

Poruchy metabolismu hemu a hemoglobinu

Autoři

Prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc., doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D.

(bousova@faf.cuni.cz)

Katedra biochemických věd

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Hemoglobin je červené krevní barvivo, zajišťující transport krevních plynů. Tento metaloprotein je tvořen čtyřmi globinovými řetězci s pevně navázanou prostetickou skupinou – hemem. Hem je syntetizován zejména v erytroidních buňkách kostní dřeně a v buňkách jater. Následně je inkorporován do molekul celé řady proteinů (např. cytochromů P450, myoglobinu či katalasy). Jeho syntéza vychází z aminokyseliny glycinu a meziproduktu citrátového cyklu sukcinyl-CoA. V průběhu syntézy hemu vznikají porfyrinogeny a jejich oxidací porfyriny, které jsou schopné fluorescence, čehož se laboratorně využívá. Deficit některého z enzymů biosyntézy hemu vede ke vzniku porfyrií, které jsou charakterizovány hromaděním a masivním vylučováním intermediátů metabolické cesty a jejich oxidovaných produktů. Cílem první části této lekce je popsat syntézu a regulaci hemu a poruchy s touto drahou spojené. Po rozpadu hemoproteinů se uvolňuje hem, který je toxický, a proto musí být degradován na bilirubin. Z místa vzniku je transportován do jater, kde dochází k jeho konjugaci s UDP-glukuronovou kyselinou a následnému vyloučení do žluči. Poruchy degradace hemu a konjugace bilirubinu jsou provázeny hyperbilirubinemií, která může vést až ke žlutému zbarvení sklér a kůže (ikterus). Druhá část lekce je věnována získaným i dědičným poruchám degradace hemu a konjugace bilirubinu, které vedou k hyperbilirubinemii a ikteru. Hemoglobinopatie jsou vrozené poruchy syntézy proteinové části molekuly hemoglobinu, u nichž se na základě genetického defektu tvoří některý z globinových řetězců s abnormální strukturou nebo ve změněném množství ve srovnání se zdravým jedincem. V poslední části lekce je popsána struktura a funkce hemoglobinu a poruchy syntézy globinových řetězců.

Hemoproteiny

Struktura a funkce hemu

Základem struktury hemu jsou čtyři pyrrolová jádra, spojená do tetrapyrrolové porfinu, na něž se váže kovový ion. Vzniklé metaloporfyriny se účastní v mnoha metabolických procesech.

Hem - metaloporfyrin vázající železo, je nejznámější strukturou tohoto typu. Hem je jednou z nejpozoruhodnějších molekul v organismu. Tvoří prostetickou skupinu, která je pevně navázána na určité proteiny a podmiňuje jejich funkci. Tato funkce spočívá např. u

hemoglobinu a myoglobinu v přenosu kyslíku a jeho skladování, jiné hemoproteiny transportují elektrony pro tvorbu energie v dýchacím řetězci, účastní se syntézy a degradace lipidů a aminokyselin a biotransformace xenobiotik. Významná je také jejich úloha při kontrole oxidačního poškození.

Vedle hemu existují i jiné metaloporfyriny. Sem patří chlorofyl zelených rostlin, který váže hořčík a umožňuje fotosyntézu.

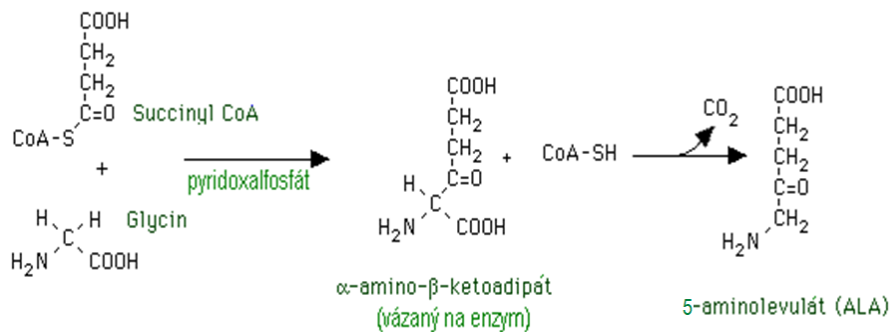
Přehled hemoproteinů, s nimiž se v biochemii a patobiochemii člověka setkáváme:

- Hemoglobin
- Myoglobin
- Cytochrom c
- Ubichinol-cytochrom-c-reduktasa
- Cytochrom P450
- Tryptofan-2,3-dioxygeasa (též tryptofanpyrrolasa)
- Cystathionasa
- NO-synthasa
- Katalasa
- NADPH-oxidasa neutrofilů

Syntéza hemu

Biosyntéza hemu probíhá ve všech buňkách lidského těla. Nejvýraznější je v erytroidních buňkách kostní dřeně (70-80 %) a buňkách jater. Hem v prekurzorech erytrocytů se stává součástí hemoglobinu. V játrech je vestavován do enzymů z rodiny cytochromů P450 a v buňkách ostatních tkání je součástí dalších enzymů, uvedených v předchozím přehledu.

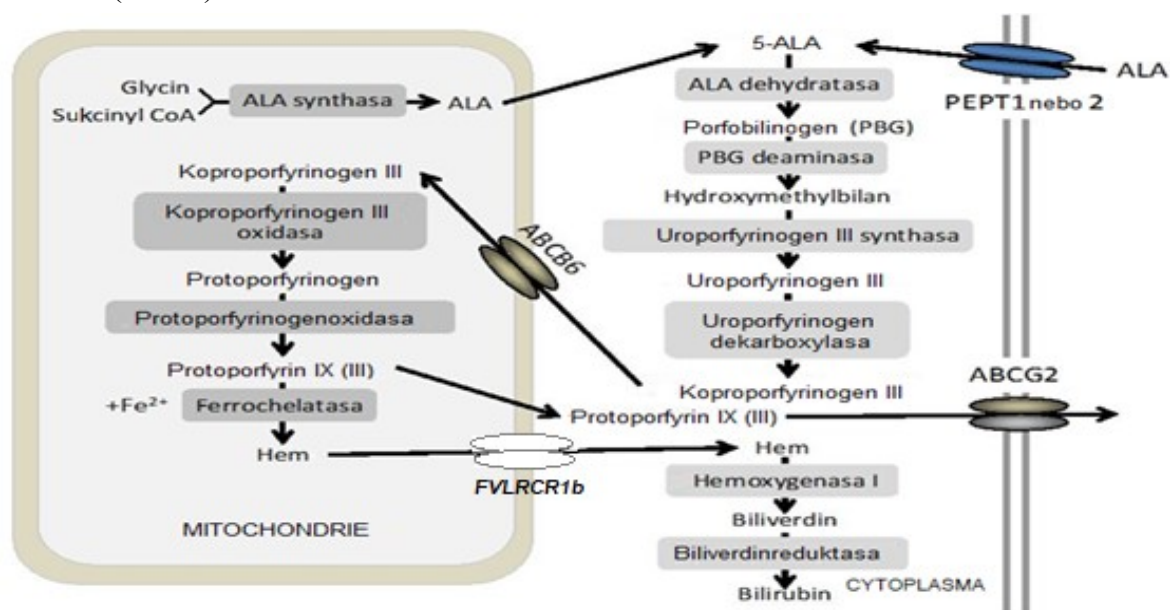
Syntéza hemu vychází z aminokyseliny glycinu a sukcylnylkoenzymu A. Zdrojem sukcylnylCoA je vedle kyseliny glutamové cyklus trikarboxylových kyselin, proto se snadno pamatuje, že tato syntéza začíná v mitochondriích. Již první krok celého syntetického řetězce je klíčový a je katalyzován enzymem 5-aminolevulátsynthasou (ALA-synthasou), která spolupracuje s koenzymem pyridoxal-5'-fosfátem. ALA-synthasa je limitujícím a zároveň regulatorním enzymem celé syntézy hemu (Obr. 1).



Obr. 1. Syntéza kyseliny 5-aminolevulové, katalyzovaná ALA-synthasou (upraveno z Baggott a Dennis 1995).

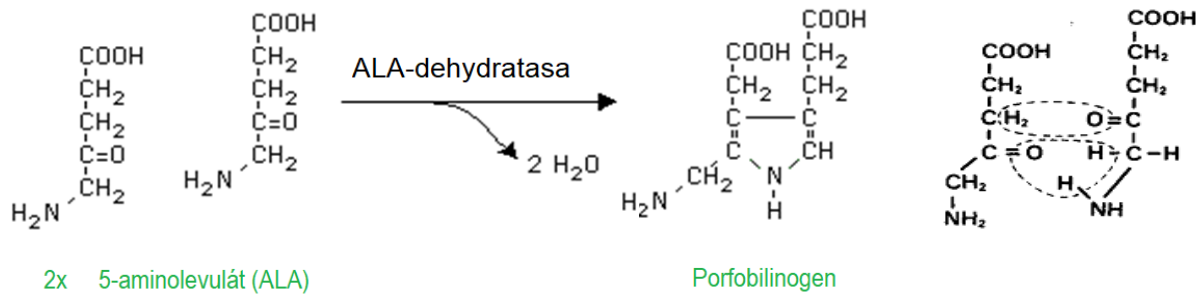
Kyselina 5-aminolevulová se tvoří z výchozích látek v mitochondriální matrix. ALA může také být importována z extracelulárního prostoru do cytoplasmy cílových buněk pomocí oligopeptidových transportérů PEPT1 nebo PEPT2.

ALA je postupně přeměněna na koproporfyriinogen III za katalytické účasti 4 enzymů. Koproporfyriinogen III je pak transportován zpět do mitochondrie (nejdříve do mezimembránového prostoru) pomocí transportéru ABCB6, a je přeměněn na protoporfyriinogen za katalýzy koproporfyriinogen-III-oxidasy. Vzniklý protoporfyriinogen je pak oxidován protoporfyriinogenoxidasou na protoporfyriin IX (III). Protoporfyriin je transportován do matrix a současně obohacen o Fe^{2+} za katalýzy ferrochelatasou. Syntetizované molekuly hemu jsou z mitochondrie exportovány transportérem FLVCR1b (*Feline leukemia virus subgroup C receptor-related protein 1b*). V obrázku 2 je také naznačena degradace hemu mikrosomální hemoxygenasou 1 na biliverdin a následně biliverdinreduktasou na bilirubin, což bude popsáno dále v kapitole o katabolismu hemu. Hem indukuje hemoxygenasu, která degraduje nadbytek nově syntetizovaného hemu na žlučová barviva. Odstranění přebytečného hemu je jedním z regulačních mechanismů jeho koncentrace. Intracelulární homeostáza porfyriinů je také udržována exportem přes plasmatickou membránu za účasti transportéru ABCG2 (Obr. 2).



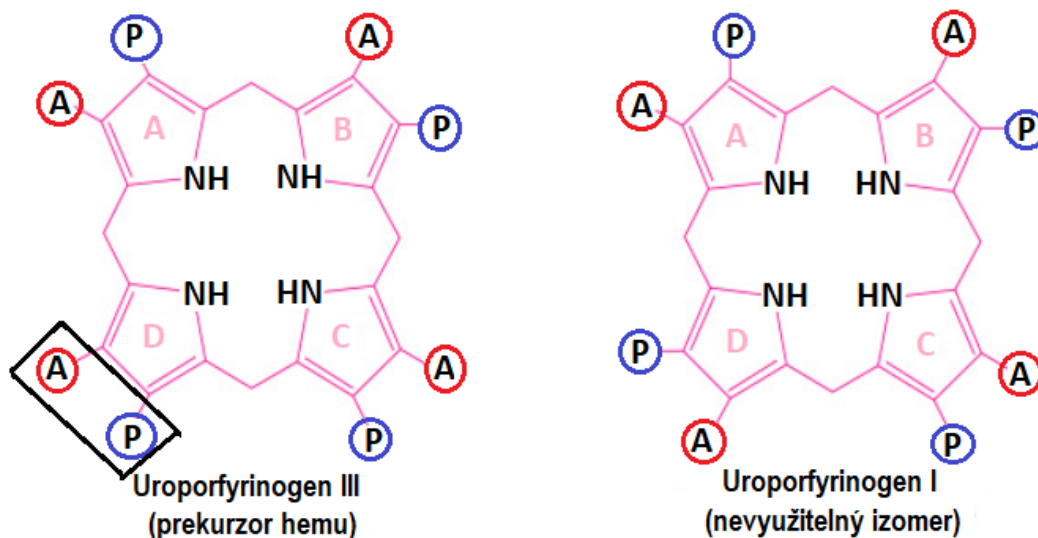
Obr. 2. Biosyntéza hemu a transport meziproductů (upraveno z Teng et al. 2013).

K syntéze jedné molekuly porfobilinogenu jsou potřeba 2 molekuly ALA za katalýzy ALA-dehydratasou (Obr. 3).



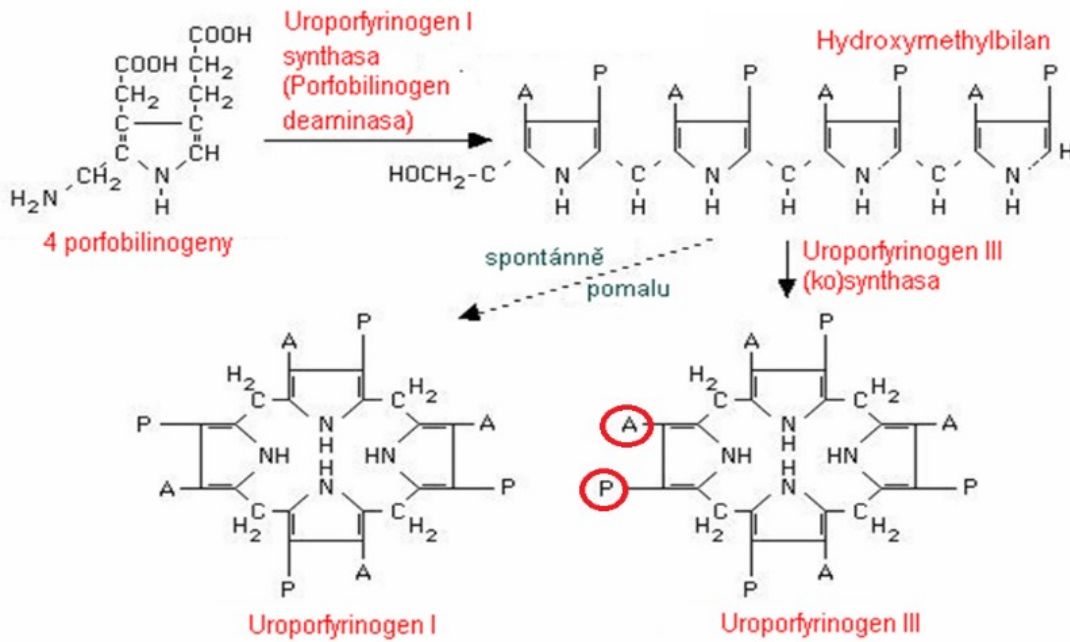
Obr. 3. Syntéza porfobilinogenu (Murray et al. 1998)

V dalším kroku se spojí 4 porfobilinogeny do jediné molekuly uroporfyrinogenu. Teoreticky by mohly vzniknout 4 isomery uroporfyrinogenu, v organismu však vznikají pouze dva (Obr. 4). Z katalýzy enzymem porfobilinogendeaminasou vzniká nejdříve lineární hydroxymethylbilan. Ten se může spontánně přeměnit na uroporfyrinogen I, který je nepotřebným vedlejším produktem. Jediným prekurzorem hemu je uroporfyrinogen III, k jehož vzniku je potřeba spolupráce s dalším proteinem, kterým je uroporfyrinogen III kosynthasa.



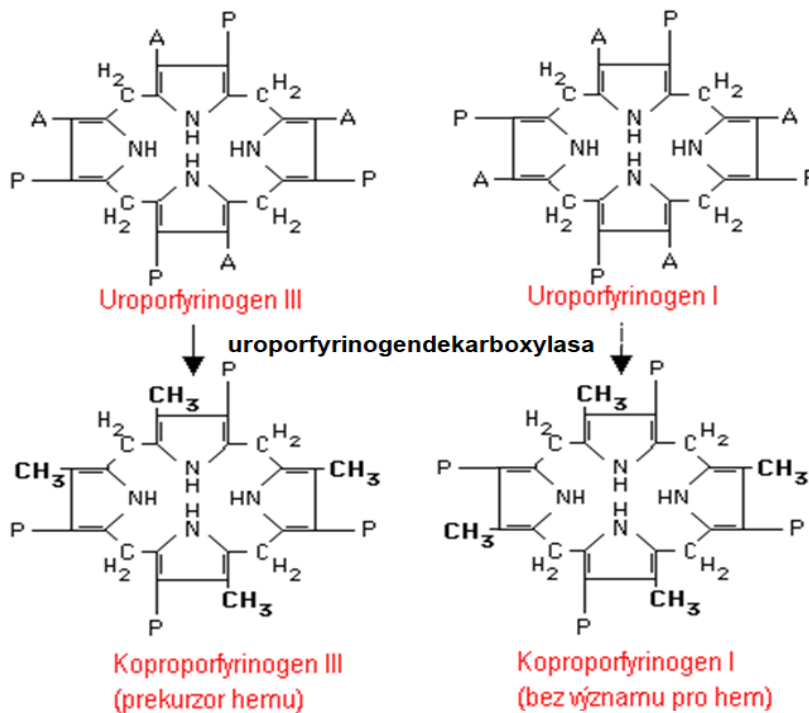
Obr. 4. Struktura uroporfyrinogenů. A = acetát, P = propionát (viz struktura porfobilinogenu) (vytvořeno podle různých zdrojů).

Jak je zřejmé z Obr. 5, nomenklatura molekul, zajišťujících vznik uroporfyrinogenů, není jednotná. Např. protein spolupracující při tvorbě uroporfyrinogenu III je někde označován jako enzym (synthasa), jinde jako kosynthasa. Pro pochopení poruch syntézy hemu je však důležité vědět, jak se od sebe tvorba uroporfyrinogenu III a uroporfyrinogenu I liší a jaký je význam tohoto kroku.



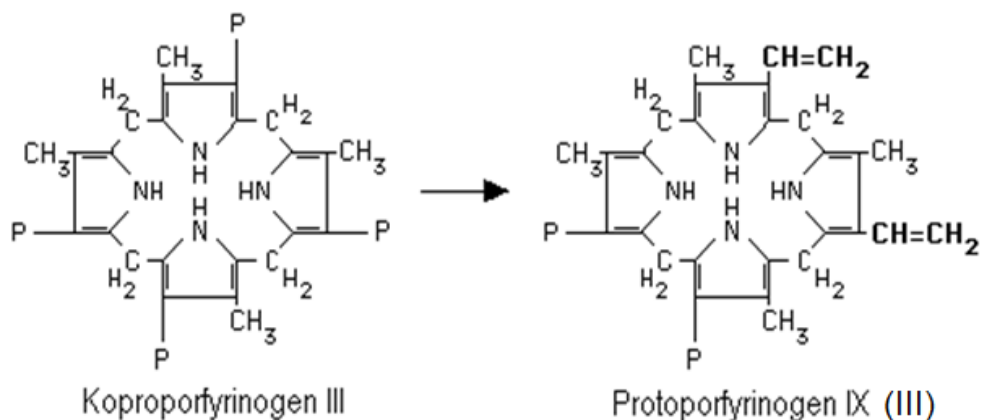
Obr. 5. Syntéza uroporphyrinogenů (Murray et al. 1998)

Uroporphyrinogen III je na cestě syntézy hemu dále přeměněn na koproporphyrinogen III. Reakce je katalyzována uroporphyrinogendekarboxylasou. Ačkoliv je uroporphyrinogen I ve srovnání s uroporphyrinogenem III neúčinným produktem, je rovněž substrátem uroporphyrinogendekarboxylasy a může být přeměněn na další produkt, koproporphyrinogen I (Obr. 6).



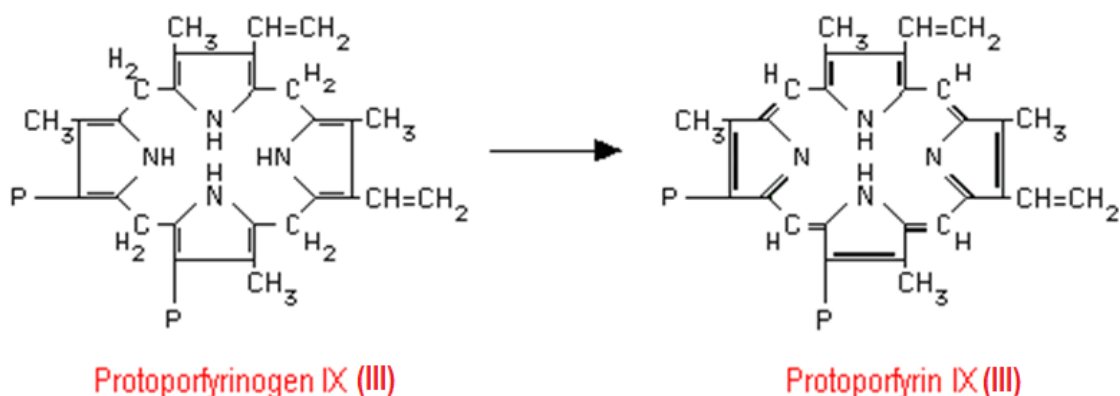
Obr. 6. Tvorba koproporphyrinogenů. Všechny čtyři acetátové skupiny jsou dekarboxylovány za vzniku methylů (Murray et al. 1998).

Koproporfyriinogen III je transportován do mitochondrie, kde se odehrávají další kroky syntézy hemu. V mitochondrii je koproporfyriinogen III přeměněn na protoporfyriinogen IX (někdy je označován jako protoporfyriinogen III) (Obr. 7). Reakce je katalyzována koproporfyriinogen-III-oxidase. V tomto kroku již není přeměňován koproporfyriinogen I.



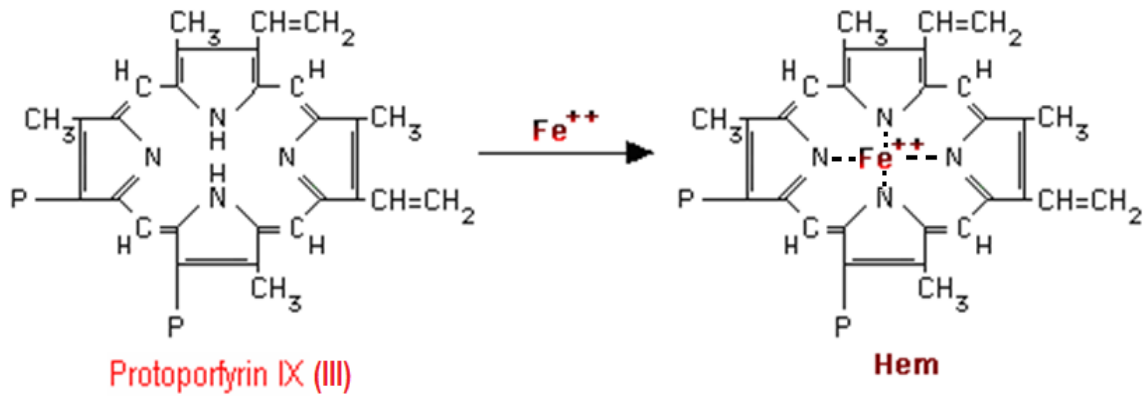
Obr. 7. Vznik protoporfyriinogenu. Oxidativní dekarboxylaci jsou přeměněny 2 zbytky kyseliny propionové na vinyly, další 2 propionáty se nemění (Murray et al. 1998).

Protoporfyriinogen IX se v dalším kroku mění na protoporfyriin (Obr. 8). Jde o zásadní změnu struktury a vlastností, protože systém izolovaných dvojných vazeb jednotlivých pyrrolových jader se přeměňuje na konjugovaný systém celé molekuly porfyriinu. Platí obecně, že porfyriiny jsou na rozdíl od bezbarvých porfyriinogenů barevné v různých odstínech červeně. Zbarvení je dáno systémem konjugovaných dvojných vazeb v jejich molekule, které absorbují viditelné světlo a v UV světle červeně fluoreskují.



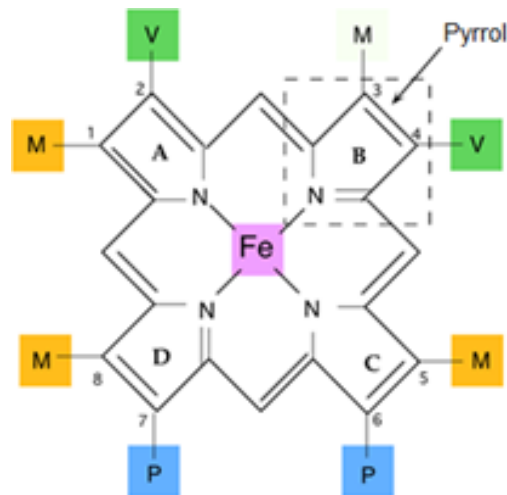
Obr. 8. Vznik protoporfyriinu IX (III) za katalýzy mitochondriální protoporfyriinogenoxidase (Murray et al. 1998).

Posledním krokem syntézy hemu je vnesení kationtu Fe^{2+} , které je katalyzováno enzymem ferrohelasou (hemsynthasou) (Obr. 9).



Obr. 9. Vnesení Fe^{2+} do molekuly protoporphyrinu za vzniku hemu (Murray et al. 1998).

Porfyriny váží svůj centrální atom kovu čtyřmi N atomy v pyrrolových jádrech. Železo však preferuje vazbu s více než čtyřmi ligandy, a další dva ligandy se tak mohou vázat kolmo na rovinu cyklu. V případě hemoglobinu je páté místo vázáno na zbytek His globinového řetězce a poslední (šesté) může být obsazeno molekulou O_2 . Ion Fe^{2+} má tedy v molekule hemu celkem 6 koordinačně kovalentních vazeb.



Obr. 10. Struktura hemu (upraveno z Memorangapp.com 2019)

Regulace syntézy hemu

ALA-synthasa je klíčovým regulačním enzymem syntézy hemu, závislým na pyridoxalfosfátu. Rozlišuje se ALA synthasa 1, která je v přítomna v hepatocytech, a ALA synthasa 2 v erytroidních buňkách.

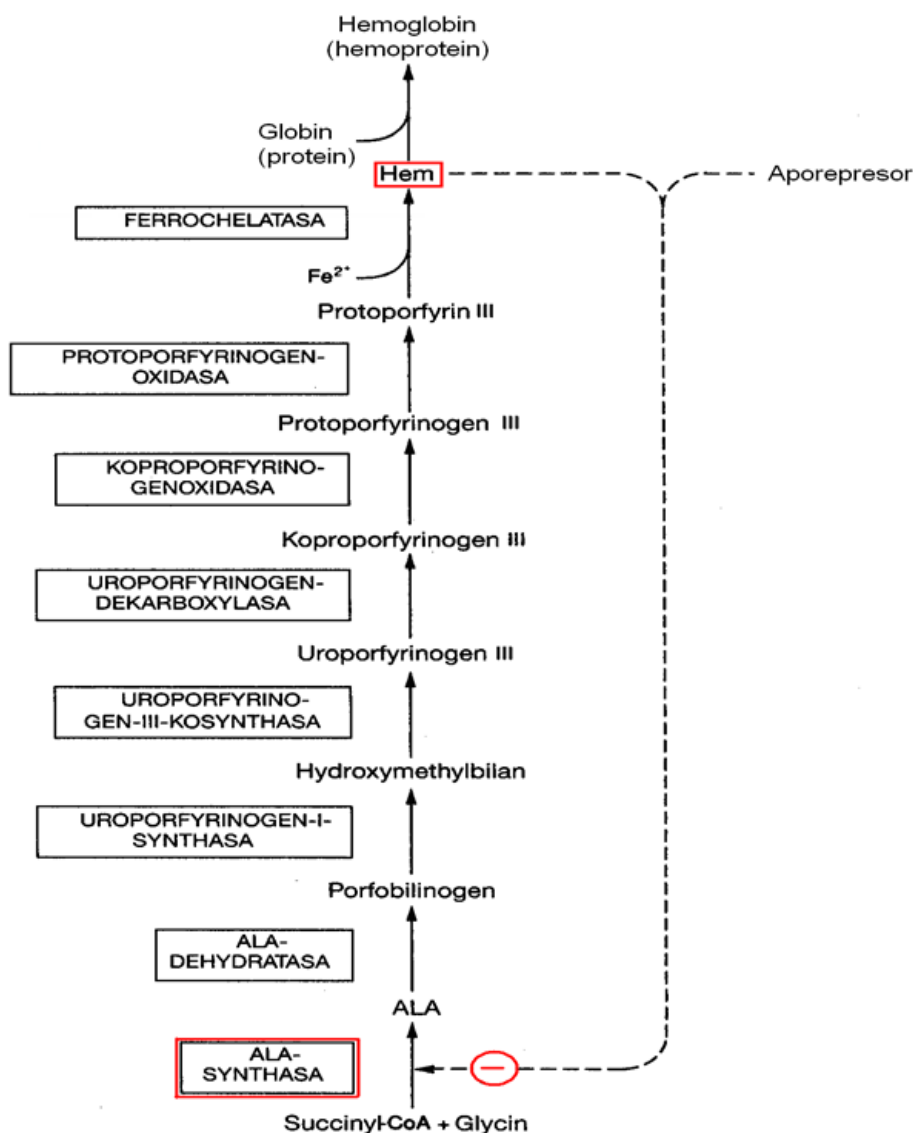
Regulace jaterní ALA synthasy (ALAS 1)

Tento isoenzym je inhibován hemem a hematinem, což je typický zpětnovazebný mechanismus, regulující syntézu konečného produktu hned na začátku syntetické dráhy, čímž se omezí tvorba meziproduktů (Obr. 11). Regulace se děje na úrovni transkripce, translace

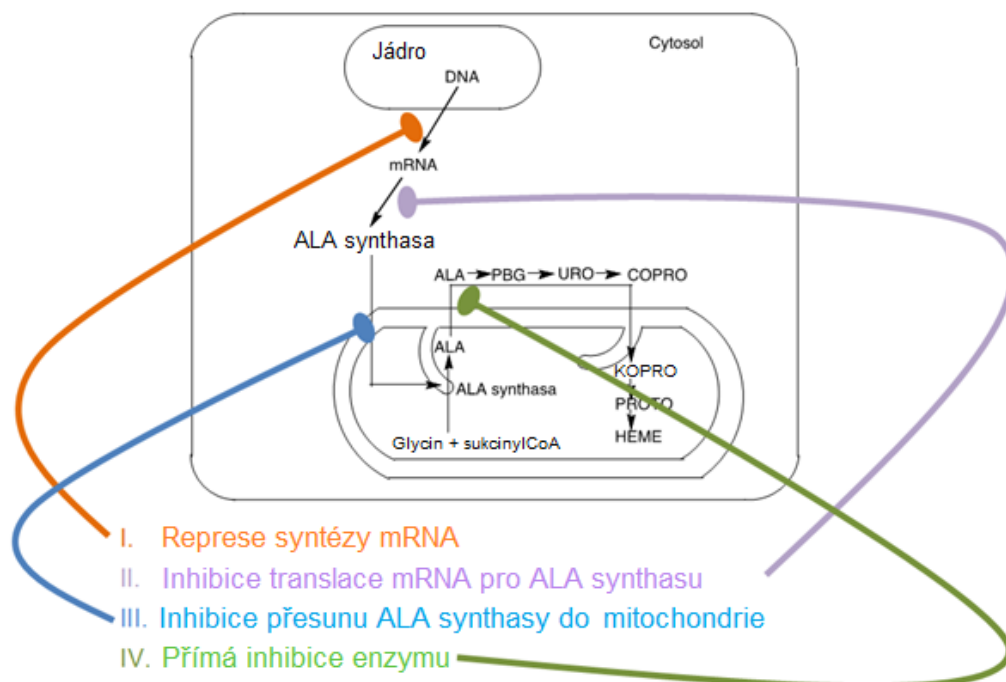
mRNA, přesunu molekuly ALA synthasy do mitochondrie i přímé allosterické inhibice enzymu hemem (Obr. 12).

Významným regulačním mechanismem syntézy hemu v játrech je rychlý obrat ALAS. Biologický poločas ALAS činí přibližně 70 min, což je nejméně ze všech známých mitochondriálních proteinů.

Opačný účinek na ALA synthasu mají některá léčiva, která tento enzym indukují (některé steroidy, barbituráty aj.)



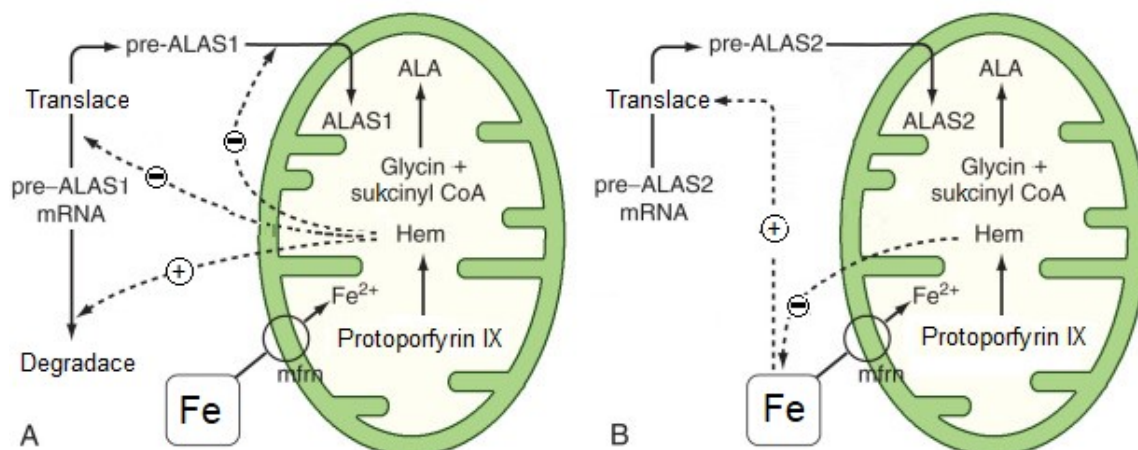
Obr. 11. zpětnovazebná regulace jaterní ALA synthasy konečným produktem syntézy hemu (upraveno z Murray et al. 1998)



Obr. 12. Regulace jaterní ALA-synthasy 1 hemem (upraveno z Memorangapp.com 2019)

Regulace ALA-synthasy erytroblastů (ALAS 2)

ALA synthasa erytroidních tkání není inhibována hemem ani není indukována léky. Základní regulace ALAS2 se děje na úrovni dostupnosti železa (ovlivnění translace). Hem moduluje dostupnost železa tím, že inhibuje transport železa z transferinu do cytosolu (Obr. 13).



Obr. 13. Srovnání regulace jaterní ALAS1 hemem (A) a regulace erytroidní ALAS2 dostupností železa (B) (upraveno z Fuller a Wiley 2018).

Porfyrie – poruchy syntézy hemu

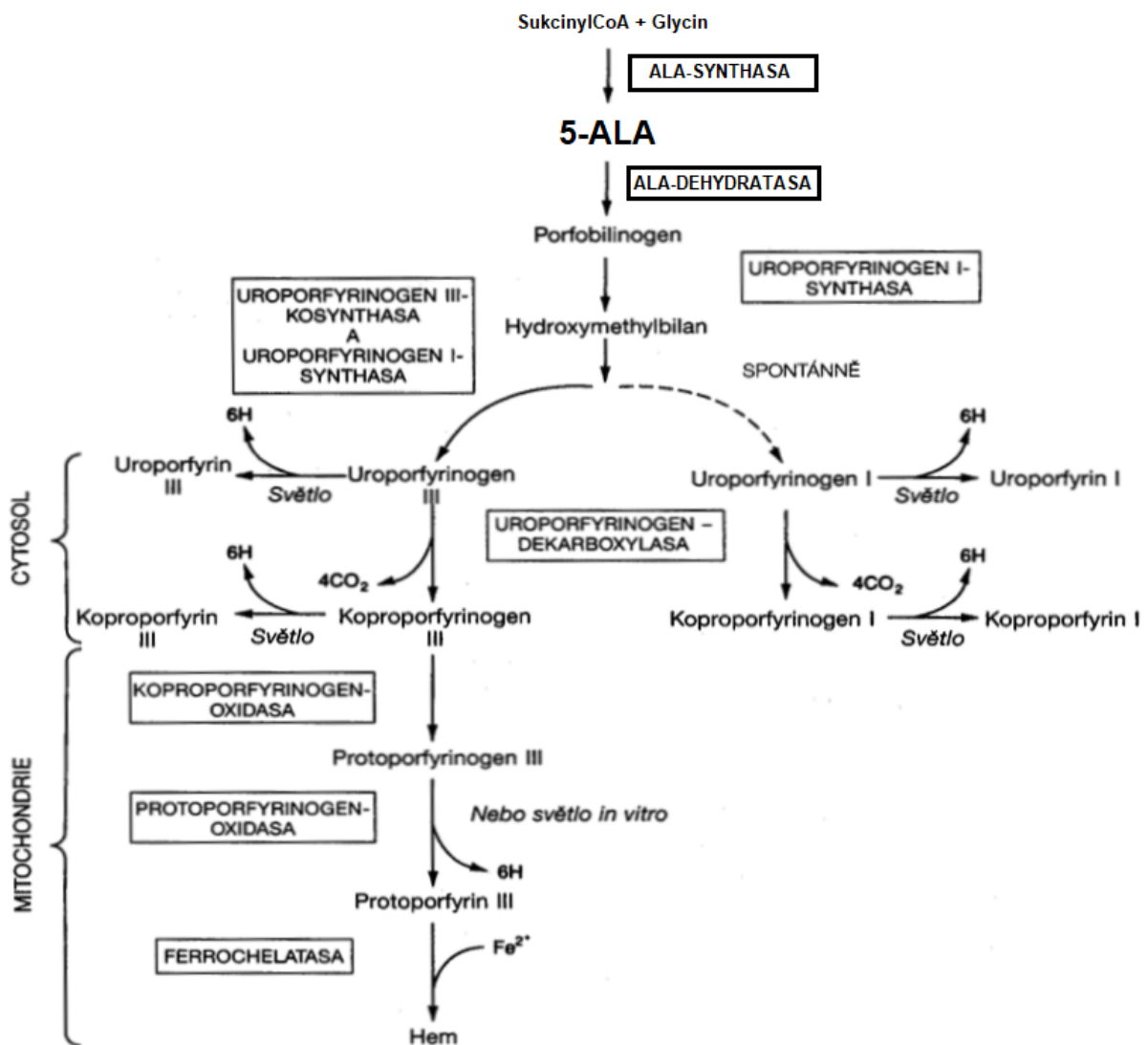
Porfyrie jsou skupinou metabolických onemocnění, způsobených poruchou funkce některého z enzymů katalyzujících syntézu hem. Ve většině případů má choroba genetický

podklad na základě poškozených genů, pak se jedná o dědičnou metabolickou poruchu. Jsou však také známy formy získané. Tyto metabolické poruchy jsou způsobeny deficitem enzymů biosyntézy hemu a jsou charakterizovány hromaděním a masivním vylučováním intermediátů metabolické cesty a jejich oxidovaných produktů.

Následky defektu některého z enzymů syntézy hemu zahrnují:

- Nedostatečnou syntézu hemu
- Kompenzaci nedostatku hemu (např. odbrzdění – aktivace jaterní ALAS1)
- Hromaděním meziproductů syntézy před blokem metabolické dráhy
- Nabídku těchto meziproductů pro alternativní cesty
- Masivní vylučování porfyrinů a jejich oxidovaných produktů močí (porfyrinurie) a stolicí (koproporfyrie).

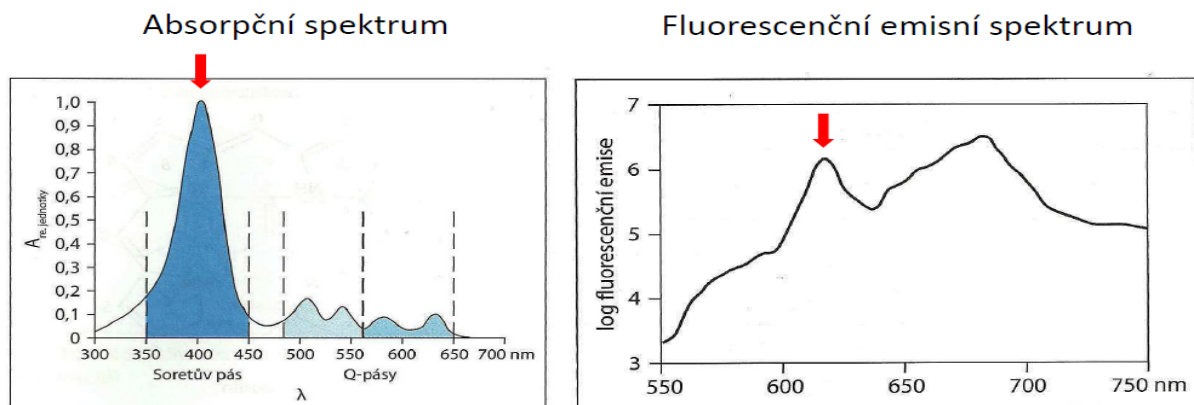
Tyto následky odpovídají obecným následkům defektu některého z enzymů metabolických drah (viz kapitola 6 Dědičné metabolické poruchy).



Obr. 14. Přehled metabolické dráhy tvorby hemu (upraveno z Murray et al. 1998)

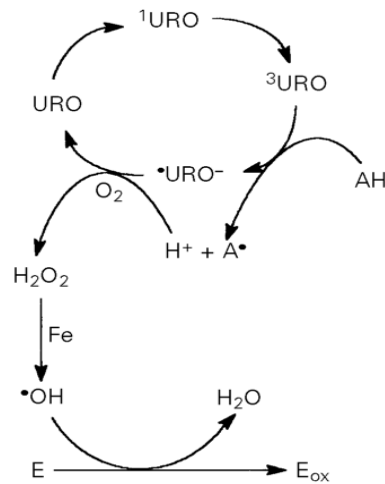
Z Obr. 14 lze v zásadě odvodit, jaké bude spektrum hromadících se prekurzorů a alternativních produktů podle lokalizace enzymového defektu. Významná je možnost neenzymových přeměn bezbarvých porfyrinogenů na barevné porfyriny působením světla. To je charakteristické u defektu enzymu ve vyšším stupni syntézy hemu, kdy jsou hromaděny porfyrinogeny, jejichž oxidačními produkty se stávají porfyriny, které reagují s viditelným světlem v oblasti vlnové délky 400 nm (fotosenzitivita). Pokud se meziprodukty hromadí v kůži, na rozvoji příznaků hromadění porfyrinů se podílí významně ultrafialové záření (opalování). Akutní zhoršení porfyrie mohou u postiženého člověka způsobit i některé léky ze skupiny antibiotik, anestetik, antimykotik, barbiturátů, antiepileptik a dalších struktur. Mechanismus tohoto zhoršení stavu spočívá v indukci ALA-synthasy, jejímž cílem má být zvýšení koncentrace cytochromů P450, katalyzujících biotransformaci léčiv.

Porfyriny jsou na rozdíl od bezbarvých porfyrinogenů barevné v různých odstínech červeně. Zbarvení je dáno systémem konjugovaných dvojných vazeb v jejich molekule, které absorbují viditelné světlo a v UV světle červeně fluoreskují (Obr. 15). Každá fluorescence je přenosem energie. Hem nepřenáší energii, nýbrž elektrony nebo kyslík, hem sám nefluoreskuje, protože jeho fluorescence je úplně zhasena koordinovaným atomem železa.



Obr. 15. Absorpce světla porfyriny (tzv. Soretův pás kolem 400 nm) a jejich fluorescenční emise (podle Matouš et al. 2010).

Porfyriny se díky světelné energii dostávají do excitovaného stavu, reagují s molekulárním kyslíkem za tvorby kyslíkových radikálů (Obr. 16), které pak následně poškozují buněčné orgány včetně lyzosomů. Tím dochází k uvolnění lyzosomálních enzymů. Pokud se jedná o kožní lokalizaci, lyzosomální enzymy destrukují kůži s následkem vzniku erytému, puchýřů, zjizvení a dalších příznaků. Zuby, moč a stolice získávají červený až hnědý nádech. Dásně ustupují a charakteristický vzhled je označován jako tzv. upíří zuby.



Obr. 16. Mechanismus působení uroporfyriu. URO: Uroporfyriu v základním stavu; ¹URO: singletový excitovaný stav; ³URO: tripletový excitovaný stav; •URO⁻: anion-radikál uroporfyriu; AH: donor elektronu; E: nativní enzym; E_{ox}: fotooxidovaný enzym (Afonso et al. 1999).

Klasifikace porfyrií

Klasifikace podle tkáně, kde je primárně vyjádřena metabolická porucha

Rozlišujeme:

- hepatální porfyrie
- erytroidní porfyrie
- smíšené porfyrie (erytrohepatální)

Klasifikace podle příznaků

Z hlediska projevů je významné, nakolik se tvoří při poruše porfyriu, které fluoreskují, a kde se vznikající fluoreskující porfyriu hromadí. V tomto smyslu rozlišujeme porfyrie kožní a neuroviscerální.

Typickým projevem některých porfyrií je ukládání porfyriu do kůže, spojené s fotosenzibilizací v místech kožních infiltrátů (**kožní forma porfyrie**). Po ozáření světlem vznikají puchýře, které mohou být sekundárně infikovány.

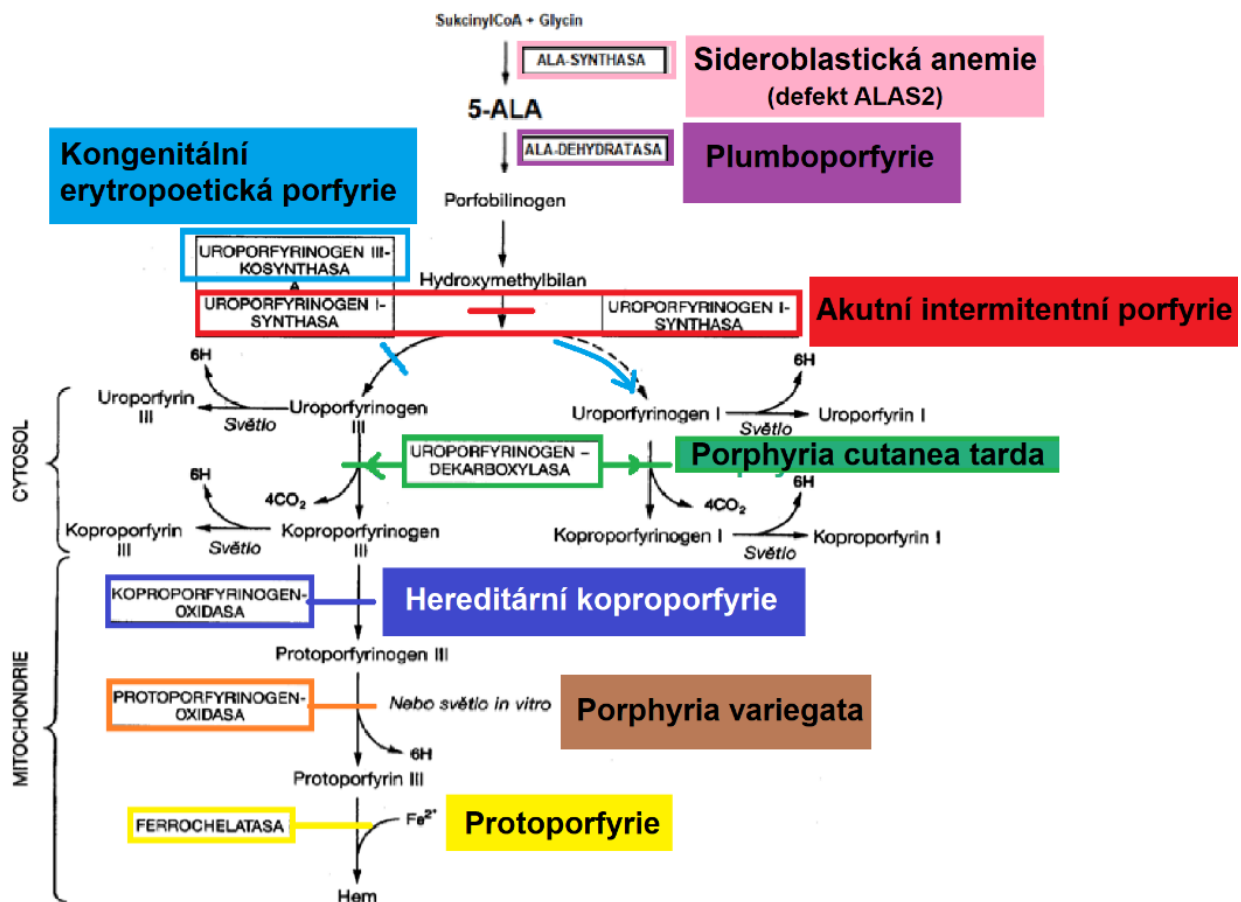
Ukládání prekurzorů hemu v neuroviscerální oblasti je charakteristické pro abdominální neboli břišní formu porfyrie (**neuroviscerální porfyrie**). Tato forma porfyrie se projevuje kolikovitými bolestmi břicha, zvracením a zácpou.

Porfyrie může být spojena také s neurologickými a psychickými příznaky. **Neurologická forma** má velké spektrum příznaků. Zpočátku trpí nemocný bolestmi hlavy, závratěmi a poruchami vidění. Následně se přidávají ochrnutí v různém rozsahu a mravenčení kůže. Tento stav vede k svalové slabosti a k postupné atrofii kosterního svalstva. **Psychické příznaky** jsou

typické pro porfyrie, jejich příčina je v jaterní poruše. Pacient je depresivní a trpí poruchami osobnosti. Postupně se u něj objevují halucinace, dezorientace a návaly agresivity.

Biochemický i klinický obraz jednotlivých typů porfyrie závisí na místě defektu nebo dysregulace v metabolické dráze syntézy hemu. Při defektu konkrétního enzymu se hromadí meziprodukty před defektem, případně jsou přeměňovány na produkty vedlejší.

Obr. 17 ukazuje jednotlivé enzymy postižené defektem a názvy chorob v odpovídající barvě. Názvy jednotlivých porfyrií částečně vystihují původ, tkáňovou lokalizaci nebo průběh choroby.



Obr. 17. Přehled enzymových defektů a s nimi spojených typů porfyrie. (upraveno z Murray et al. 1998)

Z hlediska průběhu lze porfyrie také rozdělit na akutní a chronické (Tab. 1).

Tabulka 1. Rozdělení porfyrií na akutní a chronické

| Typ | Název | Enzymový defekt | Projevy |
|------------------|---------------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| AKUTNÍ | Plumboporfyrie | ALA-dehydratasa | neuroviscerální |
| | Akutní intermitentní porfyrie | Porfobilinogendeaminasa | neuroviscerální |
| | Hereditární koproporfyrie | Koproporfyrinogenoxidasa | neuroviscerální a kožní |
| | Porphyria variegata | Protoporfyrinogenoxidasa | neuroviscerální a kožní |
| CHRONICKÉ | Kongenitální erythropoetická porfyrie | Uroporfyrinogen III kosynthasa | kožní |
| | Porphyria cutanea tarda | Uroporfyrinogendekarboxylasa | kožní |
| | Hepatoerythropoetická porfyrie | Uroporfyrinogendekarboxylasa | kožní |
| | Erythropoetická porfyrie | Ferrochelataasa | kožní |

Z tabulky je zároveň zřejmé, že zatímco u akutních typů dominují účinky neuroviscerální, vyvolané účinky časných meziproduktů bez fotoaktivních vlastností, u chronických forem vynikají kožní projevy dané fotoaktivními vlastnostmi dlouhodobě se akumulujícími porfyriinů.

Pro laboratorní diagnostiku je významná také rozpustnost porfyriinů ve vodě (Tab. 2). Tato rozpustnost klesá s dekarboxylací, proto se časně meziprodukty vylučují močí, zatímco pozdní jsou hydrofobní, přecházejí do žluči a objevují se ve stolici (Tab. 3).

Tabulka 2. Rozpustnost porfyriinů a jejich vylučování

| Struktura | Rozpustnost ve vodě | Cesta eliminace |
|--------------------------|---------------------|------------------------|
| Kyselina 5-aminolevulová | hydrofilní | močí |
| Porfobilinogen | hydrofilní | močí |
| Uroporfyrinogen | hydrofilní | močí |
| Koproporfyrinogen | amfifilní | močí i žluči (stolicí) |
| Protoporfyryn | hydrofobní | žluči (stolicí) |

Tabulka 3. Základní přehled laboratorních výsledků v bioanalytice porfyrií (upraveno podle Murray et al. 1998)

| Porfyrie | Defektní enzym | Laboratorní vyšetření |
|---------------------------------------|---|---|
| <i>Erytropoetická</i> | | |
| Kongenitální erytropoetická p. | Uroporfyrinogen (ko)synthasa | uroporfyrin v moči + porfobilinogen v moči - |
| Erytropoetická protoporfyrie | Ferrochelataza | protoporfyrin ve stolici + protoporfyrin v erytrocytech + |
| <i>Hepatická</i> | | |
| ADP porfyrie | ALA-dehydrataza | ALA v moči + |
| Akutní intermitentní p. | Porfobilinogendeaminasa | uroporfyrin v moči + porfobilinogen v moči + |
| Hereditární koproporfyrie | Koproporfyrinogenoxidasa | uroporfyrin v moči + porfobilinogen v moči + koproporfyrin ve stolici |
| Porphyria variegata | Protoporfyrinogenoxidasa | uroporfyrin v moči + porfobilinogen v moči + |
| Porphyria cutanea tarda | Uroporfyrinogendekarboxylasa | uroporfyrin v moči + porfobilinogen v moči - |
| Hepatoerytropoetická p. | Uroporfyrinogendekarboxylasa (homozygotní forma) | uroporfyrin v moči + porfobilinogen v moči - |

Podíl farmak na rozvoji porfyrií

Zde se uplatňuje zvýšená aktivita ALA-synthasy jako klíčového enzymu syntézy hemu pro biotransformační enzymy (cytochromy P450) některými farmaky. Tím se vyvolá zvýšená nabídka ALA pro další kroky syntézy a limitujícím krokem se stane jiný enzym, případně postižený částečným defektem, jehož nedostatek by se za normálních poměrů neprojevil. Základním terapeutickým postupem je pak vysazení léků, které akutní indukci ALA-synthasy navodily.

Příklady porfyrií

Porphyria cutanea tarda (pozdní kožní porfyrie)

Údaje o výskytu této choroby se v literatuře poměrně liší od 1 : 1.000 – 1 : 3.000 až po 1 : 25.000. Podle prvního údaje jde o nejčastější typ porfyrie u nás.

Jedná se o **autosomálně dominantní** dědičný **defekt uroporfyrinogendekarboxylasy**. Zatímco familiární forma představuje defekt ve všech tkáních, při formě sporadické jsou postižena jen játra. Klinická manifestace je dávana do souvislosti s poškozením jater způsobeným alkoholem, polyhalogenovanými uhlovodíky (hexachlorbenzen, dioxin), léčbou

estrogeny, hepatomem, hemochromatózou nebo hepatitidou. Příznaky se objevují především u mužů středního věku. Neléčená porfyrie může vést ke karcinomu jater. K odlišení familiární formy od forem ostatních se provádí stanovení uroporfyriinogendekarboxylasy.

Porfyriny jsou v nadbytku vytvářeny v játrech, hromadí se zde, přenáší se krevním oběhem až do kůže, kde způsobují fotosenzitivitu jako typický symptom. Po vystavení kůže slunečnímu záření se objevují tekutinou naplněné rozsáhlé puchýře, které se hojí velice pomalu za vzniku jizev.

Postiženým se doporučuje ochrana před slunečním zářením a jaterní dieta. Léčba zahrnuje mj. podávání antimalarika chlorochinu, který způsobuje pomalé vyplavování porfyrinů.

Akutní intermitentní porfyrie

Je způsobena **defektem porfyriinogendeaminasy** (uroporfyriinogensynthasy I), dědičnost je **autosomálně dominantní**. Statistiky výskytu se opět velmi liší. Zatímco wikiskripta uvádějí výskyt 1 : 30.000, v doporučení České hepatologické společnosti se uvádí tento typ jako u nás klinicky nejčastější s výskytem 1 : 5.000.

Samotný deficit porfobilinogendeaminasy výrazně nepoškozuje jaterní syntézu hemu, protože běžně nepředstavuje „rate-limiting step“, avšak při zvýšených nárocích na syntézu hemu v játrech (farmakoterapie, hormony, nutriční faktory) se může tento enzym stát limitujícím. Zpětnovazebně je indukována jaterní ALA-synthasa (ALAS1), a proto se hromadí kyselina 5-aminolevulová a porfobilinogen jako meziprodukty před defektním krokem. Vysoká koncentrace porfobilinogenu vede k částečnému překonání enzymového defektu zvýšenou nabídkou substrátu. Přeměna porfobilinogenu na porfyriny je částečně neenzymová. Choroba probíhá v atakách, kdy je vysoké vylučování porfobilinogenu močí mezi dvěma atakami a až po delším období se upravuje k normě. Charakteristické jsou neuroviscerální příznaky. Obvyklé jsou dlouhotrvající bolesti břicha a také se objevují příznaky duševních poruch.

Potvrdit diagnózu akutní intermitentní porfyrie pomůže snížená aktivita porfobilinogendeaminasy v erythrocytech (u heterozygotů > 50 % normálních hodnot), zatímco běžné laboratorní vyšetření mimo ataku ukazuje na zcela normální nález v moči i ve stolici.

Plumboporfyrie

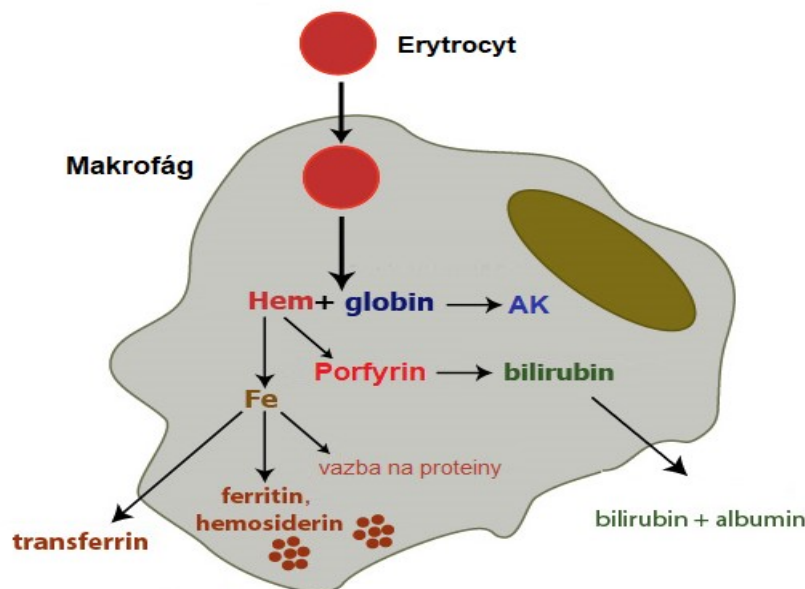
Je příkladem **získaného defektu ALA-dehydratasy**, který vzniká při otravě olovem. Porfyrie mohou být také vyvolány otravou arsenem, benzenem, ethanolem, při otravě houbami (*Amanita phalloides*), nebo jako následek hepatitidy.

Z dalších typů je vhodné zmínit **erythropoetickou protoporfyrii**, která je sice velmi vzácná, avšak je známá jako „upírů nemoc“, vampirismus. Vzhled postiženého je způsobený ústupem dásní, vynikají zuby, bledost, kožní poruchy. Příčinou je **defekt ferrochelatasy**.

Hereditární koproporfyrie je způsobena **defektem koproporfyrinogenoxidasy**. Probíhá v akutních atakách a charakteristická je zde abdominální, neurologická a psychiatrická symptomatologie.

Katabolismus hemu – tvorba bilirubinu

Proteiny obsahující hem podléhají rozpadu podobně jako jiné bílkoviny. Asi 80–85 % hemu pochází z hemoglobinu erytrocytů, zbylých 15–20 % má původ v ostatních hemoproteinech, jako jsou cytochromy a enzymy. Hemoglobin erytrocytů je katabolizován po rozpadu červených krvinek, tedy asi po 120 dnech jejich života, kdy jsou fagocytovány makrofágy a Kupferovými buňkami v retikuloendotelovém systému (RES) kostní dřeni, sleziny a jater. Proteinové složky erytrocytu včetně hemoglobinu jsou rozštěpeny hydrolasami. Volné aminokyseliny globinu a ostatních hemoproteinů jsou recyklovány. Volný hem je toxický a nemůže být recyklován a je postupně přeměněn na bilirubin (Obr. 18).

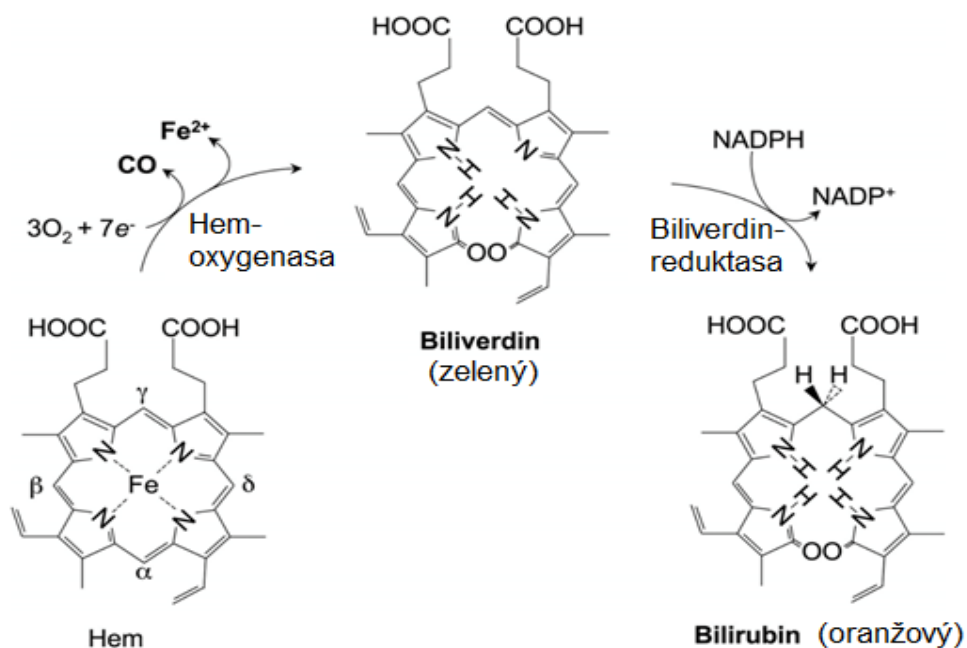


Obr. 18. Zánik erytrocytu a rozložení hemoglobinu (upraveno z eClinPath 2013)

Železo hemu se uvolní ve formě Fe^{3+} , váže se na transferin a v kostní dřeni je znovu využito pro tvorbu hemoglobinu, zatímco porfyrinový řetězec se otevře a linearizuje za vzniku biliverdinu a oxidu uhelnatého.

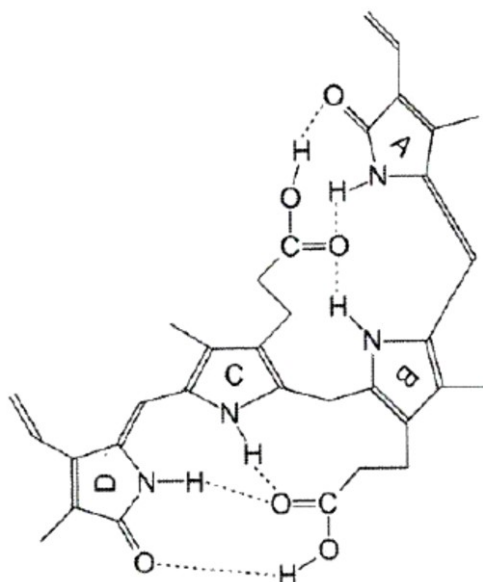
Přeměnu hemu na biliverdin katalyzuje enzym hemoxygenasa, jehož koenzymem je redukovaný NADPH. Vzniklý CO (jediný endogenní zdroj oxidu uhelnatého) je transportován hemoglobinem jako karboxyhemoglobin.

V dalším reakčním kroku vzniká z biliverdinu bilirubin za katalýzy biliverdinreduktasou. Koenzymem je opět redukovaný NADPH (Obr. 19).



Obr. 19. Syntéza bilirubinu (upraveno z Memorangapp.com)

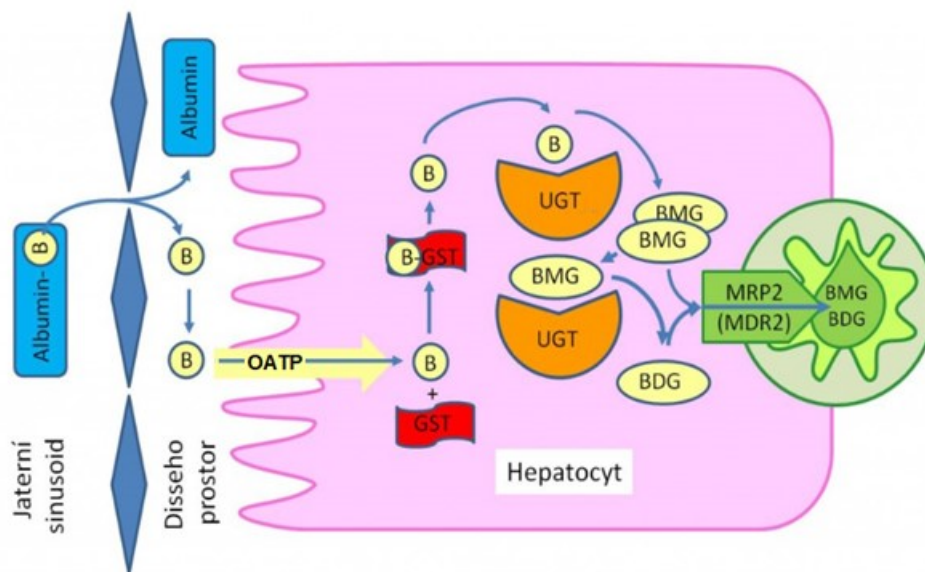
Bilirubin je z místa vzniku transportován do jater, kde je vylučován do žluči. Bilirubin vzniklý v retikuloendotelovém systému je na pohled zdánlivě hydrofilní, avšak jeho molekula je „sbalena“ intramolekulárními vodíkovými můstky a v tomto prostorovém uspořádání není volný bilirubin rozpustný ve vodě (Obr. 20).



Obr. 20. Molekula volného bilirubinu s intramolekulárními vodíkovými můstky (Vítek 2009)

V krvi se proto nekovalentně váže na albumin. Molekula albuminu má dvě vazebná místa pro bilirubin. V tomto komplexu je transportován krví do jater. Z krve přestupuje do hepatocytu pouze bilirubin, albumin zůstává v krvi. Přestup bilirubinu z krve do jater se uskutečňuje usnadněnou difuzí pomocí transportérů ze skupiny polypeptidů transportujících organické

anionty (OATP – *organic anion transporting polypeptides*). V hepatocytu je bilirubin zachycen vazbou na enzym glutathion-S-transferasu (GST; dříve popisovaná jako ligandin). V komplexu s tímto enzymem je transportován do endoplasmatického retikula. (Pozn.: při frakcionaci buněčného homogenátu ultracentrifugací patří endoplasmatické retikulum do frakce, označované jako **mikrosomy**). Zde je bilirubin konjugován s kyselinou glukuronovou na bilirubindiglukuronid (asi 90 %), částečně na bilirubinmonoglukuronid. Vazbou na kyselinu glukuronovou se bilirubin stává hydrofilnějším a je vylučován z hepatocytu do žlučového vývodu. Transport konjugovaného bilirubinu do žlučového ductu zajišťuje transportér MRP2 (multidrug resistance-associated protein 2) z rodiny kasetových transportérů závislých na ATP (ATP-binding cassette sub-family C member 2; ABCC2) (Obr. 21).

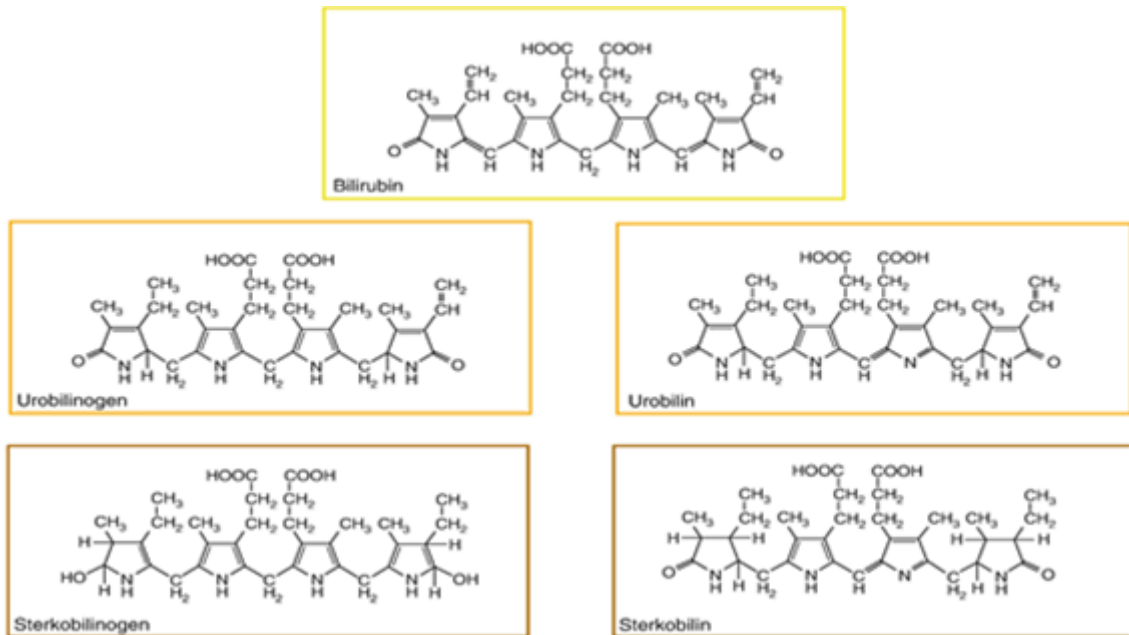


Obr. 21. Konjugace bilirubinu v hepatocytu a transport do žluči. (upraveno z Veselý a Ehrmann 2012)

B = bilirubin; OATP = organic anion transporting polypeptide; GST = glutathion-S-transferasa; UGT = uridindifosfátglukuronyltransferasa; BMG = bilirubinmonoglukuronid; BDG = bilirubindiglukuronid; MRP2 (MDR2) = multidrug resistance-associated protein 2.

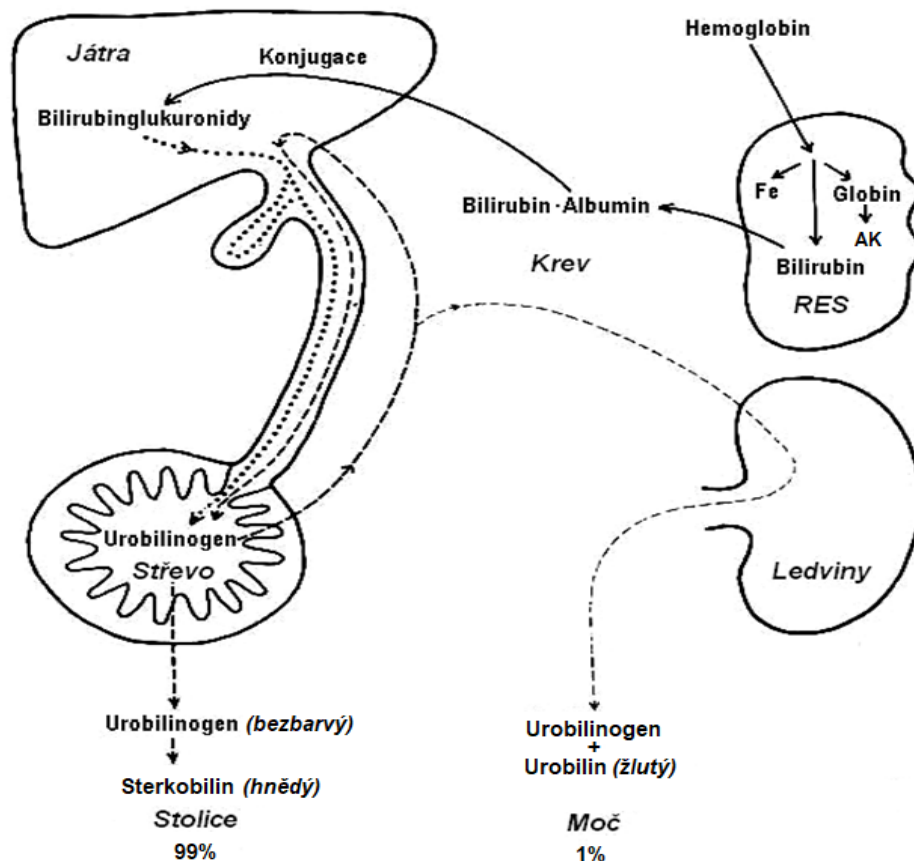
Ačkoliv bilirubin je endogenně vzniklou látkou, celý postup jeho eliminace je analogický biotransformací látek tělu cizích (xenobiotik).

Konjugovaný bilirubin se jako součást žluči dostává vývodními cestami žlučovými do střevního traktu. Pro bakteriální střevní flóru je kyselina glukuronová výborným energetickým substrátem, zatímco dekonjugovaný bilirubin je pouze přeměněn na další porfyrinovou strukturu, uroporfyrinogen (bezbarvá látka), který z 90 % přechází do stolice po autooxidaci na hnědý sterkobilin, který je základním barvivem stolice. Asi 10 % urobilinogenu se ze střeva reabsorbuje portálním systémem do krve. Z něj se 9 % znovu játry vyloučí do střeva a 1 % se vyloučí ledvinami do moči (částečně autooxidovaný na žlutý urobilin) (Obr. 22).



Obr. 22. Bilirubin a produkty jeho přeměny (upraveno z Gressner a Gressner 2018).

Za normálních okolností je veškerý nekonjugovaný bilirubin transportován ve vazbě na albumin do jater, kde je konjugován. Vzniklý konjugovaný bilirubin je vyloučen do žluči a v krevním oběhu se prakticky nevyskytuje. Nekonjugovaný bilirubin vázaný na albumin se v ledvinových glomerulech nefiltruje a v moči proto není přítomen (Obr. 23).



Obr. 23. Metabolismus hemu a osud jeho produktů (převzato z Dršata 1983)

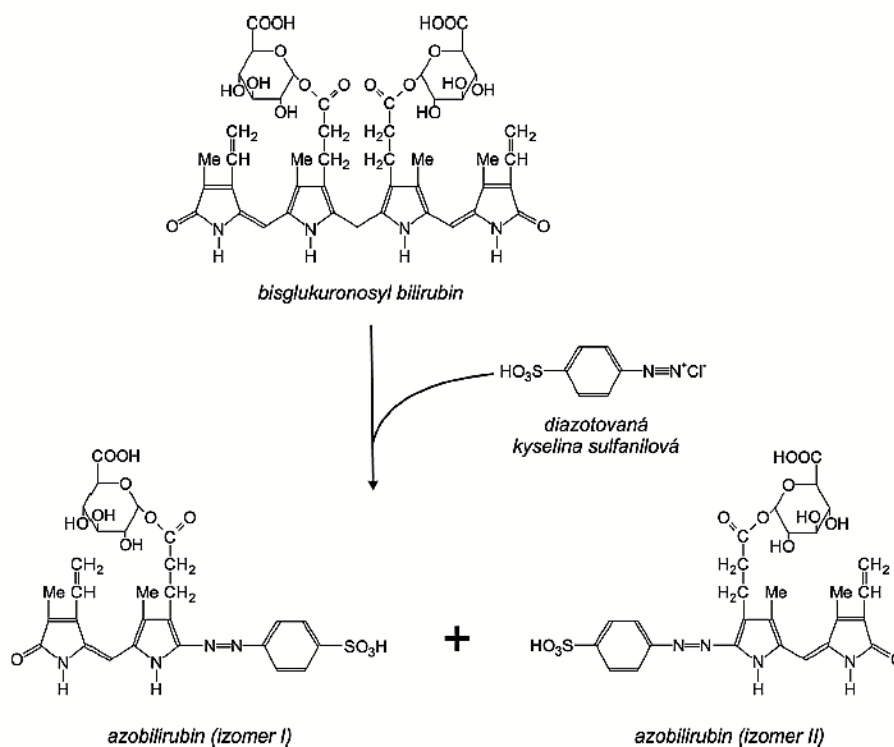
Hyperbilirubinemie

Z přehledu katabolismu hemu a vylučování jeho produktů je zřejmé, že takovýto několikastupňový metabolický a vylučovací proces může být v jednotlivých krocích postižen defekty nebo kvantitativními změnami. Charakteristickým znakem patologických změn v katabolismu hemu a vylučování bilirubinu je **zvýšená koncentrace bilirubinu v krvi – hyperbilirubinémie**. Podle toho, který krok tohoto procesu je postižen, je hyperbilirubinémie způsobena buď vysokou koncentrací bilirubinu ještě nekonjugovaného (nerozpustného ve vodě), nebo bilirubinu konjugovaného (rozpustného ve vodě), případně obou forem. Rozlišení typu hyperbilirubinémie a její kvantifikace je významným diagnostickým prostředkem biochemické laboratoře. Sledování koncentrace bilirubinu v krevním séru nebo plasmě je významným diagnostickým prostředkem, zejména při poškození jater („jaterní testy“).

K rozlišení obou typů bilirubinu slouží reakce s diazotovanou kyselinou sulfanilovou. Reakce byla původně zavedena Ehrlichem v roce 1883. Existuje několik modifikací a běžně se používá název **van den Berghova reakce** podle holandského lékaře, který ji začal uplatňovat v diagnostice žloutenek. Van den Berghova reakce se v biochemické laboratoři nejčastěji provádí v modifikaci podle Jendrassika a Grófa s fotometrií při vlnové délce 520-550 nm.

Kromě van den Berghovy reakce se používá k stanovení bilirubinu několik dalších metod, jako je přímá fotometrie nebo enzymatické stanovení bilirubinu přeměnou na biliverdin za katalýzy bilirubinoxidasou (změna absorpce při 405-460 nm).

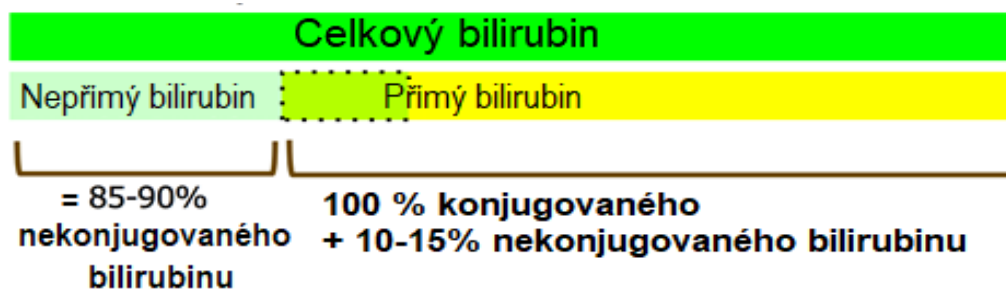
Konjugovaný bilirubin reaguje s diazočinnidlem okamžitě (tzv. **přímý bilirubin**). Spolu s konjugovaným bilirubinem reaguje jako přímý bilirubin také asi 10-15 % nekonjugovaného bilirubinu (Obr. 24).



Obr. 24. Reakce konjugovaného bilirubinu s diazotovanou kyselinou sulfanilovou (Vítek 2009)

Jinak musí být nekonjugovaný bilirubin nejprve rozpuštěn např. přidáním methanolu nebo jiného „akcelerátoru“ (kofein, kyselina benzoová...). Po přidání akcelerátoru se získá celková koncentrace bilirubinu ve vyšetřovaném séru (**celkový bilirubin**).

Odečtením hodnoty přímého bilirubinu od celkového bilirubinu se získá hodnota **nepřímého bilirubinu**. Nepřímý bilirubin je hodnota vypočtená, nikoliv naměřená. Představuje asi 85-90 % nekonjugovaného bilirubinu.



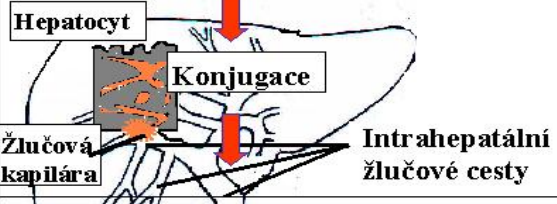
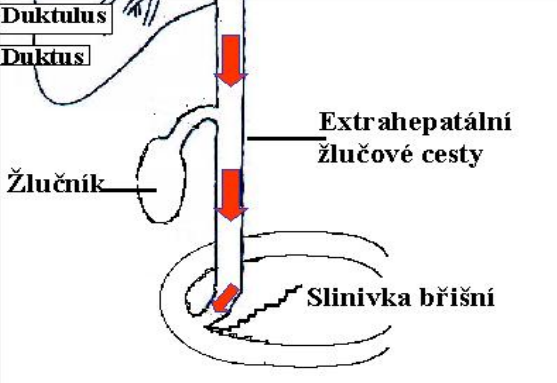
Obr. 25. Přímý a nepřímý bilirubin na základě van den Berghovy reakce (upraveno z Memorangapp.com 2019)

Ikterus (žloutenka)

Normální koncentrace bilirubinu v séru nebo plasmě je 2,0–17,0 $\mu\text{mol/l}$. Hyperbilirubinemie je zvýšení hladiny bilirubinu v krvi nad 25 $\mu\text{mol/l}$. Jestliže koncentrace bilirubinu v krvi překročí určitou hodnotu, přebytečný bilirubin difunduje do tkání, které tím zežloutnou. Ikterus (žloutenka) je žluté zbarvení sklér, později i kůže a sliznic, které je patrné obvykle při hodnotách nad 68–85 $\mu\text{mol/l}$. K tomu může dojít ze různých příčin, které je třeba identifikovat.

Podle lokalizace příčiny ikteru z hlediska vztahu k játrům se žloutenky dělí klasicky do tří skupin (Obr. 26):

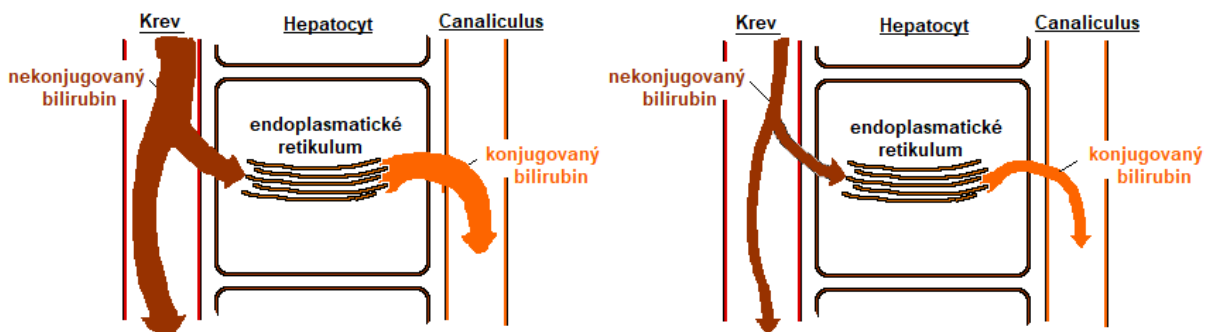
- prehepatální (hemolytický) ikterus
- hepatální (hepatocelulární)
- posthepatální (obstrukční)

| Typ ikteru | Hemoglobin ↓ Bilirubin | Příčina |
|-----------------------|--|---|
| Ikterus prehepatální | | Hemolytické anémie |
| Ikterus hepatální |  | Hepatitidy - virové - alkoholické - polékové Cirhózy |
| Ikterus cholestatický |  | Žlučové kameny Záněty žlučových cest Nádory žlučových cest Karcinom hlavy pankreatu Metastázy do jater Poléková cholestáza |

Obr. 26. Typy ikteru a jejich příčiny (upraveno z Ehrmann a Krtek 2002)

Prehepatální ikterus

Typickou příčinou prehepatálního ikteru je hemolytická anémie, kdy dochází ke zvýšenému rozpadu erytrocytů. Zvýšená nabídka hemoglobinu z rozpadajících se erytrocytů vede k hyperbilirubinemii, způsobené nekonjugovaným bilirubinem, který se nevyklučuje do moči. Zdravá játra jsou schopna nabídnutý bilirubin konjugovat a vyloučit. Zvýšený obsah bilirubinu ve střevě vede ke zvýšené tvorbě sterkobilinu. Žloutenka má zlatožlutý, slámově-žlutý odstín. Barva moči je normální, žluč je tmavá, stolice je tmavá, **hypercholická**. V důsledku větší nabídky urobilinogenu (reabsorpce za střeva) bývá v moči přítomen urobilinogen (Obr. 27).



Obr. 27. Prehepatální (hemolytický) ikterus (vlevo) ve srovnání s normálním stavem (vpravo) (upraveno z Baggott a Dennis 1994)

Hepatální ikterus

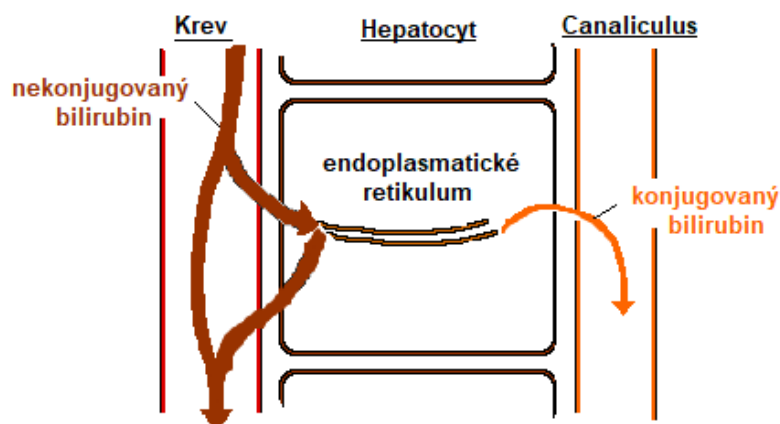
Jeho obraz může být pestřejší podle toho, jaká porucha hepatocytu je jeho příčinou.

- Ikterus premikrosomální

- Bilirubin nabízený z krve játrům buď není dostatečně transportován do hepatocytu, nebo není dostatečně přenášen do endoplasmatického retikula (mikrosomální buněčná frakce). V tomto případě se nekonjugovaný bilirubin hromadí v krvi a způsobuje zvýšení nepřímé hyperbilirubinémie podobně, jako u prehepatálního (hemolytického) ikteru.

- Ikterus mikrosomální

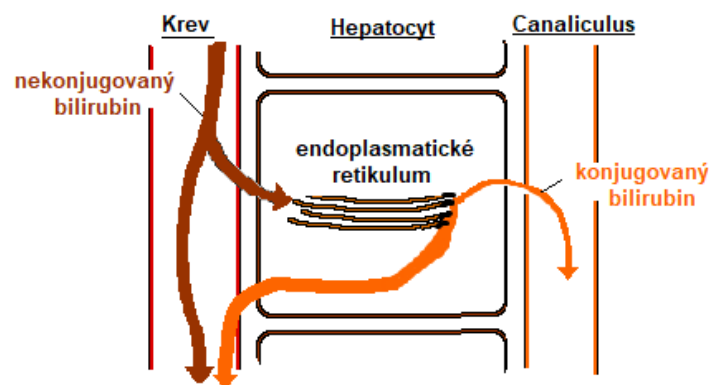
- Bilirubin není dostatečně konjugován. Defekt působí nepřímou hyperbilirubinémií podobně jako předchozí typy (Obr. 28)



Obr. 28. Hepatální mikrosomální ikterus (upraveno z Baggott a Dennis 1994)

- Ikterus postmikrosomální

- Bilirubin je konjugován, avšak vážne jeho další přesun do žluči (vnitřní – intrahepatální obstrukce). Konjugovaný bilirubin přestupuje do krve a způsobuje přímou hyperbilirubinémií. Konjugovaný bilirubin je relativně malá molekula, která se v glomerulech nezachytí a objevuje se v moči. Žloutenka má rubínový odstín, moč je tmavá, žluč je světlá, stolice světlejší než normálně (Obr. 29).



Obr. 29. Hepatální postmikrosomální ikterus (intrahepatální obstrukce) (upraveno z Baggott a Dennis 1994)

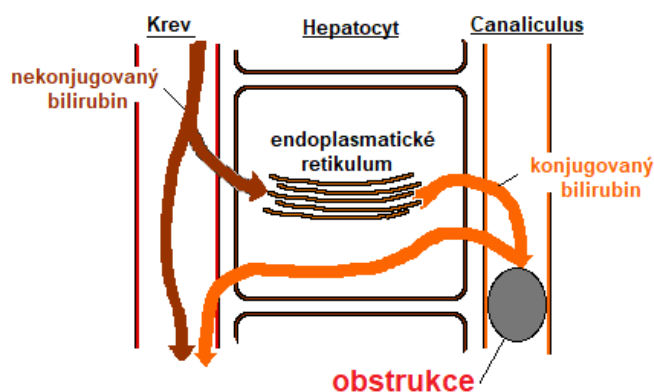
Hepatální ikterus vzniklý poškozením hepatocytů (hepatocelulární ikterus) může být kombinací všech tří výše uvedených typů. Hyperbilirubinémie je způsobena zvýšením jak nekonjugovaného, tak konjugovaného bilirubinu.

Častými příčinami jaterního poškození s hyperbilirubinémií a žloutenkou jsou např. hepatitidy nebo jaterní cirhóza. Většinou převládá biochemický obraz obstrukce a může se řadit k obstrukčním žloutenkám.

Posthepatální (obstrukční) ikterus

Obstrukční žloutenka je způsobena zpravidla žlučovými kameny (cholelithiáza), blokujícími úplně nebo částečně vývodné žlučové cesty, méně často je obstrukce způsobena nádorem (Obr. 30).

Odstín ikteru je zelenožlutý až černý. Moč je tmavá, stolice světlá, při úplné obstrukci odbarvená – acholická. V séru je zvýšen bilirubin konjugovaný. V moči při úplné obstrukci se prokáže bilirubin, ale není přítomen urobilinogen. Nápadným příznakem cholestázy je svědění kůže.



Obr. 30. Posthepatální (obstrukční) ikterus (upraveno z Baggott a Dennis 1994)

Příklady laboratorních nálezů u vybraných typů ikterů jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4. Příklady laboratorních nálezů u různých typů ikteru (upraveno z Muray et al. 1998)

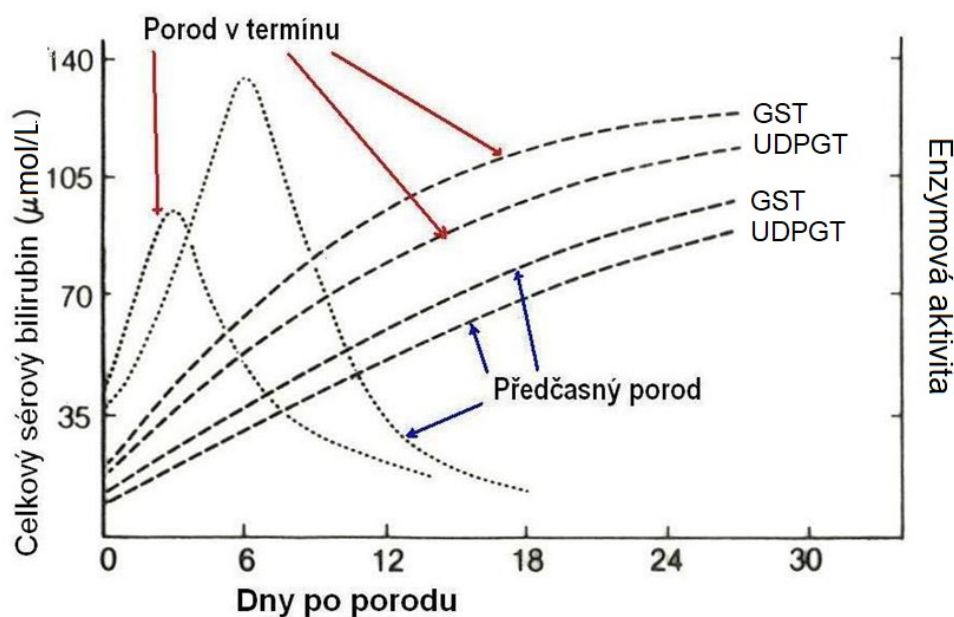
| Stav | sérový bilirubin | urobilinogen v moči | bilirubin v moči | urobilinogen ve feces |
|--------------------|--------------------------------------|---------------------|------------------|-----------------------|
| normální | přímý: 1–4 mg/l nepřímý: 2–7 mg/l | 0–4 mg/24h | nepřítomný | 40–280 mg/24h |
| hemolytická anemie | zvýšení nepřímého | vzrůst | nepřítomný | vzrůst |
| hepatitis | zvýšení přímého a nepřímého | pokles | přítomný | pokles |
| obstrukční ikterus | zvýšení přímého | nepřítomný | přítomný | stopa nebo nepřítomný |

Novorozenecká žloutenka

Asi u poloviny novorozenců se objeví žloutenka během prvních pěti dnů života. Příčinou je zejména **nízká aktivita jaterní UDP-glukuronosyltransferasy**, tedy enzymu katalyzujícího konjugaci bilirubinu. U novorozenců představuje aktivita tohoto enzymu asi jen 1 % aktivity u dospělých, během dalších dnů rychle stoupá a dosáhne plné aktivity do 14 dnů. Dalšími přispívajícími faktory jsou např.:

- vyšší rozpad erytrocytů po narození, čímž vzniká najednou velké množství bilirubinu,
- nižší aktivita glutathion-S-transferasy, což se projeví jako nižší příjem a záchyt bilirubinu v hepatocytech
- nižší tvorba albuminu, potřebného pro transport nekonjugovaného bilirubinu v krvi (nezralost jater u novorozence).

Novorozenecký ikterus se objevuje i u zralých donošených novorozenců jako fyziologická novorozenecká žloutenka. U nedonošenců, kde je nezralost jednotlivých složek systému výraznější, je žloutenka výraznější a může ohrozit novorozence (Obr. 31).



Obr. 31. Průběh koncentrace bilirubinu a enzymové aktivity v séru novorozence (upraveno z Gornall 1986).

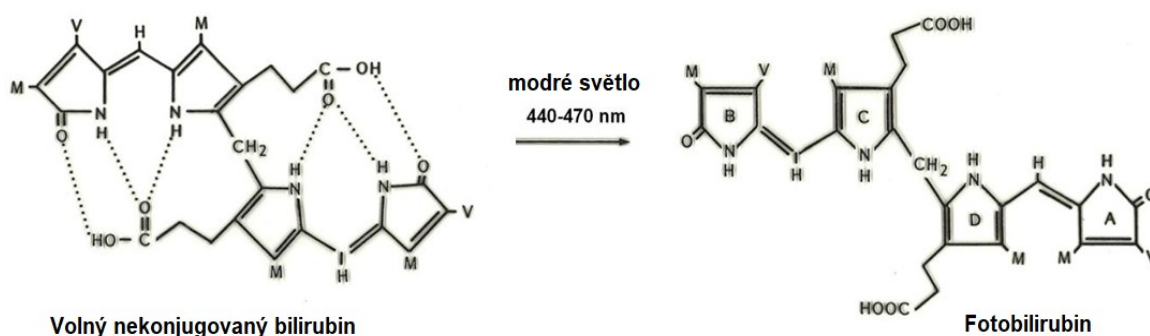
GST = glutathion-S-transferasa; UDPGT = UDP-glukuronosyltransferasa.

Volný bilirubin, tj. ta část nekonjugovaného bilirubinu, která není navázána na albumin, je toxický pro CNS. Ukládáním volného bilirubinu do mozkové tkáně, bazálních ganglií a mozkového kmene může vzniknout tzv. **Kernikterus (jádrový ikterus, z němčiny)**, který je velmi závažnou, naštěstí vzácnou komplikací hyperbilirubinemie.

Toxicitu bilirubinu ovlivňuje řada faktorů – gestační věk, etnicita, přítomnost hemolýzy, asfyxie, acidóza, hypoperfuze, hyperosmolalita, sepse. Nejprve se objevují mírné, nespecifické příznaky toxického působení bilirubinu na centrální nervový systém, jako je letargie, hypotonie

problémy s krmením a pláč. Rozvinutý jádrový ikterus se projevuje jako encefalopatie ve formě mozkové obrny (atetoidní forma), postupně mentální retardace, poruchy sluchu až hluchota, paralýza okohybných svalů.

Terapie novorozenecké žloutenky cílí k snížení koncentrace bilirubinu. Podílí se i farmakoterapie a výměnné transfuze krve, avšak základním a snadným terapeutickým postupem je **fototerapie**. Fototerapeuticky nejúčinnější je modré světlo (nikoliv UV), jehož vlnová délka je nejbližší absorpčnímu spektru bilirubinu (460 nm), jehož působením se ruší vodíkové můstky, molekula bilirubinu se otvírá, stává se rozpustnou ve vodě a vylučuje se močí, aniž by musel být konjugován Obr. 32).



Obr. 32. Vznik fotobilirubinu působením modrého světla (upraveno z Gornall 1986).

Dědičné hyperbilirubinémie

Jedná se o skupinu metabolických onemocnění, charakterizovaných zvýšenou hladinou celkového bilirubinu nebo jeho konjugované frakce v séru. Většina z těchto poruch je děděna autosomálně recesivně a manifestuje se zejména v mladém věku. Příčinou jsou poruchy konjugace bilirubinu nebo jeho transportu. Schematické porovnání tří nejčastějších typů dědičných hyperbilirubinemií je uvedeno v Obr. 33.

Gilbertův syndrom

Toto onemocnění je dědičnou poruchou metabolismu žlučového barviva bilirubinu v krvi. Je způsobeno geneticky podmíněným defektem glukuronidace bilirubinu. Příčinou je porucha TATAA boxu promotorové oblasti genu pro UDP-glukuronosyltransferasu, jejímž výsledkem je snížení exprese a následně aktivity jaterního enzymu asi na 30 % normální aktivity. Onemocnění je autosomálně recesivní a vyskytuje se u 3-15 % indoevropské populace (u nás asi 5 %). Projevuje se zežloutnutím kůže a očního bělma v důsledku ukládání přebytečného bilirubinu do tkání. Hyperbilirubinémie je způsobena chronickým mírným zvýšením **nekonjugovaného bilirubinu** (17-100 $\mu\text{mol/l}$). Toto onemocnění nezkracuje délku ani nesnižuje kvalitu života, naopak se mírná hyperbilirubinémie vzhledem k antioxidantním účinkům bilirubinu považuje za výhodu.

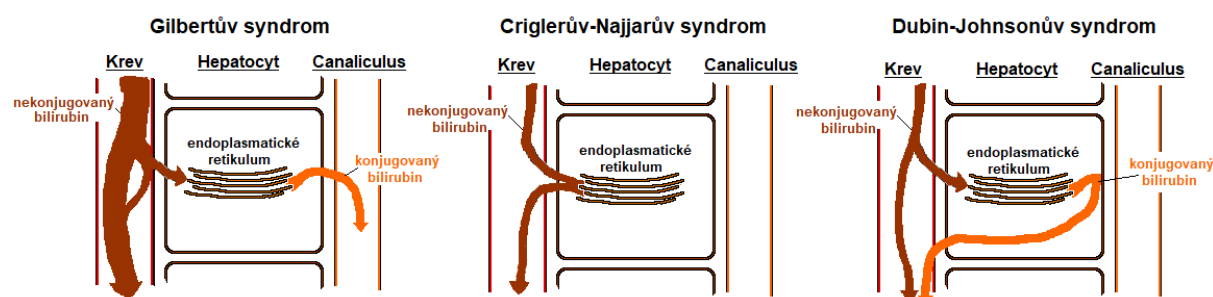
Criglerův-Najjarův syndrom I. typu

Jedná se o velmi vzácné autosomálně recesivní onemocnění s úplným defektem UDP-glukuronosyltransferasy (asi 200 případů v celém světě) na základě několika různých mutací. Způsobuje těžkou **nekonjugovanou hyperbilirubinémií**. Vzestup bilirubinu je prudký už během prvních hodin života. Závažnou komplikací je jádrový ikterus. Syndrom se léčí transfuzemi krve, fototerapií (účinek postupně klesá), inhibitory hemoxygenasy (zpomalení tvorby bilirubinu), podáváním látek komplexujících bilirubin, transplantací jater. Bez léčby umírají postižení do 18 měsíců života.

Existuje mírnější forma – **Criglerův-Najjarův syndrom II. typu**, kdy aktivita jaterní UDP-glukuronosyltransferasy je snížena částečně. Léčí se fenobarbitalem, který indukuje cytochrom P450.

Dubin-Johnsonův syndrom

Tento syndrom je opět vzácný, autosomálně recesivní. Je způsoben defektem transportéru MRP2 (kasetový „*multidrug resistance-associated protein 2*“), jehož úkolem je transportovat konjugovaný bilirubin do žlučového vývodu. Je zachováno asi na 10 % normální transportní aktivity. Jaterní funkce není poškozena. Na rozdíl od předchozích dvou dědičných hyperbilirubinémií je Dubin-Johnsonův syndrom charakterizován zvýšením **konjugovaného bilirubinu**.



Obr. 33. Schematické srovnání dědičných hyperbilirubinemií (upraveno z Baggott a Dennis 1994).

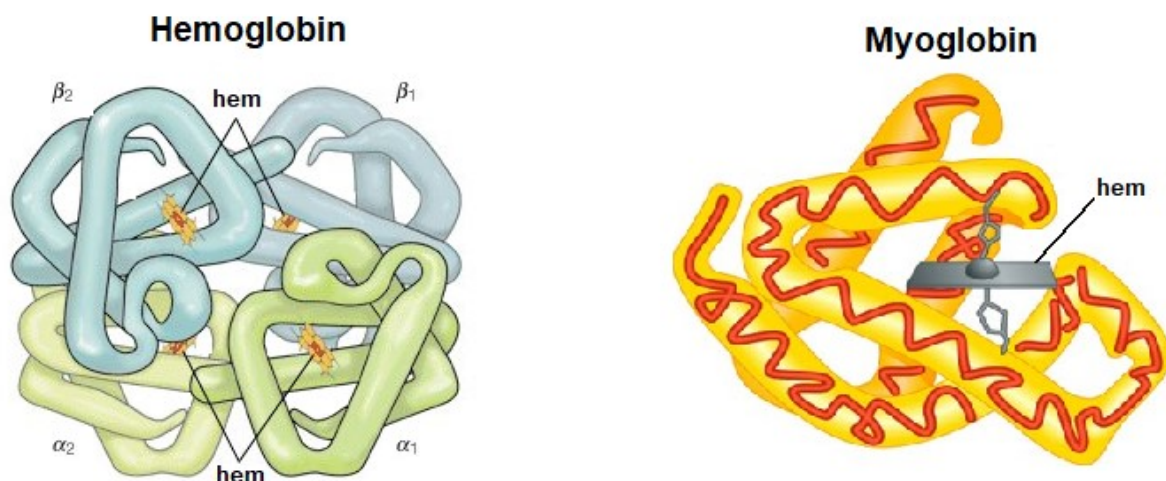
Hemoglobin – struktura, funkce, poruchy globinové části molekuly

Hemoglobin

Hemoglobin (Hb) je červené krevní barvivo, které je součástí erytrocytů obratlovců a některých dalších živočichů.

Hemoglobin zabezpečuje **přenos krevních plynů** – především **kyslíku** z jeho zdroje do periferních tkání. Vedle toho se podílí na transportu **oxidu uhličitého** v opačném směru. Hemoglobin také tvoří důležitý **pufrační systém krve**, který odstraňuje přebytek H^+ (zejména v periferních tkáních těla) vazbou na histidinové zbytky svých molekul. Hemoglobin je lokalizován v erytrocitech, v nichž tvoří asi 35 % jejich celkového obsahu.

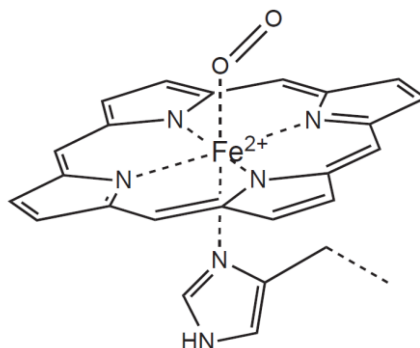
Molekula hemoglobinu je sférického tvaru a skládá se ze 4 podjednotek. Každá podjednotka je tvořena bílkovinnou částí – globinem a prostetickou (nebílkovinnou) částí – hemem (Obr. 34).



Obr. 34. Struktura hemoglobinu A (vlevo) a myoglobinu (vpravo). Každá ze čtyř podjednotek hemoglobinu obsahuje jeden hem (červené políčko), zatímco jednořetězcový myoglobin obsahuje pouze jeden hem (upraveno z The Editors of Encyclopaedia Britannica 2018 a Timberlake 2012).

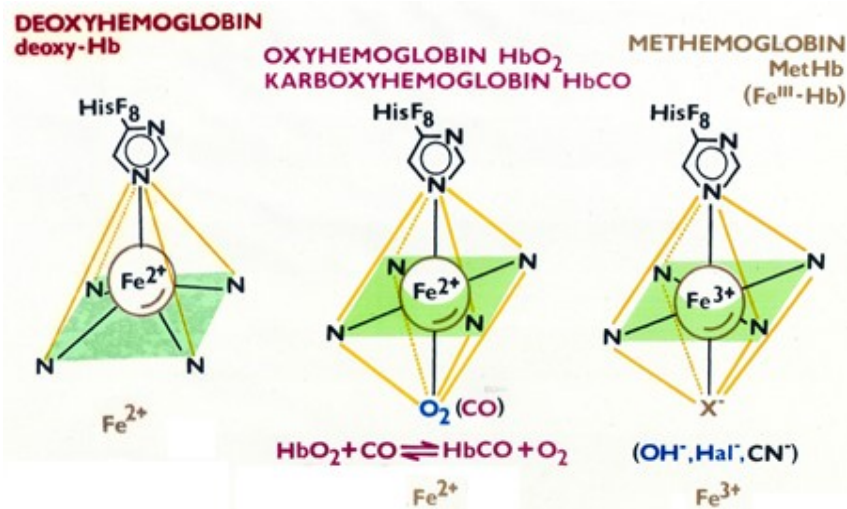
Vždy dvojice polypeptidových řetězců je stejná. V lidském organismu se vyskytují řetězce alfa, beta, gama, delta atd. Na základě přítomnosti jednotlivých řetězců v molekule pak hovoříme o různých typech hemoglobinu, které se vzájemně liší afinitou k molekule kyslíku (schopnost vázání nebo uvolňování samotné molekuly O_2).

Železo má v molekule hemu celkem 6 koordinačně kovalentních vazeb (koordinační číslo 6). Centrální atom železa ve formě Fe^{2+} je vázán čtyřmi z těchto vazeb k atomům dusíku v pyrrolových jádrech porfyriu. Páté místo se váže na zbytek histidinu globinového řetězce. Šesté místo může být obsazeno molekulou kyslíku (Obr. 35).



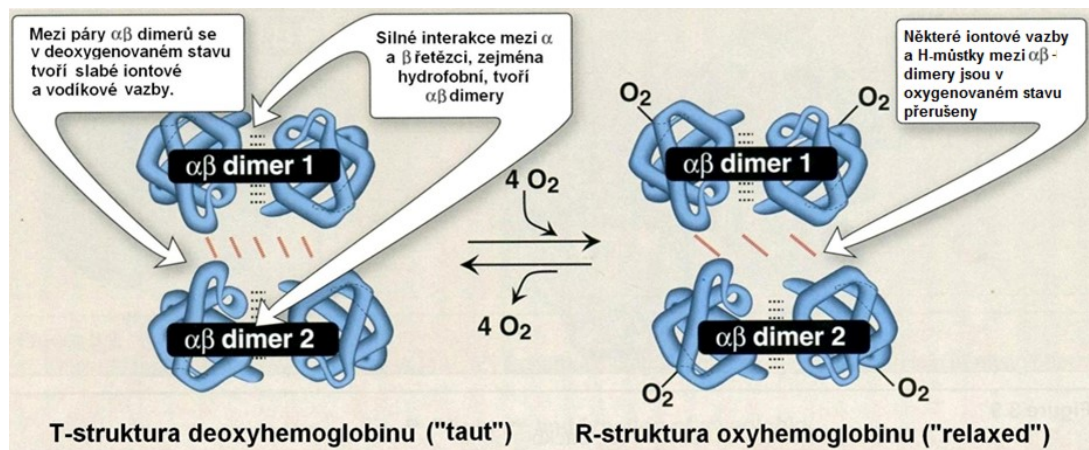
Obr. 35. Vazba kyslíku na hem v molekule hemoglobinu (Lavříková a Fontana 2018).

Kromě kyslíku se mohou na hem hemoglobinu vázat i jiné ligandy, jako je oxid uhelnatý (vysoká afinita, kompetice s kyslíkem). Vazbou halidu, kyanidu nebo hydroxidu se mění Fe^{2+} na Fe^{3+} a vzniká methemoglobin, který neváže ani nepřenáší kyslík (Obr. 36).



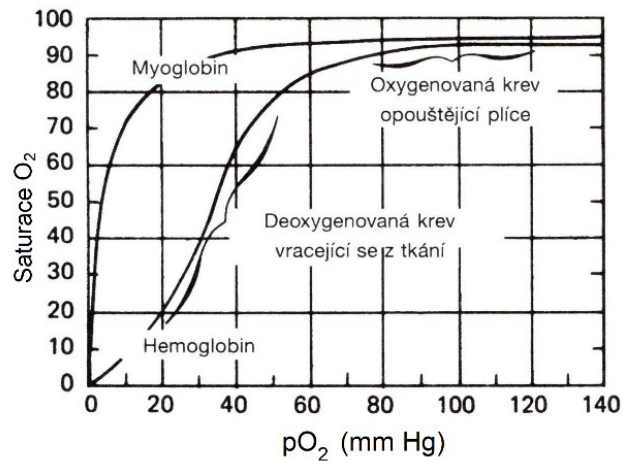
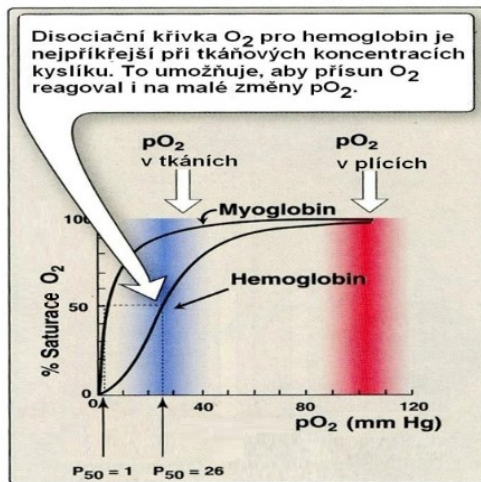
Obr. 36. Vazba kyslíku a alternativních ligandů na hemoglobin (Kolektiv autorů).

Vazba kyslíku mění vztahy mezi hemoglobinovými řetězci, a tedy i kvartérní strukturu molekuly (Obr. 37).



Obr. 37. Změna kvartérní struktury molekuly hemoglobinu při vazbě a uvolnění kyslíku (deoxyhemoglobin a oxyhemoglobin) (upraveno z Harvey a Ferrier 2011)

Při vazbě a uvolňování kyslíku se uplatňuje kooperace globinových řetězců, která je ukázkou kooperativního efektu molekul, složených z několika podjednotek. Grafické vynesení závislosti sycení hemoglobinu kyslíkem na jeho koncentraci (parciální tlak) poskytuje typickou sigmoidální křivku, rozdílnou od hyperboly, znázorňující vazbu kyslíku na jednořetězcovou molekulu myoglobinu s jedním hemem (Obr. 38).

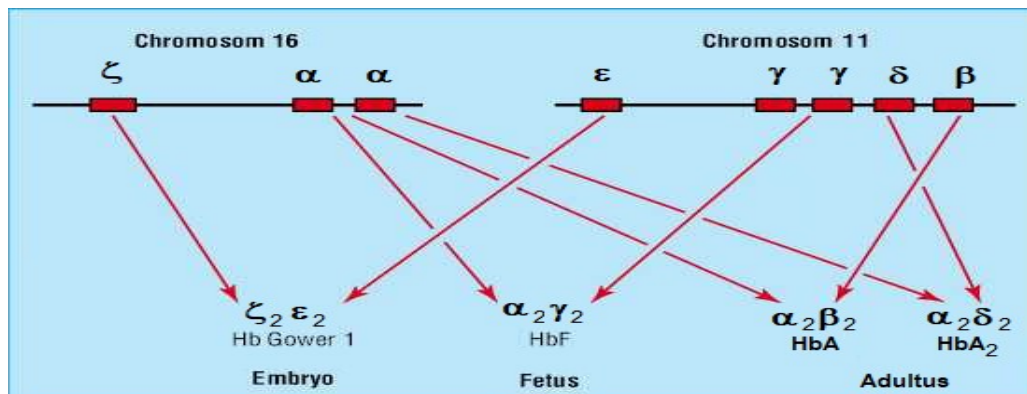


Obr. 38. Porovnání saturace myoglobinu a hemoglobinu kyslíkem (disociační křivka) (upraveno podle Harvey a Ferrier 2011 a Murray et al. 1998).

Z obrázku je zároveň zřejmé, že v plicích se hemoglobin plně sytí kyslíkem a v tkáních ho odevzdává myoglobinu.

Lokalizace genů pro globinové řetězce

Skupina (cluster) genů příbuzných α -genů je lokalizována na 16. chromosomu. Locus pro α -globin je tetraplikován a gen pro ζ (zeta) globin je duplikován. Skupina (cluster) genů příbuzných β -genů je lokalizována na 11. chromosomu a je tvořena genem β a δ , genem γ G a γ A a genem ϵ (epsilon) (Obr. 39).



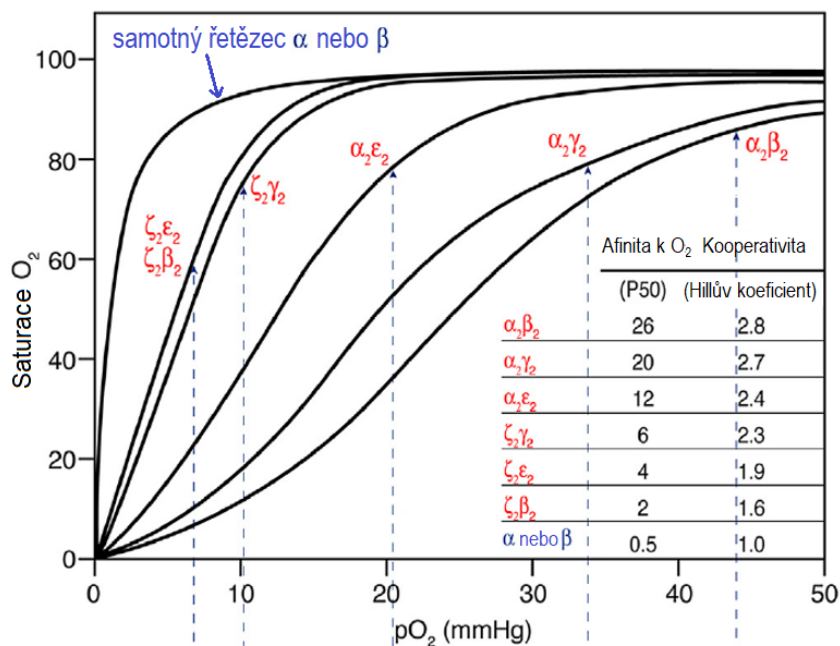
Obr. 39. Umístění genů pro jednotlivé řetězce na chromosomech (upraveno z Alauldeen 2015)

V průběhu života od embryonálního stádia přes období plodu a dále po celé další období života jedince po porodu se v souladu se změnou podmínek vystřídá ve své funkci několik typů hemoglobinu (Tab. 5).

Tabulka 5. Fyziologické typy hemoglobinu v průběhu ontogeneze (upraveno z Příspěvatelé Wikiskript 2019a)

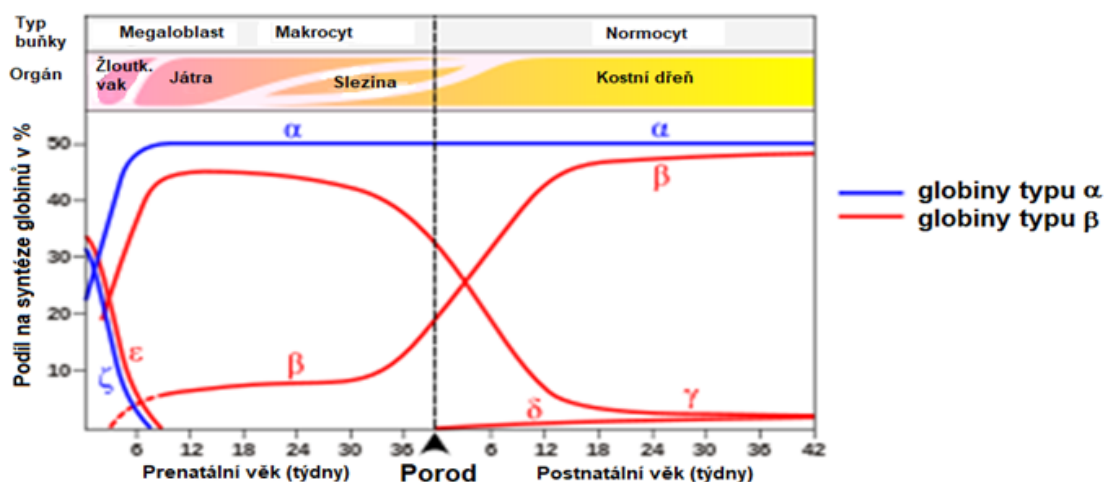
| Ontogeneze | Typ (název) Hb | Zastoupení polypeptidových řetězců |
|----------------|------------------|------------------------------------|
| Embryo | Portland 1 | $\zeta_2\gamma_2$ |
| | Portland 2 | $\zeta_2\beta_2$ |
| | Gower 1 | $\zeta_2\varepsilon_2$ |
| | Gower 2 | $\alpha_2\varepsilon_2$ |
| Plod | HbF | $\alpha_2\gamma_2$ |
| Dítě | ↓ HbF | $\alpha_2\gamma_2$ |
| | ↑ HbA | $\alpha_2\beta_2$ |
| Dospělý | HbA | $\alpha_2\beta_2$ |
| | HbA ₂ | $\alpha_2\delta_2$ |

Postupná změna složení hemoglobinu v průběhu ontogeneze odpovídá způsobu, jakým jedinec kyslík pro svůj život získává z prostředí. V embryonálním stádiu musí mít hemoglobin dostatečnou afinitu ke kyslíku, aby dostatečně přebíral a vázal kyslík, difundující z okolní tkáně matky (zásobené kyslíkem prostřednictvím jejího hemoglobinu), a dodával jej tkáním embrya. Fetální hemoglobin musí mít dostatečnou afinitu k převzetí kyslíku z placentálních klků, což je snadnější cesta. Ve srovnání s těmito typy má nejnějnější úlohu hemoglobin dospělých HbA, který se sytí kyslíkem z bohaté nabídky v plicních alveolech při vysokém parciálním tlaku kyslíku. Všechny tyto typy hemoglobinu musí být zároveň ochotny předat navázaný kyslík tkáním, resp. myoglobinu. Tomu odpovídají relativně jiné saturační křivky různých typů hemoglobinu. Z obrázku je zřejmé, že samotné řetězce α nebo β nejsou schopny tuto funkci plnit. Jejich saturační křivka je obdobná, jako saturační křivka myoglobinu (Obr. 40).



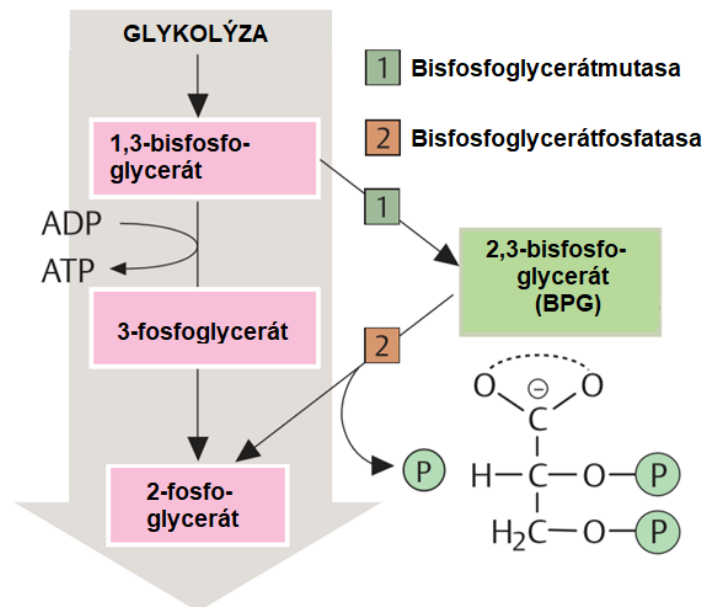
Obr. 40. Sycení fyziologických typů hemoglobinu kyslíkem. (upraveno z Manning et al. 2017). Embryonální hemoglobin je tvořen buňkami krevních ostrůvků žlutkového vaku v prvních týdnech vývoje. Rozeznáváme tyto typy embryonálního Hb: Gower I ($2\zeta_2\varepsilon$), Gower II ($2\alpha_2\varepsilon$), Portland 1 ($2\zeta_2\gamma$) a Portland 2 ($2\zeta_2\beta$).

V průběhu vývoje dochází ke změnám v expresi jednotlivých genů – tzv. přepínání (switching) globinů. Nejprve je zahájena syntéza zeta a epsilon globinů (HbGower 1). Následně dochází k expresi alfa a gama a globinů a vzniká tak fetální HbF; současně jsou suprimovány zeta a epsilon geny a ve fetálním období se tvoří převážně HbF. U novorozence obsahují erythrocyty si 70 % HbF; v dospělosti již jen 1 %. Regulace tvorby hemoglobinu v ontogenezi souvisí s lokalizací tvorby červených krvinek. Embryonální hemoglobin se tvoří ve žlutkovém vaku, fetální v játrech a dospělý v kostní dřeni (Obr. 41).



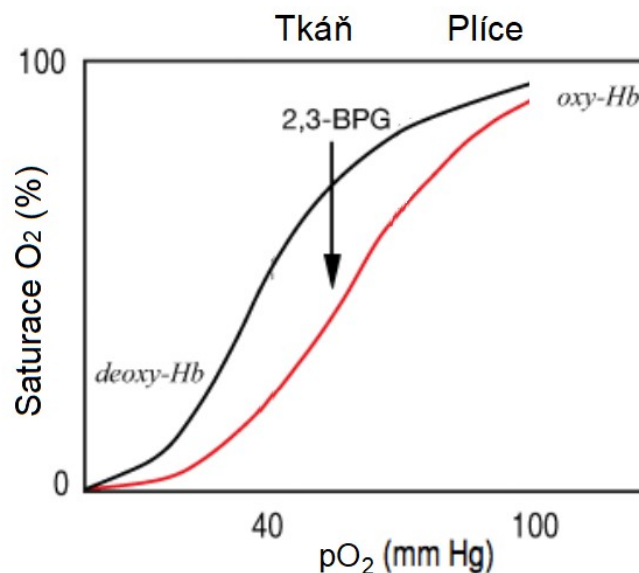
Obr. 41. Tvorba jednotlivých řetězců hemoglobinu v průběhu vývoje jedince (upraveno z Wood 1976).

Vazebná (disociační) křivka hemoglobinu je ovlivněna aktuálními podmínkami. Významným regulátorem je např. 2,3-bisfosfoglycerát (BPG), vznikající jako by-pass produkt při glykolýze.



Obr. 42. Tvorba 2,3-bisfosfoglycerátu (upraveno z Koolman a Roehm 2005)

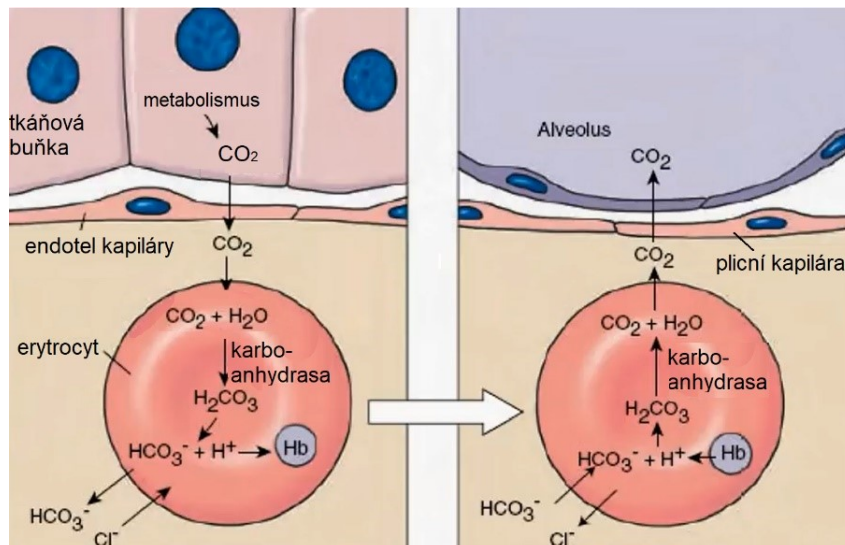
Bisfosfoglycerát je alosterickým regulátorem hemoglobinu. Stabilizuje deoxyhemoglobin, protože se váže svými čtyřmi záporně nabitými fosfáty na β -podjednotky hemoglobinu, na jejichž zrušení (tj. na oxygenaci Hb) je třeba dodat určité množství energie. Funkce BPG tedy spočívá v podpoře předání kyslíku v tkáních (Obr. 43).



Obr. 43. Vliv 2,3-bisfosfoglycerátu na saturaci hemoglobinu kyslíkem (upraveno z David 2018)

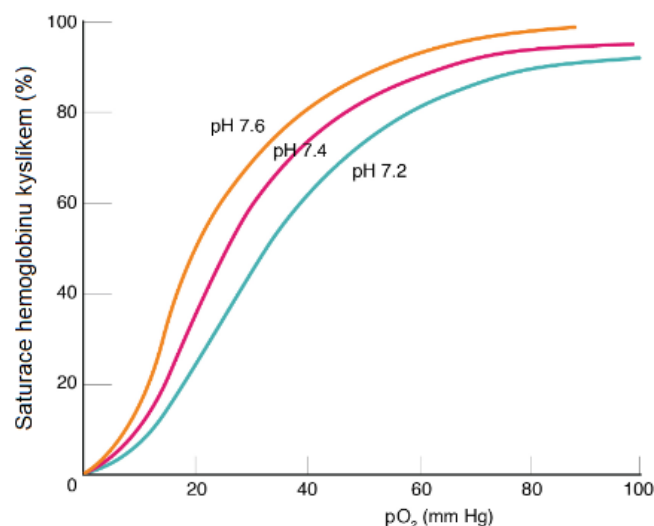
V tkáních je pH nižší (při metabolismu vzniká CO_2). Oxid uhličitý zde difunduje do erytrocytu, kde tvoří kyselinu uhličitou za katalýzy enzymem karboanhydrasou. Kyselina

uhlíčitá disociuje, bikarbonát je pak transportován erythrocytem. V plicích, kde je naopak nízký parciální tlak CO_2 , probíhá opačný proces a uvolněný oxid uhlíčitý je vydýchán (Obr. 44).



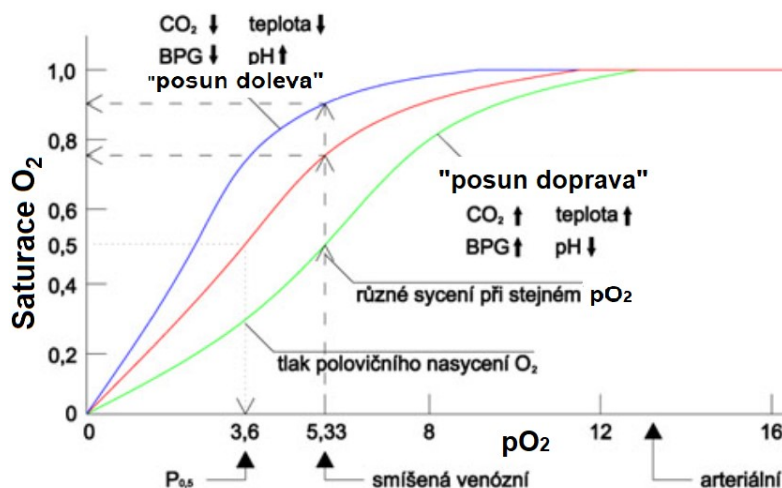
Obr. 44. Účast erythrocytu v transportu oxidu uhličitého z tkání do plic (upraveno z Memmorang.com 2019). Vyšší koncentrace CO_2 znamená zároveň snížení pH.

Sycení hemoglobinu kyslíkem je ovlivněno také pH. Nižší pH při průtoku krve tkáňovými kapilárami proto působí ve prospěch uvolnění kyslíku z vazby na hemoglobin (Bohrův efekt) (Obr. 45).



Obr. 45. Vliv pH na saturaci hemoglobinu kyslíkem (Bohrův efekt; upraveno Kolektiv autorů)

Při saturaci hemoglobinu kyslíkem se uplatňuje i vliv teploty. Čím vyšší teplota, tím nižší afinita hemoglobinu ke kyslíku a naopak, čím je teplota nižší, tím vyšší afinita hemoglobinu ke kyslíku (Obr. 46).



Obr. 46. Komplexní působení pH, koncentrace CO₂, BPG a teploty na saturaci hemoglobinu kyslíkem (Přispěvatelé WikiSkript 2019b)

Hemoglobinopatie

Hemoglobinopatie jsou vrozené poruchy syntézy proteinové části molekuly hemoglobinu, u nichž se na základě genetického defektu tvoří některý z globinových řetězců s abnormální strukturou nebo ve změněném množství ve srovnání se zdravým jedincem.

Jde o jedny z nejčastějších dědičných onemocnění ve světě. Zvýšený výskyt některých hemoglobinopatií je charakteristický pro oblasti s výskytem malárie, neboť heterozygotní formy těchto onemocnění poskytují určitou ochranu proti malarické infekci.

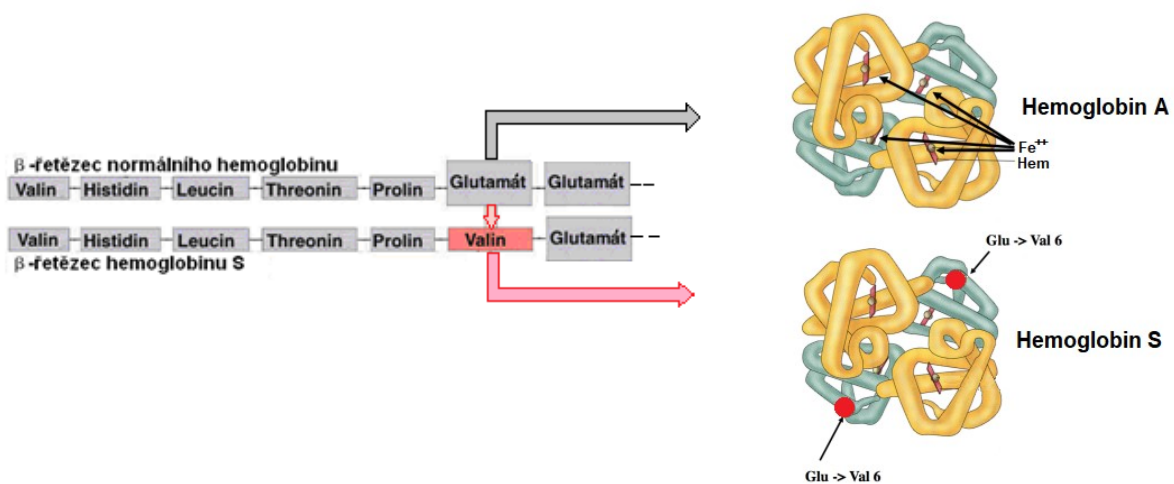
Vzhledem ke genetickému zápisu struktury jednotlivých řetězců (viz obr. 39 ilustrující lokalizaci genů pro jednotlivé řetězce na chromosomech) postihne mutace β genu u heterozygotů 50 % řetězců hemoglobinu, kdežto mutace α genu postihuje jen 25 % molekul, ale projevuje se již před narozením.

Tabulka 6. Příklady hemoglobinopatií s různou klinickou závažností změny (Murray et al. 1998)

| | Molekula proteinu | Aminokyselina | Kodony |
|----------------------------------|--|-----------------------------|-------------------------------------|
| Přijatelná změna smyslu | Hb A β -řetězec ↓ Hb Hikari, β -řetězec | 61-Lysin ↓ Asparagin | AAA nebo AAG ↓ ↓ AAU nebo AAC |
| Částečně přijatelná změna smyslu | Hb A, β -řetězec ↓ Hb S, β-řetězec | 6-Glutamát ↓ Valin | GAA nebo GAG ↓ ↓ GUA nebo GUG |
| Nepřijatelná změna smyslu | Hb A, α -řetězec ↓ Hb M (Boston), α -řetězec | 58-Histidin ↓ Tyrosin | CAU nebo CAC ↓ ↓ UAU nebo UAC |

Srpkovitá anémie

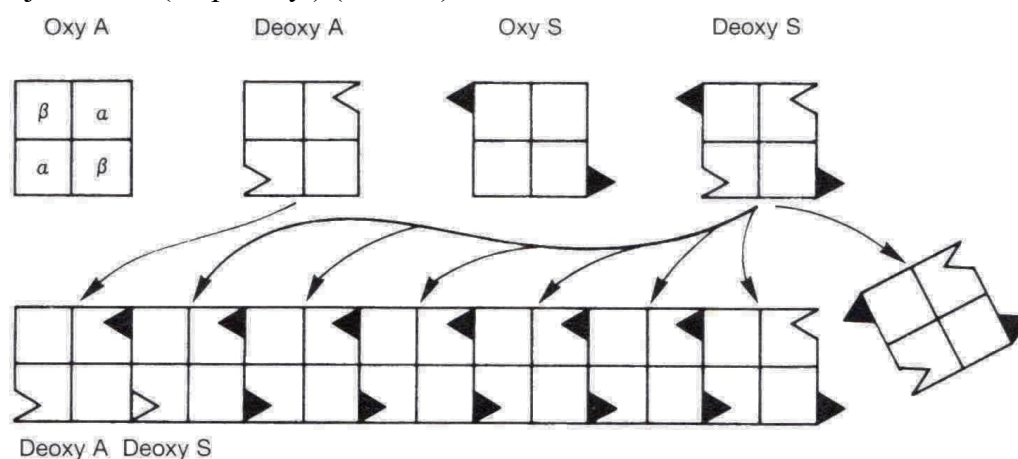
Srpkovitá anémie (srpkovitost; *sickle cell disease*; falciformní anémie; drepanocytóza) je autosomálně recesivní dědičné onemocnění, které se projevuje změnou tvaru červených krvinek. Postižené erythrocyty se jeví v mikroskopu jako protažené srpky. Tato změna tvaru je způsobena mutací genu pro hemoglobin, při níž je na 6. pozici od N-konce v β -řetězci valin místo glutamové kyseliny (vzniká hemoglobin označovaný jako „HbS“) (Obr. 47).



Obr. 47. Záměna glutamátu za valin v β -řetězci hemoglobinu u srpkovité anémie (Příspěvatel StudyBlue 2016)

Nositel jednoho zdravého genu a jednoho genu HbS (heterozygot) je přenašečem („*sickle cell trait*“). Přenašeč srpkovité anémie produkuje okolo 20-40 % hemoglobinu S a také dostatečné množství hemoglobinu A (přibližně 60 %) a prakticky nemá žádné zdravotní obtíže. Poškozený gen pak může být předán do další generace. Srpkovitá anémie jako choroba se projevuje u homozygotů.

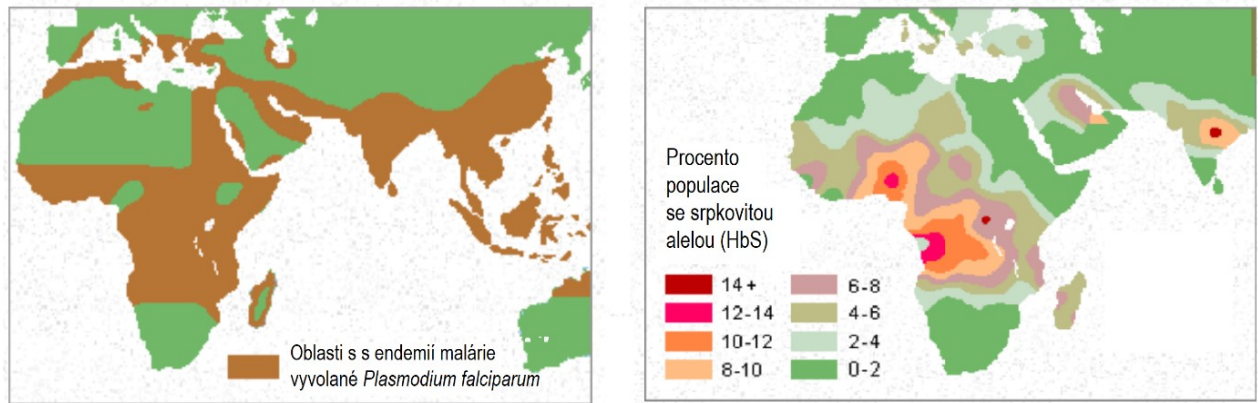
Zatímco kyselina glutamová je hydrofilní a podle pravidla o umístění aminokyselin v globulárním řetězci se vyskytuje na povrchu proteinové globule, valin je hydrofobní aminokyselina, avšak v 3D uspořádání globinového řetězce u srpkovitosti se tímto způsobem objeví na povrchu. Zároveň je významné, že záporně nabitá kyselina glutamová je nahrazena alifatickou aminokyselinou bez náboje. Deoxygenovaná forma hemoglobinu (jak HbA, tak HbS) má poněkud jiné 3D uspořádání (viz výše), při němž se odkryje komplementární „lepivé“ místo, k němuž má valin v pozici 6 afinitu. Takto vzniklá molekula HbS vykazuje ve srovnání s HbA odlišné vlastnosti a ve své deoxygenované podobě se molekuly hemoglobinu shlukují a deformují krvinku (drepanocyt) (Obr. 48).



Obr. 48. Sřetěžení molekul deoxyhemoglobinu u srpkovité anémie. (Murray et al. 1998)

Ačkoliv je drepanocyt menší než normální erytrocyt, není dostatečně pružný při průchodu malými cévami a vyvolává infarzaci.

Srpkovitá anémie se objevuje už v dětství, většinou u lidí (nebo jejich potomků) z tropických a subtropických pásem – tedy z regionů, ve kterých je běžná malárie (Obr. 49). Obyvatelé, kteří mají jeden gen ze dvou poznamenaný srpkovitou anémií, jsou proti malárii imunní (heterozygotní výhoda). Plasmodia totiž u malariků neprojdou erytrocytární fází. (Toto bylo po léta vysvětlováno změnou tvaru erytrocytu, ale mnohem významnější jsou pravděpodobně změněné vlastnosti plasmatické membrány drepanocytu.)

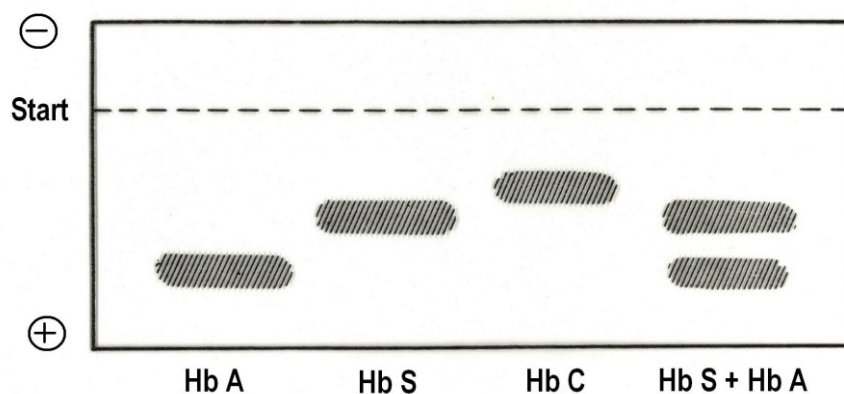


Obr. 49. Porovnání oblastí endemické malárie vyvolané *Pl. falciparum* a výskytem alely pro HbS (upraveno z O'Neil 1997)

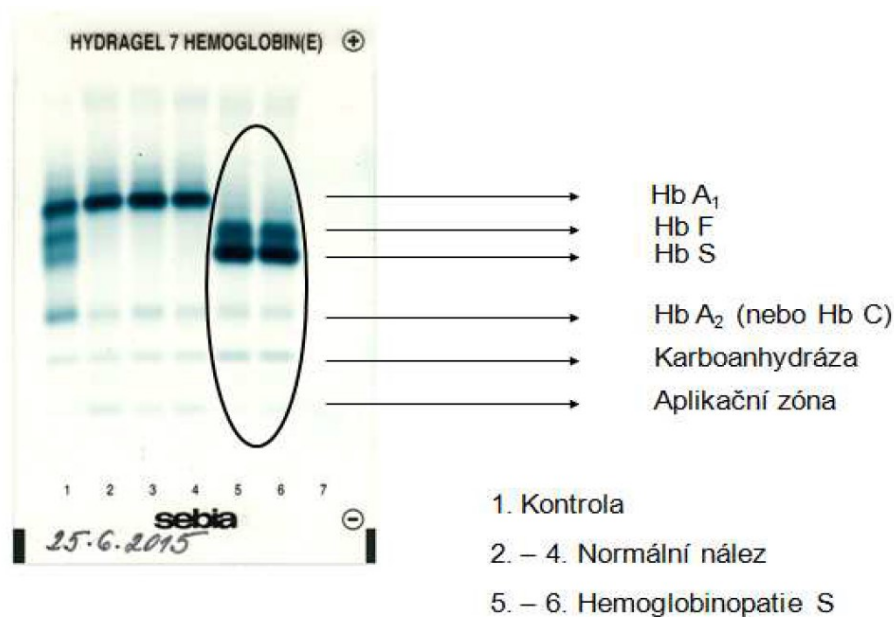
Hemoglobinopatie C

Kromě srpkovité anémie existuje velké množství dalších hemoglobinopatií. Hemoglobinopatie C je zajímavá tím, že je postižen β -řetězec hemoglobinu ve stejném místě, jako u srpkovité anémie. Kyselina glutamová v poloze 6 od N-konce proteinu je však nahrazena lysinem, což znamená, že záporný náboj kyseliny glutamové je nahrazen dokonce kladným nábojem lysinu. HbC je méně rozpustný než HbA a krystalizuje v erythrocytech. Příznaky této hemolytické anémie jsou podobné, jako u srpkovité anémie.

Tyto typy hemoglobinopatií lze poměrně snadno laboratorně rozlišit elektroforeticky (Obr. 50 a 51).



Obr. 50. Schéma elektroforetického rozlišení různých typů hemoglobinu (Dršata 1983)



Obr. 51. Výsledek elektroforetické separace několika vzorků hemoglobinu (Rožcová 2016). Záznam pochází z laboratoře IV. Interní kliniky Fakultní nemocnice Hradec Králové.

Talasemie

Talasemie jsou nejčastější monogenně dědičná onemocnění. Jde o heterogenní skupinu chorob s poruchou syntézy jednoho z globinových řetězců. Druhý řetězec se syntetizuje v normálním množství. Protože je v relativním nadbytku, precipituje v erythrocytech, způsobuje jejich předčasnou destrukci a prohlubuje hypochromní anemii. Podle toho, jak podstatný je defekt syntézy jednoho z řetězců, může se jednat o klinicky bezvýznamný stav až po těžkou anemii.

Značný výskyt talasemií ve světě souvisí s tím, že poskytuje výhodu, protože heterozygoti talasemie jsou odolnější vůči malárii.

Normální hemoglobin se skládá ze stejného počtu globinových řetězců typu α a β , rozeznáváme poruchy syntézy α -globinového řetězce (α -talasemie) nebo β -globinového řetězce (β -talasemie).

Alfa-talasemie

K syntéze α -řetězců dochází na základě exprese 4 genů, které jsou umístěny na 16. chromosomu po dvou lokusech (viz obr. 39 na začátku této podkapitoly). Proto se α -talasemie vyskytuje ve čtyřech typech podle závažnosti defektu (Obr. 52).

- Delece jedné alely

Klinicky se neprojeví, jedná se o nosiče.

- Delece dvou alel

Stav se nazývá *α -thalassemia minor* a je bez podstatných příznaků, bývá lehká mikrocytární anemie.

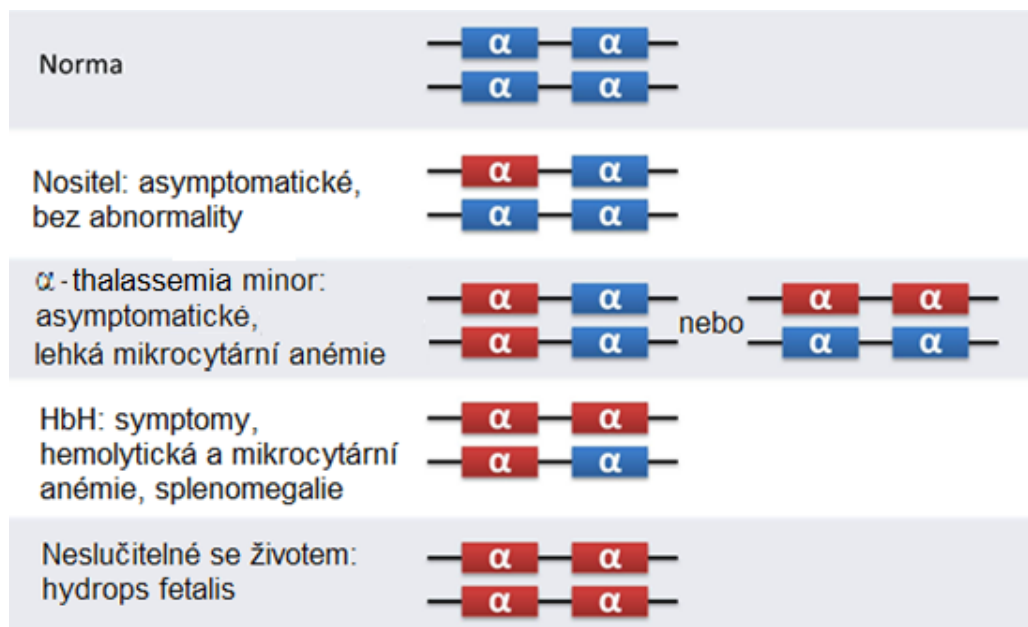
- Delece tří alel

Jde o závažnou poruchu, nazývanou *α -thalassemia intermedia* nebo choroba hemoglobinu HbH. Tvoří se jen 25 % α -řetězců, čemuž odpovídá pouze malé množství HbA, HbF a HbA₂. Výrazný relativní přebytek β -řetězců vede k tvorbě hemoglobinu H (HbH), složeného ze 4 řetězců β .

HbH má vysokou afinitu ke kyslíku. Řetězce se co do afinity ke kyslíku chovají samostatně, chybí Bohrův efekt kooperace řetězců (srovnej výše s obr. 45 ilustrujícím sycení fyziologických typů hemoglobinu kyslíkem). Afinita ke kyslíku je srovnatelná s afinitou myoglobinu a HbH proto nemůže působit jako účinný dodavatel kyslíku tkáním.

- Delece čtyř alel

Úplné chybění řetězců α . Tvoří se tzv. hemoglobin Bart (HbBart), složený ze čtyř řetězců γ (fetální řetězce). Tento stav je neslučitelný se životem, vzniká *hydrops fetalis*, dochází k úmrtí plodu.

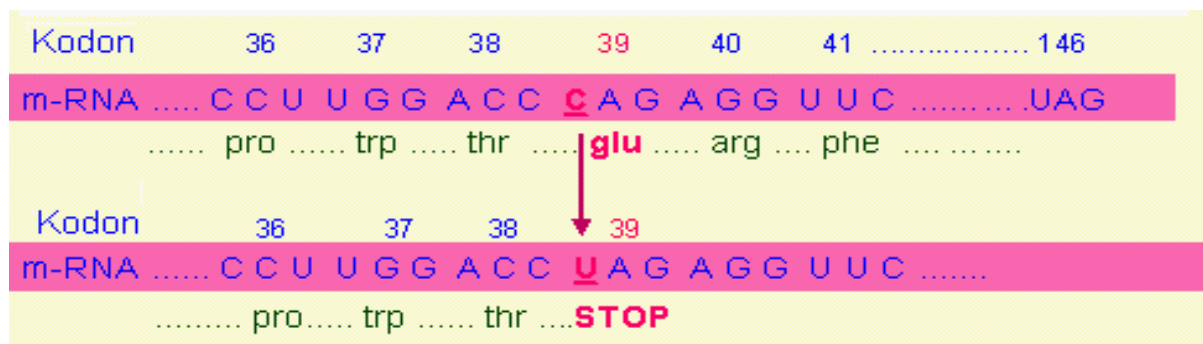


Obr. 52. Genetika α -talasemie a klinické následky. Červeně jsou označeny chybějící alely (upraveno z Razani 2010)

Beta-talasemie

Postižena je syntéza β -řetězců, což se projeví až u hemoglobinu postnatálního. Na rozdíl od 4 alel pro řetězce α jsou u zdravého jedince k dispozici pouze 2 alely β . Zato na chromosomu 11 jsou alternativní geny pro řetězce γ a δ . Při poruchách syntézy β řetězců vzniká relativní nadbytek α , γ a δ řetězců.

Anemie se objeví až po 3 měsících života, kdy má být syntéza fetálního hemoglobinu vystřídána syntézou hemoglobinu HbA. Příčinou talasemie bývá mutace, kdy záměna báze v genetickém záznamu vede k vzniku stop-kodonu (Obr. 53).



Obr. 53. Příklad bodové mutace v genu pro β -globinový řetězec, vedoucí k β -talasemii. Záměnou C v kodonu 39 (v tripletu CAG, kódujícím pro glutamát) za U vzniká stop-kodon UAG (upraveno z Cuschieri 2019)

Beta-talasemie se vyskytuje ve třech typech podle závažnosti defektu (Tab. 7).

Tabulka 7. Přehled β -talasemií (upraveno z Chonat a Quinn 2017) - β^0 – netvoří se žádný globin; β^+ - mutovaný gen si zachoval částečnou funkci, tvoří s defektní β -řetězec; β^E – bodová mutace, v pozici 26 je místo glutamátu lysin, typická mutace v populaci Indie a jihovýchodní Asie.

| Genotyp | Název | Fenotyp |
|--|--|--|
| β/β | Normální stav | - |
| β/β^0 β/β^+ | Beta-thalassemia minor | Bez příznaků nemoci, mírná hypochromní anemie |
| β^+/β^+ β^+/β^0 β^E/β^+ β^E/β^+ | Beta-thalassemia intermedia | Různý stupeň závažnosti, mírná až střední anemie |
| β^0/β^0 | Beta-thalassemia major, Cooleyova anemie | Těžká anemie, závislost na transfuzích |

Beta-thalassemia minor

V tomto případě je postižena jen jedna alela genu pro syntézu řetězců β , druhá alela je normální. Obvykle se objevuje mírná asymptomatická hemolytická anemie, která se manifestuje během infekčního onemocnění, stresu nebo nedostatku kyseliny listové.

Beta-thalassemia intermedia

Může být způsobena heterozygotní mutací způsobující mírné snížení tvorby β -řetězců, případně homozygotní mutací s větším nedostatkem β -řetězců. Příznaky bývají různého stupně: anemie, žloutenka, splenomegalie, hepatomegalie. Příznaky se zhorší při stresu, infekci nebo nedostatku kyseliny listové (podobně jako u *thalassemia minor*).

Beta-thalassemia major

Jsou postiženy obě alely genu pro syntézu β -řetězců, produkce je podstatně omezena. To se projevuje jako těžká mikrocytová anemie. Nedostatek HbA je doplňován tvorbou HbF, který má příliš vysokou afinitu ke kyslíku (viz obr. 40 výše; tedy relativně méně ochotně uvolňuje kyslík pro tkáň) a není proto vhodný v postnatálním životě. Bývá opožděný vývoj, hepatosplenomegalie, mentální retardace. Nemocní umírají v mládí. Postižení musí být léčeni transfuzemi. Nejtěžší formou β -talasemie je **Cooleyova (středomořská) anemie**. Je to nejtěžší forma. U tohoto typu se vůbec nesyntetizují β -řetězce. Vyskytuje se proto HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) a fetální hemoglobin HbF ($\alpha_2\gamma_2$). Pro úplné chybění HbA se provádějí od narození krevní transfuze, avšak postižení umírají většinou v prvním roce života.

Použitá literatura

- Afonso SG, Enríquez de Salamanca R, del C. Batlle AM (1999) The photodynamic and non-photodynamic actions of porphyrins. *Braz J Med Biol Res.* 32:255-66.
- Alauldeen R, Hemoglobinopathies [online], c2015, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.muhammadharaty.com/lecture/2840/عصام-احمد--د/Hemoglobinopathy-pptx>
- Baggott J, Dennis SE: Diseases Associated with Hyperbilirubinemia [online]. c1994, 1995. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://library.med.utah.edu/NetBiochem/hi7d.htm>
- Brůha R, Víték L, Šperl J, Urbánek P (2017) Doporučený postup České hepatologické společnosti ČLS JEP pro diagnostiku a léčbu akutních porfyrií. *Gastroent Hepatol.* 71:101-4.
- Cuschieri A, Mutations [online], [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <http://staff.um.edu.mt/acus1/5Mutations.htm>
- David, Effect of 2,3-bisphosphoglycerate (2,3-BPG) on haemoglobin [online], c2018, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://biology.stackexchange.com/questions/55683/effect-of-2-3-bisphosphoglycerate-2-3-bpg-on-haemoglobin>
- Deo A (2017) Heme synthesis [online]. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://allaboutblood.files.wordpress.com/2017/08/heme-synthesis-0011.jpeg>
- Deybach JC (2009) Porphyria variegata. The portal for rare diseases and orphan drugs. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=79473&lng=EN
- eClinPath, Heme metabolism in macrophages [online], c2013, [citováno 12-12-2019], Dostupné z: <http://eclinpath.com/chemistry/iron-metabolism/heme-metabolism/>
- Ehrmann J, Krtek V (2002) Ikterus – diferenciální diagnostika. Doporučené postupy pro praktické lékaře. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.cls.cz/dokumenty2/postupy/t234.rtf>
- Fernandes J a kol. (2008) Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch. 1. vydání. Triton, Praha, 608 s.

- Fuller SJ, Wiley JS (2018) Heme Biosynthesis and Its Disorders: porphyrias and sideroblastic anemias. In: Hoffman R., Benz EJ, Silberstein LE, Heslop HE, Weitz JI, Anastasi J, Salama ME, Abutalib SA (eds.) Hematology: Basic Principles and Practice. 7th edition. Elsevier, China, 497-513.
- Gaushia M, Effects of Toxic Metals [online]. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <http://www.environmentalpollution.in/toxicology-2/toxic-metals/effects-of-toxic-metals-toxicology/4490>
- Gornall AG (1986) Applied Biochemistry of Clinical Disorders, 2nd ed., Lippincott Comp. Philadelphia, 598 pp.
- Gressner AM, Gressner OA (2018) Urobilin(ogen). In: Gressner AM, Arndt T (eds) Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik. 1st edition. Springer, Berlin, 1468 pp.
- Harvey R, Ferrier D (2011) Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. 5th edition. Wolters Kluwer, Baltimore, 520 pp.
- Chonat S, Quinn CT (2017) Current Standards of Care and Long Term Outcomes for Thalassemia and Sickle Cell Disease. Adv Exp Med Biol. 1013:59-87.
- Jirsa M (2016) Diagnostika a diferenciální diagnostika porfyrií. Symposium klinické biochemie. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: http://www.symposiumfons.cz/archive/2016/prezentace/5_2.pdf
- Kapitulnik J, Maines MD (2012) The role of bile pigments in health and disease: effects on cell signaling, cytotoxicity and cytoprotection. Front Pharmacol. 3:136.
- Kappas A, Drummond GS, Henschke C, Valaes T (1995) Direct Comparison of Sn-Mesoporphyrin, An Inhibitor of Bilirubin Production, and Phototherapy in Controlling Hyperbilirubinemia in Term and Near-Term Newborns. Pediatrics. 95:468-74.
- Kolektiv autorů, Anatomy and Physiology textbook [online], [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/22-5-transport-of-gases/>
- Kolektiv autorů, Interaktivní elektronická učebnice biochemie [online], [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: http://orion.chemi.muni.cz/e_learning/biochemie.htm
- Koolman J, Roehm KH (2005) Color Atlas of Biochemistry. 2nd edition. Thieme, Stuttgart, 476 pp.
- Lavříková P, Fontana J (2013) Metabolismus hemoglobinu a transport krevních plynů. In: Funkce buněk a lidského těla. Multimediální skripta. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <http://fblt.cz/skripta/vi-dychaci-soustava/4-metabolismus-hemoglobinu-a-transport-krevnich-plynu/>
- Manning LR, Popowicz AM, Padovan JC, Chait BT, Manning JM (2017) Gel filtration of dilute human embryonic hemoglobins reveals basis for their increased oxygen binding. Anal Biochem. 519:38-41.
- Matouš B a kol. (2010) Základy lékařské chemie a biochemie. 1. vydání. Galén, Praha, 540 s.
- Memorangapp.com, Heme Biosynthesis L5 [online], c2019. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.memorangapp.com/flashcards/70495/Heme+Biosynthesis+L5/>

- Memorangapp.com, GS L52 Heme catabolism [online], c2019, [citováno 12-12-2019],
Dostupné z: <https://www.memorangapp.com/flashcards/68774/GS+L52+HEME+CATABOLISM/>
- Memorangapp.com, Buffer process [online], c2019. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.memorangapp.com/flashcards/228695/Foundations+Weeks+1%2C%2C3/>
- Metabolismus hemu – bilirubin – ikterus [online]. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: https://www.med.muni.cz/patfyz/vyzivari/4_Metab_hem.pdf
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW (1998) Harperova Biochemie. 2. české vydání. H & H, Jinočany, 872 s.
- Nimmertondlová Z (2013) Hepatální porfyrie: příčiny, příznaky, diagnostika a léčba. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://cs.medlicker.com/206-hepatalni-porfyrie-priciny-priznaky-diagnostika-a-lecba>
- O'Neil D, Modern theories of evolution: natural selection [online], c1997-2013, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: https://www2.palomar.edu/anthro/synthetic/synth_4.htm
- Prispěvatelé StudyBlue [online], c2018, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/bchem-212-study-guide-2016-17-fuller/deck/17906839>
- Prispěvatelé WikiSkript, Hemoglobin [online], c2019a, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Hemoglobin&oldid=422810>
- Prispěvatelé WikiSkript, Hyperbilirubinemie novorozenců a kojenců [online], c2019, Datum poslední revize 8. 05. 2019, [citováno 12-12-2019] Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Hyperbilirubinemie_novorozenc%C5%AF_a_kojenc%C5%AF&oldid=425470
- Prispěvatelé WikiSkript, Porfyrie [online], c2018, Datum poslední revize 3. 02. 2018, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Porfyrie&oldid=397533>
- Prispěvatelé WikiSkript, Transport kyslíku krví [online], c2019b, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Transport_kysl%C3%ADku_krv%C3%AD&oldid=425357
- Razani B, Alpha-thalassemia [online], c2010-2017, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <http://www.pathwaymedicine.org/alpha-thalassemia>
- Redakce (2007) Porfyrie - klasifikace, diagnostika. MedicaBaze.cz [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: http://www.medicabaze.cz/index.php?sec=term_detail&categId=33&cname=Vnit%C5%99n%C3%AD+I%C3%A9ka%C5%99stv%C3%AD&letter=P&termId=2520&tname=Porfyrie+-+klasifikace%2C+diagnostika&h=empty#jump
- Rožcová L: Záchyt talasemií a hemoglobinopatií ve východočeském regionu v letech 1995 – 2015 (Retrospektivní studie). Bakalářská práce, FaFUK, 2016

- Štefánek J (2011) Porfyrie [online]. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.stefajir.cz/?q=porfyrie>
- Teng L, Nakada M, Hayashi Y, Yoneyama T, Zhao SG, Hamada JI (2013) Current Applications of 5-ALA in Glioma Diagnostics and Therapy. In: Lichtor T (ed.) Clinical Management and Evolving Novel Therapeutic Strategies for Patients with Brain Tumors. 1st edition. IntechOpen, Rijeka, 654 p.
- The Editors of Encyclopaedia Britannica, Hemoglobin [online], c2018, [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/hemoglobin>
- Timberlake KC (2012) General, Organic, and Biological Chemistry: Structures of Life. 4th edition. Pearson Education, Glenview, 936 pp.
- Veselý J, Ehrman V (2012) Patofyziologie metabolismu bilirubinu [online]. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <http://pfyziolklin.upol.cz/?p=3458>
- Vítek L (2008) Diagnostika porfyrické nemoci – Část 2. FONS 2:23-28.
- Vítek L (2009) Bilirubin a interní choroby. Význam pro kliniku a praxi. 1. vydání. Grada, Praha, 128 s.
- Vítek L, Kazuistiky [online]. [citováno 12-12-2019]. Dostupné z: <https://ulbld.lf1.cuni.cz/file/668/Hepatologie%20-%20V%C3%ADtek%20L.pdf>
- Vtbijoy, Phototherapy [online], c2013, [citováno 12-12-2019], Dostupné z: <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Phototherapy.jpg>
- Wood WG (1976) Haemoglobin synthesis during human fetal development. Br Med Bull. 32:282-7
- Yuan X, Fleming MD, Hamza I (2013) Heme transport and erythropoiesis. Curr Opin Chem Biol. 17:204–11.
- Žatecká J: Anémie – přehled a laboratorní diagnostika. Bakalářská práce, FaFUK 2008