

Kuopio, 1981

Kuopion Orvillanmistä ja Oulun Yhteiskoulun
Terveystieteiden Osaston ja Oulussa Keskisen Yhteiskoulun
Kivieron Tutkimuskeskuksen Tutkimustulokset

ADH: nimenomaan ja nimenomaan halasta kivieroksi tarttuvuus, III
osasto, joka on prosynglandin synteesiä

Terveystieteiden Osasto, Oulu, Keskisen Yhteiskoulu, Oulu, Kivieron

KÜLÖNLENYOMAT

A

Kísérletes Orvostudomány

C. FOLYÓIRATBÓL

ADH: nimenomaan ja nimenomaan halasta kivieroksi tarttuvuus, III osasto, joka on prosynglandin synteesiä. Keskisen Yhteiskoulu, Oulu, Kivieron Tutkimuskeskus. Kivieron Tutkimuskeskus, Oulu, Keskisen Yhteiskoulu, Oulu, Kivieron Tutkimuskeskus.

Az előbbi kísérletünk során megfigyeltük, hogy a PG-szintézis jelentősen csökken a kivierosított vizeletben. Ez a csökkenés a kivierosított vizeletben a PG-szintézis csökkenését okozhatja. A kivierosított vizeletben a PG-szintézis csökkenését okozhatja a kivierosított vizeletben a PG-szintézis csökkenését okozhatja. A kivierosított vizeletben a PG-szintézis csökkenését okozhatja a kivierosított vizeletben a PG-szintézis csökkenését okozhatja.

Az előbbi kísérletünk során megfigyeltük, hogy a PG-szintézis jelentősen csökken a kivierosított vizeletben. Ez a csökkenés a kivierosított vizeletben a PG-szintézis csökkenését okozhatja. A kivierosított vizeletben a PG-szintézis csökkenését okozhatja a kivierosított vizeletben a PG-szintézis csökkenését okozhatja.

Szegedi Orvostudományi Egyetem Gyermekklinika,
Turkui Egyetem Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Központi Laboratórium,
Farnos Ychtima Farmakológiai Laboratórium

ADH, indometacin és naproxen hatása kísérletesen fertőzött, ill. egészséges vese prosztoglandin szintézisére

TÚRI SÁNDOR, MARTTI PULKKINEN, HANNA LEENA KAIHOLA, LAURI KANGAS és LAURI NIEMINEN

Közlésre érkezett: 1980. február 12-én

Az E és A sorozatba tartozó prosztoglandinok (a továbbiakban PG) emberben és kísérleti állatokban fokozzák a Na- és vízürítést [9, 19, 20, 27]. A PGE₁ gátolja a vasopressin által történő adenilcikláz stimulációt és – mivel a ciklikus AMP ebben a mechanizmusban az ADH mediátora [8], – csökkenti a vízreabszorpciót [20]. Fülgraff és Meiforth [6] mikropunciók kísérletekkel kimutatták, hogy a PGE₂ a disztális kanyarulat csatornahámiban gátolja a Na a felszívódását. Ezek a hatások a PG-ok nem-hipotenzív adagjai esetén figyelhetők meg. Az artériás nyomást csökkentő dózisz PG-ok viszont anuriáig fokozódó antidiurézist idézhetnek elő [2]. A tenziót nem befolyásoló PG adagok mellett a glomeruláris filtráció változatlan, de fokozódik a vesén átáramló vér mennyisége és a PAH exkréciója [10]. Vander szerint a vizelet volumen növekedése inkább a csökkent Na reabszorpció következménye [27]. Mindenesetre valószínű, hogy – a gyűjtőcsatorna hámszövetekre irányuló ADH hatás gátlása mellett – a PG-ok vese vérátáramlást fokozó és nátriuretikus effektusa egyaránt fokozhatja a vízkiválasztást. Ezen többoldalú diuretikus hatás mellett a PGE₂ az ADH termelést stimulálja [7, 28].

A PGE₂, PGA₂ és PGF₂_{alfa} az emlős vese vasa recta, Henle kacs és gyűjtőcsatorna közötti intersticiális sejtekben szintetizálódik [16], bár Janszen és mtsai [11] kimutatták, hogy a gyűjtőcsatorna hámszövetek még nagyobb koncentrációban tartalmaznak PG-okat. A lebomlás főként a kéregállományban történik [18].

Anderson és mtsai altatott kutyákon kimutatták, hogy a PG szintézist gátló gyógyszerek potenciálják a vasopressin in vivo hydro-ozmotikus hatását [1]. Lum és mtsai megfigyelték, hogy az indometacin csökkenti a veseelőállomány PGE tartalmát. Ha a kísérleti állatok egyidejűleg ADH-t is kaptak, növekedett a medulláris szöveti ciklikus AMP koncentráció és a vizelet ozmolaritása [15]. Nemrégiben magunk is beszámoltunk arról, hogy mechanikus vesefertőzésben antibiotikus terápiával kombinálva az indometacin – specifikus immunválasz csökkentése mellett – már az első adag után a normál értékig fokozta a vese koncentráló képességét. Önállóan alkalmazva pedig 10 napos kezelés után szignifikáns javulást idézett elő [26]. Hasonlóan kedvező hatást értünk el a polyuria csökkentésében nephrogén diabetes insipidusos gyermekek indometacin terápiájával is [25].

Az előbbi gyógyszer számos ismert mellékhatása miatt jelen vizsgálatainkat egy újabb nem szteroid típusú gyulladáscsökkentőre, a naproxenra is kiterjesztettük. Anti-flogisztikus hatása az indometacinénál mérsékeltőbb és a szalicilátokénál erősebb [3]. A gyulladáscsökkentő és a PG szintézis gátló képesség között bizonyos fokú korreláció figyelhető meg [23, 24]. Az izomerek közül a jobbra forgató naproxen a hatékonyabb. A gyógyszer előnyei közé tartozik még, hogy az indometacinénál és a szalicilátokénál kevesebb mellékhatása van [3].

Kísérletünkben mechanikus vesefertőzés után ADH, indometacin és naproxen hatása alatt vizsgáltuk a vese PGE és PGF₂_{alfa} koncentráció változását, továbbá egészséges állatokon megfigyeltük az antidiuretikus hormon PG szintézist befolyásoló szerepét.

Anyag és módszerek

Vizsgálatainkat 40 db 200–250 g súlyú Sprague–Dawley nőstény patkányon végeztük. Közülük 28 állaton idéztünk elő vesefertőzést. A kórokozó $7,4 \times 10^{12}$ /l E.coli baktérium tenyészet volt, amelyből 160–160 μ l-t aether narkózisban medián laparotómiából feltárt mindkét vese alsó pólusába a kéreg és a velőállomány határára injiciáltunk. A fertőzés után a műtési sebet zártuk. Az infekció utáni 5. napon a fenti állatokból és a 12 nem fertőzött kontrolltól vizeletmintát vettünk, amelyből standard kacs technikával [21] csírszám meghatározás történt. Az állatokat ezután 6 csoportba osztottuk. Az I., II., III. és V. csoportba tartozók esetében koncentrálnálási próbát végeztünk, amelynek kivitele a következő volt: 5ml/100 g per os vízterhelés után 1 μ g/100g ADH-t (DDAVP, 1 Deamino – 8 – D – arginin – vasopressin, Minirin Ferring AB) adtunk ip. Ezt követően 4 órás periódus alatt vizeletmintákat gyűjtöttünk, amelyeknek az ozmolaritását Wescor típusú gőznyomás ozmométerrel határoztuk meg. A IV. és VI. csoportban – ADH adás nélkül – csak vízterhelés történt, és megmértük az ezt követően 4 óra alatt gyűjtött vizeletminták ozmolaritását is. Az állatok csoportok szerinti beosztása a következő volt:

Fertőzött csoportok:

I. csoport:ADH és 2 mg/kg per os indometacin kezelés a fertőzés utáni 5. napon: 8 állat.

II. csoport: ADH és 30 mg/kg per os naproxen terápia az előző csoportnak megfelelő időpontban: 8 állat.

III. csoport: ADH és per os állekezés az I. csoportnak megfelelő időpontban: 6 állat.

IV. csoport.: az 5. napon csak állekezésben részesült 6 fertőzött állat.

Nem fertőzött csoportok:

V. csoport: ADH kezelés 6 állat

VI. csoport: kezelés nélküli 6 kontroll állat.

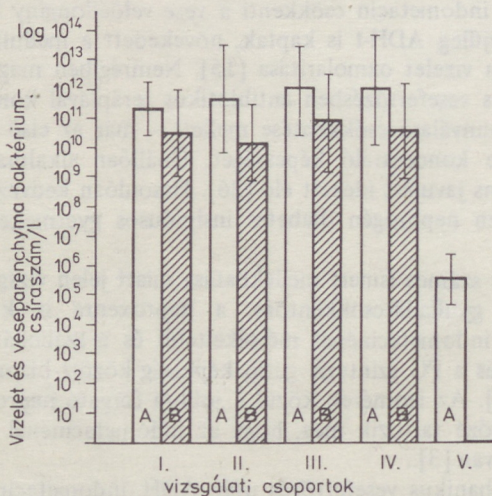
A gyógyszeres kezelés és az azt követő vizeletgyűjtés után mind a 40 patkányt éterrel túllalttunk, és a veséiket a kontamináció kerülésével eltávolítottuk. A jobb oldali veséket 1ml steril bouillont tartalmazó Potter csőben 0 °C hőmérsékleten homogenizáltuk, majd *Collins* leírása szejnt [5] meghatároztuk a vesék baktérium csírszámát.

A baloldali vesékből *Charbonnel* és *mtsai* [4] radioimmunoassay módszere szerint PGE és PGF₂ alfa meghatározás történt, ezért az anyagot eltávolítás után azonnal szénsavhóba tettük, és a vizsgálatig –60 °C-on tároltuk. A PG szint mérések az egész vese előzetes homogenizálása után a veseszövet átlagos PGE és PGF₂ alfa koncentrációját határoztuk meg.

A csoportok renális PGE és PGF₂ alfa, vizelet ozmolaritás, vese és vizelet baktérium csírszám értékeit 2 mintás t próbával hasonlítottuk össze.

Eredmények

Az I–V. vizsgálati csoport átlagos vizelet ill. vese baktérium csírszámát valamint a törést az 1. ábrán tüntettük fel. Amíg a nem fertőzött állatok értékei a fertőzöttekétől



1. ábra. Az I–V. vizsgálati csoport átlagos vese- és vizelet baktérium csírszáma.

Jelmagyarázat: A: vizelet csírszám B: vese baktérium csírszám

egyértelműen elkülöníthetők voltak ($p \leq 0,001$), az utóbbi csoportok eredményei között nem lehetett szignifikáns eltérést kimutatni. (1. ábra)

A vese PGE-, $\text{PGF}_{2\alpha}$ koncentrációjának és a vizelet ozmolaritásának csoportonkénti átlagértékeit és a szórásokat az I. táblázatban foglaltuk össze. A 2 mintás t-próba alapján az ADH-val kezelt nem fertőzött állatok (V. csoport) renális PGE és $\text{PGF}_{2\alpha}$ koncentrációja és a vizelet ozmolaritása szignifikánsan magasabb volt, mint a kezeletleneké (VI. csoport): $p \leq 0,001$. A fertőzés szintén jelentős fokú PG-produkciót idézett elő. A IV. és a VI. csoport között is jelentős különbséget észleltünk: $p < 0,01$, ugyanakkor ADH hiányában az átlagos vizeletkoncentrációk nem tértek el lényegesen egymástól. Az infekcióban szenvedő patkányok renális PG értékeit a vasopressin már csak kismértékben befolyásolta ($p > 0,5$), viszont az utóbbi csoport vizelet koncentrációja szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,001$). A csak ADH-val kezelt, ill. gyógyszer nélkül hagyott fertőzött állatok értékeivel összehasonlítva az indometacin (I. csoport) mellett a naproxen (II. csoport) is hatásos PG-antagonistának bizonyult: a p mindkét esetben $< 0,001$, sőt a II. csoport PGE koncentrációja még az indometacin terápiában részesülteknél is alacsonyabb volt ($p < 0,01$). A vizelet ozmolaritás eredmények vonatkozásában az I., II. és III. csoport között szignifikáns különbséget nem észleltünk, viszont mindhárom csoport értékei jelentősen eltértek egyrészt a gyógyszeresen nem befolyásolt fertőzött (IV. csoport), a kontroll (VI. csoport), másrészt az ADH-val kezelt (V. csoport) egészséges állatok eredményeitől: $p < 0,001$. (I. táblázat)

I. táblázat

A vizsgálati csoportok vese posztglándin E-, $F_{2\alpha}$ ill. vizelet ozmolaritás értékeinek átlaga és a szórás

	Fertőzött				Nem fertőzött	
	I. ind. + ADH	II. napr. + ADH	III. ADH	IV. –	V. ADH	VI. –
PGE	3,23	2,05	7,03	7,81	6,20	3,70
ng/g veseszövet	$\pm 0,78$	$\pm 0,55$	$\pm 2,27$	$\pm 1,25$	$\pm 1,50$	$\pm 1,23$
$\text{PGF}_{2\alpha}$	1,05	2,30	12,87	11,97	14,93	9,13
ng/g veseszövet	$\pm 0,38$	$\pm 0,69$	$\pm 2,70$	$\pm 0,72$	$\pm 2,81$	$\pm 1,17$
vizelet ozmolaritás	886	830	836	235	2417	244
mOsm/kg H_2O	± 66	± 41	± 38	± 46	± 97	± 32

Rövidítések: ind: indometacin; apr: naproxen

Megbeszélés

Korábbi kísérletünkben kimutattuk, hogy pyelonephritisben a PG-inhibitor indometacin optimális hatásának feltétele, hogy az antibiotikus kezeléshez kapcsolódva a veseparenchyma csírászám minimálisra csökkenése után kezdjük el [26]. Jelen munkánkban azonban a gyulladáscsökkentők és az ADH renális PG-ok koncentráció-változására kifejtett hatását egyéb gyógyszerek által nem befolyásolt, csupán a szervezet saját antibakteriális mechanizmusai által védett veseszöveten kívántuk tanulmányozni. Ezért az állatok antibiotikumot nem kaptak. A mechanikus fertőzés okozta súlyos szövetkárosodás miatt azonban – korábbi megfigyelésünknek megfelelően [26] – egyetlen adag indometacin, ill. naproxen, bár a PG-szint szignifikánsan csökkent, még ADH-jelenlétében sem javította számottevően a koncentráció-képességet. Eredményeink ebben a vonatkozásban ellentmondanak Levison és mtsa megfigyeléseinek.

Az általunk alkalmazott direkt fertőzés azonban a baktérium szuszpenzió vénás injekciójánál sokkal súlyosabb károsodást idézett elő, amelynek regenerációjára hosszabb időre lett volna szükség. Lum és mtsai közleménye alapján [15] valószínűnek látszik, hogy a PG szintézis gátlása révén előidézett vasopressin szinergista effektus háttérben közvetlen tubuláris hatás is lehet. Ezt látszanak bizonyítani Newcombe és mtsai [17] eredményei is, amelyek szerint az in vitro alkalmazott nagy dózisú indometacin a PG – vasopressin kölcsönhatástól függetlenül is fokozni képes a ciklikus AMP aktivitását.

Lum és mtsai [15] az indometacin hatására változó PGE koncentrációját szelektíve a vese velőállományából határozták meg. Larsson és mtsa [13] viszont kimutatták, hogy a vese eltávolítása után a papilla disszekciója közben is jelentősen nő a PG-ok koncentrációja. Ennek elkerülése kísérletünkben az állatokból kivett veséket azonnal lefagyasztottuk és a vizsgálatok az egész veséből történtek.

Infekciós módszerünkkel létrejött kórkép nem tekinthető a pyelonephritis valódi modelljének, mégis a vesék átlagos PGE és $\text{PGF}_{2\alpha}$ koncentrációja vonatkozásában a fertőzött és nem fertőzött szervek között szignifikáns különbséget találtunk. Az indometacin mellett a naproxen is hatásos PG inhibitornak bizonyult, sőt Tomlinson és mtsai [24] bika vesicula seminális mikroszomális enzimrendszerén végzett megfigyeléseivel szemben, ez a PGE esetében még az indometacinénál is erősebb volt. A naproxen optimális adagjának megválasztására, a tartós kezelés hatásának felmérésére további vizsgálatokra van szükség. Eddigi eredményeink alapján azonban indokoltnak látszik a naproxen kezelés tanulmányozása nephrogen diabetes insipidusban, valamint – célzott antibiotikus terápiával kombinálva – krónikus pyelonephritisen is.

A nem fertőzött csoportban a vasopressinre bekövetkezett renális PG szint emelkedést Kalisker és mtsa [12] megfigyelésével összhangban levőnek találtuk. Az ADH fenti hatásának dózisfüggőségét bizonyítja azonban, hogy Ottlecz és mtsai [22] tengerimalac- vese mikroszomális frakciójában lysin- és arginin-vasopressinnel PG szint csökkenést értek el. Ennek alapján feltételezzük, hogy az ADH koncentrációjától függően a PG-ok metabolikus modulátoraként szerepel, amely a vízreabszorpció szabályozásában egy önregulációs mechanizmus lehetőségét veti fel.

Összefoglalás

A szerzők Sprague-Dawley nőstény patkányokon medián laparotómiában kétoldali mechanikus vesefertőzést idéztek elő. Kontrollokkal összehasonlítva indometacin, naproxen és ADH kezelés után vizsgálták a vese prosztaglandin E- és $\text{F}_{2\alpha}$ koncentrációjának változását a vizelet és veseparenchyma baktérium csíraszám, ill. a vese koncentráló képesség értékeinek követése mellett. Eredményeik alapján az indometacinhoz hasonlóan a naproxen is hatásos prosztaglandin szintézis gátlónak bizonyult. Kontroll állatokon megfigyelték, hogy az ADH – az általuk alkalmazott dózisban – fokozta a prosztaglandin E és $\text{F}_{2\alpha}$ intrarenális szintézisét. Ennek alapján feltételezik, hogy az ADH koncentrációjától függően a PG-ok metabolikus modulátoraként szerepel, amely a vízreabszorpció szabályozásában egy önregulációs mechanizmus lehetőségét veti fel.

IRODALOM: 1. Anderson, R. J., Berl, T., McDonald, K. M., Schrier, R. W.: J. Clin. Invest. 56, 420 (1975). – 2. Barac, G.: C. R. Soc. Biol. (Párizs) 166, 221 (1972). – 3. Barnes, G. G., Goodman, H. V., Eade, A. W. T., Misra, H. N., Cochrane, G. M., Clarke, A. K., Stoppard, M.: J. Clin. Pharmacol. 15, 347 (1975). – 4. Charbonnel, B., Soubrier, A., Dray, F.: Ann. Endocrinol. 34, 722 (1973). – 5. Collins, C. H.: Microbiological Methods. Butterworth, London 1967. – 6. Fülgraff, G., Meiforth, A.: Pflügers Arch. ges. Physiol. 330, 243 (1971). – 7. Gagnon, D. J., Cousineau, D., Boucher, P. J.: Life Sci. 12, 487 (1973). – 8. Handler, J. S., Orloff, J.: The mechanism of action of antidiuretic hormone. In Handbook of Physiology. Renal Physiology. Am. Physiol. Soc. Washington, D. C. 1973. – 9. Herzog, J. P., Johnston, H. H., Lauler, D. P.: Effect of prostaglandins E_1 , E_2 and A_1 on renal hemodynamics sodium and water excretion in the dog, Prostaglandin Symposium of the Worcester Foundation for Exp. Biol. Eds. Ramwell, P. V., Shaw, J. E., New York Interscience 1968. – 10. Horton, E. W.:

Prostaglandins XI. Urinary System. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1972. — 11. Janszen, F. H., Nugteren, D. H.: *Histochemistry* 27, 159 (1971). — 12. Kalisker, A., Dyer, D. C.: *Eur. J. Pharmacol.* 19, 305 (1972). — 13. Larsson, C., Anggarg, E.: *Eur. J. Pharmacol.* 21, 30 (1973). — 14. Levison, S. P., Levison, M. E.: *J. Lab. Clin. Med.* 88, 958 (1976). — 15. Lum, G. M., Aisenbrey, G. A., Dunn, M. J., Berl, T., Schrier, R. W., McDonald, K. M.: *J. Clin. Invest.* 59, 8 (1977). — 16. Muirhead, E. E., Germain, G., Leach, B. E., Pitcock, S. A., Stephenson, P., Brooks, B., Brosius, W. L., Daniels, E. C., Hinman, J. W.: *Circulation Res.* 31, (Supl. 2) 161 (1972). — 17. Newcombe, D. S., Thanassi, N. M., Ciosek, C. P. Jr.: *Life Sci.* 14, 505 (1974). — 18. Nissen, H. M., Andersen, H.: *Histochimie* 14, 189 (1968). — 19. Orloff, J., Grantham, J.: The effect of prostaglandin (PGE₁) on the permeability response of rabbit collecting tubules to vasopressin. Nobel Symposium 2, Prostaglandins Eds. Bergström S., Samuelsson. Stockholm. Almqvist and Wiksell 1967. — 20. Orloff, J., Handler, J. S., Bergström, S.: *Nature (Lond.)* 205, 397 (1965). — 21. O'Sullivan, D. J., Fitzgerald, M. G., Meynell, M. J., Malins, J. M.: *J. Clin. Path.* 13, 527 (1960). — 22. Otlecz, A., Gecse, Á., Telegdy, G.: Oxytocin and vasopressin as modulators of prostaglandin metabolism. Third International Symposium on Prostaglandins and Thromboxanes. Halle 1980. — 23. Takeguchi, C., Sih, C. J.: *Prostaglandins* 2, 169 (1972). — 24. Tomlinson, R. V., Ringold, H. J., Qureshi, M. C., Forchielli, E.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 46, 552 (1972). — 25. Turi, S., László, A., Mértz, I.: *Orv. Hetil.* 121, 337 (1980). — 26. Turi, S., Sallai, J., Farkas, E., Petheő, G.: *Kisérlet. Orvostud.* 32, 40 (1980). — 27. Vander, A. J.: *Amer. J. Physiol.* 214, 218 (1968). — 28. Vilhardt, H., Hedqvist, P.: *Life Sci.* 9, 825 (1970). —

Тури Шандор, Мартти Пулккинен, Ханна Леена Каихола, Лаури Кангас, Лаури Ниёминен: Влияние АДГ, индометацина и напроксена на синтез простагландина в здоровой и экспериментально инфицированной почке

У самок мышей линии Sprague—Dawley авторы вызывали механическое заражение обеих почек при срединной лапаротомии. Сравнивая с контрольными животными, определяли изменение концентрации простагландинов E₁ и F₂-альфа в почке после применения индометацина, напроксена и АДГ, наряду с подсчетом бактериальных зародышей в моче и почечной паренхиме и прослеживанием значений концентрирующей способности почек. Как показывают полученные результаты, напроксен — подобно индометацину — оказался эффективным ингибитором синтеза простагландинов. У контрольных животных наблюдали усиление интратрениального синтеза простагландинов E₁ и F₂-альфа под воздействием АДГ. На основании полученных результатов авторы предполагают, что простагландины могут играть роль в качестве регуляторов антидиуретического гормона на основе механизма обратной связи.

S. Turi, M. Pulkkinen, H. K. Kaihola, L. Kangas und L. Nieminen: *Über die Wirkung von ADH, Indomethacin und Naproxen auf die Prostaglandinsynthese experimentell infizierter bzw. gesunder Nieren*

An Sprague-Dawley weiblichen Ratten wurde in Medianlaparatomie zweiseitige mechanische Niereninfektion zustandegebracht. Mit Kontrolltieren verglichen wurde nach Indomethacin-, Naproxen- und ADH-Behandlung die Änderung der Prostaglandin E₁ und F₂alpha Konzentration, die Bakterienkeimzahl der Niere und des Nierenparenchyms sowie die Konzentrationsfähigkeit der Niere untersucht. Aufgrund der Ergebnisse erwies sich dem Indomethacin ähnlich auch das Naproxen als wirksame Hemmsubstanz der Prostaglandinsynthese. An Kontrolltieren wurde beobachtet, dass das ADH die intrarenale Synthese des Prostaglandin E₁ und F₂alpha steigert. Es wird angenommen, dass die Prostaglandine feed back Regulatoren des antidiuretischen Hormons sein können.