

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 24, 1986, pp. 175–178

© 1986 by Walter de Gruyter & Co.
Berlin · New York

Circadiane Rhythmik der Konzentrationen von Parathyrin und Calcitonin im Serum

Von M. Radjaipour, E. Kindtner, H. Rösler und M. Eggstein

Medizinische Klinik, Abteilung IV (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. M. Eggstein) der Universität Tübingen

(Eingegangen am 26. Oktober 1984/2. September 1985)

Zusammenfassung: Die tageszeitliche Abhängigkeit der Konzentrationen von intaktem Parathyrin, von C-terminalen Parathyrin (65–84)- und mittregionalen Parathyrin (44–68)-fragmenten, von Calcitonin, Gesamtcalcium, ionisiertem Calcium, Phosphat und Albumin wurde im Serum von fünf Gesunden bestimmt. Intaktes Parathyrin, sein Fragment Parathyrin (44–68) und Calcitonin zeigen einen annähernd synchronen Tagesverlauf mit einem ausgeprägten Peak zwischen 24⁰⁰ und 2⁰⁰ Uhr morgens. Während Phosphat auch einen deutlichen Tagesrhythmus mit einem Zenit zwischen 1⁰⁰–8⁰⁰ Uhr zeigt, haben die Gesamtcalcium- und Albuminkonzentrationen im Serum eine abnehmende Tendenz zwischen 20⁰⁰ und 6⁰⁰ Uhr. Das ionisierte Calcium bleibt im gesamten Tagesverlauf konstant.

Circadian rhythm of parathyroid and calcitonin concentrations in serum

Summary: The circadian variations of serum intact parathyroid, C-terminal parathyroid (65–84), mid-region parathyroid (44–68) fragments, calcitonin, total calcium, ionized calcium, albumin and phosphate were measured in five healthy subjects. Intact parathyroid, parathyroid (44–68) and calcitonin show a synchronous diurnal fluctuation with a nocturnal increase to a maximum between 24.00 and 2.00 hours. Whereas phosphate has a marked circadian rhythmicity with a zenith between 1.00 and 8.00 hours, total calcium and albumin show a tendency to decrease between 20.00 and 6.00 hours. Ionized calcium concentration remains constant over the whole day.

Einführung

Der circadiane Rhythmus der Konzentrationen von Parathyrin, Gesamtcalcium (1–4), Albumin und Phosphat (1–3) im Serum von Personen mit normalem Calciumstoffwechsel und Personen mit primärem Hyperparathyreoidismus wurde beschrieben.

Jubiz et al. (3) fanden bei Normalpersonen keinen Zusammenhang zwischen dem nächtlichen Abfall des Calciums und der ansteigenden Parathyrinkonzentration im Serum. Ein Calcitonin-Tagesprofil wurde von ihnen nicht bestimmt. Später stellten Hillyard et al. (5) eine tageszeitliche Änderung des Calcitonins im Serum mit einem Maximum nach dem Mittagessen dar. Robinson et al. (6) konnten aber diese Tagesänderung in Serum ihrer fastenden Probanden nicht finden.

Das Ergebnis der ersten Gruppe (5) ist wahrscheinlich, wie Sethi et al. (7) darstellten, ein Stimulationseffekt nach der Nahrungsaufnahme gewesen. Von besonderer Bedeutung ist ein fast paralleler Anstieg der Parathyrin- und Calcitoninkonzentration bei Normalpersonen durch Sekretinstimulation ohne eine Änderung des Calciums im Serum (7).

Vor kurzem haben wir im Tagesprofil eines Kollektivs von 11 Probanden mit normalem Calciumstoffwechsel einen schwachen Anstieg der Konzentration von mittregionalem Parathyrin im Serum gegen Mitternacht beobachtet, während dies beim C-terminalen Parathyrinfragment nicht der Fall war (8). Zur Ergänzung dieser Ergebnisse und in Anbetracht dessen, daß bezüglich des Calcitonin-Tagesprofils keine ein-

heitliche bzw. nicht ausreichend zweifelsfreie Darstellung vorliegt, wollten wir folgende Fragen klären:

1. Hat Calcitonin wie Parathyrin einen circadianen Rhythmus?
2. Wo liegt das Maximum der Sekretion?
3. Wie ist der genaue Tagesverlauf von mittregionalem und C-terminalem Parathyrin?

Methodik

Probanden

Unsere Untersuchungen erfolgten an Personen, die folgende Bedingungen erfüllten:

1. Sie waren klinisch gesund und hatten keine auffälligen Abweichungen der blutchemischen Werte, vor allem der Kenngrößen des Calciumstoffwechsels.
2. Sie durften mindestens 6 Monate lang vor unserer Untersuchung weder an anderen Untersuchungen mit Medikamenteneinnahme teilgenommen, noch regelmäßig Medikamente verabreicht bekommen haben.
3. Sie sollten in dieser Zeit auch regelmäßig nachts geschlafen haben.
4. Sie hatten sich nach einem von uns vorgeschriebenen Speiseplan (ohne Milchprodukte und calciumreiche Getränke) zu ernähren. Die Mahlzeiten erfolgten um 8⁰⁰, 12⁰⁰ und 18⁰⁰ Uhr.
5. Sie durften sich während der Untersuchungszeit körperlich nicht anstrengen und sollten sich in der Nacht zur gewohnten Zeit zur Ruhe legen.

Unter diesen Bedingungen konnten wir 5 Personen untersuchen:

- a) 3 Personen: 26–30 Jahre alt (1 Frau, 2 Männer)
- b) 2 Personen: 43 und 47 Jahre alt (1 Frau, 1 Mann)

Die beiden Gruppen wurden bis auf die Blutabnahmezeiten gleich behandelt.

Die Blutentnahme erfolgte bei den 26–30-Jährigen tagsüber bis 24⁰⁰ Uhr alle 4 Stunden, ab 24⁰⁰ Uhr bis 8⁰⁰ Uhr morgens alle 2 Stunden, da in dieser Zeit ein Anstieg von Parathyrin erwartet wurde (1–4). Bei den 43 und 47-Jährigen waren die Blutabnahmezeiten enger, und zwar am Tag alle 2 Stunden und ab 22⁰⁰ Uhr stündlich. Das führte natürlich zu einer erheblichen Störung der Schlafgewohnheiten.

Probenmaterial

Die Blutentnahme erfolgte aus einer Verweilkanüle. Bei jeder Entnahme wurden 10 ml Blut gewonnen, in Eis gestellt und nach vollständiger Gerinnung 10 Minuten bei 4 °C zentrifugiert. Das Serum wurde in Portionen zu 1–3 ml aufgeteilt und bei –20 °C aufbewahrt.

Bestimmungsmethoden

Die Bestimmungen der einzelnen Kenngrößen wurden in einer Serie durchgeführt, um die Interassay-Varianz zu umgehen. Die Bestimmung jedes Hormons wurde zweifach durchgeführt.

Intaktes Parathyrin

Intaktes Parathyrin wurde mit dem N¹-tactTMPTH-Kit der Immuno Nuclear Corporation INC (Fa. IBL, D-2000 Hamburg

19) gemessen. Dabei wird intaktes Parathyrin nach einem Affinitätschromatographischen Verfahren aus EDTA-Plasma oder Serum extrahiert und radioimmunologisch bestimmt. Nach den Herstellungsangaben und eigenen Versuchen liegt die Wiederfindung von intaktem Parathyrin im Plasma bei 90%, im Serum gut reproduzierbar bei 80%. Wir nahmen diese geringfügig niedrigere Wiederfindung aus Probennahme- und einheitlichen Probenvorbereitungsgründen in Kauf, insbesondere, da die Bestimmung der anderen Hormone und blutchemischen Kenngrößen durchweg im Serum durchzuführen war. Zur Extraktion des intakten Hormons wurden 2,5 ml Serum mit 0,5 ml Chicken anti-N-tact-PTH-sepharose-suspension in einer verschließbaren Kunststoffsäule mittels eines Rotors für eine Stunde bei Raumtemperatur gemischt. Danach lief das Eluat aus der Säule und wurde verworfen. Die Säule wurde dreimal mit 1 ml 8,5 g/l NaCl gewaschen. Danach wurden das an den Antikörper gebundene intakte Parathyrin und seine N-terminalen Fragmente zweimal mit 0,025 mol/l HCl eluiert und radioimmunologisch bestimmt. Die Bestimmung von intaktem Parathyrin erfolgte nach einer modifizierten Methode von Lindall et al. (9). Der eingesetzte Antikörper stammte vom Huhn (C-121), Endverdünnung 1 : 7500. Der Tracer bestand aus ¹²⁵I-markiertem Rinder-Parathyrin (37–84). Als Standard diente (Tyr⁴³)Parathyrin (44–68) vom Menschen. Die untere Nachweisgrenze lag bei 3,2 pmol/l und der Referenzbereich erstreckte sich bis 10 pmol/l. Die VK (Intra- und Interassay) lagen im Konzentrationsbereich von 6,0–7,0 pmol/l zwischen 6,3% und 6,7%.

Parathyrinfragmente

Mittregionales Parathyrin (44–68)-fragment wurde mit dem (44–68) PTH-RIA von Henning, D-1000 Berlin, bestimmt. Der Antikörper vom Schaf (G 2) wurde bei einer Endverdünnung von 1 : 16000 eingesetzt. Er erfaßte auch das intakte Parathyrin. Als Tracer und Standard wurden synthetisches [¹²⁵I] (Tyr⁴³) Parathyrin (44–68) und Parathyrin (44–68) des Menschen verwendet (10). Der Referenzbereich lag unter 300 ng/l, die Nachweisgrenze bei 80 ng/l. Im Konzentrationsbereich von 80–300 ng/l fanden wir Variationskoeffizienten von 8% für Intraassay- und 15% für Interassaybedingungen. Dabei entsprechen 300 ng/l Parathyrin (44–68) 100 pmol/l.

C-terminales Parathyrin (65–84) wurde mit einem modifizierten PTH-Kit der Fa. Mallinckrodt-Diagnostica GmbH ermittelt. Als Antikörper benutzten wir Anti-Rinder-Parathyrin vom Huhn bei einer Endverdünnung von 1 : 24000. Standard und Tracer bestanden aus synthetischem Parathyrin (65–84) und [¹²⁵I] Parathyrin (65–84) des Menschen. Der Referenzbereich lag unter 650 ng/l (300 pmol/l). Die VK lagen in diesem Konzentrationsbereich um 3% für den Intraassay- und um 7% für den Interassayansatz. Die Nachweisgrenze lag bei 100 ng/l.

Calcitonin

Calcitonin wurde mit dem RIA-MAT Calcitonin-Kit (Mallinckrodt) bestimmt. Das Antiserum stammte von Ziegen und wurde mit einem Titer von 1 : 10000 in diesem Kit eingesetzt. Als Standard diente Calcitonin des Menschen und als Tracer ein synthetisches [¹²⁵I] Calcitonin. Die Nachweisgrenze lag bei 25 ng/l. Der Referenzbereich erstreckte sich bis 350 ng/l (100 pmol/l). In dem Konzentrationsbereich von 25–350 ng/l lagen die Intra- und Interassay-Variationskoeffizienten um 2,5% und 10%. Die Radioaktivitätszählung der Ansätze und die Auswertung der Meßergebnisse erfolgten am γ -Counter (MR 480 der Fa. Kontron Analytik GmbH).

Andere Analyte

Gesamtcalcium, Albumin und Phosphat wurden am Analysengerät „Monitor Parallel“ (Fa. American-Monitor-Corporation) erstellt (11). Gesamtcalcium, als Cresolphthalein-Komplex bei 575 nm photometrisch gemessen, besitzt im Referenzbereich (2,1–2,8 mmol/l) Variationskoeffizienten in der Serie zwischen 0,9–0,7%. Die Impräzision von Tag zu Tag war < 1,9%.

Albumin, nach der Bromcresolgrün-Methode photometrisch bei 600 nm bestimmt, weist in dem Referenzbereich von 550–739 $\mu\text{mol/l}$ eine analytische Impräzision in der Serie um 2,2% und von Tag zu Tag < 3,9% auf.

Phosphat wurde als Phosphomolybdat-Komplex bei 650 nm ermittelt. In dem Normbereich von 0,8–1,6 mmol/l liegt die Impräzision zwischen 0,6–1,0% in der Serie und 3,0% von Tag zu Tag.

Ionisiertes Calcium wurde potentiometrisch mit einem Nova-8-Gerät bestimmt. Die Impräzision lag bei einer Konzentration von 1,2 mmol/l um 0,7% in der Serie.

Ergebnisse

In den Abbildungen 1 a–c und 2 a sind die Konzentrationen von intaktem Parathyrin, Calcitonin, mitregionalem Parathyrin(44–68) und C-terminalem Parathyrin(65–84) im Serum in Abhängigkeit zur Tageszeit dargestellt. Intaktes Parathyrin, Calcitonin

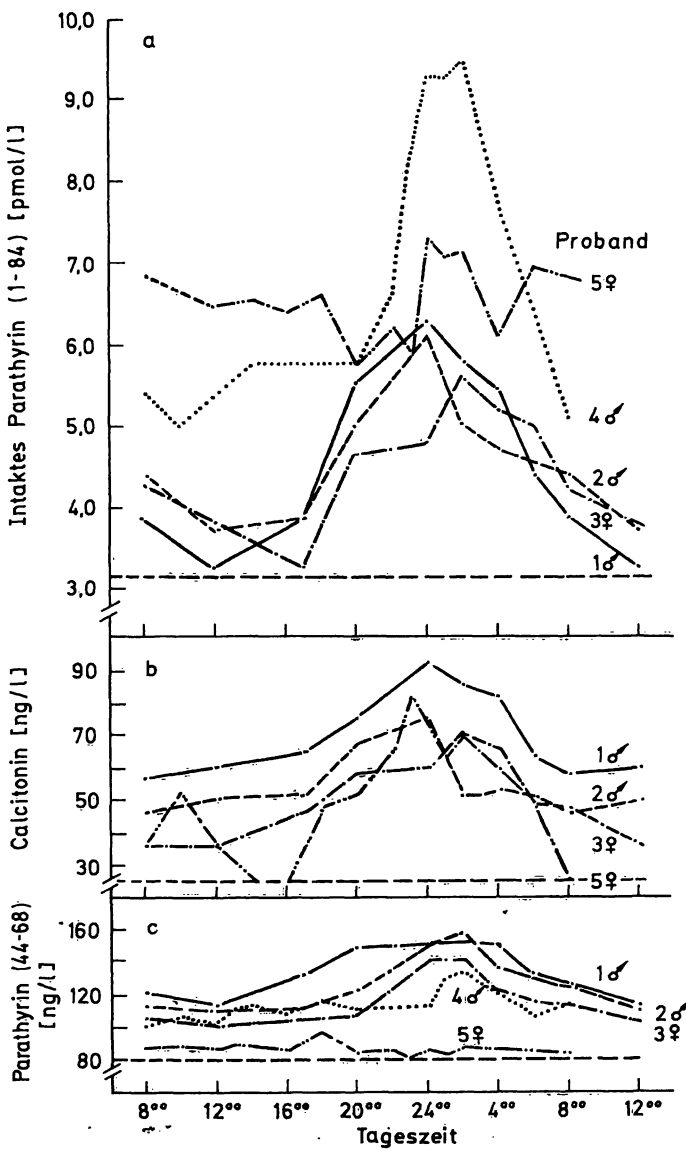


Abb. 1. Tageszeitlicher Verlauf der Konzentrationen von intaktem Parathyrin, Calcitonin und mittregionalem Parathyrin (44–68) im Serum von 5 gesunden Probanden. Die gestrichelten horizontalen Linien zeigen die Nachweisgrenzen.

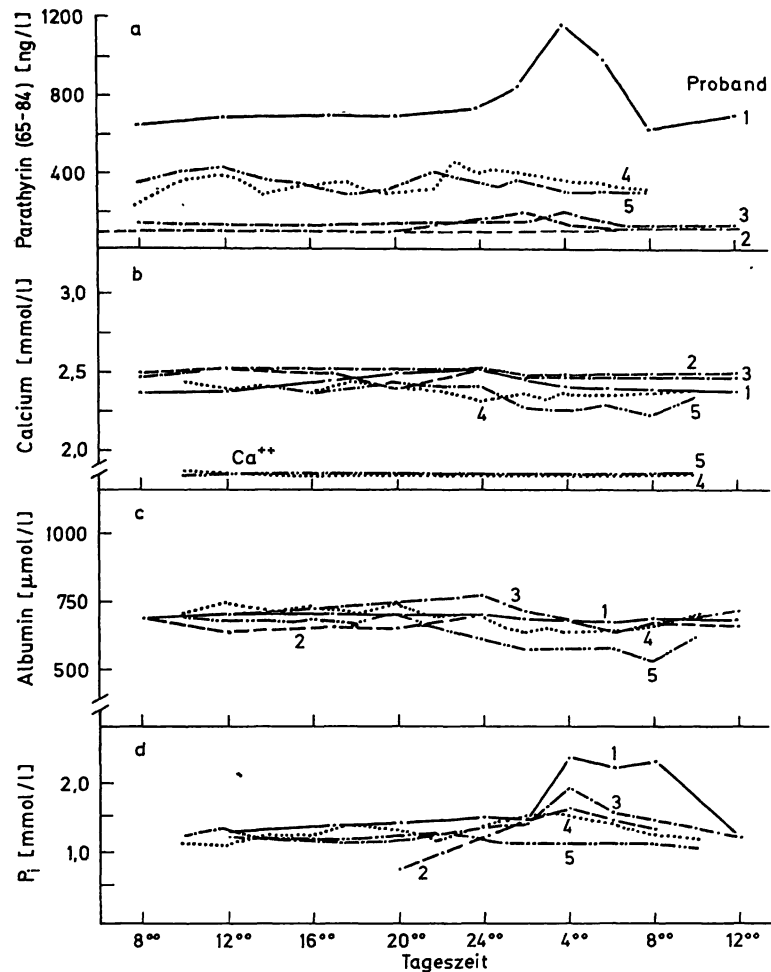


Abb. 2. Tageszeitlicher Verlauf der Konzentrationen von C-terminalem Parathyrin (65–84), Gesamtcalcium, ionisiertem Calcium (s. Text), Albumin und Phosphat im Serum derselben Probanden wie in der Abbildung 1.

und Parathyrin(44–68) zeigen einen annähernd synchronen Tagesverlauf, die Zeit der maximalen Sekretion von intaktem Parathyrin und Calcitonin läßt sich für unsere Probanden zwischen 24⁰⁰ und 2⁰⁰ Uhr festlegen. Minima und zusätzliche tageszeitliche Änderungen der beiden Hormonkonzentrationen sind individuell unterschiedlich. Vom Minimum ausgehend beträgt der höchste relative Parathyrinanstieg 94% beim Probanden 1 (δ). Bei Probandin 5 (♀) liegt dagegen das Maximum nur um 25% über dem minimalen Wert. Die Calcitoninkonzentration steigt beim Probanden 1 (δ) höchstens um 60%, beim Probanden 5 (♀) dagegen um 228%, vom Minimum ausgehend, an. Im Serum des Probanden 4 (δ) mit den höchsten Parathyrin-Werten im Tagesverlauf waren die Calcitoninkonzentrationen sehr niedrig und blieben ständig nahe der Nachweisgrenze.

Der Tagesrhythmus von Parathyrin(44–68) (Abb. 1c) zeigt den gleichen Verlauf wie der von intaktem Parathyrin (Abb. 1a). Die Maximumwerte sind im Vergleich zu den zugehörigen Basiswerten nur zwischen 36% und 44% höher. Das Tagesprofil von Parathyrin(65–84) (Abb. 2a) zeigt außer beim Pro-

banden 1 (♂), bei dem der Konzentrationsverlauf einen ausgeprägten Peak mit Werten im pathologischen Bereich (650 ng/l) zwischen 2⁰⁰–4⁰⁰ Uhr morgens aufweist, keine signifikante Konzentrationsänderung. Auffällig ist, daß dieser Peak sich mit dem zugehörigen Phosphatpeak überlappt (Abb. 2 d, Proband 1). Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen lassen sich keine signifikanten Maxima im Tagesverlauf der Calciumkonzentration (1–3, 12) und Albuminkonzentration (1–3) feststellen (Abb. 2 b und 2 c). Die beobachteten Konzentrationsunterschiede über 24 h liegen zwischen 4–21% beim Gesamtcalcium und 2–30% beim Albumin.

Im Serum von Proband 4 und 5 bestimmten wir zusätzlich noch die Konzentration des ionisierten Calciums. Wie Abbildung 2 b zeigt, kann die Ca⁺⁺-Konzentration mit einer Schwankungsbreite von nur 0,07 mmol/l im Gegensatz zur Gesamtcalciumkonzentration im Tagesverlauf als konstant angesehen werden.

Diskussion

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren (1–3) fanden wir bei intaktem Parathyrin, das nach affinitätschromatographischer Abtrennung aller nicht N-terminalen Fragmente sehr spezifisch mittels eines mittregionalen Parathyrin-Assays bestimmt wurde, einen Tagesrhythmus mit einer Peakhöhe zwischen 24⁰⁰ und 2⁰⁰ Uhr. Der geringe zeitliche Unterschied zu der von obengenannten Autoren angegebenen Lage des Maximus (2⁰⁰–4⁰⁰ Uhr) ist wahrscheinlich durch unterschiedliche Lebensgewohnheiten und Schlafrhythmen der Probanden zu erklären. Vorläufige Ergebnisse unserer laufenden Untersuchungen an Schichtarbeitern zeigen diese Verschiebung des Tagesrhythmus. Ähnlich verläuft auch das Calcitonin-Tagesprofil. Sein Peak liegt im Gegensatz

zu anderen Angaben nicht um die Mittagszeit (5), sondern genau auf dem Peak von intaktem Parathyrin.

Während die Konzentration des Gesamtcalciums im Serum parallel zu der des Albumins in der Zeit von 2⁰⁰–6⁰⁰ Uhr bei allen Versuchspersonen fallende Tendenz zeigt, bleibt das ionisierte Calcium während 24 h konstant und damit ohne Tagesrhythmus. Dieses Ergebnis dürfte kaum im Widerspruch zu den Resultaten von Markowitz et al. (13) stehen, da in jener Studie lediglich circadiane Konzentrationsschwankungen des ionisierten Calciums in einer Größenordnung von 0,07 mmol/l(!) bestimmt wurden.

Es ist bekannt, daß die Konzentrationsabnahme des Gesamtcalciums und Albumins auf die Blutdilution in der Nacht zurückzuführen ist (3). Trotzdem bleibt die Konzentration des physiologisch wirksamen ionisierten Calciums konstant. Die Annahme liegt nahe, daß, während das Parathyrin in jedem Augenblick ein Defizit an ionisiertem Calcium auszugleichen versucht, das Calcitonin für die Calciumhomöostase sorgt (14). Befunde an athyreoten Patienten sprechen allerdings dagegen, daß Calcitonin für die Calciumhomöostase wesentlich ist.

Bemerkenswert ist der Tagesrhythmus der Konzentration von mittregionalen Parathyrin (Abb. 1 c). Der Tagesrhythmus des C-terminalen Parathyrinfragments (Abb. 2 a) zeigt nur in einem Fall einen ausgeprägten Peak, der sich nicht mit der tageszeitlichen Schwankung des intakten Parathyrins deckt. Alle Tageswerte dieses Parathyrin-Fragments liegen bei diesem gesunden Probanden an der oberen Grenze des Referenzbereiches (650 ng/l) und steigen bis auf 1200 ng/l um 4⁰⁰ Uhr morgens an (Abb. 2 a).

Für diese und an anderer Stelle beschriebenen (8) Diskrepanzen zwischen den Konzentrationen vom mittregionalen und C-terminalen Parathyrin haben wir derzeit keine befriedigende Erklärung.

Literatur

1. Arnaud, C. D., Tsao, H. S. & Littledike, T. (1971) *J. Clin. Invest.* 50, 21–34.
2. Riggs, B. L., Arnaud, C. D., Goldsmith, R. S., Tylor, W. F., McCall, J. T. & Sessler, A. D. (1971) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 33, 115–127.
3. Jubiz, W., Canterbury, J. M., Reiss, E. & Tylor, F. H. (1972) *J. Clin. Invest.* 51, 2040–2046.
4. Sinha, T. K., Miller, S., Fleming, J., Khairi, R., Edmondson, J. & Johnston, C. C., Jr. (1975) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 41, 1009–1013.
5. Hillyard, C. J., Cooke, T. J. C., Coombes, R. C., Evans, I. M. A. & MacIntyre, I. (1977) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 6, 291–298.
6. Robinson, M. F., Body, J. J., Offord, K. P. & Heath, III, H. (1982) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 55, 538–544.
7. Sethi, R., Kukreja, S. C., Bowser, E. N., Hargis, G. K., Henderson, W. J. & Williams, G. A. (1983) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 56, 549–552.
8. Radjaipour, M., Rehn, U., Eggstein, M. (1984) *Verhandl. der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin* 90, 1218–1220.
9. Lindall, A. W., Elting, J., Eells, J. & Ross, B. A. (1983) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 57, 1007–1014.
10. Wood, W. G. (1983) *Ärztl. Lab.* 29, 311–316.
11. Liebich, H. M., Kuhlmann, E., Radjaipour, M., Maulbetsch, R. & Eggstein, M. (1985) *Labor-Medizin* 17=23 und 101–107.
12. Wisser, H. & Knoll, E. (1982) *Ärztl. Lab.* 28, 99–197.
13. Markowitz, M., Rotkin, L. & Rosen, J. F. (1981) *Science* 213, 672–674.
14. De Luca, H. (1980) *Clin. Endocrinol. Metab.* 9, 3–25.

Dr. M. Radjaipour
Medizinische Klinik
Abt. Innere Medizin IV
Otfried-Müller-Straße
D-7400 Tübingen 1