

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2025

Klára Jiráčková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Primární porfyrie
Bakalářská práce

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Primary Porphyrias
Bachelor Thesis

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Klára Jiráčková**
Osobní číslo: **C22008**
Studijní program: **B0512A130006 Analýza biologických materiálů**
Téma práce: **Primární porfyrie**
Téma práce anglicky: **Primary Porphyrias**
Zadávací katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

- Vypracovat teoretickou rešerši na téma primárních porfyrií.
- V úvodních kapitolách uvést charakteristiku a vlastnosti porfyrinů a stručně popsat biosyntézu hemu.
- Stěžejní část práce věnovat charakteristice porfyrií.
- Rozdělit porfyrie na jednotlivé typy, u každého typu popsat mechanismus vzniku onemocnění.
- V závěru práce uvést diagnostiku porfyrií, prevalenci a možnosti léčby.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

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

Datum zadání bakalářské práce: **20. prosince 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

prof. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Primární porfyrie 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., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, 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.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1. 7. 2025

Klára Jiráčková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala své vedoucí bakalářské práce Mgr. Šárce Štěpánkové, Ph.D., za odborné rady, milé komentáře a podporu při psaní mé bakalářské práce a rovněž bych chtěla poděkovat za veškerý čas, který mi v průběhu psaní práce věnovala.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá onemocněním zvaným porfyrie, které je způsobené poruchou funkce jednoho z osmi enzymů v biosyntetické dráze hemu. V úvodu je krátce popsána historie tohoto onemocnění následovaná popisem biosyntézy hemu. Stěžejní část práce je věnována primárním porfyriím. Obsahuje rozdělení a charakteristiku jednotlivých druhů porfyrií včetně mechanismu vzniku onemocnění a možností jejich léčby. V závěru práce jsou zmíněny laboratorní metody využívané k diagnostice tohoto onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

porfyrie, hem, porfyriny, diagnostika porfyrií

TITLE

Primary porphyrias

ANNOTATION

The bachelor thesis deals with a disease called porphyria, which is caused by a malfunction of one of eight enzymes in the heme biosynthetic pathway. In the introduction, the history of the disease is briefly described followed by a description of heme biosynthesis. The main part of the paper is devoted to primary porphyrias. It includes the classification and characterization of the different types of porphyrias, including the mechanism of disease occurrence and treatment options. Finally, laboratory methods used to diagnose this disease are mentioned.

KEYWORDS

Porphyrias, heme, porphyrins, diagnostics of porphyrias

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	11
SEZNAM TABULEK	11
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	12
TERMINOLOGIE	14
ÚVOD	15
1 Porfyriny	17
1.1 Základní charakteristika a vlastnosti porfyrinů	17
1.2 Hem	18
1.2.1 Syntéza hemu	18
1.2.2 Regulace syntézy hemu	21
1.2.2.1 Regulace aktivity aminolevulátsyntázy	21
1.2.2.2 Regulace aktivity ferrochelátázy	22
1.2.2.3 Regulace aktivity 5-aminolevulátdehydratázy	22
1.2.3 Transport hemu	23
2 Porfyrie	25
3 Primární porfyrie	27
3.1 Hepatální porfyrie	27
3.1.1 Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy	28
3.1.2 Akutní intermitentní porfyrie	32
3.1.3 Porphyria cutanea tarda	34
3.1.4 Porphyria variegata	36
3.1.5 Hereditární koproporfyrie	37
3.1.6 Léčba hepatálních porfyrií	38
3.2 Erytroetická porfyrie	39
3.2.1 Kongenitální erytroetická porfyrie	39
3.2.2 Léčba erytroetických porfyrií	40
3.3 Ostatní porfyrie	41
3.3.1 Erytroetická protoporfyrie	41
3.3.2 Hepatoerytroetická porfyrie	43
4 Diagnostika porfyrií	45
4.1 Spektrofotometrické stanovení porfyrinů	46
4.2 Stanovení porfyrinů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie	47

4.2.1	Stanovení kyseliny 5-aminolevulové pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí	47
4.2.2	Stanovení porfyrinů v plazmě pomocí HPLC s UV detekcí.....	48
4.3	Stanovení porfyrinů iontově-výměnnou chromatografií	48
4.4	Stanovení emisního maxima plazmatických porfyrinů	49
4.5	Stanovení enzymové aktivity	50
	ZÁVĚR	52
	POUŽITÁ LITERATURA	54

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Chemické struktury různých druhů porfyrinů.....	17
Obrázek 2: Struktura hemu	18
Obrázek 3: Kondenzace glycinu a sukcinyl-CoA na 5-aminolevulát.....	19
Obrázek 4: Vznik porfobilinogenu	19
Obrázek 5: Vznik uroporfyrinogenu III.....	20
Obrázek 6: Přeměna uroporfyrinogenu III na koproporfyrinogen III.....	20
Obrázek 7: Přeměna koproporfyrinogenu III na protoporfyrinogen IX	20
Obrázek 8: Přeměna protoporfyrinogenu IX na protoporfyrin IX.....	21
Obrázek 9: Interkorporace Fe ²⁺ do struktury protoporfyrinu	21
Obrázek 10: Charakteristicky zbarvená moč pacientky trpící akutní intermitentní porfyrií	28
Obrázek 11: Motorická axonální neuropatie extenzorů ruky pacienta s akutní intermitentní porfyrií	33
Obrázek 12: Puchýře na rukou pacienta trpícího onemocněním porphyria cutanea tarda	35
Obrázek 13: Hyperpigmentace na rukou pacientky trpící kongenitální erythropoetickou porfyrií	40
Obrázek 14: Kožní nálezy u pacientů s erythropoetickou protoporfyríí	42
Obrázek 15: Kožní nálezy sourozenců trpících onemocněním hepatoerythropoetická porfyrie....	44
Obrázek 16: Chromatografický záznam jednotlivých standardů porfyrinů v koncentraci 50 nmol/l.....	48
Obrázek 17: Skenování emisního maxima plazmatických porfyrinů.....	50

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Rozdělení porfyrií na akutní a neakutní formy.....	25
Tabulka 2: Rozdělení porfyrií na kožní formy a nekožní formy	25
Tabulka 3: Jednotlivé typy porfyrií a s nimi spojených enzymů, u kterých dochází k defektům	26
Tabulka 4: Typické výsledky stanovení kyseliny 5-aminolevulové, porfobilinogenu a odpadu celkových porfyrinů v rámci diagnostiky porfyrií	46

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

5'-UTR	5' nepřekládaná oblast (5' untranslated region)
A	adenin
ABCB6	protein z rodiny ABC transportérů podílející se na transportu porfyrinů (ATP binding cassette subfamily B member 6)
ADP	porfyrie z nedostatku 5-aminolevulátdehydratázy (aminolevulinic acid dehydratase deficiency porphyria)
AIP	akutní intermitentní porfyrie
ALA	kyselina 5-aminolevulová (5-aminolevulinic acid)
ALAD	5-aminolevulátdehydratáza
ALAS	aminolevulátsyntáza
ALAS1	aminolevulátsyntáza 1
ALAS2	aminolevulátsyntáza 2
Arg	arginin
Asn	asparagin
Asp	kyselina asparagová
BCRP	protein spojený s rezistencí u karcinomu prsu (breast cancer resistant protein)
C	cytosin
cDNA	komplementární DNA (complementary DNA)
CEP	kongenitální erythropoetická porfyrie (congenital erythropoietic porphyria)
CoA	koenzym A (coenzyme A)
Cys	cystein
ELK/Sp1	eukaryotický transkripční faktor ELK/Sp1 (ETS-domain protein ELK1/ specificity protein 1)
EPP	erythropoetická protoporfyrie
G	guanin
GATA 1	GATA vázající protein 1 (GATA-binding protein 1)
Gly	glycin
HCP	hereditární koproporfyrie (hereditary coproporphyria)
HEP	hepatoerythropoetická porfyrie
HIF-1	hypoxií indukovaný faktor 1 (hypoxia induced factor 1)

HIF1 α	hypoxií indukovaný faktor 1 α (hypoxia induced factor 1 α)
His	histidin
HCP1	protein přenášející hem 1 (heme carrier protein 1)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (high-performance liquid chromatography)
IRE	prvek odpovědný za železo (iron responsive element)
IRP 1	železo regulující protein 1 (iron regulatory protein 1)
IRP 2	železo regulující protein 2 (iron regulatory protein 2)
Leu	leucin
Lys	lysin
mRNA	mediátorová RNA (messenger RNA)
NF-E2	nukleární faktor erytroidních buněk 2 (nuclear factor, erythroid 2)
PCT	porphyria cutanea tarda
siRNA	krátká interferující RNA (small interfering RNA)
T	thymin
Trp	tryptofan
UROD	uroporfyrinogendekarboxyláza
VP	porphyria variegata

TERMINOLOGIE

Artropatie	onemocnění způsobující otok a bolest kloubů
Echokardiografie	zobrazovací metoda využívaná k ultrazvukovému vyšetření srdce
Erytrodoncie	červené zbarvení zubů
Fibromyalgie	chronické onemocnění spojené s bolestí celého těla, poruchou spánku a dalšími nepříjemnými projevy
Hepatosplengomegalie	zvětšení jater a sleziny
Hyperhomocysteinémie	zvýšená koncentrace homocysteinu v organismu
Hypertenze	chronické zvýšení krevního tlaku
Hypertrichóza	nadměrný růst ochlupení
Hyponatrémie	zvýšená hladina sodného iontu v krvi
Hypotyreóza	snížená funkce štítné žlázy při nedostatečné sekreci hormonů
Cholestáza	porucha vylučování žluči
Myalgie	bolest svalů
Neuropatie	porucha periferních nervů
Onycholýza	odloučení nehtové ploténky od nehtového lůžka
Polycytémie	onemocnění krve tvořené buněk v kostní dřeni
Tachykardie	stav, kdy dochází ke zvýšení tepové frekvence

ÚVOD

V rámci úvodu si dovolím trochu nahlédnout do historie poznání porfyrií, která sahá až k počátkům 20. století. Právě v této době bylo identifikováno několik poruch, které se projevovaly vylučováním moči tmavě červené barvy obsahující hematoporfyrin, který je velmi silným fotosenzibilizátorem. Hans Günter, lékař a dermatolog původem z Německa, rozdělil tyto poruchy do čtyř kategorií – hematoporphyrina acuta, hematoporphyrina acuta toxica, která byla vyvolána léky, následně hematoporphyrina congenita, která se projevovala v kojeneckém věku těžkou fotosenzitivitou. Poslední typ hematoporphyrinu, hematoporphyrina chronica, se objevovala u pacientů až v průběhu života. Jeden z případů poruchy hematoporphyrina congenita byl popsán v roce 1924 Hugem T. Ashbym. Nemoc byla prokázána u dítěte ve 12 měsících jeho věku a již od narození se u něj vyskytovala červeně zbarvená moč a později se objevila i výrazná tmavě červená pigmentace mléčného chrupu [1, 2].

V roce 1912 lékaři Friedrich Meyer-Betz a Hans Fischer publikovali článek, který se zabýval reakcí urobilinogenu s Erhlichovým činidlem. Právě Friedrich Meyer-Betz se proslavil prokázáním fotosenzibilizačních účinků porfyrinů. Nitrožilně si aplikoval 200 mg hematoporfyrinu, což u něj vyvolalo kožní reakci. Fotosenzitivita po kožní reakci u výše zmíněného lékaře přetrvávala po dobu několika týdnů. Hans Fischer také jako první použil termín uroporfyrin, který pozoroval v moči jednoho ze svých pacientů [1–3].

Na práci výše zmíněného lékaře Hanse Fischera navázali Cecil J. Watson, Jan Waldeström a Claude Rimington, kteří se zasloužili o výzkum porfyrií. Právě Jan Waldeström zavedl termín porfyrie. V roce 1934 také právě Jan Waldeström izoloval uroporfyrin z moči skupiny pacientů, kteří trpěli akutní porfyrií. Waldeström se taktéž rozhodl zrevidovat Günterovu klasifikaci, díky které určil tři typy porfyrií: porphyria congenita, porphyria cutanea tarda a porphyria acuta. Porphyria acuta byla následně na základě provedených studií přejmenována na akutní intermitentní porfyrii. Waldeström prokázal, že u pacientů, kteří trpí akutní intermitentní porfyrií, dochází ke zvýšenému vylučování uroporfyrigenu III močí. Díky Waldeströmovu pozorování bylo později zjištěno, že se jedná o dědičné onemocnění, které je způsobené nedostatkem enzymu (konkrétně porfobilinogendeaminázy) v syntetické dráze hemu [1, 3, 4].

V rámci studia porfyrií také došlo k několika objevům, které se týkají biosyntézy hemu. Jedním z objevů bylo v roce 1931 objevení porfobilinogenu, který se vyskytuje v moči pacientů

trpících akutní porfyrií. Vědci Shemin a Rittenberg po druhé světové válce také zjistili, že glycin je prekurzorem hemu a do poloviny padesátých let se jim podařilo identifikovat hlavní reakce syntézy hemu [1, 5].

V roce 1963 se June Lacelles podařil další velký pokrok, když zjistila, že biosyntéza porfyrinů je kontrolována pomocí negativní zpětnovazebné inhibice 5-aminolevulátsyntézy hemem. Následně bylo prokázáno, že právě tento represivní účinek hemu na 5-aminolevulátsyntázu slouží jako regulační mechanismus [1].

Posléze také došlo ke klasifikaci porfyrií na jaterní a erythropoetické. Toto rozdělení vzniklo na základě pokusů, kdy R. Schmid a jeho kolegové zjišťovali množství porfyrinů v kostní dřeni a játrech u pacientů s různými druhy porfyrií. Porfyrie tedy pak rozdělili podle toho, kde se nachází počáteční místo jejich hromadění [1].

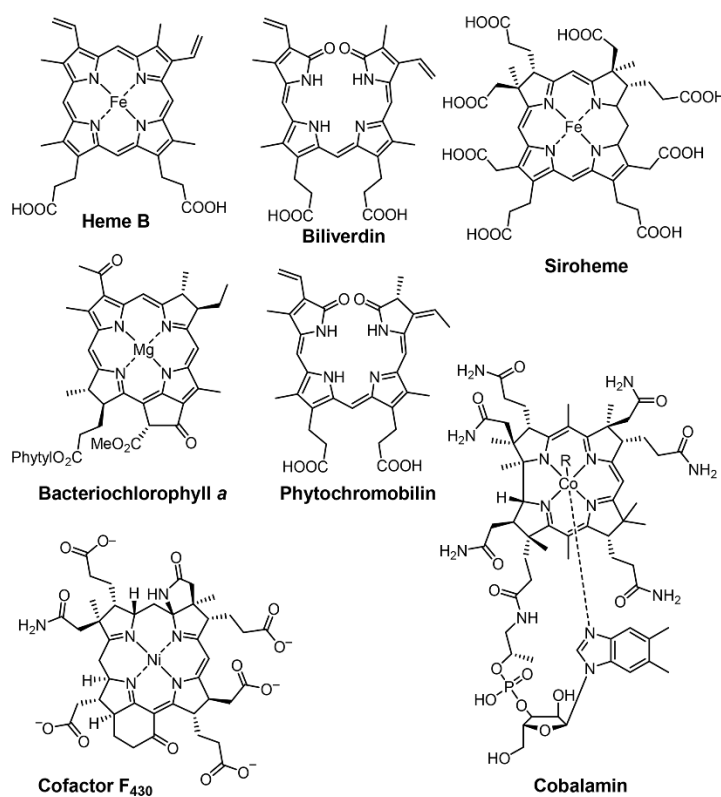
Na základě klinických charakteristik a hromadění a vylučování porfyrinů bylo do poloviny 60. let 20. století klasifikováno šest druhů porfyrií. Někteří pacienti, kteří však nevykazovali typické příznaky pro již klasifikované druhy porfyrií, byli těžce zařaditelní mezi již známé typy. S vývojem a zlepšováním nových laboratorních metod se však problémy s klasifikací podařilo vyřešit [1].

1 Porfyriny

1.1 Základní charakteristika a vlastnosti porfyrinů

Porfyriny jsou heterocyklické deriváty porfinu, které jsou složeny ze čtyř kruhů. Tyto kruhy obsahují methinové můstky, které vytvářejí konjugované vazby mezi jádry pyrrolů a každý z nich obsahuje dusík. Jedná se tedy o tetrapyrrolovou strukturu [6, 7].

Do tetrapyrrolové struktury lze zakomponovat různé druhy kovů, čímž dochází k tvorbě mnoha důležitých biologických molekul jako je například chlorofyl, cytochromy, vitamin B12 či hemoproteiny [6, 7]. Některé druhy porfyrinů jsou znázorněny na obr. 1.



Obrázek 1: Chemické struktury různých druhů porfyrinů; převzato z [8]

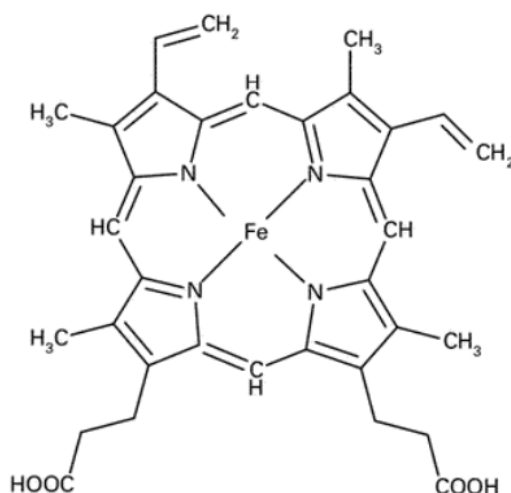
Dále se jedná o molekuly, které absorbují světlo a vyskytují se tak hojně v přírodě. Jejich struktura je taktéž důležitá pro některé biologické procesy. Právě porfyriny se mohou účastnit procesů jako je fotosyntéza nebo třeba také respirace [8, 9].

Jak bylo výše zmíněno, porfyriny absorbují světlo. Porfyriny a jejich deriváty absorbují v takzvaném Soretově maximu (jinak známé jako Soretův pruh), které má absorpční maximum okolo 400 nm [10, 11].

1.2 Hem

Hem je označení používané pro protoporphyrin IX. Je tvořen tetrapyrrolovým jádrem s centrálním iontem, kterým je Fe^{2+} (viz obr. 2). Tetrapyrroly jsou tvořeny čtyřmi molekulami pyrrolu, spojenými v jedné rovině do kruhu čtyřmi methinovými můstky. β -substituenty určují, jestli je tetrapyrrol klasifikován jako hem nebo je klasifikován jako jiná příbuzná sloučenina. V případě hemu jsou těmito substituenty methyl, vinyl a propionát [12].

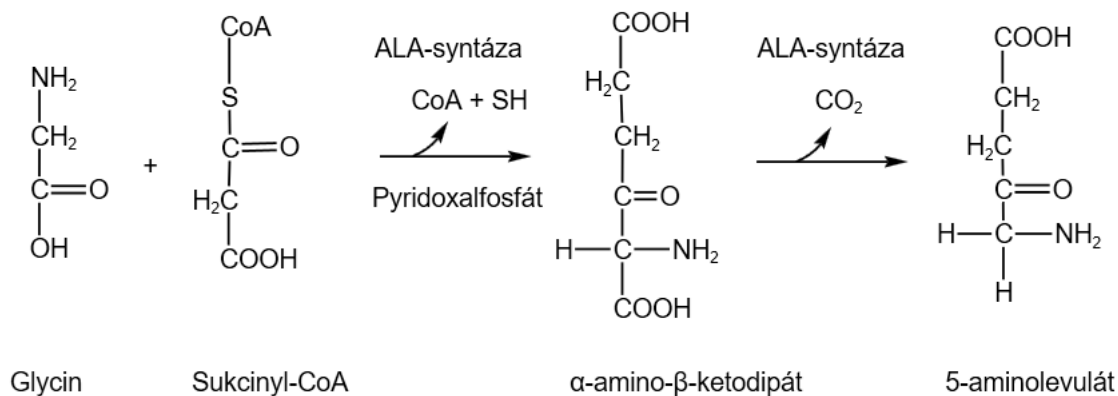
Hem je nezbytný pro všechny buňky. Plní funkci jakožto prostetická skupina mnoha hemoproteinů. Mezi ně patří například hemoglobin, myoglobin, cytochromy dýchacího řetězce, cytochrom P450, kataláza a peroxidáza. Hem také moduluje aktivity iontových kanálů, podporuje adipogenezi a hraje roli v koagulaci krve [13, 14].



Obrázek 2: Struktura hemu; převzato z [15]

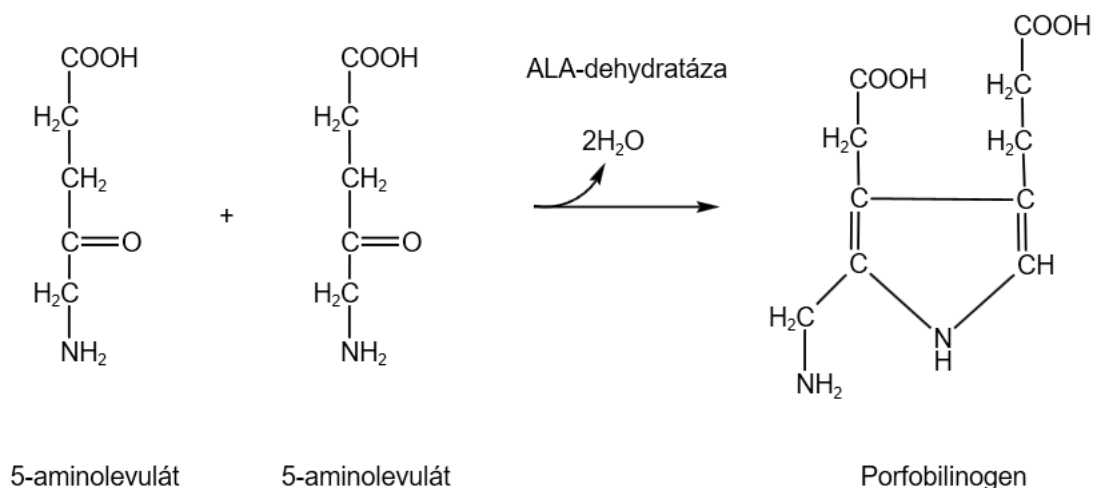
1.2.1 Syntéza hemu

Syntéza hemu probíhá v osmi enzymatických krocích. Prvním krokem je kondenzace glycinu a sukcinyl-CoA na kyselinu 5-aminolevulovou (ALA). Tato reakce je katalyzována aminolevulátsyntázou (ALAS) a je lokalizována v mitochondriích. Jako kofaktor v této reakci vystupuje pyridoxalfosfát (viz obr. 3) [16, 17].



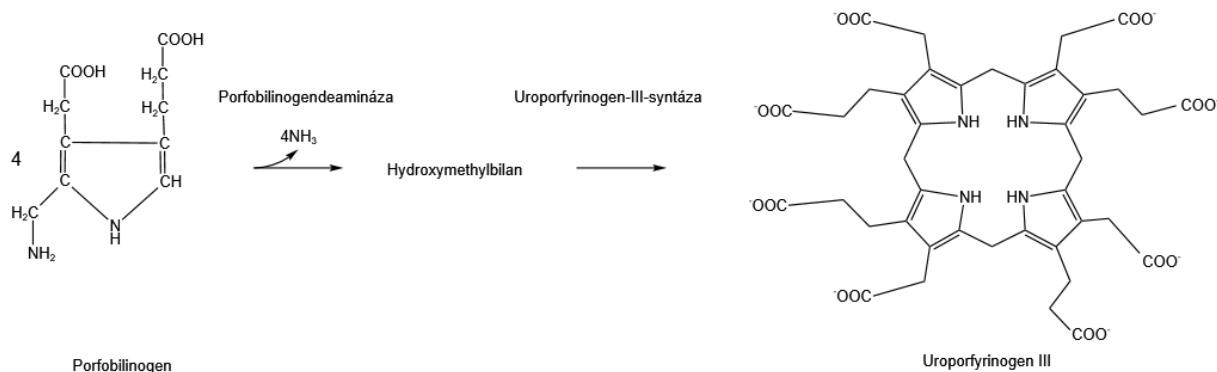
Obrázek 3: Kondenzace glycinu a sukcinyl-CoA na 5-aminolevulát; převzato a upraveno [12]

Kyselina 5-aminolevulová je následně transportována do cytosolu, kde probíhá kondenzace a dehydratace na porfobilinogen za katalýzy 5-aminolevulátdehydratázou (viz obr. 4) [16, 18].



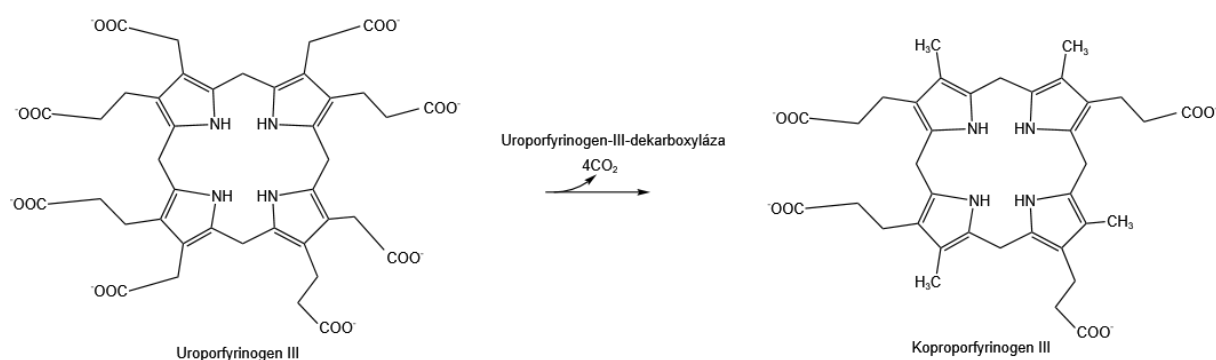
Obrázek 4: Vznik porfobilinogenu; převzato a upraveno z [12]

Čtyři molekuly porfobilinogenu jsou využity k tvorbě hydroxymethylbilanu za katalýzy porfobilinogendeaminázou. Tento krok je následován cyklizací na uroporfyrinogen III za katalýzy uroporfyrinogen-III-syntázou (viz obr. 5) [16, 17].



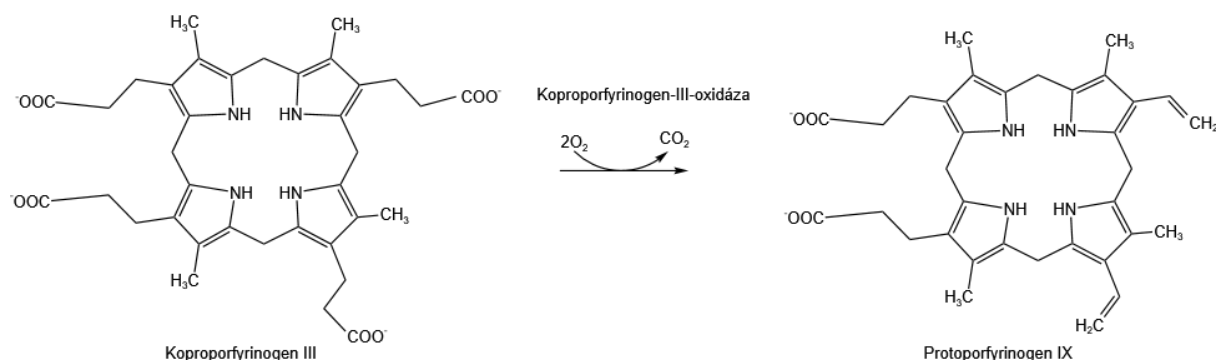
Obrázek 5: Vznik uroporphyrinogenu III; převzato a upraveno z [12; 16]

Syntéza hemu dále pokračuje dekarboxylací acetátových zbytků postranních řetězců na methylové zbytky za katalýzy uroporphyrinogen-III-dekarboxylázou za vzniku koproporphyrinogenu III, který je transportován zpátky do mitochondrie (viz obr. 6) [16, 18].



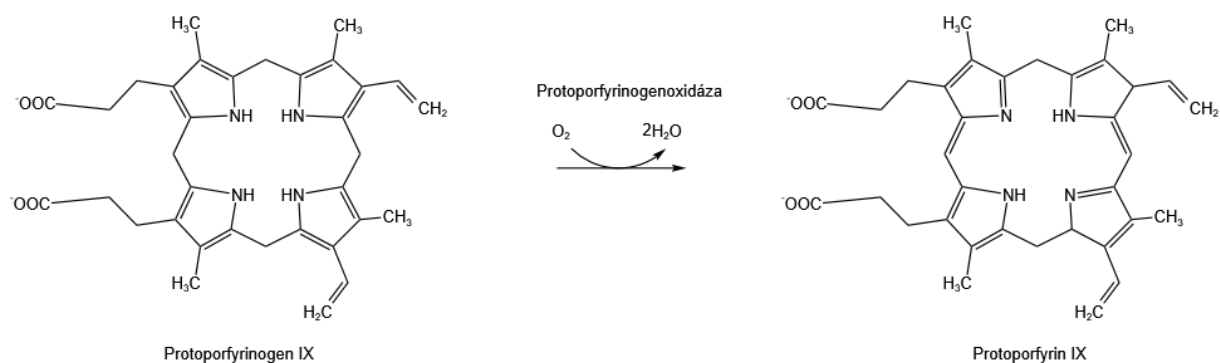
Obrázek 6: Přeměna uroporphyrinogenu III na koproporphyrinogen III; převzato a upraveno z [16]

Následně probíhá reakce katalyzovaná koproporphyrinogen-III-oxidázou při níž vzniká protoporphyrinogen IX (viz obr. 7) [16].



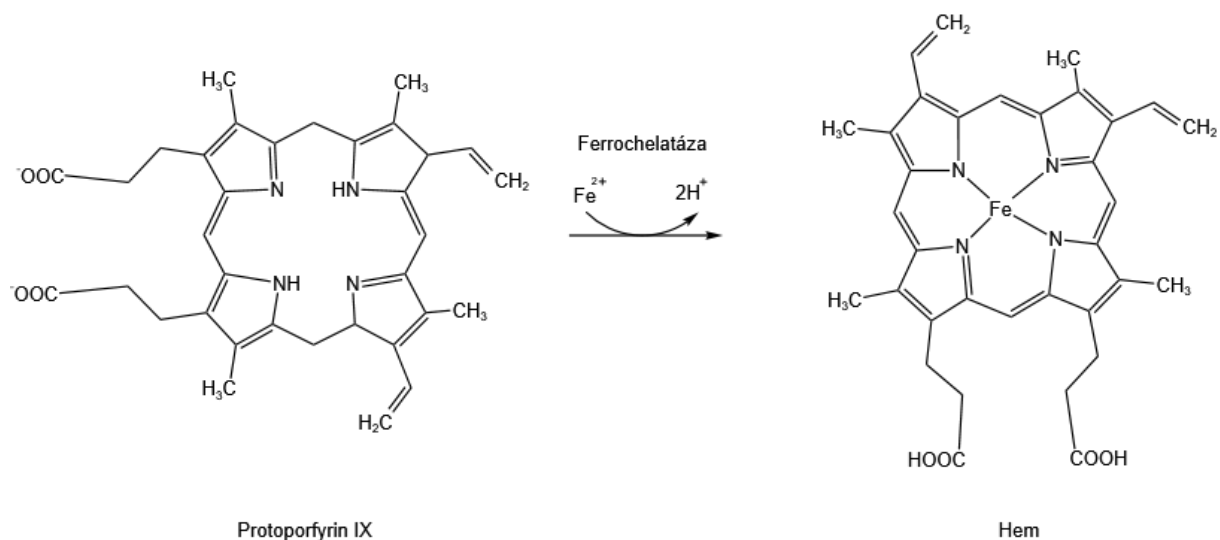
Obrázek 7: Přeměna koproporphyrinogenu III na protoporphyrinogen IX; převzato a upraveno z [16]

Dále enzym protoporphyrinogenoxidáza zprostředkovává reakci, při které se odštěpí 6 protonů a 6 elektronů. Při této reakci vznikne protoporphyrin IX (viz obr. 8) [16].



Obrázek 8: Přeměna protoporphyrinogenu IX na protoporphyrin IX; převzato a upraveno z [16]

Finální produkt, kterým je hem, vzniká začleněním Fe^{2+} do struktury protoporphyrinu IX. Tato reakce je katalyzována enzymem ferrochelátázou (viz obr. 9) [16].



Obrázek 9: Interkorporace Fe^{2+} do struktury protoporphyrinu; převzato a upraveno z [16]

1.2.2 Regulace syntézy hemu

V regulaci syntézy hemu hrají roli její klíčové enzymy. Ne všechny mechanismy regulace klíčových enzymů jsem zcela objasněné. Co však bylo prokázáno je to, že první enzym syntézy hemu aminolevulátsyntáza a poslední enzym ferrochelátáza jsou regulovány pomocí hladiny kyslíku, stavu železa a několika dalších faktorů [19].

1.2.2.1 Regulace aktivity aminolevulátsyntázy

Aminolevulátsyntáza je enzym, který katalyzuje první reakci biosyntézy hemu. Tento enzym se vyskytuje ve dvou podobách jakožto aminolevulátsyntáza 1 (ALAS1) a aminolevulátsyntáza 2 (ALAS2). Co se týče regulace tohoto enzymu, tak ta probíhá na genetické úrovni [20].

Lidský gen pro ALAS1 se nachází na chromozomu 3. Exprese tohoto genu je regulována celou řadou faktorů [20].

Uvádí se, že aktivita ALAS je krok dráhy syntézy hemu, který ovlivňuje její rychlost v prekurzorových buňkách. Diferenciace, která je indukována pomocí transkripčního faktoru GATA 1 (GATA 1) vede pomocí indukce a zesílení transkripce všech genů ke zvýšení syntézy hemu [20].

Enzym ALAS2 je exprimován v prekurzorech vyvíjejících se červených krvinek, hlavně tedy v erytroblastech. Transkripce ALAS2 může být ovlivňována několika transkripčními faktory. Mezi tyto transkripční faktory patří například eukaryotický transkripční faktor ELK/Sp1, GATA 1, hypoxií indukovaný faktor (HIF-1) a NF-E2 transkripční faktor [13].

Co se dále týče ovlivnění exprese ALAS2, tak velký vliv má dostupnost železa. Když je železa nedostatek, tak dojde k potlačení aktivity ALAS2 a zároveň dojde k omezení produkce protoporfyrinu. Tento krok zabraňuje jeho nadprodukcí, která se může projevat toxicky [13].

Díky železo regulujícím proteinům 1 a 2 (IRP 1 a 2) dochází ke zprostředkování regulace exprese ALAS2 mRNA právě pomocí železa. Translace taktéž může pokračovat díky tomu, že IRP 1 a 2 se v přítomnosti dostatku železa uvolňují z IRE (prvek odpovědný za železo) na 5'-UTR (5' nepřekládaná oblast) ALAS2 [13].

1.2.2.2 Regulace aktivity ferrochelátázy

Ferrochelátáza je enzym, který katalyzuje interkorporaci železa do protoporfyrinu IX, tedy poslední krok syntézy hemu. Exprese ferrochelátázy je taktéž regulována hladinou kyslíku prostřednictvím HIF1 α (hypoxií indukovaný faktor 1 α) [19].

Živočišné ferrochelátázy obsahují železo-sírné klastry. Právě pomocí železo-sírných klastrů a dostupnosti železa je regulována stabilita a enzymatická aktivita proteinů. Dále tyto železo-sírné klastry umožňují regulaci ferrochelátázy pomocí pH mitochondrií a redoxního potenciálu [19].

1.2.2.3 Regulace aktivity 5-aminolevulátdehydratázy

Ve studii z roku 2001 se prokázalo, že 5-aminolevulátdehydratáza (ALAD) by mohla být dalším limitním krokem při biosyntéze hemu [21].

V další studii (z roku 2011) byl odhalen nový zpětnovazebný mechanismus mezi 5-aminolevulátdehydratázou a porfobilinogendeaminázou. V této studii došlo k inhibici aktivity 5-aminolevulátdehydratázy i porfobilinogendeaminázy a porovnával se jejich účinek. Když byla inhibována aktivita porfobilinogendeaminázy, došlo ke zvýšení aktivity 5-aminolevulátdehydratázy. Naopak aktivita 5-aminolevulátdehydratázy byla snížena důsledkem nadměrné exprese porfobilinogendeaminázy. Tento účinek byl však pozorován jen při inhibici aktivity porfobilinogendeaminázy, při inhibici aktivity 5-aminolevulátdehydratázy nikoliv. Dále z toho vyplývá, že v případě porfobilinogendeaminázy se jedná o rychlost omezující enzym v metabolické dráze hemu [22].

Co se týče aktivity 5-aminolevulátdehydratázy, ta má vliv na syntézu protoporfyrinu IX, kdy dochází k jejímu dramatickému snížení. Pro porovnání – když byla inhibována aktivita porfobilinogendeaminázy, došlo ke snížení produkce protoporfyrinu IX pouze o jeden řád, zatímco při inhibici aktivity 5-aminolevulátdehydratázy došlo ke snížení produkce protoporfyrinu IX o celé 2 řády. Právě inhibicí aktivity porfobilinogendeaminázy dochází ke zvýšené aktivitě 5-aminolevulátdehydratázy, díky čemuž je k dispozici více substrátu pro zbývající porfobilinogendeaminázu [22].

Tyto dva zmíněné enzymy mají taktéž vliv na rozvoj porfyrie z nedostatku 5-aminolevulátdehydratázy. Bylo prokázáno, že právě nedostatek tohoto enzymu nemůže být kompenzován aktivitou porfobilinogendeaminázy, protože enzym nemá k dispozici dostatek substrátu, který by mohl dále využít. Zároveň se jedná o důkaz, že pro 5-aminolevulátdehydratázu není žádný kompenzační mechanismus a má tedy klíčový význam v syntéze hemu [22].

1.2.3 Transport hemu

Jak již bylo zmíněno výše, tetrapyrrolová struktura hemu obsahuje atom železa. Právě železo je nejvíce vyskytovaným kovem v lidském těle. Může sloužit jako kofaktor pro proteiny, které se účastní transportu kyslíku, nebo také výměny elektronů či kontroly volných radikálů, které jsou pro tělo toxické [23].

Železo můžeme ze stravy získávat ve dvou formách. První formou je anorganické železo (zdroje rostlinného původu). Druhou formou železa je hem, kdy se železo získává z hemoglobinu či myoglobinu [23].

Transport hemu umožňuje protein HCP1. Jedná se o membránový protein, který se nachází v proximální části tenkého střeva. Právě v této části střeva dochází k nejvyšší

absorpci hemu. Také bylo prokázáno, že právě HCP1 podporuje příjem hemu a dalších podobných molekul (například zinkový protoporfyrin) [23].

Kromě HCP1 je transport hemu umožněn i pomocí proteinu BCRP (protein spojený s rezistencí u karcinomu prsu). Vedle těchto dvou proteinů existuje i protein ABCB6, který se podílí na transportu koproporfyriu [16].

2 Porfyrie

Porfyrii lze charakterizovat jako metabolickou poruchu syntézy hemu. Jedná se o enzymaticky řízený proces. Hem se syntetizuje v játrech (20 %), ale k jeho syntéze dochází převážně v kostní dřeni (80 %). Pokud se jedná o poruchu metabolicky významnou, dochází k nadměrné produkci prekurzorů, které předcházejí chybnému kroku. Porfyrie můžeme klasifikovat jako dědičné, tedy primární porfyrie, a získané porfyrie, označované taktéž jako sekundární [24–26].

Co se týče dělení porfyrií, tak je můžeme z lékařského hlediska dělit na akutní a neakutní formy. Toto rozdělení bývá nejčastěji používané, hlavně z praktického hlediska (viz tab. 1) [27].

Tabulka 1: Rozdělení porfyrií na akutní a neakutní formy; převzato a upraveno z [27]

Akutní porfyrie	Neakutní porfyrie
Akutní intermitentní porfyrie	Porphyria cutanea tarda
Porphyria variegata	Erytropoetická protoporfyrie
Hereditární koproporfyrie	
Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy	

Z hlediska dermatologického lze porfyrie dále dělit na formy kožní a formy nekožní (viz tab. 2) [27].

Tabulka 2: Rozdělení porfyrií na kožní formy a nekožní formy; převzato a upraveno z [27]

Kožní formy porfyrií	Nekožní formy porfyrií
Porphyria cutanea tarda	Akutní intermitentní porfyrie
Erytropoetická protoporfyrie	Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy
Porphyria variegata	
Hereditární koproporfyrie	

Jak bylo výše uvedeno, jedná se o metabolickou poruchu syntézy hemu. Porfyrie jsou spojeny s defekty v enzymatických krocích, které katalyzují syntézu hemu (viz tab. 3) [28].

Tabulka 3: Jednotlivé typy porfyrií a s nimi spojených enzymů, u kterých dochází k defektům; převzato a upraveno z [28]

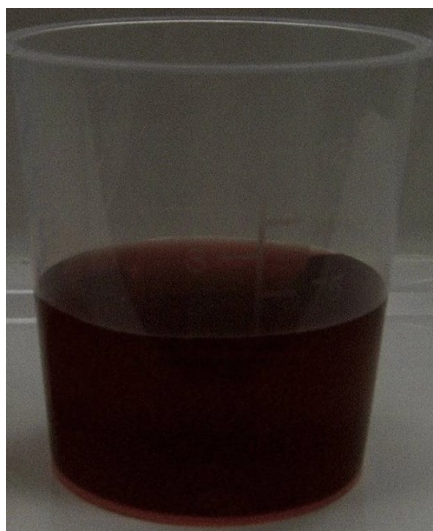
Typ porfyrie	Defektní enzym	Způsob dědičnosti
Kongenitální erythropoetická porfyrie	Uroporfyrinogen-III-syntáza	Autozomálně recesivní
Porphyria cutanea tarda	Uroporfyrinogendekarboxyláza	Autozomálně dominantní
Protoporfyrie	Ferrochelatóza	Autozomálně dominantní
Hepatoerythropoetická porfyrie	Uroporfyrinogendekarboxyláza	Autozomálně recesivní
Akutní intermitentní porfyrie	Porfobilinogendeamináza	Autozomálně dominantní
Porphyria variegata	Protoporfyrinogenoxidáza	Autozomálně dominantní
Hereditární koproporfyrie	Koproporfyrinogenoxidáza	Autozomálně dominantní
Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy	5-aminolevulátdehydratáza	Autozomálně recesivní

3 Primární porfyrie

3.1 Hepatální porfyrie

Mezi jaterní porfyrie spadá akutní intermitentní porfyrie, porphyria variegata, hereditální koproporfyrie, které jsou děděny autozomálně dominantně, a také porfyrie z deficitu 5-aminolevulátsyntázy. Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátsyntázy je děděna autozomálně recesivně a jedná se o velmi vzácné onemocnění. Hepatální porfyrie jsou způsobeny mutacemi v genech pro hydroxymethylbilansyntázu, protoporfyrinogenoxidázu, koproporfyrinogenoxidázu a 5-aminolevulátsyntázu. U autozomálně dominantních hepatálních porfyrií dochází ke snížení aktivity daného enzymu na polovinu normální hodnoty, zatímco u autozomálně recesivních porfyrií je aktivita enzymu díky mutaci velmi snižená, ale ne chybějící. K rozvoji fenotypu u hepatálních porfyrií však dochází v důsledku dalších faktorů jako je například nadměrná konzumace alkoholu, půst, hladovění, kouření či užívání léčiv. Defekty v primárních genech pro syntézu hemu v kombinaci s dalšími genetickými, environmentálními a nutričními aspekty mohou vést k nekontrolovatelné up-regulaci jaterní ALAS1 a tím k nadprodukci a hromadění porfyrinů a jejich prekurzorů, které jsou toxické [29–31].

Pacienti s hepatálními porfyriemi projevují neurologické a fyzické příznaky, které jsou charakterizovány bolestmi břicha, bolestí zad a končetin, zvracením, nevolností, zácpou, slabostí, necitlivostí, úzkostí, depresemi či psychózou. Kromě akutních atak se mohou u pacientů, kteří ataky prodělávají opakovaně, začít projevovat chronické problémy. Mezi chronické symptomy se může řadit neuropatie, chronická bolest či onemocnění jater a ledvin. Mezi další typické znaky projevující se nemoci patří červeně zbarvená moč (viz obr. 10). Kromě toho se u pacientů taktéž může vyskytovat tachykardie spojená s hypertenzí [29, 32].



Obrázek 10: Charakteristicky zbarvená moč pacientky trpící akutní intermitentní porfyrií; převzato z [26]

Neuroviscerální projevy u hepatálních porfyrií vzbuzují z hlediska patogeneze velký zájem. V rámci studií bylo zjištěno, že jedním z důvodů těchto projevů je deficit hemu na buněčné úrovni, díky kterému dochází k nedostatku hemoproteinů v neuronech. Druhým důvodem je ALA, u které bylo během akutních porfyrických atak vysledováno, že působí neurotoxicky [30].

3.1.1 Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy

Porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy (ADP) je velmi vzácný typ porfyrie s autozomálně recesivní dědičností. Můžeme se také setkat s označením Dossova porfyrie, jelikož toto onemocnění bylo poprvé popsáno německým lékařem Manfredem Dossem [33].

Tento druh porfyrie je způsoben nedostatkem enzymu 5-aminolevulátdehydratázy, který se vyskytuje v biosyntetické dráze hemu. ALAD katalyzuje přeměnu dvou molekul 5-aminolevulové kyseliny na porfobilinogen. Gen pro ALAD se nachází na chromozomu 9q34. V důsledku chybějícího ALAD dochází k hromadění 5-aminolevulové kyseliny v červených krvinkách či hepatocytech. Hromadící se 5-aminolevulová kyselina může dále unikat do plazmy či může působit toxicky na okolní tkáň. Porfyrie z nedostatku ALAD se může projevovat neurologickými, kardiovaskulárními či gastrointestinálními příznaky. U pacientů, kteří trpěli klinicky závažným průběhem onemocnění studie prokázaly, že se u nich vyskytují 2 mutace na genu pro ALAD. U pacientů s méně závažným klinickým průběhem dochází k jedné mutaci s významnou reziduální aktivitou (19–70 % normální aktivity)

a druhé mutaci, která způsobuje deficit ALAD (aktivita je nižší než 8 % běžné hodnoty) [31, 33].

Jedná se o nejvzácnější druh z dědičných porfyrií, jelikož ve světě je známo pouze 9 případů této nemoci, které byly dosud zdokumentovány. U dvou případů byly projevy nemoci zaznamenány již v kojeneckém věku. V dalších šesti případech se nemoc začala projevovat v dětství nebo dokonce až v dospívání. Ve všech případech, u kterých se projevovaly symptomy onemocnění, se jednalo o pacienty mužského pohlaví. Jedná se o nevysvětlitelnou zajímavost, jelikož u ostatních akutních porfyrií jsou symptomatickými pacientkami převážně ženy. U všech devíti pacientů však byly objeveny zvýšené hladiny zinkového protoporfyrinu v erythrocytech. Právě tento ukazatel naznačuje, že došlo k poruše syntézy hemu v kostní dřeni, která je způsobena nedostatkem ALAD [34].

Jedním z pacientů trpících porfyrií z nedostatku 5-aminolevulátdehydratázy je sedmnáctiletý pacient z Německa, který trpěl velkými bolestmi břicha a taktéž polyneuropatií. Pacient také vykazoval oproti normálu nezvykle vysoké hodnoty klinických nálezů. Vylučování kyseliny 5-aminolevulové bylo zvýšeno 32krát, celkové vylučování porfyrinu (s převládajícím koproporfyrinem) bylo zvýšeno dokonce 72krát. Zinkový protoporfyrin, který se vyskytoval v pacientových erythrocytech byl zvýšen 5,4krát oproti běžné horní hranici normálu a aktivita ALAD byla výrazně snižena [35].

V rámci rodinné anamnézy pacienta bylo zjištěno, že otec i matka jsou heterozygotními nositeli genu pro deficit ALAD. Dále bylo zjištěno, že u pacienta došlo ke dvěma mutacím. První z těchto mutací je substituce cytosinu za thymin na pozici 11bp na exonu 3, v případě druhé mutace se jedná taktéž o substituci, zde však cytosinu za adenin, na tomtéž místě. První ze zmíněných mutací byla nalezena u otce a druhá z mutací u matky pacienta [35].

Pacientovi byla nasazena léčba pomocí intravenózně podávaných infuzí hemarginátu, které mu byly podávány při akutních porfyrických atakách a následně mu byly v rámci další léčby podávány jednou týdně po dobu jednoho roku. Hodnota vylučované 5-aminolevulové kyseliny poklesla na 35 % původních hodnot, které byly zjištěny před započítím léčby. Celkové porfyriny v moči následně poklesly na 6 % oproti původním hodnotám [35].

Dalším příkladem onemocnění Dossovou porfyrií je případ čtrnáctiletého chlapce ze Severní Ameriky. U pacienta byly nalezeny 2 na sobě nezávislé mutace v exonu 5 genu pro ALAD. Jedna z těchto mutací pocházela od matky, druhá pocházela od otce [36].

Pacient byl přijat do nemocnice k provedení vyšetření a léčbě akutní jaterní porfyrie. Pacient od svých dvanácti let prodělal 7 záchvatů bolesti břicha, které se vyskytovaly společně se slabostí nohou a rukou. Při této hospitalizaci byly u pacienta zjištěny zvýšené hodnoty 5-aminolevulové kyseliny a koproporfyriu v moči. Pacient byl zaléčen intravenózně podávanou glukózou a analgetiky, přičemž došlo k jeho uzdravení [36].

Následně se po zhruba půl roce u pacienta vyskytly znovu střevní potíže zahrnující nechutenství, nevolnost zvracení, zácpu a taktéž se znovu projevil bolest břicha. V pacientově rodinné anamnéze se nikdy nevyskytla porfyrie, ani jiné příbuzné onemocnění. Při vyšetření pacienta se objevily příznaky jako hypertenze, tachykardie a mírná horečka. Pacient byl opět zaléčen 10% glukózou, která mu byla podávána intravenózně v množství 1 litr za 8 hodin, dále mu byl podáván morfin sulfát, promethazin, klystýr a projímadlo. Po několika dnech příznaky u pacienta polevily a pacient byl propuštěn. V následujícím roce pacient prodělal ještě dva další porfyrické záchvaty, přičemž byl léčen pomoci hemínu [36].

Zajímavým případem je výskyt porfyrie u novorozené švédské dívky, která nevykazovala žádné symptomy této nemoci. Nemoc u novorozence byla objevena zcela náhodně, když byl prováděn novorozenecký screening na hereditární tyrosinémii [36, 37].

Dítě se narodilo zdravé a v určeném termínu. Při novorozeneckém screeningu na hereditární tyrosinémii byla prokázána snížená aktivita ALAD v erytrocytech novorozence. Podezření na hereditární tyrosinémii či otravu olovem, která má podobné symptomy, byly vyloučeny pomocí dalších specializovaných testů [37].

V rámci laboratorních vyšetření bylo zjištěno, že dítě vykazuje zvýšenou exkreci 5-aminolevulové kyseliny a koproporfyriu v moči. Koncentrace protoporfyriu v erytrocytech byla taktéž zvýšená. Co se týče enzymové aktivity ALAD v erytrocytech, během screeningového vyšetření, ta dosahovala pouze 12 % normálních hodnot. V následujících dvou letech života dítěte se aktivita ALAD mírně zvýšila, ale stále zůstala pod 15 % normálních hodnot [37].

Dalším příkladem pacienta, který trpí Dossovou porfyrií, je muž z Belgie, u kterého bylo toto onemocnění zpozorováno v 63 letech. U pacienta se objevila polycytémie a pacient taktéž začal ztrácet sílu v obou pažích. V rámci laboratorního vyšetření byla u pacienta zjištěna vysoká plazmatická koncentrace 5-aminolevulové kyseliny oproti normální hodnotě. Na druhou stranu, porfobilinogen nebyl v plazmě detekován vůbec. Možné příčiny pacientova stavu, kterými by mohly být například otrava olovem, tyrosinémie, alkoholismus či cirhóza,

byly vyloučeny pomocí specializovaných testů. Pacientovi byla nasazena léčba, kdy mu byla podávána glukóza, a to jak orálně, tak i intravenózně [38].

Rodinná anamnéza ukázala, že vnučka, dcera a sestra pacienta měly přibližně 50 % aktivity ALAD oproti normálním hodnotám. Právě tato informace naznačuje, že se v případě těchto jedinců jedná o heterozygotní přenašeče deficitu ALAD [38].

U pacienta byla provedena sekvenační analýza cDNA (komplementární DNA), která byla izolována z lymfoblastoidních buněk a byla transformována virem Epstein-Barrové. Analýza odhalila, že došlo k tranzici na alele G¹⁷⁷ na cytosin a G³⁹⁷ na adenin. Tato tranzice vedla k tomu, že došlo k záměně aminokyselin Lys59Asn, kdy je lysin nahrazen asparaginem, a Gly133Arg, kdy dochází k náhradě glycinu za arginin [38].

Dalším případem Dossovy porfyrie je chlapec narozený v roce 1983. Ihned po porodu se u pacienta začala projevovat svalová hypotonie a povrchové dýchání, ačkoliv srdeční frekvence byla v normě. Pacientovi byl podán kyslík, ale bez výsledku. Pacient byl proto převezen na jednotku intenzivní péče. Při vyšetření u pacienta nebyly přítomny Moroův ani úchopový reflex a pacient měl zvětšená játra. Pacient byl následně zaléčen pomocí antibiotik, fenobarbitalu, dexamethasonu a furosemidu. Ostatní vyšetření jako jsou ultrazvuk hlavy a břicha, jaterní testy, hladina kreatininu, test na funkci štítné žlázy či analýza aminokyselin v plazmě a moči byla v normě [39].

V prvních týdnech života pacienta nebyly pozorovány žádné pohyby končetin a svalová hypotonie se projevovала dosti výrazně. Pacient byl taktéž závislý na podpoře dýchání. Po třech týdnech se svalová aktivita však začala postupně navracet. V pěti týdnech věku začalo dítě pomalu dýchat samo bez podpory, začalo přijímat potravu a svalový tonus se začal zlepšovat. Zlepšování zdravotního stavu pacienta postupně pokračovalo, ale konečná diagnóza nebyla stále známá [39].

Dítě začalo postupně stabilně sedět, dokázalo se přetáčet, motorické dovednosti se vyvíjely a zlepšovaly, naučilo se mluvit, v osmnácti měsících dokonce chodilo bez opory. Přestože dítě prospívalo, rodina u chlapce zpozorovala několik problémů. Dítě mělo potíže s krmením, trpělo na časté respirační infekce a také opakované záněty středního ucha [39].

Ve 23 měsících věku pacient odmítal stravu i tekutiny a stal se podrážděnějším. Taktéž se objevila slabost v obou dolních končetinách, nakonec pacient nedokázal ani stát na nohou, jelikož mu stání působilo bolest. U pacienta byla provedena elektromyografie, při které bylo prokázáno snížení motorických jednotek. O zhruba dva měsíce později pacient

opět přestal přijímat potravu a tekutiny a byla prokázána nefunkčnost bránice. Pacientovi byl zaveden centrální žilní katetr a léčiva mu začala být podávána intravenózně. O dalších několik měsíců později se pacientovi dosti zhoršily respirační potíže a pacient začal být závislý na parentální výživě. Pacient byl zaléčen podáváním panhematinu po dobu šesti dní, ale po podávání tohoto léčiva nebyl zaznamenán žádný efekt. Následně mu tedy byl podávám hemarginát po dobu čtyř dnů, ale ani tento způsob léčby nevedl ke zlepšení pacientova stavu [39].

Při laboratorním vyšetření pacienta byly zjištěny dosti zvýšené hodnoty 5-aminolevulové kyseliny a koproporfyriu v moči. Koncentrace porfobilinogenu byla zase naopak pouze mírně zvýšená. Koncentrace porfyrinů v erytrocytech byla taktéž výrazně zvýšená. Pacientovi byl podán dithiotreitol, zinek, mangan nebo jejich kombinace, což mělo za cíl obnovit aktivitu 5-aminolevulátdehydratázy, čehož však nebylo dosaženo [39].

3.1.2 Akutní intermitentní porfyrie

Akutní intermitentní porfyrie (AIP) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění. Tento druh porfyrie je způsoben mutacemi genu pro enzym hydroxymethylbilansyntázu, který je však znám také jako porfobilinogendeamináza. Aktivita tohoto enzymu je oproti normálním hodnotám poloviční. Právě snížená aktivita porfobilinogendeaminázy a nadměrná exprese ALAS1 vede k hromadění prekurzorů porfyrinů, kterými jsou 5-aminolevulová kyselina a porfobilinogen. Tyto prekurzory se uvolňují z jater do oběhu [40–43].

Mutace genu pro porfobilinogendeaminázu se nacházejí v chromozomální oblasti 11q24.1-24.2. Tyto mutace mohou zahrnovat missense mutace, nonsense mutace, delece, inserce či duplikace. Enzym porforbiligendeamináza se také vyskytuje ve formě konstitutivní a v erytroidní izoformě. Většina pacientů trpících akutní intermitentní porfyrií nese mutace v exonu 3-15. Právě tyto mutace ovlivňují jak konstitutivní, tak i erytroidní izoformu enzymu. Bylo identifikováno více než 500 různých druhů mutací v genu pro porfobilinogendeaminázu. U akutní intermitentní porfyrie se taktéž projevuje heterogenita, jelikož mutace, které k ní vedou jsou velmi často specifické pro jednotlivé rodiny nebo se vyskytují jen u několika málo rodin bez příbuzenského vztahu. Korelace mezi genotypy a fenotypy akutní intermitentní porfyrie zatím nebyla jasně stanovena. Studie však naznačují, že jednotlivé mutace mohou vést k různým fenotypům a mohou způsobovat rozdíly v klinické penetraci [44, 45].

Pacienti trpící akutní intermitentní porfyrií vykazují neuroviscerální a psychiatrické symptomy. Dále se mohou objevovat bolesti břicha, nevolnost, zácpa, ale i změny v chování pacienta. Pacient může být více podrážděný, má problémy se spánkem, může trpět emoční labilitou a kvůli nadměrné aktivitě sympatiku se u něj může projevit hypertenze či tachykardie a také se u něj může projevovat neuropatie (viz obr. 11). Během těžkých záchvatů může docházet u pacienta k bezvědomí či dokonce kómatu. Taktéž může docházet k progresivní slabosti končetin v důsledku motorické axonopatie. Pokud symptomy, které pacient vykazuje, nejsou řádně diagnostikovány a není určena příčina, může u pacienta dojít k trvalým následkům či smrti. Klinické projevy nemoci totiž bývají velmi často nespecifické a diagnóza onemocnění je tudíž ztížena. Díky tomu může být akutní intermitentní porfyrie velmi často zaměňována za akutní encefalopatii. Většina pacientů trpících akutní intermitentní porfyrií zažije během svého života jen několik málo záchvatů, avšak zhruba 3–5 % pacientů trpí záchvaty opakovaně [26, 40, 42, 43].



Obrázek 11: Motorická axonální neuropatie extenzorů ruky pacienta s akutní intermitentní porfyrií; převzato z [26]

Jedním z případů akutní intermitentní porfyrie je případ jednačtyřicetileté ženy, u které se původně předpokládalo, že trpí neuralgickou amyotrofií. U pacientky se projevovaly několik týdnů trvající bolesti hlavy, dušnost a úbytek hmotnosti. V kazuistice bylo uvedeno, že pacientka trpěla fibromyálií, kvůli které 5 let užívala morfin. Pacientka byla také déle uživatelkou konopí. Laboratorní vyšetření objevilo těžkou anemii, kdy byla pacientce podána

infuze. Ostatní vyšetření jako je CT hrudníku a břicha či gastroscopie byla v normě. Během hospitalizace se u pacientky začaly projevovat silné bolesti v oblasti břicha, které však byly považovány za abstinenční příznaky v důsledku vysazení konopí [46].

O měsíc později se u pacientky začaly objevovat bolesti horních končetin, bolesti ramen a trupu, které nepolevovaly ani po podání léčiva Tramadolu. Po vyšetřeních nervového systému pacientky byla stanovena diagnóza neuralgické amyotrofie. U pacientky bylo v následujících měsících pozorováno zlepšení příznaků nemoci. Po čtrnácti měsících od počátků projevu onemocnění však u pacientky došlo k zhoršení příznaků a pacientka prodělala relaps. Vyskytla se motorická slabost v levé horní končetině, pacientka trpěla bolestmi břicha a zácpou a po zahájení léčby opioidy se u pacientky začaly objevovat halucinace [46].

U pacientky bylo dva měsíce po relapsu provedeno laboratorní vyšetření, jelikož příznaky, kterými pacientka trpěla, nebyly pro neuralgickou amyotrofii typické. Kromě snížené extenze prstů na levé ruce a snížené nervové aktivity se zjistilo, že moč pacientky má oranžovou barvu. Při vyšetření moči byly zjištěny zvýšené hodnoty 5-aminolevulové kyseliny a porfobilinogenu. Biochemické vyšetření poukazovalo na akutní intermitentní porfyrii, což následně potvrdily i genetické testy. Pacientka byla následně zaléčena podáváním hemínu po dobu čtyř dní, aby došlo k potlačení akutních příznaků a následně ji byla po dobu jednoho měsíce podávána infuze Givosiranu. Po ukončení léčby pacientka neprodělala žádné další ataky [46].

3.1.3 Porphyria cutanea tarda

Porphyria cutanea tarda (PCT) je nejčastější formou chronických porfyrií a postihuje zhruba 1 z 10 000 osob. Nemoc je způsobena defekty v enzymu uroporfyrinogendekarboxyláze (UROD). Existují 2 typy této nemoci. Typ 1 je způsoben inhibicí uroporfyrinogendekarboxylázy řadou faktorů jako je alkohol, kouření, virová infekce či přetížení železem. Typ 2 je autozomálně dominantně dědičný a je způsobený mutací v genu pro uroporfyrinogendekarboxylázu. Typ 1 se nejčastěji projevuje ve středním věku, zatímco typ 2 se může projevit již dříve. K rozvoji tohoto onemocnění jsou velice náchylní pacienti, kteří trpí chronickým selháním ledvin. Právě u těchto pacientů totiž dochází k přetížení železem a selhání schopnosti vylučování porfyrinů močí [47–50].

Mezi nejčastější příznaky tohoto onemocnění patří křehká kůže na rukou a obličeji, tvorba bolestivých puchýřů (viz obr. 12) či fotosenzitivita. U pacientů se dále může projevovat skvrnitá pigmentace, tvorba jizev, hypertrichóza či onycholýza [49].



Obrázek 12: Puchýře na rukou pacienta trpícího onemocněním porphyria cutanea tarda; převzato z [51]

Základem léčby tohoto onemocnění je vyhýbání se slunečnímu záření a nošení ochranných pomůcek ke snížení poškození kůže, jako je klobouk či rukavice. Dále by mělo dojít k ošetření vznikajících puchýřů a poškozené kůže. Pacientům taktéž může být podáván chlorochin, který pomáhá snižovat hladinu porfyrinů tím, že je váže a usnadňuje jejich vylučování. Nevýhodou chlorochinu však je, že dokáže vyvolat jaterní nekrózu. Jedním z dalších často používaných způsobů k léčbě tohoto onemocnění je flebotomie. Dále bylo zjištěno, že v rámci léčby lze využít léčivo cimetidin, které je antagonistou histaminových H₂ receptorů. Cimetidin snižuje aktivitu jaterní aminolevulátsyntázy a díky tomu dochází ke snížení vylučování kyseliny 5-aminolevulové močí. Kromě toho bylo zjištěno, že cimetidin má taktéž pozitivní účinky na léčbu kožních příznaků onemocnění [52, 53].

Jedním z případů onemocnění porphyria cutanea tarda je případ muže ve věku 77 let, který trpěl na bolestivé puchýře. Kromě toho pacient trpěl onemocněním diabetes mellitus 2. typu, hyperlipidémií, hypotyreózou a polycytemií bez zjevné příčiny. U pacienta bylo provedeno laboratorní vyšetření, při kterém byla prokázána zvýšená hladina železa, zvýšená hladina transferinu, feritinu i hemoglobinu. Kromě toho byly zvýšené i celkové porfyriny v moči (hlavně tedy uroporfyrin, porfobilinogen byl v normě). Právě tyto zvýšené hladiny potvrdily přítomnost onemocnění porphyria cutanea tarda. Díky zvýšeným hladinám železa a feritinu by proveden genetický test na hemochromatózu, která byla taktéž potvrzena [51].

V rámci léčby bylo pacientovi doporučeno vyhýbat se slunečnímu záření. Dále mu bylo doporučeno užívání antibiotické masti Bacitracin, Neomycin a Polymyxin B. Pokud by u pacienta došlo k dalšímu zhoršení tvorby puchýřů, bylo mu doporučeno začít užívat Doxycyklin [51].

3.1.4 Porphyria variegata

Porphyria variegata (VP) je další z hepatálních porfyrií. Je způsobena defektem v enzymu protoporfyrinogenoxidáze, kdy je jeho aktivita snižena zhruba na polovinu. Jedná se o enzym z biosyntetické dráhy hemu, který katalyzuje oxidaci protoporfyrinogenu na protoporfyrin. Porphyria variegata je onemocnění, které je autozomálně dominantně dědičné. Gen, který kóduje enzym protoporfyrinogenoxidázu, se nachází na chromozomu 1q22. V rámci mutací byly zaznamenány delece, inserce, sestříhy, missense a nonsense mutace [54, 55].

Nemoc se projevuje výskytem zvýšených hladin protoporfyrinu a koproporfyrinu ve stolici, občasným zvýšením porfyrinů v moči a také zvýšením kyseliny 5-aminolevulové a porfobilinogenu v moči během akutních porfyrických záchvatů. Hromadění zmíněných prekurzorů porfyrinů následně vede k neuroviscerálním krizím. Neuroviscerální záchvaty se mohou vyskytovat buď samostatně, nebo v kombinaci s kožními příznaky. Mezi kožní příznaky se řadí výskyt kožních lézí, zvýšená citlivost kůže na světlo, křehká kůže, sklon k tvorbě puchýřů, jizvení a vznik pigmentace [54–56].

Správná diagnostika onemocnění je pro léčbu velmi důležitá. V dnešní době lze variegátní porfyrii diagnostikovat relativně dobře, jelikož klinický obraz tohoto onemocnění je dobře znám. Jak bylo výše zmíněno, u pacientů trpících variegátní porfyrií se velmi často vyskytují kožní léze, které jsou snadno rozpoznatelné a poukazují na jednu z kožních forem porfyrií (buďto se jedná o variegátní porfyrii nebo o porfyrii cutanea tarda) [57].

Jedním z příkladů onemocnění je případ ženy ve věku 35 let, která byla přijata do nemocnice s arthropatií postihující klouby rukou, nohou a kyčlí. U pacientky byl proveden test na průkaz revmatoidního faktoru, který však vyšel negativně a mohlo tak být vyloučeno onemocnění v podobě revmatoidní artritidy. O dva roky později se u pacientky začala vyskytovat načervenalá moč a následně také puchýře, které se tvořily po pobytu na slunci [58].

Ve věku 40 let se u pacientky podařilo diagnostikovat porfyrii na základě laboratorního vyšetření, které odhalilo zvýšené vylučování kyseliny 5-aminolevulové, porfobilinogenu a koproporfyrinu močí. V rámci léčby bylo pacientce doporučeno vyhýbat se slunci a k tomu jí

bylo nasazeno léčivo prednisolon. Ve 45 letech se u pacientky začaly projevovat akutní porfyrické záchvaty v podobě nevolnosti, zvracení a klonických křečí. Pacientka byla zaléčena podáváním glukózy a hemínu [58].

Ve 47 letech pacientka musela v rámci léčby podstoupit hemodialýzu a taktéž se u ní objevilo srdeční selhání. Ve 49 letech u pacientky došlo ke zhoršení kožních příznaků a taktéž gastrointestinálních příznaků. Pacientka nakonec zemřela na anémii a trombocytopenii, jelikož u ní došlo ke krvácení z gastrointestinálního traktu [58].

3.1.5 Hereditární koproporfyrie

Hereditární koproporfyrie (HCP) je autozomálně dominantně dědičné onemocnění. Je způsobeno nedostatkem enzymu koproporfyrinogenoxidázy, který katalyzuje přeměnu koproporfyrinogenu III na protoporfyrinogen IX. U pacientů se vyskytují převážně heterozygotní formy tohoto onemocnění, kdy je aktivita enzymu snížena na zhruba 50 %. Výjimečně se však mohou vyskytovat i homozygotní defekty. Zatím bylo diagnostikováno více než 65 mutací v genu pro koproporfyrinogenoxidázu, kdy převažují missense mutace. Dále se však mohou vyskytovat i nonsense a frameshift mutace a poté i inserce či delece [59–61].

U pacientů trpících hereditární koproporfyrií lze nalézt zvýšené hladiny prekurzorů porfyriu, hlavně porfobilinogenu, koproporfyriu III a kyseliny 5-aminolevulové v moči, případně ve stolici. Mezi příznaky tohoto onemocnění se řadí břišní problémy, kardiovaskulární, neurologické a psychiatrické příznaky. Zhruba u 20 % pacientů se taktéž mohou vyskytnout kožní příznaky zahrnující kožní léze a fotosenzitivitu. Hereditární koproporfyrie se velmi často objevuje v dospívání. Akutní záchvaty mohou být vyvolány mnoha faktory – například díky hladovění, požívání alkoholu, užívání hormonů či sulfonamidových antibiotik či jiných léků, případně se na rozvoji onemocnění může podílet i stres [59–61].

Případem onemocnění hereditární koproporfyrií je žena ve věku 21 let, která se dostavila k lékařskému ošetření se zvracením, bolestmi břicha a myalgií. Na základě anamnézy bylo u pacientky diagnostikováno virové onemocnění a byla propuštěna do domácí péče. Jelikož příznaky u pacientky dále přetrvávaly, dostavila se za 2 dny na pohotovost znovu. K předchozím příznakům se přidaly i bolesti v zádech, které postupovaly do steh. Veškerá vyšetření byla opět v normě a pacientka byla znovu propuštěna [62].

U pacientky i po dalších třech dnech přetrvávala myalgie a zvracení, bolesti břicha se stupňovaly. V rámci biochemického vyšetření bylo zjištěno, že pacientka trpí hyponatrémií, má nízkou osmolalitu krevního séra, vysokou osmolalitu moči a taktéž vysokou hladinu sodíku v moči. Pacientka byla přeložena na internu a následně se u ní projevil generalizovaný záchvat. Právě tento záchvat poukázal na možnost onemocnění porfyrií, což se následným biochemickým vyšetřením potvrdilo. U pacientky byly nalezeny zvýšené hodnoty porfyrinů v moči. Následně byla také nalezena nová missense varianta v genu pro koproporfyrinogenoxidázu c.863T > G, kdy dochází k záměně thyminu za guanin a zároveň dochází k záměně aminokyselin Leu288Trp, tedy k záměně leucinu za tryptofan [62].

V rámci léčby byl pacientce podáván hemarginát, který měl pozitivní účinek na bolesti břicha. Dále bylo zjištěno, že v rozvoji onemocnění u pacientky hrála klíčovou roli neléčená hypertenze. V rámci rodinné anamnézy se ukázalo, že pacientka má v rodině další tři rodinné příslušníky, kteří mají mutaci v genu pro koproporfyrinogenoxidázu [62].

3.1.6 Léčba hepatálních porfyrií

Nejběžněji užívanou léčbou jaterních porfyrií je použití hemarginátu, který je pacientům podáván intravenózně. Nejpoužívanějšími léčivy jsou Normosang a Panhematin (využíván v USA). Jedná se o koncentrovaný roztok lidského hemínu, který tvoří stabilizovaný komplex s argininem. Výše zmíněná léčiva potlačují aktivitu jaterní aminolevulátsyntázy a tím dochází ke snížení produkce porfyrinů a jejich prekurzorů jako je kyselina 5-aminolevulová a porfobilinogen [63].

Léčivo Normosang by mělo být podáváno po potvrzení jaterní porfyrie u pacienta na základě kritérií jako jsou biochemické testy, rodinná anamnéza či dle přesvědčivých klinických příznaků onemocnění. Léčivo by mělo být podáváno v dávce 3 mg/kg jednou denně po dobu čtyř dnů. Dále by mělo být naředěné ve 100 ml 0,9% chloridu sodného a podáváno intravenózní infuzí po dobu alespoň 30 minut do velké předloketní nebo centrální žíly. Léčba Normosangem může být ovlivňována několika faktory – například hladověním či užíváním léčiv jako jsou estrogeny, barbituráty a steroidy. Tyto zmíněné přípravky totiž mohou indukovat aktivitu aminolevulátsyntázy [64, 65].

V rámci léčby hepatálních porfyrií se běžně používá eliminace precipitujících faktorů (mezi které patří například léky, hladovění, stres, infekce, kouření, alkohol atd.), podpůrná léčba (léky na bolest, tachykardii, nevolnost apod.) a léčba nasycením sacharidy.

Pokud u pacienta dojde k těžkému záchvatu, měla by být bezodkladně zahájena léčba hemínem, která je běžným standardem [64, 65].

V roce 2019 bylo pro léčbu hepatálních porfyrií u dospělých pacientů schváleno léčivo Givosiran. Jedná se o léčivo na bázi interferující RNA (siRNA), který působí na mRNA jaterní aminolevulátsyntázy a tím zabraňuje hromadění kyseliny 5-aminolevulové a porfobilinogenu. U pacientů trpících akutní intermitentní porfyrií, kteří podstoupili léčbu Givosiranem, došlo k trvalému snížení hladin porfobilinogenu i kyseliny 5-aminolevulové. Akutní a chronické projevy onemocnění či bolest se taktéž zlepšily a u pacientů došlo ke snížení užívání analgetik během porfyrických záchvatů. Při používání léčiva však může docházet k nežádoucím účinkům jako jsou únava či nevolnost a u některých pacientů se může vyskytovat hyperhomocysteinémie [65–68].

3.2 Erythropoetická porfyrie

3.2.1 Kongenitální erythropoetická porfyrie

Mezi erythropoetické porfyrie se řadí kongenitální erythropoetická porfyrie (CEP), která je taktéž známá jako Güntherova nemoc. Tento název nese, jelikož v roce 1911 bylo zjištěno Hansem Güntherem, že se jedná o metabolickou poruchu. Kongenitální erythropoetická porfyrie je vzácné autozomálně recesivní onemocnění, u kterého dochází k poruše funkce enzymu uroporfyrinogen-III-syntázy. Jedná se o čtvrtý enzym uplatňující se při biosyntéze hemu, který je zodpovědný za přeměnu hydroxymethylbilanu na uroporfyrinogen III. Gen zodpovědný za mutaci tohoto enzymu se nachází na chromozomu 10q25.2-q26.3. Nejčastěji vyskytovanou mutací u kongenitální erythropoetické porfyrie je Cys73Arg, kdy dochází k záměně cysteinu za arginin, celkově však mutací bylo popsáno zhruba 40. Některé případy tohoto onemocnění jsou však spojeny s mutací na genu GATA1, který je lokalizován na chromozomu X [69–74].

Důsledkem snížené aktivity uroporfyrinogen-III-syntázy je hromadění uroporfyrinogenu I a koproporfyrinogenu I v červených krvinkách a také v kostní dřeni. Tyto porfyрины se vyznačují fotoreaktivitou, což znamená, že při vystavení se slunečnímu či ultrafialovému záření, dochází k poškození kůže (viz obr. 13). U pacientů trpících kongenitální erythropoetickou porfyrií se vyskytuje fotosenzitivita, kožní léze, vznik puchýřů a poškození kůže. Pacienti dále mohou trpět anémií, leukopenií či trombocytopenií. Dalším typickým projevem kongenitální erythropoetické porfyrie je moč růžové až červené barvy. Dosud bylo zdokumentováno zhruba 250 případů kongenitální erythropoetické porfyrie,

které poukazují na heterogenitu klinických projevů tohoto onemocnění. U kongenitální erythropoetické porfyrie je taktéž prokázáno, že onemocnění nemá žádnou spojitost s demografickými rysy a vyskytuje se napříč všemi etnickými skupinami [71, 73, 75].



Obrázek 13: Hyperpigmentace na rukou pacientky trpící kongenitální erythropoetickou porfyrií; převzato z [74]

Případem kongenitální erythropoetické porfyrie je muž ve věku 22 let, u kterého se objevilo znetvoření prstů, uší a růžově zbarvená moč. Už od dětství se u něj na obličeji a na horních končetinách objevovala vyrážka ve formě puchýřů poté, co byl vystaven pobytu na slunci. Z tohoto důvodu byl pacient sledován na různých dermatologických klinikách. V roce 2017 pacient podstoupil vyšetření ve zdravotnickém zařízení, při kterém u něj šlo pozorovat zmrzačené ukazováčky, poškozenou nosní přepážku, fialové dásně a taktéž červeně zbarvenou moč [76].

U pacienta bylo vysloveno podezření na porfyrickou poruchu, kterou později potvrdilo laboratorní vyšetření. V rámci diagnostiky byla potvrzena anémie, zvýšená koncentrace uroporfyrinu I a koproporfyrinu I v moči a dále byla prokázána snížená aktivita enzymu uroporfyrinogen-III-syntázy. Pacientovi byla nasazena podpůrná léčba pomocí antibiotik, suplementace vitamínu D a taktéž používání opalovacího krému [76].

3.2.2 Léčba erythropoetických porfyrií

V rámci léčby erythropoetické porfyrie hraje důležitou roli podpůrná léčba. Mezi tu spadá vyhýbání se slunečnímu a UV záření, nošení ochranných pomůcek jako jsou rukavice, klobouky či sluneční brýle a také je žádoucí minimalizovat poškození kůže, které vede k tvorbě puchýřů. Pacienti by taktéž měli používat opalovací krémy, které obsahují oxid zinečnatý

či oxid titaničitý. U pacientů, u nichž se vyskytuje hemolytická anémie, jsou v rámci léčby každé 2–4 týdny podávány krevní transfuze [77].

Pacienti, kteří trpí těžkou formou kongenitální erythropoetické porfyrie mohou podstoupit transplantaci hematopoetických kmenových buněk. U tohoto léčebného postupu je zatím však relativně vysoké riziko úmrtí, a proto je určena primárně pouze pro pacienty s těžkou formou porfyrie, kteří jsou závislí na transfuzích. V rámci tohoto léčebného postupu jsou použity krvetvorné buňky od dárce, který je buďto příbuzným pacienta a vyskytuje se u něj shoda transplantačních znaků, nebo se jedná o dobrovolníka z registru dárců [77–80].

3.3 Ostatní porfyrie

3.3.1 Erythropoetická protoporfyrie

Erythropoetická protoporfyrie (EPP) je autozomálně dominantní onemocnění, které je způsobené nedostatkem enzymu ferrochelázy, který katalyzuje interkorporaci železa do protoporfyrinu IX za vzniku hemu. Díky nedostatku ferrochelázy dochází k hromadění protoporfyrinu v kostní dřeni, plazmě, erytrocytech a ve žlučovém systému. Pokud je pacient s erythropoetickou protoporfyrií vystaven světlu, dochází u něj k fototoxickým záchvatům (viz obr. 14). Tyto záchvaty mohou začínat mírným svěděním či pálením, při dlouhodobém vystavení světlu však záchvaty mohou přejít do těžší formy. Pacientům posléze na bolest nezabírají ani analgetika a zotavení trvá v řádu dnů. Tyto záchvaty jsou způsobeny díky hromadícímu se protoporfyrinu, který je aktivován světlem a dochází k produkci reaktivních forem kyslíku, aktivaci endotelu a poškození cév. Hromadící se protoporfyrin má taktéž vliv na funkci a strukturu jater. Protoporfyrin, který neobsahuje kov, má v plazmě lipofilní povahu, a proto je vychytáván játry. Poškození jater u některých pacientů trpících tímto onemocněním může dokonce vyžadovat transplantaci jater. Hepatotoxicity, která v rámci tohoto onemocnění taktéž vzniká, je dána tvorbou toxické žluči [81–85].



Obrázek 14: Kožní nálezy u pacientů s erythropoetickou protoporfyrií; 14A – dětský pacient s kožní vyrážkou v obličeji, 14B – tvorba jizev u dospělé pacientky během fototoxického záchvatu; převzato a upraveno z [85]

Z genetického hlediska se u pacientů zhruba v 96 % případů vyskytuje mutace c.315-48T>C, taktéž označovaná jako hypomorfní alela. Mutace na této alele vede k využití abnormálního sestřihu a v kombinaci s missense a nonsense mutacemi na alele druhé, dochází ke snížení aktivity enzymu ferrochelátázy o 75 % a více [86].

Případem erythropoetické protoporfyrie je dívka narozená v Polsku, u které se již od raného věku začala projevovat kožní vyrážka na rukou i v obličeji. Laboratorní vyšetření odhalilo zvýšený kreatinin a taktéž cholestázu. Předpokládané infekční příčiny cholestázy byly vyloučeny. V osmi měsících věku byla pacientka hospitalizovaná kvůli žloutence a podezření na stafylokokovou infekci. U pacientky byla zaznamenána hepatosplenomegalie, dále normocytární anemie a srdeční selhání potvrzené výsledky echokardiografie. U pacientky padlo podezření na Gaucherovu chorobu, která však byla v rámci laboratorního vyšetření vyloučena. Jelikož ani za pomoci laboratorního vyšetření i symptomů nebylo možno prokázat diagnózu, bylo provedeno sekvenování exomu [87].

U pacientky byly zjištěny 2 heterozygotní missense mutace v genu kódujícím ferrochelátázu. V rámci rodinné anamnézy bylo taktéž zjištěno, že u matky pacientky se vyskytuje mutace c.581A>G, kdy dochází k záměně adeninu za guanin a u otce c.596C>T, kdy dochází k záměně cytosinu za thymin. V rámci dalšího laboratorního vyšetření byly zjištěny zvýšené hodnoty protoporfyriu IX v červených krvinkách. Právě laboratorní výsledky v kombinaci se sekvenováním exomu potvrdily diagnózu erythropoetické protoporfyrie [87].

Ve 2 letech věku u pacientky došlo ke zhoršení hepatosplenomegalie a cholestázy a následně taktéž došlo ke zvýšení protoporphyrinu v erytrocytech. Ve 26 měsících věku se u pacientky rozvinula virová pneumonie v kombinaci s akutním respiračním selháním. Dále u pacientky nastalo progresivní srdeční selhání, progresivní koagulopatie a zhoršující se funkce ledvin. V 31 měsících věku u pacientky došlo k selhání životně důležitých orgánů, jehož následkům nakonec pacientka podlehla [87].

3.3.2 Hepatoerytropoetická porfyrie

Hepatoerytropoetická porfyrie (HEP) je velmi vzácné autozomálně recesivní onemocnění, které je způsobené homozygotní mutací v genu pro enzym uroporphyrinogendekarboxylázu. Uroporphyrinogendekarboxyláza katalyzuje dekarboxylaci uroporphyrinogenu III za vzniku koproporphyrinogenu, tedy pátý krok biosyntézy hemu. Gen pro uroporphyrinogendekarboxylázu se nachází v chromozomální oblasti 1p34. V důsledku snížené aktivity enzymu uroporphyrinogendekarboxylázy taktéž vzniká i onemocnění porphyria cutanea tarda, které však bylo popsáno již v kapitole 3.1.3. U hepatoerytropoetické porfyrie je aktivita uroporphyrinogendekarboxylázy snížena na 10 % (či dokonce méně) její původní hodnoty. Oproti PCT je hepatoerytropoetická porfyrie mnohem vzácnější a taktéž závažnější [88–90].

Onemocnění se projevuje již v raném věku, ale některé případy hepatoerytropoetické porfyrie se v mírné formě mohou projevit až v dospělosti. Zároveň se také jedná o další typ porfyrie s kožními projevy jako je fotosenzitivita, křehkost kůže, hypertrichóza, erythrodoncie a moč zbarvená do červena či růžova. Taktéž se mohou objevit nejrůznější hematologické projevy, včetně hemolytické anémie [88, 90, 91].

Případem onemocnění hepatoerytropoetickou porfyrií jsou tři sourozenci, u kterých se toto onemocnění rozvinulo. Jedním ze sourozenců je sedmiletá dívka, u níž byla zaznamenána tvorba jizev na předloktí a rukou a dále se potýkala se ztrátou nehtů. Tyto příznaky se u pacientky začaly objevovat po expozici slunečnímu záření. V anamnéze byla taktéž u pacientky zaznamenána novorozenecká trombocytopenie, hemolytická anemie a moč červeno-hnědé barvy. Mimo to pacientka vykazovala poruchu řeči a špatnou koordinaci [91].

Další vyšetření odhalilo tvorbu jizev na obličeji a hřbetech rukou, hyperpigmentaci v obličeji, hypertrichózu a nahnědlé zuby (viz obr. 15). Podobné příznaky vykazovali i dva z pacientčinych sourozenců – bratr ve věku 11 let a sestra ve věku 10 let. Ani u jednoho

ze starších sourozenců se na rozdíl od pacientky nevyskytovala fotosenzitivita. Kvůli kožním příznakům zahrnujícím jizvy, které připomínaly popáleniny od cigaret, bylo vysloveno podezření na týraní dětí [91].



Obrázek 15: Kožní nálezy sourozenců trpících onemocněním hepatoerythropoietická porfyrie; převzato a upraveno z [91]

V rámci biochemického vyšetření byla nakonec sourozencům diagnostikována hepatoerythropoietická porfyrie. U sourozenců byly nalezeny zvýšené hladiny porfyrinů v moči a v rámci genetického testování byla prokázána snížená aktivita uroporfyrinogendekarboxylázy v erythrocytech. Genotypizace u pacientky a její sestry taktéž odhalila heterozygotní mutaci His63Asp, kdy dochází k záměně histidinu za kyselinu asparagovou [91].

4 Diagnostika porfyrií

Laboratorní vyšetření je důležitou a potřebnou součástí v rámci diagnostiky porfyrií. Vyšetření se provádí v zásadě ve třech případech:

1. U pacienta se objevují kožní příznaky nebo jaterní léze nejasného původu. Při vyšetření sbírané moči se nachází velký odpad celkových porfyrinů při normálních hladinách porfobilinogenu a kyseliny 5-aminolevulové v ranní moči [92].
2. V rámci akutní porfyrické ataky se u pacienta objevují zvýšené hladiny celkových porfyrinů ve sbírané moči, tak i zvýšené hladiny porfobilinogenu a kyseliny 5-aminolevulové v ranní moči [92].
3. Třetí situací je nález u pacientů mimo porfyrickou ataku, který se může zdát normální. Pokud je však například v rámci rodinné anamnézy podezření na onemocnění porfyrií, provádí se chromatografické vyšetření porfyrinů ze vzorků stolice a dále se provádí vyšetření emisního maxima plazmatických porfyrinů [92].

Biochemické vyšetření pro diagnostiku porfyrií zahrnuje kvantifikaci porfyrinů a jejich prekurzorů v biologických vzorcích jako je moč, stolice a krev. Velice často se stanovuje kyselina 5-aminolevulová a porfobilinogen v moči či plasmě, dále se stanovují celkové porfyriny v moči a stolici. Taktéž se využívá frakcionace porfyrinů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) a stanovení emisního maxima plazmatických porfyrinů [92, 93].

Při diagnostice porfyrií je taktéž důležité rozlišit, zda se opravdu jedná o porfyrickou nemoc, nebo klinický obraz může poukazovat i na jiný zdravotní problém. Podobné příznaky jako akutní porfyrie jeví i otrava olovem či pacienti mohou trpět takzvanou sekundární koproporfyriinurií. Typické výsledky biochemických vyšetření v rámci diagnostiky porfyrií jsou shrnuty v tabulce 4 [92].

Tabulka 4: Typické výsledky stanovení kyseliny 5-aminolevulové, porfobilinogenu a odpadu celkových porfyrinů v rámci diagnostiky porfyrií; převzato a upraveno z [92]

Druh onemocnění	Kyselina 5-aminolevulová	Porfobilinogen	Odpad celkových porfyrinů
Porphyria cutanea tarda	V normě	V normě	>500 µg/24 h
Ataka akutní porfyrie	Zvýšení	Zvýšení	>500 µg/24 h
Akutní porfyrie v remisi	V normě	V normě	V normě
Sekundární koproporfyriurie	V normě	V normě	200–500 µg/24 h
Otrava olovem	Zvýšení	V normě	>200 µg/24 h

Co se týče referenčních hodnot, tak koncentrace porfobilinogenu v čerstvé ranní moči by se měla pohybovat do 0,25 mg/dl a koncentrace kyseliny 5-aminolevulové by měla být do 0,45 mg/dl. Koncentrace celkových porfyrinů v moči by měla mít hodnotu do 200 µg/24 h a koncentrace celkových porfyrinů ve stolici by se měla pohybovat do 200 ng/g sušiny [92].

4.1 Spektrofotometrické stanovení porfyrinů

Spektrofotometrická metoda je využívána jakožto screeningová metoda pro stanovení celkových porfyrinů v moči. K 1 ml vzorku moči se přidá 250 µl kyseliny chlorovodíkové. Takto připravený vzorek byl odstředěn v centrifuze po dobu 10 minut při 2500 g. Následně je měřena hodnota absorbance při vlnové délce 405 nm. Hodnota absorbance je poté vynásobena koeficientem 2520, který byl odvozen z molární absorptivity jednotlivých porfyrinů. Moč totiž obsahuje směs porfyrinů, z nichž má každý jiný molární absorpční koeficient. Vychází se z předpokladu, že se jedná zejména o koproporfyrin a uroporfyrin, které by se v moči měly vyskytovat v poměru 7:1, což však u klinických vzorků nemusí vždy být úplně přesné. Koncentraci celkových porfyrinů v moči lze vyjádřit v jednotkách nmol/l, nmol/24 h či nmol/nmol kreatininu [94, 95].

V moči se spektrofotometricky taktéž stanovuje koncentrace kyseliny 5-aminolevulové a porfobilinogenu. Stanovení porfobilinogenu spočívá v reakci s Ehrlichovým činidlem v kyselém prostředí za vzniku produktu fialovo-růžové barvy. Kyselina 5-aminolevulová se stanovuje s acetylacetonem za vzniku pyrolové sloučeniny a její následné reakce s Ehrlichovým činidlem [96].

Spektrofotometricky lze stanovit i fekální porfyriny. Metoda je založena na kyselé extrakci porfyrinů, kdy se k 25–30 mg vzorku stolice přidá 1 ml HCl, 3 ml diethyletheru a 3 ml vody. Absorbance je měřena při vlnové délce 370–430 nm [96, 97].

4.2 Stanovení porfyrinů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie

Metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie se využívá k frakcionaci porfyrinů v moči či stolici. Metoda je založena na okyselení vzorku a následné esterifikaci porfyrinů, neutralizaci kyseliny sírové a poté následuje extrakce do chloroformu. Směs esterů je rozdělena pomocí HPLC s fluorescenční detekcí [96].

Krom HPLC s fluorescenční detekcí, která je náročná na úpravu vzorku před samotným měřením, bylo také při stanovení porfyrinů a jejich prekurzorů testováno použití elektrochemické detekce či UV detekce. Tyto metody jsou popsány v následujících kapitolách [98].

4.2.1 Stanovení kyseliny 5-aminolevulové pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí

Metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie lze stanovit prekurzory porfyrinů, jako je například kyselina 5-aminolevulová. V rámci této metody se využívá derivatizace ALA pomocí orto-ftalaldehydu a následné stanovení pomocí HPLC na obrácených fázích s elektrochemickou detekcí. Právě derivatizace kyseliny 5-aminolevulové pomocí orto-ftalaldehydu činí reakci specifickou a taktéž citlivou [98].

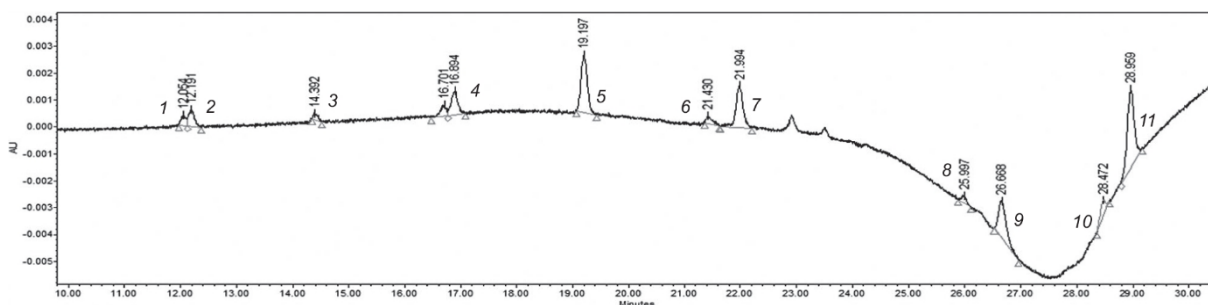
Derivatizační činidlo, kterým je již výše zmíněný orto-ftalaldehyd bylo připraveno rozpuštěním 25 mg orto-ftalaldehydu v 500 μ l metanolu, dále bylo přidáno 5 ml tetraboritanu sodného o koncentraci 0,1 mol/l a 20 μ l merkptoetanolu [98].

Do reakční nádoby bylo napipetováno 10 μ l vzorku, ke kterému se přidalo 5 μ l derivatizačního činidla a 35 μ l vody. Poté byl vzorek inkubován 1 minutu při pokojové teplotě. Pro stanovení pomocí HPLC bylo dávkováno 20 μ l vzorku [98].

Metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí je vhodná pro relativně rychlé a přesné měření koncentrace kyseliny 5-aminolevulové v plazmě [98].

4.2.2 Stanovení porfyrinů v plazmě pomocí HPLC s UV detekcí

Roztoky standardů porfyrinů byly připraveny smícháním zásobních roztoků s kyselinou chlorovodíkovou o koncentraci 2 mol/l. Do takto připravených roztoků byla následně přidána plazma od zdravého dárce, tak aby vzniklo několik různých koncentrací roztoků standardů, které slouží jako kalibrace. Do 200 μ l plazmy bylo následně přidáno 50 μ l vnitřního standardu, kterým je 2-vinyl-4-hydroxymethyldeuteroporfyrin IX a směs byla promíchána. Poté došlo k vysrážení bílkovin pomocí 200 μ l acetonitrilu. Vzorek byl odstředěn v centrifuze a supernatant byl odebrán. Vzniklá peleta byla rozpuštěna ve 100 μ l hydroxidu amonného o koncentraci 1 mol/l a 100 μ l acetonitrilu. Směs byla promíchána a znovu odstředěna v centrifuze. Oba vzniklé supernatanty byly spojeny do směsi a bylo k nim přidáno 50 μ l kyseliny chlorovodíkové. Roztok byl po dobu 10 minut míchán na vortexu a následně byl odstředěn v centrifuze (10 minut, 14000 g). Vzniklý supernatant (10 μ l) byl použit k následné analýze pomocí HPLC s UV detekcí. Výsledkem je chromatografický záznam prezentovaný na obrázku 16 [99].



Obrázek 16: Chromatografický záznam jednotlivých standardů porfyrinů v koncentraci 50 nmol/l: (1) uroporfyrin I, (2) uroporfyrin III, (3) heptakarboxyporfyrin I, (4) hexakarboxyporfyrin I, (5) pentakarboxyporfyrin I, (6) koproporfyrin I, (7) koproporfyrin III, (8) vnitřní standard, (9) hem, (10) mesoporfyrin IX, (11) protoporfyrin IX; převzato z [99]

UV detektor je v rámci chromatografických metod hojně využíváný, protože je dobře dostupný a má vysokou selektivitu [99].

4.3 Stanovení porfyrinů iontově-výměnnou chromatografií

Metodou iontově-výměnné chromatografie lze stanovovat hladiny porfyrinů v moči, zejména kyseliny 5-aminolevulové a porfobilinogenu. Metoda zahrnuje velmi jednoduchou předběžnou úpravu vzorku, kterou je filtrace. Mobilní fáze obsahuje fosfátový pufr a organickou složku s metanolem či acetonitrilem. Jako protion je používán tetrabutylamoniumfosfát. Jedná se o separaci na obrácených fázích. Tetrabutylamoniumfosfát, který je lipofilní, tvoří neutrální iontové páry s karboxylovými skupinami porfyrinů,

které se rozpouštějí v organickém rozpouštědle, díky čemu dochází ke zvyšování afinity ke stacionární fázi, která je nepolární [93, 100, 101].

Taktéž se testovalo využití gradientové eluce, která se při separaci porfyrinů ukázala jakožto efektivní způsob separace. Mobilní fáze v tomto případě sestávala z vody a metanolu. Separace následně probíhala dle klesající polariry jednotlivých porfyrinů ve vzorku moči [101].

4.4 Stanovení emisního maxima plazmatických porfyrinů

Principem stanovení emisního maxima plazmatických porfyrinů je využití jejich fluorescence. Porfyriny při osvětlení zářením o vlnové délce cca 400 nm silně fluoreskují v červené oblasti. Jedná se rychlý screeningový test, který pomáhá zjistit přítomnost zvýšených hladin uroporfyriu, koproporfyriu a protoporfyriu v plazmě [96, 97].

Vzorek plazmy byl 5× naředěn a 100 µl bylo smícháno s fosfátovým pufrém o koncentraci 0,25 mol/l a pH 6,7 a dále bylo provedeno snímání ve fluorescenčním spektrofotometru při excitační vlnové délce 405 nm. Jedná se o kvalitativní zkoušku, která poskytuje pozitivní či negativní výsledek – tedy potvrdí, zdali se zvýšené množství porfyrinů v plazmě vyskytuje či ne. Pokud výsledek testu vyjde pozitivně, určuje se dále vlnová délka, při které je dosaženo emisního maxima daného píku. Právě dle vlnových délek emisních maxim lze určit, o jaký typ porfyrie se jedná. Vlnová délka 619–622 nm je charakteristická pro porfyrii cutanea tarda, akutní intermitentní porfyrii, kongenitální erythropoetickou porfyrii, hereditární koproporfyrii, porfyrii z nedostatku aminolevulátdehydratázy a hepatoerythropoetickou porfyrii. Při vlnové délce 626–630 nm se projevuje porphyria variegata (viz obr. 17). Pro erythropoetickou protoporfyrii je typická vlnová délka emitovaného záření 633–635 nm [96, 97].



Obrázek 17: Skenování emisního maxima plazmatických porfyrinů, (1) pacient trpící onemocněním porphyria varieagata, (2) kontrolní vzorek; převzato z [102]

Úskalí této metody lze však pozorovat u asymptomatických pacientů. Právě u pacientů, kteří nevykazují symptomy daného onemocnění se podaří odhalit zhruba jen 50 % případů onemocnění porfyrií. Při prokazování onemocnění u asymptomatických pacientů je tedy tato metoda nedostačující. Mimo to také vzorky plazmy od pacientů trpících EPP a VP vykazují určitou nestabilitu, pokud jsou vystaveny světlu. Díky jejich nestabilitě hladiny porfyrinů v plazmě velmi rychle klesají a získáváme falešně negativní výsledky [97, 102].

4.5 Stanovení enzymové aktivity

Stanovení enzymové aktivity u porfyrií se využívá zejména pro výzkumné účely. Význam má například při rodinných studiích. Významnou roli při diagnostice onemocnění porfyrií hraje stanovení enzymové aktivity porfobilinogendeaminázy v lidských erythrocytech. Právě stanovení aktivity tohoto enzymu má význam při diagnostice akutní intermitentní porfyrie [103].

K měření aktivity porfobilinogendeaminázy se využívá spektrofotometrie či fluorimetrie. Využívá se enzymatické reakce, při které se tvoří uroporfyrin. Jako substrát pro reakci může být použit porfobilinogen nebo kyselina 5-aminolevulová [103].

Vzorek krve byl odebrán do zkumavky s heparinátém litným. Následně byla určena koncentrace hemoglobinu a hematokrit. Vzorky byly odstředěny v centrifuze a získané erytrocyty byly resuspendovány v NaCl. Následně byla provedena hemolýza erytrocytů. Do vzniklého hemolyzátu byl poté přidán porfobilinogen, který slouží jako substrát. Vzorky se následně nechaly inkubovat. K zastavení enzymatické reakce byla použita kyselina trichloroctová. Vzniklý uroporfyrin I byl měřen fluorimetricky [104].

Dále je také možné stanovení aktivity enzymu 5-aminolevulátsyntázy. Ke stanovení se využívá reakce, kdy právě tento enzym katalyzuje kondenzaci glycinu a sukcinyl-CoA za vzniku kyseliny 5-aminolevulové. Ta se následně stanovuje reakcí s Ehrlichovým činidlem za přítomnosti kyseliny. Stanovení lze provést kolorimetricky [103].

Taktéž lze stanovit aktivitu enzymu 5-aminolevulátdehydratázy. 5-aminolevulátdehydratáza katalyzuje kondenzaci 2 molekul kyseliny 5-aminolevulové za vzniku porfobilinogenu. Porfobilinogen se následně stanovuje pomocí reakce s Ehrlichovým činidlem [103].

ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá onemocněním zvaným porfyrie. Jedná se o dědičné onemocnění, které je způsobené sníženou aktivitou jednoho z osmi enzymů, které se uplatňují v biosyntetické dráze hemu.

Porfyrie lze rozdělit na hepatální, erythropoetické a ostatní druhy porfyrií. Mezi hepatální porfyrie se řadí porfyrie z deficitu 5-aminolevulátdehydratázy, akutní intermitentní porfyrie, porphyria cutanea tarda, porphyria variegata a hereditální koproporfyrie. Mezi erythropoetické porfyrie lze zařadit kongenitální erythropoetickou porfyrii, která je též známá jako Günterova nemoc. Dalšími druhy porfyrií jsou poté erythropoetická protoporfyrie a hepatoerythropoetická porfyrie. U jednotlivých druhů porfyrií se mohou projevovat jaterní či kožní příznaky, případně jejich kombinace.

Studie naznačují, že v některých případech se diagnostika onemocnění porfyrií může jevit jako velmi náročná, jelikož příznaky jsou ne vždy typické pouze pro toto onemocnění. Některé druhy porfyrií jsou dokonce natolik vzácné, že pouze biochemické metody společně se symptomy k odhalení onemocnění nestačí a musí se použít i metody molekulárně-biologické.

V rámci biochemického vyšetření při diagnostice porfyrií má však několik metod své místo. Využívá se spektrofotometrické stanovení kyseliny 5-aminolevulové a porfobilinogenu. Tyto dva analyty lze taktéž stanovit pomocí iontově-výměnné chromatografie. Pro stanovení celkových porfyriinů slouží vysokoúčinná kapalinová chromatografie. V rámci této metody se využívá převážně fluorescenční detekce, ale studie poukazují na to, že použitelná je taktéž detekce elektrochemická či UV detekce. Pro diagnostiku a rozlišení jednotlivých druhů porfyrií se stanovuje emisní maximum plazmatických porfyriinů. Právě vlnové délky emisního maxima jsou charakteristické pro jednotlivé druhy porfyrií. Následně lze zmínit i stanovení enzymové aktivity. Nejzastoupenější je stanovení enzymové aktivity porfobilinogendeaminázy v lidských erythrocytech, které se uplatňuje při diagnostice akutní intermitentní porfyrie. Lze stanovit i aktivitu dalších enzymů, což se však v rutinní praxi úplně běžně nepoužívá. Testování enzymové aktivity má význam spíše při rodinných studiích či pro výzkumné účely.

Taktéž dochází k rozvoji v rámci léčby porfyrií. Kromě odstranění precipitujících faktorů, podpůrné léčby a podávání roztoku hemínu, které jsou nejběžnější léčbou porfyrií, bylo taktéž v rámci léčby hepatálních porfyrií v roce 2019 schváleno používání léčiva

Givosiran. Při léčbě akutní intermitentní porfyrie bylo zjištěno, že u pacientů, kteří toto léčivo užívali, došlo ke snížení hladin kyseliny 5-aminolevulové a porfobilinogenu a taktéž se zlepšily klinické příznaky onemocnění. Dalo by se říci, že toto léčivo, které je založeno na bázi interferující RNA, má v léčbě porfyrií velké uplatnění.

POUŽITÁ LITERATURA

- [1] BADMINTON, M. N.; ANDERSON, K. E.; DEYBACH, J. C.; HARPER, P.; SANDBERG, S. et al. From chemistry to genomics: A concise history of the porphyrias. Online. *Liver International*. 2024, roč. 44, č. 9, s. 2144-2155. ISSN 1478-3223. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/liv.15960>. [cit. 2025-01-21].
- [2] ASHBY, H. T. A case of haematoporphyrinuria congenita (congenital porphyrinuria). Online. *BMJ*. 1924, roč. 2, č. 3331, s. 803-803. ISSN 0959-8138. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/bmj.2.3331.803>. [cit. 2025-02-09].
- [3] GRINSTEIN, M.; SCHWARTZ, S. a WATSON, C. J. Studies of the uroporphyrins. Online. *Journal of Biological Chemistry*. 1945, roč. 157, č. 1, s. 323-343. ISSN 00219258. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(17\)41653-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(17)41653-X). [cit. 2025-02-09].
- [4] KYLE, R. A. a ANDERSON, K. C. A Tribute to Jan Gosta Waldenström. Online. *Blood*. 1997, roč. 89, č. 12, s. 4245-4247. ISSN 1528-0020. Dostupné z: <https://doi.org/10.1182/blood.V89.12.4245>. [cit. 2025-02-09].
- [5] BOGORAD, L. a GRANICK, S. The Enzymatic Synthesis of Porphyrins from Porphobilinogen. Online. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1953, roč. 39, č. 12, s. 1176-1188. ISSN 0027-8424. Dostupné z: <https://doi.org/10.1073/pnas.39.12.1176>. [cit. 2025-02-09].
- [6] ALLABY, M. Porphyrin. In: *Dictionary of Geology and Earth Sciences*. (4th Edition). Oxford University Press, 2013, s. 459. ISBN 978-0-19-965306-5. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00UQO9V4/dictionary-geology-earth/palaeoecology>.
- [7] STOUT, S. A. a WANG, Z. Porphyrins. In: *Standard Handbook Oil Spill Environmental Forensics - Fingerprinting and Source Identification*. (2nd Edition). Elsevier, 2016, s. 137-138. ISBN 978-0-12-809659-8. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt010WOTV8/standard-handbook-oil/physical-properties-oil>.
- [8] SENGE, M. O.; RYAN, A. A.; LETCHFORD, K. A.; MACGOWAN, S. A. a MIELKE, T. Chlorophylls, Symmetry, Chirality, and Photosynthesis. Online. *Symmetry*. 2014,

roč. 6, č. 3, s. 781-843. ISSN 2073-8994. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/sym6030781>. [cit. 2025-01-16].

- [9] SHAKIBA, M.; CHEN, J. a ZHENG, G. Porphyrin nanoparticles in photomedicine. In: *Applications of Nanoscience in Photomedicine*. Elsevier, 2015, s. 511-513. ISBN 978-1-907568-67-1. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt00UR57OE/applications-nanoscience/porphyrins>.
- [10] KORDAČ, V. *Porfyrrie v klinické praxi*. Thomayerova sbírka. Praha: Avicenum, 1978. Dostupné také z: <http://krameriusndk.nkp.cz/search/handle/uuid:94372100-029e-11e9-a5a4-005056827e52>.
- [11] *Porfyriny*. Online. VELKÝ LÉKAŘSKÝ SLOVNÍK. C1998-2025. Dostupné z: <https://lekarske.slovníky.cz/lexikon-pojem/porfyriny-4>. [cit. 2025-01-16].
- [12] MURRAY, R. K. *Harperova biochemie*. 2. čes. vyd. A Lange medical book. Jinočany: H & H, 1998. ISBN 80-85787-38-5.
- [13] BELOT, A.; PUY, H.; HAMZA, I. a BONKOVSKY, H. L. Update on heme biosynthesis, tissue-specific regulation, heme transport, relation to iron metabolism and cellular energy. *Liver International*. 2024, roč. 44, č. 9, s. 2235-2250. ISSN 1478-3223. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/liv.15965>.
- [14] PHILLIPS, J. D. Heme biosynthesis and the porphyrias. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2019, roč. 128, č. 3, s. 164-177. ISSN 1096-7192. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2019.04.008>.
- [15] DAINTITH, J. Heme. In: *Dictionary of Chemistry*. (6th Edition). Oxford University Press, 2008, s. 258-259. ISBN 978-0-19-920463-2. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt008IH4X3/dictionary-chemistry/haem-heme>.
- [16] FRANKEN, A.; LOKMAN, B.; RAM, A.; PUNT, P.; HONDEL, C. et al. Heme biosynthesis and its regulation: Towards understanding and improvement of heme biosynthesis in filamentous fungi. *Applied microbiology and biotechnology*. 2011, roč. 91, s. 447-60. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3391-3>.

- [17] LAYER, G.; REICHEL, J.; JAHN, D. a HEINZ, D. W. Structure and function of enzymes in heme biosynthesis. Online. *Protein Science*. 2010, roč. 19, č. 6, s. 1137-1161. ISSN 0961-8368. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pro.405>. [cit. 2025-03-08].
- [18] YU, F.; WANG, Z.; ZHANG, Z.; ZHOU, J.; LI, J. et al. Biosynthesis, acquisition, regulation, and upcycling of heme: recent advances. Online. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2024, roč. 44, č. 7, s. 1422-1438. ISSN 0738-8551. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/07388551.2023.2291339>. [cit. 2025-03-08].
- [19] SUN, FX.; CHENG, YJ. a CHEN, CY. Regulation of heme biosynthesis and transport in metazoa. *Science China Life Sciences*. 2015, roč. 58, č. 8, s. 757-764. ISSN 1674-7305. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11427-015-4885-5>.
- [20] MEDLOCK, A. E. a DAILEY, H. A. New Avenues of Heme Synthesis Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022, roč. 23, č. 13. ISSN 1661-6596. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms23137467>.
- [21] GIBSON, S.; HAVENS, J.; METZ, L. a HILF, R. Is δ -Aminolevulinic Acid Dehydratase Rate Limiting in Heme Biosynthesis Following Exposure of Cells to δ -Aminolevulinic Acid? *Photochemistry and photobiology*. 2001, roč. 73, s. 312-7. Dostupné z: [https://doi.org/10.1562/0031-8655\(2001\)0730312:IAADRL2.0.CO;2](https://doi.org/10.1562/0031-8655(2001)0730312:IAADRL2.0.CO;2).
- [22] SCHAUDER, A.; FEUERSTEIN, T. a MALIK, Z. The centrality of PBGD expression levels on ALA-PDT efficacy. Online. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2011, roč. 10, č. 8, s. 1310-1317. ISSN 1474-905X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c1pp05085k>. [cit. 2025-01-19].
- [23] ANDREWS, N. Understanding Heme Transport. *The New England Journal of Medicine*. 2005, roč. 353, č. 23, s. 2508-9. ISSN 00284793. Dostupné také z: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/understanding-heme-transport/docview/223930375/se-2?accountid=17239>.
- [24] CAMMACK, R.; ATTWOOD, T. K.; CAMPBELL, P. N.; PARISH, J. H.; SMITH, A. D. et al. Porphyrin. In: *Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology*. (2nd Edition). Oxford University Press, 2006, s. 538. ISBN 978-0-19-852917-0. Dostupné také z: <https://app.knovel.com/hotlink/pdf/id:kt008OAZ8R/oxford-dictionary-biochemistry/package>.

- [25] MONTGOMERY, B. D.; ANDERSON, K. E. a BONKOVSKY, H. L. Porphyria. *New England Journal of Medicine*. 2017, roč. 377, č. 9, s. 862-872. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJMra1608634>.
- [26] STÖLZEL, U.; STAUCH, T. a KUBISCH, I. Porphyrien. Online. *Der Internist*. 2021, roč. 62, č. 9, s. 937-951. ISSN 0020-9554. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00108-021-01066-1>. [cit. 2025-02-10].
- [27] FRANK, J. Porphyrien. Online. *Der Hautarzt*. 2016, roč. 67, č. 3, s. 198-200. ISSN 0017-8470. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00105-015-3748-0>. [cit. 2025-01-07].
- [28] STRAKA, J. G.; RANK, J. M. a BLOOMER, J. R. Porphyria and Porphyrin Metabolism. Online. *Annual Review of Medicine*. 1990, roč. 41, č. 1, s. 457-469. ISSN 0066-4219. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev.me.41.020190.002325>. [cit. 2025-01-11].
- [29] DICKEY, A. K.; LEAF, R. K. a BALWANI, M. Update on the Porphyrias. Online. *Annual Review of Medicine*. 2024, roč. 75, č. 1, s. 321-335. ISSN 0066-4219. Dostupné z: <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042921-123602>. [cit. 2025-01-29].
- [30] BONKOVSKY, H. L.; DIXON, N. a RUDNICK, S. Pathogenesis and clinical features of the acute hepatic porphyrias (AHPs). Online. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2019, roč. 128, č. 3, s. 213-218. ISSN 10967192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2019.03.002>. [cit. 2025-02-12].
- [31] YASUDA, M.; CHEN, B. a DESNICK, R. J. Recent advances on porphyria genetics: Inheritance, penetrance & molecular heterogeneity, including new modifying/causative genes. Online. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2019, roč. 128, č. 3, s. 320-331. ISSN 10967192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.11.012>. [cit. 2025-02-12].
- [32] STÖLZEL, U.; DOSS, M. O. a SCHUPPAN, D. Clinical Guide and Update on Porphyrias. *Gastroenterology*. 2019/08/01, roč. 157, č. 2, s. 365-381.e4. ISSN 0016-5085. Dostupné z: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2019.04.050>.
- [33] MOHAN, G. a MADAN, A. *Ala Dehydratase Deficiency Porphyria*. Online. StatPearls Publishing, 2023. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560836/>. [cit. 2025-01-29].

- [34] ROACH, A. N.; BARKLEY, H.; RODRIQUEZ, C.; BURROW, T. A.; ANDERSON, K. E. et al. Profound hypotonia in an infant with δ -aminolevulinic acid dehydratase deficient porphyria. Online. *European Journal of Human Genetics*. 2024. ISSN 1018-4813. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41431-024-01758-w>. [cit. 2025-01-29].
- [35] DOSS, M. O.; STAUCH, T.; GROSS, U.; RENZ, M.; AKAGI, R. et al. The third case of Doss porphyria (δ -amino-levulinic acid dehydratase deficiency) in Germany. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2004, roč. 27, č. 4, s. 529-536. ISSN 0141-8955. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1023/B:BOLI.0000037341.21975.9d>.
- [36] AKAGI, R.; KATO, N.; INOUE, R.; ANDERSON, K. E.; JAFFE, E. K. et al. Δ -Aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) porphyria: The first case in North America with two novel ALAD mutations: The first case in North America with two novel ALAD mutations. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2006, roč. 87, č. 4, s. 329-336. ISSN 1096-7192. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2005.10.011>.
- [37] AKAGI, R.; YASUI, Y.; HARPER, P. a SASSA, S. A novel mutation of δ -aminolaevulinic acid dehydratase in a healthy child with 12% erythrocyte enzyme activity. Online. *British Journal of Haematology*. 1999, roč. 106, č. 4, s. 931-937. ISSN 0007-1048. Dostupné z: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1999.01647.x>. [cit. 2025-01-29].
- [38] AKAGI, R.; NISHITANI, Ch.; HARIGAE, H.; HORIE, Y.; GARBACZEWSKI, L. et al. Molecular analysis of δ -aminolevulinic acid dehydratase deficiency in a patient with an unusual late-onset porphyria. Online. *Blood*. 2000, roč. 96, č. 10, s. 3618-3623. ISSN 1528-0020. Dostupné z: <https://doi.org/10.1182/blood.V96.10.3618>. [cit. 2025-01-30].
- [39] THUNELL, S.; HOLMBERG, L. a LUNDGREN, J. Aminolaevulinic Acid Dehydratase Porphyria in Infancy. A Clinical and Biochemical Study. Online. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 1987, roč. 25, č. 1, s. 5-14. ISSN 1434-6621. Dostupné z: <https://doi.org/10.1515/cclm.1987.25.1.5>. [cit. 2025-02-01].
- [40] BALWANI, M.; SINGH, P.; SETH, A.; DEBNATH, E.; NAIK, H. et al. Acute Intermittent Porphyria in children: A case report and review of the literature. Online. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2016, roč. 119, č. 4, s. 295-299. ISSN 10967192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2016.10.005>. [cit. 2025-02-03].

- [41] SOLIS, C.; MARTINEZ-BERMEJO, A.; NAIDICH, T. P.; KAUFMANN, W. E.; ASTRIN, K. H. et al. Acute Intermittent Porphyria. Online. *Archives of Neurology*. 2004, roč. 61, č. 11. ISSN 0003-9942. Dostupné z: <https://doi.org/10.1001/archneur.61.11.1764>. [cit. 2025-02-03].
- [42] PISCHIK, E. a KAUPPINEN, R. An update of clinical management of acute intermittent porphyria. Online. *The Application of Clinical Genetics*. 2015, s. 201-214. ISSN 1178-704X. Dostupné z: <https://doi.org/10.2147/TACG.S48605>. [cit. 2025-02-14].
- [43] LAZARETH, H.; TALBI, N.; KAMAR, N.; LEVI, C.; MOULIN, B. et al. Kidney transplantation improves the clinical outcomes of Acute Intermittent Porphyria. Online. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2020, roč. 131, č. 1-2, s. 259-266. ISSN 10967192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2020.08.004>. [cit. 2025-02-14].
- [44] MA, L.; TIAN, Y.; PENG, C.; ZHANG, Y. a ZHANG, S. Recent advances in the epidemiology and genetics of acute intermittent porphyria. Online. *Intractable & Rare Diseases Research*. 2020, roč. 9, č. 4, s. 196-204. ISSN 2186-361X. Dostupné z: <https://doi.org/10.5582/irdr.2020.03082>. [cit. 2025-02-14].
- [45] LEI, JJ.; LI, S.; DONG, BX.; YANG, J. a REN, Y. Acute intermittent porphyria: a disease with low penetrance and high heterogeneity. Online. *Frontiers in Genetics*. 2024, roč. 15. ISSN 1664-8021. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fgene.2024.1374965>. [cit. 2025-02-14].
- [46] THEURIET, J.; GERFAUD-VALENTIN, M.; DUREL, C. A.; GOUYA, L. a PEGAT, A. Neuralgic amyotrophy presentation of acute intermittent porphyria: A case report. Online. *Journal of the Peripheral Nervous System*. 2024, roč. 29, č. 4, s. 567-569. ISSN 1085-9489. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jns.12668>. [cit. 2025-02-04].
- [47] HRABAK, P.; BENESOVA, K.; ZAHORAKOVA, D. a BRUHA, R. Porphyria cutanea tarda triggered by hepatitis-E virus. Online. *Bratislava Medical Journal*. 2024, roč. 125, č. 10, s. 587-588. ISSN 1336-0345. Dostupné z: https://doi.org/10.4149/BLL_2024_91. [cit. 2025-03-11].
- [48] SOUFLERIS, S.; MOORE, M.; PHILLIPS, J. D.; NETZEL, B.; RUDNICK, S. et al. Novel UROD mutation for porphyria cutanea tarda, type 2: a case report. Online. *AME*

- Case Reports*. 2024, roč. 8, s. 67-67. ISSN 25231995. Dostupné z: <https://doi.org/10.21037/acr-23-66>. [cit. 2025-03-11].
- [49] SARKANY, R. P. E. a PHILLIPS, J. D. The clinical management of porphyria cutanea tarda: An update. Online. *Liver International*. 2024, roč. 44, č. 9, s. 2191-2196. ISSN 1478-3223. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/liv.15980>. [cit. 2025-03-11].
- [50] BONKOVSKY, H. L.; RUDNICK, S. P.; MA, C. D.; OVERBEY, J. R.; WANG, K. et al. Ledipasvir/Sofosbuvir Is Effective as Sole Treatment of Porphyria Cutanea Tarda with Chronic Hepatitis C. Online. *Digestive Diseases and Sciences*. 2023, roč. 68, č. 6, s. 2738-2746. ISSN 0163-2116. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10620-023-07859-8>. [cit. 2025-03-11].
- [51] VARADA, N.; TUN, K.M.; CHANG, M.J.; BOMBERGER, S. a CALAGARI, R. A Rare Case of Hereditary Hemochromatosis Presenting With Porphyria Cutanea Tarda. Online. *Cureus*. 2023, roč. 15, č. 7. ISSN 2168-8184. Dostupné z: <https://doi.org/10.7759/cureus.41299>. [cit. 2025-03-11].
- [52] MOTSWALEDI, M. H. The diagnosis and management of porphyria cutanea tarda (PCT). Online. *South African Family Practice*. 2014, roč. 51, č. 3, s. 186-187. ISSN 2078-6190. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/20786204.2009.10873843>. [cit. 2025-03-13].
- [53] HORIE, Y.; TANAKA, K.; OKANO, J.; OHGI, N.; KAWASAKI, H. et al. Cimetidine in the Treatment of Porphyria Cutanea Tarda. Online. *Internal Medicine*. 1996, roč. 35, č. 9, s. 717-719. ISSN 0918-2918. Dostupné z: <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.35.717>. [cit. 2025-03-13].
- [54] SUSU, S.; SATO-MONMA, F.; ISHII, K.; HADA, Y.; TAKASE, K. et al. Transient Worsening of Photosensitivity due to Cholelithiasis in a Variegate Porphyria Patient. Online. *Internal Medicine*. 2016, roč. 55, č. 20, s. 2965-2969. ISSN 0918-2918. Dostupné z: <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.55.7108>. [cit. 2025-03-13].
- [55] D'AMATO, M.; BONUGLIA, M.; BARILE, S.; GRISO, D.; MACRI, A. et al. Genetic analysis of Variegate Porphyria (VP) in Italy: Identification of six novel mutations in the protoporphyrinogen oxidase (PPOX) gene. Online. *Human Mutation*. 2003, roč. 21, č. 4, s. 448-448. ISSN 1059-7794. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/humu.9125>. [cit. 2025-03-13].

- [56] FERRER, M. D.; TAULER, P.; SUREDA, A.; ROMAGUERA, D.; LLOMPART, I. et al. Enzyme antioxidant defences and oxidative damage in red blood cells of variegate porphyria patients. Online. *Redox Report*. 2013, roč. 14, č. 2, s. 69-74. ISSN 1351-0002. Dostupné z: <https://doi.org/10.1179/135100009X392502>. [cit. 2025-03-13].
- [57] HIFT, R. J.; PETERS, T. J. a MEISSNER, P. N. A review of the clinical presentation, natural history and inheritance of variegate porphyria: its implausibility as the source of the 'Royal Malady'. Online. *Journal of Clinical Pathology*. 2012, roč. 65, č. 3, s. 200-205. ISSN 0021-9746. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2011-200276>. [cit. 2025-03-17].
- [58] TSUCHIYA, Y.; HOSHINO, J.; SUWABE, T.; SUMIDA, K.; HIRAMATSU, R. et al. Variegate porphyria complicated by systemic AA amyloidosis: a case report. Online. *Amyloid*. 2013, roč. 20, č. 4, s. 272-274. ISSN 1350-6129. Dostupné z: <https://doi.org/10.3109/13506129.2013.837390>. [cit. 2025-03-17].
- [59] TO-FIGUERAS, J.; BADENAS, C.; ENRÍQUEZ, M. T.; SEGURA, S.; ALVAREZ, C. et al. Biochemical and genetic characterization of four cases of hereditary coproporphyrinuria in Spain. Online. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2005, roč. 85, č. 2, s. 160-163. ISSN 10967192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2004.12.012>. [cit. 2025-03-19].
- [60] CONWAY, A. J.; BROWN, F. C.; FULLINFAW, R. O.; KILE, B. T.; JANE, S. M. et al. A mouse model of hereditary coproporphyrinuria identified in an ENU mutagenesis screen. Online. *Disease Models & Mechanisms*. 2017, roč. 10, č. 8. ISSN 1754-8411. Dostupné z: <https://doi.org/10.1242/dmm.029116>. [cit. 2025-03-19].
- [61] KÜHNEL, A.; GROSS, U. a DOSS, M.O. Hereditary coproporphyrinuria in Germany: clinical-biochemical studies in 53 patients. Online. *Clinical Biochemistry*. 2000, roč. 33, č. 6, s. 465-473. ISSN 00099120. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0009-9120\(00\)00159-4](https://doi.org/10.1016/S0009-9120(00)00159-4). [cit. 2025-03-19].
- [62] LAMBIE, D.; FLORKOWSKI, C.; SIES, C.; RAIZIS, A.; SIU, W. K. et al. A case of hereditary coproporphyrinuria with posterior reversible encephalopathy and novel coproporphyrinogen oxidase gene mutation c.863TG (p.Leu288Trp). Online. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*. 2018, roč. 55, č. 5, s. 616-619. ISSN 0004-5632. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/0004563218774597>. [cit. 2025-03-23].

- [63] STEIN, P.; BADMINTON, M.; BARTH, J.; REES, D. a STEWART, M. F. Best practice guidelines on clinical management of acute attacks of porphyria and their complications. Online. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*. 2013, roč. 50, č. 3, s. 217-223. ISSN 0004-5632. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/0004563212474555>. [cit. 2025-02-17].
- [64] SÚKL. *NORMOSANG*. Online. SÚKL. Státní ústav pro kontrolu léčiv. 2024. Dostupné z: https://prehledy.sukl.cz/prehled_leciv.html#/detail-reg/0024772. [cit. 2025-02-17].
- [65] SYED, Y. Y. Givosiran: A Review in Acute Hepatic Porphyria. Online. *Drugs*. 2021, roč. 81, č. 7, s. 841-848. ISSN 0012-6667. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01511-3>. [cit. 2025-02-17].
- [66] BALWANI, M.; SARDH, E.; VENTURA, P.; PEIRÓ, P. A.; REES, D. C. et al. Phase 3 Trial of RNAi Therapeutic Givosiran for Acute Intermittent Porphyria. Online. *New England Journal of Medicine*. 2020, roč. 382, č. 24, s. 2289-2301. ISSN 0028-4793. Dostupné z: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1913147>. [cit. 2025-02-17].
- [67] *Givosiran*. Online. DRUGBANK online. 2019. Dostupné z: <https://go.drugbank.com/drugs/DB15066>. [cit. 2025-02-17].
- [68] POLI, A.; SCHMITT, C.; MOULOUEL, B.; MIRMIRAN, A.; TALBI, N. et al. Givosiran in acute intermittent porphyria: A personalized medicine approach. Online. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2022, roč. 135, č. 3, s. 206-214. ISSN 10967192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2022.01.002>. [cit. 2025-02-17].
- [69] ERWIN, A. L. a DESNICK, R. J. Congenital erythropoietic porphyria: Recent advances. Online. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2019, roč. 128, č. 3, s. 288-297. ISSN 10967192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.12.008>. [cit. 2025-03-05].
- [70] PHILLIPS, J. D.; STEENSMA, D. P.; PULSIPHER, M. A.; SPANGRUDE, G. J. a KUSHNER, J. P. Congenital erythropoietic porphyria due to a mutation in GATA1: the first trans-acting mutation causative for a human porphyria. Online. *Blood*. 2006, roč. 109, č. 6, s. 2618-2621. ISSN 0006-4971. Dostupné z: <https://doi.org/10.1182/blood-2006-06-022848>. [cit. 2025-03-05].

- [71] AIZENCANG, G. I.; BISHOP, D. F.; FORREST, D.; ASTRIN, K. H. a DESNICK, R. J. Uroporphyrinogen III Synthase. Online. *Journal of Biological Chemistry*. 2000, roč. 275, č. 4, s. 2295-2304. ISSN 00219258. Dostupné z: <https://doi.org/10.1074/jbc.275.4.2295>. [cit. 2025-03-05].
- [72] DUPUIS-GIROD, S.; AKKARI, V.; GED, C.; GALAMBRUN, C.; KEBÄILI, K. et al. Successful match-unrelated donor bone marrow transplantation for congenital erythropoietic porphyria (Günther disease). Online. *European Journal of Pediatrics*. 2005, roč. 164, č. 2, s. 104-107. ISSN 0340-6199. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s00431-004-1575-x>. [cit. 2025-03-08].
- [73] SAIKRISHNA, P.; PALANISWAMY, G.; PILLIKUNTE DODDAREDDY, N.; ISHFAQ, L.; ZARGAR, M.N. et al. Congenital Erythropoietic Porphyria: A Rare Inherited Disorder. Online. *Cureus*. 2024, roč. 16, č. 3. ISSN 2168-8184. Dostupné z: <https://doi.org/10.7759/cureus.55558>. [cit. 2025-03-05].
- [74] FRITSCH, C.; BOLSEN, K.; RUZICKA, T. a GOERZ, G. Congenital erythropoietic porphyria. Online. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1997, roč. 36, č. 4, s. 594-610. ISSN 01909622. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0190-9622\(97\)70249-4](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(97)70249-4). [cit. 2025-03-24].
- [75] BADABAGNI, P. a BIRUDALA, R. Congenital Erythropoietic Porphyria: Mild and Severe Form in Two Brothers. Online. *Indian Journal of Paediatric Dermatology*. 2024, roč. 25, č. 2, s. 121-124. ISSN 2319-7250. Dostupné z: https://doi.org/10.4103/ijpd.ijpd_12_23. [cit. 2025-03-08].
- [76] KAMALYAN, M. a MOHAMMADI, M. Congenital erythropoietic porphyria five years observation with standard treatment: a case report. Online. *Oxford Medical Case Reports*. 2024, roč. 2024, č. 1. ISSN 2053-8855. Dostupné z: <https://doi.org/10.1093/omcr/omad151>. [cit. 2025-03-08].
- [77] TO-FIGUERAS, J.; ERWIN, A.L.; AGUILERA, P.; MILLET, O. a DESNICK, R. J. Congenital erythropoietic porphyria. Online. *Liver International*. 2024, roč. 44, č. 8, s. 1842-1855. ISSN 1478-3223. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/liv.15958>. [cit. 2025-03-10].
- [78] DESJARDINS, M.P.; NACCACHE, L.; HÉBERT, A.; AUGER, I.; TEIRA, P. et al. Very Early Diagnosis and Management of Congenital Erythropoietic Porphyria.

- Online. *Clinical Pediatrics*. 2023, roč. 62, č. 5, s. 399-403. ISSN 0009-9228. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/00099228221128661>. [cit. 2025-03-10].
- [79] FORMÁNKOVÁ, R. a STARÝ, J. Hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant hematological disorders. Online. *Vnitřní lékařství*. 2018, roč. 64, č. 5, s. 530-536. ISSN 0042773X. Dostupné z: <https://doi.org/10.36290/vnl.2018.075>. [cit. 2025-03-10].
- [80] DOUBEK, M. a MAYER, J. (ed.). *Léčebné postupy v hematologii 2020: doporučení České hematologické společnosti České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně*. [Praha]: Česká hematologická společnost ČLS JEP, 2020. ISBN 978-80-270-8240-7. Dostupné také z: https://www.hematology.cz/doporuceni/klinika-files/Doporuceni_CHS_CLS_JEP-Cervena_kniha.pdf.
- [81] WIJERATHNA, H. M. S. M.; SHANAKA, K. A. S. N.; RAGUVARAN, S. S.; JAYAMALI, B. P. M. V.; KIM, S. H. et al. CRISPR/Cas9-Mediated fech Knockout Zebrafish: Unraveling the Pathogenesis of Erythropoietic Protoporphyrin and Facilitating Drug Screening. Online. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024, roč. 25, č. 19. ISSN 1422-0067. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms251910819>. [cit. 2025-04-01].
- [82] SILVER, S. M.; HOUGHTON, K.; HITCHENS, A.; ANSQUER, V. D. a CIEPIELEWSKA, M. Real-world assessment of the patient profile, clinical characteristics, treatment patterns, and outcomes associated with erythropoietic and X-linked protoporphyria. Online. *The Journal of Dermatology*. 2025, roč. 52, č. 3, s. 416-422. ISSN 0385-2407. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1346-8138.17607>. [cit. 2025-04-01].
- [83] LEAF, R. K. a DICKEY, A. K. How I treat erythropoietic protoporphyria and X-linked protoporphyria. Online. *Blood*. 2023. ISSN 0006-4971. Dostupné z: <https://doi.org/10.1182/blood.2022018688>. [cit. 2025-04-01].
- [84] DOWMAN, J. K.; GUNSON, B. K.; MIRZA, D. F.; BADMINTON, M. N. a NEWSOME, P. N. UK experience of liver transplantation for erythropoietic protoporphyria. Online. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2011, roč. 34, č. 2, s. 539-545. ISSN 0141-8955. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s10545-010-9272-6>. [cit. 2025-04-03].

- [85] DICKEY, A. K.; NAIK, H.; KEEL, S. B.; LEVY, C.; BEAVEN, S. W. et al. Evidence-based consensus guidelines for the diagnosis and management of erythropoietic protoporphyria and X-linked protoporphyria. Online. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2023, roč. 89, č. 6, s. 1227-1237. ISSN 01909622. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2022.08.036>. [cit. 2025-04-03].
- [86] MADIGAN, K. E.; RUDNICK, S. R.; AGNEW, M. A.; UROOJ, N. a BONKOVSKY, H. L. Illuminating Dersimelagon: A Novel Agent in the Treatment of Erythropoietic Protoporphyria and X-Linked Protoporphyria. Online. *Pharmaceuticals*. 2024, roč. 17, č. 1. ISSN 1424-8247. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ph17010031>. [cit. 2025-04-03].
- [87] LIPIŃSKI, P.; LIPNIACKA, A.; KLAUDEL-DRESZLER, M.; ZIÓLKOWSKA, L.; KOSTRZEWA, G. et al. Case Report: Cholestatic liver disease in the course of erythropoietic protoporphyria associated with renal hypodysplasia and atrial septal defect. Online. *Frontiers in Pediatrics*. 2025, roč. 13. ISSN 2296-2360. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fped.2025.1504181>. [cit. 2025-04-04].
- [88] WEISS, Y.; CHEN, B.; YASUDA, M.; NAZARENKO, I.; ANDERSON, K. E. et al. Porphyria cutanea tarda and hepatoerythropoietic porphyria: Identification of 19 novel uroporphyrinogen III decarboxylase mutations. Online. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2019, roč. 128, č. 3, s. 363-366. ISSN 10967192. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.11.013>. [cit. 2025-04-05].
- [89] FARRAG, M. S.; MIKULA, I.; RICHARD, E.; SAUDEK, V.; DE VERNEUIL, H. et al. Hepatoerythropoietic Porphyria Caused by a Novel Homoallelic Mutation in Uroporphyrinogen Decarboxylase Gene in Egyptian Patients. *Folia Biologica*. 2015, roč. 61, č. 6, s. 219-226. ISSN 00155500. Dostupné také z: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/hepatoerythropoietic-porphyr-ia-caused-novel/docview/1755854476/se-2?accountid=17239>.
- [90] MÉNDEZ, M.; ROSSETTI, M.; DE SIERVI, A.; BATLLE, A. a PARERA, V. Mutations in Familial Porphyria Cutanea Tarda: Two Novel and Two Previously Described for Hepatoerythropoietic Porphyria. *Human mutation*. 2000, roč. 16, s. 269-70. Dostupné z: [https://doi.org/10.1002/1098-1004\(200009\)16:3269::AID-HUMU123.0.CO;2-#](https://doi.org/10.1002/1098-1004(200009)16:3269::AID-HUMU123.0.CO;2-#).

- [91] CANTATORE-FRANCIS, J. L.; COHEN-PFEFFER, J.; BALWANI, M.; KAHN, P.; LAZARUS, H. M. et al. Hepatoerythropoietic Porphyria Misdiagnosed as Child Abuse. Online. *Archives of Dermatology*. 2010, roč. 146, č. 5. ISSN 0003-987X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1001/archdermatol.2010.89>. [cit. 2025-04-05].
- [92] BRŮHA, R.; VÍTEK, L.; ŠPERL, J. a URBÁNEK, P. *Akutní porfyrie – diagnostika a léčba: Doporučený postup České hepatologické společnosti ČLS JEP*. Online. 2022. Dostupné z: <https://www.ces-hep.cz/file/693/akutni-porfyrie-doporuceny-postup-chs-aktualizace-2022.pdf>. [cit. 2025-04-07].
- [93] AARSAND, A. K.; TO-FIGUERAS, J.; WHATLEY, S.; SANDBERG, S. a SCHMITT, C. Practical recommendations for biochemical and genetic diagnosis of the porphyrias. Online. *Liver International*. 2025, roč. 45, č. 3. ISSN 1478-3223. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/liv.16012>. [cit. 2025-04-10].
- [94] DEACON, A. C. Performance of Screening Tests for Porphyria. Online. *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*. 1988, roč. 25, č. 4, s. 392-397. ISSN 0004-5632. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/000456328802500412>. [cit. 2025-04-12].
- [95] WOLFF, F.; GULBIS, B. a COTTON, F. Spectrophotometric quantification of total urinary porphyrins as a screening test for porphyrias: Threshold value revisited. Online. *Clinical Biochemistry*. 2013, roč. 46, č. 18, s. 1825-1829. ISSN 00099120. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.08.021>. [cit. 2025-04-12].
- [96] VÍTEK, L. *Diagnostika porfyrické nemoci - Část 2*. Online. 2008. Dostupné z: https://www.bulletinfons.cz/wp-content/uploads/bulletins/22008/obsah/208_09.pdf. [cit. 2025-04-23].
- [97] DI PIERRO, E.; DE CANIO, M.; MERCADANTE, R.; SAVINO, M.; GRANATA, F. et al. Laboratory Diagnosis of Porphyria. Online. *Diagnostics*. 2021, roč. 11, č. 8. ISSN 2075-4418. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/diagnostics11081343>. [cit. 2025-04-22].
- [98] COSTA, C. A.; C. TRIVELATO, G.; DEMASI, M. a BECHARA, E. J. H. Determination of 5-aminolevulinic acid in blood plasma, tissues and cell cultures by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. Online. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1997,

roč. 695, č. 2, s. 245-250. ISSN 03784347. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(97\)00139-4](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(97)00139-4). [cit. 2025-04-17].

- [99] KIL'DYUSHKIN, D. A.; LITVIN, E. A.; SUKHANOVA, A. M.; KOROCHKINA, T. V.; GEGECHKORI, V. I. et al. Development and Validation of a Method for Assay of Porphyrins and Their Precursors by HPLC with UV Detection in Human Plasma. Online. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2023, roč. 57, č. 7, s. 1089-1094. ISSN 0091-150X. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s11094-023-02988-w>. [cit. 2025-04-17].
- [100] JACOB, K. a LUPPA, P. Application of ion pair high performance liquid chromatography to the analysis of porphyrins in clinical samples. Online. *Biomedical Chromatography*. 1991, roč. 5, č. 3, s. 122-127. ISSN 0269-3879. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/bmc.1130050306>. [cit. 2025-05-07].
- [101] MEYER, H. D.; JACOB, K.; VOGT, W. a KNEDEL, M. Diagnosis of porphyrias by ion-pair high-performance liquid chromatography. Online. *Journal of Chromatography A*. 1980, roč. 199, s. 339-343. ISSN 00219673. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)91385-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)91385-8). [cit. 2025-05-07].
- [102] DA SILVA, V.; SIMONIN, S.; DEYBACH, J.C.; PUY, H. a NORDMANN, Y. Variegate porphyria: diagnostic value of fluorometric scanning of plasma porphyrins. Online. *Clinica Chimica Acta*. 1995, roč. 238, č. 2, s. 163-168. ISSN 00098981. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(95\)06085-R](https://doi.org/10.1016/0009-8981(95)06085-R). [cit. 2025-05-05].
- [103] HINDMARSH, J. Enzyme Assays and the Porphyrias: Which Tissues and When Indicated. Online. *Clinics in Dermatology*. 1998, roč. 16, č. 2, s. 245-250. ISSN 0738081X. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0738-081X\(97\)00204-6](https://doi.org/10.1016/S0738-081X(97)00204-6). [cit. 2025-05-08].
- [104] ERLANDSEN, E.J.; JØRGENSEN, P. E.; MARKUSSEN, S. a BROCK, A. Determination of porphobilinogen deaminase activity in human erythrocytes: pertinent factors in obtaining optimal conditions for measurements. Online. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2000, roč. 60, č. 7, s. 627-634. ISSN 0036-5513. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/003655100448383>. [cit. 2025-05-08].