

PSA prevail in the circulation and measurement of the free/total PSA ratio (F/T) can be helpful to discriminate between prostate cancer and hyperplasia in patients with moderately elevated total PSA. Apart from the regular PSA forms i.e. free PSA, and PSA complexed to α_1 -antichymotrypsin or α_2 -macroglobulin, aberrant PSA forms may exist. In a patient with stage D PC, whose PSA showed a differential immunoreactivity in different assays, approximately 50% of the immunoreactive PSA was uncomplexed (van Duijnhoven et al, Clin Chem 1996; 42: 637-641). Retrospective reverse transcriptase (RT)-PCR analysis of mRNA recovered from paraffin sections of the surgical specimen has led to the discovery that apart from wild type PSA a mRNA prevailed with an in-frame deletion of 123 nucleotides, which would encode for a protein missing 41 amino acids. A sim-

ilar mRNA has been found in other specimens and we are investigating the (patho)-physiological consequences of this finding.

RT-PCR of PSA mRNA can also be used to evaluate the prevalence of cancer cells in the circulation. In view of the extreme sensitivity of the RT-PCR technique and the moderate specificity of PSA for prostate tissue, other, more tissue specific components of the prostatic cell, like prostate-specific membrane antigen or DD3, might supersede PSA for this purpose, but this is still under investigation.

The concept of detecting tumour cells in the circulation is a fascinating one and hopefully develops into a useful tool which can be used as an aid to provide the best possible care for patients with prostatic neoplasms.

Erfelijke stofwisselingsziekten

Organisator en voorzitter: Prof. dr. J. M. F. Trijbels, Nijmegen

Chemische diagnostiek van erfelijke metabole ziekten (CDEMZ): ervaringen in een groot perifere ziekenhuis

F.A.J.T.M. van den BERGH
Medisch Spectrum Twente, Enschede

Ca. 10% van de bevolking heeft in de loop van zijn leven te maken met een aangeboren afwijking welke geheel of gedeeltelijk erfelijk bepaald is. Multifactoriële aandoeningen maken hiervan 4-6 % uit, chromosoomafwijkingen bij pasgeborenen 0,6%, en genmutaties 1,5%. De overige afwijkingen ontstaan t.g.v. ongunstige omgevingsfactoren zoals infecties tijdens de zwangerschap, straling of intoxicatie.

Voor screening en basisdiagnostiek wordt ondermeer gebruik gemaakt van beeldvormende technieken, cytologisch onderzoek op chromosomen (karyogram) en chemische analyse van lichaamsvloeistoffen.

Erfelijke *stofwisselingsziekten* manifesteren zich i.h.a. zeldzaam, waardoor de doorsnee clinicus weinig vertrouwd is met de opsporing van dergelijke ziektebeelden. Ofschoon een uithoek van de kindergeneeskunde, is hun voorkomen als groep (>250 afwijkingen) echter niet te verwaarlozen. Het % opgespoorde afwijkingen is aanzienlijk lager dan theoretisch verwacht. Wordt er wel *diep* genoeg gescreend? In lang niet alle gevallen kan het defect worden vastgesteld. Bovendien is de huidige chemische basisdiagnostiek beperkt tot onderzoek van metaboliëten en precursors die betrekkelijk 'gangbaar' zijn. Maar wordt er ook *breed* genoeg gescreend en op de juiste populatie? De onbekendheid

van de clinicus met de wijze waarop een aantal metabole stofwisselingsziekten zich manifesteren, speelt hierbij wellicht ook een rol. Bij klinische verdenking vindt in principe verwijzing plaats naar een kinderarts. Deze schakelt zo nodig een klinisch geneticus in voor verdere diagnostiek en erfelijkheidsadviesing. Ook de klinisch chemicus kan hierbij een belangrijke rol spelen. Zelfs indien het analytische traject zich elders (klinisch genetisch centrum) afspeelt, is goede begeleiding van de pre-analyse (materiaalafname: wat, hoe en wanneer?) en post-analyse (interpretatie van gegevens, vervolgonderzoek) van cruciaal belang.

Overeenkomend met landelijke cijfers, wordt ca. 5% van het aangeboden CDEMZ-materiaal door ons als afwijkend bevonden. Het aantal patiënten zonder meetbare metabole afwijking is echter groot, en vormt een voortdurende uitdaging. Naast ad-hoc begeleiding worden daarom maandelijks alle metabole probleemgevallen met de kinderartsen doorgesproken, terwijl ieder trimester een regionale bespreking volgt met de kinderartsen en specialisten van het WKZ (Utrecht). Daarnaast vindt iedere maand multidisciplinair overleg plaats in de werkgroep Erfelijkheidsadviesing van het klinisch genetisch subcentrum Enschede.

Diagnostiek van stoornissen in de beta-oxidatie van vetzuren

M. DURAN

Wilhelmina Kinderziekenhuis, Afdeling Metabole Ziekten, Utrecht

Vetzuren zijn een belangrijke energiebron voor het lichaam. Met name tijdens langdurig vasten worden zij in de levermitochondriën door beta-oxidatie en aansluitend ketogenese omgezet in de ketonlichamen 3-ketoboterzuur en 3-hydroxyboterzuur. Laatstgenoemde stoffen worden in energievragende organen zoals de hersenen verbruikt. Stoornissen in deze route door erfelijke enzymdeficiënties vindt men op verschillende niveaus, te weten A) het onder invloed van carnitine verlopende transport over het mitochondriële membraan, B) de beta-oxidatiecascade, die vele enzymen omvat met ieder een ketenlengtespecificiteit en C) de eigenlijke ketogenese. Patiënten manifesteren zich door ernstige hypoketotische hypoglycemie en/of gestoorde (hart)speerfunctie, veelal op de kinderleeftijd, maar ook later.

De speciële laboratoriumdiagnostiek is gericht op het aantonen van z.g. alternatief metabolisme. Bij de defecten onder B treedt intra-mitochondriële ophoping van acyl-CoA-esters op. Deze zijn substraat voor enerzijds acylcarnitine-synthese en anderzijds omega-oxidatie leidend tot de vorming van dicarbonsuren. Acylcarnitines kunnen in plasma en dicarbonsuren in

urine worden geanalyseerd met gaschromatografische en/of massaspectrometrische technieken. Patiënten met een defect van de carnitine-cyclus (A) worden gekenmerkt door afwezigheid van dicarbonsuurproductie en een overschot van langketen acylcarnitines in sommige gevallen. De bepaling van vrij carnitine in plasma en urine kan aanvullende informatie geven wanneer geen abnormale acylcarnitines of dicarbonsuren worden gevonden.

Soms is analyse van een enkelvoudig plasma- of urine-monster niet genoeg. Dan kunnen provocatietests zoals een orale belastingstest met langketen vet of eventueel een vastentest richtinggevende informatie geven.

De definitieve diagnostiek gebeurt door meting van enzymactiviteiten in gekweekte fibroblasten en zo mogelijk moleculairgenetische analyse.

Defecten van de vetzuuroxidatie behoren tot de meest frequent voorkomende erfelijke stofwisselingsziekten. Afhankelijk van de aard van het defect kan succesvolle behandeling worden toegepast. In vrijwel alle gevallen is prenatale diagnostiek mogelijk.

Functions and dysfunctions of peroxisomes in humans

R.J.A. WANDERS

University of Amsterdam, Depts. of Clinical Chemistry and Pediatrics, Emma Children's Hospital, Laboratory for Genetic Metabolic Disease, Amsterdam

Peroxisomes are subcellular organelles which play an important role in humans. This is exemplified by the existence of a group of inherited diseases in man in which there is an impairment in one or more peroxisomal functions. Most of the functions of peroxisomes have to do with lipids. These are:

- Synthesis of ether-linked phospholipids such as plasmalogens: the two enzymes catalyzing the initial reactions in etherlipid synthesis (dihydroxyacetonephosphate acyltransferase (DHAPAT) and alkyl-dihydroxyacetonephosphate synthase (alkylDHAP synthase) are localised exclusively in peroxisomes explaining the indispensable role of peroxisomes in this process.
- Fatty acid oxidation: just like mitochondria, peroxisomes are capable of fatty acid β -oxidation. Importantly, peroxisomes and mitochondria exhibit different substrate specificities. Long-chain fatty acids such as palmitate and oleate are primarily handled by mitochondria whereas oxidation of very-long-chain fatty acids such as C26:0 and certain branched-chain fatty acids such as pristanic acid occurs primarily in peroxisomes. Recently

much has been learned about the functional and enzymological aspects of peroxisomal β -oxidation.

- Phytanic acid α -oxidation: although the metabolism of phytanic acid has long remained an enigma, recent studies have largely resolved the structure of the phytanic acid α -oxidation pathway by the identification of the first two enzymes, i.e. phytanoyl-CoA synthetase and phytanoyl-CoA hydroxylase.
- Bile acid synthesis: peroxisomes play an indispensable role in bile acid synthesis catalysing the β -oxidative chain-shortening of di- and trihydroxycholestanoic acid to the primary bile acids chenodeoxycholic acid and cholic acid.
- Isoprenoid biosynthesis: although not resolved in detail yet, peroxisomes seem to play a crucial role in isoprenoid biosynthesis.
- Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids
- Fatty acid chain-elongation

The importance of peroxisomes in each of these aspects of lipid metabolism is underlined by the existence of a series of inherited diseases in man with distinct enzyme deficiencies.

Neurotransmitteronderzoek in het kader van de diagnostiek van erfelijke stofwisselingsziekten

R.A. WEVERS

Laboratorium Kindergeneeskunde en Neurologie, Academisch Ziekenhuis Nijmegen

De catecholamine-biosynthese vanaf phenylalanine vereist de activiteit van vele enzymen en de aanwezigheid van tetrahydrobiopterine (= BH₄) als co-factor. Recent zijn enkele erfelijke ziekten gevonden die berusten op defecten in de genen van twee van de betrokken enzymen, tyrosine hydroxylase (= TH) en aromatisch L-aminozuur decarboxylase (= AADC). Ook in de biosynthese van BH₄ zijn een aantal erfelijke defecten bekend. Deze erfelijke ziekten kunnen niet opgespoord worden met conventionele screeningstechnieken als organisch zuur- of aminozuuranalyse. De defecten in de BH₄-biosynthese zijn op te sporen door de vaak verhoogde spiegel van phenylalanine in bloed en door meting van pterines in urine. De diagnostiek van de beide enzymdefecten berust op analyse van neurotransmittermetabolieten in de liquor cerebrospinalis. HVA, 5-HIA en MHPG (= 3-methoxy-4-hydroxy-phenylglycol) zijn van belang om te demonstreren dat er een defect in de pathway aanwezig is. 3-Methoxytyrosine, L-Dopa en 5-

hydroxytryptofaan zijn van belang voor een nadere plaatsbepaling van het defect. Voor een goede interpretatie van deze metingen is het van belang rekening te houden met de sterke concentratiegradiënt van HVA en 5-HIA in de liquorkolom (van lumbaal naar ventrikel), waardoor een gestandaardiseerd afnameprotocol voor de liquor vereist is. Referentiewaarden voor veel van de genoemde stoffen zijn leeftijdsafhankelijk. Meting van HVA, VMA en 5-HIA in urine speelt in de diagnostiek geen rol daar bij veel patiënten normale metabolietconcentraties in de urine worden gevonden. Klinisch gaat het om ernstige neurologische ziekten. Vroegdiagnostiek is voor de patiënt van groot belang omdat er goede therapeutische mogelijkheden zijn. TH-deficiëntie is goed te behandelen met L-Dopa in lage dosering in combinatie met een Dopa-decarboxylaseremmer. Enzymdefecten in de BH₄-biosynthese zijn eveneens goed te behandelen maar met de behandeling van AADC-deficiëntie zijn nog geen grote successen geboekt.

Ontwikkelingen in de immunologie

Organisator: Dr. T. A. Out, Amsterdam. Voorzitters: Dr. T. A. Out en Dr. A. J. van Houte

Eigenschappen van subklassen van immunoglobuline G en A

T.A. OUT

Klinisch Immunologisch Laboratorium, AMC, en Laboratorium voor Experimentele en Klinische Immunologie, CLB,

Immunoglobulinen spelen een essentiële rol bij de afweer tegen microorganismen. Voor het inzicht in de eigenschappen van de afweer is het belangrijk de hoeveelheden van de verschillende klassen en subklassen van immunoglobulinen in het bloed te weten, en inzicht te hebben in hun functies.

Voor de bepaling van de subklassen van IgG zijn voldoende reagentia verkrijgbaar. IgG1, IgG2, IgG3 en IgG4, komen bij gezonde volwassenen in de verhouding 55%, 35%, 5%, 5% voor. Bij kinderen zijn de concentraties vanaf de leeftijd van circa 6 maanden heel laag. IgG1 en IgG3 nemen eerst geleidelijk toe; de toename van IgG2 en IgG4 gaat langzamer. Pas in de tweede decade zijn de concentraties overeenkomstig de volwassen waarden. De bepalingen van subklassen van IgA vereisen nu nog een in het eigen laboratorium ontwikkelde bepalingmethode. IgA1 en IgA2 komen bij gezonde volwassenen in de verhouding 85%, 15% voor. Kinderen hebben heel lage IgA

concentraties; pas in de tweede decade worden volwassen concentraties bereikt.

Deficiënties van IgG zijn vrijwel altijd geassocieerd met het voorkomen van ernstige recidiverende infecties. Verlaagde concentraties van IgG subklassen en van IgA kunnen asymptomatisch zijn. Met name de IgG2 deficiëntie is veel besproken omdat IgG2 deficiëntie relatief vaak voorkomt. Uit recent onderzoek blijkt dat de celreceptoren waar IgG subklassen aan binden om hun effectorfunctie uit te kunnen voeren in verschillende vormen kunnen voorkomen. Lage IgG2 concentraties gecombineerd met het type receptor dat slecht IgG2 bindt, of een combinatie van zo'n receptor met stoornissen van complementeiwitten zijn duidelijker geassocieerd met ernstige recidiverende infecties dan afwijkingen in slechts één onderdeel van de afweer. Het immuunsysteem lijkt reserve capaciteit te hebben zodat dysfunctie van één onderdeel niet noodzakelijkerwijs aanleiding geeft tot klinische symptomen.