

Rozdíly v reaktivitě samců a samic potkanů na opakované krevní ztráty

Živná H.¹, Živný P.², Vokurková D.³, Palička V.²

¹Radioizotopové laboratoře a vivárium, LFUK, Hradec Králové

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, LF UK a FN Hradec Králové

³Ústav klinické imunologie a alergologie, LF UK a FN Hradec Králové

SOUHRN

Sledovali jsme vliv nedostatku železa na nástup jaterní regenerace a respirační vzplanutí polymorfonukleárů (RB-PMN). Wistar potkani, samci (M), samice (F) měli jeden krevní odběr v 9. týdnu, skupina samců (M-w) a skupina samic (F-w) měly devět krevních odběrů (jednou týdně). Potkani byli usmrceni v 10. týdnu 18 hodin po částečné hepatektomii (PH), 1 hodinu po aplikaci ³H-thymidinu i. v. V krvi jsme stanovili krevní obraz a respirační vzplanutí, v séru hepcidin, estradiol, železo, vazebnou kapacitu pro železo, obsah železa v játrech. Syntéza jaterních DNA byla vyšší u skupin M-w a F-w vs skupiny M a F ($p = 0,05$). Hepcidin po PH klesá u samců i samic ($p = 0,001$) a u skupiny F-w ($p = 0,05$), ale ne u skupiny M-w. Vlivem krevních odběrů bylo zvýšeno spontánní RB ($p < 0,05$), stimulované RB pouze u samic ($p < 0,01$).

Stimulované RB bylo nižší u samců M-w než u M ($p < 0,01$). Sérové železo bylo nižší u samců než u samic. Potkani s krevními odběry měli vyšší železo a jeho saturaci než potkani bez odběrů. TIBC klesla po PH ($p < 0,001$), méně u skupiny M-w ($p < 0,05$). Jaterní zásoby železa klesly u samců, méně u samic. Samice měly větší jaterní zásoby a snáze je mobilizovaly. Hepcidin nebyl významný při tomto procesu. Předpokládáme, že hepcidin chrání aktivitu PMN u potkanů skupiny M-w.

Klíčová slova: jaterní regenerace, železo, respirační vzplanutí, hepcidin, potkan, pohlaví, částečná hepatektomie.

SUMMARY

Živná H., Živný P., Vokurková D., Palička V.: The reactivity changes in male and female rats upon repeated blood losses

We studied the influence of iron deficiency on initiation of liver regeneration and respiratory burst of PMN (RB). Wistar rats, control males (M) and females (F) had blood withdrawal in 9th week, experimental males (M-w) and females (F-w) had nine blood withdrawals. Rats were sacrificed in 10th week 18 h after 67% hepatectomy (PH), one h after ³H-thymidin application. We determined erythrocyte and leukocyte count, RB, serum hepcidin, estradiol, iron, iron binding capacity (TIBC) and liver iron stores. Liver DNA synthesis in M-w and F-w increased versus M and F ($p = 0.05$). Hepcidin after PH decreased in M, F ($p = 0.001$) and F-w ($p = 0.05$), but not in M-w. Blood withdrawals increased spontaneous RB ($p < 0.05$), stimulated RB only at females ($p < 0.01$). Stimulated RB was lower in M-w than in M ($p < 0.01$). Serum iron was lower in males than in females. Rats with withdrawals had higher iron and iron protein saturation than rats without withdrawals. TIBC decreased after PH ($p < 0.001$), less at M-w ($p < 0.05$). Iron stores in liver decreased in M, less in F. Females had higher and easier mobilized liver iron store. Hepcidin was not important at this point. We assumed that hepcidin protects PMN activity at M-w.

Key words: liver regeneration; iron; respiratory burst; hepcidin; rat; sex; partial hepatectomy.

Úvod

Význam vhodného množství železa v potravě a jeho metabolický obrat v organismu není zatím dostatečně zodpovězen, zvláště za podmínek opakovaných krevních ztrát (darování krve). Na poruchách nespecifického imunitního systému se podílí i železo, ať již při jeho nadbytku nebo nedostatku. Na základě subjektivních údajů dárců krve se zdá, že opakované krevní odběry mohou ovlivňovat zdravotní stav organismu, zvláště snižovat počet infekčních onemocnění (subjektivní údaje dárců krve – osobní zjištění).

Vstřebávání a ukládání železa v organismu je komplexní a přesně regulovaný proces, na kterém se též účastní hepcidin. Hepcidin koreluje s sérovým feritinem [1], inhibuje vstřebávání železa v enterocyty [2], v placetě [3], brání uvolnění železa z makrofágů [4], snižuje

je dodávku železa dozrávajícím erytrocytům. Expese hepcidinu je tlumena během stimulované erytropoézy, i když jsou zvýšené zásoby železa [1]. Játra zajišťují syntézu hepcidinu, jsou i zásobárnou železa, a mají tedy významnou roli v metabolismu železa [5]. Hepcidin může být exprimován zánětlivými buňkami *in situ* a ovlivňovat produkci IL-6 a IL-1 [4].

Železo je mocný iniciátor lipoperoxidace [6], účastní se vzniku reaktivních forem kyslíku při respiračním vzplanutí prostřednictvím enzymu NADPH oxidázy [7, 8]. Estrogeny jsou známy inhibicí oxidativních procesů v krvi [9], předpokládáme i jejich zásah do metabolismu železa.

Cílem našeho experimentu bylo studovat u potkanů vliv opakovaných krevních ztrát na metabolismus železa, na respirační vzplanutí polymorfonukleárů a zvládnutí stresové zátěže navozené operací, částečnou hepatektomií.

Materiál a metody

Po schválení protokolu pokusů Odbornou komisí LFUK-HK byly pokusy provedeny na potkaních. Všechny operační výkony byly provedeny v éterové narkóze. Dospělí potkani kmene Wistar (Biotest, s. r. o., Konárovice) byli umístěni do plastových klecí a chováni za standardních podmínek. Potkani byli rozděleni do 4 skupin po 6 potkaních s tělesnou hmotností: samci 315 ± 7 g, samice 211 ± 3 g. Byli 10 týdnů krmieni dietou ST-1 (VELAS, a. s., Lysá nad Labem, 27 mg elementárního železa/kg diety) a pitnou vodou *ad libitum*. Opakovanými krevními odběry z retroorbitálních sinusů ($0,5$ ml/100 g tělesné hmotnosti) jsme simulovali situaci u dárců krve. První skupina: samci (M), krevní odběr proveden jednou v 9. týdnu. Druhá skupina: samice (F), krevní odběr proveden jednou v 9. týdnu. Třetí skupina: samci (M-w), krevní odběr proveden jednou týdně, 9krát. Čtvrtá skupina: samice (F-w), krevní odběr proveden jednou týdně, 9krát. Částečná hepatektomie (PH) byla provedena u všech potkanů v 10. týdnu. Potkanům byl podán ^3H -thymidin (740 kBq/100 g, Lacomed Ltd.) i. v. Sedmáct hodin po PH a jednu hodinu před usmrcením odběrem krve z břišní aorty.

V séru jsme stanovili koncentrace železa ($\mu\text{mol/l}$), jeho vazebnou kapacitu (TIBC), kalkulovanou saturaci železem, koncentrace hepcidinu (pmol/l , Hepcidin pro-hormone EIA-4015, DRG, Germany) a 17-beta-estradolu (pmol/l , Immulite analyser).

Koncentrace železa v játrech (mg/g suché tkáně) byla stanovena atomovou absorpční spektrofotometrií (Unicam, Solaar 959, UK) po vysušení (Milestone MLS 1200 MEGA, Italy).

Jaterní DNA syntéza byla stanovena ^3H -thymidinem [10] na detektoru scintilací Beckman LS 6000 LL (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA). Obsah jaterní DNA byl stanoven difenylaminovým činidlem [11].

V heparinizované krvi byl stanoven krevní obraz (Abbott CELL-DYN 3200 SL, Abbott, IL, USA) a respirační vzplanutí polymorfonukleárů (RB-PMN) na Cytomics FC500 flow cytometer (488 nm, Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA) dihydrorhodaminem 123 (DHR, Sigma, Praha, CZ) a stimulací phorbol myristat acetátem (PMA,

Sigma, Praha, CZ). Pozitivita (%) byla vyhodnocena na fluorescenčním kanále (575 nm). Data byla analyzována s CXP Analysis software [12].

Jaterní tkáň pro histologické vyšetření ze stejného místa byla fixována v 10% formalinu. Preparáty byly obarveny na železo ferokyanidem draselným (PENTA, Hradec Králové, CZ). Obsah železa v játrech byl kalkulován podle skóre 0-1-2-3.

Statistické analýzy byly provedeny software SigmaStat 3.1 Jandel Scientific® (San Rafael, CA, USA). Jeden symbol značí $p < 0,05$, dva symboly jsou $p < 0,01$ a tři symboly jsou $p < 0,001$. Identické symboly značí statistickou významnost mezi skupinami. Výsledky jsou vyjádřeny jako průměr \pm SEM, pouze hepcidin a respirační vzplanutí jsou vyjádřeny jako medián a 25. a 75. percentil.

Výsledky

Samice měly vyšší obsah železa v játrech než samci. Pokles zásob železa byl výraznější u skupiny F-w. Potkani s krevními odběry, zvláště samice, měli vyšší obsah jaterních DNA ve srovnání se skupinami bez krevních odběrů (tab. 1).

Table 1. Liver iron score, total liver iron content, and specific activity of liver DNA

	Liver iron score (0-3)		Total liver iron content (ug/g dry liver)		s. a. DNA (kBq/mg DNA)
	before PH	after PH	before PH	after PH	after PH
M	0.3	0	787 ± 162	595 ± 163	1.21 ± 0.49
F	2	1	1577 ± 155	1376 ± 166	0.45 ± 0.13 *++
M-w	0	0	551 ± 120	538 ± 123	1.53 ± 0.26 ++
F-w	1	0	943 ± 89	813 ± 104	1.91 ± 0.45 *

M: male, one blood withdrawal before PH; F: female, one blood withdrawal before PH; M-w: male, nine blood withdrawals before PH; F-w: female, nine blood withdrawals before PH. The identical symbols indicate compared couples. One symbol represents statistical significance $p < 0.05$, two symbols are $p < 0.01$.

Table 2. Basic hematological values and serum 17 -estradiol

	Hemoglobin (g/l)		Absolute number of PMN (x 109/l)		17-β estradiol (pmol/l)	
	before PH	after PH	before PH	after PH	before PH	after PH
M	158 ± 2 **	143 ± 4 **	1.00 ± 0.35	1.15 ± 0.65 **	<73.4	85.9 ± 3.6
F	152 ± 2	145 ± 3	1.32 ± 0.29 +	0.65 ± 0.25 ***	140.5 ± 12.8 xx	196.4 ± 27.2
M-w	153 ± 3	161 ± 7	0.82 ± 0.19	3.90 ± 0.62 **	<73.8	101.8 ± 16.1
F-w	155 ± 1	155 ± 8	0.46 ± 0.16 +	3.17 ± 0.43 ***	317.1 ± 33.4 xx (p = 0.014)	128.1 ± 16.3

M: male, one blood withdrawal before PH; F: female, one blood withdrawal before PH; M-w: male, nine blood withdrawals before PH; F-w: female, nine blood withdrawals before PH. The identical symbols indicate compared couples. One symbol represents statistical significance $p < 0.05$, two symbols are $p < 0.01$ and three symbols represent $p < 0.001$.

Table 3. Iron concentration, total iron binding capacity and protein saturation by iron in serum

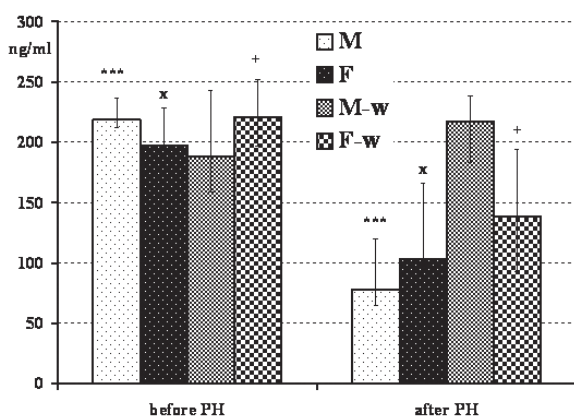
	Serum iron concentration ($\mu\text{mol/l}$)		Serum iron binding capacity		Serum iron saturation	
	before PH	after PH	before PH	after PH	before PH	after PH
M	36.72 \pm 1.73 **	13.56 \pm 0.83	103.67 \pm 2.74 ***	73.40 \pm 2.40	0.35 \pm 0.02	0.18 \pm 0.01
F	64.58 \pm 7.55 ** x	17.62 \pm 0.99	93.28 \pm 2.10 +	65.18 \pm 1.05	0.69 \pm 0.06	0.27 \pm 0.01
M-w	50.05 \pm 9.78	23.67 \pm 6.26	77.53 \pm 2.02 ***	70.20 \pm 2.29	0.48 \pm 0.07	0.35 \pm 0.10
F-w	86.63 \pm 5.53x	22.90 \pm 3.80	101.55 \pm 2.18 +	68.43 \pm 1.69	0.85 \pm 0.05	0.33 \pm 0.04

M: male, one blood withdrawal before PH; F: female, one blood withdrawal before PH; M-w: male, nine blood withdrawals before PH; F-w: female, nine blood withdrawals before PH. The identical symbols indicate compared couples. One symbol represents statistical significance $p < 0.05$, two symbols are $p < 0.01$ and three symbols represent $p < 0.001$.

Koncentrace hemoglobinu po PH neklesaly u skupin potkanů M-w a F-w tak výrazně, jako u potkanů skupin M a F. Potkani M-w a F-w měli vyšší absolutní počty PMN po PH v porovnání s potkany M a F. Opakované odběry vedly ke zvýšení koncentrací estradiolu v séru, zvýšení bylo u všech potkanů po PH, kromě skupiny F-w (tab. 2).

Koncentrace železa v séru byly nižší u všech samců ve srovnání se samicemi. Koncentrace železa a saturace proteinu železem byly vyšší u potkanů M-w a F-w ve srovnání s potkany M a F. Pokles byl sledován u všech po PH ($p < 0,001$), nejméně vyjádřen byl u skupiny M-w ($p < 0,01$). U všech potkanů poklesla vazebná kapacita pro železo po PH ($p < 0,001$), nejméně u skupiny M-w ($p < 0,05$) – tabulka 3.

Sérové koncentrace hepcidinu po PH klesaly u skupiny M ($p = 0,001$), F, a F-w ($p = 0,05$), naopak u skupiny M-w se nevýznamně zvýšily (graf 1).

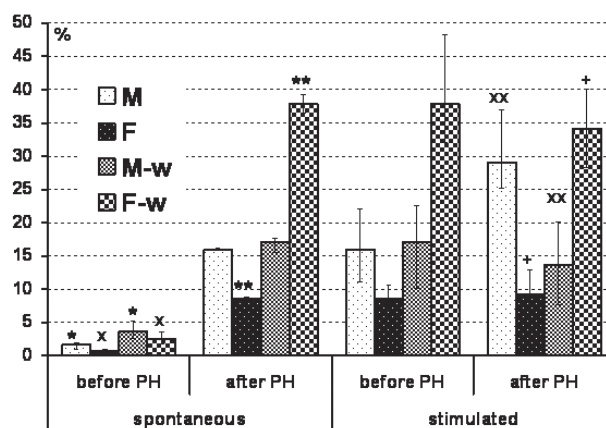


Graph 1. Serum hepcidin concentration

M: male, one blood withdrawal before PH; F: female, one blood withdrawal before PH; M-w: male, nine blood withdrawals before PH; F-w: female, nine blood withdrawals before PH. The identical symbols indicate compared couples. One symbol represents statistical significance $p < 0.05$, two symbols are $p < 0.01$ and three symbols represent $p < 0.001$.

Byl zaznamenán rozdíl mezi pohlavími v hodnotách RB-PMN. U skupiny M byly vyšší hodnoty RB-PMN před hepatektomií i po ní než u samic M-w ($p < 0,01$)

a než u samic F. Opakované odběry navodily u samců M-w zvýšení spontánního RB-PMN ($p < 0,05$), u samic F-w zvýšení jak spontánního ($p < 0,05$), tak i stimulovaného RB-PMN ($p < 0,01$) – graf 2.



Graph 2. Spontaneous and stimulated respiratory burst of blood PMN M: male, one blood withdrawal before PH; F: female, one blood withdrawal before PH; M-w: male, nine blood withdrawals before PH; F-w: female, nine blood withdrawals before PH. The identical symbols indicate compared couples. One symbol represents statistical significance $p < 0.05$, two symbols are $p < 0.01$.

Diskuse

Tělesná hmotnost se zvyšovala u všech potkanů během 10. týdnů probíhajícího pokusu a nebyly rozdíly v nárůstu hmotnosti ani ve spotřebě diety mezi skupinami M vs M-w a skupinami F vs F-w.

Koncentrace železa a saturace proteinů železem v séru byly vyšší u skupin s opakovanými odběry, příčinou může být zvýšený obrat železa v séru. Zdá se, že regulační mechanismy mohou zvýšit transport železa v séru i jeho mobilizaci zvláště u samic, které jsou fyziologicky připraveny vstřebat více železa (laktace, březosti). Tato reaktivita je důležitá, neboť hypochromní anémie v těhotenství je rizikovým faktorem mortality a morbidit plodu [13]. Obsah železa v játrech vypovídající o aktuálních zásobách železa v organismu [14] byl signifikantně vyšší u samic než u samců, za

což jsou nejspíš zodpovědné estrogény [14]. Ačkoliv samicím skupiny F-w byly prováděny opakovaně odběry krve, měly více železa v játrech než samci bez krevních odběrů. Na doplňování železa u samic se též účastnil pokles syntézy hepcidinu. Samci skupiny M-w nereagovali dostatečně rychle na ztráty železa, odčerpali ho z jater i ze séra, ale paradoxně nesnížili syntézu hepcidinu po hepatektomii. Domníváme se, že přetrvávání vyšších koncentrací hepcidinu u skupiny M-w „neinformuje“ dostatečně organismu o snížených zásobách železa v organismu a má tedy i jinou informační hodnotu.

Potkani s odběry (M-w, F-w) měli časnější nástup jaterní syntézy DNA ve srovnání s potkany bez odběrů. Vliv estrogenů je zde nekonstantní, neboť samice F měly nejnižší syntézu DNA ze všech skupin, naopak samice F-w měly syntézu DNA nejvyšší. Je pravděpodobné, že se projeví různé koncentrace estrogenů. Chiu [15] hodnotí estrogény jako promotor jaterní regenerace po hepatektomii, Shimizu I. [16] popisuje pozitivní antioxidační efekt estradiolu při jaterním poškození. Opakované krevní odběry působily jako preconditioning, po hepatektomii neklesly koncentrace hemoglobinu, vzrostly absolutní počty PMN, byl časnější nástup jaterní regenerace. Pozitivní efekt „preconditioning“ před hepatektomií prokázali u laparotomie [17], u periodické ischemizace a jaterní reperfuze [18] a u hyperbarické oxygenace [19]. Opakovanými odběry se zvýšily koncentrace železa v séru a napodobily podmínky *in vitro*, kdy vyšší syntéza DNA hepatocytů byla v médiu obohaceném o železo [20].

Pokles hepcidinu po hepatektomii nastal u všech skupin kromě M-w, kde došlo k jeho zvýšení. Toto zvýšení koresponduje s expresí genu pro hepcidin v játrech 16 hodin po hepatektomii [21] a po poškození jater alkoholem [22]. Domníváme se, že u skupiny M-w byly vyšší koncentrace hepcidinu především pro zachování funkčnosti imunitního systému i přes omezení resorpce železa ze střeva a omezení erythropoézy. Ganz popisuje u chronických zánětů zvýšení hepcidinu, jehož důsledkem je anémie [23]. Tuto hypotézu podporují i výsledky RB-PMN u samců M-w.

V pokusech jsme zjistili rozdíly v RB-PMN mezi pohlavími. PMN samců reagovaly před hepatektomií i po ní výrazněji než PMN samic. Důvodem může být estradiolem utlumení lipoperoxidací [24, 25], respiračního vzplanutí PMN [27] i peroxidací PMN [28], a naopak akcelerace lipoperoxidací a aktivace PMN testosteronem [26, 29]. U samců s odběry (M-w) byly aktivity RB-PMN nižší než u samců bez odběrů, což jsme nepředpokládali. Domníváme se, že se jednalo o důsledek snížení zásob železa samců opakovanými odběry. Samice s krevními odběry F-w pod vlivem genetických a hormonálních faktorů (estrogenů) všechny zásahy snášely lépe, měly lepší obrát železa, reaktivita PMN byla adekvátní, snáze zvládaly operační stres (časnějším nástupem jaterní regenerace).

Omezení studie: Je obtížné přenést závěry do klinické medicíny, neboť samice potkanů neztrácejí krev menstruací. Pravděpodobně však v přírodě mají větší výdej železa než ženy. Jedna samice potkana (vážíci

350 g) může za rok porodit až 80 mláďat (po 7,5 g) a současně je odkojit. Samice tedy ukládá železo do fetů, do placenty a souběžně do mléka během kojení předěšlého vrhu.

Literatura

1. **Means, R. T., Jr.** Hpcidin and anaemia. *Blood Rev.*, 2004, 18, p. 219–225.
2. **Latunde-Dada, G. O., McKie, A. T., Simpson, R. J.** Animal models with enhanced erythropoiesis and iron absorption. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006, 17, 62, p. 414–423.
3. **Martin, M. E., Nicolas, G., Hetet, G., Vaulont, S., Grandchamp, B., Beaumont, C.** Transferrin receptor 1 mRNA is downregulated in placenta of hepcidin transgenic embryos. *FEBS Lett.*, 2004, 574, p. 187–191.
4. **Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V. et al.** IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest.*, 2004, 113, p. 1271–1276.
5. **Peyssonaux, C., Datta, V., Cramer, T. et al.** HIF- expression regulates the bactericidal capacity of phagocytes. *J. Clin. Invest.*, 2005, 115, p. 1806–1815
6. **Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C.** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol.*, 1990, 186, p. 1–85.
7. **Dahlgren, C., Karlsson, A.** Respiratory burst in human neutrophils. *J. Immunol. Methods*, 1999, 232, p. 3–14.
8. **Drahota, Z., Krivakova, P., Cervinkova, Z. et al.** Tert-butyl hydroperoxide selectively inhibits mitochondrial respiratory-chain enzymes in isolated rat hepatocytes. *Physiol. Res.*, 2005, 54, p. 67–72.
9. **Ayres, S., Baer, J., Subbiah, M. T.** Exercise-induced increase in lipid peroxidation parameters in amenorrheic female athletes. *Fertil. Steril.*, 1998, 69, p. 73–77.
10. **Short, J., Zemel, R., Kanta, J., Lieberman, I.** Stimulation of deoxyribonucleic acid synthesis in the liver parenchymal cells of the intact rats. *Nature*, 1969, 223, p. 956–957.
11. **Burton, K.** A study of the condition and mechanism of the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.*, 1956, 62, p. 315–323.
12. **Wilhelm, J., Frydrychova, M., Hezinova, A., Vizek, M.** Production of hydrogen peroxide by peritoneal macrophages from rats exposed to subacute and chronic hypoxia. *Physiol. Res.*, 1997, 46, p. 35–39.
13. **Gambling, L., Dunford, S., Wallace, D. I. et al.** Iron deficiency during pregnancy affects postnatal blood pressure in the rat. *J. Physiol.*, 2003, 552, p. 603–610.
14. **Horiguchi, H., Oguma, E., Kayama, F.** The effects of iron deficiency on estradiol-induced suppression of erythropoietin induction in rats: implications of pregnancy-related anemia. *Blood*, 2005, 106, p. 67–74.
15. **Chiu, E. J., Lin, H. L., Chi, C. W., Liu, T. Y., Lui, W. Y.** Estrogen therapy for hepatectomy patients with poor liver function? *Med. Hypotheses*, 2002, 58, p. 516–518.
16. **Shimizu, I.** Impact of oestrogens on the progression of liver disease. *Liver Int.*, 2003, 23, p. 63–69.
17. **Laurent, S., Starkel, P., Leclercq, I. A., Lambotte, L., Maiter, D., Horsmans, Y.** Molecular events associated with accelerated proliferative response in rat livers when partial hepatectomy is

- preceded by a sham operation. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2005, 35, p. 140–147.
18. **Bedirli, A., Kerem, M., Pasaoglu, H. et al.** Effects of ischemic preconditioning on regenerative capacity of hepatocyte in the ischemically damaged rat livers. *J. Surg. Res.*, 2005, 125, p. 42–48.
19. **Kurir, T. T., Markotic, A., Katalinic, V. et al.** Effect of hyperbaric oxygenation on the regeneration of the liver after partial hepatectomy in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 2004, 37, p. 1231–1237.
20. **Chenoufi, N., Loreal, O., Drenou, B. et al.** Iron may induce both DNA synthesis and repair in rat hepatocytes stimulated by EGF/pyruvate. *J. Hepatol.*, 1997, 26, p. 650–658.
21. **Sheikh, N., Batusic, D. S., Dudas, J. et al.** Hecpidin and Hemojuvelin gene-expression in rat liver damage: In vivo and in vitro studies. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2006, 291, G482–490.
22. **Bridle, K., Cheung, T. K., Murphy, T., Walters, M., Anderson, G., Crawford, D. G., Fletcher, L. M.** Hecpidin is down-regulated in alcoholic liver injury: implications for the pathogenesis of alcoholic liver disease. *Alcohol. Clin. Exp. Res.*, 2006, 30, p. 106–112.
23. **Ganz, T.** Hecpidin – a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 2005, 18, p. 171–182.
24. **Kuhn-Velten, W. N., Pippirs, U.** Novel connections between NADPH-induced lipid peroxidation and cytochrome P450 inactivation, and antioxidant and enzyme protective properties of estradiol in gonadal membranes. *Free Radic. Res.*, 1997, 26, p. 125–133.
25. **Bureau, I., Gueux, E., Mazur, A., Rock, E., Roussel, A. M., Rayssiguier, Y.** Female rats are protected against oxidative stress during copper deficiency. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2003, 22, p. 239–246.
26. **Wachnik, A., Biro, G., Biro, L., Korom, M., Gergely, A., Antal, M.** Effect of sex hormones on copper, zinc, iron nutritional status and hepatic lipid peroxidation in rats. *Nahrung*, 1993, 37, p. 28–34.
27. **Bekesi, G., Kakucs, R., Varbiro, S., Racz, K., Sprintz, D., Feher, J., Szekacs, B.** In vitro effects of different steroid hormones on superoxide anion production of human neutrophil granulocytes. *Steroids*, 2000, 65, p. 889–894.
28. **Abrahams, V. M., Collins, J. E., Wira, C. R., Fanger, M. W., Yeaman, G. R.** Inhibition of human polymorphonuclear cell respiratory burst by 17-beta-estradiol and 2,3,7,8-tetra-chlorodibenzo-p-dioxin. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2003, 50, p. 463–472.
29. **Deitch, E. A., Ananthakrishnan, P., Cohen, D. B., Xu da, Z., Feketeova, E., Hauser, C. J.** Neutrophil activation is modulated by sex hormones after trauma-hemorrhagic shock and burn injuries. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, 2006, 291, H1456–1465.

Podpořeno Výzkumným záměrem MZO 00179906.

Do redakce došlo 29. 6. 2007.

Adresa pro korespondenci:
Doc. MUDr. Helena Živná, CSc.
Úprkova 716
500 09 Hradec Králové
e-mail: zivna@lfhk.cuni.cz