

บทนำ

โรค Porphyria เป็นโรคที่ยังไม่พบในประเทศไทย โรคนี้แพร่หลายในประเทศแอฟริกา, ตุรกี, สวีเดน (21)

ลักษณะโรคที่พบมี 1. Erythropoietic porphyrias แบ่งได้ 2 ประเภท

- Congenital erythropoietic porphyria
- Erythropoietic protoporphyria

2. Hepatic porphyrias แบ่งได้ 3 ประเภท

- Acute intermittent porphyria (Swedish type)
- Cutaneous hepatic porphyria (South African type)
- Acquired hepatic porphyria (Toxic porphyria)

Congenital erythropoietic porphyria

เป็นโรคที่ไม่ค่อยจะเป็นกันมากนัก ส่วนใหญ่จะเป็นมาจากกำเนิดหรือในระหว่าง 5 ปีหลังจากเกิด อาการของคนที่เป็นจะทรมาณจากการขับถ่ายปัสสาวะที่มีสีแดง สีของปัสสาวะจะเปลี่ยนสีตั้งแต่ส้มพุดจนถึง สีชมพูเข้ม หรือ สีน้ำตาลแดง ขึ้นกับปริมาณของ uroporphyrin และ coproporphyrin porphyrin ที่พบจะเป็น type I

เป็นส่วนมาก ในปัสสาวะ coproporphyrin จะมีน้อยกว่า uroporphyrin amino-levulinic acid และ porphobilinogen จะไม่สูงจากปกติมาก

ในอุจจาระ coproporphyrin จะมีมากกว่า uroporphyrin และส่วนมากจะเป็น type I

porphyrin ในอุจจาระและปัสสาวะจะมาจากเซลล์เม็ดเลือดแดงในไขกระดูก ซึ่งจะมีระดับ uroporphyrin และ coproporphyrin สูง

Congenital erythropoietic protoporphyria

ลักษณะโรคนี้แตกต่างจาก congenital erythropoietic porphyria ดังต่อไปนี้

- ลักษณะของโรคจะเป็นกรรมพันธุ์
- จะมีปริมาณ protoporphyrin IX ในเซลล์เม็ดเลือดแดงและในไขกระดูกมากกว่า uroporphyrin I
- ปริมาณ protoporphyrin IX และ coproporphyrin III จะสูงในอุจจาระ ส่วน uroporphyrin I และ III จะมีระดับปกติในอุจจาระและปัสสาวะ
- อาการโรค ไม่รุนแรงมากเพราะ protoporphyrin IX จะแสดง photosensitizing น้อยกว่า uroporphyrin อาการที่พบคือ ผิวหนังเป็นผื่นแดง มีลักษณะคล้ายลมพิษ ในน้ำเหลืองจะมีระดับ protoporphyrin สูงขึ้น

2. Hepatic porphyria

Acute intermittent porphyria (Swedish type)

ลักษณะโรคจะพบในเด็ก ระยะเวลาที่เป็นโรคไม่แน่นอนอาจจะกินเวลาหลายเดือน อาการของโรคไม่ค่อยปรากฏให้เห็น ส่วนใหญ่จะมีอาการปวดท้อง

การขับปัสสาวะจะพบ aminolevulinic a (ALA) และ Porphobilinogen PBG เพิ่มขึ้น ซึ่งของปัสสาวะจะสีปกติเหมือนคนไม่เป็นโรคเพราะ ALA และ PBG เป็นสารไม่มีสี ปัสสาวะจะมีสีดำถ้าทิ้งไว้ให้ถูกแสงหรืออากาศเพราะ PBG ไม่คงตัวจะเปลี่ยนไปเป็นส่วนผสมของ uroporphyrin และ porphobilin

All rights reserved

Cataneous hepatic porphyria (South African type)

ลักษณะโรคจะเกิดในวัยหนุ่มสาว อาการที่พบจะเห็นเด่นชัดกว่า Acute intermittent porphyria เช่น ลักษณะผิวหนังเหี่ยวย่น ในอุจจาระจะพบ coproporphyrin III และ protoporphyrin IX สูงขึ้นก่อนและหลังเป็นโรคนี

ในปัสสาวะจะมีปริมาณ ALA และ PBG สูงขึ้น ระดับของสารจะปกติเมื่อเวลาผ่านไป แต่ถ้าเป็น acute intermittent porphyria ปริมาณ ALA และ PBG จะสูงขึ้น เมื่อเวลาผ่านไป ระดับจะลดลง แต่ก็ยังสูงกว่าปกติ

Acquired hepatic porphyria (Toxic porphyria)

ได้มีการทดลองเลี้ยงหนู โดยให้กินยาชนิดต่าง ๆ เพื่อทำให้เกิดโรค porphyria ขึ้น ลักษณะของโรคนี้ได้พบในคน เมื่อปี 1956 ประชาชนจากประเทศตุรกี ได้เป็นโรคนี สาเหตุมาจากชาวมึ hexachlorobenzene (HCB) เคลือบอยู่เพื่อจุดประสงค์ป้องกันเชื้อรา คนกินชาวมึ HCB เคลือบอยู่ จึงทำให้เกิดโรค

ตัวอย่างลักษณะโรค porphyria ดังกล่าว และสารที่พบในอุจจาระและปัสสาวะ ดังแสดงในตารางที่ 1

โรค protoporphyrin ในผู้ใหญ่ แสดงในรูปที่ 1 และในเด็ก รูปที่ 2 ลักษณะหนูที่เกิดโรคเนื่องจากได้รับ HCB แสดงในรูปที่ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright © by Chiang Mai University

All rights reserved

TABLE 1

Heme Precursors in Diseases of Porphyrin Metabolism (from GRANICK, S. and LEVERE, R. D. in *Progress in Hematology* (edited by C. V. Moore and E. B. Brown), Vol. 4, pp. 34-35, Grune and Stratton, N.Y. (1964), with permission)

Condition	Inheritance	Age of clinical onset	Organ primarily involved	Compounds* in urine per day	Compounds* excreted per gm. Feces (dry wt.)	Compounds* per 100 ml RBC	Photo-sensitivity
Normal	—	—	—	URO-(15-30 μ g) 1 > III COPRO-(60-250 μ g) 1 > III PBG-($<$ 1 mg) ALA-($<$ 3 mg) URO I- 3+ (\sim 100 mg) COPRO I- 2+ (\sim 10 mg)	COPRO I-(\sim 7 μ g) PROTO IX-(\sim 23 μ g)	COPRO-(1-2 μ g) PROTO-(10-60 μ g)	—
Congenital erythropoietic porphyria	Recessive	Birth to 5 years	Erythropoietic	URO III- N COPRO III- 2+ (\sim 500 μ g)	URO- 2+ (\sim 2 mg) 1 \geq III COPRO- 3+ (\sim 130 mg) 1 \geq III PROTO- N	URO I- 3+ COPRO I- 2+ PROTO- N to 1+	Present (severe)
Erythropoietic protoporphyria	Dominant	Usually childhood	Erythropoietic	URO III- N COPRO III- 2+ (\sim 500 μ g)	COPRO III- 2+ (20-80 μ g) PROTO- 2+ (20-100 μ g)	URO- N COPRO III- N to 1+ PROTO- 2 to 3+	Present (moderate)

Acute intermittent porphyria	Dominant	15-40 years	Liver	Acute phase PBG- 3+ (40-200 mg) ALA- 2+ (20-40 mg) Remission PBG- N to 1+ (\sim 20 mg) ALA- N to 1+ (\sim 20 mg)	Acute phase porphyrins- N to 1+ Remission Porphyrins-N	N	Not present
Congenital hepatic porphyrias	Dominant	20-50 years	Liver	Acute phase PBG- 1 to 3+ (\sim 20-200 mg) ALA- 1 to 2+ (\sim 8-64 mg) URO I & III- N to 2+ COPRO- variable Remission PBG & ALA- N porphyrins- N to 1+	Acute phase URO III- 1 to 3+ COPRO III- 2 to 3+ (\sim 650 μ g) PROTO- 2 to 3+ (\sim 900 μ g) Remission URO III- 1 to 2- COPRO III- 1 to 3+ (\sim 400 μ g) PROTO- 1 to 3+ (\sim 650 μ g)	N	Present (mild to severe)
Toxic porphyrias	Acquired	—	Liver	ALA- N to 2+ (1-47 mg) PBG- N to 1+ (3-16 mg) COPRO- 2+ (1-2 mg) URO- 1 to 3+ (up to 2.5 mg)	COPRO- 1 to 2+ PROTO- N to 2+	N	Present (mild to severe)

N-normal amount; 1+ slightly increased amount; 2+ moderately increased amount; 3+ markedly increased amount.
* Porphyrins expressed as total of porphyrins and porphyrinogens.

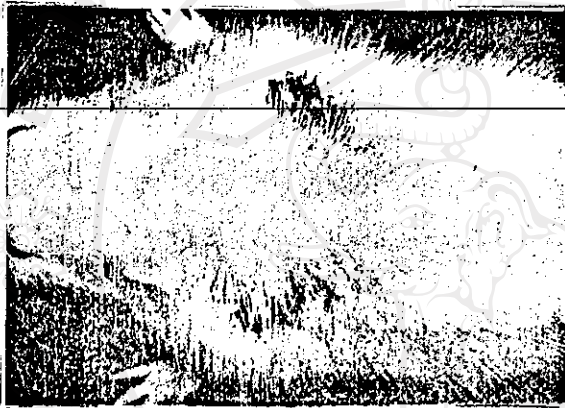


รูปที่ 1 แสดงโรค Protoporphyria



รูปที่ 2 แสดงโรค Protoporphyria

ลิขสิทธิ์ © มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © Mai University
All rights reserved



รูปที่ 3 แสดงหนูที่เกิดโรคเนื่องจากกิน hexachlorobenzene

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

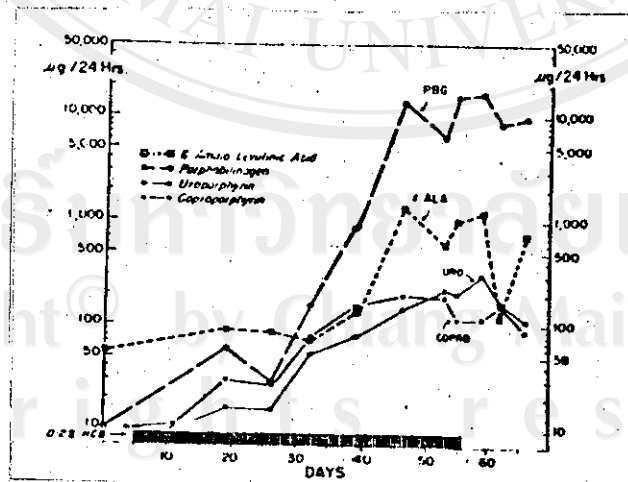
All rights reserved

ในปีที่ 1956 (3) มีโรค cutaneous porphyria ระบาด ทำให้คนจำนวนมากทางตะวันออกเฉียงใต้ของประเทศตุรกีเป็นโรคนี้นี้ จะ เป็นมากในเด็กและในหนุ่ม. ชาว นักวิทยาโรคระบาดได้ศึกษาสาเหตุของโรคนี้นี้ และคิดว่าน่าจะเกิดจากข้าวที่มี HCB เคลือบอยู่

อาการโรคที่พบ เมื่อถูกแสงแดด ผิวหนังจะพองตามร่างกายจะเกิดสีคล้ำ และทรมาณจากแผลเปื่อยที่เกิดขึ้น ทับผิปกติ ปัสสาวะที่ขับออกมาจะมี porphyrin ออกมามากกว่าปกติ โดยเฉพาะ uroporphyrin และ coproporphyrin ขณะที่ ปริมาณ ALA และ PBG ในปัสสาวะอยู่ในระดับปกติ

ในคนป่วยที่เป็นโรค porphyria จาก HCB และในสัตว์ที่ทดลองให้กิน HCB พบว่าจะมี metabolism คล้ายกัน จึงมีผู้ทดลองศึกษาในหนู

Ockner และ Schmid (13) ได้ทดลองในหนูตัวผู้ที่โตเต็มที่ ให้กิน และสังเกตอาการทางประสาท และการขับถ่ายปัสสาวะ ในหนูทดลอง 33 ตัว หนูจำนวน 13 ตัวจะตายภายในเดือนแรก ที่เหลืออีก 20 ตัว จะแสดงอาการโดยขับปัสสาวะออกมา มี porphyrin สูงขึ้น หลังจากเลี้ยงจนถึงสัปดาห์ 2-8 ปริมาณของ porphyrin precursor และ porphyrin จะสูงขึ้น สังเกตได้ดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 แสดง porphyrin และ porphyrin precursors ที่ขับออกมากับปัสสาวะใน หนู น.น. 350 g เลี้ยงโดยให้กิน (HCB).

จากการทดลองพบว่า จากปัสสาวะ 55 mg จะพบ

ALA	=	1.4	mg
PBG	=	16.96	mg
uro	=	0.36	mg
copro	=	0.21	mg

ระดับ porphyrin metabolism จะกลับเข้าสู่การขับถ่ายเป็นปกติภายในหนึ่งสัปดาห์แรก อย่างไรก็ตาม ระดับสูงของ porphyrin ที่ขับออกมา เมื่อให้ HCB ติดต่อกัน 2-3 สัปดาห์ จะทำให้ porphyrin ในร่างกายไม่สามารถเป็นปกติได้ porphyrin ที่ขับออกมากจะมากกว่าปกติ แม้ในภาวะที่เลิกให้ HCB แล้ว ดังรูปที่ 4

ภาวะในตับของหนู ทาง Histology ศึกษาแล้วพบว่า cell ในตับเกิดภาวะเสื่อมลง จากการวิเคราะห์พบว่า เนื้อเยื่อที่ตับ 100 gm จะพบ

uroporphyrin 0.4 - 0.5 mg

copro และ protoporphyrin 0.05 - 0.15 mg

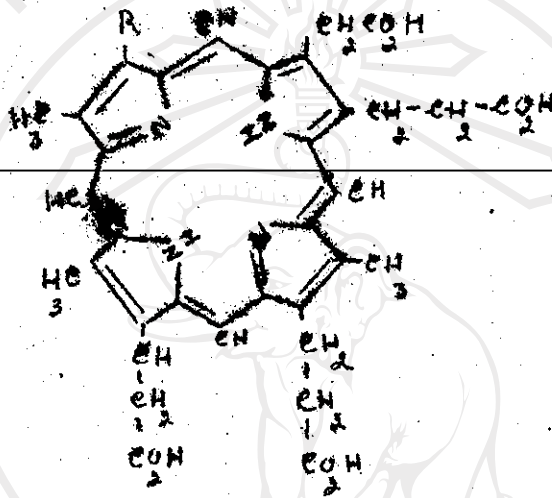
ในเลือด ความเข้มข้น Haemoglobin, copro และ protoporphyrin ปกติ ขณะที่ uroporphyrin ไม่สามารถจะวัดได้

จากการวิเคราะห์ในหนูที่เป็นโรคเนื่องจาก (HCB) พบว่ามี porphyrin มากในตับ และในสิ่งที่ร่างกายขับออกมา ซึ่งกำลังเป็นหัวข้อที่น่าสนใจและกำลังศึกษาค้นคว้า

ในปี 1970(2) San Martin ได้ทดลองเลี้ยงหนู โดยให้กิน HCB เป็นเวลาหลายเดือน และเมื่อนำปัสสาวะมาวิเคราะห์จะพบ octa, hepta, hexa, penta, copro, uroporphyrin ซึ่งสามารถแยกได้จาก Column และ paper chromatography และพบว่าปริมาณของ porphyrin

uro > copro > hepta > penta > hexa

ในปี 1972 G.H. Elder ได้ทดลองเลี้ยงหนูโดยให้อิน HCB และนำอุจจาระ
มาทดลองหา porphyrin พบว่าจะได้



- (I) isocoprotoporphyrin, $R = -CH_2 - CH_3$
 (II) de-ethylisocoprotoporphyrin, $R = -H$
 (III) hydroxyisocoprotoporphyrin, $R = -CHOH-CH_3$
 (IV) dehydroisocoprotoporphyrin, $R = -CH=CH_2$

โดย esterify porphyrin ในอุจจาระด้วย 5% H_2SO_4 ใน CH_3OH
 และใช้ TLC ซึ่งมี SiO_2 เป็น adsorbent, developing solvent ใช้ benzene :
 butan-2 40:3 v/v หนึ่งให้ plate แหนง และ run อีกครั้งด้วย developing
 solvent chloroform : kerosene : methanol 40 : 20 : 1 v/v/v

จะได้ porphyrins proto, copro, penta, hexa, hepta, uro แยกออกจากกัน isocoproporphyrin และ ethylisocoproporphyrin แยกออกจากกันไม่เค้นชัด ชูคและนำไป run ใน solvent cyclohexane : acetone 3:1 V/V จะสามารถแยกสองตัวนี้ได้ ส่วน hydroxyisocoproporphyrin จะมีส่วนผสมของ violin อยู่ ชูคนำไป run ใน solvent carbontetrachloride : dichloromethane methyl propionate : methyl acetate 2 : 2 : 1 : 1 V/V/V/V ก็จะสามารถแยกสองตัวนี้

จากการศึกษาพบว่า วิธีลารแยก mixture porphyrin methyl ester มีหลายวิธี

- Thin layer chromatography (4, 5, 8, 11, 14, 18)
- Paper chromatograph (16)
- High voltage electrophoresis (10)
- High liquid pressure chromatography (7, 9, 12)
- Ion exchange

ในการทดลองครั้งนี้ porphyrin ที่ได้จากหนูที่เป็นโรค porphyria ที่เกิดจาก HCB ได้ถูกแยกออกจากกัน โดยใช้ TLC เพื่อที่จะทราบว่าส่วนผสมประกอบด้วย porphyrin ชนิดใดบ้าง และมีปริมาณแตกต่างกันอย่างไร ตามช่วงเวลาที่ถูกกิน HCB และยิ่งพยายามที่จะแยก porphyrin ตัวที่มีมาก ๆ และหาผลึกออกมาเพื่อนำไป run NMR spectrum