

- 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

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.

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-

sche mechanisme nog onbekend. Glycering van eiwit-ten, 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 longi-tudinaal 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 pathofy-siologische mechanisme leiden tot nieuwe farmaco-therapie. In dit artikel wordt naast het schetsen van de problematiek tevens de richting van het onderzoek aangegeven. Daar waar reeds resultaten van het lo-pende 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-produkten in vitro vanuit het Amadoriprodukt kan worden geremd door ijzerchelatoren en antioxydanten.

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 \pm 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.

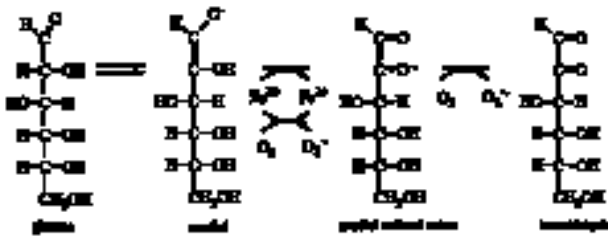
Hypothese

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-produkten hebben een zeer lange halfwaardetijd en accumuleren in weefsel. Twee specifieke



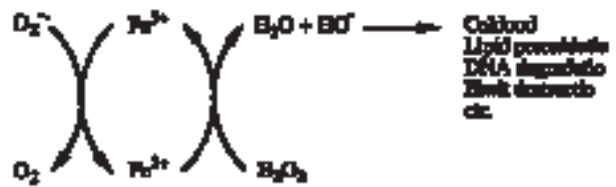
Figuur 2. Bij de auto-oxidatie van glucose worden superoxide anionen gevormd. IJzer speelt als katalysator een belangrijke rol bij dit proces.

AGE-producten, N-(carboxymethyl)lysine en pentosidine accumuleren in collageen. Diabetes patiënten hebben hoge concentraties van deze AGE producten in hun vaatwand, hetgeen de vasculaire permeabiliteit verhoogt. De elasticiteit van de vaatwand (en dus de vaatcompliantie) wordt hierdoor verminderd (5,10). Deze afwijkingen aan de vaatwand leiden o.a. tot hypertensie, een veel voorkomende afwijking bij diabetes. De excessieve vorming van AGE-producten wordt mede gezien als de veroorzaker van de micro- en macrovasculaire afwijkingen (11).

Bij de vorming van AGE-producten in collageen speelt oxidatie een belangrijke rol. Fu et al (12,13) hebben in vitro aangetoond dat voor de AGE-productvorming in collageen naast hoge concentraties glucose eveneens zuurstof nodig is. Bovendien bleek de vorming van AGE-producten onder aerobe condities te remmen met chelatoren en antioxidanten. Daaruit kan worden geconcludeerd dat reactieve zuurstofdeeltjes een rol spelen bij de vorming van AGE-producten (12,13).

AGE-vorming in collageen is een gecombineerd proces van glycosylering en oxidatie (in de literatuur genoemd: glycoxydatie). Ter voorkoming van AGE-vorming kan dus zowel de metabole regeling worden verbeterd als remming van de oxidatie worden toegepast. Glycosylering is echter, in tegenstelling tot oxidatie, een reversibel proces. Vorming van reactieve zuurstofdeeltjes uit glycosyleringsproducten kan geschieden door het Amadori-product zelf. Dit product kan een electron overdragen aan zuurstof, waaruit het superoxide anion gevormd wordt. Bovendien kan glucose zelf in hoge concentraties auto-oxidatie ondergaan (zie figuur 2) waarbij eveneens superoxide anionen gevormd worden (14,15). Uit deze superoxide anionen wordt zowel enzymatisch (door superoxide dismutase) alsmede non-enzymatisch waterstofperoxide gevormd. Uit deze twee reactieve zuurstofdeeltjes, kan in aanwezigheid van tweewaardig ijzer het zeer reactieve hydroxylradicaal ontstaan (16). Dit proces wordt schematisch weergegeven in figuur 3. Bovendien kunnen Cu, Zn-superoxide dismutase en waterstofperoxide samen eveneens hydroxyl-radicalen genereren (17). Doordat zowel antioxidanten als ijzerchelatoren de AGE-vorming kunnen remmen is het aannemelijk dat de vorming van reactieve zuurstofdeeltjes (zoals superoxide anion, waterstofperoxide en het hydroxylradicaal) bijdraagt aan de AGE-vorming (12,13,14,16).

Naast een verhoogde vorming van reactieve zuurstofdeeltjes is er tevens sprake van inactivering van an-



Figuur 3. Superoxide anionen en waterstofperoxide kunnen in aanwezigheid van ijzer (II) ionen het zeer reactieve hydroxylradicaal genereren. Dit hydroxylradicaal kan celdood, lipidperoxidatie, DNA en eiwit destructie veroorzaken.

ti oxidant systemen bij patiënten met diabetes mellitus. Glycosylering van superoxide dismutase (enzymatische omzetting van superoxide anionen in waterstofperoxide), leidt tot een verminderde activiteit van dit enzym (18,19). Daarnaast blijken ook andere endogene antioxidanten zoals vitamine C, vitamine E, uraat en glutathion in het serum van diabetes in concentratie verlaagd te zijn ten opzichte van de serumconcentraties bij niet-diabetes (15). Meerdere onderzoekers (20, 21, 22) hebben aangetoond dat reactieproducten van reactieve zuurstofdeeltjes, zoals lipidperoxiden en malondialdehyde, verhoogd in het plasma van diabetes patiënten aanwezig zijn. Hierdoor is het aannemelijk dat diabetes mellitus leidt tot een verhoogde productie van reactieve zuurstofdeeltjes.

In het huidige onderzoek wordt gekeken naar de aanwezigheid van reactieve zuurstofdeeltjes (aantoonbaar middels spintrap en electron spin resonantiemetingen) en hun reactieproducten (zoals malondialdehyde en andere lipidperoxides) in het serum van patiënten met een slecht gereguleerde NIADM alsmede in het serum van patiënten met IADM. Daarbij wordt tevens onderzocht of verbeterde regulatie leidt tot een verminderde concentratie van reactieve zuurstofdeeltjes en hun reactieproducten. Tevens worden de concentraties van verschillende anti-oxidant factoren (zoals onder andere de erythrocytaire Cu,Zn-superoxide dismutase en erythrocytaire glutathion peroxidase activiteit, serum glutathion en vitamine E concentratie) longitudinaal vervolgd.

Lipiden

Naast een verhoogde productie van reactieve zuurstofdeeltjes en een verminderde bescherming daartegen zijn er bij diabetes tevens veranderingen in het lipoproteïne-metabolisme aangetoond. Bij mensen met NIADM blijkt een lage HDL-cholesterol- en een hoge LDL-cholesterolconcentratie vaak gecorreleerd aan de mate van metabole ontregeling. Oude Elberink et al (23) toonden aan dat verbeterde metabole controle bij mensen met NIADM door insuline therapie leidt tot een verhoging van HDL en een verlaging van LDL. Of een volledige normalisatie bij langdurige optimale metabole controle optreedt, is onderwerp van onderzoek.

Zowel LDL als HDL zijn gevoelig voor glycering. Geglyceerd HDL (glyHDL) is minder effectief in het "reverse" cholesteroltransport dan niet geglyceerd HDL. Daarnaast heeft geglyceerd LDL (glyLDL) een verminderde affiniteit voor de LDL-receptor. Schuimcellvorming (deze cellen worden in grote hoe-



Figuur 4. Glycering en oxidatie van LDL (gly-LDL en gly-ox-LDL) kan leiden tot verhoogde schuimcelvorming, destructie van endotheel en gladde spiercellen. De destructie van het endotheel kan verhoogde trombocytengregatie veroorzaken. Zowel geglyceerd LDL (gly-LDL) alsmede geglyceerd en geoxideerd LDL (gly-ox-LDL) zijn immunogeen. Deze immunocomplexen veroorzaken een ontstekingsreactie in de intima van de vaatwand. Een schematische weergave van dit gehele proces wordt hier getoond.

veelheden gevonden in atherosclerotische plaques) wordt bevorderd door glyLDL, omdat glyLDL beter wordt opgenomen door de monocyt en macrofagen. Daarnaast bevordert glyLDL de trombocytengregatie en genereert mogelijk ook reactieve zuurstofdeeltjes (24,25). Niet alleen glyLDL speelt een rol bij het ontstaan van atherosclerotische plaques, mogelijk is de rol van geoxideerd LDL (oxLDL) veel groter. OxLDL is toxisch voor het endotheel, de gladde spiercellen en de fibroblasten in de vaatwand. Daarnaast is oxLDL een procoagulant en bevordert het de schuimcelvorming net als glyLDL. Zowel glyLDL als oxLDL zijn immunogeen en kunnen dus lokaal een ontstekingsreactie veroorzaken (26). Zie tevens figuur 4.

Naast een verhoogd LDL, glyLDL, oxLDL wordt eveneens een verhoogd serum lipoproteïne (a) [Lp(a)] verondersteld bij diabetes (27), ofschoon dit door Klausen et al (28) bij mensen met IADM niet bevestigd kon worden. Lp(a) is een belangrijke risicofactor voor cardiovasculaire aandoeningen. Lp(a) bindt, door de grote overeenkomst in structuur met plasminogeen, aan de plasminogeenbindingsplaatsen. Daardoor is plasminogeen niet in staat te binden aan o.a. fibrinogeen. Dit remt de fibrinolyse (29,30). Welke veranderingen in de concentratie van Lp(a) optreden bij een verbeterde metabole controle van NIADM's wordt op dit moment onderzocht. Onderzoek bij gezonde mannen toont aan dat de serum Lp(a)concentraties mogelijk gemoduleerd worden door een complex samenspel van de volgende factoren: insuline, obesitas, androgenenpiegels en inspanning (31).

In het lopende onderzoek worden de lipidenparameters vervolgd. Bij mensen met NIADM leidt verbeterde metabole regulatie op korte termijn (4 maanden) tot een significante verhoging van HDL en een verlaging van LDL. Dit bij een gelijkblijvend cholesterolgehalte (23). Hoe de veranderingen in lipidenparame-

ters (HDL, LDL, Lp(a), apo(A) en apo(B)) op lange termijn zijn bij patiënten met diabetes mellitus is nog onbekend. Deze lipidenparameters zullen dan ook longitudinaal worden vervolgd bij beide patiëntengroepen (zowel IADM als NIADM). Daarnaast zal mogelijk een interventiestudie plaatsvinden met cholesterolverlagende middelen, bijvoorbeeld simvastatine.

Trombose en fibrinolyse

Hyperglycaemie leidt tot verhoogde plasmaconcentraties van fibrinogeen, factor VII, factor VIII, Von Willebrand factor en factor X. Daarbij komt een verminderde activiteit van antitrombine III. Dit draagt bij tot de hypercoagulabiliteit van het bloed van diabetes. Bij mensen met IADM wordt tevens een verhoogde trombocytengregatie in vitro gevonden bij slechte metabole controle (31). In door ons verricht onderzoek bij mensen met NIADM konden wij in vitro echter geen verhoogde trombocytengregatie aantonen en ook geen verandering daarin na verbeterde metabole controle.

Het fibrinolytische systeem is bij zowel patiënten met IADM als bij patiënten met NIADM uitvoerig onderzocht. In IADM-patiënten is niet duidelijk of er nu enig effect is van chronische hyperglycaemie op het fibrinolytische systeem. Bij NIADM patiënten wordt echter een verhoogde plasminogeen activator inhibitor (PAI) concentratie gevonden en een verlaagde "tissue"-plasminogeen activator (t-PA) activiteit (32,33). Deze bevindingen konden in onze onderzoeksgroep van 20 ontregelde NIADM-patiënten niet worden bevestigd. De mogelijke oorzaak is de variatie van t-PA-activiteit binnen de dag. Bij onze patiëntengroep was het afnametijdstip niet gestandaardiseerd, hetgeen wel noodzakelijk is (34).

Er worden een aantal mechanismen verondersteld bij te dragen aan de verhoogde tromboseneiging van diabetes. Ten eerste kan glycering van eiwitten, betrokken bij de stolling, de activiteit doen veranderen (35). Antitrombine III heeft dan een verminderde activiteit. Ten tweede kunnen reactieve zuurstofdeeltjes de stolling activeren (35). Belangrijk lijkt hierbij dat reactieve zuurstofdeeltjes het endotheel van de vaatwand kunnen beschadigen waardoor stollingsactivatie plaatsvindt.

Onderzoeksopzet

Het lopende onderzoek in ziekenhuis De Weezenlanden is gericht op de pathogenese van de complicaties, hetgeen direct van klinisch belang is. Kennis van de pathogenese kan patiënten, die een risico lopen tot het ontwikkelen van complicaties beter opsporen. Bovendien kan gericht therapeutisch ingrijpen naast een zo goed mogelijke metabole controle leiden tot het voorkomen of uitstellen van het optreden van complicaties. Alle IADM en NIADM patiënten, die deelnemen aan het onderzoek, zullen jaarlijks gezien worden door de internist en/of onderzoeksassistent. Naast meting van klinische en psychische parameters, zal ook uitgebreid biochemisch onderzoek worden verricht. Doel hiervan is om extra parameters (zoals hierboven beschreven) te vinden die het ontstaan van diabetische complicaties kunnen voorspellen.

Naast de transversale, epidemiologische en beschrijvende studies bij IADM-patiënten zullen tevens de effecten van verbeterde metabole controle van NIADM-patiënten op korte en lange termijn onderzocht worden. Interventiestudies met antioxidanten zijn eveneens opgenomen in het onderzoeksprotocol. De effecten van vitamine E bijvoorbeeld op de metabole regulatie bij mensen met NIADM zijn veelbelovend. Vitamine E verbetert de insuline werking (36). Vermindering van zowel de incidentie/prevalentie als de ernst van diabetische complicaties is het doel. Verschuivingen op dat gebied kunnen uiteindelijk leiden tot een verminderde morbiditeit en het tegengaan van vroegtijdige mortaliteit bij een grote groep mensen.

Literatuur

1. Reitsma WE. Diagnostiek, epidemiologie en prognose; in Van Ballegooye E, Heine RJ (eds). Diabetes mellitus. Utrecht. Bunge. 1991; 17-27.
2. Peperkamp E. Diabetische retinopathie; in Van Ballegooye E, Heine RJ (eds). Diabetes mellitus. Utrecht. Bunge. 1991; 133-156.
3. Miedema K. Hemoglobine A_{1c}. Ontwikkeling van een bepalingmethode en enige klinische toepassingen. Proefschrift. Groningen, 1981.
4. The Diabetes Control and Complications Trial Research group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *New Engl J Med* 1993; 329: 977-986.
5. Brownlee M. Glycation products and the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 1992; 15: 1835-1843.
6. Kissebah AH, Schectman G. Hormones and lipid protein metabolism. *Bailliere's Clin Endocrinol Metabol* 1987; 1: 699-725.
7. Kwaan HC. Changes in blood coagulation, platelet function, and plasminogen-plasmin system in diabetes. *Diabetes* 1992; 41(suppl 2): 32-35.
8. Cohen RA. Dysfunction of vascular endothelium in diabetes mellitus. *Circulation* 1993; 87 (suppl 5): 67-76.
9. Axelrod L. Insulin, prostaglandins and the pathogenesis of hypertension. *Diabetes* 1991; 40: 1223-1227.
10. Ceriello A, Quatraro A, Giugliano D. New insights on non-enzymatic glycosylation may lead to therapeutic approaches for the prevention of diabetic complications. *Diabetic Med* 1992; 9: 297-299.
11. Wu JT. Review of diabetes: identification of markers for early detection, glycemic control, and monitoring clinical complications. *J Clin Lab Anal* 1993; 7: 293-300.
12. Fu M-X, Wells-Knecht KJ, Blackledge JA, Lyons TJ, Thorpe SR, Baynes JW. Glycation, glycoxidation, and cross-linking of collagen by glucose. *Diabetes* 1994; 43: 676-683.
13. Fu M-X, Knecht KJ, Thorpe SR, Baynes JW. Role of oxygen in cross-linking and chemical modification of collagen by glucose. *Diabetes* 1992; 41(suppl. 2): 42-48.
14. Doelman CJA. Are reactive oxygen species involved in the pathogenesis of diabetic complications? in Bilo HJG, Viberti CG (eds). Diabetic nephropathy. Zwolle. De Weezenlanden series. 1994; 137-152.
15. Oberley LW. Free radicals and diabetes. *Free Rad Biol Med* 1988; 5: 113-124.
16. Doelman CJA. Reactive oxygen species and airway hyperreactivity. Proefschrift. Amsterdam, 1991.
17. Koningsberger JC, Van Asbeck BS, Van Faassen E, Wiegman LJJM, Van Hattum J, Van Berge Henegouwen GP, Marx JJM. Copper,zinc-superoxide dismutase and hydrogen peroxide: a hydroxyl radical generating system. *Clin Chem Acta* 1994; 230: 51-61.
18. Arai K, Maguchi S, Fujii S, Ishibashi H, Oikawa K, Taniguchi N. Glycation and inactivation of human Cu-Zn superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1987; 262: 16969-16972.
19. Sakurai T, Matsuyama M, Tsuchiya S. Glycation of erythrocyte superoxide dismutase reduces its activity. *Chem Pharm Bull* 1987; 35: 302-307.
20. Ghiselli A, Laurenti O, De Mattia G, Maiani G, Ferro-Luzzi A. Salicylate hydroxylation as an early marker of in vivo oxidative stress in diabetic patients. *Free Rad Biol Med* 1992; 13: 621-626.
21. Gallou G, Ruelland A, Legras B, Maugendre D, Allannic H, Cloarec L. Plasma malondialdehyde in type 1 and type 2 diabetic patients. *Clin Chem Acta* 1993; 214: 227-234.
22. Collier A, Rumley A, Rumley A, Paterson JR, Leach JP, Lowe GDO, Small M. Free radical activity and hemostatic factors in NIDDM patients with and without microalbuminuria. *Diabetes* 1992; 41: 909-913.
23. Oude Elberink H, Doelman CJA, Israel-Bultman H, Van Ballegooye E, Bilo HJG. Effects of metabolic control on cardiovascular riskfactors in NIDDM's. *Neth J Med* 1994; 44: A76.
24. Lyons TJ. Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. *Diabetes* 1992; 41(suppl 2): 67-73.
25. Lyons TJ. Glycation and oxidation: a role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1993; 71: 26B-31B.
26. Rice-Evans C. Oxidized low density lipoproteins; in Poli G, Albano E, Dianzani MU (eds). Free radicals: from basic science to medicine. Basel. Birkhauser Verlag. 1993; 323-329.
27. Haffner SM. Lipoprotein(a) and diabetes. An update. *Diabetes Care* 1993; 16: 835-840.
28. Klausen IC, Berg Schmidt E, Lervang HH, Gerdes LU, Ditzel J, Faergeman O. Normal lipoprotein(a) concentrations and apolipoprotein(a) isoforms in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 1992; 22: 528-541.
29. Dikkeschei LD. Lipoprotein(a): a possible link between lipids and fibrinolysis; in Bilo HJG, Viberti GC (eds). Diabetic nephropathy. Zwolle. De Weezenlanden series. 1994; 276-293.
30. Scott J. Thrombogenesis linked to atherogenesis at last? *Nature* 1989; 341: 22-23.
31. Duell PB, Hagemenas F, Connor WE. The relationship between serum lipoprotein (a) and insulinemia in healthy nondiabetic adult men. *Diabetes Care* 1994; 17: 1135-1140.
32. Potter van Loon BJ, Klufft C. The role of the fibrinolytic system in the development of long-term complications of diabetes mellitus; in Bilo HJG, Viberti GC (eds). Diabetic nephropathy. Zwolle. De Weezenlanden series. 1994; 294-307.
33. Auwerx J, Bouillon R, Collen D, Geboers J. Tissue-type plasminogen activator antigen and plasminogen activator inhibitor in diabetes mellitus. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 68-72.
34. Klufft C, Verheijen JH. Leiden fibrinolysis working party: blood collection and handling procedures for assessment of tissue-type plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). *Fibrinolysis* 1990; 4(suppl 2): 155-161.
35. Ceriello A. Coagulation activation in diabetes mellitus: the role of hyperglycaemia and therapeutic prospects. *Diabetologia* 1993; 36: 1119-1125.
36. Paolisso G, D'Amore A, Giugliano D, Ceriello A, Varricchio M, D'Onofrio F. Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetic patients. *Am J Clin Nutr* 1993; 57: 650-656.

Summary

Prognostic factors for the development of diabetes mellitus complications. Doelman CJA, Bilo HJG, Dikkeschei LD Voorst tot Voorst E van, Ballegooie E van en Miedema K. Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 50-55.

Diabetes mellitus is a frequent occurring disease in the Western world. Long-term effects of this disease are microvascular alterations, retinopathy, neuropathy and nephropathy. Chronic hyperglycaemia results in an improved risk for this diabetic complications. Many mechanisms have been proposed, but the exact pathophysiological pathway is still unknown. Formation of glycosylated proteins and advanced glycosylated endproducts, reactive oxygen species formation, changes in lipidprotein

profile, coagulation abnormalities and alterations in the arachidonic acid metabolism may all contribute to the genesis of diabetic complications. Some of these biochemical alterations may precede the clinical manifestation of these diabetic complications and may be used as a disease marker. Moreover pharmacologic intervention in one or more of these biochemical alterations may postpone the development of complications. Both biochemical and pharmaceutical investigations have been started in hospital De Weezenlanden in Insulin Dependent as well as in Non-Insulin Dependent Diabetic patients in order to receive more insight in the pathophysiology of diabetic complications and the way to interfere in this process

Key-words: diabetes mellitus; long-term complications; glycoxidation.

Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 55-63

Magnesiumonderzoek in ontwikkeling

J. L. WILLEMS¹, H. J. HUIJGEN², H. E. van INGEN³, P. VIS⁴, J. LEMMERS¹, W. B. GEVEN⁵
en G. T. B. SANDERS²

Het is nog allerminst duidelijk welke parameter(s) gemeten moet(en) worden om uitspraken te kunnen doen over de magnesiumstatus van het lichaam. Het grote belang van dit element voor de stofwisseling kan worden afgeleid uit haar centrale rol in vele enzymatische processen zoals in de energievoorziening en in de RNA-, DNA- en eiwitsynthese. Ook in de processen, die verband houden met de regulatie van de intracellulaire kationconcentratie speelt Mg^{2+} in samenspel met Ca^{2+} een hoofdrol.

In klinisch opzicht is hypomagnesiëmie belangrijker dan hypermagnesiëmie. Bij de hypomagnesiëmie is het moeilijk te beoordelen of er sprake is van een magnesiumdeficiëntie. Een antwoord kan mogelijk met behulp van een magnesiumbelastingstest gegeven worden.

Technisch is het nu mogelijk om zowel de intracellulaire als ook de extracellulaire (bloed) Mg^{2+} concentraties te meten, waarbij bovendien onderscheid kan worden gemaakt in eiwit-, complexgebonden of vrije (geïoniseerde) vorm. Een overzicht van de meetmethoden wordt gegeven. Echter de correlatie van welke verschijningsvorm van Mg^{2+} dan ook in diverse soor-

ten cellen met de in het serum voorkomende Mg^{2+} fracties is slecht. Veel onderzoek zal daarom nodig zijn om hierop een antwoord te kunnen geven, waarbij speciale aandacht zal moeten worden gegeven aan de bestudering van transport processen en aan de compartimentalisatie van Mg^{2+} in de cel.

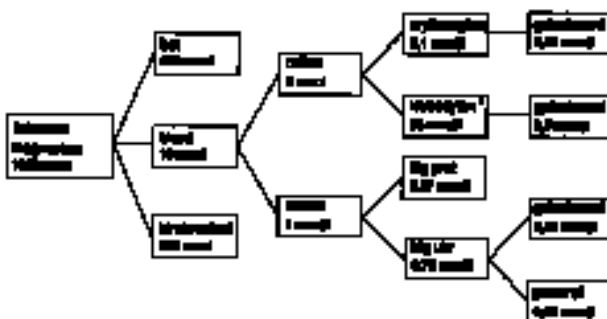
Binnen de klinische chemie in Nederland wordt op enkele plaatsen gewerkt aan het verkrijgen van meer inzicht in de rol van magnesium in fysiologische, biochemische en andere processen in het menselijk lichaam. Een compleet overzicht over alle aspecten van dit element zou te ver voeren. De auteurs hebben de aandacht vooral gericht op de betekenis van het intracellulaire magnesium in relatie met het serum magnesium en de klinische implicaties hiervan.

De totale hoeveelheid magnesium in het lichaam van volwassenen bedraagt ongeveer 1000 mmol, waarvan het grootste gedeelte (50 - 70%) in het skelet aanwezig is. De magnesiummoleculen in het bot zijn van wezenlijk belang voor de stevigheid van de matrix. De magnesium ionen zijn niet opgenomen in de apatiet-

Afdeling Klinische chemie¹ en Kindergeneeskunde⁵ van het Academisch ziekenhuis Nijmegen, St. Radboud; Afdeling Klinische chemie² van het Academisch Medisch Centrum bij de Universiteit van Amsterdam; Afdeling Klinische chemie³ van de Dr. Daniel den Hoed Kliniek te Rotterdam; Afdeling Fysiologie⁴ van de Faculteit der Medische Wetenschappen, Universiteit van Nijmegen.

Correspondentie: Dr. J.L. Willems, Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium, Academisch ziekenhuis Nijmegen, St. Radboud, Geert Groteplein 8, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.

Ned Tijdschr Klin Chem 1995, vol. 20, no. 1



Figuur 1. Overzicht van alle magnesium fracties met hun referentie waarden.