

INSTYTUT-CENTRUM MEDYCYN Y DOŚWIADCZALNEJ I KLINICZNEJ PAN

Leszek Dobrowolski

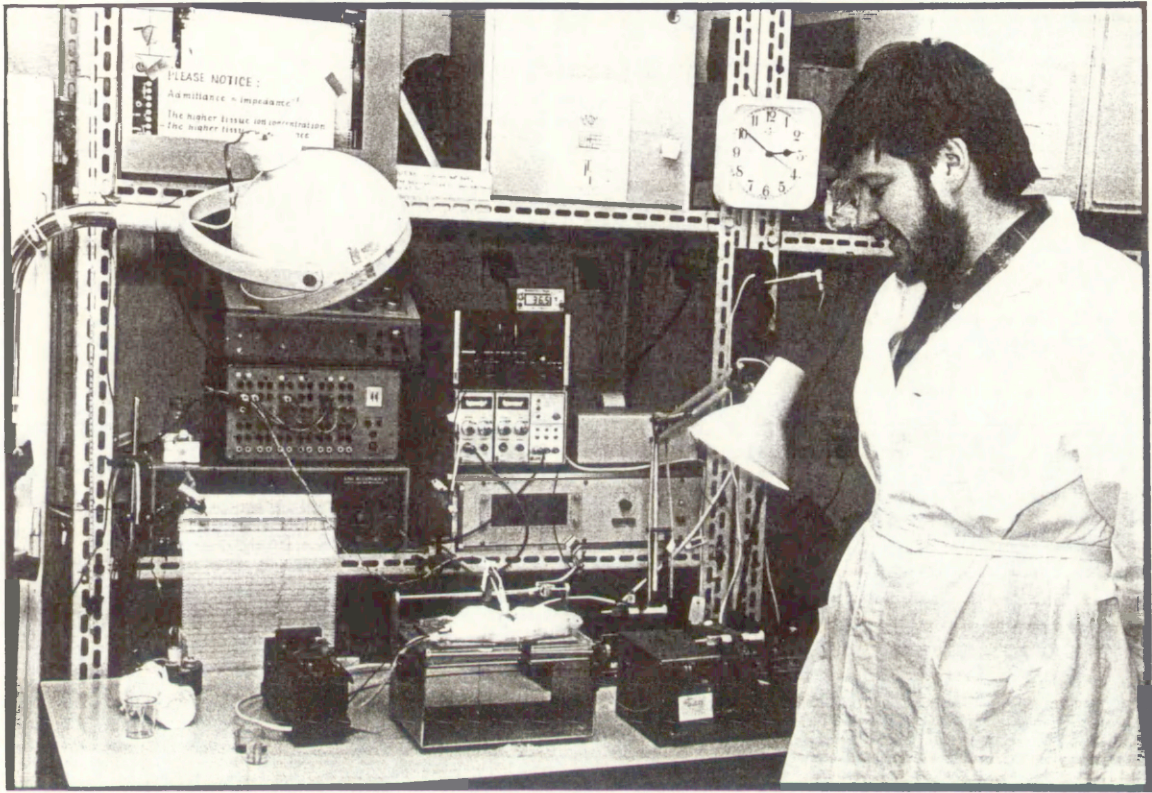
ROLA PROSTAGLANDYN W MODULOWANIU KOROWO-RDZENIOWEGO
GRADIENTU ELEKTROLITOWEGO W NERCIE SZCZURA

Rozprawa doktorska

Promotor

Prof.dr hab.med. Janusz Sadowski

WARSZAWA 1992



Prof. Januszowi Sadowskiemu za inspiracje, cierpliwą opiekę i serdeczność, bez których rozprawa ta nie mogłaby powstać, Eli Kompanowskiej-Jeziarskiej za niezwykle miłą współpracę oraz wszystkim tym, którzy ciepłym słowem, uśmiechem, gestem pomagali przygotować niniejszą rozprawę

serdeczne podziękowania składa autor

SPIS TREŚCI

1.	WSTĘP	1
1.1.	Udział prostaglandyn w regulacji hemodynamiki nerki	6
1.2.	Udział prostaglandyn w regulacji transportu wody w kanaliku zbiorczym nerki	9
1.3.	Udział prostaglandyn w kontroli transportu NaCl w kanaliku nerkowym	11
	CEL PRACY	16
2.	MATERIAŁ I METODY	18
2.1.	Materiał doświadczalny	18
2.2.	Przygotowanie zwierząt do doświadczenia	18
2.3.	Pomiar przepływu krwi przez nerkę	20
2.4.	Pomiary admitancji elektrycznej rdzenia nerki <i>in situ</i>	21
2.4.1.	Podstawy teoretyczne	21
2.4.2.	Charakterystyka elektrod	22
2.5.	Badania rdzenia nerki <i>in vitro</i>	24
2.6.	Przebieg doświadczeń - grupy I - VI	27
2.7.	Metody analityczne i obliczenia	30
2.8.	Analiza statystyczna	33
	ADDENDUM	34

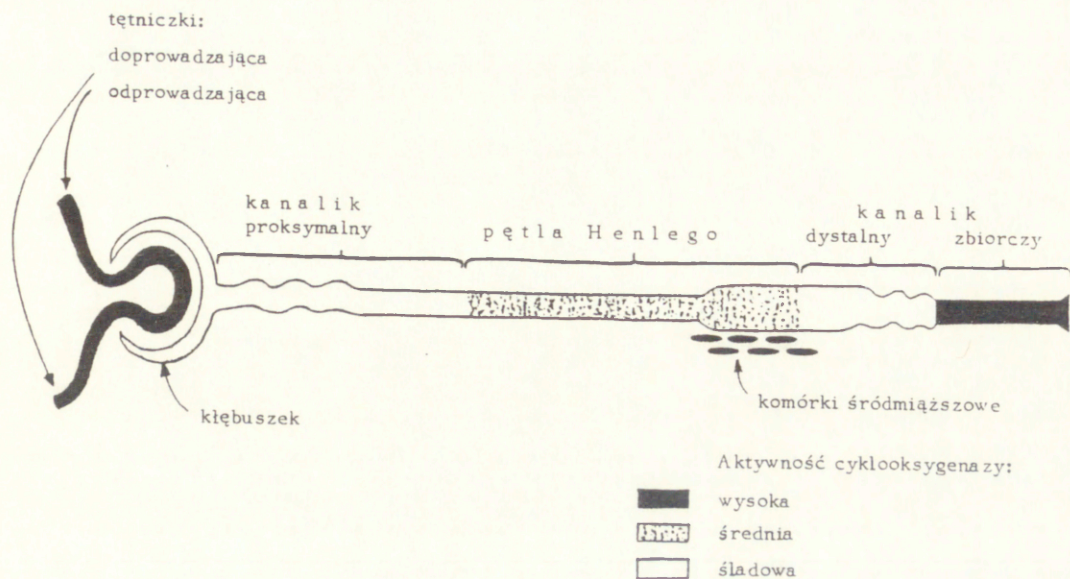
3.	W Y N I K I	38
3.1.	Doświadczenia kontrolne (grupa I)	38
3.2.	Działanie indometacyny (grupa II i III)	39
3.2.1.	Mała dawka (grupa II)	39
3.2.2.	Duża dawka (grupa III)	40
3.3.	Działanie indometacyny u zwierząt otrzymujących analog wazopresyny dDAVP (grupa IV)	42
3.4.	Działanie meklofenamanu sodu (grupa IV)	45
3.4.1.	Mała dawka (grupa V)	45
3.4.2.	Duża dawka (grupa VI)	47
3.5.	Porównanie wyników w grupach II, III, V i VI	50
3.6.	Wyniki badań rdzenia nerki <i>in vitro</i>	53
4.	D Y S K U S J A	56
4.1.	Wpływ zahamowania syntezy PG na korowo-brodawkowy gradient osmotyczny nerki	57
4.2.	Wpływ zahamowania syntezy PG na hemodynamikę nerki	59
4.3.	Wpływ zahamowania syntezy PG na czynność wydalniczą nerki	62
	PODSUMOWANIE I WNIOSKI	68
	PIŚMIENNICTWO	I - IX
	T A B E L E	1 - 10

W S T Ę P

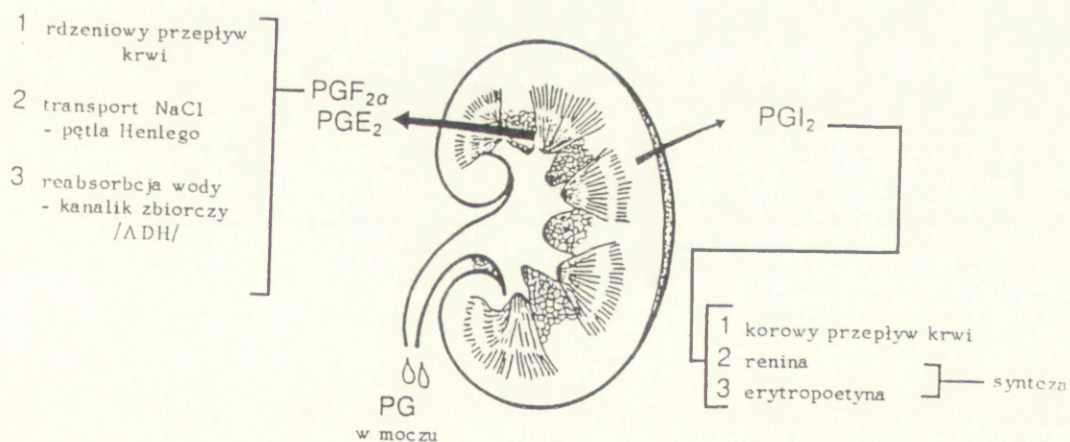
Wiedza na temat biosyntezy prostaglandyn (PG) w nerce i ich roli w modulowaniu jej funkcji ulega ciągłemu rozszerzeniu od ponad 25 lat. Uważa się, że mogą być one zaangażowane w szereg procesów, np. w kontrolę przepływu krwi przez nerki, transportu wody i NaCl w kanalikach, filtracji kłębuszkowej oraz uwalniania reniny i erytropoetyny. Mimo rozległych badań trudno jednak przedstawić syntetyczny schemat ilustrujący rolę PG we wszystkich wymienionych procesach. Najwięcej danych zgromadzono na temat roli rdzeniowych PG.

Na nerkę jako miejsce syntezy PG wskazano w połowie lat 60-tych, gdy w rdzeniu nerki królika stwierdzono obecność ziarnistości lipidowych, których głównym składnikiem był kwas arachidonowy niezbędny dla biosyntezy PG w komórce. Jest to wielonienasycony kwas tłuszczowy, ważny składnik błon biologicznych w komórkach wszystkich ssaków. Ponieważ PG nie są magazynowane w komórkach, dla rozpoczęcia ich biosyntezy musi nastąpić uwolnienie kwasu arachidonowego (AA) z kompleksu lipidów błonowych. Następny etap przemian jest katalizowany przez enzym cyklooksygenazę.

Rozwój metod biochemicznych umożliwił lokalizację miejsc wysokiej aktywności cyklooksygenazy w nefronie; są to: tętniczki doprowadzające i odprowadzające kłębuszka, komórki pętli Henlego i kanalików zbiorczych oraz komórki śródmiąższowe rdzenia (Morrison, 1986). (Ryc. 1). Enzym ten inicjuje powstanie PGE₂, PGD₂, PGF_{2α}, PGI₂ (prostacyklina) i tromboksanu A₂ (TxA₂). Niektóre hormony mogą wpływać na syntezę PG (Lifschitz i Stein, 1981). Stymulujący wpływ angiotensyny II wykazano w kłębuszkach



Ryc. 1. Lokalizacja aktywności cyklooksygenazy prostaglandynowej w nefronie.



Ryc. 2. Wpływ prostaglandyn (PG) na procesy zachodzące w nerce.

podczas gdy wazopresyna i bradykinina zwiększają powstawanie PG w kanalikach (Bonvalet et al., 1987). Wpływ hormonów stymulujących syntezę PG miałby polegać na zwiększaniu uwalniania AA z fosfolipidów błonowych, kortykosteroidy natomiast miałyby hamować ten proces (Lifschitz i Stein, 1981; Bonvalet et al., 1987). Również w warunkach stymulacji nerkowych nerwów współczulnych obserwuje się zwiększone wytwarzanie PG. Stosowane w medycynie oraz w eksperymentach środki farmakologiczne z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NSAID) np: aspiryna, indometacyna, kw. meklofenamowy czy ibuprofen wpływają hamująco na powstanie PG poprzez hamowanie aktywności cyklooksygenazy (Dunn i Hood, 1977). Wyniki badań z użyciem tych leków dostarczają cennych danych, ale ich interpretacja dotycząca miejsca i mechanizmu działania PG wymaga ostrożności. Oprócz pożądanego efektu na zahamowanie aktywności cyklooksygenazy wywierają one również wpływ na inne enzymy.

Większość badaczy uważa, że PG działają w miejscu syntezy lub jego pobliżu. W odniesieniu do nerki zaobserwowano, że najbardziej nasiloną syntezą PG zachodzi w rdzeniu nerki a enzymy, które je metabolizują znajdują się zarówno w rdzeniu jak i w korze (Lifschitz i Stein, 1981; Jackson et al., 1985). Wysokie tempo degradacji PGE i PGF_{2α} w płucach uniemożliwia ich funkcjonowanie jako hormonów krążących. Badania nad PGI₂ wykazały co prawda ograniczony zakres rozkładu prostacykliny w płucach (rozkładana jest przede wszystkim w wątrobie i nerkach). Substancja ta może więc funkcjonować jako hormon krążący, jednak jej okres półtrwania nie jest zbyt długi (ok. 2 min.). TxA₂ jest jeszcze bardziej niestabilny a jego okres półtrwania wynosi ok. 30 sek. (Jackson et al., 1985). Tak więc wydalane z

moczem PGE₂ i PGF₂α odzwierciedlają prawdopodobnie ich nerkowa produkcję, chociaż u płci męskiej pewna część wydalanych w moczu PG może pochodzić z płynu nasiennego. (Jackson et al., 1985). Natomiast obecne w moczu 6-keto PGF₁α (produkt hydrolizy PGI₂) oraz TxB₂ (produkt hydrolizy TxA₂) odzwierciedlają łączną produkcję PGI₂ i TxA₂ w nerkach i w całym ustroju. (Jackson et al., 1985).

Jak pokazano na Ryc.1, wysoką aktywność cyklooksygenazy stwierdzono w strukturach, które są położone zarówno w korze jak i w rdzeniu nerki. Produkcja PG jest jednak różna w poszczególnych warstwach narządu. Najbardziej nasilona synteza zachodzi w brodawce i maleje poprzez rdzeń w kierunku kory, proporcje te u szczura i królika kształtują się jak 100:10:1 (Dunn i Hood, 1977). Produkcja poszczególnych typów PG jest różna w poszczególnych warstwach nerki; w korze syntetyzowana jest przede wszystkim PGI₂ a w rdzeniu PGE₂. (Bonvalet et al., 1987).

Jak już wspomniano PG mogą wpływać na procesy zachodzące w miejscu ich uwalniania lub w pobliżu. Prostacyklina powoduje zwiększenie zachodzącej w korze syntezy reniny i erytropoetyny (Ryc.2). W procesy te jest również zaangażowana syntetyzowana w rdzeniu PGE₂, ale w znacznie mniejszym stopniu. (Bonvalet et al., 1987). PGI₂ jest potencjalnym czynnikiem naczyniorozszerzającym w nerce zarówno zwierząt jak i człowieka (Jackson et al., 1985, DiBona, 1986), mogłaby więc ona powodować zwiększony przepływ krwi w korze nerki (Ryc.2). Tromboksan A₂ jest syntetyzowany w korze w niewielkiej ilości (Lifschitz i Stein, 1981; Bonvalet et al., 1987) i wydaje się, że może on w pewnych warunkach wpływać naczyniokurcząco. (Lifschitz i Stein, 1981; Jackson et al., 1985). Prostaglandyny F₂α i D₂ są syntetyzowane w rdzeniu w niewielkiej

ilości a o ich roli wiadomo niewiele. (Lifschitz i Stein, 1981; Stokes, 1981; Bonvalet et al., 1987). Około 95% wszystkich produkowanych w nerkach PG stanowi PGE₂ (Bonvalet et al., 1987). Dlatego też większość badań roli PG w funkcjonowaniu rdzenia nerki dotyczyło właśnie tej substancji i wydaje się, że to właśnie PGE₂ jest odpowiedzialna za większość fizjologicznych efektów metabolitów kwasu arachidonowego (Stokes, 1981).

W rdzeniu nerki zachodzą 3 procesy mające fundamentalne znaczenie dla regulacji wydalania wody z organizmu: 1) rdzeniowy przepływ krwi, 2) reabsorbcja wody w kanaliku zbiorczym zależna od hormonu antydiuretycznego, 3) reabsorbcja NaCl w rdzeniowym odcinku ramienia wstępującego pętli Henlego. Uważa się, że syntetyzowane w rdzeniu PG mogą modulować wszystkie te procesy (Ryc.2).

Krażąca w rdzeniu krew spełnia 2 różne funkcje. Tak jak i w innych łóżyskach naczyniowych zaspakaja potrzeby metaboliczne tkanki ale także odprowadza nagromadzone w śródmiaższu rdzenia nerki substancje osmotycznie czynne. Dlatego też krążenie rdzeniowe często badano pod kątem jego roli w kształtowaniu hipertonii rdzenia nerki. Niektórzy autorzy (Thureau et al., 1962) uważają, że zwiększone ukrwienie rdzenia może być przyczyną zwiększonego wypłukiwania substancji osmotycznie czynnych z jego śródmiaższu ("wash-out"). Prowadzi to do obniżenia osmolalności śródmiaższu, co ogranicza dyfuzję wody z ramienia zstępującego pętli Henlego. Dochodzi wtedy jednocześnie do: 1) zwiększenia objętości płynu kanalikowego przepływającego przez ramię wstępujące, oraz 2) spadku stężenia NaCl w ramieniu wstępującym pętli Henlego. Wynikiem obu tych procesów jest zwiększona dostawa wody i NaCl do odcinków dalszych, dystalnych względem ramienia

wstępującego pętli Henlego a następnie zwiększona diureza i zwiększone wydalanie sodu. Przypuszcza się, że jako potencjalny czynnik naczyniorozszerzający (DiBona, 1986), PGE₂ mogłaby przyspieszać przepływ krwi przez naczynia proste rdzenia i w ten sposób przyczynić się do obniżenia gradientu osmotycznego w nerce.

Należy jednak podkreślić, że rola zjawiska "wash-out" w obniżaniu hipertonii osmotycznej rdzenia (a więc i pośrednio w zwiększonym wydalaniu wody i sodu) nie została nigdy przekonująco udowodniona. W wielu badaniach nie stwierdzono związku między zmianami w przepływie rdzeniowym i w zagęszczaniu moczu (Cupples, 1985). Rola PG w kontroli hemodynamiki nerek i ewentualnym modulowaniu gradientu osmotycznego w nerce została szerzej omówiona w rozdziale 1.1.

O objętości wydalanego moczu decyduje przede wszystkim stopień przepuszczalności ścian kanalika zbiorczego dla wody uzależniony od stężenia hormonu antydiuretycznego (ADH). Uważa się, że PG nie tylko za pośrednictwem zmian w hemodynamice, ale w sposób bardziej bezpośredni mogą wpływać na ilość wydalanej wody i wykazano, że są one zdolne do hamowania działania ADH w komórkach kanalika zbiorczego. Problem ten został szerzej omówiony w rozdz. 1.2.

Siłę napędową dla właściwego zagęszczenia moczu w rdzeniowym odcinku kanalików zbiorczych zapewnia wytworzone w śródmiaższu rdzenia wysokie stężenie substancji osmotycznie czynnych (głównie NaCl i mocznika). Zgodnie z prawami dyfuzji osmotycznej pułap możliwości zagęszczania¹ czyli najwyższa osiągalna osmolalność moczu nie może przekroczyć wartości globalnego stężenia substancji osmotycznie czynnych na szczycie piramidy rdzeniowej, tuż przy brodawce nerkowej. Maksymalna osmolalność osiągnięta jest wtedy, gdy

przepuszczalność ściany kanalik zbiorczego jest maksymalna (wysokie stężenie ADH), a przepływ moczu przez kanalik nie jest zbyt duży i wystarcza czasu na wyrównanie stężeń między płynem kanalikowym i śródmiąższem. Powstanie i utrzymanie hipertonii rdzenia jest możliwe dzięki reabsorpcji NaCl (bez wody) z płynu kanalikowego grubego odcinka ramienia wstępującego pętli Henlego do otaczającego śródmiąższu. Istnieją liczne dane wskazujące, że następstwem działania endogennych PG może być obniżenie tempa tego procesu i w konsekwencji częściowe zahamowanie gromadzenia soli w śródmiąższu rdzenia. Wyniki badań dotyczących tej roli PG oraz przypuszczalny mechanizm ich działania omówiono w rozdz. 1.3.

1.1. Udział prostaglandyn w regulacji hemodynamiki nerek

Infuzja prostaglandyny E₂ do tętnicy nerkowej lub bezpośrednio do śródmiąższu rdzenia nerki u zwierząt w narkozie może spowodować obniżenie lub zwiększenie przepływu krwi przez nerki (jak to obserwowano u szczura) lub nie wywoływać żadnego efektu (jak to stwierdzono u psa) (DiBona, 1986; Long et al., 1990). Brak zmian w całkowitym przepływie krwi przez nerkę nie wyklucza redystrybucji przepływu krwi w obrębie narządu. Zarówno u psów jak i królików wykazano, że stymulacja biosyntezy endogennych PG nerkowych (infuzja kwasu arachidonowego do tętnicy nerkowej) prowadzi do zwiększenia przepływu krwi w kłębuszkach przyrdzeniowych (Larsson i Anggard, 1974; Chang et al., 1975) kosztem jednostek położonych w głębi kory. Tętniczki odprowadzające kłębuszków przyrdzeniowych dostarczają krew do naczyń prostych (vasa recta) rdzenia nerki a więc prostaglandyny mogłyby zwiększać przepływ rdzeniowy.

Wbrew oczekiwaniom podawanie inhibitorów cyklooksygenazy prostaglandyn u narkotyzowanych psów i szczurów powoduje obniżenie całkowitego przepływu krwi przez nerki (Herbaczyńska-Cedro, 1973; Lonigro et al., 1973; Kirschenbaum et al., 1974; DiBona, 1986). Zahamowanie syntezy PG zwiększa ponadto udział przepływu krwi przez kłębuszki położone w głębi kory (Itskovitz et al., 1973; Kirschenbaum et al., 1974; Beilin et al., 1977), co pozwala spodziewać się spadku przepływu przez kłębuszki przyrdzeniowe a więc i rdzeniowego przepływu krwi. Jego obniżenie stwierdzano najczęściej w badaniach, w których jako inhibitora syntezy PG używano indometacyny (Solez et al., 1974; Chuang et al., 1978; Cupples et al., 1988; Pallone et al., 1990). Jednak niektórzy badacze, stosując również indometacynę lub inny inhibitor (ibuprofen), nie stwierdzili zmian w rdzeniowym przepływie krwi (Ganguli et al., 1977; Bartha i Hably, 1982; Passmore et al., 1987). Przedstawione powyżej rozbieżne wyniki dotyczące wpływu zahamowania syntezy PG pochodzą z badań, w których do oznaczania przepływu rdzeniowego używano metod pośrednich. Bezpośrednia obserwacja mikrokrażenia (przy użyciu videokamery do obserwacji znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi czerwonych krwinek) wykazała obniżenie prędkości erytrocytów w naczyniach prostych brodawki szczura po podaniu zarówno indometacyny jak i meklofenamanu (Jamison et al., 1981; Lemley et al., 1984). Dane te są zgodne z wynikami części przytaczanych wcześniej badań pośrednich i sugerują, że endogenne PG mogą zwiększać przepływ rdzeniowy w nerce. Należy jednak zauważyć, że wspomniana metoda bezpośredniego pomiaru mikrokrażenia obok zalet posiada tę wadę, że wymaga nie tylko zastawienia narkozy i laparatomii, ale także częściowego wycięcia miedniczki nerkowej i moczowodu.

Może to prowadzić do zmian w brodawkowym przepływie krwi związanych właśnie ze wzrostem syntezy rdzeniowych PG. (Chuang et al., 1978).

Endogenne PG nerkowe w warunkach podstawowych ("fizjologicznych") nie wywierają najprawdopodobniej wpływu na całkowity przepływ krwi przez nerki. Także podawanie inhibitorów cyklooksygenazy w tych warunkach nie wywołuje żadnych istotnych zmian ukrwienia (Swain et al., 1975; DiBona, 1986). Natomiast w warunkach ograniczonej podaży sodu, wody czy też w stanach patologicznych (np: wstrząsie pokrwotocznym lub zastoinowej niewydolności serca), w których dochodzi do zwiększonej syntezy PG nerkowych, podawanie inhibitorów cyklooksygenazy powoduje obniżenie przepływu krwi przez nerki i wzrost oporu naczyń nerkowych. (DiBona, 1986). PG są więc prawdopodobnie ważnym czynnikiem regulującym ukrwienie nerek w warunkach, które prowadzą do zwiększenia ich produkcji.

Badania mikropunkcyjne (Schnermann et al., 1984; Pelayo, 1988) jak i pomiary klirensowe (DiBona, 1986; Passmore et al., 1987; Pelayo, 1988; Long et al., 1990) wskazują, że PG nie wywierają istotnego wpływu na filtrację kłębuszkową (GFR) u psów i szczurów. Zarówno infuzja inhibitorów cyklooksygenazy (Schnermann et al., 1984; DiBona, 1986; Passmore et al., 1987; Pelayo, 1988) jak też podawanie PGE₂ bezpośrednio do nerki (Long et al., 1990) nie wywołały zmian tempa filtracji kłębuszkowej. Także u ludzi zwiększenie syntezy PG nerkowych poprzez infuzję kwasu linolowego nie spowodowało zmian GFR. mimo wzrostu wydalania prostaglandyn E₂ i F_{1α} w moczu (DiBona, 1986).

1.2. Udział prostaglandyn w regulacji transportu wody w kanalikach zbiorczych nerki

Jednym z najczęściej obserwowanych następstw infuzji PGE₂ do tętnicy nerkowej lub bezpośrednio do śródmiąższu rdzenia jest wzrost diurezy (Raymond i Lifschitz, 1986; Long et al., 1990), natomiast podanie inhibitorów cyklooksygenazy wywołuje skutek odwrotny (Stokes, 1981; Haylor i Lote, 1982; Passmore et al., 1987). Mechanizm tych reakcji może polegać na hamującym wpływie PG na reabsorpcję wody w kanalikach zbiorczych lub braku takiego działania po podaniu inhibitorów syntezy PG.

Przepuszczalność ścian kanalika zbiorczego zależy od obecności wazopresyny. Po połączeniu się jej z receptorem V₂ na błonie bazolateralnej kanalika dochodzi do uaktywnienia cyklicznej adenylowej, enzymu katalizującego syntezę cyklicznego adenylo-3'-5'-monofosforanu (cAMP). Nagromadzenie cAMP w cytoplazmie komórki powoduje aktywację kinazy białkowej. Ta z kolei katalizuje fosforylację białek, które łączą się następnie z błoną luminalną, wbudowując w jej ścianę tzw. kanały wodne. W wyniku tego wzrasta przepuszczalność błony dla wody. (Raymond i Lifschitz, 1986; Harris et al., 1991). Stymulowany przez hormon antydiuretyczny transport wody może być hamowany przez PG (Orloff et al., 1965; Grantham i Orloff, 1968). Z badań *in vitro* na hodowlach komórek nerkowych oraz na izolowanych kanalikach psów, królików i szczurów wynika, że antagonistyczne działanie PG zachodzi w cytoplazmie komórek kanalików. Większość danych wskazuje, że prostaglandyny hamują stymulowane przez ADH gromadzenie się cAMP (Clark et al., 1979; Edwards et al., 1981; Schlondorff et al., 1981; Locher et al., 1983). Niektórzy badacze wykazali, że PG mogą

wpływać stymulująco na syntezę fosfodiesterazy, która rozkłada cAMP i w ten sposób antagonizuje działanie ADH (Torikai i Kurokawa, 1983). Istnieją również dane wskazujące, że sam hormon antydiuretyczny stymuluje syntezę PG w komórkach kanalików zbiorczych, a więc prawdopodobnie istnieje mechanizm ujemnego sprzężenia zwrotnego między wazopresyną stymulującą cAMP a PG.

Również w badaniach *in vivo* udało się wykazać, że podawanie analogu PGE u czuwających owiec hamuje wpływ egzogennej wazopresyny i prowadzi do obniżenia osmolalności moczu oraz wzrostu diurezy i klirensu wolnej wody (Christensen et al., 1984). Natomiast u narkotyzowanych psów pozbawionych przysadki (miejsca uwalniania wazopresyny) infuzja inhibitorów cyklooksygenazy wzmacniała efekt podawanej wazopresyny co prowadziło do wzrostu osmolalności moczu (w badaniach tych nie stwierdzono zmian hemodynamiki nerek). (Andersson et al., 1975). Podobny wpływ zahamowania syntezy PG na zagęszczanie moczu obserwowano u czuwających psów, szczurów i ludzi (Berl et al., 1977; Fejes-Toth et al., 1977; Kramer, 1978). Również u chorych z moczówką prostą pochodzenia centralnego wykazano, że indometacyna wyraźnie zwiększa zdolność nerki do zagęszczania moczu po podaniu ADH (Dusing et al., 1980).

Wyniki badań *in vitro* dostarczają bezpośrednich dowodów na hamujący wpływ PG na transport wody zależny od hormonu antydiuretycznego. Natomiast interpretacja danych z badań *in vivo* jest utrudniona ponieważ PG wpływają także na inne mechanizmy modyfikujące zdolność nerki do zagęszczania moczu. Obok działania na omówioną w poprzednim rozdziale hemodynamikę nerek mogą również zmieniać reabsorpcję NaCl w kanalikach nerkowych i jego gromadzenie w śródmiąższu nerki, o czym będzie mowa w następnym rozdziale.

1.3. Udział prostaglandyn w kontroli transportu NaCl
w kanalikach nerkowych

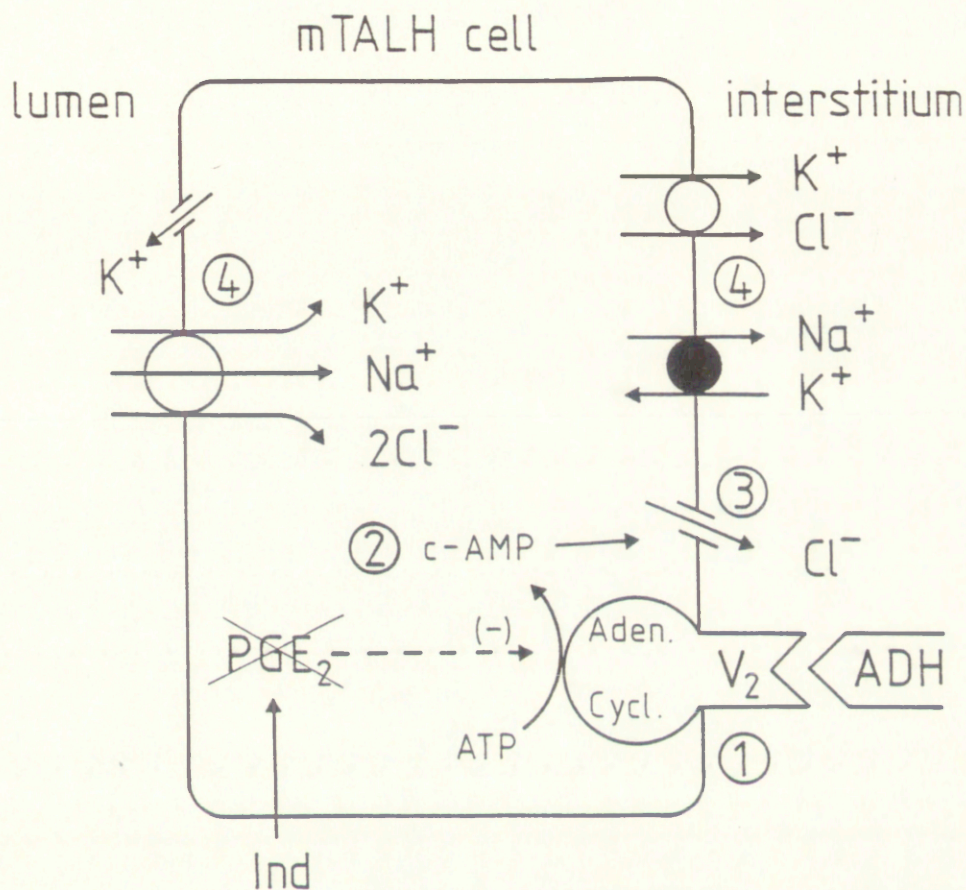
Infuzji PGE₂ do tętnicy nerkowej lub bezpośrednio do śródmiąższu rdzenia nerki obok wzrostu diurezy towarzyszy najczęściej również zwiększone wydalanie sodu (Strandhoy et al., 1974; Raymond i Lifschitz, 1986; Long et al., 1990), natomiast infuzja inhibitorów cyklooksygenazy wywołuje zazwyczaj efekt odwrotny (Haylor, 1980; Haylor i Lote, 1980).

W badaniach mikropunkcyjnych wykazano, że zarówno infuzja PGE₂ jak i podawanie indometacyny nie zmienia reabsorpcji NaCl w kanalikach proksymalnych. (Fülgraff i Meyforth, 1971; Strandhoy et al., 1974; Leyssac et al., 1975; Higashihara et al., 1979), chociaż obserwowano zmiany wydalania sodu. Należy więc przypuszczać, że PG wzmagają wydalanie Na poprzez wpływ na transport NaCl poza kanalikami proksymalnymi.

Stosując technikę in vitro izolowanych i perfundowanych kanalików wykazano, że PG hamują transport sodu w korowym oraz położonym w rdzeniu zewnętrznym odcinku kanalika zbiorczego (Stokes i Kokko, 1977; Iino i Imai, 1978; Holt i Lechêne, 1980). W odniesieniu do pętli Henlego hamowanie transportu NaCl wykazano jedynie w odcinku rdzeniowym ramienia wstępującego (Stokes, 1979; Culpepper i Andreoli, 1983). Należy podkreślić, że taki skutek działania PG obserwowano jedynie w obecności ADH (Culpepper i Andreoli, 1983). Badania izolowanych kanalików mają tę zaletę, że uzyskane wyniki nie są zależne od wpływu hemodynamiki nerek i krążących hormonów ale z drugiej strony uzyskiwane dane nie mają bezpośredniego odniesienia do warunków in vivo.

W interesującym tutaj zakresie badania *in vivo* (przy użyciu mikropunkcji) potwierdziły dane uzyskane *in vitro*. Wielu badaczy wykazało, że PG hamują transport NaCl w kanaliku zbiorczym (Higashihara et al., 1979; Wilson et al., 1982;) oraz w pętli Henlego (Kauker, 1977; Higashihara et al., 1979; Kirchner, 1985). O ile uzyskane tą metodą wyniki dotyczące działania PG w kanaliku zbiorczym nie budzą wątpliwości to dane dotyczące pętli Henlego wymagają pewnego komentarza. W badaniach mikropunkcyjnych próbki płynu kanalikowego pobiera się w kanaliku proksymalnym a następnie dystalnym (ewentualnie czasem w miejscu zagięcia długich pętli Henlego); najczęściej otrzymujemy więc "uśrednione" informacje o zmianach w transporcie łącznie dla całej pętli. O tym, że zmiany transportu dotyczą ramienia wstępującego pętli Henlego a szczególnie jego odcinka rdzeniowego możemy ewentualnie wnioskować pośrednio, zestawiając wyniki mikropunkcji z badaniami na izolowanych kanalikach.

Wyniki tych ostatnich oraz badania biochemiczne sugerują, że wpływ PGE₂ na transport NaCl w pętli Henlego polega na hamowaniu stymulującego wpływu ADH. Według jednego z proponowanych modeli (Schlatter i Greger, 1985) wazopresyna łączy się z receptorem V₂ na błonie bazolateralnej, co powoduje uaktywnienie cyklazy adenylowej, która katalizuje powstawanie cyklicznego 3'5' monofosforanu (cAMP). Akumulacja cAMP w cytoplaźmie komórki prowadzi do zwiększenia przewodności błony bazolateralnej dla jonów chlorkowych (Ryc.3.). Zwiększony wypływ jonów Cl⁻ z komórki prowadzi do większej aktywności układu ko-transportującego jony K⁺, Na⁺ i Cl⁻ na błonie luminalnej. Zwiększone w ten sposób stężenie jonów Na⁺ wewnątrz komórki stymuluje zarówno aktywność ATP-azy transportującej Na⁺ i K⁺ w błonie bazolateralnej jak i

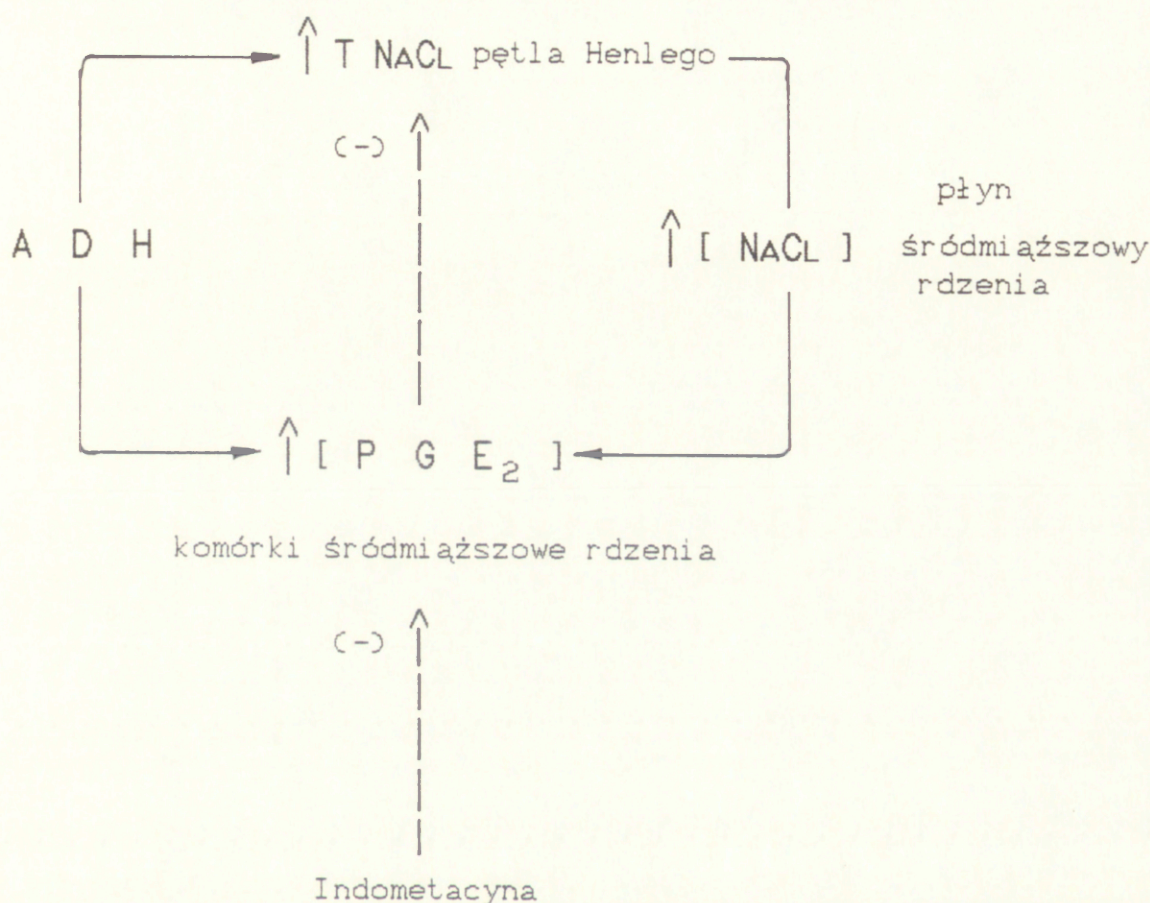


Ryc. 3. Schemat procesów transportu jonów w komórce rdzeniowego grubego odcinka wstępującego pętli Henlego (mTALH). Hormon antydiuretyczny (ADH) za pośrednictwem receptorów V_2 , cyklazy adenilowej (Aden. cycl.) i cAMP aktywuje kanał chlorkowy błony bazolateralnej (3), co z kolei przyspiesza procesy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

elektroobojętny transport K^+ i Cl^- (Ryc.3.). W efekcie dochodzi do zwiększenia "netto" transportu NaCl ze światła grubego odcinka ramienia wstępującego pętli Henlego do otaczającego śródmiąszu. Ostateczne wyjaśnienie mechanizmów odpowiedzialnych za zwiększenie transportu jonów w pętli Henlego w obecności wazopresyny wymaga z pewnością dalszych badań, ale uzyskane dotąd wyniki potwierdzają wpływ stymulacji receptorów V_2 na ten transport. Należy dodać, że zjawisko takie obserwuje się u gryzoni podczas gdy nie stwierdzono go w kanalikach psa i człowieka (de Rouffignac, 1990).

Hamujące działanie PGE₂ miałyby polegać na obniżeniu stymulowanego przez ADH gromadzenia się cAMP w cytoplazmie komórek pętli bądź przez hamowanie syntezy lub rozkładanie powstałego monofosforanu (Torikai i Kurokawa, 1983; Molony et al., 1989). W ten sposób prostaglandyny ograniczałyby reabsorpcję NaCl ze światła kanalika co prowadziłoby ostatecznie do obniżenia stężenia chlorku sodu w śródmiąszu rdzenia nerki. Inhibitory cyklooksygenazy (np. indometacyna) miałyby natomiast znosić ten hamujący wpływ PGE₂ na stymulowany przez ADH transport soli w rdzeniowym odcinku ramienia wstępującego pętli Henlego (Ryc.3).

Współzależność ADH i PG obserwuje się nie tylko w działaniu na komórki kanalika nerkowego transportującego wodę lub sól, ale dotyczy także samej syntezy i uwalniania hormonów (Ryc.4). Jest rzeczą znaną, że zwiększenie stężenia elektrolitów w rdzeniu (np.: pod wpływem ADH) powoduje zwiększenie syntezy PGE₂ w komórkach śródmiąszowych rdzenia nerki (Craven i De Rubertis, 1981) a wysokie stężenie mocznika może ten wpływ hamować (De Rubertis i Craven, 1982). Wazopresyna zwiększa także bezpośrednio



Ryc.4. Interakcja ADH i prostaglandyn nerkowych w kontroli transportu soli w pętli Henlego i stężenia NaCl w śródmiąższu rdzenia. Zależny od ADH wzrost reabsorpcji (T) NaCl w pętli Henlego prowadzi do wzrostu stężenia chlorku sodu w śródmiąższu, co stymuluje syntezę prostaglandyn w komórkach śródmiąższowych. PGE₂ działa w kierunku przeciwnym hamując stymulowany przez ADH wzrost transportu NaCl. Inhibitor cyklooksygenazy, np. indometacyna, blokując syntezę PGE₂ umożliwia wzrost stężenia chlorku sodu w śródmiąższu rdzenia większy niż ten obserwowany w obecności prostaglandyn.

syntezę PG poprzez stymulację receptorów V_1 w komórkach śródmiąższowych rdzenia nerki (Craven i De Rubertis. 1981) (Ryc.4.).

Reabsorpcja NaCl w tym odcinku jest siłą napędową wzmacniacza przeciwprądowego w nerce i umożliwia powstanie i podtrzymywanie korowo-brodawkowego gradientu elektrolitów i pełnego gradientu osmotycznego. Jeżeli PG wywierają hamujący wpływ na transport soli w tym odcinku kanalika to podawanie inhibitorów cyklooksygenazy powinno podwyższać stężenie NaCl w rdzeniu nerki. Istotnie, w szeregu badań wykazano zwiększenie stężenia chlorku sodu w skrawkach rdzenia szczura i psa (Ganguli et al., 1977; Haylor i Lote. 1982; Wilson et al., 1982; Passmore et al., 1987). Tam gdzie mierzono przepływ krwi przez rdzeń nerki nie stwierdzono jego zmian po blokowaniu syntezy PG za pomocą indometacyny i ibuprofenu (Ganguli et al., 1977. Passmore et al., 1987).

Wyniki tych badań dostarczają interesujących danych sugerujących modyfikującą rolę PG w kształtowaniu hipertonii elektrolitowej rdzenia nerki, szczególnie w sytuacjach, w których ich endogenne uwalnianie jest wzmożone, budzą jednak także pewne wątpliwości:

1) Ograniczona wartość danych uzyskiwanych z pomiarów w skrawkach rdzenia wynika z tego, że mierzy się średnie stężenie jonów dla wszystkich przedziałów tkankowych, a nie w śródmiąższu. Wyniki ostatnich badań potwierdzają, że wzrost stężenia NaCl w śródmiąższu rdzenia nerki, np. w następstwie odwodnienia ustroju, nie jest równoważony wychwytem chlorku sodu przez komórki. Stężenie Na^+ w komórkach rdzenia tylko nieznacznie przewyższa w tych warunkach stężenie obserwowane w komórkach innych obszarów, a utrzymanie równowagi osmotycznej komórki z hipertonicznym płynem

śródmiaższowym zapewnia akumulacja organicznych substancji drobnocząsteczkowych takich jak sorbitol, glicerofosforylocholina lub obojętne aminokwasy (Garcia-Perez i Burg, 1991). Ciśnienie osmotyczne jest więc we wszystkich przedziałach tkankowych rdzenia takie samo, ale skład substancji osmotycznie czynnych jest różny. Dlatego też wyniki pomiarów stężenia jonów w skrawkach całej tkanki rdzeniowej nie pozwalają na wiarygodną ocenę zmian ich nagromadzenia w płynie śródmiaższowym.

2) Poważniejszy zarzut w stosunku do zastosowanych w szeregu badań układów doświadczalnych dotyczy faktu, że zmiany hemodynamiki nerek mierzono w innych grupach szczurów niż zmiany stężenia elektrolitów i osmolalność rdzenia (Ganguli et al., 1977). Tam natomiast gdzie pomiary hemodynamiki lub/i wydalania nerkowego przeprowadzono u tych samych zwierząt, u których określano także osmolalność i stężenie elektrolitów w rdzeniu, te ostatnie oznaczenia wykonywano tylko w jednym punkcie w czasie, zazwyczaj na zakończenie doświadczenia, w którym hamowano syntezę PG lub prowadzono infuzję PGE₂ (Ganguli et al., 1977; Haylor i Lote, 1982; Wilson et al., 1982; Passmore et al., 1987). Taki sposób postępowania narzucony został przez stosowaną metodykę: aby zmierzyć skład rdzenia należy usunąć nerkę i pobrać skrawki do badania: z przyczyn metodycznych jednoczesne dynamiczne śledzenie zmian hipertonii osmotycznej rdzenia oraz hemodynamiki i wydalania nerkowego jest niemożliwe. Brak możliwości korelowania tych wszystkich danych uniemożliwia precyzyjną interpretację mechanizmu obserwowanego wzrostu stężenia NaCl w tkance rdzeniowej. Wielkość reabsorpcji soli w pętli Henlego zależy nie tylko od stymulacji czy hamowania transportu w tym odcinku, ale także np.: od ładunku NaCl dostarczonego do tej części kanalika. Ładunek ten zależy od

wahań filtracji kłębuszkowej i/lub zmian reabsorbcji w kanaliku proksymalnym. Bez informacji o zmianach w czynności nerki trudno więc wskazać bezpośrednio na mechanizm wzrostu hipertonii elektrolitowej rdzenia.

Wykrywanie wybiórczych zmian transportu NaCl w pętli Henlego w doświadczeniach *in vivo* jest rzeczą trudną. W naszej pracowni ocenia się je poprzez dynamiczną obserwację stężenia elektrolitów w otaczającym pętlę śródmiąższu rdzenia nerki w oparciu o ciągły pomiar admitancji elektrycznej tkanki (Sadowski i Portalska, 1983). Wieloletnie badania potwierdziły, że admitancja odzwierciedla w sposób wiarygodny stężenie NaCl w płynie śródmiąższowym i zmienia się w tym samym kierunku co transport soli w pętli (Sadowski, 1992).

C E L P R A C Y

Celem pracy było wyjaśnienie szeregu zasadniczych wątpliwości dotyczących mechanizmu wpływu endogennych prostaglandyn (PG) na korowo-brodawkowy gradient elektrolitowy w nerce szczura. Podjęto próbę ustalenia jaką rolę w tym mechanizmie odgrywają zmiany transportu soli w pętlach Henlego a jaką ewentualne zmiany hemodynamiki nerek. Starano się to osiągnąć poprzez zestawienie dynamiki zmian stężenia soli w rdzeniu z jednoczesnymi zmianami przepływu krwi przez nerkę, filtracji kłębuszkowej, czynności wydalniczej oraz zagęszczania moczu. Badania *in vivo* uzupełniono pomiarami stężenia substancji osmotycznie czynnych, elektrolitowych i nieelektrolitowych, w skrawkach tkanki rdzeniowej pobranej z nerek usuniętych po zakończeniu doświadczeń. Do blokowania syntezy endogennych PG w nerce szczura

użyto 2 różnych inhibitorów: indometacyny i meklofenamanu sodu.
Takie postępowanie miało na celu oddzielenie specyficznych
(blokada syntezy PG) od niespecyficznych efektów inhibitorów.

2. M A T E R I A Ł I M E T O D Y

2.1. M A T E R I A Ł D O Ś W I A D C Z A L N Y

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) aż do dnia doświadczenia.

2.2. P R Z Y G O T O W A N I E Z W I E R Z A T D O D O Ś W I A D C Z E Ń

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 roztworze 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.

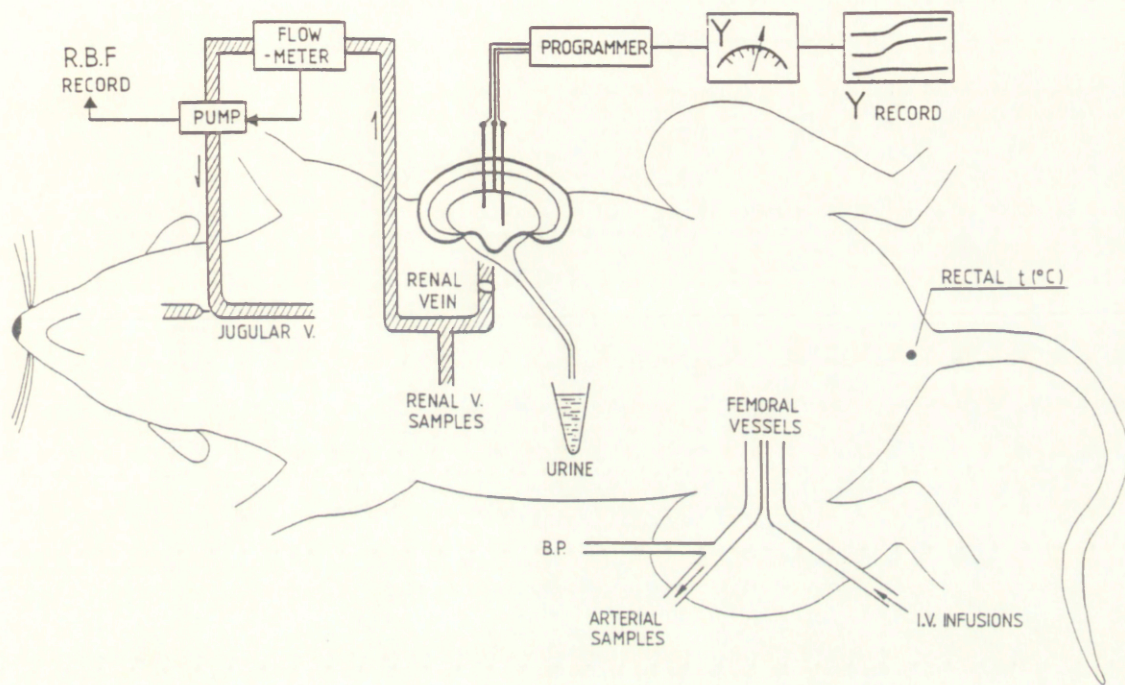
Wprowadzano również kaniulę do żyły jarzmowej (zewnątrznej), aby później połączyć ją pozaustrojowo z żyłą nerkową w celu pomiaru wypływu żylnego z nerki (por. niżej).

Następnie dokonywano cięcia lędźwiowego odsłaniającego lewą nerkę, którą unieruchamiano w specjalnym pojemniku, powszechnie używanym w mikropunkcyjnych badaniach kanalików nerkowych. Po wypreparowaniu 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 żylnego z nerki (dokładniejsze omówienie metody patrz 2.3).

Z chwilą uruchomienia krążenia pozaustrojowego i układu do pomiaru przepływu krwi wkładano 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.5. Na zwierzętach przygotowanych w opisany wyżej sposób przeprowadzono doświadczenia, w których mierzono jednocześnie



Ryc. 5. 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 ż. nerkowa (renal vein - ż. 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.

w lewej nerce:

- całkowity przepływ krwi - RBF
- admitancję tkanki rdzeniowej - Y
- tempo filtracji kłębuszkowej - GFR
- diurezę minutową - \dot{V}

2.3. P O M I A R P R Z E P Ł Y W U K R W I

Szczegółowy opis zastosowanego w tej pracy pomiaru przepływu krwi przez nerkę RBF przedstawiony został w pracy 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 nerkową krew z nerki odpływała do bocznic drenu odprowadzającego krew (z udziałem pompy rolkowej) do żyły jarzmowej. W momencie kiedy krew w bocznicę osiągała poziom fotokomórki, ta wysyłała impuls do pompy powodując jej uruchomienie. Pompa przesuwiała porcję krwi do ż. jarzmowej, co obniżało poziom krwi w bocznicę 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

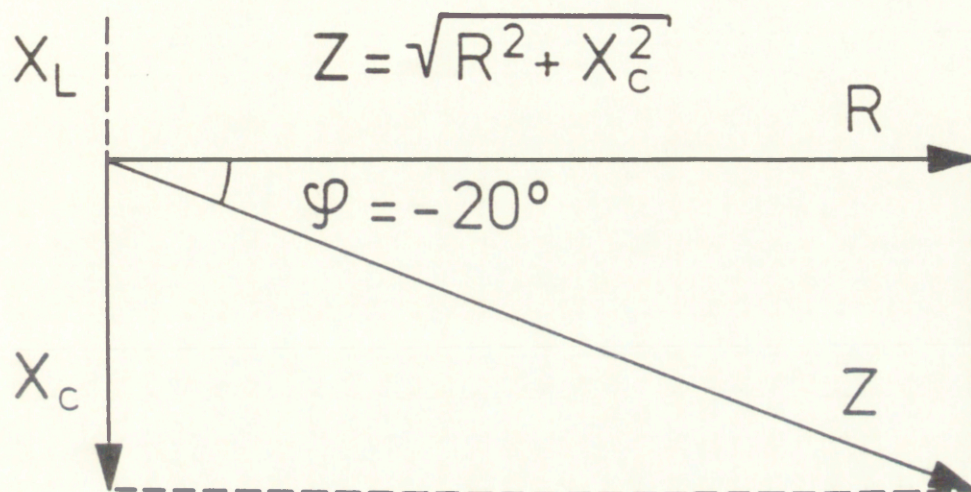
2.4.1. Podstawy teoretyczne

W celu oceny zmian stężenia elektrolitów w śródmiąszku 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.6).

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, znaczenie 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 et.al., 1990). Korzystniejsze dla



Ryc. 6. Analiza wektorowa składowych impedancji - Z.

R - opór rzeczywisty, X_C - reaktancja pojemnościowa,
 X_L - reaktancja indukcyjna, φ - kąt fazowy.

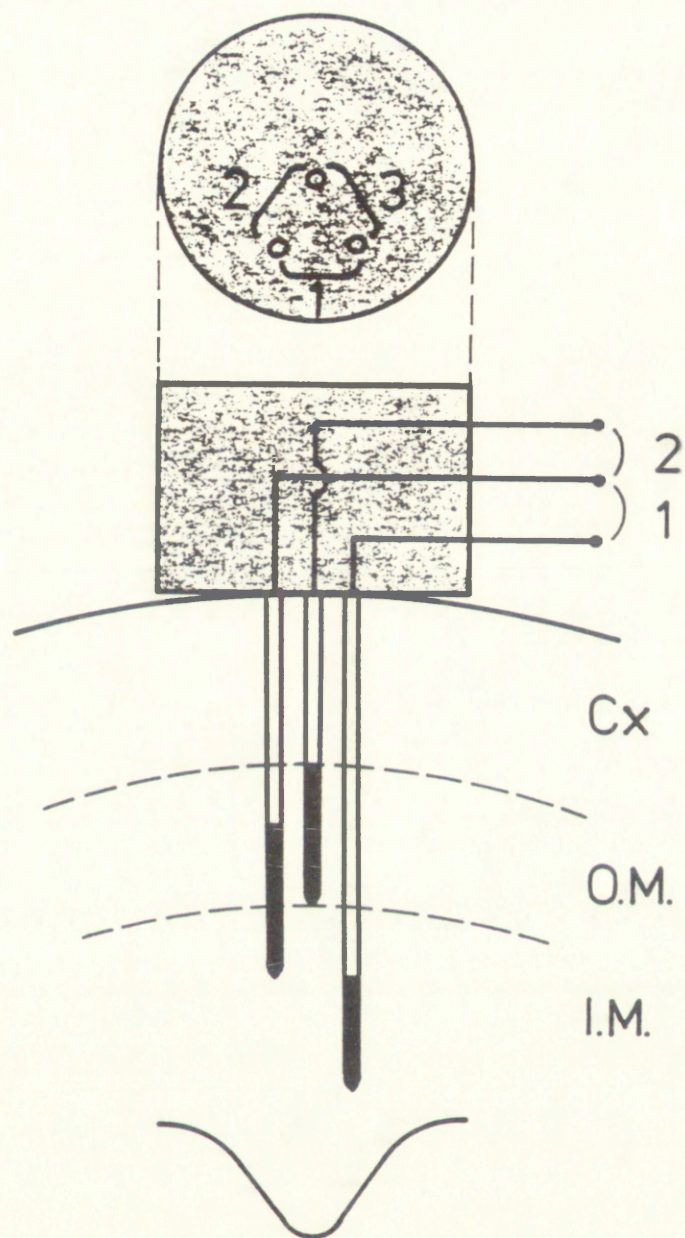
prowadzonych tutaj badań było ograniczenie pomiarów admitancji jedynie do przestrzeni pozakomórkowej. Warunkiem tego było zastosowanie niezbyt wysokich częstotliwości prądu pomiarowego. Sadowski i wsp.(1990) wykazali, że zwiększanie częstotliwości tego prądu powyżej wartości stosowanej także w moich badaniach (3,5 kHz) nie poprawia już "zdolności rozdzielczej" stosowanej metodyki, a więc możliwości wykrywania małych zmian stężenia elektrolitów w tkankach. W dodatkowych pomiarach wykonanych w tej pracy dane te zostały potwierdzone. Zgodnie z powyższymi wywodami wobec faktu istnienia reaktancji pojemnościowej nie należy tutaj mówić o pomiarach oporności (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 zestaw elektrod o zwiększonej w porównaniu z wersją poprzednio opisaną (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 rzeczywisty ($R = Z \cdot \cos\varphi$) i reaktancję pojemnościową ($X_c = Z \cdot \sin\varphi$). Stwierdzono, że opór rzeczywisty stanowił ok. 90% mierzonej impedancji (Ryc.6). Ponieważ selektywny pomiar oporności w naszych doświadczeniach byłby technicznie skomplikowany, mierzono impedancję 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 śródmiąszu nerki (Sadowski et. al.,

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 et.al., 1990).

Zestaw trzech różnej długości elektrod wykonano z drutu irydo-platynowego (25% / 75%) o średnicy 0.25 mm. Elektrody, z wyjątkiem ich końca stanowiącego powierzchnie 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 mm². Odległość między elektrodami w płaszczyźnie do nich prostopadłej wynosiła 1.4 mm (Ryc.7). 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). 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 milisie^{le}nsach - mS. Częstotliwość prądu pomiarowego wynosiła 3.5 kHz. Wyniki uzyskane dla poszczególnych kanałów rejestrowano za pomocą systemu drukującego Daro Soemtron 1132 (VEB Kombinat Zentronik - NFD).



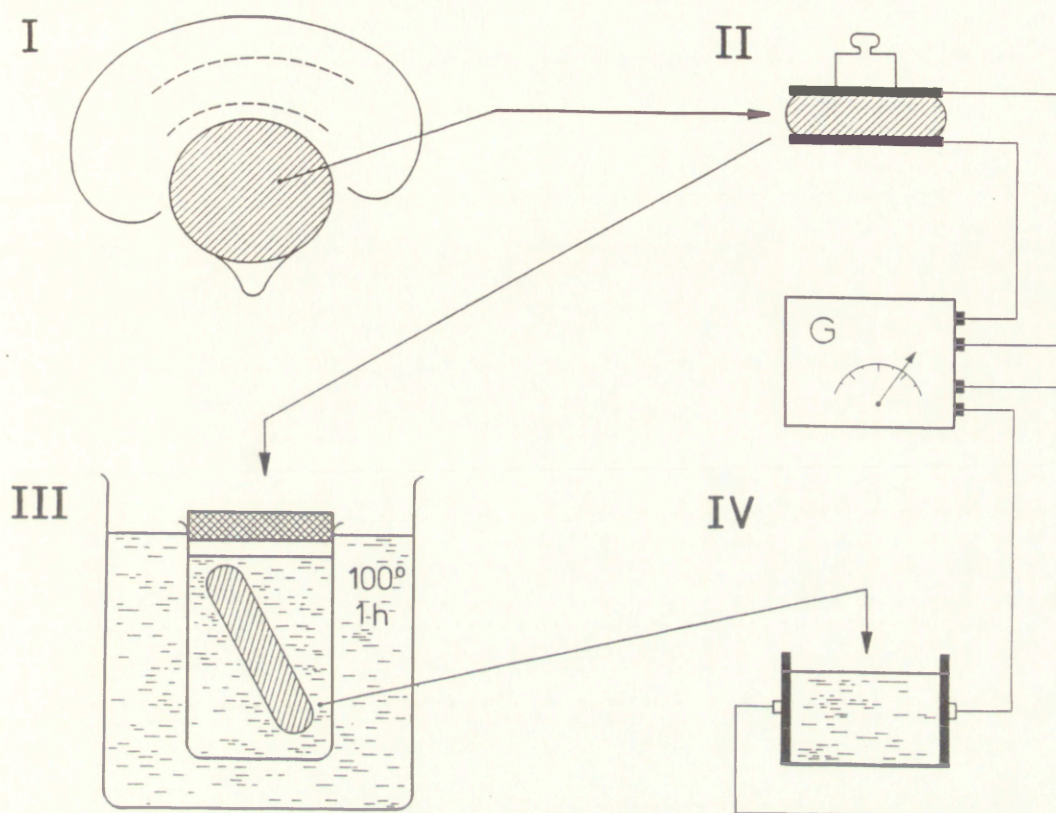
Ryc. 7. Zestaw 3 elektrod igłowych służących do pomiaru admitancji elektrycznej w nerce szczura. Aktywne powierzchnie elektrod (oznaczone jako czarne) umieszczone są: dla najdłuższej elektrody - w rdzeniu wewnętrznym (I.M.), dla średniej - na granicy rdzenia wewnętrznego i zewnętrznego (I.M.- O.M.), dla najkrótszej w rdzeniu zewnętrznym (O.M.). Zaznaczono poszczególne pary współpracujących elektrod (1,2). C_x - kora nerki.

2.5. B A D A N I A R D Z E N I A N E R K I I N V I T R O

Mierzenie admitancji *in situ* umożliwia obserwowanie dynamiki zmian stężenia elektrolitów w śródmiaższu nerki. Jednak ocena ilościowa uzyskiwanych wyników jest utrudniona gdyż, jak łatwo sobie wyobrazić, w każdym doświadczeniu elektrody sięgają na nieco różną głębokość w rdzeniu i pomiar nie dotyczy dokładnie tego samego fragmentu tkanki. W celu uzyskania danych ustandaryzowanych (niezależnych od położenia elektrod) opracowałem wspólnie z Sadowskim metodę pomiaru *in vitro* przewodności elektrycznej świeżej tkanki rdzenia (Dobrowolski i wsp., 1992).

2.5.1. Technika pomiarowa

Po przerwaniu pomiarów admitancji *in situ* zaciskano szypuły naczyń obustronnie obu nerek i wycinano rdzeń wewnętrzny. Dla ustandaryzowania pomiarów wycinano owalny fragment rdzenia o powierzchni ok. 13 mm^2 za pomocą sztancy (Ryc.8,I). Skrawek ten umieszczano następnie między dwiema owalnymi elektrodami blaszkowymi własnej konstrukcji (Ryc.8,II). Elektrody wykonano z blaszek platynowych o powierzchni ok. 10.5 mm^2 , dodatkowo zwiększonej przez zarysowanie. Na unieruchomionej dolnej elektrodzie umieszczano tkankę i przykrywano elektrodą obciążoną ciężarkiem 0.7 g dla zapewnienia stałego nacisku i dobrego przylegania. Elektrody połączono z konduktometrem laboratoryjnym (N-572, Mera Elwro, Polska), który wskazywał wartości admitancji. Pomiaru dokonywano przy częstotliwości prądu pomiarowego 3,5 kHz. Podobnie jak dla elektrod igłowych we wstępnych badaniach oszacowano udział oporu rzeczywistego (R) w wartościach impedancji (Z) uzyskiwanych przy użyciu elektrod blaszkowych. Stwierdzono, że kąt fazowy wynosi ok. -10° , a więc udział R w Z wynosi ok. 98% (Tab.1). W związku z tym możemy tu praktycznie mówić o pomiarach nie admitancji lecz przewodności



Ryc. 8. Procedury pomiarowe. Standardowej wielkości fragment rdzenia nerki szczura wycinano (I) i umieszczano między dwiema elektrodami w celu zmierzenia przewodności elektrycznej świeżej tkanki (II). Następnie ekstrahowano elektrolity tkankowe we wrzącej wodzie destylowanej (III) i mierzono konduktancję płynu zrównoważonego z tkanką (IV).

(konduktancji) świeżej tkanki rdzenia.

Mierzona przewodność tkanki (G_m , mS) zależy zarówno od stężenia elektrolitów jak i od powierzchni elektrod (q) oraz odległości między nimi (L). Łącznie elektrody charakteryzuje współczynnik k , zgodnie z wzorem:

$$k = \frac{L}{q} \frac{\text{(odległość między elektrodami)}}{\text{(powierzchnia elektrody)}} \quad (1)$$

Uwzględnienie go umożliwia wyrażenie mierzonej przewodności na jednostkę powierzchni skrawka i jednostkę jego grubości. Powierzchnia elektrod jest wielkością stałą ($10,5 \text{ mm}^2$, patrz wyżej), natomiast odległość między nimi jest jednocześnie grubością wyciętego skrawka rdzenia. Grubość tę można wyliczyć dzieląc objętość skrawka (V) przez powierzchnię kontaktu skrawka z elektrodą, praktycznie równą powierzchni elektrody ($L = V/q$). Za miarę objętości przyjęto ciężar skrawka wyciętej tkanki rdzeniowej (T_{tk}). Przy bliskim prawdy założeniu, że gęstość tkanki wynosi 1 g/cm^3 (wynika to min. z wysokiej zawartości wody w tkance rdzeniowej ok. 92%), można przyjąć, że $T_{tk} = V$, wówczas równanie (1) przyjmuje formę :

$$k = \frac{V}{q^2} \frac{(\text{cm}^3)}{(\text{cm}^4)} = (\text{cm}^{-1}) \quad (2)$$

z której wynika również jednostka stałej k (cm^{-1}).

Po zakończeniu pomiarów przewodności elektrycznej skrawek przenoszono do wytarowanego zamykanego naczynka i ważono z dokładnością do $0,01 \text{ mg}$. Na podstawie obu tych pomiarów obliczano przewodność standardową rdzenia wewnętrznego (G_{st})

wg. wzoru:

$$G_{st} = G_m \cdot k \quad (\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}) \quad (3)$$

Jak wynika z powyższego wywodu, posługiwanie się wartościami G_{st} (zamiast G_m) eliminuje rolę grubości i powierzchni skrawka.

Wartości przewodności elektrycznej świeżej tkanki rdzenia traktujemy jako miarę stężenia elektrolitów w śródmiaższu rdzenia nerki. Fakt, że pomiary (dokonane za pomocą prądu o częstotliwości 3,5 kHz) dotyczą płynu śródmiaższowego wynika min. z pracy teoretycznej Niewiadomskiego i wsp. (1990).

Opisana metodyka została poddana weryfikacji doświadczalnej; procedurę weryfikacji przedstawiono szczegółowo w Addendum na końcu rozdziału "Materiał i Metody". W swojej istocie weryfikacja polegała na porównaniu przewodności standardowej rdzenia (G_{st}) ze stężeniem wszystkich elektrolitów (tzw. osmolalność elektrolitowa), stężeniem Na^+ oraz podwojonej sumy stężeń Na^+ i K^+ ($2[\text{Na}^+ + \text{K}^+]$), oznaczonymi w rdzeniu za pomocą klasycznych metod analitycznych. Aby stworzyć możliwość przebadania korelacji G_{st} i wymienionych wartości stężeń, do badań użyto rdzeni o szerokim zakresie stężeń elektrolitów. Pochodziły one z nerek uzyskanych od 3 grup szczurów:

- I. Szczury poddane jedynie narkozie, stanowiące tzw. grupę kontrolną
- II. Szczury, u których w czasie powolnej (2 ml/godz.) domiedniczkowej infuzji izotonicznego roztworu mannitolu obserwowano obniżenie admitancji *in situ*, a więc także i stężenia elektrolitów w rdzeniu nerki (tzw. grupa mannitolowa)
- III. Szczury, u których po dożylniej infuzji indometacyny (15 mg/kg przez ok. 1 godz.) obserwowano zwiększenie admitancji *in situ*, a więc także i stężenia elektrolitów w rdzeniu nerki (tzw.

grupa indometacynowa).

2.6. P R Z E B I E G D O Ś W I A D C Z E Ń (grupy I-VI)

Zastosowano protokół doświadczalny 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 w czasie wkłuwania elektrod. Następnie, po wkłuciu elektrod w nerkę 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 umożliwiało kontrolę skuteczności transfuzji. W doświadczeniach, w których określano filtrację kłębuszkową na podstawie pomiaru ekstrakcji inuliny w nerce, pobierano również próbki krwi żyłnej nerkowej z boczniczy drenu łączącego pozaustrojowo żyłę nerkową z żyłą jarzmową i oznaczano w nich stężenie inuliny.

W badaniach użyto dwóch inhibitorów cyklooksygenazy z grupy niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NSAID) o różnej budowie chemicznej: 1. indometacyna - kwas 1-(p-chlorobenzoilo)-5-metoksy-

-2-metyloindolo-3-octowy. 2. meklofenaman sodu - sól sodowa kwasu N-(2.6-dichloro-m-tolilo)-antranilowego.

Zwierzęta doświadczalne podzielono na sześć grup. Schemat przebiegu doświadczeń w poszczególnych grupach przedstawiono na Ryc. 9.

grupa I - (kontrolna, N = 10).

Doświadczenia przeprowadzono w celu sprawdzenia stabilności badanych zmiennych w czasie. Podział na okresy klirensowe był podobny jak w pozostałych grupach, ale zwierzęta nie otrzymywały żadnych preparatów farmaceutycznych. Przez cały przebieg doświadczenia szczury otrzymywały dożylną infuzję 0.9% NaCl z szybkością 3 ml/godz.

grupa II - (infuzja mniejszej dawki indometacyny, N = 6).

U szczurów tej grupy w okresie U_2 prowadzono dożylną infuzję indometacyny (Metindol, "Polfa") rozpuszczonej w mieszaninie, której 2/3 stanowił 0,9% roztwór NaCl a 1/3 1% roztwór NaHCO_3 . Szybkość infuzji 10 mg/kg godz. W okresie kontrolnym szczury otrzymywały dożylną infuzję rozpuszczalnika indometacyny z szybkością 4.5 ml/godz.

grupa III - (infuzja większej dawki indometacyny, N = 11).

U szczurów tej grupy w okresie U_2 i U_3 prowadzono dożylną infuzję indometacyny w tempie 15 mg/kg godz. W okresie kontrolnym szczury otrzymywały dożylną infuzję rozpuszczalnika indometacyny z szybkością 4.5 ml/godz.

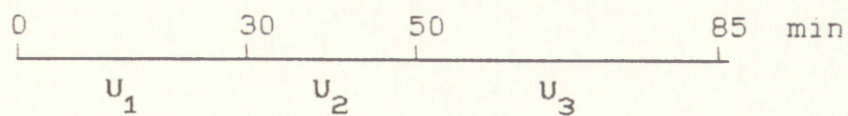
grupa IV - (infuzja indometacyny na tle dDAVP, N = 10).

W tej grupie doświadczalnej* w okresie U_1 kontynuowano rozpoczętą uprzednio dożylną infuzję agonisty antydiuretycznego wazopresyny,

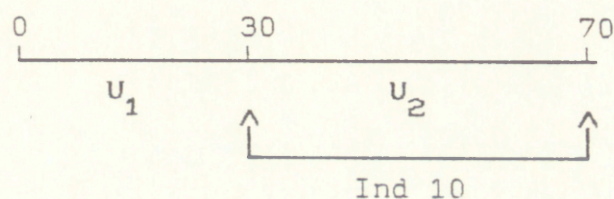
*

Doświadczenia przeprowadzono wspólnie z E. Kompanowską-Jeziorską.

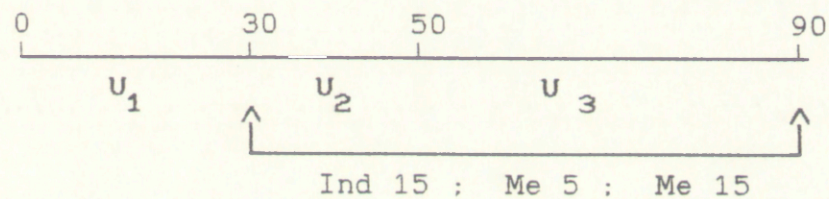
GRUPA I (kontrolna)



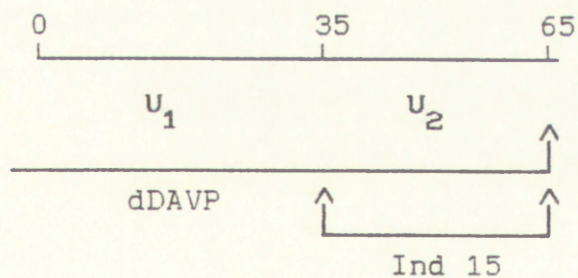
GRUPA II



GRUPA III, V i VI



GRUPA IV



Ryc. 9. Schemat przebiegu doświadczeń w poszczególnych grupach zwierząt. $U_{1,2,3}$ - czas zbiórki moczu w kolejnych okresach doświadczalnych. Zaznaczono czas trwania infuzji i dawki poszczególnych preparatów: indometacyna -Ind (10 i 15 mg/kg·godz), meklofenaman sodu -Me (5 i 15 mg/kg·godz), desmopresyna - dDAVP.

dDAVP (deamino-D-argininowa wazopresyna. Antidiuretin-SD. Desmopressin) w tempie 450 ng/kg godz. w 0,9% roztworze NaCl (3ml/h). Następnie w okresie U_2 prowadzono równolegle z infuzją dDAVP infuzję indometacyny z szybkością 15 mg/kg godz.

grupa V - (infuzja mniejszej dawki meklofenamanu, N = 10).
U szczurów tej grupy w okresie U_2 i U_3 prowadzono dożylną infuzję meklofenamanu sodu (Meclofenamate sodium, Park Davis, W.Brytania) rozpuszczonego w roztworze 0,9% NaCl alkalizowanym 2.5 M roztworem NaOH (meklofenaman jako słaby kwas wymaga do rozpuszczenia środowiska lekko alkalicznego). Szybkość infuzji 5 mg/kg godz.
W okresie kontrolnym (U_1) szczury otrzymywały dożylną infuzję 0.9% NaCl, 4.5 ml/godz.

grupa VI - (infuzja większej dawki meklofenamanu, N = 7).
U szczurów tej grupy w okresie U_2 i U_3 prowadzono dożylną infuzję meklofenamanu sodu z szybkością 15 mg/kg godz.

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.

2.7. 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 (V) i wyrażano ją w $\mu\text{l}/\text{min}$. W moczu oznaczano globalne stężenie wszystkich substancji osmotycznie czynnych, substancji elektrolitowych (tzw. osmolalność elektrolitowa^{*}), 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 opisana szczegółowo w Addendum na końcu rozdziału Materiał i Metody w pracy doktorskiej E. Kompanowskiej-Jezier-

* 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 odmiennych 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).

skiej, 1992). Stężenie wszystkich substancji elektrolitowych wyrażano jako równoważne stężenie NaCl (mosm NaCl/kg H₂O).

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 H₂O.

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, nieelektrolitowych ($U_{osm} \cdot \dot{V}$, $\mu\text{osm}/\text{min}$; $U_{el} \cdot \dot{V}$, $\mu\text{osm NaCl}/\text{min}$; $U_{nel} \cdot \dot{V}$, $\mu\text{osm}/\text{min}$) oraz sodu ($U_{Na} \cdot \dot{V}$, $\mu\text{mol}/\text{min}$).

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

$$C_{osm} = \frac{U_{osm}}{P_{osm}} \cdot \dot{V}$$

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 H₂O

Transport (reabsorpcję) wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) wyliczano według

wzoru:

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

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

$$C_{el} = \frac{U_{el}}{P_{el}} \cdot \dot{V}$$

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 ($\times 1,12$) 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. W niektórych doświadczeniach obliczono również współczynnik ekstrakcji inuliny (E_{in} %) jako $\frac{A_{in} - RV_{in}}{A_{in}}$, gdzie RV_{in} oznacza stężenie znakowanej inuliny w osoczu krwi żylniej. Wartość E_{in} (równa frakcji filtracyjnej, FF) pozwalała na obliczenie tempa filtracji (GFR) drugą metodą a mianowicie jako iloczyn przepływu osocza przez

nerkę (RPF) i E_{in} . Tempo przepływu osocza przez nerkę określano na podstawie wartości RBF i hematokrytu (Ht) według zależności

$$RPF = RBF(1-Ht)$$

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 $\frac{C_{in}}{RPF}$.

2.8. A N A L I Z A S T A T Y S T Y C Z N A

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 powtarzanych 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 et. al., 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

Weryfikacja metody pomiaru *in vitro* przewodności standardowej rdzenia nerki - metody analityczne i obliczenia.

Wyniki pomiarów przewodności elektrycznej rdzenia nie mogą być niestety bezpośrednio porównywalne np. z sumą stężeń elektrolitów oznaczonych klasycznymi metodami analitycznymi, bowiem nie istnieje metoda, która pozwoliłaby oznaczać te stężenia odrębnie w płynie śródmiąższowym badanych skrawków. Podjęto jednak próbę weryfikacji uzyskanych danych dotyczących standardowej przewodności płynu śródmiąższowego rdzenia, zestawiając je z sumarycznym stężeniem wszystkich elektrolitów (tzw. osmolalnością elektrolitową, patrz niżej), stężeniem Na^+ , oraz podwojoną sumą stężeń sodu, potasu i towarzyszących im anionów ($2[\text{Na}^+ + \text{K}^+]$) w płynie tkankowym pochodzącym ze wszystkich przedziałów tkankowych (z przestrzeni wewnątrzkomórkowej, śródmiąższowej, wewnątrzkanalikowej i wewnątrznaczyniowej). Można było sądzić, że chociaż oznaczone w ten sposób wartości nie mogą ściśle odpowiadać stężeniu elektrolitów w płynie śródmiąższowym (a więc przewodności standardowej, G_{st}) jednak powinny być z nią skorelowane.

A.1. Pomiary osmolalności elektrolitowej, $[\text{Na}^+]$ i $[\text{K}^+]$ w płynie tkankowym

W badaniach tych oznaczano stężenie globalne wszystkich substancji elektrolitowych (tzw. osmolalność elektrolitową), oraz stężenie Na^+ i K^+ po ich ekstrakcji ze skrawków tkanki wrzającą wodą destylowaną. Po zmierzeniu konduktancji elektrycznej (patrz 2.5) skrawki rdzenia wkładano do zamykanych naczynek, ważono i zalewano

wrzącą wodą destylowaną o objętości ok. 1 ml. Następnie naczynka umieszczano w łaźni wodnej o temperaturze 100°C (Ryc. 8. III). Po 1 godzinie wyjmowano je, chłodzono i ważono. Przy sprawdzonym założeniu, że w czasie jednogodzinnego gotowania ustala się stan równowagi stężeń substancji niskocząsteczkowych między skrawkami tkanki a otaczającym płynem (a więc, że zachodzi swobodne przemieszczanie się jonów i cząsteczek, por. Appelboom, 1958) można przyjąć, że stężenie badanych substancji zmierzone w zrównoważonym z tkanką płynie odpowiada aktualnemu ich stężeniu w płynie tkankowym.

Stężenie jonu sodowego i potasowego w płynie zrównoważonym z tkanką oznaczano za pomocą fotometru płomieniowego (FLM. Radiometer, Dania), natomiast oznaczenie osmolalności elektrolitowej opierało się na pomiarze konduktancji elektrycznej tego płynu.

A.1.1. Technika pomiaru osmolalności elektrolitowej.

Do pomiarów użyto celi pomiarowej wykonanej z pleksiglasu o wymiarach 9 x 4 x 7 mm (Ryc. 8. IV). 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 200 μ l płynu zrównoważonego z tkanką i na konduktometrze odczytywano wartości admitancji w μ S.

W celu oszacowania udziału oporu rzeczywistego w mierzonej impedancji, wykonano dla tego zestawu elektrod szereg dodatkowych pomiarów z użyciem miernika impedancji E - 304. Wynika z nich, że przy stosowanej przez nas częstotliwości prądu pomiarowego (3,5 kHz) stosunek $\frac{R}{Z}$ zmienia się nieco wraz ze zmianą stężenia

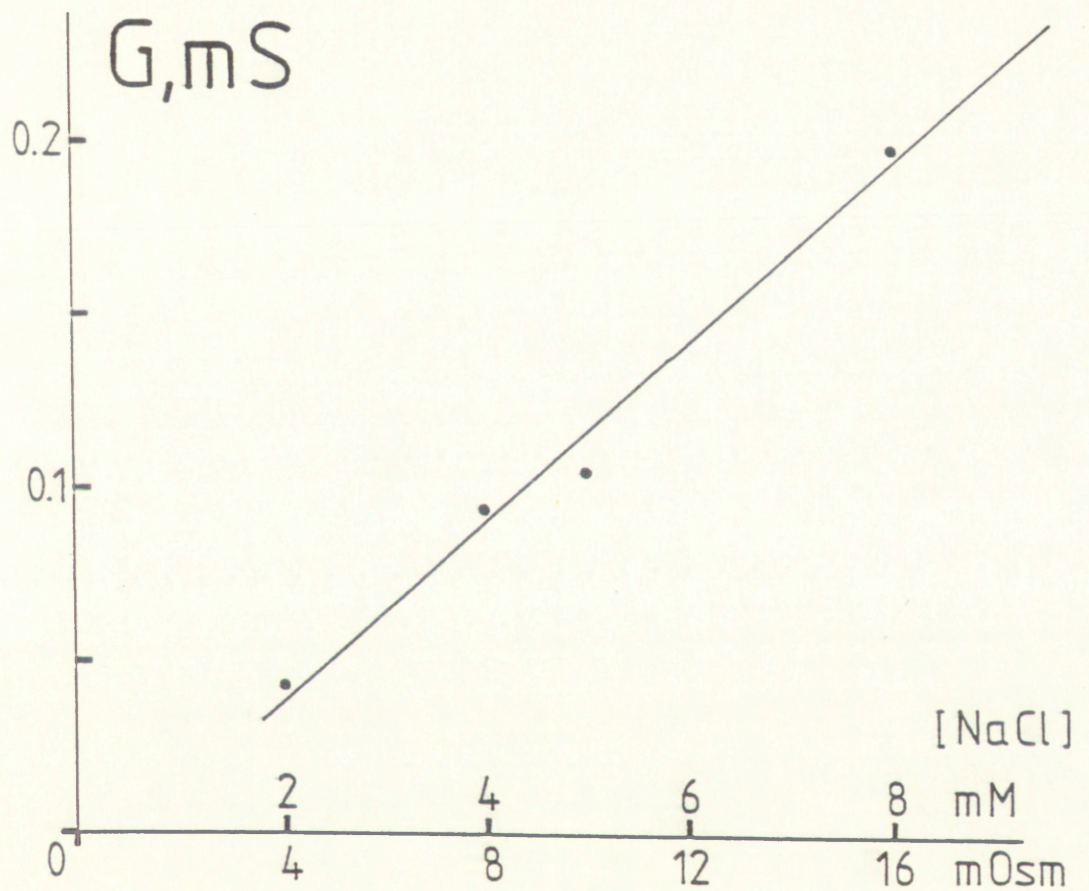
badanych roztworów (Tab. 2). Dla stężeń nie przekraczających 4 mM NaCl występujących w badanym zrównoważonym z tkanką płynie, udział oporu rzeczywistego w mierzonej impedancji wynosił 98% . Powyżej tego stężenia (a więc dla stężeń występujących m.in. w moczu) udział ten był większy niż 99,4% . W świetle powyższej analizy możemy mówić, że w naszych badaniach mierzono praktycznie przewodność elektryczną (konduktancję) płynów zrównoważonych z tkanką, a nie ich admitancję. To samo dotyczy także pomiarów osmolalności elektrolitowej moczu. (por. rozdz.2.6).

W oparciu o pomiary konduktancji dla różnych roztworów NaCl o znanej osmolalności uzyskano krzywą kalibracyjną (Ryc. 10). Na jej podstawie przeliczano odczytane wartości konduktancji badanych płynów na równoważną osmolalność roztworu chlorku sodu. Tak więc, stężenie wszystkich substancji elektrolitowych w płynie tkankowym (osmolalność elektrolitowa) wyrażano jako równoważne stężenie osmotyczne roztworu NaCl. Analogiczną zasadę wyrażania konduktancji stosowali w badaniach mikropunkcyjnych kanalików nerkowych Gutsche i wsp. (1980).

A.1.2. Obliczenia

W oparciu o wartości zmierzone w płynie zrównoważonym z tkanką (po gotowaniu) rzeczywiste stężenie w płynie tkankowym substancji elektrolitowych (osmolalność elektrolitowa), oraz jonu sodowego i potasowego obliczano wg wzoru:

$$[\text{Osm}_{\text{el}}^{\text{Na}^+, \text{K}^+}] = \frac{0,92 T_{\text{tk}} + T_{\text{H}_2\text{O}}}{T_{\text{tk}}} [\text{Osm}_{\text{el}}^{\text{Na}^+, \text{K}^+}]_{\text{m}}$$



Ryc. 10. Krzywa kalibracyjna służąca do odczytywania osmolalności elektrolitowej (odczyt w "równoważnych" stężeniach NaCl) płynu zrównoważonego z tkanka rdzenia nerki na podstawie pomiaru konduktancji elektrycznej (G) tego płynu.

gdzie:

T_{tk} - ciężar świeżej tkanki rdzeniowej

0,92 - średnia zawartość wody w tkance rdzenia
wewnętrznego (=92%).

T_{H_2O} - ciężar dodanej wody destylowanej

$[Osm_{el}, Na^+, K^+]_{III}$ - osmolalność elektrolitowa, stężenie jonu
sodowego lub potasowego zmierzone w płynie
zrównoważonym z tkanką

Wyniki wyrażano w odpowiednich jednostkach na kg mokrej tkanki
rdzeniowej (mOsm NaCl/kg lub mmol/kg mokrej tkanki).

Należy dodać, że podany wyżej sposób przeliczania nie uwzglę-
dnia faktu, iż elektrolitowe substancje osmotycznie czynne
przechodzące z tkanki do otaczającego ją płynu znajdują się tam
w większym rozcieńczeniu niż ma to miejsce w tkance. Wiadomo,
że wraz ze wzrostem rozcieńczenia rośnie współczynnik dysocjacji
elektrolitycznej, a więc także aktywność osmotyczna i przewodni-
ctwo elektryczne roztworu; w związku z tym wyliczone tu stężenia
są lekko zawyżone w stosunku do występujących w tkance.

W sytuacji, w której - tak jak w przedstawionych w tej pracy
badaniach - interesuje nas porównanie stężeń jonów w rdzeniu
w różnych warunkach doświadczalnych a nie dokładne wartości
absolutne tych stężeń, niedokładność ta nie ma istotnego
znaczenia.

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. 3).

W grupie kontrolnej zanotowano 3% wzrost admitancji zarówno w rdzeniu wewnętrznym jak i zewnętrznym oraz w całym rdzeniu nerkowym (kanał 1.,2.). Była to zmiana niewielka, ale istotna statystycznie ($p < 0,01$).

Dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek szczurów z grupy kontrolnej przedstawiono w Tabeli 3. 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. 3).

Obserwowany w tej grupie niewielki wzrost diurezy (\dot{V}) i spadek całkowitej osmolalności moczu (U_{osm}) nie był statystycznie znamieny (Tab. 3). Pozostałe parametry charakteryzujące czynność wydalniczą nerki (U_{el} , U_{nel} , U_{Na} , \dot{V}) również nie wykazywały istotnych statystycznie zmian w czasie (Tab. 3). W trakcie trwania doświadczeń kontrolnych średni przyrost C_{osm} i C_{cl} był niewielki i nie przekraczał odpowiednio 14% i 23% w stosunku do wartości początkowych. Wskaźniki transportu wolnej wody oraz wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^c$ i $T_{H_2O}^{ce}$) również nie wykazywały istotnych statystycznie zmian (Tab. 3).

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

3.2. DZIAŁANIE INDOMETACYN Y

3.2.1. Mała dawka (grupa II)

Zmiany admitancji

W czasie infuzji indometacyny (Ind) obserwowano istotny statystycznie (analiza wariancji dla powtarzanych pomiarów - rm ANOVA; $p < 0,01$) przyrost admitancji (Y) w obrębie obu warstw rdzenia nerki. Średni przyrost Y po 20 min infuzji Ind wynosił odpowiednio 12% w rdzeniu wewnętrznym i 6% w rdz. zewnętrznym. Istotny w stosunku do wartości z okresu kontrolnego przyrost admitancji ($F = 4,56 > F_{0,01} = 4,43$) w rdz.wewnętrznym obserwowano po 9 min a rdz. zewnętrznym po 17 min infuzji inhibitora ($F=9,63 > F_{0,01} = 4,43$).

Powyższe dane wskazują, że u szczurów w uśpieniu barbituranowym dożylna infuzja indometacyny w tempie 10 mg/kg powoduje wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiąszu obu warstw rdzenia nerki.

Zmiany czynności nerek

Główne dane dotyczące czynności wydalniczej nerek dla tej grupy doświadczalnej zebrano w Tab. 4. Jedyną istotną zmianą był wzrost stężenia elektrolitów w moczu (U_{ei}): zgodnie z oczekiwaniem osmolalność moczu także uległa podwyższeniu, ale zmiana ta nie była znamienne.

Rasumując, obserwowanemu w tej serii doświadczalnej wzrostowi hipertonii elektrolitowej rdzenia nie towarzyszyły zmiany w czynności wydalniczej nerki - w szczególności, nie zaobserwowano wzrostu reabsorpcji wolnej wody ($T_{H_2O}^c$) lub wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$).

3.2.2. Duża dawka (grupa III)

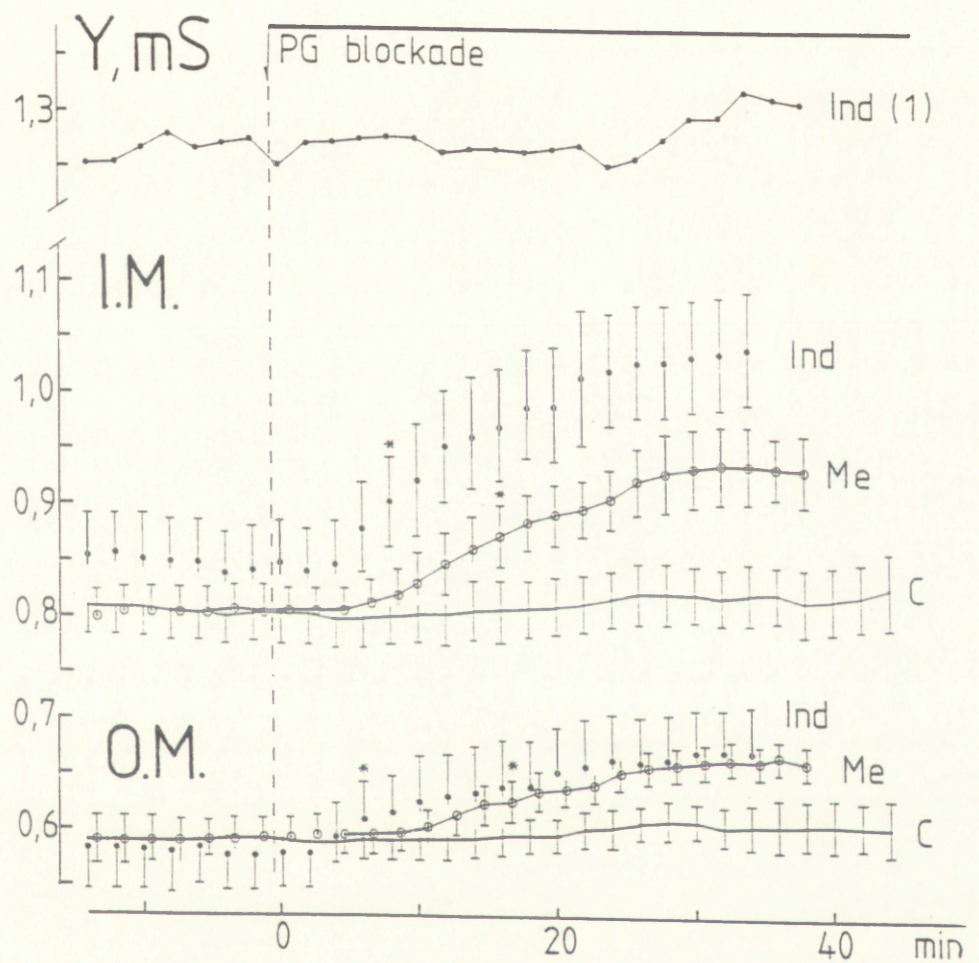
Zmiany admitancji

W czasie infuzji indometacyny (Ind) zaobserwowano istotny statystycznie (analiza wariancji dla powtarzanych pomiarów - rm ANOVA; $p < 0,01$) przyrost admitancji (Y) w obrębie obu warstw rdzenia nerki (Ryc 11). Średni przyrost Y po 38 min. infuzji Ind wynosił 23% w rdzeniu wewnętrznym i 16% w rdzeniu zewnętrznym. Zarówno dla rdz. wewnętrznego jak i zewnętrznego istotny w stosunku do wartości z okresu kontrolnego przyrost admitancji obserwowano już po 5 min infuzji inhibitora syntezy prostoglandyn ($p < 0,01$). Tylko w jednym przypadku nie obserwowano zmian admitancji (górną część Ryc. 11). Należy jednak zauważyć, że już od początku doświadczenia jej wartość była bardzo wysoka, najwidoczniej maksymalna i zahamowanie syntezy PG nie mogło już wpłynąć na jej podwyższenie.

Powyższe dane wskazują, że u szczurów w uśpieniu barbituranowym dożylna infuzja indometacyny w ilości 15 mg/kg·h powoduje wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiąższu rdzenia nerki.

Zmiany czynności nerek

Główne dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek dla tej grupy doświadczalnej zebrano w Tab. 5. Całkowity



Ryc. 11. Zmiany admitancji (Y) w wyniku infuzji indometacyny (ind, 15 mg/kg·h) i meklofenamanu sodu (Me, 15 mg/kg·h). C - grupa kontrolna. I.M. - rdzeń wewnętrzny, O.M. - rdzeń zewnętrzny. * - od tego punktu wartości znacznie różne od wartości w grupie C, $p < 0,01$.

przepływ krwi przez nerkę (RBF) nie zmieniał się. Tempo filtracji kłębuszkowej (GFR) mierzone zarówno jako klirens inuliny (C_{in}) oraz iloczyn przepływu osocza i ekstrakcji inuliny w nerce ($RPF E_{in}$) nie wykazywało istotnych zmian. Nie obserwowano również istotnych zmian wartości frakcji filtracyjnej mierzonej zarówno jako stosunek $\frac{C_{in}}{RPF}$ oraz jako E_{in} .

Diureza minutowa (V) zmniejszyła się istotnie już w pierwszych 20 min. infuzji Ind a potem obserwowano już tylko niewielkie jej obniżenie. Zmianom V towarzyszył wzrost osmolalności moczu (U_{osm}), który stawał się jednak istotny dopiero po 20 min. infuzji Ind. Równolegle do zmian U_{osm} obserwowano zmiany stężenia sodu w moczu (U_{Na}). Globalne stężenie elektrolitów (U_{el}) w moczu w pierwszych 20 min. infuzji Ind nie zmieniało się, natomiast stężenie nieelektrolitów (U_{nel}) wykazywało tendencję do wzrostu.

Wobec braku zmian w hemodynamice i filtracji kłębuszkowej można stwierdzić, że zmiany czynności wydalniczej nerek po podaniu Ind były wynikiem zmian w reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych oraz reabsorpcji wody. Zmiany tych procesów zanalizowano w oparciu o zmiany takich wskaźników jak klirens osmotyczny (C_{osm}) i transport wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) oraz klirens elektrolitów (C_{el}) i transport wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$). Wykazano zmniejszenie się C_{osm} i C_{el} , szczególnie w ciągu pierwszych 20 min. infuzji Ind. Wskazuje to na zwiększenie się "netto" reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych już w pierwszym okresie infuzji Ind. Spadek C_{el} (średnio o 6,4 $\mu l/min.$) był podobny do obniżenia się C_{osm} (średnio o 7 $\mu l/min.$) a więc można przypuszczać, że wzrost reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych dotyczył w pierwszych 20 min. przede wszystkim elektrolitów. Obniżeniu się C_{osm} i C_{el} towarzyszył spadek transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) i wody wolnej

od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$). Wskazuje to na zmniejszanie się "netto" reabsorpcji kanalikowej wody już w pierwszych 20 min. podawania Ind. Natomiast zmiany udziału obu wskaźników charakteryzujących transport wody w warunkach C_{osm} i C_{ei} ($T_{H_2O}^c/C_{osm}$ i $T_{H_2O}^{ce}/C_{ei}$) były niewielkie - nawet chociaż zmiana $T_{H_2O}^c/C_{osm}$ okazała się znamienna. Można w związku z tym przypuszczać, że zmiany "netto" transportu wody były, co się często obserwuje, pochodnymi zmian klirensu osmotycznego.

Reasumując, obserwowanemu w tej serii doświadczalnej wzrostowi hipertonii elektrolitowej rdzenia nie towarzyszyła zwiększona reabsorpcja wody w kanalikach nerkowych.

3.3. DZIAŁANIE INDOMETACYNY

U SZCZURÓW OTRZYMUJĄCYCH

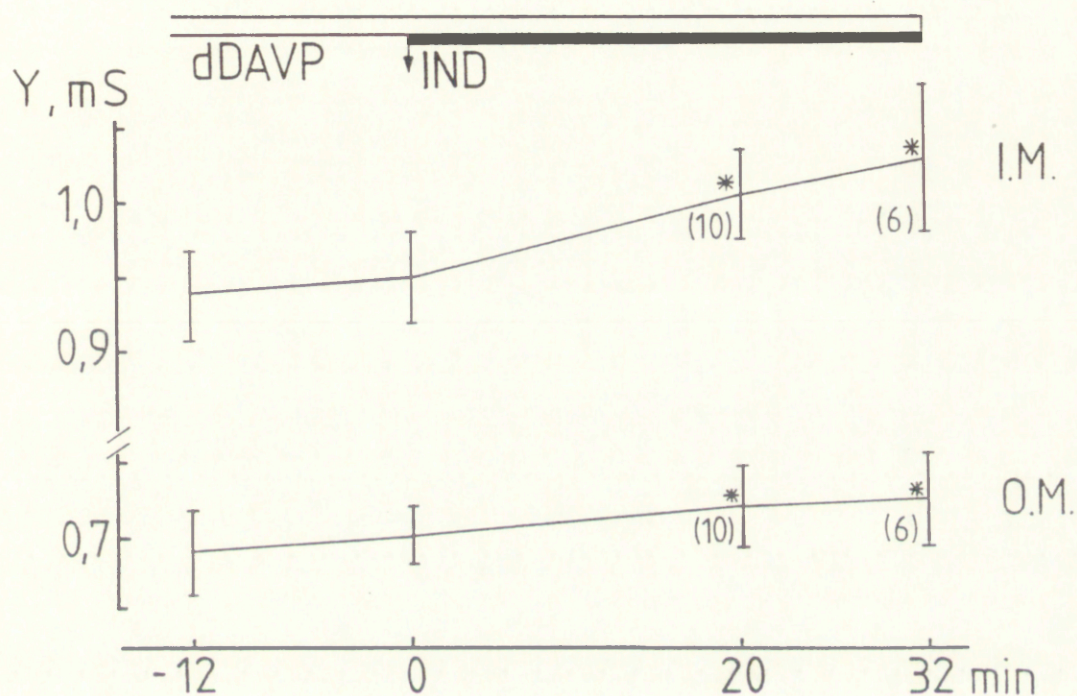
ANALOG WAZOPRESYNY - dDAVP (grupa IV)

Zmiany czynności nerek przeanalizowano dla dwóch podgrup:

a) z niską diurezą wyjściową (średnio 15,1 μ l/min) i b) z wysoką diurezą wyjściową (średnio 25,2 μ l/min). Natomiast zmiany admitancji rdzenia nerki przedstawiono łącznie ponieważ zakres wartości Y w obydwu podgrupach w momencie rozpoczęcia infuzji Ind był podobny oraz średnie przyrosty Y nie różniły się między sobą istotnie.

Zmiany admitancji

W ciągu ostatnich 12 min. infuzji dDAVP przed podaniem indometacyny (Ind) nie obserwowano już istotnych zmian admitancji (test t-Studenta dla zmiennych połączonych w punkcie "-12" i "0") i okres ten potraktowano jako kontrolny (Ryc. 12).



Ryc. 12. Zmiany admitancji tkanki nerkowej w wyniku infuzji indometacyny (IND) u szczurów otrzymujących dDAVP (grupa IV); Wartości średnie \pm SE.

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

* - znamienne różnice między wartościami średnimi w 20 min. (N=10) i 32 min. (N=6) infuzji IND w stosunku do średniej w punkcie "0" (test t-Studenta).

W czasie infuzji Ind obserwowano wzrost \bar{Y} w obydwu warstwach rdzenia nerki (Ryc. 12). Średni przyrost po 32 min. infuzji wynosił 10% w rdzeniu wewnętrznym i 5% w rdzeniu zewnętrznym. Zarówno dla rdz. wewnętrznego i zewnętrznego istotny w stosunku do wartości z okresu kontrolnego przyrost admitancji obserwowano po 20 min. infuzji Ind (test t-Studenta dla zmiennych połączonych). Tak więc, u szczurów otrzymujących dDAVP infuzja Ind w ilości 15 mg/kg·h powoduje wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiaższu rdzenia nerki. Wagę powyższych obserwacji obniża nieco brak równoczesnej kontroli czasowej, tzn. doświadczeń, w których prowadzono by jedynie przedłużoną infuzję dDAVP.

Zmiany czynności nerek - podgrupa IVa (niższa diureza wyjściowa)

Główne dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek dla tej podgrupy doświadcz. zebrano w Tab. 6. Całkowity przepływ krwi przez nerkę (RBF) nie zmieniał się. Tempo filtracji kłębuszkowej (GFR) mierzone jako klirens inuliny wzrosło wyraźnie po podaniu Ind.

W wyniku infuzji Ind stwierdzono tendencję do wzrostu V i C_{osm} oraz wzrost U_{Na} . Ponieważ obserwowano zwiększenie GFR, zmiany wydalania wyrażono w przeliczeniu na stałą objętość przesączu obliczając V/GFR , C_{osm}/GFR , $U_{Na}V/GFR$. Tak obliczone wskaźniki nie wykazywały istotnego wzrostu, można więc przypuszczać, że zmiana wydalania nerkowego była związana ze wzrostem filtracji kłębuszkowej.

Jednocześnie obserwowano istotny wzrost osmolalności moczu (U_{osm}) i stężenia sodu w moczu (U_{Na}). Zmiana średniego U_{osm} i zmiana średniego stężenia jonów Na^+ i towarzyszących mu anionów (czyli $2[Na^+]$) były podobne.

Porównanie to wskazuje, że właśnie przyrost stężenia sodu i towarzyszących mu anionów jest przyczyną wzrostu osmolalności moczu w wyniku infuzji Ind u szczurów otrzymujących dDAVP.

Istotny wzrost wskaźnika $T_{H_2O}^C / C_{osm}$ wskazuje, że zwiększenie reabsorpcji wolnej wody można ewentualnie łączyć ze wzrostem stężenia elektrolitów w śródmiąższu rdzenia nerki (patrz zmiany admitancji), bądź też ze zwiększeniem przepuszczalności ścian kanalików zbiorczych dla wody.

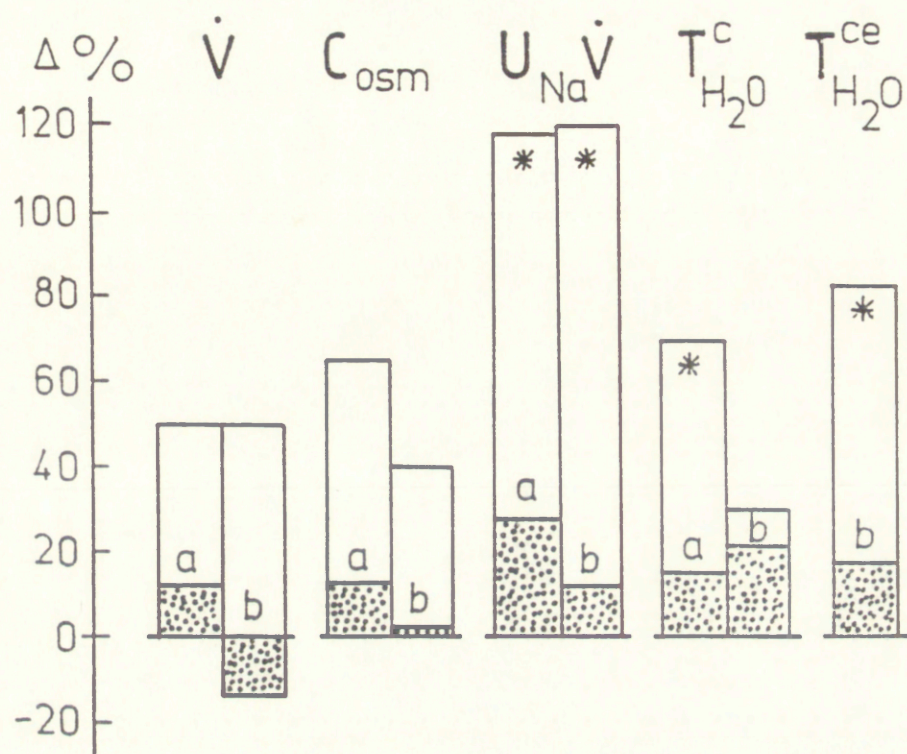
Zmiany czynności nerek - podgrupa IVb (wyższa diureza wyjściowa)

Dane dotyczące zmian hemodynamiki i czynności wydalniczej nerek dla tej podgrupy zebrano w Tab. 7. Całkowity przepływ krwi przez nerkę (RBF) oraz tempo filtracji kłębuszkowej (GFR) nie zmieniały się w czasie doświadczenia.

Podobnie jak w podgrupie "a" stwierdzono tendencję do wzrostu \dot{V} i C_{osm} (Ryc. 13) a także badanego tutaj C_{ei} oraz wzrost $U_{Na} \dot{V}$. Należy jednak przypomnieć, że zmiany te nastąpiły bez zwiększenia GFR czy też RBF. Można więc przypuszczać, że obserwowany w czasie infuzji Ind wzrost diurezy, klirensu osmotycznego i wydalania sodu w podgrupie "a" nie był pochodną zwiększonego przesączonego ładunku.

Nie obserwowano zmian osmolalności moczu (U_{osm}) ani jego składowej elektrolitowej (U_{ei}) i nieelektrolitowej (U_{nel}). Infuzja inhibitora PG spowodowała "netto" wzrost transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) i "netto" transportu wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$), szczególnie tego drugiego.

Podsumowując, w wyniku infuzji indometacyny szczurom, które otrzymywały dDAVP obserwowano wzrost hiper^{nr}tonii elektrolitowej śródmiąższu rdzenia nerki (Ryc. 12), któremu towarzyszył wzrost reabsorpcji wody w kanalikach oraz wzrost wydalania sodu (Ryc. 13)



Ryc. 13. 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 poprzedzającej 35 min. infuzji samej dDAVP (zakropkowane fragmenty słupków) w grupie IVa i IVb.

* - znamienne różne od wartości z okresu poprzedzającego (infuzja samej dDAVP), $p < 0,05$.

3.4. DZIAŁANIE MEKLOFENAMANU SODU

3.4.1. Mała dawka (grupa V)

Zmiany admitancji

W czasie infuzji meklofenamanu sodu (Me) zaobserwowano istotny statystycznie (analiza wariancji dla powtarzanych pomiarów - t -test ANOVA; $p < 0,01$) przyrost admitancji (Y) w obrębie obu warstw rdzenia nerki (rdz. wewnętrzny i zewnętrzny). Po 47 min. infuzji Me średni przyrost Y wynosił w rdzeniu wewnętrznym 17% zaś w rdz. zewnętrznym 16% (Ryc. 14). Istotny w stosunku do wartości z okresu kontrolnego przyrost admitancji w rdz. wewnętrznym obserwowano po 34 min. infuzji ($F = 6,74 > F_{0,01} = 2,94$) a w rdz. zewnętrznym po 30 min. infuzji ($F = 4,38 > F_{0,01} = 3,89$).

Powyższe dane wskazują, że u szczurów w uśpieniu barbiturano-
wym dożylna infuzja meklofenamanu sodu w tempie 5 mg/kg·h powoduje wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiaższu obu warstw rdzenia nerki.

Zmiany czynności nerek

Główne dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerki dla tej grupy doświadczalnej zebrano w Tab. 8.

Całkowity przepływ krwi przez nerkę (RBF) w czasie infuzji Me zwiększał się w sposób istotny, ale zmiana ta była niewielka i prawdopodobnie nie miała wpływu na czynność wydalniczą nerki w czasie infuzji Me. Tempo filtracji kłębuszkowej (GFR) wykazywało nieistotną tendencję do wzrostu.

Diureza minutowa (\dot{V}) już w czasie pierwszych 20 min. infuzji Me zwiększyła się prawie dwukrotnie i wzrastała dalej. Osmolalność moczu (U_{osm}) obniżyła się w pierwszym okresie infuzji, ale zmiana ta była nieproporcjonalnie mała w porównaniu ze zmianą \dot{V} . Stężenie sodu w moczu (U_{Na}) wzrosło dopiero w 2 okresie infuzji Me

Stężenie substancji nieelektrolitowych zmniejszyło się istotnie już w pierwszych 20 min. infuzji Me i obniżenie U_{osm} należy wiązać właśnie ze spadkiem stężenia substancji nieelektrolitowych (głównie mocznika) w moczu.

Wobec braku zmian w GFR i przy umiarkowanym tylko wzroście REF można sądzić, że zmiany w czynności wydalniczej nerki po podaniu Me były wynikiem pierwotnych zmian w reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych i reabsorpcji wody. Procesy te zanalizowano używając takich wskaźników jak tempo wydalania sodu ($U_{Na} \dot{V}$), klirens osmotyczny (C_{osm}) i transport wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) oraz klirens elektrolitów (C_{ei}) i transport wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$). $U_{Na} \dot{V}$ uległo trzykrotnemu zwiększeniu w czasie infuzji Me, co wskazuje na zmniejszenie "netto" reabsorpcji sodu w kanalikach. Podobnie C_{osm} i C_{ei} wzrastały już od początku infuzji Me. Ich równoległy wzrost i jeszcze bardziej dynamiczny wzrost $U_{Na} \dot{V}$ pozwalają przypuszczać, że "netto" spadek reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych wynikał przede wszystkim ze spadku reabsorpcji elektrolitów a wśród nich głównie sodu z towarzyszącymi mu anionami. Zanotowano również znamienny wzrost transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) i wody wolnej od elektrolitów ($T_{H_2O}^{ce}$), co wskazuje na zwiększanie "netto" reabsorpcji wody w kanalikach w trakcie infuzji Me. W celu sprawdzenia czy zmiany $T_{H_2O}^C$ i $T_{H_2O}^{ce}$ były tylko odzwierciedleniem wzrostu C_{osm} lub C_{ei} , obliczono także wskaźniki $T_{H_2O}^C/C_{osm}$ i $T_{H_2O}^{ce}/C_{ei}$. Ich analiza sugeruje, że wzrost transportu wolnej wody i wody wolnej od elektrolitów był zależny od zwiększenia C_{osm} i C_{ei} . Tak więc wydaje się, że istotną zmianą czynności wydalniczej nerki po podaniu Me w ilości 5 mg/kg·h jest zmniejszenie "netto" reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych, głównie elektrolitów.

Następstwem tego jest umiarkowany, na ogół proporcjonalnie mniejszy wzrost reabsorpcji wody ($T_{H_2O}^c$, $T_{H_2O}^{ce}$).

Reasumując, z zestawienia wskaźników charakteryzujących hemodynamikę, wydalanie nerkowe oraz przebieg zmian stężenia elektrolitów w śródmiąższu rdzenia (zmiany admitancji) wynika, że zwiększonej hipertonii elektrolitowej rdzenia nie towarzyszył wzrost transportu wody w kanalikach nerkowych.

3.4.2. Duża dawka (grupa VI)

Zmiany admitancji

W czasie infuzji meklofenamanu sodu (Me) zaobserwowano istotny statystycznie (analiza wariancji dla powtarzanych pomiarów - rm ANOVA; $p < 0,01$) przyrost admitancji (Y) rdzenia wewnętrznego i zewnętrznego w nerce. (Ryc. 11). Średni przyrost Y po 38 min. infuzji wynosił odpowiednio 17% w rdz. wewnętrznym i 13% w rdz. zewnętrznym. Istotny w stosunku do wartości z okresu kontrolnego przyrost admitancji ($F = 4,39 > F_{0,01} = 3,26$) w rdz. wewnętrznym obserwowano już po 10 min. infuzji a w rdz. zewnętrznym dopiero od 16 min. infuzji Me ($F = 10,96 > F_{0,01} = 3,59$)

Powyższe dane wskazują, że u szczurów w uspieniu barbituranowym dożylna infuzja Me w tempie 15 mg/kg·h powoduje wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiąższu rdzenia nerki.

Zmiany czynności nerek

Główne dane dotyczące hemodynamiki i czynności wydalniczej nerki dla tej grupy doświadczalnej zebrano w Tab. 9. Całkowity przepływ krwi przez nerkę (REF) wahał się nieznacznie. Tempo filtracji kłębuszkowej (GFR) oraz frakcja filtracyjna (FF) wykazywały pewną tendencję do wzrostu, która była jednak

nieistotna statystycznie.

Diureza minutowa (V) wzrosła w ciągu pierwszych 20 min. infuzji Me i dalej się już nie zmieniała podczas gdy zwiększanie osmolalności moczu (U_{osm}) obserwowano przez całe doświadczenie. Towarzyszył mu wzrost stężenia sodu w moczu (U_{Na}). Zmiana średniego U_{osm} w ciągu pierwszych 20 min. infuzji Me wynosiła 28 mOsm a zmiana średniego stężenia Na^+ i towarzyszących mu anionów (czyli $2[Na^+]$) - 32 mM. Porównanie to sugeruje, że właśnie przyrost stężenia sodu i towarzyszących mu anionów jest przyczyną wzrostu osmolalności moczu w pierwszym okresie infuzji Me. Natomiast w trakcie dalszej infuzji inhibitora, jak wynika z podobnego porównania (średni wzrost U_{osm} o 229 mOsm a $2[Na^+]$ tylko o 72 mM) także wzrost stężenia innych subst. osmotycznie czynnych (najprawdopodobniej innych jonów i mocznika) jest przyczyną zwiększenia całkowitej osmolalności moczu.

Wpływ zahamowania syntezy PG na procesy wydalnicze zachodzące w nerce zanalizowano dokładniej w oparciu o zmiany takich wskaźników jak klirens osmotyczny (C_{osm}) i transport wolnej wody ($T_{H_2O}^C$). Wykazano wzrost obu tych wskaźników co wskazuje na zmniejszenie "netto" reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych oraz wzrost "netto" reabsorpcji kanalikowej wody po podaniu Me. Jak wiadomo procesy te i wartości obu tych wskaźników są w dużej mierze zależne od tempa filtracji kłębuszkowej. Ponieważ po podaniu Me obserwowano niewielki wzrost GFR a wzrost C_{osm} i $T_{H_2O}^C$ pozostawał na granicy istotności wyrażono te wartości także w przeliczeniu na stałą objętość przesączu obliczając C_{osm}/GFR i $T_{H_2O}^C/GFR$. Pozwoliło to uchwycić zmiany C_{osm} i $T_{H_2O}^C$ w pewnym zakresie niezależne od wahań GFR. Oba tak wyliczone wskaźniki wykazywały istotny wzrost. Tak więc możemy przypuszczać, że wzrost

C_{OSM} i $T_{H_2O}^C$ po podaniu Me nie był jedynie bezpośrednim następstwem wzrostu GFR. Największy wzrost C_{OSM}/GFR wystąpił w ciągu pierwszych 20 min. infuzji Me, potem przyrost był już niewielki. Można więc powiedzieć, że już w ciągu pierwszego okresu infuzji Me następuje istotne zmniejszenie "netto" reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych. Natomiast przyrosty wskaźnika $T_{H_2O}^C/GFR$ były w czasie infuzji Me równomierne. W celu sprawdzenia czy zmiany $T_{H_2O}^C$ były tylko odzwierciedleniem wzrostu C_{OSM} (co się dosyć często obserwuje) obliczono także wskaźnik $T_{H_2O}^C/C_{OSM}$. Wykazywał on istotny wzrost dopiero w drugim okresie infuzji Me. Nie można więc wykluczyć, że wzrost $T_{H_2O}^C$ w pierwszym okresie infuzji Me był bezpośrednio związany ze zwiększeniem się klirensu osmotycznego. Kontynuowanie infuzji Me powodowało wzrost $T_{H_2O}^C$ niezależny od wzrostu C_{OSM} . Wydaje się, że wzrost reabsorpcji wolnej wody w pierwszych 20 min. infuzji Me można wiązać bezpośrednio ze zwiększonym wydalaniem substancji osmotycznie czynnych. Natomiast wzrost reabsorpcji wody w drugim okresie infuzji można ewentualnie łączyć ze wzrostem stężenia elektrolitów w śródmiaższu rdzenia nerki (Y) bądź też zwiększeniem przepuszczalności ścian kanalików zbiorczych dla wody.

Reasumując, z zestawienia wskaźników charakteryzujących hemodynamikę, wydalanie nerkowe oraz przebieg zmian stężenia elektrolitów w śródmiaższu rdzenia (zmiany admitancji) wynika, że - szczególnie w drugim okresie infuzji Me - obserwowane zwiększenie reabsorpcji wody ($T_{H_2O}^C$) może być właśnie wynikiem wzrostu hipertonii elektrolitowej w rdzeniu nerki

3.5. PORÓWNANIE WYNIKÓW MIĘDZY
GRUPAMI DOŚWIADCZALNYMI :
II, III, V i VI

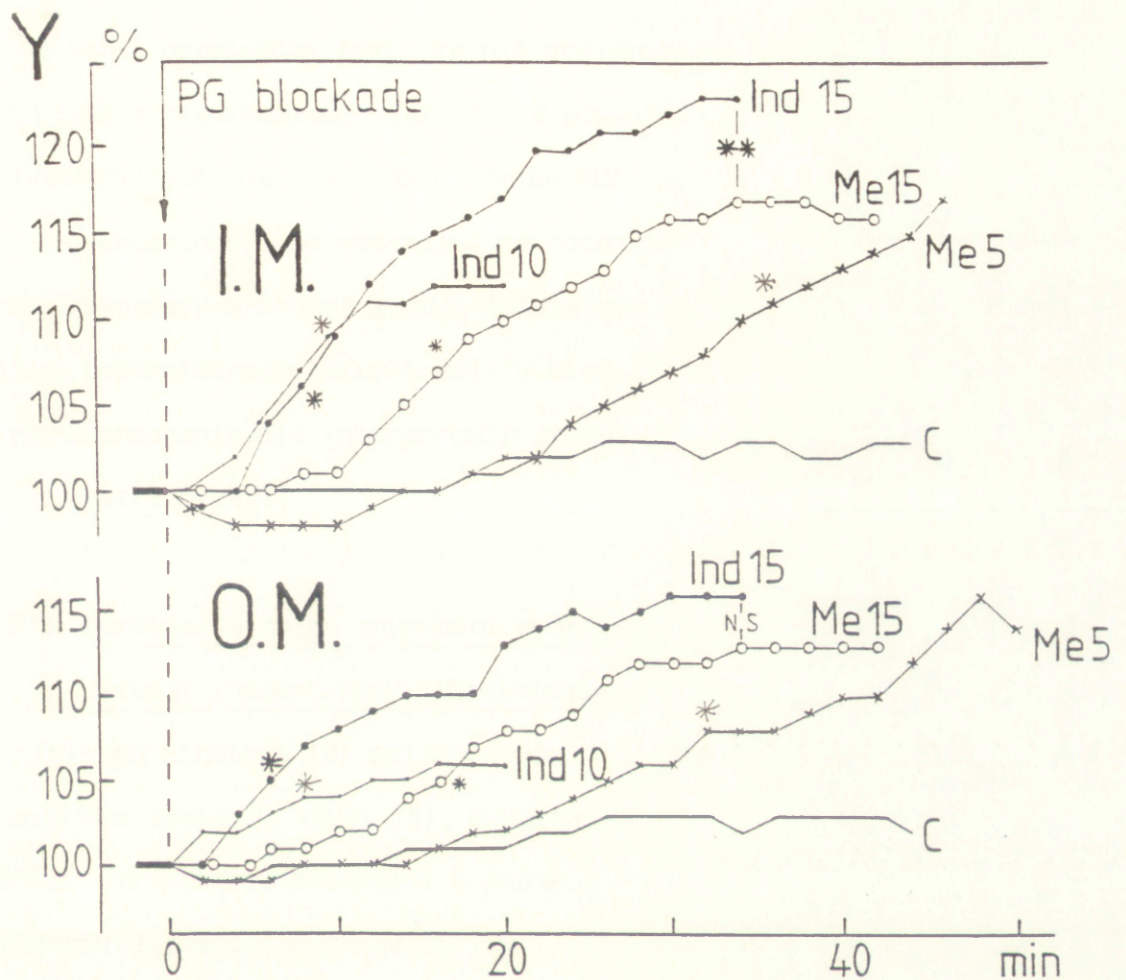
3.5.1. Porównanie zmian admitancji po infuzji indometacyny
i meklofenamanu sodu

We wszystkich grupach doświadczalnych po infuzji inhibitorów cyklooksygenazy obserwowano wzrost admitancji (Y) w obu warstwach rdzenia nerki (Ryc. 14), podczas gdy w grupie kontrolnej obserwowano jedynie niewielkie wahania wartości Y. Większy przyrost admitancji obserwowano w rdz. wewnętrznym niż w rdz. zewnętrznym. Stwierdzono, że podawanie indometacyny (Ind) zwiększało nieco bardziej Y niż infuzja meklofenamanu (Me) (Ryc. 14). Wydaje się, że istnieje pewna zależność zmian Y od użytej dawki inhibitora. Mniejsza dawka Ind wywoływała mniejszy wzrost admitancji i podobnie po mniejszej dawce Me zmiany admitancji przebiegały wolniej niż to obserwowano w grupie z wyższą dawką tego inhibitora (Ryc. 14).

Powyzsze dane wskazują, że u szczurów w uśpieniu barbituranowym dożylna infuzja dwóch różnych inhibitorów syntezy PG podawanych w różnych dawkach powoduje wzrost stężenia substancji elektrolitowych w śródmiaższu rdzenia nerki.

3.5.2. Porównanie zmian przepływu krwi przez nerkę (RBF)
i filtracji kłębuszkowej (GFR) po infuzji indometacyny
i meklofenamanu sodu

Jedynie w grupie z mniejszą dawką Me obserwowano zwiększenie całkowitego przepływu krwi przez nerkę (Tab. 8). Wzrost ten, chociaż znamieny statystycznie, był stosunkowo niewielki i trudno



Ryc. 14. Zmiany admitancji (Y) w wyniku infuzji indometacyny (Ind, 10 i 15 mg/kg·h) i meklofenamanu sodu (Me, 5 i 15 mg/kg·h). C - grupa kontrolna. I.M. - rdzeń wewnętrzny, O.M. - rdzeń zewnętrzny. * - od tego punktu wartości znamienne różne od wartości w grupie C, $p < 0,01$. ** - znamienna różnica między Ind i Me, $p < 0,05$. NS - różnica nieistotna statystycznie.

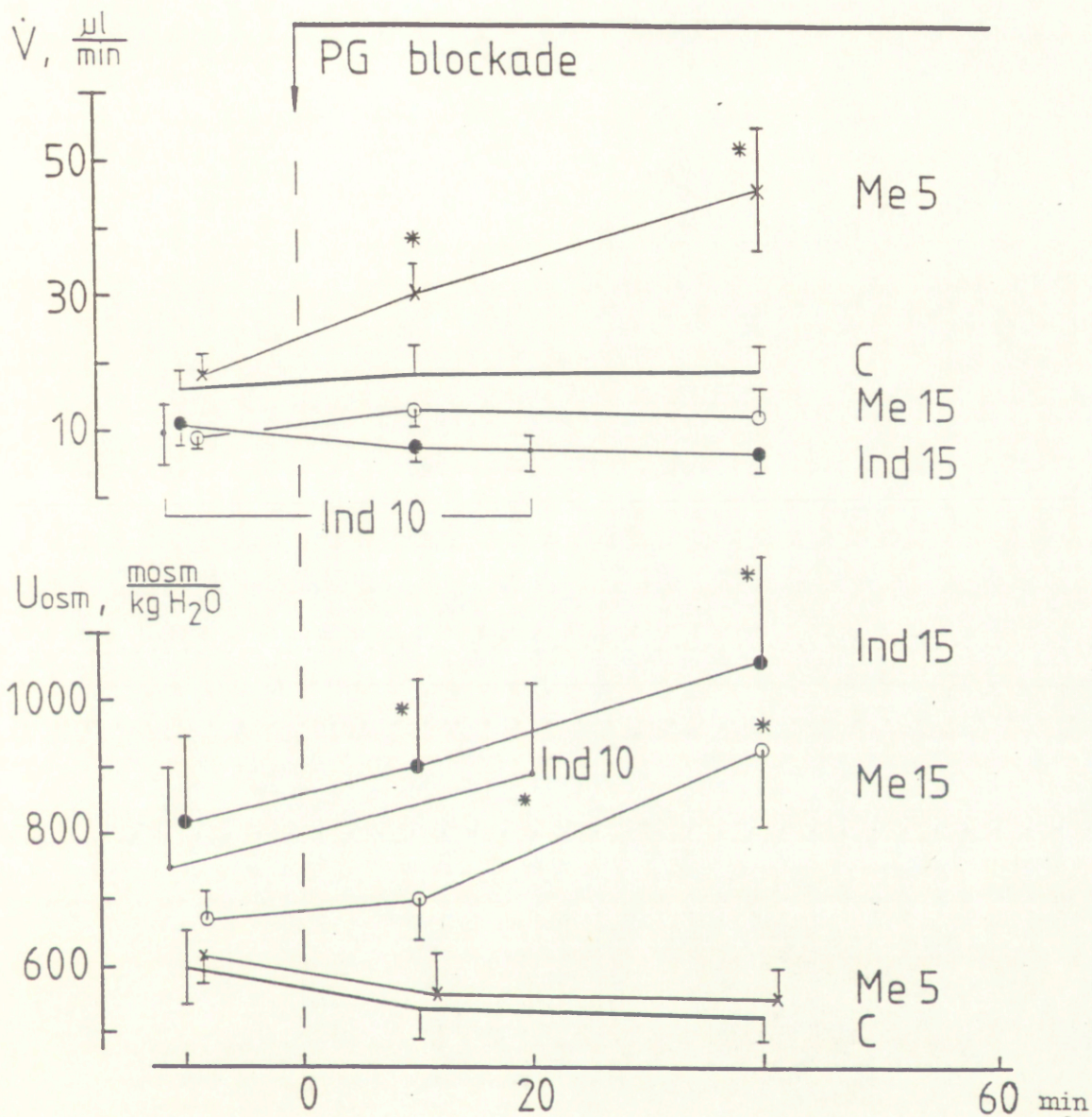
sądzić, żeby wywierał istotny wpływ na funkcje nerki. To przekonanie potwierdza fakt, że nie stwierdzono równocześnie zmian w filtracji kłębuszkowej (Tab. 8). W pozostałych grupach doświadczalnych nie stwierdzono zmian RBF lub GFR.

Przedstawione dane wskazują, że podczas infuzji inhibitorów cyklooksygenazy w żadnej z grup doświadczalnych nie nastąpiła zmiana przesączanego ładunku soli w kłębuszkach nerkowych. Ma to istotne znaczenie dla interpretacji zmian czynności wydalniczej nerki (patrz niżej).

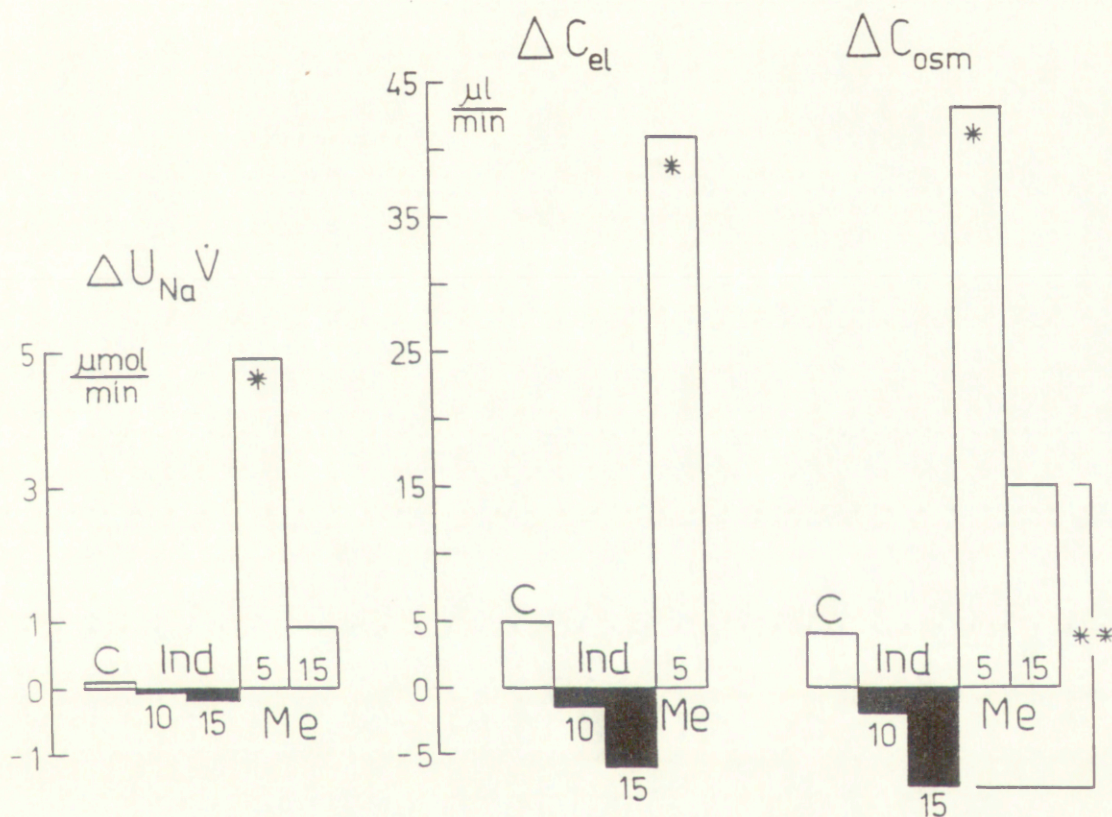
3.5.3. Porównanie zmian czynności wydalniczej nerek nerek po infuzji indometacyny i meklofenamanu sodu

Diureza minutowa (V) zmieniła się istotnie jedynie w grupie z mniejszą dawką Me (Ryc. 15), wzrastając już w pierwszym okresie infuzji inhibitora. Natomiast w pozostałych grupach obserwowano zwiększenie osmolalności moczu (Ryc. 15), sugerujące pewną poprawę zagęszczania moczu. Ponieważ osmolalność moczu nie daje pod tym względem informacji w pełni miarodajnej, efektywność zagęszczania analizowano dalej w oparciu o takie wskaźniki jak wydalanie sodu ($U_{Na} V$), klirens elektrolitów (C_{el}), klirens osmotyczny (C_{osm}) i transport wody w kanalikach ($T_{H_2O}^c$ i $T_{H_2O}^{ce}$).

Tylko po małej dawce Me obserwowano wzrost $U_{Na} V$, wskaźnik ten nie zmieniał się w pozostałych grupach (Ryc. 16). Po podaniu Ind stwierdzono tendencję do spadku C_{el} i C_{osm} podczas gdy infuzja mniejszej dawki Me wywołała znaczny wzrost obu tych wskaźników (Ryc. 16). Podanie większej dawki Me wywołało co prawda wzrost C_{osm} , ale był on nieistotny w porównaniu z obserwowanym w grupie kontrolnej, chociaż różnił się istotnie od zmian wywołanych taką samą dawką Ind (Ryc. 16). Tak więc, po zablokowaniu PG zmiany



15. Zmiany diurezy (\dot{V}) i osmolalności moczu (U_{osm}) w czasie infuzji indometacyny (Ind, 10 i 15 mg/kg·h) i meklofenamanu sodu (Me, 5 i 15 mg/kg·h). C - grupa kontrolna. * - znamienne różnie od wartości w grupie C, $p < 0,01$.



Ryc. 16. Zmiany (Δ) czynności wydalniczej nerek w wyniku infuzji indometacyny (Ind, 10 i 15 mg/kg·h) i meklofenamanu sodu (Me, 5 i 15 mg/kg·h).

$U_{\text{Na}} \dot{V}$ - tempo wydalania sodu, C_{el} - klirens elektrolitów,

C_{osm} - klirens osmotyczny.

C - zmiany w grupie kontrolnej.

* - znamienne różne od wartości w grupie C, $p < 0,001$.

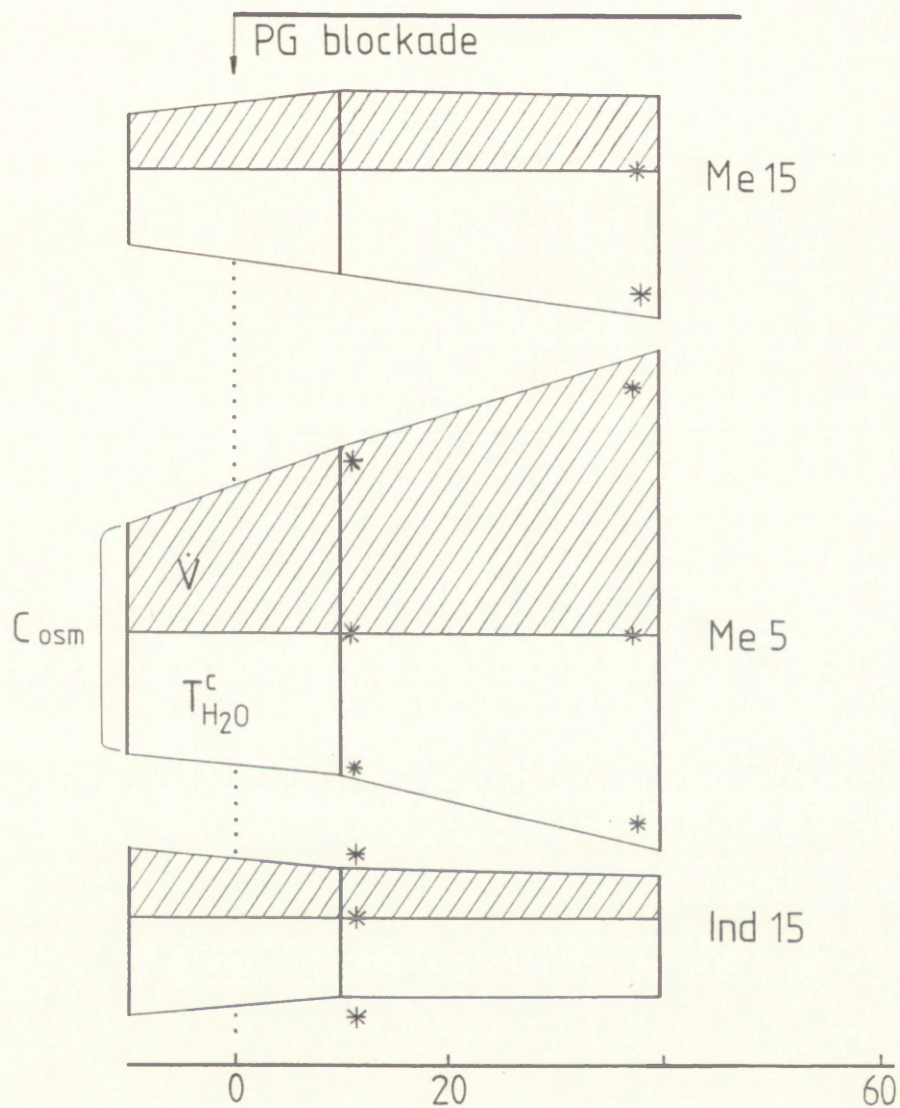
* * - znamienna różnica między Ind i Me, $p < 0,01$.

reabsorpcji "netto" substancji osmotycznych czynnych zależały od podanego inhibitora. Infuzja Ind powodowała pewną tendencję do wzrostu reabsorpcji, natomiast po podaniu Me obserwowano jej spadek, szczególnie wyraźny po mniejszej dawce.

Zmiany transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^C$) po Ind były niewielkie nawet jeśli wykazano ich znamienność (po dużej dawce). Natomiast po podaniu Me obserwowano zwiększenie $T_{H_2O}^C$, przy czym po mniejszej dawce wzrost $T_{H_2O}^C$ przebiegał równoległe ze wzrostem C_{osm} podczas gdy po większej dawce równoległości takiej nie obserwowano (Ryc. 17). Można sądzić, że w grupie z małą dawką Me wzrost reabsorpcji wolnej wody mógł być następstwem zmniejszenia reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych (wzrost C_{osm}). Natomiast wzrost $T_{H_2O}^C$ po dużej dawce Me musiał zależeć od innych czynników, takich jak obserwowany wzrost stężenia elektrolitów w śródmiąższu rdzenia czy spodziewany wzrost przepuszczalności kanalików zbiorczych dla wody po eliminacji endogennych PG. Tak więc obserwowane zmiany czynności wydalniczej nerek zależały od podanego inhibitora (Ind lub Me) i użytej dawki. Infuzja Ind nie wywierała wpływu na funkcje wydalnicze lub wpływ ten był niewielki. Natomiast infuzja Me wywołała "netto" spadek reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych, większy po podaniu mniejszej dawki oraz wzrost "netto" reabsorpcji wolnej wody w kanalikach.

Zahamowanie syntezy PG nie spowodowało większych zmian hemodynamiki nerek a więc obserwowane zmiany czynności wydalniczej nerki były bezpośrednim następstwem działania inhibitorów cyklooksygenazy PG na reabsorpcję kanalikową.

Podsumowując, skoro zahamowanie syntezy PG nie spowodowało istotnych zmian hemodynamiki nerek obserwowany wzrost stężenia elektrolitów w śródmiąższu rdzenia oraz zmiany czynności



Ryc. 17. Zmiany klirensu osmotycznego (C_{osm}) i jego składowych: diurezy (\dot{V}) i transportu wolnej wody ($T_{H_2O}^c$) w czasie infuzji indometacyny (Ind, 15 mg/kg·h) i meklofenamanu sodu (Me, 5 i 15 mg/kg·h).

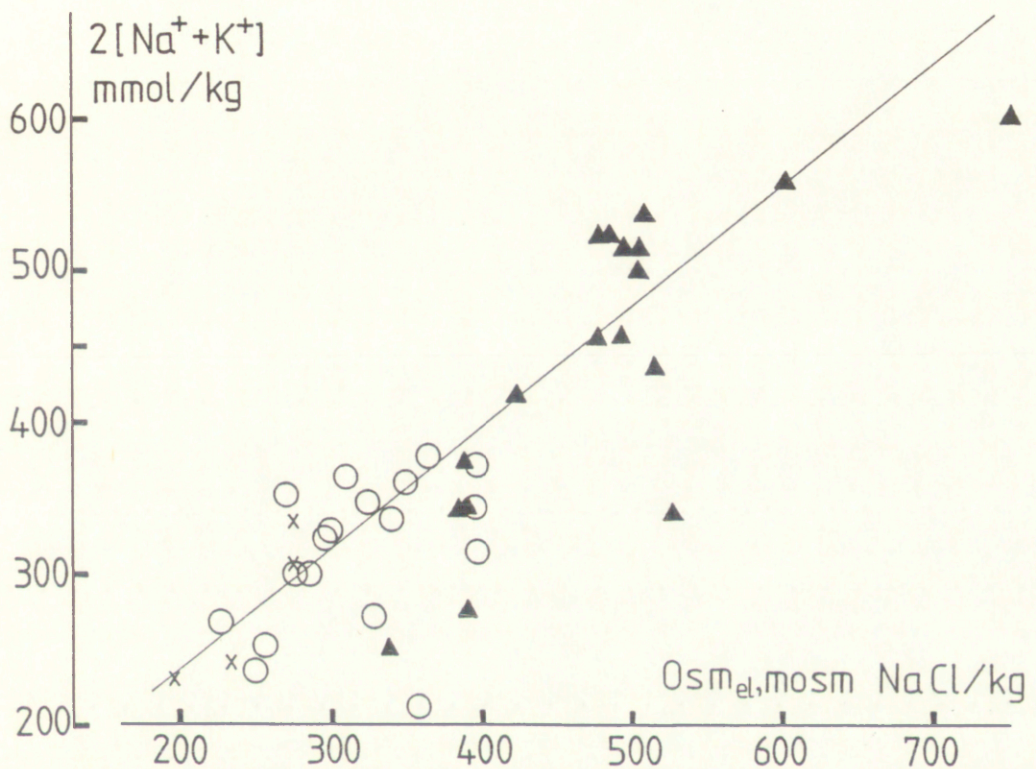
* - znamienne różne od wartości z okresu poprzedniego, $p < 0,05$.

wydalniczej należy uznać za bezpośrednie następstwo działania inhibitorów cyklooksygenazy na reabsorpcję kanalikową. Wzrost hipertonii elektrolitowej rdzenia obserwowano niezależnie od użytej dawki obu inhibitorów, natomiast wpływ na funkcję wydalnicze nerek zależał od zastosowanego inhibitora i jego dawki. Infuzja Ind nie wywierała istotnego wpływu na wydalanie nerkowe, podczas gdy Me stymulował reabsorpcję wolnej wody oraz w mniejszej dawce hamował także reabsorpcję substancji osmotycznie czynnych. Można sądzić, że mała dawka Me zwiększała reabsorpcję wolnej wody częściowo w następstwie zablokowania reabsorpcji substancji osmotycznie czynnych. Natomiast po infuzji większej dawki Me przyczynami wzrostu transportu wolnej wody w kanalikach były: stwierdzony tutaj wzrost hipertonii elektrolitowej rdzenia lub/ oraz oczekiwany wzrost przepuszczalności kanalików zbiorczych dla wody po eliminacji endogennych PG.

3.6. W Y N I K I B A D A Ń I N V I T R O

3.6.1. Wyniki pomiarów osmolalności elektrolitowej, $[Na^+]$ i $[K^+]$ w płynie tkankowym

Teoretycznie rzecz biorąc średnia wartość osmolalności elektrolitowej płynu zrównoważonego z tkanką (Osm_{e1}) powinna być nieco wyższa niż $2[Na^+ + K^+]$ w tym płynie. Na wartość Osm_{e1} oprócz sodu, potasu i towarzyszących im anionów wpływ mają także inne kationy znajdujące się w tkance rdzenia np.: Ca^{2+} . W badanych płynach uzyskano taką właśnie relację ($Osm_{e1} = 384 \pm 18 \text{ mosm NaCl/kg mokrej tkanki} > 2[Na^+ + K^+] = 368 \pm 16 \text{ mmol/kg mokrej tkanki}$ a porównanie obu wartości wykazało dobrą korelację ($r=0.86$, $N=40$, $p<0.001$) co przedstawiono na Ryc. 18. Dane te wskazują, że pomiar



Ryc. 18. Zależność między całkowitym stężeniem elektrolitów w płynie zrównoważonym z tkanką rdzenia nerki (Osm_{el} , mosm NaCl/kg H_2O) a podwojoną sumą stężeń Na^+ i K^+ w tym płynie ($2[Na^+ + K^+]$, mmol/kg H_2O).

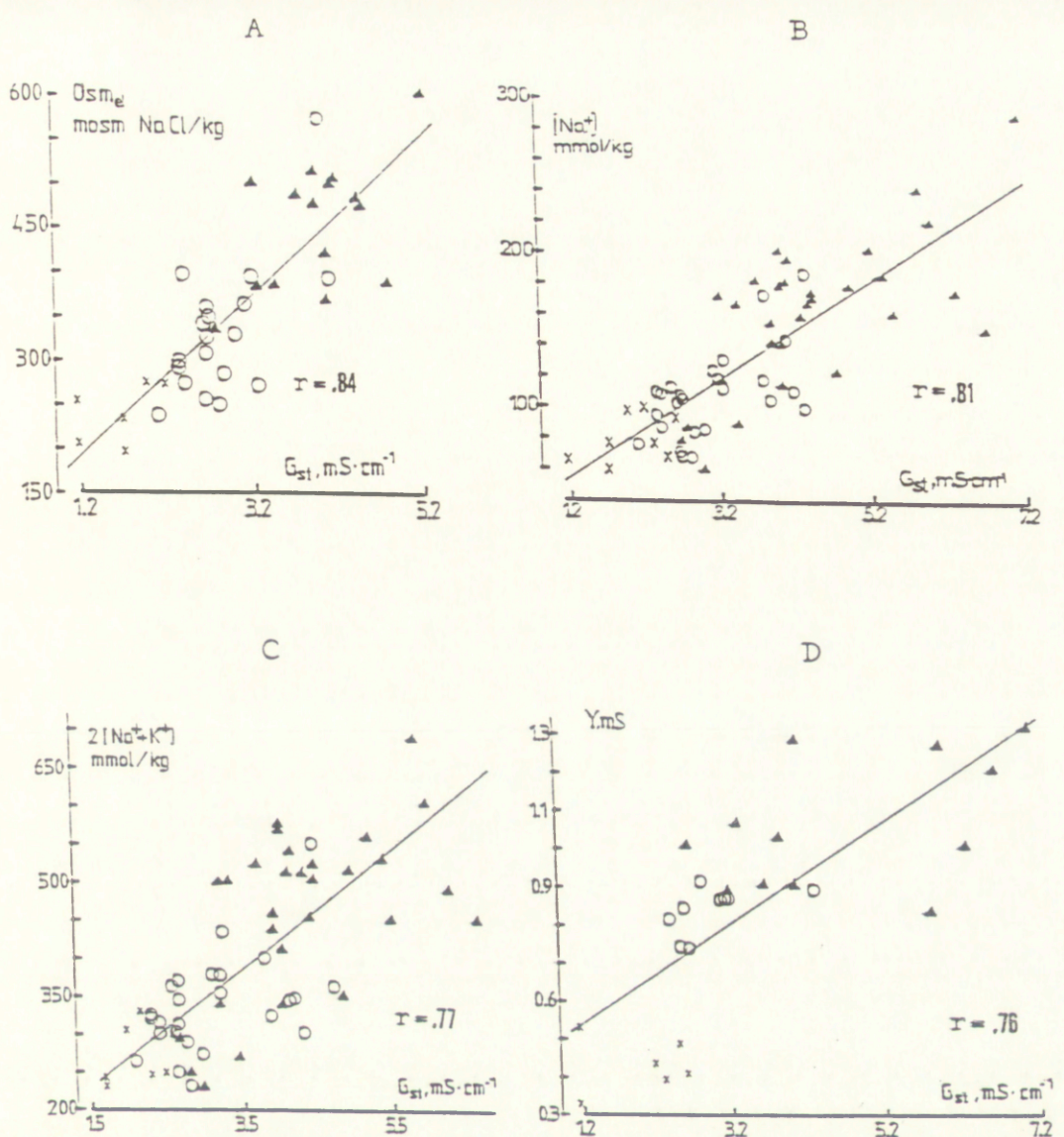
Osm_{ei} dobrze charakteryzuje stężenie elektrolitów w płynie zrównoważonym z tkanką rdzenia, a więc w rdzeniu *in vitro*.

3.6.2. Wyniki weryfikacji pomiarów przewodności standardowej świeżej tkanki rdzenia

Do badań mających na celu zweryfikowanie metody pomiaru konduktancji standardowej (G_{st}) w różnych warunkach fizjologicznych i przy różnym stężeniu elektrolitów w nerce użyto rdzeni otrzymanych od szczurów z opisanych w rozdz. 2.5.1. trzech grup (mannitolowej, kontrolnej i indometacynowej). Wykazano dobrą korelację ($r=0,84$, $N=40$) między G_{st} a stężeniem elektrolitów (Osm_{ei}) w płynie zrównoważonym z tkanką (Ryc. 19, A). Korelacja ze stężeniem sodu (Ryc. 19, B), głównego jonu pozakomórkowego, była nieco niższa ($r=0,81$) mimo większej liczby obserwacji ($N=63$). Stwierdzono również wysoką korelację między G_{st} a podwojoną sumą stężeń sodu i potasu ($r=0,77$, $N=62$), a także z admitancją mierzona *in situ* ($r=0,76$, $N=27$) (patrz Ryc. 19, C,D).

Wykazano, że średnie wartości przewodności standardowej są istotnie różne ($p<0,001$) dla rdzeni z poszczególnych grup szczurów (Ryc. 20). Przedstawione dane wskazują, że mierzenie G_{st} pozwala rozróżnić rdzenie pochodzące z różnych grup szczurów (grupa mannitolowa, indometacynowa, kontrolna) i jest praktycznie równie dobrą metodą jak pomiar osmolalności elektrolitowej płynu zrównoważonego z tkanką czy też stężenia sodu w tym płynie.

Precyzyjna ilościowa ocena stężenia Na^+ w tkance na podstawie G_{st} jest raczej niemożliwa. Warto jednak zauważyć, że dla wartości konduktancji standardowej równej 1 mS cm^{-1} stężenia sodu wynoszą 40, 34 i 38 mmol/kg odpowiednio w grupach mannitolowej, kontrolnej i indometacynowej. Dane te wskazują, że pomiar G_{st} rzeczywiście



Ryc. 19. Zależność między przewodnością standardowa (G_{st}) świeżej tkanki rdzenia nerki szczura a:

- A - całkowitym stężeniem elektrolitów w rdzeniu nerki (Osm_{el} , mosm NaCl/kg mokrej tkanki). $N = 40$, $y = 91x + 86$.
- B - stężeniem jonów Na^+ ($[Na^+]$, mmol/kg mokrej tkanki). $N = 63$, $y = 32x + 16$.
- C - podwojoną sumą stężeń jonów Na^+ i K^+ ($2[Na^+ + K^+]$, mmol/kg mokrej tkanki). $N = 62$, $y = 77x + 117$.
- D - admitancją elektryczną tkanki rdzeniowej mierzoną *in situ* przy użyciu elektrod igłowych (Y , mS). $N = 27$, $y = 1,3x + 3,8$

Rdzenie wycięte z nerek szczurów:

- o - zwierząt kontrolnych,
- x - po domiedniczkowej infuzji izotonicznego roztworu mannitolu,
- ▲ - po dożylniej infuzji indometacyny.

We wszystkich przypadkach znamienność statystyczna współczynnika korelacji (r) przy $p < 0,001$.

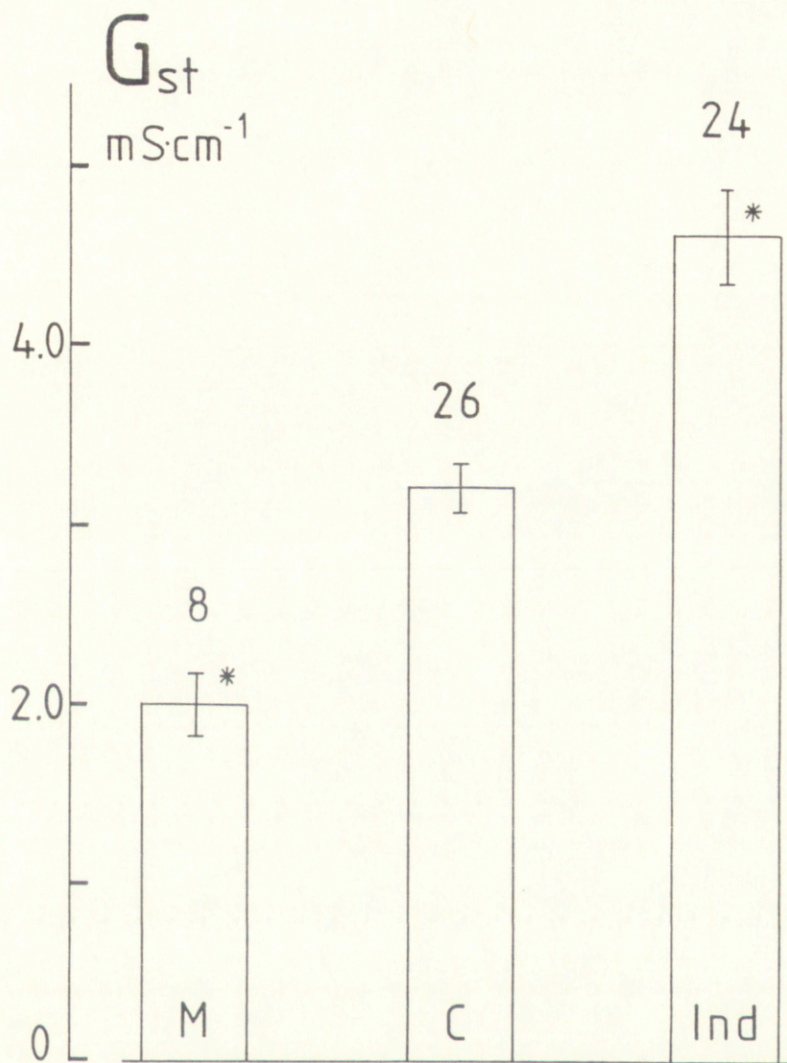
odzwierciedla stężenie sodu w śródmiąszu rdzenia w różnych warunkach doświadczalnych i przy różnych jego stężeniach w nerce.

Jak już wspomniano wyżej, pomiar G_{st} dotyczy płynu śródmiąszowego, a dokładniej sumy stężeń wszystkich jonów w przestrzeni pozakomórkowej rdzenia nerki. Wydaje się więc, że może on dostarczać bardziej wartościowych informacji w badaniach fizjologicznych niż wyniki uzyskane metodami analitycznymi, informujące o stężeniu elektrolitów łącznie we wszystkich przedziałach tkankowych (tj. poza płynem śródmiąszowym także w przestrzeni wewnątrzkomórkowej, wewnątrzkanalikowej i wewnątrznaczyniowej).

Podsumowując, opisana metoda pomiaru przewodności standardowej umożliwia w prosty i szybki sposób oszacować stężenie elektrolitów w śródmiąszu rdzenia nerki bez uciekania się do uciążliwych i czasochłonnych metod analitycznych.

3.6.3. Wyniki pomiarów *in vitro* w rdzeniu nerki szczurów z grupy kontrolnej i grupy otrzymującej dużą dawkę indometacyny

Średnia wartość przewodności standardowej (G_{st}) świeżej tkanki rdzenia nerki szczurów, którym podawano indometacynę ($4,64 \pm 0,26 \text{ S cm}^{-1}$) była istotnie wyższa niż G_{st} rdzenia nerki szczurów z grupy kontrolnej ($3,22 \pm 0,14 \text{ S cm}^{-1}$). Dalsze badania *in vitro* przeprowadzone na tkance rdzeniowej nerki przy użyciu metod analitycznych wykazały istotnie wyższą osmolalność elektrolitową (charakteryzująca stężenie wszystkich elektrolitów w tkance rdzeniowej), stężenie sodu oraz $2[\text{Na}^+ + \text{K}^+]$ również u szczurów z grupy indometacynowej (Tab. 10). Natomiast osmolalność nieelektrolitowa (odzwierciedlająca przede wszystkim stężenie mocznika w tkance rdzeniowej) była jednakowa zarówno dla grupy indometacynowej jak i kontrolnej (Tab. 10).



Ryc. 20. Średnie wartości przewodności standardowej (G_{st}) rdzenia nerkowego szczurów po domiedniczkowej infuzji izotonicznego roztworu mannitolu (M), dożylniej infuzji indometacyny (Ind) i u zwierząt kontrolnych (C). Nad słupkami podano liczbę rdzeni użytych do badań. * - znamienne różnie od średniej wartości grupy kontrolnej, $p < 0,001$.

D Y S K U S J A

Celem obecnej pracy była próba potwierdzenia w badaniach na całej nerce danych pochodzących z badań mikropunkcyjnych oraz badań *in vitro* prowadzonych na izolowanych kanalikach nerkowych lub skrawkach tkanki rdzeniowej a wskazujących na zjawisko hamowania przez prostaglandyny transportu soli w pętli Henlego. Badania *in vitro* dostarczyły wprawdzie wielu cennych informacji, mają jednak też istotne ograniczenia. Tak np: izolowane kanaliki nie posiadają swojego naturalnego otoczenia - tkanki śródmiąższoowej a więc i struktur oraz czynników hormonalnych i biochemicznych mogących wpływać na procesy w nich zachodzące. Wyniki tych badań należy więc odnosić do całego narządu czy organizmu z dużą ostrożnością. O ograniczeniach interpretacji wyników z badań na skrawkach tkanki rdzeniowej napisałem szerzej we wstępie. Także badania mikropunkcyjne, chociaż prowadzone *in vivo*, nie dają jednoznacznej odpowiedzi na pytanie czy prostaglandyny mogą modulować transport NaCl w pętli Henlego (por. 1.3. Wstęp). W obecnej pracy szukano odpowiedzi na to pytanie.

Jeżeli PG są zaangażowane w ten proces to należało oczekiwać, że zahamowanie ich syntezy spowoduje zmianę stężenia NaCl w otaczającym pętlę śródmiąższu. Istotne znaczenie miałyoby stwierdzenie czy wpływ modulacyjny PG na transport NaCl w pętli Henlego może zmienić korowo-bodawkowy gradient elektrolitowy w nerce w sposób mający znaczenie dla procesów zagęszczania moczu.

4.1. Wpływ zahamowania syntezy PG na korowo-brodawkowy gradient osmotyczny nerki

W przedstawionych badaniach wykazano bezspornie w warunkach *in vivo*, zwiększenie stężenia elektrolitów w śródmiaższu rdzenia nerki (wzrost admitancji tkanki) po zahamowaniu syntezy PG. Zaobserwowano to u wszystkich zwierząt. Fakt, że dwa inhibitory PG o różnej budowie wywołują podobny wzrost hipertonii elektrolitowej rdzenia przemawia mocno za tym, że efekt ten zależy istotnie od zahamowania syntezy PG a nie możliwego działania niespecyficznego użytego blokera. Moje dane z badań *in vitro* potwierdzają, że wzrost stężenia elektrolitów w tkance rdzeniowej (po zahamowaniu aktywności cyklooksygenazy) dotyczy właśnie płynu śródmiaższowego (patrz pomiary G_{st}) oraz wskazują, że blokada PG nie wpływa na akumulację nieelektrolitowych substancji osmotycznie czynnych w rdzeniu (głównie mocznika). Ponieważ mocznik (inaczej niż to się dzieje w przypadku substancji elektrolitowych) dyfunduje swobodnie między wszystkimi przedziałami tkankowymi, zmiany lub brak zmian jego stężenia w całej tkance odzwierciedlają w sposób wiarygodny sytuację w śródmiaższu. Jest rzeczą znamioną, że rola PG w modulowaniu gradientu osmotycznego w nerce dotyczy przede wszystkim jego komponenty elektrolitowej. Stanowi to pośrednie potwierdzenie, że mechanizm wpływu PG na gradient polega na hamowaniu transportu NaCl w pętli Henlego.

Podobne dane dotyczące zmian stężenia substancji osmotycznie czynnych w rdzeniu nerki po podaniu inhibitorów cyklooksygenazy uzyskali wcześniej inni badacze (Ganguli et. al., 1977; Haylor i Lote, 1982; Wilson et. al., 1982; Passmore et. al., 1987).

Jednak wyniki ich badań dotyczące stężenia jonów pochodzą z analizy skrawków brodawki nerkowej obejmujących wszystkie przedziały tkankowe a nie sam śródmiaższ. O ograniczeniach w interpretacji uzyskanych tą metodą danych pisałem szerzej we wstępie (rozdział 1.3). Przedstawione przeze mnie tutaj wyniki badań wskazują konkretnie na przestrzeń pozakomórkową jako miejsce gromadzenia jonów po zahamowaniu syntezy prostaglandyn.

Analiza skrawków tkanki rdzeniowej wymaga usunięcia nerki i dostarcza danych dla jednego punktu w czasie. Uzyskanie informacji o ewolucji gradientu elektrolitów w jakimś okresie czasu ("time course") jest przy użyciu tej metody możliwe ale także kosztowne i pracochłonne a możliwości interpretacji wyników są ograniczone. Tak np: Ganguli i wsp. (1977) by zbadać zmiany stężenia Na^+ w brodawce w ciągu 35 min. po podaniu indometacyny w odstępach 5 min. zabili 8 grup szczurów w każdej po 7 zwierząt a więc łącznie 56 szczurów. Nie badano u nich hemodynamiki ani też czynności wydalniczej nerek, co stwarza istotne przeszkody w interpretacji mechanizmów gromadzenia sodu w rdzeniu nerki. Nie zbadano również jak zmienia się w czasie stężenie jonów w rdzeniu nerki u uspionych szczurów nie otrzymujących inhibitora a jedynie jego rozpuszczalnik.

Jak wykazano w tej pracy tempo wzrostu i ostateczne nasilenie hipertonii elektrolitowej rdzenia zależy także od dawki użytego inhibitora. Zastosowanie pomiaru admitancji elektrycznej rdzenia nerki *in situ* umożliwiało śledzenie ewolucji gradientu elektrolitowego w sposób ciągły (minuta po minucie) w każdej badanej nerce zarówno przed jak i po podaniu inhibitora cyklooksygenazy: pomiary takie przeprowadzono również u szczurów nie otrzymujących inhibi-

torów syntezy PG (grupa kontrolna). Takie podejście pozwoliło na użycie do badań znacznie mniejszej liczby zwierząt a co ważniejsze pokazało ewolucję zmian stężenia jonów w śródmiąszu rdzenia po zahamowaniu syntezy PG i umożliwiło zestawienie jej ze zmianami akumulacji elektrolitów w grupie kontrolnej. W ten sposób odróżniono zmiany w hipertonii elektrolitowej wywołane blokadą PG od wzrostu zachodzącego spontanicznie w czasie (patrz 3.1. Wyniki - grupa kontrolna). W świetle tych danych wzrost stężenia elektrolitów w tkance po podaniu inhibitorów cyklooksygenazy można z pewnością wiązać przyczynowo z zahamowaniem syntezy PG.

W przedstawionych badaniach wykazano, że zahamowanie aktywności cyklooksygenazy u szczurów otrzymujących analog wazopresyny, dDAVP, wywołuje dalszy wzrost stężenia jonów w śródmiąszu rdzenia nerki (grupa IV). Dane te wskazują, że w warunkach *in vivo* PG mogą być istotnym czynnikiem antagonizującym stymulowany przez ADH transport NaCl w pętli Henlego. Zablockowanie ich syntezy przy użyciu indometacyny "uwolniło" działanie egzogennej dDAVP i endogennej wazopresyny spod hamującego wpływu PG, co przejawiało się dalszym zwiększeniem stężenia soli w otaczającym pętle śródmiąszu rdzenia nerki.

4.2. Wpływ zahamowania syntezy PG na hemodynamikę nerki

Prowadzone równolegle do rejestracji admitancji pomiary całkowitego przepływu krwi (RBF) i tempa filtracji kłębuszkowej (GFR) ujawniły zmiany hemodynamiki nerek jedynie po mniejszej dawce meklofenamanu (Me) i po podaniu indometacyny zwierzętom otrzymującym wcześniej infuzję dDAVP i to tylko w podgrupie

z mniejszą wyjściową diurezą (gr IVa).

Obserwowany po mniejszej dawce Me wzrost RBF nie miał najprawdopodobniej większego wpływu na czynność wydalniczą nerki gdyż był on niewielki i niepowiązany ze wzrostem GFR^* . W grupie IVa wykazano po indometacynie istotny choć niejasnego pochodzenia wzrost GFR , który mógłby odpowiadać za obserwowany wzrost diurezy (V) i wydalania sodu ($U_{Na}V$) a także przyczyniać się do wzrostu stężenia $NaCl$ w śródmiąszu rdzenia (zwiększona dostawa soli do pętli Henlego). Jednak w podgrupie IVb mimo jeszcze większego wzrostu V i $U_{Na}V$ indometacyna nie wywołała zmian tempa filtracji, a przyrost stężenia jonów w śródmiąszu był podobny. Można więc sądzić, że to nie zmiany przesączonego w kłębuszkach ładunku soli były przyczyną wzrostu wydalania wody i sodu a także zwiększonego stężenia elektrolitów w rdzeniu.

W pozostałych grupach nie stwierdzono zmian ani RBF ani GFR co wskazuje, że przyczyną wzrostu korowo-brodawkowego gradientu elektrolitów w nerce i jej czynności wydalniczej po podaniu inhibitorów cyklooksygenazy nie były zmiany hemodynamiki a w szczególności przesączonego w kłębuszkach ładunku soli.

Nie można jednak wykluczyć wpływu na gradient wybiórczych wahań przepływu krwi przez rdzeń nerki (medullary blood flow, MBF)

* Można by spekulować, że gdyby niewielki wzrost RBF zależał głównie od wzrostu przepływu rdzeniowego, mógłoby dojść do wypłukania substancji osmotycznie czynnych z rdzenia (wash-out) i do wzrostu diurezy i natriurezy. Jednak obserwowany wzrost admitancji jest niezgodny z taką hipotezą. Fakt, że nie mierzono rdzeniowego przepływu krwi stwarza tu oczywistą trudność w interpretacji.

ponieważ przepływ nie był mierzony. Obniżenie przepływu rdzeniowego mogłoby zmniejszyć tempo wypłukiwania (wash-out) elektrolitów ze śródmiąższu i w ten sposób przyczynić się do wzrostu ich stężenia.

Dane z piśmiennictwa dotyczące zmian MBF po zahamowaniu syntezy PG są niejednoznaczne (przegląd: Pallone et.al., 1990). Wydaje się jednak, że gdyby istotnie przyczyną wzrostu gradientu osmotycznego było zmniejszenie przepływu rdzeniowego to obserwowano by w równym lub podobnym stopniu zwiększenie stężenia jonów i substancji nieelektrolitowych w rdzeniu. Tymczasem w moich badaniach *in vitro* skrawków tkanki rdzeniowej nie stwierdziłem zmian stężenia nieelektrolitowych substancji osmotycznie czynnych po podaniu indometacyny. Podobnie Ganguli i wsp. (1977) nie obserwowali takich zmian badając skrawki brodawki nerkowej i jednocześnie, w innej grupie szczurów wykazali brak zmian w przepływie osocza przez brodawkę szczurów, którym podawano indometacynę. Passmore i wsp. (1987) stwierdzili co prawda u psów wzrost stężenia mocznika w skrawkach rdzenia wewnętrznego po podaniu ibuprofenu, ale był on znacznie mniejszy niż wzrost stężenia Na^+ ; równocześnie wykazano brak zmian w rdzeniowym przepływie osocza. Można więc przypuszczać że wykazany wzrost stężenia elektrolitów w śródmiąższu rdzenia nerki po infuzji inhibitorów cyklooksigenazy nie był następstwem obniżenia przepływu rdzeniowego.

Podsumowując, z przedstawionych w tej pracy badań wynika, że w warunkach *in vivo* rola PG w modulowaniu gradientu osmotycznego w nerce polega na hamowaniu gromadzenia elektrolitów, głównie NaCl, w śródmiąższu rdzenia. Wszystko wskazuje na to, że mechanizm ich działania polega nie na wywoływaniu zmian hemodynamiki, ale na

hemodynamiki, ale na hamowaniu reabsorpcji NaCl w pętli Henlego i chodzi tu prawdopodobnie o transport stymulowany przez hormon antydiuretyczny (ADH).

Należy jednak pamiętać, że w przyjętym tutaj układzie doświadczalnym (narkoza, zabiegi chirurgiczne) mamy niewątpliwie do czynienia z bardzo wysoką aktywnością zarówno endogennego hormonu antydiuretycznego jak i intensywnym uwalnianiem prostaglandyn, co utrudnia ocenę fizjologicznej roli badanego zjawiska. Prezentowane przeze mnie wyniki nie dowodzą więc wprost fizjologicznej roli hamowania transportu NaCl przez PG, ale dają podstawy do przypuszczeń, że działanie takie zachodzi i może mieć znaczenie w kształtowaniu gradientu elektrolitowego w nerce.

Rozszerzenie przeprowadzonych tutaj badań mogłoby przynieść bardziej jednoznaczną odpowiedź. Być może udałoby się obniżyć gradient elektrolitowy za pomocą donerkowej infuzji PGE₂. Przy zastosowaniu takiego samego jak w tej pracy układu doświadczalnego (wysoka wyjściowa aktywność endogennego ADH) próba taka mogłaby się powieść. W dalszej kolejności należałoby przeprowadzić badania przewlekłe na zwierzętach nieuspionych i nie poddawanych zabiegom chirurgicznym.

4.3. Wpływ zahamowania PG na czynność wydalniczą nerek

Obniżenie wydalania wody i sodu to najczęściej opisywane w piśmiennictwie następstwa zahamowania syntezy PG w nerce (przegląd Stokes: 1981). Mechanizm tych zmian jest najprawdopodobniej złożony. Spadek wydalania Na⁺ odzwierciedla niewątpliwie wzrost "netto" reabsorpcji tego jonu w różnych

odcinkach kanalika. Wykazany w tej pracy i opisywany także w piśmiennictwie wzrost stężenia soli w śródmiaższu rdzenia wskazuje pośrednio, że wzrasta m.in. rabsorpcja NaCl w ramieniu wstępującym pętli Henlego. Wzrost rabsorpcji wody może być następstwem wzrostu gradientu osmotycznego w nerce (zwiększona osmotyczna "siła napędowa" procesu zagęszczania), ale także bezpośrednim następstwem zwiększenia przepuszczalności kanalików zbiorczych. Zablockowanie syntezy nerkowych PG powoduje najprawdopodobniej: 1) odblokowanie stymulującego działania ADH na transport NaCl w pętli oraz 2) odblokowanie hydroosmotycznego efektu ADH w kanaliku zbiorczym i wzrost przepuszczalności ściany tego kanalika dla wody. Użyte w moich badaniach wskaźniki charakteryzujące wydalanie i zagęszczanie moczu mają ograniczoną wartość ponieważ opisują one sumarycznie zmiany zachodzące na całej długości kanalika nerkowego a nie tylko w jego odcinku zagęszczającym t.j. w kanaliku zbiorczym. Nie można wykluczyć, że poza wspomnianym wyżej działaniem na pętli Henlego i kanalik zbiorczy użyte tutaj inhibitory cyklooksygenazy mogą wpływać także na procesy transportowe w innych częściach nefronu, np. w kanaliku dystalnym.

Zmiany czynności wydalniczej i zagęszczania (V , U_{Na} , C_{osm} , $T_{H_2O}^C$) po indometacynie były niewielkie nawet tam gdzie wykazano ich znamienność. Natomiast działanie Ind w czasie infuzji dDAVP zależało od wielkości diurezy wyjściowej. W podgrupie zwierząt z mniejszą diurezą wyjściową obserwowano wzrost osmolalności moczu, na który mogły się złożyć: zwiększona przepuszczalność kanalika zbiorczego dla wody po uwolnieniu działania ADH spod hamującego wpływu prostaglandyn lub/i zwiększone stężenie elektro-

litów w rdzeniu. W podgrupie z wysoką diurezą wyjściową (co odzwierciedla szybki przepływ moczu przez kanalik zbiorczy) brak wzrostu osmolalności moczu można tłumaczyć krótkim czasem jego kontaktu ze ścianą kanalika, niewystarczającym do osiągnięcia równowagi osmotycznej między moczem kanalikowym i hipertonicznym śródmiąższem rdzenia. 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 ograniczane przez szybkość jego przepływu.

Zaskakujący i trudny do wytłumaczenia jest wzrost diurezy i wydalania sodu po Ind w czasie infuzji dDAVP. W warunkach stałej infuzji analogu hormonu antydiuretycznego jest mało prawdopodobne aby przyczyną było uboczne działanie Ind polegające m.in. na hamowaniu wydzielania ADH (Stokes, 1981). Należy raczej przypuszczać, że zahamowanie syntezy PG umożliwiło ujawnienie się dodatkowego nieswoistego, diuretycznego i natriuretycznego działania ADH opisywanego od dawna po farmakologicznych dawkach hormonu (Grantham i Burg, 1966; Johnson et al., 1979). Również ostatnio Ando i wsp. (1990) wykazali, że w wysokich dawkach hormon ten może działać również od strony luminalnej komórki kanalika, hamując reabsorpcję wody w kanaliku zbiorczym (efekt odwrotny do typowego zwiększania reabsorpcji przez hormon działający od strony bazolateralnej).

Większa dawka meklofenamanu podobnie jak indometacyna nie wywołała istotnych zmian diurezy i natriurezy. Jak już wspomniano, w przyjętym układzie doświadczalnym mamy niewątpliwie do czynienia z wysoką aktywnością endogennego hormonu antydiuretycznego.

Opisane powyżej nieswoiste działanie ADH mogło się więc ujawnić także po Me i Ind. Jednak ze względu na nie tak wysoką aktywność ADH (brak egzogenego hormonu czy też jego analogu) natriureza nie wystąpiła, ale doszło do "zneutralizowania" efektu obniżenia V i $U_{Na}V$ opisywanego zazwyczaj u szczurów po podaniu inhibitorów cyklooksygenazy (Haylor i Lote, 1982; Wilson et.al., 1982).

Mniejsza dawka meklofenamanu (5 mg/kg h), w odróżnieniu od większej wywołała wyraźny wzrost diurezy i natriurezy. Przegląd piśmiennictwa wskazuje, że zmiany w czynności wydalniczej nerki po zahamowaniu syntezy PG mogą zależeć od stanu fizjologicznego zwierzęcia, który jest związany z różnym sposobem przygotowania do doświadczeń. Tak np. Kirschenbaum i Stein (1976) u czuwających psów obserwowali czterokrotny wzrost wydalania sodu bez zmian diurezy i hemodynamiki nerek podczas gdy Fejes-Toth i wsp. (1977) stwierdzili obniżenie $U_{Na}V$ i V . W prowadzonych przeze mnie badaniach procedura przygotowania zwierząt i prowadzenia eksperymentów była jednakowa we wszystkich grupach doświadczalnych. Wobec tego można odrzucić jako przyczynę takich odmiennych reakcji różnice w sposobie prowadzenia doświadczeń.

Nie można natomiast wykluczyć, że zaskakujący efekt małej dawki Me zwiększającej diurezę i natriurezę był następstwem niespecyficznego działania inhibitora, nie związanego z hamowaniem aktywności cyklooksygenazy. Można spekulować, że to niespecyficzne działanie było już przy tej dawce w pełni wyrażone lub maksymalne podczas gdy hamowanie syntezy PG (sprzyjające antydiurezie) było jeszcze słabo zaznaczone, na co wskazuje bardzo powolny wzrost admitancji w tej grupie (Ryc. 14). Efektem wypadkowym tych dwóch wpływów był więc obserwowany wzrost V i $U_{Na}V$. Zwiększenie dawki Me

(do 15 mg/kg h) nie wiązało się już z nasileniem niespecyficznego działania inhibitora natomiast dochodziło do pełniejszej blokady syntezy PG (patrz szybki wzrost admitancji). Prowadziło to do zrównoważenia dwóch działań Me i w efekcie nie obserwowano istotnych zmian V i $U_{Na} V$.

Należało oczekiwać, że zahamowanie syntezy PG spowoduje wzrost przepuszczalności ścian kanalika zbiorczego i w połączeniu ze wzrostem hipertonii rdzenia stworzy warunki do poprawy zagęszczania moczu. Jednakże "swoisty" wzrost wchłaniania wody w kanalikach, niezależny od zmian reabsorpcji substancji osmotycznych (patrz zmiany $T_{H_2O}^C / C_{osm}$), obserwowano jedynie po większej dawce Me i po Ind podanej "na tle" dDAVP (sama Ind wywołuje pogorszenie wchłaniania wody). Można więc przypuszczać, że zmiany $T_{H_2O}^C$ były wypadkową z jednej strony zahamowania syntezy PG, z drugiej zaś ubocznego działania inhibitorów na procesy transportowe (niezależnego od inaktywacji cyklooksygenazy). Jeżeli zwrócić uwagę, że dynamika zmian stężenia elektrolitów w rdzeniu po Me i Ind była podobna, natomiast zmiany C_{osm} i $T_{H_2O}^C$ przebiegały niekiedy w odwrotnych kierunkach i różniły się między sobą istotnie (Ryc. 15) to wydaje się wielce prawdopodobne, że te ostatnie były właśnie skutkiem działań niespecyficzných, różnych dla każdego z inhibitorów. O indometacynie wiadomo, że nawet w niskich dawkach wykazuje wysokie powinowactwo do fosfodiesterazy i hamuje jej aktywność, co prowadzi do zmniejszonej degradacji cAMP (Flower, 1974). Jak opisano we wstępie (Rozdział 1.2) wzrost aktywności cAMP (którego uwalnianie jest stymulowane przez ADH) prowadzi do zwiększonej przepuszczalności ścian kanalika zbiorczego dla wody. Można się więc spodziewać, że połączenie wpływu Ind

na zahamowanie aktywności PG i fosfodiesterazy oraz dDAVP na stymulację syntezy cAMP tworzyło bardzo korzystne warunki do poprawy wchłaniania wody w cewce zbiorczej. Popiera to tezę, że towarzysząca zwiększonej hipertonii elektrolitowej rdzenia poprawa zagęszczania moczu jest następstwem zmian reabsorpcji wody zależnych nie tylko od zahamowania aktywności cyklooksygenazy.

Podsumowując, zmiany w czynności wydalniczej nerek po infuzji inhibitorów cyklooksygenazy były różne i zależały od dawki i rodzaju użytego inhibitora. Tylko niekiedy obserwowano polepszenie zagęszczania moczu (wzrost $T_{H_2C}^C$ lub $T_{H_2O}^{ce}$), które mogło być zależne od wzrostu gradientu elektrolitowego w śródmiąższu rdzenia nerki i/lub zwiększenia przepuszczalności ścian kanalików zbiorczych dla wody. W przeciwieństwie do zróżnicowanych reakcji wydalniczych nerek po zahamowaniu syntezy PG, zmiany admitancji przebiegały w jednym kierunku i niezależnie od dawki i rodzaju inhibitora.

PODSUMOWANIE i WNIOSKI

1. Badano modulujący wpływ endogennych prostaglandyn nerkowych na korowo-brodawkowy gradient elektrolitowy generowany w nerce przez transport soli w pętli Henlego. Stężenie elektrolitów w rdzeniu nerki *in situ* oceniano na podstawie ciągłego pomiaru admitancji elektrycznej tkanki.
2. Zahamowanie syntezy prostaglandyn *in vivo* za pomocą dwóch inhibitorów o różnej budowie zwiększało hipertonię elektrolitową rdzenia, co wskazuje na wzrost reabsorpcji NaCl w pętlach Henlego. Jednocześnie w badaniach skrawków rdzenia nie wykazano zwiększonego stężenia substancji nieelektrolitowych (mocznika).
3. W warunkach stymulacji transportu NaCl w pętli za pomocą antydiuretycznego analogu wazopresyny (dDAVP) zablokowanie syntezy prostaglandyn spowodowało dalszy wzrost stężenia elektrolitów w śródmiaższu rdzenia nerki.
4. W przeciwieństwie do jednokierunkowych i powtarzalnych zmian gradientu elektrolitowego w nerce, zmiany czynności wydalniczej po zahamowaniu syntezy prostaglandyn były różnokierunkowe, zależne od rodzaju inhibitora i użytej dawki.
5. Wykazanie, że endogenne prostaglandyny nerkowe zmniejszają korowo-brodawkowy gradient elektrolitów w nerce szczura wskazuje, że ich hamujący wpływ na reabsorpcję soli w pętli Henlego może być czynnikiem upośledzającym zagęszczanie moczu.

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

Anderson R.J., Berl T., McDonald K.M.: Evidence for in vivo antagonism between vasopressin and prostaglandin in the mammalian kidney. J. Clin. Invest. 56: 420-426, 1975

Appelboom J.W., Brodsky W.A., Tuttle W.S., Diamond I.: The freezing point depression of mammalian tissues after sudden heating in boiled distilled water. J. Gen. Physiol. 41: 1153-1169, 1958

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

Bartha F., Hably C.: Effect of indomethacin in intrarenal circulation and sodium and water excretion in anesthetized rats with or without acute volume expansion. Acta Acad. Sci. Hung. 59: 217-226, 1982

Bądzynska B., Sadowski J., Dobrowolski L.: Atrial peptide natriuresis in the rat without genuine rise in filtration rate or wash-out of medullary electrolytes. J. Physiol. (Lond) 427: 421-434, 1990

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

Bellin L.J., Bhattacharya J.: The effect of prostaglandin synthesis inhibitors on renal blood flow distribution in conscious rabbits. J. Physiol. (Lond.) 269, 395-405, 1977

Berl T., Raz A., Wald H., Horowitz J., Czaczkes W.: Prostaglandin synthesis inhibition and the action of vasopressin: studies in man and rat. Am. J. Physiol. 232: F529-F537, 1977

10. Bonvalet J.P., Pradelles P., Farman N.: Segmental synthesis and actions of prostaglandins along the nephron. Am. J. Physiol. 253: F377-F387, 1987

Chang L.C.T., Splawinski J.A., Oates J.A., Nies A.S.:
Enhanced renal prostaglandin production in the dog: II; Effect on
intrarenal hemodynamics. *Circ. Res.* 36: 204-207, 1975

Christensen N.J., Bygdeman M., Green K.: The prostaglandin
analogue 9-deoxo-16, 16-dimethyl-9-methylene-PGE₂ inhibits the
antidiuretic effect of vasopressin in the conscious sheep.
Pflügers Arch. 402: 360-362, 1984

Chuang E.L., Reineck H.J., Osgood R.W., Kunau R.T.Jr., Stein
J.H.: Studies on the mechanism of reduced urinary osmolality
after exposure of the renal papilla. *J. Clin. Invest.* 61:
633-639, 1978

Clark R.B., Butcher R.W.: Desensitization of adenylate
cyclase in cultured fibroblasts with prostaglandin E₁ and
epinephrine. *J. Biol. Chem.* 254: 9373-9378, 1979

Culpepper R.M., Andreoli T.E.: Interactions among
prostaglandin E₂, antidiuretic hormone and cyclic adenosine
monophosphate in modulating Cl⁻ absorption in single mouse
medullary thick ascending limbs of Henle. *J. Clin. Invest.* 71:
1588-1601, 1983

Cupples W.A.: Renal medullary blood flow: its measurement and
physiology. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 64: 873-880, 1985

Cupples W.A., Sakai T., Marsch D.J.: Angiotensin II and
prostaglandins in control of vasa recta blood flow. *Am. J.
Physiol.* 254: F417-F424, 1988

Craven P.A., DeRubertis F.R.: Effect of vasopressin and urea
on Ca²⁺-calmodulin-dependent renal prostaglandin E. *Am. J.
Physiol.* 241: F649-F658, 1981

DeRubertis F.R., Craven P.A.: Prostaglandin metabolism in the
kidney: physiologic implications. *Semin. Nephrol.* 2: 302-315,
1982

20. DiBona G.F: Prostaglandins and nonsteroidal anti-inflammatory
drugs: effects on renal hemodynamics. *Am. J. Med.* 80 (1A):
12-21, 1986

Dobrowolski L., Sadowski J., Kompanowska-Jeziarska E.:
Conductance studies of rat renal medulla for rapid estimation
of extracellular electrolyte concentration. *Med. Phys. Physiol.*
Measurement, in press

Dunn M.J., Hood V.L.: Prostaglandin and the kidney. *Am. J.*
Physiol. 233: F169-F184, 1977

Dusing R., Herrmann R., Glanzer K.: Renal prostaglandins
and water balance: studies in normal volunteer subjects
and in patients with central diabetes insipidus. *Clin. Sci.* 58:
393-401, 1980

Edwards R.M., Trizn W., Kinter L.B.: Renal microvascular
effects of vasopressin and vasopressin antagonists. *Am. J. Physiol.*
256: F274-F278, 1981

Epstein M., Lifschitz M., Rappaport K.: Augmentation of
prostaglandin production by linoleic acid in man. *Clin. Sci.* 63:
565-571, 1982

Fejes-Toth G., Magyar A., Walter J.: Renal response to
vasopressin after inhibition of prostaglandin synthesis.
Am. J. Physiol. 232: F416-F423, 1977

Flower R.J.: Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis.
Pharmacol. Rev. 26: 33-67, 1974

Fülgraff G., Meiforth A.: Effect of prostaglandin E₂ on
excretion and reabsorption of sodium and fluid in rat kidney
(micropuncture studies). *Pflügers Arch.* 330: 243, 1971

Ganguli M., Tobian L., Azar S., O'Donnell M.: Evidence that
prostaglandin synthesis inhibitors increase the concentration
of sodium chloride in rat renal medulla. *Circ. Res.* 40 (1):
135-139, 1977

30. Garcia-Perez A., Burg M.B.: Role of organic osmolytes in
adaptation of renal cells to high osmolality. *J. Membrane*
Biol. 119: 1-13, 1991

Grantham J.J., Burg M.B.: Effect of vasopressin and cyclic
AMP on permeability of isolated collecting tubules. *Am. J.*
Physiol. 211: 255-259, 1966

Grantham J.J., Orloff J.J.: Effect of prostaglandin E_i on the
<http://rcin.org.pl>

permeability response of the isolated collecting tubule to vasopressin, adenosine 3', 5' - monophosphate and theophylline. J. Clin. Invest. 47: 1154-1161, 1968

Gutsche H.U., Mueller-Suur R., Hegel U. and Hierholzer K.: Electrical conductivity of tubular fluid of the rat nephron. Pfluegers Arch. 383: 113-121, 1980

Handler J.: Antidiuretic hormone moves membranes. Am. J. Physiol. 255: F375-F382, 1988

Harris H.W.Jr., Strange K., Zeidel M.L.: Current understanding of the cellular biology and molecular structure of the antidiuretic hormone - stimulated water transport pathway. J. Clin. Invest. 88: 1-8, 1991

Haylor J.: Prostaglandin synthesis and renal function in man. J. Physiol. (Lond.) 298: 383-396, 1980

Haylor J., Lote C.J.: Renal function in conscious rats after indomethacin. Evidence for a tubular action of endogenous prostaglandins. J. Physiol. (Lond) 298: 371-381, 1980

Haylor J., Lote C.J.: The influence of prostaglandin E₂ and indomethacin on renal corticomedullary solute gradient in the rat. J. Pharm. Pharmacol. 35: 299-305, 1982

Herbaczyńska-Cedro K., Vane J.R.: Contribution of intrarenal generation of prostaglandin to autoregulation of renal blood flow in the dog. Circulation Res. 33: 428-436, 1973

40. Higashihara E., Stakes J.B., Kokko J.P., Campbell W.B., Dubose T.D.Jr.: Cortical and papillary micropuncture examination of chloride transport in segments of the rat kidney during inhibition of prostaglandin production. J. Clin. Invest. 64: 1277-1287, 1979

Holt W.G., Lechène C.P.: Vasopressin (ADH) decreases the reabsorption of sodium and chloride across the light segment of the cortical collecting tubule (CCT) of the rabbit. Clin. Res. 28: 448-453, 1980

Iino Y., Imai M.: Effects of prostaglandins on sodium transport in isolated collecting tubules. *Pflügers Arch.* 373: 125-132, 1978

Itskovitz H.D., Stempler J., Pacholczyk D., McGiff J.C.: Renal prostaglandins: Determinants of intrarenal distribution of blood flow. *Clin. Sci. Mol. Med.* 45 (suppl. 1): 321-324, 1973

Jackson E.K., Branch R.A., Margolius H.S., Oates J.A.: Physiological functions of the renal prostaglandin, renin and kallikrein systems. In: *The Kidney: Physiology and Pathophysiology* edited by D.W. Seldin and G.Giebisch. Raven Press, New York, 1985, ch. 26 p. 613-643

Jamison R.L., Holliger C., Lemley K.V., Robertson C.R.: Studies of the effects of antidiuretic hormone and prostaglandin inhibition on red blood cell velocity in vasa recta of the inner medulla. In *Advances in Basic and Clinical Nephrology*, edited by W. Zurulizoglu, M.Pyrpasopoulos, M.Sion, C.Zamboulis. Basel, S.Karger Verlag, 1981, p. 170-175

Johnson M.D., Kinter L.B., Beeuwkes R.: III; Effects of AVP and dDAVP on plasma renin activity and electrolyte secretion in conscious dogs. *Am. J. Physiol.* 236: F66-F70, 1979

Kauker M.L.: Prostaglandin E₂ effect from the luminal side on renal tubular ²²Na efflux: tracer microinjection studies. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 154: 274-277, 1977

Kirchner K.A.: Prostaglandin inhibitors alter loop segment chloride uptake during furosemide diuresis. *Am. J. Physiol.* 248: F698-F704, 1985

Kompanowska-Jeziarska E.: Rola hormonu antydiuretycznego w kształtowaniu korowo-rdzeniowego gradientu elektrolitowego w nerce szczura. *Rozprawa doktorska*, Warszawa, 1992

50 Kompanowska-Jeziarska E., Dobrowolski L., Sadowski J.: Cysteine enhances *in vivo* natriuretic potency of ethacrynic acid in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 68: 1275-1277, 1990

Kirschenbaum M.A., White N., Stein J.H., Ferris T.F.: Redistribution of renal cortical blood flow during inhibition of prostaglandin synthesis. *Am. J. Physiol.* 227: 801-805, 1974

Kramer H.J.: Effects of inhibition of prostaglandin synthesis on renal electrolyte excretion and concentrating ability. Prostaglandins Med. 1: 341-349, 1978

Larsson C., Anggard E.: Increased juxtamedullary blood flow on stimulation of intrarenal prostaglandin biosynthesis. Eur. J. Pharmacol. 25: 326-334, 1974

Leite M., Suki w.N.: AVP and dDAVP in rabbit cortical collecting tubule: a comparative time - course study. Am. J. Physiol. 258, R99-R103, 1990

Lemley K., Schmitt J.L., Holliger C., Dunn M.J., Robertson C.R., Jamison R.L.: Prostaglandin synthesis inhibitors and vasa recta erythrocyte velocities in the rat. Am. J. Physiol. 247: F562-567, 1984

Leyssac P.P., Christensen P., Hill R., Skinner S.L.: Indomethacin blockade of renal PGE synthesis: effect on total renal and tubular function and plasma renin concentration in hydropenic rats and on their response to isotonic saline. Acta Physiol. Scand. 94: 484-496, 1975

Lifschitz M.D., Stein J.H.: Renal vasoactive hormones. In: The Kidney ch. 14 edited by Brenner B.M., Rector R.C.Jr., Philadelphia, London, Toronto. W.B. Saunders Company, 1981 v. 1 p 650-720

Locher R., Vetter W., Block L.M.: Interactions between 8-L-arginine vasopressin and prostaglandin E_2 in human mononuclear phagocytes. J. Clin. Invest. 71: 884-891, 1983

Long C.R., Kinoshita Y., Knox F.G.: Prostaglandin E_2 induced changes in renal blood flow, renal interstitial hydrostatic pressure and sodium excretion in the rat. Prostaglandins, 40, 591-607, 1990

60. Lonigro A.J., Itskovitz H.D., Crowshaw K., McGiff J.C.: Dependency of renal blood flow on prostaglandin synthesis in the dog. Cir. Res. 32: 712, 1973

Ludbrook J.: On making multiple comparisons in clinical and experimental pharmacology and physiology. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 18: 379-392, 1991

Molony D. A., Reeves W. B., Andreolli T. E.: Some transport characteristics of mammalian diluting segments. *Mineral Electrolyte Metab.* 13: 442-450, 1987

Molony D.A., Reeves W.B., Andreoli T.E.: Na^+ , K^+ , 2Cl^- cotransport and the thick ascending limb. *Kidney Internat.* 36: 418-426, 1989

Morrison A.R.: Biochemistry and pharmacology of renal arachidonic acid metabolism. *Am. J. Med.* 80 (1A): 9-11, 1986

Niewiadomski W., Sadowski J., Bądzyska B., Rasmussen S. N.: Ion concentration and haematocrit as determinants of impedance in an erythrocyte suspension model of renal medullary tissue. *Phys. Med. Biol.* 35: 1575-1583, 1990

Orloff J.J., Handler J.S., Bergstrom S.: Effect of prostaglandin PGE_1 on the permeability response of toad bladder to vasopressin, theophylline and adenosine 3'5'-monophosphate. *Nature* 205: 392-398, 1965

Pallone T.L., Robertson C.R., Jamison R.L.: Renal medullary microcirculation. *Physiol. Rev.* 70: 885-920, 1990

Passmore C.J., Hartupée D.A., Jackson B.A.: Urinary and renal papillary solutes during cyclooxygenase inhibition with ibuprofen. *J. Lab. Clin. Med.* 110: 807-812, 1987

Pelayo J.C.: Renal adrenergic effector mechanisms: glomerular sites for prostaglandin interaction. *Am. J. Physiol.* 254: F184-F190, 1988

70. 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 K.H., Lifschitz M.D.: Effect of prostaglandins on renal salt and water excretion. *Am. J. Med.* 80 (1A): 22-33, 1986

Rose B.D.: New approach to disturbances in the plasma sodium concentration. *Am. J. Med.* 81: 1033-1040, 1986

de Rouffignac C.: The urinary concentrating mechanism. In: *Comparative physiology* (Kinne R. K. H., Kinne-Saffran E., Beyenbach K. W., eds). Basel, Karger 1990, 2, 31-102

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 admittance to evaluate salt transport in Henle's loop. 7-th European Colloquium on Renal Physiology, Naples, 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., Bądryńska 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 S.N.: 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

80. 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 Archiv.* 405: 367-376, 1985

Schlondorff D., Corvoumis C.P., Jacoby M.: Multiple site for interaction of prostaglandin and vasopressin in toad urinary bladder. *Am. J. Physiol.* 241: 625-631, 1981.

Schnermann J., Briggs J.P., Weber P.C.: Tubuloglomerular feedback, prostaglandins and angiotensin in the autoregulation of glomerular filtration rate. *Kidney Int.* 25: 53-64, 1984

Schwan H.P.: Determination of biological impedance. In: *Physical Techniques in Biological Research*, (vol. 6) edited by W.L. Nastuk, New York, London, Academic Press, 1963, p. 323-342

Solez K., Fox J.A., Miller M., Heptinstall R.: Effects of indomethacin on renal inner medullary plasma flow. *Prostaglandins* 7, 1974

- Steven H.C., Andreoli T.E.: Control of NaCl transport
In the thick ascending limb. *Am. J. Physiol.* 246: F745-F756, 1984
- Stokes J.B.: Effect of prostaglandin E_2 on chloride transport
across the rabbit thick ascending limb of Henle. *J. Clin. Invest.*
64: 495-502, 1979
- Stokes J.B.: Integrated actions of renal medullary
prostaglandins in the control of water excretion. *Am. J. Physiol.*
240: F471-F480, 1981
- Stokes J.B., Kokko J.P.: Inhibition of sodium transport
by prostaglandin E_2 across the isolated perfused rabbit collecting
tubule. *J. Clin. Invest.* 59: 1099-1104, 1977
- Strandhoy J.W., Ott C.E., Schneider E.G.: Effects of
prostaglandins E_1 | E_2 on renal sodium reabsorption and starling
force. *Am. J. Physiol.* 226: 1015-1021, 1974
- 80.** Swain J.A., Heyndricks G.R., Boettcher D.H., Vatner S.F.:
Prostaglandin control of renal circulation in the unanesthetized
dog and boboon. *Am. J. Physiol.* 229: 826-830, 1975
- Thurau K., Deetjen P., Gunzler H.: Die Diuresis 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
- Wallenstein S., Zucker C., Fleiss J.: Some statistical methods
useful in circulation research. *Circ. Res.* 47: 1-9, 1980
- Wilson D.R., Honorath U., Sonnenberg H.: Prostaglandin
synthesis inhibition during volume expansion: Collecting duct
function. *Kidney Internat.* 22: 1-7, 1982

Tabela 1. Udział oporu rzeczywistego (R) w impedancji (Z) świeżej tkanki rdzenia nerki szczura mierzonej przy pomocy elektrod blaszkowych - użyto prądu pomiarowego o $f=3,5$ kHz i $I=0,032$ mA.

Gm	Z	R	X_c	φ	$\frac{R}{Z}$
		(k Ω)		($^\circ$)	(%)
1,9	520	514	81	- 9	99
2,3	410	403	75	-10	98
2,7	351	346	67	-11	98
3,6	264	256	64	-14	97

Gm - przewodność mierzona, Z - odpowiadająca jej impedancja,

X_c - reaktancja pojemnościowa, φ - kąt fazowy

Tabela 2. Udział oporu rzeczywistego (R) w impedancji (Z) określony dla płynów o różnym stężeniu NaCl (mierzone w celi pomiarowej przy użyciu prądu pomiarowego o $f=3,5$ kHz i $I=0,032$ mA).

$\frac{\text{mosm NaCl}}{\text{kg H}_2\text{O}}$	Z	R	X_c	$\frac{R}{Z}$	φ
		(Ω)		(%)	($^\circ$)
4	14,80	14,52	2,82	98,0	11
8	7,90	7,85	0,83	99,4	6
16	4,40	4,39	0,31	99,8	4
32	2,04	2,04	0,11	99,8	3

X_c - reaktancja pojemnościowa, φ - kąt fazowy

Tabela 3. Charakterystyka czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w grupie szczurów kontrolnych (grupa I, wartości średnie \pm SE)

	Przebieg w czasie, min		
	0-30	30-50	50-85
BP	119	121	121
mm Hg	± 5	± 5	± 5
V	15.7	18.6	18.8
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 2.9	± 3.6	± 3.6
U_{osm}	602	540	532
mosm/kg H ₂ O	± 55	± 47	± 37
U_{el}	351	336	354
mosm NaCl/kg H ₂ O	± 10	± 8	± 13
U_{nel}	212	187	179
mosm/kg H ₂ O	± 42	± 45	± 38
C_{osm}	31.6	33.9	35.9
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 4.1	± 5.0	± 4.9
C_{el}	22.1	25.1	27.2
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 3.7	± 4.5	± 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
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 1.6	± 1.4	± 1.7
$T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{ce}}$	5.0	4.8	6.6
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 1.0	± 0.9	± 1.4
U_{Na}	122	108	106
mM	± 12	± 11	± 11
U_{Na}^{V}	2.2	2.4	2.3
$\mu\text{mol}/\text{min}$	± 0.4	± 0.5	± 0.5
RBF	7.5	7.9	7.7
ml/min	± 0.5	± 0.6	± 0.5
GFR	678	644	641
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 31	± 29	± 43
FF	15	14	15
%	± 1	± 2	± 2

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_{Na}^{V} - N = 9

Tabela 4. Zmiany czynności wydalniczej nerek w wyniku infuzji indometacyny (Ind), 10 mg/kg h (grupa II, wartości średnie \pm SE).

	KONTROLA	INFUZJA Ind
\dot{V} $\mu\text{l}/\text{min}$	9,6 $\pm 4,2$	7,5 $\pm 2,6$
U_{osm} $\text{mosm}/\text{kgH}_2\text{O}$	753 ± 155	886 ± 126
U_{Na} mM	100 ± 28	141 ± 34
U_{el} $\text{mosmNaCl}/\text{kg H}_2\text{O}$	447 ± 69	538* ± 81
U_{nel} mM	306 ± 104	348 ± 88
C_{osm} $\mu\text{l}/\text{min}$	23,6 $\pm 8,6$	21,6 $\pm 6,7$
C_{el} $\mu\text{l}/\text{min}$	17,6 $\pm 8,5$	16,2 $\pm 6,3$
$T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{C}}$ $\mu\text{l}/\text{min}$	14,0 $\pm 4,9$	14,1 $\pm 4,5$
$T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{Ce}}$ $\mu\text{l}/\text{min}$	8,0 $\pm 4,4$	8,7 $\pm 3,8$

N=6: * znamienne różne w stosunku do wartości z okresu kontrolnego; analiza statystyczna - test t-Studenta dla zmiennych połączonych $t=2,83$, $p < 0,05$

Tabela 5. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w wyniku infuzji indometacyny (Ind), 15 mg/kg h. (grupa III, wartości średnie \pm SE)

	KONTROLA	Czas infuzji Ind (min)			N	OCENA STATYSTYCZNA
		0-20	20-60			
\dot{V} $\mu\text{l}/\text{min}$	11,2 $\pm 2,8$	7,6* $\pm 1,5$	7,1 $\pm 2,8$	11	$t = 2,65 > t_{0,05} = 2,23$	
U_{osm} mosm/kg H ₂ O	815 ± 132	902 ± 133	1062* ± 160	10	$t = 2,91 > t_{0,02} = 2,82$	
U_{Na} mM	83 ± 11	105 ± 20	127* ± 16	6	$t = 2,62 \approx t_{0,05} = 2,57$	
U_{el} mosm NaCl/kg H ₂ O	428 ± 46	407 ± 29	-	7	NS	
U_{nel} mM	387 ± 102	486 ± 149	-	7	NS	
RBF ml/min	8,1 $\pm 0,7$	7,9 $\pm 0,7$	7,9 $\pm 0,7$	11	NS	
C_{in} $\mu\text{l}/\text{min}$	649 ± 43	602 ± 26	561 ± 32	10	NS	
RPF E_{in} $\mu\text{l}/\text{min}$	708 ± 58	696 ± 63	726 ± 130	7	NS	
FF %	13 ± 1	12 ± 1	12 ± 1	10	NS	
E_{in} %	15 ± 2	17 ± 2	16 ± 4	7	NS	
C_{osm} $\mu\text{l}/\text{min}$	28,4 $\pm 3,8$	21,4* $\pm 2,1$	20,7 $\pm 4,6$	9	$t = 4,69 > t_{0,01} = 3,36$	
C_{el} $\mu\text{l}/\text{min}$	17,7 $\pm 2,6$	11,3* $\pm 2,2$	-	7	$t = 3,24 > t_{0,02} = 3,14$	
$T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{C}}$ $\mu\text{l}/\text{min}$	16,2 $\pm 2,2$	13,2* $\pm 1,5$	12,8 $\pm 2,4$	9	$t = 3,62 > t_{0,02} = 3,36$	
$T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{ce}}$ $\mu\text{l}/\text{min}$	5,5 $\pm 0,9$	3,4* $\pm 0,6$	-	7	$t = 3,05 \approx t_{0,02} = 3,14$	
$T_{\text{H}_2\text{O}}^{\text{C}}/C_{\text{osm}}$ %	58 ± 6	62* ± 6	65 ± 6	9	$t = 2,83 > t_{0,05} = 2,31$	

t - wartości krytyczne testu t-Studenta dla zmiennych połączonych

* - znamienne różne w stosunku do wartości z okresu kontrolnego

NS - różnice nieistotne statystycznie

Tabela 6. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w wyniku infuzji indometacyny (IND) u szczurów otrzymujących dDAVP - podgrupa IVa: (Wartości średnie \pm SE, N = 5).

	dDAVP	dDAVP + IND	test t-Studenta	
			t	$t_{0.05}$
\dot{V} $\mu\text{l}/\text{min}$	15 $\pm 3,3$	23.3 $\pm 5,3$		NS
U_{osm} $\text{mosm}/\text{kg H}_2\text{O}$	758 ± 103	862 ± 110	4.78	> 2.78
C_{osm} $\mu\text{l}/\text{min}$	39.5 $\pm 7,5$	64.6 $\pm 9,6$	2.67	\approx 2.78
$T_{\text{H}_2\text{O}}^C$ $\mu\text{l}/\text{min}$	24.4 $\pm 5,0$	41.3 $\pm 5,4$	3.20	> 2.78
$T_{\text{H}_2\text{O}}^C/C_{\text{osm}}$ %	61.8 $\pm 4,3$	65.4 $\pm 3,9$	3.30	> 2.78
U_{Na} mM	135 $\pm 17,1$	202 $\pm 18,9$	6.39	> 2.78
$U_{\text{Na}} \dot{V}$ $\mu\text{mol}/\text{min}$	2.2 $\pm 0,6$	4.8 $\pm 1,1$	2.57	\approx 2.78
RBF ml/min	9.0 $\pm 0,3$	9.8 $\pm 0,8$		NS
GFR $\mu\text{l}/\text{min}$	687 ± 37	806 ± 32	6.58	> 2.78
FF %	12 $\pm 0,5$	11 $\pm 1,3$		NS

Okres infuzji dDAVP stanowi kontrolę dla okresu infuzji IND (15 mg/kg h).
Ocena statystyczna przeprowadzona za pomocą testu t-Studenta dla zmiennych
połączonych. NS - różnice nieistotne statystycznie

Tabela 7. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w wyniku infuzji indometacyny (IND) u szczurów otrzymujących dDAVP - podgrupa IVb: (Wartości średnie \pm SE. N = 5).

	dDAVP	dDAVP + IND	test t-Studenta	
			t	t _{0.05}
BP	114.6	113.0		
mm Hg	± 4.2	± 5.1		NS
V	25.2	39.0		
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 5.5	± 7.9		NS
U _{osm}	703	683		
mOsm/kg H ₂ O	± 62	± 110		NS
U _{el}	406	431		
mOsm NaCl/kg H ₂ O	± 26	± 31		NS
U _{nel}	279	252		
mOsm/kg H ₂ O	± 49	± 80		NS
C _{osm}	59.8	84.3		
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 10	± 11.8		NS
C _{el}	36.3	59.7		
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 6.3	± 10.9		NS
C _{nel}	694	751		
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 128	± 124		NS
T _{H₂O} ^C	34.6	45.1		
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 5	± 4		NS
T _{H₂O} ^C /C _{osm}	59.2	56.0		
%	± 3.5	± 5.0		NS
T _{H₂O} ^{ce}	11.1	20.4	3.63	> 2.78
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 1.3	± 3.3		
T _{H₂O} ^{ce} /C _{el}	32.4	36.4		
%	± 4.1	± 3.9		NS
U _{Na}	123	172	3.18	> 2.78
mM	± 16	± 14		
U _{Na} ^V	3.1	6.8	3.11	> 2.78
$\mu\text{mol}/\text{min}$	± 0.9	± 1.6		
RBF	9.8	9.6		
ml/min	± 0.8	± 0.8		NS
GFR	842	843		
$\mu\text{l}/\text{min}$	± 40	± 57		NS
FF	15	14		
%	± 1.0	± 1.7		NS

Okres infuzji dDAVP stanowi kontrolę dla okresu infuzji IND (15 mg/kg h).
Ocena statystyczna przeprowadzona za pomocą testu t-Studenta dla zmiennych
połączonych. NS - różnice nieistotne statystycznie

Tabela 8. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w wyniku infuzji meklofenamianu sodu (Me), 5 mg/kg h (grupa V, wartości średnie \pm SE)

	KONTROLA	Czas infuzji Me (min)		N	OCENA STATYSTYCZNA
		0-20	20-60		
\dot{V} $\mu\text{l}/\text{min}$	17.6 ± 2.4	30.5* ± 4.8	46.2* ± 9.1	10	F= 26.06 > F _{0.01} = 6.23
U _{osm} mosm/kg H ₂ O	616 ± 41	542* ± 57	535 ± 44	10	t= 2.30 > t _{0.05} = 2.26
U _{Na} mM	130 ± 11	130 ± 5.0	158* ± 12	9	t= 2.58 > t _{0.05} = 2.31
U _{el} mosm NaCl/kg H ₂ O	358 ± 18	335 ± 16	377 ± 22	8	NS
U _{nel} mM	221 ± 32	149* ± 30	144 ± 31	8	t= 4.11 > t _{0.01} = 3.50
RBF ml/min	6.7 ± 0.3	7.1 ± 0.3	7.4 ± 0.3	9	F= 20.00 > F _{0.01} = 6.51
GFR (C _{in}) $\mu\text{l}/\text{min}$	729 ± 62	740 ± 42	769 ± 79	10	NS
FF %	18 ± 1	18 ± 1	18 ± 2	9	NS
U _{Na} \dot{V} $\mu\text{mol}/\text{min}$	2.5 ± 0.6	3.8 ± 0.7	7.5 ± 1.6	8	F= 7.71 > F _{0.01} = 6.51
C _{osm} $\mu\text{l}/\text{min}$	37.6 ± 5.2	53.4 ± 6.7	80.2 ± 12.6	10	F= 6.85 > F _{0.01} = 6.01
C _{el} $\mu\text{l}/\text{min}$	25.4 ± 4.9	42.6 ± 7.1	66.8 ± 12.3	8	F= 18.19 > F _{0.01} = 6.51
T _{H₂O} ^C $\mu\text{l}/\text{min}$	19.9 ± 3.2	22.9 ± 3.5	34.1 ± 5.4	10	F= 14.17 > F _{0.01} = 6.01
T _{H₂O} ^{ce} $\mu\text{l}/\text{min}$	6.6 ± 2.1	8.3 ± 2.8	17.8 ± 3.8	8	F= 18.19 > F _{0.01} = 6.51
T _{H₂O} ^C /C _{osm} %	53 ± 3	42* ± 5	44 ± 4	10	t= 4.10 > t _{0.01} = 3.25
T _{H₂O} ^{ce} /C _{el} %	23 ± 4	18 ± 4	27 ± 4	8	NS

F - wartości krytyczne dla analizy wariancji powtarzanych pomiarów (repeat measurement ANOVA)

t - wartości krytyczne testu t-Studenta dla zmiennych połączonych

* - znamienne różne w stosunku do wartości z okresu kontrolnego

NS - różnice nieistotne statystycznie

Tabela 9. Zmiany czynności wydalniczej i hemodynamiki nerek w wyniku infuzji meklofenamianu sodu (Me), 15 mg/kg·h (grupa VI, wartości średnie ± SE).

	KONTROLA	Czas infuzji Me (min)		N	OCENA STATYSTYCZNA
		0-20	20-60		
V μl/min	17,6 ±2,4	30,5* ±4,8	46,2* ±9,1	10	F= 26.06 > F _{0,01} = 6.23
U _{osm} mosm/kg H ₂ O	616 ±41	542* ±57	535 ±44	10	t= 2.30 > t _{0,05} = 2.26
U _{Na} mM	130 ±11	130 ±5,0	158* ±12	9	t= 2.58 > t _{0,05} = 2.31
REF ml/min	6,7 ±0,3	7,1 ±0,3	7,4 ±0,3	9	F= 20.00 > F _{0,01} = 6.51
GFR μl/min	729 ±62	740 ±42	769 ±79	10	NS
FF %	18 ±1	18 ±1	18 ±2	9	NS
C _{osm} μl/min	37,6 ±5,2	53,4 ±6,7	80,2 ±12,6	10	F= 6.85 > F _{0,01} = 6.01
T _{H₂O} ^C μl/min	19,9 ±3,2	22,9 ±3,5	34,1 ±5,4	10	F= 14.17 > F _{0,01} = 6.01
C _{osm} /GFR %	3,7 ±0,4	4,8 ±0,5	5,1 ±1,0	7	F= 7.50 > F _{0,05} = 3.88
T _{H₂O} ^C /GFR %	2,1 ±0,2	2,7 ±0,2	3,3 ±0,4	7	F= 4.67 > F _{0,05} = 3.88
T _{H₂O} ^C /C _{osm} %	53 ±3	42* ±5	44 ±4	10	t= 4.10 > t _{0,01} = 3.25

F - wartości krytyczne dla analizy wariancji powtarzanych pomiarów (repeat measurement ANOVA)

t - wartości krytyczne testu t-Studenta dla zmiennych połączonych

* - znamienne różne w stosunku do wartości z okresu kontrolnego

NS - różnice niestotne statystycznie

Tabela 10. Porównanie przewodności standardowej (G_{st}) oraz stężeń substancji osmotycznie czynnych w skrawkach rdzenia nerki u szczurów z grupy kontrolnej i po infuzji indometacyny.

	KONTROLA	INDOMETACyna
G_{st}	3,22	4,64 *
$S \text{ cm}^{-1}$	$\pm 0,14$	$\pm 0,26$
$[Na^+]$	108	175 *
$\frac{\text{mmol}}{\text{kg mokrej tkanki}}$	± 6	± 10
$2 [Na^+ + K^+]$	345	510 *
$\frac{\text{mmol}}{\text{kg mokrej tkanki}}$	± 17	± 23
$[Osm_{EL}]$	333	510 *
$\frac{\text{mmol}}{\text{kg mokrej tkanki}}$	± 20	± 14
$[NIE-EL]$	321	327
$\frac{\text{mosm}}{\text{kg mokrej tkanki}}$	± 28	± 30

$[Na^+]$, $2[Na^+ + K^+]$ - stężenia jonów w skrawkach rdzenia (wypadkowe dla wszystkich przedziałów tkankowych łącznie)

$[Osm_{EL}]$, $[NIE-EL]$ - wypadkowe stężenia elektrolitów lub nieelektrolitów dla wszystkich przedziałów tkankowych łącznie

* - znamienne różne w stosunku do wartości z grupy kontrolnej. $p < 0,001$