

# Važnost željeza u biološkom sustavu čovjeka

---

**Besednik, Lucija**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:479534>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-28**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Lucija Besednik

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

# **VAŽNOST ŽELJEZA U BIOLOŠKOM SUSTAVU ČOVJEKA**

**Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Nevenka Poje

Zagreb, 2018.



Datum predaje prve verzije Završnog rada:

21. kolovoza 2018.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

21. rujna 2018.

Mentor rada: doc. dr. sc. Nevenka Poje

Potpis:



# Sadržaj

<b>§ SAŽETAK.....</b>	<b>VII</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>8</b>
<b>1.1. Kemija željeza .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2. Željezo u biološkom sustavu.....</b>	<b>9</b>
<b>§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1. Željezo u hemoglobinu i mioglobinu .....</b>	<b>10</b>
2.1.1. <i>Željezo u hemu .....</i>	<i>12</i>
2.1.2. <i>Ligandi koji se vežu na željezo u hemu .....</i>	<i>12</i>
2.1.3. <i>Kooperativno vezanje kisika na željezo i Bohrov efekt .....</i>	<i>15</i>
<b>2.2. Željezo u proteinskim klasterima .....</b>	<b>17</b>
2.2.1. <i>Općenito o Fe- S klasterima.....</i>	<i>17</i>
2.2.2. <i>Uloga željeza u respiracijskom lancu .....</i>	<i>18</i>
2.2.3. <i>Željezo u kompleksu IV .....</i>	<i>19</i>
2.2.4. <i>CyaY protein i pravilna homeostaza željeza u organizmu .....</i>	<i>20</i>
<b>2.3. Homeostaza željeza .....</b>	<b>21</b>
2.3.1. <i>Apsorpcija željeza .....</i>	<i>21</i>
2.3.2. <i>Potrošnja željeza .....</i>	<i>21</i>
2.3.3. <i>Pohrana i recikliranje željeza .....</i>	<i>22</i>
2.3.4. <i>Feritin i transferinski receptor.....</i>	<i>22</i>
<b>2.4. Bolesti vezane uz željezo .....</b>	<b>24</b>
<b>2.5. Zaključak .....</b>	<b>25</b>
<b>§ 3. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>27</b>



## § Sažetak

Željezo je bitan element; tehnički najvažniji. Koristi se u metalurgiji. Nezamjenjiv je u biološkim sustavima. Život čovjeka bez željeza je nezamisliv. Ima ga u crvenim krvnim zrnima (eritrocitima). Može vezati kisik pa sudjeluje u njegovu transportu. Sastavni je dio procesa staničnog disanja kao prenositelj elektrona. Brojni proteini u svojoj strukturi sadrže željezo.

Željezo u čovjekov organizam dopijeva hranom. Uravnoteženom prehranom osigurava se količina željeza potrebna za normalan rad ljudskog organizma. Višak željeza je opasan pa su razvijeni i obrambeni mehanizmi koji tijelo štite od neželjenih posljedica.

Istraživanja kemije željeza omogućila su razumijevanje mehanizma njegova djelovanja u metaboličkim procesima. Poznat je niz bolesti kojima je uzrok abnormalan metabolizam željeza. Kemija željeza je predmet daljnjih istraživanja.



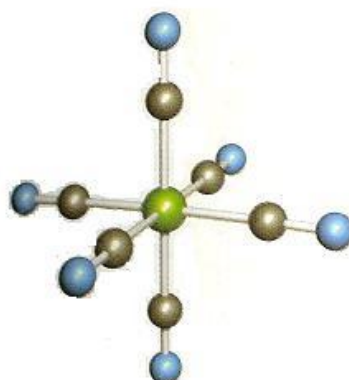
## § 1. UVOD

### 1.1. Kemija željeza

Periodni sustav elemenata podijeljen je na periode i skupine. Željezo je element 8. skupine i 4. periode. Elektronska mu je konfiguracija:  $[\text{Ar}] 3d^6 4s^2$ . Neplemeniti je metal, nestabilan na zraku, uz kisik i vodu korodira (elektrokemijska reakcija).

Maseni udio željeza u Zemljinoj kori je oko 5%. Nalazi se u obliku oksidnih, karbonatnih, silikatnih i sulfidnih ruda (najpoznatije su magnetit  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  i hematit  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ). Otapa se u razrijeđenim neoksidirajućim kiselinama, poput klorovodične uz oslobađanje vodika.<sup>1</sup>

Oksidacijski stupnjevi željeza su: 0, +2, +3, +4, +5 i +6. Fe(VI) je jako oksidacijsko sredstvo stabilno u lužini (ferat  $\text{FeO}_4^{2-}$ ). Fe(III) je umjereno jaki oksidans; oksidira jodid ion i ne tvori  $\text{FeI}_3$ . U otopinama su Fe(II) i Fe(III) hidratizirani kompleksni ioni  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$  i  $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$ . Soli su im obojene, hidroliziraju pa su kisele. S kisikom tvori okside.  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  je amfoteran. Poznati su brojni kompleksni spojevi Fe(II) i Fe(III) s anorganskim (tetrahalogenidi fluora, klora i broma, heksahalogenidi s fluorom i klorom,  $[\text{Fe}(\text{NO})]^{2+}$ ,  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]^{2-}$ ,  $[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NOS}]^{4-}$ ,  $[\text{Fe}(\text{SCN})_6]^{3-}$ ...) i organskim ligandima (salicilna kiselina, 1,10-fenantrolin...). Kompleksi Fe(II) i Fe(III) su specifično obojeni. Heksakoordinirani su oktaedarske strukture. Struktura je prikazana Slikom 1.



Slika 1. Prikaz oktaedarskog okruženja željeza na primjeru  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ . Preuzeto iz <sup>2</sup>

Uz željezo se veže i pojam feromagnetizma, pojave u kojoj metal snažno privlači magnetsko polje, a magnetska mu svojstva ostaju i prestankom djelovanja polja. Ovakvu vrstu magnetizma pri standardnoj temperaturi pokazuju još kobalt i nikal. Željezo je tehnički najvažniji metal, a njegove legure koriste se za izradu različitih predmeta i konstrukcija.<sup>1</sup>

## 1.2. Željezo u biološkom sustavu

Željezo je jedan od važnijih elemenata i u čovjekovom organizmu. Zdrava osoba u svom tijelu ima ga oko 4,5 g, a svakodnevno ga unosi hranom.

Od ukupne mase prisutne u tijelu, 60% željeza je u hemoglobinu, 8% u mioglobinu, 2% u enzimima, 0,1% je željezo koje sudjeluje u transportu, a ostatak je rezerva koja se čuva u jetri, koštanoj srži i slezeni. Koštana srž djeluje kao ekstraktor željeza. Rezerve se oslobađaju prema potrebi i koriste u brojnim metaboličkim procesima (npr. u redukciji ribonukleotida i elektronskom transportu).

Važan je regulator ekspresije gena na nivou transkripcije i translacije gena. Netopljivo je pri fiziološkom pH koji iznosi 7,4 pH jedinica.

Brojnim metaboličkim procesima upravljaju enzimi. Transport kisika odvija se putem dvaju proteina hemoglobina i mioglobina koji sadrže željezo. I hemoglobin i mioglobin kisik vežu upravo na željezo.

Metaboličkim poremećajima nastaju opasni kisikovi radikali koji uzrokuju oštećenja i smrt stanica. Željezo je posrednik pri nastanku peroksida iz kisika. Osim kisika na željezo se vežu i druge male pa i toksične molekule. To su takozvani krvni otrovi: CO, H<sub>2</sub>S, HCN... koji vezanjem za željezo sprečavaju normalan transport kisika.

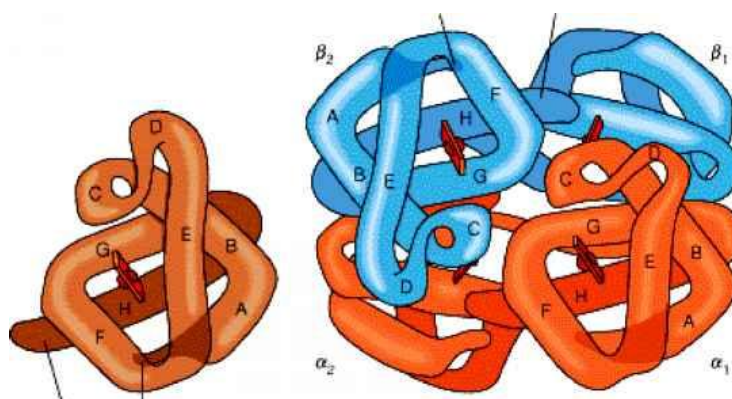
Cilj ovog Završnog rada je proučiti kemijsko ponašanje željeza u čovjekovom organizmu i opisati mehanizme glavnih životnih procesa u kojima sudjeluje.

## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

### 2.1. Željezo u hemoglobinu i mioglobinu

Hemoglobin i mioglobin su proteini važni za aerobni život. Hemoglobin služi za prijenos kisika od pluća do tkiva, dok mioglobin služi za njegovo skladištenje u mišićima. Prvi su proteini kojima je određena trodimenzionalna struktura kristalografijom pomoću X-zraka. Na njima su opažene i promjene na nivou primarne strukture (u kovalentnom slijedu aminokiselina) koje su odgovorne za nastanak bolesti poput srpaste anemije.<sup>3</sup> Mioglobin je smješten u mišićima gdje osigurava dovoljnu količinu kisika, a hemoglobin je sastavni dio crvenih krvnih stanica te osigurava dotok kisika do svih tkiva.

Općenito se razlikuju četiri razine strukture proteina: primarna, sekundarna, tercijarna i kvaterna. Hemoglobin i mioglobin su vrlo slični na nivou tercijarne strukture. Trodimenzionalna slika polipeptidnih lanaca im je slična. U kovalentnom slijedu aminokiselina podudaranje iznosi 18%. Mioglobin je monomer, a hemoglobin tetramer. Hemoglobin se sastoji od četiri nekovalentno vezane podjedinice (polipeptidni lanci), od kojih su dvije i dvije iste. Takva se struktura naziva  $\alpha_2\beta_2$ . Omogućuje dobro vezivanje i prijenos kisika.<sup>3</sup>

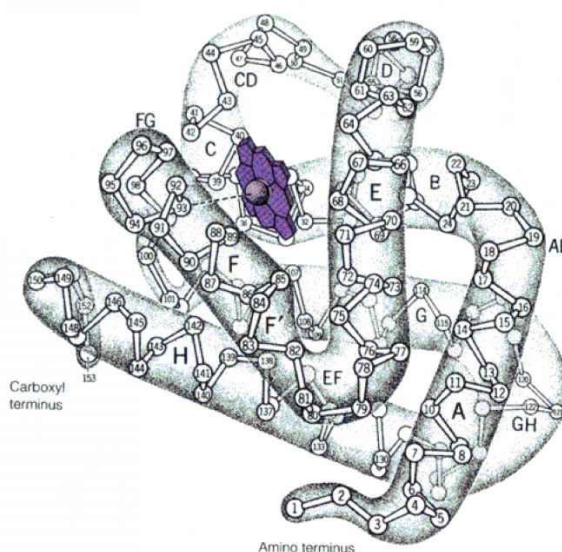


Slika 2. Usporedba strukture mioglobina i hemoglobina. Preuzeto iz <sup>4</sup>

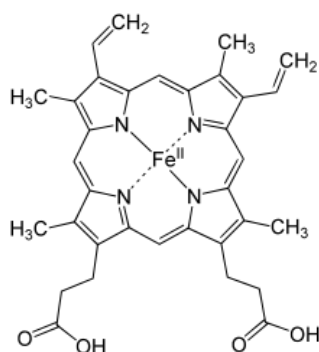
Hemoglobin i mioglobin u svakoj podjedinici imaju prostetičku skupinu hem. Mioglobin ima jednu, a hemoglobin četiri. Hem skupina je odgovorna za vezanje kisika. Ona sadrži željezo

koje veže kisk. Kisik veže samo željezo u +2 oksidacijskom stanju. Vezanje ne mijenja oksidacijsko stanje i naziva se oksigenacija.

Željezo okružuje organska komponenta protoporfirin. Ion željeza koordiniran je s četiri dušikova atoma iz protoporfirina i stvara još dvije veze – jednu s bočnim ogrankom histidina (proksimalni histidin) koji se nalazi na polipeptidnom lancu proteina i jednu s molekulom koja se veže s njim ( $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $CO$ ,  $H_2S...$ ). Veza s proksimalnim histidinom omogućuje pravilno pozicioniranje željeza u ravninu protoporfirina. Vezanjem liganda mijenja se položaj željeza u odnosu na ravninu protoporfirina. Kada na željezo nije vezan kisik, ono leži malo izvan ravnine. Zbog veličine ne može se smjestiti u središte protoporfirina. Vezivanjem kisika dolazi do premještanja elektrona pa se željezo smanji. Pojavu prati rotacija proksimalnog histidina te se željezo lako smjesti u središte protoporfirina. Prerazmjestaj elektrona u željezu prati promjena magnetskih svojstava željeza.<sup>3,5</sup>



Slika 3. Prikaz prostetičke skupine hem unutar polipeptidnog lanca mioglobina / hemoglobin. Preuzeto iz <sup>4</sup>



Slika 4. Prostetička skupina hem. Preuzeto iz <sup>6</sup>

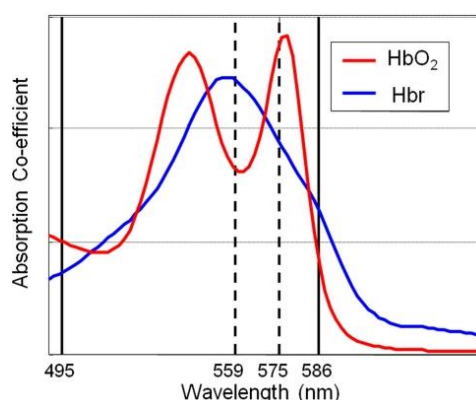
### 2.1.1. Željezo u hemu

Funkcija hema ovisi o željezu. Mogućnost vezivanja kisika i drugih malih molekula ovisi o njegovom oksidacijskom stanju. Željezo može vezati kisik u obliku  $\text{Fe}^{2+}$ .  $\text{Fe}^{3+}$  ne veže molekulu kisika.

Kad je na željezo vezana molekula kisika, hemoglobin se naziva oksihemoglobin. Kad je vezana druga molekula ili nema vezanog liganda, naziva se deoksihemoglobin. Željezo ne mijenja oksidacijsko stanje i normalno je u reduciranom  $\text{Fe}^{2+}$  obliku.  $\text{Fe}^{3+}$  veže neutralne molekule ili anione, a nalazi se u methemoglobinu.

Met-, oksi- i deoksihemoglobin su karakteristično obojeni. Oksihemoglobin je žarko crvene, deoksihemoglobin ljubičaste, a methemoglobin smeđe boje. Boja krvi i tkiva ovisi o hemoglobinu u eritrocitima.

Poznati su VIS spektri oksi- i deoksihemoglobina. UV/VIS analizom potvrđeno je vezanje liganda s hemskim željezom. Oksihemoglobin ima apsorpcijske maksimume na 540 i 580 nm, a deoksihemoglobin na 560 nm. VIS spektre oksihemoglobina i deoksihemoglobina prikazuje Slika 5.<sup>7,8,9,10</sup>



Slika 5. Apсорpcijski spektar oksihemoglobina ( $\text{HbO}_2$ ) i deoksihemoglobina ( $\text{Hbr}$ ). Preuzeto iz <sup>11</sup>

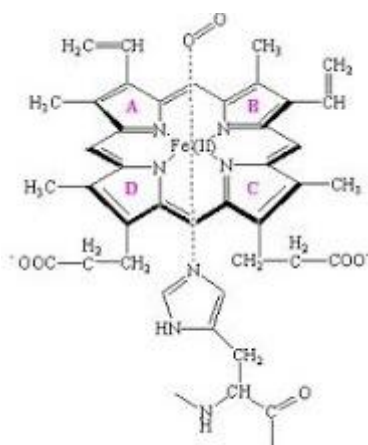
### 2.1.2. Ligandi koji se vežu na željezo u hemu

S obzirom na oksidacijsko stanje iona željeza ligandi su podijeljeni u dvije skupine. Prvu čine ligandi povezani s  $\text{Fe}^{2+}$ , a drugu s  $\text{Fe}^{3+}$ .

#### ➤ $\text{Fe}^{2+}$

Kisik je ligand koji veže željezo u normalnim uvjetima. Proces vezanja kisika u hemoglobinu i mioglobinu je različit jer mioglobin ima jedno hemsko željezo, a hemoglobin četiri.

Vežanje je reverzibilan proces; u tkivima se otpušta molekularni kisik. Iznimno se, pak, tijekom vežanja kisika sa željezom dogodi oksidacijsko – redukcijska reakcija. Željezo se tad oksidira do  $\text{Fe}^{3+}$ , a kisik reducira u superoksid. Takav je proces za živi organizam poguban jer  $\text{Fe}^{3+}$  ne veže kisik, a tkiva bez odgovarajuće opskrbe propadaju. Druga je loša posljedica otpuštanje superoksida umjesto kisika. Superoksid i vrste koje nastaju iz njega su reaktivne kisikove čestice (ROS) koje oštećuju stanice. U normalnim uvjetima do ovih reakcija ne dolazi. Za iznimne slučajeve organizam je razvio sustav ROS obrane. Obrambenim mehanizmom se uklanjaju toksične vrste tako da se prevedu u koristan oblik: molekularni kisik i vodu. Sustav obrane uključuje niz enzima, poput dismutaza i katalaza. Osim toga, struktura podjedinica mioglobina i hemoglobina vrlo je neprikladna za nastanak superoksidnih vrsta; blizu mjesta vežanja kisika nalazi se još jedan bočni ogranak histidina (distalni histidin). Distalni histidin stabilizira dolazeći ligand. Stabilizacija kompleksa ligand – protein odvija se tako da distalni histidin djeluje kao donor protona za vodikovu vezu s kisikom. Vodikova veza stabilizira oksihemoglobin. Stabilizacijom oksihemoglobinske forme, ne dolazi do oksidacijsko – redukcijskih reakcija pa ne nastaju superoksidne vrste.<sup>3,12</sup>



Slika 6. Prikaz okruženja željeza u hemu kod vežanja molekule kisika. Preuzeto iz <sup>13</sup>

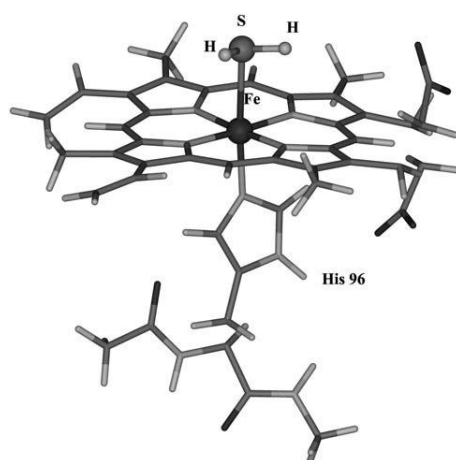
Velik afinitet za željezo imaju molekule ugljičnog dioksida, sumporovodika, cijanida i dušikovog monoksida. Te molekule se natječu s kisikom za  $\text{Fe}^{2+}$  i vežanjem onemogućavaju fiziološki proces. Vrlo su toksične i sasvim male koncentracije izazivaju teška trovanja ili smrt jer je afinitet željeza prema njima veći nego prema kisiku.

Proučavajući efekt mutacije na fleksibilnost aktivnog mjesta i vežanja sumporovodika kod monomernog hemoglobina iz porodice *Lucina pectinata*, mioglobina sperme kita i stvorenog mutanta, otkriveni su uzroci jakog vežanja sumporovodika. Kao referentni uzorak je uzet monomerni hemoglobin. Opaženo je da se od svih liganada koji se vežu na željezo,

sumporovodik veže najjače, a disocira iznimno sporo pa se istraživala struktura aktivnog mjesta hema (mjesto vezanja sumporovodika sa željezom).<sup>14</sup>

Kod monomernog hemoglobina hemska je željezo okruženo bočnim organcima glutamina i dva fenilalanina. Mioglobin kita ima umjesto glutamina histidin, a fenilalanini su zamijenjeni bočnim ograncima leucina i valina. Uzorak mutanta kita u aktivnom mjestu ima bočne ogranke jednake onima nađenim u monomernom hemoglobinu. Mutacije su trebale omogućiti da se u uzorku mioglobina sperme kita dobije aktivno mjesto kao u monomernom hemoglobinu.<sup>14</sup>

Proučavani su utjecaji mutacija na vezanje sumporovodika. Dostupnost željeza sumporovodiku ovisi o okolnim aminoskupinama. Za analizu nastalih interakcija u aktivnom mjestu uzoraka korištene su tehnike Ramanove spektroskopije, <sup>1</sup>H – NMR i molekularne dinamike. Ramanovom spektroskopijom i <sup>1</sup>H – NMR-om utvrđeno je da između sumporovodika i aminokiselinskih bočnih organaka u aktivnom mjestu nema značajnih vodikovih veza. Molekularnom dinamikom proučavana je relativna orijentacija prostetičke skupine hem i veze s polipeptidnim lancem proteina hemoglobina / mioglobina. Prostetička skupina kod monomernog hemoglobina ima puno veću slobodu orijentacije nego kod ostalih uzoraka. Položaj proksimalnog histidina manje je nagnut kod monomernog hemoglobina. Slobodnijom orijentacijom monomernog hemoglobina dobivena je drugačija okolina oko sumporovodika vezanog na željezo te je veza između H<sub>2</sub>S i Fe<sup>2+</sup> puno jača. Stabiliziraju je bočni ogranci fenilalanina pa je disocijacija sporija. Slično ponašanje nađeno je i kod mutanta s istom konstrukcijom aktivnog mjesta. Mioglobin sperme kita slabije veže sumporovodik te lakše disocira. Dokazano je da su bitni: struktura aktivnog mjesta i okruženje, jer dodatne interakcije doprinose ukupnoj stabilnosti i čvrstoći vezanja.<sup>14</sup>



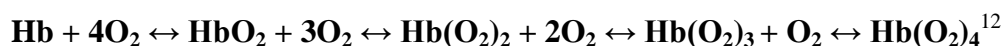
Slika 7. Vezanje H<sub>2</sub>S na željezo u hemoglobin. Preuzeto iz <sup>14</sup>

➤  $\text{Fe}^{3+}$ 

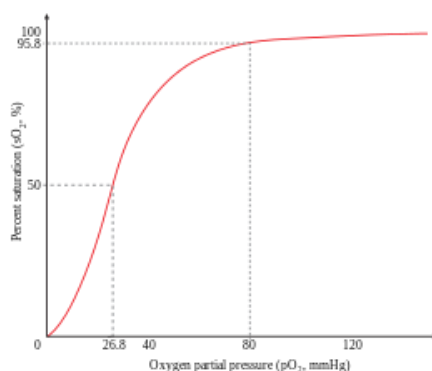
$\text{Fe}^{2+}$  može oksidirati do  $\text{Fe}^{3+}$ . Oksidirani oblik željeza ne veže kisik. Pozitivniji naboj željeza povećava njegov afinitet za negativne ione i neutralne molekule, poput vode. Što će vezati, ovisi o pH okoline. Anioni koji se vežu su cijanidi, cijanati, tiocijanati, azidi, fluoridi i hidroksilni anione. Vezivanjem vode potiče se ionizacija.

## 2.1.3. Kooperativno vezanje kisika na željezo i Bohrov efekt

Hemoglobinska struktura omogućuje kooperativno vezanje kisika zbog povezanosti podjedinica. Četiri hemska željeza ne vežu četiri molekule kisika istovremeno. Vezanje kisika za jedno željezo potiče lokalnu promjenu konformacije i mijenja afinitet vezanja ostalih molekula. One se lakše i brže. Oksigenacija je reverzibilan proces. Prikazaju se jednadžbom:



Kooperativnost se objašnjava promjenom dvaju konformacijskih stanja, T- i R-. Kada na željezo nije vezan kisik, struktura hemoglobina nalazi se u napetom, T- stanju. Konformacijske promjene uzrokovane vezanjem kisika pomiču ravnotežu prema relaksiranom, R- stanju. R- stanje je stanje velikog afiniteta prema kisku. Prikazuje se praktičnom sigmoidalnom krivuljom (slika 8.) koja pokazuje zasićenost kisikom pri određenom tlaku.<sup>3</sup>



Slika 8. Vezanje kisika na hemoglobin. Preuzeto iz <sup>15</sup>

Čovjekov sustav koristi kooperativnost za efikasni prijenos kisika iz pluća u tkiva koja oskudijevaju kisikom. U plućima je parcijalni tlak kisika oko 13332 Pa, a u tkivima oko 2666 Pa. Kad je parcijalni tlak visok hemoglobin se brzo zasiti kisikom i vezan na crvene krvne stanice krvotokom dolazi do tkiva u kojima je tlak niži te kisik otpušta. Kruženjem krvi tijelom dostavlja se tkivima potrebna količina kisika. Mehanizam prijenosa temelji se na promjeni ravnoteže između T- i R- stanja. U području visokog tlaka, ravnoteža je na strani R- stanja pa se kisik brzo veže. Dolaskom hemoglobina u područje sniženog tlaka, ravnoteža se



pomiče prema T- stanju, smanji se afinitet željeza za kisik i on se otpušta u tkiva kojima je potreban.<sup>3</sup>

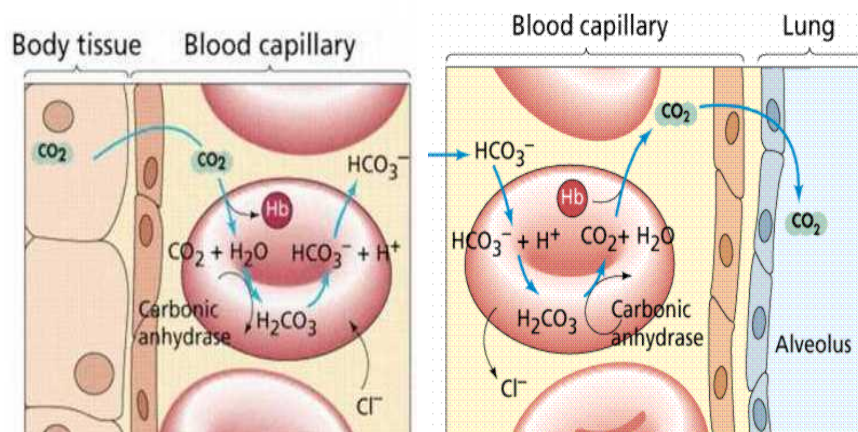
Otpuštanje kisika s hemske željeza odvija se i preko posrednika koji utječu na afinitet vezanja kisika. Oni se nazivaju alosteričkim efektorima. Neki od njih su: ugljični dioksid, protoni, kloridni ioni, organski fosfati i laktatni ioni.<sup>12</sup>

Bohrov efekt opisuje smanjenje afiniteta željeza za kisik u kiselim uvjetima. Javlja se kao posljedica vezivanja alosteričkih efektorina na bočne ogranke aminokiselina na polipeptidnom lancu. Alosterički efektori imaju tendenciju vezivanja na deoksihemoglobin, stabiliziraju T- stanje i sprečavaju maksimalno zasićenje hemoglobina kisikom. Pomicanje ravnoteže prema R- stanju, stoga, nije moguće. Bohr je 1904. godine uočio da vezivanje kisika reguliraju vodikovi protoni i ugljikov dioksid. Vodikovi protoni i ugljikov dioksid spuštaju pH vrijednosti tkiva ispod standardnih 7,4. Povećana kiselost u tkivima potiče otpuštanje kisika sa željeza. Smanjenje kiselosti uzrokuje stvaranje dodatnih interakcija u strukturi hemoglobina.<sup>12</sup>

U uvjetima niskog pH dolazi do protoniranja bočnih ogranaka aminokiselina. Preko njih se stvaraju ionski mostovi koji stabiliziraju T- stanje i potiču otpuštanje kisika. Histidin je jedina aminokiselina čiji bočni ogranak ima pH vrijednost približno jednaku fiziološkoj. Istraživanja su pokazala da su histidinski bočni ogranci zaslužni za 90% Bohrovog efekta.<sup>2,8</sup> Bočni ogranak histidina se u području sniženog pH protonira i poprima pozitivan naboj. U blizini bočnog ogranaka histidina, nalazi se bočni ogranak aspartata koji je nositelj negativnog naboja. Ionski most između histidina i aspartata stabilizira vodikova veza. Ionski mostovi stvaraju se i između bočnih ogranaka lizina i valina.<sup>3,12</sup>

Bohr je istražio utjecaj CO<sub>2</sub> na promjenu afiniteta željeza za kisikom. Detaljnije su to istražili znanstvenici Henriques, te Rossi – Bernardi. Utvrdili su da postoje dva načina vezanja CO<sub>2</sub>. CO<sub>2</sub> nastaje u tkivima koja rade proces staničnog disanja. Reakcijom s vodom nastaje ugljična kiselina. Ugljična kiselina disocira na HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> i H<sup>+</sup>. pH vrijednost pada. Niski pH stabilizira T – stanje. CO<sub>2</sub> se veže na terminalne N – krajeve aminokiselina polipeptidnih lanaca na sučelju αβ podjedinica i na deoksihemoglobin. Deoksihemoglobin ima puno veći afinitet prema ugljikovom dioksidu od oksihemoglobina što omogućuje otpuštanje kisika u uvjetima visoke koncentracije CO<sub>2</sub> (tkiva u kojima se odvija stanično disanje). Crvenim krvnim stanicama HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> se transportira do pluća, ponovno prevodi u CO<sub>2</sub> koji se procesom disanja izbacuje iz tijela. CO<sub>2</sub> vezanjem na N – krajeve daje negativno nabijene karbamatne

skupine. One stvaraju niz ionskih interakcija koje stabiliziraju T – stanje i potiču prelazak konformacije iz R- u T- stanje. Sa željeza se istovremeno otpušta kisik i na njega se veže CO<sub>2</sub>. Suština procesa je uklanjanje CO<sub>2</sub> i opskrba tkiva kisikom.<sup>3,12</sup>



Slika 9. Prijenos CO<sub>2</sub> iz tkiva u pluća. Preuzeto iz <sup>16</sup>

## 2.2. Željezo u proteinskim klasterima

### 2.2.1. Općenito o Fe- S klasterima

Klasteri su, općenito, nakupine atoma ili molekula međusobno povezane. Najstariji je živin klaster (Hg<sub>2</sub><sup>2+</sup>) poznat od 12. stoljeća. Dimerna struktura potvrđena mu je tek u 20. stoljeću. Najispitivaniji su dinuklearni klasteri renija [Re<sub>2</sub>X<sub>8</sub>]<sup>2-</sup>, X = Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, NCS<sup>-</sup>.

Za nastanak Fe-S klastera odgovoran je frataksin (mitohondrijski protein). Nalaze se u multienzimskim kompleksima, a sudjeluju u prijenosu elektrona. U oksidacijsko – redukcijским reakcijama klasteri ne otpuštaju i ne vežu protone. Bitni su kofaktori različitih proteina. Dugo su poznati. Često ih se naziva „antičkim“ prostetičkim skupinama. Ima više vrsta Fe–S klastera: 4Fe–4S, 3Fe–3S, 2Fe–2S, Fe. Okruženje oko željeza varira. Najčešće je Fe okruženo cisteinskim i histidinskim ograncima, a u najjednostavnijem atom željeza koordiniran je s četiri cisteinska bočna ogranka. Drugi su tipovi znatno složeniji.<sup>17</sup>



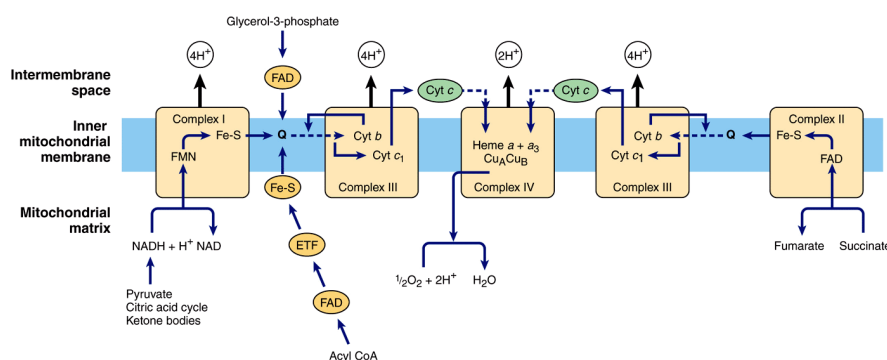
Slika 10. Prikaz struktura različitih Fe-S klastera. Preuzeto iz <sup>18</sup>

Klastere Fe – S kontroliraju mnogi proteini jer su ioni  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{S}^{2-}$  otrovni. Česta su oštećenja reaktivnim kisikovim česticama jer su osjetljivi na njihovu prisutnost u organizmu.

Imaju značajnu ulogu u respiratornom lancu. Ljudima je za život potrebna energija. Hranu koja je izvor energije razgrađuju enzimi, većinom ciljano do acetil koenzima A. Acetil koenzim A je prekursor u razgradnji molekula iz kojih dobivamo pogon i energiju– masne kiseline, ugljikohidrate i aminokiseline. Acetil koenzim A se uključuje u ciklus limunske kiseline iz kojeg se dobivaju visokoenergijski kofaktori bogati elektronima. Elektrone se predaje respiracijskom lancu te dalje putuju do krajnjeg akceptora, molekuskog kisika. Ovaj proces prijenosa naziva se oksidacijska fosforilacija, a čini je niz pretvorbi energije koji organizmu predstavlja stanično disanje. Krajnja faza oksidacijske fosforilacije je sinteza molekula adenozin trifosfata (ATP) izvora energije svim živim stanicama i organizmima.<sup>3,19,20</sup>

### 2.2.2. Uloga željeza u respiracijskom lancu

Respiracijski lanac sastoji se od četiri komponente: kompleksa I, II, III i IV koji preuzimaju elektrone od visokoenergijskih kofaktora dobivenih ciklusom limunske kiseline. Kompleksi su dijelovi mitohondijske membrane. Predaja elektrona odvija se preko niza kofaktora i klastera koji se nalaze unutar kompleksa. Kompleksi I, II, III i IV su u interakciji i elektroni se prenose do molekule kisika. Sadrže Fe–S klaster ili hem. Elektroni se prenose redoks reakcijom željeza ( $\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow \text{Fe}^{3+}$ ). Anorgansko je željezo koordinirano sa sumporom iz tiolnih (-SH) skupina cisteina. Elektroni se s klastera prenose na pokretne prenositelje elektrona. To su ubikvinon i citokrom c koji olakšavaju povezanost među kompleksima. Kompleks IV (citokrom c, Cyt c) predaje elektrone krajnjem akceptoru.<sup>19,20</sup>



Slika 11. Respiracijski lanac. Preuzeto iz<sup>20</sup>

Kompleks III sadrži modificirani klaster 2Fe–2S. U tom klasteru jedan je atom željeza koordiniran s dva histidinska bočna ogranka. Zamjena cisteina s histidinom stabilizira

reducirani oblik željeza, diže redukcijski potencijal pa željezo lakše prima dolazeće elektrone.<sup>3</sup> Kompleks III sadrži i dvije molekule citokroma. Citokrom je mali protein koji prenosi elektrone pomoću hema. Molekule hema identične su građe kao i kod hemoglobina. Dva su hemska željeza u drugačijem okruženju pa im je afinitet za elektrone drugačiji. Jedna molekula hema se nalazi s citoplazmatske strane, a druga s matriksne strane membrane.<sup>19,20</sup>

### 2.2.3. Željezo u kompleksu IV

Kompleks IV poznat je kao citokrom c – oksidaza. Nema klastere Fe–S. Sadrži dvije hemske skupine i tri iona bakra. Hemska skupina razlikuje se od hemoglobinske: prostetička skupina nije kovalentnom vezom vezana na protein, vinilna skupina zamijenjena je dugim ugljikovodičnim lancem i metilna skupina je zamijenjena formilnom.<sup>22</sup>

Željezo u hemu ima različite redukcijske potencijale zbog različitog okruženja. Jedno od njih je neposredni prenositelj elektrona, dok drugi atom željeza s atomom bakra čini redukcijski centar. Tamo se molekula kisika reducira u molekulu vode.

Redukcija kisika u vodu odvija se na osobit način. Elektroni prvo putuju do atoma bakra i željeza te ih reduciraju. Reducirani oblici bakra i željeza mogu vezati kisik. Molekula kisika veže se tako da između bakra i željeza nastane peroksidni most. Ovakva struktura potvrđena je spektroskopskim metodama. Dolaskom novih elektrona na aktivni centar povezan peroksidnim mostom potaknuto je vezanje protona  $H^+$  iz matriksa mitohondrija. Dolazi do pucanja mosta, a na reduciranom željezu i bakru ostanu vezane –OH skupine. Vezanjem dvaju protona iz matriksa oslobađaju se dvije molekule vode. Željezo i bakar se vraćaju u oksidirani oblik.<sup>3</sup>

Struktura citokrom c – oksidaze određena je kristalografski, X – ray zrakama iz govedeg srca. Analizom hemskih željeza, otkrivene su pojedinosti bitne za brzi prijenos elektrona. Spinska obilježja i koordinacija atoma željeza nije jednaka. Željezo koje ima ulogu prenositelja elektrona je nisko spinsko i koordinirano je s dva histidinska bočna ogranka, dok je željezo u aktivnom centru visoko spinsko i ima samo jedan histidinski bočni ogranak.<sup>22</sup>

Centralni atom željeza okružen različitim ligandima pod utjecajem je različitog električnog polja. Električno polje liganada uzrokuje cijepanje d– orbitala. Različiti ligandi različito cijepaju polje i to se odražava na opće karakteristike metalnog centra. Nisko spinsko željezo ima maksimalan broj sparenih, a visoko spinsko maksimalan broj nesparenih elektrona. Visoko spinski su najčešće paramagnetični, a nisko spinski dijamagnetični spojevi.

Takav je slučaj i sa željezom u citokrom c – oksidazi. Zbog različitih liganada koji ga okružuju, dolazi do različitog cijepanja kristalnog polja, a dva atoma željeza imaju različita svojstva.

Citokrom c – oksidaza je kompleks osjetljiv na cijanidne ione. Trovanje cijanidnim ionima je smrtonosno jer je onemogućuje stanično disanje. Cijanidni ioni vežu se umjesto kisika na hemsko željezo. Otrovnost je mala koncentracija pa je potreban oprez kod rada s cijanidima. U povijesti je trovanje cijanidima bilo popularan način oduzimanja ljudskog života.<sup>23</sup>

#### 2.2.4. *CyaY protein i pravilna homeostaza željeza u organizmu*

CyaY je bakterijski homolog čovjeku važnog proteina frataksina. Njegov nedostatak uzrokuje nakupljanje mitohondrijskog željeza koje se više ne ugrađuje u klaster Fe–S. Kako to predstavlja problem u homeostazi željeza, pokrenuta su istraživanja s ciljem da se napravi homolog koji bi omogućio normalni rad organizma u uvjetima smanjenog rada frataksina.

Istraživanja na kvascu, *Escherichia coli* (*E.coli*) i bakterijskoj *Salmonelli* pokazala su da CyaY može obnoviti frataksin u kvascu. Kod *E.coli* i *Salmonelle* nema nikakvog utjecaja na homeostazu željeza. Kod *E.coli* smanjena je biosinteza proteina koji izrađuju komplekse I i II respiracijskog lanca, a time i udio Fe – S klastera u njima.

Istraživanja in vitro pokazala su da CyaY može vezati željezo, ali je veza slabija od one u npr. feritinu. CyaY djeluje kao inhibitor Fe–S klastera, smanjuje mogućnost vezanja željeza i cisteina. Na frataksin djeluje pozitivno, aktivira ga i povećava nastanak Fe – S klastera.

Istraživanja nisu odgovorila na pitanje ima li CyaY inhibirajuće ili stimulirajuće djelovanje na mitohondrijski frataksin. Pokazala su da je frataksin važniji u proizvodnji sumpora nego klusterskih kompleksa željeza.<sup>21</sup>

### 2.3. Homeostaza željeza

Homeostazu željeza u čovjekovom organizmu čine apsorpcija, utrošak, skladištenje i recikliranje. Željezo je u većim količinama toksično. Netopljivo je kod fiziološkog pH pa je organizam stvorio vlastiti mehanizam kontrole količine željeza. Određeni proteini (poput feritina) održavaju željezo u bezopasnom stanju. Razvijeni su sustavi s povratnom – spregom za održavanje normalne razine željeza.

#### 2.3.1. Apsorpcija željeza

Svakodnevnom se prehranom željezo biljnog i životinjskog podrijetla unosi u organizam. Hranom životinjskog podrijetla unosi se željezo kao sastavni dio mioglobina ili hemoglobina. Apsorpcija se odvija u tankom crijevu. U normalnim uvjetima je transport željeza otežan. Razlog tome je što ne postoji mehanizam samostalnog transporta željeza preko membrane. Transmembranski prenositelji, poznati pod nazivom DMT1, prenose željezo s jedne strane membrane crijeva do krvotoka. Za njihov rad potreban je niski pH. Supstrati DMT1 su dvovalentni metali. To je razlog promjene oksidacijskog stanja željeza u  $Fe^{2+}$ . Ulaskom u krvotok, željezo se veže na transferin. Transferin je protein velikog afiniteta za željezo. Poznat je kao primarni prenositelj željeza u organizmu. Transferin prenosi većinu željeza iz krvnog seruma. Vezanjem dolazi do solubilizacije željeza i smanjenja reaktivnosti. Transferin se potom veže na transferinski receptor. Transferin otpušta vezano željezo i ono ulazi u stanice.<sup>24</sup>

#### 2.3.2. Potrošnja željeza

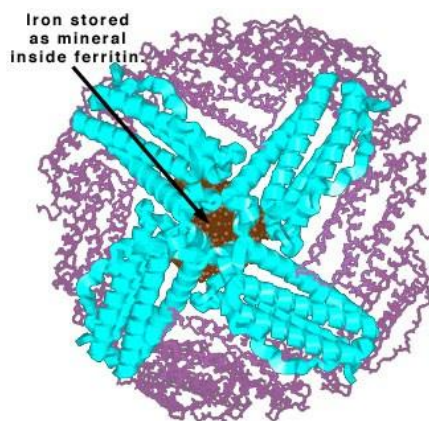
Najveći potrošač željeza je koštana srž. Poznata je kao krvotvorno tkivo. Većina željeza iz organizma dolazi do nje i usmjerava se u sintezu eritrodnih prekursora i zrelih eritrocita. Za pravilan rad eritrocita važni su hem i hemoglobin. Sinteza hema počinje i završava u mitohondriju, dok se intermedijeri sintetiziraju u citoplazmi. Većina hema u eritrodnim prekursorima koristi se za stvaranje hemoglobina. Mišići su, također, poznati potrošači željeza. Oni rabe željezo za proizvodnju mioglobina. Proces biosinteze nije sasvim razjašnjen. Za očekivati je da će biti predmet budućih istraživanja. Željezo je neophodno za pravilan rast bubrega u ranoj fazi razvoja.<sup>24</sup>

### 2.3.3. Pohrana i recikliranje željeza

Mehanizam izlučivanja željeza nije poznat. Zna se način zbrinjavanja viška. Željezo se skladišti ili reciklira. Velike se količine oslobode iz starih i oštećenih eritrocita. Eritrociti se razlažu na dijelove, iz hema se oslobodi željezo, dio se pohrani u makrofagima, a ostatak se veže na transferin i prenosi krvotokom. Makrofagi su leukocitne stanice koje organizam čiste od otpadnih tvari i štite od stranih tijela. Velik dio željeza se skladišti u hepatocitima, ćelijama jetrenih stanica. Feritin je najveći skladištar željeza u organizmu. Ima mogućnost reverzibilnog vezanja željeza pa je takovo željezo dostupno raznim metaboličkim procesima.<sup>24</sup>

### 2.3.4. Feritin i transferinski receptor

Feritin je protein strukture kaveza sa šupljinom u sredini, a sastoji se od 24 podjedinice. U šupljini se pohranjuju hidratizirani oksidi željeza. Tako pohranjeni nisu opasni za organizam. Prisutan je u svim stanicama. Onemogućuje željezu stvaranje reaktivnih kisikovih čestica. Razina feritina približno je jednaka razini željeza. Tu se činjenicu koristi u laboratorijskom testu za utvrđivanje anemije.<sup>24</sup>



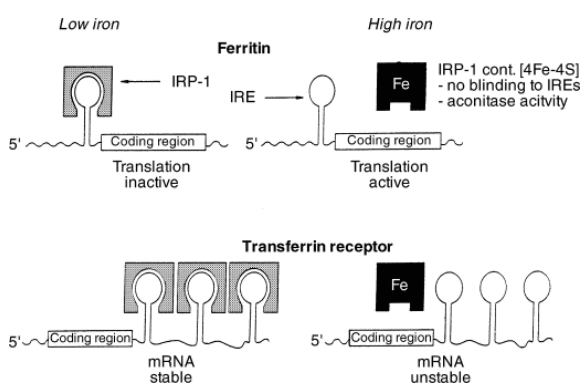
Slika 12. Građa feritina. Preuzeto iz<sup>25</sup>

Ekspresija gena recipročna je količini željeza i feritina te željeza i feritinskog receptora. Kad je razina željeza velika, poveća se sinteza feritina, a količina transferinskog receptora se smanji. Više željeza treba više feritina koji će ga skladištiti. Kad je većina željeza pohranjena nije potrebna velika količina transferinskog receptora koji unosi apsorbirano željezo u stanice. Prevelik unos željeza remeti ravnotežu u stanicama. Regulacija feritina i transferinskog receptora zbiva se na razini translacije ovih proteina.<sup>3</sup>

mRNA je nositeljica upute za sintezu proteina. Proteini su sastavljeni od polipeptida s točno određenim aminokiselinskim slijedom. Sinteza proteina translacija slijedi nukleotida u slijedu aminokiselina. Translacija se zbiva od 5' prema 3' kraju mRNA. Feritin i feritinski receptor imaju regije osjetljive na prisutnost željeza u organizmu. One se nazivaju IRE (eng. *iron-response-element*). IRE se kod feritina nalazi na 5'-kraju, a kod feritinskog receptora na 3'-kraju mRNA. IRE feritinskog receptora sadržava niz elemenata osjetljivih na prisutnost željeza. IRE veže IRP u uvjetima niske količine željeza.

Kod feritinske mRNA, vezanjem IRE i IRP dolazi do zaustavljanja sinteze feritina. Kontrolira se tako da mala količina željeza ostane dostupna za normalni metabolizam. Povećanjem količine željeza, IRP veže željezo u obliku 4Fe–4S klastera. Kako se mjesto vezanog željeza poklapa s mjestom gdje IRP veže feritinsku mRNA, IRP disocira IRE. Sinteza feritina koji skladišti višak željeza je moguća.<sup>3,26</sup>

Slično je regulirana i ekspresija gena kod transferinskog receptora. Kada je niska koncentracija željeza u organizmu, IRP se veže na IRE. Kod feritina se odmah zaustavlja translacija jer se IRP veže na mjesto za mRNA. Kako se ona odvija od 5' prema 3', daljnja sinteza proteina nije moguća. IRE feritinskog receptora je na 3' kraju i sinteza receptora se tim ne prekida. Vezanjem IRP stabilizira i pospješuje proces translacije. Posljedica toga je sinteza transferinskog receptora. Kod visoke koncentracije željeza, IRP disocira s IRE. mRNA transferinskog receptora se razgrađuje. Posljedica je smanjena sinteza transferinskog receptora. Detaljna analiza IRP potvrdila je da je po sastavu i ulozi akonitaza, enzim koji u strukturi sadrži 4Fe–4S klaster. Kod visoke razine željeza, u aktivnom mjestu enzima je smješten nestabilni Fe–S klaster. Klaster je senzor za željezo. Manjak željeza potiče konformacijsku promjenu receptora. IRP veže mRNA i potiče sintezu receptora, što omogućuje ulazak željeza u stanice. Tako je pravilna homeostaza moguća i uz manjak željeza.<sup>3,26</sup>



Slika 13. Regulacija feritina i feritinskog receptora pomoću IRE. Preuzeto iz <sup>27</sup>



mRNA svih proteina koji sudjeluju u metabolizmu željeza sadržavaju IRE. Analizom proteina i njihove ekspresije gena, otkriveno je imaju gene koji kodiraju jednake sekvencije koje prilikom transkripcije služe kao vezna mjesta za proteine osjetljive na željezo.<sup>3,26</sup>

## 2.4. Bolesti vezane uz željezo

Istraživanja su pokazala da su mnoge bolesti posljedica nepravilnosti u metabolizmu željeza. Željezo može povećati oksidativni stres. Oksidativni stres je stanje organizma koje nastupa kad slobodni radikali nadvladaju mehanizam obrane od njih. Bolesti vezane uz željezo su anemija, Friedreichova ataksija, Parkinsonova i Alzheimerova bolest, Hallervorden – Spatzova bolest, hepatotoksičnost, kardiomiopatija, endokrinopatija...

Nekima je primarni uzrok abnormalni metabolizam željeza, a neke su na neki način povezane s njim.

### ➤ ANEMIJA

Anemija je bolest s manjkom crvenih krvnih stanica. Uzroci anemije su različiti: učestala i obilna krvarenja česta kod žena za vrijeme menstruacije, nedostatak željeza, kronične upale i bolesti, oštećenja bubrega, trudnoća, alkoholizam... Anemija nastaje zbog nedostatka hemoglobina i rezultira manjim prijenosom kisika po tijelu.

Najčešći je uzrok nedostatak željeza zbog pojačanog krvarenja ili nedovoljne apsorpcija. Liječenje se sastoji u povećanom unosu hrane bogate željezom ili farmaceutskih preparata.<sup>30</sup>

### ➤ FRIEDREICHOVA ATAKSIJA

Nasljedna je bolest. Uzrok je mutacija gena za sintezu frataksina. Posljedica smanjene sinteze je nakupljanje željeza u mitohondriju, nastanak oksidativnog stresa i razvoj reaktivnih kisikovih čestica koje oštećuju tkiva. Preventiva bolesti su lijekovi bogati antioksidansima kojima je cilj sprječavanje oštećenja mitohondrijskog tkiva. Kako se radi o genetskoj mutaciji, česte su i genetske terapije koje su usmjerene povećanju ekspresija gena za frataksin. Time se omogući normalan rad organizma.<sup>31</sup>

### ➤ HALLERVORDEN – SPATZOVA BOLEST

Rijetka je neurodegenerativna bolest. Javlja se kao posljedica nakupljanja željeza u mozgu. Može prouzročiti naglu smrt, otkriva se pomoću magnetske rezonancije (MRI), a prepoznaje po stegnutim mišićima, tikovima, ataksiji, napadajima, dezorijentiranosti, demenciji...

Liječenje je simptomatsko. Problem nakupljanja željeza u mozgu predmet je budućih istraživanja.<sup>32</sup>

#### ➤ DRUGE BOLESTI

Postoje nagađanja da bi uzrok Parkinsonove i Alzheimerove bolesti mogao biti poremećaj metabolizma željeza, iako za iste nema egzaktnih dokaza. Jetra su kao filter ljudskog organizma na udaru nepravilne hemeostaze željeza. Hepatociti imaju veliki kapacitet za skladištenje željeza u jetri. Preopterećenje hepatocita rezultira hepatotoksičnošću i razvoja hepatitisa.<sup>24</sup> Srce i endokrini sustav su također osjetljivi na abnormalni metabolizam željeza. Nagomilavanje željeza u njima dovodi do komplikacija i bolesti poput kardiomiopatije i endokrinopatije.

## 2.5. Zaključak

Željezo je rasprostranjen element koji je čovjeku važan. Nalazi se kao bitan dio multienzimskih kompleksa, klastera Fe-S, hemoglobina, mioglobina... Sudjeluje u reakcijama prijenosa elektrona i prijenosa malih molekula, oksidacijsko – redukcijskim procesima te reakcijama poput oksigenacije. Najčešće ga nalazimo kao heksakoordiniranog. Proučavajući kemiju željeza, vidljivo je da je zadržano oktaedarsko okruženje. Ono je prisutno kod željeza u protoporfirinu i u mnogim klasterima. Željezo koje nalazimo u čovjekovom organizmu djeluje u vrlo blagim uvjetima i njegov je rad kontroliran enzimima. S druge strane, u laboratorijima izučavanje kemije željeza zahtjeva puno žestće uvijete. Željezo u čovjekovom organizmu je još neistražena tema i predmetom je budućih istraživanja.

## § 3. LITERATURNI IZVORI

1. I. Filipović, S. Lipanović, *Opća i anorganska kemija*, Školska knjiga, Zagreb, 1995, str. 1015-1036
2. [https://www.google.hr/search?q=%5BFe\(CN\)6%5D3-&rlz=1C1XBRQ\\_enHR779HR780&tbn=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=2ahUKEwihn6Wh27LdAhUF1SwKHQ81BNIQsAR6BAgGEAE&biw=1440&bih=714#imgrc=vURFcY8rfjAlM](https://www.google.hr/search?q=%5BFe(CN)6%5D3-&rlz=1C1XBRQ_enHR779HR780&tbn=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=2ahUKEwihn6Wh27LdAhUF1SwKHQ81BNIQsAR6BAgGEAE&biw=1440&bih=714#imgrc=vURFcY8rfjAlM): (datum pristupa 06. rujna 2018.)
3. J. M. Berg, J. L. Tymoczko, L. Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2013, str. 183-199 ; 913-917
4. [https://www.google.hr/search?q=myoglobin+hemoglobin+difference&rlz=1C1XBRQ\\_enHR779HR780&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjc\\_-GBmM7cAhWBYYIAKHT3vA4UQ\\_AUICigB&biw=1440&bih=767#imgrc=v6pQpNzbuTyL](https://www.google.hr/search?q=myoglobin+hemoglobin+difference&rlz=1C1XBRQ_enHR779HR780&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjc_-GBmM7cAhWBYYIAKHT3vA4UQ_AUICigB&biw=1440&bih=767#imgrc=v6pQpNzbuTyL) (datum pristupa 15. lipnja 2018.)
5. K. Nienhaus, G. Ulrich Nienhaus, *Methods mol.biol.* **305** (2005) 215-241
6. [https://www.google.hr/search?q=myoglobin+hemoglobin+difference&rlz=1C1XBRQ\\_enHR779HR780&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjc\\_-GBmM7cAhWBYYIAKHT3vA4UQ\\_AUICigB&biw=1440&bih=767#imgdii=ivZX6tt51T4MM:&imgrc=TbFKcnYH\\_DGM9M](https://www.google.hr/search?q=myoglobin+hemoglobin+difference&rlz=1C1XBRQ_enHR779HR780&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjc_-GBmM7cAhWBYYIAKHT3vA4UQ_AUICigB&biw=1440&bih=767#imgdii=ivZX6tt51T4MM:&imgrc=TbFKcnYH_DGM9M): (datum pristupa 15. lipnja 2018.)
7. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Osnove analitičke kemije*, Školska knjiga, Zagreb, 1999, str. 543-567
8. <https://europepmc.org/abstract/med/9460807> (datum pristupa 20. lipnja 2018.)
9. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C109977&Mask=400> (datum pristupa 20. lipnja 2018.)
10. [https://web.vscht.cz/~poustkaj/EN%20ASFA%20AU%20Kopl%C3%ADk%20UV\\_VIS\\_spectrometry.pdf](https://web.vscht.cz/~poustkaj/EN%20ASFA%20AU%20Kopl%C3%ADk%20UV_VIS_spectrometry.pdf) ( datum pristupa 20. lipnja 2018.)
11. [https://www.google.hr/search?rlz=1C1XBRQ\\_enHR779HR780&biw=1440&bih=718&tbn=isch&sa=1&ei=nQ5jW-vhEdKPMwW2hbj4BA&q=absorption+spectrum+of+hemoglobin&oq=spectrum+of+hemoglobin&gs\\_l=img.1.0.0i5i30k112.48751.65402.0.68766.24.20.3.1.1.0.299.3316.0j10j6.16.0....](https://www.google.hr/search?rlz=1C1XBRQ_enHR779HR780&biw=1440&bih=718&tbn=isch&sa=1&ei=nQ5jW-vhEdKPMwW2hbj4BA&q=absorption+spectrum+of+hemoglobin&oq=spectrum+of+hemoglobin&gs_l=img.1.0.0i5i30k112.48751.65402.0.68766.24.20.3.1.1.0.299.3316.0j10j6.16.0....)

- [0...1c.1.64.img..4.19.3183...0j0i67k1j0i30k1j0i19k1j0i8i30k1.0.XMagFy5te5I#imgrc=h4omDkVjQ--mCM](#): (datum pristupa 20. lipnja 2018.)
12. H. Mairbaurl, Roy E. Weber, *Comprehensive Physiology* **2** (2012) 1463-1489
  13. [: \(datum pristupa 01. kolovoza 2018.\)](https://www.google.hr/search?rlz=1C1XBRQ_enHR779HR780&biw=1440&bih=763&tbm=isch&sa=1&ei=LHSXW9LuNMugsAHAgKH4CA&q=vezanje+kisika+na+hemoglobin&oq=vezanje+kisika&gs_l=img.3.0.0i24k1.943261.948559.0.950227.17.9.1.7.8.0.114.714.3j4.7.0....0...1c.1.64.img..2.14.673.0..0.0.U9YjJxjcYfM#imgrc=2k1p5E-nRXO4fM</a>: (datum pristupa 07. rujna 2018.)</li><li>14. S. Fernandez-Alberti, D. E. Bacelo, R. C. Binning, J. Echave, M. Chergui, J. Lopez-Garriga, <i>Biophys. J</i> <b>91</b>(5) (2006) 1698-1709</li><li>15. <a href=)
  16. [: \(datum pristupa 01. kolovoza 2018.\)](https://www.google.hr/search?rlz=1C1XBRQ_enHR779HR780&biw=1440&bih=714&tbm=isch&sa=1&ei=SX6XW-L8E8OTsAHOI7-QDQ&q=co2+i+ph+vrijednost+u+hemoglobinu&oq=co2+i+ph+vrijednost+u+hemoglobinu&gs_l=img.3...48760.63275.0.63476.38.36.1.0.0.0.488.3731.1j18j3j0j1.23.0....0...1c.1.64.img..14.1.164.0...35i39k1j0i30k1j0i24k1.0.W5f1sI807oY#imgrc=iNPvq362Bh8e0M</a>: (datum pristupa 07. rujna 2018.)</li><li>17. J. Frazzon, D. R. Dean, <i>PNAS</i> <b>98</b> (2001), 14751-14753</li><li>18. <a href=)
  19. D. J. Westenberg, M. L. Guerinot, *Advances in Genetics* **36** (1997) 187-227
  20. <https://basicmedicalkey.com/the-respiratory-chain-oxidative-phosphorylation/> (datum pristupanja 01. kolovoza 2018.)
  21. B. Roche, L. Aussel, B. Ezraty, P. Mandin, B. Py, F. Barras, *Biochimica et Biophysica Acta* **1827** (2013) 455-469

22. C. Ostermeier, S. Iwata, H. Michel, *Current Opinion in Structural Biology* **6** (1996) 460-466
23. <https://www.thoughtco.com/overview-of-cyanide-poison-609287> (datum pristupa 05. kolovoza 2018.)
24. N. C. Andrews, P. J. Schmidt, *Annu. Rev. Physiol.* **69** (2007) 69–85
25. [https://www.google.hr/search?rlz=1C1XBRQ\\_enHR779HR780&biw=1440&bih=714&tbm=isch&sa=1&ei=YX-XW\\_KtJYXzsAHJlafgBA&q=feritin&oq=feritin&gs\\_l=img.3..0j0i30k117j0i5i30k1j0i24k1.1056166.1057784.0.1058020.8.8.0.0.0.173.916.0j6.6.0....0...1c.1.64.img..2.6.913.0..35i39k1j0i67k1.0.4JMwKBih3bo#imgcr=T34laIChh6NsFM](https://www.google.hr/search?rlz=1C1XBRQ_enHR779HR780&biw=1440&bih=714&tbm=isch&sa=1&ei=YX-XW_KtJYXzsAHJlafgBA&q=feritin&oq=feritin&gs_l=img.3..0j0i30k117j0i5i30k1j0i24k1.1056166.1057784.0.1058020.8.8.0.0.0.173.916.0j6.6.0....0...1c.1.64.img..2.6.913.0..35i39k1j0i67k1.0.4JMwKBih3bo#imgcr=T34laIChh6NsFM): (datum pristupa 07. rujna 2018.)
26. T. Rouault, R. Klausner, *Current Topics in Cellular Regulation* **35** (1997) 1-19
27. [https://www.google.hr/search?rlz=1C1XBRQ\\_enHR779HR780&biw=1440&bih=714&tbm=isch&sa=1&ei=LISXW56INcj0sAfiJLGwDA&q=irp+ire+in+feritin&oq=irp+ire+in+feritin&gs\\_l=img.3...53723.56442.0.56680.11.11.0.0.0.107.1067.8j3.11.0....0...1c.1.64.img..0.0.0....0.58SndkVD8Jk#imgcr=QAptVY67He6\\_CM](https://www.google.hr/search?rlz=1C1XBRQ_enHR779HR780&biw=1440&bih=714&tbm=isch&sa=1&ei=LISXW56INcj0sAfiJLGwDA&q=irp+ire+in+feritin&oq=irp+ire+in+feritin&gs_l=img.3...53723.56442.0.56680.11.11.0.0.0.107.1067.8j3.11.0....0...1c.1.64.img..0.0.0....0.58SndkVD8Jk#imgcr=QAptVY67He6_CM): (datum pristupa 08. rujna 2018.)
28. <https://bs.wikipedia.org/wiki/Hepatocit> (datum pristupa 05. kolovoza 2018.)
29. <https://hr.wikipedia.org/wiki/Makrofag> (datum pristupa 05. kolovoza 2018.)
30. [https://www.emedicinehealth.com/anemia/article\\_em.htm](https://www.emedicinehealth.com/anemia/article_em.htm) (datum pristupa 06. kolovoza 2018.)
31. M. Čačić Hribljan, M. Jurin, *Paediatrica Croatica* **55** (2011)
32. O. Č. Ibrahimagić, Dž. Smajlović, Z. Dostović, S. Mujagić, Z. Pašić, D. Salihović, *Psychiatria Danubina* **29** (2017) 507-509