# Diagnostika porfyrické nemoci - Část 2

L. Vítek

## AKUTNÍ PORFYRIE

Jak bylo uvedeno v předchozí části sdělení v minulém čísle časopisu FONS, patří do této skupiny porfyrických chorob akutní intermitentní porfyrie (AIP), porfyria variegata (PV), hereditární koproporyfyrie (HK) a plumboporfyrie.

Charakteristickým rysem akutních porfyrií je manifestace ve formě akutních atak, nejčastěji jako kolikovité bolesti břicha. Druhou formou manifestace atak akutních porfyrií jsou příznaky neurologické a třetím typem symptomů jsou příznaky psychiatrické.

Ovšem i u typické břišní symptomatologie se vyskytují u 20-30 % pacientů poruchy mentální, jako jsou dezorientace, deprese, úzkost nebo halucinace. Tyto příznaky se mohou také vyskytovat samostatně a tvoří základ psychiatrické formy akutních porfyrií. Neurologické příznaky zahrnují zejména periferní neuropatie motorických nervů, častěji jsou postiženy horní končetiny, může dojít i k rozvoji kvadruparézy až kvadruplegie s respirační a bulbární paralýzou vedoucí ke smrti. Poměrně častý je výskyt křečí, v této souvislosti je třeba upozornit, že antikonvulziva mohou u pacientů s akutními porfyriemi vyvolávat ataku a tudíž podávání těchto léků pacientům s primomanifestací akutní porfyrie ve formě křečového stavu může zhoršit celkový klinický obraz. Psychiatrická manifestace atak akutních porfyrií zahrnuje zejména generalizované úzkostné stavy, hysterii, deprese, fobické a delirantní stavy a někdy i psychotické poruchy.

Někdy lze během akutních atak pozorovat těžkou hyponatrémii vznikající v důsledku poruchy sekrece hypotalamických působků vlivem akumulace prekurzorů hemu vedoucí až k syndromu SIADH, či jejich přímého inhibičního účinku na Na/K ATPázu v epiteliálních buňkách ledvin a zažívacího traktu.

Kožní příznaky nejsou u akutních porfyrií příliš vyjádřeny, avšak vyskytují se zejména u PV, v mírnější formě i u HK, a mohou napodobovat kožní symptomatologii typickou pro PCT.

Ataky akutní porfyrie jsou nejčastěji vyvolány podněty, jako jsou například změny v sérových hladinách pohlavních hormonů, léky, alkohol, stres, infekce nebo dietní faktory. Vliv estrogenů a gestagenů je nepopiratelný, neboť 80 % všech pacientů s atakami akutní porfyrické choroby jsou ženy ve fertilním věku. Navíc je velmi dobře znám precipitující efekt perorálních kontraceptiv. Kromě těchto léků je známa celá řada porfyrinogenních xenobiotik, které mají tento účinek i u zdravých jedinců bez genetického defektu v biosyntetické dráze hemu, nebo jen u nemocných s genetickou predispozicí manifestující se atakou některé z akutních porfyrií. Do první skupiny patří například griseofulvin, specifický inhibitor ferochelatázy, nebo hexachlorobenzen použitý k moření pšenice k osevu v 50. letech v Turecku, kde vyvolal epidemický výskyt PCT u několika tisíc osob různých etnických skupin (také viz výše). Do druhé skupiny porfyrinogenních látek patří například barbituráty, sulfonamidy, ACE inhibitory, makrolidová antibiotika, některá antimykotika, ale třeba i ranitidin či paracetamol, aby byly jmenovány alespoň některé z běžně používaných léků (seznam nebezpečných léků lze nalézt na webových odkazech uvedených na konci tohoto článku). Z nutričních faktorů je to zejména snížený přívod sacharidů a redukční diety, precipitujícím faktorem je také kouření, kde hlavním viníkem jsou polycyklické aromatické uhlovodíky, které indukuji enzymy v biosyntetické dráze hemu.

Vzhledem k polymorfnímu klinickému obrazu atak akutních porfyrií, jehož všechny aspekty nejsou většině lékařské veřejnosti známy, považuji za velmi důležité znovu připomenout, že prakticky u jakéhokoli neurologického nebo psychiatrického onemocnění či symptomů, které se vyskytují intermitentně, nebo které nelze jednoznačně zařadit, by se mělo vždy pomýšlet i na možnost akutní porfyrie.

## CHARAKTERISTIKY JEDNOTLIVÝCH AKUTNÍCH PORFYRIÍ

### Akutní intermitentní porfyrie (AIP)

AIP byla poprvé popsána v roce 1889 holandským lékařem Stokvisem. Je to nejčastější akutní porfyrie v České republice s incidencí 1/30000. Jedná se o autozomálně dominantně dědičné onemocnění (podobně jako většina ostatních porfyrií s výjimkou plumboporfyrie a CEP, které jsou onemocněními autozomálně recesivními), jehož podkladem je defekt profobilinogendeaminázy. Zajímavý je fakt, že u značné části jedinců s genetickým defektem nedochází k manifestaci onemocnění, a to i přes zvýšenou exkreci porfyrinů močí. Charakteristickým rysem akutní ataky AIP je vysoký odpad porfobilinogenu (PBG) močí (20-200 násobek hodnot oproti normálu). Zhruba u jedné třetiny nemocných přetrvávají zvýšené hodnoty PBG v moči (2-5 násobně oproti

normálu) i mimo ataky. Proto se někdy setkáváme v literatuře i s názvem pyroloporfyrie, jiným označením je švédská porfyrie pro vysokou prevalenci v této zemi (60-100/100000) a také proto, že první významné práce pocházejí ze Švédska.

Z hlediska klinického obrazu je nejvýznamnějším souborem příznaků břišní symptomatologie, i když neurologické symptomy nebývají vzácností. Charakteristickým laboratorním rysem je elevace PBG v moči, která přetrvává často i mezi jednotlivými atakami, při normálním odpadu porfyrinů stolicí, což je faktor diskriminující toto onemocnění od PV a HK.

## Porfyria variegata (PV)

PV byla poprvé popsána v roce 1937, variegata se nazývá pro variabilní manifestaci zahrnující neurologické příznaky, kožní symptomatologii nebo obojí. Nazývá se také někdy jako jihoafrická porfyrie pro její vysokou prevalenci v bělošské populaci Jihoafrické republiky. Tato prevalence dosahuje neuvěřitelné 3 případy na 1000 obyvatel a je důsledkem četných sňatků v imigrantské populaci holandských osadníků. Jedná se o potomky bůrského páru, který emigroval do Jižní Afriky v roce 1688. V České republice je poměrně vzácná. Z hlediska klinického obrazu se od AIP liší zejména přítomností kožních příznaků a častějším výskytem neurologické symptomatologie. Homozygotně dominantní forma má těžký průběh s neuropsychiatrickými projevy bez akutních atak. Exkrece kyseliny delta aminolevulové (ALA) a PBG nebývá v atace tak vysoká, jako je tomu u AIP, mimo ataku pak dochází k normalizaci exkrece těchto prekurzorů. Od AIP i HK lze PV odlišit pomocí vyšetření plazmatických porfyrinů a dále zvýšenou exkrecí protoporfyrinů stolicí. Významným je také vyšetření plazmatického emisního maxima porfyrinů, které je pro PV typicky při 626-629 nm. Od HK lze PV odlišit chromatografickou analýzou porfyrinů v moči a ve stolici.

## Hereditární koproporyfyrie (HK)

HK je onemocnění popsané poprvé v roce 1955, které svou klinickou manifestací velmi připomíná AIP, avšak u pacientů s HK občas dochází i k rozvoji kožních lézí. Ačkoli prevalence HK nebyla detailněji studována, je odhadováno, že svým výskytem odpovídá zhruba výskytu PV a jedná se tedy o poměrně méně častý typ porfyrické choroby. Z hlediska diagnostického je typicky nacházena u pacientů s atakou HK elevace koproporyfyrinu v moči a stolici. V této souvislosti nutno však připomenout, že u celé řady onemocnění a stavů, jako jsou například chronické hepatopatie, hemolytické anémie, hemoblastózy či podávání určitých léků, dochází k tzv. **sekundární koproporfyrinurii**, při které však dochází k exkreci porfyrinu močí maximálně do 500 µg/24 hodin (norma do 200 µg/24 hodin), zatímco u ataky HK je hodnota 500 µg prakticky vždy překročena.

Poslední akutní porfyrií je tzv. **plumboporfyrie**, také nazývaná Dossova porfyrie, která je však extrémně vzácná a v České republice nebyla doposud zaznamenána. Je způsobena vrozeným defektem enzymu dehydratázy kyseliny delta aminolevulové.

Léčba atak akutních porfyrií je založena na podávání sloučenin hemu, které zpětnovazebně inhibují aktivity enzymů v biosyntetické dráze hemu, a tím snižují produkci jednotlivých meziproduktů vyvolávajících příznaky akutní porfyrie. V České republice je k dispozici hemarginát (Normosang, Orphan Europe), v USA se podává hematin (Panhematin, Abbott), který je však méně stabilní a vyvolává závažné flebitidy. Svoji roli hraje také léčba hypertonickými roztoky glukózy (alespoň 300 g denně), zejména při chybění možnosti léčby deriváty hemu, nicméně zvýšený příjem glukózy může vést k prohloubení hyponatrémie. Jako slibné se jeví výsledky léčby inhibitory hemoxygenázy, ačkoli se jedná spíše o experimentální studie. Z praxe je znám také efekt chlorpromazinu, nicméně se v tomto případě samozřejmě nejedná o léčbu kauzální.

Z diferenciálně diagnostického hlediska je nutné ještě uvést dvě nozologické jednotky. Zaprvé se jedná o již zmíněnou **sekundární koproporfyrinurii**, zadruhé o **otravu olovem**. Sekundární koproporfyrinurie, jak už název napovídá, je selektivní vylučování koproporfyrinu močí v množství 200-500 µg/24 hodin, které doprovází celou řadu jiných interních onemocnění, mezi které patří chronické hepatopatie, některé lymfoproliferativní choroby nebo hemolytické anémie. Sekundární koproporfyrinurie je podstatně častější než primární porfyrie.

Otrava olovem je pro diferenciální diagnostiku i správnou interpretaci laboratorních výsledků také důležité onemocnění. Olovo selektivně a reverzibilně inhibuje dehydratázu kyseliny delta aminolevulové, což vede ke klinickému obrazu velmi podobnému atakám akutních porfyrií s typickými kolikovitými bolestmi břicha (saturninská kolika). Kromě vyšetření ALA a PBG v čerstvé ranní moči (ALA zvýšená, PBG v normě) má otrava olovem typické emisní maximum plazmatickým porfyrinů při 633-635 nm a nízkou aktivitu enzymu ALA dehydratázy, kterou lze restaurovat podáním cysteinu. Kromě těchto vyšetření lze samozřejmě stanovit plumbémii a exkreci olova močí. Otrava olovem není častá, většinou se jedná o profesionální expozici tomuto těžkému kovu.

## VYŠETŘOVACÍ ALGORITMUS PŘI PODEZŘENÍ NA PORFYRICKOU NEMOC

V zásadě je nutné odlišovat tři základní klinické situace.

1) Podezření na chronické porfyrie, v našich podmínkách se jedná prakticky pouze o PCT. Nemoc se manifestuje buďto kožními příznaky nebo jako jaterní léze nejasné etiologie. Ve sbírané moči nacházíme vysoký odpad celkových porfyrinů při normálních hladinách ALA a PBG v čerstvé ranní moči.
2) Druhou klinickou situací jsou ataky akutních porfyrií, při kterých dochází k elevaci všech tří základních analytů, tedy ALA a PBG v čerstvé ranní moči i k elevaci odpadu celkových porfyrinů v moči sbírané.
3) Třetí možností je nález u pacientů mimo ataku, který může být prakticky normální. Pokud však máme klinické podezření (např. na základě typických anamnestických údajů), je vhodné provést chromatografické vyšetření porfyrinů ve vzorku stolice a vyšetření emisního maxima plazmatických porfyrinů.

U všech pacientů s odpadem močových porfyrinů nad 200 µg/l provádíme automaticky frakcionaci močových porfyrinů vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií. K odlišení akutních porfyrií stanovujeme emisní maximum plazmatických porfyrinů (viz výše). K dispozici také máme stanovení aktivit enzymů biosyntetické dráhy porfyrinů v erytrocytech.

Typické výsledky základních vyšetření shrnuje následující tabulka:

| | ALA | PBG | Odpad celkových porfyrinů |
|---|---|---|---|
| PCT | v normě | v normě | >500 µg/24 hod |
| Ataka akutní porfyrie | zvýšení | zvýšení | >500 µg/24 hod |
| Akutní porfyrie v remisi | v normě | v normě | V normě |
| Sekundární koproporfyrinurie | v normě | v normě | 200-500 µg/24 hod |
| Otrava olovem | zvýšení | v normě | >200 µg/24 hod |

## JEDNOTLIVÉ LABORATORNÍ METODY POUŽÍVANÉ V DIAGNOSTICE PORFYRIÍ

### Metody základní

**Stanovení PBG v čerstvé ranní moči**

- Jak již bylo uvedeno, PBG je marker ataky akutní porfyrie.
- Je citlivější než ALA.
- Je citlivý na světlo, teplo, dobu skladování (70 % ztráta PBG za 10 hodin při laboratorní teplotě) a výkyvy pH (optimum 8-9).
- Vyšetření se provádí z 10 ml čerstvé moči. Principem stanovení je Ehrlichova reakce v kyselém prostředí za vzniku růžovofialového produktu, jehož intenzita se stanovuje spektrofotometricky.
- Stanovení PBG má méně interferencí než ALA.
- Referenční rozmezí: <0,25 mg/dL

**Stanovení ALA v čerstvé ranní moči**

- Podobně jako PBG je i ALA markerem ataky akutní porfyrie.
- Stanovení ALA je důležité pro diagnostiku otravy olovem (olovo reverzibilně inhibuje enzym ALA-dehydratázu) a plumboporfyrie.
- Také ALA je citlivá na světlo, teplo, dobu skladování a výkyvy pH (optimum 3-4). U nechráněných vzorků dochází k 50% ztrátě za 24 hodin.
- Vyšetření se provádí z 10 ml čerstvé moči. Principem stanovení je reakce ALA obsažené v moči s acetylacetonem za vzniku pyrolové sloučeniny, která reaguje s Ehrlichovým činidlem. Vzniklý barevný komplex se stanovuje spektrofotometricky.
- Referenční rozmezí: <0,45 mg/dL.

**Stanovení celkových porfyrinů v moči sbírané 24 hodin a ve vzorku stolice**

- Odpad celkových porfyrinů močí je markerem akutní i chronické porfyrické choroby, stejně tak jako tzv. sekundární koproporfynurie.
- Porfyriny jsou opět citlivé na teplo a světlo, moč je třeba sbírat do nádoby obalené alobalem a uchovávat v chladu, potřeba pro stanovení je aspoň 10 ml moči.
- Principem stanovení je kyselá extrakce porfyrinů a stanovení jejich koncentrace spektrofotometricky v oblasti Soretova pásu (405 nm).
- Referenční rozmezí: <200 ug/24 hodin.
- Podobným způsobem se stanovují i celkové porfyriny ve stolici (ze vzorku cca 5 g stolice), zde se navíc používá ještě krok extrakce chlorofylu a karotenoidů do éteru.
- Referenční rozmezí: <200 ng/g sušiny.

**Jak již bylo uvedeno, považujeme stanovení ALA**

**a PBG v čerstvé ranní moči a celkových porfyrinů v moči sbírané za vyšetřovací metody základní, a měly by být proto k dispozici na každém oddělení klinické biochemie krajského typu.**

## Metody speciální

(k dispozici v Hepatologické laboratoři UKBLD VFN a 1. LF UK v Praze)

**Stanovení emisního maxima plazmatických porfyrinů**

- Principem stanovení je využití fluorescence porfyrinů. Porfyriny po excitaci světlem o vlnové délce 400 nm červeně fluoreskují. Vlnová délka emitovaného světla je charakteristická pro jednotlivé porfyriny a patognomická pro jednotlivé porfyrie (619-620 nm pro PCT, AIP, HK, CEP a sekundární koproporfyrinurii; 626-629 pro PV; a 633-635 nm pro EPP, eventuálně otravu olovem).

**HPLC frakcionace porfyrinů v moči a ve stolici**

- Vyšetření se provádí v 10 ml sbírané moče/5 g stolice, biologický materiál je možné skladovat do 1 měsíce při -200 °C.
- Principem stanovení je okyselení vzorku a esterifikace porfyrinů, neutralizace kyseliny sírové s následnou extrakcí do chloroformu. Směs esterů se poté rozdělí pomocí HPLC (C18 kolona) s použitím fluorometrické detekce.
- Normální hodnoty v moči: 60-80 % koproporfyrin, 10-20 % uroporfyrin.
- Normální hodnoty ve stolici: 60-80 % porfyrin s 2 COOH skupinami, 10-20 % koproporfyrin.

Typický chromatogram porfyrinů v moči a stolici u nemocného s PCT je uveden na Obr. 1 a 2.

Mezi metody speciální dále řadíme vyšetření enzymových aktivit (například stanovení aktivity ALA dehydratázy), stanovení izomerů koproporfyrinů I a III (důležité pro diagnostiku Dubin-Johnsonova syndromu), stanovení volného a Zn-protoporfyrinu (důležité pro diagnostiku EPP), eventuálně molekulární diagnostika, která je zajišťována v České republice pracovištěm prof. Martáska na Klinice dětského a dorostového lékařství 1. LF UK v Praze.

## ZÁVĚR

Porfyrická choroba představuje svými příznaky, etiologií i diagnostickými markery značně heterogenní skupinu onemocnění. Tato problematika je obecně značně podceňována lékařskou veřejností, na možnost porfyrické choroby se v diferenciálně diagnostické rozvaze zpravidla nemyslí, což sebou samozřejmě nese vysoké riziko možného poškození pacienta. Jelikož se jedná o problematiku vysoce detailní a specializovanou, nelze předpokládat, že praktičtí lékaři budou vždy schopni správně indikovat vyšetření nebo interpretovat jejich výsledky. Z těchto důvodů je třeba uvést, že v České republice jsou k dispozici specializovaná klinická a laboratorní pracoviště, která poskytují konzultační činnost z hlediska diferenciální diagnostiky, indikace vyšetření i interpretace výsledků (viz níže). Je zřejmé, že důkladná osvěta mezi lékařskou veřejností může výrazně ovlivnit úspěšnost diagnostiky a léčby porfyrické choroby, což je také hlavním cílem tohoto přehledného článku.

## DŮLEŽITÉ ODKAZY

Komplexně se porfyrickou nemocí zabývají v České republice čtyři klinická pracoviště, je to:

a) IV. interní klinika VFN a 1. LF UK v Praze (doc. Kaláb)
b) Klinika hepatogastroeneterologie IKEM v Praze (dr. Šperl)
c) 2. interní klinika UVN v Praze (doc. Urbánek)
d) Klinika dětského a dorostového lékařství VFN a 1. LF UK (prof. Martásek)

Veškerý laboratorní, ale i konzultační servis poskytuje Hepatologická laboratoř UKBLD VFN a 1. LF UK v Praze (pracoviště autora).

Na pracovišti prof. Martáska je současně prováděna i molekulární diagnostika porfyrické nemoci.

## DŮLEŽITÉ INTERNETOVÉ ODKAZY:

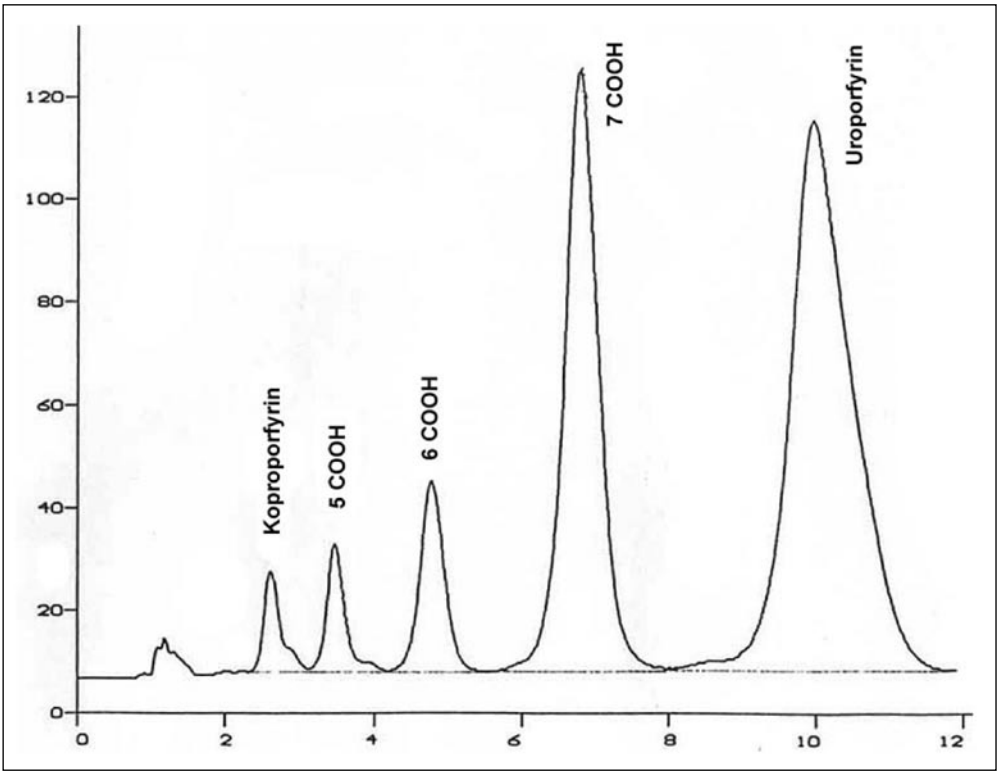
European Porphyria Initiative: http://www.porphyria-europe.com

British Porphyria Association: http://www.porphyria.org.uk

Porphyria South Africa: http://web.uct.ac.za/depts/porphyria

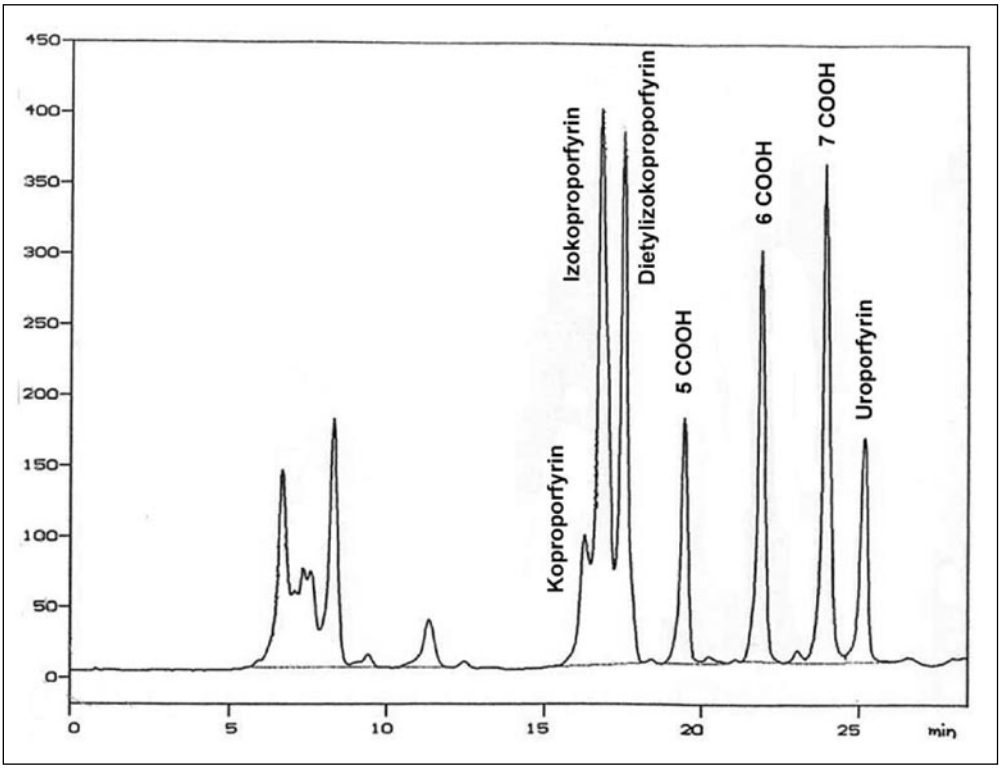
American Porphyria Foundation: http://www.porphyriafoundation.com

*Obr. 1. HPLC profil porfyrinů v moči u PCT.*




Převládá uroporfyrin, výrazně zvýšen bývá i porfyrin se 7 COOH skupinami, v menší míře i porfyriny s 5 a 6 COOH skupinami a koproporfyrin.

*Obr. 2. HPLC profil porfyrinů ve stolici u PCT.*




Převládá porfyrin se 7 COOH skupinami, dále jsou přítomny porfyriny s 5 a 6 COOH skupinami a uroporfyrin, a také patologické porfyriny se 4 COOH skupinami (izokoproporfyrin a dietylizokoproporfyrin) vznikající bakteriální metabolizací porfyrinu s 5 COOH skupinami. Vysoká koncentrace porfyrinů se 7 COOH skupinami a patologických porfyrinů ve stolici je typická pro PCT a nikdy se nevyskytuje fyziologicky.