



# چالش‌های سنجش هورمون PTH

دکتر هاله حکمتی

دکترای علوم آزمایشگاهی، متخصص جراحی  
حفرت فاطمه زهرا (س)، آزمایشگاه



دکتر سید قاسم مصطفوی

دکترای علوم آزمایشگاهی، عضو هیئت مدیره انجمن  
دکترای علوم آزمایشگاهی متخصص طبی ایران



## ■ مقدمه

غدد پاراتیروئید شامل ۴ عدد غده کوچک و ظرفیت که هر کدام به اندازه تقریبی یک دلنه برنج می‌باشد، این غدد پشت تیروئید و چسبیده به آن هستند و وزن هر کدام حدود ۳۰ میلی گرم است و هر کدام قطری بین ۳ الی ۴ میلی متر دارند.



این غدد تولید هورمونی به نام PTH می‌کنند که به آن پاراتیروئون هم می‌گویند.

مهم‌ترین هورمون تنظیم کننده کلیم سرم است و باعث افزایش کلیم سرم می‌شود. هورمون کلیم توئین که از تیروئید به داخل خون ترشح می‌شود هم در تنظیم مقدار کلیم خون نقش دارد و هم سبب کاهش کلیم سرم می‌شود.

کلیمات کلیدی: هورمون پاراتیروئید، روش‌های سنجش PTH، پیتیدهای PTH، متغیرهای پیش از آنالیز

## ■ بیماری‌های غده باراتیروئند

غددپاراتیروئیدی توکید و چارکاری (hypoparathyroidism) و یا پرکاری (hyperparathyroidism) هستند.

## ■ کم کاری غده باراتیروئند

مهم‌ترین علت ایجاد کم کاری غده پاراتیروئید چراحتای تیروئید است، از آنجا که غده پاراتیروئید چسبیده به بافت تیروئید هستند، بسیاری از لوقات متعاقب چراحتای تیروئید یک یا چند تا از غده پاراتیروئید هم برداشته می‌شوند.

یکی دیگر از عوامل مهم و شایع کم کاری پاراتیروئید، وجود بیماری اتوایمیون و ترشح اتو آنتی بادی علیه غدد پاراتیروئید است.

گاهی هم ممکن است به صورت مادرزادی غده پاراتیروئید اصلًا در نوزاد وجود تداشته باشند و یا بسیار کوچک بوده و توانایی تولید و ترشح هورمون رانداشته باشند.  
(ستدروم دی جورج)

### Hypoparathyroidism reasons

- surgical removal of the gland
- autoimmune destruction
- Di George's syndrome

## ■ علائم کم کاری غده باراتیروئند

مهم‌ترین نتیجه کم کاری غده پاراتیروئید، کاهش کلیم سرم است در حالی که دفع قسطات از کلیمهای کاهش پافته و مقدار قسطات سرم افزایش می‌بلند.  
از آنجا که کلیم مهم‌ترین یون بوای لقابض عضلانی است، لذا در کم کاری پاراتیروئید عضلات دچار لقابض غیر ارادی شده و حالت تسلی پیش می‌آید.  
در کاهش کلیم خون، عضله قلبی ریتم ضربان خود را



**□ برکاری ثانویه باراتیروئید  
(Secondary hyperparathyroidism)**

به مواردی گفته می‌شود که کلیم خون به علل مختلف کاهش دارد و برای جبران آن، مقدار PTH خون افزایش می‌یابد (PTH بالا همراه Ca پایین) در واقع علت بیماری خارج از غده پاراتیروئید لست مهم‌ترین علل ایجاد کننده هیپرپاراتیروئیدیسم ثالثیه، نقص عملکرد کلیه (kidney failure) و کمبود ویتامین D3 است

**□ برکاری ثالثیه باراتیروئید  
(Tertiary hyperparathyroidism)**

ثالثیه پاراتیروئید مدت زیادی طول بگشود، به تدریج غده پاراتیروئید عادت به تولید مستمر PTH پیدا می‌کند (PTH بالا به همراه Ca بالا)

Type	Serum calcium	Parathyroid hormone
Primary	Raised	Not suppressed
Secondary	Low	Raised
Tertiary	Raised	Not suppressed

**□ عالم بروکاری غدد باراتیروئید**

مهم‌ترین نتیجه بروکاری غدد باراتیروئید افزایش کلیه سرم لست قلمت اعظام پین کلیم نکشی از برداشت کلیم از پیش لستخوانی لست. لذا در پرکاری پاراتیروئید به تدریج با پوکی لستخوان مواجه می‌شویم. بروز دردهای لستخوانی نیز شیع است. همچنین افزایش کلیه سبب کلیقیکالیون بافت‌هاشده، در سیستم ادراری سبب هیرکلیوری و تشکیل سنگ‌های ادراری می‌شود. در غالب موارد بیمار در چار تشنجی‌های معلوم شده و حجم ادرار افزایش می‌یابد. بروکاری تیروئید همچنین سبب دردهای شکمی و از بین رفتن اشتها و بروز تهوع می‌شود.

مهم‌ترین عالم بالینی بروکاری پاراتیروئید در جدول زیر مشاهده می‌شود.

Hyperparathyroidism symptoms  
Digestive system Nervous system  
-Loss of appetite -Fatigue

از دست داده و دچار آریتمی شده و در توار قلبی اخذ شده از بیمار، موج QT طولانی می‌شود. همچنین از آنجاکه وجود کلیم برای کارکرد صحیح سیستم عصبی ضروری است، کمبود کلیم سبب ایجاد پارسازی (خواب رفتگی و تگزگز شدن انگشتان و لadamهای تحتانی) می‌شود.

مهم‌ترین علایم بالینی کم کاری غدد پاراتیروئید در جدول زیر مشاهده می‌شود:

#### Hypoparathyroidism symptoms and signs

##### Hypocalcemia and hyperphosphatemia

- Tetany - Cardiac arrhythmia
- Muscle weakness -Cataracts
- Sensitive nerves -Tooth problems
- Numbness, tingling, cramps -Hair loss

#### □ بروکاری غدد باراتیروئید

چند شکل دارد که مهم‌ترین اشكال آن عبارتند از:  
برکاری ولیه پاراتیروئید

#### (Primary hyperparathyroidism)

##### برکاری ثالثیه پاراتیروئید

#### (Secondary hyperparathyroidism)

##### برکاری شانه‌یه پاراتیروئید

(Tertiary hyperparathyroidism)  
گاهی اوقات هم وجود بدخیمی و سرطان غدد پاراتیروئید سبب افزایش نیچه‌ای PTH و پرکاری پاراتیروئید می‌شود.

#### □ بروکاری اولیه باراتیروئید

##### (Primary hyperparathyroidism)

به مواردی گفته می‌شود که غده پاراتیروئید بدون توجه به مقدار کلیم خون، هورمون PTH ترشح می‌کند. در واقع در پرکاری ولیه ترشح هورمون به طور مدلوم نی GAM می‌گیرد و متعاقب آن مقدار کلیم خون هم بالا می‌رود. (PTH بالا به همراه Ca بالا)

مهم‌ترین علت ایجاد پرکاری ولیه پاراتیروئید وجود آنوم غده پاراتیروئید است.



می شود. ساختار ولیه به شکل یک است که از ۱۱۵ اسید آمینه تشکیل شده است.

سپس از لتهای N-ترمینال (Amino-terminal) دچار شکستگی شده و یک قطعه ۲۵ اسید آمینه‌ای جدا می شود. باقیمانده pro-PTH نام دارد.

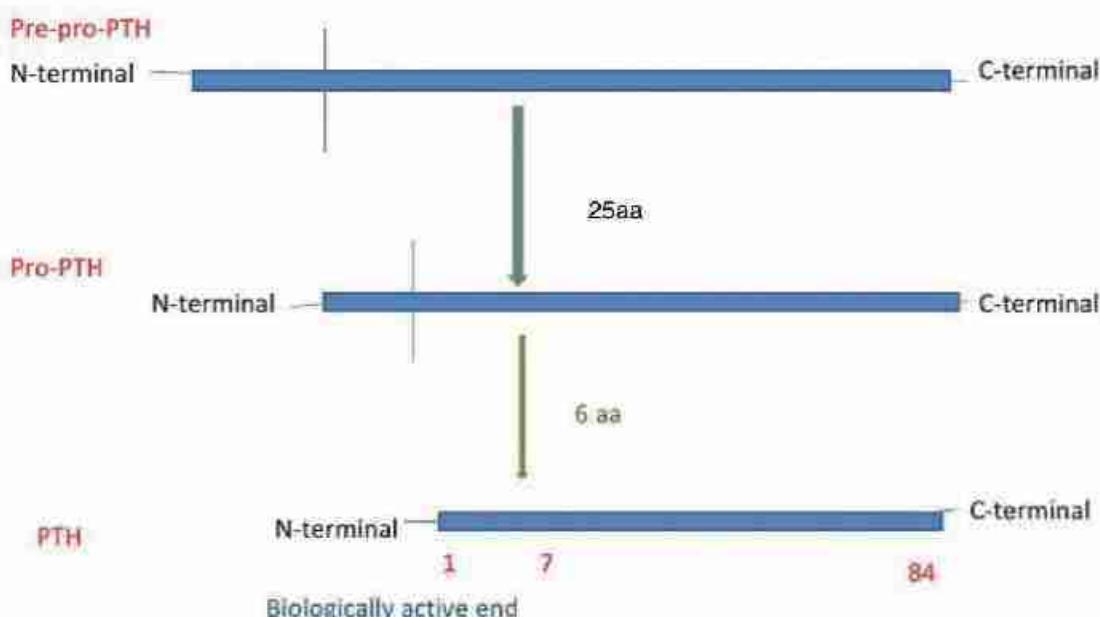
نهایتاً از همان سمت N-ترمینال یک قطعه ۶ اسید آمینه‌ای دیگر هم جدا می گردد و شکل نهایی که دارای ۸۴ اسید آمینه است همان فرم فعلی Intact PTH است که دارای قابلیت بیولوژیک است (شکل ۱).

- Nausea -Depression
- Vomiting -Confusion
- Constipation
- Musculoskeletal system Urinary system
- Muscle weakness -Kidney stones
- Bone pains -Increased urination

#### ■ ساختمان هورمون PTH

هورمون PTH یک پلی پپتید ساده است که در غدد پاراتیروئید ساخته شده و در همان جا به فرم فعلی تبدیل

### SYNTHESIS OF PTH



(شکل ۱)

به قطعات کوچک‌تر متعددی شکسته می شود که هیچ کدام قابلیت بیولوژیکی ندارند ولی خاصیت آنتی زنگ دارند و در نتیجه قابلیت دستکشدن در آزمایش را دارا می باشند (شکل ۲).

فرم فعلی همان i-PTH-i از درون غدد پاراتیروئید خارج شده و وارد گردش خون می شود. نیمه عمر این مولکول بسیار کوتاه و در حد چند دقیقه است این هورمون درون گردش خون

## The PTH Molecule

- Peptide consisting of 84 Amino acids.
- Breaks into small fragments.
- Intact PTH is the whole molecule – 1 to 84.



(سکل ۲)

۲- تأثیر PTH بر روی کلیم: PTH باعث باز جذب کلیم از لوله‌های ادراری می‌شود و از این طریق از دفع کلیم جلوگیری نموده و سبب افزایش کلیم سرم می‌گردد. پیشترین محل اثر PTH بر روی لوله‌های پروگزیمال ادراری است (ما بر روی قوس هتله (loop of henle) و لوله‌های صعود کننده (ascending tubules) باشد کمتر اثر می‌گذارد).

۳- تأثیر PTH بر روی روده: اثر PTH بر روی روده کوچک به طور غیر مستقیم است. بدین شکل که در کلیه سبب تبدیل فرم غیر فعال ویتامین D به فرم فعال می‌شود سپس ویتامین D فعال در روده کوچک سبب افزایش جذب کلیم موجود در مواد غذایی می‌شود.

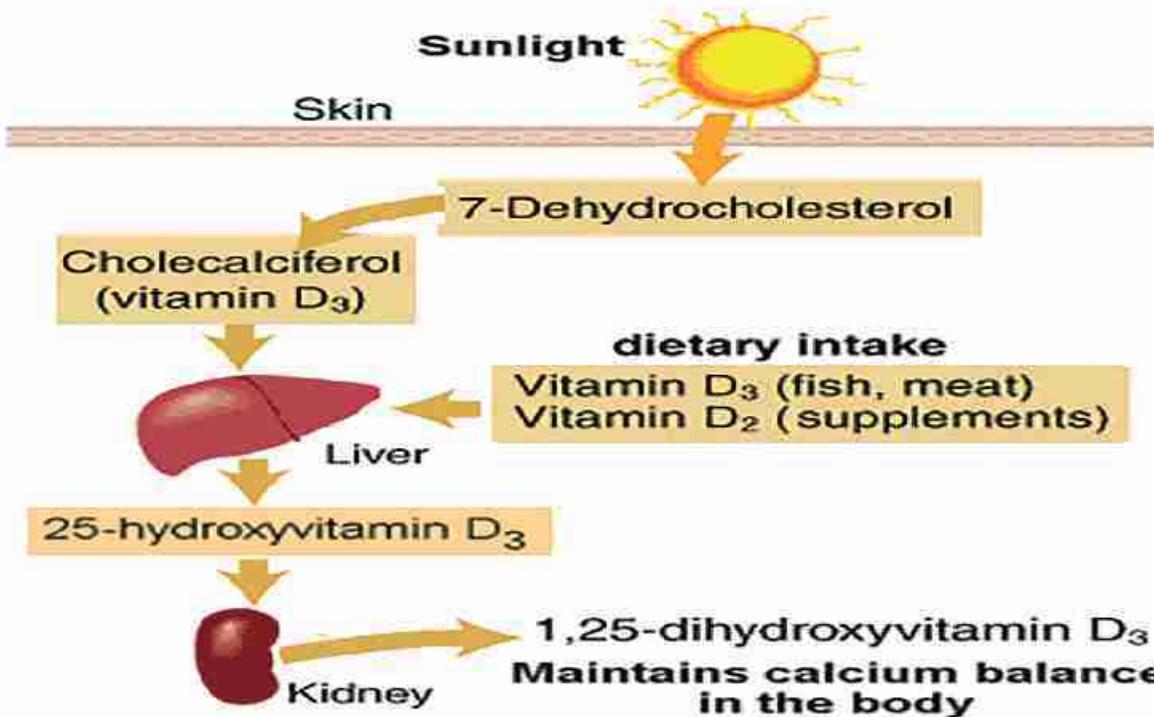
□ عملکرد PTH در بدن  
ترشح PTH در پاسخ به کاهش سطح کلیم سرم روی می‌دهد. PTH مهم‌ترین نشان را در حفظ تعادل (homeostasis) کلیم سرم دارد.

PTH از طریق ۳ مکانیزم زیر سبب افزایش کلیم سرم می‌شود:

۱- تأثیر PTH بر روی استخوان: PTH در استخوان باعث فعال شدن سلول‌های osteoclast می‌شود و در نتیجه کلیم از بافت استخوانی برداشت شده و به داخل خون می‌ریزد، لذا فعالیت بیش از اندازه پارانیروتید و افزایش PTH سبب کاهش مواد معنی استخوان و نهایتاً پوکی استخوان‌ها می‌گردد.

ویتامین D3 در کبد به 25-hydroxyvitamin D3 تبدیل شده و نهایتاً در کلیه با کمک آنزیم آلفا-هیدروکسیلاز تبدیل به فرم فعال با 1,25hydroxyvitamine D3 می‌شود (شکل ۳).

□ سنتز و فعال سدن ویتامین D  
مولکول اولیه ویتامین D در سطح پوست و تحت تأثیر لعده‌نور خورشید از پیش ساز کلسترولی ساخته می‌شود. پس این پیش-



(شکل ۳)

(شیوه مکاتیسم روی داده در مورد کلیم)، از این طریق سبب کاهش املاح معنده استخوان شده و قدری فسفر خون را بالا می‌پردازد.

۳- تأثیر PTH بر روی روده کوچک PTH در روده سبب افزایش جذب فسفات از مواد غذایی می‌شود. اما تأثیر نهایی و برآیند اثر PTH به صورت net کلتش فسفر خون می‌باشد زیرا اثر PTH در کلیه بسیار شدیدتر و بارزتر از تأثیر آن بر روی استخوان و روده است.

□ اثر PTH بر روی تنظیم فسفات‌ها

۱- تأثیر PTH بر روی کلیه: در مورد فسفات‌ها، بیشترین تأثیر PTH بر روی کلیه است در واقع PTH در کلیه باعث افزایش ترشح فسفات به درون ادرار می‌شود (بر عکس مکاتیسم روی داده در مورد کلیم)، لذا سبب کاهش سطح فسفر خون می‌شود.

۲- تأثیر PTH بر روی استخوان: PTH در استخوان‌ها سبب افزایش برداشت فسفات از بافت استخوان می‌شود.

هستند  
در یخچال ۴ درجه هم نمونه پلاسماتا ۷۲ ساعت و نمونه سرم تا ۲۴ ساعت پایداری دارند.  
چنانچه امکان لجام آزمایش در این زمان میسر نباشد  
باید نمونه فریز شود (-۲۰) البته در مورد فریز کردن هم هنوز بحث‌های وجود دارد و تحقیقات بیشتری در حال لجام است.

#### روش‌های سنجش PTH

روش‌های سنجش و اندازه گیری PTH در طی ۵۰ سال گذشته به طور مدلوم مسیر تکمیلی را طی نموده است. نخستین بار در سال ۱۹۶۳ میلادی روش‌های رادیوایمنتواسی برای سنجش PTH طراحی شدند. نسل اول (First Generation) کیت‌های سنجش PTH از تکنیک‌های رقابتی (competitive assay) برای تهیه آنتی بادی ضد PTH به کار گرفته می‌شدند. این تکنیک‌ها بر اساس واکنش متقاطع آنتی بادی تولید شده علیه PTH حیوانی، یا PTH انسانی بنا نهاده شده بودند و عمدتاً دارای ۲ مشکل اصلی بودند: اول این که تهیه آنتی بادی‌ها از این روش بسیار سخت بود و مقدار بسیار محدودی آنتی بادی ساخته می‌شد و دوم این که ویژگی این آنتی بادی‌ها بسیار متغیر بود و چندان رضایت‌بخشن بود. آنتی بادی‌های مذکور پلی کلونال بودند و بر علیه کربوکسی ترمیتال عمل می‌کردند و لذا اختصاصاً قرم بیولوژیک هورمون را دستک نمی‌کردند بلکه بسیاری از قطعات شکسته شده و پیشدهای بدون فعالیت بیولوژیکی را هم اندازه گیری می‌کردند.

#### دستورالعمل‌های توصیه شده برای نمونه گیری PTH

هرمون PTH دارای نیمه عمر کوتاه و پایداری بسیار کمی است لذا هنگام جمع آوری نمونه باید توجه بسیار زیادی به متغیرهای preanalytic مبنی‌گردد.

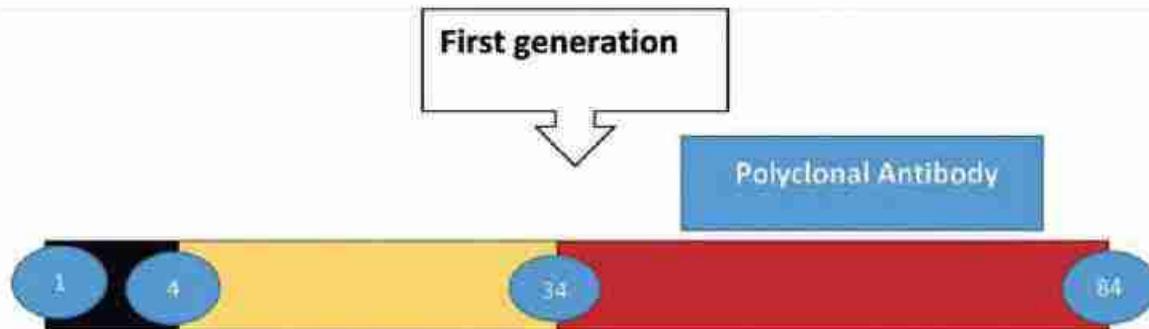
۱- ناشتاپی: توصیه شده که بیمار قبل از لجام آزمایش پروتکل کامل ناشتاپی (حدود ۱۰ ساعت) را رعایت نماید.

۲- زمان نمونه برداری (sampling time): دارای سیکل شبکه روزی (circadian cycle) است بدین شکل که بیشترین مقدار ترشح PTH در نیمه شب و کمترین مقدار در mid-morning یعنی بین طلوع آفتاب و ظهر است. توصیه شده که بهترین زمان نمونه گیری بین صبح تا ۴ بعد از ظهر است.

۳- نوع نمونه (specimen type): کارگروه پردازی تکی (EFLM) توصیه تموبدلند که نمونه پلاسما جدید با EDTA پایداری بیشتری دارند. پلاسما EDTA در حرارت ۴ درجه سلسیوس گردان ۷۲ ساعت پایدار است حال آن که نمونه سرم جدا شده از لوله لخته فقط ۲۴ ساعت در ۴ درجه پایدار است.

۴- آماده سازی نمونه (sample preparation): نمونه اخذ شده از بیمار باید در اولین فرصت ممکن سلتريفیو شود. توصیه ارجح آن است که از سلتريفیو های یخچال دار استفاده شود. حتی بهتر است که لوله‌های جمع آوری در یخچال نگهداری و فقط بلا فاصله قبل از نمونه گیری از پیچیل خارج گردد.

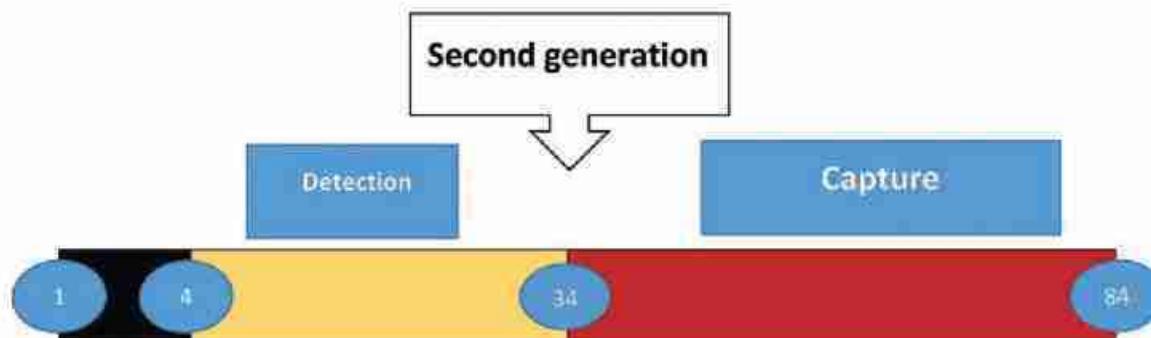
۵- نگهداری نمونه (storage condition): بهتر است حتی المقدم نمونه در کمترین زمان ممکن مورد آزمایش قرار گیرد. در حرارت آزمایشگاه نمونه پلاسما EDTA تهایتاً تا ۸ ساعت و نمونه سرم تهایتاً ۲ تا ۳ ساعت پایدار





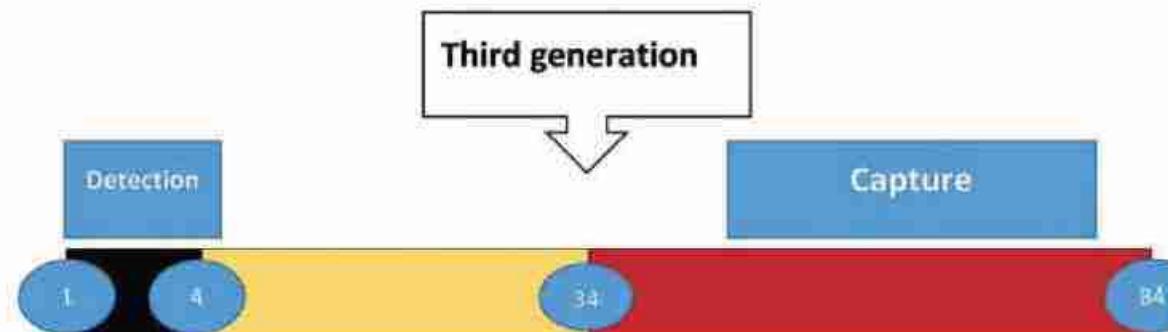
در کیت‌های این گروه از ۲ آنتی بادی استقاده می‌گردد: اول Capture Ab که با قسمت‌های نزدیک به C-ترمینال اتصال می‌یابد و دوم Detection Ab که به قسمت نزدیک به N-ترمینال اتصال می‌یابد.

به تدریج آنتی بادی‌های مونوکلونال ایداع شنند و نسل بعدی کیت‌های سنجش PTH روانه بازار شنند. نسل دوم کیت‌های لذاره گیری PTH یا (Second Generation) اساساً از تکنیک‌های غیر رقبه‌ای یا non competitive استفاده می‌کردند.



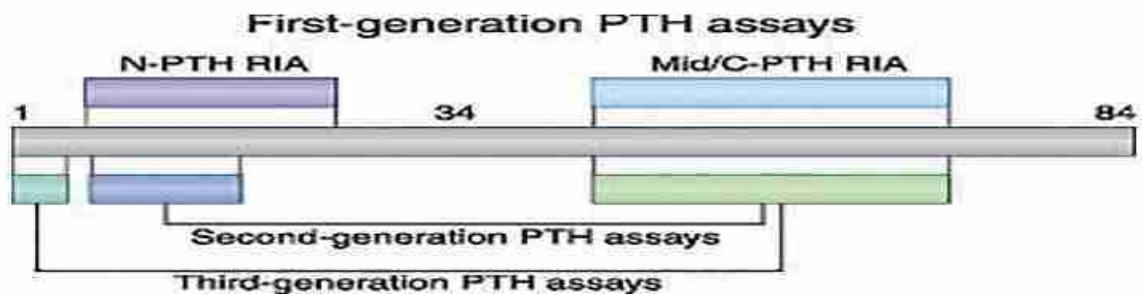
نسل سوم به بازار عرضه شدند. در این کیت‌ها آنتی بادی detection بر علیه اسید آمیته‌های شماره ۱ الی ۴ قسمت N-terminal عمل می‌نمایند و لذا قادر هستند که صرفاً هورمون فعال یا همان i-PTH را تشخیص‌ای کنند.

کیت‌های نسل دوم هم با وجود آن که ویژگی بسیار پیشتری در مقایسه با کیت‌های نسل اول داشتند، اما هنوز قادر نبودند که صرفاً i-PTH یا فرم فعال بیولوژیک هورمون را دتکت کنند، لذا پس از چندین سال کیت‌های



مقایسه نسل‌های مختلف کیت‌های لذاره گیری PTH را در تصویر زیر مشاهده می‌نمایید:





تا همه آزمایشگاهها به صورت هماهنگ و استاندارد از این گایدالاین‌ها پیروی نمایند.  
همه تمونه‌گیرها و پرسنل فنی آزمایشگاهها باید آموزش لازم برای رعایت استانداردهای قبل از انجام آنالیز (analytical phase) و حین آنالیز (pre-analytical phase) را گذرانده باشند و دستورالعمل‌های مكتوب در بخش نمونه‌گیری و فنی آزمایشگاهها موجود باشد.  
در صورتی که نمونه‌ای شرایط لازم را نداشت و یا بیمار امادگی قبل از انجام آزمایش را نداشت، فرم‌های رد نمونه تکمیل و از انجام آزمایش جلوگیری گردد.

#### نتجه گیری

نتجه هورمون PTH اهمیت بسیار زیادی در پزشکی بالینی دارد زیرا PTH نقش بسیار مهمی در تنظیم متبلولیسم کلسیم خون و فیزیولوژی استخوان‌ها دارد.  
با آن که بیش از ۵ سال از ابداع ولیمن روش‌های سنجش PTH با روش رادیو ایمتواسی می‌گذرد، اما کم‌آکان چالش‌های زیادی در استانداردسازی روش‌های سنجش PTH وجود دارد.  
بسیار ضروری است که تجممنهای آزمایشگاهی دستورالعمل‌های دقیقی برای سنجش PTH تدوین نمایند.

## References

- 1- Parathyroid Hormone Assay: Problems and Opportunities by KJ Martin-2007
- 2- PTH Assay understanding What We Have and Forecasting by JGH Vieira-2012
- 3- Evolution of PTH Assays-Sci Elo by JGH Vieira-2006
- 4- Parathyroid Disorders-Karger Publishers by Brandi, Maria Luisa-2019
- 5- Primary Hyperparathyroidism by John P Bilezikian MD-Jan 2017
- 6- Problems With the PTH assays/Request PDF Article in Annales d'Endocrinologie-April 2015