

Klinická biochemie II

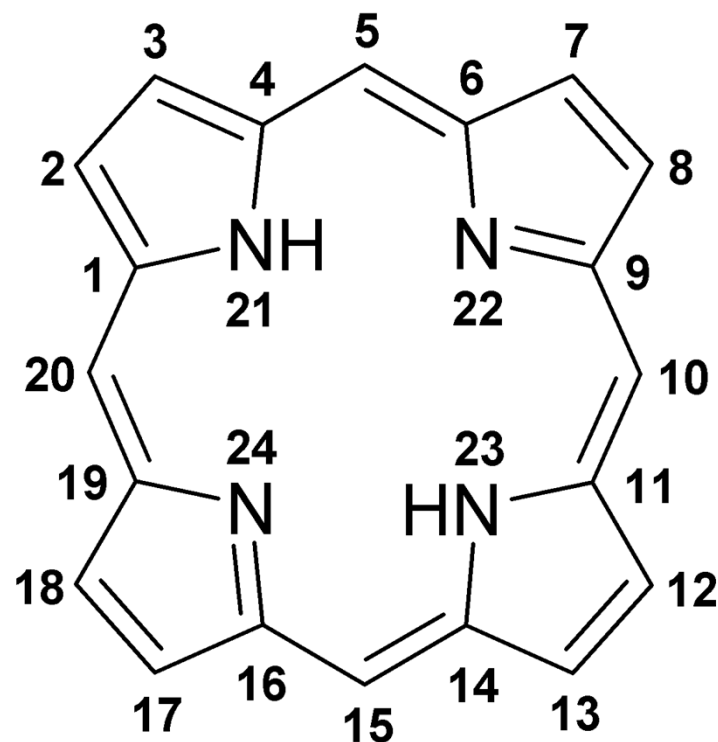
Porfyriny

Porfyriny a hemoproteiny

- Prosthetické skupiny hemoproteinů, cytochromů a enzymů
- Nejvýznamnější je hem: Hb, myoglobin, cytochromy, oxidasy, peroxidasy

Porfyriny a hemoproteiny

- Struktura a vlastnosti
 - 4 pyrrolové kruhy, methinové můstky (-CH=)
 - Číslování:



Porfyriny a hemoproteiny

- Struktura a vlastnosti
 - Dva rozdílné substituenty (krátký a dlouhý řetězec)
 - 4 možnosti polohové isomerie (I-IV)
 - V přírodě typ I a III (převažuje o 3 řády)
 - Silné komplexy:
 - Mg^{2+} : chlorofyl
 - $Fe^{2+/3+}$: cytochromy, peroxidasy, Hb, myoglobin
 - Systém konjugovaných dvojných vazeb
 - Soretův pás (400 nm)
 - Fluoreskují
 - Porfyrinogeny:
 - Prekurzory
 - $(-CH_2-)$



Biosyntéza hemu

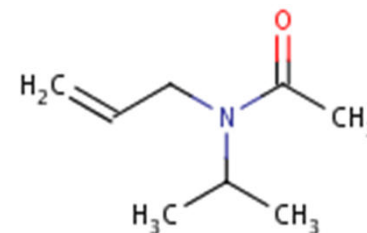
- V podstatě všechny buňky
- Intenzivně
 - Nezralé RBC v KD (Hb)
 - Hepatocyty (cytochromy, *katalasa*, ...)
- Začátek a konec v mitochondriích
- Gly + sukcinyl-CoA → ALA (*ALA-synthasa*) → cytosol
- Kondenzace 2 ALA → PBG (*PBG-synthasa*)
- Kondenzace 4 PBG → preuroporfyryinogen (*porfobilinogendeaminasa*)
- Preuroporfyryinogen → URO-I
 - Spontánní cyklizace
- Preuroporfyryinogen → URO-III (*kosynthasa*)

Biosyntéza hemu

- URO-III → COPRO-III
(*uroporfyrinogendekarboxylasa*)
- COPRO-III → mitochondrie
- COPRO-III → protoporfyrinogen
(*koproporfyrinogenoxidas*)
- Protoporfyrinogen → protoporfyrin
(*protoporfyrinogenoxidas*)
- Protoporfyrin → Fe^{2+} → hem (*ferrochelatasa*)
- Až k protoporfyrinu přes porfyrinogeny
- Porfyriny vedlejšími produkty

Regulace biosyntézy hemu

- Na prvním stupni reakčního sledu
 - Tvorba ALA
 - Allosterická inhibice hemem
 - Indukce nebo represe syntézy *ALA-synthasy*
 - Větší význam
 - **První a poslední stupeň intramitochondriálně !**
 - *ALA-synthasa*:
 - Poločas 70-80 minut
 - Hem korepresor
 - Induktory:
 - N-allyl-N-isopropylacetamin
 - Fenobarbital, sulfonamidy, estrogeny



Porfyrrie

- Primární:
 - Dědičně, porucha syntézy nebo regulace
- Sekundární:
 - Jaterní onemocnění
 - Otravy
- Fotosensibilizace
 - Ozáření světlem v oblasti Soretova pásu
 - Puchýřky → VR → uvolnění lysosomálních enzymů

Porfyrie

- Erytropoetické a hepatální formy
- Společné rysy:
 - Genetický přenos AD
 - Symptomy často až v pubertě
 - Někdy klinicky i biochemicky latentní
 - Akutní záchvat vyvolán vnějšími vlivy
 - Barbituráty, sulfonamidy, ...
 - ↑ALA, PBG, porfyriny v moči
 - Zvýšená aktivita *ALA-synthasy* v játrech
 - Akutní stavy vzácné



Kongenitální erythropoetická porfyrie

- ↑↑↑URO-I → uroporfyryn v moči
- Také ↑COPRO-I a III → koproporfyryny
- Fluorescence v KD
- ALA a PBG v normě
- Snížená aktivita *uroporfyrynogen III-synthas*
- Změny na kůži, hemolýza, ↑BIL, zabarvení zubní skloviny



Erytropoetická protoporfyrie

- ↑↑↑protoporfyriinů v RBC, plazmě, stolici
- Snížená aktivita *ferrochelatasy*
 - Zvýšená aktivita *ALA-synthasy*
 - Regulační sekundární efekt
- Fotosensibilizace



Akutní intermitentní porfyrie

- ↑↑↑ALA, PBG
- ↑ také porfyriny a porfyrinogeny
- Snížená aktivita *pseudoporfyrinogensynthasy*
 - Částečná blokáda X úplná neslučitelná s životem
- Nejsou fotodermatosy
- Bolesti břicha s obstipací
 - Porucha vegetativní inervace



Porfyrina variiegata

- ↑↑↑protoporfyrin a COPRO III ve stolici
- Atypický hydrofilní „porfyrin X“
 - Thioetherově vázaný peptidový zbytek



Porfyrina cutanea tarda

- Chronická jaterní porfyrie
- ↑↑↑uroporfyrin III a heptakarboxyporfyrin III
- ↑koproporfyrin
- Projev při zatížení (abusus alkoholu)



Sekundární koproporfyrynie

- Hepatitis, aplastická anémie, perniciózní anémie
- Intoxikace: olovo, benzen, CCl_4
- Olovo:
 - $\uparrow\uparrow\uparrow\text{ALA}$
 - Přímá inhibice *porfobilinogensynthasy* a *ferrochelatasy*



Metabolismus bilirubinu

- Tvorba bilirubinu
 - Oxidace hemu (*hemoxygenasa*) → biliverdin
 - Vázán na protein
 - Oxidace –CH= mezi kruhy A a B
 - C-5 se oxiduje na CO
 - Atom železa oddisociuje
 - Obsahuje cyt P-450
 - Indukovatelná substrátem
 - Biliverdin → bilirubin (*biliverdinreduktasa*)
 - NADPH donorem vodíku

Metabolismus bilirubinu

- Bilirubin → ALB → játra → konjugace
 - BIL + UDP-glukuronová kyselina → glukosiduronát BIL
 - *UDP-glukuronátbilirubinglukosiduronátransferasa*
 - Diglukosiduronát BIL → transportní systém → žlučové kanálky → žluč → střevo
 - Diglukosiduronát BIL → BIL → urobilinogen (mesobilirubinogen) → sterkobilinogen
 - Dehydrogenací: urobilin, sterkobilin

Metabolismus bilirubinu

- BIL zkratový (shunt-BIL)
 - 10 – 20 %
 - Prekurzory RBC
 - Myoglobin, cytochromy, hemové enzymy

Metabolismus bilirubinu

- Konjugace a exkrece BIL
 - BIL do hepatocytu → transport
 - V cytoplazmě vazba na proteiny Y a Z
 - Kapacita transportního systému velká
 - Tvorba bisglukosiduronátu → 2 různé specifické *glukosiduronáttransferasy*
 - Konjugace BIL s jinými sacharidy, sulfátem → kvantitativně nevýznamné
 - **Exkrece do žlučových kapilár → místo minimálního průchodu**

Metabolismus bilirubinu

- Odbourávání BIL ve střevě
 - Glukosiduronát BIL nemůže být resorbován ani ve žlučníku ani ve střevě
 - Další přeměna působením bakterií
 - Bakteriální glukosiduronáta (glukuronidasa)
 - Bakteriální reduktasy:
 - BIL → urobilinogen → sterkobilinogen

Bilirubin reagující přímo a nepřímo

- Přidání urychlovače
 - Methanol, aceton
 - ↑ rozpustnosti, nepřítomnost H-vazeb
- BIL kopuluje s diazoniovou solí
 - V sousedství středního můstku $-\text{CH}_2-$
 - → 2 dipyrromethinové azosubstance
- Nekonjugovaný/konjugovaný 30:1 (HPLC)
- Při reakci je tomu jinak !



Poruchy metabolismu BIL

- Hyperbilirubinemie → ikterus
 - Při zvýšené tvorbě BIL
 - Při sníženém vychytávání BIL játry
 - Při snížené konjugaci BIL
 - Při poruše vylučování do žluče
 - Při extrahepatální poruše odtoku žluče
- Prakticky:
 - Se vzrůstem nekonjugovaného
 - Se vzrůstem konjugovaného



Poruchy metabolismu BIL

- Criglerova-Najjarova nemoc
 - Typ I chronického familiárního nehemolytického ikteru
 - AR
 - *UDP-glukuronátbilirubinglukosiduronátransferasa*
 - Koncentrace BIL konstantní
 - Zřejmě i jiné cesty odbourávání BIL
 - Ikterus vysokého stupně po 1.-3. dni po narození až do smrti
 - Jádrový ikterus
 - Příčina smrti v kojeneckém věku
 - Ozáření → dipyrrylmethany → vylučovány

Poruchy metabolismu BIL

- Typ II chronického, familiárního, nehemolytického ikteru
 - Částečný nedostatek *bilirubinglukosiduronáttransferasy*
 - Fenobarbitalem se aktivita může zvýšit
 - Mladiství a dospělí
 - Jádrový ikteus a neurologické poruchy chybí



Poruchy metabolismu BIL

- Gilbertova nemoc
 - Patogeneze není úplně jasná
 - Asi porucha vychytávání BIL hepatocyty
 - Postiženy proteiny Y resp. Z ?
 - Zkrácení životnosti RBC
 - Snížená aktivita *bilirubinglukosiduronáttransferasy*



Poruchy metabolismu BIL

- Hyperbilirubinemie způsobená hemolysou
 - Zvýšené odbourávání Hb
 - Hemoxigenasa ve vysoké aktivitě
 - Může být ale překročena příjmová kapacita hepatocytů
 - Sekrece do žlučových kapilár je také omezená
 - Proto silnější hemolysy → ↑konjugovaný BIL
 - ↑urobilinogen

Poruchy metabolismu BIL

- Zkratová hyperbilirubinemie
 - ↑nekonjugovaný BIL
 - Porucha erythropoesy v KD



Poruchy metabolismu BIL

- Fyziologický ikterus novorozenců
 - ↑nekonjugovaný BIL
 - Maximum 5-7 dní po narození
 - Spontánně mizí po 10-14 dnech
 - Fetus vylučuje BIL placentou
 - Po narození nevyzrálé transportní a enzymové systémy
 - Zvýšené poporodní odbourávání RBC
- Těžký novorozenecký ikterus
 - Mateřské mléko
 - Pregnanol → inhibitor *bilirubinglukosiduronáttransferasy*

Poruchy metabolismu BIL

- Dubinův-Johnsonův syndrom a Rotorův syndrom
 - Izolovaná porucha sekrece BIL z hepatocytů do žlučových kapilár
 - Lehký ikterus



Poruchy metabolismu BIL

- Hepatocelulární ikterus
 - Hepatitis, jaterní cirhosa
 - ↑konjugovaný BIL
 - Narušena sekrece do žlučových kanálků
 - Konjugovaný BIL z hepatocytu do KO ?
 - Asi poškozena endoteliální výstelka žlučových kapilár
 - ↑nekonjugovaný BIL
 - Porucha příjmu a konjugace

Poruchy metabolismu BIL

- Obstrukční ikterus
 - Kameny, nádory, záněty
 - Městnání žluče
 - ↑konjugovaný BIL
 - Stolice odbarvená



Poruchy metabolismu BIL

- Cholestasa způsobená vlastními nebo cizorodými látkami
 - Farmaka
 - Těhotenský ikterus
 - Idiopatická cholestasa

