

TIROSIELURIE BY GEESTELIK VERTRAAGDE PASIËNTE

TIROSIELURIE BY GEESTELIK VERTRAAGDE PASIËNTE

DEUR

LODEWYK JACOBUS MIENIE

Verhandeling voorgelê ter gedeeltelike
nakoming van die vereistes vir die graad
Magister Scientiae aan die Potchefstroom-
se Universiteit vir Christelike Hoër On-
derwys

PROMOTOR: PROF. DR. C.J. REYNECKE

POTCHEFSTROOM
DESEMBER 1981

Vir Hendrien

INHOUD

BLADSY

<u>HOOFSTUK 1</u>	<u>INLEIDING</u>	1
<u>HOOFSTUK 2</u>	<u>LITERATUUROORSIG</u>	5
2.1	METABOLISME VAN TIROSIEN	6
2.1.1	Inleiding	6
2.1.2	Katabolisme van tirosien	8
2.1.3	Ensieme van die hoofkataboliese weg van tirosien	9
2.1.4	Subkataboliese- en alternatief kataboliese weë van tirosien	17
2.2	KLASSIFIKASIE VAN AFWYKINGS IN DIE KATABOLISME VAN TIROSIEN	21
2.2.1	Oorgangs tirosinemie van die pasgeborene (Neonatale Tirosinemie)	23
2.2.1.1	Biochemiese kenmerke	25
2.2.1.2	Ensimatiese defekte	29
2.2.1.3	Kliniese kenmerke	31
2.2.1.4	Behandeling	34
2.2.2	Tirosinose (Medes se pasiënt)	34
2.2.3	Aangebore tirosinemie (Hepatorenale tipe)	39
2.2.3.1	Kliniese kenmerke	39
2.2.3.2	Biochemiese kenmerke	41

2.2.3.3	Ensimatiese defekte	48
2.2.4	Konstante hipertirosinemie (Oregontipe)	51
2.2.4.1	Kliniese beeld	51
2.2.4.2	Biochemiese beeld	53
2.2.4.3	Ensimatiese defek	56
2.2.5	Hipertirosinemie ge- assosieer met leweraf- wykings entirosielurie	60
2.2.5.1	Hipertirosinemie ge- assosieer met lewer- afwykings (oënskynlike tirosinemie)	60
2.2.5.2	Tirosielurie	63
2.3	SAMEVATTING, PROBLEEMSTEL- LING EN BENADERINGSWYSE	63

<u>HOOFSTUK 3</u>	<u>SIFTING VAN DIE WITRANDPO- PULASIE VIR AFWYKINGS IN DIE METABOLISME VAN TIRO- SIEN</u>	67
-------------------	---	----

3.1	INLEIDING	68
3.2	METODES GEBRUIK VIR DIE SIF- TING VAN DIE WITRANDPOPU- LASIE VIR AFWYKINGS IN DIE KATABOLISME VAN TIROSIEN	69
3.2.1	Inleiding	69
3.2.2	Aanvanklike sifting	69

3.2.2.1	Metode	69
3.2.2.2	Resultate	70
3.2.3	Sifting van die Witrand- populasie m.b.v. 'n semi- kwantitatiewe α -nitroso- β - naftoltoets en die sekwen- siële eliminasiëprosedure	72
3.2.3.1	Semikwantitatiewe toets	72
3.2.3.2	Metode van sekwen- siële eliminasië van vals posi- tiewes	73
3.2.3.3	Resultate	76
3.2.3.3.1	Semikwantitatiewe toets en sekwen- siële eliminasië prosedure	76
3.3	BESPREKING	85

<u>HOOFTUK 4</u>	<u>ONDERSOEK NA DIE VOORKOMS VAN TIROSINEMIE BY 'N GROEP PASIËNTE MET TIRO- SIELURIE</u>	91
------------------	--	----

4.1	INLEIDING	92
4.2	TIROSIELURIE VAN DIE 12 WITRANDPASIËNTE	94
4.3	BEPALING VAN DIE SERUM TIROSIENVLAKKE	96
4.3.1	Metode van bepaling	96

4.3.2	Resultate	100
4.3.3	Bespreking	104
4.4	BEPALING VAN DIE VOORKOMS VAN LEWERAFFWYKINGS BY DIE 12 GESELEKTEERDE WITRAND- PASIËNTE	105
4.5	BESPREKING	105
4.6	SLOTOPMERKING	107

<u>HOOFSTUK 5</u>	<u>ONDERSOEK NA DIE OORSPRONG VAN TIROSIELURIE BY DIE 12 GESELEKTEERDE WITRAND- PASIËNTE</u>	108
5.1	INLEIDING	109
5.2	METODES GEBRUIK VIR DIE URINÊRE-AMINOSUURBEPALING. FENIELALANIEN-TOLLERANSIE- TOETS EN DIE SKEIDING VAN DIE URIEN-ETEREKSTRAKTE MET DUNLAAGCHROMATOGRAFIE	111
5.2.1	Kwantitatiewe bepaling van die urinêre-aminosure uit- geskei deur die Witrand- pasiënte	111
5.2.2	Fenielalanien-tolleransie- toetse	111
5.2.3	Dunlaagchromatografiese skeiding van die urien-	112

	eterekstrak van die	
	12 pasiënte	
5.2.3.1	Ekstraksieprosedure	112
5.2.3.2	Dunlaagchromatografie	113
5.3	RESULTATE	118
5.3.1	Kontrolegroep	118
5.3.1.1	Biochemiese beeld	118
5.3.1.2	Samevatting	124
5.3.2	Pasiënt 146	124
5.3.2.1	Kliniese beeld	124
5.3.2.2	Biochemiese beeld	125
5.3.2.3	Bespreking	127
5.3.3	Pasiënt 154	128
5.3.3.1	Kliniese beeld	128
5.3.3.2	Biochemiese beeld	128
5.3.3.3	Bespreking	130
5.3.4	Pasiënt 236	130
5.3.4.1	Kliniese beeld	130
5.3.4.2	Biochemiese beeld	131
5.3.4.3	Bespreking	132
5.3.5	Pasiënt 306	133
5.3.5.1	Kliniese beeld	133
5.3.5.2	Biochemiese beeld	133
5.3.5.3	Bespreking	138
5.3.6	Pasiënt 308	139
5.3.6.1	Kliniese beeld	139
5.3.6.2	Biochemiese beeld	139
5.3.6.3	Bespreking	141

5.3.7	Pasiënt 313	141
5.3.7.1	Kliniese beeld	141
5.3.7.2	Biochemiese beeld	141
5.3.7.3	Bespreking	149
5.3.8	Pasiënt 359	150
5.3.8.1	Kliniese beeld	150
5.3.8.2	Biochemiese beeld	150
5.3.8.3	Bespreking	152
5.3.9	Pasiënt 423	153
5.3.9.1	Kliniese beeld	153
5.3.9.2	Biochemiese beeld	153
5.3.9.3	Bespreking	156
5.3.10	Pasiënt 482	156
5.3.10.1	Kliniese beeld	156
5.3.10.2	Biochemiese beeld	158
5.3.10.3	Bespreking	163
5.3.11	Pasiënt 1086	164
5.3.11.1	Kliniese beeld	164
5.3.11.2	Biochemiese beeld	164
5.3.11.3	Bespreking	166
5.3.12	Pasiënt 1468	166
5.3.12.1	Kliniese beeld	166
5.3.12.2	Biochemiese beeld	166
5.3.12.3	Bespreking	168
5.3.13	Pasiënt 1498	168
5.3.13.1	Kliniese beeld	168
5.3.13.2	Biochemiese beeld	168
5.3.13.3	Bespreking	170
5.4	SAMEVATTING	170

<u>HOOFSTUK 6</u>	<u>EVALUERING EN BESPREKING</u>	172
	<u>VAN DIE ONDERSOEK NA DIE</u>	
	<u>VOORKOMS VAN AFWYKINGS IN</u>	
	<u>DIE METABOLISME VAN TIRO-</u>	
	<u>SIEN BY VERSTANDELIK VER-</u>	
	<u>TRAAGDE PERSONE IN DIE</u>	
	<u>WITRANDINRICHTING</u>	
6.1	6.1 INLEIDING	173
	6.2 FENIELALANIENABSORPSIEDEFEK	175
	DEFEK AS OORSAAK VAN	
	TIROSIELURIE	
	6.3 DEFEKTE OMSETTING VAN	180
	FENIELALANIEN NA TIROSIE	
	AS DIE OORSAAK VAN TIRO-	
	SIELURIE	
	6.3.1 Fenielketonurie	180
	6.3.2 Ander gevalle	181
	6.4 DEFEKTIEWE AFBRAAK VAN	189
	TIROSIE AS OORSAAK VAN	
	TIROSIELURIE	
	6.5 PASIËNTE MET TIROSIELURIE	193
	EN NORMALE FENIELALANIEN-	
	TOLLERANSIETOETSRESULTATE	
	6.6 SAMEVATTING EN GEVOLG-	194
	TREKKING	
	BIBLIOGRAFIE	197
	AFKORTINGS	214

BLADSY

BEDANKINGS
ABSTRACT

215

217

HOOFSTUK 1

.

INLEIDING

Medes was in 1932 die eerste persoon om 'n afwyking in die metabolisme van tirosien te beskryf. Op hierdie tydstip was die bekende metaboliese afwykings net tot 'n paar gevalle beperk, om Medes se woorde te gebruik

"The object of this paper is to describe an addition to the few known errors of metabolism."

Na die bewuswording van die eerste metaboliese afwykings, is daar aktief begin soek na metaboliese afwykings. 'n Groot verskeidenheid metaboliese afwykings, met nog 'n groter verskeidenheid kliniese kenmerke, waaronder veral verstandelike vertraagtheid, is opgespoor. Hirsch, et al., (1967) stel dit as volg:

"In the course of the last two decades a great number of rare hereditary metabolic blocks have been discovered. Apart from other clinical symptoms, these diseases are often connected with mental deficiency...."

Die soektog na metaboliese afwykings gaan nog steeds voort. Departement Gesondheid is tans besig met 'n landswye opname van die voorkoms van metaboliese afwykings by die populasies van inrigtings vir verstandelike vertraagdes. Die Witrandinrigting vir verstandelike vertraagdes word by die projek

ingesluit.

Hoewel die Medes-pasiënt nie verstandelik vertraag was nie, is later deur Wadman, et al., (1968) 'n tipe afwyking in die metabolisme van tirosien beskryf wat altyd met verstandelike vertraagdheid gepaard gegaan het en sou 'n ondersoek na hierdie afwyking in 'n inrigting soos die Witrandinrigting gegrond wees. Lighthelm, (1977) het met 'n ondersoek na die voorkoms van afwykings in die metabolisme van tirosien in die Witrandinrigting ongeveer 'n derde van die pasiënte (500) ondersoek. Met die ondersoek het sy daarin geslaag om 'n aantal pasiënte met tirosielurie aan te wys wat 'n aanduiding van 'n afwyking in die metabolisme van tirosien kan wees. Leemtes in die ondersoek van Lighthelm, (1977) is egter die volgende:

- (1) die hele populasie in die Witrandinrigting is nog nie ondersoek nie; en
- (2) die detail analise van die geïdentifiseerde tirosielurie-gevalle ontbreek.

Om hierdie leemtes aan te vul wat as primêre probleemstelling in die verhandeling beskou kan word, is die volgende studies gedoen:

- (1) die hele populasie word vir die voorkoms van afwykings in die metabolisme van tirosien, soos aangedui deur tirosielurie, ondersoek; en

- (2) detail analyses van positiewe tirosielurie gevalle word gedoen, ten einde die basis van die tirosielurie te identifiseer.
-

HOOFTUK 2

LITERATUUROORSIG

2.1 METABOLISME VAN TIROSIE

2.1.1 Inleiding

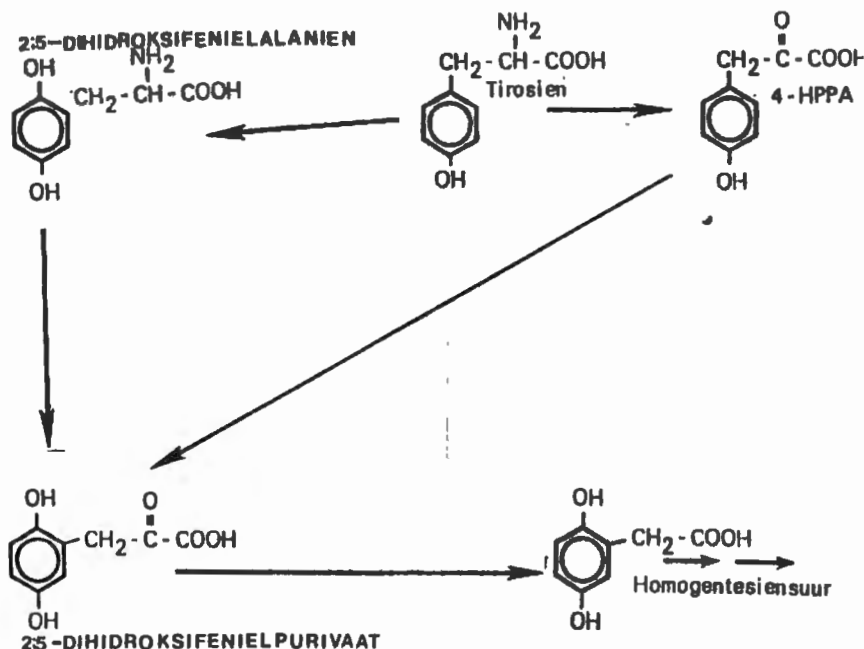
Neubauer het reeds in 1928 'n voorstelling gegee, van moontlike weë, waarvolgens tirosien in 'n normale persoon geoksideer kan word (Medes, 1932). Die Neubauer voorstelling word in Figuur 2.1 weergegee. Die eerste weg waarvolgens tirosien gekataboliseer kan word, is via 4-hidroksifenielparivaat (4-HPPA). 'n Tweede weg is via 2;5-dihidroksifenielalanien. Beide die weë lei tot 2;5-dihidroksifenielpurivaat, waaruit homogentesiensuur gevorm word.

Sedertdien is talle van die verbindings en die ensieme betrokke by die metabolisme van tirosien geïsoleer en bestudeer, sodat die hoofkataboliese weg* van tirosien duidelik gedefinieer is.

Oor die talle submetaboliese weë** bestaan daar nog baie onduidelikheid. Dié feit blyk duidelik uit die groot verskeidenheid voorstellings van submetaboliese weë, deur verskillende outeurs. (Booth, et al., 1960; Kenney, 1959; Wadman, et al., 1971; Mrochek, et al., 1973; Tomer, et al., 1977).

* Die weg waarlangs tirosien hoofsaaklik gekataboliseer word.

**Weë deur middel waarvan verbindings soos DOPA, wat tirosien as oorsprong het, gevorm word.



Figuur 2.1 Die Neubauer voorstelling van die tiroosien kataboliese weg soos aangehaal deur Medes, (1932)

Vervolgens sal 'n oorsig gegee word van hierdie hoof- en submetaboliese weë van tiroosien. Vir die verklaring en die behandeling van 'n metaboliese afwyking is die presiese kennis van kataboliese- en anaboliese weë baie belangrik.

2.1.2 Katabolisme van tirosien

Tirosien word nie as 'n essensiële aminosuur beskou nie, omdat die menslike liggaam wel tirosien vanaf fenielalanien kan vervaardig. Fenielalanien, wat wel 'n essensiële aminosuur is, is egter baie direk met tirosien geskakel. Om hierdie rede word tirosien soms wel as 'n essensiële aminosuur beskou. Die vorming van tirosien vanaf fenielalanien geskied d.m.v. 'n onomkeerbare stap. Dit getuig verder van die noue skakeling tussen die twee aminosure. Om hierdie redes sal die metabolisme van tirosien, sowel as fenielalanien, onder die metabolisme van tirosien bespreek word.

Mrochek, et al., (1973) en verskeie ander persone (Wadman, et al., 1971; Tomer, et al., 1977; Crawhall, et al., 1971; Koeppe en Hoffmann, 1975; Booth et al., 1959; Kennaway, et al., 1971) het daarin geslaag om met behulp van 'n U.V.-analiseerder, gaschromatograaf en massaspektrometer, die metaboliese weg van tirosien baie duidelik op te klaar. Dié resultate van die outeurs betreffende die hoofkataboliese weg stem ooreen, maar daar bestaan egter groot variasies wat die submetaboliese weë betref. (Mrochek, et al., 1973; Kennaway, et al., 1971). Die kompleksiteit van hierdie submetaboliese weë word weerspieël deur die feit dat reeds meer as 40 verskillende fenoliesesure in die urine van die mens geïdentifiseer is. Alhoewel variasies in die voorstellings van die oorsprong van hierdie fenoliesesure verwag kan word, (Booth, et al., 1960), kan nogtans 'n relatief algemene skema van die

verskillende metaboliese weë van tirosien opgestel word. Dié skema word in Figuur 2.2 weergegee.

2.1.3 Ensieme van die hoofkataboliese weg van tirosien

Die ensieme van die hoofkataboliese weg van tirosien

nl.; (1) feniëlalaniënhidroksilase (E.C.1.14.3.1)

(2) tirosien: α -ketoglutarate: transaminase
(E.C.2.6.1.1)

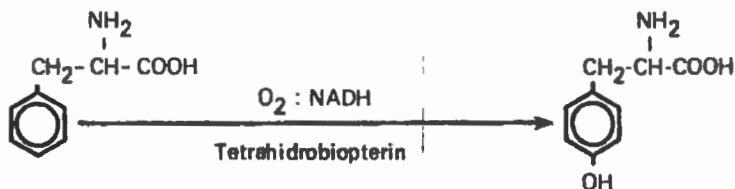
(3) 4-HPPA-oksidasie (E.C.1.14.2.2) en

(4) homogentesiensuuroksidasie (E.C.1.13.1.5),

kataliseer die omsetting van feniëlalaniëne, via tirosien, 4-HPPA en homogentesiensuur na maleïelasetoasynsuur. Hierdie ensieme wat hoofsaaklik, maar nie uitsluitlik, in die lewer van die mens voorkom, is reeds deur verskeie laboratoriums uit weefsel van mense, sowel as diere, geïsoleer en bestudeer. (Hager, et al., 1957; La Du, 1967; Fellman, et al., 1972; Kenney, 1959; Jacoby en La Du, 1964; Mrochek, et al., 1973; Aviram en Hershtko, 1977). Enkele kort opmerkings oor elk van hierdie ensieme sal vervolgens gemaak word.

Feniëlalaniënhidroksilase kataliseer die onomkeerbare omsetting van feniëlalaniëne na tirosien soos weergegee in Figuur 2.3.

Die bekende metaboliese afwyking, feniëlketonurie, doen hom voor as die ensiem feniëlalaniënhidroksilase defek is, met feniëlalaniëne wat nie in tirosien omgesit kan word nie (Shear, et al., 1974).

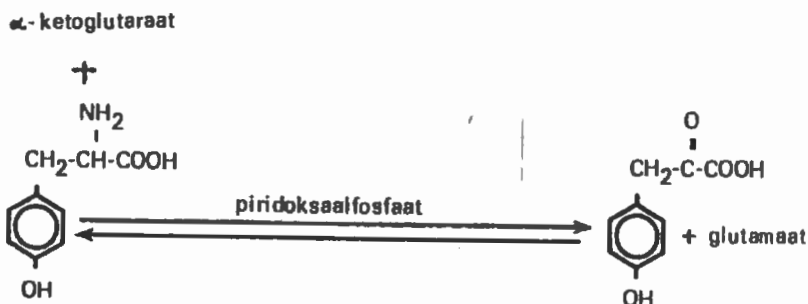


Figuur 2.3 Onomkeerbare omsetting van fenielalanien na tirosien

Onder normale kondisies is die vorming van tirosien uit fenielalanien volledig onomkeerbaar. Dit het die praktiese implikasie dat enige inname van fenielalanien grotendeels ekwivalent sal wees aan 'n inname van tirosien (La Du en Gjessing, 1978). Hierdeur is dit dus moontlik om fenielalanien te gebruik in 'n tolleransie toets om tirosien metabolisme na te gaan. Die gebruik van fenielalanien in 'n tirosien-tolleransie toets het die verdere voordeel dat fenielalanien baie beter oplosbaar in water is as tirosien en word dus baie meer volledig opgeneem. Groter substraat konsentrasies kan dus hierdeur geïnduseer word, wat meebring dat ensiemwerking en -inhibisie beter nagegaan kan word.

Die tweede stap in die hoofkataboliese weg van tirosien, die omsetting van tirosien na 4-HPPA (Figuur 2.4), word gekataliseer deur die ensiem tirosien: α -ketoglutarat: transaminase. Dié omkeerbare stap

in die metabolisme van tirosien blyk die snelheidbe-
palende stap in die kataboliese gebeure van tirosien
te wees. (La Du en Gjessing, 1978).



Figuur 2.4 Die omkeerbare omsetting van tirosien na 4-HPPA deur die ensiem tirosien: α -ketoglutaaraat:transaminase

Die ensiem wat reeds deur verskeie laboratoriums ge-
isoleer en bestudeer is, kom hoofsaaklik in die mi-
tochondria en sitosol van die menslike lewer, niere,
brein en spiere voor, maar veral in die sitosol van
die lewer. Gevolglik word die meeste 4-HPPA in die
lewer gevorm, hoewel die niere ook groot bydrae
lewer. (Goswami en Knox, 1961; Shambaugh, et al.,
1967; Aviram en Hershko, 1977; Kenney, 1959).

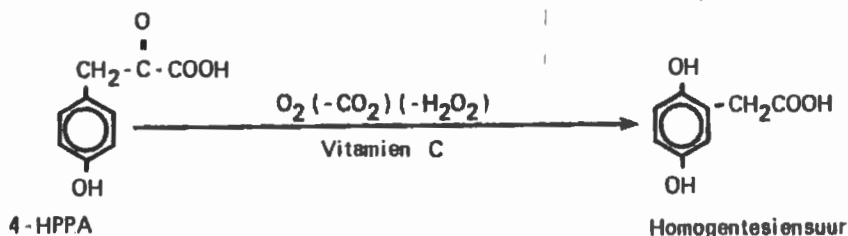
Die ensiem tirosien: α -ketoglutaaraat:transaminase be-
nodig piridoksaalfosfaat as 'n koënsiem om die deami-
neringsreaksie te kataliseer (Kenney, 1959). Feniel-
alanien en triptofaan kan ook as substraat vir die
ensiem optree en kan by hoë konsentrasies as kompe-

terende inhibeerders optree. (Jacoby en La Du, 1964). Insulien, glukagon en c-AMP het 'n stimulerende invloed op die ensiem. DOPA en katechol-verbindings het egter 'n inhiberende effek (Shambaugh, et al., 1967; Graner, et al., 1968; Fellman, et al., 1969).

Die ensiem 4-hidroksiefenielpuriniensuuroksidase (4-HPPA-oksidasie), wat hoofsaaklik in die sitosol van die lewer en in 'n mindere mate in die niere voorkom, kataliseer die omsetting van 4-HPPA na homogentesiensuur. Medes het in 1932 die afwyking in haar pasiënt aan 'n defek in hierdie ensiem toegeskryf. Teenstrydighede in haar resultate dui egter daarop dat die afwyking in haar pasiënt elders gesoek moet word. (La Du en Gjessing, 1978; Rosenberg en Sriver, 1969). Dit blyk uit eksperimentering van Fellman, et al., (1969) dat die ensiem 4-HPPA-oksidasie nie aktief gedurende fetale ontwikkeling is nie (Goswami en Knox, 1961).

Die ensiem, 4-HPPA-oksidasie, het 'n sleutelrol gespeel in aangebore metaboliese defekte geassosieër met tirosien, en is selfs betrokke by die verklaring van sekere biochemiese karakteristieke van pasiënte met fenielketonurie. Die omsetting van 4-HPPA na homogentesiensuur is so kompleks dat vermoed is dat meerdere ensieme in hierdie reaksie betrokke is. Later het dit egter geblyk dat die reaksie slegs deur 4-HPPA-oksidasie gekataliseer word. Die reaksie sluit die volgende in: oksidatiewe dekarboksilasie van die syketting met die vorming van die asetaat uit die purivaat, hidroksilering van die aromatisering en mi-

grëring van die syketting (Figuur 2.5).



Figuur 2.5 Die omsetting van 4-HPPA na homogentiesiensuur deur die ensiem 4-HPPA-oksidasë

Tydens die reaksie kom waterstofperoksied (H_2O_2) vry, wat 'n inhiberende invloed op die ensiem het. By hoë konsentrasie substraat kom groot hoeveelhede H_2O_2 vry, wat die effek van substraat inhibisie kan gee. (Hager, et al., 1957; La Du, 1967). Die inhibisie kan verminder word deur toevoëing van vitamien C of 2-6-dichloroindofenol. Vitamien C blyk egter die natuurlike verbinding vir hierdie doel te wees (Light, et al., 1966). Vitamien C het geen effek op die ensiem self nie en tree dus nie as 'n katalisator op nie, maar dien slegs ter voorkoming van H_2O_2 -inhibisie. Dië voorkoming vind waarskynlik plaas deur die reduserende werking van vitamien C. Daar is ook aanduidings dat katalase 'n groot rol mag speel in die voorkoming van H_2O_2 -inhibisie. Die holo-ensiem, 4-HPPA-oksidasë, bestaan uit twee subdele waarvan die een deel katalase aktiwiteit besit. (La Du, 1967; Mohanram en Vinodini, 1974; Zannoni en La Du, 1960; Fellman, et al., 1972;

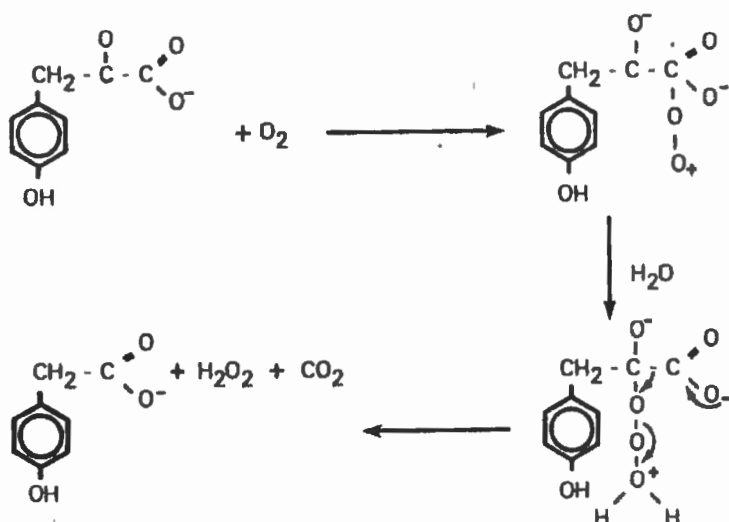
Hager, et al., 1957).

Talle verbindings kan as substraat vir die ensiem dien en tree dus by hoër konsentrasies, as kompeterende inhibeerders op. 'n Interessante geval kom na vore by fenielketonurie, wanneer groot hoeveelhede PPA gevorm word. PPA kan as substraat vir die ensiem 4-HPPA-oksidasie dien om omvorm te word na 3-HPPA (La Du en Gjessing, 1978) of na 4-HPPA (Rosenberg en Sriver, 1969).

Met die afwyking, fenielketonurie, sal PPA die ensiem, 4-HPPA-oksidasie, in so 'n mate inhibeer, dat groot hoeveelhede tirosienkataboliete (4-HPLA en 4-HPAA) gevorm sal word, om die beeld van tirosielurie te skep. (La Du en Gjessing, 1978.)

Enige reaksies wat H_2O_2 as hoofproduk of neweproduk vrystel sal nie-kompeterende inhibisie by die ensiem, 4-HPPA-oksidasie, veroorsaak. So 'n reaksie is die oksidering van 4-HPLA na 4-HPAA, onder suurstofryke kondisies, waar H_2O_2 vrygestel word (Figuur 2.5), wat indien dit in hoë konsentrasies, in die afwesigheid van vitamien C en katalase, teenwoordig is, ensieminhibisie sal veroorsaak.

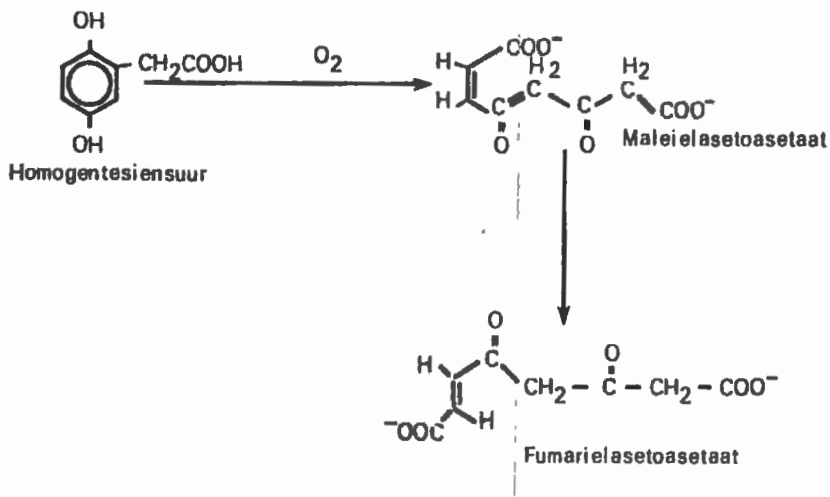
Die nie-kompeterende inhibering van die ensiem kan *in vitro* sowel as *in vivo* herstel word deur die byvoeging of ingee van groot hoeveelhede vitamien C. (Light, et al., 1966; Hager, et al., 1957).



Figuur 2.6 Hipotetiese voorstelling van Fellman, et al., (1972), van die vorming van waterstofperoksied tydens die oksidering van 4-HPLA om 4-HPAA te vorm. Dit is egter onseker of by fisiologiese kondisies die oksidering sal plaasvind, aangesien die suurstofkonsentrasie te laag is.

Homogentesiensuur word deur die ensiem homogentesiensuuroksidase omgesit in maleïelasetoasetaat, deur die oksidatiewe splyting van die fenielring van homogentesiensuur, (Figuur 2.7). Die metaboiese afwyking, alkaptonurie, word veroorsaak deur 'n defek in dié ensiem. (Kretchmer, et al., 1958.) 'n Kenmerk van die afwyking is die groot hoeveelhede homogentesiensuur wat in die bloed en urine van 'n pasiënt wat aan dié

afwyking ly, voorkom.



Figuur 2.7 Oksidatiewe splyting van die fenielring van homogentisiensuur deur die ensiem, homogentisiensuuroksidase om maleielasetoasetaat te vorm.

2.1.4 Subkataboliese- en alternatiewe kataboliese weë van tirosien

Tirosien word nie net afgebreek na maleielasetoasetaat nie, maar dien ook as die beginpunt van verskeie lewensbelangrike verbindings. Baie van die verbindings wat deur die subkataboliese weë gevorm word, speel 'n belangrike rol in die sentrale senuweestelsel bv. katesjolaamien. Verbindings soos melanien en tiroksien, met ander funksies het ook hul oorsprong uit tirosien, (sien Figuur 2.2). By die vorming van

elk van hierdie verbindings is 'n ensiem betrokke wat defek kan wees. Afwykings in die subkataboliese weë van tirosien, bv. albinisme en Parkinson se siekte, is lank reeds bekend.

Alternatiewe weë in die katabolisme van tirosien kom veral na vore indien daar 'n hoë konsentrasie kataboliete in die kataboliese weg teenwoordig is. Die eindproduk van so 'n alternatiewe weg is nie altyd fisiologies funksioneel nie, maar kan moontlik dien om die konsentrasie-druk in die kataboliese weg te verlaag. Bekende eindprodukte van alternatiewe weë van tirosien is 4-HPLA en 4-HPAA. Hierdie verbindings wat normaalweg teen lae konsentrasies uitgeskei en nie deur die niere geherabsorbeer word nie, maar selfs aktief uitgeskei word, speel 'n belangrike rol in die karakterisering van metaboliese afwykings.

Oor die sub- en alternatiewe kataboliese weë het Mrochek, et al., (1973) opgemerk

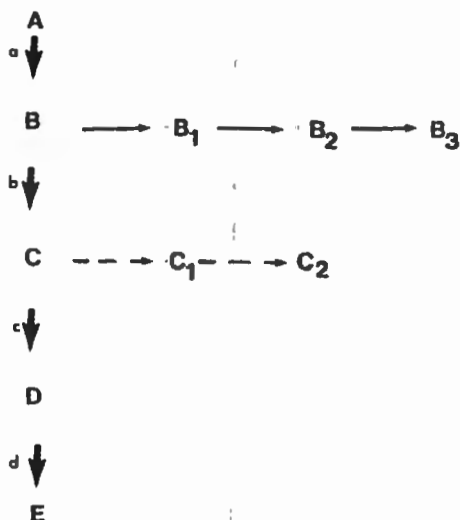
"Profiles of metabolites for these pathways should be useful in identifying enzymic or other defects that might ultimately be important in diagnosing and treating disorders of the central nervous system such as those associated with mental retardation, infantile autism, and other neurologic disorders."

Ons sal veral aandag gee aan die spektrum van dié kataboliete by die verskillende afwykings.

2.1.5 Fenoliesesuur spektrum in urine van pasiënte met afwykings in die metabolisme van tirosien

Elk van die metaboliese afwykings wat reeds na verwys is, resulteer in 'n karakteristieke spektrum van verhoogde fenoliesesure in die urine van die betrokke pasiënt. Die diagnostiese waarde van hierdie spektrums is van groot belang. (Mrochek, et al., 1973.) Die ontstaan van die karakteristieke spektrums van die metaboliese afwykings, kan verduidelik word deur van 'n gewysigde voorstelling van die kataboliese pad, soos deur Kretchmer en Etzwiler, (1958) voorgestel, gebruik te maak (Figuur 2.8).

Indien die ensiem a defek is (Figuur 2.8), sal die verbinding A ophoop en in abnormale konsentrasies in die bloed sowel as die urine teenwoordig wees. Die res van die kataboliete in die kataboliese weg (B tot E) sal nie gevorm kan word nie en dus in verlaagde konsentrasies in die bloed en urine teenwoordig wees. Indien die ensiem b defek is sal verbindings A sowel as B ophoop in die bloed en urine. Verbindings B_1 tot B_3 sal in verhoogde konsentrasies gevorm word, mits daar nie substraat inhibisie plaasvind nie. Indien daar substraat inhibisie plaasvind sal, afhangende van watter ensiem (b_1 , b_2 of b_3) geïnhibeer word een of meer van verbindings B_1 , B_2 en B_3 verlaag wees. Indien ensiem c defek is, sal al drie voorafgaande verbindings verhoog wees. Die kataboliete van die subkataboliese weg (B_1 , B_2 en B_3) sal ook verhoog wees, weer eens mits substraat inhibisie



Figuur 2.8 Voorstelling van 'n kataboliese weg van verbinding A. Verbinding A word omgesit m.b.v. 'n hoofkataboliese weg (→), deur ensieme a, b, c en d alternatiewelik in verbindings B, C, D en E. In 'n subkataboliese weg (→) word verbinding B via verbindings B₁, B₂ en B₃ omgesit d.m.v. ensieme b₁, b₂ en b₃. 'n Alternatiewe kataboliese weg (- -) bestaan by verbinding C, wat by normale omstandighede onaktief is, maar by abnormaal hoë konsentrasie van verbinding C, verbinding C₂ via C₁ sal vorm.

nie plaasvind nie. Die alternatiewe kataboliese weg sal nou in werking tree en verbinding C₁ en C₂ sal in verhoogde konsentrasies gevorm en uitgeskei word.

Elke defekte ensiem verleen dus 'n karakteristieke spektrum van verhoogde en verlaagde verbindings, wat spesifiek vir die besondere ensiem is. Volgens die spektrum kan die defekte ensiem geïdentifiseer word.

Vir die identifisering van 'n defekte ensiem in die katabolisme van tirosien is dus die volgende inligting nodig:

- (1) Kennis van die fenoliesesure wat tirosien as oorsprong het;
- (2) Normale voorkoms konsentrasies van dié fenoliese sure in die bloed en urine van 'n normale persoon;
- (3) Die ensieme wat betrokke is by die vorming van die fenoliesesure en;
- (4) Die korrekte volgorde wat die fenoliesesure d.m.v. ensieme gevorm word.

Die ensieme wat betrokke is by die afbraak van tirosien en die volgorde waarin die verskillende fenoliese sure gevorm word, is reeds m.b.v. Figuur 2.2 bespreek. Die fenoliesesure wat tirosien as oorsprong het en die normale konsentrasies waarin hierdie verbindings in die urine en die bloed van 'n normale persoon teenwoordig is, word in Tabel 2.1 saamgevat.

2.2 KLASSIFIKASIE VAN AFWYKINGS IN DIE KATABOLISME VAN TIROSIE

Afwykinge in die katabolisme van tirosien word volgens

Tabel 2.1 Tirosien en kataboliete van tirosien, wat in die urine van die mens voorkom se normale konsentrasies

Kataboliet	Hoeveelheid uitgeskei deur 'n normale persoon in die:	
	Bloed (mg/100ml)	Urine (µg/mg Kreatinien)
Tirosien	0,82-2,52	5,4-58,6
4-HPPA	0	spoor
4-HPLA	0	<10
4-HPAA	0	<20
DOPA	0	<0,2
Dopamien	0	<4,6
NAT	0	<4,0
Tiramien	0	-
4-HBA*	0	-
4-HMA*	0	-
4-Kresolsulfaat*	0	-
Fenolsulfaat*	0	-
4-H Hippuursuur*	0	-
4-H Fenielakriel- suur*	0	-
4-H Fenielpropioon- suur*	0	-
3-4 Dihidroksie PAA*	0	-
Homovaliniensuur*	0	-
Valiniensuur*	0	-

*Somnige van die verbindings is net waargeneem in die urine van pasiënte en die normale konsentrasies waarin dit gewoonlik teenwoordig is, is nog onbekend.

1
kliniese en biochemiese eienskappe deur verskillende outeurs in 'n aantal hoofde geklassifiseer, soos saamgevat in Tabel 2.2. In die literatuur is verskillende benamings gevind wat deur die verskillende outeurs gebruik word vir 'n tipe afwyking met dieselfde kliniese- en biochemiese kenmerke. Aanvanklik is net tirosielurie, tirosinemie of tirosinose as klassifikasie gebruik. Na 'n groter verskeidenheid afwykings in die katabolisme van tirosien ontdek is, het dit egter nodig geword om meer spesifiek met die benaming van die afwyking te wees.

Geen gestandaardiseerde benaming bestaan egter vir die verskillende tipes afwykings in die katabolisme van tirosien nie. Die benaming, soos gebruik deur La Du in Gjessing, (1978), kom die algemeenste voor en sal ook in hierdie geval gebruik word ter indeling en bespreking van die verskillende afwykings (Tabel 2.2).

2.2.1 Oorgangstirosinemie van die pasgeborene (Neonatale Tirosinemie)

'n Afwyking in die katabolisme van tirosien by pasgebore babas is vir die eerste keer deur Levine in 1939 beskryf. (Aangehaal deur Rosenberg en Sriver, 1969). Levine het die afwyking as tirosielurie beskryf a.g.v. die groot hoeveelheid tirosien kataboliete, (4-HPPA, 4-HPLA en 4-HPAA), wat deur die babas in hulle urine uitgeskei word. Later het Levine gevind dat nie net in die urine kom verhoogde konsentrasies tirosien en tirosienkataboliete voor nie, maar ook die bloed tirosien konsentrasie was verhoog. Ná

Tabel 2.2. Klassifikasie van afwykings in die metabolisme van tirosien soos benoem deur verskillende outeurs

KLASSIFIKASIE* ANDER BENAMINGS	KLINIESE EIGENSAPPE	ENZYMEPEK	BLOED	URINE
Oorgangstiro-sinemie van die pasgeborene	Tydlike tiro-sinemie en tiro-sielurie. (Bakker, et al., 1976) Neonatale tiro-sinemie (Buist, et al., 1974)	Twee tipes. 1. Vitamien C sensitief 2. Vitamien C het geen effek. Herstel met dieetbehandeling spontaan. Veroorzaak vertraagde ontwikkeling.	Tirosien!	Tirosielurie 4-HPLA veral verhoog.
Tirosinose (Nedespasiënt)		Myasthenia gravis. Nie verantwoordelik vir tirosien-afwyking. Geen ander effek.	Onseker	Nie nagegaan eis. Word aanvaar as verhoog.
Aangebore tirosinemie (Hepatorniale tipe)	Tirosinose (Bakker et al., 1976) Tiro-sinemie Tipe I (Buist, et al., 1974)	Akute: Erge lever afwyking. Algemene renale absorpsie defek. Dood tree op vroeë stadium in a.g.v. lewensafwyking. Kronies: Lever en renale afwykings op laer graad.	4-HPLA-ok-sidase Soms word be-weer by en-siemedefek is a.g.v. ander primêre defek.	Tirosien! Inmetcomien Algemene amino-suorurie. Tiro-sielurie. 4-HPLA veral verhoog. Levulinien-suur
Konstante hipertiro-sinemie (Orogontipe)	Tirosinemie en tiro-sielurie sonder lever en nierafwykings (Bakker et al., 1976) Supertirosinemie (Rosenberg en Scriver, 1969) Tiro-sinemie Tipe II (Buist, et al., 1974) Okulokutaniese tipe tiro-sinemie (Garibaldi, et al., 1977) Richner-Hanharts sindroom (Lucareus, et al., 1979)	Al die persone is verstandelik ver-traag. Vel- en oog-latsels kom dikwels voor, maar nie al-tyd nie.	4-HPLA-ok-si-dase defek gevind by 1 pasiënt. Tiro-sien trans-aminasedefek gevind by 1 pasiënt	Tirosien! Tirosielurie met veral 4-HPLA tiro-sien, HAT, DOPA en dopamien soms in groot hoeveelhede.
Hipertirosinie-gaaso-sieer met lewersiekte.	Oñskynlike tiro-sinose (Bakker et al., 1976)	Fructosemie, galak-tosemie, siro-sis, hepatitis en alle ander siektes wat lewerskade veroor-saak en absorpsie-defekte	Afhangend van afwyking.	Tirosien en verskeie ander ver-bindings. Behelwe tydens absorpsie-defekte

*Klassifikasie volgens La Du en Gjessing, 1978.

hierdie waarneming verwys Levine na die afwyking, nie meer as tirosielurie nie, maar na tirosinemie.

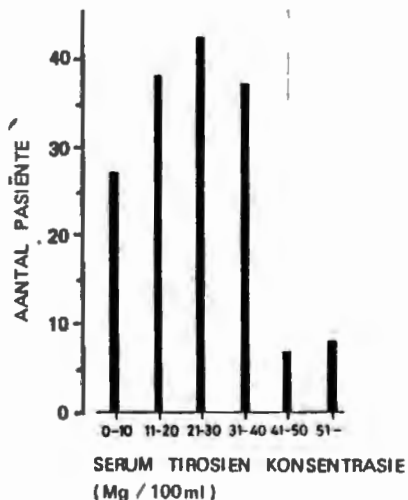
Na die beskrywing van die eerste geval, is hierdie afwyking baie algemeen opgemerk. Oorgangstirosinemie van die pasgeborene is tans die mees algemene afwyking wat in die tirosien metabolisme voorkom. (La Du en Gjessing, 1978.) Die afwyking kom voor in lande waar dit nagegaan is, in sowat 10% van alle pasgeborenes en in sowat 30% van alle premature, (La Du en Gjessing, 1978; Rosenberg en Sriver, 1969; Wang, et al., 1961; La Du, et al., 1963; Avery, et al., 1967; Levy, et al., 1969; Greven-Brawns en Mulkens, 1975; Bakker, et al., 1975).

2.2.1.1 Biochemiese kenmerke

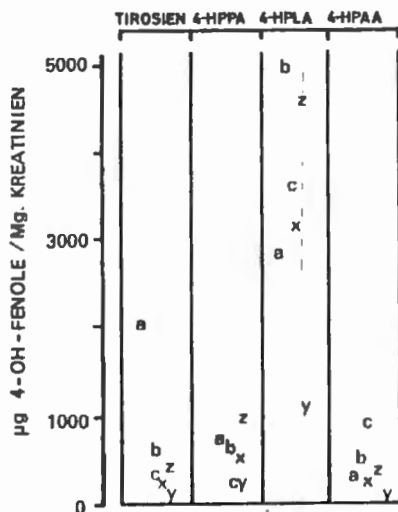
Die serum tirosienkonsentrasie van dié pasiënte is deurgaans verhoog. Die konsentrasie van pasiënte bespreek in die literatuur is nagegaan en word weer-gegee in Figuur 2.9. Die meeste pasiënte met hierdie afwyking se serum tirosienkonsentrasie wissel tussen 10 en 40mg per 100ml, wat 'n twintig-voudige verhoging van die normale konsentrasie (1-2,5mg/100ml) is. Enkele gevalle met 'n serum tirosienkonsentrasie van tot 60mg per 100ml is aangetref. Die gemiddelde serum tirosienkonsentrasie van premature is heelwat hoër as die gemiddelde waardes van normale babas. (Rizzardini en Abeluk, 1971). Soms is die serum fenielalanienkonsentrasie saam met die serum tirosien-konsentrasie verhoog (Greven-Brauns en Mulkens, 1975).

Gedurende die tyd wat die verhoogde bloed tirosien-konsentrasie heers, kom ook die toestand van tirosiëmie voor. Baie verhoogde hoeveelhede 4-hidroksifenol word in die urine van die pasiënte uitgeskei, (Figuur 2.10). Die tirosienkataboliet, 4-HPLA, word in baie hoë konsentrasies uitgeskei, 4-HPAA uitskeiding volg daarna, terwyl 4-HPAA teen die laagste konsentrasie uitgeskei word, maar nog steeds hoër as die normale waardes. (Bakker, et al., 1975; Danks et al., 1975.) Volgens Bakker, et al., (1975) word 4-HBA ook, deur pasiënte met oorganklike tirosinemie van die pasgeborene, uitgeskei, maar nie in abnormaal verhoogde hoeveelhede nie. Uit dunlaag chromatografie wat Danks, et al., (1975) uitgevoer het kan gesien word dat slegs 4-HPAA, 4-HPLA en 4-HPAA deur die pasiënt uitgeskei word.

Fenielalanien- en tirosien-tolleransietoetse dien as metode om te bepaal, of daar 'n defek in die kataboliese weë van die tirosien bestaan. Honderd en vyftig tot 300mg fenielalanien per kg liggaamsmassa word deur die pasiënte mondeliks ingeneem. Die fenielalanien, wat goed oplosbaar is, word binne die eerste twee uur na inname geabsorbeer en binne 8 uur volledig omgesit na tirosien. Die verloop van die absorpsie en omsettingsgebeure kan gevolg word deur op spesifieke tye die bloedkonsentrasies van fenielalanien en tirosien te bepaal. Dit word gedoen deur bloed op spesifieke tye, na inname van die aminosuur te trek en deur verskillende prosedures, waaronder fluorosensie, die konsentrasies te bepaal. Terselfdertyd kan die af-



Figuur 2.9 Serum tirosienkonsentrasies van pasiënte met oorgangstirosinemie van die pasgeborene. Pasiënte is ingedeel in groepe met die volgende serum tirosien konsentrasies vir grense (mg/100ml) Groep 1 - 0 tot 10, Groep 2 - 10 tot 20, Groep 3 - 20 tot 30, Groep 4 - 30 tot 40, Groep 5 - 40 tot 50 en hoër as 50mg per 100ml. Die ±150 pasiënte waarvan die serum tirosienkonsentrasies gebruik is, is deur die volgende outeurs beskryf: Light, et al., (1973); Aurbach, et al., 1963; Danks, et al., (1975); Avery, et al., (1967); Partington, et al., (1968); Menkes, et al., (1972); Hsia, et al., (1962) Bakker, et al., (1975); Rizzardini en Abeluik, (1971); Levy, et al., (1969); La Du, et al., (1963); Bremmer, et al., (1966); Mathews en Partington; (1964); Wang, et al., (1964); Sriver, et al., (1965); Harries, et al., (1969) en Partington en Mathews, (1967).



Figuur 2.10 4-Hidroksifenole uitgeskei in die urine van pasiënte van Bakker, et al., (1975) met oorgangstirosinemie van die pasgeborene. Die simbole stel die konsentrasies 4-hidroksifenole uitgeskei deur 'n spesifieke pasiënt voor.

braakprodukte in die urine nagegaan word. Deur kwalitatiewe toetse kan bepaal word watter afbraakprodukt teen die hoogste konsentrasie uitgeskei word. Die resultate kan dan 'n aanduiding gee of daar 'n defek in die kataboliese weg is en indien daar is, waar in die weg dit voorkom.

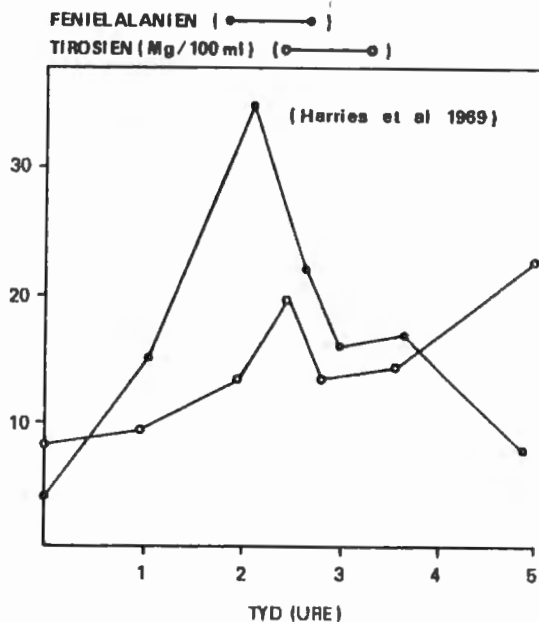
Tolleransietoetse is uitgevoer op pasiënte met die afwyking, tirosinomie van die pasgeborene, deur Harries, et al., (1969) (Figuur 2.11). Die feniel-

allanien (300mg/Kg Liggaamsmassa) wat die pasiënt ingegee is, word vinnig geabsorbeer en feniellalanien konsentrasie styg tot byna 40mg per 100ml vanaf 6mg per 100ml in 'n tydsbestek van 2 uur na inname. Dit is min of meer 'n sewevoudige styging. Hierna neem die konsentrasie feniellalanien vinnig af soos wat die feniellalanien omgesit word in tirosien, sodat vyf ure na inname byna die normale feniellalanien bloed-konsentrasie bereik word. Soos wat feniellalanien onomkeerbaar omgesit word in tirosien neem die tirosien serumkonsentrasie toe en hou aan toeneem. Na vyf ure, wanneer feniellalanien reeds die normale konsentrasie bereik het, was die tirosienkonsentrasie ± 22 mg per 100ml en was dit nog steeds besig om toe te neem. Op hierdie stadium is daar selfs nog geen teken getoon van afname nie (Harries, et al., 1969).

Die effek van die blokkering in die normale verloop in die kataboliese weg van die tirosien kan duidelik uit die resultate van die tolleransietoets gesien word (Figuur 2.11). Feniellalanien word effektief omgesit in tirosien. Tirosien, wat reeds teen 'n abnormale konsentrasie in die bloed teenwoordig is, styg nog hoër sonder om enige tekens te toon dat dit effektief in die kataboliese weë weggevoer word. By dié pasiënt van Harries, et al., (1969) is die uitskeiding van 4-hidroksifenole tydens die tolleransietoets nie nagegaan nie.

2.2.1.2 Ensiematiese defekte

Oorgangs- of neonatale tirosinomie word gewoonlik ge-



Figuur 2.11 Feniëalanien-tolleransiekurwe van 'n pasiënt met oorgangstirosinomie van die pasgeborene. Serum feniëalanien-konsentrasies (●—●) in mg% en serum tirosienkonsentrasies (○—○) in mg%.

assosieer met onvolledige swangerskap, waar die ensieme wat die vroeë metaboliese reaksies kataliseer nog nie voldoende ontwikkel is nie (Kretchmer en Etzwiler, 1958; Kretchmer, et al., 1956; Kretchmer, 1959; Rizzardini en Abeluik, 1971). Twee duidelike tipes neonatale tirosinemie kan onderskei word. Eerstens, 'n tipe waar die inname van vitamien C

geen verligting van die toestand bring nie (Bakker, et al., 1975). Tweedens, 'n tipe waar die toestand opgeklaar kan word deur die inname van vitamien C. Lae aktiwiteit van die ensiem kan veroorsaak word deur faktore soos:

- (1) onvoldoende ensiemkonsentrasies in die lewer;
- (2) onvoldoende vitamien C inname;
- (3) substraat inhibisie gesamentlik met lae ensiemkonsentrasies;
- (4) hoë proteïenname;
- (5) onderontwikkeling van die lewer en sy metabolismiese kapasiteit en;
- (6) kombinasie van bogenoemde faktore. (Buist, et al., 1974; Rosenberg en Screver, 1969.) Onvoldoende ensiemkonsentrasies kan moontlik veroorsaak word deur faktore soos:

- (i) die ensiem word nie geproduseer nie a.g.v. geenonderdrukking;
- (ii) 'n onvolledige ensiem word geproduseer in die vorm van 'n pro-ensiem;
- (iii) 'n volledige ensiem word geproduseer maar is onaktief a.g.v. 'n inhibeerder wat verwyder moet word of;
- (iv) 'n mutasie in die kritiese gebied van die ensiem bv. die aktiewe sentrum.

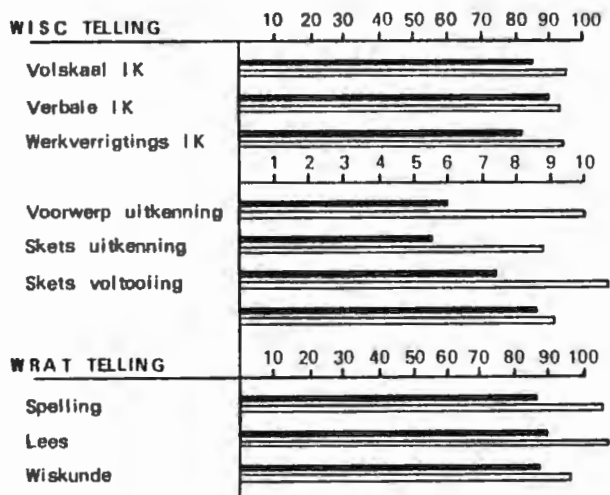
2.2.1.3 Kliniese kenmerke

Dit word algemeen aanvaar dat 'n hoë serum tirosien-

konsentrasie ($>2,5\text{mg}/100\text{m}\ell$) geen invloed het op die ontwikkeling van die kind nie. Talle gevalle het egter bewys die hoë tirosienkonsentrasie in die bloed, het wel 'n remmende invloed op die kind gehad, nl. op die kind se IK, sowel as sy gesondheid (Partington en Mathews, 1966; Menkes, et al., 1961; 1966 en 1972; Avery, et al., 1967; Harries, et al., 1969; Danks, et al., 1975). By dié pasiënte bespreek deur Harries, et al., (1969), het 'n groot verbetering in gesondheid sowel as IK ingetree na dieetbehandeling. Terwyl die pasiënt van Danks, et al., (1975) se gesondheid verbeter het na dieetbehandeling.

Volgens Menkes, et al., (1972) was daar geen uitstaande intellektuele verskil tussen 'n groep pasiënte met neonatale tirosinemie en 'n groep normale pasiënte, wat hy bestudeer het, nie. Nogtans was die pasiënte wat neonatale tirosinemie gehad het se intelligensie oor die algemeen laer as dié van die kontrolegroep. Partington, et al., (1968) het die intelligensie van 23 pasiënte met neonatale tirosinemie met 'n normale groep vergelyk en dieselfde bevinding is deur hom gemaak, nl. dat die pasiënte met neonatale tirosinemie se intelligensie oor die algemeen laer is, soos weer-gegee word in Figuur 2.12.

Die simptome wat dikwels na vore kom tydens die neonatale tirosinemie is, letargie, erratiese motoriese gedrag, vertraagde verstandelike ontwikkeling, vertraagde gewigtoename en lewerafwykinge (La Du en Gjessing, 1978; Scriver, et al., 1965; Light, et al., 1973; Harries, et al., 1969; Danks, et al., 1975). Dit



Figuur 2.12 Psigologiese toetstellings by pasiënte van Menkes, et al., (1972)
 (—) pasiënte wat hoë tirosienkonsentrasies gehad het.
 (▨) pasiënte wat normale tirosienkonsentrasies gehad het.

blyk egter of die meerderheid babas met neonatale tirosinemie baie min of geen nagevolge het as die gevolg van die hoë konsentrasie tirosien in hul bloed. Dit kan egter wees dat 'n langdurige verhoging van die serum tirosienwaarde, wel breinskade sal veroorsaak, as na die resultate gekyk word van Figuur 2.12. Geen- een van die pasiënte wat in die literatuur bespreek word was in 'n inrigting vir verstandelik vertraagdes nie. Dit kan egter toegeskryf word aan die ouderdom van die pasiënte. Omrede die pasiënte nog jonk was

is die meeste in hospitale of tuis verpleeg. Die pasiënt van Harries, et al., (1969) se IK was voor die dieetbehandeling so laag as 20 en sou dus in 'n inrigting gevind kon word.

2.2.1.4 Behandeling

Behandeling met 'n tirosien-fenielalanienlae dieet bring onmiddellik verligting van bg. simptome (Light, et al., 1973). Die behandeling bestaan uit 'n lae proteïeninnome (3g/Kg Liggaamsmassa/Dag) en 'n verhoogde vitamien C innome. Soms kan na 'n kort behandeling weer teruggekeer word na 'n normale dieet. Daar is egter gevalle bekend waar die behandeling etlike maande moes duur, (Harries, et al., 1969). Die meeste pasiënte herstel egter spontaan en kan die herstel net versnel word deur 'n dieetbehandeling.

2.2.2 Tirosinose (Medes se pasiënt)

Dié unieke geval wat al die ander tipes tirosinemië vooraf gegaan het is in 1927 deur Grace Medes waargeneem. Die pasiënt by wie die afwyking gevind is, 'n Russiese-Jood, het aan Myasthenia Gravis gely. Medes het groot hoeveelhede van 'n onbekende reduserende stof in die urine van die pasiënt gevind. Hieroor skryf Medes:

"The patient was admitted to the University Hospital July 18 1927 for the purpose of another investigation. During some phosphate determinations

by die method of Fiske and Subbarow in the course of this study, his urine was found to reduce phosphomolybdic acid. This reducing power was further investigated and it was for a while thought of as a possible characteristic of Myasthinia Gravis. Later examinations of urines from more than half a dozen patients with Myasthinia Gravis have failed to support this assumption."

Hierdie kritiese waarneming van Medes het gelei tot verdere biochemiese analyses wat aangetoon het dat die reduserende verbinding, 4-HPPA was. 4-HPPA was reeds uit die werk van Neubauer as 'n kataboliet van tirosien bekend en dit het Medes laat vermoed dat 'n moontlike afwyking in die katabolisme van tirosien, by die pasiënt bestaan. Medes se benadering tot die probleem het veral daaruit bestaan dat sy verskeie dieëte aan die pasiënt gegee het om daarna telkens na te gaan watter tirosien kataboliet in die urine uitgeskei word, (Tabel 3.2). Hieruit het sy postuleer waar die moontlike defek in die kataboliese weg van tirosien by die pasiënt voorkom. (Medes, 1932.)

Die Medes-pasiënt het 4-HPPA teen 'n konstante hoë konsentrasie uitgeskei. Selfs tydens 'n vastydperk is 4-HPPA teen 'n konstante waarde van 1,6 gram per dag uitgeskei. Hierdie hoeveelhede is volgens Medes die verwagte hoeveelheid wat deur endogene metabolisme gemetaboliseer word. Sy maak daarop die gevolgtrekking dat die kataboliese defek by hierdie pasiënt totaal moet wees. Geen ander kataboliet van tirosien,

of tirosien self, kon uit die urine van die pasiënt, tydens die vastydperk, geïsoleer word nie.

Die pasiënt is na die vastydperk op 'n gemengde dieet geplaas. Tydens hierdie dieet kon tirosien uit die urine van die pasiënt geïsoleer word en die verbinding, 4-HPLA, was waarneembaar in die urine.

Tydens 'n hoë tirosiendieet het die uitskeiding van 4-HPPA baie verhoog en wat baie opvallend was, was die DOPA uitskeiding wat na hierdie dieet gevolg het. Medes het die verskynsel verklaar deur te aanvaar dat die hoofkataboliese weg van tirosien by die pasiënt was sodanig ontoeganklik sodat die subkataboliese weg na DOPA as alternatief dominant gevind is.

Medes het as verklaring van die patroon waarvolgens die kataboliete in die urine van die pasiënt tydens die verskillende diëte vrygestel is, voorgestel dat die omsetting van 4-HPPA na homogentesiensuur nie moontlik is nie. Volgens Medes sou die ensiem 4-HPPA-oksidasie van die pasiënt defek gewees het. (Tabel 2.3) (Medes, 1932.)

In sy bespreking van die Medes-geval wys La Du en Gjessing, (1978) op die teenstrydighede in die verklaring wat sy vir die afwyking in die pasiënt gee. Die eerste punt wat La Du aanvoer, is dat geen 4-HPLA gevorm word tydens die lae tirosiendieet nie, hoewel daar groot hoeveelhede 4-HPPA gevorm word, wat maklik deur verskeie ensieme omgesit kan word in 4-HPLA.

Tabel 2.3 Urinêre verbindings geassosieer met tirosielurie van die pasiënt van Medes tydens tirosienvrye, hoë tirosien en hoë tirosienkatabolietdiëte

Dieet	*mg 4-HPPA	*mg Tirosien	*mg 4-HPLA	*DOPA
Vas	616,0	0	0	0
Tirosienvrye dieet	656,0	0	0	0
Gemengde dieet	1120,0	152,0	0	0
Hoë proteïen dieet	1280,0	320,0	Spoor	0
Hoë proteïen + 15g Tir	1856,0	868,0	128,0	Urine word swar
Tirosienvry + 2g 4-HPLA	Geen verhoging	0	712 (4 dae)	0
Tirosienvry + 4g 4-HPPA	Onmiddellike verhoging hou aan vir verskeie dae	0	Verhoog na 2 dae vir verskeie dae	0
Tirosienvry + 2g DOPA	Vertraagde verhoging maksimum na 4 dae	0,1	0	±0,8g geïsoleer

*Eenhede gebruik deur Medes is verwerk na eenhede vergelykbaar met verdere resultate in die verhandeling

Tweedens word 'n abnormaal groot hoeveelheid DOPA gevorm. Volgens La Du is hierdie beeld meer versoenbaar met 'n defek in hepatiese tirosientransaminase as in 4-HPPA-oksidasie soos deur Medes voorgestel. Om die hoë uitskeiding van 4-HPPA en lae 4-HPLA in die urine van die pasiënt te verklaar, postuleer La Du dat tirosientransaminase in die niere van die pasiënt wel aktief moes wees. Om hierdie teorie van La Du te steun moes die bloed tirosienkonsentrasie van die

pasiënt baie verhoog gewees het. Hierdie bepalings is egter nie deur Medes gedoen nie en is dit onbekend of dit wel die geval was of nie, (La Du en Gjessing, 1978). 'n Finale uitsluitsel oor die Medes-pasiënt sal waarskynlik eers gekry word sodra weer so 'n geval hom voordoene wat dan in verdere detail ondersoek kan word.

Jaiswal, et al., (1978) het in Indië 'n hele familie gevind met dieselfde biochemiese kenmerke as dié van die Medes-pasiënt. Die lede van die familie lei 'n normale gesonde lewe en is klinies normaal. Hulle het geen lewer- of nierprobleme nie en geen vitamien C gebrek nie. By al ses persone in die familie word 'n hoë serum tirosienkonsentrasie, hoë urinêre tirosienkonsentrasie, asook 'n hoë tirosienkataboliet-konsentrasie in die urine, aangetref. Die tirosien kataboliete wat uitgeskei word, bestaan hoofsaaklik uit 4-HPPA, 'n klein hoeveelheid 4-HPLA en baie min 4-HPAA. In die serum van die pasiënt word nie slegs 'n hoë konsentrasie tirosien aangetref nie, maar ook 'n hoë konsentrasie 4-HPPA. Na die inname van groot hoeveelhede tirosien (160mg/Kg liggaamsmassa) styg die uitskeiding van 4-HPPA, maar nie uitermatig baie soos verwag sou word nie. Volgens Jaiswal, et al., (1978) is die ensiem tirosientransaminase by die pasiënt funksioneel normaal, terwyl die ensiem 4-HPPA-oksidasie afwesig of defek is.

La Du en Gjessing, (1978), beweer dat die pasiënt wat deur Jaiswal beskryf is, nie dieselfde tipe af-

wyking is as die van die Medes-pasiënt nie, hoewel die kliniese en biochemiese eienskappe van die pasiënt ooreenstem. Die rede wat La Du vir hierdie bewering aanvoer is die lae styging in 4-HPPA-uitskeiding wanneer die pasiënt groot hoeveelhede tirosien inneem.

2.2.3 Aangebore tirosinemie (Hepatorenale tipe)

Hierdie vorm van afwyking in die katabolisme van tirosien is vir die eerste keer deur Baber in 1956 opgemerk en beskryf (aangehaal deur La Du En Gjessing, 1978 en Buist et al., 1974). Baber het nie besef sy het te doen met 'n metaboliese afwyking nie, hoewel sy die simptome vir die afwyking korrek beskryf het. Die eerste korrekte kliniese en biochemiese beskrywing is gegee deur Sakai en sy kollegas in Japan 1957 (aangehaal deur Rosenberg en Sriver, 1969).

Na die beskrywing van Sakai se pasiënt, is meer as 100 gevalle gevind en bespreek, waarvan Larochelle, et al., (1973) alleen twee en sestig gevalle in Kanada bespreek het. Dié afwyking wat outosomaal resesief is, en 'n groot geografiese variasie het, se benaming verskil dikwels. Dit is egter maklik uitkenbaar aan die baie tipiese kliniese en biochemiese eienskappe.

2.2.3.1 Kliniese eienskappe

Die simptome van die afwyking begin gewoonlik kort na geboorte. By geboorte is die baba normaal tot op 'n ouderdom van 3 tot 6 maande wanneer die simptome

na vore kom. Soms is die afwyking akuut en die simptome kom dan binne die eerste lewensmaand na vore, vroeër as die kroniese tipe (Larochelle, et al., 1967; Carson, et al., 1976). Die simptome van die akute vorm van die afwyking kom nie net vroeër na vore nie, maar is ook meer drasties en die baba sterf binne die eerste lewensmaande a.g.v. lewerversaking.

Die tipiese simptome by kroniese sowel as akute tipe aangebore tirosinemie is, vormering, diareë, vertraagde groei en ontwikkeling, vetagtige stoelgang en verlengde bloedingstyd. Soms is 'n tipiese soet reuk merkbaar a.g.v. metionien derivate wat uitgeskei word. Sommige simptome kom eers later in die lewensstadium na vore, soos vergrote lewer by 90% van die pasiënte, vergrote maag by 55% en vergrote milt by 77% van die pasiënte met die afwyking. Raggitis, geelsig en Fanconi-Debré sindroom kom ook diwels voor. Verstandelike vertraagtheid kom soms voor, (Kogut, et al., 1967) maar dit is nie kenmerkend van die afwyking nie (Halverson, et al., 1966; Larochelle, et al., 1967; Partington, en Haust, 1967; Larochelle, et al., 1973; Sriver, et al., 1967; Gentz, et al., 1965; Gaull, et al., 1970; Bodegard, et al., 1969).

Die akute sowel as die kroniese vorm van die afwyking kan in dieselfde familie voorkom. Die kroniese vorm gaan soms oor in die akute vorm. Dus kan die twee vorme van die afwyking nie toegeskryf word aan verskillende genetiese oorsprong nie (Halverson, et al., 1966; Larochelle, et al., 1967).

2.2.3.2 Biochemiese beeld

Die standaard lewerfunksietoetse uitgevoer op pasiënte met aangebore tirosinemie lewer gewoonlik abnormale resultate op. Algemene aminosuururie kom dikwels voor, met spesifieke aminosure wat in verhoogde konsentrasies uitgeskei word, (Tabel 2.4.) Hiervan is tirosien, metionien en fenielalanien die bekendstes. Urinêre- δ -aminolevuliniensuur uitskeiding is by sommige pasiënte baie verhoog (Kang, et al, 1970., Strife, et al, 1977., Lindblad, et al, 1977). Proteïenurie en glukosurie kom soms voor (Kogut, et al, 1967., Laroche, et al, 1973). Dit gebeur dikwels dat ligte hipermetionienemie voorkom en fenielalanien-konsentrasies is soms saam met die tirosienkonsentrasie verhoog (Gaul, et al, 1970., Carson, et al, 1976., Partington en Haust, 1967). Verskeie ander aminosure kom in verhoogde konsentrasies in die bloed van hierdie pasiënte voor, soos weergegee in Tabel 2.5.

Hoewel die tirosienkonsentrasie by 100% van die gevalle verhoog is, is dit in 'n minder mate verhoog as in die geval van oorganklike tirosinemie by die pasgeborenes (Figuur 2.13) en by konstante hipertirosinemie, wat later bespreek sal word. Hoewel daar gevalle met hoër konsentrasies voorkom, het die meeste pasiënte met aangebore tirosinemie, 'n tirosienkonsentrasie van tussen die boonste normale grens (2,5mg/100ml) en 10mg per 100ml. Geen pasiënt is opgespoor met 'n hoër tirosienkonsentrasie as 30mg per 100ml nie, (Figuur 2.13). Sriver, et al,

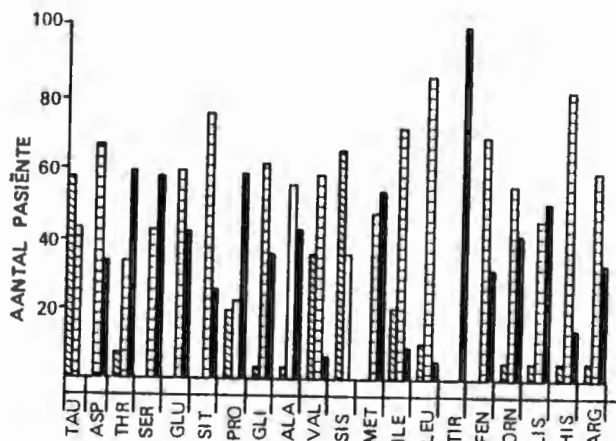
Tabel 2.4 Aminosure uitgeskei deur ses pasiënte met aangebore tirosinemie

Aminosuur	Normale grens*	Pasiënt			
		Getal	Getal	Getal	Getal
		Verlaag	Normaal	Verhoog	Baie Verhoog
	mg/gm Kreatinien				
Tirosien	5,4-58,6	0	0	0	6
Fenielalanien	4,0-22,0	0	0	8	1
Metionien	1,7-18,3	0	4	1	1
Histidien	12,6-18,0	0	0	0	2
Ornitien	1,0- 6,5	0	0	0	2
Lisien	4,2-63,9	0	0	0	2
Glutamien	36,7-163,8	0	1	1	4
Glisien	22,8-196,5	0	3	1	2
Serien	19,3-84,7	0	2	2	2
Alanien	17,3-58,4	0	1	3	2
Treonien	9,8-31,6	0	0	3	3
Prolien	0-3,8	0	3	2	1
Valien	3,0-18,3	0	2	2	2
Leusien	1,3-14,8	0	1	2	2
Glutamiensuur	0-7,0	0	0	1	5
Orginien	0,7-8,5	0	0	0	2
Sistien	4,1-32,2	0	4	2	0

*Normale waardes is verkry uit Holston, et al., (1971).

Resultate wat in die tabel gebruik word is van pasiënte bespreek deur Gentz, et al., (1965)., Kogut, et al., (1967) en Carson, et al., (1976).

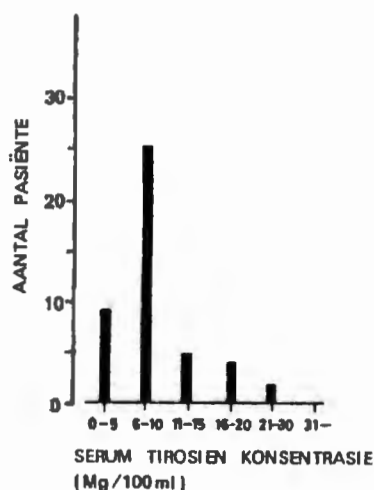
Tabel 2.5 Bloed aminosuurkonsentrasies van pasiënte met aangebore tirosinemie
(■)-verhoog (▨)-verlaag (□)-normaal



Resultate wat in Tabel 2.5 gebruik is, is afkomstig van: Jagenburg, et al., (1972)., Zetterström, et al., (1963)., Scriver, et al., (1967)., Kang en Gerald; (1970)., Gentz, et al., (1965)., Gaul, et al., (1970)., Carson, et al., (1976), Bodegard, et al., (1969) en Kogut, et al., (1967).

(1967) rapporteer van 'n pasiënt met serum tirosienkonsentrasie van 53* mg per 100mℓ. Die pasiënt, wat nog baie jonk was, het herstel na behandeling en moet hy eerder as neonatale tirosinemie geklassifiseer word.

*Eenhede van die waarde is verwerk na vergelykbare eenhede

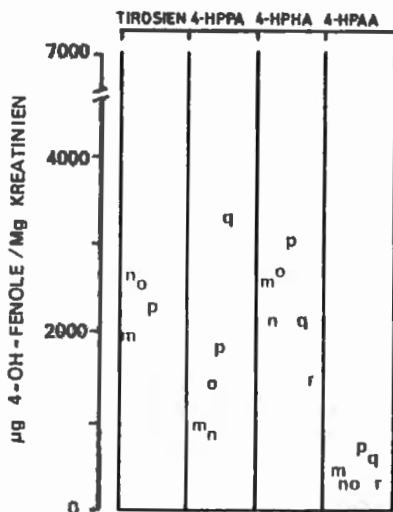


Figuur 2.13 Serum tirosienkonsentrasies van pasiënte met aangebore tirosinemie (hepatorenaal tipe). Inligting in Figuur 2.13 is saamgevat uit resultate van: Partington en Haust; (1967).; Gentz, et al., (1967).; Jagenburg, et al., (1972).; Zetterström, (1963); Scriver, et al., (1967).; Koqut, et al., (1967); Kang en Gerald; (1970)., Gentz, et al., (1965).; Gaull, et al., (1970) en Larochelle, et al., (1973)

Tirosielurie is 'n konstante verskynsel by pasiënte met aangebore tirosinemie. Nie net groot hoeveelhede tirosien word in die urine uitgeskei nie, maar ook groot hoeveelhede tirosienkataboliete (4-HPPA, 4-HPLA en 4-HPAA). 'n Konstante patroon van kon-

sentrasies waarin die kataboliete in die urine van die pasiënte voorkom word in Figuur 2.14 opgemerk. Met die uitsondering van een pasiënt (Gentz, et al., 1969), word 4-HPLA konstant teen die hoogste konsentrasies uitgeskei. 4-HPPA word by al die pasiënte teen die laagste konsentrasie van die tirosienkataboliete uitgeskei, dit is egter nog baie hoër as die uitskeiding by 'n normale persoon. Wat baie opmerklik was, is met behandeling van die pasiënte met 'n lae fenielalanien-tirosien dieet verdwyn 4-HPLA en 4-HPPA uit die urine van die pasiënte, maar die verbinding 4-HPAA word konstant teen 'n verhoogde konsentrasie uitgeskei (Gentz, et al., 1967). Geen ander kataboliet van tirosien is in verhoogde konsentrasies in die urine van dié pasiënte gevind nie.

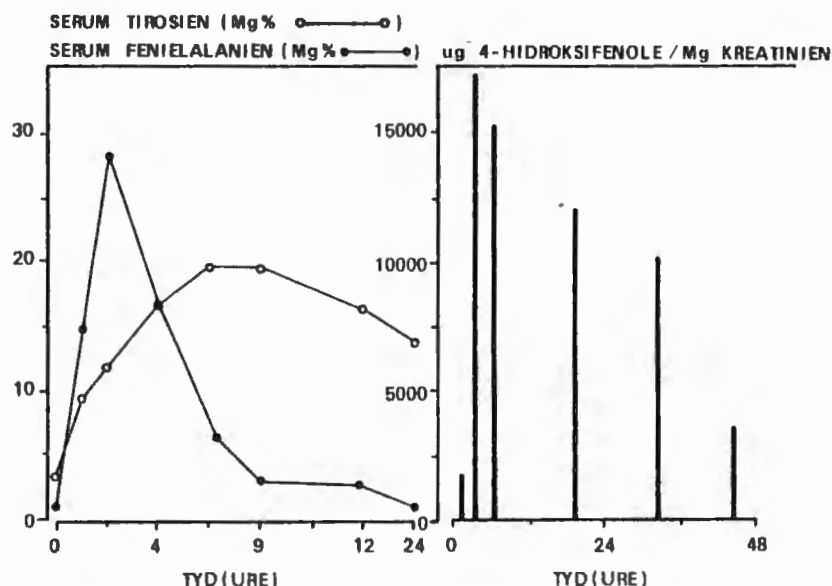
Fenielalanien- en tirosien-tolleransietoetse is uitgevoer op pasiënte van Gentz, et al., (1965)., Jagenburg, et al., (1972)., en Scriver, et al., (1967) met hierdie afwyking (Figuur 2.15, 2.16 en 2.17). By al drie die pasiënte kan duidelik gesien word dat 'n defekte ensiem teenwoordig moet wees. 'n Dieet met 200mg fenielalanien per Kg liggaamsmassa is aan die pasiënt gegee. Die aminosuur word vinnig in die bloed geabsorbeer en omgesit in tirosien. Die tirosien konsentrasie wat reeds hoog was styg tot 'n abnormale hoë konsentrasie van $\pm 20\text{mg}$ per 100ml na 8 uur in die geval van die pasiënt van Gentz, et al., (1969). Die pasiënt van Jagenburg, et al., (1972) wie se normale tirosienkonsentrasie laer is as dié van die pasiënt van Gentz, se tirosienkonsentrasie styg na 8 uur, na inname, na 'n konsentrasie van net meer as 10mg



Figuur 2.14 Tirosien en tirosienkataboliet uitskeiding by pasiënte met aangebore tirosinemie bespreek deur Gentz, et al., (1965) en Gentz, et al., (1969).

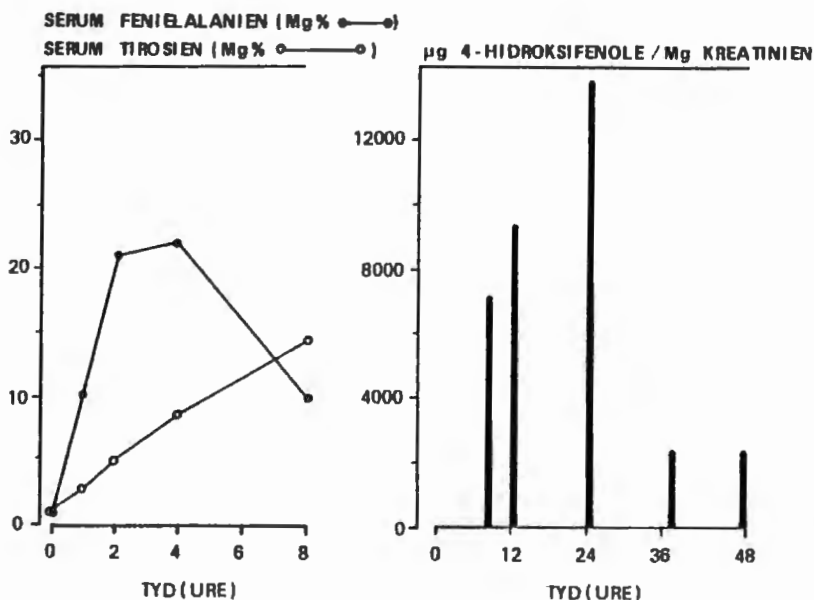
per 100ml. Groot hoeveelhede 4-hidroksifenole word deur beide pasiënte tydens die fenielalanien-tolleransietoetse uitgeskei. Die pasiënt van Gentz skei onmiddellik na fenielalanieninname, geweldig verhoogde konsentrasies 4-hidroksifenole uit (>1500µg 4-hidroksifenole/mg kreatinien), terwyl die Jagenburgpasiënt eers na 12 uur na inname konsentrasies 4-hidroksifenole wat kompeteer met dié van die Gentpasiënt, begin uitskei. Jagenburg, et al., (1972) vind die metaboliese defek by sy pasiënt as gedeeltelik, terwyl die pasiënt van Gentz, et al., (1969) totaal is.

Scriver, et al., (1967) het 'n tirosien-tolleransietoets op 'n pasiënt uitgevoer. Die tolleransiekurwe verloop tipies soos die by 'n metabolismiese defek, (Figuur 2.17). Tirosien word vinnig opgeneem en na 24 uur het dit nog steeds nie teruggekeer na normaal nie, terselfdertyd word konstant baie hoë konsentrasies 4-hidroksefenole uitgeskei.



Figuur 2.15 Fenielaanien-tolleransiekurwe en fenielaanien omsetting na tirosien van pasiënt J.L. van Gentz, et al., (1969), met die uitskeiding van die totale urinêre 4-hidroksifenole* tydens die tolleransietoets.

*4-Hidroksifenolkonsentrasies is verwerk na vergelykbare eenhede.

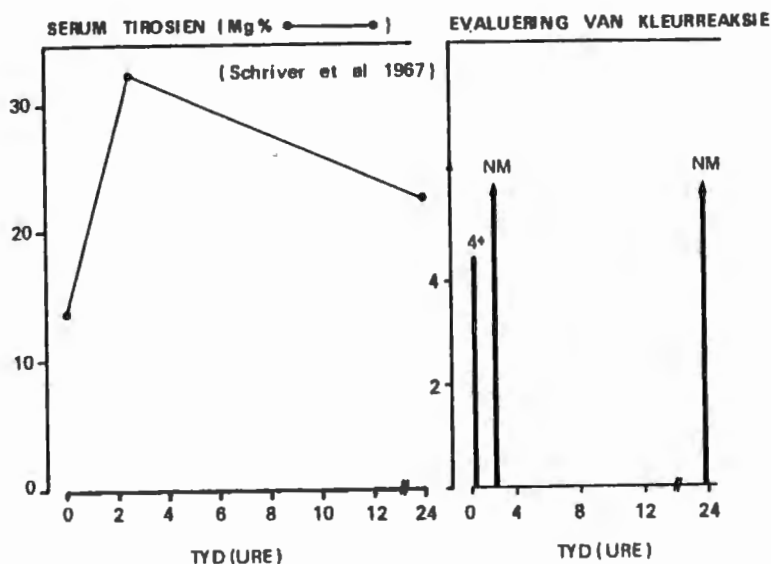


Figuur 2.16 Feniellalanien-tolleransiekurwe, feniellalanien omsetting na tirosien en totale urinêre 4-hidroksifenol* uitskeiding tydens die tolleransietoets van 'n pasiënt van Jagenburg, et al., (1972).

2.2.3.3 Ensimatiese defekte

Biochemiese studies van lewer-biopsies van die pasiënte, met aangebore tirosinemie, het aangetoon daar bestaan 'n verlaagde aktiwiteit van die ensiem, 4-HPPA-oksidasie, by die pasiënte. Die aktiwiteit van die ensiem kan geheel en al afwesig wees (Gentz, et al., 1965), (Figuur 2.15) of net 'n gedeeltelike defek (Jagenburg, et al., 1972). Die ensiem, 4-HPPA-oksidasie, wat in die niere ook voorkom, kan gesament-

*4-Hidroksifenolkonsentrasies is verwerk na verge-lykbare eenhede.



Figuur 2.17 . Tirosien-tolleransiekurwe en totale 4-hidroksiefonol* uitskeiding tydens die tolleransietoets van 'n pasiënt van Schriver, et al., (1967).

lik met sy lewer ekwivalent, defek wees. Dit kan egter ook aktief wees, terwyl die hepatiese vorm van die ensiem defek kan wees (Buist, et al., 1974).

Hoewel die ensiem 4-HPPA-oksidasie die belangrikste rol blyk te speel in hierdie tipe metaboliese defek, is dit egter nie die enigste ensiem wat bydra tot die simptome van die afwyking nie. Die ensiem tiro-

*4-Hidroksifenolkonsentrasies is verwerk na vergelykbare eenhede.

sientransaminase kan soms ook defek wees (La Du en Gjessing, 1978). 'n Verlaagde aktiwiteit van die ensiem, metionienaktiverings ensiem, sistathionien sintetase, feniëlalanienhidroksilase en porfobilino-geen sintetase is ook aangetoon. (Gaul, et al., 1970; Lindblad, et al., 1977). Die defektiwiteit van hierdie lg. ensieme is waarskynlik eerder die gevolg van lewerskade as van 'n primêre genetiese defek (Buist, et al., 1974).

Baie van die eienskappe van aangebore tirosonemie kan egter nie verklaar word net deur die defektiwiteit van die ensiem 4-HPPA-oksidasie alleen nie. In die afwyking neonatale tirosinemie is die serum tirosien-konsentrasie baie hoër as by aangebore tirosinemie. Nogtans ontwikkel 'n pasiënt met neonatale tirosinemie nie lewer- en nierafwykings nie. As 4-HPLA en die ander tirosienkataboliete toksies t.o.v. hierdie weefsel was, sou 'n pasiënt met neonatale tirosinemie ook lewer- en nierskade moes opdoen. Die uitskeiding van tirosienkataboliete by pasiënte met neonatale tirosinemie is selfs hoër as dié uitskeiding tydens aangebore tirosinemie (Buist, et al., 1974).

Die afwyking, fruktosemie, gee 'n identiese kliniese beeld as aangebore tirosinemie (Lindemann, et al., 1970). Om hierdie redes word tans wyd aanvaar dat die ensiem 4-HPPA-oksidasie se aktiwiteit nie die primêre oorsaak vir dié defek is nie (Buist, et al., 1974). Indien 4-HPPA-oksidasie nie die primêre oorsaak van die afwyking is nie, bly dit egter nog onverklaarbaar waarom 'n feniëlalanien-tirosien-vrye dieet die simptome

van die afwyking verlig. Om hierdie rede het Lindblad 'n hipotese gestel dat die akkumulering van die tirosienkataboliete die lewer- en nierskade veroorsaak, (Lindblad, et al., 1977). Sommige outeurs stel voor hipermetionienemie is die primêre defek en veroorsaak al die ander simptome van die afwyking. Dit verklaar egter nie waarom hipertirosinemie hipermetronienemie in neonatale tirosinemie voorafgaan nie en 'n lae tirosien-fenielalaniendieet beide simptome opklaar nie (Buist, et al., 1974). Die skadelike effek wat 'n defekte ensiem op 'n volgende ensiem kan hê, kan egter nie buite rekening gelaat word nie.

2.2.4 Konstante hipertirosinemie (Oregontipe)

2.2.4.1 Kliniese beeld

Die eerste pasiënt met konstante hipertirosinemie (Oregontipe) is deur Wadman, et al., in 1968 beskryf. Die pasiënt wat in die Wilhelmina Ziekenhuis te Utrecht opgeneem was, was uniek in die sin dat die tirosinemie en tirosielurie gepaard gegaan het met verstandelike vertraagdheid in die afwesigheid van tekens van lewer- of nierafwykings, (Wadman, et al., 1968). Dit was duidelik dat hierdie 'n nuwe tipe defek in die katabolisme van tirosien was. Sedertdien is daar reeds 10 ander pasiënte met dieselfde kliniese en biochemiese kenmerke as dié van die Wadmanpasiënt beskryf, (Tabel 2.6). Die pasiënte ly almal aan tirosinemie en tirosielurie en is verstandelik vertraag. Met die uitsondering van twee pasiënte, het almal oogletsels. Nie een geval is bekend waar meer as een lid van dieselfde

Tabel 2.6. Opsomming van kliniese en biochemiese eienskappe van 11 pasiënte, met konstante hipertirosinemie, wat in die literatuur bespreek word

Pasiënt	Ref.slag	Ge- Ouder- slag dom	Vel	Oë	Abnormaliteite	Urienkonsentrasies µg/mg Kreatinien										Ander	Dopamien
						Bloed konsen- trasies Tiro- sien mg/100ml	4-HPPA mg/100ml	Tiro- sien mg/100ml	4-HPPA	4-HPLA	4-HPAA	Tira- mien	NAT	DOPA			
Wadman et al., 1968	V	18	Normaal	Katarakte	Verstandelik vertraag. Self mishandeling. Asimmetriese kniereflekse. Regter Babinski teken	7-11	-	250	940	2120	420	-	Teen- woordig	Geen	4-HNA	Geen	
Kennaway en Buist, 1971	M	2	-	Korneale ulkese- ring. Hoë traan- afskieding, bene- weling.	Meervoudige kongenitale afwykings. Mikrosefalie. Gesplete lip en verhemelte, Horrelvoete. Een nier is afwesig. Verstandelik vertraag.	20-50	0,36	320	600 tot 800	1000 tot 1700	700 tot 1200	900 tot 1600	17 tot 44	-	4-HNA	-	
Hillen Zaleski, V. 1971	V	13	Palmar en plantar akro- kerato- sis	Korneale ulkese- ring oogtrilling	Verstandelik vertraag.	25	-	350	30	850	110	6	-	-	-	-	
Holston et al., 1971	M	10½	-	Keratitits. By- siende	Verstandelik vertraag. Vertraagde ontwikkeling.	16-27	-	290	150	490	120	-	-	Geen	-	-	
Goldsmith et al., 1973	M	11½	Palmar en plantar hiper- kera- tosis	Korneale benewe- ling. Hoë traan- afskieding en lig- sensitief.	Verstandelik vertraag. Senuwee- trekkings.	25-30	0	560	460	900	110	-	67	-	-	-	
Westmore en Billson, 1973 Faul et al., 1977	V	3	Palmar en plantar hiper- kerato- sis	Letsels kom voor	Blykbaar normaal. Op 11 jarige ouderdom was lig vertraag. Dieet- behandeling ontvang vanaf 18 maande.	22-28	0	Swaar									
Louis et al., 1974. Faul et al., 1977	M	35	Normaal	Normalsal	Verstandelik vertraag. Tremor van sy hande.	21,6	0,368	570	1200	1500	1800	0	133	2	-	10	
Sandberg, 1975	V	12 weke	-	Vlekke reeds op ouderdom van 15 dae opgemerk. Her- stel met tiro- sien- vrye dieet	-	51	-	-	Ver- hoog	Ver- hoog	Ver- hoog	-	-	-	-	-	
Garibaldi et al., 1977	V	3½	Hiper- kera- tosis	Ligsensitief. Oor- maat traanafskie- ding.	Verstandelik vertraag	35	-	Ver- hoog	Ver- hoog	Baie ver- hoog	Baie ver- hoog	-	-	-	-	-	
	V	28	Hiper- kera- tosis	Normaal	Verstandelik vertraag	30	-	Ver- hoog	Ver- hoog	Baie ver- hoog	Baie ver- hoog	-	-	-	-	-	
Larregue et al., 1979	M	1½	Kero- tosis	Keratitits	Vertraagde ontwikkeling	52	-	300	76	337	123	-	-	-	4-HNA	-	

familie aangetas is nie. Garibaldi, et al., (1977) beskryf wel 'n pasiënt en 'n tante van die pasiënt met die afwyking. Sommige families het wel 'n geskiedenis van resesief outosomaal oorerflike siektes.

Die oogsimptome begin soms op so 'n vroeë ouderdom as twee weke (Goldsmith, 1978) maar ontwikkel dikwels eers op 'n baie later stadium. Korneale bene-weling kom dikwels voor (Kennaway en Buist, 1971.; Goldsmith, et al., 1973), terwyl ulkusse soms intra-epiteliaal of diep kan ontstaan. (Kennaway en Buist, 1971; Hill en Zaleski, 1971). 'n Oormaat traanafskeiding en oogtrillinge kom by sommige pasiënte voor (Hill en Zaleski, 1971).

Velletsels is beperk tot die handpalms en voetsole en begin gewoonlik in die eerste lewensjaar (Hill en Zaleski, 1971), maar een geval is beskryf waar dit eers op 'n ouderdom van ses jaar verskyn het (Goldsmith, et al., 1973).

Verstandelike vertraagdheid is 'n kenmerk van die afwyking en wissel van matig tot swaar. Pasiënte wat op 'n vroeë ouderdom dieetbehandeling ontvang het blyk om minder verstandelik vertraag te wees (Goldsmith, 1978; Goldsmith, et al., 1973). Die pasiënte is dikwels in inrigtings aangetref waar hulle behandel is.

2.2.4.2 Biochemiese beeld

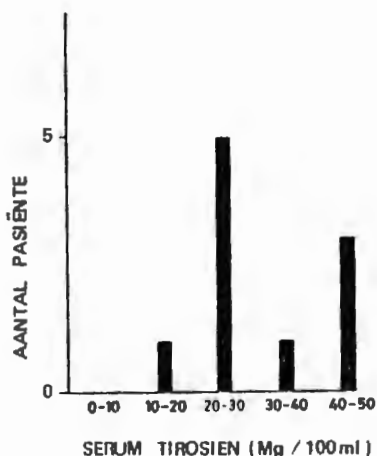
By die pasiënte met konstante hipertirosinemie is geen renale of hepatiese afwykings of tekens daarvan

opgespoor nie. Bloedtirosienvlakke is baie verhoog soos in die geval van neonatale tirosinemie. Serum tirosienkonsentrasies van die pasiënte het gewissel van 20 tot 60mg per 100ml, (Figuur 2.18). Tirosien en tirosienkataboliete word in abnormaal hoë konsentrasies uitgeskei, maar teen laer konsentrasies as wat dit die geval was by neonatale- sowel as aangebore tirosinemie. 4-HPLA word weer eens teen die hoogste konsentrasie uitgeskei met 4-HPPA- en 4-HPAA-konsentrasies wat respektiewelik volg. Wat baie opvallend van die afwyking is, is die groot hoeveelhede NAT, tiramien en DOPA wat dié pasiënte uitskei, (Figuur 2.19). 4-HMA word ook deur verskeie pasiënte in verhoogde konsentrasies uitgeskei (Kennaway en Buist, 1971; Louis, et al., 1974; Wadman, et al., 1968; Larregue, et al., 1979).

Algemene aminosuururie en verhoogde bloedaminozuur-konsentrasies kom geensins by die pasiënte voor nie.

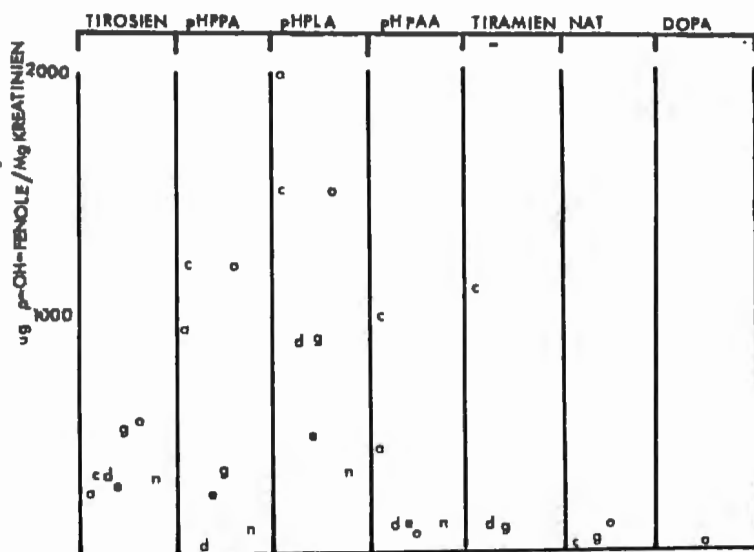
Fenielalanien- en tirosien-tolleransietoets is op twee pasiënte met konstante hipertirosinemie uitgevoer (Kennaway en Buist, 1971, Wadman, et al., 1968). Uit beide die tirosien- (Figuur 2.20) en die fenielalanien- (Figuur 2.21) kurwes, kan die defek in die kataboliese weë van tirosien, van die pasiënte gesien word.

Beide pasiënte het reeds voor die aanvang van die tolleransietoets hoë tirosienkonsentrasies in hul bloed gehad. Met die inname van fenielalanien en tirosien neem die tirosienkonsentrasie in die bloed vinnig toe tot 'n maksimum bereik word en keer daarna



Figuur 2.18 Serum tirosienkonsentrasies van pasiënte met konstante hipertirosinemie. Data in die figuur is verkry uit Wadman, et al., (1968), Kennaway en Buist, (1971), Hill en Zaleski, (1971), Holston, et al., (1971), Goldsmith, et al., (1973), Westmore en Billson, (1973), Louis, et al., (1974), Sandberg, (1975), Garibaldi, et al., (1977) en Larrigue, et al., (1979)

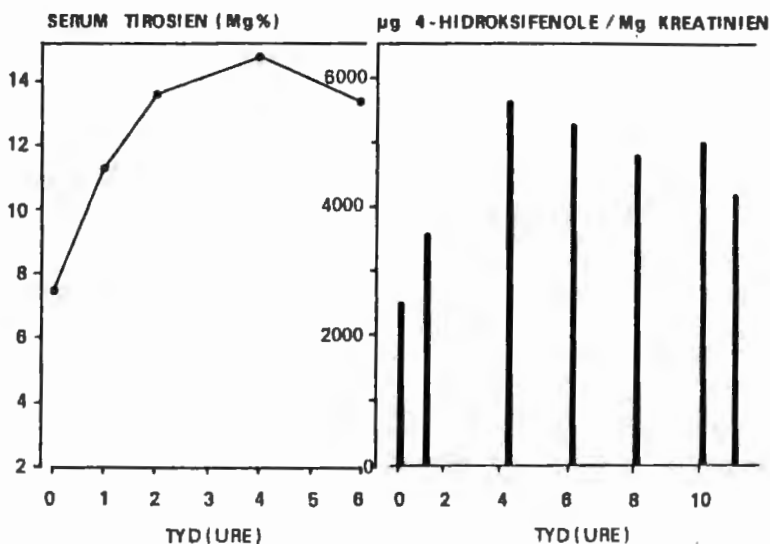
stadig terug na normaal. In die geval van die Wadmanpasiënt word 4-hidroksifenole, wat konstant teen 'n hoë konsentrasie uitgeskei word, teen nog 'n hoër konsentrasie uitgeskei, wat abnormaal lank neem om na normaal terug te keer.



Figuur 2.19 Tirosien en tirosienkataboliete uitgeskei deur pasiënte met konstante hipertirosi-nemie. Data in die figuur is verkry uit Wadman, et al., (1968), Kennaway en Buist, (1971), Hill en Zaleski, (1971), Holston, et al., (1971), Goldsmith, et al., (1973), Louis, et al., (1974) en Larregue, et al., (1979).

2.2.4.3 Ensimatiese defek

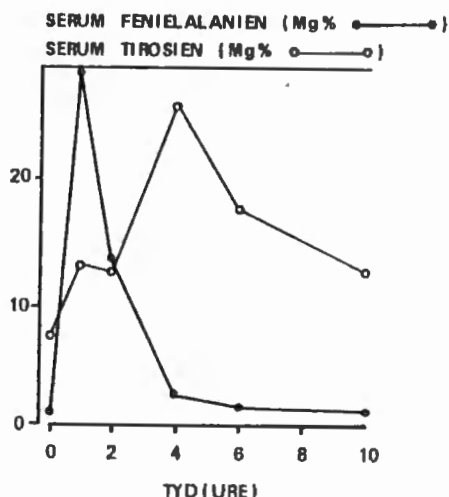
Die aktiwiteit van die hepatiese ensiem 4-HPPA-ok-sidase en oplosbare en mitochondriale hepatiese tirosientransaminase, is deur Kennaway en haar medewerkers nagegaan. Die ensiem, 4-HPPA-oksidasie was ten volle aktief. So ook mitochondriale tirosientransaminase. Die oplosbare tirosientransaminase in die lewer van



Figuur 2.20 Tirosien-tolleransiekurve en 4-hidroksi-fenol* uitskeiding van 'n pasiënt met konstante hipertirosinemie gevind deur Wadman, et al., (1968).

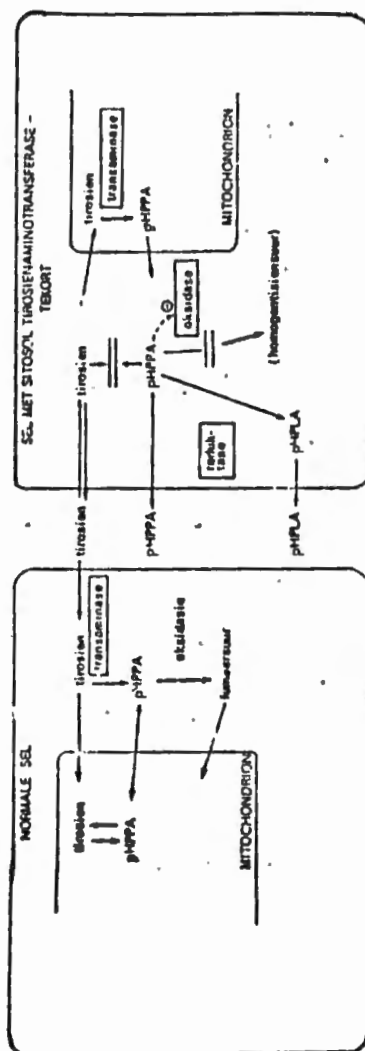
die pasiënt was egter totaal afwesig of onaktief, (Kennaway en Buist, 1971). Met die oog op Kennaway se resultate is algemeen aanvaar dat die afwyking in die metabolisme van tirosien veroorsaak word deur defektiewe oplosbare tirosientransaminase. Sriver en Rosenberg, 1973 verklaar die voorkoms van die groot hoeveelheid fenoliese sure soos saamgevat in Figuur 2.22.

*4-Hidroksifenolkonsentrasies is verwerk na vergelykbare eenhede.



Figuur 2.21 Feniëlaalanien-tolleransiekurwe van 'n pasiënt met konstante hipertirosinemie gevind deur Kennaway en Buist, (1971).

Faul, et al., (1977) het egter ook die hepatiese ensieme van 2 pasiënte met die simptome van konstante hipertirosinemie nagegaan. Faul en sy medewerkers vind die ensieme tirosientransaminase se aktiwiteit by een pasiënt effens verlaag, maar 4-HPPA-oksidas se aktiwiteit totaal afwesig. Die kliniese simptome van die pasiënt is dieselfde as dié van die Kennaway-pasiënt. (Louis, et al., 1974.) Baie groot hoeveelhede DOPA en NAT word deur dié pasiënt uitgeskei, terwyl tiramien blykbaar afwesig was. Daar is geen vel- of oogletsels bespeurbaar by die pasiënt nie, (Tabel 2.6).



Figuur 2.22

Verklaring vir die voorkoms van 4-HPLA, 4-HPAA en 4-HPAA in die bloed en urine van 'n pasiënt met hepatiese sitosol tirosientransaminase defek.

Dit wil lyk of hierdie tipe tirosinemie verskillende tipes bevat wat later geherklassifiseer sal moet word. Tans is daar egter nog baie onduidelikhede, veral i.v.m. die ensiemdefekte tydens die verskillende tipes tirosinemieë.

2.2.5 Hipertirosinemie geassosieer met lewerafwykings (Oënskynlike tirosinemie) en tirosielurie

In 1869 is reeds opgemerk dat 'n persoon met akute geel-sig skei groot hoeveelhede fenoliesesure uit. Later is dieselfde fenoliesesure by persone met lewersirroze gevind. Die vermoë om 4-hidrosifenielpurivaat te kataboliseer is selfs later gebruik as 'n lewerfunksietoets, genoem die Felex-Tesketoets (Woolf, 1963).

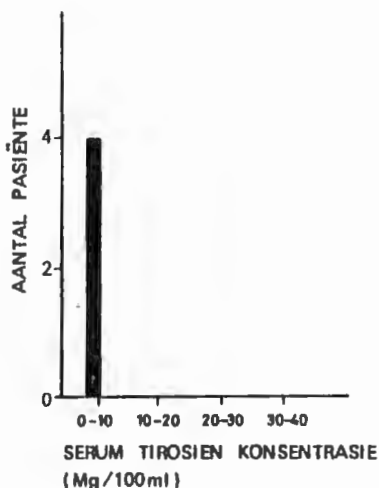
2.2.5.1 Hipertirosinemie geassosieer met lewerafwykings (Oënskynlike tirosinemie)

Die plasmatirosienvlak, by verskeie siektes wat geassosieer word met lewerskade, is effens verhoog. Siektes soos fruktosemie (Lindemann, et al., 1970, Bakker, et al., 1974), gelaktosemie, hepatitis (Levine en Conn, 1967), sirrose (Levine en Conn, 1967) en 'n vitamien C gebrek (Gentz, et al., 1965) word geassosieer met tirosinemie en tirosielurie. 'n Persoon met fruktosemie gee soms die identiese beeld van aangebore tirosinemie (hepatorenaal tipe) en kan soms baie misleidend wees.

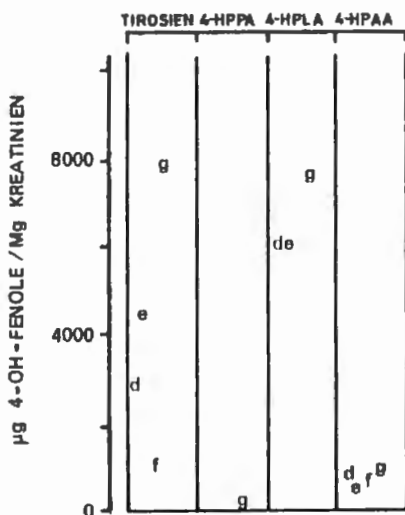
Die tirosienvlak in die bloed van pasiënte met lewer-

afwykings is effens verhoog (Figuur 2.23) net soos in die geval van aangebore tirosinemie. Groot hoeveelhede 4-hidroksifenole word uitgeskei, met 4-HPLA teen die grootste konsentrasie en 4-HPPA en 4-HPAA teen laer konsentrasies (Figuur 2.24).

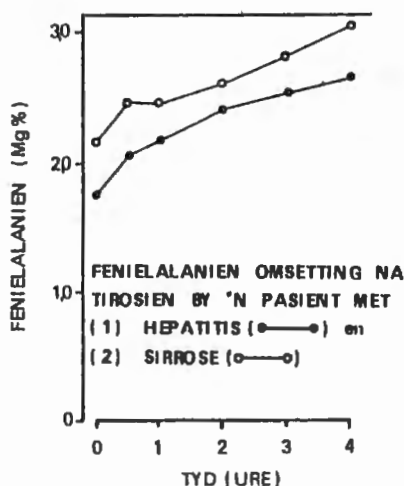
Tolleransietoetse by die pasiënte kan soms baie misleidend wees. Vertraagde afname van die serum tirosienkonsentrasie, kan 'n defektiewe beeld van tirosinemie gee (Figuur 2.25).



Figuur 2.23 Bloed tirosienkonsentrasies van pasiënte met oënskynlike tirosinemie.



Figuur 2.24 Uitskeiding van tirosien en tirosien-kataboliete by pasiënte met oënskynlike tirosinemie.



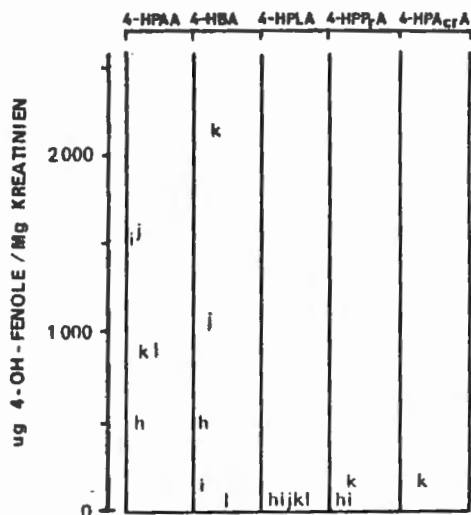
Figuur 2.25 Feniëlaalanien-omsettingskurwe van 'n pasiënt met oënskynlike tirosinemie.

2.2.5.2 Tirosielurie

By pasiënte met absorpsie en degestie-defekte word groot hoeveelhede tirosienkataboliete in die urine aangetref. Die kataboliete ontstaan a.g.v. bakteriële afbraak van ongeabsorbeerde arminosure en proteïene. 'n Kenmerk van die tirosielurie wat by die pasiënte voorkom is die groot verskeidenheid kataboliete wat in die urine van dié pasiënte aangetref word. Dit kan toegeskryf word aan die groter verskeidenheid kataboliete waarna tirosien deur bakterië afgebreek kan word. Die kataboliese spektrum by die pasiënte is blykbaar afhanklik van die tipe ingewandsflora wat hoofsaaklik by die betrokke pasiënt voorkom. Tirosienkataboliete wat al in groot konsentrasies in urine van dié pasiënte gevind is, is 4-HPAA, 4-hidroksifenielakrielsuur, 4-hidroksifenielpropioonsuur en 4-hidroksibenzoësuur. 'n Groot verskeidenheid ander kataboliete word teen laer konsentrasies uitgeskei soos 4-kresolsulfaat, fenolsulfaat en 4-hidroksihippuursuur, (Figuur 2.26), (Van der Heiden, 1972). Sommige van die verbindings ontstaan deurdat die bakteriële afbraakproduk verder deur die liggaam gekataboliseer word voordat dit in die urine uitgeskei word bv. sulfonering (Van der Heiden, 1972).

2.3 SAMEVATTING, PROBLEEMSTELLING EN BENADERINGSWYSE

'n Verskeidenheid aangebore kataboliese defekte is beskryf nl. tirosinemie van die pasgeborene, aange-



Figuur 2.26 Tirosienkataboliete uitgeskei en urine deur pasiënte met absorpsie en degestie-defekte.

bore tirosinemie (hepatorenale tipe), konstante hipertirosinemie (Oregontipe), tirosinose (Medespasiënt), oënskynlike tirosinemie en tirosielurie. Elk van hierdie defekte lei tot 'n karakteristieke kliniese manifestasie en biochemiese beeld. Verstandelike vertraagtheid is vir ten minste een tipe 'n konstante kliniese kenmerk. (konstante hipertirosinemie). Die belangrikste algemene biochemiese kenmerke is:

- 1) konstante tirosielurie;
- 2) 'n karakteristieke tirosielurie patroon;
- 3) verhoogde serum tirosienwaardes.

Lighthelm, (1977) het met 'n ondersoek na die voorkoms van afwykings in die metabolisme van tirosien in die Witrandinrigting ongeveer 'n derde van die pasiënte (500) ondersoek. Met die ondersoek het sy reeds 'n aantal pasiënte met tirosielurie geïdentifiseer. Leemtes in die ondersoek van Lighthelm, (1977) is egter die volgende:

- 1) die hele populasie is nog nie ondersiek nie; en
- 2) die detail analise van die geïdentifiseerde tirosieluriegevalle het ontbreek.

Om hierdie leemtes aan te vul wat as die primêre probleemstelling in die verhandeling beskou kan word, is die volgende studies gedoen:

- 1) die hele populasie word vir die voorkoms van tirosinemie, soos aangedui deur tirosielurie, ondersoek;
- 2) detail analyses van die positiewe tirosieluriegevalle word gedoen, ten einde die basis van die tirosielurie te identifiseer.

'n Belangrike onderdeel van so 'n ondersoek na die voorkoms van 'n aangebore afwyking is die siftingsprosedure wat gebruik word. Hiervoor kan of die kliniese beeld of die biochemiese fenotipe gebruik word. In hierdie ondersoek is nie van die kliniese beeld uitgegaan nie, maar wel van die biochemiese fenotipe omdat,

- 1) die kliniese beeld van persone met afwykings in die katabolisme van tirosien, nie so absoluut karakteristiek is nie, en;
 - 2) t.o.v. tyd en arbeid is dit meer ekonomies om biochemies vir tirosielurie, as deel van 'n breë siftingsprogram te sif. Die kliniese beeld word egter wel betrek by die finale detail analise van pasiënte met tirosielurie.
-

HOOFSTUK 3

SIFTING VAN DIE WITRANDPOPULASIE VIR
AFWYKINGS IN DIE METABOLISME VAN TIROSIEN

3.1 INLEIDING

'n Groot verskeidenheid metodes vir die opsporing van die afwykings in die katabolisme van tirosien, is al in die literatuur beskryf. Die toetse wat uitgevoer kan word, op die urine sowel as bloedmonsters, bestaan hoofsaaklik uit:

- (1) Kleurreaksies wat spesifiek is vir 4-hidroksi-fenole, bv. die α -nitroso- β -naftol kleuring (Perry, et al., 1966);
- (2) dunlaagchromatografie (Scriber, et al., 1964);
en
- (3) fluorometrie (Grenier en Laberge, 1974).

Die bepaling van α -fetoproteïene vir die opsporing van aangebore tirosinemie (hepatorenale tipe), word nog nie so algemeen gebruik nie, maar kom deesdae sterk na vore (Belanger, et al., 1973).

Verskeie kriteria word vir so 'n siftingstoets gestel. Vereistes soos lae koste, uitvoerbaarheid en aanvaarbaarheid vir die pasiënte is belangrik, maar die belangrikste is om die afwykings op te spoor sonder te veel vals positiewe resultate en met geen vals negatiewe resultate. Dit word as volg deur Grenier en Laberge, (1974) gestel:

"it seems to us to be a fair threshold by keeping the number of abnormal results as

low as possible without increasing too much the risk of missing the hereditary form of tirosinemia."

3.2 METODES GEBRUIK VIR DIE SIFTING VAN DIE WITRAND-POPULASIE VIR AFWYKINGS IN DIE KATABOLISME VAN TIROSIEN

3.2.1 Inleiding

Vir die opspoor van afwykings in die katabolisme van tirosien, in die Witrandinrigting, is van die siftingsmetodes saamgestel deur Lighthelm, (1977) gebruik gemaak. Hierdie metodes, gebaseer op die van Perry, et al., (1966), bestaan uit 'n aanvanklike ruwe siftingstoets, waar gebruik gemaak word van α -nitroso- β -naftol-kleuring. 'n Semikwantitatiewe toets, wat daarna uitgevoer word op alle grens- en positiewegevalle en 'n sekvensiële-eliminasië prosedure.

3.2.2 Aanvanklike sifting

3.2.2.1 Metode

α -Nitroso- β -naftol reageer spesifiek met 4-hidroksifenole, waar die orto-posisie (2) ongesubstitueerd is. Verbindings wat dus positief sal reageer is bv. tirosien en tirosienkataboliete soos 4-HPLA, 4-HPPA en 4-HPAA. α Nitroso- β -naftol reageer met al hierdie tipe verbindings om 'n rooi-pienk kleur-kompleks te vorm. Die kleurreaksie is ideaal omdat daar geen ander verbindings blyk te wees wat 'n invloed daarop

het nie. Verbindings soos 5-hidroksifenole gee wel 'n pers kleur, maar verbindings soos homogentesiensuur en fenielpurivaat gee geen reaksie nie (Thomas en Howel, 1973).

Die α -nitroso- β -naftol-kleuring is gebruik as ruwe siftingstoets, vir die sifting van 1 587 pasiënte in die Witrandinrigting, vir versteurings in die katabolisme van tirosien. Die toetse is as volg, soos voorgestel deur Lighthelm, (1977), uitgevoer: By 1ml 2,63N HNO_3 , word 0,05ml, 2,5%, NaNO_2 oplossing gevoeg. Hierby word 0,5ml 1% α -nitroso- β -naftol, en 95% etanol, gevoeg en staan nou bekend as die α -nitroso- β -naftoltoetsoplossing. By die toetsoplossing word nou onmiddellik 0,15ml vars urine gevoeg. Die toetsoplossing-urienmengsel word geskud en die tyd word genoteer. Na 3 minute word die kleurontwikkeling van die toetsoplossing t.o.v. 'n standaard geëvalueer en op grond van die riglyn, soos in Tabel 3.1 voorgestel, geklassifiseer.

Dit is baie belangrik dat die urienmonster vars moet wees. Om die rede is vars oggendmonsters verkry en die toetse is binne die eerste uur na ontvangs uitgevoer.

3.2.2.2 Resultate

Met die nuwe siftingstoets is uit die 1587 pasiënte wat getoets is, 72 gevalle met tirosielurie opgespoor, soos in Tabel 3.1 weergegee is. Die 72 pasiënte verteenwoordig 4,5% van die populasie. Aangesien daar net 11 tirosinemiegevalle gepaardgaande met verstan-

Tabel 3.1 Riglyn vir die beoordeling van tirosielurie
soos gevind met die α -nitroso- β -naftol
kleuring

Konsentrasie- gebied (mg/100ml)	Kleurreaksie*	Klassifikasie	Aantal pasiënte
1,25	Geel	Negatief	1 496
6,3	Oranje	1+	
12,5	Oranje	1+	
25,0	Oranje-rooi	2+	55
50,0	Oranje-rooi	2+	
75,0	Rooi	3+	17
100,0	Donker-rooi	4+	0

*Thomas en Howel, (1973) voeg die volgende opmerkings by, by hulle voorgestelde tabel vir beoordeling van tirosielurie.

- (1) A positive test is indicated by the formation of an orange-red colour within 2-5 minutes.
- (2) A negative test is indicated by the persistence of the original yellow colour for at least 5 minutes. The development of a red colour after 5 minutes is not taken as a positive result.

delike vertraagtheid in die literatuur beskryf is, lyk dit onwaarskynlik dat al die tirosieluriegevalle in die Witrandinrigting tot tirosinemie herleibaar kan wees. 'n Groot hoeveelheid vals positiewe gevalle moet dus by die sifting ingesluit wees.

'n Moontlike verklaring vir die oënskynlike hoë persentasie voorkoms, lê by die sensitiwiteit van die siftingstoets. Soos Lighthelm, (1977) tereg opgemerk

het, is dit veral moeilik om die grensgevalle te evalueer, omdat die oorgang van positief na negatief nie baie diskreet is nie. Om die vals positiewe gevalle te elimineer is van die semikwantitatiewe toets en die sekwenstiële-eliminasiëprosedure, saam-gestel deur Lighthelm, (1977), gebruik gemaak. Die metode van sekwenstiële-eliminasië is deur Swanepoel, (1977) ontwerp.

3.2.3. Sifting van die Witrandpopulasie m.b.v. 'n semikwantitatiewe- α -nitroso- β -naftoltoets en die sekwenstiële-eliminasiëprosedure

3.2.3.1 Semikwantitatiewe toets

Die rooi kleurkompleks wat gevorm word tydens die reaksie tussen α -nitroso- β -naftol en 4-hidroksifenole, het 'n karakteristieke absorpsie maksimum by 520nm. Lighthelm, (1977) maak van hierdie eienskap gebruik om die kleurontwikkeling van die reaksie spektrofotometries na te gaan.

Die reaksiemengsel word in dieselfde verhouding gebruik as by die ruwe siftingstoets, met die volumes aangepas om die kuvet van die spektrofotometer (Beckman Acta III) te vul. By 2ml, 2,63N, HNO_3 word 0,1ml, 2,5%, NaNO_2 gevoeg. Een ml, 0,1%, α -nitroso- β -naftol in 95% etanol, word bygevoeg en onmiddellik daarna word 0,3ml urine by die α -nitroso- β -naftol gevoeg en geskud. Die tyd word genoteer en die absorpsiespektrum word op tye 1,3 en 5 minute na byvoeging van die urine by die α -nitroso- β -naftol-

reaksiemengsel, geregistreer oor die golflengtegebied van 450 tot 650nm. Die optiese digtheid by 520nm word telkens genoteer. Dié prosedure is vir standaardoplossings van 4-HPPA, 4-HPLA en 4-HPAA herhaal. (As gevolg van die swak oplosbaarheid van tirosien in water is die prosedure nie vergelykenderwys vir tirosien uitvoerbaar nie.) Met behulp van die optiese digthede by 520nm, van die standaardoplossings, kan standaardkurwes saamgestel word. Binne die grense van die konsentrasies wat gebruik is (van 0 tot 40mg/100ml) word die wet van Beer-Lambert bevredig.

3.2.3.2 Metode van sekvensiële-eliminasië van vals positiewes

Met behulp van die resultate van die semikwantitatiewe toets, moes eliminasië van die vals positiewe gevalle nou verder plaasvind. 'n Groep pasiënte moes aangewys word wat die werklike positiewe gevalle bevat. Hierdie eliminasië kan nie alleenlik op grond van gemiddelde optiese digtheidswaardes by 520nm* geskied nie, want die volgende feite moes in ag geneem word:

- (1) die daaglikse fluktuasie van die ekskresieprodukte by elke individu van die groep;
- (2) die omvang van die ekskresieprodukte van elke individu van die groep;

*Vervolgens sal na optiese digtheidswaardes by 520nm verwys word as O.D.₅₂₀ - waardes.

- (3) die mate van betroubaarheid waarmee op grond van die optiese digtheidswaardes tussen die verskillende individue onderskei word en;
- (4) die kans wat gestel word dat 'n pasiënt wel 'n positiewe geval is.

Uitgaande van bg. vereistes is die volgende verband vir die sifting van die beste groep waarin positiewe gevalle voorkom, deur Swanepoel, (1977) ontwikkel en deur Lighthelm, (1977) gebruik.

$$\text{Min} \leq \text{Mjn} - G \text{ waar } G = \frac{1}{n} r \frac{1}{2} g\left(\frac{n}{r}\right) (V_{1n}^2 + V_{jn}^2)^{\frac{1}{2}} - \Delta^*$$

$$\text{sodat } \text{Min} \leq \text{Mjn} - \frac{1}{n} r \frac{1}{2} g\left(\frac{n}{r}\right) (V_{1n}^2 + V_{jn}^2)^{\frac{1}{2}} + \Delta^*$$

waar:

$$(1) \quad g\left(\frac{n}{r}\right) = \left(\frac{n}{r} + \frac{1}{4}\right)^{\frac{1}{2}} \ln\left(\frac{n}{r} + \frac{1}{4}\right) + 2 \ln\left(\frac{k-1}{1+p^*}\right)^{\frac{1}{2}};$$

$$(2) \quad \text{Min} = \frac{1}{n} \sum_j^n x_{1j};$$

$$(3) \quad V_{1n}^2 = \frac{1}{n} \sum_j^n x_{1j}^2 - \bar{x}_1^2;$$

- (4) Lighthelm, (1977) en Swanepoel, (1977) stel $\text{Mjn} = \text{maksimum Min}$. Dit is egter belangrik dat die pasiënt wat as Mjn gekies word eweneens 'n lae variansie moet vertoon;

- (5) $V_{jn} = V_{1n}$ van gekose Mjn geval;

- (6) n = aantal opeenvolgende bepalinge;
- (7) k = aantal pasiënte en;
- (8) p^* en Δ^* , gegewe groothede, is sodanig dat
- $$\frac{1}{k} < p^* < 1 \text{ en } \Delta^* < 0.$$

Die eliminasiëprosedure is uitgevoer soos deur Light-helm, (1977) beskryf. Die O.D.-₅₂₀-waardes, 3 minute na die toevoeging van die urine by die α -nitroso- β -naftol-reaksiemengsel, is gebruik om die Min waarde van elke pasiënt te bepaal. Vir elke geval waar $Min \leq M_{jn} - \frac{1}{n} r^{\frac{1}{2}} g\left(\frac{n}{r}\right) (V_{in}^2 + V_{jn}^2) + \Delta^*$ is die pasiënt geëlimineer. Vir betroubare eliminasië is die waardes Δ^* en p^* respektiewelik as 0,05 en 0,9 gekies. Hierdie keuse behels:

- (1) dat die sekerheid waarmee die beste individu, wat 'n ware positiewe geval is, wel geselekteer sal word, 90% is (bydrae van p^*) en;
- (2) indien daar 'n verskil van 0,05 of minder in die langtermyn gemiddelde optiese digtheid van die "beste individu" met dié van sy naaste aanverwante geval is, is daar vir alle praktiese doeleindes geen verskil tussen hierdie individue nie.

Die eliminasiëprosedure is vir 3 fases uitgevoer.⁹ Die eerste fase, nadat twee O.D.-₅₂₀-waardes vir elk van die 72 pasiënte verkry is. Die tweede fase,

nadat 'n derde O.D.₅₂₀-waarde verkry is vir die pasiënte wat nie met die eerste eliminasiëfase geëlimineer is nie. Die derde fase, nadat 'n vierde O.D.₅₂₀-waarde verkry is vir die pasiënte wat nie in die eerste of die tweede fase geëlimineer is nie.

3.2.3.3 Resultate

3.2.3.3.1 Semikwantitatiewe toets en sekvensiële eliminasië

Die semikwantitatiewe toets is uitgevoer op oggend-urine, verkry op 2 opeenvolgende dae van al 60 pasiënte* van die oorspronklike sifting.

Die O.D.₅₂₀-waardes, 3 minute na toevoeging van die urine by die α -nitroso- β -naftol-kleurreagens, is telkens genoteer. Om die vals positiewe gevalle te elimineer is die sekvensiële-eliminasiëprosedure op die twee stelle O.D.₅₂₀-waardes uitgevoer. Hiermee is fase 1 van die eliminasiëprosedure afgehandel. Die resultate van fase 1 van die eliminasiëprosedure word in Tabel 3.2 saamgevat.

As kontrole is twee O.D.₅₂₀-waardes op twee opeenvolgende oggend urienmonsters van 10 normale persone bepaal. Met behulp van 'n standaardkurwe is die totale hoeveelheid 4-hidroksifenole, uitgedruk in mg 4-HPPA-

*Na die oorspronklike ruwe siftingstoets uitgevoer is kon 12 van die 72 pasiënte nie opgespoor word vir verdere ondersoeke nie. Die 12 pasiënte is of dood, of ontslaan, sommige is verplaas na ander inrigtings.

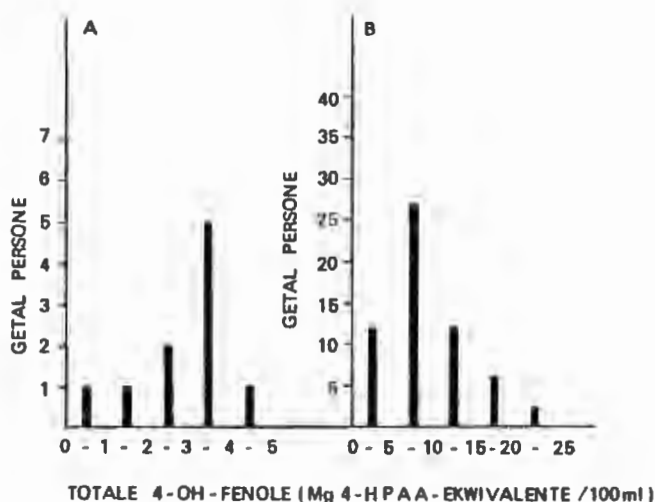
Tabel 3.2. Twee opeenvolgende bepalinge van die O.D.⁵²⁰-waardes, 3 minute na toevoeging van die urienmonster by die α -nitroso- β -naftol kleurreagens tesame met 'n aantal gegewens vir die eliminasië van die vals positiewe gevalle in die aanvanklike groep van 60 pasiënte

n=2 p=0,9, d=0,03, Njn=8,0315, Vjn=0,0033

Pasiënt No.	OD ₁	OD ₂	Min	Vjn ²	G	Mjn-G	E	Ouderdom
6	0,393	0,306	0,3495	0,00189	0,2761	0,35537	✓	11
29	0,313	0,323	0,318	0,00003	0,2112	0,4202	✓	10
30	0,150	0,312	0,231	0,00650	0,39814	0,2333	✓	11
37	0,317	0,197	0,255	0,00380	0,3314	0,3000	✓	13
46	0,145	0,246	0,1955	0,00255	0,2962	0,3352	✓	14
86	0,522	0,216	0,369	0,0234	0,6897	-0,05820	u	20
146	0,380	0,210	0,295	0,0072	0,4138	0,2176	u	24
148	0,150	0,165	0,1575	0,00006	0,21240	0,4190	✓	17
154	0,560	0,505	0,5325	0,000756	0,2384	0,3931	u	19
225	0,116	0,122	0,119	0,00009	0,2135	0,4179	✓	21
236	0,428	0,544	0,486	0,0034	0,3205	0,3109	u	10
237	0,059	0,131	0,095	0,00129	0,2566	0,3740	✓	52
251	0,116	0,090	0,103	0,00017	0,2166	0,4148	✓	25
258	0,149	0,118	0,1335	0,00024	0,2193	0,4121	✓	20
259	0,109	0,152	0,1305	0,00046	0,2275	0,4039	✓	12
270	0,128	0,168	0,148	0,0004	0,2253	0,4061	✓	19
303	0,300	0,194	0,247	0,0028	0,2947	0,3367	✓	24
306	1,152	0,172	0,662	0,2401	2,1813	-1,5518	u	53
308	0,602	0,444	0,523	0,00624	0,3921	0,2393	u	74
313	0,439	1,187	0,813	0,13987	1,6624	-1,0309	u	32
316	0,257	0,154	0,2055	0,00265	0,2991	0,3325	✓	73
359	0,619	0,492	0,5555	0,0040	0,3368	0,2947	u	28
370	0,229	0,483	0,3555	0,01600	0,5789	0,0525	u	57
376	0,199	0,100	0,1499	0,00245	0,2932	0,3382	✓	33
377	0,189	0,156	0,1725	0,00027	0,2204	0,4110	✓	72
423	0,780	0,374	0,577	0,04120	0,0949	-0,2736	u	68
430	0,351	0,315	0,333	0,00032	0,2223	0,4091	✓	50
527	0,191	0,325	0,258	0,00448	0,3574	0,2740	✓	35
482	0,560	0,229	0,3945	0,02739	0,7430	-0,1155	u	44
631	0,357	0,257	0,307	0,0025	0,2947	0,3367	✓	23
637	0,401	0,201	0,301	0,01000	0,4720	0,1594	u	24
663	0,087	0,346	0,2165	0,01677	0,5913	0,04017	u	39
664	0,309	0,139	0,2215	0,00680	0,4049	0,2265	✓	36
671	0,192	0,521	0,3565	0,0270	0,7380	-0,1065	u	35
676	0,405	0,217	0,311	0,00883	0,4375	0,1939	u	40
688	0,143	0,100	0,1215	0,00046	0,2275	0,4039	✓	58
753	0,196	0,151	0,1735	0,00050	0,2290	0,4024	✓	50
754	0,179	0,174	0,1465	0,00105	0,2485	0,3829	✓	35
769	0,399	0,112	0,2555	0,02059	0,6497	-0,01820	u	42
844	0,350	0,243	0,2965	0,00286	0,3035	0,3279	✓	51
956	0,161	0,243	0,202	0,00168	0,2694	0,3620	✓	35
972	0,400	0,166	0,283	0,01368	0,5398	0,0916	u	57
992	0,205	0,170	0,1875	0,00030	0,2216	0,4098	✓	40
1002	0,115	0,281	0,198	0,00688	0,4067	0,2247	✓	31
1056	0,223	0,232	0,2275	0,00002	0,2108	0,4206	✓	17
1070	0,317	0,410	0,3635	0,00216	0,2845	0,3469	u	21
1086	0,493	0,228	0,3605	0,01755	0,6036	0,02783	u	52
1110	0,574	0,689	0,6315	0,00330	0,3177	0,2137	u	50

1217	0,247	0,101	0,214	0,00108	0,2496	0,3018	/	40
1272	0,511	0,374	0,4425	0,00469	0,3469	0,2845	"	7
1307	0,218	0,068	0,143	0,00562	0,3775	0,2539	/	32
1341	0,310	0,510	0,414	0,00921	0,4540	0,1774	"	68
1460	0,229	0,663	0,446	0,04700	0,9660	-0,3345	"	55
1498	0,860	0,357	0,6125	0,06328	1,1355	-0,5040	"	30
1537	0,136	0,221	0,1705	0,00180	0,2732	0,3582	/	49
1550	0,185	0,207	0,196	0,00012	0,4147	0,4107	/	55
1567	0,279	0,214	0,2465	0,00105	0,2405	0,3829	/	76
1576	0,174	0,272	0,223	0,00240	0,2826	0,3468	/	40
1586	0,194	0,099	0,140	0,00291	0,3067	0,3247	/	40

ekwivalente per 100ml*, uitgeskei deur die pasiënte en die normale persone, bereken. In Figuur 3.1 word hierdie gegewens vergelykenderwys weergegee.



Figuur 3.1 A en B. Totale 4-hidrosifenoluitskeiding van 10 normale persone (A) en 60 geselekteerde pasiënte (B), uitgedruk in 4-HPAA-ekwivalente per 100ml.

Die pasiënt of normale persoon se O.D.₅₂₀-waarde word gebruik en die konsentrasie 4-HPAA in mg, word afgelees vanaf die standaardkurwe, wat die ekwivalente optiese digtheid sal gee. Die konsentrasie word dan uitgedruk in mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml.

*Verskeie 4-hidroksifenielverbindings word deur die mens uitgeskei en dra by tot die O.D.₅₂₀-waarde. Die standaardkurwe van 4-HPAA word gebruik om die O.D.₅₂₀-waarde te verwerk na mg per 100ml

Geeneen van die normale persone het 'n hoër totale 4-hidroksifenoluitskeiding as 5mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml gehad nie. Die meeste het 'n totale 4-hidroksifenoluitskeiding van tussen 2 en 4mg 4-HPAA-ekwivalent per 100ml gehad.

Die uitskeiding van 4-hidroksifenolverbindings, deur die 60 geselekteerde pasiënte, het gevarieer van 3 tot 25 4-HPAA-ekwivalente per 100ml. Die meeste pasiënte het 'n hoër konsentrasie as 5mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml uitgeskei. Geen pasiënte het 'n laer konsentrasie as 3mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml gehad nie. Twaalf pasiënte het 'n konsentrasie 4-hidroksifenole in dieselfde orde as die normale persone uitgeskei.

Hierdie vergelykende gegewens toon dus duidelik aan dat die groep van 60 pasiënte van 'n normale groep pasiënte onderskei kan word, op grond van hoër uitskeiding van 4-hidroksifenole.

Met die eerste fase van die eliminasië prosedure wat op die twee stelle O.D.₅₂₀-waardes van die 60 pasiënte uitgevoer is, is 42 pasiënte geëlimineer. Dit is belangrik om daarop te let dat die 12 pasiënte wie se totale 4-hidroksifenole uitskeiding in dieselfde orde as dié van die normale persone geval het, is al 12 in fase 1 van die eliminasiëprosedure geëlimineer. Dit beteken indien die sekwenstiële eliminasiëprosedure op die O.D.₅₂₀-waardes van die normale persone uitgevoer sou gewees het, al die normale persone met die eerste eliminasiëfase ge-

elimineer sou geword het.

Die semikwantitatiewe- α -nitroso- β -naftoltoets is vervolgens uitgevoer op 'n vars urienmonster, verkry op die derde dag. Slegs die 24 pasiënte wat nie in fase 1 geëlimineer is nie, is hiervoor gebruik. Die data word in Tabel 3.3 saamgevat. Saam met die resultate van die semikwantitatiewe toets is die resultate van die sekvensiële eliminasiëprosedure wat op die resultate van die semikwantitatiewe toets uitgevoer is. Die resultate sluit fase 2 van die eliminasiëprosedure af.

Lighthelm, (1977) stel voor dat 3 eliminasiëfases voldoende behoort te wees om die finale groep pasiënte aan te wys. Om die derde eliminasië te kan uitvoer is 'n vierde O.D.₅₂₀-waarde van 'n vars oggend urienmonster van die 19 pasiënte wat nie in fase 2 geëlimineer is nie, bepaal en die sekvensiële eliminasiëprosedure is herhaal. Die resultate van die semikwantitatiewe toets en die sekvensiële-eliminasiëprosedure, van fase 3 van die eliminasië van vals positiewe gevalle, word in Tabel 3.4 saamgevat.

'n Totaal van 16 pasiënte met tirosielurie en moontlik tirosinemie, is verkry nadat 'n verdere 3 pasiënte in fase 3 van die eliminasiëprosedure geëlimineer is.

Die aantal pasiënte wat vanaf dag 1 tot dag 5 en die groep teenwoordig is, word grafies in Figuur 3.2 weergegee. Hieruit blyk dit duidelik dat na fase 1

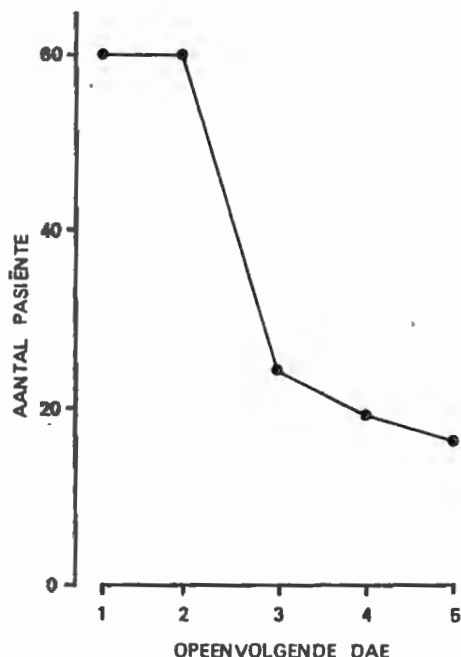
Tabel 3.3. Die derde O.D.⁵²⁰-waarde, bepaal 3 minute na toevoeging van die urien-monster by α -nitroso- β -naftol-kleur-reagens, tesame met die gegewens van die eliminasië van die vals positiewe gevalle in die groep van 24 pasiënte wat nie in fase 1 van die eliminasië-prosedure geëlimineer is nie.

Fase 2		$p^0=0,9$	$\Delta^0=0,05$	$N_{jn}=5259$	$V_{ln}^0=0,00059$		
Pasient No.	OD _j	R _{ln}	V _{ln} ¹	G	$N_{jn}-G$	E	
86	0,128	0,2887	0,0285	0,4574	0,0682	"	
146	0,091	0,2270	0,01406	0,3167	0,2089	"	
154	0,312	0,5259	0,00059	0,0522	0,4734	"	
236	0,530	0,5907	0,0026	0,1180	0,4076	"	
306	0,200	0,508	0,2074	1,3069	-0,7812	"	
308	0,090	0,4364	0,0349	0,5105	0,0151	"	
313	0,200	0,4086	0,1767	1,2028	-0,6771	"	
359	0,292	0,4676	0,0181	0,3568	0,1688	"	
370	0,170	0,2940	0,0084	0,2321	0,2948	✓	
423	0,852	0,6020	0,0287	0,4592	0,0664	"	
482	0,225	0,3380	0,0246	0,4222	0,1034	"	
637	0,129	0,2436	0,0134	0,2813	0,2457	✓	
663	0,134	0,1890	0,0126	0,2917	0,2339	✓	
671	0,170	0,2943	0,0257	0,4324	0,0932	"	
676	0,249	0,2903	0,0067	0,2040	0,3217	✓	
769	0,229	0,2467	0,0139	0,3081	0,2175	"	
922	0,239	0,2683	0,0096	0,2503	0,2753	✓	
1070	0,385	0,3707	0,0045	0,2122	0,314	"	
1086	0,243	0,3547	0,0110	0,2811	0,2445	"	
1110	0,398	0,5537	0,0143	0,3130	0,2126	"	
1272	0,504	0,4636	0,004	0,1515	0,3741	"	
1341	0,139	0,3223	0,0229	0,4060	0,1196	"	
1468	0,706	0,5327	0,0464	0,5949	0,0692	"	
1498	0,261	0,4953	0,0709	0,7455	-0,2198	"	

Tabel 3.4. 'n Vierde O.D.₅₂₀-waarde van 'n vars oggendurinemonster tesame met die eliminasië van die vals positiewe gevalle in die groep van 19 pasiënte wat nie in fase 2 van die eliminasië-prosedure geëlimineer is nie.

Fase 3	$p^*=0,9$	$k^*=0,05$	$N_{in}=0,537$	$V_{in}^*=0,0004$		
Pasiënt No.	OD_4	N_{in}	V_{in}^*	G	$N_{in}-G$	Z
86	0,162	0,257	0,0243	0,3165	0,2535	/
147	0,663	0,336	0,0461	0,452	0,0740	"
154	0,533	0,327	0,0004	0,0159	0,5110	"
236	0,430	0,482	0,0029	0,0839	0,4430	"
306	0,187	0,4277	0,1740	0,926	-0,399	"
308	0,095	0,3077	0,0493	0,470	0,0564	"
313	0,598	0,606	0,1325	0,8000	-0,2733	"
359	0,405	0,452	0,0143	0,232	0,294	"
423	0,168	0,493	0,0568	0,0578	0,0191	"
482	0,749	0,440	0,0501	0,4741	0,0520	"
671	0,258	0,285	0,0105	0,1655	0,3615	/
769	0,165	0,226	0,0116	0,205	0,3214	/
1070	0,785	0,469	0,0303	0,3586	0,1663	"
1086	0,360	0,356	0,0008	0,262	0,264	"
1110	0,298	0,489	0,0229	0,3060	0,2209	"
1272	0,718	0,326	0,0151	0,2404	0,2866	"
1341	0,717	0,421	0,0464	0,4545	0,0724	"
1468	0,075	0,618	0,054	0,5078	0,0192	"
1498	0,247	0,433	0,0647	0,3451	-0,0101	"

(na dag 2) die meeste pasiënte geëlimineer word. Daarna vind die eliminasiëprosedure stadiger plaas. Om te verhoed dat positiewe pasiënte geëlimineer word, is die eliminasiëprosedure na dag 5 beëindig. Dit is belangrik om daarop te let dat met die eliminasiëprosedure nie gepoog is om slegs die positiewe gevalle uit te wys nie. Die doel van die prosedure was om 'n groep pasiënte aan te wys wat die positiewe tirosieluriegevalle bevat. Hierdie groep pasiënte is nou aangewys en bestaan uit 16 pasiënte.

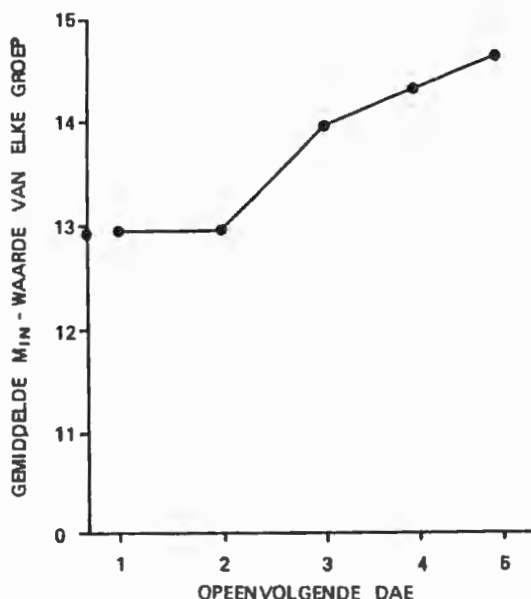


Figuur 3.2 Eliminasië van die vals positiewe tirosinemie gevalle d.m.v. 4 agtereenvolgende semikwantitatiewe- α -nitroso- β -naftoltoetse en die sekwenstiële-eliminasiëprosedure, in drie fases, ter verkryging van 'n finale mees moontlik positiewe groep pasiënte met tirosinemie.

3.3 BESPREKING

Deur die metode van sekvensiële eliminasië te gebruik, is die aanvanklike aantal van 60 vermeende gevalle verminder tot 16. Dit is belangrik om te evalueer of hiermee inderdaad vals positiewe gevalle verwyder is. Om dit vas te stel is na bepaalde karakteristieke van elke groep, wat oorbly na vermindering van die hoeveelheid pasiënte, gaan kyk.

'n Grafiese voorstelling van die gemiddelde Min-waarde van al die pasiënte teenwoordig in die groepe op dae 1 tot 5 word in Figuur 3.3 weergegee.



Figuur 3.3 Grafiese voorstelling van gemiddelde Min-waarde van elke groep, na elke fase van eliminasië

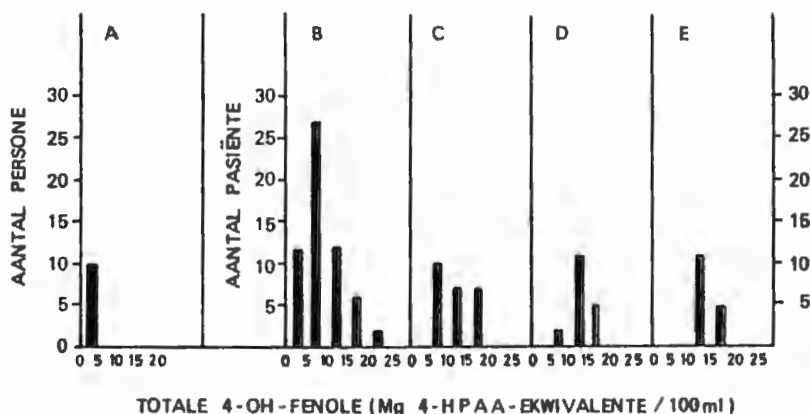
Die verloop van data weergegee in Figuur 3.3, dui daarop dat die omvang van tirosielurie van die groep pasiënte verhoog soos wat eliminasië vorder. Na dag 1 en 2 se O.D.₅₂₀-waardebepaling vind fase 1 van die eliminasiëprosedure plaas. 'n Sterk styging in die gemiddelde Min-waardes van die 24 pasiënte wat nie geëlimineer is nie, word waargeneem.

Met die derde en vierde opeenvolgende dae (fase 2 en 3 van die eliminasiëprosedure) word nie 'n dras-tiese styging in die gemiddelde Min-waarde, van die groepe wat nie geëlimineer word nie, waargeneem en bereik die kurwe in Figuur 3.3, 'n plato. Dit bevestig dat die vals positiewe gevalle geëlimineer was.

Die totale 4-hidroksifenoluitskeiding van elke groep, na 'n eliminasiëfase, is met behulp van 'n standaardkurwe bepaal en die distribusie word in Figuur 3.4 voorgestel.

Soos wat die eliminasiëprosedure gevorder het, is telkens, veral die pasiënte met die lae waardes, verwyder. Al die pasiënte wat 'n laer totale 4-hidroksifenoluitskeiding as 10mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml gehad het, is eventueel geëlimineer. Van die pasiënte waarvan die totale 4-hidroksifenoluitskeiding, hoër as 10 maar laer as 15mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml gehad het, is ook gekanseleer.

Die resultaat van Figuur 3.4 ondersteun weer eens die bevinding wat gemaak is in Figuur 3.2 en Figuur



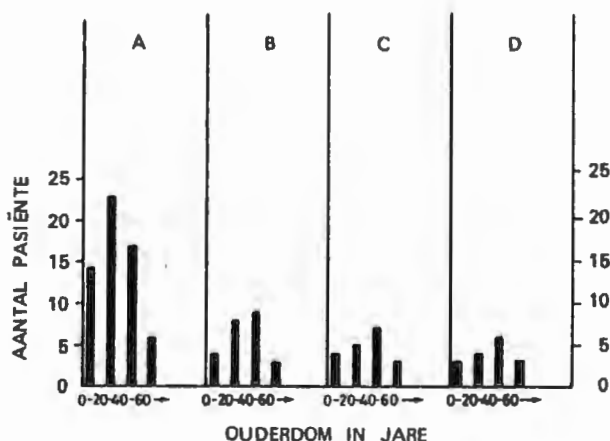
Figuur 3.4 Distribusie van totale 4-hidroksifenoluitskeiding, in mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml, van die groep pasiënte, na elke eliminatiefase en 'n kontrolegroep van normale, gesonde persone. A-normale persone. B-60 pasiënte verkry uit die aanvanklike siftingstoets. C-24 pasiënte, na eerste fase van eliminasieprocedure. D-19 pasiënte, na tweede fase van eliminasieprocedure. E-16 pasiënte, na derde fase van eliminasieprocedure.

3.3, nl., dat die groep verkry na die derde eliminatiefase, die mees moontlik positiewe tirosinemie pasiënte bevat.

Tirosielurie gaan soms met ouderdom gepaard. Dus is dit nodig geag om die gemiddelde ouderdom en die distribusie van die ouderdomme van die pasiënte te bepaal, om vas te stel of ouderdom 'n invloed in die soeke na die finale groep vermeende tirosinemie

gevalle gehad het. Die pasiënte in die Witrandinrigting het die hoë gemiddelde ouderdom van 39 jaar. Dit kan toegeskryf word aan die feit dat jong kinders wat verstandelik vertraag is, meestal by ouerhuise verpleeg word. Op 'n hoër ouderdom word die pasiënte moeiliker hanteerbaar en word hulle na inrigtings verwys. Met die vordering van die moderne mediese wetenskap, het dié pasiënte 'n hoë lewensverwagting. Dit alles dra by tot die gemiddelde ouderdom van die Witrandpopulasie.

Die gemiddelde ouderdom en ouderdomsdistribusie van die groepe pasiënte, na elke fase van eliminاسie, word in Figuur 3.5 weergegee.



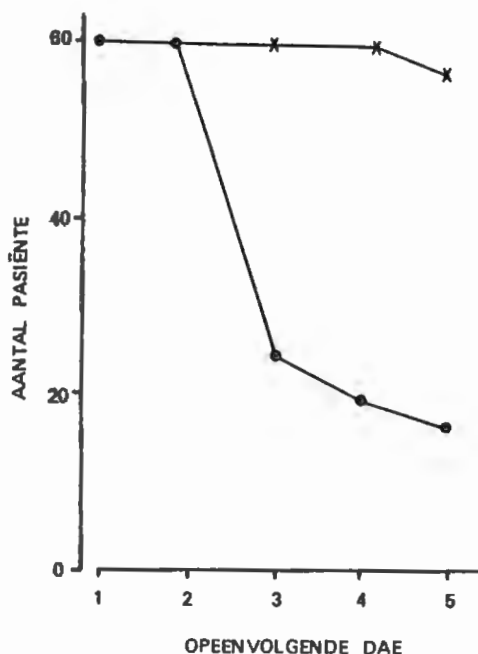
Figuur 3.5 Gemiddelde ouderdom en ouderdomsdistribusie van:
A-60 pasiënte, verkry uit aanvanklike siftingstoets;
B-24 pasiënte, verkry na fase 1 van die eliminاسieprosedure;
C-19 pasiënte, verkry na fase 2 van die eliminاسieprosedure;
D-16 pasiënte, verkry na fase 3 van die eliminاسieprosedure.

Met die eliminasiëprosedure het die ouderdoms-distribusiekurwe van die pasiënte verskuif van 'n gemiddelde ouderdom van 37 jaar na 41 jaar (Figuur 3.5A in vergelyking met Figuur 3.5D). Dit wil dus lyk of ouderdom wel 'n mate van 'n invloed op die finale geselekteerde groep pasiënte gehad het, hoewel dit in 'n baie geringe mate is. Dit is egter duidelik dat, met die eliminasiëprosedures, nie 'n groep bejaarde mense geselekteer is nie.

Die effektiwiteit van die eliminasiëprosedure het aansienlik verbeter met die verandering van die voorwaardes waaronder die waarde van Mjn gekies word (Figuur 3.6). Indien die eliminasiëprosedure uitgevoer word met die waarde van Mjn gekies slegs onder die voorwaardes van hoogste Min-waarde, is in die eerste en tweede eliminasiëfase, geen pasiënte geëlimineer nie. In die derde fase, slegs twee pasiënte. Met die voorwaardes waaronder Mjn gekies word, as hoër Min-waarde en lae V_{in}^2 -waarde (variansie), word in die eerste eliminasiëfase reeds 36 vals positiewe gevalle geëlimineer, in die tweede fase vyf pasiënte en in die derde fase drie pasiënte.

Hierdie blyk dus 'n belangrike modifikasie van die metode gevolg deur Lighthelm, (1977) te wees. Die finale groep pasiënte is baie vinniger bereik deur 'n meer effektiewe eliminasië van vals positiewe gevalle.

Met behulp van 'n statistiese-betroubare metode is 'n groep pasiënte met tirosielurie nou geïdentifiseer.



Figuur 3.6 Grafiese voorstelling van eliminasië van vals positiewe pasiënte met $p^*=0,9$ en $\Delta^*=0,05$. Die kurwe (x—x) gee die eliminasië van vals positiewe gevalle, met Mjn gekies as slegs hoogste Min-waarde, weer. Die kurwe (•—•) gee die eliminasië van vals positiewe gevalle, met Mjn gekies as hoë Min-waarde en lae Vin^2 -waarde, weer.

Of die voorkoms van tirosielurie by die pasiënte gepaardgaan met hoë bloed tirosienkonsentrasies is egter nog onbekend. Hierdie aspek word in die volgende hoofstuk aan die orde gestel.

HOOFSTUK 4

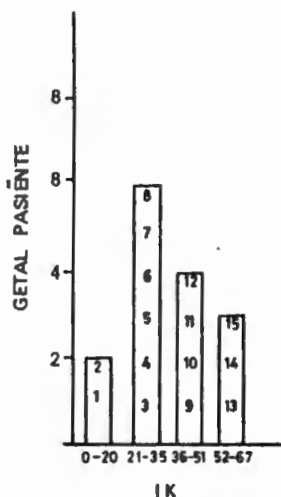
ONDERSOEK NA DIE VOORKOMS VAN TIROSINEMIE BY
'N GROEP PASIËNTE MET TIROSIELURIE

4.1 INLEIDING

Met die semikwantitatiewe- α -nitroso- β -naftoltoets en die sekwenstiële-eliminasiëprosedure, is 'n groep van 16 pasiënte as die groep aangewys, waar die voorkoms van tirosinemie die mees waarskynlike is. By al die pasiënte het tot 'n mindere of meerdere mate tirosielurie voorgekom. As eerste moontlike oorsaak hiervan, sal in hierdie hoofstuk die ondersoek vir tirosinemie beskryf word.

'n Verhoogde serum tirosienkonsentrasie, gepaardgaande met tirosielurie, is 'n gemeenskaplike eienskap van alle tipes tirosinemië. Slegs in die geval van tirosinose (Medes-pasiënt), is dit nie seker of dit wel die geval is nie. Aangebore tirosinemie van die pasgeborene en konstante hipertirosinemie (Oregon-tipe), resulteer beide in uitermatig verhoogde serum tirosienvlakke. Hierteenoor kom by aangebore tirosinemie (hepatorenale tipe) 'n matig verhoogde serum tirosienkonsentrasie voor. Oënskynlike tirosinemie, veroorsaak deur lewerafwykings, lei tot serum tirosienvlakke wat gewoonlik effens verhoog is, of in die hoë normale gebied voorkom (1,0-2,5mg/100ml)

Benewens vir tirosielurie, is 'n gemeenskaplike eienskap van die pasiënte die feit dat almal verstandelik vertraag is. Die I.K.-waardes van die pasiënte is goedgegunstiglik deur die personeel van die Witrandinrigting verskaf en word in Figuur 4.1 weergegee.



Figuur 4.1 I.K.-waardes van die 16 geselekteerde pasiënte

Die lae intelligensie van die 16 pasiënte dui op die moontlikheid van konstante hipertirosinemie (Oregontipe), wat verstandelike vertraagdheid as konstante kenmerk het (Hoofstuk 2). Of al 16 pasiënte van die Oregontipe was, is egter hoogs onwaarskynlik, aangesien nog slegs 11 gevalle met hierdie genetiese defek tot dusver in die literatuur beskryf is. Die pasiënte het ook geen ooglopende vel- of oogafwykings nie, iets wat dikwels by die Oregontipe tirosinemie voorkom. Dit lyk dus onwaarskynlik dat al 16 die geselekteerde pasiënte van die Witrandinrigting, dié tipe tirosinemie kan hê, tenspyte van die gesamentlike voorkoms van tirosielurie en verstandelike vertraging by die pasiënte.

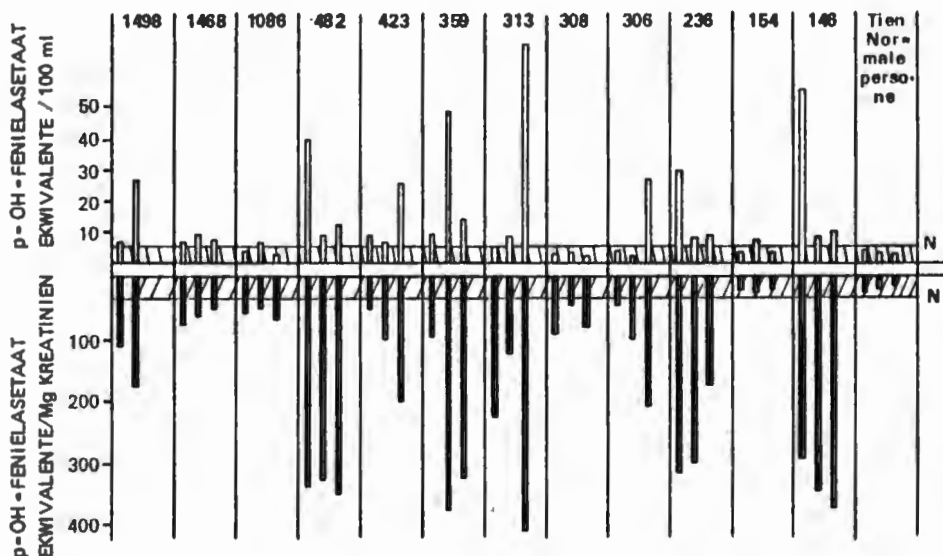
Die vraag is egter of die tirosielurie van die pasiënte met verhoogde serum tirosienkonsentrasies gepaard gaan. Verdere toetse uitgevoer op die pasiënte was daarop gerig om die voorkoms van tirosinemie by die pasiënte te bepaal, asook om te vind watter tipes tirosinemië by dié pasiënte voorkom.

Met die aanvang van die bepaling van die bloeditrosienvlakke kon slegs 12 van die aanvanklike 16 geselekteerde pasiënte in hierdie deel van die studie betrek word. Drie van die vier oorblywende pasiënte, is of ontslaan, of verplaas na 'n inrigting nader aan hul ouerhuis. Die vierde pasiënt, 'n ou dame, se toestand was kritiek, a.g.v. gangreen in beide bene. Die dame is ondertussen ook oorlede.

4.2 TIROSELURIE VAN DIE 12 WITRANDPASIËNTE

Die uitskeiding van die 4-hidroksifenoliese verbindings by die pasiënte word gekenmerk aan 'n daaglikse fluktuasie van die konsentrasie daarvan. Soms word selfs, vir lang tye, binne die normale konsentrasie grense uitgeskei. Die variasie in en soms normale uitskeiding van 4-hidroksifenole deur die pasiënte, kan te wyte wees aan verdunde urine. Om hierdie moontlikheid uit te skakel is die semikwantitatiewe- α -nitroso- β -naftol-toets weer eens op drie verskillende urienmonsters van die pasiënte gedoen. By hierdie bepaling is nie net van oggend urienmonsters gebruik gemaak nie, maar wel ook van urienmonsters wat in die namiddag opgevang is. Saam met die semikwantitatiewe- α -nitroso- β naftoltoets is ook

'n kreatinienbepaling uitgevoer. Die O.D.₅₂₀-waardes wat verkry is, met die semikwantitatiewe- α -nitroso- β -naftoltoets, is met behulp van 'n standaardkurwe omgerek na mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml. Hierdie konsentrasies is dan verder omgerek en uitgedruk in μ g 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien. Die resultate word in Figuur 4.2 saamgevat.



Figuur 4.2 Totale 4-hidroksifenoluitskeiding by 12 van die pasiënte wat met fase 3 van die eliminasiëprosedure verkry is, weer-gegee in μ g 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien.

Met die verdunningsfaktor uitgeskakel, kan gesien word dat die pasiënte konstant verhoogde konsentrasies 4-hidroksifenole uitskei. Pasiënt 154 is egter

h uitsondering met drie agtereenvolgende normale uitskeidings.

4.3 BEPALING VAN DIE SERUM TIROSIENVLAKKE

4.3.1 Metode van bepaling

Die bepaling van die serum tirosienkonsentrasies het geskied d.m.v. die fluorometriese metode van Ambrose, et al., (1969). Ambrose maak van α -nitroso- β -naftol gebruik wat h fluoroserende chromofoor met tirosien vorm. Die prosedure geskied as volg en word in duplikaat uitgevoer: h Standaardreeks, bestaande uit h blanko (0,5ml 0,06N TCA) en 0,5ml van 1 tot 5mg per 100ml standaard tirosienoplossings in 0,06N TCA, word gebruik. Serum (0,5ml), gedeprotoneer met h gelyke volume 0,6N TCA, word as monster gebruik. Die 0,5ml blanko, 5 standarde en monsters word elk in h Ambrose kuvet gevoeg en 1ml salpetersuurreagens word hierby gevoeg. Vir die salpetersuurreagens, word 10ml 2,5N HNO_3 by 20ml van die α -nitroso- β -naftol-natriumnitriet reagent, (50mg α -nitroso- β -naftol en 355mg NaNO_2 opgelos in 40ml 0,05N NaOH , opgelos en opgemaak tot 100ml met 0,05N NaOH) gevoeg. Dié oplossing word vir presies 20 minute in die donker geplaas. Daarna word 15ml fosforsuur-reagens (100g natriumpirofosfaat in 100ml 8N fosforsuur) bygevoeg. Dit is belangrik dat die oplossings terwyl dit berei word, in die donker gehou word. Die 20 minute ontwikkeling van die α -nitroso- β -naftol-natriumnitriet en 2,5N HNO_3 -mengsel moet absoluut gekontroleer word. Indien die ontwikkelings-

tyd te lank of te kort is, vorm dit na inkubasie, wit flokkies wat dit onmoontlik maak om die fluoro-sensie te bepaal. Die kuvette word, na die byvoeging van die salpetersuurreagens, met 'n opskroefproppe dig gesluit en m.b.v. 'n Vortexmenger goed gemeng. Die mengsel word in 'n waterbad by 85°C vir presies 6 minute verhit en afgekoel by 33°C vir 10 minute. Vyf ml 95% etanol word nou by elke buisie gevoeg, gemeng en teruggeplaas in 'n 33°C waterbad vir 30 minute. Na 30 minute word die fluoro-sensie van elke buis bepaal d.m.v. 'n fluorometer met die primêre filter (eksitasie) by 436nm en 'n sekondêre filter (emisie) >535nm. Met behulp van die blanko word die standaard en monster se fluoro-sensiewaardes gekorrigeer. 'n Standaard kurwe word getrek en die konsentrasie van die monster word afgelees.

Volgens Ambrose, et al., (1969) het geen ander aminosuur 'n invloed op die fluoro-sensie van die α -nitroso- β -naftol-tirosien chromofoor nie. Die konsentrasies van die tirosienkataboliete (4-HPAA, 4-HPLA en 4-HPAA) is so laag in die bloed dat dit geen invloed op die bepaling van tirosien het nie.

Die bepaling van die bloed-tirosienkonsentrasie is m.b.v. bg. metode, op die 12 geselekteerde pasiënte, sowel as 'n normale groep persone, uitgevoer. Die pasiënte sowel as die kontrolegroep, is vir 12 ure op 'n proteïenvrye dieet geplaas voor die bloedmonster geneem is. Op die bloedmonsters is nie net die tirosienkonsentrasies bepaal nie, maar ook die fenielalanienkonsentrasies. Die fenielalanienkonsentrasies

is bepaal volgens die metode van Henry, et al., 1974. Die metode berus daarop dat die bloedplasma gedeprotoneer word met 0,6N TCA. 'n Fluoroserende kompleks word met die serum fenielalanien d.m.v. ninhidrien en koper gevorm, wat fluorometries bepaal kan word. Die metode word as volg uitgevoer: Vier proefbuisse word as volg opgestel:

- (1) Blanko:- 0,2ml albumienoplossing (7,5% bovien albumien);
- (2) Standaarde:- 0,2ml 5 en 10mg per 100ml fenielalanien;
- (3) Onbekende:- 0,2ml plasma.

By elk van die buise word 0,2ml 0,6N TCA gevoeg, vir 10 minute laat staan om te deprotoneer en gesentrifugeer.

Die supernatante van die 4 proefbuisse word as volg verdeel:

- (1) Blanko met peptied:- 0,3ml gebufferde ninhidrienpeptiedoplossing, bestaande uit 5 volumes suksinaatbuffer (0,6M, pH 5,88 ingestel met 5N NaOH), 2 volumes ninhidrienoplossing (0,03M) en 1 volume leusiel-alanienoplossing (0,005M) word in 'n proefbuis gevoeg. Twintig μ l blanko supernatant word m.b.v. 'n mikro-pipet oorgedra na die proefbuis;

- (2) Standaardoplossing:- 0,3ml gebufferde ninhidrienpeptiedoplossing + 20µl van elk van die standaarde;
- (3) Onbekende:- 0,3ml gebufferde ninhidrien-peptied oplossing + 20µl serum;
- (4) Onbekende blanko en reagent blanko:. 0,3ml gebufferde ninhidrienwateroplossing (die 1 volume leusiel-alanienoplossing in die ninhidrien-peptiedoplossing is vervang deur 1 volume water) + (a) 20µl serum + (b) 20µl blanke supernatant. Al 5 proefbuisse word goed gemeng en vir 2 ure in 'n 60°C waterbad geïnkubeer. Na die inkubasie word die proefbuisse afgekoel in koue water en 5ml koperkarbonaat-tartraatoplossing, bestaande uit 3 volumes karbonaat-tartraatoplossing (1,33g Na_2CO_3 en 55mg $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ in 500ml water) en 2 volumes kopersulfaatoplossing (0,6mM),, word bygevoeg en gemeng. Die fluorosensie van die buise word m.b.v. 'n fluorometer bepaal deur eksitasie golflengte as 365nm en emissie golflengte as 490nm te gebruik.

Die berekenings van die konsentrasie fenielalanien word as volg gedoen: Eerstens word die lesing van die standaard naaste aan die onbekende gekies en met die volgende formule kan die konsentrasie bepaal word:

mg fenielalanien per 100ml =

$$\frac{F_x - F_b}{F_s - F_b} \times \text{konsentrasie van standaard} \\ (\text{mg}/100\text{ml})$$

Indien die onbekende blanko baie hoër is as die reagens blanko word die volgende vergelyking gebruik:

mg fenielalanien per 100ml =

$$\frac{F_x - F_b - F_y - F_c}{F_s - F_b} \times \text{konsentrasie van standaard} \\ (\text{mg}/100\text{ml})$$

waar: F_x = lesing van onbekende (met peptied)

F_y = lesing van onbekende (sonder peptied)

F_s = lesing van standaard

F_b = lesing van blanko (met peptied)

F_c = lesing van blanko (sonder peptied)

4.3.2 Resultate

Uit die resultate soos in Tabel 4.1 saamgevat blyk dit dat geen pasiënt se serum tirosien- en serum fenielalanienkonsentrasies die normale grense, 2,5mg per 100ml in die geval van tirosien en 4,0mg per 100ml in die geval van fenielalanien, oorskry nie. Die uitsondering van pasiënt 146, wat 'n verhoogde serum fenielalanienkonsentrasie gehad het, is verwag, aangesien die pasiënt reeds deur Lighthelm, (1977)

aangewys is as 'n fenielketonurie geval.

Tabel 4.1 Tirosien- en fenielalanienkonsentrasies in die serum van die 12 geselekteerde pasiënte en 4 kontrole pasiënte. 'n Tydperk van 12 ure waarin geen proteïene ingeneem is nie, het die bepaling vooraf gegaan

Pasiënt No.	Bloed tirosienkonsentrasie mg/100ml	Bloed fenielalanienkonsentrasie mg/100ml
146	0,65	26,98
154	1,07	1,70
236	1,18	2,20
306	0,80	2,04
308	1,25	2,24
313	1,05	2,38
359	1,47	1,70
423	1,63	2,82
482	1,40	2,05
1086	1,18	1,78
1468	1,28	1,90
1498	1,23	1,70

***Kontrole groep**

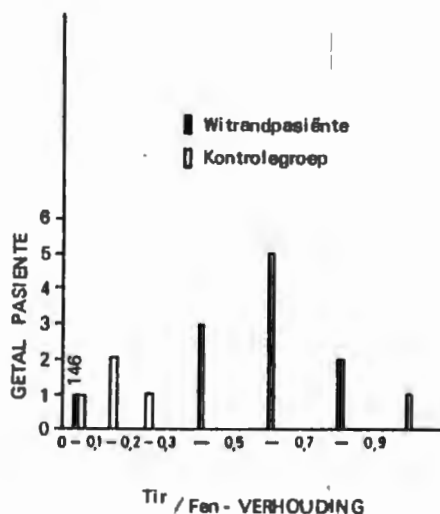
1	0,26	1,33
2	0,03	1,65
3	0,33	1,46
4	0,56	2,17

*Benewens hierdie kontrolegroep is ook serum tirosienkonsentrasies van 35 normale persone, wat nie op 'n 12 uur proteïenvrye dieet was nie, bepaal. Die gemiddelde bloed tirosienkonsentrasie van die 35 persone was 0,61mg%.

Hoewel die serum tirosienkonsentrasie van die pasiënte as normaal beskou kan word, val hulle in die boonste grense van normaal. Die gemiddelde serum tirosienkonsentrasie van 35 normale persone, wat nie op 'n proteïenvrye dieet was nie, is gevind as 0,61mg per 100ml. Die gemiddelde serum tirosienkonsentrasie van 4 normale persone, wat wel op 'n 12 uur proteïenvrye dieet, voor bepaling van die serum tirosienkonsentrasie was, is 0,39mg per 100ml. Die 12 pasiënte, wat wel op 'n 12 uur proteïenvrye dieet was voor die serum tirosienbepaling uitgevoer is, se gemiddelde serum tirosienkonsentrasie is 1,18mg per 100ml.

Benewens 'n vergelyking van die serum fenielalanien- en tirosienkonsentrasies word in die literatuur soms ook na die verhouding tussen hierdie aminosure verwys. So het Hirsch, et al., (1967) byvoorbeeld fenielalanien-tirosien (Fen./Tir.)-verhouding gebruik om fenielketonurie-draers op te spoor. 'n Interessante aspek kom nou na vore indien die Tir./Fen.-verhouding van die 12 pasiënte van hierdie studie met die kontroles vergelyk word. Dit word weergegee in Figuur 4.3

Aangesien die kontrole groep sowel as die pasiënte vir 12 ure geen fenielalanien of tirosien ingeneem het nie, sou verwag word dat die konsentrasies fenielalanien en tirosien in die bloed van die persone op 'n drempel waarde moet wees. 'n Duidelike verskil bestaan in die distribusiekurwe van die Tir./Fen.-verhouding van die normale persone en van die 12 pasiënte. Die meeste normale persone se Tir./Fen.-verhouding was



Figuur 4.3 Tir./Fen.-verhouding en die distribusie-kurwe van die Tir./Fen.-verhouding van die 12 geselekteerde Witrandpatiënte en 'n kontrole groep

tussen 0,1 en 0,2. Terwyl in teenstelling, die meeste pasiënte 'n Tir./Fen.-verhouding van 0,5 tot 0,7 gehad het. Dit is 'n verhoging van byna 6 keer die gemiddelde waarde van die normale persone. Geen normale persoon het 'n Tir./Fen.-verhouding van groter as 0,3 gehad nie, terwyl een pasiënt 'n verhouding van byna 1 gehad het. Dus is daar 'n duidelike verskil in die konsentrasie-verhouding waarin hierdie aminosure in die bloed van normale persone en dié van die 12 geselekteerde pasiënte voorkom. Die verskil kan

moontlik op faktore dui wat versteurend op die verhouding inwerk. Verdere ondersoeke is egter nodig voor die betekenis van hierdie verhouding geïnterpreteer kan word en voor 'n finale konklusie oor die betekenis hiervan gegee kan word.

4.3.3 Bespreking

Op grond van die serum tirosienkonsentrasies kan die voorkoms van tirosielurie by die 12 pasiënte nie toegeskryf word aan uitgesproke tirosienemie nie. Dat daar wel 'n versteuring in die metabolisme van tirosien by die pasiënte plaasgevind het, word deur die versteurde Tir./Fen.-verhouding gesiggleur. Geen pasiënt se serum tirosienkonsentrasie is egter in so 'n mate verhoog dat hy as tirosinemies beskryf kan word nie. Die enigste pasiënt wat duidelik uitgewys is as afwykend, was pasiënt 146 met fenielketonurie.

Hoewel die 12 pasiënte 'n lae IK¹ het, skakel die voorkoms van normale tirosienkonsentrasies die moontlikheid van konstante hipertirosinemie (Oregontipe), wat gewoonlik resulteer in abnormaal verhoogde serum tirosienkonsentrasies (tot 30mg/100ml), uit. Die moontlikheid van aangebore, tirosinemie (hepatorenale tipe) ook uitgeskakel. Die tipe tirosinemie resulteer nooit in normale tirosienkonsentrasies nie, hoewel dit gewoonlik net matig verhoog is, tensy die pasiënt vir 'n paar dae op 'n fenielanalien-tirosien-vrye dieet geplaas word.

Tirosielurie a.g.v. lewerafwykings doen soms voor in effens verhoogde tot hoë normale serum tirosienkon-sentrasies. Met die ander moontlikhede uitgeskakel, lyk dit of lewerafwykings moontlik die oorsaak kan wees van die tirosielurie van die 12 Witrandpasiënte. Om hierdie moontlikheid te ondersoek is die lewer-funksies van die pasiënte nagegaan en word die resul-tate in die volgende paragraaf bespreek.

4.4 BEPALING VAN DIE VOORKOMS VAN LEWERAFWYKINGS BY DIE 12 GESELEKTEERDE WITRANDPASIËNTE

Die lewerfunksiebepalings is uitgevoer en geïnter-preteer deur die kliniese patologielaaboratorium Du Buisson, Fourie en Vennote. Die resultate van die bepaling word vervat in Tabel 4.2.

Op grond van die gegewens in Tabel 4.2 blyk dit dat nie een van die 12 pasiënte, wat aan tirosielurie ly, enige versteurings in die normale lewerfunksies gehad het nie.

4.5 BESPREKING

Die resultate van die lewerfunksietoetse skakel nie net die moontlikheid van tirosilurie a.g.v. lewer-afwykings uit nie, maar bevestig ook die bevinding dat tirosielurie nie veroorsaak word deur aangebore tirosinomie (hepatorenale tipe) nie.

Tabel 4.2. Resultate van lewerfunksietoetse gedoen op die 12 geselekteerde Witrandpasiente

UITSLAG VAN PASIENTE													
TOETSE	146	151	236	306	308	313	359	423	482	1086	1468	1498	Normaal (Volw)
Totale proteïene (g/L)	70	72	76	74	75	70	78	73	64	71	71	71	M64-86 V62-85
Albumien (g/L)	43,0	40	50	48,5	38,8	41,9	46,7	43,1	37,1	43,6	40,5	40,7	M32-51 V33-48
α_1 -Globulien (g/L)	2,3	2,3	4,3	1,4	2,5	1,1	2,3	2,5	1,4	1,6	2,2	2,0	M 2-3,7 V1,4-4
α_2 -Globulien "	5,1	6,1	4,6	6,0	9,6	7,3	6,2	5,9	10,4	5,2	6,9	7,3	M6,8-13,5 V6,4-13,5
β -Globulien "	7,0	7,0	7,7	6,5	7,6	6,9	7,3	8,4	7,0	5,9	6,4	7,6	M9,6-16,5 V9,2-16,5
γ -Globulien "	12,5	11,1	11,4	10,6	16,6	12,5	15,4	13,1	8,1	14,7	15,0	12,1	M6,7-14,1 V5,6-13,4
Bilirubien (Totaal)	<10	<6	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<0	0-17
Bilirubien (gekonjug-geerd)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-6
Alkaliese fosfatase	9:	112	71	112	169	117	182	114	135	73	248	117	75-210 (volw) E./L. 185-575 (3-15j)
Alanien Transaminase	15	9	9	9	12	20	11	15	15	9	14	9	M 0-29 V 0-22 I.E./L.
Aspartien "													M-0-25 V 0-21 I.E./L.
Gamma-GT	4	14	11	30	8	12	84*	19	20	14	14	19	M 8-36 V 5-23 I.E./L.
Timol troebeling	4	4	3	9	4	8	11	5	4	14	9	4	0-6 E/L
Timol uitvloeking	0	0	0	2+	0	0	2+	0	0	4+	0	6	0-1+
Gealog	M	M	V	M	M	M	M	M	M	V	M	M	

4.6 SLOTOPMERKING

Die tirosielurie, by die 12 Witrandpasiënte, word volgens die resultate van hierdie hoofstuk nie veroorsaak deur die bekende tipes tirosinemie nie. Verdere toetse is uitgevoer, spesifiek vir elke pasiënt en is daarop gerig om die oorsprong van die voorkoms van die verhoogde 4-hidroksifenoluitskeiding te bepaal. Die toetse en resultate word in Hoofstuk 5 beskryf.

HOOFSTUK 5

ONDERSOEK NA DIE OORSPRONG VAN DIE TIROSELURIE
BY DIE 12 GESELEKTEERDE WITRANDPASIËNTE

5.1 INLEIDING

Konstante tirosielurie kom by die 12 geselekteerde Witrandpasiënte voor. Die tirosielurie gaan egter nie gepaard met abnormaal verhoogde serum tirosienkonsentrasies nie en geen lewerafwykings kan by die pasiënte opgespoor word nie. (Hoofstuk 4.) Die oorsprong van die tirosielurie kan dus nie toegeskryf word aan enige bekende tipe tirosinemie nie en is verdere toetse uitgevoer om die oorsprong van die tirosielurie te probeer opspoor.

Die ondersoek na die oorsaak van verhoogde uitskeiding van 4-hidroksifenol, behels die volgende:

- 1) kwantitatiewe bepaling van die voorkoms van urinêre-aminosure uitgeskei deur die pasiënte;
- 2) fenielalanien-tolleransietoetse met die gesamentlike bepaling van die omsetting van fenielalanien na tirosien en die uitskeiding van 4-hidroksifenoliese verbindings en;
- 3) een-dimensionele dunlaagchromatografie van fenoliese sure, geëkstraheer uit die urine m.b.v. eter by 'n lae pH.

Uit die bg. toetse kan die volgende gegewens respektiewelik verkry word:

- 1) Renale defekte wat resulteer in wanabsorpsie van aminosure, waaronder tirosien, kan die oorsaak wees van positiewe α -nitroso- β -naftoltoetse en

dus tirosielurie;

- 2) Uit die fenielalanien-tolleransiekurwes kan die volgende gegewens afgelei word;
 - (a) intestinale absorpsie van fenielalanien;
 - (b) tempo van omsetting van fenielalanien na tirosien, wat as maatstaf kan dien van die aktiwiteit van die ensiem fenielalamienhidroksilase;
 - (c) die afname van die tirosienkonsentrasie in die bloed, dus die aktiwiteit van die ensieme 4-HPPA-oksidase en tirosien transaminase;
 - (d) uitskeiding van vreemde 4-hidroksifenole en abnormale hoeveelhede 4-hidroksifenole; en
 - (e) die voorkoms van homogentesiensuur in die urine van die pasiënt tydens 'n verhoogde inname fenielalanien en dus die aktiwiteit van die ensiem homogentesiensuuroksidase.
- 3) Elke metaboliese defek resulteer in 'n tipiese spektrum van kataboliete wat gebruik kan word ter identifisering van die spesifieke metaboliese afwyking (Hoofstuk 2). So word in die van, tirosinemie van die pasgeborene, aangebore tirosinemie (Hepatorenale tipe) en konstante hipertirosinemie (Oregontipe), 4-HPLA teen die hoogste konsentrasies uitgeskei. Die Medes pasiënt met tirosinose, het 4-HPPA teen die hoogste konsentrasies uitgeskei. Tydens tirosielurie, a.g.v. absorpsie defekte, word 4-HPAA teen die hoogste

konsentrasie uitgeskei.

5.2 METODES GEBRUIK VIR DIE URINÊRE-AMINOSUUR-BEPALING, FENIELALANIE-TOLLERANSIETOETS EN DIE SKEIDING VAN DIE URIEN-ETEREKSTRAKTE MET DUNLAAGCHROMATOGRAFIE

5.2.1 Kwantitatiewe bepaling van die urinêre-amino-sure uitgeskei deur die Witrand pasiënte

Dié bepaling is uitgevoer deur die National Research Institute for Occupational Diseases in Johannesburg. Chromatografiese ondersoek van die urine het die bepaling voorafgegaan, volgens die metode van Nyhan, 1974, en slegs die wat as abnormaal gevind is, is die kwantitatiewe bepaling op gedoen.

5.2.2 Fenielalanien-tolleransietoetse

Die Fenielalanien-tolleransietoetse sluit die fenielalanien-tolleransiekurwe, die fenielalanienomsetting na tirosien en die urinêre uitskeiding van 4-hidroksi-fenoliëse verbindings in. Voor die aanvang van die toetse is die pasiënte sowel as 'n kontrole groep vir 12 ure op 'n proteïenvrye dieet geplaas. 'n Dosis fenielalanien van 200mg per Kg liggaamsmassa, opgelos in appelsap, is aan die pasiënte verskaf. Bloedmonsters is op die volgende tye geneem: Tyd 0; 0,5; 1; 2; 4; 8; 12 en 24. Urienmonsters is so dikwels as moontlik tydens die tolleransietoetse verkry en die tyd is telkens genoteer.

Op die bloedmonsters is die tirosienbepaling van Ambrose, (1969) en die fenielalanienbepaling van Henry, et al., (1974) uitgevoer. Beide die metodes is reeds in Hoofstuk 4 bespreek.

Die urienmonsters se pH is onmiddellik na verkryging verstel na pH5, met verdunde HCl en is onmiddellik in die donker op ys geplaas. Die semikwantitatiewe α -nitroso- β -naftoltoets en 'n kreatinienbepaling, volgens die metode van Schmidt, (1974), is ongeveer 2 uur na verkryging op die urine uitgevoer. Met behulp van 'n standaardkurwe is die O.D.₅₂₀-waardes omgerekend na mg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml, wat dan verwerk is na μ g 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien.

5.2.3 Dunlaagchromatografiese skeiding van die urien-eteriekstrakt van die 12 pasiënte

5.2.3.1 Ekstraksieprosedure

By 5ml urine is NaCl gevoeg totdat 'n versadigde oplossing verkry is. Die urine is aangesuur tot 'n pH van 1 tot 2 met 1N. HCl. Ekstraksie is uitgevoer met 5 volumes diëtieleter. Die ekstraksie is vir 'n uur uitgevoer, deur die urien-diëtieletermengsel aanhoudend te skud. Die ekstraksiemengsel is vir 'n tyd (5 minute) laat staan en die eterfase is afgesuig. Die ekstraksieprosedure is herhaal met 2 volumes diëtieleter. Die 2 eterfases is saamgevoeg en afgedamp onder vakuum terwyl stikstof aanhoudend deur die eter geborrel is. Na die eter

afgedamp is, is die reste opgelos in 1ml etanol en word dit by -20°C bewaar. Dié reste is chromatografies geskei en ondersoek die volgende dag.

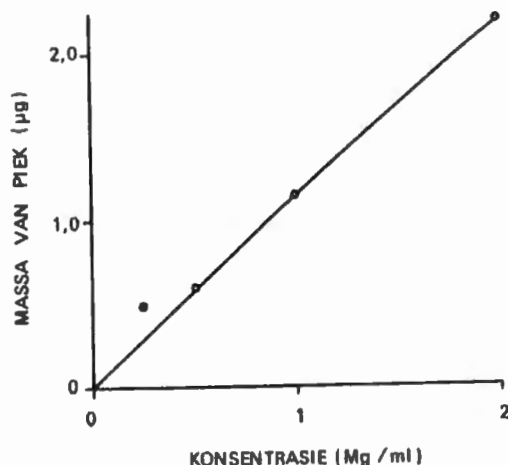
Op die waterfase is die semikwantitatiewe- α -nitroso- β -naftoltoets uitgevoer. Die waterfase bevat nou hoofsaaklik tirosien en tiramien wat nie met die eter ekstraheerbaar is nie.

5.2.3.2 Dunlaagchromatografie

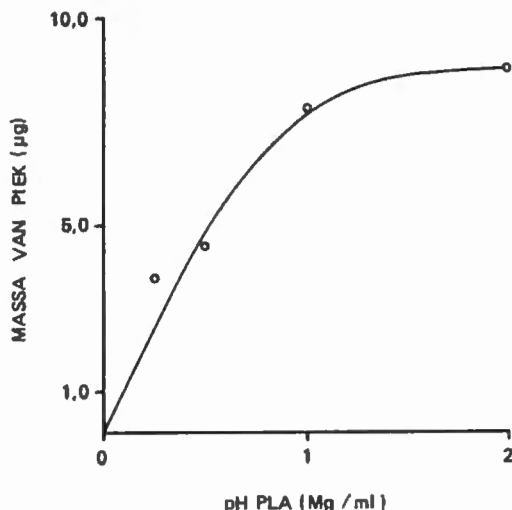
Vir die een-dimensionele dunlaagchromatografiese skeiding van die eterekstrakte, opgelos in etanol, word van silikagel (0,1mm) op glasplaat-dunlae gebruik gemaak. Koolstoftetrachloried: asynsuur: water in die verhouding 62:46:2 word as loopmiddel gebruik. Die loopmiddel word daaglik berei en afgekoel tot 5°C voor dit gebruik word. Die ontwikkeling van die dunlae geskied by 5°C om diffusie van die eterekstrakte so laag as moontlik te hou en dus die R_f -waardes meer konstant te hou. Ontwikkeling van die dunlae neem ± 2 ure. Kleurontwikkeling geskied d.m.v. 0,1% α -nitroso- β -naftol opgelos in etanol. Die oplossing word m.b.v. 'n sproeikannetjie oor die dunlaag gesproei en gelaat om droog te word. Daarna word 20% HNO_3 -oplossing in aseton oor die dunlaag gesproei. Die metode van kleuring is deur Zweig en Whitaker, (1974) gebruik. Na die kleurontwikkeling is onmiddellik 'n densitogram van die dunlaag getrek, wat gebruik is vir konsentrasiebepalings van die drie vernaamste kataboliete van tirosien (4-HPPA, 4-HPLA

en 4-HPAA).

Vir die konsentrasiebepaling was dit nodig om 'n standaardreeks op te stel. Die standaardreeks het bestaan uit vier verskillende konsentrasies van die drie kataboliete (4-HPPA, 4-HPLA en 4-HPAA) nl. 0,25; 0,5; 1 en 2 $\mu\text{g/ml}$. Vyf μl van elke standaard is op dunlaag-chromatogramme geskei. Densitogramme is m.b.v. 'n densitograaf van die standaard dunlae getrek na kleurontwikkeling m.b.v. α -nitroso- β -naftol. Die pieke op die densitograaf van elke verbinding is uitgeknip en die massas daarvan is bepaal. Standaard kurwes van die massas van die papier wat die oppervlakte van die pieke beslaan, teenoor konsentrasies van die standaarde wat op die dunlae geplaas is, is getrek (Figuur 5.1; 5.2 en 5.3).



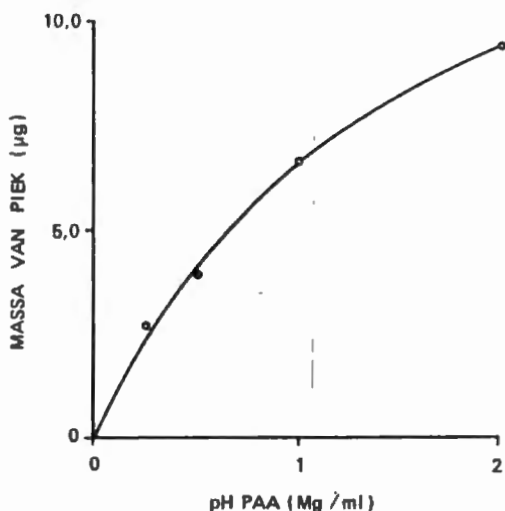
Figuur 5.1. Standaardkurwe van 4-HPPA-konsentrasies soos bepaal d.m.v. 'n densitogram na skeiding d.m.v. dunlaagchromatografie



Figuur 5.2. Standaardkurve van 4-HPLA-konsentrasies soos bepaal d.m.v. 'n densitogram nadat die verbinding d.m.v. dunlaagchromatografie geskei is.

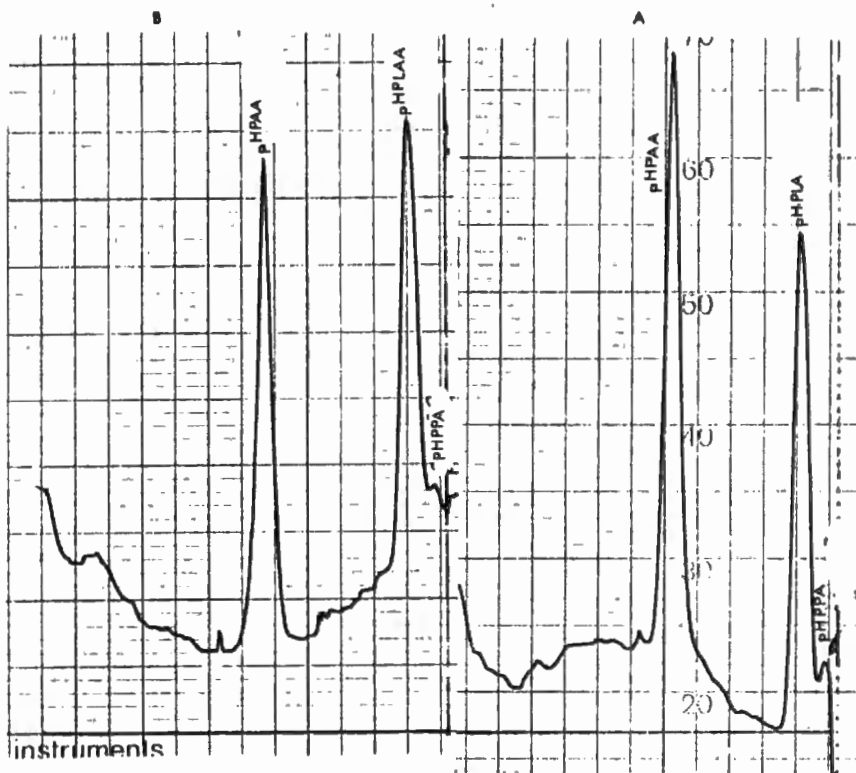
Met ekstraksie en droging van die 4-hidroksifenoliese word veral 4-HPPA geoksideer na verskeie ander verbindings, onder andere 4-HPAA. Daarom is van stikstof gebruik gemaak om die eter af te damp en die ekstrakte is so gou as moontlik na droging, ondersoek. Hiervolgens gaan baie min van die 4-hidroksifenoliese-sure verlore soos gesien kan word in Figuur 5.4.

Die urieneekstrakte van die pasiënte sowel as die kontrole groep, is ondersoek deur 'n volume ekstrak ekwivalent aan 20µg kreatinien op die dunlae te plaas. Op elke chromatogram is 5µl van 'n standaard-



Figuur 5.3. Standaardkurve van 4-HPAA-konsentrasies soos bepaal d.m.v. 'n densitogram na skeiding d.m.v. dunlaagchromatografie

mengsel (1mg/ml) van die verbinding 4-HPPA, 4-HPLA en 4-HPAA geplaas wat as kontrole gedien het. Na ontwikkeling (2 uur) en kleuring van die dunlaagchromatogramme, is densitogramme getrek en die pieke is uitgeknip en geweeg. M.b.v. die meegaande standaard kon korreksies, van moontlike variasies, gedoen word. Die standaardkurwes (Figuur 5.1; 5.2 en 5.3) is gebruik om die konsentrasies van die 3 kataboliete af te lees. R_f -waardes is telkens gebruik ter identifisering van die verskillende verbindings.



Figuur 5.4. A en B (A) Densitogram van 'n dunlaagchromatogram van 'n standaardmengsel van 4-HPPA, 4-HPLA en 4-HPAA. (B) Densitogram van 'n dunlaagchromatogram van dieselfde standaardmengsel, maar waarop die ekstraksieprosedure uitgevoer is voor skeiding d.m.v. dunlaagchromatografie.

Die konsentrasie van die verbinding 4-HPPA was baie moeilik bepaalbaar, omdat die verbinding se R_f -waarde baie klein is en die vlek, veroorsaak deur 4-HPPA, met die vlek oorvleuel waar die eterekstrakte opgeplaas is. Die konsentrasies 4-HPLA en 4-HPAA is in 'n redelike mate korrek bepaal.

5.3 RESULTATE

Die resultate van die toetse word afsonderlik vir elke pasiënt bespreek. Die kontrolegroep se resultate is verwerk na 'n gemiddelde resultaat van dié van die vier persone.

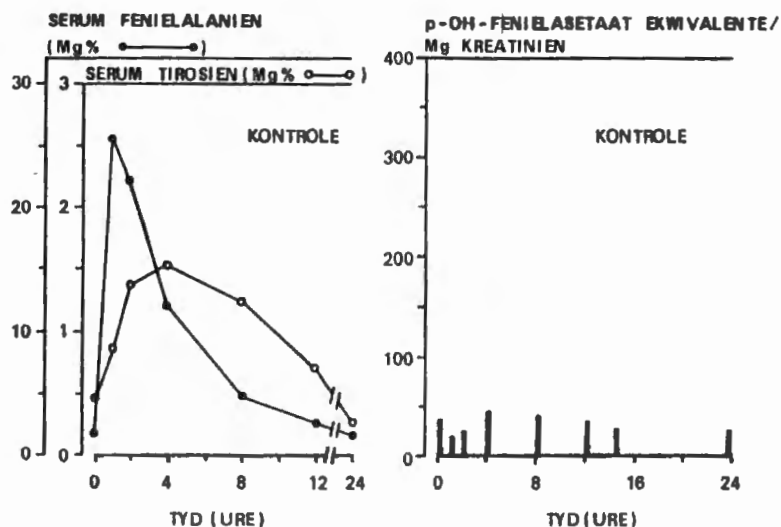
5.3.1 Kontrolegroep

5.3.1.1 Biochemiese beeld

Die urinêre aminosure van die vier persone in die kontrolegroep se konsentrasies is nie kwantitatief bepaal nie, maar daar is wel ondersoeke na afwykings d.m.v. tweedimensionele chromatografie op die urine van die persone gedoen. Volgens dié metode kon geen aminosuur wat in abnormale konsentrasies uitgeskei word, opgespoor word nie.

Die gemiddelde resultaat van die fenielalanien-tolleransiekurwe, fenielalanienomsetting na tirosien en die 4-hidroksifenoluitskeiding tydens die tolleransietoetse, van die 4 normale persone, word in Figuur 5.5 weergegee. Die resultate van die tolle-

ransietoetse vergelyk goed met dié van tolleransietoetse gedoen op normale persone wat in die literatuur verskyn (Gaul, et al., 1970; Bodegard, et al., 1969).



Figuur 5.5. Fenielalanien-tolleransiekurwe, fenielalanienomsetting na tiro sien en die uitskeiding van 4-hidroksifenole tydens die tolleransietoets

Die dosis fenielalanien van 200mg per Kg liggaams-massa, word vinnig geabsorbeer deur die persone, sodat 'n maksimum konsentrasie van ± 25 mg per 100ml na ongeveer 'n uur na inname bereik word. 'n Klein afname in die konsentrasie word na die tweede uur na inname, waargeneem. 'n Skerp daling in die serum fenielalanienkonsentrasie, word tussen die tweede en die vierde uur na inname waargeneem. Na die vierde uur na fenielalanieninname, neem die

snelheid waarteen die serum fenielalanienkonsentrasie afneem, af en word die normale serum fenielalanienkonsentrasie (2,5mg/100ml) na 12 ure, na inname, bereik.

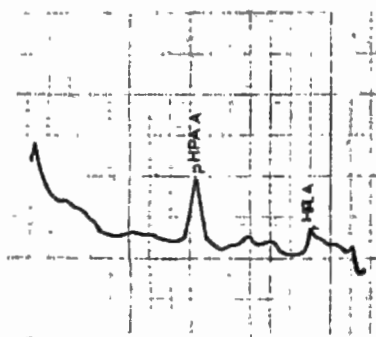
Die skerp styging in die serum fenielalanienkonsentrasie gaan gepaard met 'n skerp styging in die tirosienkonsentrasie. 'n Maksimum konsentrasie van 1,5mg per 100ml word na 4 ure bereik, nadat 'n afname in die toename van serum tirosienkonsentrasie reeds na 2 ure, na inname van fenielalanien, sigbaar is. Die afname van tirosienkonsentrasie versnel na die vierde uur, sodat die normale konsentrasie van 0,35mg per 100ml na 24 uur bereik word.

In die urine word 'n geringe verhoging in die uitskeiding 4-hidroksifenole na inname van fenielalanien waargeneem, wat 'n maksimum na 4 ure bereik. Hierdie maksimumkonsentrasie van minder as 50µg 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien val dus in die tydsverloop saam met die maksimum serum tirosienkonsentrasie. Die konsentrasie 4-hidroksifenole keer, soos in die geval van tirosien, terug na normaal binne 24 uur.

Die spektrum 4-hidroksifenole, wat tydens normale dieet deur die persone uitgeskei word, bestaan uit 5 verskillende verbindings. (Figuur 5.6.) 4-HPAA en 4-HPLA maak die grootste konsentrasie uit, terwyl 4-HPPA totaal afwesig is, of in baie lae konsentrasies voorkom. Verdere twee pieke, veroorsaak

deur ongeïdentifiseerde verbindings, word in die densitogram waargeneem. Die twee verbindings, met R_f -waardes van ongeveer 0,28 en 0,35 onderskeidelik, kom in baie lae konsentrasies voor.

M.b.v. die standaard kurwes is gevind dat 4-HPAA teen die hoogste konsentrasie deur al 4 persone uitgeskei word. Die konsentrasie van 4-HPLA volg daarna, terwyl 4-HPPA teen baie lae konsentrasies uitgeskei word.

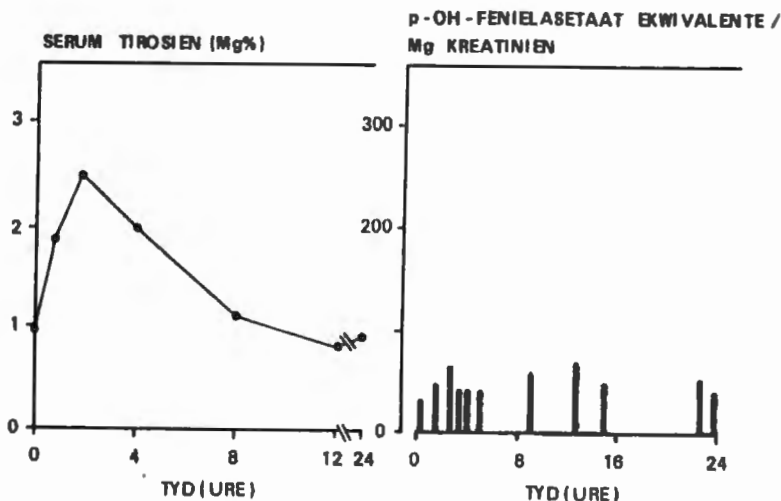


Figuur 5.6. Densitogram van die 4-hidroksifenole uitgeskei deur 'n normale persoon

Tirosien-tolleransietoetse is vervolgens op die kontrolegroep uitgevoer (Figuur 5.7).

'n Maksimum tirosienkonsentrasie van 2,5mg per 100ml word serum van die persone, na 2 ure na inname van tirosien, bereik. Hierna neem die tirosienkonsentrasie vinnig af sodat na 12 ure, na inname, reeds

weer die oorspronklike tirosien serum-waarde (1mg/100ml) bereik is.



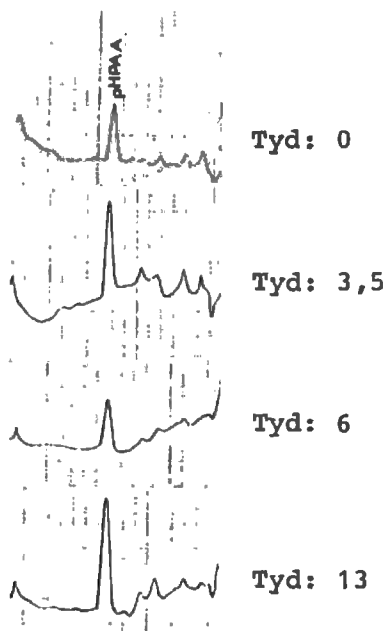
Figuur 5.7. Tirosien-tolleransiekurwe en 4-hidroksi-fenoluitskeiding tydens die tolleransietoets by normale persone.

weer die oorspronklike tirosien serumwaarde (1mg/100ml) bereik is.

Soos in die geval van die fenielalanientolleransietoets, word 'n geringe verhoging in die 4-hidroksi-fenoluitskeiding tydens die tolleransietoets, waargeneem. Na 24 uur was dié uitskeiding weer normaal.

Die urienmonsters wat tydens die tolleransietoets versamel is, is 'n lae pH eterekstraksie op uitgevoer. Die ekstrak van elke urienmonster is chromatografies ondersoek soos reeds in paragraaf 5.2.3.2 beskryf is. Densitogramme is van die dunlaag-chromatogramme

getrek en word in Figuur 5.8 weergegee.



Figuur 5.8. Densitogram van die 4-hidroksifenole uitgeskei deur 'n normale persoon tydens 'n tirosien-tolleransietoets

Nie slegs die drie bekende kataboliete (4-HPLA, 4-HPAA en 4-HPPA) se konsentrasie styg tydens die tolleransietoets (Tyd 3,5) nie, maar ook dié van die twee ongeïdentifiseerde verbindings. Die grootste styging word egter in die konsentrasie van 4-HPAA waargeneem. Op tyd 13 word nog 'n verdere 2 ongeïdentifiseerde pieke waargeneem, wat egter

blykbaar in lae konsentrasies teenwoordig is.

Tydens beide tolleransietoetse is gereeld vir die voorkoms van homogentesiensuur in die urine getoets deur 'n paar druppels 25% ammonia in die urine te voeg en dop te hou vir verdonkering. Indien verdonkering sou plaasvind is dit 'n positiewe resultaat vir die voorkoms van homogentesiensuur. In geen geval was daar 'n positiewe aanduiding van homogentesiensuur in die urine van die kontrole persone nie.

5.3.1.2 Samevatting

In al die verdere eksperimentering word die resultate wat met die pasiënte verkry is steeds met dié van die kontrolegroep vergelyk. Sekere verdere data wat met die kontrolegroep verkry is (bv. Xilose-absorpsie) word beskryf waar dit ter sake is. Verder word slegs tersaaklike eksperimente met die pasiënte beskryf. So is die tirosien-tolleransietoets bv. slegs uitgevoer wanneer daar 'n versteuring in die fenielalanien-tolleransie waargeneem is.

5.3.2 Pasiënt 146

5.3.2.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik

Ouderdom: 24 jaar

I.K.: 0-20.

Blou oë, sagte blonde hare en ligte vel.

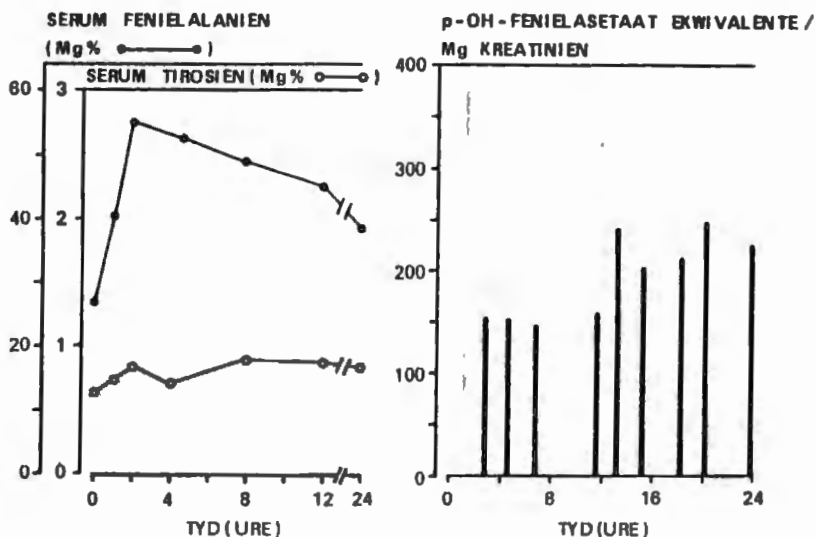
Sy regter oog is effens skeel en sy testes het nie afgesak nie. Hy kan nie loop nie en neem die tipiese sit (Schneider sitz)-posisie in. Hy kan nie praat nie en uiter net geluide. Hy is soms baie gefirriteerd en sy persoonlike gewoontes is uiters vuil. Sy bene is effens spasties en kuitspiere is gedege-nereerd. Sy kopomtrek is normaal.

5.3.2.2 Biochemiese beeld

Slegs fenielalanien word deur die pasiënt in abnor-male hoë konsentrasies uitgeskei, nl. teen (231mg/gm kreatinien), terwyl die tirosienkonsentrasie binne die normale grense was (8mg/gm kreatinien).

Die resultate van die fenielalanien-tolleransietoets is tipies dié van 'n fenielketonurie pasiënt (Figuur 5.9). In ooreenstemming met die hoë uitskeiding van fenielalanien is die serum drempelkonsentrasie van fenielalanien abnormaal hoog (27mg/100ml).

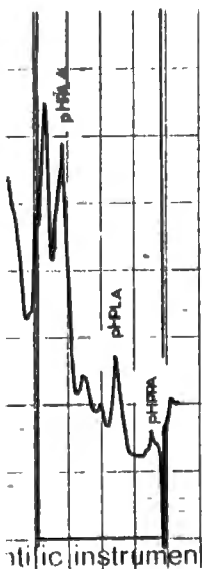
Die fenielalanien wat mondeliks ingeneem is, word in die spysverteringskanaal vinnig geabsorbeer. Die serum fenielalanienkonsentrasie neem vinnig toe, tot 'n abnormaal hoë konsentrasie van 55mg per 100ml na 2 ure bereik word. Alhoewel die serum feniel-alanienkonsentrasie so geweldig hoog styg bly die tirosienkonsentrasie deurentyd konstant laag (ongeveer 0,65mg/100ml). Na 24 uur het die serum feniel-alanienkonsentrasie nog nie teruggekeer na die nor-



Figuur 5.9. Feniëlanien-tolleransiekurwe, feniëlanien omsetting van tirosien en uitskeiding van 4-hidroksifenole tydens die tolleransietoets van pasiënt 146.

male drempelwaarde van die pasiënt nie. 4-Hidroksifenole word teen 'n konstante hoë konsentrasie ($150\mu\text{g}$ 4-HPAA-ekwivalente/mg kreatinien) in die urine vir die eerste 12 uur van die tolleransietoets, uitgeskei. Na 12 ure, na die inname van feniëlanien, verhoog hierdie uitskeiding na $250\mu\text{g}$ 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien. Na 24 uur na die inname van feniëlanien word die 4-hidroksifenol nog steeds teen $250\mu\text{g}$ 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien uitgeskei.

Die pasiënt skei benewens 4-HPAA, 4-HPLA en 4-HPPA 'n groot verskeidenheid ander 4-hidroksifenol verbindings uit (Figuur 5.10). Dit blyk egter dat 4-HPAA, van die drie bekende bg. kataboliete, teen die hoogste konsentrasies uitgeskei word, gevolg deur die konsentrasie van 4-HPLA. 4HPPA was net somtyds teen waarneembare konsentrasies uitgeskei.



Figuur 5.10. Densitogram van die 4-hidroksifenole uitgeskei deur pasiënt 146.

5.3.2.3 Bespreking

'n Duidelike defek in die fenielalanienomsetting na tirosien kan in Figuur 5.9 gesien word. Die defek in die omsetting van fenielalanien kan veroorsaak

word deur 'n defek in die ensiem fenielalanienhidroksilase (fenielketonurie). Die kliniese beeld, ligte hare, vel en oë, sowel as die biochemiese beeld, hoë serum- en urinêre fenielalanien, rond die beeld van fenielketonurie by die pasiënt af. Die redes vir die voorkoms van hoë konsentrasies 4-hidroksi-fenole in die urine en die verhoging daarvan met die inname van fenielalanien, terwyl die serum tirosien-konsentrasie laag bly, sal in Hoofstuk 6 bespreek word.

5.3.3 Pasiënt 154

5.3.3.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik

Ouderdom: 19 jaar

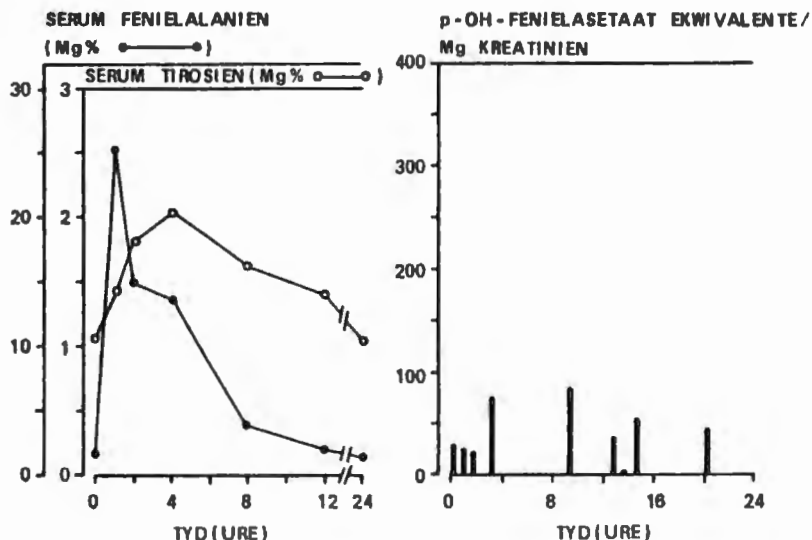
I.K. : 36-51

Voorkoms is normaal. Die pasiënt het geen liggaamlike abnormaliteite nie. Hy is baie aktief en hardloop gedurig. Die pasiënt is kort na die ondersoek ontslaan.

5.3.3.2 Biochemiese beeld

Geen aminosure word deur die pasiënt in abnormale konsentrasies uitgeskei nie. Tirosien, wat ook in die normale grense was, is teen 'n konsentrasie van 9,6mg per 1mg kreatinien uitgeskei.

Die resultate van die fenielalanien-tolleransietoets het goed vergelyk met dié van die normale persone (Figuur 5.11).



Figuur 5.11. Fenielalanien-tolleransiekurwe, fenielalanienomsetting na tirosien en die uitsekiding van 4-hidroksifenole tydens die tolleransietoets van pasiënt 154.

Die 4-hidroksifenoluitskeiding van die pasiënt styg effens hoër tydens die tolleransietoets as wat dit die geval is by die normale persone. Pasiënt 154 skei 4-HPLA teen die hoogste konsentrasie uit, gevolg deur die konsentrasie van 4-HPPA. Geeneen van die twee verbindings was egter teen abnormale konsentrasies uitgeskei nie. Geen verhoging van homogentesiensuur is op enige stadium tydens die tolleransietoets in die urine van die pasiënt gevind nie.

5.3.3.3 Bespreking

Indien die resultate vanaf die siftingsstadium beskou word, lyk dit of die tirosielurie van die pasiënt spontaan opgeklar het. Tydens fase 2 van die sekvensiële eliminasiëprosedure het pasiënt 154 so 'n hoë konstante 4-hidroksifenoluitskeiding gehad dat dié pasiënt se Min-waarde as die Mjn-waarde aangewys is. Met die tweede bepaling van die 4-hidroksifenoluitskeiding in paragraaf 3.3 vir korreksie t.o.v. diskreatinienuitskeiding, het dié pasiënt drie agtereenvolgende kere normale 4-hidroksifenoluitskeiding gehad.

5.3.4 Pasiënt 236

5.3.4.1 Kliniese beeld

Geslag: Vroulik

Ouderdom: 18 jaar

I.K. : 36-51

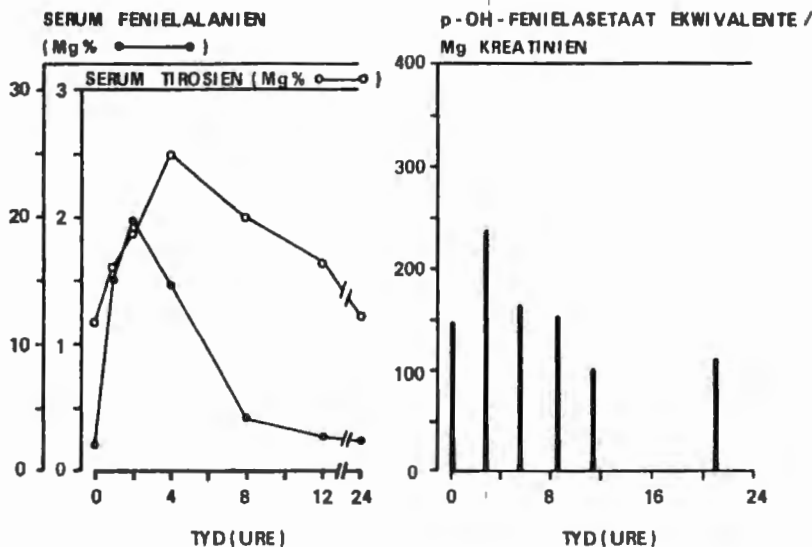
Haar middelvingers is baie langer as haar ander vingers en sy het gebrekklike tone. In 'n gesprek lyk dit of sy 'n gebrek aan konsentrasie het en haar emosies is baie labiel. Sy toon kleptomaniese neigings. Haar ouers is ernstig skuldig aan drankmisbruik. Beperkte verstandelike vermoëns kom by die moeder en twee broers voor.

5.3.4.2 Biochemiese beeld

Geen aminosuur word teen verhoogde konsentrasies deur die pasiënt uitgeskei nie, terwyl die aminosure glisien en threonien teen verlaagde konsentrasies uitgeskei is. Die tirosienkonsentrasie was ook in die normale grense uitgeskei nl. teen 7mg/gm kreatinien.

In die resultate van die fenielalanien-tolleransietoetse (Figuur 5.12) kan abnormaliteite bespeur word. Die opvallendstes is: swak absorpsie van fenielalanien, tirosien serumkonsentrasies wat effens bo normaal styg en 'n abnormale uitskeiding van 4-hidroksifenole tydens die tolleransietoets. Die serum tirosienkonsentrasie styg hoër as verwag sal word, veral in die lig van die laer fenielalanien-konsentrasies as die normale, a.g.v. swak absorpsie. 'n Verdere vertraagde terugkeer van die serum tirosien-konsentrasie word ook waargeneem. 'n Skielike styging van die 4-hidroksifenol uitskeiding, 3 uur na inname van fenielalanien, kom voor (250µg 4-HPAA-ekwivalente/mg kreatinien). Die verhoogde uitskeiding neem hierna geleidelik af na 103µg 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien 12 ure na die aanvang van die tolleransietoets.

4-HPAA word deur dié pasiënt teen die hoogste konsentrasies uitgeskei. Die 4-HPLAkonsentrasie volg kort daarna, terwyl 4-HPPA ook soms opspoorbaar was. Homogentesiensuur was afwesig in die urine tydens die tolleransietoets van die pasiënt.



Figuur 5.12. Feniellalanien-tolleransiekurwe, feniellalanienomsetting na tirosien en 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets

5.3.4.3 Bespreking

Dit is opvallend dat die maksimum 4-hidroksifenol uitskeiding met die maksimum serum feniellalanien-konsentrasie saamval en nie met dié van tirosien. Abnormaliteite kan dus in die biochemiese beeld van die pasiënt gesien word. Die basis van die abnormaliteite is egter nie baie duidelik nie en verdere eksperimentering sal nodig wees om daarvoor duidelikhed te kry.

5.3.5 Pasiënt 306

5.3.5.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik

Ouderdom: 53 jaar

I.K. : 36-51

Die pasiënt is onderhewig aan epileptiese toevale. Spraak is stadig en onduidelik. Hy kan nie loop nie. Ligte atrofie van die linkerkant van die gesig. Hy is baie vriendelik van geaardheid. Sy vel is leeragtig en baie droog. Hare is yl en baie droog.

5.3.5.2 Biochemiese beeld

Verhoogde konsentrasies alanien (103mg/gm kreatinien) en kreatinien is in die urine van dié pasiënt gevind, terwyl uriensuur en threonien teen verlaagde konsentrasies uitgeskei is. Die tirosienkonsentrasie was in die normale grense (7,5mg/gm kreatinien) uitgeskei.

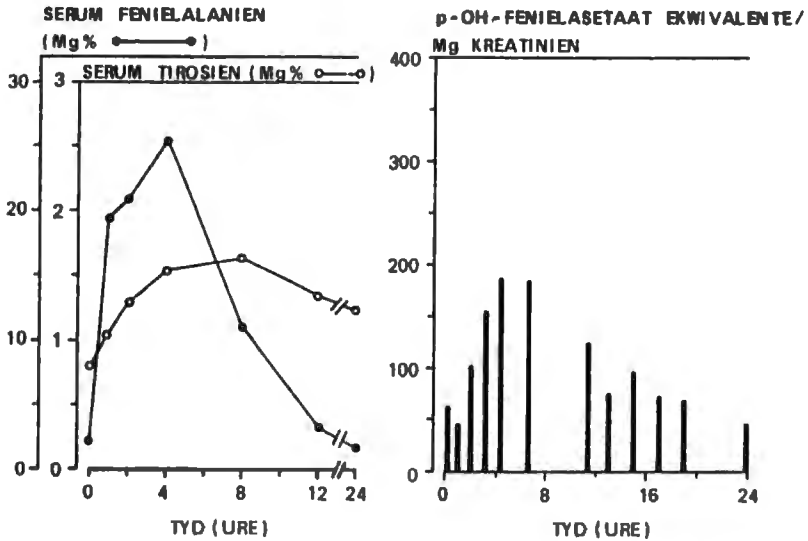
Die resultate van die fenielalanien-tolleransietoets het sekere abnormaliteite aan die lig gebring, soos in Figuur 5.13 gesien kan word. Die maksimum serum fenielalanienkonsentrasie (25mg per 100ml), word eers na 4 uur na inname bereik. Na dié konsentrasie bereik is neem die serum fenielalanienkonsentrasie vinnig af, sodat die normale drempelwaarde van die pasiënt (2mg/100ml) na 12 ure, na inname, bereik

word. Die maksimum serum tirosienkonsentrasie (1,6mg/100ml), word eers na 8 ure na inname van fenielalanien bereik en na 24 uur was die konsentrasie tirosien in die serum van die pasiënt nog steeds hoër as die normale drempelwaarde (0,8mg/100ml).

Die 4-hidroksifenoluitskeiding was voor die aanvang van die eksperiment 50µg 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien. Die uitskeidingskonsentrasie van die verbindings styg vinnig sodat dit na 4 uur, 'n maksimum konsentrasie van 200µg-4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien bereik word. Na die maksimum daal die uitskeidingskonsentrasie van die 4-hidroksifenole stadig, sodat die aanvanklike uitskeidingskonsentrasie na 24 uur bereik word.

Die verbinding 4-HPLA word deur die pasiënt konstant teen die hoogste konsentrasie uitgeskei, gevolg deur die konsentrasie van 4-HPAA. 4-HPPA was deurgaans in aantoonbare konsentrasies teenwoordig. Ten minste twee ongeïdentifiseerde pieke op die densitogram, ($R_f=0,75$ en $R_f = 0,62$, kleur bruin met α -nitroso- β -naftol) is konstant by die pasiënt opgemerk. Homogentesiensuur was nooit in groot konsentrasies teenwoordig in die urine van die pasiënt nie.

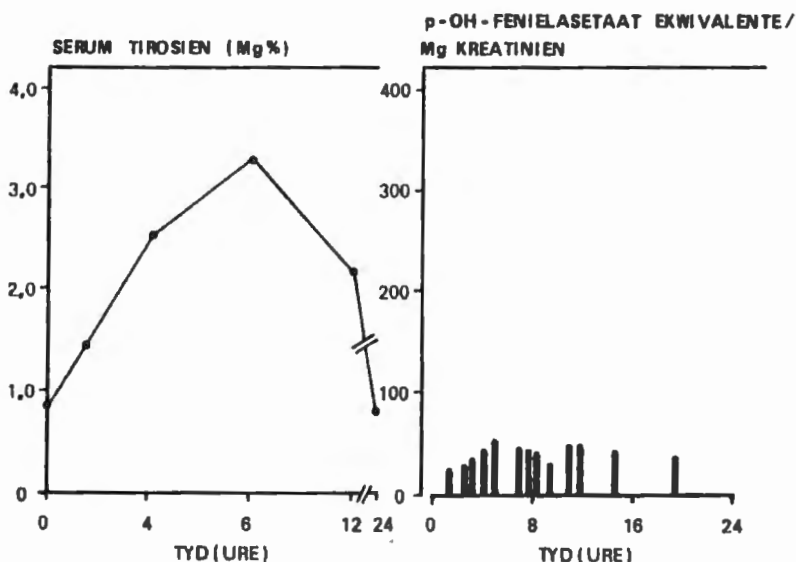
Aangesien die resultate van die fenielalanien-tolleransietoets van pasiënt 306 op 'n moontlike afwyking gedui het, is 'n tirosien tolleransietoets ook op die pasiënt uitgevoer. Die resultate van



Figuur 5.13. Fenielalanien-tolleransiekurwe, omsetting van fenielalanien na tiroisien en die uitskeiding van 4-hidroksifenoole tydens die tolleransietoets van die pasiënt nie.

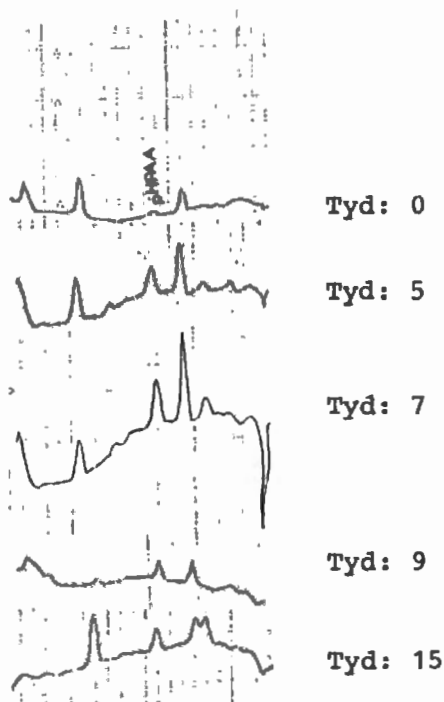
dié toets word in Figuur 5.14 weergegee. In teenstelling met die fenielalanien-tolleransietoets, het die serum tiroisienkonsentrasie tydens die tiroisien-tolleransietoets binne 24 uur na die normale drempelwaarde teruggekeer. Die pasiënt het tiroisien stadiger geabsorbeer as die normale persone, en bereik die maksimum tiroisienkonsentrasie (3,5mg/100ml) eers na 8 uur na inname van tiroisien. Die 4-hidroksi-finoluitskeiding tydens die tolleransietoets was

deurgaans normaal hoe pH eterekstraksie is op die urine wat tydens die tolleransietoets versamel is uitgevoer. Die eterekstrakte is m.b.v. dunlaag-chromatografie en α -nitroso- β -naftol kleuring ondersoek. Die densitogramme van die chromatogramme van die urienmonsters wat op tyd 0; 5; 7; 9 en 15 opgevang is word in Figuur 5.15 weergegee. Dié urienmonsters bevat die hoogste en die laagste konsentrasies 4-hidroksifnole wat tydens die tolleransietoets uitgeskei is.



Figuur 5.14. Tirosien-tolleransiekurwe en 4-hidroksifenoluitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 306.

Tydens die tirosien-tolleransietoets word 'n verbinding met 'n R_f -waarde van 0,33 teen toenemende konsentrasies uitgeskei. Die 4-hidroksifenolverbinding, wat nie by die normale persone voorgekom het nie,



Figuur 5.15. Densitogramme van dunlaagchromatogramme waarmee die urien-eterekstrakte van pasiënt 306 geskei is.

bereik 'n maksimum konsentrasie na 7 ure na die inname van tirosien. Die konsentrasie waarmee 4-HPAA uitgeskei word, verhoog ook om na 7 ure teen 'n maksimum konsentrasie uitgeskei word. Die verbin-

ding met R_f -waarde 0,33 verdwyn heeltemal sodat na 9 ure, na die inname van fenielalanien, geen spoor daarvan teenwoordig is nie. Vyftien uur na die inname van fenielalanien word verskeie vreemde pieke sigbaar in die densitogram van die pasiënt.

5.3.5.3 Bespreking

Indien die fenielalanien-tolleransietoets slegs tot 4 ure, na inname, uitgevoer was, sou die pasiënt as fenielketonuries geklassifiseer kon word, hoewel die serum fenielalanien drempelwaarde normaal is. Die stadige terugkeer na normale serum tirosienkonsentrasie, kan moontlik toegeskryf word aan 'n vertraagde fenielalanienomset. Die feit dat die tirosienkonsentrasie tydens die tirosien-tolleransietoets wel terugkeer na normaal, binne 24 uur, bevestig die idee van vertraagde omset. Die normale uitskeiding van 4-hidroksifenole, tydens die tirosien-tolleransietoets, en verhoogde uitskeiding tydens die fenielalanien-tolleransietoets, wys op die moontlikheid dat fenielalanien 'n rol hierby mag speel. Verskeie vreemde, nie gekarakteriseerde verbindings, word deur die pasiënt uitgeskei. Die basis van die abnormaliteit is egter nie baie duidelik nie en verdere eksperimentering sal nodig wees om daaroor duidelikheid te kry.

5.3.6 Pasiënt 308

5.3.6.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik

Ouderdom: 74 jaar

I.K. : 52-67

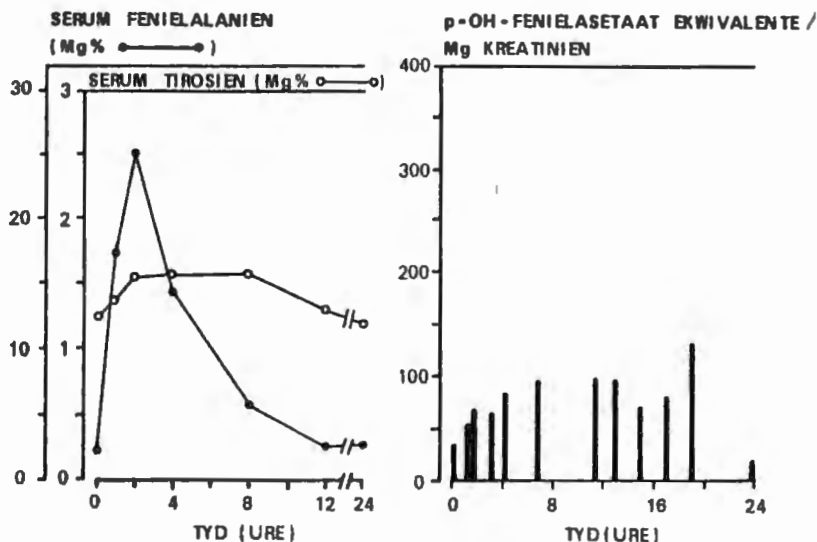
Sy verhemelte is hoog, spraak onduidelik en ore groot. Kan lees en skrywe en 'n redelike verslag van homself lewer. Gedrag kinderagtig. Seksueel abnormaal. Sodomie en onweloweglike voorstelle aan vroue kom dikwels voor in sy rekord.

5.3.6.2 Biochemiese beeld

Geen aminosure is in abnormale konsentrasies in die urine van die pasiënt gevind nie. Tirosien is ook binne die normale grense uitgeskei (30,0mg/gm kreatinien).

Die fenielalanien-tolleransiekurwe vergelyk goed met die van 'n normale persoon, soos dit uit Figuur 5.16 blyk. Die serum tirosienkonsentrasie het tydens die tolleransietoets 'n baie traë styging getoon, nl. slegs 0,3mg per 100ml. Die normale persone het met dieselfde serum fenielalanienkonsentrasie-styging, tydens die tolleransietoets, 'n serum tirosienkonsentrasie-styging van byna 1mg per 100ml gehad. Ten spyte van die traë styging van die serum tirosienkonsentrasie bly dié konsentrasie bo die normale drempelwaarde sonder om tekens te toon dat

dit na normaal terugkeer.



Figuur 5.16. Fenielalanien-tolleransiekurwe, fenielalanienomsetting na tirosien en die uitskeiding van 4-hidroksifenole tydens die tolleransietoets van pasiënt 308.

Die 4-hidroksifenol uitskeiding van pasiënt 308 toon dieselfde trae styging as die serum tirosienkonsentrasie om na 8 ure na inname van fenielalanien die maksimum ($100\mu\text{g}$ 4-HPAA-ekwivalente/ 100ml) te bereik en daarna af te neem. 4-HPAA was teen die hoogste konsentrasie deur dié pasiënt uitgeskei gevolg deur die konsentrasie van 4-HPLA. 4HPPA was soms in waarneembare konsentrasies teenwoordig in die pasiënt se urine. Homogentesiensuur was nooit in verhoogde konsentrasies tydens die tolleransietoets, teenwoordig in die urine van die pasiënt nie.

5.3.6.3 Bespreking

Uit die tolleransietoets blyk dit dat 'n defektiewe feniëlalanien omsetting na tirosien by die pasiënt bestaan. Die pasiënt is reeds op 'n gevorderde ouderdom maar dit is onbekend of dit 'n moontlike rol in die defek kan speel.

5.3.7 Pasiënt 313

5.3.7.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik

Ouderdom: 32 jaar

I.K. : 20-35

Kort postuur. Fleksie deformaliteite van elmboog, pols, gewrig en knie. Klein hande en voete. Kop-omtrek normaal. Growwe gesig met makro glossuur. Normale sekondêre geslagskenmerke. Verhoogde refleksie. Sagte hare met normale haargroeipatroon. Spraak stotterend. Eienaardige reuk aan die pasiënt. Chromosomale ondersoek toon, 46 xy normaal manlik.

5.3.7.2 Biochemiese beeld

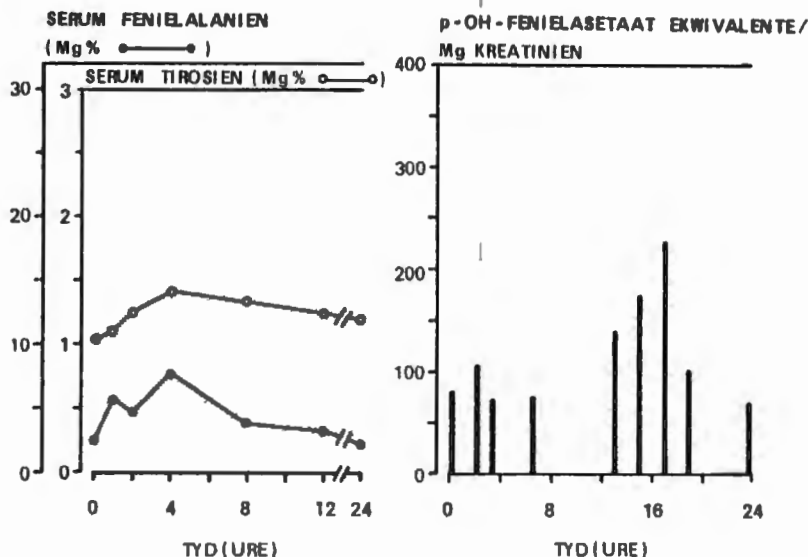
Verskeie aminosure word deur die pasiënt in verhoogde konsentrasies uitgeskei. Die aminosure tirosien (65mg/gm kreatinien), feniëlalanien (25mg/gm kreatinien), triptofaan, 3-metiëlhistidien en

alanien word in matig verhoogde hoeveelhede uitgeskei. Die aminosure 1-metielhistidien en histidien word in baie verhoogde hoeveelhede uitgeskei.

Met die fenielalan-tolleransietoets is gevind dat byna geen fenielalanien geabsorbeer word nie, soos in Figuur 5.17 gesien kan word. Die klein hoeveelheid fenielalanien wat wel geabsorbeer is, kon wel in tirosien omgesit word. Hoë konsentrasies 4-hidroksifenole word uitgeskei deur die pasiënt. 'n Sterk verhoging, 12 ure na die inname van fenielalanien, word in die uitskeiding van die 4-hidroksifinole waargeneem. Na 24 uur was die serum fenielalanien weer terug by die normale drempelwaarde, terwyl die tirosienkonsentrasie stadig afgeneem het en nog bo die drempelwaarde was.

Die tirosien kataboliet, 4-HPAA, word deurgaans deur die pasiënt teen die hoogste konsentrasies uitgeskei. 4-HPLA word ook in hë konsentrasies uitgeskei, maar veel laer as in die geval van 4-HPAA. A.g.v. die teenwoordigheid van verskeie ander pieke op die densitogramme, was dit moeilik om te bepaal of 4-HPAA in die urine van die pasiënt teenwoordig was. Soms is tot agt pieke en meer op 'n densitogram van die pasiënt waargeneem (Figuur 5.19). In geen geval kon 'n verhoogde konsentrasie homogentesiensuur in die urine van dié pasiënt opgespoor word nie.

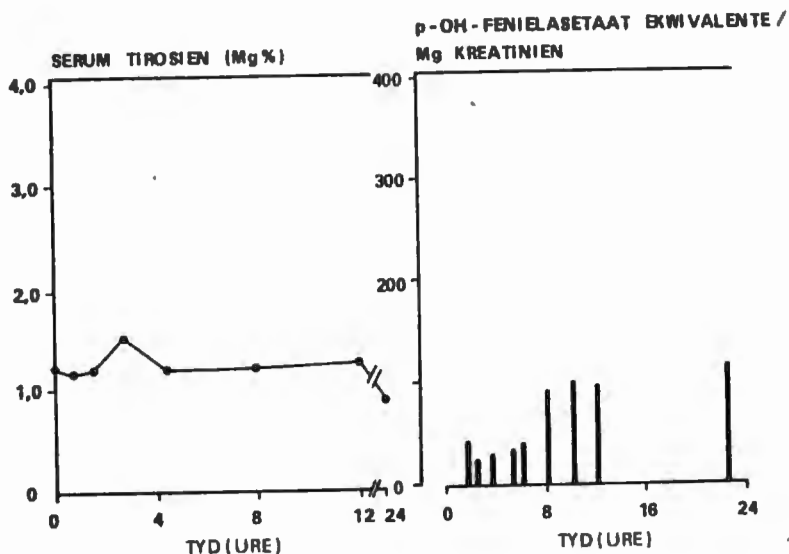
Die vraag het ontstaan of tirosien deur die pasiënt geabsorbeer word, indien fenielalanien nie geabsorbeer word nie. Die tirosien-tolleransietoets is



Figuur 5.17. Fenielaanien-tolleransiekurwe, fenielaanienomsetting na tirosien en die uitskeiding van 4-hidroksifenole tydens die tolleransietoets van pasiënt 313.

op die pasiënt uitgevoer in die tolleransiekurwe word in Figuur 5.18 weergegee. Uit die figuur blyk dit dat tirosien, soos fenielaanien, nie opgeneem word nie, of, selfs nog in 'n mindere mate as fenielaanien.

Soos in die geval van die fenielaanien-tolleransietoets, is daar nie 'n onmiddellike verhoging in die uitskeiding van 4-hidroksifenole in die urine van die pasiënt nie. Na agt ure, na die inname van tirosien, verhoog dié uitskeiding na 100µg- 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien. Vier-en-twintig uur, na die inname van tirosien, is die 4-hidroksifenol

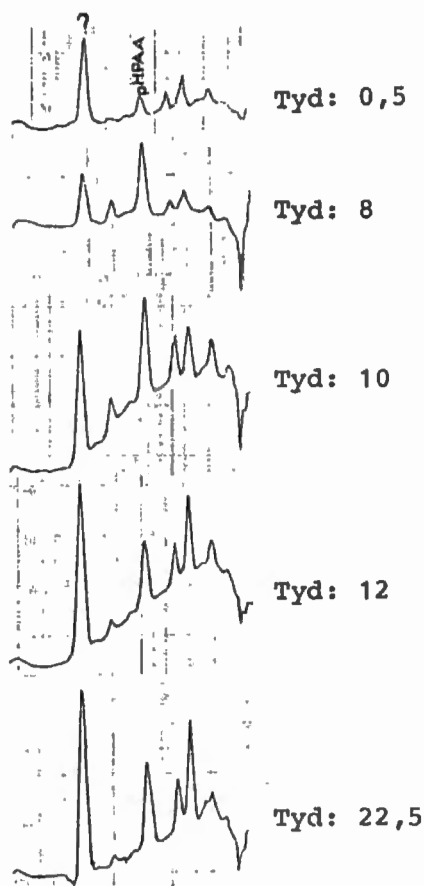


Figuur 5.18. Tirosien-tolleransietoets en 4-hidroksofenol uitskeiding tydens die toets van pasiënt 313.

uitskeiding nog steeds besig om te styg.

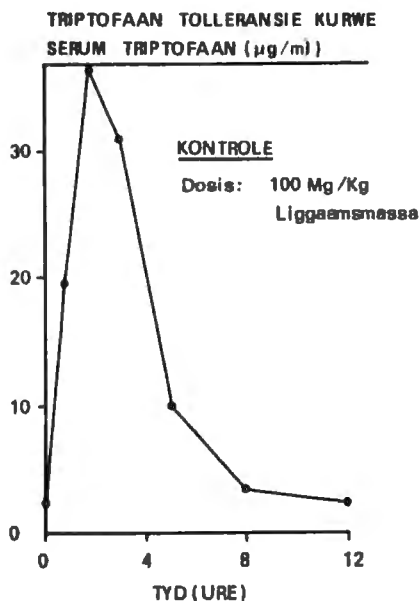
Densitogramme van dunlaagchromatogramme van die urienmonsters wat tydens die tirosien-tolleransietoets versamel is word in Figuur 5.19 weergegee. Dit blyk uit dié figuur dat behalwe 4-HPAA daar verskeie ander verbindings is wat drasties verhoog na die inname van tirosien. Die verbindings kon egter nie geïdentifiseer word nie. (Sien ook bespreking in Hoofstuk 6.)

Dit blyk dus uit die tirosien- en fenielalanien-tolleransietoetse dat die twee aminosure swak geabsorbeer word deur dié pasiënt. Die resultate het die gedagte laat ontstaan dat alle aromatiese aminosure moontlik wangeabsorbeer word. As deel van dié



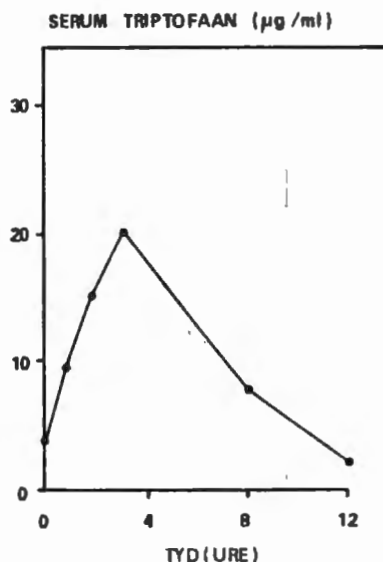
Figuur 5.19. Densitogramme van dunlaagchromatogramme urinêre-eterekstrakte van pasiënt 313.

bepaling is 'n triptofaan-tolleransietoets op dié pasiënt sowel as 'n kontrole uitgevoer. Uit die resultate van die kontrole (Figuur 5.20) en die pasiënt (Figuur 5.21) blyk dit dat triptofaan wel deur die pasiënt geabsorbeer word, maar in 'n mindere mate as wat dit by die kontrole geskied. Die maksimum serum triptofaankonsentrasie van die pasiënt, is nie net laer as dié van die kontrole nie, maar word ook later bereik.



Figuur 5.20. Triptofaan-tolleransiekurwe van 'n normale persoon.

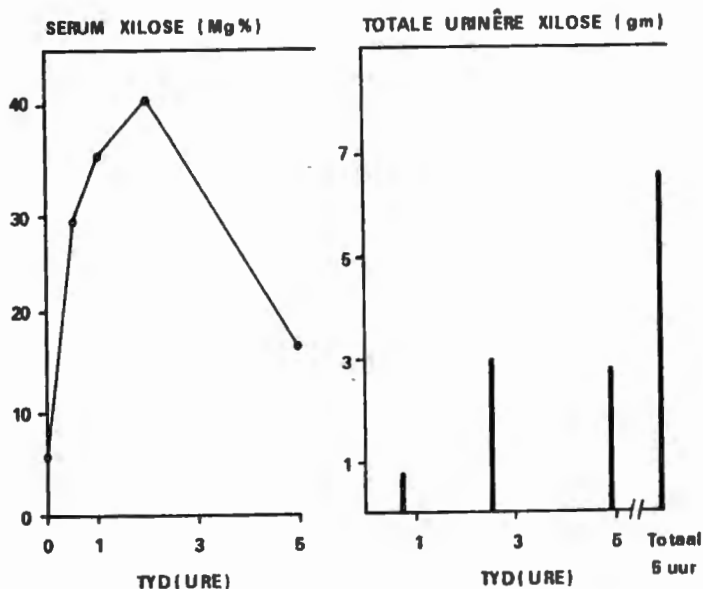
Uit die resultate van die drie tolleransietoetse blyk dit dus dat 'n absorpsiedefek by die pasiënt voorkom. Volgens Zilva en Pannall, 1975 kan wan-absorpsiesindrome in twee groepe verdeel word, nl.



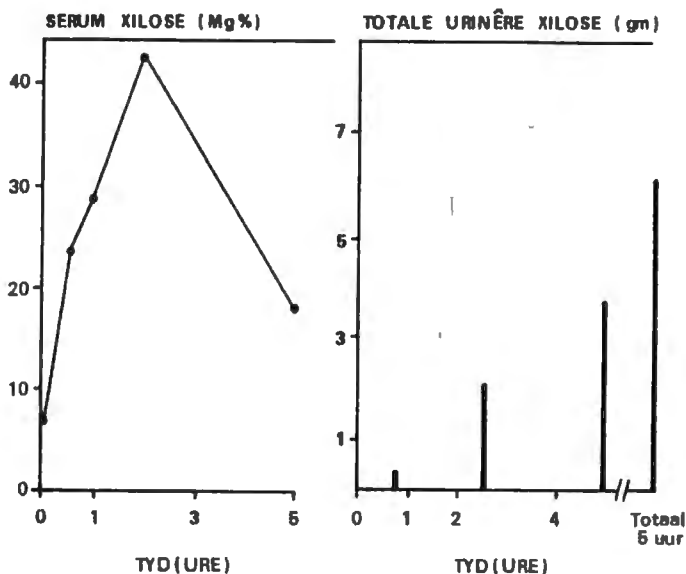
Figuur 5.21 Triptofaan-tolleransiekurwe van pasiënt 313.

algemene wanabsorpsie van vette, proteïene en koolhidrate en wanabsorpsie van spesifieke substans soos bv. aminosure. Een van die oorsake van algemene wanabsorpsie kan wees vermindering van die absorptiewe oppervlakte van die ingewande. Verskeie defekte soos gluteensensitiwiteit en tropiese spru, kan veroorsaak dat die ingewandsvlokkies platval en dus die absorptiewe oppervlakte van die ingewande verminder. Om te kan onderskei tussen die twee absorpsiedefekte, nl. algemene wanabsorpsie en wanabsorpsie van 'n spesifieke substans, kan die xylose toets gebruik word. Omdat dié koolhidraat nie aktief geabsorbeer word nie, sal 'n vermindering van

die absorptiewe oppervlakte van die ingewande, die absorpsie daarvan benadeel. Die xylose toets beskryf deur Reiner en Cheung, (1965) is gebruik om vas te stel watter tipe absorpsiedefek by pasiënt 313 voorkom. 'n Vyf-en-twintig gram dosis is aan 'n kontrole en pasiënt 313 verskaf. Onder normale toestande sal die serumkonsentrasie binne 1 tot 3 ure, na inname, styg tot 33-67mg per 100ml en 4,1 tot 9gm xylose sal binne 5 ure in die urine uitgeskei word. Uit die resultate van die xylose toets van die kontrole (Figuur 5.22) en pasiënt 313 (Figuur 5.23) blyk dit dat die aminosuur wanabsorpsie van pasiënt 313, nie is a.g.v. 'n algemene absorpsiedefek nie.



Figuur 5.22. Xylose absorpsie en uitskeiding van 'n kontrole pasiënt.



Figuur 5.23. Xylose absorpsie en uitskeiding van pasiënt 313.

Gesamentlik met hoë konsentrasies 4-hidroksifenole in die urine van die pasiënt verander die pH na alkalies, sodat 'n pH van 10 soms bereik word.

5.3.7.3 Bespreking

Matige algemene aminosuururie kom by die pasiënt 313, veral van die aromatiese aminosure, voor. Wanabsorpsie van tiroglen, fenielalanien en triptofaan kom by die pasiënt voor. Dit is egter onbekend of die wanabsorpsie die ander aminosure ook betrek en of dit net dié aromatiese aminosure insluit. Die moontlikheid van Hartnup se siekte is deur verskeie

persone genoem na insae van dié resultate. Sommige van die resultate soos verkry van pasiënt 313 stem egter nie ooreen met dié verkry by pasiënte met Hartnup se siekte beskryf deur Jepson, (1978), nie (sien verdere bespreking in Hoofstuk 6). Die pasiënte absorbeer xylose normaal en dus is die moontlikheid van algemene wanabsorpsie (a.g.v. verminderde absorptiewe oppervlakte), uitgeskakel. Verdere navorsing sal nodig wees om 'n uitsluitel oor die absorpsie-defek, soos dit by pasiënt 313 voorkom, te gee.

5.3.8 Pasiënt 359

5.3.8.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik

Ouderdom: 58 jaar

I.K. : 20-35

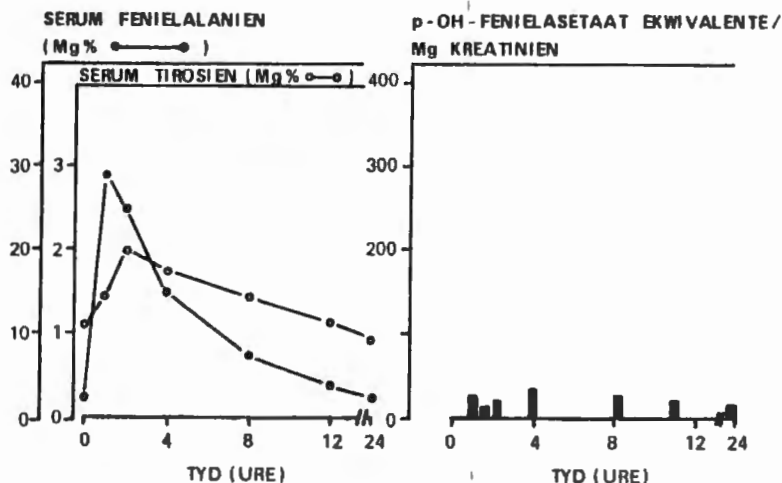
Onderhewig aan swaar epileptiese aanvalle. Kan nie loop nie. Masker uitdrukking op sy gesig en sy mond kwyl altyd. Oriëntasie van tyd en plek is swak. A.g.v. die gedurige val op sy oogbanke, tydens epileptiese aanvalle, is dié baie vergroot.

5.3.8.2 Biochemiese beeld

Kreatinien, alanien, aspartien, glutamiensuur en ualien word teen verhoogde konsentrasies uitgeskei. Verlaagde konsentrasies uriensuur en treonien kom in die urine van die pasiënt voor. Die tirosien-

konsentrasie in die urine is hoog (30mg/gm kreatinien) maar binne die normale grense.

Die fenielalanien-tolleransiekurve van die pasiënt is normaal, met 'n normale fenielalanien omsetting na tirosien en 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets, soos in Figuur 5.24 aangedui word.

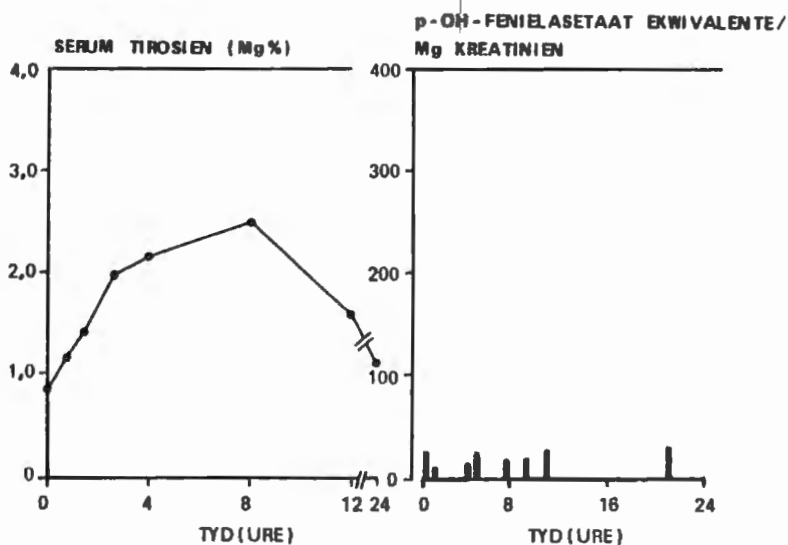


Figuur 5.24. Fenielalanien-tolleransiekurve, fenielalanien omsetting na tirosien in die 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 359.

Die verbinding 4-HPAA is konstant deur die pasiënt teen die hoogste konsentrasies uitgeskei. 4-HPLA uitskeiding is soms oorskry deur die konsentrasie van 4-HPAA, wat soms in baie hoë konsentrasies uitgeskei is. Homogentesiensuur kon nooit in die urine

opgespoor word nie. Die pasiënt se urine het soms 'n baie hoë pH gehad, tot soms so hoog as 10.

'n Tirosien-tolleransietoets is op die pasiënt uitgevoer omrede perfekte normale resultate met die fenielalanien tolleransie verkry is. Ook die tirosien-tolleransiekurwe van die pasiënt was normaal, hoewel 'n effens vertraagde opname verkry is. Die 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets het ook normaal teen lae konsentrasies geskied.



Figuur 5.25. Tirosien-tolleransiekurwe en die 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransiekurwe van pasiënt 359.

5.3.8.3 Bespreking

Matige algemene aminosuururie kom by die pasiënt

voor. Geen aanduiding van die basis van tirosielurie kon met die tolleransietoetse by die pasiënt opgespoor word nie. Proteïen-degestie abnormaliteite kan egter ook aanleiding gee tot tirosielurie. Dit is egter onbekend of so 'n afwyking by dié pasiënt voorkom.

5.3.9 Pasiënt 423

5.3.9.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik
Ouderdom: 68 jaar
I.K.: 20-35

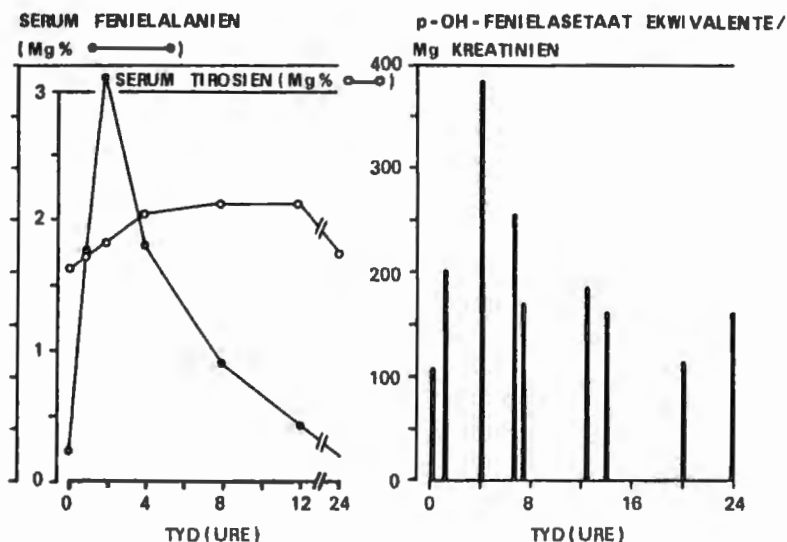
Liggaamlik normaal. Sy vel is baie droog. Hare is yl en droog. Konsentrasievermoë is swak. Hy kan geen verslag van homself of sy familie lewer nie.

5.3.9.2 Biochemiese beeld

Geen aminosure word deur die pasiënt in verhoogde konsentrasies uitgeskei nie. Treonien word wel in verlaagde konsentrasies uitgeskei. Urinêre-tirosien-konsentrasie is hoog normaal (48mg/gm kreatinien).

Die fenielalanien-tolleransiekurwe van die pasiënt is normaal (Figuur 5.26). Die fenielalanienomsetting na tirosien is egter baie traag. Twaalf ure na inname van fenielalanien bereik die serum tirosien-konsentrasie eers die maksimum konsentrasie, wat

net met 0,4mg per 100ml van die drempelwaarde verskil.

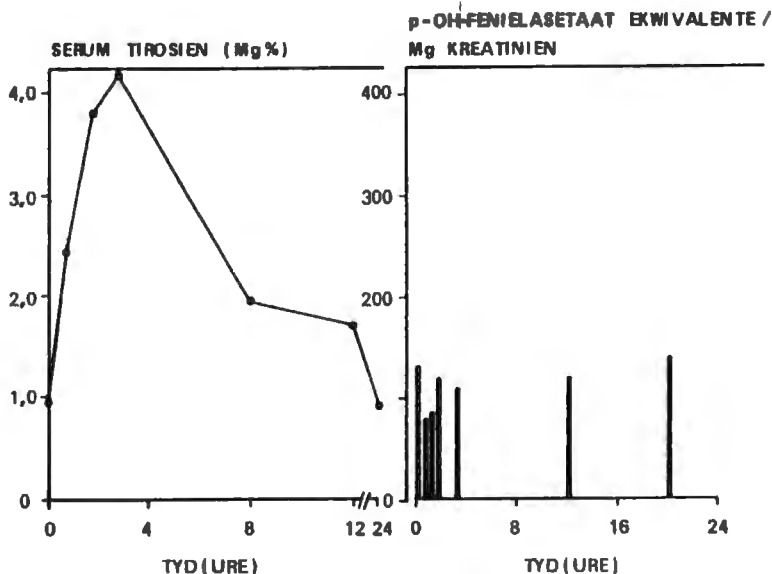


Figuur 5.26. Feniëlanien-tolleransiekurwe, feniëlanien omsetting na tirosien en 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 423.

Die 4-hidroksifenol uitskeiding is abnormaal hoog (100µg 4-HPAA-ekwivalente/mg kreatinien) en styg tot 400µg 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien binne 4 uur na die inname van tirosien. Na dié maksimum neem dit vinnig af om na 20 uur na die inname van feniëlanien, weer die drempelwaarde aan te neem.

Slegs 4-HPAA word deur die pasiënt in groot hoeveelhede uitgeskei, 4-HPLA word soms in opspoorbare hoeveelhede uitgeskei, maar 4-HPAA kon nooit in die urine van die pasiënt opgespoor word nie.

'n Tirosien tolleransietoets is op die pasiënt uitgevoer. 'n Normale tolleransie-kurwe is met die toets verkry, wat 'n ietwat hoë maksimum piek het (4,2mg/100ml (Figuur 5.27). Tydens die tolleransietoets is hoë 4-hidroksifenol-uitskeidings (100µg 4-HPAA-ekwivalente/mg kreatinien) waargeneem, maar drastiese styging, a.g.v. tirosieninname, word waargeneem nie.



Figuur 5.27. Tirosien-tolleransiekurwe met die 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 423.

Eterekstraksie en chromatografiese skeiding is op die urienmonsters, wat tydens die tolleransietoets versamel is, uitgevoer. Densitogramme is van die chromatogramme getrek en word in Figuur 5.28 weer-gegee. Soos voorheen reeds gevind is, is 4-HPAA die enigste van die drie bekende kataboliete (4-

HPAA, 4-HPLA en 4-HPPA) wat teen 'n hoë konsentrasie uitgeskei word. Die 4-HPAA konsentrasie, neem effens toe tydens die tolleransietoets, om na 45 minute na inname van tirosien, 'n maksimum konsentrasie te bereik. Hoewel die konsentrasie van 4-HPAA hoog is, blyk die van 'n ongeïdentifiseerde verbinding ($R_f=0,74$) hoër te wees. 'n Drastiese styging in die uitskeiding van die verbinding word tydens die tolleransietoets, waargeneem en was na 16 uur nog steeds besig om te styg. 'n Tweede ongeïdentifiseerde verbinding met R_f -waarde 0,65 is ook baie prominent op die densitogramme. Die verbinding kleur bruin i.p.v. rooi.

5.3.9.3 Bespreking

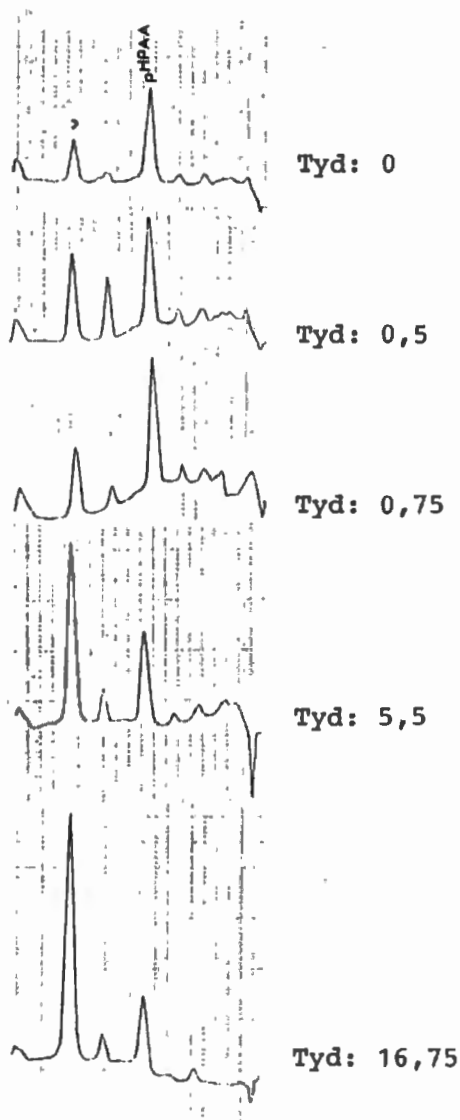
Uit die fenielalanien-tolleransietoetsresultate blyk dit dat die pasiënt 'n omsettingsdefek het. Die pasiënt, soos 'n vorige geval, is reeds op 'n gevorderde ouderdom. Uit die tirosien-tolleransietoets blyk dit of fenielalanien 'n rol speel by die 4-hidroksefenol uitskeiding, sowel as die lang tydperk wat die serum tirosienkonsentrasie by sy maksimum waarde bly, tydens die fenielalanien-tolleransietoets (Figuur 5.26), voor dit na normaal terugkeer.

5.3.10 Pasiënt 482

5.3.10.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik

Ouderdom: 23 jaar



Figuur 5.28. Densitogramme van dunlaag-chromatogramme van urinêre-eterekstrakte van urine wat tydens die tirosien-tolleransietoets van pasiënt 423 versamel is.

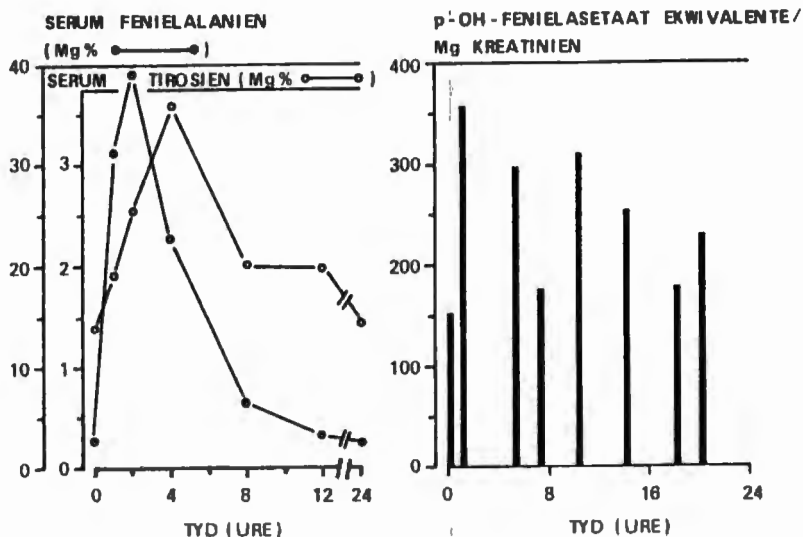
Die pasiënt is kort van postuur met 'n normale kopomtrek. Ptosis, disartrie, verswakte ledemate en verswakte refleksie kom by die pasiënt voor. Dié toestand het versleg vandat die pasiënt onder ons aandag gekom het. Hy loop moeilik en het gebrekkige voete. Pigmentering van die vel van die onderbene kom voor. Hy verstaan opdragte goed en lewer 'n goeie verslag van homself.

5.3.10.2 Biochemiese beeld

Slegs urinêre-tirosien is by die pasiënt as matig verhoog gevind (60mg/gm kreatinien).

Die fenielalanien-tolleransiekurwe van pasiënt 482 styg abnormaal hoog. 'n Maksimum serumkonsentrasie 40mg per 100ml, byna twee keer dié van 'n normale persoon, word binne 2 ure na inname van fenielalanien bereik. Die serum tirosienkonsentrasie wat reeds hoog is, met die aanvang van die eksperiment ($\pm 1,5\text{mg}/100\text{ml}$), styg vinnig na die inname van fenielalanien om 'n maksimum konsentrasie van 3,6mg per 100ml, vier ure na die inname, te bereik. Beide die aminosure keer terug na die normale drempelwaardes van die pasiënt, binne die tydsbestek van 24 uur.

Tydens die tolleransietoets is 'n konstante hoë konsentrasie 4-hidroksifenole deur die pasiënt uitge-

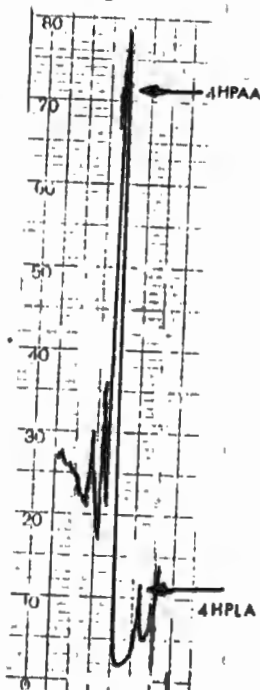


Figuur 5.29. Fenielalanien-tolleransiekurwe, fenielalanien omsetting na tirosien en 4-hidrosifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 482.

skei. Hoewel daar variasies in die konsentrasie was, was daar geen definitiewe toename of afname in die uitskeiding nie en konsentrasies van tot 400µg 4-HPAA-ekwivalente per 100ml is bereik. Twintig uur, na die inname van fenielalanien, is nog steeds konsentrasies ver bo die drempel-waarde van die pasiënt, uitgeskei.

4-HPAA word teen baie hoë konsentrasies deur die pasiënt uitgeskei (Figuur 5.30). 4-HPAA-konsentrasies het die 4-HPLA-konsentrasies, by die pasiënt,

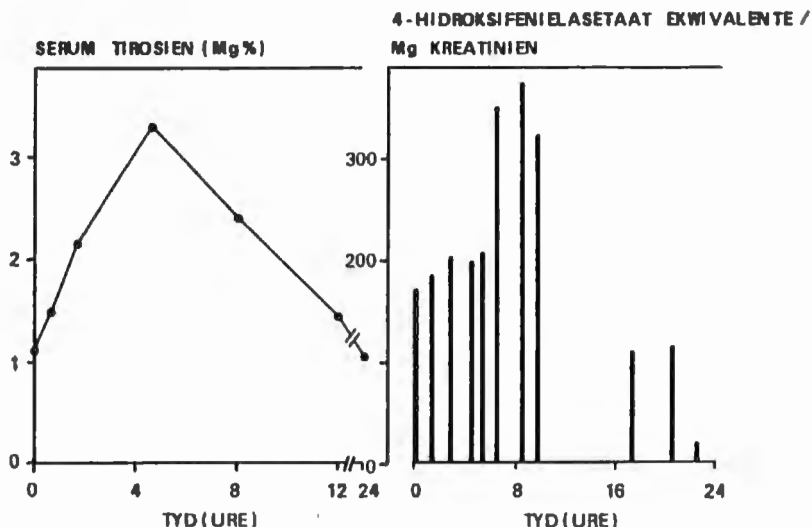
oorskry en twee ongeïdentifiseerde verbindings, met R_F -waardes 0,80 en 0,63 onderskeidelik, het soms in baie hoë konsentrasies voorgekom. Die lg. verbinding het bruin gekleur. In geen geval is 'n positiewe toets vir homogentesiensuur by die pasiënt verkry nie.



Figuur 5.30. Densitogram van 4-hidroksifenole uitgeskei deur pasiënt 482.

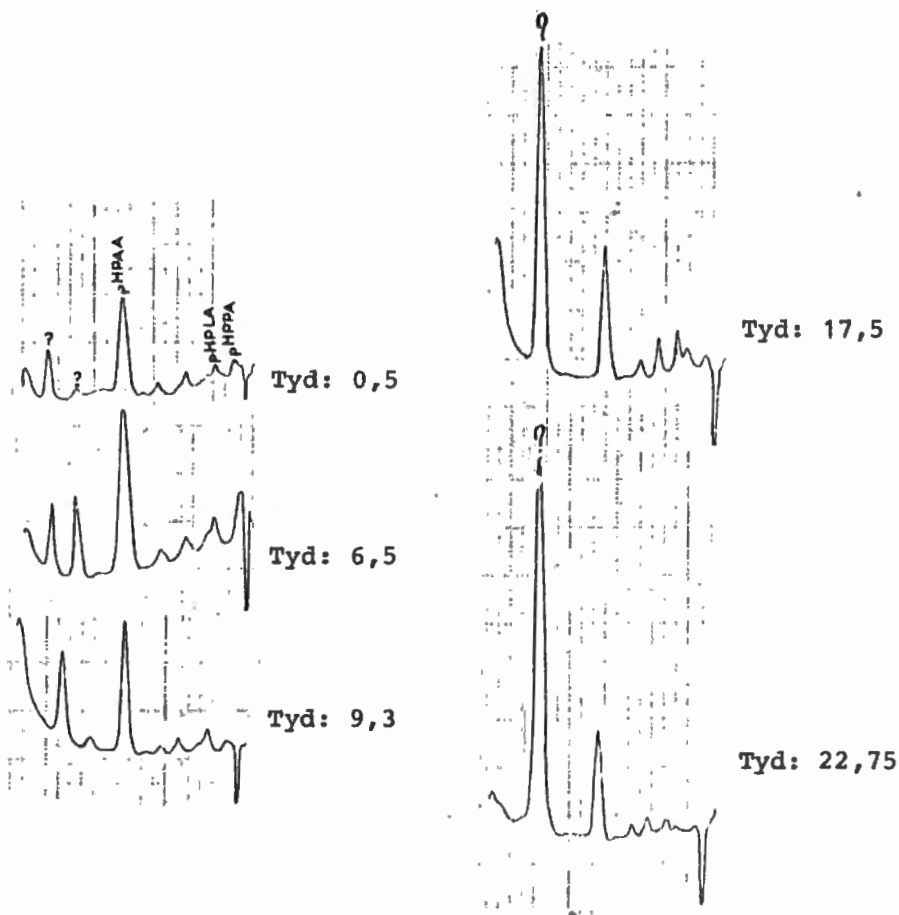
'n Tirosien-tolleransietoets is op die pasiënt uitgevoer. 'n Normale tolleransiekurwe met 'n ietwat verhoogde maksimumwaarde is verkry (Figuur 5.31). Die 4-hidroksifenol uitskeiding met die aanvang van die tolleransietoets is hoog (200 μ g 4-HPAA-ekwivalente/mg kreatinien) en verhoog vinnig om na agt ure, na die tirosieninname, 'n maksimum van

400 μ g 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien te behaal.



Figuur 5.31. Tiro sien-tolleransiekurve en die 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 482.

Die eterekstrakte van die urine wat tydens die tiro sien-tolleransietoets opgevang is, is chromatografies ondersoek en die densitogramme daarvan word in Figuur 5.32 weergegee. Behalwe vir die styging in die konsentrasie van 4-HPAA, ongeveer ses ure na die inname van tiro sien, is daar 'n geweldige toename in die konsentrasie van die ongeïdentifiseerde verbindings met R_f -waarde, 0,66, 6 ure na die inname van tiro sien en $\pm 0,80$ vanaf sewe ure na die inname van tiro sien.



Figuur 5.32. Densitogramme van die 4-hidroksifenole uitgeskei deur pasiënt 482.

5.3.10.3 Bespreking

Die fenielalanien- sowel as die tirosien-tolleransie-toetse van dié pasiënt resulteer in abnormale serum tirosienkonsentrasies, asook konstant abnormaal hoë 4-hidroksifenol uitskeiding. Urinêre-tirosien is die enigste aminosuur wat bo-normaal uitgeskei word. Tydens die tirosien tolleransie-toets word 4-HPAA en 'n ongeïdentifiseerde 4-hidroksifenoliëse verbinding in toenemende konsentrasies uitgeskei. Dit alles dui op 'n moontlike ensiemdefek, hoewel daar nog geen sekerheid bestaan nie.

Tydens 'n poging om die ongeïdentifiseerde verbinding ($R_f=0,80$) uit die urine van die pasiënt te isoleer, is gevind dat die verbinding ook onder alkaliese toestande (pH 10) geïsoleer kan word. Die verbinding het 'n roesbruin kleur, swak oplosbaar in water, met 'n tipies tirosien - u.v.-absorpsie spektrum. Uit die feit dat die verbinding by 'n hoë pH met eter isoleerbaar is en met α -nitroso- β -naftol kleur, moet die verbinding geen karboksielgroep aan sy syketting bevat nie en die hidroksielgroep op die para(4)-posisie is moontlik gekonjugeerd. Om die verbinding te kan identifiseer sal egter 'n massaspeltrometer nodig wees. Crawhall, et al., (1971), het reeds ook hierdie waarneming tydens 'n ondersoek van 'n pasiënt met tirosinemie gemaak en rapporteer

"One gas chromatogram was obtained from the second patient by a single ether extraction

procedure without the previous extraction of alkalinised urine. P-Hydroxyphenylacetic acid was added as an internal standard and was followed by an unidentified peak. When the preliminary extraction from alkaline solution was carried out, this unknown peak was transferred from the acid extract to the alkaline extract. A mass spectrum of this material was obtained but so far has not been identified."

5.3.11 Pasiënt 1086

5.3.11.1 Kliniese beeld

Geen kliniese beeld is ontvang van die pasiënt nie.

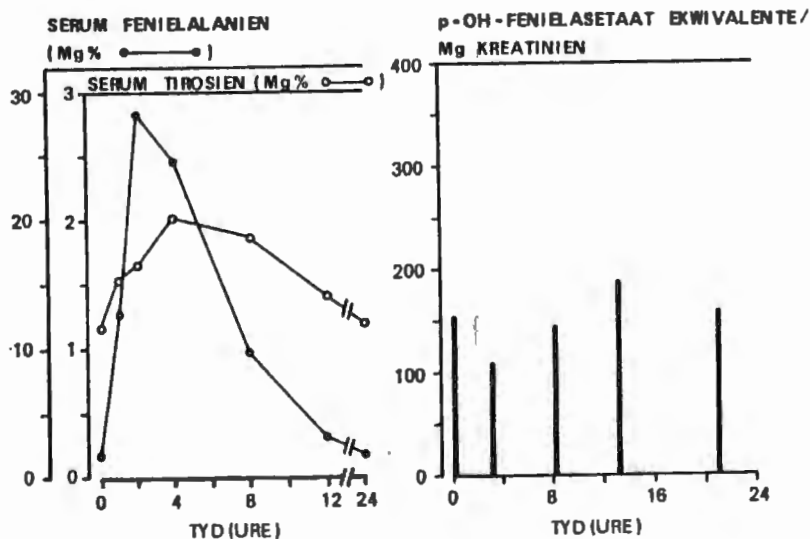
5.3.11.2 Biochemiese beeld

Slegs 'n tweedimensionele dunlaagchromatografiese ondersoek is op die urinêre-aminosure van die pasiënt gedoen. Geen abnormaliteite is opgespoor nie.

Met die fenielalanien-tolleransietoets is 'n normale tolleransiekurwe en omsetting na tirosien verkry, hoewel die serum tirosienkonsentrasie eers na vier ure na inname van tirosien 'n afname begin toon (Figuur 5.33). Die 4-hidroksifenol uitskeiding was met die aanvang van die tolleransietoets reeds abnormaal hoog (150µg 4-HPAA-ekwivalente/mg kreatinien) en styg tot 200µg 4-HPAA-ekwivalente per mg kreati-

nien, 12 ure na die inname van feniëlanien. Na 21 uur na die inname van feniëlanien was dië uitskeiding nog hoër as die aanvanklike waarde.

Slegs 4-HPPA is konstant deur die pasiënt in verhoogde konsentrasies uitgeskei. 4-HPLA was net soms in verhoogde konsentrasies teenwoordig, terwyl 4-HPPA nooit opgespoor kon word nie. Homogentesiensuur was nooit in abnormale konsentrasies in die urine teenwoordig nie.



Figuur 5.33. Feniëlanien-tolleransiekurwe, feniëlanienomsetting na tiro sien en 4-hidrosifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 1086.

5.3.11.3 Bespreking

Die skynbaar normale fenielalanien- en tirosien serumkonsentrasies, tydens die fenielalanien-tolleransietoets van pasiënt 1086, gaan met hoë tirosielurie gepaard. Geen verdere uitstaande defek kon by die pasiënt gevind word nie.

5.3.12 Pasiënt 1468

5.3.12.1 Kliniese beeld

Geslag: Vroulik

Ouderdom: 13 jaar

I.K.: 36-51

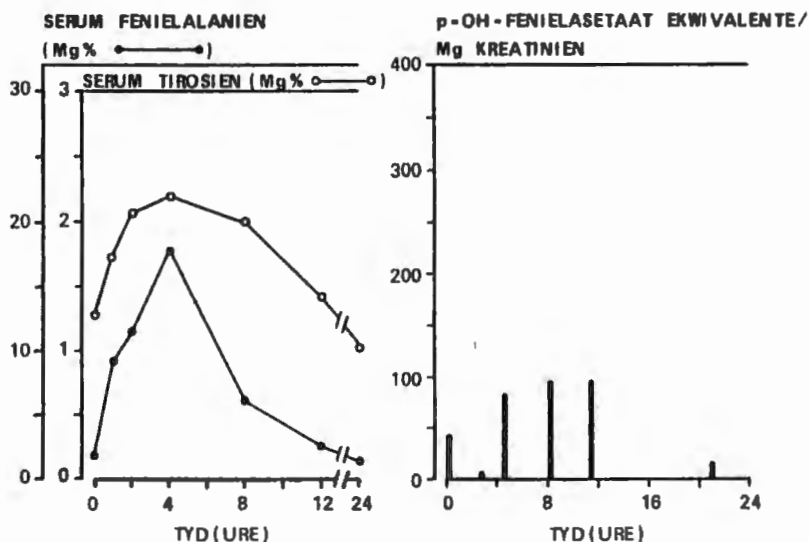
Cri du Chat sindroom. Toestand veroorsaak deur chromosomale afwyking, 46 xx 5p⁻. Liggaamlik normaal. Stil van geaardheid. Reageer op eenvoudige opdragte.

5.3.12.2 Biochemiese beeld

Verlaagde urinêre treonien en matig verhoogde tirosien (60mg/gm kreatinien) kom by die pasiënt voor.

Volgens die fenielalanien-tolleransiekurwe (Figuur 5.34) word fenielalanien swak geabsorbeer en bereik 'n maksimum konsentrasie (18mg/100mℓ), vier ure na fenielalanieninname. 'n Normale omsetting van fe-

nielalanien na tirosien vind plaas met 'n matig verhoogde 4-hidroksifenol uitskeiding, wat 'n maksimum na 12 ure, na fenielalanieninname, bereik.



Figuur 5.34. Fenielalanien-tolleransiekurwe, fenielalanien omsetting na tirosien en 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 1468.

A.g.v. 'n probleem om urien-monsters van die pasiënt te verkry, is net enkele urien-eterekstraksies uitgevoer en ondersoek. Die urienmonsters was dikwels baie verdun en die resultate onbetroubaar. Sover vasgestel kon word, word 4-HPAA teen die hoogste

konsentrasies uitgeskei. Geen positiewe homogentse-
siensuurtoetse is by die pasiënt verkry nie.

5.3.12.3 Bespreking

Dit is onbekend of die resultate van die toetse, wat op pasiënt 1468 uitgevoer is, kenmerkend is van Cri du Chat-gevalle. Om sekerheid hieroor te verkry, sal vergelykende data vir ander sodanige gevalle verkry moet word.

5.3.13 Pasiënt 1498

5.3.13.1 Kliniese beeld

Geslag: Manlik

Ouderdom: 30 jaar

I.K.: 52-67.

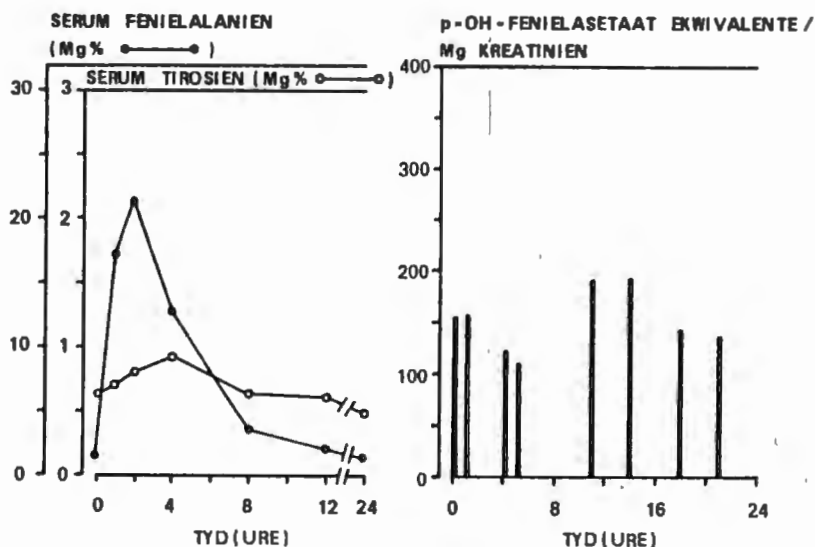
Voorkoms normaal. Kan lees en skryf en gee 'n goeie verslag van homself.

5.3.13.2 Biochemiese beeld

Die aminosure glisien en treonien word in verlaagde konsentrasies deur die pasiënt uitgeskei. Tiro-sien is teen hoë, maar nie abnormale konsentrasies, uitgeskei (28mg/gm kreatinien).

'n Normale fenielalanien-tolleransiekurwe is met die tolleransietoets verkry. Die omsetting van

feniellalanien na tirosien is egter swak. Die serum tirosienkonsentrasie toon 'n styging van slegs 0,3mg per 100ml, samelopend met 'n konstante hoë uitskeiding van 4-hidroksifenole (Figuur 5.35).



Figuur 5.35. Feniellalanien-tolleransiekurwe, feniellalanien omsetting na tirosien en 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets van pasiënt 1498.

4-HPAA word deur die pasiënt teen die hoogste konsentrasies uitgeskei, gevolg deur die konsentrasies van 4-HPLA. 4-HPPA was in opspoorbare konsentrasies teenwoordig. Homogentesiensuur was nooit teenwoordig nie.

5.3.13.3 Bespreking

h Normale fenielalanien-tolleransiekurwe met foutiewe omsetting en hoë 4-hidroksifenol uitskeiding kom by dié pasiënt voor. Die basis van die defek is egter onbekend en verdere studie sal nodig wees om duidelikheid te verkry.

5.4 SAMEVATTING

By 10 van die 12 pasiënte wat ondersoek is, is een of meer defekte van, die fenielalanien-tolleransiekurwe, fenielalanien omsetting na tirosien of 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tolleransietoets gevind. By een pasiënt is abnormale 4-hidroksifenol uitskeiding tydens die tirosien-tolleransietoets gevind. By slegs drie pasiënte is tirosien self, in abnormale konsentrasies in die urine gevind, terwyl 10 van die 12 pasiënte 4-HPAA teen die hoogste konsentrasies uitgeskei het en slegs twee pasiënte, 4-HPLA. In die geval van drie pasiënte is 4-HPPA teen hoër konsentrasies as 4-HPLA uitgeskei, maar geen pasiënt het dié verbinding teen die hoogste konsentrasies uitgeskei nie. Homogentesiensuur is by geen pasiënt, tydens die tolleransietoetse, in verhoogde konsentrasies in die urine gevind nie. Ongeïdentifiseerde verbindings is dikwels in hoë konsentrasies, wat toeneem tydens tirosieninname, by die pasiënte waargeneem.

Die werklike oorsake van die abnormaliteite by die pasiënte is nog onbekend. Spekulasies oor moontlike verklarings vir die abnormale resultate wat by die pasiënte verkry is, sal vervolgens gedoen word.

HOOFSTUK 6

EVALUERING EN BESPREKING VAN DIE ONDERSOEK
NA DIE VOORKOMS VAN AFWYKINGS IN DIE META-
BOLISME VAN TIROSIEN BY VERSTANDELIK VERTRAAG-
DE PERSONE IN DIE WITRANDINRICHTING

6.1 INLEIDING

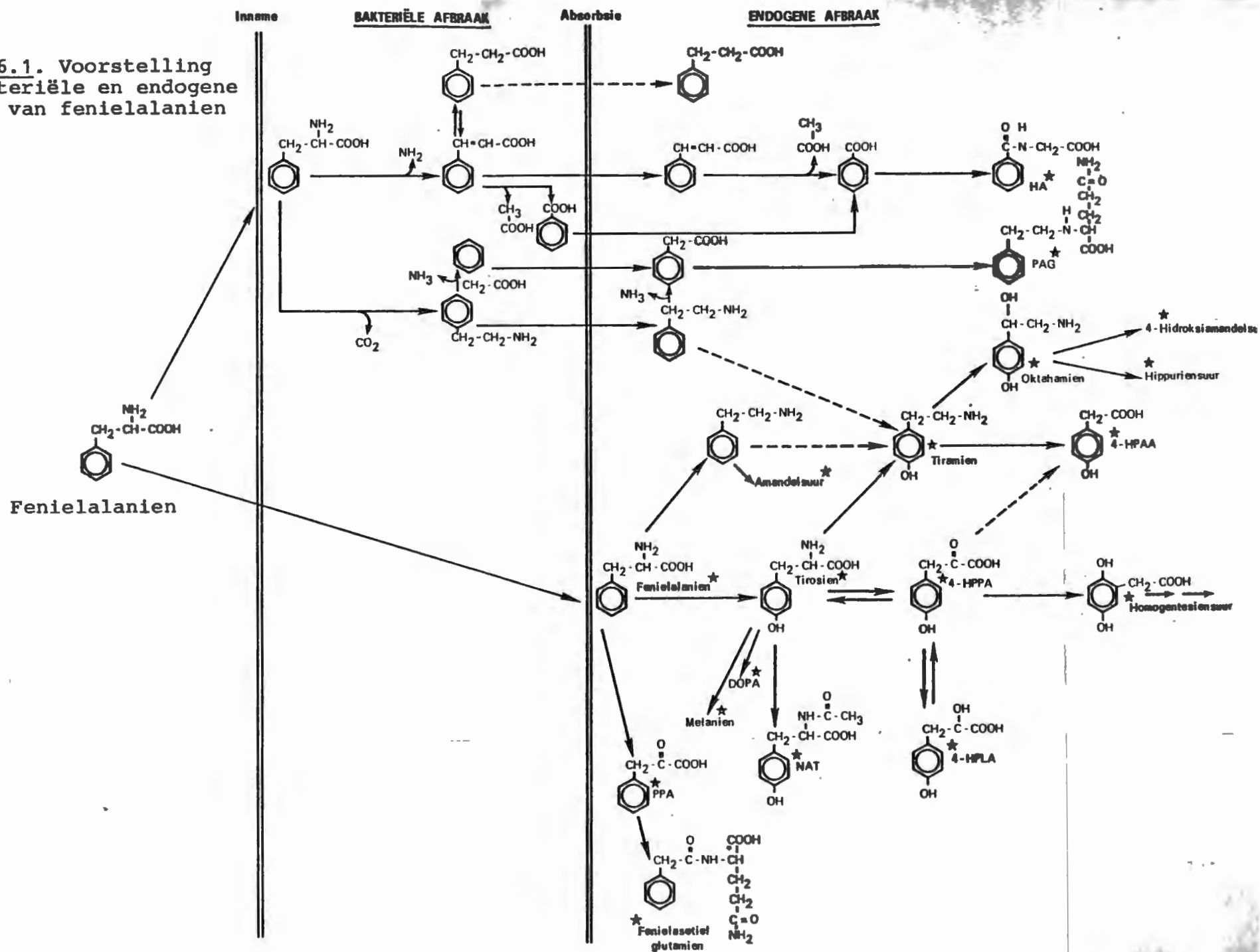
Volgens die resultate wat met die fenielalanien-tolleransietoets verkry is (Hoofstuk 5), kan die 12 tirosielurie pasiënte in vier groepe verdeel word, nl.:

- (1) pasiënte met 'n fenielalanien absorpsiedefek;
- (2) pasiënte met 'n defek in die omsetting van fenielalanien na tirosien;
- (3) pasiënte met 'n defekte katabolisme van tirosien en;
- (4) pasiënte met tirosielurie en 'n normale fenielalanien-tolleransiekurwe, fenielalanienomsetting en tirosien katabolisme.

Ten einde om die tirosielurie wat by al vier klasse voorkom te verklaar, is dit nodig om die katabolisme van fenielalanien en tirosien in detail te beskou. Dit sluit die endogene afbraak sowel as die bakteriële afbraak in die spysverteringskanaal in. Hierdie metabolisme wêreld word in Figuur 6.1 saamgevat. Hierdie tabel is gebaseer op die voorstelling van Van der Heiden, (1972) en Mrochek, et al., (1973).

Tirosielurie is die enigste gemeenskaplike biochemiese eienskap wat by al 12 pasiënte voorkom. Die tirosielurie sal vervolgens, m.b.v. Figuur 6.1, in verband gebring word met die vier tipes resultate wat m.b.v. die fenielalanien-tolleransietoets verkry

-174-



kan word.

6.2 FENIELALANIENABSORPSIEDEFEK AS OORSAAK VAN TIROSELURIE

Dit is wel bekend dat bakteriële tirosien en fenielalanien afbraakprodukte oorsprong kan gee tot die uitskeiding van 'n groot verskeidenheid 4-hidroksifenolverbindings, soos in Figuur 6.1 aangehaal is (Van der Heiden, 1972).

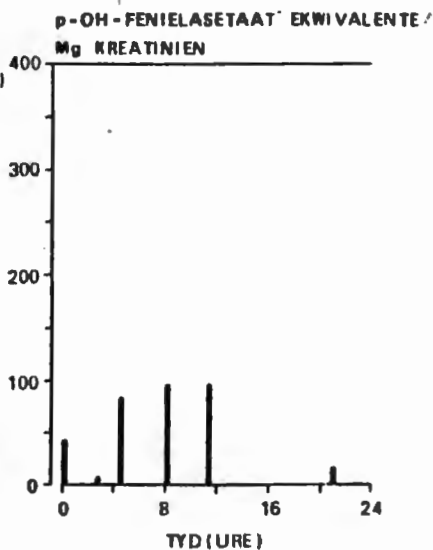
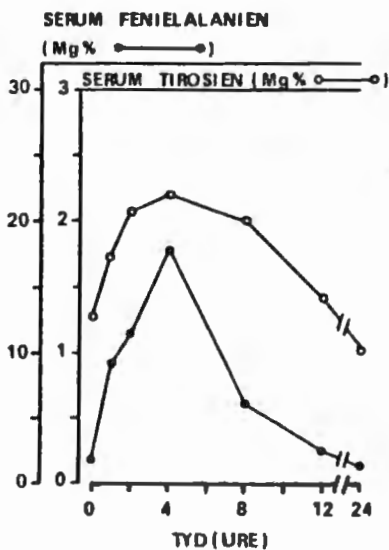
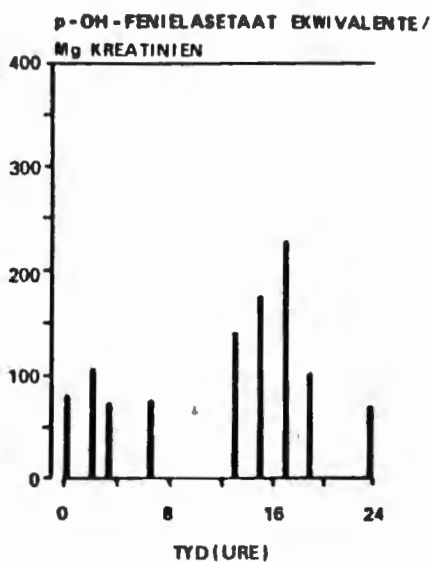
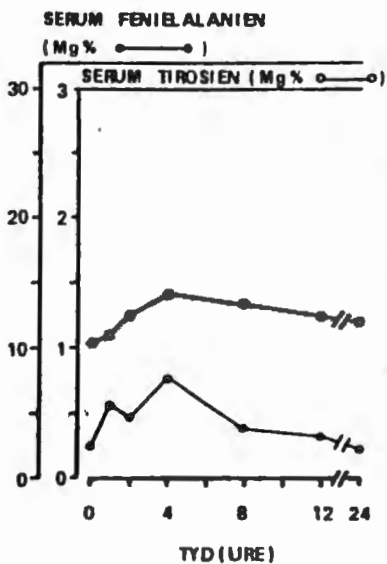
Ongeabsorbeerde fenielalanien kan deur die dermflora afgebreek word na verskeie produkte soos feniel-etielamien, fenielasynsuur, benzoësuur en fenielpropioonsuur en tirosien. Tirosien kan afgebreek word na 4-hidroksifenielpropioonsuur, 4-etiefenol, 4-hidroksifenielasynsuur, 4-kresol, 4-hidroksibenzoësuur en fenol. Van die bakteriële afbraakprodukte kan deur die pasiënt geabsorbeer word en ondergaan verdere endogene afbraak om eventueel in die urine uitgeskei te word. Verbindings soos hippuursuur (HA) en fenielasetielglutamien word in die geval van fenielalanien wanabsorpsie deur die pasiënt uitgeskei, 4-Kresolsulfaat, 4-hidroksifenielasynsuur, fenol-sulfaat, 4-hidroksibenzoësuur, 4-hidroksihippuutsuur, 4-hidroksiakrielsuur en 4-hidroksifenielpurivaat in die geval van tirosien wanabsorpsie. Die bakteriële afbraakprodukte van fenielalanien bevat nie 'n 4-gehidroksileerde fenoliese ringstruktuur nie. Dus sal die verbindings nie 'n positiewe toets met die α -nitroso- β -naftoltoets gee nie. Die meeste van die bakteriële afbraakprodukte van fenielalanien sowel as tirosien is struk-

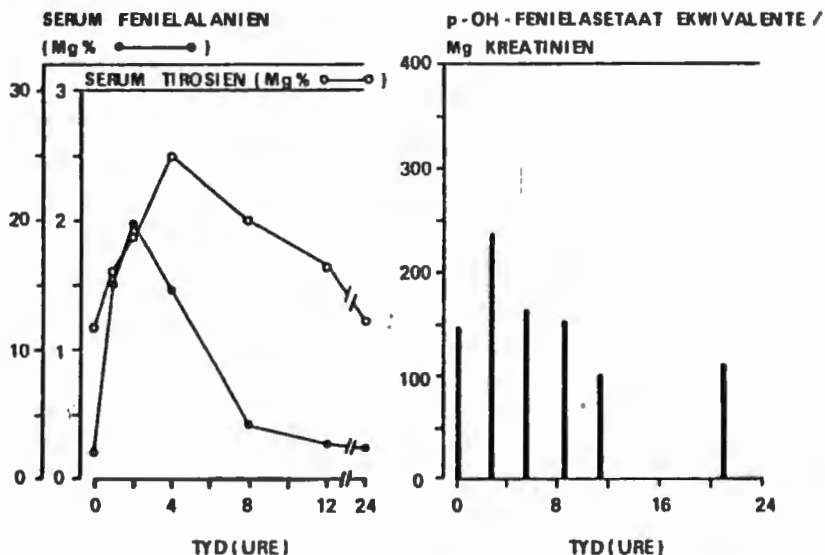
tureel verwant aan tirosien en sal dus in voldoende konsentrasies as kompeterende inhibeerders vir die ensieme van die tirosien kataboliese weg kan optree. (Jacoby en La Du, 1963; Fellman, et al., 1972). Teen voldoende konsentrasies sal die kataboliese weg van tirosien in so 'n mate vertraag kan word, dat die vorming van 4-hidroksifenoliese verbindings uit tirosien kan geskied. Dit sal ook dus 'n versteuring in die fenielalanien tirosienverhouding kan veroorsaak. Verder blyk die vorming van tiramien uit die natuurlike bakteriële en endogene kataboliet van fenielalanien, nl. fenieleletielamien, nie onmoontlik te wees nie (Sien Figuur 6.1). Die vorming van 4-HPAA uit tiramien is bekende gebeure (Mrochek, et al., 1973). Dus kan gesien word dat wanabsorpsie van nie net tirosien, maar ook fenielalanien d.m.v. inhibisie, sowel as regstreekse oorsprong kan gee aan tirosielurie.

Pasiënt 313, 236 en 1468, blyk 'n fenielalanienabsorpsie te hê, soos afgelei kan word uit Figuur 6.2.

Pasiënt 313 blyk 'n totale wanabsorpsie van fenielalanien, tirosien en triptofaan te hê (sien paragraaf 5.3.7.2). Pasiënt 1468 en 236 absorbeer wel fenielalanien, maar in 'n verminderde mate. Dit is onbekend of die twee lg. pasiënte tirosien of triptofaan wanabsorbeer.

Benewens die swak absorpsie van fenielalanien kom ook ander gemeenskaplike eienskappe, maar ook duidelike verskille, tussen die pasiënte voor. Chromosomale





Figuur 6.2. Resultate van die fenielalanien tolleransietoets soos uitgevoer op pasiënt 313, 1468 en 236 onderskeidelik. Die figuur is oorgeneem uit gedeeltes van Figure 5.17, 5.12 en 5.34.

studies is op al drie die pasiënte uitgevoer. Pasiënte 313 en 236 is as normaal gevind, terwyl pasiënt 1468 'n Cri du Chat geval is. Dit is onbekend of die wanabsorpsie van hierdie pasiënt uniek is en of dit 'n algemene biochemiese kenmerk van persone met 'n 5p⁻-sindroom is. Pasiënte 236 en 1468 skei beide treonien in verlaagde konsentrasies uit, terwyl pasiënt 313 alle aromatiëse aminosure en alanien in 'n verhoogde mate uitskei. Dit wil dus voorkom of die wanabsorpsie van die pasiënt nie net tot die ingewande beperk is nie, maar ook tot die her-

absorpsie in die niere. 'n Soortgelyke absorpsie-afwyking is dié van 313, staan as Hartnup se siekte bekend (Jepson, 1978). Die kliniese en biochemiese beeld van pasiënt 313 verskil egter van Hartnup se siekte op die volgende punte:

- (1) geen velletsels kom by pasiënt 313 voor nie, al word hy aan direkte sonlig blootgestel;
- (2) dit is onbekend of ataksia by die pasiënt voorkom want hy is totaal spasties;
- (3) die I.K. van pasiënt 313 is laer as by Hartnup-pasiënte wat wel 'n verlaagde I.K. gehad het;
- (4) die urinêre aminsoruur spektrum van pasiënt 313 verskil totaal van dié van 'n pasiënt met Hartnup se siekte.

Tirosielurie was 'n konstante verskynsel by al drie die pasiënte met 'n absorpsiedefek. Pasiënt 313 het soms baie hoë konsentrasies 4-hidroksifenole uitgeskei (tot 700µg 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien), maar in vergelyking met pasiënte met tirosienemie soos in die literatuur gevind, was dit 'n matig verhoogde uitskeiding. Vir die tirosinemie pasiënte is hierdie waardes 8000µg per mg kreatinien en hoër.

Deur al drie dié pasiënte is 4-HPAA in die hoogste konsentrasies uitgeskei, gevolg deur die konsentrasie van 4-HPLA. By pasiënt 313 is verskeie ongeïden-

tifiseerde verbindings in abnormale konsentrasies gevind.

Behalwe vir die gemeenskaplike voorkoms van verstandelike vertraagdheid by die drie pasiënte, verskil hul kliniese beeld totaal. Pasiënte 236 en 1468 het geen uitstaande kliniese kenmerke nie. Pasiënt 313 het 'n eienaardige reuk en is spasties.

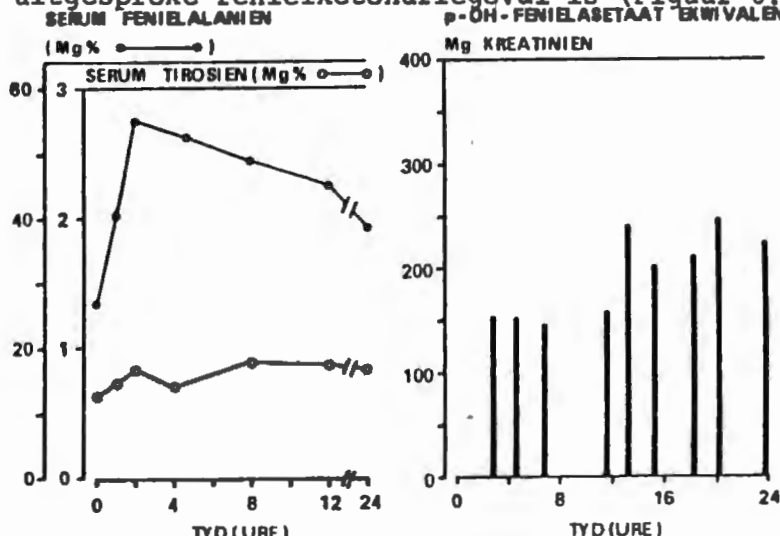
6.3 DEFEKTE OMSETTING VAN FENIELALANIE EN TIROSIE AS DIE OORSAK VAN TIROSIEURIE

6.3.1 Fenielketonurie

By normale bloedkonsentrasies word die meeste fenielalanien omgesit na tirosien deur die ensiem fenielalanienhidroksilase. Dié weg staan dan ook as die hoofkataboliese weg van fenielalanien bekend. 'n Bekende defek in hierdie defek in hierdie weg staan as fenielketonurie bekend.

Tydens die afwyking, fenielketonurie, word groot hoeveelhede PPA gevorm wat weer as kompeterende inhibeerder vir die ensiem 4-HPPA-oksidasie kan optree (La Du & Gjessing, 1978). Die gevolg van so 'n inhibisie sal die vorming van groot hoeveelhede 4-hidroksifenoliese verbindings wees. Fenietielamien sal ook tydens hierdie defek vanaf fenielalanien gevorm word. Daar is reeds op die moontlikheid gewys dat tiramien en 4-HPPA volgens hierdie weg uit fenielalanien gevorm kan word.

Bogenoemde gebeure blyk die verklaring te wees vir die voorkoms van tirosielurie by pasiënt 146, wat 'n uitgesproke fenielketonuriegeval is (Figuur 6.3),



Figuur 6.3. Resultate van die fenielalanien-tolleransietoets van pasiënt 146. Die figuur is gedeeltelik oorgeneem uit Figuur 5.9.

4-Hidroksifenoliese verbindings is deur die pasiënt soms tot byna 400µg 4-HPPA-ekwivalente per mg kreatinien uitgeskei. Die uitskeiding is veel laer as dié van 'n pasiënt met tirosinemie. In teenstelling met die meeste tipes tirosinemië, is 4-HPPA deur pasiënt 146 in die hoogste konsentrasies uitgeskei, gevolg deur die konsentrasies van 4-HPLA.

6.3.2 Ander gevalle

Daar is egter ook 'n groot hoeveelheid submetaboliese weë bekend in die fenielalanien-kataboliese weg

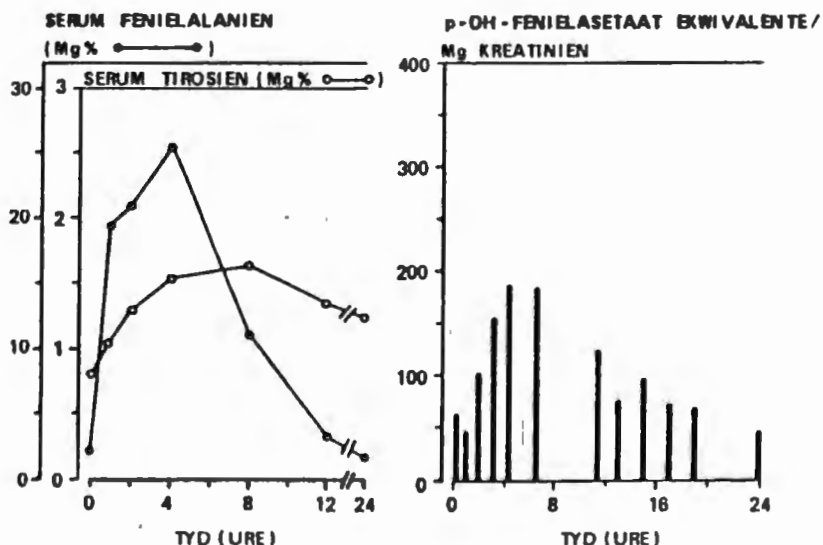
Van hierdie submetaboliese weë gee bv. aan fenielasetielglutamien en amandelsuur en moontlik ook 4-HPAA oorsprong. Die submetaboliese weë tree in werking indien daar 'n hoë konsentrasie fenielalanien in die bloed teenwoordig is. Soos dit die geval is met 'n defek in die hoofkataboliese weg. Die subkataboliese weë dien dan moontlik ook as weë om die fenielalanienkonsentrasie in die bloed te verlaag, deur verbindings te vorm wat nie deur die niere hergeabsorbeer word nie. Indien dit die geval is, kan verwag word dat dié weë moontlik aktief gereguleer word. Die regulering kan geskied d.m.v., tot nou toe, onbekende ensieme, en of d.m.v. bekende ensieme met 'n heel ander primêre funksie, maar wat by hoë fenielalanienkonsentrasies aktief sal deelneem in die katabolisme van fenielalanien. So 'n ensiem kan bv. tirosienaminotransaminase wees wat PPA uit fenielalanien kan vorm. Oor die regulering van die kataboliese weë van fenielalanien en tirosien is egter nog min bekend. Wat wel duidelik is uit die tolleransietoetse, is dat by hoër bloedkonsentrasies daar 'n versnelling in die prosesse is wat fenielalanien wegvoer, hetsy, katabolisme, uitskeiding, proteïensintese, of opname in organe.

Uit die resultate van die tolleransietoets wat op pasiënt 306 uitgevoer is kan die volgende afwykings waargeneem word:

- (1) die maksimum serum fenielalanienkonsentrasie word eers na 4 ure, na inname van fenielala-

nien, bereik;

- (2) daar is 'n stadige toename in die serum tirosien-konsentrasie; en
- (3) indien die fase 0 tot 4 uur van die serum-sowel as urienwaardes beskou word, lyk dit of daar 'n sterk tekort aan, of 'n defek van, die ensiem fenielalanienhidroksilase was. Dit kan egter nie fenielketonurie wees nie want die drempel serum fenielalanienkonsentrasie is te laag. In die fase vanaf tyd 4 tot 12 is daar egter 'n effektiewe vermindering in die serumwaardes, asook 'n afname in die 4-hidrok-sifenoluitskeidings.



Figuur 6.4. Resultate van die fenielalanien-toleransie van pasiënt 306.

'n Tirosien-tolleransietoets is ook op die pasiënt uitgevoer en 'n normale tolleransiekurwe sowel as 4-hidroksifenoluitskeiding tydens die tolleransietoets, is verkry (Figuur 5.14). Dit lyk dus of fenielalanien 'n rol speel by die 4-hidroksifenol uitskeiding van die pasiënt.

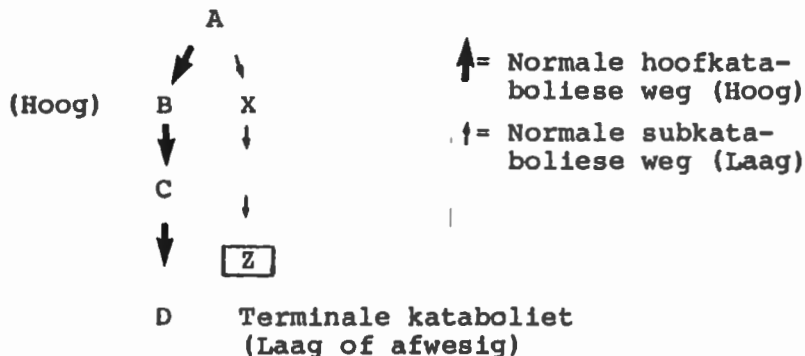
Die 4-hidroksifenol uitskeiding van die pasiënt ($\pm 200 \mu\text{g}$ 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien) is veel laer as dié van 'n tirosinemie pasiënt en ook laer as die van pasiënt 146 wat fenielketonuries was. Pasiënt 306 het beide 4-HPAA en 4-HPLA in verhoogde konsentrasies uitgeskei. Twee ongeïdentifiseerde verbindings met R_f -waardes 0,74 en 0,63 onderskeidelik, waarvan lg. bruin kleur met die α -nitroso- β -naftol-kleuring, is dikwels by die pasiënt opgemerk.

Die pasiënt het geen uitstaande kliniese kenmerke nie.

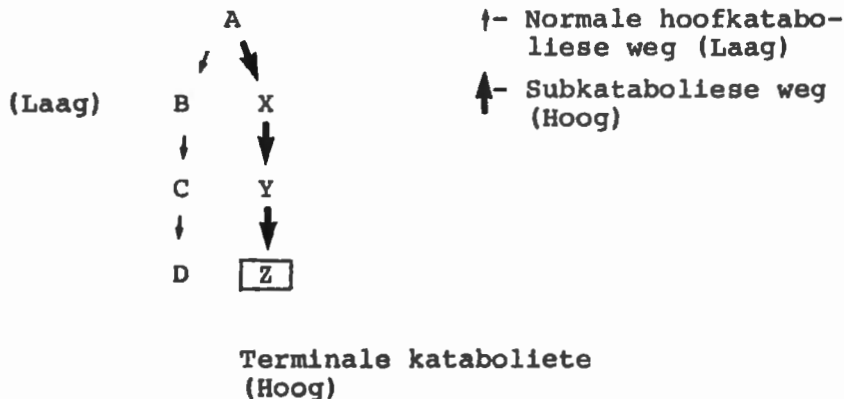
'n Didaktiese model van die gebeure tydens die katabolisme van 'n aminosuur kan voorgestel word soos in Figuur 6.5.

Die normale verloop van die katabolisme van 'n aminosuur, is volgens die hoofkataboliese weg. By hoë aminosuurkonsentrasies word die subkataboliese weë ook in gebruik geneem. Dus moet daar 'n onderdrukkende effek van die subkataboliese weë wees, wat verhoed dat groot hoeveelhede van die aminosuur

I



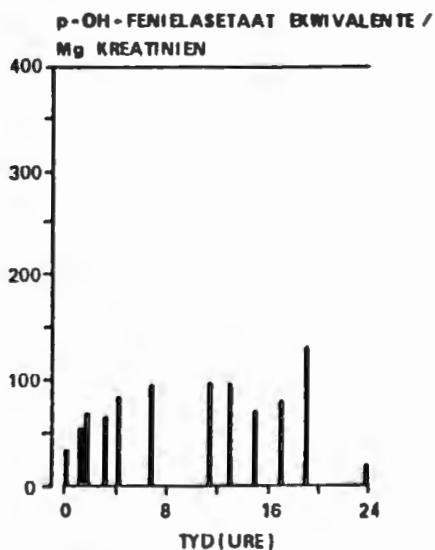
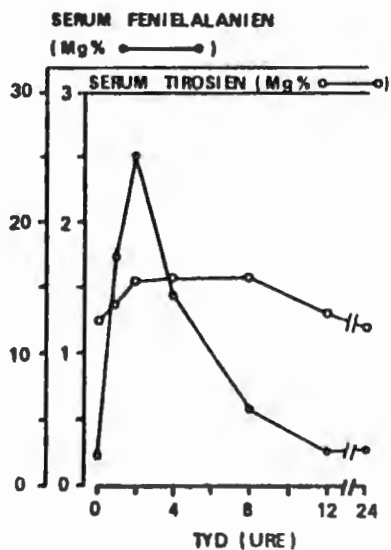
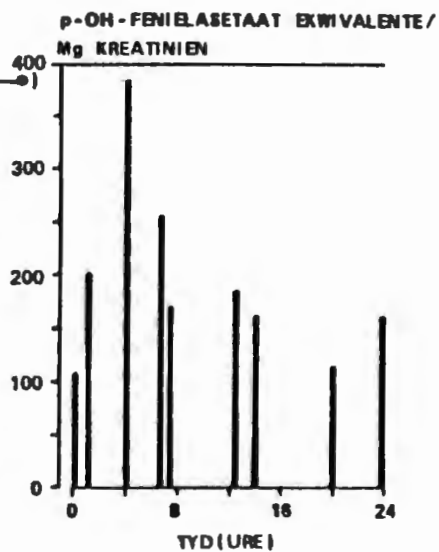
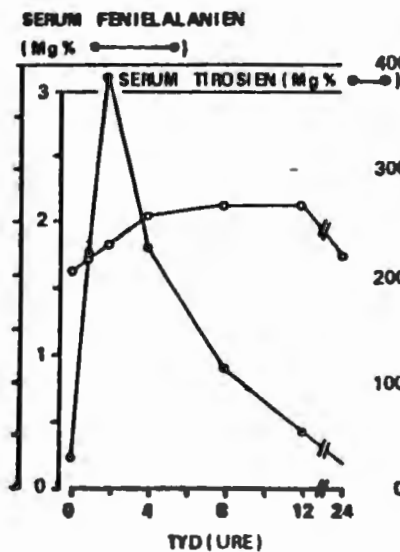
II

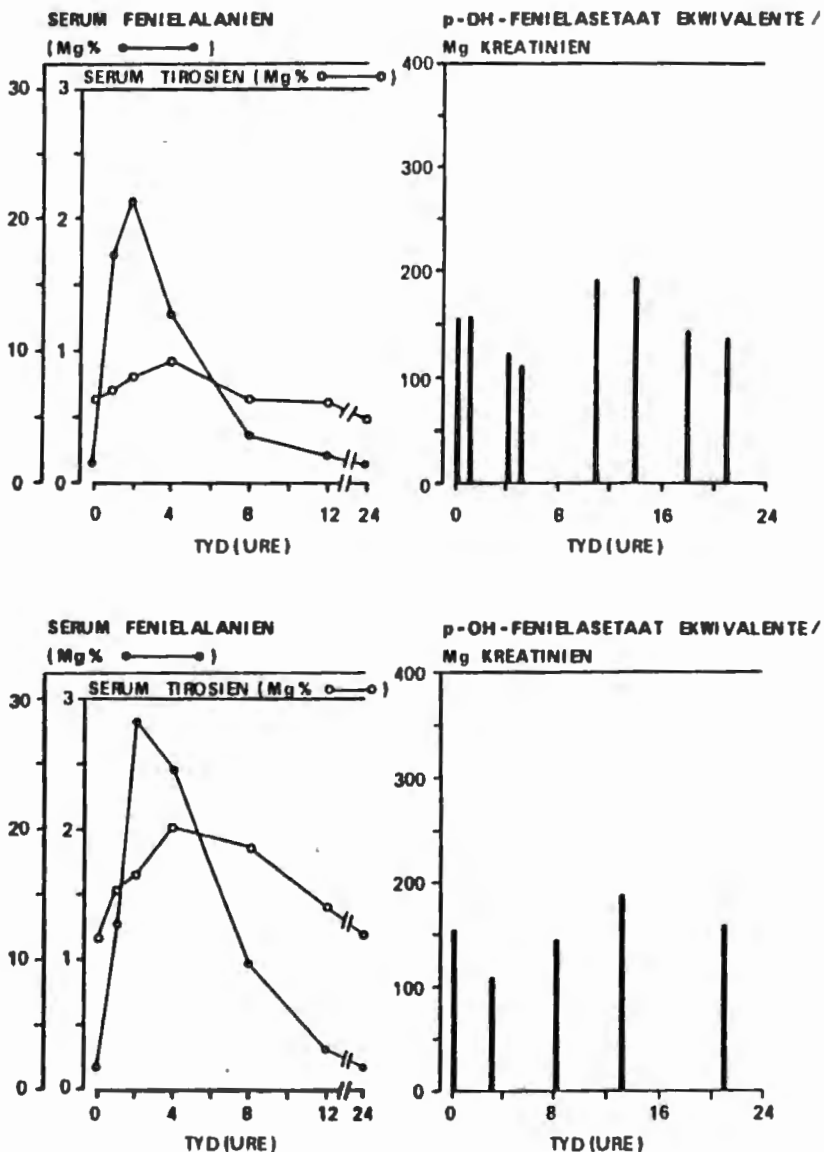


Figuur 6.5(I). Normale verloop van die kataboliese van 'n aminosuur

(II) Verhoogde gebruik van subkataboliese weë tydens die kataboliese van 'n aminosuur.

in hiërdie weë afgebreek word (Figuur 6.5(I)). Dit wil egter voorkom of by sommige pasiënte die sub-





Figuur 6.6. Resultate van die fenielalanien-tolleransietoets van (a) pasiënt 423; (b) pasiënt 308; (c) pasiënt 1086 en (d) pasiënt 1498. Die figuur is gedeeltelik verkry uit Figure 5.26, 5.16, 5.33 en 5.35 onderskeidelik.

die subkataboliese weë dominerend is en by lae aminosuurskonsentrasies ook aktief is (Figuur 6.5II). So 'n defek in die katabolisme van fenielalanien sal die volgende beeld met 'n fenielalanien-tolleransietoets gee:

- (1) Normale fenielalanien-tolleransiekurwe. Daar bestaan nie 'n vertraagde ensiem aksie nie en die aminosuur sal dus nie ophoop nie;
- (2) Baie lae styging in die konsentrasie van tirosien. Tirosien word nie gevorm nie, omrede die fenielalanien na ander produkte afgebreek word; en
- (3) Vorming van ander kataboliete, wat as kompeterende inhibeerders vir die tirosien kataboliese weg kan optree, of die regstreekse vorming van 4-hidroksifenole. Die kompeterende inhibeerders sal veroorsaak dat die tirosienkonsentrasie 'n vertraagde afname sal vertoon.

Die fenielalanien-tolleransiekurwes van pasiënt 423, 308, 1498 en 1086 voldoen in die bg. drie effekte (Figuur 6.5).

Die verdere biochemiese beeld van die 4 pasiënte stem ooreen in die opsig dat 'n matige verhoogde 4-hidroksifenolkonsentrasie uitgeskei word, 4-HPAA word deur al 4 die pasiënte teen die hoogste kon-

sentrasies uitgeskei. Die twee ongeïdentifiseerde verbindings wat by pasiënt 306 voorkom, kom dikwels by hierdie pasiënte ook voor. Geen aminosuururie kom by die pasiënte voor nie.

Twee van die pasiënte se kliniese beeld stem ooreen in die opsig dat albei reeds op 'n gevorderde leeftyd is (pasiënt 308 en 423) en beide 'n baie droë vel en hare het.

6.4 DEFEKTIEWE AFBRAAK VAN TIROSIEEN AS OORSAAK VAN TIROSELURIE

Defektiewe katabolisme vir tirosien is reeds volledig in Hoofstuk 2 bespreek. Opsommend kan die volgende van die metaboliese defek gesê word:

Die defekte in die katabolisme vir tirosien kan in vier verskillende tipes verdeel word:

- (1) Neonatale tirosinemie (paragraaf 2.2.1) - Kom by babas voor. Met 'n gemiddelde bloed tirosienkonsentrasie van 20-30mg per 100ml. Tirosielurie bereik 'n konsentrasie van tot 8 000µg per mg kreatinien en 4-HPLA word teen die hoogste konsentrasies uitgeskei. Verlaagde I.K. kom voor asook vergrote maag en lewer;
- (2) Tirosinose (paragraaf 2.2.2). Slegs 1 pasiënt bekend (Medes-pasiënt). 4-HPPA word deur die

pasiënt teen die hoogste konsentrasies uitgeskei;

- (3) Aangebore tirosinemie (hepatorenale tipe) paragraaf 2.2.3). Die pasiënte het 'n gemiddelde bloeditirosienkonsentrasie van tussen 5 en 10mg per 100ml. Tirosielurie van die pasiënte bereik 'n konsentrasie van tot 8 000µg per mg kreatinien. 4-HPLA word teen die hoogste konsentrasie uitgeskei. Algemene aminosuururie kom dikwels by die pasiënte voor.

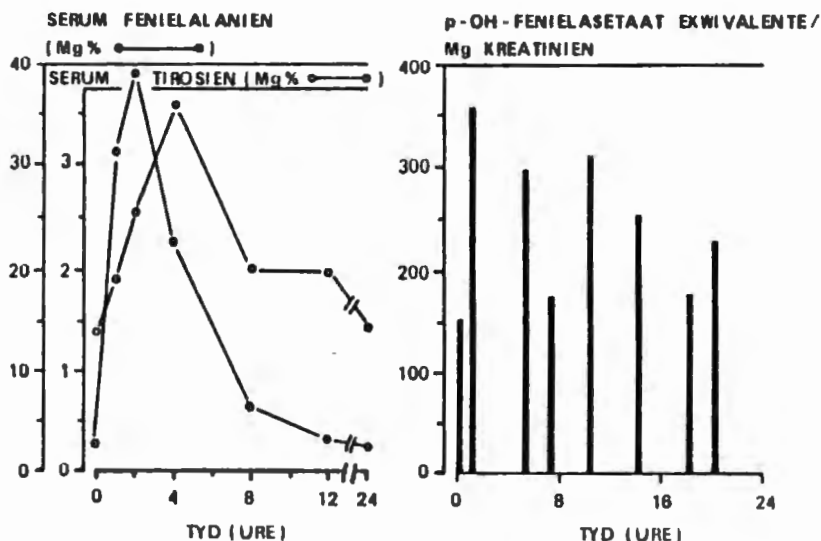
Lewer- en nierskade kom by al die pasiënte voor. Verstandelike vertraagdheid is egter nie kenmerkend van die afwyking nie.

- (4) Konstante hipertirosinemie (Oregontipe). Gemiddelde bloeditirosienkonsentrasie is tussen 20 en 30mg per 100ml. Tirosielurie bereik 'n konsentrasie van tot 4 000µg per mg kreatinien en die verbinding 4-HPLA word teen die hoogste konsentrasie uitgeskei.

Verstandelike vertraagdheid, senuwee-afwykings, vel- en oogletsels is algemene kenmerke van hierdie afwyking. Oor die ensiematiese defek van hierdie tipe afwyking in die metabolisme en tirosien is daar nog onsekerheid. Kennaway en Buist, (1971) vind die ensiem-oplosbare tirosientransaminase afwesig, terwyl Faul et al., (1977) by pasiënte met dieselfde kliniese beeld as dié van Kennaway, die ensiem

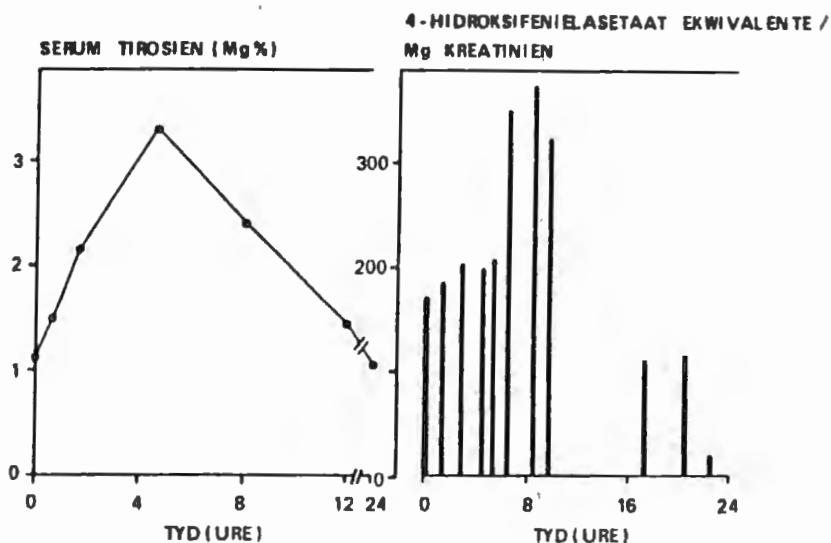
4-HPPA-oksidadase afwesig vind. By beide pasiënte was daar 'n totale afwesigheid van die twee ensieme. Daar kon dus verwag word dat persone opgespoor sal kan word met verlaagde ensiemaktiwiteit, in stede van totale afwesigheid.

Uit die resultate wat verkry is m.b.v. tirosien- en fenielalanientolleransietoetse blyk dit dat daar 'n defek in die katabolisme van tirosien van pasiënt 482 bestaan (Figuur 6.6 en 6.7).



Figuur 6.7. Resultate van die fenielalanien-tolleransietoets uitgevoer op pasiënt 482. Die figuur is verkry uit Figuur 5.29.

Tydens beide tolleransietoetse, het daar 'n skerp styging in die uitskeidingskonsentrasies van 4-



Figuur 6.8. Resultate van die tirosien-tolleransietoets uitgevoer op pasiënt 482. Die figuur is uit Figuur 5.31 verkry.

hidroksifenole plaasgevind. Konstante hoë konsentrasie is konstant gedurende die fenielalanien-tolleransietoets in die urine van die pasiënt gevind, soos by die tirosinemie pasiënte in die literatuur bespreek.

Insteede van 4-HPLA, soos by tirosinemie pasiënte, skiel die pasiënt 4-HPAA teen die hoogste konsentrasies uit. Algemene tirosielurie bereik 'n konsentrasie tot 400µg 4-HPAA-ekwivalente per mg kreatinien, wat veel laer is as die van tirosinemie pasiënte bespreek in die literatuur.

Behalwe vir die voorkoms van verstandelike vertraagtheid by die pasiënt, is daar ook ander simptome van senuwee-afwykings soos ptosis, disartrie en ver-swakte ledemate.

Geen ensiematiese toetse is op die pasiënt uitgevoer nie, maar die moontlikheid van 'n verlaagde aktiwiteit van die tirosien kataboliese ensieme is nie uitgesluit nie.

6.5 PASIENTE MET TIROSELURIE EN NORMALE FENIEL- ALANIEN-TOLLERANSIETOETSRESULTATE

Twee van die twaalf pasiënte met tirosielurie het normale resultate met die fenielalanien-tolleransietoets opgelewer nl. pasiënt 154 en 359. Op pasiënt 359 is die tirosien-tolleransietoets ook uitgevoer wat ook normale resultate opgelewer het. Geen verhoogde uitskeiding van 4-hidroksifenole het plaasgevind tydens die tolleransietoetse nie. Dus kan die voorkoms van tirosielurie, by die pasiënte, nie toegeskryf word aan defekte in endogene katabolisme van tirosien en fenielalanien nie. Defektiewe proteïendegestie kon egter ook oorsprong gee aan tirosielurie (Van der Heiden, 1972). Daar is nog geen toetse in die verband op dié twee pasiënte uitgevoer nie. Dit kan egter ook vals positiewe gevalle wees wat nie geëlimineer is nie.

6.6 SAMEVATTING EN GEVOLGTREKKING

Samevattend kan die woorde van Hirsch et al., gesê van sy eie soortgelyke resultate, gebruik word.

"For genetical interpretation of our findings we might follow two different trains of thought: It may either be assumed that, with disturbance of the amino acids and the other variables considered, we only comprehend a secondary phenomenon quite far from the genotype. There could be still unknown metabolic disturbances, perhaps different in each case, which might influence, more or less, the amino acid metabolism. Considering those facts, mental retardation could either be a result of the amino acid disturbances or a co-ordinated symptom of a combined consequence of an unknown basic derangement. On the other hand, it may also be that the enzymes in question might show slight deviations from the normal. Those deviations may, perhaps, be without any detrimental consequences within a genotype normally favourable for the development of the brain. If, however, several of these deviations come together and if, in addition, there are perhaps disadvantageous environmental conditions, intelligence may be reduced to the level of mental retardation. Naturally, we have to assume that the variation of normal intelligence

is in the same way biochemically-genetically conditioned. In biochemical genetics one usually only pays attention to those extreme variants which produce genetically a simple concept of inheritance, and, biochemically, a massive block. This is quite understandable, because the simple conditions grant a thorough analysis. The less striking variants are, however, much more numerous and, therefore, practically more important. With a prophetic view Garrod (1902) in his famous paper on alkaptonuria has already written: "If it be, indeed, the case that in alkaptonuria and the other conditions mentioned, we are dealing with individualities of metabolism and not with the results of morbid processes, the thought naturally presents itself that these are merely extreme examples of variations of chemical factors which are probably everywhere present in minor degrees and that just as no two individuals of a species."

Die oplossing van die probleem blyk in die stelling van Fitch, et al., (1979) te wees

"Experience has shown that only a few inborn errors of metabolism can be diagnosed by clinical criteria alone, and that detection generally depends upon screening patients with suspicious symptoms for a wide range of metabolites."

Hiervoor is 'n gaschromatograaf in 'n gekombineerde
gaschromatograaf-massaspektrometer nodig.

BIBLIOGRAFIE

- AMBROSE, J.A., SULLIVAN, P., INGERSON, A. en BROWN, R.L. 1969. Fluorometric Determination of Tyrosine. Clinical Chemistry, 15: 611-620.
- AVERY, L.E., CLOW, C.L., MENKES, J.H., RAMOS, A., SCRIVER, C.R., STERN, L. en WASSERMAN, B.P. 1967. Transient Tyrosinemia of the Newborn: Dietary and Clinical Aspects. Pediatrics, 39: 378-384.
- AVIRAM, M. en HERSHKO, A. 1977. Interconversion of multiple forms of tyrosine aminotransferase in vitro and in vivo in cultured hepatoma cells. Biochimica et Biophysica Acta., 498: 83-90.
- AUERBACH, V.H., DIGEORGE, A.M., BRIGHAM, M.P. en DOBBS, J.M. 1963. Delayed maturation of tyrosine metabolism in a full-term sibling of a child with phenylketonuria. J. Pediat., 62: 938-940.
- BABER, 1956* Artikels kon nie vir hierdie studie in Suid-Afrika opgespoor word nie.
- BAKKER, H.D., DE BREE, P.K., VAN SPRANG, F.J. en WADMAN, S.K. 1974. Fructose-1,6-diphosphatase deficiency. Clinica Chimica Acta., 55: 41-47.

BUIST, N.R.M., KENNAWAY, N.G. en FELLMAN, J.H.

1974. Disorders of tyrosine metabolism (In Nyhan, red. Heritable disorders of amino acid metabolism: patterns of clinical expression and genetic variation. New York. John Wiley en Seuns, pp. 160-176).

CRAWHALL, J.C., HAMER, O., TJOA, S. en CLAVEAU, J.C. 1971. Urinary phenolic acids in tyrosinemia identification and quantitation by gas chromatography-mass spectrometry. Clin. Chim. Acta., 34: 47-54.

DANKS, D.M., TIPPETT, P. en ROGERS, J. 1975. A new form of prolonged transient tyrosinemia presenting with severe metabolic acidosis. Acta Paediatr. Scand., 64: 209-214.

DAVID, J., DAIRMAN, W. en UDENFRIEND, S. 1974. Decarboxylation to Tyramine: A Major Route of Tyrosine Metabolism in Mammals. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 71: 1771-1775.

FAUL, K.F., GAN, I. en HALPERN, B. 1977. Metabolic Studies on Two Patients with Nonhepatic Tyrosinemia Using Deuterated Tyrosine Loads. Pediat. Res., 11: 631-637.

FELLMAN, J.H., FUJITE, T.S. en ROTH, E.S. 1972. Assay properties and Tissue Distribution of p-Hydroxyphenylpyruvate Hydroxylases. Biochimica

- BAKKER, H.D., VAN SPRANG, F.J. en WADMAN, S.K.
1976. Tyrosinosis. Ned. T. Geneesk., 120(22):
944-951.
- BAKKER, H.D., WADMAN, S.K., VAN SPRANG, F.J., VAN
DER HEIDEN, C., KETTING, D. en DE BREE, P.K.
1975. Tyrosinemia and Tyrosyluria in Healthy
Prematures. Clinica Chimica Acta, 61: 73-90.
- BÉLANGER, L., BÉLANGER, M., PRIVE, L., LAROCHELLE,
J., TREMBLAY, M. en AUBIN, G. 1973. Tyrosinémie
Héréditaire et Alpha-1- F α toprotéine. Pathologie
et Beél. 21(5): 450-455.
- BODEGARD, G., GENTZ, J., LINDBLAD, B., LINDSTEDT, S.
en ZETTERSTRÖM, R. 1969. Acta Paediat. Scand.,
58: 37-48.
- BOOTH, A.N., MASRI, M.S., ROBBINS, D.J., EMERSON,
O.H., JONES, F.T. en DeEds, F. 1960. Urinary
Phenolic Acid Metabolites of Tyrosine. J. Biol.
Chemistry, 235: 2649-2652.
- BREMMER, H.J., TOSBERG, P. en HÖNSCHER. 1966.
Unteruchungen über die Tyrosine-Stoffwech-
selstörung Frühgeborener. Ann. paedrat.,
206: 12-21.
- CARSON, N.A.J., BIGGART, J.D., BITTELS, A.H. en
DONOVAN, D. 1976. Hereditary tyrosinemia.
Archives of Disease in Childhood, 51: 106-113.

- FELLMAN, J.H., VANBELLINGHEN, P.J., JONES, R.T. en KOLER, R.D. 1969. Soluble and Mitochondriale Forms of Tyrosine Aminotransferase. Biochemistry, 8(2): 615-622.
- FITCH, W.L., ANDERSON, P.J. en SMITH, D.H. 1979. Isolation, identification and Quantitation of urinary organic acids. J. Chromatography, 162: 249-259.
- GARIBALDI, G.R., SILATO, F., DE MARTINI, I., SCARSI, M.R. en ROMANO, C. 1977. Oculocutaneous tyrosinosis. Helv. paediatr. Acta., 32: 173-180.
- GAULL, G.E., RASSIN, D.K., SOLOMON, G.E., HARRIS, R.C. en STURMAN, J.A. 1970. Biochemical Observations on So-called Hereditary Tyrosinemia. Pediat. Res., 4: 337-344.
- GENTZ, J., HEINRICH, J., LINDBLAD, B., LINDSTED, S. en LETTERSTRÖM, R. 1969. Enzymatic studies in a case of hereditary tyrosinemia with hepatoma. Acta. Peadiat. Scand., 58: 393-396.
- GENTZ, J., JAGENBURG, R. en ZETTERSTRÖM, R. 1965. Tyrosinemia. J. Pediatrics, 66: 670-696.
- GENTZ, J., LINDBLAD, B., LINDSTEDT, S. en ZETTERSTRÖM, R. (1969). Studies on the metabolism

of the phenolic acids in hereditary tyrosinemia by a gas-liquid chromatographic method. J. Lab. and Clin. Med., 74: 185-202.

GENTZ, J., LINDBLAD, B., LINDSTEDT, S., LEVY, L., SHASTEEN, W. en ZETTERSTRÖM, R. 1967. Dietary Treatment in Tyrosinemia (Tyrosinosis). Amer. J. Dis. Child., 113: 31-37.

GOLDSMITH, L.A. 1978. Molecular Biology and Molecular Pathology of a Newly Described Molecular Disease - Tyrosinemia II (The Richner-Hanhart Syndrome) Expl. Cell. Biol., 46: 96-113.

GOLDSMITH, L.A., KANG, E., BIENFANG, D.C., JIMBOW, K., GERALD, P. en BADEN, H.P. 1973. Tyrosinemia with plantar and palmar Keratosis and Keratitis. The Journal of Pediatrics, 83: 798-805.

GOSWAMI, M.N.D. en KNOX, E. 1961. Developmental changes of p-Hydroxyphenylpyruvate-oxidase activity in mammalian liver. Biochem. Biophys. Acta., 50: 35-40.

GRANNER, D., CHASE, L.R., AURBACH, G.D. en TOMKINS, G.M. 1968. Tyrosine Aminotransferase: Enzyme Induction. Independent of Adenosine 3,5-Monophosphate. Science, 162: 1018-1020.

GREVEN-BRAUNS, G. en MULKENS, E. 1975. Screening van 80 000 pasgeborenen op afwijkingen in het

aminozurenmetabolisme. Ann. Belge Med. Soc.,
33: 253-257.

GRENIER, A. en LABERGE, C. 1974. A modified
automated fluorometric method for tyrosine
determination in blood spotted on paper: A
mass screening procedure for tyrosinemia. Clin.
Chim. Acta., 57: 71-75.

HAGER, S.E., GREGERMAN, R.I. en KNOX, W. 1957.
p-Hydroxyphenylpyruvate oxidase of liver.
Jour. Biol. Chem., 225: 935-947.

HALVERSON, S., PANDE, H., LOKEN, A.C. en GJESSING.
1966. Tyrosinosis. Arch. Dis. Child., 41:
238-249.

HARRIES, J.T., SEAKINS, J.W.T., ERSSER, R.S. en
LLOYD, J.K. 1969. Recovery after Dietary
Treatment of an Infant with Features of
Tyrosinosis. Arch. Dis. Child. 44: 258-267.

HENRY, R.J., CANNON, D.C. en WINKELMAN, J.W. 1974.
Clinical Chemistry. Principles and Technics.
p. 597. Harper en Row Publishers.

HILL, A. en ZALESKI, W.A. 1971. Tyrosinosis: Bio-
chemical studies of an unusual case. Clin.
Biochem., 4: 263-271.

HIRSCH, W., MEX, A. en VOGEL, F. 1969. Metabolic

traits in mentally retarded children as compared with normal populations: Monoaminodicarboxylic acids and their half amides and total amino acids. J. ment. Defic. Res. 13: 130-142.

HIRSCH, W., MEX, A. en VOGEL, F. 1967. Metabolic traits in mentally retarded children as compared with normal populations: Phenylalanine and tyrosine in serum and urine. J. ment. Defic. Res. 11: 212-227.

HOLSTON, J.L., HARVEY, M.P.H., LEVY, L., TOMLIN, G.A., ATKINS, R.J., PATTON, T.H. en HOSTY, T.S. (1971). Tyrosinosis: A patient without liver or renal disease. Pediatrics, 48: 393-400.

HSIA, D.Y., LITWACK, M., O'FLYNN, M. en JAKOVIC, S. 1962. Serum phenylalanine and tyrosine levels in the newborn infant. N. Eng. J. Med., 22: 1067-1070.

JACOBY, A. en LA DU, B. 1964. Studies on the Specificity of Tyrosine- α -ketoglutarate Transaminase. J. Biol. Chem. 239: 419-424.

JAGENBURG, R., LINDBLAD, B., DE MARÉ, J.M. en RÖDGER, S. 1972. J. Pediatrics, 80: 994-1004.

JARSWAL, R.B., BHAI, I., DAGENAWALA, H.F., NATH, N., en NATH, M.C. 1978. Parahydroxyphenylpyruvic-

acidemia in Tyrosinosis. Indian Pediatrics,
15: 893-899.

JEPSON, J.B. 1978. Hartnup disease (In Stanbury,
Wyngaarden, Fredrickson. Red. The metabolic
basis of inherited disease. Fourth Edition.
McGraw-Hill Book Company).

KANG, E.S. en GERALD, P.S. 1970. Hereditary tyro-
sinemia and abnormal pyrrole metabolism. J.
Pediatrics, 77: 397-406.

KENNAWAY, N.G. en BUIST, N.R.M. 1971. Metabolic
Studies in a Patient with Hepatic Cytosol
Tyrosine Aminotransferase Deficiency Pediat.
Res., 5: 287-297.

KANNEY, F.T. 1959. Properties of Partially Purified
Tyrosine- α -ketoglutarate-Transaminase from Rat
liver. J. Biol. Chem. 234: 2707.

KOGUT, M.D., SHAW, K.N. en DONNEL, G.N. 1967.
Tyrosinosis. Amer. J. Dis. Child. 113: 47-53.

KOEPP, P. en HOFFMANN, B. 1975. Detection of
Heterozygotes for phenylketonuria and hyper-
phenylalaninemia by gas-chromatographic analyses
of aromatic acid excretion in urine. Clin. Chem.
Acta., 58: 215-221.

- KRETCHMER, N. 1959. Enzymatic patterns during development. Pediatrics. 23: 606-617.
- KRETCHMER, N., LEVINE, S.Z., McNAMARA, H. en BARNETT, H.L. 1956. Certain aspects of tyrosine metabolism in the young. The development of the tyrosine oxidizing system in human liver. J. Clin. Invest. 35: 236.
- KRETCHMER, N., LEVINE, S.Z., McNAMARA, H. en BARNETT, H.L. 1958. The in vitro metabolism of tyrosine and its intermediates in the liver of the premature infant. Am. J. Dis. Child., 93: 19.
- KRETCHMER, N. en ETZWILER, D.D. 1958. Disorders associated with the metabolism of phenylalanine and tyrosine. Pediatrics, 21: 445.
- LA DU, B.N. 1967. The Enzymatic Deficiency in Tyrosinemia. Amer. J. Dis. Child., 113: 54-57.
- LA DU, B.N. en GJESSING, L.R., 1978. (In J.B. STANBURY, J.B. WYNGAARDEN en D.S. FREDRICKSON Red. The metabolic basis of inherited disease. McGraw-Hill Book Company).
- LA DU, B.N., HOWEL, R., MICHAEL, P.J. en SOBER, E.K. 1963. A Quantitative micromethod for the determination of phenylalanine and tyrosine in blood and its application in the diagnosis of phenylketonuria in infants. Pediatrics. 31: 39-57.

LAROCHELLE, J., MORTEZAI, A., BELANGER, M., TREMBLAY, M., CLAVEAU, J.C. en AUBIN, G. 1967. Experience with 37 Infants with Tyrosinemia. Canad. Med. Ass. J., 97: 1051-1058.

LAROCHELLE, J., PRIVÉ, L., BELANGER, M., BELANGER, L., TREMBLAY, M., CLAVEAU, J., AUBIN, G., en PARADIS, D., 1973. Tyrosinémie Héréditaire. Pédiatrie., 18: 5-18.

LARREGUE, M., DE GIACOMONI, J., BRESSIEUX, M. en ODIÉVRE, M. 1979. Syndrome de Richner.Hanhart on Tyrosinose Oculo-cutanée. Ann. Dermatol Venereol., 106: 53-62.

LEVINE, 1939. Artikels kon nie vir hierdie studie in Suid-Afrika opgespoor word nie.

LEVINE, R.J. en CONN, H.O. 1967. Tyrosine Metabolism in Patients with Liver Disease. J. Clin. Investigation., 46(12) 2012-2020.

LEVY, H.L., SHIH, V.E., MADIGAN, A.M. en MACCREADY, A. 1969. Transient Tyrosinemia in Full-Term Infants. J.A.M.A., 209: 249-250.

LIGHT, I.J., BERRY, H.K. en SUTHERLAND, J.M. 1966. Aminoacidemia of Prematurity. Amer. J. Dis. Child., 112: 229-236.

- LIGHT, I.J., SUTHERLAND, J.M. en BERRY, H.K. 1973.
Clinical Significance of Tyrosinemia of
Prematurity. Am. J. Dis. Child., 125: 243-247.
- LINDBLAD, B., LINDSTEDT., S. en STEEN, G. 1977.
On the enzymic defects in hereditary tyrosinemia.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 74: 4641-4645.
- LINDEMANN, R., GJESSING, L.R., MERTON, B., CHR.
LÖKEN, A., en HALVORSEN, S. 1970. Amino acid
metabolism in hereditary fructosemia. Acta
Pediatr. Scand., 59: 141-147.
- LIGHTHELM, M.E. 1977. In Biochemiese ondersoek van
aangebore afwykings in die metabolisme van
fenielalanien en tirosien. (Verhandeling vir
M.Sc.-graad) P.U. vir C.H.O.
- LOUIS, W.J., PITT, D.D. en DAVIES, H. 1974.
Biochemical Studies in a patient with Tyrosinosis.
Aust. N.Z.J. Med., 4: 281-286.
- MATHEWS, J. en PARTINGTON, M.W. 1964. The plasma
tyrosine levels of premature babies. Arch.
Dis. Child., 39: 371-378.
- MEDES, G. 1932. A new error of tyrosine metabolism
tyrosinosis. The intermediary metabolism of
tyrosine and phenylalanine. Bioch. J., xxvi:
917-940.

- MENKES, J.H., CHERNICK, V. en RINGEL, B. 1966.
Effect of elevated blood tyrosine on subsequent intellectual development of premature infants.
J. Pediatrics, 69: 583-588.
- MENKES, J.H. en JERVIS, G.A. 1961. Developmental retardation associated with an abnormality in Tyrosine of metabolism. Pediatrics, 28: 399-409.
- MENKES, J.H., WELCHER, D.W., LEVI, H.S., DALLAS, J. en GRETSKY, N.E. 1972. Pediatrics, 49: 218-224.
- MOHANRAM, M. en VINODINI, R. 1974. Asorbic acid Nutritional status and Tyrosine metabolism.
Clin. Chim. Acta., 56: 59-63.
- MROCHEK, J.E., DINSMORE, S.R. en OHRT, D.W. 1973. Monitoring phenylalanine-tyrosine metabolism by high-resolution liquid chromatography of urine
Clin. Chem., 19: 927-936.
- NYHAN, W.L. Ed. 1974. In Heritable Disorders of Amino Acid Metabolism (J. Wiley en Seuns).
pp. 683-686.
- PARTINGTON, M.W., DELAHAYE, R.E., MASOTTI, R.E., READ, J.H. en ROBERTS, B. 1968. Neonatale Tyrosinaemia. Arch. Dis. Childh., 43: 195.
- PARTINGTON, M.W. en HAUST, M.D. 1967. A patient with Tyrosinemia and Hypermethioninemia. Canad. Med. Ass. J., 97: 1059-1072.

- PARTINGTON, M.W. en MATHEWS, M.B. 1966. The relation of plasma tyrosine level to weight gain of premature infants. *J. Pediatrics*, 68: 749-753.
- PERRY, T.L., HANSEN, S. en MACDOUGALL, L. 1966. Urinary screening tests in the prevention of mental deficiency. Canad. Med. Ass. J., 95: 89-95.
- RANGANATHAN, S. en RAMASARMA, T. 1974. The Metabolism of Phenolic acids in the rat. *Biochem. J.*, 140: 517-522.
- RIZZARDINI, M. en ABELUIK, P., 1971. Tyrosinemia and Tyrosinuria in Low-Birth-Weight Infants. Amer. J. Dis. Child. 121: 182-185.
- ROSENBERG, L.E. en SCRIVER, C.R. 1969. Disorders of amino acid metabolism. (In Dancan, G.G. en Bondy, P.K. eds. *Diseases of Metabolism* 6th ed. Philadelphia, W.B. Saunders) p. 366.
- REINER, M. en CHEUNG H.L. 1965. Xylose (In *Standard methods of clinical chemistry*. Ed. Mutes, S. New York Academic Press) 5: 257.
- SANDBERG, H.O. 1975. Bilateral Keratophy and Tyrosinosis. *Acta Ophthalmologica*, 53: 760-764.
- SCHMIDT, L. 1974, The Biochemical Detection of Metabolic Disease. (In Nyhan. W.L. Ed. *Heritable*

Disorders of Amino Acid Metabolism. J. Wiley
en Seuns) pp. 675-697.

SCRIVER, C.R., CLOW, C., DAVIES, E. en STERN, L.
1965. A Commentary on Multiple Screening for
Aminoacidopathies in the Newborn Infant. Canad.
Med. Ass. J., 92: 1331-1333.

SCRIVER, C.R., DAVIES, E. en CULLEN, A.M. 1974,
Application of a sample micromethod to the
screening of plasma for a variety of aminoacido
pathies. The Lancet., 276: 230-232.

SCRIVER, C.R., LAROCHELLE, J. en SILVERBERG, M.
1967. Hereditary Tyrosinemia and Tyrosyluria
in a French Canadian Geographic Isolate. Amer.
J. Dis. Child., 113: 41-46.

SCRIVER, C.R. en ROSENBERG, L.E. 1973. Amino Acid
Metabolism and its disorders. Saunders philadel-
phia.

SCRIVER, C.K., SILVERBERG, M. en CLOW, C.L. 1967.
Hereditary Tyrosinemia and Tyrosyluria. Canad.
Med. Ass. J., 97: 1047-1050.

SHAMBAIGH, G.E., WARNER, D.A. en BEISEL, W.L. 1967.
Hormonal Factors Altering Rythmicity of Tyrosine-
Alpha-ketoglutarate Transaminase in Rat liver.
Endocrinology 81: 811-818.

SHEAR, C.S., WELLMAN, N. en NYHAN, W.L. 1974.

Phenylketonuria. (In Nyhan, W.L. ed. Heritable Disorders of Amino Acid Metabolism. J. Wiley en Seuns) pp. 141-159.

STRIFE, C.F., ZUROWESTE, E.L., EMMET, E.A., FENELLI, V.N., PETERING, H.G. en BERRY, H.K. 1977. Tyrosinemia with acute intermitted porphyria: Aminolevulinic acid dehydratase deficiency related to elevated urinary aminolevulinic acid levels J. Pediatrics., 90: 400-404.

THOMAS, G.H. en HOWELL, R.R. 1973. Selected screening tests for genetic metabolic diseases. Chicago Yearbook medical publishers, Inc.

TOMER, K.B., ROTHMAN, R., YUDKOFF, M. en SEGAL, S. (1977). Unusual pattern of metabolites in the urine of a child with tyrosinemia: Glyceraldehyde. Clin. Chim. Acta., 81; 109-117.

VAN DER HEIDEN, C. 1972. Studie over Bacteriële metabolieten van tyrosine, phenylalanine en Histidine in urines van patienten met gastro-intestinale afwijkingen. Proefskrif aan die Rijksuniversiteit te Utrecht.

WADMAN, S.K., VAN DER HEIDEN, C., KETTING, D. en VAN SPRANG, F.J. (1971). Abnormal tyrosine and phenylalanine metabolism in patients with tyrosyluria and phenylketonuria; Gas-Liquid

Chromatographic analysis of urinary metabolites.
Clin. Chim. Acta., 34: 277-287.

WADMAN, S.K., VAN SPRANG, F.J., MAAS, J.W. en D.
KETTING. 1968. An Exceptional case of tyrosinosis.
J. Ment. Defic. Res., 12: 269-281.

WANG, H.W., MORTON, N.E. en WAISMAN, H.A. 1961.
Increased Reliability for the Determination of
the Carrier State in Phenylketonuria. Amer. J.
Hum. Gen., 13: 255-261.

WESTMORE, R. en BILLSON, F.A. 1973. Pseudoherpetic
keratitis. Brit. J. Aphthal., 57: 654-656.

WONG, P.W.K., LAMBERT, A.M. en KOMROWER, G.M.,
1967. Tyrosinemia and Tyrosyluria in Infancy.
Develop. Med. Child. Neurol., 9: 551-562.

WOOLF, L.I. 1963. Inherited metabolic disorders:
error of phenylalanine and tyrosine metabolism.
Advances Clin. Chem., 6: 97-230.

ZANNONI, V.G. en LA DU, B.N. 1960. Studies on the
defect in Tyrosine Metabolism in Scorbic Guinea
Pigs. J. Biol. Chem., 235: 165-168.

ZETTERSTRÖM, R. (1963). Tyrosinosis. Ann. N.Y.
Acad. Sci., III: 220-226.

ZILVA, J.F. en PANNALL, P.R. 1975. Clinical
Chemistry in Diagnosis and Treatment. Lloyd-
Luke (Medical Boots) p. 274.

ZWEIG, Z. en WHITAKER, J.R. 1974. (In Lehmann, H.
en Huntsman, R.G. Eds. Man's Haemoglobins.
North-Holland Publishing Company.)

AFKORTINGS

C-AMP; Sikliese-Adenosienmonofosfaat

Fen./T_{ir}.-waardes; Feniellalanien-Tirosien-waardes

Gamma-G.T.; Gamma-Globulien Telling

HA; Hippiuursuur

4-HBA; 4-Hidroksibensoë-asynsuur

4-H Feniellakrielsuur; 4-Hidroksifeniellakrielsuur

4-H Feniellpropioonsuur; 4-Hidroksifeniellpropioonsuur

4-H Hippiuursuur; 4-Hidroksihippiuursuur

4-HMA; 4-Hidroksi-amandelsuur

4-HPAA; 4-Hidroksifeniellasynsuur

4-HPLA; 4-Hidroksifeniellaktaat

4-HPPA; 4-Hidroksifeniellpiruvaat

NAT; n-asetiellatirosien

O.D.₅₂₀-waardes; absorpsie-waarde by 520nm

PAG; Feniellasetiellglutamien

PPA; Feniellpurivaat

SVK; Spysverteringskanaal

TCA; Trichloorasynsuur

BEDANKINGS

Prof C J Reinecke vir onskatbare hulp en bystand.

Dr Niehouse van die Patalogielaboratorium, Du Buisson, Fourie en Venote vir die uitvoering en interpretasie van die lewerfunksietoetse.

Dr Gericke van die 1 Militêre hospitaal vir die hulp met die kliniese beeld van die pasiënte.

Prof van Rooyen en Dr Tiedt van die Farmakologiedepartement aan die P.U. vir C.H.O. vir die hulp met die verkryging van die bloedmonsters.

Witrandpersoneel, in besonder Mnr Smit en Mnr Blighnaut vir die hulpvaardigheid en vriendelikheid.

Witrandpasiënte vir die deelname sonder om te verstaan.

Kontrolepasiënte, in besonder Mnr van der Walt en Mnr Opperman, van die Biochemiedepartement van die P.U. vir C.H.O. vir hul bereidwilligheid om as kontrole op te tree.

Die Suid-Afrikaanse Weermag, in besonder Maj Swanepoel vir die hulpvaardigheid.

Mienie- en König-familie vir die belangstelling,
ondersteuning en bystand.

TYROSILURIA IN MENTALLY RETARDED PATIENTS

(ORIGINAL TITLE: TIROSIELURIE BY GEESTELIK VER-
TRAAGDE PASIËNTE)

MIENIE, LODEWYK JACOBUS

M.Sc.: 1981

1. A systematic screening for inborn errors in the metabolism of tyrosine have been undertaken in the Witrand Institute for Mentally Handicapped Patients. This aspect of the study formed part of a general screening program of the Department of Health of the Republic of South Africa.

Tyrosiluria was taken as an indication of a possible defect in the metabolism of tyrosine. All the 1587 patients in the Institute have been screened. A total of 72 cases of tyrosyluria were detected. These patients presented with a variation in tyrosiluria ranging from slightly to extensive. False positive cases included in this group were eliminated by the procedure of sequential elimination. By this method 16 cases with persistent tyrosyluria were found. These patients were subsequently studied in more detail to investigate possible causes of the tyrosiluria.

2. According to serum analyses, none of the patients manifested into any of the three inborn errors of metabolism of tyrosine. (Medes disease, Persistent hyper tyrosinemia, Hereditary tyrosinemia.) This indicates that 0% of the patients in the Witrand Institute were mentally retarded due to these defects.
 3. Phenylalanine tolerance tests and chromatographic analyses of the urinary tyrosine catabolites have shown that the tyrosiluria in the patients were due to:
 - (a) Defects in the metabolism of phenylalanine, including one P.K.U.-patient (6 patients).
 - (b) Defective intestinal absorption of phenylalanine and tyrosine resulting in tyrosiluria due to the formation of tyrosine catabolites by gut flora (3 patients).
 - (c) A apparent partial defect in the metabolism of tyrosine (1 patient).
 - (d) The basis of the tyrosiluria in the remaining patients is obscure.
-