

HYPERTRIGLYCERIDAEMIE BIJ NIERINSUFFICIENTIE  
EEN ONDERZOEK NAAR DE AARD VAN HET DEFECT

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR IN DE  
GENEESKUNDE

AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT TE ROTTERDAM

OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS

PROF. DR. B. LEIJNSE

EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.

DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATS VINDEN OP

WOENSDAG 25 APRIL 1979 DES NAMIDDAGS

TE 3.00 UUR PRECIES

DOOR

LOUIS VERSCHOOR

GEBOREN TE ROTTERDAM

PROMOTOR : Prof.Dr. J.C. Birkenhäger

CO-REFERENTEN : Prof.Dr. W.C. Hülsmann

Dr. L.D.F.Lameyer

Persoonlijke (ex)communicatie,

voor Marielle, om van te zingen:

Herfst, herfst, wat heb je te koop ?

Duizend kilo blaadjes op een hoop.

voor Stephanie, met als conclusie:

Voor de niksigheid.



## INHOUD

### HOOFDSTUK I.

Inleiding en vraagstellingen.	13
-------------------------------	----

### HOOFDSTUK II.

Meting van de snelheid van de "turnover" van plasma-triglyceriden bij patienten met chronische, niet-nefrotische nierinsufficiëntie (niet behandeld met haemodialyse).	
1. Enkele opmerkingen over de TG-stofwisseling.	17
2. Overzicht van de methoden voor het meten van de "turnover"-snelheid van de plasma-TG.	
Enkele opmerkingen over het transport van plasma-TG.	19
3. Literatuurgegevens over het TG-transport bij chronische nierinsufficiëntie.	24
4. Vraagstelling.	26
5. Methodieken.	27
6. Resultaten.	34
7. Bespreking van de resultaten.	36
8. Conclusies.	39

### HOOFDSTUK III.

Meting van de hepatische- en extrahepatische lipoproteïne lipase activiteit tijdens langdurige stimulatie met heparine bij patienten met een chronische nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse. Correlaties met afwijkingen in de serum lipide-fracties.	
1. De relatie tussen heparine en lipoproteïne lipase.	41
2. Literatuur.	42
3. Vraagstelling.	49
4. Methodiek.	50
5. Resultaten.	52
6. Bespreking van de resultaten.	59

## HOOFDSTUK IV.

Onderzoek naar de lipoproteïne lipase remmende activiteit in het plasma van patienten met een chronische nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse.

1. Literatuurgegevens.	65
2. Vraagstelling.	68
3. Methodiek.	69
4. Resultaten.	71
5. Bespreking van de resultaten.	80
6. Conclusies.	83

## HOOFDSTUK V.

Onderzoek naar de plaats van de stoornis in de stofwisseling van plasma-triglyceriden bij ratten met experimentele, chronische nierinsufficiëntie.

1. Literatuurgegevens.	85
2. Vraagstelling.	86
3. Experimentele, chronische nierinsufficiëntie bij ratten.	87
4. Overige methodieken.	
A. Meting van de secretie-snelheid van plasma-TG.	89
B. Meting van de LPL-activiteit in weefsel.	91
C. Bestudering van de relatie tussen heparine-doses en PHLA.	93
5. Resultaten.	
A. De secretie-snelheid van plasma-TG bij ratten met nierinsufficiëntie.	94
B. De LPL-activiteit in vet-, hartspier-, skeletspieren en lever-weefsel van ratten met nierinsufficiëntie.	97
C. De relatie tussen heparine-doses en PHLA (LPL, resp. HTGL).	98
6. Bespreking van de resultaten.	101
7. Conclusies.	108

## HOOFDSTUK VI.

Onderzoek naar de afbraak van TG-rijke partikels in ratten met experimentele, chronische nierinsufficiëntie door bestudering van de klaring van radioactief gemerkte chylomicronen.

1. De afbraak van TG-rijke partikels (chylomicronen, VLDL).	109
2. Vraagstelling.	111
3. Methodiek.	111
4. Resultaten.	115
5. Bespreking van de resultaten.	120
6. Conclusies.	121

## HOOFDSTUK VII.

Enkele opmerkingen over de behandeling van hypertriglyceridaemie bij chronische nierinsufficiëntie.	123
---	-----

SAMENVATTING.	125
---------------	-----

SUMMARY.	129
----------	-----

LITERATUURLIJST.	133
------------------	-----





LIJST VAN GEBRUIKTE AFKORTINGEN.

apo	apolipoproteïne
d	dichtheid in g/ml
dpm	desintegraties per minuut
EDTA	ethyleendiaminetetra-acetaat
FFA	free fatty acids
g	relatieve centrifugale kracht
HDL	high density lipoproteins
HTGL	hepatic triglyceride lipase
IDL	intermediate density lipoproteins
K	fractionele "turnover"-snelheid
K <sub>m</sub>	Michaelis constante
LDL	low density lipoproteins
LPL	lipoproteïne lipase
n	aantal experimenten
p	waarschijnlijkheid
PHLA	postheparin lipolytic activity
S.D.	standaard deviatie
S.E.M.	standard error of the mean
TG	triglyceriden
TGSR	triglyceride secretion rate
VLDL	very low density lipoproteins
V <sub>max</sub>	maximale snelheid van de werking van het enzym
V <sub>TG</sub>	"turnover"-snelheid van triglyceriden in plasma



## HOOFDSTUK I.

### INLEIDING EN VRAAGSTELLINGEN.

#### 1. Inleiding.

Ernstig tekort schieten van de nierfunctie heeft vele extra-renale gevolgen. In de kliniek zijn het vooral de bloedarmoede, gestoorde bloedplaatjes-functie, bot-, spier-, en zenuw-afwijkingen, die de aandacht op zich vestigen. Naast de bekende problemen in de eiwit-stofwisseling, komen ook afwijkingen voor in de koolhydraat- en vet-stofwisseling en plasma-concentraties van een aantal hormonen. Het hier beschreven onderzoek beperkt zich tot enkele aspecten van de vet-stofwisseling bij patienten en proefdieren met een chronische nierinsufficiëntie.

Sinds lang zijn afwijkingen in de vet-stofwisseling bij nierziekten, vooral het nefrotisch syndroom, bekend. Pas het laatste decennium is duidelijk naar voren gekomen, dat ook de niet-nefrotische nierinsufficiëntie gepaard gaat met afwijkingen in de vet-stofwisseling, zij het dat deze zich voornamelijk beperken tot de triglyceriden-stofwisseling. Nierfunctie-vervangende behandelingen als chronische intermitterende haemodialyse en niertransplantatie lijken of weinig verandering, of zelfs een verergering van deze stoornis(sen) te veroorzaken. Vooral na de publicatie van Lindner e.a. (1974) is men zich een versneld optredende atherosclerose als begeleidend verschijnsel van een langdurige haemodialyse gaan realiseren. Twee aspecten mogen hierbij niet uit het oog verloren worden: Hypertensie is bij patienten met een chronische nierinsufficiëntie een minstens zo belangrijke factor bij het ontstaan van atherosclerose (Lowrie e.a. 1974, Lundin e.a. 1978) als de hypertriglyceridaemie. Reeds voor dat nierfunctie-vervangende behandelingen worden toegepast kan men bij vele patienten één of beide processen aantreffen (Burke e.a. 1978). Dat vele patienten tijdens behandeling met haemodialyse of na geslaagde niertransplantatie overlijden aan hart- en vaatziekten (Burton e.a. 1971, Brunner e.a. 1972, Lowrie e.a. 1973, Ibels e.a. 1974, Lindner e.a. 1974, Lazarus e.a. 1975, Henari e.a. 1977 en Burke e.a. 1978), moet leiden tot bestrijding van deze pathogenetische factoren. Het in dit proefschrift beschreven

onderzoek heeft ten doel een aantal aspecten van de pathofysiologie van de hypertriglyceridaemie bij chronische nierinsufficiëntie te belichten. In het navolgende zal, tenzij nadrukkelijk anders wordt vermeld, onder nierinsufficiëntie steeds worden verstaan chronische niet-nefrotische nierinsufficiëntie.

## 2. Vraagstellingen.

Een verhoogde concentratie van triglyceriden (TG) in de circulatie kan worden veroorzaakt door een verhoogde intree-snelheid (synthese, secretie) of een verlaagde uittree-snelheid (afbraak, eliminatie). Vóór het hier beschreven onderzoek is de nadruk gelegd op een stoornis in de afbraak als verklaring voor de hypertriglyceridaemie, gevonden bij patienten met een nierinsufficiëntie. Een verlaagde activiteit van het sleutelenzym bij de afbraak van plasma-TG, lipoproteïne lipase (LPL), werd verantwoordelijk gesteld voor de stoornis van de afbraak (Bagdade e.a. 1968a). Overigens vond dezelfde auteur verhoogde insuline concentraties in het plasma bij de patienten, terwijl Roodvoets (1974) verhoogde vrije vetzuur concentraties in het plasma vaststelde bij een soortgelijke groep patienten: Beide stoffen kunnen de synthese van TG in de lever doen toenemen.

Wij hebben gepoogd een duidelijker inzicht in de hypertriglyceridaemie bij nierinsufficiëntie te verkrijgen langs de volgende wegen.

### A. Bestudering van de synthese van plasma-TG.

Hiertoe werd bij patienten met een ernstige nierinsufficiëntie de turn-over-snelheid van plasma-TG met behulp van labeling van TG in vivo, na continu-infusie van radioactief vetzuur, gemeten (Hfdst. II). De aldus onderzochte patienten werden conservatief behandeld, d.w.z. er is geen complicerende invloed van behandelingen zoals haemodialyse geweest. In Hoofdstuk V wordt de meting van de snelheid van de secretie van plasma-TG met behulp van een intraveneuze injectie van Triton WR 1339 beschreven bij ratten met experimentele chronische nierinsufficiëntie. De volgende vragen werden bestudeerd:

1. Verloopt de synthese van plasma-TG bij nierinsufficiëntie met verhoogde, verlaagde of normale snelheid ?
2. Worden verhoogde insuline concentraties in het plasma gevonden, en

- zo ja, is er een verband met de afwijkingen in de TG-stofwisseling ?
3. Is er een relatie tussen de ernst van de nierinsufficiëntie en de afwijkingen in de TG-stofwisseling ?

B. Bestudering van de afbraak (verdwijning) van plasma-TG.

Drie aspecten werden achtereenvolgens bestudeerd. In Hoofdstuk III is het onderzoek naar de verlaging van LPL met differentiatie naar herkomst van deze enzymen beschreven. Bij patiënten met een nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse, werd langdurige activatie van LPL verkregen door continue intraveneuze heparine toediening. De volgende vragenstellingen werden geformuleerd:

1. Is het de LPL-activiteit afkomstig uit de lever, dan wel die uit vet- en spierweefsel, of is het een combinatie van beide, die verlaagd is (zijn) bij nierinsufficiëntie ?
2. Wordt de gevonden verlaging van LPL-activiteit veroorzaakt door een verlaagde synthese of transport van het enzym naar de wand van de endotheelcel, of door een stoornis in het vrijmaken van LPL, of door versnelde afbraak van het vrijgemaakte enzym ? De vraag naar de aanwezigheid van een remstof van de enzym-activiteit, kan niet met deze techniek worden bestudeerd (zie hieronder).
3. Bestaat er een verband tussen de in het plasma aanwezige insulineconcentratie en de afwijkingen in de activiteit van het LPL ?

Deze vragen werden ook in het proefdiermodel bestudeerd (Hfdst. V).

Het onderzoek naar de mogelijke aanwezigheid van een remstof van de LPL-activiteit wordt beschreven in Hoofdstuk IV. Hiertoe werd plasma van gezonden en van patiënten met een nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse, getest in een optimaal geactiveerd vetweefsel-LPL-systeem met als vragenstellingen :

1. Is er een verschil in enzym-remmende activiteit van het plasma van beide groepen ?
2. Is de hoogte van de plasma-TG concentratie gecorreleerd met de mate van een eventuele remming ?

In een derde, dier-experimentele, proefopstelling is de afbraak van TG-rijke partikels in de bloedbaan bestudeerd (Hfdst. VI). Bij ratten met een experimentele, chronische nierinsufficiëntie hebben wij het afbraakproces bestudeerd door intraveneuze infusie van zowel in het cholesterol- als in het TG-gedeelte radioactief gelabelde chylomicronen.

De vraagstellingen luiden :

1. Is er een stoornis in het afbraakproces van deze TG-rijke partikels ?
2. Zo ja, is er dan een verband met de ernst der nierinsufficiëntie ?

## HOOFDSTUK II.

METING VAN DE SNELHEID VAN DE "TURNOVER" VAN PLASMA-TRIGLYCERIDEN BIJ PATIENTEN MET CHRONISCHE, NIET-NEFROTISCHE NIERINSUFFICIENTIE, NIET BEHANDELD MET HAEMODIALYSE.

### 1. Enkele opmerkingen over de TG-stofwisseling.

Naast het aan albumine gebonden vrije vetzuur, komt het merendeel der overige vetten als aan eiwit gebonden complexen (lipoproteinen) in de circulatie voor. De complexen zijn benoemd naar hun gedrag bij twee scheidings-methoden (electroforese en ultracentrifuge), samenhangend met de lading en dichtheid van de deeltjes. Tabel I somt de synoniemen van de deeltjes, gerangschikt naar afnemende grootte, op.

---

Tabel I. Nomenclatuur van lipoproteinen naar gebruikte scheidingsmethode:  
Eerste kolom electroforese, tweede kolom ultracentrifuge

---

chylomicronen	chylomicronen
pre $\beta$ -lipoproteinen	very low density lipoproteins (VLDL)
$\beta$ -lipoproteinen	low density lipoproteins (LDL)
$\alpha$ -lipoproteinen	high density lipoproteins (HDL)

---

TG wordt voornamelijk in chylomicronen en VLDL vervoerd. Na hydrolyse van de TG in het darmlumen en heropbouw in de mucosacel worden met het voedsel opgenomen TG in chylomicronen via de ductus thoracicus naar de bloedbaan gebracht (exogene TG). De TG van VLDL-deeltjes worden uit  $\alpha$ -glycerofosfaat en vrije vetzuren in de lever en voor een gering deel

in de darm, gesynthetiseerd (endogene TG). In vergelijking met chylomicronen bevatten VLDL-deeltjes minder TG (90, resp. 60 gewichts %) en meer eiwit, cholesterol en fosfolipiden. Vooral in het vet- en spierweefsel vindt hydrolyse plaats, van TG uit chylomicronen en VLDL onder invloed van LPL, waarbij uit chylomicronen een VLDL zogenaamde "remnant particles" ontstaan, die een geringer TG-gehalte dan de substraat-partikels bezitten. Het lever-lipase (HTGL) speelt wellicht een rol bij de afbraak van deze "remnants" tot LDL-deeltjes (TG-gehalte 10%). Chylomicronen "remnants" worden snel door de lever afgebroken. Figuur 1 geeft een schematische samenvatting.

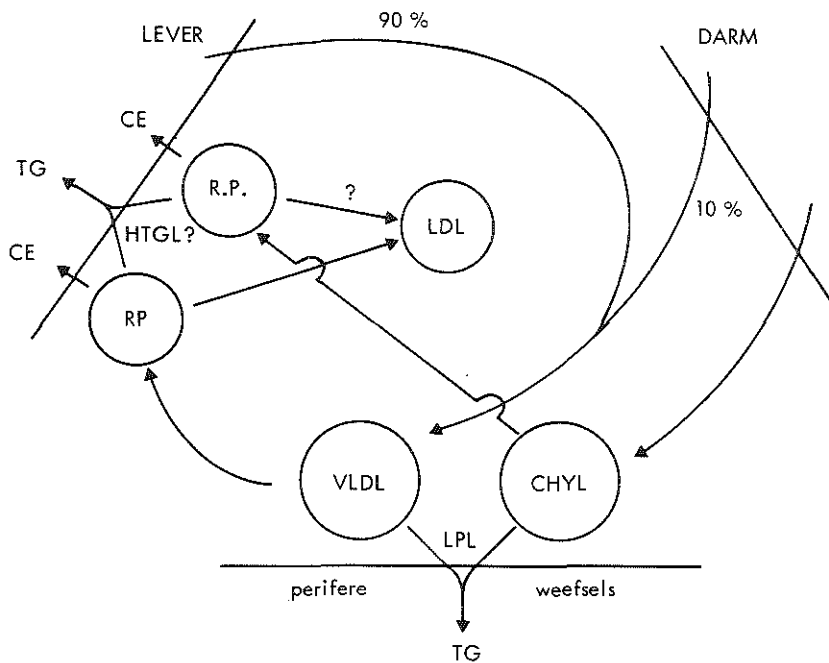


Fig.1

Schematische voorstelling van de TG-stofwisseling bij de mens.

CHYL = chylomicronen, RP = remnant particle,

CE = cholesterol esters

Zie voor verklaring tekst.



LPL, in extrahepatische weefselcellen gesynthetiseerd, wordt naar de lumenale zijde van de endotheelcel getransporteerd, waar het de boven beschreven intracapillaire hydrolyse verzorgt (Olivecrona e.a. 1977). HTGL werkt mogelijk op een vergelijkbare manier. Heparine en andere polyanionen kunnen de enzymen vrijmaken. Hahn was de eerste die deze kunstgreep in 1943 beschreef en het enzym toen de descriptieve benaming "clearing factor" gaf.

Een verhoogde concentratie van plasma-TG is op eenvoudige wijze (koelkast-test, electroforese) te onderscheiden in een exogene, endogene en gecombineerde hypertriglyceridaemie, in de typering van Fredrickson en Lees (1965) type I, resp. IV en V hyperlipoproteinaemie geheten. Bij patienten met een chronische, niet-nefrotische nierinsufficiëntie wordt in de regel een patroon gevonden als bij zg. type IV hyperlipoproteinaemie.

## 2. Overzicht van de methoden voor het meten van de turnover-snelheid van de plasma-TG. Enkele opmerkingen over het transport van plasma-TG.

De laatste vijftien jaar zijn een aantal methoden ontwikkeld om het transport van plasma-TG (totaal of in een bepaalde lipoproteïne-klasse) te meten. Als maat voor het transport wordt meestal de turnover-snelheid (hoeveelheid per tijdseenheid naar en vanuit de bloedbaan getransporteerde stof) gebruikt. Onlangs zijn enkele kritische overzichten aan dit onderwerp gewijd (Nikkilä en Kekki 1971a, Nikkilä 1974, Havel en Kane 1975 en Vranic 1975). Naast de meting van de turnover-snelheid, waarbij onder "steady state" omstandigheden gewerkt moet worden, zijn ook methoden beschreven waarbij niet onder zulke omstandigheden gewerkt wordt, maar integendeel door manipulatie van het afbraakmechanisme voor plasma-TG een indruk van het transport wordt verkregen. Een overzicht van de te bespreken methoden treft men aan in Tabel II.

---

Tabel II. Methoden ter meting van het plasma-TG-transport

---

- A. Meting van de turnover-snelheid onder "steady state" omstandigheden.
- a. arterio-veneus (systemisch-arterieel- v. hepatica) verschil over splanchnicus-gebied.
  - b. onderzoek met behulp van infusie van radioactief gemerkte "precursors":
    - snelheid van inbouw van FFA in plasma-TG (zg. Ryan-Schwartz methode),
    - verval van de specifieke activiteit van plasma-TG (al of niet na reïfusie).
- B. Meting van het transport door manipulatie van het afbraakmechanisme.
- a. activatie door continue infusie van heparine,
  - b. belasting met artificieel substraat (Intralipid<sup>R</sup>),
  - c. blokkade met Triton WR 1339\*.

---

\* alleen in het dier-experiment toegepast.

Theoretisch is de meting van het arterio-veneuze verschil over het splanchnicus-gebied de enige methode, die de toevloed van endogene plasma-TG rechtstreeks meet. Carlson en Ekelund (1963), Boberg e.a. (1970) en Havel e.a. (1970) hebben hem uitgebreid toegepast, waarbij twee praktische bezwaren naar voren kwamen, die de methode weinig bruikbaar maken. Een vena hepatica-catheterisatie moet uitgevoerd worden voor het verkrijgen van de veneuze monsters. Het arterio-veneuze verschil bedraagt slechts 2 - 4% van de concentratie. Voor de berekening van de TG-turnover-snelheid is tevens meting van de doorstroming door het splanchnicus-gebied noodzakelijk. Op grond hiervan is aanvankelijk vooral de zogenaamde Ryan-Schwartz methode toegepast (Ryan en Schwartz 1965), waarbij als tracer 1-<sup>14</sup>C-palmitinezuur gecomplexeerd aan albumine met een constante snelheid wordt geïnfundeerd en uit de stijging van de specifieke activiteit van de plasma-TG de turnover-snelheid wordt bepaald. Daar bij de berekening uitgegaan wordt van de veronderstelling dat alle vetzuren ingebouwd in de

plasma-TG uit de plasma "pool" van vetzuren afkomstig zijn, hetgeen niet waarschijnlijk is (Baker en Schotz 1964, Barter e.a. 1972 en Abrams en Cooper 1976), vindt een aanzienlijke onderschatting van de turnover-snelheid plaats.

Hoewel Friedberg e.a. (1961) reeds naast inbouw ook het verval van de specifieke activiteit van plasma-TG beschreven, zijn het Farquhar e.a. (1965) geweest, die, uitgaande van de hieruit te berekenen fractionele turnover-snelheid en het plasma-volume, een absolute turnover-snelheid van plasma-TG berekenden volgens de vergelijking:  $V = K \cdot TG \cdot Vol.$ , waarin  $V$  = absolute plasma-TG turnover,  $K$  = fractionele plasma-TG turnover en  $TG \cdot Vol.$  de poolgrootte aangeeft. Farquhar e.a. verrichtten ook experimenten met  $2\text{-}^3\text{H}$ -glycerol in plaats van vrij vetzuur als precursor. De bij deze methoden gehanteerde veronderstellingen zijn: De fractionele turnover in de plasma-TG-pool is in de nuchtere toestand niet groter dan die in de lever-TG-pool, recirculatie van de label is verwaarloosbaar in de periode waarover berekend wordt en de plasma-TG-pool wordt als homogeen beschouwd. Farquhar e.a. (1965) en een aantal andere auteurs (Friedberg e.a. 1961, Havel e.a. 1962, Nikkilä en Kekki 1971b, Kissebah e.a. 1974a) hebben met behulp van metingen in andere pools (lever, lymfe, extravasculaire ruimte) en reïfusie-experimenten de eerste twee veronderstellingen aannemelijk gemaakt. De op deze wijze experimenteel verkregen gegevens bleken fraai overeen te komen met curven, gesimuleerd met behulp van de computer, waarbij van bovenstaande veronderstellingen werd uitgegaan (Farquhar e.a. 1965, Eaton e.a. 1969, Shames e.a. 1970, Quarfordt e.a. 1970, Nikkilä en Kekki 1971b) en gebruik werd gemaakt van een door Baker en Schotz (1964) bij de rat toegepaste multicompartimentele analyse. De derde veronderstelling is niet juist, wanneer uitgegaan wordt van de totale plasma-TG-pool. Daar bij het nuchtere individu niet alle plasma-TG zich in de VLDL-fractie bevindt, treedt enige, volgens Nikkilä en Kekki (1971b) en Kissebah e.a. (1974a) te verwaarlozen, onderschatting van de fractionele turnover-snelheid op. Onlangs is - eveneens bij het nuchtere individu - aangetoond, dat de verschillende subfracties van VLDL een verschillende fractionele turnover-snelheid hebben (Streja e.a. 1977). Werd echter uit de turnover van deze subfracties de fractionele turnover-snelheid van de totale VLDL-fractie berekend, dan bleek deze gelijk aan de, voor de totale VLDL-fractie op de bovenbeschreven wijze, experimenteel gevonden waarde.

Een nieuwe techniek, die belangrijke informatie kan geven over het verloop van het afbraakproces van TG-rijke partikels, is het radioactief merken van het eiwitgedeelte van VLDL. Deze is niet in Tabel II opgenomen, daar de TG-turnover er niet mee berekend kan worden. Meestal maakt men gebruik van reïfusie van in vitro geïodeerd, autooloog VLDL (Bilheimer e.a. 1972, Eisenberg en Rachmilewitz 1973, Reardon e.a. 1978), terwijl onlangs ook een in vivo labeling met  $^3\text{H}$ -leucine is beschreven (Phair e.a. 1975).

De onder B in Tabel II aangeduide technieken hebben met elkaar gemeen, dat niet onder "steady state" omstandigheden wordt gewerkt. Porte en Bierman (1969) beschreven een indirecte methode om de snelheid van de TG-influx in plasma tijdens constante heparine-infusie te meten uit de daling van de TG-concentratie gecorrigeerd met behulp van de in vitro in plasma gemeten lipolyse-snelheid.

Bij vergelijking van de fractionele turnover-snelheid van endogene plasma-TG (arterio-veneus verschil over het splanchnicus-gebied) met de fractionele verdwijningssnelheid ( $K_2$ ) van Intralipid<sup>R</sup> bij de intraveneuze vetbelastingstest vonden Rössner e.a. (1974) een redelijke correlatie, zodat zij menen, dat met de intraveneuze vetbelastingstest op een eenvoudige wijze, waarbij niet van radioactiviteit gebruik wordt gemaakt, een maat voor het transport van plasma-TG te verkrijgen is. De vergelijking is helaas gebaseerd op een weinig betrouwbare meting van de turnover-snelheid van endogeen plasma-TG, terwijl de absolute uitkomsten duidelijk verschillen. Terecht wordt er door Nicoli e.a. (1977) de nadruk op gelegd, dat op deze wijze alleen een index voor de fractionele verdwijningssnelheid van plasma-TG wordt verkregen, terwijl variaties in de productiesnelheid niet kunnen worden gemeten.

Tenslotte hebben Otway en Robinson (1967a, b) beschreven, dat blokkade van de afbraak van plasma-TG met Triton WR 1339 de eerste uren een lineaire stijging van de TG-concentratie in het plasma tot gevolg heeft, waaruit de influx-snelheid van plasma-TG is te berekenen. Bij het nuchtere individu (proefdier) uitgevoerd, komt dit vrijwel overeen met de snelheid waarmee TG door de lever wordt gesecerneerd. Deze methode gaat uit van drie veronderstellingen: Triton WR 1339 blokkeert de afbraak van plasma-TG volledig, de snelheid van TG-secretie door de lever is over de bestudeerde periode lineair en Triton WR 1339 heeft geen invloed op de snelheid van de TG-secretie door de lever. Recknagel (1976) toonde aan, dat de afbraak van

TG voor meer dan 90% door Triton WR 1339 wordt geblokkeerd, terwijl Otway en Robinson (1966b) en vele anderen het lineaire verloop van de TG-secretie over de eerste uren hebben gedemonstreerd. De laatste veronderstelling is juist bevonden door Abrams en Cooper (1976) bij onderzoek in de rat. De methode is tot nu toe alleen in het dier-experiment bij vele soorten dieren, waaronder apen (Fiser e.a. 1974), toegepast.

Uitgezonderd de procedure met Triton WR 1339 in het dier-experiment, worden vooral de methoden met gebruik van radioactief glycerol of palmitinezuur toegepast voor de meting van het TG-transport. Reaven e.a. (1965) waren de eersten, die niet alleen een positieve correlatie tussen de concentratie en turnover-snelheid van plasma-TG vonden, maar tevens tot de conclusie kwamen dat het verband tussen beide, wanneer met behulp van manipulaties ook hypertriglyceridaemie in het onderzoek betrokken wordt, met een hyperbole curve is weer te geven. Dit suggereert dat de verdwijning van plasma-TG via een verzadigbaar systeem verloopt. Naar analogie met enzym-systemen werd gepoogd de kinetiek van het systeem met termen uit de Michaelis-Menten-theorie te beschrijven (Fig. 2). Dit concept is later vooral door Nikkilä (Nikkilä en Kekki 1971a, b, Nikkilä 1974) uitgewerkt. Uitgaande van een constante  $V_{\max}$  binnen de normale populatie, bleken twee groepen individuen met verschillende  $K_m$  te bestaan. Tevens bleken vrouwen een efficiënter verdwijningsmechanisme te hebben dan mannen. Dit laatste is recent door Reaven's groep bevestigd (Olefsky e.a. 1974).

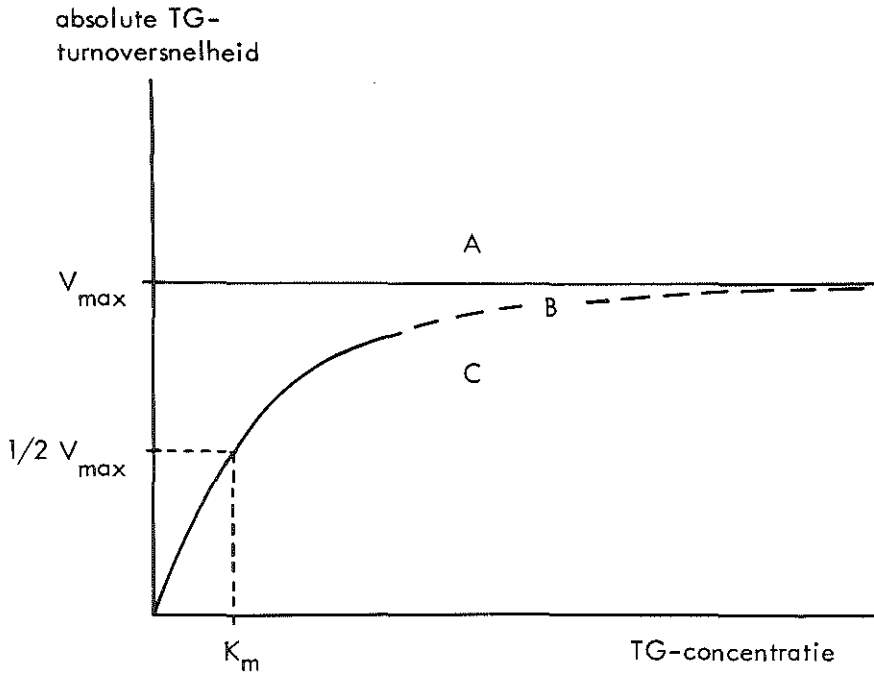


Fig. 2

Grafisch verband tussen plasma-TG concentratie en plasma-TG turnover-snelheid in termen ontleend aan de enzymkinetiek volgens Michaelis-Menten. Het getrokken deel van de curve geeft het verband weer bij normalen, het onderbroken deel extrapolatie naar het hypertriglyceridaemische gebied. Bij hypertriglyceridaemie kunnen de volgende mechanismen een rol spelen: Een verhoogde synthese met onvoldoende toename van de verdwijning uit de bloedbaan (A), een verhoogde synthese met vrijwel compenserende toename van de verdwijning (B), en een primair verlaagde verdwijnings-snelheid, eventueel met een partieel compenserende daling van de synthese-snelheid (C).

### 3. Literatuurgegevens over het TG-transport bij chronische nierinsufficiëntie.

Het merendeel van het onderzoek naar de plasma-TG-stofwisseling bij

patiënten met een chronische nierinsufficiëntie heeft alleen het sleutel-enzym in het afbraakproces bestudeerd: Een verlaagde LPL-activiteit werd vastgesteld en daarmee naar het leek de oorzaak van de hypertriglyceridaemie. Een bespreking van deze literatuur wordt in Hoofdstuk III. par.1, gegeven. Bij de aanvang van het in dit hoofdstuk beschreven onderzoek bestonden slechts twee publicaties, die metingen van het TG-transport bij nieraandoeningen tot onderwerp hadden, beide echter bij patiënten met een nefrotisch syndroom met in de meeste gevallen een normaal creatinine-gehalte van het plasma (McKenzie en Nestel 1968, Kekki en Nikkilä 1971). Onder de zeven patiënten onderzocht door McKenzie en Nestel hadden de twee patiënten met de meest gestoorde nierfunctie ook de laagste fractionele TG-turnover. Kekki en Nikkilä bestudeerden veertien volwassenen met het nefrotisch syndroom, waaronder eveneens één patient met een duidelijk gestoorde nierfunctie. Slechts bij vier patiënten (waaronder die met de verminderde nierfunctie) werden aanwijzingen voor een gestoorde afbraak gevonden.

Cramp e.a. (1977a) bestudeerden 13 patiënten met een niet-nefrotische nierinsufficiëntie (creatinine-klaring 2.9 - 37 ml/min), die niet met haemodialyse werden behandeld. De turnover-snelheid van de TG in VLDL werd gemeten met behulp van gemerkte glycerol (zie Hfdst. II, par. 2). De patientengroep had een verlaagde fractionele en een verhoogde absolute VLDL-TG-turnover-snelheid vergeleken met een controlegroep uit de literatuur<sup>\*)</sup>. Hun conclusie luidt dat de belangrijkste oorzaak voor de hypertriglyceridaemie een verhoogde productie van TG in de lever is. Worden hun resultaten echter uitgezet in de grafiek van de TG-concentratie tegen de absolute TG-turnover-snelheid, waarin de door hen gebruikte normale waarden staan, dan blijkt de groep heterogeen van samenstelling te zijn. Vijf patiënten vallen binnen de normale populatie, één patient heeft een belangrijke verdwijningsstoornis en zeven patiënten hebben een verhoogde snelheid van TG-synthese.

Onlangs werd gerapporteerd over metingen van het TG-transport bij patiënten met een chronische nierinsufficiëntie behandeld met peritoneale of haemodialyse (Cattran e.a. 1974, 1976). In het eerste deel van het

---

<sup>\*)</sup> Hiervoor verwijzen de auteurs naar Kekki en Nikkilä (1971), hetgeen moet betekenen dat het door hen opgegeven aantal van n = 16 een drukfout is.

onderzoek zijn bij 9 patienten metingen verricht met de radioglycerol-methode. Helaas worden geen getallen genoemd, maar in de figuur waar de plasma-TG-concentratie tegen de absolute turnover-snelheid is uitgezet, blijken alle patienten in gebied C (zie Fig. 2) te liggen. De auteurs concluderen dan ook tot een stoornis in het verdwijningsmechanisme als verklaring voor de hypertriglyceridaemie. Het tweede deel van het onderzoek kan gezien worden als een uitbreiding van het eerste deel. De patientengroep is uitgebreid tot 10 personen en de auteurs hebben een eigen controle-groep van 16 mensen onderzocht. De conclusie van het onderzoek blijft dezelfde. Interessant is dat ook bij vier normotriglyceridaemische patienten een gestoorde verdwijning van plasma-TG bestaat: Een daling van de TG-synthese in de lever ter compensatie van de gestoorde verdwijning wordt gesuggereerd. Er bestonden geen verschillen tussen patienten behandeld met haemodialyse en die behandeld met peritoneale dialyse.

#### 4. Vraagstelling.

Reeds in Hoofdstuk I werd aangegeven dat de meeste auteurs een verlaagde LPL-activiteit verantwoordelijk stellen voor de hypertriglyceridaemie bij chronische nierinsufficiëntie, terwijl anderzijds toch ook afwijkingen gevonden werden verenigbaar met veranderingen in de snelheid van synthese van plasma-TG. Hierboven (Hfdst. II, par.3) is aangegeven dat tijdens ons onderzoek in de literatuur zowel aanwijzingen voor verhoogde snelheid van aanmaak als voor verlaagde snelheid van afbraak van plasma-TG bij nierinsufficiëntie verschenen. Door de plasma-TG-turnover te bestuderen bij patienten met een chronische nierinsufficiëntie hebben wij getracht een antwoord op de volgende vragen te verkrijgen:

1. Is de synthese dan wel de verdwijning van plasma-TG bij chronische nierinsufficiëntie afwijkend ?
2. Worden afwijkende insuline-concentraties in het plasma gevonden ?  
Bestaat er een relatie tussen de afwijkingen in de TG-stofwisseling en de insuline-concentraties in het plasma ?
3. Is er een verband tussen de ernst van de nierinsufficiëntie en de afwijkingen in de TG-stofwisseling ?



## 5. Methodiek.

Acht vrouwen en vier mannen, in leeftijd variërend van 19 - 60 jaar, lijdend aan een ernstige chronische, niet-nefrotische nierinsufficiëntie (serum albumine  $>35$  g/l; eiwit verlies met de urine  $<1$  gram/24 uur, kreatinine-klaring  $<12$  ml/min) werden vergeleken met een controle-groep van acht personen (drie vrouwen en vijf mannen), in leeftijd variërend van 18 - 56 jaar. Niemand leed aan suikerziekte of een andere ziekte waarvan bekend is dat deze de TG-stofwisseling beïnvloedt. Er was geen sprake van onder- of overgewicht. Medicatie die de TG-stofwisseling kan beïnvloeden werd, behalve bij één patient die een oraal anticonceptivum kreeg, niet gebruikt. Alle patienten gebruikten al minstens vier maanden een dieet met eiwitbeperking (variërend van 20 tot 50 gram eiwit per dag), waardoor gemiddeld 60% van de totale hoeveelheid kcal uit koolhydraten afkomstig was. Met dit dieet bleef het gewicht constant. De normale proefpersonen gebruikten een standaard ziekenhuis-dieet (waarin 16, 40 resp. 44% van de kcal afkomstig waren van eiwit, koolhydraat en vet) gedurende minimaal één week voorafgaande aan het onderzoek. In de week voorafgaande aan het experiment (meestal de dag tevoren) werden routine laboratoriumgegevens verzameld. Voor de berekening van de creatinine-klaring bij de patienten werd minstens tweemaal 24-uurs urine verzameld in de maand voorafgaande aan het experiment, waarvan éénmaal in de laatste week. Bij de controle-groep werd voor wat de nierfunctie betreft volstaan met een bepaling van het creatinine- en het ureum-gehalte van het plasma, kwalitatieve reacties op eiwit en glucose in de urine, pH van de urine en onderzoek van het urine-sediment. Alle patienten en normale personen werd enkele dagen tevoren uitleg van het doel en de aard van het experiment gegeven en vervolgens om toestemming gevraagd.

Meting van de plasma-TG-turnover geschiedde met aan albumine gecomplexeerd  $1-^{14}\text{C}$ -palmitinezuur (Birkenhäger en Tjabbes 1969) als precursor van TG in vivo, waarbij de door Kissebah e.a. (1974a) beschreven wijzigingen werden overgenomen. De keuze van de precursor werd voornamelijk bepaald door het reeds vertrouwd zijn met het gebruik ervan binnen ons laboratorium (Birkenhäger en Tjabbes 1969, Birkenhäger e.a. 1976).  $1-^{14}\text{C}$ -palmitinezuur (specifieke activiteit 44.3 - 55.2 mCi/mmol) werd verkregen van Amersham (Engeland). Alle patienten en proefpersonen

werden 's ochtends liggend onderzocht na minstens 14 uur vasten. Nadat eerst bloed was afgenomen voor de bepaling van TG (Laurell 1966), insuline (Yalow en Berson 1960), lipoproteïne-electroforese (op cellulose-acetaat nr. 11.200, Sartorius-Membranfilter GmbH, West-Duitsland) en in een aantal gevallen van vetzuren (Moosinger 1965) werd in een diepe vene van de andere arm een "Intracath"-katheter (type Bardic, medium) ingebracht en aangesloten op een infusie-pomp (LKB, type vario-perpex) waardoor een fysiologische zoutoplossing werd gepompt. Het infusie-pompje werd tesamen met de bijbehorende slangen nauwkeurig gecalibreerd, door de hoeveelheid fysiologisch zout die per minuut werd doorgepompt vóór en na het onderzoek te meten. Tien minuten na inbrengen van het infuus-systeem werd begonnen met de continue infusie van de radioactieve palmitinezuuroplossing, gedurende 2 uur. Bij de eerste experimenten werd geïnfundeed met een constante snelheid in de orde van grootte van  $0.2 \mu\text{Ci}/\text{min}$ , hetgeen resulteerde in een totale dosis van  $20.4 - 30.0 \mu\text{Ci}$ , later werd volstaan met een constante snelheid van  $0.1 \mu\text{Ci}/\text{min}$  (totale dosis  $11.7 - 18.5 \mu\text{Ci}$ ). Bij de normale proefpersonen geschiedde bloedafname halverwege ( $t = 1 \text{ u}$ ), aan het einde van de infusie ( $t = 2 \text{ u}$ ) en vervolgens op tijdstippen  $t = 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10$  en  $12$  uur. De resultaten van de berekening van de TG-turnover van de eerste twee normale proefpersonen werden niet beïnvloed door weglaten van de meetpunten  $t = 1, 5, 7$  en  $10$  uur, waarna wij bij de patienten (gezien de bij hen bestaande bloedarmoede) op deze tijdstippen geen bloed hebben afgenomen. Tot aan het einde van de proef werd gevast, het (niet-caloriehoudend) vochtgebruik werd niet beperkt.

Het bloed werd opgevangen in heparine-buizen en direct gecentrifugeerd (15 min, 1000 g), waarna het plasma werd ingevroren. In deze monsters werd om de specifieke activiteit van de plasma-TG-fractie te berekenen (dpm/mmol) een TG-bepaling en telling van de radioactiviteit in de TG-fractie, verkregen door extractie van alle lipiden en titratie van FFA volgens de door Trout e.a. (1960) gemodificeerde methode van Dole (1956), uitgevoerd. De tellingen werden verricht in een Packard-Tri-Carb liquid Scintillation Spectrometer. De specifieke activiteit van de plasma-TG-fractie wordt logaritmisch tegen de tijd uitgezet (Fig. 3), waarbij volgens Kissebah e.a. (1974a) een mono-exponentiële curve verkregen wordt, waaruit via de methode van de kleinste kwadraten de halfwaarde tijd ( $t_{\frac{1}{2}}$ ) wordt berekend. Met de formule  $K = \frac{\ln 2}{t_{\frac{1}{2}}}$  wordt vervolgens de fractionele

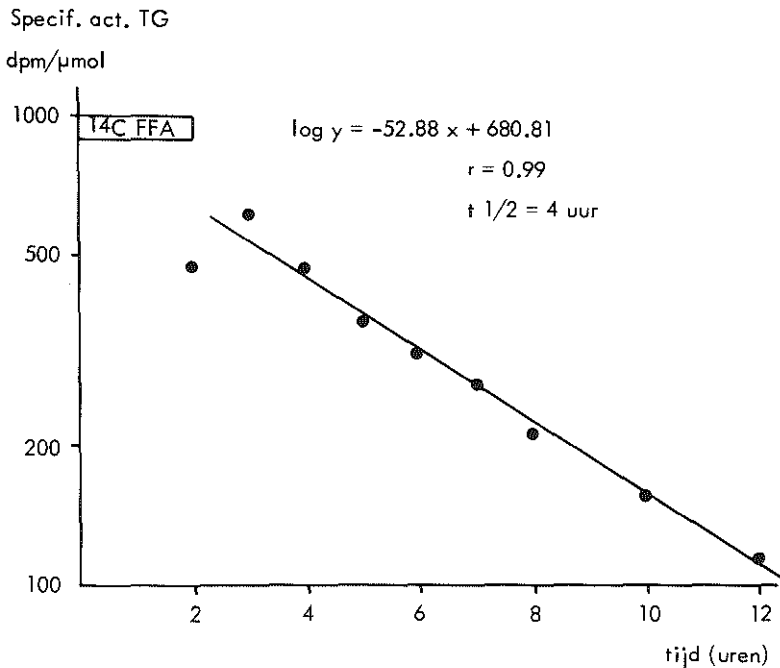


Fig. 3

Berekening van de halfwaarde tijd ( $t_{\frac{1}{2}}$ ) volgens Kissebah uit de experimenteel verkregen punten met behulp van de methode der kleinste kwadraten. De halfwaarde tijd van het eerste deel van de curve (zie tekst) bedraagt 2.9 uur. De fractionele turnover-snelheid wordt berekend uit de formule  $K = \ln 2/t_{\frac{1}{2}}$ .

turnover-snelheid van de plasma-TG (K) berekend. Met behulp van de formule  $V = K \times (TG) \times P$  (Kissebah e.a. 1974a), waarin V = absolute turnover-snelheid van plasma-TG, (TG) = nuchtere plasma-TG-concentratie ( $\mu\text{mol}$  per ml) en P het plasma-volume (waarvoor 50 ml/kg lichaamsgewicht werd aangenomen), wordt de absolute turnover-snelheid (per kg lichaamsgewicht) berekend (zie Hfdst. II, par. 2). Daar een licht afbuigen van de curve vanaf 6 tot 8 uur na het begin van de infusie (zie Fig. 3) bij herhaling bleek voor te komen in met name de groep normale proefpersonen, werd in weerwil van literatuurgegevens (zie par. 2) aan het einde van het hier beschreven onderzoek bij één patient en één proefpersoon op drie tijdstippen (t = 3, 6 en 12 uur) tevens de specifieke radioactiviteit van TG in de VLDL-fractie bepaald. In beide gevallen was het aandeel van de specifieke activiteit van TG in de VLDL-fractie op t = 12 uur minder dan vijftig procent van het totaal, terwijl het verloop van de specifieke activiteit van TG in de VLDL-fractie bij de normale proefpersoon, in tegenstelling tot dat bij de patient, afboog na 6 uur. Op grond hiervan werd besloten in beide groepen alleen het eerste deel van de curve voor de berekening van de halfwaardetijd te gebruiken.

In de literatuur variëren de opgaven van het plasma-volume van 40 tot 50 ml per kg lichaamsgewicht. Na bij één patient en één normaal proefpersoon het plasma-volume te hebben gemeten met behulp van de  $^{131}\text{J}$ -albumine techniek, waarbij 54.3 resp. 48.4 ml/kg lichaamsgewicht gevonden werd, besloten wij de door Kissebah in zijn formule aangegeven 50 ml/kg lichaamsgewicht aan te houden.

Daar de resultaten van de door ons gevolgde methode alleen geïnterpreteerd mogen worden, indien onder "steady state" omstandigheden wordt gewerkt, werd Kissebah's criterium hiervoor aangehouden: Tijdens de proef mag de variatie van de TG-concentratie in het plasma niet groter zijn dan 10%. Op grond hiervan kon bij patient nr. 3 (zie Tab. V) geen berekening van de snelheid van de turnover worden verricht. Normale waarden voor de nuchtere concentratie van plasma-TG (minstens 14 uur vasten):  $0.89 \pm 0.40$  mmol/l (n = 42). Vrouwen hebben een significant ( $p < 0.05$ ) lagere waarde dan mannen:  $0.76 \pm 0.37$  mmol/l (n = 20), respectievelijk  $1.01 \pm 0.41$  mmol/l (n = 22).

Tabel III. Patienten-gegevens

Nr.	Geslacht	Leeftijd (Jr.)	Diagnose	Creatinine- klaring	plasma			Proteinurie
					Ureum	Albumine	Cholesterol	
				ml/min	mmol/l	g/l	mmol/l	g/24u
1	v	47	Phenacetine- nieren	5.5	18.3	60.0	9.4	<0.1
2	v	52	Cyste-nieren	4	37	35.5	4.1	<0.1
3	m	44	CGN ?	5	29.4	48.1	5.2	1.1
4	m	24	CPN	7	23.8	46.3	5.4	0.3
5	m	19	CGN ?	10	26.4	57.0	5.7	1.0
6	v	50	Phenacetine- nieren	11	17.6	38.6	5.1	<0.1
7	v	26	CPN ?	10	24.9	64.6	6.6	<0.1
8	v	41	Cyste-nieren	4	42	39.0	4.6	<0.1
9	v	60	Phenacetine- nieren	3.5	44.9	42.8	6.0	<0.1
10	m	22	CPN	11	29.5	53.0	7.8	<0.1
11	v	25	onbekend	7	19.3	51.4	4.6	<0.1
12	v	46	onbekend	7.5	33.7	47.1	8.5	<0.1

CGN = Chronische Glomerulonefritis

CPN = Chronische pyelonefritis

Tabel IV Normale proefpersonen

---

Nr.	Geslacht	Leeftijd	Creatinine	Ureum	Cholesterol
		(Jr)	$\mu\text{mol/l}$	$\text{mmol/l}$	$\text{mmol/l}$
13	m	42	95	5.0	4.7
14	m	31	95	2.7	5.4
15	v	46	70	3.4	8.1
16	m	28	100	4.6	5.9
17	v	25	89	3.3	5.6
18	m	18	92	4.0	5.6
19	m	56	105	5.7	6.9
20	v	35	74	4.8	6.2

---

Tabel V. Resultaten van de turnover-experimenten bij patienten (1 - 12) en een controle-groep (13 - 20).

Nr.	TG	$t_{\frac{1}{2}}$	$k^{1)}$	$v_{TG}^{2)}$	Insuline	FFA <sup>3)</sup>
	mmol/l	uur	$u^{-1}$	$\mu\text{mol/uur/kg}$	mE/l	m aeq/l
1	3.37	9.8	0.070	11.8	11	
2	2.38	7.6	0.091	10.8	15	
3	2.61	-	-	-	10	
4	3.91	17.4	0.040	7.8	28	790
5	3.40	6.1	0.114	19.4	8	
6	3.40	5.8	0.120	20.4	27	
7	3.53	4.8	0.144	25.4	56	
8	1.84	5.5	0.126	11.6	48	616
9	2.93	7.5	0.092	13.5	19	674
10	4.84	7.6	0.091	22.0	16	458
11	1.05	5.0	0.139	7.3	12	452
12	2.25	6.7	0.103	11.6	16	
Gem.	2.96	7.6	0.103	14.2	22	598
S.D.	1.01	3.6	0.031	5.7	15	130
13	0.80	5.3	0.131	5.2	4	404
14	0.94	2.7	0.257	12.1	8	
15	1.48	2.9	0.239	17.7	20	588
16	1.12	5.3	0.131	7.3	43	213
17	0.64	3.6	0.193	6.2	9	555
18	1.55	3.1	0.224	17.4	-	589
19	0.72	3.7	0.187	6.7	10	
20	0.97	3.4	0.204	9.9	6	
Gem.	1.02	3.8	0.202	10.5	18	469
S.D.	0.33	1.0	0.045	4.4	17	163
p	<0.001	<0.01	<0.001	<0.05	n.s. <sup>4)</sup>	n.s.

<sup>1</sup> k = fractionele turnover-snelheid

<sup>2</sup>  $v_{TG}$  = absolute turnover-snelheid

<sup>3</sup> niet bij alle patienten en controle personen bepaalt

<sup>4</sup> n.s. = niet significant verschillend

## 6. Resultaten.

De klinische gegevens van de patienten, die betrokken waren bij de plasma-TG-turnover-experimenten, staan vermeld in Tabel III; die, betrekking hebbende op de normale proefpersonen, in Tabel IV. Er bestond geen verschil in plasma-cholesterol-gehalte tussen beide groepen:  $6.1 \pm 1.7$ , resp.  $6.1 \pm 1.0$  mmol/l. In Tabel V worden de resultaten van de TG-turnover-experimenten bij beide groepen vermeld. Op één na vertoonden alle patienten een hypertriglyceridaemie. De belangrijkste bevinding is de verlaagde fractionele TG-turnover bij de patienten met nierinsufficiëntie. De absolute turnover-snelheid van plasma-TG is verhoogd bij een deel van de patienten en bij de groep als geheel. Er bestonden geen significante verschillen in de insuline- en vrije vetzuur-concentraties in het plasma.

In Figuur 4 worden dezelfde resultaten getoond tegen de achtergrond van de curve, die het verband tussen plasma-TG-concentratie en absolute TG-turnover-snelheid weergeeft bij de grote groep normale proefpersonen ( $n = 34$ ), die door Nikkilä en Kekki (1971b) onderzocht zijn. De curve is geëxtrapoleerd naar het hypertriglyceridaemisch gebied. Alle uitkomsten verkregen bij patienten liggen rechts van en onder de curve, met als uitzondering nr. 7, een patient met een nog relatief hoge creatinine-klaring binnen de onderzochte groep en met de hoogste  $K$ -waarde ( $0.144 \text{ u}^{-1}$ ). De patienten met de laagste creatinine-klaringen vertonen over het algemeen de laagste waarden voor de absolute turnover-snelheid.

Een significante relatie tussen absolute turnover-snelheid, fractionele turnover-snelheid, resp. nuchtere TG-concentratie enerzijds en parameters van de mate van nierinsufficiëntie anderzijds, werd niet gevonden. Correlaties tussen de totale hoeveelheid calorieën, eiwit- of koolhydraat-inname aan de ene kant en de gehanteerde parameters van de TG-stofwisseling werden ook niet aangetoond. Evenmin bestond een relatie tussen deze laatste parameters en de insuline-concentratie in het plasma.

Lipoproteïne-electroforese toonde op drie uitzonderingen na een type IV-patroon (verhoging van de pre- $\beta$ -lipoproteïnen, geen chylomicronen aantoonbaar). In twee gevallen (nrs. 1 en 10) werd een type IIB-patroon (verhoging van pre- $\beta$  en  $\beta$ -lipoproteïnen) gevonden en nr. 11 had een normaal patroon. In de controle-groep had alleen nr. 15 een afwijkend patroon (type IIA, verhoging van de  $\beta$ -lipoproteïnen).



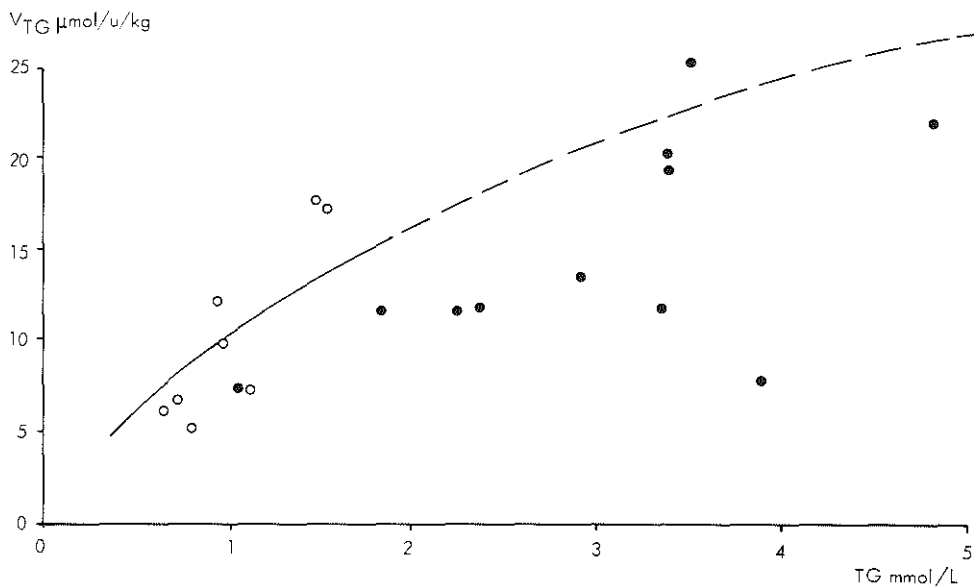


Fig. 4

Plasma-TG-concentratie en absolute TG-turnover-snelheid, uitgezet zoals in Figuur 2, van patiënten met nierinsufficiëntie (gesloten symbolen) en normale proefpersonen (open symbolen). De getrokken lijn geeft het verband tussen beide parameters aan, gevonden in een groep van 34 normale individuen (Nikkilä en Kekki 1971b). De onderbroken lijn geeft de extrapolatie naar het hypertriglyceridaemische gebied weer.

Tabel VI geeft een vergelijking van de turnover-snelheid van TG in plasma en in de VLDL-fractie bij één patient en één normale proefpersoon. De fractionele turnover-snelheid van VLDL-TG is groter dan die van plasma-TG. Dankzij de verschillen in "pool"-grootte is de absolute turnover-snelheid vrijwel gelijk.

Tabel VI. Vergelijking van de turnover-snelheid van TG in plasma en in de VLDL-fractie.

		TG	$t_{\frac{1}{2}}$	K	$V_{TG}$
		mmol/l	uur	$u^{-1}$	$\mu\text{mol/uur/kg}$
controle	plasma	0.61	3.8	0.182	4.0
	VLDL-fractie	0.40	2.8	0.248	3.6
patient	plasma	0.97	5.2	0.133	4.7
	VLDL-fractie	0.67	4.0	0.173	4.2

## 7. Bespreking van de resultaten.

Evenals Reaven e.a. (1965) vonden wij een positieve correlatie tussen de TG-concentratie (x) en de absolute turnover-snelheid (y) bij de controle-groep:  $y = 13.23 x - 3.28$  ( $r = 0.90$ ,  $p < 0.01$ ). Bij onze controle-groep hebben wij dezelfde ervaring opgedaan als Cattran e.a. (1976), die vaststelden, dat in hun controle-groep de curve, die het verband tussen beide parameters aangaf, steiler verliep dan die van Nikkilä en Kekki (1971b). De in Tabel VI vermelde resultaten suggereren dat de fractionele turnover-snelheid van plasma-TG een onderschatting geeft van de fractionele turnover-snelheid van VLDL-TG.

Terwijl de patientengroep alleen op de ernst van de nierinsufficiëntie (creatinine-klaring  $< 12$  ml/min) was geselecteerd, bleken elf van de twaalf patienten een hypertriglyceridaemie te hebben. In de literatuur varieëert het aantal patienten met nierinsufficiëntie, dat tevens hypertriglyceridaemie heeft van 50 tot 100% (zie Hfdst. III, par. 1). Alle patienten

(uitgezonderd nr. 7) hebben een meer of minder gestoord afbraakmechanisme: Verlaagde fractionele turnover-snelheid, rechts van en onder de normale curve gelegen (vergelijk Fig. 2). De patienten echter (nrs. 5, 6, 7 en 10) met de hoogste creatinine-klaring binnen de groep liggen boven of dicht onder de curve van Nikkilä, een meer complexe pathogenese van de hypertriglyceridaemie suggererend, mogelijk samenhangend met het stadium van nierinsufficiëntie. Bij deze patienten, die een hypertriglyceridaemie combineren met een vrijwel normale of laag-normale fractionele turnover-snelheid, lijkt een verhoogde snelheid van synthese van plasma-TG in het spel te zijn. Ook Cramp e.a. (1977a) vonden bij zeven van de dertien patienten aanwijzingen voor een versnelde synthese van plasma-TG (zie par. 3).

Net zo min als Kaye e.a. (1973), Daubresse e.a. (1976) en Ibels e.a. (1976) vonden wij een significante verhoging van het insuline-gehalte van het plasma bij de patienten. Tevens vonden deze auteurs, evenmin als wij, een verband tussen het insuline-gehalte van het plasma en parameters van de TG-stofwisseling. Een dergelijk verband bij patienten met een chronische nierinsufficiëntie is tot nu toe alleen door Bagdade e.a. (1968a) beschreven. Verhoogde plasma-glucagon-concentraties daarentegen zijn een constante bevinding bij patienten met een nierinsufficiëntie (Bilbrey e.a. 1974, Daubresse e.a. 1976, Kuku e.a. 1976 en Sherwin e.a. 1976). Daar wij geen glucagon gemeten hebben, valt niet uit te sluiten dat een relatie bestaat tussen de verhoogde verhouding glucagon: insuline en de gevonden afwijkingen in de TG-stofwisseling.

Onlangs is gesuggereerd, dat naarmate patienten een ernstiger nierinsufficiëntie hebben, er lagere plasma-TG-concentraties in het plasma gevonden worden (Roodvoets 1974). Hoewel wij aanvankelijk bij een kleinere groep patienten een positief verband tussen de creatinine-klaring enerzijds en de nuchtere TG-concentraties in het plasma en de absolute TG-turnover-snelheid anderzijds, vonden (Verschoor e.a. 1976), bleek na uitbreiding van de patientengroep de tendens tot een lagere TG-concentratie, resp. absolute turnover-snelheid bij een lagere creatinine-klaring nog wel te bestaan, doch een correlatie werd niet meer gevonden (Verschoor e.a. 1978a). Wel vonden wij bij twee patienten met een matige chronische nierinsufficiëntie (Tab. VII) normale parameters van de TG-stofwisseling, zodat het aannemelijk is, dat bij dit ziektebeeld een bifasisch verloop

van de TG-concentratie in het spel is. Een dergelijk bifasisch verloop is (nog) niet aangetoond, maar steun voor deze gedachte is te vinden in het werk van Brøns e.a. (1972), Schäfer e.a. (1974) en Cramp e.a. (1977a). In deze drie onderzoeken werd een toename van de TG-concentratie in het plasma bij toenemende nierinsufficiëntie vastgesteld met weer een daling bij terminale nierinsufficiëntie.

Tabel VII Resultaten van de turnover-experimenten bij twee patienten met een matige, niet-nefrotische nierinsufficiëntie

Geslacht	Leeftijd	Diagnose	Creatinine- klaring	Ureum	TG	$t_{\frac{1}{2}}$	K	$V_{TG}$
			ml/min	mmol/l	mmol/l	uur	1/uur	$\mu\text{mol/uur/kg}$
m	58	bilaterale hydronefrose	21	21.0	1.04	5.9	0.117	6.1
m	60	phenacetine nieren	37	7.4	1.08	6.2	0.112	6.0

Hoewel geen relatie tussen het door de patienten gebruikte dieet en de afwijkingen in de TG-stofwisseling bestond, is toch niet geheel uit te sluiten, dat het betrekkelijk hoge percentage koolhydraten in het dieet een rol speelt. Ook in de literatuur bestaat onduidelijkheid omtrent dit punt. Daubresse e.a. (1976) vonden evenmin een relatie tussen het gebruikte dieet en parameters van de TG-stofwisseling, terwijl Wochos e.a. (1976) geen verschil vonden in de TG-concentratie in het plasma bij patienten met nierinsufficiëntie, voor en tijdens een dieet met eiwitbeperking. Daarentegen vonden Sorge e.a. (1975) bij afwisselend gebruik van een hoog-koolhydraat- en hoog-vet-dieet door patienten met een nierinsufficiëntie duidelijk hogere TG-concentraties in het eerste geval. De gebruikte hoeveelheid koolhydraten was echter veel hoger (80 cal%) dan onder normale omstandigheden aan deze patienten wordt voorgeschreven. Tenslotte toonden Sanfelippo e.a. (1977) bij twaalf patienten met een matige tot ernstige nierinsufficiëntie aan, dat vermindering van de hoeveelheid koolhydraten van 50 naar 35 cal% en verhoging van de hoeveelheid onverzadigd vet in het

dieet, een verlaging van de TG-concentratie in plasma gaf.

Aangezien onze resultaten verkregen werden bij patiënten, die niet behandeld werden met haemodialyse en gezien het feit, dat Cattran e.a. (1976) geen verschil in de TG-stofwisseling vonden tussen patiënten die met haemodialyse resp. peritoneale dialyse werden behandeld, lijkt het onwaarschijnlijk, dat de stoornis in de TG-verdwijningssnelheid die ook bij patiënten op haemodialyse wordt gevonden, veroorzaakt wordt door de haemodialyse-procedure zelf of de erbij toegediende heparine (Bagdade e.a. 1968a).

## 8. Conclusies.

1. Hypertriglyceridaemie is een vrijwel obligate complicatie van ernstige chronische nierinsufficiëntie.
2. Deze hypertriglyceridaemie berust, gezien de gevonden verlaging van de fractionele turnover-snelheid van de plasma-TG, voornamelijk op een stoornis van het afbraakmechanisme van plasma-TG. Bij enkele patiënten met een relatief nog hoge creatinine-klaring werden aanwijzingen verkregen, dat een verhoogde synthese van plasma-TG (mede) bepalend was voor de gevonden hypertriglyceridaemie.
3. Mogelijk bestaat een bifasisch verloop van de nuchtere TG-concentratie in het plasma gedurende de ontwikkeling van progressieve nierinsufficiëntie.
4. De nuchtere insuline-concentratie in het plasma is niet significant verhoogd bij de bestudeerde patiënten; een verband met de gevonden afwijkingen in de TG-stofwisseling werd niet aangetoond.



### HOOFDSTUK III.

METING VAN DE HEPATISCHE EN EXTRAHEPATISCHE LIPOPROTEINE LIPASE  
ACTIVITEIT TIJDENS LANGDURIGE STIMULATIE MET HEPARINE BIJ PATIENTEN MET  
EEN CHRONISCHE NIERINSUFFICIENTIE, BEHANDELD MET HAEMODIALYSE.  
CORRELATIES MET AFWIJINGEN IN SERUM LIPIDE-FRACTIES.

#### 1. De relatie tussen heparine en lipoproteine lipase.

Na twaalf tot zestien uur vasten is vrijwel geen LPL-activiteit meer in de circulatie aantoonbaar. Binnen één minuut na intraveneuze injectie van heparine stijgt de LPL-activiteit in perifere veneus bloed (Boberg, 1972). Bij onderzoek van een geïsoleerd vaatgebied (de onderarm van de mens: Arteriële injectie van heparine, activiteitsmeting in diepe en oppervlakkige venen) wordt binnen dertig seconden een stijging van de LPL-activiteit gevonden (Ehnholm e.a., 1977). Bovenbeschreven werking van heparine werd bij toeval ontdekt. Tijdens experimenten betreffende het circulerend erythrocytenvolume bemerkte Hahn, dat bij sommige honden troebel tot melkachtig serum binnen 3 tot 5 minuten na bloedtoediening helder werd. Het toegediende bloed bevatte steeds heparine. In een apart hiervoor opgezette serie experimenten kon hij aantonen, dat heparine voor deze "clearing" verantwoordelijk was (Hahn, 1943). Korn (1955a, b) toonde aan, dat deze "clearing factor" identiek is met een lipoproteine lipase, geïsoleerd uit hartspierweefsel van de rat. In het vervolg sprak men van "clearing factor lipase", "heparin-activated LPL" en "postheparin lipolytic activity" of PHLA. De laatste, meest ingeburgerde, term zullen wij in het vervolg gebruiken.

Onlangs zijn twee overzichten aan de relatie tussen beide stoffen gewijd (Olivecrona e.a. 1974, 1977). Experimenten met aan sepharose gekoppelde heparine maken het aannemelijk, dat de binding van heparine aan LPL een reversibel, ionogeen karakter heeft. Hetzelfde kan worden aangetoond voor een ander, in vrijwel alle celmembranen bij zoogdieren voorkomend, sulfaatrijk polysaccharide, het heparansulfaat (Olivecrona e.a. 1977), terwijl Yasuoka e.a. (1973) reeds het in vivo optreden van binding tussen (synthetische) gesulfateerde polysacchariden en LPL hadden aangetoond.

Olivecrona's hypothese komt neer op een binding van LPL aan celmembraan-polysacchariden (heparansulfaat) nadat het door de vet- (resp. spier-, lever-, long-)cel is gesecerneerd in de subendotheliale ruimte. De bewegelijkheid van deze langgerekte aan het celoppervlak gelegen moleculen draagt zorg voor snel transport van LPL naar de lumenale zijde van de endotheelcel en maakt het vervolgens mogelijk chylomicronen en VLDL-partikels snel te hydrolyseren. Eveneens past in deze zienswijze de bevinding van Robinson e.a. (1959), dat één enkele passage van heparine door het capillairbed voldoende is om LPL-activiteit in de circulatie te doen verschijnen. Dit losmaken van LPL van de endotheelwand door heparine is dosis-afhankelijk (Boberg 1972, Jansen e.a. 1974, Huttunen e.a. 1975, Sauar e.a. 1978). Het maximale effect wordt bij de mens bereikt met doses van 50 tot 100 E heparine per kg lichaamsgewicht. Het proces verloopt verschillend in de tijd voor LPL en HTGL (Jansen e.a. 1974, Huttunen e.a. 1975, Sauar e.a. 1978): HTGL bereikt binnen vijf minuten de piekactiviteit, waarna geleidelijke afname plaatsvindt; LPL bereikt pas na 20 minuten een "vlakke" top met een snelle daling na 40 tot 60 minuten. In oudere studies over PHLA, werd meestal gebruik gemaakt van submaximale doses heparine (10 E/kg), in recente publicaties wordt meer gebruik gemaakt van 50 - 100 E heparine per kg lichaamsgewicht.

## 2. Literatuur.

De laatste jaren is een groot aantal publicaties verschenen over afwijkingen van plasma-lipiden bij patiënten behandeld met haemodialyse (Tabel VIII). Hoewel de getallen uiteenlopen, vinden de meeste auteurs bij meer dan de helft van de patiënten een hypertriglyceridaemie. Door enkele onderzoekers werden ook patiënten, behandeld met peritoneale dialyse, onderzocht: Significante verschillen met patiënten op haemodialyse werden meestal niet gevonden. Hoewel Gutman e.a. (1973) een verschil vonden tussen patiënten behandeld met regionale en algehele heparinisatie tijdens de dialyse-periode, had het verschil in behandeling volgens Daubresse e.a. (1976) op langere termijn geen invloed. Tussen twee groepen patiënten, gedialyseerd met glucose-vrije-, respectievelijk glucose-bevattende dialyse-vloeistof, vonden Hubner e.a. (1971) en Wathen e.a. (1978) geen



verschil in de concentratie van plasma-TG onder nuchtere omstandigheden. Een aantal auteurs verrichtten bepalingen van plasma-lipiden in de afzonderlijke lipoproteïne-fracties. De verhoogde concentratie van plasma-TG wordt voornamelijk veroorzaakt door een verhoging van de TG-concentratie in de VLDL-fractie, hoewel ook verhoogde TG-hoeveelheden van de LDL- (Ibels e.a. 1975, Samar e.a. 1975, Norbeck e.a. 1976, Mordasini e.a. 1977) en HDL-fracties (Ibels e.a. 1975, Brunzell e.a. 1977) zijn aangetroffen. De totale cholesterol-concentratie in plasma is meestal normaal of laag-normaal. Bij een grote groep gedialyseerde mannelijke patienten (n = 100) vonden Brunzell e.a. (1977) een significante verlaging. Alle auteurs, die onderzoek naar het cholesterol-gehalte van de HDL-fractie bij deze categorie patienten verrichtten, vonden op één uitzondering na (Samar e.a. 1975) een significante verlaging (Ibels e.a. 1975, Norbeck e.a. 1976, Bagdade e.a. 1977, Brunzell e.a. 1977, Mordasini e.a. 1977). Evenals Lewis voor het eiwitgedeelte van de HDL-fractie reeds eerder beschreef (Lewis e.a. 1966) vonden Ibels e.a. (1975) na transplantatie een normale concentratie HDL-cholesterol. Mordasini e.a. (1977) konden dit bij hun transplantatie-groep niet bevestigen.

Patienten met nierinsufficiëntie vóór instelling op dialyse-behandeling (Tab. IX) en na geslaagde niertransplantatie (Tab. X) hebben eveneens vaak een hypertriglyceridaemie. Na transplantatie wordt meestal tevens een verhoogd cholesterol-gehalte van het plasma gevonden, mogelijk toe te schrijven aan de gebruikte corticosteroiden (Bagdade e.a. 1976b, Gregg e.a. 1977). Ibels e.a. (1978) vonden een correlatie tussen de gebruikte dosis corticosteroiden en het plasma-TG- en cholesterol-gehalte, Casaretto e.a. (1974) niet. De bevinding, dat "alternate day" toediening van corticosteroiden de hyperlipaemie sterk doet verminderen (Beaumont e.a. 1975), lijkt voldoende weerlegd (Ponticelli e.a. 1975, Ibels e.a. 1978). Voorzichtigheid bij de interpretatie van hyperlipaemie bij transplantatie-patienten is geboden, in het licht van de onderzoeken van Ibels e.a. (1978). Bij veertien longitudinaal (vóór en tot 40 weken na transplantatie) onderzochte patienten, trad direct na transplantatie een daling van zowel de TG-, als de cholesterol-concentratie op. In de loop van acht tot zestien weken stegen beide gehalten tot verhoogde waarden, die tot het einde van het onderzoek aanwezig bleven.

In een poging de oorzaak van de hypertriglyceridaemie bij chronische nierinsufficiëntie vast te stellen, zijn door enkele auteurs PHLA-metingen

Tabel VIII Hypertriglyceridaemie bij patienten met een nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse. Een literatuur-overzicht.

Auteur	Aantal onderzochte patienten	Hypertriglyceridaemie
Roodvoets e.a., 1967	8	8 / a
Bagdade e.a., 1968a, b	25	/
Tsalties e.a., 1968	11	4
Cohen e.a., 1969	34	23
Reimold e.a., 1969	30 (P.D.)	/
Boyer e.a., 1970	10	6
Hübner e.a., 1971	39	/
Edwards e.a., 1972	23	14 b
Arora e.a., 1973	8	6 b
Gutman e.a., 1973	25	17
Roodvoets, 1974	24	9 b 18 c
Ibels e.a., 1975	22 (< ½j)	/ b
	16 (> 2j)	/ b
Lazarus e.a., 1975	38	/ b
McCosh e.a., 1975	8	/
Murase e.a., 1975	6	/
Samar e.a., 1975	20	7
Wada e.a., 1975	19	16
Bagdade e.a., 1976a	14	/
Cattran e.a., 1976	64	) 66%
	14 (P.D.)	
Daubresse e.a., 1976	10	/ b
Ibels e.a., 1976	22	/ b
Novarini e.a., 1976	84	/
Brunzell e.a., 1977	) 94	/
(alleen mannen)		/
Cramp e.a., 1977b	6 (P.D.)	/
	60	44
	14 (P.D.)	9
Ibels e.a., 1977	11 (< ½j)	5
	16 (> 2j)	11
Mordasini e.a., 1977	39	/
Gokal e.a., 1978a	131	79
Ponticelli e.a., 1978	126	/

/ = groepsgemiddelde significant hoger dan dat van de controle-groep

P.D. = peritoneale dialyse

Insuline-concentraties bij de patienten significant verhoogd (a) of normaal(b) gevonden.

c = afhankelijk van de door de auteur gehanteerde norm

Tabel IX. Hypertriglyceridaemie bij patiënten met een chronische nierinsufficiëntie, niet behandeld met haemodialyse.  
Een literatuuroverzicht

Auteur	Aantal onderzochte patiënten	Hypertriglyceridaemie
Bagdade e.a., 1968a, b	13	/ a
Losowsky e.a., 1968	6	6
Cohen e.a., 1969	8	2
Kokot e.a., 1971	52	/
Brøns e.a., 1972	25	17
Kleinkecht e.a., 1972	10 d	5
Wardle e.a., 1972	10	6
Ghosh e.a., 1973	12	/
Gutman e.a., 1973	15 (allen mannen)	11/14
Kaye e.a., 1973	15	/ b
Persson, 1973	30	/
Roodvoets, 1974	24	12
Schäfer e.a., 1974	63	40
Ibels e.a., 1975	27	/ b
Lazarus e.a., 1975	13	6 b
McCosh e.a., 1975	6 (mild)	0
	13 (matig)	/
	11 (ernstig)	/
Trichopoulou e.a., 1975	50	/
Bagdade e.a., 1976	13	/
Daubresse e.a., 1976	12	/ b
Ibels e.a., 1976	13	/ b
Norbeck e.a., 1976	39 e	/
Novarini e.a., 1976	51	/
Wochos e.a., 1976	100	43
Cramp e.a., 1977a	13	8
Ibels e.a., 1977	21	15
Mordasini e.a., 1977	13	/

d : waaronder één patient behandeld met haemodialyse

e : waaronder 9 patienten behandeld met haemodialyse, 4 patienten met corticosteroiden. Zie verder legendum bij Tabel VIII.

Tabel X. Hypertriglyceridaemie bij patienten na een geslaagde niertransplantatie

Auteur	Aantal onderzochte patienten	Hypertriglyceridaemie
Ghosh e.a., 1973	32	/
Casaretto e.a., 1974	41	/
Roodvoets, 1974	16	7
Beaumont e.a., 1975	37	6
Ibels e.a., 1975	46	/
Lazarus e.a., 1975	62	/
Ponticelli e.a., 1975	52	27
Bagdade e.a., 1976	23	/
Ibels e.a., 1976	19	/ <sup>b</sup>
Ibels e.a., 1977	51	24
Mordasini e.a., 1977	23	/
Abbott e.a., 1978	65	/
Ibels e.a., 1978	205	95
Ponticelli e.a., 1978	101	/

Zie legendum bij Tabel VIII.

verricht (Tab. XI). Slechts vier onderzoeken zijn met maximale stimulatie-doses van heparine verricht (Roodvoets 1974, Ibels e.a. 1976, Mordasini e.a. 1977, Bolzano e.a. 1978). Bij nierinsufficiëntie, al of niet behandeld met haemodialyse, werd steeds een verlaging gevonden, volgens Mordasini e.a. (1977) en Bolzano e.a. (1978) veroorzaakt door een selectieve daling van de HTGL-activiteit. Bij transplantatie-patienten worden tegenstrijdige resultaten gemeld (Ibels e.a. 1976, Mordasini e.a. 1977). Alleen Boyer e.a. (1970) stelden vast, dat toevoeging van plasma, afkomstig van haemodialyse-patienten, in vergelijking met dat van normale individuen, aan post-heparine plasma van normalen, gemiddeld lagere PHLA-uitkomsten gaf. De mate van remming was zeer uiteenlopend. Correlaties met de bij de patient gevonden PHLA en de TG-concentratie in het plasma bestonden niet. Het onderzoek van Murase e.a. (1975), waarbij

Tabel XI. Resultaten van PHLA-metingen bij patienten met een nierinsufficiëntie zonder en met dialyse-behandeling en na transplantatie.

Auteur	Heparine dosis	Tijdstip bloedafname	Resultaat PHLA-meting			Resultaat mengproef
			CNNNI	HD	TX	
Bagdade e.a., 1968	380 E/m <sup>2</sup> L.O. (± 10 E/kg <sup>c</sup> )	6, 8 en 10'	<sup>a</sup>		0	- <sup>b</sup>
Boyer e.a., 1970	10 E/kg	10'	0		0	+
Gutman e.a., 1973	10 E/kg	10'			N	-
Roodvoets, 1974	50 E/kg	20'	0		0	0
McCosh e.a., 1975	10 E/kg	10'			0	0
Trichopoulos e.a., 1975	?	?		0	0	0
Daubresse e.a., 1976	10 E/kg	10'	0		0	0
Ibeis e.a., 1976	100 E/kg	40'				0
Mordasini e.a., 1977	60 E/kg	10' HTGL:			N	-
		LPL :	N	N	N	-
Bolzano e.a., 1978	118 - 152 E/kg	15' HTGL:	0		0	-
		LPL :	0	N	0	-

CNNNI = chronische niet-nefrotische nierinsufficiëntie, zonder behandeling met dialyse

HD = chronische nierinsufficiëntie, behandeld met intermitterende haemodialyse

TX = chronische nierinsufficiëntie, behandeld met nier-transplantatie

a: | verlaagde  
N normale  
0 niet onderzocht

} activiteit

L.O. : lich. oppervlak

c : lich. gewicht

b: - geen remming aantoonbaar  
+ wel remming aantoonbaar  
0 niet onderzocht

op andere wijze naar LPL-remmende activiteit in het plasma van patienten is gezocht, is niet opgenomen in Tabel XI; het komt uitvoerig ter sprake in Hoofdstuk IV.

Tijdens de dialyse-procedure (met heparinisatie) zelf zijn ook metingen van de lipolytische activiteit verricht (Bagdade e.a. 1968a, Tsaltas e.a. 1968, Gutman e.a. 1973, Ibels e.a. 1976), zij het onder verder nogal uiteenlopende omstandigheden. Een half tot één uur na het begin wordt een maximale stijging gevonden, terwijl daarna een daling optreedt, tenzij tussentijds een maaltijd wordt gegeven (Tsaltas e.a. 1968). Bij niet-uraemici is eenzelfde patroon van lipolytische activiteit gezien tijdens continue infusie van heparine (Nestel 1970, Brunzell e.a. 1975, Huttunen e.a. 1975): Stijging tot maximale activiteit een half tot één uur na de start van de infusie, gevolgd door een daling tot na drie uur een plateau wordt bereikt. Het laatste fenomeen is bij differentiatie naar weefselherkomst van de lipolytische activiteit bij de HTGL-activiteit vrijwel afwezig (Huttunen e.a. 1975).

De literatuurgegevens omtrent de invloed van veranderingen in de dialyse-procedure (duur, frequentie) op de lipolytische activiteit van het plasma en het TG-metabolisme zijn tegenstrijdig. Bagdade e.a. (1968b) vonden een verdubbeling van de PHLA en daling van de TG-concentratie in het plasma bij één patiente na van driemaal per week te zijn overgegaan op vrijwel dagelijks dialyseren. Dagelijks dialyseren (gedurende dertig dagen) normaliseerde de TG-concentratie in het plasma, deelt Sherard mee in een discussie naar aanleiding van het onderzoek van Samar e.a. (1975), die juist een stijging van de TG waarnamen bij verlenging van de duur van de dialyse-sessies. Ibels e.a. (1976) vonden na een aanvankelijke stijging, een daling van de PHLA met gelijk blijven van de TG-concentratie in het plasma bij dagelijks dialyseren (gedurende vijf dagen).

Slechts in één onderzoek werden metingen gemeld van weefsel-LPL-activiteit (Persson 1973): Bij dertig patienten met een matige nierinsufficiëntie werd een significante verlaging van de LPL-activiteit in vetweefsel gevonden.

Het verdwijningsmechanisme van plasma-TG werd nog op andere wijze bij patienten met een nierinsufficiëntie, al of niet behandeld met haemodialyse, of na geslaagde transplantatie, bestudeerd. Roodvoets (1974) en Ibels e.a. (1976) verrichtten een intraveneuze en Kokot e.a. (1971) een

orale vetbelastingstest. De meeste patienten vertoonden een vertraagde verdwijningssnelheid.

Samenvattend zijn zowel vóór als tijdens behandeling met dialyse bij patienten met chronische nierinsufficiëntie, alsook na geslaagde transplantatie, stelselmatig afwijkingen in de TG-stofwisseling gevonden. In het laatste geval bestaat vaak tevens een hypercholesterolaemie. Bij vrijwel alle onderzochte patienten is een verlaagde PHLA gevonden. Een duidelijke verklaring hiervoor is, behoudens de door één onderzoeker verlaagd gevonden vetweefsel-LPL-activiteit, niet voorhanden.

### 3. Vraagstelling.

Uit de hierboven beschreven literatuur kwam naar voren, dat bij patienten met nierinsufficiëntie slechts twee (groepen) onderzoekers LPL, gedifferentieerd naar weefsel-herkomst, hebben bestudeerd. Persson (1973) stelde een verlaagd gehalte aan LPL in vetweefsel van patienten met een nierinsufficiëntie, zonder haemodialyse-behandeling, vast. Mordasini e.a. (1977) rapporteerden een specifieke verlaging van de HTGL in post-heparine-plasma bij al of niet met haemodialyse behandelde patienten, die verdween na transplantatie. De groep uit Helsinki (Nikkilä 1978, persoonlijke mededeling) heeft een verlaging van zowel HTGL als LPL in post-heparine-plasma bij dialyse-patienten gevonden, Bolzano e.a. (1978) alleen van HTGL.

In 1975 poneerden Miller en Miller dat HDL een belangrijke functie heeft in het transport van cholesterol uit de weefsels naar de lever, en als zodanig een rol speelt in het tegengaan van het atherosclerotische proces. De stelling is gebaseerd op hun waarneming dat het HDL-cholesterol-gehalte van het plasma negatief gecorreleerd is met de totale lichaams-pool van cholesterol en op een samenvatting van de literatuur betreffende zogenaamde "risico-factoren" voor hart- en vaatziekten, die steeds lijken samen te gaan met een laag HDL-cholesterol-gehalte van het plasma. Op grond hiervan hebben wij het gehalte HDL-cholesterol van het plasma bij patienten met nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse, in ons onderzoek betrokken.

Geformuleerd werden de onderstaande vraagstellingen:

1. Wat is de aard en de frequentie van hyperlipaemie bij patienten met chronische nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse ?

Zijn er verschillen ten opzichte van patienten zonder haemodialyse-

behandeling ? Heeft nefrectomie invloed op de afwijkingen ?

2. Zijn er afwijkingen in de concentratie HDL-cholesterol ? Zo ja, is er dan een relatie met de andere afwijkingen in de stofwisseling van de plasma-lipiden ?
3. Wordt de verlaagde PHLA veroorzaakt door een verlaging van de LPL- en/of de HTGL-activiteit ? Wordt een dergelijke verlaging veroorzaakt door een verlaagde synthese, een stoornis in de vrijmaking van het endotheel, of een versnelde afbraak van het enzym (de enzymen) ?  
Eventuele verlaging van de activiteit door aanwezigheid van een remmer in het plasma kan niet met de in dit hoofdstuk beschreven techniek worden bestudeerd. In Hoofdstuk IV wordt beschreven hoe wij getracht hebben een antwoord op deze vraag te verkrijgen. Stoornissen in het transport van LPL van de vet- en/of spiercellen naar de wand van de endotheelcellen bij normale snelheid van synthese van het enzym zou theoretisch met de gebruikte techniek wel vast te stellen zijn.
4. Worden afwijkingen in de concentratie van insuline in het plasma gevonden ?  
Bestaat er een relatie tussen de insuline-concentratie en de afwijkingen in de stofwisseling van plasma-lipiden bij deze patienten ?

#### 4. Methodiek.

Onderzocht werden patienten met een nierinsufficiëntie, behandeld met chronische, intermitterende, haemodialyse in drie centra (Deventer, Rotterdam en Zwolle). Daar geen verschillen in dialyse-procedure, voedings-voorschriften en eventuele bijkomende medicamenteuze behandeling bestonden en alle plasma-monsters in ons laboratorium bewerkt werden, beschouwen wij alle vijfenvijftig patienten (23 vrouwen en 32 mannen) als één groep. Wij onderzochten voorts een controle-groep van tweeënveertig gezonde personen (waarvan 20 vrouwen) vergelijkbaar voor wat betreft leeftijds-verdeling. Bloed werd afgenomen juist voor het begin van de dialyse (de laatste dialyse was steeds tenminste drie dagen geleden uitgevoerd) en in vrijwel alle gevallen na 12 tot 14 uur vasten.

Het bloed werd opgevangen in heparine-buizen, direct gecentrifugeerd (15 minuten, 1000 g), waarna het plasma werd ingevroren bij  $-20^{\circ}$  C. In de gevallen dat de monsters getransporteerd moesten worden, gebeurde dit in



een container met koolzuursneeuw. Indien niet onmiddellijk gecentrifugeerd kon worden, werd het monster ten hoogste enkele uren bij 4<sup>0</sup> C bewaard. Bij alle patienten en normalen werd in het plasma-monster de TG-concentratie bepaald, terwijl in een wisselend aantal gevallen ook de concentraties werden bepaald van cholesterol, HDL-cholesterol, HDL-TG, vrije vetzuren, insuline en glucose. Voor de bepaling van cholesterol werd gebruik gemaakt van een enzymatische, colorimetrische methode (cholesterol-test-combinatie, Boehringer Mannheim GmbH, West Duitsland). De HDL-fractie werd verkregen door precipitatie van LDL en VLDL met heparine-mangaanchloride, zoals beschreven door Burstein e.a. (1970). Enkele wijzigingen werden aangebracht, zodat hieronder een korte beschrijving van de procedure volgt.

Aan 1 ml plasma werd bij 4<sup>0</sup> C 0.05 ml heparine-oplossing (5000 I.E./ml Thromboliquine, Organon, Oss) en na mengen 0.05 ml mangaanchloride 2 M toegevoegd. Opnieuw werd goed gemengd, waarna het buisje dertig minuten in ijswater bleef staan, vervolgens werd 15 minuten in een Eppendorf centrifuge bij 4<sup>0</sup> C gecentrifugeerd (1500 g). In de bovenstaande laag bevindt zich de HDL-fractie, deze werd met een pasteurse pipet afgepipetteerd, waarna een cholesterol-bepaling in deze fractie plaats vond (HDL-cholesterol). De precipitatie werd steeds dezelfde dag, of één dag nadat het bloed verkregen was, verricht. In het laatste geval werd het bloed bij 4<sup>0</sup> C bewaard. Aldus bewaren van bloed had tot vier dagen tussen bloedafname en uitvoering van de precipitatie geen invloed op het resultaat van de metingen van het HDL-cholesterol. Indien niet direct na de uitvoering van de precipitatie een cholesterol-bepaling werd verricht, werd het supernatant bij -20<sup>0</sup> C bewaard. Met de door ons gebruikte, hogere eind-concentratie MnCl<sub>2</sub> (91 mM) was het supernatant meestal helder, terwijl ook de precipitatie vollediger is (Albers e.a. 1978). Bij lichte troebeling van het supernatant, werd nogmaals gecentrifugeerd, alvorens de bovenstaande laag af te pipetteren. Overigens beschreven Demacker e.a. (1977) al een goede correlatie tussen de concentratie HDL-cholesterol, verkregen met de ultracentrifuge-methode, en de hierboven beschreven precipitatie-methode bij gebruik van een lagere eind-concentratie MnCl<sub>2</sub> (45 mM).

Bij vijftien patienten (allen uit één dialyse-centrum afkomstig) en zeven gezonden werd tevens een langdurige stimulatie van de lipolytische activiteit teweeggebracht met behulp van een vier uur durende continue infusie van heparine, in essentie uitgevoerd zoals beschreven door Brunzell

e.a.(1975). Na 12 tot 14 uur vasten werd eerst op de bovenbeschreven wijze bloed afgenomen, waarna de continue infusie werd gestart met een intraveneuze injectie van 4000 I.E. heparine, waarna gedurende vier uur met behulp van een infusie-pompje 1500 I.E. heparine per uur intraveneus werden toegediend. Nadat uit een preliminaire studie, waarin alleen de totale lipolytische activiteit van het plasma gemeten werd, gebleken was, dat de piek-activiteit na 30 tot 60 minuten optreedt en aan het einde van de infusie (3 - 4 uur), een plateau wordt bereikt, werd volstaan met bloedafname tijdens de infusie op de tijdstippen  $\frac{1}{2}$ , 1 en 4 uur. Bij de patienten viel de proef samen met een dialyse-zitting, waarbij de vorige dialyse steeds minstens drie, maximaal vijf, dagen geleden was verricht.

Bloed werd opgevangen in EDTA-cupjes (potassium-EDTA, Searle KE/2.5) en bewerkt als hierboven beschreven. Bepaling van de lipolytische activiteit werd uitgevoerd volgens de methode beschreven door Huttunen e.a.(1975) waarbij de LPL-activiteit na precipitatie van de HTGL met behulp van een antilichaam tegen dit lever-lipase (Jansen e.a. 1973) gemeten wordt in een incubatie-medium met een eind-concentratie NaCl van 0.1 M, terwijl de activiteit van het hepatisch enzym wordt bepaald bij een eind-concentratie NaCl van 1.0 M, die sterk remmend werkt op de extrahepatische LPL-activiteit. Alvorens de reactie te starten werd na toevoeging van het monster opnieuw geëmulgeerd. De bepalingen werden steeds in duplo uitgevoerd met medenemen van een standaard-plasma-monster bij elke serie ingezette experimenten. Het standaard-plasma werd verkregen door van een gezond individu (na 12 tot 14 uur vasten) 20 minuten na intraveneuze toediening van 50 tot 100 I.E. heparine per kg lichaamsgewicht, 100 - 150 ml bloed af te nemen, dat direct werd gecentrifugeerd en in kleine porties bij  $-20^{\circ}$  C werd bewaard.

## 5. Resultaten.

In Tabel XII zijn de resultaten samengevat van de bepalingen van cholesterol en TG in plasma en in de HDL-fractie bij gezonden en patienten met een nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse. Bij de patienten is de plasma-TG-concentratie significant verhoogd, maar het plasma-cholesterol-gehalte normaal, hoewel een grotere spreiding bestaat. In de controle-groep noch in de patienten-groep zijn significante verschillen in de

Tabel XII. Concentratie van lipiden (gemiddelde  $\pm$  S.D. in mmol/l) in plasma en in de HDL-fractie in de controle-groep en bij patienten met een nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse

	TG	n	Chol.	n	HDL-TG	n	HDL-chof.	n
vrouwen C	0.76 $\pm$ 0.37	20	5.11 $\pm$ 0.68	13	0.10 $\pm$ 0.06	13	1.50 $\pm$ 0.34	13
vrouwen HD	1.89 $\pm$ 0.99	23	5.04 $\pm$ 1.38	11	0.11 $\pm$ 0.03	4	0.63 $\pm$ 0.15	11
p	<0.001		n.s.		n.s.		<0.001	
mannen C	1.01 $\pm$ 0.41	22	5.41 $\pm$ 0.57	16	0.09 $\pm$ 0.04	14	1.14 $\pm$ 0.32	16
mannen HD	2.21 $\pm$ 1.14	32	5.50 $\pm$ 2.01	13	0.16 $\pm$ 0.04	5	0.54 $\pm$ 0.21	13
p	<0.001		n.s.		<0.01		<0.001	

C = controle-groep

HD = patienten met nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse

diverse lipide-fracties tussen mannen en vrouwen aangetroffen met uitzondering van de concentratie van plasma-TG ( $p < 0.05$ ) bij normalen. Het HDL-TG-gehalte is alleen bij de mannelijke dialyse-patienten significant verhoogd. Bij zowel de mannelijke als de vrouwelijke patienten werd een significante verlaging van de concentratie van HDL-cholesterol gevonden. Hierbij is het normale verschil in concentratie van HDL-cholesterol tussen mannen en vrouwen verdwenen.

De concentratie in het plasma van de vrije vetzuren ( $638 \pm 277$   $\mu\text{aeq/l}$ ,  $n = 34$ ), insuline ( $19 \pm 11$   $\text{mE/l}$ ,  $n = 47$ ) en glucose ( $5.8 \pm 0.9$   $\text{mM}$ ,  $n = 32$ ) waren bij de patienten licht verhoogd of hoog-normaal.

Uit Figuur 5A blijkt duidelijk dat de groep patienten met een nierinsufficiëntie vóór behandeling met haemodialyse (Hfdst. II) de hoogste TG-concentraties heeft. De patienten, behandeld met haemodialyse, hebben een significant lagere TG-concentratie ( $p < 0.025$ ). Dit verschil blijft bestaan ( $p < 0.05$ ) bij vergelijking van de prae-dialyse groep met de nog in het bezit van beide nieren zijnde patienten op dialyse. De laatsten zijn degenen, met de hoogste gemiddelde TG-concentratie binnen de dialyse-groep, hoewel de verschillen tussen de waarden bij dialyse-patienten met en zonder nefrectomie niet significant zijn. In Figuur 5B worden de gemiddelden voor mannen en vrouwen afzonderlijk getoond. De gemiddelde concentratie van plasma-TG is binnen elke groep voor vrouwen lager, doch met uitzondering van de groep normalen niet significant verschillend van die bij mannen. Het insuline-gehalte van het plasma bleek in alle onderzochte groepen tesamen positief gecorreleerd met de nuchtere TG-concentratie ( $r = 0.47$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 47$ ). Op één uitzondering na ontbraken correlaties tussen de lipide-concentraties onderling, zowel bij normalen als bij de patienten: Het HDL-TG-gehalte is bij normale vrouwen positief gecorreleerd met de totale plasma-TG-concentratie ( $r = 0.81$ ,  $p < 0.01$ ,  $n = 13$ ).

Figuur 6 geeft de resultaten weer van de langdurige stimulatie van de lipolytische activiteiten met heparine bij zeven normale individuen en vijftien patienten. Het valt op dat op alle voor metingen gekozen tijdstippen de HTGL-activiteit aanzienlijk groter is dan de LPL-activiteit. De HTGL-activiteit daalt relatief minder sterk tijdens de infusie-periode dan de LPL-activiteit. De vieruurs-waarde, uitgedrukt in procenten van de maximaal bereikte activiteit, bedraagt voor HTGL 77.2% (controles), resp. 81.8% (patienten), daarentegen voor LPL 32.3% (controles), resp. 29.6% (patienten). De patienten hebben een gemiddeld hogere HTGL- en gemiddeld

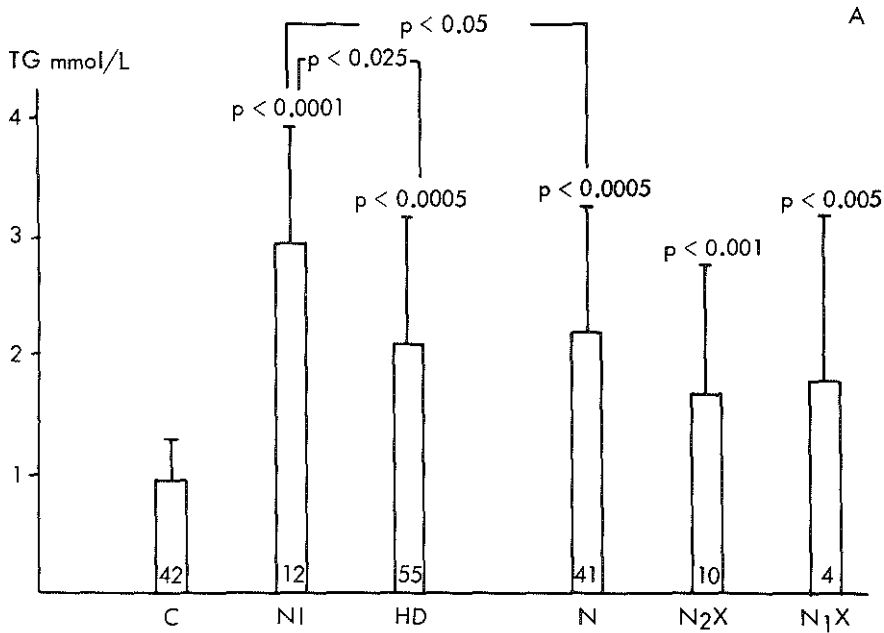


Fig. 5A

Plasma-TG (gemiddelde  $\pm$  S.D.) bij normalen (C), patiënten met nierinsufficiëntie zonder haemodialyse-behandeling (NI) en bij dialyse-patiënten (HD), welke geen (N), een bilaterale (N<sub>2</sub>X) of een unilaterale (N<sub>1</sub>X) nefrectomie hebben ondergaan.

Aan de basis der kolommen vermelde getallen geven het aantal onderzochte personen weer. De p-waarden, direct boven de kolommen vermeld, betreffen het verschil t.o.v. de controle-groep.

Laagere LPL-activiteit, hetgeen duidelijk tot uiting komt in de HTGL-LPL-verhouding tijdens stimulatie: Voor controles achtereenvolgens 1.16, 1.73 en 3.03 voor patiënten 2.35, 2.44 en 6.75. Alleen de LPL-activiteit een half uur na de start van de infusie is bij de patiënten significant verlaagd:  $54 \pm 16$  vs.  $90 \pm 33$   $\mu$ mol FFA/min/l ( $p < 0.025$ ).

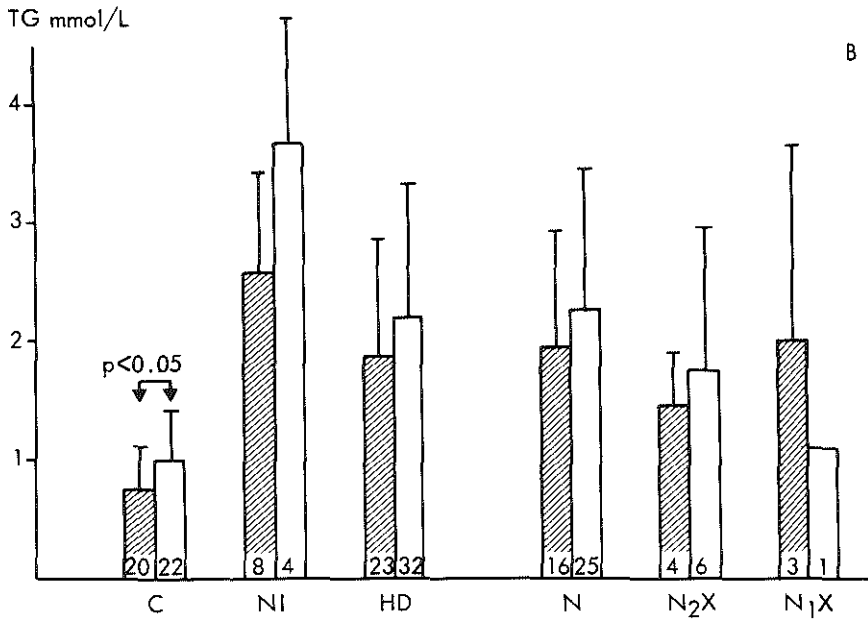


Fig. 5B

Plasma-TG (gemiddelde  $\pm$  S.D.) bij dezelfde groepen als in Fig. 5A weergegeven voor vrouwen (gearceerde kolommen) en mannen afzonderlijk. Alleen bij normalen is het verschil tussen vrouwen en mannen significant.

en 3.03, voor patiënten 2.35, 2.44 en 6.75. Alleen de LPL-activiteit een half uur na de start van de infusie is bij de patiënten significant verlaagd:  $54 \pm 16$  vs.  $90 \pm 33 \mu\text{mol FFA}/\text{min}/\text{l}$  ( $p < 0.05$ ).

Tabel XIII geeft de maximale en 4-uurs(equilibrium)-waarden van de lipolytische activiteiten, gescheiden voor mannelijke en vrouwelijke patiënten. Opvallend is het verdwijnen van het normale verschil in LPL-activiteit tussen vrouwelijke (hoger) en mannelijke patiënten, terwijl dat voor HTGL (bij mannen hoger) behouden is gebleven.

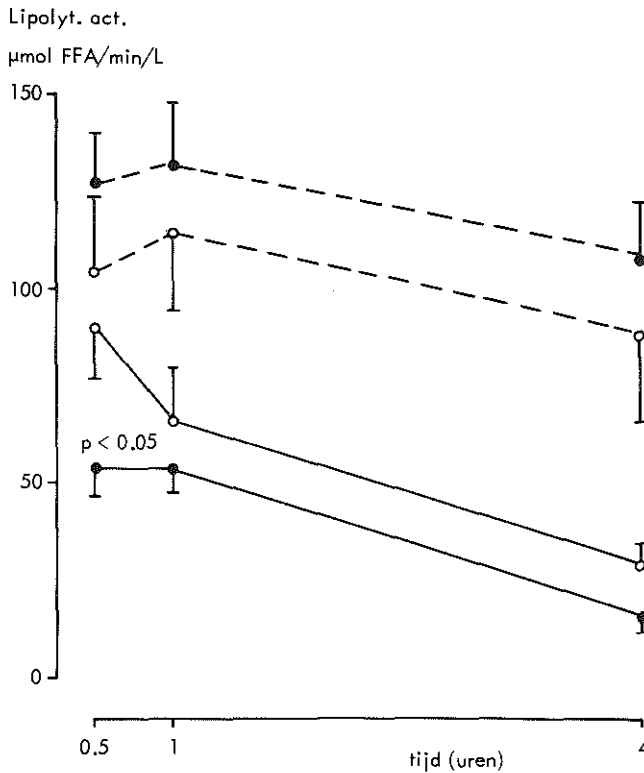


Fig. 6

HTGL- (onderbroken lijn) en LPL-activiteit (getrokken lijn), weergegeven als gemiddelde  $\pm$  S.E.M., bij normale individuen (open symbolen) en dialyse-patienten (gesloten symbolen) tijdens heparine-infusie gedurende 4 uur.

Tabel XIV geeft een samenvatting van de resultaten van de correlatieberekeningen. Er werd een negatieve correlatie tussen de maximale LPL-activiteit en de TG-concentratie gevonden, die bleef bestaan als, onafhankelijk van het al of niet bereiken van een maximum op  $t = \frac{1}{2}$  uur, van de  $\frac{1}{2}$ -uurs waarde de correlatie met de TG-concentratie werd onderzocht ( $r = -0.64$ ,  $p < 0.01$ ). Een dergelijke relatie bestond niet met de HTGL-activiteit. Zowel de maximale activiteit van HTGL als die van LPL, is gecorreleerd met de concentratie HDL-cholesterol, zij het tegengesteld.

Tabel XIII. HTGL- en LPL-activiteit bij gedialyseerde patienten tijdens heparine-stimulatie gedurende 4 uur

Lipolytische activiteit	mannen (n = 8)	vrouwen (n = 7)	p
HTGL maximum	173 ± 54*	95 ± 28	<0.005
equilibrium	135 ± 67	77 ± 16	<0.05
LPL maximum	55 ± 24	65 ± 27	n.s.
equilibrium	17 ± 14	15 ± 10	n.s.

\* gemiddelde waarde ± S.D., in  $\mu\text{mol FFA}/\text{min}/\text{l}$

Tabel XIV. Correlaties tussen de met heparine gestimuleerde lipolytische activiteit en de concentraties van lipiden bij de aanvang van de stimulatie bij dialyse-patienten (n = 15)

LPL max.	vs.	r	p
	plasma-TG	- 0.61	<0.05
	HDL-cho1.	0.52	<0.05
	HTGL max.	- 0.12	n.s.
HTGL max.	vs		
	plasma-TG	0.37	n.s.
	HDL-cho1.	- 0.54	<0.05

Opvallend is, dat voor wat de correlatie met LPL betreft de mannen ( $r = 0.78$ ,  $p < 0.05$ ; vrouwen  $r = 0.16$ ), voor wat betreft de HTGL de vrouwen ( $r = -0.80$ ,  $p < 0.05$ ; mannen  $r = -0.02$ ) verantwoordelijk zijn voor het binnen de hele groep gevonden verband. De vier-uurs-waarden van LPL en HTGL waren niet gecorreleerd met de plasma-TG-concentratie, noch met het HDL-cholesterol-gehalte.



Figuur 7 toont het verband tussen de maximale en de 4-uurs-waarden voor HTGL bij normalen ( $r = 0.83$ ,  $p < 0.05$ ) en patienten ( $r = 0.91$ ,  $p < 0.005$ ). Er bestaat geen verschil in deze relatie tussen beide groepen: Patienten  $y = 0.89x - 14.16$ , normalen  $y = 0.89x - 18.30$ . Een verband tussen deze activiteiten van LPL bestond wel bij patienten ( $r = 0.58$ ,  $p < 0.05$ ), doch niet bij normalen ( $r = 0.45$ ).

Correlaties tussen de beschreven afwijkingen in de plasma-lipiden en de lipolytische activiteiten enerzijds en dieet en duur van de behandeling met dialyse anderzijds, waren niet aanwezig.

## 6. Bespreking van de resultaten.

Ook patienten, lijdende aan een nierinsufficiëntie en behandeld met haemodialyse, hebben vaak een hypertriglyceridaemie. De afwijking is minder uitgesproken dan bij de groep patienten, beschreven in Hoofdstuk II. Wanneer in de literatuur al een vergelijking tussen patienten met en zonder dialyse-behandeling gemaakt wordt, vindt men meestal geen significante verschillen. In drie onderzoeken wordt een significante verhoging van de TG-concentratie in het plasma bij de dialyse-groep beschreven (Bagdade e.a. 1968a, Cohen e.a. 1969, Novarini e.a. 1976). De eerste groep onderzoekers meldt echter in een recente publicatie geen verschil met en zonder dialyse te vinden (Bagdade e.a. 1977).

Hoewel de verschillen in de TG-concentratie in het plasma tussen dialyse-patienten zonder en met bilaterale nefrectomie niet significant waren, is het opvallend dat bij de laatste groep belangrijk minder patienten met hypertriglyceridaemie voorkwamen: 2/10 tegen 21/41. Roodvoets (1974) onderzocht het effect van nefrectomie bij negen patienten door vóór en minstens een week na de operatie het TG-gehalte van het plasma te bepalen. Verschillen werden niet gevonden. Daar het bij zijn onderzoek om TG-concentraties in niet-nuchtere toestand ging, is niet duidelijk welke conclusie hieraan te verbinden is. De eigen bevindingen ten aanzien van een verminderde frequentie van hypertriglyceridaemie na nefrectomie wettigen discussie over remmende substantie(s) van de LPL-synthese en/of "release" afkomstig uit de zieke nier.

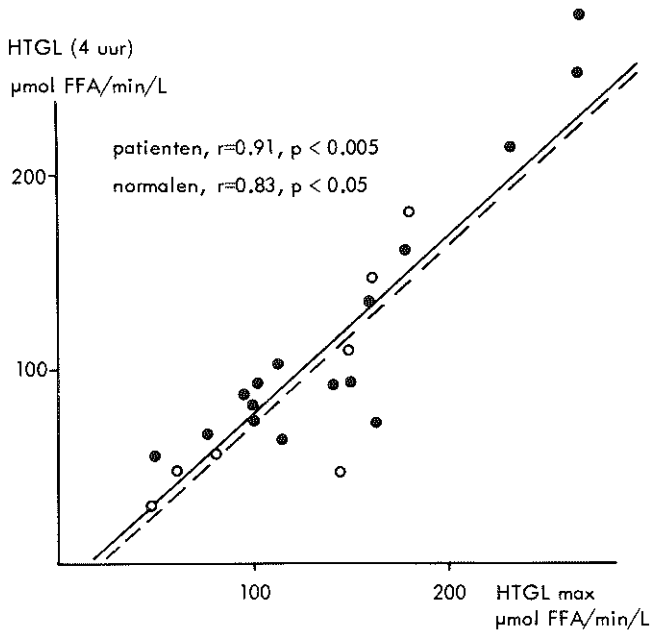


Fig. 7

Correlatie van de maximale HTGL-activiteit met die in de late fase in dialyse-patienten (gesloten symbolen) en normalen (open symbolen). Regressie-vergelijking voor patienten:  $y = 0.89 x - 14.16$ ; regressie-vergelijking voor normalen (onderbroken lijn):  $y = 0.89 x - 18.30$ .

Opvallend is de sterke verlaging van de HDL-cholesterol-concentratie bij mannen zowel als vrouwen, bij overigens gelijkblijvende totale cholesterol-concentraties. Het onder normale omstandigheden aanwezige verschil tussen mannen en vrouwen is verdwenen, of anders gezegd, de daling bij de mannelijke patienten is minder sterk uitgesproken (Fig. 8). Norbeck e.a. (1976) rapporteren hetzelfde fenomeen bij 39 patienten met nierinsufficiëntie, waarvan het merendeel geen behandeling met dialyse onderging, zonder dit te bediscussiëren. Minder waarschijnlijk is, dat dit samenhangt met de

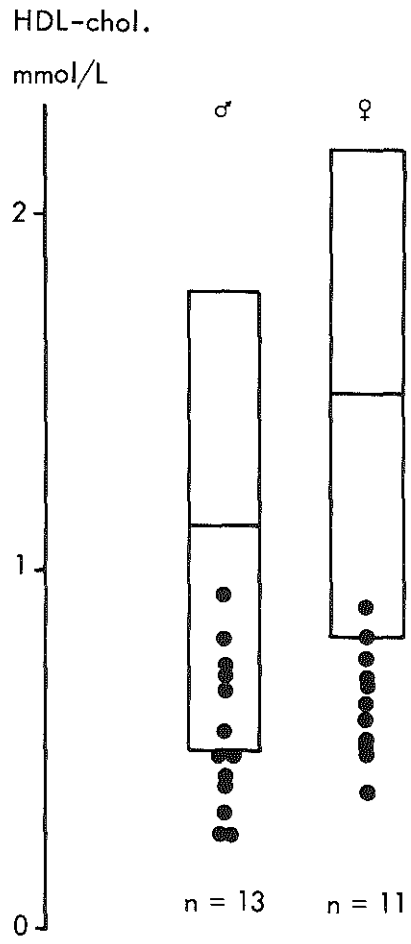


Fig. 8.

Concentratie van HDL-cholesterol bij patiënten met nierinsufficiëntie, behandeld met intermitterende haemodialyse. De rechthoeken geven de normale waarden (gemiddelde  $\pm$  2 S.D.) aan.

bij mannelijke dialyse-patienten gevonden verlaging van de testosteron-concentratie (Lim e.a. 1976, Holdworth e.a. 1977), daar wij geen verschil in HDL-cholesterol-gehalte vonden tussen niet-uraemische mannen met en zonder testosteron-deficientie (Verschoor e.a. 1978b). Een meer voor de hand liggende verklaring is het wegvallen van het verschil in (extra-hepatische) LPL-activiteit tussen mannelijke en vrouwelijke patienten, daar niet alleen in het hier beschreven onderzoek, maar ook elders een positieve correlatie tussen de LPL-activiteit, gemeten als vetweefsel-activiteit (Nikkilä e.a. 1978) of PHLA (Verschoor e.a. 1978c), en het HDL-cholesterol-gehalte van plasma is gevonden.

Het bifasische patroon van de lipolytische activiteit tijdens continue stimulatie met heparine maakt het mogelijk stoornissen in het vrijmaken van het enzym van de endotheelwand (vroeg fase) en in de aanmaak (late fase) te bestuderen (Brunzell e.a. 1975). De vroeg fase van de LPL-activiteit bij de patienten was significant verlaagd in vergelijking met die in de controle-groep. Deze verlaging kan veroorzaakt worden door een stoornis in het vrijmakingsproces zelf (heparine-resistentie, abnormale binding aan de endotheelwand) of door een verkleining van de aan de endotheelwand voor snelle vrijmaking beschikbare LPL-pool. "Dose-response"-onderzoekingen met heparine bij patienten met nierinsufficiëntie zijn, behoudens de door Gutman e.a. (1973) vermelde resultaten met twee doses heparine bij dialyse-patienten, niet verricht. Abnormale binding van LPL aan de vaatwand is theoretisch mogelijk; onderzoek hiernaar is niet verricht. Wel is bekend dat ontwikkeling van atheromen op den duur gepaard gaat met een daling van het heparan-sulfaat- en LPL-gehalte van de vaatwand (Vijayakumar e.a. 1975). Tegen de aanname van een verkleining van de LPL-pool (aan het endotheel), uitsluitend op grond van een afname van de massa van het spier- en vetweefsel bij dialyse-patienten, als verklaring, pleit enigszins dat in de late fase het niveau wel gehandhaafd blijft.

Onze bevindingen zijn in tegenspraak met die van Mordasini e.a. (1977) en Bolzano e.a. (1978). Wij wezen er reeds op dat deze onderzoekers bij patienten met nierinsufficiëntie juist een verlaging van de HTGL-activiteit vonden. Hoewel verschillen in de procedure bestaan (de genoemde onderzoekers gebruikten een éénmalige dosis heparine en pasten alleen bloedafname na 10, resp. 15 minuten toe) lijken deze de discrepantie niet voldoende te verklaren. De suggestie van Mordasini e.a. (1977) dat de door hen

gevonden verlaging van de HTGL-activiteit verklaard zou kunnen worden door een versnelde verdwijning van het enzym uit de circulatie, wordt niet gesteund door het (vrijwel) samenvallen van de curven van de vroege tegen de late HTGL-activiteit bij onze patienten, respectievelijk de door ons onderzochte groep normalen (zie Fig. 7). Een tweede probleem bij vergelijking van beide onderzoeken vormt de door ons gevonden (zie Tab. XIV) negatieve correlatie tussen HTGL en HDL-cholesterol: Het onderzoek van Mordasini e.a. (1977) toont een daling van zowel de HTGL-activiteit als de concentratie HDL-cholesterol.

De bij chronische nierinsufficiëntie beschreven stijging van de verhouding glucagon/insuline (Billbray e.a. 1974) zou, analoog aan de situatie bij vasten en diabetes mellitus, een verlaagde LPL-activiteit kunnen verklaren, ware het niet dat bij vasten en diabetes mellitus primair een verlaging van de synthese van LPL werd vastgesteld (Brunzell e.a. 1975, Pykälistö e.a. 1975), waarvoor bij onze patienten met de gebruikte, uiteraard vrij summiere techniek, geen aanwijzingen zijn gevonden. Zowel de stijging van insuline, als de sterkere stijging van glucagon worden voornamelijk veroorzaakt door een stoornis in de klaring van beide hormonen door de zieke nier (Rabkin e.a. 1970, Emmanouel e.a. 1978).

De relaties, gevonden tussen de lipolytische activiteiten en het HDL-cholesterol-gehalte, berusten naar alle waarschijnlijkheid op de interrelaties van aanmaak en afbraak van VLDL resp. HDL: Versnelde afbraak van VLDL (of chylomicronen) al of niet onder invloed van heparine-toediening geeft een stijging in de concentratie van HDL (LaRosa e.a. 1971, Homma en Nestel 1975, Nikkilä e.a. 1978).

## 7. Conclusies.

1. Bij de met chronische, intermitterende haemodialyse behandelde patienten met nierinsufficiëntie komt in de helft der gevallen een hypertriglyceridaemie voor, hetgeen inhoudt dat de frequentie van voorkomen lager is dan bij de door ons bestudeerde patienten met nierinsufficiëntie zonder dialyse. Tevens is bij de eerste groep patienten de hypertriglyceridaemie minder uitgesproken. Het cholesterol-gehalte van het plasma is meestal normaal.

Het vrije vetzuur-gehalte in het plasma varieert van normaal tot licht verhoogd.

Hoewel geen significant verschil in groeps-gemiddelden voor plasma-TG bestond, bleek hypertriglyceridaemie bij dialyse-patienten met uni- of bilaterale nefrectomie minder vaak voor te komen dan bij patienten zonder nefrectomie.

2. De concentratie van HDL-cholesterol is zowel bij vrouwelijke als bij mannelijke patienten significant verlaagd ten opzichte van de groep normalen en wel zodanig, dat geen verschil meer tussen het niveau bij vrouwelijke en mannelijke patienten bestaat. Tegengestelde correlaties met lipolytische activiteit werden gevonden: Een positieve met de LPL-activiteit bij mannen, een negatieve correlatie met de HTGL-activiteit bij vrouwen.
3. Bij onderzoek met behulp van heparine-infusie was alleen de LPL-activiteit in de vroege fase bij de patienten significant verlaagd. Heparine-resistentie van de LPL-release van het endotheel of verkleining van de LPL-pool aan het endotheel worden gesuggereerd.
4. De insuline-concentratie in het plasma van de patienten varieert van normaal tot licht verhoogd en is positief gecorreleerd met de TG-concentratie in nuchtere toestand. Relaties van het insuline-gehalte met de lipolytische activiteiten tijdens continue stimulatie met heparine zijn bij de patienten, noch de normalen, gevonden.
5. Dieet noch duur van de intermitterende behandeling met dialyse hielden verband met de bovenbeschreven afwijkingen in de stofwisseling van plasma-lipiden.

## HOOFDSTUK IV.

### ONDERZOEK NAAR DE LIPOPROTEINE LIPASE REMMENDE ACTIVITEIT IN HET PLASMA VAN PATIENTEN MET EEN CHRONISCHE NIERINSUFFICIENTIE, BEHANDELD MET HAEMODIALYSE.

#### 1. Literatuurgegevens.

PHLA-metingen worden niet alleen beïnvloed door voedselopname en concentraties van bepaalde hormonen, maar tevens door andere in de circulatie aanwezige activerende en remmende substanties. Werd aanvankelijk de nadruk gelegd op remming (Anfinsen e.a. 1952, Nikkilä 1953), dit veranderde met het onderzoek van Korn (1955a, b), die tevens aantoonde dat een component van de  $\alpha$ -lipoproteïne-fractie verantwoordelijk is voor het activerend effect van plasma.

Ook in de kliniek, waar juist de "diet-heart era"<sup>\*)</sup> aanving, bestond rond 1950 belangstelling voor dit probleem, getuige de vele onderzoeken over een verminderde "clearing factor activity" bij patienten met klinische verschijnselen van atherosclerose (Block e.a. 1951, Oliver en Boyd 1953, Mitchell 1959a en Slack e.a. 1964). Op grond van dierproeven, bovenstaande verminderde "clearing factor activity" en de gunstige werking van heparine op angina pectoris (Graham e.a. 1951), heeft heparine enige tijd deze behandelings-indicatie gekend. Hoewel Angervall en Hood (1957) geen verschil in "clearing factor activity" tussen normalen en patienten met atherosclerose konden aantonen, werd wel een grotere mate van remming door plasma van de laatsten waargenomen. Tevens toonden de auteurs aan dat bij toevoeging van toenemende hoeveelheden normaal plasma aanvankelijk een activatie, later een remming van de "clearing" optreedt (gemeten aan veranderingen in optische dichtheid van een mengsel bestaande uit room en "clearing factor" bereid uit post-heparine plasma). Volgens Mitchell (1959b) zou de remmende activiteit in de thrombocyten-fractie aanwezig zijn, terwijl Hollett en Nestel (1960) remmende activiteit zowel in de

---

<sup>\*)</sup> term ontleend aan G.V.Mann, Current Concepts: Diet-Heart: End of an Era. N. Engl. J. Med. 297: 644, 1977.

thrombocyten alsook in het plasma konden aantonen. Onlangs is de groep van Schotz op dit probleem teruggekomen (Song e.a. 1974, Nilsson-Ehle e.a. 1975): Zij stelden vast dat thrombocyten geen effect of een geringe activerende werking op LPL uitoefenen afhankelijk van het gekozen substraat.

Een tweede aanleiding tot belangstelling vanuit de kliniek voor remming van LPL vormde het optreden van dit verschijnsel bij pancreatitis (Kessler e.a. 1962, 1963, Hulsmans e.a. 1971, Prokofowicz en Gabryelewicz 1973). Gång e.a. (1976, 1977) toonden bij een verscheidenheid van acute en chronische ontstekingsprocessen en bij nierinsufficiëntie aan, dat de post-heparine activiteit van LPL en histaminase (diamine-oxidase, DAO) geremd zijn, terwijl de activiteiten van beide enzymen gecorreleerd bleken te zijn.

Vijftien jaar nadat Korn (1955a, b) soortgelijke bevindingen deed toonden twee groepen onderzoekers (Havel e.a. 1970, LaRosa e.a. 1970) aan, dat een specifiek apoproteïne uit de VLDL-fractie (ook aanwezig in chylomicronen en de HDL-fractie) verantwoordelijk is voor de activatie van LPL door plasma: apo-LP-Glu of apo-CII<sup>\*</sup>). Gelijktijdig werd voor apo-CIII een geringe stimulatie van lage en een remmende werking bij hogere concentraties vastgesteld (Havel e.a. 1970). Brown en Baginsky (1972) schrijven het stimulerend effect van lage concentraties apo-CIII toe aan een verontreiniging met apo-CII. Chung en Scanu (1974) komen eveneens tot de conclusie dat apo-CII activerend en apo-CIII remmend werkt op de LPL-activiteit. Tenslotte vonden Ganesan e.a. (1971) ook nog activatie van LPL door apo-CI, maar dit kon door Havel e.a. (1973) niet worden bevestigd. Latere onderzoeken maken aannemelijk dat een deel van de tegenstrijdige resultaten verklaard kan worden door de omstandigheden waaronder de experimenten verricht zijn.

---

<sup>\*</sup>) Aanvankelijk zijn drie benoemings-systemen voor apolipoproteïnen gehanteerd: Benoeming naar het COOH-eindstandige aminozuur (Brown e.a. 1969), benoeming naar de dichtheid bij ultracentrifugeren (Scanu en Ritter 1973) en het thans algemeen gevolgde, op immunoprecipitatie berustende, systeem van alfabetische benoeming der apolipoproteïnen-families met onderverdeling door toegevoegde romeinse cijfers (Alaupovic 1971), hetgeen overigens op het onjuiste concept, dat elke soort lipoproteïne-partikel een constante samenstelling heeft, gebaseerd is.



Brown en Baginsky (1974) toonden aan dat bij stijgende substraat-concentraties de remming door apo-CIII te niet wordt gedaan, terwijl Ostlund-Lindquist en Iverius (1975) lieten zien, dat activatie van LPL door apo-CII bij constante substraat-concentratie dosis-afhankelijk is met een duidelijk optimum, omgekeerd bestond eveneens een optimale substraat-concentratie bij constant gehalte apo-CII.

Als illustratie van deze ontwikkeling kan de beschrijving van het ontbreken van een response van de PHLA als gevolg van afwezigheid van apo-CII bij een patient met hypertriglyceridaemie worden gezien (Breckenridge e.a. 1978).

Het vóórkomen van zowel remmende als activerende substanties in het plasma heeft tot gevolg gehad, dat voor zo nauwkeurig mogelijke PHLA-metingen steeds kleinere eindvolumina werden gebruikt. In de tweede plaats heeft het geleid tot de ontwikkeling van methoden om de "netto" LPL-activerende, c.q. -remmende activiteit van plasma te meten (Murase e.a. 1975, Chu e.a. 1976, Rogers e.a. 1976a, b, Cryer en Jones 1978).

In het verleden zijn diverse pogingen ondernomen een normale dan wel abnormale hoeveelheid PHLA bij uraemici aan te tonen (zie Tab. XI, Hfdst. III). Alleen Boyer e.a. (1970) slaagden er met mengproeven in remmende activiteit bij deze categorie patienten aan te tonen. De mate van remming was echter zeer uiteenlopend, terwijl geen correlatie met de TG-concentratie of de eigen PHLA bestond. Murase e.a. (1975) gebruikten een maximaal geactiveerd LPL, afkomstig uit vetweefsel van ratten, ter bestudering van remmende activiteit van plasma. De maximale activatie werd met plasma (0.1 ml) van patienten (n = 5) zowel als van gezonden (n = 5) bereikt. Toevoeging van meer plasma (0.4 ml) van patienten gaf, in tegenstelling tot bij gebruik van plasma van normalen een sterke remming van de LPL-activiteit. De auteurs hebben niet kunnen aantonen dat deze remming gecorreleerd is met de TG-concentratie in nuchtere toestand. Een gering deel van de remmende activiteit was dialyseerbaar. Werd plasma gescheiden in een lipoproteïne-bevattende en een lipoproteïne-vrije fractie, dan bleek het verschil in remming tussen patienten en gezonden voornamelijk in de laatstgenoemde fractie aanwezig. Mogelijk gaat het hier slechts om een kwantitatief verschil gezien de dosis-effect-gegevens. De gegevens van Murase e.a. (1975) wijzen erop dat het een eiwit is.

Een stof die ook een rol zou kunnen spelen is het methylguanidine,

een "uraemisch toxine" (Giovannetti e.a. 1973), waarvan is aangetoond dat het in het dierexperiment een hypertriglyceridaemie veroorzaakt (Balestri e.a. 1970), terwijl Gäng e.a. (1976, 1977) aantoonde dat methylguanidine histaminase remt, een enzym dat evenals LPL door heparine geactiveerd wordt en verlaagd is bij patiënten met een nierinsufficiëntie.

Onlangs zijn ook de z.g. "middle molecules" (stoffen die zich in het bloed van uraemische patiënten ophopen met een molecuulgewicht variërend van 10.000 - 60.000, waardoor zij bij de gangbare dialyse niet verwijderd worden) als factor in de pathogenese van de hypertriglyceridaemie bij nierinsufficiëntie genoemd (Bergström en Fürst 1978). Preliminair resultaten met haemofiltratie (een dialyse-techniek waarbij de "middle molecules" wel verwijderd worden) bracht bij enkele patiënten, tevoren met haemodialyse behandeld, een verlaging van de TG-concentratie teweeg (Henderson 1978).

Het feit dat Murase en medewerkers (1975) geen verschil in remming tussen normaal en "uraemisch" plasma zagen bij gebruik van de lipoproteïne-bevattende fractie, maakt het minder waarschijnlijk, dat een veranderde samenstelling van apoproteïnen verantwoordelijk is voor de LPL-remmende activiteit van het plasma van patiënten met nierinsufficiëntie.

## 2. Vraagstelling.

Eén van de mogelijkheden ter verklaring van de bij patiënten met nierinsufficiëntie gevonden verlaging van de LPL-activiteit, is het bij deze patiënten (meer) in het plasma voorkomen van een stof, die dit enzym remt. Gezien de resultaten verkregen door Murase e.a. (1975) door meting in een maximaal geactiveerd enzym-substraat-systeem, werd dezelfde proefopzet in onze experimenten toegepast.

De belangrijkste vragen, die wij op deze wijze hoopten op te lossen, luiden:

1. Is er een verschil in LPL-remmende activiteit van het plasma van patiënten met een nierinsufficiëntie, behandeld met intermitterende haemodialyse, resp. van gezonden? Om praktische redenen, het niet vaak en in de tijd zeer gespreide voorkomen, werden patiënten met een ernstige nierinsufficiëntie, die (nog) niet behandeld werden met haemodialyse, niet in het onderzoek betrokken.

2. Is de concentratie van TG in plasma gecorreleerd met de mate van eventuele remming ?

### 3. Methodiek.

Tien patienten (vier vrouwen en zes mannen) met nierinsufficiëntie, die reeds geruime tijd met intermitterende haemodialyse waren behandeld, werden vergeleken met vijf gezonde vrouwen en vijf gezonde mannen (controle-groep). Op grond van het verschil in resultaten verkregen bij de controle-groep in vergelijking met die van Murase e.a. (1975), werden zowel de normale individuen als de patienten na een half jaar opnieuw onderzocht. Hierdoor was het verloop van het onderzoek in de tijd als volgt: Eerste onderzoek normalen in de winter, daarop volgende zomer tweede onderzoek bij normalen en eerste onderzoek patienten, de daarop volgende winter werden de patienten voor de tweede maal onderzocht. In de controle-groep werd één persoon (nr. 6) alleen de eerste maal onderzocht. Bij zeven van de tien patienten kon het onderzoek worden herhaald. Eén persoon uit de controle-groep (nr. 5) bleek bij het eerste onderzoek een marginaal verhoogde TG-concentratie te hebben (2.02 mmol/l), dat bij herhaling van het onderzoek gestegen bleek te zijn tot 3.06 mmol/l.

Na twaalf tot veertien uur vasten werd veneus bloed afgenomen voor de bepaling van de concentraties TG, vrije vetzuren en insuline in het plasma, terwijl enkele ml plasma direct werden gecentrifugeerd om of dezelfde dag of enkele dagen later op LPL-remmende activiteit te worden onderzocht. In het laatste geval werd het plasma bij  $-20^{\circ}$  C bewaard. Bij de patienten viel het tijdstip van bloedafname steeds direct vóór een nieuwe dialyse-zitting, zodat de voorgaande behandeling drie tot vier dagen tevoren had plaats gevonden.

Teneinde de resultaten uit de drie bovengenoemde onderzoeksperioden te kunnen vergelijken werd in elke serie experimenten het gedrag van gedialyseerd pool-plasma, afkomstig van de bloedtransfusiedienst (drie verschillende batches), ten aanzien van het LPL-remmend effect nagegaan (Fig. 9). Om onze gegevens met die in de literatuur te kunnen vergelijken, werden de methoden van Murase e.a. (1975) op de voet gevolgd. Op de door Salaman en Robinson (1966) beschreven wijze werd met behulp van aceton-aether LPL geëxtraheerd uit epididymaal vetweefsel van Wistar-ratten. Meting van de

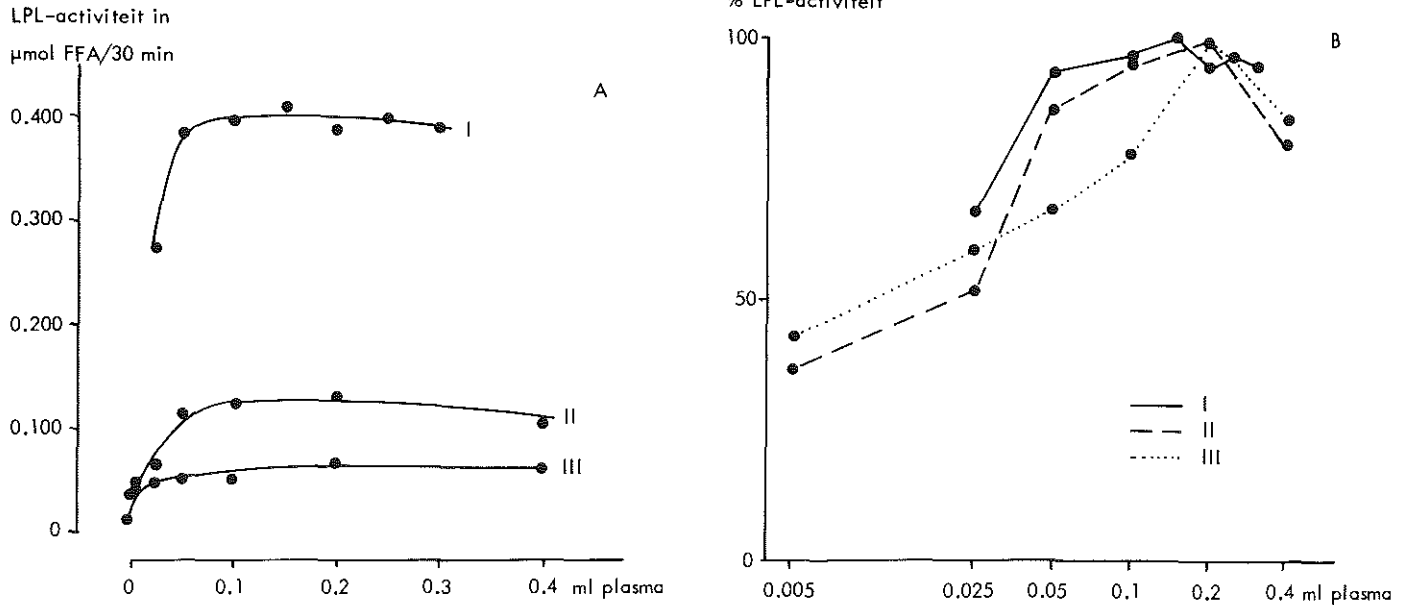


Fig. 9

Effect van toenemende hoeveelheden gedialyseerd "pool"-plasma (bloedtransfusiedienst, batch I, II en III) op de lipolytische activiteit van 3 mg enzym-preparaat (zie tekst) bij incubatie gedurende 30 minuten. De bepalingen vonden elk met een half jaar tussenpoze plaats. Het effect is weergegeven in absolute (A) en relatieve zin (B). In het laatste geval werd voor de x-as een logarithmische schaal gebruikt. De maximaal gemeten LPL-activiteit werd op 100% gesteld.

LPL-activiteit vond plaats in een totaal volume van 1.0 ml, als volgt samengesteld: 0.4 ml substraat, 0.4 ml of minder plasma waarbij het volume dan werd aangevuld tot 0.8 ml met 4 % boviene serum albumine (BSA) in 0.2 M tris-HCl buffer (pH 7.4) en 0.2 ml (3 mg) enzymextract. Alvorens de reactie te starten werd opnieuw geëmulgeerd. Het substraat had de volgende samenstelling: 1  $\mu$ Ci glycerol-trioleaat -1-<sup>14</sup>C, 0.133 g glycerol-trioleaat, 0.9 ml van een 1 %-oplossing Triton X-100, 0.9 ml van een 4 %-oplossing boviene serum albumine (BSA, pH 8.6) en 10.2 ml 0.2 M tris-HCl buffer (pH 8.6). Geëmulgeerd werd bij 0<sup>o</sup> C met ultrageluid (3 minuten, 75 kHz). Nadat de eigenschappen van dit systeem (Fig. 10) vergelijkbaar bleken met die van de oorspronkelijk beschreven opzet werd steeds gedurende 30 minuten bij 37<sup>o</sup> C geïncubeerd, terwijl steeds gebruik gemaakt werd van 3 mg vetweefselextract als enzympreparaat.

Daar het ons in de eerste plaats ging om de vraag of er verschillen in LPL-remmende activiteit bestonden in beide onderzochte groepen, en zo ja, of de gevonden mate van remming een correlatie met de TG-concentratie vertoont, werd vooralsnog geen poging ondernomen de remmende activiteit nader te identificeren.

#### 4. Resultaten.

De per individu verkregen resultaten van de LPL-bepaling bij toevoeging van opklimmende hoeveelheden plasma zijn weergegeven in de Figuren 11 t/m 14. Bij de onderzochte normalen is, met uitzondering van één vrouw en één man (nr. 10 en nr. 5) in de winter en één man (nr. 4) in de zomer, te spreken van een min of meer typisch "winter"- en "zomer"-patroon, waarbij in de zomer met 0.05 tot 0.1 ml plasma reeds een sterke remming optreedt. Opvallend is de uniformiteit in het patroon van de curves bij de patienten, vrouwelijke en mannelijke, zowel bij vergelijking onderling (Fig. 13 en 14), als bij vergelijking van de resultaten verkregen in zomer en winter (Fig. 15). Het bij normalen gevonden "zomer"-patroon lijkt veel op dat, gevonden bij patienten, zij het dat de curven in het eerste geval naar links verschoven zijn en na maximale remming weer activatie vertonen, zodat zowel 's zomers als 's winters bij toevoeging van de grootste hoeveelheid plasma (0.4 ml) een significant grotere remming van de LPL-activiteit

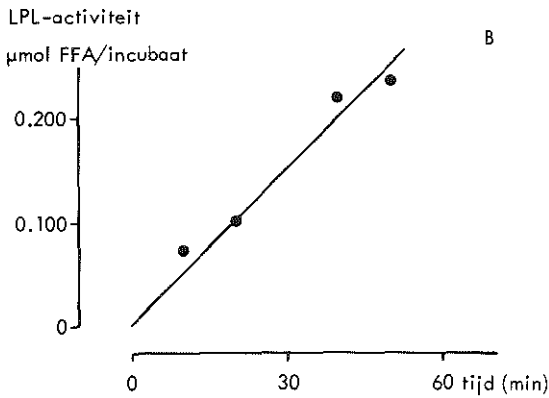
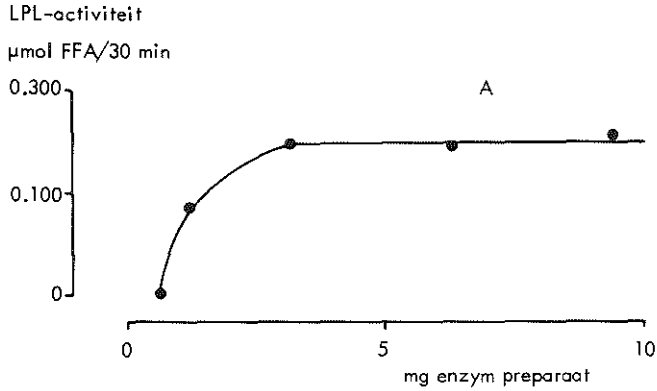


Fig. 10.

Eigenschappen van het in navolging van Murase e.a. (1975) gebruikte enzym-substraat-systeem.

- A. Het effect van toenemende hoeveelheden enzympreparaat bij toevoeging van 0.1 ml gedialyseerd normaal plasma en 30 minuten incubatie, op de lipolytische activiteit.
- B. Het effect van de incubatieduur op de lipolytische activiteit van een constante hoeveelheid enzympreparaat (3 mg) in aanwezigheid van 0.1 ml gedialyseerd normaal plasma.

bij patienten dan bij normalen wordt gevonden. Deze remming bedroeg bij normalen  $19 \pm 12\%$  (gemiddelde  $\pm$  S.D.) in de winter en  $40 \pm 15\%$  in de zomer, terwijl deze bij de patienten  $84 \pm 8\%$ , respectievelijk  $72 \pm 20\%$  bedroeg. Zowel in de winter ( $p < 0.025$ ) als in de zomer ( $p < 0.025^*$ ) hadden de patienten een hogere TG-concentratie dan normaal. In de zomer ( $p < 0.005$ ) en in de winter ( $p < 0.005$ ) hadden de patienten lagere concentraties vrije vetzuren in het plasma dan normaal, waarbij geen seizoenverschil werd gezien. Dit staat in tegenstelling tot bij de normalen die in de winter significant ( $p < 0.05$ ) hogere concentraties vrije vetzuren in het plasma hadden. De concentratie insuline in het plasma van patienten was in beide seizoenen hoger dan normaal, doch alleen het verschil in de zomer bleek significant ( $p < 0.05$ ). Al deze waarnemingen zijn samengevat in Fig. 16. Bij de patienten werden ook bepalingen van totaal plasma-cholesterol en van cholesterol in de HDL-fractie verricht. Seizoenverschillen werden niet gevonden. Het HDL-cholesterol-gehalte was duidelijk verlaagd (vgl. Hfdst. III).

De mate van remming van de LPL-activiteit bij toevoeging van 0.4 ml plasma van patienten en normalen vertoont geen correlatie met het gehalte aan vrije vetzuren en insuline in het plasma, bij patienten evenmin met de TG-concentratie, terwijl de laatste correlatie wel bestond bij normalen ( $r = 0.56$ ,  $p < 0.05$ ; Fig. 17). Er bestaat geen verschil in remming bij toevoeging van 0.4 ml plasma bij patienten met een normotriglyceridaemie en die met een hypertriglyceridaemie:  $76 \pm 18\%$ , respectievelijk  $80 \pm 14\%$ . Bij de patienten werd evenmin een correlatie gevonden van deze remming met het plasma-cholesterol of HDL-cholesterol.

Noch bij patienten noch bij normalen werden correlaties gevonden tussen de concentraties van TG en vrije vetzuren in het plasma, tussen insuline en vrije vetzuren en tussen TG en insuline.

---

\* wanneer in de controle-groep nr. 5 niet werd meegenomen.

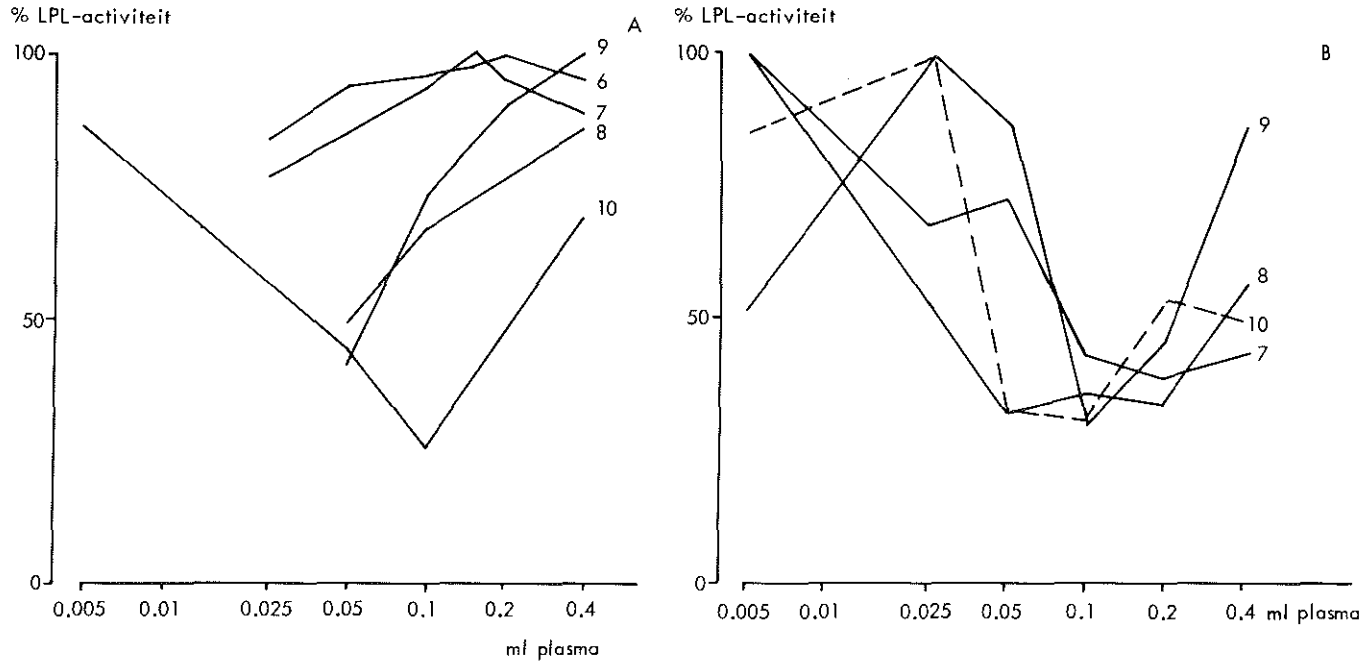


Fig. 11

Individuele resultaten van toevoeging van opklimmende hoeveelheden plasma aan het enzym-substraat-systeem bij gezonde vrouwen in de winter (A) en de zomer (B). De toegevoegde hoeveelheden plasma zijn op een log-schaal weergegeven.



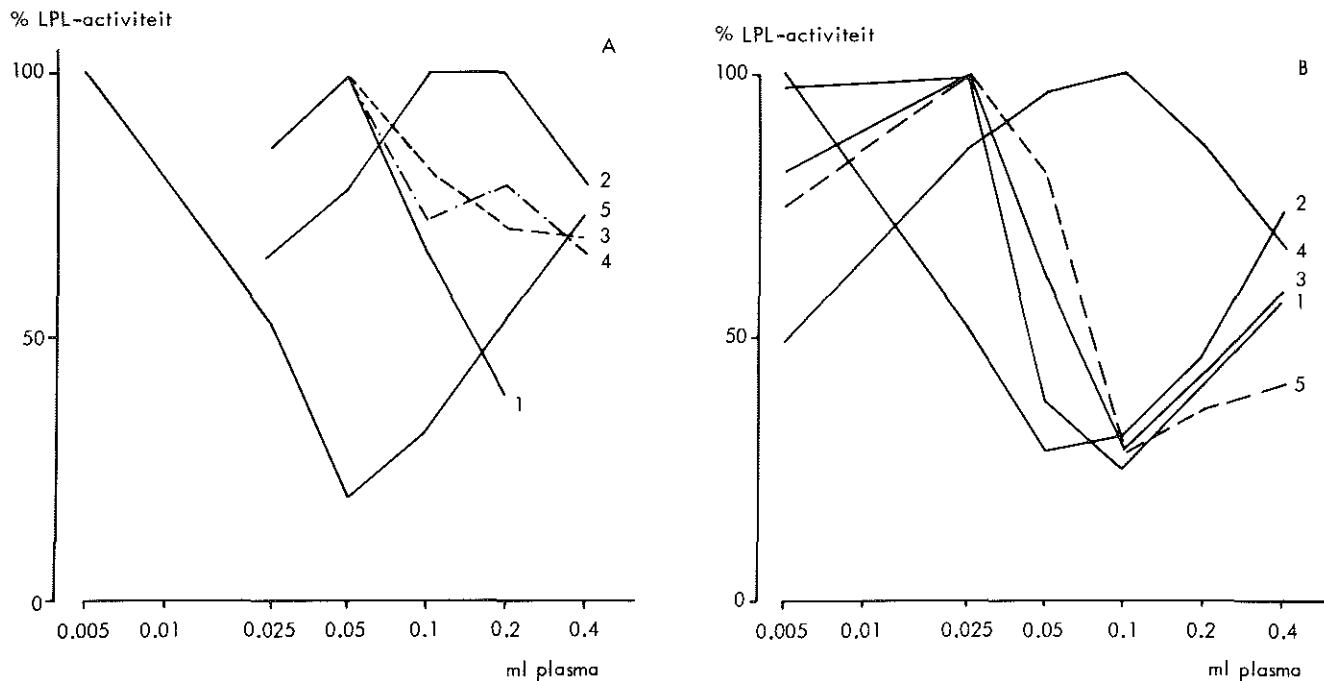


Fig. 12

Individuele resultaten van toevoeging van opklimmende hoeveelheden plasma aan het enzym-substraat-systeem bij gezonde mannen. Nr. 5 bleek in de winter een marginaal en in de zomer een duidelijk verhoogde TG-concentratie te hebben. A = winter, B = zomer.

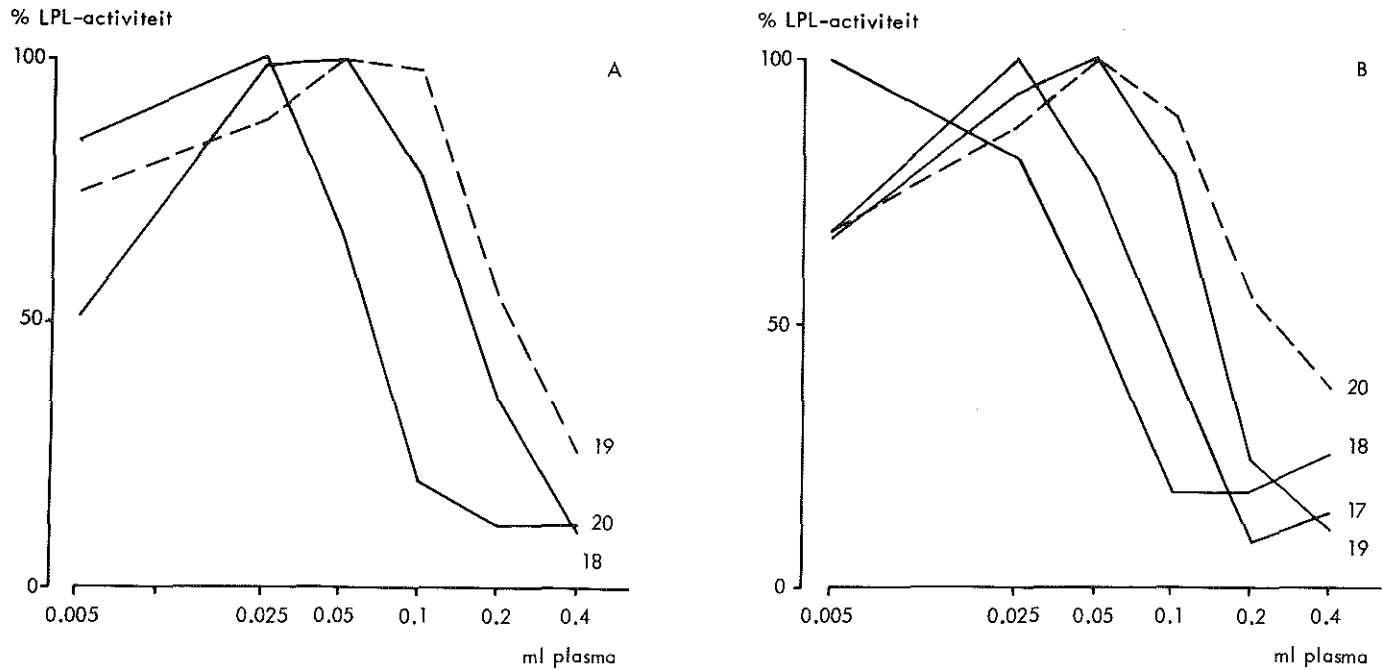


Fig. 13

Individuele resultaten van toevoeging van opklimmende hoeveelheden plasma aan het enzym-substraat-systeem bij vrouwelijke patienten met chronische nierinsufficiëntie. A = winter, B = zomer.

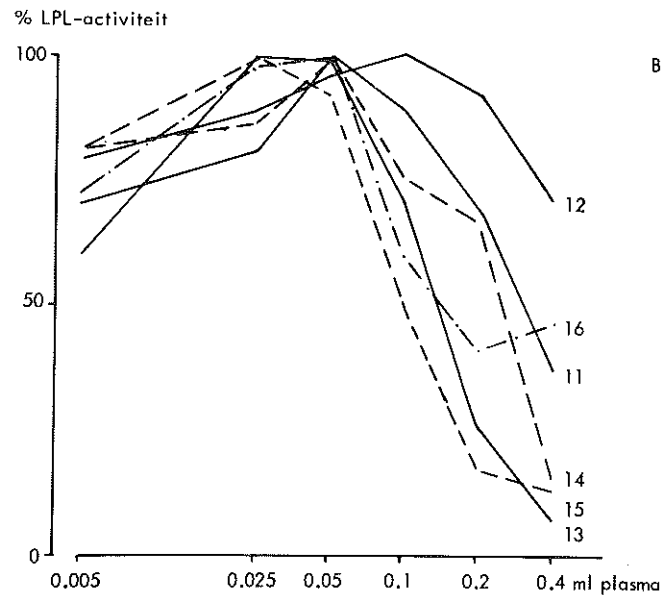
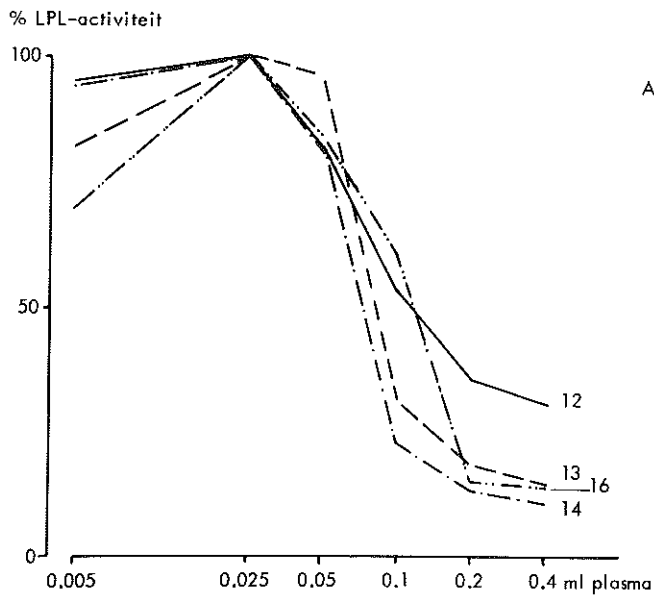


Fig. 14

Individuele resultaten van toevoeging van opklimmende hoeveelheden plasma aan het enzym-substraat-systeem bij mannelijke patiënten met chronische nierinsufficiëntie. A = winter, B = zomer.

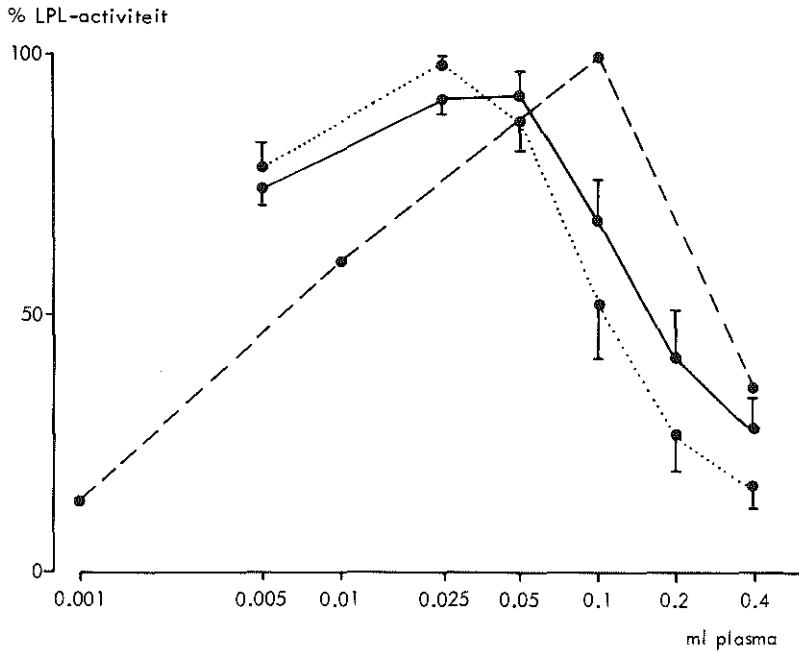


Fig. 15.

Effect van toenemende hoeveelheden plasma van patiënten met chronische nierinsufficiëntie (gemiddelde  $\pm$  S.E.M.) in de zomer (getrokken lijn) en in de winter (gestippelde lijn). Ter vergelijking zijn de gemiddelde resultaten bij patiënten (n = 5), beschreven door Murase e.a. (1975), eveneens weergegeven (onderbroken lijn).

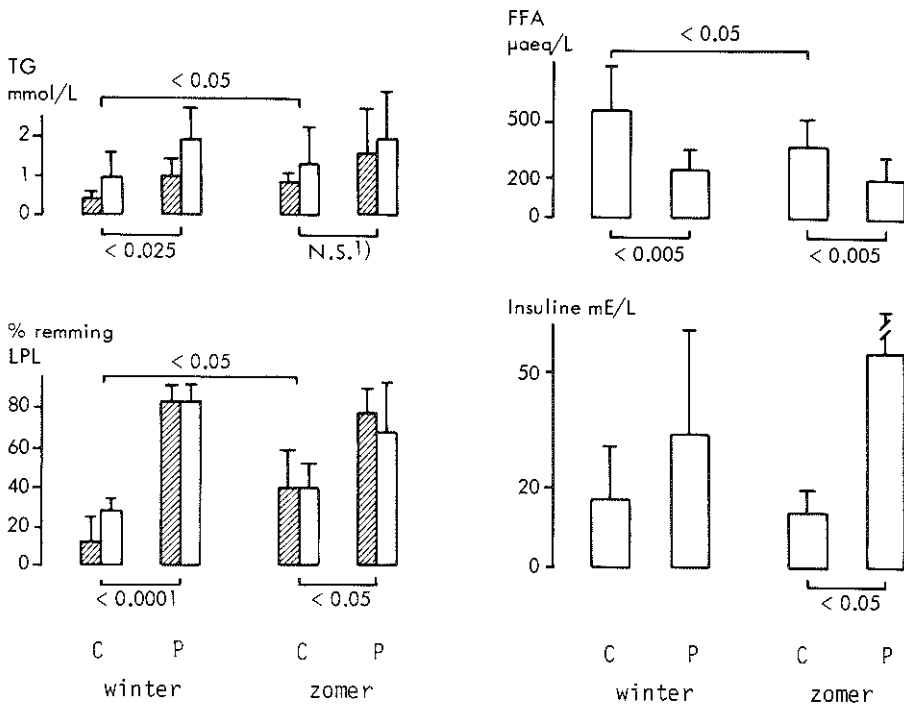


Fig. 16

Overzicht van de resultaten (gemiddelde  $\pm$  S.D.) verkregen bij normalen (C) en patienten (P) in de winter en in de zomer. Smalle kolommen geven de resultaten van vrouwen (gearceerd) en mannen afzonderlijk weer, brede kolommen de resultaten van vrouwen en mannen tezamen.

1) Indien nr. 5 uit de controle-groep wordt weggeleten:  $p < 0.025$ .

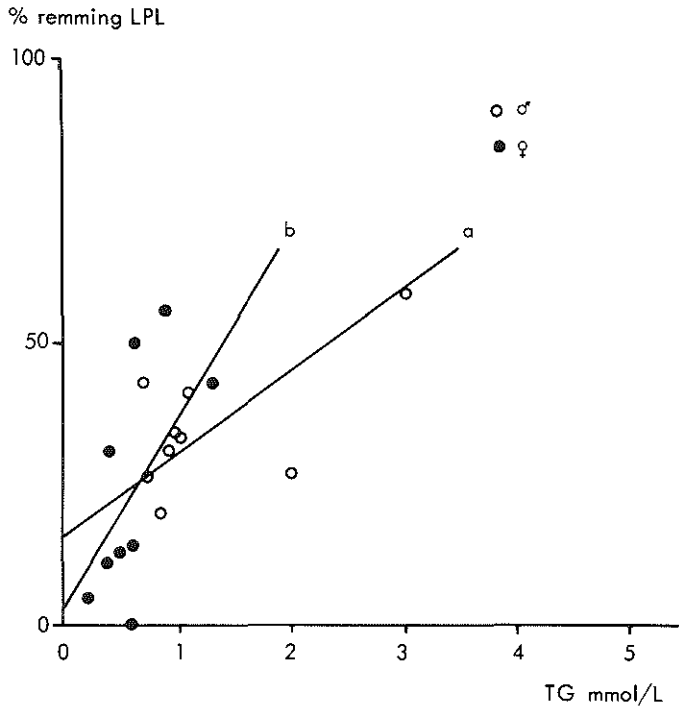


Fig. 17.

Het verband tussen de concentratie van TG in nuchtere toestand en de mate van remming bij toevoeging van de maximale hoeveelheid plasma (0.4 ml) van normale vrouwen (gesloten symbolen) en mannen (open symbolen).

a = regressielijn berekend m.b.v. alle punten:  $y = 14.33 x + 16.28$ ;  
 $r = 0.56$ ,  $p < 0.05$ .

b = regressielijn berekend zonder de waarnemingen bij nr. 5:  $y = 33.44 x + 3.22$ ;  $r = 0.61$ ,  $p < 0.01$ .

## 5. Bespreking van de resultaten.

De invloed van toenemende hoeveelheden plasma van normalen op de LPL-activiteit in het beschreven enzym-substraat-systeem blijkt een "zomer"- en een "winter"-patroon te hebben. In de zomer vertonen acht van de negen onderzochte personen een "zomer"- en één een "winter"-patroon, terwijl in

de winter acht van de tien normalen een "winter"- en twee een "zomer"-patroon vertonen (Fig. 18). Theoretisch bestaan nu twee mogelijkheden: of er bestaan twee seizoen-gebonden patronen, of er zijn twee niet-seizoen-gebonden patronen, waarbij seizoen-gebondenheid bij toeval wordt gesuggereerd door het betrekkelijk geringe aantal waarnemingen. Gezien de afhankelijkheid van de LPL-stimulatie van de substraat-concentratie en van de hoeveelheid remmende, c.q. activerende stof (Ostlund-Lindquist en Iverius 1975, Brown en Baginsky 1974) kan het verschil in deze twee grondpatronen samenhangen met wisselingen in één of meer der voornoemde concentraties. Inderdaad werd in de zomer een significant hogere TG-concentratie bij normalen vastgesteld en bleek de mate van remming bij toevoeging van 0.4 ml plasma positief gecorreleerd met de TG-concentratie. Op grond hiervan achten wij de eerstgenoemde mogelijkheid het meest waarschijnlijk.

Deze voorstelling van zaken past bij de in de patienten-groep verkregen resultaten. In zomer en winter wordt eenzelfde grondpatroon gevonden: een naar rechts verschoven "zomer"-patroon (zie m.n. de curves van nr. 16, 17 en 18 in Fig. 13B en 14B). Er zijn ook geen verschillen in de TG-concentratie in zomer en winter.

Bij patienten met en zonder hypertriglyceridaemie treedt eenzelfde mate van remming op bij toevoeging van 0.4 ml plasma en er bestaat geen correlatie tussen deze remming en de concentratie van TG in plasma, zodat de significant sterkere remming van de LPL-activiteit dan die gevonden bij normalen geen belangrijke rol lijkt te spelen bij het tot stand komen van de hypertriglyceridaemie in deze patientengroep.

In het licht van de bevindingen van Murase e.a. (1975) lijkt het verder minder waarschijnlijk, dat de sterkere remming dan normaal berust op een veranderde samenstelling van de (apo)lipoproteïnen bij deze patienten. Zij vonden immers dat het verschil in remming van de LPL-activiteit bij normalen en patienten juist voornamelijk in de lipoproteïne-vrije fractie van het plasma voorkomt (zie par. 1). Evenals deze onderzoekers vinden wij een significant sterkere remming bij dialyse-patienten dan bij normalen bij toevoeging van 0.4 ml plasma aan het enzym-substraat-systeem. Vergelijking van onze resultaten met die van hen bij normalen, zou erop kunnen duiden dat Murase e.a. (1975) hun vijf normale proefpersonen in de winter hebben onderzocht.

Bij onze patienten is een significant verlaagd gehalte aan vrije vet-

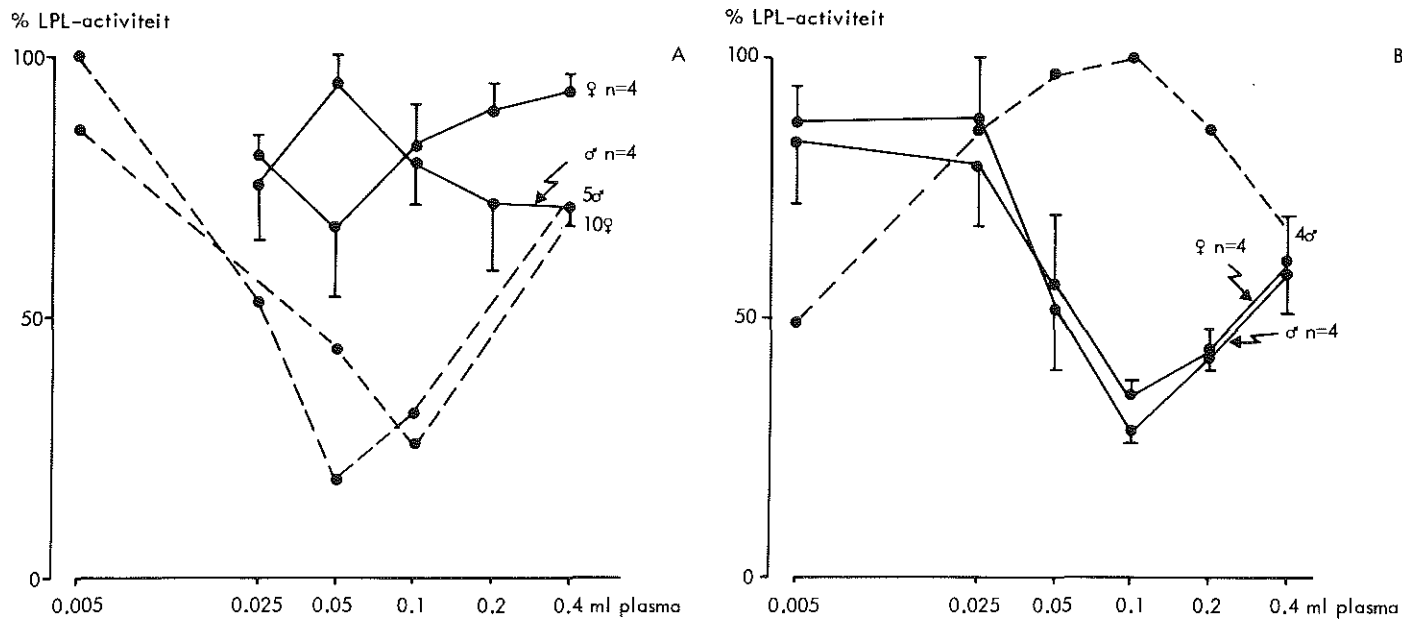


Fig. 18

Relatie van hoeveelheid toegevoegd plasma van normale mannen en vrouwen, in winter (A) en zomer (B) getest, met de mate van remming (gemiddelde  $\pm$  S.E.M.) van de LPL-activiteit in het beschreven enzym-substraat-systeem. De twee grondpatronen in vergelijking met die normalen, die het tegenovergestelde patroon vertonen (onderbroken lijnen).



zuren in het plasma gevonden, mogelijk een uiting van een remming van de lipolyse door de verhoogde concentratie van insuline in het plasma. Het feit dat de vrije vetzuur-concentratie bij de patienten, beschreven in dit hoofdstuk, lager is dan die bij de in Hoofdstuk III besproken patienten, berust mogelijk eveneens op het feit dat de eerstgenoemde patienten gemiddeld hogere concentraties insuline in het plasma hebben. Remming van de lipolyse door de uraemie zelf is minder waarschijnlijk, daar Schwartz en Goodman (1976) en Kather e.a. (1977) geen verschil in stimulatie van het adenylaat-cyclase-systeem van vetcellen vonden afkomstig van normale en acuut of chronisch uraemische ratten.

## 6. Conclusies.

1. Er is geen verschil in toe te voegen hoeveelheid plasma van normalen respectievelijk van patienten met een nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse, nodig voor een maximale stimulatie van de LPL-activiteit, geëxtraheerd uit epididymaal vetweefsel van de rat. Toevoeging van 0.4 ml plasma aan het enzym-substraat-systeem geeft indien afkomstig van patienten, een significant grotere remming dan bij toevoeging van plasma afkomstig van normalen.
2. Het effect van toevoeging van opklimmende hoeveelheden plasma aan het enzym-substraat-systeem vertoont bij normalen twee grondpatronen, afhankelijk van het seizoen waarin getest wordt. Bij de patienten wordt steeds hetzelfde (afwijkende) patroon gevonden. Dit patroon is onafhankelijk van het al of niet bestaan van hypertriglyceridaemie bij de patient, noch is de mate van remming bij toevoeging van 0.4 ml plasma gecorreleerd met de TG-concentratie, zodat de waargenomen LPL-remming waarschijnlijk geen belangrijke rol speelt in de pathogenese van de hypertriglyceridaemie bij deze patienten. Bij normalen bestaat wel een positieve correlatie tussen de mate van remming van de LPL-activiteit, verkregen bij toevoeging van 0.4 ml plasma, en de TG-concentratie in nuchtere toestand.
3. De concentratie vrije vetzuren in het plasma van patienten is in de zomer, zowel als in de winter significant lager dan bij de controlegroep, duidend op een remming van de lipolyse door de aanwezige hyperinsulinaemie.



## HOOFDSTUK V.

### ONDERZOEK NAAR DE PLAATS VAN DE STOORNIS IN DE STOFWISSELING VAN PLASMA-TRIGLYCERIDEN BIJ RATTEN MET EXPERIMENTELE, CHRONISCHE NIERINSUFFICIENTIE.

#### 1. Literatuurgegevens.

Experimenteel opgewekte, chronische nierinsufficiëntie bij de rat is bruikbaar als model om afwijkingen in de plasma-lipiden-stofwisseling, zoals deze voorkomen bij chronische nierinsufficiëntie in de kliniek, te bestuderen (Gregg e.a. 1977). Met de hiervoor gebruikelijke methode, de subtotale nefrectomie, wordt een niet-nefrotische vorm van chronische nierinsufficiëntie opgewekt (Heuck e.a. 1978).

Bij de hieronder te bespreken onderzoeken werd de subtotale nefrectomie in twee tempi uitgevoerd. Zes tot acht dagen na een subtotale nefrectomie van één nier (waarbij Heuck e.a. (1978) ook nog een röntgenbestraling op het resterende parenchym gaven), werd de andere nier in zijn geheel verwijderd. Gregg e.a. (1977) bestudeerden alleen de TG-stofwisseling. De verhoogde concentratie van TG in het plasma bij de uraemische ratten ging gepaard met een normale snelheid van secretie van TG naar de bloedbaan (gemeten met behulp van de Triton-methode, zie Hfdst. II, par. 2) en een verlenging van de halfwaarde-tijd van geïnjecteerd, radioactief gemerkt VLDL. De conclusie van de auteurs was, dat de gevonden hypertriglyceridaemie veroorzaakt wordt door vertraging van de afbraak van TG. Ook Bagdade e.a. (1978a) vonden geen aanwijzingen voor een verhoogde synthese van plasma-TG bij uraemische ratten. Evenmin konden zij verschillen vaststellen in de met heparine te elueren hoeveelheid LPL-activiteit in vet-, hartspier- en diafragmaweefsel bij normale en uraemische ratten. Echter met de door Murase e.a. (1975) beschreven methode werd meer LPL-remmende activiteit in plasma afkomstig van uraemische ratten, in vergelijking met plasma van normale ratten, gevonden. Ook deze resultaten maakten een vertraging van de afbraak van TG in plasma als oorzaak van de hypertriglyceridaemie waarschijnlijk. Onlangs rapporteerden dezelfde onderzoekers, zoals Cantin in 1965 reeds had gedaan, over de mogelijke rol van

parathyreoïd hormoon als hypertriglyceridaemie-begunstigende factor (Bagdade e.a. 1978b). Gezien de gevolgde methode en het gebruik van niet-uraemische ratten, zijn ten aanzien van de hypertriglyceridaemie bij chronische nierinsufficiëntie nog geen conclusies te trekken. Het onderzoek van Heuck e.a. (1978) verschilt in zoverre van de bovengenoemde dat de verkregen uraemie van aanzienlijk ernstiger aard was. Zij komen tot dezelfde conclusies. Voor de door hen vastgestelde hypercholesterolaemie bleek evenmin een verhoogde synthese verantwoordelijk.

Samenvattend: In het chronische uraemie-model bij de rat zijn dezelfde afwijkingen in de stofwisseling van TG gevonden als, waarvoor in de kliniek aanwijzingen zijn verkregen. Een verlaging van de snelheid van de afbraak van TG lijkt verantwoordelijk voor de hypertriglyceridaemie. Volgens Bagdade e.a. (1978a) betreft het een niet goed functioneren van LPL.

Opvallend verschil met de kliniek bestaat in de verhoogde concentratie HDL-cholesterol bij de chronisch uraemische rat (Bagdade e.a. 1978a, Heuck e.a. 1978), terwijl bij patienten met chronische nierinsufficiëntie verlaagde spiegels HDL-cholesterol zijn gevonden (zie Hfdst. III).

## 2. Vraagstelling.

Gezien het in de voorgaande hoofdstukken beschreven onderzoek bij de mens, en de hiervoor onder par. 1. beschreven dierexperimentele gegevens, waarbij in beide gevallen vooral een verlaging van de snelheid van de afbraak van plasma-TG verantwoordelijk lijkt te zijn voor de wetmatig optredende hypertriglyceridaemie, hebben wij in het dierexperimentele model getracht deze stoornis in de afbraak nader te localiseren. Hierbij vroegen wij ons in de eerste plaats af of toename van de snelheid van secretie van TG naar de bloedbaan uitgesloten kan worden geacht als factor bij het ontstaan van de hypertriglyceridaemie. Vervolgens werd nagegaan of verschillen tussen uraemische en normale proefdieren in de omvang van de LPL-pools (vgl. Hfdst. III) bestaan.

Wij hebben getracht een indruk van eventuele verschillen in de snelheid van synthese van LPL te krijgen door meting van de totale activiteit van LPL in vetweefsel, hartspier, skeletspier en lever. De vraag of heparine-resistentie van de aan endotheel gebonden LPL-, resp. HTGL-pool bestaat,

hebben wij getracht te beantwoorden met behulp van onderzoek naar dosis-effect-relaties bij meting van PHLA.

### 3. Experimentele, chronische nierinsufficiëntie bij ratten.

Voor alle in dit en het volgende hoofdstuk te beschrijven experimenten werd uitgegaan van omstreeks tien weken oude (180 - 200 gram) vrouwelijke Wistarratten van een ingeteelde stam (TNO, Zeist).

Experimentele nierinsufficiëntie werd in één zitting met de techniek volgens Souhami e.a. (1973) verkregen. De operatie wordt uitgevoerd onder anaesthesie met aether. Aan één zijde wordt via een lumbotomie een totale nefrectomie verricht met onderbinding van de arteria en vena renalis en de ureterstomp. Aan de andere zijde wordt de nier via lumbotomie naar buiten gebracht en de vaatsteel wordt met een omwoelde klem afgeklemd, zodat onder bloedleegte kan worden gewerkt. Gaande van boven naar beneden wordt langs de laterale zijde ongeveer 2 mm, tot in het midden 3 mm, van de nierschors verwijderd. De vóór- en achterzijde van de schors blijven staan. Vanaf dit punt is de methode door ons enigszins gewijzigd. Door de gecreëerde wondoppervlakte met een verhitte, metalen spatel te coaguleren, bleken wij voldoende verwoesting van het onderliggende nierparenchym te bereiken.

Op deze wijze wordt een matige tot ernstige nierinsufficiëntie verkregen, die gedurende enkele maanden weinig progressief is. Wordt bij de operatie te veel nierweefsel verwijderd, dan overlijdt het proefdier omstreeks de vierde dag postoperatief. Wanneer een slechts lichte nierinsufficiëntie aanwezig is, kan na enkele maanden een spontane verbetering intreden. Meestal treedt vier tot zes maanden na de ingreep een verergering van de nierinsufficiëntie op, die tenslotte tot de dood leidt. Vooral de eerste dagen postoperatief is het van groot belang, dat het dier zijn toegenomen dorst kan lessen. Afhankelijk van de ernst der uraemie treedt een (normale) geleidelijke toename van het lichaamsgewicht, dan wel geen toename, tot zelfs een daling van het lichaamsgewicht op bij aldus opgewekte nierinsufficiëntie. In het laatste geval treedt tevens een daling van de haematocriet op.

In de door Gregg e.a. (1977) en Bagdade e.a. (1978a) beschreven onderzoeken was sprake van een minder ernstige nierinsufficiëntie, althans afgemeten aan de concentratie van ureum in het plasma, hetgeen echter bij

de laatste groep onderzoekers mogelijk samenhang met het gebruik van zout-arm en eiwit-arm voer. Bij de nierinsufficiëntie zoals door Heuck e.a. (1978) bij ratten opgewekt, was sprake van een ernstige uraemie. Tussen de vijfde en de 35<sup>e</sup> dag schommelde het ureum-gehalte van het plasma tussen de 50 en 70 mmol/l. Onze observatie-periode bij uraemische ratten liep tot zes maanden na de operatie. Wij zagen een slechts langzame stijging van het ureum-gehalte van het plasma tot drie maanden postoperatief (ureum 20 tot 30 mmol/l). Vanaf die tijd trad bij de meeste dieren een snellere stijging van het ureum op (Fig. 19). Voor alle ratten (n = 93), waarvan in Figuur 19 de gemiddelde concentratie van ureum in plasma is weergegeven, tesamen, bestaat een significante, positieve correlatie tussen de hoogte van het ureum-gehalte van het plasma en de tijd verstreken sinds de operatie ( $r = 0.36$ ,  $p < 0.005$ ). Wij hebben als regel de eerste bepaling van ureum ongeveer één maand na de operatie uitgevoerd, maar het is gebleken dat zeker al twee weken na de operatie een duidelijke verhoging van het ureum-gehalte in plasma bestaat.

Heuck e.a. (1978) toonden reeds aan, dat de nierinsufficiëntie, ontstaan in aansluiting aan een subtotale nefrectomie, een niet-nefrotisch karakter heeft. Dat dit ook voor onze uraemische ratten geldt, wordt aannemelijk gemaakt door het afwezig zijn van een verlaagd albumine-gehalte van het plasma. Bij vijf uraemische ratten werd 4 tot 6 maanden na de operatie het albumine-gehalte bepaald:  $50.8 \pm 3.7$  g/l (gemiddeld  $\pm$  S.D.). Dit verschilde niet van het op hetzelfde moment bij vijf normale ratten bepaalde plasma-albumine:  $50.4 \pm 1.0$  g/l.

Alle in dit en het volgende hoofdstuk beschreven experimenten vonden minstens een maand na de operatie plaats. De meeste experimenten werden 2 tot 4 maanden na operatie uitgevoerd. Op grond hiervan is het onwaarschijnlijk dat bij de proeven nog factoren rechtstreeks terug te voeren op de operatie, anders dan de nierinsufficiëntie zelf, een rol hebben gespeeld in de vergelijking tussen de normale en de uraemische ratten. Vandaar dat bij de controle-groep geen "sham"-operatie werd uitgevoerd. Bovengenoemde veronderstelling wordt bevestigd door het onderzoek van Heuck e.a. (1978), die bij gebruik van twee controle-groepen (één "sham-operated and pair-fed", de andere zonder operatie en met ad lib. voeding), geen verschil tussen beide konden vaststellen voor wat betreft de concentraties van lipiden in het plasma.

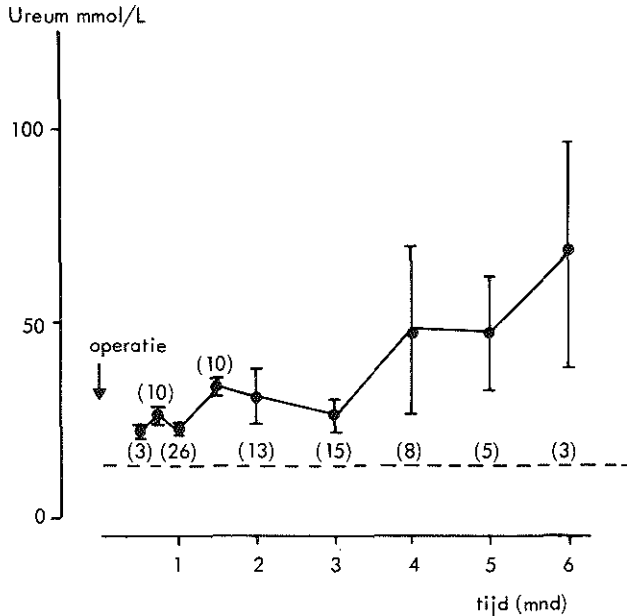


Fig. 19.

Het beloop van de experimenteel verkregen nierinsufficiëntie in de tijd. De concentratie van ureum (gemiddelde + S.E.M.) is uitgezet tegen de tijd. Tussen haakjes het aantal ratten waarbij op het betreffende tijdstip het ureum-gehalte werd bepaald. De hoogste concentratie van ureum (13.8 mmol/l), door ons bij een normale rat gemeten, is aangegeven met de stippellijn.

#### 4. Overige methodieken.

##### A. Meting van de secretie-snelheid van plasma-triglyceriden bij ratten met nierinsufficiëntie.

Door blokkade van de afbraak van TG-rijke partikels met behulp van

Triton WR 1339\* (Otway en Robinson 1967b) wordt, bij het nuchtere proefdier, uit de lineaire stijging (Fig. 20) van de concentratie van plasma-TG een maat verkregen voor de snelheid van secretie van TG in het plasma (zie Hfdst. II, par. 2). Elf normale en twaalf uraemische proefdieren werden onderzocht. De uitvoering van de proef verliep als volgt. Na minimaal 16 uur vasten werd zonder anaesthesie op tijdstip  $t = 0$  bloed uit de staartvene afgenomen voor de bepaling van ureum en TG. Vervolgens werd 100 mg Triton WR 1339 (1 ml van een 10 %-oplossing in fysiologisch zout, Otway en Robinson 1967b) per rat snel in een staartvene geïnjecteerd. Anderhalf uur later ( $t = 90'$ ) werd opnieuw zonder anaesthesie bloed uit een staartvene afgenomen voor de bepaling van TG. De secretie-snelheid van plasma-TG (triglyceride secretion rate, TGSR) werd uitgedrukt in  $\mu\text{mol TG/uur}/200 \text{ g}$  lichaamsgewicht en berekend uit de formule

$$\text{TGSR} = (\text{TG}_{90} - \text{TG}_0) \times \frac{2}{3} \times \text{P.V.} \times \frac{200}{\text{LG}} \quad (\text{Otway en Robinson 1967b}),$$

waarin  $\text{TG}_0$  en  $\text{TG}_{90}$  = concentratie ( $= \mu\text{mol/ml}$ ) van plasma-TG op  $t = 0$ , resp.  $t = 90'$ . P.V. = plasma-volume in ml. LG = lichaamsgewicht in grammen.

Het plasma-volume werd bepaald bij acht uraemische en negen normale ratten volgens de kleurstof-verdunningsmethode. Van een 4 %-oplossing Evans Blue in fysiologisch zout werd 0.2 ml in een staartvene geïnjecteerd. Direct voorafgaand aan de injectie en vijf minuten erna werd bloed afgenomen. Na centrifugeren (20 min, 2500 g) werd het plasma-monster tienmaal verdund met fysiologisch zout. Vervolgens werd de verdunning van de ingespoten kleurstof bepaald door meting van de absorptie van het verdunde plasma-monster en standaard-oplossingen van de kleurstof en het blanco plasma-monster bij 600 nm. Daar geen verschillen in plasma-volume (uraemische ratten  $9.93 \pm 1.13 \text{ ml}$ , controle-groep  $9.71 \pm 0.35 \text{ ml}$ ) tussen beide groepen proefdieren werd vastgesteld, noch in de relatie tussen plasma-volume en lichaamsgewicht (Fig. 21), werd in navolging van anderen (Robertson e.a. 1973, Gregg e.a. 1976, Bagdade e.a. 1978a) het plasma-volume bij alle proefdieren berekend op basis van het lichaamsgewicht:  $\text{P.V.} = 0.029 \text{ LG} + 3.751$ .

---

\* octylfenol-polyaethyleen-glycolaeether, Serva Feinbiochemica.



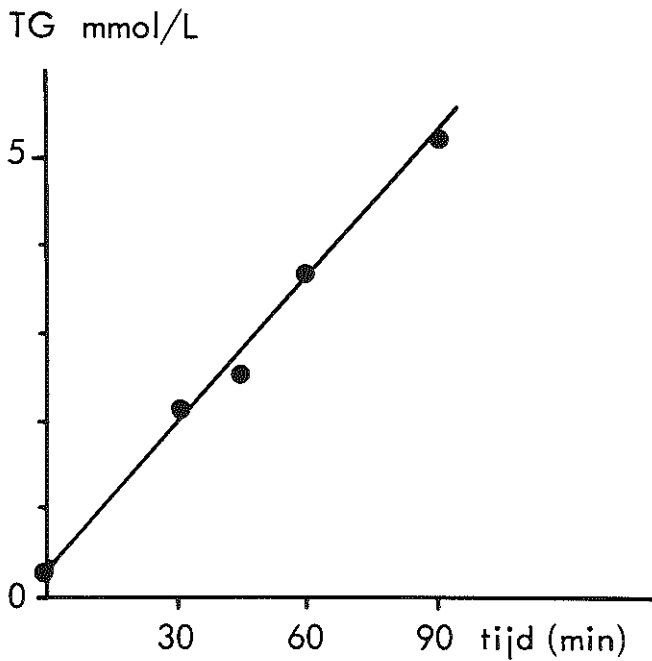


Fig. 20.

Voorbeeld van het, ook bij de chronisch uraemische rat, lineair stijgen van de concentratie van TG in plasma, nadat op  $t = 0$  100 mg Triton WR 1339 intraveneus is toegediend.

#### B. Meting van de LPL-activiteit in weefsel.

Na minimaal 16 uur vasten werd in gepaarde experimenten steeds van één uraemische en één normale rat onder anaesthesie met aether door middel van een hartpunctie bloed afgenomen ter bepaling van de haematocriet en de concentratie van ureum, insuline, TG en cholesterol (de laatste twee zowel in plasma als in de HDL-fractie). Vervolgens werd een brokje peri-ovariëel vet (van de rechterzijde), een stukje skeletspier (*M. pectoralis*, Re), een

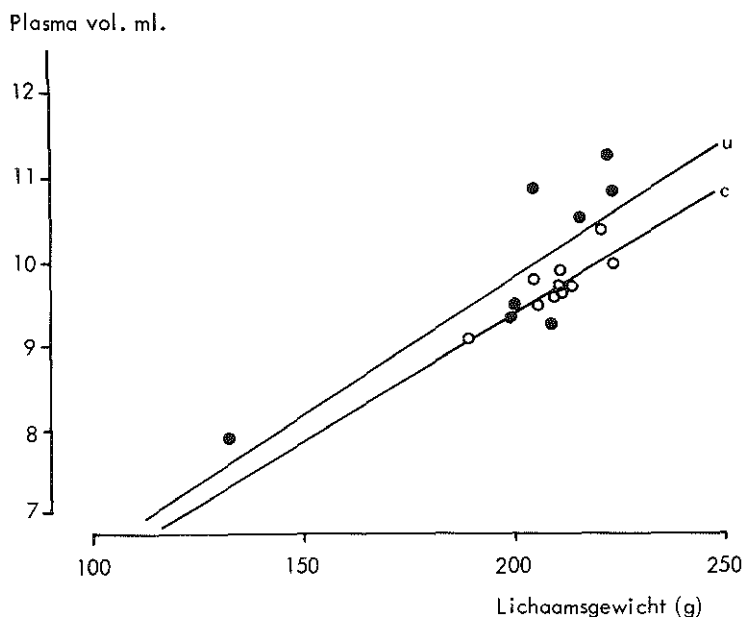


Fig. 21.

Relatie tussen lichaamsgewicht en plasma-volume bij normale (open symbolen, n = 9) en uraemische ratten (gesloten symbolen, n = 8). De regressielijn van de eerste groep (c) wordt beschreven door  $y = 0.030 x + 3.346$  ( $r = 0.87$ ,  $p < 0.01$ ), die van de uraemische ratten (u) door  $y = 0.032 x + 3.390$  ( $r = 0.85$ ,  $p < 0.01$ ).

stukje leverweefsel (leVERRAND Re kwab) en het gehele hart uit de rat genomen. Het vetweefsel werd kortdurend in fysiologisch zout gedompeld, terwijl van het hart na afspoelen met fysiologisch zout een stukje van de linker ventrikelpunt werd afgesneden. Vervolgens werden van de vier weefselstukjes aceton-aether-poeders bereid volgens de procedure beschreven door Garfinkel en Schotz (1972). Het poeder werd vervolgens opgelost in 50 mM 1-methyleen-glycol-trisbuffer (pH 8.0), waarna een deel bij  $-20^{\circ} \text{C}$  werd bewaard voor bepaling van het eiwit-gehalte volgens Lowry e.a.

(1951). Van de rest werd dezelfde dag in duplo de LPL-activiteit bepaald.

Met uitzondering van de activiteitsbepaling in leverweefsel (0.5 mg drooggewicht /20  $\mu$ l buffer, incubatietijd 20 min), die werd verricht als beschreven voor de PHLA-meting in Hoofdstuk III, par. 4, werd voor de andere metingen (vetweefsel: 0.5 mg drooggewicht /100  $\mu$ l buffer, incubatietijd 30 min; hartspier: 0.5 mg drooggewicht /100  $\mu$ l buffer, incubatietijd 20 min; skeletspier: 1.0 mg drooggewicht /100  $\mu$ l buffer, incubatietijd 30 min) gebruik gemaakt van een stabiele emulsie van "koud" en radioactief (in het vetzuur met  $^{14}\text{C}$ ) gemerkt glyceroltrioleaat in glycerol als substraat (Nilsson-Ehle en Schotz 1976, Corey en Zilvermit 1977). De hoeveelheid te testen extract en de duur van de incubaties, zoals hierboven vermeld, werden gekozen op grond van het lineaire verband tussen deze parameters en de LPL-activiteit in het betreffende gebied.

Daar het opviel, dat de uraemische proefdieren over het algemeen minder vetweefsel bezaten werd besloten de LPL-activiteit zowel per eenheid versgewicht, als per mg eiwit uit de drukken.

#### C. Bestudering van de relatie tussen heparine-doses en PHLA (LPL resp. HTGL).

Evenals in de bovenbeschreven experimenten werd dit onderzoek uitgevoerd bij ratten die minimaal 16 uur hadden gevast. Bij de PHLA-meting werd op dezelfde wijze te werk gegaan als beschreven is in Hoofdstuk III, par. 4, met dit verschil dat thans ter precipitatie een antilichaam tegen ratte-HTGL (Jansen e.a. 1973) werd gebruikt om vervolgens de extra-hepatische LPL-activiteit selectief te meten.

Het effect van heparine op de LPL- en HTGL-activiteit van plasma, verkregen vijf minuten na intraveneuze toediening, werd onderzocht bij de volgende doses, uitgedrukt in internationale eenheden (I.E.) per rat: 0.5, 2, 10, 30, 50 en 100. Injectie van heparine en afname van bloed geschieden zonder anaesthesie van de rat. Bij ongeveer de helft van de proefdieren vond onderzoek met verscheidene tot alle doses plaats bij dezelfde ratten. In die gevallen lieten wij steeds één tot twee weken verstrijken, alvorens een nieuw experiment plaats vond. Elk experiment omvatte het meten van het effect van één dosis heparine op de lipolytische activiteit bij een controle-groep (n = 5) en een groep uraemische ratten (n = 5,

behoudens het experiment waarin het effect van 2 I.E. heparine per rat werd getest: n = 4).

In alle experimenten werd in het plasma-monster tevens de concentratie van ureum bepaald. Indien, zoals een enkele maal voorkwam, het ureum-gehalte van één der geopereerde ratten <13.8 mmol/l was (hoogste waarde door ons bij een normale rat gemeten), werden de resultaten van de PHLA-meting buiten beschouwing gelaten.

## 5. Resultaten.

### A. De secretie-snelheid van plasma-TG bij ratten met nierinsufficiëntie.

Bij de ratten met chronische nierinsufficiëntie variëerde op het moment van de meting van de secretie-snelheid van plasma-TG (TGSR) het ureum-gehalte in het plasma van 15.1 tot 95.0 mmol/l, bij de normale ratten van 5.9 tot 13.5 mmol/l. Het lichaamsgewicht van de uraemische ratten was significant lager dan dat van de controle-groep. Het gemiddelde TG-gehalte was bij de uraemische ratten meer dan drie maal zo hoog als bij normale ratten. De TGSR was voor beide groepen ratten gelijk. Deze gegevens zijn samengevat in Tabel XV.

Tabel XV Snelheid van secretie van TG in plasma (TGSR) bij chronisch uraemische en normale ratten.

	uraemische ratten (n = 12)	normale ratten (n = 11)	p
gewicht (g)	180 ± 16*	203 ± 11	<0.001
ureum (mmol/l)	39.6 ± 27.0	8.8 ± 2.3	<0.005
TG (mmol/l)	1.51 ± 1.00	0.41 ± 0.15	<0.005
TGSR (μmol/u/200g)**	39.0 ± 13.0	37.4 ± 6.5	n.s.

\* gemiddelde ± S.D.

\*\* gemeten over 90 min.

In Figuur 22 is naar analogie met de wijze waarop in Hoofdstuk II de snelheid van de turnover van plasma-TG tegen de concentratie van plasma-TG werd uitgezet, de TGSR uitgezet tegen de TG-concentratie in het plasma. De punten verkregen bij de uraemische proefdieren liggen in grote meerderheid rechts van de puntenwolk verkregen voor de controle-groep. In geen van beide groepen bestaat een correlatie tussen beide parameters.

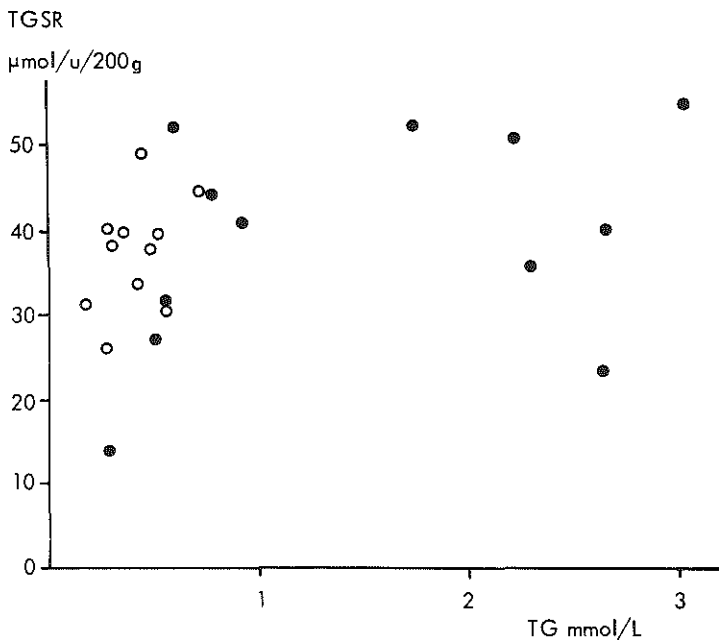


Fig. 22.

Relatie tussen de concentratie van TG in plasma (in nuchtere toestand) en de TGSR bij normale (open symbolen, n = 11) en uraemische ratten (gesloten symbolen, n = 12).

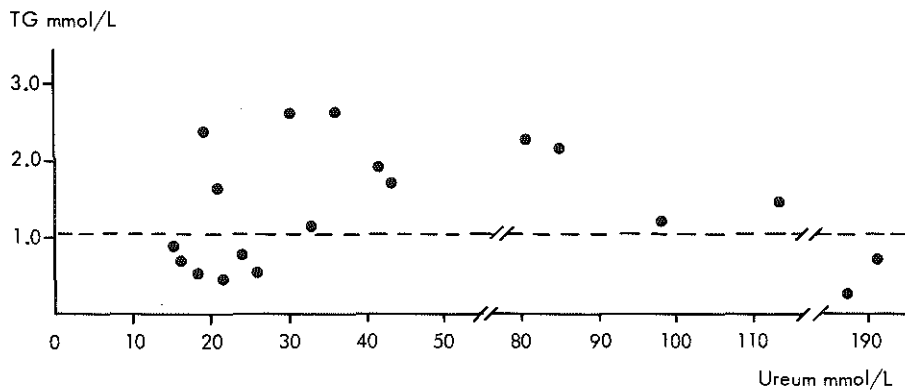


Fig. 23

Relatie tussen de concentratie van ureum en TG in het plasma van ratten met een chronische nierinsufficiëntie (voor het merendeel de onder 5A en 5B beschreven uraemische proefdieren). De stippe lijn geeft de bovengrens van de concentratie van TG in plasma (gemiddelde + 2 S.D.) in normale ratten weer.

Voorts werd geen relatie gevonden tussen de ernst van de nierinsufficiëntie enerzijds en de TG-concentratie (in nuchtere toestand) of de TGSR anderzijds. Wel werd een min of meer bifasisch patroon van het TG-gehalte met toenemende nierinsufficiëntie gezien, aanvankelijk een stijging, in het (pre)terminale stadium een daling (Fig. 23).

B. De LPL-activiteit in vet-, hartspier-, skeletspier- en leverweefsel van ratten met nierinsufficiëntie.

Zoals reeds vermeld, hadden de uraemische ratten een matige tot ernstige nierinsufficiëntie. De concentratie van ureum in plasma varieerde van 18.4 tot 113.3 mmol/l. Het TG-gehalte van het plasma was bij de uraemische proefdieren ruim tweemaal verhoogd. Verder is de significante verhoging van HDL-cholesterol bij de uraemische ratten, bij een niet significant verschillen van het niveau van de totale cholesterolconcentratie in het plasma in de controle-groep, opvallend. De HDL-TG-concentratie bleef normaal. De concentratie van insuline in het plasma was niet significant verschillend voor beide groepen, hoewel bij de uraemische dieren iets hogere concentraties werden gemeten (10 - 32 mE/l, vs. 4 - 20 mE/l). Deze gegevens zijn samengevat in Tabel XVI.

De resultaten van de metingen van LPL-activiteit in weefsels bij normale en uraemische proefdieren zijn weergegeven in Tabel XVII. Noch bij uitdrukking van de LPL-activiteit per eenheid vers gewicht, noch bij uitdrukking per mg eiwit werden significante verschillen tussen beide groepen dieren gevonden. Verschillen tussen de uraemische en de normale ratten traden evenmin aan het licht bij uitdrukking van de LPL-activiteit van hartspier, skeletspier en lever, relatief ten opzichte van de in vetweefsel gemeten activiteit. Het patroon van de LPL-activiteit in de onderzochte weefsels is bij de uraemische ratten identiek aan dat, gevonden bij de controle-groep (Fig. 24).

Er bestaat geen correlatie tussen LPL-activiteit in de onderzochte weefsels en de in nuchtere toestand gemeten concentratie van TG in plasma. Zowel bij normale als bij uraemische ratten lijkt een negatief verband te bestaan tussen het gehalte HDL-cholesterol in plasma en de LPL-activiteit van alle onderzochte weefsels. Een correlatie tussen beide parameters bestaat bij de controle-groep alleen voor de LPL-activiteit in skeletspier ( $r = -0.91$ ,  $p < 0.05$ ), terwijl bij de uraemische proefdieren de

Tabel XVI Insuline-gehalte en plasma-lipiden-spiegels bij normale en uraemische ratten. (Bij deze groepen werd de LPL-activiteit in verschillende weefsels bepaald, zie Tab. XVII).

	controle-groep (n = 6)	uraemische ratten (n = 6)	p <sup>**</sup>
gewicht (g)	200 ± 24*	196 ± 13	n.s.
ureum (mmol/l)	9.3 ± 2.1	42.8 ± 35.6	<0.05
plasma-TG (mmol/l)	0.88 ± 0.14	1.73 ± 0.47	<0.025
plasma-cholesterol (mmol/l)	1.74 ± 0.48	2.19 ± 0.50	n.s.
HDL-TG (mmol/l)	0.082 ± 0.074	0.077 ± 0.028	n.s.
HDL-cholesterol (mmol/l)	0.89 ± 0.24	1.25 ± 0.31	<0.05
insuline (mE/l)	12 ± 7	16 ± 9	n.s.

\* gemiddelde ± S.D.; \*\* gepaarde t-test.

relatie met de LPL-activiteit in vetweefsel ( $r = -0.85$ ,  $p < 0.05$ ) en lever ( $r = -0.84$ ,  $p < 0.05$ ) significant is. Voor het verband tussen het insuline-gehalte van het plasma en de LPL-activiteit in weefsels geldt het omgekeerde: Er wordt steeds een tendens tot een positief verband tussen beide waargenomen, dat bij de controle-groep significantie bereikt voor LPL-activiteit van vetweefsel ( $r = 0.96$ ,  $p < 0.01$ ).

Correlaties tussen de lipide-fracties onderling, of met de concentratie van insuline in plasma, zijn niet aanwezig. Evenmin bestaat een correlatie tussen de concentratie van ureum en insuline in plasma van beide groepen proefdieren.

#### C. De relatie tussen heparine-doses en PHLA (LPL resp. HTGL).

Bij alle experimenten was de concentratie van ureum in plasma bij de uraemische groep significant verhoogd ( $p < 0.025$ ) in vergelijking met de controle-groep. Er was sprake van een matige nierinsufficiëntie: Het ureum-gehalte schommelde rondom 20.0 mmol/l. Er waren geen belangrijke



Tabel XVII LPL-activiteit (nmol FFA/min, gemiddelde  $\pm$  S.D.) in weefsel bij normale (n = 6) en uraemische (n = 6) ratten. Statistisch (gepaarde t-test) significante verschillen in LPL-activiteit tussen beide groepen waren niet aanwezig.

	vetweefsel	hartspier	skeletspier	lever
LPL-activiteit/g vers gewicht				
controle ratten	57.41 $\pm$ 44.97	586.33 $\pm$ 304.58	37.56 $\pm$ 19.77	241.66 $\pm$ 56.25
uraemische ratten	62.03 $\pm$ 65.08	586.00 $\pm$ 293.77	30.83 $\pm$ 16.52	219.66 $\pm$ 38.04
LPL-activiteit/mg eiwit				
controle ratten	10.02 $\pm$ 5.53	12.22 $\pm$ 7.00	0.77 $\pm$ 0.40	3.2 $\pm$ 0.76
uraemische ratten	16.70 $\pm$ 19.62	11.34 $\pm$ 6.82	0.73 $\pm$ 0.48	2.7 $\pm$ 0.39

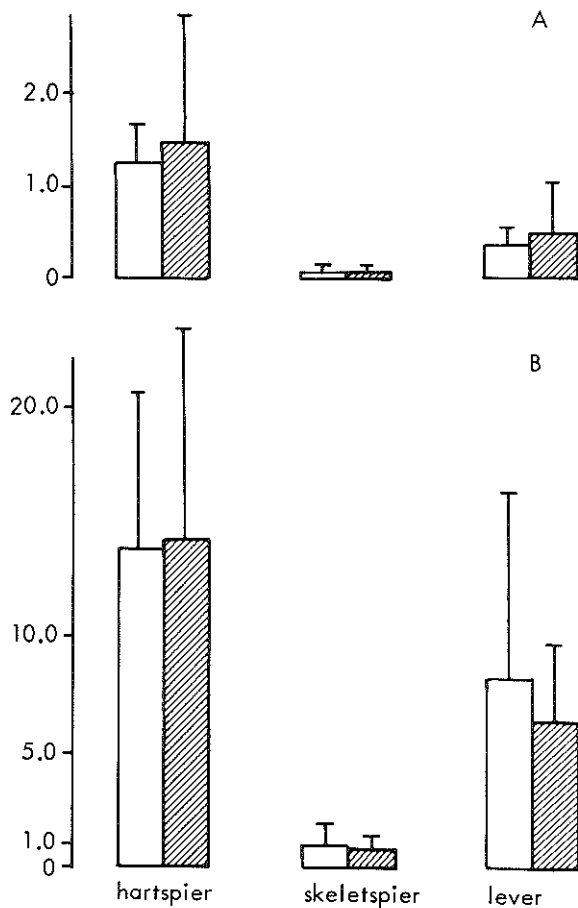


Fig. 24.

LPL-activiteit van hartspier, skeletspier en lever uitgedrukt ten opzichte van de activiteit van vetweefsel. In het bovenste deel (A) werd uitgegaan van activiteit/g vers gewicht, in het onderste deel (B) van activiteit/mg eiwit. Het gemiddelde  $\pm$  S.D. van de ratio is weergegeven voor controle ratten (open kolom) en uraemische proefdieren (gearceerde kolom). De verschillen zijn niet significant.

verschillen in lichaamsgewicht en haematocriet tussen de verschillende experimenten. Binnen elk experiment bestonden geen significante verschillen in lichaamsgewicht en haematocriet tussen de uraemische en de controle-groep.

Het verband tussen de dosering heparine en de LPL-activiteit in het plasma is weergegeven in Figuur 25. De LPL-activiteit verkregen vijf minuten na intraveneuze injectie van 0.5, 2 en 100 I.E. heparine per rat is significant hoger bij de uraemische groep, na 10, 30 en 50 I.E. niet. De curve als gehaal lijkt naar links verschoven: Er is sprake van grotere gevoeligheid voor heparine dan bij de controle-groep. Figuur 26 geeft de corresponderende curves voor de HTGL-activiteit weer. De HTGL-activiteit verkregen vijf minuten na intraveneuze toediening van 2 I.E. heparine per rat is significant hoger, die na toediening van 10 en 30 I.E. heparine per rat is significant lager bij de uraemische groep dan de bij de controle-groep gemeten activiteit. Bij lage doses heparine is sprake van een verhoogde gevoeligheid, bij hogere doses heparine van een zekere resistentie tegen heparine, die met nog hogere doseringen lijkt te verdwijnen.

## 6. Bespreking van de resultaten.

Ter localisatie van de stoornis(sen) in de TG-stofwisseling bij ratten met chronische nierinsufficiëntie werden achtereenvolgens enkele aspecten van de aanmaak en de afbraak van TG uit plasma bestudeerd. Als maat voor de snelheid van synthese van TG werd de snelheid van secretie van plasma-TG gemeten met de z.g. Triton-methode (A). Voor wat betreft de afbraak werd enerzijds als maat voor de synthese van LPL de totale LPL-activiteit van diverse weefsels onderzocht (B), terwijl anderzijds om stoornissen in de snel vrij te maken, aan de endotheelwand gebonden, LPL-pool op te sporen, de dosis-effect-relatie van heparine met de hoogte van de geïnduceerde LPL-, resp. HTGL-activiteit in het plasma werd onderzocht (C).

Uit de onder A en B beschreven resultaten blijkt bij een matige tot ernstige nierinsufficiëntie een hypertriglyceridaemie (gemiddeld 2 à 3 hoger dan bij de controle-groep) te bestaan, zoals ook voor milder (Gregg e.a. 1977, Bagdade e.a. 1978a) en ernstiger (Heuck e.a. 1978)

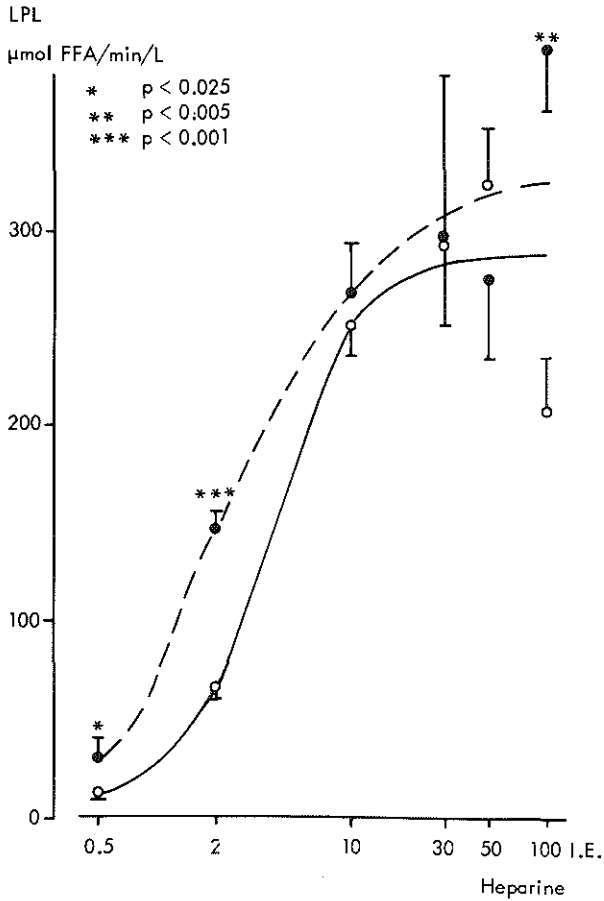


Fig. 25

Verband tussen de log dosering heparine en de LPL-activiteit (gemiddelde  $\pm$  S.E.M.), bepaald in plasma vijf minuten na intraveneuze toediening van de heparine, bij normale (open symbolen, getrokken lijn) en uraemische ratten (gesloten symbolen, onderbroken lijn).

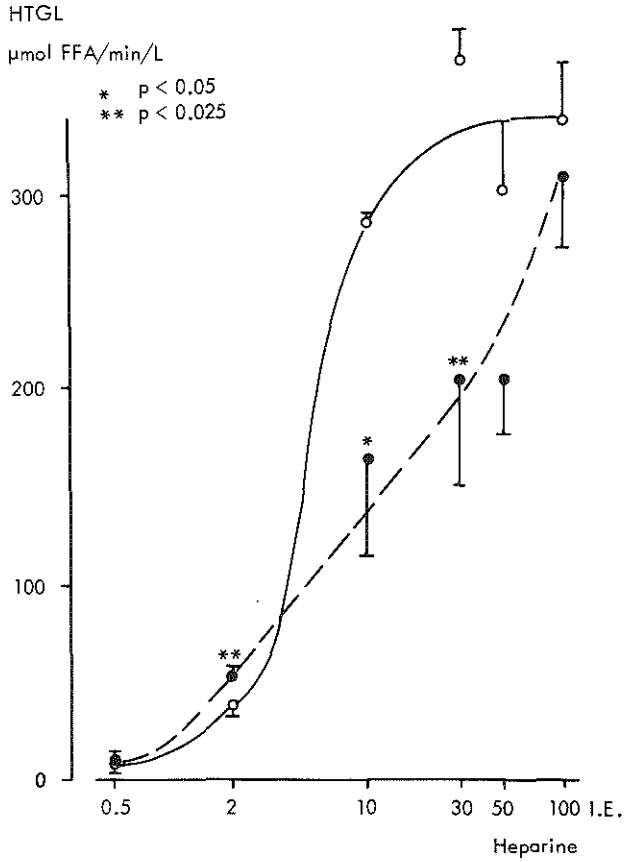


Fig. 26

Verband tussen de log dosering heparine en de HTGL-activiteit bij normale en uraemische ratten. Zelfde symbolen gebruikt als in Figuur 25.

graden van nierinsufficiëntie is vastgesteld. Een tweede opvallend verschil in samenstelling van lipiden in plasma tussen ratten met een chronische nierinsufficiëntie en normale proefdieren is de verhoging van het HDL-cholesterol bij een slechts lichte (niet-significante) toename van de concentratie van totaal cholesterol in plasma. Dit in tegenstelling tot de bevindingen bij mensen met een chronische nierinsufficiëntie (zie Hfdst. III). De verhoudingsgewijs belangrijke rol van de HDL-fractie bij het transport van cholesterol in het plasma van de rat (Schlag en Winkler 1978) werd in dit onderzoek bevestigd. Hierbij werden geen verschillen tussen uraemische en normale ratten gevonden: 58, resp. 53% van de totaal in plasma aanwezige hoeveelheid cholesterol bevond zich in de HDL-fractie. Ter vergelijking zij opgemerkt, dat bij de gezonde mannen en vrouwen, beschreven in Hoofdstuk III, deze percentages slechts 22, resp. 29% bedroeg en terwijl de percentages daalden tot 11, resp. 14% bij de mannen en vrouwen met een chronische nierinsufficiëntie.

Er bestaat geen verschil in de snelheid van secretie van plasma-TG tussen uraemische en normale proefdieren, zodat het onwaarschijnlijk is, dat de stoornis(sen) in de TG-stofwisseling aan de aanmaakzijde is (zijn) gelocaliseerd. Hoewel de beide groepen naast het significante verschil in de concentratie van ureum, ook een significant verschil in lichaamsgewicht vertoonden (zie Tab. XV), lijkt dit niet van invloed te zijn op bovenvermelde conclusie. Enerzijds bestaat noch bij normale, noch bij uraemische proefdieren een verband tussen lichaamsgewicht en de concentratie van TG in het plasma of de snelheid van secretie van plasma-TG, anderzijds vonden Gregg e.a. (1977) en Bagdade e.a. (1978a) in een vergelijkbare proefopzet, waar geen significant verschil in lichaamsgewicht tussen beide groepen aanwezig was, eveneens een gelijke snelheid van secretie van plasma-TG voor uraemische en normale ratten. Heuck e.a. (1978) vonden tussen twee controle-groepen met sterk verschillend lichaamsgewicht geen verschillen in de concentraties van lipiden in het plasma.

Daar de onder B en C beschreven experimenten niet bij de onder A gebruikte ratten werden uitgevoerd, konden geen correlaties tussen de snelheid van secretie van plasma-TG enerzijds en de concentratie van lipolytische activiteit in weefsel resp. PHLA anderzijds, worden berekend.

De totale LPL-activiteit in vetweefsel, hartspier, skeletspier en lever

is gelijk bij uraemische en normale proefdieren of deze nu wordt uitgedrukt per gram vers gewicht of per hoeveelheid eiwit. Ook de verhouding van de LPL-activiteit in de diverse weefsels is gelijk voor beide groepen proefdieren. Daar geen verschil in lever-gewicht tussen uraemische en normale ratten bestaat (zie Hfdst. VI), lijkt ook de totale hoeveelheid HTGL gelijk voor beide groepen proefdieren. Hoewel wij hiervan geen metingen hebben, viel steeds op, dat de hoeveelheid subcutaan en intra-abdominaal vetweefsel bij de uraemische ratten duidelijk verminderd is. Het ligt dan voor de hand te stellen, dat de totale hoeveelheid vetweefsel-LPL verminderd is bij uraemische ratten.

Rechtstreeks vergelijkbaar onderzoek is niet beschreven in de literatuur. Wel rapporteerden Bagdade e.a. (1978a) tijdens ons onderzoek dat zij een fractie van de totale weefsel-LPL-activiteit bepaald hadden bij normale en uraemische ratten. Het betrof de z.g. "heparin releasable" LPL-activiteit: De uit weefselbrokjes bij incubatie met heparine vrijkomende LPL-activiteit. Mogelijk geeft deze activiteit een maat voor de capaciteit van klaring van TG uit plasma (Pykälistö e.a. 1975). Tussen normale en uraemische ratten waren geen verschillen in "heparin releasable" LPL-activiteit van vetweefsel, hartspier en skeletspier (diafragma) aantoonbaar. Op grond hiervan, van de gelijke snelheid van synthese van plasma-TG (gemeten met de z.g. Triton-methode) en van de aanwezigheid van meer LPL-remmer in het plasma van de uraemische ratten komen Bagdade e.a. (1978) tot de veronderstelling, dat een functionele insufficiëntie van LPL (van spier- en vetweefsel) de oorzaak van de verminderde klaring van TG uit de bloedbaan bij de uraemische rat vormt.

Wij vonden dat de totale LPL- (HTGL-)activiteit van de onderzochte weefsels noch bij de controle-groep, noch bij de uraemische proefdieren gecorreleerd was met de concentratie van TG in plasma. Opvallend is dat voor alle weefsels een negatief verband tussen de LPL-activiteit en de concentratie van HDL-cholesterol in het plasma bestaat, dat in de uraemische groep zowel voor vetweefsel als lever significant is. Bij de (normale) mens is juist een positieve correlatie tussen HDL-cholesterol en LPL-activiteit van vetweefsel vastgesteld (Nikkilä e.a. 1978), zij het dat door hen niet totale, maar "heparin releasable" activiteit is onderzocht. Dezelfde auteurs zagen geen correlatie tussen HDL-cholesterol en de "heparin releasable" LPL-activiteit van skeletspier. Wij vonden bij

de normale ratten een significante, negatieve correlatie tussen HDL-cholesterol in plasma en de totale LPL-activiteit van skeletspier. De concentratie van insuline in plasma bleek positief gecorreleerd met de totale LPL-activiteit van vetweefsel van de normale ratten.

Uit de onder A en B beschreven resultaten wordt duidelijk, dat geen correlatie bestaat tussen de ernst van de chronische nierinsufficiëntie, uitgedrukt in de concentratie van ureum in plasma, en de betreffende parameters van de TG-stofwisseling. Zulk een correlatie bestaat evenmin tussen de hoogte van het ureum en die van het HDL-cholesterol. Wel werden aanwijzingen verkregen voor een bifasisch verloop van de concentratie van TG in plasma bij toenemende nierinsufficiëntie, zoals bij patienten met een chronische nierinsufficiëntie ook door ons is gezien ( zie Hfdst. II).

De onder A en B vermelde resultaten leiden tot de conclusie dat stoornis (sen) in de synthese van plasma-TG, noch afwijkingen van het gehalte van LPL in vetweefsel, hartspier, skeletspier en lever verantwoordelijk zijn voor de hypertriglyceridaemie bij chronische nierinsufficiëntie bij ratten. Gezien de resultaten verkregen door Bagdade e.a. (1978a) kan hier nog aan worden toegevoegd, dat evenmin stoornissen in een deel van de LPL-weefsel-pool (het zg. "heparin releasbare" gedeelte) van vet-, hartspier- en skeletspier-weefsel voor de hypertriglyceridaemie verantwoordelijk zijn. Niet uitgesloten is, dat vermindering van de totale vetweefsel-LPL-pool t.g.v. afname van de hoeveelheid vetweefsel een rol speelt. Evenmin is uitgesloten, dat onderzoek van de (vet)weefsel-activiteit tijdens voeden wel verschillen tussen normale en uraemische proefdieren aan het licht brengt.

Op grond van bovenvermelde conclusie en onze veronderstelling, dat heparine-resistentie een verklaring voor de verlaagde vroege fase-LPL-activiteit zou kunnen vormen (zie Hfdst. III), werd de vrijmaking van LPL (resp. HTGL) uit de, aan de endotheelwand gebonden, LPL-pool bestudeerd. De resultaten van dit onderzoek zijn onder C beschreven.

Bij uraemische ratten, werd in vergelijking met een controle-groep aan de hand van de vrijmaking van LPL-activiteit, een ongeveer tweemaal zo grote gevoeligheid voor heparine vastgesteld. De vrijmaking van HTGL-activiteit is bij uraemische ratten eveneens veranderd in vergelijking met die



bij normale proefdieren. De betreffende dosis-effect-curve laat voornamelijk het beeld van een resistentie tegen heparine zien, dat pas bij de hoogste dosering heparine, die getest werd (100 I.E.) lijkt te worden overwonnen. Dat bij een lage dosering heparine (2 I.E./rat) een verhoogde "release" van HTGL-activiteit wordt gevonden, maakt het minder waarschijnlijk dat de verkregen curve verklaard moet worden uit de aanwezigheid in plasma van een remmer van de HTGL-activiteit.

Aileen Jansen e.a. (1974) hebben in de rat eveneens onderzoek verricht naar de dosis-effect relatie van heparine en PHLA, gedifferentieerd naar (extra-hepatische) LPL- en HTGL-activiteit. Hoewel er verschillen in de opzet van hun en onze experimenten zijn (mannelijke Wistarratten, bloedafname twee minuten na de toediening van heparine, onderzoek verricht onder anaesthesie met Nembutal), werden bij onze controle-groep in essentie dezelfde resultaten verkregen. Ook zij vonden bij lage doses heparine een activiteits-verhouding van HTGL en LPL kleiner dan 1.0, die bij hogere doses heparine omsloeg in een verhouding groter dan 1.0. Het omslagpunt lag tussen toediening van 5 en 25 I.E. heparine per rat (twee op eenvolgende doses, vgl. het omslagpunt bij onze experimenten tussen 2 en 10 I.E. heparine).

De onder C verkregen resultaten kunnen wijzen op een stoornis in het vrijkomen van HTGL-activiteit uit de aan de endotheelwand gebonden pool bij ratten met chronische nierinsufficiëntie. Hoewel hiermede dezelfde localisatie van de stoornis in de TG-stofwisseling wordt verkregen bij de rat, als die bij de mens gesuggereerd werd n.l. in de afbraakfase (zie Hfdst. III), valt op dat de stoornis uiteenlopende lipolytische activiteiten betreft. Een tweede opvallend verschijnsel bij vergelijking van de Figuren 6, 25 en 26 is het onder verschillende omstandigheden (continue infusie van heparine, vs. uiteenlopende éénmalige, intraveneuze doses heparine) tegengestelde gedrag van LPL- en HTGL-activiteit.

Tenslotte blijken, mede op grond van de in dit hoofdstuk verkregen resultaten, aanzienlijke verschillen te bestaan in de plasma-lipidenstofwisseling van de rat en de mens, waardoor nog eens de aandacht wordt gevestigd op de voorzichtigheid, die geboden is, wanneer men inzicht omtrent pathofysiologie bij de mens door onderzoek in het proefdier-model tracht te verkrijgen.

## 7. Conclusies.

1. Met de door ons toegepaste techniek van subtotale nefrectomie in één zitting uitgevoerd, wordt bij de rat een chronische niet-nefrotische nierinsufficiëntie verkregen, die gedurende enkele maanden een weinig progressief karakter heeft, om vervolgens vier tot zes maanden na de operatieve ingreep over te gaan in de terminale fase.
2. Bij ratten met een matig tot ernstige nierinsufficiëntie bestaat een hypertriglyceridaemie, die niet berust op een verhoogde aanmaak, maar op een vertraging van de afbraak van TG uit plasma. Tevens bestaat bij deze ratten een verhoging van de concentratie van HDL-cholesterol in plasma.
3. Hoewel de totale vetweefsel-LPL-pool naar alle waarschijnlijkheid verlaagd is bij de uraemische rat, bestaat na toediening van heparine een supra-normale afgifte van LPL uit de, aan de endotheelwand gebonden, LPL-pool. Anderzijds vindt een sterk verminderde afgifte van HTGL plaats, zonder dat de totaal in de lever aanwezige HTGL-pool verminderd is onder deze omstandigheden, zodat bij de rat de primaire stoornis in het afbraakproces van TG mogelijk gelocaliseerd is op het niveau van de vrijmaking van HTGL uit zijn, aan de endotheelwand gebonden, pool.
4. Er is geen correlatie tussen de ernst van de nierinsufficiëntie en de parameters van de TG-stofwisseling (TGSR, weefsel-LPL, PHLA).
5. Er bestaan geen correlaties tussen de concentratie van TG in plasma en de LPL-activiteit van de onderzochte weefsels. In enkele weefsels was bij normale en bij uraemische ratten de LPL-activiteit wel gecorreleerd met de concentratie van insuline in plasma en/of de HDL-cholesterol-spiegel.

## HOOFDSTUK VI.

### ONDERZOEK NAAR DE AFBRAAK VAN TG-RIJKE PARTIKELS IN RATTEN MET EXPERIMENTELE, CHRONISCHE NIERINSUFFICIENTIE DOOR BESTUDERING VAN DE KLARING VAN RADIOACTIEF GEMERKTE CHYLOMICRONEN.

#### 1. De afbraak van TG-rijke partikels (chylomicronen, VLDL).

Pas in 1951 werd duidelijk vastgesteld, dat na absorptie uit het darmkanaal, het transport van cholesterol naar de bloedbaan voor het overgrote deel via de lymfe plaatsvindt (Biggs e.a. 1951). Goodman (1962) toonde bij de rat aan, dat één uur na intraveneuze injectie van met radioactief cholesterol gemerkte chylomicronen meer dan negentig procent van de radioactiviteit wordt teruggevonden in de lever. Nestel e.a. (1963) toonden bij honden eenzelfde snelle opname van cholesterol in de lever aan. Functionele hepatectomie veroorzaakte een duidelijke vertraging van de klaring van cholesterol uit de bloedbaan. Eerder was door dezelfde groep onderzoekers (Havel en Goldfien 1961) reeds aangetoond dat de snelle klaring van TG (uit met radioactief TG gemerkte chylomicronen) voornamelijk in extrahepatische weefsels plaatsvond en vrijwel niet werd veranderd door hepatectomie. In het onderzoek van Nestel e.a. (1963), waarbij gebruik gemaakt werd van chylomicronen gemerkt met zowel radioactief TG als radioactief cholesterol, kwam dit onderscheid duidelijk naar voren.

Deze dissociatie van het cholesterol- en het TG-deel van chylomicronen zou op twee manieren kunnen plaatsvinden. Cholesterol wordt opgenomen in de lever, vervolgens bereikt het cholesterolarme, TG-rijke partikel de periferie waar TG-opname plaatsvindt. De tweede mogelijkheid is eerst TG-opname in de periferie, waarna opname van het cholesterolrijke, TG-arme partikel in de lever plaatsvindt. Dat de tweede mogelijkheid het meest waarschijnlijk is, wordt duidelijk aangetoond door de experimenten van Redgrave (1970) in de rat. Hepatectomie geeft ophoping van een cholesterolrijk, TG-arm "remnant" partikel in de circulatie, dat, wanneer geïsoleerd en ingespoten bij normale ratten, zeer snel in de lever wordt opgenomen. Dat het hierbij (bij de rat) gaat om opname van het gehele "remnant"

partikel is onlangs waarschijnlijk gemaakt (Felts e.a. 1975, Cooper 1977, Sherrill en Dietschy 1978).

Bij de rat geldt voor het TG-rijke partikel van endogene oorsprong (VLDL) eveneens dat het eerst overgaat in een "remnant" partikel (IDL: "intermediate density lipoprotein", Eisenberg e.a. 1973), dat niet te onderscheiden is van het "remnant" partikel afkomstig van chylomicronen (Mjøs e.a. 1975). Bij de mens verloopt dit laatste proces anders (vgl. Fig. 1). Siggurdson e.a. (1975) stelden vast dat negentig procent van met radioactief jodium gemerkt apo B in VLDL vervolgens werd teruggevonden in LDL partikels, terwijl de specifieke activiteitscurven van VLDL-apo B en LDL-apo B een "precursor-product"-relatie zeer aannemelijk maken. Eisenberg en Rachmilwitz (1973), die met dezelfde methoden dit aspect bij ratten hebben bestudeerd, vonden daar slechts 10% gemerkt apo B in LDL-partikels terug.

In de kliniek lijkt één ziekte te bestaan, waarbij de ophoping van "remnant" partikels een primaire rol speelt: Type III hyperlipoproteïn-aemie (Chait e.a. 1977). In hoeverre een hierbij tevens aanwezige deficiëntie van apo E-III (Utermann e.a. 1975) een rol speelt, is nog onduidelijk. Tevens bestaan aanwijzingen voor ophoping van "remnant" partikels als secundaire hyperlipoproteïn-aemie bij hypothyreoïdie (Rössner en Rosenquist 1974), diabetes mellitus (Schonfeld e.a. 1974) en leverziekten (Müller e.a. 1974). Laatstgenoemde auteurs vonden tevens een verlaagde HTGL-activiteit na toediening van heparine, reden waarom aan HTGL een rol is toebedacht bij de afbraak, c.q. opname van "remnant" partikels.

In het dierexperiment zijn eveneens aanwijzingen verkregen voor ophoping van "remnant" partikels in secundaire hyperlipaemie bij hypothyreoïdie en diabetes mellitus (Redgrave en Snibson 1977) en bij voeding met een cholesterolrijk dieet (Ross en Zilversmit 1977). Al eerder was door Zilversmit (1973) en Hülsmann en Jansen (1974, 1975) een verband gelegd tussen een hoge concentratie "remnant" partikels en atherosclerose.

Of ophoping van "remnant" partikels een rol speelt in de hypertriglyceridaemie bij nierinsufficiëntie is niet duidelijk. Weliswaar is een veranderde samenstelling van de VLDL- en LDL-fracties beschreven (Samar e.a. 1975, Norbeck e.a. 1976), doch alleen de resultaten van het onderzoek van één groep (Wada e.a. 1975, Minamisono e.a. 1978) suggereren op grond van electroforetisch en ultracentrifuge-onderzoek een op type III

gelijkende hyperlipaemie bij dialyse-patienten. Bij nierinsufficiëntie zijn vrijwel geen onderzoeken met gebruik van TG-rijke partikels, radioactief gemerkt in het cholesterol- en/of het TG-deel, verricht. Gregg e.a. (1977) toonden aan, dat VLDL in vivo met  $2\text{-}^3\text{H}$ -glycerol gemerkt, ingespoten bij ratten met een chronische nierinsufficiëntie, een aanzienlijk langzamer verdwijning vertoont dan bij normale ratten.

## 2. Vraagstelling.

Teneinde beide stappen in de afbraak van TG-rijke partikels, nl. TG-verdwijning in de perifere weefsels en opname van cholesterolrijke, TG-arme partikels in de lever, te bestuderen, hebben wij gebruik gemaakt van dubbel radioactief gemerkte (nl. in cholesterol en TG) chylomicronen. Ophoping van "remnant" partikels in de circulatie wordt dan weergegeven door een abnormaal sterke daling van de verhouding van TG-gebonden: cholesterol-gebonden radioactiviteit gecombineerd met een daling van de opname van radioactiviteit in de lever. Een verminderde opname van de radioactiviteit in de lever alleen is niet noodzakelijkerwijze een teken van "remnant"-ophoping. Het kan ook voorkomen bij een stoornis in de eerste stap (TG-verdwijning in de perifere weefsels), daar intacte chylomicronen (vrijwel) niet in de rattelever worden opgenomen (Felts e.a. 1975, Noel e.a. 1975, Cooper 1977, Sherrill en Dietschy 1978).

De vraagstellingen luiden:

1. Wordt de vertraagde verdwijning van TG uit de circulatie veroorzaakt door een stoornis in één of beide processen ?
2. Is er een relatie tussen de op deze wijze gemeten verdwijning van TG uit de bloedbaan en de ernst van de nierinsufficiëntie ?

## 3. Methodiek.

Behoudens de ratten, die als donoren voor lymfe werden gebruikt, werden alle experimenten uitgevoerd bij vrouwelijke Wistarratten. Waar sprake is van ratten met een chronische nierinsufficiëntie, werd deze aandoening te- weegebracht op de wijze zoals beschreven in het voorafgaande hoofdstuk. Alle experimenten met uraemische ratten werden minstens één maand na de

subtotale nefrectomie verricht.

Mannelijke Wistar-ratten ( $\pm$  300 gram, TNO, Zeist) werden gebruikt als donoren voor lymfe. Dr. P.H.E.Groot (afd. Biochemie I, EUR) was ons behulpzaam bij het aanleggen van de lymfe-fistel. Een half tot één uur voor de ingreep, die onder anaesthesie met aether verricht werd, kregen de proefdieren 5 tot 10 ml Intralipid 10% (Vitrum) via een maagsonde toegediend. Op de door Bollman e.a. (1948a) beschreven wijze werd de ductus mesentericus (afvloed van lymfe voornamelijk afkomstig uit de dunne darm) gecanuleerd met een dunne plastic catheter (Portex, polythene tubing PP50) gevuld met fysiologisch zout, die tevoren dorsaal van de rechter nier door spierlaag en huid naar buiten was gebracht. Vervolgens werd een tweede soortgelijke canule, na eerst via spierlaag en huid in de linker flank naar buiten te zijn gebracht, gelegd in het proximale deel van het jejunum. Na sluiten van de buikholte werden beide canules aan de huid gefixeerd. Het proefdier werd na afloop van de operatie in een kooitje dat slechts beperkte bewegingsvrijheid toelaat, geplaatst (Bollman 1948b). Boven de kooi werd een infra-rood lamp geplaatst om, met name de eerste uren postoperatief, de lichaamstemperatuur van de rat op peil te houden. Voedsel en vocht werden hem voorgezet, terwijl via de in het jejunum gelegen canule een oplossing van 0.6 % NaCl en 0.03 % KCl werd toegediend via een infusiepompje met een snelheid van één tot twee ml per uur. Zodra de lymfe op deze wijze helder werd en de afvloed onbelemmerd plaatsvond, werd bovengenoemde perfusie-vloeistof vervangen door de proefmaaltijd samengesteld volgens Redgrave en Snibson (1977).

Radioactief gemerkt cholesterol en TG (4-<sup>14</sup>C-cholesterol, specifieke activiteit 55.8 mCi/mmol, batch 59 en 2-<sup>3</sup>H-glyceroltrioleaat, specifieke activiteit 682 mCi/mmol, batch 16; beide afkomstig van The Radiochemical Centre, Amersham) werden tesamen met 0.03 ml van een 10%-oplossing van cholesterol in chloroform toegevoegd aan 2.5 ml Intralipid 10 %, waarna een emulsie werd verkregen met ultrageluid ( 3 minuten, 75 kHz). Alvorens beide radioactief gemerkte stoffen werden gebruikt, vond eerst zuivering via dunne laag-chromatografie plaats. Uitgegaan werd van 56  $\mu$ Ci 4-<sup>14</sup>C-cholesterol en 338  $\mu$ Ci 2-<sup>3</sup>H-glyceroltrioleaat.

Na toediening van de maaltijd werd weer overgeschakeld op de perfusie-vloeistof. Vanaf het moment dat de lymfe melkachtig werd, vond gedurende vier tot acht uur verzameling plaats onder koeling in ijs. Van het radioactief gemerkte triglyceride werd aldus 40% in de lymfe teruggevonden;

van cholesterol 4%. Binnen 48 uur werd de lymfe voor de hieronder te beschrijven experimenten gebruikt, tot die tijd werd zij bewaard bij 4<sup>0</sup> C.

Hoewel Redgrave (1970) geen verschil in resultaten van proeven met injectie van radioactief gemerkte lymfe vond bij gebruikmaking van onbewerkte, resp. gezuiverde lymfe, besloten wij toch gezuiverde lymfe (chylomicronen-fractie met geringste dichtheid) te gebruiken, gezien de mogelijkheid van inbouw van de radioactief gemerkte stoffen in VLDL (Risser e.a. 1978) en HDL (Green e.a. 1978). Voor zuivering werd gebruik gemaakt van de door Nestel e.a. (1963) beschreven methode waarbij lymfe eerst gewassen wordt met fysiologisch zout en vervolgens gedurende 20 minuten bij 30.000 g wordt gecentrifugeerd. De onderlaag wordt via een door de bodem geprikte naald voorzichtig afgezogen, de bovendrijvende laag wordt opnieuw in fysiologisch zout gesuspenseerd. Bij de zuivering van lymfe, werd vastgesteld dat de bewerking niet tot verlies van label leidt. De "recovery" van radioactiviteit in boven- en onderlaag bedroeg voor <sup>3</sup>H-TG 85.5 en 20.3%, voor <sup>14</sup>C-cholesterol 57.8 en 52.6% van de radioactiviteit oorspronkelijk aanwezig in de onbewerkte lymfe.

Zes uraemische en acht normale ratten werden onderzocht. Alle proefdieren hadden gedurende minimaal 16 uur gevast voorafgaande aan het experiment. Zonder anaesthesie werd 1 ml van de bovenlaag in enkele seconden in een staartvene ingespoten, halverwege werd een stopwatch ingedrukt, zodat precies twaalf minuten later onder anaesthesie met aether met behulp van aortapunctie bloed kon worden afgenomen. Direct hierna werd de lever in toto verwijderd. Het bloed werd in EDTA opgevangen, gecentrifugeerd en indien verdere bewerking niet aansluitend plaatsvond, maximaal 24 uur bij -20<sup>0</sup> C bewaard. De lever werd gespoeld en doorgespoten met fysiologisch zout, gewogen, fijngeknipt en, indien verdere bewerking niet aansluitend plaatsvond, maximaal 24 uur bij -20<sup>0</sup> C bewaard. Bij de injectie van 1 ml van de bovenste fase werd 5 mg TG per rat toegediend.

Naast bepaling van de radioactiviteit in leverweefsel en plasma, werd in het plasma zowel bij de controle-groep als bij de uraemische ratten ook de concentratie van ureum bepaald. Voor de bepaling van de radioactiviteit werd het plasma-monster (250 µl, in duplo) onder vacuüm ingedampt en vervolgens opgelost in 1 ml 0.5 N ammoniumhydroxyde in toluen (Solueen-350, Packard), waaraan 10 ml scintillatie-vloeistof, bestaande uit toluen, waarin per liter was opgelost 5 g 2.5-difenyloxazol (PPO)

Tabel XVIII Basale gegevens (gemiddelde  $\pm$  S.D.) van normale en uraemische ratten, waarbij radioactief gemerkte chylomicronen werden ingespoten.

	controles (n = 8)	uraemische ratten (n = 6)	p
Lichaamsgewicht (g)	179 $\pm$ 3	199 $\pm$ 14	< 0.005
Ureum (mmol/l)	7.0 $\pm$ 0.8	22.9 $\pm$ 4.6	< 0.001
Plasma volume (ml)	8.94 $\pm$ 0.09	9.52 $\pm$ 0.39	< 0.005
Levergewicht (g)	5.3 $\pm$ 0.4	6.6 $\pm$ 1.2	< 0.025
Levergewicht (% lich. gew.)	3.0 $\pm$ 0.3	3.4 $\pm$ 0.8	n.s.



en 0.3 g 1.4-bis-2-(4-methyl-5 fenylloxazoly)l) benzoel (POPOP), werd toegevoegd. Na equilibratie bij 4<sup>o</sup> C werd telling van de radioactiviteit verricht. Van de fijngeknijpte lever werd tweemaal 0.5 g afgewogen, waarna homogenisatie van het weefsel en extractie van de lipide-fractie plaatsvond volgens de door Folch e.a. (1957) beschreven methode. De extracten werden onder vacuüm ingedampt en ondergingen vervolgens dezelfde bewerking als hierboven voor plasma-monsters beschreven. Er werd gelijktijdig in twee kanalen van de scintillatie teller geteld, die zodanig waren ingesteld dat in het ene kanaal uitsluitend <sup>14</sup>C (gemiddelde "efficiency" 15%), in het andere <sup>14</sup>C en <sup>3</sup>H (gemiddelde "efficiency" 30%) werd geteld. Met behulp van interne standaarden werd gecorrigeerd voor "quenching" en de kanaalfactor werd berekend door <sup>14</sup>C-standaarden in beide kanalen te tellen.

Bij twee normale en drie uraemische ratten werd tevens de verdeling van de radioactiviteit over de verschillende lipoproteïne-fracties nagegaan door ultracentrifugeren van het plasma-monster volgens Redgrave e.a. (1975). Teneinde het effect van plasma in vitro op de radioactief gemerkte chylomicronen na te gaan, werd 4 ml plasma (afkomstig van een normale rat) gedurende twaalf minuten bij 37<sup>o</sup> C geïncubeerd met éénzelfde hoeveelheid gezuiverde lymfe, zoals in vivo werd ingespoten (in het vervolg zal dit het incubaat genoemd worden). De verdeling van de radioactiviteit over de lipoproteïne-fracties werd ook in het incubaat bepaald.

In de gezuiverde lymfe, in plasma in de d < 1.006 fractie en in de lever werd middels dunnelaag-chromatografie (op silicagel in cyclohexaan: ethylacetaat -6 : 4-) de verdeling van de <sup>14</sup>C-radioactiviteit over vrij cholesterol en cholesterol ester, resp. de hoeveelheid <sup>3</sup>H-radioactiviteit aanwezig in TG, bepaald.

#### 4. Resultaten.

De basale gegevens van de in het experiment gebruikte uraemische en normale ratten zijn samengevat in Tabel XVIII. Er bestond wel een verschil in absoluut, niet in relatief uitgedrukt, gewicht van de lever. In een grotere groep uraemische ratten (n = 18) bestond geen verschil van het lever-gewicht met dat bij 19 normale ratten: 6.2 ± 1.0 g, resp. 6.6 ± 1.0 g en uitgedrukt in percentages van het lichaamsgewicht 3.3 ± 0.4,

Tabel XIX Verdwijning uit plasma en opname in de lever van radioactiviteit afkomstig van chylomicronen gemerkt in het TG ( $^3\text{H}$ )- en cholesterol ( $^{14}\text{C}$ )deel, twaalf minuten na intraveneuze injectie. De verdwijning en opname zijn weergegeven als percentages (gemiddelde  $\pm$  S.D.) van de toegediende dosis. De verhouding van de  $^3\text{H} : ^{14}\text{C}$  radioactiviteit in plasma en lever is uitgedrukt ten opzichte van de verhouding in de toegediende chylomicronen (gesteld op 1.00).

	controles n = 8	uraemische ratten n = 6	p
Verdwijning uit plasma			
$^{14}\text{C}$	80.7 $\pm$ 6.0	13.5 $\pm$ 10.1	< 0.0001
$^3\text{H}$	90.9 $\pm$ 1.4	32.8 $\pm$ 17.4	< 0.0001
Opname in de lever			
$^{14}\text{C}$	58.2 $\pm$ 3.1	22.0 $\pm$ 7.1	< 0.0001
$^3\text{H}$	5.9 $\pm$ 0.9	3.8 $\pm$ 0.6	< 0.001
Verhouding $^3\text{H} : ^{14}\text{C}$			
plasma	0.54 $\pm$ 0.12	0.76 $\pm$ 0.15	< 0.01
lever	0.10 $\pm$ 0.01	0.18 $\pm$ 0.08	< 0.025

resp.  $3.3 \pm 0.5$ .

Tabel XIX geeft een overzicht van de resultaten, die bij de tellingen van de radioactiviteit in plasma-monsters en lever-extracten zijn verkregen. Duidelijke verschillen in klaring worden gevonden in controles en uraemische ratten, daar echter een belangrijk deel van de  $^{14}\text{C}$ -radioactiviteit, in snel uitwisselbaar, vrij cholesterol voorkomt, wordt op deze wijze onvoldoende inzicht verkregen in de klaring van cholesterolester.

Tabel XX geeft een overzicht van de verdeling van de radioactiviteit over de lipoproteïne-fracties in het incubaat en bij controles en uraemische proefdieren. Bij de uraemische ratten bevindt zich twaalf minuten na injectie vrijwel alle activiteit in de  $d < 1.006$  fractie, terwijl de verdeling over de fracties weinig afwijkt van die, gevonden in het incubaat. De verdwijning van  $^3\text{H-TG}$  en  $^{14}\text{C-cholesterolester}$  uit de  $d < 1.006$  fractie en de opname van beide gemerkte stoffen in de lever is weergegeven in Tabel XXI. De verdwijning van  $^3\text{H-TG}$  verloopt in beide groepen proefdieren sneller dan die van  $^{14}\text{C-cholesterolester}$ . De snelheid van klaring is voor beide stoffen lager in de uraemische ratten. Beide groepen proefdieren vertonen een geringe opname van  $^3\text{H-TG}$  in de lever. Voor  $^{14}\text{C-cholesterolester}$  geldt het omgekeerde: Het merendeel van de geklaarde cholesterolester wordt in de lever opgenomen. Dit komt duidelijk tot uiting in de lage verhouding  $^3\text{H-TG} : ^{14}\text{C-cholesterolester}$  in de lever. Zowel in plasma, als in de lever wordt bij de uraemische ratten een hogere verhouding  $^3\text{H-TG} : ^{14}\text{C-cholesterolester}$  gevonden.

De totale recovery van de toegediende radioactiviteit werd niet bepaald. Wel werd de recovery van radioactiviteit in het plasma-compartment en in de lever bepaald (de som van beide wordt in het vervolg aangeduid als subtotaal recovery). De subtotaal recovery van radioactief gemerkt cholesterol bedraagt  $77 \pm 6\%$  en  $105 \pm 5\%$  voor de normale, resp. de uraemische ratten. De subtotaal recovery van radioactief gemerkte TG bedraagt  $16 \pm 2\%$  en  $73 \pm 17\%$  voor de normale, resp. de uraemische ratten. De lagere percentages voor de subtotaal recovery van radioactief gemerkte TG in vergelijking met cholesterol liggen voor de hand, gezien de belangrijke rol die extra-hepatische weefsels bij de verdwijning van TG uit plasma spelen.

Correlaties tussen de parameters, verkregen bij de bestudering van de stofwisseling van dubbel gemerkte chylomicronen, en de ernst van de

Tabel XX Procentuele verdeling (gemiddelde  $\pm$  S.D.) van de  $^3\text{H}$ - en  $^{14}\text{C}$ -radioactiviteit over de verschillende lipoproteïne-fracties in plasma twaalf minuten na de injectie van dubbelgemerkte chylomicronen. De recovery van de radioactiviteit in de fracties tesamen varieerde van 88 - 98% van de in plasma aanwezige radioactiviteit. Ter vergelijking wordt tevens de verdeling in het incubaat opgegeven. De verschillen in procentuele verdeling van de uraemische en controle proefdieren zijn in alle gevallen significant, uitgezonderd die van de  $^3\text{H}$ -radioactiviteit in de 1.006 - 1.019 fractie.

dichtheid g/ml	incubaat		controle ratten (n = 2)		uraemische ratten (n = 3)	
	$^3\text{H}$	$^{14}\text{C}$	$^3\text{H}$	$^{14}\text{C}$	$^3\text{H}$	$^{14}\text{C}$
< 1.006	92.0	78.2	19.5 $\pm$ 2.1	57.6 $\pm$ 2.6	87.4 $\pm$ 3.3	78.9 $\pm$ 1.5
1.006 - 1.019	1.1	1.0	0.5 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.3	0.4 $\pm$ 0.1	0.7 $\pm$ 0.4
1.019 - 1.063	0.7	4.1	4.2 $\pm$ 0.3	8.7 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.3
1.063 - 1.21	2.7	14.6	26.7 $\pm$ 0.4	24.7 $\pm$ 3.0	4.7 $\pm$ 1.1	14.0 $\pm$ 1.2
> 1.21	3.6	2.1	49.2 $\pm$ 1.6	8.0 $\pm$ 0.4	6.6 $\pm$ 1.9	2.1 $\pm$ 0.3

Tabel XXI Verdwijning uit de  $d < 1.006$  fractie en opname in de lever van  $^3\text{H-TG}$  en  $^{14}\text{C-cholesterolester}$  uit chylomicronen, twaalf minuten na intraveneuze injectie. De verdwijning en opname zijn weergegeven als percentage (gemiddelde  $\pm$  S.D.) van de toegediende dosis. De verhouding  $^3\text{H-TG} : ^{14}\text{C-cholesterolester}$  is uitgedrukt ten opzichte van die verhouding in de toegediende chylomicronen (gesteld op 1.00). Van de toegediende  $^3\text{H}$ -radioactiviteit was 94% aanwezig als  $^3\text{H-TG}$ , van de  $^{14}\text{C}$ -radioactiviteit 46% als  $^{14}\text{C-cholesterolester}$ . Van de na twaalf minuten nog aanwezige  $^3\text{H}$ -radioactiviteit in de  $d < 1.006$  fractie was  $78 \pm 9\%$  aanwezig als  $^3\text{H-TG}$  bij normalen,  $95 \pm 1\%$  bij de uraemische proefdieren. Voor de  $^{14}\text{C-cholesterolester}$  radioactiviteit waren deze percentages bij normalen  $60 \pm 0\%$ , resp.  $54 \pm 1\%$  bij de uraemische proefdieren. Van de in de lever opgenomen  $^3\text{H}$ -radioactiviteit was bij de controles  $79 \pm 4\%$ , bij de uraemische ratten  $75 \pm 3\%$  als  $^3\text{H-TG}$  aanwezig. Van de  $^{14}\text{C}$ -radioactiviteit was bij de controles  $36 \pm 5\%$ , bij de uraemische ratten  $23 \pm 3\%$  als  $^{14}\text{C-cholesterolester}$  aanwezig.

	controles (n = 3)	uraemische ratten (n = 3)	p
verdwijning uit $d < 1.006$ fractie:			
$^{14}\text{C-cholesterolester}$	$81.3 \pm 2.4^*$	$19.4 \pm 11.4$	$< 0.01$
$^3\text{H-TG}$	$98.3 \pm 0^*$	$42.5 \pm 16.3$	$< 0.025$
opname in de lever:			
$^{14}\text{C-cholesterolester}$	$44.7 \pm 6.5$	$13.1 \pm 1.4$	$< 0.005$
$^3\text{H-TG}$	$5.4 \pm 0.9$	$2.7 \pm 0.3$	$< 0.01$
verhouding $^3\text{H-TG} : ^{14}\text{C-cholesterolester}$ in:			
plasma	$0.09 \pm 0.01^*$	$0.71 \pm 0.11$	$< 0.005$
lever	$0.12 \pm 0.01$	$0.21 \pm 0.01$	$< 0.0005$

\* n = 2

nierinsufficiëntie, uitgedrukt in de concentratie van ureum in plasma, werden niet waargenomen.

## 5. Bespreking van de resultaten.

Hoewel onze resultaten niet zonder meer met die van Redgrave en Snibson (1977), verkregen bij ratten met experimenteel opgewekte diabetes mellitus en hypothyreoidie, kunnen worden vergeleken (bij hun onderzoek werd een andere rattestam tijdens een vetrijke maaltijd met niet-gezuiverde lymfe onderzocht), werden de thans bekende kenmerken van de stofwisseling van chylomicronen in de rat bevestigd.

Het merendeel van de radioactief gemerkte cholesterolester, die uit plasma verdwijnt, blijkt in de lever te zijn opgenomen (Goodman 1962, Quarfordt en Goodman 1967, Redgrave 1970), terwijl slechts een klein gedeelte van de uit plasma verdwenen, radioactief gemerkte TG in de lever wordt opgenomen (Olivecrona en Belfrage 1965, Redgrave 1970).

De door ons gevonden sterk verlaagde verhouding van  $^3\text{H}$ -TG en  $^{14}\text{C}$ -cholesterolester in de lever ten opzichte van die in de toegediende, gezuiverde lymfe past bij het gegeven, dat in de lever vrijwel alleen "remnant" partikels worden opgenomen (Redgrave 1970, Felts e.a. 1975, Cooper 1977, Sherrill en Dietschy 1978).

Twaalf minuten na injectie van de dubbel gemerkte chylomicronen werd bij de uraemische ratten in vergelijking met de normale ratten geen lagere verhouding  $^3\text{H} : ^{14}\text{C}$  in plasma vastgesteld, integendeel er werd een sterk verhoogde verhouding  $^3\text{H}$ -TG :  $^{14}\text{C}$ -cholesterolester in de  $d < 1.006$  fractie gevonden. Dit wijst eerder op een stoornis in de eerste stap (klaring van TG in extra-hepatische weefsels), dan op een ophoping van "remnant" partikels in de circulatie als verklaring voor de hypertriglyceridaemie bij chronische nierinsufficiëntie. Hoewel het uitgesproken verschil in grootte van de  $d < 1.006$ -TG-pool van de controles en de uraemische ratten hier storend werkt, lijkt, gezien 1) de grootte van de TG-belasting in vergelijking tot de poolgrootte en 2) het feit dat bij de uraemische ratten minstens eenzelfde percentage van de totaal geklaarde hoeveelheid  $^{14}\text{C}$ -cholesterolester in de lever wordt opgenomen als bij de controle-groep, bovenstaande conclusie houdbaar. Mogelijk wijst de verhouding van  $^3\text{H}$ -TG :  $^{14}\text{C}$ -cholesterolester in de lever bij uraemische ratten

op opname van een naar verhouding TG-rijker "remnant" partikel. De door ons gedane waarnemingen sluiten afwijkingen in het tweede proces, de opname van "remnant" partikels in de lever, bij uraemische ratten echter niet geheel uit. Lichte dalingen in de snelheid van opname van "remnant" partikels in de lever zouden kunnen worden opgespoord door rechtstreeks de verdwijning van deze partikels bij uraemische ratten te bestuderen.

Wij beschikken niet over de totale recovery van radioactiviteit twaalf minuten na injectie van de gezuiverde lymfe. Door onze subtotale recovery te vergelijken met de in de literatuur vermelde bijdrage van plasma-compartiment en lever aan de totale recovery (Redgrave 1970) kon worden vastgesteld, dat geen abnormaal verlies van radioactief gemerkte stof optrad. Redgrave (1970) vond tien minuten na intraveneuze injectie van gewassen lymfe 27% van de  $^3\text{H}$ - en 83% van de  $^{14}\text{C}$ -radioactiviteit terug in lever en plasma-compartiment tesamen bij een totale recovery van 96.5 en 100.6%. Bovenstaande "recoveries" komen redelijk overeen met de door ons bij de controle-groep na twaalf minuten gevonden waarden. De recovery van  $^{14}\text{C}$ -radioactiviteit was bij de uraemische groep iets groter dan bij normalen. De recovery van  $^3\text{H}$ -radioactiviteit was bij de uraemische proefdieren veel hoger dan bij de controle-groep ( $73 \pm 17$  vs.  $16 \pm 2\%$ ): Een gevolg van de vermindering van de snelheid van opname van TG uit de bloedbaan in de extra-hepatische weefsels in de eerste groep.

Net zo min als in de kliniek, konden in het proefdier-model met chronische nierinsufficiëntie correlaties worden vastgesteld tussen de graad van nierinsufficiëntie enerzijds en de stoornissen in de stofwisseling van TG-rijke partikels anderzijds.

## 6. Conclusies.

1. Met de in dit hoofdstuk gebruikte techniek worden bij uraemische proefdieren aanwijzingen voor een vertraagde verdwijning van TG uit plasma gevonden. De snelheid van verdwijning van in de chylomicronen-fractie getransporteerde cholesterolester blijkt eveneens verminderd te zijn.
2. Deze stoornis in de stofwisseling van TG-rijke partikels lijkt veroorzaakt te worden door een verminderde vorming van "remnant" partikels en niet door een ophoping van deze partikels in de circulatie.

3. Bij uraemische ratten bestaat geen correlatie tussen de ernst van de chronische nierinsufficiëntie, uitgedrukt in de concentratie van ureum in het plasma, en de parameters van de stofwisseling van chylomicronen, verkregen op de in dit hoofdstuk beschreven wijze.



## HOOFDSTUK VII.

### ENKELE OPMERKINGEN OVER DE BEHANDELING VAN HYPERTRIGLYCERIDAEMIE BIJ CHRONISCHE NIERINSUFFICIENTIE.

Hoewel de behandeling van de hypertriglyceridaemie bij nierinsufficiëntie op enkele plaatsen reeds ter sprake is gekomen, zullen wij hier meer systematisch ingaan op de mogelijkheden tot behandeling.

Uit de literatuur en in dit proefschrift beschreven onderzoek komt naar voren, dat hypertriglyceridaemie bij deze categorie patiënten voornamelijk wordt veroorzaakt door een verminderde snelheid van afbraak van plasma-TG, hoewel bij niet met haemodialyse behandelde patiënten ook sprake kan zijn van een verhoogde aanmaak. De vertraagde afbraak van plasma-TG lijkt samen te hangen met een vermindering van de, met heparine vrij te maken, lipolytische activiteit. Op grond van bovenstaande is onder de huidige omstandigheden de meest voor de hand liggende mogelijkheid om de hypertriglyceridaemie bij nierinsufficiëntie te bestrijden, een vermindering van de belasting van het afbraak-systeem. Hiertoe staan ons twee wegen ter beschikking. Enerzijds kan de toevoer van exogene- met het dieet toegediende - TG worden beperkt, anderzijds de toevoer van endogene - in de lever geproduceerde - TG, hetgeen in het eerste geval een beperking van de hoeveelheid vet, in het tweede geval een beperking van de hoeveelheid koolhydraten in de voeding inhoudt. Laatstgenoemde mogelijkheid, gecombineerd met een verhoging van de hoeveelheid meervoudig onverzadigde vetzuren lijkt eveneens effectief. Beide maatregelen zijn gemakkelijker door te voeren bij patiënten met een nierinsufficiëntie, die behandeld worden met haemodialyse, dan bij diegenen, die daarmee (nog) niet behandeld worden, gezien de minder ernstige beperking van de hoeveelheid eiwit in het dieet waarmee bij de eerstgenoemde groep kan worden volstaan. In Hoofdstuk II, par. 2 en 6, kwam echter al ter sprake, dat tegenstrijdige mededelingen voor wat betreft de invloed van dieet(maatregelen) op de hypertriglyceridaemie zijn gedaan, zodat de vraag of een dergelijke verzwaring van de dieet-voorschriften leidt tot het gewenste resultaat nog

niet éénduidig is te beantwoorden.

De laatste jaren zijn ook mededelingen over medicinale therapie ter bestrijding van de hypertriglyceridaemie bij nierinsufficiëntie verschenen. In alle publicaties betreft het echter slechts kleine groepen patienten. Goldberg e.a.(1977) toonden aan dat clofibraat, mits in een aangepaste dosering (twee à drie maal 0.5 g per week) gegeven, geen toxische verschijnselen, maar wel een daling van de concentratie van plasma-TG teweeg bracht bij dertien dialyse-patienten. Actieve kool in een dosering van 35 gram per dag, oraal toegediend, veroorzaakte bij drie van de zes patienten met nierinsufficiëntie een daling van de concentratie van TG en cholesterol in plasma (Friedman e.a. 1978). Gokal e.a. (1978b) stelden vast dat behandeling met een nicotinezuur-verbinding wel leidde tot een verlaging van de concentratie van TG en cholesterol in plasma, doch tevens bij alle zes patienten tot bijverschijnselen in die mate, dat de behandeling moest worden gestaakt.

Van clofibraat is aangetoond, dat het de LPL-activiteit en niet de HTGL-activiteit (Nikkilä e.a. 1977) stimuleert, zowel indien gemeten als PHLA (Kissebah e.a. 1974b, Nikkilä e.a. 1977), als gemeten in vet- (Boberg e.a. 1977) en spierweefsel (Lithell e.a. 1978). Hierbij verhoogt het de concentratie van HDL-cholesterol (Wilson en Lees 1972) en verlaagt het de concentratie van plasma-TG.

Op grond van bovenstaande betrekkelijk summiere onderzoeken bij patienten met nierinsufficiëntie, de aangehaalde experimentele gegevens over de invloed van toediening van clofibraat aan mensen en de in dit proefschrift beschreven onderzoeken, dient de toepasbaarheid van clofibraat als middel ter bestrijding van de hypertriglyceridaemie bij nierinsufficiëntie nader te worden onderzocht. De indicatiestelling zal echter worden beïnvloed door het zojuist verschenen rapport van een internationale studie-groep (Oliver e.a. 1978) betreffende het gebruik van clofibraat als primaire preventie-maatregel bij de bestrijding van ischaemische hart-ziekten, waarbij belangrijke lever-, galweg- en darm-pathologie geassocieerd bleek te zijn met het langdurig gebruik van dit middel.

## SAMENVATTING.

In dit proefschrift wordt gepoogd meer inzicht in de pathofysiologie van de hypertriglyceridaemie bij chronische nierinsufficiëntie te verkrijgen. Hiertoe is zowel onderzoek verricht in de kliniek bij patienten met een chronische nierinsufficiëntie, al dan niet behandeld met haemodialyse, alsook in een proefdier-model: De rat met een subtotale nefrectomie.

In Hoofdstuk II wordt het onderzoek beschreven naar de snelheid van turnover van plasma-TG bij patienten met een ernstige chronische nierinsufficiëntie tijdens conservatieve behandeling (d.w.z. niet behandeld met haemodialyse). Uitgezonderd de patienten met de hoogste klaring van creatinine binnen de groep, werd een duidelijk verlaagde fractionele turnover-snelheid van plasma-TG vastgesteld, van VLDL-TG aannemelijk gemaakt. Bij het merendeel van de onderzochte patienten is dus sprake van een stoornis in de afbraak van plasma-TG. Door tevens enkele patienten met een matige nierinsufficiëntie in het onderzoek te betrekken, werd een bifasisch verloop in de concentratie van TG in plasma bij voortschrijdende nierinsufficiëntie waarschijnlijk gemaakt, waarvoor in de literatuur aanwijzingen zijn te vinden.

Lipoproteïne lipase (LPL), resp. triglyceridase afkomstig uit de lever (HTGL), enzymen betrokken bij de afbraak van plasma-TG, werden bestudeerd bij vijftien patienten met een chronische nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse, terwijl bij een grotere groep patienten uit deze categorie de aard en omvang van afwijkingen in de plasma-lipiden-spiegels werden vastgesteld (Hfdst. III). Ruim de helft van de patienten had een hypertriglyceridaemie. Dit percentage lag aanzienlijk lager dan bij de patienten die (nog) niet gedialyseerd werden. Het feit dat slechts twee van de tien patienten die een bilaterale nefrectomie hadden ondergaan een verhoogde concentratie van TG in plasma vertoonden, wekt de suggestie dat een factor afkomstig uit de zieke nier een rol kan spelen. Vrijwel alle in dit hoofdstuk beschreven patienten hadden een duidelijk verlaagde concentratie van HDL-cholesterol bij een meestal normale concentratie van totaal cholesterol in het plasma.

LPL- en HTGL-activiteit werden bepaald tijdens een vier uur durende

infusie van heparine, waardoor veranderingen in het bifasisch patroon van deze activiteiten kunnen worden bestudeerd. Alleen de vroege fase (30 min na het begin van de infusie) van de LPL-activiteit, samenhangend met de vrijmaking van LPL-activiteit uit de aan de endotheelwand gebonden "pool", was bij patienten met chronische nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse, duidelijk verlaagd. Verlaging van de HTGL-activiteit werd bij de door ons onderzochte patienten niet gevonden.

Tussen de concentratie HDL-cholesterol en beide typen lipolytische activiteit bestond een verband, zij het tegengesteld: Een positieve correlatie met de LPL-activiteit in de vroege fase, een negatieve correlatie met de HTGL-activiteit in dezelfde fase. Er bestond geen correlatie tussen de 2 typen lipolytische activiteit en de concentratie van insuline in plasma. Daar tevens een negatieve correlatie tussen de verlaagde LPL-activiteit in de vroege fase en de TG-concentratie in plasma in nuchtere toestand bestaat, lijkt ook bij patienten met een nierinsufficiëntie, behandeld met haemodialyse en bestudeerd met een geheel andere techniek dan in Hoofdstuk II, de hypertriglyceridaemie te worden veroorzaakt door een stoornis in de afbraak van plasma-TG. Gesuggereerd wordt, dat de stoornis berust op een verkleining van de, aan de endotheelwand gebonden, LPL-"pool" en/of een stoornis in het vrijkomen van LPL uit deze "pool".

Hoofdstuk IV is gewijd aan de vraag of de verlaging van de (extra-hepatische) LPL-activiteit bij haemodialyse-patienten kan worden toegeschreven aan in het plasma aanwezige stof(fen), die de LPL-activiteit remt (remmen). Weliswaar werd in plasma van de patienten een grotere concentratie van LPL-remstof gevonden dan in plasma van gezonden, doch deze was gelijk voor patienten met en zonder hypertriglyceridaemie, zodat een rechtstreeks verband tussen de concentratie remstof en de concentratie van plasma-TG niet kon worden aangetoond.

In de Hoofdstukken V en VI zijn onderzoeken naar de localisatie van de stoornis(sen) in de TG-stofwisseling bij chronisch uraemische ratten beschreven. Allereerst wordt in Hoofdstuk V de operatie-techniek van subtotale nefrectomie besproken voor het opwekken van een chronische, niet-nefrotische nierinsufficiëntie, die na een weinig progressieve fase van 3 maanden meestal binnen een half jaar tot de dood leidt. Ook in het proefdier-model werd bij toenemende nierinsufficiëntie een bifasisch verloop

van de concentratie van TG in plasma vastgesteld: Aanvankelijk een stijging, bij ureum-concentraties in het plasma van meer dan 50 mmol/l een daling van de plasma-TG.

In dit proefdier-model werden achtereenvolgens de secretie van TG in plasma, de weefsel-LPL (resp. HTGL)-activiteit en het met heparine vrijmaken van LPL, resp. HTGL uit de aan de endotheelwand gebonden, "pool" van deze enzymen onderzocht (Hfdst. V). De snelheid van secretie van TG in plasma werd bij vastende ratten bestudeerd met de zg. Triton-methode. Er werden geen verschillen in snelheid van secretie gevonden tussen uraemische en normale ratten, terwijl de eerste groep een twee tot drie maal zo hoge concentratie van TG in plasma vertoonde. Tevens werd vastgesteld, dat uraemische ratten, in tegenstelling tot mensen met een nierinsufficiëntie, een verhoogde concentratie HDL-cholesterol in het plasma hebben.

De lipolytische activiteit in vet-, hartspier-, skeletspier- en leverweefsel werd bepaald bij ratten na 16 uur vasten. Verschillen in activiteit tussen uraemische en normale ratten werden niet gevonden, zodat belangrijke stoornissen in de synthese van de enzymen minder waarschijnlijk zijn, al moet rekening gehouden worden met de mogelijkheid dat bij gevoede ratten verschillen bestaan. Daar geen verschil in gewicht van de lever tussen uraemische en normale ratten bestaat, lijkt ook de totale voorraad HTGL-activiteit niet verschillend. Voor vetweefsel-LPL is deze totale voorraad bij uraemische ratten waarschijnlijk verlaagd, gezien de vermindering in hoeveelheid vetweefsel die bij deze dieren optreedt. Opvallend is de negatieve correlatie die tussen HDL-cholesterol in het plasma en de lipolytische activiteit van zowel vet- als leverweefsel bij uraemische ratten bestaat.

Het onder invloed van heparine vrijkomen van LPL- en HTGL-activiteit in plasma blijkt bij uraemische ratten afwijkend te verlopen. Er is, afhankelijk van de dosis heparine, sprake van een zekere heparine-resistentie voor wat betreft het vrijkomen van HTGL-activiteit en van verhoogde gevoeligheid voor heparine voor wat betreft de LPL-activiteit.

Door gebruik te maken van zowel met radioactief TG ( $^3\text{H}$ -glyceroltrioleaat) als cholesterol ( $^{14}\text{C}$ ) gemerkte chylomicronen werd vastgesteld (Hfdst. VI), dat met name de eerste fase in de afbraak van TG-rijke partikels in de

circulatie (opname van TG in extra-hepatische weefsels) vertraagd lijkt te verlopen. Aanwijzingen voor afwijkingen in de tweede fase, nl. de opname van "remnant" partikels in de lever, werden bij dit onderzoek niet gevonden.

Op grond van bovenstaande gegevens lijken de stoornissen in de TG-stofwisseling in het door ons bestudeerde proefdier-model op twee plaatsen in het afbraakproces gelocaliseerd te zijn. Enerzijds betreft het een vertraagde initiële TG-opname in de extra-hepatische weefsels, mogelijk samenhangend met de verminderde totale voorraad vetweefsel-LPL. Anderzijds een mogelijk vertraagd vrijkomen van HTGL-activiteit uit de aan de endotheelwand gebonden "pool", waarvan de betekenis voor de gestoorde afbraak minder duidelijk is.

Tenslotte wordt in Hoofdstuk VII kort op de mogelijkheden tot behandeling van de hypertriglyceridaemie bij nierinsufficiëntie ingegaan.

## SUMMARY

Investigations concerning the pathophysiology of the hypertriglyceridaemia in chronic renal failure are described. Studies were carried out in patients with chronic renal insufficiency, treated or not with intermittent haemodialysis and in an experimental model: The subtotaly nephrectomized rat.

Plasma TG turnover studies in patients with severe chronic renal failure, not treated with haemodialysis, are described in Chapter II. Except the patients with the highest creatinine clearance within the group, all patients showed a decreased fractional turnover rate of plasma TG, the same is likely for VLDL-TG. Thus, in most patients studied, there is a decreased rate of removal of plasma TG. With regard to the results obtained in some patients with milder forms of renal insufficiency, a biphasic pattern of plasma TG concentration in the course of progressive renal failure, is suggested. Indications for such a pattern are also found in the literature.

Lipoprotein lipase (LPL), resp. triglyceridase from the liver (HTGL), enzymes involved in the removal of plasma TG, were studied in fifteen patients with chronic renal failure, treated with haemodialysis. In a larger group of such patients the nature and frequency of changes in plasma lipid levels were studied (Chapter III). About half the patients were hypertriglyceridaemic, which is distinctly lower than in the non-dialyzed group. The fact, that only two out of ten patients with bilateral nephrectomy were hypertriglyceridaemic, suggests the aetiological involvement of a factor from the diseased kidney. Nearly all patients described in this chapter had a lowered plasma HDL-cholesterol concentration with no changes in total plasma cholesterol concentration.

LPL and HTGL activity were measured during a continuous four hour infusion of heparin to study changes in the biphasic response of these activities. Compared to normals, dialyzed patients showed only decreased early phase LPL activity (30 minutes after the start of the infusion), thought to be an indication for the release of activity from the endothelial wall pool. No differences between dialyzed patients and the control group were found for HTGL activity.

Plasma HDL-cholesterol concentration was correlated with both lipolytic

activities: A positive correlation was present with the early phase LPL activity, a negative one with the early phase HTGL activity. No correlation was found between insulin and lipolytic activities. The inverse relationship between lowered LPL activities and fasting TG indicates that also in dialyzed patients, studied with a method totally different from the one used in Chapter II, the hypertriglyceridaemia is caused by a removal defect. The suggestion is made, that this defect is located near or in the rapidly releasable endothelial LPL pool (decreased pool size and/or defect in release mechanism).

Chapter IV deals with the question whether the decrease of LPL activity is related to circulating inhibitor(s). Although increased inhibition in dialyzed patients was found, there was no difference in inhibiting activity of patients with and without hypertriglyceridaemia, so a direct relation between the two is unlikely.

Investigations concerning the localisation of the defect in TG metabolism of chronically uraemic rats are described in Chapter V and VI. First the operative procedure for subtotal nephrectomy is described. The obtained non-nephrotic renal insufficiency is characterized by a gradually increasing loss of kidney function over three to four months, with subsequently a more rapid progression to terminal failure, leading to death within six months after operation. In this experimental model also a biphasic pattern of plasma TG concentration emerges during the course of the renal insufficiency: Initially an increase, at urea concentrations above 50 mmol/l a decrease.

The secretion rate of TG into plasma, lipolytic activity in tissue and the release of lipolytic activity into the circulation after heparin injection were subsequently investigated in the chronically uraemic rat (Chapter V). The secretion rate of TG into plasma was studied in the starved rat with the so-called Triton method. No differences were found between normal and uraemic animals, although the latter group had a two to three fold increase in plasma TG concentration. In contrast to patients with renal failure, uraemic rats had increased HDL-cholesterol levels.

Tissue lipolytic activity was determined in adipose tissue, cardiac and skeletal muscle and liver of starved rats. No differences were found between normal and uraemic rats, so important disturbances in synthesis of the enzyme are unlikely, although the possibility is not excluded that



under feeding conditions differences exist. Because no difference in liver weight of normal and uraemic animals was found, also the total body HTGL pool is normal in uraemic rats. All uraemic rats showed less adipose tissue, so the whole body adipose tissue LPL pool seems to be decreased in these animals. In the uraemic group lipolytic activity of adipose tissue as well as of liver was inversely related to plasma HDL-cholesterol concentration.

The release of lipolytic activity into the circulation by heparin appears to be disturbed in the uraemic rats. Depending on the amount of heparin used heparin resistance is found for HTGL activity, while release of LPL activity showed an increased sensitivity.

Using double labeled (2-<sup>3</sup>H-glyceroltrioleate and 4-<sup>14</sup>C-cholesterol) chylomicrons, it could be demonstrated (Chapter VI) that especially the first step in the breakdown of TG-rich particles in the circulation (TG uptake in extrahepatic tissues) seems to be disturbed in the uraemic animals. The rate of the second step, the uptake of so-called "remnant" particles in the liver, was normal.

Based on the above mentioned data the defect in TG metabolism in our experimental model is located at two sites. First a slowed initial uptake of TG in extrahepatic tissues, possibly related to the decrease in the whole body adipose tissue LPL pool. Second a possibly sluggish release of HTGL from the endothelial pool into the circulation, the meaning of which is not yet clear.

Chapter VII discusses briefly the main possibilities for treatment of the hypertriglyceridaemia in chronic renal failure presently available.



## LITERATUURLIJST

- ABBOTT, L.K., ELLIOT, C., AITKEN, J.M., SOMER, J.B., 1978.  
Serum lipoprotein abnormalities in renal allograft recipients. *Atherosclerosis* 30, 97.
- ABRAMS, M.A., COOPER, C., 1976.  
Quantitative analysis of metabolism of hepatic triglyceride in ethanol-treated rats. *Biochem. J.* 156, 33.
- ALAUPOVIC, P., 1971.  
Apolipoproteins and lipoproteins. *Atherosclerosis* 13, 141.
- ALBERS, J.J., WARNICK, G.R., WIEBE, D., KING, P., STEINER, P., SMITH, L., BRECKENRIDGE, C., CHOW, A., KUBA, K., WEIDMAN, S., ARNETT, H., WOOD, P., SHLAGENHAFT, A., 1978.  
Multi-laboratory comparison of three heparin-Mn<sup>2+</sup> precipitation procedures for estimating cholesterol in high density lipoprotein. *Clin. Chem.* 24, 853.
- ANFINSEN, C.B., BOYLE, E., BROWN, R.K., 1952.  
The role of heparin in lipoprotein metabolism. *Science* 115, 583.
- ANGERVALL, G., HOOD, B., 1957.  
Studies on heparin and lipemia clearing factor. Inhibition towards clearing in plasma from normal and atherosclerotic individuals. *Acta Med. Scan.* CLVII, 407.
- ARORA, K.K., ATKINSON, M.K., TRAFFORD, J.A.P., SHELDON, J., NUNN, R., 1973.  
Changes in glucose tolerance, insulin, serum lipids and lipoproteins in patients with renal failure on intermittent haemodialysis. *Postgrad. Med. J.* 49, 293.
- BAGDADE, J.D., PORTE, D., BIERMAN, E.L., 1968a.  
Hypertriglyceridemia. A metabolic consequence of chronic renal failure. *New Engl. J. Med.* 279, 181.
- BAGDADE, J.D., PORTE, D. jr., CURTIS, F.K., BIERMAN, E.L., 1968b.  
Uremic lipemia: an unrecognized abnormality in triglyceride synthesis and removal. *Trans. Ass. Amer. Phys.* 81, 190.
- BAGDADE, J.D., CASARETTO, A., ALBERS, J., 1976a.  
Effects of chronic uraemia, haemodialysis, and renal transplantation on plasma lipids and lipoproteins in man. *J. Lab. Clin. Med.* 87, 37.
- BAGDADE, J.D., YEE, E., ALBERS, J., PYKALISTO, O.J., 1976b.  
Glucocorticoids and triglyceride transport: effects on triglyceride secretion rates, lipoprotein lipase, and plasma lipoproteins in the rat. *Metabolism* 25, 533.

- BAGDADE, J.D., ALBERS, J.J., 1977.  
Plasma high-density lipoprotein concentrations in chronic-haemodialysis and renal-transplant patients. *New Engl. J. Med.* 296, 1436.
- BAGDADE, J.D., YEE, E., WILSON, D.E., SHAFRIR, E., 1978a.  
Hyperlipemia in renal failure: studies of plasma lipoproteins, hepatic triglyceride production and tissue lipoprotein lipase in a chronically uremic rat model. *J. Lab. Clin. Med.* 91, 176.
- BAGDADE, J.D., YEE, E., PYKALISTO, O.J., 1978b.  
Parathyroid hormone and triglyceride transport: effects on triglyceride secretion rates and adipose tissue lipoprotein lipase in the rat. *Horm. Metab. Res.* 10, 443.
- BAKER, N., SCHOTZ, M.C., 1964.  
Use of multicompartmental models to measure rates of triglyceride metabolism in rats. *J. Lip. Res.* 5, 188.
- BALESTRI, P.L., BIAGINI, M., RINDI, P., GIOVANNETTI, S., 1970.  
Uremic toxins. *Arch. Intern. Med.* 126, 843.
- BARTER, P.J., NESTEL, P.J., CARROLL, K.F., 1972.  
Precursors of plasma triglyceride fatty acid in humans. Effects of glucose consumption, clofibrate administration, and alcoholic fatty liver. *Metabolism* 21, 117.
- BEAUMONT, J.E., GALLA, J.H., LUKE, R.G., REES, E.D., SIEGEL, R.R., 1975.  
Normal serum-lipids in renal-transplant patients. *Lancet* i, 599.
- BERGSTROM, J., FURST, P., 1978.  
Uremic toxins. *Kidney Intern.* 13, S-9.
- BIGGS, M.W., FRIEDMAN, M., BYERS, S.O., 1951.  
Intestinal lymphatic transport of absorbed cholesterol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 78, 641.
- BILBREY, G.L., FALOONA, G.R., WHITE, M.G., 1974.  
Hyperglucagonemia of renal failure. *J. Clin. Invest.* 53, 841.
- BILHEIMER, D.W., EISENBERG, S., LEVY, R.I., 1972.  
The metabolism of very low density lipoprotein proteins. I. Preliminary in vitro and in vivo observations. *Biochim. Biophys. Acta* 260, 212.
- BIRKENHÄGER, J.C., TJABBES, T., 1969.  
Turnover rate of plasma FFA and rate of esterification of plasma FFA to plasma triglycerides in obese humans before and after weight reduction. *Metabolism* 18, 18.

- BIRKENHÄGER, J.C., TIMMERMANS, H.A.T., LAMBERTS, S.W.J., 1976.  
Depressed plasma FFA turnover rate in Cushing's syndrome. *J. Clin. Endocr. Metab.* 42, 28.
- BLOCK, W.J., BARKER, N.W., MANN, F.D., 1951.  
Effect of small doses of heparin in increasing the translucence of plasma during alimentary lipemia. *Circulation* IV, 671.
- BOBERG, J., FREYSCHUSS, U., CARLSON, L.A., 1970.  
Triglyceride turnover measured by splanchnic production of plasma triglyceride in man. In Jones, R.J. (ed.): *Proceedings of the second international symposium on Atherosclerosis*. New York, Springer Verlag, 276.
- BOBERG, J., 1972.  
Heparin-released blood plasma lipoprotein lipase activity in patients with hyperlipoproteinemia. *Acta Med. Scand.* 191, 97.
- BOBERG, J., BOBERG, M., GROSS, R., GRUNDY, S., AUGUSTIN, J., BROWN, V., 1977.  
The effect of treatment with clofibrate on hepatic triglyceride and lipoprotein lipase activities of post heparin plasma in male patients with hyperlipoproteinemia. *Atherosclerosis* 27, 499.
- BOLLMAN, J.L., CAIN, J.C., GRINDLAY, J.H., 1948a.  
Techniques for the collection of lymph from the liver, small intestine, or thoracic duct of the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 33, 1349.
- BOLLMAN, J.L., 1948b.  
A cage which limits the activity of rats. *J. Lab. Clin. Med.* 33, 1348.
- BOLZANO, K.F., KREMLER, F., SANDHOFER, F., 1978.  
Hepatic and extrahepatic triglyceride lipase activity in uraemic patients on chronic haemodialysis. *Europ. J. Clin. Invest.* 8, 289.
- BOYER, J.L., SCHEIG, R.L., 1970.  
Inhibition of postheparin lipolytic activity in uremia and its relationship to hypertriglyceridemia. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 134, 603.
- BRECKENRIDGE, W.C., LITTLE, A., STEINER, G., CHOW, A., POAPST, M., 1978.  
Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *New Engl. J. Med.* 298, 1265.
- BRØNS, M., CHRISTENSEN, N.C., HØRDER, M., 1972.  
Hyperlipoproteinemia in patients with chronic renal failure. *Acta Med. Scand.* 192, 119.
- BROWN, W.V., LEVY, R.I., FREDRICKSON, D.S., 1969.

Studies of the proteins in human plasma very low density lipoproteins. J. Biol. Chem. 244, 5687.

BROWN, W.V., BAGINSKY, M.L., 1972.  
Inhibition of lipoprotein lipase by an apo-protein of human very low density lipoprotein. Biochem. Biophys. Res. Comm. 46, 375.

BROWN, W.V., BAGINSKY, M.L., 1974.  
Some functional aspects of apolipoproteins: apoLp - Ala inhibition of lipoprotein lipase and deinhibition by monoolein. Horm. Metab. Res. suppl. series no. 4, 11.

BRUNNER, F.P., GURLAND, H.J., HARLEN, H., SCHARER, K., PARSANS, F.M., 1972.  
Combined report on regular dialysis and transplantation in Europe, II. 1971. Proc. Europ. Dial. Transpl. Ass. 9, 3.

BRUNZELL, J.D., PORTE, D., BIERMAN, E.L., 1975.  
Reversible abnormalities in postheparin lipolytic activity during the late phase of release in diabetes mellitus. Metabolism 24, 1123.

BRUNZELL, J.D., ALBERS, J.J., HAAS, L.B., GOLDBERG, A.P., AGADAA, L., SHERRARD, D.J., 1977.  
Prevalence of serum lipid abnormalities in chronic hemodialysis. Metabolism 26, 903.

BURKE, J.F., FRANCO, G.C., MOORE, L.L., SANG YOH CHO, LASKER, N., 1978.  
Accelerated atherosclerosis in chronic-dialysis patients - Another look. Nephron. 21, 181.

BURSTEIN, M., SCHOLNICK, H.R., MORFIN, R., 1970.  
Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. J. Lipid. Res. 11, 583.

BURTON, B.T., KRUEGER, K.K., BRYAN, F.A., 1971.  
National registry of long-term dialysis patients. J.A.M.A. 218, 718.

CANTIN, M., 1975.  
Kidney, parathyroid and lipemia. Lab. Invest. 14, 1691.

CARLSON, L.A., EKELUND, L-G., 1963.  
Splanchnic production and uptake of endogenous triglycerides in the fasting state in man. J. Clin. Invest. 42, 714.

CASARETTO, A., MARCHIORO, T.L., GOLDSMITH, R., BAGDADE, J.D., 1974.  
Hyperlipidaemia after successful renal transplantation. Lancet i, 481.

CATTRAN, D.C., STEINER, G., FENTON, S.S.A., WILSON, D.R., 1974.  
Hypertriglyceridemia in uremia and the use of triglyceride turnover to

define pathogenesis. *Trans. Am. Soc. Artif. Int. Organs* 20, 148.

CATTRAN, D.C., FENTON, S.S.A., WILSON, D.R., STEINER, G., 1976.  
Defective triglyceride removal in lipemia associated with peritoneal dialysis and hemodialysis. *Ann. Int. Med.* 85, 29.

CHAIT, A., BRUNZELL, J.D., ALBERS, J.J. HAZZARD, W.R., 1977.  
Type III hyperlipoproteinaemia ("remnant removal disease"). Insight into the pathogenetic mechanism. *Lancet* i, 1176.

CHU, P., MILLER, A.L., MILLS, G.L., 1976.  
Assay of an activator for lipoprotein lipase. *Clin. Chim. Acta* 66, 281.

CHUNG, J., SCANU, A.M., 1974.  
Continuous pH-stat titration method for the assay of lipoprotein lipase activity in vitro. *Anal. Biochem* 62, 134.

COHEN, S.L., LINDALL, A.W., 1969.  
The lipid defect in uraemia. *J. Lab. Clin. Med.* 74, 863.

COOPER, A.D., 1977.  
The metabolism of chylomicron remnants by isolated perfused rat liver. *Biochim. Biophys. Acta* 488, 464.

COREY, J.E., ZILVERSMIT, D.B., 1977.  
Validation of a stable emulsion for the assay of lipoprotein lipase activity. *J. Lab. Clin. Med.* 89, 666.

CRAMP, D.G., TICKNER, T.R., BEALE, D.J., MOORHEAD, J.F., WILLS, M.R., 1977a.  
Plasma triglyceride secretion and metabolism in chronic renal failure. *Clin. Chim. Acta* 76, 237.

CRAMP, O.G., TICKNER, T.R., VARGHESE, Z., BEALE, D.J., MOORHEAD, J.F., WILLS, M.R., 1977b.  
Plasma lipoprotein patterns in patients receiving dialysis therapy for chronic renal failure. *Clin. Chim. Acta* 76, 233.

CRYER, A., JONES, H.M., 1978.  
Parallel changes between lipoprotein lipase activating capacity and lipid concentrations in the serum of rats and ferrets during development and dietary manipulation. *Clin. Sci. Mol. Med.* 55, 121.

DAUBRESSE, J.C., LERSON, G., PLOMTEUX, G., RORIVE, G., LUYCKX, A.S., LEFEBVRE, P.J., 1976.  
Lipids and lipoproteins in chronic uraemia. A study of the influence of regular hemodialysis. *Europ. J. Clin. Invest.* 6, 159.



DEMACKER, P.N.M., VOS-JANSEN, H.E., JANSEN, A.P., LAAR, A. VAN 'T., 1977.  
Evaluation of the dual-precipitation method by comparison with the ultra-  
centrifugation method for measurement of lipoproteins in serum. Clin.  
Chem. 23, 1238.

DOLE, V.P., 1956.  
A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the meta-  
bolism of glucose. J. Clin. Invest. 35, 150.

EATON, R.P., BERMAN, M., STEINBERG, D., 1969.  
Kinetic studies of plasma free fatty acids and triglyceride metabolism  
in man. J. Clin. Invest. 48, 1560.

EDWARDS, K.D.G., CHARLESWORTH, J.A., 1972.  
Antihyperlipidaemic effects of renal transplantation and antilymphocyte  
globulin in uraemic hyperlipidaemia. Med. J. Austr. 2, 167.

EHNHOLM, C., HEAF, D.J., KAYSER, L., KINNUNEN, P.K.J., CARLSON, L.A.,  
1977.  
Heparin-induced release of lipase activity in the human forearm. An  
immunological study. Atherosclerosis 27, 35.

EISENBERG, S., RACHMILEWITZ, D., 1973.  
Metabolism of rat plasma very low density lipoprotein. I. Fate in the  
circulation of the whole lipoprotein. Biochim. Biophys. Acta 326, 378.

EISENBERG, S., BILHEIMER, D.W., LEVY, R.I., LINDGREN, F.T., 1973.  
On the metabolic conversion of human plasma very low density lipoprotein  
to low density lipoprotein. Biochim. Biophys. Acta 361, 377.

EMMANOUEL, D.S., JASPAN, J.B., RUBENSTEIN, A.H., HUEN, A.H.-J., FINK,  
E., KATZ, A.I., 1978.  
Glucagon metabolism in the rat. J. Clin. Invest. 62, 6.

FARQUHAR, J.W., GROSS, R.C., WAGNER, R.M., REAVEN, G.M., 1965.  
Validation of an incompletely coupled two-compartment nonrecycling catenary  
model for turnover of liver and plasma triglyceride in man. J. Lipid. Res.  
6, 119.

FELTS, J.M., ITAKURA, H., CRANE, R.T., 1975.  
The mechanism of assimilation of constituents of chylomicrons, very low  
density lipoproteins and remnants - a new theory. Biochem. Biophys. Res.  
Comm. 66, 1467.

FISER, R.H., DENNISTON, J.C., RINDSIG, R.B., BEISEL, W.R., 1974.  
Triglyceride secretion rates: use of Triton WR 1339 in the rhesus monkey.

J. Nutr. 104, 223.

FOLCH, J., LEES, M., SLOANE, S.G.H., 1957.

A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J. Biol. Chem. 226, 497.

FREDRICKSON, D.S., LEES, R.S., 1965.

Editorial. A system for phenotyping hyperlipoproteinaemia. Circulation 31, 321.

FRIEDBERG, S.J., KLEIN, R.F., TROUT, D.L., BOGDONOFF, M.D., ESTES jr., E.H., 1961.

The incorporation of plasma free fatty acids into plasma triglycerides in man. J. Clin. Invest. 40, 1846.

FRIEDMAN, E.A., FEINSTEIN, E.I., BEYER, M.N., GALONSKY, R.S., HIRSCH, S.R., 1978.

Charcoal-induced lipid reduction in ureia. Kidney Intern. 13, S-170.

GANESAN, D., BRADFORD, R.H., ALAUPOVIC, P., MCCONATHY, W.J., 1971.

Differential activation of lipoprotein lipase from human post-heparin plasma, milk and adipose tissue by polypeptides of human serum apoprotein C. F.E.B.S.-letters 15, 205.

GANG, V., BERNEBURG, H., HENNEMANN, H., HEVENDEHL, G., 1976.

Diamine oxidase (histaminase) in chronic renal disease and its inhibition in vitro by methylguanidine. Clin. Nephrol. 5, 171.

GANG, V., GEHRING, G., SCHÖNBORN, J., 1977.

Combined decrease of postheparin-diamine oxidase (histaminase) and post-heparin-lipoprotein lipase in inflammatory diseases. Klin. Wschr. 55, 169.

GARFINKEL, A.S., SCHOTZ, M.C., 1972.

Separation of molecular species of lipoprotein lipase from adipose tissue. J. Lipid. Res. 13, 63.

GHOSH, P., EVANS, D.B., TOMLINSON, S.A., CALNE, R.Y., 1973.

Plasma lipids following renal transplantation. Transplantation 15, 521.

GIOVANNETTI, S., BALESTRI, P.L., BARSOTTI, G., 1973.

Methylguanidine in uremia. Arch. Intern. Med. 131, 709.

GOKAL, R., MANN, J.I., OLIVER, D.O., LEDINGHAM, J.G.G., 1978a.

Dietary treatment of hyperlipidemia in chronic hemodialysis patients. Am. J. Clin. Nutr. 31, 1915.

GOKAL, R., MANN, J.I., OLIVER, D.O., LEDINGHAM, J.G.G., CARTER, R.D., 1978b.

Treatment of hyperlipidaemia in patients on chronic haemodialysis. Brit. Med. J. i, 82.

GOLDBERG, A.P., SHERRARD, D.J., HAAS, L.B., BRUNZELL, J.D., 1977.  
Control of clofibrate toxicity in uremic hypertriglyceridemia. Clin. Pharm. Ther. 21, 317.

GOODMAN, D.S., 1962.  
The metabolism of chylomicron cholesterol ester in the rat. J. Clin. Invest. 41, 1886.

GRAHAM, D.M., LYON, T.P., GOFMAN, J.W., JONES, H.B., YANKLEY, A., SIMONTON, J., WHITE, S., 1951.  
Blood lipids and human atherosclerosis. II. The influence of heparin upon lipoprotein metabolism. Circulation IV, 666.

GREEN, P.H.R., TALL, A.R., GLICKMAN, R.M., 1978.  
Rat intestine secretes discoid high density lipoprotein. J. Clin. Invest. 61, 528.

GREGG, R., MONDON, C.E., REAVEN, E.P., REAVEN, G.M., 1976.  
Effect of acute uremia on triglyceride kinetics in the rat. Metabolism 25, 1557.

GREGG, R.C., DIAMOND, A., MONDON, C.E., REAVEN, G.M., 1977.  
The effects of chronic uremia and dexamethasone on triglyceride kinetics in the rat. Metabolism 26, 875.

GUTMAN, R.A., SHALHOUB, R.J., WADE, A.D., O'CONNELL, J.M.B.O., RECENT, L., 1973.  
Hypertriglyceridemia in chronic non-nephrotic renal failure. Am. J. Clin. Nutr. 26, 165.

HAHN, P.F., 1943.  
Abolishment of alimentary lipemia following injection of heparin. Science 98, 19.

HAVEL, R.J., GOLDFIEN, A., 1961.  
The role of the liver and of extrahepatic tissues in the transport and metabolism of fatty acids and triglycerides in the dog. J. Lipid. Res. 2, 389.

HAVEL, R.J., FELTS, J.M., DUYNE, C.M. VAN, 1962.  
Formation and fate of endogenous triglycerides in blood plasma of rabbits. J. Lipid. Res. 3, 297.

HAVEL, R.J., KANE, J.P., BALASSE, E.O., SEGEL, N., BASSO, L.V., 1970.

Splanchnic metabolism of free fatty acids and production of triglycerides of very low density lipoproteins in normotriglyceridic humans. *J. Clin. Invest.* 49, 2017.

HAVEL, R.J., SHORE, V.G., SHORE, B., BIER, D.M., 1970.  
 Role of specific glycopeptides of human serum lipoproteins in the activation of lipoprotein lipase. *Circul. Res.* XXVII, 595.

HAVEL, R.J., FIELDING, C.J., OLIVECRONA, T., SHORE, V.G., FIELDING, P.E., EGELRUD, T., 1973.  
 Cofactor activity of protein components of human very low density lipoproteins in the hydrolysis of triglycerides by lipoprotein lipase from different sources. *Biochem.* 12, 1828.

HAVEL, R.J., KANE, J.P., 1975.  
 Quantification of triglyceride transport in blood plasma: a critical analysis. *Fed. Proc.* 34, 2250.

HENARI, F.Z., GOWER, P.E., CURTIS, J.R., EASTWOOD, J.B., PHILLIPS, M.E., GREATBATCH, M.L., WILLIAMS, G.B., GORDON, E.M., BOYD, P.J.R., STUBBS, R.K.T., WARDENER, H.E., DE, 1977.  
 Survival in 200 patients treated by haemodialysis and renal transplantation. *Brit. Med. J.* i, 409.

HENDERSON, L.W., 1978.  
 Hemofiltration. *Kidney Intern.* 13, S-145.

HEUCK, C.C., LIERSCH, M., RITZ, E., STEGMEIER, K., WIRTH, A., MEHLS, O., 1978.  
 Hyperlipoproteinemia in experimental chronic renal insufficiency in the rat. *Kidney Intern.* 14, 142.

HOLDSWORTH, S., ATKINS, R.C., KRETZER, D.M. DE., 1977.  
 The pituitary-testicular axis in men with chronic renal failure. *New Engl. J. Med.* 296, 1245.

HOLLETT, C., NESTEL, P.J., 1960.  
 Effect of blood platelets on heparin induced clearing reaction. *Am. J. Physiol.* 199, 803.

HOMMA, Y., NESTEL, P.J., 1975.  
 Changes in plasma lipoprotein constituents during constant infusions of heparin. *Atherosclerosis* 22, 551.

HUBNER, W., SIEBERTH, H.G., DIEMER, A., FINKE, K., PRANGE, E., 1971.  
 Effects of regular haemodialysis with glucose and glucose free dialysate

on hyperlipaemie. Proc. Europ. Dial. Transpl. Ass. 8, 174.

HULSMANS, H.A.M., KERSSEBOOM, J.A., DUYN, E.C., VAN, 1971.

Inhibition of basal and heparin stimulated lipoprotein lipase activity in patients with acute pancreatitis. Unpublished results.

HULSMANN, W.C., JANSEN, H., 1974.

In Richter, D. (ed): Lipmann Symposium: Energy, Biosynthesis and Regulation in Molecular Biology. High lipoprotein lipase activity and cardiovascular disease. Berlijn, De Gruijter, pp. 322.

HULSMANN, W.C., JANSEN, H., 1975.

High myocardial and low hepatic lipoprotein lipase activities responsible for the initiation of atherosclerosis. Biochem. Med. 13, 293.

HUTTUNEN, J.K., EHNHOLM, C., KINNUNEN, P.K.J., NIKKILÄ, E.A., 1975.

An immunological method for the selective measurement of two triglyceride lipases in human postheparin plasma. Clin. Chem. Acta 63, 335.

IBELS, L.S., STEWART, J.H., MAHONY, J.F., SHEIL, A.G.R., 1974.

Deaths from occlusive arterial disease in renal allograft recipients. Brit. Med. J. 3, 552.

IBELS, L.S., SIMONS, L.A., KING, J.O., WILLIAMS, P.F., NEALE, F.C., STEWART, J.H., 1975.

Studies on the nature and causes of hyperlipaemia in uraemia, maintenance dialysis and renal transplantation. Quart. J. Med. 44, 601.

IBELS, L.S., REARDON, M.F., NESTEL, P.J., 1976.

Plasma post-heparin lipolytic activity and triglyceride clearance in uremic and hemodialysis patients and renal allograft recipients. J. Lab. Clin. Med. 87, 648.

IBELS, L.S., STEWART, J.H., MAHONY, J.F., NEALE, F.C., SHEIL, A.G.R., 1977.

Occlusive arterial disease in uraemic and haemodialysis patients and renal transplant recipients. Quart. J. Med. 46, 197.

IBELS, L.S., ALFREY, A.C., WEIL, R., 1978.

Hyperlipidemia in adult, pediatric and diabetic renal transplant recipients. Amer. J. Med. 64, 634.

JANSEN, H., ZUYLEN- VAN WIGGEN, A., VAN, HULSMANN, W.C., 1973.

Lipoprotein lipase from heart and liver: an immunological study. Biol. Biophys. Res. Comm. 55, 30.

JANSEN, H., HULSMANN, W.C., 1974.

Liver and extrahepatic contributions to postheparin serum lipase activity of the rat. Biochim. Biophys. Acta 369, 387.

KATHER, H., HEUCK, C.C., TSCHOPE, W., RITZ, E., SIMON, B., 1977.  
 Unchanged hormone sensitivity of rat fat cell adenylate cyclase in uremia.  
 Clin. Nephrol. 8, 324.

KAYE, J.P., MOORHEAD, J.F., WILLS, M.R., 1973.  
 Plasma lipids in patients with chronic renal failure. Clin. Chim. Acta  
 44, 301.

KEKKI, M., NIKKILÄ, E.A., 1971.  
 Plasma triglyceride metabolism in the adult nephrotic syndrome. Europ. J.  
 Clin. Invest. 1, 345.

KESSLER, J.I., FINKEL, M., HO, P-P., JANOWITZ, H.D., 1962.  
 Lipoprotein lipase inhibition in rabbits with experimental pancreatitis.  
 Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 110, 24.

KESSLER, J.I., KNIFFEN, J.C., JANOWITZ, H.D., 1963.  
 Lipoprotein lipase inhibition in the hyperlipemia of acute alcoholic pan-  
 creatitis. New Engl. J. Med. 269, 943.

KISSEBAH, A.H., ADAMS, P.W., WYNN, V., 1974a.  
 Plasma free fatty acid and triglyceride transport kinetics in man. Clin.  
 Sci. Mol. Med. 47, 259.

KISSEBAH, A.H., ADAMS, P.W., HARRIGAN, P., WYNN, V., 1974b.  
 The mechanism of action of clofibrate and tetranicotinoylfructose  
 (Bradilan) on the kinetics of plasma free fatty acid and triglyceride  
 transport in type IV and type V hypertriglyceridaemia. Europ. J. Clin.  
 Invest. 4, 163.

KLEINKNECHT, D., LAUDAT, M.H., STRAUCH, G., JUNGERS, P., LAUDAT, P., 1972.  
 Lipoprotein and carbohydrate disorders in nephrotic syndrome and uremia.  
 Rev. Europ. Etudes Clin. et Biol. 17, 27.

KOKOT, F., KUSKA, J., PAKULA, E., KOZIAK, H., PIETREK, J., KOWALIK, M.,  
 1971.  
 Effects of fat load on serum lipids in patients with renal failure.  
 Nephron. 8, 549.

KORN, E.D., 1955a, b.  
 Clearing factor, a heparin-activated lipoprotein lipase. I. Isolation and  
 characterization of the enzyme from normal rat heart. II. Substrate specificity  
 and activation of coconut oil. J. Biol. Chem. 215, 1(a) en 15(b).

KUKU, S.F., JASPAN, J.B., EMMANOUEL, D.S., ZEIDLER, A., RUBENSTEIN, A.H.,  
 1976.

Heterogeneity of plasma glucagon. Circulating components in normal subjects and patients with chronic renal failure. *J. Clin. Invest.* 58, 742.

LAROSA, J.C., LEVY, R.I., HERBERT, P., LUX, S.E., FREDRICKSON, D.S., 1970. A specific apoprotein activator for lipoprotein lipase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 41, 57.

LAROSA, J.C., LEVY, R.I., BROWN, W.V., FREDRICKSON, D.S., 1971. Changes in high-density lipoprotein protein composition after heparin-induced lipolysis. *Amer. J. Physiol.* 220, 785.

LAURELL, S., 1966. A method for routine determination of plasma triglycerides. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 18, 668.

LAZARUS, J.M., LOWRIE, E.G., HAMPERS, C.L., MERRILL, J.P., 1975. Cardiovascular disease in uremic patients on hemodialysis. *Kidney Intern.* 2, S-167.

LEWIS, L.A., ZUEHLKE, V., NAKAMOTO, S., KOLFF, W.J., PAGE, I.H., 1966. Renal regulation of serum  $\alpha$ -lipoproteins. (Decrease of  $\alpha$ -lipoproteins in the absence of renal function). *New Engl. J. Med.* 275, 1097.

LIM, V.S., FANG, V.S., 1976. Restoration of plasma testosterone levels in uremic men with clomiphene citrate. *J. Clin. Endocr. Metab.* 43, 1370.

LINDNER, A., CHARRA, B., SHERRARD, D.J., SCRIBNER, B.H., 1974. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *New Engl. J. Med.* 290, 697.

LITHELL, H., BOBERG, J., HELLSING, K., LUNDQVIST, G., VESSBY, B., 1978. Increase of the lipoprotein lipase activity in human skeletal muscle during clofibrate administration. *Europ. J. Clin. Invest.* 8, 67.

LOSOWSKY, M.S., KENWARD, D.H., 1968. Lipid metabolism in acute and chronic renal failure. *J. Lab. Clin. Med.* 71, 736.

LOWRIE, E.G., LAZARUS, J.M., MOCELIN, A.J., BAILEY, G.L., HAMPERS, C.L., WILSON, R.E., MERRILL, J.P., 1973. Survival of patients undergoing chronic hemodialysis and renal transplantation. *New Engl. J. Med.* 288, 863.

LOWRIE, E.G., LAZARUS, J.M., HAMPERS, C.L., MERRILL, J.P., 1974. Editorial: cardiovascular disease in dialysis patients. *New Engl. J. Med.* 290, 737.

- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J., 1951.  
Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265.
- LUNDIN, A.P., FRIEDMAN, E.A., 1978.  
Editorial: vascular consequences of maintenance hemodialysis - an unproven case. *Nephron.* 21, 177.
- MCCOSH, E., SOLANGI, K.M.S., RIVERS, J.R., GOODMAN, A., 1975.  
Hypertriglyceridemia in patients with chronic renal insufficiency. *Amer. J. Clin. Nutr.* 28, 1036.
- MCKENZIE, I.F.C., NESTEL, P.J., 1968.  
Studies on the turnover of triglycerides and esterified cholesterol in subjects with the nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.* 47, 1685.
- MILLER, G.J., MILLER, N.E., 1975.  
Plasma- high-density-lipoprotein concentration and development of ischaemic heart-disease. *Lancet* i, 16.
- MINAMISONO, T., WADA, M., AKAMATSU, A., OKABE, M., HANDA, Y., MORITA, T., ASAGAMI, C., NAITO, H.K., NAKAMOTO, S., LEWIS, L.A., MISE, J., 1978.  
Dislipoproteinaemia (a remnant lipoprotein disease) in uraemic patients on haemodialysis. *Clin. Chim. Acta* 84, 163.
- MITCHELL, J.R.A., BRONTE-STEWART, B., 1959a.  
Alimentary lipaemia and heparin clearing in ischaemic heart-disease. *Lancet* i, 167.
- MITCHELL, J.R.A., 1959b.  
Inhibition of heparin clearing by platelets. *Lancet* i, 169.
- MJØS, O.D., FAERGEMAN, O., HAMILTON, R.L., HAVEL, R.J., 1975.  
Characterization of remnants produced during the metabolism of triglyceride-rich lipoproteins of blood plasma and intestinal lymph in the rat. *J. Clin. Invest.* 56, 603.
- MOOSINGER, F., 1965.  
Photometric adaptation of Dole's micro-determination of free fatty acids. *J. Lipid. Res.* 6, 157.
- MORDASINI, R., FREY, F., FLURY, W., KLOSE, G., GRETEN, H., 1977.  
Selective deficiency of hepatic triglyceride lipase in uremic patients. *New Engl. J. Med.* 297, 1362.
- MÜLLER, P., FELLIN, R., LAMBRECHT, J., AGOSTINI, B., WIELAND, H., ROST, W., SEIDEL, D., 1974.



Hypertriglyceridemia secondary to liver disease. *Europ. J. Clin. Invest.* 4, 419.

MURASE, T., CATTRAN, D.C., RUBENSTEIN, B., STEINER, G., 1975.  
Inhibition of lipoprotein lipase by uremic plasma, a possible cause of hypertriglyceridemia. *Metabolism* 24, 1279.

NESTEL, P.J., HAVEL, R.J., BEZMAN, A., 1963.  
Metabolism of constituent lipids of dog chylomicrons. *J. Clin. Invest.* 42, 1313.

NESTEL, P.J., 1970.  
The depletion and restoration of post-heparin lipolytic activity in the human forearm. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 134, 896.

NICOLL, A., SIGURDSSON, G., MARSH, A., LEWIS, B., 1977.  
Intravenous fat tolerance. Correlation with very low density lipoprotein apoprotein B kinetics in man. *Atherosclerosis* 26, 17.

NIKKILÄ, E.A., 1953.  
Studies on the lipid-protein relationships in normal and pathological sera and the effect of heparin on serum lipoproteins. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 5, suppl. 8, 1.

NIKKILÄ, E.A., KEKKI, M., 1971a.  
Review: Measurement of plasma triglyceride turnover in the study of hypertriglyceridemia. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 27, suppl. 2, 97.

NIKKILÄ, E.A., KEKKI, M., 1971b.  
Polymorphism of plasma triglyceride kinetics in normal human adult subjects. *Acta Med. Scand.* 190, 49.

NIKKILÄ, E.A., 1974.  
Metabolism of plasma triglycerides in endogenous hypertriglyceridemia. *Horm. Metab. Res. suppl.* 4, 29.

NIKKILÄ, E.A., HUTTUNEN, J.K., EHNHOLM, C., 1977.  
Effect of clofibrate on postheparin plasma triglyceride lipase activities in patients with hypertriglyceridemia. *Metabolism* 26, 179.

NIKKILÄ, E.A., TASKINEN, M.R., KEKKI, M., 1978.  
Relation of plasma high density lipoprotein cholesterol to lipoprotein lipase activity in adipose tissue and skeletal muscle of man. *Atherosclerosis* 29, 497.

NILSSON-EHLE, P., GARFINKEL, A.S., SCHOTZ, M.C., 1975.  
Specific conditions for enhancement of lipoprotein lipase activity by

platelets. Life Sci. 16, 1703.

NILSSON-EHLE, P., SCHOTZ, M.C., 1976.  
A stable, radioactive substrate emulsion for assay of lipoprotein lipase.  
J. Lipid. Res. 17, 536.

NOEL, S., DOLPHIN, P.J., RUBINSTEIN, D., 1975.  
An in vitro model for the catabolism of rat chylomicrons. Biochem.  
Biophys. Res. Comm. 63, 764.

NORBECK, H-E., ORO, L., CARLSON, L.A., 1976.  
Serum lipid and lipoprotein concentrations in chronic uremia. Acta Med.  
Scand. 200, 487.

NOVARINI, A., ZULIANI, U., BANDINI, L., CARONNA, S., MONTANARI, A.,  
PERINOTTO, P., 1976.  
Observations on lipid metabolism in chronic renal failure, during con-  
servative and haemodialysis therapy. Europ. J. Clin. Invest. 6, 473.

OLEFSKY, J., FARQUHAR, J.W., REAVEN, G.M., 1974.  
Sex difference in the kinetics of triglyceride metabolism in normal and  
hypertriglyceridemic human subjects. Europ. J. Clin. Invest. 4, 121.

OLIVECRONA, T., BELFRAGE, P., 1965.  
Mechanism for removal of chyle triglyceride from the circulating blood  
as studied with ( $^{14}\text{C}$ ) glycerol and ( $^3\text{H}$ ) palmitic acid-labeled chyle.  
Biochim. Biophys. Acta 98, 81.

OLIVECRONA, T., EGELRUD, T., 1974.  
Lipoprotein lipase and its interaction with heparin. Horm. Metab. Res.,  
suppl. 4, 23.

OLIVECRONA, T., BENGTSSON, G., MARKLUND, S-E., LINDAHL, U., HOOK, H.,  
1977.  
Heparin-lipoprotein lipase interactions. Fed. Proc. 36, 60.

OLIVER, M.F., BOYD, G.S., 1953.  
The clearing by heparin of alimentary lipaemia in coronary artery  
disease. Clin. Sci. 12, 293.

OLIVER, M.F., HEADY, J.A., MORRIS, J.N., COOPER, J., 1978.  
A co-operative trial in the primary prevention of ischaemic heart  
disease using clofibrate. Brit. Heart. J., 40, 1069.

OSTLUND-LINDQVIST, A-M., IVERIUS, P-H., 1975.  
Activation of highly purified lipoprotein lipase from bovine milk.  
Biochim. Biophys. Res. Comm. 65, 1447.

OTWAY, S., ROBINSON, D.S., 1967a.

The effect of a non-ionic detergent (Triton WR 1339) on the removal of triglyceride fatty acids from the blood of the rat. *J. Physiol.* 190, 309.

OTWAY, S., ROBINSON, D.S., 1967b.

The use of a non-ionic detergent (Triton WR 1339) to determine rates of triglyceride entry into the circulation of the rat under different physiological conditions. *J. Physiol.* 190, 321.

PERSSON, B., 1973.

Lipoprotein lipase activity of human adipose tissue in health and in some diseases with hyperlipidemia as a common feature. *Acta Med. Scand.* 193, 457.

PHAIR, R.D., HAMMOND, M.G., BOWDEN, J.A., FRIED, M., FISHER, W.R., BERMAN, M., 1975.

A preliminary model for human lipoprotein metabolism in hyperlipoproteinemia. *Fed. Proc.* 34, 2263.

PONTICELLI, C., BARBI, G., CANTALUPPI, A., CEGLIA, E., 1975.

Hyperlipidemia after renal transplantation. *Lancet* i, 1090.

PONTICELLI, C., BARBI, G., CANTALUPPI, A., DONATI, C., ANNONI, G., BRANCACCIO, D., 1978.

Lipid abnormalities in maintenance dialysis patients and renal transplant recipients. *Kidney Intern.* 13, S-72.

PORTE, D., BIERMAN, E.L., 1969.

The effect of heparin infusion on plasma triglyceride in vivo and in vitro with a method for calculating triglyceride turnover. *J. Lab. Clin. Med.* 73, 631.

PROKOFOWICZ, J., GABRYELEWICZ, A., 1973.

Plasma and leucocyte antiheparin activity in acute experimental pancreatitis. *Haematologia* 7, 375.

PYKALISTO, O.J., SMITH, P.H., BRUNZELL, J.D., 1975.

Determinants of human adipose tissue lipoprotein lipase. Effect of diabetes and obesity on basal- and diet-induced activity. *J. Clin. Invest.* 56, 1108.

QUARFORDT, S.H., GOODMAN, D.E., S., 1967.

Metabolism of doubly-labeled chylomicron cholesterol esters in the rat. *J. Lipid. Res.* 8, 264.

QUARFORDT, S.H., FRANK, A., SHAMES, D.M., BERMAN, M., STEINBERG, D., 1970.

- Very low density lipoprotein triglyceride transport in type IV hyperlipoproteinemia and the effects of carbohydrate-rich diets. *J. Clin. Invest.* 49, 2281.
- RABKIN, R., SIMON, N.M., STEINER, S., COLWELL, J.A., 1970.  
Effect of renal disease on renal uptake and excretion of insulin in man. *New Engl. J. Med.* 282, 182.
- REARDON, M.F., FIDGE, N.H., NESTEL, P.J., 1978.  
Catabolism of very low density lipoprotein B apoprotein in man. *J. Clin. Invest.* 61, 850.
- REAVEN, G.M., HILL, D.B., GROSS, R.C., FARQUHAR, J.W., 1965.  
Kinetics of triglyceride turnover of very low density lipoproteins of human plasma. *J. Clin. Invest.* 44, 1826.
- RECKNAGEL, R.O., 1967.  
Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* 19, 145.
- REDGRAVE, T.G., 1970.  
Formation of cholesterol ester-rich particulate lipid during metabolism of chylomicrons. *J. Clin. Invest.* 49, 465.
- REDGRAVE, T.G., ROBERTS, D.C.K., WEST, C.E., 1975.  
Separation of plasma lipoproteins by density-gradient ultracentrifugation. *Anal. Biochem.* 65, 42.
- REDGRAVE, T.G., SNIBSON, D.A., 1977.  
Clearance of chylomicron triacylglycerol and cholesteryl ester from the plasma of streptozotocin-induced diabetic and hypercholesterolemic hypothyroid rats. *Metabolism* 26, 493.
- REIMOLD, W.V., KATTERMANN, R., QUELLHORST, E., 1969.  
Serum-lipide bei chronischer Niereninsuffizienz und deren Beeinflussung durch Glucose und Sorbit während der Peritonealdialyse. *Arch. Klin. Med.* 216, 384.
- RISSER, T.R., REAVEN, G.M., REAVEN, E.P., 1978.  
Intestinal contribution to secretion of very low density lipoproteins into plasma. *Amer. J. Physiol.* 234, E277.
- ROBERTSON, R.P., GAVARESKI, D.J., HENDERSON, J.D., PORTE jr., D., BIERMAN, E.L., 1973.  
Accelerated triglyceride secretion. A metabolic consequence of obesity. *J. Clin. Invest.* 52, 1620.
- ROBINSON, D.S., HARRIS, P.M., 1959.

The production of lipolytic activity in the circulation of the limb in response to heparin. *Quart. J. Exp. Physiol.* 44, 80.

ROGERS, M.P., BARNETT, D., ROBINSON, D.S., 1976a.  
Clearing factor lipase (lipoprotein lipase) activator. A method for the measurement of the net activating ability of human sera. *Atherosclerosis* 24, 551.

ROGERS, M.P., BARNETT, D., ROBINSON, D.S., 1976b.  
Effects of clofibrate treatment on plasma triglyceride concentration, plasma post-heparin clearing factor lipase (lipoprotein lipase) activity and serum clearing factor lipase activating ability in maturity onset diabetes. *Atherosclerosis* 24, 565.

ROODVOETS, A.P., 1974.  
Hyperlipemie bij nierinsufficiëntie. Proefschrift, Rijksuniversiteit Leiden.

ROODVOETS, A.P., NEERBOS, B.R., VAN, HOOGHWINCKEL, G.J.M., HULSMANS, H.A.M., BEUKERS, H., 1967.  
Hyperlipaemia in patients on regular dialysis treatment. *Proc. Europ. Dial. Transpl. Ass.* 4, 257.

ROSS, A.C., ZILVERSMIT, D.B., 1977.  
Chylomicron remnant cholesteryl esters as the major constituent of very low density lipoproteins in plasma of cholesterol-fed rabbits. *J. Lipid. Res.* 18, 169.

ROSSNER, S., ROSENQVIST, U., 1974.  
Serum lipoproteins and the intravenous fat tolerancetest in hypothyroid patients before and during substitution therapy. *Atherosclerosis* 20, 365.

ROSSNER, S., BOBERG, J., CARLSON, L.A., FREYSCHUSS, U., LASSERS, B.W., 1974.  
Comparison between fractional turnover rate of endogenous plasma triglycerides and of intralipid (intravenous fat tolerance test) in man. *Europ. J. Clin. Invest.* 4, 109.

RYAN, W.G., SCHWARTZ, T.B., 1965.  
Dynamics of plasma triglyceride turnover in man. *Metabolism* 14, 1243.

SALAMAN, M.R., ROBINSON, D.S., 1966.  
Clearing-factor lipase in adipose tissue (a medium in which the enzyme activity of tissue from starved rats increases in vitro). *Biochem. J.* 99, 640.

- SAMAR, R.E., MONCRIEF, J.W., DECHERD, J.F., POPOVICH, R.P., 1975.  
Lipoprotein binding and hypertriglyceridemia in chronic uremia. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs* 21, 455.
- SANFELIPPO, M.L., SWENSON, R.S., REAVEN, G.M., 1977.  
Reduction of plasma triglycerides by diet in subjects with chronic renal failure. *Kidney Intern.* 11, 54.
- SAUAR, J., SKREDE, S., BLOMHOFF, J.P., 1978.  
Hepatic lipase and lipoprotein lipase in postheparin plasma in liver disease. Relations to plasma proteins. *Clin. Chim. Acta* 84, 213.
- SCANU, A.M., RITTER, M.C., 1973.  
The proteins of plasma lipoproteins: properties and significance. *Advanc. Clin. Chem.* 16, 111.
- SCHÄFER, B., KLUTHE, R., 1974.  
Fettstoffwechselstörungen bei chronischer Niereninsuffizienz unter konservativer Behandlung. *Med. Klin.* 69, 577.
- SCHLAG, B., WINKLER, L., 1978.  
Konzentration und Zusammensetzung der Serum-lipoproteinklassen der fetalen Ratte. *Acta Biol. Med. Germ.* 37, 233.
- SCHONFELD, G., BIRGE, C., MILLER, J.P., KESSLER, G., SANTIAGO, J., 1974.  
Apolipoprotein B levels and altered lipoprotein composition in diabetes. *Diabetes* 23, 827.
- SCHOTZ, M.C., ARNESJÖ, B., OLIVECRONA, T., 1966.  
The role of the liver in the uptake of plasma and chyle triglycerides in the rat. *Biochim. Biophys. Acta* 125, 485.
- SCHWARTZ, J., GOODMAN, H.M., 1976.  
Lipolytic response to growth hormone in acutely nephrectomized rats. *J. Endocrinol.* 68, 481.
- SHAMES, D.M., FRANK, A., STEINBERG, D., BERMAN, M., 1970.  
Transport of plasma free fatty acids and triglycerides in man: a theoretical analysis. *J. Clin. Invest.* 49, 2298.
- SHERRILL, B.C., DIETSCHY, J.M., 1978.  
Characterization of the sinusoidal transport process responsible for uptake of chylomicrons by the liver. *J. Biol. Chem.* 253, 1859.
- SHERWIN, R.S., BASTL, C., FINKELSTEIN, F.O., FISHER, M., BLACK, H., HENDLER, R., FELIG, P., 1976.

Influence of uremia and hemodialysis on the turnover and metabolic effects of glucagon. *J. Clin. Invest.* 57, 722.

SIGURDSSON, G., NICOLL, A., LEWIS, B., 1975.  
Conversion of very low density lipoprotein to low density lipoprotein. A metabolic study of apolipoprotein B kinetics in human subjects. *J. Clin. Invest.* 56, 1481.

SLACK, J., SEYMOUR, J., MCDONALD, L., 1964.  
Lipoprotein lipase levels and platelet stickiness in patients with ischaemic heart-disease and in controls, distinguishing those with an affected first-degree relative. *Lancet* ii, 1033.

SONG, S-Y., GARFINKEL, A.S., SCHOTZ, M.C., 1974.  
Activation of lipoprotein lipase by blood platelets. *Life Sci.* 15, 103.

SORGE, F., CASTRO, L.A., NAGEL, A., KESSEL, M., 1975.  
Serum glucose, insulin, growth hormone, free fatty acids and lipids. Responses to high carbohydrate and to high fat isocaloric diets in patients with chronic, non-nephrotic renal failure. *Horm. Metab. Res.* 7, 118.

SOUHAMI, R.L., SMITH, J., BRADFIELD, J.W.B., 1973.  
The effect of uraemia on organ graft survival in the rat. *Br. J. Exp. Path.* 54, 183.

STREJA, D., KALLAI, M.A., STEINER, G., 1977.  
The metabolic heterogeneity of human very low density lipoprotein tri-glyceride. *Metabolism* 26, 1333.

TRICHOPOULOU, A., MARKETOS, S., 1975.  
Blood-lipids in renal disease. *Lancet* i, 1251.

TROUT, D.L., ESTES, E.H., FRIEDBERG, S.J., 1960.  
Titration of free fatty acids of plasma: a study of current methods and a new modification. *J. Lipid. Res.* 1, 199.

TSALTAS, T.T., FRIEDMAN, E.A., 1968.  
Plasma lipid studies of uremic patients during hemodialysis. *Amer. J. Clin. Nutr.* 21, 430.

UTERMANN, G., JAESCHKE, M., MENZAL, J., 1975.  
Familial hyperlipoproteinemia type III: deficiency of a specific apolipoprotein (apo E-III) in the very low density lipoproteins. *FEBS letters* 56, 352.

VERSCHOOR, L., LAMMERS, R., TIMMERMANS, H.A.T., BIRKENHÄGER, J.C., 1976.

Triglyceride turnover in chronic non-nephrotic renal failure (CRF) before dialysis. *Europ. J. Clin. Invest.* 6, 340.

VERSCHOOR, L., LAMMERS, R., BIRKENHÄGER, J.C., 1978a.

Triglyceride turnover in severe chronic non-nephrotic renal failure. *Metabolism* 27, 879.

VERSCHOOR, L., JANSEN, H., ZONNEVELD, A.J., BARTH, J.D., BIRKENHÄGER, J.C., 1978b.

High-density-lipoprotein-cholesterol and testosterone. In Hessel, L.W. en Krans, H.M.J.(ed.): *Endocrine regulation of lipoprotein metabolism*. Amsterdam, Elsevier, ter perse.

VERSCHOOR, L., JANSEN, H., LAMBERTS, S.W.J., WILSON, J.H.P., 1978c.

Relationship between high density lipoprotein-cholesterol and post-heparin lipolytic activity during weight reduction in obesity. In Vague, Ph. (ed.): *Diabetes and obesity*, Amsterdam, Elsevier, ter perse.

VIJAYAKUMAR, S.T., LEELAMMA, S., KURUP, P.A., 1975.

Changes in aortic glycosaminoglycans and lipoprotein lipase activity in rats with age and atheroma. *Atherosclerosis* 21, 1.

VRANIC, M., 1975.

Turnover of free fatty acids and triglyceride. An overview. *Fed. Proc.* 34, 2233.

WADA, M., MINAMISONO, T., FUJII, H., MORITA, T., AKAMATSU, A., MISE, J., NAKAMOTO, S., NAITO, H.K., 1975.

Studies on the effects of hemodialysis on plasma lipoproteins. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs* 21, 464.

WARDLE, E.N., MENON, I.S., ANDERSON, J., 1972.

A study of patients with atherosclerosis and renal disease with respect to lipoprotein types, fibrinolysis and carbohydrate tolerance. *Quart. J. Med.* 41, 15.

WATHEN, R.L., KESHAVIAH, P., HOMMEYER, P., CADWELL, K., COMTY, C.M., 1978.

The metabolic effects of hemodialysis with and without glucose in the dialysate. *Amer. J. Clin. Nutr.* 31, 1870.

WILSON, D.E., LEES, R.S., 1972.

Metabolic relationships among the plasma lipoproteins. Reciprocal changes in the concentrations of very low and low density lipoproteins in man. *J. Clin. Invest.* 51, 1051.

WOCHOS, D.N., ANDERSON, C.F., MITCHELL III, J.C., 1976.



Serum lipids in chronic renal failure. Mayo Clin. Proc. 51, 660.

YALOW, R.S., BERSON, S.A., 1960.

Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. J. Clin. Invest. 39, 1157.

YASUOKA, S., FUJII, S., YAMAGUCHI, T., SAKURAI, K., OKUYAMA, T., 1973.

Activities of sulfated polysaccharides in the liberation of lipoprotein lipase into the blood and inhibition of its activity. J. Biochem. 74, 425.

ZILVERSMIT, D.B., 1973.

A proposal linking atherogenesis to the interaction of endothelial lipoprotein lipase with triglyceride-rich lipoproteins. Circ. Res. 33, 633.



## VERANTWOORDING

Dit proefschrift werd bewerkt in het laboratorium van de afdeling Inwendige Geneeskunde III van het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt onder leiding van Prof.Dr.J.C.Birkenhäger. Zijn belangstelling en de vele met hem gevoerde discussies werkten stimulerend op de voortgang van het onderzoek.

Ronald Lammers en Adri Zonneveld vormden een onmisbare steun bij de experimenten. Samen met de andere gebruik(st)ers van lab. D4 zorgden zij voor een plezierige werksfeer.

Dank gaat uit naar

- Prof.Dr.H.A.M.Hulsmans, die mij duidelijk maakte, dat vet en suiker naast culinaire, ook andere interessen kunnen wekken.
- Dr. L.D.F.Lameyer: Zij leerde mij hoe op elegante, doch trefzekere wijze van een normale rat een uraemisch proefdier is te maken.
- Dr.H.Jansen, die de antilichamen tegen leverlipase bij konijnen opwekte.
- Dr. P.H.E.Groot, die hulp verleende bij het verkrijgen van ratten met een lymfe-fistel.

Bij het bereiden van de zg. Redgrave-gradient werd hulp verleend door de afdeling Biochemie I (Dr. P.H.E.Groot, Dr.A. van Tol).

De discussies met Dr. H.Jansen waren een genoegen. Ir. R.Docter ontworde efficiënt enkele statistische knopen. Pim Schalkwijk verrichtte de bepaling van ureum bij ratten.

Op de Nefrologische afdelingen van Dr. L.D.F.Lameyer, Dr. G.Vermeer (Deventer) en Dr.G.Koisters (Zwolle) ondervond ik alle medewerking.

De Audiovisuele dienst leverde de figuren. Anki Voogt en Dienneke van Wessem tikten het manuscript uit, waarna Dienneke het geheel druk-klaar maakte.

Dit onderzoek werd verricht met steun van FUNGO.



## CURRICULUM VITAE

De schrijver van dit proefschrift werd in October 1944 geboren. In 1963 behaalde hij het diploma HBS-B aan het Johannes Calvijn Lyceum te Rotterdam. In 1968 werd het doctoraal-examen geneeskunde afgelegd aan de Vrije Universiteit te Amsterdam. De coassistentschappen werden gevolgd bij het Klinisch Hoger Onderwijs te Rotterdam, arts-examen 1970. Specialisatie in de inwendige geneeskunde vond plaats op de afdeling Inwendige Geneeskunde III (hoofd: Prof.Dr.J.C.Birkenhäger) van het Academisch Ziekenhuis Dijkzigt te Rotterdam. Sinds zijn inschrijving in het specialistenregister op 1 October 1975 is hij als internist aan bovengenoemde afdeling verbonden.

Omslag:

Het bovenste gedeelte van Tabula 42 uit de "Anatomia Humani Corporis" van Godefridi Bidloo (Amstelodami, MDCLXXXV) is weergegeven.

Govert Bidloo (1649 - 1713) heeft zijn roem vooral te danken aan de hierboven genoemde anatomische atlas. Hoewel hij in 1688 hier ter stede zijn diensten aanbood, werd hij benoemd tot "Hoogvoorleezer in de Ontleding- en Heelkunst binnen 's Graavenhaage". In 1694 volgde zijn benoeming tot hoogleraar in Leiden.