

**'N BIOCHEMIESE ONDERSOEK VAN AANGEBORE AFWYKINGS IN DIE
METABOLISME VAN FENIELALANIEN EN TIROSIEN**

3

'N BIOCHEMIESE ONDERSOEK VAN AANGEBORE AFWYKINGS IN DIE
METABOLISME VAN FENIELALANIEN EN TIROSIEN

deur

Magdalena Elizabeth Ligthelm

VERHANDELING VOORGELê TER GEDEELTELIKE NAKOMING VAN DIE
VEREISTES VIR DIE GRAAD MAGISTER SCIENTIAE AAN DIE
POTCHEFSTROOMSE UNIVERSITEIT VIR CHRISTELIKE HOêR
ONDERWYS.

POTCHEFSTROOM
DESEMBER 1977

DOFSTUK 1

LEIDING

DOFSTUK 2

E VOORKOMS VAN EN SIFTING VIR AANGEBORE METABOLIESE AFWYKING (AMA) I DIE METABOLISME VAN FENIELALANIEN EN TIROSIEN - 'n literatuuroorsig

- 1 Die geïntegreerde metabolisme van fenielalanien en tirosien
 - 1.1 Kataboliese weë
 - 1.1.1 Die fenielalanienhidroksilase-reaksie
 - 1.1.2 Transaminasie van tirosien
 - 1.1.3 Parahidroksiefenielpirovaatoksidasie
(- hidroksilase)
 - 1.1.4 Homogentisaatoksidasie
 - 1.2 Anaboliese weë
- 2 Die voorkoms van versteurings in die metabolisme van fenielalanien en tirosien
- 3 Sifting vir aangebore metaboliese afwykings
 - 3.1 Voorbeelde van siftingsprogramme
 - 3.2 Die algemene eise vir 'n siftingsprogram
 - 3.3 Materiaal vir analise
 - 3.3.1 Uitgangspunt
 - 3.3.2 Sifting op die vlak van die geenproduk
 - 3.3.3 Sifting vir metaboliese wanbalans (chemiese fenotipe)
 - 3.3.4 Vlak van die kliniese fenotipe
- 4 Samevattende opmerkings en doelstellings

DOFSTUK 3

NIELKETONURIE (PKU)

- 1 Algemene oorsig oor fenielketonurie
 - 1.1 Inleiding
 - 1.2 Metaboliese versteuring tydens PKU
 - 1.4 Behandeling
 - 1.5 Eksperimentele PKU
 - 1.5.1 Genetiese defek
 - 1.5.2 Toediening van hoë konsentrasie van fenielalanien
 - 1.5.3 Inhibering van die fenielalanienhidroksilase-sisteem
 - 1.5.4 Metaboliese studies in selle in vitro
 - 1.5.5 Standpunt
- 2 Die sifting vir PKU in die Witrandinrigting
 - 2.1 Inleiding
 - 2.2 Siftingsmetodes vir PKU
 - 2.3 Siftingsresultate
 - 2.3.1 Metode
 - 2.3.2 Resultate
- 3 Verdere karakterisering van 'n pasiënt met PKU
 - 3.1 Plasma-aminosure
 - 3.2 Urinêre aminogram

- 3.3.3 Feniellalanientoleransie
- 3.3.4 Tirasientoleransiekurwe
- 3.3.5 Kliniese beeld van die PKU-pasiënt
- 3.4 Konklusie

HOOFSTUK 4

AANGEBORE AFWYKINGS IN DIE METABOLISME VAN TIROSIE

- 4.1 Algemene oorsig oor aangebore afwykings in die metabolisme van tirosien
 - 4.1.1 Inleiding
 - 4.1.2 Verstuurings in die metabolisme van tirosien
 - 4.1.2.1 α -p-Hidroksiefeniellalanienhidroksilasietekort
 - 4.1.2.2 Sitasol α -ketoglutarataminotransferasetekort
 - 4.1.2.3 Homogentisiensuuroksidase
 - 4.1.3 Toestande wat geassosieer word met verstuurings in die metabolisme van tirosien
 - 4.1.3.1 Tirosinose I
 - 4.1.3.1.1 Genetika en verspreiding
 - 4.1.3.1.2 Kliniese beeld
 - 4.1.3.1.3 Biochemiese beeld
 - 4.1.3.4 Behandeling
 - 4.1.3.5 Eksperimentele tirosinemie en tirosielurie
 - 4.1.3.2 Tirosinose II
 - 4.1.3.3 Tydelike tirosinemie en tirosielurie
 - 4.1.3.4 Lewer- en ander siektes
 - 4.1.4 Gevolgtrekkings
- 4.2 Sifting vir afwykings in tirosienmetabolisme
 - 4.2.1 Aanvanklike sifting
 - 4.2.1.1 Metode
 - 4.2.1.2 Resultaat
 - 4.2.2 α -Semi-kwantitatiewe toets vir tirosien en aanverwante metaboliëte
 - 4.2.2.1 Uitgangspunt
 - 4.2.2.2 Metode
 - 4.2.2.3 Resultate
 - 4.2.3 Toepassing van die semi-kwantitatiewe siftingstoets op geselekteerde pasiënte
 - 4.2.3.1 Uitgangspunt
 - 4.2.3.2 Resultaat
 - 4.2.3.3 Gevolgtrekking
 - 4.2.4 Sekwensiële eliminasië van valse positiewe gevalle
 - 4.2.4.1 Uitgangspunt
 - 4.2.4.2 Resultate
 - 4.2.4.2.1 Eliminasiëprosedure
 - 4.2.4.2.2 Bespreking
 - 4.2.5 Plasma- en urinêre aminosuursamestelling van geselekteerde pasiënte
- 4.3 Konklusie

HOOFSTUK 5

α -N PERSPEKTIEWE EVALUERING VAN α -N ONDERSOEK NA DIE VOORKOMS VAN AANGEBORE METABOLIESE AFWYKINGS BY VERSTANDELIKE VERTRAAGDE PERSONE

- 5.1 Die siftingsprogram
- 5.2 Die omvang van die afwykings in die metabolisme van feniellalanien en tirosien
- 5.3 Die noodsaaklikheid vir sifting by verstandelike vertraagde persone

BIBLIOGRAFIE

82

AFKORTINGS

89

BEDANKINGS

90

HOOFSTUK 1

INLEIDING

Die volgende aanhaling vat in 'n neutredop die agtergrond saam wat daartoe gelei het dat in 1975 'n begin gemaak is met 'n omvattende ondersoek deur die Departement van Gesondheid van die Republiek van Suid-Afrika: "The number of patients in the State Hospitals* for the mentally retarded are as follows:

Europeans (3 500), Coloureds (600) and Bantu (900). A further $\pm$ 1 500 European cases are found in private and other homes and schools.

Very little is known about the aetiology of these cases, knowledge of which could have further reaching consequences for the family involved, particularly with regard to the possibilities of recurrence and prevention".

Die oorsprong van die verstandelike vertraging van hierdie persone kan onder andere geleë wees in chromosoom abnormaliteite, ekstern oorsake soos infeksies asook weens aangebore metaboliese defekte. Die voorkoms van laasgenoemde kan met betrekking tot 'n biochemiese siftingsprogram vasgestel word.

So 'n siftingsprogram het gewoonlik ook bykomende doelstellings, soos: "determining the incidence of known conditions in the handicapped population of the region being studied and of attempting to discover and define new biochemical abnormalities." (Moore, et. al., 1972).

In hierdie verhandeling word enkele fasette van die ondersoek na aangebore metaboliese defekte by die Witrand Inrigting behandel, naamlik:

-) die sistematisering van 'n geskikte siftingsprogram spesifiek vir die voorkoms van afwykings in die metabolisme van fenielalanien en tirosien by verstandelike vertraagdes, en
-) 'n voorlopige vastelling van die omvang van hierdie afwykings in die Witrand Inrigting.

Hiervoor word die volgende indeling van die verhandeling gevolg:

In hoofstuk 2 van die verhandeling word 'n oorsigtelike uiteensetting van die normale metaboliese reël van fenielalanien en tirosien gegee. Aansluitend hierby word 'n aanduiding gegee van waar eeds bekende defekte in hierdie reël aangetref word. 'n Kort oorsig oor die voorkoms van afwykings wat betrekking het op hierdie ondersoek, en wat in soortgelyke inrigtings of in die algemene populasie in ander lande uitgevoer is, volg daarna. In hierdie literatuurhoofstuk is verder ook die algemene reël waaraan 'n siftingsprogram moet voldoen, asook die keuse van die materiaal wat vir analise gebruik word, bespreek.

In hoofstukke 3 en 4 word die resultate van 'n aanvanklike vastelling van die omvang van die afwykings in fenielalanien en tirosien, respektiewelik, gegee.

Inrigtings in die Republiek van Suid-Afrika.

In samehang hiermee word 'n kritiese analise van die siftingstoetse wat vir die opspoor van veral tirsieelversteurings gebruik word, aangebied.

In hoofstuk 5 is ten slotte 'n perspektiwiese evaluering ten opsigte van die siftingsprogram en die omvang van die afwykings soos verkry is, gegee. Ook die noodsaaklikheid van 'n sodanige sifting word onder die soeklig gestel.

In 'n hele aantal van hierdie reaksies is reeds afwykings as gevolg van 'n genetiese defek vasgestel. Slegs aan hierdie reaksies waar die defekte kan voorkom, sal vervolgens aandag gegee word. Die ander stappe in die metabolisme van fenielalanien en tirosien sal buite beskouing gelaat word. Vir oorsigtelike beskouings oor hierdie onderwerpe kan verwys word na Scriver en Rosenberg (1973), Woolf (1963) en Greenberg (1969). Hierdie artikels is as uitgangsbronne vir die verdere bespreking gebruik.

2.1.1 Kataboliese weë

2.1.1.1 Die fenielalanienhidroksilase-reaksie

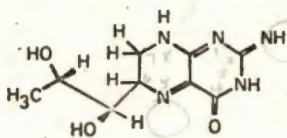
(fenielalanienhidroksilase: L-fenielalanientetrahydropteridien: O_2 -oksidoreduktase (4-hidroksilering) EC 1.14.16.1)

Wanneer hierdie onomkeerbare reaksie in vitro bestudeer word, blyk dit dat die reaksie hoofsaaklik in die oplosbare fraksie van 'n lewerhomogenaat van soogdierspesies plaasvind (Scriver en Rosenberg, 1973). Aktiwiteit is ook in die pankreas en nier van die muis en in die niere korteks van die mens (2% van die totale aktiwiteit in die mens) gevind (Ayling, Helfand en Pirson, 1975).

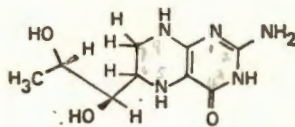
Die ensiem word geassosieer met ten minste twee proteïen komponente, naamlik 'n labiele fenielalanienhidroksilase (wat hoofsaaklik in die lewer voorkom) en die meer stabiele fraksie, naamlik dihydropteridienreduktase (wat in baie weefsels voorkom). Die nie-proteïen kofaktor in hierdie reaksie is 'n ongekonjugeerde pteridien, naamlik dihydrobiopterien of 7, 8-dihidro-2-amino-4-hidroksie-6-[1,2-dihidroksiepropiel-(L-eritro)]-pteridien (Figuur 2.2) (Scriver en Rosenberg, 1973; Greenberg, 1969; La Du en Zannoni, 1967).

FIGUUR 2.2

Die chemiese strukture van dihydrobiopterien en tetrahydrobiopterien.



Kinondiedihydrobiopterien



Tetrahydrobiopterien

P.346
fol. 2

pteridein
Hierdie/

pterein: 2-amino-4-hydroxy-6-[(1R,2R)-1,2-dihydroxypropyl]-pteridine

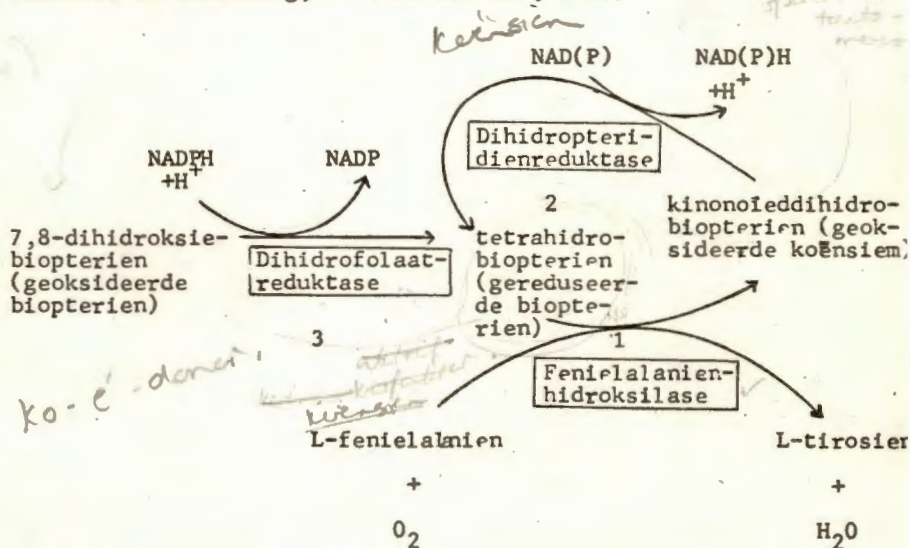
Hierdie kofaktor is slegs aktief in die gereduseerde tetrahydro-vorm (Figuur 2.2) en die reduksie word gekataliseer deur die ensiem dihidrofolaatreduktase of die ensiem dihidropteridienreduktase. 'n Piridiennukleotied, naamlik NADP (ook NAD in laasgenoemde geval) tree op as die waterstof-skenker). Foliensuurantagoniste soos aminopterien inhibeer die ensiem.

Hierdie reaksies word skematies in Figuur 2.3 aangedui:

FIGUUR 2.3

'n Skematiese voorstelling van die fenielalanienhidroksilerings-sisteem:

(Scriver en Rosenberg, 1973 en Kaufman, 1963)



Indien die reaksies in vitro uitgevoer word is daar 'n sloer-fase in hierdie fenielalanienhidroksilerings-sisteem wat waarskynlik ontstaan sodat die kofaktor eers gereduseer kan word (reaksie 3). In vivo kom die kofaktor blykbaar reeds in die tetrahydrobiopterien- of kinonoïeddihidrobiopterien-vorm voor. Hierdie kinonoïeddihidrobiopterien is baie onstabiel en kan spontane toutomerisering na 7, 8-dihidrobiopterien, 'n isomeer van die kinonoïede verbinding, ondergaan, indien dihidropteridienreduktase afwesig is. Behalwe dat dihidrofolaatreduktase 'n rol speel in die reduksie na tetrahydrofolaat van enige kinonoïeddihidrobiopterien wat toutomerisering ondergaan het, is dit moontlik ook betrokke in die biosintese van tetrahydrobiopterien. Omdat hierdie ensiem dus moontlik noodsaaklik is vir die handhawing van die tetrahydropteridienvlak in die weefsel, kan

dit beskou word as 'n derde essensiële ensiem van die hidrok-sileringsisteem (Kaufman, Holtzman, Milstien en Butler, 1975).

Die natuurlike tetrahydrobiopterien besit 'n lae K_m -waarde (hoë affiniteit) vir die ensiem (reaksie 1) en di^m reaksie besit 'n relatief lae $V_{maksimum}$. Die kofaktor tree op as elektronskenker. As substraat word 'n ongemodifiseerde alaniensyketting by posisie 4 van die aromatiesse ring en die L-isomere vorm vereis. Die ringstruktuur kan gemodifiseer wees aangesien L-fenielalanien, 8-2-tiënielalanien en verskillende metiel-, chloro- en fluoro-fenielalanien ook as substrate vir die hidrok-silase optree. Die affiniteit van die ensiem vir hierdie substrate is laer en 'n substraat soos p-chloro-fenielalanien tree as 'n kompeterende inhibeerder van die reaksie op.

Die omsetting van fenielalanien na tirosien is baie kompleks en sluit die oordrag van 'n suurstofatoom en 'n waterstofatoom vanaf die kofaktor na die paraposisie van die fenoliese ring van fenielalanien in. Blykbaar is die enigste intermediër wat gevorm word 'n kwaternêre kompleks van die ensiem, kofaktor, suurstof en fenielalanien.

Oor die opeenvolging in die gebeure van die reaksie is daar nog onduidelikheid en twee moontlikhede is voorgestel (Scri-ver en Rosenberg, 1973), naamlik

1. 'n Geordende reaksie met opeenvolgende byvoeging en verwydering van die substraat en produkte, of
2. 'n Vinnige-ewewigs, onwillekeurige tipe reaksie waar 'n kwaternêrehouding tussen die drie substrate en die ensiem bestaan.

Twee vorme van die hidrok-silase kom in soogdierlewer voor. By 'n lae ensiemkonsentrasie kom 'n vorm voor wat minder effektiëf is in die koppeling van kofaktoroksidase met substraathidrok-silering. Die ander vorm word by 'n hoë konsentrasie van die ensiem gevind en word gekenmerk deur 'n hoë effektiwiteit in die koppeling van die komponente van die totale reaksie (Scriver en Rosenberg, 1973). Verder beïnvloed temperatuur hierdie koppeling en dit is dus duidelik dat assosiasie- of konformasietoestande van ensiemsubeenhede voorkom (die fisiese toestand van die ensiem verander).

Rotlewer fenielalanienhidrok-silase bestaan moontlik as twee isosieme wat nie in molekulêre massa, maar wel in lading, verskil. Die isosieme kan in drie vorme voorkom, naamlik 'n monomeer (molekulêre massa 55 000), dimeer (molekulêre massa 110 000) of tetrameer (molekulêre massa 210 000). Daar is aanduidings dat die isosieme ook moontlik in menslike lewer voorkom (Scriver en Rosenberg, 1973).

Gedurende die fetale ontwikkeling en ook perinataal (net voor en direk na geboorte) vind veranderinge in hepatiese fenielalanienhidrok-silase-aktiwiteit plaas. In die mens

kom aktiwiteit vanaf die 4de tot 6de maande van swangerskap voor. By geboorte is die aktiwiteit ekwivalent aan dié van die volwasse lewe (Scriver en Rosenberg, 1973).

Regulering van fenielalanienhidroksilase-aktiwiteit

'n Oormaat fenielalanien inhibeer die ensiem in die teenwoordigheid van sy natuurlik kofaktor. Moontlik vind dit plaas as gevolg van ensiemedissosiasie (Scriver en Rosenberg, 1973). Laer fenielalanienkonsentrasies stimuleer weer blykbaar die ensiem (Greengard en Delvalle, 1976).

Verder kom verskille in ensiemaktiwiteit tussen die verskillende geslagte voor. So besit volwasse manlike rotte byvoorbeeld ongeveer 25% meer spesifieke aktiwiteit in die lewer as wyfierotte. Hierdie geslagsafhanklike aktiwiteit is nog nie in die mens aangetoon nie, maar as 'n vergelyking gemaak word van die geslagsverhouding in die frekwensie waarmee hiperfenielalaninemie (HPA) in pasgebore babas voorkom, sou dit by die mens ook verwag kan word (Scriver en Rosenberg, 1973).

Epinefrien, norepinefrien, dopamien en 3,4-dihidroksiefenielalanien (DOPA) inhibeer fenielalanienhidroksilase (Miller en Shiman, 1976a). Hidrokortisoon en 'n nie-steroïed serumfaktor induseer weer die vorming van hierdie ensiem - veral by onvolwasse rotte (Greengard en Delvalle, 1976; Haggerty, et al, 1975; Miller en Shiman, 1976b).

Parachlorofenielalanien het ook 'n inhiberende effek op fenielalanienhidroksilase. Hierdie effek is nie deur middel van blokkering van die ensiemsintese nie, maar blykbaar word die proënsiemvorm van die ensiem beïnvloed. (Gesuiwerde fenielalanienhidroksilase word nie deur p-chlorofenielalanien geïnhibeer nie) (Miller, et al., 1976).

Versteurings in die fenielalanienhidroksilase-sisteem

Die toestand van fenielketonurie (PKU) ontstaan as gevolg van veranderinge in die fenielalanienhidroksilase-sisteem. Die mees algemene vorm van PKU word aangetref indien die ensiem fenielalanienhidroksilase onaktief is of baie min aktiwiteit besit. Gevalle van fenielketonurie met normale lewerfenielalanienhidroksilase-aktiwiteit is egter aangetoon (Bartholomé, 1974). Die verlies van die tetrahydrobiopterien- en dihidropteridienreduktase-aktiwiteit kom moontlik by sulke pasiënte voor (Smith, Clayton en Wolff, 1975).

'n PKU-geval waar geen dihidropteridienreduktase-aktiwiteit aangetoon kon word nie, is inderdaad gevind (Kaufman, et al, 1975). Aangesien hierdie ensiem ook essensieel is vir die hidroksilering van tirosien en triptofaan en hierdie ensiem ook in die brein en fibroblaste aangetref word, sal hierdie defek ook lei tot ander metaboliese abnormaleiteite bykomend tot dié van PKU. 'n Lae fenielalanien dieet sal

waarskynlik ook nie effektief in die behandeling van hierdie toestand wees nie, soos inderdaad gevind is (Bartholomé, 1974).

Taylor en Hochstein, (1975) asook Cotton (1977) lê daarop nadruk dat enige toestand (nie net 'n dihidropterienreduktase-tekort) wat 'n vermindering in hoeveelheid aktiewe tetrahydropterienkofaktor tot gevolg het, 'n toestand soortgelyk aan PKU sal veroorsaak. Sulke faktore is verhoogde mitochondriale oksidasie van die gereduseerde kofaktor of ook ander tot nog toe onbekende meganismes.

2.1.1.2 Transaminasie van tirosien

tirosien + α -ketoglutaarsuur $\rightleftharpoons$ p-hidroksiefenielpiruvaat (pHPPA) + glutamaat

transaminase

piridoksaal-
fosfaat.

Tirosientransaminase is spesifiek vir α -ketoglutaaraat, maar kataliseer ook die reaksie van α -ketoglutaaraat met fenielalanien, triptofaan en ander analoë verbindinge. Hierdie verbindinge kan dan ook die ensiem deur middel van kompeterende inhibisie inhibeer. Omdat hierdie reaksie omkeerbaar is, sal ophoping van die ketosuur lei tot sintese van tirosien. Piridoksaalfosfaat en piridoksaamienfosfaat tree op as koënsieme en ontvang, of skenk, aminogroepe tydens hierdie reaksies (Braunstein en Kritzmann, 1937). Twee vorme van hierdie ensiem, naamlik 'n oplosbare vorm in die sitosol en 'n ander vorm in die mitochondria, kom voor. Albei hierdie vorme word in die lewer, nier, brein, hart en spiere aangetref. Verskillende verbindinge kan hierdie twee vorme van die ensiem onafhanklik en tot 'n verskillende mate induseer: die substraat self, kortikosteroïede, insulien, glukagon, adrenalin, c-AMP en piridoksien (Scriver en Rosenberg, 1973).

Die fetale rotlewer bevat een-twaalfde tot een-vyftiende van die tirosientransaminase-aktiwiteit van die volwasse rotlewer. By geboorte is die aktiwiteit egter reeds dieselfde as dié van die volwasse rotlewer. (Woolf, 1963).

Indien hierdie ensiem in kleiner hoeveelhede of met 'n laer aktiwiteit voorkom, ontstaan die toestand van hipertirosinemie. (Scriver en Rosenberg, 1973).

Tirosien kan ook deur 'n ander ensiem (wat nie net spesifiek is vir tirosien nie) naamlik aspartaat: 2-oksoglutaaraataminotransferase (EC.2.6.1.1.), wat in die mitochondriale fraksie van baie weefsels gevind word, getransamineer word. Hierdie reaksie vind egter net plaas as die tirosienvlak in die weefsel baie hoog is. (Buist, et al, 1974).

2.1.1.3 p-hidroksiefenielpiruvaatoksidase/...

2.1.1.3 p-hidroksiefenielpiruvaatoksidas (p-hidroksilase)

[(p-hidroksiefenielpiruvaataskorbaat: O_2 -oksidoreduktase (hidroksilerings) EC 1.14.2.2]

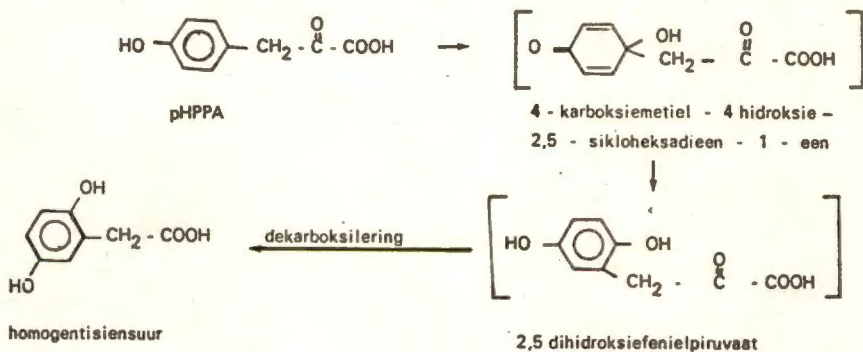
Hierdie ensiem kataliseer die omsetting van p-hidroksiefenielpiruvaat (pHPPA) na homogentisiensuur. Hidroksilering van pHPPA en migrering van die syketting vind gelyktydig plaas. Terselfdertyd vind ook dekarboksilering plaas. 'n Oormaat substraat inhibeer hierdie reaksie maar byvoeging van reduserende verbindings soos askorbiensuur-derivate, parakatesjol en diketone hef hierdie inhibisie op. (Greenberg, 1969). Omdat inhibisie nie dadelik plaasvind as 'n oormaat substraat bygevoeg word nie bestaan die vermoede dat pHPPA eers na 'n inhibeerder omgesit word. (Woelf, 1963).

Koper speel moontlik 'n rol in hierdie reaksie (dimetieldi-tiokarbamaat inhibeer die reaksie) (Greenberg, 1969).

Die volgende is 'n vereenvoudigde voorstelling van die moontlike verloop van die reaksie:

FIGUUR 2.4

'n Vereenvoudigde voorstelling vir die verloop van die reaksie waartydens p-hidroksiefenielpiruvaat gemetaboliseer word tot homogentisiensuur.



Veranderinge in die aktiwiteit van hierdie ensiem lei tot die toestande van neonatale tirosinemie en moontlik ook geërfde tirosinemie waar die ensiem moontlik (behalwe as gevolg van 'n aangebore metaboliese afwyking), minder aktief is as gevolg van sekondêre inhibisie. (Scriver en Rosenberg, 1973). Hierdie toestand staan ook bekend as tirosinose. (Medes, 1932)

2.1.1.4 Homogentisaatoksidasie (homogentisaatoksidoreduktase, EC 1.13.1.5)

Hierdie ensiem kataliseer die oksidasie van homogentisien-suur na die diketoondikarboksielsuur, 4-malielasetoasynsuur. Fe^{++} is 'n komponent van die ensiem en sulfhidriël-groepe vorm 'n belangrike deel van die ensiem. (Greenberg, 1969).

Blokkering van die metaboliese weg by hierdie ensiem lei tot die toestand van alkaptonurie. (La Du en Gjessing, 1972)

2.1.2 Anaboliese weë:

Sekondêre inhibisie van hierdie metaboliese weë word deur sommige fenielalanienmetaboliete veroorsaak.

Behalwe dat fenielalanien en tirosien betrokke is by die sintese van weefselproteïene, word tirosien ook gebruik vir die sintese van dopamien, die katesjolamiene (wat albei 'n belangrike rol in die sentrale senuweesisteem speel), melanien, koënsiem Q en tiroksien.

Die ensiem tirosienhidroksilase kataliseer die omsetting van tirosien na DOPA. Dit kom net in die simpatiese senuweesisteem en veral die brein voor. Hoë konsentrasies van fenielalanien inhibeer hierdie ensiem. Hierdie ensiem kan ook fenielalanien na tirosien metaboliseer en dit verklaar moontlik die klein hoeveelheid ^{14}C -tirosien wat vanaf ^{14}C -fenielalanien in PKU-pasiënte gevorm word. ('n Ander moontlikheid vir die gedeeltelike omsetting van fenielalanien na tirosien is deur middel van die transaminase van PHPPA) (Woolf, 1963).

2.2 Die voorkoms van versteuringe in die metabolisme van fenielalanien en tirosien

Die versteurings, wat reeds gevind is in die metabolisme van fenielalanien en tirosien en met 'n redelike frekwensie voorkom, asook die mees opvallende effek wat dit op 'n individu het, word in Tabel 2.1 saamgevat.

TABEL 2.1

Versteurings in die metabolisme van fenielalanien en tirosien en die kliniese beeld van die gepaardgaande toestande.

Aminosuur	Afwyking	Ensiemdefek	Kliniese beeld
Fenielalanien (a)	1. Klassieke fenielketonurie	Baie min fenielalanienhidroksilase-aktiwiteit	Verstandelike vertraging Fenielalanientoleransie 250 - 500 mg/dag
	2. Fenielketonurie (matige variant)	Onbekend	Verstandelike vertraging. Hoë toleransie vir fenielalanien (groter as 500 mg/dag)
	3. Fenielketonurie (tydelike variant)	Gedeeltelike fenielalanienhidroksilasetekort	Verstandelike vertraging. Fenielalanientoleransie kleiner as 500 mg/dag tot normaal.
	4. Hiperfenielalaninemie	Gedeeltelike fenielalanienhidroksilasetekort	Plasma fenielalanienkonsentrasie altyd kleiner as 1 mM Asimptomatiese ras.
	5. Neonatale hiperfenielalaninemie	Moontlike fenielalanienhidroksilasetekort	Veral by vroeggebore babas. Verdwyn later en kom baie keer saam met hipertirosinemie voor.
	6. Fenielketonurie	Dihidroksiepteridienreduktase	Verstandelike vertraging en ook ander eien-skappe wat by ander metaboliese afwykings voorkom.
Tirosien	1. Geërfde tirosinemie [Tirosien tipe I (b), tirosinose (c)]	Onbekend Sekondêre pHPA-hidroksilasetekort	Akute vorm: lewer ineenstorting. Chroniese vorm: nodulêre sirose, hepatome.
	2. Skynbare tirosinose	Sekondêre, tydelike pHPA-hidroksilasetekort	Soortgelyk aan dié van pasiënte met lewersiektes
	2.1 onbekende, tydelike lewersiekte		
	2.2 Permanente nie-oorerfbaare lewersiekte		

Aminosuur	Afwyking	Ensiemdefek	Kliniese beeld
	3. Hipertirosinemie (e) [Tirosinemie en tirosielurie sonder lewer- en nierafwykings (c); tirosinemie tipe II (b); Moontlik ook tirosinose (d)]	Hepatiëse sitosol tirosienaminotransferasetekort [pHPPA-hidroksilase-tekort (?)]	Verstandelike vertraging (bv die meeste pasiënte)
	4. Neonatale tirosinemie en tirosielurie (vroeggebore en soms ook ander babas)		Normaalweg blykbaar nie ernstig nie. Soms wel traagheid en 'n IK laer as die gemiddelde.
	5. Vitamien- C-tekort	Verminderde pHPPA-hidroksilase-aktiwiteit as gevolg van 'n gebrek aan 'n kofaktor	
	6. Alkaptonurie	Homogentisaatoksidasie	Homogentisiensuur in urien

(a) Behalwe dat dihidroksipteridien essensieel is vir die vorming van tirosien is dit onder andere ook nodig vir die sintese van norepinefrien, dopamin en serotonien in ander weefsels. (Kaufmann, et al., 1975)

(b) Buist, et al., 1974 (d) Medes, 1932

(c) Bakker, et al., 1976 (e) Scriver en Rosenberg, 1973

Dat persone met 'n hoë bloedfenielalanienkonsentrasie (hiperfenielalaninemie, HPA) fenotipes en genotipes 'n heterogene groep is, het geblyk uit die feit dat een uit elke 500 pasgebore babas in siftingsprogramme 'n bloedfenielalanienkonsentrasie het wat groter as 4 mg% is (Castells en Brandt, 1968). Aangesien daar uit verdere ondersoekes geblyk het dat hierdie frekwensie veels te hoog is, is die verskillende hiperfenielalaninemieklasse (soos in Tabel 2.1 uiteengesit) onderskei. Die PKU-klasse wat lei tot verstandelike vertraging maak ongeveer 1% van die populasie van inrigtings vir verstandelike vertraagdes uit. (PKU is die aangebore metaboolse afwyking wat tot die grootste mate tot verstandelike vertraging lei). Die persentasie wissel tot dusver van 0% in Frans-Kanada tot 2,7% in Engeland (Knox, 1972). Die geenfrekwensie vir 'n aantal ander lande is die volgende: VSA: 0,0074; Ierland: 0,0141; Negroïede rasse in Afrika: 0,0036; Skotland: 0,0123; Kanada 0,100 (Brady, 1976; Wagener en Cavalli-Sforza, 1975).

Tydens/....

Tydens sifting is ook gevind dat die verhouding van voorkoms van PKU van babaseuntjies tot -dogtertjies groter as een is. Die verskil in die metabolisme van fenielalanien by die twee geslagte is blykbaar van tydelike aard, aangesien die meeste mans later 'n normale bloedfenielalanienwaarde toon.

2.3 Sifting vir aangebore metaboliese afwykings:

2.3.1 Voorbeelde van siftingsprogramme:

In heelwat Westerse lande is reeds siftingsprogramme met die oog op identifisering van aangebore metaboliese afwykings uitgevoer. Ter illustrasie van die resultate van sodanige programme kan die volgende paar voorbeelde voorgelê word (ons let hier net op resultate wat betrekking het op PKU en algemene aminosuururie):

1. In Kanada is in 1960 'n program na die voorkoms van PKU onder pasgebore babas onder leiding van M.W. Partington (Partington en Anderson, 1964) uitgevoer. Die resultate kom kortliks op die volgende neer: 4 334 babas is ondersoek. Die eerste toets (FeCl_3 en Phenistix op die urien van babas) is tussen 4 tot 6 weke na geboorte gedoen. Positiewe gevalle (26% van die babas wat een maal getoets is) is onderwerp aan 'n tweede toets (op 'n ouderdom van 1 tot 4 maande). Op 9% van die babas is 'n derde toets op 'n ouderdom van 3 tot 5 maande uitgevoer. In hierdie ondersoek is 3 bevestigde en 2 moontlike gevalle van PKU gevind. Dit impliseer 'n frekwensie van 1 in 1 100 tot 1 in 1 900 of 'n voorkoms van 0,1%.
2. 'n Ondersoek na die voorkoms van aangebore metaboliese afwykings in inrigtings vir verstandelike vertraagdes is in Ierland onder leiding van P.T. Moore geloods. (Moore, Martin en Coffey, 1972). In Tabel 2.2 is 'n uittreksel van sekere van die resultate wat tydens die ondersoek gevind is asook 'n vergelyking met resultate van 'n ondersoek wat vroeër in Belfast gedoen is.

TABEL 2.2

Resultate wat tydens 'n ondersoek na aangebore metaboliese afwykings onder verstandelike vertraagde persone in Dublin en Belfast gevind is.

	Eelfast		Dublin	
	Aantal	Persentasie	Aantal	Persentasie
Totale aantal ondersoek	2 920	.	3 324	
PKU	69	2,3	69	2,0
Matige algemene aminosuururie	38	1,3	24	0,7
Ander aminosuururie's	Nie neergeskryf nie		10	0,3

Geen gevalle van omvattende algemene aminosuururie is aangetref nie.

Hulle het gevind dat aminosuururie's (alle afwykings in aminosuurmetabolisme) in ongeveer 6% van die verstandelike vertraagde populasie wat ondersoek is, voorkom. In die normale individue wat as kontrole gedien het (kinders in kindershuise) is geen aminosuururie's gevind nie.

3. In Noorweë is die frekwensie van PKU onder pasgebore babas, sowel as in alle institusies waar sulke gevalle moontlik kan voorkom, bepaal (Saugstad, 1975). Die gegewens wat verkry is, is vergelyk met gegewens van vorige ondersoeke in Noorweë. Daar is toe gevind dat die frekwensie van PKU afgeneem het van $0,14 \pm 0,15$ per 1 000 lewende geboortes in 1918, tot $0,08 \pm 0,08$ per 1 000 in 1941, tot $0,06 \pm 0,06$ per 1 000 lewende geboortes in 1972.
4. Knox (Knox, 1972) verwys na 'n ondersoek wat deur Cahalane op pasgebore babas in Ierland gedoen is. Een in 1 000 pasgebore babas het 'n fenielalanienvlak groter as 4 mg% binne die eerste week na geboorte gehad. Met 'n her-toetsing het 71% van hierdie kinders se bloedfenielalanienwaardes na normaal teruggekeer. 6,5% van die babas wat ook 'n verhoogde tirosienvlak gehad het, se waardes het na normaal teruggekeer. Veertien kinders (22,5%) se bloedfenielalanienkonsentrasie het bo 10 mg% en 3 se vlak bo 20 mg% gebly.

Uit die gegewens blyk dat die frekwensie van die homosigoot vir 'n bepaalde aangebore metaboliese afwyking baie laag in die bevolking is (dit wissel vir die verskillende aangebore metaboliese afwykings). Hierdie frekwensie wissel ook tussen geografiese en etniese groepe. Oor die algemeen sal sifting dus nie gedoen word omdat aangebore metaboliese afwykings nie in sulke groot getalle voorkom nie, maar eerder as gevolg van die konsekwensies wat dit vir die individu inhou.

Omvattende/....

'n Omvattende sifting vir aangebore metaboliese afwykings (AMA) in inrigtings vir verstandelike vertraagde persone is nog nie in Suid-Afrika gedoen nie. Sedert 1975 is egter 'n begin met so 'n sistematiese ondersoek gemaak. By die instelling van die program is 'n wye verskeidenheid aspekte in ag geneem. (Seminaar, 1975). (Die belang van hierdie aspekte kom na vore in die studie wat deur Starfield (Starfield en Holtzman, 1975) gedoen is en waarin die effektiwiteit van die siftingsprogramme in die V.S.A., Verenigde Koninkryk en Ierland bepaal is).

2.3.2 Die algemene eise vir 'n siftingsprogram:

Hierdie aangeleentheid word volledig behandel in Nitowsky, (1976) Holland, (1974) en Watts (1977). Enkele aspekte waarop die outeurs klem lê is ook as riglyne in hierdie ondersoek gebruik, naamlik:

1. Die belangrikste eis is dat die doel van die sifting presies gedefinieer moet word. Die mediese betekenis daarvan, die groepe getoets, die toetse wat gebruik word, die stadia van uitkenning, die metodes wat gebruik gaan word vir die bevestiging van die diagnose, terapie en opvolgbehandeling moet baie duidelik uiteengesit word. Dit is byvoorbeeld belangrik om daarop te let dat die doel van die siftingsprogram vir AMA wat vir pasgebore babas ingestel word, verskil van dié wat vir verstandelike vertraagde persone ingestel word.
2. Nog 'n belangrike eis is dat soveel as moontlik van die verloop van 'n bepaalde AMA bekend moet wees. Dit is byvoorbeeld van weinig waarde as 'n siftingsprogram van PKU ingestel word, maar dit nie bekend is dat opvolgbehandeling binne enkele weke na geboorte 'n aanvang moet neem nie. Aan die anderkant moet dit in gedagte gehou word dat die verloop van 'n bepaalde AMA juis bekend word as gevolg van sifting.
3. Die sifting moet beslis onderskei tussen persone wat die afwyking het en dié wat dit nie het nie. (vals - positiewe).
4. Indien vir ophoping van 'n bepaalde substraat getoets word (omdat ensiemaktiwiteit dalk nie direk bepaal kan word nie), moet die effek van voeding, renale funksie, farmaka en ander faktore wat by 'n bepaalde siftingstoets 'n rol speel, in aanmerking geneem word.
5. Die toestand moet 'n betekenisvolle gesondheidsprobleem wees. PKU het byvoorbeeld sulke radiokale konsekwensies soos verstandelike vertraging vir 'n individu. Ander AMA's het nie sulke radi-

kale konsekwensies nie, maar kom weer redelik algemeen in die bevolking voor.

6. Die toestand moet behandel kan word. Sifting vir 'n bepaalde AMA moet op so 'n stadium plaasvind waar behandeling nog die gevolge daarvan kan omkeer. Die ouderdom waarop sifting moet plaasvind moet dus gespesifiseer word. Wat egter belangrik is, is dat by die sifting van die pasiënte van inrigtings vir verstandelike vertraagdes, behandeling van die persone met AMA selde moontlik is. Dit is dan ook nie die primêre doel van so 'n program nie. Genetiese raadgewing aan ouers en ook die wetenskaplike ondersoek van die AMA's is hier van groter belang.
7. Genoegsame fasiliteite moet beskikbaar wees.
8. Die siftingstoets moet aanvaarbaar wees - dus sensitief, spesifiek en verder moet dit eenvoudig en maklik uitvoerbaar op klein, maklikversamelbare, stabiele toetsmonsters wees. Vals negatiewe resultate moet tot die absolute minimum beperk word, terwyl vals positiewe resultate ook so min as moontlik moet voorkom, alhoewel dit verkiesliker is bo vals negatiewe resultate.

Die toets moet ook vir die persoon waarop dit gedoen word, aanvaarbaar wees. So moet die versameling van die toetsmateriaal byvoorbeeld nie die persoon skaad nie.

9. Dit moet ekonomies geregverdig wees.

2.3.3 Materiaal vir analise

2.3.3.1 Uitgangspunt

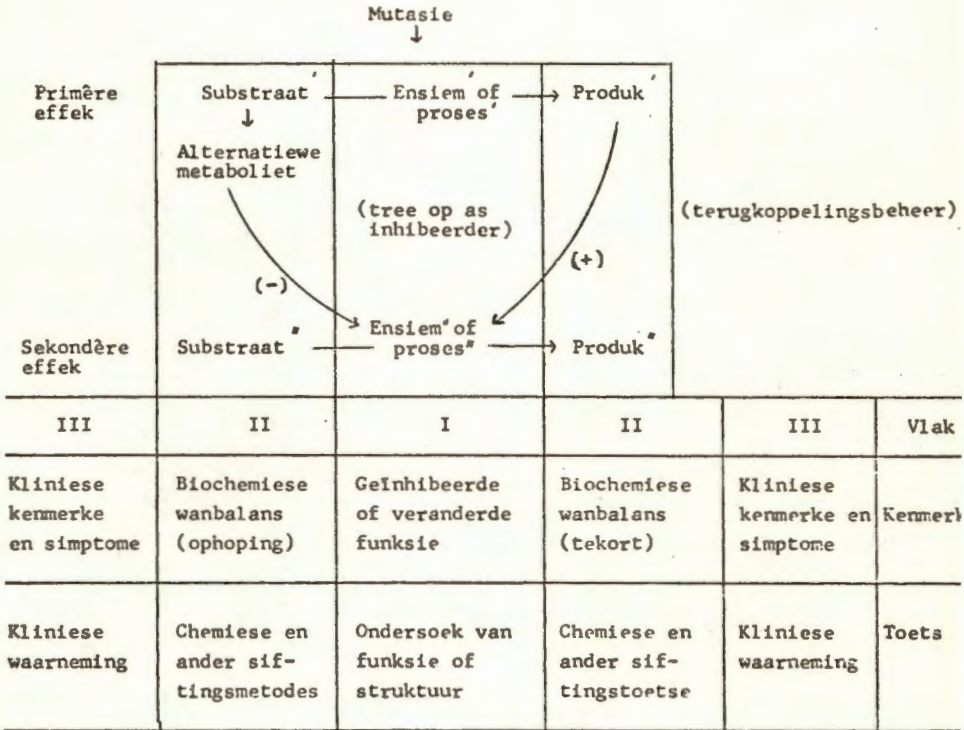
Sifting vir AMA's in aminosuurmetabolisme kan teoreties op vier primêre vlakke plaasvind:

1. die genetiese materiaal waar die mutasie plaasgevind het,
2. die geenprodukt wat gemodifiseer is deur die mutasie,
3. die sellulêre funksie of metaboliese ewewig wat beheer word deur die geenprodukt en
4. die siektetoestand (kliniese beeld) wat veroorsaak word deur die versteuring van sellulêre funksie.

Figuur 2.5 is 'n skematiese voorstelling van die effek wat 'n mutasie op verskillende fenotipiese vlakke kan hê.

FIGUUR 2.5

'n Skematiese voorstelling van die effek van 'n mutasie op verskillende fenotipiese vlakke. (Scriver en Rosenberg, 1973).



2.3.3.2 Ondersoek van die genetiese materiaal

Sifting op die eerste vlak (vir 'n verandering in DNA-struktuur) is nog nie prakties uitvoerbaar nie. Selfs as sodanige veranderinge met behulp van geenkaartering gevind kan word, sal (as die eise van 'n siftingsprogram in gedagte gehou word) sifting op daardie vlak

moontlik/....

moontlik steeds nie geregverdig wees nie.

2.3.3.3 Sifting op die vlak van die geenprodukt:

Die geenprodukt wat beïnvloed word, kan 'n verskeidenheid proteïene (waaronder ensieme) wees. Die primêre struktuur van die ensiem, of die hoeveelheid molekules wat gevorm word, kan verander. Laasgenoemde kan gebeur as daar 'n verandering in 'n reguleerdergeen is of as die omset van die ensiem deur die veranderde struktuur van die ensiem beïnvloed word. 'n Ander moontlikheid is dat 'n verandering as gevolg van 'n mutasie in een van die subeenhede van 'n multi-ensiemkompleks die hoeveelheid van die finale intakte ensiem kan beïnvloed.

Vir siftingstoetse word die liggaamsvloeistowwe soos die urien (urien word beskou as 'n "biologiese versterker" en is veral by die aminosuurpatieë baie geskik as siftingsmateriaal), bloed, amnioniese vloeistof, spinale vloeistof, moedersmelk en koordplasma normaalweg ondersoek.

Die ensiem se werking word bepaal as hierdie ensiem in die selle van die bloed of amnionvloeistof voorkom. Metodes vir die direkte vasstelling van ensiem-aktiwiteit in eritrosiete, leukosiete en plasma word ondersoek. Indien 'n bepaalde ensiem egter net in die lewer of nier voorkom, is 'n biopsie nodig. 'n Naaldbiopsie kan gedoen word, maar dit is nie vir massasifting geregverdig nie. Aangesien die genoom van byvoorbeeld fibroblaste ook die genetiese materiaal vir die sintese van byvoorbeeld lewerensiem bevat, is 'n ander moontlikheid om spesifieke dele in die fibroblastgenoom tot uitdrukking te laat kom om sodoende ensiemaktiwiteit te bepaal. (Dit is reeds moontlik om albumien onder sekere toestande in gekweekte fibroblaste te vorm). (Nyhan, 1974).

2.3.3.4 Sifting vir metaboliese wanbalans (chemiese fenotipe)

'n Aantal fisiologiese faktore kan bepaal hoe hierdie siftingstoetse toegepas moet word: aminosure wat byvoorbeeld baie doeltreffend deur die renale buise herabsorbeer word, kan 'n groot kwantitatiewe verandering in die plasma tot gevolg hê terwyl relatief klein veranderinge terselfdertyd in hulle urinêre konsentrasie plaasvind (hoë drempel of prerendale aminosuurpatieë). 'n Ander moontlikheid is dat die aminosure maklik uit die plasma verwyder word deur die niere en groot konsentrasieveranderinge word dan in hulle urinêre ekskresie waargeneem, terwyl die plasmakonsentrasie van die betrokke aminosure relatief klein veranderinge

ondergaan (lae drempel of renale aminosuurpatieë
Om vir afwykings in membraantransport van aminosure
te toets, kan die urine dus ondersoek word.

2.3.3.5 Vlak van die kliniese fenotipe:

Aangesien sifting juis siektetoestande wil voorkom,
is sifting op hierdie vlak nie aanbevelenswaardig
nie. Ongelukkig is dit ook so dat baie van die as-
pekte van die kliniese beeld onomkeerbaar is (by-
voorbeeld verstandelike vertraging by PKU). Soms
kan 'n pasiënt egter nog gehelp word en by sifting
van inrigtings kan die inligting wat verkry word
tot voordeel van ander persone aangewend word.

Indien die vermoede bestaan dat 'n persoon 'n AMA be-
sit, moet die volgende kliniese ondersoek gedoen
word:

1. Die geskiedenis van die pasiënt moet ondersoek
word. Dit sluit kennis van die volgende by-
draende faktore in: toksiene, farmaka en voe-
ding en meer besonderhede in verband met die
familie (moontlike bloedverwantskap van die ouers,
gesondheid van die ander lede van die familie,
verloop van die swangerskap en geboorte).
2. Kliniese kenmerke van die pasiënt: reuke (PKU-
pasiënte se urien het 'n muisagtige reuk), kris-
talle in die urien, urienkleur, verstandelike
vertraging, ernstige vomering tydens die kin-
derdae, spasma, haar- en velkleur en ander ken-
merke.

2.4 Samevattende opmerkings en doelstelling

By die instelling van die siftingsprogram vir aange-
bore afwykings in die metabolisme van fenielalanien en
tirosien is die volgende faktore na aanleiding van die
bespreking in 2.1 - 2.3 in ag geneem.

1. Afwykings in die metabolisme van fenielalanien lei
so te sê altyd tot verstandelike vertraging. Die
voorkoms daarvan wissel van plek tot plek, maar
oor die algemeen besit 1% van die inwoners van in-
stitute vir verstandelik-vertraagde persone hier-
die afwyking.
2. Afwykings in die metabolisme van tirosien lei sel-
de tot verstandelike vertraging. In ander sif-
tingsprogramme kom 'n geassosieerde tirosielurie
met 'n matige algemene aminosuururie in tot 1,3%
van verstandelike vertraagde persone egter voor.

3. By die instelling van hierdie program moet die eise van sifting deeglik bestudeer en in ag geneem word. Die feit dat die persone wat ondersoek word reeds verstandelik vertraag is, speel 'n belangrike rol in die uiteensetting van die program.

Die hoofdoelstelling van hierdie ondersoek behels die volgende:

1. die sistematisering van 'n geskikte siftingsprogram vir die voorkoms van afwykings in die metabolisme van fenielalanien en tirosien by verstandelike vertraagdes, en
2. die eerste vaststelling van die omvang van hierdie afwykings in 'n plaaslike inrigting vir verstandelike vertraagdes.

HOOFSTUK 3

FENIELKETONURIE (PKU)

3.1 Algemene oorsig oor fenielketonurie

3.1.1 Inleiding

Hierdie AMA (ook bekend as Fölling se siekte, of piruvienoligofrenie) is vir die eerste keer in 1934 deur 'n Noorweegse medikus en biochemikus, Fölling, beskryf (Centerwall en Centerwall, 1961). In 1953 het Jervis aangetoon dat die afwyking voorkom, omdat die ensiem fenielalanienhidroksilase van die lewer onaktief is. Of hierdie ensiem wel gesintetiseer word, maar net in 'n veranderde vorm wat 'n swak affiniteit vir die substraat en/of die kofaktor het, is nog nie duidelik nie. In sommige gevalle is 'n lae aktiwiteit wel in PKU gevind (Bartholomé, Lutz en Bicker, 1975).

Soos meeste afwykings in aminosuurmetabolisme, word PKU ook outosomaal resessief oorgedra. Albei ouers van 'n homosigotiese PKU-kind moet dus een abnormale geen vir fenielalanienhidroksilase besit. Die heterosigotiese ouers het elk 'n verlaagde fenielalanienhidroksilase-aktiwiteit, maar blykbaar het dit geen ernstige gevolge vir die persoon nie (Knox, 1972). Een uit elke vier kinders (25%) van twee heterosigotiese ouers is gewoonlik homosigoties vir PKU. Die gekorrigeerde persentasie met standaardfoute wat ook die ongetelde families met net normale kinders in berekening bring, is 27,37 - 2,57 (Knox, 1972).

Genetiese rekombinasie-studies met chromosome het getoon dat 'n verbinding moontlik tussen die PKU-geen en ABO-(bloedgroep) en moontlik ook die eritrosietfosfoglukomutase-1-sisteem (PGM) bestaan. (Berg en Saugstad, 1974).

Die verskillende HPA-variante kan as gevolg van defekte in die ensiemmolekules by individue wees, wat weer deur verskillende allele by dieselfde lokus veroorsaak kan word. Woolf (Woolf, 1963) stel ten minste vier allele by die lokus van fenielalanienhidroksilase in die mens voor:

1. die wilde tipe,
2. 'n geen vir PKU,
3. 'n geen vir HPA en
4. 'n geen vir matige PKU. (Hsia, 1970)

3.1.2 Metaboliese versteurings tydens PKU:

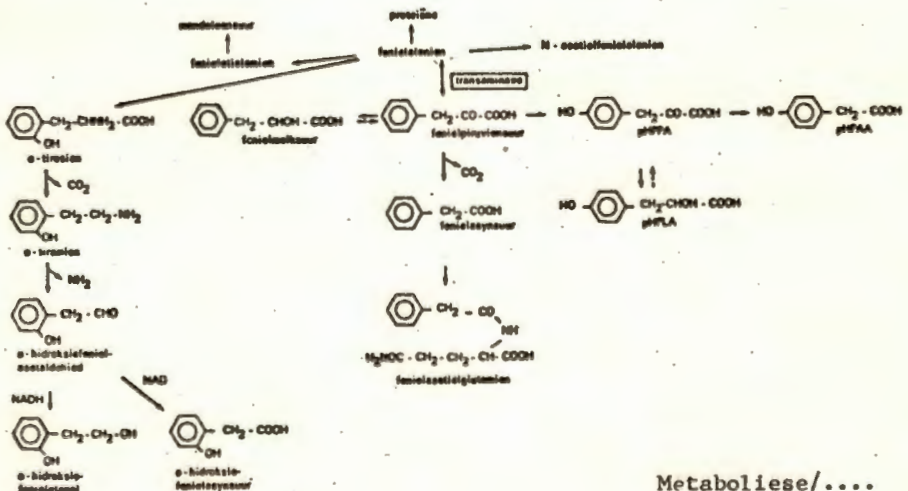
Die biochemiese beeld van metaboliëte, wat in die liggaamsvloeistowwe van PKU-pasiënte aangetref word, is

relatief kompleks. 'n Bloedfenielalanienkonsentrasie wat tien- tot vyftien keer hoër as normaal is, is een van die eerste opvallende aspekte. Die tirosienkonsentrasie is normaal of effens laer as normaal (1 - 4mg%). In die urien en ander liggaamsvloeistowwe van onbehandelde PKU-pasiënte, kan verder die volgende intermediere metaboliete in groot hoeveelhede aangetref word: fenilpiruvaat, orto-hidroksiefenielasynsuur (o-HPAA) (normale konsentrasie 1 - 2 mg/dag en 100 - 400 mg/dag in PKU), fenielmelksuur, fenielasynsuur, p-hidroksiefeniel-piruvien-, -asyn-, -melksuur, (pHPA, pHPAA, pHPLA), o-tirasiën, fenieletielamien en fenielasetielglutamien (tien maal hoër as normaal). (Wadman, Ketting, De Bree, Van der Heiden, Grimberg en Kruijswijk, 1975).

Die metabolisme weë wat gevolg word om 'n paar van hierdie metaboliete te vorm, word in Figuur 3.1 weer-gegee. Die hoë konsentrasies van hierdie intermediere metaboliete ontstaan omdat alternatiewe metabolisme weë wat normaalweg nie van primêre belang is nie, nou tot 'n groot mate dwingend benut moet word. Hierdie metaboliete is meestal nie abnormale metaboliete nie, maar normale metaboliete wat nou in abnormale hoeveelhede voorkom.

Indole (soos indoolmelk-, -asyn- en -piruvien-suur), indikan en bensoësuur (wat nie in Figuur 3.1 aangedui word nie) word moontlik deur die spysverteringskanaalbakterië uit die nie-geabsorbeerde aminosure soos fenielalanien, tirosien en triptofaan, gevorm. (Woolf, 1963; Wadman, Van der Heiden, Ketting en Van Sprang, 1971).

FIGUUR 3.1 Metaboliese weë wat gevolg word tydens die toestand van PKU



Metaboliese/....

Geen fenielpiruvaat word in die urien uitgeskei as die fenielalanienplasmavlak kleiner as 10 - 15 mg% (normaalweg kleiner as 1,65 mg%) is nie, O-hidroksie-asynsuur word eers uitgeskei as die plasmafenielalanienvlak groter as 8 - 11 mg% is (Anderson, Fisch, Miller en Doeden, 1966). Hierdie uitskeiding vind plaas omdat die renale herabsorpsie van die betrokke verbinding in die nierbuis oorskrei word (Scriver, 1962). In die bloed is die fenielalanienkonsentrasie hoër as dié van fenielpiruvaat, terwyl die omgekeerde in die urien gesien word. Dit gebeur omdat die ketosuur blykbaar minder effektief in die nierbuis geherabsorbeer word. (Kretchmer en Etzwiler, 1958).

3.1.3 Enkele nuwe-effekte van die abnormale metaboliet-konsentrasies geassosieer met PKU:

Vir onbehandelde PKU-pasiënte is die volgende opgemerk: "...the chemical milieu is so distorted from its normal homeostatic balance that normal function of cells could not be maintained" (Knox en Hsia, 1957). Hierdie chemiese wanbalans is waarskynlik die gevolg wat die hoë fenielalanien - en ander metabolietkonsentrasie op 'n aantal sisteme waaronder transport- en ensiemisteme in die liggaam het. "...in the presence of unusually high tissue concentration of normal intermediary metabolites, a large number of enzymatic systems must operate at less than optimum rate". (Menkes, 1976). Sekere metaboliete soos fenielelalanien het ook 'n toksiese effek op die sentrale sensuïesisteme.

Al hierdie metaboliese versteurings kom tot uitdrukking in die kliniese beeld van die onbehandelde PKU-pasiënt. Al die kenmerke van die siektetoestand kom egter nie tot dieselfde mate by al die pasiënte voor nie (individuele variasie). 'n Tipiese beeld word egter tog aangetref. Knox en Gjessing (1972) gee 'n breedvoerige beskrywing van hierdie beeld.

3.1.4 Behandeling

Die PKU-baba is blykbaar normaal by geboorte, aangesien die fenielalanienhidroksilase-sisteme tydens die fetale toestand onaktief is en die moeder die fetale bloedfenielalanienkonsentrasie in utero reguleer.

Indien daar onmiddellik na geboorte met behandeling begin word, kan die effekte wat PKU op 'n persoon het, tot 'n groot mate uitgeskakel word. Slegs die onkeerbare effekte soos ekseem, haarpigmentering en geïrriteerdheid kan egter herstel word as daar met behandeling na tweejarige ouderdom begin word.

Die mees effektiewe behandeling bestaan tans uit die

toediening van 'n lae fenielalaniëndieet. Voorbeelde van sulke diëte wat kommersieel beskikbaar is, is Lofenalac, Albumaid-XP, Aminogram en Cimogram. Die oogmerk van die behandeling met hierdie dieet, is om die bloedfenielalanienkonsentrasie van die pasiënt op so 'n vlak te hou, dat in sy voedingsbehoefte voorsien word, sonder om sy beperkte vermoë om dit te gebruik, te oorskry. (Hsia, et al., 1958; Kang et al., 1970 en Berry et al., 1976).

Lines en Waisman (1973) ondersoek tans die moontlikheid om β -2-tiëfenielalanien aan pasiënte toe te dien. Hierdie verbinding verminder die intestinale absorpsie van fenielalanien deur middel van kompeterende inhibisie.

3.1.5 Eksperimentele PKU:

Soos uit die vorige gedeeltes gesien, lei die primêre metaboliese defek en die gepaardgaande newe-effekte tot 'n bepaalde tipiese kliniese beeld by PKU-pasiënte. Die mees opvallende kenmerk is die verstandelike vertraging. Om die presiese verband tussen die metaboliese en kognitiewe defek te ondersoek, en omdat eksperimente nie altyd sondermeer op mense uitgevoer kan word nie, is begin om die toestand van PKU in diere na te boots. Dit is egter belangrik om daarop te let dat die eksperimente slegs modelle van die menslike toestand is. Dit is ook slegs 'n hulp in die ondersoek. Die navorsers op hierdie gebied lê ook klem op hierdie feit

Met behulp van die volgende tipes eksperimente word probeer om hierdie toestand na te boots:

3.1.5.1 Genetiese defek:

In geen van die eksperimente wat tot dusver gedoen is, is die genetiese defek van PKU nagemaak nie. Soos Waisman (Waisman, 1976) dit uitdruklik stel: "...at no time in any of these experiments, or even now, am I claiming that we are reproducing any of the genetic relationships or reproducing the genetic situation". Aanvanklik is gedink dat sekere tipes homosigotiese muise 'n genetiese defek het wat soortgelyk is aan dié in PKU. Alhoewel oppervlakkige ooreenkomste in die twee toestande voorkom, (byvoorbeeld verminderde pigmentering, spasma, en ander kenmerke) is die biochemiese defek nie dieselfde nie (Seller, 1972).

3.1.5.2 Toediening van hoë konsentrasies van fenielalanien

In aanvanklike eksperimente wat met rotte en ander proefdiere gedoen is, is die diere met 'n oormaat fenielalanien gevoer (Knox, 1972). Hierdie modelle het egter baie gebreke:

1. die diere, veral rotte, wat 'n hoë fenielalanienhidroksilase-aktiwiteit per eenheidsmassa van lewer besit, kon hierdie ladings verwerk. Die plasmatirosiënvlak en plasma-tirosiëmetabolietvlak styg dan ook - in teenstelling met die geval by PKU-pasiënte. (Antonas en Coulson, 1975).
2. Verder is die brein van gespeende rotte reeds ontwikkel en die breinbeskadiging wat wel plaasvind is nie so ernstig soos by PKU nie (Polidora, 1967; Delvalle, en Greengard, 1976). Om beter resultate te verkry moet die oormaat fenielalanien prenataal of neonataal toegedien word.

3.1.5.3 Inhibering van die fenielalanienhidroksilase-sisteem

Om 'n beter biochemiese model van PKU te kry, is begin om 'n inhibeerder van hierdie sisteem saam met 'n oormaat fenielalanien oor 'n lang tydperk onderhuids in rotte in te spuit. Die gebreke wat in 3.1.5.2 genoem is, word sodoende oorkom. (Knox, 1972; Antonas en Coulson, 1975; Antonas en Coulson, 1976; Avins, Guroff en Kuwabara, 1975; Clark en Lowden 1969; Gimenez, et al., 1977.) So 'n inhibeerder is p-chlorofenielalanien (PCPA) wat in 'n konsentrasie van 0,12% saam met 'n 3% oormaat fenielalanien toegedien word. PCPA lei egter blykbaar net tot 5 - 15% inhibering van die sisteem. Murthy (Murthy, 1975) het toe gevind dat toediening van α -metiëltirosien (wat die sisteem 95 - 98% inhibeer) saam met die behandeling met fenielalanien (PCPA + oormaat fenielalanien), 'n meer effektiewe model van PKU daarstel.

'n Ander inhibeerder van hierdie sisteem is eskulien (6,7-dihidroksiekoumarien-6-glukosied) wat met die natuurlike kofaktor naamlik tetrahydropteridien kompeteer. Indien hierdie inhibeerder saam met PCPA gebruik word, word 'n goeie model verkry (Valdivieso, et al, 1975).

In sodanige studies is die gebruik van ape meer doeltreffend as die gebruik van ander diere, omdat die spesifieke fenielalanienhidroksilase-aktiwiteit van ape baie ooreenkom met dié van die mens (Woolf, 1963).

Met behulp van veral die ensiem-inhibering studie is die volgende verkry:

1. 'n Gehandhaafde verhoogde bloedfenielalanien- en normale of effens verlaagde tirosiënvlak. Die fenielalanien-tirosiënlasmavlak-verhouding (ook na 'n fenielalanien-toleransietoets) kom baie ooreen met dié wat by PKU-pasiënte gevind is (Delvalle en Greengard, 1976; Antonas en Coulson, 1975; Antonas en Coulson, 1976; Berry, Butcher, Kazmaier en Poncet, 1975).

2. Die kenmerkende PKU-urinêre metaboliet (ook fenielalanien)- konsentrasies is gevind. In die urien van "PKU-ape" is byvoorbeeld 'n verhoogde fenielalanien-, fenielpiruvaat-, o-hidroksiefenielasetaat-, p-hidrok-siefenielasetaat-, indoollaktaat- en fenielasietil-glutamien-konsentrasie gevind (Waisman, 1967). Berry, et al. (1975) vind ook die volgende in rotte: 'n verhoogde fenielpiruvaat-, o-hidroksiefenielasynsuur- en verlaagde essensiële aminosuur-konsentrasie (veral leusien, valien en metionien) in die bloed. Die bloed-fenielalanien-konsentrasie is hoër as 20 mg%. In hierdie proefdiere is hierdie stowwe egter in kleiner oormaat teenwoordig as by menslike PKU (as gevolg van die gedeeltelike blokkering van die ensiemsisteem in die eksperimentele diere).
3. In die eksperimentele diere is veranderinge in breinlipiede (Clarke en Lowden, 1969), serotonienvorming (Yuwiler en Geller, 1969; Hole, 1972), stadiger groei, leerdefekte soos dit onder andere tot uiting kom in 'n verminderde redeneer- en onderskeidingsvermoë (Koch, et al., 1974; Delvalle en Greengard, 1976; Airaksinen, et al., 1975), gedragsprobleme (Delvalle en Greengard, 1976), hiperaktiwiteit (Avins, et al., 1975), aggressiwiteit, beangstheid en teruggetrokkendheid (Chamove, et al., 1970; Chamove en Harlow, 1973; Chamove, et al., 1973) om maar net 'n paar kenmerke te noem, gevind.

3.1.5.4 Metaboliëse studies in selle in vitro

Bradley en Mahler (1975) het die effek van 'n verhoogde fenielalanien- en ander metabolietkonsentrasie op verdelende selle (soos leukosiete en limfosiete) nagegaan. Sodoende is probeer om 'n model van die effek van die versteurde biochemiese milieu op groeiende selle (soos die vinniggroeiende selle van die brein van die pasgebore baba) na te maak. Met behulp van hierdie studies het hulle byvoorbeeld gevind dat van hierdie metaboliëte 'n groot aantal metaboliëse veranderinge in die sel teweegbring.

3.1.5.5 Standpunt

Alhoewel in al hierdie studies wat uitgevoer word, nêrens 'n enkele verteenwoordigende model van PKU gevind word nie, kom verskillende aspekte van die toestand in die verskillende ondersoeke na vore. Hierdie studies is veral van waarde in die ondersoek van die patologiëse verloop van die siekte. Om egter 'n totale beeld van die siekte te kry, moet pasiënte by wie hierdie afwyking voorkom, en wat geen behandeling ontvang het nie, ondersoek word. Sulke pasiënte (veral dié wat PKU het) kom gewoonlik in inrigtings vir verstandelike vertraagde persone voor. Deur ook hierdie feit in gedagte te hou, is met die sifting by die Witrand-

inrigting begin.

3.2 Die sifting vir PKU in die Witrandinrigting

3.2.1 Inleiding

In die algemeen word die siftingseksperimente geplan op grond van die abnormale metaboliet-konsentrasies in die liggaamsvloeistowwe van die betrokke pasiënte. Hiervoor word die urine (in teenstelling met die bloed by die sifting van pasgebore babas) veral as analisemateriaal gebruik, aangesien die metaboliete gewoonlik in abnormaal hoë konsentrasies in die urine voorkom. Hierdie gegewe is ook benut by die sifting vir afwykings in fenielalanienmetabolisme en ook ander aangebore metaboliese afwykings by die Witrandinrigting.

3.2.2 Siftingsmetodes vir PKU:

Om die urinêre konsentrasie van fenielalanien, fenielpiruvaat en fenielmelksuur (die belangrikste metaboliete van fenielalanien) te bepaal kan die fluorimetriese metode, FeCl_3 -toets of Phenistix gebruik word. 'n Ander tegniek, wat ook algemeen gebruik word, is die agardiffusiemikrobiese-metode van Guthrie (Guthrie, 1963). Melding kan hier gemaak word van 'n nuwe, eenvoudige, sensitiewe ensimatiese metode vir die gelyktydige bepaling van die plasma-fenielalanien-en-tirosien-vlakke. (Shen en Abell, 1977). Phenistix en die FeCl_3 -toets is in hierdie ondersoek gebruik omdat hierdie toetse baie goed toepasbaar vir sifting op urienmonsters is.

Phenistix is 'n kommersiële preparaat en bestaan uit 'n strokie met Ferri-ammoniumsulfaat, 'n buffer (sikloheksielsulfanielsuur) en 'n Mg^{++} -sout. Die buffer het 'n pH van 2,3 wat die optimum pH vir die kleurontwikkeling is. Die prosedure is maklik uitvoerbaar aangesien die strokie net in die urine gedompel word en na die kleurontwikkeling gelet word. Phenistix word nie in 'n te hoë mate deur verskillende farmaka beïnvloed nie, uitgesonderd para-aminosalisilate.

Die FeCl_3 -toets is 'n kwalitatiewe toets vir aromatiese hidroksiëlgroepe. Die kleurontwikkeling wat 'n maksimum 2 - 3½ minute na vermenging bereik, vind plaas as gevolg van die vorming van 'n chelaat van Fe^{3+} met die enolgroep van fenielpiruvaat (Wesp en Brode, 1934). Die kompleks absorbeer maksimaal by 'n golflengte van 600 mμ (Berry en Woolf, 1952). As gevolg van die molekulêre basis van die reaksie, kan benewens die reaksie karakteristiek vir PKU, ook 'n verskeidenheid ander reaksies plaasvind wat maklik as vals-positiewe resultate interpreteer kan word. So kan urine, wat as gevolg van die teenwoordigheid van bakterieë alkalies is, vals-positiewe resultate gee.

Ook verskeie ekskresieprodukte van medikamente reageer met Fe^{3+} . In Tabel 3.1 word enkele van hierdie meer algemene newereaksies saamgevat.

TABEL 3.1

Nuwe reaksies wat lei tot vals-positiewe resultate met die FeCl_3 -toets (Woolf, 1963; Sriver, 1962; Thomas en Howell, 1973)

Verbinding	Kleurreaksie met FeCl_3	Toestand
Fenielpiruvaat	blou-groen	PKU en variante
pHPPA	onstabiele blou-groen	tirosinemie
imidasoolpiruvaat	grys-groen	histidinemie
vertakte ketosure	blou, geel, blou-groen	"Maple syrup"-siekte
α -ketobuturaat	pers tot rooibruin	Oasthouse-siekte
homogentisiensuur	onstabiele blou-groen	alkaptonurie
piruvaat	geel	hiperalaninemie
xanturiensuur	groen tot bruin	xanturiensuururie
salisilate (asparien)	pers	
fenotiasiene	pers-bruin	
asetoasynsuur	bruin	
gekonjugeerde bilirubien	blou-groen	
isonikotiensuurhidrasied	grys	

3.2.3 Siftingsresultate

3.2.3.1 Metode

Die FeCl_3 -toets is volgens die metode van Remuurt op die oggendurine van die pasiënte een uur na ontvangs gedoen (Perry, et al., 1966). Die toets kan ook kwantitatief volgens die metode van Berry en Woolf (1952) uitgevoer word.

Vir 'n verdere bevestiging van die kwalitatiewe bepaling van die konsentrasie van fenielpiruvaat in die urine is

die/....

die volgende prosedure uitgevoer: 3 ml urine is by 0,5 ml FeCl_3 gevoeg. Daarna is die mengsel vir 2 - 5 minute by die maksimumsnelheid van Roto-uni II afgeswaai en die spektra op 'n tyd 0,5 en 10 minute in 'n spektrofotometer by golflengtes van 400 - 800 m μ bepaal.

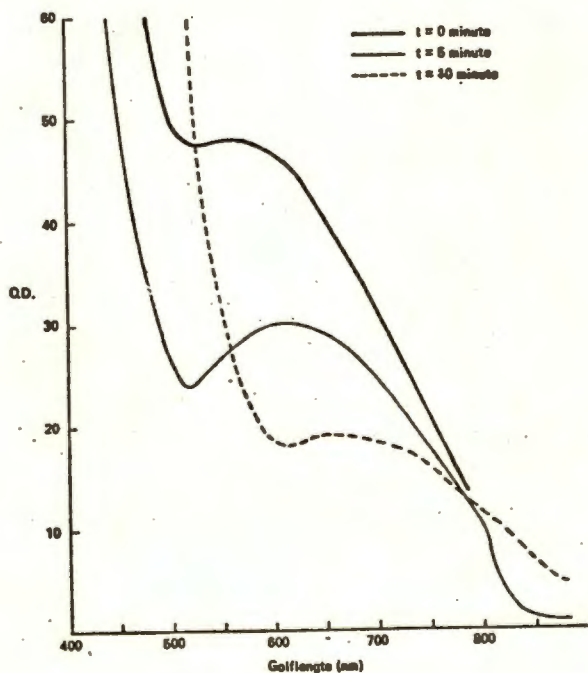
3.2.3.2 Resultate

'n Donkergroen kleur (as gevolg van die teenwoordigheid van fenielpiruvaat) is by 2 van die 500 pasiënte wat ondersoek is, gevind. Die een pasiënt is egter oorlede voordat verdere karakterisering van sy toestand gedoen is.

Die spektra wat die verloop van die reaksie voorstel, is in Figuur 3.2 aangetoon.

FIGUUR 3.2

Spektra om die verloop van die FeCl_3 -reaksie aan te toon



uit/....

Uit die spektra blyk dat die kompleks na 'n tyd ontbind. 'n Verskuiwing in die golflengete waar maksimum absorpsie plaasvind, is verder gevind (620 mμ na 580 mμ). Die kompleks wat gevorm is, is dus onstabiel en verander na 'n tyd. Hierdie resultaat stem ooreen met die gegewens van Berry en Woolf (1952), en bevestig dat die betrokke pasiënt PKU het.

3.3 Verdere karakteristieke van 'n pasiënt met PKU

'n Verdere opvolgstudie op biochemiese vlak is ter finale bevestiging van die aanvanklike siftingstoets uitgevoer:

3.3.1 Plasma aminosure

Konsentrasies van die verskillende aminosure in die plasma is met behulp van 'n aminosuuranaliseerder bepaal. Die resultaat word in Tabel 3.2 aangedui.

TABEL 3.2

Die konsentrasie van die verskillende aminosure in die plasma van 'n pasiënt met PKU

Aminosuur	Normale gemiddelde* konsentrasie(μmol/ml)	Konsentrasie by pasiënt (μmol/ml)
Taurien	27 - 168	90,0
Aspartiensuur	0 - 24	13,3
Treonien	79 - 246	41,7
Serien	67 - 193	90,0
Asparagien + Glutamien	413 - 690	30,0
Glutamiensuur	14 - 192	38,3
Prolien	100 - 442	70,0
Glisien	120 - 553	133,3
Alanien	209 - 659	135,0
Valien	116 - 315	93,3
Sisteien	48 - 141	23,3
Metionien	6 - 39	16,7
Isoleusien	35 - 97	31,7
Leusien	71 - 175	55,0

Tirosien/....

Aminosuur	Normale gemiddelde* konsentrasie (nmol/ml)	Konsentrasie by pasiënt (nmol/ml)
Tirosien	21 - 87	26,7
Fenielalanien	37 - 115	638,3
Triptofaan	19 - 45	20,0
Ornitien	29 - 125	38,3
Lisien	82 - 236	106,7
Histidien	31 - 106	35,0
Arginien	21 - 137	36,7

*Volgens Scriver en Rosenberg (1973)

Uit hierdie aminogram blyk duidelik dat die fenielalanien-konsentrasie uitsonderlik hoog is. Verder is 'n aantal ander aminosure, naamlik tirosien, leusien, isoleusien, valien, triptofaan, sisteien, histidien, treonien en asparagien (tesame met glutamien) in 'n laer konsentrasie as normaal, in die bloed van hierdie pasiënt teenwoordig. Ook die aminosure prolief en alanien kom in laer konsentrasie as normaal voor.

Hierdie resultate is moontlik die gevolg van kompetering in die spysverteringskanaal van die oormaat fenielalanien met veral die neutrale aminosure, wat almal 'n gemeenskaplike draer vir die vervoer daarvan oor die spysverteringskanaalwand besit.

3.3.2 Urinêre aminogram

TABEL 3.3

Die aminosuurskemasies in die urien van 'n pasiënt met fenielketonurie

Aminosuur	Normale ekskresie* (μ mole/24 uur)	Pasiënt 146 (μ mole/24 uur)
Taurien	63 - 2 300	165
Aspartienuur	270 - 700	210
Treonien	85 - 440	150
Serien	160 - 700	555
Glutamienuur	55 - 270	25
Glisien	160 - 4 200	1 380
Alanien	60 - 800	265
Sisteen	20 - 130	30
Metionien	20 - 95	80
Tirosien	40 - 270	45
Fenielalanien	24 - 190	1 795
Lisien	48 - 640	70
Histidien	130 - 2 100	875

*Volgens Scriver en Rosenberg (1973)

3.3.3 Fenielalanientoleransie

Die toleransie van hierdie pasiënt vir fenielalanien is bepaal deur die bloedfenielalanien-konsentrasie tydens die vastende toestand (14 uur lange vas) en 1, 2 en 4 ure na die inname van 0,1 g fenielalanien/kg liggaams-massa (opgelos in appelsap) te bepaal. Dit is met 'n aantal kontroles vergelyk. Ten einde 'n beeld te kry van die metabolisme van fenielalanien, is terselfdertyd die konsentrasies van tirosien in die plasma bepaal. Die metodes wat gevolg is vir die fluorimetriese bepaling van fenielalanien en tirosien in plasma, is dié van McCamen en Robins (in Hsia, et al., 1964) en Wong (Wong, et al., 1964) respektiewelik. Die beginsel waarop die fenielalanien-bepaling berus, is die vorming van 'n

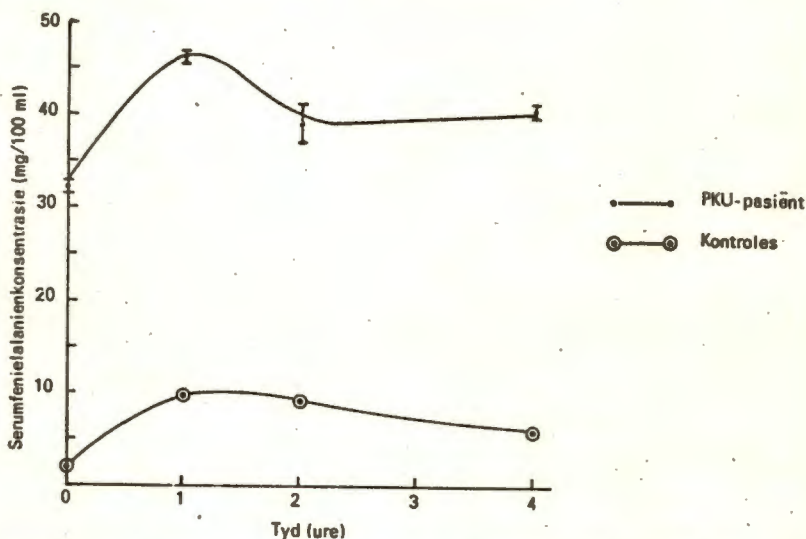
fluoresserende kompleks deur fenielalanien in die plasma, ninhidrien en koper.

Tydens die tirosienbepaling reageer 1-nitroso-2-naftol met tirosien om 'n stabiele oranje-rooikleur te gee. Verhitting met salpetersuur verander hierdie kleur in 'n stabiele geel kleur wat fluorimetries bepaal word.

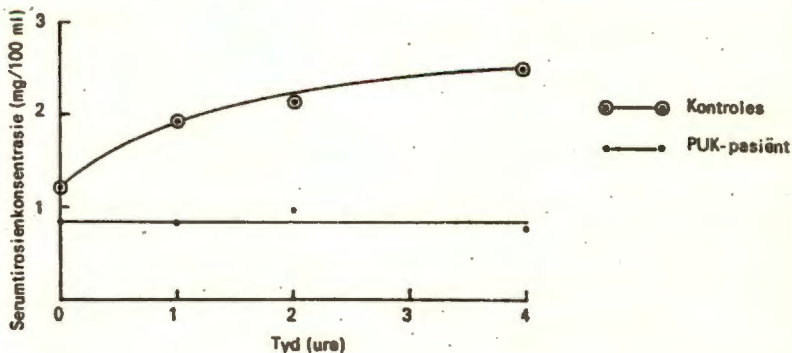
Die resultate is in Tabel 3.4, Figuur 3.3 en Figuur 3.4 uiteengesit.

FIGUUR 3.3

Fenielalanientoleransiekurwe by 'n PKU-pasiënt en 'n aantal kontroles.



FIGUUR 3.4 Grafiese voorstelling van serumtirosienwaardes op tye 0, 1, 2 en 4 ure soos verkry tydens 'n fenielalanientoleransie toets by 'n PKU-pasiënt en 'n aantal kontroles.



TABEL 3.4 Die fenielalanien- en tirosienkonsentrasies in die serum van 'n PKU-pasiënt en 'n aantal kontroles tydens die vastende toestand en 1, 2 en 4 ure na die inname van 0,1g fenielalanien /kg liggaamsmassa.

	Vastend		1 uur		2 ure		4 ure	
	Feniel-alanien mg/100ml	Tirosien mg/100ml	Feniel-alanien mg/100ml	Tirosien mg/100ml	Feniel-alanien mg/100ml	Tirosien mg/100ml	Feniel-alanien mg/100ml	Tirosien mg/100ml
Kontrole no. 1	0,79	0,48	10,00	0,96	7,62	0,96	8,41	1,44
Kontrole no. 2	0,79	1,36	8,10	2,32	10,00	3,76	4,60	3,44
Kontrole no. 3	1,95	1,18	10,49	1,42	11,46	1,64	7,81	2,12
Kontrole no. 4	1,75	1,20	6,19	1,76	6,83	0,80	4,29	0,96
Kontrole no. 5	1,95	1,64	10,98	2,82	10,00	3,54	4,63	4,48
Kontrole no. 6	1,95	1,18	13,42	2,36	-	-	5,12	2,36
Gemiddelde waarde	1,53	1,18	9,86	1,94	9,18	2,14	5,81	2,46
PKU-pasiënt	32,28	0,84	46,07	0,84	39,17	0,96	40,55	0,76

Uit die resultate (Tabel 3.4 en Figure 3.3 en 3.4) blyk dat die vastende serumfenielalanien-konsentrasie van die pasiënt baie hoër (32,28 mg/100 ml) as dié van die kontroles (1,53 mg/100 ml) is. Na die lading van 0,1 g/kg liggaamsmassa styg die serumfenielalanien-konsentrasie tot 46,07 mg/100 ml in vergelyking met 9,86 mg/100 ml by die kontroles. Verder is die serumtirosien-konsentrasie onder normaal en geen toename in hierdie waarde is waargeneem tydens die vier ure van die eksperiment nie. 'n Geringe toename in die serumtirosien-konsentrasie is wel by die kontroles gevind. Hierdie resultate stem ooreen met die feit dat by PKU-pasiënte 'n verlaagde of geen aktiwiteit in die fenielalanienhidroksilase-sisteem is nie.

By die PKU-pasiënte word dus baie min of geen van die ingeneemde fenielalanien na tirosien gemetaboliseer nie. Hierdie reaksie vind wel in die lewer van die kontroles plaas en die gevormde tirosien word in die bloed vrygestel.

TABEL 3.5

Die fenielalanien- en tirosienkonsentrasie in urienmonsters wat voor en na die fenielalanientoleransietoets geneem is.

	VOOR			NA	
	No.	tirosien-konsentrasie mg/100ml	fenielalanien-konsentrasie mg/100ml	tirosien-konsentrasie mg/100ml	fenielalanien-konsentrasie mg/100ml
Kontroles	1	11,15	8,43	11,39	10,48
	2	11,76	13,47	16,12	23,67
	3	8,24	9,93	9,58	15,24
	4	7,15	3,81	1,82	2,18
	5	1,70	2,86	6,91	8,98
	6	4,42	7,35	3,56	5,44
PKU-pasiënt	146	9,17	35,72	7,5	37,79

In Tabel 3.5 is die resultate wat verkry is uit urienmonsters van die pasiënte en kontroles wat net voor die toleransietoets en net na die toets geneem is. Uit die resultate kan gesien word dat daar 'n effense toename in die

tirosienkonsentrasie/....

tirosienkonsentrasie van die kontroles is, terwyl 'n toename in die fenielalanienkonsentrasie ook voorkom. Dit is in ooreenstemming met wat verwag word: Met byvoorbeeld die toename in fenielalanienkonsentrasie in die bloed, sal die konsentrasie daarvan in die urine ook toeneem as gevolg van verhoogde uitskeiding (die drempelwaarde vir die absorpsie daarvan in die nierbuis word oorskrei).

Alhoewel meer fenielalanien in die urine van die PKU-pasiënt na die toets uitgeskei word, bly die tirosienkonsentrasie redelik konstant.

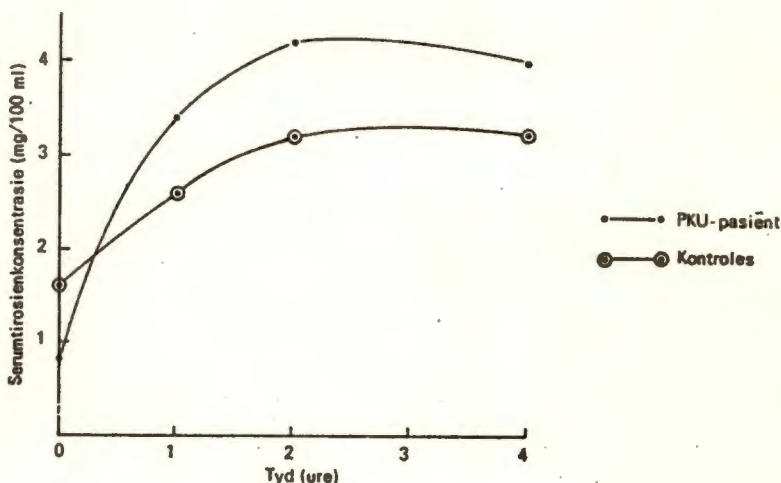
3.3.4 Tirosientoleransiekurwe

Die toleransie van die PKU-pasiënt en 'n aantal kontroles vir tirosien is 1 uur, 2 ure en 4 ure nadat 0,1 g tirosien/kg liggaamsmassa in appelsap na 'n vastyd van 14 uur ingeneem is, bepaal. Dit kan egter daarop gewys word dat swak oplosbaarheid van tirosien 'n beperking op hierdie tipe eksperiment plaas (Buist, et al., 1974).

Die vastende serumtirosien-konsentrasie is laer by die PKU-pasiënt as by die kontroles, (Figuur 3.5). Die styging in serumtirosien-konsentrasie na die lading toon dat die tirosien wel uit die spysverteringskanaal geabsorbeer word en dat die lae vastende waarde nie as gevolg van swak absorpsie is nie. Die verhoogde absorpsie van tirosien uit die spysverteringskanaal (of verlaagde gebruik deur die weefsels, alhoewel eersgenoemde meer waarskynlik is) vind moontlik plaas omdat die bloeditirosienvlak reeds laer as normaal is. Omdat geen voedsel ingeneem is nie en die serumfenielalanien-konsentrasie ook laer is, vind minder kompetering in die spysverteringskanaal plaas. Hierdie resultate is in ooreenstemming met wat verwag sou word as die waardes van PKU-pasiënte met dié van kontroles vergelyk sou word, aangesien die metabolisme van tirosien by 'n PKU-pasiënt nie veel van dié van normale persone behoort te verskil nie. Dit is in teenstelling met die geweldige uitgesproke verskil in die metabolisme van fenielalanien, wat in die serumfenielalanien-konsentrasies na 'n fenielalanienlading weerspieël is.

FIGUUR 3.5

Tirosientoleransiekurwe by 'n PKU-pasiënt en 'n aantal kontroles



3.3.5 Kliniese beeld van die PKU-pasiënt

Die pasiënt toon baie van die kenmerke wat algemeen by PKU-pasiënte aangetref word. Hierdie kenmerkende beeld tree na vore uit verslae wat oor sy vordering sedert opname (op 5 jarige ouderdom) gemaak is: by opname was sy massa 16 kg en sy optrede is beskryf as doeleloos, rusteloos, selfbeserend en skreeuend. Hy kon nie sy aandag by 'n bepaalde onderwerp bepaal nie. Verder kon hy ook nie praat of gesproke woorde verstaan nie. Hy kon nie loop nie, maar het sittend rondgeskuif. Hy het nie alle voedsel geëet nie en kon homself nie help nie. Wat intelligensie betref is hy as 'n idiotoot geklassifiseer. Op 7-jarige ouderdom kon hy maklike sinne verstaan en het hy soms op bevel gereageer. Verder het hy geen verbetering getoon nie, behalwe dat hy rustiger en meer tevrede voorgekom het. Melding word gemaak van die feit dat hy beddegoed en klere geëet het en baie vernielsgtig was. Ook was hy apaties, dooierig en bleek. Sedertdien is geen vordering in sy toestand opgemerk nie. Op 22-jarige ouderdom en met 'n liggaamsmassa van 47 kg is sy intelligensie steeds dié van 'n idiotoot en hy kan nie praat, loop of staan nie (hy neem die "Schneidersitz-posisie" in). Hy kan homself nie help nie - behalwe dat hy self eet. Ook is hy nog steeds baie rusteloos. Uiterlike kenmerke is verminderde pigmentering (blou oë, blonde hare, ligte vel) en 'n growwe sensitiewe vel. Die pasiënt het die veelseggende bynaam van Pienkie.

Dieet-behandeling (met die lae fenielalaniendiëet) kan nie die onomkeerbare breinskade nie. Voordele soos meer belangstelling, verbeterde gedrag, minder geïrriteerdheid

en die ander effekte weeg nie op teen die ernstige emosionele spanning wat deur so 'n kunsmatige dieet veroorsaak word nie. Om hierdie redes is daar nie met so 'n dieet begin nie.

3.4 Konklusie

Met behulp van sifting is 'n tipiese PKU-pasiënt in die Witrandinrigting gevind. Die biochemiese en kliniese beeld van die pasiënt kom ooreen met die algemene beeld wat in die literatuur beskryf word.

Die omvang van die voorkoms van hierdie afwyking is 2 pasiënte uit die ± 500 wat getoets is. Dit beteken 0,4% van die ondersoekte populasie, wat laer is as wat oor die algemeen gevind word. Aangesien een van hierdie pasiënte kort na die aanvanklike sifting oorlede is, is 'n biochemiese en kliniese beeld slegs van die een pasiënt verkry. Op biochemiese vlak behels die versteuring 'n drastiese verhoogde serumfenielalanien-vlak (ongeveer 36,0 mg/100 ml serum). Gepaardgaande hiermee is daar ook 'n afwyking in die konsentrasie van veral die neutrale aminosure in die serum gevind. Tydens 'n fenielalanientoleransie-toets is gevind dat die fenielalanienkonsentrasie in die bloed van hierdie pasiënt na 'n fenielalanienlading geweldig gestyg het (baie meer uitgesproke as by 'n tirosienlading), terwyl die tirosienkonsentrasie op 'n min of meer konstante vlak onder normaal gebly het. Die kliniese beeld van die pasiënt kom ooreen met dié van die tipiese PKU-pasiënt: hy is baie geïrriteerd, is as 'n idioot geklassifiseer en het die kenmerkende blou oë en ligte vel en hare van die PKU-persoon.

HOOFSTUK 4

AANGEBORE AFWYKINGS IN DIE METABOLISME VAN TIROSIE

4.1 Algemene oorsig oor aangebore afwykings in die metabolisme van tirosien.

4.1.1 Inleiding

'n Hele aantal aangebore afwykings in die metabolisme van tirosien is reeds beskryf. Hierdie toestande kom onder andere tot uiting in 'n verhoogde bloeditirosien-konsentrasie (tirosinemie) en/of tirosielurie [die uitskeiding van groot hoeveelhede tirosien en/of fenoliese sure (p-hidrosiefenielpiruvaat, -laktaat en -asetaat) wat vanaf tirosien afkomstig is].

Die eerste verwysing na die ekskresie van tirosien in die urine van 'n persoon is reeds in 1854 met betrekking tot 'n pasiënt met 'n leweraandoening gemaak (Buist, et al., 1974). Die eerste redelik volledige beskrywing van die biochemiese toestand wat tydens 'n aangebore afwyking in die metabolisme van tirosien voorkom, is later (in 1927) deur Medes gedoen (Medes, 1932). Sy het hierdie toestand "tirosinose" genoem. Dit is egter nie heeltemal duidelik waar die afwyking in die tirosien-metaboliese weg presies voorgekom het nie. Sedertdien is 'n aantal versteurings wat nou verwant is, maar tog in oorsprong en verloop (etiologie en prognose) verskil, in tirosienmetabolisme beskryf (Tabel 2.1). Hierdie toestande het egter sekere biochemiese aspekte (onder andere tirosinemie en/of tirosielurie) gemeenskaplik. 'n Voorbeeld van so 'n metaboliese afwyking is tirosinose I. In die literatuur is die volgende name vir dieselfde toestand gebruik: atipiese tirosinose en oorerflike tirosinemie (La Du en Gjessing, 1972), tirosinemie tipe I (Buist, et al., 1974), en ook tirosinose (Bakker, Van Sprang en Wadman, 1976). Kenmerkend van hierdie toestand is hepatiese sirroze, en renale tubulêre beskadiging. Hierdie kenmerke is egter nie altyd teenwoordig by afwykings in tirosienmetabolisme nie, soos byvoorbeeld tydens die toestand van tirosinose II. Laasgenoemde toestand staan ook bekend as tirosinemie tipe II (Buist, et al., 1974), tirosinemie en tirosielurie sonder nier- en lewerafwykings (Bakker, et al., 1976) en hipertirosinemie (Scriver en Rosenberg, 1973).

Die kliniese en biochemiese beeld van tirosinemie kom egter ook in ander aangebore metaboliese afwykings soos galaktosemie, glikogeensiekte, en andere, voor (Bakker, et al., 1976). Al hierdie aangebore metaboliese afwykings word blykbaar outosomaal resessief oorgedra (La Du en Gjessing, 1972).

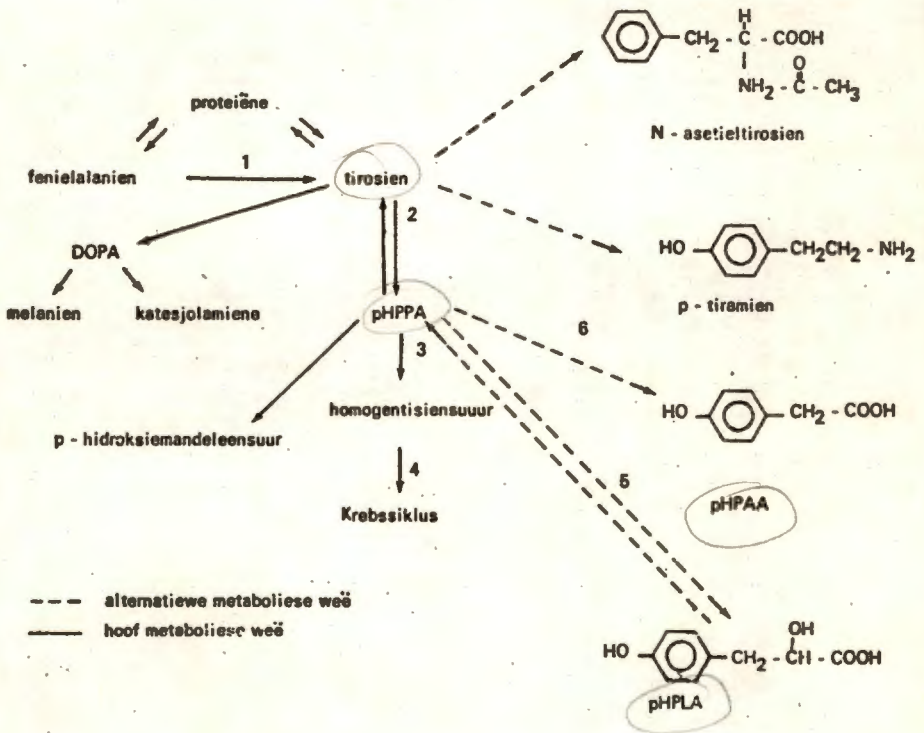
Tirosielurie kom egter nie net as gevolg van 'n aangebore metaboliese afwyking voor nie: so lei 'n tekort aan askorbiensuur, pernisiëuse anemie, 'n onvolledig ontwikkelde ensiemstelsel in vroeggebore babas en lewer- en niersiektes, ook tot tirosielurie (Woolf, 1963).

Vervolgens sal nou aan die hand van Figuur 4.1 in meer

besonderhede ingegaan word op afwykings in die metabolisme van tirosien en die gepaardgaande siektetoestande. In hierdie bespreking is veral gebruik gemaak van die artikels van Bakker, et al., (1976); Buist, et al., (1974); La Du en Gjessing, (1972) en Scriver en Rosenberg, (1973).

FIGUUR 4.1

Alternatiewe metabolisme weë wat gevolg word indien blokerings in die hoof metabolisme weg van tirosien voorkom



1. Feniellalanienhidroksilase
2. Tirosienaminotransferase
3. p-hidroksiefenielpiruvaathidroksilase
4. homogentisiensuur-oksidasie

5. melksuurdehidrogenase/....

5. melksuurdehidrogenase of aromatisiese α -ketosuurreduk-tase
6. Nie-ensimatisiese of bakteriëse omsetting van die keto-suur

4.1.2 Versteurings in die metabolisme van tirosien

4.1.2.1 n p-Hidroksiefenielalanienhidroksilase-tekort

pHPPA word nie onder normale omstandighede in die bloed waargeneem nie, terwyl slegs n paar milligram in die uri-ne aangetref word. Indien die oksidasie na homogentisien-suur egter blokkeer word, verhoog die konsentrasie van die volgende verbindings in die plasma:

1. pHPPA,
2. tirosien, (omdat transaminasie reaksies omkeerbaar is),
3. pHPLA as gevolg van die werking van melksuurdehidro-genase of aromatisiese α -ketosuurreduktase;
4. pHPPA, wat gedeeltelik in die spysverteringskanaal deur middel van bakteriëse werking gevorm word, terwyl monoamienoksidase p-tiramiën metabolies tot dieselfde produk kan oksideer. n Verder moontlikheid vir die vorming daarvan is die nie-ensimatisiese oksidatiewe kar-boksilering van pHPPA;
5. p-hidroksiemandeleensuur wat ensimatisies vanaf tirosien via tiramiën en p-hidroksie-fenietanolamiën, of ook nie-ensimatisies vanaf ander metaboliete gevorm kan word (Wadman, et al., 1971). Aromatisiese sure kan ook in die urine, as gevolg van die werking van intestinale bakterië op plantmateriaal, wat deur die dieet inge-neem word, aangetref word.
6. Bensoë, p-hidroksiebensoë, en hulle konjugate word ge-vorm as gevolg van die werking van intestinale bakte-rië op die ongeabsorbeerde fenielalanien en tirosien in die spysverteringskanaal.

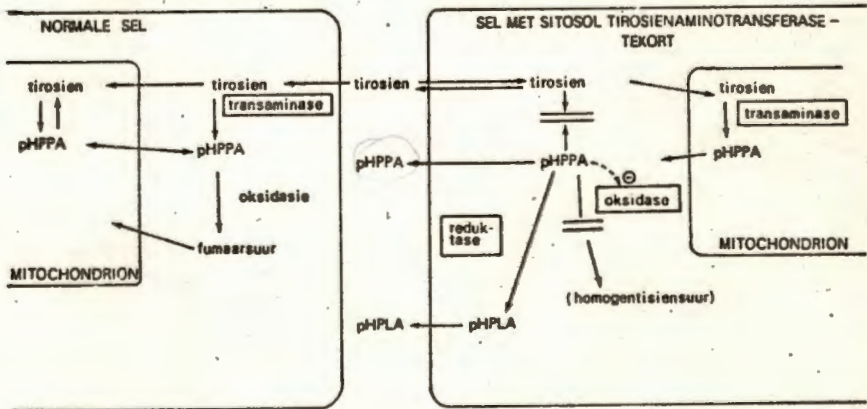
4.1.2.2 Sitosol α -ketoglutarataminotransferase-tekort

n Tekort aan hierdie ensiem lei tot die vrystelling van groot hoeveelhede pHPPA, pHPLA, pHPPA, N-asetiel-tirosien en tiramiën. Die verklaring vir die groot hoeveelheid pHPPA wat by hierdie pasiënte uitgeskei word, is moontlik die volgende: by hoë vlakke van tirosien vind transami-nasie van tirosien in die mitochondria van weefsel, wat nie die hidroksilase-aktiwiteit besit nie plaas ~~nie~~. Sodoende word van die ketosuur in die sirkulasie vrygestel, terwyl ander na pHPLA gereduseer word (Buist, et al., 1974). Scriber en Rosenberg (1973) stel weer die volgende voor: die verhoog-de tirosien in die sitoplasma kan deur die mitochondria

na pHPA gemetaboliseer word. Omdat verdere oksidasie van pHPA nie in die mitochondria plaasvind nie, sal die pHPA na die sitoplasma beweeg waar dit pHPA-oksidasie kan inhibeer. In die niere kan tirosien ook deur middel van deaminasie na pHPA verander word. Die ketosuur kan nou in die urine uitgeskei word of deur middel van reduksie verander word na pHPLA. Dit geskied onder andere deur deelname van aromatisiese reduktase in die lewer. Skematies kan hierdie effekte as volg voorgestel word:

FIGUUR 4.2

Skematiese voorstelling vir die moontlike verklaring vir die groot hoeveelhede P-hidroksiefenielpiruvaat wat by pasiënte met 'n sitosol α -ketoglutaataminotransferase-tekort voorkom



4.1.2.3 Homogentisiensuuroksidasie

'n Verlaagde aktiwiteit van hierdie ensiem lei tot die toestand bekend as alkaptonurie.

Behalwe die toestand van alkaptonurie, lei die tekort in ensiemaktiwiteit wat reeds genoem is, ook tot bepaalde siektebeelde. Baie onsekerheid, wat weerspieël word in die verskeie name wat al vir die verskillende toestande gegee is, bestaan egter nog oor die presiese oorsaak en verloop van die toestande. In die bespreking wat volg sal telkens ook na die mees algemene ander name, wat in die literatuur voorkom, verwys word.

4.1.3 Toestande wat geassosieer word met versteuring in die metabolisme van tirosien

4.1.3.1 Tirosinose I:

Hierdie toestand staan ook bekend as tirosinose (Bakker et al., 1976), tirosinemie tipe I (Buist, et al., 1974) en geërfde tirosinemie (Scriver en Rosenberg, 1973).

4.1.3.1.1 Genetika en verspreiding

Hierdie toestand word outosomaal resessief oorgeërf en groot geografiese variasie kom voor. Slegs 'n bietjie meer as 'n honderd van hierdie gevalle, (waarvan 26 gevalle in Nederland voorkom, (Bakker, et al., 1976) is beskryf en die voorkoms daarvan is dus baie laag. In die Lac St. Jean-Sanguenayarea in Quebec het Scriver, et al., (1967) egter 'n voorkoms van 1 in elke 6 000 geboortes gevind. [Die draertoestand word in een uit elke 20 - 30 persone aangetref. (La Du en Gjessing, 1972)]. Die oorsaak hiervan is moontlik die afgesonderdheid van hierdie gebied wat daartoe lei dat baie huwelike binne familieverband plaasvind. Nog 'n gebied waar hierdie toestand reeds beskryf is, is die Skandinawiese lande (Aronsson, et al., 1958 Taniguchi en Gjessing, 1965).

4.1.3.1.2 Kliniese beeld

Klinies kan 'n akute en chroniese beeld onderskei word. In die akute toestand tree die simptome reeds op 'n ouderdom van 6 maande of vroeër na vore en die dood tree in as gevolg van lewerineerstorting in 90% van die onbehandelde pasiënte. Soms kom net die chroniese vorm voor en die simptome tree dan eers later na vore (Scriver en Rosenberg, 1973).

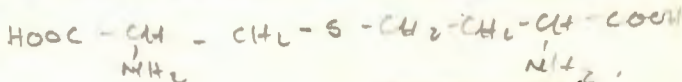
Hierdie pasiënte toon geen vordering nie en progressiewe lewerbeskadiging (dit lei tot sirrose en renale beskadiging wat weer lei tot hipofosfatemiese vitamien D-weerstand-biedende ragitis). Ander bevindinge is hiperfosfaturie, katarakke, hipoglisemie hiperpigmentering, vomering, diarree, vergroting van die abdomen, edeem, askites, hepatosplenomegalie en 'n tekort aan protrombin (Halvorsen en Gjessing, 1964; Gaull, et al., 1970; Sass-Kortsak, et al., 1967a; Scriver, et al., 1967; Scriver en Rosenberg, 1973; Bakker, et al., 1976; Buist, et al., 1974; La Du en Gjessing, 1972; Sass-Kortsak, et al., 1967(b)). 'n Effense of matige verstandelike vertraging kan ook voorkom (Gentz, et al., 1967).

Mikroskopies toon die lewer as spesifieke veranderinge soos vetinfiltrasie, sirrose, fibrose en hepatomas. In die niere is daar tubulêre degenerasie en die eilandelle van die pankreas toon hiperplasie. Die koagulasiefaktore in die lewer verminder en matige anemie kom voor. Kenmerke van die akute vorm is hipoproteïemurie en hiperbilirubinu-rie, terwyl die chroniese vorm gekenmerk word deur leukopenie en trombositopenie.

4.1.3.1.3 Biochemiese beeld

Biochemiese studies toon 'n verlaagde p-hidroksiefeniel-piruvaatoksidase-, tirosienaminotransferase-, die metionien-aktiveringsensiem- en sistatioonsintetase-aktiwiteit (Gaull, et al., 1970). 'n Gedeelte van hierdie verlaagde ensiem-aktiwiteite is moontlik 'n sekondêre gevolg van lewerbeskadiging.

sistatios



Chromotografie/....

Chromatografie van die urine wys op 'n algemene aminosuurstoestand - veral van die aminosure tirosien, prolien, treonien, glisien, alanien, leusien en metionien. δ -amino-levulienzuur is in groter hoeveelhede in die urine aangetoon (Gaull, et al., 1970). Ander toestande wat voorkom is hipermetioninemie ($1 - 5$ mg/100ml) (veral gedurende die akute fase) (Gjessing en Halvorsen, 1965; Scriver, et al., 1966), 'n effense tirosinemie ($2 - 10$ mg/100ml) en fenilalaninemie. In die urine is proteïene, glukose, 'n verhoogde konsentrasie van p-hidroksiefenielpiruvaat, -laktaat en -asetaat gevind.

Die toestand van tirosinose I ontstaan moontlik nie as gevolg van 'n primêre defek in p-hidroksiefenielpiruvaat-oksidasie nie, [n dieet met beperkte hoeveelhede fenilalanien en tirosien het nie altyd die gewenste uitwerking nie (Bodegard, et al., 1969)] en moontlik is dit nie 'n hoofafwyking in metionienmetabolisme nie, aangesien:

1. hipertirosinemie deur hipermetioninemie voorafgegaan word.
2. 'n dieet wat min aromatiese aminosure bevat, tot voordeel van die pasiënt strek,
3. oorgangsneonatale hipermetioninemie nie 'n ernstige toestand is nie en nie geassosieer word met tirosinemie nie.

Daar bestaan nog onsekerheid oor die primêre oorsaak van die siekte. In Frans-Kanadese pasiënte is aangetoon dat die afwyking in tirosienmetabolisme die lewerversaking en ander abnormaliteite voorafgaan. Die moontlikheid is genoem dat die aromatiese aminosuurmataboliet 'n toksiese effek op die lewer en nier het (Halvorsen en Gjessing, 1964; Sass-Kortsak, et al., 1967(b)). Hierdie hipotese word egter bevraagteken en daar word beweer dat almal sekondêre manifestasies van 'n onbekende geërfdede mataboliese siekte is (Gaull, et al., 1970). Dit word onder andere gedoen omdat geen of min hepatiese of renale patologie in babas met oorgangshiptirosinemie en tirosielurie voorkom. 'n Aantal pasiënte het ook vir jare hipertirosinemie en tirosielurie sonder hierdie kermerke van renale- en lewersiektes. Dus: die lewersirroze, versteuring in tirosien- en metionienmetabolisme en renale absorpsiedefek is blykbaar die resultaat van 'n primêre ensimatiiese versteuring en mataboliese verandering van onbekende oorsprong. Die aromatiese aminosure verhoog die renale disfunksie en die proksimale tubulêre herabsorpsiedefek wat weer lewerdisfunksie vererger (Bakker, et al., 1976; Buist et al., 1974; La Du en Gjessing, 1972; Scriver en Rosenberg, 1973).

By die diagnose van hierdie siekte is dit belangrik dat onderskei moet word tussen hierdie toestand en 'n primêre ensimiedefek met sekondêre tirosinemie en tirosielurie soos wat

aangetref word by galaktosemie, nie-toleransie vir fruktose en fruktose-1, 6-difosfatase-tekort (Bakker, et al., 1976).

'n Interessante geval van 'n kind met ernstige kongenitale hidrosefalus wat slegs tydens behandeling met choraalhidraat die kliniese en biochemiese kenmerke van tirosinose I vertoon het, is beskryf (Watts, et al., 1975). Blykbaar het hierdie pasiënt 'n abnormaliteit in die p-hidrokisie-fenielpiruvaatoksidasie-aktiwiteit besit, wat tot gevolg gehad het dat hierdie ensiem meer vatbaar was vir inhibisie deur chloraalhidraat of sy metaboliëte. (Hierdie toestand kom nie by ander soortgelyke behandelings van hierdie pasiënte voor nie). Die toestand het spontaan herstel.

4.1.3.1.4 Behandeling

Behandeling met 'n sintetiese dieet wat min fenielalanien en tirosien bevat werk die renale tubulêre letsels teë en hiperfosfaturie, hiperaminozuururie, glukosurie en protelenurie verdwyn (Sass-Kortsak, et al., 1967; Nützenadel et al., 1972). So 'n dieet bestaan uit 'n kasieienhidrolisaat met bygevoegde L-triptofaan, L-metionien en L-histidien. Ook koolhidrate, vette en vitamien word bygevoeg. Groot hoeveelhede vitamien D verbeter die ragitis. Verder word metionienbeperkings in die akute stadium aanbeveel. Die gebruik van askorbiensuur om p-hidrokisie-fenielpiruvaat-hidroksilase te aktiveer, was nie suksesvol nie.

4.1.3.1.5 Eksperimentele tirosinemie en tirosielurie

Perry (volgens Scriver en Rosenberg, 1973) het eksperimentele hipertirosinemie met behulp van 'n hoë metioniendiëet in diere geïnduseer. Hierdie diere het toe hipermetioninemie, hipertirosinemie, tirosielurie, glukosurie, algemene aminozuururie en histologiese veranderinge in die lewer en pankreas (soos waargeneem by tirosinose I) ontwikkel. Hardwick en sy kollegas (volgens Scriver en Rosenberg, 1973) het hierdie resultate bevestig en 'n hepatiese ATP-afname asook akkumulasie van S-adenosielmetionien en S-adenosielhomosisteen onder hierdie omstandighede aangetoon.

Ook hier, soos by fenielketonurie, is dit belangrik om daarop te let dat "...an animal model of this type is not analogous to the human disease" (Scriver en Rosenberg, 1973).

4.1.3.2. Tirosinose II

Hierdie toestand staan ook bekend as hipertirosinemie (Scriver en Rosenberg, 1973), tirosinemie tipe II (Buist, et al., 1974) en tirosinemie en tirosielurie sonder nier en lewerafwykings (Bakker, et al., 1976).

'n Baie klein aantal pasiënte met 'n hoë plasmatirosienvlak

en tirosielurie is beskryf (Bakker, et al., (1976), noem sewe pasiënte - waaronder die pasiënt wat Medes beskryf het). Geen kliniese bewyse van lewer- of nierbeskadiging is nog gevind nie. Uitgesonderd Medes se pasiënt is al hierdie pasiënte verstandelik vertraag. 'n Seun met veelvuldige kongenitale anomalieë soos mikrosefalie, 'n gesplete lip en verhemelte, mikrokornea en selfverminkende gedrag is onder andere beskryf. Kenmerke wat in ander persone voorkom is abnormaliteite van die vel of oë, katarakte, veranderinge van die langbene, ekseem, 'n droë, skurwe vel en ernstige gedragsafwykings.

Die plasmatirosien-vlak is gemiddeld 20 - 60mg/100ml op 'n normale dieet, terwyl p-hidroksie-fenielpiruvaat, -laktat, -asetaat, N-asetieltirosien en tiramien in die urine aangetoon is.

Geen tirosienaminotransferase-aktiwiteit is in die lewersitosol van die pasiënte wat ondersoek is, aangetoon nie. Hierdie ensiem besit moontlik verskillende isosieme en indien hulle onder afsonderlike genetiese beheer is, kan dit die bevindinge wat in hierdie pasiënte gekry is, verklaar. Die hepatiese mitochondriale transaminasie van tirosien is egter normaal. 'n Verlaagde p-hidroksie-fenielpiruvaathidroksilase-aktiwiteit word ook voorgestel (Scriver en Rosenberg, 1973).

Behandeling met piridoksien, kortisoon, folien- en askorbiensuur het nie die tirosienvlak beïnvloed nie, terwyl dieetbeperkings in tirosien en fenielalanien tot 'n verlaagde plasma-tirosienkonsentrasie en terugkering van urinêre metabolietkonsentrasies na die normale vlakke tot gevolg gehad het (Bakker, et al., 1976; Scriver en Rosenberg, 1973). Hierdie resultate is ook verkry in 'n pasiënt wat gepaardgaande met die afwyking in tirosienmetabolisme ernstige velletsels gehad het (Zaleski, et al., 1973). Tydens behandeling met die dieet het hierdie letsels verdwyn.

4.1.3.3 Tydlike tirosinemie en tirosielurie

Hierby word die toestand bekend as neonatale hipertirosinemie (Scriver en Rosenberg, 1973) ingesluit.

In 0,5 - 1,0% van alle pasgebore en veral vroeggebore babas (30% van laasgenoemde) kom 'n hoë plasmatirosien en tirosielurie algemeen voor. Binne die eerste 3 dae na geboorte is die plasmatirosienvlak 6mg/100ml. By 1 in elke 1 000 babas kan dit vir 4 - 6 weke voortduur, maar dit is gewoonlik na ongeveer 3 maande normaal. Moontlike oorsake vir neonatale hipertirosinemie is:

1. Onvoldoende vitamien C-inname
2. 'n Hoë proteïeninname
3. Onvolledige ontwikkelde ensiemsisteme in onder andere

die lewer en nier en dus ook in die metabolismekapasiteit (Woolf, 1963)

4. 'n Kombinasie van al bogenoemde faktore.

In sommige van hierdie babas is dan ook 'n lae hepatiese tirosienaminotransferase-, fenielalanienhidroksilase- en p-hidroksie-fenielpiruvaathidroksilase-aktiwiteit aange-
toon. Die toediening van foliensuur en kortisol (wat die aktiwiteit van hierdie ensieme beïnvloed) is soms effek-
tief as hierdie die oorsaak van die tirosielurie is. Aangesien nie net 'n enkele ensiemsisteem hier betrokke is nie, gaan hierdie toestand met ander versteurings, soos fenielalanien in die urine, gepaard.

Indien die oorsaak van die toestand 'n vitamien C-tekort (ook by volwassenes) en/of 'n hoë proteïeninnamie is, het toediening van vitamien C en beperking van die dieetpro-
teïene vir 'n paar dae, die gewenste uitwerking (Kretschmer en Etzwiler, 1958; Scriver en Rosenberg, 1973).

Ten spyte van die feit dat hierdie toestand blykbaar nie ernstige gevolge het by vroeg- en normaalgebore babas nie, is tog al gevind dat van hierdie babas as hulle ouer is, tog subnormale IK's het (Scriver en Rosenberg, 1973).

4.1.3,4 Lewer- en ander siektes

Behalwe die toestande wat tot dusver genoem is, kan tiro-
sinemie en tirosielurie ook tydens lewersiektes, gewrigs-
rumatiek, hipoksemie, respiratoriese versaking en wanab-
sorpsie voorkom (La Du en Gjessing, 1973 en Woolf, 1963). Hipertiroïdisme en 'n proteïenryke maaltyd kan ook hierdie
effek hê.

4.1.4 Gevolgtrekking

Uit hierdie bespreking van die voorkoms van aangebore af-
wykings in die metabolisme van tirosien, blyk dit dat hier-
die toestande nie altyd met verstandelike vertraging geas-
sosieer word nie. By die toestand van tirosinose II kom
dit wel voor, maar baie min pasiënte met hierdie afwyking
(6 pasiënte) is nog beskryf. Ten spyte van hierdie lae
frekwensie van voorkoms, het sifting vir hierdie metabooliese
afwyking tog deel van die aanvanklike siftingsprogram by
die Witrandinrigting gevorm.

Wat interessant is, is dat matige algemene aminosuururie
(insluitende tirosielurie) in groter persentasies by die
sifting van verstandelik vertraagde pasiënte in inrigtings
gevind is. Moore (Moore, et al., 1972) het byvoorbeeld
gevind dat hierdie verskynsel in 1,3% van sodanige pasiën-
te in Ierland voorgekom het. In teenstelling hiermee is
geen geval onder normale kinders wat in kinderhuise op-
groeï, gevind nie. Aan die anderkant kom dit egter weer

meer in verstandelike verdraagde persone wat in inrigtings bly voor, as wanneer hierdie persone by die huis versorg word. Blykbaar is die oorsaak van hierdie toestand dus nie geleë in 'n enkele faktor nie, maar het verskeie faktore soos matige renale tubulêre disfunksie, matige leweraandoenings, behandeling met farmaka, dieetfaktore (moontlike vitamienetekorte), en andere, 'n rol in die ontwikkeling van die toestand.

By die loodsing van 'n siftingsprogram moet hierdie feit in gedagte gehou word.

4.2 Sifting vir afwykings in tirosienmetabolisme

4.2.1 Aanvanklike sifting:

4.2.1.1 Metode:

Tydens die sifting van die Witrandpopulasie vir versteuring in die metabolisme van tirosien is die nitroso-naftol-toets volgens die metode van Perry, et al., (1966) gebruik. Hierdie toets is uitgevoer op die eerste urine monster van die oggend en binne 1 tot 2 ure nadat die monster ontvang is.

Die nitroso-naftol-toets is spesifiek vir para-gesubstitueerde fenole waar die ortoposisie nie gesubstitueer is nie, of 'n metielgroep bevat. Tirosien en sy metaboliete soos p-hidroksiefenielpiruvaat, -laktaat, en -asetaat gee 'n positiewe reaksie, terwyl 5-hidroksie-indole 'n pers chromofoor en homogentisiensuur en fenilpiruvaat 'n negatiewe reaksie gee. (Thomas en Howell, 1973).

4.2.1.2 Resultaat:

Met die eerste ruwe sifting is ses-en-dertig positiewe sowel as moontlike positiewe gevalle tussen die 500 pasiënte wat getoets is, gevind. Hierdie groot aantal "positiewe" gevalle hou in dat die frekwensie van tirosielurie (en dus moontlik ook tirosinemie) in die Witrandpopulasie ongeveer 7% is. Hierdie frekwensie is onwaarskynlik hoog in vergelyking met die voorkoms by ander inrigtings. 'n Moontlike verklaring vir die hoë voorkoms is geleë in die nitroso-naftol-toets as sodanig. Die oorgang tussen negatief, twyfelagtig en positief is nie baie diskreet nie, en berus op 'n subjektiewe beoordeling van die kleurreaksie. Ten einde hierdie probleem te oorkom, is die ruwe siftingstoets ten eerste tot 'n meer semi-kwantitatiewe toets gewysig.

4.2.2 'n Semi-kwantitatiewe toets vir tirosien en aanverwante metaboliete

4.2.2.1 Uitgangspunt:

Die aanwysing van positiewe gevalle in die aanvanklike

sifting/....

sifting berus op 'n subjektiewe kleurbeoordeling (oranje na oranje-rooi na lig-rooi) wat binne 'n tyd van 2 tot 5 minute ontwikkel. Om hierdie subjektiewe beoordeling uit te skakel is die kleurontwikkeling binne dieselfde tydsinterval spektrofotometries gevolg.

4.2.2.2 Metode:

Dieselfde toets as wat in paragraaf 4.2.1.1 beskryf is, is gebruik. Na byvoeging van die kleurreagens by die urine monster is nou egter spektra by 'n golflengte van 450 - 650 nm geregistreer, en wel 1, 3 en 5 minute na byvoeging van die kleurreagens.

Om te verseker dat hierdie bepaling wel sensitief is vir tirosien en/of sy metaboliëte (pHPPA, pHPPA, pHPLA), is konsentrasiereekse van hierdie metaboliëte gemaak en dieselfde prosedure as wat hierbo genoem is, is op elk van hierdie verbindings herhaal. Deur gebruik te maak van die maksimum-absorpsiewaarde (by $\lambda = 520$ nm) op tye 1, 3 en 5 minute, is standaardkurwes vir elke metaboliëte opgestel.

4.2.2.3 Resultate

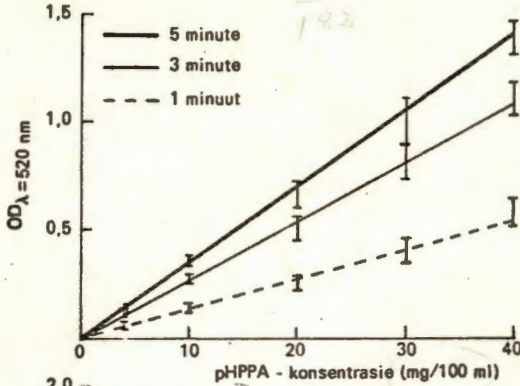
In Figuur 4.3.1 - 4.3.3 word die spektra vir p-hidroksiefenielpiruvaat, -laktaat en -asetaat by 'n golflengte van 450 - 650 op tye 1, 3, en 5 minute na byvoeging van die kleurreagens by 'n bepaalde konsentrasie van elke verbinding, aangetoon. In al drie gevalle word basies dieselfde spektrum verkry, soos verwag word op grond van die gemeenskaplike voorkoms van die p-hidroksiefeniel-syketting. Die omvang van kleurontwikkeling was ietwat laer in geval van p-hidroksiefenielasynsuur.

Figuur 4.4.1 - 4.4.3 gee 'n grafiese voorstelling van die maksimumabsorpsie (by $\lambda = 520$) teenoor verskillende konsentrasies van die metaboliëte soos afgelees uit die spektra waarvan Figuur 4.3 voorbeelde is. Hieruit blyk weer eens dat die omvang van kleurontwikkeling tussen hierdie drie standaarde verskil, en wel volgens die orde p-hidroksiefenielmelksuur > p-hidroksiefenielasynsuur > p-hidroksiefenielpiruviensuur. Binne die grense van die konsentrasies wat gebruik is, volg al drie standaarde egter die wet van Beer-Lambert. Hierdie konsentrasiegrens is egter nie vir tirosien self toepasbaar nie, weens die lae oplosbaarheid van tirosien in water.

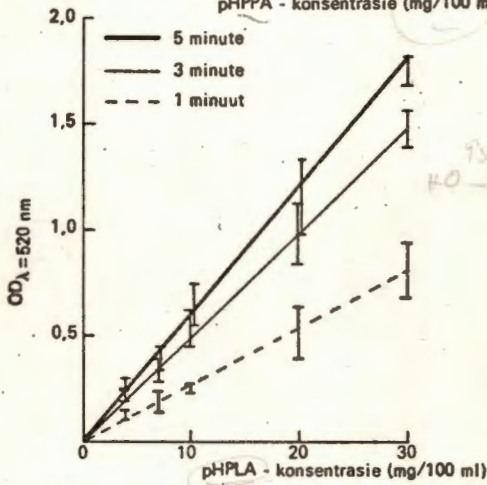
FIGUUR 4.4

Standaardkrommes vir p-hidroksiefenielpiruvaat (4.4.1), -laktaat (4.4.2) en -asetaat (4.4.3) wat opgestel is deur die maksimumabsorpsie van die bepaalde konsentrasies van die verskillende metaboliëte op tye 1, 3 en 5 minute na byvoeging van die kleurreagens, te gebruik.

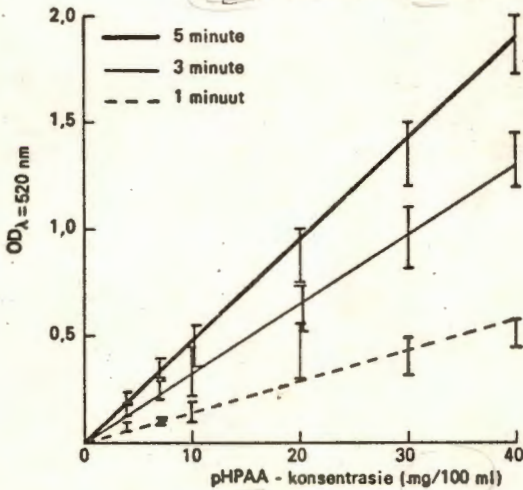
FIGUUR 4.4.1



FIGUUR 4.4.2



FIGUUR 4.4.3



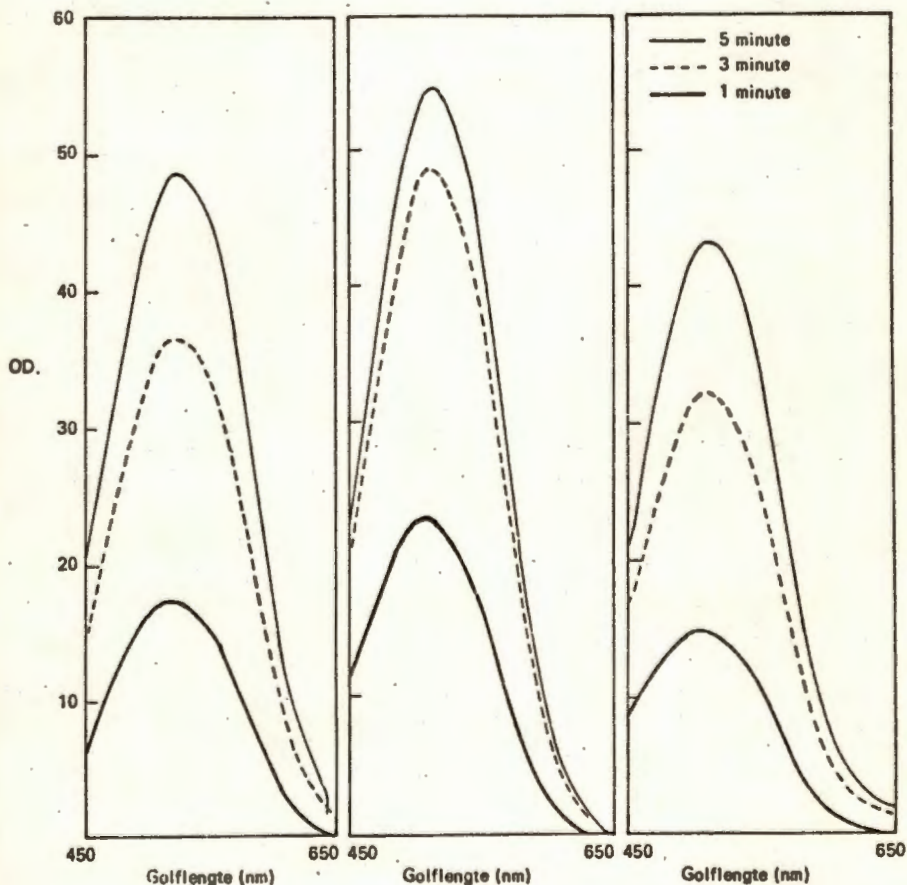
FIGUUR 4.3

Spektra vir p-hidroksiefenielpiruvaat (4.3.1), -laktaat (4.3.2) en -asetaat (4.3.3) by 'n golflengte van 450 - 650 nm op tye 1, 3 en 5 minute na byvoeging van die kleurreaksies by 'n bepaalde konsentrasie (10mg/100ml) van elke verbinding.

FIGUUR 4.3.1

FIGUUR 4.3.2

FIGUUR 4.3.3



4.2.2.4 Gevolgtrekking

Uit die resultate blyk dat hierdie metode 'n betroubare objektiewe kwalitatiewe bepaling van die hoeveelheid tirosienderivate daargestel het, en dat dit by 'n analise van die tirosienmetaboliete in die urine gebruik sal kan word. Die metode is nog relatief eenvoudig, vinnig en ekonomies en voldoen dus aan een van die oorspronklike kriteria wat vir 'n siftingstoets gestel is.

4.2.3 Toepassing van die semi-kwantitatiewe siftingstoets op geselëkteerde pasiënte

4.2.3.1 Uitgangspunt

Die semi-kwantitatiewe siftingstoets is aanvanklik toegepas op 7 pasiënte uit die 36 vermeende positiewe gevalle van die eerste sifting. Die ekskresie van p-hidroksifenielbevattende kataboliete in die urine van die pasiënte is vir vyf opeenvolgende dae vergelyk met 'n gelyke aantal kontroles. Die kontrolegroep is sodanig gekies dat vir elke pasiënt 'n spesifieke persoon gekies is, en wel:

1. van dieselfde geslag;
2. van ongeveer dieselfde ouderdom en
3. uit dieselfde saal afkomstig as sy bepaalde pasiënt.

Verder het hierdie kontrolegroep sover bekend geen metaboiese afwyking gehad nie.

Die doel van hierdie eksperiment is om 'n eerste oriëntasie te kry wat as basis kan dien vir die betroubare eliminisie van die vals-positiewes van die eerste sifting.

4.2.3.2 Resultaat

In Tabel 4.1 word die waardes van die vermeende positiewe gevalle tesame met elkeen se kontrole oor 'n tydverloop van 5 dae aangetoon. Die waardes wat aangegee word, is dié van absorpsie van die kleurkompleks by 'n golflengte van 520 nm 5 minute nadat die kleurreagens by die urine gevoeg is.

TABEL 4.1

Die absorpsie by 'n golflengte van 520 nm van die kleur-kompleks wat gevorm is nadat die semi-kwantitatiewe nitroso-naftol-toets vir 'n aantal dae op die urine van pasiënte en hulle kontroles uitgevoer is.

Pasiënt (P)- en Kontrole (K)-nommer	OD $\lambda = 520\text{nm}$ op 'n tyd = 5 min op dag					Gemiddelde waarde van al vyf dae
	1	2	3	4	5	
71 P	0,260	0,120	0,260	0,165	0,115	0,184
72 K	0,090	0,220	0,245	0,090	0,160	0,161
29 P	0,115	0,225	0,190	0,150	0,065	0,149
72 K	0,090	0,220	0,245	0,090	0,160	0,141
117 P	0,245	0,145	0,160	0,120	0,235	0,181
118 K	0,220	0,200	0,305	0,110	0,155	0,198
308 P	0,160	0,445	0,120	0,200	0,060	0,197
07 K	0,225	0,200	0,275	0,190	0,430	0,264
316 P	0,360	1,535	0,375	0,215	0,190	0,535
07 K	0,225	0,200	0,275	0,190	0,430	0,264
313 P	0,525	1,020	0,295	0,260	0,215	0,463
08 K	0,270	0,430	0,520	0,195	0,325	0,348
03 P	1,240	0,355	0,320	0,235	0,200	0,470
08 K	0,150	0,270	0,520	0,195	0,325	0,292

'n Vergelyking van die waardes van die kontroles met dié van die vermeende positiewe gevalle toon aan dat:

1. die gemiddelde waarde van die kontrolegroep en sommige positiewe gevalle baie na aan mekaar is (byvoorbeeld 29P en 72K);
2. in ander gevalle die waardes van sommige van die persone in die vermeende positiewe groep betekenisvol hoër is

elkeen/....

as dié van elkeen se kontrole (byvoorbeeld 313P en 08K).

3. ander persone uit die vermeende positiewe groep, 'n uitgesproke hoër gemiddelde waarde as sy kontrole het (316P en 07K)

Verder blyk dat 'n omvattende, nie-gekoördineerde, individuele fluktuasie by kontroles, byvoorbeeld 08K, sowel as vermeende positiewe gevalle, byvoorbeeld 316P, voorkom.

4.2.3.3 Gevolgtrekking

Die nie-gekoördineerde fluktuasie toon dat faktore soos die dieet en/of ander omgewingsfaktore nie vir die waargenome variasie verantwoordelik is nie. Verder maak hierdie groot fluktuasie dit noodwendig baie moeilik om positiewe pasiënte alleen op grond van die resultate van die semi-kwantitatiewe analise suksesvol te selekteer. Aangesien geen bestaande statistiese model geskik is vir die oplossing van die probleem nie, moes 'n nuwe statistiese model vir die eliminasië van vals-positiewe ontwikkel word. Dit is uitgevoer in samewerking met die Departement Statistiek van die P.U. vir C.H.O., en word in die volgende afdeling bespreek.

4.2.4 Sekwensiële eliminasië van vals-positiewe gevalle

4.2.4.1 Uitgangspunt:

Die basiese gegewe is dat die oorspronklike groep pasiënte wat met die ruwe sifting geselekteer is, 'n oormaat vals-positiewe gevalle bevat. Uit hierdie groep moet nou deur eliminasië 'n beste groep, wat die werklike positiewe gevalle sal bevat, oorgehou word. Vir hierdie eliminasiëprosedure moet die volgende in ag geneem word:

1. die daaglikse fluktuasie in die konsentrasie van die ekskresieprodukte by elke individu van die groep;
2. die omvang van die ekskresieprodukte van elke individu van die groep (byvoorbeeld die relatiewe verhouding tussen die ekskresie van die kataboliet(e) by elke individu in die groep tot die individu met die hoogste ekskresie op die betrokke dag);
3. die mate van betroubaarheid waarmee daar op grond van die optiese digtheidswaardes, tussen verskillende individue in die groep onderskei word (byvoorbeeld die klassifikasie van 313 P en 316 P in Tabel 4.1 as waarskynlike positiewe gevalle, maar 08 K as 'n waarskynlike vals-positiewe geval);
4. die kans wat gestel word dat 'n pasiënt wel 'n waarskynlike positiewe geval is, (byvoorbeeld of met 'n sekereheid van 90% of 70% gesê kan word dat 'n pasiënt wel

'n verdagte geval is en verdere ondersoek geregverdig is)

Uitgaande hiervan, is die volgende verband ontwikkel wat vir die eliminasië van vals-positiëwe gevalle gebruik kan word, d.w.s. vir die samestelling van die beste groep waarin positiëwe gevalle kan voorkom:

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

$$\text{sodat } M_{in} \leq M_{jn} - \frac{1}{n} r \frac{1}{2} g\left(\frac{n}{r}\right) (v_{in}^2 + v_{jn}^2)^{\frac{1}{2}} + \Delta^* \dots\dots\dots(1)$$

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

(2) $M_{in} = \frac{1}{n} \sum_j^n x_{ij}$;

(3) $v_{in}^2 = \frac{1}{n} \sum_j x_{ij}^2 - \bar{x}_i^2$

(4) M_{jn} : maksimum M_{in} ;

(5) v_{jn} : v_{in} van die geval met maksimum M_{in} ;

(6) n : aantal opeenvolgende bepalings;

(7) k : aantal pasiënte, en

(8) p^* en Δ^* gegewe groothede is sodanig dat $\frac{1}{k} < p^* < 1$ en $\Delta^* > 0$.

(9) $r = 1/\Delta^*$

Die eliminasiëprosedures sal dan as volg uitgevoer word:

Neem aan dat die aanvanklike groep uit individue π_1, π_2, π_3

$\dots\dots\dots, \pi_k$ bestaan, met $k \geq 2$. Begin dan deur in fase 1 van die ophame ten minste twee metings vir elk van die individue 1.....k te maak, en bereken M_{i1}, v_{i1}^2 vir $i = 1,$

$\dots\dots\dots, k$. Neem aan dat $M_{s1} = \text{Maks}\{M_{11}, \dots\dots\dots, M_{k1}\}$.

Indien vir 'n seker $i \neq s$ gevind word dat $M_{i1} \leq M_{s1} - r^{\frac{1}{2}} g\left(\frac{1}{r}\right) (v_{i1}^2 + v_{s1}^2)^{\frac{1}{2}} + \Delta^*$,

dan is π_i geëlimineer vir verdere oorweging. Op dieselfde wyse word die eliminasiëprosedure vir 'n volgende waarneming herhaal. Indien hierdie prosedure vir 'n groot aantal kere herhaal word, sal uiteindelik slegs een individu oorbly, wat as die beste individu wat die afwyking binne die oorspronklike groep het, beskou kan word. Hierdie is die hoofdoelstelling van die eliminasiëprosedure wat ontwikkel is. 'n Sekondêre voordeel is egter dat 'n groep (in die proses van eliminasië), ontstaan waarin hierdie "beste individu" voorkom, maar waar die ander lede van die groep ook gevalle sal wees wat ná aan daardie individu verwand is. Dit beteken dat die groep as geheel steeds

uit minder vals-positiewes sal bestaan, soos wat die eliminasië van die "beste individu" vorder. Deur dus die eliminasië nie end uit te voer nie, sal effektief beteken dat 'n reduksie in die aanvanklike groot groep plaasvind tot op so 'n punt dat 'n sinvolle getal oorbly wat vir verdere analises benut kan word.

4.2.4.2 Resultate

4.2.4.2.1 Eliminasiëprosedure

Twee opeenvolgende waardes van die optiese digtheid by 520 nm, 3 minute ná toevoeging van die kleurreagens, is vir al 36 pasiënte van die oorspronklike sifting verkry. Dit het as uitgangspunt vir die eliminasië gedien.

Omdat die statistiese model tydens hierdie ondersoek vir die eerste keer in die praktyk toegepas is en eliminasië stadig moes plaasvind, is die waardes vir die twee parameters Δ^* en p^* relatief streng gekies (0,05 en 0,9 respektiewelik). 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, daar vir alle praktiese doeleindes geen verskil tussen hierdie individue is nie.

Die resultate van fase 1 van die eliminasiëprosedure word in Tabel 4.2.1 saamgevat.

TABEL 4.2

Twee opeenvolgende bepalings van die optiese digtheid by 520 nm, 3 minute ná toevoeging van die kleurreagens by die urienmonsters van die aanvanklike geselekteerde groep, tesame met 'n aantal gegewens vir die eliminasië van vals-positiewe gevalle.

TABEL 4.2.1 $n = 2$, $p^* = 0,9$, $\Delta^* = 0,05$

Pasiënt no.	OD_1	OD_2	M_{in}	V_{in}^2	G	$M_{jn} - G$	E
6	0,430	0,330	0,405	0,00563	0,4238	0,336	x
29	0,130	0,260	0,195	0,00423	0,3953	0,365	/
30	0,420	0,370	0,395	0,00063	0,31211	0,448	/

Pasiënt no.	OD ₁	OD ₂	M _{1n}	V _{1n} ²	G	M _{1n} -G	E
35	0,500	0,165	0,333	0,02806	0,7520	0,008	x
37	0,400	0,260	0,330	0,0049	0,4093	0,351	✓
46	0,325	0,090	0,208	0,01381	0,5641	0,196	x
70	0,325	0,280	0,303	0,00051	0,3090	0,451	✓
71	0,185	0,225	0,205	0,0004	0,3063	0,454	✓
86	0,500	0,110	0,305	0,0380	0,8606	-0,1006	x
91	0,390	0,430	0,410	0,0004	0,3063	0,454	✓
117	0,260	0,165	0,213	0,00226	0,3520	0,408	✓
148	0,410	0,535	0,473	0,00039	0,3886	0,371	x
154	0,265	0,240	0,253	0,00016	0,2998	0,460	✓
165	0,470	0,375	0,423	0,00226	0,3520	0,408	x
225	0,140	0,230	0,215	0,00563	0,4238	0,336	✓
227	0,085	0,410	0,248	0,02641	0,7325	0,027	x
228	0,760	0,450	0,605	0,0240	0,7036	0,056	x
236	0,800	0,330	0,565	0,05523	1,0225	-0,263	x
237	0,220	0,245	0,233	0,00016	0,2998	0,460	✓
251	0,215	0,170	0,193	0,00051	0,30904	0,451	✓
258	0,420	0,290	0,355	0,00423	0,3953	0,365	✓
259	0,200	0,400	0,300	0,01	0,5033	0,257	x
270	0,240	0,185	0,213	0,00076	0,3155	0,445	✓
303	0,760	0,590	0,675	0,007225	0,4543	0,306	x
306	0,190	0,110	0,150	0,00160	0,3364	0,424	✓
308	0,770	0,090	0,080	0,0001	0,2983	0,462	✓
313	0,455	0,485	0,470	0,00023	0,30165	0,458	x
315	0,120	0,420	0,270	0,0225	0,6845	0,076	x
316	0,410	0,415	0,413	0,00001	0,2958	0,464	✓

Pasiënt no	OD ₁	OD ₂	M _{in}	V _{in} ²	G	M _{jn} -G	E
349	0,270	0,140	0,205	0,00423	0,39533	0,365	✓
359	0,515	0,215	0,365	0,0225	0,68446	0,076	×
370	0,110	0,365	0,238	0,01626	0,6003	0,159	×
377	0,300	0,210	0,255	0,00203	0,34656	0,413	✓
02	0,470	0,230	0,350	0,01440	0,57309	0,187	×
03	0,450	1,040	0,745	0,08703	1,27054	-0,511	×
05	0,840	0,680	0,760	0,0064	0,43879	-0,32121	×

TABEL 4.2.2 n = 3, $\Delta^* = 0,05$ $p^* = 0,9$

Pasiënt no.	OD ₃	M _{in}	V _{in} ²	G	M _{jn} -G	E
6	0,450	0,4200	0,0042	0,28471	0,5153	✓
35	0,250	0,3050	0,0202	0,46554	0,3345	✓
46	0,385	0,2667	0,0162	0,42674	0,3733	✓
86	0,505	0,3717	0,0342	0,58276	0,2172	×
148	0,105	0,3500	0,0326	0,57034	0,2297	×
165	0,800	0,5483	0,0332	0,57462	0,2254	×
227	0,325	0,2733	0,0189	0,4535	0,3465	✓
228	0,685	0,6317	0,0174	0,4390	0,3610	×
236	0,530	0,5533	0,0371	0,60403	0,1960	×
259	0,180	0,2600	0,0099	0,35795	0,4421	✓
303	0,890	0,7467	0,0151	0,41536	0,3846	×
313	1,370	0,7700	0,1802	1,29205	-0,4921	×
315	0,100	0,2133	0,0214	0,4767	0,3234	✓
359	0,290	0,3400	0,0163	0,42718	0,3728	✓
370	0,420	0,2983	0,0183	0,44679	0,3532	✓
02	0,930	0,5433	0,0844	0,8888	-0,0888	×
03	0,520	0,6700	0,0693	0,80828	-0,0083	×
05	0,880	0,8000	0,0075	0,32866	0,47134	×

TABEL 4.2.3

$n = 4, p^* = 0,9$

$\Delta^* = 0,05$

Pasiënt no.	OD_4	M_{in}	V_{in}^2	G	$M_{jn} - G$	E
86	0,460	0,3938	0,02714	1,15557	-0,2281	x
148	0,530	0,3950	0,06954	1,25911	-0,3316	x
165	0,930	0,6438	0,05219	1,21777	-0,2903	x
228	0,975	0,7175	0,03518	1,17588	-0,2484	x
236	1,260	0,7300	0,12145	1,37568	-0,4482	x
303	1,420	0,9150	0,09633	1,32051	-0,3930	x
313	1,400	0,9275	0,20953	1,55420	-0,62670	x
02	0,350	0,4950	0,07028	1,26085	-0,3334	x
03	0,570	0,6450	0,05383	1,22173	-0,2942	x
05	0,780		0,00568	1,09961	-0,17211	x

TABEL 4.2.4

$n = 5, p^* = 0,9$

$\Delta^* = 0,05$

Pasiënt no.	OD_5	M_{in}	V_{in}^2	G	$M_{jn} - G$	E
86	0,140		0,03202	1,16147	-0,05147	x
148	0,395	0,3950	0,02443	1,14757	-0,03757	x
165	1,000		0,06206	1,21495	-0,10495	x
228	1,085	0,7910	0,04975	1,19331	-0,08331	x
236	1,075	0,7990	0,11620	1,30603	-0,19603	x
303	1,050	0,9420	0,07998	1,24580	-0,13580	x
313	1,840	1,1100	0,30085	1,57879	-0,46879	x
02	0,265	0,4490	0,06468	1,21951	-0,10951	x
03	0,280	0,5720	0,06438	1,21899	-0,10899	x
05	0,555	0,7470	0,01376	1,12777	-0,01777	x

TABEL 4.2.5

n = 6, p* = 0,9

 $\Delta^* = 0,05$

Pasiënt no.	CD ₆	M _{in}	V _{in} ²	G	M _{jn} - G	E
86	0,080	0,2992	0,03629	0,094596	0,19574	x
148	0,265	0,3733	0,02271	0,92252	0,21918	x
165	0,350	0,6542	0,07022	1,00224	0,13946	x
228	0,325	0,7133	0,07162	1,00450	0,13720	x
236	0,650	0,7742	0,09992	1,04914	0,09256	x
303	0,510	0,8700	0,09257	1,03772	0,10398	x
313	1,300	1,1417	0,2557	1,26807	-0,12637	x
02	0,610	0,4758	0,05750	0,98150	0,16020	x
03	0,410	0,5433	0,05729	0,98115	0,16055	x
05	0,930	0,7775	0,01611	0,91093	0,23077	x

TABEL 4.2.6 (n = 7)

Pasiënt no.	OD ₇	M _{in}	V _{in} ²	G	M _{jn} - G	E
86	0,120	0,2736	0,0350	0,79174	0,32396	✓
148	0,340	0,3686	0,01960	0,76625	0,34945	x
165	0,345	0,6100	0,07189	0,84986	0,26584	x
228	0,990	0,7529	0,07076	0,84814	0,26756	x
236	0,325	0,7100	0,11035	0,90671	0,20899	x
303	0,540	0,8229	0,09268	0,88102	0,23468	x
313	0,960	1,1157	0,2232	1,05678	0,05892	x
02	0,265	0,4457	0,0542	0,82252	0,29318	x
03	0,420	0,5257	0,05102	0,81746	0,29824	x
05	0,860	0,7893	0,01465	0,75789	0,35781	x

TABEL 4.2.7 n = 8

Pasiënt no.	OD_8	M_{in}	V_{in}^2	G	$M_{jn} - G$	E
148	0,250	0,3538	0,01869	0,73011	0,29989	x
165	0,320	0,5737	0,07210	0,80499	0,22501	x
228	0,590	0,7325	0,06482	0,79518	0,23482	x
236	0,240	0,6513	0,08176	0,81784	0,21216	x
303	0,745	0,8131	0,08176	0,81784	0,21216	x
313	0,430	1,0300	0,2468	1,01371	0,01629	x
02	0,600	0,4650	0,05049	0,77551	0,25449	x
03	0,380	0,5075	0,04701	0,77067	0,25933	x
05	0,330	0,7319	0,03589	0,75499	0,27501	x

TABEL 4.2.8 n = 9

Pasiënt no.	OD_9	M_{in}	V_{in}^2	G	$M_{jn} - G$	E
148	0,375	0,3561	0,01665	0,63084	0,3964	✓
165	0,175	0,5294	0,07980	0,71650	0,31070	x
228	0,535	0,7106	0,06147	0,69265	0,33455	x
236	0,335	0,6161	0,11718	0,76296	0,26424	x
303	0,550	0,7839	0,10701	0,75059	0,27661	x
313	1,005	1,0272	0,21940	0,87822	0,14898	x
02	0,350	0,4522	0,04619	0,67217	0,35503	x
03	0,510	0,5078	0,04179	0,66617	0,36103	x
05	0,350	0,6894	0,04630	0,67232	0,35488	x

TABEL 4.2.9

n = 10

Pasiënt no.	OD ₁₀	M _{1n}	V _{1n} ²	G	M _{jn} - G	E
165	0,245	0,5010	0,07910	0,63996	0,37604	
228	0,200	0,6595	0,07878	0,63956	0,37644	
236	0,425	0,5970	0,10875	0,67586	0,34014	
303	0,055	0,7110	0,11937	0,68829	0,32771	
313	0,915	1,0160	0,1986	0,77516	0,24084	
02	0,380	0,4450	0,04204	0,59227	0,4237	
03	0,465	0,5045	0,03778	0,58656	0,42944	
05	0,485	0,6690	0,04543	0,59678	0,41922	

Dit blyk dat vir pasiënt 05 die waarde van die gemiddeld tussen die twee optiese digthede die grootste is, naamlik 0,760.

Nou sal al daardie pasiënte geëlimineer kan word, waarvoor

$$M_{11} \leq M_{s1} - G$$

dit is

$$M_{05, 1} \leq 0,760 - G$$

waar

$$G = \frac{r^{\frac{1}{2}} g(\frac{n}{r})}{n} (V_{1n}^2 - V_{jn}^2)^{\frac{1}{2}} - \Delta^*$$

Ter illustrasie:

Pasiënt no. 303.

Vir $\Delta^* = 0,05$ $k = 36$ $n = 2$ en $p^* = 0,9$

$$G = \frac{r^{\frac{1}{2}} g(\frac{n}{r})}{n} [V_{1n}^2 + V_{jn}^2]^{\frac{1}{2}} - \Delta^*$$

waar

$$g(\frac{n}{r}) = (\frac{n}{r} + \frac{1}{2})^{\frac{1}{2}} [\ln(\frac{n}{r} + \frac{1}{2}) + 2 \cdot \ln(\frac{k-1}{1-p^*})]^{\frac{1}{2}}$$

$$= [\frac{2}{(1/0,05)} + \frac{1}{2}]^{\frac{1}{2}} [\ln(\frac{2}{1/0,05} + \frac{1}{2}) + 2 \ln(\frac{36-1}{1-0,9})]^{\frac{1}{2}}$$

$$= (0,35)^{\frac{1}{2}} [\ln(0,35) + 2 \ln 350]^{\frac{1}{2}}$$

$$= 0,5916[2,303 \times \log 0,35 + 2 \times 2,303 \log 350]^{\frac{1}{2}}$$

$$= 0,5916[-1,5 + 11,718]^{\frac{1}{2}}$$

$$= 0,5916 \times 3,267$$

$$= 1,933$$

$$V_{in}^2 = \frac{1}{n} \sum x_{ij}^2 - \bar{x}_i^2$$

Vir 05 (maksimum M_{in} dus M_{jn})

$$V_{jn}^2 = \frac{1}{2}\{0,840^2 + 0,680^2\} - \left\{\frac{0,840+0,680}{2}\right\}^2$$

$$= \frac{1}{2}\{0,7056 + 0,4624\} - \{0,760\}^2$$

$$= 0,584 - 0,5776$$

$$= 0,0064$$

$$V_{in}^2 = \frac{1}{2}\{0,760^2 + 0,590^2\} - \left\{\frac{0,76+0,59}{2}\right\}^2$$

$$= \frac{1}{2}\{0,5776 + 0,3481\} - 0,455625$$

$$= 0,46285 - 0,455625$$

$$= 0,007225$$

Dus

$$G = \frac{\left(\frac{1}{0,05}\right)^{\frac{1}{2}} \cdot 1,933}{2} \{0,007225 + 0,0064\}^{\frac{1}{2}} - 0,05$$

$$= \frac{4,472 \times 1,933}{2} \{0,013625\}^{\frac{1}{2}} - 0,05$$

$$= \frac{4,472 \times 1,933 \times 0,1167}{2} - 0,05$$

$$= 0,504399 - 0,05$$

$$= 0,454399$$

Dus

$$\text{Vir 303 is } M_{in} - G = 0,76 - 0,454399$$

$$= 0,3056$$

Aangesien $M_{ij}(0,675) > 0,3056$ word pasiënt no. 303 dus nie tydens fase I van die eliminasieprosedure geëlimineer nie.

Die pasiënte wat wel geëlimineer word, is in Tabel 4.2.1 aangetoon.

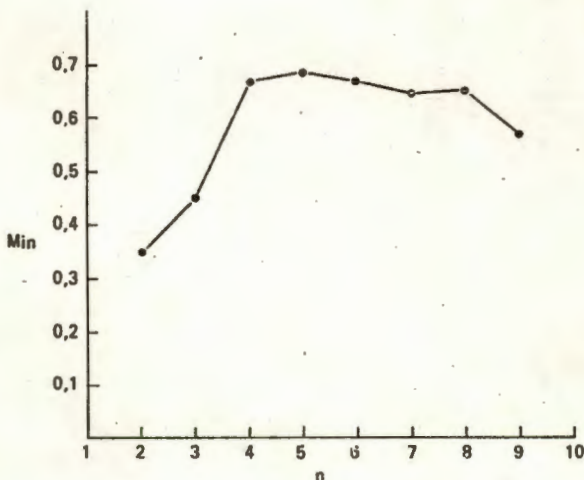
Met behulp van nog 7 stelle optiese digtheidslesings vir elke individu, is die aangetoonde berekening op die aanvanklike 18 pasiënte (wat nie geëlimineer is tydens fase I nie) en daarna telkens op die aantal pasiënte, wat nie in die voorafgaande fase geëlimineer is nie, uitgevoer. Die resultate word in Tabel 4.2.2 - 4.2.9 aangetoon.

4.2.4.2.2 Bespreking

In totaal is die opeenvolgende bepaling vir eliminasië dus nege keer uitgevoer (Fases 1 tot 9). Hiervoor is 10 stelle optiese digtheidslesings vir elke betrokke individu benodig. Uit die grafiese voorstelling van die gemiddelde Min-waarde van al die pasiënte tydens elke bepaalde fase, teenoor die waarde van n (Figuur 4.5), blyk egter dat vanaf 'n waarde van $n \geq 4$ die Min-waarde ongeveer konstant bly. Na die derde fase is die vals-positiewe gevalle dus grotendeels uitgeskakel.

FIGUUR 4.5

Grafiese voorstelling van M_{in} teenoor n vir $p^* = 0,9$ en $\Delta^* = 0,05$



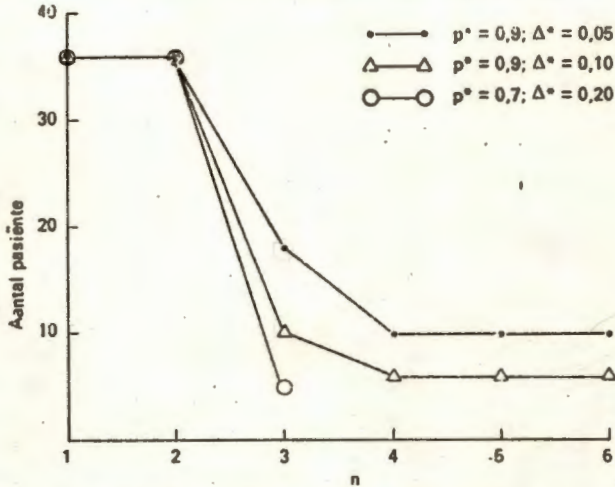
Dus word die semi-kwantitatiewe toets op die urienmonsters, wat 4 keer by 'n pasiënt versamel is, uitgevoer. Hierna kan met behulp van die sekvensiële eliminasiëmetode met redelike sekerheid gesê word of 'n bepaalde pasiënt wel 'n verdagte geval is.

Die keuse vir die gebruik van 0,05 en 0,9 as waardes vir Δ^* en p^* respektiewelik, blyk uit die grafiese voorstelling van

die aantal pasiënte (moontlike positiewe gevalle) teenoor die waarde van n vir verskillende waardes van p^* en Δ^* . (Figuur 4.6)

FIGUUR 4.6

Grafiese voorstelling van die aantal pasiënte teenoor die waarde van n vir verskillende waardes vir p^* en Δ^*



Indien $\Delta^* = 0,10$ ($p^* = 0,9$) word meer pasiënte na fase I uitgeskakel as wanneer $\Delta^* = 0,05$ ($p^* = 0,9$) (Figuur 4.5). Vir hierdie berekening is dus minder optiese digtheidsleings nodig, maar die moontlikheid is groter dat moontlike positiewe gevalle sodoende uitgeskakel word. Dieselfde moontlikheid word in n groter mate aangetref as $p^* = 0,7$ ($\Delta^* = 0,05$). Om te verseker dat geen eliminasië van moontlike positiewe gevalle plaasvind nie, word waardes van 0,05 en 0,9 vir Δ^* en p^* respektiewelik aanbeveel.

Deur die gebruikmaking van die sekwenisiële eliminasiemetoede ($\Delta^* = 0,05, p^* = 0,9$) is die 36 aanvanklike moontlike positiewe gevalle gereduseer tot 7, naamlik pasiënt no. 228, 236, 303, 05, 165, 313 en 03. Om die afwyking wat moontlik in hierdie pasiënte voorkom verder te karakteriseer, is die plasma- en urinêre aminosuursamestelling van elk bepaal.

4.2.5 Plasma- en urinêre aminosuursamestelling van geselekteerde pasiënte

Die resultate van die kwantitatiewe analyses wat van die aminosuursamestellings in die plasma en urine gedoen is, is in Tabela 4.3 en 4.4 saamgevat.

TABEL 4.3

Die plasma-aminosuursamestelling van die geselekteerde pasiënte

Aminosuur	Normale konsen- trasie (μ mole/24 uur)	03	05	165	Pasiënt 228	236	303	313
Taurien	27 - 168	135	65	72	28	68	90	67
Aspartiënsuur	0 - 24	27	10	15	5	12	13	15
Treonien	79 - 246	45	27	73	33	40	58	52
Serien	67 - 193	105	55	65	40	78	70	78
Glutamiënsuur	14 - 192	73	28	33	10	22	32	40
Prolien	100 - 442	115	63	100	85	173	113	207
Glisien	120 - 553	200	70	147	68	165	120	147
Alanien	209 - 659	277	105	193	118	222	242	272
Valien	116 - 315	87	97	88	60	112	115	93
Sistelen	48 - 141	25	18	32	18	28	27	25
Metionien	6 - 39	15	13	15	12	15	20	17
Isoleusien	35 - 97	30	38	27	20	35	35	32
Leusien	71 - 175	55	62	52	37	53	73	57
Tirosien	21 - 87	33	28	30	23	37	40	33
Fenielalanien	37 - 115	37	47	33	23	40	40	40
Triptofaan	19 - 45	17	25	23	25	33	33	33
Ornitien	29 - 125	78	25	38	22	45	35	40
Lisien	82 - 236	87	37	85	50	62	93	60
Histidien	31 - 106	37	28	33	28	43	43	42
Arginien	21 - 137	18	27	67	37	48	52	57

TABEL 4.4

Uitskeiding van aminosure in abnormale konsentrasies in die urien van pasiënte met tirosielurie.

Aminosuur	Normale konsentrasie (μ mole/24 uur)	Pasiënt				
		03	05	306	313	228
Serien	160 - 700	1 110	305	190	1 043	715
Glutamiensuur	55 - 270	88	-	575	65	45
Glutamien	140 - 860	970	258	75	825	525
Glisien	160 - 4 200	1 555	925	5 375	3 480	1 565
Alanien	60 - 800	550	248	580	1 097	350
Valien	14 - 51	93	60	-	110	-
Sistelen	20 - 130	122	30	46	145	45
Metionien	20 - 95	94	58	35	117	85

Uit hierdie gegewens blyk die volgende:

1. Al die pasiënte besit 'n normale plasmatirosien-konsentrasie.
2. Geen uitgesproke geval van die verhoogde konsentrasie van 'n groot aantal aminosure in die bloed is gevind nie, alhoewel pasiënte 03 en 313 'n betekenisvol verhoogde voorkoms van 'n aantal aminosure toon.
3. Die tirosienkonsentrasie in die urien van die pasiënte het 'n verhoogde waarde getoon.
4. 'n Verhoging in die konsentrasie van enkele ander aminosure in die urien is gevind.

In die besonder kan genoem word (na aanleiding van 3) en 4)) dat pasiënte 236, 165, en 303 geen verhoogde uitskeiding van enige ander aminosuur, behalwe tirosien getoon het nie. By hierdie pasiënte kan dus slegs die toestand van tirosielurie voor. Pasiënte waar slegs enkele ander aminosure in verhoogde hoeveelhede uitgeskei is, is 306, 05 en 228. By pasiënte 313 en 03 kom 'n meervoudige aminosuururie voor.

Dit blyk dus dat die pasiënte wat met die nitroso-naftol-toets as gevalle van tirosielurie geïdentifiseer is, meestal in assosiasie met meervoudige aminosuururie geklassifiseer

kan/...

kan word.

4.3 Konklusie

Met behulp van sifting is 36 pasiënte in die Witrandinrigting, wat moontlik 'n afwyking in die metabolisme van tirosien besit, gevind. Aangesien hierdie hoë voorkoms 'n frekwensie van ongeveer 7% impliseer (wat onwaarskynlik is, omdat 7% te hoog is), is na die aanvanklike sifting oorgegaan tot 'n semi-kwantitatiewe toets, waartydens 'n objektiewe spektrofotometriese bepaling (in teenstelling met die subjektiewe kleurbeoordeling tydens die aanvanklike sifting) gemaak is. Nadat hierdie toets vir 5 dae op die urien van 7 moontlike verdagte gevalle en spesifiek geselekteerde kontroles uitgevoer is, is egter 'n omvattende, nie-gekoördineerde, individuele fluktuasie by kontroles, sowel as vermeende positiewe gevalle, gevind. Om hierdie probleem op te los is 'n statistiese model vir die eliminisie van vals-positiewe gevalle ontwikkel. Streng keuses is vir die twee parameters (Δ^* en p^*) gemaak en nadat die opeenvolgende bepaling vir eliminisie 'n aantal kere (met 'n gepaardgaande eliminisie van 'n aantal gevalle na elke fase) vir hierdie pasiënte herhaal is, het 7 pasiënte as die groep met die minste vals-positiewe persone oorgebly. Tydens die eliminisieprosedure het geblyk dat hierdie groep pasiënte reeds nadat slegs 4 stelle optiese digtheidslesings verkry is, gevind kan word. Op die urien en plasma van hierdie pasiënte is nou verdere analyses, en wel aminosuurbepalings, uitgevoer.

Geen gevalle van tirosienemie is gevind nie en behalwe tirosielurie het geblyk dat enkele gevalle van meervoudige aminosuururie voorkom.

HOOFSTUK 5

'N PERSPEKTIEWIESE EVALUERING VAN 'N ONDERSOEK NA DIE VOORKOMS VAN AANGEBORE METABOLIESE AFWYKINGS BY VERSTANDELIKE VERTRAAGDE PERSONE

5.1 Die siftingsprogram

Tydens die ondersoek na aangebore metaboliese afwykings in die Witrandinrigting vir verstandelike vertraagde persone, was een van die hoofdoelstelling die sistematisering van 'n geskikte siftingsprogram. (sien 2.4).

In die geval van die ondersoek na PKU is effektief van 'n reedsbestaande prosedure gebruik gemaak. Hierdie prosedure het kortliks die volgende behels (sien 3.2):

1. Vir die aanvanklike opsporing van moontlike PKU-gevalle, word die FeCl_3 -toets op die urien van die pasiënt uitgevoer.
2. Tydens die verdere opvolgstudie op biochemiese vlak (ter finale bevestiging van die aanvanklike siftings-toets), is die konsentrasie van die verskillende aminosure in die urien van die pasiënt, asook
3. die toleransie van die pasiënt vir fenielalanien en tirosien bepaal.
4. 'n Kliniese beeld van die pasiënt word verkry.

Die enkele PKU-geval in die Witrandinrigting waarop die hele ondersoek gedoen is, toon 'n kliniese beeld van 'n ernstig-vertraagde, rustelose, geïrriteerde, hulpelose, abnormaal-kleingeboude, blonde seun met blou oë en 'n ligte, droë growwe vel en wat altyd die "Schneidersitz-posisie" inneem. (Sien 3.3.4). Hierdie beeld stem ooreen met dié van die tipiese klassieke gevalle van onbehandelde fenielketonurie. 'n Opmerking wat Scriver en Rosenberg (Scriver en Rosenberg, 1973) gemaak het, is hier besonder toepaslik: "The mentally retarded, phenylketonuric patient with eczema, pigment dilution and seizures is likely to become a historical oddity, described at length only in out-of-date medical textbooks and rarely encountered in the population". Die feit dat hierdie PKU-pasiënte later slegs as "historical oddities" beskou sal word, is te danke aan die feit dat na jare-lange noukeurige navorsing van karige gegewens van gevalle wat selde voorkom, tot doeltreffende dieetbehandeling oorgegaan kan word.

By die ondersoek na afwykings in die metabolisme van tirosien kon die omvang van voorkoms van hierdie afwyking nie met die reedsbestaande prosedure gevind word nie. So is byvoorbeeld 'n onwaarskynlike hoë persentasie moontlike positiewe gevalle tydens die aanvanklike sifting opgespoor. (sien 4.2.1). Selfs nadat 'n meer objektiewe semi-

kwantitatiewe metode (4.2.2) ingeskakel is, kon nog nie tot die seleksie van 'n moontlike positiewe groep pasiënte gekom word nie. Die sekvensiële eliminasiëprosedure (sien 4.2.4) is daarna in samewerking met die Departement Statistiek ontwikkel, om hierdie probleem te oorbrug. Hierdie model neem onder andere die daaglikse fluktuasie in die konsentrasie van die ekskresieprodukte in die urien van elke individu ('n fisiologiese verskynsel) in ag. Hierdie fisiologiese verskynsel is nou in 'n matematiese formule vervat, naamlik:

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

By die gebruik van hierdie model kan verskillende waardes vir die parameters Δ^* en p^* gebruik word. Nadat 'n aantal moontlikhede ondersoek is, is gevind dat die gebruik van 0,05 en 0,9 vir Δ^* en p^* respektiewelik die mees doeltreffende gebruik van hierdie model verseker. So is byvoorbeeld gevind dat indien waardes van 0,7 en 0,2 vir p^* en Δ^* gebruik word, pasiënt nommer 313, wat met opvolgstudies 'n besliste positiewe geval blyk te gewees het, reeds na fase 1 sou elimineer.

Die waarde van hierdie model is verder ook daarin geleë dat dit ook in ander ondersoeke na metaboliese afwykings waar soortgelyke probleme as wat tydens hierdie ondersoek na vore gekom het, gebruik kan word 'n Voorbeeld is die ondersoek na metaboliese afwykings in die metabolisme van histidien.

5.2 Die omvang van die afwykings in die metabolisme van fenilalanien en tirosien

'n Tweede doelstelling tydens hierdie ondersoek was om die omvang van voorkoms van afwykings in die metabolisme van fenilalanien en tirosien in hierdie inrigting te bepaal. Hierdeur kon 'n beeld verkry word van die frekwensie waarmee die afwykings in hierdie inrigting voorkom, in vergelyking met dié wat in soortgelyke siftingsprogramme in ander inrigtings gevind is.

Die ondersoek het getoon dat 0,4% van die populasie wat ondersoek is, PKU besit. Alhoewel dit 'n laer persentasie verteenwoordig as wat oor die algemeen tydens ander soortgelyke programme gevind is (gemiddeld 1%) val dit tog binne die algemene persentasiespektrum. Hierdie spektrum wissel van 0% in Frans-Kanada tot 2,7% in Engeland. (Knox, 1972). Hierdie gegewens weerspieël die feit dat die voorkoms van PKU van plek tot plek verskil en 'n waarde van 0,4% is dus glad nie onwaarskynlik nie. Hierdie gegewens is egter net verteenwoordigend van 'n gedeelte van die Witrandpopulasie. Om meer betroubare gegewens daar te stel wat ook die voorkoms van PKU oor die hele land betref moet die inligting wat verkry word uit ondersoeke wat al die inrigtings in die land betrek, in aanmerking geneem word.

Wat die ondersoek na die omvang van afwykings in die metabolisme van tirosien betref, is geen gevalle van tirosinose I (na aanleiding van die resultate van die plasma-aminogramme) gevind nie. Hierdie bevinding is in ooreenstemming met die aanvanklike vermoede dat geen so-
danige gevalle gevind sal word nie, aangesien:

1. die frekwensie daarvan baie laag is (die meeste on-
behandelde pasiënte sterf reeds voordat 'n ouderdom
van 6 maande bereik word) en
2. persone met hierdie afwyking glad nie of slegs tot
'n geringe mate verstandelik vertraag is. Verder is
ook geen gevalle van tirosinose II gevind nie.

Ook hierdie bevinding was te wagte want alhoewel pasiën-
te met hierdie afwyking gewoonlik verstandelik vertraag
is, is die voorkoms daarvan baie laag. (Slegs 7 sulke
gevalle is nog beskryf).

In ooreenstemming met die bevinding by soortgelyke onder-
soeke by ander inrigtings vir verstandelike vertraagde
persone, is tydens hierdie ondersoek 'n matige algemene
aminosuururie (insluitende 'n uitgesproke tirosielurie)
by 4 uit die 500 pasiënte (wat 0,8% van die populasie
verteenwoordig) gevind. ['n Matige algemene aminosuururie
is by 1,3% in Ierland gevind. (Moore, et al., 1972)].
'n Verdere 3 gevalle met slegs tirosielurie (0,6% van
die populasie) is gevind.

Na aanleiding van die resultate wat tydens hierdie onder-
soek verkry is, is dus 'n voorlopige klassifikasie van
pasiënte met 'n moontlike afwyking in die metabolisme van
tirosien gemaak. Alvorens 'n finale klassifikasie egter
gemaak kan word, is verdere ondersoeke nodig. Soos in
die geval van PKU sal 'n betroubare vasstelling van die
voorkoms van hierdie afwyking eers na 'n landswye onder-
soek gegee kan word.

Ten opsigte van een van die doelstelling van hierdie on-
dersoek, naamlik die relatiewe voorkoms van afwyking in
die metabolisme van fenielalanien en tirosien, word die
resultate samevattend in Tabel 5.1 voorgestel.

TABEL 5.1

Die relatiewe voorkoms van afwykings in die metabolisme
van fenielalanien en tirosien soos gevind tydens 'n onder-
soek wat in die Witrandinrigting geloods is.

<u>Metaboliiese afwyking</u>	<u>Persentasie</u>
PKU	0,4
tirosielurie	0,6

algemene/....

Metaboliese afwykingPersentasie

algemene aminosuururie
 tirosinose 1
 tirosinose 11

0,8
 0
 0

5.3 DIE NOODSAAKLIKHEID VAN SIFTING VIR AMA's : BY VERSTANDELIKE VERTRAAGDE PERSONE

Dit is reeds in die inleiding gestel dat sifting vir AMA's 'n essensiële deel uitmaak van die poging om die pasiënte van inrigtings vir verstandelike vertraging te klassifiseer.

Die motivering vir die instelling van hierdie program was egter nie net geleë in die bydrae wat dit tot hierdie klassifikasie moes maak nie, maar ook die volgende:

5.3.1 Gestandaardiseerde siftingsmetodes vir PKU en afwykings in die metabolisme van tirosien is daargestel. Hierdie metodes word spesifiek by inrigtings of vir die sifting van groot hoeveelheid persone gebruik en geld nie vir die sifting van pasgebore babas nie.

5.3.2 Nuwe afwykings kan tydens sodanige siftingsprogramme geïdentifiseer en geklassifiseer word. Tergelykertyd ontstaan 'n beter begrip van die genetiese en kliniese aspekte van die reeds bekende AMA's. Hierdie gegewens kan weer lei tot 'n meer effektiewe behandeling van persone met bepaalde AMA's.

5.3.3 Deur hierdie ondersoek word noodsaaklike opvolgwerk by die naasbestaendes van persone met AMA's moontlik gemaak. Die Departement van Gesondheid, gee baie aandag aan hierdie genetiese raadgevinge. (1,2)

5.3.4 'n Positiewe bydrae word hiermee gemaak tot die groot leemte wat tans vir inligting in verband met die verspreiding en voorkoms van AMA's in Suid-Afrika en ook wêreldwyd bestaan. 'n Belangrike saak wat hier vermelding verdien is die feit dat die gegewens in verband met die omvangsbepaling van bepaalde AMA's nie verteenwoordigend vir die hele populasie en al die AMA's nie verteenwoordigend vir die hele populasie en al die AMA's waarvoor gesif word is nie en wel om die volgende redes:

5.3.4.1 'n Relatiewe hoë sterftesyfer onder persone met AMA's het tot gevolg dat die meeste van hierdie persone sterf voordat hulle in inrigtings opgeneem word.

5.3.4.2 Alle metaboliese afwykings gaan nie met verstandelike vertraging gepaard nie. As gevolg van biologiese individualiteit word dieselfde mate van beperking ook nie deur 'n bepaalde AMA op alle persone gelê nie.

5.3.4.3 Persone met sommige AMA's kan met dieetbehandeling so te sê normaal ontwikkel en sal nie in inrigtings opgeneem word nie.

5.3.5 Die instelling van hierdie program is nie net tot voordeel van 'n bepaalde hoë -risikogroep van die bevolking nie. Garrod (Garrod, 1902) het tereg opgemerk" these inborn errors (are) merely extreme examples of variation of chemical behavior"..... Die opheldering van biochemiese prosesse wat by die identifisering van nuwe AMA's plaasvind kan slegs tot voordeel van elke individu strek.

Ten slotte word enkele aanbevelings voortspruitend uit hierdie verhandeling gemaak.

1. Dat met hierdie program voortgegaan word en dat na sorgvuldige oorweging soortgelyke ondersoeke moontlik na ander hoë risikogroepe soos babas in intensiewe sorgeenhede en persone in sielkundige inrigtings uitgebrei word.

2. Dat 'n goed-gekoördineerde landswyse sifting vir sekere hoë frekwensie AMA's neonntaal soos PKU en histidinemie by babas gedoen word.

Dat sifting vir heterosigote vir sekere AMA's gedoen word.

Dit impliseer spesifieke populasies waar 'n baie hoë voorkoms van die draetoestand van 'n bepaalde afwyking voorkom en 'n akkurate, eenvoudige, goedkoop laboratoriumtoets hierdie heterosigote kan opspoor. 'n Voorbeeld van so 'n populasie is die Ashkenazi Jode waar 1 uit elke 20 tot 30 persone 'n draer van Tay-Sach-siekte is.

1) Lemkus, S.M. en Op't Hof, J. 1977. Genetic training of nurses in South Africa. S.A. Nursing Journal, Nov 1977 p. 17-18.

2) Op't Hof, J. 1977. Family Planning in Genetic Services. S.A. Nursing Journal, Nov. 1977 p. 3-

BYLAE A

Die 36 pasiënte wat met 'n eerste ruwe sifting as gevalle met potensiële versteurings in die metabolisme van tirosien geïdentifiseer is, het na vore gekom in die eerste fase van die siftingsprogram (19) voorafgaande aan die ondersoek wat in hierdie verhandeling beskryf is. Aangesien aspekte van daardie eerste fase van die siftingsprogram direkte implikasies vir die resultate van hierdie verhandeling het, maar buite die terrein van hierdie verhandeling geval het, word die noodsaaklike agtergrond in hierdie bylae aangebied.

Hierdie ondersoek is saalsgewys op persone wat nie 'n chromosomale afwyking het nie uitgevoer. Die resultate in hierdie verhandeling het slegs betrekking op die eerste 500 blanke pasiënte wat ondersoek is. In Tabel A word enkele besonderhede aangaande die pasiënte in bepaalde sale gegee.

TABEL A

Algemene en saamvattende besonderhede van die sale wat deel van die eerste fase van die biochemiese siftingsprogram gevorm het.

Saal	Ouderdom	Geslag	IK	Verdere besonderhede
A	12-18 jaar	M	wissel	
B	6- 18 jaar	V	wissel	
C	> 18 jaar	V	20-35	Kan gladnie opgelei word nie.
D	6-12 jaar	M	wissel	
E	>18 jaar	M en V	51-67	
O	<12 jaar	M en V	wissel	Serebraal verlam
V ₂	<12 jaar	M en V	<20	
14	>12 jaar	M	20-35	rystoel pasiënte
15	>12 jaar	M	20-35	
17	>18 jaar	M	< 20	
1				Hospitaalsaal.

Bylae B

Die kliniese en psigologiese beskrywing van die 36 pasiënte wat vir moontlike versteurings in die metabolisme van tirosien ondersoek is, het buite die eksperimentele opset en bevoegdheidsfeer van hierdie verhandeling geval. Aangesien hierdie agtergrond van die pasiënte egter wel op die resultate betrekking mag hê, word bepaalde besonderhede in hierdie verband verskaf.

1. Besonderhede van die pasiënte

Al 36 pasiënte kom uit die oorspronklike groep van 500 pasiënte wat aan die eerste fase van die siftingsprogram, voorafgaande aan die ondersoeke van hierdie verhandeling, uitgevoer is (sien Bylae A). Besonderhede oor die 36 pasiënte (almal blank) word in Tabel B saamgevat.

TABEL B

Besonderhede van die 36 pasiënte wat vermeende versteurings in die metabolisme van tirosien gehad het

Pasiënt no.	Saal	Geboortedatum	Geslag	IK	Ander besonderhede
6	0	21.2.67	M	<20	Serebraal verlam
35	14	23.11.32	M	36-50	Spasties
37	V ₂	30.6.65	M	<20	
46	C	21.10.64	V	20-35	
70	C	29.8.67	V	20-35	
71	C	29.8.67	V	20-35	
86	C	26.5.58	V	20-35	
91	0	28.10.67	M	<20	Serebraal verlam
117	D	13.1.65	M	36-50	Doofstom, skool bygewo
148	V ₂	19.12.61	M	<20	
154	D	23.11.59	M	45	Woon skool by, kan lees skryf aan sport deelneem
165	1	.38	V		Oorlede
225	D	26.6.57	M	40	Woon skool by, lees en skryf, liggaamlik goed ontwikkel
227	D	7.7.65	M	<20	Doofstom, asosiaal, rust loos
228	D	4.7.60	M	20-35	Kan nie lees of skryf nie
236	B	15.10.60	V	40	Woon skool by
237	B	19.6.26	V	+ 45	Epilepties, woon skool by
251	E	27.12.53	V	> 35	Liggaamlik gesond, hum rig
258	B	31.12.58	V	46	Epilepties, ná geboorte vir 2 maande in broeika
259	B	13.10.66	V		Breinbeskadiging by geboorte, praat moeilik & stadig
270	B	10.5.59	V	± 46	Doofstom, kongenitale hartdefek
303	A	28.10.54	M		Breinbeskadiging a.g.v anoksie by geboorte.
306	17	9.7.25	M	<20	
308	17	26.11.04	M	<20	
315	17	11.2.11	M	<20	
316	17	21.2.05	M	<20	
359	15	14.1.50	M	36-50	
377	14	.06	M	36-50	Spasties
370	14	27.2.21	M	36-50	Spasties
02	17	11.09	M	<20	
03	17	30.4.48	M	<20	
05	0	19.12.67	V	35-50	Serebraal verlam

2. Die dieet

Die normale dieet van die Witrand Inrigting is deur al die pasiënte gevolg. Geen verdere besonderhede aangaande hierdie dieet is ingewin nie, aangesien die effek wat dit op die resultate kan hê, juis uitgeskakel is deur die gebruik van die sekvensiële metode van analise.

3. Medikasie aan die pasiënte

Volle besonderhede oor medikasie wat die pasiënte ontvang het, is ingewin. Waar hierdie ondersoek

spesifiek betrekking gehad het op die identifisering van versteurings wat juis weens die aanwesigheid van abnormale konsentrasies van tiroisien en sy metaboliete gemaak is, is die moontlike invloed van medikasie uitgeskakel, deurdat die finale analise (aminogramme van urien en serum) spesifieke analises vir hierdie metaboliete is.

BIBLIOGRAFIE

- AIRAKSINEN, M.M., LEHTÄNEN, I.-L., TURAKKA, H., MARVOLA, M. en MACDONALD, E.J. 1975. Protective effect of tryptophan and 5-hydroxytryptophan on experimental phenylketonuria induced with phenylalanine and p-chlorophenylalanine in rats. Medical Biology, 53 : 481 - 488
- ANDERSON, J.A., FISCH, R., MILLER, E. en DOEDEN, D. 1966. A-typical phenylketonuric heterozygote. Journal of Pediatrics, 68 : 351 - 360
- ANDERSON, J.A. en SWAIMAN, F.F. 1967. Phenylketonuria and allied metabolic diseases. Proceedings of a conference held at Washington, D.C. April 6 - 8, 1966. U.S. Department of health, education and welfare. Childrens Bureau.
- ANTONAS, K.N. en COULSON, W.F. 1975. Brain uptake and protein incorporation of amino acids studied in rats subjected to prolonged hyperphenylalaninaemia. Journal of Neurochemistry, 25 : 309 - 314.
- ANTONAS, K.N. en COULSON, W.F. 1976. Concentrations of phenylalanine and tyrosine in plasma and brain of rats treated with phenylalanine loads. Biochemical Society Transactions, 4 : 94 - 100.
- ARONSSON, S., ENGBERG, G., JAGENBURG, R. en PALMGREN, B. 1968. Long-term dietary treatment of tyrosinosis. Journal of Pediatrics, 72(5): 620 - 627.
- AVINS, J., GUREFF, G. en KUMABARA, T. 1975. Ultrastructural changes in rat optic nerve associated with hyperphenylalaninemia induced by parachlorophenylalanine and phenylalanine. J. of Neuropathology and Experimental Neurology, 34 (2) : 178 - 188.
- AYLING, J.E., HELFAND, G.D. en FIRSON, W.D. 1975. Phenylalanine hydroxylase from human kidney. Enzyme, 20 : 6 - 19.
- BAKKER, H.D., VAN SPRANG, F.J. en WADMAN, S.K. 1976. Tyrosinosis. Ned.T. Geneesk., 120 (22) : 944- 951.
- BARTHOLOMÉ, K. 1974. A new molecular defect in phenylketonuria. Lancet, ii : 1580
- BARTHOLOMÉ, K., INTZ, P. en BICKEL, H. 1975. Determination of phenylalanine hydroxylase activity in patients with phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. Pediat. Res., 9 : 899 - 903
- BERG, K. en SAUGSTAD, L.F. A linkage study of phenylketonuria 1974. Clinical Genetics, 6 : 147 - 152.
- BERRY, H.K., SUTHERLAND, B.S. HUNT, M.M., FOGELSON, M.H. en O'GRADY, D. 1976. Treatment of children with PKU using a phenylalanine-free protein hydrolysate (Albumaid XP) American Journal of Clinical Nutrition, 29 : 351 - 357

BERRY, J.F. en WOOLF, L.I. 1952. Estimation of phenylpyruvic acid. Nature, 169 (4292) : 202 - 203.

BODEGARD, G., GENTZ, J., LINDBLAD, E., HINDSEEDT, S. en ZETTERSTRÖM, R. 1969. Hereditary Tyrosinemia : III. On the differential diagnosis and the lack of effect of early dietary treatment. Acta Paediat. Scand., 58 : 37 - 48.

BRADLEY, D.M. en MAHLER, R.F. 1975. Effect of phenylalanine and its metabolites on the metabolism of leucocytes and lymphocytes. Clinical Science and Molecular Medicine, 49(4) : 343 - 351

BRADY, R.O. 1976. Inherited metabolic diseases of the nervous system. Science, 193 (4255) : 733 - 739.

BUIST, H.R.M., KENNEDY, N-G, en FELLMAN, J.H. 1974. Disorders of tyrosine metabolism. (In Kyhan, red. Heritable disorders of amino acid metabolism : patterns of clinical expression and genetic variation. New York, John Wiley en Seuns, p. 160 - 176)

CASTELS, S. en BRANDT, I.K. 1968. Phenylketonuria.: Evaluation of therapy and verification of diagnosis. Journal of Pediatrics 72(1) : 34 - 40.

CENTERWALL, W.R. en CENTERWALL, S.A. 1961. Phenylketonuria (Föllings's Disease) : The story of its discovery. Journal of the History of Medicine and Allied Science, 16 : 292 - 296.

CHAMOVE, A.S. en HARLOW, H.F. 1973. Avoidance learning in phenylketonuric monkeys. Journal of Comparative and Physiological Psychology, 84(3) : 605 - 612.

CHAMOVE, A.S., KERR, G.R. en HARLOW, H.F. 1973. Learning in monkeys fed elevated amino acid diets. J. Med. Prim. 2 : 223 - 235.

CHAMOVE, A.S., WAISMAN, H.A. en HARLOW, H.F. 1970. Abnormal social behavior in phenylketonuric monkeys. Journal of Abnormal Psychology, 76 (1) : 62 - 68

CLARKE, J.T.R. en LOWDEN, J.A. 1969. Hyperphenylalaninemia: effect on the developing rat-brain. Canadian J. Biochem., 47 : 291 - 295.

COTTON, R.G.H. 1977. The primary molecular defects in Phenylketonuria and its variants. Int. J. Biochem., 8 : 333 - 341.

DELVALLE, J.A. en GREENGARD, O. 1976. The regulation of phenylalanine hydroxylase in rat tissues in vivo: The maintenance of high plasma phenylalanine concentrations in suckling rats : a model for phenylketonuria. Biochem. J., 154 : 613 - 618.

- GARROD, A.E. 1902. The incidence of Alcaptonuria : a study in chemical individuality. Lancet, 2 : 1616 - 1620
- GAULL, G.E., RASSIN, D.K., SOLOMON, G.E., HARRIS, R.C. en STURMAN, J.A. 1970. Biochemical observations on so-called Hereditary Tyrosinemia. Pediatr. Res., 4 : 337 - 344
- GENTZ, J., LINDBLAD, B., LINDSTEDT, S., LEVY, L., SHASTEEN, W. en ZETTERSTROM, R. 1967. Dietary treatment in Tyrosinemia (Tyrosinosis). Amer. J. Dis. Child., 113 : 31 - 37
- GIMENEZ, C., BENAVIDES, J., SANCHEZ-RUBIALES, M., VALDIVIESO, F. en MAYOR, F. 1977. Experimental Phenylketonuria : metabolic studies in rat liver. Molecular and Cellular Biochemistry, 16 (1) : 9 - 16.
- GJESSING, L.R. en HALVORSEN, S. 1965. Hyper methioninaemia in acute tyrosinosis. Lancet, 11 : 1132
- GREENGARD, O. en DELVALLE, J.A. 1976. The regulation of phenylalanine hydroxylase in rat tissues in vivo. Substrate- and cortisol-induced elevations in phenylalanine hydroxylase activity. Biochem. J., 154 : 619 - 624.
- GREENBERG, D.M. 1969. Carbon catabolism of amino acids. (In Greenberg, red. Metabolic Pathways Vol. III. New York, Academic Press, p. 95 - 235).
- GUTHRIE, R. 1963. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. Pediatrics, 32 : 338 - 343.
- HAGGERTY, D.F., YOUNG, P.L., BUESE, J.V. en POPJÁK, G. 1975. Effect of serum on phenylalanine hydroxylase levels in cultured hepatoma cells. Journal of Biological Chemistry, 250(21) : 8428 - 8437.
- HALVORSEN, S. en GJESSING, L.R. 1964. Studies on tyrosinosis: 1, Effect of low-tyrosine and low-phenylalanine diet. Brit. Med. J. 2 : 1171 - 1173
- HOLE, K. 1972. Reduced 5-hydroxyindole synthesis reduces postnatal brain growth in rats. European Journal of Pharmacology, 18 : 361 - 366.
- HOLLAND, W.W. 1974. Screening for disease. Taking stock. Lancet, Dec. 21 : 1494 - 1497.
- HSIA, D. Y-Y. 1970. Phenylketonuria and its variants. Progress in Medical Genetics, 7 : 29 - 68.
- HSIA, D. Y-Y, BERMAN, J.L. en SLATIS, H.M. 1964. J. Am. Med. Assoc., 188 : 203
- HSIA, D. Y-Y, KNOX, W.E., QUINN, K.V. en PAINE, R.S. 1958. A one year, controlled study of the effect of low-phenylalanine diet on phenylketonuria. Pediatrics, 21 : 178 - 201.
- KANG, E.S., SOLLEE, N.D. en GERALD, P.S. 1970. Results of treatment and termination of the diet in Phenylketonuria (PKU). Pediatrics, 46(6) : 881 - 890.

KAUFMAN, S. 1963. The structure of the phenylalanine-hydroxylation cofactor. P.N.A.S., 50 : 1085 - 1093

KAUFMAN, S., HOLTZMAN, N.A., MILSTIEN, S., BUTLER, I.J. en KRUMHOLZ, A. 1975. Phenylketonuria due to a deficiency of dihydropteridine reductase. New England Journal of Medicine, 293 : 785 - 790.

KNOX, W.E. 1972. Phenylketonuria (In Stanbury, Wyngaarten, Fredrickson, red. The metabolic basis of inherited disease. New York, Mc Graw-Hill p. 236 - 295).

KNOX, W.E. en HSIA, D. Y-Y 1957. Pathogenetic problems in phenylketonuria. Amer. J. Med., 22 : 687.

KOCH, R., BLASKOVICS, M., WENZ, E., FISHLER, K. en SCHAEFFLER, G. 1974. Phenylalaninemia and phenylketonuria. (In Nyhan, red. Heritable disorders of amino acid metabolism: patterns of clinical expression and genetic variation. New York, John Wiley en Seuns, p. 109 - 140).

KRETCHMER, N. en ETZWILER, D.D. 1958. Disorders associated with the metabolism of phenylalanine and tyrosine. Pediatrics, 21 : 445 - 475.

LA DU, B.N. en GJESSING, L.R. 1972. Tyrosinosis and Tyrosinemia. (In Stanbury, Wyngaarten, Fredrickson, red. The metabolic basis of inherited disease. New York, Mc Graw-Hill p. 296 - 306).

LA DU, B.N. en ZANNONI, V.E. 1967. Inhibition of phenylalanine-hydroxylase in liver. (In Anderson, Swaiman, red. Phenylketonuria and allied metabolic diseases. Washington D.C., U.S. Department of health, education and welfare. Children's Bureau).

LINES, D.R. en WAISMAN, H.A. 1973. The effect of feeding 8-2-thienylalanine on phenylalanine metabolism in the Rhesus monkey. Aust. N.Z.J. Med. 3 : 169 - 173

MEDES, G. 1932. A new error of tyrosine metabolism: tyrosinosis. The intermediary metabolism of tyrosine and phenylalanine. Biochemical Journal, 26 : 917 - 940.

MENKES, J.H. 1967. The pathogenesis of mental retardation in PKU and other inborn errors of amino acid metabolism. Pediatrics, 39(2) : 297 - 308

MILLER, M.R., Mc CLURE, D. en SHIMAN, R. 1976. Mechanism of inactivation of phenylalanine hydroxylase by p-chlorophenylalanine in hepatoma cells in culture. Journal of Biological Chemistry, 251(2) : 3677 - 3684.

MILLER, M.R. en SHIMAN, R. 1976a. Reversible inactivation of phenylalanine hydroxylase by catecholamines in cultured hepatoma cells. J. Biol. Chem., 251(12) : 3671 - 3676.

MILLER, M.R. en SHIMAN, R. 1976b. Hydrocortisone induction of phenylalanine hydroxylase isozymes in cultured hepatoma cells. Biochemical en Biophysical Research Communications, 68(3) : 740 - 745.

- MOORE, P.T., MARTIN, M.C. en COFFEY, V.P. 1972. Screening for biochemical abnormalities in the urine of the mentally handicapped in Dublin. J. ment. Defic. Res., 16(2) : 128 - 138.
- MURTHY, L.I. 1975. Inhibition of phenylalanine hydroxylase activity by α -methyl tyrosine, a potent inhibitor of tyrosine hydroxylase. Life Sciences, 17 : 1777 - 1784.
- NITOWSKY, H.M. 1975. The significance of screening for inborn errors of metabolism. (In Seminaar: Biochemiese siftingsmetodes vir genetiese afwykings. Pretoria.)
- NUTZENADEL, W., LUTZ, P. EN BICKEL, H. 1972. Tyrosinose: Primäre und sekundäre biochemische Veränderungen. Z. Kinderheilk., 113 : 193 - 204.
- NYHAN, W.L., 1974. Patterns of clinical expression and genetic variation in the inborn errors of metabolism. (In Nyhan, red. Heritable disorders of amino acid metabolism: patterns of clinical expression and genetic variation. New York, John Wiley en Seuns, p. 3 - 16).
- PARTINGTON, M.W. en ANDERSON, R.M. 1964. General practice: case finding in Phenylketonuria I. Report of a survey by the college of general practice of Canada. Canad. Med. Ass. J., 90 : 1312 - 1315.
- 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.
- POLIDORA, V.J. 1967. Behavioral effects of "Phenylketonuria" in rats. P.N.A.S., 37 : 102 - 106.
- SAUGSTAD, L.F. 1975. Frequency of phenylketonuria in Norway. Clinical Genetics, 7 : 40 - 51.
- SASS-KORTSAK, A., FICICI, S., PAUNIER, L., KOOH, S.W., FRASER, D. en JACKSON, S.H. 1967a. Clinical and biochemical study of three patients with tyrosyluria. Canad. Med. Ass. J., 97 : 1056 - 1058.
- SASS-KORTSAK, A., FICICI, S., PAUNIER, L., KOOH, S.W., FRASER, D., en JACKSON, S.H. 1967b. Observations on treatment in patients with Tyrosyluria. Canad. Med. Ass. J., 97 : 1089 - 1095.
- SCRIVER, C.R. 1962. Hereditary aminoaciduria. (In Steinberg, Bean, red. Progress in medical genetics, vol. II. Grune en Stratton, New York, p. 83 - 165).
- SCRIVER, C.R., CLOW, C.L. en SILVERBERG, M. 1966. Hypermethioninemia in acute tyrosinosis. Lancet, Jan. 15 : 153 - 154.
- 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 disorder. (In Schaffer, red. Major problems in clinical pediatrics, Vol. X. Philadelphia, W.B. Saunders.)

SELLER, M.J. 1972. Some observations on the blood levels of phenylalanine in dilute mice and a comparison between human PKU and the disease of mice homozygous for the dilute gene. Clinical Genetics, 3 : 495 - 500

SEMINAAR, 1975. Biochemiese siftingsmetodes vir genetiese afwykings, Pretoria.

SHAW, C.R. 1971. Frequency of genetic polymorphism: implications for mental disease. (In Ho, McIsaac, red. Brain chemistry and mental disease. New York, Plenum Press)

SHEN, R-S en ABELL, C.W. 1977. Phenylketonuria. A new method for the simultaneous determination of plasma phenylalanine and tyrosine. Science, 197 : 665 - 667.

SMITH, I., CLAYTON, B.E. en WOLFF, O. 1975. New variant of phenylketonuria with progressive neurological illness unresponsive to phenylalanine restriction. Lancet, i: 1108 - 1111.

STANBURY, J.B., WYNGAARTEN, J.B. en FREDRICKSON, D.S., 1972. The metabolic basis of inherited disease. New York, Mc Graw-Hill.

STARFIELD, B. en HOLTZMAN, N.A. 1975. A comparison of effectiveness of screening for Phenylketonuria in the United States, United Kingdom and Ireland. New England Journal of Medicine, 293 : 118 - 121.

TANIGUCHI, K. en GJESSING, L.R. 1965. Studies on Tyrosinosis: 2. Activity of the Transaminase, Parahydroxyphenylpyruvate oxidase, and Homogentisic-acid Oxidase. Brit. Med. J., 1 : 968 - 969.

TAYLOR, D. en HOCHSTEIN, P. 1975. Potential variants of phenylketonuria. Lancet, June 21 : 1378.

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

VALDIVIESO, F., GIMENEZ, C. en MAYOR, F. 1975. In vivo inhibition of rat liver phenylalanine hydroxylase by p- chlorophenylalanine and esculin. Biochemical Medicine, 12 : 72 - 78.

WADMAN, S.K., KETTING, D., DE BREE, P.K., VAN DER HEIDEN, C., GRIMBERG, M. TH. en KRUISWIJK, H. 1975. Permanent chemical phenylketonuria and a normal phenylalanine tolerance in two sisters with a normal mental development. Clinica Chimica Acta, 65(2) : 197 - 204.

WADMAN, S.K. VAN DER HEIDEN, D., KETTING, D. en VAN SPRANG, F.J. 1971. Abnormal tyrosine and phenylalanine metabolism in patients with tyrosinuria and PKU ; gasliquid chromatographic analysis of urinary metabolites. Clinica Chimica Acta. 34 : 277 - 287.

WAGENER, D.K. en CAVALLI-SFORZA, L.L. 1975. Ethnic variation in genetic disease : possible roles of hitchhiking and epistasis. American Journal of Human Genetics, 27(3) 348 - 364.

WAISMAN, H.A. 1967. Induced PKU in experimental animals. (In Anderson, Swaiman, red. Phenylketonuria and allied metabolic diseases. Washington, D.C., U.S. Department of health, education and welfare, Children's Bureau).

WATTS, R.W.E 1977. Recent advances in screening for inborn errors of metabolism. Monogr. human genetics., 9 (in druk)

WATTS, R.W.E., CHALMERS, R.A., LIBERMAN, M.M. en LAWSON, A.M. 1975. Some biochemical effects of chloralhydrate in an infant with a tyrosinemia-like syndrome. Pediatric Research, 9 : 875 - 878

WESP, E.F. en BRODE, W.R. 1934. J. Amer. Chem. Soc., 56 : 1037

WONG, W.K., O'FLYNN, M.E. en INOYE, T. 1964. Clin. Chem., 10 : 1098

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

YUWILER, A. en GELLER, E. 1969. Brain serotonin changes in phenylalanine-fed rats : synthesis, storage and degradation. J. Neurochem. 16 : 999 - 1005.

ZALESKI, W.A., HILL, A. en KUSHNIRUK, W. 1973. Skin lesions in tyrosinosis: response to dietary treatment. British Journal of Dermatology, 88 : 335 - 340.

AFKORTINGS

AMA	aangebore metaboliese afwyking
c-AMP	sikliese adenosienmonofosfaat
DOPA	3,4 - dihidroksiefenielalanien
OD $\lambda = 560\text{nm}$	optiese digtheid by 'n golflengte van 560 nm.
HPA	hiperfenielalaninemie
pHPAA	parahidroksiefenielasynsuur
pHPLA	parahidroksiefenielmelksuur
pHPPA	parahidroksiefenielpiruviensuur
PKU	fenielketonurie

BEDANKINGS

Baie dankie aan

- Prof. C.J. Reinecke vir die hulp en leiding
- Prof Geertsema en Mnr. van Wyk van die Departement Statistiek aan die P.U. vir C.H.O.
- Dr. Kilrose-Smith van die Nasionale Navorsingsinstituut vir Bedryfsiektes van die MNR vir die aminosuuranalises van die plasma en urine van die pasiënte
- Personeel (in besonder Mnr. Blignault) van die Witrandinrigting vir die versameling van die urine monsters.
- die pasiënte in die Witrandinrigting wat sonder om te verstaan, ongerief verduur het tydens die versameling van die urine monsters.
- Persone van die Departement Fisiologie en Biochemie wat as kontroles opgetree het.
- die Ligthelms van Charlesstraaten Colbyn.