

Overzichten

Erfelijke ziekten in het GABA metabolisme

N. M. VERHOEVEN¹, K. M. GIBSON² en C. JAKOBS¹

4-Aminoboterzuur (γ -aminobutyric acid, GABA) is een belangrijke remmende neurotransmitter die, verspreid over het centrale zenuwstelsel, in relatief hoge concentraties voorkomt. De werking van GABA berust op een verandering van de transmembraan potentiaal door binding aan twee verschillende receptoren, de GABA A en de GABA B receptor. In zowel hersenen als extra neuronale weefsel, waaronder de pancreas en de nier, speelt GABA ook een rol in het oxidatieve metabolisme (1). GABA wordt voornamelijk gesynthetiseerd uit glutaminezuur in een door glutaminezuur decarboxylase (GAD) gekatalyseerde reactie. Het katabolisme van GABA behelst de opeenvolgende reacties van GABA transaminase (GABA-T), dat GABA omzet in succinaat semialdehyde (SSA), en succinaat semialdehyde dehydrogenase (SSADH), dat uit SSA succinaat vormt. Succinaat wordt verder gemetaboliseerd in de Krebs' cyclus (figuur 1) (zie 2 voor een overzicht van het GABA metabolisme).

Dit overzichtartikel beschrijft de aangeboren ziekten in het metabolisme van GABA: pyridoxine afhankelijke epilepsie (McKusick 266100), GABA transaminase deficiëntie (McKusick 137150; EC 2.6.1.19) en SSADH deficiëntie (McKusick 271980; EC 1.2.1.24) (tabel 1)

Trefwoorden: GABA; pyridoxine afhankelijke epilepsie; succinaat semialdehyde dehydrogenase deficiëntie; GABA transaminase deficiëntie; CSF; erfelijke metabole ziekten

Pyridoxine afhankelijke epilepsie

Pyridoxine afhankelijke epilepsie, een autosomaal recessief overervende ziekte, kan, hoewel overtuigend enzymatisch bewijs ontbreekt, worden beschouwd als een ziekte in het GABA metabolisme. De klinische

presentatie van pyridoxine afhankelijke epilepsie kent twee varianten: de typische vroeg beginnende vorm en de atypische, later beginnende vorm, beide beschreven in tabel 2 (3). Beide vormen kenmerken zich door het ontbreken van een reactie op conventionele anti-epileptica, maar goede respons op farmacologische doses pyridoxine (10-100 mg/dag) (4,5). Er is geen sprake van pyridoxine deficiëntie. Bij het staken van de behandeling keren de klinische verschijnselen terug. Recent zijn er aanwijzingen gevonden dat de optimale dosis pyridoxine niet die is, waarbij alleen de epilepsie verdwijnt. Bij hogere doses wordt mentale retardatie waarschijnlijk voorkomen (6).

De concentratie van vrij GABA in de CSF is, vóór behandeling, meestal verlaagd. Totaal GABA kan verlaagd of in het laag-normale gebied zijn. Zowel het vrije GABA als het totaal GABA stijgen bij pyridoxine behandeling. GAD, het enzym dat verantwoordelijk is voor GABA productie, gebruikt pyridoxaal-5-fosfaat als co-factor. Algemeen wordt aangenomen dat patiënten met pyridoxine afhankelijke epilepsie een deficiënte GAD activiteit hebben, door gestoorde binding van de co-factor.

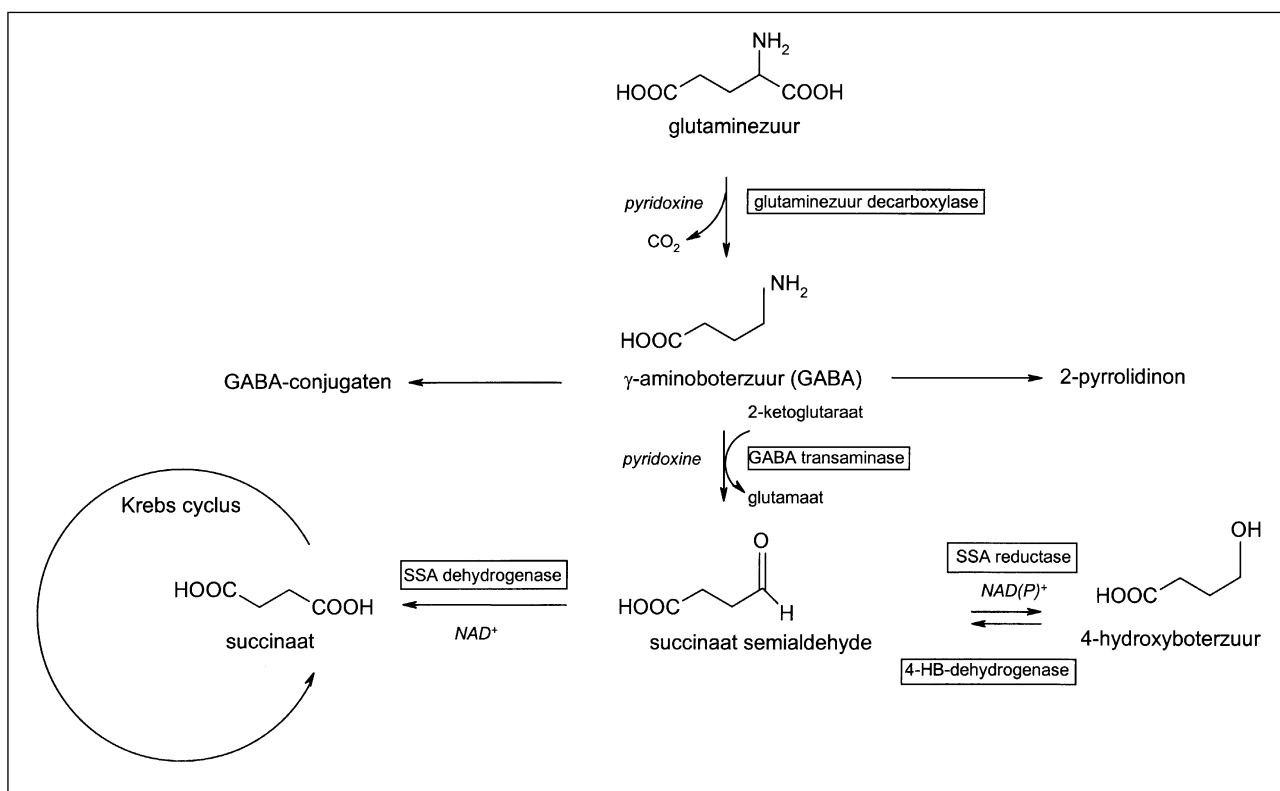
Aanwijzingen dat pyridoxine afhankelijke epilepsie veroorzaakt wordt door GAD deficiëntie zijn geleverd door Yoshida en zijn medewerkers (7). Zij beschreven een afwijkende binding van pyridoxaal-5-fosfaat aan apo-GAD in nier cortex biopsie van een patiënt met mentale retardatie en pyridoxine afhankelijke epilepsie. In een in vitro assay werd een afwezigheid van ¹⁴CO₂ vorming uit uniform gelabeld glutamaat aangetoond. Na toevoeging van co-factor steeg de ¹⁴CO₂ vorming tot boven de waarden in controle weefsel. Hoewel hiermee een GAD deficiëntie in de nier wordt aangetoond, bewijst dit niet dat in de hersenen ook een enzymdefect aanwezig is, gezien het voorkomen van verschillende isoenzymen (65 kDa, GAD₆₅ en 67 kDa, GAD₆₇).

Meer recent onderzoek van Gospe et al. toonde een verlaagde GABA synthese in fibroblasten van patiënten met pyridoxine afhankelijke epilepsie (8). Dit is in lijn met de verhoogde concentraties glutamaat die gevonden zijn in de hersenen en CSF van patiënten met pyridoxine afhankelijke epilepsie (9). In muizen die deficiënt zijn in een van beide isovormen van GAD, GAD₆₇, werden verlaagde GABA concentraties in de cerebrale cortex gevonden (10).

In contrast met deze bevindingen, die pleiten voor de

Metabool Laboratorium, Afdeling Klinische Chemie, Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit, Amsterdam¹; Department of Molecular and Medical Genetics, Biochemical Genetics Laboratory, Oregon Health Sciences University, Portland, USA²

Correspondentie: Dr. ir. C. Jakobs, Metabool Laboratorium, Afdeling Klinische Chemie, Academisch Ziekenhuis Vrije Universiteit, De Boelelaan 1117, 1081 HV Amsterdam.
Ingekomen: 13.11.97



Figuur 1. Het metabolisme van GABA.

Tabel 1. Aangeboren ziekten in het GABA metabolisme

Ziekte	Aantal patiënten	McKusick nr.	Enzym	Chromosoom	EC nr.
Pyridoxine afhankelijke epilepsie	>50	266100	GAD?	10p11.23 2q31	4.1.1.5
GABA-T deficiëntie	2	137150	4-aminobutyraat 2-ketoglutaat aminotransferase		2.6.1.19
SSADH deficiëntie	>150	217980	succinaat semialdehyde dehydrogenase	6p23	1.2.1.24

betrokkenheid van GAD in de pathogenese van pyridoxine afhankelijke epilepsie staan de bevindingen van Bu et al (11). Deze onderzoekers hebben de beide genen, die coderen voor de 2 isovormen van GAD geanalyseerd. Zij concluderen dat de meeste patiënten met pyridoxine afhankelijke epilepsie geen mutaties in het coderende gebied van de GAD genen hebben. De oorzaak van pyridoxine afhankelijke epilepsie moet naar hun mening gezocht worden in een defect in een ander pyridoxine afhankelijk enzym in het neurotransmitter metabolisme.

GABA transaminase deficiëntie

GABA transaminase deficiëntie is voor het eerst beschreven in twee Vlaamse kinderen, broer en zus (12). Beide kinderen hadden vanaf de geboorte ernstige voedingsproblemen, ernstige psychomotore retardatie, hypotonie, hyperreflexie, epilepsie en een

versnelde lengtegroei. Beide zijn overleden voordat zij 3 jaar oud waren. Autopsie toonde leucodystrofie in de hersenen van de jongen.

In tabel 3 worden de biochemische en enzymatische bevindingen in GABA transaminase deficiëntie samengevat. Vrij GABA en β -alanine zijn verhoogd in plasma en CSF. Totaal GABA is verhoogd in CSF. De verhoogde GABA concentraties hebben een groeihormoon vrijmakend effect, waardoor de concentratie groeihormoon in plasma verhoogd is (8-38 ng/ml, normaal <5), wat de versnelde lengtegroei van de twee patiënten kan verklaren.

GABA transaminase deficiëntie werd aangetoond in een leverbiopt en in leukocyten van het meisje. Hoewel niet direct bewezen, suggereert deze deficiëntie van GABA-T in perifeer weefsel ook een deficiëntie in de hersenen, gezien de overeenkomst in kinetische eigenschappen van GABA-T in de verschillende weefsels

Tabel 2. Pyridoxine afhankelijke epilepsie; klinische en biochemische bevindingen en behandeling

Klinische presentatie

Typisch:

- begin van convulsies vóór of kort na de geboorte
- snelle respons op pyridoxine
- geen of slechte respons op conventionele anti-epileptica
- afhankelijkheid van continue therapie
- afwezigheid van pyridoxine gebrek

Atypisch:

- later begin van convulsies, lange periode convulsievrij zonder pyridoxine
- de noodzaak van hogere doses pyridoxine in sommige patiënten
- hogere incidentie dan de typische presentatie

Biochemische bevindingen

- lage concentratie GABA in hersenen en CSF
- hoge concentratie glutamaat in hersenen en CSF
- enzymdefect niet bekend; hypothese: GAD deficiëntie

Behandeling

- minimale orale dosis varieert van 10-100 mg pyridoxine per dag
- convulsies stoppen vaak binnen een paar minuten bij parenterale toediening, na enkele uren bij orale toediening
- bij staken van behandeling komen convulsies terug
- bij intra-uteriene convulsies is behandeling van de moeder effectief (100 mg/dag)

Tabel 3. Biochemische en enzymatische bevindingen in GABA-T deficiëntie

Biochemische bevindingen

Materiaal	Metabolieten	Verhoging t.o.v. controle
CSF	totaal GABA	3x
	vrij GABA	60x
	β -alanine	10x
Plasma	vrij GABA	9x
	β -alanine	4x

Enzymatische bevindingen

Weefsel	GABA-T restactiviteit
leverbiopt patiënt	17%
leucocyten patiënt	3%
leucocyten ouders	13-37%

(13). De intermediaire GABA transaminase activiteit in leukocyten van de ouders van de eerste 2 patiënten impliceert een autosomaal recessieve overerving.

Een poging tot behandeling met pyridoxine, de co-factor van het enzym GABA-T, had helaas geen succes (12).

De diagnose GABA transaminase deficiëntie kan niet gesteld worden in gekweekte huidfibroblasten of amniocyten omdat deze cellen het enzym niet tot expressie brengen. GABA transaminase is wel aanwezig in chorion villi (14).

Humaan cDNA van GABA-T is gekloneerd. Bij analyse van het cDNA van een van de twee patiënten met GABA-T deficiëntie is een missens mutatie gevonden (15).

Tabel 4. Klinische, biochemische en enzymatische bevindingen in SSADH deficiëntie

Klinische bevindingen^a

psychomotore retardatie	94
vertraagde spraakontwikkeling	88
hypotonie	76
hyporeflexie	54
convulsies	50
ataxie	46
hyperkinesie	28
agressief gedrag	26
oculomotore apraxie	16
macrocefalie	14
microcefalie	2
choreoathetosis	10
myopathie met ragged red fibres	4
nystagmus	4
globus pallidus afwijkingen	4
opticus atrofie	4
retinitis pigmentosa	2

Biochemische bevindingen: metabolieten^b

4-hydroxyboterzuur	95
3,4-dihydroxyboterzuur	38
4,5-dihydroxyhexaanzuur	32
glycolzuur	27
3-hydroxypropionzuur	24
2,4-dihydroxyboterzuur	24
adipinezuur	22
glycine	22
3-keto-4-hydroxyboterzuur	14
glutaarzuur	14
suberinezuur	11
succinaat semialdehyde	5

Biochemische bevindingen: enzymactiviteiten^c

lymfocyten (n=16)	0-19% (gem. 4%)
lymfoblasten (n=21)	0- 6% (gem. 2%)
intacte lymfoblasten (n=14)	4-12% (gem. 8%)

a: Percentage patiënten met dit verschijnsel uit een totaal van 50; b: Percentage patiënten met een verhoogde uitscheiding van deze metaboliet uit een totaal van 37 onderzochte patiënten. Niet in alle gevallen werden de concentraties van de verschillende metabolieten gerapporteerd; c: Enzym resultaten uit een totaal van 21 onderzochte patiënten

Succinaat semialdehyde dehydrogenase (SSADH) deficiëntie (4-hydroxybutyric aciduria)

De eerste patiënt met verhoogde uitscheiding van 4-hydroxyboterzuur (γ -hydroxybutyric acid, GHB) werd in 1981 door Jakobs en medewerkers beschreven (16). Sindsdien zijn meer dan 150 patiënten met SSADH deficiëntie gediagnostiseerd (tabel 4). In SSADH deficiëntie is de omzetting van SSA in succinaat geblokkeerd, waardoor SSA stapelt. SSA wordt gereduceerd tot GHB in een reactie die gekatalyseerd wordt door SSA reductase (1.1.1.61), wat leidt tot verhoogde concentraties GHB in urine, plasma en CSF. Hoewel GHB een aantal neuromodulaire eigenschappen heeft, is het niet bekend of GHB, net als GABA, een neurotransmitter is. GHB is bekend om zijn sedatieve en anesthesische eigenschappen. De laatste jaren is GHB populair geworden in de drugscene, door de euforische stemming die optreedt na inname van een lage dosering GHB. Een hogere dosis is echter gevaarlijk, omdat geheugen- en bewustzijns-

verlies, ataxie en epileptische aanvallen het gevolg kunnen zijn.

De klinische presentatie van SSADH deficiëntie is erg heterogeen, zelfs binnen families (17, 18). Vaak presenteert de ziekte zich op de vroege kinderleeftijd als milde encefalopathie met ataxie, hypotonie, vertraagde spraakontwikkeling en milde tot matige mentale retardatie. Er zijn ook patiënten beschreven met een veel ernstiger fenotype met neurologische verschijnselen zoals epilepsie, pyramidale en extrapyramidale verschijnselen, retina afwijkingen en perifere neuropathie. MRI scans van twee kinderen met SSADH deficiëntie toonden bilaterale symmetrische signaalveranderingen in de globus pallidus (19) Het gebrek aan een eenduidig klinisch fenotype en de variabiliteit in de presentatie maken het waarschijnlijk dat SSADH vaak ongediagnostiseerd blijft (17).

De biochemische diagnose kan meestal worden gesteld door het aantonen van GHB in lichaamsvloeistoffen, waaronder urine, plasma en CSF. Een goede kwantificering van deze metaboliet is echter moeilijk, door zijn hoge vluchtigheid. Bovendien is er, in de tot nu toe geanalyseerde patiënten een tendens tot leeftijdsafhankelijke uitscheiding van GHB, met lage concentraties vlak na de geboorte en bij volwassen patiënten. De soms marginale verhogingen in de GHB concentraties kunnen met de klassieke technieken (organische zuren profilering in urine) gemist worden (20, 21).

Naast GHB worden in de urine van patiënten met SSADH deficiëntie ook andere metabolieten in verhoogde mate uitgescheiden. β -Oxidatie van GHB leidt tot de vorming van 3,4-dihydroxyboterzuur en 4-hydroxy-3-ketoboterzuur (16, 22). Omzetting van 3,4-dihydroxyboterzuur leidt tot vorming van glycolzuur. Glycolzuur kan worden omgezet in glycine, wat de glycinurie in sommige patiënten zou kunnen verklaren. Bij α -oxidatie van GHB wordt 2,4-dihydroxyboterzuur gevormd, dat verder kan worden omgezet in 3-hydroxypropionzuur. Dicarbonzuren, mogelijk gevormd door remming van mitochondriale vetzuuroxidatie door accumulering van GHB, kunnen aanleiding geven tot verwarring, daar zij een vetzuuroxidatie-defect suggereren. Belangrijke metabolieten bij de diagnostiek van SSADH deficiëntie zijn threo- en erythro-4,5-dihydroxyhexanoic acid en hun corresponderende lactonen. Deze metabolieten zijn niet verhoogd bij enige andere aangeboren stofwisselingsziekte, zodat zij, naast GHB, kunnen dienen als marker voor SSADH deficiëntie. De dihydroxyhexaanzuur derivaten ontstaan mogelijk door condensatie van een 2 koolstofeenheid uit het pyruvaat metabolisme met het stapelende SSA. De identificatie van metabolieten uit het metabolisme van vetzuren, pyruvaat en glycine in de urine van patiënten met SSADH deficiëntie suggereert dat het enzym defect metabole consequenties heeft, die verder gaan dan het GABA metabolisme.

SSADH deficiëntie kan worden aangetoond in geïsoleerde en gekweekte leukocyten en fibroblasten. Bij ouders en familieleden worden intermediaire activiteiten gevonden, wat wijst op een autosomaal recessieve overerving van de ziekte (23).

Prenatale diagnostiek van SSADH deficiëntie is mogelijk door het aantonen van verhoogde concentraties GHB in vruchtwater door middel van stabiele isotoop dilutie gas chromatografie massa spectrometrie in combinatie met enzym studies in gekweekte amnocyten of chorion villi (24-27).

De irreversibele GABA transaminase remmer, γ -vinyl-GABA (vigabatrin, Sabril[®]) wordt toegepast als therapie voor SSADH deficiëntie (28-32). Bij een deel van de patiënten die met dit medicijn behandeld zijn, is een vermindering van de neurologische en gedragsproblemen en een verbetering van de spraak waargenomen. Sommige patiënten reageren niet op behandeling. Als gevolg van de therapie is er een daling van de GHB concentratie en een stijging van de GABA concentratie in de CSF (31).

Het gen van het SSADH is gelokaliseerd op chromosoom 6p22 (33). Het cDNA is gekloneerd en tot expressie gebracht in bacteriën (34). Bij een patiënt is een deletie aangetoond, die onder meer 5 aminozuren die geconserveerd zijn bij aldehyde dehydrogenasen omvat (35). Huidig onderzoek behelst mutatie-analyse bij patiënten met SSADH deficiëntie.

CSF en de identificatie van aangeboren ziekten in het GABA metabolisme

Er zijn reeds verschillende review artikelen verschenen over de aangeboren ziekten in het GABA metabolisme (4, 36-38). Het aantal gediagnosticeerde patiënten, met name met GABA-T deficiëntie, blijft echter relatief klein. Een mogelijke verklaring hiervoor is de geringe kans dat een ziekte in het GABA metabolisme, SSADH deficiëntie uitgezonderd, wordt gediagnosticeerd zonder CSF onderzoek.

Naast vrij GABA komen er verschillende andere vormen van GABA voor in CSF: GABA peptides (voornamelijk homocarnosine, GABA lysine en GABA cystathionine), N-carboxyethyl-GABA en 2-pyrrolidinon. Homocarnosine en 2-pyrrolidinon zijn hiervan kwantitatief de belangrijkste. 2-Pyrrolidinon, het cycliseringsproduct van GABA, vormt bijna al het ongeïdentificeerde GABA, het verschil tussen totaal GABA en de som van homocarnosine en vrij GABA. De GABA concentratie in CSF is waarschijnlijk een reflectie van de GABA concentratie in de hersenen, en wordt slechts in geringe mate beïnvloed door veranderingen in de perifere GABA concentratie. De meeste methoden voor de bepaling van vrij GABA in hersenweefsel zijn niet gevoelig of specifiek genoeg om de lage concentraties vrij GABA in CSF te kunnen bepalen. Enkele methoden hebben wel de vereiste gevoeligheid en specificiteit: ionuitwisselings- of reversed phase chromatografie met fluorescentie detectie (39) of stabiele isotoop dilutie gas chromatografie massa spectrometrie (40). De bepaling van vrij GABA in CSF wordt bemoeilijkt door een gradiënt in de GABA concentraties, met lage concentraties in de eerste fracties en hogere concentraties in de volgende fracties van een lumbaal punctie. Een andere complicerende factor is de toename van de concentratie vrij GABA in CSF door enzymatische hydrolyse van homocarnosine als het CSF monster niet direct na afname wordt diepgevroren.

De concentraties van vrij GABA in CSF van controle kinderen zijn leeftijdsafhankelijk, met de laagste waarden in de jongere kinderen (39). De concentratie vrij GABA in CSF neemt toe van 15 nmol/l in de neonatale periode tot ca. 65 nmol/l op de leeftijd van 1 jaar, waarna hij stabiel blijft. Ook de concentraties totaal GABA stijgen in het eerste levensjaar van ca. 4 µmol/l tot ca. 7 µmol/l (4).

Literatuur

1. Erdo SL. Peripheral GABAergic mechanisms. *Trends Pharmacol Sci* 1985; 6:205-208.
2. Tillakaratne NJK, Medina-Kauwe L, Gibson KM. Gamma-aminobutyric acid (GABA) metabolism in mammalian neural and nonneural tissues. *Comp Biochem Physiol* 1995; 112: 247-263.
3. Coker SB. Postneonatal Vitamin B6-dependent epilepsy. *Pediatr* 1992; 90: 221-223.
4. Jaeken J, Casaer P, Haeghele KD, Schechter PJ. Review: Normal and abnormal central nervous system GABA metabolism in childhood. *J Inher Metab Dis* 1990; 13: 793-801.
5. Tanaka R, Okumura M, Arima J, Yamakura S, Momoi T. Pyridoxine-dependent seizures: report of a case with atypical clinical features and abnormal MRI scans. *J Child Neurol* 1992; 7: 24-28.
6. Baxter P, Griffiths P, Kelly T, Gardner-Medwin D. Pyridoxin-dependent seizures: demographic, clinical, MRI and psychometric features, and effect of dose on intelligent quotient. *Dev Med Child Neurol* 1996; 38: 998-1006.
7. Yoshida T, Tada K, Arakawa T. Vitamin B6-dependency of glutamic acid decarboxylase in the kidney from a patient with vitamin B6 dependent convulsion. *Tohoku J Exp Med* 1971; 104: 195-198.
8. Gospe SM, Olin KL, Keen CL. Reduced GABA synthesis in pyridoxine dependent seizures. *Lancet* 1994; 343: 1133-1134.
9. Baumeister FAM, Gsell W, Shin YS, Egger J. Glutamate in pyridoxine-dependent epilepsy: neurotoxic glutamate concentration in the cerebrospinal fluid and its normalization by pyridoxine. *Pediatr* 1994; 94: 318-321.
10. Asada H, Kawamura Y, Maruyama K, Kume H, Ding RG, Kanbara N, Kuzume H et al. Cleft palate and decreased brain gamma-aminobutyric acid in mice lacking the 65-kDa isoform of glutamic acid decarboxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 6496-6499.
11. Bu D-F, Christodoulou I, Murrell MJ, Ploder L, Gibson W, Tobin AJ, McInness RR. Pyridoxine responsive epilepsy appears not to be caused by mutations in the GAD1 and GAD2 genes. *Am J Human Genet* 1995; 57: A177
12. Jaeken J, Casaer P, de Cock P, Corbeel L, Eeckels R, Eggermont E, Schechter PJ, Brucher J-M. Gamma-Aminobutyric Acid-Transaminase Deficiency: a newly recognized inborn error of neuro-transmitter metabolism. *Neuropediatr* 1984; 15: 165-169.
13. Gibson KM, Sweetman L, Nyhan WL, Jansen I, Jaeken J. Demonstration of 4-amino-butyric acid aminotransferase deficiency in lymphocytes and lymphoblasts. *J Inher Metab Dis* 1985; 8: 204-208.
14. Sweetman FR, Gibson KM, Sweetman L, Nyhan WL, Chin H, Swartz W, Jones OW. Activity of biotin-dependent and GABA metabolizing enzymes in chorionic villus samples: potential for first trimester prenatal diagnosis. *Prenat Diagn* 1986; 6: 187-194.
15. Medina-Kauwe LK, Nyhan WL, Gibson KM, Tobin AJ. Missense mutations in human GABA transaminase. *Soc Neurosci Abstr* 1995; 21: 734.
16. Jakobs C, Bojasch M, Moench E, Rating D, Siemes H, Hanefeld F. Urinary excretion of gamma-hydroxy-butyric acid in a patient with neurological abnormalities. The probability of a new inborn error of metabolism. *Clin Chim Acta* 1981; 111: 169-178.
17. Gibson KM, Christensen E, Jakobs C, Fowler B, Clarke MA, Hammersen G, Raab K et al. The clinical phenotype of succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency (4-hydroxybutyric aciduria): case reports of 23 new patients. *Pediatr* 1997; 99: 567-574.
18. Rahbeeni Z, Ozand PT, Rashed M, Gascon GG, Al Nasser M, Al Odaib A, Amoudi M et al. 4-Hydroxybutyric aciduria. *Brain Develop* 1994; 16 (suppl): 64-71.
19. Fletcher JM, Keenan RJ, Harrison JR, Johnson DW, Thomas DG. Basal ganglia abnormalities in sibs with succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency. *J Inher Metab Dis* 1996; 19 (suppl 1): 49.
20. Pitt JJ, Hawkins R, Cleary M, Eggington M, Thorburn DR, Warwich L. Succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency: low excretion of metabolites in a neonate. *J Inher Metab Dis* 1997; 20: 39-42.
21. Jakobs C, Smit LME, Kneer J, Michael T, Gibson KM. The first adult case with 4-hydroxy-butyric aciduria. *J Inher Metab Dis* 1990; 13: 341-344.
22. Brown GK, Cromby CH, Manning NJ, Pollitt RJ. Urinary organic acids in succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency: evidence of α -oxidation of 4-hydroxybutyric acid, interaction of succinic semialdehyde with pyruvate dehydrogenase and possible secondary inhibition of mitochondrial β -oxidation. *J Inher Metab Dis* 1987; 10: 367-375.
23. Pattarelli PP, Nyhan WL, Gibson KM. Oxidation of [U - ^{14}C]succinic semialdehyde in cultured human lymphoblasts: measurement of residual succinic semialdehyde dehydrogenase activity in 11 patients with 4-hydroxybutyric aciduria. *Pediatr Res* 1988; 24: 455-460.
24. Jakobs C, Ogier H, Rabier D, Gibson KM. Prenatal detection of succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency (4-hydroxybutyric aciduria). *Prenatal Diagnosis* 1993; 13: 150.
25. Chambliss KL, Lee CF, Ogier H, Rabier D, Jakobs C, Gibson KM. Enzymatic and immunologic demonstration of normal and defective succinic semialdehyde dehydrogenase activity in fetal brain, liver and kidney. *J Inher Metab Dis* 1993; 16: 523-526
26. Gibson KM, Baumann C, Ogier H, Rossier E, Vollmer B, Jakobs C. Pre- and postnatal diagnosis of succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency using enzyme and metabolite assays. *J Inher Metab Dis* 1994; 17: 732-737.
27. Gibson KM, Aramaki S, Sweetman L, Nyhan WL, DeVivo DC, Hodson AK, Jakobs C. Stable isotope dilution analysis of 4-hydroxybutyric acid: an accurate method for quantification in physiological fluids and the prenatal diagnosis of 4-hydroxybutyric aciduria. *Biomed Environ Mass Spectrom* 1990; 19: 89-93.
28. Jaeken J, Jakobs C. Disorders of neurotransmitters. In: Fernandes J, Saudubray J-M, van den Berghe G, eds. *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. New York: Springer-Verlag (1995), 305-313.
29. Matern D, Lehnert W, Gibson KM, Korinthenberg R. Seizures in a boy with succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency treated with vigabatrin (γ -vinyl-GABA). *J Inher Metab Dis* 1996; 19: 313-328.
30. Opp J, Raab K, Jakobs C, Lehnert W, Gibson KM, Sukzinat-semialdehyd-dehydrogenase (SSADH)-Mangel bei zwei Geschwistern. *Monatsschr Kinderheilkd* 1996; 144: 695-698.
31. Gibson KM, Jakobs C, Ogier H, Hagenfeldt L, Edebol Eeg-Olofsson K, Eeg-Olofsson O, Aksu F et al. Vigabatrin therapy in six patients with succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency. *J Inher Metab Dis* 1995; 18: 143-146

32. Jakobs C, Michael T, Jaeger E, Jaeken J, Gibson KM. Further evaluation of Vigabatrin therapy in 4-hydroxybutyric aciduria. *Eur J Pediatr* 1992;151: 466-468.
33. Trettel F, Malaspina P, Jodice C, Novelletto A, Slaughter CA, Caudle D, Hinson DD et al, Human succinic semialdehyde dehydrogenase: molecular cloning and chromosomal localization *Adv Exp Med Biol* 1997; 414: 253-260.
34. Chambliss KL, Caudle DL, Hinson D, Moomaw CR, Slaughters CA, Jakobs C, Gibson KM. Molecular cloning of the mature NAD⁺ dependent succinic semialdehyde dehydrogenase from rat and human. *J Biol Chem* 1995; 270:461-467.
35. Chambliss KL, Caudle DL, Jakobs C, Jaeger E, Malaspina P, Novelletto A, Gibson KM. Localization and genomic structure of human succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH) and detection of an exon deletion in SSADH deficiency (4-hydroxybutyric aciduria). Abstract 143, 7th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Vienna May 21-25 1997.
36. Gibson KM, Nyhan WL, Jaeken J. Inborn errors of GABA metabolism. *BioEssays* 1986; 4: 24-27.
37. Scriver CR, Gibson KM, Disorders of β - and γ -amino acids in free and peptide-linked forms. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill (1995), 1349-1368.
38. Jakobs C, Jaeken J, Gibson KM. Inherited disorders of GABA metabolism, *J Inher Metab Dis* 1993; 16: 704-715
39. Carchon HA, Jaeken J, Jansen E, Eggermont E. Reference values for free gamma-aminobutyric acid determined by ion-exchange chromatography and fluorescence detection in the cerebrospinal fluid of children. *Clin Chim Acta* 1991; 201: 83-88.
40. Kok RM, Howells DW, Heuvel CCM vd, Guérard WS, Thompson GN, Jakobs C. Stable isotope dilution analysis of GABA in CSF using simple solvent extraction and electron capture negative ion mass fragmentography. *J Inher Metab Dis* 1993; 16: 508-512.

Summary

Inherited disorders of GABA metabolism. Verhoeven NM, Gibson KM and Jakobs C. Ned Tijdschr Klin Chem 1998; 23: 124-129.

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is an important inhibitory neurotransmitter, present in relatively high concentrations in the mammalian central nervous system. GABA acts on GABA A and GABA B receptors, resulting in a change in the transmembrane potential.

In both brain and extra-neuronal tissues, among which the pancreas and kidney, GABA plays a role in oxidative metabolism (1). GABA is mainly produced from glutamic acid in a reaction catalysed by glutamic acid decarboxylase (GAD). The catabolism of GABA involves sequential reactions catalysed by GABA transaminase (GABA-T), converting GABA into succinic semialdehyde (SSA) and succinic semialdehyde dehydrogenase, converting SSA into succinate. Succinate is further metabolised in the Krebs cycle. (See 2 for a review on GABA metabolism).

This review describes the inborn errors of GABA metabolism: pyridoxine dependent seizures (McKusick 26600), GABA-T deficiency (McKusick 137150; EC 2.6.1.19) and SSADH deficiency (McKusick 271980; EC 1.2.1.24).

Key words: GABA; pyridoxine dependent seizures; succinic semialdehyde dehydrogenase deficiency; GABA transaminase deficiency; cerebrospinal fluid; diagnosis

Ned Tijdschr Klin Chem 1998; 23: 129-137

Screening op microalbuminurie: aanbevelingen voor urineverzameling, conservering en analyse

A. J. BAKKER

Maatregelen om complicaties bij diabetes mellitus te voorkomen of af te remmen, worden in toenemende mate beïnvloed door de uitkomst van laboratoriumbepalingen. Het aantonen van microalbuminurie is daarvan een belangrijke exponent die de laatste jaren flink aan populariteit heeft gewonnen. In dit overzicht zal kort worden ingegaan op de veranderingen bij diabetes mellitus, die leiden tot nefropathie en de daarmee samenhangende microalbuminurie, en aan de belangrijkste maatregelen, die het ontstaan van de complicaties kunnen afremmen. Vervolgens wordt aandacht geschonken aan de oorzaken van de grote intra-individuele variabiliteit, die de bepaling van microalbuminurie kenmerkt, en aan een aantal analytische aspecten, die de uitkomst van deze bepaling

kunnen beïnvloeden. Tot slot wordt stilgestaan bij de verschillende procedures voor het verzamelen en bewaren van urine voor de bepaling van deze licht verhoogde albumineconcentraties en de met de urineverzameling samenhangende wijze van rapportage.

Trefwoorden: Microalbuminurie; urineverzameling; diabetes mellitus, albumineconcentratie, albumine excretie snelheid; albumine-kreatinine ratio, intra-individuele variatie, bepalingmethoden, urineconservering; referentiewaarden

De belangrijkste complicaties bij diabetes mellitus (DM) zijn verlies van nierfunctie (nefropathie), gezichtsvermogen (retinopathie), atherosclerose (myocardinfarct en apoplexie) en zenuwbeschadiging (neuropathie). Van de patiënten met DM type I (insuline-afhankelijke diabetes mellitus: IDDM) krijgt 45% te maken met nefropathie; de incidentie hiervan neemt sterk toe vanaf het 10e jaar na het stellen van de diagnose (1-3). De progressie van het nierfunctie-

Stichting Klinisch Chemisch Laboratorium Leeuwarden

Correspondentie: Dr. A.J. Bakker, Stichting Klinisch Chemisch Laboratorium, Postbus 850, 8901 BR Leeuwarden.
Ingekomen: 08.10.97