

Summary

Investigation of grow kinetics in non-small cell lung cancer in relation to bcl-2 oncogen expression. Vermes I, Bergh FAJTM van den, Sluijs Veer G van der, Grose WFA, Olthuis FMFG en Haanen C. Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 38-43.

Expression of the bcl-2 oncogene has been described to be a prognostic marker in non-small cell lung cancer (NSCLC) demonstrated by a longer 5-years survival rate. Because bcl-2 expression was found to prevent apoptosis in follicular lymphomas and hematopoietic cell lines, we wondered if the expression of bcl-2 in NSCLC would imply a distinct neoplastic mechanism, in which tumor growth is the result of diminished

cell loss and not the consequence of increased cell production. To investigate to what extent the expression of bcl-2 in NSCLC really affects the growth kinetics of these tumor cells, we intend to measure in tumor specimens of NSCLC patients the extent of bcl-2 expression in relation to proliferation and apoptotic indices. These indices, related to the extent of bcl-2 expression, will possibly provide the answer to the hypothesis that bcl-2 expression in NSCLC implies a distinct tumor biology of bcl-2 protein positive lung cancers compared to bcl-2 protein negative ones.

Key-words: non-small cell lung cancer; bcl-2 oncogene; ki-67 antigen; cell proliferation; apoptosis.

Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 43-50

Lange keten meervoudig onverzadigde vetzuren in de perinatale periode

F. A. J. MUSKIET¹, C. M. van BEUSEKOM¹, E. R. BOERSMA² en A. OKKEN³

Lange keten meervoudig onverzadigde vetzuren (LC-PUFA) zijn structurele componenten van membraan fosfolipiden en "precursors" van eicosanoiden. Ze zijn essentieel voor normale groei en ontwikkeling, met name van de hersenen. De foetus en pasgeborene zijn respectievelijk afhankelijk van LCPUFA-transport over de placenta en LCPUFA-opname uit de voeding, aangezien er geen bewijzen zijn dat ze adequate hoeveelheden uit hun "precursor" vetzuren linolzuur (LA) en α -linoleenzuur (LN) synthetiseren. Inadequate perinatale LCPUFA status, met name laag docosahexa-eenzuur (DHA), is geassocieerd met intra-uteriene groeivertraging, (pre)eclampsie, verminderde visuele perceptie en mogelijk met lager intelligentiequotiënt. We vonden dat, vergeleken met matернаal bloed, navelstrengbloed hogere LCPUFA gehalten bevat in cholesterolesters (CE), triglyceriden (TG) en erythrocyten (RBC). LA en LN zijn echter lager. Het verloop van de LCPUFA met de gestatieduur suggereert dat immature peroxysomale β -oxydatie de voornaamste oorzaak is van de lage capaciteit voor de omzetting van LN in DHA. Gegevens van drie tweelingen lieten de hoogste CE en TG LCPUFA gehalten zien in het zwaarste kind, hetgeen suggereert dat lage LCPUFA status een beperkende factor is in de groei. RBC LCPUFA-gehalte is een meer betrouwbare parameter voor postnatale LCPUFA-status dan het plasma CE LCPUFA-gehalte. Bij de geboorte hebben baby's ho-

gere RBC LCPUFA ω 6 en lagere RBC LCPUFA ω 3 dan hun moeders, hetgeen gedurende 3 weken borstvoeding nauwelijks verandert. Het relatieve LCPUFA-gehalte van moedermelk neemt af met de duur van de lactatie. Daarentegen neemt de 24-uurs LCPUFA-uitscheiding toe. De vetzuursamenstellingen van moedermelk uit verschillende landen laten variabele percentages DHA zien. Het relatief lage DHA-gehalte in melk van Westers etende vrouwen wordt veroorzaakt door een hoge maternale LA-inname en een geringe consumptie van vis. Flessemelk bevat verwaarloosbare LCPUFA gehalten. Vergeleken met borstgevoede tegenhangers veroorzaakt het voeden van pasgeborenen met flessemelk lage CE en RBC LCPUFA-gehalten. Toevoeging van ribonucleotiden aan flessemelk vanaf dag 10 veranderde dit beloop niet. Teneinde groeiretardatie te voorkomen dienen flessemelk LA, LN, LCPUFA ω 3 en LCPUFA ω 6 gehalten gebalanceerd te worden op basis van de regulatie van hun gehalten in moedermelk. Melk van vrouwen met een hogere inname van visolie dan in de Westerse wereld levert mogelijk een goede referentie.

In de jaren zeventig had een pasgeborene van 750 gram (normaal à term geboortegewicht \pm 3.500 gram) nauwelijks een kans tot overleven en als dit gebeurde was er een grote kans op neurologische afwijkingen. De toegenomen kennis van de behoeften van de prematuur (\leq 37 weken) en dysmatuur (beneden de 10^e percentiel naar gestatieduur) heeft deze situatie in de afgelopen 20 jaar doen veranderen. Deze kennis kwam onder andere voort uit toenemend inzicht in de gebeurtenissen in de intra-uteriene periode. De daarvoor benodigde samensmelting van de obstetrie en neonatologie heeft geleid tot het aandachtsgebied van de perinatologie.

Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium¹, Obstetrie & Gynaecologie² en Kindergeneeskunde³, Academisch Ziekenhuis en Rijksuniversiteit Groningen

Correspondentie: Dr. F.A.J. Muskiet, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, Academisch Ziekenhuis Groningen, Postbus 30.001, 9700 RB Groningen.

Belangrijke onderwerpen in de perinatologie zijn gas-transport en voeding. Ondanks alarmerende berichten over verontreinigingen met DDT en recent PCB's en dioxines blijft moedermelk de beste voeding voor pasgeborenen. Er zullen echter situaties blijven bestaan waarin toediening niet mogelijk of gewenst is. Vanwege hedendaagse voedingsgewoontes is het de vraag of de moedermelksamenstelling nog wel in alle opzichten als de "gouden standaard" moet worden beschouwd. Evenzo is het de vraag of moedermelk in staat is om aan de behoeften van de prematuur te kunnen voldoen. Tot voor kort was er meer kennis over de melksamenstelling van de koe dan van de mens. Het blijkt dat moedermelk een complexe en dynamische matrix is (1, 2). Deze matrix is samengesteld uit intra- en interindividueel variërende gehalten aan componenten die vaak nog slecht begrepen interacties met elkaar, de omgeving en de verterings- en opnamesystemen in het maag-darmkanaal van de zuigeling aangaan. Vanwege bemonsteringsproblemen is onderzoek naar de neonatale behoefte niet eenvoudig. Veel biochemische gegevens zijn voortgekomen uit onderzoek naar de moedermelksamenstelling, de verandering hiervan met de duur van de lactatie, vergelijkend onderzoek van het bloed van moedermelk en flessemelk gevoede baby's en de analyse van de lichaamssamenstelling van overleden kinderen. De relatie met orgaanfuncties komt vooral voort uit functietesten en dierexperimenteel onderzoek.

Onze activiteiten in het aandachtsgebied "perinatologie en lactatie" betreffen met name de in moedermelk aanwezige macro- en micronutriënten. We richten ons daarbij vooral op de manier waarop ze in de moedermelk komen, hun concentratie veranderingen met de duur van de lactatie en de verschillen met flessemelk. Eveneens zijn we betrokken bij diverse neonatale voedingsstudies en verrichten we studies van de lichaamssamenstelling van doodgeboren kinderen. Biochemische studies betreffen de onderwerpen: vetzuren, triglyceride structuren, mono- en oligosacchariden, de "non-protein nitrogen" fractie (waaronder polyaminen), sterolen, β -caroteen en de vitamines A, D en E.

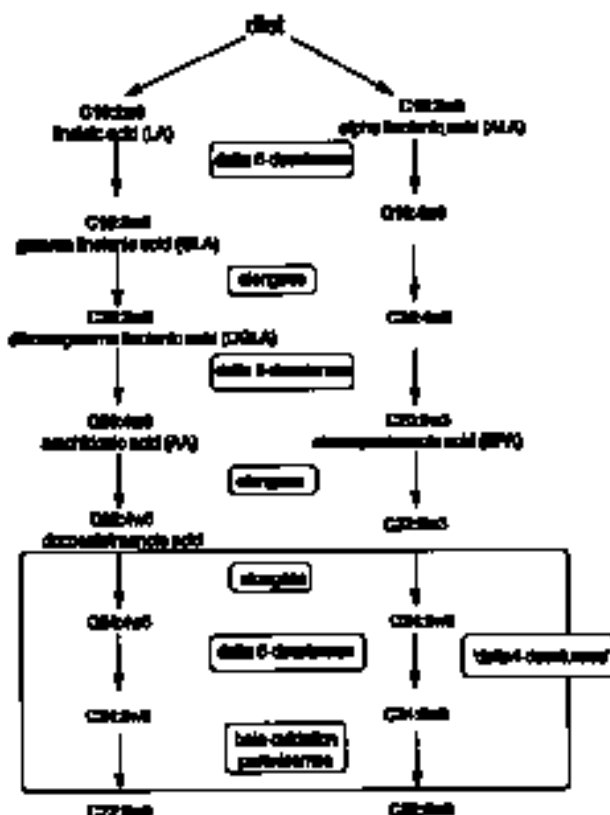
In deze bijdrage beperken we ons tot de rol van lange keten meervoudig onverzadigde vetzuren (LCPUFA) in de perinatale periode. Deze worden allereerst besproken aan de hand van de literatuur en vervolgens aan de hand van het door ons verricht onderzoek. Teneinde inzicht te krijgen in transplacentair LCPUFA-transport, parameters voor neonatale LCPUFA-status en perinataal LCPUFA-metabolisme onderzochten we de vetzuursamenstelling van plasma cholesterol esters (CE), triglyceriden (TG) en erythrocyten (RBC) tijdens de bevalling en na 3 weken borstvoeding. Eveneens onderzochten we de LCPUFA-gehalten van moedermelk en flessemelk uit diverse landen. Door toevoegingen van ribonucleotiden aan flessemelk werd getracht de LCPUFA-status van flesgevoede baby's op het niveau van borstgevoede baby's te krijgen. Door vergelijking van de moedermelk LCPUFA-gehalten in Nederland met die in andere lan-

den trachten we de vraag te beantwoorden in welke verhouding essentiële vetzuren aan flessemelk dienen te worden toegevoegd. Studies van de LCPUFA-gehalten in weefsels van doodgeboren baby's, de rol van LCPUFA in de etiologie van (pre)eclampsie, en het effect van toevoeging van 18:3 ω 6 en LCPUFA aan flessemelk worden momenteel uitgewerkt.

Lange keten meervoudig onverzadigde vetzuren (LCPUFA)

LCPUFA van de ω 6 en ω 3 series zijn carboxylzuren met rechte ketens van 20 of meer koolstofatomen (3). Ze bevatten 3 of meer dubbele bindingen in de methyleen-onderbroken cis-configuratie. Hierbij is, gerekend vanaf het methyleinde, de eerste dubbele binding gelokaliseerd tussen koolstofatomen 6-7 (LCPUFA ω 6) of tussen koolstofatomen 3-4 (LCPUFA ω 3). LCPUFA fungeren als onderdelen van fosfolipiden in onder andere celmembranen en als substraten voor de synthese van eicosanoiden (prostaglandinen, thromboxanen en leukotriënen). De meest bekende LCPUFA zijn arachidonzuur (20:4 ω 6), eicosapentaeenzuur (20:5 ω 3) en docosahexaeenzuur (22:6 ω 3).

De volwassene verkrijgt LCPUFA door synthese of door opname uit de voeding. Synthese vindt plaats in de microsomen door afwisselende desaturatie en ketenverlenging van de essentiële vetzuren linolzuur (18:2 ω 6) en α -linoleenzuur (18:3 ω 3) (figuur 1). Regulatie geschiedt op het niveau van desaturatie. Belangrijke factoren hierbij zijn de metabole staat, macronutriëntensamenstelling en diverse hormonen



Figuur 1. Desaturatie en ketenverlenging van linolzuur en α -linoleenzuur.

(waaronder insuline en schildklierhormoon). Recente gegevens tonen aan dat $\Delta 4$ -desaturatie, in tegenstelling tot $\Delta 6$ - en $\Delta 5$ -desaturatie, niet door een enkel enzym plaatsvindt, doch door achtereenvolgens ketenverlenging, $\Delta 6$ -desaturatie en een ketenverkorting door middel van peroxysomale β -oxydatie. LCPUFA kunnen via "retroconversie" worden omgezet naar exemplaren met kortere ketens (b.v. 22:6 ω 3 naar 20:5 ω 3). Belangrijke bronnen van LCPUFA ω 3 zijn visolie (20:5 ω 3 en 22:6 ω 3), terwijl 18:2 ω 6 en 18:3 ω 3 voornamelijk in plantaardige oliën worden aangetroffen. Zo bevatten bijvoorbeeld saffloer-, soja- en zonnebloemolie hoge percentages 18:2 ω 6, en lijnzaad-, raapzaad- en soja-olie hoge percentages 18:3 ω 3. Ons voedsel bevat geen belangrijke bron van 20:4 ω 6; de hoogste gehalten worden aangetroffen in kippelever.

Vanwege hun rol in structuur en waarschijnlijk eveneens eicosanoidsynthese zijn LCPUFA essentieel voor normale groei en ontwikkeling (3). Diverse organen en in het bijzonder de hersenen bevatten hoge LCPUFA gehalten (met name 22:6 ω 3). In de kritische fase van de groeispurt van de hersenen (i.e. in het laatste trimester en de eerste maanden na de geboorte) heeft het kind dus een grote behoefte aan LCPUFA. Voor het verkrijgen van essentiële vetzuren is de foetus volledig afhankelijk van het vetzuurtransport over de placenta. Bovendien zijn er weinig aanwijzingen dat foetus en placenta voldoende LCPUFA kunnen synthetiseren om aan de behoefte te kunnen voldoen. In de intra-uteriene periode dienen dus, naast hun "precursors", ook de LCPUFA als essentieel te worden beschouwd. Navelstreng plasma bevat hogere LCPUFA gehalten dan maternaal plasma, terwijl voor de 18:2 ω 6 en 18:3 ω 3-gehalten het omgekeerde geldt. Het onderliggend selectief transport van LCPUFA over de placenta wordt mogelijk verzorgd door alfa-foetoproteïne (AFP). AFP is bekend vanwege zijn hoge affiniteit voor LCPUFA en zijn receptor-gemedieerde opname in tal van foetale organen, waaronder de hersenen.

Het sterkste bewijs dat LCPUFA essentieel zijn in de perinatale periode komt uit neonatale voedingsstudies, waarin de vetzuursamenstellingen van diverse bloedcompartimenten en weefsels werden onderzocht. Mature moedermelk (> 10 dagen) van Westers etende moeders bevat ongeveer 1 g LCPUFA ω 6 en 0,5 g LCPUFA ω 3 per 100 g vetzuren. De vetten in flessemelk stammen uit plantaardige oliën en het LCPUFA gehalte daarvan is nagenoeg onaanwettbaar. Vergelijkend onderzoek van moedermelk en flessemelk gevoede pasgeborenen liet zien dat laatstgenoemden met name aanzienlijk lagere 22:6 ω 3 gehalten hadden in plasma lipiden, RBC en cerebrale cortex, terwijl het 20:4 ω 6 gehalte in de cerebrale cortex iets hoger was. Extra toevoeging van 18:3 ω 3 aan flessemelk bleek het 22:6 ω 3 gehalte in plasma en RBC niet te doen stijgen tot het niveau van de moedermelk gevoede groep. De hierbij aangetroffen hogere gehalten van de intermediairen 20:5 ω 3 en 22:5 ω 3 doen vermoeden dat immaturiteit van $\Delta 4$ -desaturatie de oorzaak is.

Een lage prenatale LCPUFA-status is geassocieerd met intra-uteriene groeivertraging en (pre)eclampsie (4), terwijl een lage neonatale LCPUFA status gepaard gaat met verminderde visuele perceptie (5). Lucas et al (6) vonden dat flesgevoede kinderen op 8-jarige leeftijd een lager intelligentie quotiënt hadden dan borstgevoede leeftijdsgenoten. Als een mogelijke oorzaak noemden ze onder andere een lage LCPUFA inname via flessemelk. De huidige verontrusting betreft met name prematuren, maar in toenemende mate wordt duidelijk dat ook à term geboren baby's LCPUFA via de voeding dienen te ontvangen. Tot welke leeftijd dit moet gebeuren is een actuele vraag.

LCPUFA in navelstreng- en maternaal- plasma

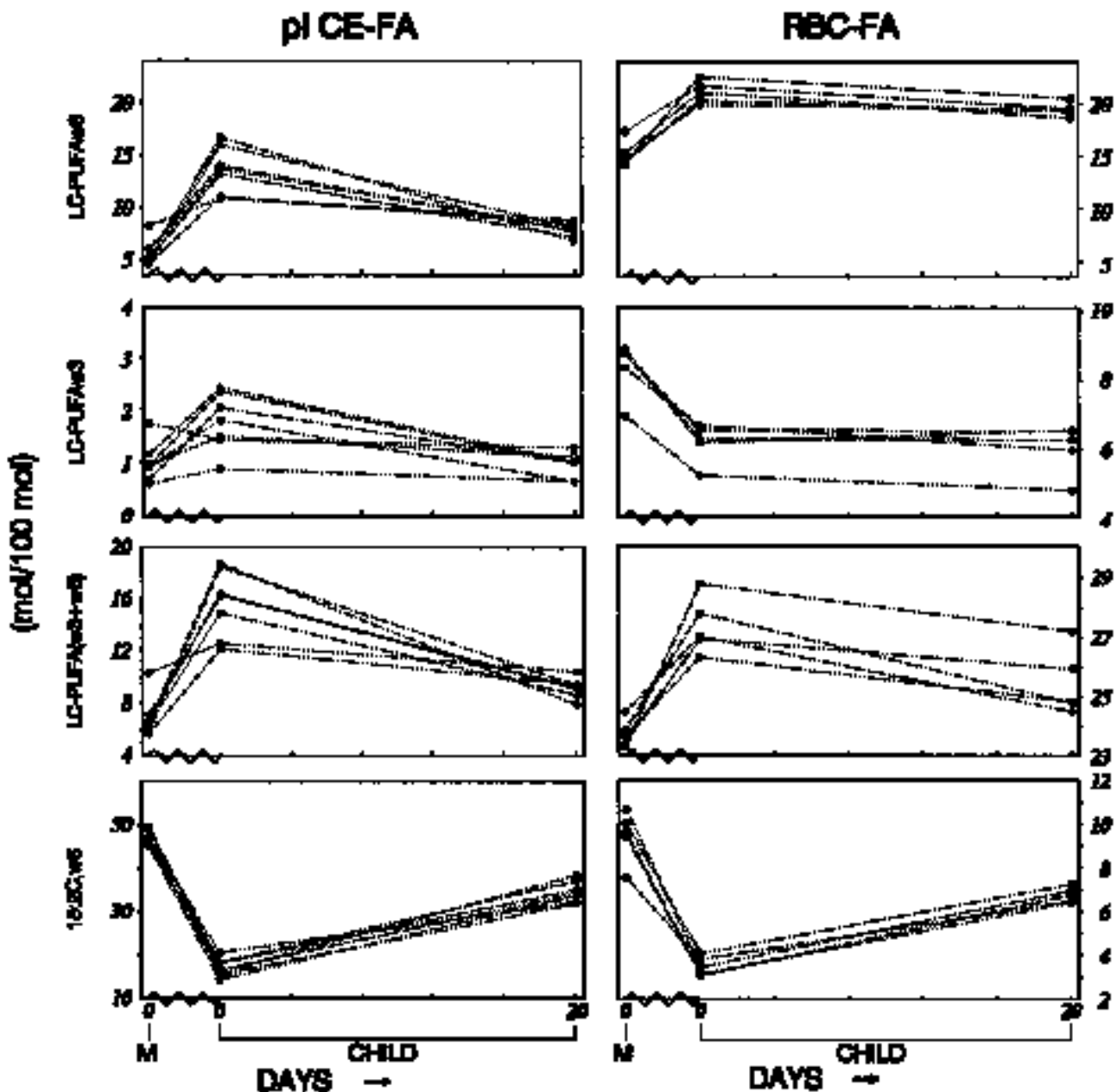
We verzamelden navelstreng- en maternaal bloed op Curaçao en bepaalden in een geselecteerd aantal moeder-kind paren de vetzuursamenstellingen van de plasma CE en TG (7). De geselecteerde groep bestond uit 38 eenling geboortes (23-42 weken) en 3 tweelingen (32, 39 en 40 weken). CE- en TG LCPUFA-gehalten in navelstrengplasma waren hoger en 18:2 ω 6- en 18:3 ω 3-gehalten lager, vergeleken met maternaal bloed. Er werden geen gestatieduur afhankelijke veranderingen in de CE en TG vetzuursamenstellingen van de moeders gevonden. Daarentegen steeg het navelstrengplasma TG LCPUFA-gehalte met toenemende gestatieduur. Uitzonderingen hierop vormden TG 22:6 ω 3, 20:2 ω 6 en 22:5 ω 6. Met de duur van de gestatie nam de foetale TG 22:6 ω 3/22:5 ω 3-ratio af, terwijl de TG 22:5 ω 6/22:4 ω 6-ratio constant bleef. Foetale CE- en TG 20:3 ω 9-gehalten waren hoger dan in corresponderende maternale fracties en deze veranderden niet met de duur van de gestatie. De TG 18:2 ω 6-gehalten van premature (35 t/m 37 weken) en à terme (38 t/m 42 weken) baby's waren lineair gerelateerd aan die van hun moeders, doch dit gold niet voor de zeer prematuren (<28 weken). Met uitzondering van het CE 18:3 ω 3-gehalte, had de zwaarste baby van elke tweeling het hoogste gehalte aan CE en TG essentiële vetzuren.

Een toename van het TG LCPUFA-gehalte in de foetus met toenemende gestatieduur suggereert gedeeltelijke afstamming van $\Delta 6$ - en $\Delta 5$ -desaturase uitrijping in de lever. Geen veranderingen in het TG 22:6 ω 3-gehalte en de TG 22:5 ω 6/22:4 ω 6-ratio, en afname van de TG 22:6 ω 3/22:5 ω 3-ratio duiden daarentegen op achterblijvende uitrijping van $\Delta 4$ -desaturatie in de lever. Vanwege hoge postnatale RBC 26:0 gehalten is het mogelijk dat lage peroxisomale β -oxydatie de onderliggende oorzaak is. Deze data suggereren een verband met aangeboren peroxisomale stoornissen waarbij de β -oxydatie van zeer-lange-keten vetzuren (> C_{22}) inadequaet verloopt (zoals bij M. Zellweger en adrenoleukodystrofie). Een hoog 20:3 ω 9-gehalte wordt algemeen beschouwd als een indicator voor essentiële vetzuurdeficiëntie. Bij een tekort aan 20:4 ω 6, vanwege onvoldoende 18:2 ω 6-substraat, wordt het niet-essentiële 18:1 ω 9 via $\Delta 6$ -desaturatie, ketenverlenging en $\Delta 5$ -desaturatie omgezet in 20:3 ω 9. Het is onwaarschijnlijk dat een dergelijke situatie in de foetus ontstaat, omdat er geen aanwijzingen zijn voor een, hiervoor noodzakelijke, 18:2 ω 6-depletie.

Waarschijnlijk is transplacentair transport van 20:3 ω 9 via AFP, gevolgd door foetale stapeling, de belangrijkste oorzaak van de hogere foetale 20:3 ω 9-gehaltenes. De lineaire relatie tussen maternale en foetale TG 18:2 ω 6-gehaltenes in de 35^{ste} tot 42^{ste} week suggereert dat een combinatie van een hoge 18:2 ω 6 en een lage 18:3 ω 3-inname door de moeder de foetale hepatische capaciteit tot het produceren van 22:6 ω 3 nadelig beïnvloedt. De onderliggende reden is competitie tussen deze stam essentiële vetzuren in de desaturatie-reacties (figuur 1). Vanwege de lage hepatische Δ 4-desaturatie capaciteit zal de invloed echter klein zijn. Hoewel het aantal tweelingen gering was, suggereert het hogere LCPUFA-gehalte in het zwaarste kind dat een lage essentiële vetzuurstatus een beperkende factor is voor intra-uteriene groei.

Moedermelk en flessemelk LCPUFA gehaltenes

Wij analyseerden de vetzuursamenstelling van moedermelk afkomstig uit Tanzania, Curaçao en Suriname (8, 9), Dominica en Belize (10), Antigua (niet gepubliceerd), St. Lucia (11), St. Vincent (1) en Nederland (12, 13), en van diverse gangbare merken flessemelk voor à terme baby's (13). De onderzochte flessemelk bevat nagenoeg geen LCPUFA. De vetzuursamenstellingen van moedermelk veranderde met de duur van de lactatie en verschilde tussen de individuen en tussen de landen. De vetten in colostrum (≤ 5 dagen) bevatten een hoog relatief LCPUFA-gehalte (Nederland 2,9 mol/100 mol; St Lucia 5,6 g/100 g). Met de duur van de lactatie neemt dit gehalte af (mature melk Nederland 1,7 mol/100 mol; St. Lucia 2,3 g/100 g), maar vanwege de simultane toename van



Figuur 2. Linolzuur en lange keten meervoudig onverzadigde vetzuurgehaltenes van plasma cholesterolesters en erythrocyten in moeder-kind paren bij de geboorte en in het kind na drie weken exclusieve borstvoeding. Data zijn in mol/100 mol vetzuren. pl CE-FA: plasma cholesterolester vetzuren; RBC-FA: erythrocyt vetzuren; 18:2 ω 6: linolzuur; LCPUFA: lange keten meervoudig onverzadigde vetzuren; M: moeder. Behalve voor het postnatale verloop van RBC LCPUFA ω 3 waren alle aangegeven verschillen significant.

het vetgehalte en het volume neemt de totale 24-uurs LCPUFA-uitscheiding toe. Voor St. Lucia wordt geschat dat de gemiddelde LCPUFA inname stijgt van 34 (colostrum) naar 525 (overgangsmelk) tot 755 (mature melk) mg/dag (11).

Melk LCPUFA bevinden zich voornamelijk in de "fat globule membrane" (i.e. de fosfolipiden dubbellaag die het TG-bolletje omhult). De reden van het dalende relatieve LCPUFA-gehalte met de duur van de lactatie is gelegen in de afname van het relatieve aandeel van de "fat globule membrane" met een toenemende omvang van de TG-bolletjes. Tussen de landen lijkt minder variatie te bestaan in de belangrijkste LCPUFA ω 6 (i.e. 20:4 ω 6) dan in de belangrijkste LCPUFA ω 3 tegenhanger (i.e. 22:6 ω 3). In de niet-Westers etende landen bestaat de tendens tot hogere moedermelk LCPUFA ω 3 gehalten. Dit wordt ongetwijfeld veroorzaakt door verschillen in maternale inname van ω 3-vetzuren; i.e. 18:3 ω 3 uit plantaardige oliën, doch met name 20:5 ω 3 en 22:6 ω 3 uit visolieën. In "toevoeging van LCPUFA aan flessemelk" (zie beneden) wordt hier nader op ingegaan.

Parameters voor neonatale LCPUFA status

Om meer informatie te krijgen over bruikbare parameters voor de LCPUFA status in pasgeborenen hebben we navelstreng- en maternaal- bloed (dag 1) van 7 à terme bevallingen op Dominica verzameld (14). De baby's werden volledig borstgevoed. Op dag 20-22 werd een tweede bloedmonster van het kind genomen en werd moedermelk verzameld. De vetzuursamenstellingen van plasma CE en RBC werden bepaald. Bij de geboorte waren de maternale gehalten van 18:2 ω 6 en 18:3 ω 3 in zowel CE als RBC hoger dan in navelstrengbloed (figuur 2). Navelstreng CE LCPUFA ω 3, CE LCPUFA ω 6 en RBC LCPUFA ω 6 waren hoger en RBC LCPUFA ω 3 lager dan in maternaal bloed. Twintig dagen voeden met moedermelk leidde tot een stijging van CE en RBC 18:2 ω 6 en een afname van CE LCPUFA ω 6 en LCPUFA ω 3. RBC LCPUFA ω 6 daalde licht, terwijl RBC LCPUFA ω 3 niet veranderde.

Het tegenstrijdige postnatale verloop in CE en RBC LCPUFA als parameters voor LCPUFA status wordt veroorzaakt door verschillen in CE en RBC LCPUFA-incorporatie-mechanismen. Plasma CE worden gevormd door overdracht van een vetzuur vanaf de sn-2 positie van fosfatidylcholine (PC) naar vrij cholesterol; een reactie die gekatalyseerd wordt door lecithine: cholesterol acyltransferase (LCAT). De voorkeur van LCAT voor 18:2 ω 6 overdracht en de postnatale toename van 18:2 ω 6 op de sn-2 positie van PC zijn verantwoordelijk voor een omgekeerde relatie tussen CE 18:2 ω 6 aan de ene kant en CE 22:6 ω 3 en 20:4 ω 6 aan de andere kant. De hoge 18:2 ω 6 inname via moedermelk is dus de voornaamste oorzaak van de postnatale daling in CE LCPUFA. Als geen rekening wordt gehouden met de 18:2 ω 6 inname via de voeding is het plasma CE LCPUFA-gehalte dan ook een minder betrouwbare parameter voor de LCPUFA-status. Tijdens de erythropoëse worden LCPUFA voor-

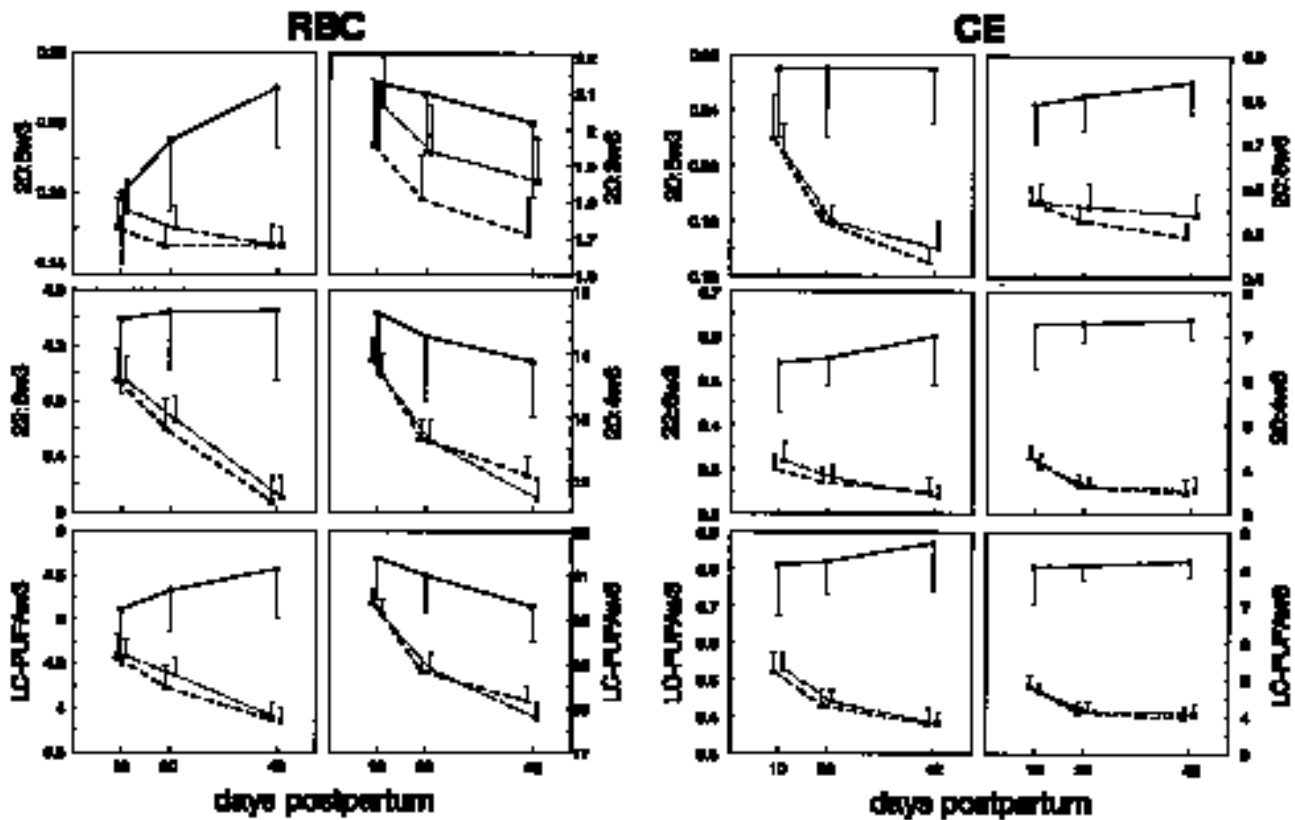
namelijk geïncorporeerd in membraan fosfatidylethanolamine (PE) en fosfatidylserine (PS). PE en PS bevinden zich in de binnenste schil van de RBC fosfolipiden-dubbellaag en hebben door hun stevige ionogene verankering met het eiwitcytoskelet weinig uitwisseling met plasmalipiden. De snelheid waarmee een neonataal veranderende LCPUFA-status in RBC wordt aangegeven hangt dus af van de RBC turnover snelheid; met andere woorden het RBC LCPUFA-gehalte is een langere termijn parameter voor de LCPUFA-status van het beenmerg. De conclusie uit dit onderzoek is dan ook dat RBC LCPUFA-gehalten meer betrouwbare parameters zijn voor LCPUFA-status dan plasma CE LCPUFA-gehalten. De RBC LCPUFA-data in figuur 2 suggereren, dat de pasgeborene bij de geboorte een lagere LCPUFA ω 3-status heeft dan de moeder en dat dit gedurende de eerste drie weken van volledige borstvoeding niet verandert.

Verhoging LCPUFA-status van flesgevoede baby's door supplementatie van ribonucleotiden

Uit een aantal studies is gebleken dat supplementatie van LCPUFA-arme flessemelk met ribonucleotiden (RN) de LCPUFA-gehalten in plasma fosfolipiden, plasma CE en RBC van premature en à terme pasgeborenen verhoogt (15-18). Diëtair RN zouden de neonatale omzetting van 18:2 ω 6 en 18:3 ω 3 in LCPUFA verbeteren, met name door een verhoging van de Δ 5-desaturatie activiteit. De 20:4 ω 6 en 22:6 ω 3 gehalten in de RN gesupplementeerde groep waren vergelijkbaar met die van een borstgevoede groep.

We (19) bestudeerden het effect van RN toevoeging aan flessemelk voor prematuren (PRE+RN) op de plasma CE- en RBC-vetzuursamenstellingen van 37 baby's met een laag geboortegewicht (\leq 2.500 g). Niet-gesupplementeerde flessemelk (PRE) werd gegeven tot dag 10; waarna werd overgeschakeld op PRE+RN. Vetzuren werden geanalyseerd op dag 10, 20 en 42. De gegevens werden vergeleken met die van PRE (n=31) en moedermelk (n=11) gevoede pasgeborenen. De met PRE+RN en PRE gevoede groepen gaven geen verschillen te zien in het verloop van de CE en RBC vetzuursamenstellingen. Op dag 42 hadden de flesgevoede baby's lagere LCPUFA ω 3 en LCPUFA ω 6 in zowel RBC als CE (figuur 3), in vergelijking met borstgevoede baby's. De ontwikkeling van de RBC 20:5 ω 3/20:4 ω 6 ratio in flesgevoede baby's bleef achter bij die van hun borstgevoede tegenhangers.

RN supplementatie van flessemelk liet in deze studie opzet geen verhoging van de CE en RBC LCPUFA-status van flesgevoede pasgeborenen zien. Tot nader orde ziet het er dus naar uit dat een hogere LCPUFA-status slechts bereikt kan worden door toevoeging van LCPUFA, waarbij supplementatie van 22:6 ω 3 het belangrijkste lijkt. De achterblijvende RBC 20:5 ω 3/20:4 ω 6 ratio in flesgevoede baby's zou wel eens consequenties kunnen hebben voor de eicosanoïd-synthese. In cellulaire membraanfosfolipiden beïnvloedt deze verhouding de produktie ratio's van TxA₂/TxA₃, PGI₂/PGI₃ en LTB₄/LTB₅ en daarmee respectievelijk



Figuur 3. Lange keten meervoudig onverzadigde vetzuurgehalten in erythrocyten en plasma cholesteroesters van PRE, PRE+RN en borstgevoede babies met een laag geboortegewicht op dag 10, 20 en 42. Data zijn gemiddelden \pm SEM, in mol/100 mol vetzuren. \blacktriangle : gevoed met PRE (i.e. flessemelk voor prematuren); \blacksquare : gevoed met PRE+RN (i.e. PRE gesupplementeerd met ribonucleotiden); \bullet : borstgevoed; RBC: erytrocyt; CE: plasma cholesteroesters; LCPUFA: lange keten meervoudig onverzadigde vetzuren. Babies gevoed met PRE+RN kregen PRE tot dag 10, waarna overgeschakeld werd op PRE+RN. PRE en PRE+RN vertoonden geen verschillen; flessemelk gevoede babies hadden lagere RBC LCPUFA op dag 42.

plaatjes-aggregatie, vasoconstrictie-dilatatie en inflammatoire responsen. Er is groeiend bewijs dat de 20:5 ω 3/20:4 ω 6 ratio een rol speelt bij (pre)eclampsie en intra-uteriene groeivertraging. Meting van de 20:5 ω 3/20:4 ω 6 ratio in trombocyten van pasgeborenen geeft mogelijk meer inzicht in het belang van de onderlinge LCPUFA-verhoudingen in zijn voeding.

Toevoeging van LCPUFA aan flessemelk

Er bestaat een groeiende zorg over de combinatie van de hoge 18:2 ω 6 en lage ω 3 vetzuur-inname via het typische Westerse dieet (20). Verstond men tot voor kort onder een "essentiële vetzuurdeficiëntie" voornamelijk een ω 6-deficiëntie, thans maakt men onderscheid in een gecombineerde essentiële vetzuur deficiëntie (ω 6 en ω 3) en een geïsoleerde ω 3-deficiëntie (3).

Zoals reeds besproken is toevoeging van 22:6 ω 3 aan flessemelk waarschijnlijk van belang vanwege onrijpe Δ 4-desaturatie en in het bijzonder immature peroxisomale β -oxydatie. De hoeveelheden die moeten worden toegevoegd kunnen ontleend worden aan de moedermelkgehalten. Moedermelk resultaten uit verschillende landen laten echter een grote variatie in LCPUFA ω 3-gehalten zien. De hierbij aangetroffen lage gehalten in Westers etende landen worden veroorzaakt door bovengenoemde "linolzuur cultuur" (waarin wel het 18:2 ω 6-percentage wordt gegarandeerd doch niet dat van 18:3 ω 3) en de geringe con-

sumptie van vis. Men kan zich dus afvragen of de melk van Westers etende moeders voldoende LCPUFA ω 3 bevat om daaruit de neonatale behoefte aan LCPUFA ω 3 te mogen afleiden. Deze zorg mag worden doorgetrokken naar de intra-uteriene periode. Immers, de vraag of moedermelk "adequaat" is roept direct de tweede vraag op of er in de intra-uteriene periode gelegenheid is geweest om voldoende reserves aan te leggen. Dit is met name van belang voor de prematuur, die immers een deel van de zwangerschap heeft gemist. Toevoeging van relatief geringe hoeveelheden visolie (20:5 ω 3 en 22:6 ω 3) aan flessemelk veroorzaakte echter groeiretardatie (21). De oorzaak is naar alle waarschijnlijkheid inductie van een lage 20:4 ω 6-status.

We (22) vergeleken de mature moedermelk LCPUFA-gehalten van 99 Nederlandse vrouwen met literatuurgegevens van vrouwen in andere Westerse landen (USA, Duitsland), vrouwen in ontwikkelingslanden (St Lucia, Nigeria) en vrouwen die dagelijks hoge innames van visolie (Broughton Island) hebben dan wel kortstondig met visolie gesupplementeerd werden (USA). Voor het inschatten van hun dieetgewoontes vulden de Nederlandse moeders diëetlijsten in gedurende 2 of 3 perioden van elk 3 dagen. In de observatieperiode at slechts 39% van de Nederlandse vrouwen vis. De mediane (range) visconsumptie bedroeg 0 (0-56,8) g/dag. Zij die vis aten hadden een inname

van 13,9 (2,5-56,8) g/dag. In tegenstelling tot het moedermelk LCPUFA ω 3-gehalte varieerde dat van de LCPUFA ω 6 weinig. Moedermelk LCPUFA ω 6 correleerde niet met moedermelk 18:2 ω 6 en LCPUFA ω 3 correleerde niet met 18:3 ω 3. Het eten van vis op de dag van moedermelk afname of in de twee dagen hieraan voorafgaande correspondeerde met relatief hoge moedermelkgehalten van 20:5 ω 3 (>0,1 g/100 g) en 22:6 ω 3 (>0,4 g/100 g). Vergeleken met Westerse landen bevat moedermelk van vrouwen in ontwikkelingslanden hogere LCPUFA ω 6 en LCPUFA ω 3-gehalten. Hoge inname van vis-olie leidt niet tot verandering van het LCPUFA ω 6-gehalte, doch tot zeer hoge LCPUFA ω 3-gehalten.

Onze resultaten bevestigen dat in Nederland weinig vis wordt gegeten. Evenals andere Westers etende landen bevat de moedermelk dientengevolge relatief lage LCPUFA ω 3-gehalten. Vanwege de zeer hoge LCPUFA ω 3-gehalten in de melk van vrouwen met een hoge inname van vis-olie is het onwaarschijnlijk dat een hoge LCPUFA ω 3-inname door de pasgeborene de enige oorzaak is van de groeiretardatie zoals die door Carlson et al (21) werden waargenomen. De door deze auteurs gebruikte flessemelk bevatte echter geen LCPUFA ω 6 en had bovendien een hoge 18:3 ω 3/18:2 ω 6 ratio. Laatstgenoemde veroorzaakt synthese van 20:5 ω 3 in het kind, dat tezamen met toevoeging van 20:5 ω 3 en geen toediening van LCPUFA ω 6 aanleiding geeft tot een lage 20:4 ω 6-status. De onderliggende oorzaak hiervan is competitie tussen 20:5 ω 3 en 20:4 ω 6 bij hun inbouw in fosfolipiden. Het is dus noodzakelijk om de flessemelk gehalten van 18:2 ω 6, 18:3 ω 3 en LCPUFA te balanceren op geleide van de regulatie van hun moedermelk gehalten. Of toediening van gebalanceerde flessemelk met een hoger LCPUFA ω 3-gehalte dan in Westerse moedermelk een gunstige invloed heeft dient echter nog vastgesteld te worden.

Achtergrond van het onderzoek in het CKCL-AZG

Het beschreven onderzoek is onderdeel van onze samenwerkingsverbanden met Prof. Dr. E.R. Boersma, Drs. M. Huisman (beiden Obstetrie & Gynecologie, AZG-RUG), Prof. Dr. A. Okken (Kindergeneeskunde-Neonatalogie, AZG-RUG; thans Wilhelmina Kinderziekenhuis Utrecht), Drs. H.A. Woltil (Kindergeneeskunde, Martini Ziekenhuis Groningen) en A. Schaafsma (Research & Development, Friesland Frico Domo Leeuwarden). De klinische voedingsstudies worden gesubsidieerd door Friesland Frico Domo (Leeuwarden); een deel van het moedermelk onderzoek in het Caraïbische gebied werd bekostigd door de Europese Economische Gemeenschap; het moedermelk onderzoek in Nederland is onderdeel van het onderzoek "Long term effect of (fetal-neonatal) exposure to toxic substances (in particular PCB's and dioxins)", gesubsidieerd door de Stichting voor Technische Wetenschappen (STW) en de Programma Commissie Toxicologie (PCT); het (pre)eclampsie onderzoek wordt uitgevoerd op Curaçao en wordt gesubsidieerd door de Nederlands-Antilliaanse Stichting

voor Klinisch Hoger Onderwijs (NASKHO, Willemstad, Curaçao). "Perinatologie en lactatie" is het promotieonderwerp van Drs. C.M. van Beusekom. We danken Drs. A.D. Siemensma voor het ter beschikking stellen van figuur 1.

Literatuur

1. Muskiet FAJ, Beusekom CM van, Hoving EB, Offringa PJ, Boersma ER. Moedermelk: Een dynamische biologische matrix. *Analyse* 1992; 47: 2-8.
2. Boersma ER, Muskiet FAJ. De samenstelling van moedermelk. In: *Borstvoeding. Cahiers Bio-Wetenschappen en Maatschappij* 1993; 16: 23-9. Leiden: Drukkerij Groen bv.
3. Innis SM. Essential fatty acids in growth and development. *Prog Lipid Res* 1991; 30: 39-103.
4. Friedman SA. Preeclampsia: A review of the role of prostaglandins. *Obstet Gynecol* 1988; 71: 122-137.
5. Uauy RD, Birch DG, Tyson JE, Hoffman DR. Effect of dietary omega-3 fatty acids on retinal function of very-low-birth-weight neonates. *Pediatr Res* 1990; 28: 485-492.
6. Lucas A, Morley R, Cole TJ, Lister G, Leeson-Payne C. Breast milk and subsequent intelligence quotient in children born preterm. *Lancet* 1992; 339: 261-264.
7. Hoving EB, Beusekom CM van, Nijeboer HJ, Muskiet FAJ. Gestational age dependency of essential fatty acids in cord plasma cholesterol esters and triglycerides. *Pediatr Res* 1994; 35: 461-469.
8. Steege G van der, Muskiet FAJ, Martini IA, Hutter NH, Boersma ER. Simultaneous quantification of total medium- and long-chain fatty acids in human milk by capillary gas chromatography with split injection. *J Chromatogr Biomed Appl* 1987; 415: 1-11.
9. Muskiet FAJ, Hutter NH, Martini IA, Jonxis JHP, Offringa PJ, Boersma ER. Comparison of the fatty acid composition of human milk from mothers in Tanzania, Curaçao and Surinam. *Human Nutr: Clin Nutr* 1987; 41C: 149-159.
10. Muskiet FAJ, Offringa PJ, Boersma ER. Lipid content and fatty acid composition of human milk in relation to developing countries. In: Boersma ER, Huisjes HJ, Poortman HMC, eds. *A holistic approach to perinatal care and prevention of handicap*. Groningen: Erven B van der Kamp Publishers, 1988; 294-305.
11. Boersma ER, Offringa PJ, Muskiet FAJ, Chase WM, Simons IJ. Vitamin E, lipid fractions, and fatty acid composition of colostrum, transitional milk and mature milk: an international comparative study. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1197-1204.
12. Beusekom CM van, Zeegers TA, Martini IA, Velvis HJR, Visser GHA, Doormaal JJ van, Muskiet FAJ. Milk of patients with tightly controlled insulin-dependent diabetes mellitus has normal macronutrient and fatty acid composition. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 938-943.
13. Huisman M, Beusekom CM van, Nijeboer HJ, Boersma ER, Muskiet FAJ. Fatty acids, triglycerides, carbohydrates, cholesterol and phytosterols in contemporary formulas for term infants: comparison with mature human milk of Dutch women. *Aangeboden*.
14. Beusekom CM van, Nijeboer HJ, Veere CN van der, Luteyn AJ, Offringa PJ, Muskiet FAJ, Boersma ER. Indicators of long chain polyunsaturated fatty acid status of exclusively breastfed infants at delivery and after 20-22 days. *Early Hum Dev* 1993; 32: 207-218.
15. Gil A, Pita M, Martinez A, Molina J, Sanchez Medina F. Effect of dietary nucleotides on the plasma fatty acids in at-term neonates. *Hum Nutr: Clin Nutr* 1986; 40: 185-195.
16. DeLucchi C, Pita ML, Faus MJ, Molina JA, Uauy R, Gil A. Effects of dietary nucleotides on the fatty acid composition

- sition on erythrocyte membrane lipids in term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1987; 6: 568-574.
17. Pita ML, Fernández, De-Lucchi C, Medina A, Martínez-Valverde, Uauy R, Gil A. Changes in the fatty acids pattern of red blood cell phospholipids induced by type of milk, dietary nucleotide supplementation, and postnatal age in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988; 7: 740-747.
 18. Gil A, Lozano E, De-Lucchi C, Maldonado J, Molina JA, Pita M. Changes in the fatty acid profiles of plasma lipid fractions induced by dietary nucleotides in infants born at term. *Eur J Clin Nutr* 1988; 42: 473-481.
 19. Woltil HA, Beusekom CM van, Siemensma AD, Polman H, Muskiet FAJ, Okken A. Erythrocyte and plasma cholesterol ester long chain polyunsaturated fatty acids of low-birth-weight babies fed preterm formula with and without ribonucleotides: comparison with human milk. *Aangeboden*.
 20. Simopoulos AP. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am J Clin Nutr* 1991; 54:438-463.
 21. Carlson SE, Cooke RJ, Werkman SH, Tolley EA. First year growth of preterm infants standard compared to marine oil n-3 supplemented formula. *Lipids* 1992; 27: 901-907.
 22. Beusekom CM, Huisman M, Boersma ER, Muskiet FAJ. Polyunsaturated fatty acids in milk of Dutch women: a reference for infant formulas? *Aangeboden*.

Summary

Long chain polyunsaturated fatty acids in the perinatal period. Muskiet FAJ, Beusekom CM van, Boerma ER en Okken A. Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 43-50.

Long chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) are structural components of membrane phospholipids and precursors of eicosanoids. They are essential to normal growth and development, notably of brain. Fetus and newborn are dependent

Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 50-55

Prognostische factoren voor het ontstaan van complicaties bij diabetes mellitus

C.J.A. DOELMAN, H.J.G. BILO, L.D. DIKKESCHEI, E. van VOORST tot VOORST, E. van BALLEGOOIE en K. MIEDEMA

Retinopathie, neuropathie en nefropathie zijn veel voorkomende complicaties bij diabetes mellitus. Deze complicaties veroorzaken een hoge morbiditeit en mortaliteit bij patiënten met zowel Insuline Afhanke-lijke en Niet-Insuline Afhanke-lijke Diabetes. Chronische hyperglycaemie leidt tot een verhoogde kans op deze complicaties. Alhoewel er reeds vele hypothesen zijn gelanceerd, is echter het exacte pathofysiologi-

on LCPUFA transplacental transport and LCPUFA uptake from the diet, respectively, since there is no evidence that they synthesize adequate amounts from their precursor fatty acids linoleic (LA) and α -linolenic acids (LN). Inadequate perinatal LCPUFA status, notably low docosahexaenoic acid (DHA), is associated with intrauterine growth retardation, (pre)eclampsia, diminished visual acuity and possibly with lower intelligence quotient. We found that, compared with maternal blood, cord blood has higher LCPUFA contents in cholesterol esters (CE), triglycerides (TG) and erythrocytes (RBC). LA and LN are, however, lower. Courses of LCPUFA with duration of gestation suggest that immature peroxisomal β -oxidation is the principle cause of low capacity to convert LN to DHA. Data of three twins showed highest CE and TG LCPUFA contents in the heaviest child, which suggests that low LCPUFA status is a limiting factor in growth. RBC LCPUFA content is a more reliable parameter of postnatal LCPUFA status than the plasma CE LCPUFA content. At birth babies have higher RBC LCPUFA ω 6 and lower RBC LCPUFA ω 3 than their mothers, which hardly changes upon 3 weeks of breastfeeding. Relative LCPUFA content of human milk decreases with advancing lactation. However, 24 hour LCPUFA output increases. Fatty acid compositions of human milk from different countries show variable percentages DHA. The relatively low milk DHA contents of women on a Western diet is caused by high maternal LA intake and low fish consumption. Infant formulas contain negligible LCPUFA contents. Feeding of low birth weight newborns with infant formula causes low CE and RBC LCPUFA contents, compared with breastfed counterparts. To prevent growth retardation LA, LN, LCPUFA ω 3 and LCPUFA ω 6 contents of formula have to be balanced on the basis of the regulation of their human milk contents. Milk of women with higher intakes of fish oil than in the Western world may provide a good reference.

Key-words: Long chain polyunsaturated fatty acids; cord blood; newborn blood; maternal blood; human milk; infant formula; peroxisomal β -oxidation; ribonucleotide supplementation; long chain polyunsaturated fatty acid supplementation.

sche mechanisme nog onbekend. Glycering van eiwitten, veranderingen in het lipiden profiel en het arachidonzuur metabolisme, stollingsafwijkingen en oxidatieve processen spelen mogelijk alle een rol bij het ontstaan van de diabetische complicaties. Het longitudinaal en transversaal vervolgen van verschillende biochemische parameters bij diabetes patiënten kan verder inzicht geven in de pathofysiologie van deze complicaties. Daarnaast kan kennis van het pathofysiologische mechanisme leiden tot nieuwe farmacotherapie. In dit artikel wordt naast het schetsen van de problematiek tevens de richting van het onderzoek aangegeven. Daar waar reeds resultaten van het lopende onderzoek te geven zijn, worden deze vermeld.

Afdelingen Klinische Chemie en Interne Geneeskunde, Ziekenhuis De Weezenlanden, Zwolle

Correspondentie: Dr. C.J.A. Doelman, Afdeling Klinische Chemie, Ziekenhuis De Weezenlanden, Groot Wezenland 20, 8011 JW Zwolle.



Figuur 1. De glycering van eiwitten leidt tot de vorming van het Amadoriprodukt. Dit is een reversibel proces. Uit het Amadoriprodukt worden via oxidatie en crosslinking "Advanced Glycosylated Endproducts" gevormd. Het Amadoriprodukt kan eveneens zuurstof reduceren tot een superoxide anion. De vorming van AGE-producten in vitro vanuit het Amadoriprodukt kan worden geremd door ijzerchelatoren en antioxidanten.

Diabetes mellitus is een veel voorkomende aandoening in de Westerse wereld. Insuline Afhankelijk Diabetes Mellitus, kortweg IADM (ook wel aangeduid als Type I), treedt vooral op jeugdige leeftijd op. Hierbij produceren de beta-cellen in de pancreas uiteindelijk geen insuline meer. IADM heeft een prevalentie in de Westerse wereld van rond de 0,15% in de leeftijdscategorie van 15-19 jarigen. De frequentie van Niet-Insuline Afhankelijk Diabetes Mellitus, kortweg NIADM (ook wel aangeduid als Type II) waarbij aanvankelijk met name een insuline resistentie op de voorgrond staat, neemt toe na de leeftijd van 30 jaar. Vier tot tien procent van de 45 plussers heeft waarschijnlijk NIADM (1). In Nederland zijn er op dit moment ongeveer 46.000 mensen bekend met IADM en ± 250.000 patiënten bekend met NIADM. Men verwacht echter dat het aantal mensen met NIADM in werkelijkheid veel hoger ligt, ongeveer 400.000 personen.

De levensverwachting van diabetes patiënten is korter dan bij niet-diabeten. Dit is uiteraard afhankelijk van de metabole controle. Het optreden van chronische complicaties is de oorzaak van de verhoogde mortaliteit, maar leidt zeker ook tot een verhoogde morbiditeit van patiënten met diabetes mellitus. Dertig tot veertig procent van de mensen met IADM overlijdt aan de gevolgen van een nierinsufficiëntie. Voor patiënten met NIADM is dit 5 tot 10%. Tevens wordt 40% van de diabeten geconfronteerd met retinopathie (2). Cardiovasculaire afwijkingen komen zeer frequent voor (vooral bij mensen met NIADM), met name in samenhang met tekenen van nierschade en hypertensie (1).

Behandeling van diabetes mellitus dient dus niet alleen gericht te zijn op het voorkomen van acute complicaties (zoals bijvoorbeeld ketoacidose) maar ook en vooral op de preventie van de chronische complicaties zoals retinopathie, neuropathie en nefropathie.

Deze complicaties zijn het gevolg van microvasculaire afwijkingen.

Al vele jaren werd verondersteld dat chronische hyperglycaemie leidt tot het ontstaan van diabetische complicaties (3). Zeer onlangs is dit bevestigd (4). De Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) research group onderzocht 1400 patiënten met IADM, waarbij de helft volgens een conventioneel schema werd behandeld en de andere helft zeer intensief. Dit leidde tot verbeterde metabole controle en dus tot significant lagere glyHb waarden in de laatste groep. Intensieve therapie en dus lagere glyHb-waarden leidde tot een significante vermindering van het aantal en de ernst van de complicaties in deze groep gemeten over een periode van negen jaar.

Hypothese

Alhoewel er nu duidelijk een relatie is gelegd tussen chronische hyperglycaemie en een verhoogde kans op complicaties, is het uiteindelijke mechanisme nog altijd onbekend. De vorming van geglycosyleerde eiwitten en "advanced glycosylated endproducts" (5) (AGE), veranderingen in de lipoproteïneconcentraties (6), stollingsafwijkingen (7), activatie en destructie van het vasculaire endotheel (8) en veranderingen in het arachidonzuurmetabolisme (9) lijken alle een rol te spelen bij de ontwikkeling van de vasculaire afwijkingen, retinopathie, neuropathie en nefropathie. Veel biochemische afwijkingen lijken reeds aanwezig vóór het klinische manifest worden van de complicaties. Biochemische parameters zouden dus een voorspellende waarde kunnen hebben voor het ontstaan van de hierboven beschreven complicaties. Daarnaast kan mogelijk het farmacotherapeutisch beïnvloeden van één of meerdere biochemische parameters leiden tot voorkomen dan wel uitstellen van het ontstaan van diabetische complicaties. Deze hypothesen zullen in de hieronder toegelichte onderzoeken uitgebreid worden getoetst.

Glycoxidatie en vorming van "advanced glycosylated endproducts"

Omdat chronische hyperglycaemie de kans op diabetische complicaties verhoogd, kan kennis van de effecten van hyperglycaemie op eiwitten inzicht verschaffen in het ontstaan van complicaties. Hyperglycaemie leidt tot glycering van eiwitten en andere structuren. De aldehyde groep van glucose kan met een amino-groep van eiwitten en andere structuren een Schiffse base vormen. Deze reversibele reactie is vooral met de epsilon-aminogroep van lysine zeer snel en reeds na enkele uren wordt er een evenwicht bereikt. Uit deze Schiffse base kan via een omlegging het Amadoriprodukt worden gevormd. Deze reactie is eveneens reversibel alhoewel de terugreactie zeer langzaam verloopt. Het Amadoriprodukt kan gesplitst worden in carbonyl verbindingen zoals 3-deoxy-D-glucosone. De reactieve carbonyl verbindingen reageren ook zeer snel en irreversibel met aminogroepen. Een schematische weergave van deze reacties wordt getoond in figuur 1.

De AGE-producten hebben een zeer lange halfwaardetijd en accumuleren in weefsel. Twee specifieke