

BILIRUBIN a IKTERUS

Vznik a metabolismus bilirubinu:

Až 80% bilirubinu vzniká rozpadem hemu ze stárnoucích červených krvinek. Zbytek pochází např. z prekursorů červené krevní řady či z myoglobinu. Nejprve dochází ke vzniku tmavě zeleného biliverdinu za katalýzy enzymem hemoxygenasou (obrázek č.1). Dále dochází k redukci centrálního methinového můstku biliverdinu a vzniká bilirubin. Reakci katalyzuje enzym biliverdinreduktasa.

Vzniklý bilirubin (nekonjugovaný) se dostává do systémové cirkulace a je transportován do jater, kde dochází k jeho konjugaci s kyselinou glukuronovou (konjugovaný bilirubin). Metabolismus bilirubinu znázorňuje obrázek č.2.

Díky intramolekulárním vodíkovým vazbám spojujícím polární skupiny molekuly bilirubinu, je rozpustnost přirozeného izomeru bilirubinu ve vodě omezena (obrázek č.3). Aby mohl být uskutečněn transport nekonjugovaného bilirubinu krví do jater, dochází k vazbě na albumin. Lidský albumin je pro transport nekonjugovaného bilirubinu specificky uzpůsoben tím, že má pro něj na povrchu vysoce afinitní vazebné místo, ze kterého je snadno uvolnitelný, což je důležité pro rychlý transport do cytoplazmy jaterní buňky.

V hepatocytech dochází konjugací s kyselinou glukuronovou ke změně trojrozměrné struktury bilirubinu. Uvolní se dva vodíkové můstky a „odkryjí“ polární skupiny molekuly (obrázek č.3). Konjugovaný bilirubin je z jaterních buněk vylučován do žluče. Žlučovými cestami se dostává do tenkého a posléze do tlustého střeva.

V enterocytech dochází k dekonjugaci β -glukuronidasou, která pochází zejména z koliformních bakterií. Dále následuje redukce oxidoreduktasami těchto střevních bakterií na deriváty bilirubinu – mimo jiné na sterkobilinogen a urobilinogen. Ty jsou vylučovány stolicí. Část sterkobilinogenu a urobilinogenu podléhá ve střevě neenzymové oxidaci za vzniku sterkobilinu a urobilinu. Tyto hnědo-oranžové pigmenty charakteristicky barví stolicí (obrázek č.2).

Část urobilinogenu přechází do portálního řečiště a je játry re-sekretována do žluče. Urobilinogen je relativně polární, proto je vylučován ledvinami do moče.

Orientační referenční rozmezí:

Celkový bilirubin (sérum): 5 – 17 $\mu\text{mol/l}$ (dospělí)

Přímý bilirubin (sérum): do 5 $\mu\text{mol/l}$ (dospělí)

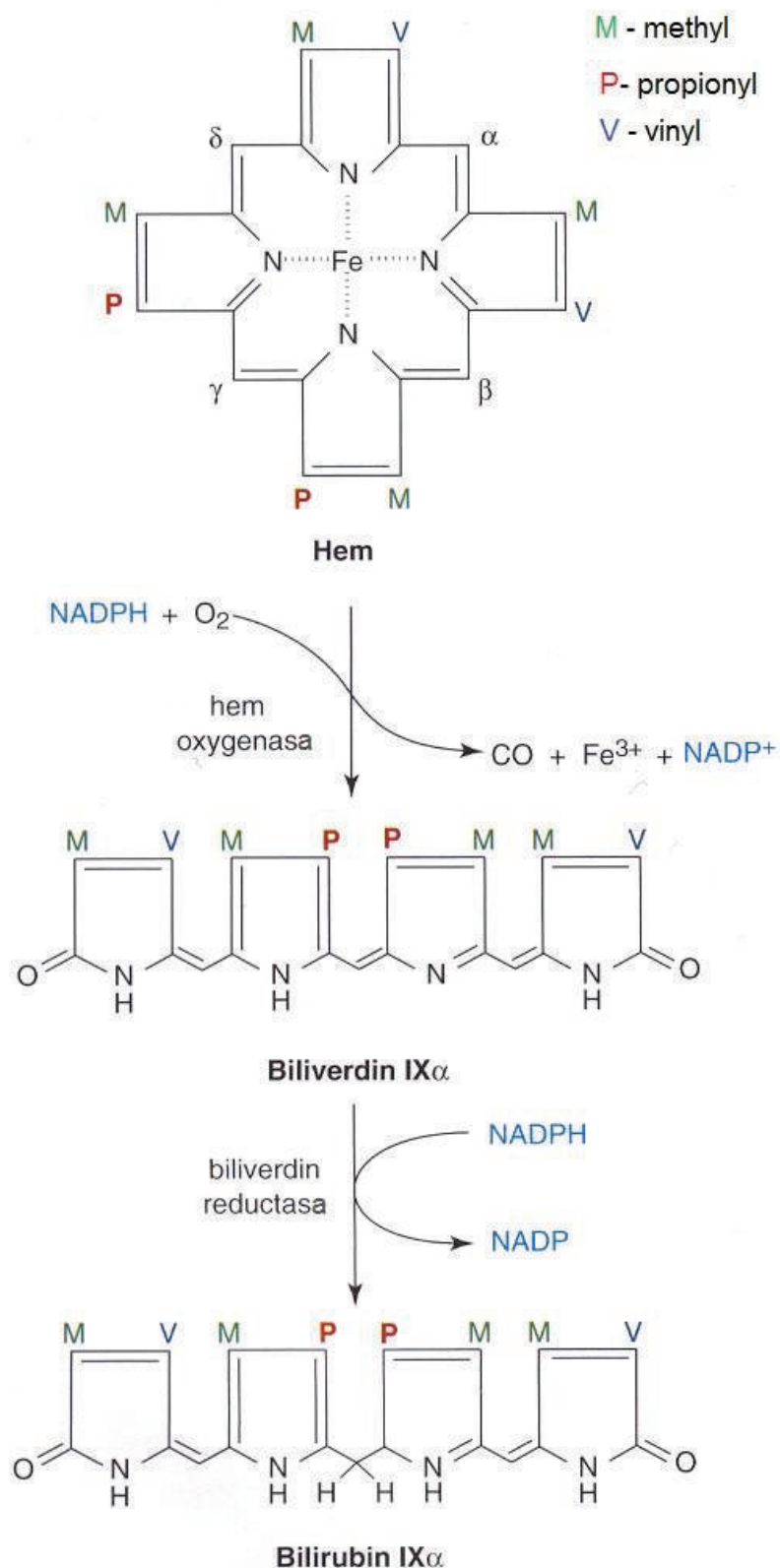
Celkový bilirubin (sérum): do 250 $\mu\text{mol/l}$ (novorozenci 3-5 den)



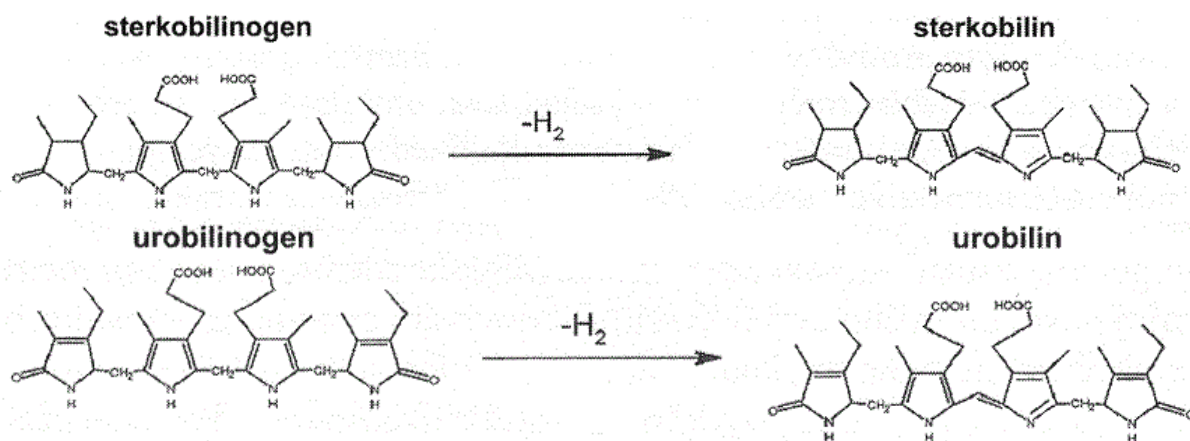
Univerzita
Pardubice

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky



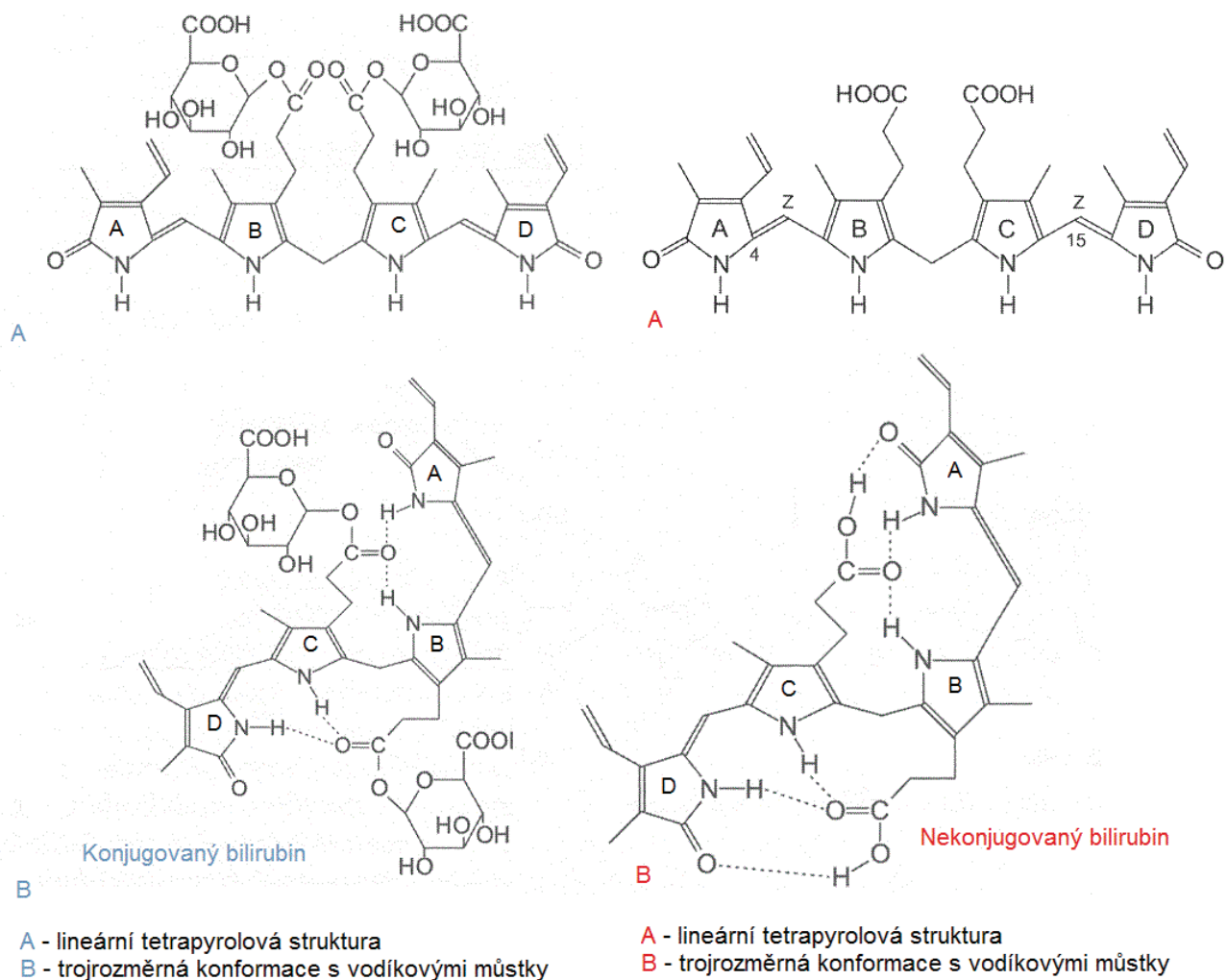
Obrázek č. 1. Vznik bilirubinu z hemu. (Upraveno dle Textbook of Biochemistry T.M. Devlin a kol, 2006.)



EVROPSKÁ UNIE



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky



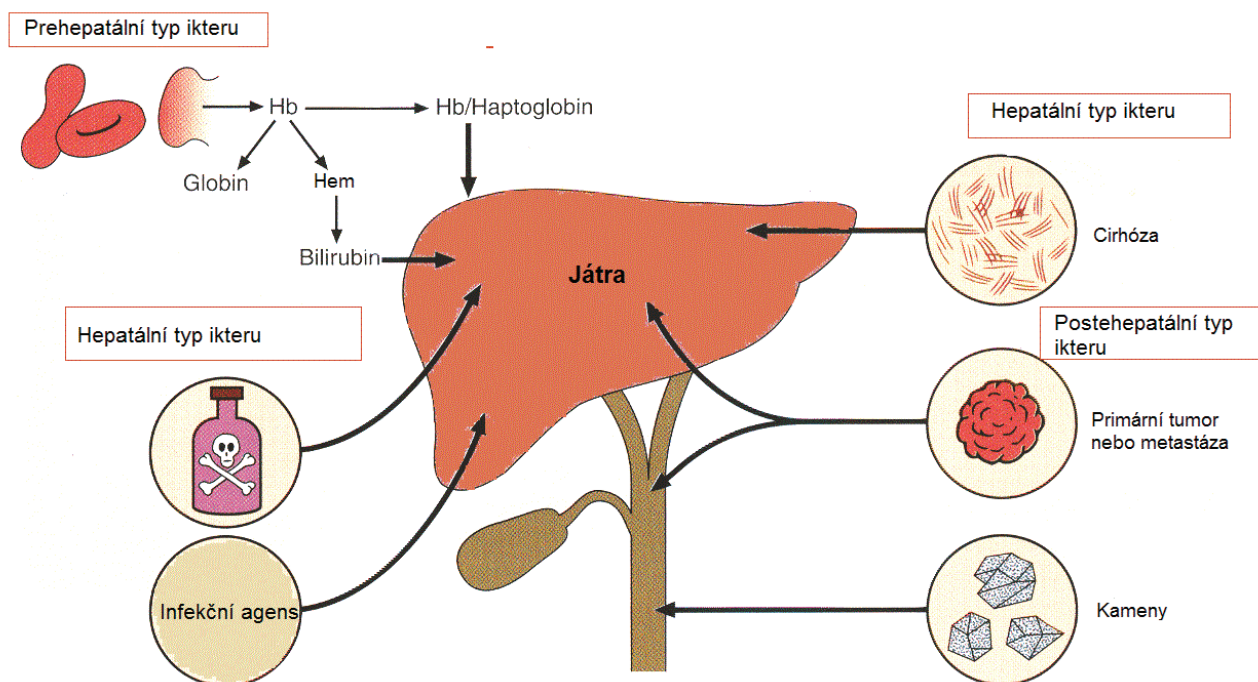
Obrázek č. 3. Rozdíl mezi konjugovaným a nekonjugovaným bilirubinem. Upraveno dle *Bilirubin a interní choroby, význam pro kliniku a praxi*, Vitek L, 2009.

Klinický význam:

Žloutenku (ikterus) můžeme pozorovat u pacientů, jejichž hodnoty celkového bilirubinu v séru přesáhly 35 $\mu\text{mol/l}$. Podle lokalizace příčiny zvýšení hladiny bilirubinu lze ikterus rozdělit na pre-hepatální, hepatální a pos-hepatální. Jednotlivé typy se liší biochemickým nálezem v séru i v moči. Jednotlivé příčiny přehledně shrnuje obrázek č.4.

- Prehepatální typ - $\uparrow$ nekonjugovaný bilirubin v séru, bilirubin v moči není
- Hepatální typ - $\uparrow$ nekonjugovaný i konjugovaný bilirubin v séru, v moči je bilirubin
- Posthepatální typ - $\uparrow$ konjugovaný bilirubin v séru, v moči je bilirubin, $\downarrow$ urobilinogen v moči





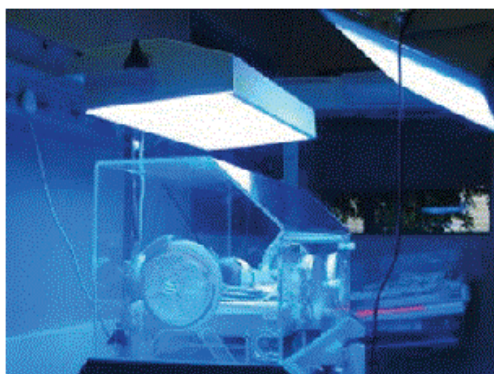
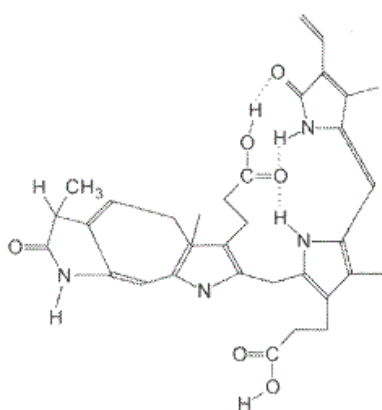
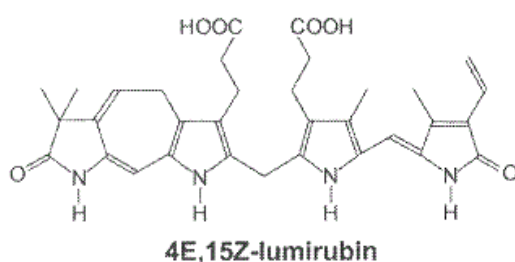
Obrázek č. 4. Příčiny vzniku ikteru. Upraveno dle *Clinical Biochemistry, An Illustrated Colour Text, 5 th edition, Gaw A a kol., 2008.*

Novorozenecký ikterus:

Termín „fyziologická novorozenecká žloutenka“ označuje zvýšenou hladinu nekonjugovaného bilirubinu u novorozence. Je dána větší křehkostí erytrocytů a nevyzrálostí hepatocytů.

Patologickou příčinou žloutenky novorozence může být inkompatibilita krevních skupin matky a plodu.

Hlavním terapeutickým opatřením je fototerapie (obrázek č.5). Působením elektromagnetického záření o vlnové délce v rozsahu 430-490 nm (modrozelené světlo) dochází k přeměně bilirubinu na polárnější izomer – lumirubin. Jeho poločas v cirkulaci je pouhé 2 hodiny. Vylučuje se relativně snadno do žluče a moči. Konjugace s kyselinou glukuronovou není nutná.



Obrázek č. 5. Lumirubin vznikající při fototerapii patologické novorozenecké žloutenky. Upraveno dle Bilirubin a interní choroby, význam pro kliniku a praxi, Vítek L, 2009 a dle anaesthetist.com.

Možnosti stanovení bilirubinu:

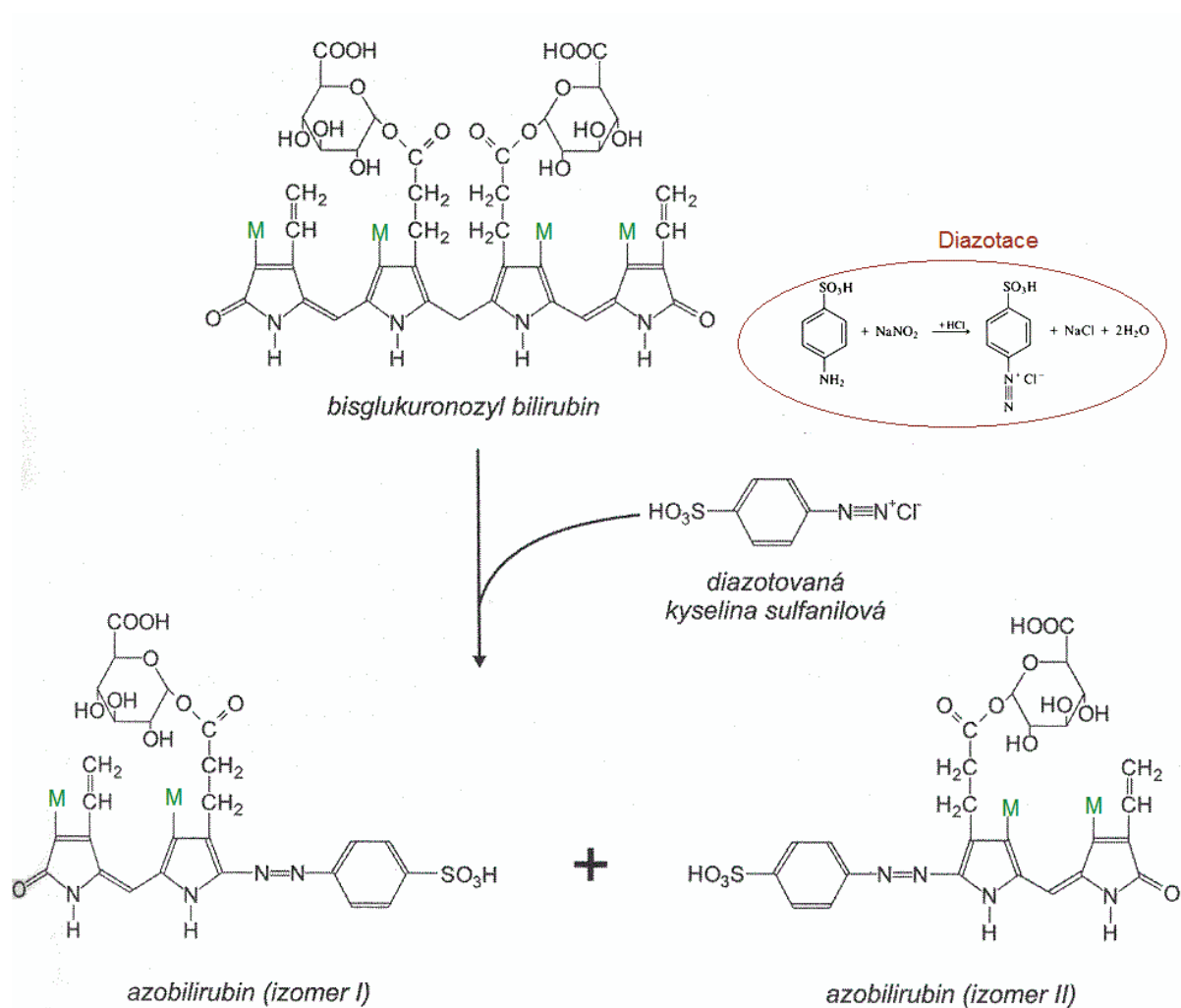
Konjugovaný (přímý) bilirubin: reaguje přímo

Nekonjugovaný (nepřímý) bilirubin: nutné přidat akcelerátor – alkohol, kofein, kyselina benzoová. Důvodem je „vytěsnění“ z vazby na albumin.

- **Diazoreakce**

Bilirubin reaguje s diazotovanou kyselinou sulfanilovou a vzniká azobarvivo (obrázek č. 6). Existuje celá řada modifikací původní metody popsané Paulem Ehrlichem v roce 1883. Jedna z nejspolehlivějších je reakce podle Jendrassika a Grofa. Jako akcelerátory slouží benzoan sodný a kofein.





Obrázek č. 6. Stanovení bilirubinu. Upraveno dle *Bilirubin a interní choroby*, význam pro kliniku a praxi, Vítek L, 200.

- Enzymatické stanovení
Oxidace bilirubinu je katalyzována bilirubinoxidasou, vznikající biliverdin je monitorován při 405 až 460 nm. Jedná se o novější metodu.
- Přímá spektrofotometrie
Koncentrace bilirubinu je měřena přímo, absorpční maximum je při 454 nm. Kvůli interferujícímu HbO_2 měříme při dvou vlnových délkách (454 a 540 nm) a provádíme korekci. Není běžně užívanou metodikou. Jde se o velice jednoduché stanovení, ale interferují při něm karotenoidy.
- HPLC s VIS detekcí.
Při 430 nm jsou detekovány methylestery konjugovaného a nekonjugovaného bilirubinu. Tato metoda je používána spíše pro výzkumné účely.

Použitá literatura:

Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, TM Devlin a kol, 2006

Bilirubin a interní choroby, význam pro kliniku a praxi, Vitek L, 2009.

Clinical Biochemistry, 8 th edition, Beckett G a kol., 2010.

Clinical Biochemistry, An Illustrated Colour Text, 5 th edition, Gaw A a kol., 2008.

Clinical Biochemistry: Techniques and Instrumentation, A Practical Course, Varcoe JS, 2001.

Klinická biochemie, Racek J a kol. 2006.



Univerzita
Pardubice