

PRACA POGLĄDOWA

Prolaktyna i inne regulatory wchłaniania wapnia

Prolactin and other regulators of calcium absorption

Barbara Dolińska^{1,2}, Katarzyna Łopata³, Florian Ryszka²

STRESZCZENIE

Wchłanianie wapnia regulują liczne czynniki endogenne i egzogenne, m.in. prolaktyna. Jak wynika z wielu badań, może ona stymulować transport wapnia w jelicie cienkim w warunkach *in vitro* oraz *in vivo*. Jest to szczególnie ważne w okresie wzrostu zapotrzebowania na wapń w okresie ciąży i laktacji. W licznych doniesieniach wskazano na rolę prolaktyny w zachowaniu homeostazy wapniowej.

SŁOWA KLUCZOWE

wapń (Ca); wchłanianie; prolaktyna (PRL), osteoporoza

ABSTRACT

Absorption of calcium is regulated by many endogenous and exogenous factors. Prolactin is important regulator. Numerous studies indicate that prolactin can stimulate calcium transport in the small intestine *in vitro* and *in vivo*. This is especially important during the growing demand for calcium in pregnancy and in lactation. There is report the role of prolactin in maintaining calcium homeostasis.

ADRES

DO KORESPONDENCJI:

Mgr Katarzyna Łopata
ul. Ścigaty 45a/5
40-208 Katowice
tel. +48 781 233 781
e-mail: kklolata@poczta.onet.pl

Ann. Acad. Med. Siles. 2012, 66, 1, 52-56
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach
ISSN 0208-5607

KEY WORDS

calcium (Ca), absorption, prolactin, osteoporosis

Wapń jest składnikiem mineralnym niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Całkowita zawartość wapnia w organizmie człowieka wynosi 1,4–1,66% masy ciała, z czego 99% skumulowane jest w kościach w postaci hydroksyapatytów powstających w procesie osteogenezy.

Wapń jest pozyskiwany z pożywienia, jednak stopień jego wchłaniania, wskutek oddziaływania różnych czynników, może być niższy od aktualnych potrzeb organizmu. Konieczna jest wówczas suplementacja. Na niedobór wapnia szczególnie narażone są kobiety w okresie pomenopauzalnym, wówczas bowiem spadek stężenia estrogenów przyczynia się także do spadku wchłaniania wapnia w jelicie cienkim, stwarzając zagrożenie wystąpienia osteoporozy. Już w 1994 r. Narodowy Instytut Zdrowia (NIH) w USA ustalił następujące rekomendowane ilości elementarne wapnia: 1500 mg na dzień dla kobiet powyżej 65 r.ż., a dla kobiet przyjmujących hormonalną terapię zastępczą – 1000 mg na dzień. Ustalono również dawkę ogólną witaminy D 600–800 IU na dzień. Stwierdzono, że chociaż suplementacja wapniem nie redukuje znacząco ryzyka złamań występujących w okresie postmenopauzalnym, to jednak powinna być kontynuowana, by ograniczyć ryzyko wystąpienia osteoporozy lub zmniejszyć jej nasilenie [1].

Wykazano także pozytywny wpływ prolaktyny i kalcytoniny na metabolizm kostny [2]. W badaniach zastosowano model osteoporozy pomenopauzalnej u samic szczura. Podanie prolaktyny samicom szczura po owariektomii spowodowało wzrost gęstości mineralnej kości lędźwiowej do wartości BMD równej grupie kontrolnej zwierząt z zachowanymi jajnikami. Podobne wyniki uzyskano podając kalcytoninę. W grupach badanych – w porównaniu z grupami kontrolnymi – stwierdzono także wzrost stężenia osteokalcyny i aktywności izoenzymu fosfatazy alkalicznej (BAL) oraz spadek aktywności izoenzymu fosfatazy kwaśnej (TRAP). U samic szczura po owariektomii wystąpiły ubytki tkanki kostnej tylko w kości lędźwiowej.

Wchłanianie wapnia z pożywienia następuje w jelicie cienkim na drodze paracelularnej i transcelularnej. Transport transcelularny ma miejsce głównie w dwunastnicy, a paracelularny w jelicie cienkim. Czas pobytu treści pokarmowej w danym odcinku przewodu pokarmowego wpływa na ilość wapnia wchłanianą w poszczególnych miejscach. W dwunastnicy

czas zalegania wynosi kilka minut, natomiast w dalszych odcinkach przewodu pokarmowego około 2 godzin. Przy zwiększonej podaży relatywna ilość wchłanianego wapnia jest niska, a wchłanianie głównie w końcowym odcinku jelita cienkiego – jelicie krętym, natomiast w jelicie grubym jest niewielkie i nie ma istotnego znaczenia [3]. Przenikanie na drodze paracelularnej zależy od potencjału elektrochemicznego błony komórki enterocyta i podaży wapnia w diecie. Ten typ przenikania występuje w całym odcinku jelita cienkiego. Gdy dochodzi do zmian w homeostazie wapniowej na skutek spadku podaży w diecie bądź podczas ciąży, laktacji lub intensywnego wzrostu, wówczas przeważa transport transcelularny [4].

Na wchłanianie wapnia w przewodzie pokarmowym wpływa wiele czynników i substancji stymulujących lub hamujących ten proces, np.: witamina D₃, magnez, fosfor, inulina, cukry, aminokwasy, fosfopeptydy kazeiny i foswityny, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, błonnik, kwas szczawiowy oraz kwasy uronowe [1,5,6]. Sugeruje się, że jedną z takich substancji może być też prolaktyna [7,8,9,10].

Prolaktyna jest przede wszystkim czynnikiem laktogennym, ale pełni także rolę regulatora wzrostu i rozwoju organizmu. Wpływa na regulację wodną i elektrolitową, redukuje utratę wody i sodu przez nerki wskutek zwiększenia reabsorpcji sodu i wychwytu sodu w jelicie. W badaniach przeprowadzonych na szczurach odpowiednio suplementowanych dawką wapnia i fosforu w diecie stwierdzono, że prolaktyna reguluje homeostazę wapniową głównie poprzez stymulację transportu aktywnego w dwunastnicy [7,8]. Zbadano wpływ prolaktyny na przenikanie jonów wapnia stosując wapń ⁴⁵Ca. Stwierdzono, że prolaktyna stymuluje przenikanie wapnia przez błonę dwunastnicy w kierunku od warstwy śluzowej do błony podstawnej i jest to zależne od dawki. Przepływ w kierunku odwrotnym był relatywnie mały i bez znaczenia. Stymulacja wchłaniania wapnia w dwunastnicy przebiegała najskuteczniej po zastosowaniu dawek 0,6 i 0,8 mg/kg m.c. Dawka 0,4 mg/kg m.c. nie była tak skuteczna [7,8].

Badano też wpływ prolaktyny na mechanizm wchłaniania wapnia w jelicie. Stwierdzono, że wywiera ona bezpośredni wpływ na kilka mechanizmów uczestniczących w transporcie wapnia w dwunastnicy. Jeden z nich to wzrost aktywności basolateralnej Na⁺/K⁺-ATPazy.

Prolaktyna także stymuluje wychwyt wapnia w rąbku szczoteczkowym oraz wzmacnia aktywność Ca^{2+} -ATPazy, które odgrywają istotną rolę w aktywnym transporcie transcelularnym w dwunastnicy [10].

W czasie ciąży stężenie w osoczu $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ wzrasta, co jednak nie wpływa na wzrost wchłaniania wapnia. Absorpcja wapnia przy deficycie witaminy D u ciężarnych i w okresie laktacji u szczurów była wyższa niż u szczurów w normalnym stanie, co wskazywałoby, że obecność witaminy D_3 nie jest konieczna, by wzrosło wchłanianie w jelicie. W badaniach na szczurach wykazano, że w okresie niedoboru witaminy D wchłanianie wapnia w jelicie wzrasta po 4 godzinach od iniekcji prolaktyny, osiągając maksimum po 4 godzinach. W przypadku deficytu witaminy D połączonego z dietą ubogą w wapń, prolaktyna jest czynnikiem regulującym bilans wapniowy, prowadząc do wzrostu stężenia wapnia we krwi. Przypuszcza się, że prolaktyna działa na organy biorące udział w utrzymaniu homeostazy wapniowej w sposób niezależny od witaminy D [11]. Potwierdzono, że prolaktyna wpływa na wzrost wchłaniania wapnia przy deficycie $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$, ponieważ znacząco indukowała mRNA dla receptora przejściowego TRPV6. Natomiast podanie prolaktyny z witaminą D_3 powodowało indukcję mRNA dla receptora TRPV6 oraz mRNA dla kalbindyny D_{9k} . Pobudzało to w istotny sposób transport wapnia w dwunastnicy [12].

Analizując wpływ dawki prolaktyny na stymulację transportu wapnia na linii komórek Caco-2 stwierdzono, że największy efekt wywierała dawka 800 ng/ml. Wykazano także jego powiązanie z kinazą 3 fosfoinozytolu, ponieważ efekt ten był zahamowany po ekspozycji inhibitorem wymienionej kinazy [13]. Zostało to potwierdzone w dalszych badaniach, w których wskazano jednocześnie na dwustopniowy charakter działania: pierwszy stopień to długoterminowe działanie prolaktyny (okres ciąży) na komórki jelita, zaś drugi to wzrost stężenia prolaktyny w okresie laktacji indukowany ssaniem, bez związku z ekspresją genów, a dopasowujący się do utraty wapnia z mlekiem, powiązany z kinazą fosfoinozytolu. Interesujące jest również wskazanie na suplementację wapniem na 15–30 minut przed karmieniem. Może to przynieść wymierne korzyści w bilansie wapniowym karmiącej matki [14].

W okresie laktacji prolaktyna odpowiada nie tylko za laktogenezę, ale także za regulację ogólnego metabolizmu wapniowego, podobnie jak w okresie ciąży. Jest to skutkiem stymulacji reabsorpcji wapnia w nerkach oraz jego wchłaniania w jelicie cienkim. Stwierdzono ponadto, że prolaktyna powoduje wzrost wchłaniania transcelularnego w rąbku szczoteczkowym enterocyta, a także wykazano rolę zależną od potencjału kanałów wapniowych (Ca_v)1.3 [15].

Wymienione czynniki wpływają na wchłanianie wapnia w różnych warunkach fizjologicznych oraz patologicznych i zwykle korelują z regulacją genów dla struktur białkowych związanych z transportem wapnia. Wysłunięto hipotezę wpływu pływania wysiłkowego, którego rezultatem jest ekspresja genów odpowiedzialnych za struktury transportujące wapń, a poprzez to wpływ na transport jonów nie tylko wapniowych. W interesujący sposób powiązano badania na zwierzętach z możliwością dalszych poszukiwań w celu wyjaśnienia fizjologicznej adaptacji metabolizmu wapnia w warunkach ćwiczeń wysiłkowych pacjentów z grupy ryzyka chorób krążeniowych, kobiet w okresie pomenopauzalnym i pacjentów zagrożonych osteoporozą [16].

Jednym z podstawowych regulatorów wpływających na bilans wapnia jest $1,25\text{-dihydroksycholekalcyferol}$ ($1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$), powstający pod wpływem 1α -hydroksylazy z nieaktywnej formy witaminy D – cholekalcyferolu. W sytuacji gdy stężenie wapnia w diecie jest adekwatne do potrzeb, aktywność 1α -hydroksylazy jest niska, przy niskiej podaży i obniżaniu się stężenia wapnia aktywność enzymu wzrasta, co powoduje wzrost wydzielania $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. W konsekwencji wchłanianie wapnia w jelicie jest wyższe wskutek zwiększenia przenikania wapnia do enterocyta (ekspresja kanałów wapniowych TRPV6, TRPV5), a także zwiększenia transferu poprzez cytozol (ekspresja kalbindyny- D_{9k}) oraz przez błonę podstawną komórki do krążenia (ekspresja błonowej izoformy $1b$ Ca^{2+} -ATPazy (PMCA1b) [17].

W odpowiedzi na spadek stężenia wapnia we krwi, do krążenia wydzielany jest parathormon (PTH), który działa przez nerki, kości, przewód pokarmowy, gdzie aktywuje receptor PTH/PTHrP. Receptor ten potęguje kanalikową reabsorpcję wapnia w nerkach, stymuluje aktywność 1α -hydroksylazy, a przez to powoduje wzrost wchłaniania wapnia w jelicie [17].

Podwyższone stężenie wapnia we krwi stymuluje wydzielanie kalcytoniny przez komórki C tarczycy. Obecność tego hormonu potwierdzono także w komórkach trzustki i przewodu pokarmowego. Kalcytonina obniża stężenie wapnia zjonizowanego w surowicy na skutek hamowania aktywności osteoplastycznej oraz obniża aktywność 1α -hydroksylazy dla witaminy D w nerkach. Działa poprzez receptory błonowe, obniżając stężenie wapnia zjonizowanego we krwi wskutek zmniejszenia jego wydzielania z tkanki kostnej oraz zwiększenie wydalania wapnia z moczem i hamowania wchłaniania w jelicie w sposób pośredni poprzez zahamowanie wytwarzania aktywnej formy witaminy D [17].

Stanniokalcyne (STC) została wykryta po raz pierwszy u ryb. Wywiera ona działanie hipokalcemiczne, regulując transport wapnia i fosforanów przez skrzel, jelita i nerki. Zidentyfikowano ją także u człowieka w organach zawierających nabłonek transportujący wapń, tj. w jelicie, nerkach, łożysku. Rola STC jest podobna do roli kalcytoniny – zapobieganie hiperkalcemii [17]. Jej obecność wykryto w endometrium ciężarnych klaczy we wczesnym okresie ciąży. Prawdopodobnie wpływa na zatrzymanie wapnia w organizmie w okresie zwiększonego zapotrzebowania na ten pierwiastek [18].

U kobiet w okresie pomenopauzalnym wykazano obniżoną sekrecję estrogenów, niskie stężenie wapnia w surowicy i moczu oraz wtórną resorpcję wapnia z kości. Stwierdzono, że deficyt estrogenów związany jest ze zwiększoną utratą wapnia przez nerki. Można to skorygować stosując terapię hormonalną. Wpływ estrogenów na gospodarkę wapnia potwierdza wykrycie receptorów estrogenowych w części proksymalnej i dystalnej kanalików nerkowych oraz w dwunastnicy i jelicie grubym. Do końca nie jest jasne, jaki jest mechanizm tego procesu i czy nie wiąże się on z metabolizmem witaminy D. U myszy estrogeny zwiększają ekspresję kanałów TRPV5 w nerkach, niezależnie od $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$. Myszy po ovariectomii, pozbawione 1α -hydroksylazy, poddane działaniu 17β -estradiolu, miały prawidłowe stężenie wapnia w osoczu spowodowane aktywacją nerkowych kanałów RTPV5, bez aktywacji innych układów transportujących wapń. W okresie laktacji ekspresja nerkowych kanałów TRPV5 i dwunastniczych kanałów TRPV6 u myszy wzrosła od 2 do 13 razy. Przypuszcza się, że estrogeny w okresie ciąży

i laktacji mają odrębny, niezależny od witaminy D, mechanizm aktywujący wchłanianie wapnia w dwunastnicy właśnie poprzez regulację kanałów TRPV6 [17].

Dowiedziano, że zaburzenia czynności tarczycy wiążą się z zaburzeniem bilansu wapnia i fosforu. Nadczynność tarczycy jest związana z hiperkalcemią, co zaobserwowano u ludzi i zwierząt. Przedłużające się stany nadczynności prowadzą do resorpcji wapnia z kości. Efekt działania hormonów tarczycy na nerki, jelita i kości jest podobny do efektu działania witaminy D [17]. Wykazano, że przenikanie wapnia przez rąbek szczoteczki enterocyta i wypływ z błony podstawnej enterocyta był większy u szczurów z hipertyreozą, a niższy u zwierząt w hipotyreozie. Wskazano na wpływ tyroksyny na układ transportowy do wnętrza komórki enterocytów oraz aktywację pompy $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ zależnej od cyklicznego AMP (cAMP) [19].

Utrzymanie homeostazy w gospodarce wapniowej zależy od stanu fizjologicznego. Zapotrzebowanie na wapń wzrasta w okresie ciąży (wzrost płodu), laktacji (produkcji mleka), a także w okresie pomenopauzalnym. Dlatego też wskazana jest wówczas suplementacja. Należy jednak pamiętać, że wprawdzie można w ten sposób zapobiegać osteoporozie, jednak niskie stężenie wapnia chroni przed powstawaniem kamieni nerkowych na podłożu soli wapnia. Inne stany, takie jak otyłość, nadciśnienie, nowotwory, to sytuacje, w których wzrost zawartości wapnia w diecie niekoniecznie będzie miał pozytywny skutek. Konieczna jest równowaga między ilością wapnia w diecie a masą kostną organizmu [17].

Receptor wapniowy (CaSR) w gruczołach przytarczycznych reaguje na najmniejsze zmiany stężenia zjonizowanego wapnia w krwiobiegu i moduluje sekrecję PTH. Receptory te występują także na błonach nefronów i innych komórkach. Białko regulacyjne – kalmodulina to białko cytoplazmy regulujące pracę kanałów wapniowych RTPV6. Kalmodulina nie łączy się z kanałami wapniowymi przy prawidłowym stężeniu wapnia, ale w sytuacji jego wzrostu. Maksymalne stężenie to $60\ \mu\text{mol}$ wapnia na 1 cząsteczkę kalmoduliny, co prowadzi do inaktywacji kanału. Sugerowane są też inne czynniki wpływające na pracę kanału, np. fosforylowana treonina (PKC), która może wpływać na ilość wapnia przepływającego przez kanał lub białko pomocnicze S100A10 łączące się w regionie $-\text{COOH}$ TRPV5. Podobnym biał-

kiem pomocniczym dla kanału TRPV5 jest proteina 80K-H. Prądy płynące przez kanały jonowe (kanały wapniowe) są regulowane przez procesy wewnątrzkomórkowe. Na otwarcie kanału ma wpływ fosforylacja białka kanałowego przez odpowiednie enzymy, np. kinazy, lub defosforylacja przez fosfatazę. PKC to kinaza aktywowana przez kompleks kalmoduliny z wapniem. Fosforylacja może być powodem zmniejszenia natężenia przepływu wapnia przez kanał [17].

Aneksyny to białka wiążące jony wapnia w komórce. Pełnią one rolę buforową. Umieszczone są na powierzchni błon organelli komórkowych, które uczestniczą w magazynowaniu i uwalnianiu jonów wapnia i stanowią strukturę mobilną. Wpływają na przepuszczalność błon dla jonów, m.in. poprzez aktywację transportu przez kanały jonowe [17]. Białka transportujące jony wapnia to pompy, wymiennicze i kanały wapniowe. Mają one różne powinowactwo do jonów wapnia, co zależy od jego stężenia.

Praca naukowa finansowana ze środków na realizację projektu współfinansowanego z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w Ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka Nr UDA-POIG.01.03.1-00-133/08-00 „Innowacyjne technologie produkcji biopreparatów na bazie nowej generacji jaj” w latach: 2009–2011.

PIŚMIENICTWO

1. Spangler M., Phillips B., Ross M., Moores K. Calcium supplementation in postmenopausal women to reduce the risk of osteoporotic fractures. *Am. J. Health. Syst. Pharm.* 2011; 68: 309–318.
2. Dolińska B., Świtek A., Dragan S., Ryszka F., Kołacz R., Sokoła B. Wpływ prolaktyny na gęstość mineralną kości (BMD) i niektóre markery biochemiczne samic szczura po owariektomii. *Czech. J. Anim. Sci.* 2010; 55: 83–88.
3. Bronner F. Recent developments in intestinal calcium absorption. *Nutr. Rev.* 2009; 67: 109–113.
4. Wilkens M., Mrochen N., Breves G., Schröder B. Gastrointestinal calcium absorption in sheep is mostly insensitive to an alimentary induced challenge of calcium homeostasis. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.* 2011; 158: 199–207.
5. Dolińska B., Mikulska A., Ryszka F. Promotory wchłaniania wapnia. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2008; 64: 89–95.
6. Dolińska B., Woźniak D., Ryszka F. Wchłanianie wapnia w jelitach. *Farm. Przegl. Nauk.* 2009; 10: 35–38.
7. Charoenphandhu N., Krishnamra N. Prolactin is an important regulator of intestinal calcium transport. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2007; 85: 569–581.
8. Charoenphandhu N., Limlomwongse L., Krishnamra N. Prolactin directly stimulates transcellular active calcium transport in the duodenum of female rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2001; 79: 430–438.
9. Tanrattana Ch., Charoenphandhu N., Limlomwongse L., Krishnamra N. Prolactin directly stimulated the solvent drag-induced calcium transport in the duodenum of female rats. *Biochim. Biophys. Acta.* 2004; 1665: 81–91.
10. Charoenphandhu N., Limlomwongse L., Krishnamra N. Prolactin directly enhanced Na⁺/K⁺ and Ca²⁺-ATPase activities in the duodenum of female rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2006; 84: 555–563.
11. Pahuja DN, DeLuca HF. Stimulation of intestinal calcium transport and bone calcium mobilization by prolactin in vitamin D-deficient rats. *Science* 1981; 214: 1038–1039.
12. Ajibade D, Dhawan P., Fechner A., Meyer M., Pike W, Christakos S. Evidence for a role of prolactin in calcium homeostasis: regulation of intestinal transient receptor potential vanilloid type 6, intestinal calcium absorption, and the 25-hydroxyvitamin D₃ 1 α -hydroxylase gene by prolactin. *Endocrinology* 2010; 7: 2974–2984.
13. Jantarajit W, Thongon N., Pandaranandaka J, Teerapornpuntakit J, Krishnamra N., Charoenphandhu N. Prolactin-stimulated transepithelial calcium transport in duodenum and Caco-2 monolayer are mediated by the phosphoinositide 3-kinase pathway. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007; 293: 372–384.
14. Charoenphandhu N., Nakkrasae L., Kraidith K. i wsp. Two-step stimulation of intestinal Ca²⁺ absorption during lactation by long-term prolactin exposure and suckling-induced prolactin surge. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 297: 609–619.
15. Nakkrasae L., Thongon N., Thongbunchoo J., Krishnamra N., Charoenphandhu N. Transepithelial calcium transport in prolactin – exposed intestine – like Caco-2 monolayer after combinatorial knockdown of TRPV5, TRPV6 and Ca_v1.3. *J. Physiol. Sci.* 2010; 60: 9–17.
16. Teerapornpuntakit J., Dorkkam N., Wongdee K., Krishnamra N., Charoenphandhu N. Endurance swimming stimulates transepithelial calcium transport and alters the expression of genes related to calcium absorption in the intestine of rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2009; 296: 775–786.
17. Hoenderop J., Nilius B., Bindels R. Calcium absorption across epithelia. *Physiol. Rev.* 2005; 85: 373–422.
18. Kikuchi M., Nakano Y, Nambo Y. i wsp. Production of calcium maintenance factor Stanniocalcin – (STC1) by the equine endometrium during the early pregnant period. *J. Reprod. Dev.* 2011; 57: 203–211.
19. Kumar V, Prasad R. Thyroid hormones stimulate calcium transport systems in rat intestine. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003; 1639: 185–194.