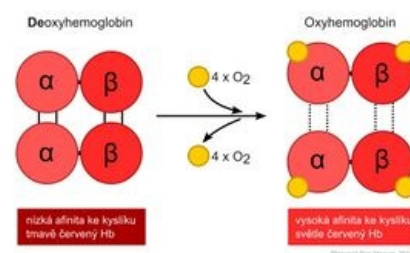


Deriváty hemoglobinu

K derivátům hemoglobinu se řadí následující typy:

Oxyhemoglobin a deoxyhemoglobin

Hemoglobin nesoucí kyslík se označuje jako **oxyhemoglobin (oxyHb)**. Každá molekula Hb může vázat 4 molekuly kyslíku. Po uvolnění kyslíku hovoříme o **deoxyhemoglobinu (deoxyHb)**. V obou formách je železo dvojmocné, neboť pouze hemoglobin obsahující Fe^{II+} může reverzibilně vázat a přenášet molekulu kyslíku. Oxygenace molekuly hemoglobinu mění elektronový stav komplexu Fe^{II+} -hem, což se projeví změnou barvy tmavě červeného odstínu typického pro žilní krev na jasně červenou barvu tepenné krve. V lidském organismu je asi 98,5 %^[1] kyslíku vázáno právě na hemoglobin.



Oxyhemoglobin a deoxyhemoglobin

Karbaminohemoglobin

Karbaminohemoglobin je hemoglobin, na kterém je navázaný CO_2 . Oxid uhličitý se váže na globinový řetězec hemoglobinu. Vazba CO_2 na hemoglobin snižuje afinitu hemoglobinu ke kyslíku.

Methemoglobin

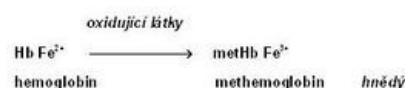
Methemoglobin (metHb; též *hemiglobin* nebo *ferihemoglobin*^[2]) je charakterizován přítomností **trojmocného železa**, které vzniká oxidací dvojmocného železa v hemoglobinu^[3]. Methemoglobin ztrácí schopnost reverzibilně vázat kyslík. Na jeho místě váže Fe^{III+} šestou koordinační vazbou molekulu vody. Barva methemoglobinu je čokoládově hnědá.

Methemoglobin je v erytrocytech v malém množství přítomen i fyziologicky (asi 1–3 % celkové koncentrace hemoglobinu^[4]). Děje se tak především účinkem dusitanů, které vznikají z dusičnanů obsažených v potravě. Zpětnou redukci methemoglobinu na hemoglobin zajišťuje především NADH-dependentní cytochrom- b_5 reduktáza (též methemoglobinreduktáza). Menší roli hraje NADPH-dependentní methemoglobinreduktáza, která je závislá na dodávce NADPH z pentózového cyklu a na přítomnosti dalšího elektronového přenašeče (např. flavinu).^[5] Neenzymové mechanismy zahrnují působení glutathionu a kyseliny askorbové.

Zvýšená koncentrace methemoglobinu v krvi se označuje jako **methemoglobinemie**. Příčiny vzniku jsou různé:

- **Dědičná methemoglobinemie** je obvykle způsobena vrozeným defektem NADH-dependentní methemoglobinreduktázy nebo přítomností abnormálního hemoglobinu M.
- **Získaná methemoglobinemie** je nejčastější formou methemoglobinemie. Může být vyvolána působením oxidujících látek^[6]:
 - otravou některými látkami (nitrobenzen, anilin a jeho deriváty – např. některá barviva),
 - působením některých léků (lokální anestetika – benzokain, dále fenacetin, sulfonamidy),
 - zvýšeným obsahem dusičnanů a dusitanů ve vodě a v potravinách.

1. vznik methemoglobinu



2. redukce methemoglobinu na hemoglobin



Methemoglobinemie - vznik a terapie

Na zvýšený obsah těchto látek jsou zvláště citliví novorozenci v důsledku nezralosti redukčních systémů a zvýšeného podílu fetálního hemoglobinu, který se snáze oxiduje. Methemoglobinemie se projevuje cyanózou s charakteristickým šedohnědým odstínem a hypoxií.

Příznaky methemoglobinemie

Hodnoty methemoglobinu	Příznaky
0–2 %	normální hodnota
< 10 %	cyanóza
< 35 %	cyanóza a další příznaky (bolest hlavy, dušnost)
70 %	smrtelná koncentrace

Součástí terapie získané methemoglobinemie je podávání některých redukčních činidel – methylenové modři nebo kyseliny askorbové.

Karbonylhemoglobin

Karbonylhemoglobin (COHb, *karboxyhemoglobin*) vzniká **vazbou oxidu uhelnatého** na hemoglobin. Vytvořená vazba je 250–300krát silnější než vazba kyslíku. Karbonylhemoglobin nemůže transportovat kyslík a v důsledku snížené schopnosti krve přenášet kyslík se vyvíjí buněčná hypoxie. V nadbytku kyslíku je vazba oxidu uhelnatého na hemoglobin reverzibilní. Proto je při otravě oxidem uhelnatým nejdůležitější inhalace O₂.

V malém množství se **COHb** může vyskytnout i u zdravých osob. U obyvatel měst se prokazují hodnoty kolem 2 %, u silných kuřáků může COHb stoupnout až na 10 % z celkového hemoglobinu. Několikaminutový pobyt v prostředí obsahující 0,1 % CO může zvýšit koncentraci karbonylhemoglobinu na 50 %.

Oxid uhelnatý vzniká při nedokonalém spalování paliv, dále je obsažen ve výfukových plynech a v kouři při požárech v uzavřených místnostech.

Příznaky otravy oxidem uhelnatým

Hodnoty COHb v %	Příznaky
10	při větší námaze dušnost
20–40	bolesti hlavy, dušnost, únava, zvracení
40–60	hyperventilace, tachykardie, synkopa, křeče
60–80	kóma, smrt

Karbonylhemoglobin se vyznačuje karmínově červeným zbarvením; také osoby s těžkou otravou oxidem uhelnatým mívají „zdravě“ růžovou barvu pleti. Ve srovnání s hemoglobinem je karbonylhemoglobin odolnější vůči chemickým vlivům, působením různých činidel se mění pomaleji.

Spektrofotometrie derivátů hemoglobinu

Hemoglobin a jeho deriváty mají ve viditelné oblasti světla charakteristická absorpční spektra, kterých se využívá k jejich analýze a rychlé identifikaci. Pro všechny hemoproteiny jsou typická výrazná absorpční maxima v oblasti 400–430 nm, tzv. Soretův pás. Další absorpční vrcholy jsou podstatně nižší. **Oxyhemoglobin** je charakterizován dvěma neúplně oddělenými maximy v oblasti 540 a 578 nm. **Deoxyhemoglobin** má jedno absorpční maximum při 555 nm. Hlavní absorpční maximum **methemoglobinu** je při 630 nm a druhý nevýrazný vrchol při 500 nm je závislý na pH. Reakcí methemoglobinu s kyanidem draselným mizí maximum při 630 nm, neboť vzniká kyanmethemoglobin. Pokles absorbance při 630 nm je úměrný koncentraci methemoglobinu. **Kyanmethemoglobin** vykazuje široké absorpční maximum při 540 nm, kterého se využívá při stanovení koncentrace hemoglobinu v krvi. Spektrum **karbonylhemoglobinu** se podobá spektru oxyhemoglobinu, ale poloha vrcholů je posunuta směrem k nižším vlnovým délkám.

Absorpční maxima hemoglobinu a jeho derivátů

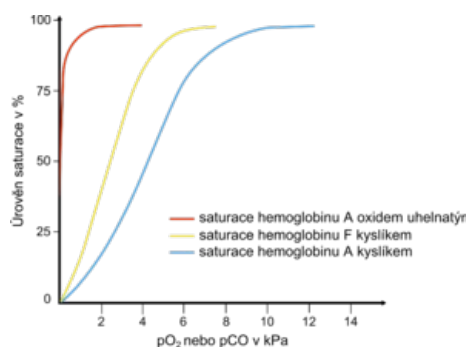
Derivát hemoglobinu	Absorpční maxima [nm]
Hemoglobin redukovaný	431, 555
Oxyhemoglobin	414, 540, 578
Methemoglobin	404, 500, 630
Karbonylhemoglobin	420, 538–540, 568–569
Kyanmethemoglobin	421, 540

Stanovení karbonylhemoglobinu:

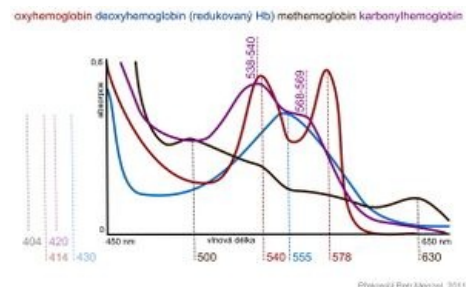
Stanovení karbonylhemoglobinu v krvi patří mezi základní toxikologická vyšetření. Je objektivním kritériem při hodnocení akutních i chronických otrav oxidem uhelnatým.

- Spektrofotometrické hodnocení.* Karbonylhemoglobin lze stanovit rychle spektrofotometricky na základě odečtení posunu absorpčního maxima ředěné krve od 586 nm^[7]. Posun maxima ve spektru je závislý na poměru COHb a O₂Hb ve vzorku.
- Reakce s taninem.* Orientačně lze karbonylhemoglobin stanovit reakcí s taninem nebo Ajatinem (asi od 10 % COHb). Tanin vytváří v přítomnosti karbonylhemoglobinu jahodově červenou sraženinu. V nepřítomnosti karbonylhemoglobinu je zbarvení sraženiny hnědošedé.
- Analýzátory acidobazické rovnováhy.* Analýzu toxikologicky nejdůležitějších derivátů hemoglobinu COHb a metHb umožňují rovněž moderní analyzátory acidobazické rovnováhy, které mají zabudovaný fotometrický systém pro jejich měření.

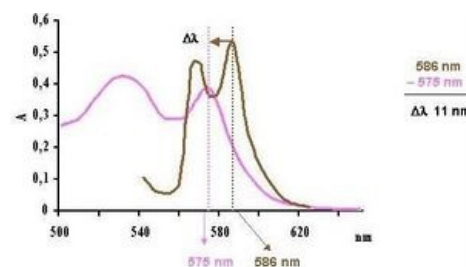
Odkazy



Saturační křivka hemoglobinu



Absorpční spektra hemoglobinu a jeho derivátů



Stanovení karbonylhemoglobinu-spektrofotometrie

Reference

1. KITTNAR, Otomar a ET AL.. *Lékařská fyziologie*. 1. vydání. Praha : Grada, 2011. 790 s. s. 131. ISBN 978-80-247-3068-4.
2. ŠVÍGLEROVÁ, Jitka. *Hemoglobin* [online]. Poslední revize 2009-02-18, [cit. 2010-11-11]. <<https://web.archive.org/web/20160416205421/http://wiki.lfp-studium.cz/index.php/Hemoglobin>>.
3. ŠVECOVÁ, D a D BÖHMER. Vrozená a získaná methemoglobinémie a ich léčba. *Časopis lékařů českých*. 1998, vol. 137, s. 168-170, ISSN 1803-6597.
4. RICHARD, Alyce M, James H DIAZ a Alan David KAYE. Reexamining the risks of drinking-water nitrates on public health. *Ochsner J* [online]. 2014, vol. 14, no. 3, s. 392-8, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4171798/?tool=pubmed>>. ISSN 1524-5012.
5. XU, F, K S QUANDT a D E HULTQUIST. Characterization of NADPH-dependent methemoglobin reductase as a heme-binding protein present in erythrocytes and liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* [online]. 1992, vol. 89, no. 6, s. 2130-4, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC48610/?tool=pubmed>>. ISSN 0027-8424.
6. CORTAZZO, Jessica A a Adam D LICHTMAN. Methemoglobinemia: a review and recommendations for management. *J Cardiothorac Vasc Anesth* [online]. 2014, vol. 28, no. 4, s. 1043-7, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23953868>>. ISSN 1053-0770 (print), 1532-8422.
7. LEDVINA, M. Rychlé spektrofotometrické stanovení karbonylhemoglobinu v krvi. *Biochem Clin Bohemoslov*. 1987, vol. 16, s. 493-495, ISSN 0139-9608.