



PYRIDOXAL -5- FOSFÁT (VITAMIN B6) JAKO POMOCNÝ DIAGNOSTICKÝ MARKER U HYPOFOSFATÁZIE

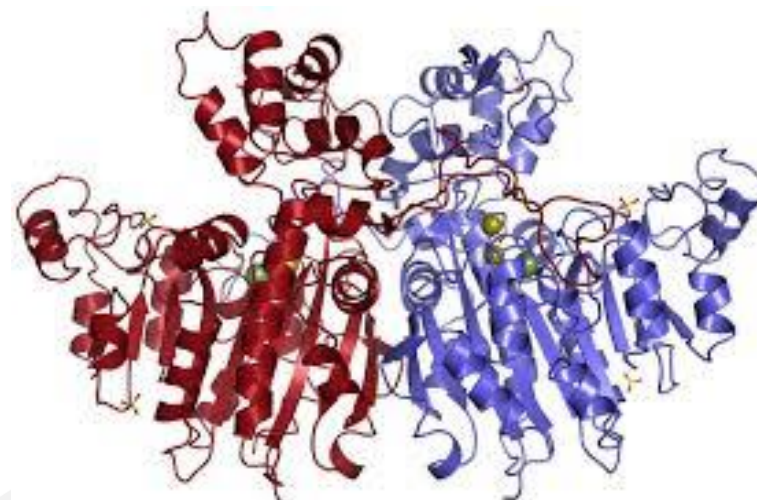
Lucie Vojtová

Milada Koštířová

ÚLBDL 1. LF UK a VFN v Praze

Hypofosfatázie (HPP)

- 1948, John Rathburn
- Mutace v genu *ALPL* pro tkáňově nespecifickou alkalickou fosfatázu



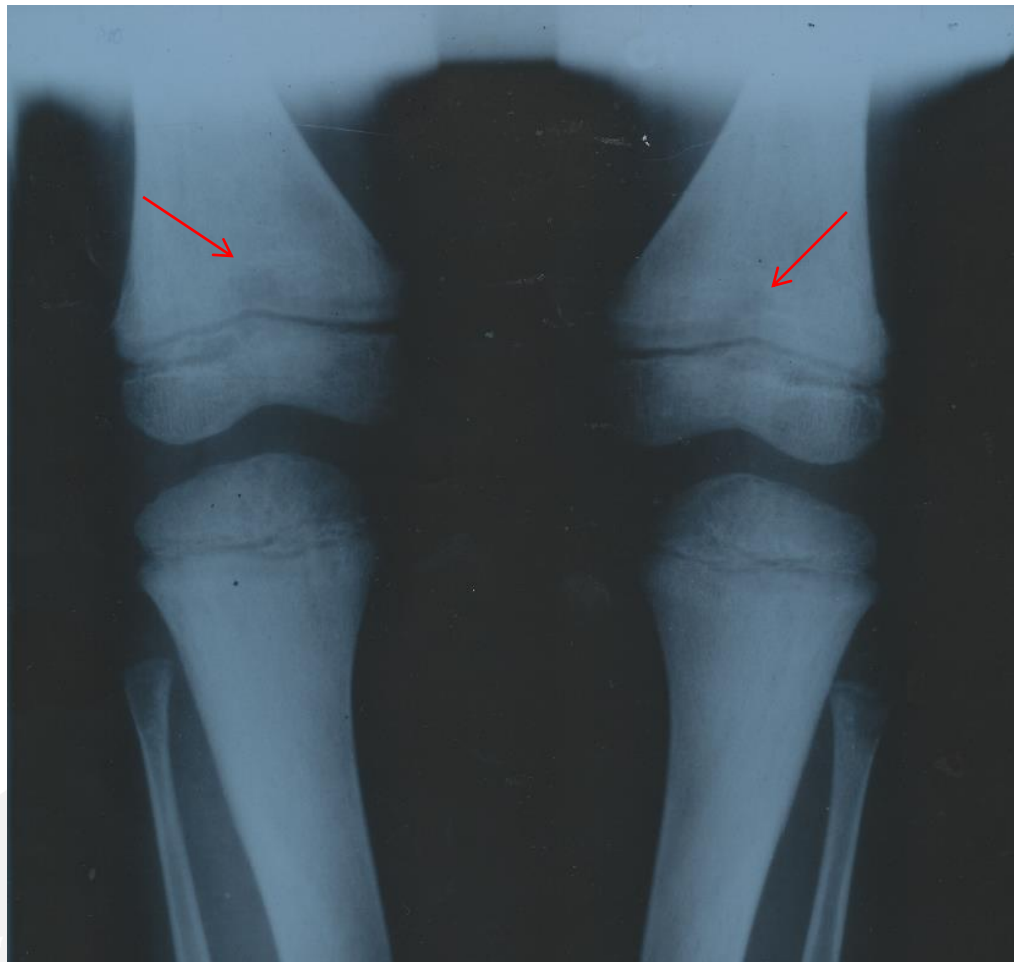
www.raunvis.hi.is

- AR/AD onemocnění
- Popsáno více než 260 mutací
- Frekvence heterozygotů je odhadována až na 1:6370

Hypofosfatázie (HPP)

- vzácné onemocnění způsobené nedostatečnou produkcí alkalické fosfatázy (ALP).
- demineralizace skeletu - závažné extraskeletální symptomy:
 - respirační insuficience
 - křeče
 - opožďování v psychomotorickém vývoji

Klíč k diagnóze





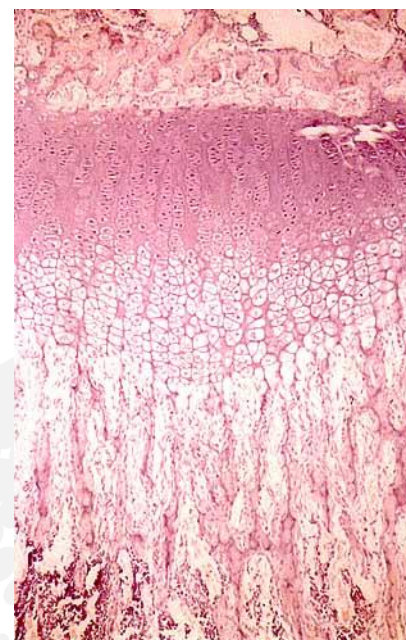
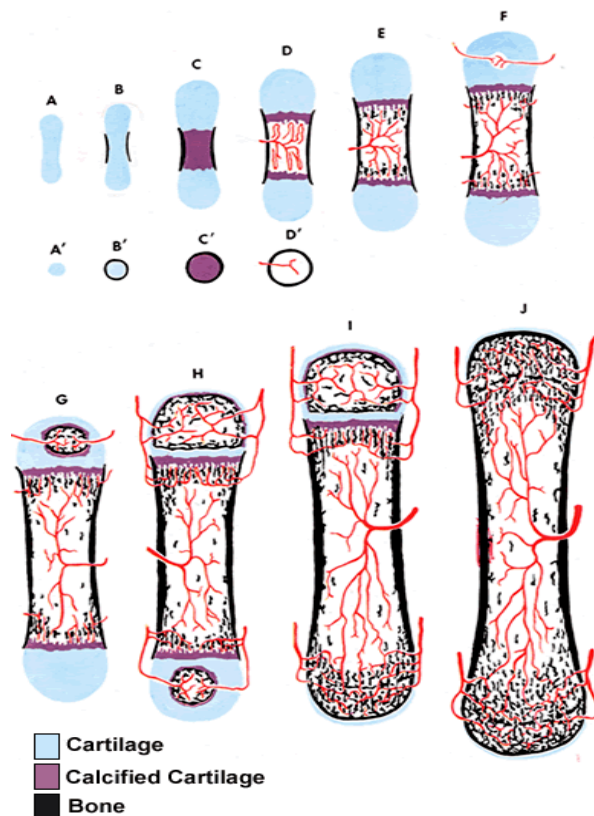
Mechanismus tvorby kosti

- Enchondrální osifikace (vznik kostí z chrupavky)
- Endezmální osifikace (vznik kostí z vaziva)
- Apoziční tvorba (periostální rozšiřování kosti během modelace a remodelace)

- Osifikace primární (kost vláknitá)
- Osifikace sekundární (kost lamelózní – houbovitá/kompaktní)

Enchondrální osifikace

- Osifikace většiny dlouhého skeletu člověka
- Náhrada chrupavkového modelu kostí

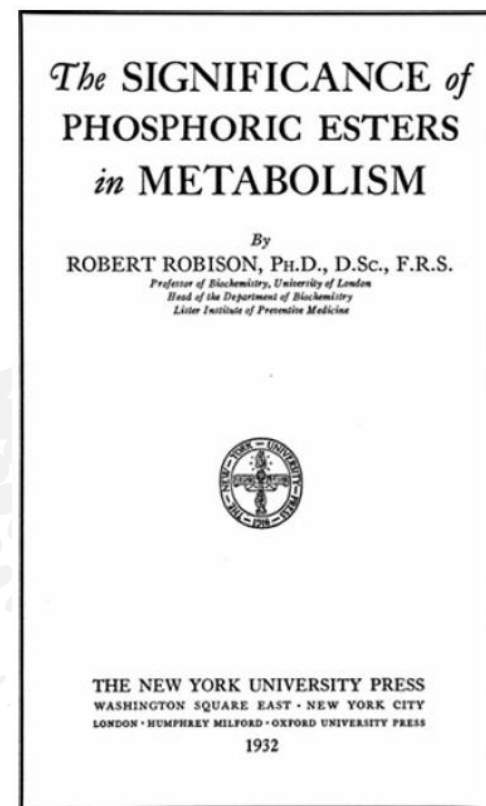


Resting zone
 Proliferating zone
 Hypertrophic zone
 Ossification zone
 Trabecular bone

www.bioscience.com

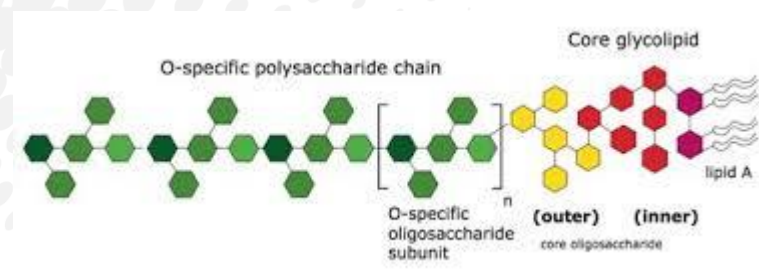
Alkalická fosfatáza (ALP)

- 1923, Robert Robison, „booster hypothesis“
- Alkalické pH optimum in vitro (kostní fosfatáza)
- 4 izoenzymy ALP kódované 4 geny:
 - intestinální
 - placentální
 - zárodečná
 - tkáňově nespecifická (TNSALP)
- TNSALP má 3 izoformy (ledvinnou, jaterní a kostní) lišící se posttranslační modifikací



Funkce ALP

- $ADP \xrightarrow{\text{X}} AMP + PP_i \xrightarrow{\text{X}} P_i + P_i$
- $\text{Pyridoxal 5'-fosfát (PLP)} \xrightarrow{\text{X}} \text{Pyridoxal}$
- $\text{Phosphoetanolamin} \xrightarrow{\text{X}} \text{???$
- $\text{Osteopontin-P} \xrightarrow{\text{X}} \text{Osteopontin} + P_i$
- $\text{Lipopolysacharid-P} \xrightarrow{\text{X}} \text{LPS} + P_i$



Laboratorní nálezy

- ↓ ALP
- ↑ PLP, PEA, PP_i
- ↑ Ca; ↑ U-Ca
- ↑ P_i
- ↓ PTH
- ↓ vitamin D



Formy HPP

- **Perinatální**
- Perinatální benigní
- **Infantilní (<6 měsíců věku)**
- **Dětská (<18 let věku) – mírná/těžká**
- **Dospělá**
- **Odontohyposfatázie**

Dětská forma (6 pacientů)

- „Rachitis“
- Deformity kostí a fraktury; jejich špatné hojení
- Malý vzrůst
- Opoždění psychomotorického vývoje
- Svalová slabost
- Chronická svalová a kostní bolest
- Předčasná ztráta zubů

Odontohypofosfatázie (3 pacienti)

- Předčasná ztráta mléčných zubů s kořeny bez prokázaného kostního postižení
- Vlivem poškozené funkce cementoblastů není správně vytvořen závěsný aparát zubu
- Ztráta permanentních zubů u dospělých – úloha parodontitidy?

Shrnutí

- ↓ **ALP**
- Opakované fraktury
- Předčasné vypadávání dočasných zubů s kořenem

Referenční meze ALP v závislosti na věku

Věková kategorie	[μ kat/l]
0-6t	1,2-6,3
6t-1r	1,40-8,0
1-10r	1,12-6,2
10-15r	1,35-7,5
15-110r	0,66-2,2



Biologický význam vitaminů

- Vitaminy – organické látky, které jsou vyžadovány v malých kvantech pro různé biochemické funkce a lidský organismus si je nedokáže sám vyrobit
- V lidském organismu mají funkci katalyzátorů biochemických reakcí, antioxidační funkci
- Podílejí se na metabolismu bílkovin, tuků a cukrů.
- Nedostatek (hypovitaminóza) vede k různým onemocněním.

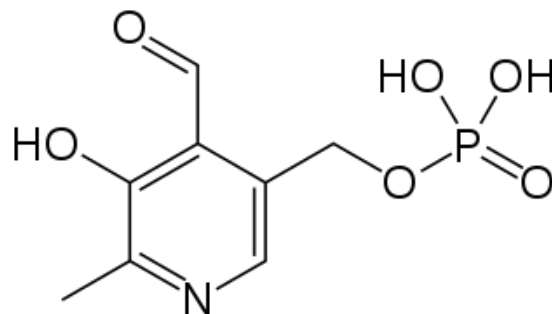
Vstřebávání vitaminů

- Rozpustné ve vodě
 - Rychle, dvanáctník
 - B1, B2, B6, B12,
 - Žaludek – HCl, trávicí enzymy => uvolnění B12 z B stravy => vazba na vnitřní faktor („intrinsic factor“)
 - Absorpce – ileum (kyčelník)
- Rozpustné v tucích
 - Pomaleji, s tuky
 - A, D, K3 – resorpce bez závislosti na micelách
 - E, K1 a K3 – transport ke kartáčovému lemu v micelách

Vitaminy rozpustné ve vodě

PYRIDOXIN, vitamin B₆

jako *pyridoxalfosfát* je součástí transaminas a dekarboxylas aminokyselin

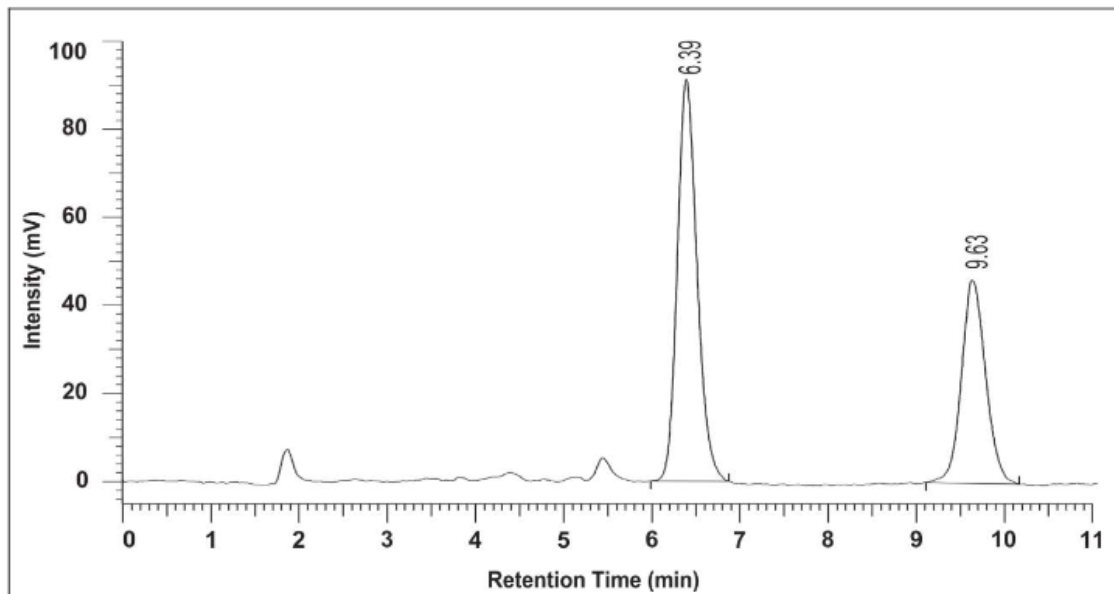
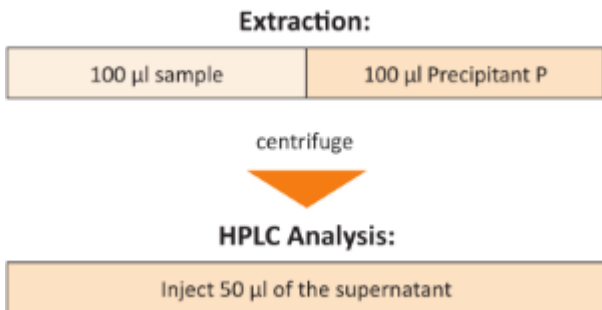


- K vitaminu B₆ řadíme – **pyridoxol (pyridoxin), pyridoxamin a pyridoxal**
- biologicky účinná forma vitaminu B₆ - **pyridoxalfosfát (PLP)**
- Pyridoxalfosfát funguje jako **kofaktor** mnoha enzymů účastnících se **metabolismu aminokyselin**

Vitamin B₆

- Vitamin B₆ **se nachází:**
 - v játrech, mase (včetně ryb)
 - celozrnných produktech, ořechách,
 - zelenině (brambory, zelí, mrkev) či banány a avocado
- Izolovaný **deficit** vitamínu B₆ je **vzácný:**
 - **dermatitidy, záněty sliznic** (zejména dutiny ústní)
 - **poruchy CNS**
- Nedostatek může být vyvolán i některými léky

Metodika stanovení Vitaminu B6



Pyridoxal-5'-phosphate (PLP): 6.39 min, Pyridoxal (PL): 9.63 min

- Stanovení vitamínu B6 pomocí HPLC metodiky: na přístroji Agilent 1260, Fluorescenční detektor excitace / emise 370/470 nm
- Materiál: kompletní kit-ClinRep-RECIPE (RADANAL)
- Biologický materiál: plazma
- Referenční rozmezí: **5-30** µg/l (PLP)



Diagnostika HPP

- Založena na nízké koncentraci ALP v séru v kombinaci s charakteristickými klinickými známkami
- Pomocnými biochemickými diagnostickými markery jsou fosfoetanolamin (PEA) a **pyridoxal 5'-fosfát (PLP)**, které se akumulují v krvi v důsledku malfunkce ALP
- Analyzováno 6 pacientů s dětskou formou HPP
- Hodnoty PLP výrazně zvýšeny v rozmezí 1000 – 3000 ug/l

Závěr

- Hladiny PLP byly sledovány u pacientů s potvrzenou diagnózou hypofosfatázie
- U všech analyzovaných pacientů byla nalezena výrazně zvýšená hodnota PLP
- Bylo potvrzeno, že toto stanovení může být u dětí využito k diagnostice při podezření na hypofosfatázii.



Děkuji za pozornost

