

Kapitola 16 Vitaminy

Vitaminy jsou organické látky, které člověk nedovede vytvořit a musí je přijímat v potravě, a které jsou ve stopových množstvích (mikrogramy až miligramy/den) nezbytné pro normální zdraví, růst a reprodukci.

Některé látky, považované za vitaminy, ne zcela vyhovují uvedené definici, protože si je člověk dokáže, alespoň částečně, syntetizovat z prekurzorů, které jsou běžnou součástí jeho metabolismu: např. vitamin D z cholesterolu či niacin z tryptofanu.

16.1. Rozdělení vitaminů

Jak byly vitaminy postupně objevovány, zjistilo se, že jsou buď rozpustné ve vodě, nebo v tucích. Tato jejich vlastnost byla použita pro jejich rozdělení do dvou velkých skupin, na

- vitaminy rozpustné v tucích (A, D, E, K)
- vitaminy rozpustné ve vodě (vitaminy skupiny B a vitamin C).

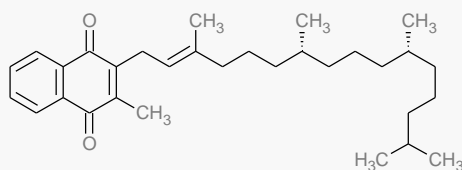
A. Vitaminy rozpustné v tucích				
Vitamin	Triviální chemický název	Obecná role	Symptomy deficitu či choroba	Přímé a nepřímé stanovení
A ₁	Retinol	Vidění, růst, reprodukce	Nyktalopie, xeroftalmie, keratomalacie ^{**)}	Fotometrie, fluorimetrie, adaptace na tmu, RIA, HPLC
A ₂	3-Dehydroretinol			
D ₂	Ergokalciferol	Modulace metabolismu Ca ²⁺ , kalcifikace kostí a zubů	Rachitida (děti), osteomalacie (dospělí)	CPB ^{*)} , HPLC
D ₃	Cholekalciferol			
E	Tokoferoly α, β, γ, δ	Antioxidanty nenasycených lipidů	Peroxidace lipidů, fragilita erytrocytů, hemolytická anémie	Fotometrie, HPLC, hemolýza erytrocytů
K ₁	Fylochinony	Krevní srážení	Vzrůstající koagulační čas, krvácení (děti)	Fotometrie, HPLC, protrombinový čas, RIA (abnormální protrombin)
K ₂	Menachinony			

^{*)} CPB = competitive protein binding (kompetitivní vazba bílkovin, ligandové techniky, vazebné testy)

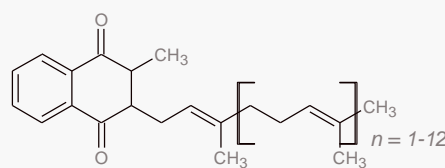
^{**)} nyktalopie = neschopnost vidět ve tmě

xeroftalmie = vysychání spojivky a rohovky oka

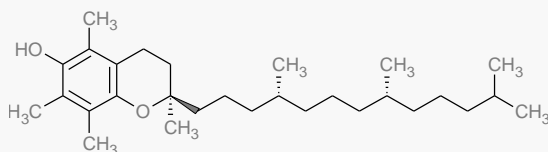
keratomalacie = změknutí rohovky oka s postupným vznikem perforace



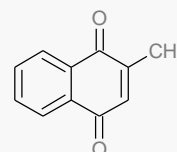
Vitamin K₁
Fylochinon
Zdroj: rostliny



Vitaminy K₂
Menachinony
Zdroj: bakterie



Vitamin E
α-Tokoferol

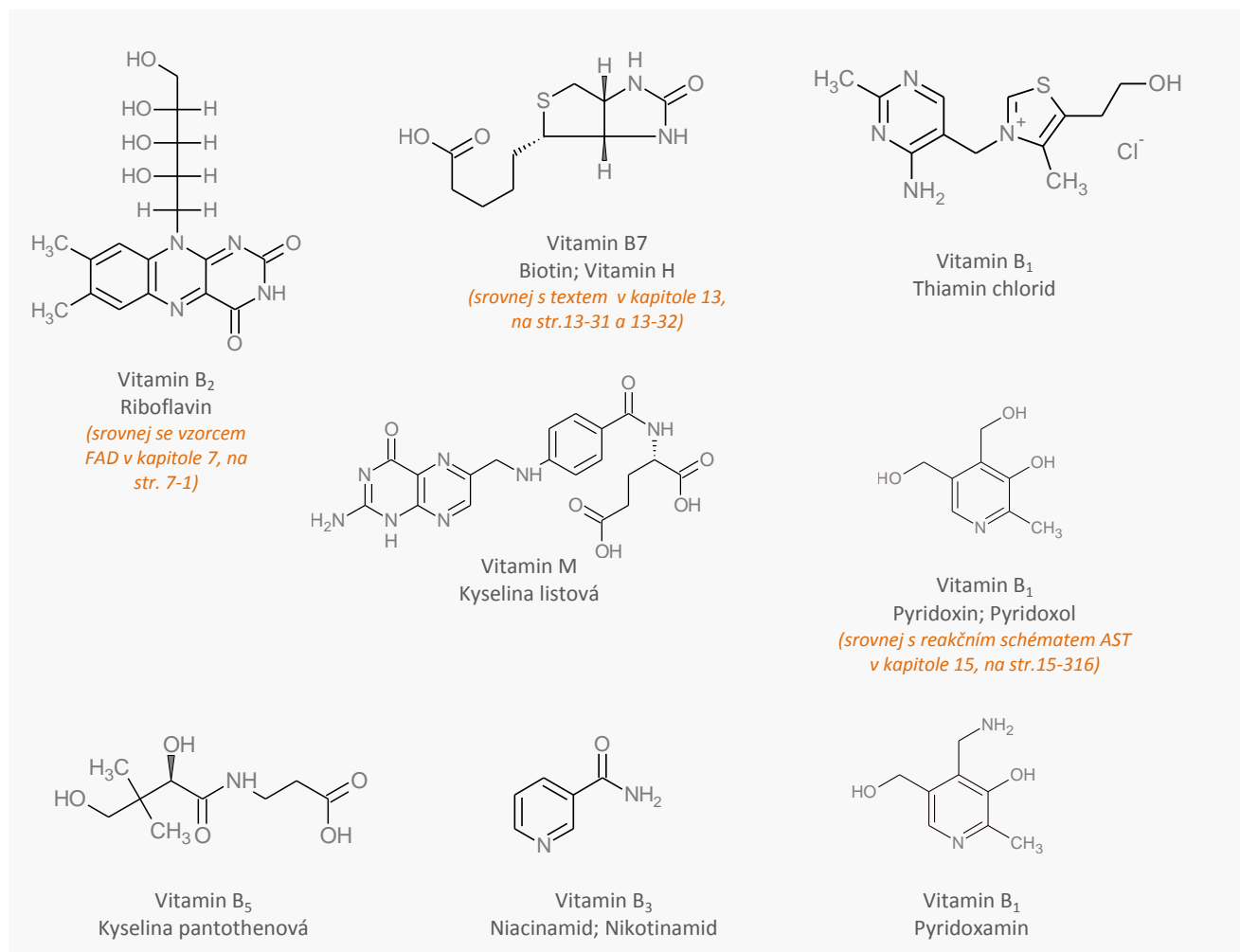


Vitamin K₃
Menadion (syntetický)

B. Vitaminy rozpustné ve vodě

Vitamin	Triviální chemický název	Obecná role	Symptomy deficitu či choroba	Přímé a nepřímé stanovení
B ₁	Thiamin	Metabolismus sacharidů, nervová funkce	Beriberi, Wernicke-Korsakoffův syndrom	Fluorimetrie, mikrobiologie, transketoláza
B ₂	Riboflavin	Oxidačně-redukční reakce	Angulární stomatitida, dermatitida, fotofobie	Fluorimetrie, HPLC, mikrobiologie, glutathion reduktáza
B ₆	Pyridoxin, pyridoxal, pyridoxamin	Metabolismus aminokyselin, fosfolipidů a glykogenu	Epileptiformní křeče, dermatitida, hypochromní anemie	Mikrobiologie, HPLC, tyrosin dekarboxyláza
Niacin	Kyselina nikotinová	Oxidačně redukční reakce	Pelagra	Mikrobiologie, fluorimetrie
Niacinamid	Nikotinamid			
Kyselina listová	Kyselina pteroylglutamová	Biosyntéza nukleových kyselin a aminokyselin	Megaloblastická anemie	CPB ^{*)} , mikrobiologie
B ₁₂	Kyanokobalamin	Metabolismus aminokyselin a rozvětvených oxokyselin	Perniciózní a megaloblastická anemie, neuropatie	CPB, mikrobiologie
Biotin	-	Karboxylační reakce	Dermatitida	Mikrobiologie, fotometrie, karboxylázy
Kyselina pantotenová	-	Obecný metabolismus	Syndrom hořících šlapků (chodidel)	Mikrobiologie
C	Kyselina askorbová	Tvorba pojivových tkání	Skorbut (kurděže)	Fotometrie

^{*)} CPB = competitive protein binding (kompetitivní vazba bílkovin, ligandové techniky, vazebné testy)



16.2. Úloha vitaminů v organismu

Pojem „vitamin“ pochází od polského biochemika Kazimira Funka a je vytvořen z latinského *vita*, život a „amin“, čili „životní amin“. Název se udržel dodnes, i když dobře víme, že se rozhodně nejedná o aminy, ale o skupinu značně různorodých látek.

Kazimír Funk byl polský biochemik židovského původu, rodák z Varšavy. Zemřel v New Yorku ve Spojených státech amerických. Je považován za objevitele vitaminů, protože byl první, kdo popsal vitamin B1, i když práce o „nezbytných prvcích“ a „přidatných faktorech potravy“, mu předcházely. Funk také vyvinul účinný preparát proti polyneuritidě (beri-beri) vyvolané u holubů loupnou rýží.

Tento pojem je relativní, protože mnohé látky, které řadíme mezi vitaminy, tj. přídavné živiny důležité pro člověka, nemusí být vitaminem pro jiný živočišný druh. Typickým příkladem je kyselina askorbová, vitamin C, kterou člověk nezbytně potřebuje, ale např. krysa si ji dokáže syntetizovat sama. Pro ni kyselina askorbová vitaminem není. Proto je nutné udávat, pro jaký druh je daná látka vitaminem.

Rostliny a mnoho „primitivních“ organismů si umí syntetizovat všechny potřebné látky z nejjednodušších součástí, z vhodných zdrojů uhlíku, dusíku, minerálních látek a energie. „Vyšší“ organismy tuto schopnost ztratily.

Vitaminy jsou potřebné pro výstavbu koenzymů, slouží při katalýze biochemických reakcí.

Nedostatek (i relativní) vitaminu vede k charakteristickým chorobám, či poruchám z nedostatku. Přitom je zajímavé, že tento nedostatek se neprojevuje všeobecným poškozením, jak by se z biochemické funkce vitaminů dalo předpokládat, ale právě specifickým onemocněním či poruchou. Některé příklady jsou uvedeny v tabulkách na předchozích stranách.

Příčiny nedostatku (deplece) vitaminů:

- nedostatečný příjem v potravě
- porucha absorpce v GIT
- porucha utilizace (využití)
- zvýšená potřeba vitaminů
- zvýšená degradace (inaktivace) či exkrece vitaminů

↓ **Hypovitaminóza, případně avitaminóza:** nedostatek či chybění určitého vitaminu; bývá doprovázena typickými příznaky; někdy se jedná o nedostatek více vitaminů najednou

↓ **Subklinická hypovitaminóza:** dá se prokázat pouze jako snížená koncentrace vitaminů v tělesných tekutinách nebo tkáních

Hypovitaminóza se rychleji vyvíjí u vitaminů rozpustných ve vodě (s výjimkou vitaminu B₁₂), protože je tělo neschopné skladovat.

↑ **Hypervitaminóza, vysoká koncentrace:** určitého vitaminu může nastat při jeho zvýšeném příjmu v dietě a může být pro organismus nebezpečná. Platí to zejména pro vitaminy rozpustné v tucích, které mohou být akumulovány v tukových tkáních. Např. zvýšený příjem vitaminu D vede k lámavosti kostí, hlavně u starších lidí. Také např. vysoké koncentrace vitaminu A jsou toxické. Vitaminy rozpustné ve vodě se neschopují a jejich přebytek se prakticky okamžitě vylučuje močí. Proto jsou, vitaminy rozpustné ve vodě, oproti vitaminům rozpustným v tucích, relativně netoxické.

Nepříznivé důsledky nadbytku vitaminu A byly pozorovány u polárních badatelů, žijících se místní zvěří, kterou konzumovali včetně vnitřností, tj. i jater, kde se vitamin A kumuluje a jehož koncentrace v této tkáni, je např. u ledního medvěda značná.



Kazimierz Funk
23.2.1884 – 19.11.1967
Polský biochemik objevitel vůbec prvního vitaminu (B1), nazývaný „objevitel vitaminů“

16.3. Způsoby stanovení vitaminů

Přímé měření koncentrace vitaminu

- v krvi: E, A, β -karoten, B₁₂, kyselina listová
- v moči: B₁, niacin (prostřednictvím jeho metabolitu *N-metylnikotinamidu*)

Měření sérové či močové koncentrace typického metabolitu

Metabolit se hromadí v těle následkem blokady enzymové reakce vyžadující jako koenzym chybějící vitamin.

Příklad: při deficitu vitaminu B₁₂ stoupá vylučování kyseliny metylmalonové v moči (nemůže být přeměněna na sukcinyl-CoA)

Měření koncentrace hromadícího se metabolitu po zátěži substrátem

Příklad: k přeměně homocysteinu je zapotřebí vitaminů B₆, B₁₂ a kyseliny listové; deficit kteréhokoliv z těchto vitaminů vede ke zvýšené hladině homocysteinu, vzestup se zvýrazní po zátěži metioninem; k vzestupu nedojde po předchozím podání chybějícího vitaminu

Zvýšení aktivity vhodného enzymu po dodání koenzymu

Koenzym je derivátem příslušného vitaminu. Měří se aktivita enzymu v séru pacienta bez přídavku a s přídavkem koenzymu.

Příklad: měří se aktivita ALT či AST po přidání pyridoxalfosfátu (příslušný vitamin je pyridoxin, čili B₆)

Saturační testy

Nejčastěji se provádí saturační test po podání vitaminu C – při nedostatku tohoto vitaminu dochází k jeho zvýšenému vychytávání a v moči se objevuje nulové nebo minimální množství vitaminu (při dostatečné saturaci tkání vitaminem se většina podaného vitaminu C vyloučí močí)

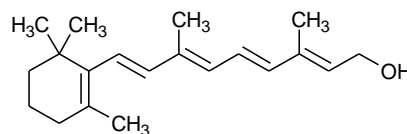
Stanovení produktu vytvořeného působením vitaminu

Příklad: při nedostatku vitaminu K se mění koncentrace koagulačních faktorů na tomto vitaminu závislých (změny v hodnotách příslušných koagulačních testů, užívá se tzv. protrombinový čas), na hladinu vitaminu E lze usuzovat i ze stupně hemolýzy erytrocytů po působení peroxidu vodíku, případně některých dalších reagensů.

16.4. Metody stanovení některých konkrétních vitaminů

16.4.1. Vitamin A

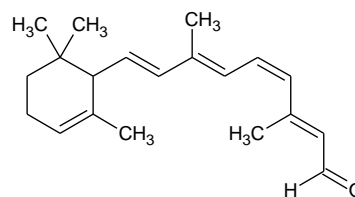
Vitamin A (*retinol*, *axeroftol*) se přijímá potravou buď přímo nebo ve formě provitaminu β -karotenu, který se ve střevě hydrolyzuje na dvě molekuly vitaminu A. V tenkém střevě se vstřebává i samotný β -karoten a jeho dostatečná hladina se užívá jako *ukazatel neporušené absorpce lipidů*. Aktivní formou vitaminu A je *11-cis-retinal*. Vitamin je nezbytný pro vidění, správnou tvorbu a rohovatění pokožky a funkci sliznic. Dobře známou funkcí vitaminu A je jeho účast na výstavbě očního purpuru (rodopsinu).



Vitamin A - retinol

Stanovuje se v plazmě, příležitostně v séru, vzácně v plné krvi:

1. SbCl₃ v chloroformu dává s retinolem modré zbarvení fotometrovatelné při 620 nm. Místo chloridu antimonitého lze užít i kyselinu trifluoroctovou či trichloroctovou, tím se dosáhne vyšší senzitivity metody.
2. Modré zbarvení dává i 1,3-glyceroldichlorhydrin aktivovaný chloridem antimonitým.
3. Kombinované metody skládající se ze
 - separační techniky (např. HPLC, extrakce do organických rozpouštědel apod.)
 - fotometrické/spektrofotometrické/fluorimetrické techniky
4. Techniky využívající pouze chromatografické metody (GC i LC) s ionizačním detektorem (FID), s detekcí pomocí hmotové spektrometrie (MS) či UV detekcí.



11-cis-retinal

Poznámka: metody ad 1.a 2. nejsou dostatečně citlivé a specifické

Doporučené denní dávky

A (retinol)	Muži [mg]	Ženy [mg]
	1,00	0,80
těhotné ženy (od 4. měsíce)	-	1,10
senioři	1,50	1,50
parenterální potřeba /24 h	1,00	1,00

Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha

Orientační referenční hodnoty

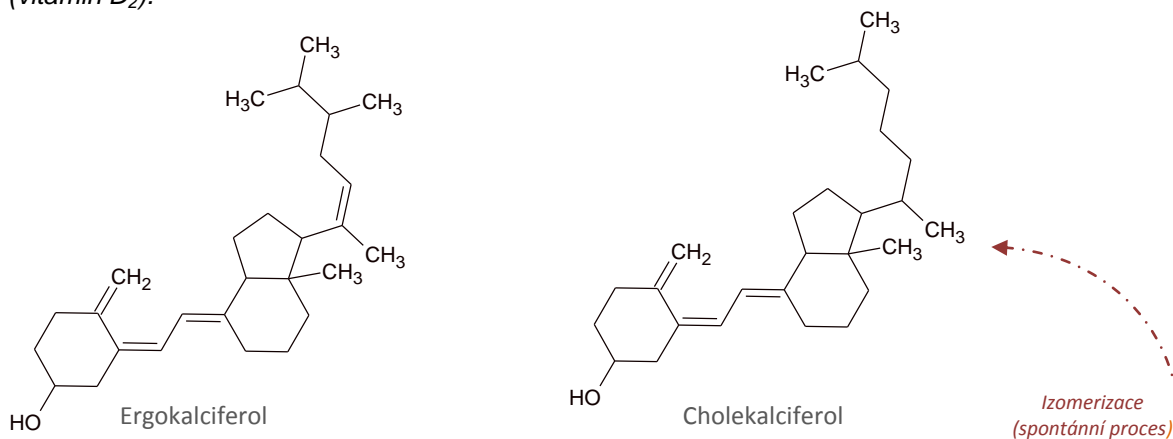
A (retinol)	Muži [$\mu\text{mol/l}$]	Ženy [$\mu\text{mol/l}$]
sérum - dospělí	1,05 – 2,27	0,83 – 1,75
sérum - novorozenci	1,22 – 2,60	1,22 – 2,60
sérum - děti		1,05 – 2,80

Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha

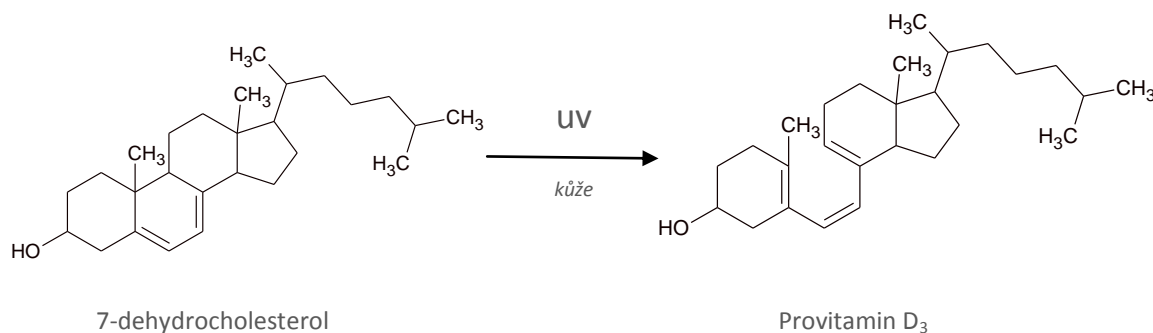
Zdroje vitamínu A: Játra, mléčné produkty a tučné ryby, vaječný žloutek, žlutá a oranžová zelenina (zdroj karotenů), listová zelenina, sušené meruňky.

16.4.2. Vitamin D (D₃)

Vitamin D je přiváděn do organismu jako živočišný *cholecalciferol (vitamin D₃)* nebo jako rostlinný *ergocalciferol (vitamin D₂)*.

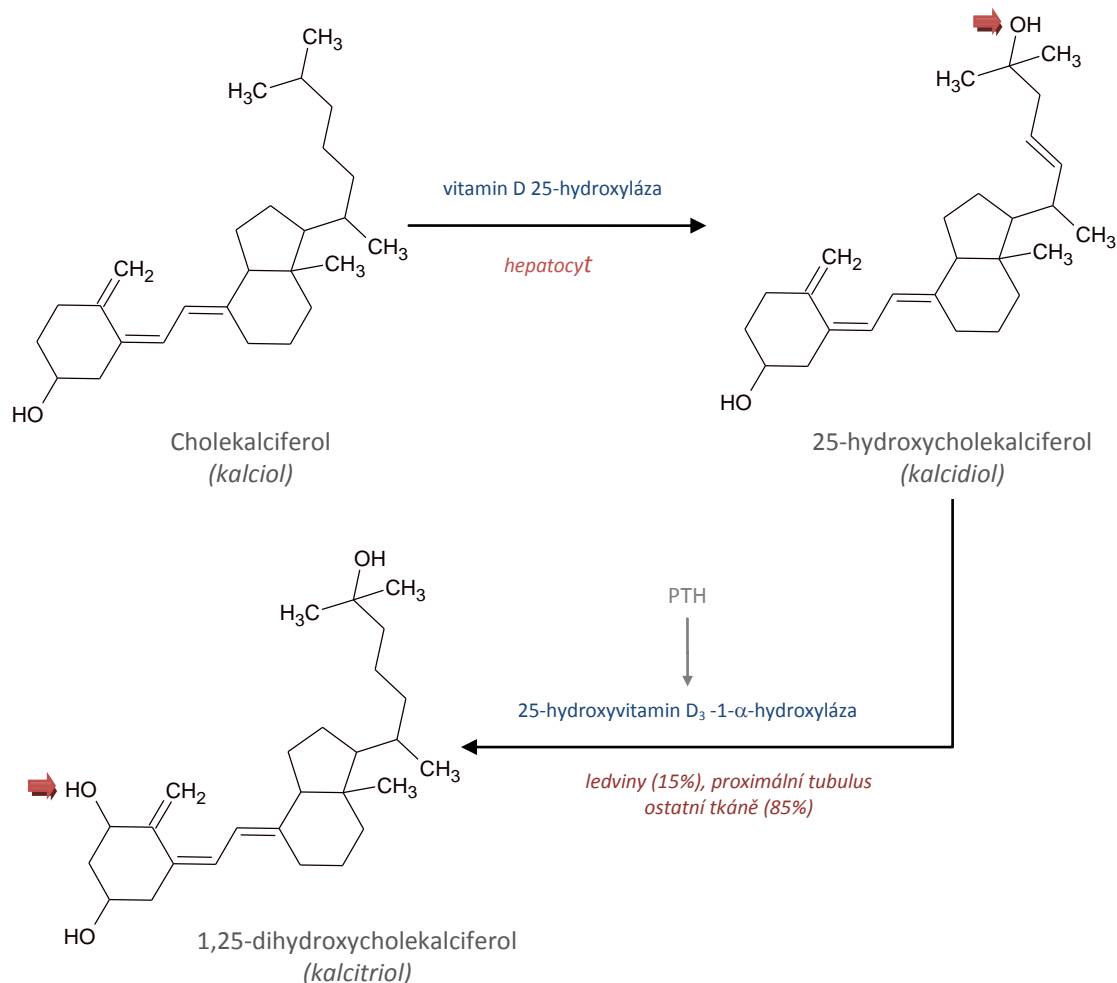


V organismu se tvoří vitamin D₃ z cholesterolu, resp. z jeho metabolitu *7-dehydrocholesterolu*, v kůži působením UV-paprsků (endogenní vitamin). Z uvedeného je zřejmé, že vlastně tato látka neodpovídá definici vitamínu (... *organické látky, které člověk nedovede vytvořit a musí je přijímat v potravě...*), neboť člověk si ho ve svém organismu vytvořit dovede.



Provitamin D₃ se následně spontánně mění na svůj izomer *cholecalciferol* (ve schématu nahoře naznačeno šipkou). Hlavní zásobní formou je *25-hydroxycholecalciferol*.

Účinnou formou vitamínu je *1,25-dihydroxycholecalciferol (kalcitriol)*. Přeměna na tuto aktivní formu probíhá nejprve v játrech, kde dojde k hydroxylaci cholecalciferolu (kalciole) na kalcidiol. Následuje další hydroxylace za působení *parathormonu (PTH)* a z *kalcidiolu* vzniká aktivní *kalcitriol*. Podle posledních výzkumů probíhá tato fáze z 15% v ledvinách a z 85% v ostatních tkáních (svaly, prs, prostata, makrofágy, B lymfocyty aj.). Kalcitriol je schopen sám řídit v těchto buňkách vlastní biosyntézu (autokrinní působení).



I proto (ale nejenom proto) se stále častěji mluví ne o *vitamínu*, ale o *hormonu D*. Všechny ostatní formy (skupina látek zv. *kalciferoly*) lze považovat za prekurzory hormonu kalcitriolu.

V plazmě se vitamin D a jeho metabolity vážou na *protein vázající vitamin D (VDBP, vitamin-D binding protein; VDBP patří mezi α -globuliny)*, který je transportuje do cílových tkání.

Přehled názvosloví I

<i>kalciole</i>	=	<i>cholecalciferol</i>	=	<i>vitamin D₃</i>
<i>kalcidiol</i>	=	<i>25-hydroxycholecalciferol</i>	=	<i>(hlavní zásobní forma vitamínu D)</i>
<i>kalcitriol</i>	=	<i>1,25-dihydroxycholecalciferol</i>	=	<i>fyziologicky aktivní</i>
<i>erkalciole</i>	=	<i>ergokalciferol</i>	=	<i>vitamin D₂</i>

Přehled názvosloví II

Vitamin	Chemické složení	Poznámka
D ₁	směs ergokalciferolu a lumisterolu v poměru 1:1	lumisterol je stereoisomer ergokalciferolu
D ₂	ergokalciferol	
D ₃	cholecalciferol	
D ₄	25-dihydroergokalciferol	
D ₅	sitokalciferol	

Význam vitamínu D v organismu

- Vitamin D hraje zásadní roli v metabolismu vápníku a fosforu. Nedostatek vitamínu D je dnes spojován nejen s poruchami kostního metabolismu typu křivice, osteomalacie, osteoporózy (viz *Kapitola 16. Odstavce 16.6. 1. Vlastní markery kostního metabolismu, str. 16-22*).
- Uvádí se, že vitamin D přímo či nepřímo ovlivňuje (jako hormon) asi 3% lidského genomu.
- Většina buněk je vybavena receptorem pro vitamin D, z čehož se dá oprávněně předpokládat, že tuto látku ke svému metabolismu buňky potřebují.
- Receptory pro vitamin D vykazují určitý polymorfismus, který způsobuje i různorodý „přístup“ buněk k vitamínu D. Vzhledem k tomuto a k jeho hormonálním aktivitám, jsou hladiny tohoto hormonu-vitamínu spojovány také s
 - aktivitou imunitního systému,
 - prevencí určitých typů rakovin (prsu, plic, kolorekta, prostaty),
 - prevencí kardiovaskulárních onemocnění,
 - vývojem plodu,
 - insulínovou resistencí,
 - roztroušenou sklerózou,
 - dokonce i schizofrenií a depresemi a mnoha dalšími.

V poslední době se množí práce na téma všeobecného nedostatku vitamínu D v populacích. Způsob života bez dostatečné expozice slunci (omezené jak časově, tak ochrannými krémy), dietní návyky (nedostatek vitamínu D z přirozených zdrojů (ryby a ostatní – zejména – mořští živočichové) i některé choroby (malabsorpce) vedou, dle těchto prací, k nedostatku vitamínu D v organismu a pravděpodobně i ke vzniku (či podpoře) mnoha chorob.

Poněkud se změnila i názory na předávkování vitaminem D, které může vést k intoxikaci, kdy projevem je hyperkalcémie. Poslední výzkumy ukázaly, že ani pětinašobek doporučené denní dávky dlouhodobě podávaný nevede k intoxikaci.

Orientační referenční hodnoty

D (vitamin D ₃)	Muži [nmol/l]	Ženy [nmol/l]
sérum – děti, 1,25 (OH) ₂	0,075 -0,175	
sérum – dospělí, 1,25 (OH) ₂	0,050 – 0,200	
sérum – léto – dospělí, 25-OH	50 – 300	
sérum – zima – dospělí, 25-OH	25 – 125	
sérum – léto – zdravé osoby, 25-OH	41,6 - 192,4	
(95% interval)		
Zdroj: Kolektiv autorů, <i>Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha</i>		

Jiné prameny udávají tyto hodnoty

Referenční interval: 60 – 200 nmol/l (tj. cca 900 – 3000 IU; 1 IU ≡ 0,025 μg cholekalciferolu = 0,065 nmolů)

Těžký deficit: <25 nmol/l

Nedostatek: 25 – 60 nmol/l

Doporučená denní dávka pro doplnění (suplementaci) se pohybuje mezi 1000 – 2000 IU (hodnoty uváděné na farmaceutických výrobcích), ale existují i názory, že uvedená množství jsou nedostatečná a dávkování by mělo být vyšší (5000 – 20000 IU).

Metody stanovení vitamínu D

Z preanalytického hlediska je vitamin D analytem velmi odolným, v literatuře uváděným jako „solid as rock“ (pevný jako skála): je stálý při laboratorní teplotě, odolný při transportu vzorků, vůči světlu i UV záření, vzorky snesou i mnohonásobné zamrazování a rozmrazování.

V praxi se stanovují

- *kalciferol*,
- *25-hydroxycholekalCIFEROL* a
- *1,25-dihydroxycholekalCIFEROL*.

Vzhledem k absenci primárního standardu však není jisté, co konkrétně se při užití dané metody vlastně stanovuje.

Využívají se

- RIA metody,
- kombinace extrakce organickými rozpouštědly a chromatografických metod,
- kombinace HPLC a fotometrie v UV oblasti,
- vazebné testy na principu soutěživé (kompetitivní) vazby na VDBP (*Vitamin D-Binding Protein BP*) a
- vazebné testy na principu nesoutěživé vazby na receptory pro vitamin D.
- Nejvíce užívané metody jsou chemiluminiscenční imunochemické techniky a
- LC-MS/MS (kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií), přičemž tato metoda je analyticky vhodnější k danému účelu.

V současné době dochází k poměrně vysokému nárůstu požadavků na stanovení vitaminu D, uvádí se, že mnohdy o 50 – 100%, případně i více oproti předchozímu stavu. Zlepšila se i technologie stanovení a začíná se prosazovat stanovení *25-hydroxycholecalciferolu*.

Jednou z posledních novinek na trhu v této oblasti je stanovení *25-hydroxycholecalciferolu* neboli *25-OH Vitaminu D* technikou jednostupňové imunanalýzy se zpožděnou chemiluminiscencí na mikročásticích (*One Step Delayed Chemiluminiscent Microparticle Immunoassay, CMLIA*) na imunochemických analyzátoch Architect fy Abbott.

Standardizovaná metoda stanovení celkového vitaminu D na analyzátoch ADVIA Centauru je popsána na stránkách firmy Siemens. Tam je možno najít i video o metodě ([zde](#)).

Zdroje vitaminu D: Mořské ryby z chladných vod (makrela, sled, tuňák), játra, mléko, máslo, vaječný žloutek; přiměřená dávka slunečního záření na velkou plochu obnažené kůže.

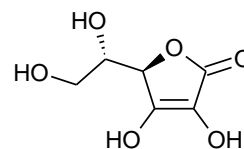
16.4.3. Vitamin C

Působení vitaminu C (kyseliny askorbové) v organismu je velmi rozmanité. Uplatňuje se jako antioxidační činidlo (spolu s α -tokoferolem, β -karotenem, koenzymem Q₁₀, katalázou, superoxididismutázou, Se a Zn), jako přenašeč elektronů při redoxních pochodech, aktivuje mnohé enzymy, účastní se metabolismu některých aminokyselin, aktivuje mnoho enzymů, spolupůsobí při absorpci nehemového železa, při syntéze steroidních hormonů, lipidů, proteinů, ovlivňuje metabolismus cukrů a minerálních látek, chrání před oxidací SH-skupiny a adrenalin, specifickou rolí při biosyntéze kyseliny chondroitinsírové zasahuje do tvorby vaziva (syntéza kolagenu, viz též str. 16-21 v kapitole 16) a mezibuněčných hmot a má význam pro cévní integritu. Zúčastňuje se také přeměny cholesterolu na žlučové kyseliny, jeho nedostatek vede ke zpomalení degradace cholesterolu a k jeho hromadění. Ovlivňuje metabolismus kyseliny listové, karnitinu a histaminu. Je důležitý pro reakce bílých krvinek, imunitní odpověď a alergické reakce. Redukuje účinky toxických kovů. Udržuje strukturální i funkční integritu důležitých imunitních buněk.

Těžký deficit vitaminu C (kyseliny askorbové) se projevuje jako *skorbut* a je poměrně vzácný. Subklinický deficit je poměrně častý zvl. u starších lidí a prokazuje se *saturačním testem*. Projevy nedostatku jsou únava, svalová bolest a slabost, nechutenství, zvýšený sklon k infekcím, zhoršené hojení ran, anemie, hemoragie, petechie, křehké a zduřelé dásně, změny tvorby kolagenních struktur chrupavek a kostí, deprese. Metabolitem vitaminu C je kyselina šťavelová, při poruše ledvinných funkcí může snížené vylučování vitaminu C vést k tvorbě ledvinných oxalátových kamenů (whewellit, weddellit).

Vitamin C se stanovuje v séru (plazmě) a v leukocytech, lze stanovit i v moči.

1. Pro stanovení v plazmě lze užít např. titraci 2,4 –dichlorfenolindofenolem (*Tillmansovo činidlo*). Výsledkem je změna **modrého zbarvení** na **růžové**. Metodu lze upravit i na fotometrické stanovení, existuje i modifikace ve formě testu na jazyku, kdy se měří čas potřebný k odbarvení původně **modrého zbarvení**.
2. Pro stanovení v moči lze použít tvorbu osazonů kyseliny askorbové s 2,4-DNPH. Osazon je rozpustný v kyselině sírové. Výsledné **červené zbarvení** je fotometrovatelné při 540 nm. Místo DNPH se používá i diazotovaný 4-metoxi-2-nitranilin. Byly vyvinuty i techniky fluorimetrické a HPLC.



Vitamin C
Kyselina askorbová

Doporučené denní dávky

C (askorbát)	Muži [mg]	Ženy [mg]
<50 let)	100	60
>50 let	90	75
parenterální potřeba /24 h	100	100

Zdroj: Kolektiv autorů, *Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha*

Orientační referenční hodnoty

C (askorbát)	Muži	Ženy
plazma	34 – 114 [$\mu\text{mol/l}$]	
leukocyty	20 – 53 [$\mu\text{g}/10^8$ leukocytů]	
leukocyty	1,14 – 3,00 [fmol/leukocyt]	

Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha

Zdroje vitamínu C: Brambory (relativně nízký obsah, ale stálý přísun), paprika, černý rybíz (vynikající kombinace s pektiny), jahody, nať petržele, křen, šípky, citrusové plody (a šťávy z nich).

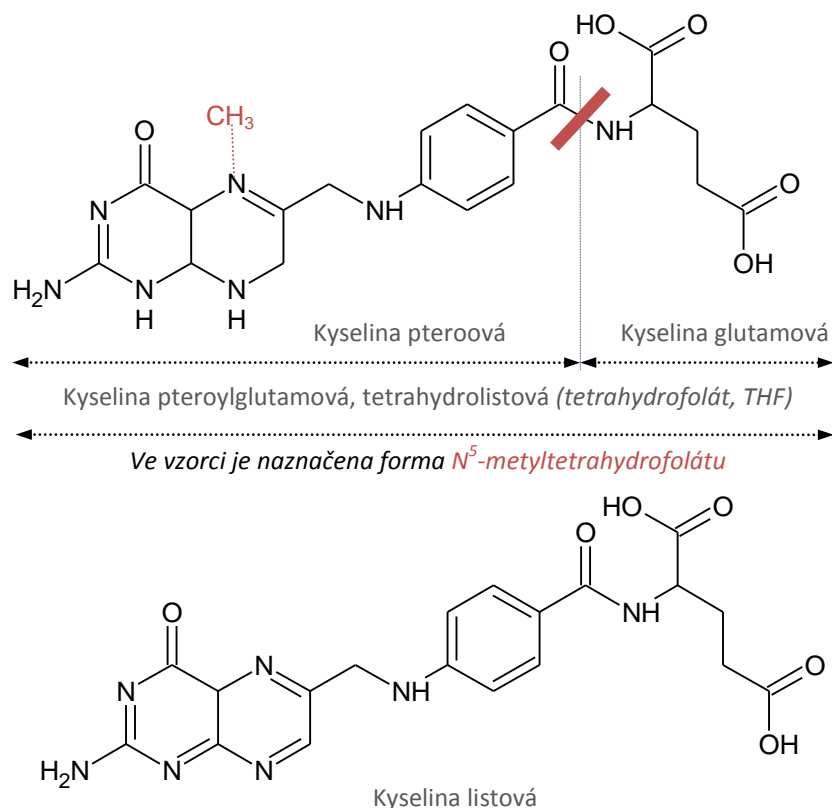
Poznámka: Zvýšený obsah kyseliny askorbové v moči (podávání vitamínů a vitaminových směsí) může interferovat s průkazem glukózy na indikátorovém proužku (nutná ploška pro indikaci přítomnosti kyseliny askorbové).

16.4.4. Kyselina listová

Pojmy folát a kyselina listová jsou obecné termíny pro skupinu látek odvozených od kyseliny pteroové. Na kyselinu pteroovou jsou vázány glutamáty v počtu $n = 1 - 6$. Ve vzorci níže je $n = 1$. Biologicky aktivní jsou pouze redukované formy. V séru i dalších tělesných tekutinách se nacházejí různé formy kyseliny listové, nicméně ústřední látkou je N⁵-methyltetrahydrofolát.

Význam kyseliny listové v organismu

Tetrahydrofolát (*kyselina 6,7,8,9-tetrahydrolistová*) patří mezi koenzymy transferáz, přenáší jednoválcové radikály, zúčastňuje se hlavně při biosyntéze purinů a pyrimidinů, při transmetylacích v metabolismu aminokyselin apod. V metabolismu kyseliny listové se uplatňuje kobalamin, což je součást vitamínu B₁₂.

**Deficit kyseliny listové může být následkem**

- absence střevních mikroorganismů (*střevní sterilizace*)
- nedostatečného příjmu ze střeva (*chirurgické zásahy, celiakie, malabsorpce*)
- nedostatku příjmu v potravě
- zvýšené spotřeby (*v těhotenství, při jaterních chorobách, nádorových onemocněních*)
- příjmu antagonistů kyseliny listové (*metotrexát*)
- protikřečové léčby (*kteřá vyžaduje zvýšenou potřebu kyseliny listové, zejména v době těhotenství*).

Snížené hladiny sérového folátu byly pozorovány i pacientů s psychickými poruchami a u těhotných žen, jejichž plod měl defekty neurální trubice. *Tyto poruchy se objevují čtyřikrát častěji u dětí, jejichž matky v těhotenství neměly dostatečný přívod kyseliny listové.* Dalšími projevy nedostatku kyseliny listové jsou megaloblastická anémie a byl zjištěn i vztah mírného deficitu folátu ke kardiovaskulárním onemocněním.

Doporučené denní dávky

Kyselina listová [mg]	Muži [mg]	Ženy [mg]
<50 let)	0,20	0,18
>50 let	0,40	0,40
těhotné ženy	-	0,60
parenterální potřeba /24 h	0,40	0,40

Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha,

Orientační referenční hodnoty

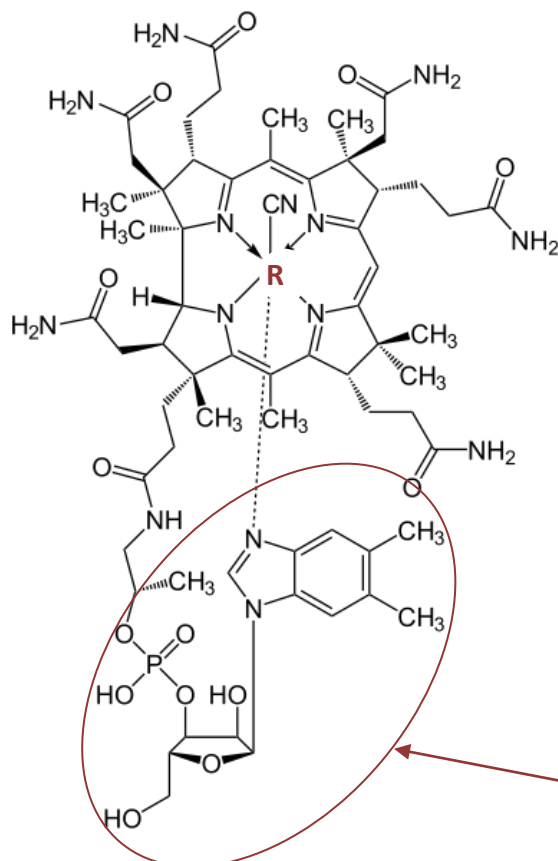
Kyselina listová	Muži [μmol/l]	Ženy [μmol/l]
sérum - novorozenci [μmol/l]	0,016 – 0,072	
sérum - dospělí [μmol/l]	>0,0135	
erythrocyty – dospělí [μmol/l]	>0,360	

Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha

Zdroje kyseliny listové: Vnitřnosti (játra, ledviny), ořechy, kvasnice, listová zelenina, pomerančová šťáva.

16.4.5. Vitamin B₁₂

Také termín *vitamin B₁₂*, podobně jako v předchozím případě, odkazuje na skupinu fyziologicky aktivních látek, které se chemicky nazývají *kobalaminy* či *korinoidy*. Mají poměrně komplikovanou strukturu, která obsahuje *pyrolová* jádra seskupená kolem centrálního atomu kobaltu. Pyrolové uskupení připomínající *hem* (viz Kapitola 7, str. 7-25 a následující) se nazývá *korin*. Všechny sloučeniny s korinovým jádrem se nazývají *korinoidy*. Na korin jsou dále navázány, boční nukleotidový řetězec a (nad rovinou korinu) další dodatečný řetězec, ve vzorci vlevo označený „R“.



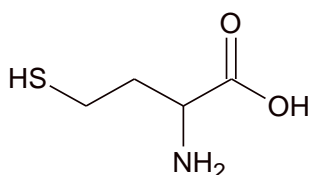
Kobalaminy

- R = 5'-deoxyadenosyl: *koenzym B₁₂*
- R = CN: *kyanokobalamin, vitamin B₁₂*
- R = OH: *hydroxykobalamin, vitamin B₁₂*
- R = CH₃ -: *metylkobalamin,*

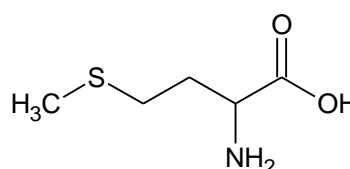
Podle: Wikimedia: NEUROtiker

Právě charakter dodatečných bočních řetězců vázaných na kobalt (nad rovinou korinu) odlišuje jednotlivé kobalaminy, např.:

- **Kyanokobalamin**, vitamin B₁₂, obsahuje kyanidovou skupinu (R = CN), je stabilní sloučeninou a slouží jako referenční látka pro stanovení koncentrace sérových kobalaminů.
- **Hydroxykobalamin**, rovněž vitamin B₁₂, obsahuje hydroxylovou skupinu (R = OH). Vitamin B₁₂ hraje důležitou roli v metabolismu mastných kyselin a alifatických aminokyselin.
- **5'-deoxyadenosyl kobalamin**, *koenzym B₁₂*, má ve svém vzorci R = 5'-deoxyadenosyl; je fyziologicky důležitou formou a je obsažen zejména v cytosolu.
- **Metylkobalamin** (R = CH₃) je formou dominující v séru. Přenáší metylovou skupinu z 5-metyltetrahydrofolátu na homocystein za tvorby methioninu, což je důležitý substrát pro další metabolické reakce (zde spolupůsobí kyselina listová; metabolismus viz např. [zde](#)).



Homocystein



Methionin

Metabolismus vitaminu B₁₂ pro zvidavé studenty

Proces vstřebávání vitaminu B₁₂ je relativně složitý, uplatňuje se zde v žaludku kyselina chlorovodíková, pepsin a glykoprotein produkovaný slinnými žlázami v ústní dutině *haptokorin* (*R-binder protein*, *R factor*, *R-protein*), který umožňuje vitaminu B₁₂, citlivému na kyselé prostředí, průchod žaludkem do duodena. Zde je z komplexu uvolněn pankreatickou proteázou/proteinásou a v podstatně alkaličtějším prostředí tenkého střeva tvoří nový komplex s *vnitřním faktorem* (*intrinsic factor*, *gastric intrinsic factor*, *GIF*, *S-protein*, *IF*), který se tvoří v parietálních buňkách žaludeční sliznice; tento komplex je vychytáván pomocí specifických receptorů buňkami kartáčového lemu ilea; v enterocyty je opět uvolněn, dostává se do portální vény a část se váže na *transkobalamin II* (proteinový přenašeč kobalaminu syntetizovaný v endotelových buňkách cév) a v této formě, jako tzv. *holokobalamin* (*holotranskobalamin*, *aktivní B12*, *holoTC*), je přenášen krví ke všem buňkám. Zde se mění na jednu ze svých aktivních forem, tj. na adenosylkobalamin a metylokobalamin. Větší část kobalaminu se váže na *transkobalamin I* a *transkobalamin III*, proteiny syntetizované v granulocytech. *Transkobalamin III* dopravuje vitamin do jater, odkud se žlučí dostává do tenkého střeva a znovu podstupuje popsany koloběh. Kobalamin vázaný na *transkobalamin I* představuje určitou zásobu vitaminu v plazmě. (Srovnej též s textem věnovaným kobaltu na str. 12-13 v kapitole *Železo a stopové prvky*).

Možnosti poruch vstřebávání jsou, jak je snad zřejmé, mnohé (achlorhydrie, neúčinnost vnitřního faktoru, poruchy terminálního ilea – Crohnova choroba, resekce apod.), a to se ještě mohou zúčastnit kompetice o vitamin někteří parazité nebo střevní bakterie, případně i některé léky (kyselina p-aminosalicylová, některá antibiotika). V některých případech může i chybět přenašeč transkobalamin II.

Nedostatek vitaminu B₁₂ v organismu

Vitamin B₁₂ se částečně skladuje v parenchymových buňkách jater, část ve formě komplexu s transkobalaminem I v plazmě. Denní potřeba je relativně malá, 1 – 2 µg, deficit kobalaminu jako výsledek dietních zvyklostí není obvyklý, snad s výjimkou dlouhodobého striktního vegetariánství. Mechanismy vedoucí k nedostatku vitaminu B₁₂ jsou nastíněny v předchozím odstavci, mezi nejčastější příčiny patří neschopnost tvorby komplexu vitaminu s vnitřním faktorem (abnormální molekula IF, vrozený nedostatek IF, nedostatečná sekrece IF).

Nedostatek tohoto vitaminu u lidí vede k megaloblastické anémii, perniciózní anémii, poruchám metabolismu methioninu, narušení syntézy purinů a pyrimidinů, homocysteinurii, methylmalonové acidurii a různým neurologickým příznakům (zmatenost, zhoršená paměť, deprese aj.), může vést ke hromadění abnormálních lipidů v nervovém systému.

Stanovení kyseliny listové a vitaminu B₁₂

Metodou první volby stanovení folátu a vitaminu B₁₂ budou zřejmě vazebné testy, dostupné na většině imunochemických analyzátorů. Tím se tyto testy staly přístupnými i méně specializovaným pracovištím (v tomto oboru), např. oddělením klinické biochemie.

Metoda ABBOTT: ARCHITECT Active-B12 (Holotranskobalamin); na analyzátoch Architect, chemiluminiscenční detekce, stanovuje se biologicky aktivní forma.

Zdroje vitaminu B₁₂: Maso, hovězí a telecí játra, droždí, vejce, mléčné produkty. Tepelnou úpravou stravy dochází ke značnému snížení původního obsahu tohoto vitaminu.

Doporučené denní dávky

B12, CN - kobalamin	Muži [μg]	Ženy [μg]
<50 let)		2,0
>50 let		2,4
parenterální potřeba /24 h		5,0
<i>Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha</i>		

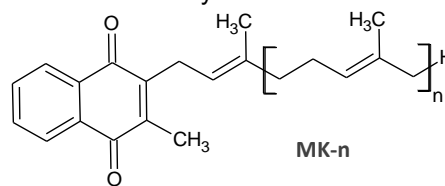
Orientační referenční hodnoty

CN - kobalamin	Muži [nmol/l]	Ženy [nmol/l]
sérum - novorozenci		0,118 – 0,959
sérum - dospělí		0,162 – 0,694
sérum – těhotné ženy [-	<0,125
<i>Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha</i>		

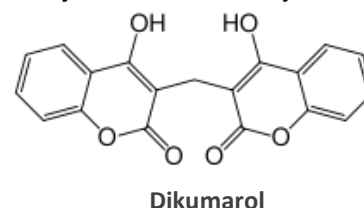
16.4.6. Vitamin K

Látky patřící do této skupiny jsou naftochinony s navázaným postranním řetězcem (srovnej se vzorci vitaminů K na str. 16-1). Jsou to látky rozpustné v tucích, na světle nestabilní. V živočišných tkáních se vyskytuje 7-menachinon (MK-7, forma vitaminu K₂) syntetizovaný bakteriemi tlustého střeva (*E.coli*, *Bacillus fragilis*).

Poznámka pro zvědavé studenty: Vitamin K₁, fylochinon, je syntetizován rostlinami. Menachinon, vitamin K₂, je produkován bakteriemi. Podle počtu opakujících se izoprenových jednotek se dále rozlišují podtypy, většinou značené zkratkou MK (menachinon/vitamin K) a číslicí vyjadřující počty opakování, MK-n. Běžné typy jsou MK-4, MK-7, MK-8 a MK-9. Vitamin K₃, menadiol, je syntetický vitamin, přidávaný do zvířecích krmiv.



Asi 50% potřebného vitaminu K se získává potravou, druhá polovina je získávána z bakteriální produkce. Vstřebává se v tenkém a tlustém střevě. Tento proces vyžaduje přítomnost žluče, pankreatických enzymů a nenarušené vstřebávání tuků. Absorpce se děje lymfou, později je krví rozváděn do jater a dalších tkání. Rostlinný fylochinon (K₁) získaný potravou a menachinon (K₂) bakteriálního původu jsou soustředěny v játrech, kde se omezeně ukládají a kde jsou také metabolizovány, především za vzniku epoxidu. Cyklus vitaminu K probíhá na endoplazmatickém retikulu jater, kdy epoxidové produkty jsou transformovány na chinonovou formu vitaminu K. Tuto reakci inhibují antikoagulační látky typu dikumarolu (*warfarin*). Proto je vitamin K₁ specifickým antidotem orálních antikoagulačních tohoto typu.



Vitamin K₁. Základní funkcí vitaminu K₁ v organismu je účast v koagulačních reakcích krve (název vitaminu je odvozen z německého „Koagulation“). Nedostatek vitaminu K₁ se projevuje sklonem ke krvácení (*petéchie*), které se obtížně zastavuje. Účast vitaminu K₁ v koagulační kaskádě vyplývá z faktu, že je nepostradatelným faktorem při (posttranslační) karboxylaci kyseliny glutamové na kyselinu γ-karboxyglutamovou (*karboxyláza závislá na vitaminu K*). Přesněji se jedná o karboxylaci specifických zbytků (reziduí) kyseliny glutamové. Tato reakce je důležitá u koagulačních faktorů (II, VII, IX a X), u proteinů C a S a u osteokalcinu (popsaná karboxylace umožňuje proteinům vázat vápník).

Vitamin K₂ (jako MK-4) hraje důležitou roli v nekoagulačních dějích (metabolismus a mineralizace kostí, buněčný růst, metabolismus proteinů cévní stěny).

Nedostatek vitaminu K

Petéchie (drobné krvavé výrony do kůže velikosti špendlíku), sklon ke krvácení, hemoragické (charakterizované krvácením) onemocnění kojenců. Nedostatek (deficit) vitaminu K je poměrně vzácný.

Příčinou nedostatku mohou být lékové interakce, příjem vysokých dávek vitaminů A a E a jaterní onemocnění. Příčinou dlouhodobého deficitu mohou být jaterní onemocnění, chronické poruchy funkce slinivky, sprue (syndrom malabsorpce, onemocnění charakterizované poruchou vstřebávání v tenkém střevě, často s následky těžké poruchy výživy), choroby žlučníku, cholestáza, celiakie, zánětlivá střevní onemocnění, střevní krvácení, syndrom krátkého střeva, sterilizace střeva antibiotiky.

Doporučené denní dávky:

K, vitamin	Muži [mg]	Ženy [mg]
<50 let)	0,080	0,065
>50 let	0,060	0,060
těhotné ženy	-	0,060
parenterální potřeba /24 h	0,150	0,150
<i>Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha</i>		

Orientační referenční hodnoty

K, vitamin	Muži [nmol/l]	Ženy [nmol/l]
sérum	0,3 – 2,64	
<i>Zdroj: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, SEKK, Katedra klinické biochemie IPVZ Praha</i>		

Stanovení vitaminu K

Vitamin K lze stanovit metodou HPLC.

Zdroje vitaminu K: Zelenina, zvl. s tmavě zelenými listy, některé oleje (fylochinony), sýry a jogurty (fermentované potraviny) a játra přežvýkavců jsou zdrojem menachinonů.

Doporučená literatura k hlubšímu studiu: Kolektiv autorů, Vitaminy a stopové prvky 2007, ČSKB ČLS JEP a SEKK spol. s r.o., Pardubice 2007, ISBN 978-80-254-1171-1 (což je i literatura, ze které bylo v této kapitole převážně čerpáno).

16.5. Stručné shrnutí kapitoly

- Vitaminy jsou organické látky, které člověk nedovede vytvořit a musí je přijímat v potravě, a které jsou ve stopových množstvích (mikrogramy až miligramy/den) nezbytné pro normální zdraví, růst a reprodukci.
- Vitaminy se většinou rozdělují do dvou velkých skupin, podle rozpustnosti, na vitaminy rozpustné v tucích (A, D, E, K) a na vitaminy rozpustné ve vodě (skupina B a vitamin C).
- Vitaminy jsou potřebné pro výstavbu koenzymů, slouží při katalýze biochemických reakcí.
- Nedostatek vitamínu vede k charakteristickým chorobám, či poruchám z nedostatku (hypovitaminóza, avitaminóza), což se neprojevuje všeobecným poškozením, ale specifickým onemocněním či poruchou.
- Příčinami nedostatku vitamínu jsou nedostatečný příjem v potravě, porucha absorpce v GIT, porucha utilizace vitamínu, zvýšená potřeba vitamínu, zvýšená degradace, inaktivace či exkrece vitamínu.
- Hypervitaminóza, vysoká koncentrace určitého vitamínu, může nastat při jeho zvýšeném příjmu v dietě a může být pro organismus nebezpečná. Platí to zejména pro vitaminy rozpustné v tucích, které mohou být akumulovány v tukových tkáních.
- Vitaminy lze stanovovat v biologickém materiálu
 - přímo
 - měřením koncentrace typického metabolitu, měřením koncentrace typického metabolitu po zátěži substrátem, měřením aktivity vhodného enzymu po dodání koenzymu, stanovením produktu vytvořeného působením vitamínu
 - saturačními testy.
- Vitaminy se většinou stanovují na specializovaných pracovištích
- Techniky používané pro stanovení jednotlivých vitaminů jsou chromatografie (GC, LC, HPLC) s ionizačním detektorem (FID), s detekcí pomocí hmotové spektrometrie (MS) či s UV detekcí. Spektrofotometrie, fotometrie, fluorimetrie, ligandové techniky.
- Z jednotlivých vitaminů byly probrány vitamin A, D, K, C, kyselina listová a B12
 - *Vitamin A* je nezbytný pro vidění, účastní se výstavby rodopsinu; stanovuje se chromatograficky
 - *Vitamin D* je do organismu přiváděn jako živočišný *cholecalciferol (vitamin D₃)* nebo jako rostlinný *ergocalciferol (vitamin D₂)*. V organismu se tvoří s cholesterolem, konečná přeměna probíhá v kůži, po ozáření UV paprsky. Je důležitý pro metabolismus vápníku. Jedná se spíše o hormon než o vitamin. Moderní názory zdůrazňují význam údajně nedoceneného vitamínu D a korigují názory na jeho toxicitu. Stanovit lze vazebnými testy.
 - *Vitamin K*, je souhrnný název pro skupinu látek s obdobnou stavbou molekuly. Pro koagulační děje v organismu je důležitý vitamin K1, syntetizovaný rostlinami. Pro nekoagulační děje je důležitý vitamin K2, syntetizovaný bakteriemi. Nedostatek vitamínu K vede ke krvácivým stavům. Vitamin K se stanovuje metodou HPLC.
 - *Vitamin C* má v organismu velmi rozmanité působení a zúčastňuje se mnoha dějů. Těžký deficit vede ke skorbutu. Subklinický deficit se prokazuje saturačním testem. Přímo lze stanovit titračně nebo fotometricky.
 - *Kyselina listová*, je souhrnný název pro skupinu fyziologicky aktivních látek, odvozených od kyseliny pterové; patří mezi koenzymy transferáz, její nedostatek vede k různým projevům, velmi závažný je dopad na plod při jejím nedostatku v těhotenství (defekty neurální trubice). Stanovit lze vazebným testem.
 - *Vitamin B12* odkazuje na skupinu fyziologicky aktivních látek, které se chemicky nazývají *kobalaminy* či *korinoidy*. Jejich struktura obsahuje *pyrolová* jádra seskupená kolem centrálního atomu kobaltu. Toto uskupení připomínající *hem* se nazývá *korin*, sloučeniny s korinovým jádrem se nazývají *korinoidy*. Vitamin B12 (jeho různé formy) se účastní metabolismu mastných kyselin a alifatických aminokyselin, tvorby methioninu aj. Vstřebávání B12 je složité, uplatňují se při něm kyselina chlorovodíková, pepsin, haptokorin, pankreatická proteáza, vnitřní faktor a transkobalamin. Možnosti poruch vstřebávání jsou značné. Nedostatek B12 vede k různorodým poruchám od anémií přes narušení syntézy purinů a pyrimidinů až k různým neurologickým příznakům. Stanovení B12 je možné ligandovou technikou.

16.6. Kontrolní otázky

1. Jak jsou definovány vitaminy?
2. Platí tato definice pro všechny látky, které nazýváme vitaminy?
3. Jaké jsou metody měření hladin vitaminů?
4. Existují metody, kdy nezjistíme přesně hladinu, ale přesto víme zda se jedná o dostatečnou saturaci vitaminem?
5. Jaká je úloha vitaminů v organismu?
6. Jaké jsou názory na vitamin D? Je to pouhý vitamin?
7. Co jsou to korinoidy a co o nich víte?
8. Klinické projevy změn hladin vitaminů.

OBSAH:

Kapitola 16 Vitaminy	16-1
16.1. Rozdělení vitaminů	16-1
16.2. Úloha vitaminů v organismu	16-3
16.3. Způsoby stanovení vitaminů.....	16-4
Přímé měření koncentrace vitamínu	16-4
Měření sérové či močové koncentrace typického metabolitu	16-4
Měření koncentrace hromadícího se metabolitu po zátěži substrátem	16-4
Zvýšení aktivity vhodného enzymu po dodání koenzymu	16-4
Saturační testy	16-4
Stanovení produktu vytvořeného působením vitamínu	16-4
16.4. Metody stanovení některých konkrétních vitaminů	16-4
16.4.1. Vitamin A.....	16-4
16.4.2. Vitamin D (D3).....	16-5
16.4.3. Vitamin C.....	16-8
16.4.4. Kyselina listová	16-9
16.4.5. Vitamin B12.....	16-10
16.4.6. Vitamin K.....	16-12
16.5. Stručné shrnutí kapitoly.....	16-14
16.6. Kontrolní otázky.....	16-15