

**ACȚIUNEA DOZELOR MICI DE HORMON ANTIDIURETIC (H.A.D.)  
ASUPRA CURENTULUI DE SCURT-CIRCUIT (S.C.C.)  
ȘI A DIFERENȚEI DE POTENȚIAL (P.D.)  
DIN VEZICA URINARĂ DE BUFO MARINUS**

I. Nicolaescu

H.A.D. (tip Pitressin, Parke-Davis Co) este cunoscut pentru acțiunea pe care o exercită asupra barierei de permeabilitate a vezicii urinare pentru Na dinspre partea mucosală spre cea serosală, ducînd la o creștere de circa 2—3 ori a transportului de Na și o reabsorbție a apei dinspre partea urinară a vezicii (15).

Efectul hormonului antidiuretic asupra transportului apei și a sodiului are loc la (sau lingă) suprafața apicală a stratului celulelor mucoale. *Lichtenstein* și *Leaf* (17, 18) au avansat ideea existenței unei duble bariere la suprafața apicală: o barieră de difuziune fină, permeabilă pentru apă, dar relativ impermeabilă pentru particulele mici și o barieră poroasă mai profundă asupra căreia își exercită acțiunea H.A.D. Această barieră poroasă este obstacolul major pentru deplasarea apei. H.A.D. face să-i crească permeabilitatea față de apă. De asemenea H.A.D. acționează asupra barierei dense de difuzie ce acoperă bariera poroasă, făcînd să-i crească permeabilitatea pentru Na și uree.

Utilizarea vezicii urinare de broască „*Bufo marinus*” prezintă avantajul că generează un potențial electric spontan, cu suprafața mucosală sau urinară electric negativă în raport cu cea serosală. Avînd mediu de aceeași compoziție de o parte și cealaltă a membranei se obțin frecvent diferențe de potențial de 20—50 mV, deși s-au atins și valori de 120 mV (14).

*Material și metodă*

Am folosit metoda lui *Ussing* și *Zerah*n (27), utilizînd camere cu suprafață mare: 7,21 cm<sup>2</sup> și cite 20 ml soluție *Ringer* de fiecare parte a vezicii urinare montată ca membrană separatoare. pH-ul a fost cuprins între 7,85—7,95. Broaștele erau de origine columbiană, procurate comercial de la *Pet Farm* (Miami).

*Rezultate și discuții*

Utilizînd H.A.D. (*Pitressin*, *Parke-Davis Co*, 10 unit./0,5 ml) în doze de 50—400  $\lambda$ /20 ml, adică 0,05—0,4 unit./ml, am obținut rezultate comparabile cu cele citate în literatura de specialitate (15, 1, 13, 24, 25).

Acțiunea se manifestă doar în cazul cînd H.A.D. este adăugat în partea serosală a vezicii, în partea mucosală neavînd nici un efect.

Am urmărit efectul pe care îl produc doze mici de H.A.D., cuprinse între 0,1—1 $\lambda$ , adică între 0,0002—0,002 unit./ml, asupra SCC și P.D. Tabelul alăturat relevă modul în care valorile SCC și P.D. variază la diferite intervale de timp, față de valorile inițiale (condiții de „*Steady state*”).

N <sub>exp</sub> - 8			N <sub>exp</sub> - 9			N <sub>exp</sub> - 4		
RĂSPUNSUL LA 0,12 HAD (0,0002 u/ml)			RĂSPUNSUL LA 0,25 HAD (0,0005 u/ml)			RĂSPUNSUL LA 0,50 HAD (0,001 u/ml)		
TIMPUL	SCC <sub>1</sub> SCC <sub>2</sub>	PD <sub>1</sub> PD <sub>2</sub>	TIMPUL	SCC <sub>1</sub> SCC <sub>2</sub>	PD <sub>1</sub> PD <sub>2</sub>	TIMPUL	SCC <sub>1</sub> SCC <sub>2</sub>	PD <sub>1</sub> PD <sub>2</sub>
5'	142 142	129 129	5'	1,44 1,44	1,27 1,27	5'	1,53 1,53	1,48 1,48
10'	179 179	153 153	10'	1,94 1,94	1,79 1,79	10'	2,05 2,05	1,77 1,77
15'	195 195	161 161	15'	2,08 2,08	1,88 1,88	15'	2,14 2,14	1,91 1,91
20'	196 196	159 159	20'	2,06 2,06	1,90 1,90	20'	2,10 2,10	1,89 1,89
25'	187 187	156 156	25'	1,98 1,98	1,82 1,82	25'	2,01 2,01	1,82 1,82
30'	179 179	152 152	30'	1,88 1,88	1,75 1,75	30'	1,94 1,94	1,79 1,79

  

N <sub>exp</sub> - 4			N <sub>exp</sub> - 6		
RĂSPUNSUL LA 0,75 HAD (0,0015 u/ml)			RĂSPUNSUL LA 1 HAD (0,002 u/ml)		
TIMPUL	SCC <sub>1</sub> SCC <sub>2</sub>	PD <sub>1</sub> PD <sub>2</sub>	TIMPUL	SCC <sub>1</sub> SCC <sub>2</sub>	PD <sub>1</sub> PD <sub>2</sub>
5'	164 164	151 151	5'	183 183	163 163
10'	2,28 2,28	1,92 1,92	10'	2,46 2,46	1,97 1,97
15'	2,32 2,32	1,96 1,96	15'	2,32 2,32	1,87 1,87
20'	2,29 2,29	1,82 1,82	20'	2,09 2,09	1,78 1,78
25'	2,07 2,07	1,79 1,79	25'	1,95 1,95	1,72 1,72
30'	1,95 1,95	1,74 1,74	30'	1,85 1,85	1,63 1,63

Rezultatele arată că H.A.D. chiar în doze foarte mici, stimulează transportul de Na (exprimat prin SCC), iar mărirea dozei în intervalul ales nu produce diferențe apreciable. Efectul maxim al H.A.D. se manifestă după 15 minute. Ridicarea concentrației de Ca din soluția Ringer n-a exercitat nici un efect asupra modului în care H.A.D. acționează asupra transportului de Na.

Cercetări anterioare (23) au dovedit că la concentrații mici de H.A.D., mărirea concentrației de Ca reduce efectul H.A.D. asupra creșterii fluxului apei determinat de un gradient osmotic și amplifică coeficientul de permeabilitate a ureei.

Din aceste rezultate reiese că prezența Ca poate disocia efectul H.A.D. asupra mișcării apei și a ureei de cel asupra transportului de Na.

Aceste rezultate indică de asemenea că deplasarea sodiului și a ureei sint controlate în locuri diferite la nivelul membranei, ceea ce este în contradicție cu teoria lui Lichtenstein și Leaf.

Sosit la redacție: 15 februarie 1975.

#### Bibliografie

1. Bentley P. J.: J. Endocr. (1953), 17, 201; 2. Bentley P. J.: J. Endocr. (1960), 21, 161; 3. Bentley P. J.: J. Pharmac. Exp. Terap. (1972), 181 (1), 155; 4. Cerejido M., Rotuno C. A., cap. 3 in: „Introduction to the study of biological membranes“ (1970), Gordon and Breach, Science Publishers; 5. Chowdhury T. K.: Fed. Proceed. (1972), 31 (2), 228; 6. Civan M. M., Frazier H. S.: J. Gen. Physiol. (1968), 51, 589; 7. Civan M. M., Kedem O., Leaf A.: Am. J. Physiol. (1966), 211, 569; 8. Di Bona D. R., Civan M. M., Leaf A.: J. Membr. Biol. (1969), 1, 79; 9. Di Bona D. R., Civan M.

M., Leaf A.: J. Cell. Biol. (1969), 40, 1; 10. Frazier H. S., Dempsey E. F., Leaf A.: J. Gen. Physiol. (1962), 45, 529; 11. Ginetzinsky A. G.: Nature (1961), 189, 236; 12. Handler J. S., Preston A. S., Orloff J.: Am. J. Physiol. (1972), 222 (5), 1071; 13. Kotyk A., Janáček K.: in „Cell Membrane Transport“, Plenum Press, 1970; 14. Leaf A.: Proc. 3rd Int. Cong. Biochem. Section 12—4, Brussels, 1955; 15. Leaf A.: Ergeb. Physiol. Biol. Chem. Exptl. Pharmacol. (1965), 56, 216; 16. Leaf A., Hays R. M.: J. Gen. Physiol. (1962), 45, 921; 17. Lichtenstein N. S., Leaf A.: J. Clin. Invest. (1965), 44, 1328; 18. Lichtenstein N. S., Leaf A.: Ann. N. Y. Acad. Sci (1966), 137, 556; 19. Macknight A.D.C., Leaf A., Civan M. M.: J. Membr. Biol. (1971), 6, 127; 20. Mendoza S. A.: Am. J. Physiol. (1972), 223 (1), 120; 21. Nash F. D.: Fed. Proceed. (1971), 30 (4), 1376; 22. Nicolaescu I.: pers. comunic. Rad. Phys. Dpt., St. Louis, Mo (1972); 23. Petersen M. J., Edelman I. S.: J. Clin. Invest. (1964), 43, 583; 24. Sharp G. W. G.: cap. 5 in „Transport and Accumulation in Biological Systems“ (de Harris E. J.), Butterworths London University Park Press Baltimore (1972); 25. Stein W. D.: in „The Movement of Molecules across Cell Membranes“, Academic Press, 1967; 26. Sawyer W. H.: Pharm. Reviews (1961), 13, 225; 27. Ussing H. H., Zerahn K.: Acta Physiol. Scand. (1951), 23, 110; 28. Yonath J., Civan M. M.: J. Membr. Biol. (1971), 5, 366;

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Intézet, Élettani Laboratórium  
(vezető: dr. Szabó István egyetemi tanár, docens-doktor).  
Klinikai Biokémiai Laboratórium (vezető: dr. Módy Jenő egyetemi előadótanár,  
az orvostudományok doktora)

## A HAJSZÁLÉRFAL ÁTERESZTŐKÉPESSÉGÉNEK VIZSGÁLATA ENDOGEN FEHÉRJÉKKEL

dr. László J., dr. Dandel M., dr. Módy J., dr. Szabó I.

Pappenheimer (10), Grotte (3), Mayerson (6), Renkin (12) és mások vizsgálatai alapján feltételezhető, hogy a hajszálerek falán számos 33—45 Å sugarú pórus és kis számú 200 Å-nél nagyobb sugarú nyílás van, melyeken az anyagok molekuláris szűrés, ill. gátolt diffúzió révén hatolnak át. Egyes megfigyelések (1, 11) arra engednek következtetni, hogy a transzcipilláris protein vándorlásban a gátolt diffúzió kivül más mechanizmus is közrejátszik. Palade (9) kimutatta, hogy az endothelsejtek cytoplasmájában 500—600 Å átmérőjű hólyagocskák vannak, melyeknek Simionescu mts. (14) szerint szerepük van a fehérjék transzcipilláris vándorlásában. A vesiculáris transzport (cytopempsis) aktív transzportnak felel meg.

A hajszálérfal áteresztőképességére vonatkozó vizsgálatok többségét idegen anyagok, ill. jelzett fehérjék alkalmazásával végezték. Az élettani viszonyok jobb megközelítése céljából kísérleteinkben endogen serum-fehérjéknek a vér és nyirok közötti megoszlását tanulmányoztuk.

## Anyag és módszer

Kísérleteinket 22 kutyán végeztük. A chloraloseval altatott állatoknál kiperaráltuk egyik truncus cervicalist, valamint a ductus thoracicus nyaki szakaszát s a nyirokerekbe kanült vezetünk. A nyirokban és a kísérlet alatt vett vér savójában meghatároztuk az összfehérje szintet refraktométerrel, ill. Lowry módszerével, továbbá agarose-gél elektroforézist végeztünk. A fehérjefrakciókat g/100 ml-ben fejeztük ki. A permeabilitás jellemzésére a lymphá és serumfehérjék koncentrációjának hányadosát (L/S) alkalmaztuk. Az eredményeket a Student-féle „t” teszttel értékeltük, továbbá korrelációs koefficienst és regressziós egyenletet számítottunk.

## Eredmények

Gélelektroforézissel a vérben és nyirokban 6 fehérjefrakciót nyertünk. Mindegyik frakció töménysége kisebb a nyirokban, mint a vérsavóban, a különbségek erősen szignifikánsak (1. táblázat). A ductus thoracicus nyirok fehérjetartalma nagyobb, mint a ductus cervicalisé.

1. táblázat

A vérsavó (S), ductus thoracicus lymphá (TL) és truncus cervicalis lymphá (CL) fehérjetartalma (n = 22)

	Protein koncentráció g/100 ml. Átlag és standard deviáció			L/S átlagok		TL/S és CL/S közötti különbség szignifikanciája	
	Serum	TL	CL	TL/S	CL/S	t	P
Összprot.	6,40±0,74	4,51±0,80	3,38±0,34	0,70±0,07	0,53±0,045	7,90	< 0,001
Alb.	2,15±0,46	1,66±0,48	1,35±0,18	0,77±0,12	0,64±0,10	3,49	< 0,01
Alfa <sub>1</sub>	0,35±0,21	0,15±0,07	0,10±0,05	0,52±0,26	0,37±0,20	3,19	< 0,01
Alfa <sub>2</sub>	0,99±0,28	0,51±0,19	0,43±0,13	0,53±0,18	0,47±0,21	2,10	< 0,05
Beta <sub>1</sub>	0,73±0,31	0,58±0,24	0,35±0,14	0,80±0,21	0,54±0,20	6,22	< 0,001
Beta <sub>2</sub>	1,33±0,41	1,01±0,27	0,71±0,20	0,78±0,19	0,53±0,11	5,75	< 0,001
Gamma	0,85±0,43	0,59±0,27	0,43±0,22	0,74±0,18	0,52±0,16	4,90	< 0,001

A ductus thoracicus lymphá és serum protein koncentrációnak hányadosa nagyobb az albumin és a beta-globulinok, legkisebb az alfa-frakciók esetében. A cervicalis nyirok és serumfehérjék mennyiségének hányadosa legnagyobb az albumin esetében, majd csökkenő sorrendben a beta<sub>1</sub>-, beta<sub>2</sub>-, gamma-, alfa<sub>2</sub>- és alfa<sub>1</sub>-globulinok L/S értékei következnek (1. táblázat).

A serum és nyirok fehérjetartalma között szignifikáns pozitív korrelációt találtunk az albumin, a beta<sub>1</sub>-, beta<sub>2</sub>- és gamma-globulinok esetében.

## Az eredmények megbeszélése

A cervicalis lymphá és serum protein koncentrációk hányadosát összevetve az egyes frakciókban domináló fehérjék molekulásúlyával (ms) a következő összefüggéseket állapítottuk meg: a cervicalis nyirok esetében az L/S hányadosa legnagyobb az albuminoknak (ms: 69.000) és a túlnyomóan transferrint (ms: 90.000) és hemopexint (ms: 80.000) tartalmazó beta<sub>1</sub>-globulinok; következnek a mintegy 90% IgG-t (ms: 155.000) tartalmazó gamma-globulin, míg a főleg alfa<sub>1</sub>-makroglobulinból (ms: 820.000) álló alfa<sub>1</sub>-globulin frakció L/S értéke alacsony. A felsorolt frakciók esetében tehát összefüggés észlelhető az L/S érték és az ms között. Kivételt képez az alfa<sub>1</sub>-globulin, melyben savas alfa<sub>1</sub>-glikoprotein (orosomucoid, ms: 44.000) és antitripszin (ms: 55.000) található, ugyanis a frakció L/S értéke igen alacsony.

Eredményeink egybehangzanak előző megállapításainkkal (2, 4, 5, 7, 8, 15, 16) és megerősítik azt a nézetet, mely szerint a fehérjék molekulásúlyukkal fordított arányban hatolnak át a capillaris-falon az interstitiumba, s innen a nyirokba, tehát a hajszálerek falán át gátolt fehérjeszűrés történik (3, 6, 10, 12, 13).

Az alfa<sub>1</sub>-globulinok eltérő viselkedése, amit emberen végzett vizsgálatok során is észleltünk (15), arra enged következtetni, hogy transcapillaris vándorlásokban a molekularis szűrés mellett más mechanizmusok is részt vesznek.

### Következtetések

A lymphá és serum fehérjefrakciók koncentrációjának hányadosa fordítottan arányos az egyes frakciókban levő fehérjék molekulásúlyával, ami a fehérjéknek a hajszálérfalon át végbemenő gátolt diffuzióját bizonyítja. Az alfa<sub>1</sub>-globulinok viselkedése eltér a többi frakciótól.

A szerkesztőségbe érkezett: 1975. szeptember 15-én.

### Irodalom

1. Chien S., Sinclair D. G., Chang P., Peric B., Dellenback R. I.: Amer. J. Physiol. (1964), 207, 513; 2. Dandel M., László J., Módy J., Szabó I.: Congr. Nař. Fiziol., Bucuresti, 1975, 33; 3. Grotte G.: Acta Chir. Scand. (1956). Suppl. 211, 1; 4. László J., Dandel M., Módy J., Szabó I.: Congr. Nař. Fiziol., Bucuresti, 1975, 64; 5. László J., Szabó I., Módy J., Dandel M.: M.É.T. XL. Vándorgyűlés, Debrecen, 1974, VII. 3—5; 6. Mayerson H. S.: in: Handbook of Physiology, II. köt., Williams a. Wilkins, Baltimore, 1963, 1035; 7. Módy J., László J., Dandel M., Szabó I.: M.É.T. XL. Vándorgyűlés, Debrecen, 1974, VII. 3—5; 8. Módy J., Szabó I., Reichel K., László J.: XXV. Internat. Congr. Physiol. Sci. München, 1971, 398; 9. Palade G. E.: Circulation (1961), 24, 369; 10. Pappenheimer J. R., Renkin E. M., Borrero L. M.: Amer. J. Physiol. (1951), 767, 13; 11. Reichel A.: Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. (1970), 37, 1; 12. Renkin E. M., Garlick D. G.: Microvascular Res. (1970), 2, 392; 13. Rusznyák I., Földi M., Szabó G.: Lymphologie. Akad. Kiadó, Budapest, 1969; 14. Simionescu N., Simionescu M., Palade G. E.: J. Cell. Biol. (1973), 57, 424; 15. Szabó I., Bakos J., Krepsz I., Módy J., Szabó Á.: M.É.T. XL. Vándorgyűlés, Debrecen, 1974, VII. 3—5; Congr. Nař. Fiziol. Bucuresti, 1975, 103; 16. Szabó I., Módy J., Demeter A., Székely J., Vass J.: Orvosi Szemle (1960), 6, 210.