Vitaminy

Mgr. Zuzana Strašilová

VITAMINY

- Dostupné ve stravě, náš organismus většinou ztratil schopnost je syntetizovat

- Hlavní funkce
  - Prekurzory biokatalyzátorů – koenzymy, hormony
  - Antioxidační fce
  - Metabolismus živin

ROZDĚLENÍ

- **Vitamíny rozpustné ve vodě**
  - Vit. C
  - Vitamíny B – thiamin (B1), riboflavin (B2), pyridoxin (B6), cyanokobalamin (B12), kyselina listová (B9), kyselina nikotinová (B3), kyselina pantothenová (B5), biotin (B7)

- **Vitamíny rozpustné v tucích**
  - A, D, E, K

Rozpustnost

	Ve vodě	V tucích
Absorpce	Přímo do krve	Do lymfy, pak do krve
Transport	Volně	Transportní protein
Uskladnění	Volně ve vodním prostředí	Tuková tkáň, játra
Vylučování	Ledvinami	-
Potřeba	Pravidelně (1-3 dny)	Občas (týdny, měsíce)

BIOLOGICKÁ VYUŽITELNOST

- Množství vitaminu
- Absorbované množství
  - Účinnost trávení a transitní čas
  - Předchozí příjem živin
  - Výživový stav
  - Ostatní konzumovaná potrava ve stejný čas
  - Technologická úprava
  - Zdroj nutrientu

BIOLOGICKÁ VYUŽITELNOST

- Prekurzory
  - Provitaminy (β-karoten -> vitamin A)

- Organický původ
- Nestabilita
  - teplo, světlo, technologické úpravy
    - Labilní (folát, kys. panthotenová, vit. C, B12, B1, K)
    - Stabilní (D, E, biotin, niacin, B6, B2)

VSTŘEBÁVÁNÍ VITAMINŮ

- Rozpustné ve vodě
  - Rychle, duodenum
    - B12
      - Žaludek – HCl, trávicí enzymy => uvolnění B12 -> vazba na vnitřní faktor („intrinsic factor“)
      - Absorpce – ileum

- Rozpustné v tucích
  - Pomaleji, s tuky
    - A, D, K3 – resorpce bez závislosti na micelách
    - E, K– transport ke kartáčovému lemu v micelách

Vitamín A (retinol)

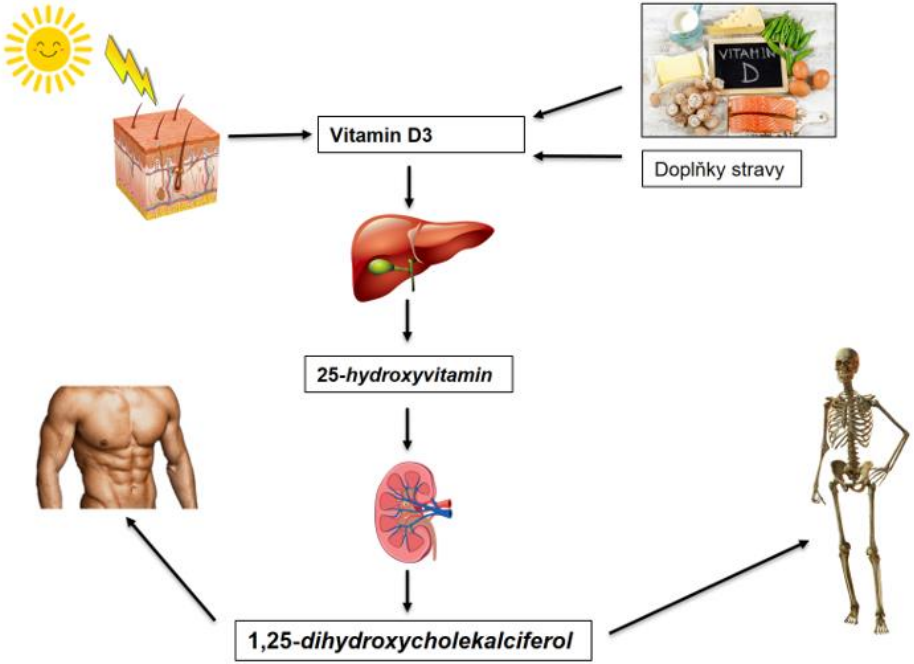
- Je nestálý, citlivý na světlo a oxidaci
- vitaminy rozpustné v tucích
- resorpce je závislá na resorpci tuků, snížená koncentrace vitaminu
- v krvi cirkuluje vázaný na retinol vázající bílkovinu (RBP)
- potravou přijímáme jak vitamin A, tak i karotenoidy, z některých může být vitamin A vytvořen (nejznámější je ***β-karoten***). Karotenoidy jsou v krvi vázané na lipoproteiny (LDL a HDL).
- v organizmu skladován v játrech.
- *Aktivní forma vitaminu A je* ***11-cis-retinal*** (zrakový pigment)
- ***Zdroje vitaminu A:*** játra, mléčné produkty, rybí tuk
- ***Zdroje β-karotenu:*** žlutá, oranžová zelenina, listová zelenina
- ***Funkce:*** proces vidění (ostrost vidění), antioxidační vlastnosti (β-karoten), buněčná diferenciace, podpora imunitního systému, správná funkce epitelu
- ***Nedostatek:*** šeroslepost, kožní a slizniční změny.

VITAMÍN D

- **Vitamin D existuje ve dvou formách:**
  - ***vitamin D2*** *(ergokalciferol)*
  - ***vitamin D3*** *(cholekalciferol)*
- Přítomné v potravinách, vitamin D2 výhradně rostlinný původ, D3 živočišný původ
- Aktivní hormon, který není vytvářen žádnou speciální endokrinní žlázou
- Biologický poločas: 2-3 týdny (hydroxykalciferol)
- ***Zdroje:*** slunce, vaječný žloutek, rybí tuk, obohacené tuky
- ***Funkce:***
  - ovlivňuje metabolizmus vápníku a fosforu → správná funkce a tvorba kostí
  - syntéza vazebných bílkovin potřebných pro transport vápenatých iontů
  - tlumí syntézu parathormonu
- ***Nedostatek***: ovlivněny svaly, kosti, může být příčinou sekundárního hyperparathyroidismu

Vitamín D

- ***vitamin D2*** *(ergokalciferol)* a ***vitamin D3*** *(cholekalciferol)*
- ergokalciferol vzniká v kůži z 7-dehydrocholesterolu účinkem UV světla, prochází tepelnou izomerací na vitamin D3, který se dostává do oběhu
- V krvi je transportován vazbou protein (vitamin D binding protein, VDBP) nebo albumin do jater (část se ukládá v tukové tkáni a ve svalech)
- V játrech se z obou vitaminů D tvoří působením specifické hydroxylázy **25-*hydroxyvitaminy*** [25(OH) D2] a [25(OH) D3]
- V ledvinách jsou dále metabolizovány působením 1α-hydroxylázy na biologicky aktivní [1,25(OH) 2 D2] a [1,25(OH)2 D3], **1,25-*dihydroxycholekalciferol (kalcitriol)***
- Všechny metabolity vitaminu D jsou v krvi vázány na vazebné proteiny, ve volné formě cirkuluje pouze malé množství



Vitamín E (tokoferol)

- Vitamin E tvoří směs čtyř tokoferolů a čtyř tokotrienolů. Nejdůležitější dietní forma vitaminu E je ***α-tokoferol.*** V krvi je transportován vazbou na LDL částice.
- ***Zdroje:*** rostlinné oleje (ořechy), rybí tuk, maso, mléko
- ***Funkce:*** antioxidant (chrání polynenasycené mastné kyseliny před oxidací, inhibuje oxidaci LDL částic), přispívá k udržení integrity buněčné membrány
- ***Nežádoucí účinky:***
  - ↑: gastrointestinální potíže, únava
  - ↓: poškození buněčných membrán, cévní onemocnění, jaterní nekrózy

Vitamín K

- Příjem potravou, bakterie ve střevě
- **Zdroje:** zelená zelenina, banány, sušené meruňky
- Společně s vit D důležitý pro syntézu osteokalcinu
- Syntéza koagulačních faktorů (tzv. PIVKA) – F II, VII, IX, X, PC
- Warfarin – lék proti srážení krve
- **Nedostatek:**
  - porucha vstřebávání živin (cholestáza, porucha střevní mikroflóry atd.)
  - Nedostatečný příjem v potravě

  → Riziko krvácení

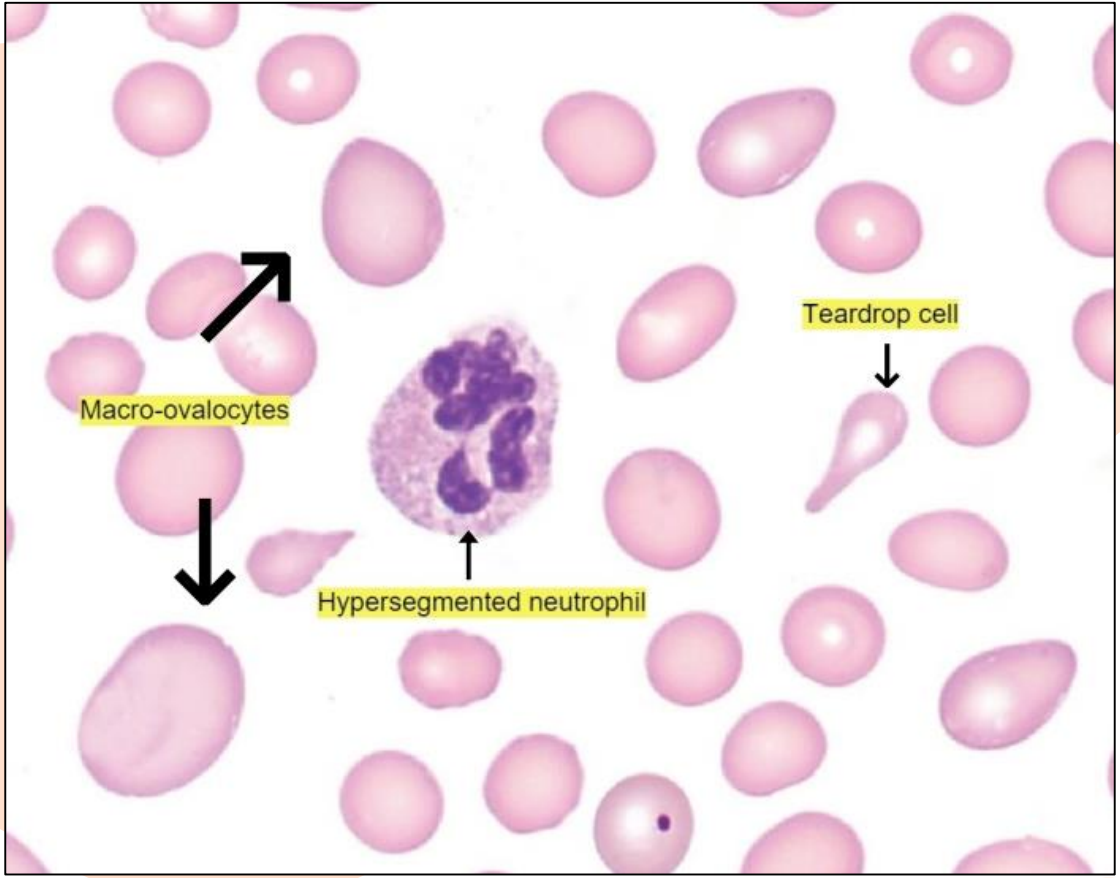
B12 (KOBALAMIN)

- Centrálně vázaný atom Co
- Zdroj: živočišné potraviny, fermentované potraviny- pivo, kefír
- Syntéza DNA (vývoj ery, růst, tvorba nukleových kyselin, dělení buněk, přeměna homocysteinu na cystein)
- Správná erytropoéza (společně s kys. listovou)
- ***Příčina:***
  - ***nedostatek v potravě***
  - ***Porucha vstřebávání ve střevě***
- ***Nedostatek:***
  - ***MEGALOBLASTOVÁ ANÉMIE***
  - ***↑homocystein – riziko aterosklerózy***
  - ***únava***
- diferenciální diagnostika anemických stavů, kontrola účinnosti substituční léčby

Megaloblastické anemie

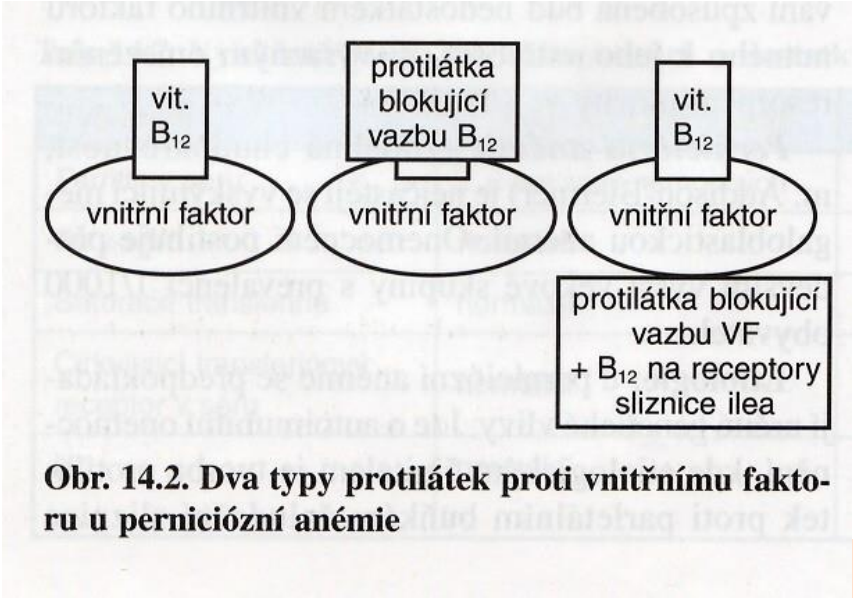
- **Anémie z nedostatku vitamínu B12 a kyseliny listové**
- Označují se takto dle morfologického vzhledu erytrocytů
- Nejčastější příčinou nedostatku vitamínu B12 je porucha vstřebávání
- Vnitřní faktor – glykopeptid nutný při vstřebávání B12 v ileu
- Nedostatek vnitřního faktoru nebo výrazné omezení resorpční plochy ve střevě
- ❖ Pernicióózní anémie – nejčastější, postihuje vyšší věkové kategorie, genetické vlivy, autoimunitní onemocnění (protilátky proti buňkám žaludeční sliznice)

Magaloblastová anemie



Megaloblastické anemie

- Prokázány dva typy protilátek:
- a) brání vazbě vit. B12 na vnitřní faktor
- b) inhibují vazbu komplexu vit. B12 - vnitřní faktor na receptory ve sliznici ilea

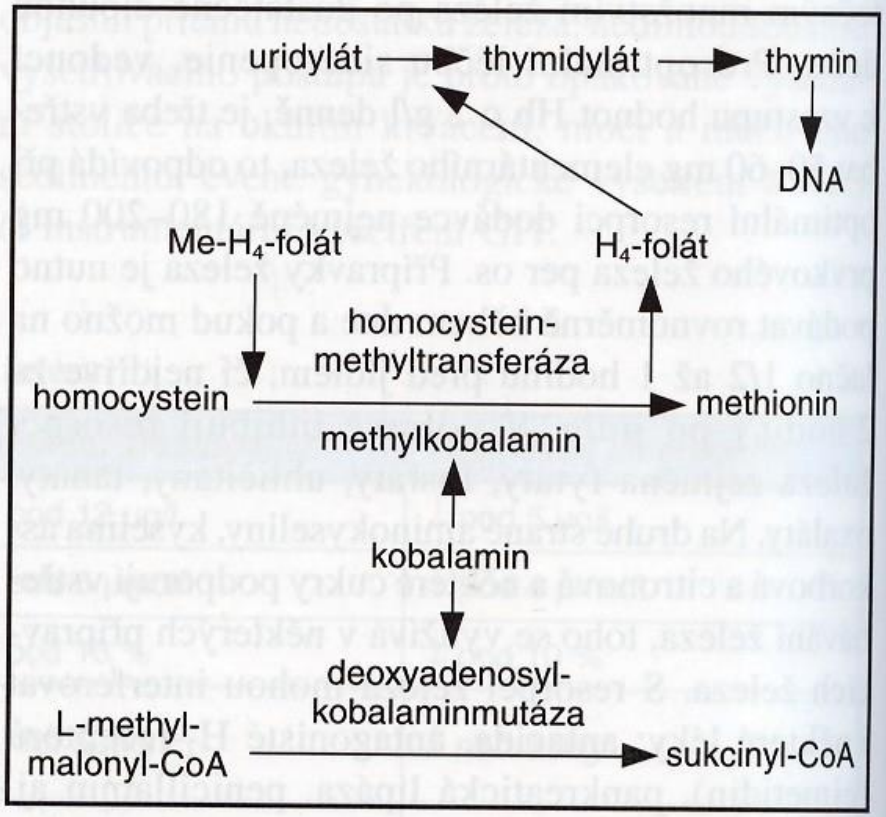


Obr. 14.2. Dva typy protilátek proti vnitřnímu faktoru u perniciózní anémie

Megaloblastické anemie

- Vzniká i po resekci žaludku – většinou kombinace nedostatku vitamínu B12 a kyseliny listové (ta se vstřebává v duodenu a horním jejunu)
- Vitamín B12 tvoří prostetickou skupinu enzymu homocysteinmethyltransferázy, která demethyluje tetrahydrofolát a přenáší methylovou skupinu z homocysteinu na methionin
- Tetrahydrofolát je následně opět methylován a je donorem methylové skupiny pro tvorbu thyminu
- Důsledkem nedostatku vit. B12 a kyseliny listové je tedy porucha syntézy thyminových bází a tvorby DNA
- Prodlužuje se S-fáze buněčného cyklu, při níž se zdvojnásobuje množství DNA, výsledkem je velký objem buňky s nezralým jádrem – megaloblast

Magaloblastová anemie



Obr. 14.3. Metabolismus vitaminu B_{12} a kyseliny listové

B1 (THIAMIN)

- ***Zdroje:*** *potraviny rostlinného i živočišného původu (kvasnice, játra, obiloviny, ořechy)*
- ***Funkce:*** *ovlivňuje metabolizmus sacharidů, rozvětvených aminokyselin, podporuje uvolňování H+ a e- ze živin a jejich další využití*
- ***Nedostatek:*** *únava, poruchy nervového a kardiovaskulárního systému, onemocnění beri-beri*

B6 (PYRIDOXIN)

- Vitamin B6 zahrnuje skupinu tří látek (pyridoxin, pyridoxal a pyridoxamin).
- Je důležitým koenzmem několika enzymových reakcí, propojuje metabolizmus sacharidů, lipidů a bílkovin
- **Zdroje:** bílkovinná rostlinná a živočišná strava (maso, játra, ryby, kvasnice, vejce, banány, ořechy, atd.)
- **Funkce:** účast na transaminačních a dekarboxylačních reakcích, oxidativní deaminaci atd., produkci červených krvinek a zvýšení hladiny hemoglobinu
- **Nedostatek:** deficit lze pozorovat v těhotenství, při anorexii, alkoholismu, u hemodialyzovaných pacientů.

Vitamín C (kyselina L-askorbová)

- *Silné redukční účinky*
- *Koncentrace vitaminu C v leukocytech odpovídá o stavu tkáňových zásob, stanovení v plazmě/séru podává informaci o denním příjmu*
- ***Zdroje:** ovoce a zelenina*
- ***Funkce:** antioxidant, kofaktor hydroxylačních reakcí (hydroxyprolin), ovlivňuje tvorbu kolagenu, podílí se na řadě redoxních pochodů, napomáhá k odolnosti proti infekcím*
- ***Nedostatek: s**nížená imunita, únava, zhoršené hojení ran, kurděje, skorbut*

Stanovení vitaminů

Stanovení vitaminů

- Přímé
  - hladina v krvi, v moči, tkáni

- Nepřímé
  - hladina metabolitu v krvi, moči
  - měření koncentrace po zátěži substrátem
  - změna aktivity enzymu po dodání vhodného koenzymu (vitaminu) reakce
  - produkt reakce katalyzované vitaminem

- Saturační testy

Nepřímé metody měření saturace vitaminu

- Měření sérové, močové nebo tkáňové koncentrace typického metabolitu
- Měření koncentrace hromadícího se metabolitu po zátěži substrátem
- Zvýšení aktivity enzymu po dodání koenzymu
- Stanovení produktu vytvořeného působením vitaminu

Saturační testy

- Zvýšené vychytávání vitaminu v organismu po jeho podání
  - Zvýšení jeho obsahu ve tkáních
  - snížená exkrece v moči

např. po podání vitaminu C v dávce 10 mg/kg
- jedná-li se o deficit vitaminu – nedochází k jeho vylučování močí

Chemické metody

- Bez předchozí separace jsou použitelné omezeně
  - čisté a koncentrované vzorky (potravinářské nebo farmaceutické)
- Chybí specifita a sensitivita pro kvantitativní stanovení vitaminů v biologických vzorcích
  - obsahují často řadu neznámých interferentů
- Nejsou vhodné ani pro diferenciaci mezi vitamíny

Enzymové metody

- Využití jejich funkce jakožto koenzymů
- Hlavně při stanovení aktuálního stavu saturace organismu vitaminy
- Stanovuje se aktivita enzymu s a bez aktivace přídavkem koenzymu (vitaminu)
    - sledováním změn koncentrace substrátů nebo produktů
- Často z plné krve nebo v erytrocytech, mohou být měřeny na automatických analyzátorech
- Nevýhodou je komplikovaná standardizace, nestabilita enzymů během skladování a interference

Imunochemické metody

- Zahrnují specifické protein-vázající postupy
- Snadno proveditelné v biologických matricích
- Snadná automatizace
- Kompetitivní reakce
    - Značení: izotopové, fluorescenční
    - Př. vitamín B12, folát
- Enzymoimunoanalýzy
    - Volný vitamin kompetuje s vitaminem značeným enzymem o vazbu na protilátku
    - př. pyridoxin

Imunochemické metody

- Problémy
  - Zkřížené reakce s ostatními modifikacemi vitaminu
- Výhoda
  - krátká doba analýzy
  - dobrá dostupnost
  - instalace na random access automatických analyzátorech

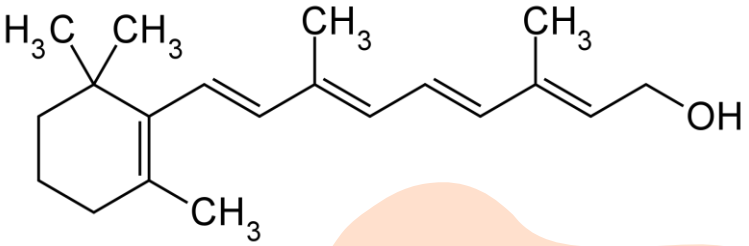
Separační techniky

- Dělení a identifikace v jednom běhu řadu vitamínů a jejich derivátů
- HPLC/UVD; FD; ED; MS
- LC-MS
  - přispívá k informacím o struktuře, velmi sensitivní
- CE – mikroemulzní elektrochromatografie
- CE-MS
  - vhodný postup vysoce citlivého stanovení některých vitaminů ve složitých matricích
- GC a TLC méně časté
- Imunoafinitní chromatografie je využívání k čištění a zakoncentrování vzorků

Příklady Stanovení vitamínů A,E

- Preanalytika
  - Vit. A = tma (UV záření); -20°C
  - Vit. E = deproteinace + antioxidační agens + vnitřní standard; -20°C
- Deproteinace, extrace hexanem, odpaření organické fáze v proudu dusíku, odparek rozpustit v mobilní fázi, nástřik na kolonu
- Dělení HPLC, detekce fluorimetricky (vit A 324 nm-> 470 nm); (vit E 298 nm -> 325 nm)

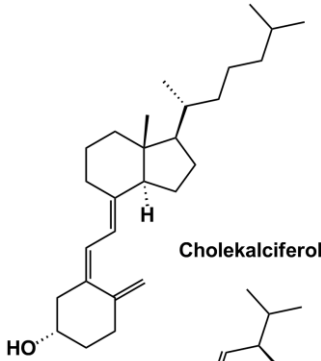
Vitamín A



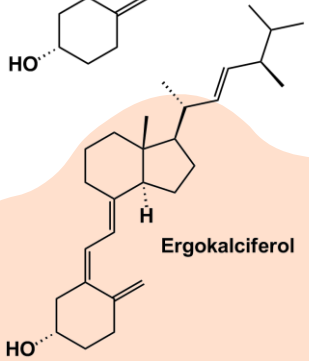
- Referenční metoda: LC/MS
- Certifikovaný ref. materiál: SRM 986b
- Preanalytika
  - Vit. A = tma (UV záření); -20°C; zabránit hemolýze
- Rutinní metody: HPLC, GC

Vitamín D

- Referenční metoda: není k dispozici
- Certifikovaný ref. materiál: není k dispozici
- Preanalytika
  - Vit. D = tma (UV záření); vzdušný kyslík; -20°C;
- Rutinní metody: imunochemicky; LC/MS (dokáže rozlišit jednotlivé formy vit. D= D2, D3)

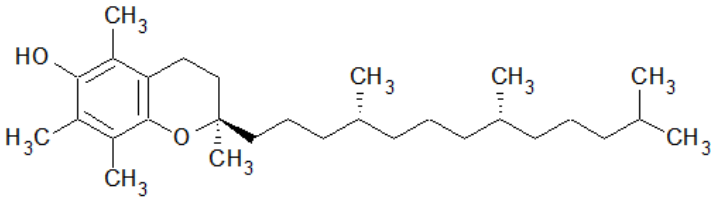


Cholekalciferol



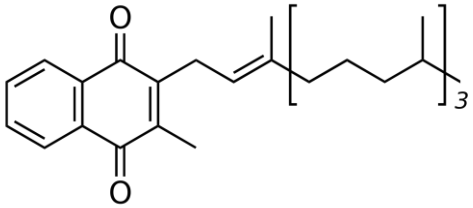
Ergokalciferol

Vitamín E



- Referenční metoda: HPLC
- Certifikovaný ref. materiál: SRM 986b
- Preanalytika
  - Vit. A = tma (UV záření); -20°C; zabránit hemolýze; deproteinace; přídavek antioxidačního činidla
- Rutinní metody: HPLC, GC

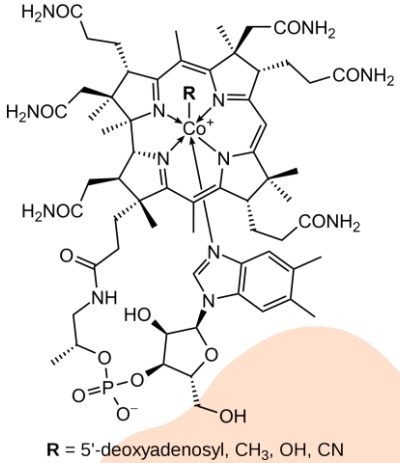
Vitamín K



- Preanalytika
  - Uchovat ve tmě
- Rutinní metody:
  - přímé stanovení – HPLC, LC
  - nepřímé stanovení – IHC, ↑PT

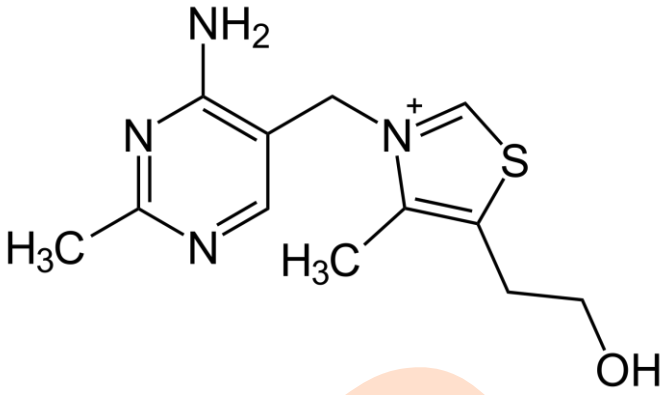
B12

- Referenční metoda: není k dispozici
- Certifikovaný ref. materiál: není k dispozici
- Rutinní metody: Imunoanalýza, HPLC



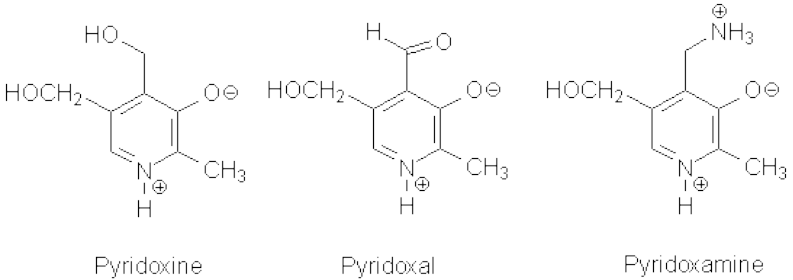
R = 5'-deoxyadenosyl, CH_3, OH, CN

B1



- Referenční metoda: není k dispozici
- Certifikovaný ref. materiál: není k dispozici
- Rutinní metody: HPLC

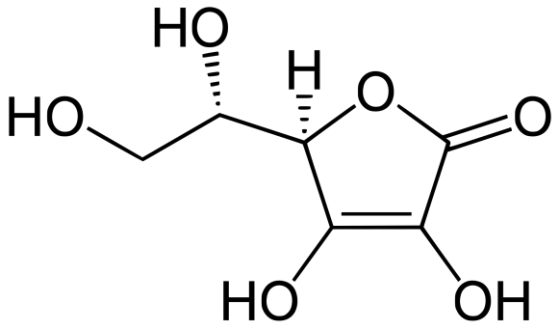
B6



Pyridoxine Pyridoxal Pyridoxamine

- Referenční metoda: není k dispozici
- Certifikovaný ref. materiál: není k dispozici
- Rutinní metody: HPLC

Vitamín C



- Referenční metoda: HPLC
- Certifikovaný ref. materiál: SRM970
- Nestabilní – snadná oxidace na oxalovou kyselinu (okyselení, deproteinace, přídavek red. činidla, -70°C)
- Rutinní metody: HPLC, LC, CE

Kazuistika – Vitamin D

- Steroidní hormonální prekurzory – kalciferoly
- D2 (ergokalciferol, rostlinného původu)
- D3 cholekalciferol (živočišného původu)
- tvoří se v kůži působením slunečního záření

- nezastupitelná role při metabolizmu Ca – novotvorba kostí

- ↑↑ VIT D vyplavovaní Ca z kostí, ↑↑Ca/S, ↑↑ Ca/U, kalcifikace měkých tkání (cévy, ledviny), poruchy GIT

- ↑↑Ca/S – slabost, letagie, únava, nechutenství, zvracení, iritace pankreatu, bradykardie a hypertenze, může vyvrcholit zástavou srdce

Kazuistika – Vitamin D

Muž, 21 let (zahraniční student medicíny),

- přijat na IKK pro slabost, nevolnost, zvracení, dyspepsii
- v nedávné době opakované hospitalizace pro podobné stavy s dg.pankreatitidy po dietní chybě.

- **Lab. nález:**
  - ↑urea 8,6 mmol/l, ↑krea 270 µmol/l, ↑amyláza 3,52 µkat/l, ↑↑Ca 3,80 mmol/l
  - pro snížení Ca byla zavedena rehydratační terapie a podpora diurézy
  - následně bylo doplněno vyšetření VIT D 1583 nmol/l [75-225]!!

- V rámci dif.dg se pátralo po jiných příčinách ↑↑Ca – vše negativní (PTH, RTG kostí, UZ…)

- Pacient přiznává opakovanou aplikaci preparátu s obsahem anabolik a VIT D – v rozmezí 3 měs. si do svalu aplikoval cca 14 mil. IU VIT D (DDD je 600 IU /den)

- Hyperhydratační, diuretická tarapie s aplikací kalcitoninu, parenterální výživa(elevace pankreatických enzymů), UZ vyšetření srdce s poz. Nálezem

- Po 33 dnech hospitalizace VIT D 1024 nmol/l, Ca 2,99 mmol/l…..

DĚKUJI ZA POZORNOST