

University of Groningen

Glomerulaire proteinurie. Een onderzoek naar de uitscheiding van serumeiwitten en van polyvinylpyrrolidon in de urine bij het nefrotisch syndroom

Arisz, Lambertus

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1973

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Arisz, L. (1973). Glomerulaire proteinurie. Een onderzoek naar de uitscheiding van serumeiwitten en van polyvinylpyrrolidon in de urine bij het nefrotisch syndroom Groningen: s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING

In dit proefschrift worden de resultaten beschreven van een onderzoek over enkele aspecten van de uitscheiding van macromoleculen in de urine.

In *hoofdstuk I* worden gegevens uit de literatuur over de glomerulaire permeabiliteit besproken. Uit fysiologisch oogpunt is de permeabiliteit van de capillairwand in de glomerulus een onderdeel van het algemene probleem van de capillaire permeabiliteit. De vorming van grote hoeveelheden glomerulusfiltraat betekent hierbij echter een specifieke functie. Voor de passage van macromoleculen is het "molecular sieving effect" van grote betekenis, hetgeen inhoudt dat de hindernis van de membraan voor macromoleculen exponentieel toeneemt met de deeltjesgrootte. Functioneel gezien kan men zich de membraan voorstellen als een oppervlak met poriën waardoorheen de passage plaats vindt (Pappenheimer^{282, 283}), of als een gel waarin over de gehele oppervlakte diffusie kan optreden (Chinard^{81, 82}). Wanneer er sprake is van poriën, zouden deze alle eenzelfde diameter kunnen hebben (isoporeuze membraan). Op grond van recente waarnemingen lijkt deze mogelijkheid minder waarschijnlijk. Ook kan men denken aan meerdere typen poriën met verschillende diameter of aan een poriëndistributie. Deze laatste opvatting benadert enigszins de hypothese van Chinard. De vraag, welke structuur in de capillairwand van de glomerulus verantwoordelijk is voor het "molecular sieving effect" kan op grond van het fysiologisch onderzoek niet beantwoord worden.

Vervolgens wordt ingegaan op het morfologisch onderzoek van glomerulaire permeabiliteit, in het bijzonder de waarnemingen met electronenmicroscopisch zichtbare macromoleculen. Het lijkt het meest waarschijnlijk, dat aan de basaalmembraan een belangrijke betekenis moet worden toegekend voor de glomerulaire permeabiliteit. Mogelijk spelen ook de epitheliale "slitpores" een rol (Karnovsky); de betekenis van andere transportwegen ("intercellular junctions", transcellulair transport) is nog onzeker.

Tenslotte worden enkele waarnemingen vermeld betreffende de chemische analyse en het immunologisch onderzoek van de basaalmembraan.

Hoofdstuk II begint met een overzicht over de eiwitexcretie in de urine bij de normale mens. Wat betreft de serumeiwitten komt deze zeer waarschijnlijk voor het overgrote deel tot stand door een proces van glomerulaire passage, gevolgd door gedeeltelijke tubulaire terugresorptie. Locale secretie van serumeiwitten in de tractus urogenitalis vindt echter ook plaats.

Vervolgens wordt een indeling gegeven van de diverse typen proteinurie en wordt in het bijzonder ingegaan op de proteinurie bij het nefrotisch syndroom. Er worden een aantal argumenten opgesomd, die aannemelijk maken dat de proteinurie bij het nefrotisch syndroom gevolg is van

verhoogde doorlaatbaarheid van de capillairwand in de glomerulus. Voor een aantal serumeiwitten is aangetoond, dat de gedeeltelijke terugresorptie die in de tubulus plaats vindt, een niet-selectief karakter heeft. Mede hierop is het onderzoek naar de selectiviteit van de proteinurie gebaseerd, waarbij de klaringen van diverse serumeiwitten onderling vergeleken worden.

Na een overzicht over de in de literatuur vermelde resultaten betreffende de selectiviteitsbepaling bij patiënten met een nefrotisch syndroom, wordt vervolgens het eigen onderzoek hierover beschreven. Hierin waren 120 volwassen patiënten (leeftijd ≥ 15 jaar) met een nefrotisch syndroom opgenomen, die allen aan een aantal criteria (o.a. proteinurie ≥ 5.0 g/dag, serumalbuminegehalte ≤ 3.0 g%) voldeden. Bij alle patiënten met een primair nefrotisch syndroom - met één uitzondering - werd een nierbiopsie verricht, zodat een histologische classificatie mogelijk was. Naast deze groep door ons zelf geobserveerde patiënten, werden tevens 25 patiënten onderzocht die in andere ziekenhuizen waren opgenomen. De waarnemingen bij deze patiënten werden alleen gebruikt voor het nagaan van de relatie tussen de selectiviteitsindex en de reactie op de corticosteroidtherapie van het nefrotisch syndroom.

Als selectiviteitsindex werd het quotient van de klaringen van IgG en transferrine, gemeten met de methode volgens Soothill³⁵³, gebruikt. De variatiecoëfficiënt van deze methode bedroeg 14 %. Van een hoge graad van selectiviteit werd gesproken wanneer de IgG-klaring ≤ 20 % van de transferrine-klaring was, van een lage graad bij een IgG-klaring > 20 %.

Bij 19 van 21 patiënten met een nefrotisch syndroom, die geclassificeerd werden in de categorie "minimal lesions", werd een hoge graad van selectiviteit gevonden (figuur II-6). Dit was ook het geval bij 16 van 27 patiënten met een nefrotisch syndroom en amyloidose. Slechts bij een klein aantal patiënten uit de andere categorieën van het primaire nefrotische syndroom, zoals focale glomerulosclerose, membraneuze glomerulonefritis en de diverse vormen van proliferatieve glomerulonefritis, werd een hoge graad van selectiviteit gevonden. In de secundaire groep was opvallend dat twee patiënten met lupus erythematoses disseminatus en twee patiënten met vena renalis thrombose een hoge graad van selectiviteit hadden. Mede gezien de waarnemingen bij drie patiënten in de secundaire groep met zekergestelde of zeer waarschijnlijke membraneuze glomerulonefritis, werd de indruk verkregen dat in een vroege fase bij deze categorie nogal eens een hoge graad van selectiviteit wordt gevonden. Geconcludeerd wordt dat het selectiviteitsonderzoek bij het nefrotisch syndroom op de volwassen leeftijd ongetwijfeld een zekere voorspellende waarde heeft ten aanzien van de histologische afwijkingen. Tezamen met een aantal andere gegevens, zoals de aanwezigheid van hypertensie, microscopische hematurie en nierfunctiestoornissen (tabel II-15) is het in vele gevallen mogelijk tot een "waarschijnlijkheidsdiagnose" te komen.

Bij een ernstig gestoorde nierfunctie (kreatinine-klaring < 20 ml/min) werd steeds een IgG-klaring van 30 % of hoger gevonden. Omdat bij vele

patiënten met een nefrotisch syndroom de loop der jaren een dalend verloop is grijpelijk dat in een aantal gevallen de loop der tijd werd vastgesteld. Bij sommige patiënten met amyloidose werd een sterke correlatie tussen de selectiviteitsindex en de duur (figuur II-7). Bij sommige patiënten bleef de selectiviteitsindex laag (figuur II-9), hetgeen met een sterke correlatie tussen de selectiviteitsindex en de duur werd vastgesteld.

De relatie tussen de selectiviteitsindex en de duur bij 74 patiënten met een nefrotisch syndroom is weergegeven in figuur II-10. Een complete remissie werd bij ≤ 22 %, een incompleet remissie bij > 22 % van deze waarnemingen gevonden. Op grond van dit criterium werden 33 van de 74 patiënten met een nefrotisch syndroom als te vervallen (33 van de 74) beschouwd.

Bij 6 van de 74 met een nefrotisch syndroom werd een hoge graad van selectiviteit gevonden. Dit betrof twee patiënten met "minimal lesions" en één met proliferatieve glomerulonefritis.

In het bijzonder met de proliferatieve glomerulonefritis werd vermeld worden, dat tijdens prednisontherapie een remissie mogelijk was. Het is mogelijk dat hier sprake van een spontaan remissie kan evenwel de verschijnselen zich bij deze patiënten hadden geopenbaard.

De conclusie van de selectiviteitsonderzoek een belangrijke relatie bij patiënten met een nefrotisch syndroom. De selectiviteitsmeting gecombineerd met de corticosteroidtherapie tot een remissiepercentage worden gevonden. Met deze benadering kan de prognose en het risico's en bijwerkingen worden vastgesteld.

In hoofdstuk III worden de resultaten van twee serumeiwitten met een nefrotisch syndroom bij een groep van 21 patiënten met een nefrotisch syndroom. De transferrine-klaring was bij deze patiënten de klaring van de transferrine-klaring. De klaring van de transferrine-klaring was bij deze patiëntengroep beduidend lager dan bij de

patienten met een nefrotisch syndroom, die niet in remissie komen, in de loop der jaren een daling van de kreatinine-klaring optreedt, is het begrijpelijk dat in een aantal gevallen een stijging van de IgG-klaring in de loop der tijd werd gevonden. Dit was bijzonder duidelijk in de groep patienten met amyloidose (figuur II-8). In deze groep werd ook een negatieve correlatie tussen IgG-klaring en kreatinine-klaring vastgesteld (figuur II-7). Bij sommige patienten met een primair nefrotisch syndroom bleef de selectiviteitsindex gedurende een aantal jaren constant (figuur II-9), hetgeen met een stationair klinisch beeld gepaard ging. Een verband tussen de selectiviteitsindex en de mate van proteinurie kon niet worden vastgesteld.

De relatie tussen de selectiviteitsindex en de reactie op corticosteroiden bij 74 patienten met een primair nefrotisch syndroom is weergegeven in figuur II-10. Een complete remissie werd alleen bereikt bij een IgG-klaring $\leq 22\%$, een incomplete remissie alleen bij een IgG-klaring $\leq 25\%$. Wanneer deze waarnemingen algemene geldigheid hebben, zou alleen reeds op grond van dit criterium bij een vrij groot aantal patienten met primair nefrotisch syndroom de indicatie tot corticosteroidbehandeling komen te vervallen (33 van de 80 patienten met primair nefrotisch syndroom).

Bij 6 van de 74 met corticosteroiden behandelde patienten werd een hoge graad van selectiviteit gevonden, maar werd geen remissie verkregen. Dit betrof twee patienten met focale glomerulosclerose en één patient met "minimal lesions", één met membraneuze glomerulonefritis, één met proliferatieve glomerulonefritis en één patient van de restgroep.

In het bijzonder moeten zes patienten met proliferatieve glomerulonefritis vermeld worden, die een hoge graad van selectiviteit hadden en die tijdens prednisontherapie in een incomplete remissie kwamen. Het lijkt mogelijk dat hier sprake is geweest van een therapeutisch effect. Een spontane remissie kan evenwel niet uitgesloten worden, temeer daar de ziekteverschijnselen zich bij al deze patienten binnen het voorafgaande jaar hadden geopenbaard.

De conclusie van de door ons verkregen resultaten is, dat het selectiviteitsonderzoek een belangrijke bijdrage levert aan de klinische diagnostiek bij patienten met een nefrotisch syndroom. Vooral wanneer de selectiviteitsmeting gecombineerd wordt met histologisch onderzoek kan de indicatie tot corticosteroidbehandeling zodanig gesteld worden dat een hoog remissiepercentage wordt verkregen zonder dat remissies "gemist" worden. Met deze benaderingswijze wordt een groot aantal patienten de risico's en bijwerkingen van de corticosteroidtherapie bespaard.

In *hoofdstuk III* worden de klaringen van IgG en van ceruloplasmine, twee serumeiwitten met hetzelfde molecuulgewicht, onderling vergeleken bij een groep van 21 patienten met glomerulaire proteinurie. De ceruloplasmine-klaring was bij 17 patienten groter dan de IgG-klaring, bij twee patienten waren de klaringen even groot en bij twee patienten was de ceruloplasmine-klaring kleiner. De gemiddelde ceruloplasmine-klaring in de patientengroep bedroeg 61% , de gemiddelde IgG-klaring 29% van

de albumine-klaring (figuur III-1). Uit deze waarnemingen wordt geconcludeerd dat naast het molecuulgewicht ook andere eigenschappen van het eiwitmolecuul betekenis hebben voor de mate van passage door de glomerulaire capillairwand. Fysisch-chemisch en electronenmicroscopisch onderzoek van de twee eiwitten heeft aanwijzingen verschaft dat het ceruloplasmine een globulaire en het IgG een niet-globulaire molecuulvorm heeft. De hypothese wordt geopperd dat het verschil in klaring tussen de twee eiwitten berust op het verschil in molecuulvorm. Dit sluit aan bij de opvatting dat de Einstein Stokes radius van een macromolecuul, die afhankelijk is van de diffusiecoëfficiënt, een betere parameter is bij het onderzoek van capillaire permeabiliteit dan het molecuulgewicht.

Vervolgens wordt een kwalitatief onderzoek beschreven naar het vóórkomen in de urine van een viertal serumeiwitten bij patiënten met proteinurie (figuur III-3). Wanneer het α_2 -macroglobuline (molecuulgewicht 820 000) of het α_1 -lipoproteïne (molecuulgewicht 195 000-435 000) aantoonbaar zijn in de urine, is er vrijwel steeds sprake van een lage graad van selectiviteit. Dit geldt ook voor het hemopexine, ondanks het feit dat dit eiwit een molecuulgewicht van 80 000 heeft. Het pre-albumine (molecuulgewicht 61 000) is bij het merendeel van de patiënten met glomerulaire proteinurie in de urine aantoonbaar. Wanneer het afwezig is, is er vrijwel steeds sprake van een hoge graad van selectiviteit. De conclusie van deze waarnemingen is dat het kwalitatieve onderzoek naar het vóórkomen van deze eiwitten in de urine nuttige informatie oplevert naast de meting van de IgG-klaring. De relatief geringe mate van excretie van het hemopexine en het pre-albumine kan niet goed verklaard worden.

Gezien het afwijkende "gedrag" van sommige serumeiwitten zijn er bezwaren verbonden aan het weergeven van de selectiviteitsindex als de hellingshoek van de regressielijn, die uit de relatieve klaringen van de eiwitten en hun molecuulgewicht berekend kan worden (Joachim e.a.²⁰⁰). Vooralsnog kan voor het selectiviteitsonderzoek het beste gebruik worden gemaakt van de serumeiwitten albumine, transferrine, IgG en - zo mogelijk - α_2 -macroglobuline. Er zijn onvoldoende argumenten om de validiteit van het selectiviteitsonderzoek in twijfel te trekken, zoals door sommige auteurs^{31, 288} is gedaan. Het lijkt wèl zinvol de glomerulaire permeabiliteit bij het nefrotisch syndroom ook op andere wijze te onderzoeken dan met differentiële eiwitklaringen van individuele serum-eiwitten.

Hoofdstuk IV geeft verslag van een onderzoek over de meting van de selectiviteitsindex met behulp van kolomchromatografie over Sephadex G-200 volgens een door Hardwicke¹⁵⁰ beschreven methode. De scheiding van urine- en serum-eiwitten, die bij gelfiltratie verkregen wordt, maakt het mogelijk een serie quotienten te berekenen van de totale eiwitconcentraties in urine en serum per molecuulgrootte (K_{av} -waarde). Er werd een goede correlatie met de immunochemisch gemeten selectiviteitsindex vastgesteld in een groep van 17 patiënten met een nefrotisch syndroom

($r = 0.88$, figuur IV-3). schouwd, dat een zeker quotienten optreedt om gaande geëluëerde fractie mede zal bepaalde teitsindex te berekenen Sephadex piek van urine

In het tweede deel van bij enkele vormen van literatuuroverzicht is g rat kan worden teweegg (PA), worden de resulta medegedeeld. De select enigszins variabel, maar van selectiviteit. In teg nefrotische syndroom v piek in de urine gevonden werd aangetroffen was van het in de urine uitg macromoleculen of is gevolg van dit fenomee worden gevonden.

Tenslotte worden de met gelfiltratie bij de o wijl op jeugdige leeftijd treedt bij het ouder wor glomerulaire afwijkinge rat optreden, zijn blijk een hoge graad van sele droom ten gevolge van te verwachten was, een

In *hoofdstuk V* word onderzoek van glomeru moleculen, in het bijzo het algemeen wordt aar niertubulus worden ter voor het onderzoek va de meting van de glome Met dextraanfracties va cular sieving effect" van en Hardwicke^{190, 191} geb permeabiliteit, dat in po bij patiënten werd inge injectie waren verkreeg cuulgrootte met gelfiltr

($r = 0.88$, figuur IV-3). Als bezwaar van deze methode moet worden beschouwd, dat een zekere onderlinge beïnvloeding van de urine/serum quotienten optreedt omdat de concentratie van de eiwitten in een voorgaande geëluëerde fractie de concentratie in een volgende geëluëerde fractie mede zal bepalen. Het verdient daarom de voorkeur de selectiviteitsindex te berekenen uit de hoogste waarden van de tweede en derde Sephadex piek van urine en serum.

In het tweede deel van dit hoofdstuk is de Sephadex-methode toegepast bij enkele vormen van experimentele proteinurie bij de rat. Nadat een literatuuroverzicht is gegeven over het nefrotisch syndroom, dat bij de rat kan worden teweeggebracht met het aminonucleoside van puromycine (PA), worden de resultaten van het selectiviteitsonderzoek bij deze ziekte medegedeeld. De selectiviteitsindex bij de 15 onderzochte ratten was enigszins variabel, maar toonde in het algemeen een matige tot hoge graad van selectiviteit. In tegenstelling tot de waarnemingen bij het humane nefrotische syndroom werd bij de ratten een opvallende "void volume" piek in de urine gevonden. Het belangrijkste serumeiwit dat in deze piek werd aangetroffen was het albumine. Het lijkt aannemelijk, dat een deel van het in de urine uitgescheiden albumine gebonden is aan andere urine-macromoleculen of is overgegaan tot de vorming van aggregaten. Als gevolg van dit fenomeen zal er een foutief te lage graad van selectiviteit worden gevonden.

Tenslotte worden de resultaten vermeld van het selectiviteitsonderzoek met gelfiltratie bij de ouderdomsproteinurie van mannelijke ratten. Terwijl op jeugdige leeftijd een lage graad van selectiviteit wordt gevonden, treedt bij het ouder worden een stijging van de selectiviteitsindex op. De glomerulaire afwijkingen, die op latere leeftijd spontaan bij de mannelijke rat optreden, zijn blijkbaar van zodanige aard dat zij gepaard gaan met een hoge graad van selectiviteit. Bij twee ratten met een nefrotisch syndroom ten gevolge van een immuuncomplex glomerulonefritis werd, zoals te verwachten was, een lage graad van selectiviteit gevonden.

In *hoofdstuk V* wordt eerst een literatuuroverzicht gegeven over het onderzoek van glomerulaire permeabiliteit met lichaamsvreemde macromoleculen, in het bijzonder dextraan en polyvinylpyrrolidon (PVP). In het algemeen wordt aangenomen dat deze macromoleculen niet door de niertubulus worden teruggeresorbeerd, zodat zij bij uitstek geschikt zijn voor het onderzoek van glomerulaire permeabiliteit geheel analoog aan de meting van de glomerulaire filtratie snelheid met behulp van inuline. Met dextraanfracties van verschillend molecuulgewicht kan het "molecular sieving effect" van de glomerulus goed worden aangetoond. Hulme en Hardwicke^{190, 191} gebruikten PVP voor het onderzoek van glomerulaire permeabiliteit, dat in polydisperse, radioactief gemerkte vorm intraveneus bij patienten werd ingespoten. Serum- en urine-monsters, die één uur na injectie waren verkregen, werden vervolgens gefractioneerd naar molecuulgrootte met gelfiltratie over Sephadex G-200. Uit de quotienten van

de urine en serum concentraties per K_{av} -waarde van PVP werd een selectiviteitsindex berekend.

Bij de door ons gekozen methode werden twee, met verschillende isotopen (^{125}J en ^{131}J) gemerkte PVP fracties van verschillend molecuulgewicht gebruikt. Na een samenvatting van de literatuur over de chemische eigenschappen en het biologisch gedrag van PVP, wordt een onderzoek beschreven bij 25 patienten met proteinurie en 19 normale controlepersonen. Hierbij werden commercieel verkregen PVP fracties gebruikt met een gemiddeld molecuulgewicht van 40 000 (LMW-PVP) en van 160 000 (HMW-PVP). De resultaten van dit onderzoek waren niet bevredigend, omdat geen correlatie werd gevonden tussen de quotiënten van de in de urine uitgescheiden percentages van beide fracties en de immunochemisch gemeten selectiviteitsindex. Wél was er een verschil in gemiddeld quotiënt tussen de groep met (immunochemisch gemeten) hoge graad van selectiviteit en de groep met lage graad van selectiviteit (figuur V-8 en V-9). Van beide PVP typen werd in het eerste etmaal na injectie een vrij aanzienlijk deel in de urine uitgescheiden. Tegen de verwachting in was deze excretie bij de patienten met proteinurie lager dan bij de controlepersonen (figuur V-1 en V-2). Dit verschil in uitgescheiden hoeveelheid kon niet verklaard worden met een groter distributievolume bij de patienten. Mede omdat er een positieve correlatie werd gevonden tussen de LMW-PVP excretie in de urine gedurende de eerste drie uren na injectie en de kreatinine-klaring (figuur V-6), is het aannemelijk dat de lagere PVP excretie van de patienten verklaard kan worden met de verminderde GFR (kreatinine-klaring) van de patienten. Het verdient daarom de voorkeur klaringen in plaats van uitgescheiden hoeveelheden van de PVP fracties te meten. Een tweede conclusie van dit onderzoek was, dat de mate van polydispersiteit van de gebruikte fracties waarschijnlijk te groot was, terwijl mogelijk ook de samenstelling niet voldoende constant was. De variabele excretie moet aan het samenspel van deze factoren worden toegeschreven.

In *hoofdstuk VI* worden de resultaten beschreven van een nader onderzoek over PVP bij de rat. Na intraveneuze injectie van LMW-PVP ^{131}J daalde in de twee eerste uren na injectie de bloedspiegel tot 50 % van de uitgangswaarde en werd ± 24 % van de ingespoten PVP in de urine uitgescheiden (figuur VI-1). De klaringen, berekend over de achtereenvolgende perioden in het eerste etmaal, daalden aanzienlijk zodat hiermee geen geschikte en constante maatstaf voor het onderzoek van glomerulaire permeabiliteit kon worden verkregen. Vervolgens werd gelfiltratie onderzoek met Sephadex G-200 verricht van de urine porties in het eerste etmaal, waarbij aanvankelijk vooral kleinere, geleidelijk aan echter steeds grotere moleculen bleken te worden uitgescheiden (figuur VI-3). Een dergelijke verschuiving in molecuulgewichtverdeling zal ongetwijfeld ook in het serum optreden. De dalende klaring van LMW-PVP kan, althans ten dele, hiermee verklaard worden.

Er werd tevens gelfiltratie van LMW- en HMW-PVP verricht (figuur VI-2), waarbij een zekere mate van polydispersiteit aanwezig bleek. Om deze

reden werd getracht PVP fracties die een geringe spreiding in moleculen zwaarheden werden uit niet-radioactief met een J-isotoop. Tijdens het onderzoek werd een aanzienlijke verandering in de klaringen (figuur VI-5). Daarom werd een actief gemerkt polydispers PVP (0.15, 0.24, 0.34 en 0.43) gebruikt. Het onderzoek was steriele, pyrogeenvrije, en de klaringen waren laag.

De bloedverdwijning (figuur VI-8) na intraveneuze injectie van PVP bleef laag. De klaringen, die voor de klaringen berekend kunnen worden, waren laag. Het onderzoek is. In de eerste uren na injectie werd er een klaring op (figuur VI-9).

De mogelijkheid van klaring door aan twee groepen patienten intraveneus toe te dienen werd bovendien een reeks van niet "gelabelde" vorm van PVP gemerkte en de niet-gemerkt PVP in de urine uitscheiden. Het PVP in de urine uitscheiden van radioactief gemerkte PVP was niet groot, verspreid over de klaringen gevonden (figuur VI-10). Het onderzoek logische waarnemingen. De klaringen werden teruggeresorbeerd.

Door gedurende twee uren de totale radioactiviteit in de urine te meten, bleef de totale radioactiviteit in hoeverre PVP in het eerste etmaal. Het molecuulgewicht des te grooter is het percentage van de klaringen. De klaringen bleef veel verondersteld worden, en de klaringen bleef geslagen. In overeenstemming met de klaringen kon aangetoond worden dat PVP in het reticulo-endotheliale systeem een hoge concentratie aan radioactief gemerkte PVP (figuur VI-13 en VI-14) bleef. Het onderzoek van een aantal verondersteld lever berekend na injectie.

Gebruik makend van de klaringen over korte periode:

reden werd getracht PVP fracties met behulp van gelfiltratie te bereiden, die een geringe spreiding in molecuulgewichtverdeling hadden. Deze fracties werden uit niet-radioactief-gemerkt PVP bereid en daarna "gelabeld" met een J-isotoop. Tijdens laatstgenoemde procedure trad echter een aanzienlijke verandering in de molecuulgewichtverdeling op (figuur VI-4 en figuur VI-5). Daarom werd vervolgens een vijftal fracties bereid uit radioactief gemerkt polydispers PVP met K_{av} -waarden van de toppen van 0.06, 0.15, 0.24, 0.34 en 0.43 (figuur VI-6). Het bleek mogelijk deze fracties als steriele, pyrogeenvrije, isotone oplossingen te bereiden.

De bloedverdwiningscurves (figuur VI-7) en de urine-excretiecurves (figuur VI-8) na intraveneuze injectie van deze fracties gaven aan dat de bloedspiegel sneller daalde en de uitscheiding in de urine groter was, naarmate de K_{av} -waarde van de fractie hoger was (= molecuulgewicht lager). De klaringen, die voor opeenvolgende perioden in het eerste etmaal berekend kunnen worden, dalen sterker naarmate het molecuulgewicht lager is. In de eerste uren na injectie treedt de sterkste afname van de klaring op (figuur VI-9).

De mogelijkheid van tubulaire terugresorptie van PVP werd onderzocht door aan twee groepen ratten radioactief gemerkte fractie I ($K_{av} = 0.08$) intraveneus toe te dienen (figuur VI-11). Aan één van de twee groepen werd bovendien een relatief grote hoeveelheid van dezelfde PVP fractie in niet "gelabelde" vorm toegediend. Bij eventuele terugresorptie zullen de gemerkte en de niet-gemerkte PVP moleculen concurreren. De groep, die extra niet-gemerkt PVP kreeg, zal daardoor dan meer radioactief gemerkt PVP in de urine uitscheiden, hetgeen ook een grotere klaring van het radioactief gemerkte PVP tot gevolg zal hebben. Er werd een significant, zij het niet groot, verschil in gemiddelde klaring tussen de twee groepen ratten gevonden (figuur VI-11). Deze bevinding geeft steun aan de histologische waarnemingen, dat geringe hoeveelheden PVP door de tubuli worden teruggeresorbeerd.

Door gedurende twee weken na intraveneuze injectie van vijf fracties de totale radioactiviteit in het lichaam te vervolgen kon nagegaan worden in hoeverre PVP in het lichaam achterblijft (figuur VI-12). Hoe hoger het molecuulgewicht des te geringer is de uitscheiding in de urine en des te groter is het percentage dat in het lichaam gereteneerd wordt. Omdat de bloedspiegelcurve veel sneller daalt dan de totale lichaamscurve moet verondersteld worden, dat een deel van het PVP extravasculair wordt opgeslagen. In overeenstemming met de bevindingen van anderen^{189, 310, 375} kon aangetoond worden, dat een belangrijk deel van het gereteneerde PVP in het reticulo-endotheliale systeem wordt opgenomen. De hoogste concentratie aan radioactiviteit wordt hierbij aangetroffen in de milt (figuur VI-13 en VI-14, tabel VI-2, VI-3 en VI-4). Er werd, uitgaande van een aantal veronderstellingen, een stralingsdosis voor een menselijke lever berekend na injectie van 25 μ Ci PVP¹³¹J van maximaal 1 rad.

Gebruik makend van een methode, waarbij urine verzameld kon worden over korte perioden van 10 minuten, werd onderzocht of de "urinary

excretion rate" (UER) in de eerste uren na injectie van zeer grote PVP moleculen (fractie I) een stijging vertoonde. Een dergelijke stijging zou gevolg kunnen zijn van de omstandigheid dat met de passage van de capillairwand in de glomerulus een zekere tijd gemoeid is. Uit de verkregen resultaten werd geconcludeerd, dat voor zeer grote PVP moleculen met deze mogelijkheid zeker rekening moet worden gehouden (figuur VI-22 en -23).

Tenslotte worden de resultaten vermeld van een onderzoek waarbij het quotient van de klaringen van fractie II (K_{av} -waarde 0.15) en fractie IV (K_{av} -waarde 0.34) als maat voor de selectiviteit werd gebruikt. Er werden een groep normale ratten en een groep ratten met een nefrotisch syndroom, teweeggebracht met het aminonucleoside van puromycine, onderzocht. Er kon een zeer duidelijk verschil in quotient worden aange- toond, waarbij geen overlapping tussen de waarnemingen in de beide groepen aanwezig was (tabel VI-6, figuur VI-24). Bij een aantal ratten van beide groepen werd de urine over korte perioden verzameld. Hierbij kwam naar voren, dat de klaring van fractie IV bij de nefrotische ratten tijdens het tijdsverloop van de gehele proef kleiner was dan bij de controle ratten (figuur VI-25). Dit kan worden toegeschreven aan de afname van de GFR, die bij dit nefrotisch syndroom optreedt. Anderzijds was de klaring van fractie II bij de nefrotische ratten steeds groter dan bij de normale ratten. Dit is een gevolg van de verhoogde glomerulaire permeabiliteit.

Geconcludeerd wordt, dat het quotient van de klaringen van deze PVP fracties een goede onderzoeksmethode is, waarmee veranderingen in de permeabiliteit van de capillairwand van de glomerulus nader kunnen worden geanalyseerd.

SUMMARY

This thesis presents the results of the study on the excretion of macromolecules.

In chapter I data from the study are discussed. From a physiological point of view the glomerular capillary wall is considered as a membrane. The product of the permeability and the surface area is however a specific feature of the membrane. The molecular sieving effect of the glomerular capillary wall to macromolecules with a radius larger than the radius of the pores is seen either as a surface phenomenon or as a phenomenon on the whole surface (Göteborg). The pores do not have the same radius (investigations of the sieving effect). A varying radius could be the cause of this last possibility corresponding to the physiological changes in the structure in the glomerular capillary wall. The sieving effect.

The morphological changes are viewed, and special reference is made to molecules visible in electron microscopy. It is to be the most important factor in the transport of transport (intercellular transport). Finally some findings from a physiological investigation of the sieving effect.

Chapter II starts with the study of the excretion of macromolecules. The excretion of macromolecules is the result of glomerular permeability. Local secretion of serum proteins in the urogenitary tract.

A classification of the sieving effect is made. A particular reference is made to the sieving effect. For a number of reasons the sieving effect is generally assumed to be a function of the permeability. For some serum proteins the sieving effect is stated to be non-selective. The results of the investigation of the selectivity of the sieving effect of serum proteins are