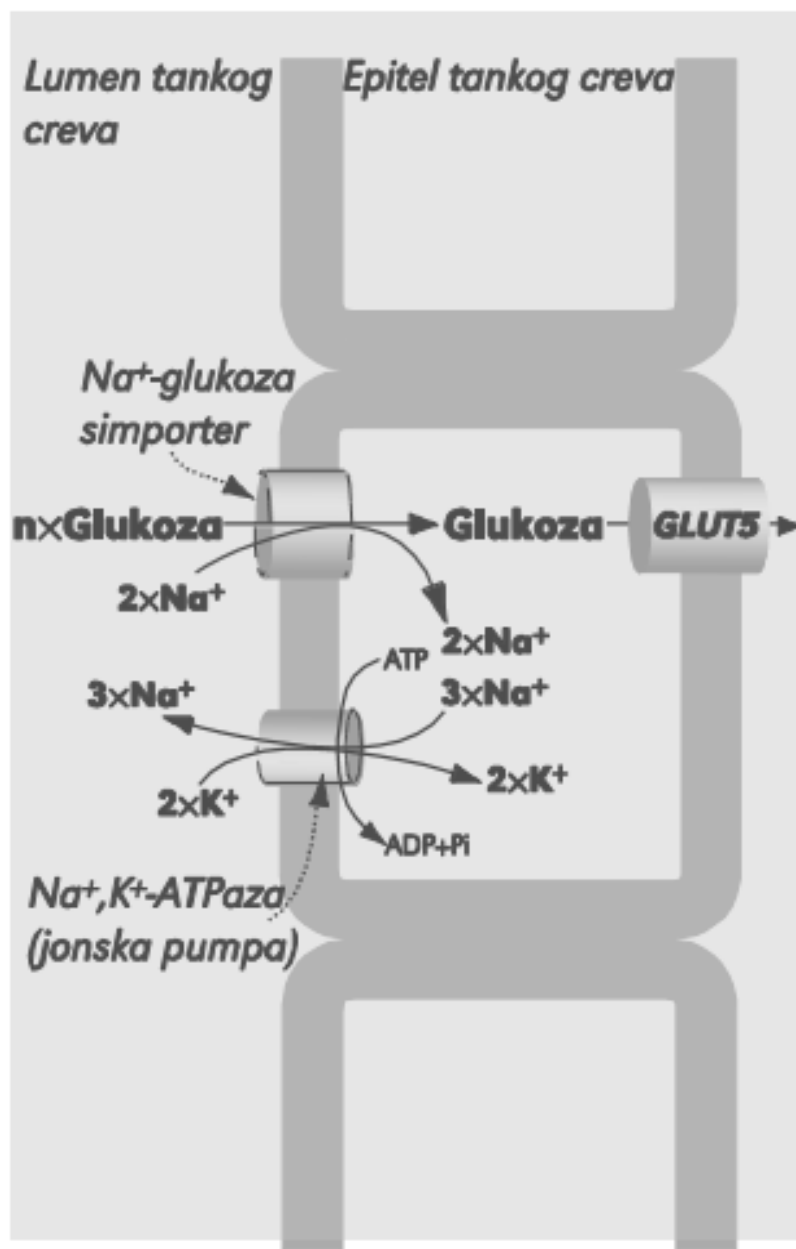
SS- A7-B7; A20-B19 i A6-A11

Proinsulin-ribozomi

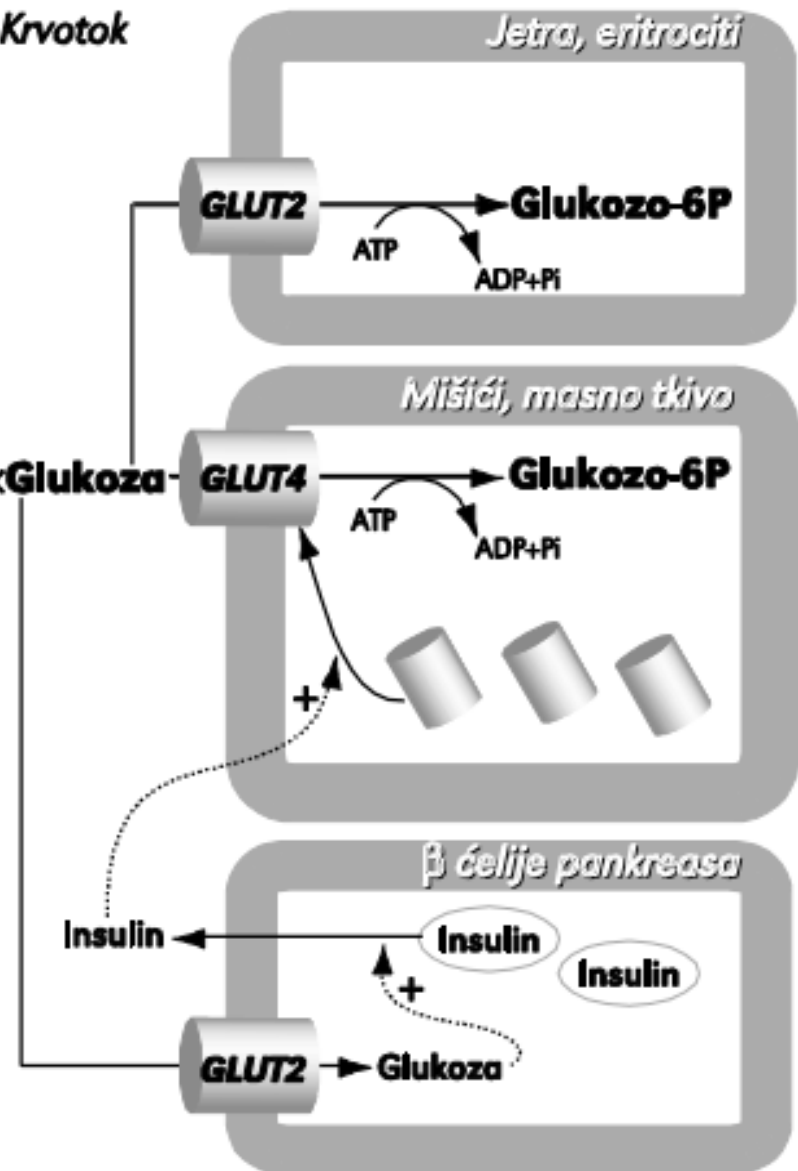
SS mostovi-EPR

Pakovanje u zrnca i proteoliza- Goldži

Sazrevanje: proinsulin i insulin se
spajaju sa Zn- heksameri u vezikulama

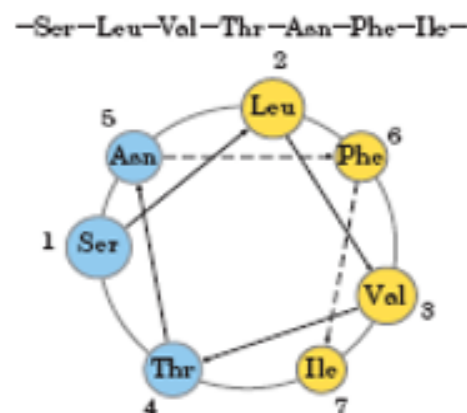
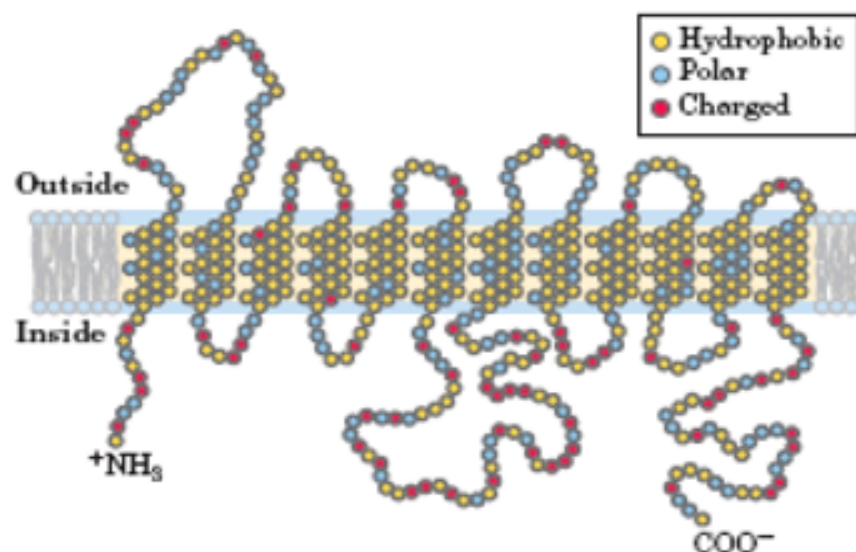


Krvotok



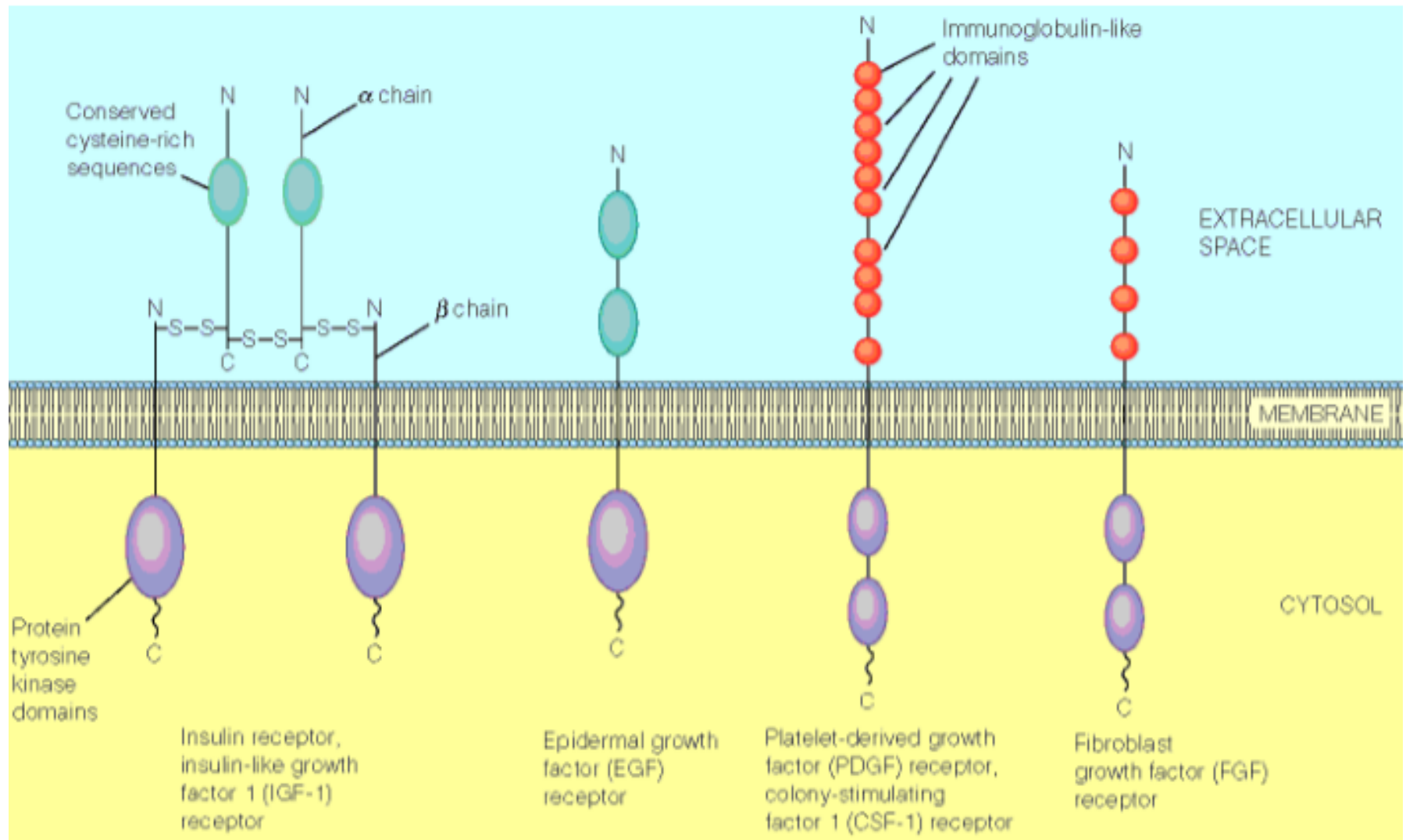
Pretpostavljena struktura GLUT1

(a)

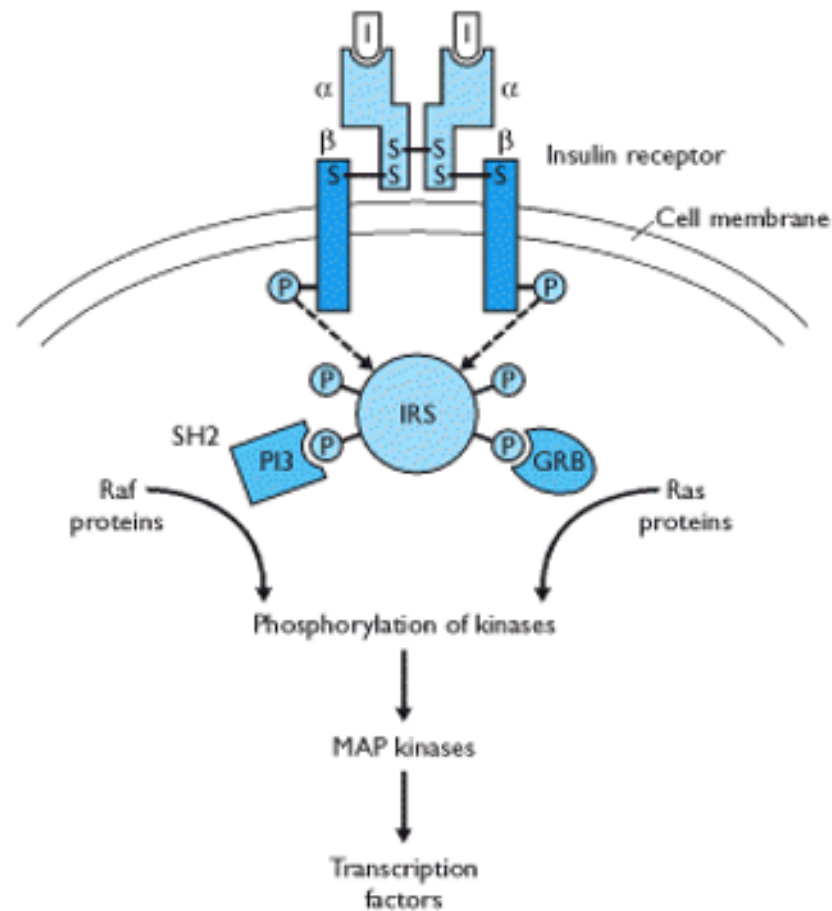


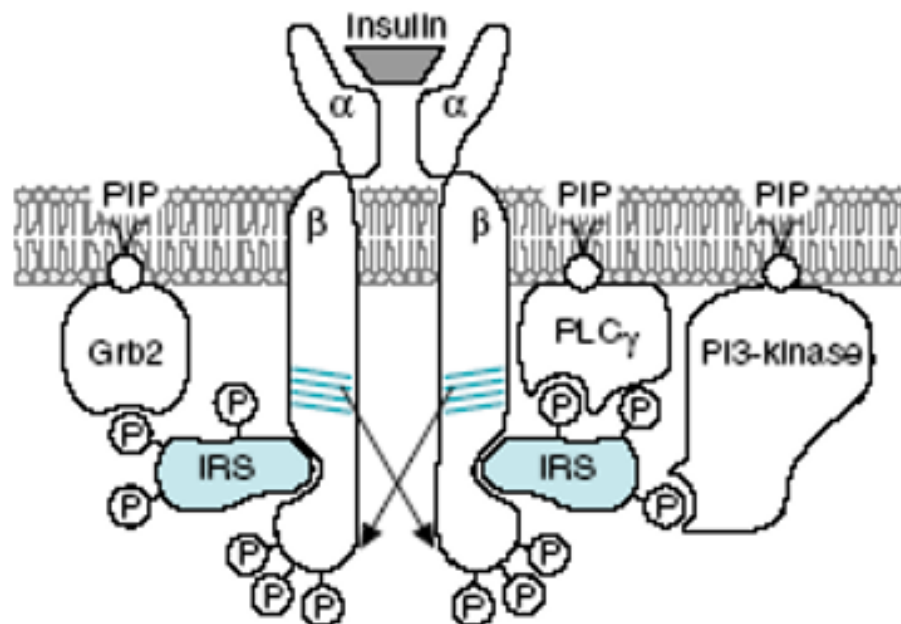
Transmembranski delovi se satoje od 3-4 AK ostatka koji odgovaraju jednom obrtu heliksa
12 transmembranskih heliksa sadrže 3 ili više polarnih naelektrisanih AK uz hidrofobne
Polarni ostaci AK (plava boja) formiraju kanal za glukozu

Srodni receptori

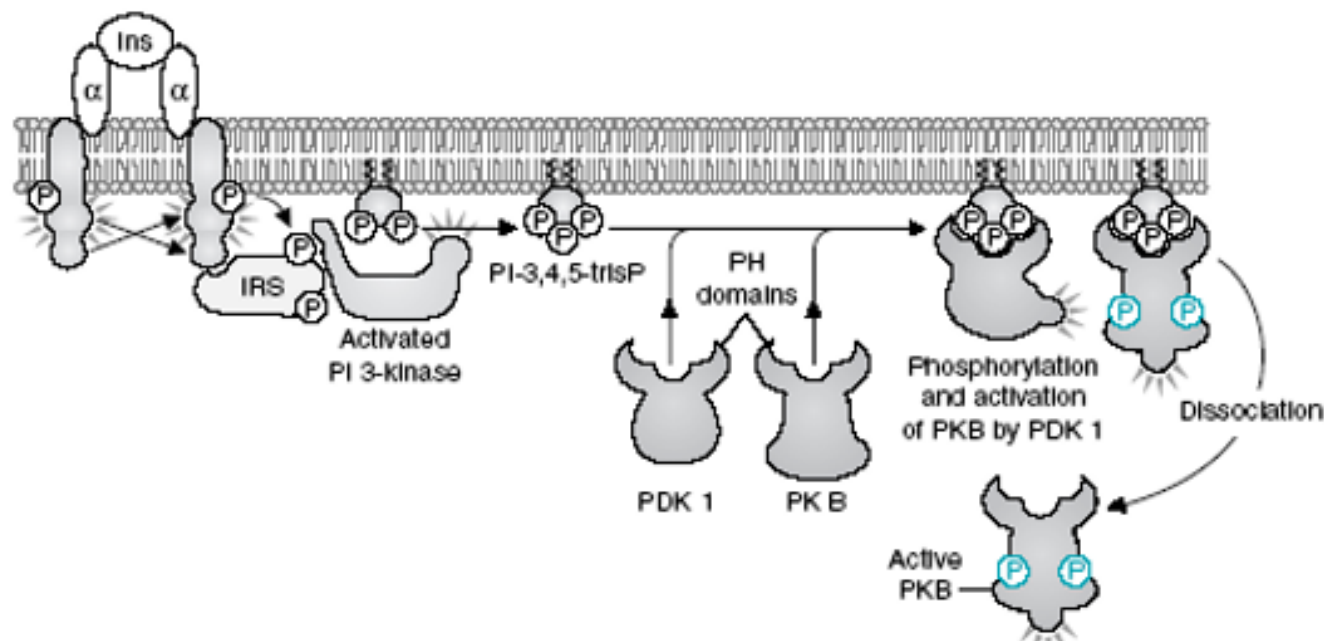


- Insulin svoje efekte ostvaruje nakon vezivanja za **specifičan glikoproteinski receptor sa tirozin kinaznom aktivnošću** u membrani ćelija.
- Različiti efekti insulina se ostvaruju
 - unutar sekundi ili minuta (transport, fosforilacija proteina, aktivacija i inhibicija enzima, sinteza RNK),
 - ili posle nekoliko časova (sinteza proteina i DNK, rast ćelija).

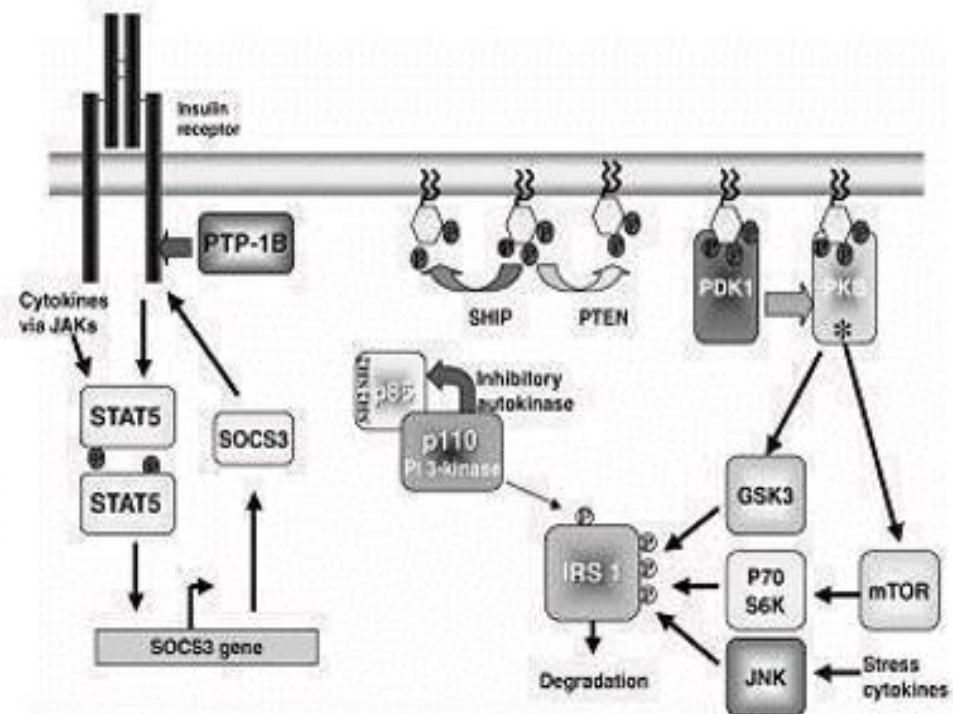




Insulinski receptor je tirozin kinaza koja, za razliku od drugih sličnih receptora (npr. za faktore rasta), postoji u membrani kao preformirani dimer čija svaka polovina ima α i β subjedinicu.

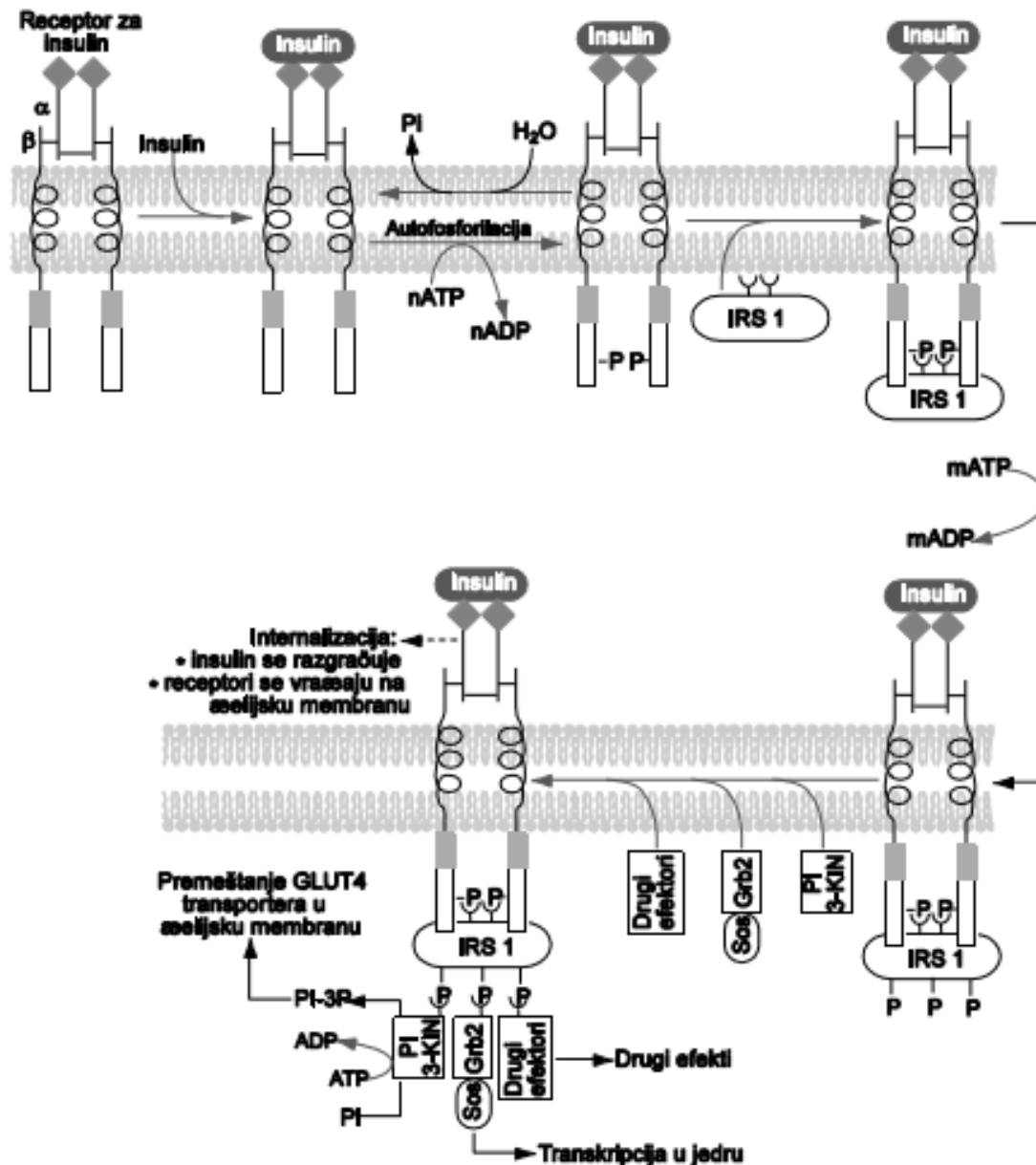


- Fosforilacija insulinskih receptora započinje fosforilaciju proteina insulin-receptor supstrata IRS1-4. Njihovom aktivacijom se pokreće aktivacija drugih protein kinaznih sistema:
- fosfatidil inozitol 3-kinaze** (PI-3 kinaze)
- fosfatidil inozitol (3,4,5) P3 kinaze** (protein kinaza B(PKB)/Akt)
- mitogen-aktivirajuće kinaze** (MAP kinaze)



P.R. Shepherd, Acta Physiol Scand 2005, 183, 3-12

Insulinski receptor ima tirozin-kinaznu aktivnost



Regulatori oslobađanje insulina

Najvažniji regulatori oslobađanje insulina
glukoza +

Ostali regulatori

amino kiseline +

nervni stimulus +

hormoni GIT +

adrenalin -

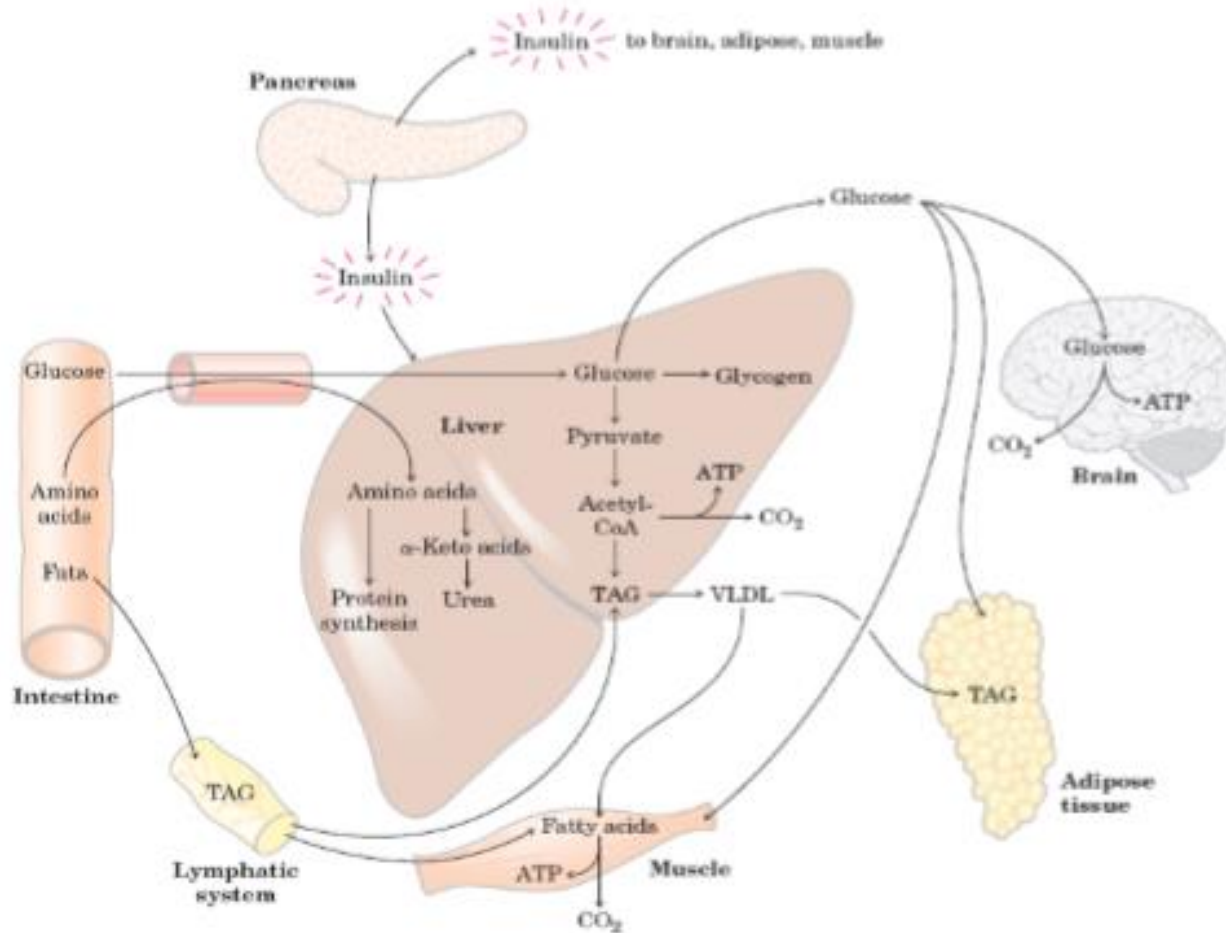
METABOLIZAM INSULINA

Vreme poluživota insulina je 3-5min (nema nosač u plazmi)

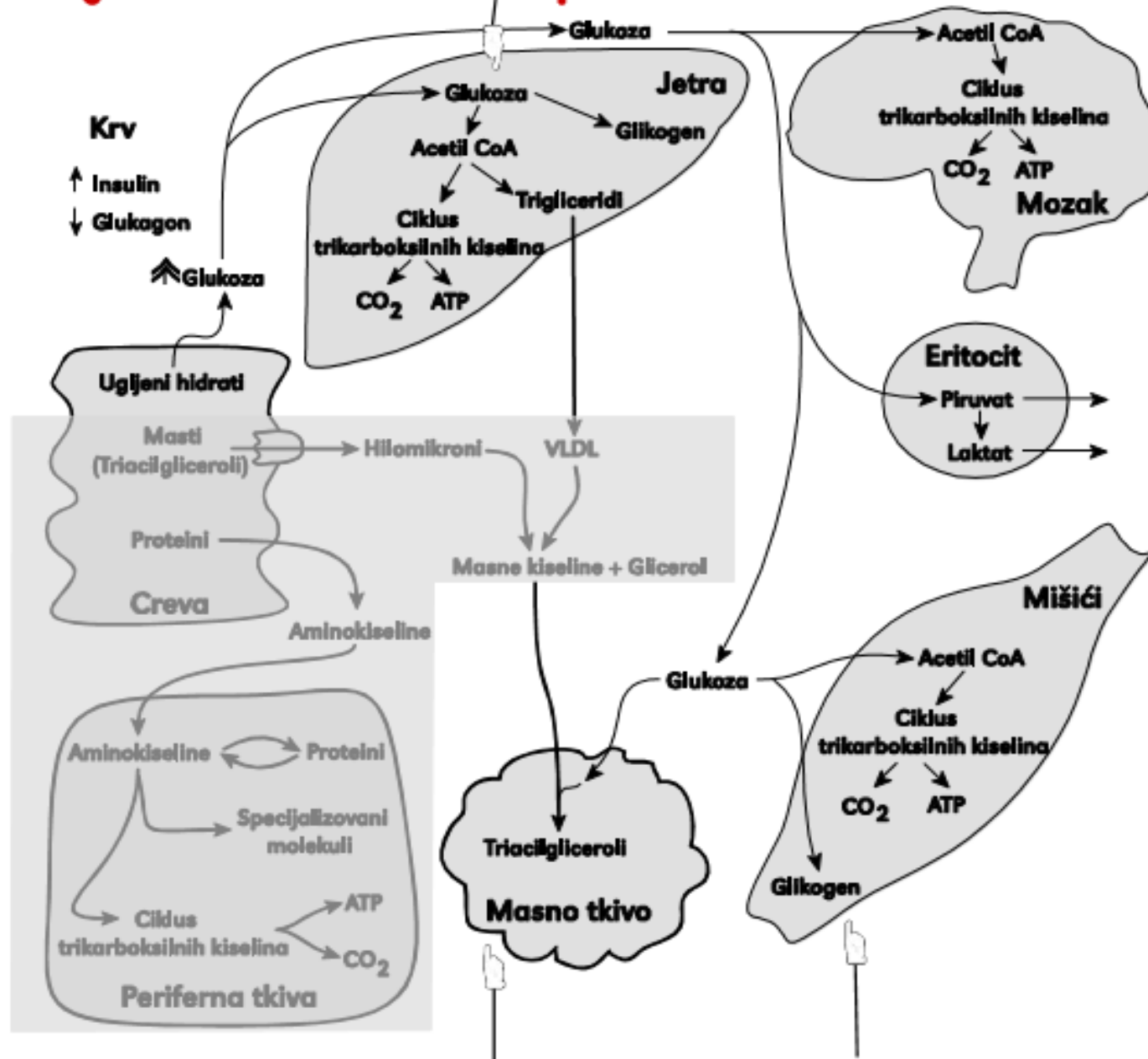
Za metabolizam inuslina su odgovorna dva enzimska sistema:

1. Insulin soecifična proteaza (bubreg, jetra, placenta)
2. Glutation-insulin transhidrogenaza- redukcija SS mostova

Stanje posle obroka-lipogena jetra



Dejstvo insulina neposredno nakon obroka



Fiziološki efekti insulina

1. Stimuliše odlaganje glikogena u jetri i mišićima
2. Stimuliše sintezu masnih kiselina i triacilglicerola i odlaganje u masnom tkivu
3. Stimuliše sintezu određenih proteina u različitim tkivima, koji doprinose rastu ćelija
4. Ima parakrine efekte na ćelije pankreasnih ostrvaca - oslobađanje insulina iz β -ćelija inhibira oslobađanje glukagona iz α -ćelija

Sinteza i sekrecija glukagona

Sintetiše se u α -ćelijama iz mnogo većeg prekursora (160 ak). Već u lumenu zrnastog ER prelazi u proglukagon.

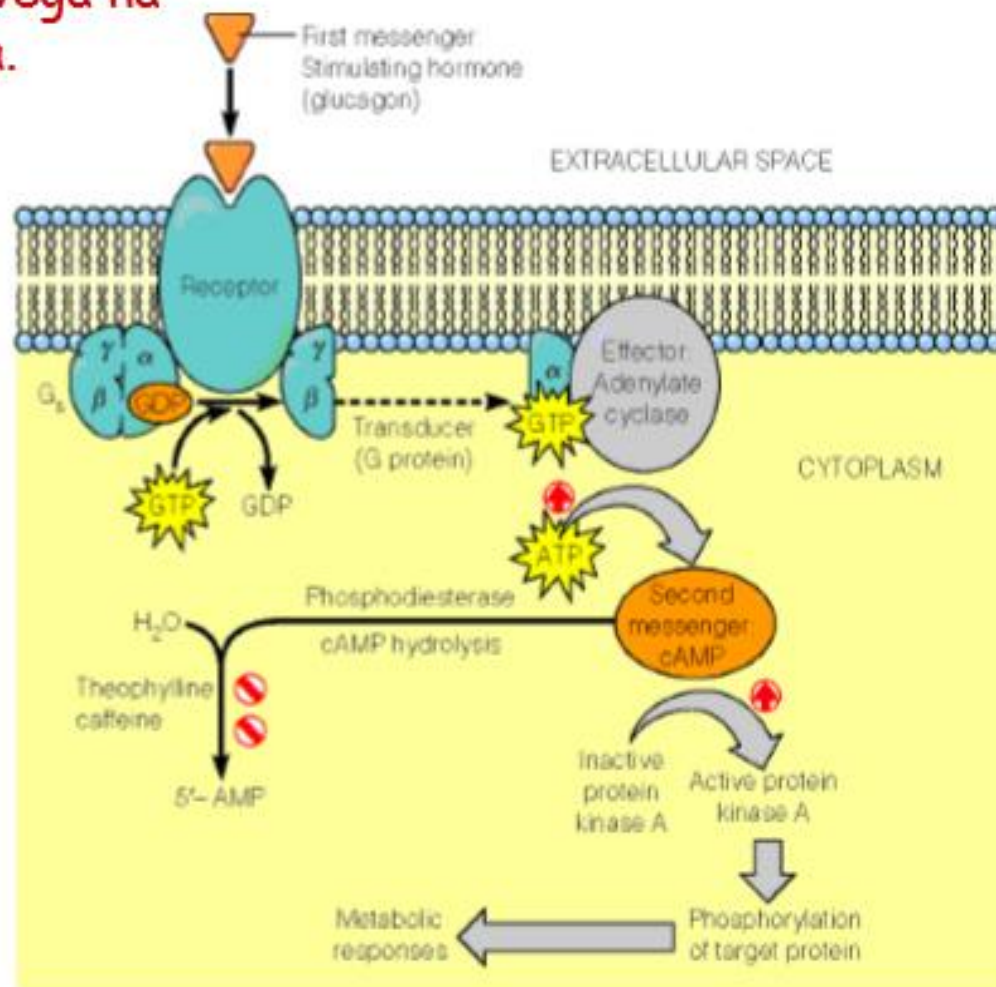
Proteolitičkim cepanjem dobija se hormon od 29 AK i ostali veći fragmenti.

Veoma brzo se metaboliše u jetri i bubrezima

Mehanizam delovanja - posredstvom mehanizma koji kao sekundarni glasnik uključuje cAMP.



Delovanje cAMP-a podrazumeva efekte na fosforilaciju/defosforilaciju proteina u ćeliji, pre svega na serin/treonin ostacima.



Regulatori oslobađanje glukagona

Najvažniji regulatori oslobađanje glukagona

glukoza (dir. i ind.) -

insulin -

amino kiseline +

Ostali regulatori

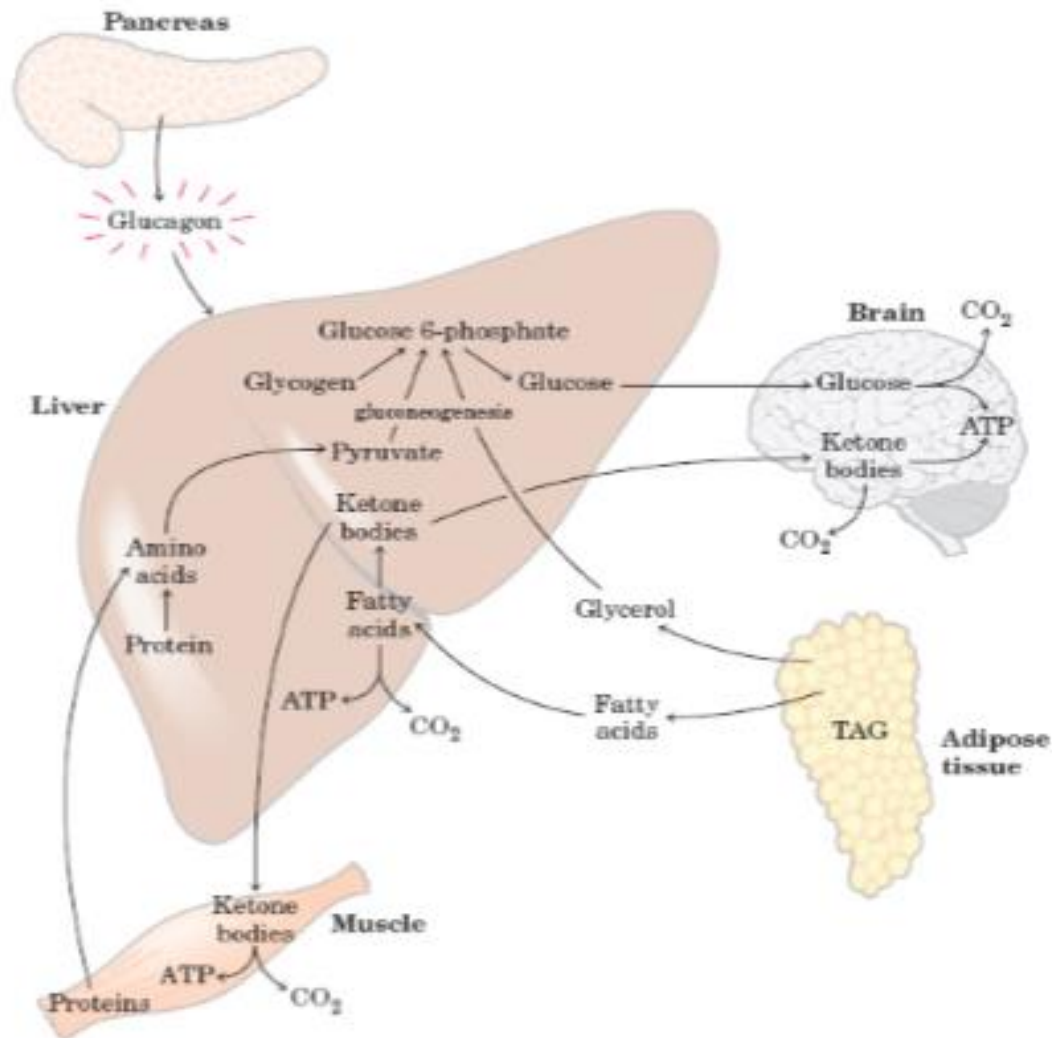
kortizol +

nervni stimulus (stres) +

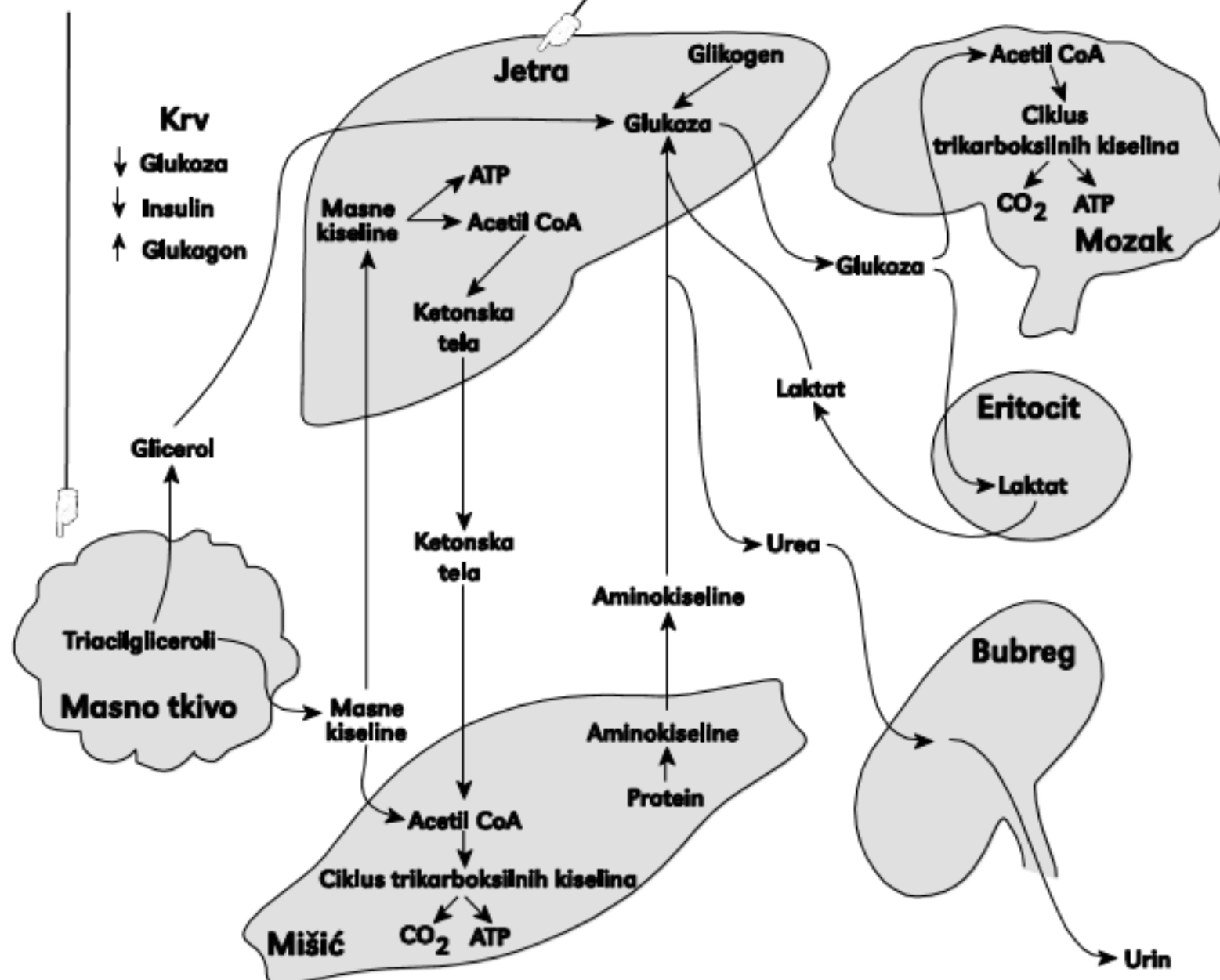
adrenalin +

hormoni GIT +

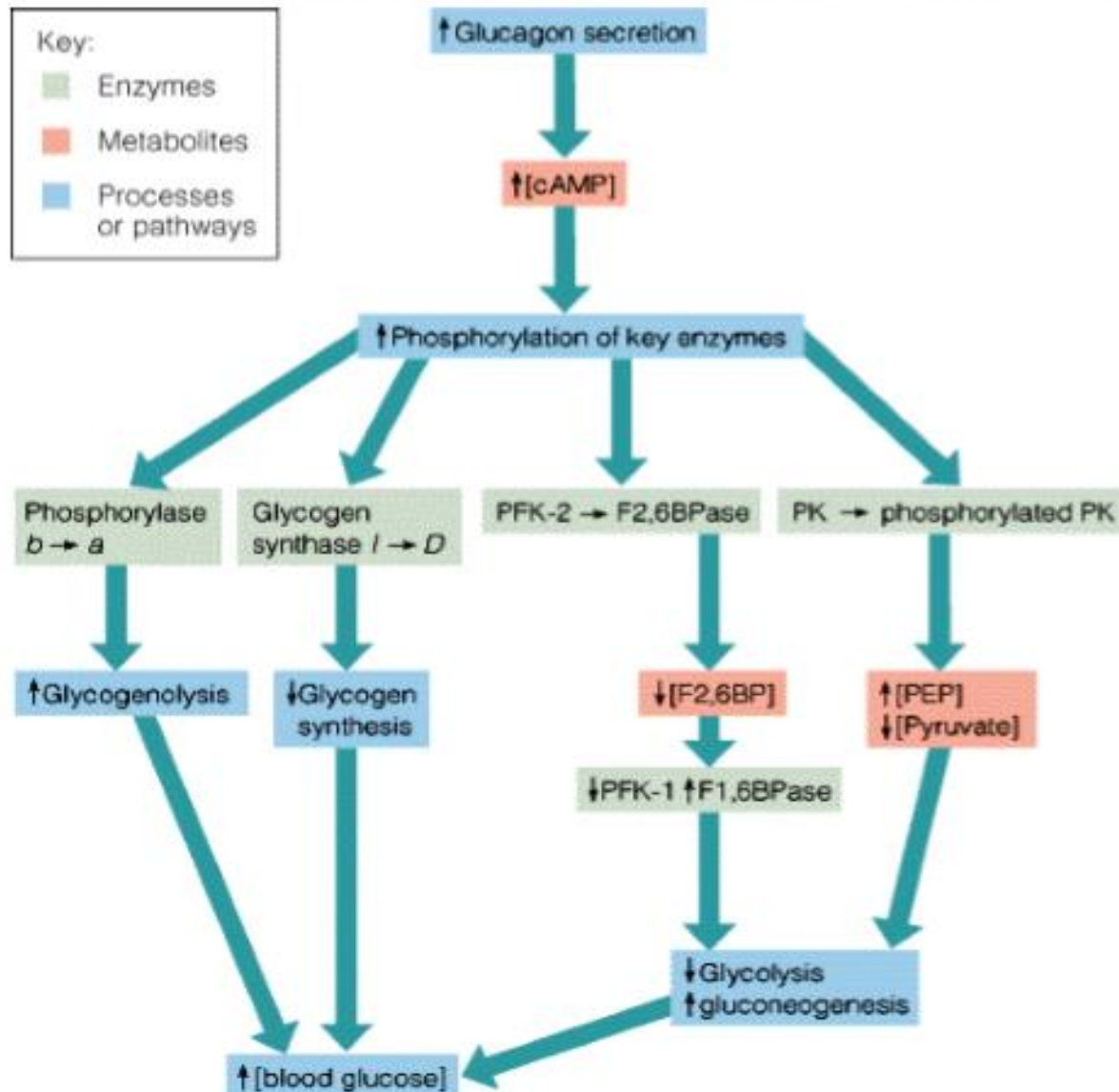
Stanje gladovanja- glukogena jetra



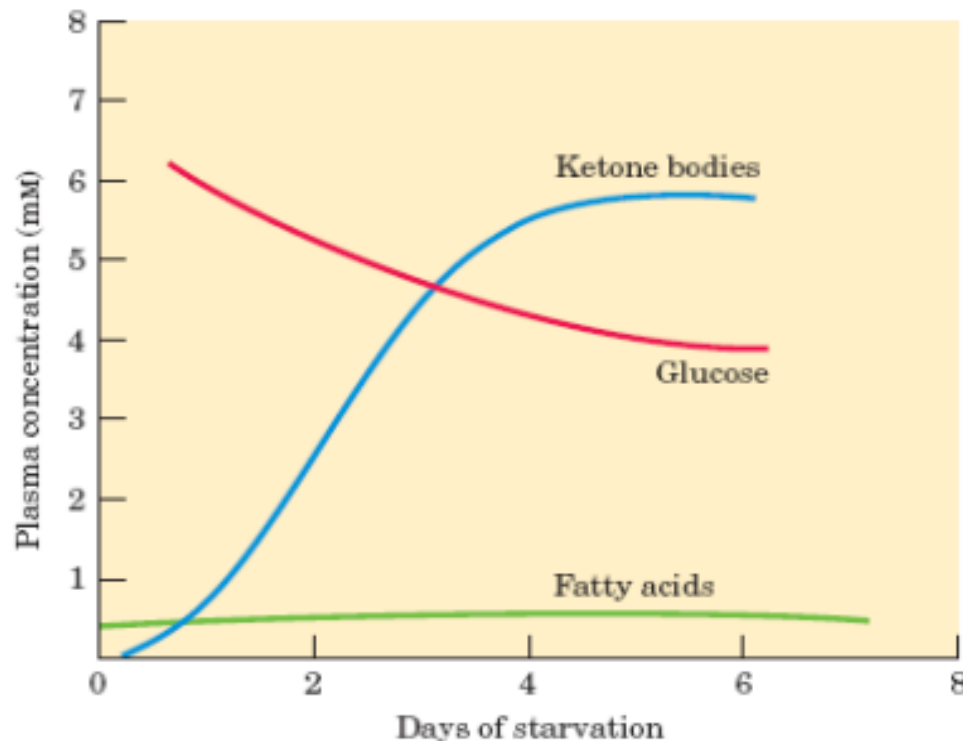
Dejstvo glukagona u periodu između obroka



Efekti glukagona na metaboličke procese



Koncentracija masnih kiselina, glukoze i ketonskih tela u plazmi tokom prve nedelje gladovanja

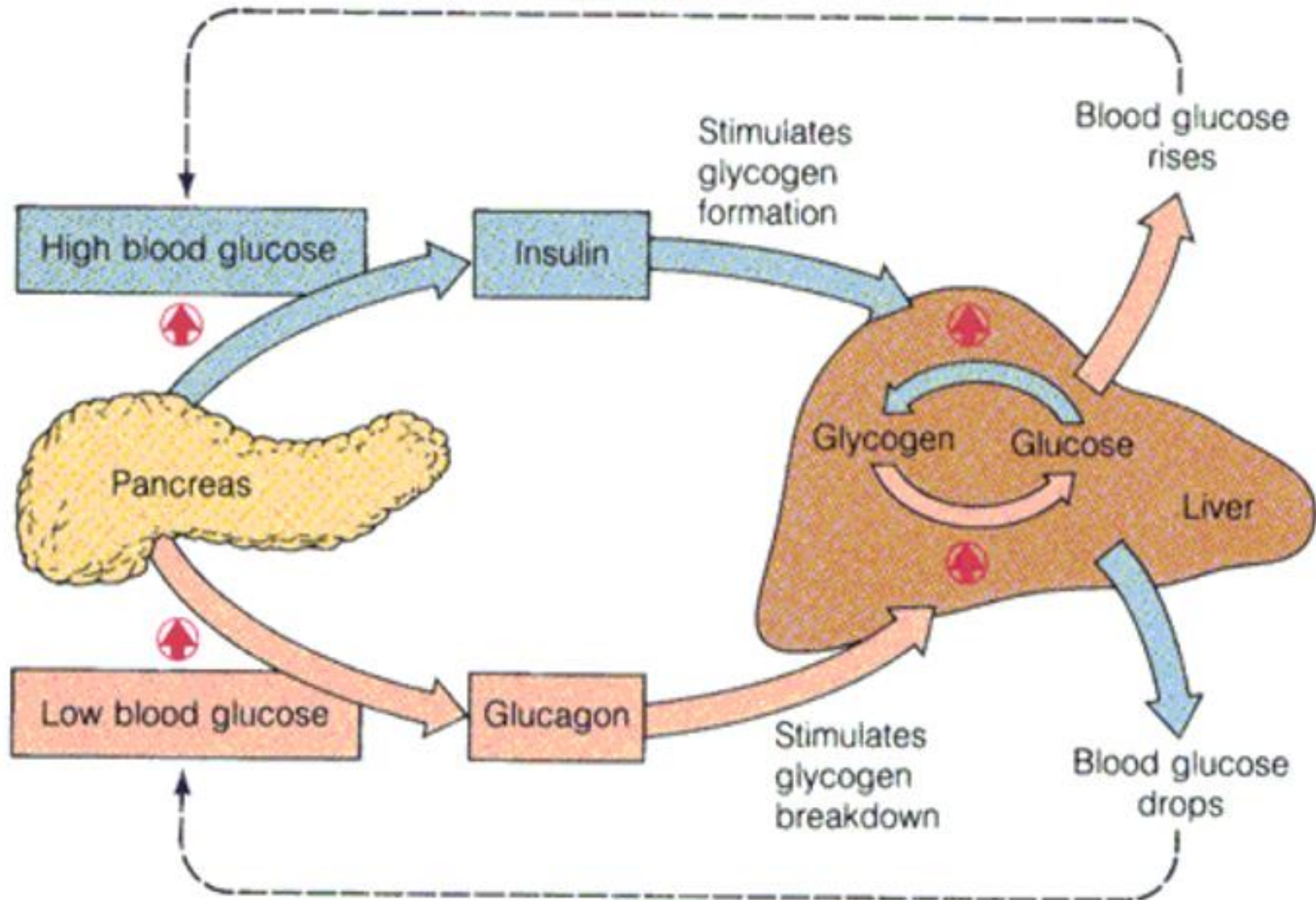


Bez obzira na aktivnost svih mehanizama za održavanje glikemije, nivo glukoze u krvi lagano počinje da pada posle 2-4 og dana.

Nivo ketonskih tela, koji je gotovo nemerljiv u stanju sitosti, počinje naglo da se povećava 2-4 dana od početka gladovanja. Ova hidrosolubilna ketonska tela zamenjuju glukozu kao izvor energije tokom dužeg gladovanja.

Masne kiseline mozak ne može da koristi-ne prolaze KMB.

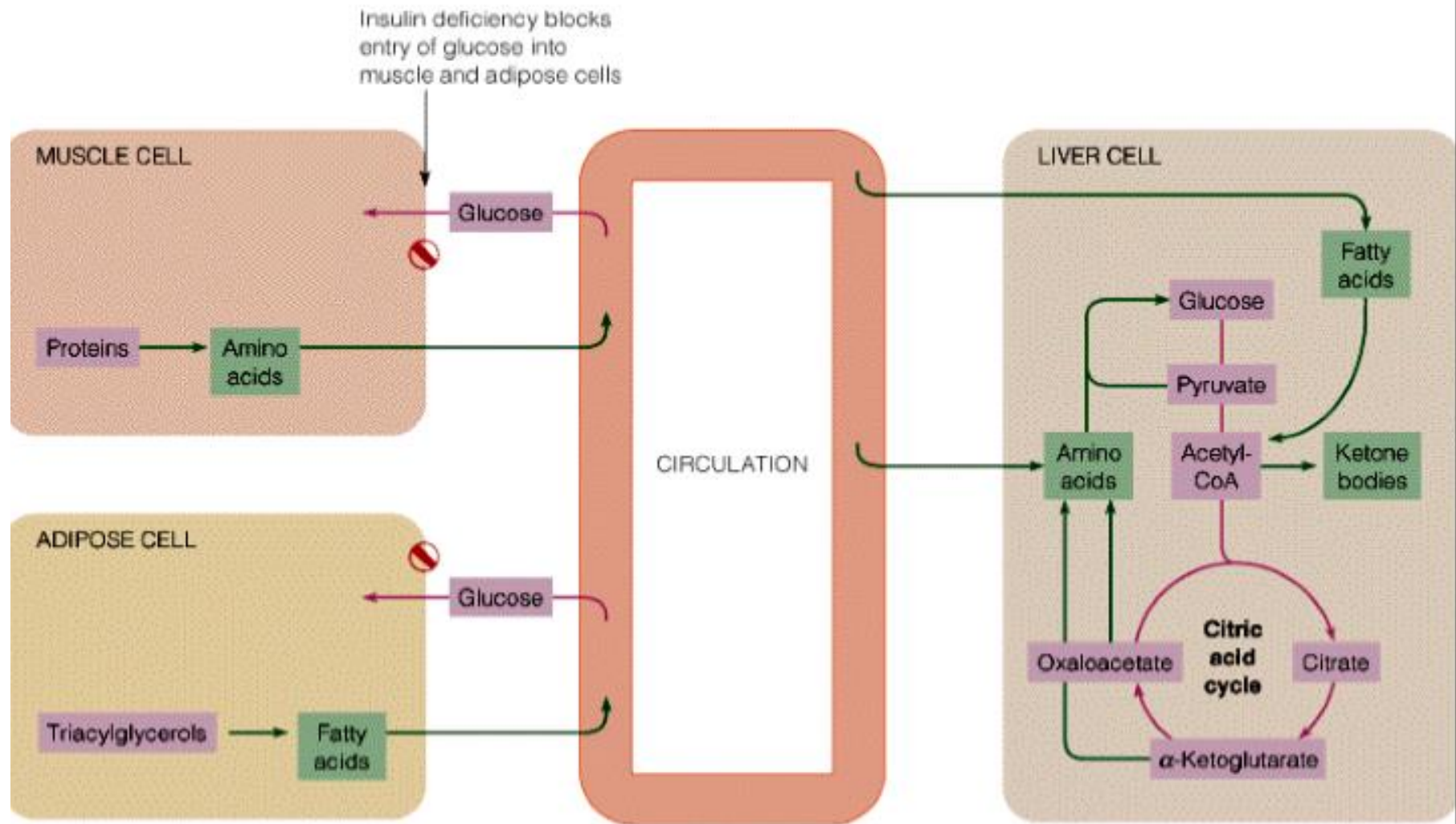
Hormonski odgovor na promene u koncentraciji glukoze



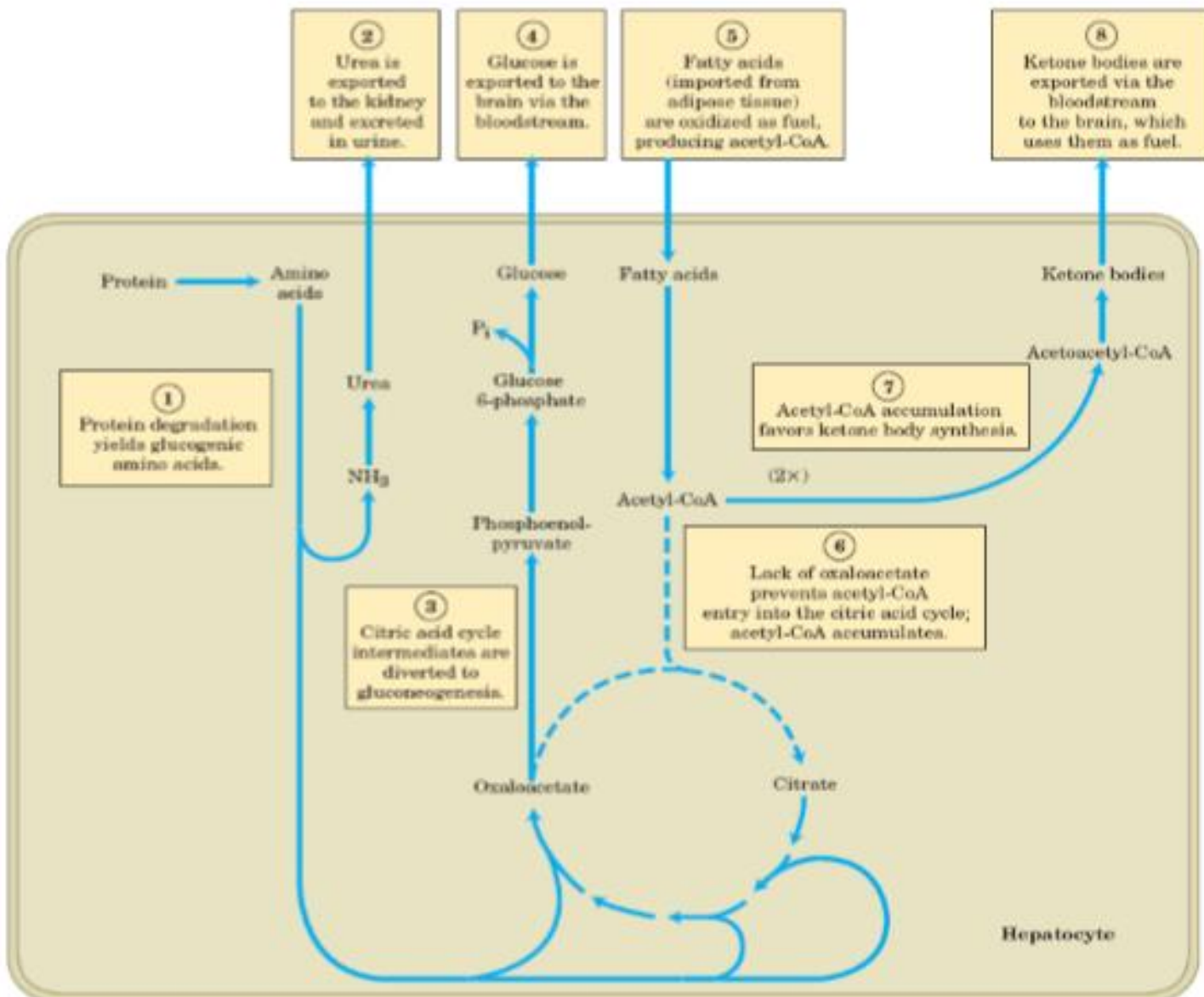
Efekti insulina i glukagona

Hormon	Uloga	Najvažniji metabolički putevi na koje utiče
Insulin	Pospešuje deponovanje hranljivih materija nakon obroka Pospešuje rast	Stimuliše deponovanje glukoze u obliku glikogena Stimuliše sintezu MK i deponovanje Stimuliše preuzimanje AK i sintezu proteina
Glukagon	Pospešuje mobilizaciju hranljivih materija Održava glikemiju između obroka	Aktivira glukoneogenezu i glikogenolizu Aktivira oslobađanje MK iz masnog tkiva

Nemogućnost iskorišćavanja glukoze usled nedostatka insulina



Metabolizam "goriva" u jetri tokom produženog gladovanja ili nekontrolisanom diabetes mellitus-u



OSTALI DIABETOGENI HORMONI

KATEHOLAMINI

Sekrecija stimulisana bolom, stresom, krvarenjem, vežbanjem, hipoksijom, hipoglikemijom

Ach (hipotalamus)- medula nadbubrega (influks Ca zbog depolarizacije membrane)

Efekti: Inhibicija sekresije insulina

Povećana srčana akcija, povećana TA

GLUKOKORTIKOIDI

Stimulusi-isti kao kod kateholamina

Sinteza monoamina u telima neurona srednjeg mozga- CRH (stimulisan Ach i 5-HT)- korteks nadbubrega

Efekti: Inhibicija sinteze proteina, povećana proteoliza

Povećana lipoliza

Smanjeno preuzimanje glukoze

Povećana glukoneogeneza

RAST I DIFERENCIJACIJA

Hormoni štitaste žlezde

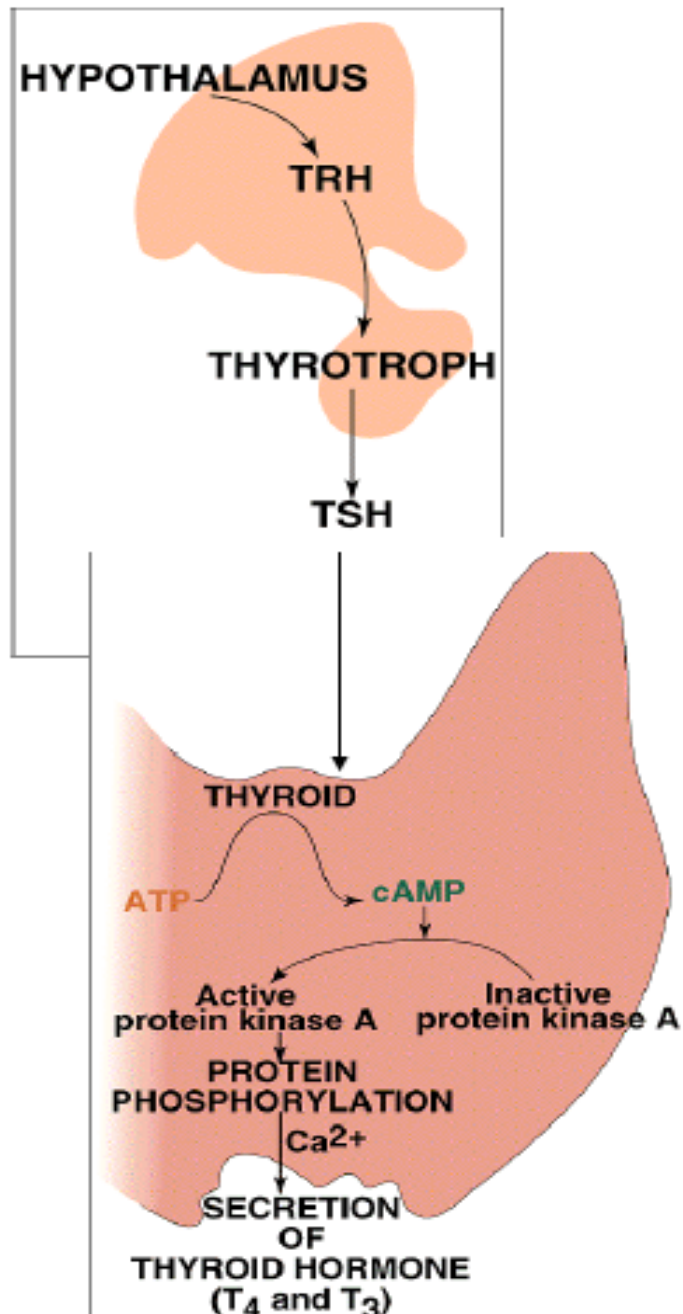
- Štitasta žlezda proizvodi dva hormona:
 - 3,5,3'-trijodtironin (T3) i
 - 3,5,3',5'-tetrajodtironin (T4, tiroksin)
- koji učestvuju u regulaciji opšteg metabolizma, razvoja i diferencijacije tkiva.
- Ovi hormoni regulišu **gensku ekspresiju** mehanizmom koji je sličan mehanizmu delovanja steroidnih hormona.
- Tiroidne ćelije štitaste žlezde su polarizovane- apikalno su nabrane i orijentisane ka lumenu folikula dok su bazalno u bliskom kontaktu sa mrežom kapilara.

- Hormoni štitaste žlezde su jedinstveni po tome što zahtevaju oligoelement jod za biološku aktivnost.
- Prekursor T3 i T4 je tireoglobulin, veliki, jodirani, glikozilirani protein sa molekulskom masom oko 660kDa. Tireoglobulin se sastoji od dve subjedinice. Sadrži 115 ostataka tirozina od kojih svaki predstavlja potencijalno mesto jodinacije.

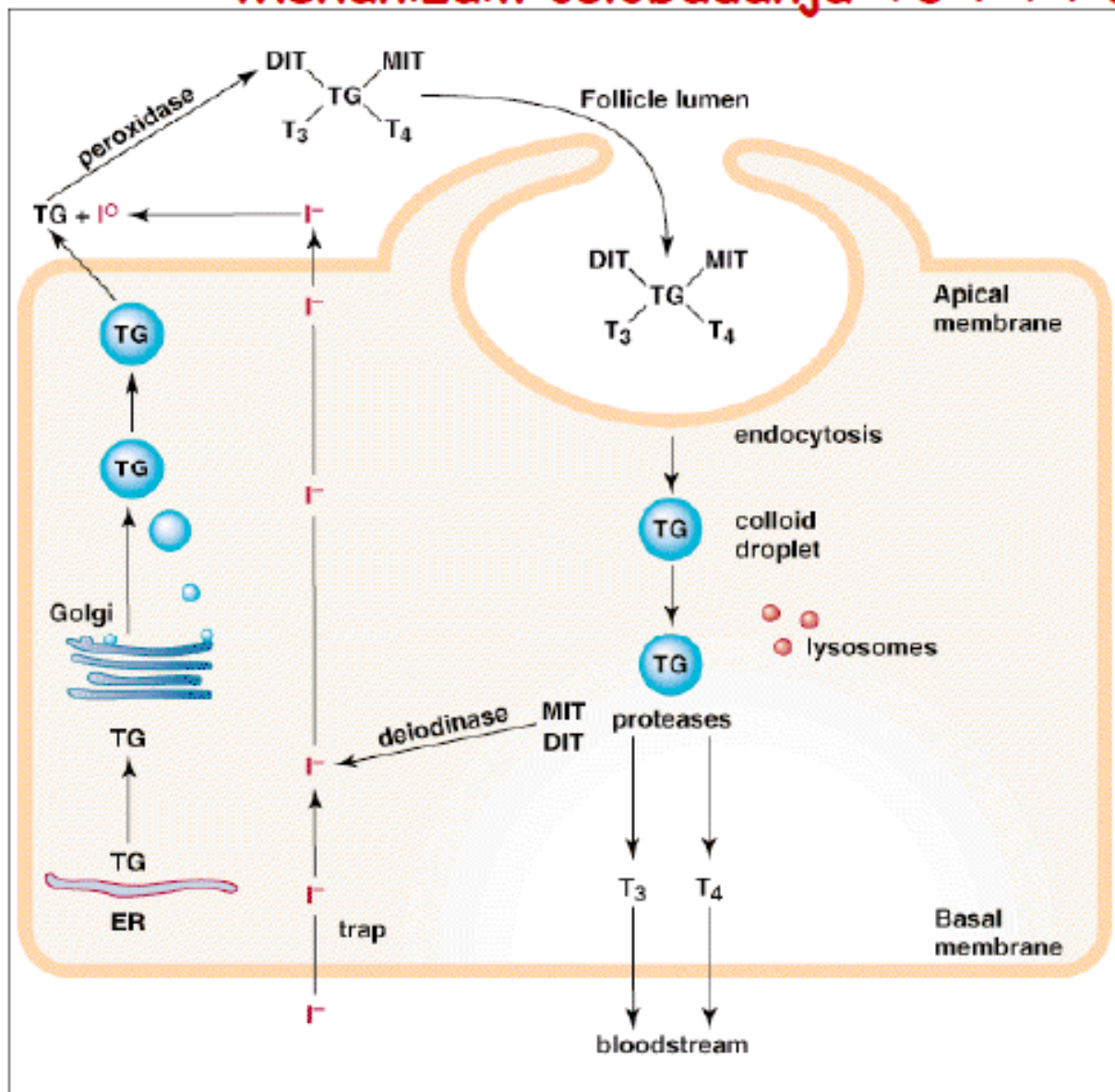
- Tireoglobulin se sastoji od 5000 amino kiselina koje omogućavaju uspostavljanje odgovarajuće konformacije neophodne za povezivanje bočnih lanaca tirozina i organifikaciju joda u procesu sinteze hormona.
- Tireoglobulin je prohormon.
- Sintetiše se u bazalnim delovima tireocita, zatim se prebacuje u lumen folikula gde u formi ekstracelularnog koloida predstavlja skladišnu formu T3 i T4.
- U normalnoj štitastoj žlezdi postoje zalihe hormona za nekoliko nedelja.

KONTROLA SEKRECIJE TIROIDNIH HORMONA

- Unutar nekoliko minuta posle stimulacije štitaste žlezde sa TSH (ili cAMP), dolazi do značajnog povećanja mikrovila na apikalnoj membrani.
- Ovaj, od mikrotubula zavistan proces, dovodi do zahvatanja tireoglobulina koji se procesom pinocitoze vraća nazad u folikularne ćelije.
- Nastali fagozomi se fuzionišu sa lizozomima i grade fagolizozome.
- Unutar ove strukture različite proteaze i peptidaze hidrolizuju tireoglobulin do amino kiselina uključujući jodotironine.
- T₄ i T₃ se oslobađaju sa bazalnog dela ćelije verovatno olakšanom difuzijom u krv.



Mehanizam oslobađanja T3 i T4 u cirkulaciju

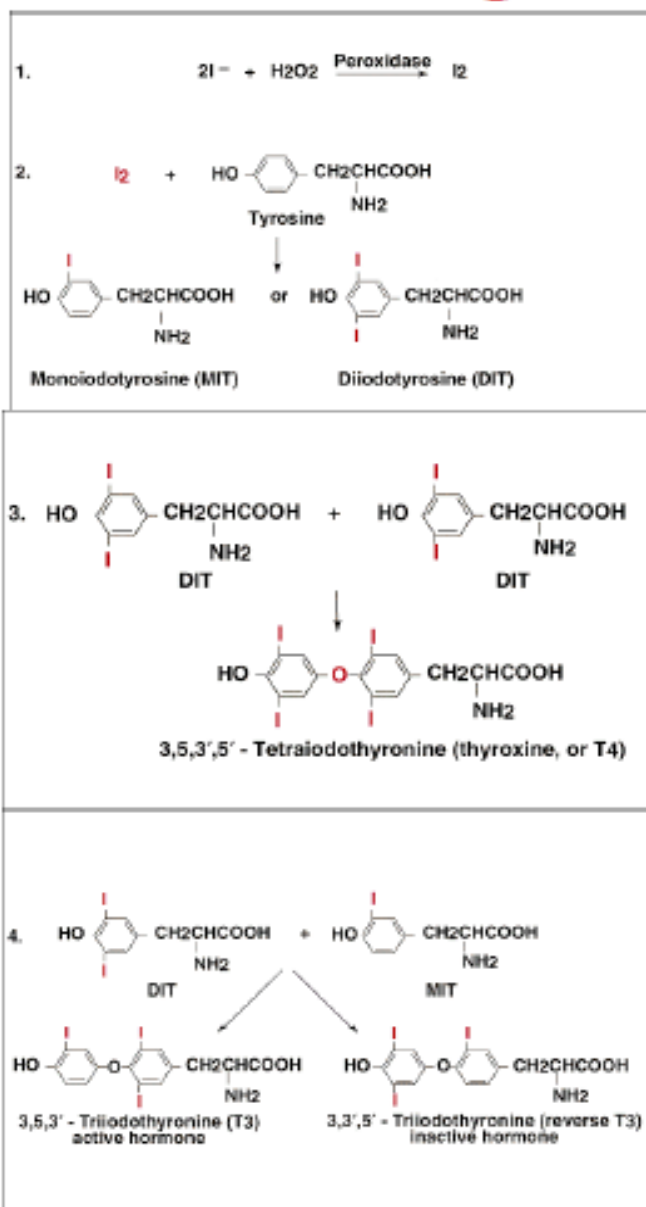


"Hvatanje" jodida na bazalnoj membrani dovodi do njegovog koncentrovanja 30X.

Da bi došlo do sekrecije neophodna je endocitoza tireoglobulina i sledstvena proteoliza.

Neiskorišćeni MIT i DIT se dejodinišu (dejodinaza, NADPH zavistan enzim koji se nalazi u bubregu i u jetri) i oslobođeni joni jodida ponovo koriste za sintezu hormona

Sinteza jodotironina



U acinusnim ćelijama štitaste žlezde sintetišu se T3 i T4:

1. Transport I_2 iz krvi nasuprot koncentracionom gradijentu

Štitasta žlezda može da vrši koncentrisanje I^- nasuprot elektrohemijском gradijentu. Jodna pumpa zahteva energiju i povezana je sa Na^+, K^+ -ATPazom. Regulisana je primarno sa TSH.

Oksidacija joda se odvija pod delovanjem enzima tireoperoksidaze. Vodonik peroksid neophodan za ovu reakciju se proizvodi pomoću NADPH zavisnog enzima.

2. Jodinacija tirozil ostatak na tireoglobulinu

Oksidovani jod reaguje sa tirozinom u tireoglobulinu i nastaju monojod tirozin (MIT, 3) i diiod tirozin (DIT, 3 i 5). U reakciju je verovatno uključena tireoperoksidaza

3. Spajanje dva molekula diiodotirozina u T4

4. Spajanje monojodo- i diiodotirozina u T3 i T4

Povezivanje dva DIT i stvaranje T4 ili povezivanje MIT i DIT i stvaranje T3 se odigrava u molekulu tireoglobulina. Smatra se da i ovu reakciju katališe tireoperoksidaza.

- Najveći deo cirkulišućih hormona štitaste žlezde se vezuje za dva specifična vezujuća proteina:
 - tiroksin-vezujući globulin (TBG) i
 - tiroksin-vezujući prealbumin (TBPA).
- Kvantitativno je značajniji TBG koji vezuje T4 i T3 sa sto puta većim afinitetom od TBPA.
- Pod normalnim uslovima TBG vezuje nekovalentno skoro sav T3 i T4 u plazmi (70%)
- Mala frakcija **nevezanih (slobodnih) hormona** je odgovorna za biološku aktivnost hormona (0,03% ukupnog T4 i 0,3% ukupnog T3).

Poluživot u plazmi je 1-1,5 dan (T3) odnosno 7 dana (T4).

Inaktivacija tiroidnih hormona

- Tiroidni hormoni se metabolišu potpunom dejodinacijom, deaminacijom ili dekarboksilacijom.
- Vezivanjem za glukuronide i sulfate u jetri dolazi do stvaranja hidrofilnijeg molekula koji se ekskretuje u žuč, reapsorbuje u crevima, dejodira u bubregu (dejodinaza, NADPH zavistan enzim koji se nalazi u bubregu i u jetri) i konjugovan sa glukuronidima izlučuje urinom.
- Razgrađuju se u jetri, bubregu, mišiću i drugim tkivima gde dejodinacijom nastaju neaktivni proizvodi.

Mehanizam delovanja

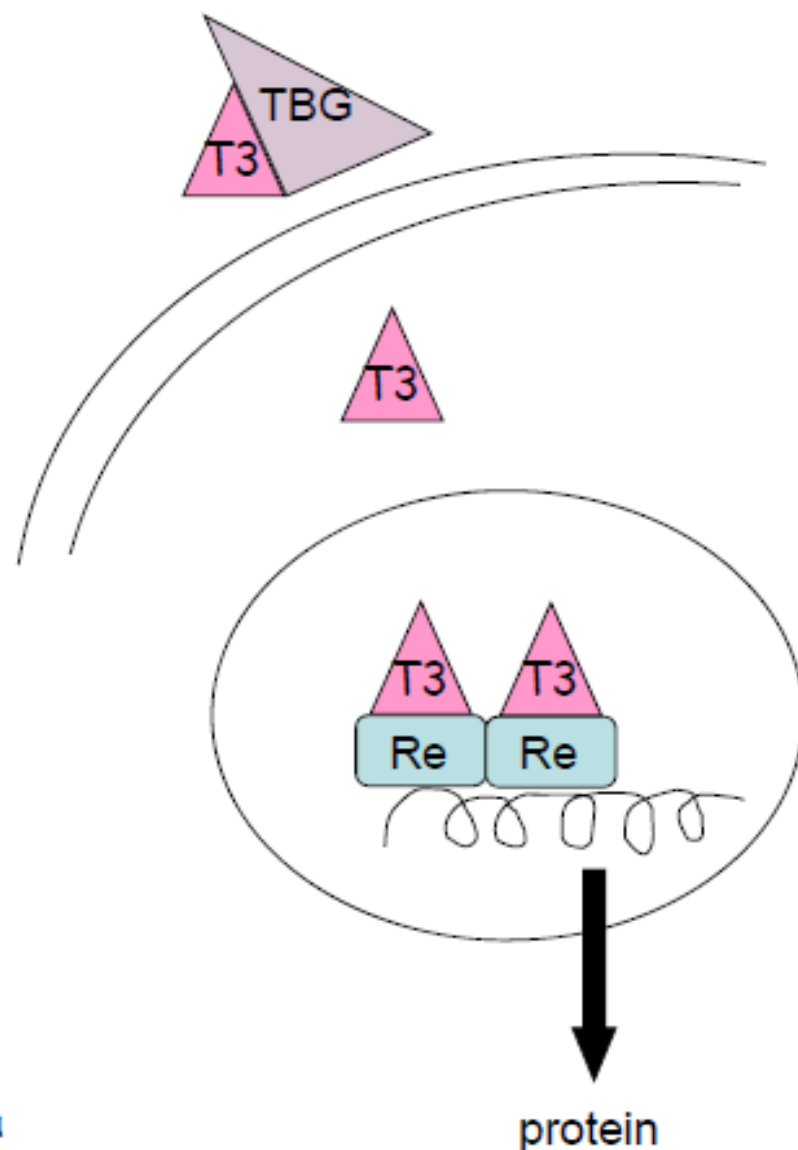
Tiroidni hormoni su liposolubilni i vezuju se za specifične receptore visokog afiniteta koji se nalaze u jedru ciljnih ćelija.

T3 se vezuje sa oko 10 puta većim afinitetom od T4 i ima proporcionalno veću biološku aktivnost.

Na periferiji oko 80% cirkulišućeg T4 prelazi u T3- odgovoran za najveći deo produkcije T3.

Hormon receptor kompleksi grade dimere, koji intereaguju sa DNK i utiču na proces genske ekspresije.

Tiroidni hormoni se vezuju i za receptore u citoplazmi koji imaju mnogo manji afinitet. Ovi receptori verovatno služe da se tiroidni hormoni zadrže u blizini



Efekti tiroidnih hormona

- U najvećem broju tkiva (izuzev mozga, slezine i testisa) tiroidni hormoni povećavaju metabolički obrt **povećavanjem broja i veličine mitohondrija, indukcijom sinteze enzima respiratornog lanca, povećanjem koncentracije Na/K-ATPaze u membrani i propustljivosti za Na^+ i K^+ .**
- S obzirom da oko 15-40% energije u bazalnim uslovima u ćelijama troši na aktivnost Na/K-ATPaze, pod uticajem hormona štitaste žlezde dolazi do značajnog povećanja bazalnog metabolizma (bazalni metabolizam se može povećati i za 100% u prisustvu viška hormona i smanjiti za 50% u slučaju deficijencije).

Metabolički efekti hormona štitaste žlezde

Jetra:

- ↑ glikolizu i sintezu holesterola, ↑ konverziju holesterola u žučne soli.
- ↑ osetljivost hepatocita na efekte kateholamina (glukoneogeneza i glikogenoliza), pa indirektno ↑ dobijanje glukoze u jetri
- ↑ dopremanje MK u jetru, i indirektno ↑ sintezu triacilglicerola, uz ↑ iskorišćavanje glicerola za glukoneogenezu. ↑

Masno tkivo:

Povećava osetljivost masnog tkiva na lipolitičko dejstvo kateholamina. Takođe ↑ dostupnost glukoze adipocitima, gde je prekursor za sintezu MK i glicerol-3-fosfata. Ipak, na lipogenezu prevashodno utiču dostupnost glukoze i insulin, a ne T3

Mišić:

U fiziološkim koncentracijama, ↑ transport glukoze u mišić. Takođe ↑ sintezu proteina i rast mišića, simultanim dejstvom na gensku ekspresiju. U fiziološkim koncentracijama, senzibiliše mišićne ćelije na glikogenolitičko dejstvo kateholamina i ↑ glikolizu u mišiću

Pankreas

Povećava osetljivost β -ćelija na stimuluse koji normalno dovode do sekrecije insulina

Kalorigeni efekti

Tokom oksidacije hranljivih materija, deo energije se oslobađa u vidu toplote.

T3 povećava proizvodnju toplote delovanjem na kataboličke puteve.

T3 i T4 senzibilizuju simpatički nervni sistem na stimulatorni efekat hladnoće, što dovodi do oslobađanja noradrenalina.

Noradrenalin deluje na smeđe masno tkivo i mišić menjajući propustljivost za Na^+ , što, zauzvrat, povećava aktivnost Na^+, K^+ ATP-aze, potrošnju ATP-a i dalje stimuliše oksidaciju hranljivih materija.

Hormon	Uloga	Najvažniji metabolički putevi na koje utiče
Insulin	Pospešuje deponovanje hranljivih materija nakon obroka Pospešuje rast	Stimuliše deponovanje glukoze u obliku glikogena Stimuliše sintezu MK i deponovanje Stimuliše preuzimanje AK i sintezu proteina
glukagon	Mobilizacija hranljivih materija Održava glikemiju između obroka	Aktivira glukoneogenezu i glikogenolizu Aktivira oslobađanje MK iz masnog tkiva
adrenalin	Mobilizacija hranljivih materija tokom akutnog stresa	Stimuliše dobijanje glukoze iz glikogena Stimuliše oslobađanje MK iz masnog tkiva
kortizol	Obezbeđuje prilagođavanje promenljivim potrebama tokom dužeg perioda	Stimuliše mobilizaciju AK iz proteina mišića Stimuliše glukoneogenezu Stimuliše oslobađanje MK iz masnog tkiva

POREMEĆAJ FUNKCIJE ŠTITASTE ŽLIJEZDE

HIPERTIREOIDIZAM

- *hipermetabolizam, gubitak tjelesne mase, prevelika vrućina, znojenje, uznemirenost, - azotni bilans*
- *Bazedovljeva bolest – egzoftalmus, u krvi visoke koncentracije T3 i T4 a snižen TSH*

HIPOTIREOIDIZAM

- *Najčešće poslije 40 godine života, primarni ili sekundarni*
- *Primarni – kretinizam*
- *Sekundarni – MIXEDEM – usporen bazalni metabolizam, osjetljivost na nisku temperaturu, hipoglikemija, povećanje tjelesne težine, hiperholesterolinemija, edemi ruku i nogu zbog nakupljanja mukopolosaharida u potkožno tkivo, mentalna apatija, hipertenzija*

ENDEMSKA GUŠAVOST

- *Nedostatak joda u hrani, karakteristika pojedinih lokaliteta*







HORMONI KOJI REGULIŠU METABOLIZAM KALCIJUMA

parathormon, kalcitonin, vitamin D

Hormoni koji deluju na metabolizam Ca^{2+}

I ako unos Ca^{2+} može veoma varirati, njegove unutarćelijske i vanćelijske koncentracije se održavaju konstantnim. U EĆT, $[\text{Ca}^{2+}]$ je 10000-12000 puta veća nego unutar ćelije.

Povećanje $[\text{Ca}^{2+}]$ u ćeliji je zajednički imenitelj za smrt ćelije, bez obzira na ono što ga je izazvalo.

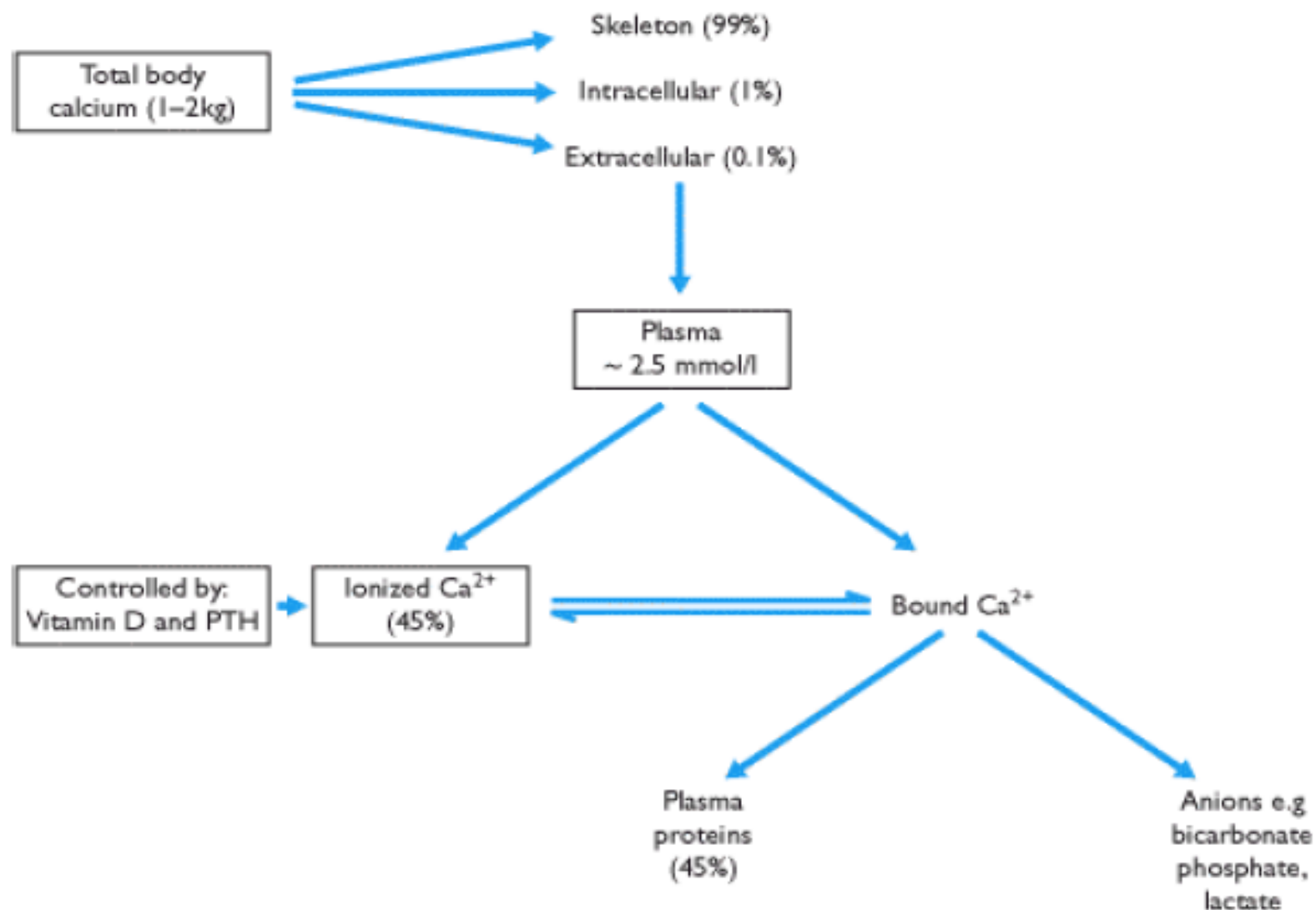
U održanju $[\text{Ca}^{2+}]$ u EĆT, kao i u ćeliji, učestvuju

- ☐ Paratireoidni hormon
- ☐ Kalcitonin, kao i
- ☐ $1,25\text{-(OH)}_2 \text{D}_3$, čija aktivacija zavisi od odnosa prethodna dva hormona

Ovi hormoni deluju na ciljna tkiva (kost, tanko crevo, bubreg)

Postoji negativna povratna sprega između “slobodnog” Ca^{2+} u plazmi i sinteze i sekrecije ovih hormona

Distribucija kalcijuma u organizmu



Joni kalcijuma učestvuju u: neuromišićnoj ekcitaniji, koagulaciji krvi, procesima sekrecije, transportu i održavanju integriteta plazma membrane, enzimskim reakcijama, lučenju hormona i oslobađanju neurotransmitera.

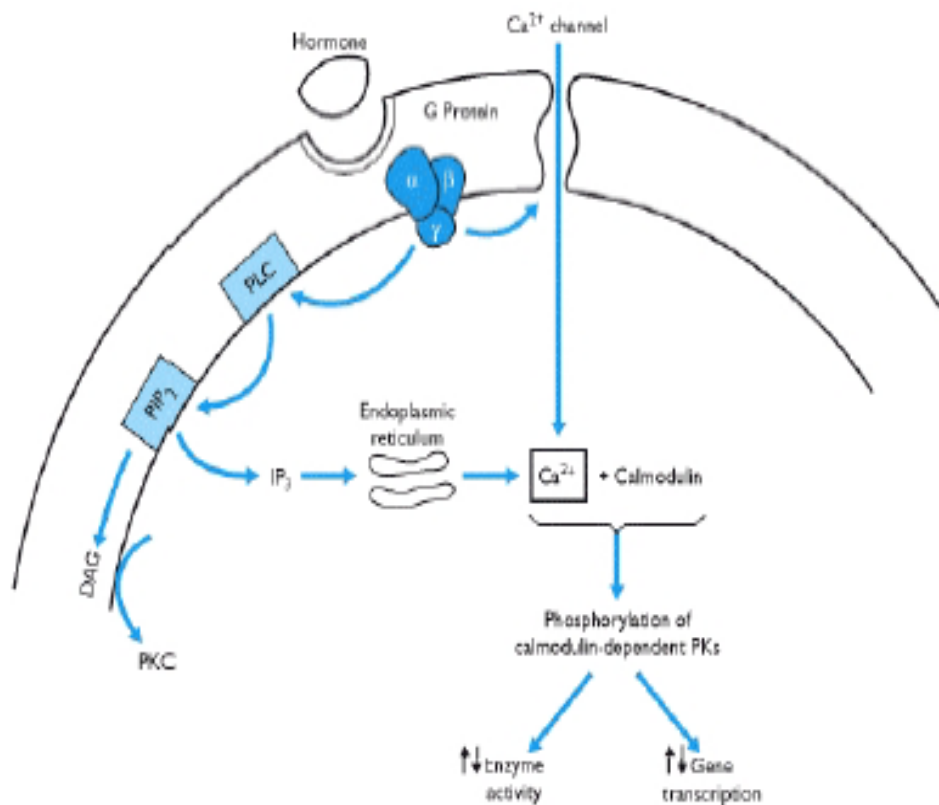
U plazmi se nalazi u tri oblika:

1. U kompleksima sa organskim kiselinama
2. Vezan za proteine
3. Jonizovan (1,1- 1,3mmol/l)

Promene u konc. proteina dovode do paralelne promene konc. Ca^{2+} . Vezivanje kalcijuma za proteine zavisi i od pH. Tako npr acidoza pogoduje jonizaciji čime povećava koncentraciju jonizovanog kalcijuma dok alkalozu povećava vezivanje Ca^{2+} za proteine i time snižava koncentraciju jonizovanog Ca^{2+} .

Homeostaza kalcijuma- koncentracioni gradijent između vanćelijske i unutarćelijske tečnosti je 1000- unutarćelijski posrednik.

Kalcijum kao sekundarni glasnik



Konc Ca^{2+} u ćeliji $\sim 0.1 \mu\text{mol/l}$

Kao odgovor na određeni stimulus, unutarćelijska koncentracija kalcijuma se povećava 10-100 puta.

Formira se kalcijum-kalmodulin kompleks

Aktivacija protein kinaze C...
aktivacija unutarćelijskih kinaza
....MEK-MAPK

Dolazi do prolaznog odgovora-
mišićna kontrakcija, fosforilacija
enzima...

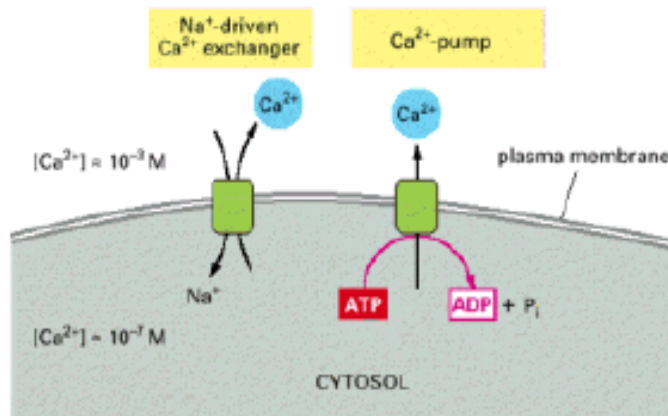
Ca²⁺ u ćeliji

Koncentracija Ca²⁺ u ćeliji se održava u submikromolarnom intervalu (u EĆT je to mmol).

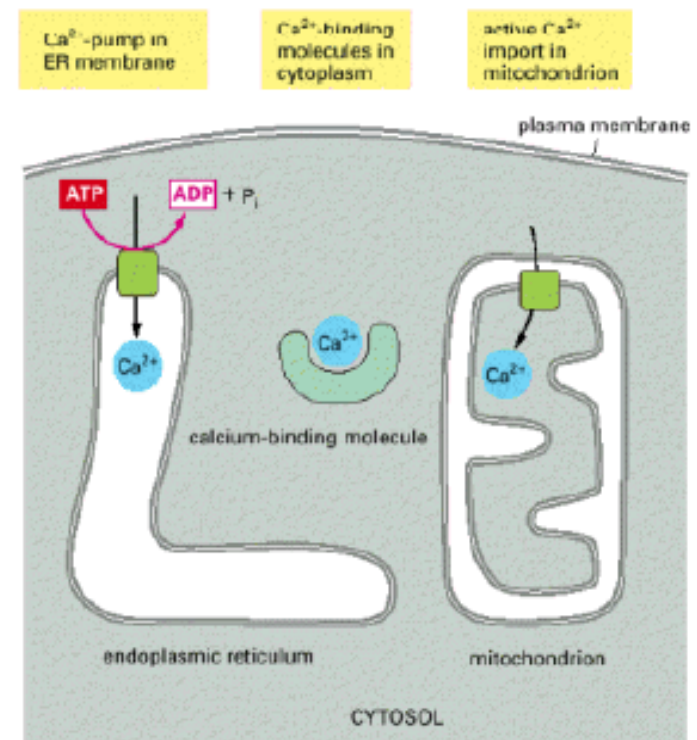
Ca²⁺ se konstantno uklanja iz citosola u EĆT, kao i u subćelijske organele

Ca²⁺-ATP-aza transporter na ćelijskoj i membrani endoplazmatskog i sarkoplazmatskog retikuluma

Ca²⁺, Na⁺ antiporter na ćelijskoj i mitohondrijalnoj membrani



(A)

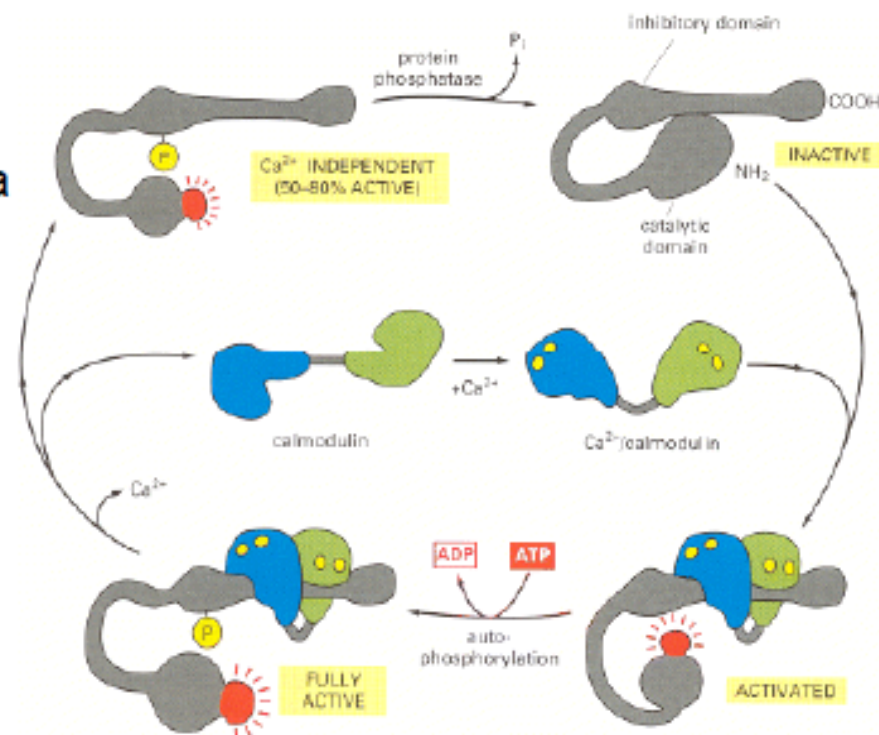


(B)

Proteini koji vezuju Ca^{2+}

Kalmodulin

Ca^{2+} zavisni regulatorni protein, ima 4 mesta za vezivanje Ca^{2+} . Vezivanje Ca^{2+} dovodi do konformacione promene, što omogućava da kalmodulin aktivira enzime ili jonske kanale



Pored kalmodulina, i troponin-tropomiozin proteini vezuju kalcijum, pre svega na mestu kontakta sa motornim proteinima, aktinom i miozinom, sprečavajući njihov međusobni kontakt

Fosfati- u organizmu, na fiziološkom pH se uglavnom nalaze u obliku HPO_4^{2-} i H_2PO_4^- koji se zajednički označavaju kao Pi (neorganski fosfat).

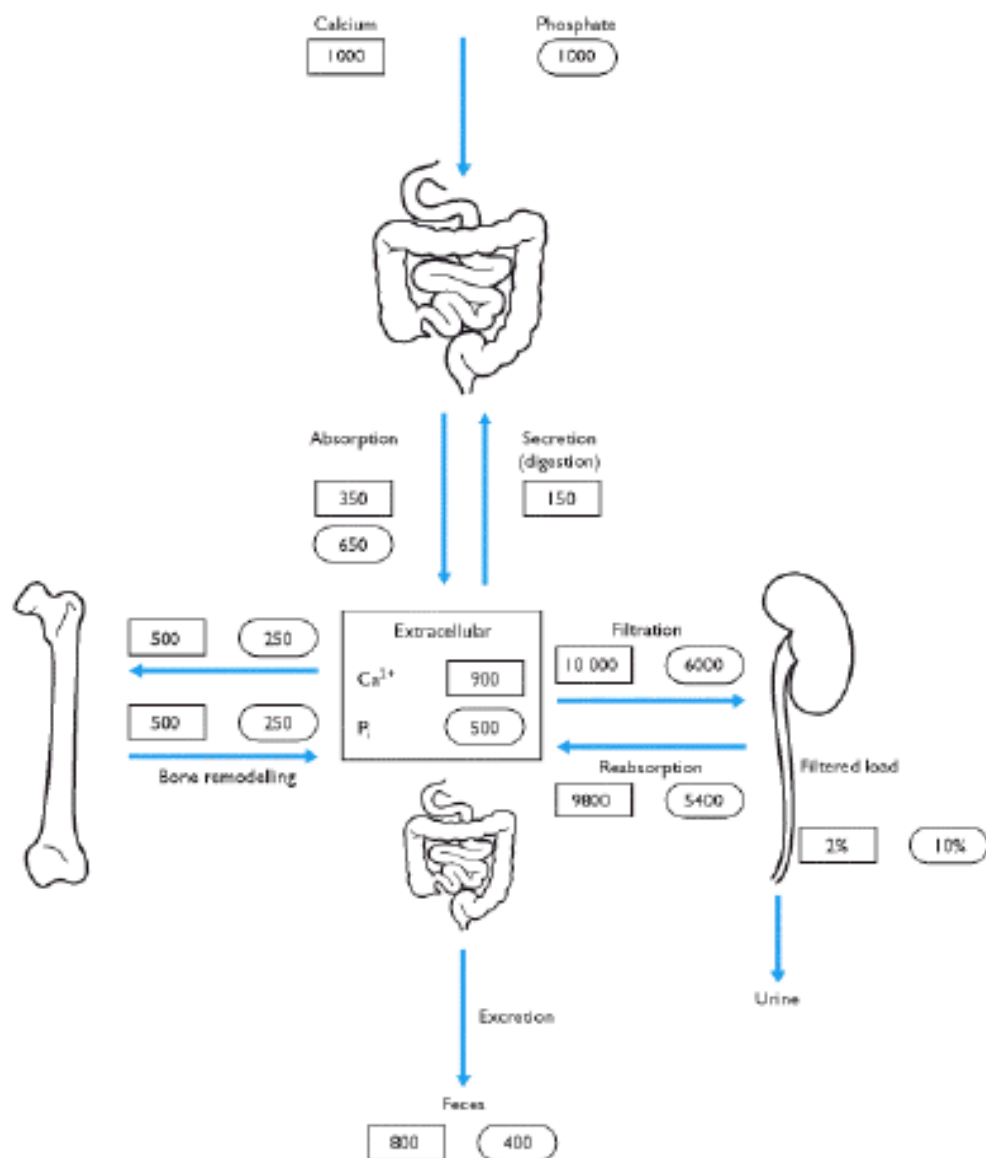
Fosfat je esencijalan za:

- ☐ Sintezu visokoenergetskih jedinjenja (ATP, kreatin fosfat)
- ☐ Unutarćelijski prenos signala- sekundarni glasnik kao cAMP i IP3
- ☐ Za strukturu DNK, RNK i fosfolipida
- ☐ Značajan je unutarćelijski anjon koji održava ravnotežu katjonima K^+ i Mg^{2+}

Kosti sadrže oko 85% fosfata a manje od 5% se nalazi u ćelijama i manje od 0.03% u serumu

Vanćelijska koncentracija fosfata je obrnuto proporcionalna koncentraciji kalcijuma zbog čega se homeostaza dva jona reguliše recipročno istim hormonima.

Dnevni “obrt” kalcijuma i fosfata (unos 1000mg)



Normalan dnevni unos Ca^{2+} u organizam- 1000mg

Normalan dnevni unos fosfata u organizam- 800-1500mg

Homeostaza fosfata se primarno reguliše na nivou bubrega:

□GF fosfata

□Reapsorpcija 80% filtriranog fosfata

Fosfati se kroz luminalnu stranu epitelnih ćelija tubula resorbuju $\text{Na}^+/\text{PO}_4^{3-}$ kotransporterom a kroz bazolateralnu stranu pasivno.

Maksimalna brzina reapsorpcije fosfata varira: ako se poveća unos fosfata, smanjuje se i obrnuto.

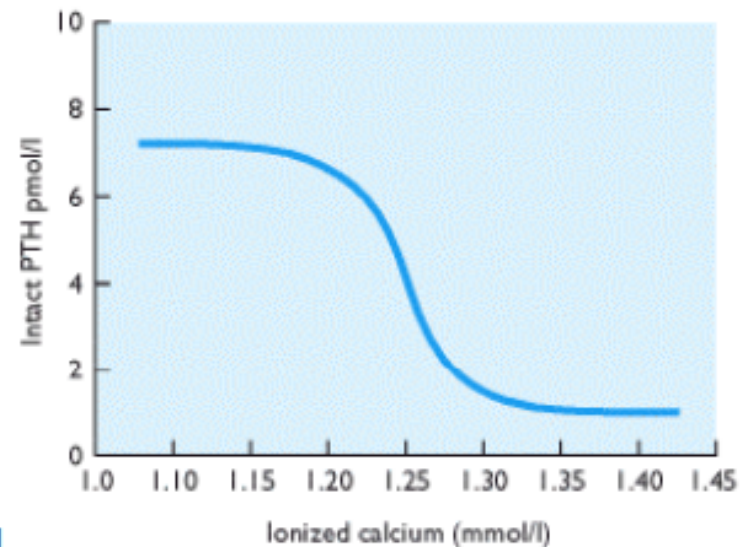
U slučaju hronične insuficijencije bubrega, pacijenti ne mogu da ekskretuju fosfate, P_i se akumulira u organizmu. Ovaj P_i stvara komplekse sa Ca^{2+} čime smanjuje koncentraciju jonizovanog Ca^{2+} - dolazi do sekundarnog hiperparatireoidizma.

↓ [Ca²⁺] u plazmi

U uslovima ↓ [Ca²⁺] u plazmi, hipokalcemični stimulus dovodi do ↑ sekrecije PTH iz glavnih ćelija paratireoidne žlezde i ↓ sekrecije kalcitonina iz parafolikularnih ćelija štitaste žlezde. Usled toga dolazi do

↑ resorpcija Ca²⁺ i ↑ resorpcija PO₄²⁻ u kostima,
↓ izlučivanja Ca²⁺ u bubrezima i
↑ apsorpcije Ca²⁺ u tankom crevu

Pored toga, PTH stimuliše prevođenje 25-(OH)D₃ u 1,25-(OH)₂D₃ u bubrezima, što dovodi do povećanja sinteze Ca²⁺-transportnog proteina u tankom crevu, što dalje omogućava bolju resorpciju Ca²⁺



↑ $[Ca^{2+}]$ u plazmi

Usled ↑ $[Ca^{2+}]$ u plazmi nešto iznad normalnih vrednosti, suprimirana je sekrecija PTH i sekretuje se CT. Usled toga dolazi do

↓ resorpcija Ca^{2+} i ↓ resorpcija PO_4^{2-} u kostima,

↑ izlučivanja Ca^{2+} u bubrezima i

↓ apsorpcije Ca^{2+} u tankom crevu

Ovi procesi se nastavljaju sve dok ne dođe do ponovne normalizacije $[Ca^{2+}]$ u plazmi

Sve ove promene se odvijaju unutar sekundi, i omogućavaju održavanje koncentracije slobodnog Ca^{2+} u plazmi u vrlo uskim granicama, uprkos varijacijama u dnevnom unosu.

Hormoni uključeni u kontrolu koncentracije kalcijuma i fosfata

PTH, vitamin D i kalcitonin

PTH i vitamin D dovode do povećanja koncentracije serumskog Ca^{2+} delovanjem na nivou GIT-a, bubrega i kostiju.

Kalcitonin snižava koncentraciju serumskog kalcijuma.

HOMEOSTAZA KALCIJUMA

POVEĆANJE

❖ Vitamin D3

❖ PTH

SMANJENJE

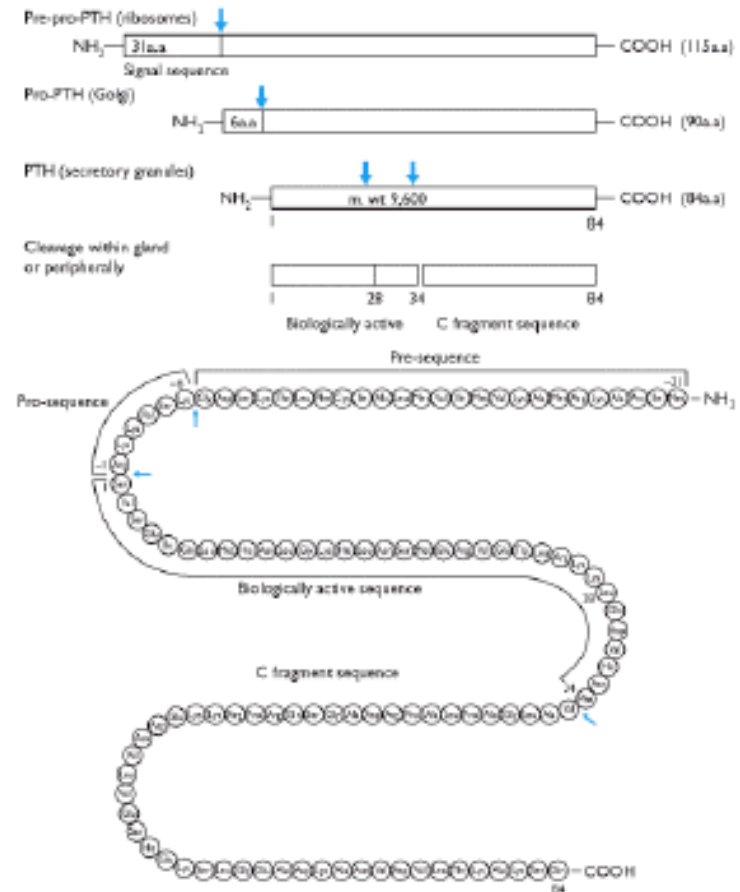
❖ Kalcitonin

Parathormon

- Paratiroidni hormon je protein koji je građen iz 84 amino kiseline i ne sadrži ugljene hidrate ili druge kovalentno vezane molekule.
- Sintetišu ga i sekretuju glavne ćelije paratiroidne žlezde.
- Za punu biološku aktivnost je odgovorna aminoterminalna trećina molekula (34 AK na NH₂ kraju).
- Fragmenti od 34AK takođe imaju biološku aktivnost
- PTH i fragmenti se sekretuju u krv kao odgovor na smanjenje koncentracije Ca⁺⁺ u plazmi (kontrola po tipu negativne povratne sprege)
- Po izlučivanju u krv, aktivan PTH se inaktivira proteolizom
- Mehanizam dejstva- PTH + Re na plazma membrani (GIT, bubreg, kosti) stimuliše aktivnost adenilat ciklaze, dolazi do porasta cAMP ili preko sistema PIP₂
- Sekretuje se kao odgovor na pad koncentracije jonskog kalcijuma ispod donje granice referentnog intervala-manje od 1,1 mol/l
- Efekte ostvaruje na nivou kostiju i bubrega

Parathormon

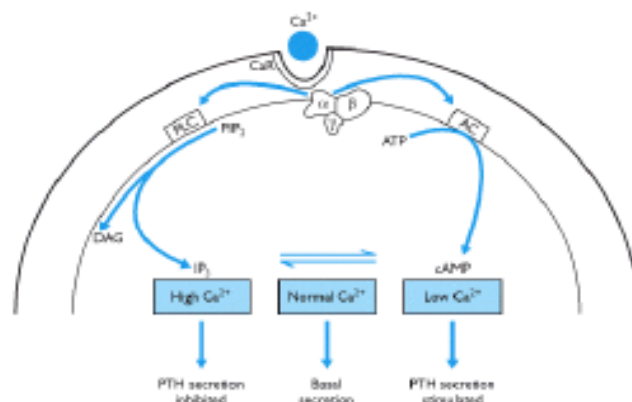
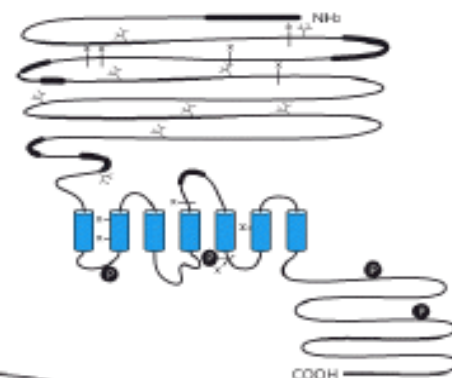
- PTH se sintetishe kao prekursor od 115 amino kiselina – **preproPTH**.
- U granulisanom endoplazmatskom retikulumu se otcepljuje sekvenca od 25 amino kiselina na amino terminalnom kraju i nastaje **proPTH**.
- U nivou Goldžijevog aparata se iseca i sekvenca od 6 amino kiselina sa amino terminalnog kraja i nastaje zreli **PTH**.
- PTH oslobođen iz Goldžijevog aparata može biti:
 - transportovan u skladišni pul,
 - degradiran ili
 - odmah sekretovan iz ćelije.
- Vreme pluzivota je 4 minuta



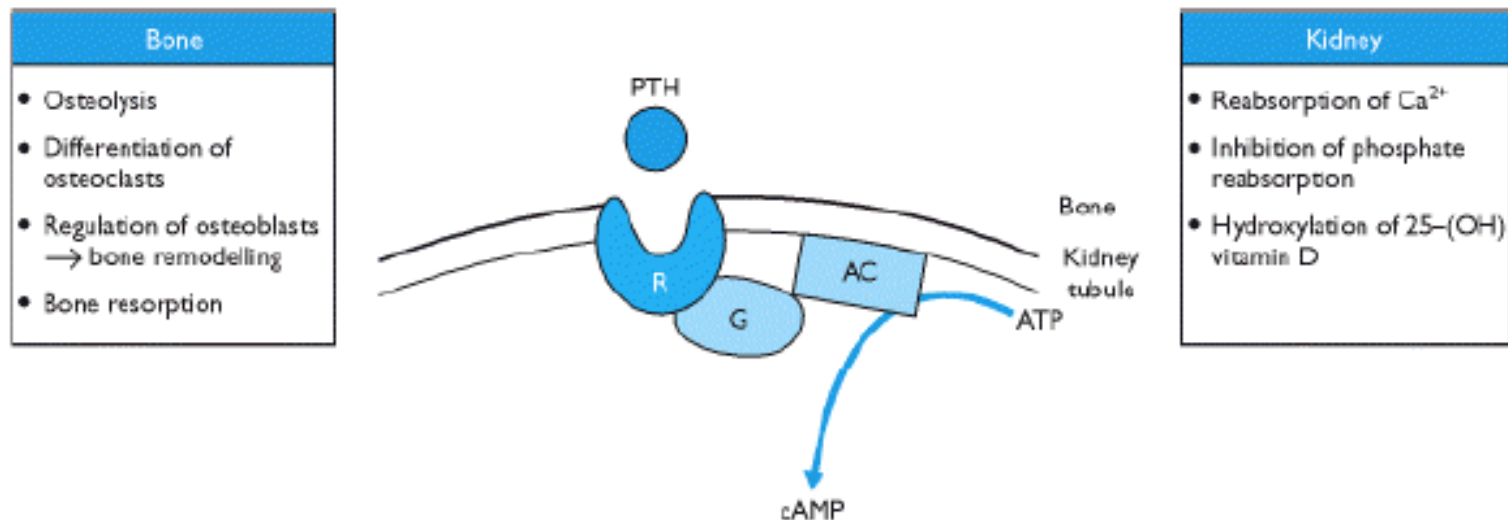
- Promene u koncentraciji Ca^{2+} u cirkulaciji se detektuju i utiču na sekreciju PTH mehanizmom negativne povratne sprege. – kontrola razgradnje više nego kontrola sinteze.
- Glavne ćelije detektuju koncentraciju Ca^{2+} u cirkulaciji preko jedinstvenog **kalcijumskog receptora** koji je vezan za G-protein.
- **Povećanje vezivanja kalcijuma** stimuliše **fosfolipazu C** i inhibira adenilat ciklazu.
- Povećava se koncentracija IP_3 i smanjuje koncentracija cAMP.
- **IP_3** dovodi do povećanja koncentracije citosolnog kalcijuma što redukuje oslobađanje PTH.
- Kada je koncentracija kalcijuma smanjena smanjuje se koncentracija IP_3 i povećava koncentracija cAMP što vodi povećanju sekrecije PTH

Structural features of the Ca^{2+} receptor

P Protein kinase C phosphorylation sites
 x Location of inactivating mutations of the receptor
 + Location of activating mutations of the receptor
 ~ Glycosylation sites



- PTH se vezuje za receptor u membrani osteoblasta u kostima i membrani tubularnih ćelija bubrega. PTH stimuliše osteoblaste da proizvode **faktore aktivacije osteoklasta** (parakrini signali: citokini, prostaglandini), a aktivirani osteoklasti započinju reapsorpciju kostiju.
- Receptor za PTH je protein koji ima **jedan transmembranski segment**. Interreakcija između hormona i receptora, **preko G-proteina**, aktivira **adenilat ciklazu** i dovodi do povećanja koncentracije **cAMP-a**.
- PTH povećava
 - reapsorpciju kalcijuma i fosfata iz kostiju
 - povećava ekskreciju fosfata i reapsorpciju kalcijuma u bubrezima
 - indirektno povećava reapsorpciju kalcijuma u gastrointestinalnom traktu
 - U bubregu stimuliše sazrevanje vitamina D



- PTH počinje da se razgrađuje oko 20 minuta pošto se sintetisao preproPTH tj, pošto sekretorne vezikule počnu da ulaze u prostor za skladištenje. U toku ove proteolitičke razgradnje, nastaju veoma specifični fragmenti molekula PTH (karboksilni krajevi PTH).
- U tkivu paratireoidne žlezde je pokazano prisustvo proteolitičkih enzima-katepsina
- Najviše proteolize PTH se odigra u samoj žlezdi
- U metabolizmu izlučenog PTH u periferiji učestvuju jetra i bubrezi (proteoliza u Kupfferovim ćelijama i uklanjanje nastalih fragmenata).

Paratireoidni hormon

Region	Efekat
Kost	Povećava oslobađanje Ca^{2+} iz kostiju stimulišući osteoklaste (indirektno, pošto osteoklasti nemaju receptor za PTH). Vezivanje, PTH stimuliše osteoblaste koji povećavaju ekspresiju RANKL, koji se vezuje za prekursore osteoklasta (poseduju RANKL receptor). Na ovaj način se ostvaruje indirektan efekat PTH na povećanu aktivnost osteoklasta.
GIT	Povećava apsorpciju Ca^{2+} iz GIT-a stimulisanjem aktivacije vitamina D. PTH dovodi do pozitivne regulacije enzima potrebnih za 1α hidroksilaciju i 25- hidroksilaciju vitamina D koji su neophodni za potpunu aktivaciju vitamina D. Vitamin D povećava količinu kalbidina (<i>calbindin</i>) proteina koji je odgovoran za apsorpciju Ca^{2+} iz lumena GIT-a.
Bubreg	Povećava aktivnu resorpciju Ca^{2+} i Mg^{2+} iz lumena distalnih tubula bubrega i nishodnog kraka henle ove petlje. Kako se kost razgrađuje, u cirkulaciju se oslobađa i Ca^{2+} i fosfat. Takođe, PTH povećava ekskreciju fosfata. Povećanjem odnosa kalcijum/fosfat, povećava se količina slobodnog Ca^{2+} u cirkulaciji.

RANKL (Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand). Povećana ekspresija kod RA i psoriatičnog artritisa.

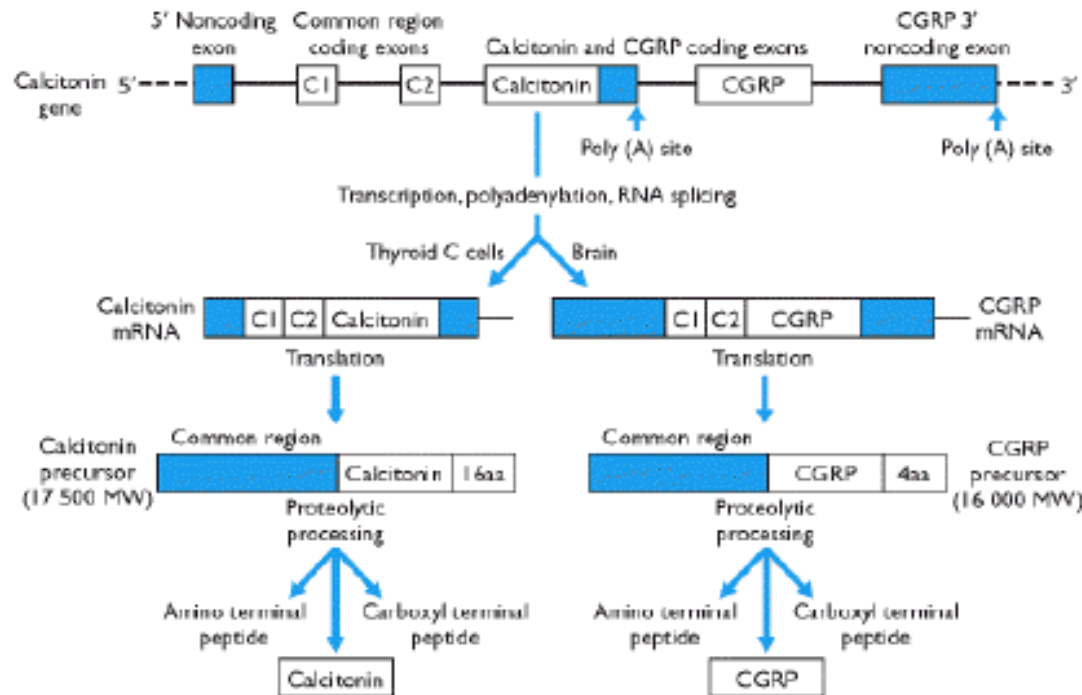
PTH slični proteini

- 139-173 amino kiselinska ostataka
- 8 AK na NH_2 kraju su identične sekvence sa PTH
- PTH i PTH slični proteini pokazuju kompeticiju prema receptorima na plazma membrani (isti mehanizam dejstva)
- Sintetišu se u različitim tkivima (keratinociti, mlečna žlezda u periodu laktacije, placenta, fetalna paratireoidna žlezda)
- Značajni su u regulisanju fluksa kalcijuma između maternalne i fetalne cirkulacije
- Ne utiču na C-1 hidroksilaciju tako da povećana koncentracija ovih peptida ne mora da bude udružena sa povećanom koncentracijom aktivnog vitamina D.

KALCITONIN

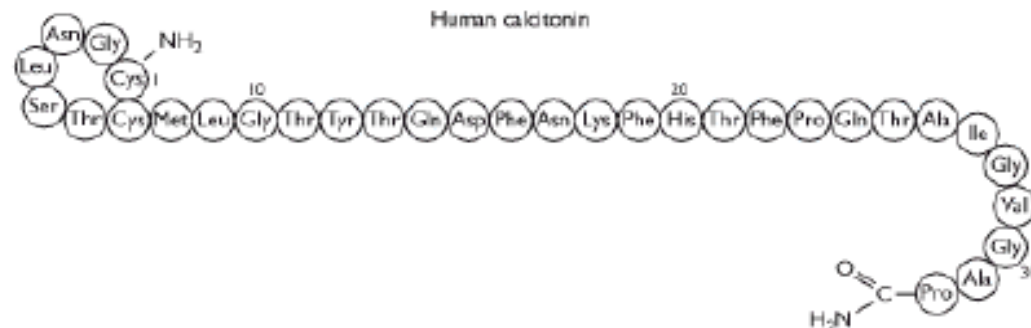
- Jedan polipeptidni lanac, 32AK, jedan SS most.
- Sve AK su neophodne za biološku aktivnost
- Sintetišu ga parafolikularne ćelije tiroidne žlezde
- SINTEZA: kalcitonin + katakalin
- Lučenje kalcitonina je obrnuto proporcionalno lučenju PTH a i jedno i drugo kontroliše koncentracija jonizovanog kalcijuma.
- Aktivnost kalcitonina je stimulisana povećanjem koncentracije Ca^{++} . On deluje na osteoklaste i suprimira njihovu osteolitičku aktivnost. To pospešuje odlaganje Ca^{++} i fosfata u kosti.

Kalcitonin



Sintetiše se u
parafolikularnim C
ćelijama štitaste žlezde
kod $\uparrow [Ca^{2+}]$ u plazmi

Ima značajnu ulogu u
metabolizmu fosfata
nezavisno od kalcijuma



Kalcitonin deluje na koncentraciju serumskog Ca^{2+} na tri načina:

1. Inhibira apsorpciju Ca^{2+} iz digestivnog trakta
2. Inhibira aktivnost osteoklasta u kostima
3. Inhibira reapsorpciju Ca^{2+} i fosfata na nivou tubula bubrega

Sekrecija kalcitonina je povećana:

- ☐ U uslovima povećanja koncentracije serumskog Ca^{2+}
- ☐ Pod dejstvom gastrina

Efekti kalcitonina

❑ Metabolizam kostiju:

Štedi Ca^{2+} iz kostiju u periodima u kojima se očekuje povećani gubitak Ca^{2+} , kao što su trudnoća, laktacija

❑ Regulacija serumskog kalcijuma

Sprečava postprandijalnu hiperkalcemiju koja nastaje kao rezultat apsorpcije Ca^{2+} tokom obroka

❑ Regulacija aktivnosti vitamina D

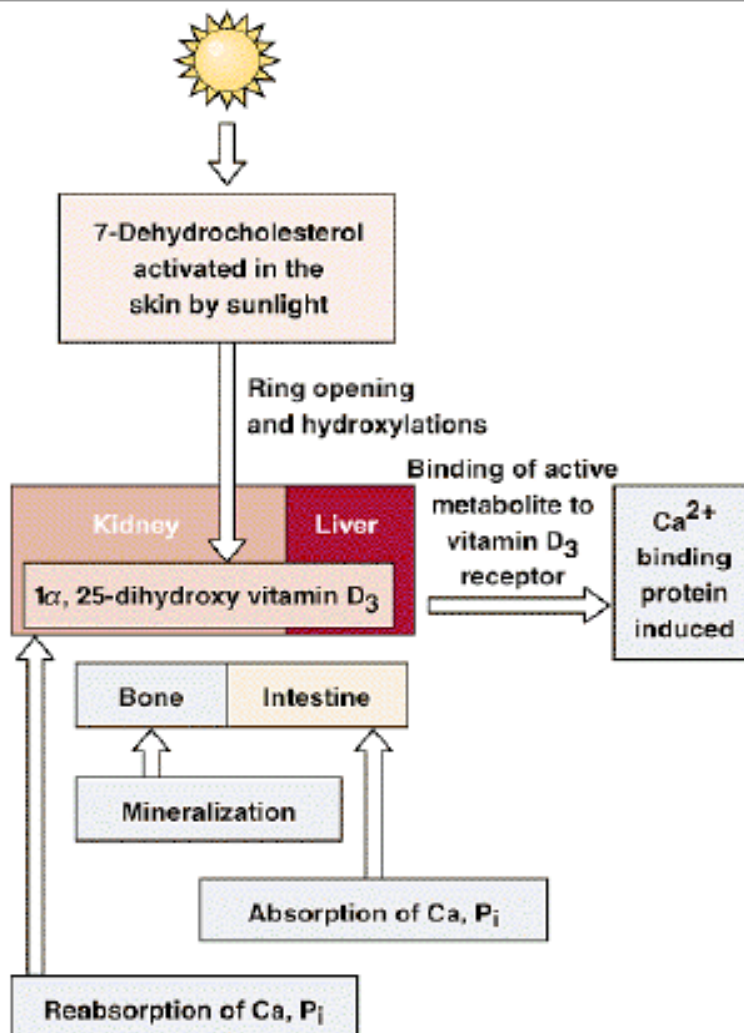
❑ Metabolički efekti:

Smanjuje uzimanje hrane kod pacova i majmuna

Može da ispolji delovanje na CNS koje će se odraziti na uzimanje hrane i apetit

Koristi se u terapiji hiperkalcemije i osteoporoze a značajan je i kao tumorski marker za tumor tiroidne žlezde (biopsija- poreklo metastaza).

Vitamin D- kalcitriol



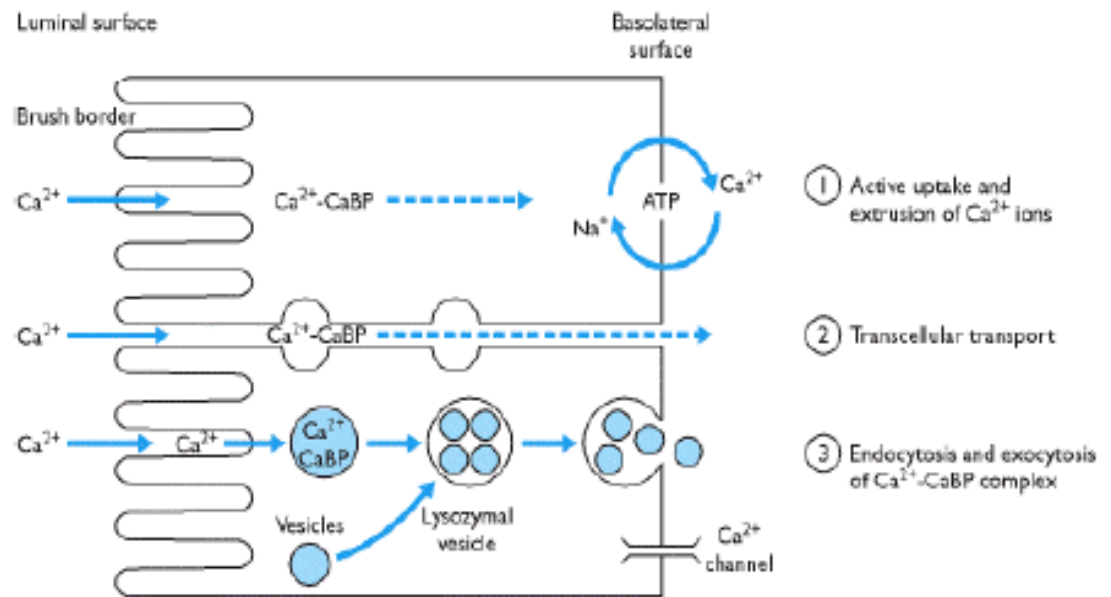
Kalciferoli su familija steroida koja ima značajnu ulogu u metabolizmu Ca²⁺.

Holekalciferol nastaje u koži, podleže hidroksilaciji u jetri potom u bubrežima

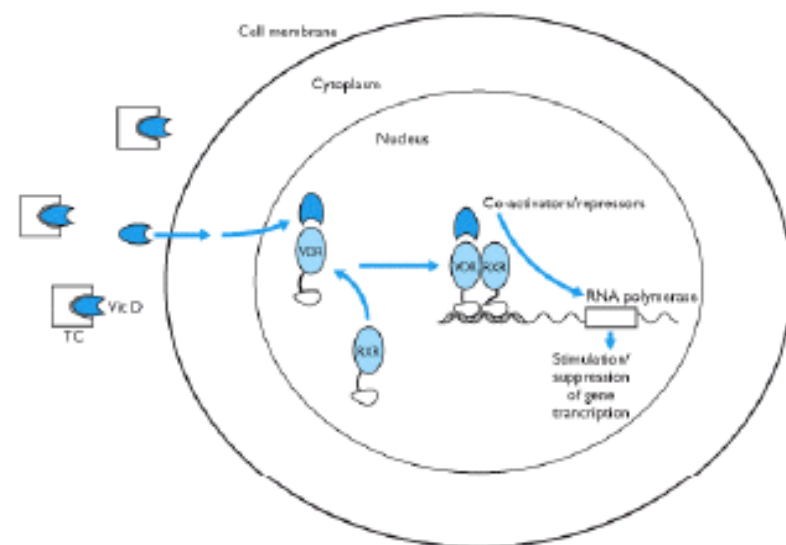
- Male količine vitamina D se unose hranom (D3 holekalciferol, D2 ergokalciferol) ali najveća količina nastaje u epidermu iz 7-dehidroholesterolu pod uticajem UV zračenja pri čemu dolazi do neenzimske reakcije fotolize.

Kalcitriol

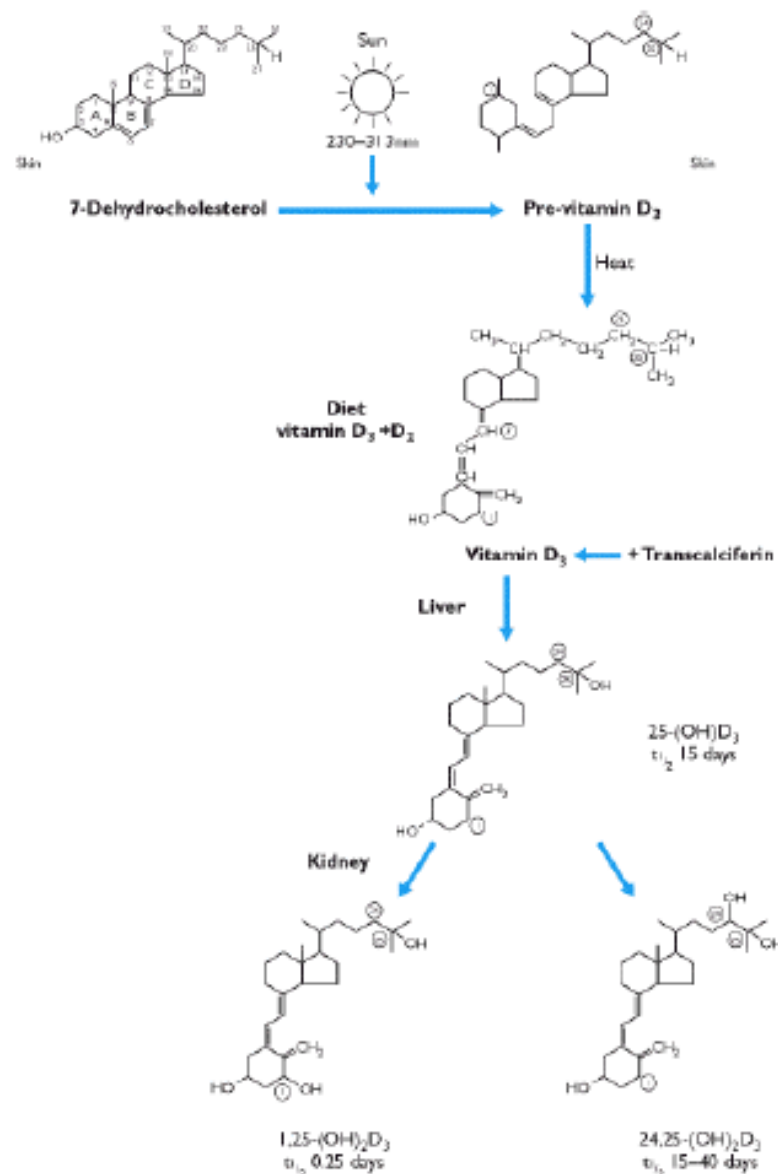
- Kalcitriol je jedini hormon koji utiče na **povećanje translokacije kalcijuma** nasuprot gradijentu koncentracije koji postoji na membrani intestinalnih ćelija.
- Sinteza kalcitriola je fino regulisana tako da se koncentracija kalcijuma u ekstraćelijskoj tečnosti održava uprkos značajnim varijacijama koncentracije kalcijuma u ishrani.



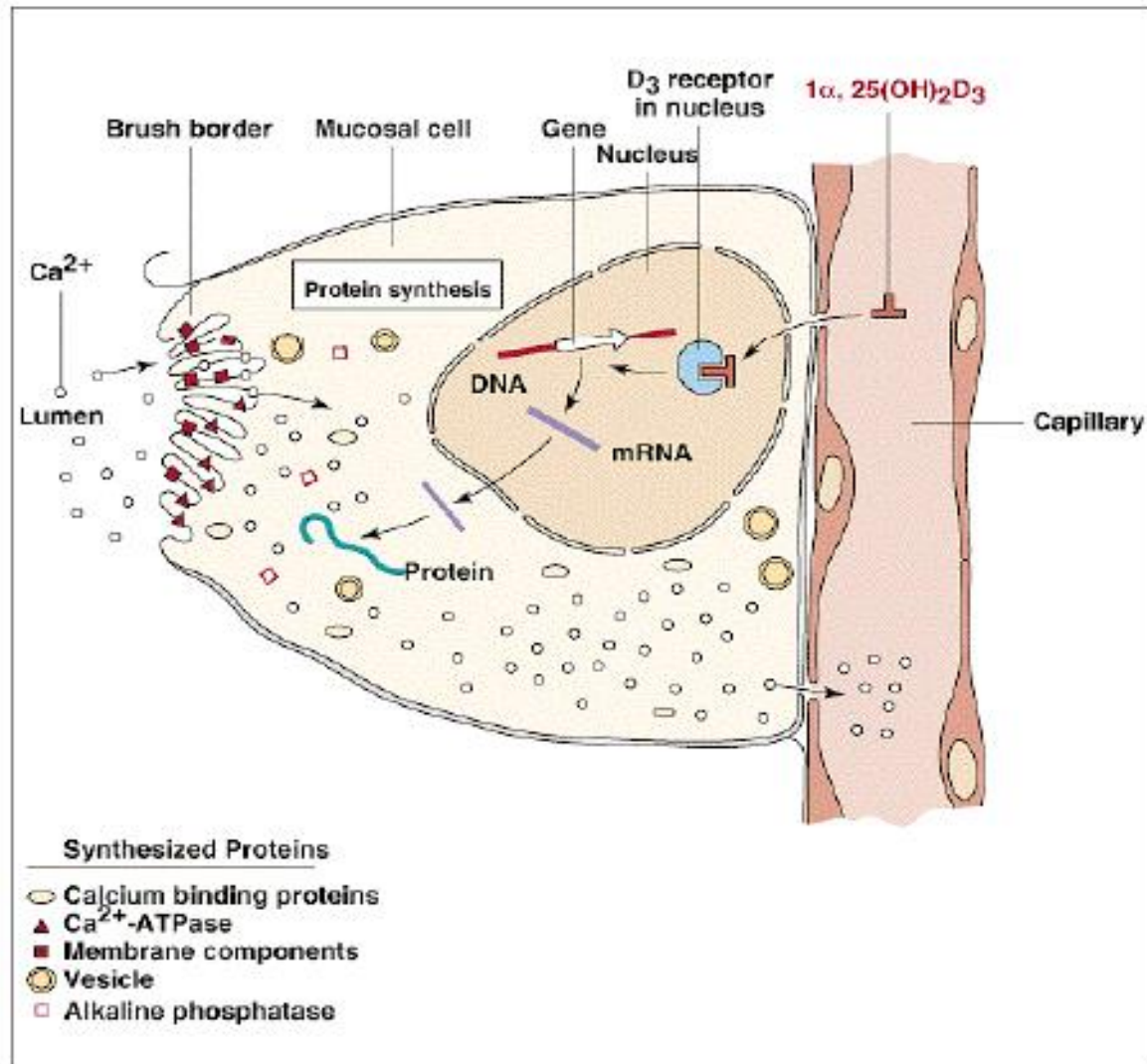
- Kalcitriol je hormon u svakom smislu. Proizvodi se u kompleksnoj seriji enzimskih reakcija koje uključuju transport prekursorskih molekula iz plazme u brojna tkiva. Mehanizam delovanja je sličan delovanju steroidnih hormona.
- **Vitamin D deluje preko receptora u jedru ćelije.** Vezivanje za receptore je praćeno dimerizacijom hormon-receptor kompleksa, koji aktiviraju transkripciju DNK molekula.
- Najznačajnije dejstvo vitamina D je **povećanje sinteze kalcijum vezujućeg proteina u crevima** koji obezbeđuje reapsorpciju kalcijuma u crevima.
- Nizak nivo kalcijuma u ishrani i hipokalcemija značajno povećavaju aktivnost 1- α hidroksilaze u bubrezima. Ovo povećanje se ostvaruje preko PTH koji se takođe sekretuje u odgovoru na hipokalcemiju.



- Vitamin D3 se u krvi transportuje vezan za poseban **transportni protein-**
- U jetri se vrši njegova hidroksilacija u poziciji 25 prstena holesterola i nastaje **25-hidroksiholekalciferol (25OH-D3)**.
 - Reakcija se odvija u ER uz katalitičku aktivnost NADPH-zavisnog citohrom P450 reduktaze (reakcija koja zahteva magnezijum, NADPH, molekularni kiseonik i citohrom P450).
 - 25OH-D3, koji predstavlja najveći depo vitamina D u plazmi, ulazi u cirkulaciju, gde se vezan za transportni protein, transkalciferin, prenosi do bubrega.
- U bubrezima se vrši hidroksilacija na poziciji 1.
 - Reakcija se odvija u mitohondrijama i regulisana je koncentracijom PTH, Pi i Ca^{2+} .
 - Nastaje **1,25(OH)₂-D3** koji predstavlja najpotentniju metaboličku formu vitamina D3.



Dejstvo vitamina D₃ na apsorpciju Ca²⁺ u tankom crevu



Delovanje vitamina D

Klasično

- ☐ Povećanje količine transportera za kalcijum
- ☐ Povećanje koncentracije pumpe za kalcijuma na bazolateralnoj strani intestinalnih vilusa
- ☐ Stimulisanje stvaranja parakrinog signala na osteoblastima koji što dovodi do aktivacije osteoklasta
- ☐ Povećanje aktivnosti alkalne fosfataze i osteokalcina za mineralizaciju kosti
- ☐ Povećana aktivnost 24-hidroksilaze

Ne klasično (Re prisutan u preko 30 tkiva)

- ☐ Smanjena produkcija IL-2, IF- γ i ostalih citokina u monocitima i aktiviranim T limfocitima
- ☐ Inhibicija ćelijskog ciklusa (antiproliferativni efekat) npr proliferacije T i B limfocita, keratinocita, glatkih mišićnih ćelija, miocita, miometrijuma i endometrijuma uterusa

Apsorpcija Ca^{2+} iz GIT-a

Najznačajniji efekat 1,25-dihidroksiholekalciferola jeste povećanje apsorpcije Ca^{2+} iz lumena GIT-a. Apsorpcija se dešava na nekoliko načina:

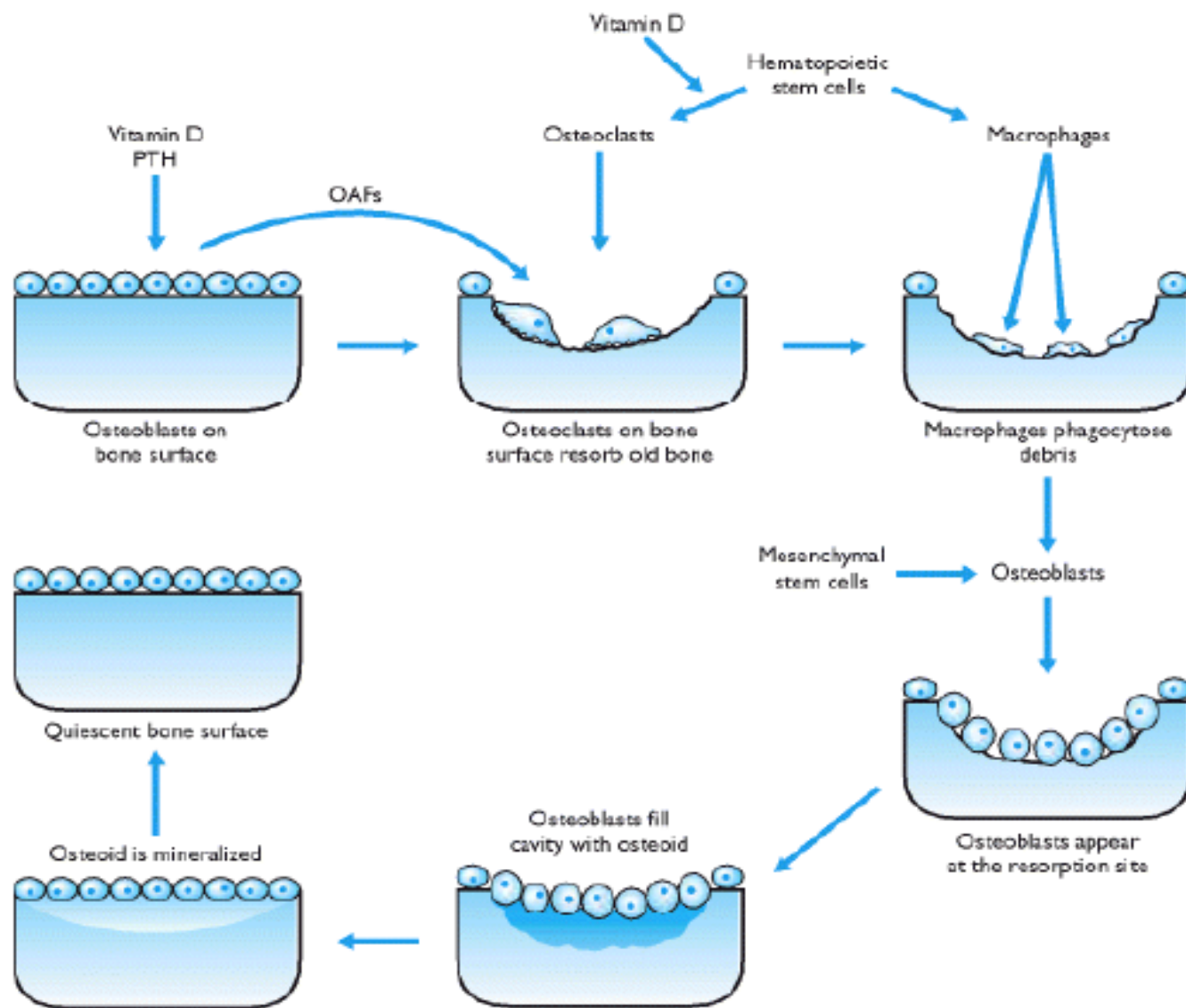
Aktivno preuzimanje Ca^{2+} kroz luminalnu stranu enterocita

Vezivanje Ca^{2+} za kalcijum vezujući protein (calcium-binding protein (CaBP))

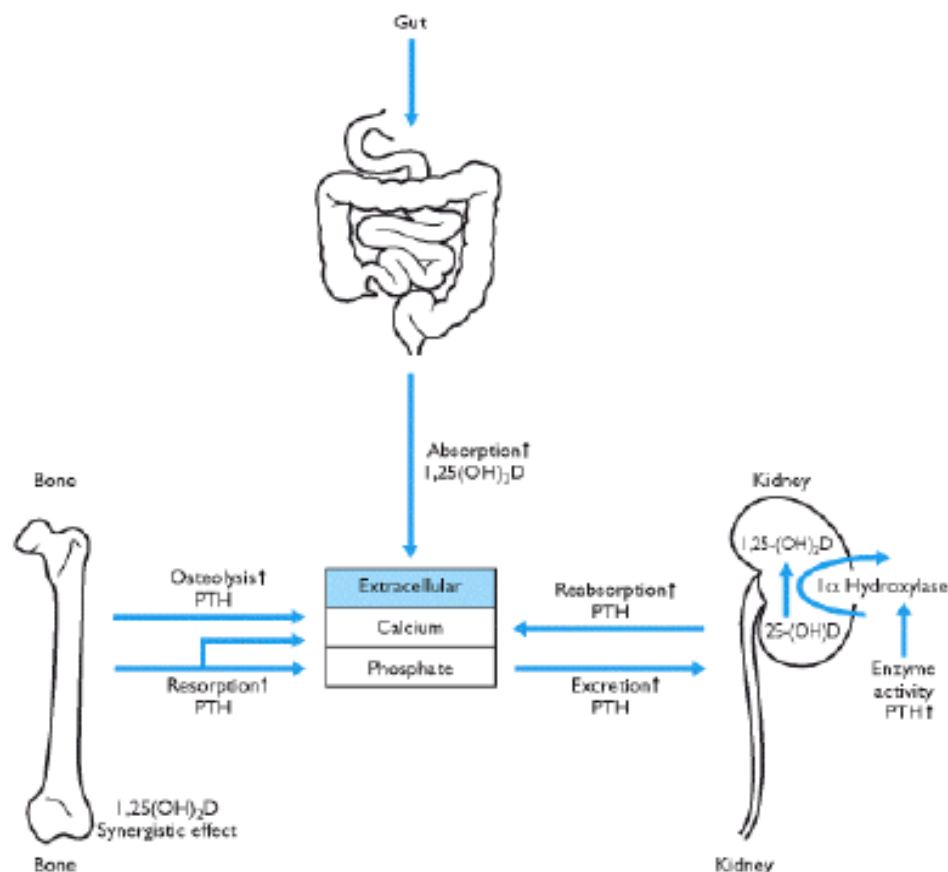
Translokacija kompleksa kroz bazolateralnu stranu enterocita

Aktivno izbacivanje Ca^{2+} pomoću Ca^{2+} pumpe iz enterocita, u zamenu za Na^+ a uz potrošnju ATP-a

U lumenu GIT-a, kalcijum se nalazi u jonizovanom obliku, zbog niskog pH. Hrana izložena delovanju HCl sa ovim kalcijumom formira rastvorljive komplekse.



Kontrola homeostaze kalcijuma i fosfata pod uticajem PTH i 1,25-(OH)₂ D₃



PTH stimuliše oslobađanje Ca²⁺ iz koštanog tkiva ↑ osteolize i resorpcije, ↑ reapsorpciju Ca²⁺ i izlučivanje fosfata u bubrezima i ↑ konverziju inaktivnog 25 hidroksivitamina D (25-(OH)D) u aktivni 1,25-(OH)₂D. Njegova sekrecija je stimulisana ↓ [Ca²⁺] u plazmi

Najvažniji efekat aktivnog vitamina D, 1,25-(OH)₂D, je ↑ apsorpcija Ca²⁺ u tankom crevu i sinergizam sa PTH u dejstvu na kost. Njegovu proizvodnju stimuliše ↓ cirkulišućeg PO₄²⁻ i ↑ PTH

Hormone	Effect	Control
PTH	↑ Calcium ↓ phosphate	↓ Ca ²⁺
Vitamin D	↑ Calcium ↓ phosphate	↓ Phosphate ↑ PTH

Hormoni koji utiču na ravnotežu kalcijuma i fosfata

tkivo	PTH	kalcitonin	1,25-(OH) ₂ D ₃
Kost	↑ resorpcija Ca ²⁺ ↑ resorpcija PO ₄ ²⁻	↓ resorpcija Ca ²⁺ ↓ resorpcija PO ₄ ²⁻	Ca ²⁺
Bubreg	↑ resorpcija Ca ²⁺ ↓ resorpcija PO ₄ ²⁻ ↓ resorpcija HCO ₃ ⁻ ↑ konverzija 25-(OH)D ₃ u 1,25-(OH) ₂ D ₃	↓ resorpcija Ca ²⁺ ↓ resorpcija PO ₄ ²⁻	↑ resorpcija Ca ²⁺
Tanko crevo			↑ apsorpcija Ca ²⁺ ↑ apsorpcija PO ₄ ²⁻