

بیماری شربت افرا (Maple Syrup Urine Disease)

مجله نظام پزشکی

سال دهم ، شماره ۶ ، صفحه ۳۷۷ ، ۱۳۵۹

دکتر رضا سید یزدانی * دکتر محمدعلی مولوی - دکتر حسین عاملی - اقدس غفاری زاده **

مقدمه :

بیماری شربت افرا برای نخستین بار در سال ۱۹۵۴ توسط Menkes و همکارانش (۱) مورد بررسی قرار گرفت. آنها درادرار ۴ کودک يك خانواده بوی خاص شیرمانند را 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 دریافتند که غلظت اسیدهای آمینه لوسین، ایزولوسین و والین در پلاسما و ادرار این بیماران افزایش یافته است. این بیماری بصورت مغلوب و اتوزومال انتقال میابد.

شرح حال بیمار :

و. الف، سومین کودک يك خانواده ملایری است با دو خواهر و برادر سالم، پدر و مادر، خویشاوند نبودند، دوران حاملگی بی هیچ گونه ناراحتی و زایمان کاملاً طبیعی بود. وزن نوزاد در هنگام تولد ۲۵۰۰ گرم بود. نوزاد در دهم عمر بعلت سیانوز، تشنج، بی اشتها و نخوردن شیر به بیمارستان مراجعه کرد و با تشخیص کزاز با سرم ضد کزاز و پنی سیلین و دیازپام تحت درمان قرار گرفت. حال عمومی نوزاد روز پانزدهم بد شد، 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 ژنتیک انسانی - بیمارستان مجبویه متحدین - تهران.

نگهداری شد. یک میلی لیتر از ادرار را در داخل لوله آزمایش ریخته بعد از سانتریفوژ کردن ۳ قطره از محلول دی نیتروفنیل هیدرازین بآن اضافه گردید، ظیور رنگ زرد روشن و رسوب تیره در داخل لوله آزمایش نشان دهنده نتیجه مثبت برای افزایش دفع کتواسیدها در ادرار بود.

کروماتوگرافی والکتر و فوری 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 سلکاژل نوع G گذارده سپس در تانک محتوی ایزو آمیل و الکل اتیلک ۲۵٪ و هیدروکسید آمونیم ۲۵٪ با نسبت ۱۰:۲۰۰ قرار داده شد. مدت لازم جهت کروماتوگرافی کتواسیدها ۴ تا 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 ترانس آمیناسیون آمینواسیدهای فزونی یافته در این شیرخوار بود.

ب - الکترو فوری اسیدهای آمینه با ولتاژ بالا

نمونه ادرار که معادل ۱۵۰ میکروگرم کراتینین با حدود ۲۵-۱۰۰ میکرو لیتر ادرار و همچنین نمونه خون بدون پروتئین بعد از غلیظ کردن روی کاغذ الکترو فوری اختصاصی (کمپانی ساوانت) قرار داده شد. برای آزمایش الکترو فوری محلول اسید فرمیک، اسید استیک و آب با نسبت ۸۸۷:۸۷ و ۲۷ و با $\text{pH} = ۱/۹$ مورد استفاده قرار گرفت. الکترو فوری در درجه حرارت ثابت $5 \pm$ درجه سانتی گراد و در ۴/۵ کیلو ولت بمدت ۹۰ دقیقه انجام پذیرفت. نتیجه این آزمایش نمایان کننده افزایش قابل ملاحظه اسیدهای آمینه لوسین و ایزولوسین و والین در ادرار و خون بیمار بود.

پ - کروماتوگرافی اسیدهای آمینه:

نمونه های ادرار و خون جهت بررسی روی کاغذ واتمن شماره MM ۳ قرار داده 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 الکترو فوری و کروماتوگرافی بعد از خشک کردن آنها با استفاده از محلول ۵/۰ گرم درصدین هیدرین در استون انجام پذیرفت.

پس از انجام پرتونگاری از ریه تشخیص پنومونی داده شد که با جنتامایسین و کفلین و آمپی سیلین تحت درمان قرار گرفت. در روز بیست و هشتم پرتونگاری مجدد از ریه، طبیعی گزارش میشود.

در سه ماهگی بعد از بهبود از تب و عفونت، حالت تشنج و حرکات غیر منظم در چشم ادامه می یابد، سپس کاهش قند خون و افزایش آمو نیك در خون گزارش میشود.

علائم آزمایشگاهی:

تعداد گلبولهای سفید ۸۰۰۰ در میلی متر مکعب، پلاکتها ۵۴۰۰۰، نوتروفیل ۵۷٪، ائوزینوفیل ۱٪، لنفوسیت ۴۲٪، هموگلوبین ۱۱/۵ گرم، مونوسیت ۴٪، رتیکولوسیت ۲/۹٪، هماتوکریت ۲۶٪، کلسیم سرم ۹/۸٪ میلی گرم، سدیم سرم mEq/L ۱۳۶، پتاسیم سرم mEq/L ۵/۴، انیدرید کربنیک در سرم mEq/L ۲۶ بود. بیمار در سه ماهگی جهت بررسی های بیشتر به مرکز تحقیقات و مشاوره ژنتیک انسانی فرستاده شد. در آنجا بعد از آزمایش های بالینی و آزمایشگاهی لازم، تشخیص بیماری شربت افرا داده شد که بلافاصله تحت رژیم غذایی مخصوص قرار گرفت. رژیم باید فاقد اسیدهای آمینه باشاخه جانبی باشد و بآن چربی، کر بو هیدرات، مواد معدنی و ویتامین 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 پروتئین، ژلاتین، آرد برنج، آب میوه، سبزیجات و مواد معدنی بود. در نتیجه این رژیم حالات تشنج کاهش یافت و وزن بیمار افزایش پیدا کرد. ولی متأسفانه این نوزاد در چهار و نیم ماهگی بعلت رعایت نکردن دقیق رژیم غذایی بطور ناگهانی در منزل فوت شد.

روش آزمایش های 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 سولفوسالسیلیک به ۱ میلی لیتر خون بیمار اضافه کرده بعد از سانتریفوژ، محلول بدست آمده جهت بررسی اسیدهای آمینه در ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد.

آزمایش شیمیائی ادرار:

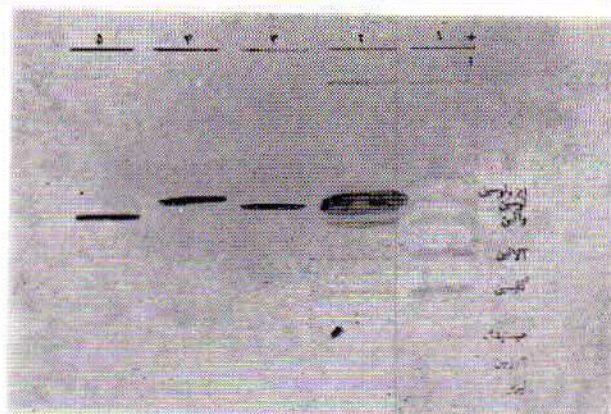
۱/۵ گرم از معرف ۲-۴ دی نیتروفنیل هیدرازین را در ۴۰۰ میلی لیتر از متانول شیمیائی حل کرده به آن ۱۰۰ میلی لیتر از محلول ۶ نرمال اسید کربیدرک اضافه شد، بعد از حل شدن دی نیتروفنیل هیدرازین محلول از صافی گذرانده شد و در شیشه تاریک ریخته و در یخچال

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 بوجود آوردن کاهش قند خون در بیماری شربت افرا میباشد. مکانیسمی که موجب حالت تشنج و اختلالهای عصبی و حرکات غیر طبیعی چشم در این بیماری میشود، دقیقاً شناخته نشده است. Snyderman و همکارانش (۵) معتقدند که افزایش لوسین و یا متابولیتهای حاصل از آن دارای اهمیت خاصی در این پدیدهها میباشد.

بحث:

در نوع کلاسیک بیماری شربت افرا، نوزاد در هنگام تولد کاملاً طبیعی و حتی چندین روز بعد از آن هم هیچگونه علائم بالینی را نشان نمیدهد. عارضه معمولاً در روز هفتم با حالت بیحالی و گریه بلند شروع شده سپس اختلال در حرکت چشمها و حالت تشنج منظم ظاهر میگردد. ممکن است نخستین علامت بصورت نخوردن شیر تظاهر کند و رفلکس Moro از بین برود که منجر به اختلالهای دستگاه تنفس و حالت اغماص میشود. نوزاد بندرت قادر است در مراحل اولیه بیماری بزنگی خویش ادامه دهد. معمولاً این بیماری سبب اختلالهای عصبی و عقب ماندگی ذهنی بسیار شدیدی شده و عکس العملهای تاندونی و مورو کاهش مییابد ولی سفتی و انقباض تمام ماهیچهها زیاد میشود. عفونتهای ناگهانی ممکنست سبب مرگ بیمار شوند. بوی خاص ادرار که معطر و شباهت به بوی کارامل (بوی درخت افرا) دارد همزمان با آغاز پیشرفت، اختلالهای 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 نشانههای حاصل از این بیماری متابولیکی میتوان جلوگیری کرد بشرطی که بیماری نوزاد از همان هفتههای اول زندگی تشخیص داده شود و تحت رژیم غذایی مخصوص قرار گیرد.

Westall و همکارانش در سال ۱۹۵۷ (۲) دریافتند که در ادرار این بیماران مقادیر ترکیبات کتواسید که در اثر ترانس آمیناسیون هریک از اسیدهای آمینه مربوطه بدست می آید ظاهر میشود که خود مشخص کننده محل توقف مسیر متابولیکی این بیماری میباشد. رشتههای زنجیره ای کتواسیدها هم در خون و هم در مایع مغزی نخاعی این بیماران دیده میشود. در بین اسید آمینهها غلظت لوسین همیشه افزایش بیشتری از اسیدهای آمینه دیگر مانند ایزولوسین و والین دارد. آلوایزولوسین نیز در مایعات بدن ذخیره میشود.



شکل شماره ۲ الکتروفورز اسید آمینههای پلاسما در بیمار مبتلا به بیماری شربت افرا

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

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



شکل شماره ۳ کروماتوگرافی اسید آمینههای ادرار در بیمار مبتلا به بیماری شربت افرا

۱- ادرار بیمار ۲- ادرار طبیعی ۳- اسید آمینههای استاندارد

اشکال بالینی بیماری شربت افرا:

انواع مختلفی از انشعابات زنجیره ای کتواسید اوری تاکنون گزارش شده است که هر یک از آنها حالت ملائمتری را از نوع کلاسیک بیماری شربت افرا نشان میدهند (۱۰). اولین نوع آن بنام زنجیره «تناوب کتواسید اوری - intermittent branched-chain ketoaciduria» میباشد که بیمار ظاهراً دارای هیچگونه علائم بالینی مشخصی نیست مگر هنگامی که عفونتی ظاهر شود و یا عمل جراحی انجام پذیرد. در اینحال حالات عصبی ظاهر خواهد شد (۱۳، ۱۲، ۱۱). نوع ملایم این بیماری هم میتواند کشنده باشد؛ مثلاً در یک بیمار که ظاهراً هیچگونه مشکلی طی چندین سال زندگی نداشته، با یک عفونت ملایم به حالت اغما افتاده و با تشنجات شدیدی فوت کرده است. بطور معمول این بیماران دارای عدم تعادل شدید متابول بوده و دارای نقصان یا کمبود نسبی در فعالیت آنزیمی بنام زنجیره کتواسید دکاربوکسیلاز (branched-chain ketoacid decarboxylase) میباشد (۱۰، ۱۴). در حالت دیگری از این نوع بیماری آنزیم دکاربوکسیلاز دارای فعالیتی برابر ۱۵-۲۵٪ طبیعی میباشد که بنام نوع دوم (branched-chain ketoaciduria) شناخته شده است (۱۶، ۱۵، ۵). اینگونه بیماران دارای عقب ماندگی روانی میباشد و برعکس نوع اول در این نوع بعضی علائم بیماری بصورت دائمی باقی میماند. اختلال بیوشیمیایی در این بیماران در اثر ذخیره شدن آمینواسیدها و کتواسیدها در مایعات بدن همیشه قابل تشخیص میباشد مگر اینکه بیمار بطور جدی تحت درمان و رژیم ویژه قرار گرفته باشد. در سال ۱۹۷۴ Dancis (۱۰) انواع مختلف این بیماری را بر حسب درجه تحمل مواد پروتئینی طبقه بندی نمود. در نوع کلاسیک یا عادی بیماران نمیتوانند پروتئین در بدن نگهدارند و بصورت اسهال دفع مینمایند و تنها با اسیدهای 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 پروتئین 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 اغما 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 اختلالهای بیوشیمیایی میتواند با تجویز مقدار زیاد تیامین تصحیح گردد. بنابراین نوع بیماری بنام شربت افرا حساس به تیامین نامگذاری شده است (۱۷).

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 در مورد انواع موتاسیونهای مربوط به این بیماری در اثر بررسیهای هتروکاریونها در کشت سلولی بدست آمده است. سلولهای فیبروبلاست از یک بیمار مبتلا به نوع کلاسیک بیماری، با فیبروبلاست بیمار نوع دیگر مخلوط شد که نتیجه این آزمایش نشان دهنده مکمل بودن این دو سلول فیبروبلاست است. در این حال میزان فعالیت آنزیمی در این سلولها افزایش بیشتر از هر دو سلول اولیه را دارا میباشد. تفسیر این نتایج نشان دهنده این است که دو سلول 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 اروپایی تاکنون مشخص کننده کثرت این بیماری با نسبت ۱:۱۲۰۰۰ یا (۱۲ نمونه بیماری در ۱/۵ میلیون تن بوده است)، (۱۹). در ماساچوست برنامه بررسی موجب تعیین ۳ مورد نوع عادی شربت افرا در بین ۸۷۲/۶۶۰ نوزاد شده است، (۲۹۰۰۰۰:۱)، (۲۰). 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 بیوشیمیایی و آنزیمی میتواند تاحدی مشخص کننده افراد هترو زیگوت باشد که هر یک دارای فعالیت آنزیمی کاهش یافته نسبت به افراد طبیعی میباشد. اندازه گیری فعالیت آنزیم انشعابات زنجیره ای دکاربوکسیلاز در لوله آزمایش یا فیبروبلاست یا گلبولهای سفید را میتوان با بررسی تبدیل شدن لوسین C^{14} ، ایزولوسین C^{14} و والین C^{14} یا آلفال-کتوایزوکاربوتیک اسید C^{14} به CO^{14}_2 اندازه گیری کرد. تشخیص بیماری شربت افرا که طی این مقاله گزارش شده از بین ۳۵۰ کودک و نوزادی است که برای بررسی اختلالهای متابولسمی باین مرکز مراجعه کرده اند. خانواده این بیمار هیچگونه خویشاوندی با یکدیگر نداشته و طی چندین نسل ساکن شهر ملایر بوده اند. چون این بیماری در اثر هتروزیگوتی ژنهای نهفته بروز مینماید، لذا پدر و مادر نوزاد هر یک حمل کننده ژن بیماری بصورت هتروزیگوت میباشد و با احتمال ۲۵٪ منتقل کننده بیماری به فرزندان خود میباشد. راجع به هتروزیگوت بودن والدین بعثت در دست نبودن وسائل و آزمونهای لازم بررسی انجام نگرفت. ولی مسأله مهم این است که کثرت این عارضه در ازدواجهای غیر خانوادگی فوق العاده نادر است.

یک نمونه دیگر از بیماری شربت افرا در ایران قبلاً توسط دکتر قدسی دانشبد گزارش شده است (۲۱).

خلاصه:

نوزاد سه ماهه دارای نشانه‌های بالینی تشنج، بی‌اشتهایی، سفتی و انقباض عضلانی، حرکات نامنظم چشم و باکاهش قند خون جهت بررسی‌های ژنتیکی به مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی فرستاده شد. در بررسی، ادرار نوزاد دارای بوی خاص شربت افرا بود. آزمایش‌های

شیمیایی، کروماتوگرافی و الکتروفورز از ادرار و خون بیمار در چندین نوبت باعث عمل آمد که هر یک مشخص‌کننده 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 مشخص‌کننده بیماری بسیار نادر شربت افرا بود.

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 Willey, Sons, Inc., pp. 32, 36, 1974.
- 11- Van Der Hort, H. L., and Wadman, S. K.: *Acta Paediat. Scand.* 60: 594, 1971.
- 12- Kill, R., and Rokkones, T.: *Acta Paediat.*, 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 Paediat. 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 دانشبد، یک مورد بیماری شربت افرا، مجله نظام پزشکی، جلد ۴ شماره ۱، صفحه ۲۱، سال ۱۳۵۳