

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko – technologická

Metabolismus porfyrinů a jeho poruchy

Pavλίna Majtnerová

Bakalářská práce

2013

University of Pardubice

Faculty of Chemical Technology

Metabolism of porphyrins and its disorders

Pavλίna Majtnerová

Bachelorwork

2013

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Pavλίna Majtnerová**
Osobní číslo: **C09565**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Název tématu: **Metabolismus porfyrinů a jeho poruchy**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Vypracovat teoretickou rešerši zabývající se metabolismem porfyrinů.
2. Zaměřit se na vlastnosti porfyrinů, jejich rozdělení.
3. Další část věnovat popisu syntézy a odbourávání porfyrinů a jejich poruchám.

Rozsah grafických prací: **dle potřeby**

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

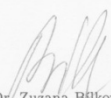
Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Šárka Štěpánková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **13. prosince 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **19. července 2013**


prof. Ing. Petr Lošťák, DrSc.
děkan

L.S.


doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 15. února 2013

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 11.6.2013

Pavλίna Majtnerová

Poděkování:

Zde bych ráda poděkovala Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D. za cenné rady, její trpělivost a podporu při vedení bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala mé rodině a přátelům za podporu během studia.

Souhrn

Porfyriny jsou organické látky důležité pro život. Mezi nejdůležitější zástupce patří chlorofyl a hem. Chlorofyl je zelené barvivo, které se vyskytuje především u rostlin, hem naproti tomu nenacházíme u rostlin, ale u živočichů. Jeho syntéza je přirozený biologický proces, který probíhá způsobem, který jsem se pokusila ve své práci popsat.

Dále jsem se pak zaměřila na poruchy této biosyntézy a také onemocnění, která tím vznikají - porfyrie. Nechybí zde ani jejich charakteristika a v některých případech i léčba, která je prozatím pouze symptomatická.

Klíčová slova

Porfyriny, hem, porfyrie

Abstract

Porphyryns are organic substances important for life. The most important representatives include chlorophyll and heme. Chlorophyll is the green pigment that is found primarily in plants, on the other hand heme we do not find in plants, but in animals. Its synthesis is a natural biological process that takes place in a way that I tried to describe in my work.

I have also paid attention to the failure of the biosynthesis and diseases that arises - porphyria. There are also their characteristics and in some cases treatment, that is currently only symptomatic.

Keywords

Porphyryns, heme, porphyrias

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ADP	porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy
AIP	akutní intermitentní porfyrie
ALAD	δ-aminolevulinátdehydratáza
ALA-syntáza	5-aminolevulátsyntáza
ALT	alanintransamináza
AST	aspartátaminotransferáza
CPOX	koproporfyriinogenoxidáza
EPP	erytropoetická protoporfyrie
GGT	γ-glutamyltranspeptidáza
HCT	hereditární koproporfyrie
HEP	hepato-erytropoetická porfyrie
HO	hemoxygenáza
PBG	porfobilinogen
PBGS	porfobilinogensynáza
PCT	porfyrie cutanea tarda
Sukcinyl-CoA	sukcinyl koenzym A
URO-III-syntáza	uroporfyriinogen-III-syntáza
URO-D	uroporfyriinogendekarboxyláza
VP	porfyrie variegata

OBSAH

1	ÚVOD	11
2	PORFYRINY.....	12
2.1	Chlorofyl.....	13
2.2	Hem	14
2.2.1.	Syntéza hemu	15
3	PORUCHY SYNTÉZY HEMU.....	20
3.1.	Porfyrie a jejich dělení.....	20
3.1.1.	Erytropoetické porfyrie.....	22
3.1.1.1.	Kongenitální erytropoetická porfyrie.....	22
3.1.2.	Jaterní porfyrie.....	25
3.1.2.1.	Porfyrie cutanea tarda.....	25
3.1.2.2.	Hereditární koproporfyrie a harderoporfyrie	26
3.1.2.3.	Porfyrie variegata.....	28
3.1.2.4.	Akutní intermitentní porfyrie	30
3.1.2.5.	Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy.....	31
3.1.3.	Ostatní porfyrie.....	33
3.1.3.1.	Hepato-erytropoetická porfyrie.....	33
3.1.3.2.	Erytropoetická protoporfyrie.....	35
4	KATABOLISMUS HEMU	37
5	ZÁVĚR	41
6	SEZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH CITACÍ	42

1 ÚVOD

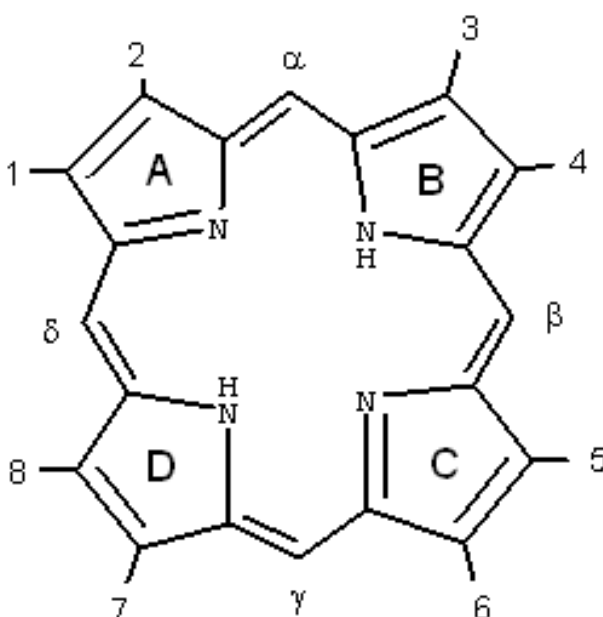
V posledních desetiletích jsou molekuly porfyrinů ve středu pozornosti a to jak z pohledu teoretického tak experimentálního. Jejich hromadění v organismu má patologické účinky a vznikají onemocnění zvaná porfyrie^{1,2}.

Historie tohoto onemocnění je však již velmi dlouhá. Do veřejného povědomí se tato nemoc dostala především po vydání filmu Šílenství krále Jiřího, ve kterém hlavní představitel trpěl poruchami zažívacího traktu, duševními poruchami a jeho moč byla modrá. Nicméně v tomto i dřívějším období byla velmi silná víra v upíry, ke kterým lidé trpící tímto onemocněním byli přiřazováni. V průběhu 18. století zpráv o „upírech“ přibývalo. V roce 1985 se poprvé objevila teorie, že upíři a vlkodlaci jsou jen obyčejní lidé, kteří trpí nějakou genetickou chorobou. Dr. Dolphin, který tuto teorii vyslovil, se začal zajímat o jednotlivé symptomy – vyčnívající zuby, pití krve nebo reakci na sluneční světlo. Vysvětlil tato onemocnění – porfyrie, jako skupinu vzácných genetických onemocnění, které jsou zapříčiněny chybou v syntéze hemu³.

Mýtický upír je však odlišný od upíra moderního. V 18. a 19. století byly zaznamenány případy, kdy byl viděn upír i za denního světla. Dokonce i Stokerův Drákula se pohyboval londýnskými ulicemi za denního světla. Porfyrie tedy vysvětlují jenom mýtického upíra, ne naši představu z 20. století³.

2 PORFYRINY

Porfyriny jsou organické cyklické chemické sloučeniny tvořené tetrapyrrolovým jádrem. Toto jádro se nazývá porfin (obr. 1), který vzniká spojením 4 pyrrolových kruhů methinovými můstky. Deriváty porfinu potom nazýváme porfyriny. Porfyriny obsahují konjugovaný systém dvojných vazeb, který způsobuje, že absorpční maximum těchto sloučenin je ve fialové části spektra o vlnové délce kolem 400 nm. Tuto oblast pak nazýváme jako tzv. Soretův spektrální pruh. Konjugovaný systém dvojných vazeb je zodpovědný i za charakteristicky červené zbarvení porfyrinů^{2,4}.

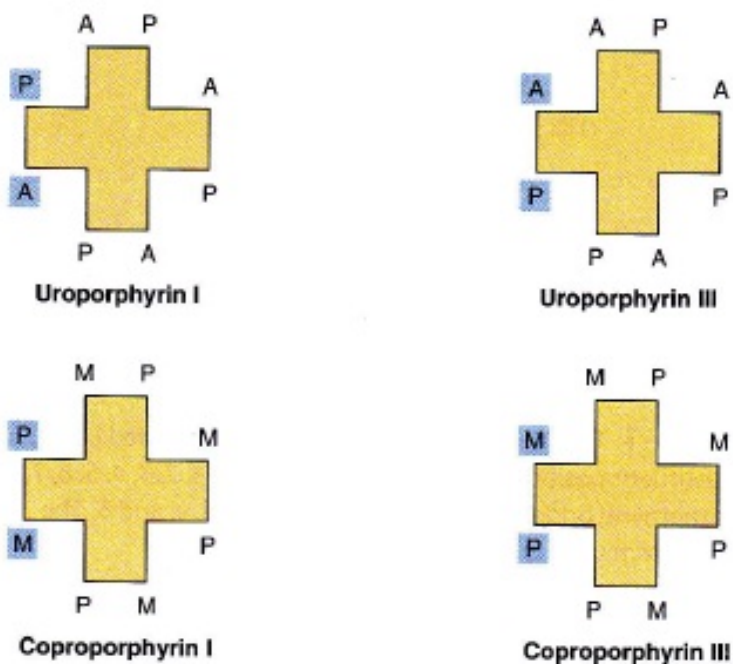


Obr. 1 - Porfin, jeho struktura a číslování⁵

Skupinu porfyrinů rozlišujeme na tzv. metaloporfyriny a volné porfyriny. Metaloporfyriny obsahují vázaný atom kovu. Příkladem je chlorofyl, ve kterém je vázán atom Mg nebo hem s atomem Fe. Volné porfyriny jsou přirozené prekurzory hemu a chlorofylu^{2,5}.

Volné (přírodní) porfyriny se liší díky postranním řetězcům, které jsou umístěny na atomech vodíku porfinového jádra 1-8 dle číslování⁴.

Přírodní porfyriny dále dělíme na typ I a typ III (obr. 2). U porfyrinů I. typu dochází k pravidelnému střídání dvou skupin po obvodu jádra, naopak u porfyrinů III. typu je toto střídání nepravidelné⁴.



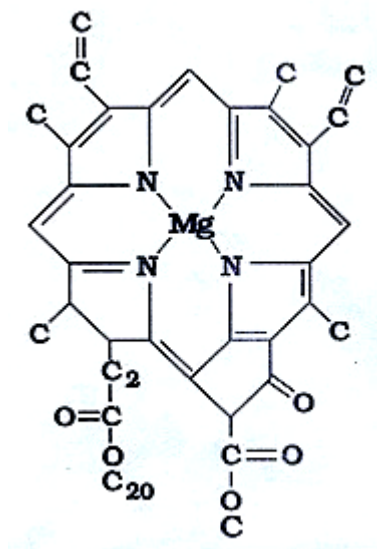
Obr. 2 – Typy porfyrinů – u uroporphyrinu se střídá propionát (P) a acetát (A), u koproporphyrinu potom metyl (M) a propionát⁴

Porfyriny III. typu jsou mnohem častější a důležitější. Do této skupiny patří především chlorofyl a hem, kterým se budu dále věnovat.

2.1 Chlorofyl

Chlorofyl, jehož strukturu vidíme na obr. 3, je přírodní barvivo, které zapříčiňuje zelené zbarvení rostlin. Patří do skupiny tzv. Mg-tetrapyrrolů, tzn. že obsahuje centrálně uložený atom hořčíku. Tyto Mg-tetrapyrroly mají pětičlennou kruhovou strukturu a liší se od sebe změnami v postranních řetězcích a/nebo snížením stavu kruhové struktury^{6,7}.

Existence chlorofylu různých typů (např. b nebo d) umožňuje organismu provádět fotosyntézu, proces přeměny světelné energie na chemickou energii, tedy proces přeměny organických látek - sacharidů na látky anorganické - oxid uhličitý a vodu. Dokáže tak přijímat a využívat sluneční světlo při různých vlnových délkách^{6,7}.



Obr. 3 – Struktura chlorofylu⁷

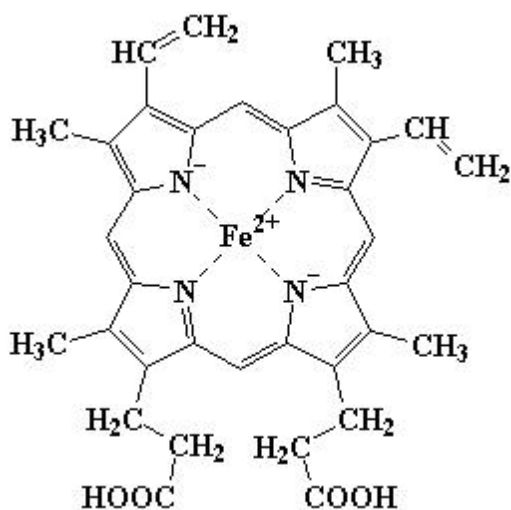
2.2 Hem

Hem patří svou strukturou (obr. 4) do skupiny tetrapyrrolů. Obsahuje symetricky uspořádané nenasycené vazby, které jsou umístěny okolo centrálně uloženého dvoumocného železa. Tento atom železa umožňuje hemu být elektronovým nosičem, nosičem kyslíku a fungovat jako katalyzátor pro redoxní reakce⁸.

Po jeho vzniku na vnitřní mitochondriální membráně dochází k jeho přesunu dovnitř mitochondrií, poté do mikrozomů, peroxizomů, cytozolu a nakonec do jádra. Tento proces se odehrává pod vlivem apoproteinů⁸.

Hem je důležitou součástí mnoha biologických reakcí. Podílí se především na transportu kyslíku, dýchání a fotosyntéze. Může generovat

kyslíkové radikály, které poté poškozují biologické molekuly – např. fosfolipidy buněčné membrány⁹.

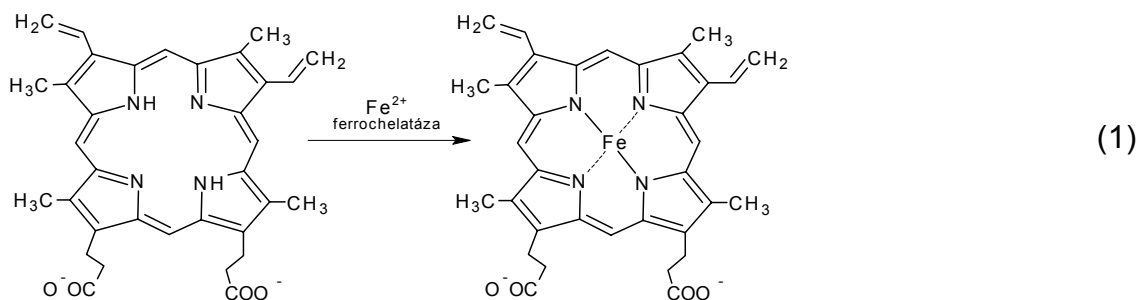


Obr. 4 – Struktura hemu¹⁰

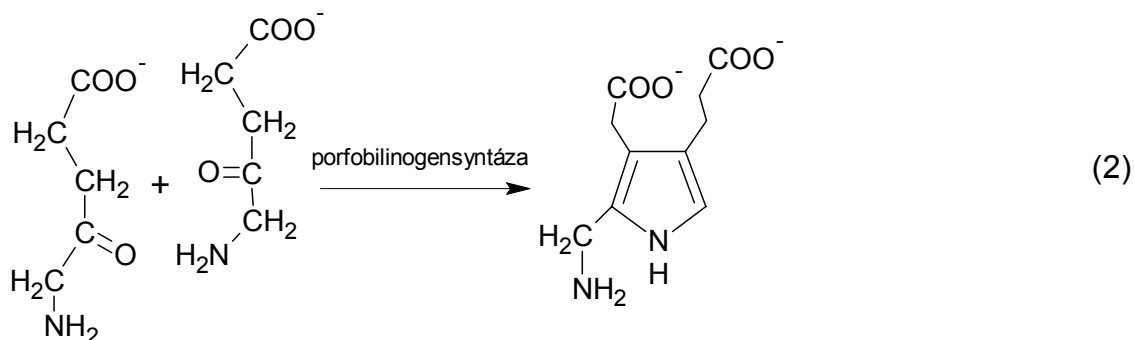
2.2.1 Syntéza hemu

Syntéza hemu probíhá především ve vývojových stádiích erytrocytů a v játrech, odehrává se ale i v ostatních buňkách savců obsahujících mitochondrie. Přes polovinu hemu vyprodukovaného v játrech se využívá k vytvoření P450 cytochromů. Ty se zapojují do oxidativního metabolismu a metabolismu steroidů. Mitochondriální respirační cytochromy řídí syntézu hemu a zařizují tak dodávku energie do všech jaderných buněk organismu. Celý proces syntézy hemu probíhá na vnitřní straně mitochondriální membrány^{8,11}.

Prvním krokem je reakce aminokyseliny glycinu se sukcinyl koenzymem A (sukcinyl-CoA), který pochází z Krebsova cyklu. Vzniká kyselina α -amino- β -ketoadipová, která je poté dekarboxylována na 5-aminolevulovou kyselinu za katalýzy enzymem 5-aminolevulátsyntáza (ALA-syntáza). Tento enzym také reguluje rychlost celé biosyntézy hemu. Důležitá je také přítomnost pyridoxal fosfátu, který aktivuje glycin^{11,12}. Tuto reakci popisuje reakční schéma (1).

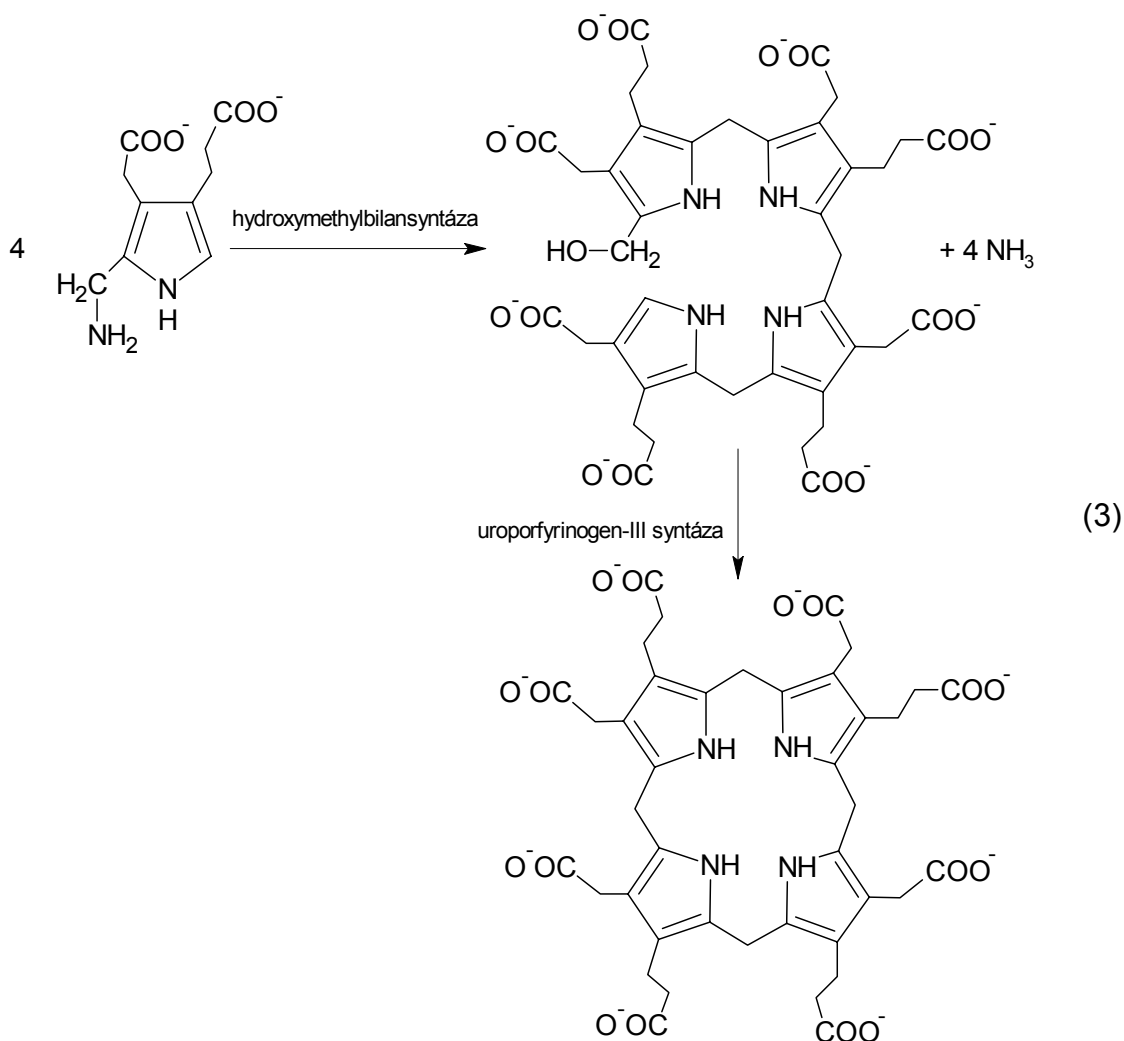


Druhým krokem biosyntézy hemu je syntéza porfobilinogenu (PBG), která je realizována již mimo mitochondrie v cytoplasmě buňky. Zde dochází ke kondenzaci dvou molekul kyseliny 5-aminolevulové a vzniká porfobilinogen, jak je uvedeno v reakčním schématu (2). Tuto chemickou reakci katalyzuje enzym porfobilinogensyntáza¹³.

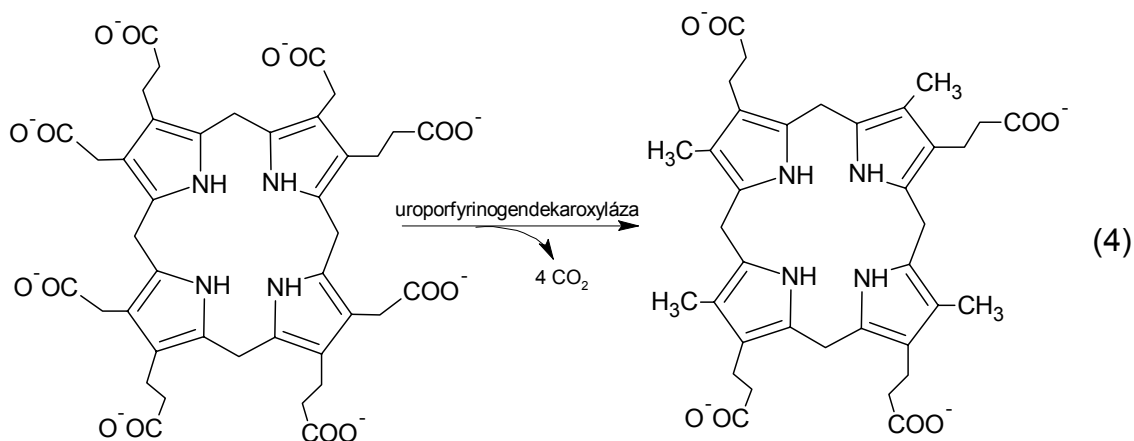


Dále následuje syntéza uroporfyrinogenu. Propojením 4 molekul porfobilinogenu za katalýzy enzymem hydroxymethylbilansyntázou vzniká hydroxymethylbilan. Tímto spojením dochází ke vzniku tetrapyrrolového jádra. Zároveň dochází k uvolnění čtyř molekul amoniaku¹¹.

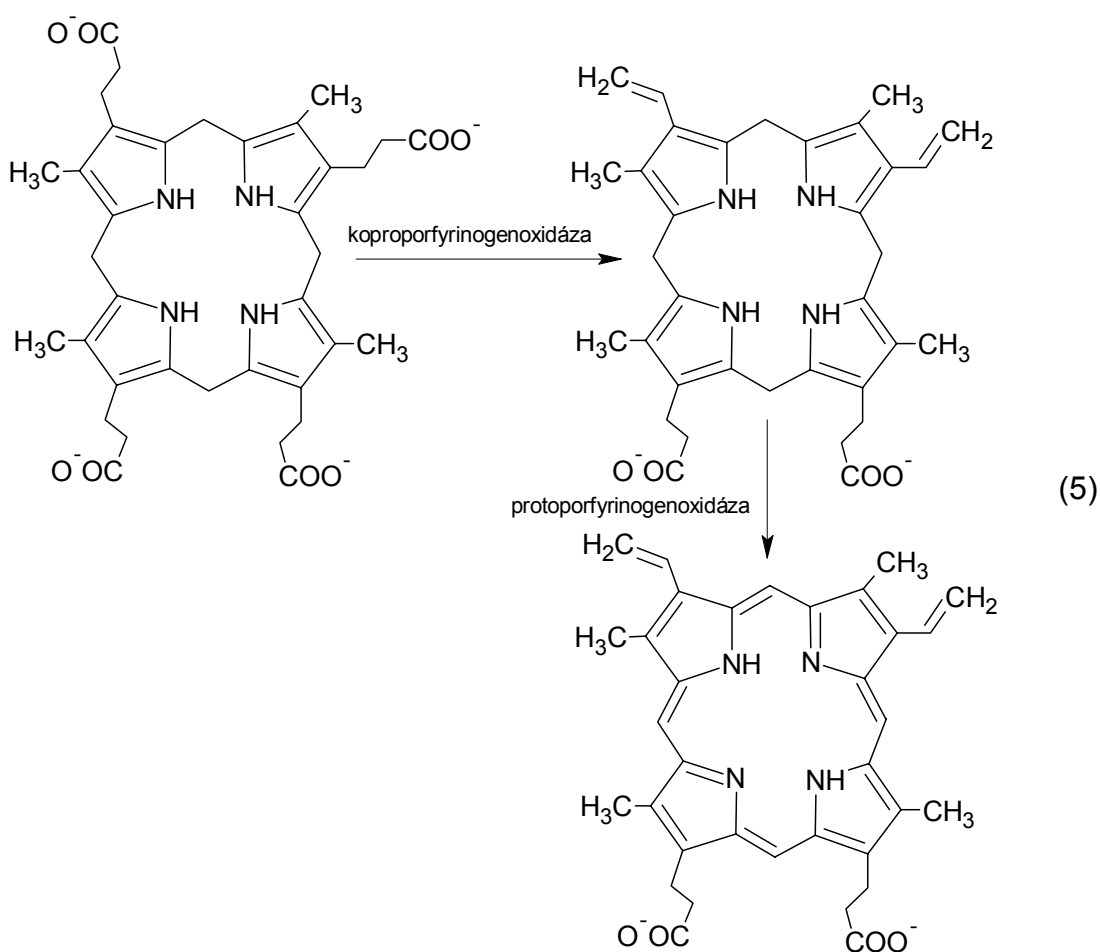
Hydroxymethylbilan je poté cyklizován na uroporfyrinogen I nebo může být přeměněn (pomocí enzymu uroporfyrinogen-III-syntáza) na uroporfyrinogen III, jak je znázorněno v reakčním schématu (3). Pouze porfyriny typu III pokračují dále v syntéze hemu¹¹.



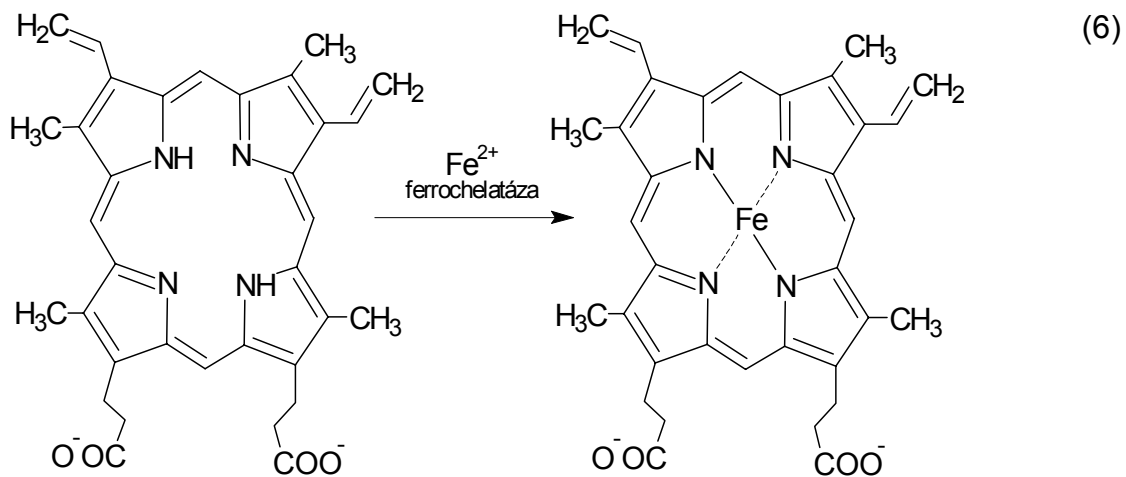
Dalším krokem je syntéza koproporphyrinogenu III. Ten vzniká při dekarboxylaci čtyř acetylových radikálů uroporphyrinogenu III na methylové za katalýzy enzymem uroporphyrinogendekarboxylázy¹¹. Reakci popisuje reakční schéma (4). Výsledný koproporphyrinogen III se navrácí zpět do mitochondrií a všechny následující reakce jsou katalyzovány enzymy, které jsou lokalizovány uvnitř nebo na mitochondriální membráně¹³.



Následuje reakce, kdy dochází současně k dekarboxylaci i oxidaci dvou zbytků kyseliny propionové na vinylové a tak ke vzniku protoporphyrinogenu IX. Z protoporphyrinogenu IX se odštěpí šest protonů a vzniká protoporphyrin IX. Dva z těchto protonů jsou přenášeny pomocí dusíku pyrrolových jader a čtyři jsou z methylenových můstků¹¹. Uvedenou reakci popisuje reakční schéma (5).



Nakonec je za působení enzymu ferrochelátázy do tetrapyrrolového řetězce navázáno dvojmocné železo Fe^{2+} . Tuto reakci popisuje reakční schéma (6). Takto vzniklý hem B (Fe-protoporfyryl IX) je součástí např. myoglobinu a hemoglobinu¹³.



3 PORUCHY SYNTÉZY HEMU

3.1 Porfyrie a jejich dělení

Porfyrie zahrnují skupinu dědičných metabolických onemocnění, způsobených poruchou jednoho z osmi enzymů, které se účastní syntézy hemu. Dochází tak k nadprodukcí a hromadění prekurzorů hemu, tedy porfyrinů. Molekuly porfyrinů se po přijetí energie excitují do vyšších energetických hladin. Aby se navrátily do původních energetických hladin, musí dojít k uvolnění energie. Jinými slovy, porfyriny nemohou způsobit poškození tkáně, pokud neabsorbují energii slunečního světla^{9,14}.

Porfyrie se vyznačují akutními neuroviscerálními symptomy nebo kožními lézemi, popř. obojím¹⁴.

Dělení porfyrií je vyobrazeno v tabulkách 1 a 2. Porfyrie rozdělujeme na akutní a neakutní (chronické). Další dělení je určeno podle tkání, které jsou postiženy. Erythropoetické porfyrie zahrnují především kongenitální erythropoetickou porfyrii (Congenital Erythropoietic Porphyria, CEP)¹⁵.

Do skupiny jaterních porfyrií patří všechny ostatní porfyrie, tzn. porfyrie cutanea tarda (Porphyria Cutanea Tarda, PCT), hereditární koproporfyrie (Hereditary Coproporphyria, HCT), porfyrie variegata (Variegata Porphyria, VP), akutní intermitentní porfyrie (Acute Intermittent Porphyria, AIP) a porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy (5-aminolevulenate dehydratase deficiency porphyria, ADP). Ostatní porfyrie, zasahující do obou těchto skupin, jsou hepato-erythropoetická porfyrie (Hepato-erythropoietic porphyria, HEP) a erythropoetická protoporfyrie (Erythropoietic Protoporphyria, EPP)¹⁵.

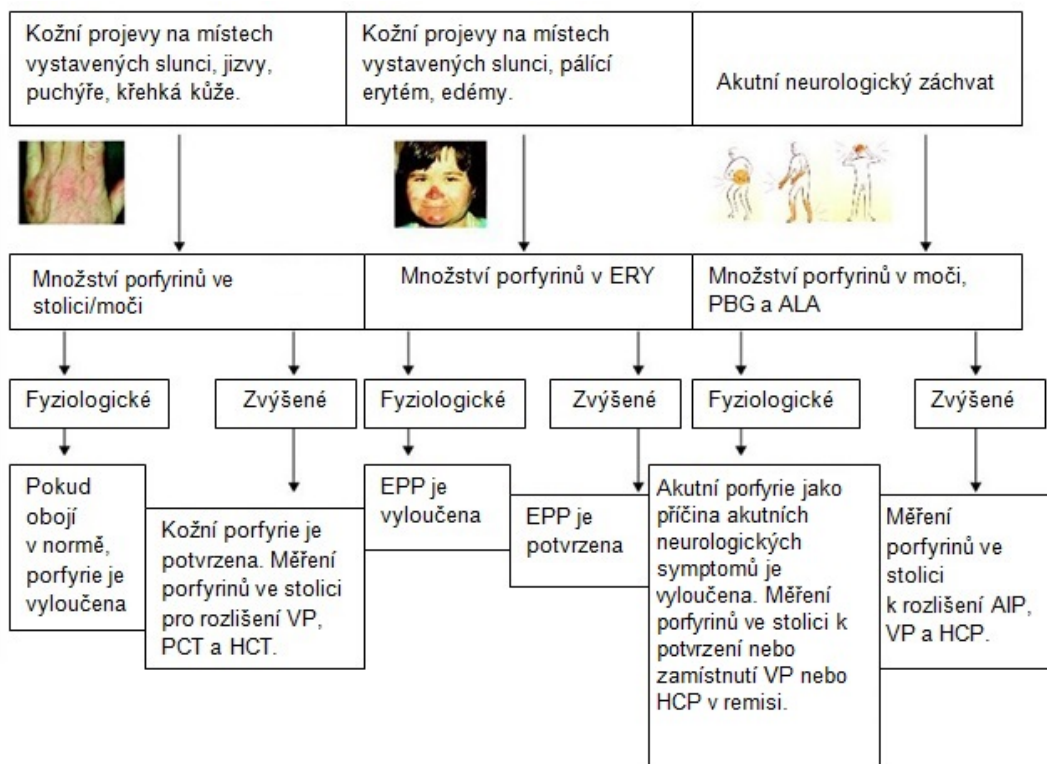
Tab. 1 – Dělení porfyrií (převzato z 15)

Akutní porfyrie			
<u>Neuroviscerální příznaky</u>			
<i>Název</i>	<i>Dědičnost</i>	<i>Porucha enzymu</i>	<i>Lokace</i>
AIP	Autozomálně Dominantní	Porfobilinogendeamináza	Játra
ADP	Autozomálně Recesivní	aminolevulátdehydratáza	?
<u>Neuroviscerální a/nebo kožní projevy</u>			
VP	Autozomálně Dominantní	Protoporfyrinogenoxidáza	Játra
HCT	Autozomálně Dominantní	Koproporfyrinogenoxidáza	Játra

Tab. 2 – Klinická klasifikace porfyrií (převzato z 15)

Neakutní porfyrie			
<u>Kožní příznaky</u>			
<i>Název</i>	<i>Dědičnost</i>	<i>Porucha enzymu</i>	<i>Lokace</i>
CEP	Autozomálně Recesivní	Uroporfyrinogen-III-syntáza	Erytroidní buňky
PCT	Autozomálně dominantní (sporadicky)	Uroporfyrinogendekarboxyláza	Játra
Toxická porfyrie	Získaná	Uroporfyrinogendekarboxyláza	Játra
HEP	Autozomálně dominantní	Uroporfyrinogendekarboxyláza	Játra a erytroidní buňky
Harderoporfyrie	Autozomálně recesivní	Koproporfyrinogenoxidáza	?
EPP	Autozomálně dominantní	Ferrochelátáza	Játra a erytroidní buňky

Podle převládajících symptomů a klinických projevů postupujeme v diagnostice porfyrií. Podle povahy projevů (př. kožní, neurologické) následuje laboratorní analýza a přesná diagnóza. Schéma postupu je uvedeno na obr. 5¹⁶.



Obr. 5 – Diagnostika porfyrií na základě převládajících klinických příznaků (převzato z 16)

3.1.1 Erytropoetické porfyrie

3.1.1.1 Kongenitální erytropoetická porfyrie

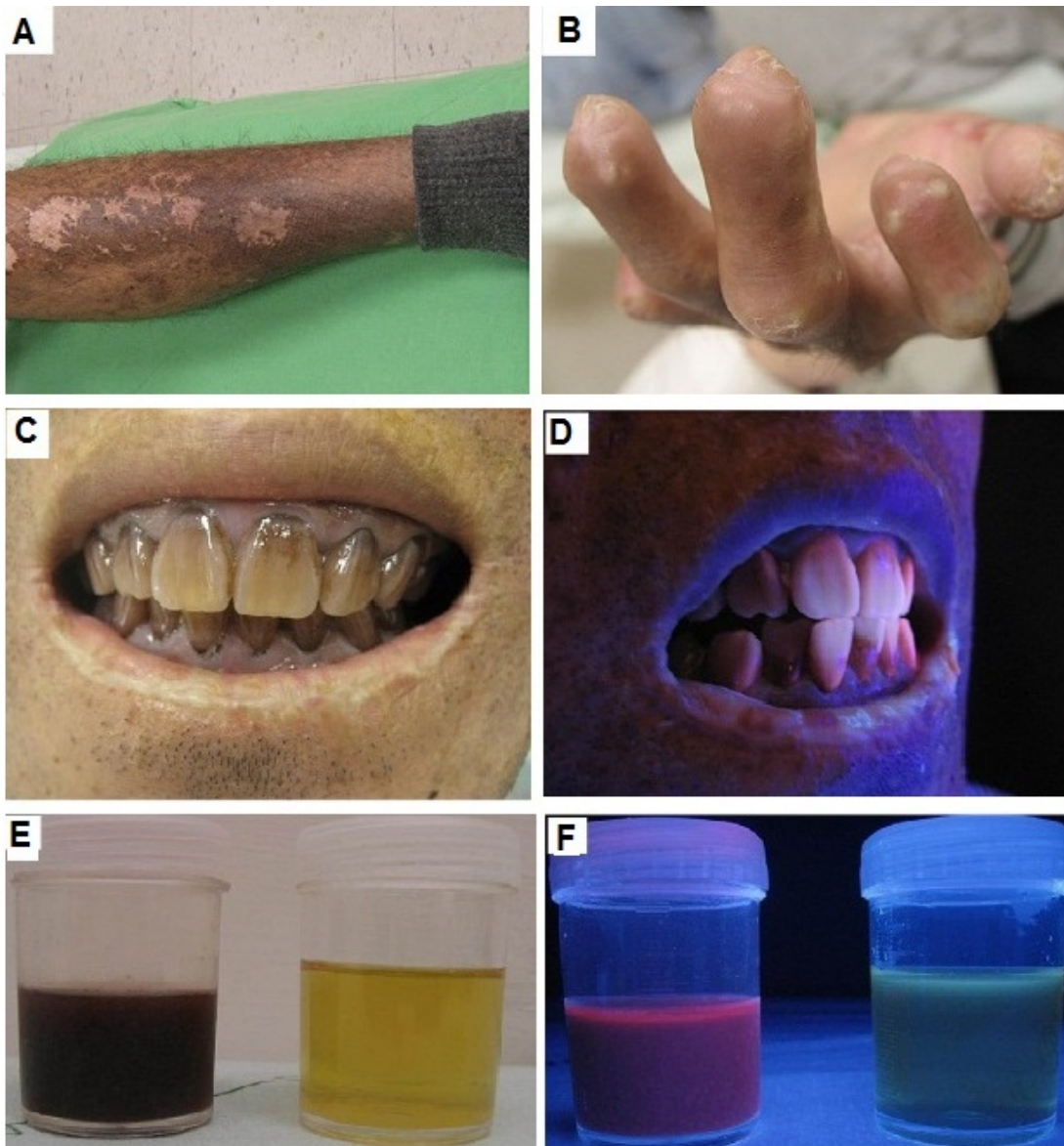
CEP je zvaná také Güntherova choroba. Tento vzácný typ porfyrie je autozomálně recesivní onemocnění způsobené nesprávnou funkcí enzymu uroporfyrinogen-III-syntázy (URO-III-syntáza). Pro CEP je charakteristická senzitivita kůže na světlo z viditelné části spektra již od kojeneckého věku. Často se objevuje také chronická hemolytická anémie, erytrodencie a tmavě fialová moč^{17,18}.

Byl popsán případ 28letého muže, který navštívil lékaře, kvůli popáleninám od slunce. Při vyšetření byly zjištěny mj. jizvy, depigmentace (obr. 6A) a také ztráta akrálních tkání, především zmrzačení prstů (obr. 6B). Pacient měl také hnědě zbarvené zuby (obr. 6C, D), ikterická skléra a tmavě fialovou moč (obr. 6E)¹⁸.

Již po porodu měl pacient určité problémy. Jeho kůže byla citlivá na slunce, snadno se opálil. Po prvním roce života se začala měnit barva jeho moči, přes červeno-purpurovou až na tmavě fialovou. V jeho rodině však nebyla porfyrie dosud diagnostikována, nebyla tedy provedena žádná další vyšetření¹⁸.

Když byl pacient na základní škole, začaly mu hnědnout zuby. Po dosažení puberty začal trpět hypertrichózou, hypo- a hyperpigmentací na nechráněných částech kůže. Na střední škole se u nemocného objevila také malátnost a množství hemoglobinu se pohybovalo mezi 8–11g/dl. Osm let před návštěvou lékaře došlo k poklesu až na 10-3,5 g/l. To mělo za následek slabost, časté bolesti hlavy a také zvětšení sleziny. Při návštěvě lékaře byla pacientovi odebrána moč a stolice, které byly následně analyzovány pomocí spektrofotometrie a vysoko účinné kapalinové chromatografie¹⁸.

V moči byla zjištěna vysoká hladina uroporfyrinizomeru I a koproporfyrinizomeru I, dále také zvýšená hladina hexa-, hepta- a pentakarboxylporfyriu. Ve stolici byla zjištěna vysoká hladina koproporfyrinu I s izomerem III (i když je téměř nezjistitelný) a zvýšená hladina uroporfyrinu I. Hladina pentakarboxylporfyriu izomeru III byla navíc mnohem vyšší než hladina izomeru I. Činnost URO-syntázy v erytrocytech byla mnohem nižší než referenční hodnoty. Vzhledem ke všem zjištěním bylo potvrzeno, že pacient trpí CEP. Jako řešení byla navržena transplantace, nemocný však s tímto zákrokem nesouhlasil. Jako jediné řešení bylo pacientovi doporučeno, vyhýbat se slunečnímu světlu¹⁸.



Obr. 6 - Příznaky kongenitální erythropoetické porfyrie. A – depigmentace, B - zmrzačení prstů, C – zahnědnutí zubů, D - zahnědnutí zubů pod ultrafialovým světlem, E – porovnání standartní moči (vpravo) a purpurové moči (vlevo), F a D - růžová fluorescence pod Woodsovým světlem¹⁸

Obecně je pro pacienty s CEP důležité omezit kontakt se světlem, péče o vzniklá kožní poranění, krevní transfúze a další hematologická opatření. V neposlední řadě je důležité snížení syntézy porfyriu v kostní dřeni hydroxyureou. U případů, kdy dojde ke zvětšení sleziny, se pak provádí splenektomie. K usnadnění vylučování porfyriu se podává aktivní uhlí. Jedná se tedy především o symptomatickou léčbu¹⁹.

Ani jedno z předešlých řešení se však nedá považovat za dlouhodobé. Jediným dlouhodobým řešením u těžkých případů je transplantace kostní dřeně (hematopoetických buněk)¹⁹.

3.1.2 Jaterní porfyrie

3.1.2.1 Porfyrie cutanea tarda

PCT je nejčastější forma porfyrie. Přibližně 60 % nemocných je mužského pohlaví a většině je okolo 40 let. Podstatou onemocnění je snížená aktivita enzymu uroporfyrinogendekarboxylázy (URO-D) v játrech¹⁴.

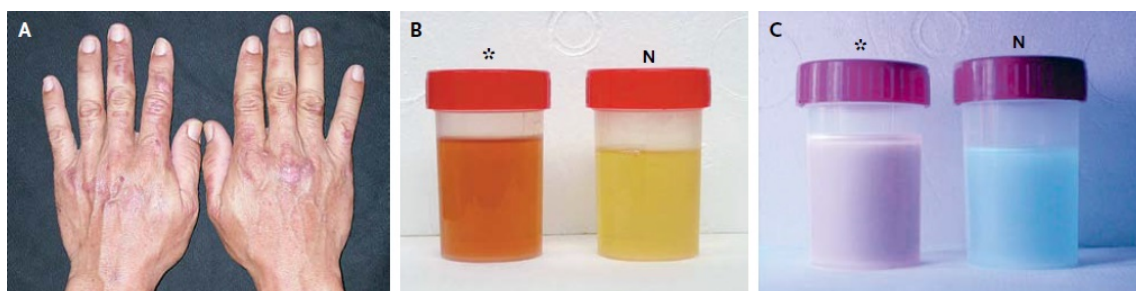
PCT lze rozdělit do několika forem. První forma neboli typ I je nazývána sporadická nebo získaná forma PCT. Výskyt typu I je většinový, pohybuje se kolem 80 %. Tato forma je způsobena nedostatkem enzymu URO-D v játrech a je klinicky téměř nerozlišitelná od druhé formy. Druhá forma neboli typ II je autozomálně dominantní forma PCT. Zde dochází ke snížení aktivity URO-D ve všech tkáních, včetně červených krvinek a fibroblastů. Ne každý pacient, u kterého se v rodině vyskytoval typ II, však musí nevyhnutelně trpět právě touto formou. Existuje ještě třetí forma neboli typ III, který má stejné klinické projevy, ale liší se normální činností URO-D v erytrocytech^{20,21}.

PCT vzniká, jak už bylo zmíněno, při defektu enzymu URO-D. Dochází tedy k následnému hromadění uroporfyrinu v játrech. Nahromaděný uroporfyrin cirkuluje v plazmě a je vylučován močí. Tento uroporfyrin je zodpovědný za fotosenzitivitu kůže u nemocných²⁰.

Mezi další symptomy PCT patří různé puchýře, milie a poškození kůže, může se projevit hyper- nebo hypopigmentace nebo hypertrichóza. Zřídka mohou být pozorovány také skleroidní změny nebo purpurově červené skvrny v centrální části obličeje²⁰.

Příkladem je 51letý muž. Jeho anamnéza zněla – těžký alkoholismus, hepatitida C a jaterní cirhóza a také periorbitální růst vlasů. Na kůži byly patrné jizvy v místech, která byla vystavována slunci. Byla popsána fotosenzitivita, bolestivé puchýře na šíji, hřbetech rukou (obr. 7A) a předloktích. Odebraná moč vykazovala růžovou fluorescenci pod Woodsovou lampou - přítomnost

uroporfyrinu (obr. 7C). Laboratorní analýza dokázala sníženou aktivitu enzymu URO-D, což potvrdilo diagnózu PCT. Běžným příznakem je hypertrichóza, která slouží pouze jako záchytný bod. Pacientovi byla naordinována léčba hydroxychlorochinem. Důležitá součást léčby byla abstinence a samozřejmě ochrana před slunečním světlem²².



Obr. 7 – Projevy porfyrie cutanea tarda. A – bolestivé puchýře na hřbetech rukou, B – vzorek pacientovi moči (s hvězdičkou) a standartní vzorek (N), C – vzorek pacientovi moči (s hvězdičkou) a standartní vzorek pod ultrafialovým světlem²²

Existují faktory, které urychlují postup PCT asi u 80 % nemocných. Mezi tyto faktory patří např. alkohol, estrogény, vir hepatitidy C nebo přebytek železa. Důležitá je ale také genetická predispozice, jen u velmi malé části lidí dojde k vyvinutí PCT pouze při styku s těmito faktory²³.

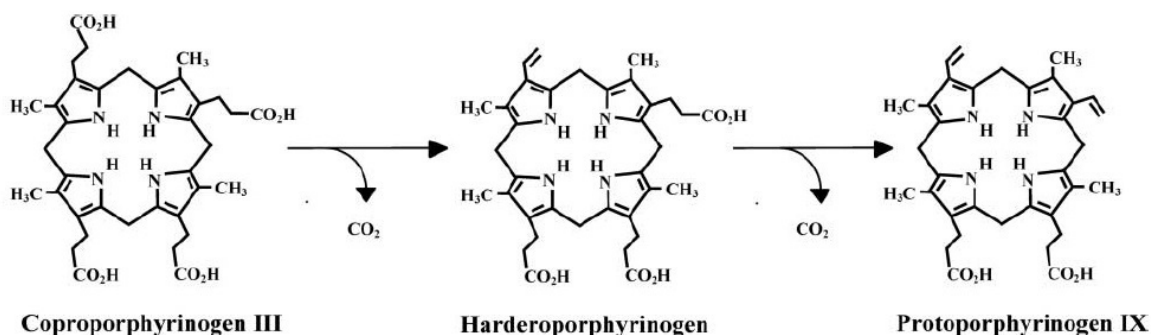
3.1.2.2 Hereditární koproporfyrie a harderoporfyrie

HCT je vzácné autozomálně dominantní onemocnění. Tímto druhem porfyrie trpí převážně ženy, což pravděpodobně souvisí s tím, že jsou častěji vystavovány rizikovým faktorům, jako jsou např. hormony (léčba příznaků menopauzy nebo užívání antikoncepce)²⁴.

HCT je spojena s poruchou koproporfyrinogenoxidázy (coproporphyrinogenoxidasa, CPOX), která je šestým enzymem biosyntézy hemu. Homozygotní nebo heterozygotní mutace genu pro CPOX jsou spojeny s harderoporfýrií, což je recesivní varianta HCP. Harderoporfyrie je ještě

vzácnější než HCP, příznaky (především kožní) se mohou objevovat již během raného dětství²⁴.

Biochemicky se harderoporfyrie i HCP vyznačují velkým nárůstem koproporfyriu (převážně typu III) v moči a ve stolici. Běžné je až dvěstěkrát vyšší vylučování. V průběhu akutního záchvatu dochází k velkému vzrůstu hodnot alaninu a porfobilinogenu. U harderoporfyrie můžeme zaznamenat vylučování harderoporfyriu (trikarboxylát porfyriu – obr. 8) ve stolici²⁴.



Obr. 8 – Dekarboxylace koproporfyriu III na harderoporfyriu a protoporfyriu za katalýzy koproporfyriuoxidaázy²⁵

Příkladem je čtyřměsíční turecký chlapec, který trpěl novorozeneckou žloutenkou a hemolytickou anemií. Narodil se v předpokládaném termínu zdravé matce (24 let) a s porodní hmotností 3600 g. Krátce po narození se u něj vyvinula hyperbilirubinémie, což vyžadovalo fototerapii. Trpěl ale těžkou kožní fotosenzitivitou, na fototerapii tedy jeho kůže reagovala tvorbou puchýřů. Galaktosémie, tyrosinémie byly (mimo jiné) vyloučeny jako možné příčiny hyperbilirubinémie, pacient byl tedy propuštěn. Puchýře a kožní léze se nakonec samy vyléčily, což vedlo k hypopigmentaci a zjizvení v postižených oblastech²⁶.

Po jeho návratu domů si rodiče povšimli červenohnědého zabarvení moči. Ve věku jednoho a půl měsíce se objevily příznaky ukazující na akutní ataku porfyrie, včetně zvýšení hodnot jaterních enzymů (aspartátaminotransferázy (AST), alaninaminotransferázy (ALT), gamma-

glutamyltranspeptidázy (GGT)). Dalšími příznaky byly dehydratace, metabolická acidóza a zvracení²⁶.

Po opětovném přijetí byla chlapci zjištěna hepatosplenomegalie. Bylo třeba mu dodávat transfúze erytrocytů, kvůli jeho hemolytické anémii. Coombsův test vyšel negativní a hemolytická anémie byla přiřazována jako sekundární projev porfyrie²⁶.

Studie v laboratoři prokázaly vysoké vylučování alaninu a porfobilinogenu. Nalezeny byly i vysoké hodnoty porfyrinů, převážně uroporfyrinu I a III a koproporfyrinu I a III. Analýza moči byla provedena i u asymptomatických rodičů a staršího bratra. Ukázala na zvýšenou hodnotu koproporfyrinu III. Tyto výsledky poukazovaly na homozygotní akutní porfyrii, což potvrdilo i genové vyšetření. Diagnóza zněla homozygotní HCT²⁶.

3.1.2.3 Porfyrie variegata

VP je autozomálně dominantní onemocnění²⁷, které vzniká díky deficitu enzymu protoporfyrinogenoxidázy, který katalyzuje předposlední, tedy 7. krok biosyntézy hemu. Vlastnosti této porfyrie byly poprvé popsány v roce 1937, ale jako samostatné onemocnění byla posouzena až v roce 1955 Deanem a Barnsem. Tito dva autoři uznali VP jako odlišné onemocnění, které je charakterizováno dvěma základními klinickými projevy – kožní fotosenzitivitou a predispozicí k akutním záchvatům. Při akutním záchvatu se objevuje silná bolest břicha a neuropatie, která může vést k ochrnutí a později i ke smrti. Průběh bývá urychlen např. působením léků, které indukují syntézu hemu²⁸.

Příkladem je žena (57 let). Její anamnéza zněla: VP, vysoký krevní tlak, selhání ledvin (hemodialýza), chronická obstrukční plicní nemoc, hluboké žilní tromby a bilaterální renální karcinom. Trpěla těžkou bolestí břicha. Popsala, že před hospitalizací zvracela (zvratky bez krve či žluči). Popírala horečky či zimnice, změny v činnosti střev nebo jakékoliv močové obtíže, sensorické nebo motorické symptomy. Již dříve podstoupila cholecystektomii a bilaterální parciální nefrektomii. Kouřila, ale popřela užívání drog či alkoholu. V rodině se již dříve vyskytla hypertenze, cukrovka, rakovina plic a onemocnění srdce²⁹.

Po hospitalizaci podstoupila fyzikální vyšetření, kdy byla zjištěna značná bolest břicha, hypertenze a krevní tlak 205/97 mm Hg. Teplotu měla v normě (36,6°C), stejně tak i tepovou frekvenci (70 tepů/min), respirační rychlost (16 dechů/min), saturace kyslíku byla také v pořádku. Na horních a dolních končetinách měla léze (obr. 9)²⁹.



Obr. 9 – Projevy porfyrie variegata - kožní léze na dolní končetině (nahore) a horní končetině (dole)²⁹

Byla provedena symptomatická léčba porfyrie, byl řízen krevní tlak, pacientka infuzně dostávala dextrózu, hydralazin a hydromorfon. Postupně docházelo ke zlepšení. Při další prohlídce byla provedena kontrola bolesti břicha a měla také konzultaci na hematologii. Byla jí podávána ještě navíc infuze glukózy. Podstoupila také hemodialýzu, kvůli onemocnění ledvin. Nebylo proto možné v moči dokázat zvýšené hladiny porfyrinů pro porfyrii charakteristické. Intravenózní léky byly vysazeny v průběhu následujících tří

dnů a byly nahrazeny běžnými léky na bolest. Léky, které měla pacientka doma, byly přezkoumány a bylo zjištěno, že nevlastní žádné, které by podněcovaly akutní ataku VP²⁹.

3.1.2.4 Akutní intermitentní porfyrie

AIP je autozomálně dominantní onemocnění, které je způsobeno defektem enzymu porfobilinogendeaminázy. Více postiženy bývají ženy s nástupem v období puberty. Nejčastějším projevem této porfyrie jsou silné bolesti břicha. Důležité je potvrdit diagnózu co nejdříve, abychom se vyvarovali nevhodné medikaci, která může zhoršit následný průběh onemocnění³⁰.

Jako příklad si vezmeme případ 23leté ženy, která byla hospitalizována se silnou bolestí břicha. Diagnostikován byl akutní zánět slepého střeva, následně tedy podstoupila operaci, kdy byl odstraněn zdravě vypadající apendix. Ještě téhož dne prodělala záchvat grand mal. Následující den byla pozorována slabost dolních a horních končetin, prodělala také zástavu dýchání. Byla přemístěna na jednotku intenzivní péče. Byl jí zaveden katetr, ve kterém lékaři pozorovali tmavou moč. Biochemickou analýzou moči bylo potvrzeno velké množství porfobilinogenu. Intravenózně dostávala hemarginát, ale bohužel po dvou dnech zemřela. V její rodinné anamnéze se nevyskytovala žádná forma akutní porfyrie. Bohužel u některých jedinců s defektem enzymů se neobjevují klinické příznaky³⁰.

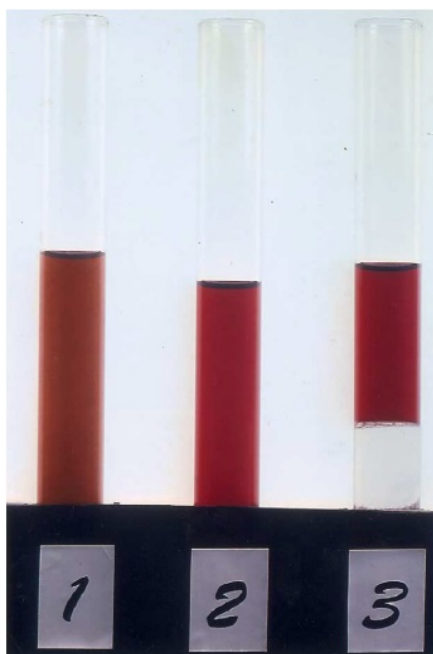
Porfyrické ataky se mohou projevit bolestí břicha, která se stává vážnou a může se ukázat až jako fatální. Při záchvatech totiž dochází k zapojení svalů dýchání, které mohou dokonce ochrnout. Doba trvání jednotlivých záchvatů se pohybuje od dnů až do několika týdnů³⁰.

Záchvaty bolesti břicha jsou základním symptomem. Mezi další příznaky může patřit bolest v zádech nebo horních a dolních končetinách, zácpa (méně často pak průjem), zvracení, svalové křeče, slabost, mravenčení nebo pálení kůže (parestezie), popř. i psychické symptomy³⁰.

K laboratornímu potvrzení diagnózy AIP je třeba vyšetření moči pacienta (odebraný vzorek by měl být chráněn před světlem), ve které by se měl

nadměrně vylučovat alanin a porfobilinogen. Průkaz porfobilinogenu v moči můžeme vidět na obr. 10. Do zkumavky napipetujeme stejný objem moči (zk. 1) a Ehrlichova činidla (zk. 2). Růžové zbarvení poukazuje na přebytek porfo- nebo urobilinogenu. Pro jejich rozlišení se používá chloroform (zk. 3), který v případě přítomnosti porfobilinogenu nemá růžové zbarvení (zk. 3)³⁰.

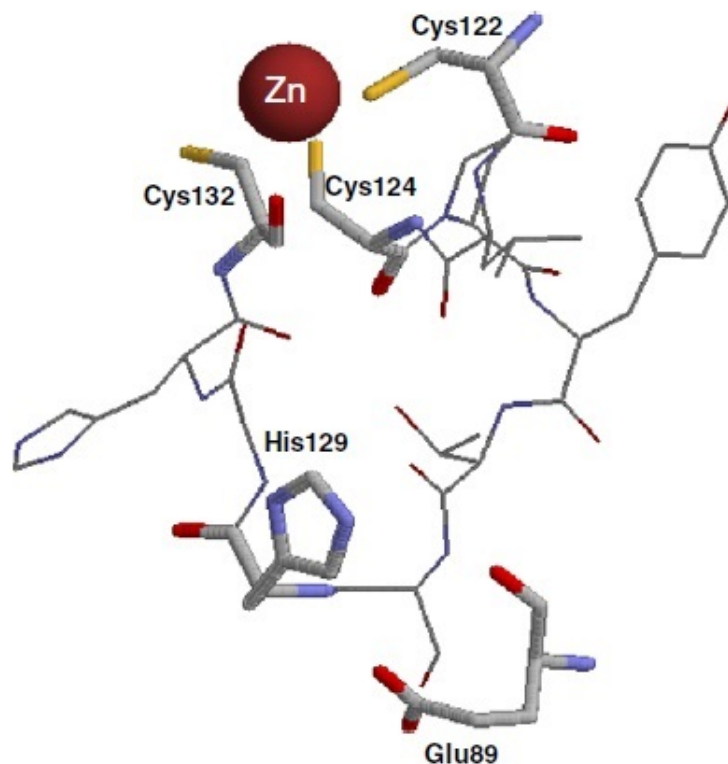
Hodnoty alaninu a porfobilinogenu jsou nejvyšší v době záchvatu, vysoké ale mohou zůstat i dále v období remise. Bývají zvýšeny asi u 1/3 latentních pacientů. Moč může také obsahovat větší množství uroporfyriu. Stolice může obsahovat zvýšené množství protoporfyriu a koproporfyriu³⁰.



Obr. 10 – Průkaz nadbytku porfobilinogenu v moči³⁰

3.1.2.5 Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy

ADP je vzácný recesivní druh porfyrie, který je způsoben deficitem enzymu porfobilinogensyntázy (porphobilinogensynthase, PBGS). PBGS je zvaná také δ -aminolevulinátdehydratáza (δ -aminolevulinatdehydratase, ALAD). Tento enzym (obr. 11) katalyzuje druhý krok biosyntézy hemu, tedy kondenzaci dvou molekul kyseliny 5-aminolevulové na porfobilinogen. Existují dva běžné druhy ALAD alel a osm známých mutací³¹.



Obr. 11 - Struktura enzymu δ -aminolevulinátdehydratázy³²

Jako příklad si vezmeme chlapce (14 let). Byl přijat s častými bolestmi břicha, někdy se objevila i slabost v ruce nebo v nohu. Příznaky se objevovaly již od jeho 12ti let. Od jeho poslední hospitalizace uběhlo půl roku a došlo ke zvýšení hodnot alaninu a koproporfyriu v moči. Byl léčen analgetiky a intravenózním podáváním glukózy. Postupně se jeho bolesti břicha začínaly zhoršovat, objevila se i nevolnost, zvracení, zácpa nebo anorexie, ne však svalová slabost. Jeho psychický i fyzický vývoj byl jinak normální. V rodině dříve nebyla diagnostikována porfyrie nebo podobné onemocnění. Jeho sestra zemřela na leukémii³².

Po důkladnějším vyšetření byla zjištěna horečka, hypertenze a tachykardie. Plíce, srdce, játra a slezina byly normální, stejně i síla ve svalech a hluboké šlachové reflexy. Levá polovina břicha byla přecitlivělá. Byl proveden rentgen břicha, který ukázal normální nález. I hodnoty bílých krvinek, elektrolytů v séru byly v normě, stejně i hodnoty amyláz a lipáz³².

Byla nasazena symptomatická léčba. Podával se mu roztok glukózy, morfinsulfát, prometazin, klystýr a projímadlo. Léčba nezabírala, proto byl

následně nasazen ještě hemin. V následujících dnech došlo ke zlepšení, mohl už i normálně přijímat potravu. Zmizela horečka, tachykardie i hypertenze. Pacient byl propuštěn. V následujícím roce prodělal ještě další dva záchvaty, které pokaždé odezněly po podání heminu³².

3.1.3 Ostatní porfyrie

3.1.3.1 Hepato-erythropoetická porfyrie

HEP je těžkou formou kožní porfyrie. Tato porfyrie je způsobená nedostatkem enzymu URO-D, stejně jako PCT. Od ní se však liší dědičností – HEP je autozomálně recesivní, zatímco PCT je autozomálně dominantní. Z biochemického hlediska se HEP vyznačuje zvýšeným vylučováním polykarboxylátových porfyrinů³³.

První symptomy, např. extrémní fotosenzivita, křehkost kůže, hypertrichóza, erytrodoncie nebo růžová moč, se objevují již v raném dětství³⁴.

Jako příklad si vezmeme sedmiletou dívku, dceru portorikánské matky a dominikánského otce. Na kůži se jí objevovaly puchýře, jizvy a odlupovaly se jí nehty na rukou. Tyto symptomy se začaly objevovat až po vystavení slunci. Neužívala žádné léky a nikdy předtím se u ní fotosenzitivita neprojevila. Dále trpěla také hyperpigmentací obličeje, rukou a předloktí, mírnou hypertrichózou obličeje a měla hnědě zbarvený chrup. Pacientka měla v anamnéze novorozeneckou trombocytopenii, chronickou hemolytickou anémii a červenohnědou moč. Její vývoj byl zpožděný (ne však růst), trpěla poruchou řeči a špatnou koordinací, která vedla k její špatné chůzi³⁴.

Dva ze čtyř sourozenců (11ti letý bratr a 10ti letá sestra) naší pacientky trpěli podobnými příznaky. Kožní příznaky všech dětí vidíme na obr. 12.



Obr. 12 – Kožní nálezy u sourozenců s hepato-erythropoetickou porfyrií. Naše pacientka (A, E, G), její 10ti letá sestra (B, C, F) a její 11ti letý bratr (D). Hyperpigmentace a hypertrichóza obličeje (A-D), hyperpigmentace rukou (E-F), hypopigmentace – jizvy (A, E, F)³⁴

Biochemické vyšetření potvrdilo u postižených sourozenců diagnózu HEP. Hladina porfyrinů v moči byla výrazně zvýšena (především uroporfyrin I a III a také heptakarboxylové porfyriny). Vyšetření prokázalo také výrazně sníženou aktivitu UROD³⁴.

3.1.3.2. Erytropoetická protoporfyrie

EPP je autozomálně dominantní dědičná porucha syntézy hemu, která je zapříčiněna deficitem enzymu ferrochelátázy (FECH). Tento enzym katalyzuje vazbu dvojmocného železa Fe^{2+} do tetrapyrrolového řetězce^{12,15,35}.

U pacientů dochází k hromadění volného protoporphyrinu. Ten se může hromadit v kůži a způsobovat vysokou fotosenzitivitu kůže pacienta již od raného dětství. U méně než 5 % pacientů dochází k hromadění protoporphyrinu v játrech. Poté dochází k poškození a následnému selhání jater. Někdy se může objevovat i mírná anémie s hyperchromií a mikrocytózou (obr. 13)³⁶.



Obr. 13 – Zápěstí chlapce (10 let) s akutní fotosenzitivní reakcí. Můžeme vidět neostře ohraničený erytém a edém²³

Jako příklad si vezmeme šestiletého chlapce bílé pleti, který přišel kvůli zarudnutí tváře a rukou a kvůli přetrvávající žloutence. Tyto problémy se již u něho objevily i dříve. Vyšetření ukázalo erytém a edém na rukách a obličeji (obr. 14). Chlapec si stěžoval na pálení, svědění a brnění v těchto oblastech. Měl zažloutlá bělma, jeho kůže měla olivovou barvu a také trpěl hirsutismem. Játra a slinivka byly zvětšené. Bolest a edém po třech dnech začínaly ustupovat. Během následujících 4 měsíců prodělal několik záchvatů. Záchvaty se objevily vždy po jeho vystavení na slunci. Postupně se stával více anemickým, trombopenickým a také leukopenickým. Měl také zvýšený počet retikulocytů a zvýšené množství fekálního urobilinogenu. Jeho bílé a červené krvinky byly téměř zdravé, objevovala se polychromatofilie³⁷.

Chlapci byla provedena také biochemická vyšetření. Nejdříve byla vyšetřena moč, která měla hnědočervené zbarvení. Obsahovala zvýšené množství koproporfyriu. Nebyl přítomen žádný protoporfyriu a vylučování porfobilinogenu, uroporfyriu a kyseliny 5-aminolevulinové bylo fyziologické. Dále byla vyšetřena stolice, která obsahovala zvýšené množství protoporfyriu³⁷.

Pacient podstoupil splenektomii a poté byl bedlivě pozorován. Množství porfyriu v moči a stolici se vrátilo do normálu. Neobjevily se žádné další záchvaty, pokud chlapec nebyl dlouho vystaven slunečnímu světlu³⁷.



Obr. 14 – Chlapec s projevy erythropoetické protoporfyrie³⁷

4 KATABOLISMUS HEMU

Hem je součástí hemoglobinu, který je obsažen v erytrocytech. Tyto erytrocyty průběžně během našeho života podléhají hemolýze neboli procesu rozpadu. Životnost červených krvinek je 120 dní. Po jejich rozpadu dojde k tomu, že uvolněný hemoglobin je rozdělen na proteinovou část globin, železo, které se pak dále využívá, a hem. Volný hem (železo + porfyrinový kruh) je dále oxidován mikrozomálním enzymem hemoxygenázou (hemoxygenase, HO) (systém složený z HO, NADPH-cytochrom P450 reduktázy) na zeleně zbarvený biliverdin^{38,39,40}.

Hemoxygenáza je první enzym katabolismu hemu, který katalyzuje přeměnu hemu na biliverdin, oxid uhelnatý a železo. Existují dvě izoformy. Schmid a jeho kolegové poukázali v roce 1968 na aktivitu HO v játrech, ledvinách, slezině a kostní dřeni u potkanů. Tím bylo dokázáno, že mikrozomální HO hraje klíčovou roli v katabolismu hemu zvířat³⁹.

HO je jednoduchý protein, který neobsahuje žádné prostetické skupiny, které jsou nepostradatelné pro aktivaci kyslíku. Aktivace kyslíku se tedy provádí pomocí substrátu hemu a dvou meziproductů – verdohemu a mezo-hydroxyhemu. HO poté váže daný substrát na hem a tvoří se komplex hem-enzym. Takto vzniklý komplex se chová jako protein, jehož spektrofotometrické vlastnosti se podobají vlastnostem myoglobinu³⁹.

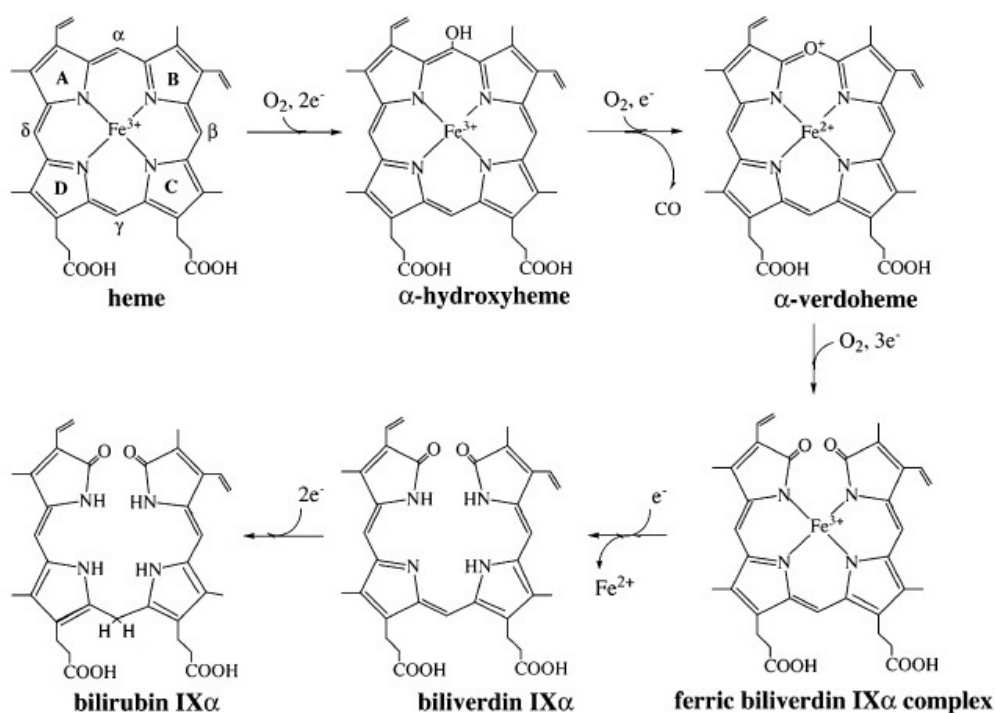
Reakce HO začíná s železítými komplexy hem-hemoxygenáza a hem-železo. Dojde k redukci Fe^{3+} na Fe^{2+} díky elektronu, který pochází z NADPH-cytochrom P450 reduktázy. Další kyslík se váže s komplexem za vzniku metastabilní oxidované formy. Železo s navázaným kyslíkem přijme další elektron z reduktázy a jeden proton z vody a vznikne peroxid vodíku jako meziproduct ($\text{Fe}^{3+}\text{-OOH}$). Nakonec terminální kyslík tohoto komplexu $\text{Fe}^{3+}\text{-OOH}$ napadá α -mezouhlík porfyrinového kruhu a vytváří železité α -mezo-hydroxyhem³⁹.

Železité α -mezo-hydroxyhem (v komplexu s HO) reaguje s molekulárním kyslíkem za vzniku železitého verdohem-hemoxygenáza komplexu a oxidu uhelnatého. Různé zdroje uvádějí různé reakční mechanismy. Ve všech

mechanismech ale platí, že kyslík reaguje přímo s porfyrinem a ne se železitou částí³⁹.

Degradace verdohemu na železitý biliverdin zatím není úplně prozkoumaná. Víme, že konverze verdohemu na železitý biliverdin-chelát vyžaduje přítomnost kyslíku a různých redukčních ekvivalentů. I když nejsou žádné důkazy o přítomnosti komplexu verdohem-hemoxygenáza, předpokládáme, že se na železo železného verdohemu váže molekula kyslíku a komplex je pak aktivován podobně jako v předchozím kroku. Tento předpoklad je podporován tím, že verdohem IX α je přeměněn na biliverdin IX α , ostatní izomery verdohemu ale přeměněny nejsou³⁹.

Dále pak je komplex kyslík-verdohem-hemoxygenáza přeměněn na železitý komplex železo-biliverdin-chelát. Meziproduktem této reakce je peroxid vodíku, který je navázán na bílkoviny HO. Pro dokončení reakce, dojde ke snížení mocenství Fe³⁺ na Fe²⁺ pomocí reduktázy a vzniká tak železnatý biliverdin. Tyto reakce jsou znázorněny na obr. 15³⁹.

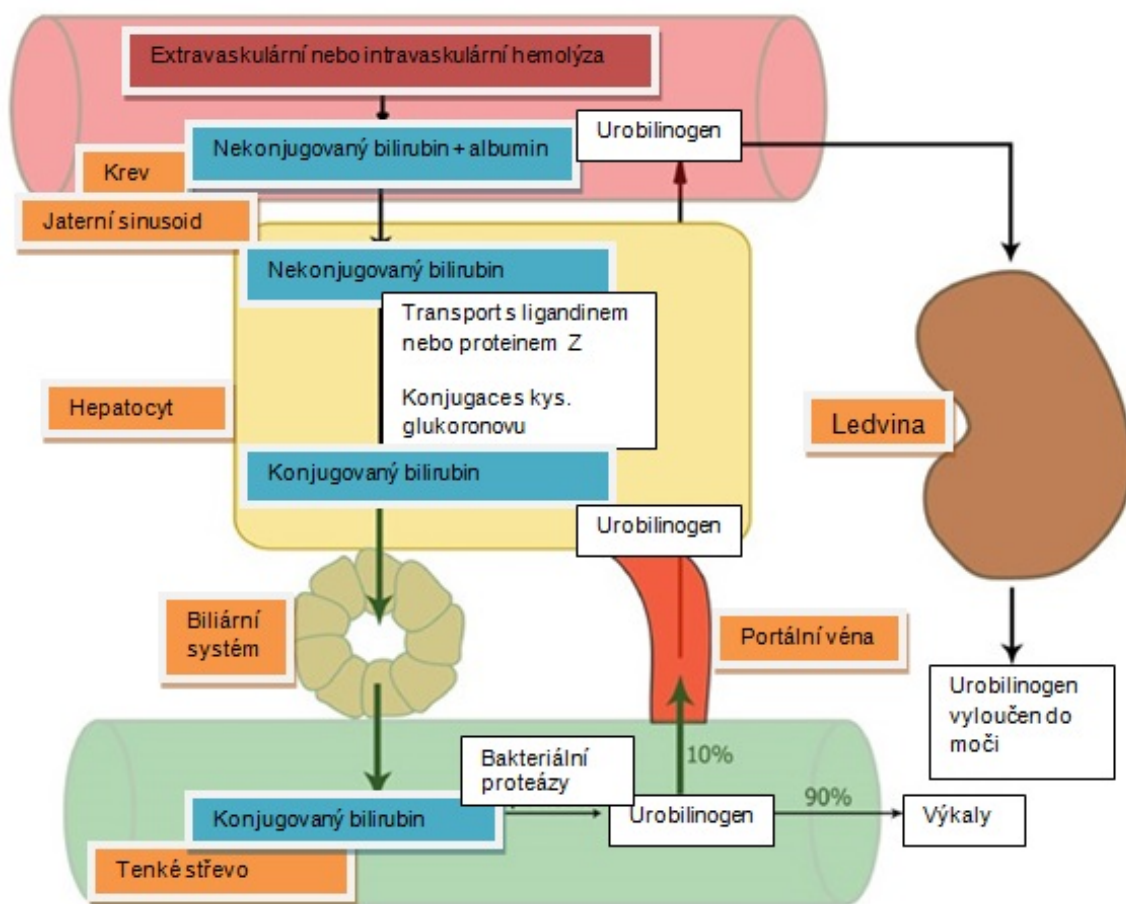


Obr. 15 – Degradace hemu. Přeměna hemu na biliverdin IX α je katalyzována enzymem hemoxygenázou. Přeměna biliverdinu IX α na bilirubin IX α je katalyzována biliverdinreduktázou. Písmena A, B, C a D představují pyrrolová jádra (převzato z 39)

Biliverdin vzniklý oxidací volného hemu je dále degradován za katalýzy enzymem biliverdinreduktázou na žlutý nekonjugovaný bilirubin. Tyto procesy probíhají v retikuloendoteliárních buňkách sleziny, kostní dřeně a jater. Hemoxygenáza se vyskytuje také v jaterním a renálním parenchymu, takže umožňuje těmto tkáním přeměnu hemu na žlutý bilirubin. Železo je z hemu uvolněno a poté uloženo ve formě feritinu nebo dále putuje do plazmy, kde se váže na transportní protein zvaný transferin^{38, 40}.

Nekonjugovaný bilirubin je dále transportován do jater, kde probíhá esterifikace s kyselinou glukoronovou a bilirubin se tak stává lépe rozpustným. Tento konjugovaný bilirubin je poté vylučován do žluči³⁸.

Žluč prochází skrze žlučník do střeva, kde dochází k další přeměně bilirubinu na sterkobilin, který je vylučován do stolice, a urobilinogen, který je vstřebáván zpět do jater. Urobilinogen je potom buď znovu vylučován do žluči, nebo je transportován do krve a do ledvin, kde se potom stává složkou moči a je vyloučen z organismu³⁸. Tato cesta bilirubinu organismem je znázorněna na obr. 16⁴⁰.



Obr. 16 – Cesta bilirubinu organismem (převzato z 40)

5 ZÁVĚR

V této práci jsem se zabývala metabolismem porfyrinů, především pak popisem jednotlivých kroků syntézy hemu a jeho degradace. Dále jsem se snažila vytvořit přehled druhů porfyrií, jak jaterních tak erythropoetických. Objasnila jsem, jak porucha vzniká, její hlavní symptomy, průběh a v některých případech i léčbu.

Na závěr jsem se pokusila ukázat jednotlivé symptomy a klinické příznaky na reálných příkladech.

6 SEZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH CITACÍ

- 1 Lamoen D., Parrinello M., Geometry and electronic structure of porphyrins and porphyrazines, *Chemical Physics Letters* (1996), 248, 309-315.
- 2 <http://lekarske.slovniky.cz/pojem/porfyriny> [cit. 2013-03-20].
- 3 Cox A. M., Porphyria and vampirism: another myth in the making, *Postgraduate Medical Journal* (1995), 71(841), 643–644.
- 4 Murray R. K., Bender A. D., Botham M. K., Kennelly P. J., Rodwell W. V., Weil A. P., *Harper's illustrated biochemistry*, 28th edition, The McGraw-Hill Companies, Inc. (2009), 271- 272., ISBN 978-0-07-162591-7.
- 5 <http://www.photobiology.info/Berg.html> [cit. 2013-03-20].
- 6 Chen M., Chlorophyll Modification and Its Spectral Extension in Oxygenic Photosynthesis, *Annual Review of Biochemistry* (2013), 82.
- 7 <http://www.pines.net/cgbook/chapter3.html> [cit. 2013-05-2013].
- 8 Thunell S., Porphyrins, porfyrin metabolism and porphyrias. I. Update, *Scandinavian Journal&Laboratory Investigation* (2000), 60, 509-540.
- 9 Oliveira M. F., Silva R. J., Dansa-Petretski M., de Souza W., Lins U., Braga C. M. S., Masuda H., Oliviera L. P., Haem detoxification by an insect, *Nature* (1999), 400, 517-518.
- 10 <http://www.biology.estranky.cz/clanky/vzorce-sloucenin/pismeno-h.html> [cit. 2013-03-20].
- 11 <http://projektalfa.ic.cz/hemoglobin.htm> [cit. 2013-03-20].
- 12 Gordon N., The acute porphyrias, *Brain&Development* (1999), 21, 373–377.
- 13 Koolman J., Roehm K. H., *Color Atlas of Biochemistry*, 2.Edition, Thieme Stuttgart-New York (2005), 192, ISBN 3131003723.
- 14 Puy H., Gouya L., Deybach J. Ch., Porphyrias, *Lancet* (2010), 375,924–37.

- 15 Hindmarsh J. T., The porphyrias, appropriate test selection, *Clinica Chimica Acta*, 333 (2003), 203–207.
- 16 <http://www.jle.com/e-docs/00/04/18/FB/article.phtml?fichier=images.htm>
[cit. 2013-05-03].
- 17 Katugampola R. P., Badminton M. N., Finlay A. Y., Whatley S., Woolf J., Mason N., Deybach J. C., Puy H., Ged C., de Verneuil H., Hanneken S., Minder E., Schneider-Yin X., Anstey A. V., Congenital erythropoietic porphyria: a single-observer clinical study of 29 cases, *British Journal of Dermatology* (2012), 167, 901–913.
- 18 Lee W-H., Tai W-Ch., Wu P-Y., Case report: Congenital erythropoietic porphyria, *Dermatologica Sinica* (2012), 30, 62-65.
- 19 Darwich E., Herrero C., New Developments in Erythropoietic Porphyrias, *Actas Dermo-Sifiliográficas* (2011), 104(3), 212-219.
- 20 Frank J., Poblete-Gutiérrez P., Porphyria cutanea tarda – When skin meets liver, *Best Practice&Research Clinical Gastroenterology* (2010), 24, 735–745.
- 21 Fritsch C., von Schmiedeberg S., Lehmann P., Porphyria cutanea tarda, *Der Hautarzt* (1998), 49, 870-882.
- 22 Chan Ch., Lin S., Porphyria Cutanea Tarda, *The new England journal of medicine* (2011), 365;12, 1128.
- 23 Bleasel N. R., Varigos A. G., Continuing medical education review, Porphyria cutanea tarda, *Australasian Journal of Dermatology* (2000), 41, 197–208.
- 24 Siegesmund M., van Tuyl van Serooskerken A-M., Poblete-Gutiérrez P., Frank J., The acute hepatic porphyrias: Current status and future challenges, *Best Practice&Research Clinical Gastroenterology* (2010), 24, 593-605.

- 25 Schmitt C., Laurent G., Malonova E, Lamoril J.,Camadro J-M., Flamme M., Rose Ch., Lyoumi S., Da Silva V., Boileau C., Grandchamp B., Beaumont C., Deybach J-N., Puy H., Mutations in human CPO gene predict clinical expression of ether hepatic hereditary coproporphyrin or erythropoietic harderoporphyria, *Human Molecular Genetics* (2005), 14, 3089–3098.
- 26 Hasanoglu A., Balwani M, KasapkaraÇ. S., Ezgü F. S., Okur I., Tümer L., Çakmak A., Nazarenko I., Yu C., Clavero S., Bishop D. F., Desnick R. J., Harderoporphyria due to homozygosity for coproporphyrinogenoxidase missense mutation H327R, *Journal of Inherited Metabolic Disorders* (2011), 34(1), 225-231.
- 27 Badminton N. M., Retracing an old journey in variegata porphyria, *British Journal of Dermatology* (2012),166, 237–239.
- 28 Hift R. J., Meissner D., Meissner P. N., A systematic study of the clinical and biochemical expression of variegata porphyria in a large South African family, *British Journal of Dermatology* (2004), 151, 465–471.
- 29 Chen C. B., Griffey T. R., A case report of porphyria variegata management in the emergency department, *The Journal of Emergency Medicine* (2012), 43, 235-238.
- 30 Herrick A. L., McColl E. L. K., Acute intermittent porphyria, *Best Practice&Research Clinical Gastroenterology* (2005), 19 (2), 235–249.
- 31 Jaffe E. K., Stith L., ALAD Porphyria Is a Conformational Disease, *The American Journal of Human Genetics* (2007), 80, 329-337.
- 32 Akagi R., Kato N., Inoue R., Anderson K. E., Jaffe E. K., Sassa S., δ-Aminolevulinatodehydratase (ALAD) porphyria: The first case in North America with two novel ALAD mutations, *Molecular Genetics and Metabolism* (2006), 87, 329–336.
- 33 Ged C., Ozalla D., Herrero C., Lecha M., Mendez M., de Verneuil H., Mascaró M., Description of a New Mutation in Hepatoerythropoetic Porphyria and Prenatal Exclusion of a Homozygot Fetus, *Archives of Dermatology* (2002), 138, 957-960.

- 34 Cantatore-Francis L. J., Cohen-Pfeffer J., Balwani M., Kahn P., Lazarus M. H., Desnick J. R., Schaffer V. J., Hepatoerythropoetic Porphyria Misdiagnosed as Child Abuse; Cutaneous, Arthritic, and Hematologic Manifestations in Siblings With a Novel UROD Mutation, *Arch.Dermatol.* (2010), 146 (5), 529–533.
- 35 Gouya L., Martin-Schmitt C., Robreau A-M., Austerlitz F., Da Silva V. Brun P., Simonin S., Lyoumi S., Grandchamp B., Beaumont C., Puy H., Deybach J-Ch., Contribution of a Common Single-Nucleotide Polymorphism to the Genetic Predisposition for Erythropoietic Protoporphyrinemia, *The American Journal of Human Genetics* (2006), 78, 2–14.
- 36 Gouya L., Puy H., Lamoril J., Da Silva V., Grandchamp B., Nordmann Y., Deybach J-Ch., Inheritance in Erythropoietic Protoporphyrinemia: A Common Wild-Type Ferrochelatase Allelic Variant With Low Expression Accounts for Clinical Manifestation, *Blood* (1999), 93,2105-2110.
- 37 Porter F. S., Lowe A. B., Congenital Erythropoietic Protoporphyrinemia : I. Case Reports, Clinical Studies and Porphyrin Analyses in Two Brothers, *Blood* (1963), 22, 521-531.
- 38 <http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/634bilirubin.html>
[cit. 2013-05-13].
- 39 Kikuchi G., Yoshida T., Noguchi M., Heme oxygenase and heme degradation, *Biochemical and Biophysical Research Communications* (2005) 338, 558–567.
- 40 <http://ahdc.vet.cornell.edu/clinpath/modules/chem/tbili.htm>
[cit. 2013-05-13].