

Academiejaar 2013-2015

Verband tussen haptoglobine type en nierfunctieprofiel bij volwassenen

Alexander VAN RANST

Promotor: Prof. Dr. Karel Everaert

Co-promotor: Dr. An-Sophie Goessaert

Begeleider: Dr. Marie-Astrid Denys

Scriptie voorgedragen in de 2^{de} Master in het kader van de opleiding

MASTER OF MEDICINE IN DE GENEESKUNDE

Voorwoord

Hier wil ik mijn promotor Prof. Dr. Karel Everaert en mijn begeleidster dr. Marie-Astrid Denys van harte bedanken voor alle hulp. Ik kon altijd terecht met al mijn vragen en ik kreeg steeds snelle en constructieve feedback. Vooral dr. Denys heeft me altijd hulp geboden bij inhoudelijke en statistische vragen alsook bij zaken als vormgeving en planning. Via deze weg wil ik je dan ook uit de grond van mijn hart bedanken en succes wensen met het vervolg van je doctoraatsonderzoek.

Verder wil ik Prof. Dr. Joris Delanghe en Elke Lecocq danken voor al de hulp die Marie-Astrid en ik hebben ontvangen in het labo. Elke voor alle hulp en uitleg bij het uitvoeren van de elektroforeses en professor Delanghe voor zijn hulp en ondersteuning bij de interpretatie ervan en tevens voor de geleverde werkhypotheses en manieren om deze uit te werken.

Ten slotte wil ik mijn familie en vrienden bedanken voor alle steun de afgelopen jaren.

Inhoudstafel

1 Abstract.....	1
1.1 Achtergrond	1
1.2 Materialen en methoden	1
1.3 Resultaten	1
1.4 Conclusie	2
2 Literatuuronderzoek.....	3
2.1 Haptoglobine.....	3
2.1.1 Algemene functies van haptoglobine	3
2.1.2 Functionele verschillen tussen de haptoglobinefenotypes	4
2.2 Nycturie, nachtelijke en globale polyurie	7
2.2.1 Definitie.....	7
2.2.2 Epidemiologie	8
2.2.3 Gevolgen	9
2.2.4 Oorzaken	11
2.2.5 Pathofysiologie van polyurie.....	12
2.2.6 Diagnose	14
2.2.7 Therapie.....	14
2.2.8 Nycturie, zoutgevoeligheid en hypertensie	15
3. Methode en materialen	17
3.1 Studieopzet	17
3.2 Literatuuronderzoek.....	17
3.3 Studiepopulatie	17
3.4 Ethische toestemming	17

3.5 Materialen	18
3.5.1 Zetmeel-elektroforese	18
3.5.2 Nierfunctieprofiel	19
3.6 Statistische analyse	20
4 Resultaten	20
4.1 Algemene kenmerken	20
4.2 Hp 1-1 versus de rest	24
4.2 Vergelijking volgens fenotype.....	25
5 Discussie	30
5.1 Bespreking van resultaten en discussie.....	30
5.2 Kritische reflectie.....	30
5.3 Conclusies	31
5.4 Suggesties voor verder onderzoek	31
6 Referenties	32
7 Bijlagen.....	36
7.1 Figurenlijst	36
7.2 Tabellenlijst	36
7.3 Afkortingenlijst.....	0

1 Abstract

1.1 Achtergrond

Nycturie, de klacht dat mensen 's nachts moeten opstaan om te gaan plassen, is een aandoening met mogelijks ernstige gevolgen. Het is frequent, voornamelijk op oudere leeftijd. Vaak voorkomende oorzaken hiervan zijn nachtelijke en globale polyurie, een te grote urineproductie 's nachts dan wel de hele dag door. Een genetische verklaring voor deze klacht is echter nog niet gevonden.

Haptoglobine fenotypering is een domein waar veel belovend onderzoek over gebeurt. Het fenotype heeft een invloed op de bloeddruk, atherosclerose, infectieziekten, ... Voor ons is het van belang dat bepaalde types meer zoutgevoelig zijn dan anderen. Aangezien zoutgevoeligheid ook gekoppeld is aan nycturie lijkt het verband tussen haptoglobine en urineproductie een interessante onderzoeksvraag. We hopen hiermee dit onderzoeksgebied in de kijker te stellen en een genetische component van het nycturieverhaal te achterhalen.

1.2 Materialen en methoden

Dit onderzoek werd uitgevoerd op 177 personen. Voor ieder van hen werd een 24-uur nierfunctieprofiel opgesteld. Hiervoor moesten ze gedurende 24 uur om de 3 uur een urinestaal afnemen. Dit werd gecontroleerd op creatinine, ureum, natrium en osmolaliteit. Tussentijdse plasbeurten werden ook geregistreerd om het totale volume te kennen. Het haptoglobinefenotype werd bepaald door middel van gelelektroforese. De bekomen gegevens werden vervolgens verwerkt met behulp van SPSS 22.

1.3 Resultaten

De studiepoulatie bestaat uit 111 vrouwen en 66 mannen met een gemiddelde leeftijd van 60 jaar. De poulatie sluit aan bij de normale haptoglobineverdeling in de referentiepopoulatie: 16% Haptoglobine 1-1 (Hp 1-1) (ref. 16%), 51% Hp 2-1 (ref. 48%) en 33% Hp 2-2 (ref. 36%).

Hp 1-1 heeft een hogere plasmaconcentratie van haptoglobine dan de andere twee (16 $\mu\text{mol/l}$ tegenover 8 $\mu\text{mol/l}$ en 4 $\mu\text{mol/l}$). De concentratie heeft echter geen effect op het voorkomen van nachtelijke of globale polyurie.

Globale polyurie treft eerder vrouwen (gemiddelde leeftijd 63) met fenotype Hp 1-1 (32% met Hp 1-1 tegenover 16% in de groep zonder globale polyurie).

1.4 Conclusie

Hp 1-1 is een voorspellende factor voor globale polyurie. Personen met Hp 1-1 produceren gemiddeld meer urine. Analyse van de natriumklaring en de urinaire osmolaliteit toont dat ze moeilijk kunnen omgaan met zout. Ze zijn zoutgevoeliger dan de andere fenotypes, zoals vroeger ook al empirisch werd aangetoond. Zoutlozing gebeurt aan een continu tempo, bijna heel de dag door. Dit zout werkt osmotisch en zorgt voor een te grote urineproductie.

De vrij waterklaring bevestigt dat het hier gaat over diurese met hoog watergehalte en lage osmolaliteit.

2 Literatuuronderzoek

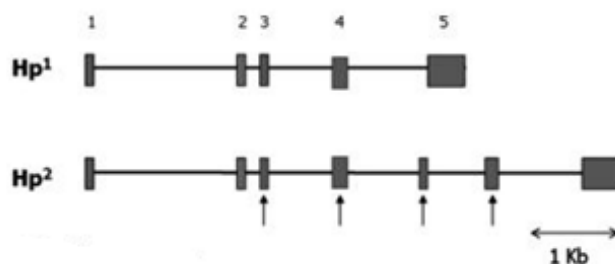
2.1 Haptoglobine

2.1.1 Algemene functies van haptoglobine

Haptoglobine is een acute fase eiwit, gesynthetiseerd in de lever, dat hemoglobine complexeert na hemolyse. (1-6) De synthese neemt drastisch toe in respons op diverse inflammatoire stimuli (o.a. IL-6, IL-10, ...) door middel van transcriptionele activatie van het haptoglobinegen. (1)

Het haptoglobine-hemoglobine (Hp-Hb) complex wordt verwijderd door de monocyt/macrofaag CD163 Hp-Hb receptor op de Kupffercellen in de lever. Het complex is te groot om te passeren door de nierglomerulus. Dit zorgt ervoor dat geen nierschade en ijzerverlies optreedt na hemolyse. (1-3;6)

Haptoglobine bestaat uit een α -keten en een β -keten. (1;3;6) De β -keten (45kDa) is steeds constant maar er bestaan 2 soorten α -ketens: een lichte α_1 -keten (9kDa) en een zwaardere α_2 -keten (16kDa). Dit polymorfisme bestaat enkel bij mensen en komt voor omdat er 2 verschillende allelen (Hp^1 en Hp^2) bestaan van het haptoglobinegen (gelegen op chromosoom 16q22).

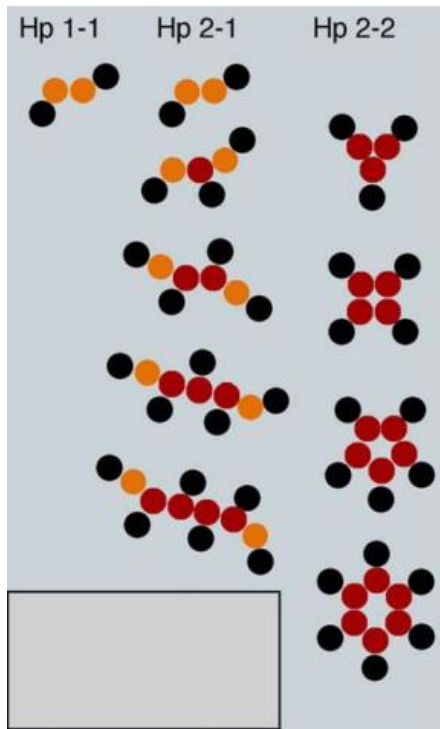


Figuur 1: De genstructuur van de allelen. Hp² is ontstaan door duplicatie van exon 3 en 4. Dit verklaart waarom Hp² zwaarder is dan Hp¹ en andere eigenschappen heeft. (1) Toestemming verleend van de auteur

De structuur van haptoglobine is dus afhankelijk van het genotype. Zo bestaan er 3 subtypes: Hp 1-1 (2 Hp¹), Hp 2-1 (1 Hp¹ en 1 Hp²) en Hp 2-2 (2 Hp²), elk met een specifieke vorm en aparte eigenschappen. (3)

Dit polymorfisme is onderhevig aan een geografische spreiding. In onze streek komt het Hp¹ allel voor bij 40% van de populatie en het Hp² allel bij 60%. Dus heeft 16% Hp 1-1, 48% Hp 2-1 en 36% Hp 2-2. (3)

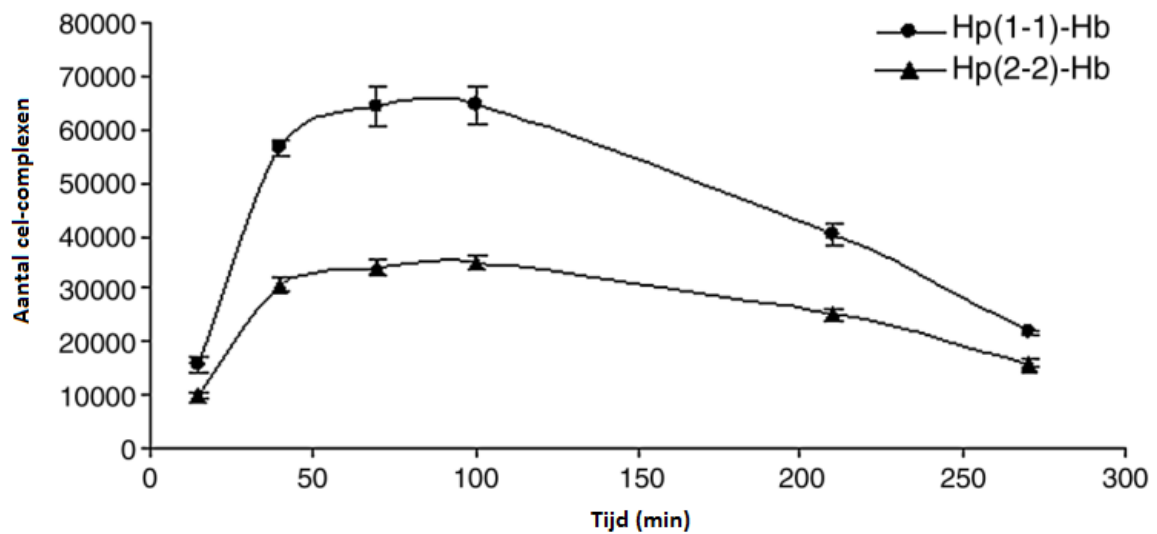
Hp² is 2 miljoen jaar geleden ontstaan in Indië (3) en is zich sindsdien aan het verspreiden omdat dit genotype een genetisch voordeel biedt tegen infectieziekten.



Figuur 2: Het verschil in ruimtelijke structuur van de fenotypes. Dit zal onder meer een invloed hebben op de functionele eigenschappen en het risico op geassocieerde pathologie. (6) Toestemming verkregen van de auteur

2.1.2 Functionele verschillen tussen de haptoglobinefenotypes

Naast structurele verschillen beschouwen we ook functionele verschillen tussen de subtypes. Het Hp¹-Hb complex wordt sneller geïnternaliseerd door de Kupffercellen dan het Hp²-Hb complex. (1;3) Dit leidt er toe dat er minder tijd is voor vrij hemoglobine om oxidatieve schade toe te brengen aan het organisme.



Figuur 3: Verschil in tijd tot endocytose van het Hp-Hb complex. Na hemolyse worden de complexen sneller gevormd bij Hp 2-2 dan bij Hp 1-1. (1) Toestemming verkregen van de auteur

Het Hp²-Hb complex is tevens redox-actief. Omdat de klaring van het complex trager gebeurt, zien we een hogere concentratie aan vrij hemoglobine in het bloed. Vrij hemoglobine staat onder meer in voor de dioxygenatie van stikstofoxide (NO) (desactivering). Hierdoor is minder NO beschikbaar om o.a. de vasculaire tonus te onderhouden. (1;3) Dit speelt een rol in het ontstaan van vroegtijdige hypertensie bij personen met haptoglobine type 2-2 door een tekort aan het vasodilerend effect van NO.

Een ander effect van vrij hemoglobine is dat er hydroxyl-radicalen gevormd worden die LDL kunnen oxideren en zo schade kunnen toebrengen aan het vasculair endotheel (atherosclerose). (1)

Atherosclerose wordt ook bevorderd door een lagere concentratie aan HDL, dewelke normaal gezien protectief werkt. (1) Haptoglobine bindt immers met LCAT op de bindingsplaats van ApoA1, een enzym betrokken bij de synthese van HDL. Omwille van de polymere structuur (zie figuur 2) kan Hp 2-2 beter binden dan Hp 1-1 en -Hp 2-1. Dit leidt tot een lagere HDL-spiegel door competitieve inhibitie.

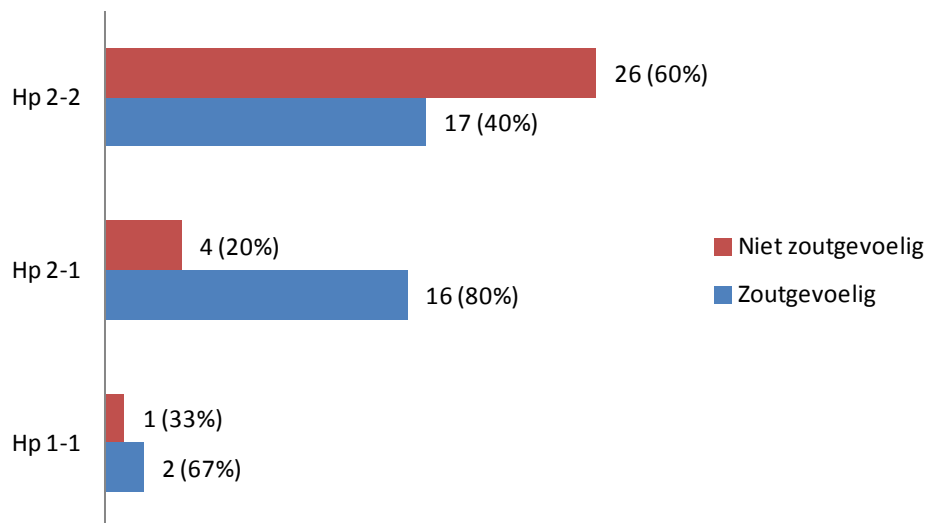
Tabel 1: Eigenschappen van haptoglobine (3)

	Hp 1-1	Hp 2-1	Hp 2-2
Hemoglobine binding	Sterk	Gemiddeld	Zwak
Anti-oxidatief effect	Sterk	Gemiddeld	Zwak
Inhibitie synthese prostaglandine	Sterk	Gemiddeld	Zwak
Angiogeen effect	Zwak	Gemiddeld	Sterk

Vroegtijdige hypertensie en atherosclerose zijn een risico voor het ontwikkelen van vroegtijdige cardiovasculaire incidenten. Echter door het sterker angiogeen effect geldt het Hp² allel als een protectieve factor bij gevorderde atherosclerose. Hp 1-1 kan daarentegen als een onafhankelijke risicofactor gezien worden voor cardiovasculaire mortaliteit met een grotere prognostische waarde dan diabetes mellitus, roken of obesitas. (5;7)

Deze cardiovasculaire mortaliteit wordt geassocieerd aan zoutgevoeligheid, net zoals zoutgevoelige hypertensie een hoger risico op cardiovasculaire mortaliteit inhoudt dan niet zoutgevoelige hypertensie. (8)

Uit epidemiologisch onderzoek blijkt dat Hp 1-1 geassocieerd is met zoutgevoeligheid op vroege leeftijd. (5;7;9-11) Deze associatie zou kunnen verklaard worden omdat het Hp¹-allel dichtbij een gen dat met zoutgevoeligheid te maken heeft ligt. Een andere vaststelling is dat de chemische structuur van haptoglobine sterk lijkt op die van serine proteasen zoals kallikreïne. Deze proteasen staan in voor synthese en splitsing van peptiden die instaan voor bloeddrukregulatie. Door de structuurverwantschap is het mogelijk dat een soort kruisreactie ontstaat.



Figuur 4: De verdeling van zoutgevoeligheid onder de fenotypes. Uit dit onderzoek op 66 volwassenen blijkt dat er duidelijk meer zoutgevoeligen waren bij genotype Hp¹ dan bij Hp². De studiepopulatie was echter te klein om definitieve uitspraken te doen maar het geeft wel een idee van wat we verwachten. (10)

Aan de hand van het verschil in zoutgevoeligheid verwachten we een effect op de urineproductie, daar dit ook sterk geassocieerd is met zoutgevoeligheid (zie verder).

2.2 Nycturie, nachtelijke en globale polyurie

Nycturie kan verklaard worden door nachtelijke polyurie, globale polyurie en een kleine blaascapaciteit. In het verdere verloop van deze scriptie gaan we het hebben over de definitie van nycturie en polyurie, de epidemiologie, de oorzaken, de gevolgen, de diagnose en enkele therapeutische opties. Als laatste komt de link met zoutgevoeligheid.

2.2.1 Definitie

Nachtelijke polyurie wordt door de ICS (International Continence Society) gedefinieerd als een nachtelijke urineproductie die 20 % tot 33 % (afhankelijk van de leeftijd van de patiënt) van de totale 24-uurs urineproductie inhoudt (NPi). (12-14) Een belangrijk symptoom hiervan is nycturie. Nycturie wordt gedefinieerd als de klacht dat de patiënt een of meerdere keren per nacht moet opstaan om te gaan plassen, elke plas voorafgegaan en gevolgd door slapen. (12-17) De nacht wordt gedefinieerd als de periode tussen in bed gaan met de intentie om te slapen en uit bed stappen met intentie om op te staan.

Er bestaan nog andere definities voor nachtelijke polyurie zoals een nycturie-index >1,5 (nachtelijke urineproductie/grootste geplaste volume overdag) of een nachtelijke

urineproductie (NUP) >90ml/uur. Dit is een verklaring waarom prevalentiecijfers zo sterk uiteen lopen. (16)

Indien de urineproductie over de totale dag boven de 40ml/kg/24u ligt spreekt men van globale polyurie. (13;14)

2.2.2 Epidemiologie

Onderzoek van Bosch en Weiss et al toont aan dat één op vijf twintigers (18) minstens één maal per nacht opstaan om te plassen. (15;17) Dit aantal neemt sterk toe met de leeftijd tot ongeveer de helft (57%) van de 60-jarigen die elke nacht minstens één keer moeten opstaan. De prevalentie ten opzichte van de leeftijd en geslacht staat geïllustreerd in tabel 2. (19) Er bestaan echter studies die veel hogere prevalentiecijfers weergeven. Zo worden bij de populatie <45 jaar cijfers gevonden van 10% tot 50% en bij ouderen tot 80-90%. (15) Door de heterogeniteit in bestudeerde populaties is het moeilijk om verschillende studies te vergelijken.

Deze prevalentie zou echter een onderschatting kunnen zijn omdat het resultaat sterk afhangt van de gebruikte selectieparameters van het onderzoek, de gehanteerde definitie van nycturie en of de patiënten hun klachten vermelden. (12-16) Dit gebeurt soms niet omdat de patiënten zich hiervoor schamen, omdat ze niet weten dat er therapie voor bestaat en omdat ze vaak denken dat het een gewone ouderdomskwaal is die ze er maar moeten bijnemen. Bij het consult dient dit dus steeds actief nagevraagd te worden door de arts. (15;17)

Tabel 2: Prevalentie nycturie per geslacht en leeftijd (19)

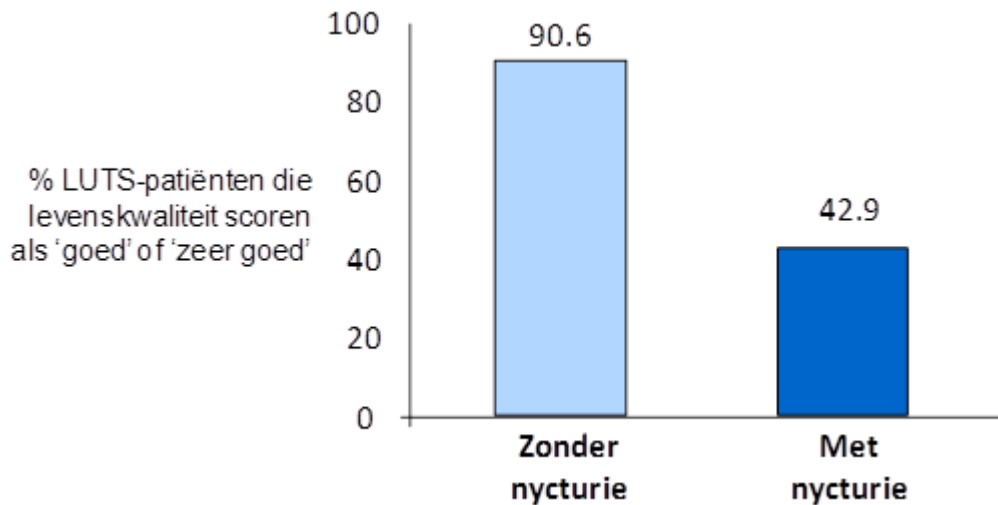
Geslacht Leeftijdscategorie	Nycturie		
	Nooit: n(%)	1x/nacht: n(%)	>2/nacht: n(%)
<u>Mannen en vrouwen</u>			
18-34	597 (73%)	188 (23%)	41 (5%)
35-54	560 (58%)	328 (34%)	78 (8%)
55-74	184 (32%)	241 (42%)	149 (26%)
>75	39 (22%)	73 (41%)	65 (37%)
<u>Mannen</u>			
18-34	340 (83%)	62 (15%)	8 (2%)
35-54	337 (66%)	148 (29%)	26 (5%)
55-74	104 (38%)	110 (40%)	60 (22%)
>75	15 (20%)	33 (43%)	28 (37%)
<u>Vrouwen</u>			
18-34	216 (64%)	118 (29%)	74 (7%)
35-54	218 (48%)	177 (39%)	60 (12%)
55-74	81 (27%)	129 (43%)	90 (30%)
>75	24 (24%)	40 (40%)	37 (37%)

2.2.3 Gevolgen

2.2.3.1 Levenskwaliteit

Het voornaamste gevolg van nycturie is dat de slaap telkens onderbroken wordt om te gaan plassen. (12-15) Eén keer per nacht opstaan geeft nauwelijks problemen en wordt door de patiënten vaak niet eens als hinderlijk beschouwd. Dit heeft ook weinig consequenties in kader van morbiditeit en mortaliteit. Vanaf twee keer per nacht gaat de slaapkwaliteit drastisch achteruit en dit verergert naarmate men vaker moet opstaan. (12-14;20) Deze slaapfragmentatie vermindert de levenskwaliteit en -kwantiteit omdat patiënten overdag klachten ondervinden van het slaapttekort. Ze hebben nooit een verkwikkende nachtrust waardoor ze overdag vermoeid zijn. Hierdoor kunnen ze zich minder goed concentreren, hun werkprestaties verslechteren en de kans op ongevallen stijgt. (13;17)

Patiënten met andere LUTS (Lower Urinary Tract Symptoms) beschouwen nycturie als de meest storende klacht die de levenskwaliteit sterk negatief beïnvloedt. (20;25)



Figuur 5: Hoe storend is nycturie bij patiënten met andere LUTS

2.2.3.2 Morbiditeit

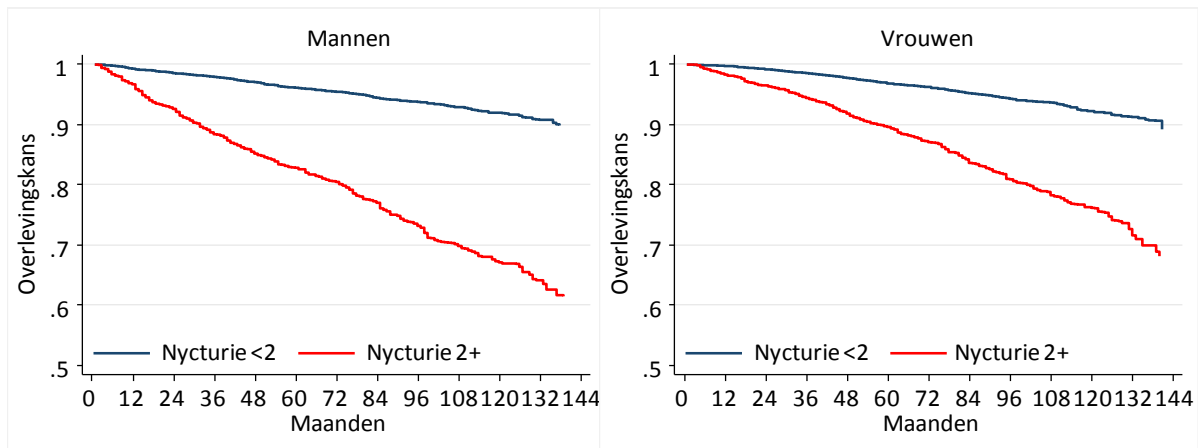
's Nachts moeten patiënten opstaan in het donker, vaak nog een beetje suf van het slapen. Dit leidt tot een hogere frequentie van nachtelijk vallen en bijgevolg dus meer fracturen, in het bijzonder bij ouderen. (12;14;17;18)

Nycturie is vaak geassocieerd met hypertensie. (18;22-24) Volgende mechanismen spelen een rol:

- Hypertensie heeft effect op de glomerulaire filtratie en tubulair transport in de nieren. Deze stijgen door een toename van renale plasma flow en hydrostatische capillaire glomerulaire druk. Door de hogere bloeddruk wordt er meer natrium per tijdseenheid geëxcreteerd. Deze werkt osmotisch en trekt urine mee.
- Hypertensie kan gepaard gaan met perifere oedemen die 's nachts geresorbeerd (en uitgeplast) worden.
- De systolische bloeddruk is omgekeerd gecorreleerd met secretie van Anti-Diuretisch Hormoon (ADH). 's Nachts zakt het niveau tot bijna onmeetbare waarden waardoor de urineproductie stijgt.
- De plasma spiegel van Atrial Natriuretisch Hormoon (ANP) stijgt bij hypertensie. Zie verder hoe dit de urineproductie beïnvloed.

2.2.3.3 Mortaliteit

De overlevingskans wordt ook beïnvloed door de frequentie van opstaan. Lang bestaande ernstige nycturie leidt tot een sterk verminderde overlevingskans.



Figuur 6: Verschil in overlevingskans tussen 0 of 1 keer per nacht opstaan om te plassen tegenover 2 of meer keer. (21)

Nycturie is, onafhankelijk van hypertensie en slaapfragmentatie, gelinkt aan cardiale dood door coronaire hartziekten en beroertes. (12;13;22) Het risico hierop stijgt samen met de frequentie van nachtelijke plasbeurten. Als men meer dan 3 keer per nacht moet opstaan, stijgt het risico op cardiale dood met 90%. (21;23)

Aangezien de prevalentie van deze aandoening hoog is en de consequenties ernstig, is dit een aandoening om rekening mee te houden en zo adequaat mogelijk te behandelen.

2.2.4 Oorzaken

Nachtelijke polyurie kan ontstaan door perifere oedemen die 's nachts geresorbeerd worden door de liggende houding. Tijdens de late avond of 's nachts veel drinken leidt uiteraard ook tot een verhoogde nachtelijke urineproductie. (13)

Globale polyurie kan voorkomen bij diabetes mellitus (door het osmotisch effect van glucose), bij diabetes insipidus (tekort of onvoldoende werking van ADH). Voor de volledigheid worden enkele andere oorzaken vernoemd in onderstaande tabel 3. (13)

Tabel 3: Oorzaken van nycturie (13)

Slaapstoornissen	Nachtelijke polyurie	Globale polyurie	Kleine blaascapaciteit
Primaire /secundaire slaapstoornissen	Perifeer oedeem	Diabetes mellitus	Syndroom van blaaspijn
Neurologische aandoeningen	Te hoge vochtinname 's avonds	Diabetes insipidus	Neurogene blaas
Psychiatrische aandoeningen	Defect circadiaans ritme ADH	Primaire polydipsie	Idiopathische detrusoractiviteit
Chronische pijn-aandoeningen	Medicatie	Hypercalcemie	Urineweginfectie
Abusus (alcohol, benzodiazepines, amfetamines, ...)	Tubulaire disfunctie	Medicatie	Benigne prostaathypertrofie
Medicatie	Slaap apneu syndroom	Obesitas	

De onderliggende oorzaken van polyurie zijn stoornissen in water diurese en/of osmotische diurese.

2.2.5 Pathofysiologie van polyurie

Waterdiurese wordt beïnvloed door ADH. (14) Dit hormoon verhoogt de resorptie van water in de distale tubulus en ductus colligens. Met andere woorden zorgt dit hormoon er voor dat je water kan ophouden. Als dit hormoon te weinig wordt geproduceerd of een ondermaats effect heeft op de nier ontstaat centrale dan wel nefrogene diabetes insipidus. Dit uit zich als polyurie met secundaire polydipsie.

Osmotische diurese wordt teweeggebracht door ANP en het Renine-Angiotensine-Aldosteron Systeem (RAAS). (18;26-30).

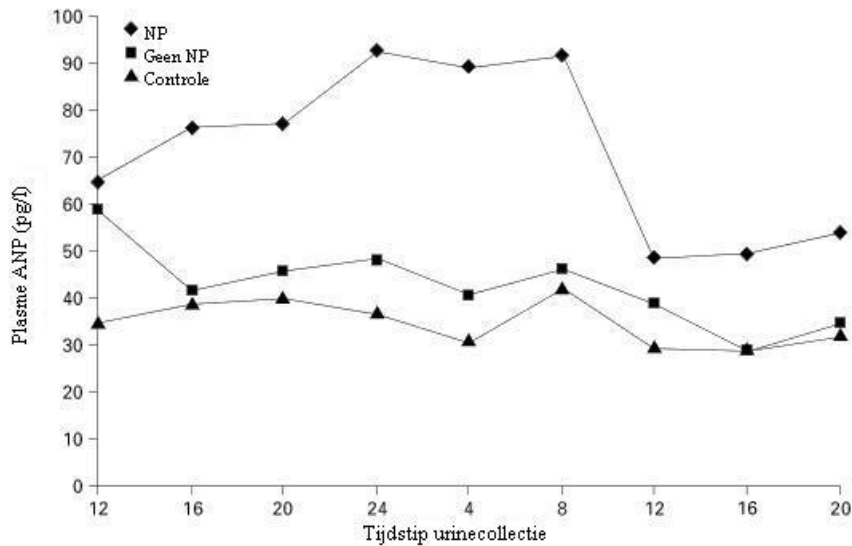
ANP wordt onder andere geactiveerd door een verhoogd intravasculair volume.

(18;26;28;29;31-35) ANP wordt geëxcreteerd door de atria en veroorzaakt een verhoogde natriurese ter hoogte van de nier. Bij nachtelijke polyurie is dit hormoon 's nachts overmatig aanwezig wat zorgt voor een verhoogde natriumuitscheiding. Hierdoor zal de patiënt meer zout verliezen. (18;26)

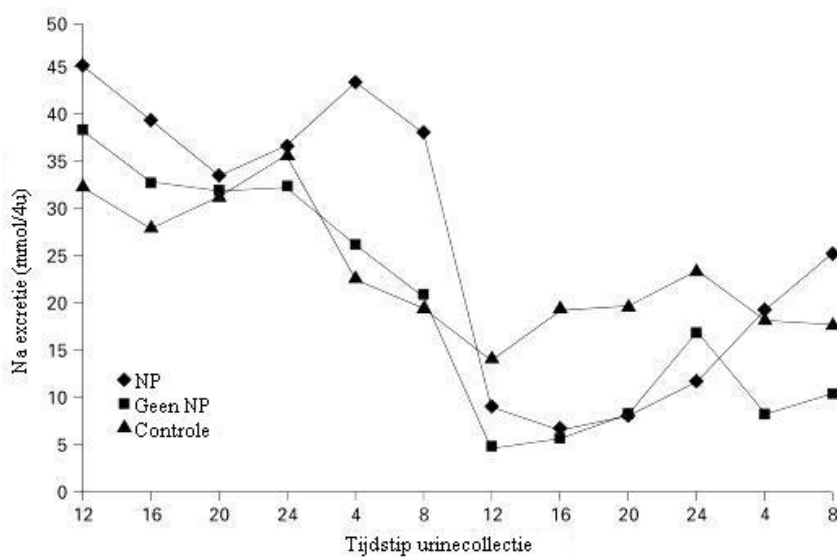
Het uitgescheiden natrium werkt osmotisch en trekt water met zich mee. Dit vertaalt zich dan in een verhoogde urineproductie met hoge osmolariteit.

ANP inhibeert verder de secretie van aldosteron en renine.

Aldosteron zorgt ervoor dat natrium gereabsorbeerd wordt in de ductus colligens door stimulatie van Na^+/K^+ -ATP afhankelijke pompen. (32;33) Door deze functie te inhiberen zal er dus nog meer natrium geloosd worden in de urine.



Figuur 7: Patiënten met nachtelijke polyurie (NP) vertonen een hogere plasma ANP waarde dan de controlegroep. Het verschil is 's nachts het meest uitgesproken. Deze studie werd uitgevoerd bij 26 patiënten met NP (gemiddelde leeftijd 73,4 jaar) en 8 zonder NP (gemiddelde leeftijd 74.7 jaar). (26) Toestemming verkregen van de auteur



Figuur 8: Patiënten met nachtelijke polyurie (NP) scheiden 's nachts meer natrium uit dan overdag. Indien men deze grafiek vergelijkt met de voorgaande ziet men hoe de natriumexcretie gelijkloopt met de plasma ANP spiegel. (26) Toestemming verkregen van de auteur

2.2.6 Diagnose

In de praktijk komen patiënten met de klacht dat ze 's nachts moeten opstaan om te plassen of dat hun dagelijkse activiteiten gestoord worden door een abnormale plasfrequentie.

Door middel van een plaskalender wordt de aanwezigheid van polyurie (globaal of nachtelijk) en/of een verkleinde functionele blaascapaciteit vastgesteld. (12-17)

In geval van polyurie wordt een nierfunctieprofiel opgesteld om onderscheid te maken tussen osmotische en waterdiurese (of een combinatie). Een nierfunctieprofiel opstellen houdt in dat om de 3 uur gedurende 24 uur een urinestaal genomen wordt. Hieruit wordt de mate van diurese, osmolaliteit en natrium-, ureum- en creatinineconcentraties gemeten. Een lage osmolaliteit pleit voor waterdiurese terwijl een osmotische diurese meestal onder de vorm van verhoogde natriurese voorkomt. Dit onderscheid laat een doelgerichte behandeling op basis van de pathofysiologie toe. (30)

2.2.7 Therapie

Bij iedere patiënt worden eerst de onderliggende oorzaak behandeld (bv. onregelde diabetes mellitus) en conservatieve maatregelen getroffen. (14) Deze houden in dat de patiënt niet te veel meer mag drinken 's avonds. Alcohol en cafeïne worden best vermeden.

Steunkousen en de benen omhoog leggen 's avonds kunnen nut hebben bij nycturie veroorzaakt door perifeer oedeem dat 's nachts geresorbeerd wordt.

Nachtelijke polyurie door een verhoogde waterdiurese kan behandeld worden met desmopressine. (12-14;17) Dit ADH- analoog stimuleert V2-receptoren in de ductus colligens van de nefronen in de nier, waardoor aquaporinekanalen gemobiliseerd worden en water gereabsorbeerd wordt in plaats van uitgescheiden. Dit leidt tot een verminderde mictiefrequentie 's nachts, een lagere nachtelijke urineproductie en een betere levenskwaliteit. Het belangrijkste neveneffect is hyponatriëmie. Omwille van deze nevenwerking moeten de natriumspiegels in het bloed opgevolgd worden bij oudere patiënten. Deze bijwerking is meer uitgesproken bij 65-plussers, waardoor desmopressine gecontraïndiceerd is in deze groep.

Polyurie door verhoogde osmotische diurese behandelen is een ander verhaal. Aangezien desmopressine effect heeft in de ductus colligens kan het niet gebruikt worden bij osmotische diurese: deze heeft al plaatsgevonden op een proximale niveau in de nier. Een oorzakelijke behandeling instellen, wat niet evident is, is cruciaal maar desondanks kan de nycturie verder

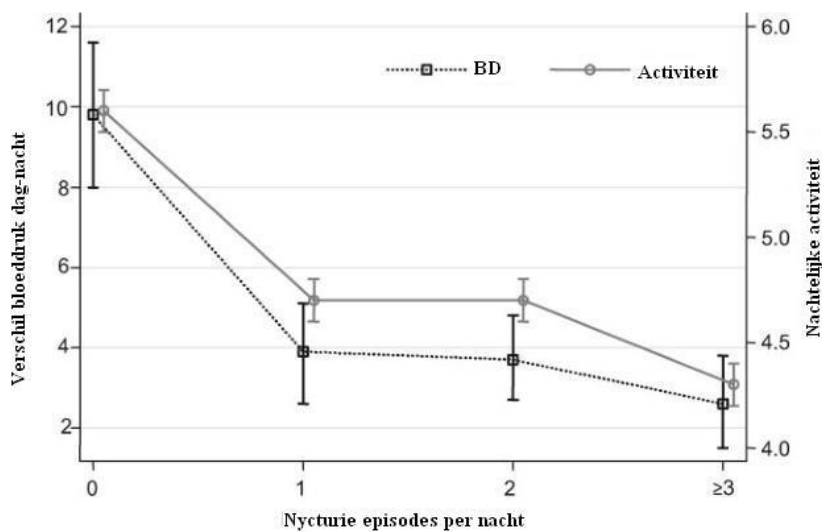
schrijden. 's Morgens of zes uur voor het slapengaan wordt furosemide gegeven om overdag het overtollig vocht af te drijven. (18;30)

2.2.8 Nycturie, zoutgevoeligheid en hypertensie

Onder normale omstandigheden bestaat een circadiaans ritme van verschillende bloeddrukregulatoren zoals ADH, ANP en RAAS. (26;28;29;31) Dit zorgt ervoor dat de bloeddruk 's nachts lager is dan overdag.

Bij ouderen kan dit diurnaal ritme omkeren, waardoor de spiegels van ADH 's nachts dalen en die van ANP en angiotensine-II stijgen. (26;28-30;33)

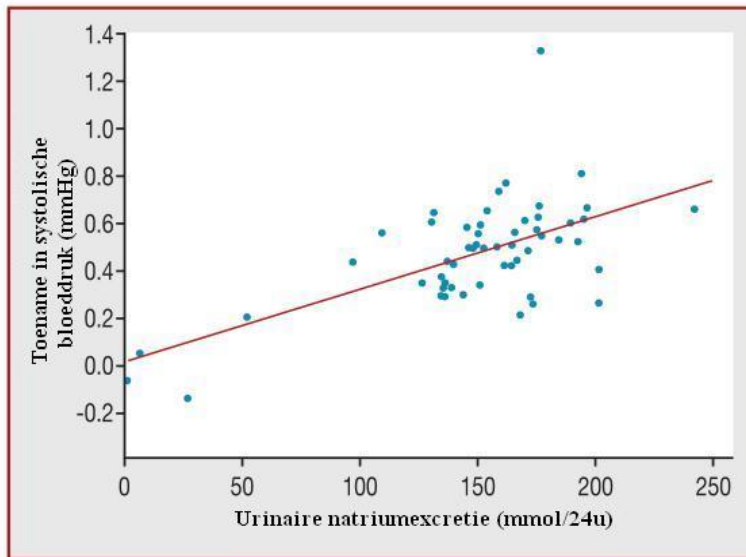
Dit zorgt voor 'non-dipping blood pressure', een fenomeen waarbij de bloeddruk 's nachts even hoog of hoger is dan overdag. Dit wordt veroorzaakt door het hogere activiteitsniveau tijdens de slaap. (36) De activiteit en de bloeddruk stijgen naarmate men 's nachts vaker moet opstaan om te plassen. Frequente nycturie episodes zijn dus gecorreleerd met een non-dippingpatroon. Dit non-dippingpatroon zou ook een mogelijke verklaring zijn voor de cardiovasculaire mortaliteit van nycturie.



Figuur 9: Relatie tussen non-dipping en nycturie. Het verschil in bloeddruk (BD) overdag en 's nachts is gecorreleerd met het aantal nycturie episodes per nacht. (36) Toestemming verkregen van de auteur

Non-dippers lijden overigens vaak aan zoutgevoelige hypertensie. (36) Dit houdt in dat hun bloeddruk stijgt ten gevolge van een verhoogde zoutinname. Normaal gezien vangt de nieren dit op om de bloeddruk constant te houden. Bij zoutgevoelige individuen zijn de nieren niet in staat de verhoogde zoutopname te compenseren met een verhoogde zoutexcretie.

Natrium stapelt op en veroorzaakt een verhoogd intravasculair volume. Dit zorgt voor een bloeddrukstijging. Plasma ANP stijgt onder invloed van het verhoogd intravasculair volume. (18;26) Daarom wordt er continu zout afgevoerd langs de urinewegen. Dit werkt osmotisch en trekt water mee. Dit verklaart waarom zoutgevoelige individuen vaker last hebben van polyurie en nycturie.



Figuur 10: Relatie tussen osmotische diurese en systolische bloeddruk. Hoe meer natrium in de urine (vooral afhankelijk van ANP en aldosteron), hoe hoger de systolische bloeddruk. Lineair verband met correlatiecoëfficiënt van 0,0034. (37;38) Toestemming verkregen van de auteur

We vermoeden een link tussen zoutgevoeligheid en polyurie aangezien polyurie verband heeft met een non-dippingpatroon. Dit non-dippingpatroon is eveneens gecorreleerd met zoutgevoeligheid.

In het verder verloop achterhalen we het verband tussen haptoglobine polymorfismen en polyurie.

3. Methode en materialen

Deze masterproef behoort tot de opleiding 'master in de geneeskunde' en maakt deel uit van de doktoraatsproef van dr. Marie-Astrid Denys.

3.1 Studieopzet

Het doel van deze scriptie is om het verband tussen haptoglobinefenotype en het patroon van urineproductie te analyseren.

Er bestaat een associatie tussen polyurie en zoutgevoeligheid, maar ook tussen zoutgevoeligheid en haptoglobinefenotype (zie literatuurstudie). Hierdoor kunnen we een onderzoek rechtvaardigen om een direct verband tussen de twee te onderzoeken.

3.2 Literatuuronderzoek

Vooraleer het onderzoek begon werd een literatuurstudie uitgevoerd om het verband tussen nachtelijke polyurie en zoutgevoeligheid aan te tonen, alsook om haptoglobine te linken met zoutgevoeligheid. Hiervoor werden databanken PubMed en Web of Science gebruikt.

Zo werd stapsgewijs een onderzoek gestart naar haptoglobinepolymorfismen, nycturie, nachtelijke polyurie, polyurie en zoutgevoeligheid.

3.3 Studiepopulatie

Voor dit onderzoek wordt de studiepoulatie uit het doktoraatsonderzoek van dr. An-Sofie Goessaert gebruikt. De inclusiecriteria voor dit doctoraatsonderzoek zijn dat de patiënten ouder dan 18 jaar zijn. Tot de exclusiecriteria behoren patiënten met een neurologische oorzaak van urologische klachten, zoals multiple sclerose of de ziekte van Parkinson.

De exclusiecriteria van dit onderzoek waren patiënten die de osmolaliteitstest niet doorlopen hebben en haptoglobinevarianten die onduidelijke staalinterpretatie veroorzaakten.

Zo bekomen we 177 stalen die aan statistische analyse onderworpen worden.

3.4 Ethische toestemming

De toestemming van het ethisch comité van het Universitair Ziekenhuis Gent werd op 5 oktober 2011 verleend onder het nummer EC2011/565.

3.5 Materialen

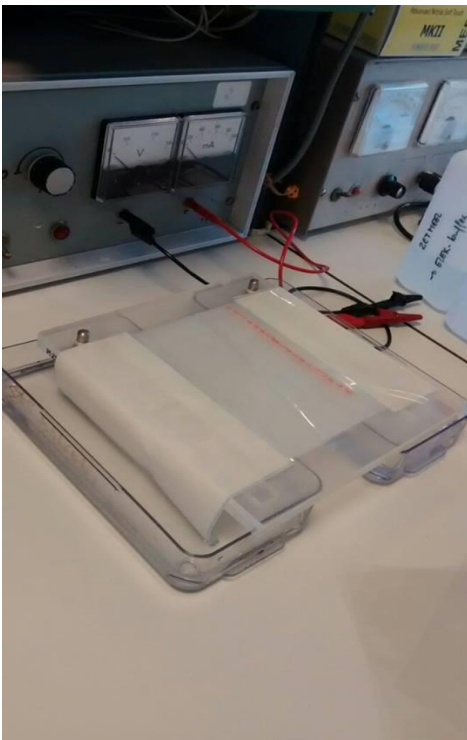
3.5.1 Zetmeel-elektroforese

Voor het bepalen van het haptoglobinesubtype voeren we een zetmeel-elektroforese uit. Het protocol wordt hieronder kort beschreven.

De gel wordt bereid uit zetmeel met een TRIS/citraatbuffer die na oplossen opstijft in een frame. Nadien wordt de gel gesneden om een vlotte scheiding van eiwitten mogelijk te maken.

De reactie van haptoglobine met hemoglobine wordt uitgelokt door een EDTA-staal te zuiveren van plasma om enkel het hematocriet over te houden. Nadien worden de rode bloedcellen gelyseerd om hemoglobine te laten vrijkomen. Dit hemoglobine mengen we met de stalen en het mengsel wordt vervolgens geapliceerd op Whatmannpapier.

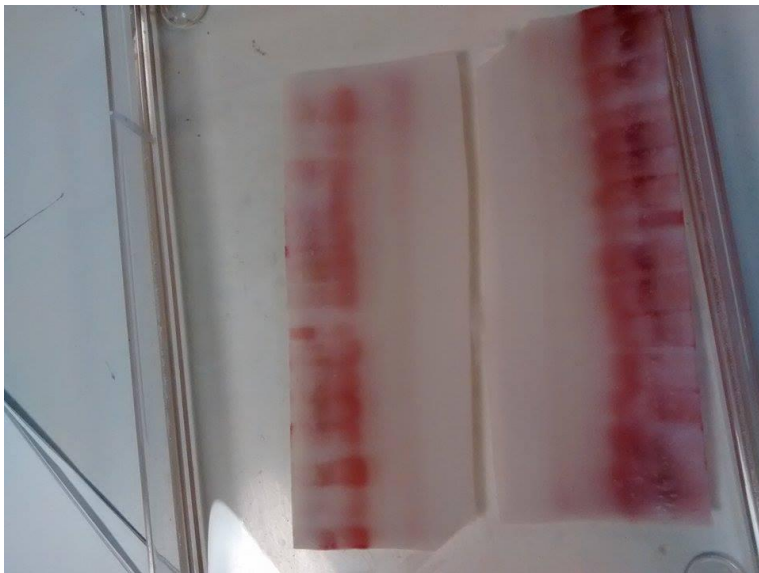
De stukjes Whatmannpapier met het staal op worden aangebracht op de gel. De gel wordt aangesloten op een stroombron (300V, 30mA) en conductie verzekerd door gebruik van een running buffer (boraatbuffer). Nadat de bandjes ongeveer 2-3 cm gemigreerd zijn, wordt de stroombron afgekoppeld. Onderstaande foto toont de opstelling.



De gel wordt ondergedompeld in een mengsel van kleurvloeistof AEC/DMF met een acetaatbuffer (azijnzuur en natriumacetaat) en al druppelend wordt waterstofperoxide toegevoegd. Het geheel wordt een uur geïncubeerd op 37°C. De kleuring wordt gestopt door de kleurvloeistof te verwijderen en verdere kleuring wordt gestopt door acetaat over de gel te gieten.

Nu zien we het scheidingspatroon van de haptoglobine. Dit wordt onafhankelijk bekeken door professor Joris Delanghe, dokter Marie-Astrid Denys en door mezelf. Nadien vergelijken we onze interpretatie en komen we tot een consensus over de twijfelgevallen.

Hieronder een foto van een afgewerkte gel.



3.5.2 Nierfunctieprofiel

Een nierfunctieprofiel houdt in dat de onderzochte personen om de 3 uur plassen gedurende 24u. Hier moeten ze telkens het volume opschrijven en een staal van de urine nemen. Indien ze tussendoor ook naar het toilet moesten wordt hen gevraagd ook hier het volume van te noteren zodanig de 24u diurese gekend is. Deze 8 stalen worden onderzocht op creatinine, ureum, osmolaliteit en natrium om de 24-uurs schommelingen in kaart te brengen.

De 8 stalen corresponderen met een eerste staal (U1) om 10u (urine van 7.01 - 10.00), U2 om 13u (10.01-13.00), U3 om 16u (13.01-16.00), U4 om 19u (16.01-19.00), U5 om 22u (19.01-22.00), U6 om 1u (22.01-1.00), U7 om 4u (1.01-4.00) en U8 om 7u (4.01-7.00).

Verder werd bloed afgenomen en hierin werd haptoglobineconcentratie, osmolaliteit, creatinine, natriumconcentratie en ureum bepaald.

3.6 Statistische analyse

Statistische analyse gebeurt met SPSS versie 22. Sigmaplot 13 produceert de boxplots.

Een dubbelzijdig getest P-waarde $<0,05$ wordt als statistisch significant beschouwd.

De mediaan en interkwartiel range worden gebruikt als beschrijvende parameters. De Mann-Whitney U test en Kruskal-Wallis test analyseren niet-parametrische variabelen. Logistische regressie bepaalt of haptoglobine predictief is voor polyurie.

De Wilcoxon signed-rank test onderzoekt verschillen tussen twee continue variabelen.

4 Resultaten

4.1 Algemene kenmerken

De studiegroep bestaat uit 177 deelnemers waarvan 111 vrouwen en 66 mannen. De gemiddelde leeftijd van de populatie bedraagt 60 jaar (met een standaarddeviatie van 16 jaar). In onderstaande tabel 4 worden de verschillende fenotypes vergeleken. De groepen zijn niet significant verschillend op vlak van leeftijd, geslacht, BMI en nachtelijke polyurie-index.

Hp 1-1 heeft de hoogste haptoglobineconcentratie in plasma ($12 \mu\text{mol/l}$), gevolgd door Hp 2-1 ($8 \mu\text{mol/l}$) en Hp 2-2 ($4 \mu\text{mol/l}$) ($p < 0.001$).

Een grotere proportie van de Hp 1-1 groep heeft globale polyurie (32% vs 16% bij Hp 2-1 en Hp 2-2). De testgroepen zijn te klein om statistische significantie te bereiken ($p = 0.070$ tussen Hp 1-1 en Hp 2-1 en $p = 0.093$ tussen Hp 1-1 en Hp 2-2).

Tabel 6 vergelijkt personen met globale polyurie en personen zonder globale polyurie. De meerderheid van de patiënten met globale polyurie vrouwen zijn (81% vrouw). BMI is niet significant verschillend dus gewicht is hier geen confounder.

Hp 1-1 lijkt gevoeliger aan globale polyurie dan de andere fenotypes (32% Hp 1-1 vs 16% in de NP groep en 16% in de controlegroep).

Tabel 4: Algemene kenmerken van de studiepopulatie

	Studiegroepen			Kruskal-Wallis	Mann-Whitney U		
	Haptoglobine 1-1 (n=28)	Haptoglobine 2-1 (n=91)	Haptoglobine 2-2 (n=58)	P-waarde	P-waarde 1-1 vs. 2-1	P-waarde 1-1 vs. 2-2	P-waarde 2-1 vs. 2-2
Leeftijd	66 (55-71)	64 (48-69)	66 (53-74)	0.210	0.341	0.712	0.088
Geslacht (% vrouw)	54	65	64	0.549	0.284	0.366	0.897
BMI (7 missing)	26 (24-30)	25 (22-27)	25 (23-28)	0.071	0.045	0.656	0.084
Urineproductie (ml) per kg lichaamsgewicht per 24u	29 (24-43)	28 (23-36)	30 (23-37)	0.649	0.367	0.431	0.890
% globale polyurie (24u-urineproductie >40ml/kg/24u)	32	16	16	0.144	0.070	0.093	0.974
Haptoglobine concentratie (g/l)	1.4 (1.0-1.7)	1.1 (0.9-1.5)	1.2 (0.8-1.6)	0.154	0.046	0.157	0.772
Haptoglobine concentratie (μmol/l)	16 (12-20)	8 (6-10)	4 (3-5)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Tabel 5: Algemene kenmerken van de controlepopulatie vs NP zonder polyurie vs globale polyurie

	Studiegroepen			Kruskal-Wallis	Mann-Whitney U		
	Controle (n=38)	NP zonder globale polyurie (n=100)	Globale polyurie (n=32)	P-waarde	P-waarde controle vs. NP zonder polyurie	P-waarde controle vs. polyurie	P-waarde NP zonder polyurie vs. polyurie
Leeftijd	52 (37-66)	68 (58-73)	63 (47-72)	0.001	<0.001	0.203	0.056
Geslacht (%vrouw)	48	53	81	0.011	0.103	0.225	0.005
BMI (7 missing)	24 (22-26)	25 (23-29)	25 (23-26)	0.097	0.068	0.746	0.117
Urineproductie (ml) per kg lichaamsgewicht per 24u	29 (24-33)	25 (21-32)	49 (42-55)	<0.001	0.098	<0.001	<0.001
% globale polyurie (24u-urineproductie >40ml/kg/24u)	0	0	100	<0.001	1.000	<0.001	<0.001
Haptoglobine concentratie (g/l)	1.3 (0.8-1.7)	1.2 (0.9-1.7)	1.2 (0.9-1.4)	0.751	0.513	0.991	0.588
Haptoglobine concentratie (µmol/l)	6 (4-10)	7 (4-10)	8 (5-12)	0.526	0.526	0.268	0.448

NP: Nachtelijke polyurie-index < 33%

Tabel 6 Vergelijking algemene kenmerken globale polyurie versus geen globale polyurie

	Globale 24u-polyurie (n=32)	Geen globale 24u-polyurie (n=138)	P-waarde Man-W-U
Leeftijd	63 (47-72)	66 (53-72)	0.317
Geslacht (% vrouw)	81	57	0.012
BMI (7 missing)	25 (23-26)	25 (23-28)	0.286
Urineproductie (ml) per kg lichaamsgewicht per 24u	49 (42-55)	27 (21-33)	<0.001
Haptoglobine concentratie (µmol/l)	8 (5-12)	7 (4-10)	0.345

4.2 Hp 1-1 versus de rest

Logistische regressie toont aan dat globale polyurie voorspellend is voor Hp 1-1.

Hp 1-1 is borderline significant ($p=0.054$) om ook het omgekeerde te voorspellen. De Chi^2 -test (tabel 9) toont wel dat Hp 1-1 verband houdt met globale polyurie. Onderstaande tabellen tonen de analyse waaruit blijkt dat mensen met dit fenotype meer dan dubbel zo veel kans hebben op het ontwikkelen van globale polyurie dan de rest van de populatie.

Tabel 7: Logistische regressie voor globale polyurie

	B	Sig.
Hapto1 allel	-,116	NS
Hapto1 versus rest	2,912	0,028
Leeftijd	-,006	NS
Geslacht	3,622	,010
BMI	-,054	NS

Globale polyurie is voorspellend voor het geslacht en voor Hp 1-1. De andere variabelen zijn niet significant (NS).

Tabel 8: Logistische regressie voor Hp 1-1 vs rest

	B	Sig.
Leeftijd	,009	NS
Geslacht	-,624	NS
BMI	,061	NS
Polyurie	0,896	,054
NPI>33%	-,382	NS
NUP>90 ml/u	,207	NS

Tabel 9: Hp 1-1 vs Hp 2-1 en Hp 2-2

	Globale 24u-polyurie (n=32)	Geen globale 24u-polyurie (n=138)	P-waarde Chi^2
Haptoglobine 1-1 (n (%))	9 (28)	19 (14)	0.049
Haptoglobine 2-1 + 2-2 (n (%))	23 (72)	119 (86)	

7 missings vanwege ongekend gewicht.

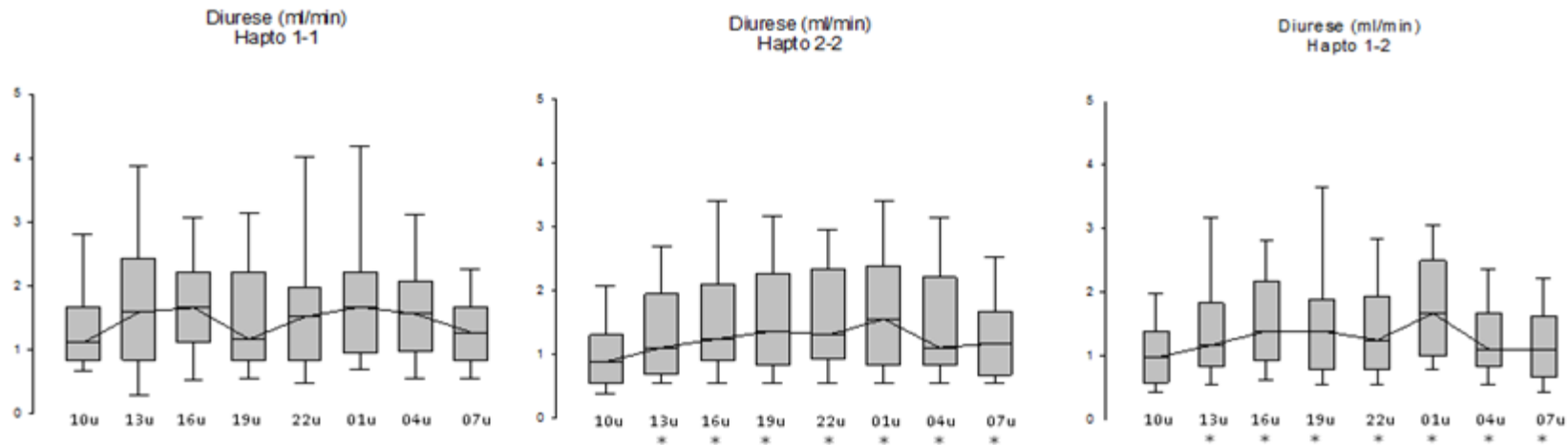
4.3 Vergelijking volgens fenotype

In onderstaande boxplots zijn het verloop van de grafieken en de verschillen die bestaan tussen de verschillende fenotypes belangrijk.

Verder wordt vergeleken of er een verschil in de loop van de dag bestaat. De 8 stalen worden vergeleken met het eerste staal (U1:10u) om te zien of er schommelingen bestaan.

Een * in de figuur wilt zeggen dat er een significant verschil (Wilcoxon test, $p < 0.05$) ten opzichte van U1 (10u) bestaat.

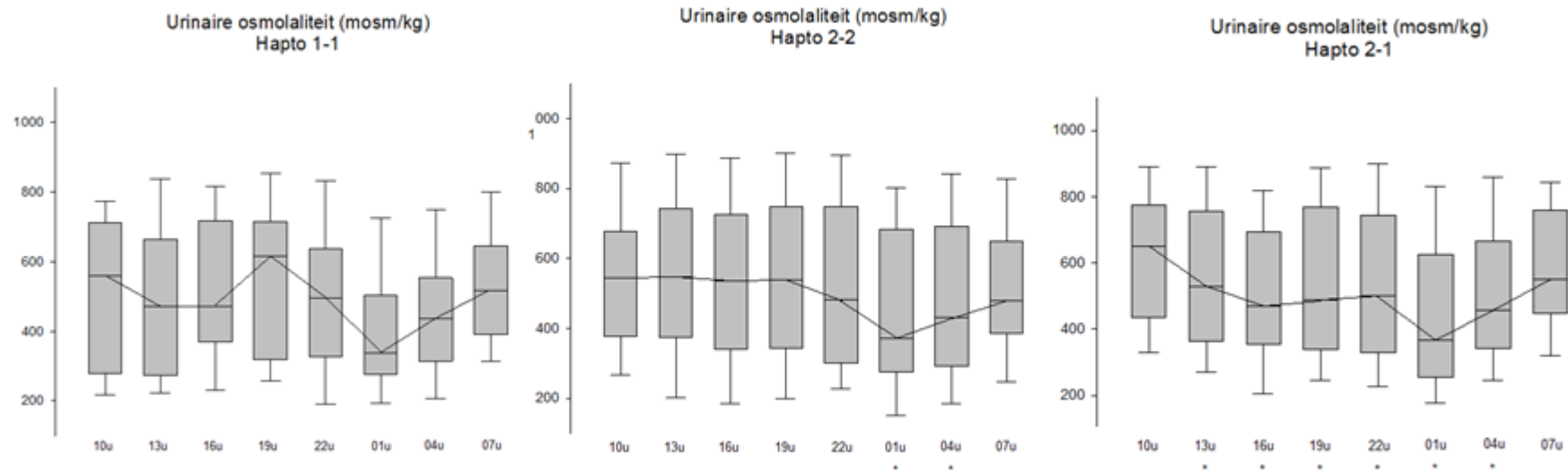
We analyseren de diurese (ml/min), urinaire osmolaliteit (mosm/kg), vrij waterklaring (ml/min) en natriumklaring (ml/min).



Figuur 11: Boxplots diuresis

Het verloop is gelijkaardig bij Hp 2-1 en Hp 2-2 maar duidelijk verschillend van dat van Hp 1-1.

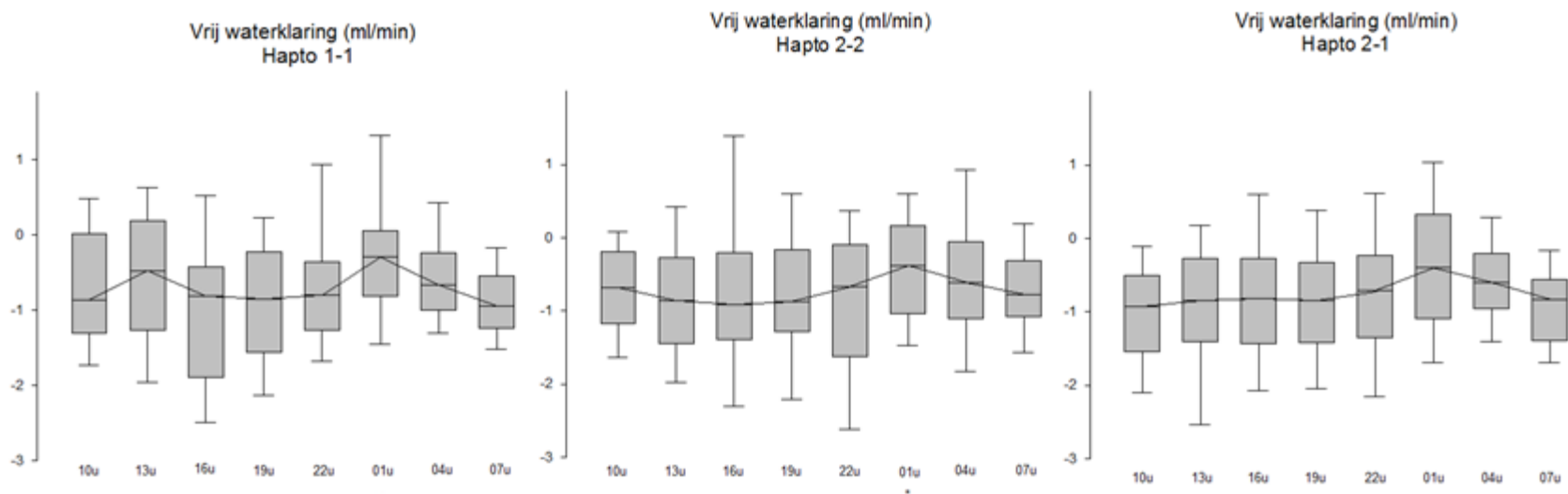
De diuresis ligt gemiddeld hoger bij Hp 1-1 dan bij de andere fenotypes. Buiten het dal om 19u produceert de Hp 1-1 groep steeds meer urine per tijdseenheid dan de andere groepen.



Figuur 12: Boxplots urinaire osmolaliteit

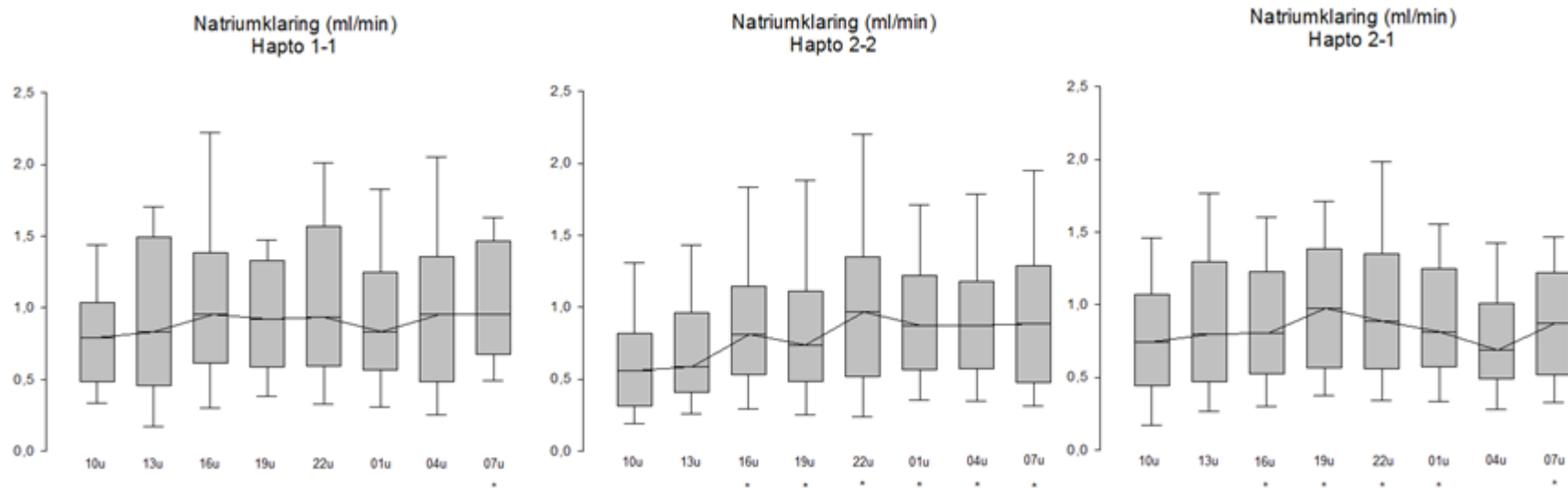
De urinaire osmolaliteit van Hp 1-1 toont een sterk fluctuerend patroon terwijl die bij Hp 2-2 eerder constant is (met een nachtelijke dip). Het patroon van Hp 1-1 lijkt op het omgekeerde van de diurese.

Het gaat hier over diurese met lage osmolaliteit. Hoe meer urine geproduceerd wordt, hoe lager de concentratie aan osmotische deeltjes.



Figuur 13: Boxplots vrij waterklaring

De vrij waterklaring toont dat Hp 1-1 minder in staat is urine te concentreren. Om 13u zien we een piek in vrij waterklaring die niet voorkomt in de andere groepen. Een mogelijke verklaring hiervoor is dat deze personen door het middageten water en zout binnenkrijgen. Vanwege de zoutgevoeligheid zijn ze niet in staat om het zout direct uit te scheiden met het water, vandaar dat de urine relatief meer water bevat. De andere fenotypes kunnen beter om met zout. Hierdoor blijft de vrij waterklaring eerder constant.



Figuur 14: Boxplots natriumklaring

Natrium wordt aan een continue snelheid geklaard in de zoutgevoelige Hp 1-1 groep. Ze zijn niet in staat het opgenomen natrium meteen uit te scheiden dus moeten ze dit kwijt zien te raken over een langere periode. Hp 2-2 kan het vrijwel direct kwijt. Dit verklaart waarom er meerdere pieken te zien afgewisseld door periodes van lage klaring.

5 Discussie

5.1 Bespreking van resultaten en discussie

We confirmeren dat de aanwezigheid van het Hp¹ allel de concentratie van haptoglobine in het plasma verhoogt (zie tabel 4). (6)

Globale polyurie komt frequenter voor bij Hp 1-1 dan bij de andere fenotypes (zie tabel 9). Deze relatie is onafhankelijk van de haptoglobineconcentratie aangezien er geen verschil in concentratie bestaat tussen de controlegroep, de groep met NP zonder globale polyurie en de groep met globale polyurie (zie tabel 5).

Opvallend is dat er grote verschillen bestaan tussen U1 en U6 in urinaire osmolaliteit maar dat dit voor Hp 1-1 toch niet significant is vanwege de kleine populatie (n=28). Dit gebeurt vaak en kan een verklaring zijn waarom zelden significantie bereikt wordt in de Hp 1-1 groep.

Hp 1-1 is meer zoutgevoelig dan andere fenotypes. Aangezien ze niet in staat zijn om zout snel te klaren (door urine te concentreren) moeten ze dit aan een traag tempo doen gedurende een langere tijd. Dit wordt duidelijk aan de hand van de natriumklaring. We zien hier een continue klaringssnelheid waar de snelheid veel meer variabel is bij de andere fenotypes (pieken en dalen).

Zout is osmotisch actief en trekt water mee. Dit zien we in de boxplots van de diurese waar ze steeds meer urine produceren dan de rest.

De vrij waterklaring toont dat er relatief meer water aanwezig is de urine van Hp 1-1 dan in de urine van Hp 2-2. Dit suggereert dat globale polyurie gaat over waterdiurese met lage osmolaliteit.

5.2 Kritische reflectie

De analyse werd uitgevoerd bij een populatie van 177 personen. Dit is een relatief kleine testgroep waardoor het maken van statistische conclusies moeilijk is. Aangezien de groep Hp 1-1 slechts 28 deelnemers bevat, is de kracht van de test beperkt.

De studiepopulatie bestaat enkel uit blanke Belgen. Deze bevindingen zijn niet te extrapoleren

naar bijvoorbeeld zwart Afrika, aangezien de frequentie van haptoglobinemutanten daar veel hoger ligt.

Er bestaat geen objectieve manier om de elektroforese uit te lezen. De interpretatie van het fenotype is dus afhankelijk van de klinisch bioloog.

Een volgende tekortkoming is dat het protocol van de nierfunctieprofielen nogal strikt is en de realiteit niet zo goed benadert. Het protocol dwingt de participanten meerdere keren per nacht op te staan om te plassen waardoor het circadiaans ritme gestoord wordt en de datacollectie niet 100% overeenstemt met de realiteit.

De studiegroep bestaat uit patiënten die consulteren op de polikliniek urologie, dus patiënten met blaas- of diurese problematiek. Zo stelt de 'controlegroep' dus geen gezonde populatie (op urologisch vlak) voor.

5.3 Conclusies

Hp 1-1 is predictief voor globale polyurie. Deze personen produceren continu te veel urine. Dit kan verklaard worden door hun grote zoutgevoeligheid. Hun nieren zijn niet capabel om zout uit te scheiden aan een adequate snelheid waar een niet-zoutgevoelig persoon een natriumload wel op korte tijd kwijt kan. Het patroon van natriumklaring en vrij waterklaring toont dit duidelijk.

Dit zorgt ervoor dat Hp 1-1 continu aan een laag tempo zout uitscheidt. Door osmose volgt het water en geschiedt dus een polyurie met lage osmolaliteit.

5.4 Suggesties voor verder onderzoek

Dit onderzoek is voornamelijk gericht op het verband van haptoglobine fenotype en nachtelijke en globale polyurie. Het zou interessant zijn om de drankinname te registreren. Hiermee kan aangetoond worden dat mensen met globale polyurie heel de dag te veel plassen en ook heel de dag dorst hebben, wat resulteert in een hogere vochtinname.

Het onderzoek naar haptoglobine staat in wezen nog in zijn kinderschoenen. Het verband met zoutgevoeligheid, waar deze hele scriptie op steunt, is enkel epidemiologisch aangetoond. Enkele verklaringen werden vooropgesteld maar hieromtrent bestaat nog veel twijfel.

Ook dient onderzoek te gebeuren naar de mogelijkheid om dit alles in de praktijk te brengen. Kan haptoglobinebepaling in de toekomst een rol spelen in de behandelingsmogelijkheden van nycturie?

De haptoglobinebepaling door middel van elektroforese is enerzijds tijdrovend en anderzijds is de interpretatie afhankelijk van de klinisch bioloog. Een objectieve en efficiëntere techniek voor de fenotypering zou de bepaling meer bruikbaar maken.

Verder dient uitgezocht worden of de predictieve waarde van haptoglobine sterk genoeg is om een onderscheid te maken tussen globale en nachtelijke polyurie bij een patiënt met nycturie. Desmopressine mag namelijk niet gegeven worden bij globale polyurie. Momenteel gebeurt het onderscheid tussen globale en nachtelijke polyurie door middel van plaskalenders. Patiënten vullen dit echter niet graag in waardoor de betrouwbaarheid soms te wensen overlaat.

6 Referenties

- (1) Levy AP, Asleh R, Blum S, Levy NS, Miller-Lotan R, Kalet-Litman S, et al. Haptoglobin: Basic and Clinical Aspects. *Antioxidants & Redox Signaling* 2010 Jan;12(2):293-304.
- (2) Alayash AI. Haptoglobin: Old protein with new functions. *Clinica Chimica Acta* 2011 Mar 18;412(7-8):493-8.
- (3) Langlois MR, Delanghe JR. Biological and clinical significance of haptoglobin polymorphism in humans. *Clinical Chemistry* 1996 Oct;42(10):1589-600.
- (4) Chen YC, Lee CC, Huang CY, Huang HB, Yu CC, Ho YC, et al. Haptoglobin Polymorphism as a Risk Factor for Chronic Kidney Disease: A Case-Control Study. *American Journal of Nephrology* 2011;33(6):510-4.
- (5) De Bacquer D, De Backer G, Langlois M, Delanghe J, Kesteloot H, Kornitzer M. Haptoglobin polymorphism as a risk factor for coronary heart disease mortality. *Atherosclerosis* 2001 Jul;157(1):161-6.

- (6) Van Vlierberghe H, Langlois M, Delanghe J. Haptoglobin polymorphisms and iron homeostasis in health and in disease. *Clinica Chimica Acta* 2004 Jul;345(1-2):35-42.
- (7) Delanghe JR, Duprez DA, Debuyzere ML, Bergez BM, Callens BY, Lerouxroels GG, et al. Haptoglobin Polymorphism and Complications in Established Essential Arterial-Hypertension. *Journal of Hypertension* 1993 Aug;11(8):861-7.
- (8) Ines Armando, Prasad Konkalmatt, Robin A. Felder, Pedro A. Jose. The renal dopaminergic system: novel diagnostic and therapeutic approaches in hypertension and kidney disease *Transl Res.* 2014 Jul 25. pii: S1931-5244(14)00269-2
- (9) Weinberger MH, Miller JZ, Fineberg NS, Luft FC, Grim CE, Christian JC. Association of Haptoglobin with Sodium Sensitivity and Resistance of Blood-Pressure. *Hypertension* 1987 Oct;10(4):443-6.
- (10) Luft FC, Miller JZ, Grim CE, Fineberg NS, Christian JC, Daugherty SA, et al. Salt Sensitivity and Resistance of Blood-Pressure - Age and Race As Factors in Physiological-Responses. *Hypertension* 1991 Jan;17(1):I102-I108.
- (11) Kojima S, Inenaga T, Matsuoka H, Kuramochi M, Omae T, Nara Y, et al. The Association Between Salt Sensitivity of Blood-Pressure and Some Polymorphic Factors. *Journal of Hypertension* 1994 Jul;12(7):797-801.
- (12) Van Kerrebroeck P. Nocturia: current status and future perspectives. *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology* 2011 Oct;23(5):376-85.
- (13) Cornu JN, Abrams P, Chapple CR, Dmochowski RR, Lemack GE, Michel MC, et al. A Contemporary Assessment of Nocturia: Definition, Epidemiology, Pathophysiology, and Management-a Systematic Review and Meta-analysis. *European Urology* 2012 Nov;62(5):877-90.
- (14) Appell RA, Sand PK. Nocturia: Etiology, diagnosis, and treatment. *Neurourology and Urodynamics* 2008;27(1):34-9.
- (15) Bosch JLHR, Weiss JP. The Prevalence and Causes of Nocturia. *Journal of Urology* 2010 Aug;184(2):440-6.
- (16) Rembratt A, Norgaard JP, Andersson KE. What is nocturnal polyuria? *Bju International* 2002 Dec;90:18-20.

- (17) Goessaert AS, Krott L, Walle JV, Everaert K. Exploring nocturia: Gender, age, and causes. *Neurourol Urodyn* 2014 Jun 18.
- (18) Feldstein CA. Nocturia in arterial hypertension: a prevalent, underreported, and sometimes underestimated association. *Journal of the American Society of Hypertension* 2013 Jan;7(1):75-84.
- (19) van Dijk L, Kooij DG, Schellevis FG. Nocturia in the Dutch adult population. *Bju International* 2002 Nov;90(7):644-8.
- (20) Goessaert AS, Denys M, Deryckere S, Everaert K. Nocturnal Polyuria in A Nursing Home & Effect on Quality of Life. *Neurourology and Urodynamics* 2013 Aug;32(6):907-8.
- (21) Kupelian V, Fitzgerald MP, Kaplan SA, Norgaard JP, Chiu GR, Rosen RC. Association of Nocturia and Mortality: Results From the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of Urology* 2011 Feb;185(2):571-7.
- (22) Parthasarathy S, Fitzgerald M, Goodwin JL, Unruh M, Guerra S, Quan SF. Nocturia, Sleep-Disordered Breathing, and Cardiovascular Morbidity in a Community-Based Cohort. *Plos One* 2012 Feb 6;7(2).
- (23) Lightner DJ, Krambeck AE, Jacobson DJ, Mcgree ME, Jacobsen SJ, Lieber MM, et al. Nocturia is associated with an increased risk of coronary heart disease and death. *Bju International* 2012 Sep;110(6):848-53.
- (24) McKeigue PM, Reynard JM. Relation of nocturnal polyuria of the elderly to essential hypertension. *Lancet* 2000 Feb 5;355(9202):486-8.
- (25) Hernandez C, Estivill E, Prieto M, Badia X. Nocturia in Spanish patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia (LUTS/BPH). *Current Medical Research and Opinion* 2008 Apr;24(4):1033-8.
- (26) Carter PG, Cannon A, McConnell AA, Abrams P. Role of atrial natriuretic peptide in nocturnal polyuria in elderly males. *European Urology* 1999 Sep;36(3):213-20.
- (27) Fujikawa K, Kasahara M, Matsui Y, Takeuchi H. Human atrial natriuretic peptide is a useful criterion in

treatment of nocturia. Scandinavian Journal of Urology and Nephrology 2001 Sep;35(4):310-3.

- (28) Sugaya K, Nishijima S, Oda M, Owan T, Miyazato M, Ogawa Y. Biochemical and body composition analysis of nocturia in the elderly. Neurourology and Urodynamics 2008;27(3):205-11.
- (29) Matthiesen TB, Rittig S, Norgaard JP, Pedersen EB, Djurhuus JC. Nocturnal polyuria and natriuresis in male patients with nocturia and lower urinary tract symptoms. Journal of Urology 1996 Oct;156(4):1292-9.
- (30) Goessaert A, Schoenaers B, Everaert K, Vande Walle J. Long-Term Follow-Up of Patients with Nocturnal Enuresis Due to Detrusor Overactivity and Nocturnal Polyuria. Neurourology and Urodynamics 2012 Aug;31(6):1010-1.
- (31) Kamperis K, Hagstroem S, Radvanska E, Rittig S, Djurhuus JC. Excess diuresis and natriuresis during acute sleep deprivation in healthy adults. American Journal of Physiology-Renal Physiology 2010 Aug;299(2):F404-F411.
- (32) Silva ACSE, Flynn JT. The renin-angiotensin-aldosterone system in 2011: role in hypertension and chronic kidney disease. Pediatric Nephrology 2012 Oct;27(10):1835-45.
- (33) Pimenta E, Gordon RD, Stowasser M. Salt, aldosterone and hypertension. Journal of Human Hypertension 2013 Jan;27(1):1-6.
- (34) Blaustein MP, Leenen FHH, Chen L, Golovina VA, Hamlyn JM, Pallone TL, et al. How NaCl raises blood pressure: a new paradigm for the pathogenesis of salt-dependent hypertension. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 2012 Mar;302(5):H1031-H1049.
- (35) Frisoli TM, Schmieder RE, Grodzicki T, Messerli FH. Salt and Hypertension: Is Salt Dietary Reduction Worth the Effort? American Journal of Medicine 2012 May;125(5):433-9.
- (36) Agarwal R, Light RP, Bills JE, Hummel LA. Nocturia, Nocturnal Activity, and Nondipping. Hypertension 2009 Sep;54(3):646-51.
- (37) Delahaye F. Should we eat less salt? Archives of Cardiovascular Diseases 2013 May;106(5):324-32.

- (38) Elliott P. Intersalt - An International Study of Electrolyte Excretion and Blood-Pressure - Results for 24 Hour Urinary Sodium and Potassium Excretion. British Medical Journal 1988 Jul 30;297(6644):319-28.

7 Bijlagen

7.1 Figurenlijst

Figuur 1: De genstructuur van de allellen.	3
Figuur 2: Het verschil in ruimtelijke structuur van de fenotypes.	4
Figuur 3: Verschil in tijd tot endocytose van het Hp-Hb complex.	5
Figuur 4: De verdeling van zoutgevoeligheid onder de fenotypes.	7
Figuur 5: Hoe storend is nycturie bij patiënten met andere LUTS.	10
Figuur 6: Verschil in overlevingskans tussen 0 of 1 keer per nacht opstaan om te plassen tegenover 2 of meer keer. (21)	11
Figuur 7: Plasma ANP controle vs NP.	13
Figuur 8: Natriumexcretie controle vs NP.	13
Figuur 9: Relatie tussen non-dipping en nycturie.	15
Figuur 10: Relatie tussen osmotische diurese en systolische bloeddruk.	16
Figuur 11: Boxplots diurese.	26
Figuur 12: Boxplots urinaire osmolaliteit.	27
Figuur 13: Boxplots vrij waterklaring.	28
Figuur 14: Boxplots natriumklaring.	29

7.2 Tabellenlijst

Tabel 1: Eigenschappen van haptoglobine.	6
Tabel 2: Prevalentie nycturie per geslacht en leeftijd.	9
Tabel 3: Oorzaken van nycturie.	12
Tabel 4: Algemene kenmerken van de studiepopulatie.	21
Tabel 5: Algemene kenmerken van de controlepopulatie vs NP zonder polyurie vs globale polyurie.	22
Tabel 6: Vergelijking algemene kenmerken globale polyurie versus geen globale polyurie.	23

Tabel 7: Logistische regressie voor globale polyurie	24
Tabel 8: Logistische regressie voor Hp 1-1 vs rest	24
Tabel 9: Hp 1-1 vs Hp 2-1 en Hp 2-2.....	24

7.3 Afkortingenlijst

Hp: Haptoglobine

ref.: Referentiepopulatie

Hp-Hb: Haptoglobine-hemoglobine

NO: stikstofoxide

LDL: Low Density Lipoprotein

HDL: High Density Lipoprotein

LCAT: Lecithin—cholesterol acyltransferase

NPi: Nachtelijke Polyurie-index

NUP: Nachtelijke Urine Productie

LUTS: Lower Urinary Tract Symptoms

ADH: Anti-diuretisch Hormoon = vasopressine

ANP: Atrial Natriuretisch Peptide

RAAS: Renine-Angiotensine-Aldosteron Systeem

NP: Nachtelijke Polyurie

BD: Bloeddruk

U1: Urinestaal 1

BMI: Body Mass Index

Man-W-U: Mann-Whitney U test

B: Odds ratio

NS: Niet significant