

## Vápník, hořčík, fosfor, 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	

Sodíku, draslíku a chloridům je věnován jiný kurz (*Voda, elektrolyty, acidobazická rovnováha a kyslík*), v tomto kurzu ze zmíníme o prvcích uvedených v názvu kurzu, ze stopových prvků pak o mědi, zinku, křemíku, selenu, chromu, kobaltu, manganu, molybdenu, fluóru a jódu.

### VÁPNIK HOŘČÍK A FOSFOR

#### Vápník

V organismu je obsaženo asi 1200 g tj. asi 30 molů vápníku (1 kg = 24,95 molů), z toho asi 99% v kostech, zejména ve formě extracelulárních krystalů strukturou se blížících hydroxylapatitu/hydroxyapatitu  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ . Je to pátý nejčastěji se vyskytující kation v těle. Vápník se nachází ve třech hlavních tělesných prostorech (*compartments*): v kostech, měkkých tkáních (1%) a extracelulární tekutině, přičemž prakticky všechen je v plazmě.

#### Úloha vápníku v organismu

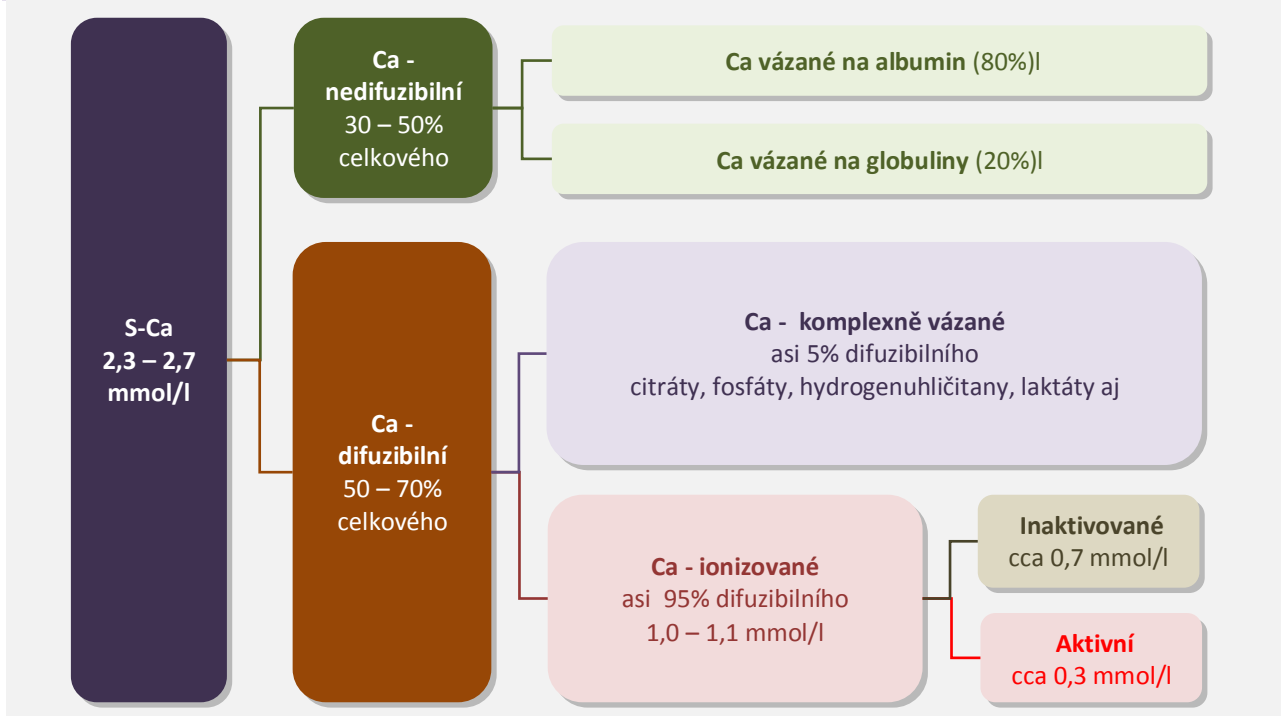
**Intracelulárně** se vápník vyskytuje nepatrně a plní tam četné fyziologické funkce, jako jsou podpora aktivity enzymů, regulace aktivity enzymů (prostřednictvím kalcium-dependentního proteinu *calmodulinu*), membránový přenos, iniciace svalové kontrakce, neuromuskulární dráždivost, sekrece hormonů, metabolismus glykogenu a buněčné dělení. Celkem 90 – 99% intracelulárního kalcia se nachází v mitochondriích a endoplazmatickém retikulu. Nízká koncentrace kalcia v cytozolu je udržována transportními mechanismy v plazmatické, mitochondriální a mikrosomální membráně. Tyto procesy hrají důležitou roli v biologické aktivitě ionizovaného kalcia. Do extracelulárního prostoru vytlačuje kalcium *kalciová pumpa*.

Vápník je **extracelulární** ion. Má důležitou roli ve výstavbě kostí, při srážení krve, udržování normální dráždivosti srdce, svalů a nervů, udržování selektivní propustnosti membrán a jejich stabilizace.

**V séru** se nachází v konstantním množství 2,3 – 2,7 mmol Ca/l (jiné zdroje uvádějí např. 2,15 – 2,57 mmol Ca/l, záleží i na metodě stanovení), a to ve dvou základních formách:

- **Ca nedifuzibilní** (nefiltrabilní) - vázané na bílkoviny, především na albumin a částečně na globuliny (A:G = 4:1), vazba je závislá na pH; nedifuzibilní vápník tvoří cca 30 – 50% celkového množství v séru
- **Ca difuzibilní** (filtrabilní), které je dále *ionizované* a *komplexně vázané*; představuje cca 50 – 70% celkového množství v séru, tj. 1,2 – 1,4 mmol/l
  - *Ionizované Ca* (těž volné, anglicky *free*) (1,0 – 1,1 mmol/l) je jednak *aktivní* (cca 0,3 mmol/l), jednak *inaktivované* (cca 0,7 mmol/l); ionizované kalcium tvoří zhruba 95% difuzibilního kalcia
  - *Komplexně vázaný vápník* (cca 5% difuzibilního kalcia) je tvořen citráty, fosfáty, bikarbonáty a jinými vápenatými solemi kyselin (Extracelulární vápník udržuje vápník intracelulární)

## Přehled forem vápníku



**Hladina v séru závisí** přímo úměrně na hladině bílkovin a nepřímo úměrně na hladině fosfátů a pH a na rovnováze mezi modulátory hladiny vápníku (viz následující *Regulace hladiny v krvi*).

**Regulace hladiny v krvi:** parathyrin neboli parathormon (PTH), produkt příštítných tělísek, zvyšuje sníženou hladinu kalcia v plazmě, syntéza PTH reaguje na koncentraci  $\text{Ca}^{2+}$  - hypokalcémie vede k vyšší syntéze a výdeji PTH; kalcitonin čili tyreokalcitonin (CT), produkt *parafolikulárních* čili *C-buněk* štítné žlázy, snižuje zvýšenou koncentraci kalcia v krvi; kalcitriol (*1,25-dihydroxycholecalciferol*), vitamín zvaný také *D-hormon*, omezuje vstřebávání kalcia ze střeva a PTHrP (*parathormon related protein [či peptid]*) působí podobně jako PTH (tumory produkující PTHrP mohou způsobovat hyperkalcémii)..

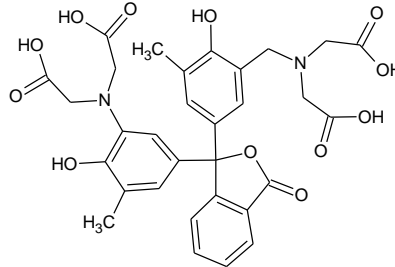
## Metody stanovení

1. **ISE** – jako jediná metoda stanovuje ionizované kalcium ( $\text{Ca}^{2+}$ )
2. **Atomová absorpční spektrometrie** (je podstatně vhodnější než plamenová fotometrie; referenční metoda) - užívané tam, kde je na pracovišti příslušný přístroj
3. **Plamenová fotometrie** (622 nm), v moči interference  $\text{Na}^+$  (589 nm)  $\Rightarrow$  nutno znát jeho hladinu; v moči vadí i fosfáty (přídavek komplexonu situaci řeší – dojde k hoření v plameni); nepříliš vhodná metoda
4. **Fotometrie** – různé komplexotvorné látky jako *o-kresolftaleinkomplexon*, *Arsenazo III* a další, tzv. *metalochromní indikátory* či *barvy*, vytvářejí s vápníkem barevné komplexy vhodné k fotometrii; v současnosti našly tyto metody své uplatnění zejména v automatických analyzátoch.
5. **Chelatometrické titrace** - některé aminopolykarbonové kyseliny (např. kyselina etylendiamintetraoctová, EDTA, resp. její dvojsodná sůl, tzv. Chelaton III) tvoří s kationty rozpustné, málo disociované komplexy, stálejší než komplexy s metalochromními indikátory. K připravenému vzorku se nejprve přidá metalochromní indikátor, se kterým vápník ze vzorku vytvoří barevný komplex. Pak se titruje chelatonem. Při titraci vytěsňuje chelaton z barevného komplexu indikátor (tvoří se stálejší komplex s chelatonem) a v bodě ekvivalence dojde k barevné změně.

## Metalochromní barviva a indikátory pro Ca (Mg)

(Látky vázající vápník za tvorby zbarvení, případně za vzniku fluorescence)

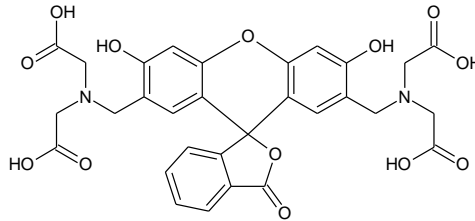
**O-kresolftaleinkomplexon (CPC):** 3', 3'' - bis[[bis-(karboxymetyl) amino]-metyl] – 5', 5'' - di-metylfenolftalein  
Dává v alkalickém prostředí s kalcíem červené zbarvení, 570 – 580 nm, nelineární závislost, vliv teploty (!), poměrně nestálé činidlo ve styku se vzduchem (nutnost časté kalibrace)



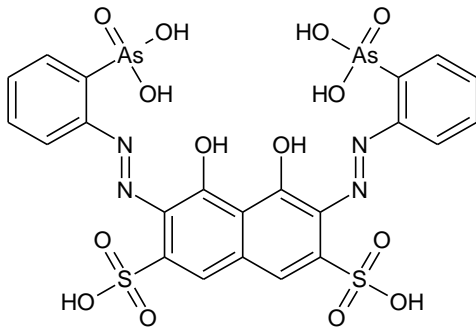
*O-kresolftaleinkomplexon (CPC)*

**Calcein:** bis[N,N-bis(karboxymetyl)aminometyl]fluorescein

Užívá se jako indikátor při komplexometrických titracích: komplex calceinu s vápníkem absorbuje světlo vlnové délky 490 nm a emituje světlo vlnové délky 520 nm, čili dochází k fluorescenci. Fluorescence je zrušena titrací EDTA nebo EGTA.

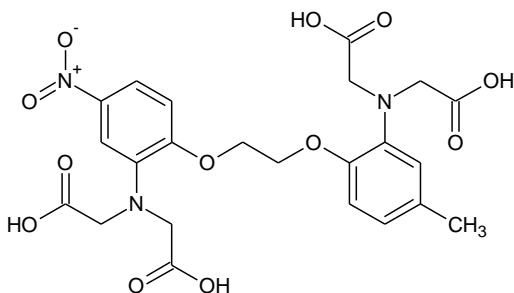


*Calcein*



**Arsenazo III:** kyselina 1,8-dihydroxynaftalen-3,6-disulfonová-2,7-bis[azo-2]-fenyl-arzonová

pH cca 6 (nutno pufování); činidlo má samo o sobě vysoký „blank“, tzn., že je intenzivně zbarvené, je ale stálé (na rozdíl od CPC) a na dobrém fotometru dává metoda s tímto činidlem dobré výsledky; určitou nevýhodou je, že činidlo patří mezi jedy. S vápníkem tvoří barevný komplex, který je možno fotometrovat při 660 nm.

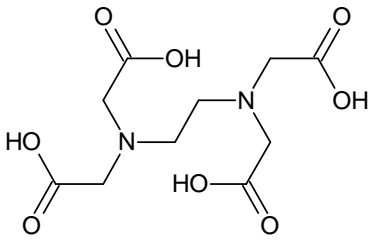


**NM-BAPTA (5-nitro-5'-methyl-BAPTA),** moderní činidlo pro stanovení kalcia (v alkalickém prostředí) na automatických analyzátoch, patentované fa Roche

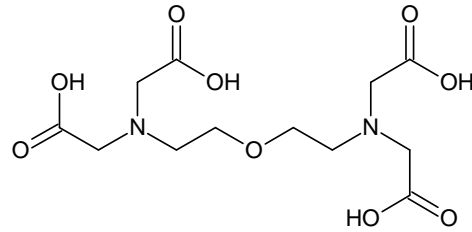
BAPTA = 1,2-bis(o-aminofenoxy)ethan-N,N,N',N'-tetraoctová kyselina; specifická pro kalcium; mohou se vázat i hořečnaté a zinečnaté ionty.

## Komplexotvorné látky pro vápník a hořčík

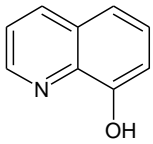
(titrační činidla pro komplexometrii = chelatometrii)



EDTA (kyselina etyldiamintetraoctová) – pro Ca i Mg



EGTA (kyselina etylen glykoltetraoctová) – pro Ca



8-hydroxychinolin - pro Mg;  
při stanovení vápníku slouží  
jako maskovací činidlo

### Klinické poznámky

Hladina vápníku se mění s věkem, závisí na pohlaví, ročním období a mění se i během těhotenství (kdy hladina celkového vápníku v séru klesá souběžně s hladinou albuminu, zatímco hladina volného kalcia se nemění). U novorozenců klesá hladina vápníku prvních několik dní po porodu, pak ale rychle stoupá a dosahuje hladin poněkud vyšších než jsou hladiny nalézané u dospělých.

Ne vždy vzájemně korelují naměřené hladiny celkového a volného vápníku. V některých případech je výhodnější stanovit spíše vápník volný než celkový (např. u hyperkalcémie, u chirurgických pacientů, u hyperkalcémie spojené s maligním procesem, u novorozenců a j.).

#### ↑ Hyperkalcémie:

**Příčina:** maligní nádory, primární a sekundární hyperparathyreoidismus (hyperkalcémie indukovaná parathormonem), zvýšená koncentrace 1,25-dihydroxyvitaminu D, imobilizace, příjem thiazidových diuretik. Existuje i *familiární hypokalciurická hyperkalcémie* (snížené vylučování kalcia močí).

**Projevy:** zvýšení svalové kontraktility, snížení nervové dráždivosti; při hodnotách >3,5 mmol/l se objevuje metabolická encefalopatie a gastrointestinální symptomy.

#### ↓ Hypokalcémie:

**Příčina:** nejčastější příčinou je hypoalbuminémie, dále hypoparathyreoidismus (dochází k redukci funkcí stimulovaných parathormonem – např. střešní absorpce kalcia, uvolňování kalcia z kostí, reabsorpce kalcia v ledvinných tubulech), pseudoparathyreoidismus (koncový orgán nereaguje na působení parathormonu), renální selhání, nedostatek vitaminu D a defekty v jeho metabolismu, (snížená absorpce vápníku ze střeva), malabsorpční syndrom (snížená absorpce vápníku ze střeva), akutní pankreatitida

**Projevy:** až hypokalcemická tetanie

**Poznámka:** rovněž vzrůst pH vede k tetanii; při alkalizaci se proteiny více ionizují, přibývá více (záporných) vazebných míst pro ionizovaný vápník, dochází tedy k úbytku ionizovaného kalcia v séru na úkor kalcia nedifuzibilního, tj. vázaného na proteiny

### Exkrece vápníku močí

Stanovení v moči se indikuje v případech bolesti kostí, urolitiázy (močové kameny), u známek renálního selhání, při dlouhodobé léčbě kortisonem, u chronických průjmů, při zvýšeném vylučování tuků stolicí a pro rozlišení mezi familiární hypokalciurickou hyperkalcémií a primárním hyperparathyroidismem.

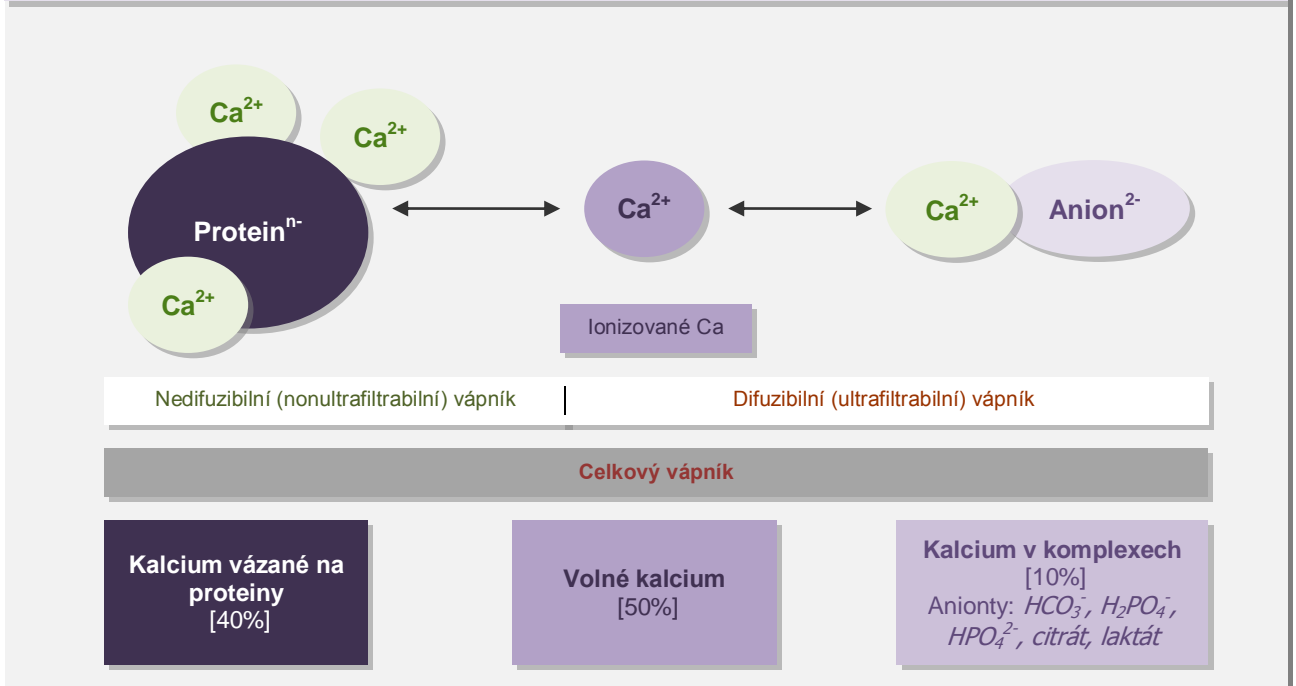
### Snížená exkrece kalcia do moči

Hodnotí se s ohledem na jeho příjem. Snížení exkrece kalcia do moči může být způsobeno např. osteomalácií, jejíž příčinou je nedostatek vitaminu D. U hyperkalcémie se měří 24 hodinová exkrece kalcia do moči, aby se zjistila případná přítomnost skryté *familiární hypokalciurické hyperkalcémie* (viz výš).

**Praktická poznámka:** při fotometrickém stanovení hladiny kalcia v moči je nutno celý obsah sbírané moči okyselit a promíchat, aby se rozpustily případné krystaly vápenatých solí.

## Jiný pohled na formy vápníku

Fyziologický stav (Ca 2,15 – 2,57 mmol/l, tj. 86 – 103 mg/l)



Podle Kolektiv autorů, Tietz textbook of Clinical Chemistry

## Hořčík

Hořčík, přesněji řečeno hořečnatý kation, zaujímá čtvrté místo v pořadí iontů obsažených v lidském organismu a seřazených podle vyskytujícího se množství a z tohoto hlediska druhý *intracelulární* kation. Tělo průměrného dospělého jedince (cca 70 kg) obsahuje 21 – 28 g magnesia, tj. asi jeden mol. Přibližně 60% z celkového množství je v kostech, 20% v kosterním svalstvu, 19% v ostatních buňkách a asi 1% v extracelulární tekutině (ECT). Zhruba 1/3 kosterního Mg je směnitelná – asi zásobárna pro ECT. Zbylé 2/3 se nacházejí v minerální vycpávce kostry. Přibližně 39% z celkového množství hořčíku přítomného v těle je uvnitř buněk. V buňce se nacházejí asi 1 – 3 mmol Mg/l, záleží na metabolismu buňky, mezi množstvím magnesia v buňce a metabolismem buňky existuje přímá závislost).

**Poznámka:** Lze se setkat i s těmito údaji – průměrný obsah Mg v těle 25g (1,03 molu), z toho 55% v kostech, zbývajících 45% v buňkách.

**Rozdělení magnesia v buňce:** Většina hořčíku (tj.  $Mg^{2+}$ ) v buňce je navázána na proteiny a záporně nabitě molekuly, cytosolický hořčík je navázán z 80% na ATP. Významná množství hořčíku se nacházejí v jádře, mitochondriích a v endoplasmatickém retikulu. Z celkového množství v buňce je asi 0,5 – 5% Mg volného a tato frakce je pravděpodobně důležitá pro podporu enzymové aktivity.

V séru se nachází přibližně 0,70 – 0,99 mmol hořčíku/l. Asi 55% je volných (*free*), 30% je navázáno na proteiny (především na albumin) a cca 15% je v komplexech s fosfáty, citráty a jinými anionty. Zásoby v ETC poskytují zdroj Mg pro ITC.

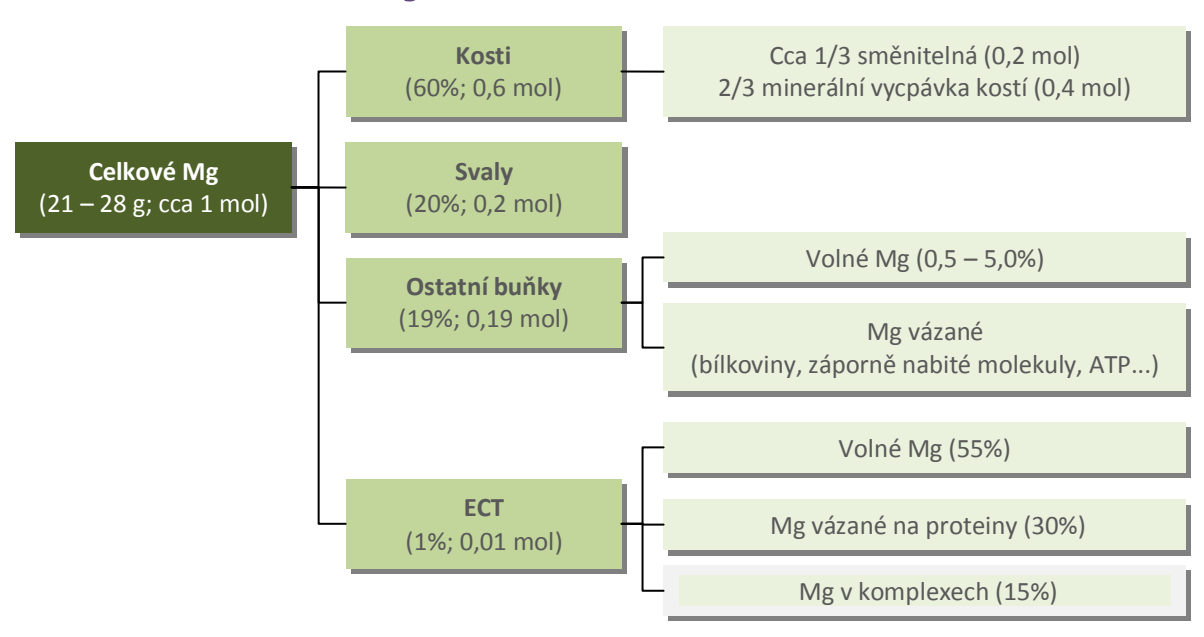
V erythrocytech je asi 3x více magnesia jak v séru (! *hemolýza!*).

## Úloha magnesia v organismu

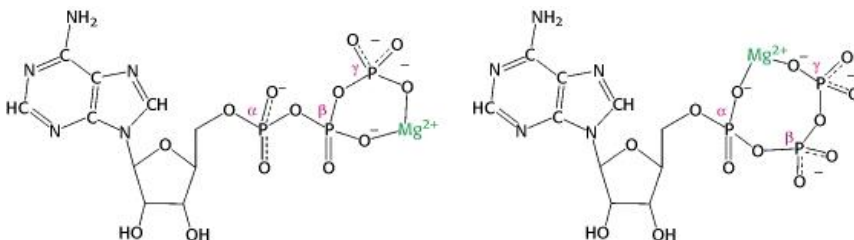
Mnohé úlohy magnesia v organismu jsou dány skutečností, že magnesium v biologických systémech

- soutěží s vápníkem o vazebná místa na proteinech a membránách
- může tvořit cheláty (komplexy) s důležitými vnitrobuněčnými anionickými ligandy (tj. látkami, které jsou této vazby schopny), zvláště s adenosintrifosfátem (ATP)

## Přehled rozdělení hořčíku v organismu



**Intracelulární** hořčík katalyzuje nebo aktivuje (alosterický aktivátor) více než 300 enzymů v těle (jedná se zejména o enzymy mající účast v buněčném dýchání, glykolýze a v přenosech dalších kationtů, jako jsou vápník a sodík, přes membrány a samozřejmě mnoha dalších). Hořčík významně ovlivňuje propustnost a elektrické vlastnosti membrán, rovněž ovlivňuje metabolismus vápníku. Hořčík je rovněž důležitý při syntéze bílkovin. Jeho přítomnost vyžadují některé regulační proteiny, jinak jsou neaktivní. Hořčík je důležitý i při buněčném dělení, v metabolismu nukleotidů a syntéze proteinů



Dvě izomerní formy komplexu ATP-Mg<sup>2+</sup>.  
Hořčík vytváří pnutí ve vazbách fosfátového řetězce a zvyšuje tak vazebnou energii. ATP má vlastnosti makroergické sloučeniny.

**Extracelulární** hořčík slouží jako zdroj intracelulárního. Stabilizuje nervové axony, ovlivňuje uvolňování tzv. neurotransmiterů (nervových přenašečů) v neuromuskulárních spojích. Snížení sérové hladiny magnesia vede ke zvýšené neuromuskulární vzrušivosti.

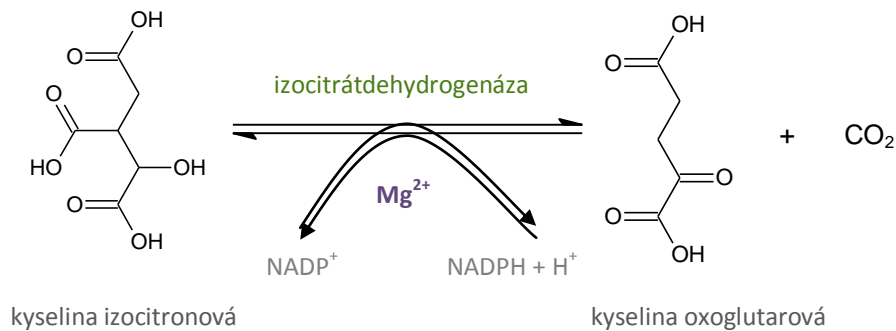
## Metody stanovení hořčíku

- Atomová absorpční spektrometrie** – referenční metoda; vzorek se ředí (50x) roztokem s obsahem lanthanu a HCl pro eliminaci aniontů; absorbuje se záření o vlnové délce 285,2 nm
- Komplexometrie** - titrace s Chelatonem III, indikátorem může být např. Eriochromová čern T (srovnej se stanovením vápníku)
- Plamenová fotometrie** – magnesium vysílá čáru 285,2 nm, ovšem za teplot používaných u plamenové fotometrie emituje velmi slabě; dochází navíc k četným interferencím se sodíkem, draslíkem a fosforečnany; metoda není vhodná pro stanovení v moči, ani pro stanovení v séru se nedoporučuje
- Fotometrie** – podobně jako u vápníku se využívá selektivní vazby hořčíku s některými metalochromními indikátory či barvivy. Mezi nejužívanější patří:
  - *Xylidylová modř* (MAGON) (1-azo-2-hydroxy-3-[2,4-dimethylkarboxanilido]-naftalene-1'-[2-hydroxybenzen]) dává s hořčíkem v alkalickém prostředí červeně zbarvený komplex měřitelný

v oblasti kolem 600 nm; přidávají se látky bránící interferenci vápníku a proteinů *Souprava BLT: Magnesium 280*)

- *Calmagit* (kyselina 1-[1-hydroxy-4-metyl-2-fenylazo]-2-naftol-4-sulfonová): s hořčíkem tvoří v alkalickém prostředí barevné komplexy fotometrovatelné při 530 – 550 nm; přidávají se látky bránící interferenci vápníku, bílkovinám a lipidům
  - *Magneson* – má obdobnou strukturu jako *Calmagit*, pouze místo metylové skupiny obsahuje chlorid (chlorované azobarvivo)
  - *Metyltymolová modř* dává s hořčíkem modrý komplex; fotometrie při 600 nm; přidává se EGTA bránící interferenci vápníku
  - *Arzenazo III* – viz stanovení vápníku; metoda je uspořádána tak, aby bylo zabráněno interferenci kalcia
5. **Enzymové stanovení** – při stanovení se využívá závislosti enzymového systému na iontech magnesia – např. je to systém hexokináza/ATP/ADP/NADP/NADPH

Příklad metody ABBOTT pro analyzátor ARCHITECT: *Next Generation Magnesium (3P68-21, -31)*  
Stanovení optickým testem



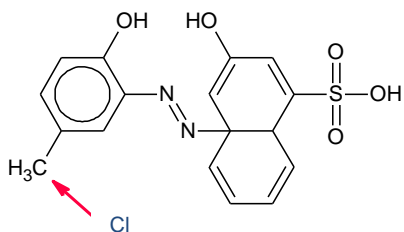
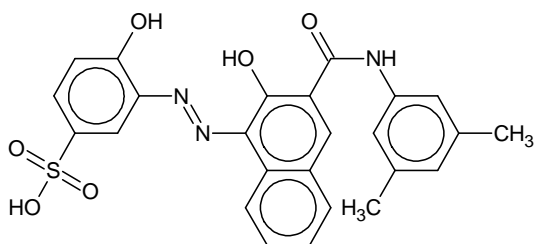
6. **ISE** – stanovení volného magnesia v krvi, plazmě nebo séru

Iontově-selektivní analyzátor *Nova crt* serie firmy Nova biomedical, dodavatel Tecom Analytical; např. typ 8 umožňuje stanovení  $\text{Mg}^{2+}$





## Chemické vzorce některých metalochromních indikátorů pro Mg

*Calmagit*(je-li místo označené CH<sub>3</sub>- skupiny atom Cl, jedná se o *Magneson*)*Xylidylová modř* (Magon)**Poznámky k metabolismu a klinické poznámky**

Z gastrointestinálního traktu se běžně vstřebává kolem 20 – 30% přijatého magnesia. Záleží na potřebě organismu i na přítomnosti dalších látek přijatých s potravou (fosfátech, proteinech, vápníku, apod.). Hořčík se vylučuje převážně ledvinami, které mají schopnost regulovat množství vylučovaného hořčíku. Hořčík zastává nezastupitelnou roli v hemokoagulaci, v permeabilitě buněčných membrán, v neuromuskulární dráždivosti, v metabolismu kostí, při aktivaci enzymů, při vazbě ribosomálních subčastic, v účasti na řízení koncentrační schopnosti ledvin.

**Referenční hodnoty** pro S-Mg: 0,70 – 0,99 mmol/l

(pro BLT: Mg 280 uvádí výrobce normu hodnot 0,7 – 1,1 mmol/l); referenční hodnoty se zvyšují s věkem.

**Regulace hladiny magnesia:** ačkoliv plazmatická koncentrace magnesia je udržována v úzkých mezích, nejsou přesné fyziologické mechanismy této regulace plně pochopeny. Z dosavadních poznatků vyplývá, že regulace absorpce hořčíku se účastní parathormon, úloha vitamínu D je sporná. V homeostázi hořčíku a udržení jeho hladiny v plazmě hrají významnou roli ledviny. Za normálních podmínek, kdy 80% plazmatického hořčíku je filtrovatelných, je denně filtrováno 84 mmol hořčíku, 95% z toho je reabsorbováno a pouze 3 – 5 mmol přechází do moči. Reabsorpce hořčíku závisí ve značné míře, na reabsorpci chloridu sodného. Z dalších faktorů, které ovlivňují tubulární reabsorpci hořčíku, jsou to hormony PTH, kalcitonin, adiuřetin, glukagon a inzulin, hladina hořčíku v plazmě (hyperkalcémie), nedostatek fosfátů (fosfátová deplece), rychlost glomerulární filtrace aj.

**↑ Hypermagnesémie:**

Intoxikace magnéziem není častým zjevem, i když středně zvýšené hodnoty sérového magnesia jsou pozorovatelné u zhruba 12% hospitalizovaných pacientů. Symptomatická hypermagnesémie je téměř vždy způsobena excesivním příjmem či aplikací magnesiových solí. Většina těchto pacientů má jako průvodní jev renální selhání, tudíž omezenou schopnost vylučování magnesia ledvinami. Známou příčinou je podávání antacid (léky proti překyselení žaludku), nálevů a infuzí. Příčinou intoxikace magnéziem u rodiček a jejich novorozenců může být magnesiová terapie hypertenze indukované těhotenstvím (preeklampsie a eklampsie). Dalšími příčinami mohou být *familiární hypokalcuriická hyperkalcémie* a další.

**Projevy:** nejznámějšími projevy hypermagnesémie jsou neuromuskulární symptomy. Mezi nejčasnější signály patří vymizení šlachových reflexů (hyporeflexe), což nastává při koncentraci sérového magnesia v rozmezí cca 2,1 – 3,7 mmol/l. Při koncentracích 4,1 – 4,9 mmol/l může dojít k potlačení dýchání (respirační deprese) až k zástavě dechu díky paralýze dýchacích svalů. Vyšší koncentrace mohou být kardiotoxické a mohou vyústit v srdeční zástavu. Lze se setkat i s dalšími symptomy, jako jsou somnolence, hypotenze, nausea, zvracení a zarudnutí kůže.

Hypermagnesémie vede k poklesu sérové koncentrace kalcia. Má se za to, že důvodem je pokles sekrece parathormonu (vysoké sérové koncentrace magnesia snižují sekreci PTH) a postižení orgánů na které PTH v konečné fázi působí.



### ↓ Hypomagnesémie:

Deficit magnesia je poměrně obvyklý, vyskytuje se u zhruba 10% pacientů a kolem 65% u pacientů v intenzivní péči. Příčinami mírných či vážných deficitů hořčíku jsou obvykle jeho ztráty gastrointestinálním traktem nebo ledvinami. Rovněž malabsorpce může být příčinou hypomagnesémie. Existuje celá řada chorob, které k tomuto stavu vedou, jejich výčet na tomto místě by byl zbytečný. K depleci magnesia může přispět i zvracení, obvyklejší cestou jsou však ztráty z dolních partií střeva.

Tak jsou často komplikovány nedostatkem magnesia akutní průjemové stavy, Crohnova choroba a ulcerativní kolitida. Dalšími příčinami mohou být karence v potravě, porucha resorpce, dieta chudá na proteiny a kalorie, akutní pankreatitida, chronický alkoholismus, excesivní laktace druhý a třetí semestr těhotenství, onemocnění ledvin a štítné žlázy (hypoparathyreoidismus) a některá antibiotika. Ke ztrátám magnesia ledvinami vedou i vzrůstající exkrece sodíku a kalcia (hyperkalcemické stavy).

*Projevy:* Deficit magnesia je obvykle druhotným jevem jiného chorobného stavu či léčby, takže příznaky primární choroby mohou komplikovat či maskovat hypomagnesémii. Nedostatek Mg působí na celou řadu orgánů. Dochází k tonickým stahům vyvolávajících až tetanické křeče, je ovlivněna vodivost nervových vzruchů, dochází k srdeční arytmii.

Jedním z častých projevů je zvýšená neuromuskulární dráždivost, ale dá se počítat se širokým spektrem neuromuskulárních problémů, mezi které patří latentní tetanie, tetanie a (epileptický) záchvat. Jedna z nejvážnějších komplikací hypomagnesémie je její vliv na kardiovaskulární systém (tachykardie, fibrilace). Mnohé z těchto projevů je způsobeno hypokalémií. Nedostatek magnesia vyúsťuje do jeho markantního vyplavení z buněk a následných ztrát ledvinami. Hypokalémie je tudíž obvyklým rysem hypomagnesémie.

Projevy deficitu magnesia připomínají symptomy hypokalcémie, k porušení homeostáze magnesia a kalcia dochází často společně. Proto se doporučuje při klinickém hodnocení brát v úvahu hladiny obou kationtů.

### Význam stanovení sérového magnesia pro hypomagnesémii

S-Mg představuje kolem 1% celkového tělesného magnesia. Ačkoliv je tento parametr obecně používán k hodnocení stavu hypomagnesémie, nemusí jeho hodnoty odpovídat skutečným koncentracím hořčíku v buňkách, tedy skutečné hypomagnesémii. Lékař musí brát v potaz i jiné signály poukazující na možnou přítomnost deplece hořčíku, jako je již zmiňovaná hypokalcémie, hypokalémie či zvýšená neuromuskulární dráždivost a srdeční arytmie.

### Magnesium v moči

Hladina sérového hořčíku je pouze omezeně užitečným parametrem pro zhodnocení zásob magnesia, protože zásoby hořčíku jsou zejména lokalizovány uvnitř buněk, intracelulárně a hodnoty sérového magnesia s nimi nekorelují. Opakovaně snížené hodnoty sérového hořčíku však silně svědčí pro skrytou hořčíkovou deficienci. V kritických případech je užitečné stanovení exkrece hořčíku ve sbírané moči (24 h).

## Fosfor

Fosfor se v organismu vyskytuje ve formě anorganických a organických fosforečnanů. Tělo dospělého člověka obsahuje asi 600 g (19,4 molu) fosforečnanů vyjádřených jako fosfor. Zhruba 85% **celkového** množství je v kostře a zbytek je v měkkých tkáních.

### Relativní rozdělení vápníku, hořčíku a fosforu v těle

Tkáň	Relativní rozdělení (%)		
	Vápník	Fosfor	Hořčík
Kostra	99	85	55
Měkké tkáně	1	15	45
ECT	< 0.2	< 0.1	1
Celkem (g/mol)	1000/25	600/19,4	25/1,0

## Význam fosforu v těle

Fosfor v ECT (plazmě) udržuje hladinu v ICT (intracelulárního fosforu), poskytuje substrát pro mineralizaci kostí, je hlavní součástí hydroxylapatitu v kostech. Kosterní fosfor je zásobárnou fosforu.

Většina fosfátů v měkkých tkáních se nachází *uvnitř buněk* (je *intracelulární*, je to hlavní intracelulární anion). Z drtivé většiny se jedná o organické fosfáty přítomné v nukleových kyselinách, fosfolipidech, fosfoproteinech a makroergických sloučeninách (ATP, GTP apod.). Hrají klíčovou roli v regulaci intermediárního metabolismu, proteinů, tuků, sacharidů, genové transkripce. Tyto fosfáty jsou rovněž důležité pro enzymové systémy (2,3-di-P-glycerát, adenylátcykláza, hydroláza vitamínu D aj.)

### Plazmatický/sérový fosfor:

- zhruba 10% je *vázáno na bílkoviny*,
- asi 35% je *v komplexech s Na, Ca a Mg*,
- zbývajících cca 55% představuje *volný (free) fosfor (fosfáty)*.

**Plazma** obsahuje přibližně 0,81 – 1,45 mmol/l (25 – 45 mg/l) anorganických fosfátů (fosforečnanů  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  a  $\text{HPO}_4^{2-}$ ); tato část (frakce) se rutinně stanovuje při biochemických analýzách jako tzv. *anorganický fosfor  $P_i$* . Koncentrace plazmatických fosfátů je odvislá od potravy a závisí též na sekreci hormonů jako je parathormon. Odchytky mohou činit až 0,48 mmol/l (15 mg/l).

**U dětí** je hladina plazmatických fosfátů (rovněž vyjádřená jako anorganický fosfor) přibližně 1,29 – 2,26 mmol/l (40 – 70 mg/l). Hladina sérového fosforu je vyšší odpoledne a večer, doporučuje se ranní odběr.

### Poměr sérových fosforečnanů $[\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}]$ závisí na pH:

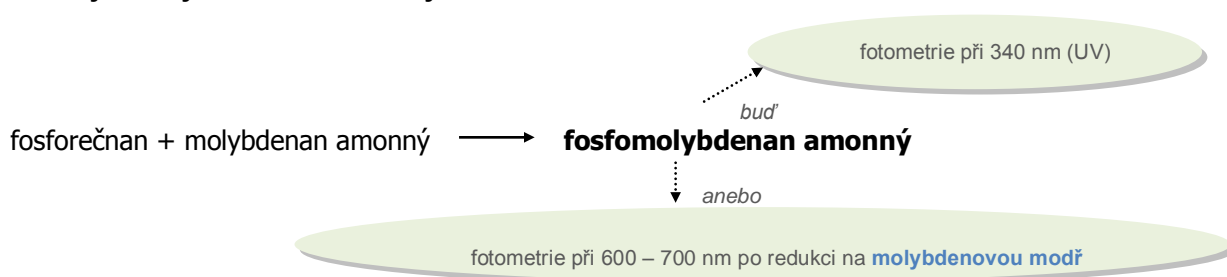
pro pH 7,4 je	1 : 4
pro pH > 7,4 je	1 : 9
pro pH < 7,4 je	1 : 1

## Přehled forem (stavů) vápníku, fosforu a hořčíku v normální plazmě

Stav	Přibližný procentový obsah z celku		
	Ca	P	Mg
Volný (ionizovaný)	50	55	55
Vázaný na proteiny	40	10	30
V komplexech	10	35	15
Celkem (mg/l)	86 – 103	25 - 45	17 – 24
Celkem (mmol/l)	2,15 – 2,57	0,81 – 1,45	0,70 – 0,99

## Metody stanovení

### 1. Metody s molybdenanem amonným



Činidlem pro redukcí může být např. N-fenyl-p-fenyldiamin, kyselina askorbová a mnoho jiných látek – každé z nich má své přednosti a zápory. Reakce je obecně závislá na pH (vyžaduje kyselé prostředí)

**Dg souprava PLIVA-Lachema Diagnostika:** Fosfor UV Liquid 250 (P UV L 1x250); molybdenan amonný tvoří s fosforem za přítomnosti kyseliny sírové sulfomolybdenanový komplex, vhodný pro fotometrické stanovení

## 2. Metody s vanadičnanem amonným

Molybdát a vanadát tvoří s fosforečnany v kyselém prostředí *žlutý* komplex. Metoda může dávat falešně vyšší výsledky (hydrolyza organických esterů).

**Dg souprava PLIVA-Lachema Diagnostika:** Fosfor (P 80); činidlem je vanadičnan amonný, výsledkem je žlutě zbarvená kyselina molybdátovanadátosfosforečná. Stanovení se provádí po předchozí deproteinaci kyselinou trichloroctovou, ve sraženině je možno stanovit i tzv. lipoidní fosfor – přidá se kyselina chloristá a koncentrovaná kyselina dusičná a po zahřátí k mírnému varu se postupuje, jak je uvedeno výš

## 3. Metody enzymové

Bylo popsáno mnoho metod využívajících

- enzymy s koenzymem NAD resp. NADP (tvorba redukované formy, optický test)
- enzymy produkující peroxid vodíku (využití Trinderovy nebo obdobné reakce)

## Klinické poznámky

### ↑ Hyperfosfatémie:

*Příčina:* hojení zlomenin (těžké fraktury, období léčby), u dětí normálně v období růstu, snížení funkce příštinných tělísek, chronické poškození ledvin (chronická nefritida, tubulární insuficience), nedostatečná činnost nadledvinek (Addisonova choroba), akromegalie (hypofyzární gigantismus), hypervitaminosy vitamínem D (zvyšuje se resorpce ze střeva a resorpce v tubulech), diabetické ketoacidózy a laktacidózy.

### ↓ Hypofosfatémie:

*Příčina:* jako následek léčby (diuretika, inzulin aj.), zvýšená funkce štítné žlázy a příštinných tělísek, tubulární defekt resorpce fosfátů, bakteriální sepe, akutní otrava alkoholem, fenylketonurie, familiární hypolipidémie, nedostatek vitamínu A, snížená funkce hypofýzy, hyperinzulinismus.

při poklesu  $\text{Ca}^{2+}$  dojde k nárůstu P a opačně: [ $\uparrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \downarrow \text{P}$ ]; [ $\downarrow \text{Ca}^{2+} \rightarrow \uparrow \text{P}$ ].

## Fosfor v moči

Vylučované množství kolísá s věkem, svalovou hmotou, funkcí ledvin, PTH, stavem ABR, denní dobou aj. Nově popsané regulační molekuly se nazývají *fosfatony*, což je skupina proteinových hormonů, které snižují reabsorpci fosfátů v ledvinách. Vliv má i dieta! Fosfor v moči je z 95 – 100% anorganický fosfát.

↑ **Zvýšený výdej fosfátů:** fyzická zátěž, zvýšený příjem v potravě, snížená funkce nadledvin, katabolismus, snížená koncentrace vápníku, acidosa, hyperparathyreosa.

↓ **Snížený výdej fosfátů:** nízký příjem bílkovin potravou, těhotenství, ledvinové choroby spojené s polyurií, podávání inzulinu, vápníku, vitamínu D.

**Praktická poznámka:** (sbíranou) moč určenou ke stanovení fosforu (a vápníku!) je nutno okyselit HCl a důkladně promíchat před odběrem vzorku (zabránění tvorby nerozpustných sraženin)

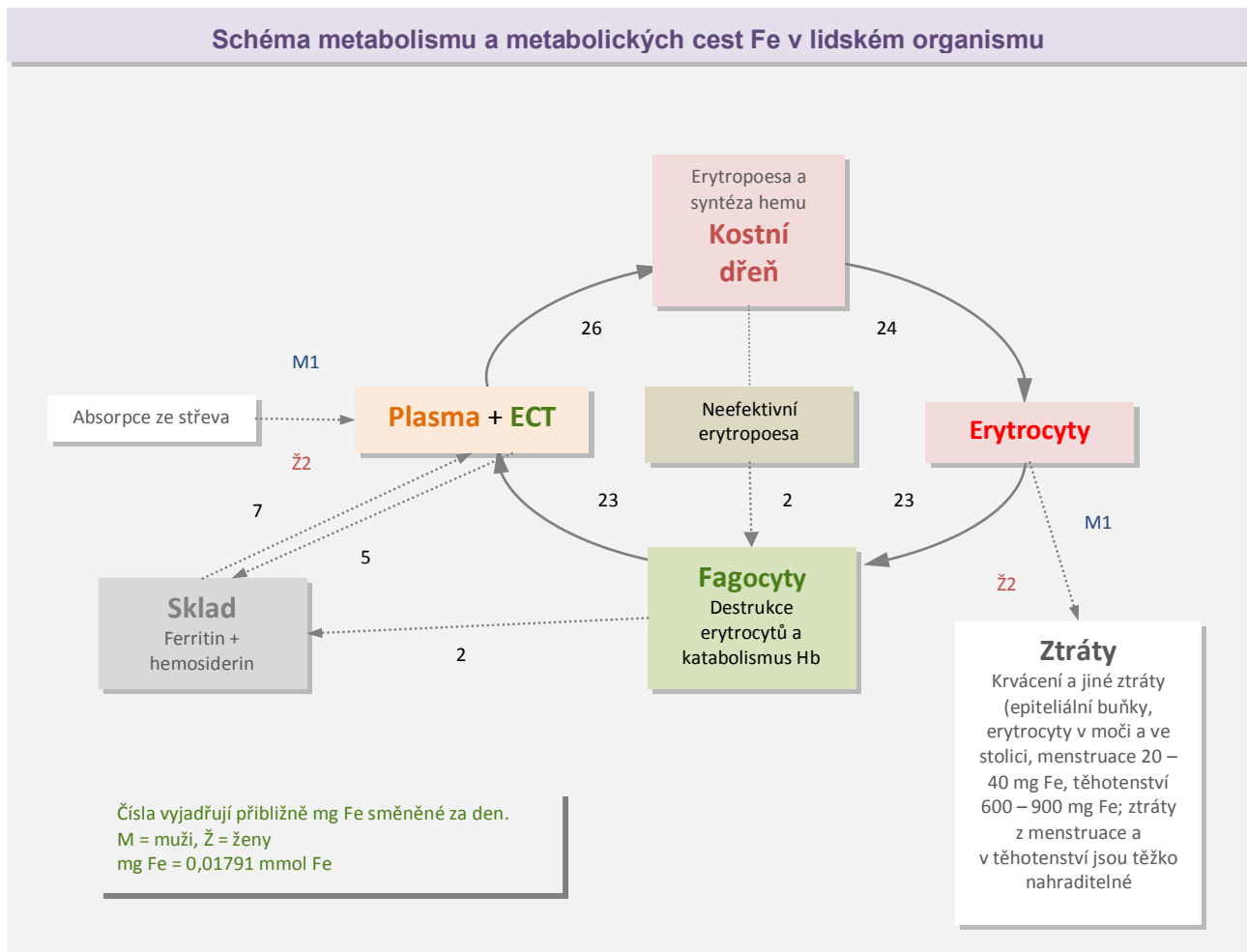
## ŽELEZO

Železo je jedním z fyziologicky nejvýznamnějších prvků. Železo hraje důležitou roli v řadě redoxních reakcí probíhajících v organismu. Všeobecně známá je role železa (ve formě iontu  $\text{Fe}^{2+}$ ) v hemu, který je součástí hemoglobinu, myoglobinu, cytochromů, cytochromoxidázy, peroxidázy, katalázy aj. enzymů. V dýchacím řetězci se ve formě *FeS-proteinu* účastní přenosu elektronů. V organismu dospělého člověka se nacházejí přibližně 3 – 4 g Fe.

Navzdory nadbytku Fe v přírodě a v erythrocytech, připomíná jeho metabolismus 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 asi jedné tisícině obsahu Fe a ostatní železo se „recykluje“.

## Rozdělení železa

Železo je v organismu rozděleno následujícím způsobem (zaujímá určitou oblast či "oddělení" či „část“, *anglicky „compartement“*): v hemoglobinu, navázáno na transportní bílkovinu *apotransferin*, v zásobní formě (*ferritin* + *hemosiderin*) - „sklad“, v tkáních, v myoglobinu, v hypotetickém tzv. „labilním poolu“.



Velmi dobře udělané nenudící instruktážní video o metabolismu železa je možno nalézt [zde](#).

**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. žaludeční HCL, askorbové, ale také jablečné z potravy ap.). Pokud se tak nestane, železo se nevstřebá (!). Vstup se děje prostřednictvím *transportéru pro  $Me^{2+}$* , tzv. DMT-1 (*divalent metal transporter* – přenašeče pro dvojmocné kovy). Mechanismus vstřebávání hemového železa není ještě dostatečně prozkoumán.

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

**Hemoglobin** - Asi 2,5 až 3 g (44,8 až 53,8  $\mu\text{mol}$ ) Fe je v Hb, tj. asi 75% celkového obsahu Fe v organismu, ve váhovém objemu Hb je asi 0,34% Fe.

**Transport Fe** z orgánu do orgánu zprostředkovává plasmatický transportér, tj. *apotransferin*, což je  $\beta$ -1-globulin, 75 000, 2 vazebná místa pro Fe na 1 molekule, každé místo váže 1  $Fe^{3+}$  spolu s  $HCO_3^-$ . Komplex **apotransferin- $Fe^{3+}$  = transferin**, cca 2,5 mg (cca 45 nmol) Fe v plasmě, nachází se i v buněčném cytosolu (= intracelulární transportér).

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



Při překročení vazebné kapacity transferinu se v plasmě 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 viz výš pod obrázkem). Při tomto ději dojde opět k redukci železa na dvojmocné a jeho uvolnění (kanálem DMT-1) z endosomu (*buněčná organela, do níž putují endocytotické váčky*) do buňky.

**Skladování železa** - hlavní sloučeninou při skladování je **ferritin**, sférická molekula skládající se ze skořápky *apoferritinu* a vnitřního krystalického jádra s obsahem Fe.

**Apoferritin** je složen z 24 podjednotek (monomerů), majících průměr asi 13 nm; vnitřního krystalického jádro je složeno z oxyhydroxidu železitého (FeOOH)<sub>x</sub>, 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, Fe<sup>2+</sup>, kyselina askorbová a FMN. Konec pórů = enzymatická vazba Fe. Při difúzi dvou Fe<sup>2+</sup> dojde k tvorbě 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 redukováným 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 dřeně a jiných orgánů, slouží ferritin jako **rezerva** Fe pro Hb a jiné hemové proteiny. Jako zásobní ferritin se ukládá železo v případě, že okamžitě po vstřebání nedojde k syntéze hemu. Při velké nabídce Fe se tvoří hemosiderin (viz dále)

Celková zásoba Fe (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 (!).*

**Hemosiderin** (druhá zásobní forma) = agregovaný, částečně deproteinizovaný ferritin, na rozdíl od ferritinu *nerozpustný ve vodných roztocích* (původně jediný vzájemný rozlišovací znak). Fe se z hemosiderinu uvolňuje pouze pomalu, pravděpodobně proto, že se hemosiderin nachází ve velkých agregátech, a má tak mnohem menší poměr povrch/objem. Jako ferritin i hemosiderin se převážně nachází v buňkách jater, sleziny a kostní dřeně.

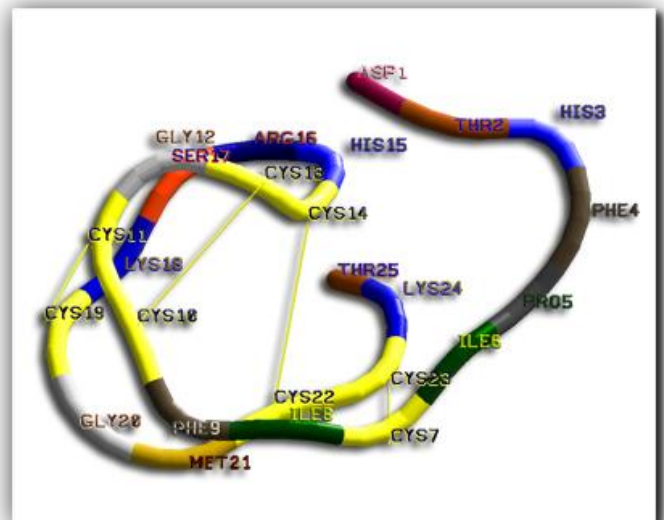
**Tkáňové železo** - Fe vyžadují mnohé buněčné enzymy a koenzymy buď jako součást molekuly, či jako kofaktor. Za zmínku stojí *peroxidázy* a *cytochromy*. Asi polovina enzymů z Krebsova cyklu vyžaduje Fe. Tyto enzymy a koenzymy, které jsou ve všech jaderných somatických buňkách, se nazývají *část* (tj. příslušející část, množství) *tkáňového Fe* (*tissue iron compartment*) či stručně *tkáňové železo*. Tkáňového Fe je asi 8 mg (0,14 μmol) - malé množství, ale metabolicky kritické (rozhodující). Při deficitu Fe mizí tkáňové Fe jako první.

**Myoglobin** - celkově obsahuje cca 130 mg (2,33 μmol)Fe. Netvoří tetramery a není ovlivňován koncentrací 2,3-DPG (2,3-difosfoglycerát). Jinak velmi připomíná podjednotku hemoglobinu.

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

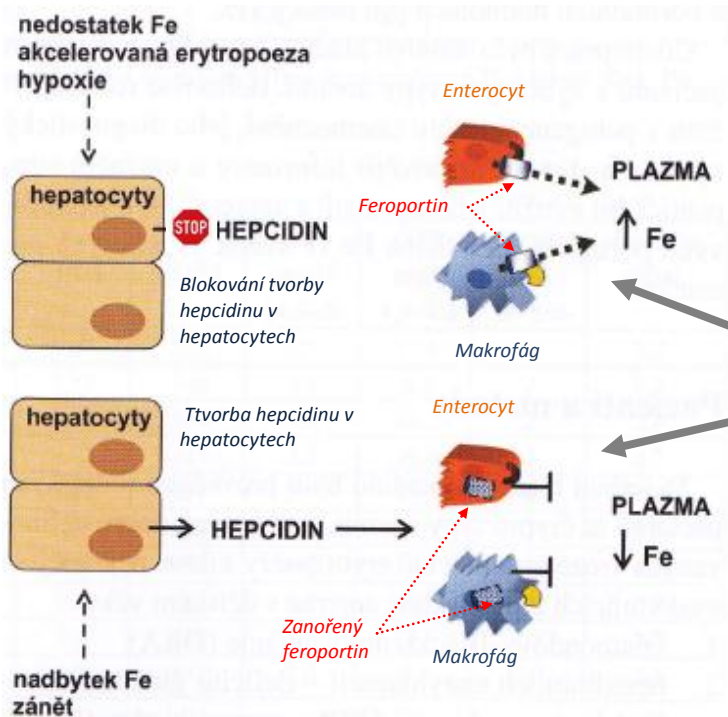
### Regulace hladiny železa v organismu

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). Je to *negativní regulátor* uvolňování železa z enterocytů duodena, z makrofágů a z hepatocytů: zvýšení koncentrace hepcidinu vede ve zvýšené míře k jeho vazbě na *feroportin*, což je hlavní bílkovina zajišťující *export Fe z buněk*; feroportin je cílovou strukturou působení hepcidinu. 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





Regulace systémové homeostázy Fe hepcidinem

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

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 erythropoezy, hladinu Fe a jeho zásoby v organismu a na tenzi kyslíku.

*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.

O stanovení hepcidinu metodou ELISA si můžete počíst [zde](#).

## Metody stanovení S-Fe, S-TIBC a saturace transferinu

### 1. Atomová absorpční spektrofotometrie

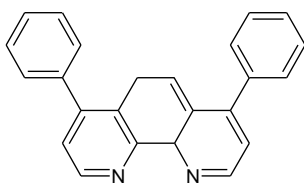
Železo se stanovuje v supernatantu po deproteinaci séra (odstranění hemoglobinu!)

### 2. Fotometrické stanovení S-Fe

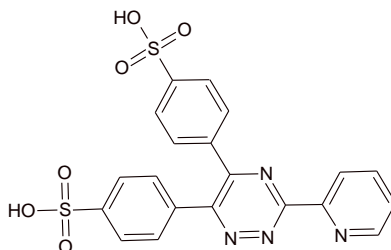
Fe se uvolní z transferinu snížením pH séra. Zredukuje se z  $Fe^{3+}$  na  $Fe^{2+}$  a pak naváže do komplexu s *chromogenem*, který obsahuje reaktivní skupinu [=N-C-C-N=]. (Stejná struktura jak u známého antikoagulans *EDTA*). Fe je vázáno chelátovou vazbou mezi dvěma dusíkovými atomy. Komplex [*Fe-chromogen*] má extrémně vysokou absorbanci. Absorbance je přímo úměrná koncentraci.

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

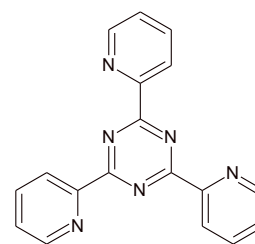
### Chromogeny



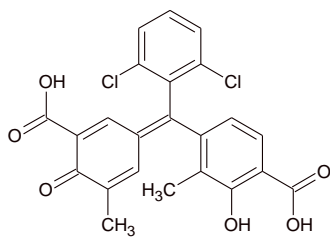
Bathofenanthrolin



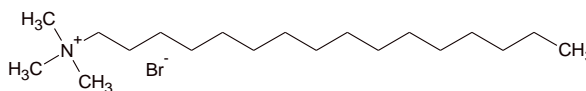
Ferrozín, PST



Tripyridyl triazin, TPZT



Chromazurol B

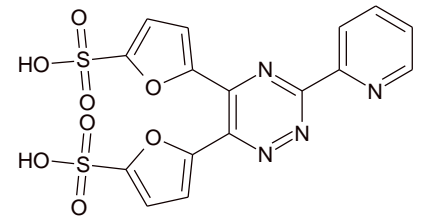


CTMA



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

1. **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  $\mu\text{mol/l}$   
Metoda se v současnosti používá poměrně málo
2. **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
3. **Železo liquid 250 (Fe L 1x250)**, s Ferene, fotometrie při 623, 620 až 640 nm, metoda určená k automatizovanému provozu



Ferene

**Jiné diagnostické soupravy:** např.

- **Železo 400**, SKALAB Svitavy, s Ferenem 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.

**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). Při nedostatku železa je omezena krveoběh, dochází ke snížené tvorbě erytrocytů, ty jsou menší (mikrocyty) a jsou hypochromní (obsahují méně hemoglobinu). Vyvíjí 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 Fe 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 vypovídací hodnotu než sérové železo. Jako pomůcka se také používá stanovení koncentrace volného protoporphyrinu erytrocytů (*FEP = free erythrocyte protoporphyrin*; viz také poznámku na str. 20), 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 dřeně* reakcí s pruskou modří, na průkaz přítomnosti či nepřítomnosti hemosiderinu (mikroskopie).

**↑ 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 příjem 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 čil HH 2. typu, kdy je zmutován tzv. *hemojuvelin* (membránový rozpustný protein; zkratky HVJ, HFE2, RGMc) případně je zmutován (velmi vzácně) samotný hepcidin. Je důležité chorobu diagnostikovat, jinak vede během několika let ke smrti. Léčba spočívá v odebírání 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 zmnoženým výskytem sideroblastů. Železo se hromadí v erytroidních prekurzorech.

Metody používané ke stanovení nadbytku železa jsou 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  $\mu\text{mol/l}$ . Saturace transferinu přesahující 60% obvykle svědčí o nadbytku Fe. V pokročilých stádiích nadbytku Fe, saturace transferinu přesahuje 90%. FEP (*free erythrocyte protoporphyrin*) test (viz výš) se při diagnostikování nadbytku železa nedá použít, S-ferritin je necitlivý pro stanovení raných stádií nadbytku Fe. Význam stanovení sérového železa (S-Fe), celkové vazebné kapacity (S-TIBC) je v podstatě pouze ve screeningu chorob s nadbytkem železa a v potvrzení a monitorování akutní otravy železem u dětí.

### Interpretace nálezů sérového železa (S-Fe)

S-Fe představuje  $\text{Fe}^{3+}$  vázané na transferin, 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).

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 dárcovství 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.

### Transferin

Sérový transferin slouží jako **vazebná rezerva pro Fe**, 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*). Asi přesnější by bylo definovat „... kapacita pro železo“ nebo „... železo vázající kapacita“. TIBC je stanovení maximální koncentrace Fe, kterou mohou navázat sérové proteiny, principiálně transferin. S-TIBC kolísá podle poruch metabolismu Fe. Často je zvýšena u nedostatku Fe a snížena u chronických zánětlivých chorob či malignit, a často je zvýšena také u hemochromatosisy.

### Stanovení celkové a volné vazebné kapacity

V testovaném vzorku se stanoví S-Fe a pak se k němu přidá dostatečné množství  $\text{Fe}^{3+}$  pro saturaci vazebných míst na transferinu. Další postup má minimálně dvě varianty:

1. Odstraní se přebytek  $\text{Fe}^{3+}$  - např. adsorpcí na uhlíčitán hořečnatý, pomocí ionexu, apod. - a ve vzorku s odstraněným přebytkem  $\text{Fe}^{3+}$  se znovu stanoví S-Fe, tj. TIBC (v tomto případě S-Fe = TIBC (CVK).

#### Výpočet VVK:

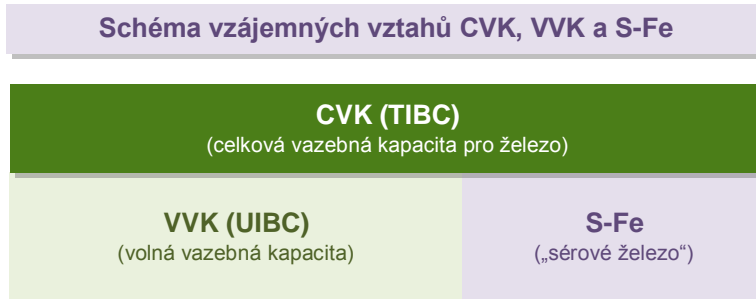
$$\text{UIBC} = \text{TIBC} - \text{S-Fe, resp. VVK} = \text{CVK} - \text{S-Fe}$$

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

2. Metody jsou nastaveny tak, že není potřeba odstraňovat přebytečné železo, ale stanoví se úbytek Fe z přidaného množství, což odpovídá vazbě na volnou kapacitu transferinu; v praxi to vypadá tak, že po vysycení transferinu (ve vzorku) roztokem  $\text{Fe}^{3+}$  o známé koncentraci  $c_{\text{Fe}}$ , se ve stejném vzorku

stanoví Fe (tj. to Fe, které se nenavázalo a zůstalo v roztoku,) – naměří se hodnota ( $Fe_{sat}$ ), která je od původní, známé hodnoty, zmenšena o podíl, který se navázal na volnou kapacitu transferinu:

Výpočet VVK:  $VVK (UIBC) = c_{Fe} - Fe_{sat}$   
 kde  $c_{Fe}$  = koncentrace přidaného Fe,  $Fe_{sat}$  = koncentrace Fe naměřená po vysycení transferinu



*UIBC = Unsaturated Iron Binding Capacity (nevysycená = volná vazebná kapacita pro Fe)*

*TIBC = Total Iron Binding Capacity (celková vazebná kapacita pro železo)*

*Poznámka: Je možný i takový postup, že se použije standard se známou hodnotou VVK a výpočet potom odpadá, měří se přímo VVK.*

### Saturace a koncentrace transferinu

**Saturaci transferinu lze vypočítat např.:**

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

**Výpočet 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. 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 Fe a pro potvrzení a monitorování akutní otravy železem u dětí.

#### Poznámky:

- hemolýza má velmi malý vliv na stanovení S-Fe (kromě AAS), pouze u markantních hemolýz by měl být opakován odběr (uvolnění malých množství Fe z Hb).
- stanovení TIBC je ovlivněno mnoha faktory (viz tabulka): 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.

### Ferritin a význam jeho stanovení

V krvi se nachází ve velmi nízké koncentraci, asi 1% plasmatického Fe (P-Fe) je obsaženo ve ferritinu. P-ferritin je v rovnováze s tělesnými zásobami, a rozdíly v kvantitativním obsahu v zásobovacích odděleních 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.

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

Druhá strana mince: mnoho chorob **zvyšuje hladinu S-ferritinu** (ferritin se chová jako bílkovina akutní fáze - 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 sérového ferritinu. Vzrůst 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. Na měření raného zvýšení Fe se stanovení S-ferritinu jeví jako méně citlivá metoda, než je stanovení S-Fe, TIBC (CVK), saturace transferinu.

## Principy stanovení ferritinu

1. **Imunoradiometrie (IRMA)**
2. **Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)**, tj. metoda stanovení s navázanou protilátkou značenou enzymem
3. **Turbidimetrie** (definovaná tvorbou precipitátu v roztoku)

Ve všech případech se jedná o imunochemické stanovení na principu reakce *antigen + protilátka = komplex [antigen-protilátka]*. Vzniklý komplex *[antigen-protilátka]* se kvantifikuje pomocí různých metod: s využitím radioizotopu = IRMA, enzymu = ELISA, nebo fotometrickým proměněním vzniklého homogenního zátaku = turbidimetrie (podrobnosti viz v kreditním kurzu *Bilkoviny*).

### Bývalá souprava reagentů 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:** Ferritin ze vzorku reaguje s monoklonálními protilátkami proti lidskému ferritinu. Protilátkami jsou potaženy částice koloidního zlata. Dochází k aglutinaci a zvýšení absorpance zlatého koloidu (při 600 nm). Zvýšení absorpance je přímo úměrné koncentraci ferritinu ve vzorku.

### Referenční intervaly (95% percentily)

muži	20 - 300 µg/l	<b>Poznámky:</b> - U různých metod se dosahují různé výsledky - každá laboratoř si musí stanovit vlastní referenční intervaly - 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.
ženy	15 - 120 µg/l	
novorozenci	25 - 200 µg/l	
1 měsíc	200 - 600 µg/l	
2 - 5 měsíců	50 - 200 µg/l	
6 měs - 15 let	7 - 142 µg/l	

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

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





## Měď

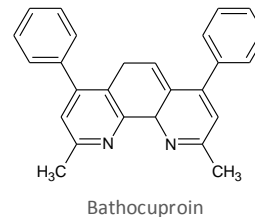
Měď je v krvi vázána na albumin, histidin (volný i v bílkovinách) a na speciální transportní bílkovinu *transcuprein*. Játra zabudovávají měď do *ceruloplazminu* secernovaného do krve, kde je vázáno 90% plazmatické mědi. Měď se vylučuje žlučí. Nadměrný příjem mědi blokuje vstřebávání zinku a naopak. 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.

### Metody stanovení

1. **Atomová absorpční spektrometrie (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:  $\text{Cu}^+ + \text{bathocuproin} = \text{barevný komplex}$

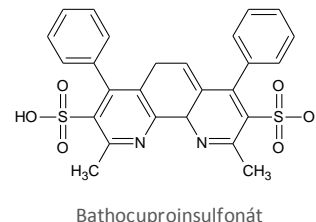
Bathocuproin je látka velmi podobná bathofenantrolinu (viz vzorec bathofenantrolinu na str. 13), obsahující navíc dvě  $-\text{CH}_3$  a dvě  $-\text{SO}_3\text{H}$  skupiny. Používají se i jiná činidla, např. diethylthiokarbamat, bis-cyklohexanon, oxaldihydrazon (*cuprizon*) aj.



### Referenční hodnoty

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

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 střevní 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* = hepatocelulární degenerace (dědičné onemocnění). Nedostatečná tvorba ceruloplazminu, celková koncentrace mědi v séru je snižena, je však vyšší *volná frakce* mědi, která proniká do jater, mozku a ledvin a způsobuje cirhózu a neurologické poruchy. Pacienti mají zvýšené vylučování mědi močí.
- Hepatitida, různé typy anémií, 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.

## 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 (analogue 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 *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, protože jeho absorpci inhibuje vláknina, která je v této stravě rovněž přítomna. Absorpci naopak podporují mořské ryby, játra a vejce.

### Metody stanovení

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  $\mu\text{mol/l}$

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

↑↑ **Akutní otrava** - zvracení, průjem, 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.

## 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.

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 přesličce a kopřivě.

**Metody stanovení:** 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  $\mu\text{mol Si/l}$

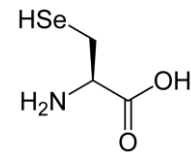
↓ **Nedostatek křemíku** vede ke ztrátě elasticity a zeslabení cévní stěny, která se tak stává náchylnější k rozvoji aterosklerózy; negativně ovlivňuje vývoj pohybového aparátu a celkový růst, vznikají abnormality kostí a chrupavek s výrazným snížením kostního kolagenu, zejména u lebky a dlouhých kostí.

## Selen

V organismu se selen neskládá, při zastavení příjmu (cibulová zelenina) rychle vzniká jeho deficit. Vylučuje se převážně močí. Bezpečný příjem je 50 - 200 µg/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; *jodtyronin-5-dejodáza* - přeměna T<sub>4</sub> na T<sub>3</sub>) 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.



Selenocystein

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

### Referenční hodnoty:

Dospělí: 1,0 - 1,9 µmol/l

↓ **Nedostatek selenu.** Dlouhodobý nedostatek vede ke kardiomyopatii a k obdobnému postižení kosterních svalů; zvýšené riziko karcinogeneze, rozvoje aterosklerózy, poruchy funkce štítné žlázy, snížení imunity.

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

## Chró

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.

Při zpracování potravin klesá v nich obsah chromu, takže dieta je obecně na chrom chudá. Zdrojem jsou celozrnné obilniny, brambory, ořechy, zelené fazole, pivovarské kvasnice a mořské produkty.

Chró vykazuje různé vlastnosti podle mocností:

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

**Metody stanovení:** 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.

↓ **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 pozorován pouze v experimentech na různých druzích zvířat i na lidech.

## Kobalt

Biologický význam kobaltu spočívá v tom, že působí jako kofaktor v některých enzymatických reakcích, konkrétně v těch, které obsahují cytochromoxidázu, superoxidodismutázu 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 korrinoidech obecně viz kreditní kurz *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 buněk žaludeční sliznice, tzv. *vnitřní faktor*. V krvi je kobalt transportován glykoproteinem *transkobalaminem I-III* zejména do jater a kostní dřene, kde spolupůsobí při stimulaci erytropoézy.

Z organismu se vylučuje stolici (90%) a močí (10%). Tento poměr svědčí o jeho špatné absorbovatelnosti.

Zdrojem kobaltu jsou listová zelenina a játra.

**Metody stanovení:** 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

↓ **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.

## Mangan

Součástí některých metaloenzymů (*superoxidodismutáza* - anitoxidační účinky, viz výš). Aktivuje enzymy uplatňující se při syntéze glykosaminoglykanů (tj. *mukopolysacharidů*, větvených 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, mandel, vojtěška, borůvky, petržel a jeřabiny. Určité množství se nachází i v rýži, olivách, špenátu, kokosových ořechách a řeřiše.

**Metody stanovení:** 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

↓ **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.

## 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 *sulfát oxidáza*, *aldehyd oxidáza*, 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  $\alpha_2$ -makroglobulin, v plazmě se nachází jako molybdenan ( $\text{MoO}_4^{2-}$ ).

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.

**Metody stanovení:** 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

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

## 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 vyčytáván v kalcifikovaných tkáních (kosti, zuby). Do těchto tkání se ukládá přibližně polovina přijatého fluoru. Vylučování je ovlivněno hodnotou pH.

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

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

**Referenční interval hodnot v séru/plazmě:** 20 - 50 µg/l, tj. 1,0– 2,6 µmol/l

↓ **Nedostatek fluóru** se (snad) 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 µmol/l. Intoxikace může být akutní či chronická (např. ze zakázaných deratizačních prostředků a insekticidů na bázi fluoridu sodného, resp. fluorosilikátů, vdechování prachu s obsahem fluoru, 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, hemorrhagie (hematologické). Může dojít až k úmrtí ochrnutím dechových center a zástavou srdce v diastole.

## 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.

**Metody stanovení:** 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 analyzátor *EcaFlow 150GLP*, který využívá principy průtokové elektrochemie, coulometrie a coulometrických titrací.

↓ **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.



Elektrochemický analyzátor  
*EcaFlow 150GLP*



## 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

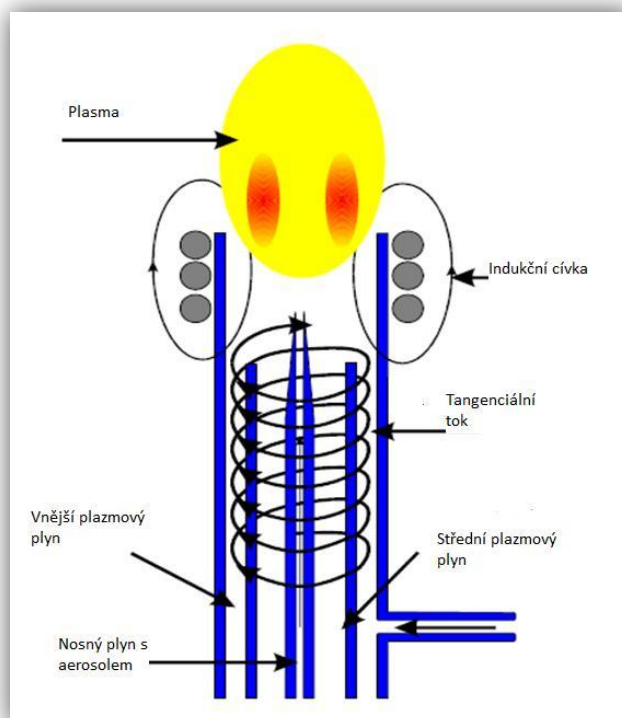
- iontově selektivní elektrody (ISE), stanovení zejména kationtů, z aniontů pak zejména fluoridů a jodidů
- voltametrii (polarografii), stanovení látek schopných měnit oxidační stupeň
- elektrochemické techniky jako je anodová proužková voltmetrie (ASV)
- rentgenovou fluorescenční spektrometrii (XRFS: *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)
- hmotovou/hmotnostní spektrometrii (MS)
- neutronovou aktivační analýzu (NAA), což je víceprvková analýza s vysokou citlivostí a selektivitou, vhodná pro malé vzorky, patřící mezi jaderné analytické metody
- emisní spektroskopii (ES), do které patří
- plazmová emisní spektroskopie (ICPES: *Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry, emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, resp. ICP-AES: Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectroscopy, atomová emisní spektroskopie s indukčně vázaným plazmatem*).
- hmotová/hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

Popsány byly i HPLC techniky.

### Indukčně vázané plazma - ICP

ICP-AES je jedna z technik atomové spektroskopie. K atomizaci a excitaci používá jako zdroj plazmu, která je elektricky neutrálním, vysoce ionizovaným plynem, sestávajícím z iontů, elektronů a atomů. Plazma je čtvrtým skupenstvím hmoty a nejrozšířenější formou látky ve vesmíru. Příklady plazmy nacházející se v přírodě jsou slunce, blesk a severní záře. V běžném životě se nachází plazma v zářivkách, neonech a v elektrickém oblouku. Analytická plazma je tzv. nízkoteplotní (*non-thermal*), resp. „cold“, což nelze překládat doslova, protože elektrony v ní mají několik tisíc °C a tento výraz pouze vyjadřuje stupeň ionizace (převládají v ní neutrální molekuly).

Většina analytických plazem operuje s čistým argonem nebo heliem, které obstarávají hoření.





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

Stručné schéma postupu při ICP-AES (při analýze vodného vzorku).

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 plynové fázi jsou přerušeny, přítomny jsou pouze atomy. Důležitou podmínkou 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

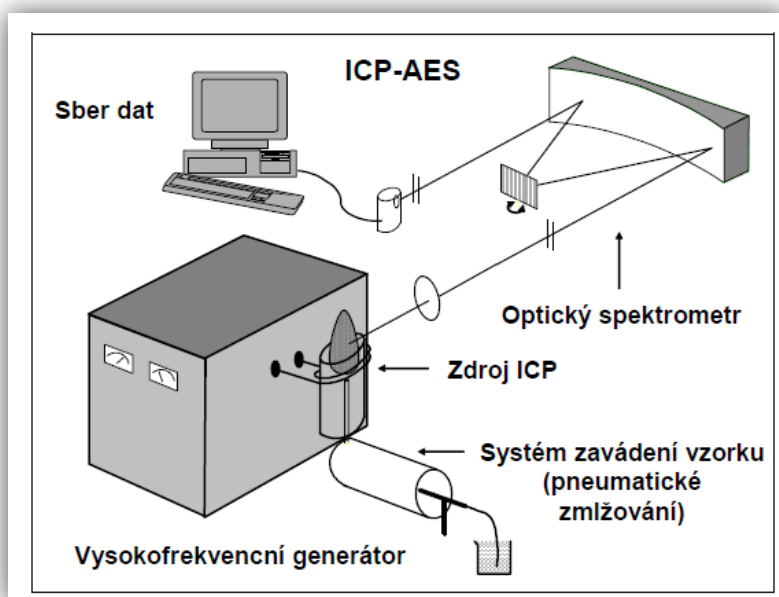
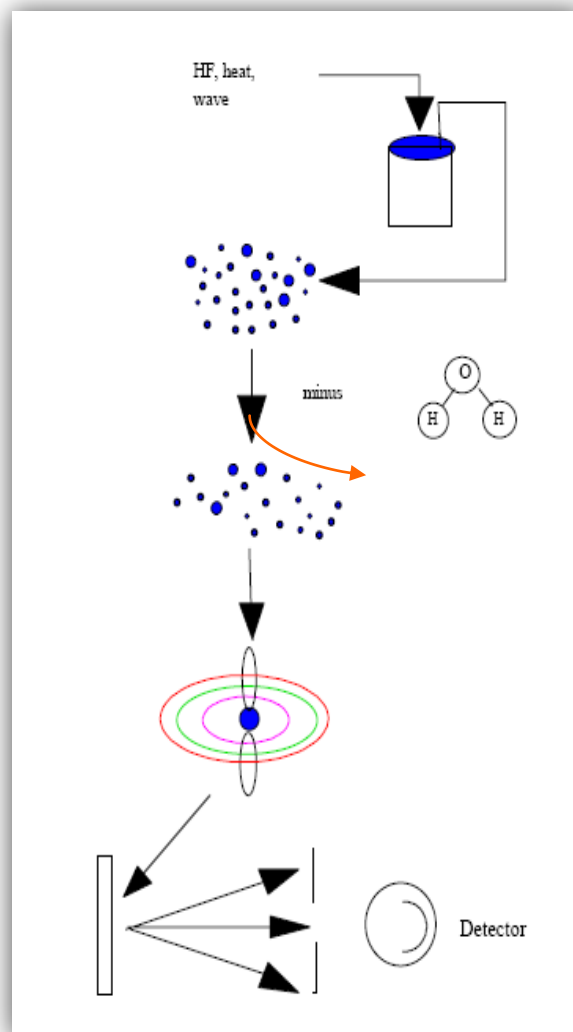
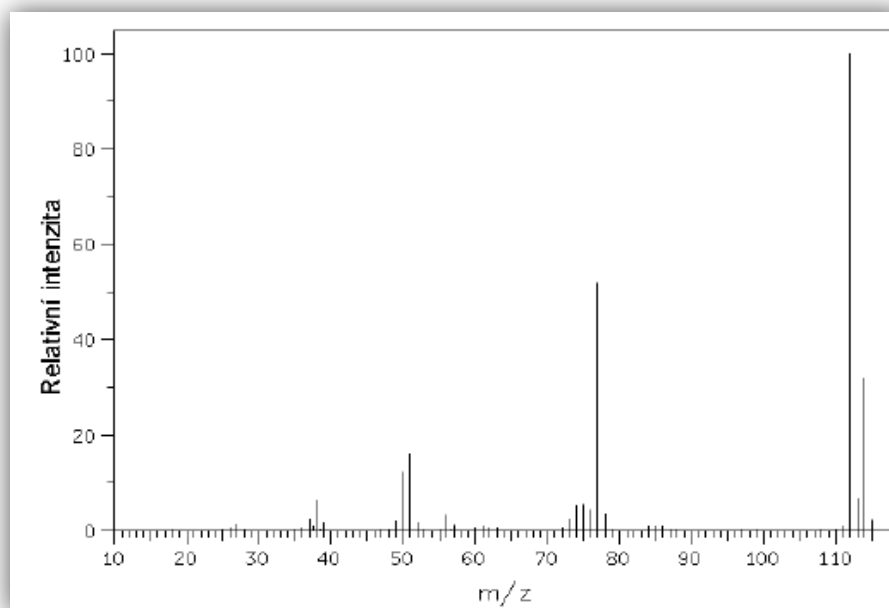
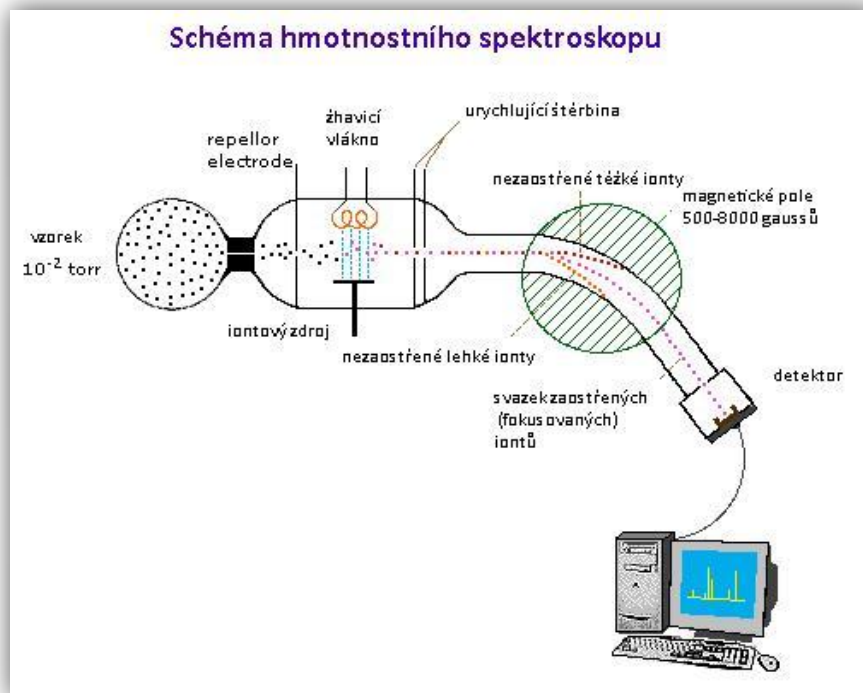


Schéma emisního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem

**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 náboje částice k její hmotnosti).
- 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.



Hmotnostní spektrum chlorbenzenu

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/Studenti/Vyuka/Imunologie\\_imunochemie/Prednasky/Prednasky\\_Henrychova/Zaklady\\_hmotnostni\\_spektrometrie.pdf](http://webak.upce.cz/~kbbv/Studenti/Vyuka/Imunologie_imunochemie/Prednasky/Prednasky_Henrychova/Zaklady_hmotnostni_spektrometrie.pdf)

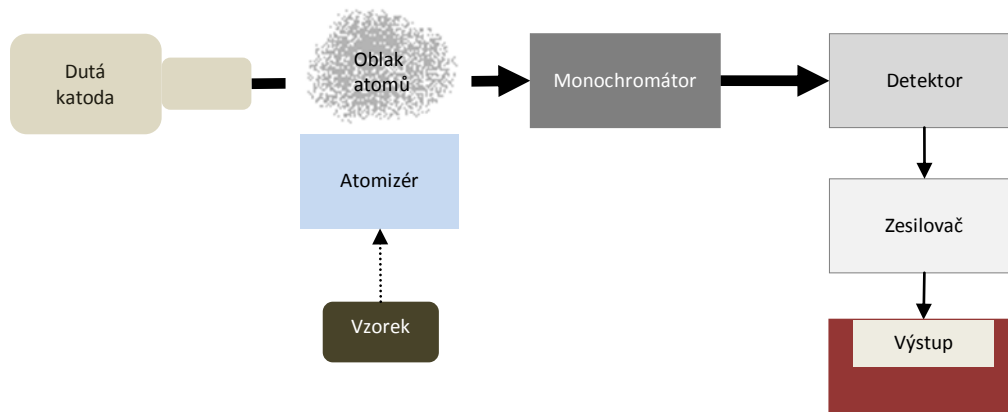
**ICP-MS:** <http://cs.wikipedia.org/wiki/ICP-MS>

Většina z uvedených technik vyžaduje poměrně nákladné zařízení a jedná se tak o techniky relativně drahé. Mezi levnější patří fotometrie, která však nebývá zcela specifická, i když spousta stopových prvků tvoří barevné komplexy vhodné k fotometrii. Tyto komplexy však nejsou zcela specifické pro jednotlivé stopové prvky, což klade nároky na úpravu vzorků, aby se eliminovaly interference.

Relativně dostupnou zůstává AAS, která začíná být postupně nahrazována ICPES, která patří mezi víceprvkové (*multiement*) metody, tj. umožňuje, na rozdíl od AAS, stanovit více prvků současně.

Více k technikám v hodinách *Vybraných laboratorních metod*. Doporučit lze i publikaci kolektivu autorů vydanou společně ČSKB ČLK a SEKK v Pardubicích v roce 2007, *Vitaminy a stopové prvky 2007*.

## Schéma atomového absorpčního spektrometru



Z výbojky, tzv. *duté katody* (dutá 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 zesílena, 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.

## 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     Jaké jsou metody stanovení vápníku? V čem se shodují se stanovením hořčíku? V čem se odlišují?
- 6     Dá se metodami pro stanovení celkového vápníku stanovit i ionizovaný vápník?
- 7     Jaký je rozdíl mezi titrační látkou pro komplexometrii a komplexometrickým indikátorem?
- 8     Jaký vliv na organismus mají přebytek a nedostatek vápníku? A co hořčík?
- 9     Stanovují se tyto prvky i v moči? Pokud ano, proč?
- 10    Co je to anorganický a organický fosfor (fosfát)?
- 11    Jak se stanovují anorganické fosfáty?
- 12    Existují stavy z nedostatku či přebytku fosfátů?
- 13    Je železo stopový prvek nebo není? Odpověď zdůvodněte.
- 14    V jakých formách existuje železo v těle?
- 15    Prostudujte si „Schéma metabolismu a metabolických cest Fe v lidském organismu“, případně si i pusťte video (odkaz je pod schématem).
- 16    Pochopili jste pojem „receptorem zprostředkovaná endocytóza“?
- 17    Jak je to s mocností železa? V jakém mocenství se vstřebává, v jakém putuje v krvi?
- 18    Co je to „hepcidin“?
- 19    Jak se stanovuje železo?
- 20    Co je to vazebná kapacita a jak se stanovuje? Rozumíte pojmům „celková vazebná kapacita“ a „volná vazebná kapacita“?
- 21    Máte představu o významu nálezu hodnot Fe v séru?
- 22    Co je to transferin?
- 23    Co je to ferritin? Kde je o něm ještě pojednáváno zvlášť?
- 24    Které stopové prvky jsou pro člověka esenciální, tj. nezbytné?
- 25    Uvědomujete si které prvky jsou pravděpodobně pro člověka nezbytné?
- 26    Co jsou to nutriční deficity?
- 27    Co víte o zinku, mědi a selenu?
- 28    Co víte o ostatních zmiňovaných prvcích?
- 29    Umíte vyjmenovat základní analytické metody stanovení stopových prvků?
- 30    Rozumíte principům analytických metod pro stanovení stopových prvků? Jaký je např. principiální rozdíl mezi emisní a absorpční metodou (*plamenová fotometrie* x *atomová absorpční spektrofotometrie*)?

## OBSAH:

<b>VÁPNIK, HOŘČÍK, FOSFOR, ŽELEZO A STOPOVÉ PRVKY .....</b>	<b>1</b>
Vápník .....	1
Úloha vápníku v organismu.....	1
Metody stanovení .....	2
Klinické poznámky.....	4
Hořčík.....	5
Úloha magnesia v organismu.....	5
Metody stanovení hořčíku.....	6
Poznámky k metabolismu a klinické poznámky .....	8
Fosfor .....	9
Význam fosforu v těle .....	10
Metody stanovení .....	10
Klinické poznámky.....	11
<b>Železo .....</b>	<b>11</b>
Rozdělení železa .....	11
Regulace hladiny železa v organismu .....	13
Metody stanovení S-Fe, S-TIBC a saturace transferinu.....	14
Klinické poznámky .....	15
Transferin .....	16
Stanovení celkové a volné vazebné kapacity .....	16
Saturace a koncentrace transferinu.....	17
Ferritin a význam jeho stanovení.....	17
Principy stanovení ferritinu.....	18
Podmínky, o nichž je známo, že ovlivňují koncentraci S-Fe, TIBC a saturaci transferrinu.....	18
<b>STOPOVÉ PRVKY.....</b>	<b>19</b>
Měď.....	20
Zinek .....	20
Křemík.....	21
Selen.....	22
Chróm .....	22
Kobalt.....	23
Mangan .....	23
Molybden.....	24
Fluór.....	24
Jód .....	25
<b>Analytické metody užívané pro stanovení stopových prvků .....</b>	<b>26</b>
<b>Kontrolní otázky.....</b>	<b>30</b>



