

# Vyšetření hemoglobinu a jeho metabolismu

## Hladina konjugovaného a nekonjugovaného bilirubinu

Bilirubin je metabolit hemu vznikající při jeho degradaci v buňkách monocyto-makrofágového systému (MFS). Nekonjugovaný (nepřímý) bilirubin je uvolňován do plazmy a v komplexu s albuminem transportovaný do jater, kde se za přítomnosti enzymu **bilirubin-UDP-glukuronyltransferázy** tvoří konjugovaný (přímý) bilirubin. Hladina přímého i nepřímého bilirubinu odráží degradaci hemu a zvyšuje se při hemolýze, hladina přímého bilirubinu se kromě toho mění také při onemocněních jater. Zvýšenou hladinu nekonjugovaného bilirubinu v důsledku snížené aktivity bilirubin-UDP-glukuronyltransferázy pozorujeme při *Gilbertově syndromu*.

## Hladina hemoglobinu v plazmě

Principem vyšetření je schopnost hemoglobinu katalyzovat oxidaci benzidinu v přítomnosti peroxidu vodíku, což vede ke změně barvy roztoku na zelenou a později na modrou. Intenzita zbarvení se stanovuje spektrofotometricky. Normální koncentrace hemoglobinu je menší než 5 mg/l. Na vyšetření se používá nesrážlivá krv, odebraná do heparinu. Je důležité zabránit hemolýze při odběru a zpracování vzorku. Vzorek se centrifuguje při 2 500 otáčkách/min. Hemoglobin se v plazmě zvyšuje při intravaskulární hemolýze, naopak při extravaskulární hemolýze nebývá zvýšený.

## Hladina haptoglobinu v séru

Haptoglobin je plazmatický globulin, který váže hemoglobin. Ke stanovení jeho koncentrace se používá více metod, např. elektroforéza, radiální imunodifuze, chromatografie. Jako vzorek se používá sérum získané z nativní krve. Snížená hladina haptoglobinu je přítomna při hemolýze a při onemocněních jater, zvýšená je při zánětlivých onemocněních a při malignitách. V případě vyčerpání vazebné kapacity haptoglobinu při vystupňované hemolýze se hemoglobin vylučuje močí nebo dochází k intravaskulárnímu rozpadu na hem, který následně oxiduje, a globin. Oxidovaný hem se naváže na hemopexin nebo albumin.

## Hladina hemopexinu v séru

Hemopexin je plazmatický globulin, jehož funkcí je vázat oxidovaný hem, uvolněný z hemoglobinu, v případě vyčerpání vazebné kapacity haptoglobinu. Považuje se za přesnější indikátor intravaskulární hemolýzy než hladina haptoglobinu. Na vyšetření se používá elektroforéza nebo radiální imunodifuze, jako vzorek se používá sérum získané z nativní krve. Snížená až nulová hladina je přítomna při hemolýze. Snížená hladina je dále přítomna také při onemocněních jater a ledvin, při malignitách, infekcích, při diabetes mellitus. Zvýšená hladina je přítomna při akutních stavech (reaktant akutní fáze).

## Hladina methemalbuminu v séru

Methemalbumin je komplex oxidovaného hemu a albuminu, který vzniká při vyčerpání vazebné kapacity haptoglobinu. Na rozdíl od hemopexinu není vychytávaný buňkami MFS a cirkuluje v séru, až dokud není hem přenesen na hemopexin. Na jeho stanovení se používají spektrofotometrické metody, jako vzorek se používá sérum z nativní krve. Methemalbumin je podobně jako hemopexin považovaný za citlivý indikátor intravaskulární hemolýzy.

## Stanovení hemoglobinu a hemosiderinu v moči

Při překročení vazebné kapacity haptoglobinu se část hemoglobinu dostává do moči. V případě chronicky probíhající hemolýzy je hemoglobin vychytávaný buňkami tubulů ledvin a při jejich poškození je uvolňován ve formě hemosiderinu. Hemosiderin je zásobní forma železa, která vzniká agregací molekul feritinu při nadbytku železa.

## Elektroforéza hemoglobinu

Změny ve struktuře molekuly hemoglobinu vedou ke změně její pohyblivosti v elektrostatickém poli, což se využívá při rozlišování abnormálních hemoglobinů. Jako základ se používá elektroforéza ve veronálovém tlumivém roztoku (pH 8,6) a celulózoacetátová elektroforéza v alkalickém prostředí (pH 8,9). V případě potřeby se doplňují dalšími testy (metody analýzy DNK)

## Odkazy

### Související články

- Hemoglobin

- Haptoglobin
- Bilirubin

## **Použitá literatura**

- DOBROTOVÁ, Miroslava, et al. *Hematológia a transfuziológia : učebnica*. 1. vydání. Praha : Grada ; Bratislava : Grada Slovakia, 2006. ISBN 80-8090-000-0.