

BİR HİPERAMMONEMİ VAKASININ LABORATUVAR İNCELENMESİ*

Laboratory investigation of a case with hyperammonemia

M Ferit GÜRSU¹, Saadet AKARSU², Fikret KARATAŞ³

Özet:

Amaç: Elazığ'da 7 aylık bir süre ile pediatri polikliniklerine başvuran ve hiperammonemi tanısı alan hastalarda hiperammoneminin metabolik nedenini araştırmak amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Hiperammonemi tespit edilen bir hastada serum protein, amonyak, üre, ornitin, sitrülün, orotik asit ve ornitin transkarbamoilaz ile eritrosit arginaz ve idrar amonyak, üre, orotik asit düzeyleri ölçülmüştür.

Bulgular: Serum sonuçları normallere göre kıyaslandığında, amonyak değerlerinde 2.7 kat, sitrülün değerlerinde 5.5 kat ve protein düzeylerinde 1.8 kat artış, üre ve ornitin düzeylerinde ise düşüş tespit edilmiştir. Eritrosit arginaz aktivitesi % 20 dolaylarında düşük iken ornitin transkarbamoilaz aktivitesi serumda bulunamamıştır. İdrar düzeyleri serum değerlerine paralel sonuçlar göstermektedir.

Sonuç: Elde edilen bu sonuçlar literatür değerleriyle karşılaştırıldığında bu hiperammonemi vakasının bir üre döngüsü enzimi olan arginino süksinat sentetaz yetersizliği olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Enzim, Üre

Summary:

Purpose: The authors aimed at determining the metabolic effects of hyperammonemia in patients referred to the pediatric outpatients department and diagnosed as having hyperammonemia during a period of 7 months in Elazığ.

Material and methods: In a patient with hyperammonemia, serum levels of protein, ammonia, urea, ornithine, citrulline, orotic acid, ornithine carbamoyltransferase and urinary levels of erythrocyte arginase, ammonia, urea, orotic acid of a hyperammonemic patient was measured.

Results: The levels of ammonia, citrulline and protein, compared with normal levels increased 2.7, 5.5 and 1.8 times, respectively. However, the levels of urea and ornithine decreased. Arginase activity in erythrocytes reduced by approximately 20%. No ornithine carbamoyltransferase activity in serum was determined. The levels of the parameters determined in serum were parallel to those in the urine.

Conclusion: When our results are compared with those in the literature, the deficiency in the present case may be due to inadequate levels of arginino succinate synthetase which is an urea cycle enzyme.

Key Words: Enzyme, Urea

Amino asitlerin katabolizmaları sonucu ortaya çıkan serbest amonyak merkezi sinir sistemi (MSS) dokusu için son derece zararlı olup, üre döngüsü enzim düzeylerinde azalmayla karakterize defektler ortaya çıkar(1-3). Üre döngüsü defektli çocuklar ağır

hiperammonemi nedenleri ile spastik problemler, konvulsiyon ve ağır mental gerilik tabloları gösterirler(2,4). Ataksi, koordinasyon bozuklukları, çift görme, motor bozukluklar, letarji, agresivite, oriyantasyon bozukluğu ve depresyon gibi nörolojik ve psişik belirti gösteren hastalarda tekrarlayan fişkırr tarzda kusmalar sıklıkla görülür(5).

*XV. Gevher Nesibe Tıp Günleri, 27-30 Mayıs 1997, Kayseri Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi ELAZIĞ
Biyokimya. Doç.Dr.¹.Pediatri. Y.Doç.Dr.².
Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi ELAZIĞ
Kimya.Y.Doç.Dr.³.

Geliş tarihi: 28 Mayıs 1997

Sonuçların çok değişken olmasına rağmen tedavide protein kısıtlamasının uygun olacağı ileri sürülür. Diyet tedavisinde esansiyel amino asitlerin alfa keto analogları daha etkili görülmektedir. Çünkü bu asitlerin yıkımında üre ve amonyak yapımı daha

azalmaktadır. Amino asitlerin anabolik ihtiyacı da alfa keto asitlerin diğer analoglara transaminasyonları mümkün olduğu için böylece karşılanmaktadır(6). Amonyak düzeyinin düşürülmesinde diğer bir yöntem sodyum benzoat (250 mg/kg/gün) verilmesidir. Sodyum benzoat, hippurik asit oluşturmak üzere endojen glisin ile birleşerek amonyağın detoksifikasyonu ve atılımında etkin rol oynar. Hippurik asit böbrekler yoluyla hızla dışarı atılır. Fenil asetat (250 mg/kg/gün) ta , fenilasetilglutamini oluşturmak üzere glutamin ile birleşerek hızla böbrekten atılan bir bileşiktir. Arginin verilmesiyle de (300-700 mg/kg/gün) üre döngüsünün bir ara metaboliti oluşarak amonyak atılımı artırılır. Katobolik durumu düzeltmek için yeterli kalori ve özellikle esansiyel amino asitleri içeren az miktarda protein (0.25-0.5 g/kg/gün) intravenöz olarak veya nazogastrik tüp yoluyla verilmektedir(5,6).

Amonyanın karaciğerde üreye dönüşümü Krebs-Henseleit döngüsü ile gerçekleşir (Şekil 1). Bu döngü 5 enzim tarafından sağlanmakta oluşan non toksik üre idrar ve ter ile dışarı atılmaktadır. Döngünün ilk enzimi karbamoil fosfat sentetaz (CPS) yetmezliği otozomal resesif geçişlidir. Enzim normalde karaciğer ve barsakta bulunur. Erken aylarda özellikle proteinli beslenmeden sonra ağırlaşan hastalarda yükselen kan amonyak seviyesi, protein kesildikten sonra normalleşir. Nörolojik bulgular geriler fakat glisinemi , nötropeni ve asidoz şekillenir; sonuç ölümdür(7).

Ornitin karbamoiltransferaz eksikliği (OTC) X'e bağlı dominant geçer. Erkek bebekler yenidoğan döneminde ölürken, kızlarda hastalık hafif seyirlidir. Bu üre siklus bozukluklarının en sık tipidir. CPS ve OTC yetersizliğinde aminoasitlerin kan düzeyleri ve idrarla atılımları normaldir. OTC yetersizliğinde idrarda orotik asit atılımı yüksektir. Tanı karaciğer biyopsisi ile alınan örneklerde OTC enzim aktivitesinin düşük bulunması ile konulur (8).

Argininosüksinat sentetaz (AS) eksikliğinde sitrullinin argininosüksinik aside dönüşmemesine bağlı bulgular gelişir. Otozomal resesif geçişlidir.

Kesin tanı karaciğer dokusunda ve fibroblast kültürlerinde enzim aktivitesi ölçülmesi ile konulur. Zeka geriliği sıkça görülür, amonyak ve sitrülün artışı ve idrar orotat yükselmesi görülür. Sitrülün'in beyne toksik etkisi vardır. Düşük protein diyeti ile hafif olgularda hasta yaşamını sürdürebilir(9). Argininosüksinik asidemili hastalarda saç kırılması (trichorhexis nodosa) ve asidoz vardır. Arginino süksinaz defekti, otozomal resesif geçer, eritrositlerde gösterilebilir. Üre düzeyi kan ve idrarda normaldir. Hastalığın iki formu vardır:

1) *Erken Form*: Gelişme geriliği , kusma ilk aylarda görülür .

2) *Geç Form*: Gelişme geriliği , konvulsiyon , ataksi 1 yaşından sonra görülür. Bu vakalarda aralıklı gelişen kusmalar , konvülsiyonlar , mikrosefali ve zeka geriliği vardır(10).

Argininosüksinat liyaz (AL) yetersizliği üre siklus bozukluklarının ikinci en sık tipidir. Bozukluk otozomal resesif geçişlidir. Prevalans 70000 canlı doğumda bir olarak verilmektedir. Argininosüksinik asit , arginin ve fumarik aside parçalanmayıp idrarla atılır. Başlıca laboratuvar bulguları olarak hiperammonemi, plazma glutamin ve alanin düzeylerinde artmanın yanında arginino süksinik asit düzeylerinde de belirgin artma saptanır . Bu hastalarda BOS da arginino süksinik asit düzeyi kana göre daha yüksektir . İdrarla atılım da artmıştır. Karaciğer, eritrosit ve fibroblastlarda enzim düzeyinin saptanması ile tanı konur(3,6).

Arginaz enzim yetersizliği otozomal resesif geçişlidir. Hiperammonemi, spastik diplegia, konvulsiyon ve ağır mental gerilikle beraber eritrositlerde arginaz aktivitesi eksikliği gösterirler. Plazmada arginin ve idrarda orotik asit belirgin olarak artar. Tanı, eritrositlerde arginaz aktivitesinde düşüklük saptanması ile konur. Düşük protein diyetinde hiperammonemi, idrardaki dibazik amino asit artışı (lizin, sistin gibi) geriler, argininemi devam eder(11).

Bu çalışmadaki amacımız, Elazığ ili Devlet Hastanesi Pediatri Kliniğine başvuran 6.5 aylık bir

bebeğin klinik ve laboratuvar bulguları doğrultusunda bir hiperammonyemi vakası olarak değerlendirilmesi sonucunda, bu hiperammonemik vakanın laboratuvarlarımızda asıl metabolik nedenini araştırmaktır. Çalışmalarımıza laboratuvarlarımızda devam edilecek ve Elazığ'da hiperammoneminin insidansı da araştırılacaktır.

MATERYAL VE METOD

V.Ö. (6.5 aylık- 5.2 kg) isimli erkek hasta kusma, ishal ve ateş nedenleriyle pediatri kliniğine başvurmuştur. Hastanın anamnezinde daha önceden 1-2 kez/gün olan fişkirir tarzda kusmanın son bir hafta içinde 10-15 kez/gün olduğu öğrenilmiştir. Hastamızda anne sütüne ilaveten protein içeren ek gıdaların verilmesinden 3-4 gün sonra kusmalar artmaya başlamıştır. İshal ve ateşin son iki gün içinde daha hafif düzeyde tabloya eklenmiş olduğu belirtilmiştir. Özgeçmişinde ailenin 5. çocuğu olduğu, normal gebelik süresinde doğduğu, prenatal dönemde birkaç kez annenin analjezik kullandığı, bebeğin postnatal dönemde sık enfeksiyon geçirdiği öğrenildi. Soygeçmişinde anne ve babanın sağlıklı ve 2. dereceden akraba oldukları, 2 kız çocukları sağlıklı olup, 2 erkek çocuklarının ise 1 aylık olmadan eksitus oldukları öğrenildi. Fizik muayenede cilt altı yağ dokusu incelmış olup ikinci dereceden dehidratasyonu mevcut bulunmuştur. Belirgin gelişme geriliği ve mikrosefali tespit edilmiştir. Karaciğer 3 cm olarak palpe edilmiştir.

Hastanın kan ve idrar örneklerindeki üre T.D.M.U

(12), amonyak Barthelot (13), protein Lowry (14), ornitin Chinard (15), Sitrülin Sahaki(16) orotik asit Brom bağlama (13) ve hemoglobin düzeyleri Cyanohemoglobin(13) yöntemi ile ölçülmüştür. Eritrositlerde arginaz aktivitesi spektrofotometrik T.D.M.U. (12) ve ornitin transkarbamoilaz aktivitesi ise karbamoil fosfat ve L-ornitinden oluşan sitrülin'in 2.3 -bütadien 2-oksım ile verdiği rengin spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile yapılmıştır(16). Ünite 1 mg protein başına 1 saatte L-argininden arginazla oluşan üre miktarı olarak alınmıştır.

$$\text{ÜNİTE} = \mu\text{mol üre} / \text{mg protein} \times \text{saat}$$

BULGULAR

Hiperammonemi genellikle merkezi sinir sistemine (MSS) ait klinik bulgularla kendini gösterir. Hastamızda kusma nedeninin araştırılması için tam kan sayımı, periferik yayma, eritrosit sedimentasyon hızı, elektrolitler, idrar ile gaita mikroskopi ve kültürü, batin ultrasonografisi yapıp patolojik bir sonuç elde edilememiştir. Santral kökenli bir kusmayı elimine etmek için çekilen beyin tomografisi normal bulunmuştur. Tekrarlayan günlük 10-15 kez kusma ve sulu ishal nedeniyle kusma nedeni olarak nadir görülen hiperammonemi sebepleri düşünülerek serum amonyak düzeyine bakılmıştır. Amonyak normal düzeye göre 2-3 kat daha yüksek tespit edilmiş ve vakanın bir üre döngüsü enzim defekti olabileceği varsayılarak incelemeye devam edilmiştir. Özgül aminoasitlerden Sitrullin düzeyi bakıldığında belirgin olarak yüksek tespit edilmiştir.

Tablo I. Normal ve hasta kanına ait laboratuvar bulguları

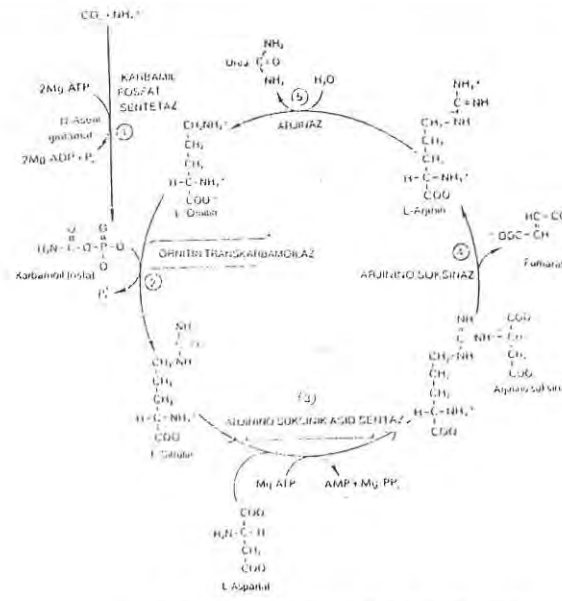
| | Normal değerler | Hastaya ait değerler |
|-----------------------|-----------------|----------------------|
| ÜRE (mg / dl) | 15 - 35 | 10 |
| AMONYAK (mM /l) | 35 - 50 | 94.5 |
| PROTEİN (g / dl) | 4.6 - 7.4 | 10.6 |
| ORNİTİN (mM) | 15 - 143 | 15.3 |
| SİTRÜLİN (mM) | 12 - 25 | 185 |
| OROTİK ASİT (µgr/ml) | 15 - 25 | 48 |
| HEMOGLOBİN (%g) | 13 - 16 | 10.5 |
| ERİTROSİT ARGİNAZ (U) | 70 - 110 | 60 |

Tablo II. Normal ve hasta idrarına ait laboratuvar bulguları

| | Normal değerler | Hastaya ait değerler |
|---------------------------|-----------------|----------------------|
| ÜRE (g / gün) | 25 - 45 | 27 |
| AMONYAK (mg /24 saat) | 500 - 1200 | 2480 |
| PROTEİN (mg / 24 saat) | 50 - 80 | Eser |
| ORNİTİN (mM /24 saat) | 1 - 44 | 5.9 |
| SİTRÜLİN (mM /24 saat) | 8 - 106 | 150 |
| OROTİK ASİT (mM /24 saat) | 0 - 14.6 | 25 |

Tablo III. Üre döngüsü bozukluklarında literatür değerleri

| | Kan plazması | | | İdrar |
|---|--------------|----------|-----------------|--------------------------|
| | Amonyak | Glutamin | Amino asitler | |
| Karbamojl fosfat sentez yetmezliği | ↑↑ | ↑↑ | Normal Sitrülin | Normal orotik asit |
| Ornitin karbamojl transferaz yetmezliği | ↑↑ | ↑↑ | Normal Sitrülin | ↑↑↑ Orotik asit |
| Argininosuksinat sentetaz yetmezliği | ↑↑ | ↑↑ | ↑↑↑ Sitrülin | ↑↑ Sitrülin |
| Argininosuksinat liyaz yetmezliği | ↑↑ | ↑↑ | ↑ Sitrülin | ↑↑ Argininosuksinik asit |
| Arginaz yetmezliği | ↑↑ | ↑↑ | ↑ Arginin | ↑ Orotik asit |
| | | | | ↑ Arginino suksinik asit |
| | | | | ↑ Arginin |
| | | | | ↑ Diabasik amino asitler |



Şekil 1. Krebs-Henseloid üre döngüsü

TARTIŞMA

Aminoasitlerin yıkımı sonucu serbest amonyak oluşur ve oluşan amonyak MSS için çok toksiktir. Amonyak Krebs-Henseleit veya üre siklusu sonucu üreye çevrilir. Üre sentezi için sayılan 5 enzimatik basamaktan herhangi birinde yetersizlik buna ait klinik ve laboratuvar bulgularının çıkmasına neden olur (5). Hastamızın laboratuvar verileri 3. basamak yani arginino süksinat sentetaz yetersizliğine uymaktadır.

Doğumda genellikle normal olan bebek, diyet ile protein almaya başladıktan birkaç gün sonra besinleri almama, kusma, taşipne, letarji, dispne hali gösterir. Bulgular konvulziyon ve komaya ilerler. Nörolojik bulgular yanında hepatomegali saptanabilir (4).

Karbamoil fosfat sentetaz ve/veya Ornitin transkarbamoilaz yetersizliklerinde hiperammonyemi ve buna bağlı olarak plazma glutamin, aspartik asit ve alanin düzeylerinde artış dışında plazma aminoasitlerinde anomali saptanmaz. Ornitin transkarbamoilaz yetersizliği, Karbamoil fosfat sentetaz yetersizliğinden idrarda orotik asidin belirgin artışı ile ayırt edilir. Arginino süksinat sentetaz yetersizliğinde plazmada sitrullin belirgin artar (5). Hastamızdaki kan sitrullin düzeyi normal değerlerinin 5-5.5 kat üzerinde olması tanımızı desteklemektedir. Arginino süksinat liyaz yetersizliğinde argininosüksinik asit, arginaz yetersizliğinde arginin düzeylerinde belirgin artma saptanır (5).

Tablo I'de görüldüğü gibi kan amonyak düzeyi normalin 2-3 katı üzerindedir. Bu hiperammonemik bir durum olup hastanın kan sitrülün düzeyi de normal değerlerin yaklaşık 5 misli üzerindedir. Protein miktarı 1.8 kat daha yüksek bulunmuştur. Eritrositlerde arginaz aktivitesi %20 dolaylarında düşük iken kanda ornitin transkarbamoilaz enzim aktivitesi serumda bulunamamıştır. Ornitin transkarbamoilaz intra mitokondrial bir enzim olduğundan, serum düzeyi Sahaki metodunun da ölçüm limitlerinin altındadır. Bu neden ile Ornitin

transkarbamoilaz ancak karaciğerde çalışılması halinde sonuç alınabilecek hale gelmektedir. Literatürlerde Ornitin transkarbamoilazın serum düzeyleri ile ilgili herhangi bir veriye bu çalışma başlangıcından itibaren rastlanmamıştır. Eritrosit arginaz aktiviteleri ise normal değerlere oranla % 20 lik bir düşme göstermektedir. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gibi bebeklerde ortalama değerlerin kayda değer tarzda değişmesi bu düşüşü daha da önemsiz hale getirmektedir. Bir karaciğer enzimi olan arginazın çeşitli non hepatik doku ve canlılarda bulunması ve bunlardaki düzeyleri henüz cevabı tam olarak bulunamamış konular arasındadır. Üre ve ornitin düzeylerinde ise %10 dolaylarında düşüş bu metabolitleri sentezleyen enzimlerden birinin defekt olması savını daha da destekler niteliktedir.

Tablo II'de görüldüğü gibi idrarda yüksek düzeyde amonyak ve orotik asit bulunmaktadır. Ayrıca önemli miktarda sitrülün'in varlığı ve artışı da görülmüştür. Üre ve ornitin miktarının normal sınırlarda olduğu ve eser miktarda protein mevcudiyeti tespit edilmiştir. Tablo II bu hiperammonemik defekt ile ilgili savımızı daha da desteklemektedir.

Tablo I ve II ile Tablo III'ün karşılaştırılması neticesinde V.Ö.'nün bir üre döngüsü defekti olan argininosüksinat sentetaz yetmezliği olduğu anlaşılmaktadır. Bu hastalıkta kanda ve idrarda amonyak ve sitrülün'in artışı ve idrar orotik asit yükselmesinin görülmesi karakteristik özelliklerdendir (9). Hastanın genel durumu biraz iyileştikten sonra, yeterli kalori içeren iyi hidrasyonlu düşük protein diyeti önerilerek daha ileri bir hastaneye tetkit ve tedavi amacıyla sevk edilmiştir. Hastanın ileri bir merkeze götürülme süreci aile tarafından uzatılınca hastanın yolda eksitus olduğu öğrenilmiştir. Post mortem olarak hasta ile temas olmadığından karaciğer biyopsi örnekleri alınamamıştır.

Üre siklus enzimlerinin genetik yetersizliği dışında bazı doğumsal aminoasit metabolizma bozuklukları da (İzovalerik asidemi, Metilmalonik asidemi,

Propionik asidemi gibi) yüksek plazma amonyak düzeyi yapabilir (5). Bizim hastamızda plazma özgül aminoasitlerinden Sitrullinde belirgin artış dışında bir ikincisi saptanmamıştır. Bu da AS yetersizliğinin yani Sitrullinemi'nin kanıtıdır.

Bu tür bir defekte Elazığ'da yaptığımız 7 aylık bir çalışmada başka bir vakada daha raslanmamıştır. Literatür bilgisi olarak 30.000 canlı doğumda bir rastlanması da bunu desteklemektedir (3). Hiperammonemi şüpheli hastalardan sadece biri böyle bir sonuç göstermesi ve prevalansı böylesine düşük bir vakanın ilk kez tarafımızdan saptanması araştırmamızı daha orjinal hale getirmektedir. Pediatri kliniklerine başvuran hastalarda çalışma takibimiz devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Mathews CK , Van Holde KE. *Biochemistry. Metabolism of Nitrogenous Compounds: Principles of Biosynthesis, Utilization, Turnover and Excretion (2 nd ed) . The Benj Pub Comp. 1990, pp 670-702.*
2. Barnett, R.N. R. *Lab Medica . De Silva V, Mrcpath MB(eds). The Diagnosis of Urea Cycle Disorders . Pub Lab Medica. Int Vol X. No : 3, 1993, pp 13-23.*
3. Yalçındağ Ş. *Çocukta Metabolizma Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları 1983, ss 87-93.*
4. Brusilow S. *Treatment of episodic hyperammonemia in children with inborn errors of urea synthesis. N Eng J Med 1984; 310: 1630-1634.*
5. Synderman SE. *Clinical aspects of disorders of urea cycle. Pediatrics 68, 1981, pp 284-289.*
6. Christensen, E. *Dietary and hormonal regulation of urea cycle enzymes in rat liver . Enzyme 1981; 26; 113-121.*
7. Sewell AC. *Neurological deterioration in patients with urea cycle disorders under valproate therapy - a cause for concern . Eur J Pediatr 1985;154 :593-594.*
8. Felig DM. *Hyperammonemic coma and parenteral nutrition in a woman with heterozygous ornithine transcarbamoylase deficiency. Gastroenterology 1995 ;109: 282-284.*
9. Beaudet AL. *The human argininosuccinate synthetase locus and citrullinemia . Adv Hum Genet 1986;15:161-169.*
10. Igarashi M. *Anesthetic Management for a patient with citrullinemia and liver cirrhosis. Masui 1995;44 :96-99.*
11. Terheggen, H.G. *Familial Hyperargininemia. J Genet Hum 1972;21: 69-84.*
12. Geyer JW, Dabich D. *Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates . Analy Biochem 1986;39:412-417.*
13. Bauer MD. *Clinical Laboratory Methods. The CV Mosby , St Louis 1974, pp 472-487.*
14. Lowry OH. *Protein measurements with the folin fenol reagent . J Biol Chem. 1951; 193: 265.*
15. Bergmayer HU. *Methods of Enzymatic Analysis. Eds: Bergmayer J, Grabl M. Enzymes 2: Esterases , Glycosidases , Lyases, Ligases. Verlag Chemie, Weinheim 1984 , pp 284-294.*
16. Sahaki T. *Effect of ornithine concentration on citrulline synthesis in mouse liver mitochondria. Biochem Med and Met Biol. 1990 ;43 :193-200.*
17. Fenickel GM. *Clinical Pediatric Neurology : A Signs and Symptoms Approach. Third ed , WB Saunders Philadelphia 1987 , pp 10-11.*
18. Saunders WB. *Nelson Textbook of Pediatrics. Fourteenth Ed. W B Saunders, Philadelphia 1992, pp 1801-1802.*
19. Küçüköyük Ş. *Yenidoğan ve Hastalıkları. Feryal Matbaası, Ankara 1994, ss 510-514.*