

ضرورت انجام تست‌های غربالگری در بیماران مشکوک به اختلالات ارثی متابولیسم برای تشخیص و درمان زود هنگام بیماری

دکتر مرتضی پورفرزام^۱، بهارا براتی^۲

مقاله مروری

چکیده

ارگانیک اسیدوری یا ارگانیک اسیدی گرومی از بیماری‌های متابولیسم مادرزادی هستند که اغلب در اثر فقدان یا کمبود فعالیت یک آنزیم در مسیر کاتابولیسم اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، کربوهیدرات‌ها، کلسترول، آمین‌های بیوژنی، اسیدهای نوکلئیک و استروئیدها ایجاد می‌شوند. تشخیص دقیق، زود هنگام و پیگیری درمانی این بیماری‌ها از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است تا بتوان بدین وسیله مانع آسیب دائمی به سیستم عصبی و عقب‌ماندگی ذهنی و یا مرگ این بیماران شد. تغییرات پاتولوژیک در کاتابولیسم عادی ترکیبات فوق به طور معمول باعث تغییر الگوی اسیدهای ارگانیک دفع‌شده در ادرار می‌شود. این تغییرات با آنالیز اسید به وسیله روش‌هایی مانند گاز کروماتوگرافی و طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) یا قابل تشخیص است. تست آنالیز اسیدهای ارگانیک ادرار تا به حال در ایران انجام نشده است و نمونه‌ها در حال حاضر برای آنالیز به خارج از کشور فرستاده می‌شوند. برای بررسی بیماران و تشخیص بیماری لازم است که محدوده طبیعی و همچنین الگوی اسیدهای ارگانیک ادرار در جمعیت سالم تعیین شود. عوامل ژنتیکی و محیطی و همچنین عادات و نوع تغذیه می‌توانند غلظت و الگوی اسیدهای ارگانیک در ادرار را تغییر دهند. بنابراین برای هر جمعیتی بایستی داده‌های طبیعی متناسب با آن جمعیت را جمع‌آوری نمود. چنین اطلاعاتی در مورد جمعیت ایران وجود ندارد بنابراین لازم است تا گردآوری شود.

واژگان کلیدی: ارگانیک اسیدوری، بیماری ارثی متابولیسم، غربالگری، گاز کروماتوگرافی و طیف‌سنجی جرمی

ارجاع: پورفرزام مرتضی، براتی بهارا. ضرورت انجام تست‌های غربالگری در بیماران مشکوک به اختلالات ارثی متابولیسم برای

تشخیص و درمان زود هنگام بیماری. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۱؛ ۳۰ (۲۲۱): ۲۴۹۳-۲۵۰۵

مقدمه

که به طور عادی در ادرار دفع می‌شوند و یا دفع اسیدهای غیرمعمولی است که در حالت عادی در ادرار افراد سالم قابل اندازه‌گیری نیستند. اسیدهای ارگانیک ترکیبات به نسبت محلول در آبی هستند که وزن مولکولی پایینی دارند و شامل یک یا چند گروه کربوکسیلیک می‌باشند. این ترکیبات طی واکنش‌های

ارگانیک اسیدوری یا ارگانیک اسیدی به آن دسته از بیماری‌های متابولیک گفته می‌شود که با تجمع غیرعادی اسیدهای ارگانیک (اسیدهای آلی) در مایعات بدن همراه هستند. ویژگی شاخص این بیماری‌ها یا افزایش غلظت اسیدهای ارگانیکی است

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای مرفه‌ای داروسازی به شماره‌ی ۳۸۹۴۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.

۱- دانشیار، گروه بیوشیمی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشجوی داروسازی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی و کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: pourfarzam@pharm.mui.ac.ir

نویسنده‌ی مسؤول: دکتر مرتضی پورفرزام

کاتابولیسم اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، کربوهیدرات‌ها، آمین‌های بیوژنی، اسیدهای نوکلئیک و استروئیدها ایجاد می‌شوند. تغییرات پاتولوژیک در کاتابولیسم عادی ترکیبات فوق به طور معمول باعث تغییر الگوی اسیدهای ارگانیک دفع‌شده در ادرار می‌شود. این تغییرات اغلب به واسطه‌ی کمبود فعالیت یک آنزیم در مسیر کاتابولیسم ترکیبات فوق ایجاد می‌گردد. این کمبود می‌تواند یا به دلیل نقص ژنتیکی در ساختار پروتئینی آنزیم مربوط ایجاد شود و یا به دلیل کمبود یک کوفاکتور خاص که برای فعالیت کاتالیتیکی یک آنزیم لازم است. کمبود کوفاکتور به نوبه‌ی خود یا می‌تواند به علت اختلال ارثی در جذب، انتقال و یا متابولیسم کوفاکتور به وجود آید و یا این که به طور اکتسابی در اثر اختلال در سنتز آن از ویتامین‌های پیش‌ماده ایجاد گردد (۳-۱).

کاهش فعالیت یک آنزیم می‌تواند منجر به تجمع سلولی پیش‌ماده‌ی آن شود. بسیاری از این ترکیبات واسطه، به صورت استرهای CoA (Coenzyme A) هستند که در غلظت‌های بالا برای سلول بسیار سمی می‌باشند. استرهای CoA از دیواره‌ی داخلی میتوکندری غیر قابل انتقال هستند. بنابراین، مکانیسم‌های مختلفی موجود است تا در صورت تجمع از این ترکیبات سم‌زدایی کند؛ به گونه‌ای که آن‌ها تبدیل به ترکیباتی بشوند که به راحتی از میتوکندری خارج و در ادرار دفع شوند. از جمله‌ی این مکانیسم‌ها به هیدرولیز پیوند استری و آزاد شدن اسید ارگانیک مربوط، اکسیداسیون اسید ارگانیک، تشکیل کنژوگه با گلیسین و تشکیل استر کارنیتین می‌توان اشاره کرد که به جز مورد آخر بقیه‌ی این ترکیبات جزئی از اسیدهای ارگانیک ادرار محسوب

می‌شوند (۶-۴).

تخمین زده می‌شود که بیش از ۲۵۰ اسید ارگانیک و کنژوگه‌ی گلیسین در ادرار وجود دارد. تاکنون حدود ۳۰ نوع بیماری را به صورت اختصاصی به اسیدهای ارگانیک نسبت داده‌اند که تعدادی از آن‌ها در جدول ۱ دیده می‌شود. اما با توجه به این که این اسیدها محصول واسطه‌ی متابولیسم مواد دیگری نیز می‌باشند، تغییرات پاتولوژیک در الگوی اسیدهای ارگانیک ادرار شخص بیمار در بیشتر از ۶۵ اختلال متابولیکی ارثی و اکتسابی دیده می‌شود. از جمله‌ی این بیماری‌ها می‌توان به سندرم Reye و شبه Reye، استفراغ جامایکا و کمبود ویتامین ب ۱۲ اشاره کرد (۱۱-۷).

بنابراین با آنالیز اسیدهای ارگانیک ادرار می‌توان این بیماری‌ها را تشخیص داد و یا در مورد بیماران شناخته‌شده، مؤثر بودن درمان را تحت نظر قرار داد. به علاوه با آنالیز اسیدهای ارگانیک در مایع آمنیون می‌توان تعدادی از این بیماری‌ها را قبل از تولد شناسایی کرد.

بیماری‌های ارگانیک اسیدوری با طیف وسیعی از علائم بالینی بروز می‌کنند. افرادی که دچار این اختلالات می‌باشند، اغلب دارای علائمی مثل تاکی‌پنه، هیپوتونی، هیپرآمونمی و یا کتواسیدوز در سنین نوزادی یا کودکی هستند. تعدادی از آن‌ها دچار مشکلات ذهنی و جسمی و به خصوص آسیب به سیستم عصبی می‌شوند و بسیاری نیز قبل از تشخیص از بین می‌روند (۱۲). علائم دیگر این بیماری‌ها عبارت از تشنج، تغییر در میزان آگاهی فرد، کما، اختلالات حرکتی، بی‌حالی، تهوع، بی‌اشتهایی، هپاتومگالی، تنفس همراه با درد، بوی غیر طبیعی بدن یا ادرار، مشکلات قلبی و ... می‌باشد (۱۳).

جدول ۱. بیماری‌های شناخته‌شده‌ی ارگانیک اسیدوری و نشانگرهای ویژه‌ی هر بیماری

نشانگر	بیماری ارگانیک اسیدوری
2-Hydroxyglutaric acid	2-Hydroxyglutaric aciduria
2-Hydroxyisocaproic acid	Maple syrup urine disease (MSUD)
2-Ketoadipic acid	2-Keto adipic aciduria
2-Ketoglutaric acid	2-Keto glutaric aciduria
2-Methylbutyrylglycine	2-Methylbutyryl-CoA dehydrogenase deficiency, Glutaric aciduria type II (GA II), Ethylmalonic encephalopathy
3-Hydroxy glutaric acid	Glutaric aciduria type I (GAI)
3-Hydroxy 3-methylglutaric acid	3-Hydroxy 3-methyl glutaric aciduria
3-Hydroxyisovaleric acid	Isovaleric aciduria (IVA), Multiple carboxylase deficiency (MCD)
3-Hydroxypropionic acid	Propionic aciduria (PA), MCD
3-Methyl crotonylglycine	3-Methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency, MCD
3-Methylglutaconic acid	3-Methylglutaconic aciduria
4-Hydroxybutyric acid	4-Hydroxy butyric aciduria
Adipic acid	Fatty acid oxidation disorders
Butyrylglycine	Short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (SCADD), GA II
Ethylmalonic Acid	SCADD, GA II, Ethylmalonic encephalopathy
Fumaric acid	Fumarase deficiency
Glutaric acid	GA I
Glycerol	Glycerol kinase deficiency
Glycolic acid	Hyperoxaluria type I
Hexanoylglycine	Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MCADD), GA II
Homogentisic acid	Alkaptonuria (ALK)
Isobutyrylglycine	Isobutyryl acyl-CoA dehydrogenase deficiency, GA II, Ethylmalonic encephalopathy
Isovalerylglycine	IVA, GA II
Lactic Acid	Lactic acidosis, mitochondrial respiratory chain disorders
Malonic acid	Malonic aciduria
Methylmalonic acid	Methylmalonic aciduria (MMA), Vit B12 deficiency
Mevalonic Acid	Mevalonic aciduria
N-acetylaspartate	Canavan Disease
N-Acetyltyrosine	Tyrosinaemias
Oxalic Acid	Hyperoxaluria type I & II
Phenylpropionylglycine	MCADD
Propionylglycine	PA, MMA
Sebacic acid	Fatty acid oxidation disorders
Succinylacetone	Tyrosinaemia type I
Tiglylglycine	Ketothiolase deficiency, 2-Methyl 3-hydroxy butyric aciduria

تشخیص زود هنگام و پیگیری درمانی این بیماری‌ها از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است تا به این وسیله بتوان مانع آسیب دائمی به سیستم عصبی و

بنابراین، تشخیص بالینی این بیماری‌ها کمابیش غیرممکن است و نیاز به تست‌های بیوشیمیایی و بیوشیمیایی-ژنتیک اختصاصی دارند. از طرفی،

بررسی بیماران و تشخیص بیماری لازم است که محدوده‌ی طبیعی و همچنین الگوی اسیدهای ارگانیک در ادرار در جمعیت سالم تعیین شود. عوامل ژنتیکی و محیطی و همچنین عادات و نوع تغذیه می‌توانند غلظت و الگوی اسیدهای ارگانیک در ادرار را تغییر دهند. بنابراین، برای هر جمعیتی باید داده‌های طبیعی متناسب با آن جمعیت جمع‌آوری نمود. چنین اطلاعاتی در مورد جمعیت ایران وجود ندارد و لازم است تا گردآوری شود.

روش استاندارد برای آنالیز کمی و کیفی اسیدهای ارگانیک GC/MS است (۲). اسیدهای ارگانیک ابتدا با یک روش مناسب از ادرار استخراج و پس از مشتق‌سازی، توسط گاز کروماتوگرافی از یکدیگر جدا می‌شوند. این ترکیبات سپس تک تک وارد طیف‌سنج جرمی می‌گردند و پس از آنالیز طیف جرمی آن‌ها ثبت می‌شود. تشخیص هویت هر ترکیب با توجه به شاخص‌های کروماتوگرافی و طیف جرمی آن انجام می‌شود. تفسیر طیف جرمی هر ترکیب به طور معمول از طریق مقایسه‌ی آن با طیف جرمی ترکیبات استاندارد و یا در موارد خاص به صورت دستی توسط کارشناس مجرب انجام می‌گیرد. از آنالیز اسیدهای ارگانیک ادرار با این روش یک الگوی متابولیکی به دست می‌آید که با تفسیر آن می‌توان به نوع بیماری پی برد؛ چرا که به طور معمول هر بیماری الگوی خاص خود را دارد که تفسیر آن توسط متخصصین مجرب انجام می‌گیرد. هر چند تلاش‌هایی برای توسعه‌ی نرم‌افزارهایی برای انجام این کار با استفاده از رایانه صورت گرفته است (۱۷). در آنالیز کمی مرحله‌ی استخراج از اهمیت خاصی برخوردار است؛ به طوری که باید اسیدهای

عقب‌ماندگی ذهنی و یا مرگ این بیماران شد. به همین دلیل، امروزه در بسیاری از کشورها برای بیماری‌های متابولیک تست‌های غربالگری نوزادان انجام می‌گیرد تا از این طریق با تشخیص و درمان به موقع این بیماران بتوان از بروز عوارض بیماری جلوگیری نمود و یا این که آن‌ها را به حداقل رساند (۱۴).

هنگام بررسی بیماران مشکوک به اختلالات متابولیک مادرزادی در نظر داشتن نکات زیر می‌تواند سودمند واقع شود:

۱. بررسی تاریخچه‌ی فامیلی: آیا والدین نسبت فامیلی دارند یا خیر؟ آیا سابقه‌ی سقط جنین و یا سابقه‌ی اختلالات متابولیکی در خانواده وجود دارد؟
۲. معاینات فیزیکی: وجود علائم بالینی ویژه نظیر درماتیت، آلورسی، کاتاراکت و ...
۳. تست‌های بیوشیمیایی اولیه: شامل شمارش کامل رده‌های خونی، میزان الکترولیت‌های بدن، گلوکز، آمونیاک، لاکتات، نسبت لاکتات به پیرووات و اجسام کتون.
۴. تست‌های بیوشیمیایی ویژه (غربالگری پیشرفته): اسیدهای ارگانیک ادرار، اسیدهای آمینه‌ی پلاسما و ادرار، استرهای کارنیتین خون، اسیدهای چرب زنجیره‌ی بلند پلاسما، کربوهیدرات‌های ادرار و ...
۵. تست‌های تشخیصی نهایی: تست‌های آنزیمی و تست‌های مولکولی (۱۵).

گاز کروماتوگرافی و طیف‌سنجی جرمی (Gas chromatography/mass spectrometry یا GC/MS)

تست آنالیز اسیدهای ارگانیک ادرار تا به حال در ایران انجام نشده است و نمونه‌ها در حال حاضر برای آنالیز به خارج از کشور فرستاده می‌شوند (۱۶). برای

که تخمین زده می‌شود شیوع آن‌ها در ایران به مراتب از متوسط شیوع جهانی بالاتر باشد (۲۰). در هر حال، تعیین دقیق شیوع این بیماری‌ها در کشور به منظور برنامه‌ریزی برای آینده مستلزم انجام برنامه‌ی غربالگری گسترده‌ی نوزادان برای بیماری‌های متابولیک است.

اطلاعات در دسترس از تحقیقات کلینیکی و غربالگری گسترده‌ی نوزادان حاکی از آن است که شیوع اختلالات متابولیکی به موارد زیادی نظیر نژاد، قومیت و ویژگی‌های اجتماعی و اقتصادی جامعه و بهداشت محیط وابسته است. به عنوان مثال، بیماری MCADD (Medium-chain acyl CoA dehydrogenase deficiency) کمابیش در کره و ژاپن نادر است، در حالی که شیوع آن در کشورهای اروپایی بالا (۱ در ۱۰۰۰۰ در انگلستان) می‌باشد (۲۱-۲۲).

در کشورهای خاورمیانه و شمال آفریقا (Middle east & north africa یا MENA)، که ایران، الجزیره، بحرین، قطر، عربستان سعودی، یمن، لیبی، تونس، کویت، اردن، سوریه و سودان از این دسته هستند، شواهد موجود حاکی از شیوع بالای اختلالات مربوط به هموگلوبین، اختلالات ارثی متابولیکی و مشکلات عصبی و مادرزادی می‌باشد (۲۳). یکی از دلایل این امر، رواج ازدواج‌های فامیلی (۷۰-۲۵ درصد ازدواج‌ها) در این جوامع است. به علت همین شیوع بالا، برنامه‌ی غربالگری نوزادان در این جمعیت‌ها ضروری به نظر می‌رسد. بررسی‌های انجام‌شده طی سال‌ها ثابت کرده است که شناسایی زود هنگام بیماری‌های متابولیک در نوزادان و درمان به موقع بیماران می‌تواند هزاران کودک را از اختلالات ذهنی، مشکلات پیچیده‌تر و حتی مرگ

ارگانیک محلول در ادرار را با ضریب قابل قبول و به طور تکرارپذیر در یک حلال آلی استخراج نمود. روش‌های متعددی برای این کار گزارش شده است که استخراج با حلال، کروماتوگرافی تعویض یونی و کروماتوگرافی مایع تقسیمی از آن جمله است (۱۸).

به منظور آنالیز اسیدهای ارگانیک با گاز کروماتوگرافی، پس از استخراج آن‌ها از ادرار، باید تبدیل به مشتقات فرار شوند. روش‌ها و واکنشگرهای متعددی برای مشتق‌سازی پیشنهاد شده است که از بین آن‌ها استرهای متیل و استرهای TMS (Trimethylsilyl) از بقیه رایج‌تر هستند. از طرفی شرایط واکنش مشتق‌سازی در بازده، تکرارپذیری و تشکیل استر مورد نظر تأثیرگذار است (۱۹).

مطالعات و اقدامات انجام‌شده (ایران - آسیا)

اطلاعات موجود در مورد بیماری‌های مادرزادی متابولیک به طور عمده حاصل مطالعاتی است که در کشورهای پیشرفته صورت گرفته است. با توجه به مقالات و شواهد موجود، به نظر می‌رسد که تاکنون در ایران مطالعات بسیار محدودی در زمینه‌ی بیماری‌های مادرزادی متابولیک انجام شده است و از میزان شیوع و تاریخچه‌ی طبیعی (Natural history) و ژنتیک بسیاری از این بیماری‌ها در کشور متأسفانه اطلاعات دقیقی در دست نیست؛ ولی با توجه به رواج ازدواج‌های فامیلی انتظار می‌رود شیوع این بیماری‌ها در ایران بالا باشد.

به عنوان مثال، از بررسی‌های انجام‌شده در سال‌های اخیر می‌توان به میزان شیوع سه بیماری PKU (Phenylketonuria)، Tyr (Tyrosinaemias) و MSUD (Maple syrup urine disease) اشاره کرد

نجات دهد (۲۴).

در چند سال اخیر مطالعات گسترده‌ای در مورد برخی از بیماری‌های متابولیک در چندین کشور عضو MENA انجام شده است (۲۳). یکی از این کشورها قطر می‌باشد که برنامه‌های انجام‌شده، از شیوع بالای بیماری‌های متابولیکی قابل درمان (۱ در ۱۳۰۰) در جمعیت نوزادان این کشور خبر می‌دهد (۲۵). به عنوان مثال، میزان بروز Homocystinuria در قطر، ۱ در ۱۸۰۰ نفر می‌باشد که بالاترین میزان در جهان است. به نظر می‌رسد که حدود ۸۵ درصد از این بیماران متعلق به خانواده‌هایی هستند که در آن‌ها ازدواج‌های فامیلی صورت گرفته است (۲۶).

مطالعات انجام شده در عربستان نیز حاکی از شیوع به نسب بالای بیماری‌های متابولیکی در این کشور است؛ به طوری که به تقریب از هر ۱۳۸۰ نفر، ۱ نفر مبتلا به یکی از اختلالات مربوط به متابولیسم اسیدهای ارگانیک، اسیدهای آمینه و اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌باشد که نزدیک به سه برابر شایع‌تر از متوسط جهانی است (۲۳).

در ادامه، به ذکر چند نمونه از اقداماتی که تاکنون در ایران و چند کشور آسیایی در زمینه‌ی شناسایی زود هنگام بیماری‌های متابولیک صورت گرفته است می‌پردازیم که در برخی از این موارد، از روش GC/MS برای آنالیز نمونه‌ها استفاده شده است.

در یک مطالعه، تهرانی و همکاران سه بیمار مبتلا به GA I (Glutaric aciduria type I) را گزارش کردند. نکته‌ی قابل توجه این که والدین هر سه بیمار مورد بررسی نسبت نزدیک فامیلی (First cousin) داشتند؛ این یافته، تأکیدی بر شیوع بیماری‌های متابولیک در فرزندان متولدشده در این خانواده‌ها

می‌باشد (۲۷).

GA I هنگامی ایجاد می‌شود که در عملکرد آنزیم glutaryl CoA dehydrogenase نقصی رخ دهد. علائم بیماری عبارت از هیپوتونی، تشنج، کاهش مهارت‌های حرکتی و ماکروسفالی پیش‌رونده است (۲۷). شیوع جهانی این بیماری به طور متوسط ۱ نفر به ازای هر ۵۰۰۰۰ تولد می‌باشد (۲۸)؛ البته در بعضی از جوامع شیوع آن به ۱ در ۵۰۰ هم می‌رسد. در صورتی که بیماری به موقع تشخیص داده و درمان نشود، ممکن است مشکلات عصبی و حرکتی برگشت‌ناپذیر برای بیمار ایجاد کند. تشخیص این بیماری با آنالیز اسیدهای ارگانیک ادرار به منظور نشان دادن افزایش دفع گلووتاریک اسید و ۳-هیدروکسی گلووتاریک اسید و یا با اندازه‌گیری غلظت گلووتاریل کارنیتین در خون امکان‌پذیر است.

در مطالعه‌ای دیگر که بر روی نمونه‌ی خونی ۱۰۴۴ بیمار مشکوک به بیماری مادرزادی متابولیک در شیراز انجام شد، نمونه‌ها با اندازه‌گیری اسیدهای آمینه در پلاسما به روش HPLC (High-performance liquid chromatography) آنالیز گردید و بر اساس موارد شناسایی شده شیوع بعضی از بیماری‌های مربوط به متابولیسم اسیدهای آمینه تخمین زده شد (۲۰). بر این اساس، شیوع بیماری‌های PKU، Tyr، MSUD در شیراز به ترتیب ۱ در ۳۵۷۲ نفر، ۱ در ۱۰۶۵۱ نفر و ۱ در ۲۱۳۰۳ نفر بود (۲۰).

از ۴۳ مورد PKU، ۱۵ مورد Tyr و ۶ مورد MSUD به ترتیب والدین ۳۴، ۱۱ و ۴ بیمار نسبت فامیلی داشتند (۲۰).

این مطالعه نشان داد که شیوع برخی اختلالات

متابولیسمی در این منطقه از کشور نسبت به متوسط سطح جهانی به طور هشداردهنده‌ای بالاتر است. به عنوان مثال، شیوع PKU و MSUD در کشورهای غربی به ترتیب حدود ۱ در ۱۰۰۰۰ و ۱ در ۱۸۰۰۰۰ تولد است. لازم به ذکر است که همه‌ی بیماری‌های گفته‌شده از طریق آنالیز اسیدهای ارگانیک ادراری نیز قابل شناسایی هستند.

مطالعه‌ی دیگری که توسط شفقتی و همکاران انجام شد، از نوع گزارش مورد بود که به بررسی ۶ مورد از بیماری L-2-hydroxyglutaric aciduria در ایران پرداخت (۱۶). L-2-Hydroxyglutaric Aciduria یک بیماری مادرزادی متابولیسمی عصبی نادر است که به طور معمول در سنین نوزادی یا کودکی علایم آن آشکار می‌شود؛ اما گزارش‌هایی مبنی بر بروز این بیماری در دوران بزرگسالی نیز وجود دارد. علایم و نشانه‌های این بیماری عبارت از اختلالات عصبی کند پیش‌رونده، عقب‌ماندگی ذهنی و حرکتی، اختلال در راه رفتن، آتاکسی، تشنج، ماکروسفالی و MRI غیر طبیعی می‌باشد (۱۶). با این که این بیماری نادر است، اما با توجه به بالا بودن میزان ازدواج‌های فامیلی در ایران و ارثی بودن بیماری، احتمال دارد شیوع این بیماری در بین بیماران با عقب‌افتادگی ذهنی و ماکروسفالی بالا باشد و در هنگام تشخیص افتراقی این بیماران،

باید احتمال بروز آن را هم مد نظر قرار داد. شناسایی این بیماری نیازمند آنالیز اسیدهای ارگانیک ادراری است. به همین دلیل، نمونه‌ی ادراری بیماران که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند با روش GC/MS در خارج از کشور آنالیز شد و بالا بودن غلظت L-2-hydroxyglutaric acid در نمونه‌ها تأیید گردید (۱۶).

آنالیز کیفی اسیدهای ارگانیک توسط GC/MS از سال ۱۹۸۰ در کشورهای توسعه‌یافته بر پا شد. در تایلند نیز این روش برای شناسایی اختلالات متابولیسمی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در یک مطالعه که طی ۳ سال در تایلند انجام گرفت، ۴۴۲ نمونه‌ی ادراری از ۳۶۵ بیمار که مشکوک به اختلالات متابولیک بودند، جمع‌آوری شد و مورد بررسی و آنالیز با GC/MS قرار گرفت. نتایج این مطالعه در به همراه نتایج مطالعات مشابهی در ژاپن، چین و هند جدول ۲ خلاصه شده است (۱۳).

در بین بیماران بررسی شده، ۳۶ مورد (۸ درصد) اختلالات متابولیک شناسایی شد که ۱۲ مورد (۳۳ درصد) آن مربوط به اسیدهای ارگانیک بود. این بیماری‌ها شامل MMA (Methyl malonic aciduria)، ALK, PA (Propionic aciduria) (Alkaptonuria)، IVA (Isovaleric aciduria)، GA I, GA II و MCD (Multiple carboxylase deficiency) بود.

جدول ۲. شیوع اختلالات ارگانیک اسیدی در تایلند، ژاپن و آسیا (چین و هند) (۱۳)

تایلند	ژاپن	چین و هند	
۴۴۲	۴۶۵۳	۱۳۶۹	تعداد نمونه‌های آنالیز شده
۳۶	۱۱۲	۷۶	تعداد بیماران متابولیک شناسایی شده
۱۲	۷۹	۶۲	تعداد بیماران مربوط به اختلالات اسیدهای ارگانیک
۲۰	۲۱	۱۳	تعداد بیماران مربوط به اختلالات اسیدهای آمینه

رژیم غذایی بیش از نیمی از بیماران بهبود یافتند و ۲۸ بیمار به زندگی عادی بازگشتند (۲۹).

این محققین گزارش کردند که روش GC/MS برای بررسی اسیدهای ارگانیک ادراری، یک روش موفق و اثبات شده در چین محسوب می شود و از زمان به کارگیری این روش پیش آگهی بیماران ارگانیک اسیدوری در چین به طور قابل ملاحظه‌ای بهبود یافته است (۲۹).

در مطالعه‌ی دیگری در چین تعداد ۶۲۱۰ نمونه‌ی ادرار و خون از نوزادان و کودکان مشکوک به اختلالات متابولیک، در بیمارستانی جمع‌آوری شد و برای تشخیص بیماری‌های مربوط به اسیدهای آمینه، اسیل کارنیتین و اسیدهای ارگانیک با استفاده از GC/MS و اسپکترومتری جرمی دو گانه مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع، ۱۲۱ مورد (۱/۹۵ درصد) بیمار با اختلالات متابولیسم اسیدهای آمینه و اسیدهای ارگانیک شناسایی شدند. این مطالعه شیوع بالای کلستاز داخل کبدی نوزادان به خاطر کمبود سیتین، اختلالات سیکل اوره، MMA، PKU، و Tyr I را در بیماران این منطقه نشان داد که با گزارش‌های در دسترس از اروپا و شمال آمریکا متفاوت است (۳۰).

این مطالعه برای شناسایی و درمان زود هنگام بیماری‌های متابولیکی روش‌های نوینی را پیشنهاد داد که از دقت و حساسیت بالایی برخوردار هستند؛ با توجه به بررسی‌هایی که در طی سال‌های اخیر انجام شده است شیوع این دسته بیماری‌ها بالاتر از حد انتظار به نظر می‌رسد.

در یک مطالعه‌ی دیگر در چین، گروهی از نوزادانی که در بخش مراقبت‌های ویژه‌ی نوزادان (Neonatal intensive care unit یا NICU) بستری

در این مطالعه، MMA و IVA بیشترین شیوع را داشتند. MMA در اکثر مطالعات شایع‌ترین بیماری ارگانیک اسیدوری می‌باشد. شیوع IVA در این مطالعه نسبت به مطالعات مشابه دیگر به نسبت بالاتر بود. همچنین، در این مطالعه ۹ مورد بیماری MSUD شناسایی شد که در مقایسه با مطالعات دیگر شیوع بالاتری را نشان داد (۱۳).

فراوانی نسبی IVA و MSUD در تایلند ممکن است ویژگی خاص این جمعیت را نشان دهد و باز تأکیدی بر این نکته است که میزان شیوع، تاریخ طبیعی، ژنتیک و دیگر ویژگی‌های بیماری‌های ارثی متابولیسم در جمعیت‌ها و نژادهای مختلف متفاوت است و لازم است که اطلاعات مربوط به هر جمعیتی جمع‌آوری شود.

در مطالعه‌ای دیگر، ۹۵۶۶ نمونه‌ی ادرار از بیماران دارای علایم اختلالات متابولیک همچون عقب‌ماندگی ذهنی و حرکتی، تشنج، تهوع و عدم هوشیاری از بیمارستانی در چین جمع‌آوری شد. سپس، الگوی اسیدهای ارگانیک ادراری با استفاده از روش GC/MS و اسیل کارنیتین‌های خون بیماران با استفاده از روش اسپکترومتری جرمی دو گانه (Tandem mass spectrometry) مورد آنالیز قرار گرفت (۲۹).

در مجموع، تعداد ۱۶۸ مورد (۱/۷۶ درصد) بیمار مبتلا به اختلالات اسیدهای ارگانیک شناسایی شدند. بیشترین موارد مربوط به اختلالات MMA (۱۱۶ مورد) بود که از این تعداد ۶۳ نفر MMA و Homocystinuria توأم داشتند (۲۹).

همچنین، ۱۶ بیمار با PA، ۱۵ بیمار با MCD و ۷ بیمار با GA I شناسایی شدند. پس از درمان با دارو و

با توجه به شیوع بالای این بیماری‌ها در آسیا و ایران، ایجاد چنین الگویی در کشور ما نیز لازم و ضروری به نظر می‌رسد. یک طرح تحقیقاتی در گروه بیوشیمی دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان در حال انجام است که هدف اصلی آن برپایی و ارزیابی این روش است. مثالی از نتایج اولیه‌ی این طرح که الگوی اسیدهای ارگانیک ادراری از فردی مبتلا به بیماری Canavan را نشان می‌دهد، در شکل ۱ آورده شده است. در این شکل افزایش دفع ادراری N-acetyl aspartate که ویژه‌ی این بیماری است به خوبی دیده می‌شود. امید است که این مطالعه زمینه‌ای باشد تا سایر آزمایشگاه‌های تخصصی هم این تست را بر پا کنند. در این روش ابتدا اسیدهای ارگانیک توسط اتیل استات استخراج و پس از خارج کردن حلال، با استفاده از BSTFA/TMCS مشتق‌سازی گردیدند و به استرهای TMS تبدیل شدند. در انتها نیز مورد آنالیز با دستگاه GC/MS قرار گرفتند.

بحث

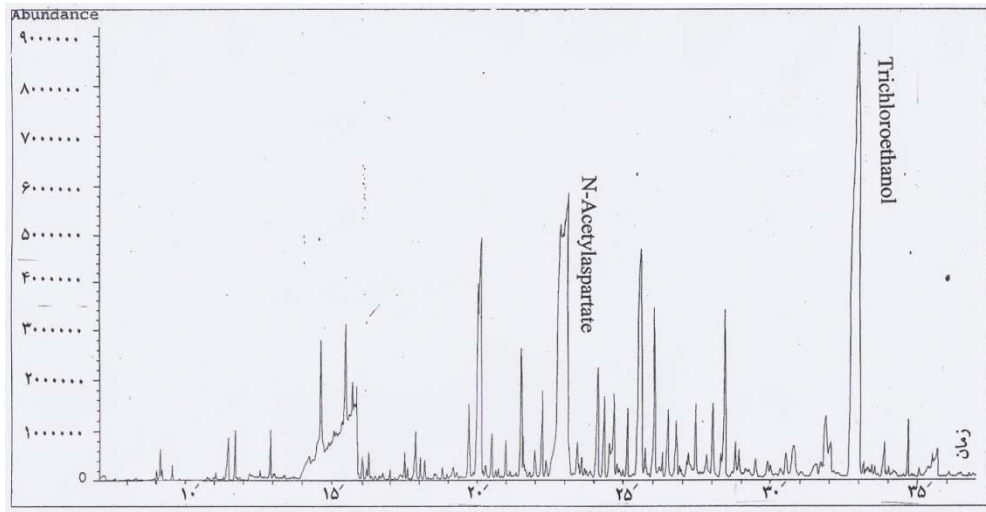
بیماری‌های ارثی متابولیک شامل گروهی از بیماری‌های ناهمگن است که تخصص ویژه‌ای از طب نوزادان و کودکان را تشکیل می‌دهند. اختلالات متابولیسم اسیدهای ارگانیک از جمله‌ی این بیماری‌ها محسوب می‌شوند.

طیف بالینی این بیماری‌ها محدوده‌ی وسیعی از علائم را در بر می‌گیرد که نشان‌دهنده‌ی درگیری سیستم‌های متعدد بدن است؛ تأخیر در رشد، عقب‌ماندگی ذهنی، تشنج، تغییر در سطح هشیاری یا کما، آسیب‌های عصبی، هیپوتونی، مشکلات حرکتی،

شده بودند، برای بیماری‌های متابولیک مورد بررسی قرار گرفتند. ۷۲۴ نمونه برای اسیدهای ارگانیک و استرهای کارنیتین به ترتیب با استفاده از GC/MS و اسپکترومتری جرمی دو گانه مورد بررسی قرار گرفت و ۸ مورد (۱/۱ درصد) بیماری متابولیک ارثی شناسایی شد که بیشترین موارد مربوط به MMA بود (۳ مورد). این بیماران همگی نیاز به درمان تهاجمی و تنفس مکانیکی (Mechanical ventilation) داشتند. به علاوه ۲ بیمار Tyr I، ۱ بیمار PA، ۱ بیمار MSUD و یک بیمار GA II نیز شناسایی شدند. میان‌ه‌ی (Median) مدت زمان بستری نوزادان در NICU در این مطالعه برای همه‌ی بیماران در حدود ۶/۳ روز بود ولی در بیمارانی که با بیماری متابولیک ارثی شناسایی شده بودند، به ۳ روز کاهش یافت. این نکته بیانگر این است که تشخیص سریع بیماران نه تنها در درمان و کاهش عوارض بیماری مؤثر است بلکه می‌تواند مدت زمان بستری بیماران در بیمارستان را نیز به طور قابل توجهی کاهش دهد (۳۱).

نتایج مقدماتی یک مطالعه‌ی در حال انجام

تست آنالیز اسیدهای ارگانیک ادرار به روش GC/MS یک تست غربالگری است که قادر است بیش از ۳۰ گونه از این بیماری‌ها را هم‌زمان در یک آنالیز شناسایی کند (جدول ۱). این تست تا به حال در ایران انجام نشده است و نمونه‌ها در حال حاضر برای آنالیز به خارج از کشور فرستاده می‌شوند. استفاده از این روش‌ها زمانی مفید خواهد بود که هر کشور الگوی خاص اسیدهای ارگانیک ادراری مربوط به جمعیت سالم خود را تهیه کند تا بتوان نمونه‌ها را با این الگو تطبیق داد.



شکل ۱. آنالیز اسیدهای ارگانیک در ادرار بیمار مبتلا به بیماری Canavan

اندازه‌گیری هستند (۳۲) و اندازه‌گیری هم‌زمان آن‌ها شناسایی حداقل ۸۰ بیماری متابولیک را امکان‌پذیر می‌نماید.

تشخیص بیماری‌های ارثی متابولیسم همچون ارگانیک اسیدوری نه تنها نیازمند تکنیک و روش‌های آزمایشی تخصصی است، بلکه مستلزم آموزش پزشکانی است که نسبت به این بیماری‌ها آگاهی دارند و آن‌ها را به صورت بیماری‌های نادر غیر قابل علاج تصور نمی‌کنند.

با تشخیص و درمان به موقع، بسیاری از اختلالات ارثی متابولیک قابل کنترل هستند و یا حداقل می‌توان مانع از آسیب‌های جدی برگشت‌ناپذیر به بیمار شد. به علاوه تشخیص دقیق و زود هنگام بیماری دستاوردهای دیگری همچون کاهش زمان بستری در بیمارستان و کاهش هزینه‌ی انجام تست‌های غیر ضروری برای بیمار را هم به دنبال خواهد داشت.

از طرف دیگر، هر چند شیوع بیماری‌های متابولیک به طور مجزا ممکن است نادر باشد ولی در

لتارژی، استفراغ، بی‌اشتهایی، بی‌قراری، بوی غیر عادی مایعات بدن، هیپاتومگالی، اختلالات تنفسی و مشکلات ماهیچه‌ای و قلبی از این جمله‌ی این علائم است.

افراد مبتلا به نوع شدید بیماری، اغلب علائم بیماری را به صورت بحران‌های تهدیدکننده‌ای در اولین روزهای پس از تولد بروز می‌دهند که نیاز به اقدام فوری و ویژه دارند. کودکانی که تحت درمان فوری و مداوم قرار می‌گیرند، اغلب رشد و نمو طبیعی خواهند داشت.

امروزه در بسیاری از کشورهای توسعه‌یافته برنامه‌های غربالگری بیماری‌های متابولیک نوزادان جزء برنامه‌های سلامت عمومی هستند که عوارض و مرگ و میر ناشی از اختلالات مادرزادی متابولیک را کاهش می‌دهند.

آنالیز اسیدهای ارگانیک در ادرار و اسیدهای آمینه و استرهای کارنیتین در خون، تست‌های اصلی برای شناسایی بیماری‌های ارثی متابولیک هستند. این ترکیبات به ترتیب با GC/MS و Tandem MS قابل

تصور می‌رود که میزان شیوع این بیماری‌ها در جمعیت ایران به نسبت بالا و به طور قطع بالاتر از سطح متوسط جهانی باشد.

مجموع این گونه نیست و حجم قابل توجهی از بیماری‌های نوزادان و کودکان را تشکیل می‌دهند. به علاوه با توجه به رواج ازدواج‌های فامیلی در ایران

References

- Rinaldo P. Organic acids. In: Blau N, Duran M, Gibson KM, editors. Laboratory guide to the methods in biochemical genetics. Berlin, Germany: Springer-Verlag; 2008. p. 137-70.
- Chalmers RA, Lawson AM. Organic acids in man. London, UK: Chapman and Hall; 1982.
- Rosenberg LE. Vitamin-responsive inherited metabolic disorders. *Adv Hum Genet* 1976; 6: 1-74.
- Bartlett K, Gompertz D. The specificity of glycine-N-acylase and acylglycine excretion in the organicacidaemias. *Biochem Med* 1974; 10(1): 15-23.
- Matern D. Acylcarnitines. In: Blau N, Duran M, Gibson KM, editors. Laboratory guide to the methods in biochemical genetics. Berlin, Germany: Springer-Verlag; 2008. p. 171-206.
- Bartlett K, Pourfarzam M. Recent developments in the detection of inherited disorders of mitochondrial beta-oxidation. *Biochem Soc Trans* 1998; 26(2): 145-52.
- Rinaldo P, Hahn SH, Matern D. Inborn errors of amino acid, organic acid, and fatty acid metabolism. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4th ed. Philadelphia, PA: W.B Saunders; 2005. p. 2207-47.
- Scriver CR, Sly WS, Childs B, Beaudet L, Valle D, Kinzler KW, et al. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 2000.
- Sweetman L. Organic acid analysis. In: Hommes FA, editor. Techniques in diagnostic human biochemical genetics. New York, NY: Wiley-Liss; 1991. p. 143-76.
- Tuchman M, Ulstrom RA. Urinary organic acids in health and disease. *Adv Pediatr* 1985; 32: 469-506.
- Kumps A, Duez P, Mardens Y. Metabolic, nutritional, iatrogenic, and artifactual sources of urinary organic acids: a comprehensive table. *Clin Chem* 2002; 48(5): 708-17.
- Hori D, Hasegawa Y, Kimura M, Yang Y, Verma IC, Yamaguchi S. Clinical onset and prognosis of Asian children with organic acidemias, as detected by analysis of urinary organic acids using GC/MS, instead of mass screening. *Brain Dev* 2005; 27(1): 39-45.
- Wasant P, Liammongkolkul S, Kuptanon C, Vatanavicharn N, Sathienkijakanchai A, Shinka T. Organic acid disorders detected by urine organic acid analysis: twelve cases in Thailand over three-year experience. *Clin Chim Acta* 2008; 392(1-2): 63-8.
- Bodamer OA, Hoffmann GF, Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30(4): 439-44.
- Rao AN, Kavitha J, Koch M, Suresh K, V. Inborn errors of metabolism: Review and data from a tertiary care center. *Indian J Clin Biochem* 2009; 24(3): 215-22.
- Shafeghati Y, Vakili G, Entezari A. L-2-hydroxyglutaric aciduria: a report of six cases and review of the literature. *Arch Iran Med* 2006; 9(2): 165-9.
- McGarry K, Bartlett K, Pourfarzam M. Exploratory data analysis for investigating GC-MS biomarkers. Proceedings of the 3rd IAPR International Conference on Pattern Recognition in Bioinformatics; 2008 Oct 15-17; Melbourne, Australia. Berlin, Germany: Springer-Verlag; 2008. p. 349-58.
- Wittmann G, Karg E, Muhl A, Bodamer OA, Turi S. Comparison of tetrahydrofuran and ethyl acetate as extraction solvents for urinary organic acid analysis. *J Inherit Metab Dis* 2008; 31(1): 73-80.
- Jones MG, Chalmers RA. Artefacts in organic acid analysis: occurrence and origin of partially trimethylsilylated 3-hydroxy-3-methyl carboxylic acids. *Clin Chim Acta* 2000; 300(1-2): 203-12.
- Golbahar J, Karamzadeh Z, Honardar Z. Selective screening of amino acid disorders in the south-west of Iran, Shiraz. *J Inherit Metab Dis* 2002; 25(6): 519-21.
- Fang-Hoffmann J, Lindner M, Shahbek N, Baric I, Hoffmann GF. Metabolic medicine: new developments in diagnosis and treatment of inborn errors of metabolism. *World J Pediatr* 2006; 2(3): 169-76.
- Pourfarzam M, Morris A, Appleton M, Craft A, Bartlett K. Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2001; 358(9287): 1063-4.
- Saadallah AA, Rashed MS. Newborn screening: experiences in the Middle East and North

- Africa. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30(4): 482-9.
24. Wilcken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Bowling F, Carpenter K, et al. Expanded newborn screening: outcome in screened and unscreened patients at age 6 years. *Pediatrics* 2009; 124(2): e241-e248.
 25. Lindner M, Abdoh G, Fang-Hoffmann J, Shabeck N, Al-Sayrafi M, Al-Janahi M, et al. Implementation of extended neonatal screening and a metabolic unit in the State of Qatar: developing and optimizing strategies in cooperation with the Neonatal Screening Center in Heidelberg. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30(4): 522-9.
 26. Zschocke J, Kebbewar M, Gan-Schreier H, Fischer C, Fang-Hoffmann J, Wilrich J, et al. Molecular neonatal screening for homocystinuria in the Qatari population. *Hum Mutat* 2009; 30(6): 1021-2.
 27. Tehrani S, ZamanTZ, Houshmand M. The clinical, Biochemical and molecular features of three Iranian patients with glutaric-CoA dehydrogenase deficiency. *Proceedings of the Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism*; 2011 30 Aug- 2 Sep; Geneva, Switzerland. *J Inherit Metab Dis* 2011; 34(Suppl 3): S140. [Abstract].
 28. Houshmand M, Aryani O, Pirzadeh Z, Ghasemi F, Salehpour S, Tehrani F. Molecular investigation of glutaric aciduria type 1 in Iran. *Iran J Child Neurol* 2012; 6(Suppl 1): 15-6.
 29. Yang Y, Yao Z, Song J, Hasegawa Y, Kimura M, Yamaguchi S, et al. Outcome of organic acidurias in China. *Ann Acad Med Singapore* 2008; 37(12 Suppl): 120-3.
 30. Sun W, Wang Y, Yang Y, Wang J, Cao Y, Luo F, et al. The screening of inborn errors of metabolism in sick Chinese infants by tandem mass spectrometry and gas chromatography/mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2011; 412(13-14): 1270-4.
 31. Tu W, He J, Dai F, Wang X, Li Y. Impact of inborn errors of metabolism on admission in a neonatal intensive care unit--a prospective cohort study. *Indian J Pediatr* 2012; 79(4): 494-500.
 32. Bartlett K, Eaton SJ, Pourfarzam M. New developments in neonatal screening. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1997; 77(2): F151-F154.

The Necessity of Screening of Individuals with Suspected Inherited Metabolic Disorders for Early Diagnosis and Treatment of Related Diseases

Morteza Pourfarzam PhD¹, Bahara Barati²

Review Article

Abstract

Organic acidurias (or organic acidemias) are a group of inherited metabolic disorders usually caused by loss or lack of the activity of one enzyme in the catabolic pathway of amino acids, fatty acids, carbohydrates, cholesterol, biogenic amines, nucleic acids, and steroids. Accurate and early diagnosis and follow-up of these disorders are very important in prevention of permanent damage of the nervous system, mental retardation, and death. Pathological changes in normal catabolism of these compounds are usually reflected in patient's urinary organic acid profile. These changes can be identified by analysis of urinary organic acids using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Since each disease usually has a unique profile, the disorders can be identified by this method. The analysis of urinary organic acids is not currently performed in Iran and samples are sent abroad for such evaluations. However, timely diagnosis and follow-up of these disorders requires accurate determination of normal ranges and profile of urinary organic acids in healthy populations. Genetic and environmental factors and dietary habits can affect the concentration of urinary organic acids. Therefore, data about each population has to be collected separately. The absence of such data in Iran necessitates assessments in the country.

Keywords: Organic aciduria, Inherited metabolic disorders, Screening, Gas chromatography-mass spectrometry

Citation: Pourfarzam M, Barati B. **The Necessity of Screening of Individuals with Suspected Inherited Metabolic Disorders for Early Diagnosis and Treatment of Related Diseases.** J Isfahan Med Sch 2013; 30(221): 2493-505

* This paper is derived from a Pharm D thesis No. 389492 in Isfahan University of Medical Sciences.

1- Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

2- Student of Pharmacy, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences AND Student Research Committee, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Morteza Pourfarzam PhD, Email: pourfarzam@pharm.mui.ac.ir