

**RENALE OSTEODYSTROFIE**  
PATHOFYSIOLOGIE EN BEHANDELING MET  
1 $\alpha$ -HYDROXY-DERIVATEN VAN VITAMINE D.

RENAL OSTEODYSTROPHY. PATHOPHYSIOLOGY AND TREATMENT  
WITH 1 $\alpha$ -HYDROXY-DERIVATIVES OF VITAMIN D.  
(With a summary in English).

**PROEFSCHRIFT**

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN  
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE  
AAN DE ERASMUS UNIVERSITEIT ROTTERDAM  
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS  
PROF. DR. J. SPERNA WEILAND  
EN VOLGENS BESLUIT VAN HET COLLEGE VAN DEKANEN.  
DE OPENBARE VERDEDIGING ZAL PLAATSVINDEN OP  
WOENSDAG 16 JANUARI 1980  
DES NAMIDDAGS TE 3.00 UUR

DOOR

**JACOBUS RIKARD JUTTMANN**

geboren te Rotterdam

1980

grafische verzorging:  
davids decor alblasterdam

PROMOTOR : PROF. DR. J.C. BIRKENHÄGER

CO-REFERENTEN : DR. L.D.F. LAMEIJER

: DR. R. STEENDIJK

Voor Gaby, Joris,  
Michiel en Lisette,  
omdat het eigenlijk niet hoefde.

Financiële steun voor het drukken van dit proefschrift werd verleend door de Nierstichting Nederland.

## INHOUD

<b>Hoofdstuk I. Inleiding en doelstellingen</b> .....	11
<b>Hoofdstuk II. Calcium- (en fosfaat) stofwisseling</b> .....	15
a. Fysiologie .....	15
I PTH .....	16
II Vitamine D .....	22
III Calcitonine .....	33
b. Pathofysiologie van renale osteodystrofie .....	37
<b>Hoofdstuk III. Opzet van het eigen onderzoek</b> .....	43
a. Vraagstelling .....	43
b. Opzet van het onderzoek .....	44
c. Patiënten .....	46
<b>Hoofdstuk IV. Methoden van onderzoek</b> .....	51
a. Biochemisch onderzoek van bloed en urine .....	51
b. Bepalingen van PTH, calcitonine en vitamine D-derivaten .....	52
c. Balansonderzoek .....	53
d. Intestinale absorptie van calcium .....	54
e. Fotonabsorptiometrie .....	57
f. Bothistologie .....	62
g. Röntgenonderzoek .....	63
<b>Hoofdstuk V. Resultaten van het transversale onderzoek</b> .....	65
a. Resultaten .....	65
b. Bespreking .....	83
c. Conclusies .....	87
<b>Hoofdstuk VI. Resultaten van het longitudinale onderzoek</b> .....	89
a. Inleiding .....	89
b. Resultaten .....	90
c. Bespreking .....	112
d. Conclusies .....	116

<b>Hoofdstuk VII. Fotonabsorptiometrie (Densitometrie).</b> . . . . .	119
a. Inleiding . . . . .	119
b. Methode . . . . .	119
c. Resultaten . . . . .	119
d. Bespreking . . . . .	131
e. Conclusies . . . . .	133
<b>Hoofdstuk VIII. Behandeling van renale osteodystrofie met 1<math>\alpha</math>-hydroxycholecalciferol of 1,25-dihydroxycholecalciferol.</b> . . . . .	135
a. Inleiding . . . . .	135
b. Behandelingsschema . . . . .	139
c. Resultaten . . . . .	141
d. Bespreking . . . . .	166
<b>Samenvatting.</b> . . . . .	173
<b>Summary.</b> . . . . .	179
<b>Literatuurlijst</b> . . . . .	182
<b>Verantwoording</b> . . . . .	201
<b>Curriculum vitae</b> . . . . .	203

## LIJST VAN GEBRUIKTE AFKORTINGEN

- ARMAC : methode voor de bepaling van de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  m.b.v. uitwendige meting van de radioactiviteit.
- BMC : Bone Mineral Content.
- BMM : Bone Mineral Mass.
- BW : Bone Width
- CaBP : Calcium bindend eiwit.
- c AMP : 3',5' Adenosine Monofosfaat.
- Ci : Curie
- CNI : Chronische Nier Insufficiëntie.
- CT : Calcitonine.
- ECV : Extracellulaire vloeistof.
- EDTA : Ethyleendiamine Tetraacetonzuur.
- Fa  $^{47}\text{Ca}$  : Fractionele Intestinale  $^{47}\text{Ca}$  Calcium Absorptie.
- GFR : Glomerulaire Filtratie-snelheid.
- IHD : Intermitterende Haemodialyse.
- M : Molair
- p : waarschijnlijkheid
- PEG : Polyaehtyleenglycol
- PTH : Bijschildklierhormoon
- SD : standaard deviatie
- TPTX : Thyreo-parathyreoïdectomie

- 25-HCC (25-(OH)-Vitamine  $\text{D}_3$ ) : 25-hydroxycholecalciferol
- 1,25-DHCC (1,25-(OH) $_2$ -Vitamine  $\text{D}_3$ ) : 1,25-Dihydroxycholecalciferol
- 24,25-DHCC (24,25-(OH) $_2$ -Vitamine  $\text{D}_3$ ) : 24,25-Dihydroxycholecalciferol
- 1  $\alpha$ -HCC (1  $\alpha$ -(OH)-Vitamine  $\text{D}_3$ ) : 1-alpha-Hydroxycholecalciferol

### Opmerking:

In dit proefschrift wordt voor het transport van calcium door de darmwand (van lumen naar serosa-zijde) de term **absorptie** gebruikt.

Strikt genomen zou de term **resorptie** ook gehanteerd kunnen worden en mogelijk zelfs beter zijn aangezien het opgenomen calcium niet in de darmwand blijft doch verder getransporteerd wordt. Toch is voor het woord absorptie i.p.v. resorptie gekozen om géén verwarring met de z.g. "botresorptie" te krijgen en omdat deze terminologie in overeenstemming is met de internationaal gehanteerde.





## HOOFDSTUK I

### INLEIDING EN DOELSTELLINGEN

#### Definitie

Renale osteodystrofie omvat de botafwijkingen die ontstaan ten gevolge van veranderingen in de Ca- en P-stofwisseling, die optreden bij patiënten met een chronische nierinsufficiëntie. Met de chronische nierziekten zijn bedoeld glomerulaire/parenchymateuze aandoeningen en niet specifieke tubulaire defecten zoals bij renale tubulaire acidose en het Fanconi-syndroom. Het is onwaarschijnlijk dat de aetiologie van de glomerulaire/parenchymateuze nierafwijkingen in het algemeen van invloed is op het soort botafwijkingen, dat ontstaat. Wel worden niet altijd dezelfde afwijkingen in dezelfde mate bij alle patiënten met vergelijkbaar nierfunctieverlies gevonden. In wisselende mate worden tekenen van hyperparathyreoidie, osteomalacie en osteosclerose in het histologisch beeld aangetroffen.

#### Historie

Omstreeks het jaar 333 voor Christus moet de volgende, vermoedelijk van Aristoteles afkomstige tekst opgetekend zijn \*: "Aucun animal à plumes, à écailles ou à carapace n'a de reins sauf les tortues de mer et de terre. Chez les animaux qu'en possèdent, les reins n'ont aucun utilité mais ils servent au beau et bien". Historisch gezien moet dit één van de eerste geschriften zijn waarin de nieren als "functionerende" eenheden worden beschreven al staat het geëtaleerde inzicht verre van hetgeen in de moderne nefrologie wordt gehanteerd. Pas tijdens de 19e eeuw ontwikkelen zich fysiologische en anatomische begrippen, die de basis vormen van het huidige pathofysiologische inzicht in algemene zin. Het is met name Richard Bright (1789-1858) die met de beschrijving van de naar hem genoemde nephritis een doorbraak teweeg brengt in het begrip van de chronische nierziekten. Hoewel op dat moment wel door hem vermoed, is het nog niet duidelijk dat er een verscheidenheid in ontstaanswijze is van de door hem beschreven "Renal diseases, accompanied with the secretion of

\* Om stylistische redenen is hier de Franse tekst volgens Hamburger (1978) gehandhaafd.

albuminous urine" (Bright, 1836). Aangezien dit een fraai voorbeeld is van de in die tijd opkomende koppeling van symptomen aan bij post mortem onderzoek gevonden afwijkingen en aangezien Bright ook een uitvoerige beschrijving geeft van het chronisch verloop van deze ziekte in verschillende fasen lijkt het misschien verwonderlijk dat op geen enkele plaats in zijn artikel iets te vinden is van een relatie met zich voordoende skeletafwijkingen. Zeer waarschijnlijk was de overlevingstijd in die tijd nog zo kort, dat de kans op het ontstaan van klinische aandoeningen van het skelet zeer gering was. In 1883 beschreef Lucas voor het eerst het voorkomen van "Rickets" bij adolescenten met een chronische nierziekte. Nadat in 1929 van Slyke het begrip "klaring" en een methode tot de bepaling daarvan introduceerde als middel om een indruk te krijgen van de mate van nierfunctieverlies werd het mogelijk van een aantal secundaire afwijkingen die ontstaan tijdens de ontwikkeling van nierinsufficiëntie, eventuele correlaties met de ernst van het nierfunctieverlies vast te stellen. In 1941 schrijven Ginzler en Jaffé in *The American Journal of Pathology*: "Now that the skeletal and renal changes which follow in the wake of primary or idiopathic parathyroid hyperfunctioning are well understood, increasing attention is being paid to the fact that chronic renal insufficiency may itself be the point of departure for the development of profound pathologic changes in the parathyroid glands and skeletal system". Zij wijzen op de soms geringe klinische afwijkingen van het skelet, vooral in gevallen waar de nierziekte van relatief korte duur was geweest. Zij gaven uiting aan het vermoeden dat de acidose mogelijk één van de belangrijkste factoren is bij het ontstaan van de botafwijkingen, terwijl de bij vrijwel alle patiënten gevonden hyperplasie van de bijnierschlieren, waarvan in 1935 door Pappenheimer en Wilens al melding werd gemaakt, ook als factor werd onderkend. Tevoren hadden Rutishauser (1936) en Mach en Rutishauser (1937) op het bestaan van renale osteodystrofie gewezen. Dit geeft ongeveer de tijd aan waarin systematisch onderzoek van renale osteodystrofie in de literatuur verschijnt. In die tijd duikt ook voor het eerst de term "renal rickets" op als aanduiding van renale osteodystrofie op de kinderleeftijd, waarbij met name groeistoornissen en misvormingen van het skelet op de voorgrond staan (Shelling en Remsen, 1935) Latere bijdragen tot een beter begrip van de aetiologie van de renale osteodystrofie zijn afkomstig van Liu en Chu (1943) en van Stanbury en medewerkers (1957, 1962, 1966 en 1968), die hebben gewezen op een zekere mate van resistentie tegen vitamine D als factor bij het ontstaan van renale osteodystrofie. Vanaf halverwege de zestiger jaren hebben twee belangrijke ontwikkelingen bijgedragen aan het tot stand komen van een beter inzicht in de botafwijkingen bij patiënten met chronische nierinsufficiëntie (CNI) en in de therapeutische mogelijkheden:

- 1e. Het beschikbaar komen van radioimmunologische bepalingsmethoden voor bijschildklierhormoon (immunoreactief PTH = iPTH). Hierdoor kon daadwerkelijk worden aangetoond, dat een verhoogde spiegel van dit hormoon in het plasma op zijn minst een factor is bij het ontstaan van de botafwijkingen. Met name de groep van Arnaud heeft in deze richting veel onderzoek gedaan, waarbij bleek dat er verband bestaat tussen de mate van nierfunctieverlies, de hoogte van de bijschildklierhormoonconcentratie in het plasma en de aard en de ernst van de botafwijkingen (Fournier e.a., 1971 a en b; Arnaud, 1973; Goldsmith e.a., 1974). Ook andere auteurs vonden, afhankelijk van de gebruikte radioimmunoassay, stelselmatig meer of minder sterk verhoogde PTH-spiegels in het plasma bij chronische nierinsufficiëntie (Reiss e.a., 1968; Potts e.a., 1969).
- 2e. De toegenomen kennis van het metabolisme (of liever de biologische activering) van vitamine D, waarbij met name de unieke localisatie van het enzym 25-hydroxycholecalciferol-1  $\alpha$ -hydroxylase in het nierparenchym en de veronderstelde, verminderde tot afwezige productie van deze stof bij ernstige vormen van CNI een belangrijke factor zou kunnen zijn bij het ontstaan van renale osteodystrofie. Het product van de 1  $\alpha$ -hydroxylering in de nier, het 1,25-dihydroxycholecalciferol (1,25-DHCC), voor het eerst aangetoond door Fraser en Kodicek (1970) lijkt essentieel voor een normaal verloop van de intestinale absorptie van Ca en P (Tanaka e.a., 1971; Frolick en DeLuca, 1971). Een gedetailleerde bespreking van de effecten van PTH en vitamine D en zijn metabolieten volgt in hoofdstuk II.

### Huidige situatie voor wat betreft het probleem van de renale osteodystrofie

Nu op grote schaal haemodialyse-technieken worden gebruikt bij de behandeling van terminale, chronische nierinsufficiëntie en ook de niertransplantatie steeds meer toepassing vindt, zijn de overlevingskansen voor patiënten met CNI aanzienlijk verbeterd. Ter illustratie: van 1964 tot 1973 nam het aantal dialyse-centra binnen Europa toe van minder dan 30 tot 715 en het aantal centra waar niertransplantaties worden uitgevoerd van  $\pm$  15 tot 244. In totaal waren in 1973 in deze centra 25.310 patiënten geregistreerd voor behandeling met haemodialyse, waarvan in dat jaar 7.864 nieuwe. Eind 1973 waren er in Europa in totaal 6.704 patiënten getransplanteerd waarvan er eind 1974 nog 3.477 in leven waren.\*

\* (Zie: Statistical Report of the European Dialysis and Transplantation Association. in: Dialysis Transplantation Nephrology: Proceedings of the European Dialysis and Transplantation Association 1974, Tel Aviv, Israel, Vol 11, 3 - 67, Edit.: Moorland, J.F.).

Deze getallen illustreren de toename van het aantal kandidaten voor het ontwikkelen van een renale osteodystrofie. De werkelijke omvang van het probleem dat deze botziekte vertegenwoordigt, is moeilijk te schatten, te meer daar veel patiënten met een sterk afgenomen nierfunctie (maar bij wie een behandeling met haemodialyse nog niet noodzakelijk is) subklinisch al een beginnende renale osteodystrofie kunnen hebben (Ellis en Peart, 1973). Vast staat dat stelselmatig stoornissen van de Ca- en P- en botstofwisseling worden gevonden bij patiënten met waarden voor de kreatinine-kларing van 30 ml per min. en lager (David, 1975). In ernstiger gevallen zijn de klinische gevolgen: botpijnen, deformaties van skeletdelen, spontaanfracturen en extraskeletale calcificaties.

De doelstellingen van het onderzoek, waarvan de resultaten in dit proefschrift worden beschreven, zijn:

- 1). Meer inzicht te krijgen in het natuurlijk verloop van renale osteodystrofie en de bijbehorende veranderingen van de Ca- en P-stofwisseling bij patiënten met CNI, die (nog) geen behandeling met dialyse krijgen, enerzijds door transversaal onderzoek in verschillende stadia van nierfunctieverlies, anderzijds door longitudinaal onderzoek bij patiënten met progressief nierfunctieverlies.
- 2). Zo mogelijk de volgorde vast te stellen waarin verschillende geselecteerde parameters van de Ca-, P- en botstofwisseling (spiegels van PTH en vitamine D-metabolieten in het serum, intestinale absorptie van Ca, Ca- en P-balans, botmineraalgehalte (fotonabsorptiometrie) en bothistologie) afwijkingen van de norm gaan vertonen bij nierfunctieverlies. Als zijlijn van dit deel van het onderzoek kan voortgezette longitudinale bestudering van dezelfde grootheden bij een groep patiënten na niertransplantatie worden beschouwd.
- 3). De invloed van behandeling met chronische intermitterende haemodialyse op de ontwikkeling van de osteodystrofie en op de afwijkingen bedoeld onder 2) na te gaan.
- 4). Een doelstelling was voorts om op grond van deze resultaten tot een zo doeltreffend mogelijke, therapeutische benadering van de renale osteodystrofie te komen, mede met het oog op het beschikbaar komen van zeer actieve vitamine D-derivaten zoals 1,25-DHCC en 1  $\alpha$ -hydroxycholecalciferol (1  $\alpha$ -HCC).

## HOOFDSTUK II

### CALCIUM— (EN FOSFAAT)STOFWISSELING

- a. Fysiologie.
- b. Pathofysiologie van renale osteodystrofie.

#### a. Fysiologie

Ca en P vormen respectievelijk 2 en 1% van het lichaamsgewicht. Een volwassen man van 70 kg heeft in totaal  $\pm$  1300 g Ca waarvan 99% in het skelet, 700 g P, waarvan 85% in het skelet en 30 g Mg, waarvan 57% in het skelet. Vanaf de geboorte tot de volwassen leeftijd neemt de hoeveelheid Ca in het lichaam toe van 20 tot 1300 g, hetgeen een dagelijkse toename van 180 mg gedurende de eerste 20 levensjaren betekent. In West-Europa is de geschatte gemiddelde inname van Ca per dag 1000 mg en voor P 1500 mg (Nordin, 1976). De normale intestinale absorptie van Ca, bestudeerd met isotopen, varieert tussen de 25 en 50% van het totale aanbod aan de darm (Wills e.a., 1970; Juttman e.a., 1978 a). De uitscheiding van Ca in de urine is bij normale individuen o.a. afhankelijk van de hoeveelheid Ca in het voedsel. Bij een onderzoek in Leeds varieerde de uitscheiding bij gezonde mannen van 50 tot 500 mg per dag en bij gezonde vrouwen van 50 tot 400 mg per dag (Bulusu e.a., 1970). Hodgkinson en Pyrah (1958) hadden eerder vastgesteld dat 90% van normale mannen minder dan 300 en 90% van normale vrouwen minder dan 250 mg per 24 uur uitscheiden. Uit andere onderzoeken blijkt dat de 90% grenzen zowel voor mannen als voor vrouwen iets hoger liggen, nl. resp. 370 en 290 mg (Watson en Dale, 1966; Davis e.a., 1970). Ook de uitscheiding van P in de urine is afhankelijk van de dagelijkse inname (Robertson, 1976). In verschillende studies zijn bij normale individuen waarden voor de uitscheiding gevonden tussen 890 en 1070 mg per 24 uur bij mannen en tussen 615 en 815 mg per 24 uur bij vrouwen (Hodgkinson en Pyrah, 1958; Elliot, 1964; Watson en Dale, 1966; Robertson en Peacock, 1968). Wat betreft de uitscheiding van Mg in de urine is het verschil tussen mannen en vrouwen gering. Doorgaans worden waarden gevonden die rond de 100 mg per dag liggen (Heaton en Pyrah, 1963; Sutton en Watson, 1969). Het dagelijks transport van Ca, P en Mg tussen de verschillende lichaamscompartimenten voor een gemiddelde

volwassene in evenwicht kunnen volgens Wilkinson (1976) in absolute getallen uitgedrukt worden zoals in Fig. II-1.

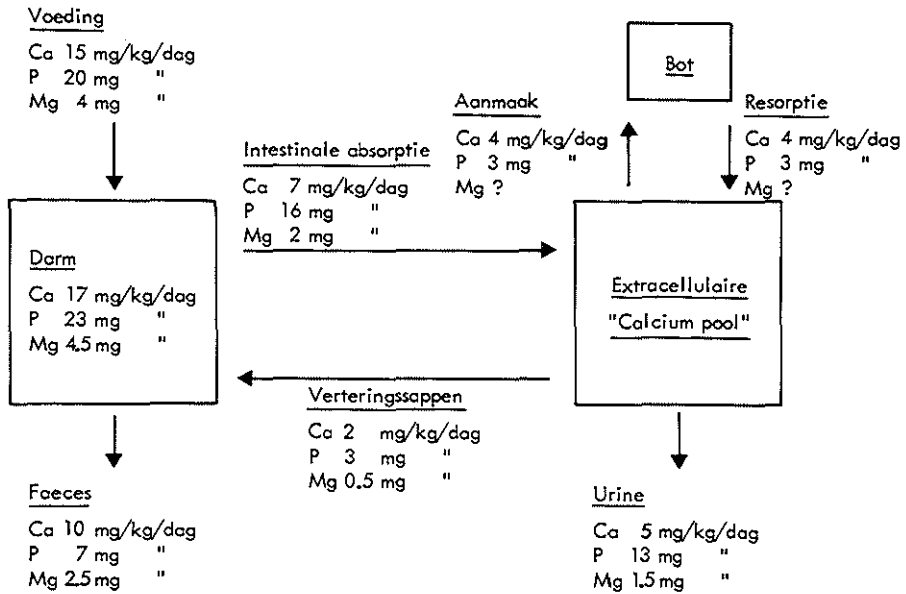


Fig. II - 1 Dagelijks transport van Ca, P en Mg tussen de verschillende lichaams-compartimenten (Wilkinson, 1976)

Een aantal hormonen reguleren de Ca- en P-stofwisseling. Naast de drie belangrijkste hormonen, parathyreoïd hormoon (PTH), calcitonine (CT) en 1,25-dihydroxycholecalciferol (1,25-DHCC), die in dit hoofdstuk aan de orde komen, zijn er nog anderen, zoals thyroxine, corticosteroiden, groei-hormoon, prolactine en glucagon, waarvan de homeostase van het Ca- en P-gehalte van de extracellulaire vloeistof waarschijnlijk niet primair afhankelijk is, maar die onder bijzondere omstandigheden van invloed kunnen zijn op de Ca- P- en botstofwisseling. Deze invloeden komen, voor zover van belang, later ter sprake.

## I. PTH

Bij schildklierhormoon wordt gesynthetiseerd en gesecerneerd door de bij schildklieren, meestal 4 in getal, hoewel meer of minder klieren kunnen voorkomen. Zij zijn gelocaliseerd tussen de achterkant van de boven- resp. de onderpool van de 2 schildklierkwabben en de schildklierkapsel. De bo-

venste twee ontwikkelen zich uit het entoderm van de vierde kieuwboog, de onderste uit de derde kieuwboog. Met name de onderste bij schildklieren hebben een nogal wisselende localisatie, waarbij vaak bij schildklierweefsel in de thymus of anderszins retrosternaal gevonden kan worden. Ook worden hier wel additionele bij schildklieren gevonden. Iedere bij schildklier weegt ongeveer 30 mg. Gilmour en Martin (1937) vonden gemiddelde totale bij schildklier gewichten van 130 en 120 mg bij resp. mannen en vrouwen. Electronenmicroscopische studies hebben aangetoond dat de bij schildklier cellen activerings-cycli doormaken wat betreft productie van hormoonbevattende secretiegranulae (Capen, 1971). Collip (1925) toonde aan dat een extract van ossebij schildklieren het lage Ca-gehalte van het serum bij honden, waarvan de bij schildklieren waren verwijderd, corrigeerde. Bij honden met intacte bij schildklieren veroorzaakten deze extracten een hypercalcaemie. Aanvankelijk dachten Neufeld en Collip (1942) dat de belangrijkste werking van PTH bestaat uit de mobilisatie van Ca en P uit het bot. Later werd met name door het werk van Albright en Reifenshtein (1948) duidelijk dat PTH in de nier een Ca-retinerende en een fosfaturische werking heeft. Aan de opheldering van de structuurformule van het PTH hebben voornamelijk de groepen van Arnaud en medewerkers (Brewer e.a., 1970, 1972) en van Potts en medewerkers (Niall e.a., 1970 en 1974; Keutmann e.a., 1975) bijgedragen. Over een deel van de aminozuurvolgorde van humaan PTH 1-84 bestaat nog geen eenstemmigheid, terwijl er wel eenstemmigheid is over de structuur van runder- en varkens-PTH. Het verschil in inzicht over de samenstelling van humaan PTH betreft de bezetting van de 28e en 30e plaats. De structuur voorgesteld door Niall e.a. benadert die van humaan PTH waarschijnlijk het meest (Hendy e.a., 1974; Bader e.a., 1976; Visser e.a., 1977 en 1979). Sinds kort is het duidelijk dat, zoals ook bij de productie van andere peptide hormonen het geval is, in de bij schildklier cellen een prohormoon wordt gesynthetiseerd, dat uit 90 aminozuren bestaat waarin zich een keten van nogeens 6 aminozuurresten aan de amino-terminale kant bevindt (Kemper e.a., 1972; Habener e.a., 1973). Uit rundermateriaal is nu ook een z.g. pre-pro-PTH geïsoleerd. Vermoedelijk is dit de vroegste voorloper van PTH en is het een direct translatieproduct van messenger RNA van PTH (Kemper e.a., 1974). Dit peptide bestaat uit pro-PTH met aan de amino-terminale zijde nogeens 25 extra aminozuren met terminaal het aminozuur methionine (Kemper e.a., 1976). In het algemeen worden deze hormoonvoorlopers gezien als structuren die het intracellulaire transport van de polypeptidehormonen kunnen vergemakkelijken (Dehm e.a., 1972). Door specifieke hydrolasen wordt het amino-terminale hexapeptide van het pro-PTH afgesplitst onder vorming van 1-84 PTH (MacGregor e.a., 1978). De halfwaardetijd van 1-84 PTH in de circulatie bedraagt enkele

minuten. Door de inwerking van proteolytische enzymen wordt het 1-84 PTH afgebroken, waarbij fragmenten met variabele lengten ontstaan. Grofweg kan men deze indelen in amino (N)-terminale en carboxyl (C)-terminale brokstukken (Arnaud e.a., 1974). De halfwaardetijd van de C-fragmenten in de circulatie is veel langer (uren) dan die van de N-fragmenten (minuten). Ook die van intact hormoon is in de orde van minuten (Segre e.a., 1974; Habener e.a., 1976). Slechts de fragmenten die de keten van de eerste 27 aminozuren (vanaf N-terminaal) bevatten zijn biologisch actief (Tregear e.a., 1973). De nier neemt een groot deel van de eliminatie van intact PTH en van N-terminale en C-terminale fragmenten voor zijn rekening. Voor de C-terminale brokstukken is door Hruska e.a. (1975) een metabole klaring van 60% van het totaal gevonden.

**Secretie van PTH:** Veruit de belangrijkste regulatie vindt plaats door de hoogte van het Ca-gehalte van het serum. Bij een verhoogd Ca-gehalte wordt de PTH-secretie geremd, bij een hypocalcaemie wordt zij gestimuleerd. Bij perfusie van bij schildklieren van schapen en geiten blijkt dat binnen enkele minuten na een verlaging van het gehalte aan geïoniseerd Ca beneden het normale gebied secretie van PTH op gang komt (Care e.a., 1966; Sherwood e.a., 1966). Na intraveneuze toediening van Ca resp. verlaging van het Ca-gehalte van het serum met behulp van EDTA werd er een remming, resp. stimulatie van de PTH-secretie waargenomen (Sherwood e.a., 1966). Ook bij perfusieproeven van geïsoleerde bij schildklieren van schapen en geiten werd met dergelijke manipulaties binnen minuten af- resp. toename van secretie van PTH vastgesteld (Buckle e.a., 1968). Zowel bij dierexperimenteel onderzoek (Sherwood, 1968) als bij de mens (Reiss e.a., 1970) is komen vast te staan dat het P-gehalte van het plasma géén rechtstreekse invloed op de productie en secretie van PTH heeft. Evenals hypocalcaemie stimuleert ook hypomagnesiaemie de secretie van PTH. Bij fysiologische concentratie in het plasma (0.8 - 1.2 mmol/l) lijkt Mg de primaire regulatie van de secretie van PTH door het Ca-gehalte niet te kunnen verdringen (Buckle e.a., 1968; Mayer, 1975). Hypermagnesiaemie kan bij patiënten die wegens een ernstige nierinsufficiëntie gedialyseerd worden, een remmende invloed op de PTH-secretie hebben (Pletka e.a., 1971), terwijl bij extreme hypomagnesiaemie zoals deze bij sommige intestinale absorptiestoornissen kan voorkomen, een remming van de PTH-secretie kan optreden, ondanks het feit dat een hypocalcaemie bestaat. Dus bij extreme hypomagnesiaemie overschaduwde het Mg-effect dat van het Ca wat betreft de productie en secretie van PTH (Suh e.a., 1973; Anast e.a., 1976; Levi e.a., 1974).

Onlangs is bekend geworden dat diverse vitamine D-metabolieten (zie



de betreffende paragraaf) een rechtstreekse invloed op de secretie van PTH kunnen hebben. De groep van Norman heeft met verschillende proefopstellingen resultaten verkregen die op sommige punten met elkaar in tegenspraak zijn. Met een dierenexperimentele opstelling (kippen en ratten) toonden zij aanvankelijk aan dat zowel in vivo als in vitro 1,25-DHCC een directe remmende invloed op de secretie van PTH heeft, onafhankelijk van de hoogte van het Ca-gehalte van het serum (Henry en Norman, 1975 a; Chertow e.a., 1975). In een latere publicatie over proeven bij honden, waarbij diverse vitamine D-metabolieten in doseringen variërend van 50 tot 250 ng in de arteria thyreoidea superior werden geïnjecteerd en waarbij veneus bloed uit de vena thyreoidea inferior werd opgevangen voor bepaling van PTH, vonden zij een volledige suppressibiliteit van de secretie van PTH met behulp van 125 tot 240 ng 25-hydroxycholecalciferol (25-HCC) en 50 tot 250 ng 24,25-dihydroxycholecalciferol (24,25-DHCC), terwijl cholecalciferol in een dosering van 250 tot 1250 ng geen enkel effect had en 1,25-DHCC in een dosering van 50 tot 250 ng de PTH secretie zelfs stimuleerde. Wat betreft het 1,25-DHCC gaat het hier om farmacologische doseringen, terwijl meer fysiologische doseringen géén effect hadden (Canterbury e.a., 1978). De fysiologische betekenis van deze waarneming is wat betreft het 1,25-DHCC dus dubieus. Altenähr e.a. (1977) vonden in een kweek van menselijk bij schildklieradenoomweefsel een remmende invloed van 1,25-DHCC ( $1\mu\text{M}$ ) op de secretie van PTH. Ook van 24,25-DHCC werd bij geiten aangetoond, dat het bij perfusie van bij schildklierweefsel in situ de secretie van PTH duidelijk remt (Bates e.a., 1974). Aangezien de hydroxylatie op het 24e C-atoom van 25-HCC wordt gestimuleerd door 1,25-DHCC (Tanaka en DeLuca, 1974a), kan mogelijk het suppresserende effect van 1,25-DHCC op de PTH-secretie bij intacte dieren worden toegeschreven aan deze werking. Dit geeft echter geen verklaring voor de discrepantie tussen de eerste (Henry en Norman, 1975 a) en de latere (Canterbury e.a., 1978) resultaten van de groep van Norman verkregen met resp. proeven in vitro en bij schildklierperfusie. Resumerend lijkt een directe feedback van 1,25-DHCC op de PTH-secretie minder waarschijnlijk dan een indirecte via de stimulatie van 24,25-DHCC. Vermoedelijk vormt deze feedback een onderdeel van de interactie tussen PTH en vitamine D, waarop in het gedeelte over de vorming en werking van vitamine D uitvoeriger zal worden ingegaan.

Stimulerende effecten op de secretie van PTH zijn voorts beschreven van adrenaline en noradrenaline (Fischer e.a., 1973), vitamine A (Jowsey en Riggs 1968), glucocorticoiden (Fucik e.a., 1975) en bij in vitro proeven van calcitonine (Fischer e.a., 1971). Remming van de PTH-secretie door propranolol is gevonden bij patiënten met CNI en zeer hoge PTH-spiegels in het plasma (Caro e.a., 1978). De eerder genoemde stimulerende stoffen kunnen

in de normale regulatie van de PTH-secretie het effect van Ca niet verdringen en van hen zijn tot dusverre alleen in farmacologische hoeveelheden effecten op de PTH-secretie beschreven.

## Werking van PTH op de eindorganen

### A. Bot

Uit onderzoek in vitro zowel als in vivo is al geruime tijd bekend dat PTH in fysiologische hoeveelheden de afbraak van botweefsel kan bevorderen en mobilisatie van botzout kan teweegbrengen (Barnicot, 1948). Door velen worden deze effecten beschouwd als het meest belangrijk voor de regulatie van het Ca- en het P-gehalte van de extracellulaire vloeistof (ECV). Hoewel het skelet in massa uitgedrukt als het grootste eindorgaan van PTH beschouwd kan worden (Krane, 1970) menen Nordin en Peacock toch dat de stimulatie van de renale tubulaire terugresorptie van het Ca onder invloed van PTH een belangrijker bijdrage levert aan het constant houden van het Ca-gehalte van het plasma dan stimulatie van de botafbraak en dat veranderingen in de genoemde terugresorptie bij hoge of lage PTH-spiegels (hypo- en hyperparathyreoïdie) verantwoordelijk zijn voor de veranderingen in het Ca-gehalte van het plasma (Nordin en Peacock, 1969). Zij stellen dat tegenover een toegenomen of verminderde snelheid van afbraak van botweefsel vrijwel altijd een aangepaste snelheid van botopbouw staat. Men zou hier tegen in kunnen brengen dat het geven van thiazide-diuretica wel een "resetting" (nl. een blijvende toename) van de tubulaire terugresorptie van Ca veroorzaakt, maar - althans bij normalen - geen aanleiding geeft tot een verandering van het gehalte van geïoniseerd Ca van het plasma (Yendt e.a., 1966; Parfitt, 1969; Brickman e.a., 1972 a). Bovendien is bekend dat bij schildklierextract ook bij genefrectomeerde, gedialyseerde ratten, een hypercalcaemie kan veroorzaken (Talmage en Elliott, 1956). Afbraak van bot onder invloed van bij schildklierhormoon werd het eerst aangetoond door Barnicot (1948). Later toonden Gaillard (1955) en Raisz e.a. (1968) aan dat bij schildklierextract in botweefselkweken botresorptie veroorzaakt. PTH beïnvloedt drie categorieën botcellen, nl. de osteocyten, de osteoclasten en osteoblasten. De effecten op osteoclasten en osteocyten zijn het meest bestudeerd. Na toediening in vivo of toevoeging in vitro van PTH ziet men binnen enkele minuten een kortdurende lichte daling van het Ca- en P-gehalte van het serum of het medium optreden (Robinson e.a., 1972). Dit is vermoedelijk het gevolg van een initiële, kortdurende influx van Ca en P van de ECV naar het bot. Binnen enkele uren stijgt het Ca-gehalte daarna waarbij histologisch voornamelijk een activatie van de osteocyten en van de

reeds aanwezige osteoclasten wordt gezien (vroeg respons) (Meunier e.a., 1973; Rasmussen en Bordier, 1973). Binnen enkele dagen ziet men bij een blijvend verhoogd PTH-gehalte ook een toename van het aantal osteoclasten. PTH induceert niet alleen een toename van de botresorptie: er zijn aanwijzingen dat PTH ook een effect heeft op de activiteit van de osteoblasten en dus op de botaanmaak, waarbij zowel remming als stimulering van de activiteit is beschreven (Gaillard, 1961; Heersche e.a., 1965; Laitinen, 1967; Milhaud e.a., 1971). Er zou ook een verhoogde vorming van osteoblasten in het spel zijn. Er ontstaat aldus celrijker bot, en beenmergfibrose.

## B. Nier

Door velen is aangetoond dat PTH van invloed is op de uitscheiding van P in de urine. Albright en Ellsworth (1929) toonden aan dat injectie van bijschildklierextract de excretie van P in de urine doet toenemen. In een veel later stadium liet onderzoek met behulp van micropunctuur zien dat PTH de terugresorptie van P in het proximale deel van de niertubulus remt en dat er geen effect is op de tubulaire secretie (Strickler e.a., 1964). Dit effect van PTH wordt veroorzaakt via activering van adenylaatcyclase (Goldberg e.a., 1972). Zowel Knox en Lechene (1975) als Agus e.a. (1973) vonden dat de terugresorptie van P ook in het distale deel van de tubulus door PTH wordt geremd. Talmage en medewerkers toonden in 1955 aan dat PTH de Ca-excretie door toename van de tubulaire terugresorptie van Ca doet afnemen. Bij ratten bleek dat parathyreoïdectomie een hypocalcaemie veroorzaakt, terwijl er toch een toename van de excretie van Ca in de urine optreedt. Deze effecten konden teniet worden gedaan door het toedienen van bijschildklierextract. Bij de mens bleek een identieke werking van PTH op de excretie van Ca te bestaan (Kleeman e.a., 1958 en 1961). Nordin en Peacock (1969) lieten zien dat er ten opzichte van het Ca-gehalte van het plasma een relatieve hypoexcretie van Ca bestaat bij patiënten met een primaire hyperparathyreoïdie en bij patiënten met een hypoparathyreoïdie een relatieve hyperexcretie. In de proximale tubulus van honden zagen Agus e.a. (1973) naast een remming van de terugresorptie van Na en P onder invloed van toediening van PTH ook een partiële blokkade van de terugresorptie van Ca, die kwantitatief vergelijkbaar was met die van Na. Een toename van de distale terugresorptie van Ca kon echter goed de verlagings van de Ca-klering onder invloed van PTH verklaren.

**Resumerend:** PTH veroorzaakt in de proximale tubulus een remming van de terugresorptie van bicarbonaat, Ca, Na en P. In de distale tubulus is er een kwantitatief gezien belangrijker afname van de terugresorptie

van P, terwijl er daar een duidelijk tegenovergesteld effect is op het Ca-transport.

### C. Darm

PTH heeft een stimulerende werking op de intestinale absorptie van Ca en P, al is dit naar het zich laat aanzien geen direct effect. In tegenstelling tot de andere twee belangrijke eindorganen van PTH, de nier en het bot, is in darmweefsel tot op heden geen PTH-receptor en voor PTH gevoelige adenylaatcyclase aangetoond. Er werd evenmin een effect van PTH gevonden op het Ca-bindend eiwit (CaBP), dat in de darmcellen is gelocaliseerd en waarvan aangenomen wordt dat het een rol speelt bij de absorptie van Ca (Bar e.a., 1972). In afwezigheid van vitamine D heeft PTH op de Ca-absorptie geen effect, hetgeen het best tot uitdrukking komt bij ziektebeelden als vitamine D-deficiëntie en CNI, waar ondanks hoge PTH-spiegels in het plasma steeds een verlaagde intestinale absorptie van Ca wordt gevonden. De stimulerende invloed van PTH op de omzetting van 25-HCC in 1,25-DHCC in de nier, blijkt een cruciale rol te spelen bij het in stand houden van een normale snelheid van de intestinale absorptie van Ca (Garabedian e.a., 1972; Galante e.a., 1972a; Fraser en Kodicek, 1973; Frolik en DeLuca, 1971). De effecten van PTH, Ca en P op de 1  $\alpha$ -hydroxylering van de 25-HCC in de nier komen in de volgende paragraaf nader aan de orde.

## II. Vitamine D

Vanaf het begin van de jaren '70 zijn de inzichten betreffende het metabolisme van vitamine D en de rol die deze stof speelt in de Ca-huishouding aanzienlijk verruimd (Avioli en Haddad, 1973; DeLuca, 1973, 1974, 1975 a en b, 1976 a en b; Norman en Henry, 1974 a; Norman e.a., 1976; Hausler en McCain, 1977; MacIntyre, 1978). Cholecalciferol (vitamine D) zou, gezien zijn structuur en metabolisme, eerder een steroïed hormoon dan een vitamine in de klassieke betekenis van het woord genoemd moeten worden (Henry en Norman 1975 b). Fig. II-2 laat de transformatie van vitamine D en de structuurformules van de diverse metaboliëten van vitamine D zien. Tevens zijn de eindorganen waar de effecten van het getransformeerde vitamine D worden teweeggebracht, weergegeven. De lever en de nier zijn de belangrijkste organen voor de activering van het natieve vitamine D tot de meer polaire en biologisch werkzame vitamine D-metaboliëten. De hydroxylatie van het 24ste C-atoom kan ook in de darm plaatsvinden (DeLuca, 1978). De voor de mens belangrijkste toevoer van vitamine D<sub>3</sub>

vindt plaats via de huid waar uit 7-dihydroxycholesterol onder invloed van ultraviolet licht via previtamine D<sub>3</sub> het vitamine D<sub>3</sub> (cholecalciferol) wordt gevormd (Wagner en Folkers, 1964; Hollick e.a., 1977 a en b). De normale waarden in het plasma van cholecalciferol liggen tussen 8 en 25 ng per ml. (Avioli en Lee, 1966). De omzetting van cholecalciferol in 25-HCC vindt voornamelijk plaats in de lever (Bhattacharyya en DeLuca, 1973), hoewel voor andere weefsels, met name de darm en de nier van kuikens, is aangetoond dat deze omzetting, zij het in mindere mate, daar ook kan plaatsvinden (Tucker e.a., 1973). De ontdekking van het 25-HCC komt op naam

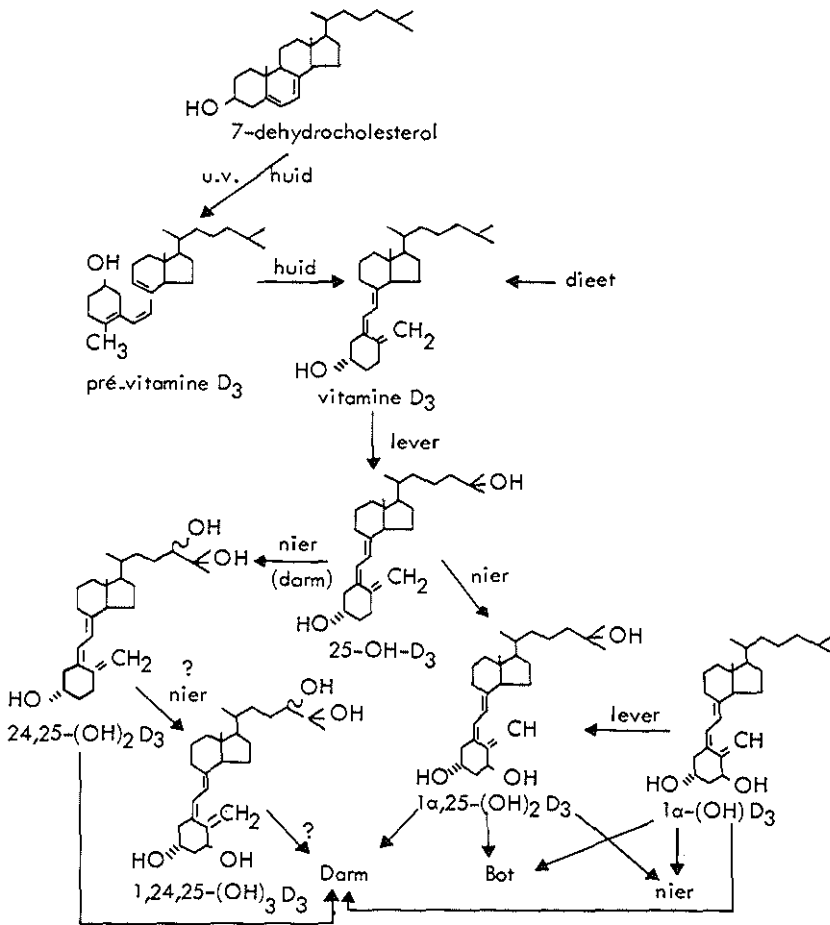


Fig. II - 2 Vitamine D-metabolieten.

Transformaties van de verschillende metabolieten en hun werking in de eindorganen, 1  $\alpha$ -(OH) D<sub>3</sub> (1  $\alpha$ -HCC) is een synthetisch derivaat van Vitamine D, waarvan ook de transformatie tot 1,25-DHCC en de effecten op de eindorganen is afgebeeld.

van Lund en DeLuca (1966) die na intraveneuze toediening van radioactief gemerkt cholecalciferol aan ratten in het plasma met behulp van chromatografie meer-polaire metabolieten vonden, waaronder het 25-HCC. De 25-hydroxylering in de lever geschiedt in de microsomen. Aanvankelijk werd door DeLuca en medewerkers gesuggereerd dat 25-HCC een remmende werking heeft op zijn eigen vorming in de lever (remming door product). Tucker e.a. (1973) voerden daar tegen aan dat de concentraties van 25-HCC, waarbij remming van het 25-hydroxylase wordt verkregen, suprafysiologisch zijn. De toevoer van cholecalciferol lijkt de enige fysiologische modulator bij de vorming van 25-HCC in de lever te zijn (Hughes e.a., 1977). Ook de seizoenswisselingen in het gehalte van 25-HCC onder invloed van U.V. licht pleiten hiervoor (Hollick e.a., 1971; McLaughlin e.a., 1974; Corless e.a., 1978). 25-HCC en zijn precursor cholecalciferol zijn bij de mens in het plasma aan hetzelfde transport-eiwit (een  $\alpha$  2-globuline) gebonden (Kida en Goodman, 1976). 25-HCC is de vitamine D-metabooliet met de hoogste concentraties in het plasma, 10-30 ng per ml. of 25-75 pmol per ml. (gemeten met een competitieve eiwitbindingsmethode, Edelstein e.a., 1974). Verdergaande activering van het 25-HCC vindt plaats door middel van hydroxylering op het 1e C-atoom onder vorming van 1,25-DHCC. In 1970 toonden Fraser en Kodicek aan dat de  $1\alpha$ -hydroxylering in de nierschors plaatsvindt. Het  $1\alpha$ -hydroxylase bevindt zich in de niermitochondriën (Gray e.a., 1972). Tot op heden bestaan er geen aanwijzingen dat deze hydroxylering elders in het lichaam kan geschieden. Van de tot nu toe bekende metabolieten van vitamine D heeft het 1,25-DHCC biologisch de sterkste werking. Naast het 1,25-DHCC blijken onder bepaalde omstandigheden in de nier nog andere metabolieten te kunnen worden gevormd, zoals het 24,25-dihydroxycholecalciferol (24,25-DHCC) en het 1,24,25-trihydroxycholecalciferol (1,24,25-THCC). Het is mogelijk dat 24,25-DHCC een biologische activiteit heeft, die in bepaalde opzichten zwakker, maar vooral anders geschakeerd is dan die van het 1,25-DHCC. Zoals reeds vermeld blijkt 24,25-DHCC wat betreft de "feed-back" op de secretie van bijschildklierhormoon (PTH) een meer uitgesproken werking te hebben dan 1,25-DHCC (Canterbury e.a., 1978). Uit de nog te bespreken effecten van 1,25-DHCC op de eindorganen blijkt dat deze metabooliet van vitamine D een belangrijke factor is bij het in stand houden van een normaal Ca- en P-gehalte van de ECV. Het is daarom ook niet verwonderlijk dat Ca, P en PTH de belangrijkste regulatoren van de  $1\alpha$ -hydroxylering zijn. In ieder geval is bij vitamine D-intoxicatie zowel bij proefdieren (Hughes e.a., 1977) als bij de mens (McLaughlin e.a., 1974) duidelijk geworden dat een verhoogd aanbod van 25-HCC geen enkele invloed op de vorming van 1,25-DHCC heeft. Bij een tekort aan 25-HCC zijn er uiteraard wel consequenties voor de vorming van 1,25-DHCC. De invloed

den van Ca, P, PTH en CT op de  $1\alpha$ -hydroxylering zijn zowel in vivo als in vitro bij mens en proefdier onderzocht. Boyle e.a. (1971) toonden bij de rat aan dat een zeer lage Ca-toevoer met het voedsel en dientengevolge een iets verlaagde Ca-concentratie in het plasma de biosynthese van 1,25-DHCC doet toenemen. Omgekeerd wordt bij een hoge Ca-concentratie de vorming van 1,25-DHCC geremd. Tevens vonden zij dat bij een hoog Ca-gehalte van het plasma ( $> 9.4$  mg%) de nier overgaat tot de productie van 24,25-DHCC. Met geïsoleerde niertubuluscellen van vitamine D-deficiënte kuikens vonden Shain (1972 a en b) en Rasmussen e.a. (1972) dat bijschildklierextract een stimulerend effect op de vorming van 1,25-DHCC heeft. De invloed van PTH bleek echter bifasisch d.w.z. lage doseringen PTH ( $5 \times 10^{-10}$  tot  $1 \times 10^{-8}$  M) hadden een stimulerende werking, maar hogere doseringen ( $10^{-7}$  M) gaven een remming van de omzetting van 25-HCC tot 1,25-DHCC (Rasmussen e.a., 1972). Gezien het in vitro karakter van de proefopstelling kon in het tweede geval geen sprake zijn van tussenkomst van hoge Ca-concentraties. De stimulerende werking van PTH op de  $1\alpha$ -hydroxylering is diverse malen bevestigd (Fraser en Kodicek, 1973; Booth e.a., 1977). CT had in alle beproefde concentraties (5.0 tot 500 ng per ml.) een remmende werking op de omzetting (Rasmussen e.a., 1972). In deze opstelling werden met veranderingen in de Ca-concentratie (tussen 0.2 en 2.5 mM) geen veranderingen in de synthese van 1,25-DHCC gevonden, waaruit men concludeerde dat het in vivo gevonden effect van Ca op de  $1\alpha$ -hydroxylering een indirecte werking via de secretie van PTH moest zijn. Dat wil niet zeggen dat de intracellulaire Ca-ionconcentratie of zelfs intramitochondriale Ca-ionconcentratie niet ook een direct effect op de  $1\alpha$ - en 24-hydroxyleringen kunnen hebben. Aanwijzingen voor een directe remming van  $1\alpha$ -hydroxylase door hoge Ca-concentraties zijn recent geleverd door de groep van MacIntyre (Colston e.a., 1977). Zij vonden een 50% remming van de  $1\alpha$ -hydroxylase van mitochondriën van 3 weken oude vitamine D-deficiënte kuikens door  $50\mu$  M  $\text{CaCl}_2$ . Dat de aanwezigheid van PTH niet onder alle omstandigheden noodzakelijk is voor de vorming van 1,25-DHCC vonden Galante e.a. (1973), die in kuikens waarvan de bijschildklieren en de schildklier verwijderd waren toch  $1\alpha$ -hydroxylase activiteit vonden, indien tevens een hypofosfataemie bestond. Bij ratten die na exstirpatie van bijschildklier en schildklier een fosfaatarm dieet krijgen stijgt de spiegel van 1,25-DHCC in het plasma tot ongeveer het vijfvoudige (Hughes e.a., 1975; Tanaka en DeLuca, 1973). Verder vonden Baxter en DeLuca (1976) een verhoogde activiteit van het  $1\alpha$ -hydroxylase in de nieren van kuikens met een fosfaattekort. Hoewel Rasmussen en medewerkers (1972) aantoonde dat, in vitro, CT een remmende invloed heeft op de  $1\alpha$ -hydroxylering bestaan er op dit punt toch tegenstrijdige gegevens, aangezien bij in vivo

proeven met ratten juist een toename van de 1,25-DHCC-spiegels in het plasma wordt gevonden na toediening van CT (Galante e.a., 1972 b). Men kan echter veronderstellen dat het effect in vivo tot stand komt via een verlaging van het Ca-gehalte van het plasma en vervolgens een rechtstreekse invloed van deze verlaging dan wel een toename van de secretie van PTH. Henry e.a. (1974) vonden een snel intredende remming van de  $1\alpha$ -hydroxylering in de nier onder invloed van 1,25-DHCC. Dit effect bleek in vivo niet afhankelijk te zijn van de Ca-concentratie in het plasma. Toediening van fysiologische hoeveelheden vitamine D<sub>3</sub>,  $1\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC aan kuikens resulteert in een vrijwel verdwijnen van de activiteit van de  $1\alpha$ -hydroxylase in het nierweefsel van deze dieren (Cork e.a., 1974) en een duidelijke toename van de 24-hydroxylase activiteit (Tanaka en DeLuca, 1974 a). De uitkomsten in vivo bij intacte dieren verkregen, kunnen echter ook verklaard worden door negatieve feed-back van 1,25-DHCC of andere vitamine D-metabolieten op de productie en secretie van PTH (zie paragraaf over secretie van PTH).

Behalve van Ca, P, PTH, CT en 1,25-DHCC zelf is van een aantal andere hormonen beschreven dat zij, zij het onder bijzondere omstandigheden, invloed op de  $1\alpha$ -, resp. 24-hydroxylering in de nier uitoefenen, maar die in de normale Ca- en P-stofwisseling waarschijnlijk een minder belangrijke rol spelen dan de bovengenoemde factoren. Bij de toegenomen behoefte aan Ca en P tijdens groei, zwangerschap en lactatie, zouden groeihormoon, prolactine en mogelijk ook oestrogenen een stimulerende werking op de  $1\alpha$ -hydroxylering en een remmende op de 24-hydroxylering van 25-HCC in de nier hebben (Pike e.a., 1977; Spanos e.a., 1976 en 1978). Van FSH, cortisol, testosteron en progesteron werd geen effect op de beide hydroxylasen van de nier gevonden (Castillo e.a., 1977). De invloed van de glucocorticoiden op het metabolisme van vitamine D vormt een controversieel onderwerp. Spanos e.a. (1977) vonden dat corticosteroiden de  $1\alpha$ -hydroxylase-activiteit van niertubuli van kuikens met een vitame D-tekort stimuleren, zodat de remming van de intestinale absorptie van Ca door glucocorticoiden niet door verandering van het metabolisme van vitamine D kan worden verklaard. Daarnaast wordt in een recente publicatie van Chesney e.a. (1978) beschreven dat chronische behandeling met prednison leidde tot een verlaging van de spiegels van 1,25-DHCC in het plasma bij 22 kinderen met diverse glomerulaire aandoeningen. Hierbij moet worden aangetekend dat nierfunctieverlies op zich uiteraard ook aanleiding tot verlaging van de 1,25-DHCC-spiegels kan zijn. In eerdere publicaties zijn argumenten aangevoerd voor zowel een antagonisme van glucocorticoid hormoon ten opzichte van de activiteit van vitamine D (Favus e.a., 1973) als voor een versnelde



inactivatie van 1,25-DHCC onder invloed van een overmaat glucocorticoid hormoon (Carré e.a., 1974).

## Effecten van 1,25-DHCC op de eindorganen

### A. Darm

Van de biologische effecten van 1,25-DHCC is dat op de absorptie van Ca door de darm het meest uitvoerig bestudeerd. Hoewel er soortverschillen zijn in de plaats van de meest actieve absorptie van Ca in de darm blijken het duodenum en de terminale ileum in het algemeen in dit opzicht het meest actief te zijn (Schachter e.a., 1970). Het transport van Ca onder invloed van vitamine D is actief, d.w.z. het organisme is ten koste van energie in staat om een gradiënt in stand te houden waarbij de vrije Ca-concentratie aan de serosa kant (bloed) hoger is dan aan de mucosa kant (lumen) (Rasmussen en Bordier, 1974 a). Naast vitamine D zijn nog andere factoren van belang voor het transport van Ca van lumen naar bloedbaan, zoals a) het Ca-gehalte van de voeding, b) de Na-concentratie in de serosa (aangetoond is dat een verlaging van de Na-concentratie aldaar het Ca-transport remt (Schachter e.a., 1970), c) het P-gehalte van darminhoud (Rasmussen en Bordier, 1974 a; Wasserman, 1968) en de serosa (Swaminathan e.a., 1978), d) leeftijd (de activiteit van de absorptie van Ca neemt af met de leeftijd (Frolick en DeLuca, 1971) en e) sommige bijzondere fysiologische omstandigheden, zoals zwangerschap e.d. (Carlsson, 1953).

Voor een adequate absorptie van Ca is een normale activiteit van vitamine D onontbeerlijk gebleken (Norman en Henry, 1974 b). In vivo en in vitro (eventueel na toediening van 1,25-DHCC) is door velen aangetoond dat dit derivaat de intestinale absorptie van Ca bevordert (Kodicek e.a., 1970; Frolick en DeLuca, 1971; Haussler e.a., 1971; Omdahl e.a., 1971; Boyle e.a., 1972; Haussler, 1974; DeLuca en Schnoes, 1976). Daarnaast is aangetoond dat PTH geen direct effect heeft op de intestinale absorptie van Ca, maar alleen een indirect via stimulatie van de vorming van 1,25-DHCC in de nier (Garabedian e.a., 1974). Hoewel niet alle auteurs het eens zijn over de wijze waarop 1,25-DHCC de absorptie van Ca stimuleert, is de meest gangbare theorie die van inductie van de synthese van één of meer Ca-bindende eiwitten. Receptoren voor 1,25-DHCC in de cytosol van darmcellen zijn aangetoond door Tsai en Norman (1973) en Brumbaugh en Haussler (1974 a en b, 1975). Het door Wasserman e.a. (1974) uit de darm van het kuiken geïsoleerde Ca-bindend eiwit (CaBP), zou een rol kunnen spelen bij het intestinale Ca-transport, aangezien fluctuaties hierin goed correleren met die van de Ca-concentratie in de darmcel. Alleen het weer

verdwijnen van CaBP gaat langzamer dan de verdwijning van het Ca.

Met behulp van weefselkweken van embryonale kippe-duodenum toonde Corradino (1973 a) aan dat de opname van radioactief gemerkt Ca en het verschijnen van CaBP in de weefselkweek na toediening van 1,25-DHCC synchroon verloopt.

Zowel het Ca-transport als het verschijnen van CaBP zijn afhankelijk van RNA- en eiwitsynthese (Corradino, 1973 b). Verder gelukte het met gezuiverd CaBP de opname van Ca door duodenumweefselkweken van vitamine D-deficiënte dieren te doen toenemen (Corradino e.a., 1976). Toffolon e.a. (1975) vonden echter dat het stimulerende effect van 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC op het Ca-transport door de darmwand reeds in 30 min. te demonstreren is.

Ook de intestinale absorptie van P staat onder invloed van 1,25-DHCC (Walling, 1977). Aanvankelijk werd gedacht dat de absorptie van P passief verloopt (McHardy en Parsons, 1956; Nicolaysen, 1937). Harrison en Harrison (1961) toonden echter aan dat toediening van vitamine D het transport van P door de darmwand doet toenemen. Toediening van 1,25-DHCC (1-2  $\mu\text{g}/\text{dag}$ ) aan patiënten met een terminale nierinsufficiëntie doet de intestinale absorptie van P toenemen (Brickman e.a., 1975). De absorptie van P, die onder invloed van 1,25-DHCC plaatsvindt, is afhankelijk van de Na-flux en van de pH (Walling, 1977).

## B. Bot

Hoewel over het mechanisme van werking van de verschillende metabolieten van vitamine D op het botweefsel tot nu toe minder bekend is dan over dat op de darm, staat wel vast dat 1,25-DHCC de meest actieve van de bekende vitamine D-metabolieten is ten aanzien van de mobilisatie van Ca en P uit het bot (botresorptie), terwijl mogelijk 25-HCC, 24,25-DHCC en 1,25-DHCC alle een rol spelen bij de inbouw van Ca en P in het bot (botmineralisatie). Rasmussen en Bordier (1974 b) wezen er in dit verband overigens op dat de experimentele gegevens verkregen bij ratten niet zonder meer kunnen worden geëxtrapoleerd naar de mens. Zo is het P-gehalte van het serum bij de rat 2 tot 3 x hoger dan dat bij de mens, hetgeen op zich invloed op b.v. de botmineralisatie kan hebben. Carlsson toonde reeds in 1952 aan dat fysiologische doseringen vitamine D<sub>3</sub> een mobilisatie van Ca uit het bot kunnen veroorzaken. Dit is door verscheidene auteurs bevestigd (Nicolaysen en Eeg-Larsen, 1956; Blunt e.a., 1968). Later werd duidelijk dat ook in dit opzicht 1,25-DHCC het meest actieve van de bekende metabolieten is (Holick e.a., 1972; Reynolds e.a., 1973; Raisz e.a., 1972; Pechet en Hesse, 1974). Zowel de osteoclastaire als de osteocyttaire botresorptie staan onder

invloed van vitamine D-derivaten, hoewel de osteoclastaire resorptie sterker door vitamine D wordt beïnvloed dan de osteocytaire (Baylink e.a., 1973). Het Ca-mobiliserend effect van 1,25-DHCC wordt bevorderd door de aanwezigheid van PTH (Rasmussen en Bordier, 1974 b).

Reeds eerder in dit hoofdstuk is aangegeven dat omgekeerd mobilisatie van Ca uit het bot o.i.v. PTH afhankelijk is van de aanwezigheid van metabool actief vitamine D. Dit komt klinisch tot uiting bij uraemische patiënten waar verhoogde concentraties van PTH in het plasma veelal onvoldoende mobilisatie van Ca uit het bot teweeg kunnen brengen, naar alle waarschijnlijkheid ten gevolge van de afwezigheid van 1,25-DHCC (Massry e.a., 1976). Er bestaan geen aanwijzingen voor dat het adenylaatsysteem van botcellen door 1,25-DHCC wordt geactiveerd (Peck en Dowling, 1976). Wel is bekend dat actinomycine D het effect van 1,25-DHCC op de mobilisatie van Ca uit het bot kan tegengaan (Tanaka en DeLuca, 1971), hetgeen erop wijst dat binding van 1,25-DHCC aan specifieke cytoplasmatische receptoren plaatsvindt, gevolgd door vorming van mRNA, zoals beschreven voor het effect op de intestinale absorptie van Ca. Binding van 1,25-DHCC aan celkernen van epiphysair, metaphysair en diaphysair botweefsel werd door Weber e.a. (1971) bij rachitische kuikens aangetoond. Over het effect van vitamine D of zijn metaboliet(en) op de mineralisatie van osteoïed bestaan geen eensluidende gegevens. Met name bestaat er verschil van inzicht ten aanzien van welke metaboliet in dit opzicht het meest effectief is. Albright en Reifstein (1948) waren van mening dat het gunstige effect dat hoge doses vitamine D kunnen hebben op de osteomalacie bij patiënten met chronische nierinsufficiëntie is toe te schrijven aan een verbetering van de Ca-balans en met name aan een toename van het Ca x P-ionenproduct. Stanbury en Lumb (1962) wezen voor het eerst op de mogelijkheid van een direct effect van vitamine D op de botmineralisatie. Zij vonden met name bij patiënten met osteomalacie geen constante relatie tussen de hoogte van het Ca x P-ionenproduct in het plasma en de mate van osteomalacie. Eastwood e.a. (1974) namen bij onderzoek van 13 uraemische patiënten waar dat cholecalciferol en 25-HCC een toename van het calcificatiefront (als histologische maat voor de mineralisatie van het osteoïed) in het bot veroorzaakten, onafhankelijk van de hoogte van het plasma Ca x P-ionenproduct. Verhoging van het Ca-gehalte van het plasma tot normaal m.b.v. een hoge inname van Ca met het voedsel leidt niet tot verbetering van de osteomalacie (Stanbury, 1962). Ook als bij patiënten met vitamine D-deficiëntie door middel van infusies van P het Ca x P-ionenproduct wordt verhoogd, verbetert de osteomalacie niet (Bordier e.a., 1971). Het is nog niet duidelijk welk vitamine D-derivaat de mineralisatie van het osteoïed het sterkst beïnvloedt. Bordier e.a. (1978) vonden bij

volwassenen met een vitamine D-tekort een goed effect van 25-HCC in een dosering van 50  $\mu\text{g}$  per dag gedurende 8 weken. Hierbij werd een terugkeer van het calcificatiefront tot een normale lengte verkregen. Toediening van 2.5  $\mu\text{g}$  1,25-DHCC per os per dag gedurende eenzelfde periode had dit effect niet; wel werd een toename van de botresorptie waargenomen. Tenslotte gaf 20  $\mu\text{g}$  24,25-DHCC per dag een minder sterke uitbreiding van het calcificatiefront in het osteoïed dan toediening van 50  $\mu\text{g}$  25-HCC. Derhalve lijkt 1,25-DHCC zeker niet het enige actieve en waarschijnlijk ook niet het meest actieve vitamine D-metabooliet ten aanzien van de botmineralisatie, hoewel Brickman en medewerkers (1974 a) een vermindering van de (verhoogde) ombouwactiviteit en een verbetering van de mineralisatie zagen bij uraemici, die zij behandelden met 0.14-0.68  $\mu\text{g}$  1,25-DHCC per dag. Tenslotte vonden Teitelbaum e.a. (1976) bij gedialyseerde patiënten die behandeld werden met fysiologische hoeveelheden 25-HCC een tweeledig effect op de mineralisatie: Bij patiënten bij wie vóór de behandeling in het histologisch beeld osteïtis fibrosa de overhand had, werd bij behandeling een vermindering van de lengte van het calcificatiefront gezien en bij patiënten bij wie vóór de behandeling in het histologisch beeld osteomalacie de overhand had, werd juist een toename van het calcificatiefront gevonden. Vergelijkend onderzoek met andere vitamine D-derivaten werd door hen niet uitgevoerd. Enigermate in tegenspraak met de voorgaande resultaten zijn die van Pierides e.a. (1976). Bij 5 patiënten die werden behandeld met 1  $\alpha$ -HCC en bij wie in het histologisch beeld vóór de behandeling osteïtis fibrosa overheerste t.o.v. osteomalacie was er na 5 tot 14 maanden behandeling met dit vitamine D-preparaat een duidelijke verbetering in het histologisch beeld zichtbaar. Vijf patiënten bij wie echter vóór behandeling in het histologisch beeld een ernstige osteomalacie bestond (die mogelijk mede geïnduceerd was door het langdurig bestaan van een hypofosfataemie door gebruik van fosfaatbinders en eiwitbeperking) gaf de toediening van dezelfde hoeveelheden 1  $\alpha$ -HCC geen enkele verbetering in het histologisch beeld. Bij de eerste groep patiënten werden hoge PTH-spiegels gevonden bij de tweede groep niet.

**Concluderend,** bestaan er aanwijzingen dat zowel voor resorptie van bot en mineralisatie van osteoïed, activiteit van vitamine D nodig is. T.a.v. de botresorptie dient opgemerkt te worden dat deze beter verloopt indien geactiveerd vitamine D en PTH beide aanwezig zijn. Wat betreft de mineralisatie is toevoer van voldoende Ca en P uiteraard een eerste vereiste. Voor een normaal mineralisatie proces dient echter vitamine D in voldoende mate aanwezig te zijn. Welke van de vitamine D metaboolieten m.n. voor de mineralisatie het meest belangrijk is is tot op heden niet geheel opgehelderd.

### C. Nier

Een derde belangrijk eindorgaan voor de werking van 1,25-DHCC is de nier. Naast de negatieve terugkoppeling op de vorming van deze metabooliet zelf en de stimulering van de 24-hydroxylatie van 25-HCC heeft 1,25-DHCC ook een functie in de regulatie van de excretie van Ca en P. De nier filtreert en reabsorbeert dagelijks ongeveer 7 gram Ca. Vrijwel al het gefiltreerde Ca wordt ook in afwezigheid van vitamine D en PTH teruggeresorbeerd (Bernstein e.a., 1963). Minder dan 5% wordt uiteindelijk in de urine uitgescheiden. In 1960 rapporteerde Gran dat toediening van vitamine D aan rachitische jonge honden een afname van de excretie van Ca in de urine teweegbracht bij een toename van het Ca-gehalte van het plasma en daarmee van de hoeveelheid Ca die per tijdseenheid in de nier werd gefiltreerd. Uit later onderzoek van Steele e.a. (1975) en van Harris e.a. (1977) blijkt dat kleine hoeveelheden 1,25-DHCC (650-1300 pmol intraperitoneaal resp. 32 pmol/uur i.v.) de tubulaire terugresorptie van Ca van ratten, die een tekort aan vitamine D hebben, ook in afwezigheid van PTH bevorderen. Bij patiënten met een normale vitamine D-status veroorzaakte toediening van extra vitamine D (Hall e.a., 1969) of 1,25-DHCC (Brickman e.a., 1974 b) een hypercalciurie zonder dat er een stijging van het Ca-gehalte van het plasma behoeft op te treden. Gezien de aanwezigheid van intacte bij schildklieren bestaat de mogelijkheid dat deze toename van de Ca-uitscheiding veroorzaakt wordt door de suppressie van de secretie van PTH. Bonjour e.a. (1975) vonden bij de rat dat de toename van de intestinale absorptie van Ca na toediening van 1,25-DHCC de calciurie sterker deed toenemen dan een vergelijkbare toename van de absolute absorptie van Ca verkregen m.b.v. toevoer van meer Ca met het dieet. Hierbij zijn echter geen exacte gegevens bekend over de hoogte van de "filtered load", zodat een remmend effect van 1,25-DHCC op het tubulaire transport van Ca hiermee niet bewezen is. Bij honden, na parathyreoïdectomie en met vitamine D gesuppleerd, vonden Puschett e.a. (1972 a en b) met behulp van micropunctuurtechniek dat vitamine D (250 µg), 25-HCC (0.625-3.0 µg) en 1,25-DHCC (0.625 µg) een vermindering van de fractionele excretie van zowel Na, Ca als P veroorzaakten van minstens 20-50%, waarbij 1,25-DHCC in de aangegeven dosering het snelst (nl. na 25 minuten) werkt en vitamine D het traagst (na 55 minuten). In het algemeen kan gezegd worden dat vitamine D, althans één of meer van zijn metaboolieten, een stimulerende invloed heeft op de tubulaire terugresorptie van Ca, maar dat niet duidelijk is in hoeverre dit kwantitatief gezien van belang is en in hoeverre dit samenvalt met het stimulerende effect van PTH op deze terugresorptie. Recent is gebleken dat ook in de nier onder invloed van 1,25-DHCC een calciumbindend eiwit wordt gevormd (Chen en DeLuca, 1973).

Zoals eerder in dit hoofdstuk besproken, staat de vorming van 1,25-DHCC in de nier mede onder invloed van de intracellulaire P-concentratie (Tanaka en DeLuca, 1973). Omgekeerd is de invloed van 1,25-DHCC op het P-metabolisme voornamelijk gelocaliseerd in de darm, waar het een toename van de absorptie van P veroorzaakt en in het bot, waar het P samen met Ca kan mobiliseren (Tanaka en DeLuca, 1974 b). Om de invloed van PTH op de tubulaire terugresorptie van P te vermijden, kan men voor het onderzoek naar de invloed van 1,25-DHCC op deze terugresorptie wederom het beste gebruik maken van proefdieren, bij wie (schildklier en) bij schildklieren zijn verwijderd (TPTX) en die gesuppleerd zijn met vitamine D. Bonjour e.a. (1977 en 1978) vonden met gebruikmaking van deze proefopstelling bij ratten, dat de P-excretie in de urine significant lager was dan bij "sham"-geopereerde dieren (bij verhoogd P-gehalte van het serum), maar dat dit effect op de P-uitscheiding geheel teniet werd gedaan door toediening van fysiologische hoeveelheden 1,25-DHCC (2 x 13 pmol/dag i.p. gedurende 7 dagen) d.w.z. de tubulaire terugresorptie van P werd onder invloed van 1,25-DHCC, althans bij een P-rijke voeding, geremd. Bij intacte ratten hadden dezelfde doseringen 1,25-DHCC geen enkel effect op het tubulaire transport van P. In vergelijking met andere vitamine D-metabolieten bleek 1,25-DHCC hier het meest actief, hetgeen doet veronderstellen dat PTH niet alleen een direct effect op de niertubulus heeft t.a.v. de terugresorptie van P, maar ook via de vorming van 1,25-DHCC in de nier. Het bleek dat 1,25-DHCC in staat is om in TPTX-ratten het vermogen tot tubulaire aanpassing aan variaties van de P-toevoer met het voedsel te herstellen (Bonjour e.a., 1978). Bij TPTX-ratten op een P-rijk dieet wordt zoals vermeld de tubulaire terugresorptie van P door 1,25-DHCC verlaagd en bij een P-arm dieet wordt zij bij deze dieren juist verhoogd. Dit laatste aspect moet in het oog worden gehouden bij de beoordeling van de soms tegenstrijdige resultaten van onderzoek naar de invloed van vitamine D-metabolieten op het tubulaire P-transport, hetgeen overigens ook gedeeltelijk veroorzaakt zou kunnen worden door het gebruik van verschillende proefdiersoorten. Zo vonden, zoals reeds hierboven vermeld, Puschett e.a. (1974) bij éénmalige toediening van 25-HCC aan TPTX-honden een vermindering van de fractionele excretie van P in de urine, terwijl Popovtzer e.a. (1974) bij TPTX-ratten geen effect van 1,25-DHCC op de uitscheiding van P zagen.

Interacties tussen diverse vitamine D-metabolieten en de secretie en werking van PTH werden eerder in dit hoofdstuk besproken.

### III. Calcitonine (CT)

Copp, op wiens naam de ontdekking van dit hormoon (in het begin

van de zestiger jaren) staat, verkreeg zijn eerste aanwijzingen voor het bestaan ervan in een "overshoot" van de secundaire stijging van het niveau van het Ca-gehalte van het plasma na beëindiging van een infusie van EDTA bij honden, welke "overshoot" alleen optrad als hij kort tevoren een thyreoparathyreoïdectomie had verricht (Copp, 1962). CT is een polypeptide dat uit 32 aminozuren bestaat. De aminozuurvolgorde van humaan-CT is bekend (Necker e.a., 1968) evenals die van varkens- (Potts e.a., 1970), runder- (Brewer en Ronan, 1969) en zalm-CT (Niall e.a., 1969). Ieder tot nu toe geïdentificeerd CT heeft een disulfidebrug tussen positie 1 en 7 en prolinamide als carboxyl-terminaal aminozuurderivaat. Verder zijn er onderling zeer grote verschillen wat betreft de bezetting van de diverse aminozuurplaatsen. Alleen het volledige molecuul blijkt biologische activiteit te hebben (Sieber e.a., 1970). Het CT wordt gesynthetiseerd in de parafolliculaire cellen (of C-cellen) van de schildklier. Het medullaire schildkliercarcinoom uitgaande van deze parafolliculaire cellen is het meest bekende ziektebeeld geassocieerd met overproductie van CT. Hypercalcaemie is de langst bekende prikkel voor de secretie van CT (Kumar e.a., 1963). Care e.a. (1968) vonden bij perfusie-experimenten met preparaten van bijschildklieren en schildklier van varkens dat er bij Ca-gehalten van het plasma van 12-20 mg% een lineair verband tussen het Ca- en het CT-gehalte van het serum bestaat. De Ca-infusietest zoals door Tashjian e.a. (1970) werd voorgesteld, dient als diagnostische test voor het medullair schildkliercarcinoom, waarbij CT radioimmunologisch wordt bepaald. Later bleek dat ook gastrine (pentagastrine) en glucagon (Deftos e.a., 1971) de secretie van CT kunnen stimuleren. De pentagastrinetest volgens Hennessey e.a. (1974) is tot nu toe de meest gevoelige test voor opsporing van overproductie van CT bij medullair schildkliercarcinoom gebleken. Recent werden er door Metz en medewerkers (1978) aanwijzingen voor gevonden dat de secretie van PTH en CT gestimuleerd wordt door enkele  $\alpha$ - en  $\beta$ -adrenerge farmaca zoals isoproterenol en (voor CT) methoxamine. Het directe fysiologische belang hiervan is nog niet duidelijk. Somatostatine zou volgens Hargis e.a. (1978) de secretie van CT kunnen remmen. Voorts wordt de secretie van CT geremd door hypocalcaemie, waarbij een chronische hypocalcaemie aanleiding kan geven tot opslag van abnormaal grote hoeveelheden CT in de C-cellen (Gittes e.a., 1968; Deftos e.a., 1972).

De belangrijkste eindorganen voor CT zijn het skelet en de nier. In de eindorganen wordt CT gebonden aan membraanreceptoren (Marx e.a., 1973), hetgeen een stimulatie van het adenylaacyclase-cAMP-systeem tot gevolg heeft, met name in de nier (Heersche e.a., 1974). Marx e.a. (1973) vonden aanwijzingen dat althans in de nier de cellen twee verschillende typen CT-receptoren hebben, nl. één met een hoge affiniteit en gekoppeld

aan de biologische activiteit van het CT en een tweede type receptor met lage affiniteit, die als een soort inactiveringsplaats voor CT dienst zou doen.

Aangezien CT evenals PTH zijn effecten op de niercellen via activering van het adenylaatcyclase-cAMP-systeem uitoefent, is het wat moeilijk te begrijpen dat via hetzelfde systeem PTH een influx en CT een efflux van Ca in/uit de cel zou geven. Marx e.a. (1973) vonden echter aanwijzingen dat PTH en CT hun effect op verschillende celtypen in de nier uitoefenen. Bijvoet e.a. (1971) constateerden dat toediening van CT aan patiënten geen toename van de uitscheiding van cAMP in de urine geeft, zoals dat wel het geval is voor PTH.

## **Effecten van CT op de eindorganen**

### **A. Bot**

Bij proefdieren is aangetoond dat CT de botresorptie remt, zonder dat het de mineralisatie beïnvloedt (Milhaud e.a., 1966). Ook *in vitro* wordt een remming van de resorptie gevonden en speciaal de stimulatie door PTH wordt onder deze omstandigheden door CT tegengegaan (Atkins en Peacock, 1975). Vooral osteoclasten zijn zeer gevoelig voor CT: Mills e.a. (1972) namen reeds 15 minuten na intraveneuze toediening van CT een afname van het aantal osteoclasten waar. In de kliniek vindt toediening van varkens-, zalm- of synthetisch humaan-CT voornamelijk zijn toepassing bij de ziekte van Paget, waarbij een zeer hoge botresorptie bestaat, die door CT wordt geremd (Bijvoet e.a., 1968; Woodhouse e.a. 1971). Enkele vormen van hypercalcaemie zijn met wisselend succes met CT-preparaten behandeld, zoals vitamine D-intoxicatie (West e.a., 1971) en thyreotoxicose (Bijvoet e.a., 1968).

### **B. Nier**

CT remt de tubulaire terugresorptie van Ca, P, Na, K en Mg (Ardaillou e.a., 1967 en 1969; Cochran e.a., 1970; Bijvoet e.a., 1971). Een interessant gegeven is dat patiënten met een medullair schildklier carcinoom die hoge CT-spiegels in het serum hebben, bij toediening van CT refractair zijn wat betreft de effecten op het bot, maar dat dit niet het geval is voor wat betreft de effecten op de nier (Singer en Krane, 1973).

### **C. Darm**

Olson e.a. (1972) vonden onlangs dat kleine hoeveelheden CT de in-



testinale absorptie van Ca kunnen remmen en dat hoge doses juist een toename van de Ca-absorptie veroorzaken. Deze effecten deden zich overigens niet voor in afwezigheid van vitamine D. De fysiologische betekenis hiervan is niet duidelijk, temeer waar Gray e.a. (1973) bij de mens geen effect van zalm-CT op de absorptie van Ca, maar wel secretie van water, Na, K en Cl in jejunum onder invloed van dit hormoon vonden.

Er bestaat een relatie tussen de secretie van CT en die van gastrine en glucagon. Gastrine en glucagon stimuleren nl de CT-afgifte (Parthemore en Deftos, 1978), maar er zijn ook aanwijzingen dat omgekeerd CT de secretie van gastrine en aldus de secretie van maagzuur remt (Sizemore e.a., 1972 en 1973).  $\alpha$ - en  $\beta$ -adrenerge stoffen stimuleren niet alleen de secretie van PTH, maar ook die van CT, terwijl propranolol ook de secretie van CT remt (Vora e.a., 1978).

Tenslotte dient opgemerkt te worden dat, hoewel het effect van CT op de diverse eindorganen zoals hier aangeduid, in principe bekend is, het niet duidelijk is in hoeverre de verschillende werkingen bijdragen leveren aan de normale Ca-, P- en botstofwisseling. Met name blijken hoge concentraties CT (bij medullair schildkliercarcinoom) noch afwezigheid van CT (na totale thyreoïdectomie) aanleiding te geven tot stoornissen in het Ca- en P-metabolisme, al wordt bij jonge mensen met medullair schildklier-carcinoom soms wel een hypocalcaemie aangetroffen. Met behulp van radioimmunologische bepalingen van CT blijkt dat bij de mens onder normale omstandigheden lage concentraties in het plasma kunnen worden gevonden of dat CT niet kan worden aangetoond. De normale waarden variëren met de diverse bepalingmethoden van niet aantoonbaar tot 75 ng per l. (Deftos e.a., 1971; Parthemore en Deftos, 1978).

### **Samenvatting interacties PTH, CT en vitamine D:**

Uit de verzameling van gegevens over vorming, secretie en werking van PTH en CT en toevoer, vorming, activatie en werking van vitamine D kan men een overzicht van de relevante effecten met betrekking tot de homeostase van het Ca-gehalte van de ECV samenstellen, zoals in Fig. II-3 geschetst. Dit is een modificatie van een schema dat in 1976 door DeLuca (1976 a) is gepresenteerd. Centraal hierbij staat het handhaven van een zo constant mogelijk Ca-gehalte van de ECV, cq. het plasma, in het laatste geval van rond 10 mg/100 ml. Een toename van het Ca-gehalte van de ECV geeft aanleiding tot verhoogde secretie van CT door de parafolliculaire cellen van de schildklier en tot remming van de secretie van PTH door de bij-schildklieren. Zoals eerder ter sprake kwam, is het de vraag of kwantitatief gezien de verhoging van de concentratie van CT in het plasma van

fysiologische betekenis kan worden geacht. In theorie vindt een remming van met name de activiteit van de osteoclasten en zodoende van de mobilisatie van Ca en P uit het bot plaats, waardoor minder Ca aan de ECV wordt toegevoegd, hetgeen bijdraagt tot het weer verlagen van het Ca-gehalte van de ECV. CT kan voorts het Ca-gehalte verlagen door de tubulaire terugresorptie van de Ca te doen afnemen. Theoretisch zijn via de verhoging van de concentratie van CT in het plasma en in de eindorganen,

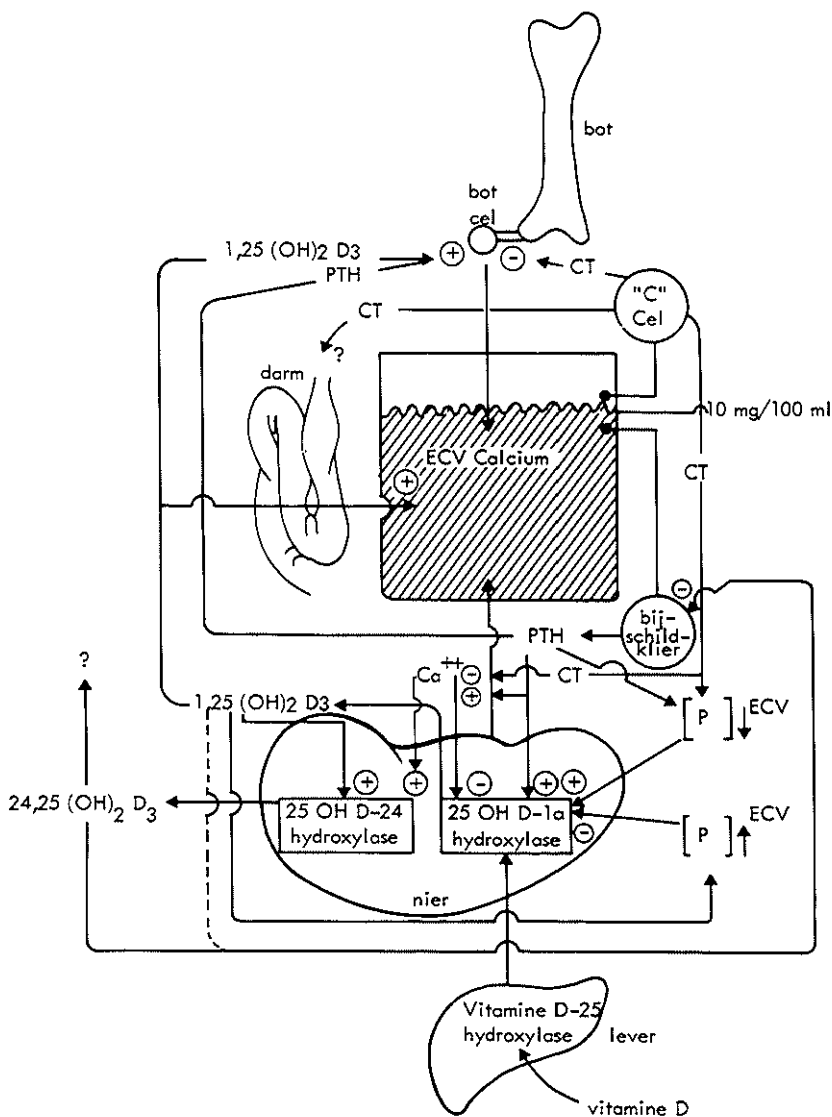


Fig. II - 3 Calcium homeostase.

effecten te verwachten die als resultante een verlaging van het Ca-gehalte van de ECV hebben. Echter, de remming of de tijdelijke uitschakeling van de PTH-secretie lijkt fysiologisch van groter belang te zijn via vermindering van de terugresorptie van Ca in de nier, afname van de botresorptie en afname van de productie van 1,25-DHCC en dientengevolge een daling van de intestinale absorptie van Ca. Al deze effecten dragen bij tot een normalisering van het Ca-gehalte van de ECV. Is er omgekeerd sprake van een verlaagd Ca-gehalte van de ECV dan vormt dit een stimulus voor de productie en secretie van PTH met als gevolg toename van de botresorptie en in de nier: 1. Toename van de tubulaire terugresorptie van Ca. 2. Vermindering van de tubulaire terugresorptie van P waardoor een verlaging van het P-gehalte van de ECV ontstaat. 3. Stimulatie van de vorming van 1,25-DHCC uit 25-HCC. Deze vorming wordt bovendien bevorderd door lage Ca- en P-concentraties (vgl. het effect onder 2.) Het 1,25-DHCC heeft op zijn beurt een meervoudig effect, namelijk stimulatie van de intestinale absorptie van Ca (en P) en toename van de mobilisatie van Ca (en P) uit bot. Een derde effect van 1,25-DHCC is dat op de bijnierschilddklier zelf (al dan niet via stimulatie van de vorming van 24,25-DHCC): Remming van de secretie van PTH.

#### **b. Pathofysiologie van renale osteodystrofie**

De in dit hoofdstuk schematisch voor te stellen ontstaanswijze van renale osteodystrofie berust, althans gedeeltelijk, op veronderstellingen waarbij het met name één van de bedoelingen van dit proefschrift is om ten aanzien van deze veronderstellingen een beter inzicht te verkrijgen. Hierbij gaat het om een bevestiging dat bepaalde factoren zoals verhoging van het PTH-gehalte van het plasma, hyperfosfataemie, verlaagde intestinale absorptie van Ca, hypocalcaemie en een verminderde beschikbaarheid, resp, afwezigheid van biologisch actieve vitamine D-metaboliëten, bijdragen leveren tot het ontstaan van botafwijkingen bij voortschrijdend nierfunctieverlies. Maar van nog meer belang lijkt het verkrijgen van opheldering inzake de volgorde waarin veranderingen zoals voornoemd zich voordoen. Een meer gedetailleerde vraagstelling volgt in hoofdstuk III.

Vermindering van de hoeveelheid functionerend corticaal nierweefsel ofwel vermindering van het aantal functionerende nefronen, betekent dat bij eenzelfde aanbod van P in de "filtered load" per nefron meer P moet worden uitgescheiden om het P-gehalte van het plasma niet (verder) te laten stijgen. Men ziet bij vermindering van de nierfunctie de tubulaire terugresorptie van P dan ook dalen. De onder deze omstandigheden gevonden verhoogde PTH-spiegel zou daarbij een cruciale rol kunnen spelen. In de begin-

fase van nierfunctieverlies zal een lichte stijging van het plasma-P een lichte daling van het Ca-gehalte van het plasma veroorzaken, waardoor de secretie van PTH zal toenemen (Liu en Chu, 1943; Massry e.a., 1968; Coburn e.a., 1969a). Ten koste van een lichte verhoging van het PTH-gehalte van het plasma (Fig. II-4) is bij een beginnende daling van de nierfunctie, het organisme in staat om de Ca- en P-spiegels binnen de normale grenzen te houden (Slatopolsky e.a., 1968, 1971; Reiss e.a., 1970; Arnaud, 1973; Slatopolsky en Bricker, 1973). De tubulaire terugresorptie zal, per nefron gezien, afnemen bij een licht verhoogd PTH-gehalte. Dit laatste wordt in deze fase (GFR van 40 - 60 ml/min., Fig. II-4) over het algemeen met de beschikbare radioimmunologische bepalingen niet gevonden. Friis e.a. (1968) postuleerden een hypersecretie van PTH ook in de vroegste fase van chronische nierinsufficiëntie, omdat zij bij deze patiënten zelfs een lager P-gehalte van het plasma vonden dan bij normalen. Hiermee in overeenstemming vonden Popovtzer e.a. (1970) dat de uitscheiding van Ca in de urine zelfs bij patiënten met een gering nierfunctieverlies lager was dan normaal. Reiss e.a. (1968) hebben bij patiënten met een GFR van 70 - 80 ml

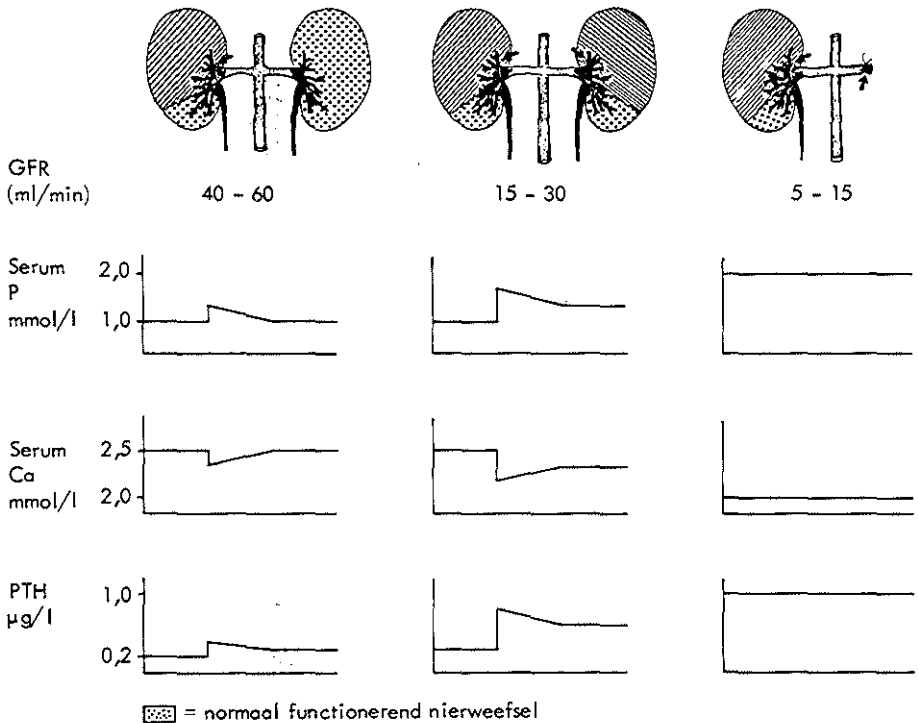


Fig. II - 4 Relatie tussen de hoogte van P-, Ca- en PTH-concentraties in het plasma bij afnemende nierfunctie.

per min. al licht verhoogde PTH-waarden gevonden, maar Arnaud (1973) vond dit echter pas bij 40 ml per min. In ieder geval lijkt er wel een relatie te bestaan tussen de omvang van het nierfunctieverlies en de ernst van de secundaire hyperparathyreoidie, zoals dat al door Berson en Yalow (1966) werd gesuggereerd. Bij de bepaling van PTH bij patiënten met CNI doet zich een probleem voor dat is aangestipt in de paragraaf over de secretie van PTH. Bij gebruik van antisera tegen N-terminale PTH-fragmenten vindt men bij patiënten met CNI en osteitis fibrosa slechts in een beperkt aantal gevallen verhoogde waarden, terwijl met antisera tegen C-terminale brokstukken bij deze patiënten vrijwel altijd verhoogde waarden blijken te bestaan (Arnaud, 1973; Goldsmith e.a., 1974; Reiss e.a., 1968; Berson en Yalow, 1966). Zoals eerder vermeld representeert de concentratie van het native molecuul of van N-terminale fragmenten de momentane, secretoire activiteit van de bijnier, terwijl die van de C-terminale fragmenten beter het bestaan van een chronische hyperparathyreoidie kan aangeven. Uit genoemde resultaten van Arnaud (1973) en van diverse andere groepen blijkt de metabole klaring van de C-terminale fragmenten bij CNI verlaagd te zijn.

Bij toenemend nierfunctieverlies (Fig.II-4 middelste en rechter paneel) wordt de capaciteit van de overblijvende nefronen om onder invloed van een stijgend PTH-gehalte de excretie van P op te voeren verder beperkt, zodat ondanks de hyperparathyreoidie toch een hyperfosfataemie ontstaat. Ook bij gezonde vrijwilligers kan worden aangetoond dat het geven van oraal P gepaard gaat met een daling van de concentratie van geïoniseerd Ca en een stijging van het PTH-gehalte van het plasma (Reiss e.a., 1970). De normalisatie van het Ca-gehalte van het plasma o.i.v. de licht verhoogde PTH-secretie komt ook bij lichte graden van CNI voor een belangrijk deel tot stand door mobilisatie van Ca uit het bot. Op welke manier het anorganisch fosfaat zijn invloed uitoefent op de hoogte van het Ca-gehalte van het plasma is niet geheel duidelijk. Er lijkt een streven van het organisme te zijn om het  $Ca \times P$ -ionen-product in de ECV zo constant mogelijk te houden via een zeer snel intredend, mogelijk fysiochemisch effect (Coburn e.a., 1969a). De mogelijkheid is voorts niet uitgesloten dat b.v. een stijging van het P-gehalte van het plasma hetzij via remming van de vorming van 1,25-DHCC in de nier (Frolik en DeLuca, 1971), hetzij via een direct effect op de darmwandcel (Swaminathan e.a., 1978) de absorptie van Ca door de darm remt. Dat P inderdaad een cruciale rol speelt bij het ontstaan van de uraemische secundaire hyperparathyreoidie, toonden Slatopolsky e.a (1971) aan door bij honden met tussenpozen van 7 - 10 dagen verschillende takken van de arteria renalis achtereenvolgens te ligeren, waardoor een progressief nierfunctieverlies werd bereikt met kreatinine-klaringen variërend van 10 tot

80 ml per min. Gaf men deze honden vanaf het begin van de experimenten een dieet, dat minder dan 100 mg P bevatte, dan werd géén stijging van het serum-P en géén daling van het serum-Ca gezien, terwijl het PTH-gehalte van het plasma normaal bleef. Bij dieren die per dag 1200 mg P in het dieet kregen, steeg het PTH-gehalte bij een GFR van 10 ml per min. tot het tienvoudige van de waarde bij 80 ml per min. Hoewel dit het belang van de retentie van P bij het ontstaan van een hypersecretie van PTH bij CNI goed illustreert, moet men zich wel realiseren dat het hier om een totale duur van de CNI van 30 dagen gaat en dat dit niet identiek is met de toestand van patiënten met een zich langzaam ontwikkelende CNI.

In Fig. II-5 is de opeenvolging van gebeurtenissen geschetst zoals die volgens de huidige opvattingen plaats vinden bij de ontwikkeling van renale osteodystrofie. Hoewel sterk verhoogde PTH-concentraties in het plasma van patiënten met CNI kunnen worden gevonden, laat de histologie van het bot niet alleen het beeld van verhoogde ombouwactiviteit zien, zoals dat bij primaire hyperparathyreoidie wordt aangetroffen, maar bovendien in wisselende mate osteomalacie. Ter verklaring hiervan is o.a. door Stanbury

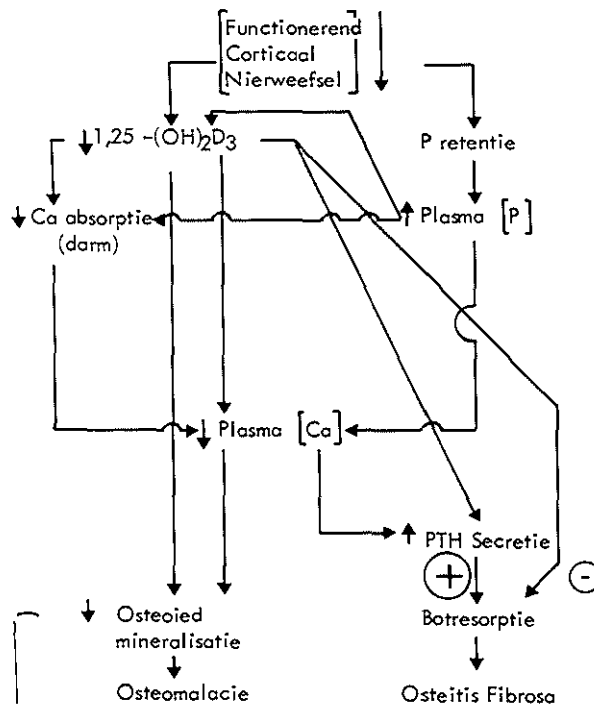


Fig. II - 5 Ontstaansmechanisme van Renale Osteodystrofie (hypothese).

en Lumb (1962 en 1966) naar voren gebracht dat een zekere mate van vitamine D-resistentie een kenmerk van chronische nierinsufficiëntie is. Zoals later bleek berust dit waarschijnlijk op een stoornis in de productie van de biologisch actieve vitamine D-metaboliet 1,25-DHCC door de nier. Voor een normale inwerking van PTH op het bot is activiteit van vitamine D nodig. Zeker in gevallen van gevorderde CNI is aangetoond dat 1,25-DHCC niet of in sterk verminderde mate aanwezig is (Brumbaugh e.a., 1974). Dit draagt bij tot het ontstaan van een histologisch beeld van het bot, dat afwijkt van dat bij de primaire hyperparathyreoidie (Parfitt, 1969; Massry e.a., 1974). Dierexperimenteel vonden Massry e.a. (1976) aanwijzingen dat 1,25-DHCC bij nierinsufficiëntie het calcaemisch effect van endogeen en exogeen PTH kan doen terugkeren. In het algemeen bestaat de toename van de botresorptie o.i.v. PTH zowel uit toegenomen osteoclastaire activiteit met toename in grootte zowel als in getal van de osteoclasten (Wilde e.a., 1973) als uit toename van de osteocyttaire activiteit, waarbij zelfs een directe correlatie is beschreven tussen de omvang van de osteocyttaire lacunen en de PTH-spiegel in het bloed (Krempien e.a., 1973). Over de balans van aanmaak en afbraak van bot bij renale osteodystrofie zijn de meningen verdeeld. Met behulp van onderzoek met radioactief Ca of m.b.v. histologie van het bot wordt de opname van mineraal verhoogd (Kleeman e.a., 1969; Sherrard e.a., 1974), normaal (Kay en Silverman, 1965) en verlaagd gevonden (Eastwood e.a., 1971; Jowsey e.a., 1969), maar dit soort gegevens representeert niet de botaanmaak. Naast tekenen van verhoogde botombouwactiviteit (vooral van verhoogde botafbraak) worden bij CNI in de regel uitgesproken tekenen van osteomalacie gevonden, waarbij in ernstige gevallen zelfs het gehele trabeculaire bot bedekt is met verscheidene lamellen niet gemineraliseerd bot. Dit osteoïed is deels met "actieve" (met ruim cytoplasma), deels met "inactieve" osteoblasten (vrijwel géén cytoplasma zichtbaar) bedekt. De tetracyclinmerking, in de vorm zoals gezien wordt bij actieve mineralisatie (het z.g. calcificatiefront), is bij deze patiënten slechts langs een klein deel van het osteoïed aanwezig (Eastwood e.a., 1971). Tekort aan 1,25-DHCC biedt een aantrekkelijke verklaring voor de pathogenese van de osteomalacie van renale osteodystrofie. Dat deficiëntie van vitamine D rachitis (de kinderleeftijd) of osteomalacie (op volwassen leeftijd) veroorzaakt, is algemeen geaccepteerd. Het is echter de vraag of alleen de afwezigheid van 1,25-DHCC de osteomalacische component bij renale osteodystrofie verklaart. Over het algemeen zouden zich de tekenen van osteomalacie vrij laat in de ontwikkeling van renale osteodystrofie voordoen (Avioli, 1978), terwijl in de vroegere fasen de osteitis fibrosa het histologisch beeld zou overheersen. In de Verenigde Staten is de osteomalacische component bij renale osteodystrofie minder uitgesproken dan in

Engeland, waar de toevoer van vitamine D aan het individu over het algemeen lager is dan in de V.S. Welke van de vitamine D-metabolieten biologisch het meest actief is bij de bevordering van de mineralisatie van osteoïed staat nog niet vast. Dent e.a. (1964) vonden in het begin van de zestiger jaren dat cholecalciferol, weliswaar in doseringen die veel hoger zijn dan die vereist bij "gewone" osteomalacie, de botafwijkingen bij CNI tegengaat. Theoretisch is het mogelijk dat dit geschiedt via de vorming van normale hoeveelheden 1,25-DHCC uit dit grote aanbod cholecalciferol. Het is echter waarschijnlijk dat hoge concentraties cholecalciferol of 25-HCC zelf een effect op het bot hebben (Bordier e.a., 1978). Ook het feit dat osteomalacie 3 maanden tot 6 jaar na bilaterale nefrectomie kan ontbreken (Bordier e.a., 1973) zou ervoor kunnen pleiten dat een andere vitamine D-metabooliet dan 1,25-DHCC een meer uitgesproken effect heeft op de botmineralisatie, zoals 25-HCC en/of 24,25-DHCC (Suda e.a., 1970). Een indirect effect van vitamine D op de mineralisatie, nl. via verbetering van de absorptie van Ca in de darm, is evenmin uitgesloten, aangezien verhoging van het Ca-gehalte van het plasma door middel van orale toediening van Ca volgens sommigen de mineralisatie van het bot bij deze patiënten zou kunnen verbeteren (Snodgrass en De Wardener, 1970). Eastwood e.a. (1971, 1973) vonden echter dat de aanwezigheid van hoge concentraties vitamine D voor het doen optreden of uitbreiden van het calcificatiefront bij patiënten met CNI belangrijker is dan het herstel van het Ca x P-ionen-product in het plasma. Voor een speciale rol van 24,25-DHCC, bij de mineralisatie van osteoïed in het algemeen zijn door Kanis e.a. (1977e) en door Bordier e.a. (1978) verschillende argumenten aangevoerd. Van belang is hierbij ook dat de concentratie 24,25-DHCC in het plasma rechtstreeks afhankelijk lijkt te zijn van die van 25-HCC in tegenstelling tot 1,25-DHCC (Taylor e.a., 1978). Hoewel gezien het werk van Eastwood e.a. (1973) tenminste één van de vitamine D-metabolieten essentieel lijkt te zijn voor de mineralisatie van het osteoïed en een tekort daaraan grotendeels verantwoordelijk moet zijn voor het mineralisatiedefect bij CNI, draagt verlaging van het Ca-gehalte van het serum, die bij deze patiënten regelmatig wordt aangetroffen, hoogst waarschijnlijk bij aan de mineralisatiestoornis. Bij patiënten met CNI wordt als regel een verlaagde intestinale absorptie van Ca aangetroffen (Ogg, 1968; Recker en Saville, 1971; Coburn e.a., 1973; Brickman e.a., 1974 a en b; Juttman e.a., 1978 a en b).



## HOOFDSTUK III

### OPZET VAN HET EIGEN ONDERZOEK

- a. Vraagstelling
- b. Opzet onderzoek
- c. Patiënten

#### a. Vraagstelling

De doelstelling van het in dit proefschrift beschreven onderzoek zijn in het kort al in hoofdstuk I blz. 14, punt 1 t/m 4) genoemd. De daar vermelde en de in hoofdstuk II blz.40 t/m 42 beschreven (toelichting op Fig. II-5) problemen leidden tot de volgende gedetailleerde vraagstelling.

- Ia. Bij welke mate van nierfunctieverlies wordt de eerste stijging van het P-gehalte van het serum gevonden? Loopt dit parallel met het ontstaan van een verlaging van het Ca-gehalte en met een verhoging van het PTH-gehalte van het serum?
- b. Bij welke mate van nierfunctieverlies vinden wij aanwijzingen voor een verminderde vorming van biologisch actief vitamine D, c.q. 1,25-DHCC? Spelen hierbij verlaagde concentraties van b.v. 25-HCC en 24,25-DHCC in het serum ook nog een rol?  
In welke mate draagt het gestoorde metabolisme van vitamine D bij tot het ontstaan van de hypocalcaemie, de secundaire hyperparathyreoïdie en de stoornis(sen) in de mineralisatie van het osteoïed? Anderzijds kan ook de vraag gesteld worden in hoeverre de hyperfosfataemie een remmende invloed heeft op de vorming van 1,25-DHCC dan wel of de verminderde vorming van deze metabooliet alleen bepaald wordt door het verlies van normaal functionerend nierparenchym of mogelijk door beide factoren.
- c. Treden de veranderingen in de Ca-, P- en botstofwisseling bij alle patiënten in het algemeen op bij dezelfde mate van nierfunctieverlies of zijn er onderlinge verschillen, die mogelijk ook een verklaring kunnen geven voor de diversiteit van histiologische afwijkingen in het bot.
- d. Welke invloed heeft de snelheid van het verlies van nierfunctie op het

optreden en de ernst van de stoornissen van de Ca-, P- en botstofwisseling?

- IIa. In welke volgorde treden de onder I genoemde veranderingen op in de concentraties van Ca, P, alkalisch fosfatase, PTH (eventueel van calcitonine) en de metabolieten van vitamine D in het serum, in de intestinale absorptie van Ca en in het mineraalgehalte van het bot?  
Is deze volgorde steeds dezelfde? Houdt een dergelijke volgorde causale verbanden in?  
Een andere mogelijkheid is dat er geen duidelijke opeenvolging van veranderingen bestaat, maar dat de beschreven afwijkingen vrijwel gelijktijdig, bij verslechterende nierfunctie, ontstaan.
- b. In hoeverre houden de veranderingen van één of meer van de onder IIa genoemde grootheden verband met de ontwikkeling van bepaalde histologische veranderingen in het bot?
- IIIa. Wat is de invloed van behandeling met chronisch intermitterende haemodialyse op de ontwikkeling van renale osteodystrofie en op de onder IIa genoemde grootheden?
- b. In hoeverre treedt na niertransplantatie verbetering op van de tijdens de progressie van de nierinsufficiëntie en tijdens behandeling met haemodialyse ontstane biochemische (en eventueel histologische) kenmerken van renale osteodystrofie? Ook hier dient het eventuele verband tussen de histologische kenmerken en de onder IIa genoemde grootheden bestudeerd te worden en dient rekening gehouden te worden met een nieuwe factor, nl. die van de na transplantatie ingestelde behandeling met corticosteroiden en andere immuunsuppressiva.
- c. Onder welke omstandigheden doen zich complicaties voor als tertiaire hyperparathyreoïdie en avasculaire botnecrose? De eventuele bestudering van deze problemen is uiteraard geheel afhankelijk van het optreden hiervan binnen de bestudeerde populatie.
- IVa. Mede aan de hand van de uitkomsten van het onderzoek naar de onder I t/m III genoemde vragen dient gezocht te worden naar een zo doeltreffend mogelijke therapeutische benadering van de renale osteodystrofie in de diverse stadia van nierfunctieverlies. Hierbij zal met name gezocht worden naar de toepasbaarheid van de beschikbaar gekomen biologisch actieve derivaten van vitamine D, 1,25-DHCC en 1  $\alpha$ -HCC. Hierbij heeft zich ook de vraag voorgedaan of er verschillen in het werkingspectrum van deze twee derivaten bestaan.

#### **b. Opzet van het onderzoek**

Eind 1975 werd een begin gemaakt met de selectie van patiënten met

chronische nierinsufficiëntie voor prospectieve bestudering van verschillende grootheden die een relatie hebben met het ontstaan van renale osteodystrofie. Het streven was om bij patiënten in een zo vroeg mogelijke fase van de nierinsufficiëntie, de eventuele afwijkingen vast te leggen en vervolgens het onderzoek om de 3 tot 6 maanden te herhalen om zodoende een indruk te krijgen over het natuurlijk verloop van de afwijkingen. Gezien de ervaringen van Arnaud (1973) en Slatopolsky en Bricker (1973), die bij een glomerulaire filtratiesnelheid (GFR) van 40 resp. 60 ml per min. en lager, afwijkingen vonden in het P- en het PTH-gehalte van het serum werd getracht het onderzoek zoveel mogelijk te doen aanvangen bij patiënten die bij het eerste onderzoek een kreatinine-klaring tussen 30 en 60 ml per min. hadden. In de praktijk blijkt dit, indien men althans op redelijke termijn bij  $\pm 40$  patiënten het onderzoek wil beginnen, moeilijk haalbaar, aangezien over het algemeen patiënten pas bij een veel lagere GFR onder de zorg van een nefroloog of internist komen. Om die reden moesten wij talrijke patiënten, die bij het eerste onderzoek een GFR van minder dan 30 ml per min. bleken te hebben, in ons onderzoek betrekken, waarbij wél de eis werd gesteld dat zij nog niet met intermitterende haemodialyse werden behandeld. Bij deze opzet bestaat de mogelijkheid om dezelfde patiënten in verschillende fasen van hun chronische nierziekte te kunnen bestuderen, b.v. vóór dialyse, tijdens dialyse en na transplantatie, afhankelijk van de progressie van het nierfunctieverlies resp. van het beschikbaar komen van een donornier. Bij de start van het onderhavige onderzoek zijn dit onzekere factoren. Het feit, dat wij bij het aanvangsonderzoek patiënten met een kreatinine-klaring tussen 5 en 47 ml per min. moesten betrekken, schiep wel de mogelijkheid om naast longitudinaal ook transversaal onderzoek uit te voeren. Van december 1975 t/m januari 1979 werden in totaal 42 patiënten met chronische nierinsufficiëntie, (nog) niet behandeld met haemodialyse, in het onderzoek opgenomen. Hiervan moesten uiteindelijk binnen de genoemde periode 20 patiënten met haemodialyse worden behandeld en van deze patiënten werden er in totaal tot nu toe 8 getransplanteerd. De klinische gegevens betreffende de onderzochte patiënten zijn in deel C van dit hoofdstuk vermeld.

Het eerste onderzoek bestond naast het vastleggen van anamnese en het uitvoeren van lichamelijk onderzoek, uit bepalingen van de volgende grootheden:

- a. Biochemie van het serum: kreatinine, ureum, Ca, P, totaal eiwit, Mg, alkalische fosfatase.  
en in arterieel plasma: bicarbonaat (bij een beperkt aantal patiënten).
- b. Kreatinine-klaring

- c. Radioimmunologische bepalingen van PTH en calcitonine in serum. Bepaling van 25-HCC in het plasma met behulp van een competitieve eiwitbindingsmethode (in een later stadium van het onderzoek werd bij een beperkt aantal patiënten ook 24,25-DHCC en 1,25-DHCC in het serum bepaald).
- d. Uitscheiding van Ca en P in de urine.
- e. Intestinale absorptie van Ca met behulp van een isotopenmethode.
- f. Onderzoek van Ca- en P-balans (vóór en tijdens behandeling met 1,25-DHCC of 1  $\alpha$ -HCC, bij een beperkt aantal patiënten).
- g. Fotonabsorptiometrie van de radius (2 tot 3 cm proximaal van de processus styloideus van de ulna) van de rechterarm (mineraalgehalte van het bot).
- h. Botbiopsie uit de crista iliaca superior anterior voor semi-kwantitatieve (en in de toekomst morfometrische) beoordeling van histologische kenmerken behorende bij renale osteodystrofie.
- i. Röntgenonderzoek van handen ("fine detail radiography").

Vervolgens werden de onderzoeken a t/m e en g 1 x per 3 tot 4 maanden herhaald, waarbij incidenteel bij sommige patiënten om uiteenlopende redenen de tussenliggende periode langer was, maar niet langer dan 6 maanden. Verder werden deze onderzoeken ook uitgevoerd bij afsluiting van een bepaalde periode b.v. bij overgang naar behandeling met haemodialyse of bij niertransplantatie. Röntgenonderzoek werd in principe niet meer dan 2 x per jaar verricht. Een herhaling van de botbiopsie vond alleen plaats bij aanvang van een nieuwe fase, b.v. bij begin van haemodialyse of zo snel mogelijk na niertransplantatie. Herhalingsbotbiopsieën konden niet altijd worden genomen. Onderzoek van Ca- en P-balans werd vóór en na 6 maanden behandeling met één van de vitamine D-derivaten uitgevoerd. Tijdens deze behandeling werd een apart protocol gehanteerd wat betreft de bepalingen a t/m h, dat in hoofdstuk VIII afzonderlijk zal worden behandeld. De methodologie van de onder a t/m i genoemde onderzoeken en bepalingen wordt in hoofdstuk IV behandeld.

### c. Patiënten

Tabel III-I geeft de gemiddelde leeftijd en de gemiddelde kreatinineklaring (en de spreiding van de laatste) voor de gehele patiëntenpopulatie en voor de vrouwelijke en mannelijke patiënten afzonderlijk. Fig. III-1 en Fig. III-2 tonen de verdeling naar leeftijd en geslacht resp. de verdeling naar kreatinineklaring en geslacht bij de aanvang van het onderzoek. In Fig. III-3 zijn per patiënt naast leeftijd, geslacht en diagnose, schematisch de duur van de observatie zonder haemodialysebehandeling, waar van toepas-

Tabel III - I: Patiënten met chronische nierinsufficiëntie (CNI)

	n	leeftijd (bij begin van het onderzoek)	kreatinine-klaring (ml/min) (bij begin van het onderzoek)	
		Gemiddelde ± SD	Gemiddelde ± SD	uiterste waarden
Totaal	42	36.9 ± 14.0	18.6 ± 11.0	4-47
mannen	30	34.5 ± 14.7	18.6 ± 12.3	4-47
vrouwen	12	42.8 ± 10.5	18.5 ± 6.9	6-32

sing, tijdens deze behandeling en de periode na niertransplantatie aangegeven met maand- en jaaraanduiding, alsmede het verloop van de kreatinine-klaring. Gerekend tot het afsnijpunt van de te rapporteren waarnemingen (1 april 1979) bedroeg het totale aantal maanden van observatie vóór dialyse 655, d.w.z. gemiddeld 15.6 ± 11.2 (SD) maanden per patiënt (n = 42). Tijdens behandeling met haemodialyse bedroeg de observatie 349 patiëntmaanden, d.i. een gemiddelde van 17,5 ± 9.1 (SD) maanden per patiënt (n = 20). Het totaal aantal maanden observatie na niertransplantatie bedroeg 89 met een gemiddelde van 11.1 ± 8.2 maanden per patiënt (n = 8). In totaal waren er van 1 november 1975 tot 1 april 1979 1093 observatiemaanden, hetgeen neerkomt op iets meer dan 91 patiëntjaren of 2.2 jaar per patiënt met een spreiding van 5 maanden tot 3 jaar en 5 maanden.

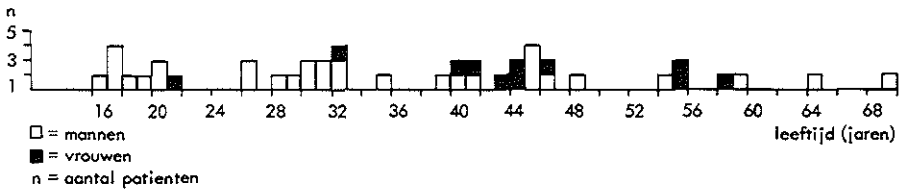


Fig. III - 1 Leeftijdsverdeling van 42 patiënten met CNI.

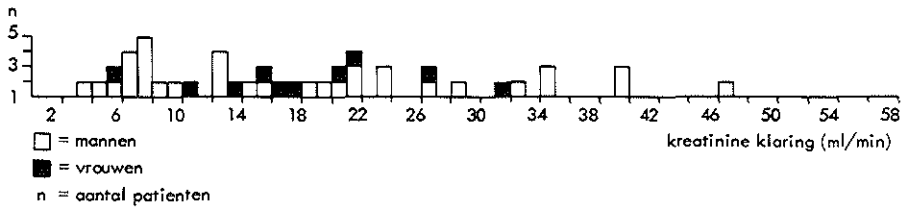


Fig. III - 2 Verdeling van de kreatinine-klaring bij 42 patiënten met CNI.

patient leeftijd geslacht		diagnose	'75	'76	'77	'78	'79
			maanden				
1.	17 jr ♂	H.R.	5				
						29 48 70 52 47	57
2.	32 jr ♀	C.G.	14	16 16 10	10 12	10 12	1a
3.	41 jr ♂	C.G.	8	7	54 66 66	58 58	78
4.	20 jr ♂	C.P.	8	5		5 60 56 58	42 50
5.	20 jr ♂	C.P.	8	6 4			D + 10
6.	35 jr ♀	C.G.	17	13 9 9	8 6	4	D
7.	26 jr ♂	C.G.	7 5				D + 1,25
8.	45 jr ♂	C.G.	7				
9.	32 jr ♂	C.P.	8	8 6			T 72 83
10.	19 jr ♂	C.G., M.I.	6	*			
11.	59 jr ♂	C.P.	47	40 42	39 32	57 60	55
12.	21 jr ♀	C.G.	32	28 34	25 23	17 14	11 6 6 D
13.	45 jr ♂	C.G.	4				T 60 45 53
14.	46 jr ♀	C	11	11 9	7 6		D
15.	54 jr ♂	C.P.	9	7 3			D
16.	31 jr ♂	C.G.	13	10 6 4			T 79 108 100 91
17.	18 jr ♂	C.P.	22	17 16	8 4		D
18.	17 jr ♂	A.L.P.	22	12 5			T D 72 T
19.	46 jr ♂	C.G.	24	26 24	24 17	17 13	T 1 - 25 13 16 13
20.	17 jr ♂	C.P.	40	37 60 58	59 49	32 47	30
21.	44 jr ♀	C.	27	29	35	16	
22.	26 jr ♂	C.G.	13	10 15	10 5	3	D D + 1a
23.	41 jr ♀	Phen.	21	15 16	16 11	13	T 1,25 13 17 12 19 16
24.	55 jr ♀	C.G.	6				D

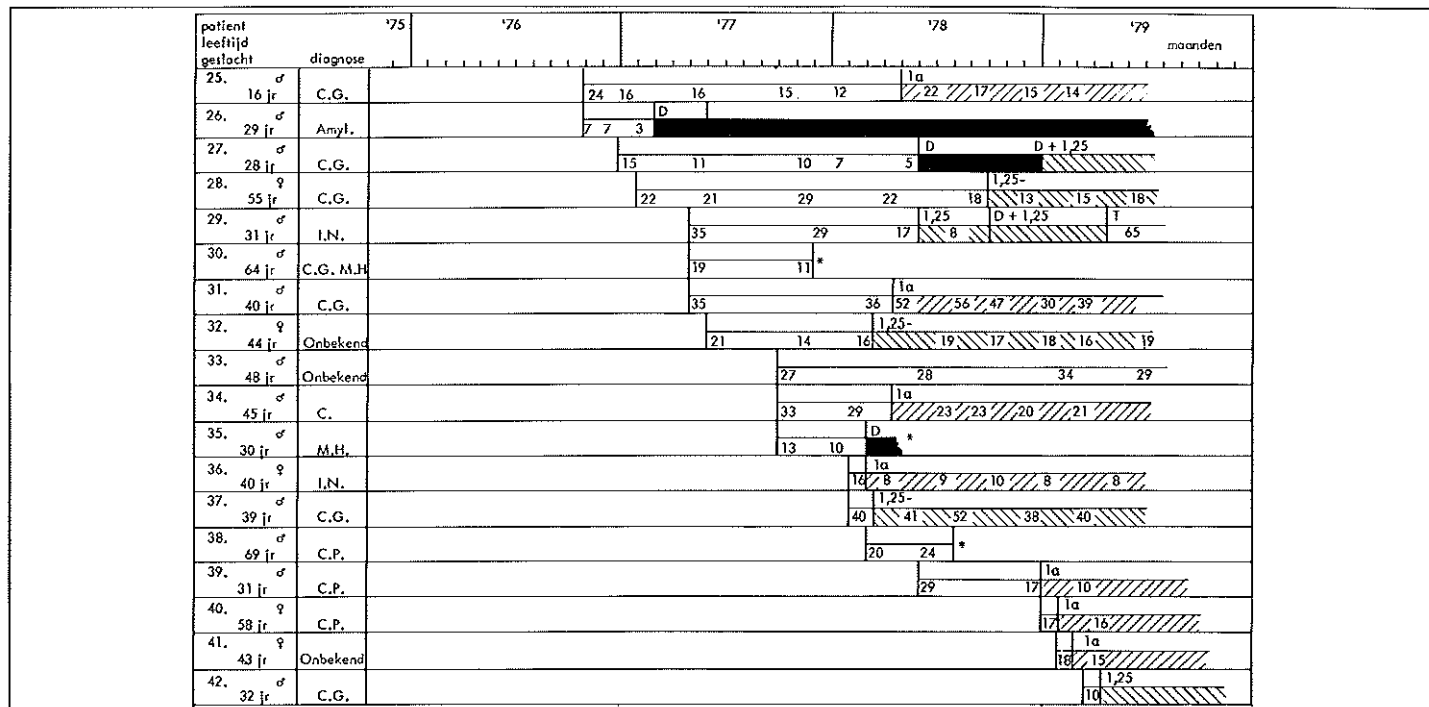


Fig. III - 3 Overzicht van de observatie-perioden bij 42 patiënten met CNI.

Diagnose:

H.R.: Hypoplastische nieren. C.P.: Chronische pyelonephritis. C.G.: chronische glomerulonephritis. M.H.: maligne hypertensie. C.: cystenieren.

ALP.: syndroom van Alport. Phen.: phenacetine nieren. Amyl.: amyloidose. I.N.: interstitiële nephritis. D= begin haemodialyse behandeling.

T= transplantatie. \* = overleden. 1 α- = 1 α-HCC(n) 1,25- = 1,25-DHCC(m)

De kreatinine-klaring is voor iedere patiënt getalsmatig afgebeeld.

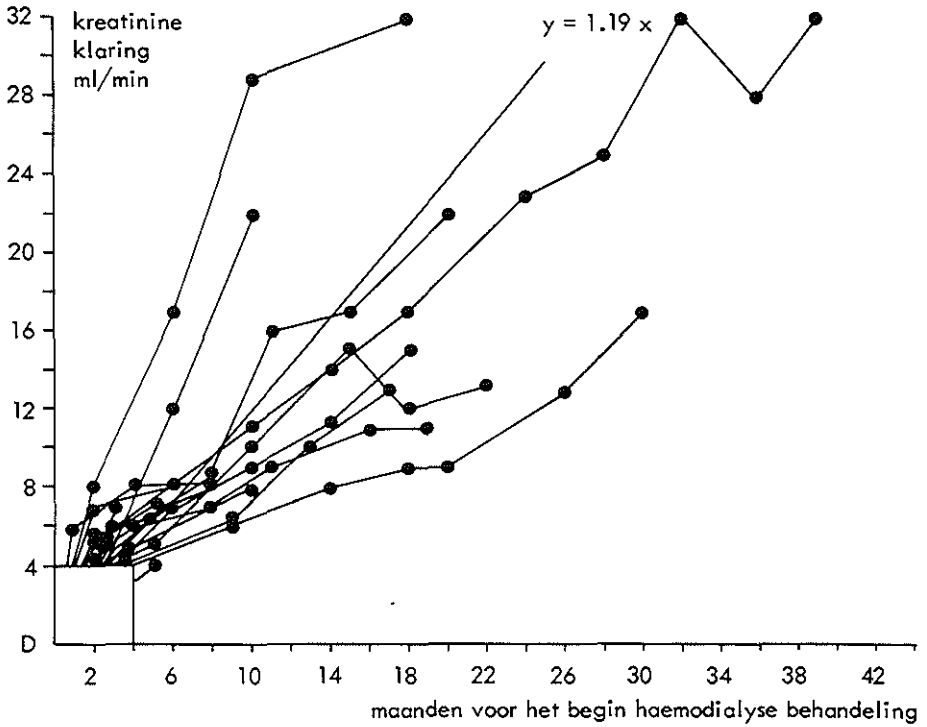


Fig. III - 4 Verloop van de kreatinine-klaring bij 20 patiënten die uiteindelijk met IHD werden behandeld. Het gemiddelde verloop is aangeduid door de lijn  $y = 1.19 x$ . Hierbij is voor het begin van de behandeling met IHD, voor de kreatinine-klaring een waarde van 0 aangehouden.

Om een indruk te krijgen over de snelheid van nierfunctieverlies bij de 20 patiënten, die binnen de observatieperiode aan haemodialysebehandeling toekwamen (patiënten 1, 3 t/m 9, 12 t/m 18, 22, 24, 26, 27 en 29) is in Fig. III-4 het verloop van de kreatinine-klaring van deze patiënten tijdens de fase vóór dialyse uitgezet tegen de tijd. De gemiddelde daling van de kreatinine-klaring bedroeg voor deze groep  $1.19 \pm 0.58$  (SD) ml per min. per maand.



## HOOFDSTUK IV

### METHODEN VAN ONDERZOEK

- a. Biochemisch onderzoek van bloed en urine.
- b. Bepalingen van PTH, calcitonine en vitamine D-derivaten.
- c. Balansonderzoek.
- d. Intestinale absorptie van calcium.
- e. Fotonabsorptiometrie.
- f. Bothistologie.
- g. Röntgenonderzoek.

#### a. Biochemisch onderzoek van bloed en urine

Bepalingen van Ca, P, kreatinine, ureum, totaal eiwit en alkalische fosfatase in het serum werden uitgevoerd met behulp van een Technicon SMA 12/60 autoanalyzer, zoals deze in gebruik is op het Centraal Klinisch Chemisch Laboratorium van het Academisch Ziekenhuis "Dijkzigt". Het Mg-gehalte van het serum werd colorimetrisch bepaald met behulp van een ACA-Dupont® autoanalyzer. Het bicarbonaat-gehalte van het arteriële plasma werd bepaald met een Acid Base Laboratory Analyzer (Radiometer, Copenhagen). In de urine werd het P bepaald met behulp van een Technicon II autoanalyzer en het kreatinine met behulp van de Jaffé reactie volgens het Nederlands Normalisatie Instituut; voorschrift NEN no. 2417. Het Ca in de urine werd complexometrisch bepaald, tot en met 1978 met een autoanalyzer volgens Gitelman (1967) en daarna met behulp van een Marius calcium-titrator model II. De endogene kreatinine-klaring werd op de gebruikelijke wijze berekend met behulp van de formule

$$\frac{U \times V}{P}$$

waarbij U de concentratie is van het kreatinine in de 24-uurs urine, V de totale urineproductie per 24 uur en P de concentratie van kreatinine in het plasma (serum).

## b. Bepaling van PTH, calcitonine (CT) en vitamine D-derivaten.

PTH en CT werden radioimmunologisch bepaald door Dr. W.H.L. Hackeng van het Endocrinologisch Laboratorium, Bergwegziekenhuis te Rotterdam. PTH werd bepaald met een radioimmunoassay voor runder-PTH, zoals beschreven in 1970 (Lequin e.a.) en gemodificeerd in 1975. Met deze bepaling wordt met behulp van een antiserum, dat in de cavia is opgewekt tegen runder-PTH, voornamelijk het gehele (1-84) PTH-molecuul en carboxyl-terminale fragmenten bepaald. De normale "range" loopt van niet aantoonbaar tot  $0.20 \mu\text{g}$  bPTH aequivalent per l. In het vervolg zullen wij dit afkorten tot  $\mu\text{g}$  PTH per l. Het CT werd bepaald volgens de methode beschreven door Hackeng en medewerkers (1970). Hierbij wordt gebruik gemaakt van een antiserum in ratten opgewekt tegen synthetisch humaan calcitonine. De normaalwaarde bedraagt minder dan  $0.36 \mu\text{g}$  hCT per l.

25-HCC werd bepaald door Dr. J.H. Schade (TNO-Civo, Zeist), volgens de methode van Edelstein e.a. (1974). Het betreft hier een competitieve eiwitbindingsmethode waarbij in dit instituut geen gebruik wordt gemaakt van chromatografische isolatie van het steroïed met behulp van een sephadex LH 20 kolom zoals door Edelstein werd beschreven. Wel wordt een gedeeltelijk gezuiverd bindingseiwit uit rattenserum gebruikt. Waar opgegeven, werd het 25-HCC ook bepaald op ons eigen laboratorium (Ir. T.J. Visser) met de methode beschreven volgens Graham en medewerkers (1977). Hierbij is het door toepassing van chromatografie eveneens mogelijk om de 24,25-dihydroxy-metabooliet van vitamine D te bepalen. In het kort komt deze methode op het volgende neer: plasma wordt geëquilibreerd met tracerhoeveelheden 26(27)-methyl- $^3\text{H}$ -25-HCC en 26(27)-methyl- $^3\text{H}$ -24,25-DHCC en vervolgens geëxtraheerd met aether. Na droogdampen wordt het residu opgenomen in aether/hexaan ( $\frac{1}{2}$ , v/v) en gechromatografeerd over kleine kiezelzuurkolommen. Achtereenvolgens worden 25-HCC en 24,25-DHCC van de kolom geëluëerd met 10% methanol in aether. In het eluaat wordt de "recovery" van de radioactiviteit bepaald alsmede de hoeveelheden vitamine D-metaboolieten. Dit laatste gebeurt met een competitieve bindingsanalyse, waarbij gebruik gemaakt wordt van een bindend eiwit uit humaan serum. Deze methode maakt geen onderscheid tussen metaboolieten van vitamine  $\text{D}_2$  en  $\text{D}_3$ . Normale waarden gemeten met deze methode zijn 25-HCC:  $56 \pm 20 \text{ nmol/l}$  en 24,25-DHCC:  $6.6 \pm 2.8 \text{ nmol/l}$ . Voor onze assay en voor onze populatie dient de seizoenvariatie nog vastgelegd te worden. De intra assay-variatie bedroeg voor 25-HCC 11% en voor 24,25-DHCC 13%. De inter-assay-variaties waren resp. 15 en 14%.

Met behulp van een radio-receptor assay volgens de methode van Eis-

man e.a. (1976) werd 1,25-DHCC bepaald op het laboratorium Kinderge-  
neeskunde van het Sophia Kinderziekenhuis te Rotterdam (hoofd: Dr. H.J.  
Degenhart). De opgegeven normale waarde bedraagt  $3.6 \pm 0.3$  (SD) ng per  
100 ml.

### c. Balansonderzoek (Ca en P)

Balansonderzoek werd verricht bij een aantal niet met haemodialyse behandelde patiënten, resp. vóór en tijdens behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC, zoals in hoofdstuk VIII beschreven. De duur van een balansonderzoek was minstens twee perioden van 6 dagen en in enkele gevallen, zoals in hoofdstuk VIII aangegeven, drie perioden van 6 dagen. Het dieet dat gedurende de balansperioden gegeven werd, kwam voor wat betreft het gehalte aan Ca en P en het aantal calorieën zo goed mogelijk overeen met het anamnestic dieet. In enkele gevallen, waarbij anamnestic (in verband met eiwitbeperking, inclusief zuivelbeperking) een lage Ca-toevoer met het dieet werd aangetroffen, werd gedurende een maand vóór de aanvang van het balansonderzoek, tijdens de balansperiode en daarna, door middel van Ca-lacto-gluconaat-tabletten (Sandoz), 500 mg Ca per dag, gesuppleerd. De voedselbestanddelen waren steeds van éénzelfde partij afkomstig. Het werd in één zitting bereid, door weging in gelijke dagporties verdeeld en bij  $-20^{\circ}\text{C}$  bewaard. Door middel van chemische analyse van twee of meer dagporties werd de dagelijkse opname van Ca en P bepaald. Geneesmiddelen werden normaal doorgebruikt. De verschillende perioden van het balansonderzoek (6 dagen) werden gemarkeerd met behulp van karmijnrood dat aan het begin van elke balansperiode en aan het begin van de z.g. uitlooperperiode werd toegediend om een juiste verzameling van faeces voor de verschillende perioden te verkrijgen (Reifenstein e.a., 1945). Ter correctie van onvolkomenheden bij de faecesverzameling werd gebruik gemaakt van polyaethyleenglycol (PEG 4000) in een dosering van  $3 \times 400$  mg per dag. Deze stof wordt in het maagdarmlkanaal niet geabsorbeerd of afgebroken en is gemakkelijk in water te suspenderen. Na toediening van PEG wordt doorgaans meer dan 90% in de faeces teruggevonden (Sperber en Ekman, 1953). De PEG werd in de faeces bepaald met een turbidimetrische methode (Hyden, 1955). De totale hoeveelheid Ca en P in de 6-daagse faecesporties werd per periode gecorrigeerd door omrekening op een faecale PEG-uitscheiding van 100%. De totale hoeveelheid faeces van een periode gescheiden op geleide van de karmijnroodpassage, werd afgewogen en aangevuld met 50 ml gedistilleerd, gedeïoniseerd water. Hierna werd de faeces gehomogeniseerd. Uit het homogenaat werden twee monsters genomen met salpeterzuur (65%) en perchloorzuur (70%) gedeutereerd. In het

destruaat werd het Ca-gehalte complexometrisch en het P-gehalte met de Technicon II analyzer bepaald. Voor de bepaling van het Ca- en P-gehalte van dieet en urine (24 uren-verzamelingen) werden dezelfde bepalingsmethoden gebruikt. Aan de hand van de kreatinine-uitscheiding (bepaald volgens Jaffé) werd nagegaan of de urineverzamelingen correct waren.

#### d. Intestinale Ca-absorptie

Bepaling van de intestinale absorptie van Ca kan op vele manieren geschieden. De oudste en meest bewerkelijke methode is het in dit hoofdstuk onder c. beschreven balansonderzoek. Hierbij is het onmogelijk om voor het z.g. endogene intestinale Ca-verlies te corrigeren (Blau e.a., 1954; Heaney en Skillman, 1964). Dit is ook het geval bij de methoden, waarbij radioactief Ca ( $^{47}\text{Ca}$  of  $^{45}\text{Ca}$ ) uitsluitend langs orale weg wordt toegediend en de absorptie berekend wordt aan de hand van in het bloed (Parsons e.a., 1968) of de faeces (Mautalen e.a., 1969) teruggevonden radioactiviteit. Hoewel de endogene excretie van Ca normaal niet groot is (5-15% van de "intake"), kan deze onzekere factor bij de bepaling van de intestinale absorptie van Ca worden omzeild door gelijktijdige orale en intraveneuze toediening van verschillende Ca-isotopen, b.v. langs orale weg  $^{45}\text{Ca}$  en langs intraveneuze weg  $^{47}\text{Ca}$ . Door bepaling van de verhouding in radioactiviteit van beide isotopen in bloed of urine kan men de z.g. fractionele absorptie van Ca berekenen, waarbij de activiteit van het intraveneus toegediende  $^{47}\text{Ca}$  als referentie dient en gelijkgesteld kan worden met 100% intestinale absorptie. Hierbij wordt aangenomen dat  $^{45}\text{Ca}$  en  $^{47}\text{Ca}$  in gelijke mate door de darm in de faeces wordt uitgescheiden. Deze methode wordt de dubbele isotopenmethode genoemd (Mautalen e.a., 1969; DeGrazia e.a., 1965). Het is ook mogelijk om de fractionele absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  te berekenen als de verhouding van de percentages radioactiviteit die in het bloed teruggevonden worden na afzonderlijke intraveneuze en orale toediening van hetzelfde isotoop (Lekkerkerker e.a., 1971; Pak e.a., 1972; Chanard e.a., 1974; Lockefeer, 1975; Juttman e.a., 1978 a). Hierbij dient, afhankelijk van de halfwaardetijd van het isotoop, een voldoende lang interval tussen de intraveneuze en de orale toediening van het isotoop te worden aangehouden om afzonderlijke activiteitscurven in het bloed te kunnen bepalen. Voor regelmatig (4 tot 6 maal per jaar) uit te voeren bepalingen van de intestinale absorptie van Ca bij patiënten met CNI is het gebruik van een methode, die herhaalde bloedafname inhoudt minder gewenst, aangezien deze groep patiënten per definitie een anaemie heeft. Om deze reden en ook terwille van het comfort van de patiënten in het algemeen werd de methode van Wills e.a. (1970) door ons met modificaties toegepast, waarbij het mogelijk is om de radio-

activiteit niet in het bloed te meten, maar in een lichaamsdeel, in dit geval de rechteronderarm (Curtis e.a., 1967; Wills e.a., 1970; Coburn e.a., 1973; Juttman e.a., 1978 a). Hiervoor wordt gebruik gemaakt van een "large volume liquid scintillation counter", in ons geval de ARMAC van Packard. Evenals de door ons gebruikte "bloedige" deconvolutiemethode (Lockefer, 1975; Juttman e.a., 1978 a), die een modificatie is van die van Lekerkerker e.a. (1971) en die werd toegepast bij patiënten met andere stoornissen in de Ca- en P-stofwisseling, is de methode met uitwendige meting van de activiteit van het toegediende isotoop gebaseerd op de aanname dat de distributie in het lichaam van een oraal toegediende en een intraveneus toegediende Ca-isotoop identiek is. Bij de bepaling van de Ca-absorptie met behulp van uitwendige meting van de radioactiviteit van toegediend  $^{47}\text{CaCl}_2$  (in het vervolg aangeduid als de "Armac-methode") werd de orale dosis aanvankelijk naar analogie van de "bloedige" methode, 2 uur na de intraveneuze dosis aan de nog nuchtere patiënt toegediend. Hierbij wordt aangenomen dat gedurende 2 tot 6 uur na de toediening van de intraveneuze dosis de radioactiviteit in de arm nagenoeg gelijk blijft. Zodanig dat de bijdrage van de intraveneus toegediende radioactiviteit aan de activiteitscurve gemeten na de eropvolgende orale toediening constant is. De aanname dat gedurende 2 tot 6 uur na intraveneuze toediening van  $^{47}\text{CaCl}_2$ , de radioactiviteit in de onderarm constant is, werd door ons bij 4 gezonde proefpersonen onderzocht, waarbij bleek dat bij 3 van hen pas 6 uur na toediening een lichte daling van de activiteit werd gezien, terwijl bij één van hen zelfs pas na 24 uur voor het eerst een lichte daling werd waargenomen. Dit verschijnsel wordt waarschijnlijk veroorzaakt door opname van het isotoop in het bot. Aangezien het niet zeker is dat bij verschillende vormen van metabole botziekten de genoemde suppositie ook geldig is, zijn wij er toe overgegaan om tussen de intraveneuze en de orale toediening een periode van 7 dagen in te lassen. Een week na toediening van de intraveneuze dosis bleek de activiteit van  $^{47}\text{Ca}$  zodanig afgenomen te zijn dat zij niet meer boven de achtergrondactiviteit lag (waarbij de fysische halfwaardetijd van  $^{47}\text{Ca}$  van 4.7 dagen een belangrijke factor is). Op dat moment kan dus zonder interferentie van nog aanwezige activiteit een meting aan de arm worden verricht na orale toediening van het isotoop. Naast deze meettechnische is er, voor toepassing van dit interval bij patiënten die op vaste dagen in de week met haemodialyse worden behandeld, een tweede belangrijke reden. Het vastleggen van de intestinale absorptie van Ca dient nl. bij deze patiënten altijd te geschieden op een vast tijdstip tussen twee dialyse-behandelingen in. In de eerste plaats omdat de patiënten onderling vergelijkbaar moeten zijn maar ook omdat de waarden na intraveneuze en orale toediening onder dezelfde omstandigheden moeten worden bepaald. Aangezien na

orale toediening van het isotoop de maximale radioactiviteit in de onderarm na 4 tot 5 uur wordt bereikt, moet de intraveneuze referentie-waarde ook op dezelfde tijd na toediening worden vastgesteld om uit het quotiënt van beide waarden de fractionele absorptie  $^{47}\text{Ca}$  (uitgedrukt als percentage van de orale dosis) te kunnen berekenen.

*Protocol van de bepaling van de intestinale absorptie van Ca met behulp van uitwendige radioactiviteitsmeting ("ARMAC-methode")*

Alle patiënten en normale proefpersonen zijn nuchter vanaf de vorige avond 22.00 uur. Het nuttigen van thee zonder suiker en melk of van zwarte koffie zonder suiker is toegestaan tot de proef begint. Vanaf twee uur na de intraveneuze of orale toediening van het isotoop mag weer voedsel gebruikt worden. Bij de patiënten die behandeld worden met haemodialyse (tweemaal per week op vaste dagen) wordt de meting steeds op dezelfde dag in de week, nl. 24 uur vóór de volgende haemodialyse-behandeling, verricht. Alle patiënten en proefpersonen gebruiken tevoren hun normale dieet. De patiënten gebruiken hun normale medicatie. Op  $t_0$  ('s morgens tussen 8.30 en 9.30 uur) wordt intraveneus  $1 \mu\text{Ci } ^{47}\text{CaCl}_2$  in 0.5 ml 154 mM NaCl toegediend. Hierna wordt op  $t_{60}(\text{min.})$ ,  $t_{120}$ ,  $t_{180}$ ,  $t_{240}$  en  $t_{300}$  de radioactiviteit in de rechteronderarm (tot 10.000 counts) gemeten met behulp van de "large volume liquid scintillation counter" (ARMAC), steeds op een vaste tijd gevolgd door meting van een standaardoplossing van  $0.5 \mu\text{Ci } ^{47}\text{CaCl}_2$  uit dezelfde "batch".

Zeven dagen later wordt onder dezelfde (nuchtere) omstandigheden op  $t_0$   $6 \mu\text{Ci } ^{47}\text{CaCl}_2$  oraal toegediend tesamen met 5 mmol (= 200 mg) Ca in de vorm van  $\text{CaCl}_2$  opgelost in 50 ml gedistilleerd water (carrier). Vervolgens wordt op dezelfde tijd als na de intraveneuze toediening van  $^{47}\text{Ca}$  de radioactiviteit in de rechteronderarm gemeten tesamen met de standaardoplossing. Met de waarde verkregen op het tijdstip van het bereiken van de maximale activiteit in de arm na orale toediening (tussen  $t_{240}$  en  $t_{300}$ ) wordt uit het quotiënt van de onderarmsactiviteit (uitgedrukt als fractie van de gegeven dosis) na orale toediening en die op het overeenkomstige tijdstip na intraveneuze toediening de fractionele absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  berekend:

$$\text{fractionele } ^{47}\text{Ca-} \text{absorptie (Fa } ^{47}\text{Ca)} = \frac{\% \text{ dosis oraal}}{\% \text{ dosis intraveneus}} \times 100(\%)$$

$^{47}\text{CaCl}_2$  werd verkregen van het Radiochemical Centre, Amersham, Engeland, vanaf 1978 bij I.R.E., Fleures, België. De radioactiviteit bedroeg

50  $\mu$  Ci per ml. met een specifieke activiteit van 250-500  $\mu$  Ci/mg Ca. De stralingsdosis voor de "ARMAC-methode" wordt opgegeven in Tabel IV-I.

Tabel IV - I: Stralings doses bij bepaling van de intestinale absorptie van Ca met behulp van  $^{47}\text{Ca}$  (Armac methode)

Toegediende dosis ( $\mu\text{Ci}$ )	Bestralings dosis skelet (rad)
1 (i.v.)	0.026
6 (oraal)	0.114*

\* bij 60% intestinale absorptie

bron: Protection of the patient in Radionuclide Investigations. IGRP publication 17. Pergamon Press. 1969.

Om een indruk te krijgen over de waarde (betrouwbaarheid) van de "ARMAC-methode" ten opzichte van de bij ons langer in gebruik zijnde "bloedige" deconvolutie-methode en ook om een indruk te krijgen over de invloed van een verschil in duur van het interval tussen de intraveneuze en de orale toediening van het isotoop (resp. 2 uur en 7 dagen) werd bij een groep van 19 normale personen de intestinale absorptie van Ca gelijktijdig met de deconvolutie- en de "ARMAC-methode" bepaald. Bij vier personen werd de absorptie van Ca ook berekend uit het faecale verlies van  $^{47}\text{Ca}$ . Fig. IV-1 geeft hiervan de resultaten. Het gemiddelde is voor géén enkele van de methoden significant verschillend van de andere. Ook lijkt er, hoewel hier van een beperkt aantal waarnemingen sprake is, geen verschil te zijn tussen de "ARMAC-methode" met het korte interval (2 uur) en met het lange interval (7 dagen) tussen de intraveneuze en de orale toediening van het isotoop. Uiteindelijk werd om eerder genoemde redenen gekozen voor de methode met een interval van 7 dagen tussen de intraveneuze en de orale toepassing van de isotoop. Bij 8 normale individuen en 21 patiënten met merendeels stoornissen in de Ca- en botstofwisseling werd een goede correlatie tussen de resultaten van de deconvolutie- en de "ARMAC-methode" gevonden (Fig. IV-2)

**e. Bepaling mineraalgehalte van de radius (distaal) met behulp van fotonabsorptiometrie.**

Zoals in hoofdstuk II werd beschreven kan bij CNI afname van het mineraalgehalte (hydroxyapatiet) van het skelet optreden. Dit "verlies" van

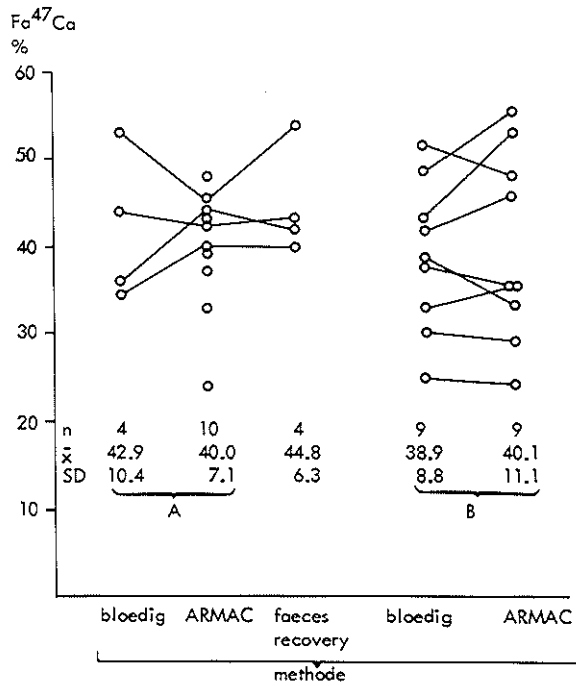


Fig. IV - 1 Intestinale absorbtie van  $^{47}\text{Ca}$  bij normalen.

A : interval tussen i.v. en orale toediening = 2 uur.

B : interval tussen i.v. en orale toediening = 7 dagen.

De door lijnen verbonden punten geven metingen bij het zelfde individu (met verschillende methoden) aan.

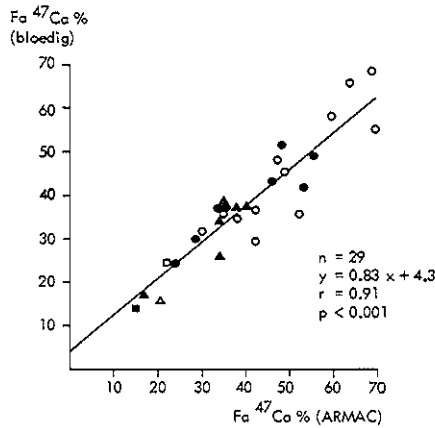


Fig. IV - 2 Correlatie tussen meting van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$  absorptie volgens een "bloedige" deconvolutie- en de Armac-methode bij normale personen en patiënten met verschillende aandoeningen.

● normale personen

▲ osteoporose

■ primaire biliaire cirrhose

○ idiopathische hypercalciurie

△ pseudohypoparathyroidie

□ osteomalacie



mineraal lijkt algemeen te zijn, d.w.z. het betreft niet zoals bij b.v. ouderdoms-osteoporose in sterkere mate het axiale gedeelte van het skelet dan het appendiculaire skelet. Dit betekent dat als er bij renale osteodystrofie afname van het mineraal-(Ca)-gehalte van het skelet optreedt, men dit in principe in ieder skeletdeel zou moeten kunnen meten. Naast de röntgendiagnostiek, waarbij men over het algemeen pas verschillen ziet indien een mineraalverlies van 30% of meer ten opzichte van de uitgangswaarde is opgetreden (Lachman, 1955), zijn in de loop der jaren verschillende technieken ontwikkeld om inzicht te krijgen in de omvang van het verlies van botmineraal bij metabole botziekten in het algemeen en bij renale osteodystrofie in het bijzonder. Beschreven technieken zijn: radiologische bepalingen van de z.g. metacarpale index (Cohen e.a., 1970), röntgendsitometrie met behulp van aluminium wiggen (de z.g. "step wedge" methode, Doyle, 1961), microradioscopie (Meema e.a., 1972) en totale lichaams- (Hoskin en Chamberlain, 1973) of partiële (Manzke e.a., 1975) neutronenactivatie in vivo. Met name de neutronenactivatie is kostbaar en kan niet onbeperkt bij dezelfde patiënt herhaald worden, in verband met de stralingsbelasting. De meting van het botmineraalgehalte in vivo met behulp van de fotonabsorptie is eenvoudig uit te voeren, nauwkeurig en reproduceerbaar en het heeft door zijn geringe stralingsbelasting van het individu frequent herhaalde metingen mogelijk gemaakt (Cameron en Sørensen, 1963; Cameron e.a., 1968). De fysische en mathematische principes die bij de fotonabsorptiemetrie zijn betrokken, zijn elders beschreven (Cameron en Sørensen, 1963; Sørensen en Cameron, 1967; Cameron e.a., 1968). Het mineraalgehalte van het bot wordt bepaald door de meting van de transmissie door het bot van gecollimeerde, monochromatische-straling met een lage energie. De hoeveelheid straling, die het bot passeert en die gemeten wordt met een NaJ-stralingsdetector, is omgekeerd evenredig met de hoeveelheid mineraal, dat het op zijn weg door het bot tegenkomt. De detector meet het aantal "counts" per seconde en passeert samen met de bron (aan de andere zijde van het object; Fig. IV-3) het te meten lichaamsdeel, in dit geval de rechteronderarm, met een snelheid van 2 mm per sec. Hierbij is het apparaat ook in staat om de overgang van weke delen naar bot en van bot naar weke delen en dus de breedte van het bot (BW = bone width; Fig. IV-4) te registreren.

Door ons wordt, in samenwerking met de afdeling Nucleaire Geneeskunde van ons ziekenhuis gebruik gemaakt van een Norland®-Cameron Bone Mineral Analyzer (Norland Instruments, Fort Atkinson, Wisconsin, USA), die een  $^{125}\text{J}$ -bron bevat (200 mCi). Passage van de stralenbundel door een dun koperfilter resulteert in een 3 mm gecollimeerde monochromatische straling met een energie van 27.4 KeV (Sørensen en Cameron,

1967). Het apparaat (Fig. IV-3) is gekoppeld aan een kleine, geprogrammeerde computer waarmee digitaal het mineraalgehalte in g/cm (BMC = bone mineral content) en de BW in cm kunnen worden verkregen. Uit BMC en BW kan de z.g. bone mineral mass (BMM) als volgt worden berekend:

$$\frac{\text{BMC (g/cm)}}{\text{BW (cm)}} = \text{BMM (g/cm}^2\text{)}$$

Om tot een optimaal resultaat te komen dienen de volgende maatregelen genomen te worden:

- 1e. De onderarm wordt omgeven door een met water gevulde rubberzak die dezelfde fotonabsorptie-eigenschappen heeft als de weke delen (Fig. IV-3). Hierdoor wordt het bot op alle plaatsen door dezelfde "weke delen"-massa omgeven.
- 2e. Om ervan verzekerd te zijn dat bij herhaalde metingen steeds hetzelfde stukje bot met een zo klein mogelijke variatie wordt gemeten, wordt de arm met behulp van 2 loodrecht op elkaar staande meetlatten steeds in dezelfde (pronatie) positie gebracht (Heer e.a., 1976) en met de vingertoppen tegen een plastic steun en met een klem over de waterzak heen gefixeerd, zodanig dat de stralengang loodrecht is t.o.v. de lengte-as van het bot (de radius). Tevens wordt de stoel, waarin de patiënt zit, gefixeerd op de grond. Zij is volgens de methode van Heer e.a. (1976) verstelbaar in hoogte, zodat bij verschillende lichaamslengte- en bouw de onderarm van iedere patiënt toch met een minimum aan rotatie en kanteling en bij herhaalde meting steeds in dezelfde houding gemeten kan worden.

De radius wordt distaal gemeten op een afstand van 2 - 3 cm proximaal van de processus styloideus van de ulna (voor ieder individu uiteraard constant). Deze plaats is gekozen omdat het bot hier relatief meer trabeculair (t.o.v. corticaal) bot bevat dan b.v. een plaats halverwege de radius of op een derde proximaal van de proc. styloideus van de ulna (Manzke e.a., 1975). Iedere bepaling van BMC en BW bestaat uit het gemiddelde van 5 onmiddellijk achtereenvolgende metingen. De standaarddeviatie van deze 5 metingen is nooit groter dan 2.5%. De op deze manier verkregen waarde heeft een hoge correlatie met het droge gewicht van het bot-as (Johnston e.a., 1968). Voor de door ons gevonden normale waarden verwijzen wij naar hoofdstuk VII.

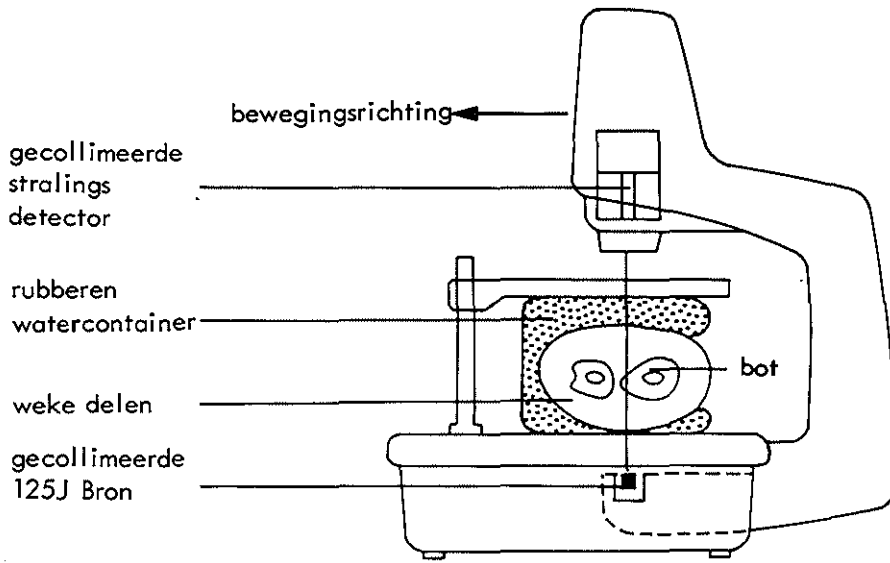


Fig. IV - 3 Schema van de fotonabsorptiometer van Norland<sup>®</sup>-Cameron.

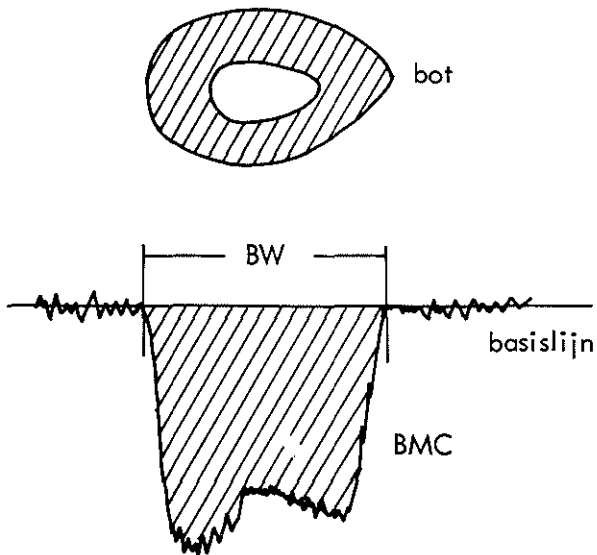


Fig. IV - 4 Schematische voorstelling van de grootheden Bone Mineral Content (BMC) en Bone Width (BW).

## f. Bothistologie

Voor histologisch onderzoek werd met een botboor van 6 mm doorsnede (Sacker en Nordin, 1954) onder locale anaesthesie een biopt genomen uit de crista iliaca, 2 cm achter de spina iliaca anterior superior. Het biopt wordt gefixeerd in een mengsel van gebufferde formaline en methanol, gedehydreerd in een alcoholreeks en ingebed in methylmetacrylaat (Burkhardt, 1966). De op een Jung K-microtoom gesneden  $5\mu$  dikke, onontkalkte coupes worden gekleurd volgens de methode van Goldner (Schenk e.a., 1969). De coupes zijn semi-kwantitatief beoordeeld op de hieronder volgende criteria. Dit gebeurde op de afdeling Pathologische Anatomie I onder leiding van mevrouw D.H. Birkenhäger-Frenkel. In de coupes werd geschat:

- I *Hoeveelheid in het preparaat aanwezig botweefsel* (dit betreft doorgesneden volumina, dat wil dus zeggen oppervlakten).
    - a. De dikte van de cortex.
    - b. In het corticale gedeelte van de coupe het bestaan van z.g. corticale porose (te wijde Haversse kanalen).
    - c. Porose in het trabeculaire gedeelte van de coupe (botkalkjes te dun, te wijd uiteenliggend).
    - d. De hoeveelheid onverkalkt botweefsel (osteoid) geschat als deel van het aanwezige botweefsel.
  - II *Kriteria voor de aan de oppervlakte van het botweefsel plaatsvindende processen van aanmaak en afbraak* (dit betreft doorgesneden oppervlakten, dat wil zeggen omtrekken).
    - a. **Parameters van botaanmaak.**
      - 1 Deel van de omtrek, dat bedekt is met osteoid weefsel.
      - 2 Deel van de osteoid-zomen dat bedekt is met osteoblasten.
      - 3 Gemiddelde "activiteit" (hoogte) van de osteoblasten.
      - 4 Deel van de osteoid-zomen dat dikker is dan 3 lamellen.
    - b. **Parameters voor botafbraak,**
      - 1 Aantal osteoclasten.
      - 2 Deel van de contouren dat gekenmerkt is door tekenen van actieve resorptie (botcontouren waar een of meerdere osteoclasten tegenaanliggen).
      - 3 Deel van de omtrek met tekenen van "inactieve" resorptie (o.m. lacunes van Howship zonder osteoclasten).
      - 4 Tunnelvorming. Dit is een teken van zeer intensieve botresorptie.
  - III *Fibrose.* Deze is geschat als het deel van de mergruimte dat ingenomen wordt door fibreus weefsel.
- Bij deze indeling dient het volgende te worden opgemerkt. Een hoog per-

centage osteoïed-zomen, zonder een overeenkomstige verhoging van het osteoblastzoom percentage, is een teken van een gestoorde mineralisatie. In een dergelijk preparaat wijst een hoog percentage dikke osteoïed-zomen in dezelfde richting. Een hoog percentage "inactieve" resorptie wijst op een absoluut of relatief tekortschieten van de aanmaak.

De biopten werden in een willekeurige volgorde (genummerd) onderzocht. Aan ieder biopt werd voor alle hierboven opgesomde parameters een score van 0 tot 4+ toegekend, waarbij de score 0 de situatie weergeeft zoals in normaal bot wordt aangetroffen. Voor de standaardisering hiervan werd gebruik gemaakt van de gegevens van Schenk e.a. (1969) en Merz en Schenk (1970) voor normaal botweefsel. Deze semi-kwantitatieve methode is gehanteerd als overgang naar de in een later stadium op dezelfde biopten toe te passen bothistomorfometrie.

#### **g. Röntgenonderzoek**

Naast het gebruikelijke röntgenonderzoek van het skelet (thoracale en lumbale wervelkolom en bekken) werd ter detectie van het eventuele effect van een overmaat PTH op het bot, gestandaardiseerd röntgenonderzoek van de falangen van beide handen uitgevoerd met behulp van de z.g. senografietechniek ("fine detail radiography"). Er wordt hierbij gebruik gemaakt van een fijnkorrelige röntgenfilm en de volgende techniek: 50 kV, 50 mA en 1/18 sec. belichtingstijd. Hiermede is het mogelijk om subperiostale opheldering en discontinuïteit in de sluitplaten van de falangen vroegtijdig te herkennen, in ieder geval in een vroeger stadium dan met conventionele röntgentechnieken afwijkingen worden gevonden. Soortgelijke technieken zijn beschreven door Pugh (1951) en Steinbach e.a. (1961).

Statistische bewerkingen werden uitgevoerd met behulp van de t-test volgens Student. Bij vergelijking van groepen werd gebruik gemaakt van de gepaarde en waar van toepassing van de ongepaarde t-test.



## HOOFDSTUK V

### RESULTATEN VAN HET TRANSVERSALE ONDERZOEK

- a. Resultaten
- b. Bespreking
- c. Conclusies

#### a. Resultaten

In dit hoofdstuk zijn de resultaten beschreven die verkregen werden op het moment dat de patiënt in het vervolgonderzoek werd opgenomen. De longitudinaal verkregen gegevens komen in hoofdstuk VI aan de orde. Al het onderzoek werd verricht bij patiënten die (nog) niet met haemodialyse werden behandeld en die bij aanvang van de studie in verschillende mate nierfunctieverlies hadden geleden. Naast het feit dat deze waarden per patiënt de Ausgangssituatie weergeven, kan op deze manier transversaal de betrekking van de in hoofdstuk IV genoemde grootheden zowel met de mate van nierfunctieverlies als onderling worden bestudeerd. In Fig. V-1 zijn de verdelingen weergegeven van de kreatinine-klaring, de concentraties van kreatinine, ureum en bicarbonaat in het serum, resp. plasma. De kreatinine-klaring en de concentraties van kreatinine en ureum in het serum liggen bij geen enkele patiënt binnen het normale gebied, terwijl bij een groot aantal patiënten wél normale biocarbonaatconcentraties in het plasma worden gevonden. Uit Fig. V-2 blijkt dat er een positieve correlatie bestaat tussen het bicarbonaat-gehalte en de mate van nierfunctieverlies ( $p < 0.01$ ).

De concentraties Ca, P, totaal eiwit, Mg en alkalisch fosfatase staan in Fig. V-3. Een Ca-gehalte lager dan de norm wordt in een minderheid van de gevallen (15 van 41) gevonden. Bij 6 patiënten is sprake van hypoproteïnemie (totaal eiwit  $< 60$  g/l). Vijf van deze zes patiënten hadden ondanks een laag totaal eiwitgehalte een serum Ca-waarde boven 2.25 mmol per l.

Er is een positieve correlatie tussen het Ca-gehalte van het serum en de kreatinine-klaring (Fig. V-4). Boven een kreatinine-klaring van 20 ml per min. werd steeds een normaal Ca-gehalte van het serum gevonden, terwijl beneden deze grens zowel patiënten met een hypocalciëmie als patiënten met een normaal Ca-gehalte (44%) voorkwamen. Er bestaat in onze groep patiënten géén relatie met het nefrotisch syndroom, d.w.z. slechts 2 pa-

tiënten met een hypocalcaemie hadden in een vroegere fase van hun nier-  
ziekte een eiwitverlies in de urine van > 3 gr. per dag.

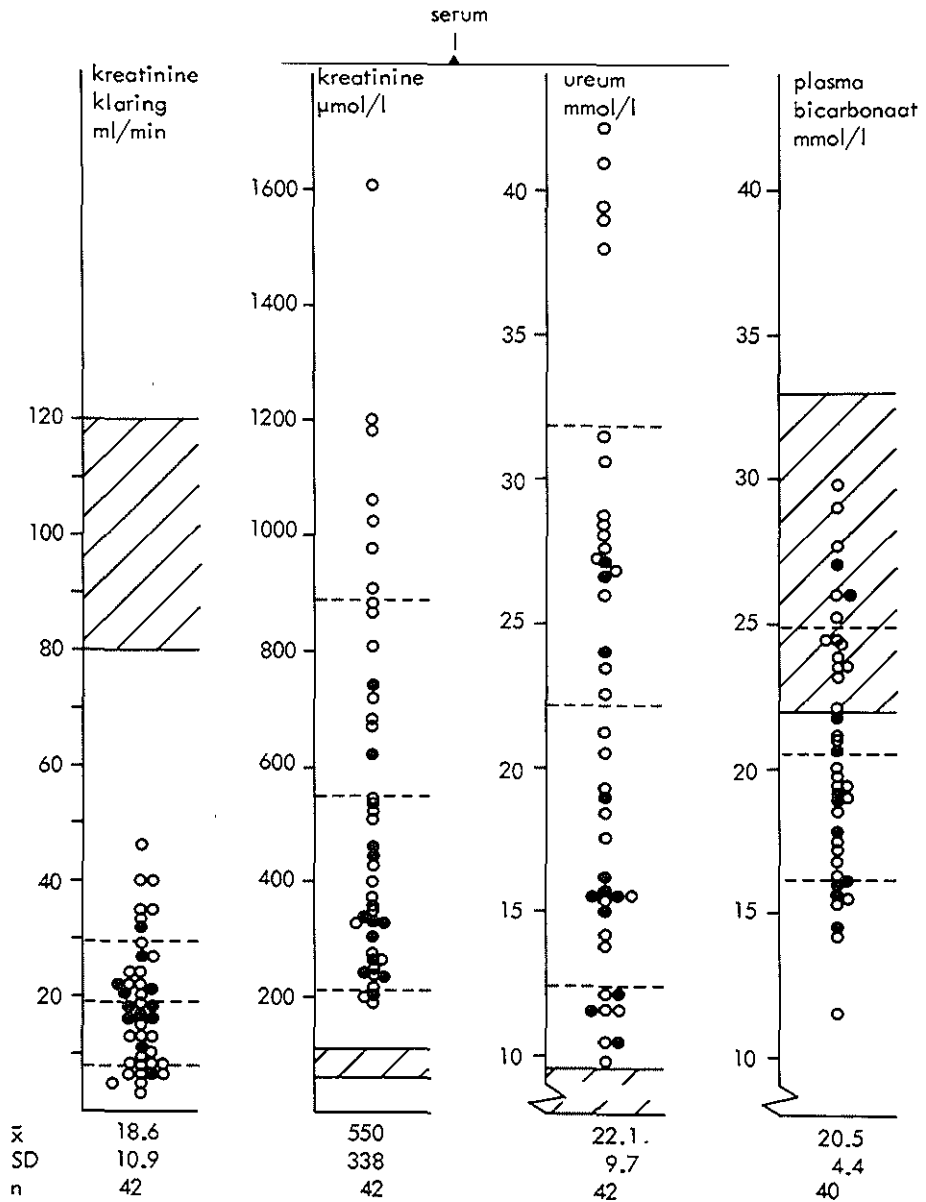


Fig. V - 1 Kreatinine-klaring en concentraties van kreatinine, ureum en bicarbonaat in het serum resp. plasma van 42 patiënten met CNI. De gearceerde gebieden geven de normale waarden aan.



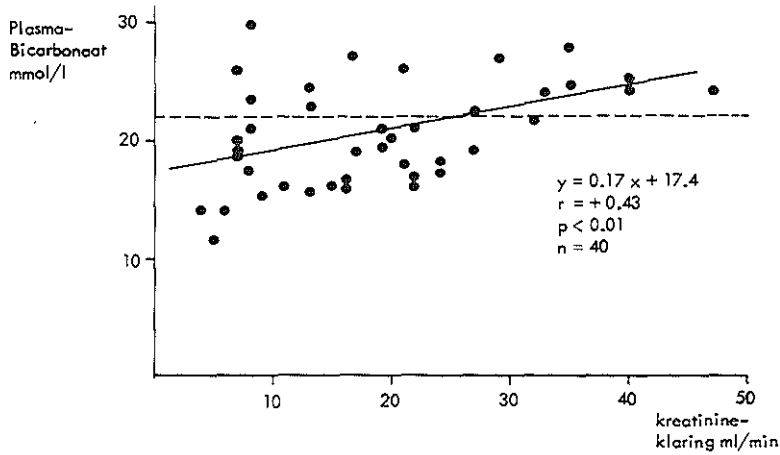


Fig. V - 2 Relatie tussen het bicarbonaat-gehalte van het arteriële plasma en de creatinine-klaring bij 40 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied voor bicarbonaat aan.

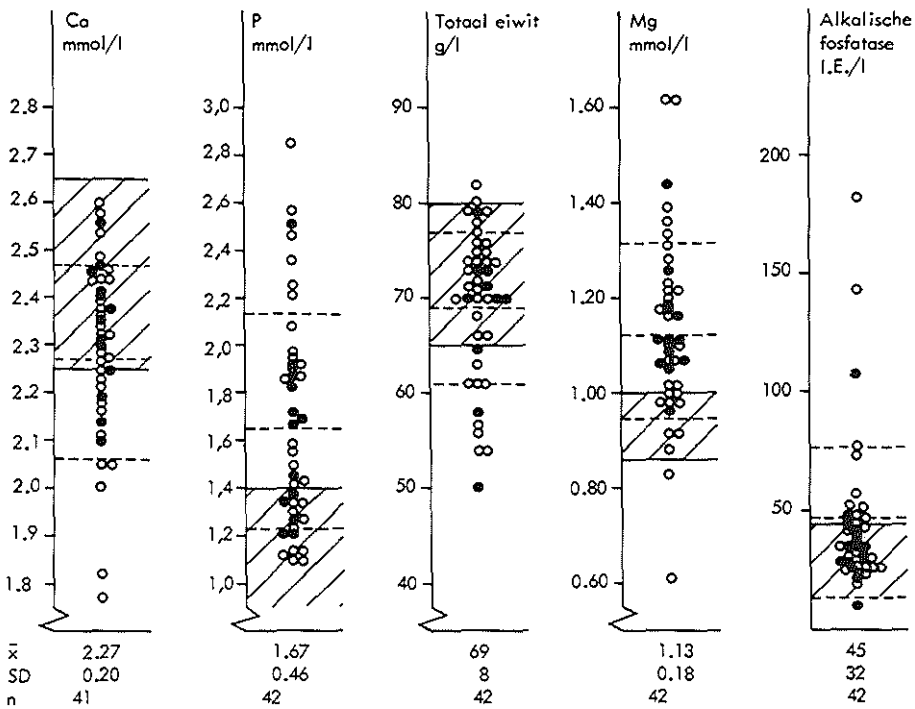


Fig. V - 3 Concentraties van Ca-, P-, Totaal Eiwit-, Mg- en alkalische fosfatase-gehalten van het serum bij 42 (41) patiënten met CNI. De gearceerde gebieden geven de normale waarden voor deze bepalingen aan. De onderbroken lijnen het gemiddelde  $\pm$  1 SD voor de patiëntengroep.

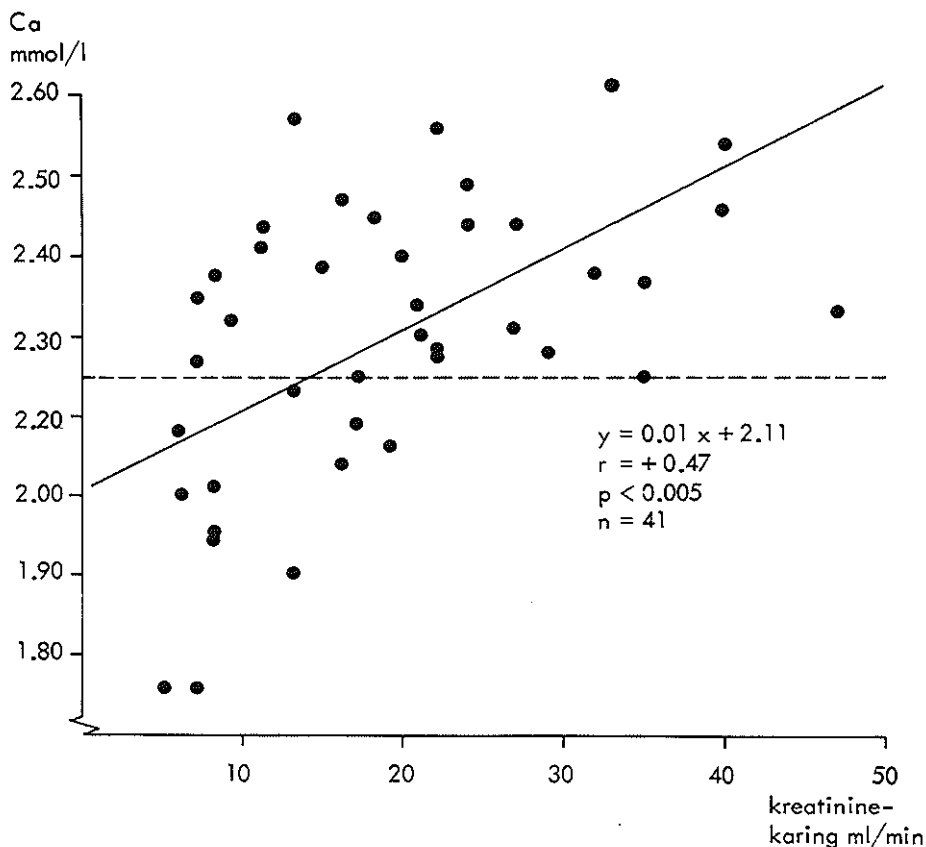


Fig. V - 4 Relatie tussen het Ca-gehalte van het serum en de creatinine-klaring bij 41 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied aan.

Het P- en het Mg-gehalte van het serum (Fig. V-5, resp. V-6) vertonen een negatieve correlatie met de creatinine-klaring ( $p < 0.001$  voor beide). Voor beide geldt dat supranormale waarden werden gevonden bij klaringen van 32 ml per min. en lager. Bij klaringen beneden 13 ml per min. werden zowel voor P als Mg alleen supranormale waarden gevonden.

Het gehalte alkalische fosfatase van het serum is tegen de creatinine-klaring uitgezet in Fig V-7. Er bleek wederom een negatieve correlatie te bestaan ( $p < 0.01$ ), maar de correlatiecoëfficiënt bedroeg slechts -0.39. In 13 gevallen was er sprake van een waarde groter dan 45 I.E./l. Dit komt vrijwel alleen voor bij creatinine-klaringen beneden 25 ml per min.

Bij 27 patiënten werd een te hoog PTH-gehalte gevonden en bij slechts 5 werd een CT-gehalte van het serum gevonden dat iets boven de bovengrens

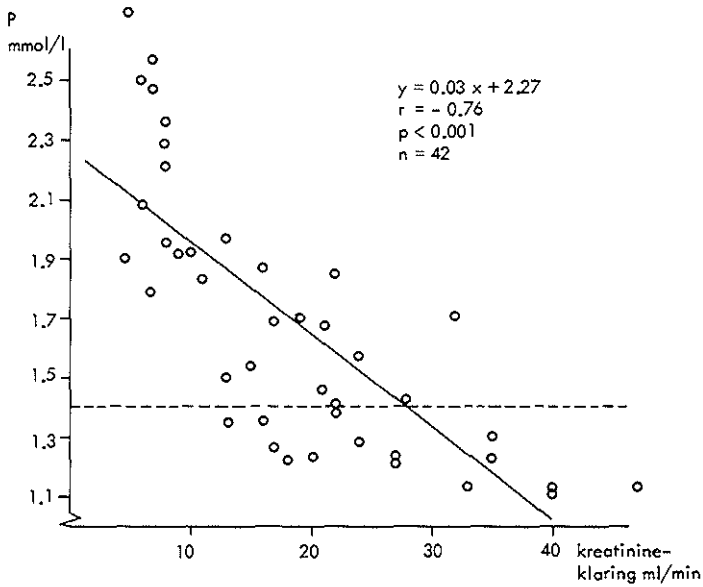


Fig. V - 5 Relatie tussen de P-concentratie in het serum en de kreatinine-klaring bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. De onderbroken lijn geeft de bovengrens van het normale gebied aan.

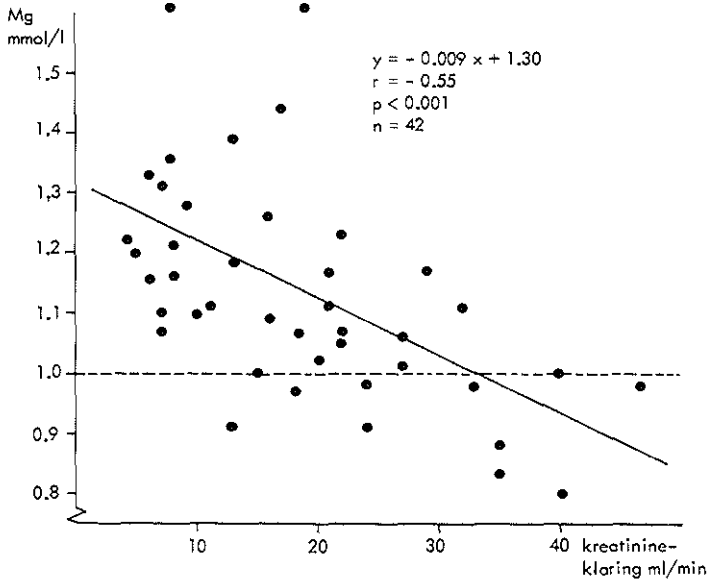


Fig. V - 6 Relatie tussen de Mg-concentratie in het serum en de kreatinine-klaring bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. De onderbroken lijn geeft de bovengrens van de normale waarden voor Mg aan.

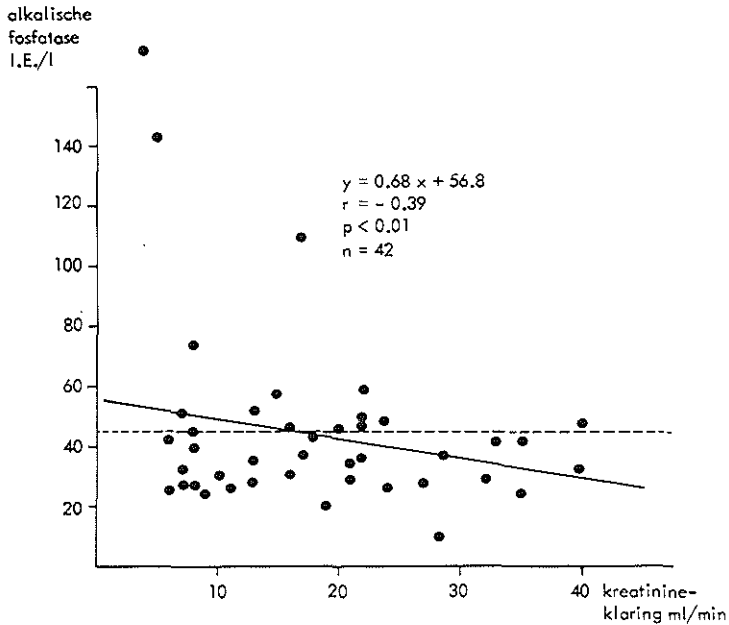


Fig. V - 7 Relatie tussen het alkalische-fosfatase-gehalte van het serum en de kreatinine-klaring bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. De onderbroken lijn geeft de bovengrens van het normale gebied voor het alkalische-fosfatase aan.

van normaal lag (Fig. V-8). Het gemiddelde PTH-gehalte was  $0.44 \mu\text{g}$  per 1 met een SD van 0.50. Dit wordt mede veroorzaakt door het hoge PTH-gehalte van het serum van patiënt 1 en 13, bij wie in een later stadium aanwijzingen voor het bestaan van een tertiaire hyperparathyreoïdie werden verkregen. Bij patiënt 13 werd deze diagnose door middel van een hals-exploratie bewezen. Zonder deze 2 patiënten was het gemiddelde PTH-gehalte  $0.35 \pm 0.26 \mu\text{g}$  per 1. Verhoogde PTH-waarden werden gevonden bij kreatinine-klarings beneden 22 ml per min. Hoewel bij dalende nierfunctie het PTH-gehalte een exponentieel verloop lijkt te hebben, is met behulp van berekening van lineaire regressie een correlatiecoëfficiënt van -0.53 gevonden (regressielijn A in Fig. V-9). Indien wij de patiënten 1 en 13 bij deze berekening buiten beschouwing laten (aangezien bij tertiaire hyperparathyreoïdie de verhoging van het PTH-gehalte op een méér autonome secretie van dit hormoon door de bijnierschilddklier(en) berust) wordt een correlatiecoëfficiënt van -0.58 gevonden (regressielijn B). Fig. V-10 en V-11 geven de betrekkingen van het PTH-gehalte met resp. het Ca- en het alkalisch fosfatase-gehalte van het serum. Voor de betrekking met het Ca-gehalte van het serum zijn patiënten 1 en 13 buiten beschouwing gelaten, aangezien bij een tertiaire hyperparathyreoïdie géén regulerend vermogen

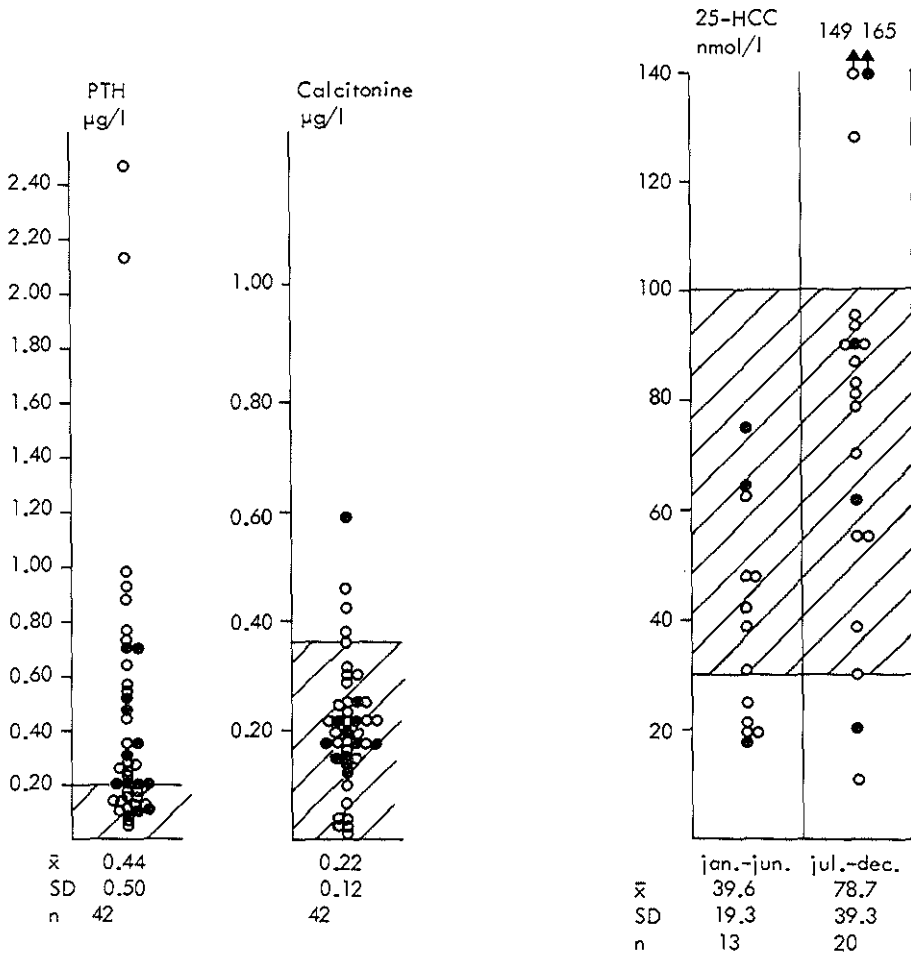


Fig. V - 8 PTH-, CT-, en 25-HCC-concentraties in het serum van 42 resp. 33 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. Voor 25-HCC is een onderverdeling van eerste en tweede helft van het jaar aangehouden i.v.m. de seizoenswisselingen van deze Vitamine D-metaboliët.  $P < 0.005$ .  $\circ$  = mannen,  $\bullet$  = vrouwen.

van het Ca-gehalte van het serum mag worden verwacht. Wat betreft de relatie van PTH en het alkalisch fosfatase-gehalte zijn de gegevens van de patiënten 1 en 13 wel weergegeven, aangezien het hier gaat om de invloed van PTH op het vrijkomen van een botenzym, waarbij het van minder belang is wat de oorzaak van de verhoogde PTH-secretie is.

25-HCC werd bij 33 patiënten in het serum bepaald (Fig. V-8), hetzij in de eerste helft van het jaar afgenomen, hetzij in de tweede helft. Er bestaat een significant verschil tussen deze twee groepen waarnemingen, zodat men kan concluderen dat de bij normale individuen gevonden seizoensafhankelijkheid onder invloed van expositie aan zonlicht ook bij patiënten

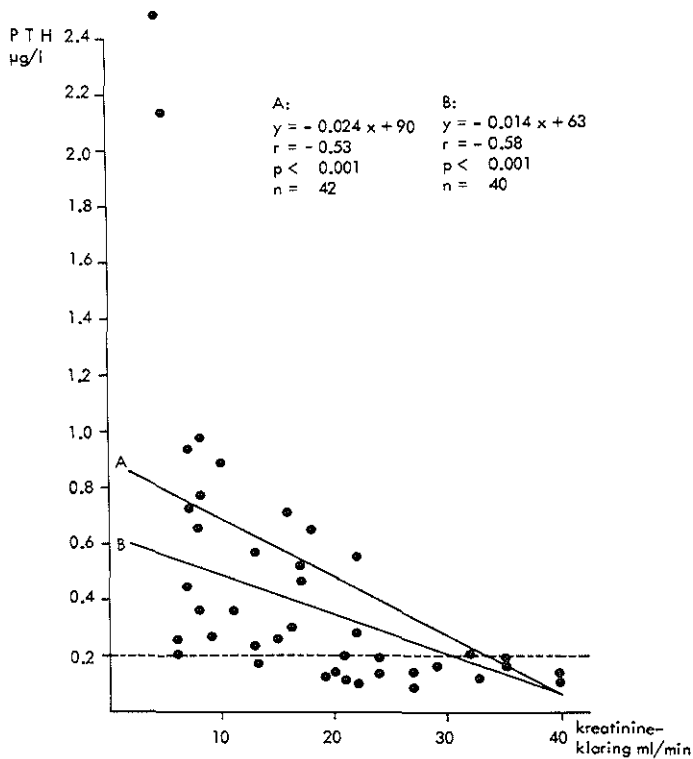


Fig. V - 9 Relatie tussen PTH-gehalte van het serum en de kreatinine-kloring bij 42 (resp.40) niet met IHD behandelde patiënten met CNL. De onderbroken lijn geeft de bovengrens van het normale gebied van PTH aan. Voor A en B: zie tekst.

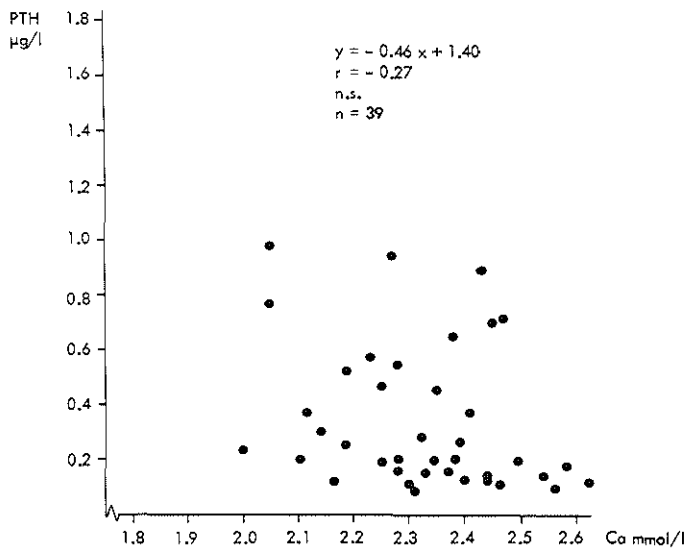


Fig. V - 10 Relatie tussen PTH en Ca-gehalte van het serum bij 39 niet met IHD behandelde patiënten met CNL.

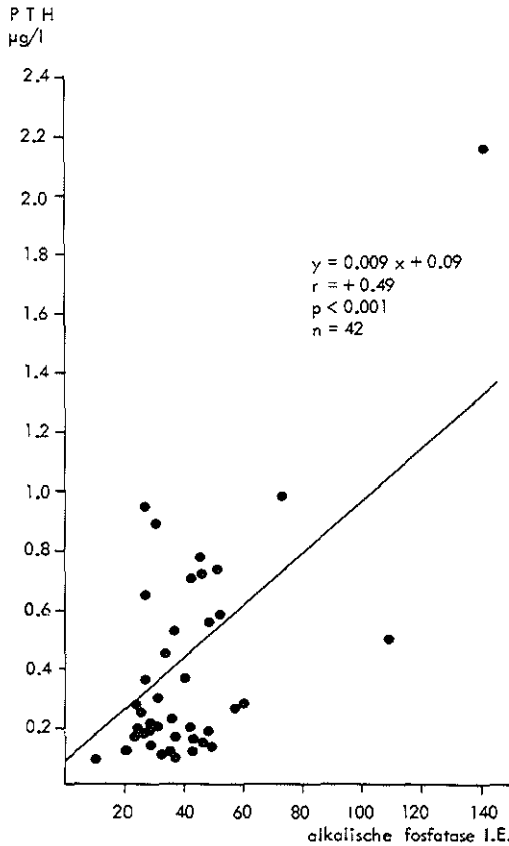


Fig. V - 11 Relatie tussen PTH en alkalische-fosfatase-gehalte van het serum bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI.

met CNI blijft bestaan, terwijl er in beide periodes geen verband van de 25-HCC-spiegels met de kreatinine-klaring is (Fig. V-12).

Bij 30 van de 41 patiënten bleek de concentratie 24,25-DHCC in het serum verlaagd (Fig. V-13). In Fig. V-14 zijn de 24,25-DHCC-waarden van deze patiënten en die van 44 gezonde personen uitgezet tegen de 25-HCC-spiegels. De scheiding tussen de 2 groepen komt voornamelijk tot stand door de lage 24,25-DHCC-spiegels bij de patiënten. Binnen het spreidingsgebied van de kreatinine-klaring, zoals deze zich bij onze patiëntengroep voordeed (4-47 ml per min.) werd geen betrekking gevonden tussen de concentratie van 24,25-DHCC in het serum en de kreatinine-klaring. Uit Fig. V-14 blijkt dat de vorming van 24,25-DHCC zowel bij normalen als bij patiënten afhankelijk is van de concentratie van de voorloper nl. 25-HCC. Deze laatste metabooliet liet ook bij onze patiënten een duidelijke variatie in de hoogte van de serumspiegel onder invloed van zonlicht zien. Hoewel

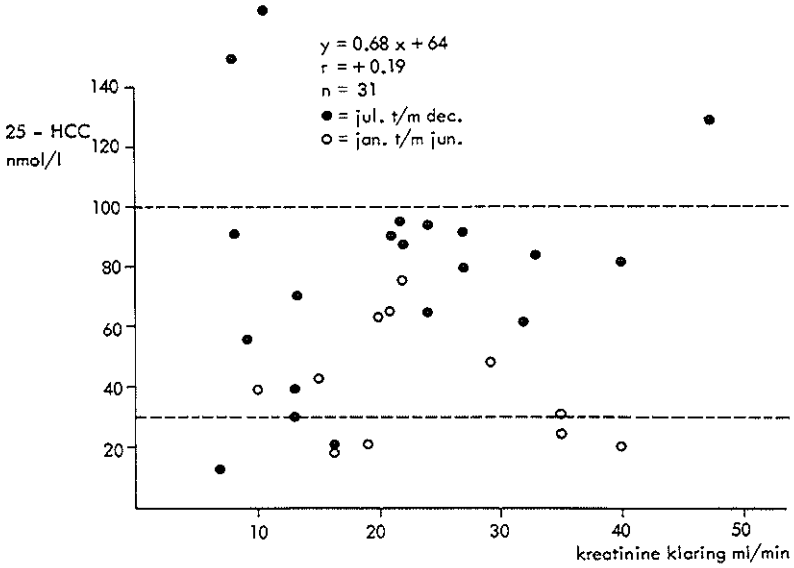


Fig. V - 12 Relatie tussen het 25-HCC-gehalte van het serum en de kreatinine-klaring bij 31 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. De onderbroken lijnen geven het normale gebied voor 25-HCC aan.

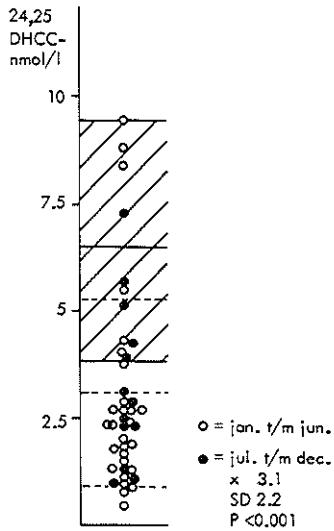


Fig. V - 13 Concentraties van 24,25-DHCC in het serum bij 41, niet met IHD behandelde patiënten met CNI. Het gearceerde gebied geeft de normale waarden en de onderbroken lijnen het gemiddelde  $\pm 1$  SD voor de patiëntengroep aan.



uit Fig. V-13 geen seizoensafhankelijkheid van de concentratie 24,25-DHCC blijkt, leek het ons op grond van het bestaan van deze afhankelijkheid bij normalen én op grond van longitudinale gegevens bij enkele patiënten met CNI (zie hoofdstuk VI) zinvol een mogelijke seizoensinvloed te elimineren door het quotiënt van 24,25-DHCC en 25-HCC te hanteren. We krijgen dan de z.g. 24,25-DHCC-index d.i.

$$\frac{24,25\text{-DHCC nmol/l}}{25\text{-HCC nmol/l}} \times 100(\%)$$

Bij onze patiënten met CNI zijn de 24,25-DHCC-index-waarden - evenals de 24,24-DHCC-concentraties zelf - verlaagd (Fig. V-15;  $p < 0.001$ ). In deze laatste Fig. zijn het gemiddelde en de SD van de index bepaald in 94 sera van normale personen aangeduid ( $11.9 \pm 4.0\%$ ). Eerder gepubliceerde normale waarden van dit quotiënt (Taylor e.a., 1978) liggen wat lager, nl.  $7.0 \pm 3.5\%$  ( $n = 19$ ). In Fig. V-16 is de 24,25-DHCC-index uitgezet tegen de kreatinine-klaring bij 39 patiënten met CNI, vóór behandeling met haemodialyse. Hier vinden wij in tegenstelling tot bij de absolute waarde van 24,25-DHCC wel een significante positieve correlatie met de nierfunctie ( $p < 0.005$ ).

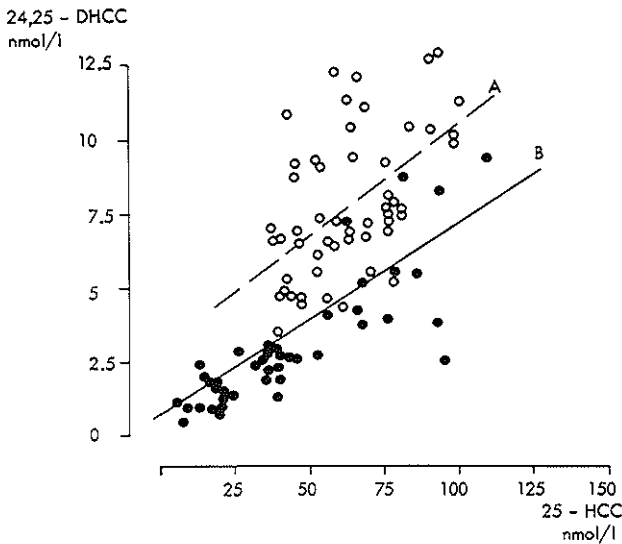


Fig. V - 14 Relatie tussen 24,25-DHCC en 25-HCC-concentraties in het serum bij 52 normale personen (O) en 41, niet met IHD behandelde patiënten (●) met CNI.

Regressielijn A: normalen  $y = 0.09x + 0.30$ .

Regressielijn B: patiënten  $y = 0.07x + 0.15$ .

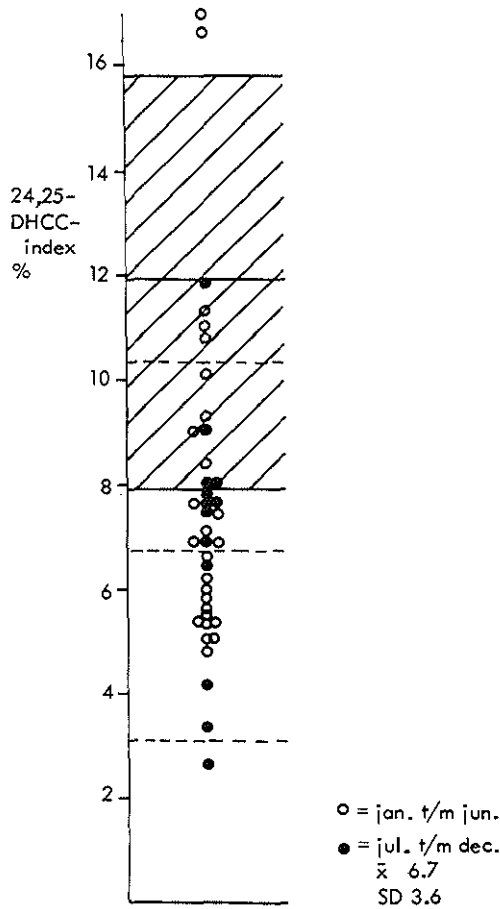


Fig. V - 15 24,25-DHCC-index bij 41 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. Het gearceerde gebied geeft de normaalwaarden aan en de onderbroken lijnen het gemiddelde  $\pm$  1 SD van 24,25-DHCC-index voor de patiëntengroep.

De gegevens betreffende de intestinale absorptie van Ca zijn verwerkt in Fig. V-17 t/m V-19. Uit Fig. V-17 blijken de in deze populatie gevonden uiterste waarden, het gemiddelde en de SD. De intestinale absorptie van Ca is positief gecorreleerd met de kreatinine-klaring (Fig. V-18). Naast het onvoldoende functioneren van het nierweefsel t.a.v. de vorming van 1,25-DHCC (en hierdoor de afname of het ontbreken van de stimulerende werking van dit hormoon op de intestinale Ca-absorptie) kunnen andere factoren zoals het Ca- en het P-gehalte van het serum, hetzij direct op de darm, hetzij indirect via remmende invloed op het resterend vermogen van de nier om 1,25-DHCC te produceren van belang zijn bij het tot stand komen van een

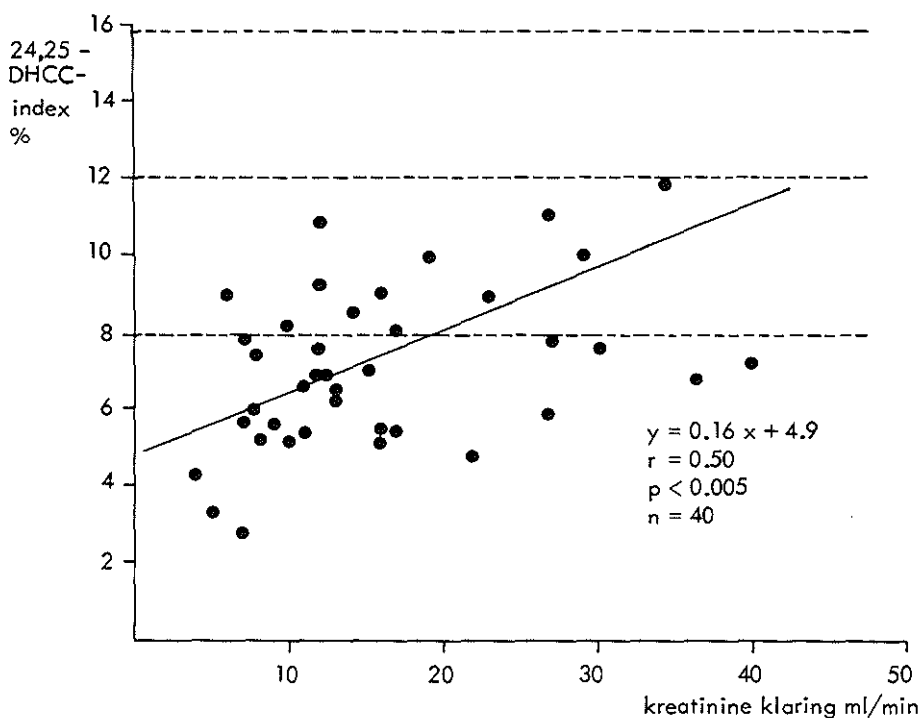


Fig. V - 16 Relatie tussen de 24,25-DHCC-index en de kreatinine-klaring bij 40 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. De onderbroken lijnen geven het gemiddelde  $\pm$  1 SD voor de 24,25-DHCC-index bij normalen aan.

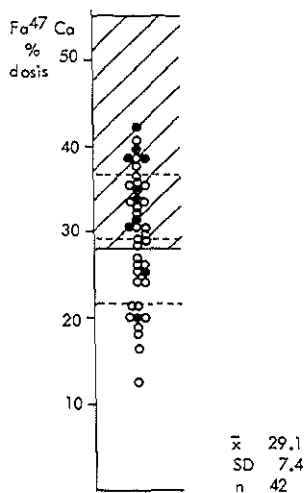


Fig. V - 17  $Fa^{47}Ca$  bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. Het gearceerde gebied geeft de normale waarden aan. De onderbroken lijnen geven het gemiddelde  $\pm$  1 SD van  $Fa^{47}Ca$  voor de patiëntengroep aan.

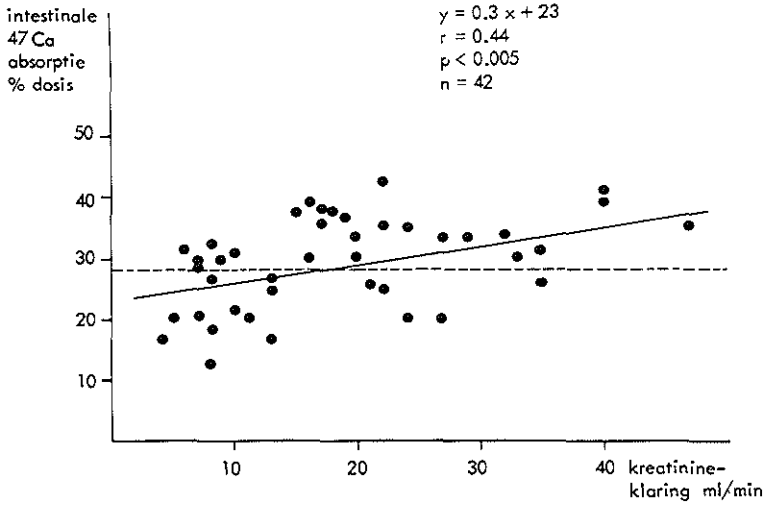


Fig. V - 18 Relatie tussen  $\text{Fa}^{47}\text{Ca}$  en de kreatinine-klaring bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied voor de  $\text{Fa}^{47}\text{Ca}$  aan.

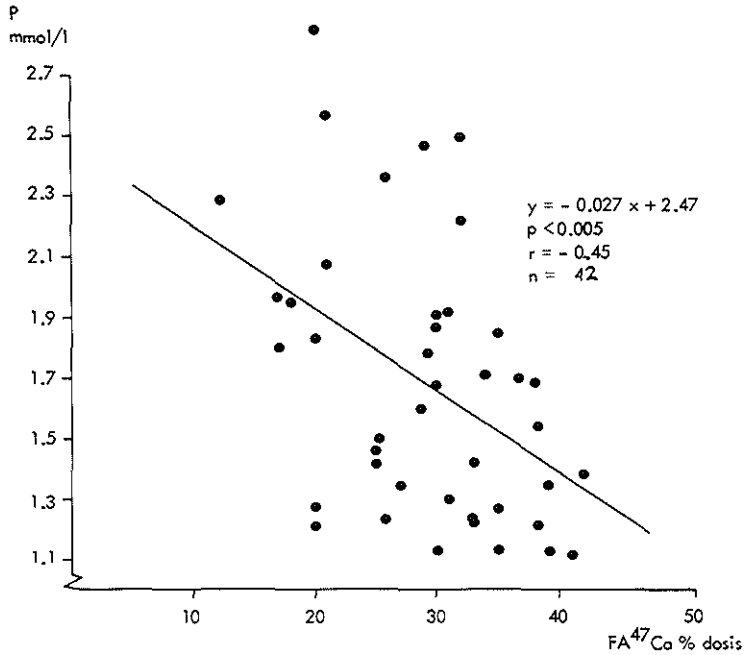


Fig. V - 19 Relatie tussen het P-gehalte van het serum en de  $\text{Fa}^{47}\text{Ca}$  bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI.

verminderde intestinale absorptie van Ca bij afnemende nierfunctie. Er bleek geen relatie van de Ca-absorptie met het Ca-, maar wel met het P-gehalte van het serum te bestaan (Fig. V-19). Bij berekening van de partiële correlatie (Snedecor en Cochran, 1969) tussen het P-gehalte van het serum en de intestinale Ca-absorptie, d.w.z. dat daarbij de betrekking, die beide grootheden met de kreatinine-klaring hebben, buiten beschouwing wordt gelaten, wordt bij het huidige bestand van waarnemingen echter géén significante correlatie tussen deze twee grootheden gevonden (Juttman e.a., 1978 b).

Zoals in hoofdstuk IV werd vermeld (paragraaf over fotonabsorptiometrie) is röntgenonderzoek van het skelet ongeschikt om veranderingen in het skelet b.v. bij toenemend nierfunctieverlies te meten. Pas bij een mineraalverlies van 30% of meer wordt dit röntgenologisch waargenomen (Lachman, 1955). Voor de meting van het verlies van mineraal uit het skelet hebben wij daarom gebruik gemaakt van fotonabsorptiometrie (hoofdstuk VII).

Een ander aspect van het röntgenonderzoek nl. de detectie van subperiostale ophelderingen in de falangen komt hier echter wel aan de orde. Wij achten echter ook deze methode ongeschikt om bij kwantitatief longitudinaal onderzoek veranderingen aan te tonen, zodat alleen de aan- of afwezigheid van deze afwijkingen bij het begin van het onderzoek wordt vermeld. Hierbij is echter wel een poging gedaan om, indien er subperiostale ophelderingen waren, deze te graderen (Fig. V-20). Uit deze Fig. blijkt dat er een groot aantal patiënten géén röntgenologisch aantoonbare afwijkingen van het handskelet hebben. Vijftien van deze patiënten hebben zelfs een kreatinine-klaring van 22 ml. per min. of lager, terwijl 11 andere patiënten met eenzelfde mate van nierfunctieverlies, duidelijke (+) tot zeer diffuse (+++) afwijkingen aan het handskelet hebben.

Het is gebruikelijk naast de eventuele röntgenologische afwijkingen de hoogte van het alkalische fosfatase in het serum als een (ruwe) maat voor het effect van PTH op het bot te beschouwen. Vergelijken wij deze twee parameters in ons materiaal (Fig. V-21) dan blijkt dat bij een verhoging van het alkalische fosfatase vrijwel zonder uitzondering uitgesproken (+ tot +++) röntgenologische afwijkingen werden waargenomen. Worden op dezelfde wijze de PTH-spiegels uitgezet tegen de scores voor de röntgenologische afwijkingen (Fig. V-22), dan blijkt dat zelfs sterk verhoogde PTH-spiegels nog niet vergezeld behoeven te gaan van röntgenologische afwijkingen. Dit geeft de wisselende gevoeligheid van het bot voor PTH, bij renale osteodystrofie, goed aan.

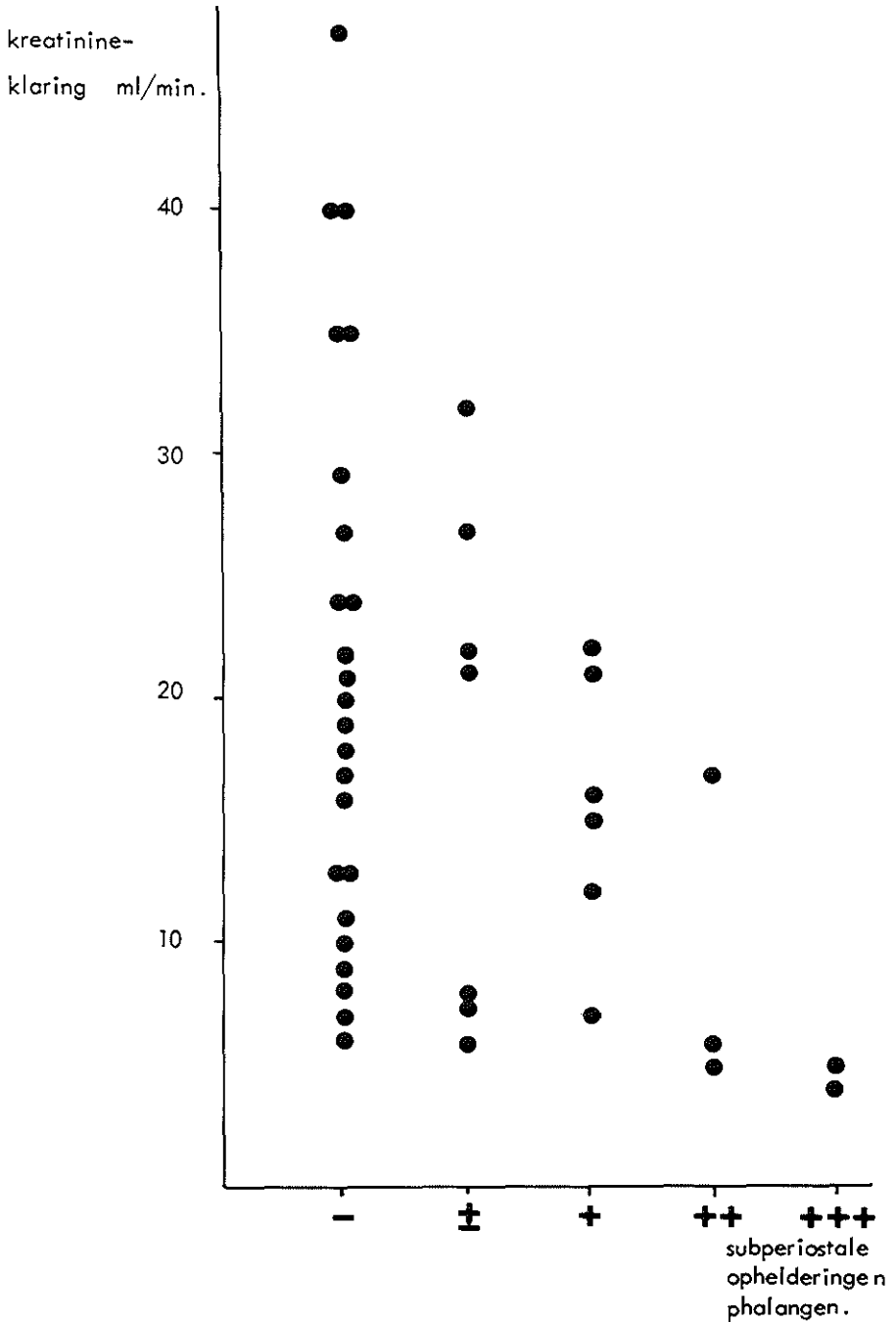


Fig. V - 20 Relatie tussen de kreatinine-klaring en subperiostale-opheldering in het hand-skelet bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI. - = géén, ± = dubieus, + = op één plaats duidelijk aanwezig, ++ = op twee of meer plaatsen aanwezig, +++ = diffuse afwijkingen in beide handen.

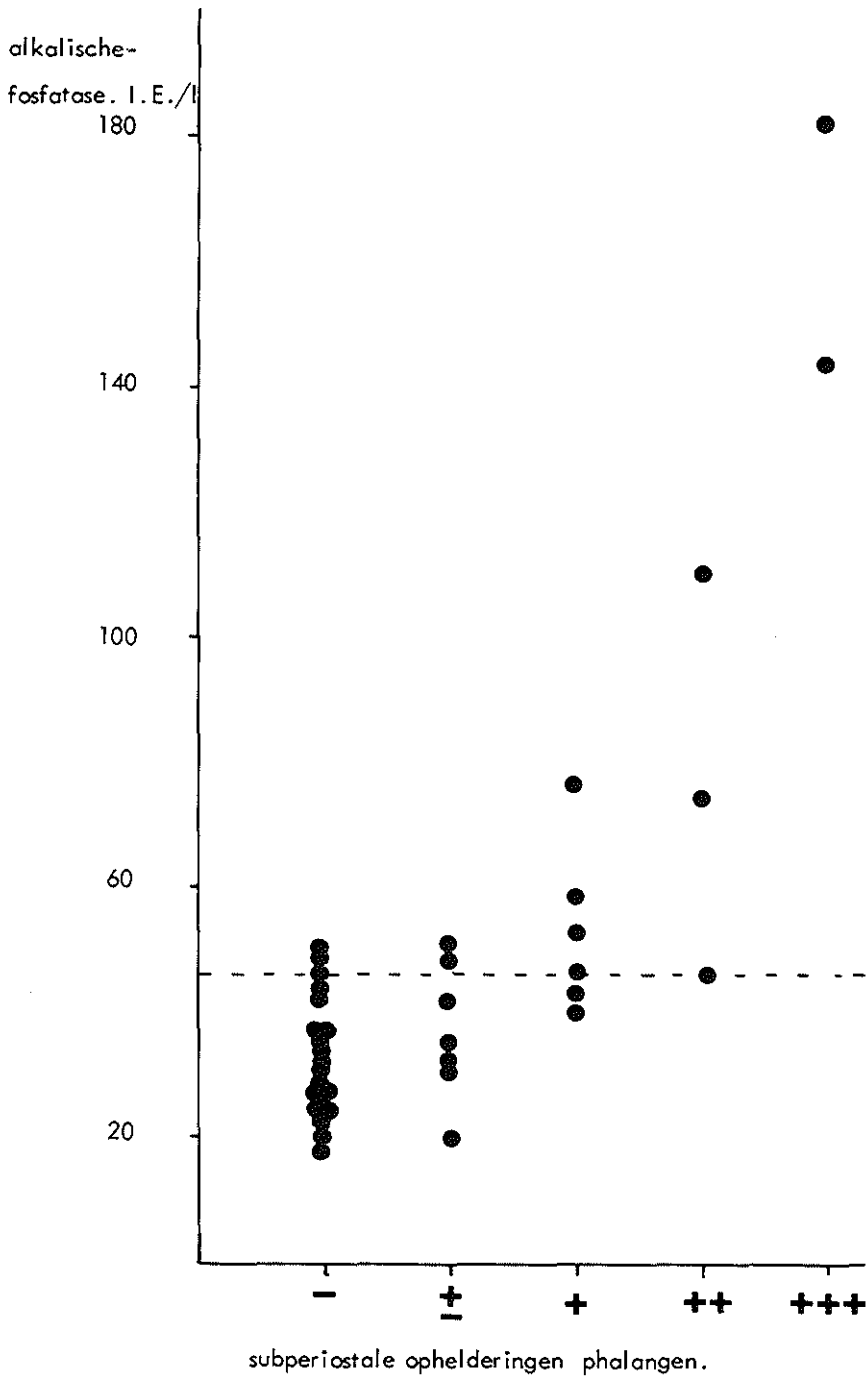


Fig. V - 21 Relatie tussen alkalische-fosfatase-gehalte van het serum en subperiostale-ophelderingen in het handskelet bij 42, niet met IHD behandelde patiënten met CNL.

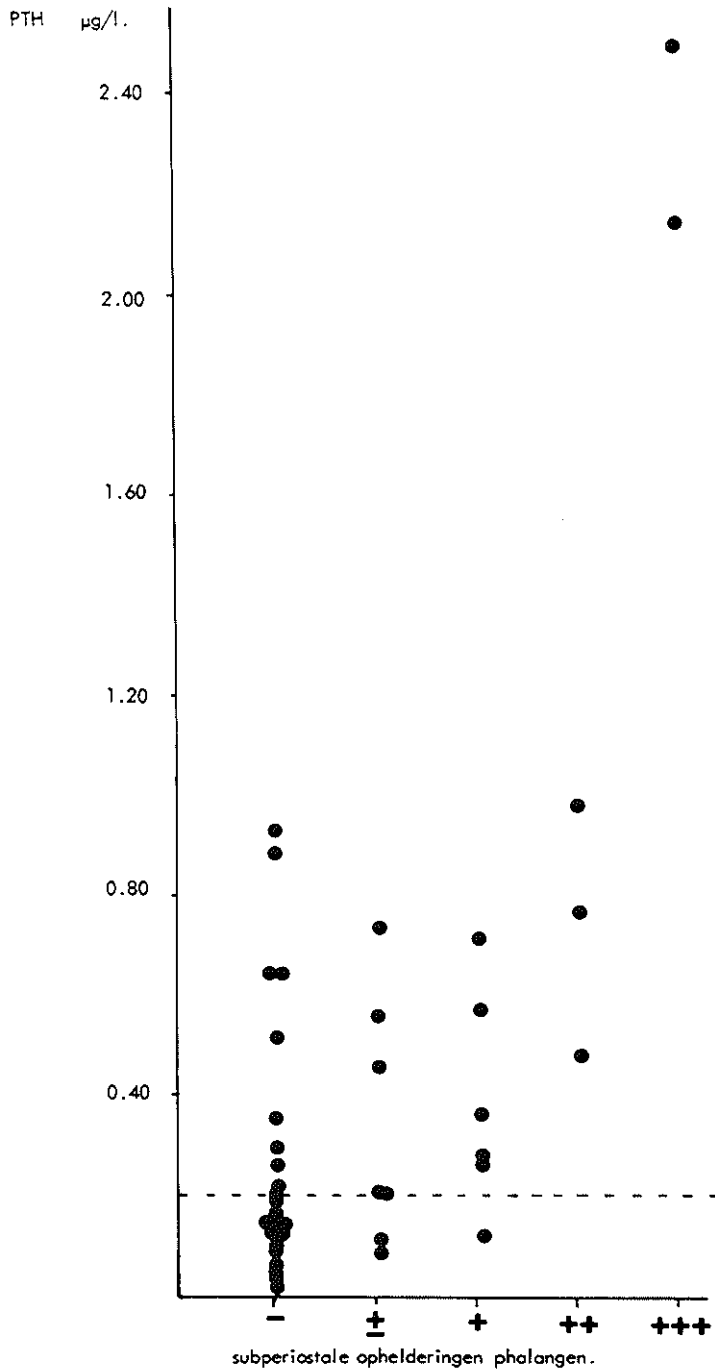


Fig. V - 22 Relatie tussen PTH-gehalte van het serum en subperiostale-ophelderingen in het handskellet bij 42 niet met IHD behandelde patiënten met CNI.



## b. Bespreking

De daling van het bicarbonaat-gehalte van het arteriële plasma of de acidose die bij chronische nierinsufficiëntie op kunnen treden (Fig. V-1 en -2) worden veroorzaakt door een afname van de capaciteit van de nier om  $H^+$ -ionen uit te scheiden. De oorzaak hiervan kan tweeledig zijn: ten eerste is de capaciteit om  $H^+$ -ionen uit te scheiden verminderd door afname van functionerend nierweefsel en ten tweede veroorzaakt een verhoogde PTH-spiegel in het serum theoretisch een toename van de terugresorptie van  $H^+$ -ionen door het nog resterende nierweefsel. Hierdoor wordt de buffercapaciteit van de ECV verminderd, waardoor verlaagde bicarbonaat-spiegels in het plasma ontstaan in evenredigheid met een verder dalende nierfunctie (Fig. V-2) (Wrong en Davies, 1959). De overgang van een normaal naar een verlaagd bicarbonaat-gehalte van het plasma blijkt voor onze patiëntengroep te liggen bij waarden voor de kreatinine-kларing tussen 20 en 30 ml per min. Overigens komen in de groep patiënten met een kreatinine-kларing van minder dan 20 ml per min. normale bicarbonaatconcentraties in het plasma voor. In hoeverre de verhoogde PTH-concentraties in het serum de mate van acidose bij chronische nierinsufficiëntie beïnvloeden, is niet duidelijk. Beschreven is dat bij metabole acidose zonder nierfunctieverlies, de PTH-concentraties in het serum verhoogd kunnen zijn ondanks de hogere ionisatiegraad van het Ca in het serum (Wachman en Bernstein, 1970). Uit recent dierexperimenteel onderzoek van Fraley en Adler (1979) blijkt dat PTH een rol speelt bij het mobiliseren van de buffercapaciteit van botweefsel die bij ratten en honden tot 50% van de totale buffercapaciteit van het lichaam zou kunnen bedragen. Bij afwezigheid van PTH schiet de buffercapaciteit van het organisme ernstig tekort, hetgeen bij acute zuurbelasting van de dieren aanleiding tot de dood kan zijn, terwijl dit niet het geval is bij dieren met intacte bijnieren. Volgens deze auteurs bestaat de buffer uit o.i.v. PTH uit het bot gemobiliseerd P en bicarbonaat. Het effect van PTH bij het handhaven van het zuurbase-evenwicht is dus in principe tweeledig en tegenstrijdig: in de eerste plaats veroorzaakt het een toename van retentie van  $H^+$ -ionen in de nier en in de tweede plaats veroorzaakt het een vrijkomen van buffer uit het bot.

Verhoogde spiegels van P in het serum bij patiënten met CNI werden reeds in 1916 beschreven door Marriott en Howland. Goldman en Bassett (1954) vonden dat bij patiënten met een kreatinine-kларing van 25 ml per min. en hoger vrijwel altijd normale P-concentraties in het serum worden gevonden. Met uitzondering van één patiënt (nr 12) zagen wij supranormale waarden voor de P-concentratie in het serum pas optreden bij een kreatinine-kларing van 30 ml per min. of lager (Fig. V-5).

Subnormale Ca-concentraties in het serum werden bij onze patiënten over het algemeen pas gevonden bij een kreatinine-klaring van 20 ml per min. of lager (Fig. V-4). Het feit dat wij geen negatieve relatie tussen de PTH-secretie en het Ca-gehalte van het serum vonden, is wellicht te verklaren uit resistentie van bot en nier t.o.v. PTH en (voor zover de assay C-terminale PTH-fragmenten meet) door verminderde metabole klaring van PTH-fragmenten door de nier.

In tegenstelling tot Reiss e.a. (1968) die al licht verhoogde waarden van PTH vonden bij een GFR van 70 - 80 ml per min., vonden wij de eerste verhoogde waarden voor het serum-PTH bij kreatinine-klaringen van 30 ml per min. of lager. Deze bevindingen zijn in overeenstemming met die van Arnaud (1973). Wij verkregen geen aanwijzingen voor een verdeling van de patiënten-populatie in 2 groepen met normale, resp. verhoogde PTH-spiegels in het serum zoals door Pierides e.a. (1976) bij patiënten onder behandeling met haemodialyse is beschreven. Op dit punt komen wij bij de bespreking van de behandeling met vitamine D-derivaten (hoofdstuk VIII) terug.

Verhoogde Mg-concentraties in het serum werden gevonden bij kreatinine-klaringen van 30 ml per min. of lager, zoals dat ook het geval is voor P.

Gezien het feit dat normale waarden voor het alkalische fosfatase kunnen worden gevonden bij patiënten met verhoogde PTH-spiegels, moeten ook andere factoren als de gevoeligheid of bereikbaarheid van het bot voor de inwerking van PTH bij het vrijkomen van alkalische fosfatase een rol spelen. Men kan zich voorstellen dat bij ernstige osteomalacie de botbalkjes vrijwel geheel met osteoïed zijn omgeven, waardoor PTH zijn effect(en) op het bot niet kan uitoefenen. Het is in dit verband begrijpelijk dat de spiegels van de alkalische fosfatase in het serum een duidelijker verband met de röntgenologische tekenen van hyperparathyreoïdie tonen dan de PTH-concentraties (Fig. V-21 en -22).

Hoewel de nier een belangrijke rol speelt bij de metabole klaring van CT (Ardaillou e.a., 1970) is hypercalcitoninaemie geen algemene bevinding bij patiënten met CNI. Heynen en Franchimont (1974) vonden in een groep van 41 patiënten met CNI, die met dialyse werden behandeld, verhoogde CT-concentraties in het serum. Uit het werk van Paillard e.a. (1977) komt bovendien duidelijk naar voren dat dialyse op zich (afhankelijk van de hoogte van het Ca-gehalte van het badwater) de CT-secretie kan stimuleren. Hoge Ca-concentraties in het dialysebadwater (= Ca-influx in de patiënt) geven hogere spiegels. Mulder (1979) vond bij een groep patiënten (voor het merendeel behandeld met dialyse) dat naast verlaagde klaring ook hypersecretie van CT een rol moet spelen, gezien het feit dat een injectie van Ca bij

deze patiënten een sterkere stijging van het CT-gehalte van het serum veroorzaakte dan bij een groep normalen. Op de mogelijkheid, door Kanis e.a. geopperd (1977 a, b), dat hogere CT-spiegels in het serum een bescherming zouden bieden tegen het ontstaan of het verergeren van renale osteodystrofie komen wij bij de bespreking van de resultaten van de behandeling van renale osteodystrofie met derivaten van vitamine D (hoofdstuk VIII) nog terug. In onze groep (niet-gedialyseerde) patiënten met uiteenlopende mate van nierfunctieverlies vonden wij doorgaans normale CT-concentraties in het serum (Fig. V-8) met uitzondering van 5 patiënten die licht tot matig verhoogde spiegels hadden. Het betrof hier patiënten met een kreatinineklaring van resp. 21, 22, 22, 35 en 40 ml per min., zodat n.a.v. onze gegevens niet gesteld kan worden dat naar mate de nierfunctie afneemt het CT-gehalte van het serum stijgt. Op het effect van dialyse op de CT-spiegel in het serum bij onze patiënten wordt in hoofdstuk VI ingegaan.

De positieve correlatie tussen  $Fa^{47}Ca$  en de kreatinineklaring (Fig. V-18) is in overeenstemming met de lage intestinale absorptie van Ca bij patiënten met CNI zoals deze ook door anderen is beschreven (Ogg. 1968; Recker en Saville, 1971; Coburn e.a., 1973 en Chanard e.a., 1974). Zij vonden allen verlaagde waarden voor  $Fa^{47}Ca$  bij patiënten met CNI, die niet behandeld werden met haemodialyse. Een correlatie met de mate van nierfunctieverlies werd echter door géén van hen beschreven. Het is opvallend dat subnormale absorptie van Ca evenals abnormale plasmabicarbonaat en serum-P en -PTH-gehalten op gaan treden bij kreatinineklaringen tussen 20 en 30 ml per min. Anderzijds kunnen bij kreatinineklaringen beneden 20 ml per min. normale waarden voor  $Fa^{47}Ca$  voorkomen.

Indien wij aannemen dat er een relatie bestaat tussen de beschikbaarheid van biologisch actieve metaboliëten van vitamine D (1,25-DHCC en mogelijk ook 24,25-DHCC) en de hoogte van de intestinale Ca-absorptie, doet zich de vraag voor in welk stadium van nierfunctieverlies deficiënte spiegels van 1,25-DHCC en 24,25-DHCC ontstaan. Indien de intestinale Ca-absorptie een maat is voor de activiteit van 1,25-DHCC, dan mag men gezien de resultaten van de meting van  $Fa^{47}Ca$  bij onze patiënten, in ieder geval lage of niet-aantoonbare spiegels van 1,25-DHCC verwachten bij een kreatinineklaring van 30 ml per min. of lager. Gegevens betreffende de basale 1,25-DHCC-spiegels in het serum van een deel van de hier beschreven groep patiënten staan in hoofdstuk VI. Ten aanzien van de intestinale absorptie van Ca kunnen echter ook nog andere factoren van belang zijn, zoals b.v. de hoogte van het P-gehalte van het serum (Fig. V-19). Theoretisch kan P op twee manieren de intestinale absorptie van Ca beïnvloeden (zie hoofdstuk II) nl. via remming van het 1  $\alpha$ -hydroxylase-systeem in de nier of via een direct effect op de darm. Wat betreft dit laatste doet zich echter de

vraag voor of bij ernstige stoornissen in de parenchymfunctie van de nier en vermoedelijk ook in het vermogen om de  $1\alpha$ -hydroxylatie uit te voeren, het effect van de hoogte van de P-concentratie b.v. in het plasma, niet "overruled" wordt door het verlies van functionerend nierweefsel. De rol van de hyperfosfataemie ten aanzien van het ontstaan van stoornissen in de intestinale absorptie van Ca zal in hoofdstuk VI nog worden besproken. Het feit dat wij geen partiële correlatie tussen het P-gehalte van het serum en de hoogte van de absorptie van Ca ( $^{47}\text{Ca}$ ) konden vaststellen pleit ertegen dat onder deze omstandigheden P rechtstreeks de absorptie van Ca belemmert.

Waar  $1,25\text{-DHCC}$  uitsluitend in het niertubulusepitheel gevormd wordt, is uit onderzoek bij anefrische patiënten en proefdieren gebleken dat de vorming van  $24,25\text{-DHCC}$  buiten de nier wél optreedt, doch kwantitatief te verwaarlozen is (Taylor e.a., 1978). De door ons gevonden lage  $24,25\text{-DHCC}$ -spiegels (Fig. V-13 en -14) over een "range" van de kreatinineklaring van 4 tot 40 ml per min. zouden erop kunnen wijzen dat al in een vroeg stadium van nierfunctieverlies (boven de 40 ml per min.) het vermogen van de nier om dihydroxymetabolieten van vitamine D (in ieder geval  $24,25\text{-DHCC}$ ) te vormen, verloren gaat. De  $24,25\text{-DHCC}$ -index geeft een indruk over het relatieve vermogen van de nier, nl. in relatie tot de aanwezige hoeveelheid  $25\text{-HCC}$ , om de  $25$ -hydroxylatie uit te voeren. Uit de longitudinale gegevens in hoofdstuk VI zal ook blijken dat met de seizoenswisselingen van  $25\text{-HCC}$ , weliswaar in minder sterke mate, het  $24,25\text{-DHCC}$  mee fluctueert. Het quotiënt van beide metabolieten geeft dan een niet van het seizoen afhankelijke informatie over de vorming van  $24,25\text{-DHCC}$ . Wanneer wij deze index uitzetten tegen de kreatinineklaring krijgen wij in tegenstelling tot bij de absolute waarde voor de concentratie van  $24,25\text{-DHCC}$  wel een positieve correlatie met de nierfunctie. In tegenstelling tot hetgeen geldt voor de andere door ons onderzochte grootheden vonden wij reeds bij een kreatinineklaring van 40 ml per min. verlaagde  $24,25\text{-DHCC}$ -index-waarden, waarbij aangetekend moet worden dat wij nog niet beschikken over gegevens bij nierinsufficiëntie met een kreatinineklaring boven 40 ml per min. Kennelijk gaan bij dalende nierfunctie de veranderingen in de vorming van  $24,25\text{-DHCC}$  vóór de veranderingen in de andere grootheden uit!

Tenslotte steunen de gegevens over de  $25\text{-HCC}$ -concentratie bij onze patiënten met CNI de door Eastwood e.a. (1976) naar voren gebrachte rol van gebrek van vitamine D als zodanig bij het ontstaan van renale osteodystrofie niet. Gezien het feit dat wij vrijwel steeds normale  $25\text{-HCC}$ -spiegels vonden, is het waarschijnlijk dat de toevoer, opname en  $25$ -hydroxylering van cholecalciferol bij CNI normaal zijn, vooropgesteld dat de halfwaarde-

tijd van serum-25-HCC bij deze patiënten ook normaal is. Het ligt voor de hand om dit verschil toe te schrijven aan de lagere cholecalciferol-toevoer aan de bevolking in Groot-Brittannië in vergelijking met b.v. Nederland.

### c. Conclusies

1. Acidose is niet een verschijnsel dat bij alle patiënten met chronische nierinsufficiëntie wordt gevonden. Er bestaat een positieve correlatie tussen het bicarbonaat-gehalte van het plasma en de kreatinine-klaring. Verlaagde bicarbonaatspiegels werden slechts gevonden bij kreatinine-klaringen van 30 ml per min. of lager. Mobilisatie van buffer uit het bot onder invloed van verhoogde PTH-spiegels, speelt mogelijk een rol bij de grote variabiliteit t.a.v. de mate van acidose bij patiënten met een terminale nierinsufficiëntie.
2. Supranormale waarden voor PTH, P en Mg in het serum werden gevonden bij kreatinine-klaringen van 30 ml per min. of lager. Subnormale waarden van het Ca-gehalte van het serum werden gevonden bij kreatinine-klaringen van 20 ml per min. of lager, waarbij opvalt dat in datzelfde gebied normale Ca-gehalten in het serum zijn gevonden bij 44% van de patiënten.
3. Verlaging van de  $Fa^{47}Ca$  trad al op bij kreatinine-klaringen van 35 ml per min. of lager. Er bestaat een positieve correlatie tussen kreatinine-klaring en  $Fa^{47}Ca$ . Er bleek voorts een negatieve correlatie tussen het P-gehalte van het serum en  $Fa^{47}Ca$  te bestaan. Z.g. partiële correlaties tussen  $Fa^{47}Ca$  en serum-P, resp. kreatinine-klaring werden niet gevonden.
4. De hoogte van het alkalische fosfatase bleek een betere correlatie met het PTH-gehalte van het serum te hebben (positief) dan met de mate van nierfunctieverlies (kreatinine-klaring, negatief). Röntgenologische afwijkingen van het handskelet toonden een meer uitgesproken verband met het alkalische fosfatase dan met de PTH-spiegel.
- 5a. De concentratie van 25-HCC in het serum vertoonde bij patiënten met CNI een seizoenswisseling zoals bij normalen. Met enkele uitzonderingen bleken de 25-HCC-spiegels in het serum bij onze patiënten met CNI normaal te zijn.
- b. De concentratie van 24,25-DHCC in het serum was bij onze patiënten met CNI gemiddeld lager dan bij normalen ( $p < 0.001$ ). De 24,25-

DHCC-concentraties in het serum vertoonden echter geen correlatie met de nierfunctie in tegenstelling tot de waarden voor het quotiënt van 24,25-DHCC en 25-HCC. De daling van het 24,25-DHCC-gehalte trad eerder op dan de veranderingen van de andere door ons onderzochte grootheden, inclusief de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$ .

## HOOFDSTUK VI

### RESULTATEN VAN HET LONGITUDINAAL ONDERZOEK

- a. Inleiding
- b. Resultaten
- c. Bespreking
- d. Conclusies

#### a. Inleiding

Binnen de groep van 42 patiënten met CNI werden de volgende groepen ook longitudinaal bestudeerd.

- 1) Die patiënten voor wie gedurende de periode van observatie, behandeling met IHD niet in aanmerking kwam. Dit betreft dertien patiënten, die langer dan 12 maanden werden geobserveerd. Bij vier van deze patiënten daalde de kreatinine-klaring tijdens de observatieperiode in het geheel niet: zij bedroeg aanvankelijk  $35 \pm 11$  en tenslotte  $35 \pm 18$  ml per min. De overige negen patiënten werden gedurende een aanzienlijk deel van de observatieperiode (zie Fig. III-3) behandeld met derivaten van cholecalciferol. De resultaten van deze behandeling komen in hoofdstuk VIII aan de orde.
- 2) Negen patiënten bij wie, vanaf het moment dat zij in het onderzoek werden opgenomen, het 10 maanden of langer duurde alvorens behandeling met IHD noodzakelijk werd <sup>‡</sup>. De gemiddelde observatieduur bedroeg  $21 \pm 9$  (SD) maanden (uiterste waarden: 10 tot 40 maanden). De gemiddelde uitgangswaarde van de kreatinine-klaring was  $20 \pm 8$  (SD) ml per min. en bij het begin van de behandeling met IHD  $4 \pm 1$  (SD) ml per min.
- 3) Die patiënten, die na een sterk uiteenliggende observatieperiode onder behandeling met IHD kwamen. Dit betreft 18 patiënten <sup>‡‡</sup>, waarvan er negen ook in groep 2 voorkomen. Bij deze achttien patiënten omvatte de observatie behandeling met IHD gedurende 10 maanden of langer ( $28 \pm$

<sup>‡</sup> (Pat. 6, 12, 14, 16-18, 22, 27 en 29; Fig. III-3).

<sup>‡‡</sup> (Pat. 1, 3-9, 13-18, 22, 24, 26 en 27; Fig. III-3).

8 maanden). Vijf van deze patiënten werden behandeld met dihydral® (dihydrotachysterol). Bij de beoordeling van het verloop van een aantal parameters (waar aangegeven) worden de resultaten van deze patiënten buiten beschouwing gelaten in verband met de invloed die dihydral® hierop kan hebben.

- 4) Van de achttien patiënten, genoemd onder 3), ondergingen er uiteindelijk 7<sup>‡</sup> een niertransplantatie. Een achtste patiënt (29) die daarvoor slechts zeven maanden met IHD was behandeld, kon aan deze groep worden toegevoegd. Van deze patiënten ondergingen er twee een tweede transplantatie, nadat het eerste transplantaat ten gevolge van een afstotingsreactie binnen een maand moest worden verwijderd (pat. 1 en 18). Niet gerekend de korte periodes na de twee mislukte transplantaties, bedroeg de gemiddelde observatieduur na transplantatie  $10 \pm 6$  (SD) maanden.

## b. Resultaten

### Ad 1). Prae-dialysefase I.

Bij de vier patiënten bij wie de kreatinine-klaring niet of nauwelijks afnam tijdens de observatie werden bij het begin van deze periode normale waarden verkregen voor het Ca-, P-, alkalische fosfatase-, PTH- en CT-gehalte van het serum, evenals voor de intestinale Ca-absorptie. Tijdens de observatie trad ook geen verandering in deze grootheden op. De gegevens die bij deze patiënten met fotonabsorptiometrie werden verkregen, zijn verwerkt in hoofdstuk VII, terwijl zoals reeds vermeld, de gegevens verkregen bij behandeling van de overige negen patiënten met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC in hoofdstuk VIII worden besproken.

### Ad 2). Prae-dialysefase II.

A. *Ca-gehalte van het plasma.* Voor alle negen patiënten is in Fig. VI - 1 het verloop van het Ca-gehalte van het serum (vóór dialysebehandeling) uitgezet. 15 tot 19 maanden voor het begin van deze behandeling is het gemiddelde Ca-gehalte  $2.29 \pm 0.17$  (SD) en vlak vóór het begin van de IHD

<sup>‡</sup> (pat. 1, 3, 4, 9, 13, 16 en 18).



2.15 ± 0.15 (SD). Dit is géén significant verschil. Bij vijf patiënten (in Fig. VI - 1, apart aangeduid) is er sprake van een geleidelijk dalend Ca-gehalte van het serum bij de toename van het nierfunctieverlies. Berekenen wij van deze groep het gemiddelde Ca-gehalte van het serum 15-19 maanden vóór (2.36 ± 0.13) en vlak voor het begin van IHD (2.05 ± 0.12) dan vinden wij wel een significante daling in deze fase van CNI ( $p < 0.05$ ). Onze conclusie is dat bij patiënten die 1 tot 1½ jaar van haemodialyse-behandeling verwijderd zijn over het algemeen een laag-normaal Ca wordt gevonden en dat bij een aantal van deze patiënten een neiging tot verdergaande daling van het Ca-gehalte van het serum bij toename van het nierfunctieverlies bestaat.

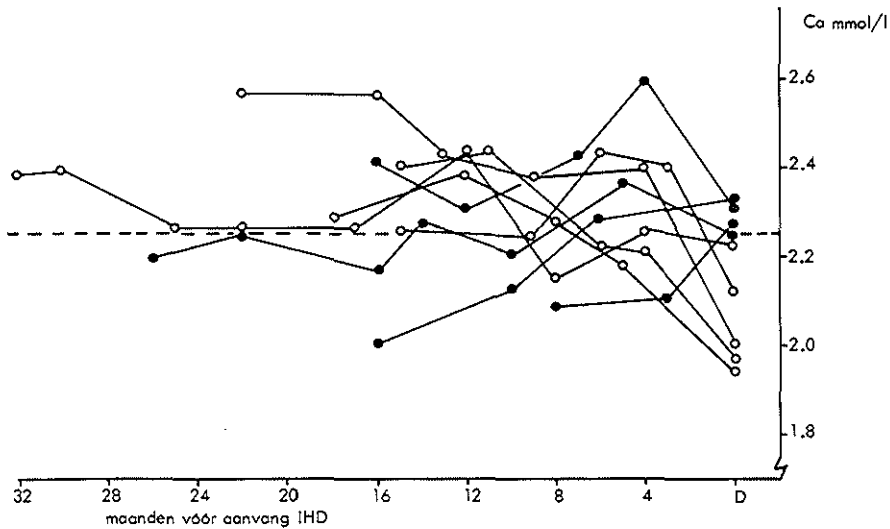


Fig. VI - 1 Verloop van het Ca-gehalte van het serum bij 9 patiënten met CNI gedurende maximaal 32 maanden vóór aanvang van IHD.  
 Open symbolen: patiënten bij wie een uitgesproken daling van het Ca-gehalte optrad (zie tekst). De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied aan.  
 D = aanvang behandeling met IHD.

**B. P-gehalte van het serum.** In Fig. VI - 2 is het verloop van het P-gehalte van het serum tijdens het ziekteverloop vóór IHD weergegeven. Bij alle patiënten was de opname van eiwit beperkt (maximaal 50 gram per dag) en zij gebruikten alucol in hoeveelheden tot 4 gram per dag, zodat zij in deze opzichten onderling vergelijkbaar zijn. Bij alle patiënten, uitgezonderd nr. 16 werd bij het voortgaande verlies van nierfunctie een progressieve stijging van het P-gehalte waargenomen. De P-concentratie reageerde in individuele gevallen (pat. 6, 14 en 22) op toediening dan wel verhoging van de dosis van alucol. In het algemeen is dit effect van tijdelijke

aard en stijgt het P-gehalte van het serum bij verder dalende nierfunctie, ondanks de ingestelde of veranderde therapie.

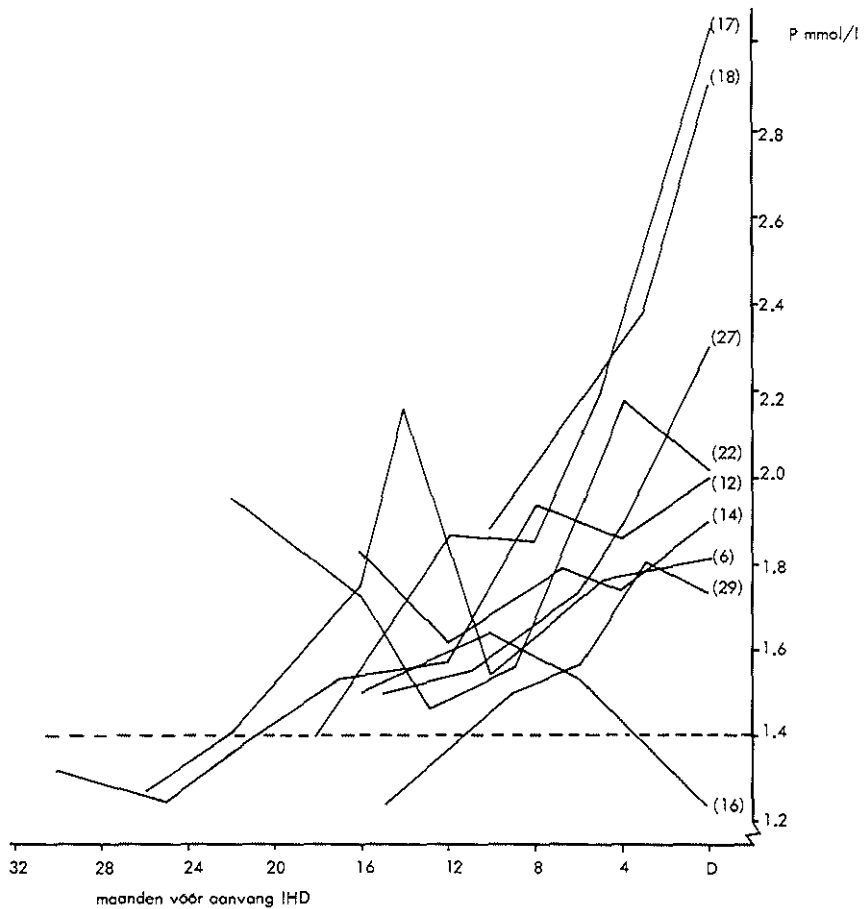


Fig. VI- 2 Verloop van het P-gehalte van het serum bij 9 patiënten met CNI gedurende maximaal 30 maanden vóór aanvang van IHD. De onderbroken lijn geeft de bovengrens van het normale gebied aan.  
D = aanvang van behandeling met IHD.  
Tussen haakjes: patiëntaanduiding.

C. *Alkalische fosfatase-gehalte van het serum.* Voor dit enzym werden, althans binnen de hier beschreven groep patiënten en de duur van de observatie géén veranderingen waargenomen, uitgezonderd patiënt 6 die in 26 maanden een stijging van 36 naar 60 I.E. per 1. toonde.

In overeenstemming met hetgeen in hoofdstuk V over de relatie tus-

sen het alkalische fosfatase en röntgenologische afwijkingen van het handskelet werd geconstateerd, vonden wij bij deze patiënten ongeveer een half jaar voor het begin van de behandeling met IHD voor het eerst subperiostale ophelderingen in het skelet. Bij drie patiënten werd een licht verhoogd alkalisch fosfatase-gehalte (tussen 40 en 70 I.E. per l) gevonden dat tot aan de IHD-behandeling niet verder steeg. Deze drie patiënten hadden vanaf het begin van de observatieperiode subperiostale ophelderingen in het handskelet. Bij slechts één van de overige vijf patiënten, die een normaal alkalische fosfatase hadden en deze tot aan het begin van IHD-behandeling behielden, werden in geringe mate subperiostale ophelderingen gevonden.

*D.Intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie.* Voor alle patiënten is in Fig. VI - 3 het verloop van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie uitgezet en in Fig. VI - 4 de waarden van 12  $\pm$  2, resp. 1 tot 3 maanden voor IHD. Voor de gehele groep wordt kort vóór dialyse een  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie gevonden ( $24.8 \pm 6.1\%$ ) die significant lager ligt dan het gemiddelde van 12  $\pm$  2 maanden voor het begin van deze behandeling ( $33.9 \pm 8.8\%$ ;  $p < 0.01$ ).

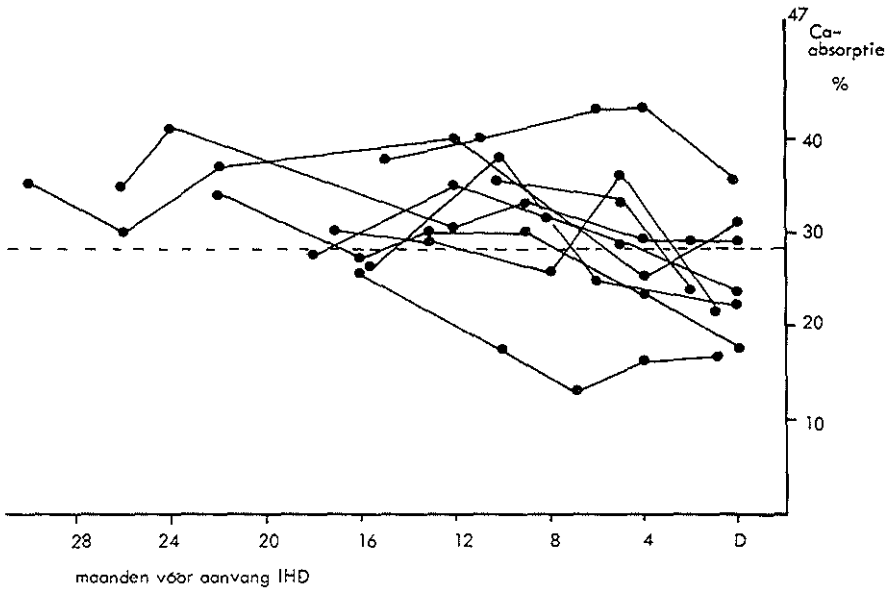


Fig. VI - 3 Verloop van de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  bij 9 patiënten met CNI gedurende maximaal 30 maanden vóór aanvang van de behandeling met IHD. De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied aan.  
D = aanvang behandeling met IHD.

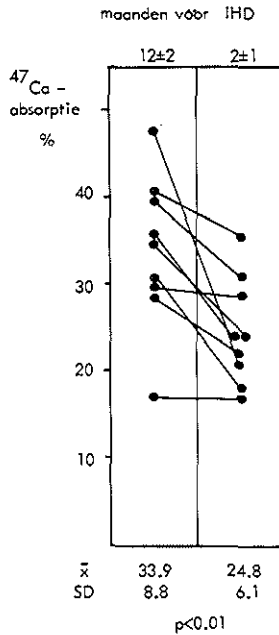


Fig. VI - 4 Intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  bij 9 patiënten met CNI,  $12 \pm 2$  (SD) en  $2 \pm 1$  (SD) maanden vóór aanvang van IHD.

**E. PTH- en CT-gehalte van het serum.** Bij zes patiënten (nr. 6, 12, 17, 22, 27 en 29) werd ondanks toediening van alucol en een eiwitbeperking in het dieet een geleidelijke toename van het PTH-gehalte van het serum gevonden (Fig. VI - 5). Bij pat. 12 zijn er wisselende waarden met naderhand een matige progressie tot een waarde juist boven de bovengrens van het normale gebied. Voor deze 6 patiënten hebben wij in Fig. VI - 6 de toename van het PTH-gehalte ( $\Delta\text{PTH}$ ) uitgezet tegen de afname van de kreatinine-klaring ( $\Delta\text{kreatinine-klaring}$ ) in de betreffende observatieperiode. Er bestaat een duidelijke negatieve betrekking, hetgeen betekent dat bij sneller verlopend nierfunctieverlies de stijging van het PTH minder snel geschiedt ( $p < 0.05$ ). Bij twee van de overige drie patiënten (Fig. VI - 5) werd een (matig) verhoogd, doch niet verder toenemend PTH-gehalte van het serum gevonden, terwijl één patiënt (nr. 16) steeds een volkomen normaal PTH-gehalte had, waarbij het opvallend is dat dit de enige patiënt is bij wie het serum-P zelfs een daling tot een normale waarde (1,24 mmol/l) te zien gaf (Fig. VI - 2). Bovendien werden bij deze patiënt de hoogste waarden voor CT gevonden, resp. 0.66, 0.40 en 0.54  $\mu\text{g}$  per l (normaal  $< 0.36 \mu\text{g}$  per l). De overige patiënten hebben CT-waarden tot aan de bovengrens van het normale gebied. Bij de voort-

gaande daling van de nierfunctie is geen enkele tendens t.a.v. het CT-gehalte te bespeuren (niet in een figuur opgenomen).

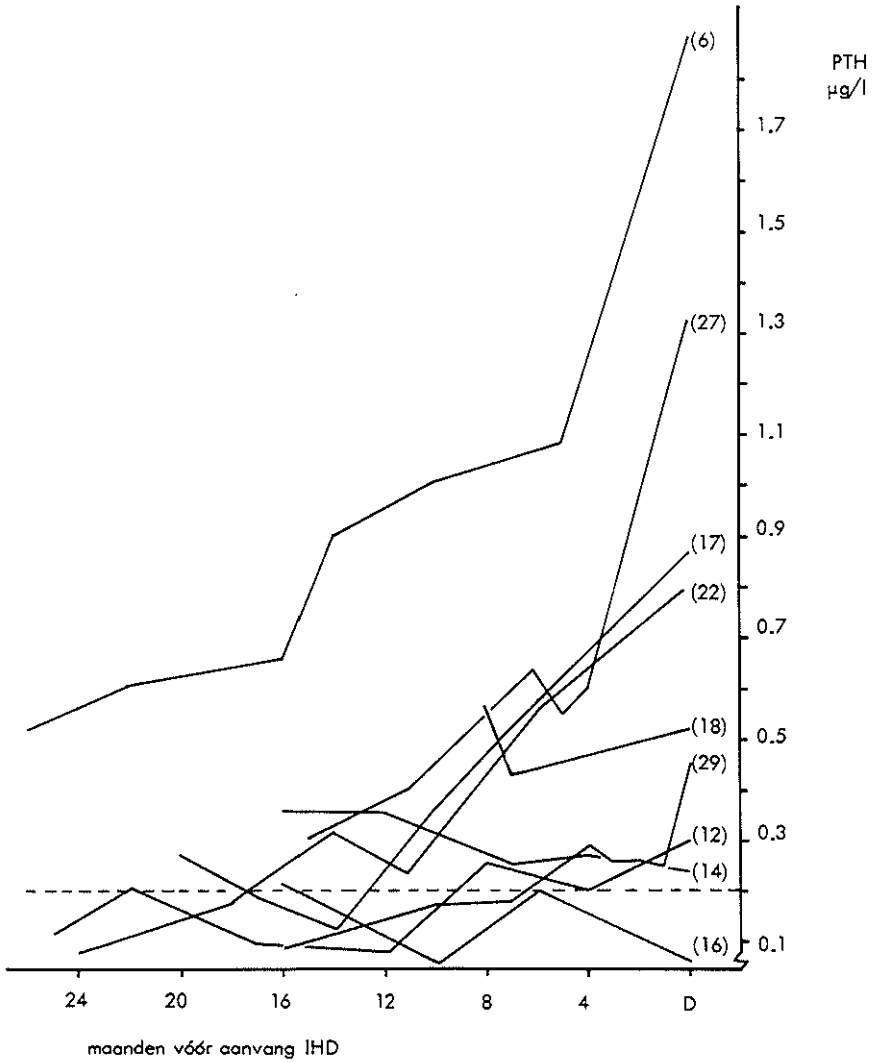


Fig. VI - 5 Verloop van het PTH-gehalte van het serum bij 9 patiënten met CNI gedurende maximaal 26 maanden vóór aanvang van IHD. De onderbroken lijn geeft de bovengrens van het normale gebied aan.

D = aanvang behandeling met IHD. Tussen haakjes: patiëntaanduiding.

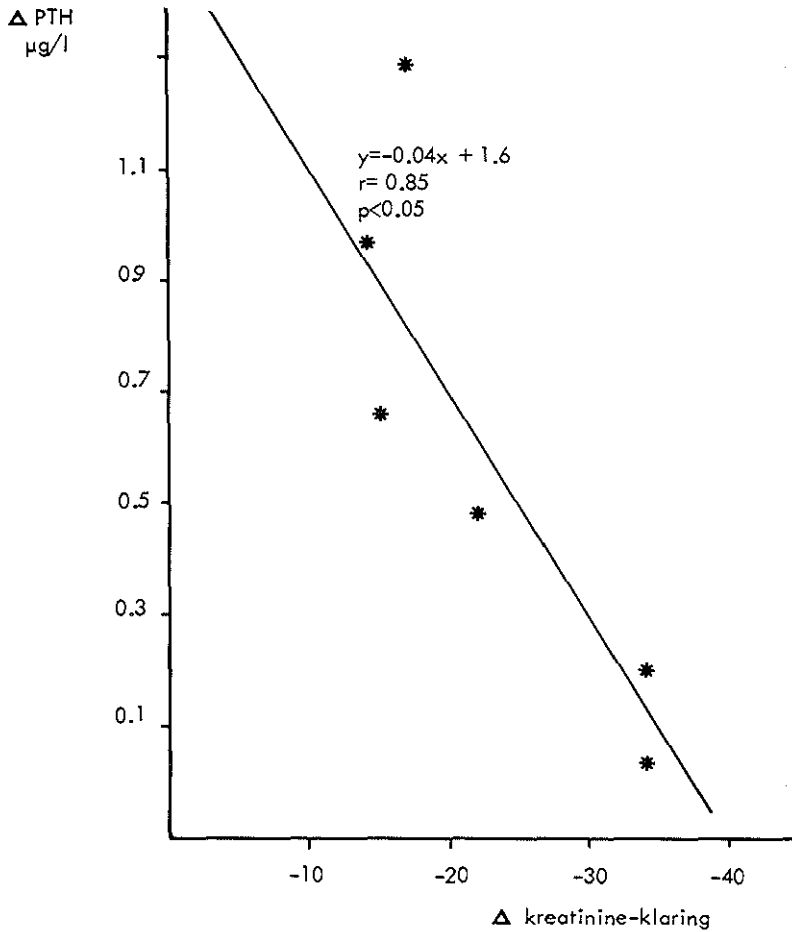


Fig. VI - 6 Relatie tussen toename van het PTH-gehalte ( $\Delta \text{ PTH}$ ) van het serum en afname van de kreatinine-klaring ( $\Delta \text{ kreatinine-klaring}$ ) bij 6 patiënten met CNI bij wie in de periode vóór aanvang van de behandeling met IHD (gem.:  $18.5 \pm 6$  maanden) een stijgend gehalte van PTH in het serum werd gevonden.

F. *Vitamine D-metaboliëten*. In hoofdstuk V werd al ingegaan op de spiegels van 25-HCC die in de praedialyseperiode steeds in het, voor de gehanteerde bepalingen, normale gebied werden gevonden. Aangezien het verloop van de 25-HCC-spiegels bij deze negen patiënten alleen een seizoensvariatie te zien gaf, is hiervan geen figuur opgenomen. Voor enkele individuele gevallen (pat. 22 en 27) tonen Fig. VI - 7 en - 8 het verloop van de concentraties van 25-HCC en 24,25-DHCC samen met het (karakteristieke) gedrag van de verschillende andere parameters. De 24,25-

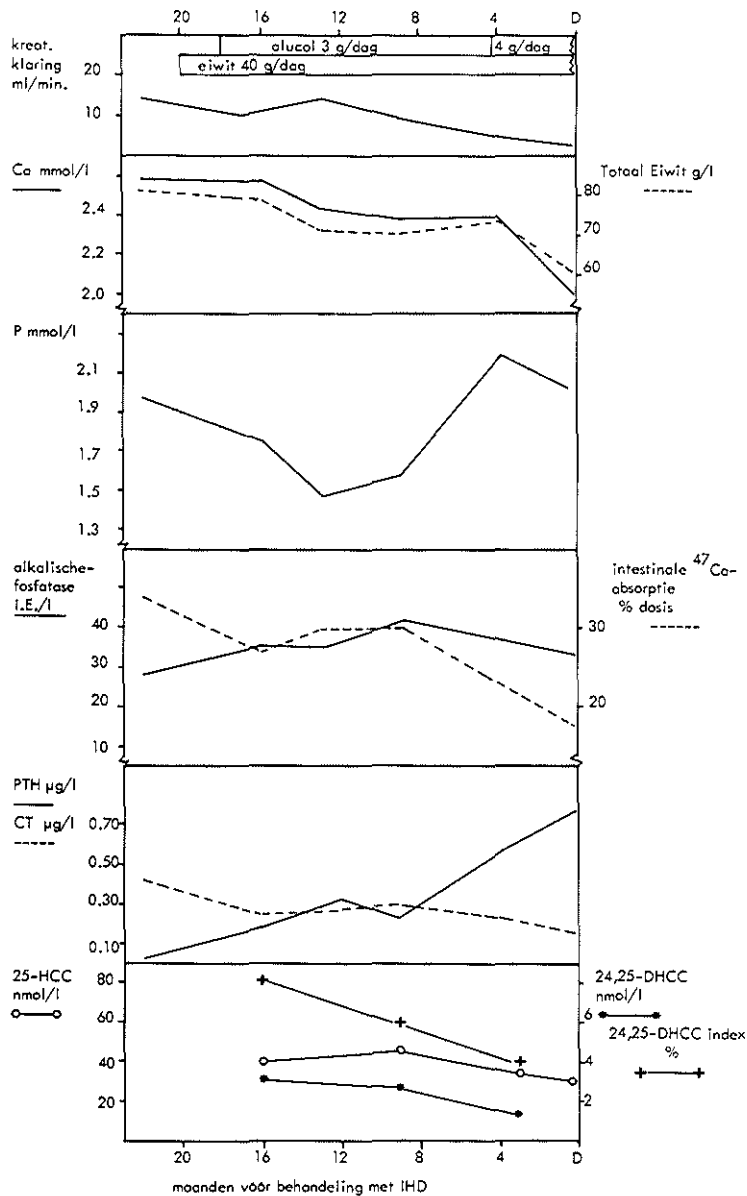


Fig. VI - 7 Verloop van de kreatinine-klaring, de intestinale absorptie van <sup>47</sup>Ca en de concentraties in het serum van Ca, P, totaal eiwit, alkalische fosfatase, PTH, CT, 25-HCC, 24,25-DHCC en de 24,25-DHCC-index bij een 26-jarige man (patiënt 22) gedurende 22 maanden vóór aanvang van de behandeling met IHD. Eiwit = eiwit-gehalte van het dieet.  
 Normaalwaarden:  
 Ca: 2.25 - 2.65 mmol/l. P : 0.8 - 1.4 mmol/l. alk. fosfatase tot 45 I.E./l. PTH tot 0.2 µg/l. CT tot 0.36 µg/l. intestinale absorptie van <sup>47</sup>Ca: 28 - 52% 25-HCC: 56 ± 20 nmol/l. 24,25-DHCC : 6.6 ± 2.8 nmol/l. 24,25-DHCC-index: 11.9 ± 4.0 %.

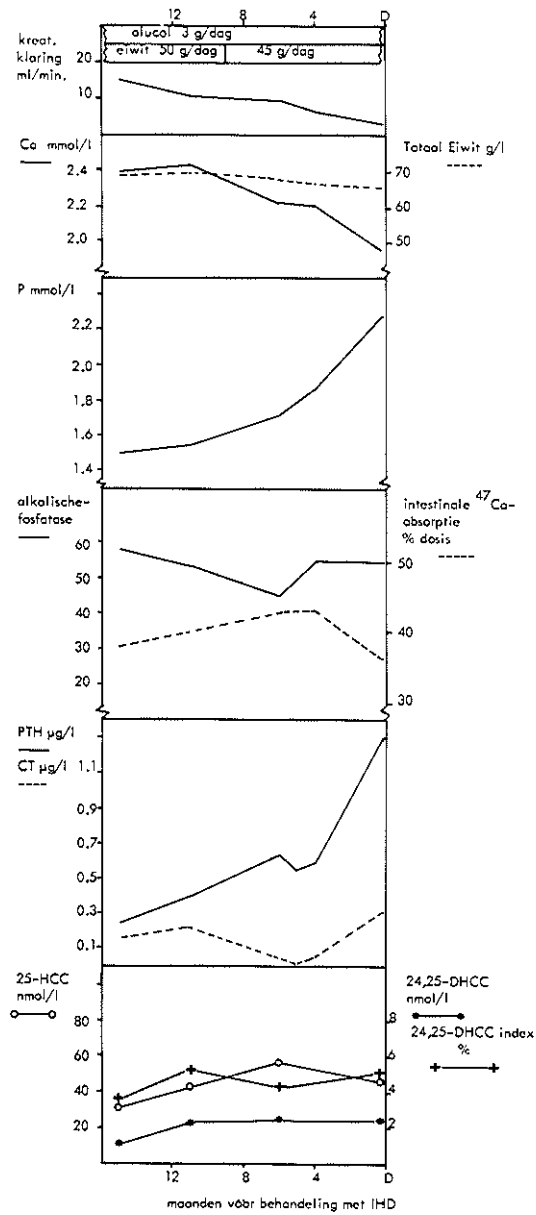


Fig. VI - 8 Verloop van de kreatinine-klaring, de intestinale absorptie van <sup>47</sup>Ca en de concentraties in het serum van Ca, P, totaal eiwit, alkalische fosfatase, PTH, CT, 25-HCC, 24-25-DHCC en de 24,25-DHCC-index bij een 29-jarige man (patiënt 27) gedurende 16 maanden voor aanvang van behandeling met IHD. Eiwit = eiwit-gehalte van het dieet. Normaalwaarden zie Fig. VI - 7.



DHCC-spiegels waren binnen deze groep patiënten gedurende de gehele observatie voor dialyse in absolute zin steeds te laag (normale waarde  $6.6. \pm 2.8$  nmol per l). Zoals uit de gegevens van Fig. V - 16 te verwach-

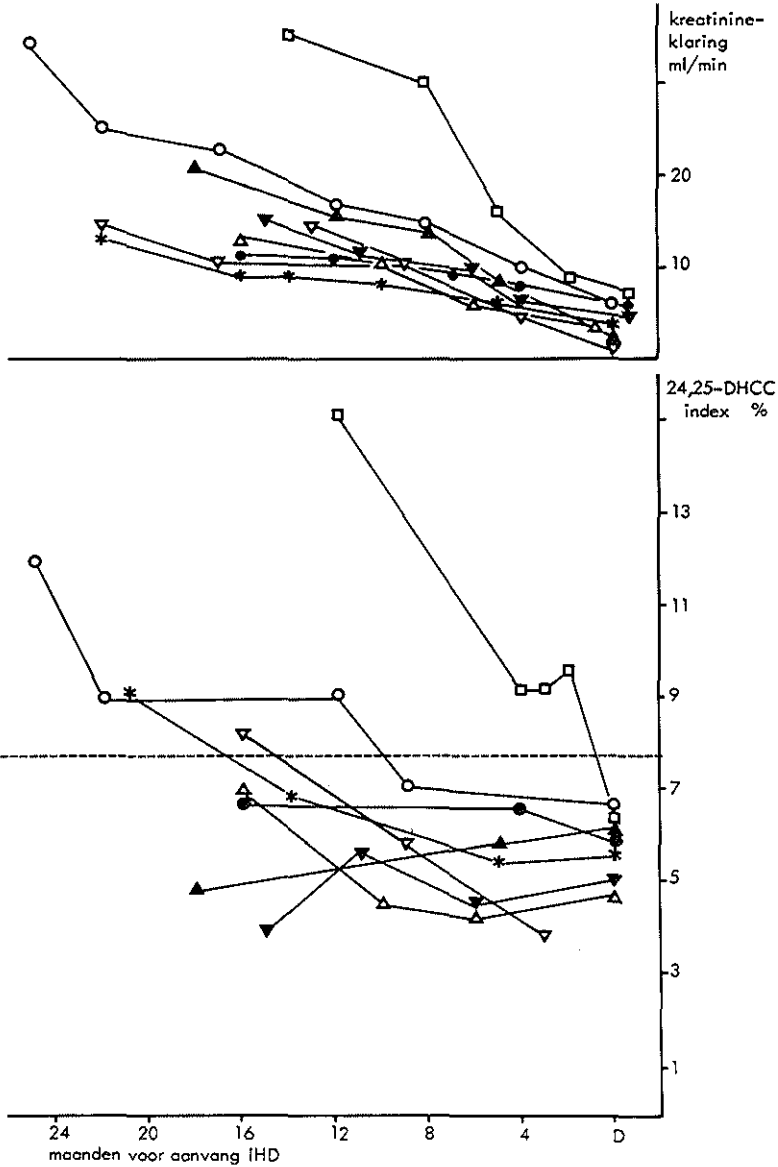


Fig. VI - 9 Verloop van de 24,25-DHCC-index en de kreatinine-klaring bij 8 patiënten met CNI vóór aanvang van de behandeling met IHD. Gemiddelde waarden 12 tot 22 en 1 tot 3 maanden vóór aanvang van IHD zijn resp.  $8.2 \pm 3.7$  en  $5.5 \pm 1.0\%$  ( $p < 0.005$ ). Ieder symbool vertegenwoordigt één patiënt in boven en onder paneel. D = aanvang behandeling met IHD.

ten valt, vonden wij bij een aantal (vier van de acht) patiënten bij de afname van de nierfunctie een daling van de 24,25-DHCC-index tot laag-normale of subnormale waarden. Bij de overigen was bij het begin van de observatie de 24,25-DHCC-index reeds verlaagd. Ter vergelijking staan in Fig. VI - 9 het verloop van de 24,25-DHCC-index en dat van de kreatinine-klaring. Voor de 24,25-DHCC-index bleek de gemiddelde waarde 12-22 maanden voor het begin van IHD significant hoger dan die één tot drie maanden voor IHD. Tenslotte, werd bij 20 niet met IHD behandelde patiënten m.b.v. de in hoofdstuk IV aangegeven radio-receptor-assay, de concentratie van 1,25-DHCC in het serum bepaald (Fig. VI - 10). Deze figuur bevat naast gegevens uit het transversale onderzoek ook van vijf patiënten het verloop bij afnemende nierfunctie. Er bleek een positieve correlatie te bestaan ( $p < 0.001$ ). Hoewel beneden een klaring van 40 ml per min. vrijwel steeds een waarde beneden de ondergrens van normaal wordt gevonden en de afname van deze metaboliet zeker lijkt uit te gaan voor de afname van de indices zoals deze in hoofdstuk V werden be-

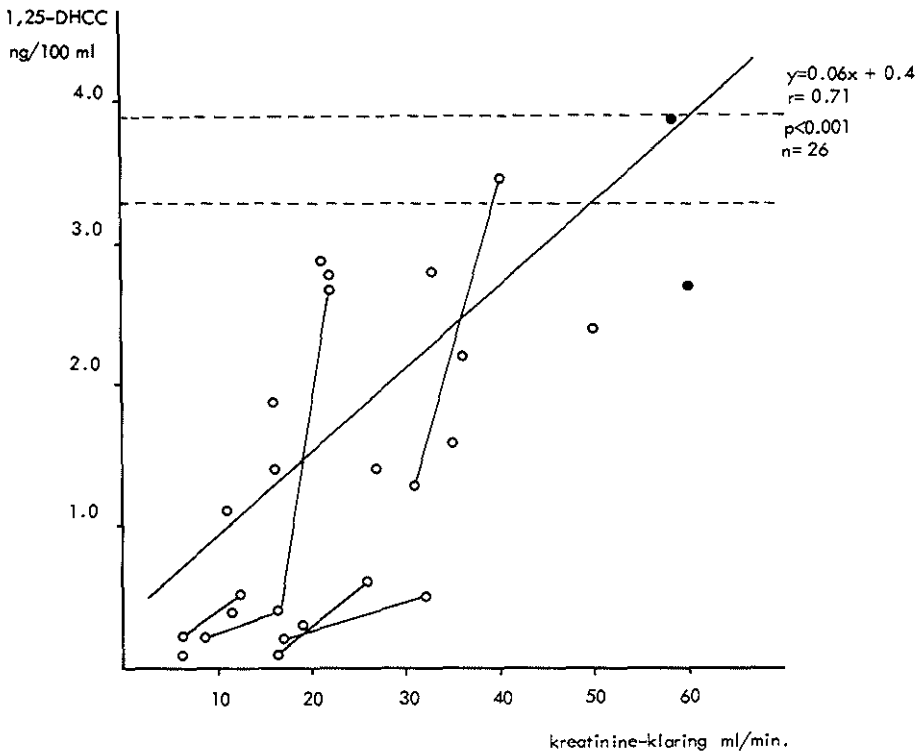


Fig. VI - 10 Relatie tussen 1,25-DHCC-gehalte van het serum en de kreatinine-klaring bij 20 patiënten met CNI (zie tekst). De onderbroken lijnen geven het normale gebied aan. De dichte symbolen: getransplanteerde patiënten.

schreven, is het zeker niet zo dat beneden een GFR van 40 ml per min. 1,25-DHCC in het geheel niet meer kan worden gevormd. Het is opvallend dat in het licht van de eveneens bestaande correlatie van 24,25-DHCC-index met de nierfunctie, onderling deze index en de 1,25-DHCC-spiegels géén correlatie bleken te vertonen. Dit zelfde geldt voor het PTH- en het P-gehalte van het serum enerzijds en het 1,25-DHCC-gehalte van het serum anderzijds (geen Figuur afgebeeld).

### Ad 3). Behandeling met haemodialyse.

De behandeling met haemodialyse bestond uit 14 - 18 spoeluren per week verdeeld over twee zittingen. De behandeling werd uitgevoerd met een Dylade-® D "single patiënt"-uitrusting. Er werd naar gestreefd het Ca-gehalte van het dialysaat op 6.0 mg per 100 ml (= 1.5 mmol/l) te houden. Bij bepaling achteraf van het Ca-gehalte blijkt dit in de praktijk gemiddeld 5.8 mg per 100 ml (= 1.45 mmol/l) te zijn. Het Mg-gehalte was 1.1 mg per 100 ml (= 0.45 mmol/l). Bepalingen van fluoride en aluminium in het badwater waren bij herhaling negatief. Tijdens de behandeling met IHD werd aan alle patiënten een eiwitname van 50 gram per dag toegestaan. De hoeveelheid in te nemen aluocol werd t.o.v. de praedialysefase in principe niet veranderd. Patiënten 13 (na parathyreoïdectomie), 8, 24 en 26 kregen extra Ca toegediend in de vorm van Ca-gluconaat (1.5 gram per dag). Tijdens de behandeling met IHD werd steeds onmiddellijk vóór de volgende dialysebehandeling bloed afgenomen. Zoals in hoofdstuk IV toegelicht, werd de intestinale <sup>47</sup>Ca-absorptie bepaald op de dag vóór de volgende dialysebehandeling.

Om een indruk te krijgen in hoeverre de dialyse met het gemeten Ca-gehalte van het dialysaat (5.8 mg per 100 ml) een ingaande dan wel een uitgaande Ca-flux bij de patiënten veroorzaakt, werd gedurende een 7 uur durende haemodialyse-zitting bij 10 patiënten de stroomsnelheid van het dialysaat en het Ca-gehalte van het dialysaat voor en na passage door de kunstnier gemeten. De stroomsnelheid en het Ca-gehalte in het gebruikte dialysaat werden éénmaal per uur gemeten. De IHD-behandelingsduur bij deze patiënten was gemiddeld 25 (3 tot 35) maanden. Bij alle patiënten bleek een positieve Ca-balans tijdens één enkele dialysebehandeling te bestaan, die varieerde van +92 tot +970 mg.

## Resultaten

### A. Bicarbonaat-gehalte van het arteriële plasma.

Zowel 2 tot 4, 6 tot 10, als 12 tot 16 maanden na het begin van de be-

handeling met IHD vonden wij een significant hoger bicarbonaat-gehalte dan tijdens de periode vóór dialyse (Fig. VI - 11). In ieder geval lijkt er tijdens de behandeling met IHD geen ernstige stoornis te bestaan in het zuurbase-evenwicht, zodat althans in deze fase van de chronische nierinsufficiëntie een ernstige acidose géén mede bepalende factor lijkt te zijn voor het ontstaan van de botafwijkingen.

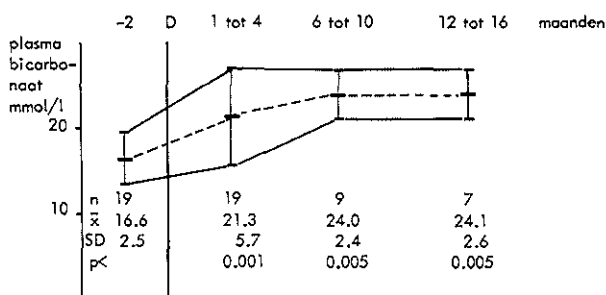


Fig. VI - 11 Verloop van het gemiddelde bicarbonaat-gehalte ( $\pm 1$  SD) van het arteriële plasma bij 19 patiënten met CNI vóór en na aanvang van IHD.

### B. Ca-gehalte van het serum.

Bij de 13 patiënten, die niet met dihydral<sup>®</sup> werden behandeld, steeg het Ca-gehalte van het serum van  $2.10 \pm 0.27$  (SD) kort (1 - 3 maanden) voor IHD naar  $2.39 \pm 0.18$  (SD) mmol per 1 kort (2 - 4 maanden) na het begin van deze behandeling (Fig. VI - 12;  $p < 0.001$ ). Het gemiddelde Ca-gehalte veranderde bij het voortduren van de IHD-behandeling niet meer. Ondanks deze verbetering van het gemiddelde Ca-gehalte moet er echter wel op worden gewezen, dat er patiënten zijn, die of in weerwil van enige verbetering toch nog een laag normaal of verlaagd Ca-gehalte van het serum houden (pat. 3, 17 en 27) of na enige tijd behandeling met IHD weer een daling van het Ca-gehalte laten zien (pat. 1 en 5).

### C. P-gehalte van het serum.

Eveneens onder uitsluiting van de met dihydral<sup>®</sup> behandelde patiënten, daalde het gemiddelde P-gehalte van het serum van  $2.19 \pm 0.47$  (SD) 1 tot 3 maanden voor IHD naar  $1.65 \pm 0.43$  (SD) mmol/l. 2 tot 4 maanden na het begin van IHD (Fig. VI - 13;  $p < 0.001$ ). Bij enkele patiënten trad na een aanvankelijke daling van het P-gehalte in een later stadium tijdens IHD weer een stijging op (pat. 5, 15, 16, 17, 22 en 27).

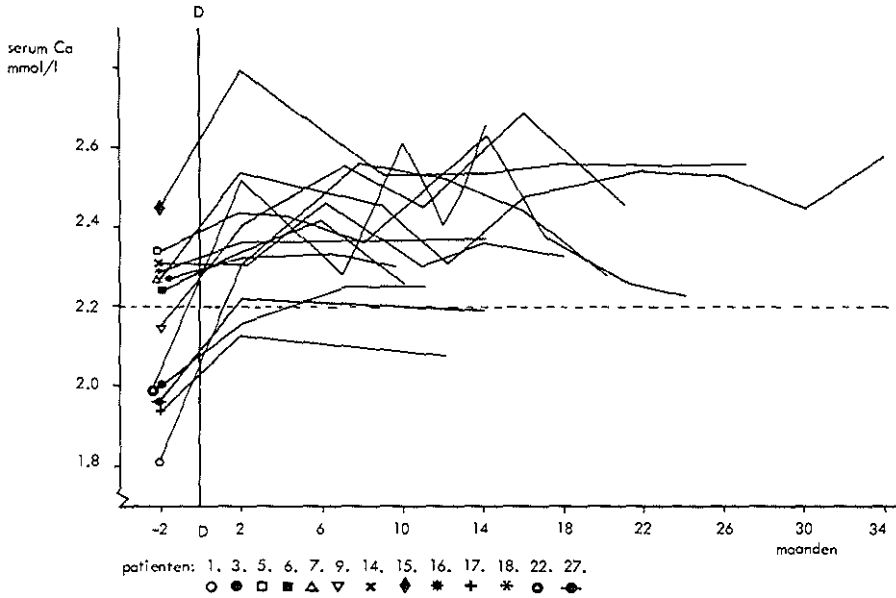


Fig. VI - 12 Verloop van het Ca-gehalte van het serum bij 13 patiënten met CNI, vóór en na aanvang van behandeling met IHD (zie tekst). De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied aan. D = aanvang behandeling met IHD.

#### D. Intestinale $^{47}\text{Ca}$ -absorptie.

Voor 13 niet met vitamine D-derivaten behandelde patiënten is het verloop van de  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie tesamen met de gemiddelden voor de gehele groep in de aangegeven periode van 1 - 3 maanden voor IHD tot 21 - 25 maanden na het begin van deze behandeling in Fig. VI - 14 uitgezet. Eén tot vijf maanden na het begin van behandeling met IHD is er een significante stijging van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie ontstaan, welke aanwezig blijft gedurende de observatieperiode. Bij een aantal patiënten daalde de  $\text{Fa}^{47}\text{Ca}$  weer bij langerdurende behandeling met haemodialyse, zodat de gemiddelde waarde met name voor de periode van 21 tot 25 maanden na begin van de haemodialyse (het gaat hier echter maar om vier patiënten) niet meer significant verschillend was van het gemiddelde voor het begin van deze behandeling. In de bespreking van de resultaten zal ingegaan worden op het mogelijke verband tussen het P-gehalte van het serum en de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$ . Er was geen relatie te bespeuren van het verloop van de  $\text{Fa}^{47}\text{Ca}$  met dat van Ca-, PTH- of alkalische fosfatase-gehalte van het serum.

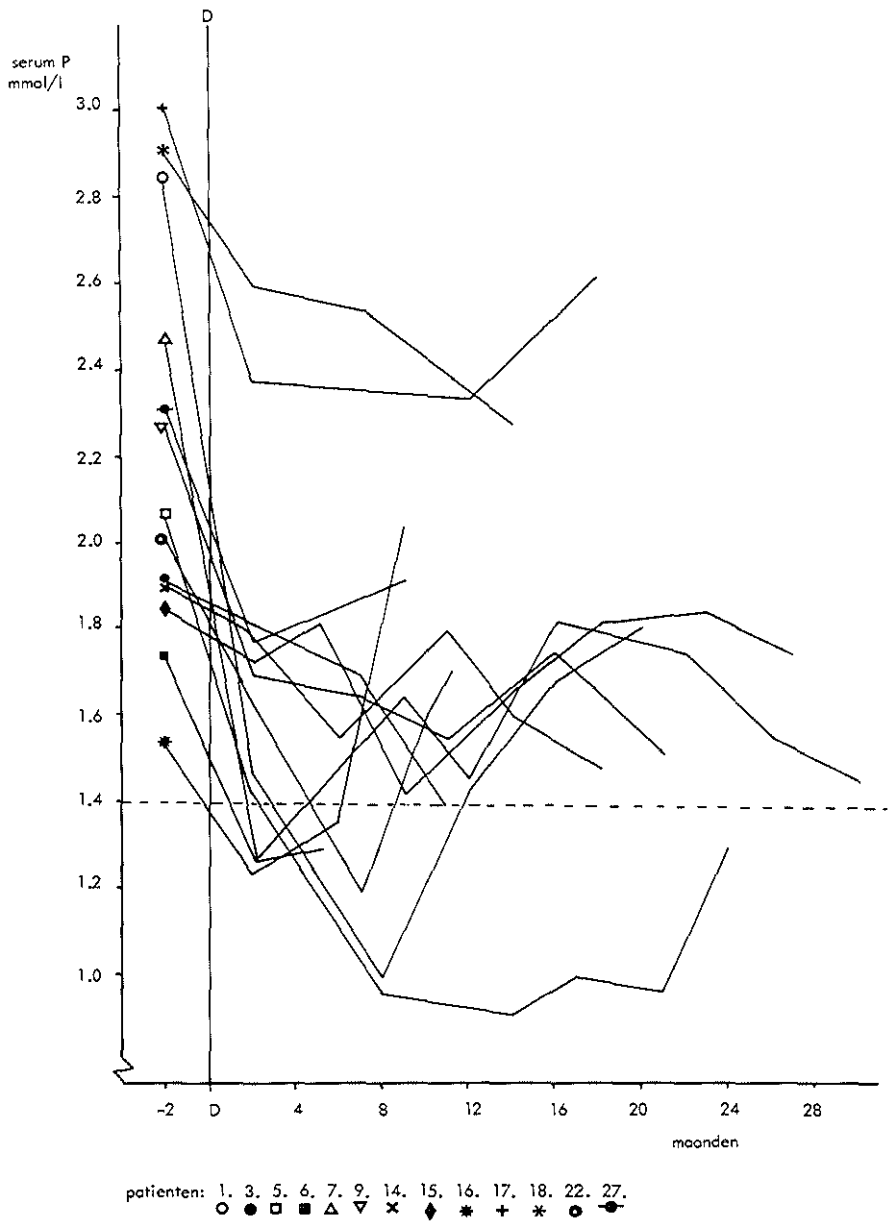


Fig. VI - 13 Verloop van het P-gehalte van het serum bij 13 patiënten met CNI, vóór en na aanvang van behandeling met IHD (zie tekst). De onderbroken lijn geeft de bovengrens van het normale gebied aan.  
D = aanvang behandeling met IHD.

maanden:	-2	0 - 5	6 - 10	11 - 15	16 - 20	21 - 25
n :	13	13	13	9	7	4
$\bar{x}$ :	23,5	35,8	34,6	34,8	33,1	31,5
SD :	6,5	7,1	6,5	5,4	4,7	12,5
p < :		0,001	0,001	0,001	0,005	ns

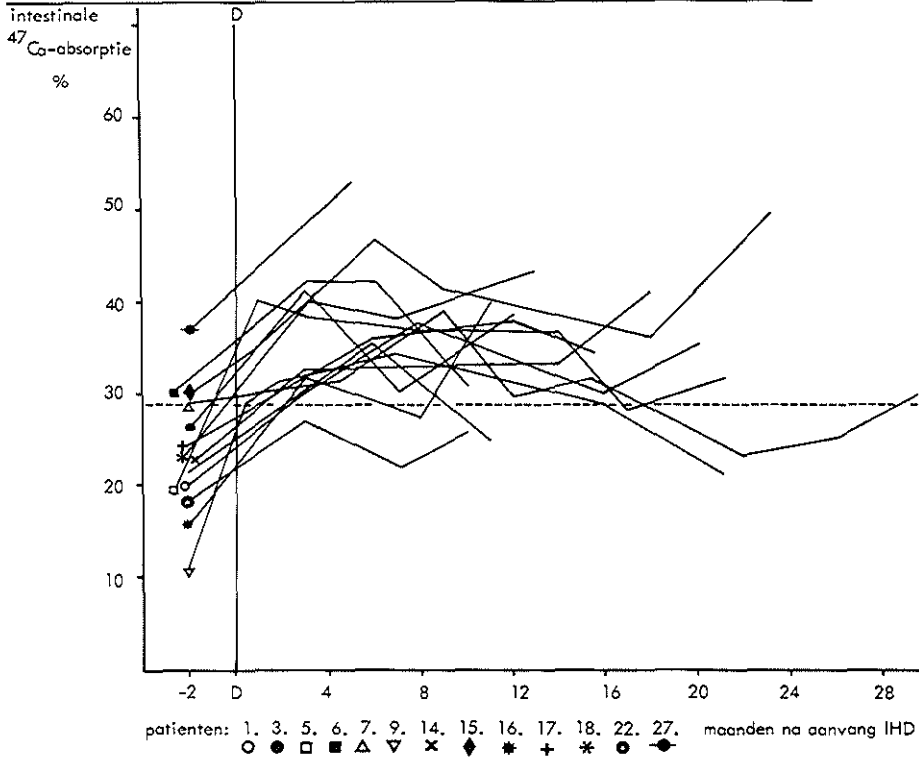


Fig. VI - 14 Verloop van de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  bij 13 patiënten met CNI, vóór en na aanvang van behandeling met IHD. De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied aan. D = aanvang behandeling met IHD.

### E. PTH en CT.

Twee tot vier maanden na aanvang van behandeling met IHD bleek het gemiddelde PTH-gehalte gedaald t.o.v. de gemiddelde waarde van één tot drie maanden vóór de aanvang van deze behandeling (van  $0.90 \pm 0.67$  (SD) naar  $0.57 \pm 0.52$  (SD)  $\mu\text{g}/1$ ). Hierbij zijn opnieuw de patiënten die met dihydral behandeld werden buiten beschouwing gelaten. Door het zeer wisselende verloop is voor deze groep vervolgens géén bepaalde tendens te bespeuren (Fig. VI - 15). In 7 gevallen (pat. 1, 3, 5, 6, 7, 14 en 17) trad 4 tot 28 maanden na een aanvankelijke daling van het PTH-ge-

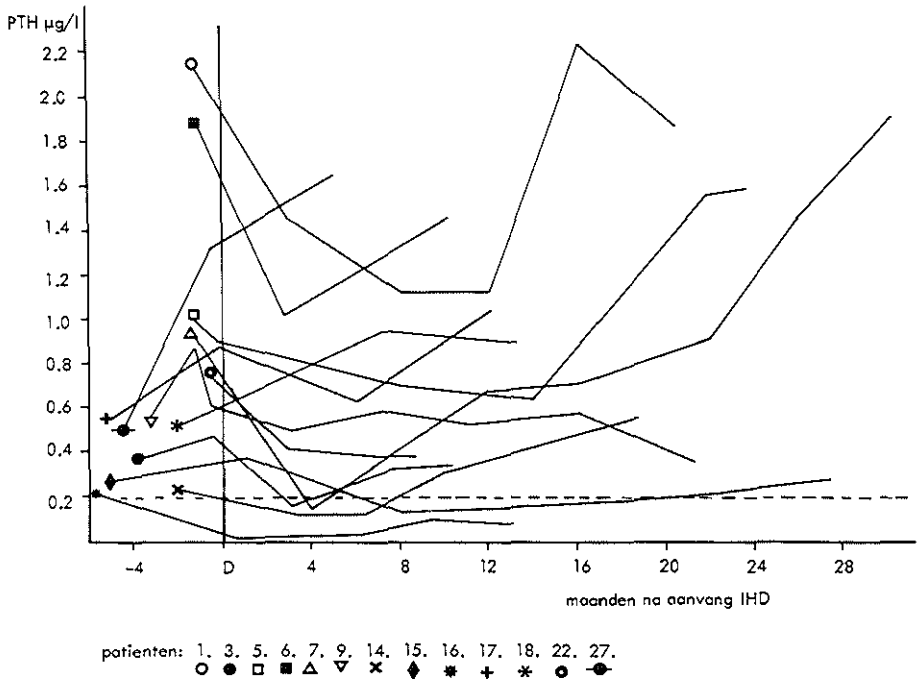


Fig. VI - 15 Verloop van het PTH-gehalte van het serum bij 13 patiënten met CNI, vóór en na aanvang van IHD. De onderbroken lijn geeft de bovengrens van het normale gebied aan. D = aanvang behandeling met IHD.

halte, na instelling van IHD-behandeling weer een stijging van het PTH-gehalte op. Opvallend is dat bij vijf van deze zeven patiënten (1, 5, 6, 7 en 17) in dezelfde periode de P-concentratie eveneens weer toenam (Fig. VI - 16) en dat bij zes van de zeven ook het alkalische fosfatase (weer) steeg (Fig. VI - 17). Bij vier van deze zeven patiënten waren reeds subperiostale ophelderingen in het handskelet aanwezig, terwijl zij bij twee ontstonden. Dit contrasteert sterk met het ontbreken van een toename van de PTH- en alkalische fosfatase-spiegels bij de overige zes patiënten van de groep van 13 (Fig. VI - 15), bovendien kwamen slechts bij één van deze zes patiënten subperiostale ophelderingen voor.

De CT-concentraties liggen zoals eerder vermeld op een enkele uitzondering na, in het normale gebied (Fig. VI - 18). Bij zeven patiënten laten de spiegels een stijging zien, waarbij in vijf gevallen het CT-gehalte in de normale range blijft, bij vier patiënten daalt het CT-gehalte echter, terwijl bij de laatste het CT vrijwel gelijk blijft na het instellen van IHD. Er wordt derhalve geen consistente stijging van het CT-gehalte van het serum gevonden, althans niet met de hier toegepaste assay.



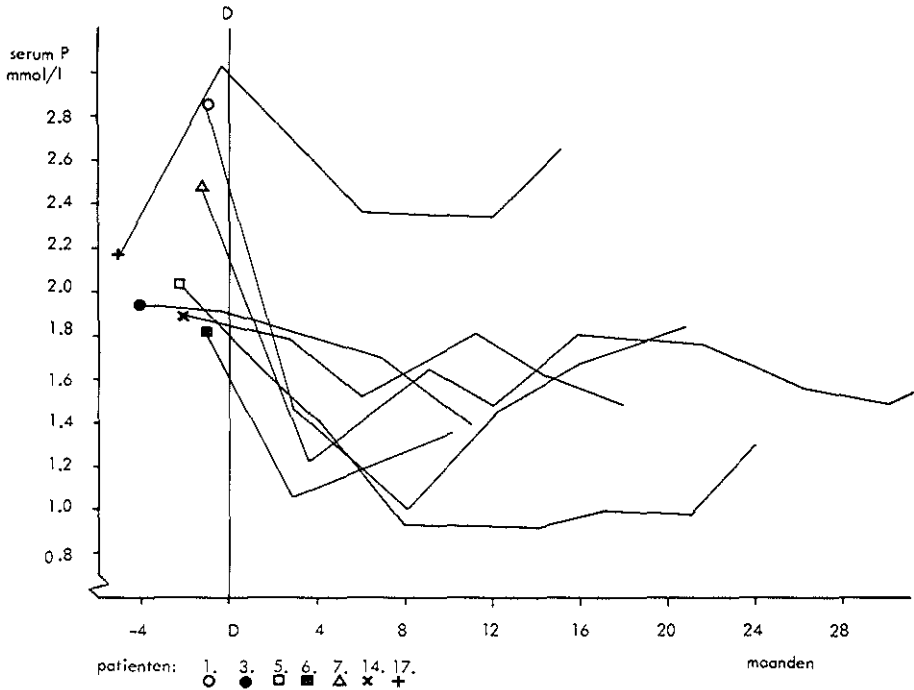


Fig. VI - 16 Verloop van het P-gehalte van het serum bij 7 patiënten met CNI bij wie na instelling van behandeling met IHD, na een initiële daling van het PTH-gehalte, weer een stijging optrad.

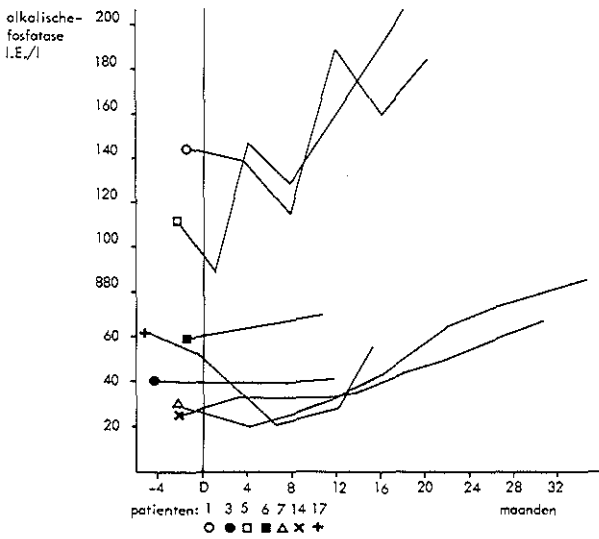


Fig. VI - 17 Verloop van het alkalische fosfatase-gehalte van het serum bij 7 patiënten met CNI, bij wie na instelling van behandeling met IHD na een initiële daling van het PTH-gehalte weer een stijging optrad.

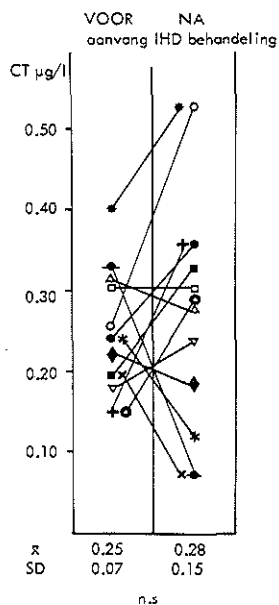


Fig. VI - 18 CT-concentraties in het serum van 13 patiënten met CNI, 2 maanden vóór en na aanvang van de behandeling met IHD, voor de betekenis van de symbolen zie Fig. VI - 15.

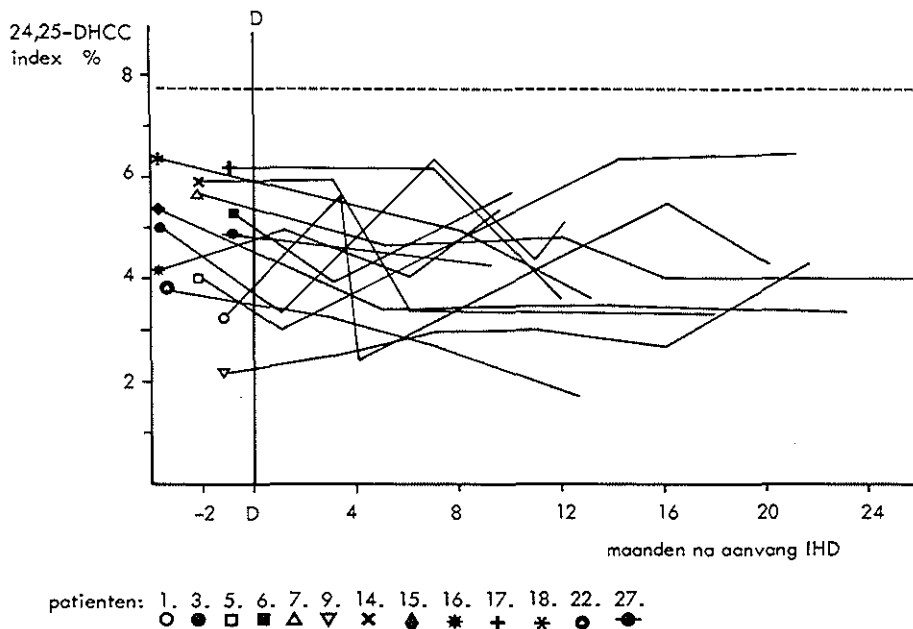


Fig. VI - 19 Verloop van de 24,25-DHCC-index bij 13 patiënten met CNI, vóór en na aanvang van behandeling met IHD. De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied aan. D = aanvang behandeling met IHD.

F. Vitamine D-metabolieten.

Tijdens behandeling met IHD werd voor 25-HCC éénmaal een spiegel van minder dan 20 nmol per l gezien bij een patiënt met een nefrotisch syndroom (nr. 26). Afgezien van een incidentele daling in het "borderline"-gebied (20 tot 30 nmol per l) werden met de beide in hoofdstuk IV besproken bepalingmethoden, evenals vóór behandeling met IHD, steeds normale 25-HCC-spiegels in het serum gevonden. De waarden voor de 24,25-DHCC-index zijn voor alle 13 patiënten, niet met een vitamine D-derivaat (i.c. dihydral) behandeld, steeds subnormaal (Fig. VI - 19). Bij drie van de vijf patiënten die in dezelfde (IHD) fase met dihydral<sup>®</sup> werden behandeld liggen er een aanzienlijk aantal van de 24,25-DHCC-index-waarden in het normale gebied (Fig. VI - 20).

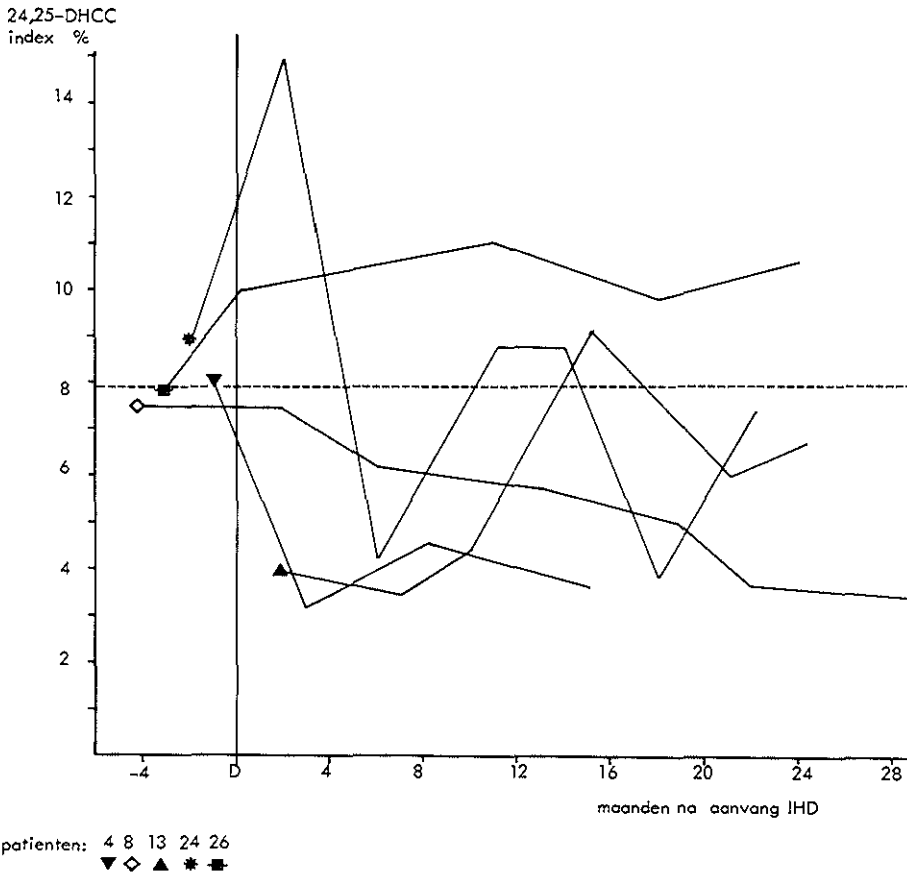


Fig. VI - 20 Verloop van de 24,25-DHCC-index bij 5 patiënten met CNI die met Dihydral<sup>®</sup> werden behandeld, vóór en na aanvang van behandeling met IHD. De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied aan. D = aanvang behandeling met IHD.

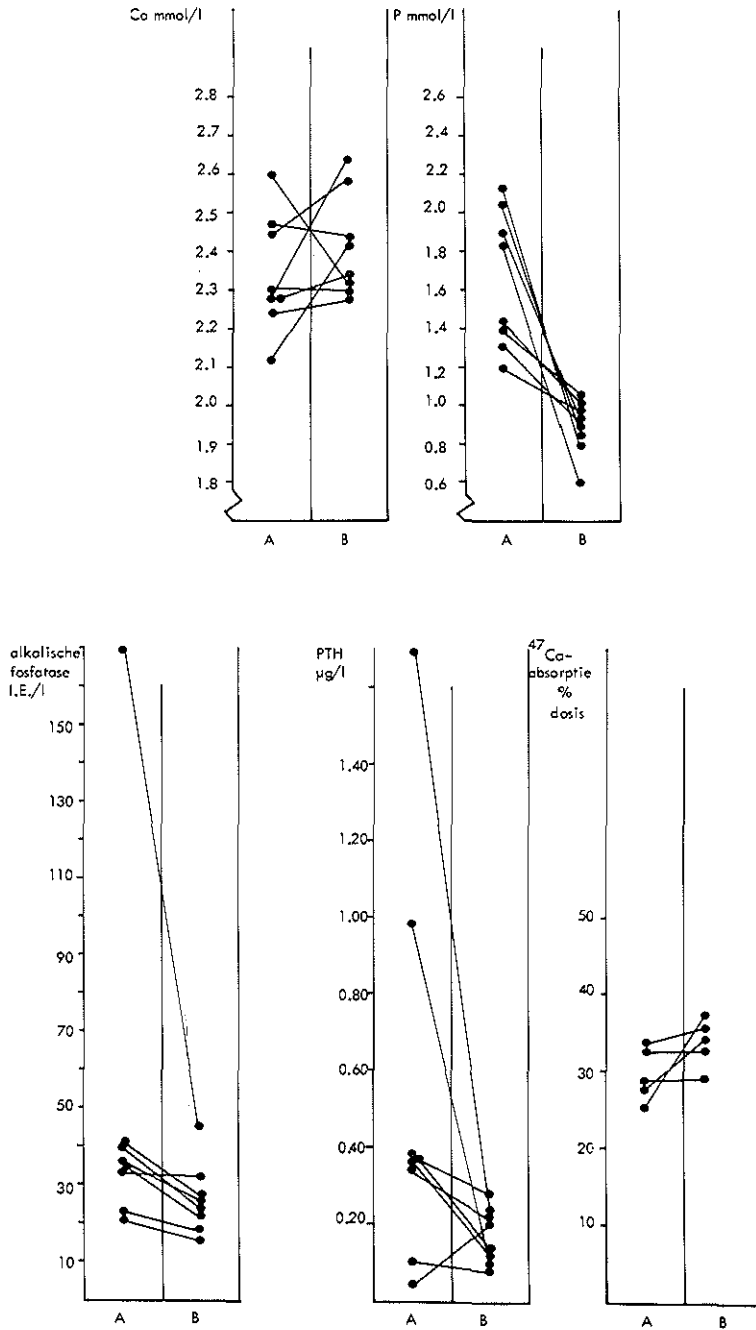


Fig. VI-21 Intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$ , en serum concentraties van Ca, P, PTH en alkalische fosfatase vóór en na niertransplantatie bij 5, resp. 8 patiënten met CNI. A = 1 - 3 maanden vóór transplantatie. B = 1 - 3 maanden na transplantatie.

#### Ad 4). Niertransplantatie.

De gemiddelde kreatinine-klaring bedroeg na één maand  $65 \pm 15$  (n = 8) en voor zover van toepassing (n = 6) na een half jaar  $67 \pm 21$  (SD) ml per min. Eén tot drie maanden vóór en na niertransplantatie verschilde bij deze kleine groep getransplanteerde patiënten het gemiddelde Ca-gehalte van het serum niet. Bij één patiënt (13) trad een duidelijke daling op, waarbij echter opgemerkt moet worden dat intussen de dosering dihydral<sup>®</sup> verlaagd was van 0.4 tot 0.2 mg per dag (dit betrof de enige patiënt van deze groep, die met dihydral<sup>®</sup> behandeld werd, Fig. VI - 21). Eveneens één tot drie maanden ná transplantatie bleek wel een uitgespro-

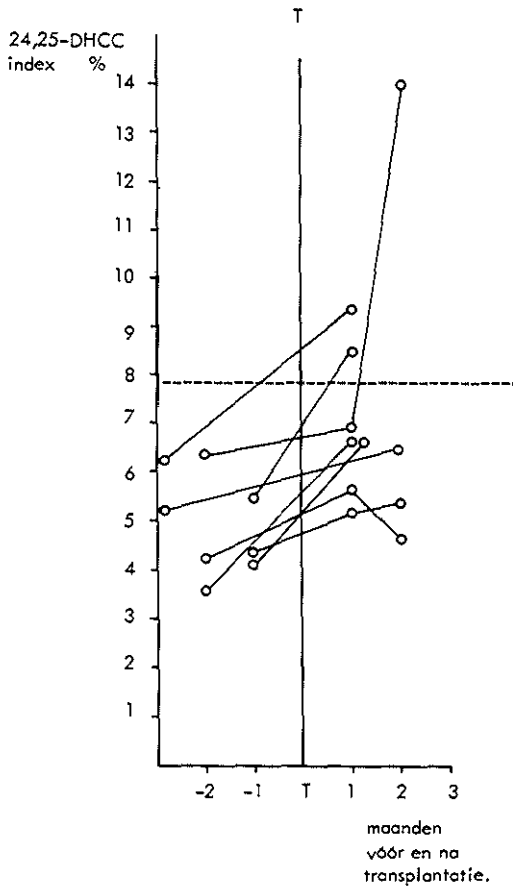


Fig. VI - 22 24,25-DHCC-index vóór en na niertransplantatie. Gem.  $\pm$  SD vóór resp. na transplantatie:  $4.2 \pm 1.8$  en  $6.9 \pm 1.4\%$  ( $p < 0.005$ ).

T = transplantatie. De onderbroken lijn geeft de ondergrens van het normale gebied aan.

ken daling van het P-gehalte van het serum te zijn opgetreden ten opzichte van de waarde één tot drie maanden vóór deze ingreep (Fig. VI - 21). Bij één patiënt (1) bestond er voor transplantatie een sterk verhoogd PTH- en alkalische fosfatase-gehalte van het serum. Beide daalden na transplantatie tot een normale waarde. Bij vier van de overige zeven patiënten daalde het licht verhoogde PTH-gehalte van het serum vrijwel tot normaal (Fig. VI - 21). Bij vijf patiënten werd de  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie voor en na transplantatie gemeten, het gemiddelde veranderde niet.

Samenvattend wordt bij deze groep patiënten al kort (één tot drie maanden) na transplantatie een normalisering van de hier genoemde biochemische parameters gezien. Hierna hebben wij bij een maximale observatieduur van 16 maanden na transplantatie geen veranderingen van bovengenoemde grootheden meer waargenomen. Bij alle acht patiënten vonden wij na transplantatie een hogere 24,25-DHCC-index dan daarvoor. Bij één patiënt werd zelfs een hoog-normale waarde (14%) voor deze index gevonden. Bij gebruik van de zo kort mogelijk voor en na transplantatie beschikbare waarden (één waarneming per patiënt voor en na transplantatie) werd na transplantatie gemiddeld een significant hogere waarde gevonden dan daarvoor (Fig. VI - 22).

#### Ad 1 t/m 4

*Histologie:* De uitkomsten van het histologisch onderzoek van de botbiopsieën (zie hoofdstuk IV) vóór IHD genomen bij niet met vitamine D-derivaten behandelde patiënten, wordt in hoofdstuk VIII besproken in vergelijking met de resultaten van dit onderzoek vóór en na behandeling met  $1\alpha\text{-HCC}$  of 1,25-DHCC.

#### c. Bespreking

De veranderingen in Ca-, P-, alkalische fosfatase- en PTH-gehalten van het plasma gerelateerd aan de vermindering van nierfunctie gevonden bij transversaal onderzoek (hoofdstuk V) vinden een bevestiging in de resultaten van het longitudinaal onderzoek bij niet-gedialyseerde patiënten. De beschreven veranderingen in deze parameters treden over het algemeen gelijktijdig, d.w.z. in dezelfde fase van de nierinsufficiëntie op. Bij het transversale onderzoek werden aanwijzingen verkregen dat verlaging van de 24,25-DHCC-index voorafgaat aan de veranderingen in de andere onderzochte biochemische parameters. Hierbij moet wel worden aangetekend, dat bij het longitudinale onderzoek deze index verder bleek af te nemen vanaf een waarde die bij vier van de acht patiënten aanvankelijk nog normaal was (Fig. VI - 9).

In de meeste centra nemen tijdens de behandeling met IHD de skeletaandoeningen en de weke delen-calcificaties toe in ernst of zijn zij, in het gunstigste geval, stationair (Kim e.a., 1968; Coburn e.a., 1969 b; Parfitt e.a., 1971). Sommigen vermelden verbetering van de skeletaandoening (Fournier e.a., 1969; Kaye, 1969). Indien tijdens behandeling met IHD botafwijkingen ontstaan of ernstiger worden, blijkt over het algemeen de osteomalacische component hiervoor verantwoordelijk te zijn. Hierbij worden meer klachten over pijn en vaker (pseudo) fractures gevonden dan bij een secundaire hyperparathyreoïdie zondermeer. Aan het aetiologisch belang van de afwezigheid van 1,25-DHCC voor het ontstaan van de afwijkingen juist in deze fase van de behandeling van CNJ kan worden getwijfeld, aangezien in de praedialysefase de vorming van 1,25-DHCC ook reeds verlaagd of afwezig is. Pierides e.a. (1976) en Ahmed e.a. (1976) hebben erop gewezen dat fosfaatdepletie een mogelijke oorzakelijke factor zou kunnen zijn. Het feit dat de dialysevloeistof over het algemeen vrijwel geen fosfaat bevat, samen met de eiwitbeperking en het gebruik van orale fosfaatbinders, zouden inderdaad tot overmatige fosfaat onttrekking kunnen leiden. Hoewel bij vrijwel al onze patiënten vlak na de aanvang van de behandeling met IHD een duidelijke daling van het P-gehalte van het serum optrad, bleven de P-concentraties vrijwel steeds verhoogd. Ook de secundaire stijging van het P-gehalte van het serum die wij bij een aantal patiënten bij langerdurende behandeling (vanaf 4 maanden) met IHD zagen (Fig. VI - 13) pleit ertegen dat bij onze patiënten fosfaatdepletie in het spel was.

In enkele andere centra wordt secundaire hyperparathyreoïdie als biochemisch en histologisch belangrijkste component bij de toename van de botafwijkingen tijdens dialyse aangetroffen (Rubini e.a., 1969; Pendas, 1969). Een verklaring voor deze verschillen in bevindingen is nooit gegeven. Sommigen menen dat een hoog fluoridegehalte van het water met name de osteomalacische afwijkingen in de hand werkt (Siddiqui en Kerr, 1971; Platts e.a., 1973), terwijl anderen een te hoog aluminiumgehalte van het water als oorzakelijke factor menen te moeten aanmerken (Ward e.a., 1978). Tenslotte is er het nog niet opgeloste probleem van de optimale hoogte van het Ca-gehalte van het badwater. Over het algemeen wordt een gehalte van 6.0 mg per 100 ml als zodanig beschouwd, hoewel sommigen menen dat deze concentratie te laag is om een secundaire hyperparathyreoïdie tegen te gaan (Goldsmith e.a., 1971) en anderen bij hogere Ca-concentratie een hogere frequentie van weke delen-calcificaties zien (Wing, 1968; Regan e.a., 1976). Bij een gemiddeld Ca-gehalte van het spoelwater van 5.8 mg per 100 ml vonden wij bij alle 10 patiënten, bij wie wij metingen deden, een influx van Ca, die varieerde van 92 tot 970 mg per dialyse-zitting. Op grond hiervan moet het optreden van een ernstige Ca-depletie als onwaarschijnlijk

worden beschouwd. Dit weerspiegelt zich ook in het feit dat wij vrijwel steeds normale Ca-gehalten van het serum vonden tijdens IHD-behandeling, dit in tegenstelling tot wat wij vóór dialyse waarnamen. Gezien de verbetering van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie na de aanvang van behandeling met IHD (Fig. VI - 14) zal de verhoging van het Ca-gehalte van het serum in ieder geval ten dele veroorzaakt zijn door een verbeterde absorptie van Ca. Anderzijds zou de positieve Ca-balans die althans tijdens één dialyse-zitting gezien is (zie boven) hieraan ook kunnen bijdragen.

Voor de verbetering van de Ca-absorptie behoren twee oorzaken tot de mogelijkheden die beide samenhangen met de verlaging van het P-gehalte van het serum na instelling van behandeling met IHD.

1. Een direct effect van hoge P-concentraties in het serum op de intestinale absorptie van Ca. Swaminathan e.a. (1978) toonden bij kippen aan dat, onafhankelijk van het gehalte aan 1,25-DHCC in het serum, hoge P-spiegels in het serum een remmende invloed hebben op de intestinale absorptie van Ca. Indien dit gegeven geëxtrapoleerd wordt naar onze resultaten dan zou verlaging van het P-gehalte van het serum na instelling van IHD een verbetering van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie kunnen veroorzaken.
2. Een effect van hoge P-concentraties op de 1  $\alpha$ -hydroxylering van 25-HCC in de nier. Een verlaging van het P-gehalte van het serum zou derhalve een verbetering van de vorming van 1,25-DHCC in het nog resterende nierweefsel kunnen veroorzaken. Een negatieve correlatie tussen P-gehalte van het serum en de vorming van 1,25-DHCC is bij patiënten met andere afwijkingen dan CNI aangetoond (Gray e.a., 1977). De vraag doet zich hier voor in hoeverre een daling van het gemiddelde P-gehalte van het plasma van deze groep (nl.  $2.19 \pm 0.47$  mmol/l vóór IHD naar  $1.65 \pm 0.43$  mmol/l na instelling van deze behandeling) van enig effect kan zijn op de 1  $\alpha$ -hydroxylering in een zeer kleine hoeveelheid functionerend corticaal nierweefsel. Dit mechanisme wordt nog minder waarschijnlijk in het licht van het feit, dat er weliswaar een significante daling van het P-gehalte van het serum optrad, maar dat het gemiddelde P-gehalte tijdens behandeling met IHD nog in het supranormale gebied lag.

De verhoging van de  $\text{Fa}^{47}\text{Ca}$  die wij na het begin van behandeling met IHD vonden, is een waarneming die maar tot op zekere hoogte in overeenstemming is met gegevens van andere onderzoekers (Messner e.a., 1969; Coburn e.a., 1973; Chanard e.a., 1974). Bij 16 patiënten die met haemodialyse werden behandeld, vonden Messner e.a. (1969) intestinale Ca-absorptiewaarden, die iets hoger lagen dan bij 26 patiënten die niet gedialyseerd werden ( $p < 0.0025$ ). Deze waarden bleven echter wel duidelijk beneden die, gevonden bij normale individuen ( $p < 0.0005$ ). In het onderzoek



van Messner e.a. betrof het geen metingen bij dezelfde patiënten vóór en na instelling van haemodialyse. Coburn e.a. (1973), die van vrijwel dezelfde methode als wij gebruik maakten, vonden bij 96 patiënten met CNI die niet gedialyseerd werden (en van wie de nierfunctie niet werd vermeld) een gemiddelde  $Fa^{47}Ca$  van  $17 \pm 6\%$ . Bij 58 met IHD behandelde patiënten vonden zij een waarde van  $19 \pm 5\%$  en bij 39 getransplanteerde patiënten  $21 \pm 7\%$ . Bij normale proefpersonen namen zij een absorptie van  $25 \pm 6\%$  waar. Deze waarden zijn duidelijk lager en de verschillen tussen patiënten en normalen zijn kleiner dan die door anderen worden gerapporteerd. Met een "bloedige" methode (en slechts 100 mg Ca als carrier bij de orale toediening) vonden Chanard e.a. (1974) een gemiddelde waarde voor  $Fa^{47}Ca$  van  $35.8 \pm 2.6\%$  bij 20 patiënten met CNI, die niet gedialyseerd werden en van  $50.6 \pm 2.3\%$  bij 20 andere patiënten die wel met IHD werden behandeld. Bij negen normale personen kwamen zij tot een  $Fa^{47}Ca$  van  $58.8 \pm 7\%$ . Deze waarden liggen duidelijk hoger dan die wij bij onze patiënten en normale individuen vonden, hetgeen o.i. toe te schrijven is aan de geringe hoeveelheid niet-gemerkt Ca die Chanard c.s. als carrier bij de orale toediening van de tracer gebruikten. Verder moet worden opgemerkt, dat deze auteurs de metingen bij de patiënten die IHD ondergingen, 10 tot 12 uur na de laatste dialyse-zitting verrichtten. Ons inziens geven metingen zo dicht mogelijk vóór de volgende dialyse-behandeling een juister beeld aangezien dit metabool gezien de ongunstigste periode voor de patiënten is, waarvan de metingen het meest vergelijkbaar zijn met de gegevens verkregen vóór het begin van IHD. In 1976 publiceerden Chanard en medewerkers de resultaten van  $Fa^{47}Ca$ -metingen bij 17 patiënten met CNI, waarbij de metingen 10 tot 12 uur vóór de volgende dialysebehandeling werden verricht. Zij vonden bij deze patiënten gemiddeld géén hogere waarde dan bij 35 patiënten met CNI, die niet met IHD werden behandeld. Zij beschikten echter niet over meetresultaten van dezelfde patiënten vóór en na instelling van IHD. Er lijken géén duidelijke verschillen in de patiëntenpopulatie of de behandelingsmethode te zijn die de verschillen tussen de resultaten van andere auteurs en de onze kunnen verklaren. Echter géén van deze groepen verrichtte metingen bij dezelfde patiënten vóór en na instelling van IHD. Bovendien zijn er methodologische verschillen zoals de hoeveelheid carrier en het door ons geïntroduceerde interval van 7 dagen tussen intraveneuze en orale toediening van het Ca-isotoop, dit om voor zowel de intraveneuze als de orale meting eenzelfde relatie tot de volgende dialysebehandeling te garanderen.

Wat betreft het vitamine D-metabolisme kunnen wij afgezien van hetgeen in hoofdstuk V is besproken, nog het volgende opmerken.

Uit recente literatuurgegevens is naar voren gekomen dat 24,25-DHCC

biologische activiteiten zou kunnen hebben. Hoewel aanvankelijk vooral 1,25-DHCC een negatief feed-back effect op de secretie van PTH leek te hebben (Henry en Norman, 1975 a; Altenähr e.a., 1976), zijn er nu aanwijzingen dat 24,25-DHCC in dit opzicht belangrijker is (Canterbury e.a., 1978). Kanis e.a. (1978) lieten zien dat 24,25-DHCC in doseringen van 1 - 10  $\mu\text{g}$  per dag bij anefrici en patiënten met andere stoornissen in de Ca- en P-stofwisseling de intestinale Ca-absorptie deed toenemen, welk effect vergelijkbaar was met dat van tienmaal lagere doseringen 1,25-DHCC. Bovendien vonden zij dat de Ca- en P-balans in positieve richting veranderden, terwijl in geen enkel geval, zoals dat bij het geven van 1,25-DHCC veelal het geval is, een hypercalcaemie en/of een hyperfosfataemie optraden. Ook nam onder invloed van 24,25-DHCC de uitscheiding van Ca in de urine niet toe, zodat zij concludeerden dat deze metaboliet mogelijk in sterkere mate dan 1,25-DHCC de afzetting van hydroxy-apatiet in het skelet bevordert. Voorts namen Ornoy e.a. (1978) waar dat rachitische afwijkingen bij kuikens fraai genazen onder invloed van de combinatie van 24,25-DHCC en 1  $\alpha$ -HCC en dat zelfs met 24,25-DHCC alléén (i.t.t. met 1  $\alpha$ -HCC alléén) de botafwijkingen geheel verdwenen. De hypothese van Ornoy c.s. is als volgt: zowel 1,25-DHCC als 24,25-DHCC hebben een belangrijk aandeel bij het instand houden van een normaal Ca-, P-, en skeletmetabolisme. 1,25-DHCC zou via effecten op darm, bot, en nier zorgen voor de aanvoer en optimale concentraties in het plasma van Ca en P. 24,25-DHCC zou mogelijk meer invloed hebben op de inbouw van Ca-fosfaat in het bot. Met het oog op bovenstaande gegevens en hypothese zouden dus de lage 24,25-DHCC-spiegels of de lage waarden voor de 24,25-DHCC-index bij niet-gedialyseerde en gedialyseerde patiënten met CNI van evenveel belang kunnen zijn voor het ontstaan en progressie van de botafwijkingen als de door anderen gerapporteerde lage 1,25-DHCC-spiegels. Tegen een belangrijke rol van 24,25-DHCC in hetzij het mineralisatieproces, hetzij de homeostase van het Ca-gehalte van het serum wordt wel aangevoerd dat in het algemeen de spiegel van 24,25-DHCC die van 25-HCC met name ten aanzien van de seizoenswisselingen lijkt te volgen (Taylor e.a., 1978; Taylor, 1979).

#### d. Conclusies

Binnen de door ons bestudeerde groep patiënten met CNI werden in de verschillende fasen van deze ziekte de volgende veranderingen in de gemeten grootheden gevonden:

##### *I. Praedialyse-fase.*

- a). Eén tot anderhalf jaar vóór het begin van behandeling met haemo-

dialyse bestond er bij vrijwel alle patiënten een laag-normaal Ca-gehalte van het serum ( $2.29 \pm 0.77$  mmol/l). Onmiddellijk vóór haemodialyse vonden wij een gemiddelde waarde van  $2.15 \pm 0.15$  mmol/l. Deze waarde is echter niet significant lager dan die één tot anderhalf jaar tevoren gemeten (Fig. VI - 1).

b). Bij voortgaand verlies van nierfunctie nam de hyperfosfataemie toe (Fig. VI - 2). Over het algemeen gaf toediening van aluocol of verhoging van de dosering, slechts een tijdelijke verbetering van het P-gehalte van het serum.

c). Een verhoogd gehalte alkalische fosfatase van het serum bleek vóór haemodialyse géén algemene bevinding te zijn.

d). Vrijwel steeds werden verhoogde PTH-concentraties in het serum gevonden. Bij verder dalende nierfunctie bleek bij zes patiënten het PTH-gehalte verder te stijgen. Indien het PTH-gehalte toenam was de stijging sneller bij een tevoren reeds langer bestaande nierinsufficiëntie (Fig. VI - 6).

e). Gedurende de laatste 12 maanden voor het begin van de behandeling met IHD werd een daling van de gemiddelde intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  gevonden van laag-normaal naar verlaagd (van  $33.9 \pm 8.8$  naar  $24.8 \pm 6.1\%$ , Fig. VI - 3 en - 4).

f). De 25-HCC-concentratie in het serum is steeds normaal. In absolute zin waren de concentraties in het serum van 24,25-DHCC vrijwel steeds beneden de ondergrens van het normale gebied. Opvallend is dat bij vier van de acht patiënten de 24,25-DHCC-index (d.w.z. de verhouding van 24,25-DHCC en 25-HCC) bij voortgaande afname van de nierfunctie van normaal naar subnormaal daalde.

g). Er blijkt een positieve correlatie te bestaan tussen 1,25-DHCC-spiegels in het serum en de kreatinine-klaring bij patiënten met CNI. Ook de afname van het gehalte 1,25-DHCC in het serum lijkt eerder op te treden (kreatinine-klaring  $\pm 40$  ml/min.) dan de veranderingen van de in hoofdstuk V beschreven indices.

## *II. Dialyse-fase.*

a). Direct na instelling van de behandeling met IHD werd over het algemeen een stijging van het Ca-gehalte van het serum gevonden. Bij een aantal patiënten trad na verloop van tijd bij langer durende behandeling met IHD weer een daling van het Ca-gehalte van het serum op (Fig. VI - 12).

b). Hoewel na aanvang van de haemodialyse een significante daling van het P-gehalte van het serum optrad, bleef in tegenstelling tot het Ca-gehalte in deze fase, dit gehalte toch verhoogd (Fig. VI - 13). In enkele indi-

viduele gevallen (n = 4) steeg het P-gehalte bij langer (> 4 maanden) durende behandeling met IHD zelfs weer.

c). Na instelling van behandeling met IHD trad een blijvende verbetering op van de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  (Fig. VI - 14). Met name verlaging van het P-gehalte van het serum zou verantwoordelijk voor de verbetering van  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie kunnen zijn, hetzij via een direct effect op de darmwandmucosa, hetzij via een verbeterde vorming van dihydroxy-vitamine D-metabolieten in de nier.

d). 1. Indien het PTH-gehalte van het serum voor de behandeling met haemodialyse verhoogd is, daalt dit vrijwel altijd direct (1 - 3 maanden) na instelling van deze behandeling (Fig. VI - 15).

In een aantal gevallen werd na verloop van tijd weer een stijging van het PTH-gehalte gevonden. Indien deze daling en secundaire stijging, na instelling van behandeling met IHD, voor het PTH-gehalte van het serum gevonden werd, verliep dit vrijwel altijd parallel met eenzelfde gedrag van het P- (Fig. VI - 16) en het alkalische fosfatase-gehalte van het serum (Fig. VI - 17). Subperiostale ophelderingen in het handskelet werden vrijwel alleen bij deze patiënten gevonden.

2. De CT-concentraties in het serum waren zowel vóór als tijdens behandeling met IHD normaal tot (in enkele gevallen) licht verhoogd. Een duidelijke tendens in het verloop van deze spiegels werd niet waargenomen (Fig. VI - 18).

e). Tijdens behandeling met IHD werden afgezien van een enkele daling tot het "borderline"-gebied steeds normale 25-HCC-concentraties en deficiënte 24,25-DHCC-spiegels (Fig. VI - 19) gevonden. Dihydral® leek een stimulerend effect op de vorming van 24,25-DHCC te hebben (Fig. VI - 20).

### *III. Niertransplantatie.*

Na niertransplantatie werden, binnen de kleine onderzochte groep patiënten de volgende grootheden normaal (Fig. VI - 21).

a. P-gehalte van het serum.

b. Indien tevoren verhoogd, de concentratie van PTH in het serum.

c. Het alkalische fosfatase-gehalte van het serum.

Tevens nam de 24,25-DHCC-index bij alle patiënten toe, bij drie van de acht tot in het normale gebied (Fig. VI - 22).

## HOOFDSTUK VII

### FOTONABSORPTIOMETRIE (DENSITOMETRIE)

- a. Inleiding
- b. Methode
- c. Resultaten
- d. Bespreking
- e. Conclusies

#### a. Inleiding

Hoewel de thans bekende gegevens over renale osteodystrofie met verschillende onderzoeksmethoden verkregen niet steeds met elkaar overeenstemmen, kan in het algemeen gesteld worden dat er, met verschillende technieken gemeten, een voortgaande daling van het mineraalgehalte van het bot optreedt tijdens het bestaan van CNI, zowel in de periode vóór eventuele IHD, in de loop van de behandeling met IHD en in sommige gevallen ook na niertransplantatie (Doyle, 1961; Meema e.a., 1972; Sherrard e.a., 1974; Malluche e.a., 1976).

De door Cameron e.a. ontwikkelde fotonabsorptiometrie waarmee in vivo het mineraalgehalte kan worden gemeten, blijkt althans indien toegepast op het distale deel van de radius, eenvoudig uit te voeren en reproduceerbaar te zijn (Cameron en Sørensen, 1963; Sørensen en Cameron, 1967). Het is mogelijk metingen te verrichten met een nauwkeurigheid van 2 tot 3% (Cameron e.a., 1968; Johnston e.a., 1968).

#### b. Methode

Hiervoor wordt verwezen naar hoofdstuk IV, paragraaf e.

#### c. Resultaten

De karakteristieken van de groepen patiënten en de in dit onderzoek betrokken normale personen staan in Tabel VII - I.

De bij 14 normale mannen en 23 normale vrouwen, verkregen waarden voor BMC en BMM (BMC/BW) zijn weergegeven in Fig. VII - 1. De

Tabel VII - I

Karakteristieken van de bestudeerde groepen personen.

	normalen	CNI (a)	CNI (b)
n	37	31	9
m	14	20	8
v	23	11	1
leeftijd:			
$\bar{X}$	28.8	36.3	31.8
SD	6.9	11.7	13.1

CNI (a) = Patienten met CNI voor behandeling met IHD

CNI (b) = Patienten met CNI vóór en tijdens behandeling met IHD

n = aantal m = mannen v = vrouwen  $\bar{X}$  = gemiddelde SD = standaard deviatie

gemiddelde leeftijd van deze groep bedroeg  $28.8 \pm 6.9$  jaar (Tabel VII - I). Voor de leeftijd van patiënten en gezonde personen behoeft, althans binnen de bestudeerde populatie, geen correctie te worden uitgevoerd, aangezien uit verschillende publicaties (Sørensen en Cameron, 1967; Cohn e.a., 1976) bekend is dat, althans bij normalen, tijdens de 3e, 4e en 5e decade geen veranderingen in BMC en BMM van het distale deel van de radius optreden. De gemiddelde waarden voor de BMC van de radius van vrouwen ( $0.95 \pm 0.11$  g/cm) is significant lager dan in mannen ( $1.12 \pm 0.11$  g/cm;  $p < 0.001$ ). Ook de gemiddelde waarde voor de BMM van de radius is bij mannen en vrouwen verschillend met resp.  $0.77 \pm 0.05$  en  $0.70 \pm 0.04$  g/cm<sup>2</sup> ( $p < 0.001$ ). Fig. VII - 2 toont het verloop van de BMM (als percentage van de intitiële waarde) bij zes gezonde mannen en 10 gezonde vrouwen gedurende een observatieperiode van gemiddeld  $11.8 \pm 4.4$  maanden. De gemiddelde  $\Delta$  BMM was  $+0.33 \pm 1.5\%$ . Dit geeft een indruk zowel over de geringe veranderingen in het mineraalgehalte bij normale mensen, althans binnen de duur van de observatieperiode, als over de nauwkeurigheid van de methode. De resultaten van de metingen van de BMM bij 40 patiënten zijn weergegeven in de Tabellen VII - II t/m IV. In Tabel VII - II zijn de

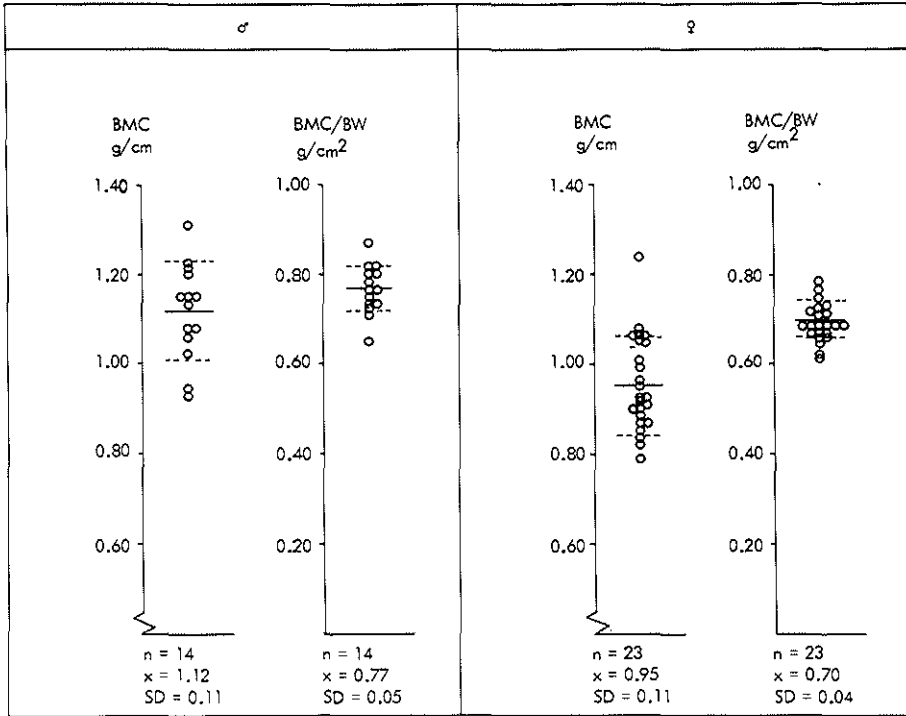


Fig. VII - 1 Individuele en gemiddelde waarden van BMC en BMM (BMC/BW) bij 14 resp. 23 gezonde mannen en vrouwen.

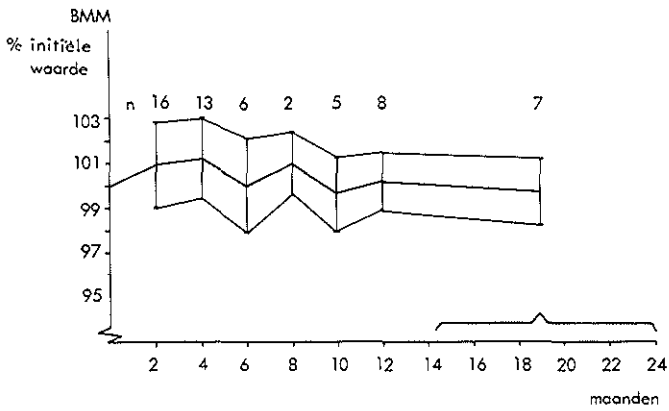


Fig. VII - 2 Verloop van BMM (als percentage van de initiële waarde) bij 6 resp. 10 gezonde mannen en vrouwen gedurende een observatie periode van maximaal 24 maanden.

Tabel VII - II

BMM(gem en SD) bij 14 patiënten met CNI, niet behandeld met IHD.

nr gesl. leeft.	maanden																													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
22 m 27 jr	0,70 0,01 (16)		0,68 0,02 (10)			0,71 0,01 (10)							0,71 0,01 (5)						0,70 0,01 (4)											
27 m 30 jr	0,77 0,02 (14)				0,73 0,01 (11)			0,70 0,02				0,71 0,01 (10)				0,69 0,02 (2)														
36 v 40 jr	0,61 0,02 (20)			0,59 0,01			0,59 0,01				0,58 0,01					0,58 0,01 (14)														
6 v 37 jr	0,70 0,01 (17)		0,71 0,01	0,70 0,01			0,69 0,01		0,68 0,01 (9)		0,68 0,02 (9)				0,66 0,01 (8)				0,66 0,03		0,68 0,01 (4)				0,68 0,02 (4)			0,62 0,01		
2 v 34 jr	0,76 0,01 (14)			0,75 0,01 (16)		0,73 0,01					0,74 0,01 (10)		0,71 0,02			0,73 0,02 (9)			0,69 0,02 (9)							0,72 0,01	0,72 0,02			
17 m 19 jr	0,64 0,02 (22)					0,66 0,01 (17)				0,67 0,01 (16)			0,66 0,01 (8)								0,65 0,01				0,66 0,01 (4)					
25 m 17 jr	0,67 0,02 (24)	0,65 0,01			0,64 0,01 (16)		0,67 0,01 (16)						0,69 0,01 (15)			0,68 0,01 (19)														
19 m 49 jr	0,72 0,02 (26)		0,72 0,01 (24)				0,71 0,02 (24)			0,70 0,02 (17)				0,70 0,01 (17)					0,70 0,02											
23 v 39 jr	0,60 0,02 (21)				0,61 0,01 (15)				0,60 0,01 (16)						0,60 0,02 (15)															
21 v 44 jr	0,73 0,01 (27)				0,73 0,01 (24)								0,71 0,01 (32)								0,73 0,02 (18)									
28 v 53 jr	0,66 0,01 (22)				0,67 0,01 (21)				0,65 0,01 (29)							0,61 0,02 (19)			0,58 0,02											
12 v 22 jr	0,64 0,01 (32)	0,66 0,02		0,65 0,01 (28)			0,68 0,01 (34)					0,65 0,01 (25)	0,65 0,01			0,66 0,01 (25)					0,65 0,02 (20)						0,64 0,02			
20 m 18 jr	0,69 0,01 (40)			0,70 0,03	0,69 0,01 (37)			0,69 0,01							0,70 0,01 (59)					0,72 0,01 (48)					0,71 0,01					
11 m 59 jr	0,58 0,01 (47)		0,59 0,01	0,59 0,02				0,55 0,01 (40)					0,60 0,01 (36)		0,57 0,01 (42)				0,58 0,01 (34)		0,58 0,01					0,58 0,01				

Gemiddelde en SD : van zes direkt opeenvolgende metingen.

De kreatinine-kloring is voor zover bekend bij iedere meting tussen haakjes geplaatst.

nr = patiënten nummer ,  $\frac{m}{v}$  = geslacht m = man v = vrouw



Tabel VII - III

BMM,  $^{47}\text{Ca}$  en nierfunctie bij negen patiënten vóór en tijdens behandeling met IHD.

nr eefl. m/v	A B C	maanden																														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	30			
1 19 m	A B C	0,58 - -			0,59 19,9 5	D	0,61 29,3 1255		0,60 -		0,57 36,9 1385					0,53 29,7 1595				0,53 29,0 1895			0,54 -		0,53 27,0 1490	T			0,56 -	0,58 48	0,58 32,5 52	
3 42 m	A B C	0,67 18,1 8			0,63 -	0,62 26,7 7	D	0,61 42,0 1140	0,59 -		0,58 27,0 975			0,60 37,0 1150	T					0,61 41,2 66									0,63 33,3 58			
4 22 m	A B C	0,59 32,4 8	0,58 23,4 5		0,56 -		D	0,53 27,0 1065				0,56 -	1275		0,54 35,0 1155					0,55 -		T	0,56 -	54	0,56 -	60			0,58 31,1 56			
5 21 m	A B C	0,75 26,4 8	0,74 -		0,72 21,4 6			0,73 20,1 8	D	0,73 40,2 1120			0,70 -	1140		0,71 47,0 1080		0,68 36,4 1560								0,64 36,7 1855				0,63 27,7 1580		
15 54 m	A B C	0,72 30,4 9		0,71 -		0,73 -		0,72 35,3 7	D	0,70 -					0,71 47,0 1080		0,71 40,6 1280				0,69 -	1270							0,68 36,1 1360		0,71 23,4 1030	
9 33 m	A B C	0,77 12,5 8		0,77 -		0,76 -		D			0,75 33,8 1350			0,74 30,5 1325	0,74 -							0,73 -	810			0,72 27,7 1345						
18 18 m	A B C	0,58 35,1 22		0,57 34,4 12		0,58 24,4 5		0,60 -		D		0,58 39,6 1455			0,55 38,3 1465																	
16 32 m	A B C	0,78 24,8 12,5		0,75 -		0,74 40,0 10				0,73 24,0 6		D	0,74 -			0,74 -										0,71 35,2 1230			0,73 25,0 1200			
14 46 v	A B C	0,63 28,3 11			0,61 26,0 9		0,60 35,5 7,5			0,63 -				0,62 22,2 6	D					0,60 31,3 1030			0,62 24,0 970					0,58 33,1 1165				

D: begin haemodialyse

nr : patient nummer

T: Transplantatie

m/v : geslacht

A: BMM, g/cm

B:  $^{47}\text{Ca}$  dosi

C: kreatinine-kloring, ml/min.

(na begin IHD: serum kreatinine  $\mu\text{mol/l}$ )

gegevens verwerkt van het longitudinaal onderzoek bij 14 patiënten vóór behandeling met IHD, in Tabel VII - III die van negen patiënten vóór en tijdens behandeling met IHD en na transplantatie (drie patiënten). In Tabel VII - IV zijn de resultaten vermeld van éénmalige metingen samen met de kreatinine-klaring, bij 17 patiënten voordat zij met haemodialyse werden behandeld.

Tabel VII - IV

BMM en nierfunctie bij 17 patienten vóór behandeling met IHD.

nr	m/v	leeft.	BMM	SD	kreatinine- klaring(ml/min.)
7	m	26	0.81	0.01	7
13	m	41	0.53	0.02	4
26	m	28	0.76	0.01	7
31	m	39	0.76	0.01	35
32	v	40	0.71	0.01	21
37	m	41	0.67	0.01	40
8	m	45	0.80	0.02	7
35	m	28	0.72	0.02	13
33	m	35	0.65	0.02	27
24	v	55	0.63	0.02	6
29	m	31	0.71	0.01	35
10	m	19	0.57	0.01	6
34	m	45	0.71	0.01	33
39	m	31	0.68	0.02	24
40	v	58	0.64	0.01	17
41	v	43	0.64	0.01	18
42	m	32	0.62	0.02	10

In Fig. VII - 3 zijn voor 28 mannelijke patiënten in de praedialyse-fase 57 waarnemingen gerangschikt volgens klassen van kreatinine-klaring. In alle onderzochte stadia (d.w.z. bij kreatinine-klaringen van 40 ml per min. en lager) werd gemiddeld een significant lagere BMM-waarde dan normaal gevonden ( $p < 0.001$  -  $p < 0.05$ ). De groep met een kreatinine-klaring van 5 ml. per min. en lager, d.w.z. vlak vóór het begin van behandeling met IHD had een significant lagere BMM dan de overige groepen met een kreatinine-klaring van 40 ml per min. of lager ( $p < 0.01$ ). Niettemin komen in deze groep ook patiënten met een volkomen normaal mine-raalgehalte van het bot voor. Het aantal waarnemingen dat wij konden

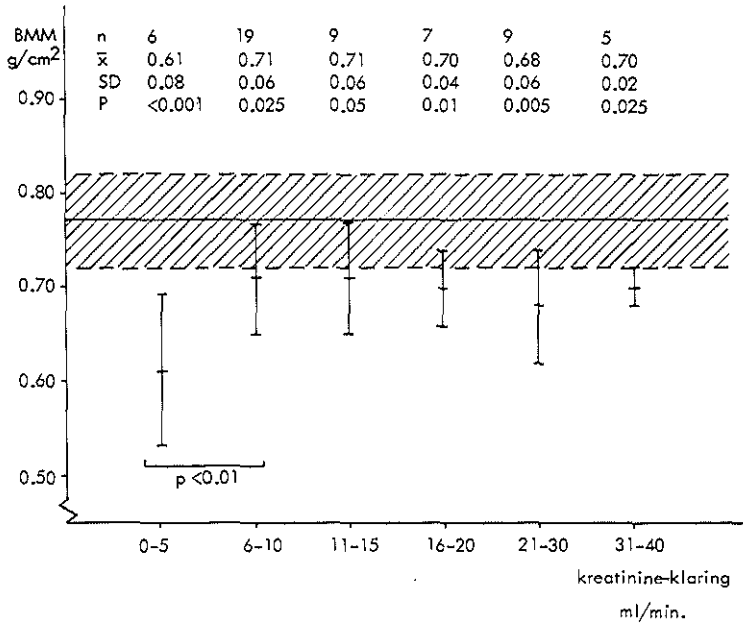


Fig. VII - 3 Gemiddelde BMM ( $\pm$  1 SD) bij verschillende niveaus van nierfunctieverlies bij mannen van 20 - 50 jaar. Het gearceerde gedeelte geeft het normale gebied aan. De p waarde is berekend voor alle groepen t.o.v. de groep gezonde mannen in Fig. VII - 1.

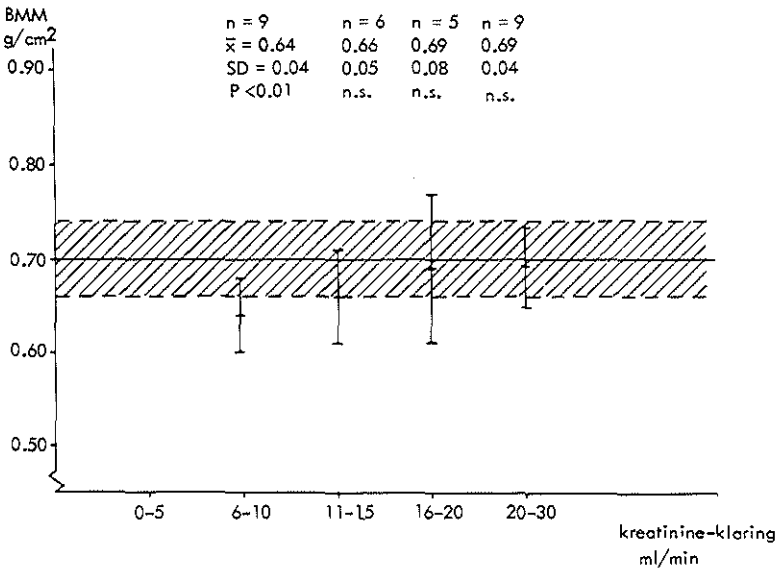


Fig. VII - 4 Gemiddelde BMM ( $\pm$  1 SD) bij verschillende niveaus van nierfunctieverlies bij vrouwen van 20 - 50 jaar. Het gearceerde gedeelte geeft het normale gebied aan. De p waarde is berekend voor alle groepen t.o.v. de groep gezonde vrouwen in Fig. VII - 1.

doen bij vrouwen is gering (Fig. VII - 4). Wat betreft de groep met een kreatinine-kларing van 0 - 5 ml per min. is vergelijking met de groep mannen met eenzelfde mate van nierfunctieverlies niet mogelijk. Voor de groep vrouwelijke patiënten met klaringen van 6 - 10 ml per min. werd gemiddeld een significant lagere BMM-waarde gevonden dan bij normale vrouwen,

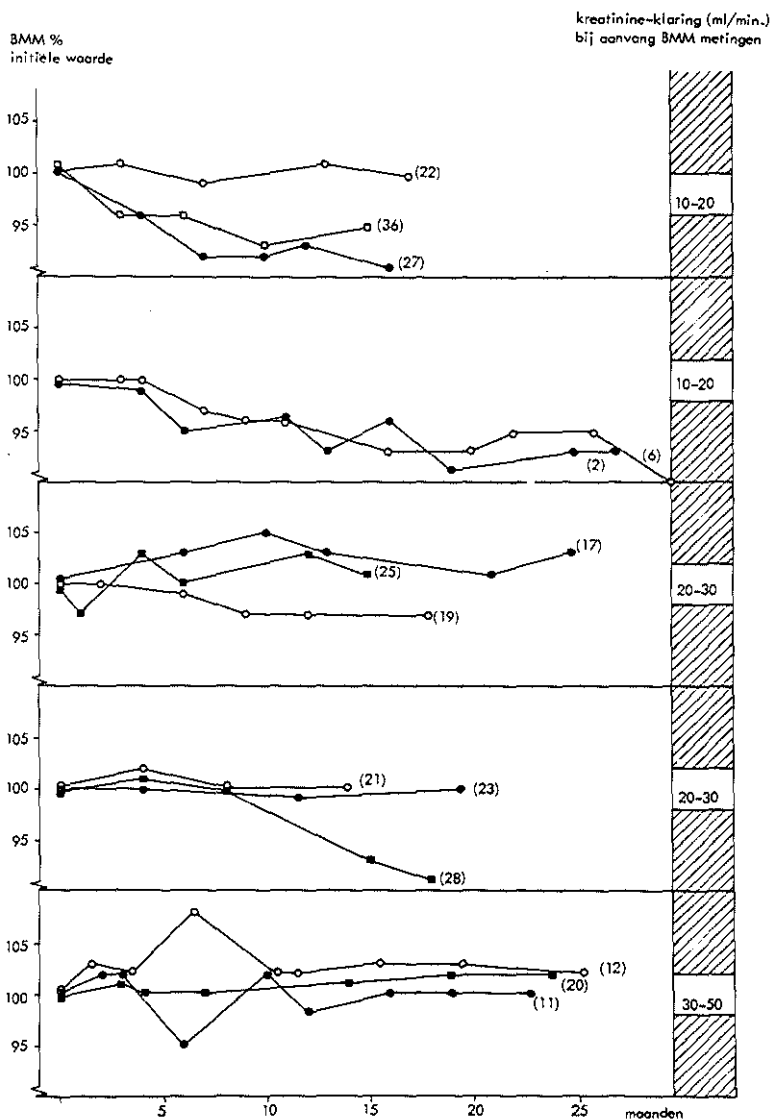


Fig. VII - 5 Verloop van de BMM (als percentage van de initiële waarde) bij 14 patiënten (zie Tabel VII - II) met CNI. Het niveau van de kreatinine-kларing bij het begin van de metingen is in de rechter kolom opgenomen. Tussen haakjes: patiëntaanduiding.

maar in de overige klaringsgroepen (d.w.z. met betere nierfuncties) was dit in tegenstelling tot bij de mannelijke patiënten niet het geval. Gezien het betrekkelijk geringe aantal waarnemingen bij de vrouwen moet dit patroonverschil tussen mannen en vrouwen nog niet als vaststaand worden beschouwd. Vestigen wij onze aandacht alleen op de resultaten bij de mannelijke patiënten dan kan geconcludeerd worden, dat bij kreatinine-klaringen van 40 ml per min. en lager over het algemeen te lage waarden voor de BMM werden gevonden en dat bij de patiënten met de sterkst gestoorde nierfunctie een extra verlies van botmineraal blijkt plaats te vinden.

In Fig. VII - 5 is het verloop van de BMM uitgezet voor de 14 patiënten van wie de individuele gegevens in Tabel VII - II zijn vermeld. Bij vier van de vijf patiënten met een "uitgangsklaring" tussen 10 en 20 ml per min. werd een daling van de BMM gezien, terwijl dit slechts bij één van de negen patiënten met een aanvangsklaring tussen 20 en 50 ml per min. het geval was. In Fig. VII - 6 is voor alle 14 patiënten de BMM aan het eind van de observatieperiode als percentage van de initiële waarde uitgezet tegen de

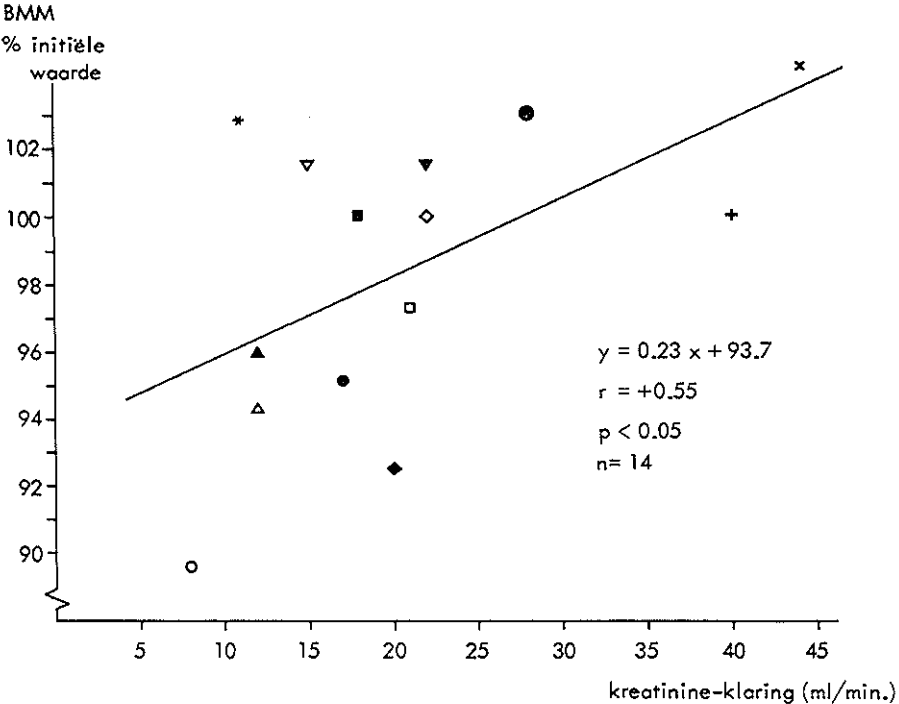


Fig. VII - 6 Relatie tussen BMM (als percentage van de initiële waarde) aan het einde van de observatie periode en de gemiddelde kreatinine-klaring tijdens de observatie periode bij dezelfde 14 patiënten waarvan het individuele verloop in Fig. VII - 5 is weergegeven.

gemiddelde kreatinine-klaring tijdens de observatieperiode (gemiddelde van uitgangs- en eindwaarde). Er bestaat een significante positieve betrekking tussen deze twee grootheden, hetgeen aangeeft dat naarmate de nierfunctie slechter is er gemiddeld meer mineraal uit de radius wordt verloren ( $p < 0.05$ ). Indien de veranderingen in de absolute waarde van de BMM (in  $g/cm^2$ ) in plaats van het percentage van de initiële waarde worden uitgezet (hier niet afgebeeld) wordt dezelfde significante betrekking met de gemiddelde kreatinine-klaring tijdens de observatieperiode gevonden.

In Fig. VII - 7 is het verloop van de BMM wederom als percentage van de initiële waarde aangegeven voor negen patiënten bij wie gedurende

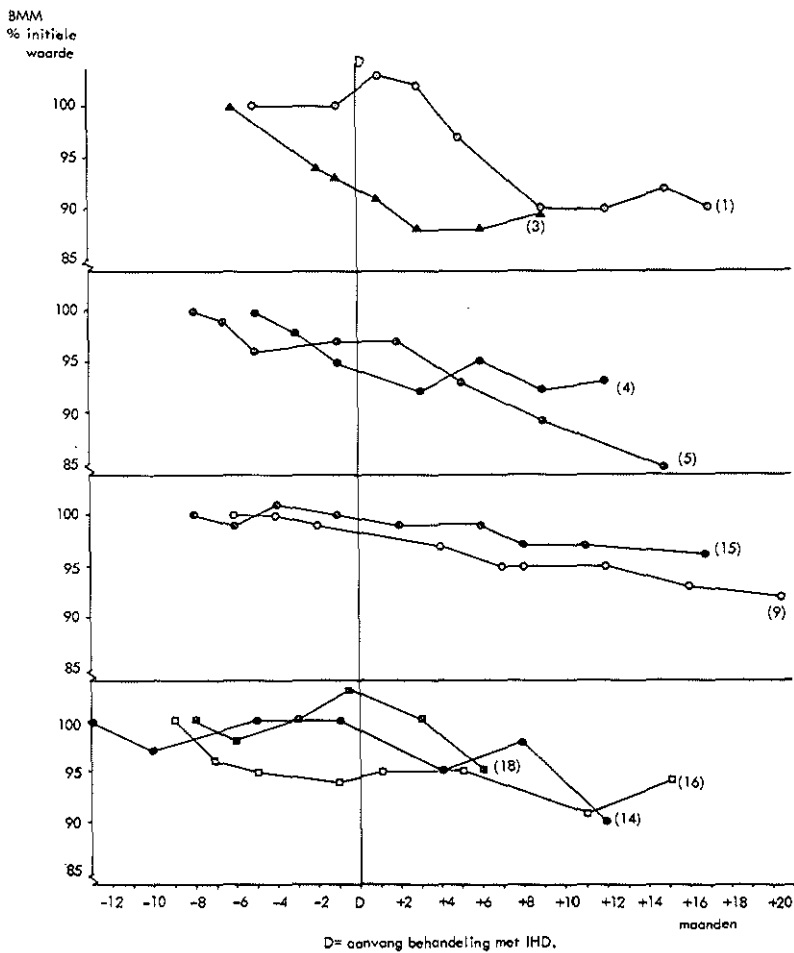


Fig. VII - 7 Verloop van de BMM (als percentage van de initiële waarde) bij 9 patiënten met CNI vóór en na aanvang van de behandeling met IHD. Tussen haakjes: patiëntaanduiding.

een bepaalde periode vóór dialyse (meer dan vijf maanden) en na aanvang van deze behandeling (minimaal zes maanden) het mineraalgehalte van de radius kon worden gevolgd. Tabel VII - III geeft de individuele waarden voor BMM,  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie en kreatinine-kларing (na het begin van behandeling met IHD: het kreatinine-gehalte van het serum) van deze patiënten. Zet men van deze negen patiënten de gemiddelde BMM (percentage van de initiële waarde) vanaf vijf maanden voor het begin van IHD tot 16 maanden daarna uit tegen de tijd dan is de dalende tendens, zowel vóór als tijdens behandeling met dialyse duidelijk (Fig. VII - 8). Het gemiddelde BMM-gehalte daalde tot  $97.8 \pm 3.2\%$  van de initiële waarde gedurende de vijf maanden vóór IHD-behandeling (n.s.). Tijdens IHD daalde de gemiddelde BMM tot resp.  $94.5 \pm 3.0$ ,  $92.0 \pm 3.2$  en  $91.8 \pm 4.6\%$  van de initiële waarde na 6, 12 en 16 maanden. Gezien het significante verschil tussen de regressielijnen, die het verloop van het mineraalgehalte vóór en tijdens de IHD (A, resp. B, Fig. VII - 8) weergeven, werd na het instellen van de behandeling met IHD sneller botmineraal verloren dan daarvoor ( $p < 0.01$ ).

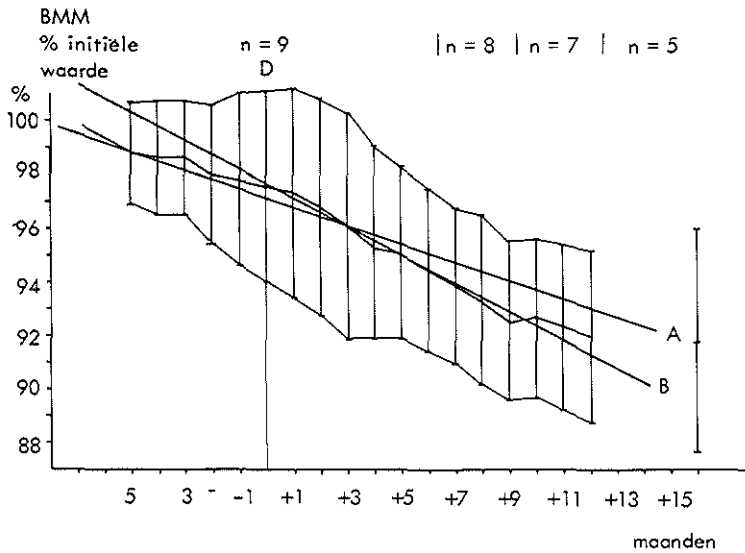


Fig. VII - 8 Verloop van de gemiddelde BMM ( $\pm 1$  SD) bij dezelfde groep patiënten als in Fig. VII - 7.

A :  $y = 0.29 x + 97.2$  B :  $y = 0.50 x + 97.6$ . Er bestaat een significant verschil tussen de hellingen van de lijnen A en B, die resp. de regressie voor en na aanvang van behandeling met IHD weergeven. ( $p < 0.01$ ).

Fig. VII - 9 toont het verloop van de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  van dezelfde negen patiënten (zie voor een grotere groep patiënten Fig. VI - 13,

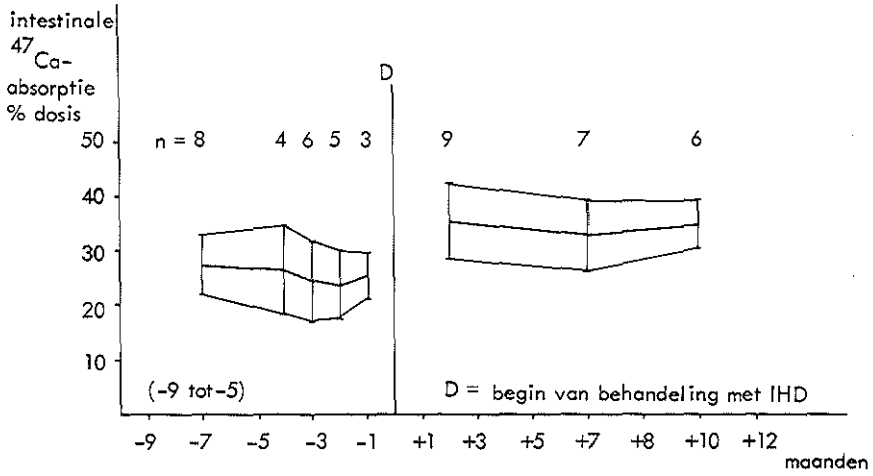


Fig. VII - 9 Verloop van de gemiddelde intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  ( $\pm 1$  SD) vóór en na aanvang van de behandeling met IHD voor dezelfde 9 patiënten als in Fig. VII - 7.

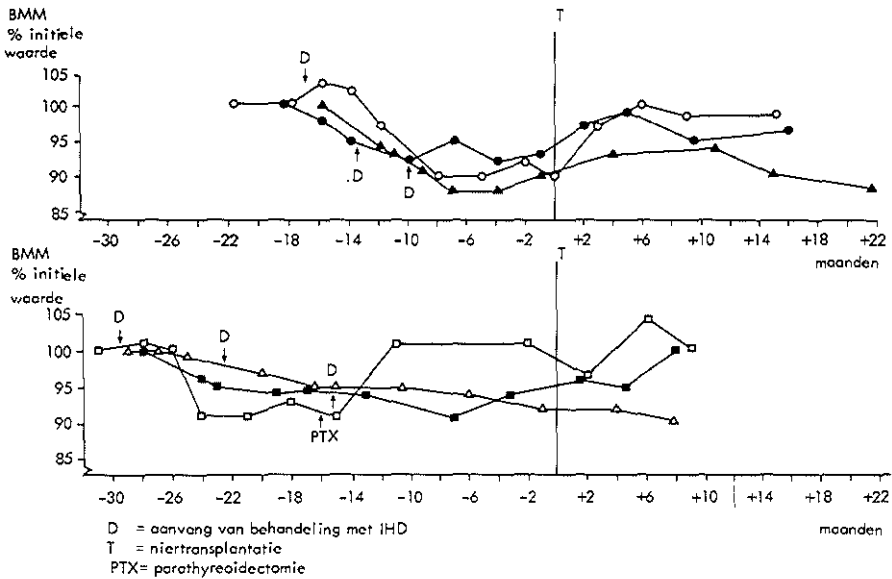


Fig. VII - 10 Verloop van de BMM (als percentage van de initiële waarde) vóór en na niertransplantatie bij 6 patiënten (zie tekst).

Patiëntaanduiding: ○ = 1    ▲ = 3    ● = 4    △ = 9    □ = 13    ■ = 16



hoofdstuk VI). Na het begin van behandeling met IHD lag, zoals in hoofdstuk VI beschreven, de  $Fa^{47}Ca$  gemiddeld hoger dan vóór haemodialyse ( $p < 0.001$ ). Ondanks deze toename van de  $Fa^{47}Ca$  ging bij deze patiënten het mineraalverlies uit het bot dus zelfs in versterkte mate voort.

Tenslotte is in Fig. VII - 10 het verloop van de BMM (weer als % van de initiële waarde) voor zes patiënten vóór en na niertransplantatie uitgezet. Bij vier van de zes patiënten trad na de transplantatie een toename van het BMM-gehalte op. Bij pat. nr. 13 trad na parathyreoïdectomie een sterkere verbetering van het BMM-gehalte op dan na transplantatie. Bij de andere twee patiënten ging het verlies van botmineraal-gehalte na transplantatie door. Bij pat. nr. 3 gebeurde dit nadat er aanvankelijk een lichte verbetering was. Kortom een scala van veranderingen in het BMM-gehalte na transplantatie, en géén duidelijke tendens, althans bij dit beperkte aantal patiënten.

#### d. Bespreking

De waarden die voor BMC en BMM in onze groep normalen zijn gevonden, zijn vergelijkbaar met de resultaten verkregen door andere onderzoekers. Dit geldt ook voor het feit dat wij bij vrouwen significant lagere waarden vonden dan bij mannen (Boyd e.a., 1974; Lautridou e.a., 1974).

De subnormale BMM-waarden bij patiënten met een kreatinine-klaring van 40 ml per min. of lager zijn niet verrassend, echter de significant lagere waarde voor de BMM bij patiënten die zich in een fase vlak voor het begin van behandeling met IHD bevinden in vergelijking met de BMM van groepen patiënten met een betere nierfunctie geeft aan dat er een extra verlies van botmineraal optreedt bij kreatinine-klarings van 5 ml per min. en lager (Fig. VII - 3).

Bij 14 patiënten die gedurende 15 maanden of langer (gem.  $21.0 \pm 4.5$  maanden) vóór behandeling met IHD werden gevolgd, bleek dat er een significante correlatie bestaat tussen de mate van verlies van botmineraal, nl. de BMM, uitgedrukt als percentage van de initiële waarde en de nierfunctie (het gemiddelde van de kreatinine-klaring bij de aanvang en het eind van de observatieperiode Fig. VI - 6). Hoe slechter de nierfunctie hoe groter het verlies van botmineraal.

Bij een andere groep van negen patiënten (Fig. VII - 5) zagen wij tijdens behandeling met IHD een verdergaande daling van de BMM en gezien het verschil in helling tussen de regressielijnen vóór en na het begin van deze behandeling (resp. A en B in Fig. VII - 8) vindt er na het instellen van de behandeling met IHD zelfs een sterkere daling van de BMM plaats. Niet alle onderzoekers melden een daling van de BMM tijdens IHD. Cohn

e.a. (1976) rapporteerden uit een transversaal onderzoek dezelfde gemiddelde BMM bij al of niet gedialyseerde patiënten (resp.  $0.766 \pm 11.4$  en  $0.760 \pm 12.5$  g/cm<sup>2</sup>), terwijl Griffiths e.a. (1973) géén significant lagere waarden bij gedialyseerde patiënten vonden. Bij een groep van 102 patiënten, bij wie de eerste bepaling van de BMM korter dan zes maanden na het begin van behandeling met IHD werd gedaan, vonden Parfitt e.a. (1976) een significante vermindering van de BMM t.o.v. de normale waarden (9.6%). Bij 85 van deze patiënten werden vervolgbepalingen gedurende een gemiddelde observatieperiode van 11.6 maanden uitgevoerd. Hierbij was het Ca-gehalte van het spoelwater 7.0 mg% en drie patiënten werden met dihydrotachysterol behandeld. Gemiddeld werd in deze groep patiënten géén daling van de BMM gezien. Bij deze patiënten werden geen metingen verricht vóór de behandeling met IHD. Rickers e.a. (1978) vonden bij mannen een daling van het BMC tot 97.3 en 94.4% en bij vrouwen tot 95.8 en 93.4% na resp. 6 en 12 maanden IHD. Hierbij werd een Ca-gehalte van het dialysaat gehanteerd dat vergelijkbaar was met de situatie bij onze patiënten nl. 6.0 mg%. Hoewel hier sprake is van meting van het BMC en niet van de BMM, zijn deze resultaten vergelijkbaar met die verkregen bij onze patiënten. Ook in het onderzoek van Rickers e.a. zijn geen metingen vóór het begin van behandeling met IHD vermeld.

Individuele longitudinale metingen van de BMM geven betere informatie over het verlies van botmineraal bij patiënten met CN1 dan transversale studies. Bovendien zijn gegevens over het verloop van het botmineraalverlies vóór dialyse onontbeerlijk voor een juiste interpretatie van het verlies dat na instellen van behandeling met IHD nog optreedt (zie Fig. VII - 8). Het maakt de beoordeling van het effect van de gehanteerde haemodialyse-techniek mogelijk, met name in hoeverre het Ca-gehalte van de dialysevloei-stof optimaal is met betrekking tot het voorkómen van doorgaand botmineraalverlies tijdens de dialyseperiode. Gezien de verbetering van de intestinale <sup>47</sup>Ca-absorptie (Fig. VII - 9) en de positieve Ca-balans tijdens één haemodialysezitting zoals deze voor 10 patiënten werd gevonden bij een gemiddeld Ca-gehalte van het spoelwater van 5.8 mg% (zie hoofdstuk VI), moeten er andere factoren zijn die verantwoordelijk zijn voor het verdergaande botmineraalverlies tijdens de behandeling met IHD. De in hoofdstuk VI beschreven deficiënte vitamine D-status, met name de lage 24,25-DHCC en/of 1,25-DHCC-spiegels, zouden hierbij een belangrijke rol kunnen spelen. Met name de betekenis van 24,25-DHCC, zoals die uit recente publicaties naar voren lijkt te komen, dient nader onderzocht te worden.

Na een geslaagde niertransplantatie mag verwacht worden dat het vitamine D-metabolisme normaliseert, de secundaire hyperparathyreoïdie teruggaat (tenzij een tertiaire hyperparathyreoïdie ontstaat) en dat verder

verlies van botmineraal niet optreedt. De getransplanteerde patiënten worden echter behandeld met vrij hoge doseringen prednison en imuran. Van het laatste immuunsuppressivum is niet goed bekend in hoeverre het de Ca en P en botstofwisseling kan beïnvloeden. Van corticosteroiden staat vast dat zij osteoporose induceren en een remmende invloed hebben op de absorptie van Ca door de darm. Na transplantatie (zie hoofdstuk VI) werd bij onze patiënten noch een duidelijke daling, noch een verbetering van de  $Fa^{47}Ca$  gevonden. Dalen en Avestrand (1973) vonden met behulp van fotonabsorptiometrie bij 12 patiënten gedurende de eerste drie tot vier maanden na transplantatie zelfs een significante daling van de botdichtheid. Met fotonabsorptiometrie zagen Griffiths e.a. (1973) geen verbetering van de BMM bij patiënten na transplantatie. Tenminste drie van onze patiënten (Fig. VII - 10) toonden na transplantatie een stijging van de BMM, terwijl bij één patiënt, bij wie tevoren in verband met een tertiaire hyperparathyreoidie een parathyreoïdectomie was verricht, de BMM na transplantatie tenminste gelijk bleef. Van de overige twee patiënten vonden wij bij één aanvankelijk een toename van de BMM, maar later daalde deze weer tot het niveau van vóór transplantatie en één patiënt liet na transplantatie een verdergaande daling van de BMM zien (Juttman e.a., 1979). Voor alle zes patiënten werd met kleine individuele verschillen vrijwel hetzelfde medicatieschema wat betreft prednison en imuran gehanteerd.

#### e. Conclusies

1. a. Patiënten met CNI met een kreatinine-klaring van 40 ml per min. en lager hebben een botmineraalgehalte dat lager is dan normaal.  
b. Patiënten met een kreatinine-klaring van 5 ml per min. en lager blijken t.o.v. patiënten met een minder sterk gestoorde nierfunctie een extra verlies van botmineraalgehalte te hebben ondergaan (Fig. VII - 3).
2. Er bestaat een positieve correlatie tussen de mate van verlies van botmineraal (BMM als percentage van de initiële waarde) en de nierfunctie (gemiddelde kreatinine-klaring tijdens de observatieperiode, Fig. VII - 6).
3. a. Na instelling van behandeling met IHD trad bij negen patiënten (Fig. VII - 8) een sterkere daling van de BMM-waarde dan vóór de aanvang van deze behandeling. Hierbij werd gedialyseerd met een Ca-gehalte van het spoelwater van 5.8 mg%.  
b. Tesamen met het feit dat de intestinale absorptie van  $^{47}Ca$  tijdens IHD verbeterde en met de in hoofdstuk VI beschreven positieve Ca-balans tijdens één enkele haemodialyse-zitting (bij 10 patiënten onderzocht), doet het doorgaande verlies van botmineraalgehalte

tijdens behandeling met IHD vermoeden, dat andere factoren, mogelijk het tekort aan actieve vitamine D-metabolieten en de secundaire hyperparathyreoïdie, van méér belang zijn voor de verdergaande ontwikkeling van renale osteodystrofie tijdens behandeling met IHD. Bovendien blijkt hieruit dat de betekenis van de intestinale Ca-absorptie voor de ontwikkeling van renale osteodystrofie in het algemeen minder groot is dan veelal wordt aangenomen.

4. Na niertransplantatie werd bij vier van de zes patiënten een stijging van de BMM gevonden, bij de overige twee een daling.

## HOOFDSTUK VIII

### BEHANDELING VAN RENALE OSTEODYSTROFIE MET 1 $\alpha$ -HCC OF 1,25-DHCC

- a. Inleiding
- b. Behandelingsschema
- c. Resultaten
- d. Bespreking

#### a. Inleiding

Uit de in hoofdstuk II beschreven effecten van 1,25-DHCC op de verschillende eindorganen (Fig. II - 3) valt af te leiden dat bij ontbreken of in zeer lage concentraties beschikbaar zijn van dit hormoon, er stoornissen in de Ca-, P- en botstofwisseling kunnen ontstaan, die tenminste mede verantwoordelijk zijn voor het ontstaan van renale osteodystrofie. Op grond hiervan is het een logische stap om bij het beschikbaar komen van synthetisch op de 1-plaats gehydroxyleerde vitamine D-derivaten, hiervan de toepasbaarheid met name bij patiënten met CNI, waar deze hydroxylering niet of in verminderde mate kan plaatsvinden, te testen. Door verschillende auteurs werden bij patiënten met CNI lage tot niet aantoonbare spiegels van 1,25-DHCC in het serum gevonden (Holick en DeLuca, 1974; Hill e.a., 1975; Haussler e.a., 1976). Haussler en medewerkers vonden met behulp van een radio-receptor-assay in het serum van normalen, gemiddeld een waarde van  $3.3 \pm 0.6$  (SD) ng per 100 ml. Bij patiënten met CNI verkregen zij altijd waarden beneden de ondergrens van normaal en bij acht anefrische patiënten was 1,25-DHCC met deze assay niet aantoonbaar. Sinds de introductie van 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC zijn verschillende publicaties verschenen, waarin de toepasbaarheid met name bij patiënten met renale osteodystrofie werd beschreven. Naast de op gewichtsbasis biologisch zeer veel sterkere werking van 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC op de eindorganen in vergelijking met cholecalciferol en ook 25-HCC, bieden deze derivaten het voordeel dat in geval van overdosering met hypercalcaemie en eventueel hyperfosfataemie, na staken van de toediening van deze preparaten, een snelle daling van Ca, resp. P in het serum optreedt. Kanis en Russell (1977) beschreven een plasma-halfwaardetijd van 1,25-DHCC van minder dan een

dag, van 1  $\alpha$ -HCC van 2 tot 4 dagen, van cholecalciferol van 9 tot 81 en van dihydrotachysterol (dihydral)<sup>®</sup> van 45 dagen. Op dit punt lijken 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC duidelijke voordelen te hebben ten opzichte van de tot dusverre in gebruik zijnde vitamine D-preparaten. Na het beschikbaar komen van synthetisch 1,25-DHCC (Semmler e.a., 1972) zijn de volgende therapeutische effecten bij patiënten met CNI beschreven. Vrijwel alle auteurs vinden een verbetering van de intestinale absorptie van Ca (meestal tot waarden die bij normalen worden gevonden), een toename van het Ca-gehalte van het plasma en, indien verhoogd, een afname van het gehalte van PTH en alkalische fosfatase in het serum. Over het algemeen treden deze effecten reeds bij lage doseringen op (Brickman e.a., 1972 b: 2.7  $\mu$ g per dag; Henderson e.a., 1974: 0.35 - 2.7  $\mu$ g per dag; Brickman e.a., 1974 a en b: 0.27 - 2.7  $\mu$ g per dag; Silverberg e.a., 1975: 1 - 2  $\mu$ g per dag; Ahmed e.a., 1978: 0.5  $\mu$ g per dag; Juttman en Birkenhäger, 1979: 0.25 - 1  $\mu$ g der dag). Toename van het P-gehalte van het plasma is bij gebruik van dit preparaat geen algemene bevinding, hoewel Brickman e.a. (1972 b) bij enkele niet-gedialyseerde patiënten een toename van P zagen. De indruk bestaat dat bij niet-gedialyseerde patiënten over het algemeen gemakkelijker een stijging van het P-gehalte van het serum optreedt dan bij gedialyseerde patiënten. Ook is een verbetering van de Ca- en P-balans (d.w.z. een verschuiving in positieve richting) gevonden (Brickman e.a., 1972 b, 1974 b; Silverberg e.a., 1975). Verbetering van de histologische kenmerken van renale osteodystrofie onder invloed van 1,25-DHCC zijn beschreven door Brickman e.a. (1974 a) en Ahmed e.a. (1978). Over het algemeen wordt een afname van de hoeveelheid osteoïed gevonden en een duidelijke afname van de actieve resorptie-oppervlakte (trabekeloppervlakte bedekt met osteoclasten) en ook van het totale aantal osteoclasten. Ahmed e.a. (1978) vonden ook een toename van de totale hoeveelheid bot. Brickman e.a. (1974 a) namen vooral bij patiënten, bij wie de osteitis fibrosa het histologisch beeld overheerste, een afname van de fibrose na 8 tot 17 weken behandeling met 1,25-DHCC waar.

1  $\alpha$ -HCC is een synthetisch vitamine D-derivaat met als belangrijkste kenmerk een hydroxyl-groep op het eerste C-atoom. Deze hydroxylatie van het eerst C-atoom lijkt voor het uitoefenen van effecten van 1  $\alpha$ -HCC op de eindorganen essentieel. De synthese van 1  $\alpha$ -HCC werd door diverse auteurs beschreven (Harrison e.a., 1973; Holick e.a., 1975). Aangenomen wordt, dat 1  $\alpha$ -HCC zijn werking pas kan uitoefenen nadat het eerst in de lever op C<sub>25</sub> gehydroxyleerd is (Fukushima e.a., 1975; Holick e.a., 1976). Er bestaan echter aanwijzingen dat ook 1  $\alpha$ -HCC zelf een werking op de darm en het bot kan hebben, zonder eerst in de lever op de C<sub>25</sub>-plaats

gehydroxyleerd te zijn (Pechet en Hesse, 1974; Toffolon e.a., 1975; Juttman e.a., 1977). In een vergelijkende studie met 1,25-DHCC en 1  $\alpha$ -HCC vonden Brickman e.a. (1976) o.a. dat 1,25-DHCC ten aanzien van de intestinale Ca-absorptie en toename van het Ca-gehalte van het serum sneller werkt dan 1  $\alpha$ -HCC (1  $\alpha$ : 5 - 10 en 1,25- : 2 - 5 dagen). Zij schrijven dit toe aan de noodzaak van hydroxylering op de C<sub>25</sub>-plaats van 1  $\alpha$ -HCC. Op gewichtsbasis vinden zij géén grote verschillen ten aanzien van de stimulatie van Ca-absorptie en de inductie van een toename van het Ca-gehalte van het serum. Balsan e.a. (1975) vonden bij kinderen met verschillende aandoeningen van de Ca- en P-stofwisseling vrijwel een identieke verbetering van de verschillende indices bij behandeling met 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC. Naast dit kleine aantal vergelijkende onderzoeken zijn veel gegevens beschikbaar, verkregen met 1  $\alpha$ -HCC ter behandeling van renale osteodystrofie. Door de beschikbaarheid van dit synthetisch preparaat in ons werelddeel zijn vnl. in de Europese literatuur veel publicaties verschenen. Naast verbetering van de intestinale Ca-absorptie, toename van de gehalten van Ca en P in het serum, verbetering van Ca- en P-balans en (indien verhoogd) daling van PTH-en alkalische fosfatase-gehalte van het serum (Peacock e.a., 1974; Chan e.a., 1975; Davie e.a., 1976; Tougaard e.a., 1976; Madsen en Olgaard, 1976; Pierides e.a., 1976; Kanis e.a., 1977 d), zijn ook met 1  $\alpha$ -HCC verbeteringen van histologische afwijkingen in het bot van patiënten met CNI beschreven (Pierides e.a., 1976; Ellis e.a., 1977; Melsen e.a., 1977). Speciale aandacht verdient de publicatie van Pierides e.a. (1976). Zij vonden bij vijf patiënten met CNI, die gedurende 5 tot 14 maanden behandeld werden met 0.5 - 2  $\mu$ g 1  $\alpha$ -HCC en die aanvankelijk in het bot uitgesproken osteitis fibrosa met of zonder osteomalacie hadden, een duidelijke verbetering van een aantal parameters waaronder afname van spier- en botpijnen, normalisering van het alkalische fosfatase- en het PTH-gehalte van het serum en verbetering van radiologische en histologische tekenen van renale osteodystrofie. Bij vijf andere-patiënten met CNI, die gedurende eenzelfde periode werden behandeld met dezelfde dosering 1  $\alpha$ -HCC, maar die bij aanvang van de behandeling geen verhoging van de gehalten alkalische fosfatase en PTH van het serum en histologisch een ernstige osteomalacie hadden met geringe of in het geheel geen aanwijzingen voor osteitis fibrosa, werd géén verbetering van de hierboven genoemde klinische, biochemische, histologische en radiologische parameters gezien. De auteurs merkten op dat twee factoren voor dit verschil in reactie verantwoordelijk zouden kunnen zijn, nl. 1. fosfaatdepletie bij de niet verbeterde groep, 2. ernstige osteomalacie veroorzaakt ongevoeligheid van het bot voor 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC. Het is opvallend dat Kanis e.a. (1977 d) bij behandeling van gedialyseerde en niet-gedialyseerde patiënten met CNI met 2 - 2.5  $\mu$ g 1  $\alpha$ -HCC gedurende meer dan een

half jaar bij ongeveer de helft van de patiënten een uitgesproken histologische verbetering waarnamen.

Met name in de recente Europese literatuur is bij behandeling van patiënten met CNI met 1  $\alpha$ -HCC een snellere afname van de nierfunctie beschreven dan vóór deze behandeling was opgetreden. Dit gold speciaal patiënten die (nog) niet met haemodialyse werden behandeld. Ook bij deze groep is de (snellere) afname van nierfunctie echter géén obligaat verschijnsel. Bij 12 niet-gedialyseerde patiënten vonden Tougaard e.a. (1976) dat het verlies van nierfunctie tijdens behandeling met 1  $\mu$ g 1  $\alpha$ -HCC per dag gedurende 11 weken 2.5 maal zo sterk was als bij een groep patiënten die gedurende eenzelfde periode met een placebo werden behandeld. Ook onder behandeling met 1,25-DHCC (0.5  $\mu$ g 1,25-DHCC per dag gedurende zes maanden) werd bij patiënten met CNI in een praedialyse-fase een groter verlies van nierfunctie vastgesteld dan tijdens een vergelijkbare periode vóór deze behandeling (Christiansen e.a., 1978).

Uit het onderzoek van Colodro e.a. (1978) bleek dat behandeling met 25-HCC met name op de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  een stimulerende werking kan hebben. Het blijkt echter dat op gewichtsbasis bij normalen 25-HCC 1/125 en bij patiënten met CNI zelfs 1/400 zo sterk werkt als 1,25-DHCC. Ten aanzien van het effect op de botmineralisatie vonden Fournier e.a. (1977) zelfs een sterker effect van 25-HCC (50 - 100  $\mu$ g per dag gedurende zes maanden) dan bij behandeling met 1  $\alpha$ -HCC (2  $\mu$ g per dag gedurende twee tot zes maanden) bij patiënten die met IHD werden behandeld. Met behulp van een neutronen-activatietechniek vonden Kleinman e.a. (1977) een toename van het totale lichaamscalciümgehalte na 55 weken behandeling met 60 - 150  $\mu$ g per week. Er zijn dus aanwijzingen dat ook een niet op de 1  $\alpha$ -plaats gehydroxyleerd vitamine D-metabooliet met name op de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie en mineralisatie van het bot een gunstig effect kan hebben. Dit effect treedt echter op bij doseringen die 50 tot 100 maal hoger liggen dan bij gebruik van 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC noodzakelijk is.

*Resumerend:* De resultaten van vrijwel alle onderzoeken, overigens merendeels uitgevoerd bij patiënten die met IHD werden behandeld, geven een verbetering aan van biochemische en histologische (en in sommige gevallen röntgenologische) aspecten bij patiënten met renale osteodystrofie. Op te merken valt, voorts, dat vrijwel zonder uitzondering, geen onderscheid is gemaakt tussen patiënten met resp. zonder klachten als gevolg van de osteodystrofie. In de fase vóór behandeling met haemodialyse kan onder invloed van 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC een sterker nierfunctieverlies optreden dan op grond van het eventuele onmiddellijk voorafgaande verlies van nierfunctie kon worden verwacht.



Om vergelijkenderwijs een indruk te krijgen van de effecten van 1,25-DHCC en 1  $\alpha$ -HCC op de Ca-, P- en botstofwisseling bij patiënten met chronische nierinsufficiëntie, die nog niet behandeld worden met IHD, werd een in dit hoofdstuk beschreven onderzoek opgezet met als **vraagstellingen**:

1. Welk van de volgende aspecten van de Ca- en botstofwisseling worden beïnvloed door behandeling met 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC?
  - a) Ca-, P- en alkalische fosfatase-gehalte van het serum.
  - b) PTH- en calcitonine-gehalte van het serum.
  - c) Ca- en P-balans.
  - d) Intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$ .
  - e) Fotonabsorptiometrie van de radius.
  - f) Histologie van het bot (zo ja: welke afwijkingen in de histologie worden beïnvloed?).
2. Met welke snelheid worden eventuele effecten bereikt?
3. Hoe is vergelijkenderwijs de activiteit van beide preparaten ten aanzien van de eventuele verschillende effecten?
4. Is het mogelijk om in de praedialyse-fase van één of beide stoffen een zodanige dosering te vinden dat een gunstig effect op de onder 1 a) t/m e) genoemde grootheden kan worden bereikt zonder dat er een blijvend (extra) nierfunctieverlies optreedt?

## **b. Behandelingsschema**

14 patiënten (zes vrouwen en acht mannen) met CNI, die niet behandeld werden met IHD en die bij het begin van de behandeling een kreatinineklaring tussen 10 en 40 ml per min. (gemiddeld  $20 \pm 9$  ml per min.) hadden, werden zo goed mogelijk paarsgewijs ingedeeld naar geslacht, leeftijd en glomerulaire filtratiesnelheid. Hieraan werd één patiënte (nr. 40) toegevoegd, die eveneens met één van de derivaten werd behandeld, maar voor wie geen passende "match" kon worden gevonden. Daarnaast werden nog twee paren (vier mannen) die al geruime tijd met IHD werden behandeld, eveneens paarsgewijs ingedeeld volgens bovenstaande criteria. Gedurende een periode van zes maanden werd van ieder paar één patiënt behandeld met 1  $\alpha$ -HCC (0.5 - 2  $\mu\text{g}$  per dag) en de ander met 1,25-DHCC (0.25 - 1  $\mu\text{g}$  per dag). Zonodig (bij fosfaatconcentraties in het serum hoger dan 1,6 mmol/l) werd aluminiumhydroxide in een dosering die varieerde van 1.5 tot 8.0 g per dag aan deze patiënten voorgeschreven. De indeling van de paren en het medicament waarmee zij behandeld werden, is aangegeven in Tabel VIII - I.

Tabel VIII - I. Behandeling van patiënten met CNI met 1  $\alpha$ HCC of 1,25-DHCC.

paar	1 $\alpha$ HCC				1,25-DHCC			
	patiënt nr	geslacht	leeftijd	creat. klaring ml/min.	patiënt nr	geslacht	leeftijd	creat. klaring ml/min.
I	36	v	40	16	32	v	44	16
II	2	v	32	12	23	v	41	15
III	34	m	45	29	37	m	39	40
IV	31	m	40	36	19	m	46	17
V	25	m	18	22	29	m	31	17
VI	40	v	58	17	28	v	55	18
VII	39	m	31	17	42	m	32	10
VIII	22	m	26	—	27	m	28	—
IX	5	m	23	—	7	m	29	—
	41	v	43	18				

Onmiddellijk vóór de aanvang van de behandeling werden van de volgende grootheden de uitgangswaarden vastgelegd:

- A. De concentraties van Ca, P, alkalische fosfatase, kreatinine, PTH, CT, 25-HCC (en in sommige gevallen 24,25-DHCC) in het serum en de kreatinine-klaring.
- B. Intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie.
- C. Ca- en P-balansonderzoek (dit onderzoek werd niet uitgevoerd bij de patiënten die met IHD werden behandeld).
- D. Fotonabsorptiometrie.
- E. Histologisch onderzoek van een biopt uit de crista iliaca superior anterior.

Bij paar I t/m V werd gedurende één periode van zes dagen vóór het begin van de behandeling de Ca- en P-balans bepaald. Aansluitend werd gedurende de eerste 12 dagen van de behandeling eveneens dit balansonder-

zoek in twee perioden van zes dagen uitgevoerd. Na een half jaar behandeling met één van de vitamine D-derivaten werd opnieuw gedurende twee perioden van zes dagen balansonderzoek verricht. Bij paar VI en VII en patiënt 40 werd het protocol ten aanzien van de Ca- en P-balans enigszins veranderd: Vóór de behandeling werd het onderzoek gedurende twee perioden van zes dagen vastgelegd. Na zes tot acht weken behandeling en na zes maanden behandeling werd het balansonderzoek opnieuw gedurende twee perioden van zes dagen uitgevoerd.

Het onder A. genoemde onderzoek werd na de aanvang van de behandeling wekelijks en later tweewekelijks of maandelijks verricht. Met name wanneer het Ca- en P-gehalte van het serum tijdens behandeling met de aangegeven doseringen 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC stabiel bleven, werden bovengenoemde parameters éénmaal per maand bepaald. Fotonabsorptiometrie werd in principe éénmaal per twee maanden verricht en bepaling van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie werd vóór en twee tot driemaal tijdens de behandelingsperiode, d.w.z. met tussenpozen van twee tot vier maanden, herhaald. Vóór de aanvang van de behandeling en na een half jaar behandeling werd een biopsie uit de crista iliaca genomen. Het 1  $\alpha$ -HCC (Etalpha<sup>®</sup>) werd beschikbaar gesteld door de firma LEO Pharmaceutische Producten BV te Emmen en het 1,25-DHCC (Rocaltrol<sup>®</sup>) door de firma Hoffmann-La Roche BV te Mijdrecht.

### c. Resultaten

#### A. Ca-, P- en kreatinine-gehalte van het serum.

Bij paar I t/m V werd de behandeling begonnen met een relatief hoge dosering 1  $\alpha$ -HCC (1 tot 2  $\mu\text{g}$  per dag) of 1,25-DHCC (0.5 tot 1  $\mu\text{g}$  per dag). Na twee weken behandeling was het gemiddelde Ca-gehalte onveranderd, echter het P-gehalte liet een significante stijging zien, terwijl ook het gemiddelde kreatinine-gehalte van het serum een stijgende lijn vertoonde (Fig. VIII - 1). Bij paar VI t/m IX waarbij gezien de ervaringen bij de eerste vijf paren met een lagere dosis 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC (beide 0.5  $\mu\text{g}$  per dag) werd gestart, was het verloop van het P- en het kreatinine-gehalte van het serum gedurende de eerste maand veel minder uitgesproken dan met de hogere dosering (Fig. VII - 2). Bij drie van de acht patiënten, waarvan twee met IHD behandeld, werd zelfs een daling van het P-gehalte van het serum gevonden. Opgemerkt moet worden dat de tweede groep patiënten minder homogeen was dan de eerste. Ten aanzien van het effect op Ca- en P-gehalte van het serum werden geen duidelijke verschillen tussen 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-

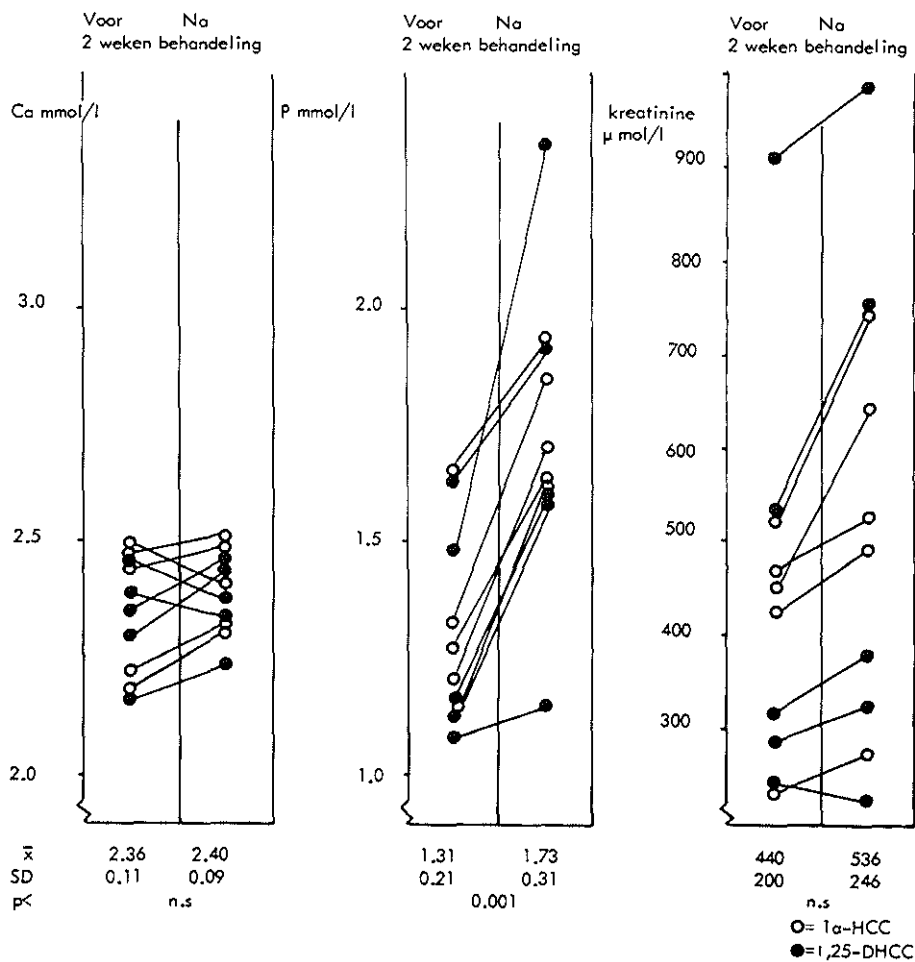


Fig. VIII - 1 Ca, P en kreatinine-gehalte in het serum bij 10 patiënten met CNI, vóór en 2 weken na het begin van behandeling met 1  $\alpha$ -HCC (1 - 2  $\mu$ g) of 1,25-DHCC (1  $\mu$ g).

DHCC gevonden. Als voorbeeld wordt het verloop van het P-, Ca- en kreatinine-gehalte bij één patiënt die met 1  $\alpha$ -HCC (nr. 36, paar I) en één patiënt die met 1,25-DHCC (nr. 19, paar IV) werd behandeld, in Fig. VIII - 3 en - 4 gegeven. Voor beiden was aanpassing van de dosering nodig waarna de ontstane afwijkingen met name in P- en kreatinine-gehalte van het serum reversibel bleken te zijn. Bij voortzetten van de behandeling met lagere do-

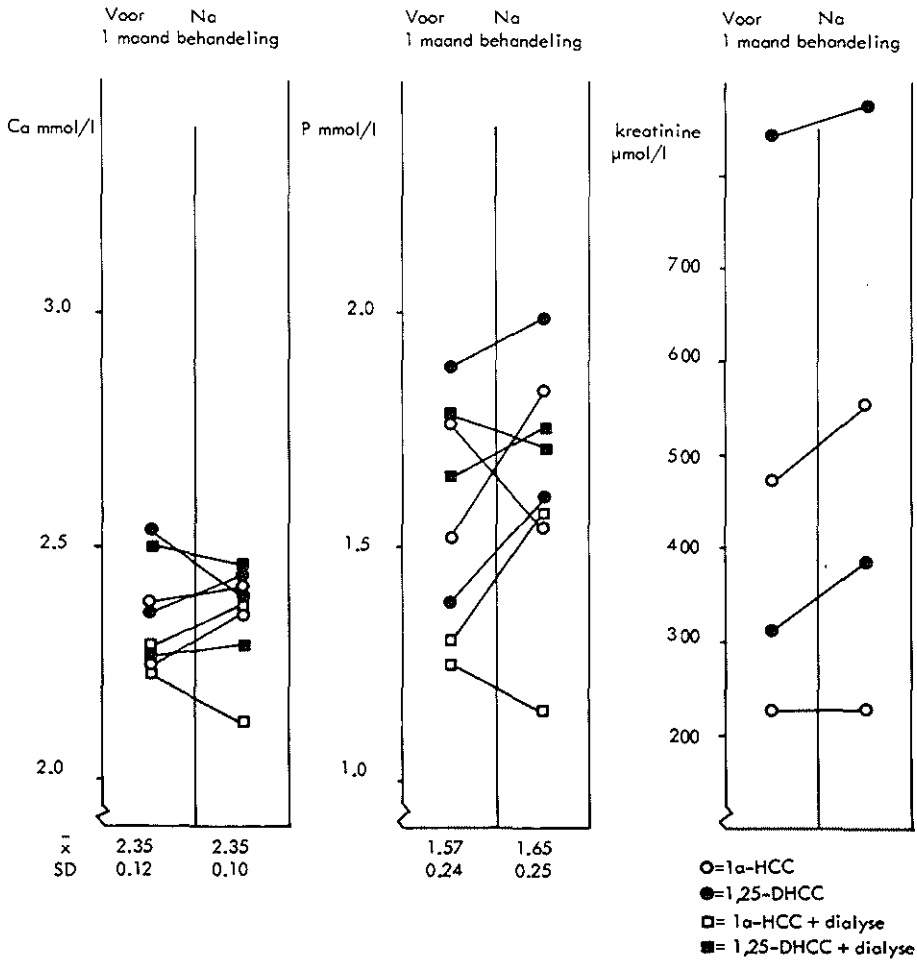


Fig. VIII - 2 Ca, P en kreatinine-gehalte in het serum bij 8 patiënten met CNI, vóór en 2 weken na het begin van behandeling met 1  $\alpha$ -HCC (0.5  $\mu$ g) of 1,25-DHCC (0.5  $\mu$ g).

seringen 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC per dag zagen wij ook op de lange duur geen extra nierfunctieverlies en geen stijging van het serum-P, zoals veroorzaakt door de hogere initiële doseringen, optreden. Wel deed zich in beide gevallen na verloop van tijd een lichte hypercalcaemie voor, echter (en dit geldt voor de meeste patiënten die aldus behandeld zijn) pas na resp. 20 en 22 weken behandeling.

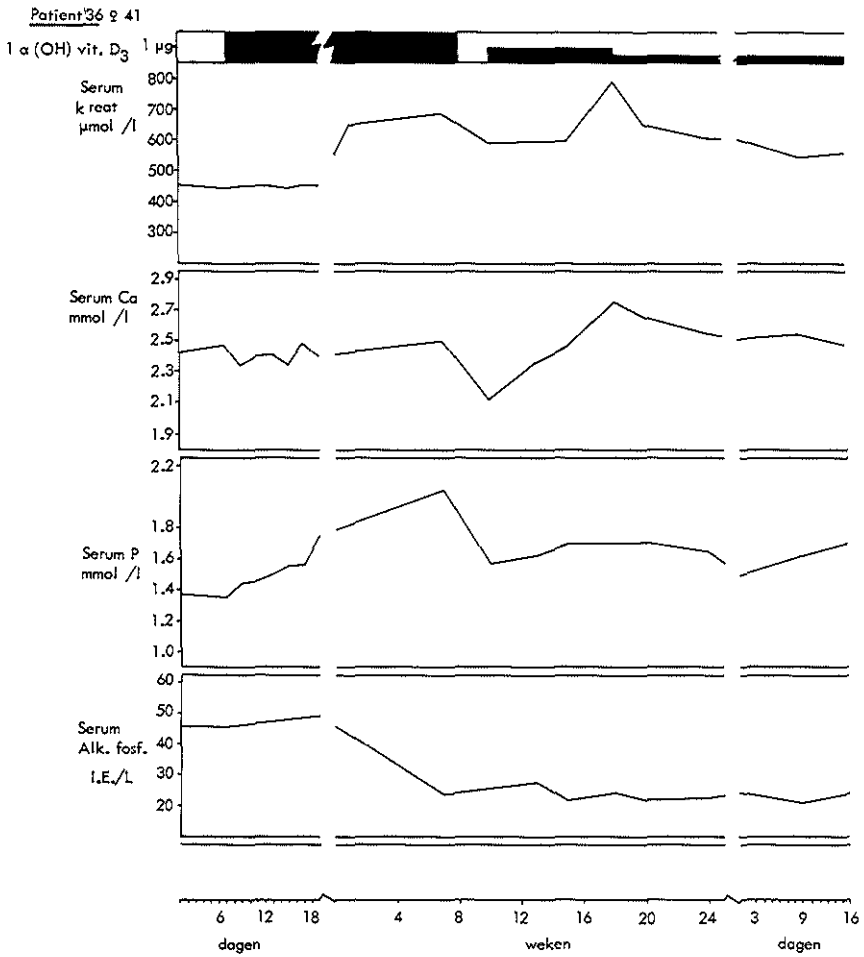


Fig. VIII - 3 Verloop van de concentraties in het serum van kreatinine, Ca, P en alkalische fosfatase bij een 41 jarige vrouw met CNI (patiënt 36), vóór en tijdens behandeling met 1  $\alpha$ -HCC.

Patient 19, 47j.

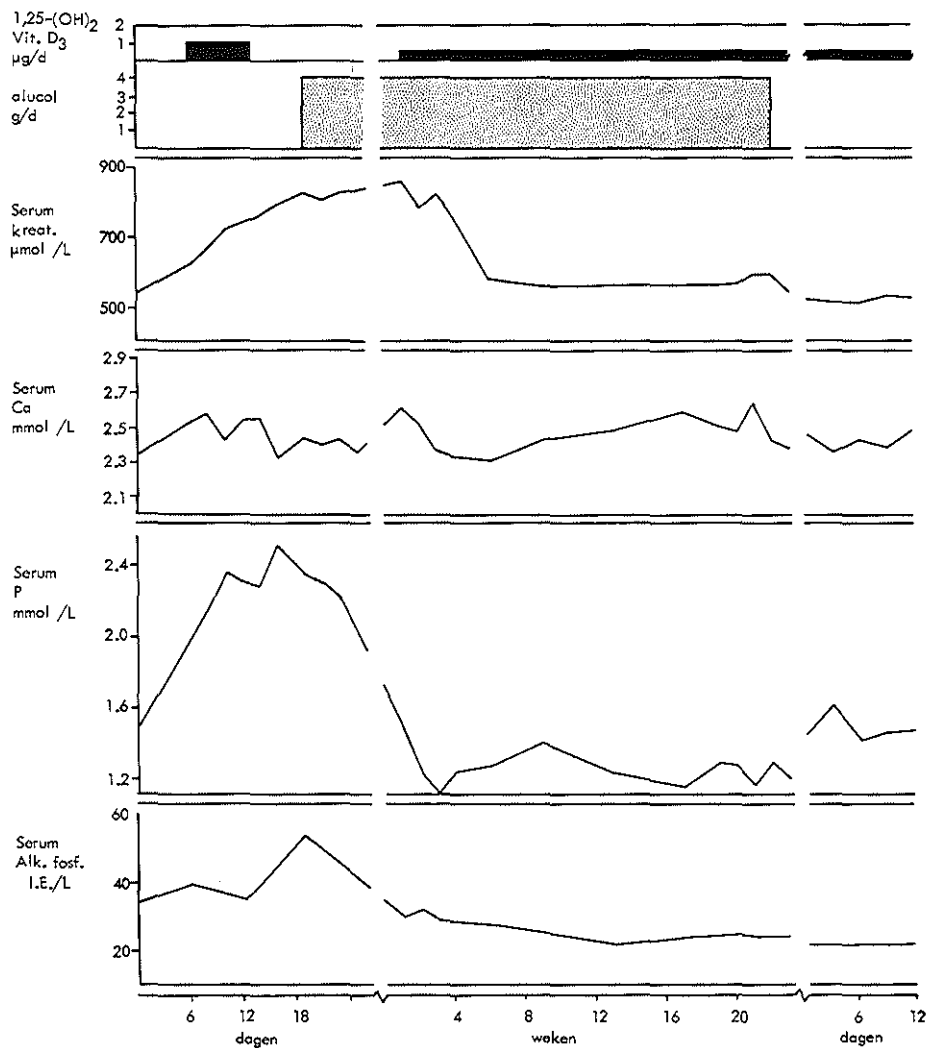


Fig. VIII - 4 Verloop van de concentraties in het serum van kreatinine, Ca, P en alkalische fosfatase bij een 47 jarige man met CNI (patiënt 19), vóór en tijdens behandeling met 1,25-DHCC.

### B. Alkalische fosfatase-gehalte van het serum.

Zoals ook al in de voorbeelden van Fig. VIII - 3 en - 4 te zien is, deed zich onder behandeling met  $1\ \alpha$ -HCC of 1,25-DHCC een geleidelijke daling van het alkalische fosfatase-gehalte van het serum voor (Fig. VIII - 5 en - 6). In Fig. VIII - 7 zijn van paar I t/m IX en patiënt 41 de uitgangswaarden en de waarden na een half jaar behandeling met elkaar vergeleken. Voor de hele populatie treedt een significante daling van het enzym op.

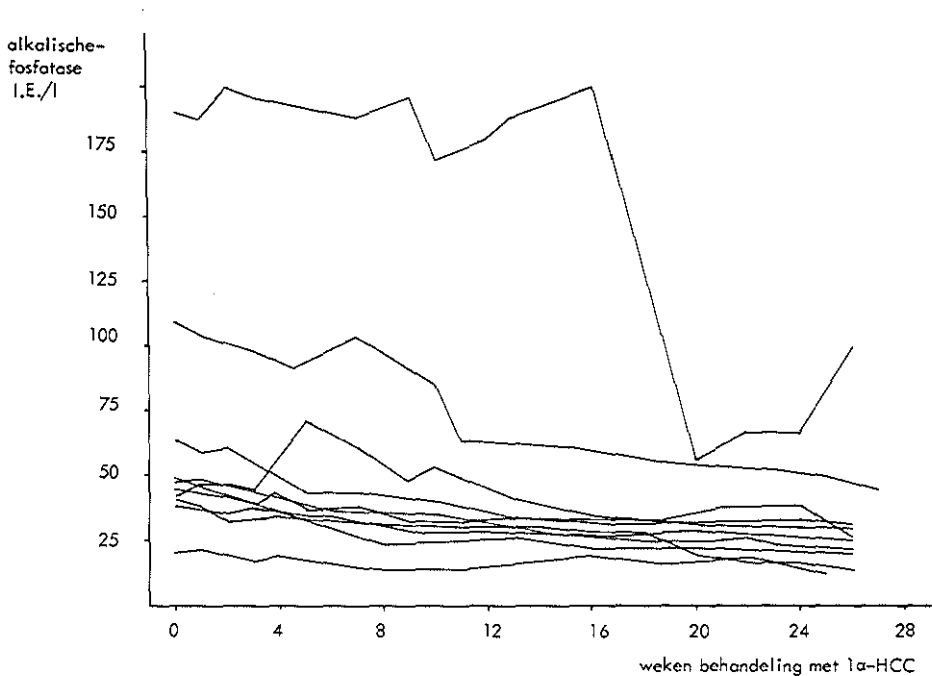


Fig. VIII - 5 Verloop van het alkalische fosfatase-gehalte in het serum bij 10 patiënten met CNI tijdens behandeling met  $1\ \alpha$ -HCC.

### C. Intestinale $^{47}\text{Ca}$ -absorptie.

In overeenstemming met de in de literatuur beschreven resultaten vonden wij een toename van de intestinale absorptie van Ca onder invloed van behandeling met  $1\ \alpha$ -HCC of 1,25-DHCC, mits de dosering voldoende hoog was. Bij alle patiënten werd een dosis-afhankelijke respons gevonden (Fig. VIII - 8 en - 9). In beide figuren is de gebruikte dosering van het vitamine D-derivaat in chronologische volgorde van links naar rechts weer-



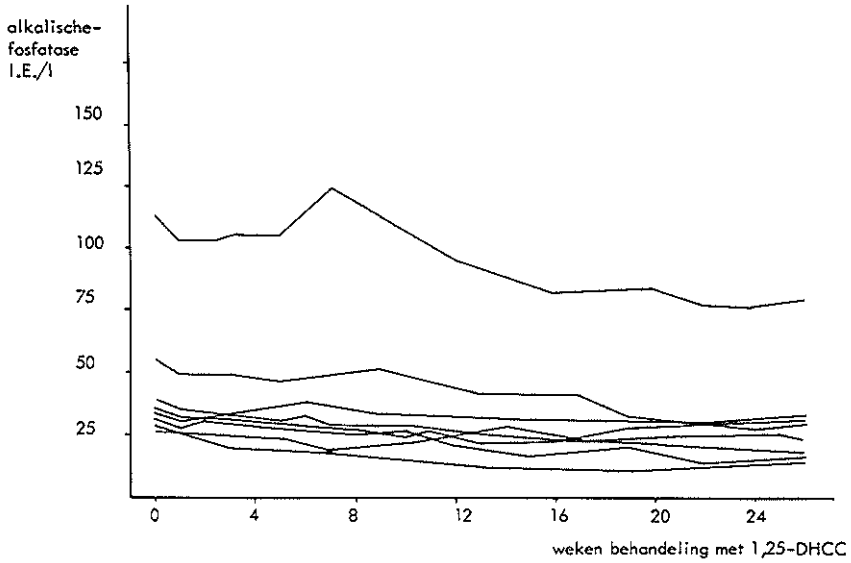


Fig. VIII - 6 Verloop van het alkalische fosfatase-gehalte in het serum bij 8 patiënten met CNI tijdens behandeling met 1,25-DHCC.

$\bar{X}$	55	31
SD	41	22
p	<0.01	

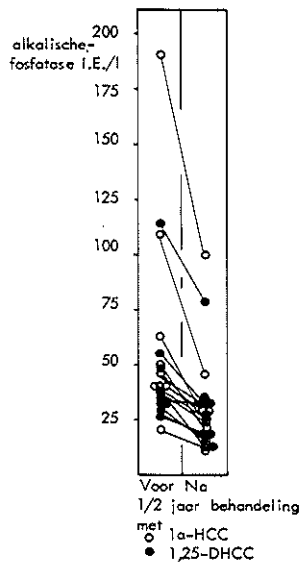


Fig. VIII - 7 Alkalische fosfatase-gehalte van het serum bij 8 patiënten met CNI, vóór en na een half jaar behandeling met 1,25-OHCC of 1,25-DHCC.

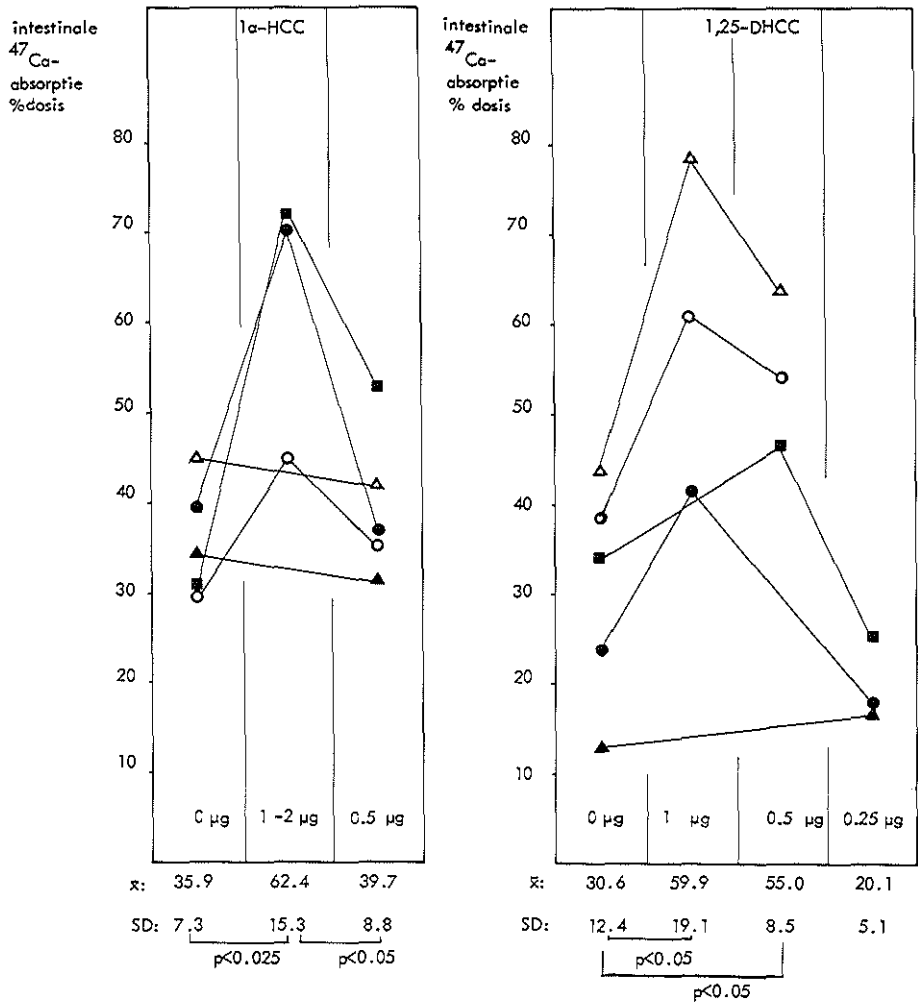


Fig. VIII - 8 Verloop van de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  bij 5 paar patiënten met CNI waarvan een met 1  $\alpha$ -HCC en de andere met 1,25-DHCC in de aangegeven doseringen werden behandeld.

● = paar I     $\Delta$  = paar II    ○ = paar III    ■ = paar IV     $\blacktriangle$  = paar V

gegeven. Het blijkt dat 0.25  $\mu\text{g}$  1,25-DHCC, zowel als aanvangsdosis als bij vermindering tot deze dosering, een onvoldoende effect op de Ca-absorptie had. Bij hogere doseringen trad altijd een toename van de absorptie op. Wat betreft 1  $\alpha$ -HCC vonden wij bij de laagste hier gebruikte dosering (0.5  $\mu\text{g}$  per dag) niet in alle gevallen een toename van de intestinale Ca-absorptie, terwijl dit bij de hogere doseringen (0.75 - 2.0  $\mu\text{g}$ ) wel steeds het geval was. In Fig. VIII - 10 is voor de gehele groep patiënten het verloop

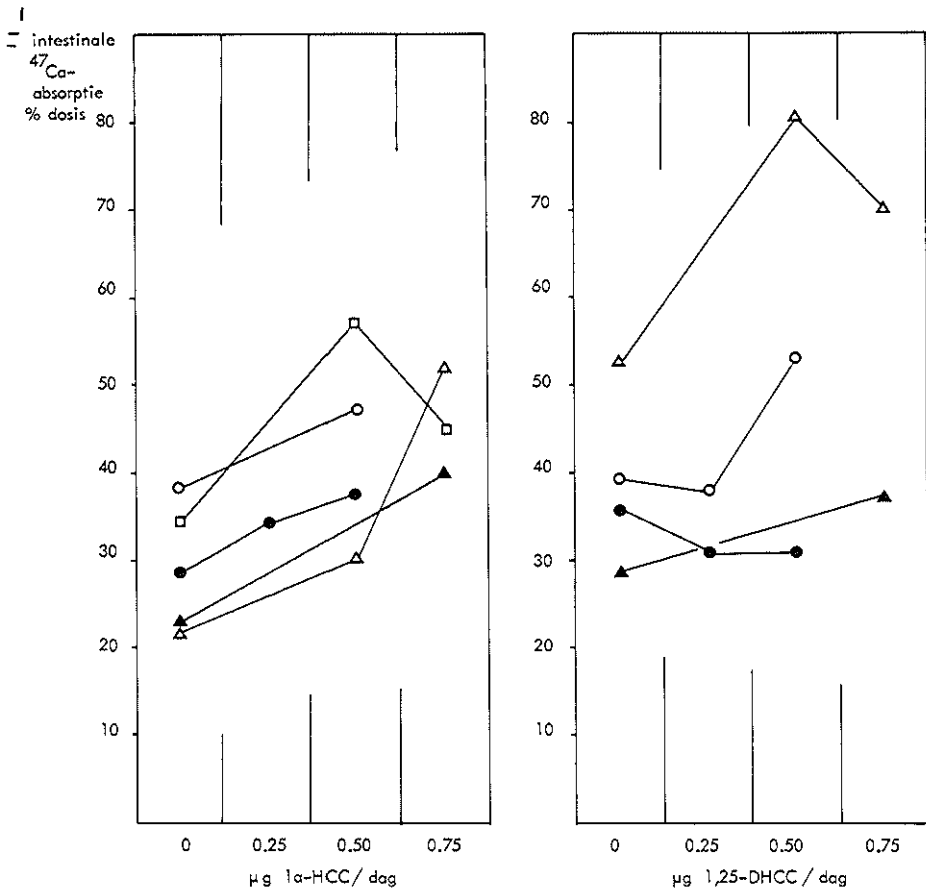


Fig. VIII - 9 Verloop van de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  bij 4 paar patiënten met CNI waarvan één met  $1\alpha\text{-HCC}$  en de andere met  $1,25\text{-DHCC}$  in de aangegeven doseringen werden behandeld. Tevens het verloop van één afzonderlijke patiënt ( $\square$ ) die met  $1\alpha\text{-HCC}$  werd behandeld.

$\circ$  = paar VI       $\bullet$  = paar VII       $\triangle$  = paar VIII       $\blacktriangle$  = paar IX

van de gemiddelde  $\text{Fa}^{47}\text{Ca}$  tijdens behandeling met  $1\alpha\text{-HCC}$  of  $1,25\text{-DHCC}$  uitgezet. Onder invloed van  $0.5 - 2 \mu\text{g}$  van één van beide stoffen, waarbij aangetekend moet worden, dat  $1,25\text{-DHCC}$  nooit hoger dan  $1 \mu\text{g}$  per dag werd gedoseerd, werden significant hogere waarden gevonden dan zonder behandeling.

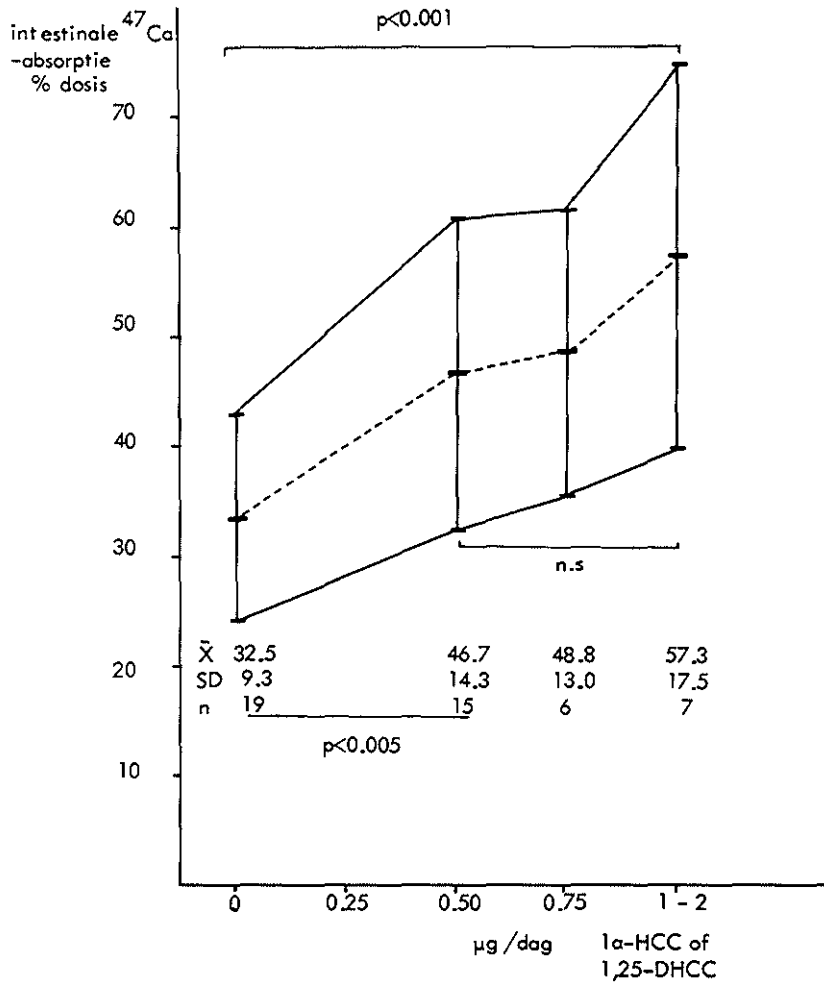


Fig. VIII - 10 Intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$ .  
 Gemiddelde  $\pm$  1 SD in relatie tot de dosering van 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC bij, in totaal, 19 patiënten met CNI.

#### D. Ca- en P-balans.

Bij de paren I, II, IV en V $\ddagger$  trad bij alle patiënten tijdens behandeling met de initieel-hoge dosering van de vitamine D-derivaten een significante verschuiving van de Ca-balans in positieve richting op (Fig. VIII - 11). Uit Fig. VIII - 12 blijkt dat het effect op de gemiddelde Ca-balans van vier paren, hier uitgedrukt als toename ( $\Delta$ ) t.o.v. de uitgangswaarde resp. t.o.v. de

$\ddagger$  Het belansonderzoek van paar III is hier in verband met technische onvolkomenheden niet opgenomen.

	Voor	Na 1 week	Na 2 weken	Na 4-7 maanden
therapie:	/	1 $\alpha$ - : 1-2 $\mu$ g / dag 1,25-: 0,5 - 1 $\mu$ g / dag		0,5 $\mu$ g/dag 0,25-0,5 $\mu$ g/dag

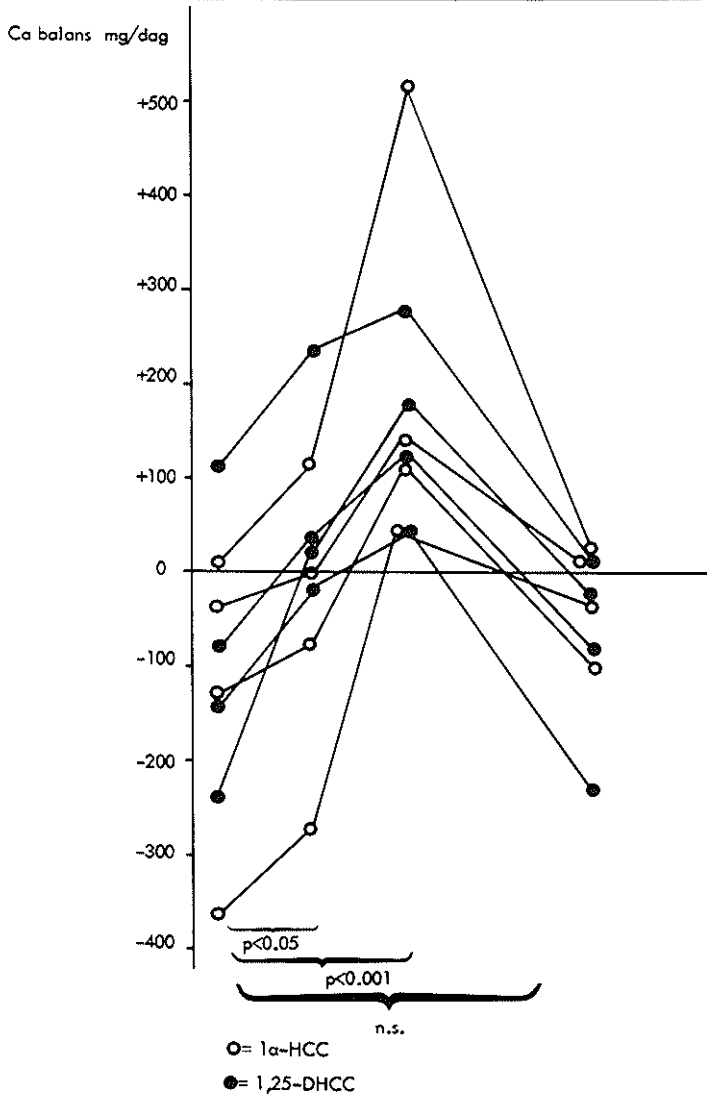


Fig. VIII - 11 Ca-balans, vóór en na resp. 1 week, 2 weken en 4 - 7 maanden behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC bij 4 paar patiënten (paar I, II, IV en V) met CNI.

voorgaande behandelingsperiode, tijdens de eerste week behandeling onder invloed van 1,25-DHCC groter was, doch dat na twee weken het ef-

fect van  $1\ \alpha$ -HCC en 1,25-DHCC op de Ca-balans vrijwel identiek was. De gemiddelde P-balans (Fig. VIII - 12) vertoonde in diezelfde periode wel een lichte stijgende tendens, doch is op geen enkel moment significant verschillend van de uitgangswaarde en ook onderling wordt in dit opzicht geen verschil tussen  $1\ \alpha$ -HCC en 1,25-DHCC gevonden. Van theoretisch en praktisch belang is dat de Ca-balans na ongeveer een half jaar behandeling (vier - zeven maanden) met elk van beide derivaten weer bleek te zijn gedaald (Fig. VIII - 11). Eén patiënt (nr. 29), die tenslotte een méér negatieve Ca-balans (-235 mg Ca per dag) had dan vóór de behandeling, kon in verband met een snel dalende nierfunctie met maximaal slechts  $0.25\ \mu\text{g}$ , 1,25-DHCC worden behandeld. Over het algemeen was na een half jaar behandeling de Ca-balans terug op het uitgangsniveau. Dit kan zijn veroorzaakt door de na

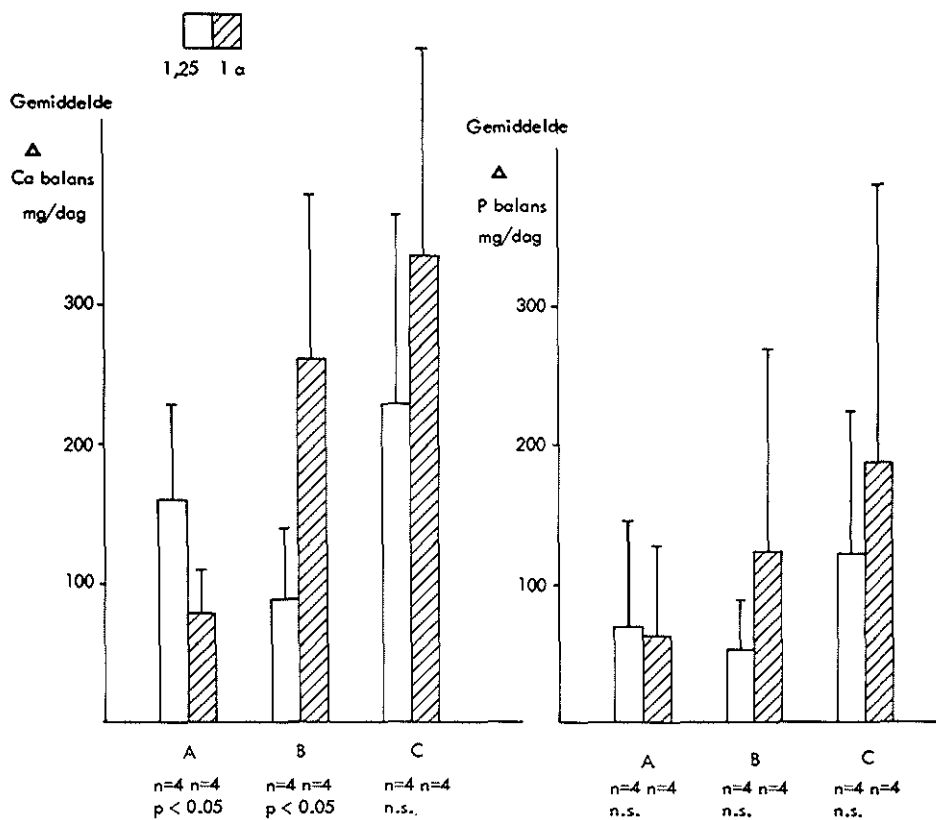


Fig. VIII - 12  $\Delta$  Ca en P-balans (Gem.  $\pm$  1 SD) bij 4 paar patiënten met CNI ( paar I, II, IV en V) tijdens behandeling met  $1\ \alpha$ -HCC of 1,25-DHCC.  
 A: toename, géén behandeling naar 1 week behandeling.  
 B: toename, één week behandeling naar 2 weken behandeling.  
 C: toename, géén behandeling naar 2 weken behandeling.

één tot twee maanden toegepaste verlaging van de dagdosis 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC of doordat na de medicamenteuze inductie van een meer positieve Ca-balans via de regulatiemechanismen, zoals deze in hoofdstuk II (Fig. II - 3) zijn besproken, de Ca-balans na verloop van tijd weer terugkeert tot een waarde rond het nulpunt. Om een indruk te krijgen over de

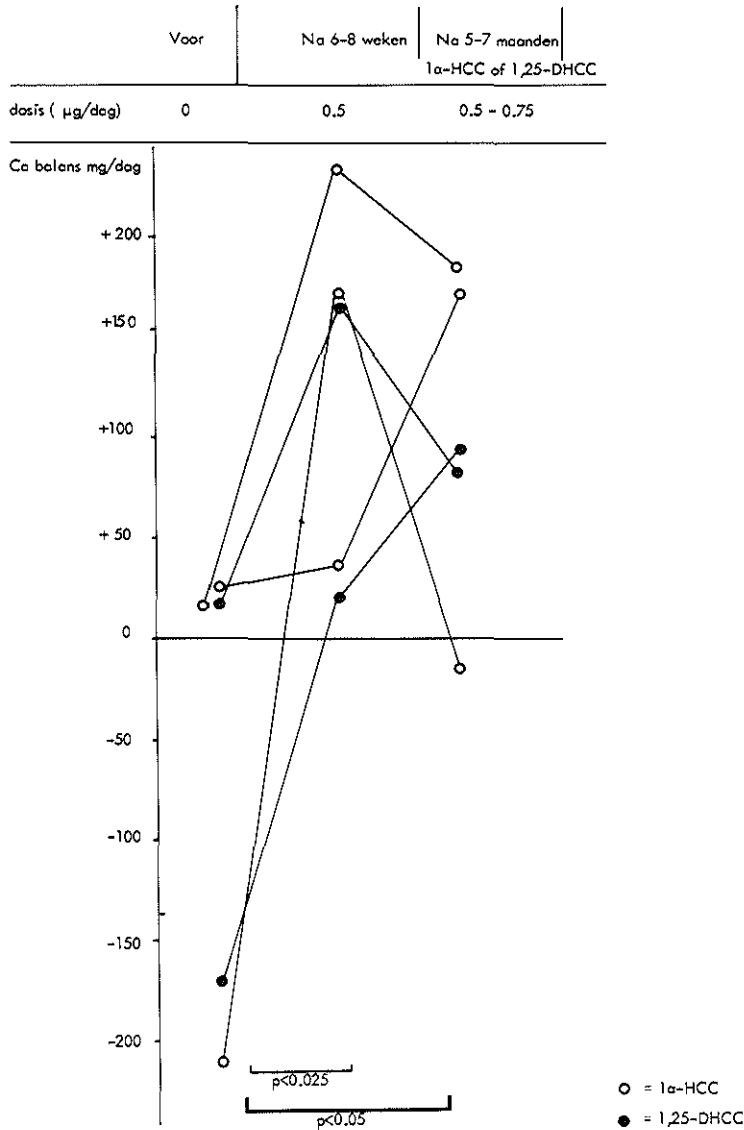


Fig. VIII - 13 Ca-balans vóór en na resp. 6 - 8 weken en 5 - 7 maanden behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC bij 2 paar patiënten met CNI en één afzonderlijke patiënt (paar VI en VII en patiënt 41).

eerste mogelijkheid werd de behandeling bij de volgende paren (VI en VII) en bij patiënt 41 begonnen met een dagdosis van  $0.5 \mu\text{g}$  van beide derivaten. Bij de drie met  $1 \alpha\text{-HCC}$  behandelde patiënten kon de dosering uiteindelijk opgehoogd worden tot  $0.75 \mu\text{g}$  per dag, terwijl bij één van de met  $1,25\text{-DHCC}$  behandelde patiënten de dosering in verband met het optreden van hyperfosfataemie moest worden teruggebracht tot  $0.25 \mu\text{g}$  per dag. Voorts werd het balansonderzoek zes tot acht weken na het begin van de behandeling en na een half jaar behandeling herhaald. Het onder de dagelijkse dosering van  $0.5 \mu\text{g}$  na zes tot acht weken uitgevoerde balansonderzoek liet bij alle vijf patiënten een toename van de Ca-balans zien, waarbij bij twee patiënten de balans veranderde van sterk negatief (ongeveer  $-200$  mg per dag) in positief (Fig. VIII - 13). Na een half jaar was gemiddeld de Ca-balans nog steeds positief en niet verschillend van de gemiddelde waarde verkregen zes tot acht weken na het begin van de behandeling. Dit lijkt in tegenspraak met hetgeen waargenomen werd bij de paren I, II, IV en V, maar bij de met  $1 \alpha\text{-HCC}$  behandelde patiënten van deze groep lag de dagelijkse dosering gemiddeld 50% hoger (nl.  $0.75 \mu\text{g}$  in plaats van  $0.50 \mu\text{g}$ ) dan bij de eerste groep. In het algemeen ondersteunen deze gegevens een dosisafhankelijk effect van de vitamine D-derivaten op de Ca-balans. Er waren echter enkele patiënten, die ondanks de hogere dosering  $1 \alpha\text{-HCC}$  tijdens de laatste balansperiode toch een daling vertoonden t.o.v. het balansonderzoek dat na zes tot acht weken werd gedaan. Zij bleven echter duidelijk positief t.o.v. de uitgangssituatie. Een contra-regulatoir effect, zoals hierboven aangeduid is dus niet uitgesloten.

De conclusie moet luiden dat zowel  $1 \alpha\text{-HCC}$  als  $1,25\text{-DHCC}$  aanleiding gaven tot een duidelijke verbetering van de Ca-balans, waarbij  $1,25\text{-DHCC}$  tijdens de eerste twee weken behandeling mogelijk een iets sneller effect had dan  $1 \alpha\text{-HCC}$  en waarbij tussen twee maanden en een half jaar behandeling zich bij sommige patiënten ondanks continuering van de medicatie een afname van de Ca-balans tot waarden van  $-100$  tot  $+100$  mg per dag voordeed. Hoewel de indruk bestaat dat de P-balans door zowel  $1 \alpha\text{-HCC}$  als  $1,25\text{-DHCC}$  in positieve richting wordt beïnvloed, vonden wij géén significante veranderingen.

#### *E. PTH en CT.*

**PTH:** Zowel  $1 \alpha\text{-HCC}$  (Fig. VIII - 14) als  $1,25\text{-DHCC}$  (Fig. VIII - 15) bleken het PTH-gehalte van het serum te onderdrukken, indien de dosering voldoende hoog was. Dagelijkse toediening van  $1 - 2 \mu\text{g}$   $1 \alpha\text{-HCC}$  veroorzaakte een significante daling van het PTH-gehalte, terwijl bij toediening van  $0.5 \mu\text{g}$   $1 \alpha\text{-HCC}$  per dag bij dezelfde patiënten het PTH-gehalte weer



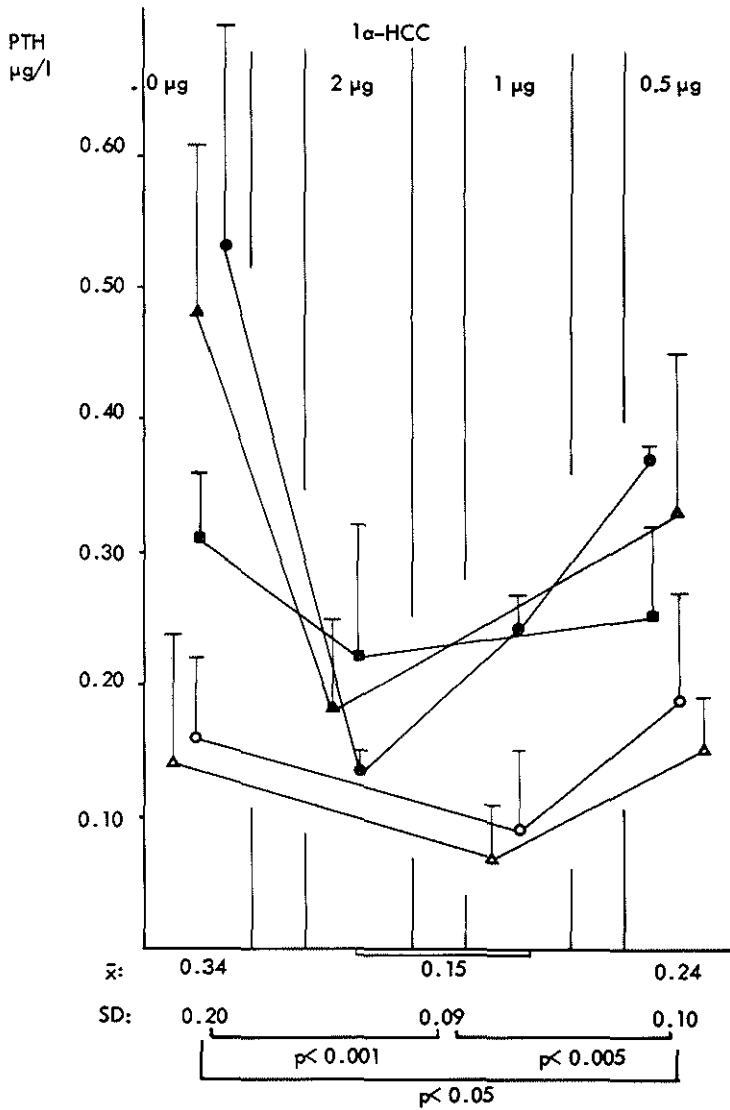


Fig. VIII - 14 PTH-gehalte van het serum (Gem.  $\pm$  1 SD) bij 5 patiënten met CNI (paar I t/m V) die in de aangegeven doseringen met 1  $\alpha$ -HCC werden behandeld.

● = paar I    △ = paar II    ○ = paar III    ■ = paar IV    ▲ = paar V.

steeg, doch gemiddeld lager bleef dan de uitgangswaarde. Individueel gezien gold dit alleen voor de drie patiënten met oorspronkelijk verhoogde PTH-waarden. Toediening van 1  $\mu$ g 1,25-DHCC bleek op het PTH-gehalte van het serum een effect vergelijkbaar met dat van 1 - 2  $\mu$ g 1  $\alpha$ -HCC te sor-

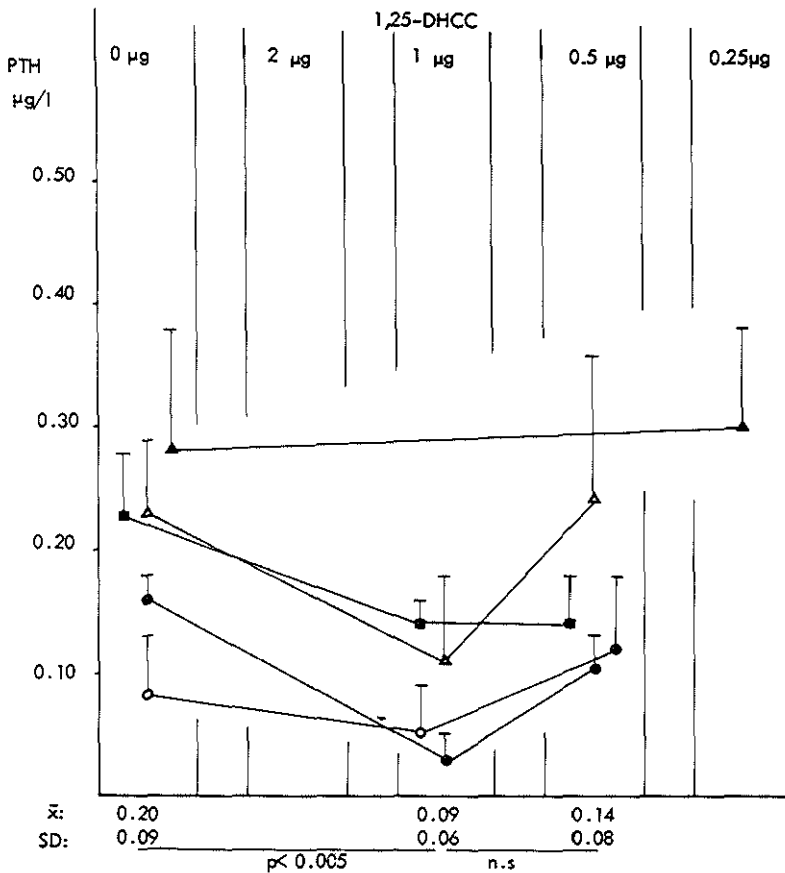


Fig. VIII - 15 PTH-gehalte van het serum (Gem.  $\pm$  1 SD) bij 5 patiënten met CNI (paar I t/m V) die in de aangegeven doseringen met 1,25-DHCC werden behandeld. Voor betekenis van de symbolen zie Fig. VIII - 14.

teren (Fig. VIII - 15). In deze groep patiënten induceerde toediening van 0.5  $\mu$ g 1,25-DHCC géén significant lagere PTH-concentratie dan de gemiddelde uitgangswaarde. Eén patiënt met een supranormaal PTH-gehalte vóór behandeling behield met 0.5  $\mu$ g 1,25-DHCC per dag een normaal PTH-gehalte van het serum. Voorts moet worden aangetekend dat de eventueel te boeken "winst" bij de met 1  $\alpha$ -HCC behandelde groep in principe groter was dan bij de met 1,25-DHCC behandelde groep, aangezien de gemiddelde uitgangswaarde (vóór behandeling) hoger was. In Fig. VIII - 16 is voor paar VIII en IX (tevens behandeld met IHD) het verloop van de gemiddelde PTH-waarde bij verschillende doseringen met één van de vitamine D-derivaten uitgezet. De uitgangswaarden zijn bij deze patiënten hoger dan die in

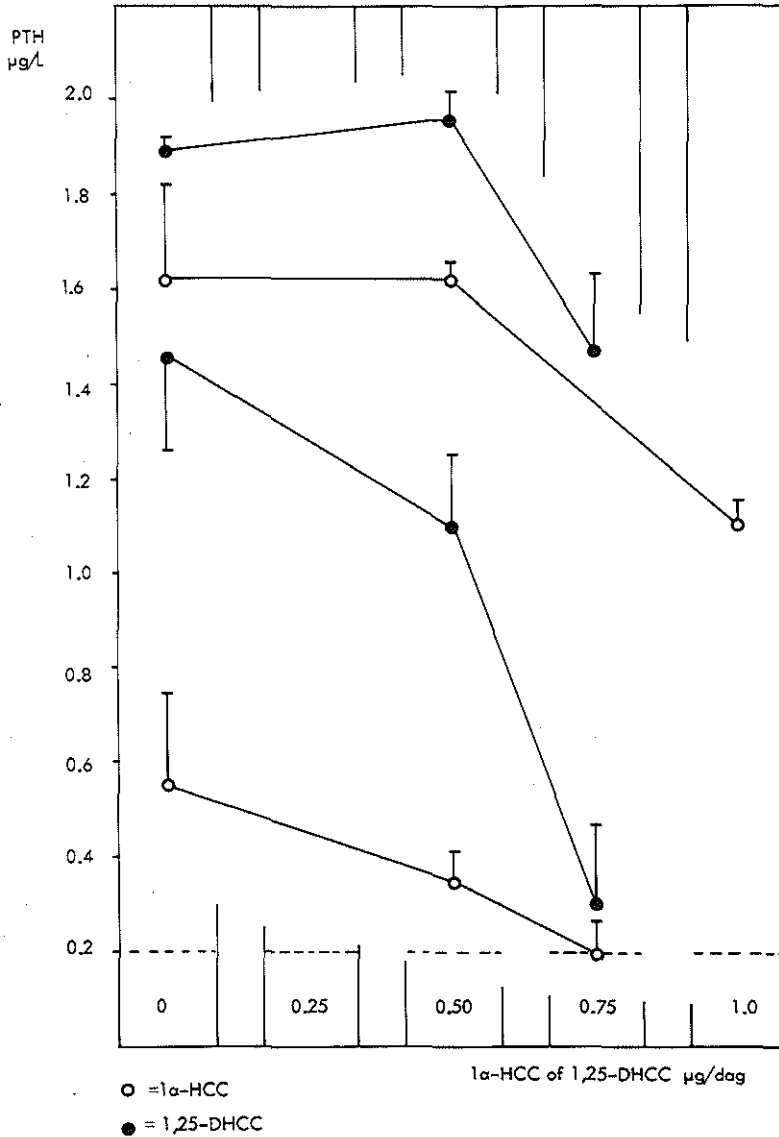


Fig. VIII - 16 PTH-gehalte van het serum (Gem.  $\pm$  1 SD) bij 2 paar met IHD behandelde patiënten met CNJ (paar VIII en IX), tijdens behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC.

Fig. VIII - 14 en - 15: Met name is bij de twee patiënten met de hoogste PTH-concentratie ( $> 1.60 \mu\text{g per l}$ ) behandeling gedurende een half jaar met maximaal  $1 \mu\text{g}$  vitamine D-derivaat per dag niet voldoende om normalisering van het PTH-gehalte te verkrijgen.

Conclusie: 0.5 - 1  $\mu\text{g}$  1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC geeft bij niet-gedialy-  
seerde patiënten altijd een significante suppressie van de PTH-concentratie  
in het serum. Bij twee patiënten, behandeld met IHD (en met de hoogste  
PTH-concentraties vóór behandeling) werd met de aangegeven doseringen  
binnen een half jaar geen daling van het PTH-gehalte tot in het normale  
gebied gevonden.

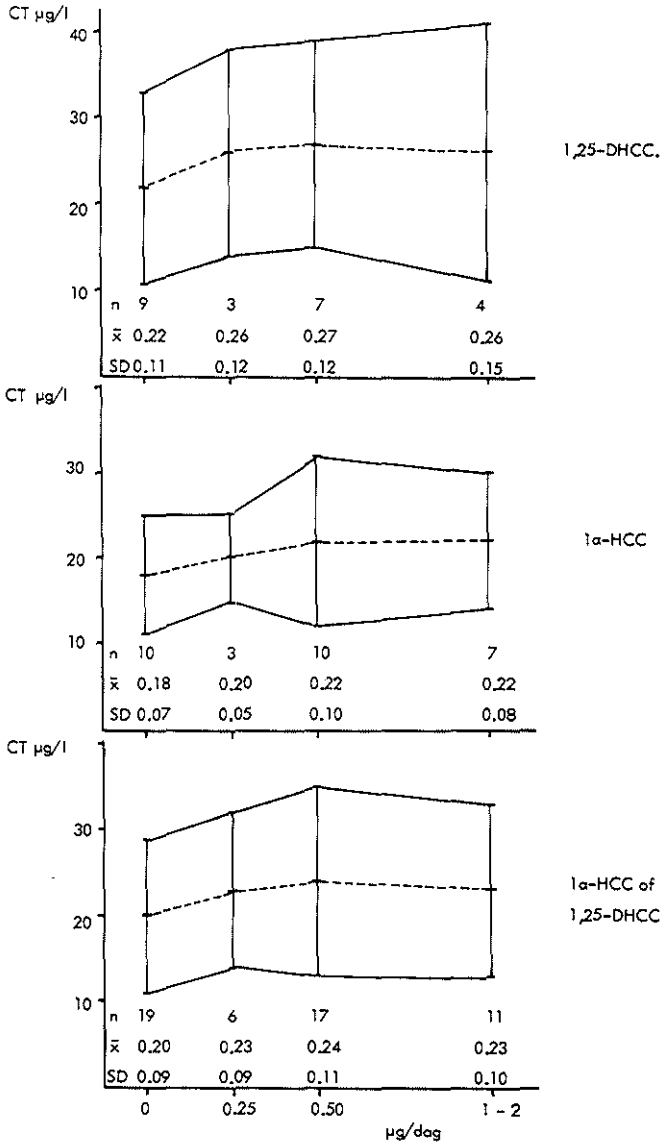


Fig. VIII - 17 CT-gehalte van het serum (Gem.  $\pm$  1 SD) bij, in totaal 19 patiënten met CNI (paar I t/m IX en patiënt 41) tijdens behandeling met aangegeven doseringen 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC.

CT: Zoals uit de resultaten van hoofdstuk V en VI naar voren is gekomen, was het CT-gehalte in de verschillende fasen van CNI binnen onze patiëntenpopulatie vrijwel steeds normaal. Bij de gehele groep patiënten

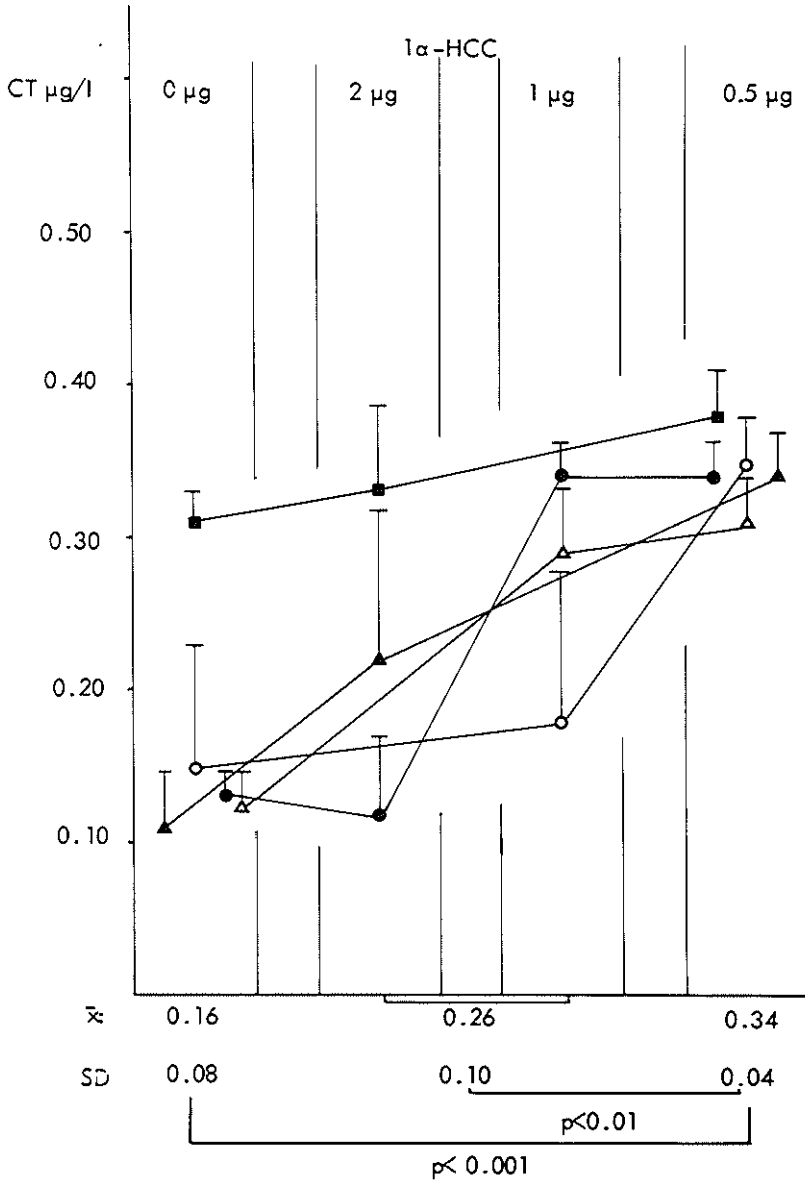


Fig. VIII - 18 CT-gehalte van het serum (Gem.  $\pm$  1 SD) bij 5 patiënten met CNI (paar I t/m V) die in de aangegeven doseringen met 1  $\alpha$ -HCC werden behandeld. Voor betekenis van de symbolen zie Fig. VIII - 14.

deden zich tijdens de behandeling met één van beide vitamine D-derivaten géén significante veranderingen van het gemiddelde CT-gehalte van het serum voor (Fig. VIII - 17). Er trad echter bij de groep patiënten met hoge aanvangsdosis 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC in de loop van de behandeling wel een geleidelijke stijging van het CT-gehalte op, die een relatie met de duur van de behandeling leek te hebben. Gemiddeld bleven de gevonden waarden in het hoog-normale gebied (Fig. VIII - 18 en - 19).

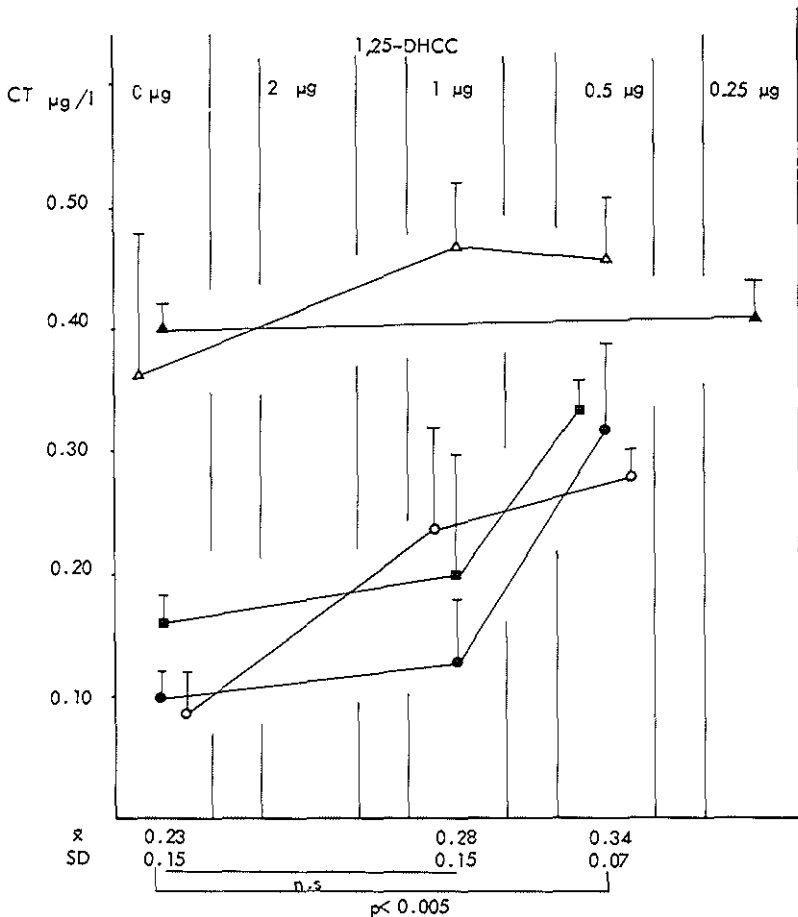


Fig. VIII - 19 CT-gehalte van het serum (Gem.  $\pm$  1 SD) bij 5 patiënten met CNI (paar I t/m V) die in de aangegeven doseringen werden behandeld met 1,25-DHCC. Voor betekenis van de symbolen zie Fig. VIII - 14.

## *F. Bothistologie.*

Met de semikwantitatieve methode verkregen resultaten van het histologische onderzoek van het bot, zoals beschreven in hoofdstuk IV, waren als volgt. Bij de met 1  $\alpha$ -HCC behandelde groep patiënten (Fig. VIII - 20) vonden wij bij zes van de negen patiënten een afname van de hoeveelheid met osteoïed bedekte oppervlakte van het trabeculaire bot. Bij alle patiënten werd een duidelijke afname van de dikke (meer dan drie lamellen omvatende) osteoïedzomen gevonden, hetgeen een aanwijzing is voor een verbeterde mineralisatie van het osteoïed, een verminderde aanmaak ervan of beide. De activiteit van de osteoblasten en de bezetting van de osteoïedzomen met osteoblasten namen beide af. Laatsgenoemde bezetting werd zelfs in vijf van de acht gevallen normaal, terwijl deze grootheid bij één patiënt tevoren al normaal was. Het aantal osteoclasten en het actieve resorptie-oppervlak namen bij zes van de negen patiënten af en veranderden bij de andere drie niet. Deze parameter bleef in alle gevallen op één na (waar de kwalificatie tevoren al normaal was) hoger dan normaal. Ditzelfde gold voor de inactieve resorptie-oppervlakte, waarbij opgemerkt moet worden dat één patiënt enige stijging liet zien. De tunnelvorming als uiting van sterke botresorptie liet in zes gevallen een duidelijke afname zien, terwijl ook de fibrose bij zes patiënten afnam. De hier beschreven afname van de diverse indices werden over het algemeen in dezelfde mate gezien bij de met 1,25-DHCC behandelde patiënten (Fig. VIII - 21). Opvallend is wel, dat met name het "tunneling"-fenomeen en de fibrose, waar aanwezig, onder invloed van 1,25-DHCC steeds geheel verdwijnen, terwijl het effect op de osteoblasten-"activiteit" bij 1,25-DHCC wat minder uitgesproken lijkt. Deze vergelijking wordt echter bemoeilijkt doordat de osteoclasten-parameters vóór behandeling bij de 1  $\alpha$ -HCC-groep globaal sterker afwijkend bleken te zijn. Ter vergelijking zijn in Fig. VIII - 22 deze indices nogeens weergegeven bij vier patiënten, die met 1,25-DHCC en drie patiënten, die met 1  $\alpha$ -HCC werden behandeld en bij wie uit de periode vóór behandeling met één van de vitamine D-derivaten twee botbiopten beschikbaar waren. Het gemiddelde interval tussen de tijdstippen van het nemen van de twee biopten vóór het begin van de behandeling bedroeg  $19 \pm 6$  (SD) maanden. De kreatinine-kleding daalde in deze periode van gemiddeld  $22 \pm 7$  (SD) naar  $14 \pm 10$  ml. per min. In vier gevallen was er tijdens behandeling een duidelijke afname van het osteoïed, terwijl vóór behandeling de hoeveelheid osteoïed over het algemeen constant was. In de periode vóór behandeling bleven ook de brede osteoïedzomen (met meer dan drie lamellen) gelijk of zij namen toe in zes van de zeven gevallen, terwijl er tijdens behandeling in vijf van de zeven gevallen een duidelijke vermindering op-

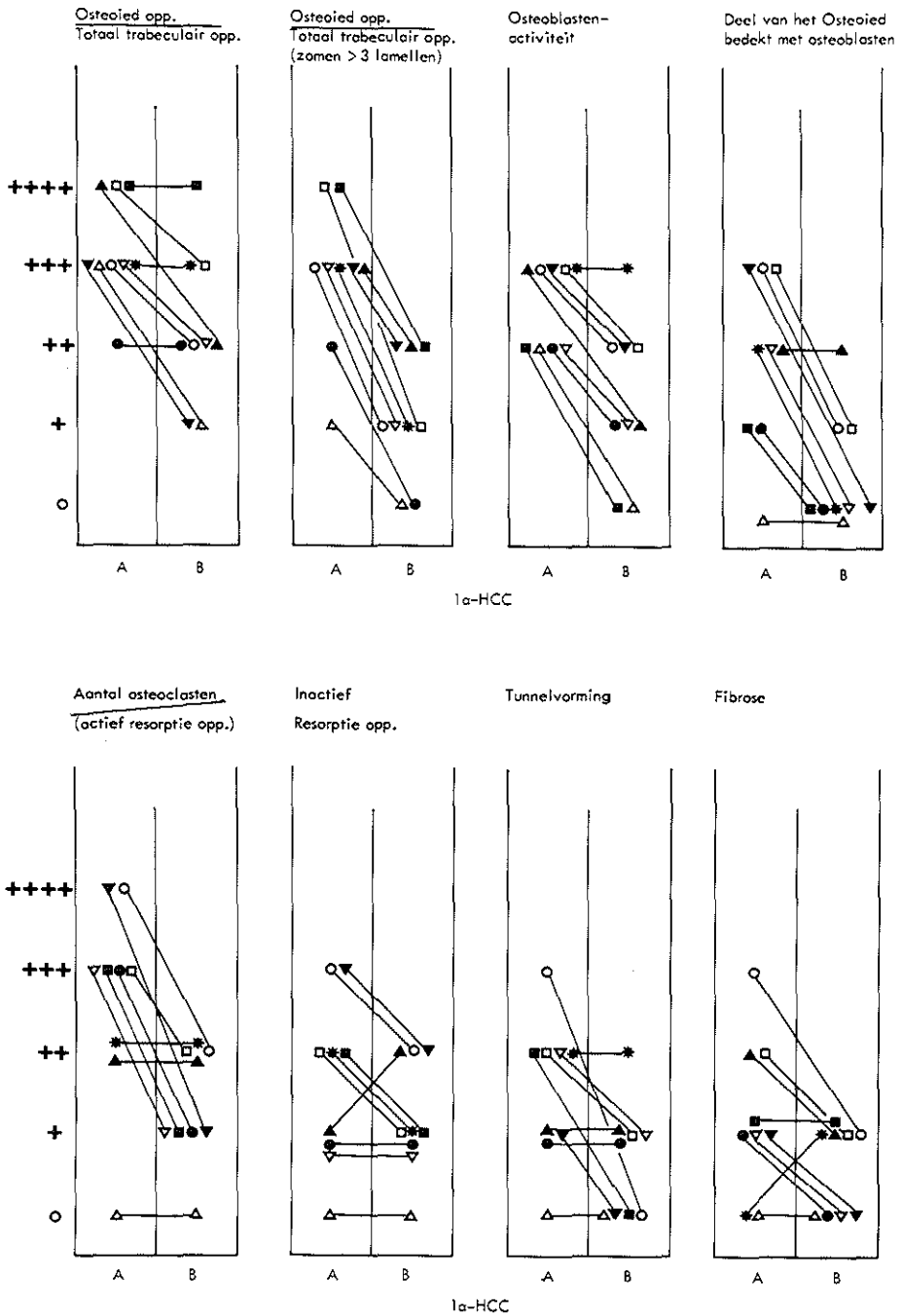


Fig. VIII - 20 Bothistologie bij 9 patiënten met CNI vóór behandeling met IHD.  
 A: vóór behandeling met 1  $\alpha$ -HCC.  
 B: tijdens behandeling met 1  $\alpha$ -HCC (na  $\pm$  ½ jaar).



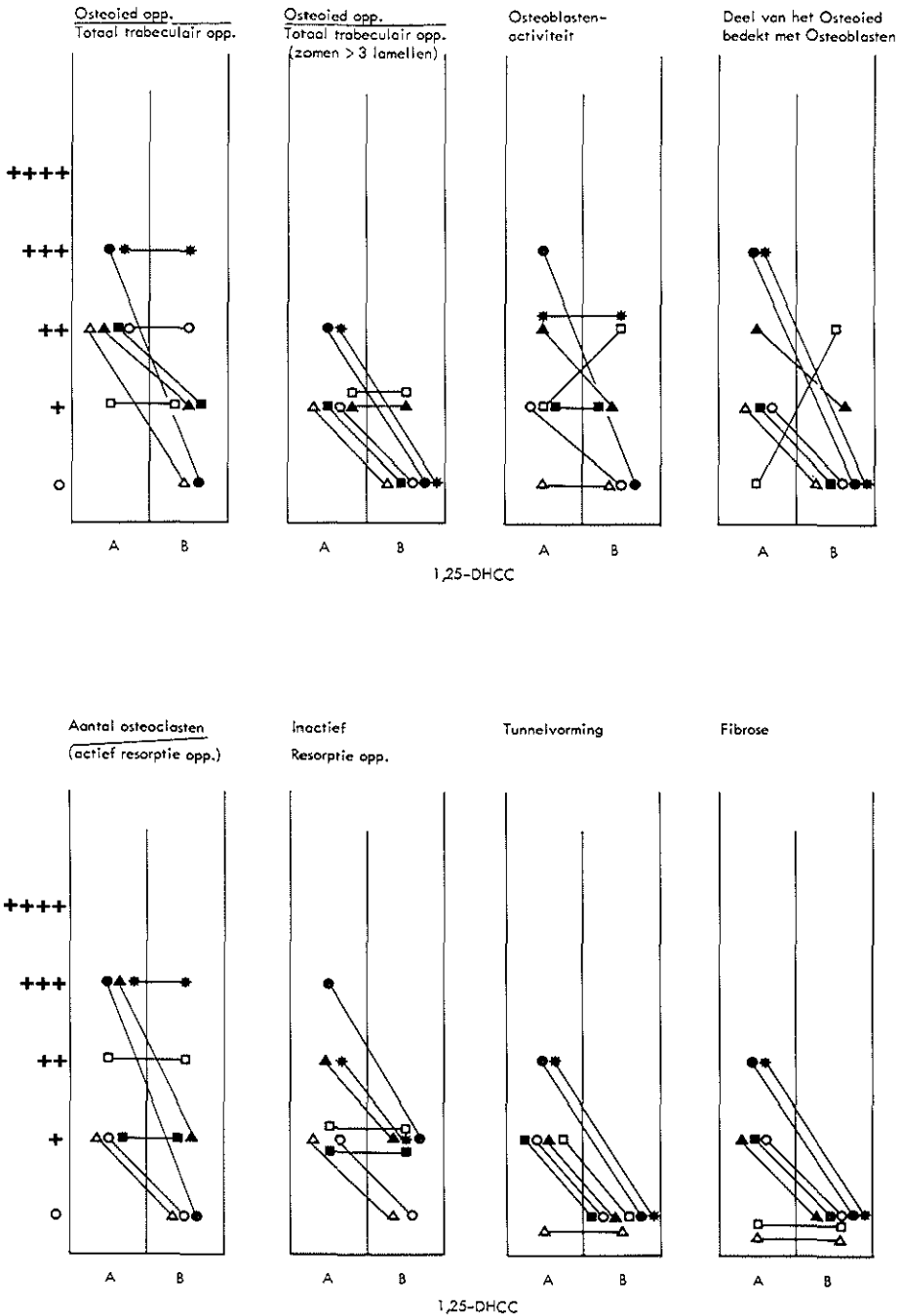


Fig. VIII - 21 Bothistologie bij 7 patiënten met CNI, vóór behandeling met IHD.  
 A: vóór behandeling met 1,25-DHCC.  
 B: tijdens behandeling met 1,25-DHCC (na  $\pm$  ½ jaar).

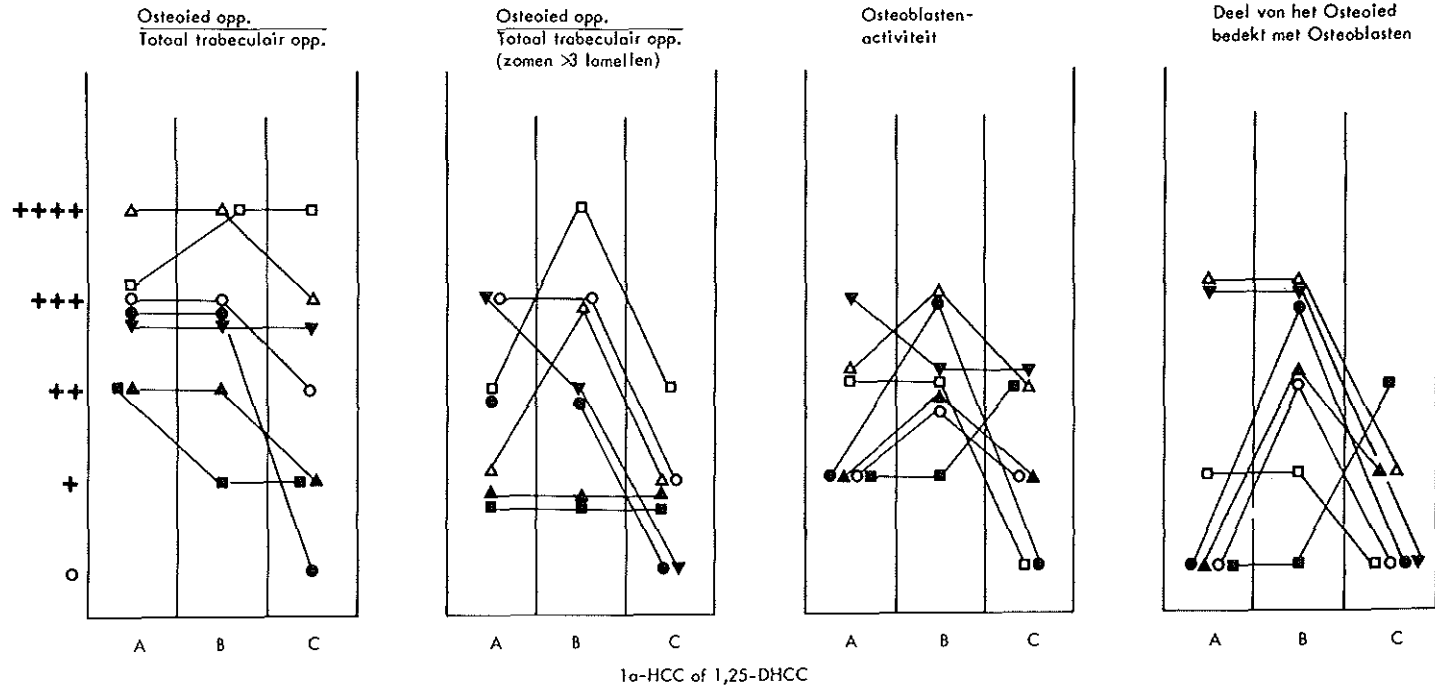


Fig. VIII - 22<sup>a</sup> Bothistologie bij 7 patiënten met CNI vóór behandeling met IHD.

A en B: vóór behandeling met 1 α-HCC of 1,25-DHCC.

C: tijdens behandeling met 1 α-HCC of 1,25-DHCC (na ± ½ jaar).

open symbolen : 1 α-HCC

gesloten symbolen : 1,25-DHCC

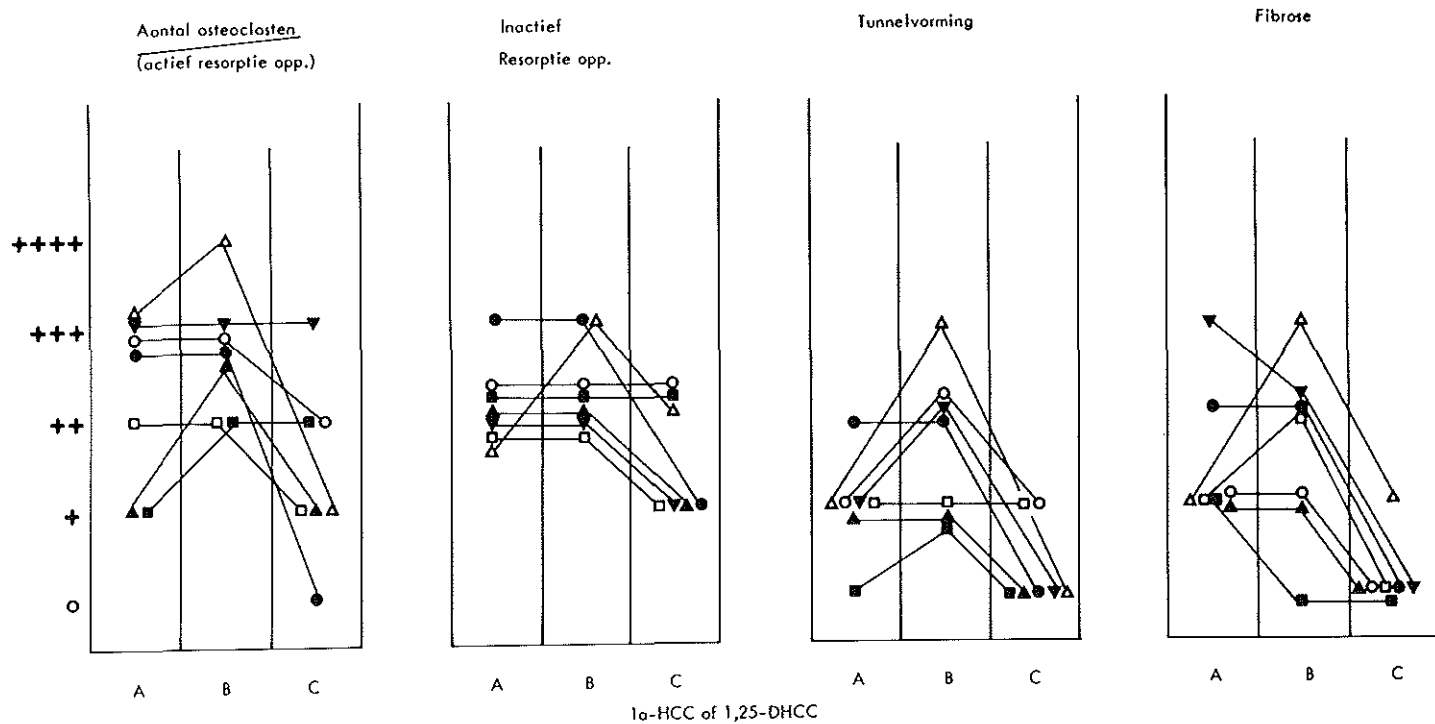


Fig. VIII - 22<sup>b</sup> Bothistologie bij 7 patiënten met CNI vóór behandeling met IHD.

A en B: vóór behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC.

C: tijdens behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC (na  $\pm$  1/2 jaar).

open symbolen : 1  $\alpha$ -HCC

gesloten symbolen : 1,25-DHCC

trad. Ditzelfde gold voor de activiteit van de osteoblasten en het deel van het osteoïed dat bedekt was met osteoblasten, terwijl er voor één patiënt tijdens behandeling een toename van beide viel te constateren. Wat betreft de oppervlakte van actieve en inactieve resorptie werd tijdens behandeling op enkele uitzonderingen na een duidelijke afname gezien ten opzichte van de periode vóór behandeling. De tunnelvorming nam tijdens de periode zonder behandeling in vier van de zeven gevallen toe en liep tijdens behandeling bij zes patiënten sterk terug, hetgeen leidde tot afwezigheid van het fenomeen in vijf gevallen. Evenzo werd met uitzondering van één patiënt na een half jaar behandeling geen fibrose meer in het beenmerg waargenomen, terwijl vóór behandeling dit verschijnsel bij alle patiënten aanwezig was en in twee gevallen nog toenam. Onder invloed van behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC werd door ons in het bot een afname van de verschillende histologische indices gevonden, hetgeen over het geheel gezien tot het ontstaan van kwalitatief beter bot leek te leiden met minder ongeminaliseerd bot, minder celactiviteit, althans een lager celaantal, (ook van de osteoblasten), een sterk verminderde resorptie en een verdwijnen van de tevoren aanwezige beenmergfibrose. Opgemerkt moet nog worden dat het verdwijnen van tunnels in het bot aangemerkt moet worden als resultante van vorming van botmatrix en een verbeterde mineralisatie. De hier beschreven veranderingen geven echter geen indruk van het verloop van de totale hoeveelheid geminaliseerd bot.

#### *G. Fotonabsorptiometrie.*

Bij vijf patiënten, die met 1  $\alpha$ -HCC (Fig. VIII - 23) en vijf patiënten die met 1,25-DHCC (Fig. VIII - 24) werden behandeld, werd ten opzichte van de in deze figuren aangegeven observatieperiode vóór de aanvang van de behandeling geen afname van het mineraalgehalte (BMM) gevonden, uitgezonderd bij twee patiënten (één in iedere groep), van wie de uitgangswaarden de laagste binnen deze groepen waren. Gemiddeld is bij deze groepen het verloop van de BMM na aanvang van de behandeling niet verschillend van daarvoor.

#### **d. Bespreking**

Onze resultaten van de behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC komen deels overeen met die van andere auteurs (zie inleiding). Met name de in de literatuur veelvuldig beschreven ontwikkeling van hypercalcaemie werd bij onze patiënten alleen incidenteel geconstateerd en dan vrijwel nooit eerder dan na vier tot vijf maanden behandeling met één van de vitamine

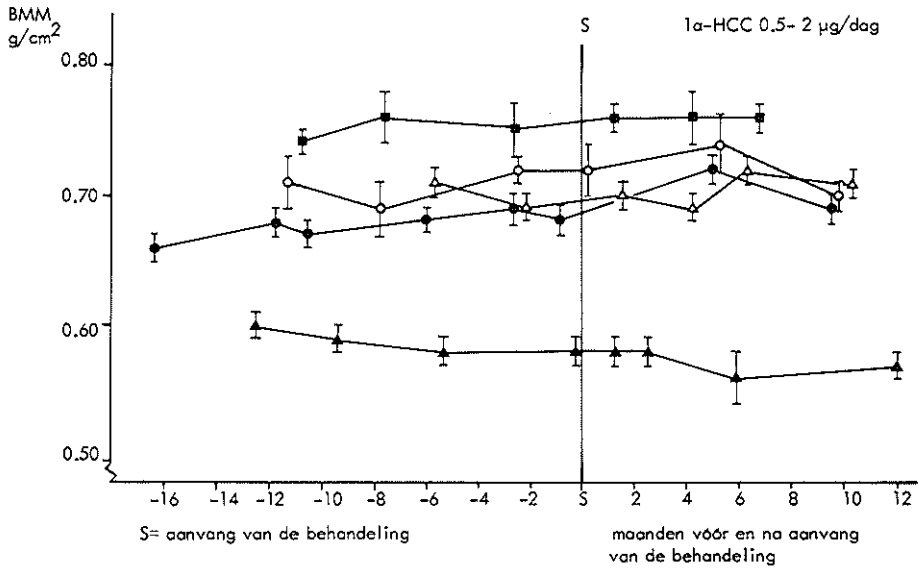


Fig. VIII - 23 Verloop van de BMM ( $\pm$  1 SD) bij 5 patiënten met CNI, vóór en na aanvang van de behandeling met 1  $\alpha$ -HCC. Voor betekenis van de symbolen zie Fig. VIII - 14.

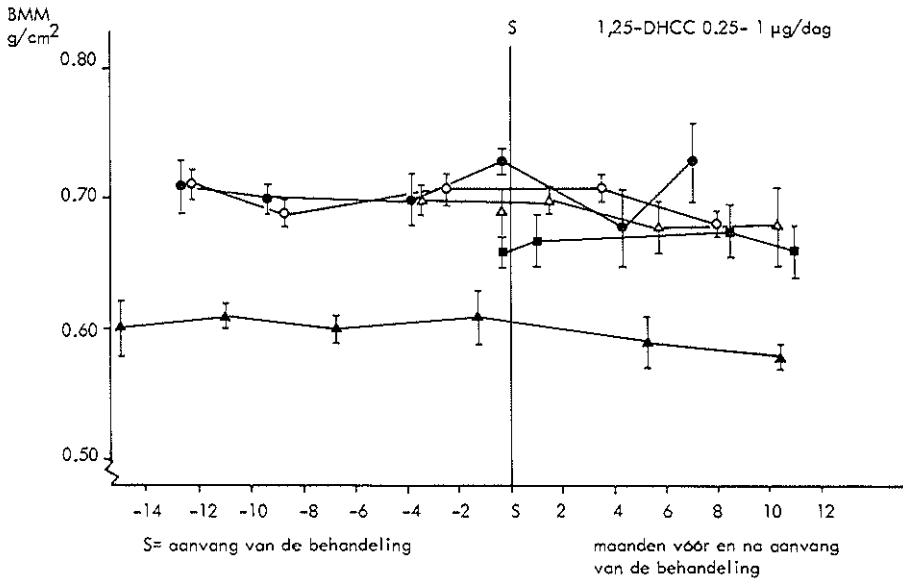


Fig. VIII - 24 Verloop van de BMM ( $\pm$  1 SD) bij 5 patiënten met CNI, vóór en tijdens behandeling met 1,25-DHCC. Voor betekenis van de symbolen zie Fig. VIII - 14.

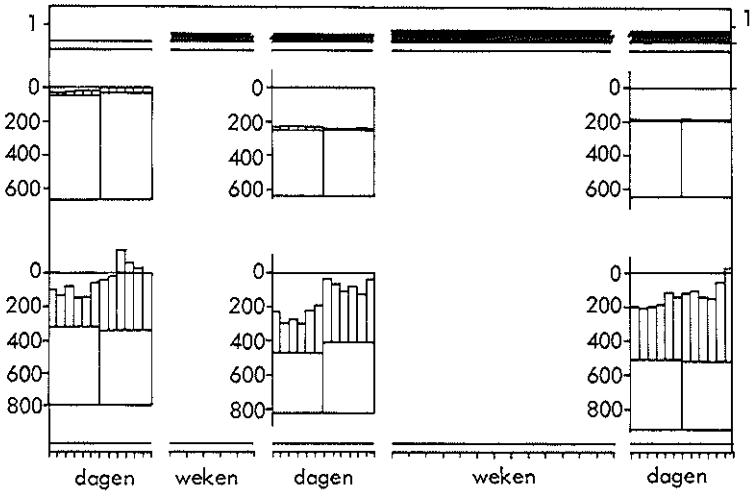
D-derivaten. In dit opzicht werd geen verschil tussen 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC gevonden. Veeleer bleek, vooral bij gebruik van een relatief hoge aanvangsdosis (1.0 - 2.0  $\mu$ g per dag), de optredende hyperfosfataemie (Fig. VIII - 1) een probleem te vormen, aangezien dit gepaard ging met een sterker verlies van nierfunctie dan op grond van het voorafgaande verloop kon worden verwacht. Men kan zich hieromtrent afvragen, of inderdaad de daling van de glomerulaire filtratie veroorzaakt werd door de toename van het P-gehalte van het serum (en daarmee van het Ca x P-ionenproduct) met verhoogde kans op neerslaan van calciumfosfaat in het nierweefsel, waarvoor overigens door Ibels e.a. (1978) overtuigende argumenten zijn aangevoerd. Theoretisch zou de hyperfosfataemie ook het gevolg kunnen zijn van verslechtering van de nierfunctie. De stijging van het P-gehalte van het serum en de daling na stoppen van de toediening van het medicament of na aanpassing van de dosering, ging echter steeds vooraf aan de stijging, resp. de daling van het kreatinine-gehalte van het serum (Fig. VIII - 3 en - 4). De aanvangsdosering van de vitamine D-derivaten, zoals deze in eerste instantie door ons werd toegepast, is te vergelijken met de dosering die door anderen (zie inleiding) is gebruikt bij de behandeling van groepen patiënten die merendeels tevens met IHD werden behandeld. In tegenstelling hiermee werden onze patiënten (op twee paar na) niet met IHD behandeld. Het ziet er naar uit dat patiënten die met IHD worden behandeld er minder toe neigen onder invloed van 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC een ernstige hyperfosfataemie te ontwikkelen. Echter ook bij patiënten behandeld met IHD en vitamine D-derivaten kan toename van het P-gehalte van het serum worden gevonden (Brownjohn e.a., 1977). De toename van het P-gehalte van het serum en de zeer geringe verschuivingen in de P-balans die wij na het begin van de behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC zagen, lijken met elkaar in tegenspraak. Hierbij moet vermeld worden dat Chan e.a. (1975) en Davie e.a. (1976) onder soortgelijke omstandigheden wel een verschuiving van de P-balans in positieve richting hebben gevonden. Indien men de toename van het P-gehalte van het serum zou willen verklaren door mobilisatie uit het bot in plaats van verschuiving in positieve richting van de externe P-balans, dan is niet duidelijk waarom niet in vergelijkbare mate een toename van het Ca-gehalte van het serum werd gevonden. Een verklaring zou kunnen zijn dat de intestinale P-absorptie door de toediening van een van de vitamine D-derivaten mogelijk sterker wordt beïnvloed dan de Ca-absorptie. Bovendien bestaat de mogelijkheid dat derivaten van vitamine D de tubulaire terugresorptie van P bevorderen. Overigens namen wij geen significante verandering van de P-uitscheiding in de urine ten opzichte van vóór de behandeling waar, ook geen afname. Ter illustratie hiervan is in Fig. VIII - 25 het verloop van de Ca- en P-balans tijdens behandeling van twee patiënten met

Patient 41  
♀ 43 jr.

1 $\alpha$ -HCC  
 $\mu\text{g}/\text{dag}$

Ca  
balans  
 $\text{mg}/\text{dag}$

P  
balans  
 $\text{mg}/\text{dag}$



Patient: 28  
♀ 55 jr.

1,25-DHCC  
 $\mu\text{g}/\text{dag}$

Alucol  
 $\text{g}/\text{dag}$

Ca  
balans  
 $\text{mg}/\text{dag}$

P  
balans  
 $\text{mg}/\text{dag}$

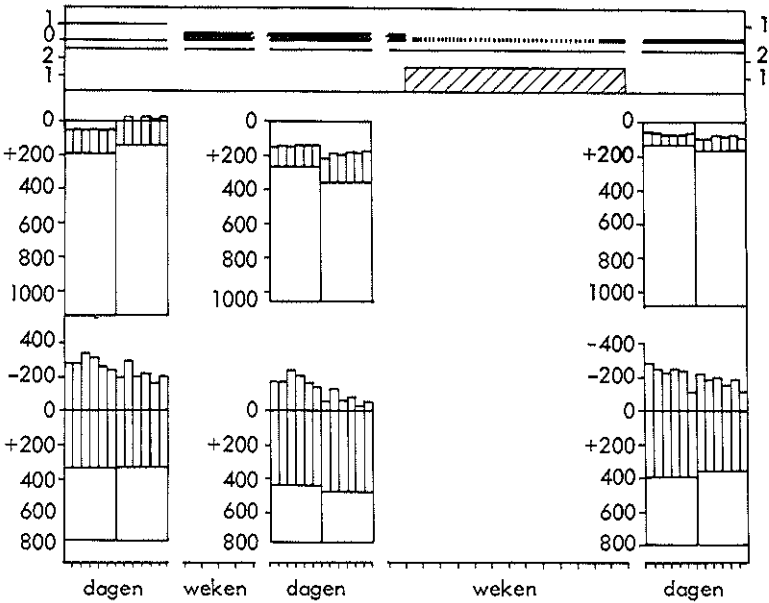


Fig. VIII - 25 Ca- en P-balans bij 2 patiënten, waarvan één met 1  $\alpha$ -HCC en de andere met 1,25-DHCC werd behandeld. De dagelijkse dosering 1  $\alpha$ -HCC resp. 1,25-DHCC is boven de resultaten van het balans onderzoek aangegeven.

respectievelijk 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC in beeld gebracht. Een goede verklaring voor deze ogenschijnlijke discrepantie tussen het gedrag van het serum P en de externe P-balans hebben wij niet.

Wat betreft de minimaal noodzakelijke dagdosis voor het bereiken van een verbetering van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie blijkt uit Fig. VIII - 8 dat in drie van de vijf gevallen 0.5  $\mu\text{g}$  1  $\alpha$ -HCC per dag niet voldoende was voor een dergelijk effect en dat 0.5  $\mu\text{g}$  1,25-DHCC per dag in de drie gevallen wel een toename veroorzaakte. Bij een andere groep patiënten, nl. de niet met een hoge aanvangsdosis behandelde, werd echter steeds een verbetering met 0.5  $\mu\text{g}$  1  $\alpha$ -HCC gevonden (Fig. VIII - 9), terwijl dit bij twee van de drie met 0.5  $\mu\text{g}$  1,25-DHCC behandelde patiënten het geval was. Een dosis van 0.5  $\mu\text{g}$  per dag lijkt voor beide derivaten een vrij kritieke te zijn, waarbij bij sommigen wel en bij anderen géén verbetering van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie wordt verkregen. Gemiddeld werd met deze dosering wel een toename van de intestinale absorptie van Ca bereikt (Fig. VIII - 10). Met een lagere dosering (0.25  $\mu\text{g}$  per dag) zagen wij nooit en een hogere (0.75 - 2  $\mu\text{g}$  per dag) altijd een toename van de absorptie. Uit de literatuur is ten aanzien van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie een minimaal werkzame dosering niet goed bekend, aangezien met name van 1  $\alpha$ -HCC vrijwel nooit doseringen lager dan 1  $\mu\text{g}$  per dag zijn toegepast. Brickman e.a. (1974 en 1976) vermeldden een minimaal effectieve dagdosis van 2.6  $\mu\text{g}$  voor 1  $\alpha$ -HCC en 0.68  $\mu\text{g}$  voor 1,25-DHCC.

Mede geïnduceerd door de verbetering van de intestinale absorptie van Ca wordt bij behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC altijd een verschuiving in positieve richting van de externe Ca-balans gevonden (Fig. VIII - 11 en - 13). De afname van de Ca-balans tot een niveau dat vrijwel gelijk is aan de uitgangssituatie bij de patiënten uit de groep die met een hoge aanvangsdosering werd behandeld (Fig. VIII - 11) is gezien de resultaten die in de tweede groep (paar VI en VII, Fig. VIII - 13) werden gevonden het meest waarschijnlijk aan een vermindering (halvering) van de initiële dosis te wijten. De dosisafhankelijke reactie van de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie op toediening van 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC lijkt met deze bevinding in overeenstemming.

De suppressie van het PTH-gehalte onder invloed van 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC leek geen indirect resultaat te zijn van de toename van het Ca-gehalte van het serum, al werd de Ca-balans meer positief (of minder negatief) en al zijn wij niet geïnformeerd over mogelijke veranderingen in de verhouding geïoniseerd en niet-geïoniseerd Ca in het bloed. Indien zij al optrad zagen wij een waarneembare stijging van het totale Ca-gehalte van het serum veel later dan de afname van het PTH-gehalte. Een door diverse onderzoekers (Henry en Norman, 1975 a; Altenähr e.a., 1977; Canterbury



e.a., 1978) aangetoond direct effect op de bijnierschilddriessen van bepaalde vitamine D-metabolieten zou hier een rol kunnen spelen. Ook t.a.v. de suppressie van het PTH-gehalte van het serum bleek in ons onderzoek van beide derivaten 0.5  $\mu$ g per dag de minimaal effectieve dosis te zijn. Echter alleen een dosis van 1.0 - 2.0  $\mu$ g per dag was in staat het PTH-gehalte tot normaal terug te brengen (Fig. VIII - 14 en - 15).

Een toename van het CT-gehalte van het serum van patiënten met CNI tijdens behandeling met 1  $\alpha$ -HCC is ook door Kanis e.a. gevonden (persoonlijke mededeling). Uitgaande van een relatieve deficiëntie van CT bij patiënten met CNI (Kanis e.a., 1977 b) zien zij in het stijgen van het CT-gehalte tijdens behandeling met vitamine D-derivaten, veelal gepaard gaande met een daling van het alkalische fosfatase-gehalte, een argument voor de rol die gebrek aan CT zou kunnen spelen bij het ontstaan van renale osteodystrofie. Het verloop van de gemiddelde waarde van CT bij onze patiënten onder behandeling met 1  $\alpha$ -HCC dan wel 1,25-DHCC steunt deze hypothese niet. Hieraan kan worden toegevoegd dat bij een aantal patiënten bij wie zich, binnen het normale gebied, een toename van het CT-gehalte voordeed, wij ook een daling van het alkalische fosfatase-gehalte waarnamen. Dit laatste was echter ook het geval bij patiënten bij wie het CT-gehalte van het serum geen stijging vertoonde. Wat betreft een mogelijk direct effect van vitamine D-derivaten op de CT-secretie in de parafolliculaire cellen, zijn bij vitamine D-deficiënte varkens de volgende resultaten gevonden: 24,25-DHCC stimuleert de secretie van CT en 1,25-DHCC heeft geen effect of remt zelfs de secretie van CT, waarbij deze effecten zich niet voordoen indien de dieren met vitamine D zijn gesuppleerd (Care e.a., 1979). Een eventuele toename van het CT-gehalte, zoals onder invloed van behandeling met één van de vitamine D-derivaten bij enkele van onze patiënten ook is waargenomen, lijkt op grond van deze gegevens niet te wijten aan directe stimulatie van de C-cellen. De meest voor de hand liggende verklaring is een stijging van het Ca-gehalte onder invloed van de behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC, zoals die door verschillende auteurs (zie inleiding) is beschreven. Echter de incidentele stijging van het serum Ca-gehalte bij onze groep patiënten deed zich zoals vermeld, over het algemeen pas in een veel later stadium voor dan de stijging van het CT-gehalte.

Eén van de belangrijkste resultaten van de hier beschreven behandeling met de 1  $\alpha$ -hydroxy-derivaten van vitamine D is dat bij patiënten die (nog) niet behandeld werden met IHD, met relatief lage onderhoudsdoseringen (< 1  $\mu$ g per dag) gedurende zes maanden vrijwel steeds een uitgesproken verbetering werd verkregen van de renale osteodystrofie (Fig. VIII - 20 t/m - 22). Deze winst behoeft bij nauwkeurig vervolgen van Ca-, P- en kreatinine-gehalte van het serum niet ten koste te gaan van sterker verlies van nierfunc-

tie dan op grond van het voorafgaande verloop zonder behandeling met vitamine D-derivaten zou worden verwacht. De spontane geleidelijk voortgaande afname van de nierfunctie, die zich bij vrijwel alle patiënten met CNI voordoet, zal immers, zoals in Fig. VIII - 1 en - 2 is weergegeven en zoals ook uit de literatuur bekend is (Tougaard e.a., 1976; Christiansen e.a., 1978), pas versneld worden indien men bij patiënten met terminale nierinsufficiëntie in de prae-dialyse-fase, doseringen toepast van  $1 \mu\text{g}$  of meer van één van beide derivaten. Hoewel lagere (onderhouds)doseringen van één van beide  $1 \alpha$ -gehydroxyleerde vitamine D-derivaten verhoogde PTH-spiegels als regel niet tot in het normale gebied supprimeerden, bleken dezelfde doseringen de bothistologie ingrijpend te kunnen verbeteren. Zowel de tekenen van gestoorde mineralisatie (deel van het trabeculaire oppervlak dat is bedekt met osteoïed en speciaal met osteoïed dat een dikte van meer dan drie lamellen heeft) als die van verhoogde botafbraak (aantal osteoclasten en deel van het trabeculaire oppervlak ingenomen door actieve resorptie) waren na zes maanden behandeling in aanzienlijke mate verminderd, en soms verdwenen. De betekenis van de afname van de zomen kubische osteoblasten is niet geheel duidelijk, al bleek zij bijna gelijk op te gaan met de afname van het osteoïed. De z.g. inactieve resorptie representeert voor een groter of kleiner deel botafbraak van oudere datum. Uit dien hoofde kan dit histologisch criterium in kwantitatieve zin eerder een verlaagde snelheid van botaanmaak weergeven dan een overmatige snelheid van botafbraak. De afname van deze inactieve resorptie die wij zagen zou dan evenals het verdwijnen van de tunnelvorming kunnen wijzen op versnelling van de botaanmaak. Gezien de over langere tijd tamelijk strakke koppeling, die tussen botafbraak- en aanmaak zowel onder fysiologische als pathologische omstandigheden wordt gevonden, is het opmerkelijk, dat door ons naast een verbetering van de mineralisatie van het bot en een afname van de snelheid van de botafbraak, ook dergelijke "indirecte" tekenen van een versnelde botaanmaak werden waargenomen. Het feit dat wij aan het einde van de zes maanden behandeling echter ook een afname van het aantal "actieve" osteoblasten zagen, doet vermoeden dat de bovengenoemde stimulering van aanmaak en remming van afbraak in fasen moet zijn verlopen. Zoals gezegd, kunnen wij in dit stadium nog geen uitspraak doen over eventuele veranderingen in het totale volume van het bot in de biop-ten.

## SAMENVATTING

Uit de in hoofdstuk II beschreven literatuurgegevens betreffende de fysiologie van de Ca-, P- en botstofwisseling en de pathofysiologie van renale osteodystrofie komt naar voren, dat bij patiënten met CNI de vermindering van functionerend nierweefsel enerzijds als gevolg heeft dat het excretoire vermogen van dit orgaan achteruitgaat, waardoor naast uraemia en acidose een verminderde uitscheiding van fosfaat optreedt met als gevolg hyperfosfataemie, hypocalcaemie en secundaire hypersecretie van bijnierschildklierhormoon en anderzijds leidt tot een verminderde tot eventueel afwezige vorming van metaboliëten van vitamine D (1,25-DHCC en 24,25-DHCC). Tevens zijn er aanwijzingen dat voor peptiden in het algemeen en dus ook voor PTH of fragmenten hiervan er een vertraagde metabole eliminatie bestaat.

Het zo mogelijk vaststellen van het relatieve belang van deze verschillende factoren voor het ontstaan van het ziektebeeld van de renale osteodystrofie en de volgorde waarin deze factoren hun invloed gaan uitoefenen, zowel vóór als tijdens behandeling met IHD, vormden de doelstellingen van het in dit proefschrift beschreven onderzoek (hoofdstuk III). Aan de hand van de verkregen resultaten wilden wij vervolgens tot een zo goed mogelijke therapeutische benadering van de renale osteodystrofie komen met het oog op het beschikbaar zijn van 1  $\alpha$ -HCC en 1,25-DHCC.

Uit de resultaten van het transversale onderzoek van tweeënveertig patiënten met CNI die niet met haemodialyse werden behandeld, kon geconcludeerd worden, dat afwijkingen van een aantal belangrijke biochemische parameters van de Ca-, P- en botstofwisseling zich gaan voordoen bij een kreatinine-kларing tussen 20 en 30 ml per min. Bovendien werd voor deze parameters een negatieve of positieve correlatie met de kreatinine-kларing gevonden. Zo vonden wij een verlaging van het bicarbonaat-gehalte van het arteriële plasma bij een klaring van ca. 30 ml per min. of lager, subnormale Ca-gehalten van het serum bij ca. 20 ml per min. of lager, en een stijging van de concentraties van PTH, P en Mg in het serum boven normaal bij ca. 30 ml per min. of lager. Van géén van de hier genoemde indices kan gezegd worden dat er duidelijk vroeger in het verloop van het verlies van nierfunctie, afwijkingen ontstaan dan bij de anderen, hoewel het er naar uitziet dat hypocalcaemie bij een sterker gestoorde nierfunctie gaat optreden dan de andere genoemde afwijkingen (hoofdstuk V).

Voor de intestinale absorptie van  $^{47}\text{Ca}$  vonden wij al in een wat vroeger stadium van chronische nierinsufficiëntie (met name in vergelijking met het optreden van hypocalcaemie) verlaagde waarden, nl. vanaf 35 ml per min. Wat betreft de invloed van het Ca-gehalte van het serum en de intestinale  $^{47}\text{Ca}$ -absorptie op de mineralisatie van het bot, bleek, dat ook indien deze parameters in het normale gebied komen te liggen, zoals dat bij vrijwel alle patiënten na aanvang van de behandeling met IHD het geval is (hoofdstuk VI) dit niet betekent, dat het vóór IHD in gang zijnde voortgaande verlies van botmineraal, tot stilstand komt of zelfs weer in een toename overgaat. Tijdens behandeling met IHD gaat het verlies van mineraal uit het bot zelfs in versterkte mate voort (hoofdstuk VII). Bij CNI is/zijn blijkbaar ook andere voor de botmineralisatie belangrijke factor(en) dan de toevoer van Ca gestoord. Dit wijst op het belang van de stoornis(sen) in het vitamine D-metabolisme. De concentratie van 25-HCC in het serum (de in de lever gevormde metabooliet van cholecalciferol) vertoonde bij patiënten met CNI een seizoenswisseling, zoals deze ook bij normalen wordt gevonden (hoofdstuk V en VI). In tegenstelling tot hetgeen in een enkele publicatie van vroeger datum aangegeven werd (Eastwood e.a., 1976) blijkt binnen onze groep patiënten deficiëntie van 25-HCC, ook tijdens behandeling met IHD, géén bepalende factor voor de mineralisatiestoornis te zijn. De concentraties van de biologisch actieve, in de nier gevormde metaboliëten van vitamine D, 24,25-DHCC en 1,25-DHCC, vertonen echter een duidelijke positieve correlatie met de nierfunctie (resp. hoofdstuk V en VI), waarbij van beide metaboliëten bij klaringen van 40 ml per min. of lager te lage concentraties in het serum worden gevonden. Hierbij moet worden opgemerkt dat de genoemde correlatie niet bleek te gelden voor 24,25-DHCC-spiegels zelf, maar wél voor de z.g. 24,25-DHCC-index (de verhouding 24,25-DHCC/25-HCC, die is gehanteerd om de mogelijke seizoensvariaties die zich bij 24,25-DHCC evenals bij 25-HCC voordoen, te elimineren). De seizoensafhankelijkheid van 24,25-DHCC-concentraties in het serum werd eerder beschreven (Taylor e.a., 1978). Van 1,25-DHCC is dit nooit aangetoond. Ons inziens komt uit ons onderzoek vooral naar voren dat de stoornis in de vorming van de biologisch actieve vitamine D-metaboliëten (1,25-DHCC en 24,25-DHCC en mogelijk andere) een belangrijke determinant van de renale osteodystrofie is, en dat de afname van de vorming van de in de nier gevormde vitamine D-metaboliëten zich eerder voordoen dan de veranderingen in de andere genoemde parameters (hoofdstuk V). De relatief vroege stijging van het PTH-gehalte wordt naar alle waarschijnlijkheid mede veroorzaakt door uitval van de negatieve feed-back van één of meer metaboliëten van vitamine D op de secretie van PTH. Hiermee hebben overigens de hyperfosfataemie en de eventuele hypocalcaemie als aetiologische factoren

niet afgedaan. Waarschijnlijk zijn beide factoren, nl. verminderde snelheid van vorming en secretie van 1,25-DHCC en/of 24,25-DHCC en hyperfosfataemie met eventuele hypocalcaemie verantwoordelijk voor de secundaire hyperparathyreoidie. Voorts werd informatie verkregen over de rol die het verhoogde P-gehalte van het serum zou kunnen spelen bij de afname van de snelheid van vorming en secretie van 1,25-DHCC. Bij patiënten met CNI lijkt het verlies van functionerend nierweefsel echter van meer belang te zijn voor de afname van de snelheid van vorming en secretie van 1,25-DHCC dan de toename van de P-concentratie, aangezien wij eerder lage spiegels van 1,25-DHCC in het serum vonden dan hoge concentraties P (hoofdstuk V en VI). Na instellen van behandeling met IHD blijven de concentraties van 24,25-DHCC (en de waarden voor de index) in het serum onveranderd laag. Hoewel wij (nog) niet beschikken over dezelfde gegevens t.a.v. 1,25-DHCC, is het onwaarschijnlijk dat de verbetering van de <sup>47</sup>Ca-absorptie onder deze omstandigheden, toe te schrijven is aan een verbetering van het vitamine D-metabolisme. Een direct gunstig effect van het P-gehalte van het serum (en dus waarschijnlijk ook aan de serosa-zijde van de darmwand) op de darm-mucosa lijkt waarschijnlijker.

Wat betreft de invloed van de snelheid, waarmee een nierinsufficiëntie zich ontwikkelt, op de veranderingen die in de verschillende indices ontstaan werd gevonden dat gedurende de terminale fase (een periode van één tot anderhalf jaar voorafgaand aan haemodialyse) de stijging van het PTH-gehalte sterker is bij patiënten met een vermoedelijk reeds langer bestaande en tijdens de gehele observatie reeds sterk uitgesproken nierinsufficiëntie (hoofdstuk VI). In hoeverre dit consequenties heeft voor de histologie van het bot kwam uit het hier beschreven onderzoek niet naar voren. Wat betreft eventuele röntgenologische afwijkingen bleek een hoge concentratie van PTH in het serum niet obligaat samen te gaan met subperiostale ophelderingen in het handskelet (hoofdstuk V). Kennelijk is er ook een factor van toegankelijkheid van het botweefsel voor PTH in het spel, aangezien de hoogte van het alkalische fosfatase-gehalte van het serum een betere relatie met de röntgenologische afwijkingen bleek te hebben dan het niveau van het PTH (hoofdstuk V).

Na instelling van behandeling met IHD doen zich biochemisch gezien een aantal veranderingen voor, die echter gezien de resultaten van de meting van het mineraalgehalte van het bot (met behulp van fotonabsorptiometrie; hoofdstuk VII) niet kunnen verhinderen dat het verlies van botmineraal toch voortgaat. Met name de hierboven genoemde toename van de intestinale Ca-absorptie, de daling van het P-gehalte van het serum (dat echter gemiddeld supranormaal blijft) en de daling van het PTH-gehalte van het serum lijken het verlies van mineraal uit het bot niet in gunstige zin

te kunnen beïnvloeden. De verbetering van de acidose (verhoging van het plasma-bicarbonaat-gehalte) tijdens behandeling met IHD heeft in dit opzicht evenmin effect. Ook deze "negatieve" bevindingen brengen de rol, die het tekort aan 1  $\alpha$ -hydroxy-metabolieten van vitamine D heeft bij het ontstaan en de verdere ontwikkeling van de botafwijkingen vóór en tijdens IHD, meer op de voorgrond. Na transplantatie werd naast normalisering van de Ca-, P-, en PTH-gehalten van het serum wel een verbetering van met name de 24,25-DHCC-index gevonden. Onderzoek van het verloop van 1,25-DHCC tijdens dialyse en na transplantatie zal nog moeten volgen.

De betekenis van het CT-gehalte van het serum voor het ontstaan van renale osteodystrofie werd in hoofdstuk VIII besproken, met name in het licht van resultaten van andere onderzoekers. Hier zij slechts vermeld dat wij vrijwel altijd normale CT-spiegels in het serum vonden en dat op grond daarvan een specifieke rol van CT bij het ontstaan van renale osteodystrofie uit dit onderzoek niet naar voren is gekomen.

In hoofdstuk VIII werd ingegaan op de argumentatie voor behandeling van patiënten met CNI met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC. Zoals hierboven besproken, vonden wij aanwijzingen dat een daling van 1,25-DHCC en 24,25-DHCC in het serum in een vroegere fase van de CNI optreedt dan veranderingen in andere genoemde biochemische parameters. Op grond van bevindingen van anderen valt eveneens niet te verwachten dat 1,25-DHCC-spiegels tijdens behandeling met IHD hoger dan vóór IHD zullen zijn. Deze argumenten pleiten ons inziens voor het belang van een vroege behandeling met één van de biologisch actieve vitamine D-metabolieten, d.w.z. bij voorkeur in de fase waarin afname van de concentratie(s) in het serum worden waargenomen, dus ruim vóór behandeling met IHD. Bij toediening van 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC zagen wij een uitgesproken, dosis-afhankelijke toename van het P-gehalte van het serum, hetgeen leidde tot extra nierfunctieverlies, dat echter bij aanpassing van de dosis van het vitamine D-derivaat reversibel bleek te zijn. De geringe niet significante verschuiving in de P-balans lijkt hiermee in tegenspraak. Het Ca-gehalte steeg slechts bij een deel van de patiënten en dan pas na vier tot vijf maanden behandeling, terwijl er wel in alle gevallen een verschuiving van de Ca-balans in positieve richting optrad. Wanneer het alkalische fosfatase-gehalte van het serum hoog was, daalde het bij deze behandeling altijd. Hetzelfde gold voor het PTH, echter met het voorbehoud dat de minimale dosis van beide derivaten voor het bereiken van dit effect 0.5  $\mu$ g per dag bleek te zijn. Voor normalisatie van de PTH-spiegel was veelal een hogere dosis nodig. Naast deze effecten op de Ca-, P-, alkalische fosfatase- en PTH-gehalten van het serum bij behandeling met 1  $\alpha$ -HCC of 1,25-DHCC is de belangrijkste conclusie van dit deel van het onderzoek, dat ook lage doseringen 1  $\alpha$ -HCC of

1,25-DHCC (0.5 - 1  $\mu\text{g}$  per dag) een belangrijke verbetering van de verschillende histologische afwijkingen, semikwantitatief beoordeeld, van renale osteodystrofie veroorzaakten. Niet alle kenmerken van renale osteodystrofie verdwenen echter. Hierbij waren geen verschillen in effectiviteit tussen beide derivaten aantoonbaar. Met name werd een half jaar na het begin van de behandeling een duidelijke afname van het actieve resorptie-oppervlakte van het trabeculaire bot en van de hoeveelheid ongeminaliseerd bot waargenomen, terwijl de beenmergfibrose in vrijwel alle gevallen verdween. Bij patiënten met een terminale nierinsufficiëntie (d.w.z. met kreatinine-klaringen tussen 0 en 20 ml per min.) dient de behandeling begonnen te worden met doses van deze derivaten van niet meer dan 0.5  $\mu\text{g}$ . Afhankelijk van het verloop van het Ca- en het P-gehalte van het serum moet de dosering snel kunnen worden aangepast. Het effect van deze therapie kan vanzelfsprekend worden beoordeeld aan de hand van het verloop van het alkalische fosfatase- en het PTH-gehalte van het serum en van de bothistologie. Op grond van onze bevindingen is beoordeling van het alkalische fosfatase alléén niet voldoende. Bij de beoordeling van de PTH-spiegels is men sterk afhankelijk van de eigenschappen van de betreffende radioimmunologische bepaling. Beoordeling van de histologie van het bot is het meest betrouwbaar, maar kan uiteraard slechts op beperkte schaal geschieden.





## SUMMARY

This thesis is concerned with the pathogenesis of renal osteodystrophy and its treatment with vitamin D derivatives.

A general introduction to the problem in Chapter I is followed by a more detailed discussion of calcium, phosphate and bone metabolism in Chapter II. The role of parathyroid hormone, calcitonin and the vitamin D metabolites in calcium homeostasis is reviewed together with the disturbances that occur during development of chronic renal failure (CRF). In addition to a diminished excretory capacity which results in uraemia, acidosis, hyperphosphataemia and possibly hypocalcaemia with secondary hyperparathyroidism, loss of renal mass also results in a diminished production of the kidney-metabolites of vitamin D (1,25-DHCC and 24,25-DHCC).

The aims of the study were to establish the relative importance of the different factors for the development of renal osteodystrophy and the sequence in which they are involved. In the light of present knowledge of vitamin D metabolism and activation and the availability of biologically active vitamin D derivatives (1,25-DHCC and 1  $\alpha$ -HCC) another purpose of this study was to obtain more data on the therapeutic application of these derivatives, especially in patients with CRF not yet treated with intermittent haemodialysis (IHD) (Chapter III).

The transversal study (Chapter V) revealed that in patients with CRF most biochemical disturbances occurred at a GFR of 30 ml per min. or less and for all these parameters a significant correlation with the GFR was found, i.e. lowering of the plasma bicarbonate concentration occurred at GFR's of 30 ml per min. and of serum calcium concentration at a GFR of 20 ml per min. or less. Hyperphosphataemia, hypermagnesaemia and increased serum PTH were found in patients with a GFR of 30 ml per min. or less. None of the disturbances mentioned preceeded the others, except for the fact that hypocalcaemia tended to develop at a more severely impaired kidney function than the other changes.

A positive correlation was found between intestinal  $^{47}\text{Ca}$  absorption and GFR in predialysis patients. Intestinal  $^{47}\text{Ca}$  absorption was lowered at a GFR of 35 per min., i.e. certainly preceeding hypocalcaemia. The institution of IHD was followed by a significant improvement of the intestinal absorption of  $^{47}\text{Ca}$ , together with a lowering of the serum phosphate concentration (Chapter VI). Because of the continuing loss of bone mineral

after starting IHD (Chapter VII) the importance of the level of the intestinal absorption of  $^{47}\text{Ca}$  for the development of dialysis bone disease may be questioned. This accentuates the importance of the changes in vitamin D metabolism. In contrast to a single report (Eastwood et al, 1976) we found in our patients with CRF normal levels of 25-HCC, that showed normal seasonal fluctuation (Chapter V). In predialysis patients with CRF a positive correlation was observed for both 24,25-DHCC (Chapter V) and 1,25-DHCC (Chapter VI) with the GFR. This did not apply to the 24,25-DHCC levels but to the 24,25-DHCC/25-HCC-ratio, that was used to eliminate the possible seasonal variation of the 24,25-DHCC levels. Decreased levels of the 24,25-DHCC/25-HCC-ratio and of 1,25-DHCC were found in an earlier phase of CRF (GFR 40 ml per min. or less) than that associated with for instance the occurrence of hyperphosphataemia (Chapter V and VI). This indicates that in patients with CRF, loss of renal mass is more important for the occurrence of low serum levels of 1,25-DHCC than the existence of hyperphosphataemia. It is unlikely that the improvement of intestinal absorption of  $^{47}\text{Ca}$  after the onset of IHD is caused by an improvement of vitamin D-metabolism. The low levels of the 24,25-DHCC/25-HCC-ratio which we found in all patients treated with IHD support this supposition (1,25-DHCC was not yet measured in those patients). Considering the improvement of intestinal  $^{47}\text{Ca}$  absorption we suggest that the lowering of serum phosphate concentration may in this respect have a direct beneficial effect on the intestine.

The alkaline phosphatase concentration in the serum showed a better correlation with radiological signs of hyperparathyroidism in the bones of the hand (subperiosteal erosions) than serum PTH-levels. This probably reflects the importance of accessibility of the skeleton to PTH. Although no relationship between serum alkaline phosphatase and serum concentrations of 24,25-DHCC and 1,25-DHCC was observed in our patients, deficient action of vitamin D may be crucial in the accessibility of the bone to PTH. It has to be emphasized that in our patients the kidney-metabolites of vitamin D were deficient, contrary to the liver metabolite, 25-HCC (Chapter V). The relatively early rise of serum PTH may partly be caused by the loss of the normally occurring direct negative feedback of the renal vitamin D metabolites on the secretion of PTH.

The involvement of calcitonin deficiency in the pathogenesis of renal osteodystrophy as suggested by others, remains uncertain. We found normal or slightly elevated calcitonin concentrations in the serum of our patients with CRF.

Treatment of patients not yet on IHD with 1-2  $\mu\text{g}$  1  $\alpha$ -HCC or 1  $\mu\text{g}$  1,25-DHCC resulted in a rapid increase (within two weeks) of the serum

concentration of phosphate followed by a rise of the creatinin level. After discontinuation of this treatment or adaptation of the dose, hyperphosphataemia and its deleterious effect on renal function appeared to be reversible (Chapter VIII). Both  $1\ \alpha\text{-HCC}$  and  $1,25\text{-DHCC}$  improved the intestinal absorption of  $^{47}\text{Ca}$  in a dose dependent way. A dose dependent suppression of elevated PTH concentrations in the serum was also found. For both effects the minimal effective daily dose was for both derivatives  $0.5\ \mu\text{g}$ . Some patients showed a significant increase of the serum calcitonin level during treatment with  $1\ \alpha\text{-HCC}$  or  $1,25\text{-DHCC}$ . No significant change of the phosphate balance was demonstrated which appeared to be in contradiction with the early development of hyperphosphataemia. As no concomitant increase in the serum calcium was found, (in most patients a slight hypercalcaemia developed after 4-5 months of treatment) the increase of the phosphate concentration was probably not caused by mobilisation from the skeleton. Treatment with low dosages of  $1\ \alpha\text{-HCC}$  or  $1,25\text{-DHCC}$  ( $0.5\text{-}1\ \mu\text{g}/\text{day}$ ) which did not cause severe elevation of the phosphate levels of the serum, resulted in improvement of the histological signs of renal osteodystrophy (studied semiquantitatively). After six months treatment with  $1\ \alpha\text{-HCC}$  or  $1,25\text{-DHCC}$  a decrease of the active resorption surface of the trabecular bone and a decrease of the quantity of unmineralized bone was found while bone-marrow fibrosis disappeared in almost all cases. Not all characteristics of the osteodystrophy however disappeared.

## LITERATUURLIJST

- AGUS, Z.S., GARDNER, L.B., BECK, L.H. en GOLDBERG, M. Effects of parathyroid hormone on renal tubular reabsorption of calcium, sodium and phosphate. *Amer. J. Phys.* 224, 1143-1148, 1973.
- AHMED, K.Y., VARGHESE, Z. WILLS, M.R., MEINHARD, E.A. en MOORHEAD, J.F. Long-term effects of small doses of 1,25-dihydroxycholecalciferol in renal osteodystrophy. *Lancet* 1, 629-632, 1978.
- ALBRIGHT, F. en ELLSWORTH, R.. Studies on the physiology of the parathyroid glands. I Calcium and phosphorus studies on a case of idiopathic hypoparathyroidism. *J. Clin. Invest.* 7, 183-201, 1929.
- ALBRIGHT, F. en REIFENSTEIN, E.C. The parathyroid glands and metabolic bone disease. Williams and Wilkins, Baltimore, 1948.
- ALTENÄHR, E., DIETEL, M., DORN, G. en MONTZ, R. The effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol on the parathyroid hormone secretion of porcine parathyroid glands and human parathyroid adenomas in vitro. *Acta Endocrin.* 86, 533-538, 1977.
- ANAST, C.S. WINNACKER, J.C. FORTE, L.B. BURNS, T.W. Impaired release of parathyroid hormone in Magnesium deficiency. *J. Clin. Endocr. Metab.* 42, 707-717, 1976.
- ARDAILLOU, R., VUAGNAT, P., MILHAUD, G. en RICHET, G. Effets de la thyrocalcitonine sur l'écrétion rénale des phosphates, du calcium et des ions H<sup>+</sup> chez l'homme. *Nephron* 4, 298-314, 1967.
- ARDAILLOU, R., FILLASTRE, J.P., MILHAUD, G., ROUSSELET, F., DELAUNAY, F. en RICHET, G. Renal excretion of phosphate, calcium and sodium during and after a prolonged thyrocalcitonin infusion in man. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 131, 56-60, 1969.
- ARDAILLOU, R., SIZONENKO, P., MEYRIER, A., VALLEE, G., BEAUGAS, C. Metabolic clearance rate of radio-iodinated human calcitonin in man. *J. Clin. Invest.* 49, 2345-2352, 1970.
- ARNAUD, C.D. Hyperparathyroidism and renal failure. *Kidney. Int.* 4, 89-95, 1973.
- ARNAUD, C.D., GOLDSMITH, R.S., BORDIER, P.J., SIZEMORE, G.W., LARSEN, J.A. en GILKINSON, J. Influence of immunoheterogeneity of circulating parathyroid hormone on results of radioimmunoassays of serum in man. *Amer. J. Med.* 56, 785-793, 1974.
- ATKINS, D. en PEACOCK, M. A comparison of the effects of the calcitonins, steroid hormones and thyroid hormones on the response of bone to parathyroid hormone in tissue culture. *J. Endocrinol.* 64, 573-583, 1975.
- AVIOLI, L.V. Renal osteodystrophy pp187-191. In: *Metabolic bone disease vol. II*. Ed.: L.V. Avioli en S.M. Krane. Uitg.: Academic press, New York, 1978.
- AVIOLI, L.V. en LEE, S.W. Detection of nanogram quantities of Vitamin D by gas-liquid chromatography. *Anal. Biochem.* 16, 193-198, 1966.
- AVIOLI, L.V. en HADDAD, J.G. Vitamin-D: current concepts. *Metabolism* 22, 507-531, 1973.
- BADER, C.A., MONET, J.D., RIVAILLE, P., GAUBERT, C.M., MOUKHTAR, M.S., MILHAUD, G., FUNCK-BRETANO, J.L. Comparative in vitro biological activity of 1-34 N-terminal synthetic fragments of human parathyroid hormone on bovine and porcine kidney membranes. *Endocr. Res. Comm.* 3, 167-186, 1976.
- BALSAN, S., GARABEDIAN, M., SORGNIARD, R., HOLICK, M.F. en DELUCA, H.F. 1,25 Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 1,0hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in children: biologic and therapeutic effects in nutritional rickets and different types of vitamin D resistance. *Pediatr. Res.* 9, 586-593, 1975.

- BAR, A., HURWITZ, S. en COHEN, I. Relationship between duodenal calciumbinding protein, parathyroid activity and various parameters of mineral metabolism in the rachitic and vitamin D-treated chick. *Comp. Biochem. Physiol.* **43A**, 519-526, 1972.
- BARNICOT N.A. The local action of parathyroid hormone and other tissues on the bone in intracerebral grafts. *J. Anat. (Lond)* **82**, 233-248, 1948.
- BATES, R.F.L., CARE, A.D., PEACOCK, M., MAWER, E.B. en TAYLOR, C.M. Inhibitory effect of 24, 25-dihydroxycholecalciferol on parathyroid hormone secretion in the goat. *J. Endocrinol.* **64**, 6P, 1974.
- BAXTER, L.A. en DELUCA, H.F. Stimulation of 25-hydroxyvitamin, D<sub>3</sub>- $\alpha$ -hydroxylase by phosphate depletion. *J. Biol. Chem.* **251**, 3158-3161, 1976.
- BAYLINK, D., SIPE, J., WERGEDAL, J. en WHITTEMORE, O.J. Vitamin D-enhanced osteocytic and osteoclastic bone resorption. *Amer. J. Physiol. (USA)* **224**, 1345-1357, 1973.
- BERNSTEIN, D., KLEEMAN, C.R. en MAXWELL, M.H. The effect of calcium infusions, parathyroid hormone, and vitamin D on renal clearance of calcium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **112**, 353-355, 1963.
- BERSON, S.A. en YALOW, R.S. Parathyroid hormone in plasma in adenomatous hyperparathyroidism, uremia, and bronchogenic carcinoma. *Science* **154**, 907-909, 1966.
- BHATTACHARYYA, M.H. en DELUCA, H. The regulation of rat liver calciferol-25-hydroxylase. *J. Biol. Chem.* **248**, 2969-2973, 1973.
- BIJVOET, O.L.M., VAN DER SLUYS VEER, J. en JANSEN, A.P. Effects of calcitonin on patients with Paget's disease, thyrotoxicosis, or hypercalcaemia. *Lancet* **2**, 876-881, 1968.
- BIJVOET, O.L.M., VAN DER SLUYS VEER, J., DE VRIES, H.R. en VAN KOPPEN, A.T.J. Natriuretic effect of calcitonin in man. *New Engl. J. Med.* **284**, 681-688, 1971.
- BLAU, M., SPENCER, H., SWERNOV, J. en LASZO, D. Utilisation and intestinal excretion of calcium in man. *Science* **120**, 1029-1031, 1954.
- BLUNT, J.W., TANAKA, Y. en DELUCA, H.F. The biological activity of 25-hydroxycholecalciferol, a metabolite of vitamin D<sub>3</sub>. *Proc. Nat. Acad. Sci.* **61**, 1503-1506, 1968.
- BONJOUR, J.P., TRECHSEL, U., FLEISCH, H., SCHENK, R., DELUCA, H.F. en BAXTER, L.A. Action of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and a diphosphonate on calcium metabolism in rats. *Amer. J. Physiol.* **229**, 402-408, 1975.
- BONJOUR, J.P., PRESTON, C. en FLEISCH, H. Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on the renal handling of P<sub>i</sub> in thyroparathyroidectomized rats. *J. Clin. Invest.* **60**, 1419-1428, 1977.
- BONJOUR, J.P., GLOOR, H.J. en FLEISCH, H. Role of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the regulation of the tubular transport of phosphate. In: *Proceedings VII. international congress of nephrology* pp 455-461. Uitg.: Les presses de l'université de Montréal, 1978.
- BOOTH, B.E., TSAI, H.C. en MORRIS, R.C. jr. Parathyroidectomy reduces 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1 $\alpha$ -hydroxylase activity in the hypocalcemic vitamin D-deficient chick. *J. Clin. Invest.* **60**, 1314-1320, 1977.
- BORDIER, P.J., TUN-CHOT, S., MARTIN, J., QUEILLÉ, M.L. en HIOCO, D. Mineralisation du tissu osseux chez l'ostéomalacique induite par surcharge phosphorée ou par la vitamine D<sub>3</sub>. In: *Phosphate et métabolisme phosphocalcique*. pp 79-88. Ed: D. Hioco. Uitg.: Editions Sandoz, Paris, 1971.
- BORDIER, P.J., TUN CHOT, S., EASTWOOD, J.B., FOURNIER, A. en DE WARDENER, H.E. Lack of histological evidence of vitamin D abnormality in the bones of anephric patients. *Clin. Sci.* **44**, 33-41, 1973.
- BORDIER, P., RASMUSSEN, H., MARIE, P., MIRAVET, L., GUERIS, J. en RYCKWAERT, A. Vitamin D metabolites and bone mineralization in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **46**, 284-294, 1978.
- BOYD, R.M., CAMERON, E.C., McINTOSH, H.W., WALKER, V.R. Measurement of bone mineral content in vivo using photon absorptiometry. *CMA journal* **111**, 1201-1205, 1974.
- BOYLE, I.T., GRAY, R.W. en DELUCA, H.F. Regulation by calcium of in vivo synthesis of 1,25-dihydroxycholecalciferol and 21, 25-dihydroxycholecalciferol. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* **68**, 2131-2134, 1971.

- BOYLE, I.T., MIRAVET, L., GRAY, R.W., HOLICK, M.F. en DELUCA, H.F. The response of intestinal calcium transport to 25-hydroxy and 1,25-dihydroxy vitamin D in nephrectomized rats. *Endocrinol.* 90, 605-608, 1972.
- BREWER, H.B. en RONAN, R. Amino acid sequence of bovine thyrocalcitonin. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 63, 940-947, 1969.
- BREWER, H.B. en RONAN, R. Bovine parathyroid hormone: amino acid sequence. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)* 67, 1862-1869, 1970.
- BREWER, H.B. jr., FAIRWELL, T., RONAN, R., SIZEMORE, G.W. en ARNAUD, C.D. Human parathyroid hormone: amino-acid sequence of the amino-terminal residue 1-34. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 69, 3585-3588, 1972.
- BRICKMAN, A.S., MASSRY, S.G. en COBURN, J.W. Changes in serum and urinary calcium during treatment with hydrochlorothiazide: studies on mechanisms. *J. Clin. Invest.* 51, 945-954, 1972a.
- BRICKMAN, A.S., COBURN, J.W. en NORMAN, A.W. Action of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a potent, kidney-produced metabolite of vitamin D, in uremic man. *New Engl. J. Med.*, 287, 891-895, 1972b.
- BRICKMAN, A.S., SHERRARD, D.J., JOWSEY, J., SINGER, F.R., BAYLINK, D.J., MALONEY, N., MASSRY, S.G., NORMAN, A.W. en COBURN, J.W. 1,25-dihydroxycholecalciferol. Effect on skeletal lesions and plasma parathyroid hormone levels in uremic osteodystrophy. *Arch. Intern. Med.* 134, 883-888, 1974a.
- BRICKMAN, A.S., COBURN, J.W., NORMAN, A.W. en MASSRY, S.G. Short-term effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol on disordered calcium metabolism of renal failure. *Amer. J. Med.* 57, 28-33, 1974b.
- BRICKMAN, A.S., HARTENBOWER, D.L., COBURN, J.W. en NORMAN, A.W. Phosphate absorption augmented by 1,25-(OH)<sub>2</sub>- and 1 $\alpha$ -(OH)-vitamin D<sub>3</sub> in normal and uremic man. *Kidney Int.* 8 398 (abstr.), 1975.
- BRICKMAN, A.S., COBURN, J.W., FRIEDMAN, C.R., OKAMURA, W.H., MASSRY, S.G. en NORMAN, A.W. Comparison of effects of 1 $\alpha$ -hydroxy-vitamin D<sub>3</sub> and 1,25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> in man. *J. Clin. Invest.*, 57, 1540-1547, 1976.
- BRIGHT, R. Cases and observations, illustrating renal disease accompanied with the secretion of albuminous urine. *Guy's Hosp. Rep.* 1, 339-341, 1836.
- BROWNJOHN, A.M., GOODWIN, F.J., HATELY, W., MARSH, F.P., O'RIORDAN, J.L.H. en PAPAPOULOS, S.E. 1-Alpha-hydroxycholecalciferol for renal osteodystrophy. *Brit. Med. J.* 2, 721-723, 1977.
- BRUMBAUGH, P.F. en HAUSSLER, M.R. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxycholecalciferol receptors in intestine: I. association of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxycholecalciferol with intestinal mucosa chromatin. *J. Biol. Chem.* 249, 1251-1257, 1974a.
- BRUMBAUGH, P.F. en HAUSSLER, M.R. 1 $\alpha$ ,25-Dihydroxycholecalciferol receptors in intestine: II. temperaturedependent transfer of the hormone to chromatin via a specific cytosol receptor. *J. Biol. Chem.* 249, 1258-1262, 1974b.
- BRUMBAUGH, P.F. en HAUSSLER, M.R. Specific binding of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxycholecalciferol to nuclear components of chick intestine. *J. Biol. Chem.* 250 1588-1594, 1975.
- BRUMBAUGH, P.F., HAUSSLER, D.H., BRESSLER, R. en HAUSSLER, M.R. Radioreceptor assay for 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Science* 183, 1098-1091, 1974.
- BUCKLE, R.M., CARE, A.D., COOPER, C.W. en GITELMAN, H.J. The influence of plasma magnesium concentration on parathyroid hormone secretion. *J. Endocr.* 42, 529-534, 1968.
- BULUSU, L., HODGKINSON, A., NORDIN, B.E.C., en PEACOCK, M. Urinary excretion of calcium and creatinine in relation to age and body weight in normal subjects and patients with renal calculus. *Clin. Sci.* 38, 601-612, 1970.
- BURKHARDT, R. Präparative Voraussetzungen zur klinischen histologie des menschlichen knochenmarkes. *Blut* 14, 30-46, 1966.
- CAMERON, J.R., SØRENSEN, J. Measurement of bone mineral in vivo: an improved method. *Science* 142, 230-232, 1963.
- CAMERON, J.R., MAZESS, R.B. en SØRENSEN, J.A. Precision and accuracy of bone mineral determination by direct photonabsorptiometry. *Invest. Radiol.* 3, 141-150, 1968.

- CANTERBURY, J.M., LERMAN, S., CLAFLIN, A.J., HENRY, H., NORMAN, A. en REISS, E. Inhibition of parathyroid hormone secretion by 25-hydroxycholecalciferol and 24, 25-dihydroxycholecalciferol in the dog. *J. Clin. Invest.* 61, 1375-1383, 1978.
- CAPEN, C.C. Fine structural alterations of parathyroid glands in response to experimental and spontaneous changes of calcium in extracellular fluids. *Amer. J. Med.* 50, 598-611, 1971.
- CARE, A.D., SHERWOOD, L.M., POTTS, J.T. jr. en AURBACH, G.D. Perfusion of the isolated parathyroid gland of the goat and sheep. *Nature* 209, 55-57, 1966.
- CARE, A.D., COOPER, C.W., DUNCAN, T. en ORIMO, H. A study of thyrocalcitonin by direct measurement of in vivo secretion rates in pigs. *Endocrinol.* 83, 161-169, 1968.
- CARE, A.D., PICKARD, D.W., PAPAPOULOS, S.E., ORIORDAN, J.L.H., GAREL, J.M. en REDEL, J. The interactions between vitamin D metabolites, parathyroid hormone and calcitonin. pp 289-296. In: *Vitamin D, basic research and its clinical application*. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, D.v. Herrath, H.G. Grigoleit, J.W. Coburn, H.F. Deluca, E.B. Mawer en T. Suda. Uitg: W. de Gruyter, Berlijn, 1979.
- CARLSSON, A. Tracer experiments on the effect of vitamin D on the skeletal metabolism of calcium and phosphorus. *Acta Physiol. Scand.* 26, 212-220, 1952.
- CARLSSON, A. Experiments with radiocalcium on the interrelationships between vitamin D and dietary calcium and phosphorus. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 9, 32-40, 1953.
- CARO, J.F., BURKE, J.F., BESARAB, A. en GLENNON, J.A. A possible role for propranolol in the treatment of renal osteodystrophy. *Lancet*, 2, 415-453, 1978.
- CARRÉ, M., AYIGBEDÉ, O., MIRAVET, L. en RASMUSSEN, H. The effect of prednisolone upon the metabolism and action of 25-hydroxy- and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* 71, 2996-3000, 1974.
- CASTILLO, L., TANAKA, Y., DELUCA, H.F. en SUNDE, M.L. The stimulation of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1 $\alpha$  hydroxylase by estrogen. *Arch. Biochem. Biophys.* 179, 211-217, 1977.
- CHAN, J.C.M., OLDHAM, S.B., HOLICK, M.F. en DELUCA, H.F. 1- $\alpha$ -Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in chronic renal failure: a potent analogue of the kidney hormone, 1,25-dihydroxycholecalciferol. *J.A.M.A.*, 234, 47-52, 1975.
- CHANARD, J., ASSAILLY, J., BADER, C. EN FUNCK-BRETANO, J.L. A rapid method for measurement of fractional calcium absorption. *J. Nucl. Med.* 15, 588-592, 1974.
- CHANARD, J.M., DRÜEKE, T., ZINGRAFF, J., MAN, N. -K., RUSSO-MARIE, F. en FUNCK-BRETANO, J. -L. Effects of haemodialysis on fractional intestinal absorption of calcium in uraemia. *Europ. J. Clin. Invest.* 6, 261-264, 1976.
- CHEN, T.C. en DELUCA, H.F. Stimulation of (<sup>3</sup>H)uridine incorporation into nuclear RNA of rat kidney by vitamin D metabolites. *Arch. Biochem. Biophys.* 156, 321-327, 1973.
- CHESNEY, R.W., MAZESS, R.B., HAMSTRA, A.J. en DELUCA, H.F. Reduction of serum-1,25-dihydroxyvitamin-D<sub>3</sub> in children receiving glucocorticoids. *Lancet* 2, 1123-1125, 1978.
- CHERTOW, B.S., BAYLINK, D.J., WERGEDAL, J.E., SU, M.H.H. en NORMAN, A.W. Decrease in serum immunoreactive parathyroid hormone in rats and in parathyroid hormone secretion in vitro by 1,25-dihydroxycholecalciferol. *J. Clin. Invest.* 56, 668-678, 1975.
- CHRISTIANSEN, C., RØDBRO, P., SANVIG CHRISTENSEN, M., HARTNACK, B. en TRANSBØL, I. Deterioration of renal function during treatment of chronic renal failure with 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Lancet* 1, 700-703, 1978.
- COBURN, J.W., POPOVTZER, M.M., MASSRY, S.G. en KLEEMAN, C.R. The physicochemical state and renal handling of divalent ions in chronic renal failure. *Arch. Intern. Med.* 124, 302-311, 1969a.
- COBURN, J.W., MASSRY, S.G., SHINABERGER, J.H., KOPPEL, M.H. en RUBINI, M.E. Abnormalities of calcium (CA), phosphorus (P) and bone (B) with chronic hemodialysis (CD). *Clin. Res.* 17 167, 1969b.
- COBURN, J.W., KOPPEL, M.H., BRICKMAN, A.S. en MASSRY, S.G. Study of intestinal absorption of calcium in patients with renal failure. *Kidney Internat.* 3, 264-272, 1973.
- COCHRAN, M., PEACOCK, M., SACHS, S. en NORDIN, B.E.C. Renal effects of calcitonin. *Brit. Med. J.* 1, 135-137, 1970.

- COHEN, M.E.L., COHEN, G.F., AHAD, V. en KAYE, M. Renal osteodystrophy in patients on chronic haemodialysis: a radiological study. *Clin. Radiol.* 21, 124-134, 1970.
- COHN, S.H., ELLIS, K.J., MARTINO, A.N., ASAD, S.N. en LETTERI, J.M. Loss of calcium from axial and appendicular skeleton in patients with chronic renal failure, *Calcif. Tiss. Res.* 21 (suppl), 216-220, 1976.
- COLLIP, J.B. The extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the level of blood calcium. *J. Biol. Chem.* 63, 395-438, 1925.
- COLODRO, I.H., BRICKMAN, A.S., COBURN, J.W., OSBORN, T.W. en NORMAN, A.W. Effect of 25-hydroxy-vitamin D<sub>3</sub> on intestinal absorption of calcium in normal man and patients with renal failure. *Metabolism.* 27, 745-753, 1978.
- COLSTON, K.W., BUTTERWORTH, P.J., WEBDALE, R. en MAC INTYRE, I. The influence of Ca<sup>2+</sup> ions on the metabolism of 25-hydroxy-cholecalciferol. In: Vitamin D biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism. pp 109-112. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. De Luca, D. Fraser, H.G. Grogoleit en D. v. Herrath. Uitg: W. de Gruyter, Berlijn, 1977.
- COPP, D.H. Calcitonin: a second hormone from the parathyroid and its function in regulating blood calcium. In: Yearbook of endocrinology pp10-18. Ed: E.S. Gordon. Uitg: Yearbook Publishers, Chicago, 1962.
- CORK, D.J., HAUSSLER, M.R., PITT, M.J., RIZZARDO, E., HESSE, R.H. en PECHET, M.M. 1 $\alpha$ -Hydroxyvitamin D<sub>3</sub>: a synthetic sterol which is highly active in preventing rickets in the chick. *Endocrinology.* 94, 1337-1345, 1974.
- CORLESS, D., GUPTA, S.P., SWITALA, S., BARRAGRY, J.M., BOUCHER, B.J., COHEN, R.D. en DIFFEY, B.L. Response of plasma-25hydroxyvitamin D to ultraviolet irradiation in long-stay geriatric patients. *Lancet* 2, 649-651, 1978.
- CORRADINO, R.A. Embryonic chick intestine in organ culture: a unique system for the study of the intestinal calcium absorptive mechanism. *J. Cell Biol.* 58, 64-78, 1973a.
- CORRADINO, R.A. 1,25-Dihydroxycholecalciferol: inhibition of action in organ-cultured intestine by actinomycin D and  $\alpha$ -amanitin. *Nature* 234, 41-42, 1973b.
- CORRADINO, R.A., FULLMER, C.S. en WASSERMAN, R.H. Embryonic chick intestine in organ culture: stimulation of calcium transport by exogenous vitamin D-induced calcium-binding protein. *Arch. Biochem. Biophys.* 174, 738-743, 1976.
- CURTIS, F.K., FELLOWS, H. en RICH, C. Estimation of human calcium absorption by external radioisotope counting. *J. Lab. Clin. Med.* 69, 1036-1041, 1967.
- DALÉN, N. en ALVESTRAND, A. Bone mineral content in chronic renal failure and after renal transplantation. *Clin. Nephrol.* 1, 338-345, 1973.
- DAVID, D.S. Calcium metabolism in renal failure. *Amer. J. Med.* 58, 48-56, 1975.
- DAVIE, M.W.J., CHALMERS, T.M., HUNTER, J.O., PELC, B. en KODICEK, E. 1-Alpha-hydroxy-cholecalciferol in chronic renal failure: studies of the effect of oral doses. *Annals Intern. Med.* 84, 281-285, 1976.
- DAVIS, R.H., MORGAN, D.B. en RIVLIN, R.S. The excretion of calcium in the urine and its relation to calcium intake, sex and age. *Clin. Sci.* 39, 1-12, 1970.
- DEFTOS, L.J., BURY, A.E., HABENER, J.F., SINGER, F.R. en POTTS, J.T. jr. Immunoassay for human calcitonin. II. clinical studies. *Metabolism.* 20, 1129-1137, 1971.
- DEFTOS, L.J., SWENSON, K., en BODE, H. Parathyroid hormone (PTH) and calcitonin (CT) inter-relationships in clinical disorders of calcium metabolism. *Clin. Res.* 20 424(abstr.), 1972.
- DE GRAZIA, J.A., IVANOVICH, P., FELLOWS, H. en RICH, C. A double isotope method for measurement of intestinal absorption of calcium in man. *J. Lab. Clin. Med.* 60, 822-829, 1965.
- DEHM, P., JIMENEZ, S.A., OLSEN, B.R. en PROCKOP, D.J. A transport form of collagen from embryonic tendon: electron microscopic demonstration of an NH<sub>2</sub>-terminal extension and evidence suggesting the presence of cystine in the molecule. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 69, 60-64, 1972.
- DENT, C.E., HARPER, C.M. en PHILPOT, G.R. The treatment of renal-glomerular osteodystrophy. *Quart. J. Med.* 30, 1-31, 1961.



- DELUCA, H.F. The kidney as an endocrine organ involved in calcium homeostasis. *Kidney Int.* 4, 80-88, 1973.
- DELUCA, H.F. Vitamin-D-1973. *Amer. J. Med.* 57, 1-12, 1974.
- DELUCA, H.F. Calcium metabolism. *Acta Orthop. Scand.* 46, 286-314, 1975a.
- DELUCA, H.F. The kidney as an endocrine organ involved in the function of vitamin D. *Amer. J. Med.* 58, 39-47, 1975b.
- DELUCA, H.F. Vitamin D endocrinology. *Ann. Intern. Med.* 85, 367-377, 1976a.
- DELUCA, H.F. Recent advances in our understanding of the metabolism of vitamin D and its regulation. *Clin. Endocrinology* 5, (suppl.) 97s-108s, 1976b.
- DELUCA, H.F. 24-Hydroxylation of the vitamin D metabolites: its site and physiologic significance in man. pp 447-454. In: *Proceedings VIIIth. international congress of nephrology, Montreal. Les presses de L'université de Montréal.* 1978.
- DELUCA, H.F. en SCHNOES, H.K. Metabolism and mechanism of action of vitamin D. *Annu. Rev. Biochem.* 45, 613-666, 1976.
- DOYLE, F.H. Ulnar bone mineral concentrations in metabolic bone disease. *Brit. J. Radiol.* 34, 698-712, 1961.
- EASTWOOD, J.B., BORDIER, P. en DE WARDENER, H.E. A comparison of the effect of vitamin D and calcium carbonate in renal osteomalacia. *Quart. J. Med.* 40, 569-570, 1971.
- EASTWOOD, J.B., BORDIER, P.J. en DE WARDENER, H.E. Some biochemical, histological, radiological, and clinical features of renal osteodystrophy. *Kidney Internat.* 4, 128-140, 1973.
- EASTWOOD, J.B., BORDIER, P.J., CLARKSON, E.M., TUN CHOT, S en DE WARDENER, H.E. The contrasting effects on bone histology of vitamin D and calcium carbonate in the osteomalacia of chronic renal failure. *Clin. Sci. Mol. Med.* 47, 23-42, 1974.
- EASTWOOD, J.B., HARRIS, E., STAMP, T.C.B. en DE WARDENER, H.E. Vitamin-D deficiency in the osteomalacia of chronic renal failure. *Lancet* 1, 1209-1211, 1976.
- EDELSTEIN, S., CHARMAN, M., LAWSON, D.E.M. en KODICEK, E. Competitive protein-binding assay for 25-hydroxycholecalciferol. *Clin. Sci. and Mol. Med.* 46, 231-240, 1974.
- EISMAN, J.A., HAMSTRA, A.J., KREAM, B.E., DELUCA, H.F. 1,25-Dihydroxyvitamin D in biological fluids: A simplified and sensitive assay. *Science* 193, 1021-1023, 1976.
- ELLIOT, J.S. The urinary excretion of inorganic salts. *Invest. Urol.* 1, 582-586, 1964.
- ELLIS, H.A. en PEART, K.M. Azotaemic renal osteodystrophy: a quantitative study on iliac bone. *J. Clin. Path.* 26, 83-101, 1973.
- ELLIS, H.A., PIERIDES, A.M., FEEST, T.G., WARD, M.K. en KERR, D.N.S. Histopathology of renal osteodystrophy with particular reference to the effects of 1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in patients treated by long-term hemodialysis. *Clin. Endocrinol.* 7 suppl. 31s-38s, 1977.
- FAVUS, M.J., WALLING, M.W. en KIMBERG, D.V. Effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol on intestinal calcium transport in cortisone-treated rats. *J. Clin. Invest.* 52, 1680-1685, 1973.
- FISCHER, J.A., OLDHAM, S.B., SIZEMORE, G.W. en ARNAUD, C.D. Calcitonin stimulation of parathyroid hormone secretion in vitro. *Horm. Metab. Res.* 3, 223-224, 1971.
- FISCHER, J.A., BLUM, J.W. en BINSWANGER, U. Acute parathyroid hormone response to epinephrine in vivo. *J. Clin. Invest.* 52, 2434-2440, 1973.
- FOURNIER, A., JOHNSON, W. en ARNAUD, C. Long-term hemodialysis and absence of significant hyperparathyroidism or clinical bone disease. *Clin. Res.* 17, 430, 1969.
- FOURNIER, A.E. JOHNSON, W.J. TAVES, D.R. BEABOUT, J.W. ARNAUD, C.D. en GOLDSMITH, R.S. Etiology of hyperparathyroidism and bone disease during chronic hemodialysis. I. Association of bone disease with potentially etiologic factors. *J. Clin. Invest.* 50, 592-598, 1971a.
- FOURNIER, A.E., ARNAUD, C.D., JOHNSON, W.J., TAYLOR, W.F. en GOLDSMITH, R.S. Etiology of hyperparathyroidism and bone disease during chronic hemodialysis. II. Factors affecting serum immunoreactive parathyroid hormone. *J. Clin. Invest.* 50, 599-605, 1971b.

- FOURNIER, A., BORDIER, P., GUERIS, J., RERRIERE, C., CHANARD, J., MARIE, P., SEBERT, J.L., BEDROSSIAN, J. en DELUCA, H.F. Comparison of  $1\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the treatment of renal osteodystrophy. Greater effect of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in mineralizing bone. pp667-669. In: Vitamin D. Biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit, D. v. Herrath. Uitg.: W. de Gruyter, Berlijn, 1977.
- FRALEY, D.S. en ADLER, S. An extrarenal role for parathyroid hormone in the disposal of acute acid loads in rats and dogs. *J. Clin. Invest.* 63, 985-997, 1979.
- FRASER, D.R. en KODICEK, E. Unique biosynthesis by the kidney of a biologically active vitamin D metabolite. *Nature (Lond.)* 228, 764-766, 1970.
- FRASER, D.R. en KODICEK, E. Regulation of 25-hydroxycholecalciferol 1-hydroxylase activity in the kidney by parathyroid hormone. *Nature New Biol.* 241, 163-166, 1973.
- FRIIS, T., HAHNEMANN, S. en WECKE, E. Serum calcium and serum phosphorus in uraemia during administration of sodiumphytate and aluminiumhydroxide. *Acta Med. Scand.* 183, 497-505, 1968.
- FROLIK, C.A. en DELUCA, H.F. 1,25-Dihydroxycholecalciferol: the metabolite of vitamin D responsible for increased intestinal calcium transport. *Arch. Biochem. Biophys.* 147, 143-147, 1971.
- FUCIK, R.F., KUKREJA, S.C., HARGIS, G.K., BOWSER, E.N., HENDERSON, W.J. en WILLIAMS, G.A. Effect of glucocorticoids on function of the parathyroid glands in man. *J. Clin. Endocrinol.* 40, 152-155, 1975.
- FUKUSHIMA, M., SUZUKI, Y., TOHIRA, Y., MATSUNAGA, I., OCHI, K., NAGANO, H., NISHII, Y. en SUDA, T. Metabolism of  $1\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> to  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in perfused rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 66, 632-638, 1975.
- GAILLARD, P.J. Parathyroid gland tissue and bone in vitro. *Exp. Cell. Res. (suppl.)* 3, 154-169, 1955.
- GAILLARD, P.J. The influence of parathyroid extract on the explanted radius of albino mouse embryos. 2. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet. serie C* 64:, 119-128, 1961.
- GALANTE, L., MAC AULEY, C., COLSTON, K. en MAC INTYRE, I. Effect of parathyroid extract on vitamin-D metabolism. *Lancet I.* 985-988, 1972a.
- GALANTE, L., COLSTON, K.W., MAC AULEY, S.J. en MAC INTYRE, I. Effect of calcitonin on vitamin-D metabolism. *Nature* 238, 271-273, 1972b.
- GALANTE, L., COLSTON, K.W., EVANS, I.M.A., BYFIELD, F.G.H., MATTHEWS, E.W. en MAC INTYRE, I. The regulation of vitamin-D metabolism. *Nature* 244, 438-440, 1973.
- GARABEDIAN, M., HOLICK, M.F., DELUCA, H.F. en BOYLE, I.T. Control of 25-hydroxycholecalciferol metabolism by parathyroid glands. *Proc. Nat. Sci. (Wash.)* 69, 1673-1676, 1972.
- GARABEDIAN, M., TANAKA, Y., HOLICK, M.F. en DELUCA, H.F. Response of intestinal calcium transport and bone calcium mobilization to 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in thyroparathyroidectomized rats. *Endocrinology* 94, 1022-1027, 1974.
- GILMOUR, J.R. en MARTIN, W.J. The weight of the parathyroid glands. *J. Path. Bact.* 44, 431-462, 1937.
- GINZLER, A.M. JAFFE, H.L. Osseous findings in chronic renal insufficiency in adults. *Amer. J. Path.* 17, 293-301, 1941.
- GITELMAN, H.J. An improved automated procedure for the determination of calcium in biological specimens. *Anal. Biochem.* 18, 521-531, 1967.
- GITTES, R.F., TOVERUD, S.U. en COOPER, C.W. Effects of hypercalcemia and hypocalcemia on the thyrocalcitonin content of rat thyroid glands. *Endocrinol.* 83 82-90, 1968.
- GOLDBERG, M., AGUS, Z.S., PUSCHETT, J.B. en SENESKY, S. Mode of phosphaturic action of parathyroid hormone: micropuncture studies. In: Calcium, parathyroid hormone and the calcitonins. Ed. R.V. Talmage en P.L. Munson. Amsterdam, *Experta Medica.* 1972.
- GOLDMAN, R. en BASSETT, S.H. Phosphorus excretion in renal failure. *J. Clin. Invest.*, 33, 1623-1628, 1954.

- GOLDSMITH, R.S., FURSZYFER, J., JOHNSON, W.J., FOURNIER, A.E. en ARNAUD, C.D. Control of secondary hyperparathyroidism during long-term hemodialysis. *Amer. J. Med.* 50, 692-699, 1971.
- GOLDSMITH, R.S., JOHNSON, W.J., ARNAUD, C.D. The hyperparathyroidism of renal failure: pathophysiology and treatment. *Clin. Endocrinol. Metab.* 3, 305-321, 1974.
- GRAHAM, R.F., PREECE, M.A. en O'RIRDAN, J.L.H. A highly sensitive competitive protein-binding assay for 24,25- and 25,26-dihydroxycholecalciferols. *Calc. Tiss. Res.* 22 (suppl.), 416-421, 1977.
- GRAN, F.C. The retention of parenterally injected calcium in rachitic dogs. *Acta Physiol. Scand.* 50, 132-139, 1960.
- GRAY, T.K., OMDAHL, J.L., GHAZARIAN, J.G. en DELUCA, H.F. 25-Hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase: subcellular location and properties. *J. Biol. Chem.* 247, 7528-7532, 1972.
- GRAY, T.K., BIEBERDORF, F.A. en FORDTRAN, J.S. Thyrocalcitonin and the jejunal absorption of calcium, water, and electrolytes in normal subjects. *J. Clin. Invest.* 52, 3084-3088, 1973.
- GRAY, R.W., WILZ, D.R., CALDAS, A.E. en LEMANN, J. jr. The importance of phosphate in regulating plasma 1,25-(OH)<sub>2</sub>-vitamin D levels in humans: studies in healthy subjects, in calcium-stone formers and in patients with primary hyperparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 45, 299-306, 1977.
- GRIFFITHS, H.J., ZIMMERMAN, R.E., BAILEY, G. en SNIDER, R. The use of photon absorptiometry in the diagnosis of renal osteodystrophy. *Radiology*, 109, 277-281, 1973.
- HABENER, J.F., KEMPER, B., POTTS, J.T. jr. en RICH, A. Bovine parathyroid hormone: structural analysis of radioactive peptides formed by limited cleavage. *Endocrinology*. 92, 219-226, 1973.
- HABENER, J.F., MAYER, G.P., DEE, P.C. en POTTS, J.T. jr. Metabolism of amino- and carboxyl-sequence immunoreactive parathyroid hormone in the bovine: evidence for peripheral cleavage of hormone. *Metabolism*. 25, 385-395, 1976.
- HACKENG, W.H.L., SCHELLEKENS, A.P.M. en SCHOPMAN, W. A radioimmunoassay for human calcitonin. *Horm. Metab. Res.* 2, 311-312, 1970.
- HALL, B.D., MAC MILLAN, D.R. en BRONNER, F. Vitamin D-resistant rickets and high fecal endogenous calcium output. *Amer. J. Clin. Nutr.* 22, 448-457, 1969.
- HAMBURGER, J. Passé, présent et avenir de la néphrologie. In: Proceedings VII<sup>th</sup> international congress of Nephrology, Montréal, 1978, pp 25-31. les presses de l'université de Montréal, 1978.
- HARGIS, G.K., WILLIAMS, G.A., REYNOLDS, W.A., CHERTOW, B.S., KUKREJA, S.C., BOWSER, E.N. en HENDERSON, W.J. Effect of somatostatin on parathyroid hormone and calcitonin secretion. *Endocrinol.* 102, 745-750, 1978.
- HARRIS, C.A., SUTTON, R.A.L. en SEELY, J.F. Effect of 1,25-(OH)<sub>2</sub>vitamin D<sub>3</sub> on renal electrolyte handling in the vitamin D deficient rat: dissociation of calcium and sodium excretion. *Clin. Res.* 25, 435a, 1977.
- HARRISON, H.E. en HARRISON, H.C. Intestinal transport of phosphate: action of vitamin D, calcium, and potassium. *Amer. J. Physiol.* 201, 1007-1012, 1961.
- HARRISON, R.G., LYTHGOE, B. en WRIGHT, P.W. Total synthesis of 1 $\alpha$ hydroxy-vitamin D<sub>3</sub>. *Tetrahedron Lett.* 37, 3649-3652, 1973.
- HAUSSLER, M.R. Vitamin D: mode of action and biomedical applications. *Nutr. Rev.* 32, 257-266, 1974.
- HAUSSLER, M.R. en MC. CAIN, T.A. Basic and clinical concepts related to vitamin D metabolism and action. *New Engl. J. Med.* 297, 974-983 en 1041-1050, 1977.
- HAUSSLER, M.R., BOYCE, D.W., LITTLEDIKE, E.T. en RASMUSSEN, H. A rapidly acting metabolite of vitamin D<sub>3</sub>. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 68, 177-181, 1971.
- HAUSSLER, M.R., BAYLINK, D.J., HUGHES, M.R., BRUMBAUGH, P.F., WERGEDAL, J.E., SHEN, F.H., NIELSEN, R.L., COUNTS, S.J., BURSAC, K.M. en McCAIN, T.A. The assay of 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: Physiologic Modulation of circulating hormone levels. *Clin. Endocrinol.*, 5, 151s-165s, 1976.

- HEANEY, R.P. en SKILLMAN, T.G. Secretion and excretion of calcium by the human gastrointestinal track. *J. Lab. Clin. Med.* 64, 29-41, 1964.
- HEATON, F.W. en PYRAH, L.N. Magnesium metabolism in patients with parathyroid disorders. *Clin. Sci.* 25, 475-485, 1963.
- HEER, K.R., ALEXANDROW, K., LOUFFENBURGER, Th. Veränderungen des mineralgehaltes bei gesunden frauen in der menopause und in der premenopause. Symposium CEMO I. Exploration morphologique et fonctionelle du squelette. Editions Medicine et Hygiène. Genève pp 9-16, 1976.
- HEERSCHE, J.N.M. en DE VOOGD VAN DER STRATEN, W. A radioautographic and radiometric analysis of the influence of parathyroid extract on the proline binding capacity of cultivated mouse radius rudiments. *Proc. Kon. Ned. Akad. Wet. ser. C Biol. Med. Sci.* 68, 277-288, 1965.
- HEERSCHE, J.N.M., MARCUS, R. en AURBACH, G.D. Calcitonin and the formation of 3', 5'-AMP in bone and kidney. *Endocrinol.* 94, 241-247, 1974.
- HENDERSON, R.G., RUSSELL, R.G.G., LEDINGHAM, J.G.G., SMITH, R., OLIVER, D.O., WALTON, R.J., SMALL, D.G. en PRESTON, C. Effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol on calcium absorption, muscle weakness, and bone disease in chronic renal failure. *Lancet* 1, 379-384, 1974.
- HENDY, G.N., BARLING, P.M., O'RIORDAN, J.L.H. Human parathyroid hormone: Immunological properties of the amino terminus and of synthetic fragments. *Clin. Sci. Mol. Med.* 47, 567-576, 1974.
- HENNESSY, J.F., WELLS, S.A., ONTJES, D.A. en COOPER, C.W. A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid. *J. Clin. Endocrinol.* 39, 487-495, 1974.
- HENRY, H.L. en NORMAN, A.W. Studies on the mechanism of action of calcitriol VII. localization of 1,25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> in chick parathyroid glands. *Bioch. Bioph. Res. Comm.* 62, 718-788, 1975a.
- HENRY, H.L. en NORMAN, A.W. Biochemical and physiological regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase. In: Vitamin D and problems related to uremic bone disease pp. 1-24. Ed.: A.W. Norman, K. Schaefer, H.G., Grigoleit, D.v., Herrath en E. Ritz. Uitg.: W. de Gruyter, Berlin, 1975b.
- HENRY, H.L., MIDGETT, R.J. en NORMAN, A.W. Regulation of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>-1-hydroxylase in vivo. *J. Biol. Chem.* 249, 7584-7592, 1974.
- HEYDEN, G. en FRANCHIMONT, P. Human calcitonin radioimmunoassay in normal and pathological conditions. *Eur. J. Clin. Invest.* 4, 213-222, 1970.
- HILL, L.F., MAWER, E.B., TAYLOR, C.M. Determination of plasma levels of 1,25-dihydroxycholecalciferol in man. In: Vitamin D and problems related to uremic bone disease, pp 755-762. Ed.: A.W. Norman, K. Schaefer, H.G. Grigoleit, D. von Herrath, E. Ritz. Uitg.: W. de Gruyter, Berlin, 1975.
- HODGKINSON, A. en PYRAH, L.N. The urinary excretion of calcium and inorganic phosphate in 344 patients with calcium stone of renal origin. *Brit. J. Surg.* 46, 10-18, 1958.
- HOLICK, M.F. en DELUCA, H.F. Vitamin D metabolism. *Ann. Rev. Med.* 25, 349-367, 1974.
- HOLICK, M.F., SCHNOES, H.K. en DELUCA, H.F. Identification of 1,25-dihydroxycholecalciferol, a form of vitamin D<sub>3</sub> metabolically active in the intestine. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* 68, 803-804, 1971.
- HOLICK, M.F., GARABEDIAN, M. en DELUCA, H.F. 1,25-Dihydroxycholecalciferol: metabolite of vitamin D<sub>3</sub> active on bone in anephric rats. *Science* 176, 1146-1147, 1972.
- HOLICK, M.F., HOLICK, S.A., TAVELA, T., GALLAGHER, B., SCHNOES, H.K., DELUCA, H.F. Synthesis of (6-<sup>3</sup>H)-1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and metabolism in vivo to (<sup>3</sup>H)-1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Science.* 190, 576-578, 1975.
- HOLICK, M.F., TAVELA, T.E., HOLICK, S.A., SCHNOES, H.K., DELUCA, H.F. Metabolism of 1 $\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the chick. *J. Biol. Chem.* 251, 1025-1028, 1976.

- HOLICK, M.F., FROMMER, J., MCNEILL, S., RICHTAND, N., HENLEY, J. en POTTS, J.T. jr. Conversion of 7-dehydrocholesterol to vitamin D<sub>3</sub> in vivo: isolation and identification of previtamin D<sub>3</sub> from skin. In: Vitamin D. Biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism. pp. 133-137. Ed.: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit en D.v. Herrath. Uitg.: W. de Gruyter, Berlijn, 1977a.
- HOLICK, M.F., FROMMER, J.E., Mc. NEILL, S.C., RICHTAND, N.M., HENLEY, J.W. en POTTS, J.T. jr. Photometabolism of 7-dehydrocholesterol to previtamin D<sub>3</sub> in skin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 76, 107-114, 1977b.
- HOSKIN, D.J. en CAMBERLAIN, M.J. Calcium balance in chronic renal failure: a study using in vivo neutron activation analysis. *Quart. J. Med. (New Series XLII)* 167, 467-479, 1973.
- HRUSKA, K.A., KOPELMAN, R., RUTHERFORD, W.E., KLAHR, S. en SLATOPOLSKY, E. Metabolism of immunoreactive parathyroid hormone in the dog. *J. Clin. Invest.* 56, 39-48, 1975.
- HUGHES, M.R., BRUMBAUGH, P.F., HAUSSLER, M.R., WERGEDAL, J.E. en BAYLINK, D.J. Regulation of serum 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> by calcium and phosphate in the rat. *Science* 190, 578-580, 1975.
- HUGHES, M.R., BAYLINK, D.J., GONNERMAN, W.A., TOVERUD, S.U., RAMP, W.K. en HAUSSLER, M.R. Influence of dietary vitamin D<sub>3</sub> on the circulating concentration of its active metabolites in the chick and rat. *Endocrinology.* 100, 799-806, 1977.
- HYDEN, S. A turbidimetric method for the determination of higher polyethylene glycols in biological materials. *Kungl. Lantbr. Ann.* 22, 139-145, 1955.
- IBELS, L.S., ALFREY, A.C., HAUT, L. en HUFFER, W.E. Preservation of function in experimental renal disease by dietary restriction of phosphate. *New Engl. J. Med.* 298, 122-126, 1978.
- JOHNSTON, C.C. jr., SMITH, D.M., YU, P.L. en DIESS, W.P. jr. In vivo measurement of bone mass in the radius. *Metabolism.* 17, 1140-1153, 1968.
- JOWSEY, J. en RIGGS, B.L. Bone changes in a patient with hypervitaminosis A (lett. to the editor) *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 28, 1833-1835, 1968.
- JOWSEY, J., MASSRY, S.G., COBURN, J.W. en KLEEMAN, C.R. Microradiographic studies of bone in renal osteodystrophy *Arch. Intern. Med.* 124, 539-543, 1969.
- JUTTMANN, J.R. en BIRKENHÄGER, J.C. Treatment of predialysis renal bone disease with 1 $\alpha$ -(OH) vitamin D<sub>3</sub> and 1,25-(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub>. Initial results of BALANCE studies and the effect on intestinal CALCIUM ABSORPTION, serum PTH and CALCITONIN levels. pp 861-864. In: Vitamin D. Basic research and its clinical application. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, D.v. Herrath, H.-G. Grigoleit, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, E.B. Mawer en T. Suda. Uitg.: W. de Gruyter, Berlijn, 1979.
- JUTTMANN, J.R., BARTH, J.D. en BIRKENHÄGER, J.C. Treatment of anticonvulsant osteomalacia with 1 $\alpha$ -hydroxycholecalciferol. *Brit. Med. J.* 1 551, 1977.
- JUTTMANN, J.R., RUIS, A.M., HAGENOUW-TAAL, J.C.W., LOCKEFEER, J.H.M. en BIRKENHÄGER, J.C. A comparative study of two methods of measurement of fractional calcium absorption: results in normal individuals and patients with various disturbances of calcium metabolism. *Eur. J. Clin. Invest.* 8, 137-142, 1978a.
- JUTTMANN, J.R., HAGENOUW-TAAL, J.C.W., LAMEYER, L.D.F., RUIS, A.M. en BIRKENHÄGER, J.C. Intestinal calcium absorption, serum phosphate, and parathyroid hormone in patients with chronic renal failure and osteodystrophy before and during hemodialysis. *Calcif. Tiss. Res.* 26, 119-126, 1978b.
- JUTTMANN, J.R., HAGENOUW-TAAL, J.C.W., LAMEYER, L.D.F., RUIS, A.M., BIRKENHÄGER, J.C. A longitudinal study of bone mineral content and intestinal calcium absorption in patients with chronic renal failure. *Metabolism (ter perse)* november, 1979.
- KANIS, J.A. en RUSSELL, R.G.G. Rate of reversal of hypercalcaemia and hypercalciuria induced by vitamin D and its 1 $\alpha$ -hydroxylated derivatives. *Brit. Med. J.* 1 78-81, 1977.
- KANIS, J.A., HEYNEN, G., EARNSHAW, M., RUSSELL, R.G.G., WOODS, C.G., FRANCHIMONT, P., GASPAR, S., OLIVIER, D. en LEDINGHAM, J.G.J. Evidence for a relationship between plasma immunoreactive calcitonin and bone disease in chronic renal failure. *Adv. Exp. Med. Biol.* 81, 571-579, 1977a.

- KANIS, J.A., EARNSHAW, M., HEYNEN, G., RUSSELL, R.G.G. en WOODS, C.S. The possible role of calcitonin deficiency in the development of bone disease due to chronic renal failure. *Calcif. Tiss. Res.* 22 (suppl.) 147-152, 1977b.
- KANIS, J.A., EARNSHAW, M., HEYNEN, G., LEDINGHAM, J.G.G., OLIVER, D.O., RUSSELL, R.G.G., WOODS, C.G., FRANCHIMONT, P. en GASPAR, S. Changes in histologic and biochemical indexes of bone turnover after bilateral nephrectomy in patients on hemodialysis. *New Engl. J. Med.* 296 1073-1079, 1977c.
- KANIS, J.A., EARNSHAW, M., HENDERSON, R.G., HEYNEN, G., LEDINGHAM, J.G.G., NAIK, R.B., OLIVER, D.O., RUSSELL, R.G.G., SMITH, R., WILKINSON, R.H. en WOODS, C.G. Correlation of clinical, biochemical and skeletal responses to  $1\alpha$ -hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in renal bone disease. *Clin. Endocrinol.* 7 suppl. 45s-50s, 1977d.
- KANIS, J.A., HEYNEN, G., RUSSELL, R.G.G., SMITH, R., WALTON, R.J. en WARNER, G.T. Biological effects of 24,25-dihydroxycholecalciferol in man. In: *Vitamin D. Biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism.* pp 793-795. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit en D.v. Herrath. Uitg.: W. de Gruyter, Berlijn, 1977c.
- KANIS, J.A., CUNDY, T., BARLETT, M., SMITH, R., HEYNEN, G., WARNER, G.T. en RUSSELL, R.G.G. Is 24-25-dihydroxycholecalciferol a calcium-regulating hormone in man. *Brit. Med. J.* 1, 1382-1386, 1978.
- KAYE, M. Concepts of therapy: prevention and management of osteodystrophy in patients with long-term hemodialysis. *Arch. Intern. Med.* 124, 656-662, 1969.
- KAYE, M. en SILVERMAN, M. Calcium metabolism in chronic renal failure. *J. Lab. Clin. Med.* 66, 535-548, 1965.
- KEMPER, B., HABENER, J.F., POTTS, J.T. jr. en RICH, A. Preparathyroid hormone: identification of a biosynthetic precursor to parathyroid hormone. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 69, 643-647, 1972.
- KEMPER, B., HABENER, J.F., MULLIGAN, R.C., POTTS, J.T. jr. en RICH, A. Pre-preparathyroid hormone: a direct translation product of parathyroid messenger RNA. *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.)* 71, 3731-3735, 1974.
- KEMPER, B., HABENER, J.F., POTTS, J.T. jr. en RICH, A. Prepreparathyroid hormone: fidelity of the translation of parathyroid messenger RNA by extracts of wheat germ. *Biochemistry.* 15, 20-25, 1976.
- KEUTMANN, H.T., NIALL, H.D., O'RIORDAN, J.L.H. en POTTS, J.T. jr. A reinvestigation of the amino-terminal sequence of human parathyroid hormone. *Biochemistry.* 14, 1842-1847, 1975.
- KIDA, K. en GOODMAN, D.S. Studies on the transport of vitamin D and of 25-hydroxyvitamin D in human plasma. *J. Lipid. Res.* 17, 485-490, 1976.
- KIM, D., BELL, N.H., BUNDESEN, W., PUTONG, P., SIMON, N.M., WALKER, C. en DELCRECO, F. Renal osteodystrophy in course of periodic dialysis for chronic uremia. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs.* 14, 367-371, 1968.
- KLEEMAN, C.R., ROCKNEY, R.E. en MAXWELL, M.H. The effect of parathyroid extract (PTE) on the renal clearance of diffusible calcium. *J. Clin. Invest.* 37, 907, (abstr.) 1958.
- KLEEMAN, C.R., BERNSTEIN, D., ROCKNEY, R., DOWLING, J.T. en MAXWELL, M.A. Studies on renal clearance of diffusible calcium and the role of the parathyroid glands in its regulation. *Yale. J. Biol. Med.* 34, 1-30, 1961.
- KLEEMAN, C.R., MASSRY, S.G., COBURN, J.W. en POPOVTZER, M.M. The problem and unanswered questions: renal osteodystrophy, soft tissue calcification, and disturbed divalent ion metabolism in chronic renal failure. *Arch. Intern. Med.* 124, 262-268, 1969.
- KLEINMAN, L.M., LETTERI, J.M., ELLIS, K. en COHN, S.H. Effects of 25 hydroxycholecalciferol on calcium metabolism in uremia. In: *Vitamin D. Biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism.* pp 675-677. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit en D.v. Herrath. Uitg.: W. de Gruyter, Berlijn, 1977.
- KNOX, F.G. en LECHENE, C. Distal site of action of parathyroid hormone on phosphate reabsorption. *Amer. J. Phys.* 229, 1556-1560, 1975.
- KODICEK, E., LAWSON, D.E.M. en WILSON, P.W. Biological activity of a polar metabolite of vitamin D<sub>3</sub>. *Nature* 228, 763-764, 1970.

- KRANE, S.M. Pharmacology of the endocrine system and related drugs: Parathyroid hormone thyrocalcitonin and related drugs. In: *Int. Encycl. Pharmacol. Ther.* section 51, vol I, p 19, 1970.
- KREMPIEN, B., GEIGER, G., RITZ, E. en BÜTTNER, S. Osteocytes in chronic uremia: differential count of osteocytes in human femoral bone. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.* 360, 1-9, 1973.
- KUMAR, M.A., FOSTER, G.V. en MAC INTYRE, I. Further evidence for calcitonin: a rapid-acting hormone which lowers plasmacalcium. *Lancet* 2, 480-482, 1963.
- LACHMAN, E. Osteoporosis: the potentialities and limitations of its roentgenologic diagnosis. *Amer. J. Röntgen.* 74, 712-715, 1955.
- LATTINEN, O. Parathyroid-induced changes in collagen and calcium metabolism in vivo. *Endocrinology.* 80, 815-824, 1967.
- LAUTRIDOU, P., LAVAL-JEANTET, M., SIMON, J. en LAVAL-JEANTET, A.M. Densitométrie osseuse par absorption d'un rayonnement monochromatique. *Ann. Radiol.* 17, 27-32, 1974.
- LEKERKERKER, J.F.F., VAN WOUDEBERG, F., BEEKHUIS, H. en DOORENBOS, H. Enhancement of calcium absorption in hypothyroidism. *Israël. J. Med. Sci.* 7, 399-400, 1971.
- LEQUIN, R.M., HACKENG, W.H.L. en SCHOPMAN, W. A radioimmunoassay for parathyroid hormone in man. II. Measurement of parathyroid hormone concentrations in human plasma by means of a radioimmunoassay for bovine hormone. *Acta Endocrinol.* 63, 655-666, 1970.
- LEVI, J., MASSRY, S.G., COBURN, J.W., LIACH, F. en KLEEMAN, C.R. Hypocalcemia in magnesium-depleted dogs: evidence for reduced responsiveness to parathyroid hormone and relative failure of parathyroid gland function. *Metabolism.* 23, 323-335, 1974.
- LIU, S.H. en CHU, H.I. Studies of calcium and phosphorus metabolism with special reference to the pathogenesis and effects of dihydrotachysterol (AT 10) and Iron. *Medicine.* 22, 103-161, 1943.
- LOCKEFEEER, H.H.M. Nierstenen, hypercalciuric en diuretica. Proefschrift, Erasmus universiteit Rotterdam, 1975.
- LUCAS, R.C. On a form of late rickets associated with albuminuria, rickets of adolescents. *Lancet* I, 993-994, 1883.
- LUND, J. en DELUCA, H.F. Biologically active metabolite of vitamin D<sub>3</sub> from bone, liver and blood serum. *J. Lipid Res.* 7, 739-744, 1966.
- MACGREGOR, R.R., HAMILTON, J.W. en COHN, D.V. The mode of conversion of proparathormone to parathormone by a particulate converting enzymic activity of the parathyroid gland. *J. Biol. Chem.* 253, 2012-2017, 1978.
- MC HARDY, G.J.R. en PARSONS, D.S. The absorption of inorganic phosphate from the small intestine of the rat. *Quart. J. Exp. Physiol.* 41, 398-409, 1956.
- MACH, R.S. en RUTISHAUSER, E. Les ostéodystrophies rénales. Étude expérimentale et anatomoclinique des lésions osseuses au cours des néphrites. *Helvet. Med. Acta.* 4, 423-445, 1937.
- MAC INTYRE, I. The action and control of the calcium-regulating hormones. *J. Endocrinol. Invest.* 1, 227-284, 1978.
- MC LAUGHLIN, M., RAGGATT, P.R., FAIRNEY, A., BROWN, D.J., LESTER, E. en WILLS, M.R. Seasonal variations in serum 25-hydroxycholecalciferol in healthy people. *Lancet* I, 536-538, 1974.
- MADSEN, S. en ØLGAARD, K. 1-Alpha-hydroxycholecalciferol treatment of adults with chronic renal failure. *Acta Med. Scand.* 200, 1-5, 1976.
- MALLUCHE, H.H., RITZ, E., LANGE, H.P., ARRAS, D., SCHOEPPPE, W. Bone mass in maintenance haemodialysis. Prospective study with sequential biopsies. *Europ. J. Clin. Invest.* 6, 265-271, 1976.
- MANZKE, E., CHESNUT, C.H., WERGEDAL, J.E., BAYLINK, D.J. en NELP, W.B. Relationship between local and total bone mass in osteoporosis. *Metabolism* 24, 605-615, 1975.
- MARRIOTT, W.M., HOWLAND, J. Phosphate retention as a factor in the production of acidosis in nephritis. *Arch. Intern. Med.* 18, 708-711, 1916.
- MARX, S.J., GLOSSMAN, H. en KEUTMANN, H.T. Renal receptors for calcitonin: binding and degradation of hormone. *J. Biol. Chem.* 248, 4797-4802, 1973.

- MASSRY, S.G., COBURN, J.W. en KLEEMAN, C.R. Bone mineral metabolism and osteodystrophy in uremia. *Amer. J. Clin. Nutr.* 21, 457-466, 1968.
- MASSRY, S.G., ARIEFF, A.I., COBURN, J.W., PALMIERI, G. en KLEEMAN, C.R. Divalent ion metabolism in patients with acute renal failure: studies on the mechanism of hypocalcemia. *Kidney Internat.* 5, 437-445, 1974.
- MASSRY, S.G., STEIN, R., GARTY, J., ARIEFF, A.I., COBURN, J.W., NORMAN, A.W. en FRIEDLER, R.M. Skeletal resistance to the calcemic action of parathyroid hormone in uremia: role of  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . *Kidney Internat.* 9, 467-474, 1976.
- MAUTALEN, C.A., CABREGOS, M.L. en SOTO, R.J. Isotopic determination of intestinal calcium absorption in normal subjects. *Metabolism* 18, 39-40, 1969.
- MAYER, G.B. Effect of calcium and magnesium on parathyroid hormone secretion rate in calves. In: Calcium regulating hormones. ed: R.V. Talmage, M. Owen en J.A. Parsons. 5<sup>th</sup> Parathyroid Conference. *Experta Medica New York*. Amer. Elsevier Publ. Co. Inc., Amsterdam, 1975.
- MEEMA, H.E., RABINOVICH, S., MEEMA, S., LLOYD, G.J. en OREOPOULOS, D.G. Improved radiological diagnosis of azotemic osteodystrophy. *Radiology*. 102, 1-10, 1972.
- MELSEN, F., NIELSEN, H.E. en CHRISTENSEN, M.S. Bone histomorphometry in patients with chronic renal failure: effect of  $1\alpha$ -hydroxyvitamin  $\text{D}_3$ . *Clin. Endocrinol.*, 7 (suppl.), 39s-44s, 1977.
- MERZ, W.A., SCHENK, R.K. A quantitative histological study on bone formation in human cancellous bone. *Acta Anat.* 76, 1-15, 1970.
- MESSNER, R.P., SMITH, H.T., SHAPIRO, F.L. en GREGORY, D.H. The effect of hemodialysis, vitamin D, and renal homotransplantation on the calcium malabsorption of chronic renal failure. *J. Lab. Clin. Med.* 74, 472-481, 1969.
- METZ, S.A., DEFTOS, L.J., BAYLINK, D.J. en ROBERTSON, R.P. Neuroendocrine modulation of calcitonin and parathyroid hormone in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47, 151-159, 1978.
- MEUNIER, P., BERNARD, J., COURPRON, P. en VIGNON, G. Use of an image analyzing computer for the study of osteocytic behaviour in bone disease. In: Proceedings ninth. Europ. Symp. Calcified Tissues. Wenen, Facta-publication, pp. 203-208, 1973.
- MILHAUD, G. en MOUKHTAR, M.S. Thyrocalcitonin: effects on calcium kinetics in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 123, 207-209, 1966.
- MILHAUD, G., DU, L. en PERAULT-STAU, A.M. Mechanism of the rapid hypercalcemic effect of parathormone: inhibition of bone accretion. *Rev. Europ. Etud. Clin. et Biol.* 14, 415-454, 1971.
- MILLS, B.G., HAROUTINIAN, A.M., HOLST, P., BORDIER, P.J., TUN-CHOT, S. Ultrastructural and cellular changes at the costochondral junction following in vivo treatment with calcitonin or calcium chloride in the rabbit. In: *Endocrinology 1971* ed. Taylor S. Heinemann Medical Books Ltd., Londen, 1972.
- MULDER, H. Academisch proefschrift Vrije Universiteit Amsterdam. De concentratie van calcitonine in het serum, pp 66-79, 1979.
- NECKER, R., RINKER, B., RITTEL, W. en ZUBER, H. Menschliches calcitonin Struktur von calcitonin M und D. *Helv. Chim. Acta* 51, 1900-1905, 1968.
- NEUFELD, A.H. en COLLIP, J.B. The primary action of the parathyroid hormone. *Endocrinology*. 30, 135-141, 1942.
- NAILL, H.D., KEUTMANN, H.T., COPP, D.H. en POTTS, J.T. jr. Amino-acid sequence of salmon ultimo-branchial calcitonin. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 64, 771-778, 1969.
- NIALL, H.D., KEUTMANN, H., SAUER, R., HOGAN, M., DAWSON, B., AURBACH, G. en POTTS, J. jr. The amino acid sequence of bovine parathyroid hormone I. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 351, 1586-1588, 1970.
- NIALL, H.D., SAUER, R.T., JACOBS, J.W., KEUTMANN, H.T., SEGRE, G.V., O'RIORDAN, J.L.H., AURBACH, G.D. en POTTS, J.T. jr. The amino-acid sequence of the amino-terminal 37 residues of human parathyroid hormone. *Proc. Nat. Acad. Sci. (wash.)* 71, 384-388, 1974.
- NICOLAYSEN, R. Studies upon the mode of action of vitamin D: V. The absorption of phosphates from isolated loops of the small intestine in the rat. *Biochem. J.* 37, 1086-1088, 1937.



- NICOLAYSEN, R. en EEG-LARSEN, N.: The mode of action of vitamin D. In: Ciba foundation symposium on bone structure metabolism. pp175-186. Ed.: G.W.E. Wolstenholme en C.M. O'Conner. Uitg.: Little, Brown and Co., Boston, 1956.
- NORDIN, B.E.C. Nutritional considerations. In: Calcium, phosphate and magnesium metabolism. pp 1-35. Ed.: B.E.C. Nordin, Churchill Livingstone, 1976.
- NORDIN, B.E.C. en PEACOCK, M. Role of kidney in regulation of plasma-calcium. *Lancet* 2, 1280-1283, 1969.
- NORMAN, A.W. en HENRY, H. The role of the kidney and vitamin D metabolism in health and disease. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 98, 258-287, 1974a.
- NORMAN, A.W. en HENRY, H. Recent progress in hormone research. 30 pp 431-480 Ed: A.O. Green. Uitg.: Academic press, New York, 1974b.
- NORMAN, A.W., JOHNSON, R.L., OSBORN, T.W., PROCSAL, D.A., CAREY, S.C., HAMMOND, M.L., MITRA, M.N., PIRIO, M.R., REGO, A., WING, R.M. en OKAMURA, W.H. The chemistry and conformational and biological analysis of vitamin D<sub>3</sub>, its metabolites and analogues. *Clin. Endocrinology* 5, (suppl.), 121s-143s, 1976.
- OGG, C.S. The intestinal absorption of <sup>47</sup>Ca by patients in chronic renal failure. *Clin. Sci.* 34, 467-471, 1968.
- OLSON, E.B. jr., DELUCA, H.F. en POTTS, J.T. jr. The effects of calcitonin and parathyroid hormone on calcium transport of isolated intestine. In: Calcium parathyroid hormone and the calcitonins. Ed: R.V. Talmage en P.L. Munson. International congress series no 243, exerpta medica, Amsterdam, 1972.
- OMDAHL, J., HOLICK, M., SUDA, T., TANAKA, Y. en DELUCA, H.F. Biological activity of 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Biochemistry.* 10, 2935-2940, 1971.
- ORNOY, A., GOODWIN, D., NOFF, D., EDELSTEIN, S. 24,25-Dihydroxyvitamin D is a metabolite of vitamin D essential for bone formation. *Nature.* 276, 517-519, 1978.
- PAILLARD, F., DE VERNEJOUL, M.C., NIVEZ, M.C., MEYRIER, A. en ARDAILLOU, R. Absence of effect of phosphate infusion on calcitonin plasma concentration in man. *Horm. Metab. Res.* 9 344-345, 1977.
- PAK, C.Y.C., EAST, D., SANZERBACHEN, L.J., DELEA, C. en BARTTER, F.C. Gastrointestinal calcium absorption in nephrolithiasis. *J. Clin. Endocrinol, Metab.* 3, 261-270, 1972.
- PAPPENHEIMER, A.M. en WILENS, S.L. Enlargement of the parathyroid glands in renal disease. *Amer. J. Path.* 11, 73-91, 1935.
- PARFITT, A.M. Chlorothiazide-induced hypercalcemia in juvenile osteoporosis and hyperparathyroidism. *New. Engl. J. Med.* 281, 55-59, 1969.
- PARFITT, A.M., MASSRY, S.G., WINFIELD, A.C., DE PALMA, J.R. en GORDON, A. Disordered calcium and phosphorus metabolism during maintenance hemodialysis: correlation of clinical, roentgenographic and biochemical changes. *Amer. J. Med.* 51, 319-330, 1971.
- PARFITT, A.M., OLIVER, I., WALCZAK, N, LEVIN, N., SANTIAGO, G. en CRUZ, C. The effect of chronic renal failure and maintenance haemodialysis on bone mineral content of the radius. *Am. J. Röentgenol.* 126, 1292-1293, 1976.
- PARSONS, V., VEALL, N. en BUTTERFIELD, W.J.H. The clinical use of orally administered <sup>47</sup>Ca for investigation of intestinal calcium absorption. *Calcif. Tiss. Res.* 2, 83-92, 1968.
- PARTHMORE, J.G. en DEFTOS, L.J. Calcitonin secretion in normal human subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47, 184-188, 1978.
- PEACOCK, M., GALLAGHER, J.C. en NORDIN, B.E.C. Action of 1 $\alpha$ -hydroxy vitamin D<sub>3</sub> on calcium absorption and bone resorption in man. *Lancet* 1, 385-389, 1974.
- PECHET, M.M. en HESSE, R.H. Metabolic and clinical effects of pure crystalline 1 $\alpha$ -hydroxy-vitamin D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Amer. J. Med.* 57, 13-20, 1974.
- PECK, W.A. en DOWLING, I. Failure of 1,25 dihydroxycholecalciferol (1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>) to modify cyclic AMP levels in parathyroid hormone-treated and untreated bone cells. *Endocrinol. Res. Comm.* 3, 157-166, 1976.

- PENDRAS, J.P. Parathyroid disease in long-term maintenance hemodialysis. *Arch. Intern. Med.* 124, 312-321, 1969.
- PIERIDES, A.M. ELLIS, H.A., SIMPSON, W., DEWAR, J.H., WARD, M.K. en KERR, D.N.S. Variable response to long-term  $1\alpha$ -hydroxycholecalciferol in haemodialysis osteodystrophy. *Lancet* 1, 1092-1095, 1976.
- PIKE, J.W., TOVERUD, S., BOASS, A., McCAIN, T. en HAUSSLER, M.R. Circulating  $1\alpha,25$ - $(OH)_2$  D during physiological states of calcium stress. In: Vitamin D, biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism. pp187-189. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit en D.v. Herrath. Uitg.: W. de Gruyter, Berlijn, 1977.
- PLATTS, M.M., GRECH, P., MC. MANNERS, T. en COCHRAN, M. Skeletal changes in patients treated by regular haemodialysis in the Scheffield area. *Brit. J. Radiol.* 46, 585-593, 1973.
- PLETKA, P., BERNSTEIN, D.S., HAMPERS, C.L., MERRILL, J.P. en SHERWOOD, L.M. Effects of magnesium on parathyroid hormone secretion during chronic haemodialysis. *The Lancet* 1, 462-463, 1971.
- POPOVTZER, M.M., SCHAINUCK, L.I., MASSRY, S.G. en KLEEMAN, C.R. Divalent ion excretion in chronic kidney disease: relation to degree of renal insufficiency. *Clin. Sci.* 38, 297-307, 1970.
- POPOVTZER, M.M., ROBINETTE, J.B., DELUCA, H.F. en HOLICK, M.F. The acute effect of 25-hydroxycholecalciferol on renal handling of phosphorus: evidence for a parathyroid hormone-dependent mechanism. *J. Clin. Invest.* 53, 913-912, 1974.
- POTTS, J.T., REITZ, R.E., DEFTOS, L.J., KAYE, M.B., RICHARDSON, J.A., BUCKLE, R.M., en AURBACH, G.D. Secondary hyperparathyroidism in chronic renal disease. *Arch. Intern. Med.* 124, 408-412, 1969.
- POTTS, J.T. jr., NIALL, H.D., KEUTMANN, H.T., DEFTOS, L.J. en PARSONS, J.A. Calcitonin: recent chemical and immunological studies. In: Calcitonin '69 pp 56-73. Ed: S. Taylor en G. v. Fosten. Uitg.: Heinemann, Londen, 1970.
- PUGH, D.G. Subperiosteal resorption of bone: a roentgenologic manifestation of primary hyperparathyroidism and renal osteodystrophy. *Amer. J. Roentgen.* 66, 577-586, 1951.
- PUSCHETT, J.B., MORANZ, J. en KURNICK, W.S. Evidence for a direct action of cholecalciferol and 25-hydroxycholecalciferol on the renal transport of phosphate, sodium, and calcium. *J. Clin. Invest.* 51, 373-385, 1972a.
- PUSCHETT, J.B., FERNANDEZ, P.C., BOYLE, I.T., GRAY, R.W., OMDAHL, J.L. en DELUCA, H.F. The acute renal tubular effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 141, 379-384, 1972b.
- PUSCHETT, J.B., BECK, W.S. jr., JELONEK, A. en FERNANDEZ, P.C. Study of the renal tubular interactions of thyrocalcitonin, cyclic adenosine 3',5'-monophosphate, 25-hydroxycholecalciferol, and calcium ion. *J. Clin. Invest.* 53, 756-767, 1974.
- RAISZ, L.G., BRAND, J.S., AN, W.Y.W. en NIEMANN, I. In: Parathyroid hormone and thyrocalcitonin (calcitonin). Ed. R.V. Talmage en L.F. Belanger. *Int. Congr. Ser. no. 159* pp. 370. *Experta Med. Found.* Amsterdam, 1968.
- RAISZ, L.G., TRUMMEL, C.L., HOLICK, M.F. en DELUCA, H.F. 1,25-Dihydroxycholecalciferol: a potent stimulator of bone resorption in tissue culture. *Science* 175, 768-769, 1972.
- RASMUSSEN, H., WONG, M., BIKLE, D. en GOODMAN, D.B.P. Hormonal control of the renal conversion of 25-hydroxycholecalciferol to 1,25-dihydroxycholecalciferol. *J. Clin. Invest.* 51, 2502-2504, 1972.
- RASMUSSEN, H. en BORDIER, P. The cellular basis of metabolic bone disease. *N. Engl. J. Med.* 289, 25-32, 1973.
- RASMUSSEN, H. en BORDIER, Ph. The physiological and cellular basis of metabolic bone disease. pp 221-233. Uitg.: The Williams and Wilkins company, Baltimore, 1974a.
- RASMUSSEN, H. en BORDIER, P. The physiological and cellular basis of metabolic bone disease. pp 233-248. Uitg.: The Williams and Wilkins company, Baltimore, 1974b.
- RECKER, R.R. en SAVILLE, P.D. Calcium absorption in renal failure: its relationship to blood urea nitrogen, dietary calcium intake, time on dialysis, and other variables. *J. Lab. Clin. Med.* 78, 380-388, 1971.

- REGAN, R.J., PEACOCK, M., ROSEN, S.M., ROBINSON, P.J. en HORSMAN, A. Effect of dialysate calcium concentration on bone disease in patients on hemodialysis. *Kidney Internat.*, *10*, 246-255, 1976.
- REIFENSTEIN, E.C. jr., ALBRIGHT, F. en WELLS, S.L. The accumulation, interpretation, and presentation of data pertaining to metabolic balances, notably those of calcium, phosphorus and nitrogen. *J. Clin. Endocrinol.* *5*, 367-395, 1945.
- REISS, E., CANTERBURY, J.M., EGDAHL, R.H. Experience with a radioimmunoassay of parathyroid hormone in human sera. *Trans. Assoc. Amer. Phys.* *81*, 104-114, 1968.
- REISS, E., CANTERBURY, J.M., BERCOVITZ, M.A. en KAPLAN, E.L. The role of phosphate in the secretion of parathyroid hormone in man. *J. Clin. Invest.* *49*, 2146-2149, 1970.
- REYNOLDS, J.J., HOLICK, M.F. en DELUCA, H.F. The role of vitamin D metabolites in bone resorption. *Calc. Tiss. Res.* *12*, 295-301, 1973.
- RICKERS, H., NIELSEN, A.H., SMITH PEDERSEN, R., RØDBRO, P. Bone mineral loss during maintenance hemodialysis. *Acta. Med. Scand.*, *204*, 263-267, 1978.
- ROBERTSON, W.G. Urinary excretion of calcium, phosphate and magnesium. In: *Calcium, Phosphate and Magnesium Metabolism*. pp 144-155. Ed.: B.E.C. Nordin, Churchill Livingstone, 1976.
- ROBERTSON, W.G. en PEACOCK, M. New techniques for the separation and measurement of the calcium fractions of normal human serum. *Clin. Chim. Acta.* *20*, 315-326, 1968.
- ROBINSON, C.J., RAFFERTY, B. en PARSONS, J.A. Calcium shift into bone: a calcitonin-resistant primary action of parathyroid hormone, studied in rats. *Clin. Sci.* *42*, 235-241, 1972.
- RUBINI, M.E., COBURN, J.W., MASSRY, S.G. en SHINABERGER, J.H. Renal Osteodystrophy: some therapeutic considerations relative to long-term dialysis and transplantation. *Arch. Intern. Med.*, *124*, 663-669, 1969.
- RUTISHAUSER, E. Ostéodystrophie néphrogène. *Ann. d' Anat. Path.* *13*, 999-1010, 1936.
- SACKER, L.S. en NORDIN, B.E.C. A simple bone biopsy needle. *Lancet* *1*, 347, 1954.
- SCHACHTER, D., KOWARSKI, S. en REID, P. Active transport of calcium by intestine: studies with a calcium activity electrode. In: *Calcium and cellular function*. pp 108-123. Ed.: A.W. Cuthbert. Uitg.: Mc Millan and company ltd., Londen, 1970.
- SCHENK, R.K., MERZ, W.A., MÜLLER. A quantitative histological study on bone resorption in human cancellous bone. *Acta Anat.* *74*, 44-53, 1969.
- SEGRE, G.V., NIALL, H.D., HABENER, J.F. en POTTS, J.T. jr. Metabolism of parathyroid hormone. *Amer. J. Med.* *56*, 774-784, 1974.
- SEMMLER, E.J., HOLICK, M.F., SCHNOES, H.K., DELUCA, H.F. The synthesis of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxycholecalciferol a metabolically active form of vitamin D<sub>3</sub>. *Tetrahedron Lett.* *40*, 4147-4150, 1972.
- SHAIN, S.A. In vitro metabolism of 25-hydroxycholecalciferol by chick intestinal and renal cell preparations. *J. Biol. Chem.* *247*, 4393-4403, 1972a.
- SHAIN, S.A. The in vitro metabolism of 25-hydroxycholecalciferol to 1,25-dihydroxycholecalciferol by chick renal tubules. *J. Biol. Chem.* *247*, 4404-4413, 1972b.
- SHERRARD, D.J., BAYLINK, D.J., WERGEDAL, J.E. en MALONEY, N.A. Quantitative histological studies on the pathogenesis of uremic bone disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* *39*, 119-135, 1974.
- SHELLING, D.H. en REMSEN, D. Renal rickets. Report of a case showing four enlarged parathyroids and evidence of parathyroid hypersecretion. *Bull. John Hopkins. Hosp.* *57*, 158-181, 1935.
- SHERWOOD, L.M., POTTS, J.T. jr., CARE, A.D., MAYER, G.P. en AURBACH, G.D. Evaluation by radioimmunoassay of factors controlling the secretion of parathyroid hormone: intravenous infusions of calcium and ethylenediamine tetraacetic acid in the cow and goat. *Nature (Lond.)* *209*, 52-55, 1966.
- SHERWOOD, L.M. Relative importance of parathyroid hormone and thyrocalcitonin in calcium homeostasis. *New Engl. J. Med.* *278*, 663-670, 1968.

- SIDDIQUI, J. en KERR, D.N.S. Complications of renal failure and their response to dialysis. *Brit. Med. Bull.* 27, 153-159, 1971.
- SIEBER, P., BRUGGER, M., KAMBER, B., RINIKER, B., RITTEL, W., MAIER, R. en STAEHELIN, M. Synthesis and biological activity of peptide sequences related to porcine  $\alpha$ -thyrocalcitonin. *Calcitonin '69*, pp28-33. Ed: S. Taylor en G.v. Fosten. Uitg.: Heinemann, Londen, 1970.
- SILVERBERG, D.S., BETTCHER, K.B., DOSSETOR, J.B., OVERTON, T.R., HOLICK, M.F. en DELUCA, H.F. Effect of 1,25-dihydroxycholecalciferol in renal osteodystrophy. *C.M.A. Journal* 112, 190-195, 1975.
- SINGER, F.R. KRANE, S.M. Abstr. no. 271., *Proc. 55<sup>th</sup> Ann. Meet. Am. Endocr. Soc.* 1973.
- SIZEMORE, G., LEFFLER, J., FISCHER, J., OLDHAM, S., GOLDSMITH, R. en ARNAUD, C. Physiological aspects of human calcitonin secretion. *Clin. Res.* 20, 441 (Abstr.), 1972.
- SIZEMORE, G.W., HOLTERMULLER, K.H. en GO, V.L.W. Role of calcitonin in gastric secretion in medullary thyroid carcinoma. *Clin. Res.* 21 828 (abstr.), 1973.
- SLATOPOLSKY, E. en BRICKER, N.S. The role of phosphorus restriction in the prevention of secondary hyperparathyroidism in chronic renal disease. *Kidney Intern.* 4, 141-145, 1973.
- SLATOPOLSKY, E., ROBSON, A.M., ELKAN, I. en BRICKER, N.S. Control of phosphate excretion in uremic man. *J. Clin. Invest.* 47, 1865-1874, 1968.
- SLATOPOLSKY, E., CAGLAR, S., PENNELL, J.P., TAGGART, D.D., CANTERBURY, J.M., REISS, E. en BRICKER, N.S. On the pathogenesis of hyperparathyroidism in chronic experimental renal insufficiency in the dog. *J. Clin. Invest.* 50, 492-499, 1971.
- SNEDECOR, G.W. en COCHRAN, G. *Statistical methods*. Ed. 6 pp 400-403. Iowa State University Press, Iowa USA, 1969.
- SNODGRASS, G.J.A.I. en DE WARDENER, H.E. The effect of oral calcium on renal rickets. In: *Proc. IVth. internat. congress nephrology* p. 78. Ed: Awall, N. Berglund, F., Josepson, B. Uitg.: Kager, Basel, 1970.
- SØRENSEN, J.A. en CAMERON, J.A. A reliable in vivo measurement of bone mineral content. *J. Bone. Joint. Surg.* 49A, 481-497, 1967.
- SPANOS, E., COLSTON, K.W., EVANS, I.M.S., GALANTE, L.S., MACAULEY, S.J. en MAC INTYRE, I. Effect of prolactin on vitamin D metabolism. *Moll. Cell. Endocrinol.* 5, 163-167, 1976.
- SPANOS, E., COLSTON, K.W. en MAC INTYRE, I. Effect of glucocorticoids on vitamin D metabolism. *FEBS letter*, 75, 73-76, 1977.
- SPANOS, E., BARRETT, D., MAC INTYRE, I., PIKE, J.W., SAFILIAN, E.F. en HAUSSLER, M.R. Effect of growth hormone on vitamin D metabolism. *Nature.* 273, 246-247, 1978.
- SPERBER, I. en EKMAN, J. The use of polyethylene glycol as a reference substance in the study of ruminant digestion. *Kunsl. Lant. Ann.* 20, 337-344, 1953.
- STANBURY, S.W. Azotaemic renal osteodystrophy. *Brit. Med. Bull.* 13, 57-60, 1957.
- STANBURY, S.W. Osteomalacia. *Schweiz. Med. Wochens.* 92, 883-892, 1962.
- STANBURY, S.W. en LUMB, G.A. Metabolic studies of renal osteodystrophy. I. Calcium, phosphorus and nitrogen metabolism in rickets, osteomalacia and hyperparathyroidism complicating chronic uremia and in the osteomalacia of the adult Fanconi syndrome. *Medicine*, 41, 1-31, 1962.
- STANBURY, S.W. en LUMB, G.A. Parathyroid function in chronic renal failure: a statistical survey of the plasma biochemistry in azotaemic renal osteodystrophy. *Quart. J. Med.* 35, 1-23, 1966.
- STANBURY, S.W. Bone disease in uremia. *Amer. J. Med.* 44, 714-724, 1968.
- STEELE, T.H., ENGLE, J.E., TANAKA, Y., LORENC, R.S., DUDGEON, K.L. en DELUCA, H.F. Phosphatemic ation of 1,25-dihydroxyvitamin D. *Amer. J. Phys.* 229, 489-495, 1975.
- STEINBACH, H.I., GORDAN, G.S., EISENBERG, E., CRANE, J.T., SILVERMAN, S. en GOLDMAN, L. Primary hyperparathyroidism: a correlation of roentgen, clinical, and pathologic features. *Amer. J. Roëntgen.*, 86, 329-343, 1961.
- STRICKLER, J.C., THOMPSON, D.D., KLOSE, R.M. en GIEBISCH, G. Micropuncture study of inorganic phosphate excretion in the rat. *J. Clin. Invest.* 43, 1596-1607, 1964.

- SUDA, T., DELUCA, H.F., SCHNOES, H.K., PONCHON, G., TANAKA, Y. en HOLICK, M.F. 21,25-Dihydroxycholecalciferol. A metabolite of vitamin D<sub>3</sub> preferentially active on bone. *Biochemistry*. 9, 2917-2922, 1970.
- SUH, S.M., TASHJIAN, A.H. jr., MATSUO, N., PARKINSON, D.K. en FRASER, D. Pathogenesis of hypocalcemia in primary hypomagnesemia: normal end-organ responsiveness to parathyroid hormone, impaired parathyroid gland function. *J. Clin. Invest.* 52, 153-160, 1973.
- SUTTON, R.A.L. en WATSON, L. Urinary excretion of calcium and magnesium in primary hyperparathyroidism. *Lancet I*, 1000-1003, 1969.
- SWAMINATHAN, R., SOMMERVILLE, B.A. en CARE, A.D. Metabolism in vitro of 25-hydroxycholecalciferol in chicks fed on phosphorus-deficient diets. *Clin. Sci. and Mol. Med.* 54, 197-200, 1978.
- TALMAGE, R.V. en ELLIOTT, J.R. Changes in extracellular fluids levels of calcium, phosphate and citrate ions in nephrectomized rats following parathyroidectomy. *Endocrinology*. 59, 27-33, 1956.
- TALMAGE, R.V., KRAINTZ, F.W. en BUCHANAN, G.D. Effect of parathyroid extract and phosphate salts on renal calcium and phosphate excretion after parathyroidectomy. *Proc. Soc. Exp. Bio. Med. (N.Y.)* 88, 600-604, 1955.
- TANAKA, Y. en DELUCA, H.F. Bone mineral mobilization activity of 1,25-dihydroxycholecalciferol: a metabolite of vitamin D. *Arch. Biochem. Biophys.* 146, 574-578, 1971.
- TANAKA, Y. en DELUCA, H.F. The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch. Biochem. Biophys.* 154, 566-574, 1973.
- TANAKA, Y. en DELUCA, H.F. Stimulation of 24,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> production by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Science* 183, 1198-1200, 1974a.
- TANAKA, Y. en DELUCA, H.F. Role of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in maintaining serum phosphorus and curing rickets. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* 71, 1040-1044, 1974b.
- TANAKA, Y., DELUCA, H.F., OMDAHL, J. en HOLICK, M.F. Mechanism of action of 1,25-dihydroxycholecalciferol on intestinal calcium transport. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)* 68, 1286-1288, 1971.
- TASHJIAN, A.H. jr., HOWLAND, B.G., KENNETH, B.A., MELVIN, E.W. en HILL, C.S. jr. Immunoassay of human calcitonin: clinical measurement, relation to serum calcium and studies in patients with medullary carcinoma. *New Engl. J. Med.* 283, 890-896, 1970.
- TAYLOR, C.M. 24,25-Hydroxyvitamin D in human serum In: *Vitamin D, basic research and its clinical application*. pp 197-203. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, D.v. Herrath, H. G. Grigolet, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, E.B. Mawer en T. Suda. Uitg.: W. de Gruyter, Berlijn, 1979.
- TAYLOR, C.M., MAWER, E.B., WALLACE, J.E., St. JOHN, J., COCKRAN, M., RUSSELL, R.G.G. en KANIS, J.A. The absence of 24,25-dihydroxycholecalciferol in anephric patients. *Clin. Sci. Mol. Med.* 55, 541-547, 1978.
- TEITELBAUM, S.L., BONE, J.M., STEIN, P.M., GILDEN, J.J., BATES, M., BOISSEAU, V.C. en AVIOLI, L.V. Calcifediol in chronic renal insufficiency. *JAMA*, 235, 164-167, 1976.
- TOFFOLON, E.P., PECHET, M.M., ISSELBACHER, K. Demonstration of the rapid action of pure crystalline 1 $\alpha$ -hydroxy-Vitamin D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$ ,25-dihydroxy Vitamin D<sub>3</sub> on intestinal calcium uptake. *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* 72, 229-230, 1975.
- TOUGAARD, L., SØRENSEN, E., BRØCHNER-MORTENSEN, J., SANVIG CHRISTENSEN, M., RØDBRO, P. en SØRENSEN, A.W.S. Controlled trial of 1 $\alpha$ -hydroxycholecalciferol in chronic renal failure. *Lancet I*, 1044-1047, 1976.
- TREGEAR, G.W., VAN RIETSCHOTEN, J., GREENE, E., KEUTMANN, H.T., NIALL, H.D., REIT, B., PARSONS, J.A. en POTTS, J.T. jr. Bovine parathyroid hormone: minimum chain length of synthetic peptide required for biological activity. *Endocrinology*. 93, 1349-1353, 1973.
- TSAL, H.C. en NORMAN, A.W. Studies on calciferol metabolism: VIII. evidence for a cytoplasmic receptor for 1,25-dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> in the intestinal mucosa. *J. Biol. Chem.* 248, 5967-5975, 1973.
- TUCKER, C., GAGNON, R.E. en HAUSSLER, M.R. Vitamin D<sub>3</sub>-25-hydroxylase: tissue occurrence and apparent lack of regulation. *Arch. Biochem. Biophys.* 155, 47-57, 1973.

- VISSER, T.J., BUURMAN, C.J. en BIRKENHÄGER, J.C. Immunological studies on parathyroid hormone: characterization of antisera against synthetic 1-34 human parathyroid hormone and evidence that position 30 in human parathyroid hormone is aspartic acid. *J. Endocr.* 74, 461-466, 1977.
- VISSER, T.J., BUURMAN, C.J. en BIRKENHÄGER, J.C. Production and characterization of antisera to synthetic 1-34 human parathyroid hormone fragments: possible implications for the correctness of proposed structures. *Acta. Endocr.* 90, 90-102, 1979.
- VORA, N.M., WILLIAMS, G.A., HARGIS, G.K., BOWSER, E.N., KAWAHARA, W., JACKSON, B.L., HENDERSON, W.J. en KUKREJA, S.C. Comparative effect of calcium and of the adrenergic system on calcitonin secretion in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46, 567-571, 1978.
- WACHMAN, A., BERNSTEIN, D.S. Parathyroid hormone in metabolic acidosis. Its role in pH homeostasis. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 69, 252-263, 1970.
- WAGNER, A.F. en FOLKERS, K. The vitamin D-group. In: *Vitamines and coenzymes* pp. 330-362. New York, Interscience publications, 1964.
- WALLING, M.W. Effects of 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on active intestinal inorganic phosphate absorption. In: *Vitamin D, biochemical, chemical and clinical aspects related to calcium metabolism*. pp321-330. Ed: A.W. Norman, K. Schaefer, J.W. Coburn, H.F. DeLuca, D. Fraser, H.G. Grigoleit en D. v. Herrath. Uitg.: W. de Gruyter, Berlijn, 1977.
- WARD, M.K., FEEST, T.G., ELLIS, H.A. en PARKINSON, I.S. Osteomalacic dialysis osteodystrophy: evidence for a water-borne aetiological agent, probably aluminium. *Lancet* 1, 841-745, 1978.
- WASSERMAN, R.H. Calciumtransport by the intestine: a model and comment on vitamin D action. *Calcif. Tiss. Res.* 2, 301-313, 1968.
- WASSERMAN, R.H., CORRADINO, R.A., FULLMER, C.S. Some aspects of vitamin D action, calciumabsorption and vitamin D-dependent calciumbinding protein. *Vitam. Horm.* 32, 299-324, 1974.
- WATSON, L. en DALE, N.E. The urinary excretion of calcium, phosphorus and creatinine in normal subjects and in patients with skin cancer. *Clin. Sci.* 31, 77-86, 1966.
- WEBER, J.C., PONS, V. en KODICEK, E. The localization of 1,25-dihydroxycholecalciferol in bone cell nuclei of rachitic chicks. *Biochem. J.* 125, 147-153, 1971.
- WEST, T.E.T., SINCLAIR, L.I., JOFFE, M., O'RIORDAN, J.L.H. Treatment of hypercalcaemia with calcitonin. *Lancet* 1, 675-678, 1971.
- WILDE, C.C., JAWORSKI, Z.F., VILLANUEVA, A.R. en FROST, H.M. Quantitative histological measurements of bone turnover in primary hyperparathyroidism. *Calcif. Tissue Res.* 12, 137-142, 1973.
- WILKINSON, R. Absorption of calcium, phosphate and magnesium. In: *Calcium, Phosphate and Magnesium Metabolism*. pp 41. Ed.: B.E.C. Nordin, Churchill Livingstone, 1976.
- WILLS, M.R., ZISMAN, R., WORTSMAN, J., EVENS, R.G., PAK, C.Y.C. en BARTTER, F.C. The measurement of intestinal calcium absorption by external radioisotope counting: application to study of nephrolithiasis. *Clin. Sci.* 39, 95-106, 1970.
- WING, A.J. Optimum Calcium concentration of dialysis fluid for maintenance haemodialysis. *Brit. Med. J.* 4, 145-149, 1968.
- WOODHOUSE, N.J.Y., REINER, M., BORDIER, Ph., KALU, D.N., FISHER, M., FOSTER, G.V., JOPLIN, G.F. en MAC INTYRE, L. Human calcitonin in the treatment of Paget's bone disease. *Lancet* 1 1139-1143, 1971.
- WRONG, O en DAVIES, H.E.F. The excretion of acid in renal disease. *Quart. J. Med.*, 28, 259-313, 1959.
- YENDT, E.R., GAGNÉ, R.J.A. en COHANIM, M. The effects of thiazides in idiopathic hypercalcaemia. *Amer. J. Med. Sci.* 251, 449-460, 1966.

## VERANTWOORDING

Dit proefschrift kwam tot stand op de afdeling Inwendige Geneeskunde III tevens afdeling voor klinische endocrinologie en stofwisselingsziekten van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam - "Dijkzigt".

De zeer stimulerende begeleiding van mijn promotor, tevens hoofd van bovengenoemde afdeling, Prof. Dr. J.C.Birkenhäger, zijn ideeën en de uitwerking daarvan, vormden een essentieel onderdeel van de voorbereiding van dit proefschrift.

Dr. L.D.F.Lameyer wil ik naast de opbouwende bijdrage die zij als co-referente leverde vooral ook bedanken voor de samenwerking die ik met haar en haar afdeling mocht ondervinden zonder welke de totstandkoming van de onderzochte patiënten groepen onmogelijk zou zijn geweest. Tevens wil ik graag de hulp noemen die ik, zeker in de beginfase van het onderzoek, heb gekregen van Jesje Hagenouw. Haar bijdragen hebben ons door de moeilijke eerste uren geholpen. Dr. Ph.Diderich (St Franciscus Gasthuis te Rotterdam) dank ik voor de verwijzing van enkele patiënten.

Dr. R.Steendijk heeft door zijn uitgebreide kennis van het vitamine D metabolisme en de calcium en fosfaat stofwisseling in het algemeen, mij kunnen voorzien van opbouwende kritiek en bovendien enkele onvolkomenheden kunnen corrigeren waarvoor ik hem veel dank ben verschuldigd.

Voor hun toegewijde zorg voor de patiënten en de hulp die ik zelf bij de werkzaamheden op de balans-afdeling mocht ondervinden wil ik de medewerkers van deze afdeling zeer bedanken. Zonder de anderen daar in te kort te willen doen wil ik mijn bijzondere dank overbrengen aan Kootje van Aller die als éénling op het laboratorium van de balans-afdeling vele bepalingen voor het balans-onderzoek heeft uitgevoerd.

De afdeling Nucleaire Geneeskunde van ons ziekenhuis heeft in de afgelopen jaren een grote bijdrage in het onderzoek geleverd door de bepaling van de intestinale absorptie van calcium en de fotonabsorptiometrie mogelijk te maken. Voor de gehele groep wil ik in het bijzonder Jos Ruis bedanken, die op uiterst deskundige wijze zeer veel van zijn tijd heeft besteed aan de uitvoering van deze bepalingen.

Ankie Bos heeft de moed en het doorzettingsvermogen gehad om het gehele manuscript tot twee maal toe uit te typen waarvoor bewondering en veel dank. De omvangrijke literatuurlijst werd met veel zorg gerangschikt, geheel gecontroleerd en gecorrigeerd door Gaby Juttmann.

Voor de hulp bij de beoordeling van de histologische coupes van het bot en voor de wijze lessen die ik daarbij mocht ontvangen gaat mijn bijzondere dank uit naar Dorie Birkenhäger. Zij geeft een leek op het gebied van de bothistologie snel het idee dat hij er iets van snapt waarbij later blijkt dat haar didactiek echt doeltreffend is.

Theo Visser en Cok Buurman hebben het onmogelijke mogelijk gemaakt door de bepaling van enkele vitamine D metaboliëten bij onze patiënten te verwezenlijken terwijl Dr. H.J.Degenhart en Theo Högenboezem van het laboratorium van de afdeling Kindergeneeskunde van het Sophia kindziekenhuis dit met de bepaling van 1,25-DHCC wisten te completeren. Dr. Wil Hackeng (Bergweg ziekenhuis Rotterdam) en Ir. J.H. Schade (TNO, Civo, Zeist) hebben vanaf 1976 in vele bloedmonsters resp. PTH, CT en 25-HCC bepaald.

Roel Docter heeft enkele statistische problemen ontward. Allen voor de geleverde bijdragen mijn bijzondere dank.

De medewerk(st)ers van de grafische studio van de Audiovisuele Dienst hebben naast het nodige typ- en tekenwerk dat zij voor hun rekening namen bij mij eveneens enige eigen creativiteit weten te stimuleren. Kees de Vries ontwierp de omslag van dit proefschrift, waarvoor veel dank.

De vitamine D preparaten 1-alpha-hydroxycholecalciferol (Etalpha®) en 1,25-dihydroxycholecalciferol (Rocaltrol®) werden respectievelijk beschikbaar gesteld door de firma LEO Pharmaceutische producten BV te Emmen en de firma Hoffmann-La Roche BV te Mijdrecht.

Tenslotte wil ik alle patiënten, die hebben meegewerkt om het in dit proefschrift beschreven onderzoek tot een goed einde te brengen, mijn oprechte dank betuigen.



## CURRICULUM VITAE

De schrijver van dit proefschrift werd op 9 september 1946 te Rotterdam geboren. In 1966 behaalde hij het diploma HBS-B aan het Montessori Lyceum te Rotterdam. Aansluitend studeerde hij geneeskunde aan de Medische Faculteit Rotterdam alwaar op 1 oktober 1971 het doctoraal en op 15 september 1972 het artsexamen werd afgelegd.

Op 1 oktober 1972 ving hij zijn specialisatie in de Interne Geneeskunde aan op de afdeling Inwendige Geneeskunde III (hoofd Prof. Dr. J.C. Birkenhäger) van het Academisch Ziekenhuis Rotterdam-"Dijkzigt". Vanaf inschrijving in het specialisten register per 1 oktober 1977 is hij als internist aan voornoemde afdeling verbonden.

