임상 화학(Clinical Chemistry)

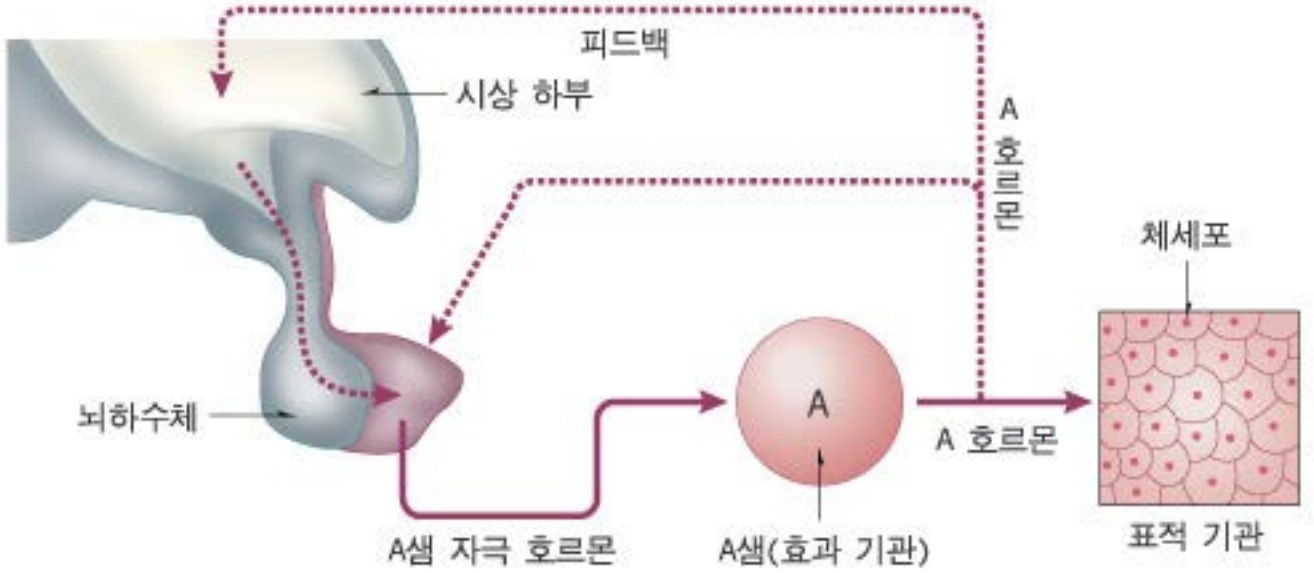
Lecture 6. Hormone & Bilirubin

Prof. Choi Jeong Su
E-mail : guesschjs@korea.ac.kr
H.P : 010-6314-3910

Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 호르몬 (Hormone)

- 내분비샘(Endocrine gland, Ductless gland)에서 생성하여 생성된 물질을 분비하는 별도의 도관을 갖지 않기 때문에 직접 혈액, 림프액 등의 체액 중으로 방출하는 물질
- 주로 혈액 속으로 분비되어 특수한 수용체를 가진 표적세포에 작용
  -> 인체의 항상성 유지에 기여
  -> 내외 환경변화와 스트레스로 부터 생체를 적응 시킴
- Vitamin이나 효소와 같이 미량으로 존재하지만 생물학적 활성이 매우 높다
- 상위, 하위 호르몬 간 피드백(Feedback)에 의해 조절된다

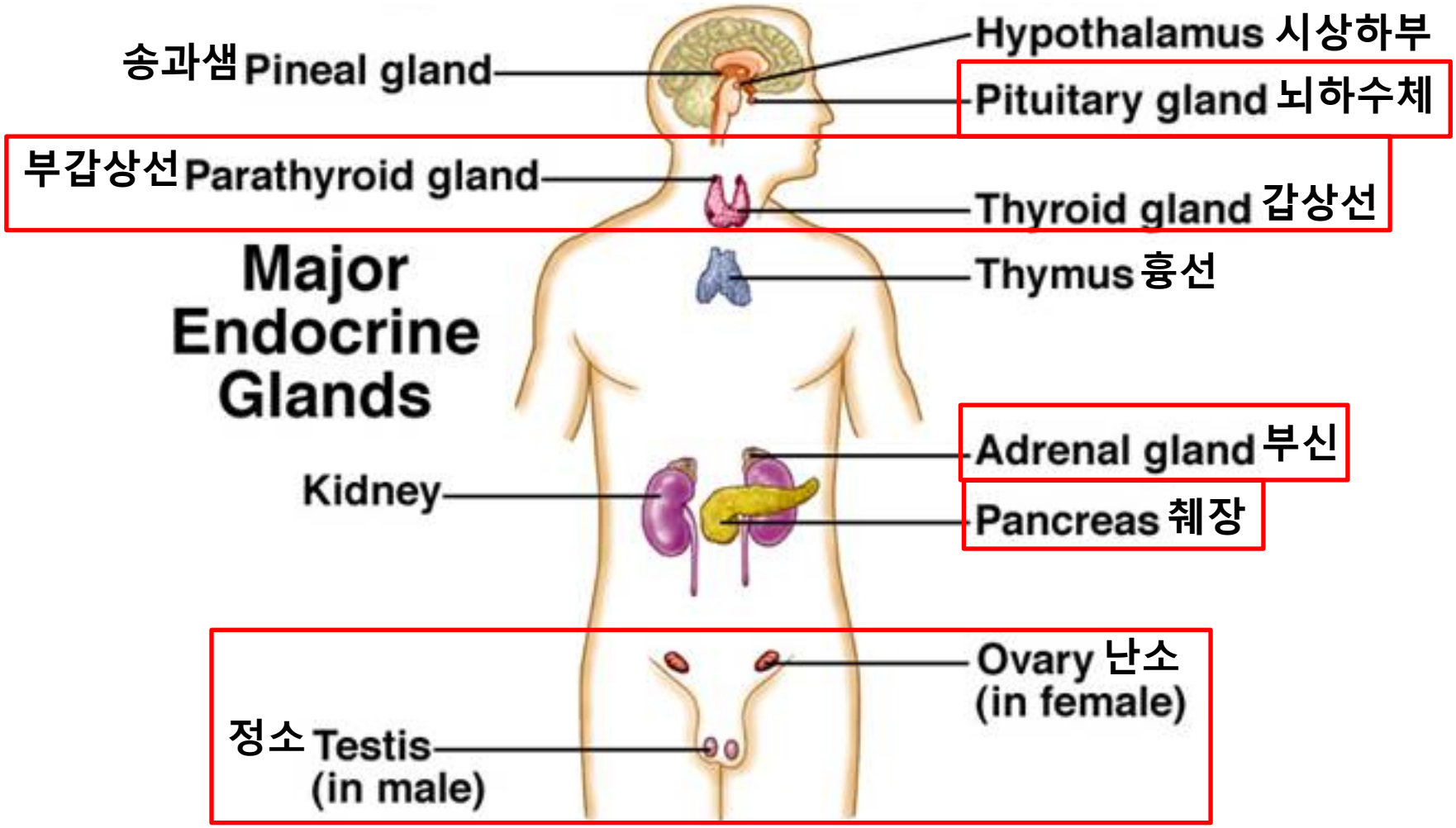


Lecture 6. Hormone & Bilirubin

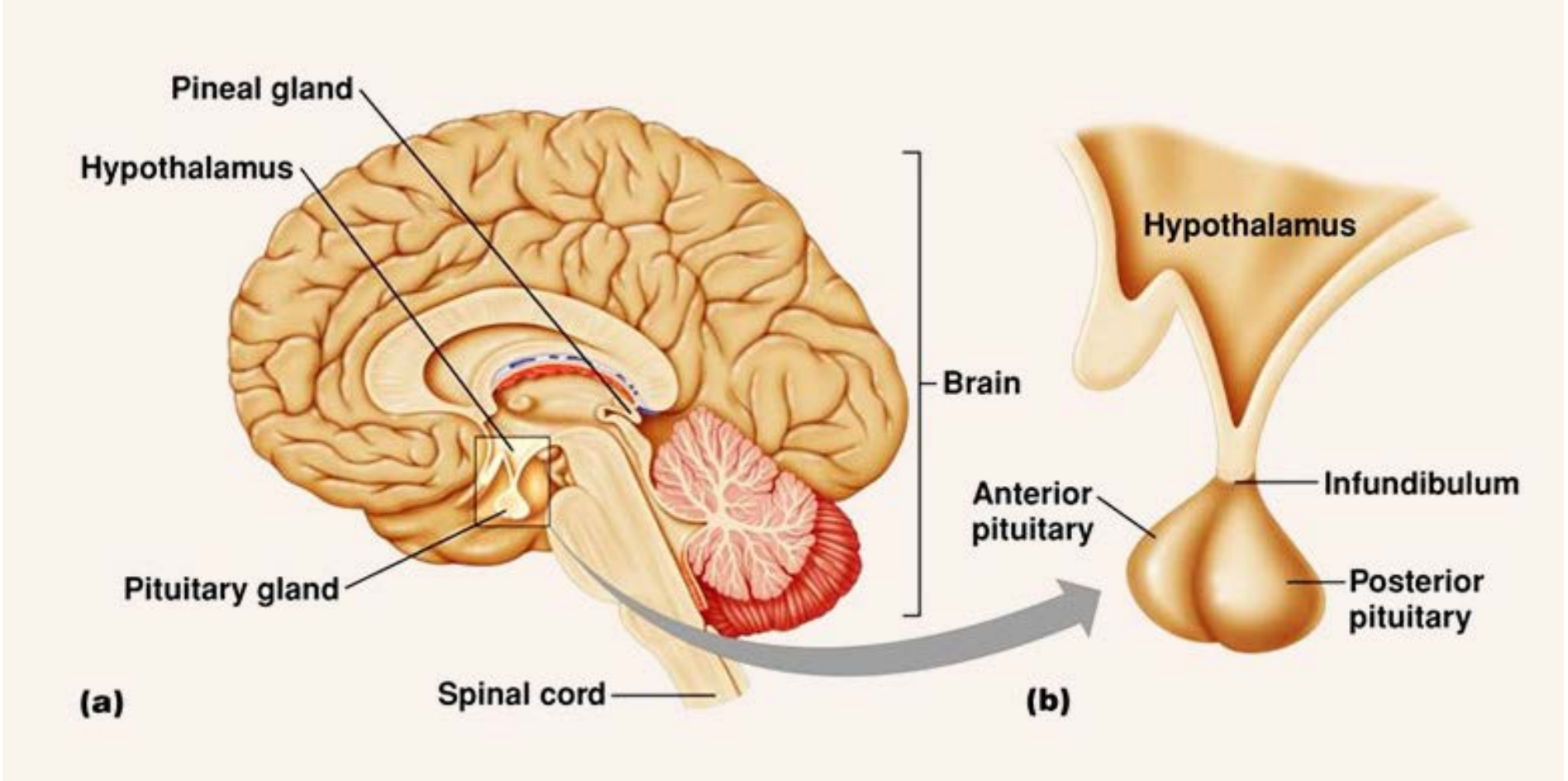
■ 호르몬(Hormone)의 종류와 성상

구 분	호르몬 (Hormone)	대표적인 호르몬
Steroid Hormone (스테로이드 호르몬)	부신피질 Hormone	Cortisol Aldosterone
	정소 Hormone	Testosterone
	난소 Hormone	Estrogen , Progesteron
Polypeptide & Protein Hormone (폴리펩티드 및 단백질 호르몬)	뇌하수체 Hormone	Growth Hormone, Vasopressin, Oxytocin
	췌장 Hormone	Insulin
	갑상선 Hormone	Calcitonin
	부갑상선 Hormone	Parathormone (PTH)
아미노산 유도체 Hormone	갑상선 Hormone	T_4, T_3 : Tyrosine 유도체
	부신수질 Hormone	Adrenaline : Tyrosine 유도체(Phenylalanine) Noradrenaline : Tyrosine 유도체(Phenylalanine)
Glycoprotein Hormone (당단백질 호르몬)	뇌하수체 Hormone	TSH (Thyrotropic Hormone) FSH (Follicle Stimulating Hormone) LH (Luteinizing Hormone)

■ 내분비샘 (Endocrine gland)



■ 뇌하수체 (Pituitary Gland)

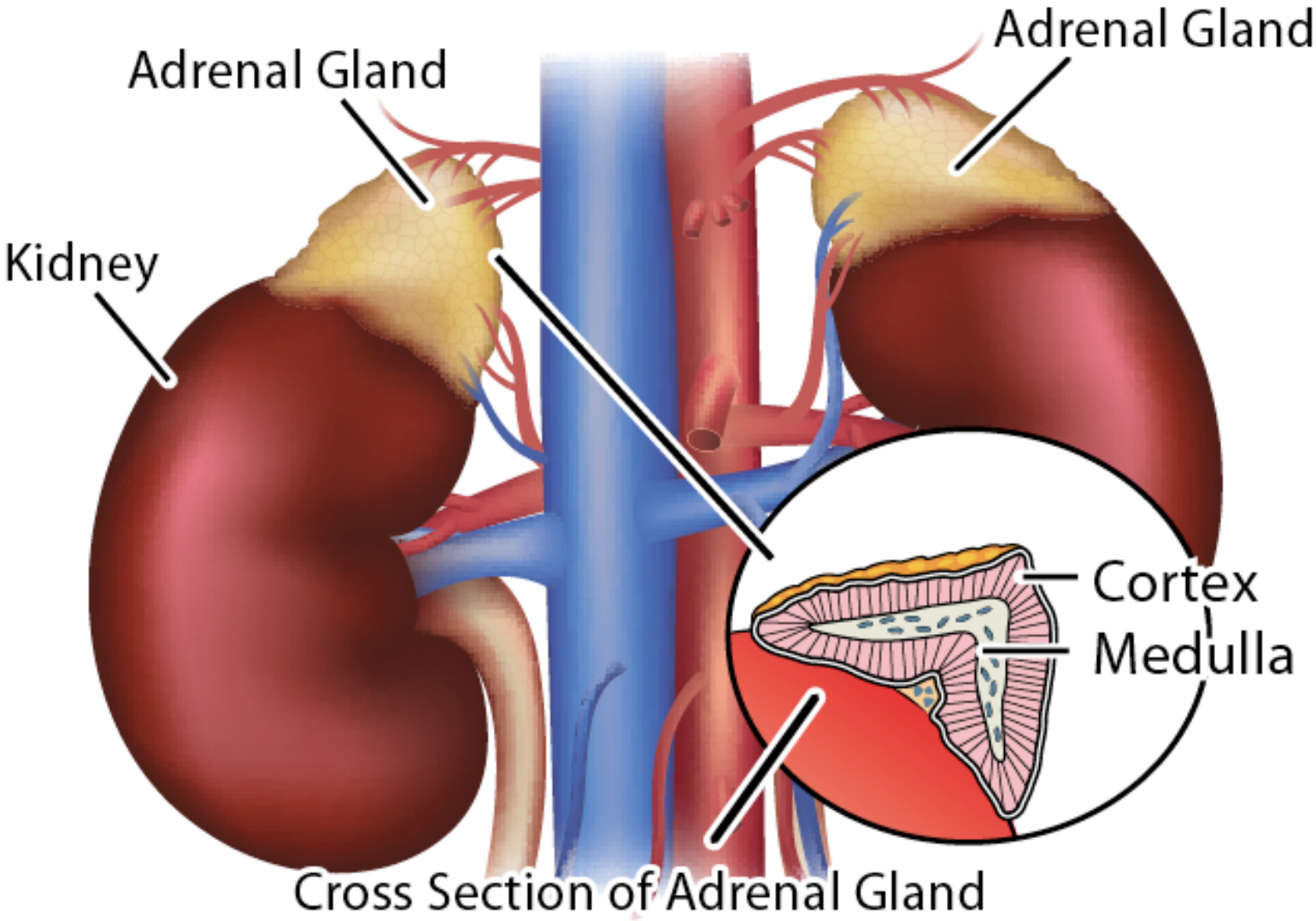


Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 뇌하수체 (Pituitary Gland) Hormone

내분비선		호르몬 (Hormone)	작 용
뇌하수체	전엽	Adrenocorticotropin Hormone (ACTH : 부신피질 자극호르몬)	부신피질에 작용하여 Glucocorticoid의 분비촉진
		Thyrotropic Hormone (TSH : 갑상선 자극호르몬)	갑상선에 작용하여 Thyroxine의 분비촉진
		Growth Hormone (GH : 성장호르몬)	뼈 , 근육 , 등에 작용하여 성장촉진
		Luteinizing Hormone (LH : 황체형성 자극호르몬)	난소 , 정소에 작용하여 황체형성촉진 Estrogen , Testosterone의 분비촉진
		Gonadotropin (성선 자극호르몬)	난소 및 정소에 작용하여 난포성숙 Estrogen의 분비촉진 및 정자형성촉진
		Follicle Stimulating Hormone (FSH : 난포 자극호르몬)	난소 및 정소에 작용하여 난포발육 및 정자형성
		Prolactin (유즙분비 자극호르몬)	유선에 작용하여 유즙분비
	중엽	Melanocyte Stimulating Hormone (MSH)	멜라닌세포 자극호르몬
	후엽	Oxytocin	자궁과 유선에 작용하여 자궁근 수축에의한 분만촉진 및 모유분비
		Vasopressin (ADH)	신장과 혈관에 작용하여 항이뇨작용 및 혈압상승작용

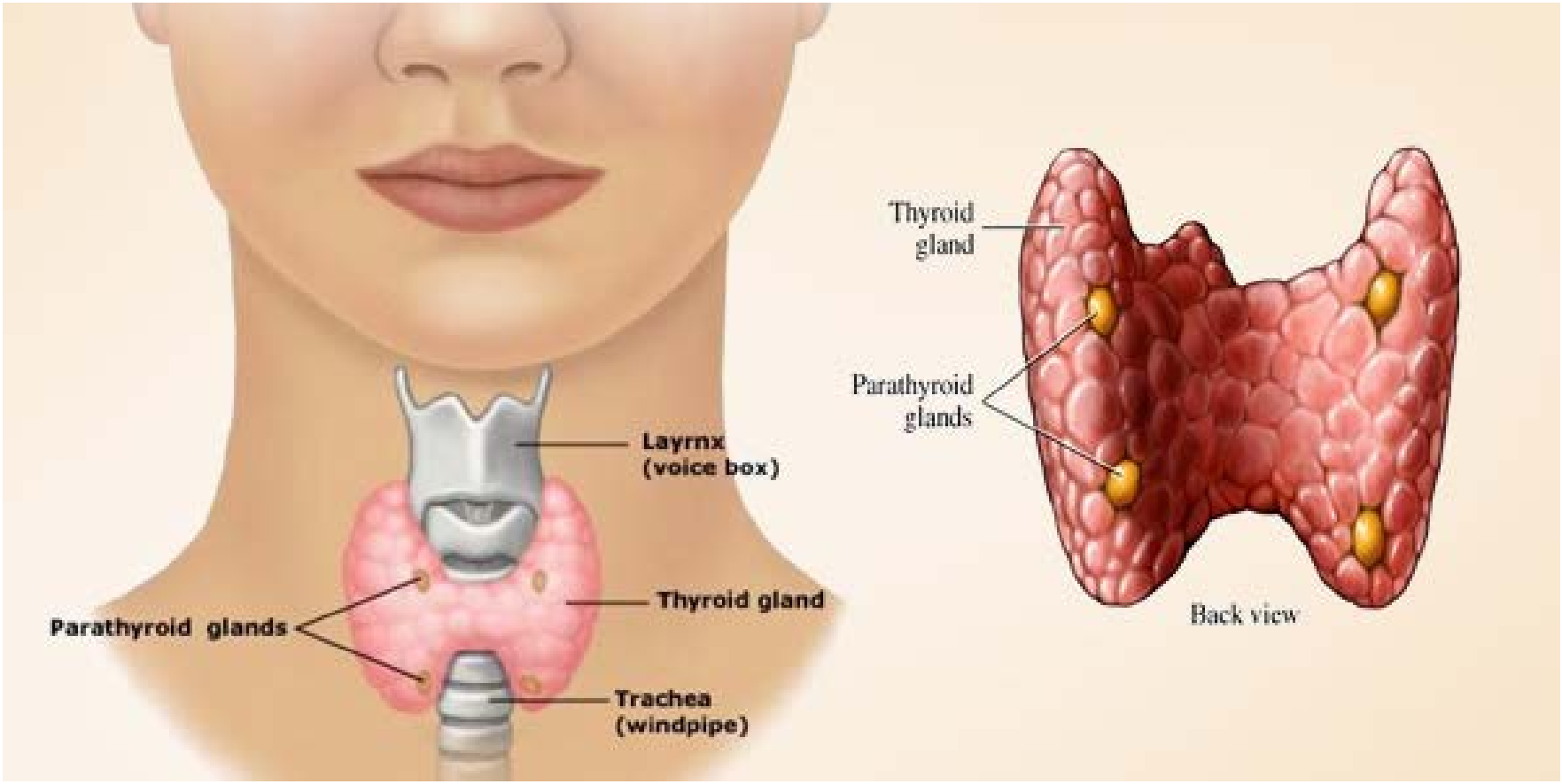
■ 부신 (Adrenal Gland)



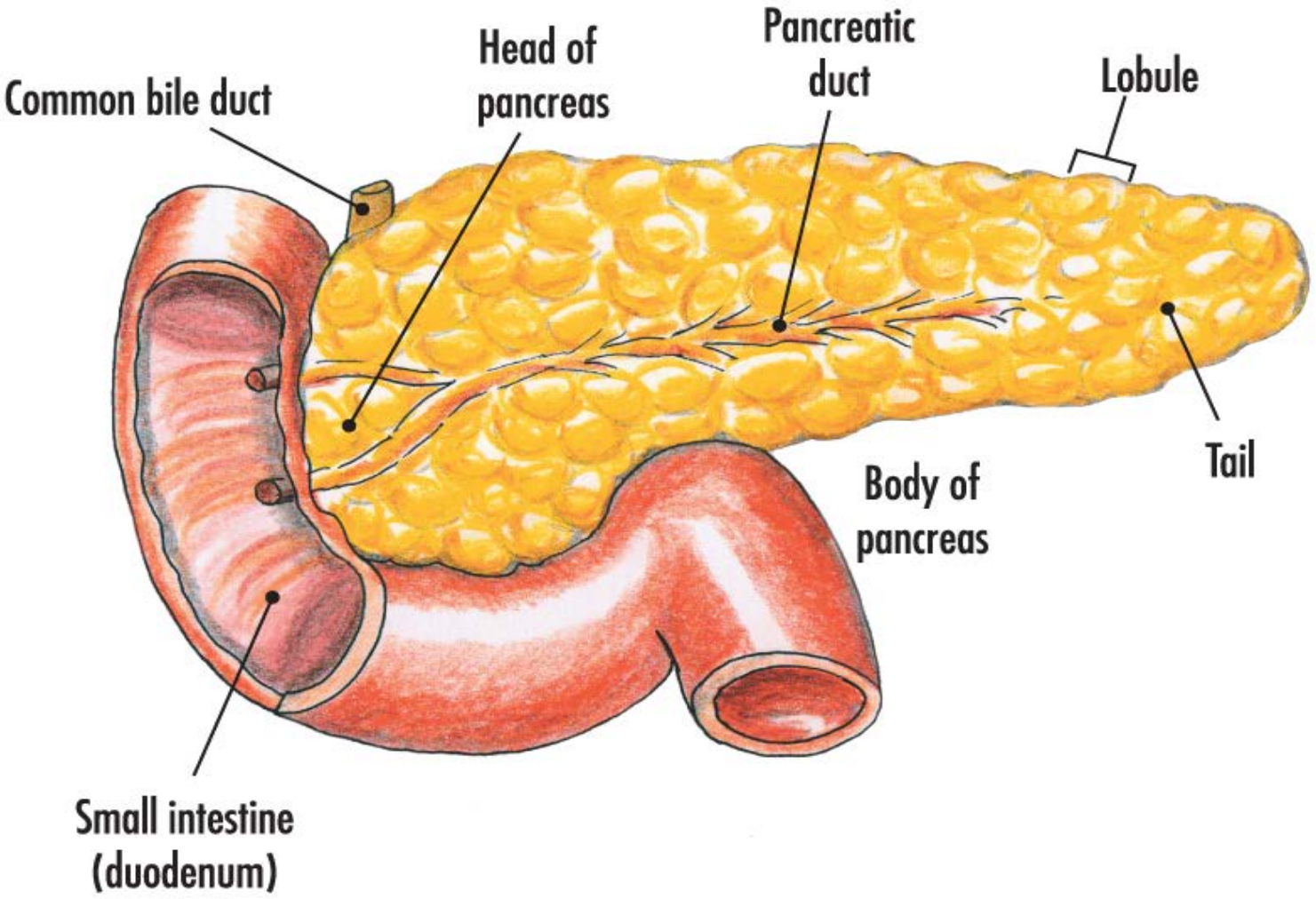
■ 부신 (Adrenal Gland) Hormone

부신	피질	Glucocorticoid	Cortisol	당대사 : 당신생, 혈당상승 단백질, 지방대사 관여
			Cortisone	
			Corticosterone	
			11-Dehydrocorticosteroid	
		Mineralcorticoid	Aldosterone	Na 재흡수, K 배설 촉진
		Adrenal androgen	Dehydroepiandrosterone	부신성 남성호르몬으로 작용
			Adrenosterone	
			Androstenedione	
	수질	Dopamine		Epinephrine과 Norepinephrine의 전구물질
		Epinephrine (= Adrenaline)		혈압 및 혈당 상승 , 지질분해 항진 , 중추신경 흥분
		Norepinephrine (= Noradrenaline)		

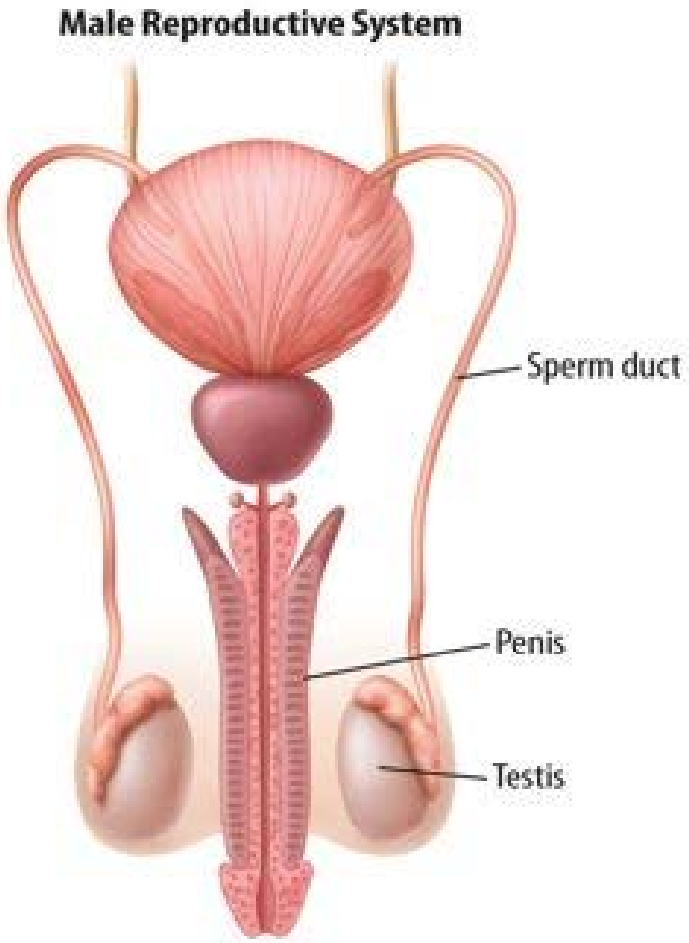
■ 갑상선&부갑상선 (Thyroid Gland & Parathyroid Gland)



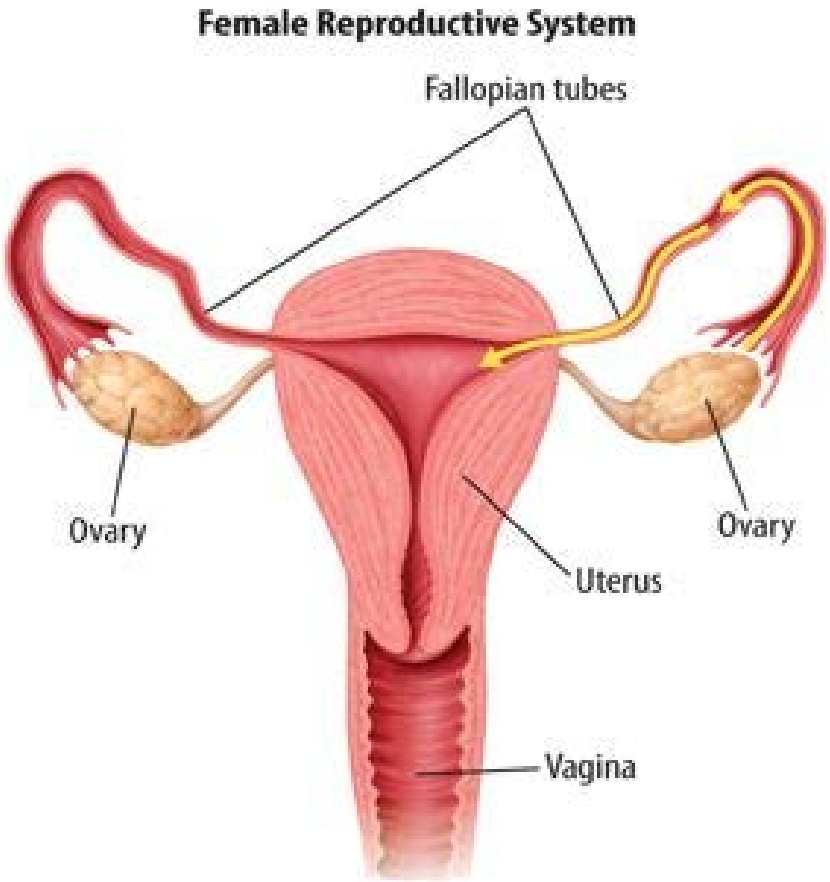
■ 췌장 (Pancrease)



■ 정소&난소 (Testis & Ovary)



The organs of the male reproductive system produce sperm and deliver it to the female reproductive system.



The female reproductive system produces eggs and provides a place for a new human to grow and develop before birth.

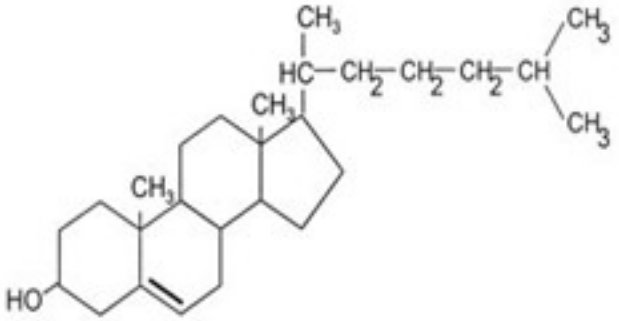
Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 갑상선&부갑상선, 췌장, 정소&난소 Hormone

갑상선		Calcitonin	뼈의 Ca이 혈청의 Ca으로 되는 것을 억제 , P 상승
		Thyroxine (T_4)	체조직 전반에 작용
		Triiodothyronine (T_3)	
부갑상선		Parathormone (PTH)	뼈의 Ca이 혈청이 Ca으로 되는 것을 촉진 , P 하강
췌장	α-Cell	Glucagon	혈당 상승 작용
	β-Cell	Insulin	혈당 저하 작용
정소		Androgen	남성의 제2차 성징의 발현 및 유지
		Testosterone	
난소		Estrogen	여성의 제2차 성징의 발현 및 유지
		Progesterone	자궁내막의 점액분비촉진 , 배란억제

Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ Steroid계 호르몬 생합성



CHOLESTEROL

CHOLESTEROL DESMOLASE (CYP11A)

PREGNENOLONE

3ß-HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASE

PROGESTERONE

21-HYDROXYLASE (CYP21)

DEOXYCORTICOSTERONE

11ß-HYDROXYLASE (CYP11B2)

CORTICOSTERONE

18-HYDROXYLASE (CYP11B2)

18-OH CORTICOSTERONE

18-OXIDASE (CYP11B2)

ALDOSTERONE

17α-HYDROXYLASE (CYP17)

17,20-LYASE

17-OH PREGNENOLONE

17-OH PROGESTERONE

11-DEOXYCORTISOL

11ß-HYDROXYLASE (CYP11B1)

CORTISOL

DEHYDROEPI-ANDROSTERONE

ANDROSTENEDIONE

TESTOSTERONE

5α-REDUCTASE

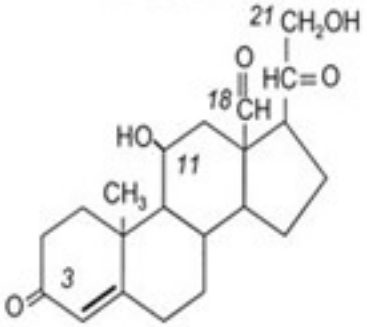
DIHYDROTESTOSTERONE

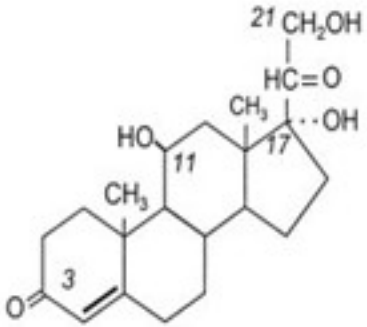
AROMATASE (CYP19)

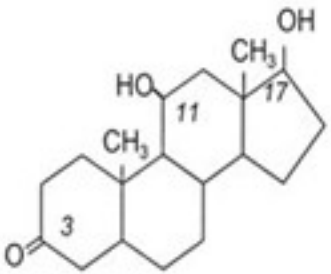
ESTRONE

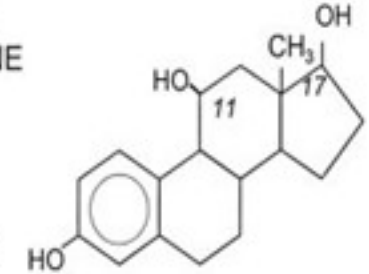
17ß-HYDROXYSTEROID DEHYDROGENASE

ESTRADIOL

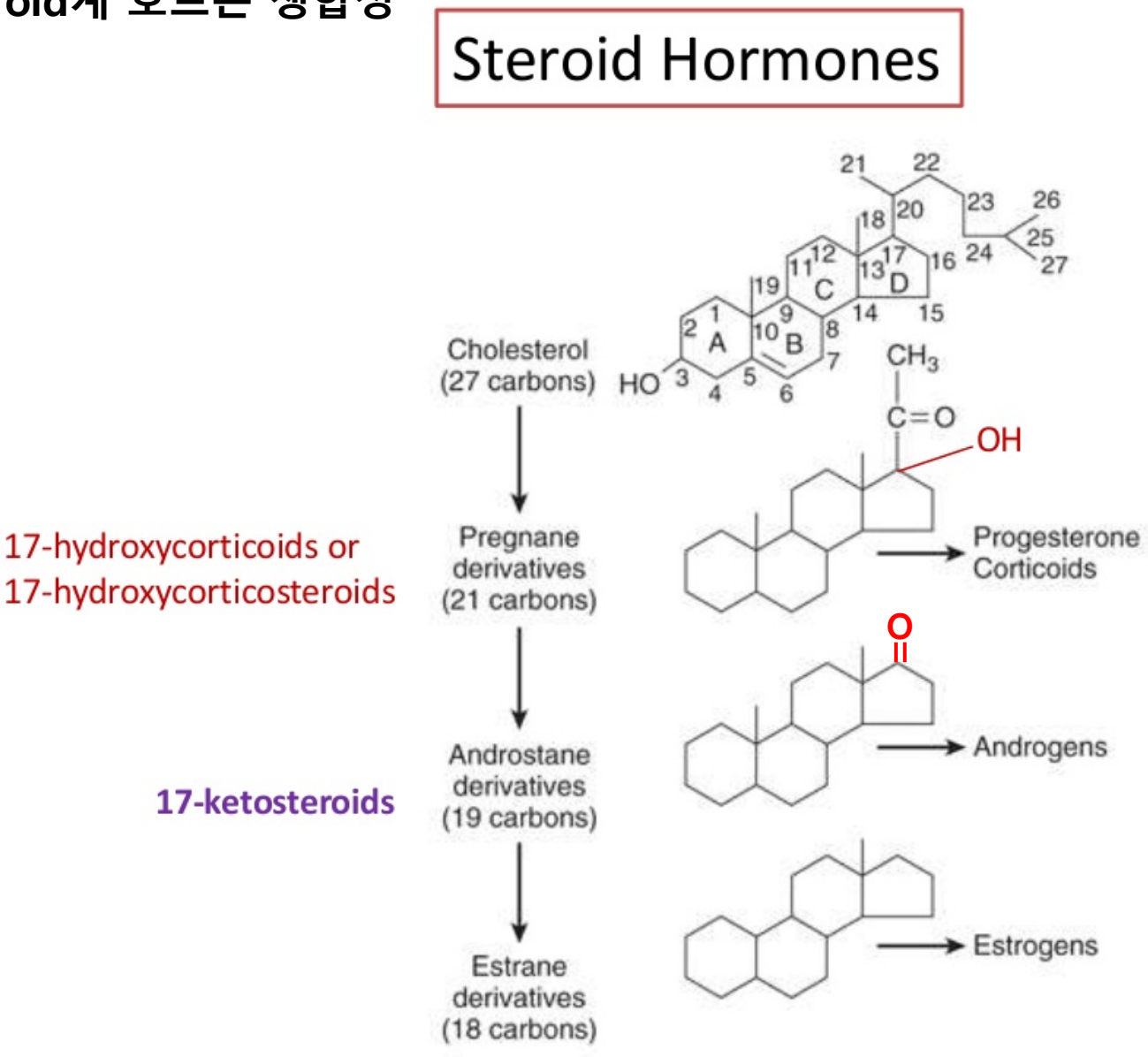








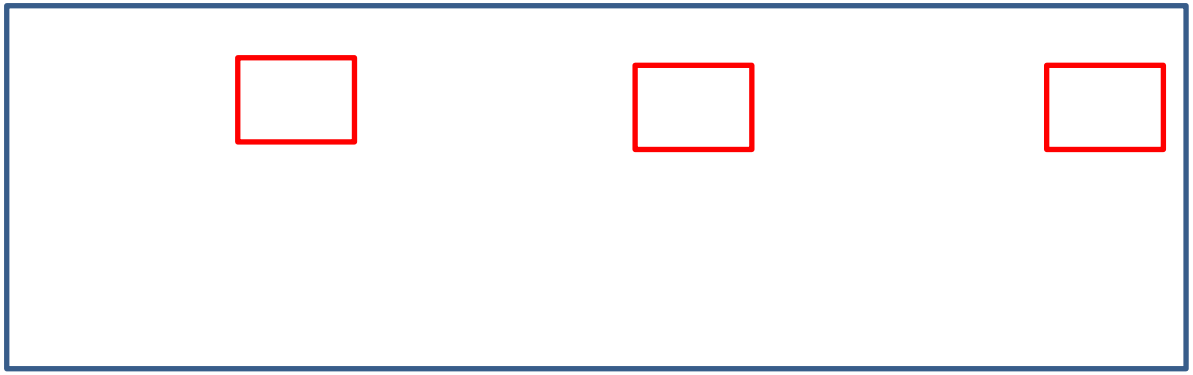
■ Steroid계 호르몬 생합성

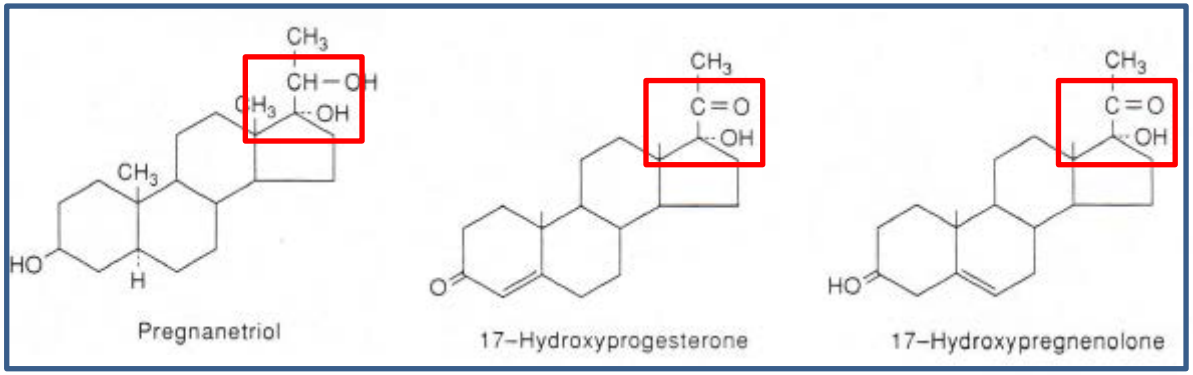


■ Urine 17-Hydroxycorticosteroid (17-OHCS)

- 스테로이드 중 D ring의 17번 탄소에 hydroxyl group을 갖는 것의 총칭
- Glucocorticoid의 요 중 대사산물
- 17-OHCS는 단일 물질이 아니다

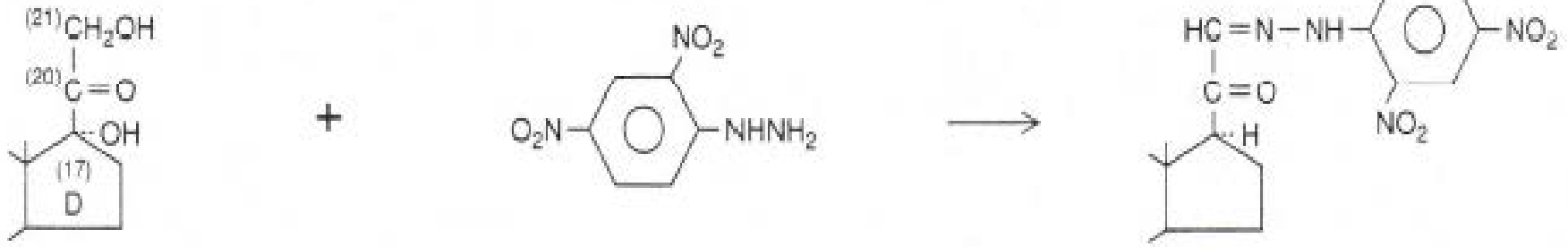
Cortisol derivatives





■ Urine 17-Hydroxycorticosteroid (17-OHCS) 측정

- Porter-Silber 반응 (Phenylhydrazine 반응)
  -> 24hrs Urine에서 Chloroform 이나 Dichloromethane 으로 Steroid hormone 유리
  -> 산성에서 Phenylhydrazine과 반응시켜 발색 정도를 확인, Yellow color (410nm)



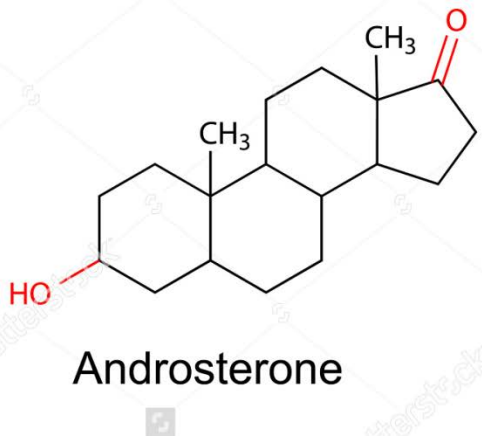
17,21-Dihydroxy-20-ketone　　2,4-Dinitro-phenylhydrazine　　Yellow pigment

FIGURE 15-5 Porter-Silber reaction.

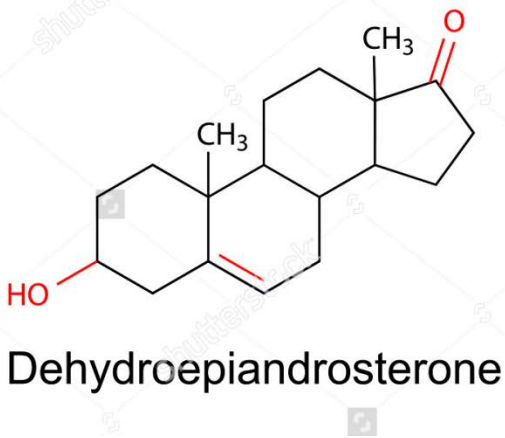
- 부신피질 기능 항진증 : Cushing disease//기능 저하증 : Addison disease

■ Urine 17-Ketosteroid (17-KS) = 17-Oxosteroid (17-OS)

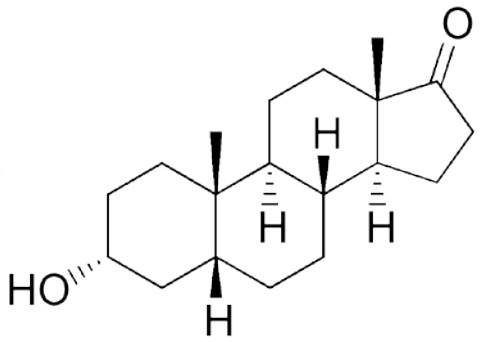
- 스테로이드 중 D ring의 17번 탄소에 Carbonyl Oxygen을 갖는 것의 총칭
- Adrenal Androgen의 요 중 대사산물
- 17-KS는 단일 물질이 아니다



Androsterone



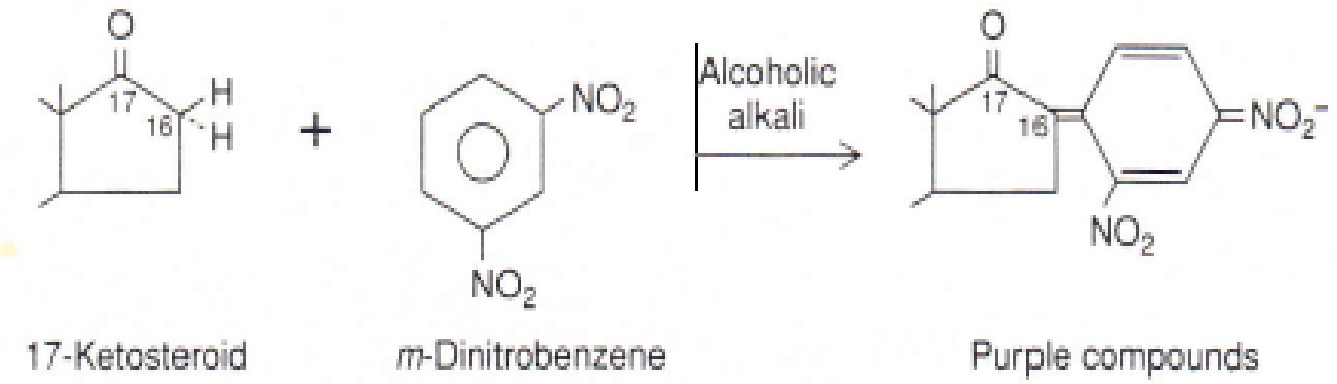
Dehydroepiandrosterone



Etiocholanolone

■ Urine 17-Ketosteroid (17-KS) = 17-Oxosteroid (17-OS) 측정

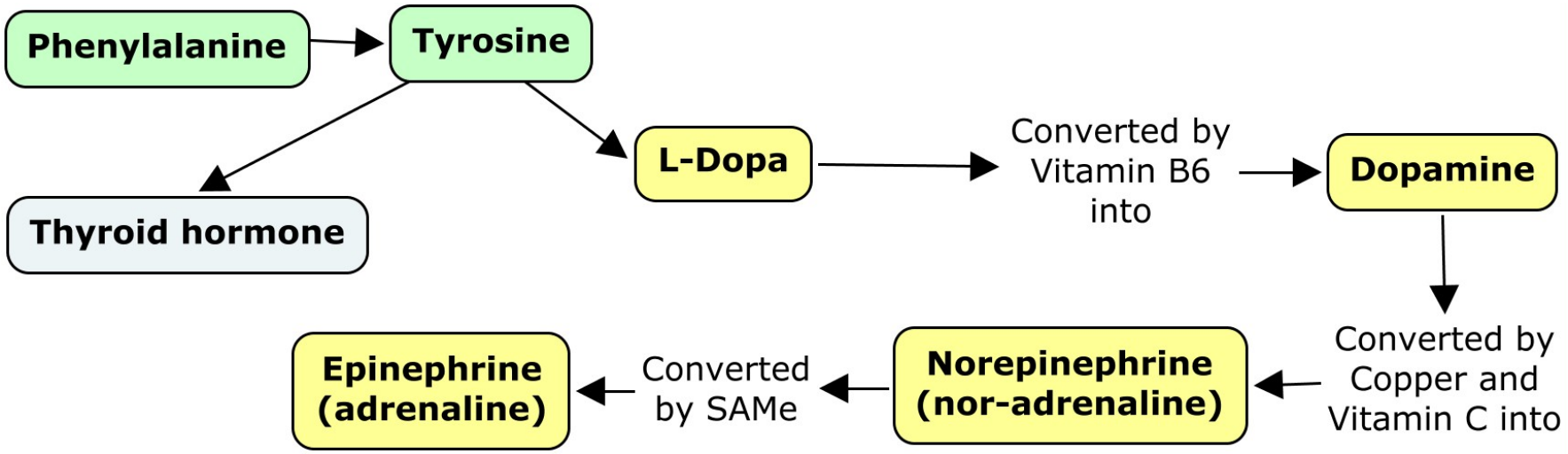
- Zimmermann 반응
  -> 24hrs Urine에서 HCl로 Steroid hormone 유리
  -> 알카리에서 M-Dinitrobenzene 반응시켜 발색 정도를 확인, Purple color (520nm)



- 부신피질기능 이상의 지표로 17-OHCS와 함께 측정이 되나 부신성기증후군에서는 스테로이드 대사 경로 이상이 Cortisol에 비해 DHEA가 다량으로 생산되기 때문에 17-KS만 증가하게 된다

■ 카테콜아민 (Catecholamine)

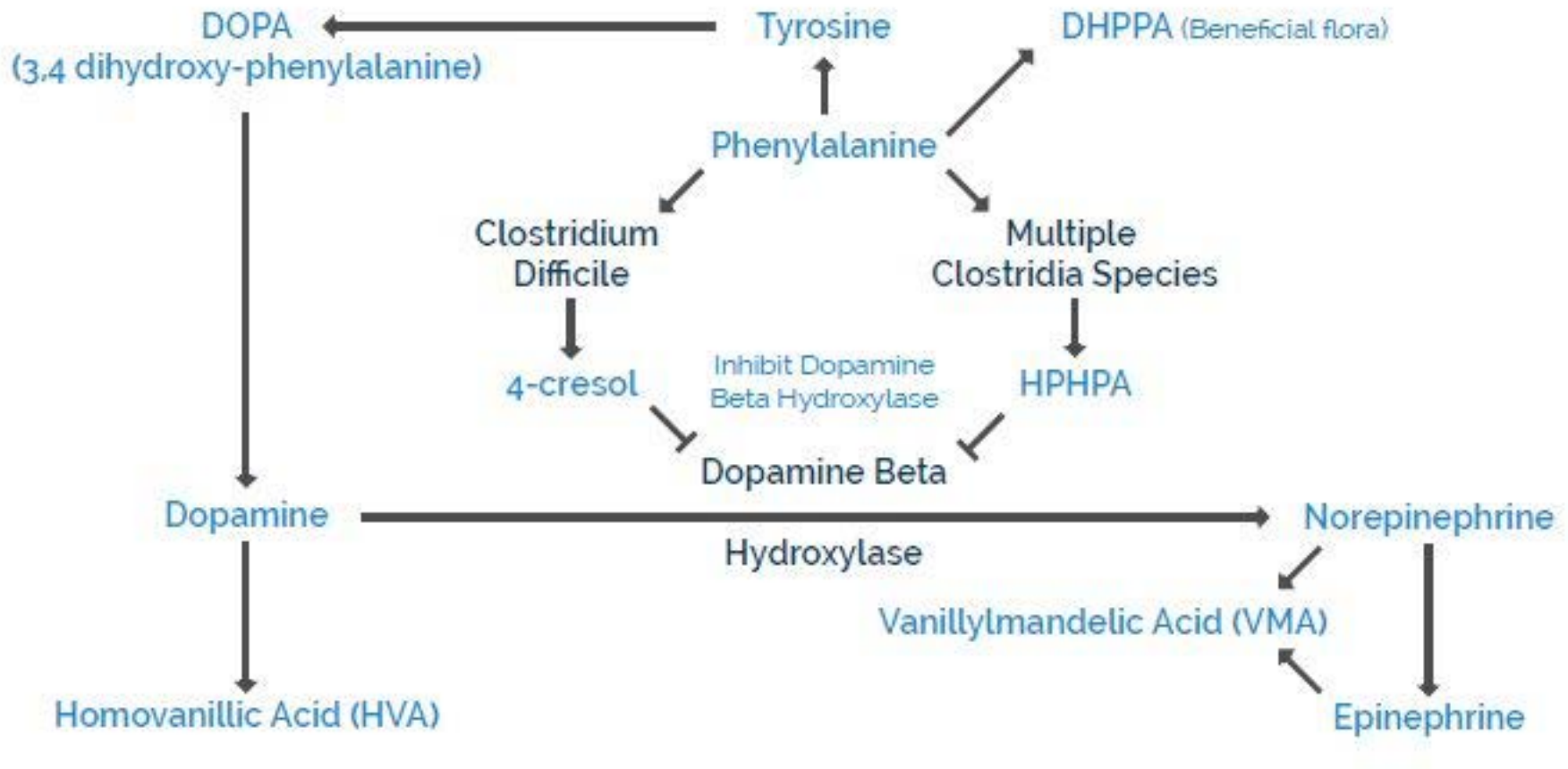
- 부신수질 호르몬을 총칭하는 말 Adrenaline(Epinephrine), Noradrenaline(Norepi.)
- Vanillymandelic acid (VMA)는 catecholamine의 요 중 최종대사 물질



Lecture 6. Hormone & Bilirubin

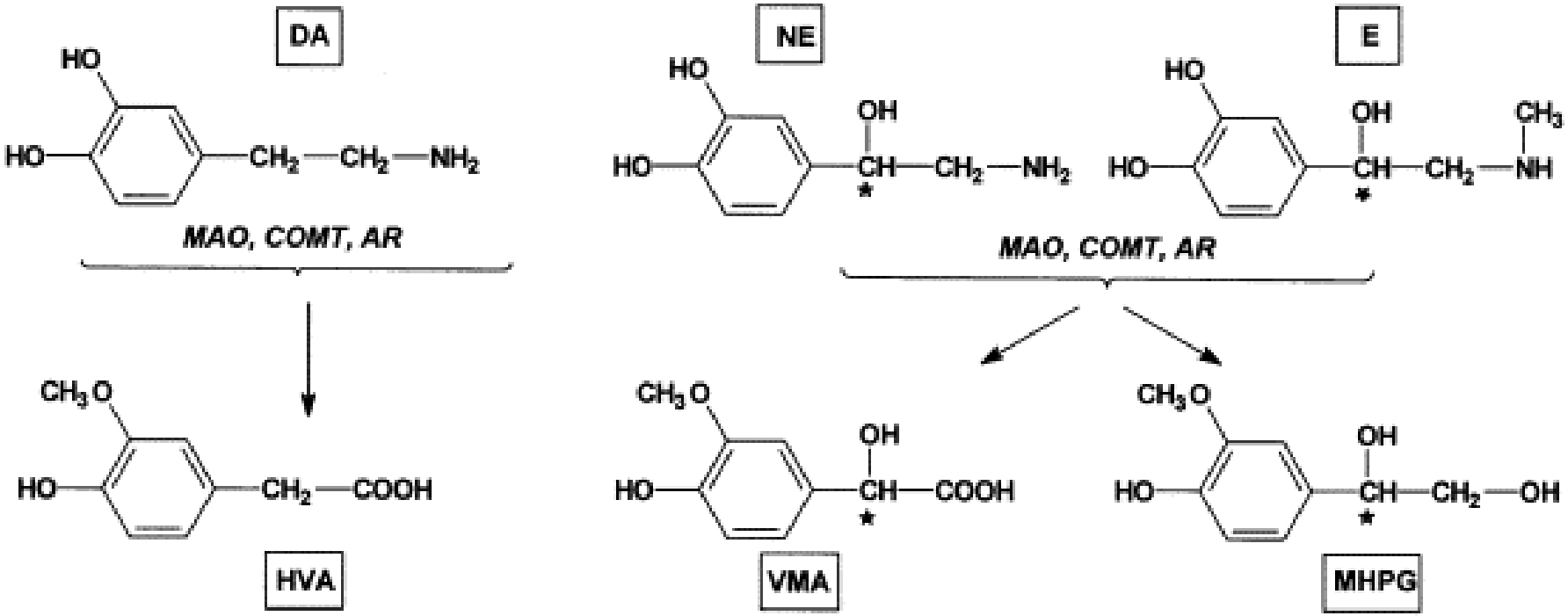
■ 카테콜아민 (Catecholamine)

- 부신수질 호르몬을 총칭하는 말 Adrenaline(Epinephrine), Noradrenaline(Norepi.)
- Vanillymandelic acid (VMA)는 catecholamine의 요 중 최종대사 물질



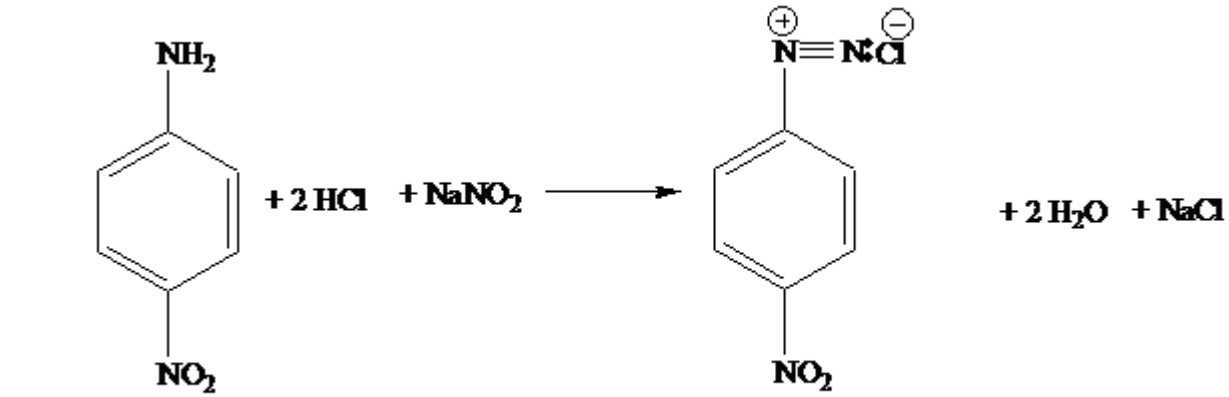
■ 카테콜아민 (Catecholamine) 측정

- 직접 비색법
  -> 24hrs Urine에서 Ethylacetate로 VMA 유리
  -> P-nitroanilline diazo 시약과 반응시켜 발색 정도를 확인, Purple color (540nm)
  -> 갈색세포종, 크롬친화성세포종

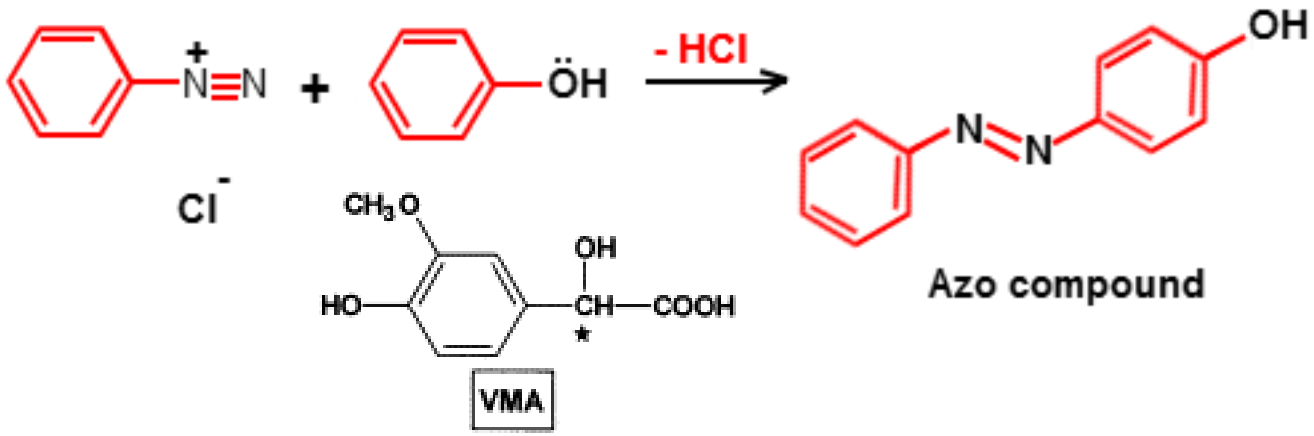


■ 카테콜아민 (Catecholamine) 측정

- 직접 비색법
  -> 24hrs Urine에서 Ethylacetate로 VMA 유리
  -> P-nitroanilline diazo 시약과 반응시켜 발색 정도를 확인, Purple color (540nm)
  -> 갈색세포종, 크롬친화성세포종(부신수질)



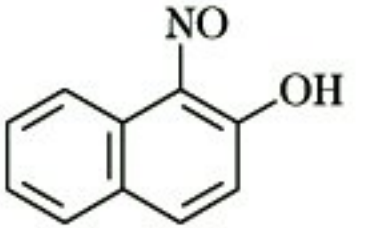
Para-nitroaniline



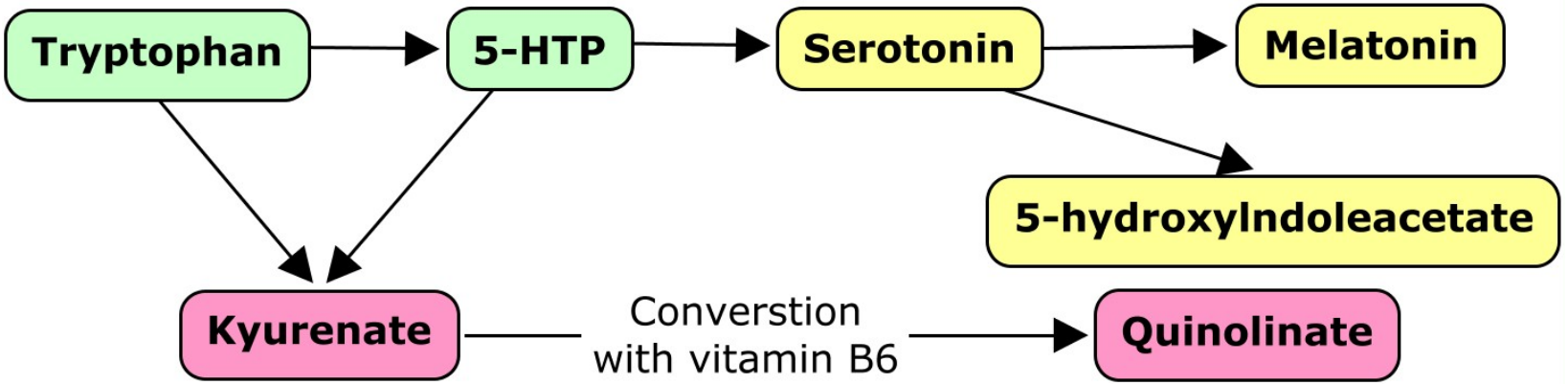
Azo compound

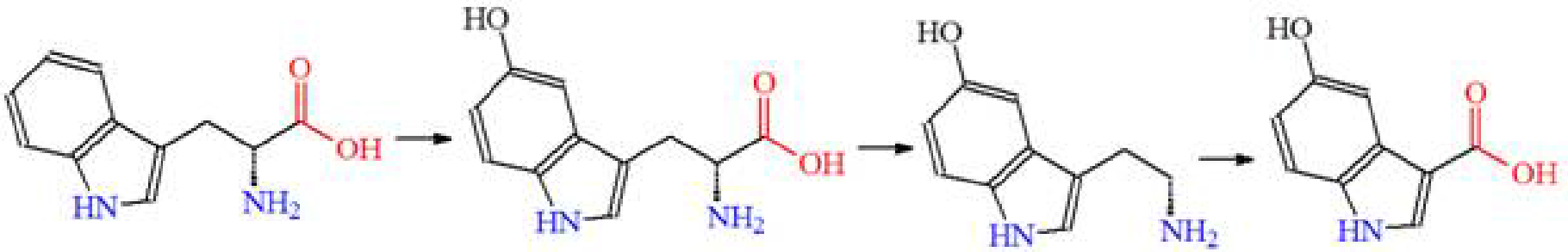
■ 5-Hydroxyindole acetic acid (5-HIAA) 측정

- Tryptophan에서 유도되는 Serotonin의 요 중 대사산물
- 발색시약 : α-Nitroso-β-Naphtol, purple
- 은친화성세포종(위장관에 존재하는 tryptophan 분비세포)



α-Nitroso-β-naphthol





L-Tryptophan, W

$C_{11}H_{12}N_2O_2$
204.22
204.089877

5-Hydroxytryptophan

$C_{11}H_{12}N_2O_3$
220.22
220.084792

5-Hydroxytryptamine or Serotonin

$C_{10}H_{12}N_2O$
176.21
176.094963

5-Hydroxyindole-acetic acid

$C_9H_7NO_3$
177.15
177.042593

Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 빌리루빈 (Bilirubin)

- Bilirubin은 Hemoglobin의 대사산물로 세망내피계에서 생성된다
- 소화효소는 없으나 지방을 유화하여 지방 소화효소 (Lipase)를 활성 시키는 담즙의 주요성분 중 하나이다.
- 여러가지 원인으로 Bilirubin의 혈중 수치가 증가하면 황달증상이 나타난다
- Bilirubin의 혈액이나 요 중 양적 관찰은 간기능검사에서 중요
- Total Bilirubin = Indirect bilirubin + Direct bilirubin

Lecture 6. Hormone & Bilirubin

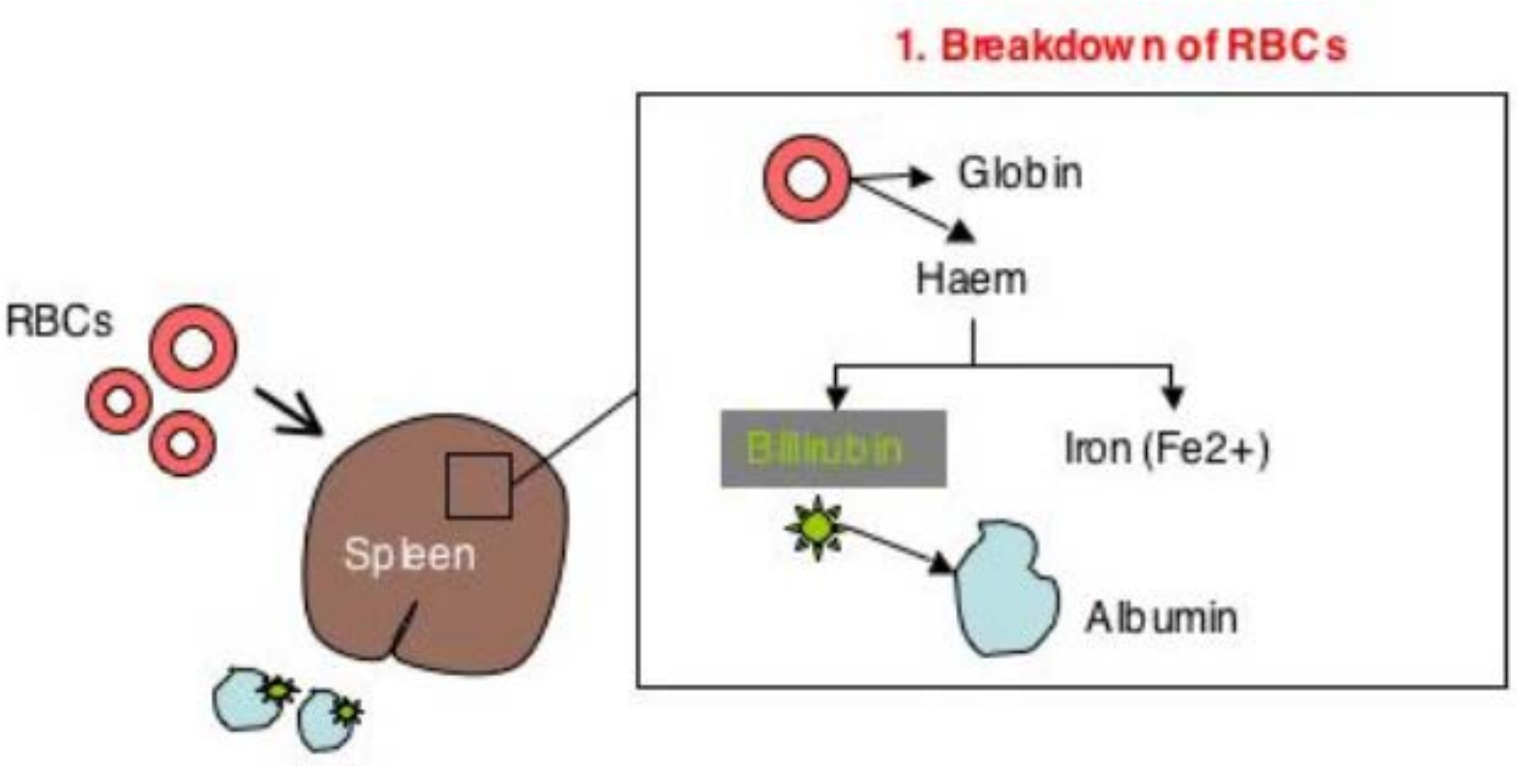
■ Indirect bilirubin vs Direct biliruvin

종류	Indirect Bilirubin	Direct Bilirubin
명명 이유	Bilirubin + Diazo 시약이 반응하지 않으므로 다른시약으로 처리 후 반응. 즉, 지용성 성질이 있다	Bilirubin + 물에 탄 Diazo 시약과 직접반응. 즉, 수용성 성질이 있다
다른 이름	= Unconjugated Bilirubin = Protein Binding Form	= Conjugated Bilirubin = Bilirubin Diglucuronide
용해성	지용성	수용성
Diazo 반응	간접반응	직접반응
Albumin과 결합능	강하게 결합	약하게 결합
구조	유리형 (Free Form)	결합형 (Bound Form)
간 경유 여부	간 경유 전	간 경유 후
표준 용매제 (Bilirubin Powder 용매제)	Chloroform	

Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 빌리루빈 (Bilirubin)의 대사과정 (세망내피계 -> 간도착 전 형태)

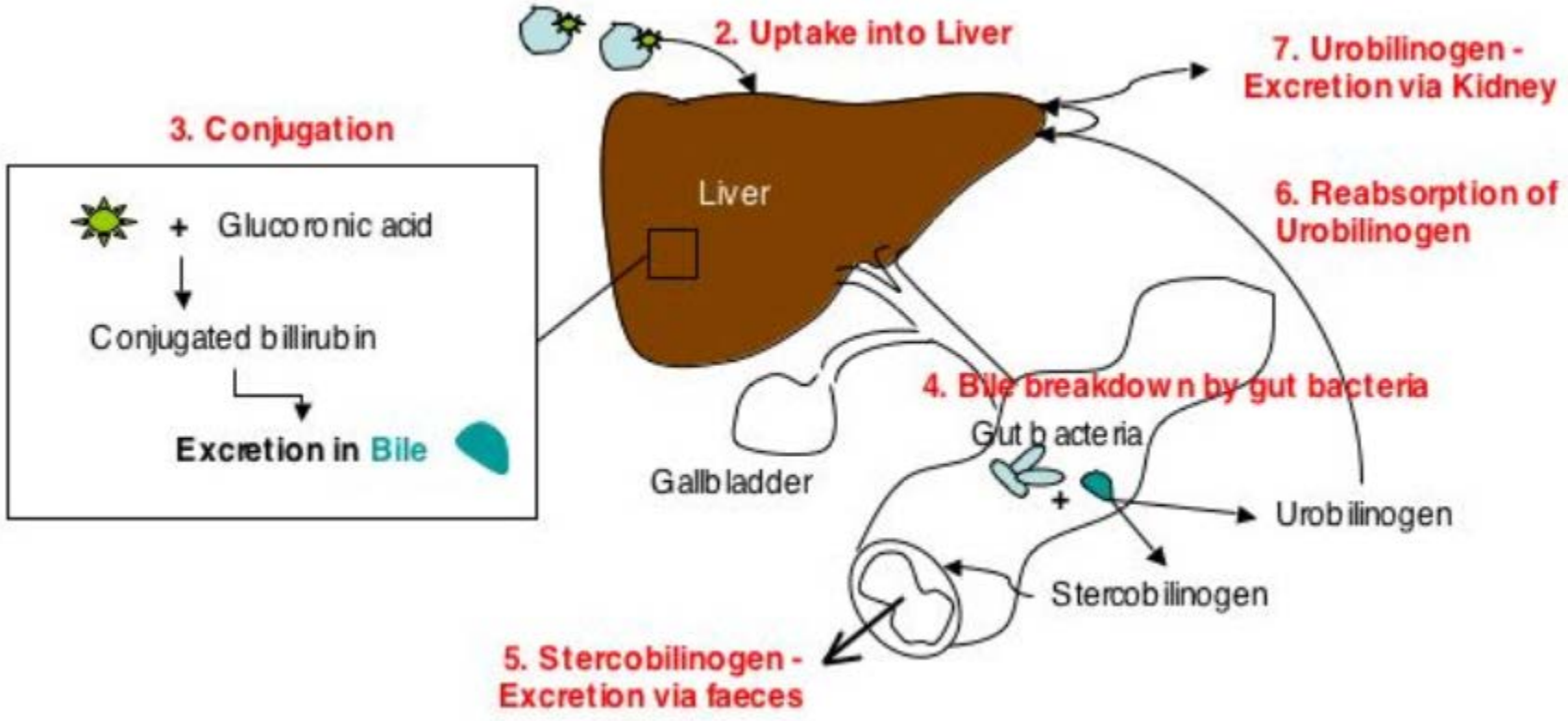
- RBC 파괴 -> Hb 유출 -> Hb 파괴 -> Heme + Globin -> Heme 파괴
  -> Iron + Biliverdin -> Biliverdin 환원 -> Bilirubin -> 혈중 albumin과 결합
  -> Unconjugated bilirubin = Indirect bilirubin = Protein binding form



Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 빌리루빈 (Bilirubin)의 대사과정 (간 경유 후)

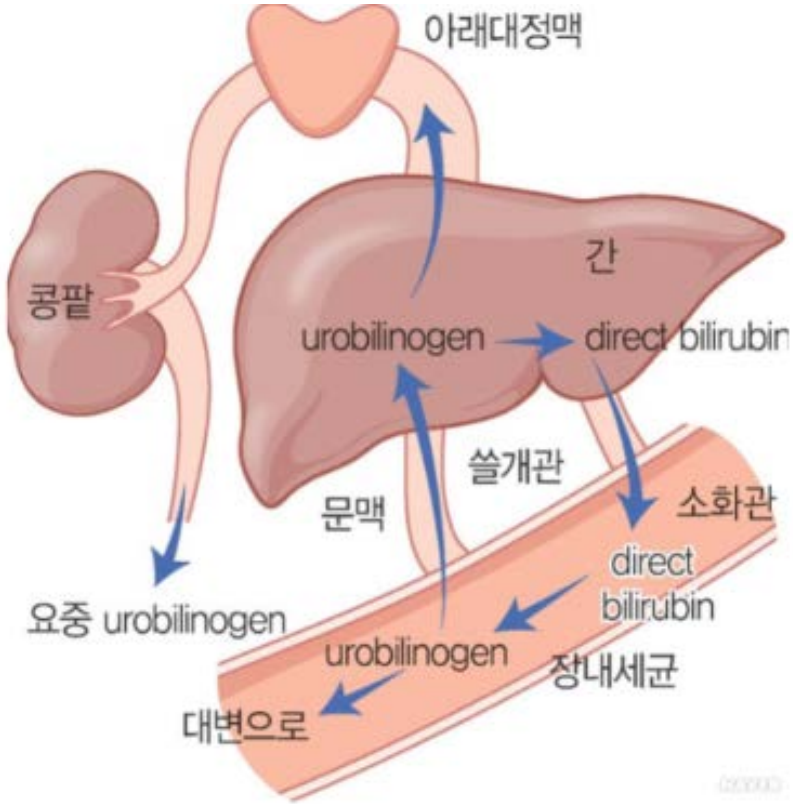
- Unconjugated bilirubin + Glucuronic acid -> Conjugated bilirubin -> 담즙으로 배설
  = Direct bilirubin
  = Bilirubin Diglucuronide



Lecture 6. Hormone & Bilirubin

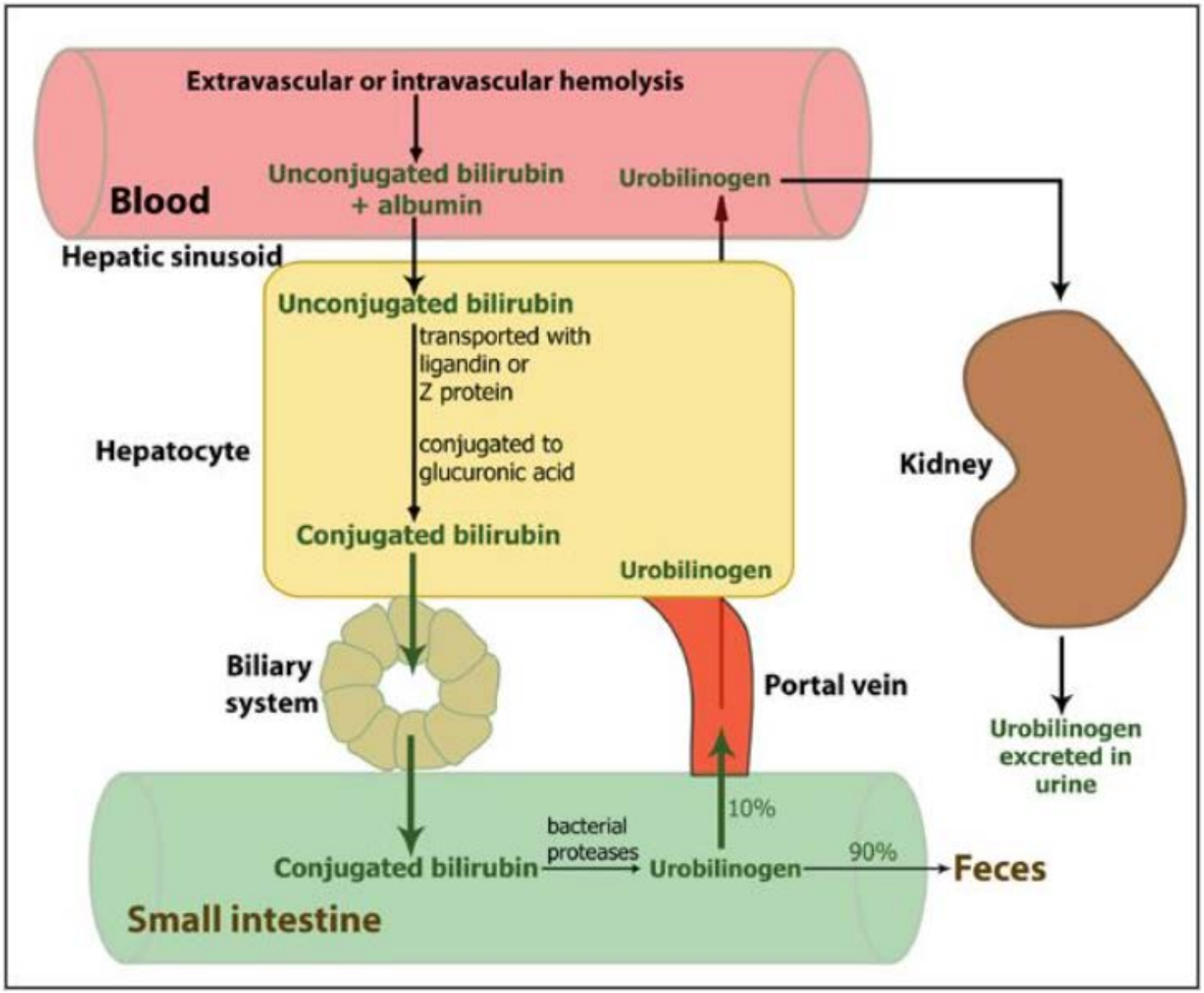
■ 빌리루빈 (Bilirubin)의 대사과정 (간 경유 후)

- 소장으로 분비된 conjugated bilirubin은 장내세균에 의해 Urobilinogen으로 전환
- Urobilinogen의 80~90%는 Urobilin으로 산화되어 분변으로 배설
- Urobilinogen의 10~20%는 장에서 흡수되어 다시 간에서 bilirubin으로 전환되고
- 아주 극히 적은 양이 신장 사구체를 거쳐 여과되어 소변으로 배설됨



Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 빌리루빈 (Bilirubin)의 대사과정 (간 경유 후)



Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 빌리루빈 (Bilirubin)의 임상적 의의

- 정상치

1)Total Bilirubin : 0 ~ 1㎎/㎗

2)Indirect Bilirubin : 0.2 ~ 0.8㎎/㎗

3)Direct Bilirubin : 0.1 ~ 0.5㎎/㎗

※신생아는 생후 1주간은 약 10㎎/㎗까지는 정상이고, 그 후 일시적으로 최저치로 되었다가 서서히 증가하여 15세 정도에서 성인치에 달한다

Indirect Bilirubin 증가 질환	Direct Bilirubin 증가 질환
1. 생성증가 : 선천성 용혈성 질환, 후천성 용혈성 질환 , 악성빈혈, 만성 골수성 백혈병 2. 간 처리기능 이상 : 약물에 의한 중독, 신생아 황달	1. 간세포장해 : 간염 , 간경변증 2. 간내성 담즙울체 : 알콜성 간염, 중증 감염증에 의한 황달, 간암, 원발성 담즙성 간경변 등 3. 간외성 담즙울체 : 담석증 , 악성종양에 의한 담도폐쇄

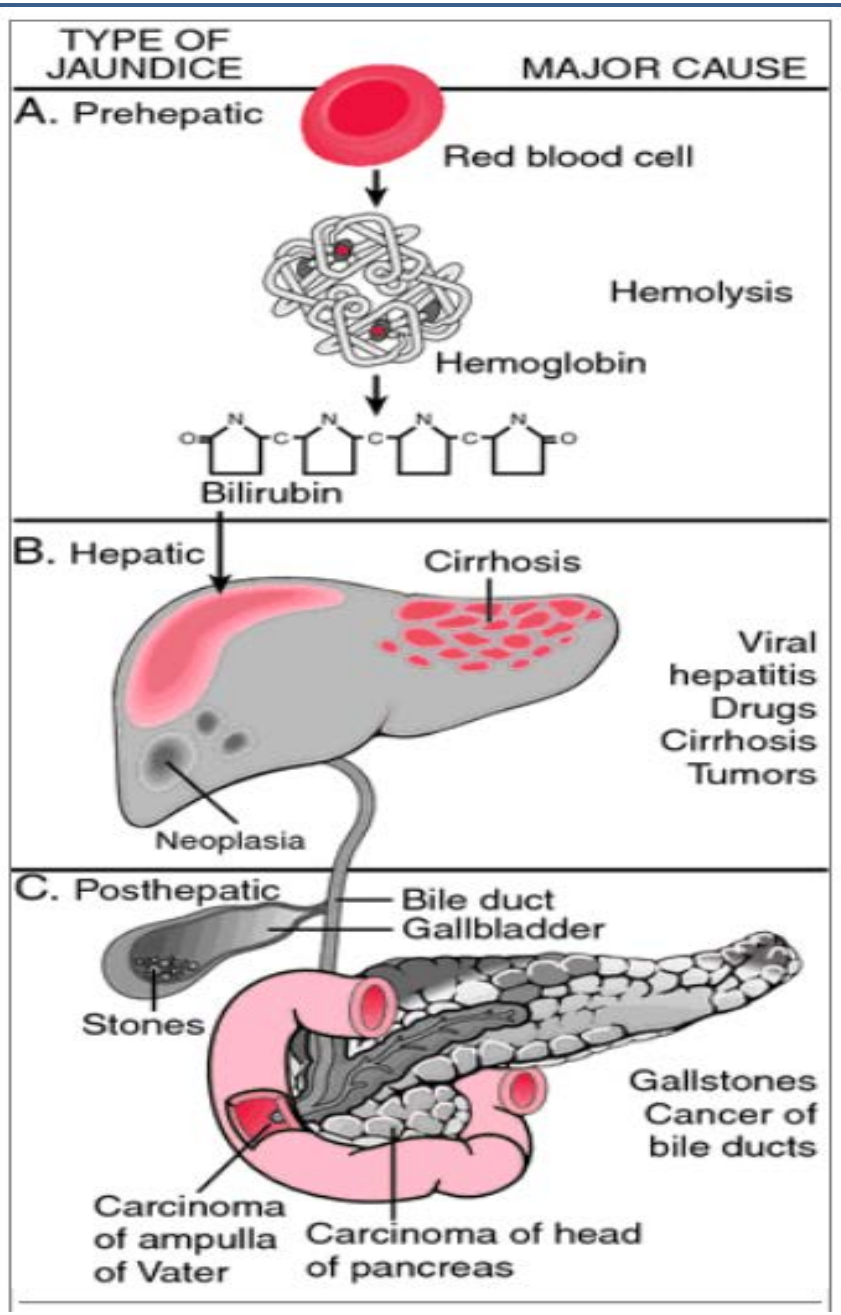
Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 황달 (Jaundice)

- 혈액내의 담즙색소 (Bilirubin)가 과잉되어 조직 내로 침투하여 노란색을 띄는 현상
- 황달의 종류
  1) 용혈성 황달 (Hemolytic Jaundice) = Pre-hepatic Jaundice
     -> 적혈구의 과다 파괴로 Indirect bilirubin 과다 생성
  2) 간세포성 황달 (Hepatocellular Jaundice) = Hepatic Jaundice
     -> 간세포의 손실로 Direct bilirubin이 혈중으로 역류되어 증가
  3) 폐쇄성 황달 (Obstructive Jaundice) = Post-hepatic Jaundice
     -> 담도가 폐쇄되어 Bilirubin이 장내 배설을 못하여 역류되어 증가

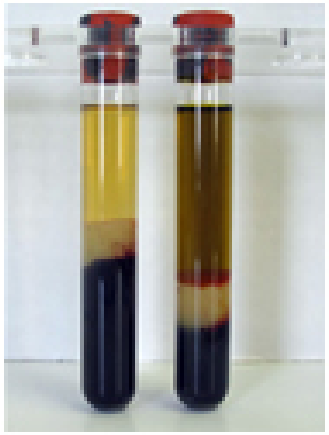
Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ **황달 (Jaundice)**



Lecture 6. Hormone & Bilirubin

■ 황달 (Jaundice)



Jaundice



Lipemia



Hemolysis

	혈액 (Blood)				요 (Urine)		대변 (Stool)	
	D. Bilirubin	In. Bilirubin	Bilirubin	Urobilinogen	Bilirubin	Urobilinogen	Bilirubin	Urobilinogen
용혈성 황달	-	↑↑	↑↑	↑↑	-	↑↑	-	↑↑
간세포성 황달	↑↑	-	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	-	↑
폐쇄성 황달	↑↑	-	↑↑	-	↑↑	-	-	-

■ 황달 (Jaundice)

LABORATORY INVESTIGATIONS IN TYPES OF JAUNDICE

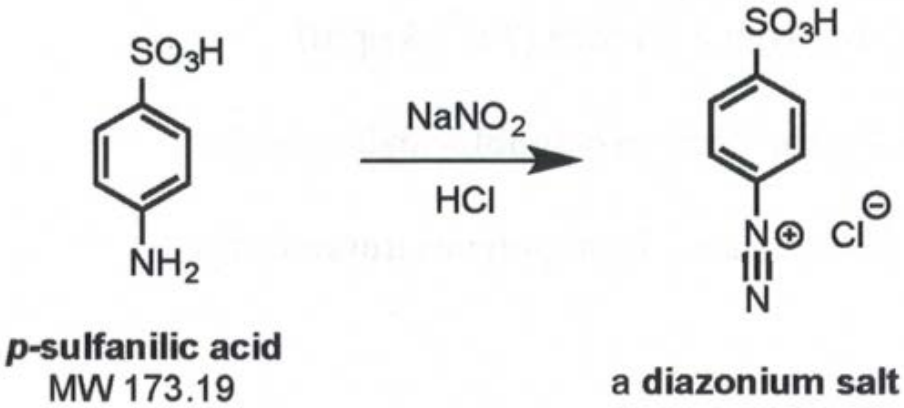
	URINE		BLOOD			
	UROBILINOGEN	BILIRUBIN	UNCONJUGATED BILIRUBIN	CONJUGATED BILIRUBIN	ALT & AST	GGT & ALP
NORMAL	TRACE	NIL	N: 0.2 – 1 mg/dl	N:0 - 0.2 mg/dl	NORMAL	NORMAL
HEMOLYTIC JAUNDICE	**INCREASD**	NIL	**INCREASED**	N:0 - 0.2 mg/dl	NORMAL	NORMAL
OBSTRUCT. JAUNDICE	**Decreased or absent**	**PRESENT**	N:0 - 0.2 mg/dl	**INCREASED**	Normal or mild increase	**MARKED INCREASE**
HEPATOCEL. JAUNDICE	**Decreased or absent**	**PRESENT**	**INCREASED**	**INCREASED**	**MARKED INCREASED**	Normal or mild increase

■ 빌리루빈 (Bilirubin)의 측정

- Bilirubin은 햇빛에 의해 산화되어 Biliverdin이 되기때문에 냉암소에서 보관해야 한다

측정법		Malloy-Evelyn 법	Jendrassik-Grof 법	Michaelsson 법
원리	총 빌리루빈	Bilirubin + Diazo 시약 + MEOH → Azobilirubin (Pink)	Bilirubin + Diazo 시약 + Fehling + Caffein + Ascorbic acid → Azobilirubin (Blue)	Bilirubin + Diazo 시약 + Fehling + Diphylline + Ascorbic acid → Azobilirubin (Blue)
	직접 빌리루빈	Bilirubin + Diazo 시약 → Azobilirubin (Pink)	Bilirubin + Diazo 시약 + Fehling + Ascorbic acid → Azobilirubin (Blue)	Bilirubin + Diazo 시약 + Fehling + Ascorbic acid → Azobilirubin (Blue)

- Diazo 시약
  - ① A 시약 : Sulfanilic acid + HCl
  - ② B 시약 : Sodium nitrite ($NaNO_2$)
- 지방분해 시약
  - -> Methanol, Caffein, Diphyline



p-sulfanilic acid
MW 173.19

a diazonium salt

■ 빌리루빈 (Bilirubin)의 측정

