

Overzichten

De waarde van 1,5-anhydro-D-glucitol als maat voor glucoseregulatie bij patiënten met diabetes mellitus: overzicht van de literatuur en eigen ervaringen

G.J. van der BEN^{1,2}, D.W. SWINKELS¹, S.M. KLAVER¹, J.A. LUTTERMAN² en C.J. TACK²

Regelmatige controle van de gemiddelde glucoseregulatie vormt een essentieel onderdeel van de hedendaagse diabeteszorg. Voor de beoordeling van deze langetermijn-metabole regulering bij diabetes mellitus bestaan verschillende methoden waarvan de meting van het glycohemoglobine (glyHb), verreweg het belangrijkste is. Daarnaast bestaan er alternatieve methoden, die eveneens berusten op glycering, maar die minder goed gevalideerd en betrouwbaar zijn. In de literatuur is melding gemaakt van bepaling van 1,5-anhydro-D-glucitol (1,5-AG) in het plasma als maat voor de glucoseregulatie gedurende de voorafgaande dagen tot weken. Deze waarde zou onafhankelijk zijn van glycering. Bovendien zouden de kortetermijn-glucosefluctuaties beter worden weergegeven. In dit overzicht worden eerst de gegevens die over 1,5-AG bekend zijn samengevat. Vervolgens wordt eigen onderzoek gepresenteerd. In dit onderzoek werd getracht een methode voor de bepaling van 1,5-AG op te zetten. Bovendien werd nagegaan of er een correlatie bestond tussen het 1,5-AG gehalte en de glucosefluctuaties gemeten bij patiënten met type I diabetes mellitus. Bij het opzetten van een volledig enzymatische methode traden een aantal technische problemen op, waardoor het onmogelijk bleek om uitspraken te doen over bovengenoemde correlaties. Onze conclusie is dat er naast technische problemen ook problemen zijn bij de juiste interpretatie van 1,5-AG-concentraties. Deze maken dat deze bepaling in onze handen op dit moment nog niet geschikt wordt geacht om klinisch te worden toegepast.

Trefwoorden: diabetes mellitus; 1,5-anhydro-D-glucitol; glucoseregulatie; glucosefluctuatie; PROD-enzym

Bij de behandeling en begeleiding van patiënten met diabetes mellitus speelt een regelmatige controle van de gemiddelde glucoseregulatie een belangrijke rol. De kans op het ontwikkelen van complicaties en wel-

licht ook de levensverwachting bij deze patiënten wordt voor een belangrijke deel bepaald door de kwaliteit van de glucoseregulatie. Op dit moment wordt vrijwel uitsluitend gebruik gemaakt van de meting van het glycohemoglobine (glyHb). Deze bepaling wordt beschouwd als de gouden standaard (1).

Een alternatief voor de bepaling van de glucoseregulatie vormt de meting van de plasma fructosamineconcentratie. Hoewel de bepalingmethode volstrekt verschilt van die van het glyHb is ook de fructosamineconcentratie een weerspiegeling van glycering van eiwitten. Verder zijn er belangrijke bepalingstechnische nadelen aan de bepaling van fructosamine verbonden. Enkele jaren geleden is melding gemaakt van de plasma 1,5-anhydro-D-glucitol-concentratie (1,5-AG-concentratie) als maat voor de glucoseregulatie bij patiënten met diabetes mellitus (7,9,10,11,16,21). Deze bepaling zou onafhankelijk van glycering zijn. In dit artikel zal worden ingegaan op het 1,5-AG. Er zal een overzicht worden gegeven van de literatuurgegevens en tevens zullen onze eigen ervaringen met betrekking tot de bepaling van 1,5-AG worden besproken.

Methoden voor bepaling van glucoseregulatie

Glycohemoglobine (glyHb)

Het glyHb is dat deel van het hemoglobine dat een niet-enzymatische reactie met glucose heeft ondergaan (geglyceerd is) en wordt uitgedrukt in procenten van het totaal. Er zijn verschillende methoden voor de bepaling, waarvan de 'high pressure liquid chromatography' (HPLC)-methode het meest gebruikt wordt. Het glyHb weerspiegelt de gemiddelde glucoseregulatie over een tijdsbestek van ongeveer 7-8 weken (1,2). Deze glycering is hoofdzakelijk afhankelijk van het gemiddelde glucosegehalte van het bloed.

In incidentele gevallen bestaat er echter een discrepantie tussen de gemeten bloedglucosewaarden en het glyHb (3,4). Dit is bijvoorbeeld beschreven tijdens hemolyse, hemoglobinopathieën, carbamylering (ureum) en gebruik van bepaalde medicijnen (5,6). Soms kan meting van de fructosamineconcentratie dan enige aanvullende informatie verschaffen (3).

Fructosamine

De fructosamineconcentratie wordt bepaald door de hoeveelheid ketoaminen (de glyceringsproducten) in plasma of serum en wordt uitgedrukt in mmol/l. Bij

Centraal Klinische Chemisch Laboratorium¹ en Afdeling Algemeen Interne Geneeskunde², Academisch Ziekenhuis Nijmegen, St. Radboud

Correspondentie adres: Dr. C.J.J. Tack, Academisch Ziekenhuis Nijmegen, St. Radboud, Afdeling Algemeen Interne Geneeskunde, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.
E-mail: C.Tack@aig.azn.nl
Ingekomen: 02.02.00

de bepaling wordt gebruik gemaakt van de eigenschappen van ketoaminen om als reducerende stof te werken in alkalische oplossingen. Deze bepaling weerspiegelt de gemiddelde glycemie over een periode van ongeveer 2-3 weken (1,7). De test is simpel, snel uitvoerbaar, goedkoop en goed reproduceerbaar. De specificiteit van de bepaling is echter een belangrijk punt van zorg (1,3). Er bestaat een matige correlatie met het HbA_{1c}-percentage en de uitkomst is afhankelijk van korte-termijnfluctuaties van serum-eiwitten (3). Bovendien is het spreidingsgebied van de fructosaminewaarden bij patiënten met diabetes mellitus kleiner dan dat van de HbA_{1c}-waarden. Deze bepaling wordt dan ook nog maar in enkele laboratoria uitgevoerd, mede vanwege de moeilijke standaardisatie.

1,5-Anhydro-D-glucitol

Het 1,5-AG is een suikeralcohol met een pyranosestructuur en vormt een van de voornaamste polyolen in de humane liquor cerebrospinalis en in het serum (8). De bepaling gaat meestal volledig enzymatisch (zie verder). Deze bepaling zou een weergave vormen van de glucoseregulatie gedurende de voorafgaande 1-2 dagen tot 2 weken (7,9). Een belangrijk voordeel zou kunnen zijn dat de bepaling van 1,5-AG de mate van plasmaglucosefluctuaties zou kunnen weergeven (10-13). De bepaling van 1,5-AG wordt gestoord door verhoogde concentraties geconjugeerd bilirubine of galactose (14,15).

Beschrijving van de bepaling van 1,5-anhydro-D-glucitol

Omdat glucose interfereert met de bepaling van 1,5-AG is het belangrijk dat glucose uit het serum wordt verwijderd. Glucose kan worden verwijderd via een twee-lagen minikolom (Lana-AG-kit) (14). Deze minikolom is vervangen door een enzymatische methode, die glucose niet verwijdert maar converteert tot een niet-reactieve structuur (15). Deze enzymatische methode is gebruiksvriendelijker en sneller dan de methode met de minikolom. Er wordt gebruik gemaakt van glucokinase (GK) en een ATP-regenererend systeem. Glucose wordt door glucokinase onder invloed van het ATP-regenererend systeem efficiënt omgezet in de niet-reactieve structuur, glucose-6-fosfaat. Het ATP-regenererend systeem bestaat uit pyruvaat kinase (PK) en phosphoenolpyruvaat (PEP). Voor de verdere analyse van 1,5-AG speelt het pyranose-oxidase (PROD) enzym een belangrijke rol. Glucose-6-fosfaat is een verbinding die niet reageert met het PROD-enzym. De substraten voor het PROD-enzym zijn 1,5-AG, glucose, sorbose, xylose, galactose en glucono-d-lactone (15). Aangezien alleen 1,5-AG en glucose voorkomen in het serum, hoeft alleen gezorgd te worden dat glucose wordt omgezet in een niet-reactieve structuur, in bovengeschetste situatie dus in de vorm van glucose-6-fosfaat. Het 1,5-AG wordt vervolgens door het PROD-enzym omgezet in 1,5-anhydrofructose met vorming van waterstofperoxide (H₂O₂). Waterstofperoxide gaat vervolgens een reactie aan met 4-aminoantipyrine (4-AAP) en 3-hydroxy-2,4,6-triiodobenzoezuur (HTIB) in aan-

wezigheid van de enzymen "horse radish peroxidase" (HRP) en ascorbaatoxidase. Hierdoor ontstaat een kleur waarvan de intensiteit wordt bepaald door de concentratie waterstofperoxide (H₂O₂) (15). Vervolgens kan de concentratie 1,5-AG berekend worden. Meerdere apparaten kunnen hiervoor gebruikt worden zoals de Cobas Mira plus Automated Analyzer, Roche, France of The Hitachi 7150 automated analyzer, Tokio, Japan (15). Analysemethoden van 1,5-AG die geen gebruik maken van o.a. het PROD-enzym zijn: de Gaschromatografie/Massaspectrometrie (GC/MS) (16), Gas-Vloeistof-Chromatografie (GLC), Vloeistofchromatografie/Massa Spectrometrie (LC/MS) of (HPLC) (17). Deze analysemethoden vereisen veel tijd, zijn duur in aanschaf en zijn moeilijk uitvoerbaar en zijn daardoor, hoewel zeer sensitief, niet bruikbaar voor een klinische routinematige analyse van 1,5-AG.

Klinisch gebruik van 1,5-anhydro-D-glucitol

Zoals eerder vermeld is 1,5-AG een van de voornaamste polyolen in het serum bij de mens (8). De concentratie van 1,5-AG is onder normale omstandigheden stabiel en onafhankelijk van lichaamsgewicht, geslacht, leeftijd, duur van diabetes mellitus (11,18). Deze stabiliteit wordt mede verklaard door efficiënte reabsorptie door de renale tubulaire cellen (7). De normale serumconcentratie van 1,5-AG laat een aanzienlijke spreiding zien binnen de normale populatie (tabel 1). Daarnaast verschillen de referentiewaarden ook door het toepassen van verschillende bepalingsmethoden. Zowel bij type I als bij type II diabetes mellitus is de concentratie van 1,5-AG verlaagd (tabel 1). De verlaging van de plasmaconcentratie van 1,5-AG bij patiënten met diabetes mellitus wordt verklaard door een verhoogde excretie tijdens hyperglycemie en zou daardoor mogelijk kunnen samenhangen met fluctuaties in de plasmaglucoseconcentratie (10). Glucose en 1,5-AG gaan een competitie met elkaar aan ten aanzien van de terugresorptie. Wanneer de glucoseconcentratie in de urine hoog is zal de glucoseterugresorptie overheersen ten koste van 1,5-AG-terugresorptie (12). Ook bij zwangere vrouwen blijkt de 1,5-AG-concentratie lager te zijn (gemiddeld ±62 ten opzicht van ± 113 µmol/l bij niet-zwangeren), hetgeen verklaard zou kunnen worden door de verhoogde incidentie van renale glucosurie tijdens de

Tabel 1. Concentraties van 1,5-anhydro-D-glucitol zoals vermeld in de literatuur (µmol/L)

Auteur	Controle	DM type II	DM type I
Kishimoto et al. (23)	143 ± 15	46 ± 22 ¹ 77 ± 35 ²	
Yamanouchi et al. (11)	150 ± 46	119 ± 51 ³ 52 ± 45 ⁴	
Yamanouchi et al. (18)		1,3 - 95 ⁵	0,7 - 81 ⁶
Yamanouchi et al. (20)		26 - 48	6 - 12

¹⁾ CIT-groep (conventioneel behandeld 2 x p/d insuline); ²⁾ MIT-groep (behandeld met multiple injecties); ³⁾ ptn. met licht gestoorde glucosetolerantietest; ⁴⁾ ptn. met DM type II; ⁵⁾ gem. HbA_{1c} 8,2%; ⁶⁾ gem. HbA_{1c} 10,2%.

zwangerschap (7,16). Er bestaan tegenstrijdige bevindingen ter aanzien van het plasma 1,5-AG bij patiënten met een chronische nierinsufficiëntie. Het 1,5-AG-gehalte zou verlaagd zijn, vooral bij patiënten waarvan de serumkreatinineconcentratie boven de 165-265 $\mu\text{mol/l}$ uitkwam (7). Ook zou bij patiënten met een pre-terminale nierinsufficiëntie, die nog niet gedialyseerd werden, zowel zonder als met diabetes mellitus, een opvallende lage concentratie 1,5-AG kunnen worden aangetoond (19). Een zwakke omgekeerde relatie tussen 1,5 AG en zowel plasmakreatinine als -ureum is gerapporteerd (16). Anderen hebben echter gesuggereerd dat plasma 1,5-AG niet beïnvloed zou worden door de chronische nierinsufficiëntie. De verlaagde concentratie bij uremische patiënten was, volgens deze auteurs, eerder een gevolg van de onderliggende glucose-intolerantie (18). Bij patiënten met ernstige levercirrose is eveneens een verlaagde concentratie van 1,5-AG gemeld. Deze verlaging zou volgens de auteurs worden veroorzaakt door een verminderde voedselinname gedurende een langere tijd bijvoorbeeld door misselijkheid of door gebrekkige sociale omstandigheden. Bij een verminderde voedselinname gedurende een maand bleek de 1,5-AG-concentratie overigens niet te dalen, waarschijnlijk dankzij het grote reservoir van 1,5-AG in het lichaam en de zeer efficiënte terugresorptie in de nieren (7,11). Tenslotte blijkt ook bij patiënten met een verhoogde concentratie geconjugeerd bilirubine of galactose de concentratie van 1,5-AG niet betrouwbaar (14,15). Voor verder onderzoek met 1,5-AG werden dit soort patiënten dan ook uitgesloten. Bij mensen zonder diabetes mellitus worden als laagste ondergrens van normaal, waarden vermeld variërend van 70 $\mu\text{mol/l}$ (16) tot 85 $\mu\text{mol/l}$ (20). Er wordt vermeld dat wanneer de 1,5-AG-concentratie $< 78 \mu\text{mol/l}$ uitkwam, diabetes mellitus voorspeld kon worden met een sensitiviteit van 84% en een specificiteit van 93% (21,22). Verschillende onderzoeken kwamen tot dezelfde conclusie dat de bepaling van 1,5-AG een hoge sensitiviteit (89%) en specificiteit (88%) heeft voor de diagnostisering van diabetes mellitus type II (23,24). Dit zou een methode kunnen zijn voor het routinematig opsporen van diabetes mellitus type II in grote populaties; voor screeningsdoel-einden lijkt meting van de plasmaglucoconcentratie echter het meest geschikt. Er werd een significante negatieve correlatie gevonden tussen het 1,5-AG en het glyHb, echter alleen wanneer het glyHb $\geq 6,8\%$ was ($r = -0,788$, $P < 0,0001$, $n=170$) (16). Bij een glyHb-percentage van $> 7,4\%$ was de concentratie 1,5-AG altijd $< 50 \mu\text{mol/l}$ en daalde de concentratie 1,5-AG verder naarmate het glyHb steeg. Patiënten met een bijna normoglykemisch niveau (glyHb $< 6,5\%$), waarbij toch een verlaagde concentratie 1,5-AG ($< 70 \mu\text{mol/l}$) werd gevonden, bleken inderdaad gemiddeld hogere waarden van plasmaglucoconcentratie gedurende de dag te hebben. Er werd een correlatie gevonden tussen het 1,5-AG en het gemiddelde dagelijkse plasmaglucoconcentratie, gemeten op dezelfde dag ($r = -0,827$, $P < 0,001$, $n= 224$). Op grond van deze gegevens werd geconcludeerd dat 1,5-AG een geringe verandering in de glucoseregulatie snel

en accuraat kan weergeven (9). Dit heeft geleid tot de suggestie dat 1,5-AG een maat zou kunnen zijn voor de mate van fluctuatie in de glucoseconcentratie. Zulke glucosefluctuaties zouden met behulp van de bepaling van 1,5-AG wellicht het beste gedetecteerd kunnen worden bij die patiënten waarbij er sprake is van een gemiddeld normoglycemisch niveau, d.w.z. een vrijwel normaal glyHb. Wanneer de glucoseregulatie minder goed is (hoog glyHb) dan kan bij een daling van het 1,5-AG geen onderscheid meer worden gemaakt tussen het gevolg van die verminderde instelling of de weergave van grote fluctuaties. Informatie over de mate van glucosefluctuatie zou met name van pas komen in situaties waarbij er een strikte controle op de glucoseregulatie van de patiënt wordt vereist, zoals bij patiënten met diabetes mellitus die zwanger zijn of willen worden.

Glucosefluctuaties

Zoals boven beschreven zou de 1,5-AG-concentratie dus de mate van plasma glucosefluctuaties kunnen aangeven. Zo'n verband is in de klinische praktijk moeilijk vast te stellen. Rekenkundige methoden voor het kwantificeren van glucosefluctuaties zijn de M-waarde (23) of de MAGE (Mean Amplitude of Glycemic Excursions), waarmee wordt bedoeld het gemiddeld verschil tussen opvolgende maximale en minimale bloedglucoseconcentraties/24 uur (25). Ook wordt glucosefluctuatie wel uitgedrukt als CV (coefficient of variation, mate van variatie van de bloedglucose) (10). Deze methoden vereisen frequente glucosemetingen. In een onderzoek bij goed ingestelde patiënten met type II diabetes mellitus die werden behandeld met multiële insuline-injecties (MIT-groep, $n=15$) werd een significant hogere concentratie 1,5-AG ($77 \pm 35 \mu\text{mol/l}$) en een lagere M-waarde ($9,2 \pm 5,2$) gevonden in vergelijking met de groep die conventioneel met insuline behandeld werd (CIT-groep, $n=16$, 1,5-AG $46 \pm 22 \mu\text{mol/l}$, M-waarde $15,7 \pm 8,9$). Het glyHb verschilde echter niet tussen beide groepen. De M-waarde bleek significant te correleren met de 1,5-AG-concentratie ($r = 0,414$, $P < 0,05$). Er bestond geen correlatie tussen de M-waarde en het glyHb. De conclusie van dit onderzoek was dat 1,5-AG een bruikbare maat is voor de dagelijkse bloedglucosefluctuaties, vooral bij goed gereguleerde patiënten met type II diabetes mellitus (23). In een ander onderzoek werden de glucosefluctuaties bij patiënten met type I en type II diabetes mellitus gemeten en gecorreleerd met de 1,5-AG-concentratie. De groep met type I diabetes mellitus vertoonde zowel dagelijks als van dag tot dag grotere fluctuaties in het plasma glucosegehalte dan de groep met type II diabetes mellitus. De glyHb-waarden ($\pm 7,6\%$) waren identiek in beide groepen. Er werd ook in dit onderzoek een correlatie gevonden tussen de CV en de 1,5-AG-concentratie, welke sterker was bij de groep met type I diabetes mellitus ($r = -0,892$, $P < 0,001$, $n=32$), dan bij de groep met type II diabetes mellitus, ($r = -0,532$, $P < 0,05$, $n=42$). Men mag aannemen dat er geen verschillen zijn in de fundamentele kinetiek van reductie en terugwinning van plasma 1,5-AG tussen type I en type II diabetes mellitus (10,26). Ook in dit

onderzoek werd de conclusie getrokken dat plasma 1,5-AG niet alleen afhankelijk is van het gemiddelde plasma glucosegehalte, maar ook van de plasma glucosefluctuaties (10).

Samenvattend: Bij patiënten met diabetes mellitus is de concentratie van 1,5-anhydro-D-glucitol verlaagd. Deze verlaging kan worden verklaard door verhoging van het gemiddelde plasmaglucozegehalte en/of door toegenomen glucosefluctuaties in een kort tijdsbestek. 1,5-AG zou een maat van de glucoseregulatie gedurende de voorafgaande 1-2 dagen tot 2 weken kunnen vormen. Dit zou een voordeel kunnen zijn bij patiënten met diabetes mellitus waarbij er een strikte controle van de glucoseregulatie wordt vereist. Wanneer er een discrepantie lijkt te bestaan tussen de hoogte van het glyHb en het 1,5-AG-gehalte, dan zou dit mogelijk verklaard kunnen worden door verschillen in glucosefluctuaties (7,18). De 1,5-AG concentratie zou tevens aanvullende informatie kunnen verlenen in situaties waarbij er een discrepantie bestaat tussen het glyHb en de bloedglucosewaarden (3,4). Verder bestaat de mogelijkheid dat patiënten met diabetes mellitus met grotere bloedglucosefluctuaties meer kans hebben op latere complicaties van diabetes mellitus. Als dat zo is, dan zou de bepaling van 1,5-AG een zinvolle aanvullende controlemogelijkheid kunnen zijn.

Eigen onderzoek

Doel van de pilot-studie

Doel was om een volledig enzymatische methode voor de bepaling van 1,5-AG op te zetten (15) en te onderzoeken of er een correlatie bestond tussen het 1,5-AG en de glucosefluctuaties bij patiënten met type I diabetes mellitus.

Patiënten

14 Patiënten met type I diabetes mellitus werden geselecteerd. Patiënten met een microalbuminurie van >20 mg/l en patiënten met een sterk verhoogde concentratie van geconjugeerd bilirubine werden uitgesloten. De patiënten die deelnamen werden geïnstrueerd om op dag 0 (de dag voor de controle-afspraken) een 7-punts glucosedagcurve te maken op hun eigen glucosemeter. Deze 7-punts glucosedagcurve werd gevormd door op vaste tijdstippen de glucose in het bloed te bepalen. Op de polikliniek werd ter controle nog een meting op een eigen glucosemeter verricht en ter vergelijking werd tevens in veneus bloed glucose gemeten (glucose, GOD-PAP methode op een Hitachi 747, Roche). Op de polikliniek werd vervolgens bloed afgenomen voor de meting van glucose, 1,5-AG en glyHb. De patiënten zijn ingedeeld in matig (glyHb > 8,0%) en goed (glyHb < 8,0%) ingestelde diabetes mellitus (tabel 2.). De 1,5-AG-concentratie werd bepaald via een volledig enzymatische methode met behulp van de Cobas Mira plus Automated Analyzer, Roche, France (15). De MAGE (Mean Amplitude of Glycemic Excursions) werd berekend en het verband tussen de diverse parameters werden bepaald door standaard statistische analyses (25).

Methode

Reagentia

1,5-Anhydro-D-Glucitol, GK (glucokinase), PK (pyruvaatkinase), 4-AAP (4-aminoantipyrine), HEPES (N-(2-Hydroxyethyl)piperazine-N'-(2-ethanesulfonic zuur)), MES (2-(N-Morpholino)ethanesulfonic zuur), HTIB (3-Hydroxy-2,4,6-triiodobenzoïne) kwamen allen van Sigma Chemical Co., St. Louis, MO (15)

Tabel 2. Klinische karakteristieken van de patiënten met type I diabetes mellitus uit eigen onderzoek

	leeftijd (jr)	m/v	door pt. bepaalde glucose (mmol/l)	door lab. bepaalde glucose (mmol/l)	gemiddeld dag. glucose (mmol/l) ¹	HbA _{1c} (%)	MAGE ²	1,5-Anhydro- D-glucitol (µmol/l)
Matig³								
Patiënt 1	64	m	11,5	11,6	7,5	10	7,6	70
Patiënt 2	45	v	14,9	13,1	11,8	8,1	11,5	78
patiënt 6	45	m	5,4	4,1	7,8	9	3,9*	51
patiënt 7	40	m	10,1	10,4	11,3	10,7	7,5	48
patiënt 8	45	m	2,3	2,4	9,9	8,4	3,9	41
mean					9,8	9	6,3	59
Goed⁴								
patiënt 9	46	v	4,3	4,8	7,7	7,8	3,5	62
patiënt 10	44	v	5,8	5,7	7,5	5,7	2	62
patiënt 11	31	v	10,6	11,5	6,6	5,9	3,7	92
patiënt 12	34	v	9,2	9,5	8,5	8	11,3	60
patiënt 13	65	m	8,9	7,1	7,8	7,1	4,1	55
patiënt 14	18	v	9,9	9,9	7,6	8	1,7	94
mean					7,6	7,1	4,4	71

* betreft slechts 3 meetpunten; ¹) Op grond van 7-punts glucosedagcurve op eigen glucosemeter; ²) MAGE = Mean Amplitude of Glycemic Excursions. Hiermee wordt bedoeld het gemiddelde verschil tussen opeenvolgende maximale en minimale bloedglucoseconcentraties / 24 uur; ³) Matig ingestelde diabetes mellitus (HbA_{1c} > 8,0%); ⁴) Goed ingestelde diabetes mellitus (HbA_{1c} < 8,0%).

PROD (Pyranose oxidase) kwam van Takara Shuzo CO., LTD, Kyoto, Japan (15). ATP (Adenosine-5'-triphosfaat), PEP (Phosphoenolpyruvaat), HRP (Peroxidase from horse radish), Ascorbaat Oxidase kwamen allen van Boehringer Mannheim Diagnostica (is nu Roche), Mannheim, Duitsland (15). Buffer (pH 5,9) voor reagens 1 (R1): 50 mM MES, 7,5 mM MgCl, 50 mM KCl. Buffer voor reagens 2 (R2): 200 mM HEPES.

R1: 16 kU GK, 12 kU PK, 10,2 kU ascorbaat oxidase, 8 mM ATP, 32,0 mM PEP, 3,0 mM 4-AAP, oplossen in MES-buffer. R2: 107 kU PROD, 15 kU HRP, 7,8 mM HTIB, oplossen in HEPES-buffer.

Bepaling van 1,5-AG

De bepaling werd uitgevoerd met 40 µl monster. Na toevoeging van 130 µl R1 werd 5 min geïncubeerd bij 37°C. Na toevoeging van 65 µl R2 werd gemeten bij een golflente van 500 nm.

Resultaten en discussie (tabel 2)

Tijdens het opzetten van de methode kwamen er een aantal problemen aan het licht. De samenvoeging van ATP en PEP, zoals in de literatuur vermeld wordt (15), vormde een dermate zure oplossing, dat na toevoeging van R1 aan de rest (GK, PK, enz.) er een denaturatie optrad van de enzymen. Om dit te voorkomen werd besloten ATP en PEP samen te voegen in een 0,5 ml oplossing. Dit werd op pH=7 gebracht met 1M KOH. Voor de verhouding GK/PK, voor de omzetting van glucose in de niet reactieve structuur (glucose-6-fosfaat), moesten voor de optimale curve hogere concentraties gebruikt worden (16 kU GK, 12 kU PK) dan in de literatuur vermeld wordt (4,0 kU GK, 3,0 kU PK (14)). Zelfs met deze concentraties trad er een probleem op met de omzetting wanneer de actuele bloedglucosewaarde boven de ± 12 mmol/l uitkwam. Dit betekende dat er sprake was van interferentie bij de bepaling door gebrek aan specificiteit van het GK/PK systeem. Er bleek dan ook een zeer hoge correlatie te bestaan tussen de actuele bloedglucose en de concentratie van 1,5-AG ($r = 0,8360$, $P < 0,01$). De fabrikant en het transport van de enzymen spelen waarschijnlijk geen rol, omdat aan alle voorzorgsmaatregelen voldaan werden. Het derde probleem heeft te maken met de detectiegrens van 1,5-AG. In de literatuur wordt gesproken van een detectielimiet van 2 µmol/l (0,3 mg/l), wanneer gebruik gemaakt werd van een minikolom, bijvoorbeeld de Lana-AG-kit, (16). Indien gebruik gemaakt werd van een enzymatische methode, zoals in ons geval, dan wordt gesproken van een detectielimiet van 6 µmol/l (15). In onze pilot-studie konden we de detectiegrens, met behulp van de referentiewaarden, niet lager dan 30 µmol/l krijgen. Dit zou overigens tot weinig klinische problemen hebben geleid, omdat een 1,5-AG-concentratie van < 30 µmol/l in onze pilot-studie niet en in de literatuur nauwelijks voorkomt (11,23).

Conclusie op basis van literatuurgegevens en eigen onderzoek

De waarde van 1,5-AG staat ons inziens verre van

vast. In de literatuur bestaan verschillende opvattingen over de bepalingsmethoden, de normaalwaarden van 1,5-AG, de grenswaarden van 1,5-AG voor patiënten zonder diabetes mellitus en de detectiegrens van de 1,5-AG bepaling. In onze handen bleek echter de volledige enzymatische methode tal van technische problemen met zich mee te brengen, zodat er verder geen klinische uitspraken over gedaan konden worden. Bovendien konden wij de in de literatuur gesuggereerde relatie met glucosefluctuaties niet reproduceren. Deze technische problemen zijn tot op heden van dien aard dat praktische klinische toepassing niet mogelijk is.

Literatuur

1. Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JI, Nathan D, Peterson CM. Tests of glycemia in diabetes. *Diabetes Care* 1995; 18: 896-909.
2. Koenig RJ, Peterson CM, Jones RL, Saudek C, Lehrman M, Cerami A. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1c in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1976; 295: 417-420.
3. Tack CJJ, Lutterman JA. Problemen bij de interpretatie van het percentage geglyceerd hemoglobine bij patiënten met diabetes mellitus. *Ned Tijdschr Geneesk* 1995; 139(45): 2289-2292.
4. Tack CJJ. Welke factoren, behalve de bloedglucosewaarden, beïnvloeden het HbA_{1c} percentage. *Vraag en Antwoord, Internisten Vademecum* 1997; 13.
5. Tack CJJ, Wetzels JFM. Decreased HbA_{1c} levels due to sulfonamide-induced hemolysis in two IDDM patients. *Diabetes Care* 1996; 19: 775-776.
6. Penders TJ, Weykamp CW, Muskiet FAJ, van der Slik W. De invloed van hemoglobinevarianten en -derivaten op de bepaling van glycohemoglobine. *Tijdschr NVKC* 1994; 19: 70-77.
7. Yamanouchi T, Akanuma Y. Serum 1,5-anhydroglucitol (1,5 AG): New clinical marker for glycemetic control. *Diabetes Research and Clinical Practice* 1994; 24 suppl: S261-S268.
8. Pitkanen E. Serum 1,5-anhydroglucitol in normal subjects and in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest* 1982; 42: 445-448.
9. Yamanouchi T, Ogata N, Tagaya T, Kawasaki T, Sekino N, Funato H, Akaoka L. Clinical usefulness of serum 1,5-anhydroglucitol in monitoring glycaemic control. *Lancet* 1996; 347: 1514-1518.
10. Yamanouchi T, Moromizato H, Shinohara T, Minoda S, Miyashita H, Akaoka L. Estimation of plasma glucose fluctuation with a combination test of Hemoglobin A1c and 1,5-Anhydroglucitol. *Metabolism* 1992; 41: 862-867.
11. Yamanouchi T, Minoda S, Yabuuchi M, et al. Plasma 1,5-anhydro-D-glucitol as new clinical marker of glycemetic control in NIDDM patients. *Diabetes* 1989; 38: 723-729.
12. Yamanouchi T, Akaoka I, Akanuma Y, et al. Mechanism for acute reduction of 1,5-anhydroglucitol in rats treated with diabetogenic agents. *Am J Physiol* 1990; 258: E423-E427.
13. Akanuma Y, Moritz M, Fukuzawa N, et al. Urinary excretion of 1,5-anhydro-D-glucitol accompanying glucose excretion in diabetic patients. *Diabetologia* 1988; 31: 831-835.
14. Yabuuchi K, Masuda M, Katoh K, Nakamura T, Akanuma H. Simple enzymatic method for determining 1,5-anhydro-D-glucitol in plasma for diagnosis of diabetes mellitus. *Clin Chem* 1989; 35(10): 2039-2043.
15. Fukumura Y, Tajima S, Oshitani S, Ushijima Y, Kobayashi I, Hara F, Yamamoto S. Fully enzymatic method for determining 1,5-anhydro-D-glucitol in serum. *Clinical Chemistry* 1994; 40(11): 2013-2016.

16. Phillipou G, James S, Frith G, Farrant R, Phillips P. Enzymatic quantification of 1,5-anhydro-D-glucitol: evaluation and clinical application. *Clin Chem* 1994; 40(7): 1322-1326.
17. Chusney GD, Philippa M, Pickup JC. Comparison of micro-enzymatic and high-performance liquid chromatographic methods for the assay of serum 1,5-anhydroglucitol. *Clinica Chimica Acta* 1995; 235: 91-99.
18. Yamanouchi T, Akanuma H, Nakamura T, Akaoka I, Akanuma Y. Reduction of plasma 1,5-anhydroglucitol (1-deoxyglucose) concentration in diabetes patients. *Diabetologia* 1988; 31: 41-45.
19. Emoto M, Tabata T, Inoue T, Nishizawa Y, Morii M. Plasma 1,5-anhydroglucitol concentrations in patients with end-stage renal disease with and without diabetes mellitus. *Nephron* 1992; 61: 181-186.
20. Yamanouchi T, Akanuma Y, Toyota T, Kuzuya T, Kawai T, Kawazu S, Yoshioka S. Comparison of 1,5-anhydroglucitol, HbA1c and fructosamine for detection of diabetes mellitus. *Diabetes* 1991; 40: 52-57.
21. Frattali A, Wolf B. 1,5-Anhydroglucitol: A novel serum marker for screening and monitoring diabetes mellitus? *Clin Chem* 1994; 40(11): 1991-1993.
22. Robertson D, Alberti K, Dowse G, Zimmet P, Tuomiletho J, Gareeboo H. Is serum anhydroglucitol an alternative to the oral glucose tolerance test for diabetes screening? The Mauritius Non-Communicable Diseases Study Group. *Diabetic Med* 1993; 10: 56-60.
23. Kishimoto M, Yamasaki Y, Kubota M, Arai K, Morishima T, Kawamoi R, Kamada T. 1,5-anhydro-D-glucitol evaluates daily glycemic excursions in well-controlled NIDDM. *Diabetes Care* 1995; 18(8): 1156-1159.
24. Robertson D, Rafique G, Robinson P, Barlett K, Alberti K. Serum anhydroglucitol as a diagnostic test for diabetes mellitus (abstract). *Diabetic Med* 1991; suppl 1: 22A.
25. Molnar GD, Taylor WF, Langworthy A. On measuring the adequacy of diabetes regulation: comparison of continuously monitored blood glucose patterns with values at selected time points. *Diabetologia* 1974; 10: 139-143.
26. Yamanouchi T, Akanuma H, Asano T, Konishi C, Akaoka I, Akanuma Y. Reduction and recovery of plasma 1,5-anhydro-D-glucitol level in diabetes mellitus. *Diabetes* 1987; 36: 709-715.

Summary

The value of 1,5-anhydro-D-glucitol for measuring glycaemic control of patients with diabetes mellitus. Ben G.J. van der Swinkels DW, Klaver MS, Lutterman JA and Tack CJ. Ned Tijdschr Klin Chem 2000; 25: 263-268.

Regular monitoring of mean glycaemic control in patients with diabetes mellitus is of major importance. To monitor the longer term regulation of diabetes mellitus various methods are available amongst which determination of the glycohemoglobin (glyHb) is the most important. Alternative methods that are also based upon glycation are less validated and appear less reliable.

Recently the determination of the 1,5-anhydro-D-glucitol (1,5-AG)-concentration in blood plasma has been proposed as an alternative method. This value should supposedly reflect glucose regulation during the preceding days or weeks and also be independent of glycation. Also it should better represent the short term fluctuations in glucose levels. Here we summarize current literature on 1,5-AG. Subsequently results of our own study are presented. In this study we tried to set up a method for determination of 1,5-AG concentration. Furthermore, we examined whether we could identify a correlation between the 1,5-AG-concentrations and fluctuations in the plasma glucose levels in patients with type I diabetes mellitus. The set-up of a complete enzymatic method resulted in several technical problems, prohibiting statements about any correlation.

We conclude that, besides technical problems for the determination, also problems with the correct interpretation of 1,5-AG values remain to be solved. In our hands this method was not (yet) feasible for clinical application.

Key-words: diabetes mellitus; 1,5-anhydro-D-glucitol; glucose regulation; glucose fluctuation; PROD-enzym