

Обмяна на порфирины

Цели

Цели на преподавателя: да се разгледа значението, структурата и обмяната на порфирините и да се дадат примери за приложение на тези познания в клиничната практика.

След работа с този раздел студентите ще могат да постигнат следните учебни цели:

А. Знания

1. Да дадат определение на порфирините като клас съединения и дадат примери за значението на конкретни представители;
2. Да представят с формули уро-, копро- и протопорфириногените, и съответните уро-, копро- и протопорфирины;
3. Да представят с формули синтезата на хем и да посочат локализацията на отделните реакции в клетката;
4. Да изброят етапите, през които минава разграждането на хема;
5. Да представят с формули превръщането на хемобилирубин в холебилирубин;
6. Да опишат превръщанията на билирубин в червата;

Б. Разбирания

1. Да обяснят разликата между порфириногени и порфирины;
2. Да обяснят необходимостта от превръщането на хемобилирубин в холебилирубин и разликата в химическата им структура;
3. Да обяснят ролята на глюкуронил трансферазната система за разграждане на хема;
4. Да илюстрират ентеро-хепаталния кръговрат на жлъчните багрила и обяснят неговото значение;

В. Умения

1. Да приложат познанията си върху обмяна на порфирины, за да:
 - а) представят механизма на възникване на различни порфирии;
 - б) обяснят възможността екзогенни порфирины да се използват за диагностика и лечение на някои видове рак;
2. Да приложат познанията си върху жлъчни багрила за разграничаване на различните типове жълтеници.

11.1. Резюме

Порфирините са циклични съединения, образувани от свързването на четири пиролови пръстена чрез метенилови групи. Те са кофактори или простетични групи на важни белтъци като хемоглобин, миоглобин, цитохроми, каталаза и др. Хемът на хемоглобин

е Fe-порфирин, хлорофилът (фотосинтетичният пигмент на растенията) е Mg-съдържащ порфирин.

Познанията ни върху биосинтезата на порфирините са важни за разбиране на заболявания като порфирии. Познанията ни върху разграждането им позволява да се разберат различните жълтеници, наблюдавани при хемолитични анемии, вирусен хепатит, камъни или тумори в жлъчните пътища.

Хемната биосинтеза се извършва в повечето тъкани с участие на осем ензими от митохондриите и цитоплазмата: α -аминолевулинат синтаза (АЛА синтаза), АЛА дехидратаза, уропорфириноген I синтаза, уропорфириноген III синтаза, уропорфириноген декарбоксилаза, копропорфириноген оксидаза, протопорфириноген оксидаза и ферохелатаза (хем синтаза). Изходни метаболити са сукцинил-КоА и глицин. Необходими са 8 мола сукцинил КоА и 8 мола глицин. В митохондриите под действие на ензима α -аминолевулинат синтазата (АЛА-синтаза) сукцинил КоА (метаболит от цитратния цикъл) и аминокиселината глицин се кондензират до α -амино- β -кето адипинат, който под действие на същия ензим се декарбоксилира до α -аминолевулинат (АЛА). Ала-синтазата е скорост-определящият ензим в синтезата на хема в черен дроб на бозайници.

Хемът от всички хем-съдържащи белтъци се разгражда под действието на субстрат-индуцируема комплексна ензимна система, наречена хем-оксигеназа в ендоплазмения ретикулум. С участието на кислород и НАДФ.Н от порфириновия пръстен се отделя желязо, което се използва отново. Порфириновият пръстен се разкъсва окислително - получава се първото жлъчно багрило биливердин. Биливердинът се редуцира от биливердин редуктаза с участието на НАДФ.Н до билирубин (жълт цвят). Полученият в клетките на РЕС билирубин се нарича хемобилирубин (кръвен билирубин или индиректен билирубин). Той е хидрофобен, с ниска разтворимост във вода.

По кръвен път, свързан нековалентно с албумин, хемобилирубинът се транспортира до черния дроб, където под действие на глюкуронил-трансфераза се превръща във водно разтворимия билирубин диглюкуронид (хлеббилирубин, конюгиран, свързан, жлъчен билирубин или директен билирубин). Последният се секретира в жлъчката, а под действие на бактериални редуктази в червата се превръща в уробилиноген и стеркобилиноген и техни окислени продукти (уробилин и стеркобилин). Те придават нормалния цвят на изпражненията и се изхвърлят заедно с тях. Потъмняването на изпражненията при престояване на въздух се дължи на окислението на остатъчни уробилиногени в уробилини. Част от уробилиногенът по кръвен път попада в бъбреците и се изхвърля в урината.

Част от уробилиногените, образувани в тънките черва, се реабсорбират и постъпват в черния дроб. Там част от тях се разграждат до дипироли, а друга част се реекретират от него отново. Това движение на жлъчните багрила е известно като ентеро-хепатален кръговрат на жлъчните багрила.

Дадени са примери за приложение на познанията върху обмяна на порфирии в клиничната практика.

С изключение на АЛА синтаза, дефекти във всеки от останалите ензими, необходими за синтеза на порфирины, може да доведе до различни видове наследствени порфирии. Няма описани случаи на индивиди с намалена активност на АЛА синтаза поради увреждане на гена. Но синтезата ѝ може да бъде репресирана или индуцирана. Разгледан е интересен клиничен случай с остра интермитентна порфирурия. Порфирините се използват и в ново направление - за диагностика и лечение на някои видове рак (комбинираното третиране с порфирины и лазерно облъчване убива раковите клетки).

Когато общият билирубин е над 1 mg/dL (17.1 μ mol/L), възниква състояние на хипербилирубинемия. Причините за това могат да бъдат различни:

1) образуване на повече хемобилирубин (например при усилено разграждане на

еритроцити), отколкото здравият черен дроб може да преобразува в билирубин диглюкуронид (холебилирубин);

2) невъзможност на увредения черен дроб да превърне нормални количества хемобилирубин в билирубин диглюкуронид (холебилирубин);

3) запушване на жлъчните пътища.

Във всички тези случаи билирубинът се натрупва в кръвта и при концентрации около и над 2-2.5 mg/dL навлиза в тъканите, които стават жълти. Това състояние се означава като жълтеница (иктерус). Съответно, в зависимост от причината жълтеницата може да е хемолитична, паренхимна или застойна.

Измерването на плазмените концентрации на билирубин в серума, на уробилиноген и билирубин в урина и стеркобилиноген в изпражненията дава ценна информация за диагностика на различните жълтеници. Разгледан е случай с хемолиза, предизвикана от Rh-несъвместимост.

11.2. Биомедицинско значение

а) в норма

Порфирините са простетични групи или коензими на важни хемопротеини, както личи от табл. 11-1.

Табл. 11-1. Примери за важни белтъци, съдържащи порфирины.

| Белтък | Функция |
|--|---|
| хемоглобин | транспорт на O ₂ , CO ₂ и протони в кръвта, буферни функции |
| миоглобин | съхраняване на кислород в мускулите |
| цитохроми <i>b</i> , <i>c</i> ₁ , <i>c</i> , <i>aa</i> ₃ | участници в дихателната верига в митохондриите |
| цитохром P450 | участник в електронно-преносителна верига в ендоплазмения ретикулум за хидроксилране |
| цитохром <i>b</i> ₅ | участник в електронно-преносителна верига в ендоплазмения ретикулум за десатурация на мастни киселини |
| каталаза | разграждане на водороден пероксид |
| триптофан пиролаза | разграждаве на триптофан |

б) в патология

Познанията ни върху биосинтезата на порфирините са важни за разбиране на заболявания като порфирии, които макар и по-редки, трябва да се имат предвид от дерматолози, хепатолози и психиатри.

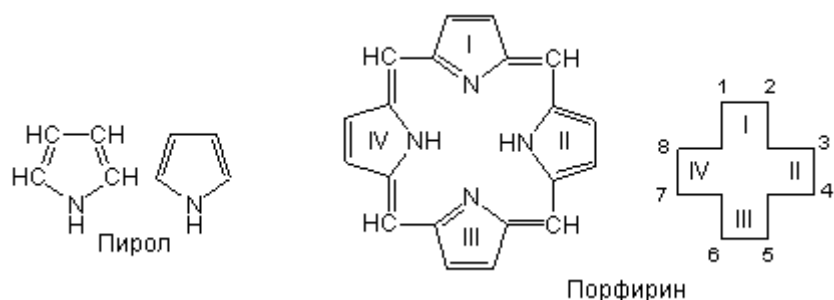
Познанията ни върху разграждането на порфирины са важни за разбиране на много по-

често срещаните жълтеници, наблюдавани при различни болести като хемолитични анемии, вирусен хепатит, камъни или тумори в жлъчните пътища.

Напоследък порфирините се използват и в ново направление - за диагностика и лечение на някои видове рак (комбинираното третиране с порфирини и лазерно облъчване убива раковите клетки) - виж т. 11.1.8.3.

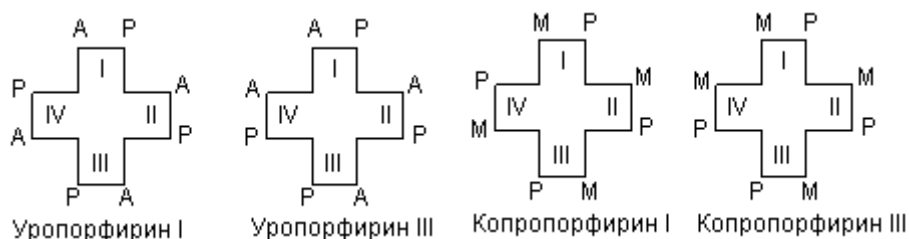
11.3. Определение и структура

Порфирините са циклични съединения, образувани от свързването на четири пиролови пръстена чрез метенилови групи (виж фиг. 11-1):



Фиг. 11-1. Използвани формули за пирол и порфирин.

Водородните атоми в позиции от 1 до 8 в порфирина могат да бъдат заместени с различни заместители (фиг. 2.). При два различни заместителя теоретично са възможни няколко изомери, но в природата се срещат само два типа - от I и III тип. Тип III е много по-разпространен и важен, защото към него спада и хемът на хемоглобин (Hb).



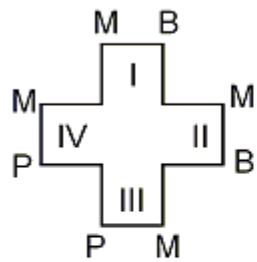
Фиг. 11-2. Биологично важни порфирини: уропорфирин тип I и III и копропорфирин тип I и III.

A = ацетатен остатък ($-\text{CH}_2\text{-COOH}$), P = пропионатен остатък ($-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$); M = метилова група ($-\text{CH}_3$)

При тип I подреждането на двата заместителя е симетрично (двата заместителя се редуват). При тип III подреждането на двата заместителя е асиметрично - виж позиции 7 и 8 - двата заместителя са разменили местата си спрямо тип I. Протопорфирин III (IX) и получаващият се от него хем (фиг. 11-3) са тип III порфирини. В тях има три заместителя, както следва: в позиция 1, 3, 5 и 8 - метилова група; в позиция 2 и 4 - винилова група ($-\text{CH}=\text{CH}_2$); в позиция 6 и 7 - пропионатни остатъци.

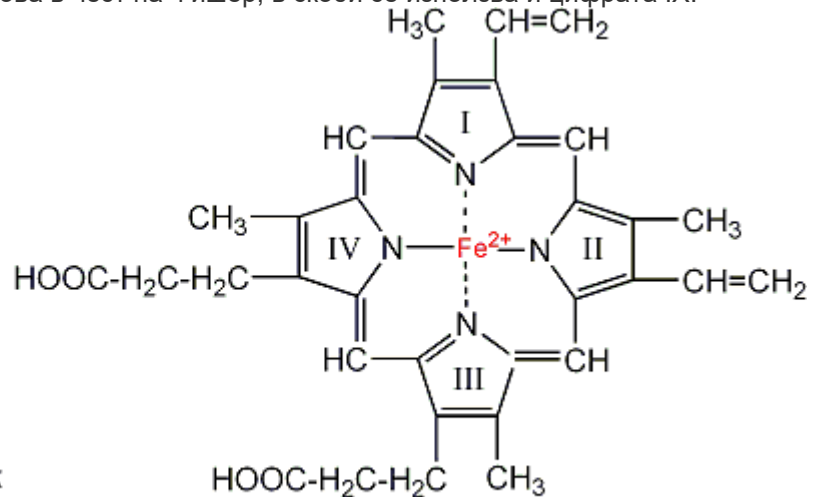
Хемът е простетична група на Hb. При три заместители са възможни 15 изомера и според Ханс Фишер, пионер в изследванията върху порфирини, протопорфирин III и

хемът на Hb са от IX тип. Затова в чест на Фишер, в скоби се използва и цифрата IX.



Протопорфирин

P - пропионатен остатък
M - метилова група
B - винилова група



Фиг. 11-3. Структура на протопорфирин III (IX) и на хем (желязо-протопорфирин III (IX) - простетична група на хемоглобин.

Порфирините са обикновено под форма на комплексни метални соли. Напр. Fe-порфирин е хемът на хемоглобин, Mg-съдържащ порфирин е хлорофилът, фотосинтетичният пигмент на растенията.

В хема на Hb желязният атом е свързан с 4-те N атома от пириловите пръстени чрез 2 ковалентни и 2 координативни връзки. Хемът има плоска структура. Перпендикулярни на неговата плоскост са V и VI координативни връзки, с които желязният атом се свързва с N атоми от хистидинови остатъци в глобина.

Докато в хемове на цитохромите желязото мени валентността си от +2 до +3 и обратно в хода на редокс процесите, при Hb и Mb, то е винаги двувалентно. Ако то се окисли до +3 валентност, хемът се превръща в хемин, а Hb в метхемоглобин, който е напълно неспособен да изпълнява функциите на Hb.

Всички порфирины са цветни съединения, поглъщат във видимата област, тъй като двойните връзки са спрегнати - редуват се проста, двойна, проста и т.н. Всички предшественици на порфирините - т.н. порфириногени са безцветни съединения - двойните връзки не са спрегнати.

11.4. Синтеза на порфирины

Хемната биосинтеза се извършва в повечето тъкани с участие на осем ензими от митохондриите и цитоплазмата (табл. 11-2).

Таблица 11-2. Ензими, необходими за синтезата на хем.

| Номер на ензима | Име на ензима | Локализация |
|-----------------|--|-------------|
| Ензим 1 | □-аминолевулинат синтаза (АЛА синтаза) | митохондрии |
| Ензим 2 | АЛА дехидратаза | цитоплазма |

| | | |
|---------|---|-------------|
| Ензим 3 | уропорфириноген I синтаза (порфобилиноген дезаминаза) | цитоплазма |
| Ензим 4 | уропорфириноген III косинтаза | цитоплазма |
| Ензим 5 | уропорфириноген декарбоксилаза | цитоплазма |
| Ензим 6 | копропорфириноген оксидаза | митохондрии |
| Ензим 7 | протопорфириноген оксидаза | митохондрии |
| Ензим 8 | ферохелатаза (хем синтаза) | митохондрии |

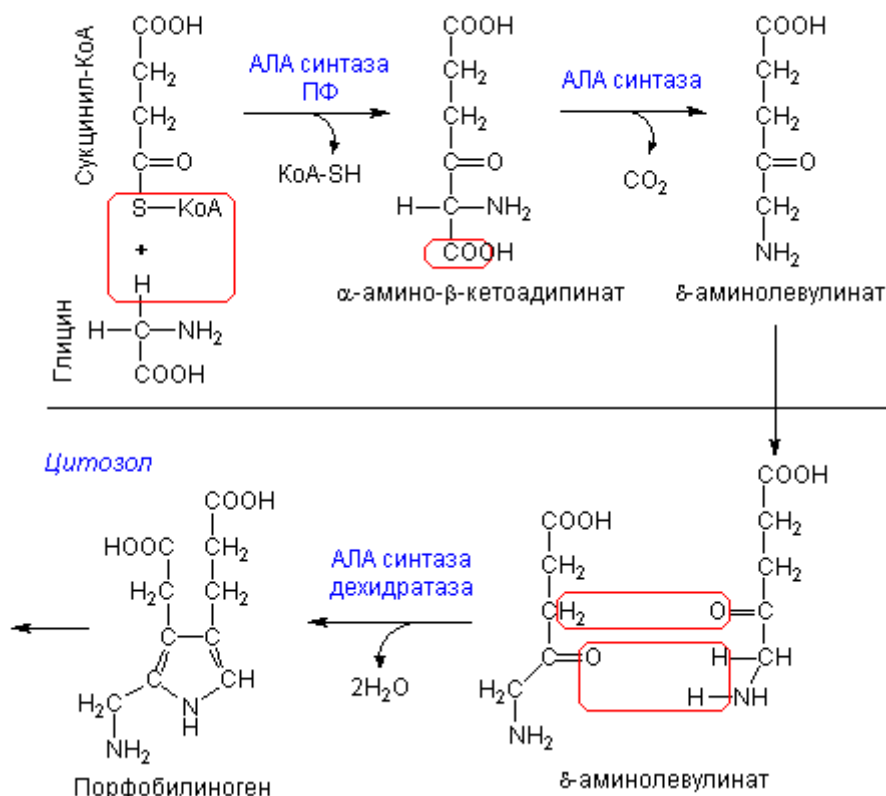
В зрели еритроцити липсват митохондрии, ядро, ендоплазмени мембрани и митохондрии, в тях не се синтезират белтъци и не се извършва окислително фосфорилиране. В тях не може да се синтезира хем. Най-изявена е синтезата на хем в костен мозък и черен дроб, поради необходимостта от хем за хемоглобин и за цитохромите, съответно.

Началният етап от синтезата и последните три етапа протичат в митохондриите, а останалите - в цитоплазмата (фиг. 11-3). Това улеснява регулацията на първия етап от крайния продукт хем.

Необходими са 8 мола сукцинил КоА и 8 мола глицин. В митохондриите под действие на ензим 1: α -аминолевулинат синтазата (АЛА-синтаза) сукцинил КоА (метаболит от цитратния цикъл) и аминокиселината глицин се кондензират до α -амино- β -кето адипинат, който под действие на същия ензим бързо се декарбоксилира до α -аминолевулинат (АЛА). Ала-синтазата е скорост-определящият ензим в черен дроб на бозайници. За нейното действие е необходим пиридоксал фосфат (ПФ), който образува Шифова база с глицин.

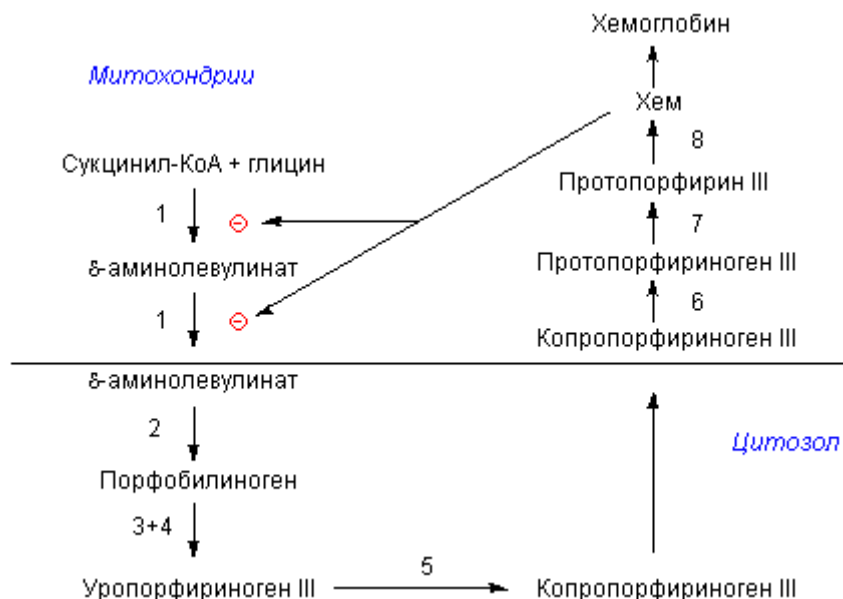
В цитоплазмата два мола α -амино-левулинат при отделяне на два мола вода се кондензират от АЛА дехидратаза (ензим 2) до порфобилиноген.

Митохондрии



Фиг. 11-4. Начален етап от синтезата на хем - образуване на порфобилиноген. ПФ - пиридоксал фосфат.

Четири мола порфобилиноген се кондензират в линеен тетрамер под действие на уропорфириноген I синтаза (порфобилиноген дезаминаза) - виж фиг. 11-5. От линейния тетрамер спонтанно се получава уропорфириноген I, а под съвместното действие на уропорфириноген I синтаза и уропорфириноген III косинтаза се получава уропорфириноген III, който в здрави хора е в преобладаващи количества. При някои заболявания (порфирии) порфириногени тип I се образуват в излишък. Заместителите в уропорфириноген III са ацетатна група в позиции 1, 3, 5 и 8 и пропионатна група в позиции 2, 4, 6 и 7. Уропорфириноген III под действие на уропорфириноген декарбоксилаза се превръща в копропорфириноген III чрез декарбоксилиране на всички ацетатни групи. Те се превръщат в четири метилови групи. Копропорфириноген III влиза в митохондриите и се превръща в протопорфириноген III (IX) под действие на копропорфириноген оксидаза. Ензимът не действа на копропорфириноген I. Двата пропионатни остатъци се декарбоксилират и дехидрогенират до винилови остатъци.



Фиг. 11-5. Общ поглед върху синтеза на хем. Цифрите представляват номерата на ензимите, чиито названия са дадени в табл. 11-2.

Протопорфириноген III (IX) под действие на протопорфириноген оксидаза се превръща в протопорфирин III (IX). Протопорфирин III (IX) под действие на ферохелатаза (хем синтаза) се превръща в хем.

Всички предшественици на порфирините (порфириногени) са безцветни съединения, тъй като двойните връзки не са спрегнати.

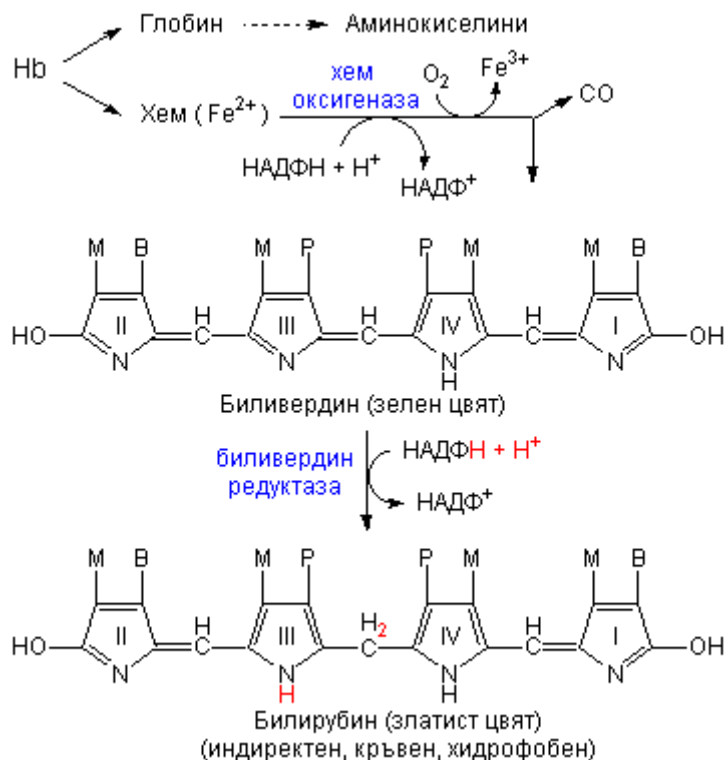
АЛА синтазата (ензим 1) е скорост-определящ и регулаторен ензим в биосинтезата на хема. Няма описани случаи на индивиди с намалена активност на този ензим поради увреждане на гена. Но синтезата ѝ може да бъде репресирана или индуцирана. Хемът действа като репресор (вероятно посредством апорепресор) на синтезата на АЛА-синтазата. Освен това той действа и като отрицателен алостеричен ефектор.

Репресия или дерепресия на синтезата на АЛА синтаза под действие на различни лекарства, както и промени в активността на всеки от ензими № 3 - 8 поради мутации в съответните гени, може да доведе до различни клинични отклонения (виж т. 11.1.8.1. - 11.1.8.2.).

11.5. Разграждане на хемоглобин в клетките на ретикуло-ендотелната система до хемобилирубин

На фиг. 11-6 е представена схемата за разграждане на хема до билирубин диглюкуронид. Еритроцитите живеят около 120 дни, след което се разрушават в клетките на ретикуло-ендотелната система (РЕС) в черен дроб, слезка, костен мозък. Освободеният глобин се разгражда до аминокиселини, които се използват отново. Хемът от всички хем-съдържащи белтъци се разгражда под действието на субстрат-индуцируема комплексна ензимна система, наречена хем-оксигеназа в ендоплазмения ретикулум. С участието на кислород и НАДФ.Н от порфириновия пръстен се отделя желязо, което се използва отново. Порфириновият пръстен се разкъсва окислително - метениловият мост между I и II пиролово ядро се отделя под форма на CO, а на мястото на разкъсването се оформят кето-групи. Получава се първото жлъчно багрило биливердин (зелен цвят). Биливердинът се редуцира от биливердин редуктаза с участието на НАДФ.Н до билирубин (жълт цвят). Полученият в клетките на РЕС

билирубин се нарича хемобилирубин (кръвен билирубин или индиректен билирубин (защото не реагира директно с диазореактив при химическо определяне в серум). Той е хидрофобен, с ниска разтворимост във вода. Химичното превръщане на хема в билирубин може да се наблюдава на живо - при удар по ръката, например, пурпурният цвят на хема в хематомата бавно се превръща в жълтия пигмент билирубин.



Фиг. 11-6. Начален етап от разграждане на хемоглобин до хемобилирубин в клетки на ретикуло-ендотелната система.

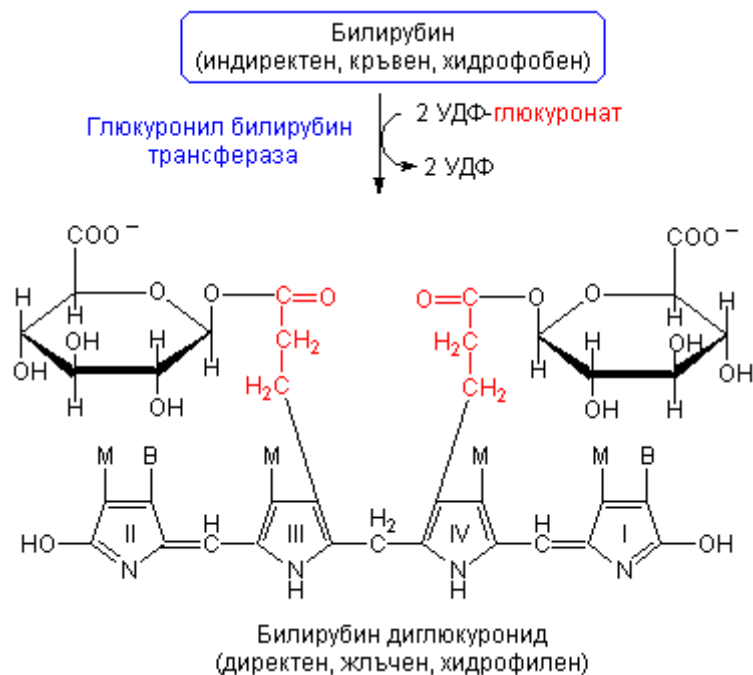
11.6. Превръщане на хемобилирубин в холебилирубин в черния дроб и секреция в жлъчката

По кръвен път, свързан нековалентно с албумин, хемобилирубинът се транспортира до черния дроб, където се извършват три процеса:

1) поемане на хемобилирубин от паренхимните клетки на черния дроб. В черния дроб билирубинът се отделя от албумина и се поема от транспортна система с много голям капацитет - дори при патологични условия не е скорост-определяща. В тази система участват белтъци като лигандин и Y-белтък.

2) превръщане на хемобилирубин в билирубин диглюкуронид (конюгация)

Чернодробната глюкуронил-трансфераза в гладкия ендоплазматичен ретикулум използва УДФ-глюкуронова киселина като донор на глюкуронов остатък (фиг. 11-7). Известни са два изоензима. УДФ- глюкуронил-трансферазна активност се индуцира от различни лекарства, вкл. фенобарбитал. Като междинно съединение се получава билирубин моноглюкуронид. За билирубин диглюкуронид се използват и следните названия: холебилирубин, конюгиран, свързан, жлъчен билирубин или директен билирубин (реагира директно с диазореактив при химическо определяне в серум). Той е хидрофилен, с по-висока разтворимост във вода.



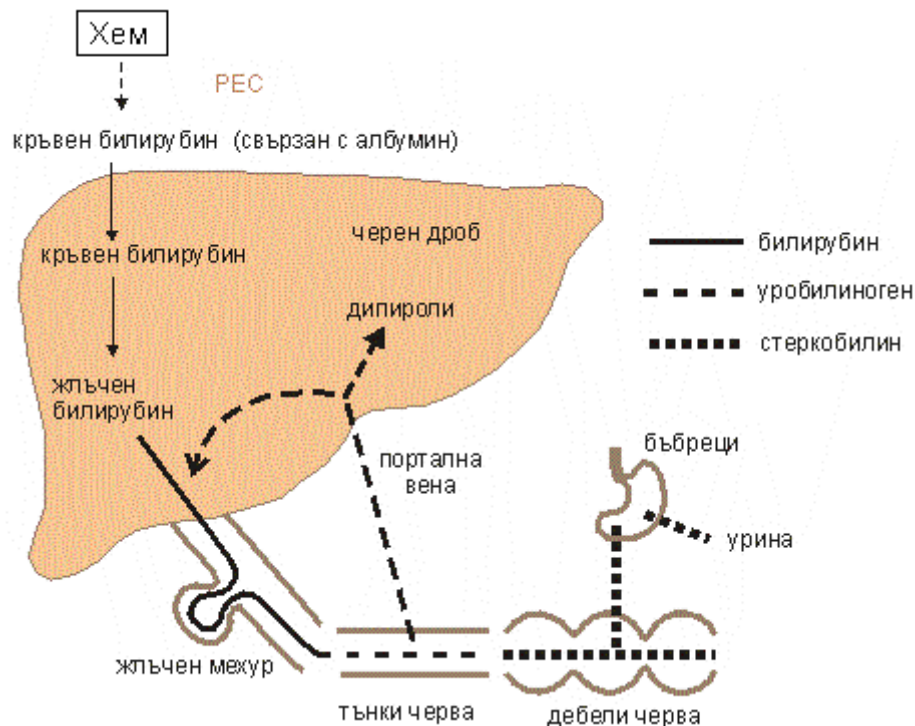
Фиг. 11-7. Глюкурониране на хемобилирубин, водещо до получаване на билирубин диглюкуронид (холебилирубин) с повишена разтворимост.

3) секреция на билирубин диглюкуронид в жлъчката. Секретирането става чрез активен транспортен механизъм, за който се предполага, че е скорост-определящ в цялостния процес на чернодробния билирубинов метаболизъм. Този механизъм се индуцира от същите лекарства, както и глюкуронил-трансферазна система, т.е. системите за конюгиране и екскреция се държат като координирана функционална единица.

11.7. Съдба на билирубина в червата. Ентеро-хепатален кръговрат на жлъчните багрила

Промените, които претърпява билирубин в червата са представени на фиг. 11-8. В тънките черва глюкуроновите остатъци се отделят под действие на бактериални ензими бета-глюкуронидази и билирубин последователно се редуцира от бактериални редуктази до група безцветни тетрапиролови съединения, наречени уробилиногени (мезобилирубиноген с 44 Н атоми), стеркобилиноген с 48 Н атоми) = L-уробилиноген), които в дебелото черво се окисляват до цветни багрила уробилини (мезобилирубин, стеркобилин). Те придават нормалния цвят на изпражненията и се изхвърлят заедно с тях. Потъмняването на изпражненията при престояване на въздух се дължи на окислението на остатъчни уробилиногени в уробилини. Част от уробилиногенът по кръвен път попада в бъбреците и се изхвърля в урината.

Част от уробилиногените, образувани в тънките черва, се реабсорбират и постъпват в черния дроб. Там част от тях се разграждат до дипирколи, а друга част се реекскретират от него отново. Това движение на жлъчните багрила е известно като ентеро-хепатален кръговрат на жлъчните багрила.



Фиг. 11-8. Последователна редукция на билирубин под действие на бактериални редуктази до група от безцветни уробилиногени (мезобилирубиноген и стеркобилиноген) в тънките черва, които в дебелото черво се окисляват до уробилини. Представен е и ентерохепаталният кръговрат на жлъчните багрила. PEC - ретикулоендотелна система.

11.8. Приложение на познанията върху обмяна на порфирины в клиничната практика

11.8.1. Нарушения в синтеза на порфирины. Порфирии

Установените нарушения в синтеза на порфирины и свързаните с тях клинични проявления разкриват сложната регулация на тази синтеза. Нарушенията в тази синтеза в костния мозък или черния дроб водят до патологични проявления в нервната система, кожа или други органи. По-долу накратко са разгледани осемте ензима от синтеза на порфирины във връзка с патологични отклонения.

АЛА синтаза

Както бе споменато в т. 11.1.4., няма описани случаи на индивиди с намалена активност на този ензим поради увреждане на гена. Но синтеза ѝ може да бъде репресирана или индуцирана. Наред с хема, който действа като репресор на синтеза на АЛА-синтазата, известни са над 100 лекарства, между които и барбитурати (сънотворни), които могат да индуцират синтеза на чернодробната АЛА-синтаза. Повечето от тях се метаболизират от чернодробната цитохром Р450 хидроксилазна система. За цитохром Р450 са необходими големи количества хем, което намалява вътреклетъчната хемна концентрация. Това води до дерепресия на АЛА-синтазата и съответно увеличена синтеза на хем. За пациенти с порфирии (виж по-долу) е важно да избягват анестетици, лекарства, алкохол и др., които могат да индуцират синтеза на цитохром Р450. Ако това стане, глюкоза, както и хемин или хематин могат да репресират АЛА синтазата и така да намалят продукцията на вредните хемни предшественици - вж клиничния случай, описан в т. 11.1.8.2.

АЛА дехидратаза

Случаи на намалена активност на ензим 2 (АЛА дехидратаза) са описани, но те са много редки. АЛА дехидратаза е цинк-съдържащ ензим и е чувствителна към инхибиране с олово, както става при оловно отравяне - свързване със SH- групите на ензима.

Порфирии

Шестте главни типове порфирии са хетерогенна група заболявания, дължащи се на мутации в гените за ензимите с номера от 3 до 8 в биосинтетичната верига на хема (виж т. 11.1.4 - табл. 11-2). Те не са често срещани, но е важно да се имат предвид при диференциална диагноза на коремната болка и при различни невро-психиатрични заболявания - виж напр. т. 11.1.8.2).

Според една от класификациите на порфирии, те се делят на: **предимно еритропоетични** или **предимно чернодробни**, тъй като синтезата на хем е особено активна именно в костен мозък (за синтеза на хемоглобин) и в черния дроб (за синтеза на цитохроми P450).

Биохимични причини за главните проявления при порфириите

Ензимните дефекти и главните клинични проявления при различните типове порфирурии са обобщени накратко в табл. 11-3. Когато ензимният дефект е в началото на биосинтезния път - напр. ензим 3 (уропорфириноген I синтаза), в тъканите и телесните течности се натрупват АЛА и порфобилиноген. Те упражняват токсичен ефект върху коремните нерви и в ЦНС, водещо до коремна болка и невро-психиатрични симптоми. Заболяването се нарича интермитентна остра порфирурия. Вероятно АЛА инхибира АТФазата в нервна тъкан или АЛА се поема от мозъка и по някакъв начин прекратява провеждането на сигнала. Допълнителни усложнения настъпват при дерепресия на АЛА синтазата (виж т. 11.8.2.)

Когато ензимният блок е в по-късен етап, се натрупват порфириногени. Техните окислени продукти, съответните порфирины, причиняват фоточувствителност към видимата светлина около 400 нм. При облъчване с тази дължина на вълната, порфирините се възбуждат и реагират с молекулния O_2 - получават се кислородни радикали, които увреждат лизозомите и други органели. Увредените лизозоми освобождават разградни ензими, водещо до увреждания на кожата.

Табл. 11-3. Ензимни дефекти и клинични проявления при порфирии*.

| Тип порфирурия | Главни клинични признаци | Дефектен ензим и лабораторна находка |
|--|---|--|
| Acute intermittent porphyria (чернодробна) | коремна болка, невропсихиатрични разстройства | 3. Уропорфириноген I синтаза (порфобилиноген дезаминаза), в урината има порфобилиноген |
| Congenital erythropoietic (еритропоетична) | няма фоточувствителност | 4. Уропорфириноген III косинтаза, в урината няма порфобилиноген, но има уропорфирин I |
| Porphyria cutanea tarda (чернодробна) | има фоточувствителност | 5. Уропорфириноген декарбоксилаза, в урината няма порфобилиноген, но има |

| | | |
|---|---|--|
| | | уропорфирин |
| Hereditary coproporphyría (чернодробна) | има фоточувствителност, коремна болка, невропсихиатрични разстройства | 6. Копропорфириноген оксидаза, в урината има порфобилиноген и уропорфирин, в изпражненията има копропорфирин |
| Variagate porphyria (чернодробна) | има фоточувствителност, коремна болка, невропсихиатрични разстройства | 7. Протопорфириноген оксидаза, в урината има порфобилиноген и уропорфирин, в изпражненията има протопорфирин |
| Protoporphyría (еритропоетична) | има фоточувствителност | 8. Ферохелатаза, в изпражненията е увеличен протопорфирин |

*По данни на [1] и [2].

11.8.2. Остра интермитентна порфиурия

Това заболяване може да бъде разбрано посредством описания по-долу случай [3, 4]. Бяла 40-годишна жена пристига в спешното отделение. Тя е силно развълнувана, плаче и се оплаква от силна коремна болка. Била е запечена от няколко дни и усеща голяма слабост в ръцете и краката си. Има чувството, че нещата не вървят както трябва. Прегледът показва само леко увеличен пулс (100 /мин), и умерено увеличено кръвно налягане (160/110 мм Hg). На корема се забелязват два добре зарастнали белега от операции. За тях жената казва, че и преди е имала даже още по-жестоки коремни болки от сега и в два от случаите е била оперирана, но не е било открито нищо обезпокоително.

Обичайните лабораторни тестове изглеждат нормални. Дежурният лекар не вижда причина за нито едно от неврологичните ѝ оплаквания. За да я успокоят, ѝ дават 60 мг фенобарбитал и ѝ осигуряват час при психиатър след 4 часа. Докато чака за този преглед, състоянието ѝ забележимо се влошава: бързо се проявява генерализирана слабост, стигаща до затруднено дишане. Предвид това застрашително развитие, пациентката е преместена в интензивното отделение, включва се апарат за дишане. Въпреки това състоянието ѝ прогресивно се влошава и тя умира 48 часа по-късно. Малко преди смъртта ѝ в урината ѝ се открива силно увеличено ниво на порфобилиноген.

Острата интермитентна порфирия трябва да се има предвид при всеки пациент с необясними неврологични, коремни и психиатрични симптоми. Поради намалената активност на уропорфириноген I синтазата не се получава хем, който да репресирира и инхибира АЛА синтазата. В случая активността ѝ е допълнително силно увеличена чрез индукцията с фенобарбитал. В резултат има високи нива на АЛА и порфобилиноген.

Това заболяване поставя голяма загадка. Въпреки че увреждането на порфириновата синтеза е ограничено в черния дроб, той анатомически изглежда нормален, а патологичните находки са в нервната система:

- 1) развълнуваното и объркано състояние говори за включване на мозъка;
- 2) повишеното кръвно налягане, увеличеният пулс, запекът и коремната болка показват, че е въввлечена и вегетативната нервна система;

3) слабостта и увреждането на чувствените възприятия е резултат от засягане на периферната нервна система и гръбначния стълб.

В този случай е трябвало да има по-голямо подозрение за възможността пациентката и преди да е имала порфирурия. Анализът на урина за порфобилиноген е сравнително прост тест. Би трябвало да се вкара глюкоза в кръвта, за да се репресираща АЛА синтазата, да не се дава фенобарбитал и други подобни лекарства, които индуцират АЛА синтазата. И ако от тези мерки не се подобри състоянието ѝ, то би трябвало интравенозно да се инжектира хематин, който да инхибира синтазата и активността на АЛА синтазата.

11.8.3. Приложение на екзогенни порфирини за диагностика и лечение на някои видове рак

Оптичните свойства на порфирините са от значение за клиниката [5]. Всички порфирини са цветни съединения с характерни абсорбционни и флуоресцентни спектри. Особено характерна е ивицата на поглъщане при 400 нм (ивица на Сорет). При облъчване с ултравиолетова светлина порфирините се възбуждат и започват да излъчват силна червена светлина (флуоресценция). Това улеснява тяхното откриване в биологични материали, дори когато са в много ниски количества.

Екзогенните порфирини са способни да се акумулират в бързо пролифериращи и регенериращи тъкани. Имат избираща афинитет към тумори. Флуоресценцията им се използва за доказването им в биологични среди и тъкани. Природни и синтетични порфирини са ценни маркери за скрити тумори, доказващи и очертаващи границите на раковата тъкан. Чрез бронхоскопи, ендоскопи и др. може да се диагностицира рак на белите дробове, стомаха, правото черво, кожен рак и др. При терапия на кожни и подкожни тумори, или тумори, достъпни за светлинна обработка като рак на пикочния мехур, белите дробове, стомаха, правото черво и др., порфиринът се въвежда локално в тумора в течение на 24-72 часа докато се стигне до оптимална концентрация в тумора и след това чрез ултравиолетово или лазерно облъчване се възбуждат порфирините. Това води до образуване на цитотоксични продукти и некроза на злокачествената тъкан.

11.8.4. Жълтеници

Нормално сумата от директния и индиректния билирубин в серума не надвишава 1.1 mg/dL (17.1 μ mol/l), като директният е не повече от 1/4 до 1/3 от общия. В урината има само следи от уробилиноген. Образуваният в изпражненията стеркобилиноген нормално е от 40 до 280 mg/24 часа.

Когато общият билирубин е над 1 mg/dL (17.1 μ mol/L), възниква състояние на хипербилирубинемия. Причините за това могат да бъдат различни:

- 1) образуване на повече хемобилирубин (например при усилено разграждане на еритроцити), отколкото здравият черен дроб може да преобразува в билирубин диглюкуронид (хелебилирубин);
- 2) невъзможност на увредения черен дроб да превърне нормални количества хемобилирубин в билирубин диглюкуронид (хелебилирубин);
- 3) запушване на жлъчните пътища.

Във всички тези случаи билирубинът се натрупва в кръвта и при концентрации около и над 2-2.5 mg/dL навлиза в тъканите, които стават жълти. Това състояние се означава като жълтеница (иктерус). Съответно, в зависимост от причината жълтеницата може да е хемолитична, паренхимна или застойна (табл. 11-4). Освен билирубин в серума,

ценна информация за диагностика на различните жълтеници дават и уробилиноген и билирубин в урина.

Табл. 11-4. Промени в количествата на жлъчните багрила при различни типове жълтеници, улесняващи тяхната диагностика.

| Състояние Багрило | В здрав човек | Хемолитична анемия | Паренхимна жълтеница | Застойна жълтеница |
|----------------------------------|--|------------------------|--------------------------------------|-----------------------|
| Уробилиноген в урина | 0 – 4 mg за 24 часа | увеличен | намален** | няма |
| Билирубин в урина | няма | няма | има** | има |
| Стеркобилиноген в изпражнения | 40 – 280 mg за 24 часа | увеличен | намален | следи или няма |
| Серумен билирубин | директен: 0.1-0.4 mg/dL индиректен: 0.2-0.7 mg/dL | увеличен индиректен | увеличен директен и индиректен | увеличен директен |

* Данните са по [1]; ** - промяната е налице, ако има микрозапушвания.

При хемолитичните анемии се разграждат големи количества еритроцити и Hb, надхвърлящи капацитета на здравия черен дроб. Затова е увеличен индиректният билирубин в серума. Тава води до увеличена продукция на уробилиноген, който се появява в урината в големи количества. Билирубин няма в урината, защото хемобилирубин (неконюгиран) не минава в урината, така че комбинацията увеличен уробилиноген и отсъствие на билирубин в урината е характерна за хемолитична жълтеница.

При паренхимна (токсична) жълтеница (напр. вирусен хепатит или друго увреждане на черния дроб, от хлороформ, CCl₄, цироза, отрова на гъбата мухоморка и др.) чернодробните клетки са разрушени. Смесва се съдържимото на жлъчни и кръвни капилляри. Затова в серума са увеличени двете фракции на билирубин, който от кръвта преминава и в урината. Уробилиногенът в урината е намален. Билирубинурията е признак за тежко напреднало чернодробно увреждане.

При застойна жълтеница (постхепатално увреждане), ако има пълно запушване на жлъчните пътища поради тумор или камък, уробилиноген в урината няма, тъй като билирубинът няма достъп до червата, където да се превърне в уробилиноген. Присъствието на конюгиран билирубин в урината без уробилиноген е признак за застойна (механична) жълтеница.

Физиологична (неонатална) жълтеница на новороденото

Тя се развива в новородени от 2-ия до 6-ия ден след раждането поради две причини:

- 1) засилена хемолиза - новородените се раждат с по-голям брой еритроцити, които след раждането започват да се разграждат;
- 2) незряла чернодробна система за поемане, конюгиране и секреция на билирубина. Лигандинът не може ефективно да задържа билирубина в хепатоцита. Активността на УДФ-глюкуронил трансферазната система е намалена. Намалена е синтезата на субстрата УДФ-глюкуронова киселина. Черният дроб не конюгира в достатъчна степен големите количества индиректен билирубин и той се отлага в тъканите, след това постепенно изчезва.

Наследствени заболявания

Част от тях са свързани с дефекти на УДФ-глюкуронил трансферазата. Тук спадат **синдромът на Gilbert** и **синдромът на Crigler-Najjar**. Друга част са свързани с дефекти в белтъчните помпи, участващи в секрецията на конюгиран билирубин, означавани като MRP's (multidrug resistance proteins или белтъци, осигуряващи множествена лекарствена резистентност) (**синдром на Dublin-Johnson** и **синдром на Rotor**).

11.8.5. Хемолиза, предизвикана от Rh-несъвместимост

При недоносени деца или при деца с Rh-несъвместимост хемолитичната жълтеница може да бъде много тежка. Увеличен е неконюгиран билирубин, а той като хидрофобен може да премине през кръвно-мозъчната бариера, когато концентрацията му в плазмата надвиши транспортния капацитет на албумина (20-25 mg %). Това се демонстрира от описания по-долу клиничен случай [6, 7].

Rh-отрицателна бременна жена при трета бременност с Rh-положителен плод развива антитела срещу Rh-положителните еритроцити на плода. Тези антитела минават през плацентата и предизвикват хемолиза на еритроцитите на плода. При раждането детето изглежда нормално. Обаче неконюгиран билирубин е 4 mg/dL поради хемолизата, иницирана от майчините антитела. През следващите два дни серумният билирубин се увеличава (продължава хемолизата). Това води до жълтеница, хепатоспленомегалия и други усложнения. Ако не се вземат мерки се уврежда ЦНС - може да се развие хипербилирубин-токсична енцефалопатия (керниктерус), което води до умствено изоставане. Лечението е обменно кръвопреливане с цялостна кръв, която е серологично съвместима със серума на детето и майката. Това е необходимо, за да не хемолизират прелетите еритроцити.

Освен това, полезно е да се даде фенобарбитал, който индуцира глюкуронилтрансферазната система за превръщане на хемобилирубина в холебилирубин. Полезно е и допълнително лечение - облъчване с видима светлина (фототерапия), което по неизяснен механизъм улеснява метаболизма на билирубин - част от билирубина се превръща в други производни, които се екскретират от черния дроб.

Цялостният проблем може да бъде решен много по-елегантно - да бъде предотвратен, ако Rh-отрицателната майка се третира с анти Rh-глобулин. Тези антитела разпознават еритроцитите на плода, блокират Rh-антигените - така се избягва стимулирането на имунен отговор в майката.

11.9. Насоки за самостоятелна работа

Проиграйте

симулация на клиничен случай "Кирил"

11.10. Литература

1. Murray, R., D. Granner, P. Mayes, V. Rodwell (1999) Harper's Biochemistry, Prentice-Hall International, Inc., Twenty-Fifth Edition.
2. Devlin, T. M. (ed.) (2002) Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations, Wiley-Liss, New York, Fifth Edition.
3. Meyer U. A., L. J. Strand, M. Doss, A. C. Rees, H. S. Marver (1972) Intermittent acute porphyria - demonstration of a genetic defect in porphobilinogen metabolism. N. Engl. J. Med. 286 (24),

1277-1282.

4. Stein J. A., D. P. Tschudy

Acute intermittent porphyria. A clinical and biochemical study of 46 patients. *Medicine (Baltimore)*. 1970 49(1):1-16. Review.

5. Ярцев, Е. И., К. Аскарлов, Г. В. Пономарев (1987) Глава 5: Применение порфиринов в медицине, стр. 262 - 289. В: Аскарлов, К. А., Б. Д. Березин, Е. В. Быстрицкая и др., (1987) "Порфирины: Спектроскопия, электрохимия, применение", Москва, Наука.

6. Maurer H. M., C. N. Shumway, D. A. Draper, A. A. Hossaini (1973). Controlled trial comparing agar, intermittent phototherapy, and continuous phototherapy for reducing neonatal hyperbilirubinemia. *J. Pediatr.* 82(1), 73-76.

7. Denney P. A., D. S. Seidman, D. K. Stevenson (2001). Neonatal hyperbilirubinemia. *N. Engl. J. Med.* 344 (8): 581-590. Review.