

Biochemické metody využívané v lékařství 1.

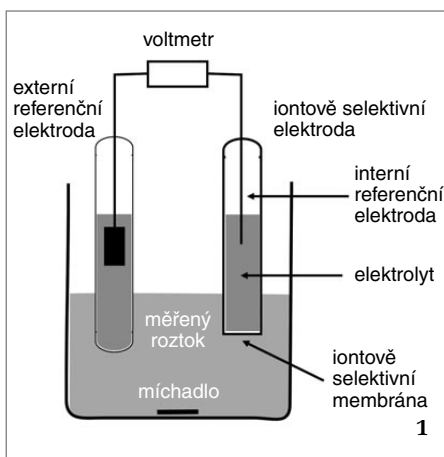
V tomto roce se v článku K výuce věnujeme různým metodám používaným v biologickém a medicínském výzkumu i rutinní praxi. Dnes se soustředíme na metody klinické biochemie. Až půjdete příště k lékaři na preventivní prohlídku nebo předoperační vyšetření, pravděpodobně vám zdravotní sestra odebere jednu či více zkumavek krve a převezme od vás vzorek ranní moči. Většinou již následující den obdrží lékař výsledkový list. Jaká je však cesta od zkumavky k číselnému výsledku? Jaké metody v biochemických a hematologických laboratořích používáme?

Prvním krokem je rychlý transport vzorku do laboratoře. Různé analyzované látky (analyty) jsou různě stabilní, ale obecně platí, že většina vzorků by měla dorazit do laboratoře do dvou hodin od odběru. Transport plné krve probíhá ve tmě a při pokojové teplotě, séra nebo plazmy v chladu, pokud následné metody nevyžadují jinak. Některé metody, především v hematologických laboratořích, pracují s plnou nesrážlivou krví. Nesrážlivosti dosahujeme použitím protisrážlivých činidel (např. citrátů, heparinu nebo kyseliny etylendiaminotetraoctové), přičemž výběr je dán navazující metodou, aby činidlo, pokud možno, neovlivnilo stanovení. V biochemických laboratořích používáme plnou krev mimo jiné pro stanovení glykovaného hemoglobinu.

Většina biochemických vyšetření probíhá ze séra nebo plazmy. Sérum neboli krevní sérum je tekutá část krve, která zůstane po dokončeném srážení krve. Na rozdíl od krevní plazmy neobsahuje fibrinogen a další faktory srážení, jinak je jeho složení totožné se složením krevní plazmy. Sérum i plazma se z krve získávají pomocí centrifugace a po ní se musejí neprodleně oddělit od vrstvy krvinek. Dnes se často používají odběrové zkumavky s gelem, který po centrifugaci oddělí vrstvu krvinek a sérum nebo plazmu. To umožňuje použití primární zkumavky přímo pro stanovení na analyzátořech, je omezeno riziko chyby v označení při pipetování vzorku a vzniká také méně odpadu.

● Analyzované ionty

Prvními analyty, jež vidíme na výsledkovém listu, jsou většinou ionty – sodík, draslík, chloridy, případně vápník, hořčík a fos-



1 a 2 Schéma iontové selektivní elektrody (obr. 1) – soustava elektrod je ponořena do měřeného vodného roztoku. V atomovém absorpčním spektrometru (2) je mezi zdroj paprsku a snímač prošlého záření umístěn atomizovaný vzorek, dochází k úbytku procházejícího světla.

forečnany. Až na poslední jmenované, které se stanovují absorpční fotometrií, u ostatních iontů využíváme nejčastěji iontově selektivní elektrody. Jejich stanovení dává lékaři základní informaci o stavu vnitřního prostředí a o hospodaření s vodou.

Názvem iontové selektivní elektrody (ISE) jsou obvykle označována elektrochemická čidla umožňující potenciometrická měření aktivity iontů ve vodných nebo smíšených prostředích, případně parciálních tlaků plynů rozpuštěných v kapalinách. Potenciometrie je metoda využívající

nepřímé měření elektrochemických potenciálů. Poločlánek, který představuje ISE ponořená do zkoumaného roztoku, sestává zpravidla z iontově selektivní membrány, vnitřního elektrolytu a vnitřní referenční elektrody (obr. 1). Druhým poločlánekem je vnější srovnávací elektroda. Hlavním požadavkem je, aby iontově selektivní membrána měrné elektrody dokonale oddělovala zkoumaný roztok od vnitřního elektrolytu čidla a aby byla co nejméně atakována rozpouštědly, s nimiž při měření přichází do styku. Materiálově je buď pevná, často skleněná, nebo plastická. Obdobná elektroda se používá i pro měření kyselosti roztoků (pH).

Ionty, které se v krvi vyskytují v nižších koncentracích, stanovujeme nejčastěji pomocí atomové absorpční spektrometrie (AAS) – spektrometrické analytické metody sloužící ke zjištění obsahu stopových prvků i významných koncentrací jednotlivých prvků v analyzovaném roztoku. Metodou lze analyzovat přes 60 různých periodické tabulky. V klinické praxi tak zjišťujeme např. přítomnost zinku, mědi nebo arzenu.

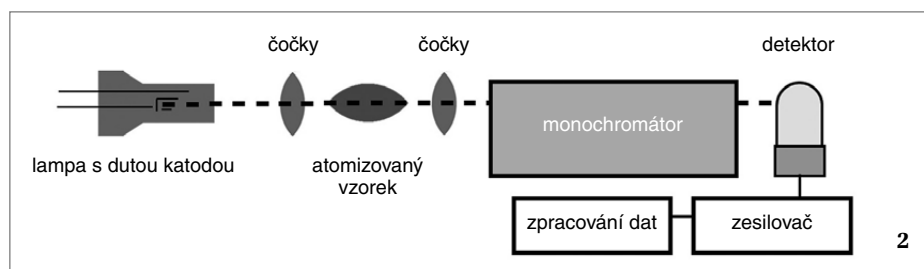
Roztok analyzovaného vzorku je „zmlžěn“ (ultrazvukem nebo průtokem spalovacího plynu a oxidačního činidla tryskou, někdy v kombinaci s tříštěním kapek na pevné překážce či pomocí malé vrtulky) a vzniklý aerosol zaveden do plamene nebo grafitového atomizátoru, kde se roztok okamžitě odpaří a rozruší se chemické vazby v molekulách přítomných sloučenin (obr. 2). Podmínky atomizace jsou přítom voleny tak, aby co největší populace měřených atomů zůstala v neutrálním stavu a nedocházelo k ionizaci za vzniku nabitých částic. Plamenem prochází paprsek světla ze speciální výbojky, jehož fotony jsou při setkání s atomy analyzovaného prvku absorbovány a atom prvku přechází do příslušného vzbuzeného stavu. Dochází tak k měřitelnému úbytku intenzity procházejícího světla.

V praxi se pak jako měřená veličina používá logaritmus úbytku světelné energie nazvaný absorbance A , pro niž platí vztah: $A = \log(I_0/I) = 2,303 \cdot k \cdot n \cdot l$, kde I_0 je intenzita budícího záření, I – intenzita záření po průchodu absorbujícím prostředím (plamenem), k – atomový absorpční koeficient pro danou absorpční čáru, n – počet atomů analyzovaného prvku v jednotce objemu a l – délka absorpční vrstvy (délka hořáku vytvářejícího plamen). Pro absorbanci platí velmi jednoduchá lineární závislost na koncentraci atomů měřeného prvku. Všechny AAS spektrometry proto udávají měřený signál v jednotkách absorbance po matematickém zpracování skutečně měřených intenzit procházejícího světla.

● Glukóza a močovina

K důležitým analytům patří i jednoduché organické látky, např. glukóza a močovina.

Glukóza je jednoduchý cukr, základní zdroj energie pro buňky, do nichž se dostává pomocí přenašečů závislých i nezávislých na přítomnosti hormonu inzulínu. Je přijímána potravou buď volná, nebo jako součást disacharidů a polysacharidů. V laboratoři měříme koncentrace glukózy v krvi. Po jídle a vstřebání živin z tenkého střeva dochází k vzestupu hladiny (glykemie), cukr se dostává do buněk, kde je spotřebováván. Tím je odčerpáván z krve, kde pak glykemie klesá. Živé organismy také umějí syntetizovat glukózu *de novo* ze zásobních



látek, jako je glykogen. Zvýšené koncentrace přirozeně nacházíme po jídle. Zvýšená koncentrace glukózy na lačno je základním laboratorním důkazem přítomnosti cukrovky. Snížené hladiny jsou typické pro hladovění. Glukózu nejčastěji měříme s využitím hexokinázové nebo glukózo-6-fosfátové reakce s následným fotometrickým hodnocením v ultrafialové oblasti vlnových délek kolem 340 nm. Na podobném principu fungují i starší typy přenosných glukometrů využívaných lidmi s cukrovkou pro měření hladiny cukru z kapky krve, ty novější pak využívají měření elektrochemické. Hexokinázová reakce: $\text{glukóza} + \text{ATP} \rightarrow \text{glukóza-6-fosfát} + \text{ADP}$; glukóza-6-fosfátdehydrogenázová reakce: $\text{glukóza-6-fosfát} + \text{NADP}^+ \rightarrow \text{glukonolakton-6-fosfát} + \text{NADPH} + \text{H}^+$.

Močovina (urea) je konečným produktem odbourávání bílkovin, přesněji dusíku aminokyselin. Jde o nízkomolekulární látku syntetizovanou v játrech a vylučovanou převážně ledvinami. Močovina volně přechází přes biologické membrány. Stanovuje se v séru a v moči. Zvýšené koncentrace v séru souvisejí se zvýšeným rozpadem bílkovin nebo s nedostatečným vylučováním při poškození ledvin či dehydrataci. Snížené koncentrace močoviny v séru nacházíme při hyperhydrataci nebo poruše její syntézy v rámci onemocnění jater.

Močovinu měříme v klinických laboratořích většinou enzymaticky. Stanovení je založeno, podobně jako u glukózy, na kombinaci dvou enzymatických reakcí. Nejprve je urea hydrolyzována ureázou na amoniak a oxid uhličitý. Amoniak pak reaguje s 2-oxoglutarátem a NADH za katalýzy glutamátdehydrogenázou. Vzniká glutamát, voda a NAD^+ . Pokles absorbance NADH se měří fotometricky při 340 nm, pracuje se v zásaditém prostředí ($\text{pH} = 8,0\text{--}8,5$).

Pokud známe základní iontogram, hladinu glukózy a močoviny, můžeme si orientačně spočítat osmolalitu séra. Ta dává ještě lepší informaci o stavu vnitřního prostředí než iontogram samotný. Osmolalita je množství osmoticky aktivních látek rozpuštěných v jednotce hmotnosti rozpouštědla. Obvykle se vyjadřuje v osm/kg nebo ve zlomcích této jednotky a vyjadřuje počet rozpuštěných částic v 1 kg čistého rozpouštědla.

Orientační výpočet je následovný: osmolalita séra = $2 \times \text{koncentrace iontů Na}^+ + \text{koncentrace glukózy} + \text{koncentrace močoviny}$. Osmolalitu můžeme také přímo změřit. V klinických laboratořích pracujeme s osmometry založenými na kryoskopickém principu, které využívají snížení teploty tuhnutí roztoku v závislosti na koncentraci částic v roztoku. Kryoskopický osmometr musí být vybaven velmi citlivým teploměrem, protože snížení teploty tuhnutí je velmi malé – 1 mmol látky rozpuštěný v 1 kg vody sníží bod tuhnutí o 0,001858 °C. Vzorek se nejprve velmi rychle termoelektricky ochladí několik stupňů pod očekávaný bod tuhnutí. Poté se mechanicky (např. poklepáním malým kladívkem na stěnu zkumavky) indukuje začátek krystalizace. V tomto bodě se při krystalizaci uvolňuje skupenské teplo tuhnutí – dojde ke zvýšení teploty přesně na teplotu tuhnutí. Ta je stejná po dobu, kdy se uvolňuje skupenské teplo tuhnutí rozpouštědla. Teprve pak pokračuje ochlazování mrznoucího roztoku. Pokles bodu tuhnutí roztoku proti bodu

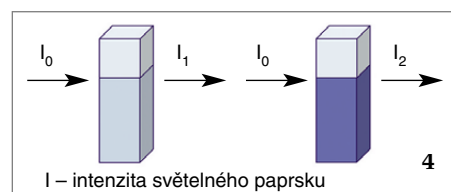


tuhnutí rozpouštědla (v případě séra vody) je přímo úměrný osmolalitě.

Pokud zjistíme rozdíl osmolality změřené a vypočtené, je v krvi zastoupen nějaký osmoticky aktivní běžně neměřený analyt. Např. 1 promile alkoholu v krvi zvýší naměřenou osmolalitu o přibližně 23 mmol/kg vody. Zvýšené hodnoty naměříme i při otravách metanolem nebo etylenglykolem.

● Triacylglyceroly a cholesterol
Důležitými látkami v krvi jsou rovněž tuky, z nichž stanovujeme triacylglyceroly a cholesterol. Názvem triacylglyceroly (triglyceridy) označujeme glyceridy, ve kterých je glycerol esterifikován volnými mastnými kyselinami. Triacylglyceroly sehrávají důležitou roli v metabolismu jako zdroj energie. Získávají se endogenní cestou – syntetizují se převážně v játrech, tukové tkáni a v tenkém střevě – a exogenní cestou, tedy z potravy, po vstřebání z tenkého střeva se štěpí na glycerol a mastné kyseliny. Glycerol a mastné kyseliny se dostávají do krevního oběhu, kde dochází k resyntéze triacylglycerolů. Triacylglyceroly jsou v krevní cirkulaci transportovány ve formě lipoproteinů. Nejvíce triacylglycerolů obsahují chylomikra (částice, přenášející vstřebané triacylglyceroly ze střeva do tkání) a částice VLDL (Very Low Density Lipoproteins). Zvýšené koncentrace triacylglycerolů v séru jsou jedním z rizikových faktorů aterosklerózy, jejich extrémně vysoké koncentrace mohou vést ke vzniku zánětu slinivky břišní. Nejčastěji je stanovujeme enzymaticko-kolorimetrickou metodou, založenou na uvolnění glycerolu z triacylglycerolu enzymem lipázou, glycerol je v několika krocích konvertován na dihydroxyacetonfosfát a peroxid vodíku, který se kvantifikuje fotometricky.

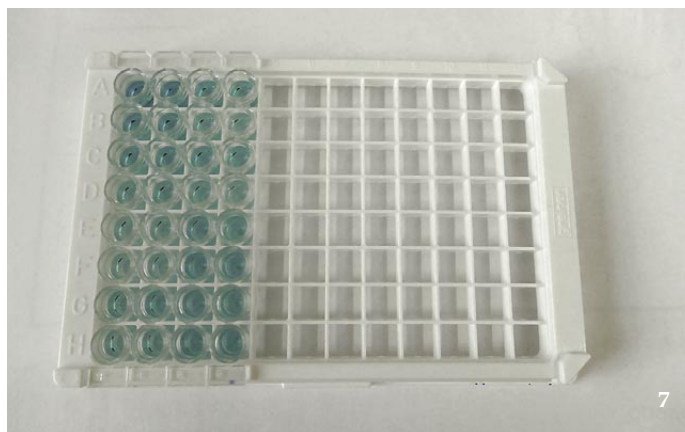
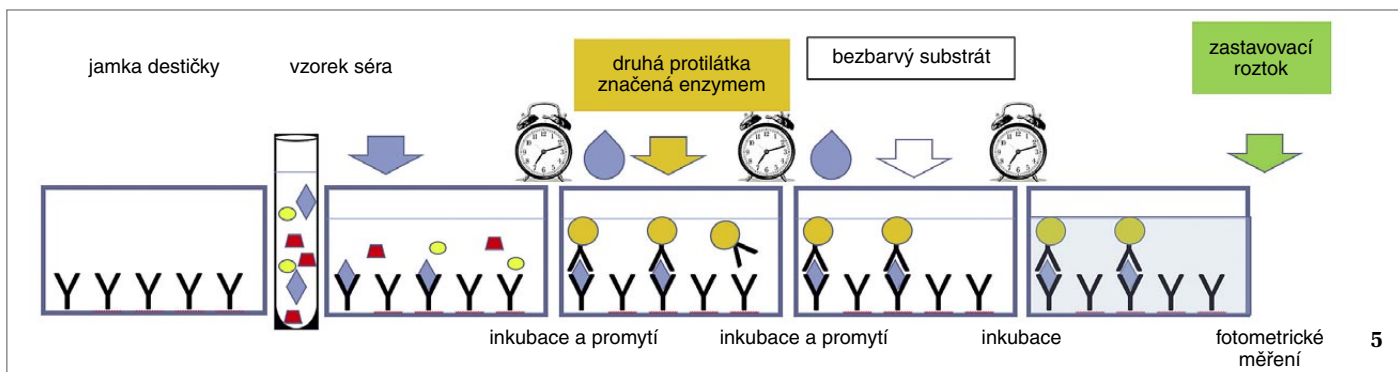
Cholesterol je stavební jednotkou buněčných membrán, součástí lipoproteinů krevní plazmy, prekurzorem steroidních hormonů a žlučových kyselin. Jeho syntéza probíhá v játrech a periferních tkáních. Z potravy je vstřebáván v tenkém střevě. Transport cholesterolu z mimojaterních zdrojů do jater spolu s triacylglyceroly a fosfolipidy je realizován ve formě lipoproteinů. V plazmě najdeme asi 25–40 % cholesterolu ve formě volné a asi 60–75 % vázaných jako estery cholesterolu. Zvýšené hladiny cholesterolu, především LDL



(Low Density Lipoproteins), vedou k jeho usazování v cévních stěnách, což snižuje jejich pružnost a zužuje průsvit. V běžné praxi se v séru stanovuje cholesterol celkový, volná a esterifikovaná forma současně. Většina cholesterolu v séru je transportována ve formě LDL, méně pak ve formě HDL (High Density Lipoproteins) a VLDL lipoproteinů, velmi malá část cholesterolu v chylomikrech. Hlavní indikací k vyšetření je stanovení kardiovaskulárního rizika a monitorování léčby zaměřené na snižování cholesterolu. Ke stanovení množství cholesterolu se používají v rutinní praxi enzymatické metody. Estery cholesterolu jsou cholesterolsterázou převedeny na volný cholesterol a mastné kyseliny. Volný cholesterol je oxidován cholesteroloxidázou na cholestenon a peroxid vodíku a vzniklý peroxid vodíku stanovujeme fotometricky.

● Celková bílkovina

V laboratorní terminologii se pojmem celková bílkovina rozumí velká skupina všech proteinů krevní plazmy a intersticiální tekutiny. Jde o více než 100 strukturálně známých proteinů lišících se molekulovou hmotností, vlastnostmi, distribucí i biologickou funkcí. K významným funkcím patří udržování onkotického tlaku krve (jde o koloidně-osmotický tlak, bílkoviny jsou příliš velké, aby volně procházely stěnou cévy, v tepnách je krevní tlak vyšší než tlak onkotický, malé molekuly a ionty tak mohou postupovat z cév ven, v žilách již převládá tlak onkotický, a proto se tekutina s odpadními látkami snáze vrací do krevního řečiště a nevznikají otoky), dále pak transport látek, obrana proti infekci, enzymová aktivita, hemokoagulace, pufrční a antioxidační působení. Největší podíl na syntéze těchto proteinů mají játra, výrazně se na ní podílejí také bílé krvinky. Denní obrát činí přibližně 25 g. Nezbytný je dostatečný přísun bílkovin v potravě jako zdroje aminokyselin. Syntéza je regulována hormonálně.



3 Biochemické analyzátoři spojené v linku – podavač vzorků, modul měření pomocí iontově selektivních elektrod, dva biochemické a jeden imunochemický analyzátor. Vzorky podle ordinovaných vyšetření postupně procházejí linkou bez nutnosti zásahu obsluhy přístroje.

4 Absorpce světla ve vzorku. Pro dva roztoky téže látky o různé koncentraci platí $I_0 > I_1 > I_2$. Absorpce světla roste s koncentrací roztoku.

5 Schéma ELISA stanovení (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay). Na dně každé jamky je navázána první protilátka proti stanovovanému analytu, po přidání vzorku séra se vyčtyá právě a jen ta látka, kterou stanovujeme, po promytí přidáme druhou protilátka značenou enzymem, která se naváže na komplex první protilátky a analytu, po opětovném promytí a přidání bezbarvého substrátu se tento enzymaticky štěpí za vzniku barevného produktu. Zastavovací roztok (většinou silná kyselina) tuto přeměnu ukončí a barevný produkt je stabilní jednotky až desítky minut do konečného fotometrického měření.

6 Reagencie nutné pro provedení ELISA stanovení. Souprava obsahuje 6 kalibrátorů, dva kontrolní vzorky o různých známých koncentracích, ředící roztoky, metylační činidlo, roztok druhé protilátky značené enzymem, substrát, zastavovací roztok a koncentrát promývacího pufu.

7 ELISA destička pro stanovení kyseliny 5-hydroxyindolactové v moči před přidáním zastavovacího roztoku – intenzita zbarvení roztoku v jamce odpovídá koncentraci, v prvních dvou sloupcích jsou kalibrátory a kontrolní vzorky, ve druhých dvou stanovované vzorky. Blíže v textu. Všechny orig. a snímky: Z. Vaníčková

Tab. 1 Normální sérové hodnoty analytů zmíněných v článku u dospělého člověka. Jednotky: mol – jeden mol je látkové množství, které obsahuje stejný počet částic, jako je počet atomů uhlíku v 12 g nuklidu ^{12}C , částice může být molekula, atom, ion, elektron; mol/l – jednotka molární (neboli látkové) koncentrace, vyjadřuje množství molů dané látky v jednom litru objemu směsi; g/l – jednotka hmotnostní koncentrace, vyjadřuje počet gramů dané látky v jednom litru objemu směsi; bezrozměrné číslo, index – většinou poměr dvou jiných hodnot, které mají stejné jednotky.

sodné ionty	137–146 mmol/l
draselné ionty	3,8–5,0 mmol/l
chloridové ionty	97–108 mmol/l
vápenaté ionty	2,2–2,6 mmol/l
hořečnaté ionty	0,7–1,1 mmol/l
fosforečnanové ionty	0,65–1,61 mmol/l
pH (plná krev)	7,36–7,44
glukóza	3,9–5,6 mmol/l
močovina	2,8–8,0 mmol/l
osmolalita	275–295 mmol/kg
triacylglyceroly	0,45–1,7 mmol/l
cholesterol	2,9–5,2 mmol/l
celková bílkovina	65–85 g/l

Produkt odbourávání představují aminokyseliny, které se opětovně využívají pro syntetické reakce (tvorba nových proteinů, syntéza různých nízkomolekulárních dusíkatých látek) nebo jsou dále odbourávány. Konečným produktem degradace proteinů je močovina. Stanovení koncentrace celkových proteinů se zakládá na předpokladu, že všechny proteiny přítomné v plazmě reagují stejným způsobem s reakčním činidlem. Rutinní metodou stanovení je reakce s biuretovým činidlem. Princip spočívá v reakci funkčních skupin, podílejících se na peptidové vazbě, s alkalickým roztokem

mědnatých iontů. Absorbance vzniklého červenofialového komplexu se měří při vlnové délce okolo 550 nm.

Spektrofotometrie

Uvedené složky séra se stanovují fotometricky. Spektrofotometrie je v současnosti nejvyžívanějším metodickým přístupem v klinické biochemii. Hodí se pro stanovení látek, které jsou samy barevné nebo mohou reagovat za tvorby barevného produktu. Když vidíme dva roztoky stejné látky o různé intenzitě zbarvení, předpokládáme, že sytější zbarvený roztok bude koncentrovanější, což je vlastně podstatou spektrofotometrie. Pokud dokážeme změřit množství světla, které roztokem projde, můžeme změřit i koncentraci těchto roztoků. Obecně platí, že intenzita světelného paprsku vstupujícího (I_0) je vyšší než paprsku prošlého (I_1). Část světla se v barevném roztoku absorbuje. Poměr vstupní intenzity ku intenzitě výstupní se nazývá transmittance (propustnost) a značí se T , tedy $T = I_1/I_0$. Máme-li dva roztoky o různé koncentraci, potom platí: $I_0 > I_1 > I_2$. Absorpce světla ve vzorku roste s jeho koncentrací (obr. 4).

Pokud vezmeme dva roztoky téže látky a stejné intenzity zbarvení a jeden umístíme do delší kyvety než druhý, budou se lišit jen v dráze, kterou musí světlo roztokem urazit. Pravděpodobnost absorpce roste i s délkou optické dráhy.

Tyto vztahy popisuje Lambertův–Beerův zákon: $A = \epsilon \cdot c \cdot l$, kde A je absorbance, ϵ – molární absorpční koeficient, c – molární koncentrace roztoku a l – délka vrstvy roztoku v kyvetě. Tento modelový zákon platí pro zředěné roztoky jedné látky. Prakticky porovnáváme naměřenou absorbanci vzorku s kalibrační křivkou sestavenou z hodnot absorbancí změřených u roztoků o známé koncentraci látky.

Spektrofotometrická stanovení mohou být přímá a nepřímá. U přímých využíváme

schopnosti absorbovat při určitých vlnových délkách – např. analýza absorpčních maxim bilirubinu vznikajícího při odbourávání červených krvinek a červeného krevního barviva hemoglobinu pro určení přítomnosti a stáří krvácení do mozku. Nepřímá stanovení se používají pro látky, které nejsou samy barevné, mohou však reagovat za tvorby barevného produktu. Při kvantitativních fotometrických stanoveních můžeme měřit buď metodou end-point, tedy zjistit absorbanci na konci reakce, nebo kinetickou metodou, kdy vyhodnotíme postupný nárůst množství produktu v čase. Druhá možnost se využívá zejména při stanovení enzymů.

Co nám může zabránit dobrat se fotometrickými metodami správného výsledku při vyšetření séra? Především hemolýza (rozpad červených krvinek), která vede k červenému zbarvení, vyšší koncentrace bilirubinu, zbarvujícího vzorek žlutě, nebo zákal vzorku, způsobený vyšší koncentrací tuků. Všechny uvedené vlastnosti vzorku mohou vést ke zkreslení výsledků, analyzátoři tedy jejich přítomnost vyhodnocují a v případě očekávané interference výsledek nevydají.

Imunochemické metody

U látek, kde není fotometrické stanovení možné, používáme většinou imunochemické metody. Specifická protilátka je navázána na pevný nosič (povrch plastové jamky či zkumavky, latexové nebo jiné kuličky). Hledaný analyt se naváže a stanoví se buď přímým měřením vzniklého zákalu (např. u kvantitativního stanovení hemoglobinu ve stolici při screeningu karcinomu tlustého střeva), nebo dalšími navazujícími kroky, které umožní vizualizovat tuto vazbu.

Jako příklad uveďme reakci ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay, viz obr. 5–7). Jde o analytickou metodu využívanou ke kvantitativnímu stanovení různých antigenů, která má řadu variant (blíže také Živa 2017, 4: CV–CVIII). Všechny jsou založeny na vysoce specifické interakci antigenu a protilátky, přičemž na jednoho z těchto partnerů je kovalentně navázán enzym (nejčastěji peroxidáza nebo alkalická fosfatáza). Enzym katalyzuje chemickou přeměnu substrátu, přidaného do reakční směsi, na produkt, který je barevný.

Stanovuje se pak spektrofotometricky (chromogenní substráty), nebo na základě

fluorescence (fluorimetrické stanovení). Koncentrace produktu je úměrná koncentraci antigenu nebo protilátky ve vzorku.

Za čísly na laboratorním nálezu stojí celá řada jednotlivých nebo navzájem navazujících chemických reakcí, měření vzniklého produktu, porovnání s kalibrační křivkou, kontrola kvality měření a interpretace výsledku odborným personálem. Navazující příspěvek na str. LV–LVII kuléru této Živy přináší popis, jaké reakce probíhají při močové analýze a jak výsledku porozumět, jaké vyšetření provádí praktický lékař, když se rozhoduje, jestli je onemocnění spíše virové, nebo bakteriální, a popisuje i možnosti vyšetření méně obvyklých biologických vzorků.

Pokud přijdete na odběr krve nalačno a po celonočním odpočinku, budou naměřené hodnoty dobře porovnatelné s normou. Výsledky tak budou svědčit o vašem plném zdraví, nebo při patologických hodnotách navedou lékaře ke správné diagnóze a léčbě.

Použitou literaturu uvádíme na webové stránce Živy.

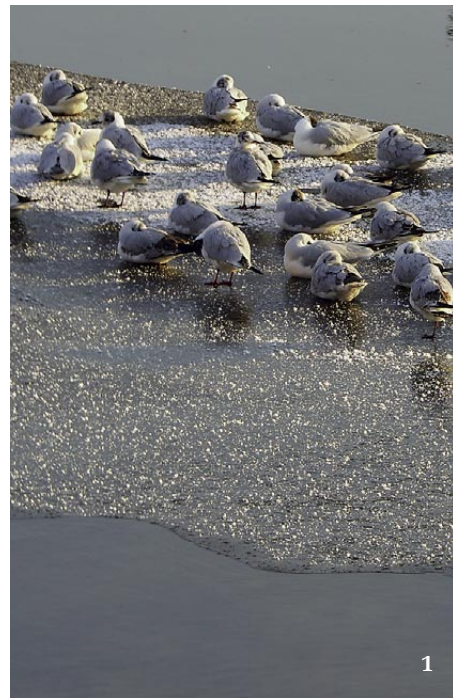
Josef K. Fuksa

Ke 150. výročí uvedení symfonické básně Bedřicha Smetany Vltava II. Historie řeky a jakosti vody

Starý dobrý Kosmas praví ve své kronice (1125, resp. 1974) o Čechách už ve druhé kapitole: „Vody tam byly čistounké a k lidskému užívání zdravé, rovněž i ryby chutné a výživné. Je to divná věc a lze z ní uvážit, jak vysoko se vypíná tato země: nevtéká do ní žádná cizí řeka, nýbrž všechny toky malé i velké, pojaty arci do větší řeky, jež se nazývá Labe, plynou až do Severního moře.“ Labe bylo zaneseno již na římských mapách, a tak Vltavu Kosmas zmiňuje až o několik řádků dále, když píše, jak do této (pusté) krajiny přišli lidé a usadili se kolem Řípu, mezi Vltavou a Ohří, a zem pojmenovali po svém náčelníkovi. Ale povodí Vltavy má na soutoku s Labem dvojnásobnou plochu a počítáno až po Hřensko představuje 54,6 % rozlohy Čech. Vltava je atypická řeka tím, že horní tok pramení v mírné pahorkatině a od míst dnešní hráze Lipna teče sevřeným korytem, místy téměř soutěskou, až do Kralup. Soutěska se otevře jen Budějovickou pánví a pak až trochu v Praze na pravém břehu pod Zderazí (dnes už srovnanou) po Troju. U vody je prostor jen na několik málo vsí a městeček a dále už pouze pro mlýny apod. Taková bývala stříbropěnná Vltava, která inspirovala umělce, živila voraře a lákala dobrodružné vodáky a která během posledních zhruba 90 let z větší části postupně zmizela pod hladinou přehradních nádrží.

Od 16. století fungovala řeka jako dopravní cesta, postupně upravovaná bočními hrázemi, odstřelováním velkých skalisek v toku apod. Jan Čáka (2024) píše, že plavba vorů (pramenů) z Týna do Prahy trvala za běžné vody tři až čtyři dny, s nočními zastávkami, a v dobrém roce dokázala

vorařská parta splout trať až padesátkrát. Klasické vltavské šify (hlavně pro dopravu rakouské soli) měly délku kolem 30 metrů a uvezly po proudu asi 20 tun nákladu. Zpět proti proudu je táhli koně, nebo byly dole rozebrány na dříví. Voroplavba skončila stavbou přehrad (jejich přehled a základní



1 Od r. 1954 přestala Vltava v Praze zamrzat a stala se zimovištěm vodního ptactva. Rackové odpočívají na tenkém ledě v neproudícím plavebním kanálu. I u Karlova mostu dnes můžeme kromě kormoranů velkých (*Phalacrocorax carbo*) běžně vidět velké racky bělohavé (*Larus cachinnans*) a řadu dalších vodních ptáků.

charakteristiky uvádí tab. 1) a dopravu dřeva převzala železnice. Roku 1928 dokázali sportovní vodáci na kánoji urazit ještě nezmanipulovanou říční trať 189 km z Budějovic do Prahy za 12 a čtvrt hodiny čistého času, v r. 1959 ji výkonní sportovci Brzák (Felix) a Karlík ujeli nonstop za 20 hodin a 10 minut, ovšem 63 km už pádlovali po stojaté hladině rozestavěného Orlíka. Řeka je sice svázána, ale občasné velké povodně nám připomínají, že neztratila svou sílu.