



25
152
H3127
E A D F I Z J O L O G I I S T O S O W A N E J
INSTYTUT - CENTRUM MEDYCYN Y DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ PAN

Elżbieta Kompanowska-Jeziarska

ROLA HORMONU ANTYDIURETYCZNEGO W KSZTAŁTOWANIU
KOROWO-RDZENIOWEGO GRADIENTU ELEKTROLITOWEGO
W NERCE SZCZURA

R o z p r a w a d o k t o r s k a

P r o m o t o r :

Prof.dr hab. med. Janusz Sadowski

Serdecznie dziękuję mojemu promotorowi,
profesorowi Januszowi Sadowskiemu
za wszechstronną pomoc, cierpliwą opiekę
i cenne wskazówki.

Dziękuję również Bożenie Bądryńskiej,
Leszkowi Dobrowolskiemu a także wszystkim,
dzięki uprzejmości których praca ta
mogła powstać.

S P I S T R E Ś C I

1. W S T Ę P	1
1.1. DZIAŁANIE ADH NA TRANSPORT WODY I MOCZNIKA W KANALIKU ZBIORCZYM	3
1.2. DZIAŁANIE ADH NA FILTRACJĘ KŁĘBUSZKOWĄ (GFR)	6
1.3. WPŁYW ADH NA PRZEPIY W RDZENIOWY	7
1.4. BEZPOŚREDNI WPŁYW ADH NA TRANSPORT NaCl W PĘTLI HENLEGO	9
C E L P R A C Y	15
2. M A T E R I A Ł I M E T O D Y	16
2.1. MATERIAŁ DOŚWIADCZALNY	16
2.2. PRZYGOTOWANIE ZWIERZĄT DO DOŚWIADCZENIA	16
2.3. POMIAR PRZEPIY WU KRWI PRZEZ NERKĘ	18
2.4. POMIARY ADMITANCJI in situ	19
2.4.1. Podstawy teoretyczne	19
2.4.2. Charakterystyka elektrod	20
2.5. PRZEBIEG DOŚWIADCZENIA	22
2.6. METODY ANALITYCZNE I OBLICZENIA	24
2.7. DOŚWIADCZENIA UZUPEŁNIAJĄCE (SZCZURY W USPIENIU ETANOLOWYM)	26
2.8. ANALIZA STATYSTYCZNA	27
A D D E N D U M	29
3. W Y N I K I	33
3.1. DOŚWIADCZENIA KONTROLNE (grupa I)	33
3.2. INFUZJA ARGININOWEJ WAZOPRESYNY (grupa II)	34
3.3. INFUZJA DEAMINOARGININOWEJ WAZOPRESYNY (grupa III)	37

3.3.1. Infuzja dDAVP u zwierząt z niską lub umiarkowaną diurezą (grupa IIIa)	38
3.3.2. Infuzja dDAVP u zwierząt z wysoką diurezą (grupa IIIb)	40
3.4. PORÓWNANIE WYNIKÓW W GRUPACH I-III	42
3.5. DZIAŁANIE INDOMETACYN Y U ZWIERZĄT OTRZYMUJĄCYCH dDAVP	44
3.5.1. Zmiany admitancji	44
3.5.2. Zmiany czynności nerek	45
3.6. DZIAŁANIE AVP I dDAVP U SZCZURÓW W UŚPIENIU ETANOLOWYM	48
4. D Y S K U S J A	51
4.1. DZIAŁANIE NATURALNEGO HORMONU ANTYDIURETYCZNEGO (AVP)	51
4.2. DZIAŁANIE ANTYDIURETYCZNEGO AGONISTY WAZOPRESYNY (dDAVP)	56
4.3. NASTĘPSTWA BLOKADY PROSTAGLANDYN NA TLE INFUZJI dDAVP	58
4.4. DZIAŁANIE AVP I dDAVP U SZCZURÓW W UŚPIENIU ETANOLOWYM	60
P O D S U M O W A N I E I W N I O S K I	64
P I Ś M I E N N I C T W O	I-VIII
T A B E L E	1-9

1. W S T Ę P

Podwzgórzowo-przysadkowy układ antydiuretyczny wraz z nerkami oraz układ regulacji przyjmowania wody (mechanizm pragnienia) są kluczowymi elementami biorącymi udział w utrzymywaniu stałej objętości i stałego ciśnienia osmotycznego płynów ustrojowych. Obniżenie objętości oraz wzrost osmolalności płynów jest sygnałem stymulującym zarówno uwalnianie hormonu antydiuretycznego z tylnego płata przysadki jak i mechanizmu pragnienia. Sam hormon antydiuretyczny (ADH, wazopresyna) oprócz swego bezpośredniego wpływu na nerki prowadzącego do obniżenia usuwania wody z ustroju, powoduje również uczulenie mechanizmu pragnienia na bodźce osmotyczne (Chwalbińska-Moneta i Kozłowski, 1979) a więc dodatkowo pobudza także przyjmowanie wody. W stanach odwodnienia współdziałanie mechanizmów kontrolujących wydalanie i przyjmowanie wody prowadzi do przywrócenia prawidłowej objętości i stężenia osmotycznego płynów ustrojowych. Głównym przedmiotem zainteresowania w obecnej pracy były zagadnienia dotyczące regulacji nerkowego wydalania wody przez ADH.

W nerce istnieją dwa typy receptorów wrażliwych na wazopresynę: V_1 i V_2 . Różnią się one miejscem występowania oraz rodzajem wewnątrzkomórkowych wtórnych przekaźników (second messenger) uaktywnianych w następstwie związania cząsteczki hormonu z receptorem. Receptory V_1 zlokalizowano w kłębuszkach nerkowych: w komórkach mięśni gładkich tętniczek doprowadzających i odprowadzających, komórkach mezangialnych-a także w komórkach śródmiąższowych nerki (Rose i wsp., 1991). Związanie cząsteczki hormonu z receptorem tego typu powoduje hydrolizę fosfatydyloinozytolu. Powstający

w wyniku tej reakcji trójfosforan inozytolu powoduje nagromadzenie wolnych jonów wapniowych w cytoplazmie komórki (Williamson i Hansen, 1987). Są one wtórnym przekaźnikiem prowadzącym do zmiany funkcji komórki po uaktywnieniu receptora przez hormon.

W kanalikule zbiorczym oraz komórkach grubego odcinka ramienia wstępującego pętli Henlego niektórych ssaków zidentyfikowano receptory V_2 . Ten typ receptorów związany jest z układem cyklicznej adenylowej i powstawaniem cyklicznego AMP jako wtórnego przekaźnika (Skorecki i wsp., 1986). W ciągu ostatnich lat ustalono, że cyklaza adenylowa jest częścią wbudowanego w błonę systemu regulacyjnego, w skład którego wchodzi co najmniej trzy podjednostki. Są to: receptor, białko regulatorowe G oraz podjednostka katalityczna - C (Ross i Gilman, 1980). Uaktywniony receptor jest wiązany za pośrednictwem białka regulatorowego z podjednostką katalityczną cyklicznej adenylowej. W wyniku tego połączenia dochodzi do przekształcenia ATP w cAMP i wzrostu jego stężenia w cytoplazmie komórki wrażliwej na ADH (Kinter, 1988).

Odmienne typy receptorów pośredniczą w odmiennych reakcjach wywoływanych w nerce przez ADH. Bezpośredni wpływ tego hormonu na przepuszczalność ścian kanalikule zbiorczego dla wody zachodzi przy udziale zlokalizowanych tam receptorów V_2 . One również są zaangażowane w proces reabsorpcji mocznika. Wysokie stężenie mocznika w śródmiąższu rdzenia nerki (wysoki korowo-brodawkowy "gradient" dla mocznika) przy zwiększonej przepuszczalności ścian kanalikule zbiorczego dla wody, stwarza korzystne warunki do jej zwrotnej reabsorpcji.

Hormon antydiuretyczny reguluje nerkowe wydalanie wody także zwiększając korowo-brodawkowy gradient dla elektrolitów, głównie NaCl. Wpływ wazopresyny na gradient jest procesem złożonym. Uważa

się, że za pośrednictwem receptorów V_1 , może ona wpływać na tempo filtracji kłębuszkowej oraz na przepływ krwi przez rdzeń nerki. Wpływ na hemodynamikę narządu może pośrednio pociągać za sobą zmiany w korowo-rdzeniowym gradiencie osmotycznym, szczególnie w jego komponentcie elektrolitowej, aczkolwiek kierunek tych zmian trudno jednoznacznie określić. Ponadto wydaje się, że wazopresyna, stymulując receptory V_2 w grubym odcinku pętli Henlego może bezpośrednio nasilać reabsorpcję NaCl w tym odcinku kanalika. Zwiększenie stężenia elektrolitów w tkance rdzeniowej wspomagałoby zależną od ADH reabsorpcję wody prowadząc do efektywniejszego jej zatrzymywania w ustroju. Szczegółowe rozważania dotyczące regulacji funkcji nerki przez hormon antydiuretyczny przedstawiono poniżej.

1.1. DZIAŁANIE ADH NA TRANSPORT WODY I MOCZNIKA W KANALIKU ZBIORCZYM

Najbardziej znanym i istotnym działaniem wazopresyny na nerkę jest jej wpływ na reabsorpcję wody i mocznika w kanaliku zbiorczym. Odbywa się on poprzez związanie hormonu z receptorami V_2 w wyniku czego dochodzi do uaktywnienia cyklicznej adenylowej i do wzrostu stężenia cyklicznego AMP wewnątrz komórek wrażliwych na ADH.

Dla zrozumienia wpływu wazopresyny na przepuszczalność ścian kanalika zbiorczego należy zdać sobie sprawę ze zróżnicowania strukturalnego różnych jego odcinków. Ze względu na budowę morfologiczną można kanalik zbiorczy podzielić na dwa odcinki

a) odcinek położony w korze, rdzeniu zewnętrznym i w części rdzenia wewnętrznego graniczącej z rdzeniem zewnętrznym. Zbudowany on jest z komórek głównych i wstawkowych. Komórki główne wyka-

zują pewną podstawową przepuszczalność dla wody wielokrotnie wzrastającą pod wpływem ADH, są natomiast nieprzepuszczalne dla mocznika. Rola komórek wstawkowych w tym procesie jest niejasna (Handler, 1988).

b) tzw. odcinek końcowy ("terminal collecting duct") położony głębiej w rdzeniu wewnętrznym. Zbudowany on jest z nieco innego typu komórek. Są one większe oraz różnią się budową jądra i rozmieszczeniem organelli komórkowych. W warunkach podstawowych komórki te wykazują dość wysoką przepuszczalność dla mocznika, która wzrasta wyraźnie pod wpływem wazopresyny (Knepper, 1990).

Najnowsze dane pochodzące z badań biochemicznych i molekularnych wyjaśniają mechanizm przechodzenia wody przez ścianę kanalika na poziomie komórkowym. Jest to tzw. "mechanizm wahadłowy" (shuttle mechanism). W cytoplazmie znajdują się pęcherzyki zawierające agregaty białkowe, które pod wpływem ADH łączą się z błoną luminalną komórki kanalika zbiorczego wbudowując w jej ścianę tzw. kanały wodne. Wraz z obniżeniem stężenia hormonu struktury te są uwalniane z błony ulegając endocytozie, w wyniku czego przepuszczalność dla wody obniża się (Handler, 1988; Harris i wsp., 1991).

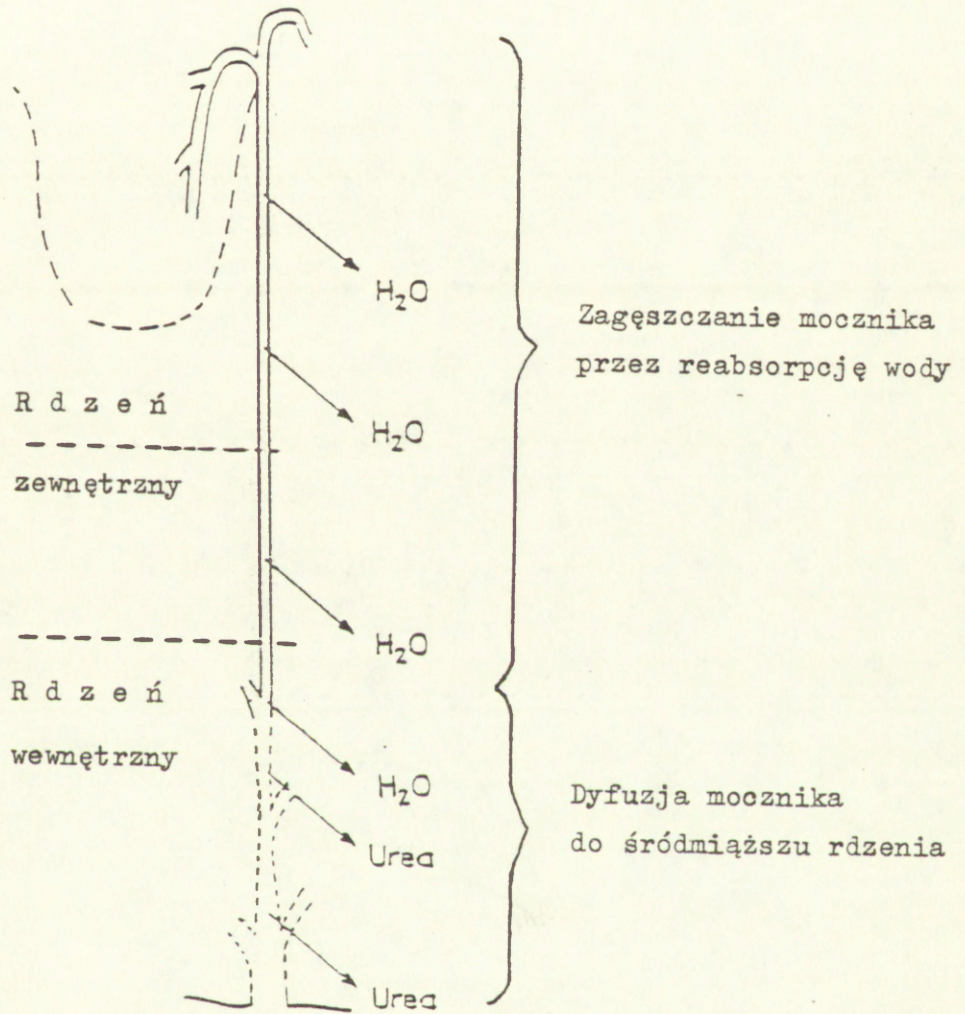
Transport mocznika w komórkach końcowego odcinka kanalika zbiorczego zachodzi za pośrednictwem białkowych transporterów mocznika znajdujących się zarówno w błonie luminalnej, jak i bazolateralnej. Jest sprawą niejasną czy wazopresyna zwiększa tzw. ułatwioną dyfuzję mocznika powodując wbudowanie większej liczby transporterów czy też uaktywnia transportery już w błonie istniejące lecz wcześniej nieaktywne (Knepper, 1990).

Widać więc, że zarówno transport wody jak i mocznika jest kontrolowany przez wazopresynę (za pośrednictwem receptorów V_2) lecz regulacja tych dwóch procesów jest częściowo niezależna.

Kluczowe znaczenie miało wykazanie, że reabsorpcja wody i mocznika nie przebiega równolegle wzdłuż kanalika zbiorczego. Dzięki zwiększonej reabsorpcji wody w początkowych odcinkach kanalika zbiorczego, nieprzepuszczalnych dla mocznika, jego stężenie w świetle kanalika podwyższa się (Ryc. 1). Kiedy płyn kanalikowy dopływa do końcowego odcinka położonego w rdzeniu wewnętrznym, mocznik dyfunduje (w dużym stężeniu) do otaczającego śródmiąszu. Wysokie jego stężenie w płynie śródmiąszowym powoduje wtórnym nasilenie reabsorpcji wody. Mimo zwrotnej dyfuzji mocznika z śródmiąszu do światła długich pętli Henlego (rozpraszenie gradientu mocznika), obecność ADH powoduje, że coraz więcej wody ulega reabsorpcji i zwiększa się stężenie mocznika w płynie dostarczanym do rdzeniowego odcinka kanalika zbiorczego i do otaczającego śródmiąszu (Bankir, 1991). Wzrost gradientu mocznika pod wpływem ADH oraz zwiększona reabsorpcja wody mają kluczowe znaczenie dla procesów zagęszczania moczu.

W tym miejscu należy przypomnieć, że przy ustalonej przepuszczalności ścian kanalika dla wody, siłą napędzającą jej transportu jest obok mocznika również wysokie stężenie elektrolitów, głównie NaCl, w śródmiąszu nerki. Z najnowszych badań Sands i Schrader (1991) wynikałoby, że transport mocznika w kanaliku zbiorczym zwiększa się również przy wyższym stężeniu elektrolitów w otaczającym śródmiąszu.

Znane są czynniki modulujące wpływ wazopresyny na przepuszczalność ścian kanalika zbiorczego dla wody. Jednym z najważniejszych są prostaglandyny (PG) hamujące stymulowaną przez ADH reabsorpcję wody. Wydaje się, że antagonistyczne działanie zachodzi wewnątrz komórki prowadząc do obniżenia stężenia cAMP. Szerzej przyjęty pogląd mówi o wpływie prostaglandyn na etapie prowadzącym do aktywacji cykazy adenylowej po związaniu cząsteczki ADH z receptorem. Nie wyklucza się również stymulującego wpływu PG na



Ryc. 1. Schemat kanalik zbiorczego z zaznaczeniem lokalizacji reabsorpcji wody i mocznika (Urea) zwiększanej dodatkowo przez hormon antydiuretyczny.

syntezę fosfodiesteraz rozkładających cykliczny AMP (por. przegląd: Raymond i wsp., 1986; Handler, 1988). Z doniesień Krothapalli i Suki (1984) wynika, że noradrenalina w dawkach farmakologicznych antagonizuje działanie ADH na transport wody. Wyniki ostatnich badań z użyciem specyficznych agonistów receptorów α_2 sugerują, że obniżają one stymulowaną przez ADH aktywność cykazy adenylowej (Gellai, 1990).

Wyniki badań na izolowanych perfundowanych korowych odcinkach kanalika zbiorczego sugerują, że ADH może również stymulować transport sodu w tym odcinku nefronu (Reif i wsp., 1986).

1.2. DZIAŁANIE ADH NA FILTRACJĘ KŁĘBUSZKOWĄ (GFR)

Dane dotyczące wpływu wazopresyny na filtrację kłębuszkową są rozbieżne. W wielu wczesnych badaniach obserwowano obniżenie tempa filtracji po podaniu hormonu; również ostatnio Rose i wsp. (1991) zanotowali przejściowy spadek GFR u psów, jednak wystąpił on po zastosowaniu farmakologicznych dawek ADH.

Wazopresyna mogłaby obniżać filtrację w związku z kurczącym działaniem tego hormonu na naczynia kłębuszka (obniżenie filtracji byłoby pochodną obniżenia przepływu krwi przez kłębuszek) jak też wykazywanym w badaniach hodowli tkankowych obniżeniem powierzchni filtracyjnej w następstwie skurczu komórek mezangialnych (Ausiello i wsp., 1980; Tribollet i wsp., 1988).

Istnieją również doniesienia, że po podaniu niższych dawek wazopresyny (fizjologicznych) nie występują żadne zmiany w hemodynamice nerek (Sondeen i Claybaugh, 1989; Smith i wsp., 1979) lub też obserwuje się wzrost tempa filtracji kłębuszkowej (Banks, 1976; Gellai, 1982).

Wzrost filtracji zależny od wazopresyny można by wytłumaczyć selektywnym działaniem tego hormonu na tętniczkę odprowadzającą. Zmniejszenie jej światła przy niezmienionej średnicy tętniczki doprowadzającej może prowadzić do wzrostu ciśnienia krwi w naczyniach włosowatych kłębuszka a więc i zwiększenia efektywnego ciśnienia filtracyjnego. Pewnym potwierdzeniem dla ewentualnego funkcjonowania takiego mechanizmu są wyniki ostatnich badań mikrokrążenia kłębuszkowego przeprowadzonych przez Edwardsa i wsp. (1989). Ich dane wskazują, że wazopresyna za pośrednictwem receptorów V_1 kurczy tętniczkę odprowadzającą pozostając bez wpływu na tętniczkę doprowadzającą kłębuszka. Wynikający z tego wzrost filtracji pociąga za sobą między innymi wzrost przesączonego ładunku chlorku sodu a więc i zwiększoną dostawę NaCl do pętli Henlego. Następstwem tych zmian może być zwiększona reabsorpcja NaCl w tym odcinku a w konsekwencji podwyższenie korowo-rdzeniowego gradientu elektrolitów w nerce. Jednak obserwowane in vivo zmiany tempa filtracji kłębuszkowej po umiarkowanym podwyższeniu stężenia wazopresyny we krwi nie są zbyt duże i nie przypisuje się im istotnego znaczenia (Bankir, 1991).

1.3. WPŁYW ADH NA PRZEPŁYW RDZENIOWY

Wazopresyna może wpływać na całkowity przepływ krwi przez nerkę lub też zmieniać jego wewnątrznerkową dystrybucję. Najliczniejsze badania dotyczą działania tego hormonu na przepływ rdzeniowy.

Wpływ fizjologicznych dawek hormonu antydiuretycznego na wielkość przepływu rdzeniowego jest kwestią sporną. Niektórzy badacze obserwowali niewielki wzrost przepływu rdzeniowego (Persson i wsp., 1974; Johnson i wsp., 1977), inni nie zanotowali żadnych zmian

(Gussis i wsp., 1979b). Natomiast większość danych sugeruje obniżenie przepływu rdzeniowego w wyniku podawania wazopresyny (Thurau i wsp., 1962; Cross i wsp., 1975; Bayle i wsp., 1982). Huang i wsp. (1990) wykazali, że presyjne dawki ADH wywołują obniżenie przepływu krwi zarówno w korze jak i w brodawce nerkowej za pośrednictwem receptorów V_1 .

W świetle ostatnich badań z użyciem specyficznych antagonistów dla receptorów V_1 i V_2 wazopresyna może zmniejszać rdzeniowy przepływ krwi na dwóch drogach. Jest to przede wszystkim bezpośredni wpływ hormonu powodujący prawdopodobnie skurcz tętniczek odprowadzających nefronów przyrdzeniowych poprzez stymulację receptorów V_1 (Zimmerhackl i wsp., 1985; Pallone i wsp., 1990). Sugeruje się również pewien pośredni, hipotetyczny wpływ wynikający ze zmian objętości wody dopływającej do naczyń prostych (vasa recta), uprzednio zreabsorbowanej w końcowym odcinku kanalika zbiorczego. Z obserwacji Jamisona i wsp. (1971) wynika, że w stanie antydiurezy zależnej od ADH ilość wody zreabsorbowanej w tym odcinku kanalika (położonym w rdzeniu wewnętrznym) jest mniejsza niż w stanie diurezy wodnej, mniejsza jest także objętość wody wychwytywana przez vasa recta i w związku z tym "objętościowy" przepływ w rdzeniu obniża się (Kiberd i wsp., 1986, 1987). Należy podkreślić, że całkowita objętość wody zreabsorbowana w kanalikach w obecności ADH jest oczywiście większa (zwiększona przepuszczalność ścian kanalika zbiorczego dla wody na całej jego długości oraz wysoki gradient mocznika w śródmiąższu) niż w stanie wysokiej diurezy.

Wpływ obniżenia przepływu krwi przez rdzeń na wielkość koro-
wo-brodawkowego gradientu osmotycznego w nerce nie jest jednoznaczny. W związku z redukcją przepływu krwi przez naczynia proste może obniżyć się tempo usuwania substancji osmotycznie czynnych ze

śródmiaższu rdzenia. Skutkiem tego procesu byłby wzrost gradientu. Z drugiej strony wiadomo, że objętość wody odprowadzana ze śródmiaższu jest funkcją przepływu krwi. Bardzo znaczne obniżenie przepływu stwarza gorsze warunki do odprowadzania wody zreabsorbowanej w kanalikach i w związku z tym dochodzi do rozcieńczania substancji osmotycznych w śródmiaższu a więc obniżenia korowobrodawkowego gradientu w nerce (Abbrecht, 1961). Z powyższych rozważań widać jak trudno przewidzieć kierunek zmian gradientu osmotycznego w nerce w związku z obniżeniem przepływu krwi przez jej rdzeń.

Bardzo trudno również udowodnić wpływ wazopresyny na wielkość przepływu rdzeniowego, ponieważ jest ona w tym zakresie tylko jednym z czynników regulacyjnych. Obok wazopresyny również angiotensyna II i aminy katecholowe kurczą naczynia nerkowe obniżając tym samym przepływ krwi. W przeciwnym kierunku działają prostaglandyny, kininy i adenozyne, prowadzące do zwiększenia przepływu krwi przez rdzeń.

1.4. BEZPOŚREDNI WPŁYW ADH NA TRANSPORT NaCl W PĘTLI HENLEGO

Od dawna wiadomo, że doświadczalne odwadnianie zwierząt powoduje wybitne wzmoczenie zagęszczania i wydalanie moczu o osmolalności dużo wyższej niż wartości osiągnęte po podaniu nawet dużych dawek egzogennej ADH. Wysoki poziom endogennej ADH w warunkach odwodnienia lub też przewlekłe jego podawanie powodowało oprócz zwiększenia reabsorpcji wody w kanalikach zbiorczych (wzrost $T_{H_2O}^c$) również wzrost stężenia sodu i mocznika w tkance rdzeniowej (Hai i Thomas, 1969; Atherton i wsp., 1971; Morel, 1963). Obserwacje te pozwalały przypuszczać, że ADH oprócz swego

szybkiego działania na ścianę kanalika zbiorczego (na reabsorpcję wody i mocznika), wywołuje być może również bezpośredni wpływ na transport chlorku sodu powodując wzrost jego stężenia w rdzeniu.

Wiadomo, że intensywna czynna reabsorpcja NaCl, będąca pierwotną siłą napędową do tworzenia korowo-rdzeniowego gradientu elektrolitowego, zachodzi w grubym odcinku wstępującego ramienia pętli Henlego (Wirtz, 1956; Gottschalk i Mylle, 1959). Można więc było oczekiwać, że ADH stymuluje transport NaCl w tym właśnie odcinku kanalika. W pewnej niezgodności z tym przypuszczeniem pozostawały wyniki badań, w których podawanie ADH nie wpływało na wydalanie sodu lub nawet powodowało jego wzrost. Bardzo wielu badaczy obserwowało w różnych warunkach doświadczalnych natriuretyczne działanie wazopresyny u ssaków lub jej homologów u niższych kręgowców (Anslow i Wesson, 1955; Ali, 1958; Martinez-Maldonado, 1971; Kurtzman i wsp., 1975).

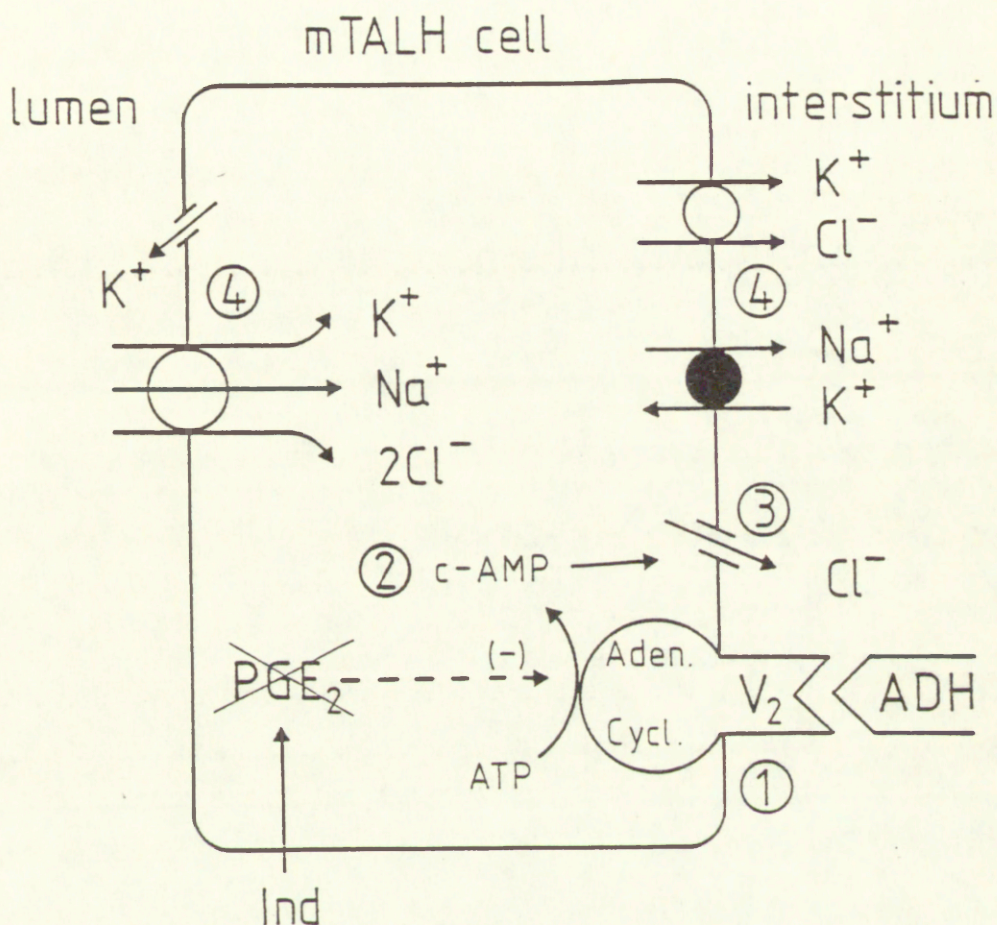
Natomiast próby sprawdzenia czy hormon antydiuretyczny stymuluje reabsorpcję jonów (Na^+ ; Cl^-) w nabłonkach pozanerkowych, w których zachodzi ich aktywny transport, dały na ogół wyniki zgodne z hipotezą o stymulacji transportu w pętli Henlego przez ADH (przegląd: Morel, 1963). W doświadczeniach przeprowadzanych *in vitro* na skórze i pęcherzu płazów obserwowano, że wazotocyna stymuluje aktywny transport sodu, bądź też wykazywano jednoczesny wpływ hormonów podwzgórzowych (wazotocyna, oksytocyna) zarówno na transport wody jak i sodu. Podobny wpływ tych hormonów na aktywną reabsorpcję sodu zaobserwowano również w kanalikach nerkowych niższych kręgowców (Jard i Morel, 1963).

Wyniki przytoczonych doświadczeń umacniały pogląd, że hormon antydiuretyczny może stymulować transport NaCl, także w pętli Henlego u ssaków. Jednakże dostarczenie danych będących bezpośrednim potwierdzeniem tej hipotezy było możliwe dopiero po opracowa-

niu technik mikropunkcji oraz izolacji i perfuzji izolowanych kanalików nerkowych oraz dzięki rozwojowi badań biochemicznych i molekularnych.

Dane pochodzące z badań *in vitro* jako pierwsze potwierdziły, że hormon antydiuretyczny stymuluje transport jonów w grubym odcinku ramienia wstępującego pętli Henlego u niektórych gatunków zwierząt (Imbert-Teboul i wsp., 1978; Sasaki i Imai, 1980). Zjawiska tego nie obserwuje się w kanalikach psa i człowieka (Charbades i wsp., 1980; Ruggles i wsp., 1985). Obecnie wiadomo, że receptorami pośredniczącymi w tym procesie są receptory V_2 a pierwszym sygnałem wewnątrzkomórkowym jest wzrost stężenia cyklicznego AMP. Fizjologiczne znaczenie tego procesu jest nie do końca jasne gdyż stężenie ADH potrzebne do uzyskania stymulacji transportu jonów w pętli jest pięciokrotnie wyższe niż stężenie hormonu powodujące wzrost reabsorpcji wody w kanaliku zbiorczym (de Rouffignac, 1990; Bankir, 1991). Nie ma również zgodnej opinii co do tego, który z systemów transportujących jest pierwszym elementem zmieniającym się pod wpływem ADH a więc inicjującym sekwencję zdarzeń prowadzącą do zwiększonej reabsorpcji chlorku sodu w grubym odcinku pętli.

Na Ryc. 2 przedstawiono komórkę grubego odcinka ramienia wstępującego pętli Henlego wraz z funkcjonującymi w niej układami transportującymi jony. Według mechanizmu stymulacji receptorów V_2 proponowanego przez Schlattera i Gregera (1985) działanie ADH polegałoby na bezpośrednim zwiększeniu przewodności błony bazolateralnej dla jonów chlorkowych. Zgodnie z tym modelem, w badaniach Halla i Varneya (1980) oraz Sasaki i Imai (1980) przeprowadzonych na izolowanych kanalikach myszy i szczurów obserwowano pod wpływem



Ryc. 2. Schemat procesów transportu jonów w komórce rdzeniowego grubego odcinka wstępującego pętli Henlego (mTALH). Hormon antydiuretyczny (ADH) za pośrednictwem receptorów V_2 , cyklazy adenilowej i cAMP aktywuje kanał chlorkowy błony bazolateralnej (3), co z kolei przyspiesza procesy transportu jonów poprzez obie ściany komórki mTALH (4) i zwiększa reabsorpcję, głównie NaCl, ze światła pętli H. do śródmiaższu. Proces ten hamowany jest przez PGE_2 - zniesienie tego hamowania za pomocą indometacyny (Ind) powoduje "odhamowanie" stymulującego działania ADH, transport NaCl wzrasta i stężenie elektrolitów w śródmiaższu otaczającym pętle podwyższa się.

ADH wzrost dodatniego ("lumen positive") potencjału transepitelialnego i związany z tym większy wpływ jonów Cl^- z komórki. Zwiększony wpływ jonów chlorkowych miałby prowadzić do większej aktywności układu kotransportującego jony K^+ ; Na^+ ; 2Cl^- na błonie luminalnej. Zwiększone w konsekwencji stężenie jonów Na^+ wewnątrz komórki miałoby stymulować zarówno aktywność ATP-azy transportującej Na^+ i K^+ w błonie bazolateralnej jak i elektroobojętny transport K^+ i Cl^- (Ryc. 2). Ostatecznie prowadziłyby to do wzrostu "netto" transportu NaCl ze światła grubego odcinka wstępującego pętli Henlego do otaczającego śródmiąszu.

Inna grupa badaczy reprezentuje pogląd, iż ADH wpływa pierwotnie na błonę luminalną zwiększając jej przepuszczalność dla jonów potasowych (Steven, 1984; Molony i wsp., 1989). Wzrost ten mógłby zależeć zarówno od zwiększonej liczby kanałów potasowych jak i jednostek kotransportujących Na^+ ; K^+ ; 2Cl^- w błonie luminalnej (Ryc. 2). Według tych autorów zwiększona reabsorpcja chlorków byłaby zjawiskiem wtórnym. Wszystko to stwarza również lepsze warunki do przechodzenia jonów Na^+ ze światła kanalika drogami paracellularnymi (Steven, 1984; Koeppen, 1990) i może przynajmniej w części odpowiadać za wzrost reabsorpcji NaCl pod wpływem hormonu antydiuretycznego. Ostatnie badania Suna i wsp. (1991) sugerują nawet, że w warunkach podstawowych w błonie luminalnej odbywa się kotransport Na^+ i Cl^- bez udziału jonów K^+ . Dopiero pod wpływem ADH jony potasowe zaczynają uczestniczyć w tym procesie zmieniając jego charakter, bądź też aktywują dodatkowy układ kotransportujący, który przenosi również jony potasowe (system kotransportujący Na^+ ; K^+ ; 2Cl^-).

Z powyższych rozważań widać, że ostateczne wyjaśnienie mechanizmów leżących u podłoża zjawiska stymulacji transportu jonów w pętli Henlego pod wpływem wazopresyny wymaga dalszych studiów.

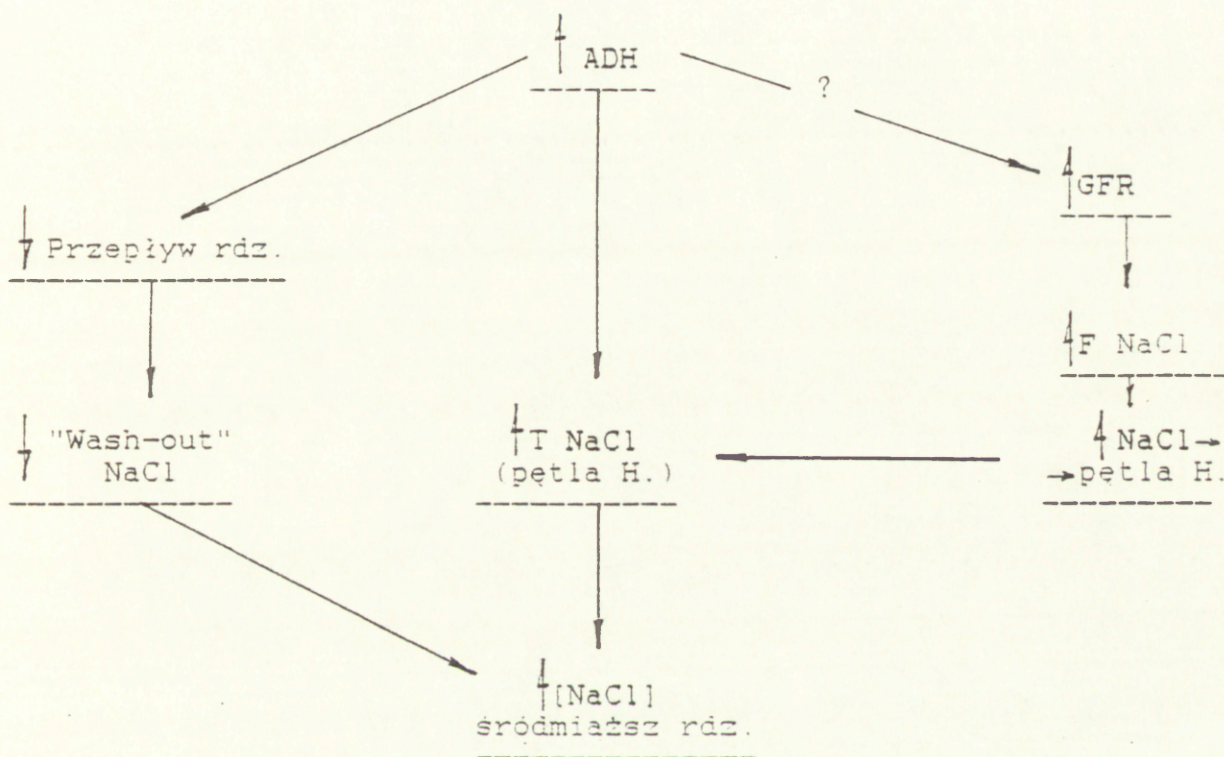
W dalszym ciągu nie ma również wystarczających danych, które wyjaśniałyby biologiczną rolę tego procesu a w szczególności brak doświadczeń prowadzonych na całej nerce u zwierząt znajdujących się w warunkach zbliżonych do fizjologicznych. Jedynie mikropunkcyjne badania grupy de Rouffignaca (1990) uzupełniają w części ten brak. Pewne trudności w interpretacji tych badań związane są z użyciem zwierząt pozbawionych całego szeregu endogennych hormonów: wazopresyny, parathormonu, kalcytoniny i glukagonu (tzw. hormone deprived model) oraz trudnościami związanymi z bezpośrednim nakłuwaniem głęboko położonych odcinków pętli. Mimo wspomnianych ograniczeń badania te potwierdziły wpływ stymulacji receptorów V_2 na transport NaCl w grubym odcinku ramienia wstępującego pętli Henlego a ponadto scharakteryzowały udział innych hormonów w regulacji tego transportu. Stwierdzono na przykład, że glukagon i kalcytonina wspomagają działanie ADH stymulując reabsorpcję NaCl w pętli Henlego (Steven, 1984; de Rouffignac, 1990). Również aldosteron oraz stymulacja receptorów β -adrenergicznych powoduje wzrost reabsorpcji NaCl w tym odcinku (Steven, 1984, Koeppen, 1990).

Głównym czynnikiem hamującym działanie hormonu antydiuretycznego na transport jonów są prostaglandyny a przede wszystkim PGE_2 syntetyzowana w komórkach śródmiąższowych rdzenia nerki. Z badań mikropunkcyjnych oraz doświadczeń prowadzonych na izolowanych odcinkach ramienia wstępującego pętli Henlego wiadomo, że prostaglandyny hamują zależne od ADH gromadzenie cyklicznego AMP w komórce (Kauker, 1977; Torikai i Kurokawa, 1983). Wydaje się, że stymulują one hamującą podjednostkę systemu cyklicznego adenylowej - nukleotydu guaninowego, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania syntezy cyklicznego AMP (Koeppen, 1990). Jest również rzeczą znaną, że wzrost hipertonii osmotycznej rdzenia (np. pod wpływem ADH)

powoduje zmniejszenie transportu NaCl w pętli zarówno poprzez zwiększony zwrotny przepływ Na^+ do światła (backleak) jak i przez bezpośredni wpływ NaCl i mocznika na aktywność cykazy adenylowej oraz na syntezę prostaglandyn (Hebert i wsp., 1981; Molony, 1989; Koeppen, 1990). Cały system wzajemnych interakcji czynników regulujących rozważany proces komplikuje się jeszcze bardziej jeżeli uwzględnić dodatkowo znany fakt, iż sam hormon antydiuretyczny zwiększa syntezę prostaglandyn poprzez stymulację receptorów V_1 w komórkach śródmiąższowych (Steven, 1984; Leite, 1990).

x x x

Reasumując, regulacja objętości wody w organizmie zależy od współdziałania układu antydiuretycznego kontrolującego nerkowe wydalanie wody i mechanizmu pragnienia odpowiedzialnego za uzupełnianie jej strat. Hormon antydiuretyczny powoduje oszczędzanie płynów wpływając bezpośrednio na przepuszczalność ścian kanalika zbiorczego dla wody oraz być może także pośrednio, poprzez regulację korowo-brodawkowego gradientu osmotycznego w nerce (wpływ na komponentę elektrolitową tego gradientu przedstawiono na Ryc. 3). Najwyraźniejszym, bezpośrednim i najlepiej udokumentowanym działaniem hormonu na gradient jest zwiększenie reabsorpcji mocznika w końcowym odcinku kanalika zbiorczego, wspomagające wtórnie transport wody. Kierunek zmian gradientu zależnych od wpływu ADH na hemodynamikę nerek jest trudny do przewidzenia, bowiem opisywane zmiany filtracji i rdzeniowego przepływu krwi pod wpływem wazopresyny są prawdopodobnie niewielkie i nie przypisuje im się istotnej roli. Jak wspomniano wcześniej fizjologiczne znaczenie stymulacji przez wazopresynę transportu NaCl w pętli Henlego a więc zwiększe-



Ryc. 3. Wpływ hormonu antydiuretycznego na wielkość gradientu elektrolitowego w nerce.

Wzrost stężenia ADH we krwi może prowadzić do wzrostu stężenia NaCl w śródmiąszcu rdzenia nerki różnymi drogami:

- 1) poprzez bezpośrednią stymulację transportu soli (T NaCl) w ramieniu wstępującym pętli Henlego (środek schematu);
- 2) poprzez obniżenie przepływu krwi przez rdzeń i redukcję wypłukiwania (wash out) soli z tkanki rdzenia;
- 3) poprzez hipotetyczny wzrost GFR, przesączonego ładunku soli (F NaCl) i zwiększenie jej dostawy do pętli (co pociąga za sobą wzrost T NaCl).

nie elektrolitowej komponenty gradientu, nie jest oczywiste. Wydaje się jednak, że proces ten jest najpowolniejszym efektem działania ADH i może raczej odgrywać rolę w stanie długotrwałego odwodnienia zwiększając dodatkowo siłę ssącą (driving force) dla reabsorpcji wody.

Wykazywanie wybiórczych zmian transportu NaCl w pętli Henlego w doświadczeniach in vivo jest rzeczą trudną. W naszej pracowni zmiany te ocenia się poprzez obserwację stężenia elektrolitów w otaczającym pętle śródmiąszu rdzenia nerki w oparciu o pomiary admitancji elektrycznej tkanki (Sadowski i Portalska, 1983). Wieloletnie badania potwierdziły, że admitancja odzwierciedla w sposób wiarygodny stężenie NaCl w płynie śródmiąszowym i zmienia się w tym samym kierunku co transport soli w pętli (Sadowski, 1992).

C E L P R A C Y

Wobec szczupłości danych dotyczących działania hormonu antydiuretycznego na transport NaCl w pętli Henlego w warunkach in vivo, podjęłam próbę wykazania takiego wpływu u szczurów w uspieniu barbituranowym. Wskaźnikiem zmian transportu w pętli było stężenie elektrolitów w śródmiąszu rdzenia nerki mierzone w sposób ciągły jako admitancja elektryczna tkanki. Aby stworzyć podstawy do pełniejszej interpretacji zmian stężenia soli w rdzeniu dokonywałam jednocześnie pomiarów hemodynamiki i czynności wydalniczej badanej nerki.

Bezpośrednim celem doświadczeń było ustalenie czy stymulacja receptorów V_2 in vivo za pomocą egzogennej wazopresyny lub jej specyficznego agonisty - dDAVP powoduje wzrost stężenia elektrolitów w otaczającym pętlę śródmiąszu. Dodatkowo starałam się wyjaśnić czy w zastosowanych warunkach doświadczalnych prostaglandyny są istotnym czynnikiem antagonizującym wpływ ADH na transport NaCl w pętli Henlego.

2. M A T E R I A Ł I M E T O D Y

2.1. MATERIAŁ DOŚWIADCZALNY

Doświadczenia przeprowadzono na samcach szczurów rasy Wistar o średnim ciężarze ciała $312 \pm$ (SD) 22 g. Zwierzęta miały wolny dostęp do wody i pokarmu (standardowa chrupka białkowa) do dnia doświadczenia.

2.2. PRZYGOTOWANIE ZWIERZĄT DO DOŚWIADCZENIA

Szczury usypiano za pomocą preparatu Inactin (Byk Gulden, Konstanz, RFN) - soli sodowej kwasu 5-etylo-5-(1-metylo-propylo)-2-tio-barbiturowego - w dawce 100 mg/kg ciężaru ciała, podawanej dootrzewnowo. Inactin (suchy proszek) rozpuszczano w wodzie destylowanej; objętość płynu dostarczana zwierzęciu z narkozą odpowiadała ok. 0,2% ciężaru ciała.

W ciągu całego doświadczenia mierzono temperaturę ciała za pomocą czujnika termistorowego umieszczonego w odbycie szczura. Stabilność temperatury (ok. 37°C) uzyskiwano dzięki lampom i płytce grzejnej, na której zwierzę leżało w trakcie doświadczenia. Po odsłonięciu tchawicy umieszczano w niej rurkę polietylenową poprawiającą drożność dróg oddechowych i w razie potrzeby umożliwiającą usuwanie zbierającej się w nich wydzieliny.

Ciśnienie tętnicze mierzono przez kaniulę wprowadzoną do t. udowej, połączoną z przetwornikiem ciśnienia P 23 Db (Statham, Puerto Rico) współpracującym z modułem do pomiaru ciśnienia aparatu TM 503 (Tektronix, USA).

W celu zrekompensowania utraty płynów, w okresie przygotowania zwierząt do doświadczeń prowadzono stałą infuzję 3% roztworu albuminy wołowej (Wytwórnia Surowic i Szczepionek, Kraków) w roz-

tworze Ringera (2,4 ml/h) o składzie: Na^+ - 140, K^+ - 4, Ca^{2+} - 2, Cl^- - 106 i HCO_3^- - 40 mmol/l, przez kaniulę wprowadzoną do żyły udowej.

Wprowadzano również kaniulę do żyły jarzmowej (zewnątrznej), aby później połączyć ją pozaustrojowo z żyłą nerkową w celu pomiaru wypływu żylnego z nerki (por. niżej).

Następnie dokonywano cięcia lędźwiowego odsłaniającego lewą nerkę, którą unieruchamiano w specjalnym pojemniku, powszechnie używanym w mikropunkcyjnych badaniach kanalików nerkowych. Po wy-preparowaniu moczowodu wprowadzano do niego cewnik umożliwiający zbiórkę moczu.

W dalszej kolejności usuwano tkankę tłuszczową otaczającą naczynia nerkowe (tętnicę i żyłę) co w sposób nieunikniony wiązało się z częściowym odnerwieniem nerki. Po odsłonięciu naczyń nerkowych przystępowano do uruchomienia pozaustrojowego krążenia krwi na odcinku od żyły nerkowej do żyły jarzmowej (v. jugularis), co umożliwiało bezpośrednie mierzenie wypływu krwi żyłnej z nerki (dokładniejsze omówienie metody patrz 2.3).

Z chwilą uruchomienia krążenia pozaustrojowego i układu do pomiaru przepływu krwi wkłuwano w odsłoniętą nerkę elektrody igłowe do pomiarów admitancji elektrycznej rdzenia. Podstawy teoretyczne tych pomiarów oraz charakterystykę zastosowanych w tej pracy elektrod igłowych przedstawiono w rozdz. 2.4.

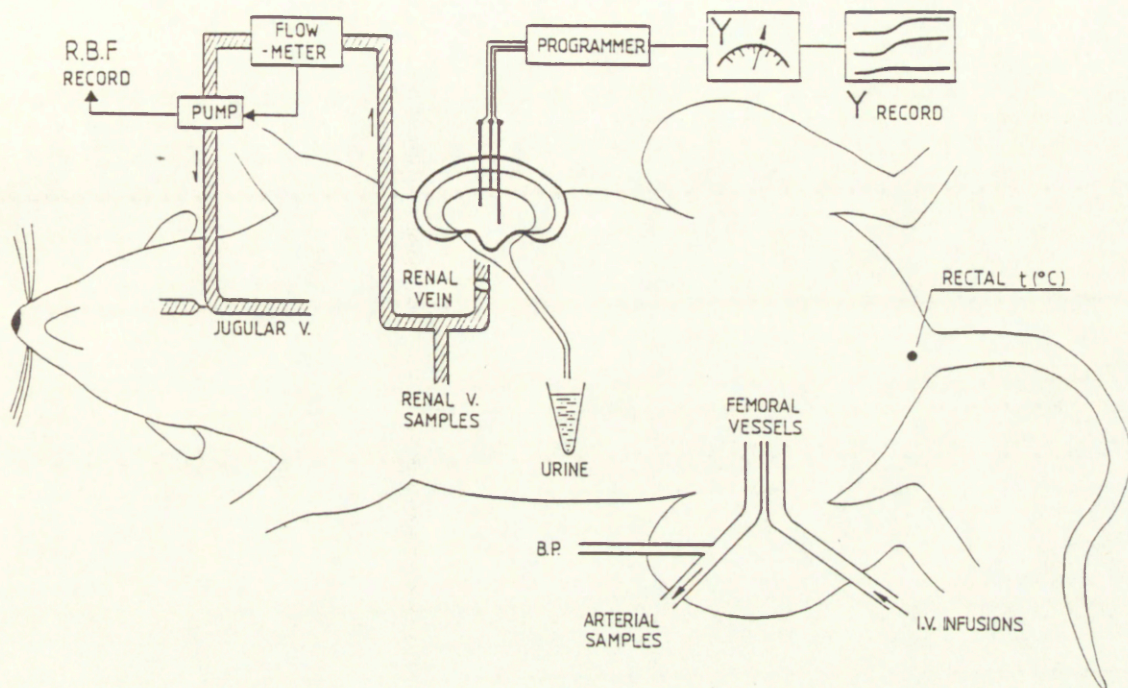
Schemat całego układu doświadczalnego przedstawiono na Ryc. 4. Na zwierzętach przygotowanych w opisany wyżej sposób przeprowadzono doświadczenia, w których mierzono jednocześnie w lewej nerce:

całkowity przepływ krwi - RBF

admitancję tkanki rdzeniowej - Y

tempo filtracji kłębuszkowej - GFR

diurezę minutową - \dot{V}



Ryc. 4. Schemat układu doświadczalnego. Admitancję (Y) mierzono w nerce in situ za pomocą elektrod igłowych. Przepływ krwi przez nerkę (RBF) mierzono jako wypływ żylny z nerki w układzie krążenia pozaustrojowego z. nerkowa (renal vein) - z. jarzmowa (jugular v.) i rejestrowano w sposób ciągły. Mierzono także ciśnienie tętnicze krwi (BP) i prowadzono zbiórkę moczu (urine) do oznaczania filtracji kłębuszkowej (GFR) i wydalania nerkowego.

stężenie substancji osmotycznie czynnych w moczu - U_{osm}

stężenie sodu w moczu - U_{Na} +

2.3. POMIAR PRZEPŁYWU KRWI PRZEZ NERKĘ

Szczegółowy opis zastosowanego w tej pracy pomiaru przepływu krwi przez nerkę RBF przedstawiony został w publikacji metodycznej Sadowskiego i wsp. (1988). W niniejszej pracy przedstawiono tylko ogólny schemat tej metody.

Kilka minut przed wprowadzeniem kaniuli do żyły nerkowej podawano dożylnie 100-150 j.m. heparyny, aby zapobiec tworzeniu się skrzepów w pozaustrojowym krążeniu. Po umieszczeniu kaniuli w żyłę nerkowej krew z nerki odpływała do bocznicy drenu odprowadzającego krew (z udziałem pompy rolkowej) do żyły jarzmowej. W momencie kiedy krew w bocznicy osiągała poziom fotokomórki, ta wysyłała impuls do pompy powodując jej uruchomienie. Pompa przesuwiała porcję krwi do ż. jarzmowej, co obniżało poziom krwi w bocznicy z fotokomórką, która z kolei wyłączała pompę itd., itd. Cykl ten powtarzał się bez przerwy w ciągu całego doświadczenia. Znając objętość krwi przepompowanej w ciągu jednego obrotu pompy oraz liczbę obrotów w określonym czasie wyliczano tempo przepływu krwi przez nerkę (RBF). Należy zwrócić uwagę, że przepływ krwi tętnicą nerkową jest większy od wypływu żylnego o wartość diurezy i wypływu chłonki. Ten ostatni czynnik pomijano zupełnie jako ilościowo nieistotny. W przypadku dużej diurezy, np. rzędu 0,1 ml/min, stanowiła ona ok. 1,5% RBF i wówczas rzeczywistą wartość RBF wyliczano jako sumę wypływu żylnego i diurezy minutowej.

2.4. POMIARY ADMITANCJI in situ

2.4.1. Podstawy teoretyczne

W celu oceny zmian stężenia elektrolitów w śródmiąszu rdzenia nerki Sadowski i Portalska wprowadzili w 1983 r. pomiary admitancji elektrycznej (odwrotność impedancji). Impedancję (Z) roztworu lub tkanki określa wyrażenie $Z = \sqrt{R^2 + X_C^2}$ gdzie R oznacza opór rzeczywisty, a X_C reaktancję pojemnościową. Zjawiska indukcji, a więc i reaktancji indukcyjnej (X_L) w roztworach i tkankach nie obserwuje się (Ryc. 5).

Do pomiarów impedancji w roztworach stosuje się powszechnie elektrody o dużej powierzchni aktywnej; udział X_C jest wówczas tak mały, że wartość tę można pominąć, a więc $Z = \sqrt{R^2}$ czyli $Z = R$. Praktycznie mierzy się więc wtedy opór rzeczywisty lub konduktancję (odwrotność oporu).

Natomiast w badaniach Sadowskiego i Portalskiej (1983) i przedstawionych tutaj pomiarach tkankowych, w których zastosowano elektrody igłowe o małych powierzchniach aktywnych, znacznie X_C wymaga rozważenia. Nie można było zwiększyć powierzchni czynnej przez pokrycie elektrod tzw. czernią platynową używaną w elektrodach pracujących w roztworach, gdyż warstwa czerni uległaby szybkiemu zniszczeniu przy wkłuwaniu i wysuwaniu elektrod z nerki.

Jest rzeczą znaną, że wartość mierzonej reaktancji pojemnościowej zmniejsza się ze wzrostem częstotliwości prądu pomiarowego. Z drugiej strony wiadomo z literatury, że prąd o wysokich częstotliwościach (np. powyżej 10 kHz) przechodzi zarówno przez błony komórkowe jak i przestrzeń pozakomórkową (Schwan, 1963; Niewiadomski i wsp., 1990). Korzystniejsze dla prowadzonych tutaj badań było ograniczenie pomiarów admitancji jedynie do przestrzeni poza-

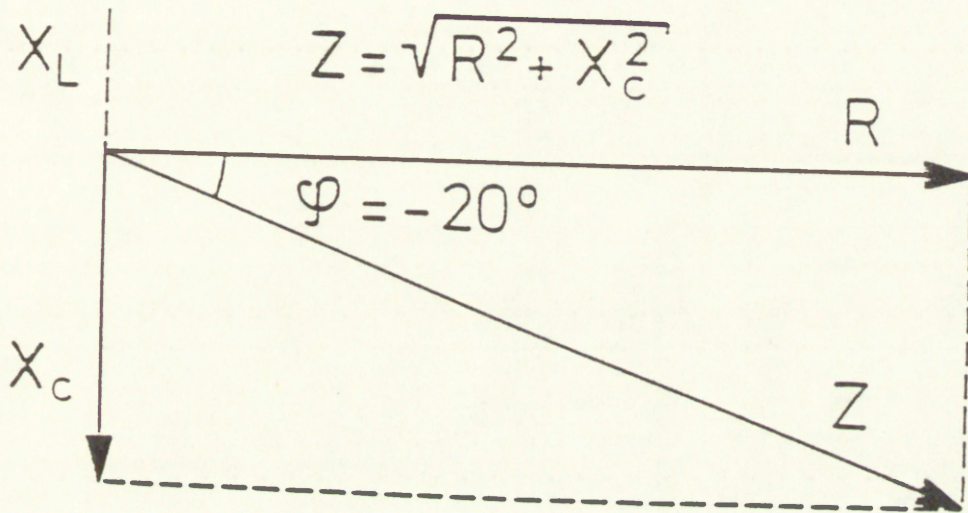


Fig. 5. Analiza wektorowa składowych impedancji - Z.

R - opór rzeczywisty, X_C - reaktancja pojemnościowa, X_L - reaktancja indukcyjna,

φ - kąt fazowy.

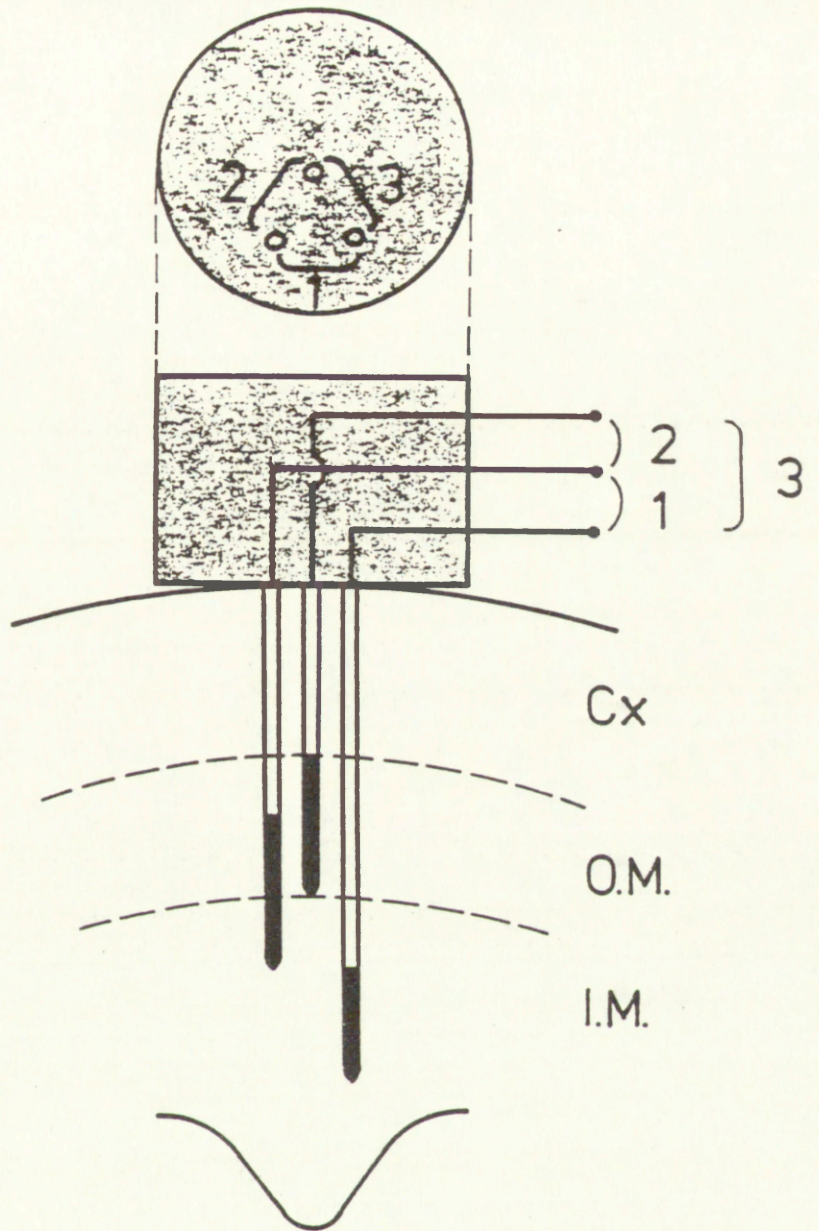
komórkowej. Warunkiem tego było zastosowanie niezbyt wysokich częstotliwości prądu pomiarowego. Sadowski i wsp. (1990) wykaza-
li, że zwiększanie częstotliwości tego prądu powyżej wartości
stosowanej także w moich badaniach (3,5 kHz) nie poprawia już
"zdolności rozdzielczej" stosowanej metodyki, a więc możliwości
wykrywania małych zmian stężenia elektrolitów w tkankach. W dodat-
kowych pomiarach wykonanych w tej pracy dane te zostały potwier-
dzone. Zgodnie z powyższymi wywodami wobec faktu istnienia reak-
tancji pojemnościowej nie należy tutaj mówić o pomiarach oporno-
ści (R) lub konduktancji (G), ale o impedancji (Z) i admitancji
($Y = Z^{-1}$).

2.4.2. Charakterystyka elektrod

Do wykorzystania w niniejszej pracy przygotowano nowy zes-
taw elektrod o zwiększonej w porównaniu z wersją poprzednio opi-
saną (Sadowski, 1985), powierzchni czynnej. W celu oszacowania
udziału oporu rzeczywistego w mierzonej impedancji wykonano w tej
pracy szereg dodatkowych pomiarów. Elektrody igłowe wkłute do
nerki połączono z miernikiem impedancji (typ E 304, Meratronik,
Polska) i mierzono impedancję (Z) oraz kąt fazowy (φ) przy
częstotliwości prądu pomiarowego $f = 3,5$ kHz i natężeniu $I = 0,032$
mA. Na podstawie tych pomiarów można było wyliczyć opór rzeczywis-
ty ($R = Z \cos \varphi$) i reaktancję pojemnościową ($X_C = Z \sin \varphi$).
Stwierdzono, że opór rzeczywisty stanowił ok. 90% mierzonej impe-
dancji (Ryc. 5). Ponieważ selektywny pomiar oporności w opisanych
doświadczeniach byłby technicznie skomplikowany, mierzono impedan-
cję elektryczną, a ściślej jej odwrotność, czyli admitancję, która
ze względu na mały udział X_C jest w tym przypadku niemal równie
dobrą miarą stężenia elektrolitów w śródmiaższu nerki (Sadowski

i wsp., 1990). Liniową funkcją stężenia elektrolitów jest konduktancja ($G = \frac{1}{R}$) a w naszym układzie pomiarowym z dobrym przybliżeniem także admitancja ($Y = \frac{1}{Z}$) a nie oporność czy impedancja. Dlatego też w tej pracy przedstawiono wyniki pomiarów admitancji i wyrażono je w odpowiednich jednostkach ($1 \text{ S (siemens)} = 1 \text{ ohm}^{-1}$). Zależność między Y i stężeniem Na^+ w tkance ustalono poprzednio empirycznie in vitro na skrawkach poszczególnych warstw nerki u psów i królików (Sadowski i Portalska, 1983; Portalska i Sadowski, 1984; Sadowski i Kulczykowska, 1988) oraz in vivo u szczura (Bądryńska i wsp., 1990).

Zestaw trzech różnej długości elektrod wykonano z drutu irydo-platynowego (25%/75%) o średnicy 0,25 mm. Elektrody, z wyjątkiem ich końca stanowiącego powierzchnię aktywną, były pokryte izolującą warstwą lakieru. Najkrótsza elektroda miała 4,1 mm, średnia 5 mm, najdłuższa 6,5 mm długości. Powierzchnia aktywna wynosiła odpowiednio 1,4; 1,4 i 1,0 mm^2 . Odległość między elektrodami w płaszczyźnie do nich prostopadłej wynosiła 1,4 mm (Ryc. 6). Pomiar admitancji odbywał się w rdzeniu wewnętrznym (obszar między najdłuższą i średnią elektrodą - 1. kanał) oraz w rdzeniu zewnętrznym (obszar między średnią i najkrótszą elektrodą - 2. kanał). Dodatkowo mierzono admitancję w rdzeniu nerkowym na obszarze między najdłuższą i najkrótszą elektrodą (3. kanał). Elektrody były połączone z programatorem, który włączał kolejno do pracy poszczególne ich pary. Miernikiem admitancji był konduktometr laboratoryjny (N-572, Mera Elwro, Polska), połączony z woltomierzem cyfrowym (V-540, Meratronik, Polska), który wskazywał wartości admitancji w milisiemensach - mS. Częstotliwość prądu pomiarowego wynosiła 3,5 kHz. Wyniki uzyskane dla poszczególnych kanałów rejestrowano za pomocą systemu drukującego Daro Soemtron 1132 (VEB Kombinat Zentronik - NRD).



Fyc. 6. Zestaw 3 elektrod igłowych służących do pomiaru admitancji elektrycznej w nerce szczura.

Aktywne powierzchnie elektrod umieszczone są:
dla najdłuższej elektrody - w rdzeniu wewnętrznym (I.M.),
dla średniej - na granicy rdzenia wewnętrznego i zewnętrznego (I.M. - O.M.), dla najkrótszej w rdzeniu zewnętrznym (O.M.). Zaznaczono poszczególne pary współpracujących elektrod (1, 2, 3). C_x - kora nerki.

2.5. PRZEBIEG DOŚWIADCZENIA

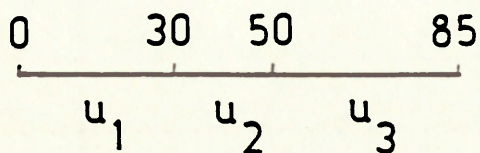
Zastosowano protokół doświadczeń powszechnie przyjęty w badaniach klirensowych. Dawkę wstępną metoksy-³H-inuliny, 5 μ Ci w 2 ml 2% NaCl, podawano dożylnie w ciągu 2-3 min. Inulinę do dawki wstępnej rozpuszczano celowo w hipertonicznym roztworze NaCl aby wywołać zwiększoną diurezę na czas wkłuwania elektrod. Następnie wkłuwano w nerkę elektrody do pomiaru admitancji elektrycznej i rozpoczynano ciągłą infuzję inuliny w tempie 6 μ Ci (w 1,2 ml 0,9% NaCl) na godzinę. Okres wyrównawczy potrzebny do ustabilizowania stężenia inuliny w osoczu, ciśnienia tętniczego krwi, przepływu krwi przez nerkę i wartości admitancji trwał od 20 do 30 min. Po tym czasie przystępowano do właściwych pomiarów.

W każdym okresie klirensowym pobierano próbki krwi tętniczej, które służyły do oznaczenia stężenia znakowanej inuliny i liczby hematokrytowej. Tę ostatnią oznaczano bezpośrednio po każdym pobraniu krwi. Utratę krwi związaną z pobieraniem próbek i sączeniem się jej z ran operacyjnych (heparynizacja!) kompensowano przez transfuzję krwi uzyskanej od szczura dawcy. Oznaczanie hematokrytu na bieżąco umożliwiało kontrolę skuteczności transfuzji.

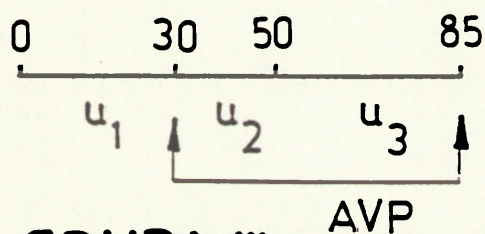
Zwierzęta doświadczalne podzielono na trzy grupy. Schemat przebiegu doświadczeń w poszczególnych grupach przedstawiono na Ryc. 7.

Grupa I - (kontrolna, n = 9). Doświadczenia przeprowadzono w celu sprawdzenia stabilności badanych zmiennych w czasie. Podział na okresy klirensowe był podobny jak w grupie II i III ale zwierzęta nie otrzymywały żadnych preparatów hormonalnych czy farmaceutycznych. Przez cały przebieg doświadczenia szczury otrzymywały dożylną infuzję 0,9% NaCl z szybkością 3 ml/h.

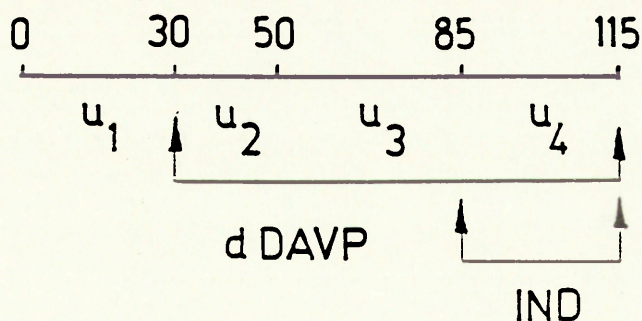
GRUPA I (KONTROLNA)



GRUPA II



GRUPA III



Ryc. 7. Schemat przebiegu doświadczeń w poszczególnych grupach zwierząt. $u_1, 2, 3, 4$ - czas zbiórki moczu w kolejnych okresach doświadczalnych. Zaznaczono czas trwania infuzji poszczególnych preparatów. AVP - wazopresyna argininowa; dDAVP - desmopresyna; IND - indometacyna.

Grupa II - (n = 6). U szczurów tej grupy w okresie U_2 i U_3 prowadzono dożylną infuzję argininowej wazopresyny (AVP - Pitressin, Parke Davis) w roztworze 0,9% NaCl. Szybkość infuzji - a w konsekwencji i dawka podawanego preparatu - była dobierana w taki sposób aby ^{uzyskać} wzrost ciśnienia tętniczego krwi po AVP nie przekraczający 10 mmHg. Ostatecznie tempo infuzji AVP wahało się u poszczególnych zwierząt od 0,6 do 8,5 ng/kg·min. W okresie kontrolnym (U_1) szczury otrzymywały dożylną infuzję rozpuszczalnika AVP (0,9% NaCl) z szybkością 1,5 ml/h.

Grupa III - (n = 13). Doświadczenie podzielono na cztery okresy klirensowe. Wraz z rozpoczęciem okresu U_2 , rozpoczęto dożylną infuzję agonisty antydiuretycznego wazopresyny, dDAVP (deamino-D-argininowa wazopresyna, Antidiuretin-SD, Desmopressin) w tempie 7,5 ng/kg·min w 0,9% roztworze NaCl (3 ml/h). Infuzję tę kontynuowano do momentu zakończenia doświadczenia. Dodatkowo u niektórych szczurów w okresie U_4 , prowadzono dożylną infuzję indometacyny (Metindol, Polfa) z szybkością 0,25 mg/kg·min. Indometacynę rozpuszczano w 4,5 ml mieszaniny, której 1/3 stanowił 1% roztwór NaHCO_3 a 2/3 - 0,9% roztwór NaCl. W okresie kontrolnym (U_1) szczury otrzymywały dożylną infuzję 0,9% NaCl, 3 ml/h.

W niektórych doświadczeniach nie udało się przeprowadzić jednocześnie wszystkich zaplanowanych pomiarów, z tego względu wartości "n" w tabelach (por. 3. Wyniki) nie zawsze są identyczne z liczbą szczurów podaną dla poszczególnych grup.

2.6. METODY ANALITYCZNE I OBLICZENIA

Mocz zbierano w wytarowanych probówkach Eppendorfa. Objętość moczu wyznaczano poprzez ważenie, przy założeniu, że jego ciężar właściwy nie odbiega istotnie od 1,00 g/ml. Na tej podstawie obliczano diurezę minutową (\dot{V}) i wyrażano ją w $\mu\text{l}/\text{min}$. W moczu oznaczano globalne stężenie wszystkich substancji osmotycznie czynnych, substancji elektrolitowych (tzw. osmolalność elektrolitową^x), nieelektrolitowych oraz stężenie jonów Na^+ .

Osmolalność całkowitą moczu (U_{osm}) oznaczano w oparciu o pomiar obniżenia punktu zamarzania (osmometr Typ ML Knauer, RFN) i wyrażano w $\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$.

Oznaczanie osmolalności elektrolitowej (U_{el}) opierało się na pomiarze konduktancji elektrycznej moczu. (Metodyka tych pomiarów została opracowana dla celów niniejszej pracy i jej dokładne omówienie znajduje się w Addendum na końcu rozdziału Materiał i Metody). Stężenie wszystkich substancji elektrolitowych wyrażano jako równoważne stężenie NaCl ($\text{mosm NaCl}/\text{kg H}_2\text{O}$).

x

Na osmolalność całkowitą moczu składają się zawarte w nim substancje elektrolitowe (głównie Na^+ i K^+ i towarzyszące im aniony) oraz substancje nieelektrolitowe (głównie mocznik). Zróżnicowany udział tych dwóch składników w moczu wydalonym w różnych warunkach wynika z odmienności procesów zaangażowanych w ich transport w kanalikach nerkowych. Rozdzielne badanie osmolalności elektrolitowej i nieelektrolitowej jest uzasadnione ponieważ pozwala nam na bardziej wnikliwą analizę czynników wpływających na te procesy. Ponadto rozważania kliniczno-fizjologiczne wskazują, że określanie wydalania sumy jonów sodu i potasu (czy też mierzonej przez nas osmolalności elektrolitowej moczu) więcej mówi nam o równowadze wodno-elektrolitowej organizmu, niż klasyczny pomiar wydalania wszystkich substancji osmotycznie czynnych (Rose, 1986).

Z różnicy osmolalności całkowitej i elektrolitowej wyliczano osmolalność nieelektrolitową (U_{nel}), (którą można uznać za wskaźnik stężenia substancji nieelektrolitowych, głównie mocznika w moczu) i wyrażano ją także w mosm/kg H_2O .

Stężenie jonu sodowego i potasowego oznaczano za pomocą fotometru płomieniowego (FLM, Radiometer, Dania) i wyrażano w milimolach na litr (mM).

Znając wartości diurezy minutowej oraz U_{osm} , U_{el} , U_{nel} i U_{Na} obliczano tempo wydalania substancji osmotycznie czynnych, elektrolitowych i nieelektrolitowych ($U_{osm} \dot{V}$, $\mu\text{osm}/\text{min}$; $U_{el} \dot{V}$, $\mu\text{osmNaCl}/\text{min}$; $U_{nel} \dot{V}$, $\mu\text{osm}/\text{min}$) oraz sodu ($U_{Na} \dot{V}$, $\mu\text{mol}/\text{min}$).

Wyliczano także klirens osmotyczny (C_{osm}) według powszechnie stosowanego wzoru:

$$C_{osm} = (U_{osm}/P_{osm}) \cdot \dot{V}$$

gdzie:

\dot{V} - diureza minutowa

U_{osm} - osmolalność całkowita moczu

P_{osm} - osmolalność całkowita osocza; przyjęto za Rose (1986) stałą wartość dla wszystkich zwierząt = 280 mosm/kg H_2O .

Transport (reabsorpcję) wolnej wody ($T_{H_2O}^c$) wyliczano według wzoru:

$$T_{H_2O}^c = \left(\frac{U_{osm}}{P_{osm}} - 1 \right) \dot{V}$$

Obliczano również klirens elektrolitów (C_{el}) oraz reabsorpcję wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$) opierając się na wartości U_{el} mierzonej metodą konduktometryczną:

$$C_{el} = (U_{el}/P_{el}) \dot{V}$$

oraz:

$$T_{H_2O}^{ce} = C_{el} - \dot{V}$$

gdzie:

P_{el} - stężenie elektrolitów w osoczu; przyjęto stałą wartość dla wszystkich zwierząt = 270 mmol/l

Pomiary filtracji kłębuszkowej (GFR) przy użyciu inuliny:

Próbki moczu i osocza zawierające znakowaną inulinę (metoksy-³H-inulina, Dupont, Boston Mass., USA) umieszczano w naczyniach scyntylicyjnych zawierających 5 ml płynu scyntylicyjnego Bray'a. Radioaktywność każdej próbki mierzono w liczniku scyntylicyjnym LKB 1211. Dla próbek osocza wprowadzono empirycznie ustaloną poprawkę (x 1,12) na tłumienie aktywności przez białka. Na podstawie tych danych wyliczano tempo filtracji kłębuszkowej (GFR) jako klirens inuliny równy stosunkowi stężenia znakowanej inuliny w moczu (U_{in}) i osoczu krwi tętniczej (A_{in}) pomnożonemu przez wartość diurezy minutowej $\frac{U_{in}}{A_{in}} \cdot \dot{V}$, ml/min.

Liczbę hematokrytową (Ht) krwi tętniczej oznaczano w heparyzowanych kapilarach po odwirowaniu krwi w ciągu 3 min z szybkością 1300 obr./min. Znając C_{in} i tempo przepływu osocza przez nerkę obliczano również frakcję filtracyjną (FF) jako C_{in}/RPF .

2.7. DOŚWIADCZENIA UZUPEŁNIAJĄCE (SZCZURY W USPIENIU ETANOLOWYM)

W zasadniczych seriach doświadczalnych po infuzji dDAVP lub AVP (Pitressin, Parke-Davis, RFN) nie uzyskano typowych zmian w postaci spadku diurezy i wzrostu osmolalności moczu. Postanowiono więc dodatkowo sprawdzić antydiuretyczne właściwości użytych preparatów ADH posługując się klasyczną metodyką stosowaną do określania biologicznej aktywności antydiuretycznej wazopresyny. W tym celu wykonano dodatkową serię doświadczalną w oparciu o procedurę zaproponowaną przez Czaczkesa i wsp. (1964) w modyfikacji Szczepańskiej-Sadowskiej i Sadowskiego (1973). Przebieg doświad-

czenia wyglądał w zarysie następująco:

U 4 szczurów rasy Wistar, samców o ciężarze ciała 280-300 g na 3 do 5 dni przed badaniem wykonano przetokę pęcherza moczowego, która umożliwiała wygodną zbiórkę moczu. W dniu doświadczenia szczurom podawano dwie dawki 12% roztworu etanolu, przez zgłębnik do żołądka. Każda dawka stanowiła 4% ciężaru ciała. Kiedy uspienie alkoholowe było już wystarczające wprowadzano do żyły ogonowej cewnik polietylenowy o średnicy 0,2 mm. W celu wywołania diurezy, szczurom podawano dożylnie infuzję roztworu o składzie: 1,2% etanolu, 0,3% NaCl, 0,5% glukozy i 0,04% mocznika, z prędkością 0,2 ml/min. Do przetoki pęcherzowej wkładano cewnik polietylenowy poprzez który zbierano mocz do wytarowanych probówek.

Po ok. 60 min., kiedy diureza osiągnęła stan równowagi przeprowadzono trzy 5-minutowe okresy zbiórki moczu^x. Następnie podawano dożylnie dDAVP lub AVP w różnych dawkach i ponownie zbierano mocz w czasie maksymalnego zahamowania diurezy. Na tej podstawie określano diurezę minutową przed i po podaniu preparatu. W moczu oznaczano osmolalność całkowitą, elektrolitową, nieelektrolitową, stężenie Na⁺ i K⁺ oraz wyliczano klirens i transport wolnej wody oraz klirens i transport wody wolnej od elektrolitów (por. 2.6).

2.8. ANALIZA STATYSTYCZNA

W tekście, tabelach i na rycinach zaznaczono błąd standardowy średniej (SE) jako miarę rozrzutu danych. Analizując zmienność w czasie badanych wskaźników stosowano analizę wariancji dla pow-

^x Ponieważ chodziło tutaj o potwierdzenie antydiuretycznego działania dDAVP i AVP przy różnych wyjściowych wartościach U_{osm} , nie usiłowano wywołać pełnej wyjściowej diurezy wodnej.

tarza/nych oznaczeń (repeat measurement ANOVA) oraz test t-Studenta dla zmiennych połączonych. Porównując wielkości wskaźników otrzymane dla zwierząt należących do różnych grup doświadczalnych stosowano test t-Studenta dla zmiennych niezależnych poprzedzony klasyczną analizą wariancji. Aby wykluczyć przypadkowe pojawienie się istotności wynikające z wielokrotnych porównań (porównanie każdej grupy doświadczalnej z grupą kontrolną) stosowano poprawkę Bonferroniego (Wallenstein i wsp., 1980; Ludbrook, 1991) korzystając ze wzoru:

$$P' = \frac{0,05}{m} .$$

W wyrażeniu tym m - oznacza liczbę porównań, a P' - wymagany poziom istotności, który staje się tym wyższy im więcej przeprowadza się porównań. Tak na przykład dla trzech porównań wyliczony z powyższego wzoru wymagany poziom istotności wynosi 0,017.

A D D E N D U M

METODA OZNACZANIA OSMOLALNOŚCI ELEKTROLITOWEJ NA PODSTAWIE POMIARU KONDUKTANCJI ELEKTRYCZNEJ MOCZU

Technika pomiaru

Do tego celu użyto celi pomiarowej wykonanej z pleksiglasu, o wymiarach 9 x 4 x 7 mm. Dwie przeciwległe jej ściany wyłożone blaszkami pokrytymi czernią platynową, stanowiły parę elektrod (nierozwinięta powierzchnia jednej elektrody = 28 mm²) połączonych z konduktometrem laboratoryjnym (N - 572). Do tak skonstruowanej celi wprowadzano 100 µl nierozcieńczonego moczu i na konduktometrze odczytywano wartości admitancji w µS.

Charakterystyka biofizyczna pomiarów

W celu oszacowania udziału oporu rzeczywistego w mierzonej impedancji wykonano dla tego zestawu elektrod szereg dodatkowych pomiarów przy pomocy miernika impedancji E - 304, z użyciem prądu pomiarowego o częstotliwości 3,5 kHz. Dane dotyczące tych pomiarów przedstawiono w Tab. 1. Wynika z nich, że dla stężeń powyżej 100 mosm NaCl/kg H₂O a więc takich, które występują w moczu, udział oporu rzeczywistego w mierzonej impedancji (R/Z) wynosił ponad 99,8%. W świetle powyższej analizy możemy mówić, że w naszych badaniach mierzono praktycznie konduktancję moczu a nie jego admitancję.

Sposób wyrażania osmolalności elektrolitowej

W oparciu o pomiary konduktancji dla różnych roztworów NaCl o znanej osmolalności (wartości zbliżone do uzyskiwanych w moczu) wykreślono krzywą kalibracyjną. Na jej podstawie przeliczano odczytane wartości konduktancji badanych próbek moczu na równoważną

osmolalność roztworu chlorku sodu. Tak więc stężenie wszystkich substancji elektrolitowych (osmolalność elektrolitowa moczu) wyrażano jako równoważne stężenie NaCl (mosm NaCl/kg H₂O). Analogiczną zasadę wyrażania konduktywności stosowali w swojej pracy Gutsche i wsp. (1980).

Pomiar konduktancji a oznaczanie $2x[\text{Na}^+ + \text{K}^+]$

Mierzenie osmolalności elektrolitowej w oparciu o konduktancję elektryczną moczu może być lepszym wskaźnikiem określającym wydalanie wszystkich substancji elektrolitowych niż powszechnie przyjęte szacowanie na podstawie podwojonej sumy stężeń sodu i potasu ($2x[\text{Na}^+ + \text{K}^+]$) w moczu. Może to mieć szczególne znaczenie w naszym układzie doświadczalnym, gdzie wkłuwanie elektrod igłowych prowadzi do pewnego uszkodzenia tkanki nerkowej. Przedostające się do moczu elementy morfotyczne i struktury nabłonkowe zawierają jony K^+ i Na^+ . W rezultacie, na stężenie jonów mierzone w moczu za pomocą fotometrii płomieniowej składa się ich stężenie "rzeczywiste" (takie jak w płynie kanalikowym) oraz jony pochodzące z drobnych elementów morfotycznych. Pomiar osmolalności elektrolitowej oparty na konduktancji moczu nie obejmuje jonów związanych ze strukturami białkowymi, których ruchliwość elektryczna jest niewielka. Na podstawie przewidywań teoretycznych wartości osmolalności elektrolitowej ($[\bar{E}l]$) powinny być nieco wyższe niż suma stężeń sodu i potasu oraz odpowiadających im anionów ($2x[\text{Na}^+ + \text{K}^+]$). Wynika to z dwóch powodów: po pierwsze pomiar konduktancji wykrywa wszystkie jony a nie tylko Na^+ i K^+ z towarzyszącymi anionami. Po drugie jon potasowy ma dużo większą ruchliwość elektryczną niż jon sodowy, a w naszej metodyce konduktancję wyraża się w równoważnych stężeniach NaCl (patrz wyżej). Na podstawie powyższych rozważań można

oczekiwać, że osmolalność elektrolitowa mierzona w oparciu o konduktancję powinna być wyższa niż oznaczona fotometrycznie suma jonów sodu i potasu. Można się także spodziewać, że pomiar ten nie wykrywa jonów związanych ze strukturami komórkowymi, które znalazły się w moczu w wyniku uszkodzenia tkanki nerkowej.

W celu zweryfikowania tak postawionej tezy porównano próbki moczu zebrane w zasadniczych doświadczeniach (mocz zanieczyszczony krwią) z próbkami moczu "czystego" uzyskanego od szczurów w uśpieniu alkoholowym (patrz wyżej - 2.7), którym nie wkłuwano elektrod. Dane te przedstawiono na rysunku (Ryc. 8). Porównanie średnich wartości osmolalności elektrolitowej $[El]$ i $2x[Na^+ + K^+]$ dla moczu "czystego" potwierdza postawioną tezę, iż mierzone konduktometrycznie stężenie substancji elektrolitowych jest wyższe niż obliczone na podstawie oznaczeń fotometrycznych (Ryc. 8). Wysoki współczynnik korelacji ($r = 0,94$) między osmolalnością elektrolitową mierzoną naszą metodą a sumą stężeń Na^+ i K^+ potwierdza, że konduktancja moczu przeliczona na równoważną osmolalność $NaCl$ jest wielkością dobrze określającą stężenie wszystkich substancji elektrolitowych w moczu. Dla moczu zanieczyszczonego obserwuje się również wysoki współczynnik korelacji ($r = 0,77$), ale w tym przypadku $[El]$ jest niższe niż $2x[Na^+ + K^+]$. Potwierdza to przypuszczenie, że pomiar wykonany przy pomocy fotometru płomieniowego, poza jonami które znalazły się w moczu w wyniku prawidłowych procesów wydalniczych wykrywa również jony wchodzące w skład cząstek elementów komórkowych przedostających się do moczu w następstwie uszkodzenia tkanki nerkowej.

Podsumowując przedstawione tutaj dane dotyczące weryfikacji użytej metody oznaczania osmolalności elektrolitowej w oparciu

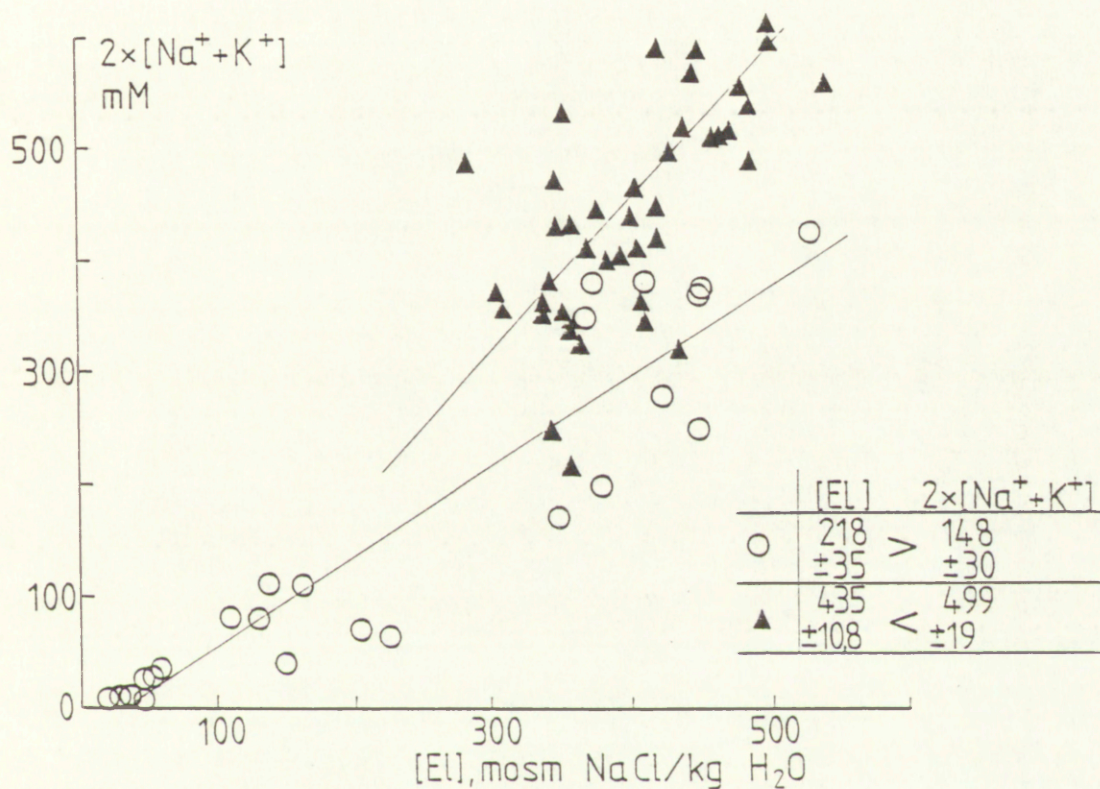


Fig. 8. Zależność między mierzonym konduktometrycznie stężeniem elektrolitów, [El], a podwojoną sumą oznaczonych fotometrycznie stężeń jonów sodu i potasu, $2 \times [\text{Na}^+ + \text{K}^+]$ w próbkach moczu pobranych w różnych warunkach doświadczalnych.

○ - mocz "czysty" pobrany od zwierząt, którym nie wkłuwano elektrod

▲ - mocz pobrany od zwierząt po wkłuciu elektrod w nerkę

W tabelce porównano średnie wartości [El] i $2 \times [\text{Na}^+ + \text{K}^+]$ w moczu pobranym w różnych warunkach doświadczalnych.

o pomiar konduktancji elektrycznej moczu można stwierdzić, że jest ona w naszym układzie doświadczalnym lepszym wskaźnikiem określającym wydalanie substancji elektrolitowych przez nerkę niż stosowany tradycyjnie fotometryczny pomiar stężenia jonów sodu i potasu.

3. W Y N I K I

3.1. DOŚWIADCZENIA KONTROLNE (grupa I)

W zastosowanym przez mnie modelu doświadczalnym średnie ciśnienie tętnicze u szczurów pozostawało w czasie trwania doświadczenia na niezmiennym poziomie (grupa I - Tab. 2).

W grupie kontrolnej zanotowano 3% wzrost admitancji zarówno w rdzeniu wewnętrznym jak i zewnętrznym oraz w całym rdzeniu nerkowym (kanał 1., 2., 3.) (Tab. 3)*. Była to zmiana niewielka ale istotna statystycznie ($p < 0.01$).

Dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek szczurów z grupy kontrolnej przedstawiono w Tabeli 2. Zanotowano typowy dla tego modelu doświadczalnego wzrost całkowitego przepływu krwi (RBF). Wzrost ten nie był jednak statystycznie znamieny. Zarówno tempo filtracji kłębuszkowej (GFR) jak i frakcja filtracyjna (FF) nie ulegały istotnym zmianom w czasie (Tab. 2).

Obserwowany w tej grupie niewielki wzrost diurezy i spadek całkowitej osmolalności moczu nie był statystycznie znamieny (Tab. 2). Pozostałe parametry charakteryzujące czynność wydalniczą nerki (U_{el} , U_{nel} , \dot{U}_{Na} , $\dot{U}_{Na} \dot{V}$) również nie wykazywały istotnych statystycznie zmian w czasie (Tab. 2).

Na Ryc. 9 A i B scharakteryzowano procesy wydalnicze zachodzące w nerce w oparciu o analizę takich wskaźników jak: klirens osmotyczny (C_{osm}), klirens elektrolitowy (C_{el}), transport wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) i transport wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$). W trakcie trwania doświadczeń kontrolnych średni przyrost C_{osm} i C_{el} był niewielki i nie przekraczał odpowiednio 14% i 23% w stosunku do

* W Tab. 3 przedstawiono szczegółową dokumentację pomiarów Y dla wszystkich grup i kanałów. Dane te ujmuje w sposób syntetyczny (w %) Ryc. 14 (str. 42a).

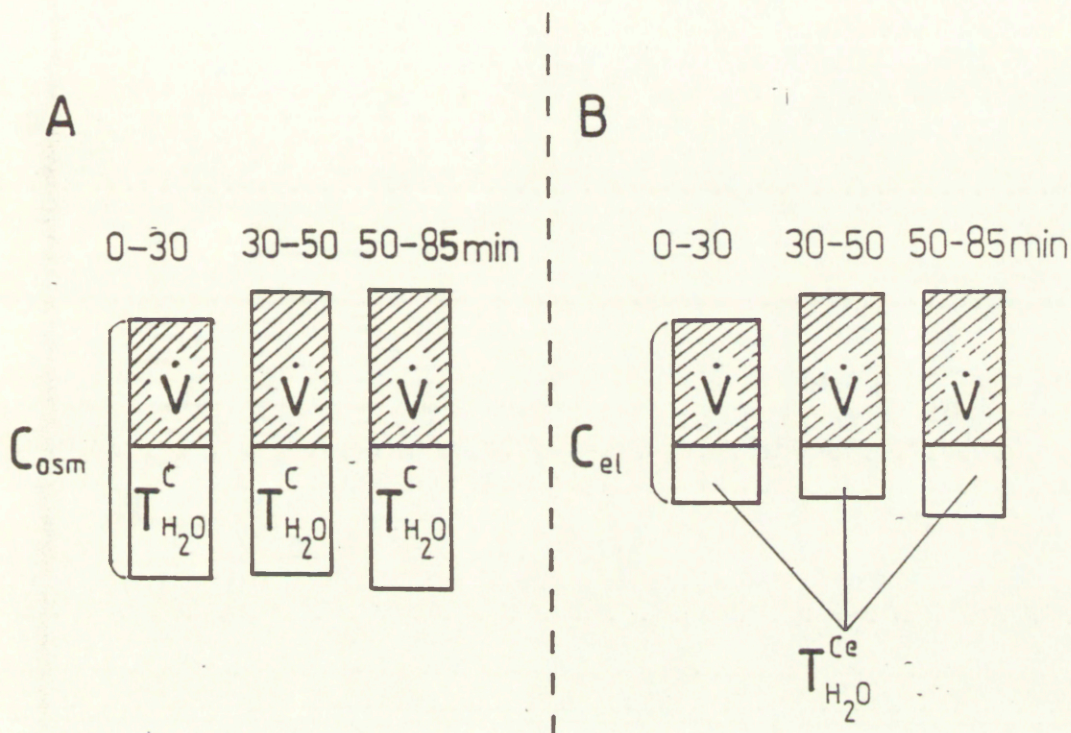


Fig. 9. Wskaźniki wydalania i zagęszczania moczu w grupie kontrolnej.

A. Klirens osmotyczny (C_{osm}) i jego składowe: diureza (\dot{V}) i transport wolnej wody ($T_{H_2O}^C$)

B. Klirens elektrolitowy (C_{el}) i jego składowe: \dot{V} i transport wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{Ce}$).

0 - 30 min, 30 - 50 min, 50 - 85 min - czas trwania kolejnych okresów doświadczalnych.

wartości początkowych. Wszystkie powyższe wskaźniki (C_{osm} , C_{el} , $T_{H_2O}^c$ i $T_{H_2O}^{ce}$) nie wykazywały istotnych statystycznie zmian (Tab. 2).

Reasumując, w grupie kontrolnej obserwowano niewielki aczkolwiek istotny statystycznie wzrost admitancji. Pozostałe wskaźniki nie wykazywały w czasie trwania doświadczeń kontrolnych istotnych zmian.

3.2. INFUZJA ARGININOWEJ WAZOPRESYNY (grupa II)

Zgodnie z założeniem (por. Metody) infuzja argininowej wazopresyny (AVP) wywołała u badanych zwierząt niewielki wzrost ciśnienia tętniczego. Średni jego przyrost w okresach U_2 i U_3 wynosił odpowiednio 5 i 9,3 mm Hg (Tab. 4).

Infuzja wazopresyny nie wywołała wyraźniejszych niż w grupie kontrolnej, zmian w admitancji (Y) w obrębie rdzenia wewnętrznego i zewnętrznego (Ryc. 14 i Tab. 3). Pod koniec doświadczeń zaznaczyła się pewna tendencja wzrostowa, która wykazywała cechy znamienności ($p < 0,05$). Ostatecznie, po średnio 55 min infuzji AVP, w rdzeniu wewnętrznym (1. kanał) zanotowano przyrost admitancji o 4%, natomiast w rdzeniu zewnętrznym (2. kanał) ten wzrost wynosił 3% w stosunku do okresu kontrolnego. Charakter zmian w admitancji tkanki zawartej między najdłuższą i najkrótszą elektrodą (kanał 3. - pomiar poprzez obydwie warstwy rdzenia) był zbliżony. Należy zauważyć, że podobny, niewielki lecz również istotny statystycznie wzrost Y obserwowano także bez infuzji (grupa kontrolna). Na podstawie przedstawionych danych można stwierdzić, że u szczurów w uśpieniu barbituranowym infuzja AVP nie wywołała wyraźnego wzrostu stężenia elektrolitów w śródmiąszu nerki. Ponieważ nie oznaczano stężenia substancji nieelektrolitowych w śródmiąszu, nie można stwierdzić jaki był wpływ AVP na ten składnik hipertonicznego środowiska osmotycznego rdzenia.

Na osobną uwagę zasługuje wynik jednego doświadczenia, w którym prowadzono dłuższą obserwację admitancji. Po 90 min infuzji AVP zanotowano wzrost admitancji o 19% w rdzeniu wewnętrznym i o 14% w rdzeniu zewnętrznym.

Główne dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek w grupie II przedstawiono w Tabeli 4. Zanotowano pewną tendencję do wzrostu całkowitego przepływu krwi przez nerkę (RBF). W ciągu średnio 55 min trwania infuzji wazopresyny RBF wzrósł średnio o 10% i była to zmiana statystycznie znamienne ($p < 0,01$). Jednak pewną tendencję do wzrostu przepływu krwi obserwowano również w grupie kontrolnej i tendencja taka wydaje się być cechą charakterystyczną dla zastosowanego tutaj modelu doświadczalnego. Wahania filtracji kłębuszkowej po AVP nie wykazywały cech znamienności.

Reasumując, zmiany hemodynamiki były niewielkie i trudno przypuszczać aby w sposób istotny wpłynęły na czynność wydalniczą nerki.

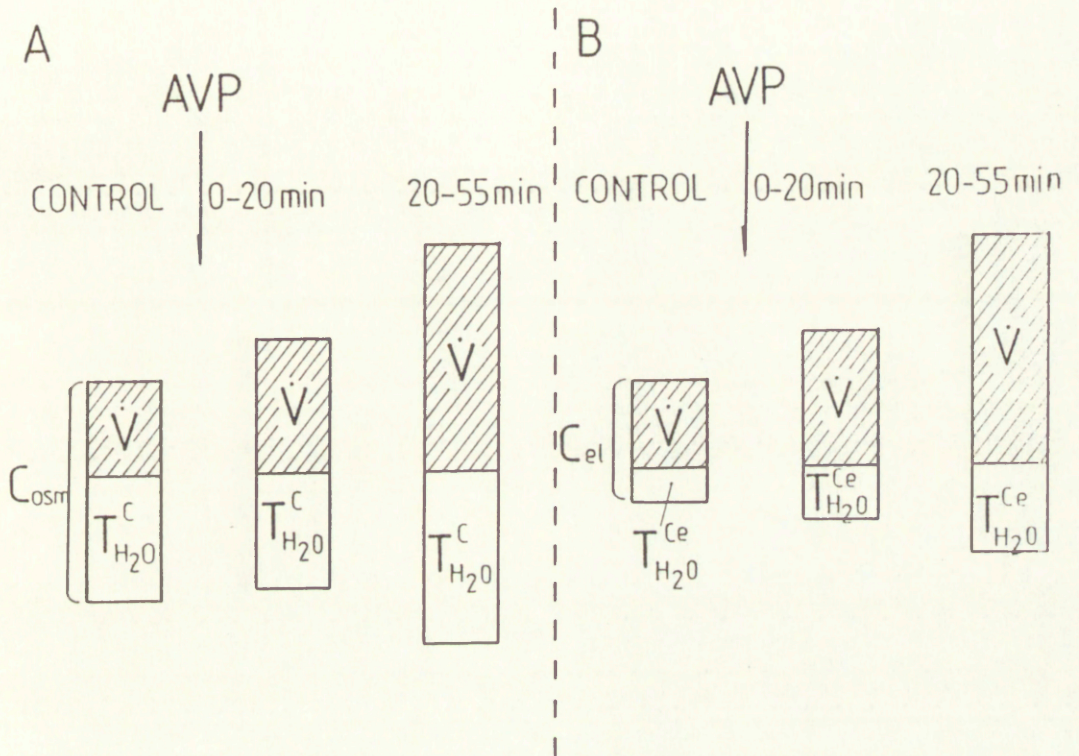
Najbardziej uderzającą i zaskakującą zmianą po infuzji AVP był postępujący wzrost diurezy, łącznie o 150% w ciągu 55 min trwania infuzji AVP; dla porównania w grupie kontrolnej wzrost \dot{V} nie przekraczał 20%. Tak istotnemu ($p < 0,05$) wzrostowi diurezy (2,5x) towarzyszył mniej wyraźny (1,2x) spadek osmolalności moczu (Tab. 4) co sugeruje, że nasilenie diurezy nie było prostym następstwem upośledzenia zagęszczania moczu. Za takim stwierdzeniem przemawia również obserwowany jednocześnie wzrost wydalania sodu ($U_{Na} \dot{V}$, Tab. 4).

Wpływ wazopresyny na procesy wydalnicze zachodzące w nerce zanalizowano dokładniej w oparciu o zmiany takich wskaźników jak klirens osmotyczny (C_{osm}), klirens elektrolitowy (C_{el}), transport

wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) i transport wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$)
Dane te przedstawiono w Tab. 4 oraz zanalizowano graficznie na Ryc. 10. Umiarkowany wzrost ciśnienia tętniczego krwi w ciągu pierwszych 20-tu minut infuzji AVP (okres U_2) wiązał się ze wzrostem klirensu osmotycznego będącego miarą wydalania wszystkich substancji osmotycznie czynnych. Przy jednoczesnym braku zmian w tempie filtracji kłębuszkowej, wzrost ten oznacza zmniejszoną globalną reabsorpcję substancji osmotycznie czynnych w nerce. Z Ryc. 10 wynika, że wzrost C_{osm} był związany ze wzrostem wydalania substancji elektrolitowych (równoległy wzrost C_{el}), podczas gdy wydalanie substancji nieelektrolitowych (C_{nieel}) uległo nawet pewnemu obniżeniu (Tab. 4). Reabsorpcja wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) oraz wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$) zmieniała się nieznacznie. Dalszemu niewielkiemu wzrostowi ciśnienia w drugim okresie infuzji AVP towarzyszył dalszy wzrost C_{osm} i C_{el} (Ryc. 10). Zaobserwowano również w tym okresie wzrost $T_{H_2O}^C$ jak i $T_{H_2O}^{ce}$, który należy tłumaczyć jako wynik bardzo już znacznego wzrostu klirensu osmotycznego i elektrolitowego (można wyliczyć, że bardziej miarodajny w tym przypadku wskaźnik $T_{H_2O}^C/C_{osm}$ nie zmienił się). Jest rzeczą znaną, że istotny wzrost objętości płynu kanalikowego dostarczanej do kanalików zbiorczych prowadzi jednocześnie do pewnego wzrostu reabsorpcji wody i do jeszcze większego wzrostu jej wydalania.

Reasumując, fakt że transport wolnej wody nie obniżał się w tej serii doświadczalnej wskazuje, że znaczny wzrost diurezy nie wynikał z upośledzenia zagęszczania moczu.

Należy przypomnieć, że zmiany wydalania wody i substancji rozpuszczalnych przebiegały bez zmiany stężenia elektrolitów w śródmiąższu rdzenia nerki (por. wyżej). Natomiast można sądzić że, tak jak to się dzieje w przypadku każdego wzrostu diurezy,



Hyc. 10. A. Zmiany klirensu osmotycznego (C_{osm}) i jego składowych diurezy (\dot{V}) i transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$).

B. Zmiany klirensu elektrolitowego (C_{el}) i jego składowy \dot{V} i transportu wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$) w wyniku podania argininowej wazopresyny (AVP).

0 - 20 min, 20 - 55 min - czas od rozpoczęcia infuzji AVP.

doszło w śródmiaższu rdzenia do spadku stężenia substancji nie-elektrolitowych, głównie mocznika. Przemawia za tym wyraźne obniżenie osmolalności nieelektrolitowej moczu (zależnej głównie od mocznika), przy braku zmian osmolalności elektrolitowej i stężenia Na^+ (Tab. 4).

Reasumując, infuzja wazopresyny argininowej nie wywołała wyraźnych zmian stężenia elektrolitów w śródmiaższu rdzenia nerki. U szczurów tej grupy obserwowano paradoksalny wzrost diurezy, któremu jednak towarzyszył wzrost (!) reabsorpcji wolnej wody. Wydaje się, że wpływ AVP na czynność wydalniczą nerki polegał tutaj na upośledzeniu procesów reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych, głównie elektrolitowych - a przede wszystkim reabsorpcji sodu.

3.3. INFUZJA DEAMINOARGININOWEJ WAZOPRESYNY (grupa III)

Po zakończeniu doświadczeń i wstępnej ocenie wyników uzyskanych u zwierząt otrzymujących agonistę wazopresyny wysoko specyficznego dla receptorów V_2 (dDAVP) tj. w grupie III zdecydowano o jej podziale na dwie podgrupy. Za kryterium podziału przyjęto diurezę, która u części zwierząt już w momencie rozpoczęcia doświadczeń była bardzo wysoka. Przyczyna takich różnic między zwierzętami nie jest jasna. Wiadomo natomiast, że szybki przepływ płynu przez kanaliki nerkowe, szczególnie przez rdzeniowe odcinki kanalików zbiorczych, stwarza gorsze warunki do zagęszczania moczu. W związku z tym do podgrupy IIIa zakwalifikowano arbitralnie zwierzęta, u których diureza w okresie kontrolnym nie przekraczała $15 \mu\text{l}/\text{min}$ (zakres wartości $4,6 - 14,1 \mu\text{l}/\text{min}$) natomiast do podgrupy IIIb te, u których diureza przekroczyła tę wartość ($16,1 - 108,6 \mu\text{l}/\text{min}$).

3.3.1. Infuzja dDAVP u zwierząt z niską lub umiarkowaną diurezą (grupa IIIa)

Podgrupa ta obejmuje doświadczenia w których wyjściowa diureza wynosiła $9,4 \pm 1,6 \mu\text{l}/\text{min}$.

Zgodnie z oczekiwaniem, infuzja agonisty wazopresyny pozbawionego działania presyjnego, dDAVP, nie wywołała żadnych zmian ciśnienia tętniczego u badanych szczurów (Tab. 5).

W czasie infuzji dDAVP zanotowano istotny statystycznie ($p < 0,01$) wzrost admitancji (Y) w obrębie obu warstw rdzenia nerki (Ryc. 14 i Tab. 3) a także łącznie dla całego rdzenia (kanał 3.). Po średnio 55 minutach infuzji zanotowano 10% przyrost admitancji w rdzeniu wewnętrznym (kanał 1.), 9% w rdzeniu zewnętrznym (kanał 2.) i 10% w obrębie całego rdzenia nerkowego (kanał 3.). Na podstawie powyższych danych można stwierdzić, że u szczurów w uśpieniu barbituranowym, dożylna infuzja dDAVP powoduje wzrost stężenia elektrolitów w śródmiaższu rdzenia nerki.

Główne dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek szczurów z grupy IIIa przedstawiono w Tabeli 5. Zaobserwowano tu istotny statystycznie ($p < 0,01$) wzrost całkowitego przepływu krwi przez nerkę (RBF). Procentowy przyrost RBF u szczurów w tej podgrupie (23%) był wyższy niż u zwierząt, u których prowadzono infuzję AVP (10%) oraz niż w grupie kontrolnej (5%). Pozostałe parametry hemodynamiki nerek tzn. tempo filtracji kłębuszkowej (GFR) i frakcja filtracyjna (FF) nie wykazywały istotnych zmian w trakcie infuzji dDAVP (Tab. 5).

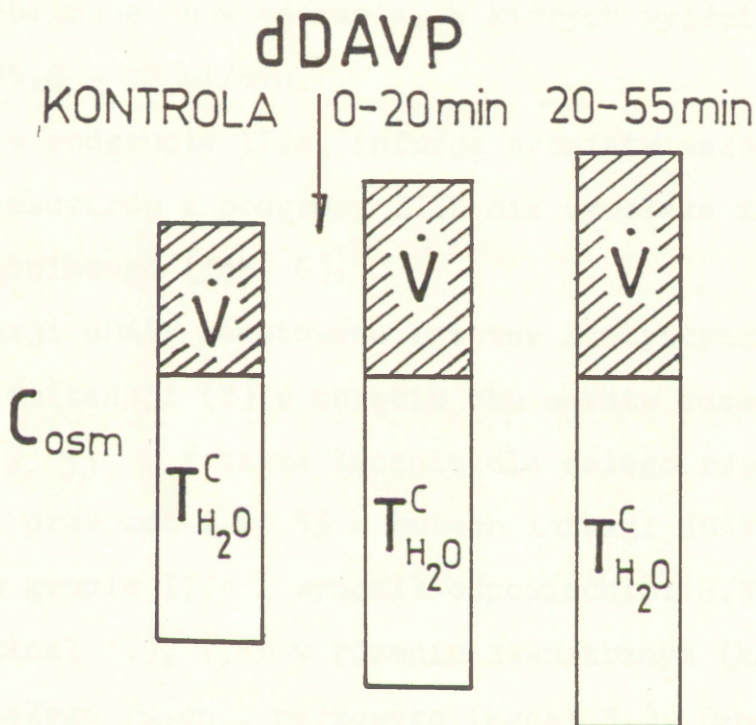
W wyniku infuzji dDAVP zanotowano postępujący wzrost diurezy (V) łącznie o 45%. Przyrost ten był wyższy niż obserwowany w grupie kontrolnej (20%), nie wykazywał jednak cech znamienności.

Warto przypomnieć, że przyrost \dot{V} po infuzji AVP (gr. II) wynosił średnio 150%. Umiarkowanemu wzrostowi diurezy nie towarzyszyły w tej grupie (IIIa) zmiany osmolalności moczu (Tab. 5). Jednocześnie zanotowano wzrost tempa wydalania sodu (\dot{U}_{Na}) o 5,8% (nieznamienny). Na podstawie powyższych danych można stwierdzić, że pewne nasilenie diurezy po infuzji agonisty wazopresyny nie wynikało z upośledzenia procesu zagęszczania moczu.

W oparciu o takie wskaźniki jak klirens osmotyczny (C_{osm}) i transport wolnej wody ($T_{H_2O}^c$), zamieszczone w Tabeli 5 i zobrażone na Ryc. 11, zanalizowano dokładniej procesy wydalnicze zachodzące w następstwie infuzji dDAVP^x. W ciągu całego przebiegu doświadczenia obserwowano postępujący wzrost C_{osm} , będącego miarą wydalania wszystkich substancji osmotycznie czynnych. Przyrost ten (o 36% w stosunku do okresu kontrolnego) był bardzo równomierny i nie wykazywał cech znamienności. Równocześnie ze wzrostem C_{osm} obserwujemy wzrost diurezy i transportu wolnej wody (o 33%). Profil wzrostu tych trzech wskaźników jest bardzo podobny (Ryc. 11). Przy jednoczesnym braku zmian w tempie filtracji kłębuszkowej, wzrost C_{osm} (oraz równoczesny wzrost $T_{H_2O}^c$) wynika ze zmniejszającej się globalnej reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych w nerce. Dane te (a szczególnie brak obniżenia transportu wolnej wody) potwierdzają wcześniejszy wniosek, że umiarkowany przyrost diurezy po dDAVP nie był następstwem upośledzenia mechanizmu zagęszczania moczu w nerce.

Reasumując, infuzja dDAVP wywołała istotny wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiąższu rdzenia nerki. Obserwowano

^x Z powodu braku pełnych danych dotyczących klirensu elektrolitowego i transportu wody wolnej od elektrolitów, nie można było wykorzystać tych wskaźników w przedstawionej poniżej analizie.



Ryc. 11. Zmiany klirensu osmotycznego (C_{osm}) i jego składowych: diurezy (\dot{V}) i transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) w wyniku podania agonisty wazopresyny - dDAVP.

0 - 20 min, 20 - 55 min - czas od rozpoczęcia infuzji dDAVP

również wyraźny wzrost diurezy (45%), tempa wydalania sodu (58%), klirensu osmotycznego (36%) i transportu wolnej wody (33%). Zmiany te, przy niewielkiej liczbie obserwacji, nie wykazywały cech znamienności.

3.3.2. Infuzja dDAVP u zwierząt z wysoką diurezą (grupa IIIb)

Podgrupa ta obejmuje doświadczenia, w których wyjściowa diureza wynosiła $35,8 \pm 12 \mu\text{l}/\text{min}$.

Podobnie jak w podgrupie IIIa, infuzja agonisty wazopresyny (dDAVP) również u szczurów z podgrupy IIIb nie wywołała żadnych zmian ciśnienia tętniczego (Tab. 6).

W czasie infuzji dDAVP zanotowano istotny statystycznie ($p < 0,01$) wzrost admitancji (Y) w obrębie obu warstw rdzenia nerki (Ryc. 14 i Tab. 3) a także łącznie dla całego rdzenia (kanał 3.). Średni przyrost Y po 55 minutach infuzji dDAVP był nieco niższy niż w grupie IIIa i wynosił odpowiednio: 8,3% w rdzeniu wewnętrznym (kanał 1.), 7,6% w rdzeniu zewnętrznym (kanał 2.) i 8,7% w obrębie całego rdzenia nerkowego (kanał 3.). Dane te potwierdzają wcześniejszą obserwację (por. gr. IIIa), że u szczurów w uśpieniu barbituranowym dożylna infuzja użytego przez mnie agonisty wazopresyny powoduje wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiaższu rdzenia nerki.

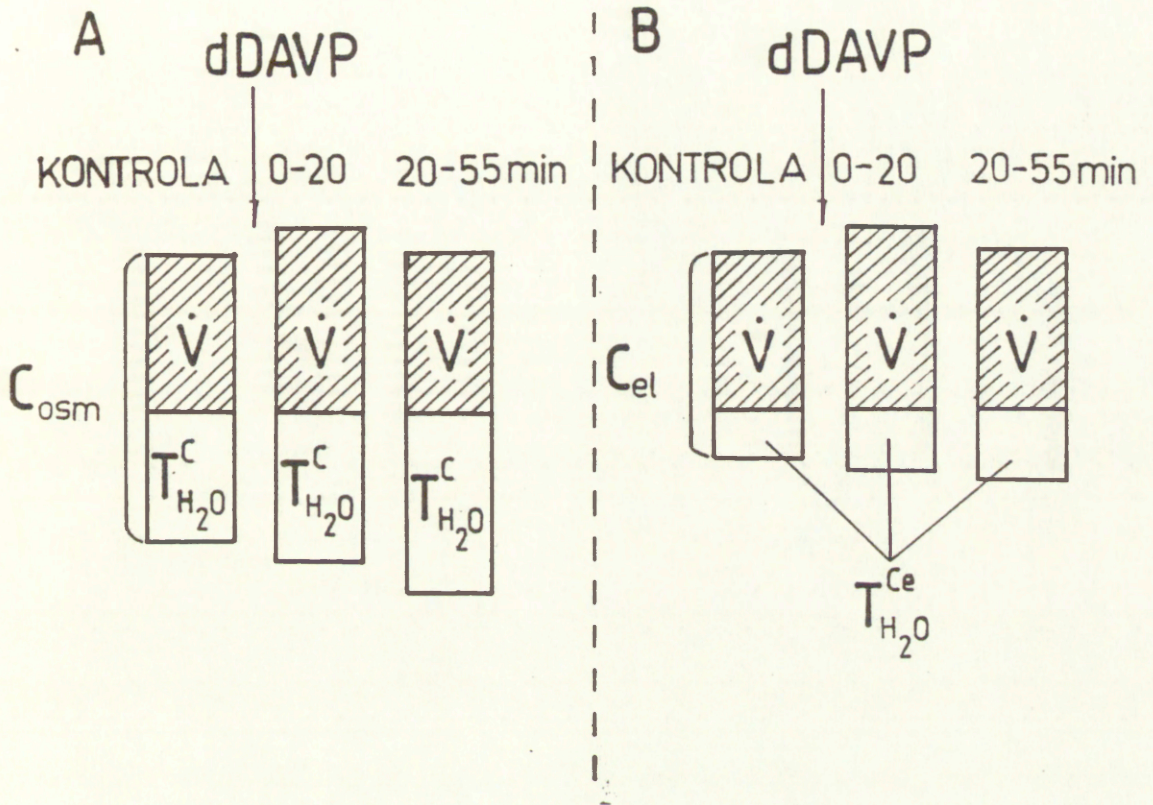
Główne dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek dla tej podgrupy (IIIb) zebrano w Tabeli 6. Wzrost całkowitego przepływu krwi przez nerkę (RBF) opisywany wcześniej we wszystkich grupach, zanotowano również i w tej serii doświadczalnej (Tab. 6). Wzrost ten (o 16%) aczkolwiek nieco niższy niż w podgrupie IIIa, był statystycznie istotny ($p < 0,05$). Infuzja agonisty wazopresyny nie wpłynęła w istotny sposób na tempo filtracji kłębuszkowej. Frakcja filtracyjna w trakcie doświadczeń

ulegała pewnemu obniżeniu - zmiana ta pozostaje na granicy istotności (Tab. 6).

Wpływ dDAVP na diurezę u szczurów był w tej grupie (IIIb) niewielki. W ciągu pierwszych 20 minut infuzji agonisty wazopresyny zanotowano średnio 17% wzrost diurezy, po czym nastąpiło jej obniżenie do wartości kontrolnej. Obserwowanemu spadkowi \dot{V} w drugim okresie infuzji dDAVP towarzyszył pewien wzrost osmolalności moczu (19%). Zarówno stężenie sodu w moczu (U_{Na}) jak i tempo wydalania tego jonu ($\dot{U}_{Na} \dot{V}$) nie ulegało istotnym zmianom. Stężenie elektrolitów w moczu (\dot{U}_{el}) wzrastało w czasie trwania doświadczenia ($p < 0,05$).

Wpływ dDAVP na procesy wydalnicze zachodzące w nerce zanalizowano dokładniej w oparciu o zmiany C_{osm} , C_{el} , $T_{H_2O}^C$ i $T_{H_2O}^{Ce}$. Dane te przedstawiono w Tabeli 6 oraz zanalizowano graficznie na Ryc. 12. W wyniku infuzji dDAVP zanotowano niewielki wzrost klirensu osmotycznego i elektrolitowego (Ryc. 12). Wzrost ten przy jednoczesnym braku zmian w tempie filtracji kłębuszkowej oznacza niewielkie zmniejszenie globalnej reabsorpcji zarówno wszystkich substancji osmotycznie czynnych jak i w szczególności substancji elektrolitowych. W ciągu całego doświadczenia obserwowano postępujący wzrost transportu wolnej wody. Zmiana ta pozostawała na granicy istotności (Tab. 6). Transport wody wolnej od elektrolitów wzrastał w niewielkim stopniu. Wydalanie substancji nieelektrolitowych (C_{nel}) wzrastało progresywnie w ciągu całego przebiegu doświadczenia (Tab. 6).

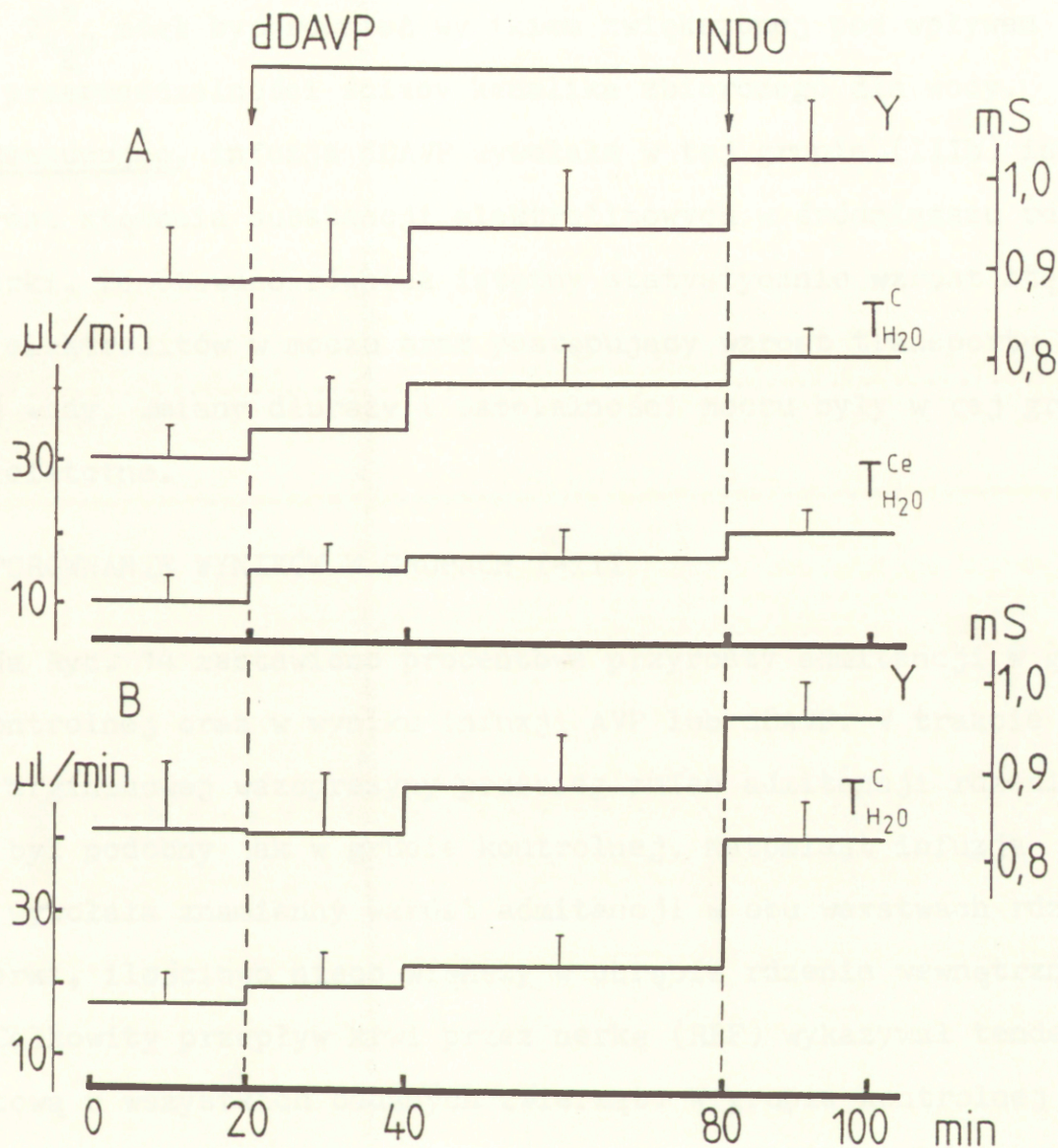
Należy przypuszczać, że zmiany wydalania wody i substancji rozpuszczonych przebiegały z jednoczesnym wzrostem stężenia elektrolitów w śródmiąższu rdzenia nerki. W zgodzie z zanotowanym wzrostem admitancji (Y) pozostaje postępujący wzrost transportu wolnej wody i wody wolnej od elektrolitów (Ryc. 13). Jednak wzrost



Ryc. 12. A. Zmiany klirensu osmotycznego (C_{osm}) i jego składowych: diurezy (\dot{V}) i transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$).

B. Zmiany klirensu elektrolitowego (C_{el}) i jego składowych: \dot{V} i transportu wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$) w wyniku podania agonisty wazopresyny - dDAVP.

0 - 20 min, 20 - 55 min - czas od rozpoczęcia infuzji dDAVP.



Fyc. 13. Zmiany admitancji (Y), transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^c$) i wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$) w trakcie infuzji dDAVP a następnie dodania infuzji indometacyny (INDO) u szczurów z podgrupy IIIa (B) i IIIb (A).

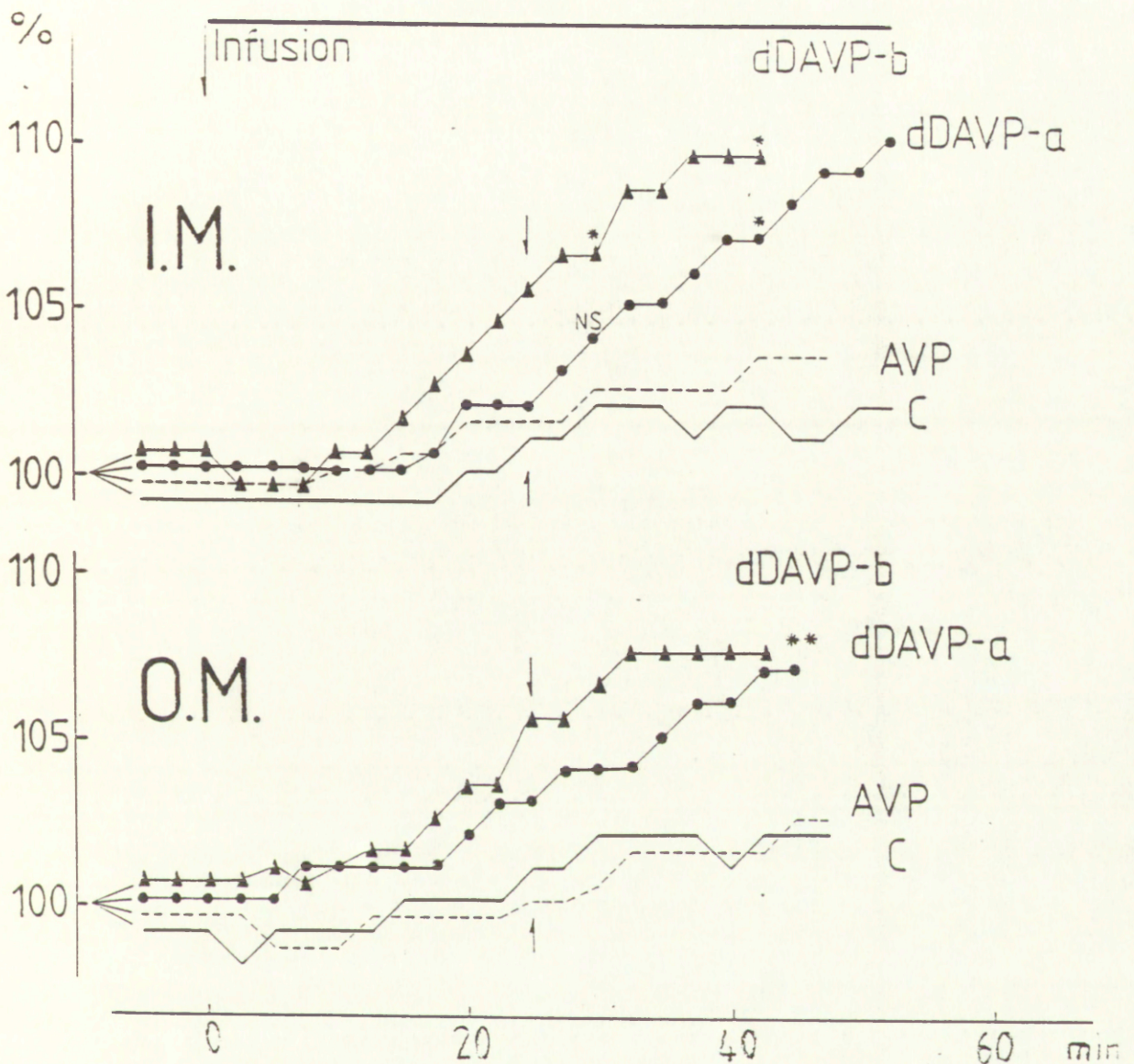
$T_{H_2O}^c$ i $T_{H_2O}^{ce}$ mógł być również wynikiem zwiększonej pod wpływem dDAVP przepuszczalności ściany kanalika zbiorczego dla wody.

Reasumując, infuzja dDAVP wywołała w tej grupie (IIIb) istotny wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiąszu rdzenia nerki. Zanotowano również istotny statystycznie wzrost stężenia elektrolitów w moczu oraz postępujący wzrost transportu wolnej wody. Zmiany diurezy i osmolalności moczu były w tej grupie nieistotne.

3.4. PORÓWNANIE WYNIKÓW W GRUPACH I-III

Na Ryc. 14 zestawiono procentowe przyrosty admitancji w grupie kontrolnej oraz w wyniku infuzji AVP lub dDAVP. W trakcie infuzji argininowej wazopresyny przebieg zmian admitancji rdzenia nerki był podobny jak w grupie kontrolnej. Natomiast infuzja dDAVP wywołała znamiennej wzrost admitancji w obu warstwach rdzenia nerki, ilościowo nieco większy w obrębie rdzenia wewnętrznego.

Całkowity przepływ krwi przez nerkę (RBF) wykazywał tendencję wzrostową u wszystkich badanych zwierząt. W grupie kontrolnej i po infuzji AVP krzywe opisujące przebieg RBF były zbliżone (Ryc. 15). Natomiast po infuzji dDAVP obserwowano znacznie wyraźniejszy wzrost RBF. Analiza statystyczna wykazała istotną różnicę między średnim przyrostem przepływu obserwowanym w obu podgrupach po infuzji dDAVP (dla IIIa - $p < 0,001$; dla IIIb - $p < 0,01$) a przyrostem zanotowanym w grupie kontrolnej. Zestawienie przebiegu pozostałych parametrów hemodynamicznych (GFR, FF) nie ujawniło istotnych różnic między grupami. Należy w tym miejscu przypomnieć, że całą grupę III (infuzja dDAVP) podzielono na dwie podgrupy, w zależności od wyjściowego poziomu diurezy. Jak widać na Ryc. 16



Ryc. 14. Procentowy przyrost admitancji w rdzeniu wewnętrznym (I.M., kanał 1), rdzeniu zewnętrznym (O.M., kanał 2) w poszczególnych grupach doświadczalnych. C- grupa I (kontrolna); AVP - grupa II; dDAVPa - podgrupa IIIa; dDAVPb - podgrupa IIIb. Strzałkami zaznaczono punkt w czasie od którego zespół krzywych wykazuje znamienne różnicowanie (klasyczna analiza wariancji; $p < 0.05$)

* - znamienne różne od jednoczesnej średniej wartości kontrolnej (ANOVA oraz zmodyfikowana statystyka t-Studenta z poprawką Bonferroniego dla wielokrotnych porównań; $p < 0.017$)

** - średnie skumulowanych podgrup dDAVP znamienne różne od jednoczesnej wartości kontrolnej (test t-Studenta; $p < 0.05$)

I.M. - rdzeń wewnętrzny (kanał 1), O.M. - rdzeń zewnętrzny (kanał 2).

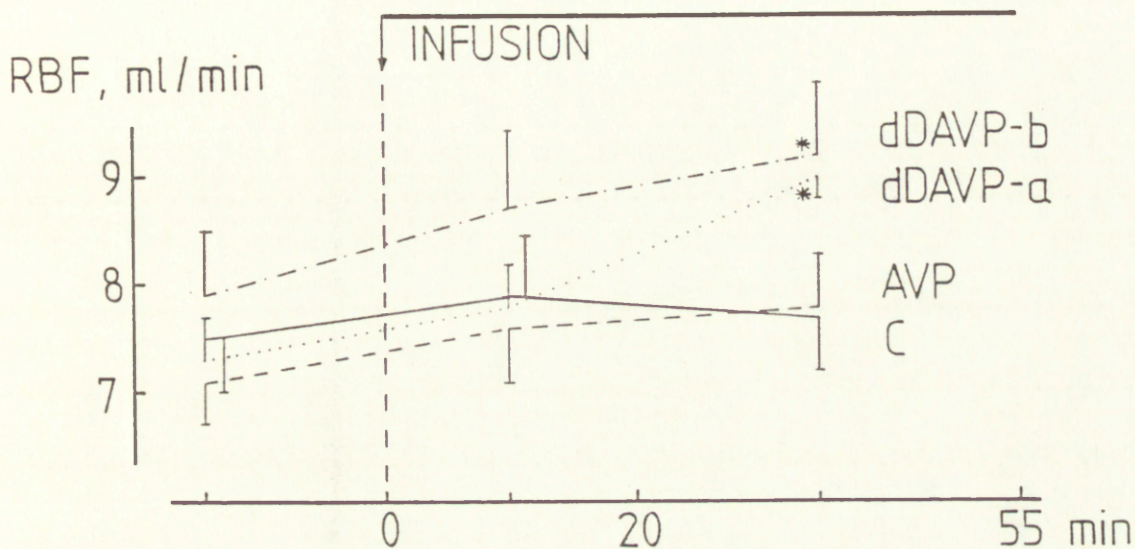
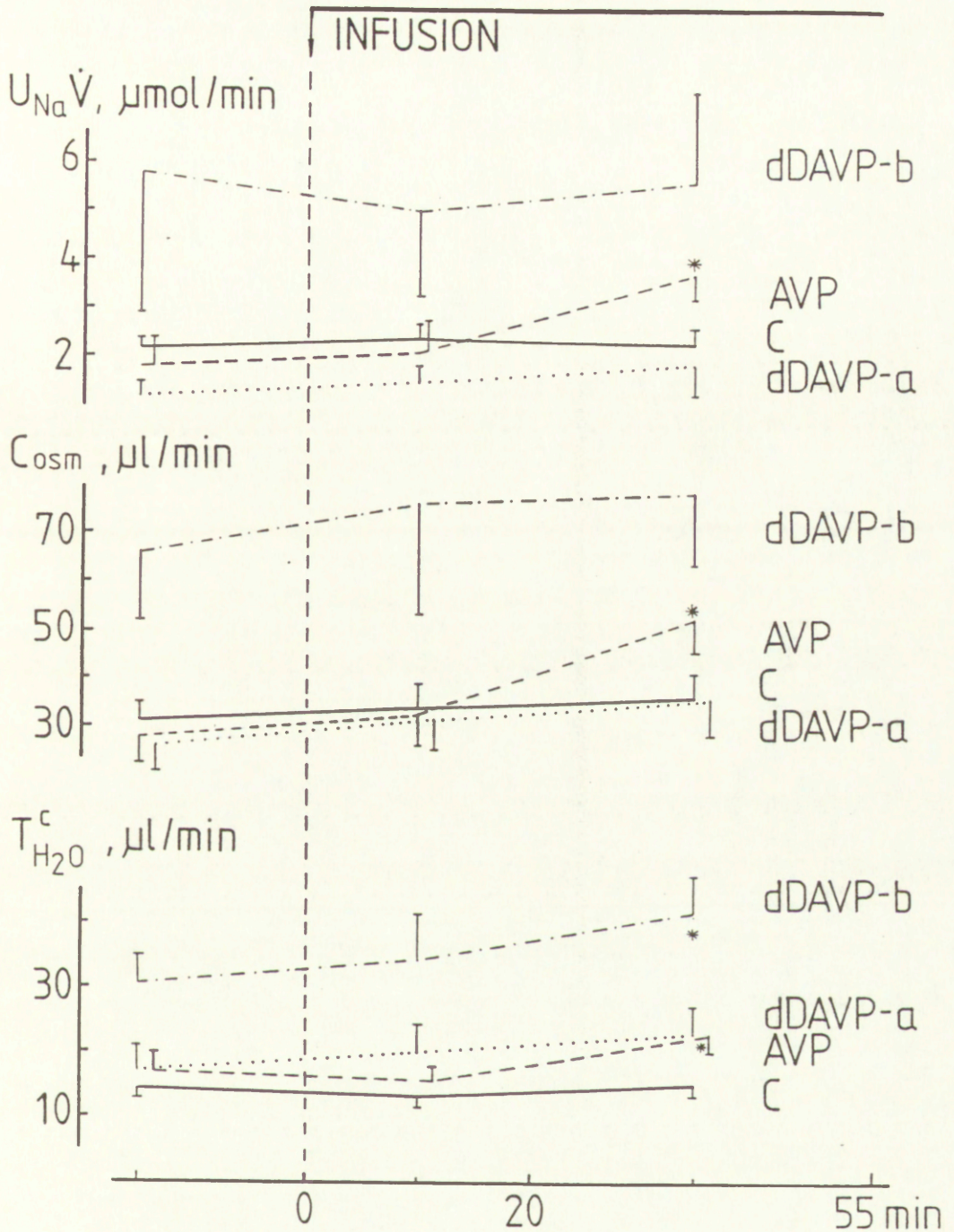


Fig. 15. Zmiany całkowitego przepływu krwi (RBF) w grupie kontrolnej (C) oraz po infuzji AVP (gr. II) lub dDAVP (gr. IIIa i b) - - wartości średnie \pm SE * - wartości istotnie różne od średniej wartości kontrolnej w tym samym punkcie czasowym (ANOVA oraz zmodyfikowana statystyka t-Studenta z poprawką Bonferroniego dla wielokrotnych porównań; $p < 0,017$).



Ryc. 16. Zmiany wydalania sodu ($U_{Na} \dot{V}$), klirensu osmotycznego (C_{osm}) i transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^c$) w grupie kontrolnej (C) oraz po infuzji AVP (gr. II) lub dDAVP (gr. IIIa i b)

- wartości średnie \pm SE

* - istotna zmiana względem okresu kontrolnego

(ANOVA dla pomiarów powtarzanych w czasie).

W grupie z podwyższoną diurezą (IIIb) cały szereg wskaźników (np. $U_{Na} \dot{V}$, C_{osm} , $T_{H_2O}^C$) pozostawał na dużo wyższym poziomie już w momencie rozpoczęcia doświadczeń. Także tempo filtracji kłębuszkowej było tu średnio o 25% wyższe niż w pozostałych grupach (Tab. 6).

Z zestawienia danych dotyczących czynności wydalniczej nerek wynika, że jedynie po infuzji argininowej wazopresyny (AVP) obserwujemy wyraźny wzrost diurezy i obniżenie osmolalności moczu (Ryc. 17). W grupie IIIb zanotowano istotny wzrost osmolalności moczu w drugim okresie infuzji dDAVP w stosunku do pierwszego. Wydalanie sodu wzrosło wyraźnie tylko u szczurów, którym podawano AVP (Ryc. 16). Tylko w tej grupie obserwuje się również istotny wzrost klirensu osmotycznego i transportu wolnej wody. Tendencje wzrostowe tych dwóch ostatnich wskaźników zanotowano także po infuzji agonisty wazopresyny, lecz nie są to zmiany statystycznie istotne poza jednym przypadkiem: $T_{H_2O}^C$ dla grupy IIIb pozostaje na granicy istotności ($p = 0,05$) (Ryc. 16).

Reasumując, infuzja argininowej wazopresyny wywołała wyraźne zmiany w czynności wydalniczej nerek. Wzrost diurezy po AVP był jednoczesny ze wzrostem wydalania sodu, wzrostem klirensu osmotycznego i klirensu elektrolitowego - co oznacza zmniejszoną globalną reabsorpcję substancji osmotycznie czynnych. Mniej wyraźny (w porównaniu ze wzrostem diurezy) spadek osmolalności moczu oraz progresywny wzrost transportu wolnej wody (Ryc. 17 i 16) zanotowany w tej serii doświadczalnej sugerują, że nie doszło tutaj do zaburzenia funkcji mechanizmu zagęszczania moczu (co byłoby zjawiskiem paradoksalnym i trudnym do wytłumaczenia). Należy przypuszczać, że wszystkie opisane zmiany zachodziły równocześnie z pewnym (zaplanowanym) wzrostem ciśnienia krwi. Infuzja AVP nie miała natomiast istotnego wpływu na stężenie elektrolitów w śródmiąszu

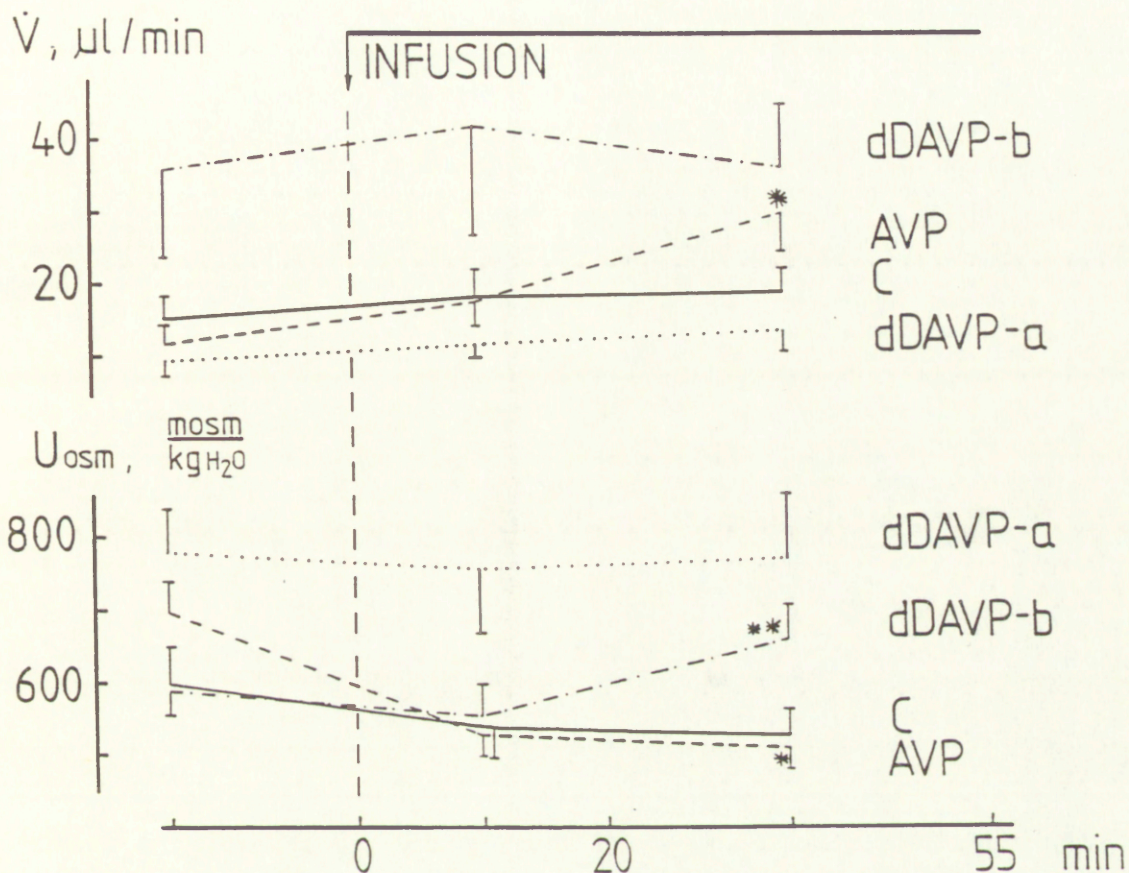


Fig. 17. Zmiany diurezy (\dot{V}) i osmolalności moczu (U_{osm}) w grupie kontrolnej (C) oraz po infuzji AVP (gr. II) lub dDAVP (gr. IIIa i b) - wartości średnie \pm SE
* - istotna zmiana względem okresu kontrolnego (ANOVA dla pomiarów powtarzanych w czasie)
** - istotna różnica między średnimi w pierwszym i drugim okresie infuzji dDAVP (test t-Studenta dla zmiennych połączonych)

nerki - w przeciwieństwie do dDAVP, po którym obserwowano istotny jego wzrost (Ryc. 14). Infuzja dDAVP nie spowodowała niemal żadnych zmian w czynności wydalniczej nerek. Jedyną istotną zmianą był wzrost stężenia elektrolitów w moczu u szczurów z dużą wyjściową diurezą (IIIb). Ponadto zanotowano wyraźny (lecz nieznamienisty) wzrost \dot{V} , $U_{Na} \dot{V}$, C_{osm} w podgrupie IIIa i wzrost $T_{H_2O}^-$ u wszystkich szczurów, którym podawano dDAVP.

3.5. DZIAŁANIE INDOMETACYN Y U ZWIERZĄT OTRZYMUJĄCYCH dDAVP^x

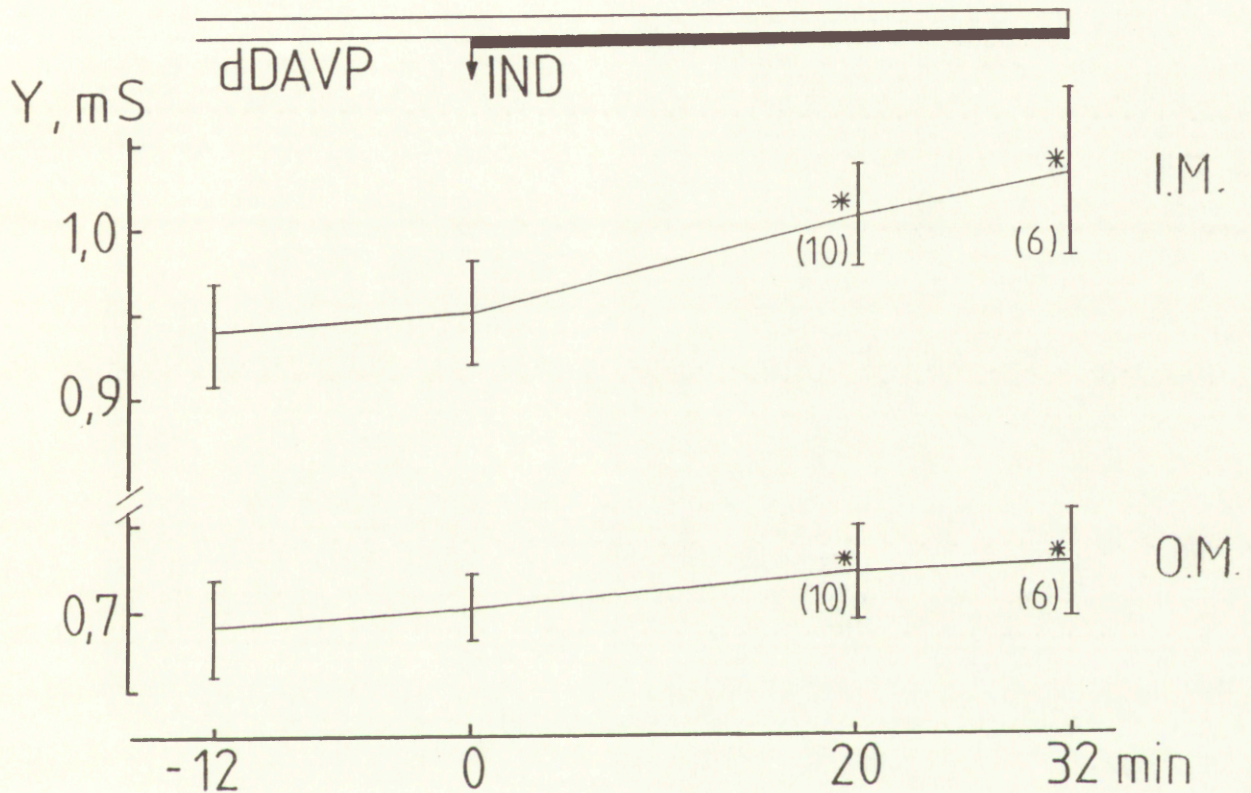
Jak już zaznaczono wcześniej (patrz 2.5), u niektórych szczurów (n = 10) z grupy III przeprowadzono dodatkowo pod koniec doświadczenia (w okresie U_4) infuzję indometacyny (IND). Była ona nałożona na trwającą cały czas infuzję agonisty wazopresyny - dDAVP.

3.5.1. Zmiany admitancji

W związku z tym, że zakres wartości admitancji w obydwu podgrupach (IIIa i b) w momencie rozpoczęcia infuzji IND był podobny oraz średnie przyrosty Y nie różniły się między sobą istotnie, postanowiono otrzymane wyniki przedstawić łącznie. Dane dotyczące wpływu indometacyny na admitancję tkanki nerkowej przedstawiono na Ryc. 18. Ponieważ w ciągu ostatnich 12 minut infuzji dDAVP przed podaniem IND nie obserwowano już istotnych zmian admitancji (testem t-Studenta nie wykazano istotnej różnicy w punktach "-12" i "0"), okres ten potraktowano jako kontrolny.

Z Ryc. 18 widać, że już po 20 minutach infuzji zastosowanego tu inhibitora syntezy prostaglandyn, obserwowano istotny wzrost Y

^x Wyniki badań z zastosowaniem indometacyny uzyskano w doświadczeniach przeprowadzonych wspólnie z L. Dobrowolskim.



Ryc. 18. Zmiany admitancji tkanki nerkowej w wyniku infuzji indometacyny (IND) u szczurów otrzymujących dDAVP (grupa III). Wartości średnie \pm SE.

* - istotne różnice między wartościami średnimi w 20 (n=10) i 32 (n=6) minucie infuzji IND w stosunku do średniej w punkcie 0 (test t-Studenta).

I.M. - rdzeń wewnętrzny, O.M. - rdzeń zewnętrzny

($p < 0,05$) w obydwu warstwach rdzenia nerkowego. Dalsza infuzja IND wywoływała dalszy wzrost ($p < 0,01$) stężenia elektrolitów w śródmiaższu rdzenia. Niestety wagę tych obserwacji obniża nieco fakt braku równoczesnej kontroli czasowej, tzn. doświadczeń w których prowadzono by jedynie przedłużoną infuzję dDAVP.

Charakterystykę hemodynamiki i wydalania nerkowego przeanalizowano dla każdej podgrupy (IIIa i IIIb) oddzielnie.

3.5.2. Zmiany czynności nerek

Grupa IIIa (niska diureza wyjściowa)

Główne dane dotyczące ciśnienia tętniczego, hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek przed i w czasie infuzji indometacyny przedstawiono w Tabeli 7. Ponieważ zmiany obserwowane po podaniu indometacyny porównuje się z wartościami uzyskanymi w ostatnim okresie infuzji dDAVP, interpretacja uzyskanych wyników jest niekiedy trudna. Tylko wyraźne zmiany wskaźników po IND występujące na tle braku zmian lub ich stabilizacji w czasie ostatniego okresu infuzji dDAVP, można traktować jako zmiany specyficznie zależne od podanego inhibitora syntezy prostaglandyn (por. także Ryc. 19).

Podanie indometacyny nie wpłynęło istotnie na wartość ciśnienia tętniczego u badanych szczurów. Zanotowano natomiast wyraźne zmiany w hemodynamice nerek: istotny wzrost tempa filtracji kłębuszkowej ($p < 0,01$) i pewien wzrost (nieznamienny) całkowitego przepływu krwi przez nerkę (Tab. 7). Ta ostatnia zmiana stanowiła najprawdopodobniej kontynuację trendu wzrostowego RBF obserwowanego już w trakcie infuzji dDAVP (Tab. 5, Ryc. 15) a więc trudno ją wiązać z działaniem indometacyny.

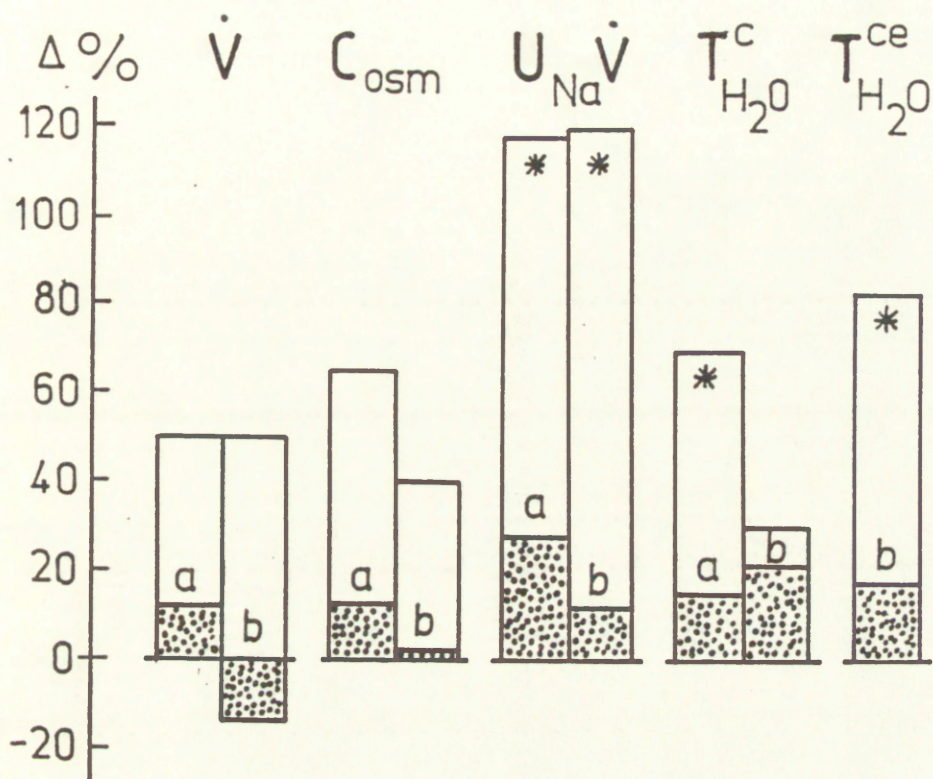


Fig. 19. Procentowe przyrosty wskaźników czynności wydalniczej oraz $T_{H_2O}^c$ i $T_{H_2O}^{ce}$ w wyniku infuzji indometacyny "nałożonej" na infuzję dDAVP (cała wysokość słupków) w zestawieniu ze zmianami obserwowanymi w ciągu poprzedzających 35 min infuzji samej dDAVP (zakropkowane fragmenty słupków) w grupie IIIa i IIIb.
* znamienne różne od wartości z okresu poprzedzającego (infuzja samej dDAVP), $p < 0,05$.

W wyniku infuzji indometacyny zanotowano również wzrost wydalania nerkowego (\dot{V} , $U_{Na} \dot{V}$), co może być związane z podwyższeniem filtracji kłębuszkowej. Wzrost C_{osm} można potraktować jako pewną kontynuację wzrostu obserwowanego w trakcie infuzji dDAVP aczkolwiek dynamika tych zmian po indometacynie była dużo wyższa. Jednocześnie obserwowano istotny wzrost osmolalności moczu ($p < 0,01$), transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^c$, $p < 0,05$) oraz wzrost udziału tego ostatniego w klirensie osmotycznym ($T_{H_2O}^c/C_{osm}$, $p < 0,05$). Zmiany te wydają się być specyficznym związane z zablokowaniem syntezy prostaglandyn.

Wzrost reabsorpcji wolnej wody a szczególnie jej udziału w wartości klirensu osmotycznego ($T_{H_2O}^c/C_{osm}$) może wskazywać na to, że zwiększyła się reabsorpcja wody w rdzeniowych odcinkach kanalików zbiorczych. Mogłoby to zależeć od zwiększenia osmolalności śródmiąższu rdzenia (por. wzrost Y) lub zwiększenia przepuszczalności układu zbiorczego dla wody.

Grupa IIIb (wysoka diureza wyjściowa)

Dane dotyczące zmian hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek w wyniku infuzji indometacyny u szczurów z wysoką wyjściową diurezą, przedstawiono w Tabeli 8 oraz na Ryc. 19.

Infuzja inhibitora syntezy prostaglandyn nie wpłynęła wyraźnie na ciśnienie tętnicze u badanych zwierząt, nie zanotowano również istotnych zmian w hemodynamice nerek (Tab. 8) - w przeciwieństwie do wzrostu obserwowanego u zwierząt z niską diurezą wyjściową (IIIa).

Zmiany wydalania nerkowego (\dot{V} , C_{osm} , $U_{Na} \dot{V}$) miały podobny kierunek i zakres w obydwu podgrupach szczurów. Obserwowany tutaj (IIIb) wzrost wydalania nerkowego wystąpił bez wzrostu filtracji

kłębuszkowej i przepływu krwi. Przez analogię można więc przypuszczać, że obserwowany w czasie infuzji indometacyny wzrost diurezy, klirensu osmotycznego i wydalania sodu w podgrupie IIIa (por. Tab. 7) również nie był pochodną zwiększonego tempa filtracji kłębuszkowej.

Odmienne był wpływ indometacyny na osmolalność moczu (U_{osm}), która w grupie szczurów z wysoką diurezą wyjściową uległa niewielkiemu obniżeniu (Tab. 8) w przeciwieństwie do istotnego wzrostu zanotowanego u zwierząt z niską diurezą.

W Tabeli 8 przedstawiono także dane dotyczące zmian klirensu osmotycznego (C_{osm}) i elektrolitowego (C_{el}) oraz transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) i wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$). Zanotowano wyraźny aczkolwiek nieznamienny wzrost transportu wolnej wody. Trudno rozstrzygnąć czy jest on specyficznie związany z podaniem indometacyny, ponieważ już w czasie infuzji dDAVP obserwowano tendencję wzrostową $T_{H_2O}^C$. Jednoczesny wzrost klirensu osmotycznego był niewątpliwie konsekwencją infuzji IND (Ryc. 19).

Infuzja inhibitora syntezy prostaglandyn spowodowała również wyraźny wzrost klirensu elektrolitowego (C_{el}), istotny statystycznie wzrost reabsorpcji wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$; $p < 0,05$) oraz wzrost stosunku $T_{H_2O}^{ce}/C_{el}$. Obserwowane zmiany transportu wody wolnej od elektrolitów są dużo wyraźniejsze niż zmiany klasycznego $T_{H_2O}^C$, co potwierdza obserwację (por. 3.6), że $T_{H_2O}^{ce}$ jest czulszym wskaźnikiem zmian reabsorpcji wody, ponieważ na jego wartość nie wpływa związany z ruchem wody ruch mocznika.

Należy przypomnieć, że wszystkim zmianom, które można wiązać z podaniem indometacyny (zwłaszcza wzrost \dot{V} i wydalania sodu u wszystkich zwierząt oraz wzrost $T_{H_2O}^C$ w gr. IIIa i $T_{H_2O}^{ce}$ w gr. IIIb) towarzyszył jednoczesny wzrost stężenia elektrolitów w śródmiąższu rdzenia nerki (Ryc. 19 i Ryc. 18).

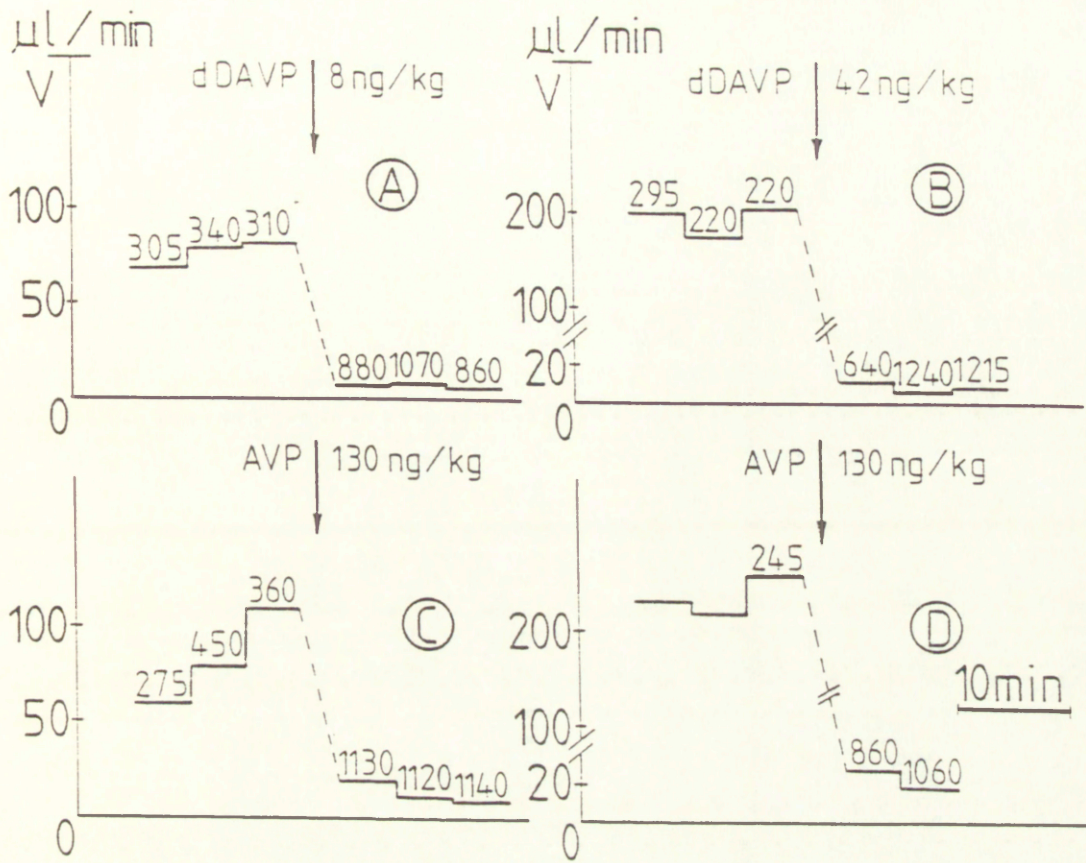
3.6. DZIAŁANIE AVP I dDAVP U SZCZURÓW W USPIENIU ETANOLOWYM

Celem tej serii doświadczalnej nie było ilościowe testowanie preparatów ADH a tylko sprawdzenie ich działania antydiuretycznego. W związku z tym nie starano się wywołać pełnej diurezy wodnej i wyjściowe osmolalności moczu wahały się w granicach od 220 do 360 mosm/kg H₂O. Ze względu na niewielką liczbę doświadczeń nie było także uzasadnione porównywanie wielkości odpowiedzi w zależności od dawki lub porównywanie efektywności obydwu preparatów wazopresyny.

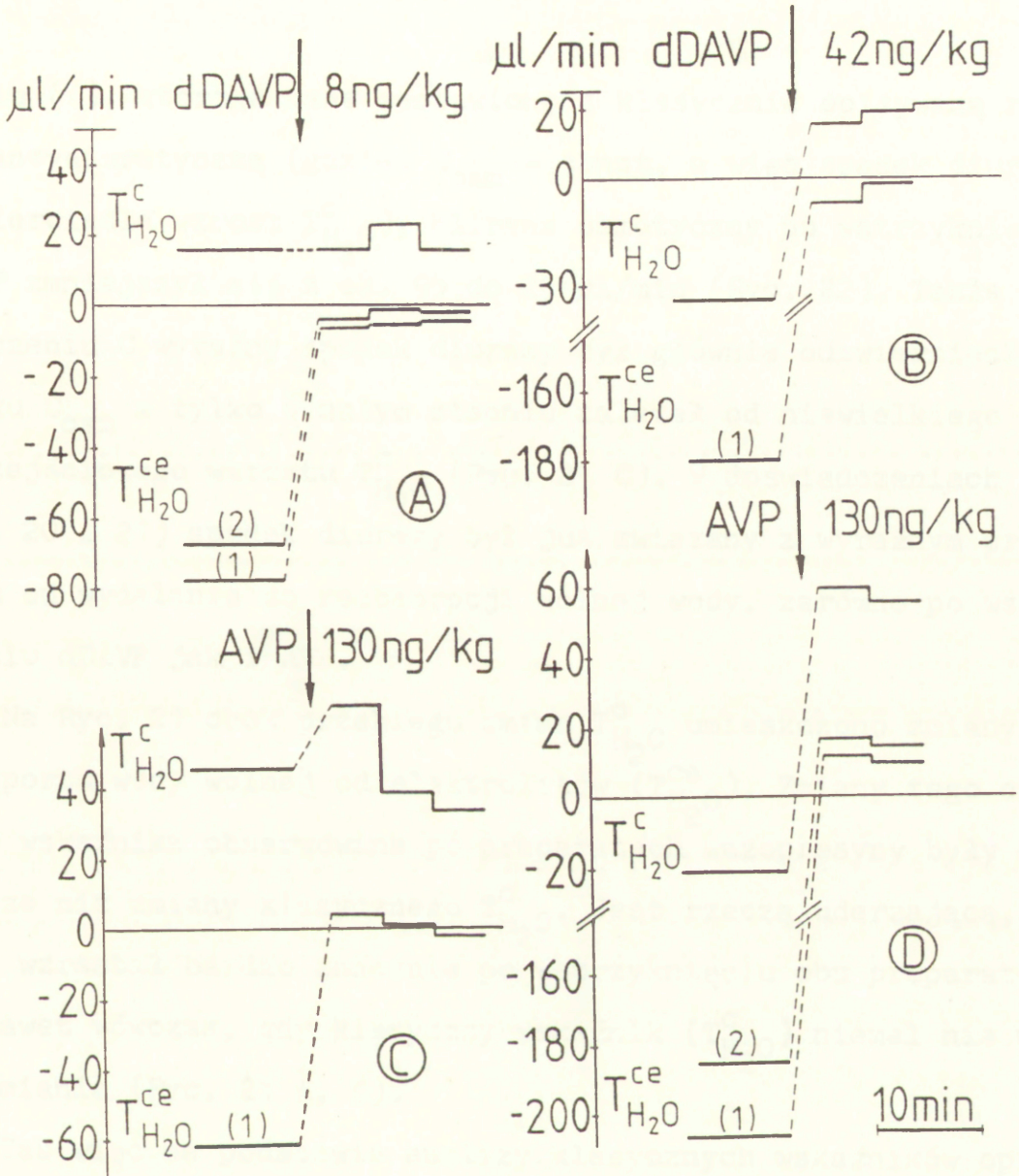
Obserwowana u szczurów reakcja na wstrzyknięcie dDAVP czy też AVP, przypomina typową odpowiedź antydiuretyczną (Ryc. 20), polegającą na zmniejszeniu diurezy minutowej i zwiększeniu osmolalności moczu. Tym samym rozwiane zostały wątpliwości co do aktywności obu preparatów; wątpliwości takie powstały w związku z brakiem spadku diurezy i wzrostu osmolalności po AVP i dDAVP obserwowanym w głównych grupach doświadczalnych (II i III a, b).

Nieco głębsza analiza wyników przedstawionych w Tab. 9 wskazuje jednak, że nie mieliśmy tutaj do czynienia z tzw. klasyczną odpowiedzią antydiuretyczną, ponieważ obserwowane procentowe spadki diurezy były większe niż towarzyszące im wzrosty osmolalności moczu.

Transport wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) charakteryzujący objętość wody wolnej od wszystkich substancji osmotycznych, zreabsorbowanej w kanalikach jest wskaźnikiem powszechnie stosowanym przy ocenie antydiuretycznego działania ADH. Zestawienie zmian diurezy i $T_{H_2O}^C$ w pierwszym doświadczeniu (Ryc. 20A i 21A) wskazuje, że spadek diurezy nie odzwierciedlał istotnego wzrostu reabsorpcji wolnej wody ale spadek klirensu osmotycznego (C_{osm}). W omawianym doświad-



Ryc. 20. Reakcja antydiuretyczna na dożylnie wstrzyknięcie syntetycznego analogu wazopresyny (dDAVP) lub wazopresyny argininowej (AVP) u 4 szczurów w uśpieniu etanolowym. Liczby na wykresach diurezy (\dot{V}) oznaczają osmolalność moczu ($\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$).

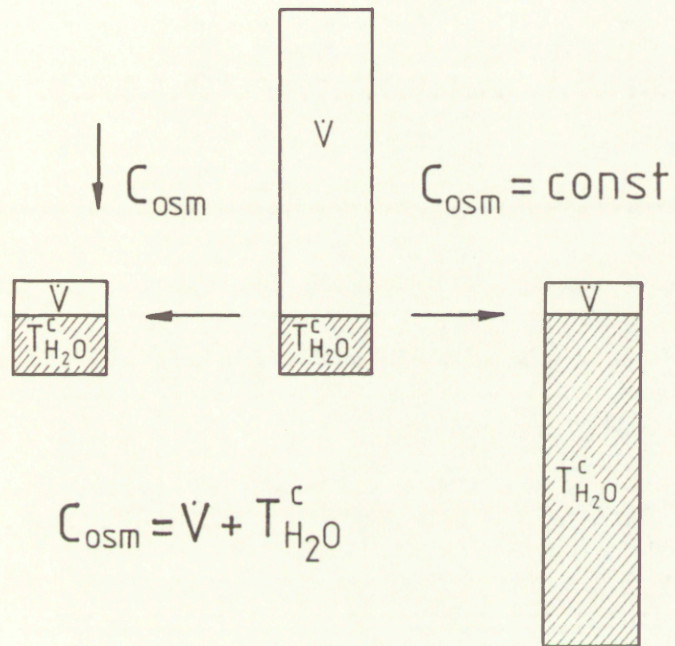


Ryc. 21. Zmiany transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^c$) i wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$) po podaniu dDAVP i AVP u 4 szczurów z Ryc. 20. (1) - $T_{H_2O}^{ce}$ oznaczono w oparciu o pomiar $2x [Na^+ + K^+]$, oraz (2) - w oparciu o pomiar konduktancji elektrycznej.

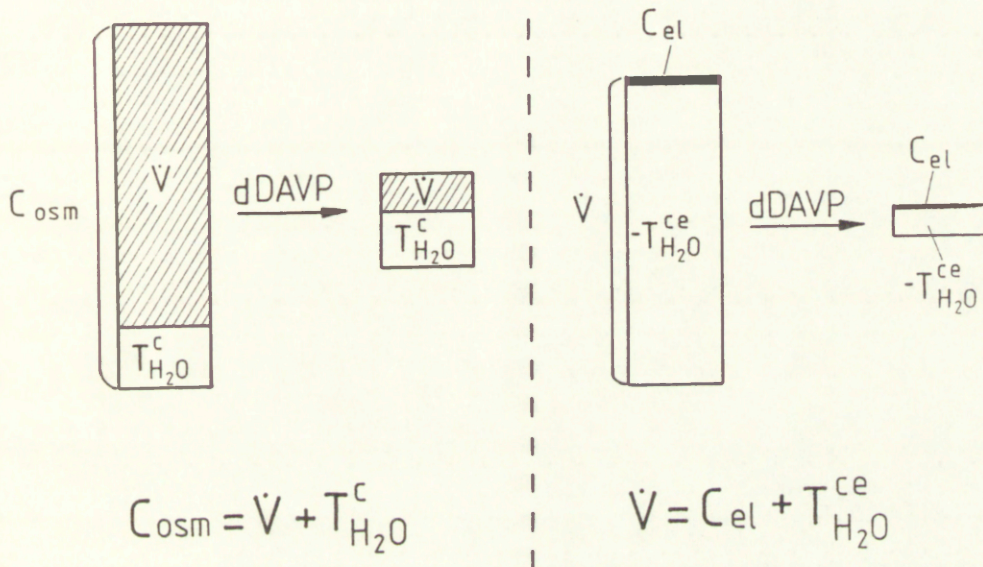
czeniu (A), którego dane zestawiono z klasycznie opisywaną reakcją antydiuretyczną (gdzie: $C_{osm} = \text{const}$, a więc spadek diurezy odzwierciedla wzrost $T_{H_2O}^c$), klirens osmotyczny po wstrzyknięciu dDAVP zmniejszył się z ok. 95 do 25 $\mu\text{l}/\text{min}$ (Ryc. 22). Także w doświadczeniu C wyraźny spadek diurezy był głównie odzwierciedleniem spadku C_{osm} a tylko w małym stopniu zależał od niewielkiego i przejściowego wzrostu $T_{H_2O}^c$ (Ryc. 21 C). W doświadczeniach B i D (Ryc. 20 i 21) spadek diurezy był już związany z wyraźnym przejściem od wydalania do reabsorpcji wolnej wody, zarówno po wstrzyknięciu dDAVP jak i AVP.

Na Ryc. 21 obok przebiegu zmian $T_{H_2O}^c$ umieszczono zmiany transportu wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$). Zmiany tego ostatniego wskaźnika obserwowane po preparatach wazopresyny były dużo większe niż zmiany klasycznego $T_{H_2O}^c$. Jest rzeczą uderzającą, że $T_{H_2O}^{ce}$ wzrastał bardzo znacznie po wstrzyknięciu obu preparatów ADH nawet wówczas, gdy klasyczny wskaźnik ($T_{H_2O}^c$) niemal nie ulegał zmianie (Ryc. 21 A, C).

Tak więc na podstawie analizy klasycznych wskaźników opisujących zmiany zagęszczania moczu: klirensu osmotycznego (C_{osm}) i jego składowych tj. diurezy (\dot{V}) i transportu wody wolnej od wszystkich substancji osmotycznie czynnych ($T_{H_2O}^c$) stwierdzono, że spadek diurezy po wstrzyknięciu ADH przejawiał się w głównej mierze jako spadek klirensu osmotycznego (Tab. 9). Na Ryc. 23 porównano zanotowane w doświadczeniu A zmiany klasycznych wskaźników ze zmianami klirensu elektrolitowego (C_{e1}), diurezy (\dot{V}) i transportu wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$). Dane te wskazują wyraźnie, że po wstrzyknięciu dDAVP nastąpiło tylko nieznaczne obniżenie klirensu elektrolitowego, natomiast spadek diurezy był przede wszystkim skutkiem zmniejszonego wydalania wody wolnej od elek-



Ryc. 22. Zmiany klirensu osmotycznego (C_{osm}) i jego składowych: diurezy (\dot{V}) i transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^c$).
Prawa strona - "typowa" reakcja antydiuretyczna,
lewa strona - dane doświadczenia A z Ryc. 20, 21.



Ryc. 23. Reakcja antydiuretyczna na dDAVP analizowana na podstawie zmian transportu wody wolnej od wszystkich substancji osmotycznych (lewa strona, L) oraz wody wolnej od elektrolitów (prawa strona, F).

L - spadek diurezy jest wynikiem spadku klirensu osmotycznego, znikomy wzrost $T_{H_2O}^c$

P - spadek diurezy jest wynikiem zmniejszenia wydalania wody wolnej od elektrolitów ($-T_{H_2O}^{ce}$), znikomy spadek klirensu elektrolitowego (C_{el}).

Dane doświadczenia A z Ryc. 20, 21, 22.

trolitów. Podobne wyniki uzyskano w pozostałych trzech doświadczeniach (Tab. 9). Ponieważ C_{el} prawie nie ulegał zmianie, obserwowany tutaj spadek C_{osm} był w głównej mierze wynikiem zmniejszonego wydalania substancji nieelektrolitowych, przede wszystkim mocznika.

Reasumując, z przedstawionych danych wynika, że po obydwu preparatach ADH wystąpiła odpowiedź antydiuretyczna ze spadkiem diurezy i wzrostem osmolalności moczu, chociaż tylko w dwóch przypadkach na cztery zanotowano typowe zmiany $T_{H_2O}^c$. W każdym przypadku dochodziło do spadku klirensu osmotycznego. Spadek diurezy był jak gdyby wynikiem obniżenia C_{osm} a w mniejszym lub znikomym stopniu wynikiem wzrostu $T_{H_2O}^c$. Po wstrzyknięciu obydwu preparatów wazopresyny wydalanie wody wolnej od elektrolitów ($-T_{H_2O}^{ce}$) zmniejszało się lub nawet dochodziło do jej reabsorpcji ($+T_{H_2O}^{ce}$). Inaczej niż to stwierdzono analizując klasyczne wskaźniki (C_{osm} , $T_{H_2O}^c$), spadek diurezy "zależał" nie od spadku klirensu elektrolitowego (C_{el}) ale od zmiany $T_{H_2O}^{ce}$.

4. D Y S K U S J A

Celem obecnej pracy była próba potwierdzenia danych pochodzących z badań mikropunkcyjnych oraz badań prowadzonych na izolowanych kanalikach (in vitro), a wskazujących na zjawisko stymulacji transportu sodu w pętli Henlego przez hormon antydiuretyczny. Doświadczenia prowadzone in vitro obok swej dużej precyzyjności i technicznych możliwości badania procesów wewnątrzkomórkowych czy nawet molekularnych mają też istotne ograniczenia. Tak na przykład izolowane kanaliki nerkowe nie posiadają swojego naturalnego otoczenia - tkanki śródmiąższowej z całym szeregiem struktur oraz czynników hormonalnych i biochemicznych mogących wpływać na procesy w nich zachodzące. Dlatego też nie zawsze wyniki uzyskane w badaniach in vitro potwierdzają się w odniesieniu do całego narządu czy organizmu. W obecnej pracy szukano więc odpowiedzi na pytanie czy w warunkach in vivo stymulacja przez ADH transportu w pętli Henlego będzie zachodziła i czy przejawia się ona jako zmiana stężenia NaCl w otaczającym pętlę śródmiąższu. Istotne znaczenie miałyby stwierdzenie, że ADH poprzez stymulację reabsorpcji Na^+ w tym odcinku kanalika może podwyższać korowobrodawkowy gradient elektrolitowy w nerce w stopniu mającym znaczenie dla procesów zagęszczania moczu.

4.1. DZIAŁANIE NATURALNEGO HORMONU ANTYDIURETYCZNEGO (AVP)

W pierwszej grupie doświadczalnej stosowano egzogenną wazopresynę w dawce wahającej się w granicach 0,6 - 8,5 ng/kg min. Na tak wysoką dawkę zdecydowano się ponieważ wiadomo, że do wywołania stymulacji pętlowych receptorów \bar{V}_2 w warunkach in vitro wy-

magane jest około pięciokrotnie wyższe stężenie hormonu niż stężenie wywołujące hydroosmotyczne działanie ADH w kanaliku zbiorczym (de Rouffignac, 1990; Bankir, 1991). Użycie zróżnicowanej dawki preparatu u poszczególnych zwierząt omawianej grupy doświadczalnej podyktowane było ich zróżnicowaną wrażliwością osobniczą na podawany hormon.

Należało się również spodziewać, że endogenna wyjściowa aktywność układu antydiuretycznego u poszczególnych zwierząt była różna. Ponieważ nie mierzono aktywności antydiuretycznej osocza oraz nie było możliwości oceny stopnia wrażliwości zwierząt na podawany preparat, uzyskiwaną biologiczną aktywność infundowanego hormonu (AVP) oceniano na podstawie jego działania presyjnego. Dawkę dobrano tak aby wywoływała podobny wzrost ciśnienia tętniczego u badanych zwierząt, nie przekraczający 10 mm Hg. Wywołanie znacznego wzrostu ciśnienia utrudniałoby interpretację uzyskanych wyników ze względu na istnienie znanego zjawiska natriurezy zależnej od ciśnienia krwi ("pressure natriuresis").

Wewnątrznerkowe następstwa wzrostu ciśnienia perfuzyjnego nerek nie zostały ostatecznie scharakteryzowane; przeglądu proponowanych hipotez tłumaczących wzrost wydalania sodu dokonali ostatnio Roman (1986) oraz Firth i wsp. (1990). Niektórzy badacze sugerują, że wzrost ciśnienia przenosi się na naczynia okołokanalikowe upośledzając reabsorpcję proksymalną. Selkurt i wsp. (1966) uważają, że następstwem zwiększonego ciśnienia perfuzyjnego jest wzrost rdzeniowego przepływu krwi prowadzący do rozproszenia gradientu osmotycznego ("wash out"). W konsekwencji dochodzi do upośledzenia reabsorpcji soli w odcinkach kanalików położonych głęboko w rdzeniu. Przyczyną tego upośledzenia może być również zwiąk-

szone ciśnienie hydrostatyczne w naczyniach prostych oraz w śródmiąższu rdzenia nerki. Inna grupa badaczy podkreśla znaczenie wzrostu filtracji kłębuszkowej, chociaż istnieją liczne prace, w których nie obserwowano zmian GFR.

Także w obecnej pracy w trakcie infuzji AVP zanotowano wyraźny, 2,5-krotny wzrost diurezy oraz znaczny wzrost wydalania sodu, jednak bez zmian w tempie filtracji kłębuszkowej. Być może już niewielki wzrost ciśnienia obserwowany w tej grupie był przyczyną zwiększonego wydalania wody i sodu, lecz u jego podłoża z pewnością nie leżały zmiany GFR.

Paradoksalną diurezę i natriurezę po wazopresynie, zachodzącą nawet bez wzrostu ciśnienia krwi, obserwowało od dawna wielu badaczy (Ali, 1958; Thorn, 1959; Kramar, 1966; Kurtzman, 1975). Wyniki wcześniejszych prac sugerowały, że przyczyną tego efektu może być zarówno bezpośredni wpływ AVP polegający na hamowaniu transportu elektrolitów w dystalnych odcinkach kanalika nerkowego (Luke, 1973; Kurtzman, 1975), jak i działanie wazopresyny za pośrednictwem czynników nerwowo-hormonalnych. Obniżenie aktywności nerkowych nerwów sympatycznych, zmniejszenie wydzielania reniny, aktywacja układu kinina-kalikreina oraz stymulacja syntezy prostaglandyn przez wazopresynę mogą prowadzić do wzrostu wydalania wody i sodu (Cowley, 1988). Ostatnie badania Ando i wsp. (1991) sugerują, że ADH w dawkach farmakologicznych może działać również od strony światła kanalika, prowadząc do hamowania reabsorpcji elektrolitów i wtórnie obniżać reabsorpcję wody w kanalikule zbiorczym - proces odwrotny do typowej stymulacji reabsorpcji przez hormon działający od strony bazolateralnej.

W omawianych doświadczeniach z użyciem argininowej wazopresyny (grupa II) nie udało się wywołać istotnego wzrostu admittancji

tkanki śródmiąższowej rdzenia, co wskazuje na brak zmian stężenia elektrolitów w tym obszarze. Przemawiałoby to za brakiem znacznego i odtwarzalnego *in vivo* wpływu AVP na transport NaCl w pętli i na gradient elektrolitowy w nerce. Należy tu jednak rozważyć szereg okoliczności, które mogły uniemożliwić ujawnienie tego wpływu, takich jak:

- 1) wzrost ciśnienia tętniczego krwi,
- 2) wysoka wyjściowa aktywność antydiuretyczna,
- 3) stymulacja prostaglandyn hamujących działanie ADH.

Ad 1. Jak wspomniano wcześniej, wywołany infuzją wazopresyny wzrost ciśnienia tętniczego krwi mógł niwelować stymulowaną przez ten hormon reabsorpcję NaCl. Wzrost ciśnienia perfuzyjnego nerek mógł powodować zahamowanie reabsorpcji kanalikowej lub poprzez zwiększenie rdzeniowego przepływu krwi uniemożliwiać gromadzenie elektrolitów (NaCl) w śródmiąższu rdzenia.

Ad 2. Istnieje wiele doniesień wskazujących, że uśpienie barbituranowe oraz zabiegi chirurgiczne stymulują uwalnianie hormonu antydiuretycznego (Chrysant i wsp., 1977; Ishihara i wsp., 1978). Należy się więc spodziewać, że w zastosowanym przeze mnie modelu doświadczalnym, zwierzęta miały bardzo wysoki poziom endogennego ADH. Można spekulować, że podanie pewnej nawet znacznej dawki egzogennej hormonu na tle jego wyjściowo wysokiej aktywności, być może zapewniającej już maksymalną stymulację receptorów, może nie wywołać oczekiwanego efektu. Warto podkreślić, że nie obserwowano ani oznak wzrostu transportu NaCl w pętli Henlego, ani odpowiedzi antydiuretycznej mimo iż, jak wiadomo, działanie ADH na przepuszczalność ścian kanalik zbiorczego dla wody zachodzi już przy jego stężeniach dużo niższych niż stężenia potrzebne do stymulacji transportu soli w pętli. Należy także przypomnieć,

że narkoza i zabiegi chirurgiczne stymulują syntezę prostaglandyn (DiBona, 1986), głównego naturalnego czynnika hamującego działanie ADH zarówno na kanalik zbiorczy jak i na pętlę Henlego. Można się więc spodziewać, że już na początku doświadczeń działanie hormonu antydiuretycznego było antagonizowane przez prostaglandyny. Znajduje to potwierdzenie w uzyskanych tutaj wynikach: mimo przypuszczalnie wysokiej aktywności ADH osmolalność moczu zarówno w okresie kontrolnym jak i w trakcie wszystkich doświadczeń była niezbyt wysoka. Ponadto obserwowany po zablokowaniu prostaglandyn istotny wzrost osmolalności moczu w grupie IIIa (por. 3.5.2) może przemawiać za występowaniem u badanych szczurów opisanego wyżej antagonizmu.

Ad 3. Oprócz wspomnianej roli narkozy i zabiegu chirurgicznego, sama wazopresyna zwiększa syntezę prostaglandyn. Stymulacja ich syntezy odbywa się za pośrednictwem receptorów V_1 zlokalizowanych w komórkach śródmiaższowych rdzenia (Leite, 1990). Podanie egzogenego hormonu mogło powodować nasilenie syntezy prostaglandyn hamujących jego działanie. Może być to kolejną przyczyną, dla której nie udało się wywołać wzrostu stężenia elektrolitów w rdzeniu nerki.

Należy tutaj także wziąć pod uwagę czas infuzji hormonu; ok. 19% wzrost admitancji w rdzeniu wewnętrznym zaobserwowano w jednym doświadczeniu po 90 min infuzji AVP (por. rozdz. 3.2). Doświadczeń tego typu nie kontynuowano, gdyż zastosowany tutaj skomplikowany model doświadczalny z krążeniem pozaustrojowym nie nadaje się do długotrwałych obserwacji, głównie ze względu na narastające trudności związane z utrzymaniem zwierzęcia w warunkach równowagi ("steady state") a szczególnie z utrzymaniem homeostazy płynów ustrojowych.

4.2. DZIAŁANIE ANTYDIURETYCZNEGO AGONISTY WAZOPRESYNY (dDAVP)

Wobec negatywnego wyniku uzyskanego po zastosowaniu AVP (grupa II) oraz w celu uniknięcia niedogodności związanych z jej naczyniokurczącym działaniem wykonano doświadczenia z użyciem dDAVP. Preparat ten jest znanym agonistą wazopresyny, niemal pozbawionym działania presyjnego, a więc stymulującym prawie wyłącznie receptory typu V_2 (stosunek działania na V_1 do działania na V_2 jak 1:3000).

Mimo specyficznego wpływu na receptory V_2 , o których wiadomo, że pośredniczą również a właściwie przede wszystkim w hydroosmotycznym działaniu ADH, nie obserwowano obniżenia diurezy i wzrostu osmolalności moczu (por. 3.3). Przyczyną braku typowej odpowiedzi antydiuretycznej mogła być np. wspomniana wcześniej wysoka endogenna aktywność ADH ale także użycie nieaktywnego preparatu. W celu roztrzygnięcia powstałych wątpliwości wykonano dodatkową serię doświadczeń. Wielokrotne obniżenie diurezy i wzrost osmolalności moczu (por. 3.6) u szczurów w uśpieniu etanolowym potwierdziło antydiuretyczną aktywność obu użytych preparatów, AVP i dDAVP.

Kluczowym wynikiem tej pracy było wykazanie, że infuzja dDAVP wywołuje istotny wzrost admitancji tkanki rdzeniowej u wszystkich badanych szczurów, zarówno w obrębie rdzenia zewnętrznego, jak i wewnętrznego. Udało się więc wykazać, że stymulacja receptorów V_2 w warunkach *in vivo* zwiększa wydatnie reabsorpcję NaCl w pętli Henlego, co odzwierciedlane jest przez wzrost stężenia elektrolitów w otaczającym ją śródmiąszu.

Nasuwają się jednak wątpliwości związane z zastosowaniem bardzo wysokiej dawki, co utrudnia ocenę fizjologicznej roli bada-

negu procesu. W przyjętym układzie doświadczalnym mamy do czynienia z bardzo wysoką aktywnością endogennego hormonu antydiuretycznego oraz z antagonizującym działaniem prostaglandyn. Ponadto krótkotrwała obserwacja narzucona przez zastosowany model stwarza warunki utrudniające wykazanie poszukiwanego efektu. Można się spodziewać, że wpływ ADH na transport NaCl w pętli a tym samym na wielkość korowo-brodawkowego gradientu elektrolitowego ma znaczenie gdy jest procesem długotrwałym, którego następstwa kumulują się w ciągu wielu dni. Wobec tego próba zauważenia poszukiwanego efektu w krótkim, ostrym doświadczeniu wymagała zastosowania potężnego bodźca. Uzyskane przez mnie wyniki nie dowodzą fizjologicznej roli procesu stymulacji transportu NaCl przez ADH ale stwarzają podstawę do przypuszczeń, że działanie takie zachodzi i może mieć istotne znaczenie. Rozszerzenie przeprowadzonych tutaj badań mogłoby przynieść bardziej jednoznaczną odpowiedź na postawione pytanie. Być może udałoby się obniżyć gradient elektrolitowy za pomocą antagonistów receptorów V_2 . W naszym układzie doświadczalnym (wysoka aktywność endogennego ADH) próba taka miałaby szansę powodzenia. Jeszcze lepszym rozwiązaniem byłyby badania przewlekłe prowadzone na zwierzętach nieuśpionych i nie poddawanych zabiegom chirurgicznym.

Infuzja dDAVP nie wpłynęła w istotny sposób na czynność wydalniczą nerek. Obserwowano jedynie pewien wzrost transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) w obu podgrupach doświadczalnych (III a i b) aczkolwiek był on dużo wyraźniejszy u szczurów z wysoką wyjściową diurezą (por. 3.3.2). Mimo braku typowej reakcji antydiuretycznej na dDAVP wzrost ten może być przejawem poprawy warunków do reabsorpcji wody. Przyczyną może być zarówno wzrost przepuszczalności

ścian kanalika zbiorczego dla wody jak i wzrost stężenia elektrolitów w rdzeniu nerki. Wzrost stężenia elektrolitów w moczu (U_{el}) po dDAVP (w podgrupie IIIb) przy braku zmian stężenia sodu mógłby zależeć od stymulacji sekrecji jonów K^+ do światła kanalika (Elalouf i wsp., 1984).

4.3. NASTĘPSTWA BLOKADY PROSTAGLANDYN NA TLE INFUZJI dDAVP

Ponieważ istniało uzasadnione przypuszczenie, że w zastosowanym modelu doświadczalnym działanie ADH zarówno na kanalik zbiorczy jak i na pętlę Henlego było przynajmniej częściowo hamowane przez prostaglandyny (PG), postanowiono zablokować ich syntezę przy użyciu znanego inhibitora cyklooksygenazy - indometacyny. Wprowadzenie infuzji indometacyny w warunkach wysokiej aktywności egzogennej dDAVP (a także endogennej AVP) miało na celu uwolnienie działającego hormonu spod hamującego wpływu prostaglandyn; można się było spodziewać "wzmocnienia" efektów zależnych od ADH. Pewną niedogodnością zastosowanego tutaj protokołu doświadczalnego jest brak równoczesnej kontroli czasowej a więc doświadczeń z przedłużoną infuzją samego dDAVP.

Zablokowanie syntezy prostaglandyn spowodowało wyraźny wzrost admitancji w obydwu warstwach rdzenia nerki u wszystkich badanych szczurów (por. 3.5). Udało się więc wykazać, że w warunkach in vivo prostaglandyny są istotnym czynnikiem antagonizującym stymulowany przez ADH transport NaCl w pętli Henlego.

Odpowiedź hemodynamiczna po zablokowaniu prostaglandyn była odmienna w podgrupach IIIa i IIIb. U szczurów z niską diurezą wyjściową zanotowano istotny choć niejasnego pochodzenia wzrost tempa filtracji kłębuszkowej (por. 3.5.2), który mógłby odpowiadać za obserwowany wzrost diurezy i wydalania sodu a także przyczynić

się do wzrostu stężenia NaCl w śródmiąższu rdzenia (zwiększona dostawa NaCl do pętli). Jednak i w drugiej podgrupie doświadczalnej (IIIb) zanotowano podobny a nawet większy wzrost \dot{V} i $U_{Na} \dot{V}$ tym razem bez zmian tempa filtracji (por. 3.5.3). Można więc sądzić, że zmiany hemodynamiczne nie były istotną przyczyną wzrostu wydalania wody i sodu po indometacynie. Należy podkreślić, że wzrost \dot{V} i $U_{Na} \dot{V}$ po zablokowaniu syntezy prostaglandyn jest wynikiem zaskakującym i trudnym do wytłumaczenia. Istnieją doniesienia, że uboczne niespecyficzne działanie indometacyny może polegać m.in. na hamowaniu uwalniania ADH (Stokes, 1981). W warunkach stałej infuzji znacznych ilości dDAVP jest mało prawdopodobne aby wspomniany efekt indometacyny mógł być przyczyną obserwowanej diurezy a szczególnie natriurezy. Należy się raczej spodziewać, że zablokowanie prostaglandyn "uwolniło" dodatkowo wspomniane wcześniej (patrz 4.1) nieswoiste, diuretyczne i natriuretyczne działanie ADH; tak samo można by też tłumaczyć znamienne wzrost stężenia Na^+ w moczu (por. 3.5).

W podgrupie szczurów z niską wyjściową diurezą obserwowano poza tym istotny wzrost osmolalności moczu oraz transportu wolnej wody. Uwolnienie hydroosmotycznego działania ADH w kanalik zbiorczym spod hamującego wpływu prostaglandyn a także wzrost stężenia elektrolitów w rdzeniu (wzrost admitancji) złożyły się prawdopodobnie na wzrost U_{osm} i $T_{H_2O}^c$. Infuzja indometacyny u szczurów z wysoką wyjściową diurezą (IIIb) nie powodowała wzrostu osmolalności moczu. Lote i Snape (1977) udowodnili, że nawet w warunkach wysokiej przepuszczalności ścian kanalika zbiorczego dla wody oraz przy wysokim stężeniu mocznika i elektrolitów w rdzeniu nerki osiągnięcie równoważnej osmolalności moczu jest ograniczone przez szybkość jego przepływu. Z tego powodu w warunkach wysokiej diure-

zy (grupa IIIb) odzwierciedlającej szybki przepływ moczu przez kanalik zbiorczy, wzrost przepuszczalności ścian kanalika i wzrost hipertonii osmotycznej rdzenia mogły nie przejawiać się wzrostem osmolalności moczu.

4.4. DZIAŁANIE AVP I dDAVP U SZCZURÓW W USPIENIU ETANOLOWYM

W badaniach uzupełniających uzyskano potwierdzenie aktywności antydiuretycznej używanych preparatów AVP i dDAVP, jednak przebieg reakcji antydiuretycznej był nieco inny niż opisywany klasycznie. W opisach podręcznikowych reakcja ta przejawia się wzrostem reabsorpcji wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) przy stałym klirensie osmotycznym (C_{osm}), natomiast u wszystkich szczurów tej serii zanotowano spadek klirensu osmotycznego. Stwierdzono, że spadek diurezy zarówno po dDAVP jak i po AVP odzwierciedlał głównie spadek C_{osm} a w mniejszym stopniu wzrost $T_{H_2O}^C$.

Należy rozważyć możliwe przyczyny obniżenia klirensu osmotycznego po wstrzyknięciu preparatów wazopresyny:

1) Mechanizm kłębuszkowy. Obniżenie filtracji kłębuszkowej (GFR) a w następstwie obniżenie przesączonego ładunku substancji osmotycznych (F_{osm}) może (pomimo pewnego zmniejszenia reabsorpcji absolutnej) spowodować obniżenie wydalania substancji osmotycznie czynnych ($U_{osm} \dot{V}$) oraz klirensu osmotycznego (C_{osm}).

2) Mechanizm kanalikowy. Pierwotny wzrost reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych może spowodować spadek ich wydalania a więc i obniżenie C_{osm} .

Ad 1. Ponieważ w omawianej tutaj serii doświadczeń nie mierzono tempa filtracji kłębuszkowej, trudno jednoznacznie ocenić jej rolę w obserwowanym spadku klirensu osmotycznego. Doniesienia dotyczące wpływu ADH na tempo filtracji kłębuszkowej są sprzeczne:

obserwowano wzrost, spadek lub też niewielkie zmiany bez istotnego znaczenia (por. 1.2). Można się spodziewać, że wstrzyknięcie dużych dawek hormonu, takich jakie zastosowano w tych doświadczeniach, mogło spowodować skurcz naczyń kłębuszka, spadek RPF i GFR. Należy oczekiwać, że ewentualne obniżenie GFR jest bardziej prawdopodobne w doświadczeniach, w których zwierzętom wstrzykiwano AVP niż w tych gdzie używano dDAVP - analogu pozbawionego działania presyjnego. Jednak spadek klirensu osmotycznego i diurezy obserwowano po obu preparatach. Przemawia to przeciwko roli mechanizmu kłębuszkowego jako istotnej przyczyny znacznego obniżenia diurezy i C_{osm} po wstrzyknięciu obydwu preparatów ADH.

Ad 2. Rozpatrując wzrost reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych w nefronach jako przyczynę spadku klirensu osmotycznego, należy rozważyć oddzielnie ewentualny wzrost reabsorpcji elektrolitów (głównie NaCl) i wzrost reabsorpcji substancji nieelektrolitowych (głównie mocznika). Z przedstawionych tutaj danych wynika, że zmiany w wydalaniu substancji elektrolitowych a więc i zmiany klirensu elektrolitów (C_{el}) były niewielkie (por. 3.6). Tak więc obserwowany duży spadek C_{osm} po dDAVP czy AVP nie był zależny od spadku wydalania elektrolitów ale od zmniejszonego wydalania substancji nieelektrolitowych - głównie mocznika - a więc od zwiększonej reabsorpcji tej substancji w nefronie. Wobec znanego i opisanego wcześniej (1.1) wpływu ADH na reabsorpcję mocznika, można sądzić, że istotne obniżenie jego wydalania pod wpływem dDAVP czy AVP było w tych doświadczeniach główną przyczyną obniżenia klirensu osmotycznego.

Fakt, że w wyniku działania ADH dochodziło, szczególnie w pierwszej fazie, do zwiększonej reabsorpcji nie tylko wody ale także mocznika, tłumaczy dlaczego obserwowane wzrosty reabsorpcji

wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) były znikome lub niewielkie. Jak widać, wskaźnik ten nie wydaje się być odpowiednią miarą zmian wchłaniania zwrotnego wody przy przejściu od diurezy do antydiurezy lub odwrotnie. Inaczej przedstawia się sprawa z zastosowanym przez nas dodatkowo wskaźnikiem transportu wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$). Wskaźnik ten nie uwzględnia w analizie przesunięć mocznika w nefronie a ponieważ zmiany klirensu elektrolitów są niewielkie, $T_{H_2O}^{ce}$ jest wiernym odbiciem zmian reabsorpcji wody w kanalikach zbiorczych (Ryc. 21).

W ciągu ostatniego 10-lecia syntetyzuje się wiele związków agonistycznych lub antagonistycznych wazopresyny. Związki te są testowane biologicznie na aktywność antydiuretyczną; przeprowadza się to prawie z reguły na szczurach w narkozie etanolowej. Przedstawiona wyżej analiza może dostarczyć pewnych wskazówek dotyczących takiego testowania. Wobec tego, że ADH wpływa na co najmniej dwa różne procesy zachodzące w kanalikach zbiorczych, tzn. na reabsorpcję wody i reabsorpcję mocznika, posługiwanie się klasycznym wskaźnikiem transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) jest mało przydatne. Wynika to z faktu, że zwiększona reabsorpcja wody pod wpływem ADH jest jakby zamaskowana przez towarzyszący jej ruch mocznika. Jeżeli natomiast użyjemy wskaźnika charakteryzującego przesunięcia wody wolnej od substancji elektrolitowych ($T_{H_2O}^{ce}$), reabsorpcja mocznika nie ma znaczenia. Zmiany $T_{H_2O}^{ce}$ będą dużo wyraźniejsze i przy nie zmienionym wydalaniu elektrolitów ($C_{el} = \text{const.}$), będzie on odzwierciedlał wpływ ADH na jedną tylko cechę, tj. przepuszczalność ściany kanalika dla wody.

Reasumując, wskaźnik charakteryzujący transport wody wolnej od elektrolitów dużo lepiej opisuje reakcję antydiuretyczną niż $T_{H_2O}^C$. Należy zauważyć, że również obserwacja samej tylko diurezy

lepiej charakteryzuje zmiany przepuszczalności układu zbiorczego dla wody niż śledzenie $T_{H_2O}^C$.

W moich badaniach, w których głównym punktem zainteresowania są losy substancji elektrolitowych a przede wszystkim gromadzenie NaCl w śródmiąższu nerki po infuzji dDAVP lub AVP, mierzenie osmolalności elektrolitowej moczu i wyliczanie $T_{H_2O}^{ce}$ wydaje się być także przydatne (por. np. Ryc. 19: w grupie IIIb wyraźny i znamieny wzrost $T_{H_2O}^{ce}$ po indometacynie, bez wzrostu $T_{H_2O}^C$). Rose (1986) i Mollie (1990) w swojej analizie mechanizmów fizjopatologicznych, rozpoznawania i ustalania odpowiedniego leczenia zaburzeń bilansu ustrojowego sodu również uznali, że $T_{H_2O}^{ce}$ jest znacznie bardziej przydatnym wskaźnikiem niż klasyczny $T_{H_2O}^C$.

P O D S U M O W A N I E I W N I O S K I

1. Badano wpływ hormonu antydiuretycznego na wielkość korowobrodawkowego gradientu elektrolitowego, generowanego w nerce przez transport soli w pętłach Henlego. Stężenie elektrolitów w nerce in situ oceniano na podstawie ciągłego pomiaru admittancji elektrycznej tkanki.
2. W zastosowanym układzie doświadczalnym podwyższenie aktywności hormonu antydiuretycznego (AVP) powodujące nieznaczny wzrost ciśnienia krwi nie wywołuje wzrostu stężenia soli w śródmiaższu rdzenia nerki.
3. Stymulacja in vivo transportu NaCl w pętli Henlego za pomocą specyficznego agonisty hormonu antydiuretycznego (dDAVP) pozbawionego działania presyjnego prowadzi do istotnego wzrostu stężenia soli w rdzeniu nerki.
4. Eliminacja antagonistycznego w stosunku do hormonu antydiuretycznego działania prostaglandyn poprzez zablokowanie ich syntezy za pomocą indometacyny nasila działanie dDAVP.
5. Wykazanie, że stymulacja receptorów hormonu antydiuretycznego zwiększa korowobrodawkowy gradient elektrolitowy w nerce szczura wskazuje, że wpływ tego hormonu na reabsorpcję NaCl w pętli może być czynnikiem wspomagającym proces zagęszczania moczu.

Abbrecht PH, Malvin RL: Effects of GFR and renal plasma flow on urine osmolality. *Am J Physiol* 201: 754-758, 1961.

Ali MN: A comparison of some activities of arginine vasopressin and lysine vasopressin on kidney function in conscious dogs. *Brit J Pharmacol* 13: 131-137, 1958.

Ando Y, Tabei K, Asano Y: Luminal vasopressin modulates transport in the rabbit cortical collecting duct. *J Clin Invest* 88: 952-959, 1991.

Anslow WP Jr, Wesson LG Jr: Some effects of pressor-antidiuretic and oxytocin of posterior pituitary extract on Na, Cl, K and NH_3 excretion in the dog. *Am J Physiol* 182: 561-566, 1955.

Atherton JC, Green R, Thomas S: Influence of lysine-vasopressin dosage on the time course of changes in renal tissue and urinary composition in the conscious rat. *J Physiol* 231: 291-309, 1971.

Ausiello DA, Kreisberg JI, Roy C, Karnovsky MJ: Contraction of cultured rat glomerular cells of apparent mesangial origin after stimulation with angiotensin II and arginine vasopressin. *J Clin Invest* 65: 754-760, 1980.

Bankir L: Vasopressin and the urinary concentrating mechanism. W: S Jard, R Jamison: Vasopressin. *Colloque INSERM* 208: 437-447, 1991.

Banks RC: Influence of antidiuretic hormone on intrarenal blood flow distribution in diabetes insipidus dogs and rats. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine* 151: 547-551, 1976.

Bayle F, Eloy L, Trinh-Trang-Tan MM, Grünfeld J-P, Bankir L: Papillary plasma flow in rats: I. Relation to urine osmolality in normal and Brattleboro rats with hereditary diabetes insipidus. *Pflügers Arch* 394: 211-216, 1982.

10. Bądyńska B, Sadowski J, Kompanowska-Jezińska E: Tissue electrical admittance (electrolyte concentration) in rat renal medulla: effects of furosemide and acetazolamide. *Arch Internat Physiol Bioch* 98: 131-140, 1990.

- Charbardes D, Gagnan-Brunette M, Imbert-Teboul M, Gontcharovskaia O, Montegut M, Clique A, Morel F: Adenylate cyclase responsiveness to hormones in various portions of the human nephron. *I Clin Invest* 65: 439-448, 1980.
- Chrysant SG, Townsend SM, Lindeman RD, Frohlich ED: The effect of renal vasodilation and hypotonic volume expansion on water excretion in dogs after anesthesia and surgery. *Life Sciences* 20: 1953-1960, 1977.
- Cowley AW Jr, Merrill DC, Smith MJ, Skelton MM: Role of vasopressin in regulation of sodium excretion. *Am J Med Sci* 31: 308-313, 1988.
- Cross RB, Trace IW, Vattuone JR: The effect of vasopressin upon the vasculature of the isolated perfused rat kidney. *J Physiol (Lond)* 239: 435-442, 1975.
- Czaczkas JW, Kleeman CR, Koenig M: Physiologic studies of antidiuretic hormone by its direct measurement in human plasma. *J Clin Invest* 43: 1625-1640, 1964.
- de Rouffignac C: The urinary concentrating mechanism. *Compar Physiol* 2: 31-102, 1990.
- DiBona GF: Prostaglandins and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Effects on renal hemodynamics. *Am J Med* 80: 12-21, 1986.
- Edwards RM, Trizn W, Kinter LB: Renal microvascular effects of vasopressin and vasopressin antagonists. *Am J Physiol* 256: F274-F278, 1989.
- Elalouf JM, Roinel N, de Rouffignac C: Effects of antidiuretic hormone on electrolyte reabsorption and secretion in distal tubules of rat kidney. *Pflügers Arch* 401: 167-173, 1984.
20. Firth JD, Raine AEG, Ledingham JGG: The mechanism of pressure natriuresis. *J Hyperten* 8: 97-103, 1990.
- Gellai M: The role of vasopressin in the control of renal hemodynamics. The Brattleboro rats as an experimental model. W: HW Sokol, H Valtin: *The Brattleboro Rat (Supplement)*, *Ann NY Acad Sci* 394: 343-349, 1982.
- Gellai M: Modulation of vasopressin antidiuretic action by renal α_2 -adrenoceptors. *Am J Physiol* 259: F1-F8, 1990.
- Gottschalk CW, Mylle M: Micropuncture study of the mammalian urinary concentrating mechanism: Evidence for the counter-current hypothesis. *Am J Physiol* 196: 927-936, 1959.

- Gussis GL, Robertson CR, Jamison RL: Erythrocyte velocity in vasa recta. Effect of antidiuretic hormone and saline loading. *Am J Physiol* 237: F326-F332, 1979b.
- Hai MA, Thomas S: The time-course of changes in renal tissue composition during lysine vasopressin infusion in the rat. *Pflügers Arch* 310: 297-319, 1969.
- Hall DA, Varney DM: Effect of vasopressin on electrical potential difference and chloride transport to mouse medullary thick ascending limbs of Henle's loop. *J Clin Invest* 66: 792-802, 1980.
- Handler J: Antidiuretic hormone moves membranes. *Am J Physiol* 255: F375-F382, 1988.
- Harris HW Jr, Strange K, Zeidel ML: Current understanding of the cellular biology and molecular structure of the anti-diuretic hormone-stimulated water transport pathway. *J Clin Invest* 88: 1-8, 1991.
- Hebert SC, Culpepper RM, Andreoli TE: NaCl transport in mouse medullary thick ascending limbs. III. Modulation of the ADH effect by peritubular osmolality. *Am J Physiol* 241: F443-F451, 1981.
30. Huang C, Davis G, Johns EJ: An investigation into the influence of vasopressin on perfusion on the cortex and papilla of the rat kidney. *Exp Physiol* 76: 399-408, 1991.
- Imbert-Teboul M, Charbardes D, Montegut M, Clique A, Morel F: Vasopressin-dependent adenylate cyclase activities in the rat kidney medulla: evidence for two separate sites of action. *Endocrinology* 102: 1254-1261, 1978.
- Ishihara H, Ishida K, Oyama T, Kudo T, Kudo M: Effects of general anaesthesia and surgery on renal function and plasma ADH levels. *Canad Anaesth Soc J* 25: 312-318, 1978.
- Jamison RL, Buerkert F, Lacy F: A micropuncture study of collecting tubule function in rats with hereditary diabetes insipidus. *J Clin Invest* 50: 2444-2452, 1971.

- Jard S, Morel F: Action of vasotocin and some of its analogues on salt and water excretion by the frog. *Am J Physiol* 204: 222-226, 1963.
- Johnson DM, Park CS, Malvin RL: Antidiuretic hormone and the distribution of renal cortical blood flow. *Am J Physiol* 232: F111-F116, 1977.
- Kauker ML: Prostaglandin E₂ effect from the luminal side on renal tubular ²²Na efflux: tracer microinjection studies. *Proc Soc Exp Biol Med* 154: 274-277, 1977.
- Kiberd BA, Robertson CR, Jamison RL: Role of V₂ receptor in arginine vasopressin effect on vasa recta blood flow. *Kidney Int* 29: 418a, 1986.
- Kiberd BA, Robertson CR, Larson TS, Jamison RL: Effect of V₂ receptor - mediated changes on inner medullary blood flow induced by AVP. *Am J Physiol* 253: F576-F581, 1987.
- Kinter LB, Huffman WF, Stassen FL: Antagonists of the anti-diuretic activity of vasopressin. *Am J Physiol* 254: F165-F177, 1988.
40. Knepper MA, Star RA: The vasopressin-regulated urea transporter in renal inner medullary collecting duct. *Am J Physiol* 259: F393-F401, 1990.
- Koeppen BM: Mechanisms of segmental sodium and chloride reabsorption. W: DS Seldin, G Giebisch: The regulation of sodium and chloride balance. Raven Press NY, 59-104, 1990.
- Kramar JL, Grinnell EH, Duff WM: Observations on the diuretic activity of antidiuretic hormone. *Am J Med Sci* 252: 53-61, 1966.
- Krothapalli RK, Suki WN: Functional characterization of the alpha adrenergic receptor modulating the hydroosmotic effect of vasopressin on the rabbit cortical collecting tubule. *J Clin Invest* 73: 740-749, 1984.
- Kurtzman NA, Rogers PW, Boonjarern S, Arruda JAL: Effect of infusion of pharmacologic amounts of vasopressin on renal electrolyte excretion. *Am J Physiol* 228: 890-894, 1975.
- Leite M, Suki WN: AVP and dDAVP in rabbit cortical collecting tubule: a comparative time-course study. *Am J Physiol* 258: R99-R103, 1990.

- Lote CJ, Snape BM: Collecting duct flow rate as a determinant of equilibration between urine and renal papilla in the rat in the presence of a maximal antidiuretic hormone concentration. *J Physiol* 270: 533-544, 1977.
- Ludbrook J: On making multiple comparisons in clinical and experimental pharmacology and physiology. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 18: 379-392, 1991.
- Luke RG: Natriuresis and chloruresis during hydropenia in the rat. *Am J Physiol* 224: 13-20, 1973.
- Mallie JP, Preville MJ, Kluge R, Kortas C, Bichet DG: Free water clearance: $C_{H_2O}(c)$ and electrolyte free water reabsorption: $T_{H_2O}^c(T)$ in patients with congestive heart failure (CHF) and in patients with inappropriate antidiuresis. *J Am Soc Nephrol* 1: 320, 1990.
50. Martinez-Maldonado M, Eknoyan G, Suki WN: Natriuretic effects of vasopressin and cyclic AMP: possible site of action in the nephron. *Am J Physiol* 220: 2013-2020, 1971.
- Molony DA, Reeves WB, Andreoli TE: $Na^+ : K^+ : 2Cl^-$ cotransport and the thick ascending limb. *Kidney Internat* 36: 418-426, 1989.
- Morel F: Action of neurohypophyseal hormones on the active transport of sodium. W: I de Graeft, B Leijnse: Water and electrolyte metabolism II. Amsterdam 91-104, 1963.
- Niewiadomski W, Sadowski J, Bączyńska B, Rasmussen SN: Ion concentration and haematocrit as determinants of impedance in an erythrocyte suspension model of renal medullary tissue. *Phys Med Biol* 35: 1575-1583, 1990.
- Pallone TL, Robertson ChR, Jamison RL: Renal medullary microcirculation. *Physiological Reviews* 70: 885-919, 1990.
- Persson AEG, Schnermann J, Ulfendahl HR, Wolgast M, Wunderlich P: The effect of water diuresis and antidiuretic hormone on the regional renal red cell flow. *Acta Physiol Scand* 90: 193-201, 1974.
- Portalska E, Sadowski J: Renal medullary electrolytes: effects of furosemide assessed by studies in vivo of electrical admittance. *Arch Internat Physiol Bioch* 92: 345-354, 1984.

- Raymond KH, Lifschitz MD: Effect of prostaglandins on renal salt water excretion. *Am J Med* 80: 22-34, 1986.
- Reif MC, Troutman SL, Schafer JA: Sodium transport by the rat cortical collecting tubule. Effects of vasopressin and desoxycorticosterone. *J Clin Invest* 77: 1291-1298, 1986.
- Roman JR: Pressure diuresis mechanism in the control of renal function and arterial pressure. *Federation Proc* 45: 2878-2884, 1986.
60. Rose BD: New approach to disturbances in the plasma sodium concentration. *Am J Med* 81: 1033-1040, 1986.
- Rose CE Jr, Rose KY, Kinter LB: Effect of V_1/V_2 -receptor antagonism on renal function and response to vasopressin in conscious dogs. *Am J Physiol* 260: F273-P282, 1991.
- Ross EM, Gilman AG: Biochemical properties of hormone - sensitive adenylate cyclase. *Ann Rev Biochem* 49: 533-564, 1980.
- Ruggles BT, Murayama N, Werness JL, Gapstur SM, Bentley MD, Douse TP: The vasopressin-sensitive adenylate cyclase in collecting tubules and in thick ascending limb of Henle's loop of human and canine kidney. *J Clin Endocrinol Metab* 60: 914-921, 1985.
- Sadowski J: Estimation of changes in renal tissue electrolytes from measurements of electrical admittance: application in the rat. *Acta Physiol Polon* 36: 339-344, 1985.
- Sadowski J: Measurements of tissue electrical admittance to evaluate salt transport in Henle's loops. *Proc 7th European Colloquium on Renal Physiology, Neapol 1992*.
- Sadowski J, Kulczykowska E: Studies of tissue electrical admittance: relation to tissue sodium for different zones of rabbit kidney. *Physiol Bohemoslov* 37: 185-187, 1988.
- Sadowski J, Kulczykowska E, Kulczykowski M, Bądzynska B: Renal vein outflow recording in rats and rabbits: alternative method of RBF measurement. *Acta Physiol Hungar* 72: 335-342, 1988.
- Sadowski J, Niewiadomski W, Rasmussen SN: Renal tissue impedance: responses of the real and imaginary component to experimental variations in medullary electrolytes. *Acta Physiol Scand* 139: 427-433, 1990.

- Sadowski J, Portalska E: Dynamic evaluation of renal electrolyte gradient by in situ tissue impedance studies. *Kidney Internat* 24: 800-803, 1983.
70. Sands JM, Schrader DC: An independent effect of osmolality on urea transport in rat terminal inner medullary collecting ducts. *J Clin Invest* 88: 137-142, 1991.
- Sasaki S, Imai M: Effects of vasopressin on water and NaCl transport across the in vitro perfused medullary thick ascending limb of Henle's loop of mouse, rat and rabbit kidneys. *Pflügers Arch* 383: 215-221, 1980.
- Schlatter E, Greger R: cAMP increases the basolateral Cl^- conductance in the isolated perfused medullary thick ascending limb of Henle's loop of the mouse. *Pflügers Arch* 405: 367-376, 1985.
- Schwan HP: Determination of biological impedance, in *Physical Techniques in Biological Research* (vol. 6) edited by WL Nastuk, New York, London, Academic Press, 1963, pp. 323-342.
- Selkurt EE, Womack I, Dailey DN: Mechanism of natriuresis and diuresis during elevated renal arterial pressure. *Am J Physiol* 209: 95-99, 1966.
- Skorecki C, Verkman AS, Jung CY, Ausiello DA: Evidence for vasopressin activation of adenylate cyclase by subunit dissociation. *Am J Physiol* 250: C115-C123, 1986.
- Smith MJ Jr, Cowley AW Jr, Guyton AC, Manning RD Jr: Acute and chronic effects of vasopressin on blood pressure, electrolytes and fluid volumes. *Am J Physiol* 237: F232-F240, 1979.
- Sondeen JL, Claybaugh JR: Clearance and urinary excretion of vasopressin in conscious dogs. *Am J Physiol* 256: R291-R298, 1989.
- Steven HC, Andreoli TE: Control of NaCl transport in the thick ascending limb. *Am J Physiol* 246: F745-F756, 1984.
- Stokes JB: Integrated actions of renal medullary prostaglandins in the control of water excretion. *Am J Physiol* 240: F471-F480, 1981.

80. Sun A, Grossman EB, Lombardi M, Herbert SC: Vasopressin alters the mechanism of apical Cl^- entry from $\text{Na}^+ : \text{Cl}^-$ to $\text{Na}^+ : \text{K}^+ : 2\text{Cl}^-$ cotransport in mouse medullary thick ascending limb. *J Membrane Biol* 120: 83-94, 1991.
- Szczepańska-Sadowska E, Sadowski B: Antidiuretic assay for vasopressin. *Acta Physiol Pol* XXIV, 3: 479-483, 1973.
- Thorn NA, Milewski B: Effect of leucine-vasopressin (phenylalanine-oxytocin) on renal excretion of Na and K in hydrated rats and dogs. *Proc Soc Exptl Biol Med* 100: 267-269, 1959.
- Thurau K, Deetjen P, Gunzler H: Die Diurese bei arteriellen Drucksteigerungen. *Pflügers Arch* 247: 567-580, 1962.
- Torikai S, Kurokawa K: Effect of PGE_2 on vasopressin-dependent cell cAMP in isolated single nephron segments. *Am J Physiol* 245: F58-F66, 1983.
- Tribollet E, Barberis C, Dreiffuss JJ, Jard S: Autoradiographic localization of vasopressin and oxytocin binding sites in rat kidney. *Kidney Int* 33: 959-965, 1988.
- Wallenstein S, Zucker ChL, Fleiss JL: Some statistical methods useful in circulation research. *Circ. Res* 47: 1-9, 1980.
- Williamson JR, Hansen CA: Signalling systems in stimulus response coupling. W: *Biochemical action of hormones*, Litwack G, NY Academic, 14, 1987.
- Wirtz H: Der osmotische Druck in den corticalen Tubuli der Rattenniere. *Helv Physiol Acta* 14: 353-362, 1956.
- Zimmerhackl B, Robertson CR, Jamison RL: Effect of arginine vasopressin on renal medullary blood flow. A videomicroscopic study in the rat. *J Clin Invest* 76: 770-778, 1985.

T A B E L E 1 - 9

Tabela 1. Udział oporu rzeczywistego w impedancji (R/Z)
dla płynów o różnym stężeniu NaCl

$\frac{\text{mosm NaCl}}{\text{kg H}_2\text{O}}$	Z	R	X_c	R/Z	φ°
	$\text{k } \Omega$				
100	0,72	0,72	0,019	99,97	-1,5
500	0,17	0,17	0,011	99,80	-3,5

Mierzono w celi pomiarowej przy użyciu prądu pomiarowego o $f = 3,5$ kHz i $I = 0,032$ mA. X_c - reaktancja pojemnościowa, φ° - kąt fazowy.

Tabela 2. Charakterystyka czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w grupie szczurów kontrolnych - I grupa doświadczalna

	Przebieg w czasie, min		
	0-30	30-50	50-85
BP	119	121	121
mm Hg	± 5	± 5	± 5
\dot{V}	15,7	18,6	18,8
$\mu\text{l}/\text{min}$	$\pm 2,9$	$\pm 3,6$	$\pm 3,6$
U_{osm}	602	540	532
mosm/kg H_2O	± 55	± 47	± 37
U_{el}	351	336	354
mosm NaCl/kg H_2O	± 10	± 8	± 13
U_{nel}	212	187	179
mosm/kg H_2O	± 42	± 45	± 38
C_{osm}	31,6	33,9	35,9
$\mu\text{l}/\text{min}$	$\pm 4,1$	$\pm 5,0$	$\pm 4,9$
C_{el}	22,1	25,1	27,2
$\mu\text{l}/\text{min}$	$\pm 3,7$	$\pm 4,5$	$\pm 4,7$
C_{nel}	286	273	271
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 23	± 23	± 17
$T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{C}}$	14,5	13,6	15,3
$\mu\text{l}/\text{min}$	$\pm 1,6$	$\pm 1,4$	$\pm 1,7$
$T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{ce}}$	5,0	4,8	6,6
$\mu\text{l}/\text{min}$	$\pm 1,0$	$\pm 0,9$	$\pm 1,4$
U_{Na}	122	108	106
mM	± 12	± 11	± 11
$U_{\text{Na}} \dot{V}$	2,2	2,4	2,3
$\mu\text{mol}/\text{min}$	$\pm 0,4$	$\pm 0,5$	$\pm 0,5$
RBF	7,5	7,9	7,7
ml/min	$\pm 0,5$	$\pm 0,6$	$\pm 0,5$
GFR	678	644	641
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 31	± 29	± 43
FF	15	14	15
%	± 1	± 2	± 2

Wartości średnie \pm SE; obserwowane w czasie zmiany nie były statystycznie istotne. N=10; dla U_{el} , C_{el} , $T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{ce}}$, U_{Na} , $U_{\text{Na}} \dot{V}$ - n=9

Tabela 3. Zmiany admitancji w grupie kontrolnej (I) oraz po infuzji AVP (II) lub dDAVP (III a i b)

Grupa	Kanał	Okres kontrolny										Infuzja AVP lub dDAVP, czas w min																				
												0 - 20						20 - 55														
Kontrola - I (n = 9)	1.	Śr.	808	808	810	808	808	807	803	802	804	803	803	799	801	802	803	803	805	805	809	812	818	820	825	826	825	823	825	825	821	82
		SE	26	25	26	26	26	26	26	27	28	26	27	26	27	27	25	24	24	24	24	24	23	25	27	27	27	25	25	26	26	30
	2.	Śr.	590	588	590	590	592	595	593	592	594	593	588	589	591	591	592	591	595	597	598	599	604	605	608	611	609	607	606	608	609	60
		SE	17	17	18	18	19	19	20	21	21	21	19	19	18	18	17	16	13	13	14	16	17	17	18	19	18	17	18	22	22	2
	3.	Śr.	572	574	573	575	574	574	574	574	574	575	570	572	571	573	575	575	577	580	580	583	583	587	588	591	593	589	588	587	586	58
		SE	16	16	16	17	18	17	18	18	18	19	17	17	17	17	16	16	14	14	14	16	16	16	18	18	17	17	16	21	20	1
AVP - II (n = 6)	1.	Śr.	764	762	766	766	764	764	762	759	760	760	757	758	760	762	764	765	770	771	773	776	776	778	779	784	784	783	783	787	786	78
		SE	40	39	40	41	41	40	42	42	42	42	42	41	44	43	45	46	46	46	46	46	47	50	50	49	50	50	48	47	49	50
	2.	Śr.	586	587	588	588	586	586	587	584	583	582	581	580	579	579	576	580	583	582	583	585	586	586	590	592	593	594	594	597	599	59
		SE	33	33	34	35	34	34	34	33	33	33	33	33	33	33	33	35	35	34	35	35	35	35	35	35	35	35	35	36	35	3
	3.	Śr.	560	562	563	565	563	563	560	562	560	560	560	560	561	562	561	563	566	567	570	570	572	575	579	578	578	581	581	587	586	58
		SE	30	31	31	32	32	32	33	32	32	32	32	33	33	33	34	34	34	35	34	33	35	36	34	33	35	34	35	35	35	3
dDAVP - IIIa (n = 6)	1.	Śr.	832	833	831	829	828	825	822	819	819	817	818	817	818	822	824	821	824	826	833	837	840	847	852	858	864	873	879	881	884	89
		SE	48	48	49	49	50	52	51	52	52	50	51	52	52	51	52	46	45	44	44	44	43	44	44	45	43	42	45	45	46	45
	2.	Śr.	596	596	595	593	592	590	587	586	587	586	586	586	588	591	592	591	593	594	597	603	603	607	609	611	615	621	622	626	626	63
		SE	31	30	31	30	31	31	30	30	29	28	30	31	32	31	31	27	27	28	30	30	31	31	31	32	32	34	34	35	35	3
	3.	Śr.	586	581	583	582	581	580	579	578	578	578	580	580	586	586	585	586	588	591	596	598	602	604	611	611	616	620	621	623	627	62
		SE	27	27	26	27	27	29	29	29	28	28	29	31	30	31	30	27	27	27	28	28	29	28	30	30	29	29	31	31	31	31
dDAVP - IIIb (n = 7)	1.	Śr.	877	874	871	867	875	872	876	875	873	880	873	867	867	869	874	881	883	895	903	912	921	926	932	945	946	953	952	953		
		SE	32	35	38	39	40	41	41	43	43	44	44	44	43	45	46	46	47	48	47	48	48	48	47	49	47	45	40	40		
	2.	Śr.	676	674	673	672	676	673	673	672	672	671	670	670	676	672	675	679	676	683	690	695	702	707	709	716	716	720	720	722		
		SE	24	26	27	29	29	30	29	30	31	32	33	34	33	32	33	33	33	33	32	31	30	30	29	28	28	27	26	26		
	3.	Śr.	626	625	626	624	626	627	630	630	629	631	631	627	629	632	633	640	639	647	653	657	678	668	671	679	681	684	684	685		
		SE	18	20	21	22	23	24	23	23	23	23	24	24	23	24	24	23	23	24	23	23	28	23	22	22	23	21	21	19		

tości średnie ± błąd standardowy. Kanał 1. - pomiary w rdzeniu wewnętrznym; kanał 2. - w rdzeniu zewnętrznym; kanał 3. - poprzez cały rdzeń.

Tabela 4. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek zależne od działania AVP - II grupa doświadczalna

	Kontrola	Czas infuzji, min		Analiza wariancji		
		0-20	20-55	n	F	F _{0,05}
BP mm Hg	102,4 ±5,8	107,4 ±6,8	111,7 ±6,1	5		NS
\dot{V} μl/min	11,9 ±2,8	17,8 ±3,7	29,7 ±5,5	5	6,1	> 4,46
U _{osm} mosm/kg H ₂ O	697 ±29	535 ±27	513 ±31	5	20,4	> 4,46
U _{el} mosm NaCl/kg H ₂ O	378 ±19	384 ±15	383 ±9	5		NS
U _{nel} mosm/kg H ₂ O	319 ±18	151 ±17	130 ±27	5	47,0	> 4,46
C _{osm} μl/min	28,6 ±5,5	33,2 ±5,9	52,3 ±6,6	5	6,5	> 4,46
C _{el} μl/min	16,1 ±3,4	24,8 ±4,1	41,5 ±7,8	5	7,5	> 4,46
C _{nel} μl/min	362 ±64	265 ±54	342 ±74	5		NS
T _{H₂O} ^C μl/min	16,7 ±2,8	15,4 ±2,4	22,6 ±2,5	5	5,4	> 4,46
T _{H₂O} ^{ce} μl/min	4,7 ±0,7	6,8 ±0,7	11,8 ±1,6	5	10,6	> 4,46
U _{Na} mM	122 ±26	113 ±16	130 ±10	5		NS
U _{Na} \dot{V} μmol/min	1,8 ±0,6	2,1 ±0,6	3,7 ±0,5	5	4,8	> 4,46
RBF ml/min	7,1 ±0,4	7,6 ±0,5	7,8 ±0,5	6	20,0	> 4,10
GFR μl/min	575 ±31	612 ±47	594 ±30	5		NS
FF %	13 ±1	14 ±2	12 ±1	5		NS

Wartości średnie ± SE. Dawkę AVP dobrano tak, aby wzrost ciśnienia tętniczego krwi nie przekraczał 10 mm Hg. Ocenę statystyczną przeprowadzono za pomocą analizy wariancji dla powtarzanych pomiarów.

Tabela 4. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek zależne od działania AVP - II grupa doświadczalna

	Kontrola	Czas infuzji, min		Analiza wariancji		
		0-20	20-55	n	F	F _{0,05}
BP	102,4	107,4	111,7	5		NS
mm Hg	±5,8	±6,8	±6,1			
\dot{V}	11,9	17,8	29,7	5	6,1	> 4,46
μl/min	±2,8	±3,7	±5,5			
U _{osm}	697	535	513	5	20,4	> 4,46
mosm/kg H ₂ O	±29	±27	±31			
U _{el}	378	384	383	5		NS
mosm NaCl/kg H ₂ O	±19	±15	±9			
U _{nel}	319	151	130	5	47,0	> 4,46
mosm/kg H ₂ O	±18	±17	±27			
C _{osm}	28,6	33,2	52,3	5	6,5	> 4,46
μl/min	±5,5	±5,9	±6,6			
C _{el}	16,1	24,8	41,5	5	7,5	> 4,46
μl/min	±3,4	±4,1	±7,8			
C _{nel}	362	265	342	5		NS
μl/min	±64	±54	±74			
T _{H₂O} ^C	16,7	15,4	22,6	5	5,4	> 4,46
μl/min	±2,8	±2,4	±2,5			
T _{H₂O} ^{ce}	4,7	6,8	11,8	5	10,6	> 4,46
μl/min	±0,7	±0,7	±1,6			
U _{Na}	122	113	130	5		NS
mM	±26	±16	±10			
U _{Na} \dot{V}	1,8	2,1	3,7	5	4,8	> 4,46
μmol/min	±0,6	±0,6	±0,5			
RBF	7,1	7,6	7,8	6	20,0	> 4,10
ml/min	±0,4	±0,5	±0,5			
GFR	575	612	594	5		NS
μl/min	±31	±47	±30			
FF	13	14	12	5		NS
%	±1	±2	±1			

Wartości średnie ± SE. Dawkę AVP dobrano tak, aby wzrost ciśnienia tętniczego krwi nie przekraczał 10 mm Hg. Ocenę statystyczną przeprowadzono za pomocą analizy wariancji dla powtarzanych pomiarów.

Tabela 6. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek zależne od działania dDAVP - podgrupa III b

	Kontrola	Czas infuzji, min		Analiza wariancji	
		0-20	20-55	F	F _{0,05}
BP mm Hg	117 ±4,9	118 ±5,3	117 ±5,0		NS
\dot{V} μl/min	35,8 ±12,7	42,0 ±15,1	36,0 ±9,0		NS
U _{osm} mosm/kg H ₂ O	588 ±44	555 ±47	663 ±52		NS
U _{el} mosm NaCl/kg H ₂ O	365 ±21	371 ±17	409 ±22	5,20	> 3,88
U _{nel} mosm/kg H ₂ O	223 ±39	192 ±37	251 ±46		NS
C _{osm} μl/min	66,2 ±17,0	76,0 ±22,0	77,6 ±14,6		NS
C _{el} μl/min	47 ±16	56 ±19	53 ±12		NS
C _{nel} μl/min	585 ±55	645 ±127	728 ±96		NS
T _{H₂O} ^C μl/min	30,4 ±4,6	34,0 ±7,5	41,6 ±5,8	3,82	≈ 3,88
T _{H₂O} ^{ce} μl/min	11,3 ±3,9	14,3 ±4,0	16,7 ±3,8		NS
U _{Na} mM	138 ±16	119 ±9	144 ±17		NS
U _{Na} · \dot{V} μmol/min	5,8 ±2,8	5,0 ±1,7	5,6 ±1,9		NS
RBF ml/min	7,9 ±0,6	8,7 ±0,7	9,2 ±0,7	5,02	> 3,88
GFR μl/min	900 ±75	880 ±85	916 ±60		NS
FF %	20 ±2	18 ±2	17 ±2	3,80	≈ 3,88

Wartości średnie ± SE, n = 7. Tempo infuzji dDAVP - 7 ng/kg·min. Ocena statystyczną przeprowadzono za pomocą analizy wariancji dla powtarzanych pomiarów.

Tabela 7. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w wyniku infuzji indometacyny (IND) u szczurów otrzymujących dDAVP - podgrupa III a

	dDAVP	dDAVP + IND	test t-Studenta	
			t	t _{0,05}
BP mm Hg	103 ±4,2	105 ±7,0		NS
\dot{V} μl/min	15,1 ±3,3	23,3 ±5,3		NS
U _{osm} mosm/kg H ₂ O	758 ±103	862 ±110	4,78	> 2,78
C _{osm} μl/min	39,5 ±7,5	64,6 ±9,6	2,67	≈ 2,78
T _{H₂O} ^C ml/min	24,4 ±5,0	41,3 ±5,4	3,20	> 2,78
T _{H₂O} ^C /C _{osm} %	61,8 ±4,3	65,4 ±3,9	3,30	> 2,78
U _{Na} mM	135 ±17,1	202 ±18,9	6,39	> 2,78
U _{Na} \dot{V} μmol/min	2,2 ±0,6	4,8 ±1,1	2,57	≈ 2,78
RBF ml/min	9,0 ±0,3	9,8 ±0,8		NS
GFR μl/min	687 ±37	806 ±32	6,58	> 2,78
FF %	12 ±0,5	11 ±1,3		NS

Wartości średnie ± SE, n = 5. Okres infuzji dDAVP stanowi kontrolę dla okresu infuzji IND (0,25 mg/kg·min). Ocenę statystyczną przeprowadzono za pomocą testu t-Studenta dla zmiennych połączonych.

Tabela 8. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w wyniku infuzji indometacyny (IND) u szczurów otrzymujących dDAVP - podgrupa IIIb

	dDAVP	dDAVP + IND	test t-Studenta	
			t	t _{0,05}
BP mm Hg	114,6 ±4,2	113,0 ±5,1		NS
\dot{V} μl/min	25,2 ±5,5	39,0 ±7,9		NS
U _{osm} mosm/kg H ₂ O	703 ±62	683 ±110		NS
U _{el} mosm NaCl/kg H ₂ O	406 ±26	431 ±31		NS
U _{nel} mosm/kg H ₂ O	279 ±49	252 ±80		NS
C _{osm} μl/min	59,8 ±10	84,3 ±11,8		NS
C _{el} μl/min	36,3 ±6,3	59,7 ±10,9		NS
C _{nel} μl/min	694 ±128	751 ±124		NS
T _{H₂O} ^c μl/min	34,6 ±5	45,1 ±4		NS
T _{H₂O} ^c /C _{osm} %	59,2 ±3,5	56,0 ±5,0		NS
T _{H₂O} ^{ce} μl/min	11,1 ±1,3	20,4 ±3,3	3,63 >	2,78
T _{H₂O} ^{ce} /C _{el} %	32,4 ±4,1	36,4 ±3,9		NS
U _{Na} mM	123 ±16	172 ±14	3,18 >	2,78
U _{Na} \dot{V} μmol/min	3,1 ±0,9	6,8 ±1,6	3,11 >	2,78
RBF ml/min	9,8 ±0,8	9,6 ±0,8		NS
GFR μl/min	842 ±40	843 ±57		NS
FF %	15 ±1,0	14 ±1,7		NS

Wartości średnie ± SE, n = 5. Okres infuzji dDAVP stanowi kontrolę dla okresu infuzji IND (0,25 mg/kg min). Ocenę statystyczną przeprowadzono za pomocą testu t-Studenta dla zmienionych połączonych.

Tabela 9. Zakres wartości niektórych parametrów wydalniczych (\dot{V} , U_{osm} , U_{el} , C_{osm} , C_{el}) przed i po wstrzyknięciu dDAVP lub AVP u szczurów w uśpieniu etanolowym

	Kontrola	dDAVP/AVP*	Średnia zmiana (wielokrotność)
\dot{V} ul/min	80 - 240	6 - 27	↓ 10 x
U_{osm} mosm/kg H ₂ O	220 - 360	640 - 1240	↑ 3 x
U_{el} mosm NaCl/kg H ₂ O	10 - 107	40 - 380	↑ 3,5 x
C_{osm} μl/min	90 - 220	25 - 80	↓ 2,9 x
C_{el} μl/min	1,5 - 30	1 - 30	1 x (bez zmian)

* Zakresy podano łącznie dla dDAVP i AVP ponieważ nie stwierdzono istotnych różnic zależnych od użytego preparatu ADH.