

## Kapitola 12 Železo a stopové prvky

Stavby organismu se zúčastňuje celá řada prvků. Jejich účast je různá a podle obsahu se také různě nazývají.

Podíl na celkové hmotnosti organismu	Prvky	Název	Jiný název
1 – 60%	H, C, N, O, P	Stálé primární prvky	Prvky I. řádu
0,05 – 1%	Na, K, Mg, Ca, S, Cl, Fe	Stálé sekundární prvky	Prvky II. řádu
< 0,05%	B, Sn, F, Cr, I, Co, Si, Mn, Cu, Mo, Ni, Se, V, Zn	Stopové prvky invariabilní	Prvky III. řádu, „mikroprvky“
< 0,05%	Li, Rb, Cs, Ag, Be, Sr, Ba, Cd, Al, Ti, Ge, Pb, As	Stopové prvky variabilní	Prvky III. řádu, „mikroprvky“
	Hg, Tl, Bi, Au ...	Prvky kontaminující	

V této kapitole se zmíníme o železe a ze stopových prvků pak o *mědi, zinku, křemíku, selenu, chromu, kobaltu, manganu, molybdenu, fluóru a jódu*. V tabulce výš jsou zdůrazněny tučným písmem.

### 12.1. Železo

Železo je jedním z fyziologicky nejvýznamnějších prvků. V organismu dospělého člověka se nacházejí přibližně 3 – 4 g železa. Železo hraje důležitou roli v řadě redoxních reakcí probíhajících v organismu. Všeobecně známá je role železa (ve formě iontu  $Fe^{2+}$ ) v hemu, který je součástí hemoglobinu a myoglobinu, cytochromů, cytochromoxidázy, peroxidázy, katalázy a jiných enzymů. V dýchacím řetězci se ve formě *FeS-proteinu* účastní přenosu elektronů. Navzdory nadbytku Fe v přírodě a v erythrocytech, připomíná jeho metabolismus stopových prvků. V plasmě a ECT i buňkách se nachází velmi málo volného Fe, organismus se chrání před jeho toxickými účinky. Současně si ale organismus i chrání obsah železa, denně dojde ke ztrátě pouze asi jedné tisícině obsahu Fe a ostatní železo se „recykluje“.

#### 12.1.1. Rozdělení železa v organismu

Železo je v organismu rozděleno následujícím způsobem (zaujímá určitou oblast či "oddělení" či „část“, anglicky „compartement“):

- v hemoglobinu,
- v myoglobinu,
- navázáno na transportní bílkovinu *apotransferin* (= *transferin*),
- v zásobní formě (*ferritin* + *hemosiderin*) = „sklad“, v tkáních,
- v hypotetickém tzv. „labilním poolu“.

**Vstřebávání železa:** Železo je do střevních buněk (enterocytů v horní části tenkého střeva, duodenu) přijímáno jako dvojmocné, takže trojmocné železo, kterého je v potravě přebytek, je před resorpcí nutno zredukovat na dvojmocné pomocí *Fe(III)-reduktázy* (předpokládá se, že tuto aktivitu vykazuje duodenální cytochrom B, Dcytb) v kartáčovém lemu enterocytů (navíc zde působí příznivý vliv různých kyselin, např. žlučových HCL, askorbové, ale také jablečné z potraviny ap.). Pokud se tak nestane, železo se nevstřebá (!). Vstup se děje prostřednictvím *transportéru pro  $Me^{2+}$* , tzv. DMT-1 (*divalent metal transportér* – přenašeče pro dvojmocné kovy). Mechanismus vstřebávání hemového železa není ještě dostatečně prozkoumán, pravděpodobně se ho účastní *Haem Carrier Protein 1 (HCP1)*.

**DMT1** je znám také jako NRAMP2, tj. *natural resistance-associated macrophage protein 2*, a také jako DCT1, tj. *divalent cation transporter 1*.

**Do krevního oběhu se dostává železo** z enterocytu pomocí *feroportinu-1* (viz odst. 12.1.2.).

S feroportinem (velmi pravděpodobně) spolupracuje *hephaestin (HEPH)* na mědi závislá feroxidáza, klíčový protein na průsečíku metabolismu železa a mědi, který mění dvojmocné železo na trojmocné (srovnej s reakcí katalyzovanou ceruloplasminem na str. 12-2 a v kapitole 13, na str. 13-8). Feroportin i hephaestin jsou situovány na basolaterální membráně enterocytu (viz obr. na str. 12-4).

*vyslov* [í'festin]

**Asi 75% celkového obsahu železa v organismu se nachází v hemoglobinu**, což představuje 2,5 až 3 g Fe, neboli 44,8 až 53,8  $\mu\text{mol}$  Fe. Ve váhovém objemu hemoglobinu je asi 0,34% železa.

**Myoglobin** obsahuje celkově přibližně 130 mg Fe, tj. 2,33  $\mu\text{mol}$  Fe. Myoglobin velmi připomíná podjednotku hemoglobinu, netvoří však tetramery a není ovlivňován koncentrací 2,3-DPG (2,3-difosfoglycerát).

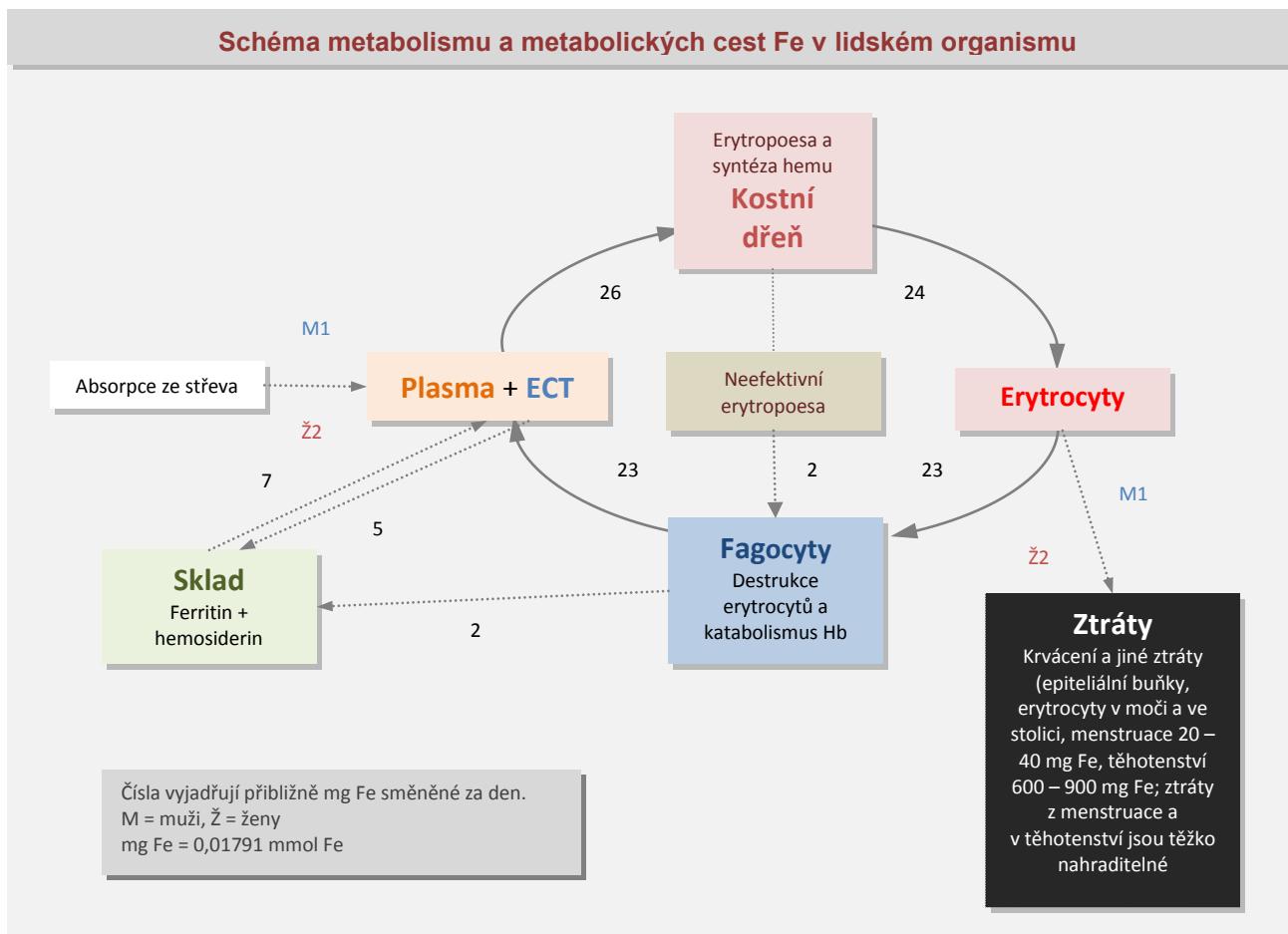
**Transport železa z orgánu do orgánu zprostředkovává plasmatický transportér apotransferin**,  $\beta_1$ -globulin o molekulové hmotnosti 79 600, s dvěma vazebnými místy pro atomy železa na jedné molekule. Každé místo váže jeden ion  $\text{Fe}^{3+}$  spolu s  $\text{HCO}_3^-$ . Po navázání  $\text{Fe}^{3+}$  má výsledný komplex slabě růžovou barvu. Tento komplex *apotransferin-Fe<sup>3+</sup>* se nazývá *transferin* (TRF), nebo také *siderofilin* (*siderophyllin*). Nachází se i v buněčném cytosolu, tzn., že působí také jako intracelulární přenašeč.

**Referenční hodnoty TRF** v plazmě jsou 1,8 – 4,0 g/l.

Pokud není železo v trojmocném stavu, jako je tomu např. u hemového železa z rozpadlých erytrocytů pohlceného makrofágy, převede se před vazbou na apotransferin pomocí *ceruloplasmínu* (bílkovina s oxidázovou aktivitou) na trojmocné a teprve potom se může na apotransferin navázat:



Při překročení vazebné kapacity transferinu se v plazmě vyskytuje železo volné, které je *toxické*. Transferin vstupuje do buňky prostřednictvím transferinových receptorů (TfR), procesem zvaným *receptorem zprostředkovaná endocytóza* (velmi dobře znázorněno na videu – odkaz pod obrázkem na str. 8-12). Při tomto ději dojde opět k redukci železa na dvojmocné a jeho uvolnění (*kanálem DMT-1*) z endosomu do buňky (*endosom* = buněčná organela, do níž putují endocytotické váčky).



Video o metabolismu železa je možno nalézt [zde](#).

**Hlavní sloučeninou při skladování železa je ferritin**, sférická molekula skládající se ze skořápky *apoferritinu* a vnitřního krystalického jádra s obsahem Fe. *Apoferitin* je složen z 24 podjednotek (monomerů).

**Pro zvědavé studenty.** Podjednotky mají průměr asi 13 nm; vnitřního krystalického jádra je složeno z oxyhydroxidu železitého  $(\text{FeOOH})_x$ , dutina ve skořápce má průměr asi 7 nm. Skořápkou do dutiny vede 6 pórů o průměru 0,7 - 1,0 nm, kudy může dovnitř difundovat,  $\text{Fe}^{2+}$ , kyselina askorbová a FMN. Konec pórů = enzymatická vazba Fe. Při difúzi dvou  $\text{Fe}^{2+}$  dojde k tvorbě  $\text{FeOOH}$  a jeho navázání na povrch jádra, které se obvykle skládá z maximálně 2000 atomů Fe (i méně), i když maximálně může být v jádře až 4000

atomů Fe. Uvolnění Fe z ferritinu je asi neenzymatické a může obsahovat redukci redukovaným FMN či jinými redukčními činidly. Uvolněné Fe<sup>2+</sup> difunduje pórem ve skořápce ferritinu. Oxidace i redukce jsou rychlé děje, *ferritin je tedy jak pastí na Fe, tak zdrojem Fe.* (Podle Tietz Textbook of Clinical Chemistry)

Ferritin se nachází téměř ve všech somatických buňkách. V hepatocytech v játrech, v systému makrofágů kostní dřeni a jiných orgánů slouží ferritin jako *rezerva železa* pro hemoglobin a jiné hemové proteiny. Jako zásobní ferritin se ukládá železo v případě, že okamžitě po vstřebání nedojde k syntéze hemu. Při velké nabídce železa se tvoří *hemosiderin* (viz dále). Celková zásoba železa (především ve formě ferritinu) je u zdravých jedinců asi 800 mg (14,3 μmol) u mužů a 0 - 200 mg (0 - 3,58 μmol) u žen

Poškození jater (např. infekčním zánětem jater) vede k uvolnění relativně velkého množství ferritinu do plasmy (!), protože se ferritin chová jako reaktant akutní fáze (viz kapitola 16, *Biomarkery*). Nutno brát v potaz při hodnocení stanovených hodnot.

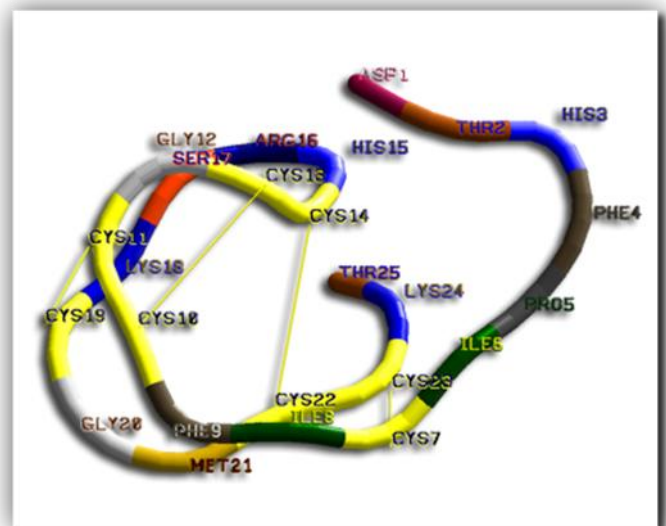
**Druhou zásobní formou železa je hemosiderin**, agregovaný, částečně deproteinizovaný ferritin, na rozdíl od ferritinu *nerozpusťný ve vodných roztocích* (původně jediný vzájemný rozlišovací znak). Železo se z hemosiderinu uvolňuje pouze pomalu, pravděpodobně proto, že se hemosiderin nachází ve velkých agregátech a má tak mnohem menší poměr povrch/objem. Podobně jako ferritin i hemosiderin se převážně nachází v buňkách jater, sleziny a kostní dřeni.

**Tkáňové železo je obsaženo v enzymech a koenzymech.** Mnohé buněčné enzymy a koenzymy vyžadují železo buď jako součást molekuly, nebo jako kofaktor. Zejména to jsou *peroxidázy a cytochromy*, železo však vyžaduje také asi polovina enzymů z Krebsova cyklu. Toto železo, obsažené v enzymech a koenzymech nacházejících se ve všech jaderných somatických buňkách, se nazývá *kompartiment tkáňového železa (tissue iron compartment)* či stručně *tkáňové železo*. Tkáňového železa je asi 8 mg (0,14 μmol), malé množství, ale metabolicky kritické (rozhodující). Při deficitu železa mizí tkáňové železo jako první. (**Compartment** = prostor, oddělení, příhrádka).

**Hypotetický labilní pool** obsahuje asi 80 mg Fe, tj. 1,43 μmol Fe. Anatomická lokalizace této části není jasná: je to koncept vycházející z kinetických měření s radioaktivně značeným železem. Má se za to, že se jedná buď o železo v lymfatickém oběhu, nebo o cytoplasmatické skladovací sloučeniny železa rozdílné od ferritinu, které se nacházejí ve většině buněk, a které rychle vychytávají či uvolňují železo.

### 12.1.2. Regulace hladiny železa v organismu

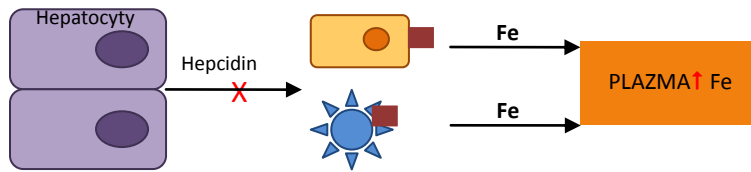
Hlavním regulátorem metabolismu železa v organismu je *hepcidin*, peptidový hormon složený z 25 aminokyselin. Hecpidin je signální molekula, která zajišťuje komunikaci mezi místy, kde se Fe schraňuje, střeďá, jako jsou hepatocyty a makrofágy a místy, kde se Fe buď vstřebává (enterocyty), spotřebovává (erytroidní buňky), anebo recykluje a uvolňuje do krevního oběhu (makrofágy). Cílovou strukturou působení hepcidinu je *feroportin*, což je hlavní bílkovina zajišťující *export Fe z buněk*. Hecpidin je **negativní regulátor** uvolňování železa z enterocytů duodena, z makrofágů a z hepatocytů: zvýšení koncentrace hepcidinu vede ve zvýšené míře k jeho vazbě na *feroportin*. Po navázání hepcidinu se *feroportin* zanoří do buňky, kde dojde k jeho rozkladu. Příslušná buňka tak *ztrácí schopnost exportu Fe do plazmy*. Výsledkem zvýšení hladiny Fe je tedy *snížení jeho hladiny v plazmě a zadržení železa v makrofázích a enterocytech*.



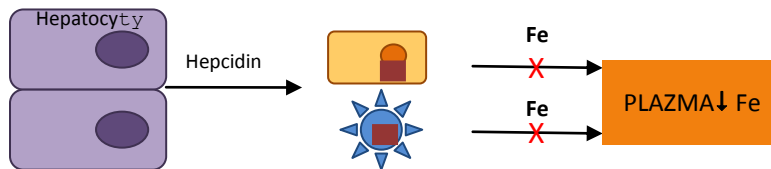
Hecpidin

Vzhledem k omezeným možnostem vylučování železa z organismu je hlavním mechanismem udržování homeostázy Fe *kontrola jeho příjmu/absorpce v enterocytech*, regulovaná právě popsaným mechanismem účinku hepcidinu. Přitom syntéza hepcidinu je regulována signály reagujícími na zánět, aktivitu erytropoezy, hladinu Fe a jeho zásoby v organismu a na tenzi kyslíku.

**Nedostatek Fe; Akcelerovaná erythropoesa; Hypoxie**



**Nadbytek Fe; Zánět**



**Nedostatek Fe, hypoxie a zvýšení erythropoetické aktivity se zvýšenou potřebou přísunu Fe produkcí hepcidinu tlumí, zánět a zvýšená hladina Fe v krvi či jeho zvýšené zásoby v organismu produkcí hepcidinu stimuluji.**

Konkrétní faktory potlačující produkci hepcidinu však dosud nebyly kompletně popsány. Změny v hladině hepcidinu mohou být jak vlastní příčinou, tak následkem změn, které vedu k anémii a deficitu Fe v organismu nebo naopak k jeho akumulaci v buňkách a tkáních s rozvojem přetížení organismu železem.

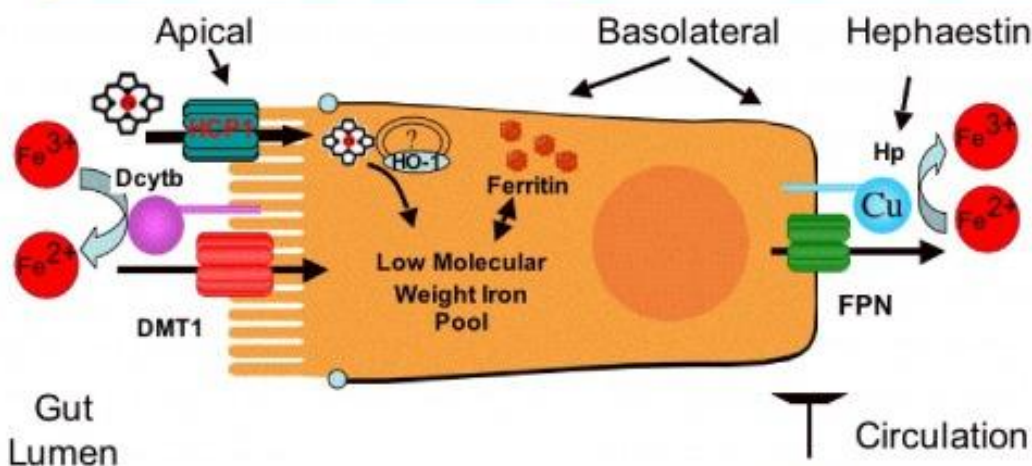
**Regulace systémové homeostázy Fe hepcidinem**

(Podle Kolektiv autorů: Význam stanovení hladiny hepcidinu v diagnostice vybraných typů anémií dětském věku; *Transfuzní Hematol. Dnes*, 18,2012)

*Poznámka:* O stanovení hepcidinu metodou ELISA si můžete počíst [zde](#), případně [zde](#).

Pěkný obrázek **transportu železa přes enterocyt**, lze nalézt na stránkách Vulpe Lab University of California Berkeley (<http://www.vulpelab.net/>)

**Iron Transport through the Enterocyte**



**Vysvětlivky:**

HC P1 = Haem (Heme) Carrier Protein 1 (protein 1 přenášející hem)  
 FPN = ferroportin; HO-1 = Haem (Heme) Oxygenase (viz kap. 9, str. 9-6)  
 Gut = střevní; Apical = apikální, vrcholový

Hepcidin



### 12.1.3. Klinické poznámky

V organismu může být jak nadbytek, tak nedostatek železa, hovoříme o **poruchách metabolismu Fe**.

#### ↓ Nedostatek Fe

Patří k nejrozšířenějším poruchám, vyskytuje se zvláště u dětí, mladých žen a starých osob. U dětí je příčinou především dieta (karence, tj. nedostatek v potravě) a zvýšená potřeba železa (růst). U dospělých jsou příčinou chronické ztráty železa (menstruace), špatné vstřebávání při nemocech trávicího ústrojí a zvýšená potřeba (těhotenství, kojení). Další příčinou nedostatku železa je krvácení, ať již zjevné nebo skryté (okultní, často první znak přítomnosti kolorektálního karcinomu). Mezi další známé příčiny ztráty železa patří jícnové varixy, hemoroidy, polypy apod., vyvolávající příčinou krvácení může být i nadbytečný příjem některých léků (kyselina acetylsalicylová, nesteroidní antirevmatika, antikoagulancia aj.). Při nedostatku železa je omezena krvetvorba, dochází ke snížené tvorbě erytrocytů, ty jsou menší (mikrocyty) a jsou hypochromní (obsahují méně hemoglobinu). Vytváří se *sideropenická anémie*, tj. anémie z nedostatku železa. Protože železo ke svému fungování potřebuje většina buněk, mohou být projevy z nedostatku železa patrné i na kůži, nehtech a sliznicích.

Obvykle se pro stanovení nedostatku železa používají hodnoty sérového železa a celkové vazebné kapacity pro železo.

(Před nástupem anémie dochází k poklesu sérového železa, k poklesu sérového ferritinu a vzrůstu hodnot transferinu, zvyšuje se volná vazebná kapacita, tj. snižuje se saturace transferinu).

Sérový ferritin má pro tuto poruchu vyšší výpovědní hodnotu než sérové železo.

Jako pomůcka se také používá stanovení koncentrace volného protoporphyrinu erytrocytů (*FEP = free erythrocyte protoporphyrin*; viz také poznámku na str. 24), kde se nacházejí zvýšené hodnoty u pacientů s nedostatkem železa (u *thalassemia minor* jsou normální hodnoty). Velmi spolehlivou metodou pro diagnostiku nedostatku Fe je *cytochemické stanovení* aspirátu kostní dřevě reakcí s pruskou modří, na průkaz přítomnosti či nepřítomnosti hemosiderinu (mikroskopie). Ale to je spíše metoda hematologická.

#### ↑ Nadbytek Fe

Nadbytek železa může mít pro organismus fatální následky. Díky zvýšené tvorbě kyslíkových radikálů dochází k poškození buněk různých tkání. K vážným újmám mohou dojít zejména játra (cirhóza, hepatocelulární karcinom), pankreas (diabetes mellitus jako následek zničení Langerhansových ostrůvků), myokard (kardiomyopatie až se srdečním selháním), klouby (bolesti) a také endokrinní žlázy (různé poruchy). Příčinami přetížení organismu železem jsou nadbytečný přívod železa perorální nebo parenterální cestou, mnohačetné transfuze a genetické onemocnění *hereditární hemochromatóza*.

**Hereditární hemochromatóza** (HH) je klasická choroba z nadbytku železa, kde příčinou je vrozená porucha ve vstřebávání železa. Vlastní příčinou je *porucha regulace syntézy hepcidinu*, kterého se v játrech tvoří méně a v duodenu se tak vstřebává podstatně více železa než za normálních okolností. Existuje několik typů hereditární hemochromatózy rozlišených podle zmutované regulační molekuly: HH 1. typu je nejobvyklejší, zde dochází k mutaci molekuly proteinu HFE (*human hemochromatosis protein*), nejzávažnější je juvenilní HH čili HH 2. typu, kdy je zmutován tzv. *hemojuvelin* (membránový rozpustný protein; zkratky HVI, HFE2, RGMc) případně je zmutován (velmi vzácně) samotný hepcidin.

Je důležité chorobu diagnostikovat, jinak vede během několika let ke smrti. Léčba spočívá v odebrání asi 500 ml krve jednou či dvakrát týdně do celkového odebraného objemu asi 50 l.

**Hemochromatóza** je pojem označující původně nadbytek Fe s poškozením příslušných orgánů, což se projevuje buněčnou degenerací a fibrózou. Dnes se tímto pojmem označuje stav s nadbytkem Fe bez ohledu na to, zda existují či neexistují důkazy o tkáňovém poškození.

**Hemosideróza** je pojem označující nadbytek Fe bez poškození tkání.

**Sideroblastická anémie** - skupina chorob často z neznámé příčiny, se zmoženým výskytem sideroblastů. Železo se hromadí v erytroidních prekurzorech.

#### Metody používané ke stanovení nadbytku železa

- Stanovení *koncentrace sérového železa (S-Fe) a hodnoty celkové vazebné kapacity pro železo (S-TIBC, S-CVK)*. Podle použité metody je u osob s nadbytkem železa koncentrace S-Fe obvykle větší než 27  $\mu\text{mol/l}$ . Význam stanovení sérového železa a celkové vazebné kapacity je v podstatě pouze ve screeningu chorob s nadbytkem železa a v potvrzení a monitorování akutní otravy železem u dětí.
- Saturace transferrinu přesahující 60% rovněž většinou svědčí o nadbytku Fe. V pokročilých stádiích nadbytku Fe přesahuje saturace transferrinu 90%.

FEP test (*free erythrocyte protoporphyrin test*; viz výš) se při diagnostikování nadbytku železa nedá použít. Sérový ferritin (S-ferritin) je necitlivý pro stanovení raných stádií nadbytku Fe..

**Pro zvidavé studenty: Interpretace nálezů sérového železa (S-Fe)**

S-Fe představuje  $Fe^{3+}$  vázané na transferrin, neobsahuje Fe ve volném hemoglobinu v séru.

↓ **Pokles S-Fe:** u většiny, ne však u všech, anemií z nedostatku Fe, a u chronických zánětlivých chorob, jako jsou akutní infekce, imunizace a infarkt myokardu (pokles koncentrace sérového železa je vyvolán hepcidinem, který reaguje na zánět jako pozitivní reaktant akutní fáze a jeho zvýšené množství inhibuje resorpci železa ve střevě a uvolňování železa z makrofágů; to následně vede právě k poklesu S-Fe a k poklesu koncentrace transferinu; koncentrace ferritinu, jako pozitivního reaktantu akutní fáze, se zvyšuje; stav charakteristický pro tzv. *anémii chronických chorob*; železo je nezbytné i pro bakterie, pokles sérového železa zabraňuje bakteriím v množení, je to tedy jeden z obranných mechanismů organismu).

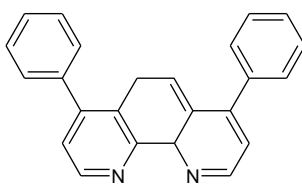
Markantní pokles je u pacientů začínajících reagovat na specifickou hematologickou léčbu anemií z jiných příčin, např. na léčení perniciosní anémie vitamínem B12. Akutní či nedávná hemorrhagie, včetně dárčovství krve, rovněž vedou k poklesu S-Fe. Dále: během menstruace. Hormonální kontraceptiva zvyšují hladinu S-Fe, při zastavení antikoncepce však dojde až k 30% poklesu S-Fe (uterinní krvácení).

↑ **Zvýšení S-Fe:** u chorob se zvýšeným vstřebáváním Fe - hemochromatosa, akutní otrava železem u dětí - a u orální či parenterální medikace železa nebo u akutní hepatitidy (tableta 0,3 g síranu železnatého požitá dospělým člověkem může zvýšit hladinu S-Fe o 50 - 90  $\mu\text{mol/l}$ ). Hodnoty přesahující 35  $\mu\text{mol/l}$  mohou být pozorovány u žen beroucích kontraceptiva na bázi progesteronu příbuzných látek a dále při kontaminaci stříkačky, či sběrné nádoby.

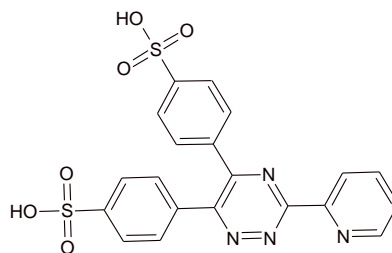
**12.1.4. Metody stanovení sérového železa (S-Fe)**

1. **Atomová absorpční spektrofotometrie.** Železo se stanovuje v supernatantu po deproteinaci séra (odstranění hemoglobinu!)
2. **Fotometrické stanovení S-Fe.** Železo se uvolní z transferrinu snížením pH séra, zredukuje se z  $Fe^{3+}$  na  $Fe^{2+}$  a pak naváže do komplexu s *chromogenem*, který obsahuje reaktivní skupinu [=N-C-C-N=]. (Stejná struktura jak u známého antikoagulans *EDTA*). Železo je vázáno chelátovou vazbou mezi dvěma dusíkovými atomy. Komplex [*Fe-chromogen*] má extrémně vysokou absorpenci, která je přímo úměrná koncentraci.

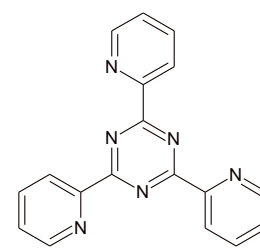
Výjimku ve struktuře tvoří chromogen *Chromazurol B*, který neobsahuje dusík. Do této reakce ale vstupuje *cetyltrimethyl ammonium bromid (CTMA)*.

**Chromogeny**

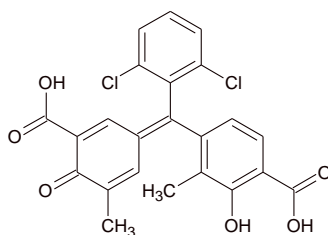
Bathofenanthrolin



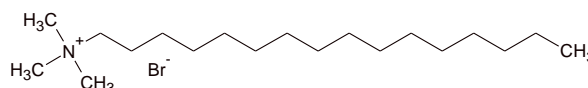
Ferrozin, PST



Tripyridyl triazin, TPZT



Chromazurol B



CTMA

**Diagnostické soupravy Erba Lachema s.r.o. :**

**Železo** (Fe 70), s bathofenantrolinem, deproteinace séra (roztokem s kyselinou chlorovodíkovou, trichloroctovou a thioglykolovou), červeně zbarvený komplex, fotometrie při 535 (510 – 550) nm; velká spotřeba séra (1 ml) nelze zpracovávat hemolytická séra. Normální hodnoty touto metodou: muži 14 – 26  $\mu\text{mol/l}$ , ženy 11 – 22  $\mu\text{mol/l}$ .

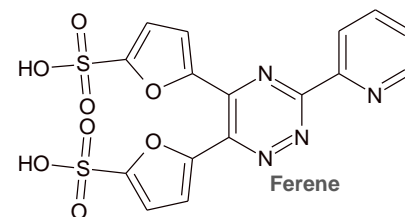
**Železo PST** (Fe 100 PST), s ferrozinem, fialově zbarvený komplex, fotometrie při 540 – 570 nm, nedeproteinuje se, metoda je vhodná k automatizaci, lze používat i manuálně

**Železo liquid 200** (Fe L 200), s Ferene, fotometrie při 623, 620 až 640 nm, metoda určena k automatizovanému provozu

**Diagnostické soupravy jiných firem:** např.

**Železo 400**, SKALAB Svitavy, s Ferene S a kyselinou askorbovou, fotometrie při 580 nm, určeno pro manuální i automatizovaný provoz

**Serum Iron and TIBC**, „Diapack“, Dialab, stejný princip jako Železo 400 aj.

**12.1.5. Transferrin**

Sérový transferrin slouží, kromě své transportní funkce, jako *vazebná rezerva pro železo*, neboť za normálních okolností je obsazena pouze asi 1/3 jeho vazebných míst. Tato rezerva se nazývá *nesaturovaná vazebná kapacita železa UIBC (unsaturated iron binding capacity)* a je pro organismus velmi důležitá, neboť, jak již bylo uvedeno, volné železo je toxické. Asi přesnější by bylo definovat „... kapacita pro železo“ nebo „... železo vázající kapacita“. Celková vazebná kapacita (TIBC) je stanovení *maximální koncentrace železa, kterou mohou navázat sérové proteiny*, principiálně transferrin. S-TIBC kolísá podle poruch metabolismu železa. Celková vazebná kapacita je součet sérového železa (S-Fe, tj. železa již na bílkoviny navázaného) a volné vazebné kapacity (UIBC), jak je znázorněno na schématu:

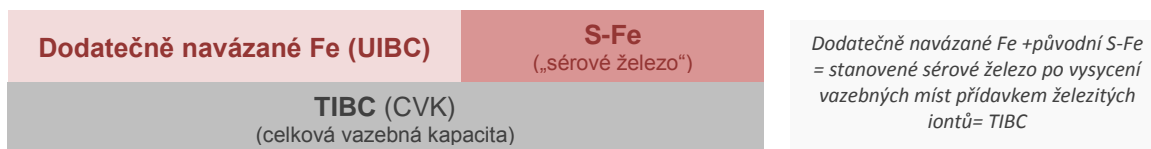
**12.1.5.1. Stanovení celkové (TIBC) a volné (UIBC) vazebné kapacity**

V testovaném vzorku se stanoví sérové železo (tj. navázané železo, S-Fe) a poté se do vzorku přidá dostatečné množství  $\text{Fe}^{3+}$  pro saturaci vazebných míst na bílkovinách, zejména na transferinu. Další postup má minimálně dvě varianty:

- Adsorpcí na uhlíčitán hořečnatý, pomocí ionexu, případně jinými podobnými technikami, se odstraní přebytek železitých iontů, tj. iontů, které se na bílkoviny nenavázaly, protože všechna vazebná místa již byla obsazena. V tomto vzorku s odstraněným přebytkem  $\text{Fe}^{3+}$  se znovu stanoví S-Fe. Výsledek představuje celkovou vazebnou kapacitu (TIBC), protože v předchozím kroku byl vzorek nasycen železem a železo obsadilo všechna vazebná místa:  $\text{S-Fe} = \text{TIBC}$ . Volná kapacita (UIBC) se získá odečtením hodnoty sérového železa z původního vzorku (S-Fe) od TIBC, tj. od výsledku z druhého stanovení (po úpravě vzorku):

$$\text{UIBC} = \text{TIBC} - \text{S-Fe}, \text{ resp. } \text{VVK} = \text{CVK} - \text{S-Fe}$$

*S-Fe = koncentrace sérového železa naměřená před přidáním  $\text{Fe}^{3+}$*



- Stanoví se *úbytek železa z přidaného množství*, což odpovídá vazbě na volnou kapacitu sérových bílkovin, zejména transferinu. V praxi to vypadá tak, že po vysycení volné kapacity ve vzorku roztokem  $\text{Fe}^{3+}$  o známé koncentraci  $C_{\text{Fe}}$ , se ve stejném vzorku znovu stanoví koncentrace železa ( $\text{Fe}_{\text{sat}}$ ). Protože navázané železo nereaguje (bylo by nutno ho z bílkovin oddělit – viz stanovení Fe), představuje tento výsledek zbylou koncentraci železa, tj. toho, které se nenavázalo a zůstalo v roztoku. Odečtením této hodnoty od původní, známé hodnoty  $C_{\text{Fe}}$ , získáme podíl, který se navázal na volnou kapacitu a nemohl tak vstoupit do reakce s činidlem:

**Výpočet UIBC (VVK):**  $\text{UIBC (VVK)} = C_{\text{Fe}} - \text{Fe}_{\text{sat}}$

*kde  $C_{\text{Fe}}$  = koncentrace přidaného Fe,  $\text{Fe}_{\text{sat}}$  = koncentrace Fe naměřená po vysycení transferinu*

### 12.1.5.2. Klinické poznámky

↓**Pokles TIBC:** Celková vazebná kapacita se snižuje při chronických infekcích, zhoubných nádorech, otravě železem, onemocnění ledvin, nefróze, Kwashiorkoru a talasemii.

**Kwashiorkor** je forma závažné proteinově-energetické malnutrice charakterizovaná edémem, dráždivostí, anorexií, ulcerativními (s vředy) dermatózami a zvětšenými játry s tukovými infiltracemi. Vyskytuje se v oblastech s hladomorem a/nebo s nedostatečným přísunem proteinů, ve vyspělém světě vzácná.

↑**Nárůst TIBC:** Běžnými příčinami zvýšení hodnot celkové vazebné kapacity jsou anémie způsobená nedostatkem železa, těhotenství, orální antikoncepce a virová hepatitida.

### 12.1.5.3. Saturace a koncentrace transferinu

Saturaci transferinu lze vypočítat např.:

$$\text{Saturace transferrinu (\%)} = 100 \times \frac{S-Fe}{TIBC}$$

Výpočet koncentrace S-transferinu z hodnot TIBC:

$$S\text{-transferrin (g/l)} = 0,007 \times TIBC$$

Vztah není zcela lineární, je však postačující pro běžnou praxi. Transferin lze stanovit imunochemicky (viz kapitolu 10. *Bílkoviny, Imunochemické metody*).

Hodnoty S-Fe, S-TIBC a saturace transferinu by neměly být používány pro určení nedostatku Fe, ale pouze jako screening pro choroby z chronického nadbytečného příjmu železa a pro potvrzení a monitorování akutní otravy železem u dětí.

#### Praktické poznámky:

- kromě AAS má hemolýza velmi malý vliv na stanovení S-Fe (z hemoglobinu se uvolní pouze malá množství železa) odběr by měl být opakován pouze u markantních hemolýz.
- stanovení TIBC je ovlivněno mnoha faktory (viz tabulka na str. 9-19): kolísání ze dne na den i u zdravých osob, diurnální variace (odpoledne jsou nižší hodnoty než ráno, nejnižší jsou večer - rozdíl 2 až 4  $\mu\text{mol/l}$ ). Mnoho osob s nedostatkem železa má normální hodnoty S-Fe a TIBC. Pro všeobecnou rozšířenost Fe je nutno dbát na čistotu používaných potřeb.

### 12.1.6. Ferritin a význam jeho stanovení

V krvi se nachází ve velmi nízké koncentraci, asi 1% plasmatického Fe (P-Fe) je obsaženo ve ferritinu.

Plazmatický ferritin (P-ferritin) je v rovnováze s tělesnými zásobami a rozdíly v kvantitativním obsahu v zásobovacích kompartmentech se odráží v koncentraci P-ferritinu, jehož koncentrace klesá velmi záhy při rozvoji Fe nedostatečnosti, daleko dřív, než jsou pozorovatelné změny v B-Hb (krevní hemoglobin), velikosti erytrocytů či v S-Fe (sérové Fe) koncentraci. Za normálních podmínek je ferritin produkován retikuloendoteliálními buňkami sleziny, jater a kostní dřeně.

**P(S)-Ferritin je citlivý indikátor nedostatku železa (není-li komplikace konkurenčními chorobami).**

Druhá strana mince: **hladinu S-ferritinu zvyšuje** mnoho chorob (ferritin se chová jako bílkovina akutní fáze – viz kapitola 15, *Biomarkery* - např. chronické infekce, chronické zánětlivé choroby jako revmatoidní artritida nebo ledvinová choroba, velký počet malignit, zvl. lymfomy, leukémie, plicní rakovina a neuroblastom. Kombinace těchto chorob s nedostatkem Fe velmi často vede k normální hladině plasmatického/sérového ferritinu. Vzrůst P/S-ferritinu se objevuje i u pacientů s virovou hepatitidou nebo po toxickém jaterním poškození jako výsledek uvolnění ferritinu z poškozených jaterních buněk. Ke vzrůstu dále dochází u pacientů s hemosiderosou a hemochromatosou. Pro měření raného zvýšení Fe se stanovení S-ferritinu jeví jako méně citlivá metoda, než je stanovení S-Fe, TIBC (CVK), saturace transferinu.

#### 12.1.6.1. Principy stanovení ferritinu

Ferritin se stanovuje pomocí specifických protilátek metodami IRMA, ELISA, případně imunoturbidimetricky. Jedná o imunochemická stanovení na principu reakce *antigen + protilátka = komplex [antigen-protilátka]*. Vniklý komplex *[antigen-protilátka]* se kvantifikuje pomocí různých metod: s využitím radioizotopu = IRMA, enzymu = ELISA, nebo fotometrickým proměřením vzniklého homogenního zákalu = turbidimetrie.

Podrobnosti k metodám viz kapitola 13. *Bílkoviny*.

#### Bývalá souprava reagensů PLIVA-Lachema Diagnostika pro turbidimetrické stanovení ferritinu

FERRITIN Ready-to-use (IC-FER R1x15) (protilátka připravená k přímému použití); FERRITIN Pufr (IC-FER DBUF 1x100)

FERRITIN Standard (FERS 6x1); FERRITIN Control (FERC 1x5)

**Princip metody pro zvidavé studenty:** Ferritin ze vzorku reaguje s monoklonálními protilátkami proti lidskému ferritinu, kterými jsou potaženy částice koloidního zlata. Dochází k aglutinaci a zvýšení absorbance zlatého koloidu (při 600 nm). Zvýšení absorbance je přímo úměrné koncentraci ferritinu ve vzorku.



**Referenční intervaly**

<b>muži</b>	20 - 300 µg/l	<b>Poznámky:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- U různých metod se dosahují různé výsledky - každá laboratoř si musí stanovit vlastní referenční intervaly</li> <li>- Metody mají svá úskalí - vzorky by měly být ředěny na koncentraci 200- 400 µg/l (pokud je koncentrace vyšší) a stanovení zopakováno, duplikáty by se neměly lišit o více jak 7%, jinak zopakovat.</li> </ul>
<b>ženy</b>	15 - 120 µg/l	
<b>novorozenci</b>	25 - 200 µg/l	
<b>1 měsíc</b>	200 - 600 µg/l	
<b>2 - 5 měsíců</b>	50 - 200 µg/l	
<b>6 měs - 15 let</b>	7 - 142 µg/l	

**12.1.7. Podmínky, o nichž je známo, že ovlivňují koncentraci S-Fe, TIBC a saturaci transferrinu**

<b>Podmínky</b>	<b>Efekt</b>
<b>Denní variace</b>	Normální hodnoty ráno, nízké hodnoty uprostřed odpoledne, velmi nízké hodnoty k půlnoci
<b>Menstruační cyklus</b>	Zvýšené hodnoty před menstruací (S-Fe o 10-30%), při menstruaci nízké hodnoty (S-Fe pokles o 10-30%)
<b>Těhotenství</b>	Může dojít ke zvýšení S- Fe následkem zvýšeného progesteronu, může dojít ke snížení S-Fe následkem nedostatku Fe
<b>Příjem Fe (včetně vitaminů obohacených Fe)</b>	Vysoké hodnoty, mohou zvýšit S-Fe o +54 µmol/l a saturaci Trf na 100%
<b>Orální kontraceptiva (progesteron-like)</b>	Mohou zvýšit S-Fe na > 36 µmol/l a saturaci Trf na 75%, rovněž se zvyšuje TIBC (CVK)
<b>Kontaminace stříkačky železem</b>	Vysoké hodnoty, tj. S-Fe > 30 µmol/l, saturace Trf o 75 - 100% (obtěžně dokazatelné)
<b>Injekce dextranu s železem</b>	Velmi vysoké hodnoty; S-Fe může být >180 µmol/l, saturace Trf 100%, pravděpodobně z cirkulujícího železa z dextranu, jev může přetrvávat po několik týdnů
<b>Hepatitis</b>	Velmi vysoké hodnoty; S-Fe může být >180 µmol/l, následkem hyperferritinemie z poškození hepatocytů
<b>Akutní zápal (infekce dýchacích cest, absces, imunizace, infarkt myokardu)</b>	Nízké nebo normální S-Fe; nízká nebo normální saturace Trf
<b>Chronický zápal nebo malignita</b>	Nízké nebo normální S-Fe; nízká nebo normální saturace Trf
<b>Nedostatek Fe</b>	Nízké nebo normální S-Fe; nízká nebo normální saturace Trf; zvýšená TIBC (CVK)
<b>Nadbytek Fe (hemochromatosa)</b>	Vysoké S-Fe; vysoká saturace Trf; normální nebo nízká TIBC



### 12.2.1. Měď

Měď je v krvi vázána na albumin, aminokyselinu histidin (volný i v bílkovinách) a na speciální transportní bílkovinu *transcuprein*. Játra zabudovávají měď do *ceruloplazminu* secernovaného do krve, kde je vázáno 90% plazmatické mědi. Měď se vylučuje žlučí. Nadměrný přívod mědi blokuje vstřebávání zinku a naopak. Denní potřeba mědi je asi 20 µg/kg, bezpečná dávka pro dospělého je 15-30 mg/den.

**Zdrojem mědi** jsou zelená zelenina, ústřice, ryby a vnitřnosti, ořechy, sušené ovoce a čokoláda.

Měď je součástí mnoha enzymů, které hrají významnou roli v metabolismu katecholaminů, při stabilizaci elastinu a kolagenu, v energetickém metabolismu buňky i v antioxidační ochraně organismu. Naopak volné měďnaté ionty jsou schopny, podobně jako železo, katalyzovat vznik volného hydroxylového radikálu.

↓ **Nedostatek mědi.** *Mankesova choroba* - dědičná porucha absorpce mědi stěvním sliznicí. Nedostatek mědi obecně (příčinou může být malnutrice, těžké průjmy, dlouhodobá parenterální výživa bez dodávání mědi) může vést k hypochromní normocytární anémii, poruchám kostí a nedostatečné syntéze kolagenu.

↑ **Přebytek mědi - toxicita mědi.**

*Wilsonova choroba* = hepatolentikulární degenerace<sup>\*)</sup> (dědičné onemocnění). Příčinou je nedostatečná tvorba ceruloplazminu, celková koncentrace mědi v séru je snižena, je však vyšší *volná frakce* mědi, která proniká do jater, mozku (postiženo je mozkové jádro *nukleus lentiformis*) a ledvin a způsobuje cirhózu a neurologické poruchy. Pacienti mají zvýšené vylučování mědi močí.

<sup>\*)</sup>*hepatolentikulární degenerace* – jaterní onemocnění, při němž cirrhosa jater má vliv na mozek, což se projevuje řadou příznaků, mezi jiným velkým třesem; *nucleus lentiformis* – jádro v mozku charakteristicky postižené touto chorobou *Hepatitis*, různé typy *anémii*, *leukémie* apod. - i zde se nacházejí vyšší koncentrace mědi. Akutní intoxikace mědí se projevuje zvracením, průjmy, bolestmi v epigastriu (nadbřišku), může vést k šoku a akutnímu selhání jater a ledvin.

#### Metody stanovení mědi

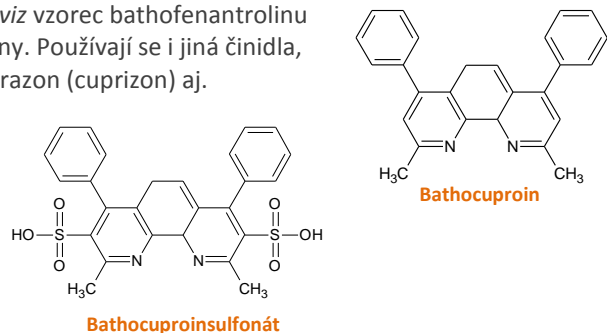
1. **AAS** – základní metoda stanovení
2. **Fotometrické stanovení s bathocuproinem**

V silně kyselém prostředí tvoří bathocuproin s  $\text{Cu}^+$  oranžově zbarvený komplex fotometrovatelný při 480 nm:  $\text{Cu}^+ + \text{bathocuproin} = \text{barevný komplex}$

**Bathocuproin** je látka velmi podobná bathofenantrolinu (viz vzorec bathofenantrolinu na str. 8-12), obsahující navíc dvě  $-\text{CH}_3$  a dvě  $-\text{SO}_3\text{H}$  skupiny. Používají se i jiná činidla, např. diethyldithiokarbamat, bis-cyklohexanon, oxaldehydrazon (cuprizon) aj.

#### Referenční hodnoty

Dospělí: 11 - 22 µmol/l  
Novorozenci: 3 - 10 µmol/l



### 12.2.2. Zinek

Tělo obsahuje asi 2 g zinku. Zinek je součástí mnoha enzymů (např. LD, CA, ALP, AMS, ACE aj.), je součástí superoxidismutázy (základní antioxidační enzym), stabilizuje buněčné membrány, podporuje antioxidační účinek jiných látek. Je potřebný pro buněčnou imunitu, množení buněk, tvorbu vaziva, hojení ran a tvorbu spermií, podporuje absorpci glukózy a usnadňuje vazbu inzulínových receptorů na hepatocyty. Při nedostatku železa vstupuje do *protoporfyrinu* a tvoří tzv. ZPP (*zinc protoporphyrin*), namísto hemu a dále se váže s globinem a tvoří ZPP-globin (analogie hem a hemoglobin). Koncentrace ZPP tak mohou sloužit jako parametr Fe-deficitní erythropoézy.

Zinek je typický *intracelulární* prvek. Při katabolismu se vyplavuje z buněk a koncentrace v séru je úměrná stupni katabolismu. V krvi je vázán na bílkovinu *metalotionein* a na *albumin* (65%). Není skladován v játrech, jeho deficit se proto projevuje poměrně brzo. Močí se vylučuje asi 10% denní exkrece, většina se vylučuje pankreatickou šťávou a žlučí. Denní potřeba u dospělého je 12 - 19 mg, u dětí 50 µg/kg, u novorozenců asi dvojnásobek.

**Zdrojem zinku** je zejména maso, obzvláště zvěřina. Celozrnné obilniny a zelenina sice obsahují dostatek zinku, ale ten je biologicky nedostupný (vegetariánství!), protože jeho absorpci inhibuje vláknina, která je v této stravě rovněž přítomna. Absorpci naopak podporují mořské ryby, játra a vejce.

↑ **Zvýšené množství Zn** je všude tam, kde se tvoří nové buňky (tedy i v nádorové tkáni).

↑↑ **Akutní otrava** - zvracení, průjemy, horečka. Zvýšený příjem Zn snižuje absorpci mědi.

↓ **Nedostatek zinku** může být způsoben dědičným defektem zabraňujícím vstřebávání zinku ve střevě. Častěji se jedná o malnutrici, malabsorpci a nedostatečný přísun při parenterální výživě. Ke zvýšeným ztrátám může docházet při katabolismu, popáleninách, zánětech, větších sportovních výkonech a u některých terapií (penicilaminem aj.). Výsledkem je špatné hojení ran, poruchy růstu, imunity, vypadávání vlasů, poruchy metabolismu cukrů.

#### Metody stanovení zinku

1. AAS – prvořadá metoda stanovení

2. Fotometrické stanovení s 5-Br-PAPS

Zinek tvoří s 2-(5-brom-2-pyridylazo)-5-(N-n-propyl-N-3-sulfopropylamino)fenolem barevný komplex, jehož zbarvení se měří při 560 nm. Metoda není příliš citlivá.

#### Referenční hodnoty:

Dospělí: 10 - 20  $\mu\text{mol/l}$

Novorozenci: 11 - 40  $\mu\text{mol/l}$

### 12.2.3. Křemík

O metabolismu křemíku je toho známo poměrně málo. Předpokládá se, že je pro člověka esenciální a tudíž je vyžadována určitá denní dávka potřeby. Ta se odhaduje na 5 – 20 mg/den, pro sportovce se doporučují dávky vyšší, 30 – 35 mg/den. Z běžné stravy se ho vstřebává asi 50% přítomného obsahu, absorpce je však značně ovlivněna formou sloučeniny (anorganické se vstřebávají asi z 1%, organické asi ze 70%), pH, přítomností vlákniny, hliníku a molybdenu. V krvi křemík není vázán na bílkovinu, vylučuje se močí.

Křemík se považuje za netoxický, vyšší dávky však mohou vést ke vzniku močových kamenů, v kamenolomech pracující lidé mohou být postiženi poškozením plic a silikózou (profesionální nemoc vznikající vdechováním malých částíček obsahujících oxid křemičitý).

Křemík je důležitý pro zesíťování kolagenu a elastinu a pro tvorbu kolagenu. Ovlivňuje složení chrupavek, především jejich kalcifikaci. Ovlivnění tvorby kolagenu je na biochemické úrovni vysvětleno tím, že křemík je potřebný pro aktivitu kostní *prolylhydroxylázy* a *ornitinaminotransferázy*, enzymů, nezbytných pro tvorbu kolagenu. Vyskytuje se v pojivových tkáních (s narůstajícím věkem obsah křemíku v pojivových tkáních klesá), v kostech, šlachách a kůži, v játrech, srdci a ve svalech. Křemík zachovává pevnost a pružnost šlach, kůže, vlasů, nehtů, cév, fibrinu a vnitřních orgánů, ve kterých je přítomen. Má zřejmě i vztah k ateroskleróze, osteoartritidě, hypertenzi a k procesu stárnutí.

**Zdroji křemíku** jsou hlavně potraviny rostlinného původu, vysoký obsah je v přesličky a kopřivy.

↓ **Nedostatek křemíku** vede ke ztrátě elasticity a zeslabení cévní stěny, která se tak stává náchylnější k rozvoji aterosklerózy; negativně ovlivňuje vývoj pohybového aparátu a celkový růst, vznikají abnormality kostí a chrupavek s výrazným snížením kostního kolagenu, zejména u lebky a dlouhých kostí.

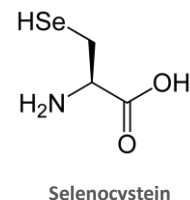
**Metody stanovení křemíku:** Plamenová atomová absorpční spektrometrie (FAAS), atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ETA – AAS)

**Referenční hodnoty:** v séru se nachází (podle zdroje) 0,4/0,3 – 10,0 mg Si/l, tj. 14,2/10,7 – 356  $\mu\text{mol Si/l}$

### 12.2.4. Selen

V organismu se selen neskládá, při zastavení příjmu (cibulová zelenina) rychle vzniká jeho deficit. Vylučuje se převážně močí. Bezpečný příjem je 50 - 200  $\mu\text{g/den}$ . Nejvíce Se je obsaženo v *selenoproteinu-P*, což je určitá zásobní forma, dále je obsažen v některých enzymech (např. *glutathionperoxidáza* - ochrana před oxidačním poškozením, viz výš; *jodotyronin-5-dejodáza* - přeměna  $T_4$  na  $T_3$  viz kapitola 14. *Hormony*, str. 14-13), v proteinech je v podobě *selenocysteinu* (21. *aminokyselina*). Má význam pro správný vývoj spermií a chrání před rozvojem zhoubného bujení.

**Zdroji selenu** jsou cibule, pór, česnek, pažitka, vnitřnosti, vepřové a hovězí maso, některé druhy ořechů; celozrnné obiloviny (ovesné vločky, hnědá rýže). Obecně platí, že obsah selenu v obilovinách je ovlivněn obsahem prvku v půdě.



↓ **Nedostatek selenu.** Dlouhodobý nedostatek vede ke kardiomyopatii a k postižení kosterních svalů (*Keshan disease*, *onemocnění Keshan*; poprvé zjištěno v r. 1907 v oblasti Keshan, Čína; existuje zde však souvislost s viry); degenerativní onemocnění kloubů (Kashin-Beck syndrom; poprvé ho popsal ruský doktor Nikolaj Ivanovič Kašín

v roce 1848, příčiny zůstaly neobjasněny; podobný případ poté popsala v roce 1906 americká (USA) doktorka Melinda A. Becková, odtud název; onemocnění zřejmě souvisí i s nedostatkem jódu a konzumací obilovin kontaminovaných mykotoxiny a pitné vody kontaminované kyselinou fulvinovou<sup>\*)</sup>); **zvýšené riziko karcinogeneze, rozvoje aterosklerózy, poruchy funkce štítné žlázy, snížení imunity.**

<sup>\*)</sup>**Fulvinové kyseliny** (lépe fulvonové kyseliny), patří mezi *huminové látky*, tj. přírodní organické látky vznikající rozkladem převážně rostlinných zbytků. Huminové látky se dělí (podle rozpustnosti) na huminy, humonové kyseliny a fulvonové kyseliny.

**↑↑ Toxicita selenu.** Při dlouhodobě zvýšeném příjmu Se dochází k charakteristickým změnám na nehtech (roztřepané nehty; červené zabarvení) a zubech (červené zabarvení) a gastrointestinálním příznakům. U akutní otravy páchne dech typicky po česneku.

**Metody stanovení selenu:** Atomová absorpční spektrometrie (AAS, v různých provedeních), fluorimetrie

**Referenční hodnoty dospělých:** 1,0 - 1,9 μmol/l

### 12.2.5. Chróm

V krvi je chrom přepravován transferinem a dostává se do všech prokrvených orgánů. Antagonisty vstřebávání chromu jsou zinek a vanad. Nárůst hladiny chromu nastává bezprostředně po vzrůstu koncentrace krevní glukózy a/nebo inzulínu. Tento nárůst je závislý na věku, u starších osob je menší. Poločas vylučování je 3 měsíce. 80% chromu absorbovaného se střeva se vyloučí močí, zbytek žlučí, stolicí a potem. Vylučování močí není reprezentativní pro zhodnocení bilance chromu v organismu.

Denní potřeba u dospělých je asi 50 až 200 μg, u novorozenců 0,20 μg/kg hmotnosti.

**Zdrojem chromu** jsou celozrnné obilniny, brambory, ořechy, zelené fazole, pivovarské kvasnice a mořské produkty.

Při zpracování potravin klesá v nich obsah chromu, takže dieta je obecně na chrom chudá.

Chróm vykazuje různé vlastnosti podle mocenství:

- *trojmocný:* reguluje účinek inzulínu, zvyšuje průnik glukózy do buněk, působí jako antioxidant, snižuje lipoproteinoxidaci lipoproteinů
- *šestimocný:* mutagen, karcinogen, podporuje lipoperoxidaci; šestimocný chrom se vstřebává lépe než trojmocný

**↓ Nedostatek chromu** lze zjistit nejčastěji při diabetu, v těhotenství a ve stáří. Projevy nedostatku chromu nejsou za přirozených podmínek zjišťovány, symptomy nedostatku (intolerance glukózy, glykosurie, zvýšená hladina cholesterolu a triacylglycerolů v séru, neuropatie, encefalopatie, snížená fertilita a počet spermií, zkrácení délky života, poruchy růstu, snížení podílu svaloviny a naopak zvýšení podílu tělesného tuku, snížení humorální imunitní odpovědi a zvýšená morbidita) byl pozorovány pouze v experimentech na různých druzích zvířat i na lidech.

**Metody stanovení chromu:** AAS (v různých provedeních), neutronová aktivační analýza

**Referenční interval hodnot v séru/plazmě:** 0,1 – 0,2 μg/l, tj. 1,9 – 3,8 nmol/l.

### 12.2.6. Kobalt

Biologický význam kobaltu spočívá v tom, že působí jako kofaktor v některých enzymatických reakcích, konkrétně v těch, které obsahují cytochromoxidázu, superoxididismutázu a urikázu a zejména v jeho klíčové úloze jako součásti vitamínu B<sub>12</sub>. V této formě, nikoliv jako volný prvek, se také dostává do organismu (o vitamínu B<sub>12</sub> a korinoidech obecně viz v kapitole 13, *Vitamíny*). Při vstřebávání může docházet k interakci mezi kobaltem a železem a manganem, což může vést k deficitu kobaltu. Vstřebávání kobaltu jako součásti kobalaminu ovlivňuje mukoprotein parietálních<sup>\*)</sup> buněk žaludeční sliznice, tzv. *vnitřní faktor*. V krvi je kobalt transportován glykoproteinem *transkobalaminem*<sup>\*\*)</sup> zejména do jater a kostní dřeně, kde spolupůsobí při stimulaci erytropoézy. Z organismu se vylučuje stolicí (90%) a močí (10%). Tento poměr svědčí o jeho špatné absorbovatelnosti.

**Zdrojem kobaltu** jsou listová zelenina a játra.

<sup>\*)</sup> **parietální** = nástěnný, vztahující se k vnitřní části stěny tělesných dutin

<sup>\*\*)</sup> **transkobalamin:** **typ I** = zásobní forma; **typ II** = transportuje vitamín do buněk; **typ III** = transportuje vitamín do jater

**↓ Nedostatek kobaltu.** Choroba odvozená od izolovaného nedostatku kobaltu není u lidí známa. Charakteristické symptomy způsobené nedostatkem kobaltu doposud u lidí pozorovány nebyly, navzdory tomu, že kobalt funguje jako koenzym i jako inhibitor. Spíše se projevuje nedostatek kobalaminu (vitamín B<sub>12</sub>),



než nedostatek kobaltu. Tento deficit se projevuje anémií, hubnutím, zvýšenou únavou, nechutenstvím a zpomalením růstu.

**Metody stanovení kobaltu:** Elektrotermická atomová absorpční spektrometrie (ETA-AAS). Problém stanovení kobaltu tkví ve skutečnosti, že referenční hodnoty jsou obvykle blízké limitu detekce a také kontaminace různých typů vzorků je značná.

**Referenční interval hodnot v séru/plazmě:** 0,01 – 0,3 µg/l, tj. 0,2 – 5,3 nmol/l

### 12.2.7. Mangan

Součástí některých metaloenzymů (*superoxiddismutáza* - anitoxidační účinky, viz výš). Aktivuje enzymy uplatňující se při syntéze glykosaminoglykanů (tj. *mukopolysacharidů*, nevětvených polysacharidů, které tvoří velkou část mezibuněčné hmoty v pojivové tkáni, zejména v chrupavkách, vazech a šlachách), cholesterolu a protrombinu. Při absorpci v tenkém střevě soutěží se železem, vylučuje se hlavně žlučí.

**Zdrojem manganu** jsou zejména cereálie, obilné klíčky, ovesné vločky, dále avokádo, kaštiny, hrách, mandle, vojtěška, borůvky, petržel a jeřabiny. Určité množství se nachází i v rýži, olivách, špenátu, kokosových ořeších a řeřiše.

↓ **Nedostatek manganu** vede k poruchám syntézy lipoproteinů, kostním defektům a kožním změnám.

Nedostatek manganu souvisí obecně s malnutricí a pouze velmi vzácně se projevuje patobiochemicky. Mangan je totiž všeobecně rozšířený prvek a v dostatečném množství se dostává do organismu dýcháním (inspirací).

↑ **Intoxikace manganem** působí závažné poškození bazálních ganglií (stav podobný Parkinsonově chorobě).

Mangan vykazuje i cytotoxický efekt na epitel plicních alveolů s možným vyústěním do pneumonie, letálnější než jsou pneumonie způsobené bakteriemi.

Akutní i chronická intoxikace manganem jsou způsobeny inhalací par a prachu s obsahem manganu (v hornictví s výskytem rud s obsahem manganu, v průmyslu při práci se slitinami manganu, jako je tomu ve sklářství, při výrobě suchých baterií, laků, pesticidů, v keramickém průmyslu apod.).

Zvýšené hodnoty manganu jsou nacházeny také u akutních a chronických hepatitid, u posthepatických cirhóz, u pacientů na dialýze a občas i u pacientů s ischemickou chorobou srdeční. Zvl. vysoké hodnoty manganu se nacházejí u pacientů s omezeným průtokem v žlučových cestách z jater do tenkého střeva, tudíž s narušením normální cesty exkrece manganu. V těchto případech je nutno přívod manganu omezit.

**Metody stanovení manganu:** Atomová absorpční spektrometrie (AAS, v různých provedeních), atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES), neutronová aktivační analýza (NAA)

**Referenční interval hodnot v séru/plazmě:** 0,5 – 1,0 µg/l, tj. 9 – 18 nmol/l

### 12.2.8. Molybden

V organismu se nachází asi 90 µg molybdenu. Nachází se zejména v játrech, slezině a ledvinách. Jeho množství se mění s věkem (do 20 let stoupá, pak klesá).

Molybden patří k prostetickým skupinám flavoenzymů. Je součástí *xantinoxidázy*, enzymu, který se zúčastňuje metabolismu purinových látek. Z dalších enzymů to jsou *sulfátoxidáza*, *aldehydoxidáza* a enzym zodpovědný za vstřebávání železa. Molybden také ovlivňuje metabolismus mědi.

Vstřebává se ze žaludku a z tenkého střeva. Úspěšnost absorpce je 24 – 80%, podle formy sloučeniny. Přítomnost wolframových solí, sulfátů a mědi snižuje vstřebávání molybdenu.

V krvi je transportován v erythrocytech navázán na α<sub>2</sub>-makroglobulin, v plazmě se nachází jako molybdenan (MoO<sub>4</sub><sup>2-</sup>). Vylučuje se ledvinami (hlavní mechanismus homeostázy molybdenu v organismu) a žlučí.

**Zdrojem molybdenu** jsou luštěniny, celozrnná strava a rýže, dále také vnitřnosti, mléko a mléčné výrobky, ovoce, zelenina, ryby a tuky.

↑ **Toxicita molybdenu** není prokázána, avšak při nadbytečném příjmu (>5,2 µmol/den) dochází ke sníženému vstřebávání mědi a může dojít až jejímu deficitu.

**Metody stanovení molybdenu:** Atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ETA-AAS)

**Referenční interval hodnot v séru/plazmě:** <0,1 – 0,5 µg/l, tj. <1,0 – 5,2 nmol/l

### 12.2.9. Fluór

V organismu se nachází asi 2,6 g fluóru, tj. 136 mmolů. Uplatňuje se při mineralizaci kostí a zubní skloviny [fluorapatit -  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_3\text{F}$ ]. Má zásadní význam při růstu zubů a pro zubní sklovinu (kariostatické působení – inhibuje růst a metabolismus bakterií). Nedostatek se projeví zvýšenou kazivostí zubů. Stimulačního účinku fluoridů na osteoblasty se využívá při léčbě osteoporózy, kdy se fluoridy podávají spolu s Ca a vitamínem D. Tato léčba podporuje osteoblastickou proliferaci, zadržování kalcia a novotvorbu kostí.

Vstřebává se v žaludku (jako kyselina fluorovodíková, HF) a v tenkém střevě (fluoridy). V plazmě se fluór nachází ve formě fluoridů, vylučuje se močí a také je vychytáván v kalcifikovaných tkáních (kosti, zuby). Do těchto tkání se ukládá přibližně polovina přijatého fluóru. Vylučování je ovlivněno hodnotou pH.

**Zdrojem fluóru** jsou pitná voda, mořské ryby, kravské mléko.

↓ **Nedostatek fluóru** se projevuje zvýšenou kazivostí zubů a narušenou kalcifikací kostí (experimentální důkazy chybí). Je ale známo, že fluoridy stimulují osteoblasty k vyšší činnosti a výsledkem je tvorba větších krystalků kostního minerálu, odolnějšího vůči osteoklastům. Tohoto jevu se využívá při léčbě osteoporózy, kde se fluoridy podávají v kombinaci s vápníkem a vitamínem D, což vede k zadržování vápníku a novotvorbě kostí. Doporučené dávky pro jedince starší 15 let jsou 1,5 – 4,0 mg/den, pro děti jsou nižší. Zdrojem je především pitná voda.

↑ **Toxická koncentrace** v séru je  $>15 \mu\text{mol/l}$ . Intoxikace může být akutní či chronická (např. ze zakázaných deratizačních prostředků a insekticidů na bázi fluoridu sodného, resp. fluorosilikátů, vdechování prachu s obsahem fluóru, při požívání jídel a pití vody bohatých na fluor, což může nastat např. ve vulkanických krajinách). Příznaky intoxikace jsou spazmy a křeče (neuromuskulární), slinění, pocení, snížení krevní srážlivosti, krvácení/hemorragie (hematologické). Může dojít až k úmrtí ochrnutím dechových center a zástavou srdce v diastole.

**Metody stanovení fluóru:** Iontově selektivní elektroda (ISE), plynová chromatografie (GC)

**Referenční interval hodnot v séru/plazmě:** 20 - 50  $\mu\text{g/l}$ , tj. 1,0– 2,6  $\mu\text{mol/l}$

### 12.2.10. Jód

Lidské tělo obsahuje přibližně 15 – 20 mg (120 – 160  $\mu\text{mol}$ ) jódu. Významná je úloha jódu při syntéze hormonů štítné žlázy, čemuž odpovídá i jeho vysoký obsah v této žláze (70 – 80% celkového obsahu). Vyšší množství jódu je i ve slinných žlázách. Nedostatečný přísun jódu je příčinou mnoha funkčních i vývojových abnormalit, které v extrémních případech mohou mít fatální následky, včetně mentální retardace, prenatální a neonatální úmrtnosti, kretenismu apod. Potřebná denní dávka u dospělého je 150 až 220  $\mu\text{g}$ . Nedostatečný přísun jódu hrozí i v ČR (předpokládá se, že asi 1/3 populace u nás má deficit jódu), proto je jodem např. fortifikovaná kuchyňská sůl. Nejlepším ukazatelem deficitu jódu je jeho snížený odpad močí (hodnota *jódurie*).

**Zdrojem jódu** jsou mořské řasy a mořští živočichové, mléko, mléčné výrobky, maso, ryby, drůbež, cereálie, vejce a jodidovaná sůl (obsah jódu 17  $\mu\text{g/g}$ ). Část denní potřeby je kryta i jeho obsahem v pitné vodě. Příjem jódu mohou inhibovat dusičnany, chloristany a některé rostlinné inhibitory.

↓ **Nedostatek jódu** se projevuje různě v různých obdobích života.

U plodu (*fetus*) jsou to aborty, kongenitální anomálie, zvýšená perinatální mortalita, zvýšená mortalita kojenců, neurologický kretenismus, psychomotorické poruchy, zvýšená citlivost štítné žlázy na radiační zatížení.

*Novorozenci* mohou mít neonatální hypotyreoidismus, strumu, narušené mentální funkce, zpomalený fyzický vývoj, zvýšenou citlivost štítné žlázy na nukleární radiaci.

*Dospělí* trpí strumou s komplikacemi, hypotyreoidismem, narušením mentálních funkcí, zvýšenou citlivostí štítné žlázy na nukleární radiaci

**Metody stanovení jódu:** Iontově selektivní elektroda (ISE), vysokoúčinná/vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC).

**Referenční interval hodnot v séru/plazmě:** 60 – 70  $\mu\text{g/l}$ , tj. 0,47 – 0,56  $\mu\text{mol/l}$

**Stanovení jódurie** pomocí iontově selektivní elektrody nebo HPLC. Jodidy v moči lze stanovit i např. na analyzátoru *EcaFlow 150GLP*, který využívá principy průtokové elektrochemie, coulometrie a coulometrických titrací.



Elektrochemický analyzátor  
*EcaFlow 150GLP*

### 12.3. Analytické metody užívané pro stanovení stopových prvků

*Preanalytická fáze* musí zabránit kontaminaci vzorků prvky, které mají být stanovovány. Používá se speciálně myté sklo, nebo, zvl. v poslední době, *odběrové nádoby* (zkumavky) výrobcem přímo určené pro sběr vzorků pro stanovení stopových prvků (*metal free = prosté kovů*).

Analytické metody pro stanovení stopových prvků musí být *citlivé, specifické, přesné a relativně rychlé*.

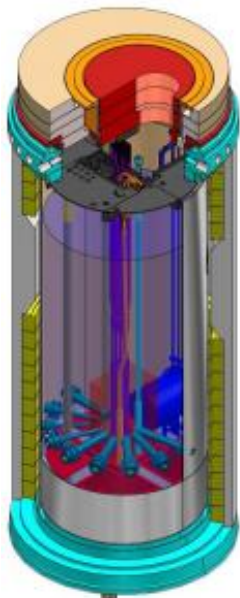
**Nejznámější techniky** pro stanovení stopových prvků v biologických materiálech zahrnují

- *iontově selektivní elektrody (ISE)*, stanovení zejména kationtů, z aniontů pak zejména fluoridů a jodidů
- *voltametrii* (polarografii), stanovení látek schopných měnit oxidační stupeň
- *rentgenovou fluorescenční spektrometrii* (XRFS: *X-ray fluorescence spectrometry*; *X-ray = paprsky X, rentgenové záření*), vhodnou zejména pro pevnou matici, stanovení kovových i nekovových (P, S, C) prvků
- *fotometrii* (viz např. příklady stanovení Cu a Zn)
- *atomovou absorpční spektrometrii* (AAS), technika vhodná pro rutinní stanovení mnoha prvků ((Cu, Ni, Mn, Co, Fe, Ca, Mg, Ba, Sr, Al, Mo, V, Zn, Cd, Pb, As); schéma přístroje a stručný princip na str. 8-29
- *hmotnostní spektrometrii (MS)*; schéma přístroje a stručný princip na str. 12-19
- *neutronovou aktivační analýzu (NAA)*, což je víceprvková analýza s vysokou citlivostí a selektivitou, vhodná pro malé vzorky, patřící mezi jaderné analytické metody; stručný princip dole na stránce
- *emisní spektroskopii (ES)*, do které patří
  - *plazmová emisní spektrometrie* (ICPES: *Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry*, *emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*, resp. ICP-AES: *Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry*, *atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*).
  - *hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)*. Stručné popisy metod na str. 12-17.

Popsány byly i *HPLC techniky* ke stanovení stopových prvků.

#### Stručný popis některých vyjmenovaných metod

**Neutronová aktivační analýza (NAA)** obsahuje ve svém názvu princip metody: ozáření vzorků neutrony (aktivací) vznikají radioaktivní izotopy, které se identifikují pomocí gama spektrometrie. Změřené záření podává informaci o přítomnosti prvku, jehož aktivací radionuklid vzniká a o množství daného prvku. Zdrojem neutronů k aktivaci je jaderný reaktor, v České republice se vhodný reaktor (jediný) nachází v Ústavu jaderného výzkumu Řež (viz). K aktivaci lze užít i protony z urychlovačů či vysoce energetické fotony. Ne běžnou (rutinní) analýzu (ve zdravotnické laboratoři) tato metoda vhodná není.



#### LVR-15, lehkovodní výzkumný reaktor

Reaktor je vybaven jedním kanálem s pneumatickým zařízením, které umožňuje rychlou dopravu vzorků pro realizaci krátkodobé NAA malých vzorků (pracoviště provozuje *Ústav jaderné fyziky Akademie věd ČR*). Pro dlouhodobé ozařování či NAA větších vzorků je možné využít další vertikální ozařovací kanály na reaktoru.

**Podrobnosti** lze nalézt [zde](#).

## Metody s indukčně vázaným plazmatem - ICP

**Plazma** je čtvrtým skupenstvím hmoty a nejrozšířenější formou látky ve vesmíru. Je to elektricky neutrální, vysoce ionizovaný plyn, sestávající z iontů, elektronů a atomů. Příklady plazmatu nacházejícího se v přírodě jsou slunce, blesk a severní záře. V běžném životě se nachází plazma v zářivkách, neonech a v elektrickém oblouku. Analytické plazma je tzv. nízkoteplotní (*non-thermal*), resp. „cold“, což nelze překládat doslova, protože plazmový výboj dosahuje teplot 5000 – 10000 K, a tento výraz pouze vyjadřuje stupeň ionizace (převládají v něm neutrální molekuly).

ICP výboj pro analytické účely je většinou vytvořen v proudu čistého argonu nebo helia, které obstarávají hoření. Po zapálení jiskrou se v proudícím plynu vytvoří volné elektrony, které ionizují další atomy nosného plynu. Plazma (plazmová hlavice) je umístěno v chlazené kruhové indukční cívice s protékajícím vysokofrekvenčním proudem, jehož oscilující (indukované) elektromagnetické pole vede po iniciaci ke vzniku nabitých částic a indukčnímu ohřevu.

**ICP-AES**, *atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem* je jedna z technik atomové spektrometrie. K atomizaci a excitaci atomů prvků používá jako zdroj plazma, jak bylo uvedeno, dostatečně teplé, aby snadno docházelo k vypaření aerosolu vzorku, disociaci, atomizaci a excitaci atomů a iontů prvků. Emitované záření je rozkládáno mřížkou a vzniklé spektrální čáry se měří. Schéma postupu i přístroje na str. 8-28.

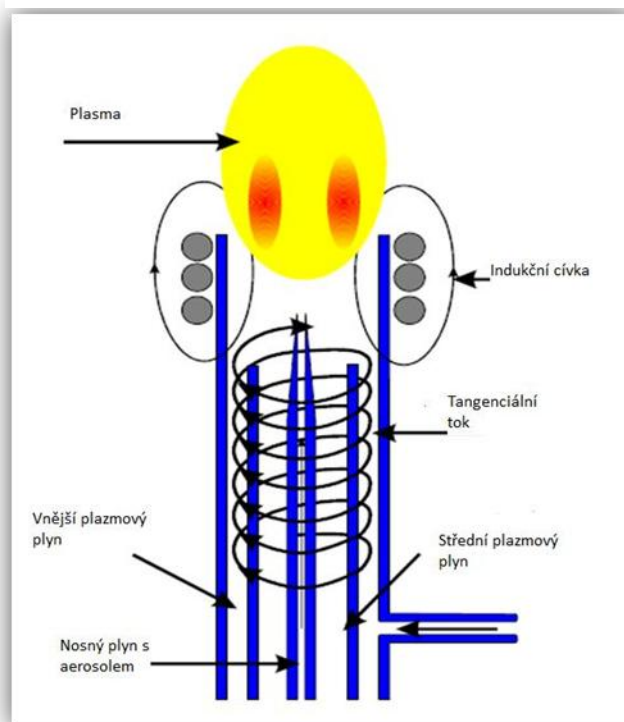
**ICP-AFS**, *atomová fluorescenční spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem*, je méně používaná metoda. V tomto případě se sleduje fluorescenční záření, vybuzené (monochromatickým) zářením výbojky s dutou katodou. Výbojek („dutých katod“) může být několik, uspořádaných do kruhu kolem plazmového výboje a příslušné záření je vybíráno konkrétním filtrem a zesilováno fotonásobičem.

**ICP-LEAFS**, laserem excitovaná atomová fluorescenční spektrometrie a

**ICP-LEIFS**, laserem excitovaná iontová fluorescenční spektrometrie, používají místo výbojek LASER. Síla fluorescenčního záření se použitím laseru zvýší.

**ICP-MS**, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem; plazmový výboj lze kombinovat i s hmotností spektrometrií. Tato metoda má nízké meze detekce a možnost multiprvkové analýzy, případně stanovení izotopového složení. Existují analyzátoři vhodné k rutinní praxi, jako příklad je uveden ICP-MS spektrometr Aurora m90.

### Indukčně vázané plazma



Plazmová hlavice je tvořena třemi křemennými trubicemi a je umístěna v chlazené kruhové indukční cívice s protékajícím vysokofrekvenčním proudem. Plazma je udržováno tím, že v podstatě „zastupuje“ sekundární vinutí transformátoru.



ICP-MS spektrometr Aurora m90

*Stručný, ale zcela postačující, přehledný popis metod pro analýzu stopových prvků lze nalézt v publikaci*

*Kolektiv autorů: Vitaminy a stopové prvky 2007, ČSKB, SEKK, Pardubice 2007*

<http://www.icp-ms.cz/icp-ms-spektrometr-aurora-m90.php#content>

Na této adrese lze nalézt podrobný popis moderních ICP-MS spektrometrů Aurora m90 a Aurora elite. Kromě toho je na stránce přístupné video, podrobně popisující přístroj Aurora m90 a principy jeho funkce.

### JEDNOTLIVÉ KROKY PŘI ANALÝZE VODNÝCH VZORKŮ METODOU ICP-AES

1. Příprava vzorku. Některé vzorky vyžadují speciální přípravu, která zahrnuje působení kyselinami, zahřívání a účinek mikrovln
2. Nebulizace: přeměna tekutiny na aerosol
3. Dehydratace/přeměna na plyn: voda je odejmuta a zbývající tekuté a pevné části jsou převedeny na plyn
4. Atomizace: vazby v plynné fázi jsou přerušeny, přítomny jsou pouze atomy. Důležitými podmínkami v této fázi jsou *inertní chemické prostředí a teplota plazmy*
5. Excitace/emise: atomy získávají energii z kolizí a vysílají charakteristické záření
6. Separace/detekce: mřížka rozkládá světlo, které je kvantitativně měřeno

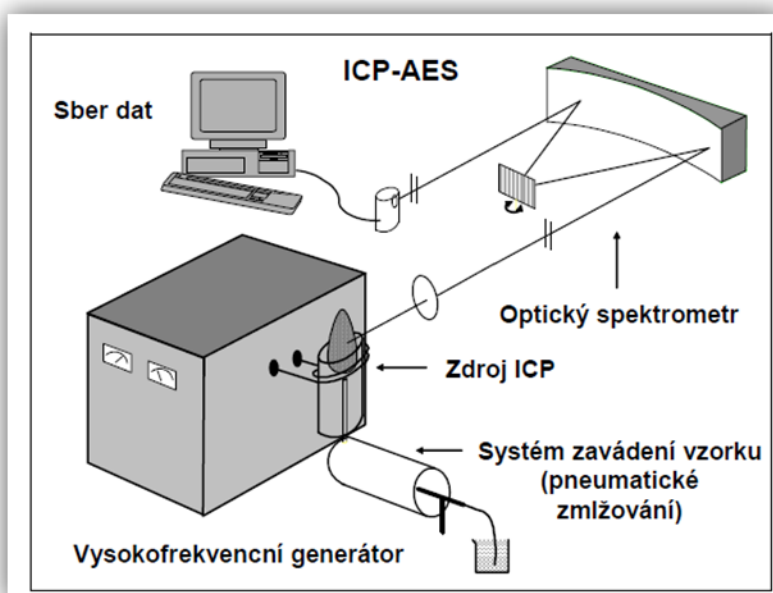
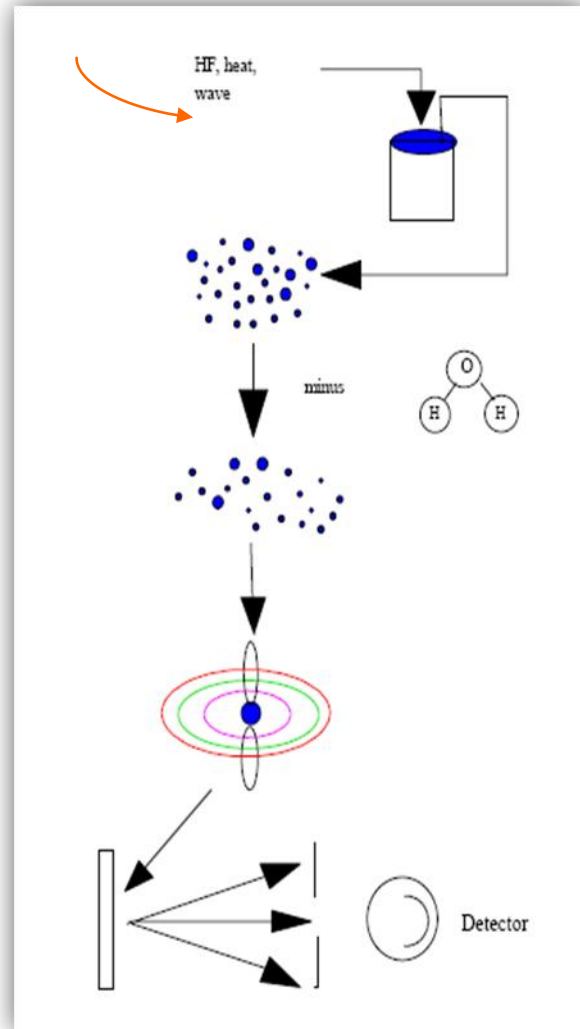
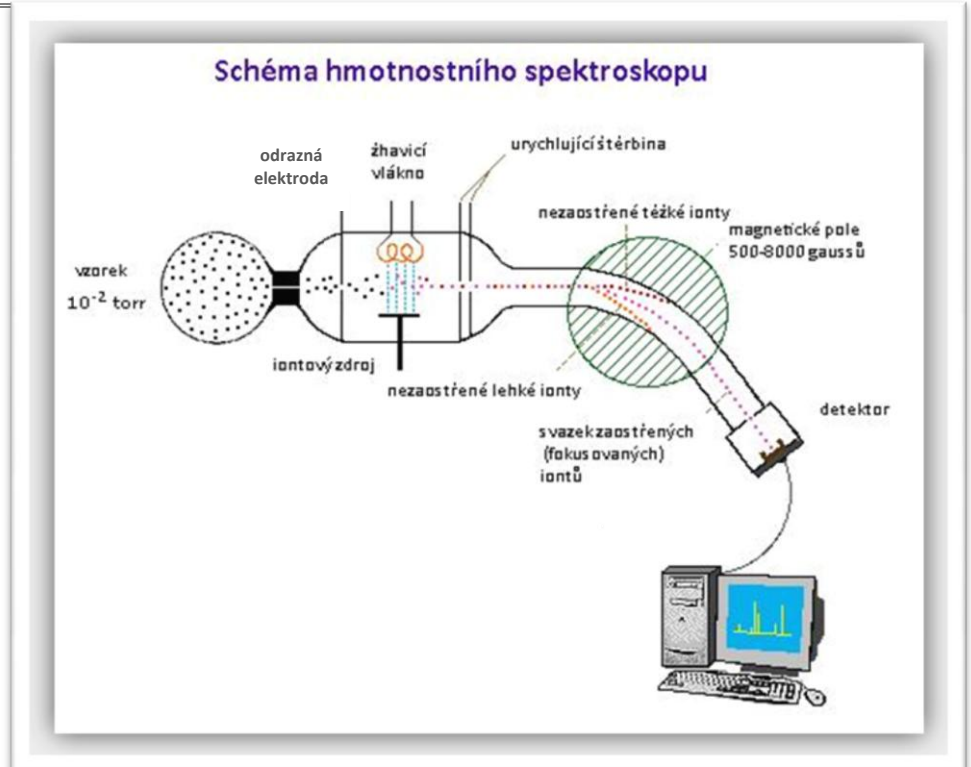


Schéma emisního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem



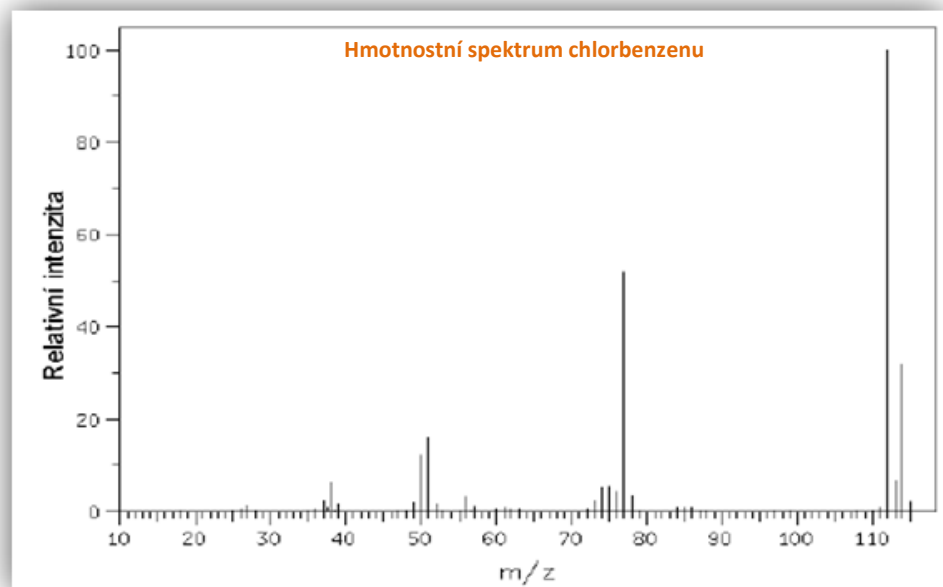
### Hmotnostní spektrometrie:

- Látka se převede do *plynného stavu*,
- neutrální molekuly plynu se převedou (v iontovém zdroji) na *ionty* a
- ty jsou v analyzátoru hmotnostního spektrometru rozděleny podle svých *specifických nábojů* (poměr hmotnosti částice k jejímu náboji,  $m/z$ ).
- Detekční a registrační zařízení hmotnostního spektrometru zaznamenává hmotnostní spektrum, kde poloha vrcholů (*píků*, *peaks*) přísluší hmotnosti iontu a výška píku odpovídá intenzitě svazku příslušných iontů.



Podrobnosti k metodě viz např. na adresách

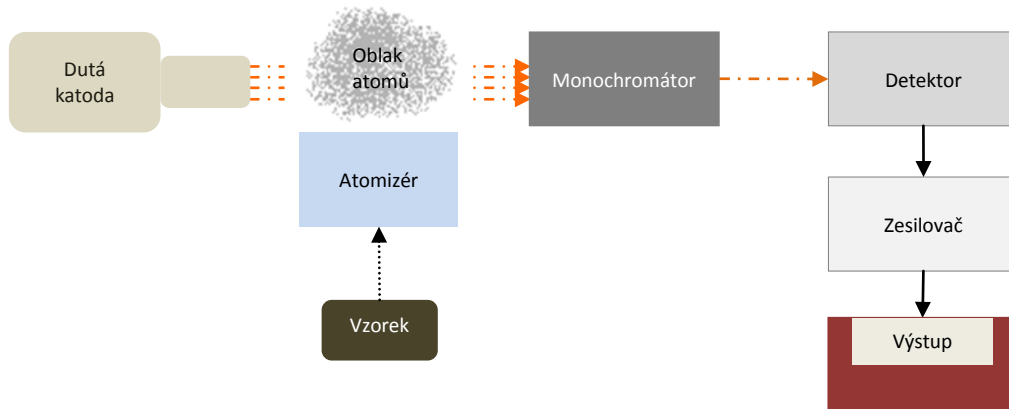
- [http://www.pmfhk.cz/Prednasky/Zaklady\\_MS.pdf](http://www.pmfhk.cz/Prednasky/Zaklady_MS.pdf)
- [http://webak.upce.cz/~kbbv/Student/Vyuka/Imunologie\\_imunochemie/Prednasky/Prednasky\\_Henrychova/Zaklady\\_hmotnostni\\_spektrometrie.pdf](http://webak.upce.cz/~kbbv/Student/Vyuka/Imunologie_imunochemie/Prednasky/Prednasky_Henrychova/Zaklady_hmotnostni_spektrometrie.pdf)



### Tandemová hmotnostní spektrometrie (MS/MS):

Vybraný ion je podroben excitaci (nejčastěji srážkami s inertním plynem, tzv. *kolizním plynem*), čímž může dojít k rozpadu tohoto iontu na *fragmentové ionty*, jejichž hmotnostní spektrum se měří.

## Schéma atomového absorpčního spektrometru



Z výbojky, tzv. *duté katody* (duté výbojka má katodu z kovu, který chceme stanovit, např. z vápníku, hořčíku ze železa apod.), prochází záření oblakem atomů získaným v atomizéru (plamen, uhlíková komora), monochromátor vybere konkrétní měřenou vlnovou délku – charakteristické záření, detektor promění toto světelné záření na elektrickou veličinu, která je v zesilovači zesílí, poté změřena a příslušným procesorem vyjádřena jako výstupní hodnota. Platí zde nepřímá úměra – čím více je atomů v oblaku, tím více bude světlo pohlcováno a intenzita záření vstupujícího do detektoru bude tím menší.

Zdroj záření – *dutá katoda* – může být pouze pro konkrétní prvek, pak je vždy při měření dalšího prvku zdroj záření vyměnit, nebo pro několik prvků, které je v tom případě možno měřit postupně za sebou.

## 12.4. Stručné shrnutí kapitoly

### 12.4.1. Železo

- Železo je jedním z fyziologicky nejvýznamnějších prvků. Důležité je zejména v hemu, který je součástí hemoglobinu a myoglobinu, cytochromů, cytochromoxidázy, peroxidázy, katalázy a jiných enzymů. Ve formě FeS-proteinu se železo účastní přenosu elektronů.
- Metabolismus železa připomíná metabolismus stopových prvků, v plazmě, ECT a v buňkách se nachází velmi málo volného železa, protože je pro organismus toxické. Organismus si železo chrání a denně dojde ke ztrátě pouze asi jedné tisícině celkového obsahu železa.
- V organismu se železo nachází v hemoglobinu, myoglobinu, v transferinu, ve feritinu a hemosiderinu, v labilním poolu.
- Železo se vstřebává (do enterocytů) jako dvojmocné, proto musí být před absorpcí zredukováno z trojmocného stavu, ve kterém se nachází v přebytku v potravě. Absorpce se zúčastňují Fe(III)-reduktáza, různé kyseliny, transportér pro dvojmocné kovy DMT-1 a pravděpodobně i přenašeč hemu HCP1.
- Do krevního oběhu se dostává železo přes transportér ferroportin-1, za přispění hephaestinu (feroxidázy závislé na mědi)
- Z orgánu do orgánu je transportováno železo ve formě transferinu, což je  $\beta_1$ -globulin (apotransferin) se dvěma vazebnými místy vždy pro jeden atom železa. Na apotransferin se váže železo trojmocné, přeměnu z dvojmocného na trojmocné železo zajišťuje ceruloplasmin.
- Skladuje se ve formě feritinu a hemosiderinu.
- Regulace metabolismu železa se děje prostřednictvím transportéru ferroportinu-1 a negativního regulátoru uvolňování železa z enterocytů duodena, makrofágů a hepatocytů, hepcidinu. Zvýšená hladina železa v plazmě zapříčiní zvýšenou syntézu hepcidinu v játrech, hepcidin se naváže na ferroportin a ten se zanoří do buňky, kde dojde k jeho rozkladu. Buňka pak nemůže exportovat železo do plazmy.
- Nedostatek železa patří k nejrozšířenějším poruchám. Příčinou nedostatku jsou karence v potravě, zvýšená potřeba železa (děti, těhotné ženy), chronické ztráty (krvácení, menstruace, jícnové varixy, hemeroidy, polypy), špatné vstřebávání (malabsorpce), nadbytečný příjem některých léků. Důsledkem je omezená krvetvorba, vyvíjí se sideropenická anémie.
- Nadbytek železa může být pro organismus fatální, díky zvýšené tvorbě kyslíkových radikálů. K vážným újmám mohou dojít zejména játra (cirhóza, hepatocelulární karcinom), pankreas (diabetes mellitus jako následek zničení Langerhansových ostrůvků), myokard (kardiomyopatie až se srdečním selháním), klouby (bolesti) a také endokrinní žlázy (různé poruchy). Příčinami jsou nadbytečný přívod železa perorální nebo parenterální cestou, mnohačetné transfuze a genetické onemocnění hereditární hemochromatóza.
- Metody stanovení železa jsou
  - atomová absorpční spektrometrie (metoda první volby)
  - fotometrie (bathofenantrolin, ferrozín, TPZT, ferene, chromazurol B, CTMA)
- Transferin kromě transportní funkce slouží jako vazebná rezerva pro železo. Transferin se stanovuje imunochemicky.
- Celková vazebná kapacita je maximální koncentrace železa, kterou mohou navázat sérové proteiny, zejména transferin. Je to součet sérového železa a volné vazebné kapacity. Volná vazebná kapacita slouží jako „nárazník“ pro volné železo, mění se podle poruch metabolismu železa. Celková vazebná kapacita se snižuje při chronických infekcích, zhoubných nádorech, otravě železem, onemocnění ledvin, nefróze aj. Nedostatek železa, těhotenství, orální antikoncepce a virová hepatitida naopak způsobují nárůst celkové vazebné kapacity.
- Plazmatický ferritin je v rovnováze s tělesnými zásobami. Jeho koncentrace klesá velmi záhy při rozvoji nedostatku železa. Pro zjištění obsahu železa v organismu je proto lépe stanovit ferritin, pokud tento není zvýšen jako reaktant akutní fáze. Ferritin se stanovuje imunochemicky.

### 12.4.2. Stopové prvky

- Většina prvků v živých organismech se nachází v gramových množstvích na kg tkáně. Prvky stopové se vyskytují v miligramových množstvích na kg tkáně, prvky ultrastopové jsou v tkáních přítomny v mikrogramových množstvích na kg tkáně.
- Stopové prvky lze rozdělit podle jejich biologických funkcí na esenciální stopové prvky s definovanou denní dávkou (Zn, I, Se, Fe), esenciální stopové prvky s definovanou esenciální rolí v metabolismu, ale bez přesného stanovení denní dávky (Cu, Mn, Cr, Co, Mo, F), ultrastopové prvky, u nich nebylo doposud jednoznačně určeno zda jsou esenciální nebo škodlivé ve zjišťovaných koncentracích (Li, Ni, Sn, Si, V, B) a toxické stopové prvky u nichž není u lidí známa biologická funkce, ale které i v relativně nízkých koncentracích způsobují patologické změny (Al, As, Cd, Pb, Hg).
- Hlavní biochemickou úlohou stopových prvků je katalytické působení v enzymových systémech, kde se uplatňují jako kofaktory, nebo jako součásti metaloenzymů, pevně navázané na bílkovinu. Zdá se také, že hrají významnou strukturální roli v jednotlivých buněčných komponentách. Významnou je také účast při likvidaci volných radikálů (např. superoxididismutáza, SOD).
- Obsah stopových prvků v organismu je závislý na dietě, tj. na přísunu zvenku a na schopnosti organismu prvky absorbovat. Rozeznávají se dva hlavní typy nutričních deficitů:
  - Typ I: dojde k defektu specifických metabolických cest, ke ztrátě funkce a specifickým klinickým příznakům: Fe, I, Cu, Se. Klinický deficit se vyvíjí v různých časových úsecích – Fe týdny, Cu několik měsíců, Se měsíce i roky.
  - Typ II: specifické diagnostické klinické známky neexistují nebo se vyvíjejí až po poměrně dlouhé době. Typickými představiteli jsou Zn a Cr.

### 12.4.3. Metody stanovení stopových prvků

- Nejznámější metody pro stanovení stopových prvků v biologických materiálech jsou
  - Potenciometrie (iontově selektivní elektrody)
  - Voltametrie (polarografie apod.)
  - Rentgenová fluorescenční spektrometrie
  - Fotometrie a spektrofotometrie
  - Atomová absorpční spektrometrie
  - Hmotnostní spektrometrie
  - Neutronová aktivační analýza
  - Emisní spektroskopie
    - plazmová emisní spektrometrie,
    - hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
  - HPLC techniky
- Pro klinickou biochemii připadají v úvahu zejména atomová absorpční spektrometrie (větší pracoviště) a fotometrie (menší pracoviště, omezené portfolio metod)
- Preanalytická fáze musí zabránit kontaminaci vzorků prvky, které mají být stanovovány. Používají se metal free (prosté kovů) odběrové nádoby, případně speciálně myté sklo.

## 12.5. Kontrolní otázky

- 1     Zodpovězte si otázku, proč jsou vápník, hořčík a fosfor probírány společně.
- 2     V jakých formách se tyto prvky vyskytují v organismu? Zejména vápník a hořčík?
- 3     Co znamená pojem „ionizovaný vápník“ a formy „aktivní“ a „inaktivní“?
- 4     Jaký je fyziologický význam vápníku, hořčíku a fosfátů?
- 5     Kde tato kapitola navazuje na kapitolu věnovanou hormonům? Dokážete najít všechna styčná místa?
- 6     Jaké jsou metody stanovení vápníku? V čem se shodují se stanovením hořčíku? V čem se odlišují? Dá se stejnými metodami stanovit ionizovaný vápník?
- 7     Jaký je rozdíl mezi titrační látkou pro komplexometrii a komplexometrickým indikátorem?
- 8     Jaký vliv mají přebytek a nedostatek vápníku? A co hořčík?
- 9     Uplatňuje se zde (otázka č. 7) nějakým způsobem fosfor? Případně jiné látky?
- 10    Stanovují se tyto prvky i v moči? Pokud ano, proč?
- 11    Co je to anorganický a organický fosfor (fosfát)?
- 12    Jak se stanovují anorganické fosfáty?
- 13    Existují stavy z nedostatku či přebytku fosfátů?
- 14    Je železo stopový prvek nebo není?
- 15    V jakých formách existuje železo v těle?
- 16    Prostudujte si „Schéma metabolismu a metabolických cest Fe v lidském organismu“, případně si i pusťte video (odkaz je pod schématem).
- 17    Pochopili jste pojem „receptorem zprostředkovaná endocytóza“?
- 18    Jak je to s mocenstvím železa?
- 19    Co zásobní formy?
- 20    Co je to „hepcidin“?
- 21    Jak se stanovuje železo?
- 22    Co je to vazebná kapacita a jak se stanovuje? Rozumíte pojmům „celková vazebná kapacita“ a „volná vazebná kapacita“?
- 23    Máte představu o klinice Fe?
- 24    Co je to transferin?
- 25    Co je to ferritin? Kde je o něm ještě pojednáváno zvlášť?
- 26    Které stopové prvky jsou pro člověka esenciální, tj. nezbytné?
- 27    Uvědomujete si které prvky jsou pravděpodobně pro člověka nezbytné?
- 28    Co jsou to nutriční deficity?
- 29    Co víte o zinku, mědi a selenu?
- 30    Umíte vyjmenovat základní analytické metody stanovení stopových prvků? Rozumíte jejich principům?



## OBSAH:

Kapitola 12 Železo a stopové prvky.....	12-1
12.1. Železo.....	12-1
12.1.1. Rozdělení železa v organismu.....	12-1
12.1.2. Regulace hladiny železa v organismu.....	12-3
12.1.3. Klinické poznámky.....	12-5
12.1.4. Metody stanovení sérového železa (S-Fe).....	12-6
12.1.5. Transferrin.....	12-7
12.1.5.1. Stanovení celkové (TIBC) a volné (UIBC) vazebné kapacity.....	12-7
12.1.5.2. Klinické poznámky.....	12-8
12.1.5.3. Saturace a koncentrace transferinu.....	12-8
12.1.6. Ferritin a význam jeho stanovení.....	12-8
12.1.6.1. Principy stanovení ferritinu.....	12-8
12.1.7. Podmínky, o nichž je známo, že ovlivňují koncentraci S-Fe, TIBC, saturaci transferrinu.....	12-9
12.2. Stopové prvky.....	12-10
12.2.1. Měď.....	12-11
12.2.2. Zinek.....	12-11
12.2.3. Křemík.....	12-12
12.2.4. Selen.....	12-12
12.2.5. Chrom.....	12-13
12.2.6. Kobalt.....	12-13
12.2.7. Mangan.....	12-14
12.2.8. Molybden.....	12-14
12.2.9. Fluór.....	12-15
12.2.10. Jód.....	12-15
12.3. Analytické metody užívané pro stanovení stopových prvků.....	12-16
12.4. Stručné shrnutí kapitoly.....	12-21
12.4.1. Železo.....	12-21
12.4.2. Stopové prvky.....	12-22
12.4.3. Metody stanovení stopových prvků.....	12-22
12.5. Kontrolní otázky.....	12-23