

## بیماری شربت افرا ( Maple Syrup Urine Disease )

مجله نظام پزشکی

سال هفتم ، شماره ۶ ، صفحه ۳۷۷ - ۱۳۵۹

دکتر رضا سید یزدانی \* دکتر محمدعلی مولوی - دکتر حسین عاملی - اقدس غفاریزاده \*\*

مقدمه :

بیماری شربت افرا برای نخستین بار در سال ۱۹۵۴ توسط Menkes و همکارانش (۱) مورد بررسی قرار گرفت. آنها در اداره کودک یک خانواده بوی خاص شیره مانندرا تشخیص دادند. کودکان این خانواده دارای اختلال‌های عصبی در حال پیشرفت بودند که در همان چند هفته اول زندگی ظاهر گشته و سبب مرگ آنها شده بود. در سال ۱۹۵۷ این بیماری توسط Westall و همکارانش (۲) جزء نواقص متابولیکی و مادرزادی طبقه بندی شد و آنها در یافتن که غلظت اسیدهای آمینه لوسین، این‌لوسین و والین در پلاسمای ادرار این بیماران افزایش یافته است. این بیماری بصورت مغلوب و اتوژومال انتقال می‌باشد.

شرح حال بیمار :

و- الف، سومین کودک یک خانواده ملایری است با دوخواهر و پرادر سالم، پدر و مادر، خویشاوند نبودند، دوران حاملگی بی‌هیچ-گونه ناراحتی و زایمان کاملاً طبیعی بود. وزن نوزاد در هنگام تولد ۲۵۰ گرم بود. نسوزاد در دهم عمر بعلت سیانوز، تشنیج، بی‌اشتهاگی و نخوردن شیر به بیمارستان مراجعت کرد و با تشخیص کیاز با سرم خدکن از وپنی‌سیلین و دیازپام تحت درمان قرار گرفت. حال عمومی نوزاد روز پانزدهم بدشده، حرارت بدن پائین آمد و حالت استفراغ پیدا کرد.



شکل شماره ۱ - و. الف، نوزاد ۳ ماهه مبتلا به بیماری شربت افرا

\* دانشکده پزشکی، دانشگاه تهران .

\*\* مرکز تحقیقات ریتیک انسانی - بیمارستان محبوبه متعددین - تهران .

نگهداری شد. یک میلی‌لیتر از ادرار را در داخل لوله آزمایش ریخته بعد از سانتریل و فیلر ۳ قطره از محلول دی‌بی‌تی و فنیل‌هیدرایزین با آن اضافه گردید، ظیور رنگ‌زد روشن و رسوب تیره در داخل لوله آزمایش نشان‌دهنده نتیجه مثبت برای افزایش دفع کتواسیدها در ادرار بود.

#### کروماتوگرافی والکتروفورز خون و ادرار:

**الف - کروماتوگرافی کتواسیدها در ادرار**

خالص کردن ادرار جهت بررسی کتواسیدها مطابق روش Menkes (۳) و Shapiro و Seligson (۴) انجام پذیرفت. مقدار ۵ تا ۱۰ میکرو لیتر از محلول کتواسیدهای حاصل از روش بالا را روی سلیکاژل نوع G گذارده سپس در تابک محتوی ایزوآمیل و الكل‌ایتیلیک ۲۵٪ و هیدروکسید آمونیم ۲۵٪ با نسبت ۱:۱۰ قرار داده شد. مدت لازم جهت کروماتوگرافی کتواسیدها ۶ ساعت در حرارت آزمایشگاه بود که پس از خشک شدن کروماتوگرام در جریان هوا، در زیر پرتو ماوراء بنفش مشاهده گردید. نتایج بدست آمده مشخص کننده افزایش قابل ملاحظه کتواسیدهای حاصل از ترافق آمیناسیون آمینو اسیدهای فزونی یافته در این شیر خوار بود.

#### ب - الکتروفورز اسیدهای آمینه با ولتاژ بالا

نمونه ادرار که معادل ۱۵۰ میکرو گرم کر آتینین باحدود ۲۵-۱۰۰ میکرو لیتر ادرار و همچنین نمونه خون بدون پرتوئین بعد از غلیظ کردن روی کاغذ الکتروفورز اختصاصی (کمپانی ساوانت) قرارداده شد. برای آزمایش الکتروفورز محلول اسید فرمیک، اسید استیک و آب با نسبت ۸۷:۸۷ و با PH=۱۹ مورد استفاده قرار گرفت. الکتروفورز در درجه حرارت ثابت ۵+ درجه سانتی گراد و در ۵/۴ کیلو ولت بمدت ۶۰ دقیقه انجام پذیرفت. نتیجه این آزمایش نمایان کننده افزایش قابل ملاحظه اسیدهای آمینه لوسین و ایزو لوسین و والین در ادرار و خون بیمار بود.

#### پ - کروماتوگرافی اسیدهای آمینه:

نمونه‌های ادرار و خون جهت بررسی روی کاغذ و اتمن شماره MM ۳ قرارداده شد و این کاغذ بداخل تانک کروماتوگرافی که محتوی محلول بوتانول، اسید استیک و آب با نسبت ۵:۳:۱۲ بود، انتقال یافت. مدت کروماتوگرافی برابر ۱۸ ساعت بود. رنگ آمیزی کاغذ الکتروفورز و کرماتوگرافی بعد از خشک کردن آنها با استفاده از محلول ۵/۰ گرم درصد نین‌هیدرین در استون انجام پذیرفت.

پس از انجام پرتونگاری از ریشه تشخیص پنومونی داده شد که با جنتامايسین و کفلین و آمپی‌سیلین تحت درمان قرار گرفت. در روز بیست و هشتم پرتونگاری مجدد از ریله، طبیعی گزارش میشود.

در سه ماهگی بعد از بیهود از تب و عفونت، حالت تنفس و حرکات غیر منظم در چشم ادامه می‌باشد، سپس کاهش قند خون و افزایش آمونیاک در خون گزارش میشود.

#### علام آزمایشگاهی:

تعداد گلوبولهای سفید ۸۰۰ در میلی‌متر مکعب، پلاکتها ۵۴۰۰۰، نوتروفیل ۵٪، ایوزینوفیل ۱٪، لنفوسیت ۴٪، هموگلوبین ۱۱/۵ گرم، موносیت ۴٪، ریتکولوسیت ۲/۹٪، هماتوکریت ۲۶٪، کلسیم سرم ۹/۸ میلی گرم، سدیم سرم L<sub>mEq/L</sub> ۱۳۶، پناسیم سرم ۵/۴ mEq/L، آیندridکر بنیک در سرم L<sub>mEq/L</sub> ۲۶ بود. بیمار در سه ماهگی جهت بررسی‌های پیشتر به مرکز تحقیقات و مشاوره ژنتیک انسانی فرستاده شد. در آنجا بعد از آزمایش‌های بالینی و آزمایشگاهی لازم، تشخیص بیماری شربت‌افرا داده شد که بالا افسلمه تحت رژیم غذائی مخصوص قرار گرفت. رژیم باید قادر اسیدهای آمینه باشاخه جانبی باشد و با آن چربی، کربوهیدرات، مواد معدنی و بیتامین اضافه شود.

این رژیم باید باندازه کافی اسید آمینه برای رشد داشته باشد. گاهی این بیماران را با تیامین هم درمان میکنند. رژیمی که به والدین بیمار توصیه شد شامل شیر کم پرتوئین، ژلاتین، آرد برنج، آب میوه، سبزیجات و مواد معدنی بود. در نتیجه این رژیم حالات تنفس کاهش یافته و وزن بیمار افزایش پیدا کرد. ولی متأسفانه این نوزاد در چهار و نیم ماهگی بعلت رعایت نکردن دقیق رژیم غذائی بطور ناگهانی در منزل فوت شد.

**روش آزمایش‌های انجام شده در بیمار:**  
۱- ادرار ۲۴ ساعته از بیمار تهیه شد و در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

۲- مقدار ۵۰ میلی گرم اسید سولفوسالیسیلیک به ۱ میلی‌لیتر خون بیمار اضافه کرده بعد از سانتریفیوژ، محلول بدست آمده جهت بررسی اسیدهای آمینه در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

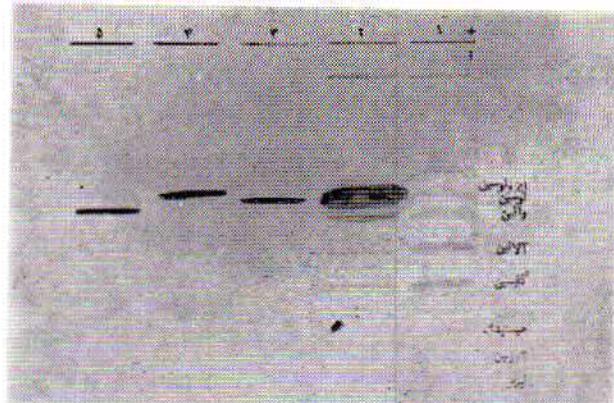
**آزمایش شیمیائی ادرار:**  
۱/۵ گرم از معرف ۴-۲ دی‌بی‌تی و فنیل‌هیدرایزین را در ۴۰ میلی‌لیتر از متانول شیمیائی حل کرده به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول عنرمال اسید کاربیدریک اضافه شد، بعد از حل شدن دی‌بی‌تی و فنیل‌هیدرایزین محلول از صافی گذرانده شد و در شیشه تاریک ریخته و در یخچال

در بیمار مورد آزمایش کاهش قند خون دیده میشود که مطابق نظر De George (۶) این کاهش در اثر افزایش مقدار لوسین خون حاصل میگردد. Donnel و همکارانش (۷) معتقد هستند که متابولیسم ناقص گلوکز یکی از فاکتورهای شرکت کننده در بروجود آوردن کاهش قند خون در بیماری شربت افرا میباشد. مکاتیسمی که موجب حالت تشنج و اختلال های عصبی و حرکات غیر طبیعی چشم در این بیماری میشود، دقیقاً شناخته نشده است. Snyderman و همکارانش (۵) معتقدند که افزایش لوسین و یا متابولیت های حاصل از آن دارای اهمیت خاصی در این پدیده ها میباشند.

## بحث :

در نوع کلاسیک بیماری شربت افرا، نوزاد در هنگام تولد کاملاً طبیعی و حتی جنین روز بعد از آن هم هیچگونه علائم بالینی را نشان نمیدهد. عارضه معمولاً در روز هفتم باحالت بیحالی و گریه بلند شروع شده سپس اختلال در حرکت چشمها و حالت تشنج منظم ظاهر میگردد. ممکن است نخستین علامت بصورت فخردن شیر تظاهر کند و رفلکس Moro ازین بروکه منجر به اختلال های دستگاه تنفس و حالت اغماء میشود. نوزاد بندرت قادر است در مرحله اولیه بیماری بزندگی خویش ادامه دهد. معمولاً این بیماری سبب اختلال های عصبی و عقب ماندگی ذهنی بسیار شدیدی شده و عکس العمل های تاندونی و مورو کاهش میباشد ولی سفتی و انقباض تمام ماهیچه ها زیاد میشود. عفونت های ناگهانی ممکنست سبب مرگ بیمار شوند. بوی خاص ادرار که معطر و شباهت به بوی کارامل (بوی درخت افرا) دارد هم زمان با آغاز پیشرفت، اختلال های عصبی ظاهر میشود. البته این نشانه ادراری عمومیت ندارد، بعبارت دیگر تمام موارد بیماری را نمیتوان از بوی ادرار تشخیص داد. این بوی ویژه ممکنست در موی سر، عرق بدن یا ترشحات گوش هم وجود داشته باشد ولی در ادرار مشخص تر و آشکارتر است. از بروز بسیاری از اختلالات و نشانه های حاصل از این بیماری متابولیکی متواتان جلو گیری کرد بشرطی که بیماری نوزاد از همان هفته های اول زندگی تشخیص داده شود و تحت رژیم غذایی مخصوص قرار گیرد.

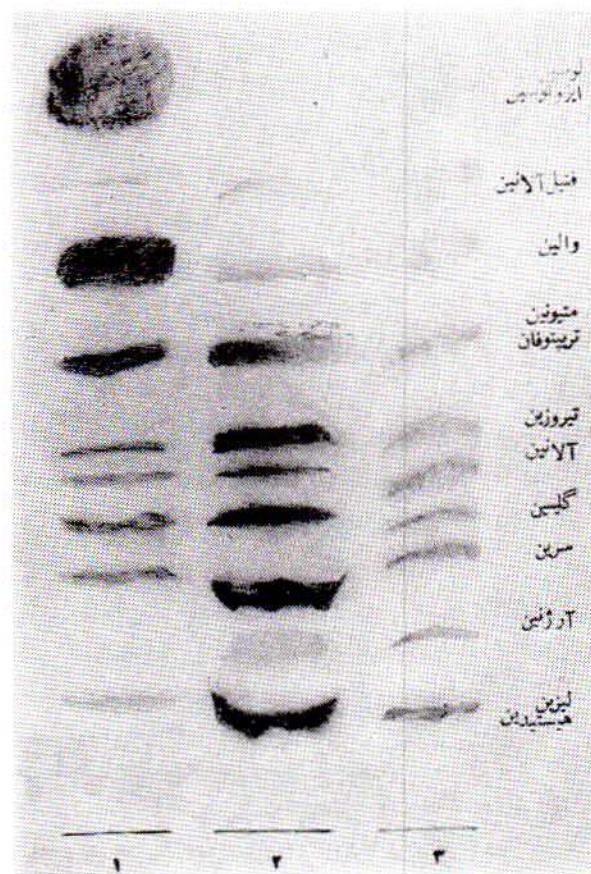
Westall و همکارانش در سال ۱۹۵۷ (۲) در یافتنند که در ادرار این بیماران مقدار تر کیبات کتواسید که در اثر ترانس آمیناسیون هر یک از اسیدهای آهینه مربوطه بدست می آید ظاهر میشود که خود مشخص کننده محل توقف مسیر متابولیکی این بیماری میباشد. رشته های زنجیره ای کتواسیدها هم در خون و هم در مایع مغزی نخاعی این بیماران دیده میشود. درین اسید آمینه ها غلظت لوسین همیشه افزایش پیشتری از اسیدهای آهینه دیگر مانند ایزولوسین و والین دارد. آلوایزولوسین نیز در مایعات بدن ذخیره میشود.



شکل شماره ۲ الکتروفورز اسید آمینه های بلاسمای در بیمار عبتلا به بیماری شربت افرا

۱- بلاسمای طبیعی ۴- بلاسمای بیمار ۳- لوسین ۴- ایزولوسین ۵- والین در شکل شماره ۲ مشاهده میشود که در بلاسمای بدون پروتئین نوزاد افزایش قابل ملاحظه اسیدهای آهینه لوسین، ایزولوسین و تا حدی والین وجود دارد.

شکل شماره ۳ نمایش دهنده بررسی کروماتوگرافی از ادرار بیمار که افزایش اسیدهای آهینه لوسین و ایزولوسین و والین در آن مشاهده میشود.



شکل شماره ۳- کروماتوگرافی اسید آمینه های ادرار در بیمار عبتلا به بیماری شربت افرا

۱- ادرار بیمار ۲- ادرار طبیعی ۳- اسید آمینه های استاندارد

### بیماری شربت افرا از نظر ارثی:

انواع مختلف بیماری شربت افرا با علائم بالینی متفاوت احتمالاً در اثر موتاسیونهای متفاوتی ظاهر میشود که تاکنون در سطح مولکولی طبیعت این گونه موتاسیونها دقیقاً شناخته نشده است. اطلاعات بدست آمده درمورد انواع موتاسیونهای مربوط به این بیماری در اثر بررسیهای هتروکاربونها در کشت سلولی بدست آمده است. سلوهای فیبروبلاست ازیک بیمار مبتلا به نوع کلاسیک بیماری، یافیبروبلاست بیمار نوع دیگر مخلوط شد که نتیجه این آزمایش نشان دهنده مکمل بودن این دوسلول فیبروبلاست است. در این حال میزان فعالیت آنزیمی در این سلولها افزایش پیشتر از هر دو سلول اولیه را دارا میباشد. تفسیر این تغایر نشان دهنده این است که دوسلول حمل کننده دو نوع موتاسیون متفاوت بوده اند که در اثر مخلوط شدن با یکدیگر عمل تکمیل و تصحیح صورت گرفته است.

بررسی بیماری شربت افرا در ۹ کشور اروپائی تاکنون مشخص گشته کثیر این بیماری با نسبت ۱۲۰۰۰ : ۱ (۱۲ نمونه) بیماری در ۱/۵ میلیون تن بوده است (۱۹). در ماساچوست برنامه بررسی موجب تعیین ۳۰۰ ورد نوع عادی شربت افرا درین ۸۷۲/۶۶۰ نوزاد شده است، (۲۰)، (۲۱: ۲۹۰۰۰). بنظر میرسد که ارقام داده شده مبین وفور واقعی این بیماری نباشد زیرا که بسیاری از بیماران مبتلا به شربت افرا نشانه های بیماری آنها در مراحل پیشرفته زندگی جلوه گر میشود. بررسی های بیوشیمیائی و آنزیمی میتوانند تاحدی مشخص کننده افراد هترو- زیگوت باشد که هر یک دارای فعالیت آنزیمی کاهش یافته نسبت به افراد طبیعی میباشدند. اندازه گیری فعالیت آنزیم انشعابات زنجیره ای دکربوکسیلاز در لوله آزمایش یا فیبروبلاست یا گلبولهای سفید را میتوان با بررسی تبدیل شدن لوسین C<sup>14</sup>، ایزو لوسین C<sup>14</sup> و والین C<sup>14</sup> یا آلفا-کتوایزوکاپروئیک اسید C<sup>14</sup> به CO<sup>14</sup> اندازه گیری کرد. تشخیص بیماری شربت افرا که طی این مقاله گزارش شده ازین ۳۵ کودک و نوزادی است که برای بررسی اختلال های متabolیسمی باین مرکز مراجعه کرده اند. خانواده این بیمار هیچگونه خویشاوندی با یکدیگر نداشته و طبیعتی چندین نسل ساکن شهر ملاجر بوده اند. چون این بیماری در اثر هموزیگوتی زنهای نهفته بروز نمی نماید، لذا پدر و مادر نوزاد هر یک حمل کننده زن بیماری بصورت هتروزیگوت میباشدند و با احتمال ۲۵٪ منتقل کننده بیماری به فرزندان خود میباشند. راجع به هتروزیگوت بودن والدین بعلت در دست نبودن وسائل آزمونهای لازم بررسی انجام نکرفت. ولی مسئله مهم این است که کثرت این عارضه در ازدواج های غیر خانوادگی فوق العاده نادر است.

### اشکال بالینی بیماری شربت افرا:

انواع مختلفی از اشعابات زنجیره ای کتواسید اوری تاکنون گزارش شده است که هر یک از آنها حالت ملاجئتری را از نوع کلاسیک بیماری شربت افرا نشان میدهدند (۱۰). ازین نوع آن بنام زنجیره متناوب کتواسید اوری (intermittent branched-chain ketoaciduria) میباشد که بیمار ظاهرآ دارای هیچگونه علائم بالینی مشخصی نیست مگر هنگامی که عفونتی ظاهر شود و یا عامل جراحی انجام پذیرد. در اینحال حالات عصبی ظاهر خواهد شد (۱۱، ۱۲، ۱۳). نوع ملایم این بیماری هم میتواند کشته باشد، مثلاً در یک بیمار که ظاهرآ هیچگونه مشکلی طی چندین سال زندگی نداشته، با یک عفونت ملایم به حالات اغماء افتاده و با تشنجهای شدیدی فوت کرده است. بطور معمول این بیماران دارای عدم تعادل شدید متناوب بوده و دارای نقصان یا کمبود نسبی در فعالیت آنزیمی بنام زنجیره کتواسید دکربوکسیلاز (branched-chain ketoacid decarboxylase) میباشد (۱۰، ۱۴). در حالت دیگری از این نوع بیماری آنزیم دکربوکسیلاز دارای فعالیتی برابر ۲۵-۱۵٪ طبیعی میباشد که بنام نوع دوم (branched-chain ketoaciduria) شناخته شده است (۱۵، ۱۶، ۱۷). اینگونه بیماران دارای عقب ماندگی روانی میباشند و بر عکس نوع اول در این نوع بعضی علائم بیماری بصورت دائمی باقی میماند. اختلال بیوشیمیائی در این بیماران در اثر ذخیره شدن آمینو اسیدها و کتواسیدها در مایعات بدن همیشه قابل تشخیص میباشد مگر اینکه بیمار بطور جدی تحت درمان و رژیم ویژه قرار گرفته باشد. در سال Dancis ۱۹۷۴ (۱۰) انواع مختلف این بیماری را بر حسب درجه تحمل مواد پر تئینی طبقه بندی نمود. در نوع کلاسیک یا عادی بیماران نمیتوانند پر تئین در بدن نگهدارند و بصورت اسهال دفع مینمایند و تنها با آسیدهای آمینه مصنوعی و خالص این بیماران قادرند به زندگی خویش ادامه دهند. میزان فعالیت آنزیمی در نوع کلاسیک در حدود ۲٪ میباشد. در نوع دوم تحمل پر تئین تقریباً کافی برای رشد طبیعی کودک ۲ تا ۲/۵ گرم در هر کیلو میباشد. میزان فعالیت آنزیمی در این دسته بین ۲-۸٪ طبیعی است. در نوع سوم تغذیه بدون محدودیت قابل تحمل میباشد در این بیماران حملات عدم تعادل و حتی تشنج و اغماء بعد از یک عفونت ظاهر میشود و فعالیت آنزیمی در این بیماری معمولاً بین ۱۶-۱۸٪ طبیعی است. در نوع دیگری از این بیماری خصوصیات بالینی مشابه با نوع سوم است اما اختلال های بیوشیمیائی میتوانند با تجویز مقدار زیاد تیامین تصحیح گردد. بنابراین نوع بیماری بنام شربت افرای حساس به تیامین نامگذاری شده است (۱۷).

شیمیائی، کروماتوگرافی والکتروفورز از ادار و خون بیمار در چندین نوبت بعمل آمد که هر یک مشخص کننده افزایش قابل ملاحظه اسید آمینه‌های لوسین، ایزو‌لوسین و والین در خون و ادرار بود. در ادرار این نوزاد افزایش ترکیبات کتواسیدی که در اثر ترانس آمیناسیون اسید آمینه‌های لوسین، ایزو‌لوسین و والین حاصل شده دیده می‌شود. نتایج بررسی‌های بالینی و پاراکلینیکی از نوزاد مشخص کننده بیماری بسیار نادر شربت‌افرا بود.

یک نمونه دیگر از بیماری شربت‌افرا در ایران قبل توسط دکتر قدسی دانشیدگزارش شده است (۲۱).

## خلاصه :

نوزاد سه ماهه دارای نشانه‌های بالینی تشنج، بی‌اشتهائی، سفتی و انقباض عضلانی، حرکات نامنظم چشم و باکاوش قند خون جهت بررسی‌های ژنتیکی به من کز تحقیقات ژنتیک انسانی فرستاده شد. در بررسی، ادرار نوزاد دارای بیوی خاص شربت‌افرا بود. آزمایش‌های

## REFERENCES :

- 1- Menkes, J. H., Hurst, P. L., and Craig, J. M.: Pediatrics, 14: 462, 1954.
- 2- Westall, R. G., Dancis, J., and Miller, S.: Amer. J. Dis. Child, 94: 571, 1957.
- 3- Menkes, J. H., : Amer. J. Dis. Child 99: 500, 1960.
- 4- Seligson, D., and Shapiro, B. : Annal. Chem, 24: 754, 1952.
- 5- Snyderman, S. E., Norton, P. M., Roitman, E., and Holt, L. E., : Pediatrics 34: 454, 1964.
- 6 De George, A. M., Anerbach, V. H., and Mabry, C. C., : J. Pediat. 63: 295, 1963.
- 7- Donnel, G. N., Lieberman, E., Shaw, K. N. F., and Koch, R. : Am. J. Dis. Child, 113: 60, 1967.
- 8- Goodman, S. E., J. Pediat. 75: 485, 1969.
- 9- Mace, J. W., Goodman, S. I., Centerwall, W. R., Chinnock, R. F.: Clin. Pediat. 15: 57, 1976.
- 10- Dancis, J.: Heritable disorders of amino acid metabolism. New York: John Wiley, Sons, Inc., pp. 32-36, 1974.
- 11- Van Der Hort, H. L., and Wadman, S. K., : Acta Peadiat. Scand. 60: 594, 1971.
- 12- Kill, R., and Rokkones, T.: Acta Pediat., 53: 356, 1964.
- 13- Morris, M. D., Lewis, B. D., Doolan, P. D., and Harper, H. A.: Pediatrics, 28: 918, 1961.
- 14- Dancis, J., Hutzler, H., Snyderman, S. E., and Cox, R. P.: J. Pediat. 81: 312, 1972.
- 15 Fischer, M. H., and Gerritsen, T.: Pediatrics 48: 795, 1971.
- 16- Schulman, J. D., Lustberg, T. J., Kennedy, J. L.: Amer. J. Med. 49: 118, 1970.
- 17- Scriver, C. R., Clow, C. L., Mackenzie, S., and Delvin, E.: Lancet 1: 310, 1971.
- 18- Lyons, L. B., Cox, R. P., and Dancis, J.: Nature, 243: 533, 1973.
- 19- Collective results of mass screening for inborn errors of metabolism in eight European countries. Acta Pediat. Scand., 62: 413, 1973.
- 20- Levy, H. L., : Advances in human genetics, Edited by H. Harris and Hirschhorn K., Vol. IV. Plenum, New York. pp389. 1973.

۲۱- دکتر قدسی دانشید، یک مورد بیماری شربت‌افرا، مجله نظام پزشکی، جلد ۴ شماره ۱، صفحه ۲۱، سال ۱۲۵۳