

S-Retinol (NPU03357) och S- α -Tokoferol (NPU03589) på HPLC

Bakgrund, indikation och tolkning

Retinol

A-vitamin är nödvändigt för synfunktionen och för cellers tillväxt och differentiering. A-vitamin förekommer i kosten dels som provitamin A (caroten) dels som vitamin A alkohol och estrar därav. Absorptionen kräver en normal fettabsorption. De s.k. naturliga A-vitaminerna, retinol (vitamin A alkohol), retinal (vitamin A aldehyd), retinoic acid (vitamin A syra) och retinylestrar (vitamin A ester) finns alla normalt i kroppen. Retinal finns bara i retina, där det utgör det aktiva centret i synpigmentet rhodopsin. Retinol, retinoic acid och retinylestrar finns i både plasma och de flesta celler. Retinol cirkulerar i plasma bundet till ett specifikt transportprotein, retinolbindande protein (RBP). Retinoic acid är bundet till albumin. Retinylestrar förekommer i plasma associerat med chylomicronerna och endast efter en måltid. Intracellulärt föreligger retinol framför allt förestrad med palmitinsyra lagrad i fett droppar i cytoplasman.

Lägre värden förekommer före puberteten. Låg koncentration av retinol (dvs. < 1 $\mu\text{mol/L}$) i plasma kan förekomma vid vitamin A-brist, vid fasta/svält, vid levercirrhos, kraftiga inflammatoriska reaktioner m.fl. tillstånd. Höga koncentrationer av retinol förekommer vid njurinsufficiens och ibland vid alkoholmissbruk. Vid vitamin A-förgiftning förekommer höga koncentrationer av retinylestrar i plasma. Dessa kan inte påvisas med det HPLC-system som används för retinolbestämning.

α -Tokoferol

E-vitaminer är benämningen på en grupp substanser med antioxidativa egenskaper som är isomerer av tokoferol och tocotrienol. Den vanligast förekommande och mest potenta av dessa är α -tokoferol. E-vitaminer finns normalt i tillräckliga mängder i kosten. De är lipofila substanser som kräver en normal fettabsorption för att tas upp från tarmen. E-vitaminbrist finns beskriven hos djur. Hos människa har man associerat hemolytisk anemi hos prematura barn och ataxi hos patienter med α - β -lipoproteinemi och fettmalabsorption med E-vitaminbrist. Man har försöksvis använt E-vitamin vid behandling av en rad sjukdomstillstånd utan dokumenterad effekt.

Låg koncentration av tokoferol i plasma förekommer vid malabsorption och malnutrition och vid hypolipidemi. För att rätt kunna bedöma resultatet i tveksamma fall fordras tillgång till S-Kolesterol då α -tokoferol cirkulerar bundet till LDL.

Analysprincip

Retinol och α -tokoferol i serum extraheras över i en butanol-etylacetat-lösning som innehåller en internstandard (tokoferylacetat). Organfasen analyseras med högtrycksvätskekromatografi (HPLC) [1,2]. Absorbansen mäts med UV-detektor vid 292 nm.

Metodbeskrivning

S-Retinol och S-alfa-Tokoferol, LundGäller för
Klinisk kemi

LU

Referensintervall**S-Retinol**

Kvinnor	1,2 - 2,7 µmol/L
Män	1,6 - 3,0 µmol/L
Barn 0-15 år	0,7 - 1,9 µmol/L [3]

S-α-Tokoferol

Vuxna och barn	14-35 µmol/L [3]
----------------	------------------

I valideringsdokumentationen [3] finns resultat redovisade från undersökning vid Klinisk kemi, Lund.

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

Inga kända.

Mätområde

Retinol 0,1-10 µmol/L [4].

Tokoferol 1 – 140 µmol/L [4,5]

Mätosäkerhet

Mätosäkerheten är baserad på 2021 års precision för interna kontroller.

	Nivå µmol/L	Imprecision (CV%)
Retinol	1,1	3
Retinol	5,2	4
Tokoferol	23	4
Tokoferol	48	4

Spårbarhet

Kalibratorerna är förtillverkade av Chromsystems vilka också står för analyscertifikat. Nytt analyscertifikat beställs när ny batch beställs. Metodens riktighet har undersökts genom en jämförelse med historiska kalibratorer [6].

Ackreditering

Metoden är ackrediterad enligt SS-EN ISO 15189.

Referenser

1. Nierenberg D W & Lester D C. J Chromatogr 345 (1985) 275-284.
2. McLean S W et al. Clinical Chemistry 28 (1982) 693-696.
3. Valideringsprotokoll för S-Retinol och S-α-Tokoferol (Lund 2004-11-05).
4. Valideringsprotokoll för S-Retinol och S-α-Tokoferol (Lund 1998-08-31).
5. Valideringsprotokoll för S-α-Tokoferol (Lund 2001-09-01).

S-Retinol och S-alfa-Tokoferol, Lund

-
6. Verifiering av ny kalibratorleverantör för S-Retinol – 20160406, 16-403.
 7. Valideringsprotokoll för S-Retinol och S- α -Tokoferol (Lund 1999-04-20).
 8. [Validering av stabilitet/hållbarhet av retinol och tokoferol vid olika förvaringstemperaturer och ljusförhållande dok-id. 22-101.](#)
 9. Valideringsprotokoll för S-Retinol och S- α -Tokoferol (Lund 2000-08-17).