

278939

T. C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

BÖBREKTE AMONYAK YAPIMINA HİSTAMİNİN ETKİSİ

FİZYOLOJİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

AYDAN BABÜL

ANKARA — 1979

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

BÖBREKTE AMONYAK YAPIMINA HİSTAMİNİN ETKİSİ

FİZYOLOJİ PROGRAMI
DOKTORA TEZİ

AYDAN BABÜL

REHBER ÖĞRETİM ÜYESİ : Prof. Dr. NACİ BOR

ANKARA - 1979

İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
GEREÇ ve YÖNTEMLER	16
BULGULAR	20
TARTIŞMA	29
ÖZET ve NETİCELER	33
KAYNAKLAR	35

G İ R İ Ő

Histaminin ilk defa 1907 de Windaus ve Vogt tarafından sentezlenmesinden sonra, 1910 yılında Dale ve Laidlaw bu aminle ilgili çalışmalara başladılar. Bunu takiben ilk 50 yıl içinde histaminin farmakodinamik etkileri ile ilgili araştırmalar yapıldı. Kan damarlarına, kalbe, mikrovasküler permeabiliteye, düz kasa olan farmakolojik etkileri aydınlandı (27). Sonraları; akut inflamasyon, allerjik reaksiyonlar ve anaflaksi semptomlarında bir kimyasal aracı (chemical mediator) olduğu ortaya ıktı. Sinir aktivitesinin ve mide HCl sekresyonunun uyarılması gibi hadiselerde rol oynadığının görülmesiyle birlikte histaminin fizyolojik etkilerinden söz edilmeye başlandı (27).

Türler arasında bazı farklar olmasına rağmen histamin organizmada birçok dokuda bulunur ve lokal hormon olarak tanımlanır. Hedef dokunun hücresindeki reseptörlerin aracılığı ile, adenil siklaz sistemini aktive ederek fonksiyon grdğu tesbit edilmiştir (33). Mide mukozasında (55), kobay, kedi ve insan kalp adelesinde (29), tiroid bezinde (50) histaminin adenil siklaz aktivitesini arttırdığı bilinmektedir. Aktive olan bu enzim hücre içinde ATP den ikinci haberci (second messenger) olarak tanımlanan cAMP nin ve fosfatın yapımını sağlar. Bilindiği gibi hücre içi cAMP artışı da hücresel cevabın ortaya çıkması için gerekli proteinkinazların aktivasyonundan sorumludur.

Aktif aminin sentezinde (57,58) ve yıkımında (27,33) rol oynayan enzimlerden zengin bir organ olması dolayısıyla histaminin böbrek üzerindeki etkileri ilgi çeken bir konu olmuştur. İlişkiyi inceleyen araştırmacıların (9,26,35,51-53) ortak bulgusuna göre, histaminin böbrek arterine verilmesi ile renal kan akımı (RKA) artar, buna bağlı olarak peritubular kapillerlerde hidrostatik basınç yükselir, arteriel rezistans ve plazma kolloid basıncı düşer. Buna karşılık literatürde aminin glomerular filtrasyon hızı (GFH)'na ve tüplerden Na ile su atılımına olan etkileri çelişkilidir. Diğer bir deyişle yapılan araştırmalarda histaminin böbrekteki hemodinamik etkilerine ait bulgular aynı yönde iken, tubular fonksiyonlarına ait neticeler farklıdır. Bu durum böbrek tubulilerinde su ve iyonların atılımında histaminin tüp hücresi seviyesinde de etkili olabileceğini akla getirmektedir. Bilindiği gibi böbrekler, başlıca fonksiyonları olan; filtrasyon, seçici reabsorpsiyon ve sekresyonun yanı sıra, organizmadaki bazların korunabilmesi amacı ile hidrojen iyonu (H^+) değiş-tokuşu ve amonyak sentezi de yapar. Literatürde histamin ile yapılan çalışmalarda, organın bu son fonksiyonunun değişip değişmediğine dair bir bilgiye rastlanmamıştır. Bilindiği gibi böbreklerin proksimal tubuli hücresi ve mide pariyetal hücreleri luminal yüzlerinde H^+ iyonunu konsantre edebilme özelliğine sahiptirler. Her iki hücre de bu fonksiyon için gerekli olan karbonik anhidraz enzimi ihtiva ederler. Son yıllarda literatürde mide HCl sekresyonunda histaminin bir aracı olduğunu ortaya koyan pekçok çalışma mevcuttur. Bu bakımdan histaminin böbrek tubuli epitelinde de benzer bir etki göstermesi muhtemeldir.

Böbreklerde H^+ iyonunun nötralizasyonunu sağlayan başlıca tamponlar, bikarbonat, fosfat ve amonyak bazıdır. Fakat bunlardan sadece amonyak bazı, tubuli hücresi tarafından, peritubular kapiller kanından alınan glutaminden sentezlenir. Diğer iki tampon sistem ise ya sadece glomerular filtrat

veya glomerular filtrata ilaveten, tubular sekresyonla tubuli lumenine girer. Dolayısıyla böbrek dokusunun amonyak sentez hızı, tubuli hücre fonksiyonunu ve buradaki asit-baz dengesi değişimini ölçen bir parametre olarak düşünülebilir. Bu nedenle çalışmamızda histaminin tubuli hücresinde etkili olup olmadığını araştırmak üzere in vitro böbrek dilimlerinde amonyak sentezi incelendi.

G E N E L B İ L G İ L E R

Amonyak Sekresyonunun Böbrekteki Lokalizasyonu :

Böbrek tubuli sıvısında bulunan en güçlü tampon sistemlerden birisi amonyak (NH_3) ve amonyum iyonu (NH_4^+) tarafından meydana getirilir. Aşırı hidrojen iyonlarının taşınmasında, artan miktarlarda serbest NH_3 yapımı olur. Bu baz idrardaki hidrojen iyonunu tamponlayarak daha fazla konsantrasyonda birikimi önler.

Memeli böbreğinde amonyak yapıldığı, ilk defa 1921 yılında Benedict ve Nash tarafından bildirildi. Pekçok araştırmacı kan nötralizasyonunun regulasyonunda bunun önemi olduğunu ileri sürmüşlerdir. 1940 yılında 22 kurbağa ve iki kertenkele nefronunu inceleyen Walker (62), değişik dört bölgeden aldığı numunelerde, Nesslerizasyon metodu ile amonyak konsantrasyonlarını tayin etti. Araştırmacı distal tübün 2/3 son kısmına kadar bariz bir amonyak artışı olmadığını, bu kısımdan sonra bu toplayıcı kanallarda, ureteradaki konsantrasyona yakın miktardaki amonyak bulunduğunu bildirdi. Sonraki yıllarda mikroponksiyon uygulamaları ile, nefronun hem proksimal ve hem de distal segmentlerinden amonyak salgılandığını gösterdi (11,19,28).

CO_2 gibi amonyak da sıvı ortamda çözünebilen bir gazdır ve akciğerlerle atılabilir. Fakat parsiyel basıncı düşük olduğu için solunum havasıyla atılan miktarı azdır (7). Ortamda diffüzyonu, kandan hücreye veya

tubuli lümenine geçişi parsiyel basınç gradienti ile ilişkilidir.

Asidozlu köpeklerin tubuli hücrelerinde, parsiyel amonyak basıncı ortalamalarını tayin eden Denis ve ark. (15)'nin bulgularına göre serbest NH_3 bazı, aşırı eriyebilir olması dolayısıyla, tüp hücresi tarafından yapıldıktan sonra, diffüzyon dengesini sağlamak üzere böbrek korteksinde yayılır. İdrardaki total amonyak ($NH_3 - NH_4$) nefron boyunca yükselen H^+ iyonunun artışına paralel olarak çoğalır. Dolayısıyla herhangi bir tubuli sıvı kompartımanındaki total amonyak miktarı, renal korteksin NH_3 ve tubuli sıvısının pH sı ile ilişkilidir.

pH sı yaklaşık 6.9 olan proksimal tubuli sıvısı yükselen ince koldan geçerken, kapsadığı suyun ayrılması nedeniyle, bikarbonat konsantrasyonu artmış ve alkali vasıftadır (47). Aynı anda, toplayıcı kanallardaki H^+ sekresyonu dolayısıyla pH sı düşük olan proksimal tüp sıvısına katılan amonyak, Henle kulpundan dışarıya sızar ve asid olan toplayıcı kanal sıvısında tutulur (38). Medulladaki amonyak yapımı fazla olmadığından bu mekanizma çok önemlidir. Bu şartlarda amonyak kaynağı olan tubuli bölgeleri ile terminal toplayıcı kanal sıvısı arasında bir denge sağlanmış olur.

Üriner Amonyanın Öncül Maddeleri ve Amonyak Sentezi :

25 yıl kadar önce Van Slyke tarafından asidotik köpeklerde amonyak yapımı başlıca öncül maddesinin dolaşımdaki glutaminin amid nitrojeni olduğu ileri sürülmüştür (39). Ultrafiltrata atılan amonyağın % 35'i arteriyel kanla böbreğe gelir. Geri kalanlar ise yüzdelerine göre glutaminin amid nitrojeninden (% 43.3), glutaminin amino nitrojeninden (% 18.3), alaninin (% 5.7), glisinin (% 3.8) ve glutamatin (% 1.9) amino nitrojenlerinden teşekkül eder. Venöz kanda ise alanin ve serin artar. İdrardaki tamponlardan amonyak dışında kalanlar renal tüp içine sadece glomerular filtras-

Malat mitokondri zarını geçerek dışarı çıkar ve fosfoenol purivata dönüşür, neticede CO_2 ve H_2O açığa çıkar.

Amonyak Atılımı :

Serbest baz olan amonyağın lipidde eriyebildiği, yüksüz olduğu, kolayca hücre zarından geçtiği Jacobs tarafından açıklanmıştır (38). Buna karşılık amonyum iyonu suda erir, lipidde çok az çözünür ve membrandan da çok zor geçer. Serbest bazın kolayca geçebilmesi, membranın iki tarafında konsantrasyonun dengeye gelmesine sebep olur. Amonyum iyonu ise H^+ iyon konsantrasyonunun olduğu yerde yani daha asid olan tarafta, onunla denge de olacak şekilde bulunur (Non-iyonik diffüzyon). Böbrek hücresinde her 100 amonyak iyonunun 99'u amonyum iyonu halindedir. 1 tanesi ise serbest diffüze olabilir şekilde NH_3 bazı olarak bulunur (39). Bu tek iyon düşük konsantrasyona geçer geçmez NH_4^+ iyonundan H^+ ayrılarak NH_3 bazı yerine konmuş olur. Sekresyon hadisesi direkt enerji kullanmaz, mekanizmanın yukarıda izah edilen non-iyonik diffüzyon ile olduğuna dair bulgular elde edilmiştir. Balagura ve Pitts 1962 de yaptıkları çalışmalarında 3 gün süreyle 10 mg/günde amonyum klorür vererek, köpeklerde kronik asidoz geliştirdiler (4). Üreterlerini kateterize edip, 20 dakikalık idrar numuneleri topladıkları köpeklere sol renal arterden kreatinin ve amonyum laktat enjekte ettiler. Deney grubunun idrar pH'ı 5 civarında idi ve enjekte edilen amonyağın, kreatinininden 20 dakika önce idrarda çıktığı tesbit edildi. Amonyak ve kreatinin atılımları zaman eksenini üzerinde işaretlendiğinde, amonyak için 50. dakika, kreatinin için ise 70. dakika bulundu. Bu süre farkı kreatininli ultrafiltrat teşekkül süresine ve bunun tüpler boyunca ilerlemesine, neticede idrarın kateter vasıtasıyla toplanma süresine bağlanmaktadır. Amonyagın daha erken görülmesi ise peritubular kandan direkt tüp içine geçişi göstermektedir.

Araştırmacılar deneylerinde asidozu sodyum bikarbonat vererek ortadan kaldırdıklarında alkali idrar teşekkül ettiğini gözlediler. 30 dakika sonra kreatinin ve amonyum laktat enjekte ettiklerinde kreatinin atılımının asidozdaki ile eşzamanlı olmasına karşılık idrarda amonyak bulunmadığına dikkati çeken araştırmacılar bu bulgularından 2 sonuç çıkardılar :

1) Amonyak renal tüpte 2 yönde hareket eder, kandan tüplere, tüplerden kana doğru olmak üzere.

2) Amonyak iyonu geçişi sadece H^+ iyonu gradientine bağlıdır. Çok alkaliden asit faza doğru diffüzyon olur.

Sullivan ve Mc Vaugh (56) renal arteri sodyum bikarbonat ile infüze ettiklerinde, önce nefron çevresindeki kapiller kanın ve daha sonra da glomerular filtratın alkali hale geldiğini gözlediler. Fakat zaman geçtikçe kandaki alkali seviyesinin azalışıyla beraber tubular sıvı pH'nın tekrar düştüğünü tesbit ettiler. Owen ve ark. (36,37)'nin çalışmaları da bu bulguları destekler yöndedir.

Kronik asidozda H^+ atılımı arttığında hücredeki serbest NH_4 ve total amonyak miktarları da artar (15). Bu olaya göre kontrol faktörü idrara diffüzyondan çok üretimdedir. Dolayısıyla amonyak üretimi metabolizmanın düzenlenmesi ile yakın ilişkilidir.

Amonyak Sentezinin Kontrolü :

Amonyak sentezinde substrattan son ürüne kadar olan metabolik yoldaki olayların kontrol mekanizması hakkında kesin yargıya varılamamıştır. Son 25 yılda bu konudaki çalışmalardan çıkan neticeler üç teoride toplanmaktadır.

- 1) Glutaminaz I'in aktivasyonu,
- 2) Glutaminaz II'nin aktivasyonu,
- 3) Diğer faktörler.

Glutaminaz I önceden belirtildiği gibi deaminasyonu katalize eden bir enzimdir. Bu enzim fosfata bağımlıdır ve mitokondrinin iç zarında lokalize olmuştur (13). Narins ve Relman (34)'in bulgularına göre medulladaki amonyak yapımının büyük bir kısmı glutaminaz I üzerinden olmaktadır. Araştırmacılar böbrek korteksinin, amonyak yapımında glutamin veya glutamati substrat olarak kullanabilmesine karşılık, medullanın sadece glutamin kullanabildiğini ileri sürmektedirler.

Glutaminaz I in harekete geçirilmesi hipotezi sıçan böbreğinde in vitro ölçülen enzim aktivitesi ile amonyak atılımının paralel artışlarına dayanmaktadır (14). Asidoz esnasında RNA sentezinin, dolayısıyla protein yapımının da stimüle olduğu gösterilmiştir (31). Daha sonra Goldstein'in ratlarda RNA sentezini aktinomisin D ile inhibe etmesine (20) rağmen asidozda adaptasyonun devam ettiğini göstermesi, enzim artışına bağlı açıklamayı şüpheye düşürmüştür.

Asidoza adaptasyon mekanizmasında glutaminaz II nin aktive olduğunu savunan hipotez de Pitts tarafından geliştirilmiştir (3). Amino grubu N¹⁵ ile işaretli glutamin ile yapılan deneyde araştırmacılar glutaminaz II yolunun I'e nazaran daha yüksek spesifik aktivitesi olduğunu tesbit ettiler. Ayrıca oksalasetatin glutaminaz II transaminasyonunun stimüle ettiği de gösterilmiştir (63). Bu da glutaminaz II aktivasyonunu destekler yöndedir. Çünkü asidoz sitrik asit döngüsünü azaltır. Fakat Goldstein'in protein sentezini inhibe ettiği ratlarda amonyak yapımının hala yüksek olduğunu göstermesi bu hipotezin de aleyhine olan bir neticedir.

3. hipotez olan amonyak yapımının çok yönlü kontrolü Goldstein (21) ve Allen (2)'in bulgularına dayanır. Bu araştırmacılar renal kortekste glutamat ve α -ketoglutaratın alkalozda arttığını asidozda ise azaldığını gördüler. Daha sonra Goodman ve ark. (22) kronik metabolik asidoz yapılmış ratların renal korteks dilimlerinde, glutamin, glutamat ve α -ketoglutarattan başlayan glukoneogenezisin stimüle edildiğini tesbit ettiler. Goorno, Rector ve Seldin (23) köpeklerde benzer bulguları elde ettiler. Alleyne ve Scullard (3) asidozlu ratların böbrek ve karaciğerinde fosfoenol piruvat karboksikiaz değişikliklerini incelediler. Araştırmacıların sadece böbrek dokusunda bu enzimi artmış bulmaları gene glukoneogenezisin stimüle edilmiş olduğu fikrini destekler. Fakat Goldstein'in aktinomisin D li deneylerinde muhtemelen bu enzimin etkisi de önlenmiştir. Preuss (43)'in deneylerinde akut amonyum klorür verilen ratlarda amonyak yapımının 4 saat içinde yükselmiş olmasına karşılık glukoneogenezisin 12 saatten önce artmadığı gözlenmiştir. Asidoz ve alkaloz yapılan köpeklerin böbreklerine, C^{14} -glutamin infüze ederek bunun CO_2 'e bağlanmasını izleyen Pitts ve ark. (41) asidozda glutamin utilizasyonunun değişmediğini işaretli C^{14} nin 2/3 nun CO_2 , 1/3 nin ise glikoza bağlandığını gözlemişler. Yukarıdaki gözlemlere dayanarak Pitts (40) amonyak yapımında primer kontrolün glikoneogenezis olmadığını ileri sürmüştür. Bu araştırmacıya göre asidoz gibi durumlarda enzimlerin substratlara olan affinitesi artmakta ve oksidatif enzimlerin mitokondriye girişi kolaylaşmaktadır. Bu hipotezi inceleyen Adam ve Simpton (1)'un asidotik ratlardaki bulguları mitokondrideki glutamin transportunun ve mitokondrideki deamidasyonun önemli nisbette değiştiği fikrini desteklemektedir.

Simpson (54) C^{14} -glutamin ile yaptığı deneylerde C^{14} lu glutamatın matrikste biriktiğini gözledi. Araştırmacı mitokondri içinde glutamin birikimi olmadığı için, glutaminaz ve taşıyıcının birlikte iç membranda olabi-

leceği düşüncesindedir. Muhtemelen taşıyıcı ve glutaminaz arasında, aktivite bakımından sıkı ilişki vardır. Araştırmacı 10-14 gün süreyle sodyum bikarbonat ve amonyum klorür vererek yapmış olduğu çalışmalarda, glutamat teşekkülünü asidotik hayvanlarda, alkalotiklere nazaran 4 misli fazla olduğunu ortaya çıkarmıştır. Gene aynı deneylerde fosfata bağlı glutaminazın asidozlu ve alkalozlu mitokondri preparatlarında sırasıyla 0.250 ± 0.024 ve 0.337 ± 0.024 ng/mg protein olduğu görülmüş. Aradaki farkın az oluşu enzim artışına yönelik hipotezi çürütmektedir. Buna karşılık asidotik hayvanların mitokondrisinde 2 dakika süresince mg protein başına teşekkül eden glutamatın miktarı daha fazla bulunmuştur. Bu neticelere göre metabolik asidozda muhtemelen mitokondri iç membranındaki glutamin taşıyıcıları stimule olmaktadır.

Histamin ve Böbrekteki Etkileri :

Histamin bir 4(5)-(2 aminoethyl) imidazol'dir. İki bazik merkezi vardır. Fizyolojik pH da iyonize formdadır. Yapısındaki amonyum grubu ile imidazol halkasının, N_1 nitrojeni arasındaki mesafenin farklı oluşu dolayısıyla, 2 şekli mevcuttur. Bunlardan birisine sist diğerine trans şekli denir. Organizmada sist şekline (H_1) ve trans şekline (H_2) uygun olmak üzere de iki tip reseptör bulunduğu tesbit edilmiştir (33).

Histaminin öncül maddesi olan histidin birçok hayvan dokularında mevcuttur. Spesifik bir enzim olan histidin dekarboksilaz'ın etkisi ile histidinden histamin sentezlenir.

Memeli organizmasındaki dokuların çoğunda histamin bulunmuştur. Başlıca depo yeri mast hücreleridir. Bu hücreler gevşek bağ dokusunda, kan damarlarının çevresinde bol bulunmaları dolayısıyla organizmada yaygındırlar. Türler arasında bazı farklar olmakla birlikte karaciğer, gastrointes-

tinal sistem, akciğerler ve deri mast hücrelerinden ve histaminden zengin organlardır (48). Böbrek parankiması ise mast hücrelerinin bulunmadığı dokulardan birisidir (48). Organın kapsülünde ayrıca bazı patolojik durumlarda da glomerul ve tubuli hücreleri arasında mast hücrelerine rastlanmaktadır (61).

Kandaki histaminin ana yıkım yolu oksidatif deaminasyondur. Metilasyon ve asetilasyon ile histamin inaktivasyonu, beyin haricinde, insan vücudunda fizyolojik şartlar altında önemli değildir (33). Buna rağmen bazı organlarda metil transferaz aktivitesinin çok yüksek oluşunun fizyolojik önemi henüz aydınlatılamamıştır. Yapılan araştırmalarda işaretli histaminin enjeksiyonundan 5 dakika sonra bunun büyük bir kısmının böbreklerde tutulup itrah edildiği, geri kalanının da sırasıyla kalp, karaciğer ve akciğer tarafından alındığı görülmüştür (27). Şu halde böbrekler histamin inaktivasyonunda önemli rol oynamaktadır. Ayrıca köpeklerde yapılan araştırmalara dayanılarak, lenfada çok yüksek bulunan histaminolitik aktivitenin sindirim sistemi ve böbrek orijinli olduğu da ileri sürülmektedir (32). Histaminin böbrek üzerindeki etkilerine ait ilk gözlemler 1910 yıllarına dayanır. Dale ve Laidlaw, kediler üzerindeki deneylerinde, histaminin idrar teşekkülüne azaltıcı bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Bu konuda yapılan daha sonraki çalışmalar histaminin sistemik verilmesi halinde antidiüretik cevabın santral etkisine bağlı olduğunu gösterdi. Histamin beyindeki sinaptosomlarda transmitter olarak rol oynamaktadır (30). Bulgulara göre histamin, santral katekolaminleri salgılatarak adrenerjik mekanizmayı stimüle etmekte bu da ADH artışıyla sonuçlanmaktadır (6). Daha sonraları, histaminin sistemik etkisini ortadan kaldırmak amacı ile, yapılan deneylerde bu maddenin direkt renal arter içine verilmesi tercih edilmiştir. Histamin serotonin, bradikinin gibi maddelerin, damar endotelinde (gaps) adı verilen aralıklar yaptığı kabul edilir. Bu maddeler küçük ve

orta boy venüllerde endotel hücrelerinin kontraksiyonuna sebep olmaktadır. Bu durum çoğu organlarda gösterilmiştir. Teorinin böbrekteki geçerliliğini tesbit için, 1972 de Schwartz ve Cotran (52) ratlara histamin, bradikinin ve serotonin vererek, elektron mikroskobu altında işaretli karbonun renal arter damarından geçişini incelediler. Bu ajanların parankimal renal damarlarda göllenme yapmasına karşılık, renal kapsül ve pelviste, üreterde, permeabiliteyi arttırdığını tesbit ettiler. Bu aktif aminin böbrek üzerindeki etkilerini ortaya koymak amacı ile günümüze kadar birçok çalışma yapılmıştır. Deneyleerde maddenin renal sıvı dinamiğine olan etkileri ve hemodinamik etkileri ayrıntılı olarak incelenmiştir (9,26,35,51-53). Araştırmacıların vardıkları ortak netice renal arter içine histaminin verilmesinin renal kan akımını arttırdığıdır. Poliuri olur ve glomerular filtrasyon hızı değişmez. Elektrolit (Na, Cl) ve su atılımına olan etkileri ise çelişkili bulunmuştur.

Bugün artık muhtelif damar yataklarında histamine alınan cevapların değişken oluşunda başlıca nedenin, farklı 2 tip histamin reseptörüne bağlı olduğunu deneyler ortaya koymaktadır (10). Nitekim Bökesoy ve Türker (8) 1974 de yaptıkları araştırmada tavşan böbreğinin damar yatağında H_1 ve H_2 reseptörlerinin birlikte bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu reseptörlerin histamin ile aktivasyonu net bir vasokonstriksiyonla neticelenir. Köpekte ise aksine histamin renal dolaşımında vasodilatasyon yapar. 1976 da Campbell ve Itiskovitz (9) köpeklerde yaptıkları çalışmalarında sabit perfüzyon basıncı altında, ortama H_1 reseptör antagonisti ilavesinde (diphenydramin) histaminin hemodinamik etkisinin bloke olduğunu, metiamid ilavesinde ise cevabın değişmediğini gözlediler.

Banks ve ark. (5) 1978 de köpekler üzerinde yaptıkları çalışmaları H_1 ve H_2 reseptörlerinin böbrek damar yatağındaki dağılımını ve etki-

lerini incelediler. Bu araştırıcılara göre muhtemelen H_1 reseptörleri post-glomerular, H_2 -reseptörleri ise hem pre ve hem de postglomerular bir dağılım gösterirler. H_1 reseptörlerinin stimulasyonu geçici fakat bariz bir kan akımı artışı sağlarken, H_2 stimulasyonu daha az fakat devamlı vazodilatasyon yapar. Bu esnada GFR de (% 12 lik) önemli olmayan bir artış görülür. Nitekim bu deneyler esnasında böbrek korteksinin iç kısmındaki kan akımının dışa nazaran daha fazla artmış bulunması da bunu doğrular yönünde bir bulgudur.

Literatürde histaminin böbrek üzerindeki etkilerini kapsayan çalışmaların tümü, yukarıda özetlenmeye çalışıldığı gibi böbrek sıvı dinamiği ve hemodinamik değişiklikler yönünden ele alınmıştır. Bu gün histaminin homeostazise dayanan muhtelif şartlarda (27) ve bazı salgı fonksiyonlarında direkt etkili olduğu bilinmektedir (16,25,46).

Bu aktif aminin hücredeki reseptörle birleşmesi halinde adenil siklaz aktivitesi artar, buna paralel olarak siklik nükleotid sisteminde de artış olur. Mide mukozasında (55), kobay, kedi ve insan kalp adelesinde (29), tiroid bezinde (50) histaminin adenilat siklaz aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir.

Özellikle mide HCl sekresyonunun regulasyonunda histaminin rolü, ülser teşekkülünde etkinliği birçok yönüyle incelenmiştir.

Histaminin midede H^+ iyonunu, dolayısıyla HCl sekresyonunu, parietal hücrelerdeki H_2 reseptörleri vasıtasıyla arttırdığı bugün kesinlik kazanmış bir bulgudur (42). Bilindiği gibi midenin bu salgı fonksiyonundan sorumlu olan parietal hücrelerde ve böbrek tubuli hücrelerinde hidrojen iyonunun salgı mekanizmaları ve bunda rol oynayan karbonik anhidraz enzimi aynıdır. Diğer taraftan böbrek, histaminin sentez ve yıkımında rol oynayan

enzimlerden zengin bir organdır. Dolayısıyla midede etkinliği gösterilen bu aktif aminin böbrek tubuli hücrelerinin tampon sistemlerinde etkili olması mümkündür. Literatürde histaminin böbreklerdeki asit-baz dengesinde etkili olduğunu gösteren hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır.

Asidoz ve alkaloz gibi böbreklerin hidrojen iyonu atılımının değiştii durumlarda, tamponlama kapasitesi bikarbonat tampon sistemi için kısmen filtre edilen, kısmen de organda uçucu olmayan asitlerden üretilen miktarla ilgili iken; fosfat tampon sistemi için tamamen glomerulden tüp içine filtre edilen iyon miktarı ile sınırlı kalır. Buna karşılık tümü böbrek tubuli hücresi tarafından yapılan, amonyağın yavaş ve uygun (adaptif) artışı ile esas tamponlama sağlanır. Bu sebeplerle histaminin böbrek tubuli hücresindeki etkisini araştırmak amacı ile; tampon sistemlerden en önemlisi olan amonyak sentez hızı parametre olarak kabul edildi ve aktif aminin, in vitro şartlarda böbrek dilimlerine etkisi incelendi.

G E R E Ç v e Y Ö N T E M L E R

Ratlar, amonyak sentezinin incelenemediği en uygun deney hayvanlarıdır. Bu nedenle H.Ü. Tıp Fakültesi Cerrahi ve Tıbbi Araştırma Merkezi'nde yapılan bu çalışmada, ağırlıkları 200-300 gr olan, Swiss Albino cinsi yetişkin erkek ratlardan alınan böbrekler kullanıldı. Normal rat yemi ile beslenen hayvanlar, deneyden 18 saat önce aç bırakıldılar. Fakat bu süre içinde su içmelerine müsaade edildi.

Eter anestezisi ile uyutulan ratların kalbinden kan alındı ve pH tayini yapıldı. Sonra böbrekler çıkarılarak önceden hazırlanan biyolojik sıvıya kondu, kapsülleri alındı ve keskin bir bistüriyle 8 ilâ 10'ar dilime bölündü. Her bir böbrekten alınan dilimler 4 gruba ayrılarak, içlerinde oksijenlendirilmiş biyolojik solüsyon bulunan beherlerde tartıldı. Deneylerde kullanılan dokuların ağırlığı 0.32 ile 0.78 gr arasında değişiyordu. Bu işlem esnasında beherler içinde her iki böbrekten de ikişer dilim bulunmasına özellikle dikkat edildi.

Önceden hazırlanmış olan enkübasyon şişeleri içine, ağırlıkları bilinen bu dilimler yerleştirildi ve aşağıdaki deney düzeni uygulandı (Tablo 1).

Kör, kontrol (Grup I); 0.75 ng/ml histaminin ilave edildiği ortam (Grup II) 1.5 ng/ml histaminin bulunduğu ortam (Grup III); 3 ng/ml histaminin bulunduğu ortam (Grup IV).

TABLO - 1 .

	KÖR	(GRUP I) KONTROL	(GRUP II) HİSTAMİN (0.75 ng/ml)	(GRUP III) HİSTAMİN (1.5 ng/ml)	(GRUP IV) HİSTAMİN (3 ng/ml)
L-Glutamin	1 mM	1 mM	1 mM	1 mM	1 mM
Fosfat tamponlu ortam sıvısı	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml	15 ml
Böbrek dokusu	Ø	+	+	+	+
Histamin	Ø	Ø	0.75 ng/ml	1.5 ng/ml	3 ng/ml

KÖR : Kullanılan substrat ve solüsyonların meydana getirebileceği spektrofotometrik hatayı önlemek amacı ile, içinde 1 mM glutamin substratı ve biyolojik solüsyon bulunan enkübasyon ortamı kör olarak kullanıldı. Örneklemelerin yapıldığı zamanlarda buradan alınan numunelerin verdiği optik dansite değeri, bütün diğer numunelerin optik dansite değerlerinden çıkarıldı.

KONTROL : *In vitro* şartlarda, ortama 1 mM L-glutamin substratı ilave edilmesi halinde, alınan böbrek dilimlerinin bu şartlarda sentezleyebileceği amonyak miktarını ölçmek amacı ile hazırlandı. Bu sistemde böbrek dilimleri, L-glutamin substratı ve oksijenize biyolojik solüsyon bulunuyordu.

DENEY GRUPLARI : Bu grupların ortamında böbrek dilimleri, L-glutamin substratı ve oksijenize biyolojik solüsyona ilaveten üç ayrı dozda histamin vardı. II. grup deney sistemine 0.75 ng/ml, III. gruptakilerine 1.5 ng/ml ve IV. gruptakilerine de 3 ng/ml histamin konuldu. Böylece farklı dozlardaki histamine karşılık oluşan amonyağın miktarları ölçüldü.

Ortam Sıvısının Hazırlanması :

Deneyde Vavatsi-Manos ve Preuss (60)'in çalışmalarında önerdikleri, 2 mM Ca⁺² kapsayan fosfat tamponlu biyolojik solüsyon kullanıldı. 1.26 mM NaCl; 5 mM KCl; 1.2 mM MgSO₄; 10 mM Na₂HPO₄ tamponunda çözüldükten sonra, 10 mM KH₂HPO₄ ile pH 7.4 e ayarlandı. Çökmemesi için ayrı bir kaptaki 5 cc distile suda çözülen 2 mM Ca⁺², pH 1 ayarlanmış olan solüsyona ilave edildi. 10 mM lar fosfat tamponu ile solüsyonun pH ı 7.4 e yeniden ayarlandı.

Hazırlanan vasat sıvısından 300 ml, 500 ml lik bir balon joje içine kondu. Ağız lastik tıpa ve parafin ile kapatılarak hava ile teması önleildi. Lastik tıpayı delip geçen ince bir kateter vasıtasıyla da içinde % 5 CO₂ ve % 95 O₂ bulunan gazla 30 dk süre ile doyuruldu. Bu işlemin bitiminde solüsyonun pH ı kontrol edildi, sapma görülmesi halinde 10 mM fosfat tamponları ile pH 7.4 e yeniden ayarlandı.

Amonyak Sentezinin İn Vitro İncelenmesi :

Çalışmada her ortam için 1 mM L-glutamin substrat olarak kullanıldı. Deney hayvanından alınan dilimler deney şişelerine konduktan sonra ağızları lastik tıpa ve parafin ile kapatıldı. Lastik tıpadan geçen kateter vasıtasıyla Tablo 1 de gösterildiği miktarlarda solüsyon kondu.

0., 5., 10., 15., 30., 60., 90. ve 120. dakikalarda ortamdan 0.8 ml numuneler alınarak bunun 0.4 ml si pO₂, pCO₂, pH tayini için, diğer 0.4 ml si de NH₃ tayini için kullanıldı.

Amonyak Miktarının Hesaplanması :

Belirtilen zaman sürelerinin bitiminde alınan numunelerdeki amonyak miktarı (mM), kendi ortamındaki böbrek dokusunun ağırlığına (gr) bölünerek, gram doku başına olan amonyak miktarı bulundu. Bu değer de zaman birimine bölünmesiyle, bir dakikada gram böbrek başına oluşan amonyak miktarı (mM/dk/gram böbrek dokusu başına) hesaplandı.

Deneyde Kullanılan Araç ve Yöntemler :

Alınan numunelerdeki pO_2 , pCO_2 ve pH IL 133 pH/gas analizörü ve ayrıca BMS3 Mk₂ Blood Micro System ve PHM 72 Mk₂ Digital Acid-Base Analyser'ini ihtiva eden Acid-Base Cart ABC1 Radiometer (Copenhagen) ile tayin edildi.

Amonyak Berthelot (Phenate-hypochlorite) reaksiyonu ile tayin edildi (12). Her numune çift çalışılarak ortalaması kullanıldı.

Neticeler Student "t" testine göre değerlendirilerek, önem kontrolleri yapıldı.

B U L G U L A R

I) Amonyak Sentezi Değişiklikleri : (Tablo. 2, Şekil 2).

Bu çalışmanın kontrol grubunda (Grup I) 68 rat böbreği incelendi. 0.75 ng/ml histaminin uygulandığı II. grupta 61, 1.5 ng/ml histaminin konduğu III. grupta 84 ve 3 ng/ml histaminin uygulandığı IV. grupta toplam 68 rat böbreği üzerinde, 120 dakika süre ile, in vitro şartlarda amonyak sentezi ölçüldü. Sıfırıncı dakika olarak kabul edilen enkübasyonun başlangıcında, bütün gruplardan alınan örneklerde, ortamda amonyak bulunmadığı saptandı.

I. GRUP (Kontrol) : İlk 5 dakika içinde ölçülen ortalama amonyak miktarı 10.19 ± 2.35 mM/gr böbrek dokusu başına idi. Bu değer üzerinden yapılan hesaplama; kontrol şartlarının ilk 5 dakikasında 2.03 ± 0.22 mM/dk gr böbrek dokusu amonyak sentezlenebildiği saptandı. 10. dakikada ise bu değer 1.97 ± 0.15 mM/dk gr idi. 15. dakikada sentezin maksimumuna ulaşarak 2.22 ± 0.22 mM/dk/gr böbrek dokusuna yükseldiği görüldü. 30. dakikada değer gene nisbeten yüksek bulunurken (2.18 ± 0.23 mM/dk/gr. böbrek dokusu), 60., 90. ve 120. dakikalarda yavaş bir düşme gözlemlendi (sırasıyla 2.12 ± 0.09 ; 2.10 ± 0.084 ; 0.09 ± 0.091 mM/dk/gr.).

II. GRUP (0.75 ng/ml Histamin) : 5. dakika içinde sentez hızı 2.13 ± 0.20 mM/dk/gr böbrek dokusu, olan bu grupta 10. dakikada 2.40 ± 0.45 mM/dk/gr böbrek dokusu gibi bir değer elde edildi. 15. dakikada ise kontrol ve diğer gruplarda da olduğu gibi hızın bir maksimuma ulaştığı saptandı. Bu esnada 2.83 ± 0.09 mM/dk/gr böbrek dokusu başına amonyak sentezlendiği hesaplandı. Bu değer eşzamanlı olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ondan önemli derecede ($P < 0.02$) yüksek olduğu bulundu. 30. dakikada gene 10. dakikadakine yakın bir sentezlenme değeri elde edildi (2.40 ± 0.04 mM/dk gr. böbrek dokusu). Daha sonraki zaman birimleri içerisinde de sentezin oldukça sabit devam ettiği görüldü. Bu değerler 60. dakikada 2.25 ± 0.13 mM/dk/gr böbrek dokusu; 90 dakikada 2.29 ± 0.14 mM/dk/gr böbrek dokusu ve 120. dakikada da 2.26 ± 0.12 mM/dk/gr böbrek dokusu idi. 30., 60., 90. ve 120. dakikalardaki değerler kontroller ile karşılaştırıldığında farklar önemsiz bulundu.

III. GRUP (1.5 ng/ml Histamin) : Bu deney grubunun ilk 5. ve 10. dakikaları, kontrol ve deney grupları ile eşzamanlı olarak karşılaştırıldığında aralarında istatistiki fark olmadığı görüldü. 5. dakikada amonyak sentez hızı, 2.36 ± 0.25 mM/dk/gr. böbrek dokusu, 10. dakikada ise 2.43 ± 0.10 mM/dk/gr böbrek dokusu olarak saptandı. 1.5 ng/ml histamin verilen bu grupta da diğer bütün gruplarda olduğu gibi 15. dakikada (3.34 ± 0.10 mM/dk/gr böbrek dokusu) sentez hızı maksimumuna ulaştı. Bu değer kontrol ($P < 0.01$) ve diğer 2 deney grubuna nazaran önemli derecede farklı olacak şekilde yüksek bulundu. 30. dakikada 3.07 ± 0.32 mM/dk/gr böbrek dokusu ($P < 0.02$), 60. dakikada 2.61 ± 0.10 mM/Dk/gr böbrek dokusu ($P < 0.02$), 90. dakikada 2.55 ± 0.09 mM/gr/dk böbrek dokusu ($P < 0.01$) iken 120. dakikada 2.33 ± 0.09 mM/dk/gr böbrek dokusu ile başlangıç değerine düştü.

En yüksek sentez cevabının bu grupta bulunmuş olması dolayısıyla,

15. ve 30. dakikalar arasında örneklemeler daha sık alınarak sentezin doruk noktasına (maksimuma) ulaştığı zaman araştırıldı. Bu amaçla düzenlenen bir grup çalışmada sadece 20. ve 25. dakikalarda örneklemeler yapıldı. Bulgulara göre 15. dakikadaki tepe değeri kesinlik kazandı. Çünkü 15. dakikada sentez hızı 3.34 mM/dk/gr. böbrek dokusu iken, 20. dakikada 3.16 ± 0.20 , 25. dakikada 3.05 ± 0.21 mM/dk/gr böbrek dokusu bulundu.

IV.GRUP (3 ng/ml Histamin) : Grubun 5. dakikasına ait ortalama amonyak oluşum hızı (2.43 ± 0.92 mM/dk/gr böbrek dokusu), kontrol ve diğer deney gruplarındakinden farklı bulunmadı. 10. dakikada da farkın önemsiz olduğu görüldü (2.18 ± 0.16 mM/dk/gr böbrek dokusu). Fakat 15. dakikadaki yükseliş (2.67 ± 0.09 mM/dk/gr böbrek dokusu) kontrolden önemli derecede yüksek ($P < 0.05$) idi. Sentezin bundan sonraki hızı kontrole çok yakın olacak şekilde devam etti :

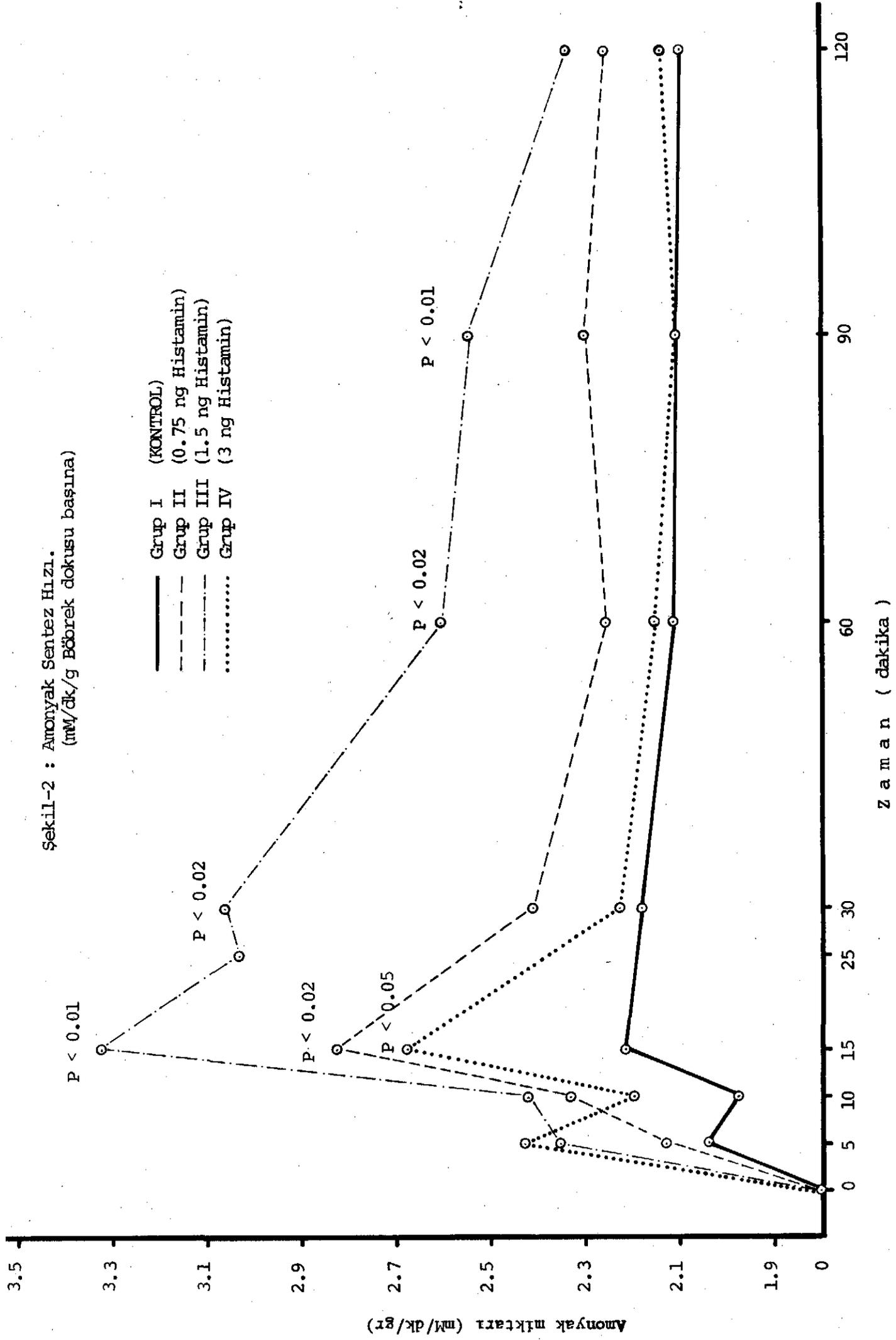
30. dakikada 2.23 ± 0.05 mM/Dk/gr böbrek dokusu,
60. " 2.14 ± 0.02 " " " ,
90. " 2.10 ± 0.01 " " " ,
120. " 2.14 ± 0.13 " " " .

TABLO 2 : Amonyak Sentez Hızı (ort. \pm St. Hata)
(mM/dk/gr böbrek dokusu başına).

	GRUP I Kontrol	GRUP II 0.75 ng/ml Hist.	GRUP III 1.5 ng/ml Hist.	GRUP IV 3 ng/ml Hist.
5'	2.03 ± 0.22	2.13 ± 0.20	2.36 ± 0.25	2.43 ± 0.92
10'	1.97 ± 0.15	2.40 ± 0.45	2.43 ± 0.10	2.18 ± 0.16
15'	2.22 ± 0.22	2.83 ± 0.09	3.34 ± 0.10	2.67 ± 0.09
20'	-	-	3.16 ± 0.20	-
25'	-	-	3.05 ± 0.21	-
30'	2.18 ± 0.23	2.40 ± 0.04	3.07 ± 0.10	2.23 ± 0.05
60'	2.12 ± 0.09	2.25 ± 0.13	2.61 ± 0.10	2.14 ± 0.02
90'	2.10 ± 0.08	2.29 ± 0.14	2.55 ± 0.09	2.10 ± 0.01
120'	2.09 ± 0.09	2.26 ± 0.12	2.33 ± 0.09	2.14 ± 0.13

Şekil-2 : Amonyak Sentez Hızı.
($\mu\text{M}/\text{dk}/\text{g}$ Böbrek dokusu başına)

- Grup I (KONTROL)
- - - Grup II (0.75 ng Histamin)
- · - · - Grup III (1.5 ng Histamin)
- Grup IV (3 ng Histamin)



II. pCO_2 , pO_2 ve pH Değişiklikleri :

Eter anesteziinden sonra ratların kalbinden alınan kanlarda pH 7.35 ile 7.39 arasında değişiyordu.

İnkübasyon süresince kör, kontrol ve deney gruplarının enkübasyon ortamlarında pCO_2 , pO_2 ve pH değişimleri ölçüldü. Bu değerlerin, başlangıçtakine nazaran önemli bir değişiklik gösterip göstermediği incelendi :

pCO_2 Değişiklikleri : (Tablo 3, Şekil 3)

Kör ($P < 0.02$), kontrol ($P < 0.05$), 0.75 ng/ml histamin ($P < 0.05$) ve 3 ng/ml histamin verilen ($P < 0.05$) gruplarındaki ortalama pCO_2 değeri 15. dakikada, başlangıçtakine nisbetle önemli derecede düşüktü. 1.5 ng/ml histamin bulunanlardaki azalma ise önemsizdi.

30. dakikada kör ($P < 0.02$), 1.5 ng/ml histamin ($P < 0.05$) ve 3 ng/ml histamin ($P < 0.05$) ile yapılan deneylerdeki azalmalar önemli bulunurken, diğer gruplardaki önemsiz çıktı. 60. dakikada kontrol ($P < 0.02$), 1.5 ng/ml ($P < 0.05$) ve 3 ng/ml histamin ($P < 0.05$) verilenlerde önemli azalış tesbit edildi. 90. dakikada kör hariç diğer grupların hepsindeki düşüş istatistik olarak önemli bulundu. 120. dakikada ise bunun tamamen aksi olarak, sadece kördeki pCO_2 azalışı önemli bulundu.

pH Değişiklikleri : (Tablo 4, Şekil 4)

Bütün gruplarda başlangıçta ortalama 7.380 ± 0.863 olan pH'nın inkübasyon süresince düştüğü gözlemlendi. Fakat sadece içinde 1.5 ng/ml histamin bulunan deney grubunun 60. ($P < 0.01$) ve 120. ($P < 0.001$) dakikalarındaki ortalama değerler önemli derecede azalmış bulundu.

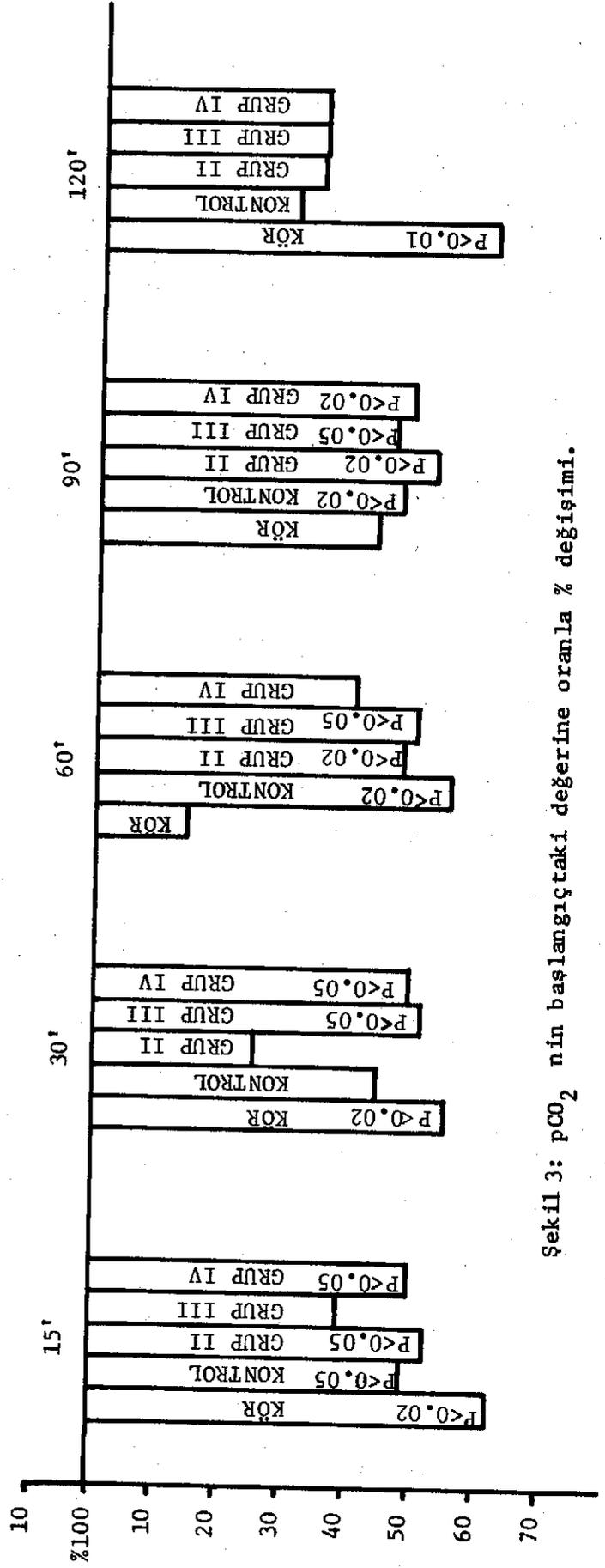
pO₂ Değişiklikleri:(Tablo 5, Şekil 5)

Grupların hepsinde bu parametrenin başlangıçtakine (166.02 ± 21.46 mm.Hg) oranla bir miktar düştüğü gözlemlendiyse de, farklar önemli bulunmadı.

Her grubun kendi içinde meydana gelen pCO₂, pO₂ ve pH değişimleri karşılaştırıldığında değerler arasındaki farkın önemli olmadığı görüldü.

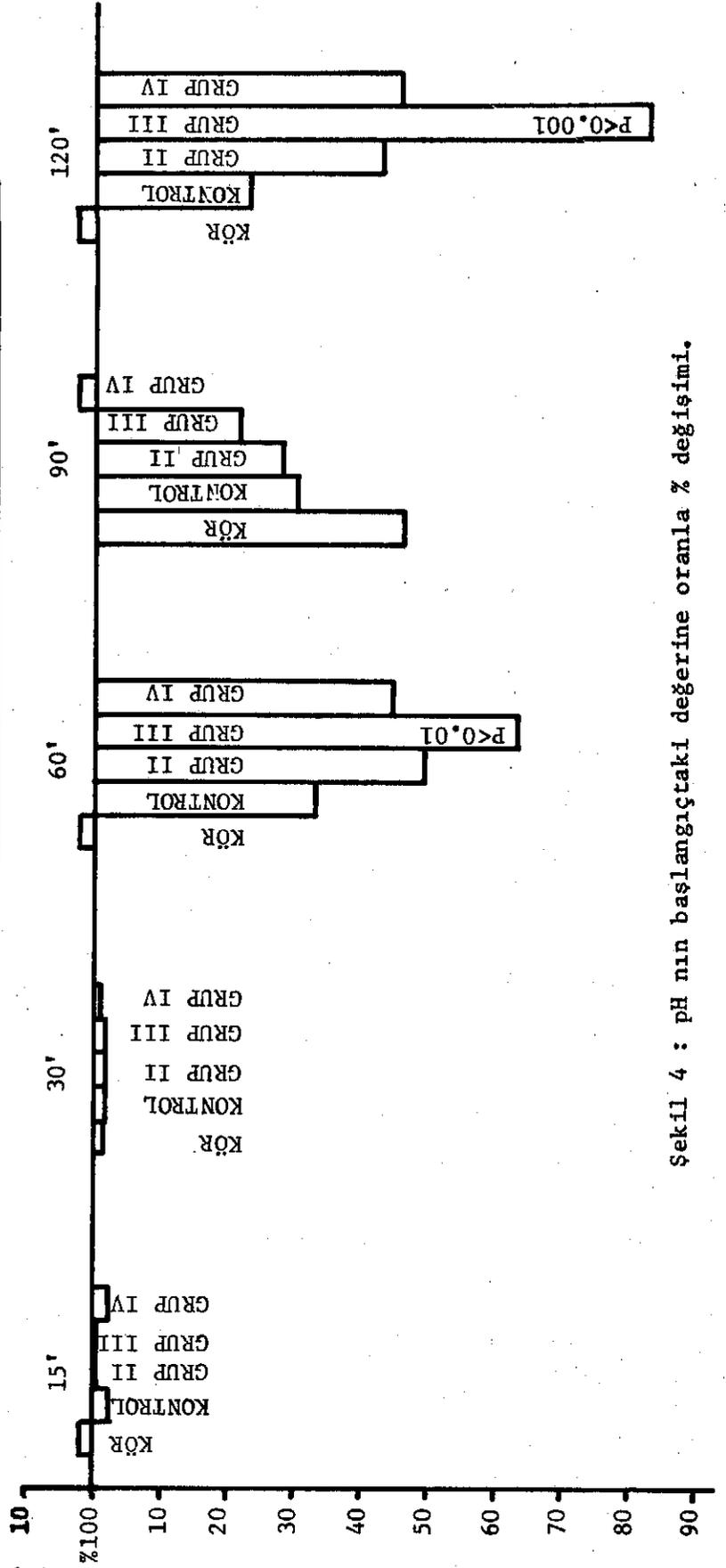
Gruplar birbirleri ile kıyaslandı. Bu karşılaştırmada sadece 120. dakikada kör ve kontrol gruplarının pCO₂ ortalamaları arasındaki fark önemli (P < 0.02) bulundu.

	15'	30'	60'	90'	120'
Solusyon	2.020 ± 0.397				
KÖR	0.760±0.979	0.914±0.174	1.929±0.840	1.143±0.403	0.800±0.121
GRUP I Kontrol	1.033±0.182	1.129±0.262	0.914±0.114	1.071±0.117	1.414±0.161
GRUP II 0.75 ng/ml	0.966±0.199	1.514±0.443	1.043±0.1643	0.971±0.130	1.328±0.358
GRUP III 1.5 ng/ml	1.250±0.295	0.986±0.190	1.00 ±0.683	1.086±0.214	1.343±0.434
GRUP IV 3 ng/ml	1.020±0.171	1.033±0.180	1.214±0.374	1.057±0.751	1.343±0.160



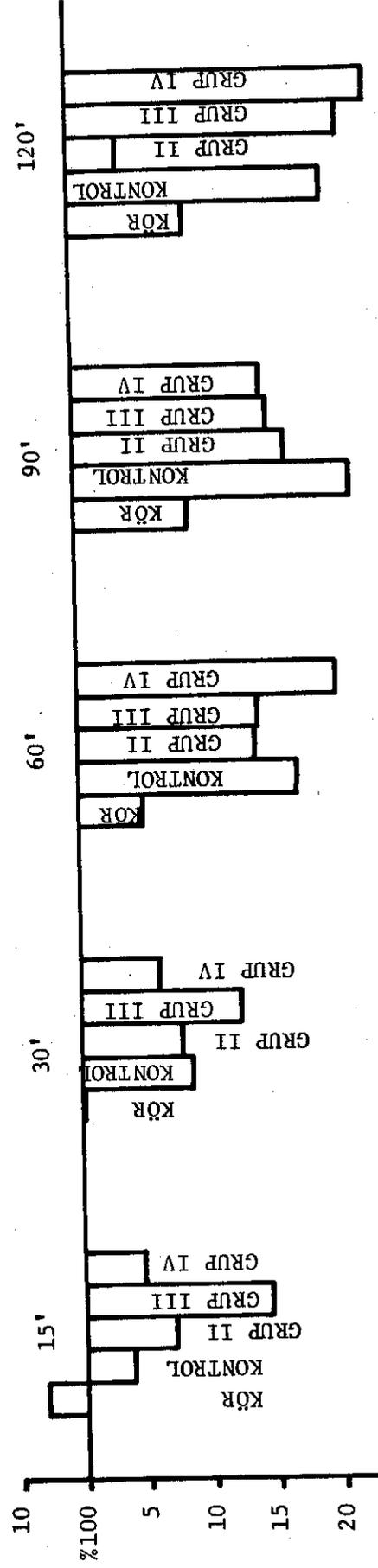
Şekil 3: pCO₂ nin başlangıçtaki değerine oranla % değişimi.

	15'	30'	60'	90'	120'
Solusyon	7.380 ± 0.863				
Kör	7.445±0.146	7.361±0.683	7.436±0.123	7.290 ±0.349	7.412±0.931
GRUP I Kontrol	7.310±0.602	7.320±0.655	7.315±0.577	7.321±0.646	7.336±0.929
GRUP II 0.75 ng/ml	7.380±0.863	7.324±0.908	7.285±0.616	7.324±0.539	7.309±0.111
GRUP III 1.5 ng/ml	7.405±0.129	7.303±0.553	7.258±0.428	7.338±0.891	7.222±0.409
GRUP IV 3 ng/ml	7.374±0.105	7.351±0.110	7.294±0.756	7.383±0.100	7.310±0.109



Şekil 4 : pH nin başlangıçtaki değerine oranla % değişimi.

	15'	30'	60'	90'	120'
SOLUSYON	166.02 ± 21.46				
KÖR	171.18±16.30	166.14±12.04	157.74±8.05	151.43±7.91	151.41±10.74
GRUP I Kontrol	159.95±10.76	151.73±12.07	137.89±10.03	134.25±5.39	133.44±14.56
GRUP II 0.75 ng/ml	154.17±7.87	152.70±4.80	142.57±9.52	139.20±10.80	138.16±13.01
GRUP III 1.5 ng/ml	141.93±6.751	145.03±9.19	143.25±10.06	141.59±8.45	130.73±15.97
GRUP IV 3 ng/ml	158.30±7.800	155.87±11.20	132.84±8.62	141.87±5.92	128.11±13.98



Şekil 5 : pO₂ nin başlangıçtaki değerine oranla % değişimi.

T A R T I Ő M A

Literatürde histaminin böbrek üzerindeki etkileri incelenirken organdaki kan akımı ve sıvı dinamiğine dair parametreler, basınç değişiklikleri araştırılmıştır. Bu çalışmada ise tubuli epitel hücrelerine ait bir fonksiyon üzerine histaminin etkisi incelenmeye çalışıldı.

Araştırmada deney hayvanı olarak özellikle 2.5-3 aylık erkek ratların seçilmesindeki amaç, George ve Solomon'un 1976 da yayınladıkları çalışmanın bulgularına dayanmaktadır (18). Bu araştırmaya göre normal diş ratlardaki amonyak ve CO₂ yapımı erkeklere oranla daha yüksektir. Fakat erişkinlerde overlerin çıkarılması amonyak yapımını önemli ölçüde azaltırken erkeklerde kastrasyon bu fonksiyonu etkilememektedir. Diğer bir deyişle, dişilerin böbrek dokusundaki amonyak sentezi, over hormonlarına bağlı olarak değişebilmektedir. Dolayısıyla çalışmamızda yapılan hayvan seçimi ile, deney şartlarına ilaveten bu hormonların amonyak sentezini etkilemesi önlenmeye çalışıldı.

Hazırlanan ortam sıvılarında kalsiyum konsantrasyonu deneyin doğru netice vermesi yönünden önemlidir. Çünkü literatürde hiperkalseminin veya yüksek kalsiyum konsantrasyonunun amonyak sentez hızını yavaşlattığına dair bulgular mevcuttur (60). Çalışmamızda bu nedenle in vitro şartlarda en uygun olduğu bildirilen 2 mM kalsiyum konsantrasyonu kullanılmıştır.

Hazırladığımız deney şartlarında amonyak sentez hızının bütün ortamlarda 15 dakikada bir tepeye (maksimum) ulaştığı ve 120. dakikada da kontrol seviyelere düştüğü görüldü (Şekil 2). Bu muhtemelen ortama konulan L-glutamin substratının böbrek dokusu tarafından kullanılma hızını göstermektedir. Kontrol grubundan belirli aralıklarla alınan numunelerde sentez hızının deney süresince oldukça sabit kaldığı gözlemlendi. Ortama 0.75 ng/ml histamin ilave edildiğinde ise, sentez hızının sadece 15. dakikada, kontrole nazaran % 27 arttığı bulundu ($P < 0.02$). 1.5 ng/ml histaminli ortamda ise artış 15., 30., 60. ve 90. dakikalarda kontrole nazaran önemli derecede yükselmişti. Bu bulgulara göre aktif amin, sentez hızını arttırıcı yönde etkili olmaktadır. Deneyde incelenen parametreler bunun mekanizması hakkında yeterli bilgi vermemektedir. Fakat histaminin genel özelliklerine uygun olarak, böbrek tubuli hücresinde permeabiliteyi değiştirdiği düşünülebilir. Bu yolla daha fazla substratın hücreye girerek amonyak sentezini arttırması mümkündür.

Bilindiği gibi asidozda da amonyak sentez hızının artışında rol oynayan faktörlerden birisi, glutamin alınımının artmasıdır (63,64).

Normal şartlarda amonyak yapımının % 70'i glutaminaz II enzimi üzerinden ve sitoplazmada yapılır. Bu esnada mitokondrideki glutaminaz I in katkısı % 30 kadardır. Fakat asidozda sitoplazmanın sentez hızı sabit kalırken, mitokondrideki sentezin hızlandığı görülür (1,63). Bu aktivasyon sadece amonyak yapımındaki artışla kendisini göstermez. Ayrıca glutamin utilizasyonunda hücre içi kompartımanlarında birinden diğerine kayma vardır (64). Genellikle sitoplazmaya utilize olan glutamin mitokondriye kayar. Histamin dozunun arttırılarak 3 ng/ml ye çıkarıldığı deney şartlarında ise, daha düşük dozlarda gözlenen amonyak sentezindeki hız artışı bulunamadı. Bu deney grubunda da cevabın 15. dakikada bir tepe yaptığı dikkati çekti. Fakat yükseliş önemli değildir.

Cevabın bu grupta tersine dönmüş olması, muhtemelen histamin reseptörleri üzerinden açıklanabilir. Histaminle yapılan bazı çalışmalarda birbirinin aksi yönde alınan cevapların izahı genellikle, organizmada farklı 2 tipte reseptör bulunmasına bağlanmaktadır. Bu reseptörlerin doyurulması oranında da, birbirine zıt iki cevap elde edilebilmektedir (17,59). Organizmanın bazı bölgelerinde sadece H_1 veya H_2 tipi reseptörler mevcutken bazı yerlerde de ikisine birden rastlanmaktadır (10). Böbrek de bu organlardan birisidir. Tavşan renal damar yatağında H_1 ve H_2 reseptörleri birlikte bulunur (8). Bu reseptörlerin histamin ile aktivasyonu vazokonstriksiyonla neticelenir ve neticede diurez gözlenir. Sadece H_1 lerin stimülasyonu gene diurez ile sonuçlanırken H_2 lerin stimülasyonu ile idrar atılımında değişme olmaz. Köpeklerde ise (5) H_1 reseptörünün stimülasyonu geçici fakat bariz bir kan akımı artışına sebep olur. H_2 stimülasyonu ile daha az, fakat devamlı bir kan akımı artışı görülür.

Her iki reseptörün birlikte bulunduğu organlarda baskın olan reseptörün türüne ve bu reseptörlerin doyurulabilme oranına göre, farklı iki cevap alınabilmesi mümkündür.

Bilindiği gibi amonyak sentezinin başlıca uyararı organizmadaki asit-baz dengesi değişikliğidir. Bu föktörü gözönüne alan araştırmacılar yaptıkları in vitro çalışmalarda ortam pH nı 7.8 de sabit tutmaya çalışmışlardır (45). 1978 de Preuss ve ark. (44) yaptıkları deneylerde pH nın 7.00 ve 8.00 arasında değişmesinin sentez hızını etkilemediğini bildirdiler. Bizim deneyimizde de pH 7.222 ile 7.436 arasında değişti. Bu değişikliğin sentez hızını etkilediğine dair bulgu elde edilemedi.

Deneyin 15. dakikasında 1.5 ng/ml histamin kapsayan grup hariçinde, diğerlerinde ortalama pCO_2 basınçlarının düştüğü görüldü. Bu düşüş muhtemelen ortam sıvısının 30 dakika süre ile % 5 CO_2 ve % 95 O_2 ile doyu-

rumuş olması dolayısıyla, sıvı ile erlenmayer içindeki hava arasında bir denge kurulmasına bağlıdır. Burada CO_2 gazı ile doymuş bulunan sıvıdan, daha düşük basınçlı havaya geçiş olduğu düşünülebilir.

1.5 ng/ml histamin bulunan grupta ise ortalama pCO_2 basıncının düşmemesi, amonyak sentez hızının da yüksek bulunmasına paralel görülmektedir. Çünkü burada sentez diğerlerine oranla önemli nisbette artmış olduğu için reaksiyon sonucu açığa çıkan CO_2 muhtemelen sıvıdaki gaz basıncının aynen korunmasını sağlamıştır.

Deneyin ileri safhalarında görülen pCO_2 değişiklikleri, gene sıvı ve hava ortamlarındaki basınç dengesinin kurulmasına bağlanabilir. Fakat değişiklik her zaman amonyak senteziyle paralel bulunmamıştır. Burada ortama konan doku parçasının büyüklüğü de etkili bir faktör olarak düşünülebilir.

Ortalama pO_2 değişiklikleri karşılaştırıldığında ise kontrol ve deney grupları arasında fark bulunamaması deneyimizde amonyak sentez hızına etkileyecek bir pO_2 değişikliğinin söz konusu olamayacağını göstermiştir.

Çalışmamızda 0.75 ng/ml ve 1.5 ng/ml gibi düşük veya fizyolojik dozlara yakın miktarlarda histaminin, amonyak sentez hızını arttırdığı görülmüştür. Bu bulgular histaminin böbrekte hemodinamik değişiklikler haricinde, tüp fonksiyonlarını da etkilediğini göstermesi bakımından önemlidir ve tüp hücresi üzerinde fizyolojik etkisi olabileceğini doğrular yöndedir. Ancak aminin etki mekanizması ve yüksek dozdaki histamin ile kontrole nazaran önemli fark bulunmamış olması açıklanması gereken konulardır. Bu yönlerin incelenebilmesi muhtemelen reseptörler seviyesinde ve daha ileri çalışmalara ihtiyaç gösterir.

Ö Z E T v e N E T İ C E L E R

Histaminin böbrekte amonyak yapımına etkisini araştırmak amacı ile, ratlardan alınan böbrek dilimleri *in vitro* ortamda incelendi. L-glutaminli ortamda böbrek dilimlerinin amonyak sentezlemesine inkübasyon ortamının etkisi kontrol grubunda araştırıldı.

Üç ayrı deney grubunda da histaminin sırasıyla 0.75 ng/ml, 1.5 ng/ml ve 3 ng/ml olmak üzere farklı dozlarının bu senteze katkısı araştırıldı.

Bütün gruplarda 0., 5., 15., 20., 50., 90. ve 120. dakikalarda örnekler alındı (mm/dk/gr böbrek dokusu başına düşen) amonyak sentez hızı hesaplandı, ayrıca pH, pCO₂ ve pO₂ değişiklikleri tayin edildi.

Kullanılan amonyak ölçüm yönteminin optik dansite değişikliklerine dayanması dolayısıyla, içinde sadece ortam sıvısı ve substratın bulunduğu bir deney grubu da kör olarak değerlendirildi. Körün optik dansitesi eşzamanlı olarak, diğer bütün numunelerden çıkarıldıktan sonra değerlendirilmeler yapıldı.

1) Ölçümlere göre kontrol ve deney gruplarında amonyak sentezinin 15. dakikada en yüksek seviyesine ulaştığı, 120. dakikada da kontrol seviyesine düştüğü görüldü.

2) 0.75 ng/ml histaminle yapılan deneylerde sadece 15. dakikada kontrole nazaran anlamlı bir artış vardı.

3) 1.5 ng/ml histaminin denendiği grupta ise 15., 30., 60. ve 90. dakikada amonyak sentezinin kontrole nazaran önemli nisbette arttığı görüldü.

4) 3 ng/ml histamin ile diğer iki doza nazaran düşük cevaplar alındı, bunlar kontrole oranla farksız bulundu.

Çalışmanın neticesine göre düşük dozlardaki histamin (0.75 ng/ml ve 1.5 ng/ml) amonyak sentez hızını arttırırken, yüksek dozun kontrole nazaran etkisiz olduğu görülmektedir.

Bu farklılığın incelenebilmesi için reseptör seviyesinde ve daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır.

K A Y N A K L A R

1. Adam, W., and Simpson, D.P. : Glutamine transport in rat kidney mitochondria in metabolic acidosis. *J. Clin. Invest.*, 54: 165-174, 1974.
2. Alleyne, G.A. : Concentrations of metabolic intermediates in kidneys of rats with metabolic acidosis. *Nature*, 217: 847-848, 1968.
3. Alleyne, G.A., and Scullard, E.H. : Renal metabolic response to acid-base changes. I. Enzymatic control of ammoniagenesis in the rat. *J. Clin. Invest.*, 48: 364-370, 1969.
4. Balagura, S., Pitts, R.F. : Excretion of ammonia injected into renal artery. *Am. J. Physiol.*, 203: 11-14, 1962.
5. Banks, R.O., Fondacaro, J.D., Schwaiger, M.M., and Jacobson, E.D. : Renal histamine H_1 and H_2 receptors : Characterization and functional significance. *Am. J. Physiol.*, 235(6): F570-75, 1978.
6. Bhargava, K.P., Kulshrestha, V.K., Santhakumari, G., Srivastava, Y.P. : Mechanism of histamin-induced antidiuretic response. *Br. J. Pharm.*, 47: 700-706, 1973.
7. Bromberg, P.A., Robin, E.D., and Forkner, C.E.Jr. : The existence of ammonia in blood in vivo with observations on the significance of the $NH_4^+ - NH_3$ system. *J. Clin. Invest.*, 39: 332-341, 1960.
8. Bökesoy, T.A., and Türker, K.R. : The presence of H_2 , H_1 receptors in rabbit kidney. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 209: 144-149, 1974.
9. Campbell, B., Itskovitz, H.D. : Effect of histamine and antihistamins on renal hemodynamics and functions in the isolated perfused canine kidney. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 198: 661, 1976.
10. Chand, N., and Eyre, P. : Classification and biological distribution of histamine receptor sub-types. *Agents Actions*, 5: 277-295, 1975.
11. Clapp, J.R., Owen, E.E., and Robinson, R.R. : Contribution of the proximal tubule to urinary ammonia excretion by the dog. *Am. J. Physiol.*, 209: 269-272, 1965.

12. Cunarro, J.A., Weiner, M.W. : A comparison of methods for measuring urinary ammonium. *Kidney International.*, 5: 303-305, 1974.
13. Curthoys, N.P., and Weiss, R.F. : Regulation of renal ammoniogenesis. Subcellular localization of rat kidney glutaminase isoenzymes. *J. Biol. Chem.*, 249: 3261-3266, 1974.
14. Davies, B.M.A., and Yudkin, J. : Studies in biochemical adaptation. The origin of urinary ammonia as indicated by the effects of chronic acidosis and alkalosis on some renal enzymes in the rat. *Biochem. J.*, 52: 407-412, 1952.
15. Denis, G., Preuss, H., and Pitts, R.F. : The pNH_3 of renal tubular cells. *J. Clin. Invest.*, 43: 571-582, 1964.
16. Dogterom, J., Van Wimersma, Greidonus, Tj.B., Dewied, D. : Histamine as a extremely potent releaser of vasopressin in rat. *Experientia*, 32(5): 659-660, 1976.
17. Flynn, S.B., and Owen, D.A.A. : Histamin receptors in peripheral vascular beds in the cat. *Brit. J. Pharmacol.*, 55: 181-188, 1975.
18. George, J.P., and Solomon, S. : Dependence of glutamine metabolism and ammonia synthesis on sex in rat kidney selices. *J. Endocr.*, 79: 271-276, 1978.
19. Glabman, S., Klose, R.M., and Giebisch, G. : Micropuncture study of ammonia excretion in the rat. *Am. J. Physiol.*, 205: 127-132, 1963.
20. Goldstein, L. : Actinomycin D inhibition of the adaptation of renal glutamine-deaminating enzymes in the rat. *Nature*, 205: 1330-1331, 1965.
21. Goldstein, L. : Relation of glutamate to ammonia production in the rat kidney. *Am. J. Physiol.*, 210: 661-666, 1966.
22. Goodman, A.D., Fuisz, R.E., and Cahill, G.F. : Renal gluconeogenesis in acidosis alkalosis and potassium deficiency : Its possible role in regulation of renal ammonia production. *J. Clin. Invest.*, 45: 612-619, 1966.
23. Goorno, W.E., Rector, F.C. Jr., and Seldin, D.W. : Relation of gluconeogenesis to ammonia production in the dog and rat. *Am. J. Physiol.*, 213: 969-974, 1967.
24. Hayes, C.P. Jr., Mayson, J.S., Owen, E.E., and Robinson, R.R. : A micropuncture evaluation of renal ammonia excretion in the rat. *Am. J. Physiol.*, 207: 77-83, 1964.
25. Hirose, T., Matsumoto, I., and Aikawa, T. : Direct effect of histamine on cortisol and corticosteron production by isole dog adrenal cells. *J. Endocrinol.*, 76(2): 371-372, 1978.
26. Itskowitz, H.D., Campbell, W.B. : Vasodilatators, intrarenal distribution of blood flow and renal function in isolated perfused canin kidneys. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 153: 161-165, 1976.

27. Kahlson, G., and Rosengren, E. : The functions and status of histamine in the gastric mucosa. Chapter 9. Biogenesis and Physiology of Histamin. Ed. by. Kahlson G. and Rosengren E., p: 163,172,198,184, 193,95,52; 1971.
28. Karlmark, B., and Danielson, B.G. : Titratable acid pCO_2 ; bicarbonate and ammonium ions along the rat proximal tubule. *Acta Physiol. Scand.*, 91: 243-258, 1974.
29. Klein, I., Levey, G.S. : Activation of myocardial adenyl cyclase by histamine in guinea-pig, cat and human heart. *J. Clin. Invest.*, 50: 1012-1015, 1971.
30. Leibowitz, S.F. : Histamin : A stimulatory effect on drinking behavior in the rat. *Brain Res.*, 63: 440-444, 1973.
31. Lotspeich, D.W. : Metabolic aspects of acid-base change. *Science*, 155: 1066-1074, 1967.
32. Maslinski, C. : Histamine and its metabolism in mammals. Part II : Catabolism of histamine and histamine liberation. *Agents Actions*, 5(3): 183-225, 1975.
33. Maslinski, C. : Histamine and its metabolism in mammals. Part I : Chemistry and formation of histamine. *Agents Actions*, 5(2): 89-107, 1975.
34. Narins, R.G., and Relman, A.S. : Acute effects of acidosis on ammoniogenic pathways in the kidney of the intact rat. *Amer. J. Physiol.*, 227: 946-949, 1974.
35. O'Brien, K.P., and Williamson, H.E. : The natriuretic action of histamine. *Eur. Pharm.*, 16: 385-390, 1971.
36. Owen, E.E., Tyor, M.P., Flanagan, J.F. and Berry, J.N. : The kidney as a source of blood ammonia in patients with liver disease : The effect of acetazolamide. *J. Clin. Invest.*, 39: 288-293, 1960.
37. Owen, E.E., Johnson, J.H., and Tyor, M.P. : The effect of induced hyperammonemia on renal ammonia metabolism. *J. Clin. Invest.*, 40: 214-221, 1961.
38. Pitts, R.F. : Renal production and excretion of ammonia. *Am. J. Med.*, 36: 720-742, 1964.
39. Pitts, R.F. : Renal regulation of acid-base balance. In: *Physiology of the kidney and body fluids*. Section 11, 1974. p: 223, 218.
40. Pitts, R.F. : Control of renal production of ammonia. *Kidney Inter.*, 1: 297-305, 1972.
41. Pitts, R.F., Pilkington, L.A., MacLeod, M.B. and Leol-Pinto, E. : Metabolism of glutamine by the intact functioning kidney of the dog. *Studies in metabolic acidosis and alkalosis*. *J. Clin. Invest.*, 51: 557-565, 1972.

42. Preuss, D.U., and Code, C.F. : Inhibition of gastric secretion by H_2 -receptor antagonist, Burimamide. *Fed. Proc.*, 32: 393 Abs, 1973.
43. Preuss, H.G. : Pyridine nucleotides in renal ammonia metabolism. *J. Lab. Clin. Med.*, 72: 370-382, 1968.
44. Preuss, H.G., Eastman, T.S., Vavatsi Manos, O., Baird, K., Roxel, D.M.: The regulation of renal ammoniogenesis in the rat by extracellular factors. I. The combined effects of acidosis and physiologic fuels. *Metabolism*, 27: 1626, 1978.
45. Preuss, H.G., O.Vavatsi-Manos, CDR. L. Ventuno and K. Baird : The effects of pH change on renal ammonia-generation in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 146: 803-808, 1974.
46. Pontiroli, A.E., Pozza, G. : Histamine stimulates prolactin release in normal men. *Acta Endocrinol.*, 88(1): 23-28, 1978.
47. Rector, F.C. : Renal acidification and ammonia production; Chemistry of Weak Acids and Bases; Buffer Mechanisms. In: *The Kidney*. ed. by Brenner and Rector. Chapter 9, Volum I, W.B. Saunders Company, 1976, p: 338.
48. Riley, J.F. : Detailed distribution of mast cell in cattle and in the rat. In: *The Mast Cells*. Ed. by. Riley, J.F., Chapter VII, Livingstone Ltd., Edinburgh and London, 1959, p: 43.
49. Sachs, G., Spenny, J.G., and Lewin, M. : H^+ Transport : Regulation and Mechanism in Gastric Mucosa and Membrane vesicles. *Physiol. Rev.* 58(1): 106-173, 1978.
50. Sato, A., Hashizume, K., Onaya, T., Miyakawa, M., Makiuchi, M., Furihata, R. : Effect of biogenic amines on the formation of adenosine 3',5'-monophosphate in human thyroid slices. *Endocrinol. Jpn.* 23(4): 319-325, 1977.
51. Selkurt, E.E. : Influence of histamine on electrolyte and water handling of the canine kidney. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 155: 605-610, 1977.
52. Schwartz, M.M., and Cotran, R.S. : Vascular leakage in the kidney and lower urinary tract : Effects of histamine serotonin and bradykinin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 140: 535-539, 1972.
53. Sinclair, R.J., Bell, R.D., Keyl, M.J. : Effects of PGE_2 and histamine on renal fluid dynamics. *Am. J. Physiol.*, 227: 1062-1066, 1974.
54. Simpson, D.P. : Glutamin transport in dog kidney, mitochondria (A new control mechanism in acidosis). *Med. Clin. N. Amer. Symposium on Renal Metabolism*, 59(3): 555-567, 1975.
55. Sonnenberg, A., Hunziker, W., Kocicz, H.R., Fischer, J.A., and Blum, A.L.: Stimulation of endogenous cyclic AMP (cAMP) in isolated gastric cells by histamine and prostaglandin. *Proc. Symp. Gastric ion Transport, Uppsala 1977. Acta Physiol. Scand. Special Suppl.* 1978, p. 307-317.

56. Sullivan, L.P., and Mc Vaugh, M. : Effects of rapid and transitory changes in blood and urine pH on ammonia excretion. *Am. J. Physiol.*, 204: 1077-1085, 1963.
57. Telford, J.M. : Formation of histamine in rat tissues. *Nature*, 197: 701-702, 1963..
58. Telford, J.M. and West, G.B. : The formation of histamine in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.*, 13: 75-82, 1961.
59. Tucker, A., Wein, E.K., Reeves, J.T., Grower, R.F. : Histamine H₁ and H₂ receptors in pulmonary and systemic vasculature of the dog.¹ *Am. J. Physiol.*, 229: 1008-1013, 1975.
60. Vavatsi-Monas, O., and Preuss, H.G. : The effects of high calcium concentrations on renal ammoniogenesis by rat kidney slices. *Nephron*, 17: 474-482, 1976.
61. Verleux Rene : Mast cell increase in the duodenum and kidney magnesium-deficient rats. *Lab. Invest.*, 33: 80-87, 1975.
62. Walker, A.M., : Ammonia formation in the amphibian kidney. *Am. J. Physiol.*, 131: 184-187, 1940-41.
63. Welbourne, T.C. : Mechanism of renal ammonia production adaptation to chronic acidosis. *Med. Clin. North Am.*, 59: 629-648, 1975.
64. Welbourne, T.C., Franceeur, D., Thonley-Brown, G., Welbourne, C.J. : Ammonia production and pathways of glutamine utilization in rat kidney slices. *Biochimica et Biophysica. Acta.*, 444: 644-652, 1976.

