

SPREKERS

Dr G.M.M. Vervoort

internist-nefroloog

Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

Prof Dr J.L. Willems

klinisch chemicus

Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

Drs B.A. Veldman

internist

Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

Dr J.F.M. Wetzels

internist-nefroloog

Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

Dr R.J.M. Bindels

celfysioloog

Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

Prof Dr L.A.H. Monnens

emeritus hoogleraar kindernefrologie

Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

Dr N.V. Knoers

klinisch genetica

Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

PROGRAMMA

09.15 - 09.55 Registratie, expositie, koffie en thee

09.55 - 10.00 Opening
Dr M.H. de Keijzer

OCHTENDPROGRAMMA

Voorzitter: Dr W. Kortlandt

10.00 - 10.35 De tubulus: anatomie en fysiologie
Dr G.M.M. Vervoort

10.40 - 11.15 Meting van de glomerulaire filtratiesnelheid
Prof Dr J.L. Willems

11.15 - 11.35 Koffie, thee en expositie

11.35 - 12.10 Betekenis van eiwitreabsorptie: de theorie
Drs B.A. Veldman

12.15 - 12.50 Betekenis van eiwitreabsorptie: de kliniek
Dr J.F.M. Wetzels

12.50 - 14.00 Lunch

MIDDAGPROGRAMMA

Voorzitter: Prof Dr J.L. Willems

14.00 - 14.35 Transportmechanismen van mineralen: de theorie
Dr R.J.M. Bindels

14.40 - 15.15 Transportmechanismen van mineralen: de kliniek
Prof Dr L.A.H. Monnens

15.15 – 15.35 Koffie, thee en expositie

15.35 - 16.10 Aquaporines
Dr N.V. Knoers

16.10 Sluiting en borrel

ORGANISATIE

De cursus wordt georganiseerd door de Kring Gelre van de Nederlandse Vereniging voor Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde

Organisatiecommissie

Dr S.C. Endenburg	Ziekenhuis Gelderse Vallei, Ede
Dr M.H. de Keijzer	Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen voorzitter
Dr Ir J.B. de Kok	Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen
Dr W. Kortlandt	Diakonessenhuis Utrecht, Utrecht namens de PAOKC commissie van de NVKC
Dr J.F.M. Wetzels	Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen
Prof Dr J.L. Willems	Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

INHOUD

	pagina
De Tubullus: Anatomie en fysiologie <i>Dr G.M.M. Vervoort</i>	5
Meting van de glomerulaire filtratiesnelheid (GFR) <i>Prof dr J.L. Willems</i>	9
Betekenis van eiwitreabsorptie: de theorie <i>Drs B.A. Veldman</i>	14
De betekenis van de eiwitreabsorptie: de kliniek <i>Dr J.F.M. Wetzels</i>	18
Transportmechanismen van mineralen: de theorie <i>Dr. R.J.M. Bindels</i>	22
Transportmechanismen van mineralen: de kliniek 26 <i>Prof dr L.A.H. Monnens</i>	
Aquaporines <i>Dr N.V.A.M. Knoers</i>	30

DE TUBULUS: ANATOMIE EN FYSIOLOGIE

*Dr G.M.M. Vervoort
internist-nefroloog*

De nier speelt een uiterst belangrijke rol in het behoud van een constant extracellulair milieu wat een voorwaarde is voor een goed functioneren van de cellen. De nier zorgt voor de verwijdering van allerlei afvalstoffen (zoals ureum, kreatinine en urinezuur) en de regulatie van het extracellulaire volume, de water- en zouthuishouding, en het zuur-base evenwicht. Daarnaast functioneert de nier als een endocrien orgaan door de productie van hormonen en vasoactieve stoffen. Tot slot heeft het de nier een aandeel in het katabolisme van eiwitten/hormonen alsook in de productie van glucose (gluconeogenese).

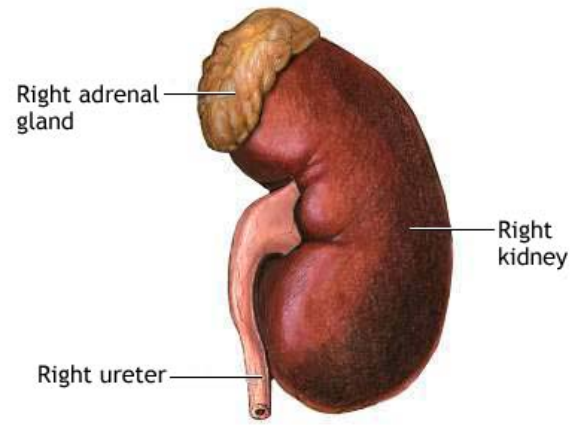
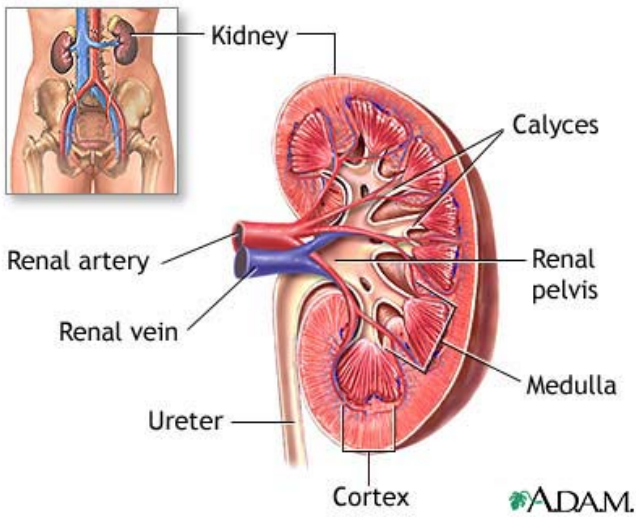
Elke nier bestaat uit naar schatting 1 miljoen functionele basiseenheden, de zogenaamde nefronen. Elke nefron bestaat uit een glomerulus en een tubulussysteem. De glomeruli zijn gelokaliseerd in het buitenste gedeelte van de nier en wordt de nierschors ofwel cortex genoemd terwijl de tubuli aanwezig zijn in zowel de cortex alsook in het binnenste gedeelte van de nier, het niermerg ofwel medulla genaamd.

De glomerulus is een capillair netwerk wat zich tussen twee in serie geschakelde weerstandsvaten bevindt: de aanvoerende (afferente) en afvoerende (efferente) arteriole van de nier. Dit capillaire netwerk ligt als het ware ingebed in een instulping van het blinde einde van het tubulussysteem, de ruimte van Bowman. Uit de efferente arteriole ontspringt een tweede capillaire netwerk dat de tubuli omringt en vervolgens uitmondt in de afvoerende bloedvaten (venulen).

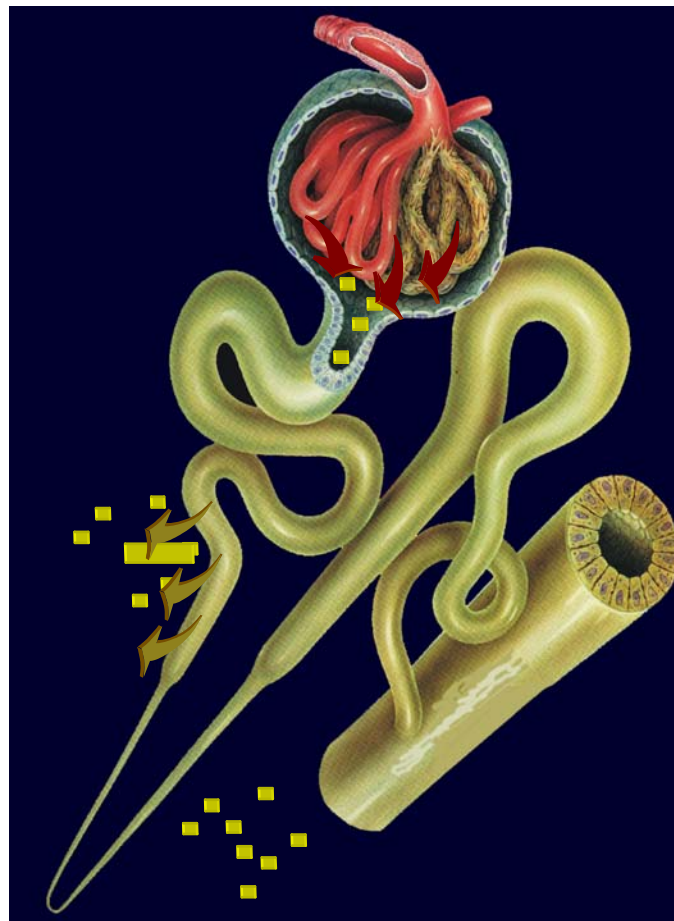
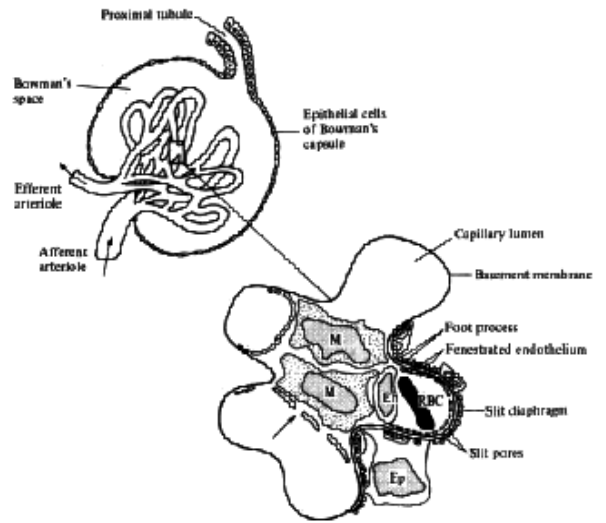
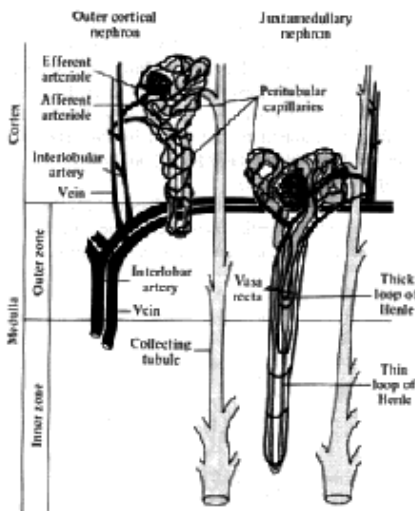
Het tubulussysteem bestaat uit verschillende segmenten welke op hun eigen manier bijdragen aan de uiteindelijke samenstelling van de urine. Het tubulussysteem bestaan achtereenvolgens uit de proximale tubulus (pars contorta en pars recta), de lis van Henle, de distale tubulus (pars recta en pars contorta) en de verzamelbuis.

In de glomerulus wordt een eiwitarm ultrafiltraat van het plasma gevormd (de

voorurine). De productie van het ultrafiltraat is een zuiver fysisch proces en wordt bepaald door het drukverschil over de capillaire membraan, het filtratieoppervlak, de permeabiliteitscoëfficiënt en de plasmastroom. De doorgankelijkheid van de glomerulaire filter wordt gekenmerkt door een grootte- en ladingsafhankelijke selectiviteit. Kleinmoleculaire eiwitten (MW <20 kD, bijvoorbeeld beta-2-microglobuline) worden volledig gefiltreerd, terwijl grotere eiwitten als albumine en immunoglobulines de glomerulaire filter veel moeilijker passeren. De productie van de voorurine bedraagt zo'n 180 L per dag. Gezien het feit dat de mens gemiddeld 1,5 L per dag aan urine produceert betekent het dat vrijwel alle voorurine moet worden teruggehaald naar de systemische circulatie. De uiteindelijke samenstelling van de eindurine wordt dan ook nauw gereguleerd door processen van reabsorptie en secretie in het tubulussysteem. De tubulaire reabsorptie gebeurt ofwel door de cel heen (transcellulaire reabsorptie) of tussen de cellen door (paracellulaire reabsorptie). Bij transcellulaire reabsorptie wordt de te reabsorberen stof eerst getransporteerd van de tubulaire ruimte in de cel over de luminale zijde van de celmembraan en vervolgens kan het worden uitgescheiden via de basolaterale membraan in het interstitium van de nier of de peritubulaire capillairen. Bij de paracellulaire route gaat de stof via de "tight junctions" aan de luminale zijde van de cellen naar het interstitium of de peritubulaire capillairen. De meeste stoffen worden zonder verdere verwerking gereabsorbeerd en teruggegeven aan de systemische circulatie maar er worden ook stoffen gemetaboliseerd zoals klein-moleculaire eiwitten en bijvoorbeeld vitamine D. De verschillende segmenten van het tubulussysteem dragen ieder op hun eigen specifieke manier bij aan deze processen van reabsorptie en secretie. De belangrijkste bijdrage van de verschillende nefronsegmenten aan de tubulaire reabsorptie en secretie staan vermeld in de tabel. Tijdens de bespreking zullen deze processen uitgebreid aan de orde komen.



ADAM.



Nephron segment	Major functions
Glomerulus	Forms an ultrafiltrate of plasma
Proximal tubule	Reabsorbs isosmotically 60 to 65 percent of the filtered NaCl and H ₂ O Reabsorbs 90 percent of the filtered HCO ₃ ⁻ Major site of ammonia production in the nephron Reabsorbs almost all of filtered glucose and amino acids Reabsorbs K ⁺ , phosphate, calcium, magnesium, urea, and uric acid Secretes organic anions (such as urate) and cations (such as creatine); this pathway is also used for excretion of protein-bound drugs and toxins
Loop of Henle	Reabsorbs 25 to 35 percent of filtered NaCl Countercurrent multiplier as NaCl reabsorbed in excess of water Major site of active regulation of magnesium excretion
Distal tubule	Reabsorbs about 5 percent of filtered NaCl but almost no water Major site, with connecting segment, of active regulation of calcium excretion
Connecting segment and cortical collecting tubule	Principal cells reabsorb Na ⁺ and Cl ⁻ and secrete K ⁺ under the influence of aldosterone Intercalated cells secrete H ⁺ , reabsorb K ⁺ , and, in metabolic alkalosis, secrete HCO ₃ ⁻ Reabsorb water in the presence of antidiuretic hormone
Medullary collecting tubule	Site of final modification of the urine Reabsorb NaCl, the concentration of which can be reduced to less than 1 meq/L Reabsorb water and urea relative to the amount of antidiuretic hormone present, allowing a concentrated or dilute urine to be excreted Secrete H ⁺ and NH ₃ ; urine pH can be reduced to as low as 4.5 to 5.0 Can contribute to potassium balance by reabsorption or secretion of K ⁺

Contribution of the different nephron segments to solute and water homeostasis.

METING VAN DE GLOMERULAIRE FILTRATIE SNELHEID (GFR)

*Prof Dr J.L. Willems
klinisch chemicus*

Inleiding

De glomerulaire functies (filtratie, perfusie en permselectiviteit) kunnen op indirecte wijze worden gemeten door de renale uitscheidingsnelheid (klaring) van bepaalde stoffen. In theorie kan van elke stof die zich in het lichaam bevindt en daaruit met een zekere snelheid verdwijnt de verdwijningsnelheid worden berekend. De klaring van stoffen met een goed gekarakteriseerd uitscheidingspatroon, kan daarom onder voorwaarden worden gebruikt als maat voor de functie van de glomerulus. Klaring wordt gedefinieerd als het volume plasma dat in een bepaalde tijdseenheid volledig van een bepaalde stof wordt gezuiverd.

De renale klaring van een stof X kan worden berekend uit:

$C_x = (U_x V) / P_x$ waarbij C de klaring per tijdseenheid, U de urineconcentratie van de stof X, V de in de betreffende tijdseenheid geproduceerde hoeveelheid urine en P_x de plasmaconcentratie. De klaring uitgedrukt in ml/ min is een virtueel volume: in werkelijkheid zuivert de nier namelijk niet een bepaald volume volledig van een bepaalde stof, maar een groter volume onvolledig. De nier kan stoffen uitscheiden door glomerulaire filtratie, tubulaire secretie of een combinatie ervan. De meeste stoffen ondergaan tubulaire terugresorptie.

De ideale endogene GFR marker wordt gekenmerkt door de volgende eigenschappen:

1. constante spiegel in het bloed;
2. eenvoudig en goedkoop te meten in plasma en urine
3. vrije filtratie
4. geen reabsorptie
5. geen secretie.

Tot nu toe is er geen enkele stof bekend die aan al deze eisen voldoet.

Van stoffen met een verwaarloosbare eiwitbinding die vrij worden gefilterd en geen tubulaire reabsorptie ondergaan komt de secretie overeen met de glomerulaire filtratiesnelheid (GFR). De meting van de GFR kan gemeten worden met een aantal exogene stoffen. Het nadeel is dat deze stoffen zoals inuline, iothalamaat, T^m-diethyleentriaminepenta-azijnzuur, ⁵¹Cr-EDTA en iohexol moeten worden toegediend. Bovendien gaat de detectie van deze stoffen gepaard met een bewerkelijke bepalingsmethodiek of met het gebruik van radioactiviteit.

Kreatinine klaring

In de dagelijkse praktijk worden de ureum- en vooral de kreatinineklaring toegepast. Eigenschappen van ureum en kreatinine als GFR marker zijn:

Ureum	Kreatinine
Vrij gefilterd	Vrij gefilterd
Geen secretie	Lichte secretie: overschatting GFR
40-70% passieve reabsorptie	Geen reabsorptie
Eenvoudige en goedkope test	Eenvoudige en goedkope test (picraat) met het nadeel van een slechte specificiteit. Interferentie door andere metabolieten
Afhankelijk van de leverfunctie	Dure test (enzymatisch kreatinine), maar wel specifiek
Beïnvloeding door verschillende ziekten	Ongevoelig voor kleine verschillen in de GFR
Dieet variatie	Afhankelijk van geslacht en leeftijd

Als we van de bovenstaande stoffen gebruik maken voor de meting van de GFR dan is het nodig dat er een plasma en urine meting wordt uitgevoerd. Er zijn vele pogingen ondernomen om de GFR te berekenen uit de serum kreatinine om het sparen van een 24uurs urine te vermijden. Een overzicht:

Serum kreatinine	$GFR=0,69 \times (100/P_{cr})$
Cockcroft-Gault formule	$GFR=0,84 \times \text{Cockcroft-Gault}^1 \text{ formule (zie onder tabel)}$
Kreatinine klaring	$GFR=0,81 \times C_{cr}$
Gemiddelde van kreatinine en ureum klaring	$GFR=1,11 \times (C_{cr} + C_{ur})^{1/2}$
Kreatinine klaring, ureum klaring en demografische variabelen	$GFR=1,04 \times C_{cr}^{0,751} \times C_{ur}^{0,226} \times 1,109$ (als er een donkere huidskleur is)
Demografische, serum en urine variabelen	$GFR=198 \times P^{-0,858} \times [\text{leeftijd}]^{-0,167} \times 0,822$ (vrouw) $\times 1,178$ (zwarte huidskleur) $\times \text{serum ureum}^{-0,293} \times \text{urine ureum}^{-0,249}$
Demografische en serum variabelen ²	$GFR=170 \times P_{cr}^{-0,999} \times \text{leeftijd}^{-0,176} \times 0,762$ (vrouw) $\times 1,180$ (zwarte huidskleur) $\times P_{ur}^{-0,170} \times Alb^{-0,318}$

Om de kreatinine klaring (KR) te normaliseren voor de aanwezige niercapaciteit (nefronen) wordt de volgende formule gebruikt:

$$1,73/KR = 240,8 / G^{0,425} \times L^{0,725} \quad (G=\text{gewicht in kg, } L=\text{lengte in cm})$$

Vanwege de beperkingen v.w.b. de serum kreatinine als marker voor de GFR bestudeerden Filler et al een nieuwe marker: β -trace proteïn (BTP) bij kinderen. Zij kwamen tot de conclusie dat BTP superieur is boven kreatinine en een alternatief is voor cystatine-c en β 2-microglobuline vooral om een licht afgenomen GFR bij kinderen vast te stellen. β 2-microglobuline heeft het nadeel dat dit eiwit verhoogd is in serum bij verschillende maligniteiten en infectieziekten. Het BTP schijnt de ideale eigenschappen te hebben om de GFR vast te stellen. De verschillen met cystatine-c

¹ Cockcroft-Gault formule:

$GFR=(140-\text{leeftijd}) \times \text{gewicht} / (P \times 72)$ voor mannen

$GFR= (140-\text{leeftijd}) \times \text{gewicht} / (P \times 85)$ voor vrouwen

² In 1999 verscheen studie van Levey et al, die een nieuwe formule introduceert uit de "Modification of Diet in Renal Disease (MDRD).

zijn klein. Vervolgstudies moeten voor BTP worden uitgevoerd om na te gaan of extra renale oorzaken de BTP concentratie kunnen beïnvloeden.

Cystatine-C

In een review hebben Laterza et al zich afgevraagd of de meting van cystatine c (cys-c) zin heeft als nierfunctie parameter. Laterza vindt dat de literatuur overtuigend heeft aangetoond dat cys-c onafhankelijk is van leeftijd en geslacht. Finney toonde echter aan dat de cys-c concentratie bij kinderen jonger dan 1 jaar wel degelijk hoger dan bij oudere kinderen en volwassenen. Laterza concludeert uit 20 studies dat cys-c belangrijk betere resultaten geeft in vergelijking met kreatinine bij een (licht) verlaagde GFR. Zelf hebben we onderzoek gedaan naar de eigenschappen van cys-c als GFR marker bij kinderen (Willems et al). Onze resultaten laten zien dat we nog niet overtuigd zijn van het nut van cys-c als GFR marker bij kinderen. De ROC's van kreatinine en cys-c met de $GFR_{inuline}$ als gouden standaard zijn niet significant verschillend van elkaar.

Concluderend kan worden gesteld dat als niet overtuigend kan worden aangetoond dat de nieuwe renale parameters als BTP en cystatine-c beter de GFR weergeven dan kreatinine alleen al uit kostenoverweging de kreatinine klaring met al haar beperkingen zal blijven worden gebruikt. De benadering van de GFR door gebruik maken van de serum kreatinine wel of niet gecorrigeerd blijft een goed alternatief.

Referenties

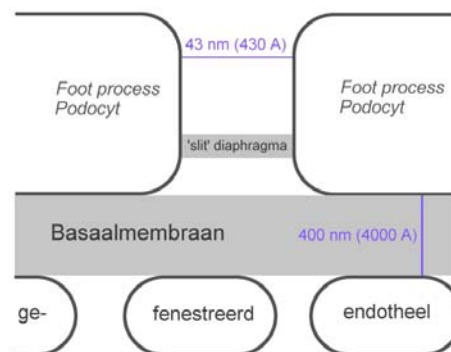
1. Schardijn GHC, Statius van Eps LW. β_2 -microglobulin: its significance in the evaluation of renal function. *Kidney International* 1987; 32: 635-641.
2. Levey AS, Bosch JP, Breyer Lewis J, Green T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Annals of Internal Medicine* 1999; 130:461-470.
3. Finney H, Newman DJ, Thakkar H, Fell JME, Price CP. Reference ranges for plasma cystatin C and creatinine measurements in premature infants, neonates, and older children. *Arch Dis Child* 2000; 82: 71-75.
4. Kilpatrick ES, Keevil BG, Addison GM. Does adjustment of GFR to extracellular fluid volume improve the clinical utility of cystatin C? *Arch Dis Child* 2000; 82: 499-502.
5. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: an improved estimator of glomerular filtration rate? *Clinical Chemistry* 2002; 48: 5, 699-707.
6. Filler G, Priem F, Lepage N, Sinha P, Vollmer I, Clark H, Keely E, Matzinger M, Akbari A, Althaus H, Jung K. β -Trace protein, Cystatin C, β_2 -microglobulin and creatinine compared for detecting impaired glomerular filtration rates in children. *Clinical Chemistry* 2002; 48: 5, 729-736.

7. Newman DJ. Cystatin C. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 89-104.
8. Willems HL, Hilbrands LB, Calseyde JF van de, Monnens LAH, Swinkels DW. Is serum cystatin C is the marker of choice in the prediction of the GFR in pediatric patients? *Ann Clin Biochem*. Accepted.

BETEKENIS VAN EIWITREABSORPTIE: DE THEORIE

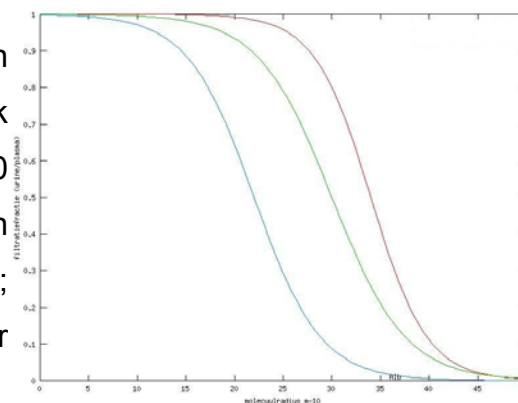
*Drs B.A. Veldman
internist*

Per dag wordt er door beide nieren ongeveer 180 liter plasma gefiltreerd. Van de daarin aanwezige 10gram eiwitten wordt er minder dan ± 100 mg per dag met de urine uitgescheiden. Daar eiwitten zeer kostbaar zijn voor de mens streeft de nier naar behoud hiervan. Hiertoe heeft de nier een speciale bouw.



Figuur 1 Schematisch overzicht van het glomerulaire filter

De glomerulus speelt een zeer belangrijke rol. Het glomerulaire filter is opgebouwd uit gefenestreeerd endotheel, de glomerulaire basale membraan en de viscerale epiteelcellen (zie figuur1). De sterk negatieve lading van de glomerulaire basaalmembraan maakt dat passage van moleculen niet alleen afhankelijk is van de grootte, maar ook van de lading (figuur 2). Kleine moleculen (tot < 20 kDalton) kunnen ongehinderd passeren, maar van grote moleculen wordt de passage belemmerd; positief geladen moleculen kunnen makkelijker



Figuur 2 De mate van glomerulaire filtratie van moleculen is afhankelijk van hun grootte en lading: links, negatief geladen moleculen; midden, neutrale moleculen; rechts, positief geladen moleculen

passeren dan even grote negatief geladen moleculen. Voor het behoud van groot-moleculaire eiwitten is de nier dus voornamelijk aangewezen op goed functionerende glomeruli. Klein-moleculaire eiwitten komen echter ongehinderd in de voorurine.

De verwerking van deze eiwitten door processen van afbraak en resorptie vindt plaats in de proximale tubulus.

Methoden van resorptie van eiwitten.

1. Afbraak door brush-border peptidasen

Tubuluscellen bezitten een zogenaamde *brush-border* of *borstelzoom*, welke bezet is met peptidasen. Met name kleine, lineaire eiwitten worden door deze peptidasen afgebroken, waarna de resulterende aminozuren actief door de tubulus worden geresorbeerd. Glucagon is een voorbeeld van een klein lineair eiwit dat door peptidasen wordt afgebroken. Insuline, een groter peptide met twee disulfidebruggen, wordt niet intraluminaal afgebroken, maar is onderhevig aan endocytose.

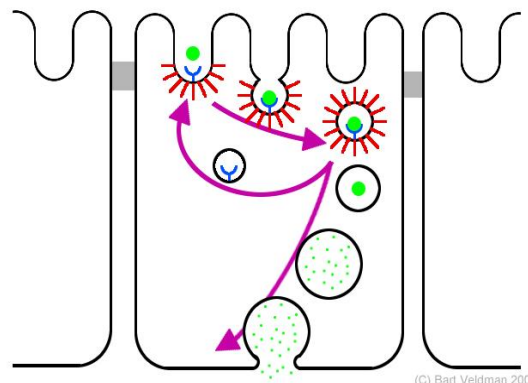
2. Tubulaire endocytose van peptiden

Hier bestaan diverse vormen van. Voor eiwitten zijn de volgende van belang:

- *fluid-phase* endocytose. Dit betreft het niet-receptor gebonden eiwit transport. Slechts 2 % van gefiltreerd materiaal wordt middels *fluid-phase*-endocytose opgenomen.
- Adsorptieve endocytose. Dit betreft receptor gemedieerde endocytose. De betrokken receptoren hebben een matige selectiviteit, maar toch bestaan er belangrijke verschillen in affiniteit tussen eiwitmoleculen die vergelijkbaar zijn qua grootte en lading. Dit is de voor gefiltreerde eiwitten meest relevante vorm van endocytose, en zal hieronder nader worden uitgelegd.

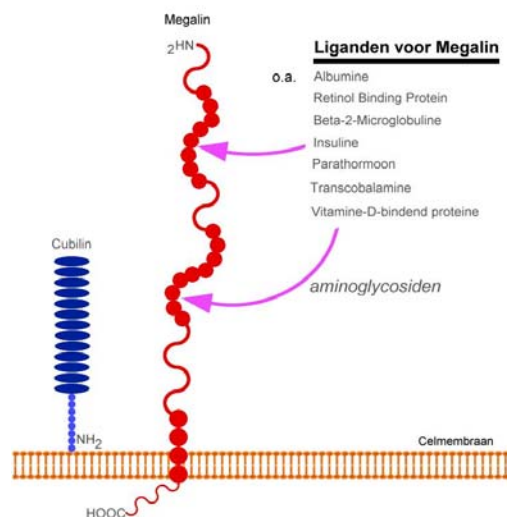
Beschrijving van het endocytose-proces (figuur 3).

De lumenale zijde van de celmembraan is bedekt met een externe laag (receptor-eiwitten). Aan de binnenzijde van de cel (cytoplasmatisch) is de celmembraan bedekt met Clathrin, een eiwit dat een belangrijke rol speelt bij de vorming van endocytose vesikels. Na binding van eiwitten aan de receptoren, migreren deze complexen naar endocytose-regios. In deze gebieden worden



Figuur 1 Schematisch overzicht van adsorptieve endocytose, afbraak en basolaterale excretie.

kleine vesikels van de celmembraan afgesnoerd, welke later samenvloeien tot grotere vacuolen. Het Clathrin is dan meestal weer van de endocytose vesikels gedissocieerd, en wordt gerecycled naar de buitenmembraan. Dit alles is een relatief snel proces dat enkele minuten in beslag neemt. In de vacuolen is het opgenomen eiwit meestal nog gebonden aan de receptor. Na acidificatie van de vacuolen treedt dissociatie op. Voor adequate acidificatie van deze vacuolen zijn diverse ion-kanalen van belang. Een noemenswaardige is het chloorkanaal, daar dit kanaal bij *Dent's disease* niet (goed) functioneert. Hierdoor kan er onvoldoende acidificatie van de vacuolen plaatsvinden, met een sterk verminderde tot afwezige endocytose als gevolg. Patienten met *Dent's disease* worden dan ook gekenmerkt door verlies in de urine van de klein moleculaire eiwitten.



Figuur 4 Schematische weergave van Cubilin en Megalin

De vacuolen fuseren met lysosomen, welke een sleutelrol vervullen bij de afbraak van de opgenomen eiwitten. In de lysosomen worden de eiwitten door hydrolyse afgebroken tot vrije aminozuren. Deze vrije aminozuren worden via de baso-laterale

zijde weer terug gevoerd naar de circulatie.

Hoewel hierboven de nadruk is gelegd op het recyclen van eiwit door de tubulus, speelt de tubulus ook een belangrijke rol bij de inactivatie van hormonen (Groeifactoren, cytokines, insuline, glucagon e.a.) maar ook juist de activatie van hormonen (25-OH-Vitamine D => 1,25-OH-Vitamine D).

Megalin / Cubilin (figuur 4)

Twee receptoren zijn essentieel gebleken in de tubulaire resorptie van gefiltreerde eiwitten.

Megalin is een grote multi-ligand receptor die affiniteit heeft voor vele moleculen (zie figuur 4), en speelt hierdoor een belangrijke rol in de opname van de grotere eiwitten.

Cubilin heeft, in tegenstelling tot megalin, geen transmembraan-domein. Wel heeft het sterke affiniteit voor megalin en waarschijnlijk is het afhankelijk van megalin voor zijn rol in de adsorptieve endocytose. Cubilin wordt ook in de darm gevonden, waar het een centrale rol speelt in de resorptie van *intrinsic factor* en dus in de resorptie van vitamines B₁₂. Megalin heeft ook een bindingsplaats voor aminoglycosiden, een relatief veel gebruikte groep van antibiotica, wat waarschijnlijk een belangrijke rol speelt bij de aminoglycosiden gemedieerde nierschade, wat een veel voorkomende bijwerking is van deze groep van antibiotica. Eventuele blokkade van binding van aminoglycosiden zou deze ernstige bijwerking mogelijk kunnen voorkomen. Interessant is dan ook dat in megalin-knock-out muizen, geen aminoglycoside-gemedieerde nierschade optreedt.

Literatuurlijst:

- Megalin and cubilin: synergistic endocytic receptors in renal proximal tubule. E. Christensen and H. Birn. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2001;280:F562-F573
- Clathrin-coated vesicle formation and protein sorting: an integrated process. S. Schmid. *Ann. Rev. Biochem.* 1997;66:511-548
- Structural and Functional Features of Protein Handling in the Kidney proximal tubule. E. Christensen and S. Nielsen. *Seminars in Nephrology* 1991;11(4);414-439

DE BETEKENIS VAN DE EIWTREABSORPTIE: DE KLINIEK

*Dr J.F.M. Wetzels
internist-nefroloog*

Al in 1966 werd er in de literatuur gewezen op de mogelijke klinische relevantie van bepaling van de uitscheiding van klein-moleculaire eiwitten in de urine: door de concentratie te relateren aan de totale proteinurie kon een onderscheid gemaakt worden tussen nierziekten met voornamelijk glomerulaire schade de zog glomerulonefritiden en nierziekten met vooral tubulaire schade, de zog tubulo-interstitiële nefritiden. In de dagelijkse nefrologische praktijk zal een dergelijk onderscheid vaak al op andere gronden gemaakt kunnen worden. Daarom wordt een dergelijke bepaling niet vaak aangevraagd, alhoewel het in sommige gevallen nog steeds nuttig kan zijn bijvoorbeeld om onderscheid te maken tussen een interstitiële nefritis en vasculaire pathologie als oorzaak van een nierfunctiestoornis.

De meest bekend klein-moleculaire eiwitten zijn β 2-microglobuline, α 1-microglobuline en retinol-bindend eiwit (Retinol-binding.protein). Theoretisch is β 2-microglobuline het meest geschikt als parameter voor tubulaire reabsorptie, omdat het eiwit alleen in vrije vorm in de circulatie voorkomt, volledig wordt gefiltreerd en voor meer dan 99% gereabsorbeerd. Er is echter een groot nadeel, β 2-microglobuline is instabiel bij een pH < 6.0, en wordt dan snel afgebroken (Figuur 1). Daarom dient een patiënt voor en tijdens de urineverzameling Nabicarbonaat te gebruiken. Het risico van degradatie is kleiner voor de andere genoemde eiwitten, α 1-microglobuline en RBP, Voorzorgsmaatregelen bij het verzamelen van de urine zijn dan ook minder noodzakelijk. Helaas komen α 1-microglobuline en RBP zowel in vrije als gebonden vorm in de circulatie voor, daarom zal de uitscheiding van deze eiwitten ook toenemen bij een verandering van de glomerulaire permeabiliteit.

Recent onderzoek heeft aangetoond dat het bepalen van de genoemde klein-moleculaire eiwitten bij patiënten met een glomerulonefritis kan bijdragen tot een betere voorspelling van het beloop. Wij hebben aangetoond dat een verhoogde

uitscheiding van β 2-microglobuline met redelijke betrouwbaarheid de kans op toekomstig nierfunctieverlies kan voorspellen bij patiënten met een membraneuze glomeruopathie (Figuur 2). Vergelijkbare resultaten werden gepubliceerd door Italiaanse onderzoekers, die voor hun onderzoek gebruik maakten van de uitscheiding van α 1-microglobuline. Toekomstig onderzoek zal moeten uitwijzen of dezelfde resultaten gelden voor patiënten met andere vormen van glomerulaire nierziekten zoals focale glomerulosclerose.

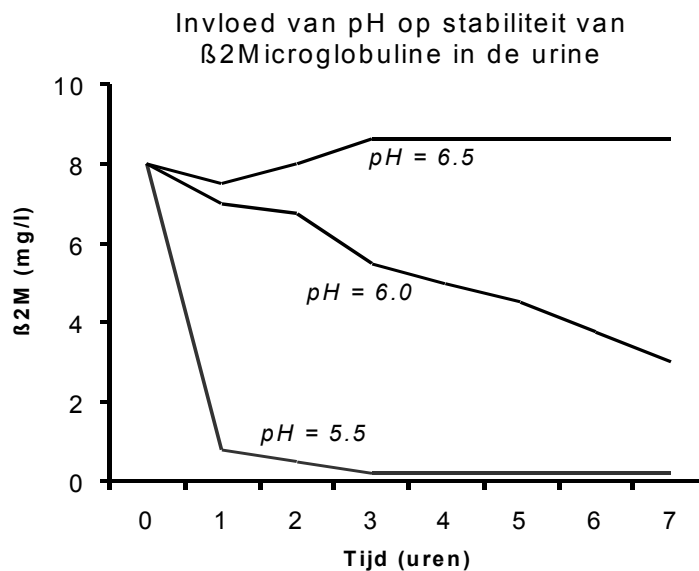
Onze toegenomen kennis over de fysiologie van het eiwitreabsorptieproces heeft geleid tot herkenning van nieuwe ziektebeelden zoals de "Dent's disease". Bij deze patiënten bestaat er een mutatie in het chloorkanaal dat betrokken is bij de vorming van endosomen. De reabsorptie van alle eiwitten is gestoord. Het is de verwachting dat in de toekomst nog andere ziektebeelden zullen worden ontdekt, die gerelateerd zijn aan stoornissen in de processen die betrokken zijn bij de bonding, opname en afbraak van eiwitten. Inmiddels is al gebleken dat het eiwitreabsorptieproces essentieel is voor belangrijke fysiologische processen zoals de hydroxylering en dus de activatie van vitamine D. De verlaagde spiegels van 1,25 vitamine D bij patiënten met een nefrotisch syndroom zijn waarschijnlijk een uiting van een gestoorde eiwitreabsorptie.

Eiwitreabsorptie kan ook schadelijk zijn. Een toegenomen reabsorptie van het ijzerbindende transferrine zou verantwoordelijk kunnen zijn voor de door proteinurie geïnduceerde tubuluschade. Opname van andere peptiden zou ook kunnen leiden tot tubulusschade, analoog aan de schade die optreedt na blootstelling aan de aminoglycoside antibiotica. Daarom is het relevant nader in te gaan op mogelijkheden om eiwitreabsorptie te beïnvloeden. Recente studies uit onze afdeling geven enig inzicht in deze processen. Zo konden wij aantonen dat toediening van albumine geen invloed heeft op de uitscheiding van β 2-microglobuline. Remming van de reabsorptie werd wel waargenomen na toediening van hoge doseringen arginine. Verder onderzoek in deze richting lijkt voor de toekomst noodzakelijk.

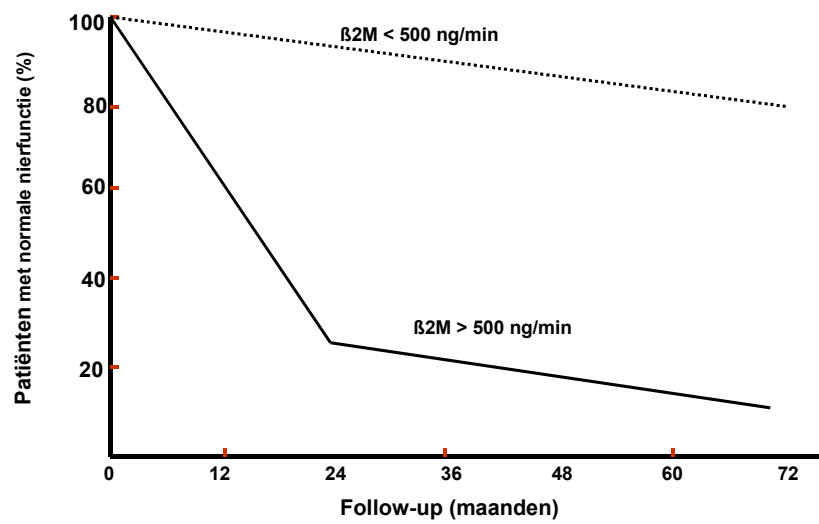
Referenties:

1. Peterson PA, Evrin PE, Berggard I. Differentiation of glomerular, tubular, and normal proteinuria: determinations of urinary excretion of β 2-microglobulin, albumin, and total protein. J. Clin. Invest. 1969; 48: 1189-1198
2. β 2-microglobulin instability in pathological urine. Clin Chem 1982;28: 1330-1333
3. Reichert LJM, Koene RAP, Wetzels JFM. Urinary excretion of β 2-microglobulin predicts renal outcome in patients with idiopathic membranous nephropathy

Figuur 1: pH afhankelijkheid van β 2-microglobuline



Figuur 2: β 2-microglobuline als voorspellende factor bij MGN



TRANSPORTMECHANISMEN VAN MINERALEN: DE THEORIE

Dr R.J.M. Bindels
celfysioloog

Transportmechanismen van Mineralen

De Theorie

René Bindels
Cell Physiology
Nijmegen Center for Molecular Life Sciences
University Medical Center Nijmegen
The Netherlands
<http://www.ncmls.kun.nl/celfys/>

Plasma Osmolality & Volume

Control of body fluid osmolality:
i.e. vasopressin secretion to control water excretion

Control of body fluid volume:
i.e. renin-angiotensin-aldosterone system to control NaCl excretion

Tubular Transport Disorders

Fanconi's Syndrome (PCT)
Gitelman's Syndrome (DCT&CNT)
Bartter's Syndrome (TAL)
Pseudohypoaldosteronism (CCD)
Nephrogenic Diabetes Insipidus (CD)
Liddle's Syndrome (CD)

urine

Paracellular & Transcellular Transport

basolateral (blood) | apical (urine)

Paracellular: transport between cells through tight junctions.

Transcellular: transport through cells from apical to basolateral membrane.

Active Transport Systems

Primary Active Transport: $2K^+$ out, $3Na^+$ in (ATP → ADP)

Secondary Active Transport: Na^+ and H^+ cotransport, Na^+ and glucose cotransport

Tertiary Active Transport: Na^+ and X cotransport, H^+ and X cotransport

Segmental Ion Transport along the Nephron

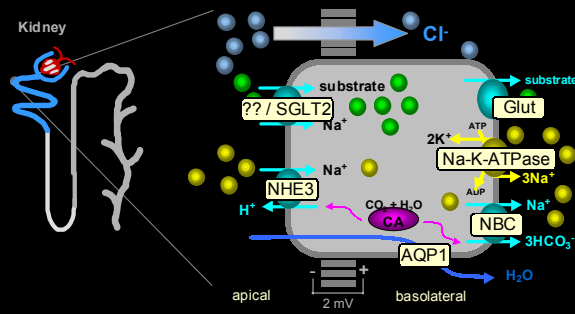
Segment	Na (%)	Ca (%)	Mg (%)	K (%)
PCT	~80	~10	~10	~10
TAL	~20	~30	~40	~10
DCT	~10	~80	~10	~10
CD	~10	~10	~10	~70

Proximal Tubule

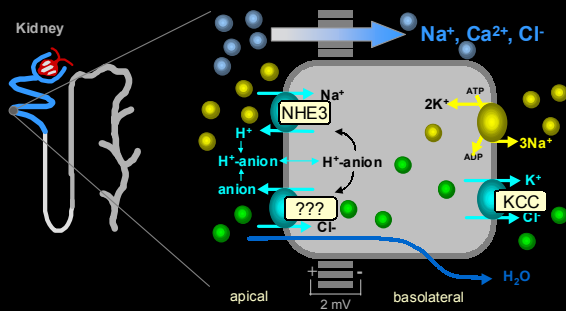


- ◆ S1 - S2 - S3 segment
- ◆ Large surface area of the apical membrane
- ◆ Leaky epithelium
- ◆ Bulk & iso-osmotic transport
- ◆ 60 % Cl⁻
- ◆ 65 % Na⁺, K⁺, Ca²⁺, H₂O
- ◆ 90 % HCO₃⁻
- ◆ 100 % glucose, amino acids

Proximal Tubule: S1 segment



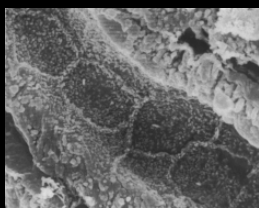
Proximal Tubule: S2 & 3 segment



Intermediate Tubule

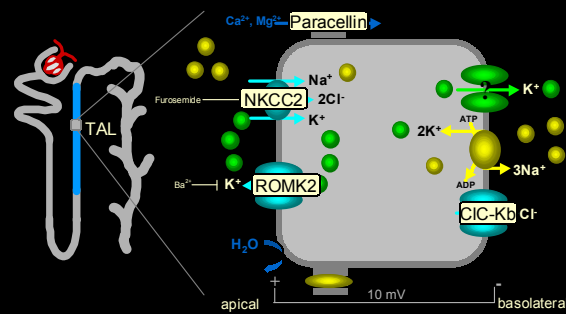
- ◆ Thin limb of Henle's Loop
- ◆ Descending limb
 - ◆ no NaCl transport
 - ◆ Highly permeable for H₂O
- ◆ Ascending limb
 - ◆ active NaCl transport
 - ◆ no permeability for H₂O
- ◆ Counter Current mechanism

Distal Tubules

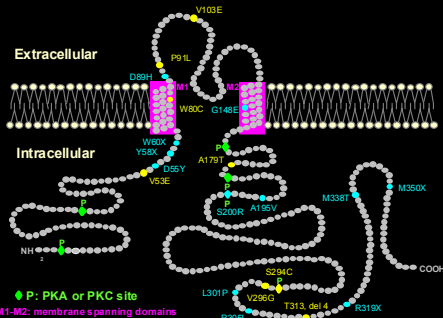


- ◆ Thick ascending Limb of Henle's Loop (TAL)
- ◆ Leaky epithelium
- ◆ 20 % Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺ transport
- ◆ 60 % Mg²⁺ transport
- ◆ Distal Convoluted Tubule (DCT)
- ◆ Tight epithelium
- ◆ 10 % Na⁺, Cl⁻, Ca²⁺ transport

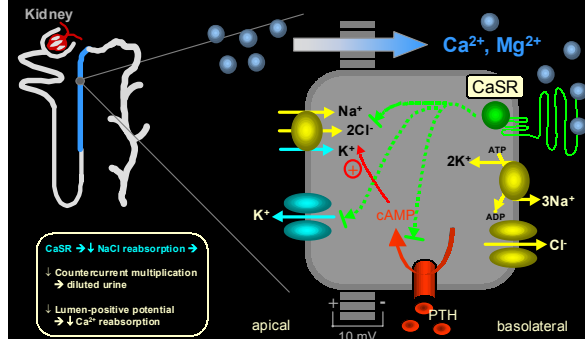
Thick Ascending Limb of Henle's Loop



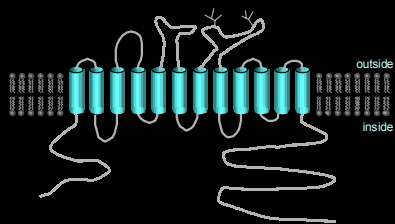
Structural model of the ROMK channel



CaSR & Ca²⁺ transport in TAL



Topology of NCC & NKCC

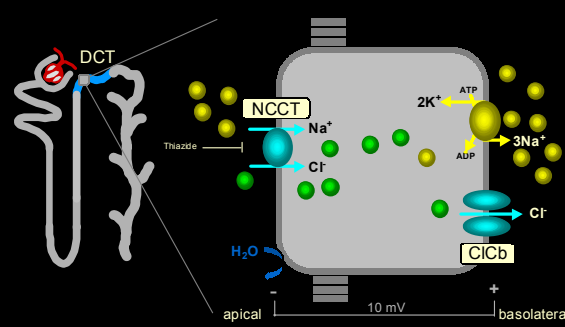


NKCC2
 1099 AA, 120-130 kDa, chr. 2
 bumetanide > furosemide sensitivity, thiazides no effect

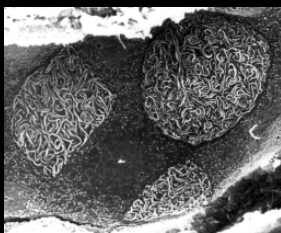
NCC
 1021 AA, 110 kDa, chr. 16q13
 thiazide sensitivity, loop diuretics no effect

NKCC2 & NCC are mainly expressed in kidney and are homologous (45% in AA level).

Distal Convoluted Tubule

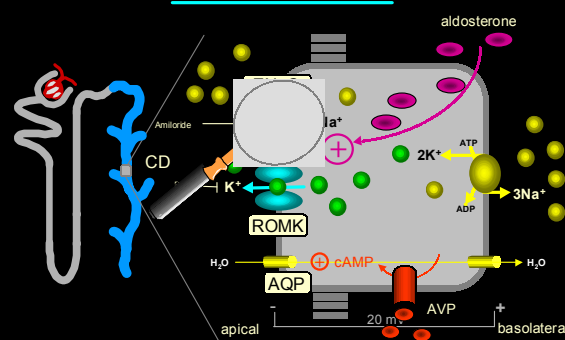


Collecting System

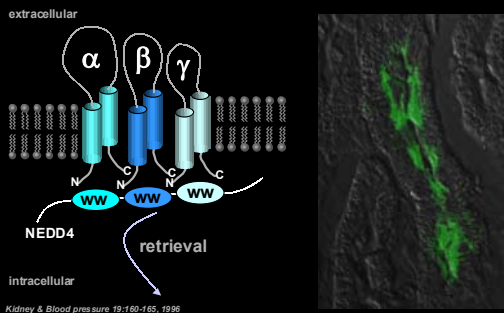


- ◆ Connecting Tubule (CNT)
- ◆ Collecting Duct (CCD, OMCD, IMCD)
- ◆ Several cell types including principal & intercalated cells
- ◆ 5% Na⁺, Cl⁻ transport
- ◆ K⁺ absorption or secretion
- ◆ H⁺ secretion

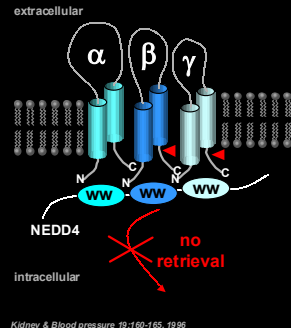
Collecting Duct



The Epithelial Sodium Channel (ENaC)



ENaC & Salt homeostasis I

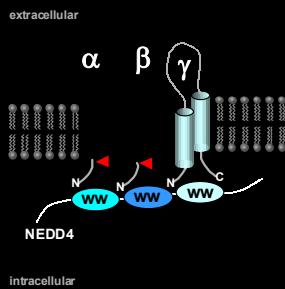


Liddle's syndrome

- ◆ Inherited form of salt-sensitive hypertension
- ◆ Patients do not respond to mineralocorticoid receptor antagonist
- ◆ Patients do not respond to triamterene, a specific ENaC inhibitor
- ◆ Linkage of β and γ subunit to Liddle's syndrome
- ◆ Mutations

β	γ
Q591stop	W573stop
R566stop	
T594D	
R597D	
P618L	
Y620H	
- ◆ Constitutive hyperactivation of ENaC

ENaC & Salt homeostasis II



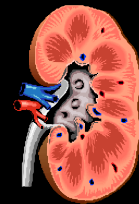
Pseudohypoaldosteronism, type I

- ◆ Autosomal recessive disease
- ◆ Patients do not respond to mineralocorticoid hormones
- ◆ Salt-wasting syndrome with hyperkalemic acidosis
- ◆ Linkage of α and β subunit to PHA
- ◆ Mutations

α	β
1687	G37S
R508stop	
- ◆ Constitutive inactivation of ENaC

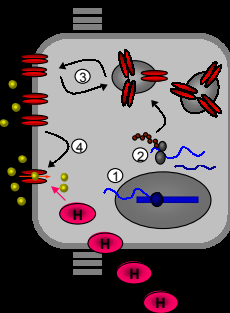
Overview Transporters in the Kidney

- ◆ AQP (aquaporin)
- ◆ ClC-Kb (chloride-channel)
- ◆ ENaC (epithelial-sodium-channel)
- ◆ GLUT (glucose transporter)
- ◆ KCC (potassium-chloride-cotransporter)
- ◆ Na-K-ATPase
- ◆ NBC (sodium-bicarbonate-cotransporter)
- ◆ NCC (sodium-chloride-cotransporter)
- ◆ NHE (sodium-hydrogen-exchanger)
- ◆ NKCC (sodium-potassium-chloride-cotransporter)
- ◆ ROMK (renal-outer-medulla potassium channel)
- ◆ SGLT (sodium-glucose-transporter)



Hormonal Regulation of Transporters

- 1 Transcription
- 2 Translation
- 3 Shuttling
- 4 Activation



Literature

- ◆ "Klinisch Nefrologie", De Jong *et al.*, Elsevier, 2000
- ◆ "The Kidney", Brenner *et al.*, 2000
- ◆ "Sodium-Potassium-Chloride Cotransport", Russell, *Phys Rev* 80:211-276, 2000
- ◆ "Potassium transport in the collecting duct", Muto, *Phys Rev* 81:85-116, 2001
- ◆ "NaCl transport deficiencies", Schnermann, *Pflügers Arch* 439:682-690, 2000
- ◆ "Acute regulation of Na/H exchanger", Moe, *J Am Soc Nephrol* 10:2412-2425, 1999
- ◆ "Physiologic and molecular aspects of the Na/HCO₃ cotransporter", Soleimani *et al.*, *Kidney Int* 57:371-384, 2000

The End

TRANSPORTMECHANISMEN VAN MINERALEN: DE KLINIEK

*Prof Dr L.A.H. Monnens
emeritus hoogleraar kindernefrologie*

In deze voordracht zal ik mij beperken tot 2 ziektebeelden. Zij illustreren de vooruitgang welke in het laatste decennium is geboekt in het inzicht over de pathogenese van deze ziektebeelden en te grote oppervlakkigheid wordt zo vermeden.

Het syndroom van Bartter
Autosomaal recessief overervend.

Biochemische kenmerken:

- hypokalemische alkalose.
- verhoogde plasmarenineactiviteit, verhoogde aldosteron concentratie met toch een normale bloeddruk.
- verhoogd verlies van kalium met de urine.
- verhoogde calciumexcretie via de urine.
- soms hypomagnesiëmie.

Pathofysiologie:

NaCl in het opstijgend been van de lis van Henle wordt apicaal getransporteerd via NKCC2. Apicaal ROMK2 is nodig om voldoende kalium aan de transporter aan te bieden.

Via een chloride kanaal verlaat chloride de cel aan de baso-laterale zijde (zie schema).

Een defect in de transporter of kanalen leidt tot een gestoord transport in het opstijgend been van de lis van Henle en een verhoogd NaCl aanbod aan het distale nefron.

Dit verhoogde aanbod kan leiden tot volume depletie en verhoogd kaliumverlies (dit laatste nog bevorderd door aldosteron). De plasmarenineactiviteit is verhoogd door volume depletie en gestoord transport in de macula-densa.

Tgv het gestoorde NaCl transport in het opstijgend been van de lis van Henle is de calcium- en magnesiumresorptie gestoord.

Klinische symptomen:

- Voor de geboorte: polyhydramnion
- In de neonatale periode: ernstige polyurie – soms hyperkaliemie (ROMK defect)
- Hypokaliemie: vermoeidheid
perioden van braken
obstipatie
- Hypercalciurie: nefrocalcinose
- Onbegrepen interstitiële nierafwijkingen kunnen optreden.
- Bepaalde vormen gaan gepaard met (type IV) doofheid.

Behandeling:

- extra kaliumtoediening
- remming van prostaglandines
- kaliumretinerende diuretica: amiloride
- aldosteron antagonisten

Het syndroom van Gitelman

Autosomaal recessief overervend

Biochemische kenmerken:

- hypokalemische alkalose
- hypomagnesiëmie
- verlaagde excretie van calcium in de urine
- verhoogde excretie van kalium en magnesium via de urine

Pathofysiologie:

Gestoorde NaCl terugresorptie in de distale tubulus door een defect in NCCT.

Het vergrote aanbod van NaCl verder in het distale nefron leidt tot stimulering van kalium en H⁺ secretie (bevorderd door aldosteron).

De verklaring voor de hypocalciurie en verhoogd verlies van magnesium via de urine is hypothetisch.

Klinische symptomen:

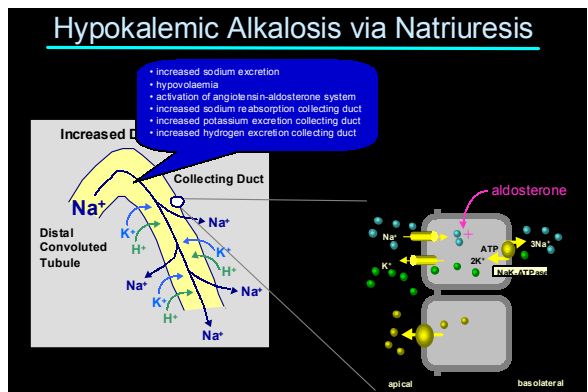
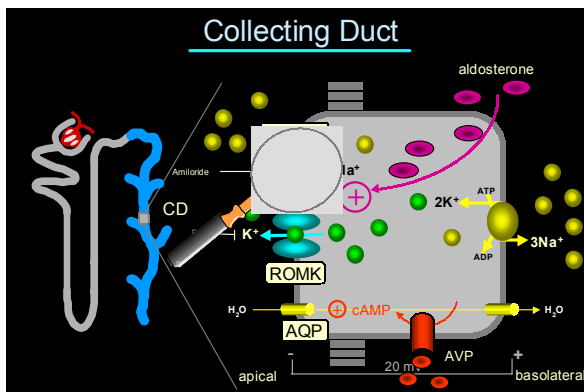
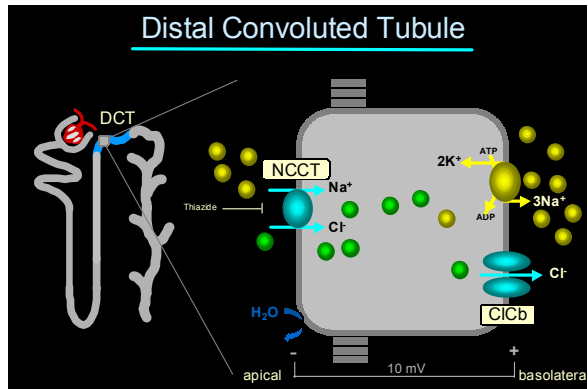
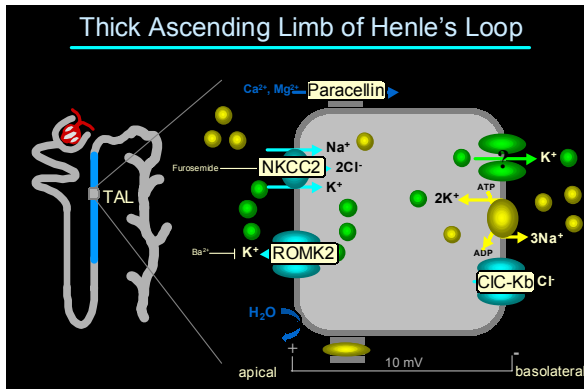
- vermoeidheid
- wisselende aanvallen van tetanie
- Chondrocalcinosis op volwassen leeftijd kan optreden tgv hypomagnesemie.

Behandeling:

- magnesiumsuppletie
- eventueel amilorde + kalium suppletie

Table 1. Genetic defects in inherited disorder with hypokalemic alkalosis

Syndrome	Inheritance	Gene	Gene product
Bartter syndrome type I	Autosomal Recessive	SLC12A1	Na-K-2CL cotransporter (NKCC2)
Bartter syndrome type II	Autosomal Recessive	KCNJ1	Renal potassium channel ROMK
Bartter syndrome type III	Autosomal Recessive	CLCNKB	Renal chloride channel CLC-Kb
Bartter syndrome type IV	Autosomal Recessive	BSND	CLC-Kb/CIC-Ka subunit Barttin
Gitelman syndrome	Autosomal Recessive	SLC12A3	Na-Cl cotransporter NCC



AQUAPORINES

*Dr N.V.A.M. Knoers
Klinisch Geneticus*

De voorspelling van biofysici in the jaren 50 van de vorige eeuw dat waterkanalen verantwoordelijk moesten zijn voor de exceptioneel hoge waterpermeabiliteit van bepaalde celtypen (zoals de erythrocyt en bepaalde renale epitheliale cellen), kwam uit met de ontdekking van de zogenaamde aquaporines (AQPs), eiwitten die functioneren als waterkanalen in plasma membranen van vele water transporterende weefsels. AQPs zijn betrokken bij veel fysiologische processen, zoals de concentratie van urine in de nier, het produceren en reabsorberen van cerebrospinale vloeistof, de productie van speeksel en traanvocht, en het handhaven van de waterhomeostase in de long. AQPs behoren tot de zeer oude MIP familie van intrinsieke membraaneiwitten, genaamd naar het eerst geïdentificeerde familielid, de “major intrinsic protein of lens fibre cells (MIP)”. The MIP-familie bevat meer dan 150 familieleden die zijn gevonden in de celmembranen van vele organismen variërend van bacteriën tot de mens. Bij zoogdieren zijn 11 AQPs geïdentificeerd. Inmiddels is duidelijk geworden dat MIP zelf ook een AQP is en een rol speelt bij het handhaven van de transparantie van de lens. MIP is daarom omgedoopt tot AQP0. De groep van AQPs wordt op basis van sequentiehomologie en functionele karakteristieken ingedeeld in kanalen die selectief water transporteren (de orthodoxe AQPs) en kanalen die naast water ook glycerol en andere kleine moleculen transporteren, de zogenaamde aquaglyceroporines.

Alle AQPs hebben overeenkomstige structurele kenmerken en zijn opgebouwd uit zes transmembraandomeinen die met elkaar verbonden zijn door lus A tot en met E, met intracellulaire amino- en carboxytermini. De intracellulaire lus B en de extracellulaire lus E bevatten de sterk geconserveerde asparagine-proline-alanine (NPA) sequentie. Mutagenese studies hebben geleid tot een functioneel model voor de AQPs dat het zandlopermodel wordt genoemd. In dit model vouwen de geconserveerde lussen B en E terug in het membraan en vormen samen de porie

waardoor watertransport plaatsvindt. Met behulp van cryo-elektron microscopie kon de 3D structuur van een van de AQPs worden opgehelderd. Deze structuur ondersteunt het zandlopermodel en bevestigt de eerder gepostuleerde veronderstelling dat AQPs als tetrameer in het membraan aanwezig zijn.

De fysiologische rol van AQPs is tot nu toe het beste gedefinieerd in de nier. Zeven van de 11 zoogdier-aquaporines (AQP1 tot AQP4, AQP6 tot AQP8) komen tot expressie in de nier. AQP1 is het eerst gecloneerde waterkanaal en is in zeer veel weefsels aanwezig, waaronder de nier, de longen, het oog, de erythrocyt, de plexus choroideus, intrahepatische galgangen en de galblaas. In de nier komt dit waterkanaal tot expressie in de proximale tubulus en het afdalende dunne been van de lis van Henle, segmenten van het nefron die een constitutieve en hoge waterpermeabiliteit hebben. De kritische rol van AQP1 voor de concentratie van urine werd bevestigd door studies in AQP1 knock-out muizen en recent ook in mensen die het AQP1 eiwit missen. AQP1 knock-out muizen hebben een polyurie onder basale condities en raken snel en ernstig gedehydrateerd bij waterdeprivatie. Na arginine vasopressine toediening aan deze muizen is er geen toename van de urine-osmolaliteit. Er wordt aangenomen dat AQP1 deficiëntie de vorming van een hypertoon medullair interstitium voorkomt door te interfereren met het counter-current multiplicatie mechanisme. De afwezigheid van AQP1-deficiëntie bij de mens is uitermate zeldzaam en gebaseerd op de afwezigheid van een bloedgroep antigeen (Colton) van de erythrocyt, dat wordt gecodeerd door een extracellulaire epitope van AQP1. Individuen van deze families bleken homozygoot te zijn voor verschillende mutaties in het AQP1 gen resulterend in een totale afwezigheid of ernstige deficiëntie van het AQP1 eiwit. In eerste instantie leken deze personen geen klinisch fenotype te hebben, maar onder condities van waterdeprivatie of in reactie op toediening van vasopressine lieten deze personen wel een mild concentratiedefect zien.

AQP2 is het vasopressine-gereguleerde waterkanaal dat specifiek tot expressie komt in de renale verzamelbuis en van essentieel belang is voor de concentratie van urine.

Disregulatie van AQP2 is gevonden bij zowel erfelijke als verworven concentratiestoornissen van de nier en bij verworven vormen van waterretentie.

Onderzoek bij een relatief zeldzame erfelijke concentratiestoornis van de nier, congenitale nefrogene diabetes insipidus (NDI) is van groot belang geweest om de essentie van AQP2 als vasopressine-afhankelijk waterkanaal voor de concentratie van de urine duidelijk te maken. Lange tijd was AQP2 het enige aquaporine dat duidelijk geassocieerd was met ziekte bij de mens. NDI en de daarbij gevonden defecten van AQP2 zal daarom het belangrijkste onderwerp zijn van deze presentatie.

NDI wordt gekenmerkt door een ongevoeligheid van het distale nefron voor de antidiuretische werking van het uit de hypofyse afkomstige hormoon arginine vasopressine (AVP). Patiënten zijn dan ook niet in staat hun urine te concentreren, resulterend in polyurie en polydipsie. Met name in de zuigelingenperiode worden deze patiënten bedreigd door uitdroging en indien dit niet tijdig onderkend en behandeld wordt, kan dit resulteren in mentale retardatie.

Onder fysiologische omstandigheden bindt AVP aan de vasopressine type-2 receptor (V2R) die zich bevindt in de basolaterale membraan van de hoofdcellen van de verzamelbuis. De interactie van AVP met V2R induceert de activatie van adenylaacyclase en de stijging van cyclisch adenosinemonofosfaat (cAMP) via de tussenkomst van een stimulerend G-eiwit (figuur). De toename van cAMP leidt tot activatie van het proteïne kinase A. Dit geactiveerde proteïne kinase A initieert vervolgens fusie van intracellulaire blaasjes, waarvan de membranen AQP2 waterkanalen bevatten, met de apicale membraan van renale verzamelbuiscellen, o.a. via fosforylering van intermediären (fosfoproteinen). Hierdoor neemt de waterpermeabiliteit van dit membraan toe. Door de osmotische werking van het hypertone interstitium van het niermerg en de aanwezigheid van AQP3 en AQP4 in de basolaterale membraan kan vervolgens water uit het tubuluslumen worden geresorbeerd, wat resulteert in de vorming van geconcentreerde urine. AQP2 blijft in de apicale membraan aanwezig zolang stimulatie door AVP plaatsvindt, maar zodra deze wegvalt, treedt endocytose van AQP2 op en vermindert de waterreabsorptie. Dit cellulaire proces in reactie op AVP is verstoord bij NDI. In de meeste gevallen is dit het gevolg van mutaties in het gen dat codeert voor V2R en dat gelegen is op chromosoom Xq28. Deze vorm van NDI erft dan ook geslachtsgebonden recessief over. In ongeveer 10% van de gevallen worden mutaties gevonden in het AQP2 gen,

dat gelegen is op chromosoom 12. AQP2 mutaties zijn gevonden in families waarin NDI een autosomaal recessief overervingspatroon heeft en in een klein aantal families waarin de aandoening een dominant overervingspatroon laat zien. Expressie van AQP2 mutanten in de oocyt van de Afrikaanse klauwpad (*Xenopus leavis*) toonde aan dat verminderd transport van het eiwit naar het plasma membraan de meest waarschijnlijke moleculaire oorzaak van NDI is bij patiënten met recessieve en dominante NDI. AQP2 wordt, net als andere eiwitten, in het endoplasmatisch reticulum (ER) gemaakt en opgevouwen tot een functioneel waterkanaal, waarna het naar het Golgi-apparaat verhuist. Vandaaruit wordt AQP2 naar blaasjes aan de apicale zijde van de cel gebracht, waar het wacht op een AVP-geïnduceerd signaal om te integreren met het apicale membraan. Uit de oocytexperimenten blijkt dat alle AQP2-mutanten in recessieve NDI in het ER blijven hangen, waarschijnlijk ten gevolge van een slechte vouwing van het eiwit, en vervolgens worden afgebroken door een protease. Tot nu toe zijn een klein aantal dominante AQP2 mutaties gevonden. Deze mutaties zijn allemaal gelokaliseerd in de C-terminale staart van het AQP2 eiwit. Expressiestudies hebben aangetoond dat de dominante mutanten wel goed worden gevouwen en het ER verlaten, maar daarna worden gehinderd in hun transport naar de plasmamembraan. Omdat deze dominante mutanten kunnen oligomeriseren met "wild-type" AQP2 blijft ook het wild-type intracellulair hangen en bereikt nooit de plasmamembraan, waarmee het dominante effect van de mutanten wordt verklaard.

Op dit moment zijn veel studies gericht op de mogelijkheid om de ER-geretardeerde recessieve mutanten door middel van chemische chaperones alsnog goed te vouwen, waardoor het transport naar de membraan niet langer wordt gehinderd. In vitro heeft men aanwijzingen gevonden dat deze chaperones van potentiële therapeutische waarde voor NDI zijn.

Bij verschillende verworven vormen van NDI, zoals lithium behandeling, hypokaliemie, en hypercalciemie wordt een significante downregulatie van AQP2 gevonden. Daartegenover wordt bij sommige ziektebeelden die zijn geassocieerd met waterretentie, zoals ernstig hartfalen, een opregulatie van AQP2 gevonden.

AQP3 en AQP4 komen tot expressie in de basolaterale membraan van de verzamelbuiscellen, waar ze van belang zijn bij het transport van water, dat de cel is

binnengekomen via AQP2, uit de cel. AQP3 expressie wordt gereguleerd door arginine vasopressine maar AQP4 expressie niet. AQP4 knockout muizen hebben slechts een mild concentratiedefect. AQP3 deficiënte muizen daarentegen hebben een aanzienlijk concentratiedefect met ernstige polyurie. Tot op heden zijn er nog geen mensen geïdentificeerd met mutaties in het AQP3- of AQP4 gen.

AQP4 komt ook hoog tot expressie in de hersenen waar het gelokaliseerd is aan de perivasculaire kant van astroglia cellen en een belangrijke uitgangspoort zou kunnen zijn voor teveel hersenvocht. AQP4 knock-out muizen zijn minder gevoelig voor de ontwikkeling van hersenoedeem. Hier lijkt dus het ontbreken van een aquaporine eerder een voordeel te betekenen. Recent werd aangetoond dat AQP4 knock-out muizen een aanzienlijk gehoorsverlies hebben.

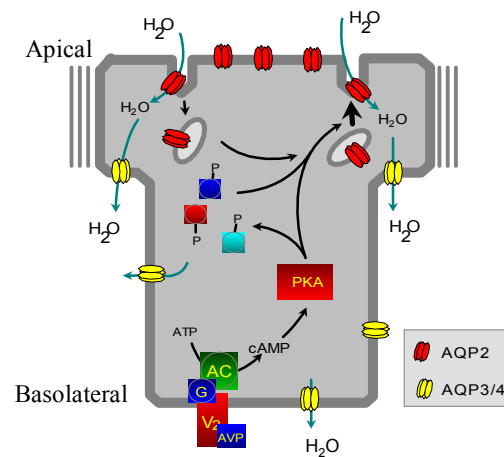
AQP6 is aanwezig in intracellulaire blaasjes van intercalated cellen van de verzamelbuis, en AQP8 is intracellulair gelokaliseerd in proximale tubuluscellen en de hoofdcellen van de verzamelbuis. De functie van deze beide waterkanalen is nog niet goed gedefinieerd. AQP7 komt hoog tot expressie in de proximale tubulus en is waarschijnlijk betrokken bij proximale waterreabsorptie. De precieze fysiologische betekenis van deze renale AQPs en hun mogelijke rol bij ziekte zal in de komende jaren duidelijk worden, o.a. door de fysiologische effecten te bestuderen in knock-out muizen van deze individuele AQPs.

De toekomst zal verder gericht zijn op het uitdiepen van het fysiologische belang van de AQPs in andere orgaansystemen en van de exacte structuur-functie relatie van AQPs. Mogelijk zal dit op den duur ook leiden tot mogelijkheden om watertransport te stimuleren of te remmen in klinische situaties waarin watertransport ontregeld is.

Literatuurlijst

1. Os van CH, Kamsteeg E-J, Maar N, Deen PMT. Physiological relevance of aquaporins: luxury or necessity? Eur J Physiol 2000;440:513-520.
2. Knoers NVAM, Deen PMT. Molecular and cellular defects in nephrogenic diabetes insipidus. Pediatr Nephrol 2001;16:1146-1152
3. Kwon T-H, Hager H, Nejsum LN, Andersen M-L, Frokiaer J, Nielsen S. Physiology and Pathophysiology of Renal Aquaporins. Sem Nephrol 2001;21:231-238.

4. King LS, Choi M, Fernandez PC, Cartron J-P, Agre P. Defective urinary concentrating ability due to complete deficiency of aquaporin-1. *N Engl J Med* 2001;345:175-179.
5. Nielsen S, Frokier J, Marples D, Kwon T-H, Agre P, Knepper M. Aquaporins in the kidney: From molecules to Medicine. *Physiol Rev* 2002;82:205-244.
6. Marr N, Bichet DG, Heofs S, Savelkoul PJM, Konings IBM, de Mattia F, Graat MPJ, Arthus M-F, Lonergan M, Fujiwara M, Knoers NVAM, Landau D, Balfe WJ, Oksche A, Rosenthal W, Muller D, van Os CH, Deen PMT. Cell-biological and functional analysis of five new Aquaporin-2 missense mutations that cause recessive nephrogenic diabetes insipidus. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2267-2277.



Schematische presentatie van het cellulaire proces betrokken bij de antidiuretische werking van arginine vasopressine (AVP) in de renale verzamelbuis. V2=vasopressine receptor; G=stimulerend G-eiwit; AC=adenylylaat cyclase; cAMP=cyclisch adenosine monofosfaat; PKA=proteine kinase A; P=fosfoproteinen