

Casuïstiek

5-Oxoprolinurie: een verworven stofwisselingsstoornis door behandeling met flucloxacilline en paracetamol

F.A.J.T.M. van den BERGH¹, P.M. KLOOSTER², R. ten BOS¹ en L. STRAATHOF-GALEMA²

Aangeboren stofwisselingsstoornissen in de γ -glutamylcyclus kunnen leiden tot 5-oxoprolinurie (pyroglutamaat-acidurie). Twee verschillende enzymdeficiënties kunnen hieraan ten grondslag liggen: die van glutathionsynthetase en 5-oxoprolinase. Minder bekend is dat 5-oxoprolinurie ook tijdelijk kan optreden ten gevolge van medicatie met bepaalde antibiotica. Wij beschrijven de casus van een 52-jarige vrouw die werd behandeld met flucloxacilline voor de behandeling van een *Staphylococcus aureus*-infectie. Te zelfdertijd werd paracetamol (acetaminofen) geslikt als pijnstillers. Patiënte ontwikkelde respiratoire distress, ernstige gecompenseerde metabole acidose en een 'anion gap' van ruim 20 mmol/l.

De paracetamolmedicatie werd stopgezet. Tevens werd de medicatie met flucloxacilline omgezet in clindamycine, gevolgd door behandeling van de acidose. Hierop trad snelle correctie op van de metabole acidose. In de literatuur wordt gesuggereerd dat flucloxacilline de γ -glutamylcyclus remt door inactivatie van het enzym 5-oxoprolinase wat resulteert in een stijging van 5-oxoprolinurie. Aangezien deze waarden kunnen oplopen tot tientallen mmol/l, heeft dit ernstige metabole acidose tot gevolg.

Pyroglutamaat-acidurie is een zeldzame oorzaak van metabole acidose met hoge 'anion gap' en dient te worden overwogen bij patiënten die behandeld worden met flucloxacilline en/of paracetamol.

Trefwoorden: 5-oxoprolinurie; pyroglutamaat-acidurie; γ -glutamylcyclus; flucloxacilline; intoxicatie

Casusbeschrijving

Klinische presentatie

Een 52-jarige vrouw, sedert 1 jaar bekend met kleincellig longcarcinoom, werd behandeld met chemo- en radiotherapie. Omdat zich een artritis ontwikkelde in haar rechterknie, werd synoviaalvloeistof afgenomen waaruit *Staphylococcus aureus* werd gekweekt. Hierop werd gestart met intraveneuze behandeling met flucloxacilline (12 g/d). Tevens werd paracetamol

(acetaminofen) geslikt als pijnstillers. Na 9 dagen antibioticatherapie vertoonde zij tekenen van respiratoire distress. Bloedgasanalyse wees op een respiratoir gecompenseerde metabole acidose (pH 7,32, pCO₂ 1,6 kPa, pO₂ 14,0 kPa, bicarbonaat 6 mmol/l). Er waren geen tekenen van sepsis. Uit verdere analyse bleek een toegenomen 'anion gap' van 20 mmol/l (gecorrigeerd voor het lage albuminegehalte), een licht verhoogde lactaat (2,6 mmol/l), geen ketose en een osmolaire 'gap' binnen de normale range zonder aanwijzingen voor intoxicatie met ethanol, methanol, ethyleenglycol, of salicylaten. Serumchloride was verhoogd tot 114 mmol/l en de creatinineklaring bedroeg 58 ml/min; CK was niet verhoogd en er was geen vitaminedeficiëntie. De urine-pH was 5,7.

Patiënte had een normale voedingsstatus, had geen leverlijden, en vertoonde geen tekenen van hemolyse of neurologische afwijkingen.

Omdat er verdenking bestond op een causaal verband met de flucloxacilline medicatie, werd overgegaan op clindamycine. De metabole acidose, waarmee de inmiddels ernstige respiratoire distress gepaard ging, werd behandeld door intraveneuze toediening van natriumbicarbonaat (100 ml 8,4% NaHCO₃), gevolgd door orale toediening van kaliumcitraat gedurende de volgende 3 dagen. De inname van paracetamol werd 4 dagen na het optreden van de acidose gestaakt. Na behandeling begon de bicarbonaatconcentratie snel te stijgen en was na 6 dagen geheel genormaliseerd. De in later stadium opnieuw gestarte medicatie met paracetamol resulteerde niet weer in acidose. De monoarthritis verbeterde onder de orale antibiotica, doch een week later werd remissie van het kleincellig longcarcinoom geconstateerd. Twee weken nadien overleed patiënte ten gevolge van metastasering van het maligne ziekteproces.

Biochemisch onderzoek

Het onderzoek richtte zich in eerste instantie op de meest voorkomende oorzaken van metabole acidose met hoge 'anion gap'. Er werden echter geen aanwijzingen gevonden voor chronisch nierlijden, hyperlactatemie, ketoacidose, intoxicaties met alcohol of salicylaten, of rhabdomyolyse.

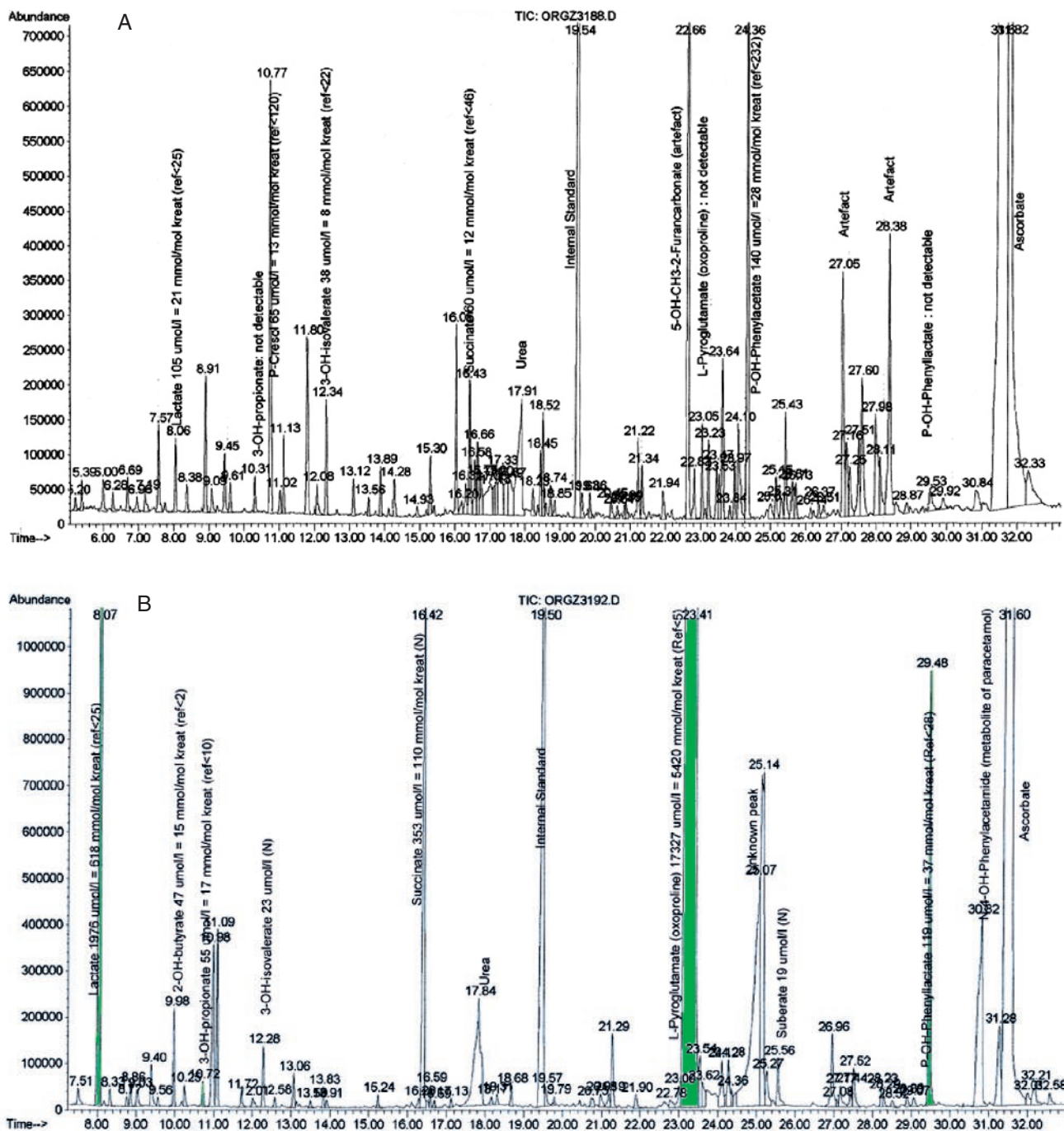
Bij nader onderzoek naar intoxicatie vonden wij gegevens in de literatuur voor verworven pyroglutamaat-acidose (5-oxoprolinemie) als oorzaak voor metabole acidose ten gevolge van het antibioticum flucloxacilline (1-3). Daarop werd 24-uursurine verzameld voor

Afdeling Laboratorium¹ en Interne geneeskunde², Medisch Spectrum Twente, Enschede

Correspondentie: dr. F.A.J.T.M. van den Bergh, Laboratorium, Medisch Spectrum Twente, Postbus 50.000, 7500 KA Enschede
E-mail: f.vandenbergh@ziekenhuis-mst.nl

analyse op organische zuren door middel van gaschromatografie-massaspectrometrie (GC-MS). Deze werd uitgevoerd na extractie met ethylacetaat en scheiding van de trimethylsilylderivaten op een CP-Sil-19 capillaire kolom gevolgd door massaspectrometrische detectie. Het 'total ioncurrent chromatogram' staat afgebeeld in figuur 1. Opvallend is de hoge uitscheiding van pyroglutamaat (5-oxoproline) in een concentratie van ruim 17 mmol/l overeenkomend met 5420 mmol/mol creatinine (normaal: niet aantoonbaar). De bijdrage van het mono-trimethylsilylderivaat van pyro-

glutamaat (geschat op ca. 20%, zie legenda) is hierbij niet meegerekend. Ook bestond er lactaatacidurie (620 mmol/mol, referentiewaarden < 25) en verhoogde uitscheiding van 2-hydroxyboterzuur (15 mmol/mol, normaal < 2), 3-ketoboterzuur (25 mmol/mol, normaal < 2) en 4-hydroxyfenyllactaat (37 mmol/mol creatinine, normaal < 28). 3-Hydroxypropionzuur was eveneens licht verhoogd evenals barnsteen zuur, mogelijk samenhangend met enige bacteriële overgroei in de darm of lichte bacteriële contaminatie van de urine. Tevens was er 4-OH-fenylacetamide aanwezig, een metabo-



Figuur 1. Organische zuren analyse d.m.v. gaschromatografie-massaspectrometrie van normale controle-urine (A) resp. indexpatiënt (B). De 'total ioncurrent' (Y-as) is weergegeven tegen de retentietijd in minuten (X-as). De verhoogde 5-oxoprolinecomponent (di-trimethylsilylderivaat, Rt 23,41 min) is grijs gearceerd. Een tweede component met Rt = 25,14 min ('unknown peak') vertegenwoordigt zeer waarschijnlijk het mono-trimethylsilylderivaat van pyroglutaminezuur. De responsefactor hiervan is onbekend en in de kwantitering niet meegenomen.

liet van acetaminophen. Helaas was geen materiaal aanwezig om oxoproline tevens in plasma of serum te kwantificeren. Ook werd geen urine meer verzameld na het normaliseren van de 'anion gap'.

Beschouwing

Metabole stoornissen in de γ -glutamylcyclus kunnen leiden tot 5-oxoprolinurie (pyroglutamaat-acidurie). In deze cyclus wordt het tripeptide glutathion (γ -glutamyl-cysteïnyl-glycine) gegenereerd, dat een essentiële schakel vormt in het transport van aminozuren over het celmembraan (figuur 2). Na intracellulair transport van het γ -glutamyl-gekoppelde aminozuur vindt onder invloed van γ -glutamylcyclotransferase splitsing plaats in het vrije aminozuur en 5-oxoproline. Vervolgens wordt 5-oxoproline via 3 enzymatische stappen weer gerecycled tot glutathion.

Erfelijke enzymdeficiënties van de γ -glutamylcyclus kunnen de oorzaak zijn van verscheidene klinische afwijkingen, waaronder (neonatale) metabole acidose, hemolytische anemie, verstoring van de elektrolytenbalans en progressieve neurologische afwijkingen (5). Zo leidt milde deficiëntie van glutathionsynthetase (MIM 266130) slechts tot hemolytische anemie, terwijl gematigde deficiëntie van glutathionsynthetase zich in de neonatale fase niet alleen presenteert met hemolytische anemie maar ook met metabole acidose en 5-oxoprolinurie. Bij ernstige deficiëntie van het enzym tenslotte ontwikkelen zich bovendien progressieve neurologische afwijkingen, zoals mentale retardatie, convulsies en spasticiteit (5, 6).

Naast deficiëntie van het enzym glutathionsynthetase resulteert ook deficiëntie van 5-oxoprolinase (MIM 260005) in verhoogde uitscheiding van 5-oxoproline (5, 6). Met name glutathionsynthetasedeficiëntie kan resulteren in hoge plasma 5-oxoprolinespiegels variërend van 5 tot 20 mmol/l en daarmee in ernstige metabole acidose.

In het algemeen kunnen metabole acidose en een verhoogde 'anion gap' het gevolg zijn van toegenomen

zuurproductie en chronische nierinsufficiëntie. Ook toegenomen concentraties lactaat (o.a. door anoxie) of ketonlichamen (ketoacidose bij onregelde diabetes mellitus) zijn vaak oorzaak van een verhoogde 'anion gap'. De slechts lichte lactaatsijging en de afwezigheid van ketose vormden bij onze patiënt echter onvoldoende verklaring voor deze waarneming. Ook bestonden er geen aanwijzingen voor rhabdomyolyse of voor intoxicaties. Minder voorkomende oorzaken zijn leverziekte, infectie, leukemie, pancreatitis, thiamine-deficiëntie, 'short bowel'-syndroom, en deficiënties van de enzymen glucose-6-fosfaatdehydrogenase en fructose-1,6-difosfatase.

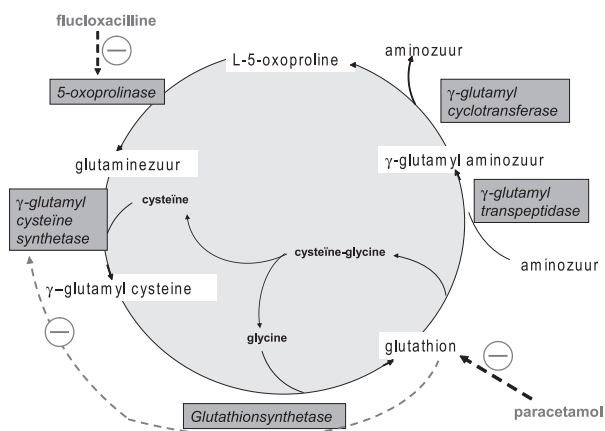
De literatuur vermeldt verscheidene oorzaken voor medicatie-gerelateerde 5-oxoprolinurie waarbij de aanwezigheid van het organische zuur 5-oxoproline een 'anion gap' genereert en tevens metabole acidose (1-4, 7-8). Zo beschreven Croal et al. (1) het ontstaan van metabole acidose door antibioticatherapie met flucloxacilline. Flucloxacilline kan remming veroorzaken van de γ -glutamylcyclus op het niveau van het enzym 5-oxoprolinase waardoor de plasmaconcentratie 5-oxoproline stijgt, leidend tot een verhoogde 'anion gap' en forse metabole acidose. In hoeverre de co-medicatie met paracetamol hieraan bijdraagt is onduidelijk. Pitt et al. (4, 7) beschreven destijds de mogelijke rol van paracetamol bij het optreden van atypische 5-oxoprolinurie. Gespeculeerd wordt dat medicatie met paracetamol tot depletie leidt van de glutathionvoorraad in de lever. Via negatieve feedbackremming zou het enzym γ -glutamylcysteïnesynthetase worden geactiveerd waardoor γ -glutamylcysteïne ophoopt. Dit kan als substraat fungeren voor het γ -glutamylcyclotransferase dat resulteert in een hogere 5-oxoprolineproductie (4).

Ofschoon een overdosis paracetamol meestal resulteert in veel lagere concentraties 5-oxoproline (7), is een synergistisch effect van flucloxacilline en paracetamol in de door ons beschreven casus zeer wel mogelijk (1, 7).

De lichte verhoging van de overige organische zuren zoals lactaat en 3-ketoboterzuur kan niet direct worden verklaard. De verhoogde uitscheiding van 4-OH-fenyllactaat wordt vaker gezien secundair aan leverlijden.

Urine van gezonde personen kan variabele hoeveelheden 5-oxo-D-proline bevatten ten gevolge van enzymatische cyclische omzetting van D-glutaminezuur, afkomstig uit diëtair of bacteriële bron (9). Ofschoon wij met GC-MS geen onderscheid kunnen maken tussen de beide stereo-isomeren van 5-oxoproline, denken wij dat de bij onze patiënt beschreven metabole acidose veroorzaakt is door voorbijgaande 5-oxo-L-prolinurie, geïnduceerd door de intraveneuze flucloxacillinemedicatie. De gelijktijdige inname van paracetamol heeft dit effect mogelijk versterkt.

5-oxoprolinurie is een zeldzame oorzaak voor verhoogde 'anion gap' en metabole acidose waaraan niet snel wordt gedacht bij de medicatie met flucloxacilline en paracetamol. Bij het zoeken naar de oorzaak voor onverklaarde metabole acidose kan gaschromatografische analyse van organische zuren in plasma of urine behulpzaam zijn.



Figuur 2. γ -glutamylcyclus voor de biosynthese en afbraak van glutathion (vrij naar Pitt en Hauser (4)). De gestreepte lijnen reflecteren de feedbackremming van glutathion op de synthese van γ -glutamylcysteïne respectievelijk depletie van glutathion onder invloed van paracetamol, zoals beschreven in de tekst.

Dankbetuiging

Dr. A-K. Boer, klinisch chemicus, wordt bedankt voor zijn kritische lezing van het manuscript.

Referenties

1. Croal BL, Glen ACA, Kelly CJG, Logan RW. Transient 5-oxoprolinuria (pyroglutamic aciduria) with systematic acidosis in an adult receiving antibiotic therapy. *Clin Chem* 1998; 44: 336-40.
2. Peter JV, Rogers N, Murty S, Gerace R, Mackay R, Peake SL. An unusual cause of severe metabolic acidosis. *Med J Austral* 2006; 185: 223-5.
3. Brooker G, Jeffery J, Nataraj T, Sair M, Ayling R. High 'anion gap' metabolic acidosis secondary to pyroglutamic aciduria (5-oxoprolinuria): association with prescription drugs and malnutrition. *Ann Clin Biochem* 2007; 44: 406-9.
4. Pitt JJ, Hauser S. Transient 5-oxoprolinuria and high 'anion gap' metabolic acidosis: clinical and biochemical findings in eleven subjects. *Clin Chem* 1998; 44: 1497-1503.
5. Meister A, Larsson A. Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the γ -glutamyl cycle. In: Scriver C, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. New York: McGraw-Hill Inc. 1997: 1461-77.
6. Larsson A, Ristoff E. Disorders of the γ -glutamyl cycle, in: *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases* (Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM, eds.) Springer Verlag 2nd ed. 2003: 233-42.
7. Pitt JJ, Brown GK, Clift V, Christodoulou J. Atypical pyroglutamic aciduria: possible role of paracetamol. *J Inher Metab Dis* 1990; 13: 755-6.
8. Mayatapek E. 5-Oxoprolinuria in patients with and without defects in the gamma-glutamyl cycle. *Eur J Pediatr* 1999; 158: 221-5.
9. Palekar AG, Tate SS, Sullivan JF, Meister A. Accumulation of 5-oxo-L-proline and 5-oxo-D-proline in the blood plasma in end stage renal disease. *Biochem Med* 1975; 14: 339-45.

Summary

Bergh FAJTM van den, Klooster PM, Bos R ten, Straathof-Galema L. *Transient metabolic aciduria (5-oxoprolinuria) with severe metabolic acidosis due to high-dose flucloxacillin combined with paracetamol; a case report*. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2008; 33: 39-42.

In this case report we describe a 52-year old female patient with bacterial arthritis receiving high dose flucloxacillin (12 g per day). Paracetamol (acetaminophen) was used as analgesic. The patient responded favourably, until the 10th day when she developed a metabolic acidosis with respiratory compensation (pH 7.32, pCO₂ 1.6 kPa, pO₂ 14.0 kPa, bicarbonate 6 mmol/l). Laboratory investigation revealed a high 'anion gap' of 20 mmol/l with an osmol gap within the normal range, and no evidence of intoxication with ethanol, methanol, ethylene glycol, or salicylates. Creatinine clearance was 58 ml/min, plasma lactate was only marginally elevated (2.6 mmol/l). There was no ketosis and urinary pH was 5.7.

Because the more common causes of high 'anion gap' metabolic acidosis were excluded, it was suggested that the flucloxacillin medication was the culprit. Flucloxacillin medication was replaced by clindamycin, bicarbonate and potassium was supplemented and the patient improved markedly within 24 hours.

Urinary analysis of the organic acids by gas chromatography-mass spectrometry revealed massive excretion of 5-oxoprolinuria (pyroglutamate, 5420 mmol/mol creatinine, reference value < 5), together with the elevated excretion of lactate, 2-OH-butyrate, 3-OH-propionate and 4-OH-phenyllactate. Transient 5-oxoprolinuria has been described in the literature as the result of flucloxacillin medication. Disturbance of the γ -glutamyl cycle due to inhibition of the enzyme 5-oxoprolinase resulted in the accumulation of 5-oxoprolinuria and severe metabolic acidosis. The quick recovery after cessation of the flucloxacillin and persevering normal bicarbonate after reintroducing paracetamol, suggest that the antibiotic was the main trigger, perhaps with a synergistic effect of paracetamol.

Pyroglutamic aciduria is a rare cause of high 'anion gap' metabolic acidosis and should be considered in patients receiving drugs as flucloxacillin or paracetamol.

Key words: intoxication; 5-oxoprolinuria; pyroglutamate aciduria; γ -glutamyl cycle; flucloxacillin