

## PKU

Het aminozuur fenylalanine wordt in het lichaam onder invloed van het enzym PAH (phenylalaninehydroxylase) omgezet tot het aminozuur tyrosine. Het begin van een molecuul PAH kan als volgt worden weergegeven:

Met - Ser - Thr ~.

De aminozuureenheid met nummer 1 heeft het NH<sub>2</sub> uiteinde van het molecuul.

- 3p **20** Geef het bovenbedoelde fragment van PAH in structuurformule weer.

Eén van de afwijkingen waarop pasgeboren baby's worden onderzocht, is PKU (**PhenylKetonUrie**). Bij mensen met PKU vindt de omzetting van fenylalanine tot tyrosine niet plaats. Fenylalanine hoopt zich dan op in het bloed, waardoor hersenbeschadigingen kunnen ontstaan.

Eén van de genetische oorzaken van PKU is een zogenoemde puntmutatie: bij mensen met PKU is in het gen dat codeert voor het enzym PAH op plaats 1222 één basenpaar anders dan bij mensen die geen PKU hebben. Daardoor wordt een eiwit gevormd waarin op één plaats in het molecuul een aminozuureenheid anders is dan in een PAH molecuul. Dit eiwit, dat hierna 'verkeerd-PAH' wordt genoemd, is niet in staat om fenylalanine om te zetten tot tyrosine.

DNA is opgebouwd uit twee ketens (strengen): de matrijsstreng en de coderende streng. De matrijsstreng wordt bij de eiwitsynthese afgelezen, waarbij het messenger-RNA (mRNA) wordt gevormd. Hieronder is een gedeelte weergegeven van de coderende streng van het gen dat op het DNA de informatie voor PAH bevat, en van de coderende streng van het gen dat op het DNA de informatie voor 'verkeerd-PAH' bevat.

1215	1222
↓	↓
PAH: ... A A T A C C T C G G C C C T T ...	
'verkeerd-PAH': ... A A T A C C T T G G C C C T T ...	

De code voor het aminozuur met nummer 1 begint bij het basenpaar met nummer 1.

- 1p **21** Leg uit wat het nummer is van de aminozuureenheid die in 'verkeerd-PAH' anders is dan in PAH.
- 3p **22** Geef het 3-lettersymbool van de aminozuureenheid in PAH en geef het 3-lettersymbool van de aminozuureenheid die op dezelfde plaats in 'verkeerd-PAH' anders is. Geef een verklaring voor je antwoord.

Als PKU is vastgesteld, wordt een eiwitarm dieet voorgeschreven. Door het dieet wordt precies de hoeveelheid fenylalanine ingenomen die nodig is voor het functioneren van het lichaam, maar beslist niet meer. Bovendien moet dagelijks een fenylalanine-vrij voedingssupplement worden ingenomen. Dit voedingssupplement bevat, behalve een kleine hoeveelheid tyrosine, nog enkele andere aminozuren zoals leucine.

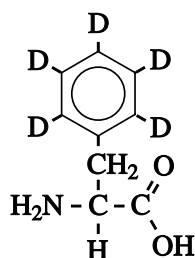
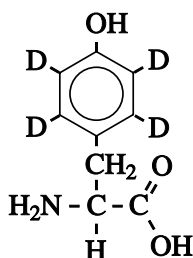
- 1p **23** Geef aan waarom leucine in het supplement aanwezig moet zijn.

Op de verpakking van veel voedingsmiddelen staat de tekst 'bevat een bron van fenylalanine'. Dit is om te voorkomen dat mensen met PKU via de voeding ongemerkt fenylalanine binnen krijgen. Aspartaam, een kunstmatige zoetstof, is zo'n stof die bij inname een ongewenste verhoging van het fenylalanine-gehalte in het bloed kan bewerkstelligen. Bij de omzetting van aspartaam in het lichaam wordt namelijk fenylalanine gevormd. Hierbij ontstaat uit één mol aspartaam één mol fenylalanine.

Voor gezonde mensen is de ADI waarde van aspartaam tamelijk hoog. Maar wanneer mensen met PKU deze stof gebruiken, kan dat leiden tot een onaantvaardbare stijging van de concentratie fenylalanine in het bloed.

- 4p **24** Ga door berekening na wat de toename van de hoeveelheid fenylalanine in het bloed is van iemand van 65 kg met 5,0 L bloed, die gedurende één dag de ADI aan aspartaam inneemt.
- Geef je antwoord in mg fenylalanine per dL bloed.
  - Neem aan dat alle fenylalanine zich tijdens die dag in het bloed ophoopt.
  - De molecuulmassa van aspartaam is 294,3 u.

Om vast te stellen of er sprake is van PKU worden de concentraties van fenylalanine en tyrosine in het bloed van pasgeboren baby's bepaald. Een moderne methode om die concentraties te bepalen, maakt gebruik van de referentiestoffen fenylalanine-d<sub>5</sub> (Phe-d<sub>5</sub>) en tyrosine-d<sub>4</sub> (Tyr-d<sub>4</sub>); zie onderstaande structuurformules.

fenylalanine-d<sub>5</sub>tyrosine-d<sub>4</sub>

Het symbool D in deze formules staat voor deuterium, de isotoop H-2. De aminozuren worden met methanol geëxtraheerd uit het bloed. In de methanol zijn de referentiestoffen opgelost. De oplossing van aminozuren in methanol wordt ingedampt. Aan het mengsel van aminozuren dat aldus wordt verkregen, wordt aangezuurd 1-butanol toegevoegd. Daarbij reageren alle aminozuren, ook de aminozuren die als referentiestoffen zijn toegevoegd, met 1-butanol onder vorming van de butylesters van de aminozuren.

- 2p **25** Geef de structuurformule van de ester van fenylalanine-d<sub>5</sub> en 1-butanol.

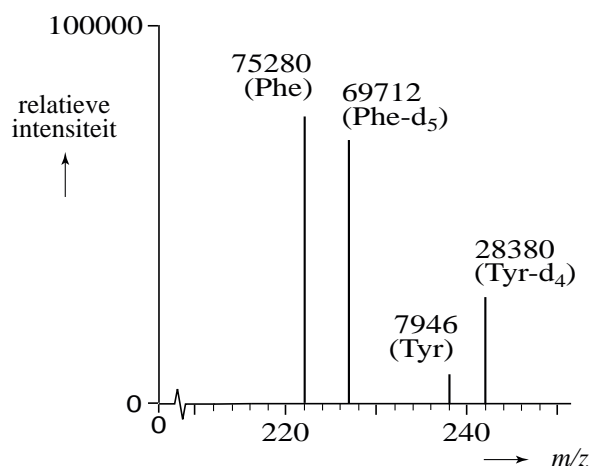
Doordat het toegevoegde 1-butanol een ruime overmaat zuur bevat, worden de aminogroepen in alle esters omgezet tot  $\text{-NH}_3^+$  groepen.

Voor de verdere bepaling wordt een speciale vorm van massaspectrometrie toegepast. Bij deze methode vallen de positief geladen ('geprotoneerde') butylesters van de aminozuren niet uiteen in brokstukken; ze blijven intact.

Bij massaspectrometrie is de hoogte van de piek (de relatieve intensiteit) recht evenredig met het aantal mol van de stof die wordt gedetecteerd. Gelijke hoeveelheden van verschillende stoffen geven bij deze vorm van massaspectrometrie niet een even hoge piek. Gelijke hoeveelheden fenylalanine en fenylalanine- $\text{d}_5$  geven echter wel een even hoge piek en dat geldt ook voor tyrosine en tyrosine- $\text{d}_4$ .

Een kleine hoeveelheid oplossing met de geprotoneerde butylesters wordt in de massaspectrometer gebracht.

Het deel van het massaspectrum dat bij het onderzoek van het bloed van een baby is verkregen en dat voor de bepaling van belang is, staat hieronder afgebeeld. De getallen bij de signalen zijn de relatieve intensiteiten.



De bepaling is zodanig uitgevoerd dat de pieken in het massaspectrum die betrekking hebben op de geprotoneerde butylesters van fenylalanine- $\text{d}_5$  en tyrosine- $\text{d}_4$  (de referentiestoffen), overeenkomen met 200  $\mu\text{mol}$  fenylalanine- $\text{d}_5$  en 200  $\mu\text{mol}$  tyrosine- $\text{d}_4$  per liter bloed.

In Nederland gaat men ervan uit dat er sprake is van PKU wanneer in het bloed de verhouding  $\frac{[\text{Phe}]}{[\text{Tyr}]}$  groter is dan 1,7 en bovendien  $[\text{Phe}]$  groter is dan 150  $\mu\text{mol}$  per liter bloed.

- 3p **26** Ga door berekening na of de onderzochte baby aan PKU lijdt. Gebruik onder andere de relatieve intensiteiten die bij de pieken in het massaspectrum zijn vermeld.