Koncentracije kalcija i paratireoidnog hormona u ranom postoperativnom periodu nakon zahvata na štitnjači

Vidaković, Anna-Maria

Master's thesis / Diplomski rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:429876

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Anna-Maria Vidaković

Koncentracije kalcija i paratireoidnog hormona u ranom postoperativnom periodu nakon zahvata na štitnjači

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad je prijavljen na kolegiju Klinička biokemija organa i organskih sustava 2 Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Kliničkom zavodu za kemiju KBC Sestre milosrdnice pod stručnim vodstvom izv. prof. dr. sc. Nade Vrkić, Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvaljujem mentorici izv. prof. dr. sc. Nadi Vrkić za stručno vodstvo, pomoć i uloženi trud prilikom izrade ovog diplomskog rada. Također zahvaljujem dr. sc. Nori Nikolac Gabaj za pomoć pri obradi rezultata i uloženi trud, te svim djelatnicima Kliničkog zavoda za kemiju KBC Sestre milosrdnice na strpljenju i pruženoj pomoći.
Hvala prijateljima i kolegama što su mi ulješali studiranje i na pruženoj pomoći i podršci.
Najveće hvala mojoj obitelji što mi je bila bezuvjetna podrška tijekom cijelog mog obrazovanja!

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. Štitnjača 1
1.1.1. Anatomija štitnjače 1
1.1.2. Sinteza, sekrecija i metabolizam hormona 2
1.1.3. Bolesti štitnjače i liječenje 5
1.1.3.1. Hipotireoza 5
1.1.3.2 Hipertireoza 6
1.2. Paratireoidna žlijezda 6
1.2.1. Anatomija paratireoidne žlijezde 6
1.2.2. Sinteza, sekrecija i metabolizam hormona 7
1.2.3. Biološki učinak 8
1.2.4. Bolesti i liječenje 10
1.2.5. Referentni interval i kliničko značanje 11
1.3. Kalcij 12
1.3.2. Hipokalcijemija 13
1.3.3. Hiperkalcijemija 14
1.3.4. Referentni interval i prednost određivanja slobodnog (ioniziranog) kalcija 15
2. Obrazloženje teme 17
3. Materijali i metode 18
3.1. Uzorci 18
3.1.1. Metoda određivanja iCa 18
3.1.2. Metode određivanja PTH 19
3.2. Statistička obrada podataka 20
4. Rezultati i rasprava 21
4.1. Rezultati 21

4.2. Rasprava 31

5. Zaključak 33

6. Literatura 34

7. Sažetak/Summary 36

POPIS KRATICA

ATP – adenozin trifosfat

cAMP – ciklo adenozin-monofosfat

CaSR – receptor osjetljiv na kalcij

CT – kalcitonin

DIT – dijodtirozin

ECLIA – elektrokemoluminiscentna metoda (engl. *electrochemiluminescence immunoassay*)

GPCR – G protein vezan za receptor

iCa – ionizirani kalcij

ISE – ion selektivne elektrode (engl. *ion-selective electrodes*)

mRNA – glasnička ribonukleinska kiselina (engl. *messenger RNA*)

MIT – monojodtirozin

MEN – multipla endokrina neoplazija

MHH – malignomske humoralne hiperkalcijemije

PHPT – primarni hiperparatireoidizam

PTH – paratireoidni hormon

PTHrP – peptid sličan paratireoidnom hormonu (engl. *parathyroidhormone–related peptide*)

T3 – trijodtironin

T4 – tiroksin

TBG – globulin koji veže tiroksin (engl. *thiroxine binding globulin*)

TIR – totalna tireoidektomija (lat. *thyreoidectomia totalis*)

TRH – tireotropni otpuštajući hormon (tiretropin)

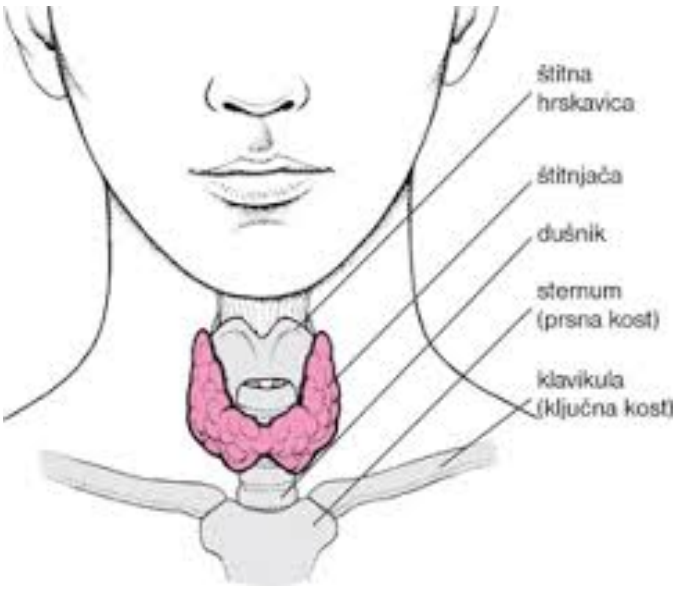
TSH – tireoidni stimulirajući hormon

1. UVOD

1.1. Štitnjača

1.1.1. Anatomija štitnjače

Štitnjača (lat. *glandula thyroidea*), pripada skupini žlijezda sa unutarnjim lučenjem. Nalazi se na prednjoj strani vrata u razini donjeg dijela grkljana i gornjeg dijela dušnika. Svojim režnjevim doseže prema gore do hvatišta sternotiroidnog mišića, dok se prema dolje režnjevi spuštaju do razine šeste hrskavice dušnika. Štitnjača ima dvije ovojnice: vanjsku i unutarnju. Vanjska ovojnica, (lat. *capsula fibrosa*), izdanak je srednjeg lista vezivne ovojnice vrata. Ona obavija žlijezdu s prednje i lateralnih strana, te se veže za stražnji lateralni dio dušnika i grkljana. Unutarnja ovojnica štitnjače je njezina vlastita ovojnica. Vezivni tračci od unutarnje ovojnice odlaze u tkivo žlijezde i oni žlijezdano tkivo dijele u režnjiće. Ogranci arterija i vena štitnjače zajedno s vezivnim tračcima ulaze iz prostora između ovojnica u tkivo žlijezde. Štitnjača ima dva režnja, lijevi i desni, koji su međusobno povezani u mediosagitalnoj ravnini poprečnim tračkom žlijezdanog tkiva istimus. Često štitnjača ima još jedan režanj (lat. *lobus pyramidalis*), koji se pruža kao izdanak tkiva žlijezde s gornje strane istmusa ili jednog od režnjeva žlijezde (Jaloševec, 2005).

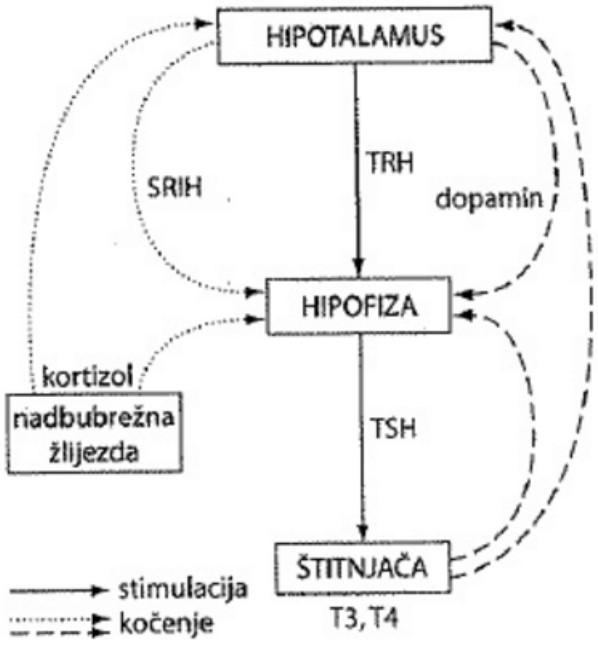


Slika 1. Anatomija štitnjače (preuzeto sa www.msd-prirucnici.placebo.hr)

1.1.2. Sinteza, sekrecija i metabolizam hormona

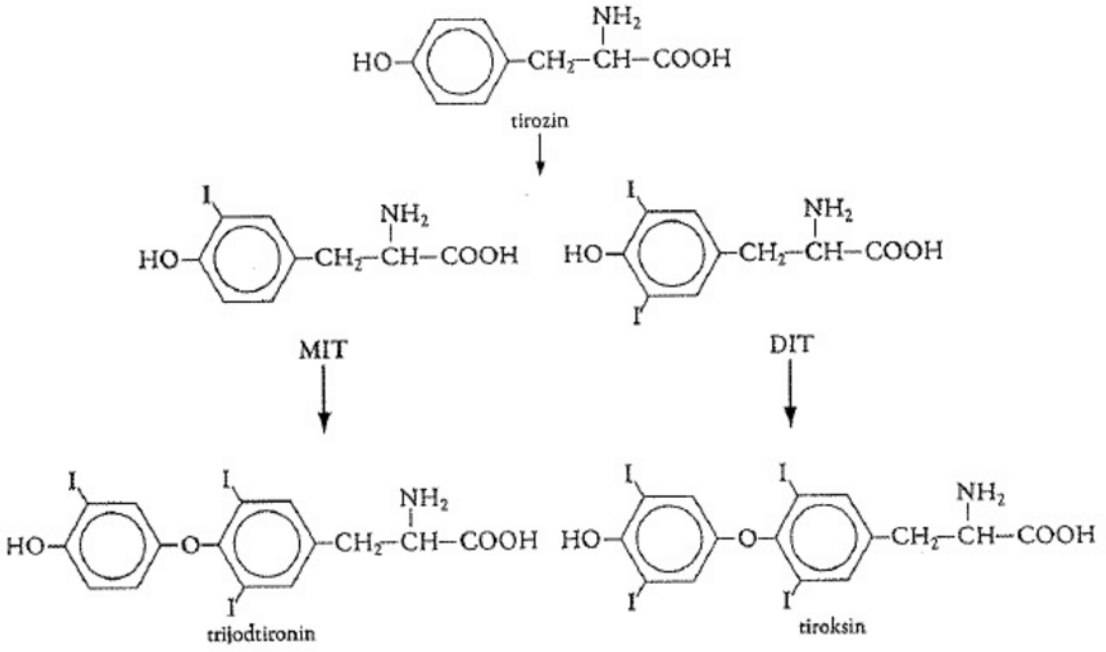
Režnjevi štitnjače se sastoje od stanica tireocita i folikula s amorfnom koloidnom masom. U folikulama se stvaraju hormoni štitnjače trijodtironin (3,5,3'-trijodtironin, T3) i tiroksin (3,5,3',5'-tetrajodtironin, T4) te su vezani za glikoprotein tireoglobulin koji je glavni sastojak koloida. U parafolikularnim ili C-stanicama se stvara kalcitonin (CT) i on djeluje samo na metabolizam kalcija, dok T3 i T4 djeluju na metabolizam cijelog organizma.

T3 i T4 nastaju iz aminokiseline tirozina pod kontrolom tireoidnog stimulirajućeg hormona (TSH), koji se luči iz hipofize. Oni su sa TSH povezani mehanizmom povratne sprege. Smanjenje koncentracije hormona štitnjače dovodi do porasta lučenja TSH i tireotropnog otpuštajućeg hormona (TRH). TSH stimulira porast veličine i broja folikularnih stanica štitnjače, povećava unos joda i transport koloida u stanicu, te sekreciju T3 i T4. Istovremeno, raste sinteza proteina i fosfolipida, i oksidacija glukoze. Postupno se povećava i unutarstanični transport joda i dolazi do oksidacije i organifikacije joda, te spajanja jodtirozina (Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009; Francetić i sur., ured., 2003).



Slika 2. Regulacija stvaranja i lučenja hormona štitnjače; SRIH-somatostatin (Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009)

Dnevna potreba organizma za jodom je od 70 do 100 μg. U normalnoj štitnjači, koncentracija joda je 20-50 puta viša nego u krvi. Stanice štitnjače aktivno transportiraju jodid i druge monovalentne anione iz plazme u citoplazmu preko transportera jodida. Transporter je o ATP-u ovisan Na^+/I^- kotransporter ili simporter koji se nalazi na bazolateralnoj membrani folikularne stanice štitnjače. Unutarstanični jod se brzo oksidira i veže na tirozilske ostatke na molekuli tireoglobulina i ta reakcija se naziva organifikacija tireoglobulina. I_2 nije reaktivni oblik joda, pa zbog toga vezanju na tirozilske ostatke prethodi oksidacija I^- u I^+ oblik. Tu reakciju katalizira tiroidna peroksidaza u prisutsvu vodikova peroksida. Vezanjem joda na tirozilske ostatke nastaje monojodtirozin (MIT) i dijodtirozin (DIT). Vezanjem jedne molekule MIT-a i jedne molekule DIT-a nastaje trijodtironin, a vezanjem dvaju molekula DIT-a nastaje tiroksin (Guyton i Hall, 2012; Francetić i sur., ured., 2003).



Slika 3. Biosinteza hormona štitnjače (Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009)

Dok u stanicama nema potrebe za njima, T3 i T4 ostaju vezani za tireoglobulin. A kada su potrebni, tada procesom pinocitoze, čestice koloida su fagocitirane spajajući se s lizosomima te dolazi do odcjepljenja hormona od tireoglobulina uz proteaze i njihova ulaska u cirkulaciju. T3 i T4 su u perifernoj cirkulaciji reverzibilno vezani za proteine nosače. Oko 60% T4 je vezano za glikoprotein (globulin koji veže tiroksin), oko 30% se veže za prealbumin, oko 10% za albumin, a slobodnu frakciju čini manje od 0,1%. T3 je 99,7% vezan za proteine, a slobodno je 0,3%. On je 10-20 puta slabije vezan za TBG od T4. Biološki aktivne su samo

slobodne frakcije hormona štitnjače. Proteini nosači služe kao skladište hormona, tako da se oni ne mogu filtracijom u bubrezima gubiti iz organizma i ne može doći do naglih promjena njihovih koncentracija, nego se otpuštaju prema potrebi. Od ukupne količine hormona koje otpušta štitnjača oko 93% čini tiroksin, a samo 7% trijodtironin. Međutim, u narednih nekoliko dana, oko polovica tiroksina se sporo dejodira, tako da nastaju dodatne količine trijodtironina. Zbog toga je hormon koji konačno dospijeva u tkiva i u njima se iskorištava, uglavnom trijodtironin (Guyton i Hall, 2012; Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009).

Hormoni štitnjače se metaboliziraju dejodinacijom s pomoću enzima dejodinaze tipa I, II i III, dekarboksilacijom, oksidativnom deaminacijom i pucanjem esterske veze. Konjugacija se odvija u jetri sa glukuronskom i sumpornom kiselinom, te se kao glukuronidi i sulfati izlučuju iz organizma putem žuči i crijeva. Djelovanjem jodtirozin-dehalogenaze iz jodtirozina odcjepljuje se jod, te se u obliku jodida vraća u štitnjaču, gdje opet služi za sintezu hormona.

Jedini izvor T4 je štitnjača, dok oko 80% T3 nastaje perifernom konverzijom iz T4 u ciljnim organizma, primarno u jetri, gdje dolazi so enzimskog ukanjanja 5'-joda iz vanjskog prstena T4. Obratni (reverzni) T3 (rT3), koji je metabolički inaktivan, nastaje dejodinacijom na petom C-atomu unutarnjeg prstena T4. Daljnjom dejodinacijom nastaju dijodtironini, monojodtironini i u konačnici tironin. Ravnoteža hormona štitnjače se najbrže kontrolira perifernom dejodinacijom.

Hormoni štitnjače u ciljne organe dolaze cirkulacijom. Njihovo primarno djelovanje je rezultat vezanja T3 za specifične receptore u jezgri ciljnih stanica. Zatim se kompleksi hormon-receptor vežu na specifična regulacijska mjesta na kromosomima i dovode do ekspresije gena. Stimulira se transkripcija mRNA i aktiviraju se funkcije ciljne stanice. Za T3 postoje dvije vrste receptora, α i β, koje kodiraju geni TRα i TRβ.

Fiziološko djelovanje hormona štitnjače je kompleksno i oni djeluju na cijeli organizam. Djeluju tako da: povećavaju sintezu mnogih proteina i metabolizam ugljikohidrata, pojačavaju sintezu i razgradnju kolesterola i triglicerida, pojačavaju proteolizu ovisnu o ATP-u, utječu na mitohondrijski metabolizam tako da stimuliraju mitohondrijsko disanje i oksidativnu fosforilaciju. Osim toga, utječu na rast i sazrijevanje tkiva, razvoj i spolno sazrijevanje. Povećavaju broj β-adrenergičkih receptora u odnosu na α-adrenergičke receptore, te povećavaju aktivnost Na^+/K^+ ATPaze u jetri, skeletnim mišićima, miokardu, bubregu i tankom crijevu, što rezultira povećanom sintezom i potrošnjom ATP-a i stvaranjem topline.

Kalcitonin djeluje antagonistički na PTH smanjujući koncentraciju kalcija u serumu tako što utječe na aktivnost osteoblasta. Luči se iz tiroideje kao odgovor na veliku koncentraciju kalcija u krvi te smanjuje reapsorpciju fosfata u bubrezima i na taj način povećava izlučivanje

fosfata mokraćom. Veća koncentracija kalcija djeluje na lučenje kalcitonina koji smanjuje reapsorpciju kostiju i sintezu 1,25-dihidroksi-vitamina D_3, čime se smanjuje koncentracija kalcija (Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009).

1.1.3. Bolesti štitnjače i liječenje

1.1.3.1. Hipotireoza

Hipotireza je smanjena funkcija štitnjače ili izostanak učinka hormona štitnjače u stanicama. Može biti primarna ili sekundarna, a zbog mehanizma povratne sprege dolazi do porasta TSH (Francetić i sur., ured., 2003). Uzroci primarne hipotireoze mogu biti: manjak joda u hrani koji uzrokuje endemsku gušu, zatim Hashimotov tireoiditis - autoimuna bolest u kojoj propada tkivo štitnjače zbog prisutnosti antitireoidnih antitijela. Osim toga, uzrok može biti subakutni i postpartalni tireoiditis te uklanjanje štitnjače kirurškim putem ili radioaktivnim jodom. Konatalnu hipotireozu uzrokuju poremećaji u sintezi i djelovanju hormona štitnjače. Nasljedni su i prenose se autosomno recesivno. Može doći do poremećaja prijenosa jodida u štitnjaču, poremećaja aktivnosti enzima tireoidne peroksidaze, poremećaja vezanja tirozina u trijodtironine, poremećaja u sintezi ili prijenosu tireoglobulina, poremećaja dejodinacije, poremećaja prijenosa hormona štitnjače zbog manjka TBG-a ili stvaranja TBG-a sa smanjenim afinitetom za T3 i T4. Osim toga, uzroci konatalne hipotireoze mogu biti ageneza, hipoplazija ili ektopija štitnjače, endemski kretenizam i hipopituitarizam. Sekundarnu hipotireozu uzrokuju poremećaji hipofize ili hipotalamusa (Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009). Hipotireoza se liječi levotiroksinom u dozi od 50 do 200 mg. Tkiva sama stvaraju T3 dejodinacijom. Iako levotiroksin u nadomjesnoj dozi nema štetnih učinaka, zbog opasnosti od precipitacije koronarne bolesti i u starijih osoba liječenje treba početi postupno, sa nižim dozama, te zatim dozu povisivati svaka 2 tjedna dok se ne postigne normalizacija kliničke slike i TSH. Treba imati na umu da normalizacija TSH-a kasni za normalizacijom T4 i FT4 (Francetić i sur., ured., 2003).

1.1.3.2 Hipertireoza

Hipertireoza se pojavljuje kada su stvaranje i lučenje hormona štitnjače povećani. TSH je zbog mehanizma povratne sprege nizak ili ispod granice detekcije. Najčešći uzrok hipertireoze je Basedowljeva ili Gravesova bolest. To je autoimuna bolest kod koje se stvaraju antitijela na TSH-receptore folikularnih stanica štitnjače. Antitijela se vežu na te recepotore i uzrokuju pojačan rad štitnjače. Također, čvorovi u štitnjači mogu biti uzrok hipertireoze. Kod upala štitnjače (tireoiditisi) u ranim fazama dolazi do tireotoksikoze kao posljedica virusne infekcije. Upala razara folikule, što dovodi do oslobađanja velikih količina hormona štitnjače. Tumori hipofize koji luče TSH, kao i metastatski karcinomi su uzrokom hipertireoze (Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009).

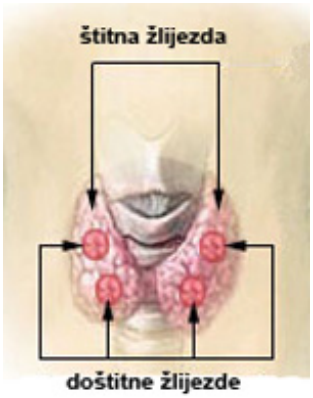
Hipertireoza se može liječiti lijekovima, operacijom ili radiojodom. Od lijekova se koriste najčešće metimazol i propiltiouracil, a rijetko natrijev perklorat, litij i jodidi. Metimazol koči oksidativnu dejodinaciju i spajanje MIT-a i DIT-a u T3 i T4. Propiltiouracil ima isti učinak, ali on koči još i 5'-dejodinazu. Jodidi i litij koče oslobađanje hormona iz štitnjače, a litij koči i sintezu. Radioaktivni jod je pogodan u liječenju hipertireoze kod starijih osoba sa slabim srcem.

Liječenje tumora se sastoji u njihovu odstranjivanju. Svi citološki pozitivni ili sumnjivi nalazi se upućuju na patohistološku provjeru. Ukoliko intraoperativna histologija govori u prilog raku, učini se totalna tireoidektomija, a u slučajevima veće raširenosti tumora i radikalna disekcija vrata. Takvi pacijenti su na doživotnoj terapiji levotiroksinom. Kod anaplastičkog karcinoma liječi se traheotomijom, zračenjem i citostaticima (Francetić i sur., ured., 2003).

1.2. Paratireoidna žlijezda

1.2.1. Anatomija paratireoidne žlijezde

Paratireoidna žlijezda (lat. *glandulae parathyroideae*), je građena od dvije gornje i dvije donje žlijezde. Smještena je između vanjske vezivne ovojnice štitinjače, iza njezinih režnjeva. Gornje paratireoidne žlijezde se nalaze u razini prijelaza ždrijela u jednjak, te su one unutar masnog tkiva, iza gornjeg ili srednjeg dijela režnja štitnjače uz mjesto pristupa grkljanu. Donje paratireoidne žlijezde su obično u razini donjeg pola režnjeva štitaste žlijezde uz mjesto pristupa arteriji štitnjače (Jaloševec, 2005).



Slika 4. Anatomija paratireoidne (doštitne) žlijezde (preuzeto sa www.cybermed.hr)

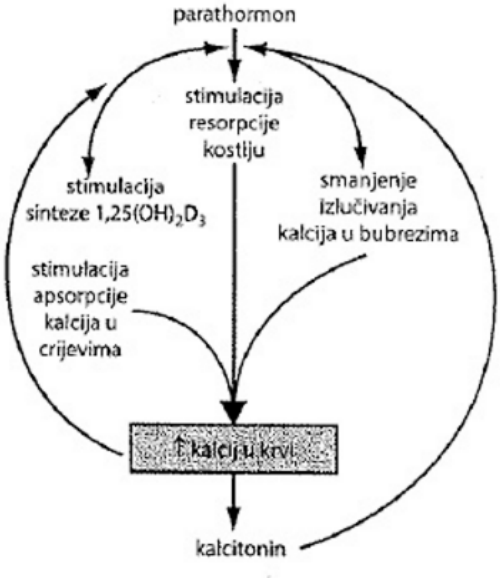
1.2.2. Sinteza, sekrecija i metabolizam hormona

Paratireoidni hormon (PTH) se sintetizira i izlučuje iz paratireoidnih žlijezda. Paratireoidna žlijezda sadrži glavne stanice i mali do umjereni broj oksifilnih stanica, čija funkcija nije sa sigurnošću ustanovljena. Glavne stanice su odgovorne za sintezu, pohranu i sekreciju PTH (Rifai i sur., 2018; Guyton i Hall, 2012).

PTH se sintetizira na ribosomima u obliku preprohormona, polipeptidnog lanca od 110 aminokiselina. On se razgradi na prohormon, koji sadrži 90 aminokiselina, a zatim u endoplazmatskoj mrežici i u Golgijevu aparatu u sam hormon, koji sadrži 84 aminokiseline. Hormon se naposljetku uskladišti u sekrecijskim zrncima u staničnoj citoplazmi. Biološki aktivan je aminoterminalni dio molekule s 34 aminokiseline (PTH_{1-34}). Uz intaktni PTH (PTH_{1-84}) u paratireoidnoj žlijezdi i cirkulaciji nalaze se i njegovi fragmenti cijepanja: N-terminalni, C-terminalni i fragmenti srednjeg dijela molekule. Iz paratireoidnih žlijezda dolazi do sekrecije intaknog hormona, ali i C-terminalnih fragmenata, dok se perifernim metabolizmom intaktni hormon preko jetre i bubrega cijepa do C-terminalnih fragmenata. U renalnom klirensu se nalaze intaktni hormon i C-terminalni fragmenati. Biološki aktivni intaktni PTH brzo odlazi iz plazme kod zdravih ljudi sa Kupfferovim stanicama preko jetre i glomerularnom filtracijom preko bubrega. A čini se da periferni metabolizam inaktivira intaktni hormon bez otpuštanja mjerljivih koncentracija biološki aktivnog N-terminalnog fragmenta koji se brzo eliminiraju preko jetre (Rifai i sur., 2018; Guyton i Hall, 2012; Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009).

Koncentracija PTH u krvi ovisi o omjeru brzine sinteze i sekrecije, njegovu metabolizmu i klirensu u jetri i urinu. Glavni regulatori sekrecije PTH su slobodni kalcij, 1,25-dihidroksi-

vitamin D_3 i fosfati. PTH djeluje izravno na kosti i bubrege, a preko 1,25-dihidroksi-vitamina D_3 indirektno djeluje kako bi povećao koncentraciju slobodnog kalcija u plazmi i u konačnici smanjio plazmatsku koncentraciju fosfata. PTH i 1,25-dihidroksi-vitamin D_3 su primarni hormoni koji reguliraju koštani i mineralni metabolizam (Rifai i sur., 2018).



Slika 5. Djelovanje parathormona na koncentraciju kalcija u krvi (Čvorišćec i Čeplak, ured., 2009)

1.2.3. Biološki učinak

PTH djeluje tako da stupa u interakciju sa tipom 1 PTH receptora (PTH/PTHrP receptori) koji se nalaze u plazma membrani ciljnih stanica tkiva. PTH 1 receptor (PTH1P) je G protein vezan za receptor (GPCR). Vezanjem PTH za receptor aktiviraju se se adenilat ciklaza i fosfolipaza C, što dovodi do dosforilacije proteina, aktivacije i lučenja enzima. Ciklički adenozin-monofosfat (cAMP) djeluje kao drugi glasnik, on odgovoran za lučenje enzima i kiselina iz osteoklasta, što izaziva apsorpciju kosti, te za stvaranje 1,25-dihidroksi-vitamina D_3 u bubrezima (Rifai i sur., 2018; Guyton i Hall, 2012).

PTH djeluje tako da povećava apsorpciju kalcija i fosfata iz kosti i ima dva učinka. Prvi učinak je brz i započinje za nekoliko minuta, te se sve više pojačava tijekom više sati, a nastaje zbog aktivacije već postojećih koštanih stanica, većinom osteocita. Drugi učinak je sporiji i potrebno je nekoliko dana do tjedana da se potpuno razvije. On nastaje zbog proliferacije osteoklasta, koja je praćena povećanom osteoklastičnom apsorpcijom kosti.

Prvi učinak, brza faza apsorpcije kalcija i fosfata iz kosti naziva se osteoliza. U staničnim membranama osteoblasta i osteocita se nalaze receptorske bjelančevine koje vežu PTH. On aktivira kalcijsku crpku i tako brzo uklanja soli kalcijeva fosfata iz amorfnih koštanih kristala. PTH pospješuje rad crpke tako što povećava propusnost osteocitne membrane za kalcij, na onoj strani koja je okrenuta prema koštanoj tekućini, što omogućuje difuziju kalcija iz koštane tekućine u stanice osteocitne membrane. Na suprotnoj strani stanice membranska crpka za kalcij prebacuje kalcijeve ione u izvanstaničnu tekućinu.

Drugi učinak, spora faza apsorpcije kosti i otpuštanja kalcijeva fosfata naziva se aktivacija osteoklasta. Osteoklasti nemaju u membrani receptorske bjelančevine za PTH, nego se smatra da aktivirani osteoblasti i osteociti odašilju osteoklastima posredni signal. Taj posredni signal je osteoprotegrin-ligand, koji aktivira receptore na preosteoklastičnim stanicama i pretvara ih u zrele osteoklaste koji tijekom tjedana i mjeseci obavljaju svoju zadaću razgradnje kosti. Osteoklastični sustav se aktivira u dva stupnja. Prvi stupanj je neposredna aktivacija već postojećih osteoklasta, a drugi stupanj je stvaranje novih osteoklasta. Na osteoklastični sustav višak PTH utječe tako da već za nekoliko dana on postane dobro razvijen, a zbog snažnog podraživanja PTH-om bujanje sustava se može nastaviti mjesecima. Osteoklastična apsorpcija kosti zbog viška PTH može nakon nekoliko mjeseci oslabiti kost i posredno podražiti osteoblaste, koji pokušavaju popraviti oslabljenu kost. Kasni učinak se zapravo sastoji u pojačavanju aktivnosti osteoblasta i osteoklasta. Ali ipak, pri trajnom suvišku PTH, čak i u kasnijim stadijima, apsorpcija kosti je veća od njezina odlaganja.

PTH brzo izazove izlučivanje fosfata mokraćom, a to nastaje zbog smanjene reapsorpcije fosfatnih iona u proksimalnim kanalićima bubrega. Dok istodobno smanjuje reapsorpciju fosfata, PTH povećava tubularnu reapsorpciju kalcija. PTH povećava i reapsorpciju magnezijevih i vodikovih iona, a smanjuje reapsorpciju natrijevih, kalijevih i aminokiselinskih iona, na vrlo sličan način kao što smanjuje reapsorpciju fosfata. Povećana reapsorpcija kalcija se većinom zbiva u završnim distalnim kanalićima i početnim sabirnim cijevima, a u manjoj mjeri u uzlaznom kraku Henleove petlje. Da nema toga djelovanja PTH kojim se povećava reapsorpcija kalcija u bubrezima, neprestano izlučavanje kalcija mokraćom bi u konačnici uzrokovalo nedostatak tog minerala u kostima i izvanstaničnoj tekućini.

Osim toga, PTH uvelike povećava crijevnu apsorpciju kalcija i fosfata tako što u bubrezima povećava stvaranje 1,25-dihidroksi-vitamina D_3 iz vitamina D.

Čak i najmanje smanjenje koncentracije kalcijevih iona u izvanstaničnoj tekućini utječe na paratireoidne žlijezde i već za nekoliko minuta povećavaju lučenje hormona, a ako smanjena koncentracija potraje , žlijezde hipertrofiraju, pa se katkad povećaju za pet puta. Dok kod

stanja pri kojima je povećana koncentracija kalcijevih iona djeluju tako da smanjuju aktivnost i veličinu paratireoidnih žlijezda. Takva stanja su: prevelika količina vitamina D u hrani, prekomjerna količina kalcija u hrani , te apsorpcija kosti koja nastaje zbog drugih razloga, a ne zbog PTH.

Promjene koncentracije kalcijevih iona u izvanstaničnoj tekućini zamjećuje receptor osjetljiv na kalcij (CaSR) koji se nalazi u membrani paratireoidnih stanica i koji je povezan s G-bjelačevinom. Receptor aktivira fosfolipazu C, kada je potaknut kalcijevim ionima, i povećava unutarstanično stvaranje inozitol-1,4,5-trifosfata i diacilglicerola. To potiče oslobađanje kalcija iz unutarstaničnih zaliha, što smanjuje sekreciju PTH (Guyton i Hall, 2012).

1.2.4. Bolesti i liječenje

Primarni hiperparatireoidizam je prekomjerno lučenje parathormona iz jedne ili više paratireoidnih žlijezda, te uzrokuje poremećaj metabolizma kalcija, fosfora i pregradnje koštanog tkiva. Najčešći uzrok su solitarni adenomi (85%). Ostatak je uzrokovan hiperplazijom, multiplim adenomima, a samo mali broj (<1%) karcinomima. Nasljedno je oko 5% slučajeva, uključujući udruženost s multiplom endokrinom neoplazijom (MEN).

Primarni hiperparatireoidizam se liječi kirurškim uklanjanjem hiperfunkcionalnog paratireoidnog tkiva. Bolest jedne paratireoidne žlijezde liječi se njezinim uklanjanjem, a ukoliko je zahvaćeno više žlijezda, uklanjaju se tri i polovina četvrte (suptotalna paratireoidektomija). Ako se radi o karcinomu, potrebano je načiniti totalnu paratireoidektomiju uz resekciju vrata ako postoje metastaze u regionalnim limfnim čvorovima. Nakon uklanjanja promijenjenog paratireoidnog tkiva mogu se pojaviti komplikacije. Najčešća i najteža je hipokalcijemija, koja se liječi primjenom kalcija i preparata vitamina D. Nakon operacije potrebno je pratiti bolesnike, osobito one kod kojih posrijedi hiperplazija paratireoideja ili paratireoidni karcinom. Svrha praćenja je otkrivanje postoperacijskih komplikacija i praćenje recidiva bolesti. Bolesnici s primarnim hiperparatireoidizmom koji imaju jaku simptomatsku hiperkalcijemiju moraju se liječiti infuzijom fiziološke otopine, furosemidom, bisfosfonatom, a ponekad i dijalizom.

Sekundarni hiperparatireoidizam je svako stanje koje izaziva hipokalcijemiju, a ako ona duže traje, može dovesti do hiperplazije i hiperfunkcije paratireoidnih žlijezda. Sekundarni

hiperparatireoidizam javlja se u bolesnika s malapsorpcijom ili poremećajima metabolizma vitamina D i u bolesti jetre. Najčešći uzrok je kronično zatajivanje bubrežne funkcije.
Hipoparatireoidizam je stanje u koje karakterizira manjak PTH s poremećajem metabolizma kalcija i fosfora. U pseudohipoparatireoidizmu fukcija paratireoideja je očuvana, ali tkivo je rezistetno na djelovanje PTH. Hipoparatireoidizam i pseudohipoparatireoidizam su rijetke bolesti. Nasljedni oblici hipoparatireoidizma su rjeđi od stečenih. Najčešći je jatrogeni oblik, koji nastaje nakon kirurškog zahvata, kao što su odstranjivanje ili oštećenje paratireoideja pri strumektomiji, tireoidektomiji i radikalnoj resekciji vrata. Liječenje uključuje suzbijanje hipokalcijemije, hiperfosfatemije i hipomagnezemije ako je prisutna (Francetić i sur., ured., 2003).

1.2.5. Referentni interval i kliničko značanje

Referentni interval za PTH je: 15-65 pg/ml ili 1,59-6,89 pmol/ml (Thomas, 1998; Blind, 1900).
Mjerenje PTH je značajno u diferencijalnoj dijagnostici hiperkalcijemije i hipokalcijemije, za procjenu funkcije paratireoidne žlijezde i renalne funkcije, te za mjerenje paratireoidne funkcije u kostima i poremećaja minerala.
PTH je najvažnija analiza u diferencijalnoj dijagnostici hiperkalcijemije. Plazmatska koncentracija intaktnog PTH je povećana kod većine pacijenata s primarnim hiperparatireoidizmom i ispod je normalne ili blizu donje granice referentnog intervala kod većine pacijenata s neparatireoidnom hiperkalcijemijom, uključujući malignu hiperkalcijemiju.
Kada je god moguće, PTH uzorci bi trebali biti uzorkovani prije terapije za hiperkalcijemiju, zbog toga što sekrecija PTH može biti stimulirana smanjenjem serumskog kalcija. Povećana ili nedetektabilna koncentracija PTH u pacijenata sa hiperkalcijemijom i malignošću, upućuje na to da se radi o hiperparatireoidizmu i malignosti, a u tim slučajevima ektopična produkcija PTH je jako rijetka.
Zbog kratkog životnog vijeka PTH (< 5min), intraoperativno određivanje intaktnog PTH se može koristiti za određivanje veličine paratireoidektomije i za procjenu minimalno invazivne operacije. PTH se mjeri neposredno prije reza i 20 minuta nakon resekcije hiperfunkcionirajuće paratireoidne žlijezde. Smanjenje za 50% upućuje da je uklonjeno većina hiperfunkcionirajućeg tkiva. Ova metoda ovisi o križnoj reaktivnosti PTH fragmenata i

specifičnosti metode koja mjeri smanjenje PTH. Za razliku od pacijenata sa solidnim paratireoidnim adenomima, interpretacija rezultata kod pacijenta sa multigranularnom bolesti je kompliciranа. PTH se može naglo povećati nakon vađenja hiperfunkcijskog tkiva. Postoperativne koncentracije PTH nakon tireoidektomije mogu predvidjeti razvoj hipokalcijemije zbog velikog unosa kalcija u kosti.

Niske do normalne koncentracije PTH su kod većine pacijenta sa hipoparatireoidizmom. Te su koncentracije jako niske kod pacijenta sa hipokalcijemijom. Slabo detektabilne koncentracije su uočene kod dosta pacijenta sa hipoparatireoidizmom i neparatireoidnom hiperkalcijemijom koje mogu biti rezultat nedostatne metode određivanja kod niskih koncentracija, nespecifičnosti seruma, i/ili mjerenja N-terminalnog PTH.

Kod sekundarnog hiperparatireoidizma, PTH je povećan prije ukupnog i slobodnog kalcija, te postane kritično nizak, što je posljedica homeostatskog mehanizma za održavanje serumskog kalcija. Za identifikaciju sekundarnog hiperparatireoidizma PTH je osjetljiviji od kalcija.

Kod pacijenta sa kroničnom bolesti bubrega, mjerenje PTH je koristan za procjenu paratireoidne funkcije, u procjeni koštane promjene i praćenju poboljšanja stanja.

Paratireoidni status je većinom određen mjerenjem PTH u preddijaliziranom uzorku jer brojni faktori, uključujući promjene plazmatskog kalcija i tip dijalizacijske membrane, utječe na sekreciju i klirens PTH. Usporedba preddijalizacijskog i postdijalizacijskog uzorka su predložene za procjenu akutnog paratireoidnog odgovora na promjene plazmatskih koncentracija kalcija (Rifai i sur., 2018).

1.3. Kalcij

Kalcij je peti najčešći element u tijelu i najčešći kation. Prosječno ljudsko tijelo sadrži 1 kg, ili 25 mola kalcija. Kosti sadržavaju 99% kalcija u tijelu, a meka tkiva i ekstracelularna tekućina sadrže oko 1% kalcija u tijelu.

Kalcij postoji u tri fiziokemijska stanja u plazmi: oko 50% je slobodno (ionizirano), 40% je vezano za proteine plazme, a 10% je u obliku kompleksa sa malim difuzibilnim organskim i anorganskim anionima, uključujući bikarbonate, laktate, fosfate i citrate. Biološki aktivni oblik je frakcija slobodnog kalcija. Njegova koncentracija u plazmi je regulirana sa kalcij-regulirajućim hormonima PTH i 1,25-dihidroksi-vitaminom D_3. Od ukupnog kalcija koji je vezan na proteine oko 80% je vezano na albumin, a preostalih 20% na globuline. Zbog toga što se kalcij veže na negativno nabijena mjesta na proteinima i njegovo vezanje ovisi o pH,

alkaloza dovodi do povećanja negativnog naboja i vezanja i smanjenja slobodnog kalcija. Obrnuto, acidoza dovodi do smanjenja negativnog naboja i vezanja, a povećava se koncentracija slobodnog kalcija.

Fiziološki, kalcij se može klasificirati kao intracelularni ili ekstracelularni. Intracelularni kalcij ima ključnu ulogu mnogim važnim fiziološkim funkcijama, uključujući mišićnu kontrakciju, hormonsku sekreciju, metabolizam glikogena i diobu stanica. Intracelularne koncentracije kalcija u citosolu su oko 0,1 μmol/L, što je 1:10000 manje nego u ekstracelularnoj tekućini. Ekstracelularni kalcij osigurava kalcijske ione za održavanje intracelularnog kalcija, mineralizaciju kostiju, koagulaciju krvi i potencijal plazmatske membrane. Kalcij stabilizira plazmatske membrane i utječe na permeabilnost i ekscitabilnost. Smanjenje serumske koncentracije slobodnog kalcija uzrokuje povećanje neuromuskularne ekscitabilnosti i tetaniju, a povećana koncentraciju smanjuje neuromuskularnu ekscitabilnost (Burtis i sur., ured., 2012).

1.3.2. Hipokalcijemija

Nizak ukupni kalcij u serumu može biti posljedica redukcije kalcija vezanog za albumin, slobodne frakcije kalcija ili oboje. Hipoalbuminemija je najčešći uzrok hipokalcijemije kod hospitaliziranih pacijenata. Osim toga, česti uzroci niskog serumskog albumina povezani su sa kroničnom bolesti jetre, nefrotičkim sindromom i malnutricijom. U tim uvjetima koncentracija slobodnog (ioniziranog) kalcija većinom je održana unutar referentnog intervala. Najčešći uzrok prave hipokalcijemije je kronično zatajenje bubrega i hipomagnezemija, niski serumski 1,25-dihidroksi-vitamin D_3 (koji je uzrokovan smanjenom renalnom sintezom) i/ili sa rezistencijom na PTH. Deficit magnezija također dovodi do hipokalcijemije preko nekoliko mehanizama, koji uključuju nepravilnost PTH sekrecije i smanjen odgovor ciljnih organa na PTH.

Manje učestali uzrok hipokalcijemije uključuje hipoparatireoidizam, pseudohipoparatireoidizam i mutaciju receptora osjetljivog na kalcij (CaSR). Hipoparatireoidizam je najčešće uzrokovan oštećenjem paratireoidne žlijezde tijekom operacije vrata, a rjeđe je povezan sa autoimunom endokrinom bolešću. Koncentracija serumskog intaktnog PTH su niske ili normalne kod hipoparatireoidizima, a povećane su kod pseudohipoparatireoidizma. Nedostatak vitamina D je čest uzrok simptomatskih hipokalcijemija i karakteriziran je niskom koncentracijom 25-hidroksi-vitamina D_3 u serumu,

visokom koncentracijom PTH i visokom koncentracijom serumske alkalne fosfataze. Za simptomatsku hipokalcijemiju, kalcij može biti dan intravenozno, a biokemijski odgovor na terapiju se prati mjerenjem ukupnog serumskog kalcija. Ako je hipokalcijemija sekundarna i uzrokovana hipoparatireoidizmom, pseudohipoparatireoidizmom ili vitaminom D, pacijenti se liječe oralnim suplementima kalcija.

Mutacije CaSR-a i autoimuno uništavanje paratireoidnih žlijezda isto mogu biti uzroci hipokalcijemije. Postoperativni hipoparatireoidizam je neuobičajen kod pacijenata koji su bili na operaciji zbog primarnoghiperparatireoidizama ili sekundarnog hiperparatireoidizam, ali ne i kod bolesnika koji suprošli kroz opsežnu operaciju vrata u svrhu liječenja malignih bolesti glave i vrata. Hipokalcijemija u prisustvu funkcionalnih paratireoidnih žlijezda je vrlo kasna manifestacija bolesti jer će interakcija PTH i 1,25-dihidroksi-vitamina D_3 održavati normokalcijemiju sve dok zalihe 25-hidroksi-vitamin D_3 nisu ozbiljno iscrpljne ili u kasnijim fazama kroničnog zatajenja bubrega(CRF), kada proizvodnja1,25-dihidroksi-vitamina D_3više nije adekvatna (Burtis i sur., ured., 2012).

1.3.3. Hiperkalcijemija

Hiperkalcijemija je česta u kliničkoj praksi i javlja se kada je priljev kalcija u ekstracelularnu tekućinu iz kostiju, bubrega i crijeva puno veći od efluksa. Na primjer, kod opsežne reapsorpcije minerala kostiju zbog malignosti, dolazi do hiperkalcurije. Do hiperkalcijemije dolazi kada je premašen kapacitet bubrega da izluče filtrirani kalcij. Hiperkalcijemija može biti uzrokovana povećanom intestinalnom apsorpcijom, povećanom renalnom retencijom, povećanom koštanom reapsorpcijom. Najčešći uzroci hiperkalcijemija kod hospitaliziranih pacijenata su maligne bolesti, dok je kod ostalih pacijenata uzrok primarni hiperparatireoidizam. Primarni hiperparatireoidizam je karakteriziran povećanim izlučivanjem PTH, koji rezultira hiperkalcijemijom.To je najčešće uzrokovano adenomima (80 do 85% slučajeva), rjeđe (oko 15%) hiperplazijom koja uključuje sve žlijezde, a vrlo rijetko paratireoidnim karcinomima (<1%).

Hiperkalcijemija se treba pratiti mjerenjem ukupnog kalcija i serumskog albumina, ili mjerenjem slobodnog kalcija više puta. Mjerenje intaktnog PTH (s istodobnim mjerenjem kalcija) je najosjetljiviji i specifičniji test za funkciju paratireoidne žlijezde i središnji je za diferencijalnu dijagnostiku hiperkalcijemije. Serumski 1,25-dihidroksi-vitamin D_3 je često u gornjoj polovici referentnog intervala ili se povećava u primarnom hiperparatireoidizmu, kako

PTH potiče produkciju. Suprotno tome, 1,25-dihidroksi-vitamin D_3 je nizak do normalan kod neparatireoidnih hiperkalcijemija, osim u sarkoidozi, te drugim granulomatoznim bolestima i određenim limfoma, u kojima patološka tkiva sadrže 25-hidroksivitamin D-1α-hidroksilaze potrebne za dobivanje 1,25-dihidroksi-vitamina D_3.

PTH povećava renalni klirens bikarbonata i fosfata tako da se u primarnom hiperparatireoidizmu (PHPT), može javiti blaga metabolička acidoza, dok se u neparatireoidnoj hiperkalcijemiji, javlja blaga metabolička alkaloza. Iako često dolazi do hipofosfatemije u PHPT, mjerenje serumskog fosfata je ograničeno jer je hipofosfatemija također prisutna u hiperkalcijemiji pacijenata s rakom.

Hiperkalcijemija se javlja kod 5-30% osoba sa rakom. Maligne stanice solidnog tkiva obično proizvode peptid sličan paratireoidnom hormonu (PTHrP, engl. *parathyroid hormone–related peptide*), koji se izlučuje u cirkulaciju i potiče resorpciju kostiju. PTHrP veže se na PTH receptor i glavni je posrednik malignomske humoralne hiperkalcijemije (MHH). Metastaze u kostima također mogu uzrokovati hiperkalcijemiju, ali to je kasna manifestacija. Citokini kao što su limfotoksin, interleukin-1, faktor tumorske nekroze i PTHrP su važni posrednici hiperkalcijemije kod multipliog mijeloma i drugim hematoloških malignih bolesti (Burtis i sur., ured., 2012).

1.3.4. Referentni interval i prednost određivanja slobodnog (ioniziranog) kalcija

Tablica 1. Referentni intervali za kalcij

Životna dob (godine)	Referentni interval (mmol/L)
< 17	M: 1,22 do 1,37 Ž: 1,22 do 1,37
18 - 19	M: 1,22 do 1,37 Ž: 1,18 do 1,32
> 20	M: 1,18 do 1,32 Ž: 1,18 do 1,32

(Stavljenić i Čvorišćec, 2007)

Metode koje se koriste za određivanje kalcija u krvi mogu mjeriti slobodni Ca^{2+} ion ili ukupnu koncentraciju kalcija. Izraz ionizirani kalcij, iako široko korišten, je pogrešan naziv jer je sav kalcij u plazmi ili serumu ioniziran, bez obzira na to je li slobodan ili je povezan s njim

proteina ili malim anionima. Slobodni kalcij je biološki aktivna frakcija kalcija u krvi. Reguliran je sa PTH i 1,25-dihidroksi-vitamina D_3, te je najbolji pokazatelj statusa kalcija. Metode za oboje ukupni i slobodni kalcij su trenutno u uporabi i imaju svoje izvori pogreške.

Status kalcija je točnije određen mjerenjem slobodnog kalcija, koji je čvrsto reguliran i biološki je aktivni oblik. Interpretacija ukupne vrijednosti kalcija u serumu je kompliciranа zbog povezanosti sa proteinima i anorganskim i organskim iona. Tumačenje slobodne koncentracije kalcija je manje kompliciranо, pod uvjetom da je uzorak pravilno izvađen, obrađeni i analizirani. Slobodni kalcij je korisniji od ukupnog kalcija za određivanje kod bolničkih pacijentima, osobito kod onih koji su su dobili citiranu krv ili trombocite, heparin, bikarbonat, intravenozne otopine, ili kalcij. Promjene pH i temperature krvi uzrokuju smanjenu učinkovitost analize ukupnog kalcija u njima pacijenata. Brzo mjerenje slobodnog kalcija, krvnih plinova, i kalij dopušta održavanje dobre srčane funkcije tijekom operacija presađivanja jetre i kao i drugih opsežnih operacija. Također, korisnije je određivati slobodni kalcij od ukupnog kalcija kod pacijenata na intenzivnoj njezi, zbog abnormalnih koncentracija proteina i cirkulirajući čimbenika koji mijenjaju vezanje kalcija na albumin. Često se javlja iznimno niska koncentracija slobodnog kalcija kod kronično bolesnih pacijenata.

Poremećaj koštanog i mineralnog metabolizma je čest kod renalne bolest. Terapija i metabolizam kalcija kod takvih bolesnika se najbolje procjenjuje određivanjem slobodnog kalcija zbog promjena proteina, pH, proteina koji vežu kacij, te kompleksa kalcija s organskim i anorganskim aniona.

Slobodni kalcij može biti koristan u dijagnozi hiperkalcijemije. Kod pacijenata s primarnim hiperparatireoidizmom, koji je utvrđen kirurškim putem, češće se povećava slobodni kalcij nego u ukupnom kalcij. Slobodni kalcij je osjetljiviji od ukupnog kalcija u otkrivanju hiperkalcijemije povezane s malignim bolestima, kao što se može očekivati kod bolesnika kojima je često snižen serumski albumin. Rjeđe, paraproteini proizvedeni u mijelomu mogu vezati kalcij, komplicirajući tumačenje rezultata. U novorođenčadi, mjerenje koncentracije slobodnog kalcija, umjesto ukupnog kalcija, se preporuča zbog brzine, i zbog veće točnosti u prisutnosti hiperfosfatemije s promjenama u pH, i uz postojanost α-fetoproteina nakon rođenja (Burtis i sur., ured., 2012).

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Tiroidna žlijezda i paratireoidne žlijezde anatomski su gotovo neodvojive što otežava operativne zahvate na samim paratireoidnim žlijezdama i na štitnoj žlijezdi. Kirurg čini sve da pacijenta ne ostavi bez paratireoidnih žlijezda što znači da operativnim zahvatom bilo štitnjače, bilo paratireoidnih žlijezda, odvaja i sačuva barem neke od 4 paratireoidne žlijezde da bi se očuvao mehanizam homeostaze kalcija. Radikalne operacije štitnjače, čak i tumora, također odvajaju i ostavljaju anatomski i funkcionalno paratireoidne žlijezde. Za to je potrebna iznimna vještina kirurga da u mikrostrukturama odvoji paratireoidne žlijezde sa svim njihovim anatomskim poveznicama s organizmom. Nakon operacije, mikrocirkulacija paratireoideja jedno je vrijeme zaustavljena i uspostavlja se nakon nekoliko dana. Pacijent se u tom vremenu nalazi u kompromitiranom stanju, odnosno u opasnosti od hipoparatireoidizma i hipokalcijemije. Postoperatvna skrb u prvim danima nakon zahvata vrlo je važna u smislu mogućih komplikacija, te je podatak o koncentraciji slobodnog kalcija i hormona PTH od velikog značaja za postoperativni tijek.

Cilj ovoga rada bio je utvrditi u kojoj mjeri operativni zahvat na štitnjači poremeti homeostazu kalcija u kraćem postopertivnom periodu pacijenata koji su podvrgnuti totalnoj tireoidektomiji u odnosu na pacijente koji imaju ostale zahvate na štitnjači ili doštitnoj žlijezdi.

Specifični ciljevi:

1. Odrediti koncentracije slobodnog kalcija i hormona paratireoidne žlijezde (PTH) prije operativnog zahvata i poslije operativnog zahvata
2. Razdvojiti rezultate mjerenja za totalno odstranjenje štitnjače od ostalih zahvata na štitnjači i doštitnoj žlijezdi
3. Utvrditi i usporediti dinamiku promjena koncentracije kalcija i PTH u ovisnosti o vrsti operativnog zahvata
4. Razdvojiti rezultate muške i ženske populacije bolesnika i utvrditi postoji li različito postoperativna stanje ovisno o spolu
5. Utvrditi koja je skupina bolesnika ugroženija u postoperativnom tijeku te za koje je bolesnike potrebna intenzivnija medicinska skrb i rana postoperaivni laboratorijska obrada.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Uzorci

Uzorci za ovo istraživanje su prikupljeni u Klinici za otorinolaringologiju i kirurgiju glave i vrata. U istraživanju je sudjelovalo 192 pacijenata različite dobi, koji su bili podvrgnuti operaciji štitnjače. Većini pacijenata je učinjena totalna tireoidektomija, dok su ostali podvrgnuti: lobektomiji štitnjače, ekstirpaciji paratireoidne žlijezde, eksciziji tumora ili selektivnoj disekciji vrata. Pacijentima su uzeti uzorci krvi prije operativnog zahvata i 24 do 72 sati nakon operativnog zahvata. Vremenski period od 5 mjeseci (od studenoga 2015. do ožujka 2016.) obuhvatio je sve operacije štitnjače na klinici. Uzorci su u epruveti bez antikoagulansa centrifugirani, a zatim je u novu epruvetu uzet alikvot seruma i zamrznut na -20°C u svrhu određivanja PTH. Odmah nakon centrifugiranja uzorka izmjerene su koncentracije ioniziranog kalcija u serumu.

3.1.1. Metoda određivanja iCa

Koncentracija ioniziranog kalcija u humanom serumu određena je potenciometrijom na ion-selektivnim elektrodama (ISE) na aparatu Rapidpoint 400 (Siemens AG, München, Njemačka).

Princip metode

Potenciometrija je preporučena metoda za određivanje koncentracije ioniziranog kalcija. Analizator se sastoji od sistemskih pumpi koje, pod kontrolom mikroprocesora, transportiraju kalibracijsku otopinu, uzorke i otopinu za ispiranje preko mjernih ćelija koje sadrže kalcij ion-selektivnu, referentnu i pH elektrodu. Osjetljivi potenciometri mjere razliku napona između kalcij ili pH i referentne elektrode za kalibracijsku otopinu ili uzorke. Mikroprocesor kalibrira sustav i izračunava koncentraciju kalcija i pH. Većina istrumenata istovremeno mjeri slobodni kalcij i pH na 37 ˚C.

Kalcij ISE sadrže i kalcij selektivnu membranu koja zatvara unutarnju referentnu otopinu kalcijeva klorida. Unutarnja referentna otopina često i sadrži saturirani srebrov klorid i fiziološke koncentracije natrijeva klorida i kalijeva klorida, te unutarnju referentnu elektrodu.

Referentna elektroda je, većinom Ag/AgCl, uronjena u unutarnju referentu otopinu. Moderne kalcij ISE-e koriste tekuće membrane koje sadrže ion-selektivne senzore za kalcij koji su otopljeni u organskoj tekućini i usidreni u polimernom matriksu. Kao senzori najčešće su korišteni neutralni nosači koji sadrže nenabijene kalcij-selektivne organske molekule, kao što je ETH1001. Te molekule imaju povoljno steričko i elektrostatičko mjesto za vezanje kalcija. Elektrokemijske ćelije su upotpunjenje sa vanjskom referentnom elektrodom, Ag/AgCl ili kalomel elektrodom, koja je u kontaktu sa uzorkom preko potencijala spoja dvaju tekućina (engl. *liquid/liquid junction*) ili eletrolitnog mosta (engl. *salt bridge*) kalijevog klorida ili natrij formata. Razlika u potencijala u ćelijama je logaritamski povezana s aktivnošću slobodnih iona kalcija u uzroku preko Nerstove jednadžbe. Aktivnost slobodnog kalcija se pretvara u koncentraciju preko aktivacijskog koficijenta, koji ovisi o ionskoj jakosti (Burtis i sur., ured., 2012).

3.1.2. Metode određivanja PTH

PTH je određivan na automatskom analizatoru cobas e 411 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Njemačka) metodom ECLIA (engl. *Electrochemiluminescence immunoassay* - elektrokemoluminiscentna metoda) koristeći komercijalno dostupan reagens PTH STAT (engl. *Short Turn Around Time*). Analiza traje 9 minuta.

Reagensi

M- streptavidinom obložene mikročestice, mikročestice imaju magnetska svojstva

R1- biotinilirano monoklonsko anti-PTH-biotin antitijelo (podrijetlom iz miša) u fosfatnom puferu, pH=7,0

R2-monoklonsko anti-PTH antitijelo (podrijetlom iz miša) obilježena kompleksom s rutenijem u fosfatnom puferu, pH=7,0

Princip metode

Metoda korištena za određivanje PTH je ECLIA (engl. *Electrochemiluminescence immunoassay* - elektrokemoluminiscentna metoda), a temelji se na principu sendviča, u kojem

biotinilirano monoklonsko antitijelo reagira sa N-terminalnim fragmentom i monoklonsko antitijelo obilježeno kompleksom s rutenijem reagira sa C-terminalnim fragmentom. Antitijela korištena u analizi reagiraju sa epitopima na aminokiselinskoj regiji od 26-32 i 37-42.
U analizi su dvije inkubacije. Tijekom prve inkubacije 50 µL uzroka, biotinilirano monoklonsko PTH-specifično antitijelo i monoklonsko PTH-specifično obilježeno antijelo sa kompleksom s rutenijem formiraju sendvič kompleks. U drugoj inkubaciji, nakon dodatka mikročestica koje su obložene streptavidinom, kompleks postaje solidna faza preko interakcija biotina i streptavidina. Reakcijska smjesa se aspirira u kivetu za mjerenje gdje se mikročestice s magnetnim svojstvima vežu površinu elektrode. Napon na elektrodama inducira kemiluminiscentu emisiju koja se mjeri pomoću fotomultiplikatora. Rezultati se određuju pomoću kalibracijske krivulje.

3.2. Statistička obrada podataka

Za statističku obradu podataka je korišten program za statističku obradu podataka MedCalc® (MedCalc Software bvba, verzija 17.7, trial inačica). Tablice s rezultatima i grafovi su također napravljeni pomoću statističkog programa MedCalc®. Normalnost raspodjele skupova podataka ispitana je D'Agostino-Pearsonov-im statističkim testom. Kada distribucija podataka slijedi Gaussovu raspodjelu korišteni su parametrijski testovi, a podatci su opisani srednjom vrijednosti i standarnom devijacijom. Kada distribucija podataka ne slijedi Gaussovu raspodjelu korištenisu neparametrijski testovi, a podatcisu opisani medijanom i rasponom izmjerenih vrijednosti. Od neparametrijskih testova za usporedbu nezavisnih podataka korišten je Mann-Whitney-ev test, koji je neparametrijski analog nezavisnog t-testa. Za usporedbu zavisnih podataka korišten je Wilcoxonov test, koji je neparametrijski analog parnog t-testa. Svi rezultati interpretirani su na razini statističke značajnosti $P < 0,05$.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Rezultati

U Tablici 2. su prikazane karakteristike bolesnika koji su uključeni u istraživanje. Bilo je značajno više žena nego muškaraca (P<0,0001). U istaživanje je bilo uključeno 192 bolesnika, ali nisu svima izmjerene koncentracije iCa i PTH prije operativnog zahvata i nakon. Manjem dijelu bolesnika su izmjerene koncentracije iCa i PTH samo prije operacije ili samo nakon operacije jer nije bilo dovoljne količine uzorka za analizu. Raspodjela varijabli ne slijedi Gaussovu krivulju, te su mjere središnjice prikazane medijanom, a rasap je prikazan rasponom između najmanje i najveće vrijednosti (min. – max.) ili interkvartilnim rasponom. Prema vrsti operacije, bolesnici su podijeljeni u dvije skupine. Prva skupina su bolesnici kojima je učinjena totalna tireoidektomija (lat. *thyreoidectomia totalis*), a druga skupina (ostale operacije) su bolesnici koji su bili podvgnuti: lobektomiji štitnjače, ekstirpaciji paratireoidne žlijezde, eksciziji tumora ili selektivnoj disekciji vrata.

Tablica 2. Karakteristike bolesnika uključenih u istraživanje (N=192)

Varijabla	
Dob N, medijan (min-max)	49 (18-83)
Muškarci N (%)	31 (16,1%)
Žene N (%)	161 (83,9%)
Vrsta operativnih zahvata	
Totalna tireoidektomija (lat. *thyreoidectomia totalis*) (%)	131 (68,2%)
Ostali (lobektomija štitnjače, ekstirpacija paratireoidne žlijezde, ekscizija tumora ili selektivna disekcija vrata) (%)	61 (31,8%)

Tablica 3. Rezultati laboratorijskih pretraga prije operacije

	N=153
iCa [mmol/L], medijan (interkvartilni raspon)	1,18 (1,15-1,22)
PTH [pg/mL], medijan (interkvartilni raspon)	47,1 (35,1-60,8)

(iCa = ionizirani kalcij, PTH = paratireoidni hormon)

Koncentracije iCa i PTH prije operacije ne slijede Gaussovu raspodjelu, na što ukazuje P<0,001 u testu provjere normalnosti razdiobe (D'Agostino-Pearsonov test).

Tablica 4. Koncentracije iCa i PTH prije operacije prema spolu

	M N=26	Ž N=127	P
iCa [mmol/L], medijan (interkvartilni raspon)	1,21 (1,18-1,23)	1,18 (1,14-1,21)	0,009
PTH [pg/mL], medijan (interkvartilni raspon)	53,4 (34,2-63,4)	46,7 (35,4-59,8)	0,345

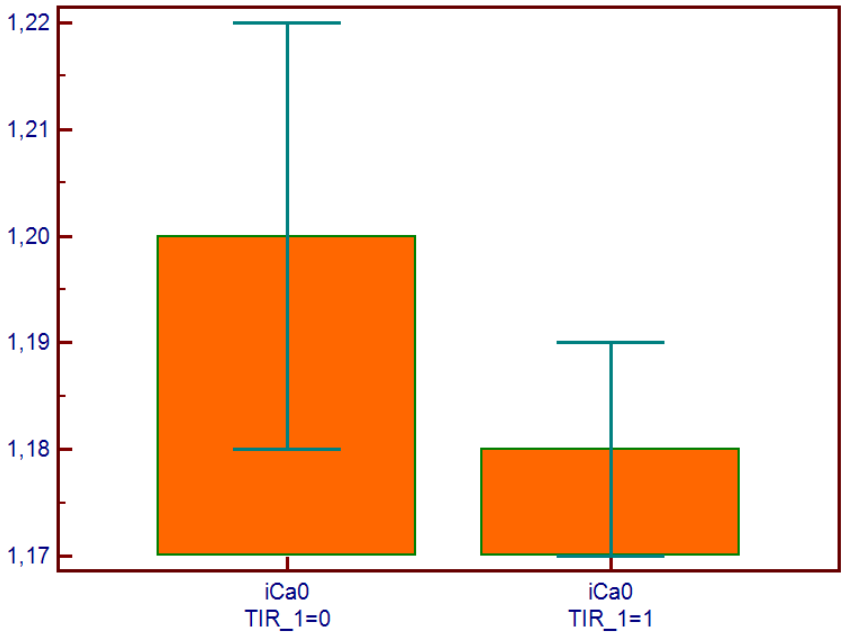
(iCa = ionizirani kalcij, PTH = paratireoidni hormon, M = muškarci, Ž = žene)

Provedba Mann-Whitney testa pokazala je da postoji statistički značajna razlika u koncentraciji iCa između muškaraca i žena te da nema statistički značajne razlike između koncentracija PTH kod muškaraca i žena.

Tablica 5. Razlike u koncentraciji iCa i PTH prije operativnih zahvata

.	Totalna tireoidektomija N=101	Ostale operacije N=52	P
iCa [mmol/L], medijan (interkvartilni raspon)	1,18 (1,14-1,21)	1,20 (1,17-1,26)	0,0048
PTH [pg/mL], medijan (interkvartilni raspon)	45,9 (34,0-54,9)	48,5 (36,2-78,7)	0,083

Mann-Whitney testom smo uspoređivali postoji li razlika između koncentracija iCa i PTH prije operacije ovisno o planiranoj vrsti operacije. Test je pokazao da postoji statistički značajna razlika kod koncentaracija iCa, dok kod PTH nema statistički značajne razlike. Bolesnici kod kojih je učinjena totalna tireoidektomija imali su statistički značajno nižu koncentraciju iCa.



Slika 6. Razlika u koncentraciji iCa prije operacije između bolesnika različitim vrstama operacije

(iCa0 = koncentracija kalcija prije operacije, TIR_1=0 = ostale operacije, TIR_1=1 = totalna tireoidektomija)

Tablica 6. Postoperativne koncentracije iCa i PTH neovisno o vrsti operacije

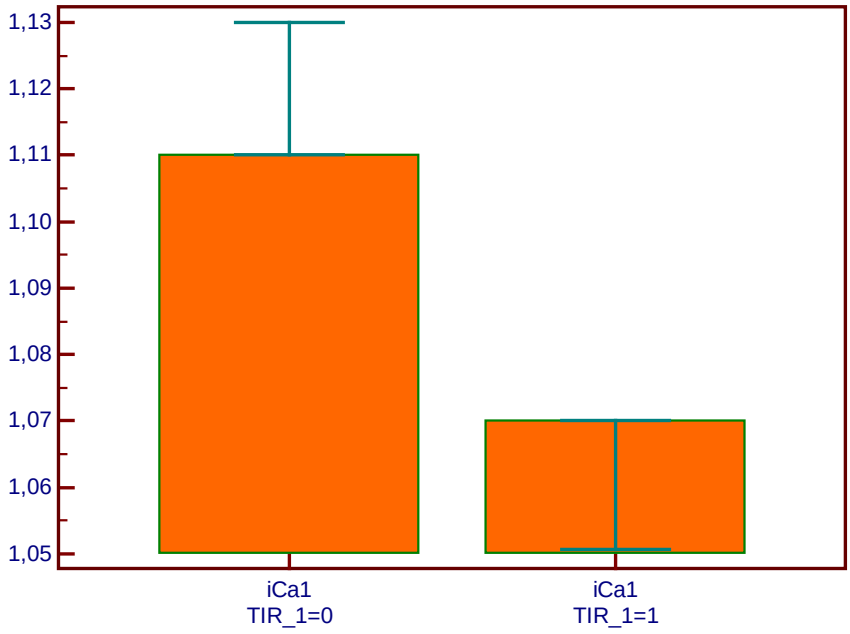
	N=184
iCa [mmol/L], medijan (interkvartilni raspon)	1,08 (1,04-1,12)
PTH [pg/mL], medijan (interkvartilni raspon)	34 (21,4-48,16)

Koncentracije iCa i PTH poslije operacije ne slijede Gaussovu raspodjelu (P<0,001).

Tablica 7. Postoperativne koncentraciji iCa i PTH ovisno o vrsti operacije

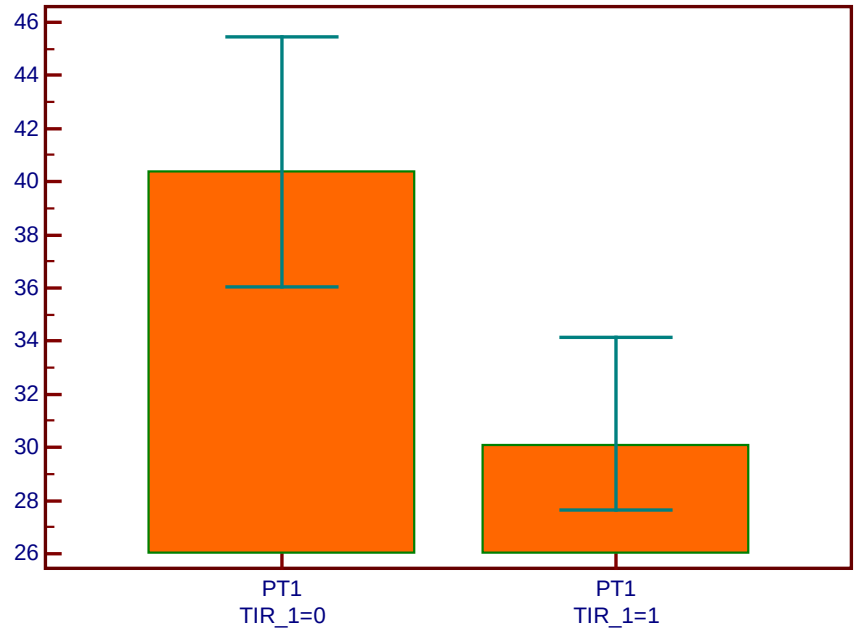
	Totalna tireoidektomija N=125	Ostale operacija N=59	P
iCa [mmol/L], medijan (interkvartilni raspon)	1,07 (1,01-1,11)	1,11 (1,09-1,16)	<0,001
PTH [pg/mL], medijan (interkvartilni raspon)	30,1 (14,4-46,06)	40,4 (29,7-51,6)	0,001

Razlike postoperativnih koncentracija iCa i PTH uspoređivali Mann-Whitney testom u odnosu na vrstu operacije. Test je pokazao da postoji statistički značajna razlika. Nakon totalne tireoidektomije bolesnici su imali statistički značajno nižu koncentraciju iCa i PTH.



Slika 7. Postoperativne koncentraciji iCa ovisno o vrsti operativnog zahvata

(iCa1 = koncentracija kalcija poslije operacije, TIR_1=0 = ostale operacije, TIR_1=1 = totalna tireoidektomija)



Slika 8. Postoperativne koncentraciji PTH ovisno o vrsti operativnog zahvata

(PT1 = koncentracija PTH prije operacije, TIR_1=0 = ostale operacije, TIR_1=1 = totalna tireoidektomija)

Tablica 8. Postoperativne koncentracije iCa i PTH prema spolu

	M N=30	Ž N=154	P
iCa [mmol/L], medijan (interkvartilni raspon)	1,07 (1,04-1,12)	1,09 (1,03-1,12)	0,9820
PTH [pg/mL], medijan (interkvartilni raspon)	29,99 (20,5 -45,9)	34,82 (22,36 - 48,42)	0,7023

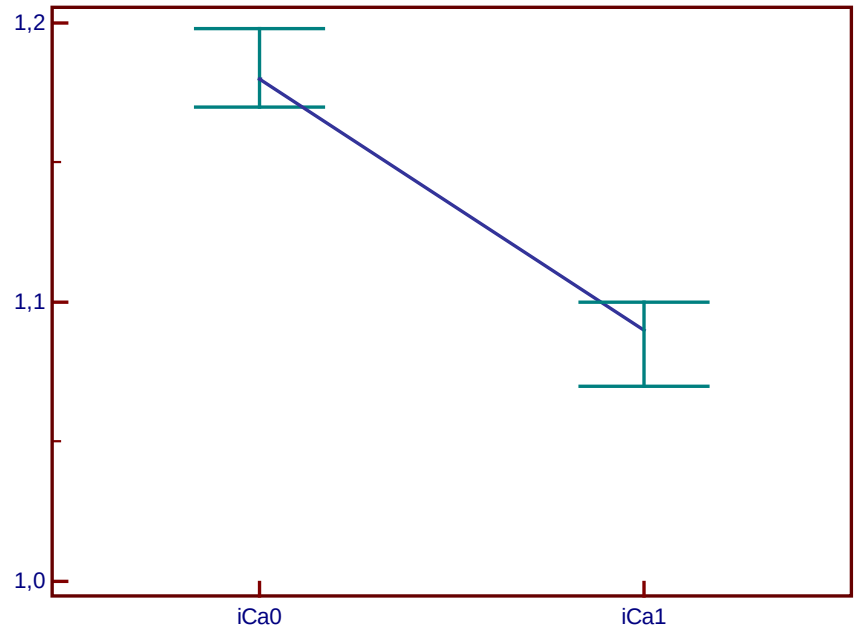
(iCa = ionizirani kalcij, PTH = paratireoidni hormon, M = muškarci, Ž = žene)

Mann-Whitney test je pokazao da nema statistički značajne razlike između koncentracija iCa i PTH kod muškaraca i žena.

Tablica 9. Promjena koncentracije iCa i PTH prije i poslije operacije

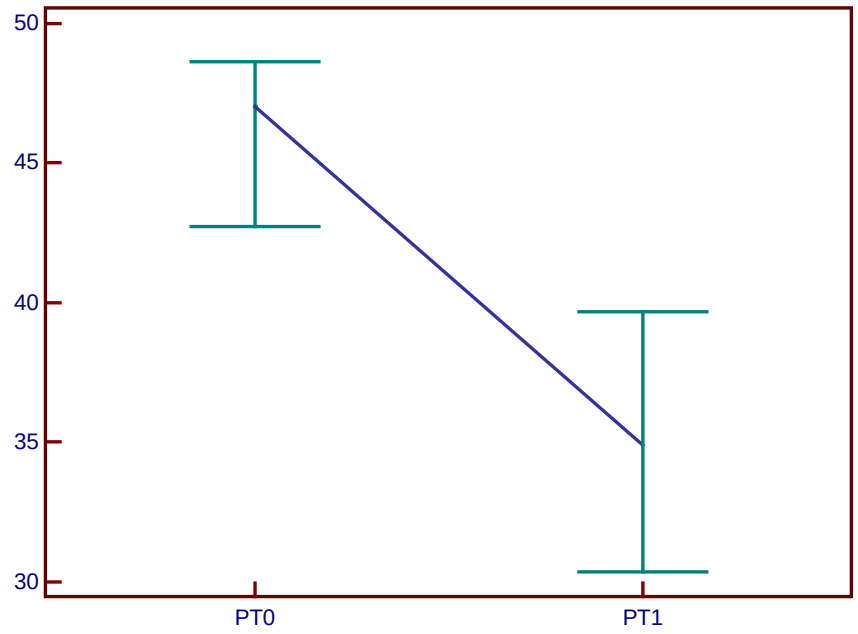
	Prije operacije N=153	Poslije operacije N=184	P
iCa [mmol/L], medijan (interkvartilni raspon)	1,18 (1,15-1,22)	1,08 (1,04-1,12)	<0,0001
PTH [pg/mL], medijan (interkvartilni raspon)	47,1 (35,1-60,8)	34 (21,4-48,16)	<0,0001

Wilcoxonov-im testom smo uspoređivali koncentracije iCa i PTH prije i poslije operacije. Test je pokazao da postoji statistički značajna razlika između koncentracija iCa i PTH prije i poslije operacije. Nakon operacije došlo je do statistički značajnog pada koncentracije iCa i PTH.



Slika 9. Promjena koncentracije iCa prije i poslije operacije kod svih pacijenta (neovisno o vrsti operacije), prije operacije N=153, poslije operacije N=184

(iCa0 = koncentracija kalcija prije operacije, iCa1= koncentracija kalcija nakon operacije)



Slika 10. Promjena koncentracije PTH prije i poslije operacije kod svih pacijenta (neovisno o vrsti operacije), prije operacije N=153, poslije operacije N=184

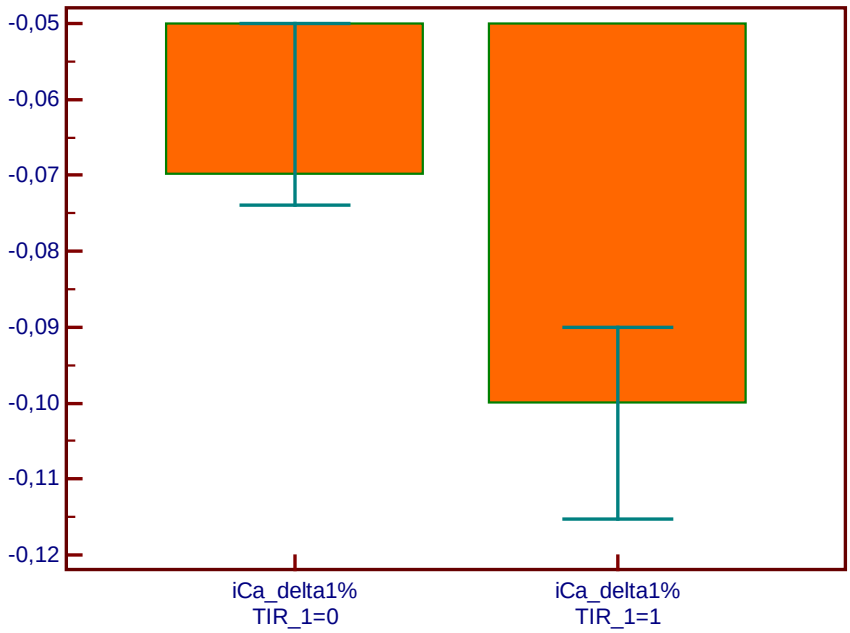
(PT0 = koncentracija PTH prije operacije, PT1= koncentracija PTH nakon operacije)

Tablica 10. Razlike u koncentraciji iCa prije i poslije operacije kod bolesnika s totalnom tireodektomijom (TIR) i ostalim operacijama

	Totalna tireoidektomija N=95	Ostale operacija N=50	P
Razlika iCa, mmol/L (interkvartilni raspon)	-0,12 (-0,17 do -0,06)	-0,08 (-0,15 do -0,04)	0,015
Razlika iCa %, (interkvartilni raspon)	-10% (-15% do -5%)	-7% (-12% do -3%)	0,007

Analizu razlike koncentracije iCa proveli smo Mann-Whitney testom. Uspoređivali smo razlike prije i poslije operativnog zahvata kod bolesnika s totalnom tireoidektomijom i bolesnika sa ostalim operacijama štitnjače. Postoji statistički značajna razlika između koncentracija iCa kad su izraženi realnom vrijednošću i kad su izraženi postotkom. Kod

bolesnika s totalnom tireoidektomijom došlo je do većeg pada koncentracije ionskog kalcija izraženog u mmol/L i u %.



Slika 11. Promjena u koncentraciji iCa kod bolesnika s različitim vrstama operacije prije i nakon operativnog zahvata

(iCa_delta1% = razlika koncentracija kalcija izražena postotkom, TIR_1=0 = ostale operacije, TIR_1=1 = totalna tireoidektomija)

Tablica 11. Razlike u koncentraciji PTH prije i poslije operacije kod bolesnika s totalnom tireoidektomijom (TIR) i ostalim operacijama

	Totalna tireoidektomija N=95	Ostale operacija N=50	P
Razlika PTH, pg/mL (interkvartilni raspon)	-11,1 (-26,1 do 1,7)	-4,7 (-44,0 do 5,3)	0,723
Razlika PTH %, (interkvartilni raspon)	-24% (-61% do 5%)	-9% (-50% do 12%)	0,138

Mann-Whitney testom smo analizirali razlike koncentracija PTH prije i poslije operativnog zahvata kod bolesnika s totalnom tireoidektomijom i bolesnika sa ostalim operacijama štitnjače. Test je pokazao da nema statistički značajne razlike veličini promjene koncentracije PTH.

Tablica 12. Razlike u koncentraciji PTH prije i poslije operacije kod muškaraca s totalnom tireoidektomiom (TIR) i ostalim operacijama

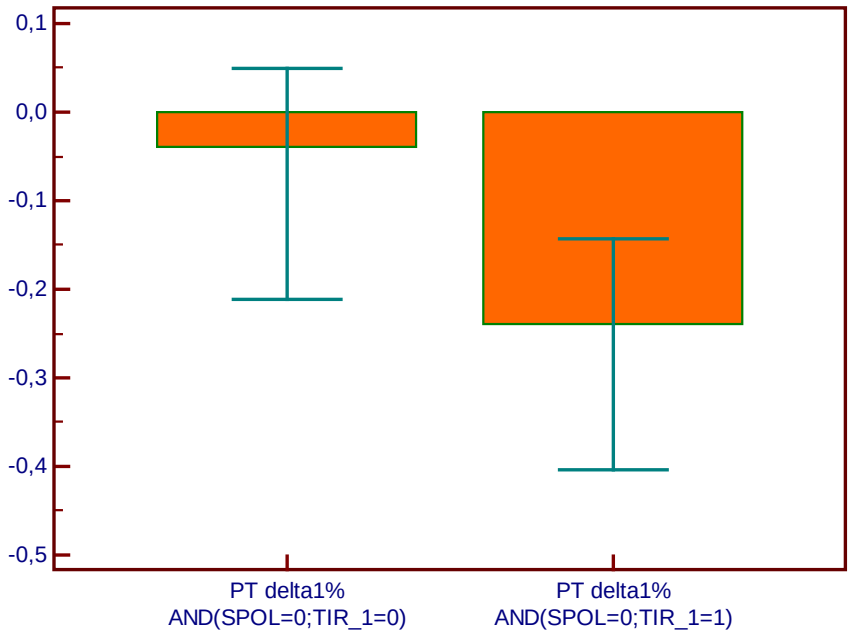
	Totalna tireoidektomija N=16	Ostale operacija N=9	P
Razlika PTH, pg/mL (interkvartilni raspon)	-5,7 (-20,6 do 1,87)	-26,4 (-77,2 do -0,1)	0,157
Razlika PTH % (interkvartilni raspon)	-12% (-49% do 5%)	-34% (-62% do 0,8%)	0,412

Mann-Whitney testom smo uspoređivali razlike koncentracije PTH prije i poslije operativnog zahvata kod muškaraca s totalnom tireoidektomijom i muškaraca sa ostalim operacijama štitnjače. Nije bilo statistički značajne razlike u promjeni koncentracije PTH kod muškaraca s s totalnom tireoidektomijom i muškaraca sa ostalim operacijama štitnjače.

Tablica 13. Razlike u koncentraciji PTH prije i poslije operacije kod žena s totalnom tireoidektomijom (TIR) i ostalim operacijama

	Totalna tireoidektomija N=79	Ostale operacija N=41	P
Razlika PTH, pg/mL (interkvartilni raspon)	-11,1 (-31,9 do 1,7)	-1,5 (-44,0 do 5,4)	0,289
Razlika PTH % (interkvartilni raspon)	-24% (-63% do 5%)	-4% (-47% do 14%)	0,042

Usporedba razlike koncentracije PTH Mann-Whitney testom prije i poslije operativnog zahvata kod žena s totalnom tireoidektomijom i žena sa ostalim operacijama štitnjače. Nema statistički značajne razlika između koncentracija PTH kad su izraženi realnom vrijednošću, dok kada su izraženi postotkom postoji statistički značajna razlika. Kod žena kod kojih je učinjena totalna tireoidektomija pad koncentracije PTH je bio veći (-24% (-63% do 5%)) nego kod onih kod kojih su rađene ostale operacije (-4% (-47% do 14%)).



Slika 12. Promjena u koncentraciji PTH (%) kod žena s različitim vrstama operacije prije i nakon operativnog zahvata

(PT_delta1% = razlika koncentracija PTH izražena postotkom, TIR_1=0 = ostale operacije, TIR_1=1 = totalna tireoidektomija, spol=0 =žene)

4.2. Rasprava

Homeostaza kalcija u organizmu je regulirana paratireoidnim hormonom i vitaminom D, na način da održavaju koncentraciju kalcija u krvi, ali i stimuliraju reapsorpciju kalcija iz kosti, apsorpciju kalcija u crijevima i izlučivanje kalcija bubrezima. U toj regulaciji sudjeluje i kalcitonin, podrijetlom iz štitnjače, koji djeluje antagonistički na PTH. Zbog toga je mjerenje PTH važno u diferencijalnoj dijagnostici hiperkalcijemije i hipokalcijemije, ali iza procjenu funkcije same paratireoidne žlijezde. Za praćenje statusa kalcija u organizmu, možemo određivati koncentraciju ukupnog kalcija i koncentraciju slobodnog (ioniziranog) kalcija.

Ali, status kalcija će točnije biti određen mjerenjem slobodnog kalcija, koji je biološki je aktivni oblik, jer je interpretacija ukupne vrijednosti kalcija u serumu je komplicirana zbog povezanosti sa proteinima i anorganskim i organskim iona. Slobodni kalcij je osjetljiviji od ukupnog kalcija u otkrivanju hiperkalcijemije povezane s malignim bolestima, kao i kod pacijenata s primarnim hiperparatireoidizmom jer se češće povećava slobodni kalcij nego u ukupnom kalcij. Zbog toga je pri operativnim zahvatima štitnjače i paratireoidne žlijezde, koje sintetiziraju i luče hormone koji reguliraju homeostazu kalcija, važno pratiti koncentracije slobodnog (ioniziranog) kalcija i PTH. Kod nedostatnog lučenja PTH smanjuje se apsorpcija kalcija, što dovodi do smanjena koncentracije kalcija u tjelesnim tekućinama. Isto tako, kada se sve paratireoidne žlijezde uklone odjednom, kao posljedica dolazi do hipokalcijemije. Kod pacijenta kojima je učinjena totalna tireoidektomija, privremena hipokalcijemija se javlja u 1 do 50 % slučajeva . Kada su paratireoidne žlijezde očuvane može se izbjeći hipokalcijemija (Grodski i Farrell, 2007.). Ili, ukoliko dođe do hipokalcijemije, one će nakon nekoliko dana ponovo uspostaviti homeostazu kalcija.

U našem istraživanju koncentracije iCa prije operativnog zahvata su bile na donjoj granici referentnog intervala 1,18 (1,15-1,22), dok su nakon operativnog zahvata ispod referentnog intervala 1,08 (1,04-1,12), što pokazuje da je došlo do hipokalcijemije. Dok su koncentracije PTH prije i nakon operativnog zahvata unutar referentnog intervala. Statistička obrada je pokazala da je nakon operacije došlo je do statistički značajnog pada koncentracije iCa i PTH ($P<0,0001$).

Usporedba rezultata iCa prije operativnog zahvata kod pacijenata koji su imali totalnu tireoidektomiju i pacijenata koji su imali neku drugu operaciju štitnjače je pokazala da su pacijenti sa totalnom tireoidektomijom imali statistički značajno nižu koncentraciju. Kod pacijenta koji su podvrgnuti totalnoj tireoidektomiji je bila na samoj granici referentnog intervala 1,18 (1,14-1,21), dok kod pacijenate koji su imali ostale operacije nije 1,20 (1,17-

1,26). Koncentracije PTH kod obje skupine pacijenta prije operativnog zahvata su bile unutar referentnog intervala, te nije bilo statistički značajne razlike. Nakon operativnog zahvata koncentracije kalcija su kod obje skupine pacijenata bile ispod granice referentnog intervala, što znači da je došlo do hipokalcijemije. Koncentracije PTH kod obje skupine bile unutar referentnog intervala. Statistička obrada je pokazala da su koncentracije iCa i PTH nakon operacije značajno niže za obje skupine.

Usporedba rezultata iCa i PTH za mušku i žensku populaciju prije operacije, pokazala je da postoji statistički značajna razlika u koncentraciji iCa između muškaraca i žena te da nema statistički značajne razlike između koncentracija PTH kod muškaraca i žena. Dok su postooperativni rezultati pokazali da nema statistički značajne razlike u koncentracijama iCa i PTH nakon operativnog zahvata. No, mi u našem istraživanju nismo imali jednak broj uzoraka u obje populacije, nego je muškaraca bilo manje nego žena. Kod žena koje su podvrgnute totalnoj tireoidektomiji pad koncentracije PTH je bio veći (-24% (-63% do 5%)) nego kod onih kod kojih su rađene ostale operacije (-4% (-47% do 14%)), dok kod muškaraca nije bilo statistički značajne razlike.

Kod bolesnika s totalnom tireoidektomijom (-10% (-15% do -5%)) u odnosu na pacijente koji su imali druge operacije (-7% (-12% do -3%)) došlo je do statistički značajno većeg pada koncentracije ionskog kalcija. Za koncentracije PTH nije bilo statistički značajne razlike. Ali, rezultati koncentracije iCa upućuju da su pacijenti koji su podvgnuti totalnoj tireoidektomiji ugroženiji, te da im je potrebna intezivnija medicinska skrb. Udio ostalih operacija u toku 5 mjeseci iznosi 31,8%, što dokazuje da su totalna odstranjenja štitne žlijezde najzastupljeniji zahvati.

Osim što je totalna tireoidektomija najzastupljenija, utvrđeno je da je 10% do 50% tih pacijenata najviše izloženo postoperativnim komplikacijama i hipokalcijemiji par dana nakon operacije (Fewins i sur., 2003; Soon i sur., 2005; Gonçalves i Kowalski, 2005). Neki od autora smatraju da je određivanje koncentracije PTH odmah nakon operativnog zahvata (već sat vremana nakon zahvata) dobar pretskazatelj hipokacijemije te da je moguće predvidjeti razvoj kliničkih simptoma hipokalijcemije ako razina PTH padne više od 73,5% (Vanderlei i sur., 2012). Drugi autori drže da je najdjelotvornije mjeriti iCa i PTH 1 do 6 sati nakon zahvata (Jumaily i sur., 2010). Naši rezultati pokazuju statistički značajan pad koncentracije iCa i PTH u odnosu na stanje prije operacije, kao i značajno veći pad vrijednosti nakon operacije u odnosu na ostale zahvate.

5. ZAKLJUČAK

1. U periodu od 5 mjeseci istraživanja među operativnim zahvatima na štitnjači najučestalija je bila totalna tireoidektomija (125), nasuprot ostalih zahvata na štitnjači ili doštitnoj žlijezdi (59).
2. Prije operativnih zahvata nije bilo razlike između medijana koncentracija PTH i iCa u ovisnosti o predstojećoj vrsti operacije.
3. Nakon zahvata utvrđena je statistički značajna razlika koncentracija iCa i PTH neovisno o vrsti zahvata i spolu ($P<0,0001$), a značajno je izraženija u bolesnika kojima je odstranjena štitnjača ($P \leq 0,001$). Dio bolesnika doseže koncentracije iCa PTH i ispod donje granice referentnog intervala.
4. Žene i muškarci pokazuju jednake promjene i statistički se ne razlikuju, što znači da pokazuju jednake trendove značajnog pada koncentracije PTH i iCa.
5. Stupanj promjene koncentracije iCa značajno je veći kod totalne tireoidektomije, dok se isto nije utvrdilo za PTH unatoč 24% nižih koncentracija nakon tireidektomije, a samo 9%. nakon ostalih zahvata. Veliku raspršenost koncentracijskih odstupanja objašnjavamo širokim vremenskim intervalima uzorkovanja nasuprot izrazito brzom padu PTH nakon opercije.
6. Oba spola imaju značajno veći pad koncentracije iCa nakon totalne tireodektomije nego nakon ostalih zahvata, dok je takav trend za PTH utvrđen samo kod žena ($P=0,042$).
7. Skupina žena značajno je više zastupljena ($P<0,001$). Stoga bi bilo ishitreno zaključiti da su tireoidektomirane žene izložene većem stupnju pada koncentracije PTH.
8. Zaključno, sve skupine bolesnika ugrožene su u postoperativnom tijeku zbog privremene nefunkcionalnosti doštitne žlijezde i kasnijeg razvoja hipokalcijemije. Bilo bi važno mjeriti PTH u prvim postoperativnim satima, osobito nakon totalne tireoidektomije. Za kliničku praksu potrebno je utvrditi postoperativne granične vrijednosti PTH za predviđanje hipokalcijemije prije pojave kliničkih simptoma.

6. LITERATURA

Blind E. Measurement of Intact Parathyroid Hormone by an Extracting Two-Site Immunometric Assay. U: Calcium regulating hormones, vitamin D metabolites, an cyclic AMP. Schmidt GH, Armbruster FP, Bouillon R, urednici, Heidelberg, Springer, 1990, str. 151.

Božikov V. Parathormon. U: Interna medicina. Francetić I, Jakšić B, Labar B, Vucelić B. urednici, Zagreb, Naklada Ljevak, 2003, str. 1433-1437.

Fewins J, Simpson CB, Miller FR. Complications of thyroid and parathyroid surgery. *Otolaryngol Clin North Am*, 2003, 36, 189-206.

Fraser WD. Bone and mineral metabolism. U: Tietz texbook of clinical chemistry and molecular diagnostics, 6th edition. Rifai N, Horvath RA, Wittwer TC, urednici, Elsevier, St. Louis, Missouri, 2018, str. 1448-1457.

Gonçalves Filho J, Kowalski LP. Posoperative complications of thyroidectomy for differentiated thyroid carcinoma. *Am J Otolaryngol*, 2004, 25, 225-30.

Grodski S, Farrell S. Early Postoperative PTH Levels as a Predictor of hypocalcaemia and facilitating safe early discharge after total thyroidectomy *Asian journal of surgery*, 2007, 30, 178-182.

Guyton AC, Hall JE. Medicinska fiziologija. Zagreb, Medicinska naklada, 2012, str. 907, 962-965.

http:// www.cybermed.hr, pristupljeno 23.9.2017.

http:// www.msd-prirucnici.placebo.hr, pristupljeno 23.9.2017.

Jalšovec D. Sustavna i topografska anatomija čovjeka, Zagreb, Školska knjiga, 2005, str. 282-284.

Jumaily JS, Noordzij JP, Dukas AG, Lee SL, Bernet VJ, Payne RJ et al. Prediction of hypocalcemia after using 1- to 6-hour postoperative parathyroid hormone and calcium levels: an analysis of pooled individual patient data from 3 observational studies. *Head Neck*, 2010, 32, 427-34.

Risteli J, Winter WE, Kleerkoper M, Risteli L. Bone and mineral metabolism. U: Tietz fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics, 5 th edition. Burtis CA, Bruns DE, urednici, Saunders, Philadelphia, 2012, str. 1736-1747.

Soon PS, Magarey CJ, Campbell P, Jalaludin B. Serum intact parathyroid hormone as a predictor of hypocalcaemia after total thyroidectomy. *ANZ J Surg*, 2005, 75, 977-80.

Stavljenić RA, Čvorišćec D. Harmonizacija laboratorijskih nalaza u području opće, specijalne i visokodiferentne medicinske biokemije. HKMB, Zagreb, Medicinska naklada, 2007.

Štraus B, Dodig S. Voda i elektroliti. U: Štrausova medicinska biokemija. Čvorišćec D, Čeplak I, urednice, Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 74-76.

Štraus B, Plavšić V. Hormoni. U: Štrausova medicinska biokemija. Čvorišćec D, Čeplak I, urednice, Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 354-360.

Thomas L. Clinical Laboratory Diagnosis. Frankfurt, TH-Books, 1998, str. 248-250.

Vanderlei FA, Vieira JG, Hojaij FC, Cervantes O, Kunii IS, Ohe MN et al. Parathyroid hormone: an early predictor of symptomatic hypocalcemia after total thyroidectomy. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 2012, 56,168-72.

Žmire J, Solter M. Štitnjača.U: Interna medicina. Francetić I, Jakšić B, Labar B, Vucelić B, urednici, Zagreb, Naklada Ljevak, 2003, str. 1239-1252.

7. SAŽETAK / SUMMARY

SAŽETAK

Homeostaza kalcija u organizmu je regulirana paratireoidnim hormonom i vitaminom D, koji održavaju koncentraciju kalcija u krvi, stimuliraju reapsorpciju kalcija iz kosti, apsorpciju kalcija u crijevima i izlučivanje kalcija bubrezima. U toj regulaciji sudjeluje i kalcitonin, podrijetlom iz štitnjače, koji djeluje antagonistički na paratireoidni hormon. Mjerenje paratireoidnog hormona važno u diferencijalnoj dijagnostici hiperkalcijemije i hipokalcijemije, te za procjenu funkcije paratireoidne žlijezde. Za praćenje statusa kalcija u organizmu određuje se koncentracija ukupnog kalcija i koncentracija slobodnog (ioniziranog) kalcija.

Cilj ovoga rada bio je utvrditi u kojoj mjeri operativni zahvat na štitnjači poremeti homeostazu kalcija u pacijenata koji su podvrgnuti totalnoj tireoidektomiji u odnosu na pacijente koji imaju ostale zahvate na štitnjači ili doštitnoj žlijezdi.

Istraživanje je uključivalo 192 pacijenta kojima su uzeti uzorci krvi prije operativnog zahvata i 24 do 72 sati nakon operativnog zahvata. U uzorcima seruma izmjerene su vrijednosti ioniziranog kalcija na analizatoru Rapidpoint 400 i paratireoidnog hormona na automatskom analizatoru cobas e 411.

Među operativnim zahvatima na štitnjači najučestalija je totalna tireoidektomija što se potvrdilo u periodu od 5 mjeseci istraživanja. Rezultati su pokazali da prije operativnih zahvata nije bilo razlike između medijana koncentracija PTH i iCa u ovisnosti o vrsti operacije. Nakon zahvata utvrđen je statistički značajan pad koncentracija za PTH i iCa za sve bolesnike, neovisno o vrsti zahvata i spolu ($P<0,0001$), a pad je značajno izraženiji u bolesnika kojima je odstranjena štitnjača ($P \leq 0,001$). Žene i muškarci pokazuju jednake promjene i statistički se ne razlikuju. Između žena i muškaraca nema razlike u stupnju sniženja koncentracije iCa, odnosno oba spola imaju značajno veće razlike u koncentracijama kad su tireoidektomirani. Statistička značajnost slabije snage ($P=0,042$) uočena je kod žena u kojih tireoidektomija snizuje PTH prosječno -24% , a ostale operacije tek -4%. Sve skupine bolesnika ugrožene su u postoperativnom tijeku privremene nefunkcionalnosti doštitne žlijezde, brzog pada koncentracije hormona PTH i kasnijeg razvoja hipokalcijemije.

SUMMARY

Calcium homeostasis in human body is regulated by the parathyroid hormone (PTH) and vitamin D, which maintain the concentration of calcium in the blood, stimulate bone calcium reabsorption, calcium absorption in the intestine, and calcium excretion of the kidneys. Calcitonin is an antagonist of parathyroid hormone and it also participates in this regulation. Measurement of parathyroid hormone is important in differential diagnosis of hypercalciemia and hypocalciemia, and for evaluating the function of the parathyroid gland. To monitor the calcium status in the body, the concentration of total calcium and the concentration of free (ionized) calcium (iCa) are determined.

The aim of this study was to determine the extent to which the operation of the thyroid gland disrupts calcium homeostasis in patients who undergo total thyroidectomy in relation to the patients who have other thyroid or paratyroid surgery.

The study included 192 patients whose blood samples were collected prior to surgery and 24 to 72 hours after the operation. In serum samples were measured the concentrations of ionized calcium on the Rapidpoint 400 analyzer and parathyroid hormone on the cobas e 411 automated analyzer.

Total thyroidectomy is the most common among surgical interventions on the thyroid gland, confirmed in a five month research period. The results show that there was no difference between the median concentration of PTH and iCa before the operation, depending on the type of surgery. A significant decrease in PTH and iCa concentrations was found after the procedure in all patients, irrespective of the type of procedure and sex ($P < 0.0001$), and the decrease was significantly more pronounced in patients with removed thyroid gland ($P \leq 0.001$). Women and men show the same changes and do not differ statistically. There is no difference in the lowering of iCa concentration between women and men, i.e. both sexes have significantly higher differences in concentrations when they are thyroid decompensated. A statistical significance of weaker power ($P = 0.042$) was observed in women, whose thyroid dehydration decreases PTH on average -24%, while other operations are only -4%. In the postoperative course all groups of patients are endangered by temporal dysfunction of the intestine, rapid decline in PTH hormone concentration and subsequent hypocalcemia development.

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: Medicinska biokemija
Zavod za medicinsku biokemiju i hematologiju
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

Koncentracije kalcija i paratireoidnog hormona u ranom postoperativnom periodu nakon zahvata na štitnjači

Anna-Maria Vidaković

SAŽETAK

Homeostaza kalcija u organizmu je regulirana paratireoidnim hormonom i vitaminom D, koji održavaju koncentraciju kalcija u krvi, stimuliraju reapsorpciju kalcija iz kosti, apsorpciju kalcija u crijevima i izlučivanje kalcija bubrezima. U toj regulaciji sudjeluje i kalcitonin, podrijetlom iz štitnjače, koji djeluje antagonistički na paratireoidni hormon. Mjerenje paratireoidnog hormona važno u diferencijalnoj dijagnostici hiperkalcijemije i hipokalcijemije, te za procjenu funkcije paratireoidne žlijezde. Za praćenje statusa kalcija u organizmu određuje se koncentracija ukupnog kalcija i koncentracija slobodnog (ioniziranog) kalcija. Cilj ovoga rada bio je utvrditi u kojoj mjeri operativni zahvat na štitnjači poremeti homeostazu kalcija u pacijenata koji su podvrgnuti totalnoj tireoidektomiji u odnosu na pacijente koji imaju ostale zahvate na štitnjači ili doštitnoj žlijezdi. Istraživanje je uključivalo 192 pacijenta kojima su uzeti uzorci krvi prije operativnog zahvata i 24 do 72 sati nakon operativnog zahvata. U uzorcima seruma izmjerene su vrijednosti ioniziranog kalcija na analizatoru Rapidpoint 400 i paratireoidnog hormona na automatskom analizatoru cobas e 411. Među operativnim zahvatima na štitnjači najučestalija je totalna tireoidektomija što se potvrdilo u periodu od 5 mjeseci istraživanja. Rezultati su pokazali da prije operativnih zahvata nije bilo razlike između medijana koncentracija PTH i iCa u ovisnosti o vrsti operacije. Nakon zahvata utvrđen je statistički značajan pad koncentracija za PTH i iCa za sve bolesnike, neovisno o vrsti zahvata i spolu ($P<0,0001$), a pad je značajno izraženiji u bolesnika kojima je odstranjena štitnjača ($P \leq 0,001$). Žene i muškarci pokazuju jednake promjene i statistički se ne razlikuju. Između žena i muškaraca nema razlike u stupnju sniženja koncentracije iCa, odnosno oba spola imaju značajno veće razlike u koncentracijama kad su tireoidektomirani. Statistička značajnost slabije snage ($P=0,042$) uočena je kod žena u kojih tireoidektomija snizuje PTH prosječno -24% , a ostale operacije tek -4%. Sve skupine bolesnika ugrožene u postoperativnom tijeku privremene nefunkcionalnosti doštitne žlijezde, brzog pada koncentracije hormona PTH i kasnijeg razvoja hipokalcijemije.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 37 stranica, 12 grafičkih prikaza, 13 tablica i 19 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: Paratireoidni hormon, ionizirani kalcij, štitnjača

Mentor: **Dr. sc. Nada Vrkić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Ocjenjivači: **Dr. sc. Nada Vrkić**, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Olga Gornik, *izvanredni profesor Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*
Dr. sc. Sanda Šupraha Goreta, *docent Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.*

Rad prihvaćen: rujan 2017.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Medical biochemistry
Department of Medical Biochemistry and Hematology
Domagojeva 2, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

Calcium and parathyroid hormone concentrations in the early postoperative period after the thyroid gland operation

Anna-Maria Vidaković

SUMMARY

Calcium homeostasis in human body is regulated by the parathyroid hormone (PTH) and vitamin D, which maintain the concentration of calcium in the blood, stimulate bone calcium reabsorption, calcium absorption in the intestine, and calcium excretion of the kidneys. Calcitonin is an antagonist of parathyroid hormone and it also participates in this regulation. Measurement of parathyroid hormone is important in differential diagnosis of hypercalciemia and hypocalciemia, and for evaluating the function of the parathyroid gland. To monitor the calcium status in the body, the concentration of total calcium and the concentration of free (ionized) calcium (iCa) are determined. The aim of this study was to determine the extent to which the operation of the thyroid gland disrupts calcium homeostasis in patients who undergo total thyroidectomy in relation to the patients who have other thyroid or paratyroid surgery. The study included 192 patients whose blood samples were collected prior to surgery and 24 to 72 hours after the operation. In serum samples were measured the concentrations of ionized calcium on the Rapidpoint 400 analyzer and parathyroid hormone on the cobas e 411 automated analyzer. Total thyroidectomy is the most common among surgical interventions on the thyroid gland, confirmed in a five month research period. The results show that there was no difference between the median concentration of PTH and iCa before the operation, depending on the type of surgery. A significant decrease in PTH and iCa concentrations was found after the procedure in all patients, irrespective of the type of procedure and sex ($P < 0.0001$), and the decrease was significantly more pronounced in patients with removed thyroid gland ($P \leq 0.001$). Women and men show the same changes and do not differ statistically. There is no difference in the lowering of iCa concentration between women and men, i.e. both sexes have significantly higher differences in concentrations when they are thyroid decompensated. A statistical significance of weaker power ($P = 0.042$) was observed in women, whose thyroid dehydration decreases PTH on average -24%, while other operations are only -4%. In the postoperative course all groups of patients are endangered by temporal dysfunction of the intestine, rapid decline in PTH hormone concentration and subsequent hypocalcemia development.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 37 pages, 12 figures, 13 tables and 19 references. Original is in Croatian language.

Keywords: parathyroid hormone, ionized calcium, thyroid

Mentor: **Nada Vrkić**, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Nada Vrkić**, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Olga Gornik, **Ph.D.** *Associate Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Sandra Šupraha Goreta, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: september 2017.