بیمـــاری شـربـت افـــرا

(Maple Syrup Urine Disease)

مجله نظام پزشکی
سال هفتم ، شماره ۶ ، صفحه ۳۷۷ ، ۱۳۵۹

دکتر رضا سید یزدانی * دکتر محمدعلی مولوی ـ دکتر حسین عاملی ـ اقدس غفاری‌زاده **

مقدمه :

بیماری‌شربت‌افرا برای‌نخستین‌باردرسال۱۹۵۴ توسط Menkes و همکارانش(۱) مورد بررسی‌قرار گرفت. آنها درادرار۴ کودك یك خانواده بوی خاص‌شیره مانندرا تشخیص‌دادند . کودکان این خانواده دارای اختلال‌های عصبی درحال پیشرفت بودند کـه در همان چند هفته اول زندگی ظاهر گشته وسبب مرگ آنهـا شده بود . درسال ۱۹۵۷ این بیماری‌توسط Westall وهمکارانش(۲) جزء نواقص‌متابولیکی ومادرزادی طبقه بندی شد وآنها دریافتند که غلظت اسیدهای‌آمینه لوسین ، ایزولوسین ووالین درپلاسما و ادرار این‌بیماران افزایش‌یافته است . این‌بیماری‌بصورت مغلوب واتوزومال انتقال میبابد.

شرح حال بیمار :

وـ الف ، سومین کودك یك خانواده ملایری است با دوخواهرو برادرسالم ، پدرومادر، خویشاوندنبودند، دوران‌حاملگی‌بی‌هیچ‌گونه ناراحتی‌وزایمان‌کاملا طبیعی بود. وزن نوزاد درهنگام‌تولد ۲۵۰۰ گرم بود . نـوزاد در دهم عمر بعلت سیانـوز ، تشنج ، بی‌اشتهائی ونخوردن شیر به بیمارستان مراجعه‌کرد و باتشخیص کزاز بـا سرم ضدکزاز وپنی‌سیلین ودیازپام تحت درمان قرار گرفت. حال‌عمومی‌نوزاد روزپانزدهم بدشد ، حرارت بدن‌پائین آمد و حالت استفراغ پیدا کرد .



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

* دانشکده پزشکی ، دانشگاه تهران .
** مرکز تحقیقات ژنتیك انسانی ـ بیمارستان محبوبه متحدین ـ تهران .

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

درسه ماهگی بعد ازبهبود از تب وعفونت، حالت تشنج وحرکات غیرمنظم درچشم ادامه می‌یابد، سپس کاهش قند خون و افزایش آمونیاك درخون گزارش میشود.

علائم آزمایشگاهی:

تعدادگلبولهای سفید ۸۰۰۰ درمیلیمترمکعب، پلاکتها ۵۴۰۰۰۰، نوتروفیل۵۷٪، ائوزینوفیل ۱٪، لنفوسیت ۴۲٪، هموگلوبین ۱۱/۵ گرم، مونوسیت ۴٪، رتیکولوسیت ۲/۹٪، هماتوکریت ۲۶٪، کلسیم سرم ۹/۸٪ میلی‌گرم، سدیم سرم ۱۳۶ mEq/L، پتاسیم سرم ۵/۴ mEq/L، انیدریدکربنیك درسرم ۲۶ mEq/L بود. بیمار در سه ماهگی جهت بررسی‌های بیشتر به مرکز تحقیقات و مشاوره ژنتیك انسانی فرستاده شد. در آنجا بعد از آزمایش‌های بالینی‌وآزمایشگاهی‌لازم، تشخیص‌بیماری شربت‌افرا داده شدکه بلافاصله تحت رژیم غذائی مخصوص قرارگرفت. رژیم باید فاقد اسیدهای‌آمینه باشاخه جانبی باشد و بآن چربی، کربوهیدرات، مواد معدنی و ویتامین اضافه شود.

این‌رژیم باید باندازه‌کافی‌اسیدآمینه برای‌رشدداشته باشد. گاهی این بیماران را با تیامین‌هم درمان میکنند. رژیمی که به‌والدین بیمار توصیه شد شامل شیرکم پروتئین، ژلاتین، آرد برنج، آب میوه، سبزیجات ومواد معدنی‌بود. درنتیجه این‌رژیم حالات تشنج کاهش‌یافت و وزن بیمار افزایش‌پیداکرد. ولی‌متأسفانه این نوزاد درچهارو نیم‌ماهگی بعلت رعایت نکردن دقیق رژیم غذائی بطور ناگهانی درمنزل فوت شد.

روش آزمایش‌های انجام شده در بیمار :

۱ـ ادرار۲۴ساعته از بیمار تهیه شد ودر ۲۰ـ درجه سانتی‌گراد نگهداری‌گردید.

۲ـ مقدار ۵۰ میلی‌گرم اسید سولفوسالیسیلیك به ۱میلی‌لیترخون بیمار اضافه‌کرده بعد از سانتریفوژ، محلول بدست آمده جهت بررسی اسیدهای آمینه در ۲۰ـ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آزمایش شیمیائی ادرار:

۱/۵ گرم‌ازمعرف۲ـ۴دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین‌رادر ۴۰۰میلی‌لیتر ازمتانول شیمیائی حل‌کرده به‌آن ۱۰۰میلی‌لیتر ازمحلول۶نرمال اسیدکلریدریك‌اضافه شد، بعدازحل شدن دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین محلول ازصافی گذرانده شد ودرشیشه تاریك ریخته و در یخچال نگهداری‌شد. یك‌میلی‌لیتراز ادرار را درداخل‌لوله‌آزمایش‌ریخته بعد ازسانتریفوژکردن ۳ قطره ازمحلول دی‌نیتروفنیل‌هیدرازین بآن اضافه‌گردید، ظهور رنك‌زرد روشن ورسوب تیره در داخل لوله آزمایش نشان‌دهنده نتیجه مثبت برای افزایش‌دفع کتواسیدها در ادرار بود.

کروماتوگرافی والکتروفورزخون وادرار:

الف ـ کروماتوگرافی‌کتواسیدها در ادرار

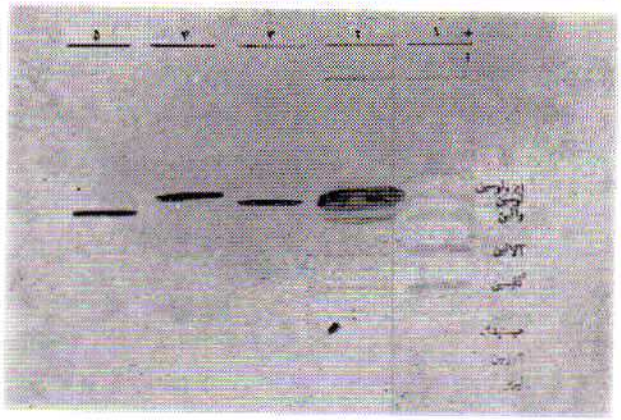
خالص کردن ادرارجهت‌بررسی‌کتواسیدها مطابق‌روش Menkes (۳) و Seligson و Shapiro (۴) انجام پذیرفت. مقدار ۵ تا ۱۰ میکرو لیتر از محلول‌کتواسیدهای حاصل از روش بالا را روی سلیکاژل نوع G گذارده سپس درتانك محتوی ایزوآمیل و الکل‌اتیلیك۲۵٪ وهیدروکسیدآمونیم۲۵٪ بانسبت۱۰: ۲۰۰قرار داده شد. مدت لازم جهت‌کروماتوگرافی‌کتواسیدها ۴تا۶ساعت درحرارت‌آزمایشگاه بودکه پس ازخشك شدن کروماتوگرام در جریان هوا، در زیر پرتو ماوراء بنفش مشاهده گردید. نتایج بدست‌آمده مشخص‌کننده افزایش قابل‌ملاحظه‌کتواسیدهای‌حاصل از ترانس‌آمیناسیون آمینواسیدهای فزونی یافته دراین‌شیرخوار بود.

ب ـ الکتروفورز اسیدهای آمینه با ولتاژ بالا

نمونه ادرارکه معادل ۱۵۰ میکروگرم کرآتینین باحدود ۲۵ـ ۱۰۰ میکرولیتر ادرار وهمچنین نمونه خون بدون پروتئین بعد ازغلیظ کردن روی‌کاغذ الکتروفورز اختصاصی (کمپانی‌ساوانت) قرارداده شد. برای آزمایش الکتروفورز محلول اسید فرمیك، اسید اسیتیك و آب با نسبت ۸۷:۸۸۷ و ۲۷ و با PH = ۱/۹ مورد استفاده قرارگرفت. الکتروفورز در درجه حرارت ثابت ۵+درجه سانتی‌گراد ودر۴/۵ کیلو ولت بمدت ۹۰دقیقه‌انجام پذیرفت. نتیجه این آزمایش نمایان کننده افزایش قابل ملاحظه اسیدهای آمینه لوسین و ایزولوسین و والین در ادرار و خون بیمار بود.

پ‌ـکروماتوگرافی اسیدهای آمینه :

نمونه‌های ادراروخون‌جهت بررسی روی‌کاغذ واتمن‌شماره MM ۳ قرارداده شد واین‌کاغذ بداخل‌تانك کروماتوگرافی که‌محتوی محلول بوتانول، اسید استیك وآب بانسبت ۵:۳:۱۲ بود، انتقال یافت. مدت کروماتوگرافی برابر ۱۸ ساعت بود. رنك‌آمیزی کاغذ الکتروفورزوکرماتوگرافی بعد از خشك‌کردن آنها با استفاده از محلول ۰/۵ گرم درصدنین‌هیدرین دراستون انجام پذیرفت.



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 وتا حدی والین وجود دارد.

شکل شماره ۳ نمایش‌دهنده بررسی کروماتوگرافی ازادرار بیمار که افزایش اسیدهای آمینه لوسین وایزولوسین و والین درآن 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

در بیمار مورد آزمایش کاهش قند خون دیده میشود که مطابق نظر De George (۶) این کاهش دراثر افزایش مقدار لوسین خون حاصل میگردد. Donnel وهمکارانش(۷) معتقدهستند که متابولیسم ناقص گلوکز یکی ازفاکتورهای شرکت کننده دربوجود آوردن کاهش قند خون‌در بیماری‌شربت‌افرا میباشد . مکانیسمی که موجب حالت‌تشنج‌واختلال‌های‌عصبی‌وحرکات غیرطبیعی‌چشم‌دراین بیماری میشود، دقیقاً شناخته نشده است . Snyderman و همکارانش (۵) معتقدند که افزایش‌لوسین ویا متابولیت‌های حاصل از آن دارای اهمیت خاصی دراین پدیده‌ها میباشند .

بحث :

درنوع کلاسیك بیماری شربت‌افرا، نوزاد درهنگام تولد کاملا‌طبیعی و حتی چندین روز بعدازآن هم هیچگونه علائم بالینی را نشان نمیدهد. عارضه معمولا در روز هفتم باحالت بیحالی وگریه بلند شروع شده سپس اختلال در حرکت چشمها وحالت تشنج منظم ظاهرمیگردد . ممکن است نخستین علامت بصورت نخوردن شیر تظاهر کند ورفلکس Moro ازبین برود که منجر به اختلال‌های دستگاه تنفس و حالت اغماء میشود . نوزاد بندرت قادر است درمراحل اولیه بیماری بزندگی خویش ادامه دهد . معمولا این بیماری سبب اختلال‌های عصبی وعقب ماندگی ذهنی بسیارشدیدی شده وعکس‌العمل‌های تاندونی و مورو کاهش میابد 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 باآغاز پیشرفت . اختلال‌های عصبی ظاهرمیشود . البته این نشانه اداری عمومیت ندارد ، بعبارت دیگرتمام موارد بیماری‌را نمیتوان ازبوی‌ادرار تشخیص داد. این بوی ویژه ممکنست در موی سر ، عرق بدن یا ترشحات گوش هم وجود داشته باشد ولی در ادرار مشخص‌تر وآشکارتراست . ازبروز بسیاری از اختلالات ونشانه‌های حاصل ازاین‌بیماری متابولیکی‌میتوان‌جلوگیری کرد بشرطی که‌بیماری نوزاد ازهمان هفته‌های اول زندگی تشخیص داده شود و تحت رژیم غذائی مخصوص قرارگیرد.

Westall و همکارانش درسال ۱۹۵۷ (۲) دریافتند که در ادرار این بیماران مقدارترکیبات کتواسیدکه دراثر ترانس‌آمیناسیون هریك‌ازاسیدهای‌آمینه مربوطه بدست می‌آید ظاهرمیشود که‌خود مشخص‌کننده محل توقف مسیر متابولیکی این بیماری میباشد. رشته‌های زنجیره‌ای کتواسیدها هم درخون و هم درمایع مغزی نخاعی این‌بیماران دیده میشود. دربین اسیدآمینه‌ها غلظت‌لوسین همیشه افزایش بیشتری از اسیدهای‌آمینه دیگر مانند ایزولوسین و والین دارد. آلوایزولوسین نیز درمایعات بدن ذخیره میشود.

اشکال بالینی بیماری شربت افرا :

انواع مختلفی از انشعابات زنجیره‌ای کتواسید اوری تاکنون گزارش شده است که هریك از آنها حالت ملایمتری را از نوع کلاسیك بیماری شربت افرا نشان میدهند (۱۰). اولین نوع آن بنام زنجیره متناوب کتواسیداوری (intermittent branched-chain ketoaciduria) میباشد که بیمارظاهراً دارای هیچگونه علائم بالینی مشخصی نیست مگر هنگامی که عفونتی ظاهر شود و یاعمل جراحی انجام پذیرد. دراینحال حالات عصبی ظاهر خواهد شد (۱۳ ، ۱۲ ، ۱۱) . نوع ملایم این بیماری هم میتواند کشنده باشد ، مثلا دریك بیمار که ظاهراً هیچگونه مشکلی طی چندین سال زندگی نداشته ، با یك عفونت ملایم به حالت اغماء افتاده و با تشنجات شدیدی فوت کرده‌است. بطورمعمول این بیماران دارای عدم تعادل شدید متناوب بوده و دارای نقصان یا کمبود نسبی در فعالیت آنزیمی بنام زنجیره کتواسید دکاربوکسیلاز (branched-chain ketoacid decarboxylase) میباشد (۱۰، ۱۴). درحالت 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 میباشند وبرعکس نوع اول دراین‌نوع بعضی‌علائم بیماری‌بصورت دائمی باقی میماند . اختلال بیوشیمیائی دراین بیماران دراثر ذخیره شدن آمینو اسیدها و کتواسیدها درمایعات بدن همیشه قابل تشخیص میباشد مگراینکه بیمار بطور جدی تحت درمان و رژیم ویژه قرارگرفته باشد . درسال ۱۹۷۴ Dancis (۱۰) انواع مختلف این بیماری را برحسب درجه تحمل مواد پروتئینی‌طبقه‌بندی نمود. درنوع کلاسیك یا عادی بیماران نمیتوانند پروتئین دربدن نگهدارند وبصورت‌اسهال دفع مینمایند وتنها باآسیدهای آمینه مصنوعی‌وخالص این بیماران قادرند به زندگی‌خویش‌ادامه دهد. میزان فعالیت‌آنزیمی درنوع کلاسیك درحدود ۲٪ میباشد. در نوع دوم تحمل پروتئین تقریباً کافی برای رشد طبیعی کودك ۲ تا ۲/۵ گرم در هر کیلو میباشد . میزان فعالیت آنزیمی در این دسته بین ۲–۸٪ طبیعی است. درنوع سوم تغذیه بدون محدودیت قابل تحمل میباشد در این بیماران حملات عدم تعادل وحتی تشنج و اغماء بعد ازیك عفونت ظاهرمیشود وفعالیت آنزیمی دراین‌بیماری معمولا بین۱۶–۱۸٪ طبیعی‌است . درنوع دیگری ازاین بیماری خصوصیات بالینی مشابه بانوع سوم است اما اختلال‌های بیوشیمیائی میتواند با تجویز مقدار زیاد تیامین تصحیح گردد . بنابراین نوع بیماری بنام شربت افرای حساس به‌تیامین نامگزاری شده است (۱۷).

بیماری شربت افرا از نظر ارثی :

انواع مختلف بیماری شربت‌افرا با علائم بالینی متفاوت احتمالا در اثر موتاسیونهای متفاوتی ظاهر میشودکه تاکنون در سطح مولکولی طبیعت این‌گونه موتاسیونها دقیقاً شناخته نشده است . اطلاعات بدست آمده درمورد انواع موتاسیونهای مربوط به‌این بیماری‌دراثر بررسیهای هتروکاریونها درکشت سلولی‌بدست‌آمده است . سلولهای فیبروبلاست ازیك بیمار مبتلا به نوع کلاسیك بیماری ، بافیبروبلاست بیمارنوع دیگرمخلوط شدکه نتیجه این آزمایش نشان دهنده مکمل بودن این‌دوسلول فیبروبلاست است . دراین‌حال میزان فعالیت‌آنزیمی دراین سلولها افزایش بیشتراز هردو سلول اولیه را دارا میباشد. تفسیر این نتایج نشان دهنده این است که دوسلول حمل کننده دو نوع موتاسیون متفاوت بوده‌اندکه دراثر مخلوط شدن با یکدیگر عمل تکمیل و تصحیح صورت گرفته است .

بررسی بیماری شربت افرا در ۹ کشوراروپائی تاکنون مشخص کننده کثرت این بیماری با نسبت ۱۲۰۰۰۰ : ۱ یا (۱۲ نمونه بیماری در ۱/۵ میلیون تن بوده است) ، (۱۹). درماساچوست برنامه بررسی موجب تعیین ۳مورد نوع عادی شربت‌افرا دربین ۸۷۲/۶۶۰ نوزاد شده است ، (۲۹۰۰۰۰ : ۱) ، (۲۰). بنظر میرسد که ارقام داده شده مبین وفور واقعی این بیماری نباشد زیراکه بسیاری از بیماران مبتلا به‌شربت‌افرا نشانه‌های بیماری آنها در مراحل پیشرفته زندگی جلوه‌گر میشود . بررسی‌های بیوشیمیائی وآنزیمی میتواند تاحدی مشخص‌کننده افراد هترو - زیگوت باشدکه هریك دارای فعالیت آنزیمی کاهش یافته نسبت به افراد طبیعی میباشند . اندازه‌گیری فعالیت آنزیم انشعابات زنجیره‌ای دکربوکسیلاز در لوله آزمایش یا فیبروبلاست یا گلبولهای سفید را میتوان با بررسی تبدیل شدن لوسین C^{14} ، ایزولوسین C^{14} و والین C^{14} یاآلفا–کتوایزوکاپروئیك‌اسید C^{14} به CO^{14}_2 اندازه‌گیری کرد . تشخیص بیماری شربت افرا که طی‌این‌مقاله‌گزارش شده ازبین ۳۵۰ کودك ونوزادی‌است‌که برای بررسی‌اختلال‌های متابولیسمی‌باین‌مرکزمراجعه کرده‌اند. خانواده‌این‌بیمارهیچگونه‌خویشاوندی‌بایکدیگر نداشته‌وطی‌چندین نسل‌ساکن‌شهرملایر بوده‌اند. چون این‌بیماری دراثرهموزیگوتی ژنهای نهفته بروزمینماید، لذا پدرومادر نوزاد هریك‌حمل کننده ژن بیماری بصورت هتروزیگوت میباشند و بااحتمال ۲۵٪ منتقل کننده بیماری به‌فرزندان خود میباشند.

راجع به هتروزیگوت بودن والدین بعلت در دست نبودن وسائل وآزمونهای لازم‌بررسی انجام نگرفت.ولی‌مسأله مهم این استکه کثرت این عارضه در ازدواجهای غیرخانوادگی فوق العاده نادر است .

یك نمونه دیگر از بیماری شربت‌افرا درایران قبلا توسط دکتر قدسی دانشبد گزارش شده است (۲۱).

خلاصه :

نوزادسه ماهه‌دارای نشانه‌های بالینی تشنج، بی‌اشتهائی، سفتی وانقباض عضلانی ، حرکات نامنظم چشم وباکاهش قند خون جهت بررسی‌های ژنتیکی به مرکز تحقیقات ژنتیك انسانی فرستاده شد. در بررسی، ادرارنوزاددارای بوی خاص شربت‌افرا بود. آزمایش‌های شیمیائی، کروماتوگرافی والکتروفورز از ادار و خون بیمار در چندین نوبت بعمل آمد که هریك مشخص کننده افزایش قابل‌ملاحظه اسید آمینه‌های لوسین ، ایزولوسین ووالین‌درخون وادرار بود. در ادرار این‌نوزاد افزایش ترکیبات کتواسیدی که دراثر ترانس آمیناسیون اسیدآمینه‌هـای لوسین ، ایزولوسین و والین حاصل شده دیده میشود. نتایج بررسی‌های بالینی‌وپاراکلینیکی ازنوزاد مشخص کننده بیماری بسیار نادر شربت‌افرا 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 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.: Lencet 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.

۲۱ـ دکتر قدسی دانشبد ، یك مورد بیماری شربت افرا ، مجله نظام پزشکی ، جلد ۴ شماره ۱ ، صفحه ۲۱ ، سال ۱۳۵۳