

ЗАОЧНАЯ АКАДЕМИЯ ПОСЛЕДИПЛОМНОГО ОБРАЗОВАНИЯ

© А. А. КИШКУН, С. Л. АРСЕНИН, 2012

УДК 616-008.939.797.33-074

А. А. Кишкун, С. Л. Арсенин

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ ПОРФИРИНОВОГО ОБМЕНА (ЛЕКЦИЯ)

ФГУ Учебно-научный медицинский центр Управления делами Президента Российской Федерации, Москва

В лекции приведены данные о биосинтезе гема и механизмах его регуляции в костном мозге и печени. Изложены основные патогенетические механизмы развития порфирий и их классификация. Представлен оптимальный перечень лабораторных тестов для диагностики порфирий. Показаны роль и значение различных лабораторных методов исследования для диагностики порфирий. Описана технология лабораторных исследований при подозрении на порфирию.

Ключевые слова: биосинтез гема, порфириновый обмен, порфирии, диагностика порфирий

A.A. Kishkun, S.L. Arsenin

THE LABORATORY DIAGNOSTICS OF DISORDERS OF PORPHYRIN METABOLISM: A LECTURE

The lecture presents data concerning biosynthesis of haem and mechanisms of its regulation in bone marrow and liver. The basic pathogenic mechanisms of porphyrias development and their classification are exposed. The optimal list of laboratory tests to diagnose porphyrias is presented. The role and significance of various laboratory analysis techniques to diagnose porphyrias are demonstrated. The technology of laboratory analysis in case of porphyria suspicion is described.

Key words: biosynthesis of haem, porphyrin metabolism, porphyrias, porphyria diagnostics



Порфирины – это тетрапирроловые пигменты, которые выполняют роль промежуточных продуктов на пути биосинтеза гема из глицина и сукцинил-КоА (активируемого пиридоксальфосфатом) с образованием δ-аминолевулината (5-δ-аминолевулиновой кислоты – АЛК) и порфобилиногена (ПБГ). Одна молекула гема синтезируется из 8 молекул АЛК. Гем – комплекс двухвалентного железа с протопорфирином IX функционирует в качестве простетической группы гемопroteинов, таких как гемоглобин, цитохромы, каталаза и триптофаноксигеназа. Его биосинтез жизненно важен и происходит во всех аэробных клетках организма человека. Однако наиболее интенсивно синтез гема осуществляется в клетках печени и костного мозга.

Для корреспонденции:

Кишкун Алексей Алексеевич, д-р мед. наук, внештатный гл. специалист по клин. лаб. диагн.

Адрес: 111020, Москва, ул. Солдатская, 3/111

Телефон: 8-903-974-48-20

E-mail: KishkunAA@medicalcompany.ru

1. Биосинтез гема. Синтез гема происходит в 8 этапов, для каждого из которых характерен свой специфический фермент (4 митохондриальных и 4 цитозольных). Схема биосинтеза гема с вовлеченными в него ферментами представлена на рис. 1.

АЛК-дегидратаза катализирует конденсацию двух молекул δ-аминолевулината с образованием ПБГ. 4 молекулы ПБГ образуют уropopфироген III в двух последовательных реакциях, катализируемых тетрапиррольной гидроксиметилбилансинтазой (также известной как порфобилиногенсинтаза – ПБГС, порфобилиногендекарбоксилаза, или уropopфироген-I-синтаза) и уropopфироген-III-синтазой. Гидроксиметилбилансинтаза катализирует замыкание четырех молекул ПБГ путем последовательного дезаминирования с образованием тетрапиррольного гидроксиметилбилана. Уropopфироген-III-синтаза катализирует перестройку и быструю циклизацию гидроксиметилбилана с образованием уropopфирогена III. Пятый фермент, уropopфирогендекарбоксилаза (уropopфироген-III-декарбоксилаза), катализирует последовательное уда-

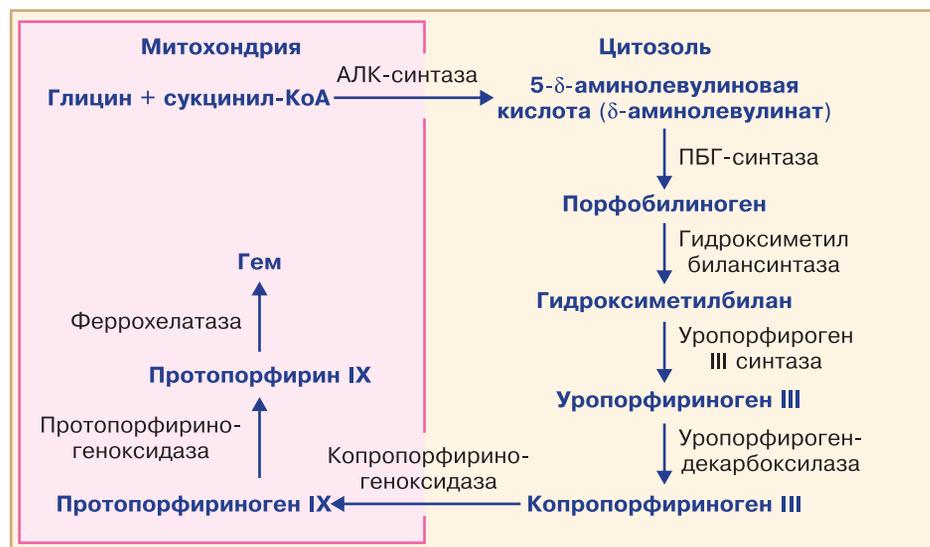


Рис. 1. Схема биосинтеза гема.

ление четырех карбоксильных групп с ацетилированной стороны цепей уропорфиногена III с образованием копропорфириногена III. Это соединение в дальнейшем поступает в митохондрии, где копропорфириногеноксидаза (шестой фермент) катализирует декарбоксилирование двух из четырех пропионильных групп с образованием двух винильных групп протопорфириногена IX. Далее протопорфириногеноксидаза окисляет протопорфириноген IX до протопорфирина IX путем отщепления 6 атомов водорода. Продукт реакции – порфирин, окисленная форма, в отличие от тетрапиррольных предшественников (порфириногенов) – восстановительных форм. В итоге двухвалентный ион железа инкорпорируется в протопорфирин IX с образованием гема (реакцию катализирует восьмой фермент, феррохелатаза, также известный как гем синтетеза).

Регуляция синтеза гема в костном мозге и печени различна. В печени основной детерминантой образования гема служит уровень АЛК-синтазы, тогда как в костном мозге синтез гема запускается сложным процессом дифференцировки эритроидной клетки. Именно поэтому, вероятно, дефекты ферментов синтеза гема в эритроидных клетках и печени проявляются по-разному.

В печени ключевую роль играет фермент первого этапа – АЛК-синтаза (синтетеза), которая за счет изменения своей активности лимитирует скорость синтеза гема. Ферменты, действующие после АЛК-синтазы, присутствуют в избытке. Под влиянием индуцирующих факторов активность этого фермента может изменяться в 5–6 раз, а при накоплении конечного продукта (гема) активность АЛК-синтазы угнетается по принципу обратной связи. Синтез АЛК-синтазы в печени индуцируется большим числом жирорастворимых веществ, стероидами и химическими соединениями, которые служат субстратами и индукторами гемопротеиновых цитохромов P-450 – конечных оксидаз на пути микросомного метаболизма фармакологических средств. Эта индукция модулируется многочисленными генетическими, метаболическими факторами и факторами окружающей среды. При порфириях, при которых симптомы провоцируются некоторыми лекарственными препаратами, взаимозависимость синтеза гема и микросомального окисления этих препаратов приобретает большое значение.

В клетках костного мозга, в которых происходит полный синтез гема, ограничивающая скорость реак-

ция также катализируется АЛК-синтазой, но ее роль в синтезе гема во время деления, дифференцировки и созревания клеток эритроидного ряда изучена хуже. В процессе созревания этих клеток из них исчезают ядра и митохондрии и, следовательно, митохондриальные ферменты синтеза гема, тогда как цитозольные ферменты, катализирующие реакции между АЛК и копропорфириногеном, сохраняются. В связи с этим эритроциты можно использовать для диагностики порфирий, связанных с дефектом только цитозольного фермента.

Порфириногены занимают промежуточное положение между ПБГ и протопорфирином. Они бесцветны и не флюоресцируют. За исключением протопорфирина порфирины – это побочные про-

дукты, которые покидают путь биосинтеза вследствие необратимого окисления соответствующего порфириногена. Порфирины не выполняют физиологической функции, но в силу своей окраски и флюоресценции определяют необычный цвет мочи и эритроцитов у некоторых больных.

От расположения двух замещенных боковых цепей на пирроловом кольце порфиринов зависят структурные типы изомеров, которые нумеруются от I до IV. В природе найдены только типы I и III, причем только тип III служит субстратом конечных этапов реакции, ведущей к образованию протопорфирина IX и гема. При распаде гема образуются не порфирины, а нециклические тетрапирролы, называемые желчными пигментами.

2. Патогенез порфирий. Недостаточность специфических ферментов цепи синтеза гема приводит к нарушению его биосинтеза и накоплению в организме порфиринов и/или их предшественников. Такие нарушения сопровождаются клиническими проявлениями и получили название порфирий.

Порфирии – группа гетерогенных, преимущественно наследственных заболеваний, в основе которых лежат нарушения биосинтеза гема и накопление в организме порфиринов и/или их предшественников с их повышенным содержанием в крови и тканях и усиленным выделением с мочой и калом. Вид порфирии определяется недостаточностью одного из восьми специфических ферментов цепи синтеза гема. Ферментный блок на любом уровне данной цепи приводит к снижению количества гема и вызывает повышение активности основного фермента, определяющего скорость синтеза АЛК-синтазы. В дальнейшем происходит накопление продуктов синтеза перед заблокированным участком цепи. Каждый тип порфирии характеризуется специфическим видом накопления биохимических предшественников гема в зависимости от места нарушения в цепи его биосинтеза. Как правило, они не обладают биологической активностью, но являются достаточно сильными оксидантами. Подобное накопление сопровождается клинической картиной криза.

ПБГ и АЛК являются водорастворимыми соединениями и выделяются с мочой. Уропорфириноген и копропорфириноген выделяются как с мочой, так и с калом, а протопорфириноген – только с калом. Растворы пор-

фиринов дают красную флюоресценцию в ультрафиолетовых лучах. Высокое содержание порфиринов придает моче характерный красный цвет. В токсических концентрациях эти вещества оказывают повреждающее воздействие на нервные волокна и дерму.

3. Классификация порфирий.

Документально подтвержденное первое описание больной с острой порфирией содержится в коллекции работ Гиппократа. У молодой женщины из греческого города Тасос отмечались сильнейшие боли, заставлявшие ее кричать, тяжелые неврологические расстройства и выделение мочи красного цвета. Исследовательские работы по изучению порфирий были начаты в Европе в XIX веке. В 1841 г. Н. Scherer доказал, что красный цвет мочи некоторых больных обусловлен наличием в ней определенных пигментов, а не присутствием молекул гемоглобина. В 1874 г. впервые была описана врожденная порфирия (Schultz Н. и Baumstark P.). У больного с раннего детства была повышенная чувствительность к солнечному облучению, увеличенная селезенка, красная моча. В 1889 г. приведено описание двух случаев острой порфирии после приема сульфонала (Stocvis В. и Harley А.). В 1911–1936 гг. А. Gunter описал наиболее часто встречающиеся симптомы острой перемежающейся порфирии (ОПП): боли в животе, запоры и рвота (болезнь Гюнтера). Ганс Фишер получил Нобелевскую премию в 1930 г. за работу по изучению промежуточных продуктов гема. J. Waldenstrom изучил феномен цветовой реакции мочи больных острой порфирией при смешивании ее с реактивом Эрлиха, а также ввел термин “острая перемежающаяся порфирия” [7]. Считается, что ОПП страдали король Англии Георг III и великий голландский художник Винсент Ван Гог.

Порфирия классифицируется в соответствии с тремя факторами: основное место продукции аномального порфирина (печень или эритроциты); острая или подострая клиническая форма; энзиматические нарушения при биосинтезе гема.

С количественной точки зрения основными местами синтеза гема служат костный мозг и печень, где гем включается в состав гемоглобина эритроцитов и в цитохромы гепатоцитов. Однако в большинстве случаев ферментативный дефект бывает выражен во всех тканях, что позволяет говорить лишь о преимущественном вовлечении в процесс либо печени, либо костного мозга. Клиническая классификация порфирий приведена ниже [10].

Классификация

1. Печеночные порфирии:

- порфирия, обусловленная дефицитом дегидратазы АЛК;
- острая перемежающаяся порфирия;
- наследственная копропорфирия;
- вариегатная порфирия;
- поздняя кожная порфирия (Porphyria cutanea tarda).

2. Эритропоэтические порфирии:

- врожденная эритропоэтическая порфирия (болезнь Гюнтера);
- эритропоэтическая протопорфирия.

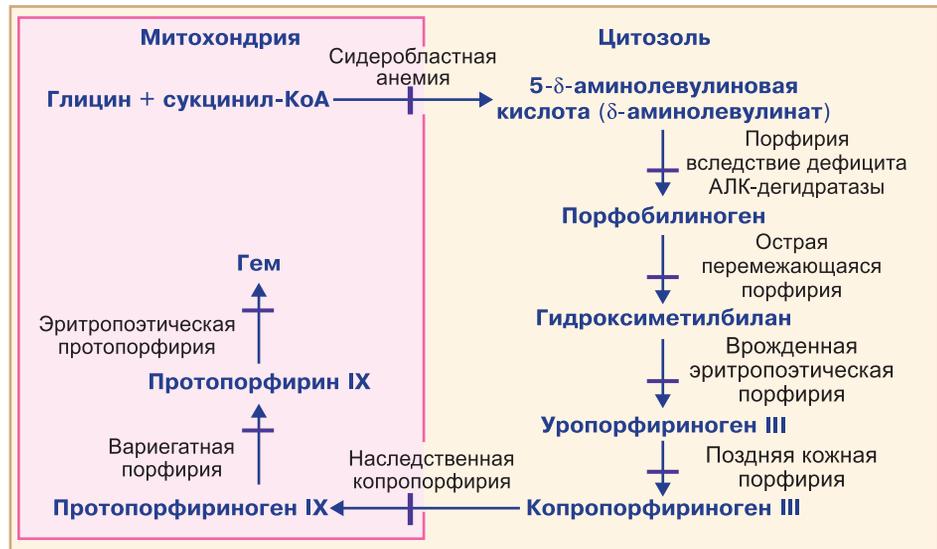


Рис. 2. Патогенетическая классификация порфирий.

Патогенетическая классификация порфирий приведена на рис. 2. В патогенетическом плане важно понимать, что если имеется дефицит гидроксиметилбилансинтазы, то ПБГ накапливается и полимеризуется до линейных тетрапирролов, гидроксиметилбилана. В результате спонтанной циклизации и полимеризации этих продуктов образуется уропорфириноген I, который служит субстратом для уропорфириногендекарбоксилазы, в результате реакции образуется копропорфириноген I. Следующий фермент пути синтеза гема копропорфириногеноксидаза, которая строго специфична, копропорфириноген I не является для нее субстратом. В результате копропорфириноген I накапливается в организме и экскретируется в повышенных количествах с калом.

Если в клетках имеется дефицит уропорфириноген-III-синтазы, линейные тетрапирролы, гидроксиметилбилан аккумулируются и спонтанно циклизируются до уропорфириногена I, который декарбоксилируется до копропорфириногена I. В этих случаях также копропорфириноген I накапливается в организме и экскретируется.

При дефиците фермента уропорфириногендекарбоксилазы в организме накапливаются уропорфириноген I и III, гепта-, гекса- и пентакарбоксилатпорфирины. Изокарбоксилатпорфирин является альтернативным продуктом метаболизма промежуточных порфиринов на пути синтеза гема при дефиците этого энзима.

По клиническому течению порфирии разделяют на острые (ОПП, наследственная копропорфирия, вариегатная порфирия и т. д.) и хронические (врожденная эритропоэтическая порфирия, поздняя кожная порфирия и др.).

В зависимости от того, что больше накапливается – порфирины или их предшественники, может различаться и клиническая картина. В одних случаях преобладают поражения нервной системы, в других – кожных покровов. Порфирии с острым, прогрессирующим течением, преобладающим поражением нервной системы принято называть острыми. Если доминируют кожные нарушения, то, как правило, болезнь имеет затяжное, подострое течение. Неврологической симптоматики в таких случаях обычно нет. Porphyria cutanea tarda – единственная печеночная порфирия, не сопровождающаяся вовлечением в процесс нервной системы. Все остальные печеночные порфирии представляют серьезную опасность для больного.

Таблица 1

Перечень лекарственных средств, применение которых при порфирии безопасно

Группа лекарственных средств	Безопасные – вероятно безопасные	Противопоказанные – вероятно небезопасные	Невыясненные
Внутривенные анестетики	Пропофол Лоразепам Мидазолам	Барбитураты Этомидат Флунитразепам Нитразепам	Диазепам Кетамин
Ингаляционные анестетики	Закись азота	Энфлюран	Изофлюран Фторотан
Мышечные релаксанты	Сукцинилхолин Векуроний Тубокурарин		Панкуроний Атракурий
Препараты для премедикации	Скополамин Атропин Дроперидол Циметидин		
Опиаты	Морфин Фентанил	Пентазоцин	Суфентанил
Антихолинэстеразные	Неостигмин		
Местные анестетики	Бупивакаин Прокаин		Лидокаин
Сердечно-сосудистые	Атенолол Лабеталол Гуанетидин Резерпин Фентоламин	Метилдопа Гидралазин Феноксифензамин	
Различные	Глюкоза Антиконвульсанты	Оральные контрацептивы Гризеофульвин Эндогенные стероиды	

Развитие большинства печеночных порфирий индуцирует ряд экзогенных или эндогенных факторов, которые принято называть порфириногенными. Они способны реализовать носительство дефектного гена или перевести латентно протекающую порфирию в острую форму. К ним относятся: голодание; бактериальные и вирусные инфекции (в частности, гепатиты); алкоголь; прием определенных лекарственных препаратов (нестероидные противовоспалительные, барбитураты, некоторые антибиотики, сульфаниламиды); изменение гормонального профиля у женщин (месячные, беременность); длительное воздействие ультрафиолетовых лучей. Классическим примером служат барбитураты, которые индуцируют систему цитохромов P-450, что приводит к необходимости синтезировать большее количество гема для включения в новые цитохромы – так начинается цепочка, завершающаяся порфирическим кризом. Поскольку не только барбитураты вызывают такие нежелательные последствия, международная комиссия разработала перечень лекарственных средств, применение которых при порфирии безопасно (табл. 1) [1].

Симптомы криза довольно постоянны, это: боли в животе, тошнота, рвота, беспокойство, спутанность сознания, нарушения со стороны сердечно-сосудистой системы (тахикардия, гипертензия), лихорадка, нарушения водно-электролитного баланса (дегидратация, гипонатриемия, гипокальциемия, гипокальциемия). Классический симптом – изменение цвета мочи больного на свету на бордово-красный. Из-за часто сопутствующих лихорадочного состояния и лейкоцитоза в крови острый

приступ порфирии может имитировать любой воспалительный процесс в брюшной полости. Поэтому лабораторные исследования играют важную роль в диагностике порфирий. Отличительными клиническими проявлениями острых порфирий служат [8]:

- диффузные боли в брюшной полости;
- периферические нейропатии (судороги, параличи);
- психические нарушения (волнение, апатия, депрессия, галлюцинации, истерия, делириум);
- молодой возраст и преимущественно женский пол;
- связаны с провоцирующими факторами: лекарственные средства, гормоны, стресс, инфекции.

Наиболее частым вариантом острой порфирии является ОПП, которая встречается с частотой 1–5:100 000 и связана с 50% дефицитом активности порфобилиногендезаминазы или гидроксиметилбалансинтетазы, вариегатная порфирия – с частотой 1:250 000, наследственная копропорфирия – 1–2:1 000 000. Порфирия, обусловленная дефицитом АЛК-дегидратазы, встречается очень редко [8, 10].

ОПП обусловлена дефицитом одного из ключевых ферментов системы биосинтеза гема – ПБГС. Это заболевание имеет аутосомно-доминантный тип наследования. У 70–90% носителей патологического гена ни разу в жизни не возникает каких-либо клинических проявлений. В остальных случаях болезнь проявляется приступами острых болей в животе, лейкоцитозом в крови, поражениями периферической (по типу тяжелого полиневрита) и центральной (судороги, эпилептиформные припадки, бред, галлюцинации) нервной системы, провоцируемыми приемом ряда лекарственных и гормональных препаратов, а также различными стрессами, с возможным летальным исходом (летальность около 60%) [2, 4].

Хронические кожные формы порфирий клинически проявляются:

- легкими симптомами – повышенная светочувствительность кожных покровов, покраснение и отечность кожи;
- более выраженными симптомами – везикулезные и буллезные высыпания, покрывающиеся корками, нередко геморрагического характера, шелушение кожи, плохо заживающие эрозии, атрофия кожи, милиумы, участки гипо- и гиперпигментации.

Хронические кожные формы порфирий могут быть ассоциированы с заболеваниями печени – алкогольной болезнью печени, врожденным или приобретенным избытком железа в организме, вирусным гепатитом С, лекарственными средствами, индуцирующими цитохром P-450.

Среди неострых кожных форм поздняя кожная порфирия (Porphyria cutanea tarda) встречается с частотой 1:25 000, эритропоэтическая протопорфирия – 1:130 000, врожденная эритропоэтическая порфирия – 1:1 000 000 [8, 10].

4. Методы лабораторной диагностики. Лабораторные методы исследования играют ключевую роль в диагностике заболевания и установлении формы порфирии. В настоящее время для диагностики порфирий используют комплекс лабораторных методов. Биологическим материалом для большинства лабораторных методов служит разовая или суточная моча, реже кал, эритроциты и лимфоциты крови, плазма и сыворотка. Для обнаружения порфиринов в моче применяют биохимические методы [8]:

- качественный тест для выявления порфиринов в свежесобранном образце мочи больного с использованием реактива Эрлиха (раствор п-диметиламинобензальдегида в соляной кислоте) по методу Watson-Schwartz (порфобилиноген реагирует с п-диметиламинобензальдегидом с образованием окрашенного в красный цвет соединения);
- количественный тест определения порфиринов в свежесобранном образце мочи (или суточной моче);

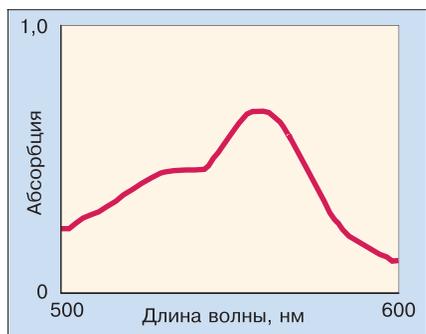


Рис. 3. Спектрофотометрическая кривая при исследовании ПБГ в моче.

метод количественного определения ПБГ и АЛК в моче основан на их разделении с помощью адсорбции на колонках с ионообменной смолой (ионообменная колончатая хроматография) с последующим использованием реактива Эрлиха и измерением результатов на спектрофотометре в диапазоне длин волн 500–600 нм для выявления порфиринов; на рис. 3 представлена типичная спектрофотометрическая кривая (максимальная абсорбция в районе длины волны 525 нм).

Для количественного фракционирования порфиринов в моче применяют высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖК).

Важное значение имеет определение активности патогномоничного фермента при конкретном виде порфирии в эритроцитах крови. Референтные величины основных порфиринов приведены в табл. 2.

Весьма информативным методом диагностики порфирий служит ВЭЖХ с использованием колонок диаметром до 5 мм, плотно упакованных сорбентом с частицами малого размера (3–10 мкм); давление для прокачивания элюента до $3 \cdot 10^7$ Па (ее называют также хроматографией высокого давления). Важнейшим достоинством ВЭЖХ является возможность количественного фракционирования порфиринов в моче, кале, сыворотке крови, что позволяет проводить дифференциальную диагностику неострых форм порфирий. На рис. 4 приведена хроматограмма мочи здорового человека при ВЭЖХ, а на рис. 5–6 – хроматограммы пациентов с поздней кожной порфирией и врожденной эритропоэтической порфирией (вторичный порфирин IX, представленный на рис. 4–6, является международным стандартом для ВЭЖХ) [8, 10].

Генетические методы исследования позволяют подтвердить диагноз и установить характер генетического нарушения. Материалом для генетических исследований служат лимфоциты крови больного.

5. Технология лабораторных исследований при подозрении на порфирию. Предположительный диагноз острой порфирии может быть поставлен на основании появления окрашенной мочи во время приступа – от слегка розового до красно-бурого цвета. Розовый цвет мочи при острой порфирии обусловлен повышенным содержанием в ней порфиринов, а красно-бурый – присутствием ПБГ и продукта его деградации.

Лабораторную диагностику порфирий можно разделить на два уровня, каждый из которых состоит из нескольких этапов [2, 3]. Для подтверждения диагноза проводится целый комплекс биохимических и генетических исследований.

Таблица 2

Референтные величины порфиринов [9]

Порфирины	Референтные величины
Эритроциты:	
копропорфирин	0,5–2,0 мкг/дл (0,75–3,0 нмоль/л)
протопорфирин	4–52 мкг/дл (7,2–93,6 нмоль/л)
Моча:	
АЛК	1,5–7,5 мг/сут (11,2–57,2 мкмоль/сут)
ПБР	Менее 1,0 мг/сут (менее 4,4 мкмоль/сут)
копропорфирин	50–160 мкг/сут (0,075–0,24 мкмоль/сут)
уропорфирин	10–30 мкг/сут (0,012–0,037 мкмоль/сут)
Кал:	
копропорфирин	0–500 мкг/сут (0–0,75 мкмоль/сут)
протопорфирин	0–600 мкг/сут (0–1,08 мкмоль/сут)

Первый уровень – биохимическая диагностика – состоит из качественного и количественных методов, позволяющих поставить точный диагноз больным и некоторым их родственникам, не имеющим проявлений болезни. Постановка диагноза многим из родственников больного с использованием биохимических методов может быть затруднена, потому что метаболические нарушения у них, минимальны и поэтому не диагностируются.

На первом этапе проводится исследование мочи на присутствие в ней избытка ПБГ – качественный скрининговый тест с реактивом Эрлиха. ПБГ, реагируя с реактивом Эрлиха, образует в кислом растворе продукт розово-красного цвета. Этот тест почти всегда положителен при острых приступах порфирии и лишь в редких случаях бывает ложноположительным. Отрицательный результат теста не позволяет исключить диагноз острой порфирии. Это обусловлено целым рядом причин: в моче могут присутствовать вещества-ингибиторы, которые приводят к ложноотрицательному результату; повышение уровня ПБГ может быть незначительным – ниже предела чувствительности метода; при вариегатной порфирии, наследственной копропорфирии и в редких случаях при ОПП экскреция ПБГ в мочу может быстро снижаться и вернуться к норме в течение нескольких дней после острого приступа. В связи с этим все положительные и некоторые отрицательные (при наличии соответствующей

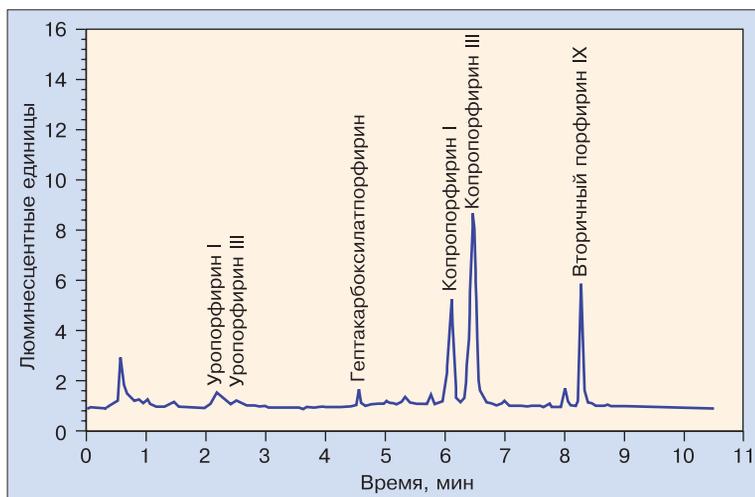


Рис. 4. Хроматограмма мочи в норме. Уропорфиринов меньше, чем копропорфиринов.

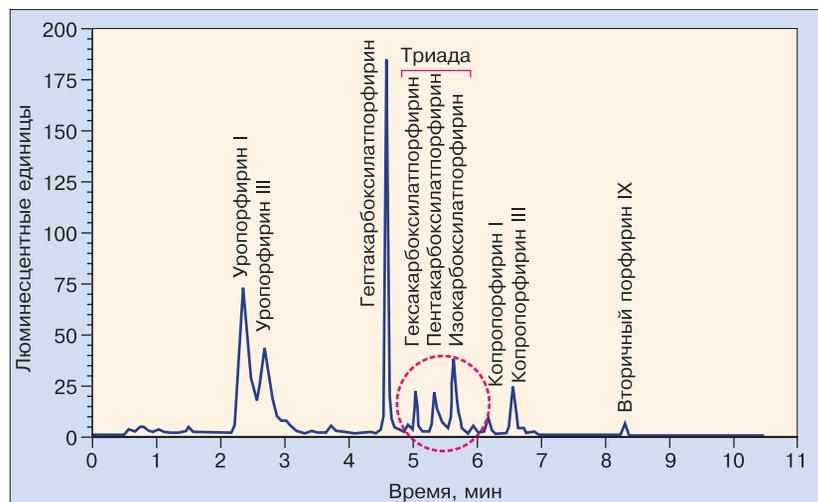


Рис. 5. Хроматограмма мочи больного поздней кожной порфирией. Соотношение уропорфирины/гептапорфирины 2:1 или 1:2. Уропорфиринов больше, чем копропорфиринов. Появление пика изопорфирина.

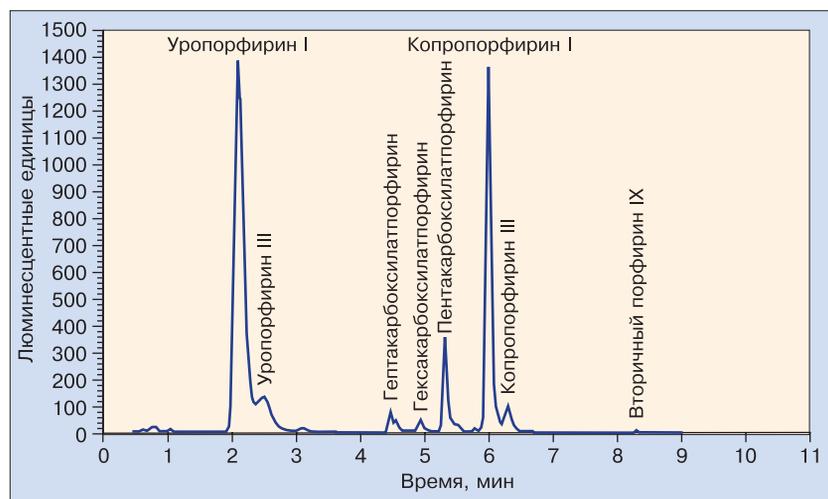


Рис. 6. Хроматограмма мочи больного врожденной эритропозической порфирией.

щей клинической картины заболевания) результаты теста должны быть подтверждены количественным определением ПБГ в моче. В норме концентрация ПБГ в разовой моче меньше 2 мг/л. Больным с высоким содержанием ПБГ можно поставить диагноз острой порфирии. Учитывая, что в некоторых случаях при атаке ОПП вначале резко повышается содержание АЛК, необходимо при наличии клинических симптомов и отрицательного результата пробы на ПБГ провести исследование АЛК.

При порфирии, обусловленной дефицитом дегидратазы АЛК, отмечается увеличение содержания АЛК в моче. Уровень ПБГ не повышен.

При получении нормальных результатов количественного определения ПБГ в моче порфирию как причину острых симптомов можно в большинстве случаев отвергнуть, но не исключить. У пациентов с повышенным ПБГ в моче устанавливается диагноз острой порфирии и в дальнейшем выполняют исследования по дифференциальной диагностике ОПП от других форм острой порфирии. Для этих целей определяют общие порфирины в кале.

В норме концентрация общих порфиринов в кале

меньше 200 ммоль на 1 кг сухого вещества. Нормальная концентрация общих порфиринов в кале подтверждает диагноз ОПП. При вариетатной порфирии и врожденной протопорфирии она увеличивается во много раз.

Диагноз ОПП в период острого течения заболевания можно установить на основании повышенной концентрации ПБГ в моче и нормальной общих порфиринов в кале. Однако вне обострения и в бессимптомных случаях повышенное содержание ПБГ в моче выявляют только у 30% больных ОПП [4]. В таких случаях необходимо провести исследование активности ПБГС в эритроцитах.

ПБГС – цитоплазматический фермент, катализирующий конденсацию четырех молекул ПБГ с образованием линейного тетрапиррола. Фермент существует в двух изоформах, одна из которых специфична для эритроцитов, а другая содержится в клетках практически всех тканей. В норме активность ПБГС в эритроцитах составляет 5,8–11,7 нмоль/с/л [6]. Снижение активности фермента подтверждает диагноз. Ошибки практически исключены. Однако при ОПП возможно частичное перекрытие активности порфобилиногендезаминазы в норме и при патологии (10–15% случаев). Приблизительно у 90% больных ОПП активность фермента в эритроцитах снижена в 2 раза. Однако примерно у 5% пациентов активность ПБГС может быть в пределах нормальных величин из-за перекрытия активности фермента в норме и при ОПП [4, 11]. В таких случаях точный диагноз может быть поставлен только молекулярно-генетическими методами.

Дифференциальный диагноз между ОПП, вариетатной порфирией и наследственной копропорфирией проводится путем измерения количества порфиринов в кале. При нормальном их содержании, не превышающем 200 нмоль на 1 г сухого вещества, подтверждается диагноз ОПП. По-

вышение же показателя говорит в пользу вариетатной и наследственной копропорфирии.

При оценке концентраций различных изомеров порфиринов в плазме методом ВЭЖХ можно провести дифференциальный диагноз между вариетатной и наследственной копропорфирией.

Таблица 3

Информативность различных методов диагностики ОПП в зависимости от периода заболевания [2]

Период заболевания ОПП	ПБГ в моче		Активность ПБГС в эритроцитах	Анализ ДНК лимфоцитов
	качественный тест	количественный тест		
Приступ	+	+	+	+
Ремиссия	+/-	+/-	+	+
Латентный период	+/-	+/-	+	+
Бессимптомное носительство гена ОПП	-	-	+/-	+

При наличии кожных повреждений необходимо исключить у пациента другие дерматологические заболевания. С высокой вероятностью причиной острой светочувствительности может быть протопорфирия. Для верификации этого диагноза необходимо оценить содержание общих порфиринов в эритроцитах, а также свободного протопорфирина. При высоком содержании свободного протопорфирина подтверждается диагноз эритропоэтической протопорфирии.

Информативность различных биохимических методов диагностики ОПП в зависимости от периода заболевания и других порфирий представлена в табл. 3–4.

В диагностике семейных случаев порфирии особенно актуальны генетические методы анализа. Они представляют второй этап диагностики. Генетическое исследование ДНК-проб больных позволяет со 100% точностью подтвердить диагноз, указать характер генетического нарушения, приведшего к болезни [5]. В дальнейшем можно быстро и корректно обследовать всех близких родственников такого пациента с целью исключения бессимптомного носительства патологии.

Ген ПБГС локализован на 11-й хромосоме (11q23–11qter). В настоящее время выявлено свыше 147 различных мутаций в гене ПБГС, среди которых наиболее часто встречаются точечные миссенс- и нонсенс-мутации, микроделеции, микроинсерции, а также мутации, нарушающие сплайсинг [5]. Для выявления мутаций исследуют ДНК лимфоцитов больных методом полимеразной цепной реакции или секвенирования.

Вместе с тем доступность различных лабораторных методов диагностики порфирий для клиничко-диагностических лабораторий (КДЛ) лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) существенно различается. В КДЛ крупных ЛПУ необходимо использовать алгоритм диагностики заболевания, представленный на рис. 7 [2]. Генетические исследования должны выполняться в специализированных генетических центрах.

В специализированных гематологических центрах для диагностики порфирий биохимические исследования необходимо дополнить более высокотехнологичными методами анализа, такими как ионообменная хроматография, ВЭЖХ. При подозрении на острую порфирию должен быть реализован следующий алгоритм диагностики [8, 10]:

первоначально:

- обнаружение ПБГ в моче: увеличение экскреции ПБГ указывает на острую порфирию, отрицательный результат не исключает полностью наличие порфирии;

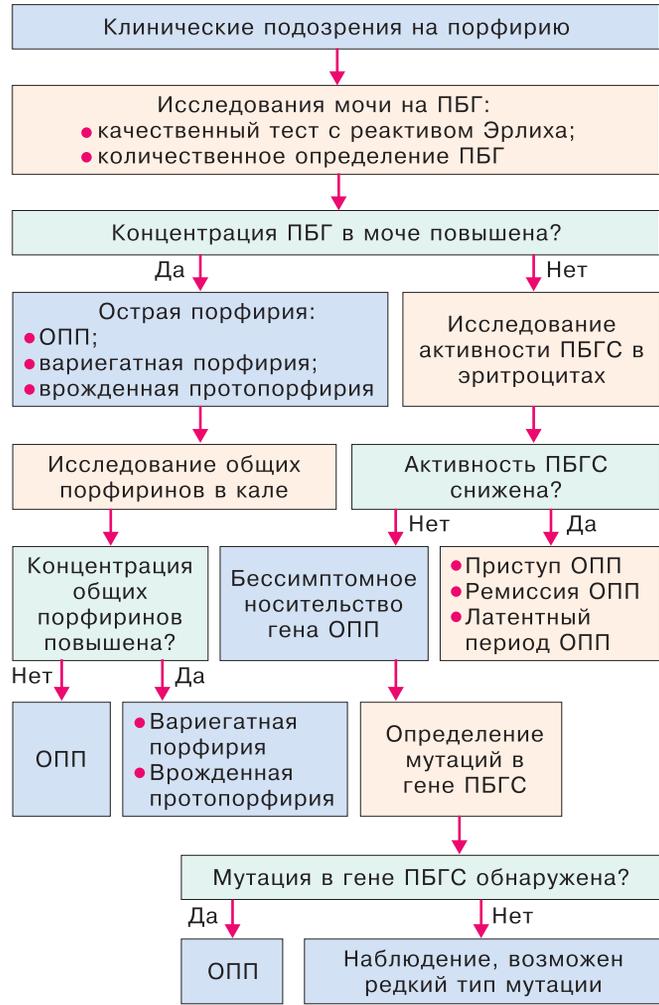


Рис. 7. Алгоритм обследования пациентов с подозрением на порфирию.

в дальнейшем:

- положительный результат исследования ПБГ в моче: определение активности АЛК-синтазы в моче, исследование кала на наличие порфиринов (ионообменная колоночная хроматография с последующим спектрофотометрическим исследованием);

Таблица 4

Типичные биохимические изменения, ассоциированные с нарушениями метаболизма порфирина [9]

Заболевание	Эритроциты			Моча				Кал		
	УП	КП	ПП	АЛК	ПБГ	УП	КП	УП	КП	ПП
Острая перемежающаяся порфирия	Н	Н	Н	↑↑	↑↑	↑	↑ или Н	Н	Н	Н
Наследственная копропорфирия	Н	Н	Н	↑	↑	Н	↑	Н	↑	Н
Вариегатная порфирия	Н	Н	Н	↑	↑	↑ или Н	↑ или Н	Н	↑	↑↑
Конгенитальная эритропоэтическая порфирия	↑↑	↑↑	↑	Н	Н	↑↑	↑	Н	↑	Н
Эритропоэтическая протопорфирия	Н	Н	↑↑	Н	Н	Н	Н	Н	↑	↑
Симптоматическая порфирия	Н	Н	Н	Н	Н	↑↑	↑	Н	↑ или Н	↑ или Н
Отравление свинцом	Н	↑ или Н	↑	↑	↑ или Н	Н	↑	Н	Н	Н

Примечание. УП – уропорфирин; КП – копропорфирин; ПП – протопорфирин; ↑ – повышение; ↑↑ – значительное повышение; Н – норма.

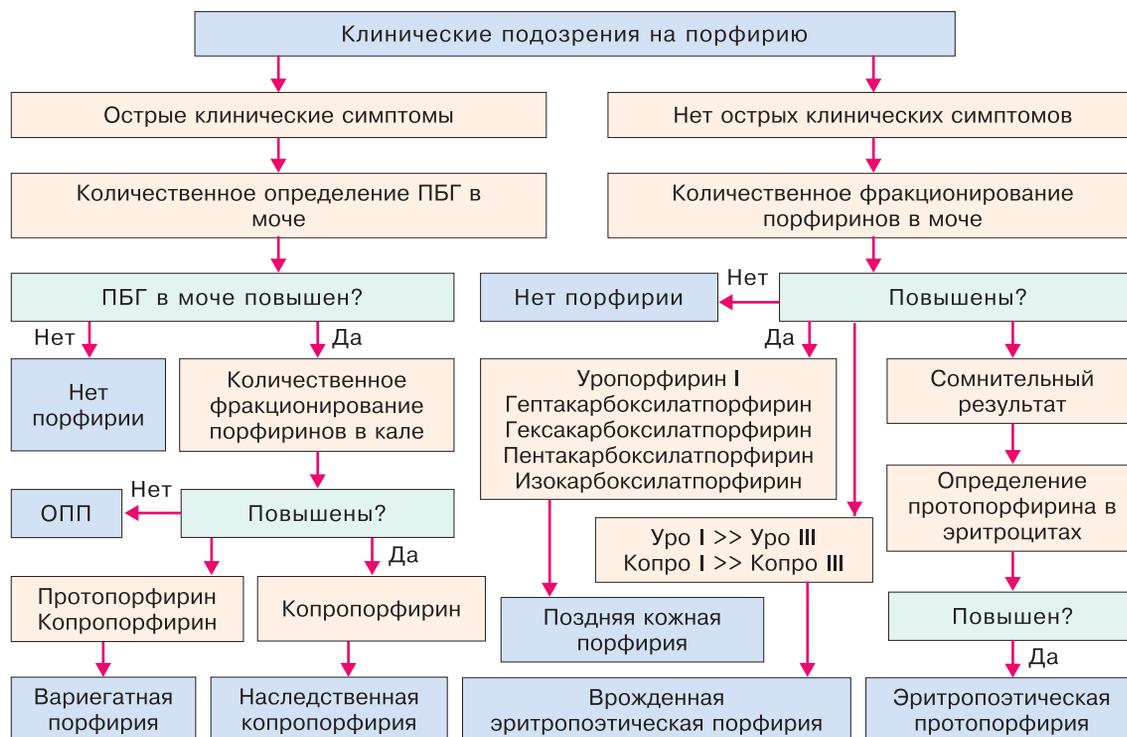


Рис. 8. Алгоритм обследования пациентов с подозрением на порфирию с использованием ВЭЖХ.

● отрицательный результат исследования ПБГ в моче: повторить исследование на фоне клинических проявлений заболевания.

При неострой кожной порфирии необходимо реализовать другой алгоритм диагностики:

первоначально:

● количественное фракционирование порфиринов в моче методом ВЭЖХ;

● повышенное содержание порфиринов в моче характерно для:

поздней кожной порфирии (Porphyria cutanea tarda), врожденной эритропоэтической порфирии;

в дальнейшем:

● исследование ПБГ в моче: отрицательный результат при поздней кожной порфирии и врожденной эритропоэтической порфирии;

● определение порфиринов в эритроцитах или плазме: подозрение на эритропоэтическую порфирию;

● исследование порфирина в сыворотке: мониторинг за течением поздней кожной порфирии.

Данный алгоритм диагностики порфирий с использованием ВЭЖХ приведен на рис. 8 [8, 10].

В заключение необходимо отметить, что диагностика порфирий является достаточно непростой задачей для клинической практики. Вместе с тем лабораторные тесты, такие как качественное и количественное обнаружение ПБГ в моче, позволяют диагностировать большую часть острых форм порфирий и тем самым спасти жизнь пациенту. Эти несложные и доступные лабораторные методы исследования должны быть в арсенале всех КДЛ, занимающихся диагностикой острых неотложных состояний.

Вопросы для самоконтроля

1. Что представляют собой порфирины и какова их роль в организме человека?

2. Сколько этапов биосинтеза гема?

3. Дайте определение порфирии.

4. Перечислите основные клинические формы порфирий.

5. Чем клинически отличаются острые формы порфирий от хронических?

6. Перечислите лабораторные методы, используемые в диагностике порфирий.

7. Назовите основные лабораторные тесты, которые используют для диагностики острых форм порфирий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданов А. А. Внутривенные анестетики и порфирия <http://rusanesth.com/>.
2. Карнова И. В., Сурин В. Л., Тагиев А. Ф., Пивник А. В. Лабораторная диагностика острой перемежающейся порфирии // Проблемы гематол. и переливания крови. – 1998. – № 1. – С. 43–48.
3. Карнова И. В., Пустовойт Я. С., Пивник А. В., Самгина Т. С., Макаров А. С., Журавлева Л. И., Поддубный В. И. Выявление случая острой порфирии среди пациентов психиатрической клиники // Социальная и клиническая психиатрия. – 2000. – Т. 10. – Вып. 3. – С. 76–78.
4. Карнова И. В., Пустовойт Я. С., Пивник А. В. Порфириновый обмен у больных острой перемежающейся порфирией на разных стадиях течения заболевания // Гематология и трансфузиология. – 2004. – Т. 49. – № 2. – С. 21–26.
5. Кишкун А. А. Гормональные и генетические исследования в клинической практике. – М.: Лабора, 2007.
6. Туш Н. (ред.). Энциклопедия клинических лабораторных тестов: Пер. с англ. – М., Лабинформ, 1997.
7. Blake D., Poulos V., Rossi R. Diagnosis of porphyria – recommended methods for peripheral laboratories // Clin. Biochem. Rev. – 1992. – Vol. 13. – P. S2–S25.
8. Frank E. L. Porphirins and Porphyrins // www.aacc.org.
9. Henry J. B. Clinical diagnosis and management by laboratory methods. – 19 ed. – Philadelphia: Saunders, 1996.
10. Parnas M. L., Frank E. L. Porphyrins: A Guide to Laboratory Assessment // Clin. Lab. News. – 2010. – Vol. 36. – N 4. – P. 8–10.
11. Thunell S., Harper P., Brock A., Petersen N. E. Porphyrins, porphyrin metabolism and porphyrias: Diagnosis and monitoring in the acute porphyrias // Scand. J. Clin. Lab. Invest. – 2000. – Vol. 60. – P. 541–560.