

# Online Proefstuderen

## Biologie en Medisch Laboratoriumonderzoek – Medische Diagnostiek

### Theorie – module Klinische Chemie

Tijdens dit proefcollege wordt er dieper in gegaan op diabetes en het meten van glucose waarden bij patiënten. Diabetes, ook wel suikerziekte genoemd, is een ziekte waarbij het lichaam de bloedglucosespiegel niet meer goed in evenwicht kan houden, wat kan leiden tot teveel glucose in het bloed. Diabetes ontstaat doordat het lichaam minder gevoelig is geworden voor het hormoon insuline of omdat er te weinig insuline wordt geproduceerd. Insuline wordt gemaakt door de alvleesklier (pancreas) in de zogenoemde ‘Eilandjes van Langerhans’. Insuline wordt afgegeven aan het bloed wanneer de glucosespiegel stijgt, bijvoorbeeld na een maaltijd. Insuline bindt vervolgens aan de insuline-receptoren op de cellen, waardoor er metabole processen in gang worden gezet dat ervoor zorgt dat de glucose-transporters in het celmembraan komen. Door deze transporters kan glucose worden opgenomen in de cellen vanuit het bloed. Glucose is een belangrijke energiebron voor het lichaam.

Bij diabetes is de werking van insuline verstoord. Het is mogelijk dat de alvleesklier te weinig of geen insuline aanmaakt, dit wordt ook wel type 1 diabetes genoemd. Bij type 1 diabetes worden de cellen van de eilandjes van Langerhans aangevallen door het eigen immuunsysteem. Hierdoor gaan de cellen kapot en wordt er nauwelijks nog insuline geproduceerd. Type 1 diabetes komt relatief vaak voor bij kinderen en wordt op jonge leeftijd gediagnosticeerd. Naast type 1 diabetes, bestaat er ook type 2 diabetes. Diabetes type 2 is de meest voorkomende vorm van diabetes en is gelinkt aan overgewicht (buikvet), ouderdom en een ongezonde leefstijl. Bij diabetes type 2 wordt er vaak nog wel (wat) insuline geproduceerd, maar het lichaam wordt steeds minder gevoelig voor de werking van insuline, ook wel insuline-resistentie genoemd. De alvleesklier zal steeds meer insuline gaan maken om dit te compenseren, net zolang tot het niet meer lukt. Bij een milde/beginnende vorm van diabetes type 2 kan het zijn dat afvallen en leefstijlaanpassingen voldoende zijn om de insuline-resistentie op te heffen. Mocht deze aanpassingen onvoldoende zijn wordt er gestart met medicatie, om de glucose waarden te verlagen. Mocht ook dit niet voldoende helpen dan zal er worden gestart met het zelf injecteren van insuline. Bij diabetes type 1 is het injecteren van insuline noodzakelijk, omdat het lichaam zelf geen insuline kan aanmaken. Bij het injecteren van insuline wordt met een insulinepen vlak onder de huid (subcutaan) insuline gespoten dat geleidelijk door het lichaam wordt opgenomen.

**Een goede regulatie/behandeling van diabetes is noodzakelijk** om ernstige complicaties te vermijden. Complicaties als nefropathie (nierschade), neuropathie (zenuwschade), retinopathie (beschadiging van het netvlies) en hart- en vaatziekten zijn allemaal complicaties die kunnen optreden bij een langdurig, slecht gereguleerde diabetes. Toch komt het wel eens voor dat er een hypoglycemie (“hypo”) of hyperglycemie (“hyper”) ontstaat. Hierbij is er respectievelijk te weinig of teveel glucose in het bloed aanwezig. Hyperglycemie kan bijvoorbeeld ontstaan bij niet-gediagnosticeerde diabetes patiënten en een hypoglycemie kan ontstaan als er te lang niet is gegeten. Een hypo wordt gekenmerkt door de volgende symptomen: zweten, trillen, hartkloppingen, hongergevoel, hoofdpijn en stemmingsstoornissen. Een hyper wordt gekenmerkt door: veel plassen, droge mond, veel drinken en moeheid.

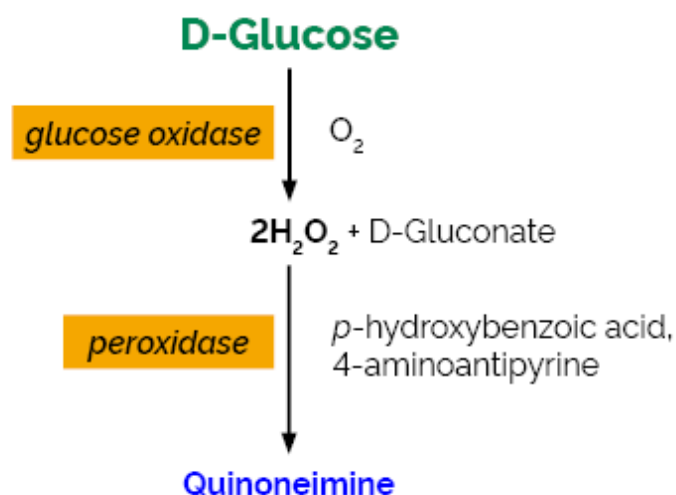
Zie [www.hanze.nl/onlineproefstuderen](http://www.hanze.nl/onlineproefstuderen) voor alle modules!

**De referentiewaarden**, normaalwaarden van glucose in het bloed ligt ongeveer tussen de 4 en 7 mmol/L, nuchter afgenomen. Een te hoge, nuchtere glucose waarde, wat een indicatie is voor (een niet goed gereguleerde) diabetes, ligt tussen de 7 en 11 mmol/l (hyperglycemie). Waarden boven de 11 mmol/L zorgen voor gezondheidsrisico's. Dit geldt voor zowel volwassenen als kinderen. Een bloedglucosespiegel onder de 4mmol/L is te laag en er wordt dan gesproken van een hypoglycemie.

**Hoe wordt glucose gemeten?** Diabetes patiënten hebben zelf vaak een glucose meter, waarmee doormiddel van een vingerprikje de bloedglucosespiegel kan worden gemeten. Met een druppel bloed en een teststrip wordt de concentratie bepaald. De glucose in het bloed reageert met chemicaliën op het stripje en wordt gemeten. Tegenwoordig kan ook gebruik worden gemaakt van een glucosesensor. De sensor wordt onderhuids ingebracht en meet de glucosewaarde in het weefselvocht continu. De sensor is handig als er meerdere metingen op een dag moet worden uitgevoerd, zoals bij diabetes type 1, zodat de glucose waarden van de patiënten over de dag gevolgd kunnen worden.

Op een klinisch chemisch laboratorium wordt ook glucose gemeten, vaak op aanvraag van een (huis)arts. Op het laboratorium wordt glucose gemeten met verschillende methodes, waarvan de meeste gebaseerd zijn op een kleuromzetting. Tijdens dit proefcollege wordt een vergelijkbare methode uitgevoerd, die eerstejaars studenten ook uitvoeren tijdens een van de vele practica dagen tijdens de opleiding.

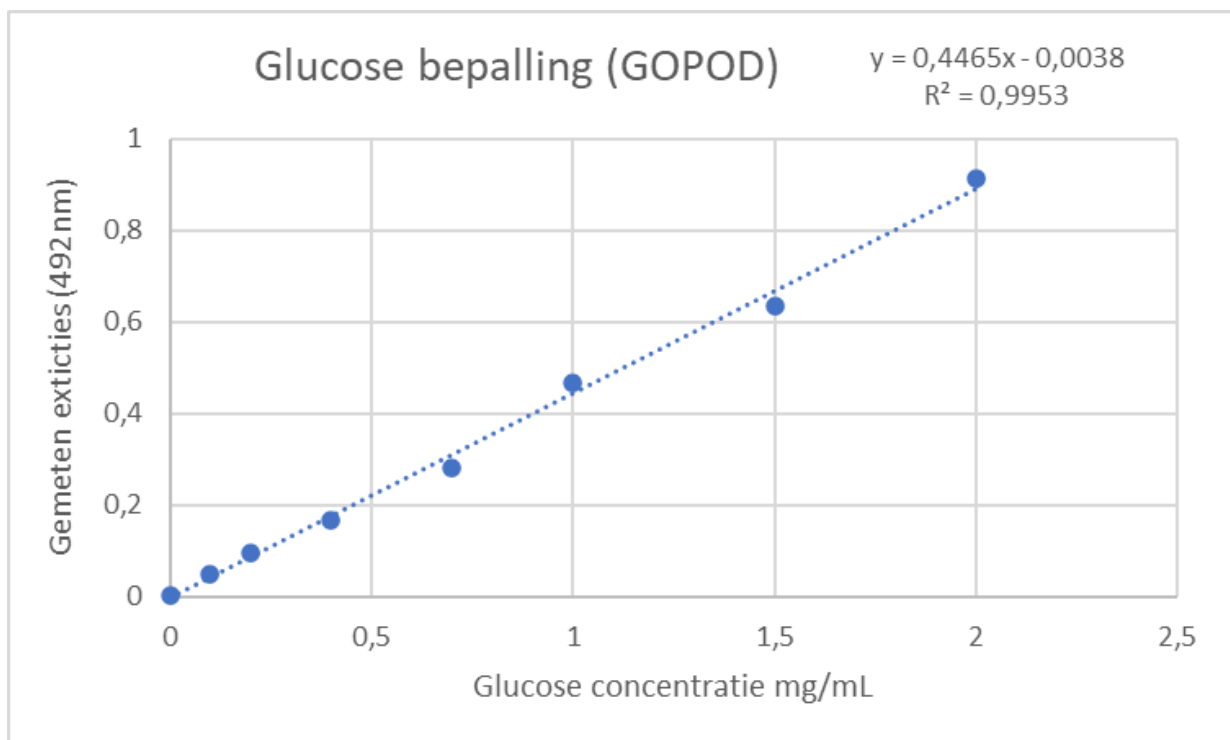
Om glucose in het bloed te meten wordt er gebruikt gemaakt van een glucose assay kit (GOPOD, van de firma Megazyme). Deze methode berust op een oxidase/peroxidase omzetting. Aan het monster wordt een reagens toegevoegd dat bestaat uit een buffer en enzymen die zorgen voor de omzetting naar een gekleurd product, quinoneimine dye (zie figuur 1). De ontstane kleur is proportioneel aan de hoeveelheid glucose in het monster. Met andere woorden, hoe meer glucose aanwezig in het monster hoe intenser de kleur zal zijn. De kleurintensiteit wordt gemeten met behulp van een spectrofotometer (optische dichtheid-meter), die is ingesteld om te meten bij een golflengte tussen de 490 en 510nm. De gemeten waarden worden extincties genoemd.



*Figuur 1: Schematisch overzicht van de GOPOD methode. Glucose wordt met behulp van oxidase en peroxidase omgezet naar een gekleurd product (quinoneimine). Hoe meer glucose in het monster aanwezig is, hoe intenser de kleur. Deze kleurintensiteit wordt gemeten met een spectrofotometer.*

Behalve de bloedmonsters wordt er ook een standaardreeks meegenomen, ook wel een ijklijn of kalibratielijn genoemd. Een ijklijn is een lineaire lijn die het verband aangeeft tussen de gemeten extincties van een corresponderende reeks van standaardoplossingen met bekende concentraties. Concreet houdt dit in dat er 8 verschillende, oplopende concentraties van glucose worden gemaakt, door glucose op te lossen in water en deze te meten op dezelfde manier als de monsters. Door de bekende concentraties en de corresponderende extincties tegen elkaar uit te zetten (lineaire regressie) wordt een passende rechte lijn door de punten getrokken (zie figuur 2). Vervolgens kan de  $R^2$ , ook wel correlatiecoëfficiënt genoemd, worden berekend.

De  $R^2$  zegt iets over het lineaire verband tussen de concentratie van de gemeten standaarden (bekende glucose concentratie) en de bijbehorende extincties. Wanneer de  $R^2$  tussen de 0,950 en 0,999 ligt kan worden gezegd dat de ijklijn betrouwbaar is en gebruikt kan worden om de bloedglucose waarden van de patiënten monsters te bepalen. Daarna kan er een vergelijking worden opgesteld ( $y=ax+b$ ), waarmee het mogelijk is om de waarden van de patiënten monsters te berekenen.  $y$  is bekend, want dat is de gemeten extinctie van het patiënten monster. Door de formule om te bouwen kan  $x$  worden berekend en zo wordt duidelijk wat de bloedglucose waarde in mg/mL is van de patiënt. Vervolgens worden deze waarden omgerekend tot mmol/L, door de gemeten waarden om te zetten naar mg/L en deze te delen door de molmassa van glucose (180,156 g/mol). De gemeten waarden kunnen dan vergeleken worden met de referentiewaarden en een mogelijke diagnose worden gesteld.



Figuur 2: Een voorbeeld van een ijklijn gemaakt in Excel, waarbij de bekende glucose concentraties (x-as) zijn uitgezet tegen de gemeten extincties van die bekende concentraties (y-as). Door de gemeten punten wordt een lineaire lijn getrokken en is het mogelijk om een vergelijking ( $y=ax=b$ ) op te stellen en een  $R^2$  te laten berekenen.