ELEMENTI U TRAGU

Koncentracija glavnih elemenata u organizmu izražava se u gramima na kg telesne mase, dok se količina *elemenata u tragu* izražava u mg/kg. Od 1970.godine uveden je i izraz *elementi u ultratragu,* koji se odnosi na elemente koji su u tkivima prisutni u µg/kg, ili nižim koncentracijama.

Ovi elementu se smatraju esencijalnim, a najjednostavnija definicija bi bila da su to elementi čiji nedostatak može dovesti do ozbiljnih poremećaja u funkcionisanju organizma pa i smrti . S druge strane, velike količine ovih elemenata mogu imati toksičan efekat. Mehanizam dejstva elemenata u tragu sastoji se u tome da su oni ili integralni deo enzima (metaloenzimi) ili deluju kao enzimski aktivatori.

Uzroci deficijencije ovih elemenata, koji mogu dovesti do kliničkih siptoma bolesti, su: a) urođene greške metabolizma koje utiču na apsorpciju, deponovanje ili ekskreciju elemenata; b) poremećaji u metabolizmu ovih elemenata do kojih dolazi sekundarno kao posledica malnutricije, nekih oboljenja, povreda ili stresa; c) odsustvo ovih elemenata pri potpunoj parenteralnoj ili ishrani sintetskim preparatima, tokom dužeg perioda; d) marginalna deficijencija usled manipulacija u ishrani ili antagonizujućom interakcijom sa drugim nutrientima ili lekovima.

Mada mnogi detalji o funkciji elemenata u tragu nisu još uvek razjašnjeni, neke opšte karakteristike su dobro poznate. To su : amplifikacija dejstva, specifičnost, homeostaza i interakcija.

Amplifikacija dejstva

Dejstvo veoma malih količina elemenata u tragu je neophodno za optimalno funkcionisanje celog organizma. Nedostatak malih količina nekog elementa u tragu (npr. gvožđa) rezultira pojavom oboljenja (npr. anemija), disproporcionalno količini elementa u manjku. Osnova amplifikacije je u tome da su elementi u tragu konstituenti ili reaguju sa enzimima i hormonima koji regulišu metabolizam daleko većih količina supstrata.

Specifičnost

Elementi u tragu su specifični u svojoj *in vivo* funkciji i nemogu se zameniti hemijski sličnim elementima. Esencijalni element u tragu interreaguje sa atomima koji su donori elektrona npr. N, S ili O. Tip interakcije zavisi od konfiguracionih prioriteta i vrste veze. Neki elementi

u tragu su stabilni u više valentnih stanja (npr. Fe, Cu, Mo) što im omogućava oksido-redukcionu funkciju, dok su drugi stabilni samo u jednom valentnom stanju (npr. Zn^{2+}, Ni^{2+}) usled čega je njihova funkcija više vezana za konformaciju ili vezivanje za supstrat. Specifičnost potenciraju i specifični proteini, bilo da se radi o transportnim proteinima ili proteinima za deponovanje. Takvi proteini su npr. transferin i feritin za gvožđe, albumin i α_2-makroglobulin za cink, transmangan za mangan i nikloplazmin za nikl. Ovi proteini prepoznaju i vezuju specifične metale, transportuju ih ili skladište na specifičnim mestima u organizmu.

Homeostaza

Homeostatska regulacija elemenata u tragu obuhvata apsorpciju, skladištenje i ekskreciju. Brzina apsorpcije elemenata u tragu generalno opada sa povećanjem koncentracije u intestinalnom lumenu. Apsorpcija se odvija mehanizmom aktivnog transporta uz specifične transportere za metale, a mehanizam povratne sprege postoji za cink i bakar. Proteini koji služe za skladištenje kao što su metalotionein i feritin su značajni u regulaciji cinka, bakra i gvožđa, zbog njihove sposobnosti da puferuju višak slobodnih metala. Najveći broj elemenata u tragu se eliminiše putem fecesa. Ekskrecija putem fecesa reflektuje dijetarni unos, homeostatske regulatorne mehanizme, kao što su gastrointestinalna apsorpcija i endogena sekrecija metala u intestinum. Relativno mala količina elemenata se ekskretuje urinom. Gubitci elemenata u tragu drugim putevima, kao što su kosa, nokti, deksvamacija ćelija kože i znojenje su minorni.

Interakcije

Prevelika količina jednog elementa u tragu, može da interferira sa metaboličkom iskoristljivošću drugog elementa koji je prisutan u normalnim ili marginalnim koncentracijama. Tako npr. dodatak velikih količina cinka dijeti, interferira sa intestinalnom apsorpcijom bakra, što rezultira deficijencijom bakra uprkos normalnoj količini unetog. Interakcije koje uključuju toksične elemente su npr. povećane retencije kadmijuma i olova povezane sa deficijencijom gvožđa i protektivan efekat selena od intoksikacije kadmijumom i živom.

LABORATORIJSKA PROCENA STATUSA ELEMENATA U TRAGU

Najpouzdanija slika o statusu nekog elementa u tragu u organizmu postiže se simultanim određivanjem: 1) elementa u tkivima i biološkim tečnostima; 2) aktivnosti metaloenzima i 3) funkcionalno-morfološkog indeksa.
Prilikom određivanja koncentracije elemenata u tragu u biološkim tečnostima, zbog njihove male koncentracije, posebnu pažnju treba obratiti prilikom sakupljanja i tretmana uzoraka. Takođe je neophodna rigorozna kontrola kvaliteta.

Uzorkovanje

Na analize homogenih uzoraka kao što su krv, saliva i znoj u velikoj meri može da utiče način uzorkovanja. Tako npr. koncentracija cinka može biti 5 – 15% viša u serumu nego u plazmi usled oslobađanja Zn iz eritrocita i trombocita tokom koagulacije. Takođe, izbor antikoagulansa može da utiče na vrednosti u plazmi zbog osmotskog uticaja na pomeranje tečnosti iz krvnih ćelija. Hemoliza ili mikrohemoliza dovode do izuzetno visokih vrednosti gvožđa, cinka i mangana u plazmi ili serumu, s obzirom da je njihova koncentracija 10 x viša u eritrocitima. Koncentracije Zn u punoj necentrifugiranoj salivi su više nego u supernatantu centrifugirane.

Kontaminacija uzoraka

Osnovni analitički problem pri određivanju elemenata u tragu je kontaminacija iz spoljašnje sredine. Mnogi elementi u tragu su prisutni u laboratorijskoj okolini u nanogramskim ili čak mikrogramskim količinima. Ovo je i glavni razlog velike varijacije u referentnim vrednostima za ove elemente. Tačno određivanje elemenata u ultratragu (npr. Mn, Co, Cr, Ni, V i As) povezano je sa još većim metodološkim teškoćama i stoga se ove analize nazivaju „nerutinskim“ analizama u kliničko-biohemijskim laboratorijama.

Izvori kontaminacije

Glavni izvori kontaminacije pri određivanju elemenata u tragu su: guma, drvo, proizvodi od papira, metalne površine, prašina, koža i kosa. Stoga je pri određivanju elemenata u tragu najbolje koristiti opremu od plastike, borosilikatnog stakla ili nerđajućeg čelika. Voda mora biti po

standardima Američkog hemijskog društva, specificirana za vodu tipa I sa otpornošću ≥ 14MΩ i sadržajem Fe, Zn i Cu manjim od 10 µg/L. Za uzimanje krvi smeju se koristiti samo plastični špricevi za jednokratnu upotrebu sa iglama od nerđajućeg čelika. Ukoliko u ovim uzorcima treba odrediti Cr, Ni ili druge elemente u ultratragu igle moraju biti silikonizovane.

ANALITIČKE METODE

Danas su najčešće korišćene metode za određivanje elemenata u tragu atomska apsorpciona spektrometrija i induktivna kuplovana plazmatska emisiona spektrometrija.

Atomska apsorpciona spektrometrija (AAS)

Atomskom apsorpcionom spektrometrijom se detektuje po jedan elemement i ponekad je neophodna predhodna priprema uzorka. Određivanje je brzo i tačno. Osim toga metoda daje dobru specifičnost i osetljivost. Sami AAS aparati su jednostavni za rukovanje. Metode koje uključuju aspiraciju razblaženih uzoraka seruma ili plazme direktno u plamen AAS-a efikasne su u određivanju Zn i Cu. Elektrotermalne ili AAS mikrometode bez plamena koriste samo 10 µl seruma i primenjuju se za određivanje elemenata u ultratragu ili kod nedovoljne količine uzorka. Generalno, ova mikrometoda se koristi kadgod je koncentracija elementa u uzorku ispod 50 ng/L.

Induktivna kuplovana plazmatska emisiona spektrometrija (ICP-ES)

ICP-ES ima mogućnost simultanog određivanja više elemenata i danas je kao metoda izbora zamenila AAS. Osim mogućnosti da simultano određuje više elemenata ICP-ES ima i širok linearni dinamički opseg , čak i do 1000x za većinu elemenata, što praktično znači simultano određivanje iz samo jednog razblaženja. Osim toda ICP-ES ima bolju preciznost i tačnost od AAS i relativnu nezavisnost od hemijskih interferenci. ICP-ES-om se može analizirati 200 uzoraka na dan i u svakom uzorku odrediti po 20 elemenata. Ovakav sistem zahteva i dobru kompjutersku opremu za obradu podataka.

ZINK (Zn)

Otkriće mnogih cink-zavisnih kliničkih poremećaja ukazalo je na značaj Zn u humanoj ishrani.

Biohemija i fiziologija

Zn je posle Fe najzastupljeniji element u tragu u organizmu. Kod osobe telesne mase od 70 kg nalazi se u količini od 1,4 – 2,3 g. Tkiva i tečnosti bogate Zn su prostata, semena tečnost, jetra, bubrezi, hipokampus, retina, kosti i mišići. Sadržaj Zn u eritrocitima je 10 puta veći nego u plazmi, s obzirom da su oni bogati karbo-anhidrazom i drugim enzimima koji sadrže Zn. U biološkim sistemina Zn se nalazi samo u +2 valentnom stanju.
Metabolička funkcija Zn je zasnovana na tome da je on esencijalna komponenta mnogih metaloenzima uključenih u praktično sve aspekte metabolizma. Zn je integralni deo skoro 300 enzima. Značajni enzimi koji sadrže Zn su karbo-anhidraza, alkalna fosfataza, RNK i DNK polimeraze, timidin kinaza, karboksipeptidaze i alkohol dehidrogenaza. Cinkovi atomi su integralni, čvrsto vezani deo metaloproteinske molekule, a često su uključeni u aktivni centar. Takođe doprinose konformacionoj i strukturnoj stabilnosti mnogih metaloenzima. Otkriće proteina sa strukturom cinkovih prstiju koji se vezuju za specifične domene molekula DNK pobudilo je veliku pažnju. Smatra se da ovi proteini predstavljaju najveću klasu DNK-vezujujućih proteina i da je genska ekspresija koju kontrolišu osnova u razvoju drugih procesa. Osim toga, Zn stabilizuje strukture proteina i nukleinskih kiselina, održava integritet subcelularnih organela, učestvuje u procesima transporta i ima značajnu ulogu u održavanju imuniteta.

Metabolizam

Oko 20-30% hranom unetog cinka se apsorbuje i to najvećim delom u duodenumu i proksimalnom jejunumu. Apsorbuje se aktivnim procesom, delimično posredovanim specifičnim transportnim ligandima. Apsorpcija Zn ima značajnu ulogu u homeostatskoj regulaciji.
Namirnice bogate proteinima kao što su meso i riba su značajni izvori Zn. Bioraspoloživost Zn iz povrća i cerealija je smanjena zbog fitata (inozitol fosfati), celuloze, hemiceluloze i drugih dijetarnih vlakana koja inhibiraju apsorpciju Zn. Raspoloživost dijetarnog Zn smanjuju visoke količine dijetarnig Ca, P, Fe i Cu. Dijeta bogata proteinima stimuliše apsorpciju Zn, dok ona siromašna proteinima ima suprotan efekat.

Zn se u plazmi transportuje najvećim delom vezan za albumin (60 – 70%) i α_2-makroglobulin (30 – 40%) uz malu količinu vezanu za transferin i slobodne aminokiseline. Zn se najvećim delom ekskretuje fecesom. Pankreasnim sokom izluči se oko 25% ukupno ekskretovanog. Gubitak urinom iznosi oko 0.6 mg/d kod odraslih koji unose 12 mg/d i direktno je povezan sa količinom Zn unetog hranom. Gubitak znojem je sličan onom koji se gubi urinom, ali može biti i veći u tropskim krajevima i kod psihičkog stresa.

Klinički značaj

Klinička slika deficijencije Zn uključuje zaostajanje u rastu, sazrevanje mišića, testikularnu atrofiju i hepatosplenomegaliju. Starost, trudnoća, laktacija i alkoholizam su povezani sa većom incidencom nedostatka Zn. Kako deficijencija Zn napreduje manifestacije se mogu kretati u širokom spektru od blagih do veoma ozbiljnih siptoma. Manifestacije ozbiljnih slučajeva nedostatka Zn uključuju alopeciju, gubitak težine, dijareju, neuropsihijatrijske poremećaje i ponovljene infekcije. Osim nutricionih faktora, mnoga oboljenja i medicinski tretmani mogu dovesti do deficijencije Zn. Deficijencija Zn kod pacijenata sa hepatičnom cirozom (npr. alkoholizam, virusni hepatitis) karakteriše se niskom koncentracijom Zn u seumu, uz visoku koncentraciju u urinu. Snižene koncentracije Zn potvrđene su i kod pacijenata sa gastrointestinalnim poremećajima (ulkusi), ulcerativnim kolitisom, Cron-ovom bolešću, intestinalnim bajpasom, regionalnim enteritisom. Pojava deficijencije Zn kod pacijenata sa renalnim oboljenjima pripisuje se gubitku proteina koji sa Zn grade komplekse.
Jatrogeni uzroci deficijencije Zn uključuju davanje anabolika ili helatnih agenasa koji vezuju metale, kao što su kortikosteroidi i penicilin.
Deficijencija cinka kod pacijenata sa neoplastičnim i inflamatornim oboljenjima (artritis, lupus eritematosus) pripisuju se anoreksiji, gladovanju, gubitku Zn iz katabolizovanog tkiva i povećanoj urinarnoj eksreciji nakon njegove mobilizacije interleukinom-1.
Trudnice imaju visok rizik od deficijencije Zn zbog velikih potreba fetusa, i stoga normalan razvoj fetusa kao i ishod trudnoće u velikoj meri zavise od ovog elementa. Smatra se da velike količine gvožđa i folne kiseline koje trudnice uzimaju kao dodatak ishrani, interferiraju sa apsorpcijom i iskorišćavanjem Zn.
Najjasnije definisan genetski poremećaj metabolizma Zn je acrodermatitis enteropatica.

Laboratorijska procena statusa cinka

Laboratorijski testovi za procenu cinkovog statusa mogu se klasifikovati u dve grupe: a) one kojima se određuje cink u telesnim tkivima i tečnostima i b) one koji procenjuju Zn-zavisne funkcije. Testovi prve grupe obuhvataju određivanje sadržaja Zn u plazmi, serumu, krvnim ćelijama, urinu i salivi. Funkcionalnim testovima se meri aktivnost enzima koji u svojoj strukturi sadrže Zn.

Cink u plazmi ili serumu

Mada koncentracija Zn u cirkulaciji često ukazuje na deficijenciju Zn, ona ipak ne odražava precizno status cinka u celom organizmu. Zn u cirkulaciji je tesno povezan sa glavnim nosećim proteinom, albuminom. Stoga se snižene vrednosti Zn u plazmi sreću u hipoalbuminemičnim stanjima kao što su hepatična ciroza i malnutricija.

Cink u kosi

Snižene vrednosti Zn u kosi zabeležene su u stanjima povezanim sa deficijencijom Zn kao što su acrodermatitis enteropatica, anemija srpastih ćelija i celijačna bolest. Korelacija između Zn u kosi i Zn u krvi ili tkivima je dosta loša.

Cink u urinu

Snižene vrednosti Zn u urinu često su povezane sa deficijencijom Zn. Korišćenje određivanja Zn u urinu kao mera statusa Zn je limitirana problemom egzogene kontaminacije pri sakupljanju 24h urina.

Aktivnost Zn-enzima i metalotioneina

Od svih enzima čija aktivnost zavisi od Zn, alkalna fosfataza, karbo-anhidraza, nukleozid fosforilaza i ribonukleaza su korisni indikatori u proceni deficijencije Zn. Praćenje pacijenata sa deficijencijom cinka koji su primali suplementaciju Zn, pokazali su povećanje aktivnosti alkalne fosfataze paralelno sa povećanjem koncentracije Zn.

Analitičke metode

Za određivanje cinka u plazmi, serumu i urinu koristi se AAS.

Referentni interval

Prihvaćeni referentni interval za cink u plazmi je 10,7 – 18,4 μmol/L.

BAKAR (Cu)

Bakar je značajan element u tragu i povezan je sa mnogim metaloproteinima.

Biohemija i fiziologija

Bakar u biološkim sistemima može biti prisutan u +1 i +2 valentnom stanju. Stoga je glavna funkcija Cu-metaloproteina u oksido-redukcionim reakcijama koje uključuju enzime koji sadrže Cu i direktno reaguju sa molekularnim kiseonikom. Bakar je integralni deo mnogih metaloenzima kao što su: ceruloplazmin, citohrom c oksidaza, superoksid dizmutaza, dopamin-β-hidroksilaza, askorbat oksidaza, lizil oksidaza i tirozinaza.
Brojna patološka stanja su povezana sa gubitkom kuproenzimske aktivnosti. Izostanak pigmentacije je povezan sa depresijom tirozinazne aktivnosti neophodne u prvom stupnju biosinteze melanina. Poremećaji mnogih poprečno-prugastih mišića (kardijačni, vaskularni i skeletni) izazvani su gubitkom aktivnosti amin-oksidaze, posebno lizil-oksidaze. Ataksija može biti rezultat depresije aktivnosti citohrom c oksidaze u motornim neuronima. Smanjenje aktivnosti dopamin-β-hidroksilaze može rezultirati abnormalnom konverzijom kateholamina.
Bakar ima značajnu ulogu i u metabolizmu gvožđa. Deficijencija Cu utiče na apsorpciju gvožđa, tako da teške deficijencije bakra prati anemija. Ceruloplazmin, glavni protein koji sadrži Cu, ima ferooksidaznu aktivnost i prevodi gvožđe iz fero u feri oblik, pre vezivanja za transferin.

Metabolizam

Bakar se maksimalno apsorbuje u duodenumu, aktivnim i pasivnim transportom. U intestinalnoj mukozi Cu može da reaguje sa metalotioneinom, proteinom bogatim sulfhidrilnim grupama koji vezuje bakar stvarajući merkaprtidne veze. Drugi metalni joni, posebno cink i kadmijum, kompetiraju sa bakrom za sulfhidrilna vezivna mesta, što objašnjava antagonizam ovih metala sa apsorpcijom bakra.
Apsorbovani Cu se brzo transportuje, kao bakar-albumin ili bakar-histidin kompleks, do jetre gde se deponuje, uglavnom kao metalotioneinu sličan kuproprotein. Bakar se iz jetre oslobađa uglavnom kao ceruloplazmin, multifunkcionalni kuproprotein u čiji sastav ulazi 95% ukupnog bakra plazme. Bakar se putem nekoliko mehanizama može transportovanti do ćelija, gde se ugrađuje u Cu – enzime. U ovaj transport su uključeni ceruloplazmin, transkuprein, Cu-albumin i Cu-aminokiselinski kompleks.
U organizmu odrasle osobe nalazi se 80 – 150 mg bakra. U tkivima ga ima 1,5 – 2,5 µg/g. Koncentracija u jetri, glavnom organu za deponovanje, Cu ima 30 – 50 µg/g suvog tkiva. Relativno visoke količine nađene su u srcu, mozgu i bubrezima.
Bakar se primarno ekskretuje fecesom. Bakar koji se izluči fecesom potiče od neapsorbovanog, bilijarnog i bakra iz gastrointestinalnih sekreta. Gubitak bakra urinom i znojem iznosi manje od 3% dijetarnog .
Homeostatska regulacija metabolizma Cu je kompleksan proces, a glavni organ u ovoj regulaciji je jetra gde se bakar skladišti i po potrebi oslobađa u obliku ceruloplazmina.

Klinički značaj

Specifična oboljenja koja su povezana sa deficijencijom Cu uključuju Menke-ov sindrom, Wilson-ovu bolest i dr. Povišene vrednosti bakra mogu biti toksične.

Deficijencija bakra

Deficijencija bakra kod dece sreće se kod malnutricije, malapsorpcije, hroničnih dijareja hiperalimentacije i produžene ishrane sa malim sadržajem Cu, kao i pri ishrani baziranoj isključivo na mleku. Uzrok može biti i deficit proteina neophodnih za transport i skladištenje Cu. Znaci deficijencije Cu uključuju: 1) neutropeniju i hipohromnu anemiju koje odgovaraju na oralnu terapiju bakrom, ali ne i gvožđem; 2) osteoporozu i različite abnormalnosti kostiju i zglobova koje nastaju usled deficita Cu-zavisnog koštanog kolagena i vezivnog tkiva; 3) smanjenu pigmentaciju kože, uled smanjene tirozin-zavisne sinteze melanina; 4) u kasnijem

stadijumu može doći do neuroloških poremećaja (hipotonije, apneje, psihomotorne retardacije) uzrokovane najverovatnije deficitom citohrom c oksidaze.
Eksperimentalne i epidemiološke studije su pokazale da deficit Cu dovodi i do povećane opasnosti od koronarne srčane bolesti, slabljenjem srčanog ritma i usled hiperlipidemije.

Menkes-ov sindrom

Ekstremni oblik deficijencije bakra sreće se kod Menkes-ovog sindroma, gde pacijenti imaju čelično sivu boju kose. Radi se o X-povezanom genetskom defektu u transportu i skladištenju Cu. Klinički simptomi se javljaju u ranom životnom dobu, i karakterišu se jako ukovrdžanom kosom čelično sive boje, depigmentacijom kože i kose, hipotermijom, grčevima, cerebralnom degeneracijom i vaskularnim poremećajima. Deca zahvaćena ovom bolešću imaju niske serumske, hepatične i cerebralne koncentracije bakra, nizak ceruloplazmin i malu ili nikakvu aktivnost citohrom c oksidaze u nervnom tkivu. Simptomi se javljaju već u trećem mesecu života, sa letalnim ishodom do pete godine.

Wilson-ova bolest

Wilson-ovo oboljenje (hepatolentikularna degeneracija) je genetski uslovljeno oboljenje akumulacije Cu i javlja se najčešće između 6 i 40. godine života. Simptomi bolesti uključuju neurološke poremećaje, cirozu jetre i Kayser-Fleischer-ove prstenove u kornei nastale usled depozita bakra. Bakar se akumulira u jetri, mozgu, bubrezima i kornei. Hemoliza, nekroza i druga celularna oštećenja koja se javljaju mogu biti uzrokovana lipidnom peroksidacijom, poznatim efektom toksičnosti bakra. Urinarna ekskrecija Cu je povećana. Hepatična sinteza ceruloplazmina je smanjena, što rezultira sniženom serumskom koncentracijom ovog enzima. Simultano određivanje bakra u serumu, ceruloplazmina i bakra u urinu je značajno u postavljanju dijagnoze ove bolesti.

Ostali poremećaji

Estrogeni povećavaju koncentraciju bakra u serumu, verovatno dejstvom na povećanu sintezu ceruloplazmina. Koncentracija bakra u serumu je normalno viša kod žena nego kod muškaraca. Koncentracija bakra u trudnoći je 2 – 3 x povećana tokom poslednjeg trimestra. Davanje testosterona i progesterona takođe povećava koncentraciju Cu u plazmi.

Tokom infekcije ili inflamatornog stresa, koncentracija Cu u serumu se povećava usled akutno-faznog dejstva interleukina-1. Dejstvo interleukina-1 može da dovede do povišenja Cu i sniženja Zn u serumu tokom akutne faze infarkta miokarda. Povećanje ceruloplazmina u serumu i sinovijalnoj tečnosti je uočeno kod pacijenata sa reumatoidnim artritisom.
S obzirom da je jetra važan organ u skladištenju Cu i homeostatskoj regulaciji, poremećaji metabolizma Cu se sreću kod hepatičnih oboljenja. Povišene koncentracije Cu u serumu se sreću kod portalne ciroze, oboljenja bilijarnog trakta i hepatitisa, jer višak Cu koji bi se normalno izlučio putem žuči, ostaje u cirkulaciji.

Toksičnost bakra

Intoksikacija bakrom se karakteriše mukom, povraćanjem, epigastričnim pečenjem i dijarejom. Može se javiti kao posledica unošenja rastvora zagađenih bakrom ili hrane izložene dejstvu fungicida koji sadrže bakarne soli. Sistemski toksični efekti uključuju hemolizu, hepatičnu nekrozu, gastrointestinalno krvavljenje, oliguriju, azotemiju, tahikardiju, konvulzije, komu i smrt.

Laboratorijska procena statusa bakra

Iako, slično Zn način procene statusa Cu još uvek nije idealan, koristan je u dijagnostikovanju deficijencije Cu.

Bakar u serumu i plazmi

Određivanje Cu u serumu i plazmi predstavlja relativno lak rutinski test u proceni statusa Cu. Niske koncentracije ukazuju na značajno smanjenje deponovanog Cu. Koncentracije Cu u organizmu su regulisane jakim homeostatskim mehanizmima i održavaju se u relativno uskom opsegu. Nivo bakra u plazmi opada tek kada su depoi Cu ozbiljno sniženi.
Trudnoća, kontraceptivne pilule, infekcije ili inflamatorna stanja povećavaju Cu u serumu i plazmi, dok kortikosteroidi i ACTH imaju tendenciju da snižavaju Cu u serumu.

Ceruloplazmin

Ceruloplazmin je protein koji sadrži Cu i u njemu se nalazi 95% od ukupnog Cu u plazmi. Prema tome osetljiv je na dejstvo svih faktora koji utiču i na koncentraciju Cu u plazmi. Značajno je snižen kod žena i muškaraca na dijeti siromašnoj Cu.
Bakar u serumu može se odrediti imunohemijski ili na osnovu njegove oksidazne aktivnosti.

Aktivnosti superoksid dizmutaze (SOD) i citohrom c oksidaze

Merenje aktivnosti kuproenzima eritrocita SOD i citohrom c oksidaze u trombocitima ili leukocitima može takođe da da korisne informacije o statusu Cu u orhanizmu. Metode za određivanje oba enzima su osetljive.

Analitičke metode

Metoda izbora za određivanje Cu u serumu je AAS nakon direktnog razblaživanja. U laboratorijama koje nemaju AAS, bakar se može odrediti fotometrijski uz korišćenje dietilditiokarbamata, bis-cikloheksanona, oksaldihidrazona (kuprizona) i batokuproina kao hromogena. Hemoliza ne predstavlja veliki problem kod određivanja Cu, s obzirom da su koncentracije bakra u plazmi i eritrocitima približno jednake.
Referentni interval za Cu u serumu je 18,5 – 47,4 μmol/L kod trudnica; 12,6 – 29,9 μmol/L kod dece (6 – 12 godina); 12, 6 – 24,4 μmol/L kod žena i 11,0 – 22,0 μmol/L kod muškaraca.
Koncentracija ceruloplazmina u serumu se određuje imunonefelometrijski, a referentni interval je 200 – 600 mg/L.

Mangan (Mn)

Biohemija i fiziologija

U biološkim sistemina mangan se nalazi vezan za proteine i to u +2 ili +3 valentnom stanju. Uključen je u procese stvaranja vezivnog i koštanog tkiva i stoga od značaja u procesu rasta, reproduktivnih funkcija i metabolizmu ugljenih hidrata i lipida.
Biohemijska osnova neophodnosti Mn je u činjenici da je on ili konstitutivni deo metaloenzima ili enzimski aktivator. Značajni enzimi koji u svojoj strukturi sadrže Mn su: arginaza, piruvat karboksilaza, i mitohondrijalna mangan superoksid dizmutaza.

Kao enzimski aktivator Mn može da deluje vezivanjem za supstrat (npr. ATP) ili direktno na proteine dovodeći do konformacionih promena. Enzimi aktivirani manganom su: hidrolaze, kinaze, dekarboksilaze i transferaze. Mnoge od ovih aktivnosti su nespecifične, s obzirom da drugi metalni joni kao npr. Mg, Fe ili Cu mogu da zamene Mn kao aktivator. Ovakva aktivacija može da maskira deficijenciju Mn i samim tim otežа procenu biohemijskih i kliničkih efekata deficijencije Mn. Izuzetci od ove nespecifične aktivacije enzima manganom su: Mn-specifična aktivacija glikoziltransferaza, fosfofenolpiruvat karboksikinaza i glutamin sintetaza.

Metabolizam

Ukupna količina Mn u organizmu odrasle osobe je 12 – 20 mg. Oko 25% ukupne količine Mn je uskladišteno u skeletu. Mada je rasprostranjen u svim telesnim tečnostima i tkivima , intracelularno je koncentrisan u mitohondrijama, i stoga ga ima najviše u ćelijama bogatim mitohondrijama. Najviše Mn ima u kostima, jetri i pankreasu. Koncentracija u krvi je oko 200 nmol/L, a u serumu < 20 nmol/L. Prosečne dnevne potrebe za Mn kreću se od 1,7 do 8,3 mg.
Dijetarni Mn se slabo apsorbuje i to uglavnom iz tankog creva, dosad nepoznatim mehanizmom. Efikasnost apsorbovanja Mn opada sa povećanjem količine u ishrani, a povećava se sa njegovim smanjenjem. Dijetarni faktori koji utiču na apsorpciju Mn su Fe, Ca, P i fitati. Apsorbovani Mn ulazi u portalni krvotik i brzo se vezuje za α_2-makroglobulin ili albumin, a može ostati i kao hidratisani kompleks pre ulaska u jetru. Najveći deo Mn se ekskretuje putem žuči ili pankreasnih sokova.

Klinički značaj

Poremećaji u koagulaciji, hiperholesterolemija, dermatitis, povišeni nivo Ca i fosfora i povišena vrednost alkalne fosfataze utvrđeni su kod osoba sa eksperimentalno izazvanim deficitom mangana. Mada deficijencija mangana nije potvrđena kod osoba na normalnoj dijeti, neka oboljenja se dovode u vezu sa poremećajem u metabolizmu Mn. Tako je npr. nizak nivo Mn utvrđen kod dece sa fenilketonurijom.
Hronično trovanje Mn sreće se kod rudara, keramičara, radnika u staklarama, proizvodnji lekova i aditiva hrane.

Analitičke metode

U kliničkim laboratorijama metoda izbora za određivanje Mn je AAS. Zbog niske koncentracije Mn u krvi, bolje je koristiti uzorke kose ili urina. Referentne vrednosti za Mn su 7,0 – 20,0 nmol/L za serum ili plazmu i 140 – 220 nmol/L za punu krv.

Molibden (Mo)

Biohemija i fiziologija

Molibden je značajan za humani organizam jer ulazi u sastav tri metaloenzima: ksantin oksidaze, aldehid oksidaze i sulfit oksidaze. Ksantin oksidaza učestvuje u razgradnji purina do mokraćne kiseline. Aldehid oksidaza katalizuje oksidaciju aldehida, a sulfit oksidaza katalizuje krajnji stupanj oksidacije aminokiselina sa sumporom.

Metabolizam

Oko 25 – 80 % molibdena unetog hranom se apsorbuje uglavnom u želucu i tankom crevu. Tačan mehanizam apsorpcije još uvek nije poznat. Dijetarni Cu i sulfati snižavaju retenciju Mo. Najveće količine Mo se deponuju u jetri. Molibden se deponuje i u skeletu i bubrezima. Ekskretuje se najvećim delom urinom, što predstavlja i glavni homeostatski mehanizam. Izvesna količina izlučuje se i putem žuči. Dnevni unos molibdena kreće se od 50 do 350 μg.

Klinički značaj

Smatra se da kod beba koje pokazuju teškoće sa hranjenjem, mentalnu retardaciju, asimetriju lobanje, biohemijske defekte ksantin i sulfit oksidaze postoje kongenitalni poremećaji u metabolizmu Mo. Pacijenti koji su dugo na parenteralnoj terapiji stiču sindrom koji se karakteriše hipermetionijemijom, hipourikemijom, hiperoksipurinemijom, hipourikozurijom i niskom ekskrecijom urinarnih sulfata. Suplementacija pacijenata sa amonijum molibdatom poboljšava kliničko stanje.

Analitičke metode

Od analitičkih metoda najčešće se koristi AAS bez plamena. S obzirom na nisku koncentraciju Mo u biološkim uzorcima neophodno je koncentrovanje uzoraka pre analize.
Referentne vrednosti su : 8,3 – 34,4 nmol/L za punu krv; 188 nmol/L za eritrocite; 1,0 – 31,3 nmol/L za serum ili plazmu i 83 – 354 nmol/L za urin.

Hrom (Cr)

Hrom se koristi u mnogim industrijskim procesima i u spoljašnju sredinu dospeva kao industrijski otpad. Mada može postojati u više valentnih stanja +3 i +6 su nađeni u biološkim sistemima. Biološko ponašanje Cr u velikoj meri zavisi od njegovog oksidacionog stanja.

Biohemija i fiziologija

Hrom je uključen u metabolizam glukoze i lipida. Istraživanja su pokazala da on potencira dejstvo insulina. Rezistencija na insulin može biti posledica deficijencije Cr, jer je insulin bez prisustva hroma delimično neefektivan kao regulator glukoze.
Supstanca koja potencira dejstvo insulina može se naći u pivskom kvascu i označavaju se kao *glikoza tolerans faktor (GTF)*. GTF je organski kompleks male molekulske mase koji sadrži Cr u +3 valentnom stanju, nikotinsku kiselinu, glutaminsku kiselinu, glicin i amonokiseline sa sumporom.

Metabolizam

Mehanizam kojim se Cr apsorbuje još uvek nije razjašnjen. Eksperimenti na životinjama su pokazali da se apsorbuje u gornjem delu tankog creva. Trovalentni Cr se slabo apsorbuje, oko 0,3 do 2% dijetarnog.
Nakon apsorpcije Cr^{3+} se vezuje za β-globulinsku frakciju, posebno za transferitin. Transferinom se Cr transportuje do tkiva. Hrom ima otprilike isti afinitet prema transferinu kao i gvožđe.
U homeostazi Cr najznačajniju ulogu ima ekskrecija urinom.
Meso i integralne žitarice su najbogatiji izvor Cr. Voće, povrće i mleko sadrže veoma niske koncentracije Cr. Adekvatan dnevni unos Cr trebalo bi da iznosi 50 – 200 µg.
Trovalentni Cr ima nizak nivo toksičnosti. Povećano izlaganje hromu sreće se kod radnika zaposlenih u industriji čelika, bojenja kože,

fotografskoj indistriji i proizvodnji hemikalija. Akutno izlaganje Cr može da dovede do alergijskih reakcija, konjuktivita, edema i ulkusa. Hronično izlaganje Cr manifestuje se gastroinestinalnim simptomima, hepatitisom, i kancerom pluća.

Klinički značaj

Klinički značaj Cr vezan je primarno za metabolizam glukoze. Potvrđeno je potenciranje dejstva insulina suplementacijom ishrane hromom-bogatim pivskim kvascem. Tako je kod insulin-zavisnih dijabetičara dnevna potreba za insulinom smanjena sa 60-133 IJ/d na 20-45 IJ/d posle 1 – 2 meseca suplementacije.
Neka stanja koja su povezana sa metabolizmon glukoze povećavaju eksreciju Cr urinom. Pacijenti sa dijabetesom tip 1 i oni sa Turner-ovim sindromom eksretuju 3 x više Cr od zdravih osoba. Urinarnu eksreciju Cr povećavaju i velike količene prostih šećera u ishrani, opterećenje glukozom, naporna vežbanja i fizička trauma.

Analitičke metode

Najčešće korišćena tehnika za određivanje Cr je AAS. Pri tom je neophodno koristiti AAS bez plamena, zbog veoma niskih koncentracija Cr u biološkim uzorcima.
Referentne vrednosti za odrasle se kreću u intervalu od 384 – 692 nmol/L u eritrocitima i 13,4 – 538 nmol/L u punoj krvi.

SELEN (Se)

Selen je esencijalan element za funkcionisanje humanog organizma. Ulazi u sastav glutation peroksidaze i jodotironin dejodinaze.

Biohemija i fiziologija

U tkivima Se je prisutan u dva oblika: selenocistein i selenometionin. Selenometionin se nemože sintetisati u organizmu i mora se unositi hranom. Selenometionin se smatra neregulisanim depoom selena, koji po potrebi obezbeđuje organizam selenom.
Selenocistein je analog cisteina, koji se prepoznaje kao 21. aminokiselina kodirana DNK. Ovaj biološki aktivan oblik Se je jasno

regulisan. Sreće se i kod prokariota i kod eukariota, u aktivnom centru enzima uključenih u oksido-redukcione reakcije. Selenocistein se koristi u procesu sinteze proteina u ribozomima.
Selen štiti organizam od oksidativnog stresa i uključen je u sintezu i metabolizam tireoidnih hormona. Identifikovano je više selenoproteina koji imaju određene funkcije u organizmu. Oni uključuju četiri različite glutation peroksidaze, 3 različite jodotironin peroksidaze i tireodoksin reduktaze. Glutation peroksidaza katalizuje razgradnju vodonik peroksida, fosfolipid hidroperoksida i drugih slobodnih hidroperoksida. Eritrocitna glutation peroksidaza sadrži 4 atoma Se u obliku selenocisteina koji su esencijalni za njenu biološku aktivnost. Tokom dugotrajne deficijencije Se tkiva pokazuju smanjenu aktivnost glutation peroksidaze. Smatra se da tireodoksin reduktaza ima imunološko dejstvo.
Jodotironin dejodinaza uklanja jod iz molekula tireoidnih hormona. Ovaj proces aktivira T_4 i inaktivira T_3. Dokazano je da su jodotironin dejodinaze tip I, II i III selenoproteini. Tip I je prisutan u jetri, bubrezima i tireoidnom tkivu, i učestvuje u perifernoj dejoninaciji T_4, pri čemi nastaje T_3. Aktivnost dejodinaze tip I opada pri deficijenciji Se. Tip II je nađen u hipofizi i placenti. On reguliše intracelularni T_3 i kontroliše sekreciju TSH. Dejodinaza tip III inaktivira T_3 i razgrađuje druge tireoidne hormone.

Metabolizam

Glavni dijetarni oblik Se su selenoaminokiseline. Selenometionin potiče iz biljaka, a selenocistein je životinjskog porekla.
Selen se dobro apsorbuje iz gastrointestinalnog trakta (> 50%). Malo se zna o mehanizmu apsorpcije, mada se selenometionin apsorbuje istim mehanizmom kao i metionin. Homeostaza Se se održava regulacijom ekskrecije urinom.
Sadržaj Se u hrani varira i direktno je povezan sa sadržajem proteina u ishrani, kao i sadržajem Se u zemljištu gde se hrana uzgaja. Dijetarne potrebe zavise od statusa Se, kao i od geografskog područja (Novi Zeland, Finska i endemska područja Kine su siromašna Se).
Relativne dnevne potrebe za muškarce iznose 70 µg/d, a za žene 55 µg/d.

Klinički značaj

Keshan-ovo oboljenje je endemska kardiomiopatija koja prvenstveno pogađa decu u određenim delovima Kine i povezana je sa deficitom Se.

Najčešći simptomi su vrtoglavica, gubitak apetita, abnormalni EKG, kardiogeni šok, uvećanje srca i kongestivno srčano oštećenje. Suplementacija Se može efikasno da kontroliše Keshan-ovo oboljenje.
Kashin-Beck-ovo oboljenje je endemski osteoartritis koji se javlja u adolescenciji i preadolescenciji, a takođe je povezano sa niskim statusom Se u Kini.
Hronična selenoza ili intoksikacija Se, karakteriše se gubitkom kose, noktiju, lezijama na koži i poremećajima nervnog sistema. Najčeće manifestacije akutnog trovanja Se su muka, povraćanje, gubitak kose, promene na noktima, umor i periferna neuropatija.

Laboratorijska procena statusa selena

Za procenu statusa Se korisno je odrediti koncentraciju Se u krvi i urinu. Određivanje koncentracije Se u plazmi ili serumu može biti osetljiviji indikator statusa Se od određivanja Se u punoj krvi. Određivanje aktivnosti eritrocitne glutation peroksidaze korelira sa koncentracijom Se u krvi i ima isti značaj u proceni statusa Se.

Analitičke metode

Najčešće korišćena metoda za određivanje Se je AAS. Za određivanje Se u biološkim uzorcima preporučljivo je koristiti AAS bez plamena.
Referentne vrednosti za odrasle su 0,74 – 2,07 μmol/L u punoj krvi, 0,95 – 3,05 μmol/L u eritrocitima, 0,58 – 1,82 μmol/L u serumu ili plazmi i 7 – 160 μmol/L u urinu.