ผลการฉีดโซเดียมเมตาวานาเดตต่อระบบไหลเวียนเลือดในไต และการทำงานของหลอดไตในสุนัขที่สลบ

นางสาว สุนีย์ องค์มีเกียรติ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สหสาขาวิชาสรีรวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2537

ISBN 974-631-026-7

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I14101165

EFFECTS OF SODIUM METAVANADATE INFUSION ON RENAL HEMODYNAMICS AND TUBULAR FUNCTIONS IN ANESTHETIZED DOGS

Miss Sunee Ongmekiat

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the degree of Master of Science
Inter-Department of Physiology
Graduate School
Chulalongkorn University
1994

ISBN 974-631-026-7

Copyright of Graduate School, Chulalongkorn University

Thesis Title	**Effects of sodium metavanadate infusion on renal hemodynamics and tubular functions in anesthetized dogs.**
By	**Miss Sunee Ongmekiat**
Inter-Department	**Physiology**
Thesis Advisor	**Professor Narongsak Chaiyabutr, Ph.D.**
Thesis Co-Advisor	**Professor Visith Sitprija, Ph.D.**

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

Santi Thoongsuwan
.....**Dean of Graduate School**

(Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D.)

Thesis Committee

Puttipongse Varavudhi
.....**Chairman**

(Professor Puttipongse Varavudhi, Ph.D.)

Narongsak Chaiyabutr
.....**Thesis Advisor**

(Professor Narongsak Chaiyabutr, Ph.D.)

Visith Sitprija
.....**Thesis Co-Advisor**

(Professor Visith Sitprija, Ph.D.)

.....**Member**

(Associate Professor Bungorn Chomdej, Ph.D.)

Choogiart Sucanthapree
.....**Member**

(Assistant Professor Choogiart Sucanthapree, Ph.D.)

Copyright of the Graduate School, Chulalongkorn University.

สุนีย์ องค์มิเกียรติ : ผลการฉีดโซเดียมเมตาวานาเดตต่อระบบไหลเวียนเลือดในไต และการทำงานของหลอดไตในสุนัขที่สลบ (EFFECTS OF SODIUM METAVANADATE INFUSION ON RENAL HEMODYNAMICS AND TUBULAR FUNCTIONS IN ANESTHETIZED DOGS) อ. ที่ปรึกษา : ศ.น.สพ.ดร. ฉรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร และ ศ.นพ.ดร. วิศิษฏ์ สิตปรีชา, 150 หน้า. ISBN 974-631-026-7

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษา ผลการฉีดโซเดียมเมตาวานาเดตเข้าทางหลอดทางหลอดเลือดดำในขนาด 0.2 ไมโครโมลต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อ 1 นาที ต่อระบบหัวใจและหลอดเลือด การไหลเวียนเลือดในไตและการทำงานของหลอดไต (กลุ่ม 1) รวมทั้งการศึกษากลไกการออกฤทธิ์ว่าผ่านผลกระทบอื่นโดยทางอ้อม หรือเป็นผลต่อเอมไซม์ภายในเซลล์โดยตรงด้วยการให้ร่วมกับสารปิดกั้นแอลฟ่า-1-อะดรีเนอร์จิก, พลาโซซิน (กลุ่ม 2), สารปิดกั้นเบต้า-1-อะดรีเนอร์จิก, อะทีนอลออล (กลุ่ม 3), สารยับยั้งเอมไซม์ในการเปลี่ยนเป็นแอนจิโอเทนซิน 2, เอนาลาปริล มาลีเอท (กลุ่ม 4), สารเพิ่มการทำงานของพาราซิมพาเทติค, อะซีติลโคลีน (กลุ่ม 5) และสารยับยั้งการนำแคลเซียมผ่านช่องเข้าเซลล์, เวอร์ราพามิล (กลุ่ม 6) ในสุนัขสลบพบว่า การฉีดโซเดียมเมตาวานาเดตมีผลทำให้ความดันเลือดแดงเพิ่มขึ้น กลุ่ม 3 และ 4 เพิ่มขึ้นน้อยกว่ากลุ่ม 1 ($P<0.05$) แต่กลุ่ม 2 และกลุ่ม 6 กลับลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่ม 1 ($P<0.01$) อัตราการเต้นของหัวใจลดลงทุกกลุ่ม กลุ่ม 3 และ 5 ลดลงมากกว่ากลุ่ม 1 ($P<0.05$) กลุ่ม 6 ลดลงน้อยกว่ากลุ่ม 1 ($P<0.05$) อัตราการกรองผ่านกลอเมอรูรัส อัตราการไหลของพลาสม่าและเลือดผ่านไตลดลง ความต้านทานของหลอดเลือดที่ไตเพิ่มขึ้น มีเพียงกลุ่ม 6 ที่ความต้านทานของหลอดเลือดที่ไตเพิ่มขึ้นน้อยกว่ากลุ่ม 1 ($P<0.01$) อัตราการขับโซเดียมออกทางปัสสาวะลดลง ส่วนกลุ่ม 2 และ 6 กลับเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) อัตราการขับโพแทสเซียมออกทางปัสสาวะลดลง ส่วนกลุ่ม 2 และ 3 ลดลงน้อยกว่ากลุ่ม 1 ($P<0.01$) ขณะที่กลุ่ม 4-6 เพิ่มขึ้น ($P<0.01$) อัตราการขับคลอไรด์ออกทางปัสสาวะลดลง กลุ่ม 3 ลดลงน้อยกว่ากลุ่ม 1 ส่วนกลุ่ม 2 และ 6 กลับเพิ่มขึ้น ($P<0.01$) อัตราการขับไบคาร์บอเนตออกทางปัสสาวะเพิ่มขึ้น ส่วนกลุ่ม 4 และ 5 เพิ่มขึ้นน้อยกว่าในกลุ่ม 1 ($P<0.05$) แต่กลับลดลงในกลุ่ม 2 ($P<0.01$) ไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณอิเล็กโทรไลต์ในเลือด แต่กลับเพิ่มปริมาณในปัสสาวะ ความเป็นกรดในเลือดเพิ่มขึ้นในทุกกลุ่ม ความเป็นด่างในปัสสาวะเพิ่มขึ้นในกลุ่ม 1 ส่วนกลุ่ม 2,4-6 นั้นกลับลดลง ($P<0.01$) อัตราการขับกรดลดลง ส่วนกลุ่ม 3 และ 6 ลดลงน้อยกว่ากลุ่ม 1 ($P<0.05$) กลุ่ม 2 และ 4 กลับเพิ่มขึ้น ($P<0.01$) อัตราการขับน้ำทิ้งลดลง ขณะที่กลุ่ม 3-6 เพิ่มขึ้น ($P<0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าวานาเดตมีผลลดขีดจำกัดของไตและอัตราการเคลื่อนผ่านเพื่อดูดกลับของกลูโคสและไบคาร์บอเนต รวมทั้งลดอัตราการเคลื่อนผ่านเพื่อขับหลั่งและขับทิ้งของพี.เอ.เอช.ในปัสสาวะ เมื่อหยุดให้สารนี้ผลการเปลี่ยนแปลงกลับสู่ค่าปกติ

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าโซเดียมเมตาวานาเดตจะมีผลต่อหัวใจและหลอดเลือด การไหลเวียนเลือดของไตและการทำงานของหลอดไตทั้งส่วนต้นและส่วนปลายชั่วคราว ระบบประสาทอัตโนมัติผ่านตัวรับแอลฟ่า-1 และเบต้า-1-อะดรีเนอร์จิกและเรนิน-แองจิโอเทนซินมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของหัวใจและหลอดเลือด การออกฤทธิ์ต่อเอมไซม์ภายในเซลล์โดยตรงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของหัวใจและหลอดเลือด การไหลเวียนเลือดของไต และ การทำงานของหลอดไต จึงพบว่าเมื่อให้โซเดียมเมตาวานาเดตร่วมกับเวอร์ราพามิลการทำงานของไตดีขึ้น

ภาควิชา สรีรวิทยา ลายมือชื่อนิสิต สุนีย์ องค์มิเกียรติ

สาขาวิชา สรีรวิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2538 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

##C 346966 : MAJOR PHYSIOLOGY
KEY WORD : METAVANADATE / RENAL HEMODYNAMICS / RENAL TUBULAR FUNCTION / DOG
SUNEE ONGMEKIAT : EFFECTS OF SODIUM METAVANADATE INFUSION ON RENAL HEMODYNAMICS AND TUBULAR FUNCTIONS IN ANESTHETIZED DOGS. THESIS ADVISOR : PROF. NARONGSAK CHAIYABUTR, Ph. D. AND PROF. VISITH SITPRIJA, Ph.D. 150 pp. ISBN 974-631-026-7

This research has the objective to study the *in vivo* effects of intravenous sodium metavanadate infusion in a dose of 0.2 μmole/kg/min on cardiovascular, renal hemodynamics and renal tubular functions (group I) and elucidate the mechanisms responsible for this alterations which mediated by indirect the other affection or direct result of the actions of ATPase system of cell in anesthetized dogs pretreated with selective alpha-1 adrenergic receptor blocker, prazosin (group II) or selective beta-1 adrenergic receptor blocker, atenolol (group III) or angiotensin converting enzyme inhibitor, enalapril maleate (group IV) or parasympamimetic, acetylcholine (group V) or calcium entry through voltage-dependent channel blocker, verapamil (group VI). Intravenous infusion of sodium metavanadate produced a rise in mean arterial blood pressure. Mean arterial blood pressure in group III and IV increased as a manner of group I but they were less than group I ($P<0.05$), while in group II and VI decreased as a opposite of group I ($P<001$). Heart rate decreased in the same pattern in all six groups. In group III and V were more than group I ($P<0.05$), while in group VI was less than group I ($P<0.05$). Glomerular filtration rate, effective renal plasma and blood flow decreased as well as the renal vascular resistance increased in group I. Only group VI, renal vascular resistance increased less than group I ($P<0.05$). Fractional urinary excretion of potassium decreased in group I. In group II and III decreased less than group I ($P<0.01$), while group IV-VI increased higher than group I ($P<0.01$). Fractional urinary excretion of chloride decreased in group I. In group III decreased less than group I ($P<0.01$), in group II and VI increased higher than group I ($P<0.01$). Fractional urinary excretion of bicarbonate increased in group I. Group IV and V increased less than group I ($P<0.05$), but group II decreased ($P<0.01$). No significant change in plasma anion gap was observed, but urine anion gap increased in group I. Blood pH decreased in all groups. Urinary pH increased in group I, but group II, IV, V, and VI it decreased ($P<0.01$). Fractiona net acid excretion decreased in group I. In group III and VI decreased less than group I ($P<0.05$), group II and IV increased higher than group I ($P<0.01$). Fractional excretion of water decreased in group I, while group III -VI increased ($P<0.05$). Moreover, vanadate caused a decrease in renal threshold and transtubule maximum rate of glucose reabsorption, bicarbonate reabsorption and PAH secretion and excretion. Stopping the sodium metavanadate infusion, In any of the measurement made restored to normal.

These results may suggest that sodium metavanadate produced a striking but reversible in cardiovascular effects and both renal vascular and renal tubular effects espectially in proximal and distal tubule entire of nephron. Central autonomic neurogenic effects via postsynaptic alpha-1 and beta-1 adrenoreceptor and renin-angiotensin are involved in modulating of changes in cardiovascular effects of sodium metavanadate. Direct action of sodium metavanadate on both vascular and renal tubular cells ATPase system via increasing intracelllular calcium concentration is a major involved in modulating of cardiovascular, renal hemodynamics and renal tubular function changes in dogs after given sodium metavanadate. The improvement of these defect response that were elicited by vanadate occur in animals pretreated with verapamil.

ภาควิชา ..... ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deep gratitude to my advisor, Professor Dr. Narongsak Chaiyabutr, and my co-advisor, Professor Dr. Visith Sitprija for their kind advice, guidance, frank, keen interest and constant encouragement throughout this study.

My sincere and warm appliciation is also express to Associate Professor Prapa Loypetjra, Miss. Siripen Komolvanich, teachers and all the staffs of Department of Physiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University for their kindness and provision the facilities used in experimental works and laboratory technique.

My Thanks would also express to Division of Nephrology, Department of Medicine Science and Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University for provision the facilities used in experimental works.

I am also indebted to all experimental dogs for their sacrifice which bring me to succeed in my study.

The committee of the Graduate School, Chulalongkorn University, for the research grant to support this study.

Finally, I am extremely greatful to my parent and my brothers for their love, encouragement and everything given to me.

TABLE OF CONTENTS

Page

THAI ABSTRACT iv
ENGLISH ABSTRACT v
ACKNOWLEDGEMENT vi
TABLE OF CONTENTS vii
LIST OF TABLES ix
LIST OF FIGURES x
ABBREVIATION xiii

CHAPTER

I. INTRODUCTION AND AIMS 1
II. BACKGROUND INFORMATION
1. Vanadium and Pharmacokinetic 5
2. Action of Vanadium Compounds on Enzymes 6
3. Cardiovascular Effects of Vanadium 10
4. Renal Effects of Vanadium 12
5. Toxicology of Vanadium 14
6. Role of the Renal Nerve and Hormone on Renal Functions 15
7. Role of the Sodium Pump and Calcium Ion Channels on Renal Functions 17
8. Machanism and Regulation of Renal Tubular Acidification 21
III. MATERIALS AND METHODS
1. Animal Preparation 24
2. Surgical and Experiment Procedure 24
3. Experimental Protocols 27
4. Determination of Blood and Urine Samples 33
5. Calculation 35
6. Statistical Analysis 36

Page

CHAPTER

IV. RESULTS

1. Effects of Intravenous Sodium Metavanadate Infusion on General Circulation 37
2. Effects of Intravenous Sodium Metavanadate Infusion on Renal Hemodynamics 45
3. Effects of Intravenous Sodium Metavanadate Infusion on Urinary Electrolytes Excretion 59
4. Effects of Intravenous Sodium Metavanadate Infusion on Urinary Acid-Base Excretion 95
5. Effects of Intravenous Sodium Metavanadate Infusion on Urinary Water Excretion 103
6. Effects of Intravenous Sodium Metavanadate Infusion on Renal Tubular Transport 118

V. DISCUSSION 132

BIOLIOGRAPHY 143

BIOGRAPHY 150

LIST OF TABLES

Table		Page
1.	Changes in mean arterial blood pressure, heart rate, and packed cell volume in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	43
2.	Changes in renal hemodynamics in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	55
3.	Changes in sodium excretion in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	79
4.	Changes in potassium excretion in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	80
5.	Changes in chloride excretion in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	81
6.	Changes in bicarbonate excretion in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	82
7.	Changes in plasma and urine anion gap in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	93
8.	Changes in blood pH, blood Pco_2, urine pH, urine Pco_2 and urine-blood Pco_2 in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	108
9.	Changes in acid-base excretion in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	112
10.	Changes in water excretion in response to intravenous sodium metavanadate infusion in six groups	115
11.	Changes in glucose reabsorption in response to intravenous sodium metavanadate infusion	126
12.	Changes in bicarbonate reabsorption in response to intravenous sodium metavanadate infusion	128
13.	Changes in PAH secretion in response to intravenous sodium metavanadate infusion	130

LIST OF FIGURES

Figure		Page
A.	Scheme of experiment	26
B.	Diagrammatic illustration of experimental protocols of Series I	30
C.	Diagrammatic illustration of experimental protocols of Series II	32
1.	Percentage changes in mean arterial blood pressure (MAP) and heart rate (HR) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate	44
2.	Percentage changes in urine flow rate (V) and glomerular filtration rate (GFR) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate	56
3.	Percentage changes in effective renal plasma flow (ERPF) and effective renal blood flow (ERBF) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate	57
4.	Percentage changes in filtration fraction (FF) and renal vascular resistance (RVR) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate	58
5.	Percentage changes in plasma sodium concentration (P_{Na}) and plasma potassium concentration (P_K) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate	83
6.	Percentage changes in plasma chloride concentration (P_{Cl}) and blood bicarbonate concentration (B_{HCO_3}) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate	84
7.	Percentage changes in filter load of sodium ($GFR \times P_{Na}$) and potassium ($GFR \times P_K$) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate	85

Figure Page

8. Percentage changes in filter load of chloride ($GFR \times P_{Cl}$) and bicarbonate ($GFR \times P_{HCO_3}$) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 86
9. Percentage changes in urinary sodium excretion ($U_{Na}V$) and urinary potassium excretion (U_KV) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 87
10. Percentage changes in urinary chloride excretion ($U_{Cl}V$) and urinary bicarbonate excretion ($U_{HCO_3}V$) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 88
11. Percentage changes in tubular reabsorption of sodium (T_{Na}) and potassium (T_K) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 89
12. Percentage changes in tubular reabsorption of chloride (T_{Cl}) and bicarbonate (T_{HCO_3}) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 90
13. Percentage changes in fractional excretion of sodium (FE_{Na}) and potassium (FE_K) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 91
14. Percentage changes in fractional excretion of chloride (FE_{Cl}) and bicarbonate (FE_{HCO_3}) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 92
15. Percentage changes in plasma anion gap and urine anion gap compaired to control period of each group in six group of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 94

Figure Page

16. Percentage changes in blood pH and urine pH compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 109
17. Percentage changes in blood P_{CO_2} and urine P_{CO_2} compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 110
18. Percentage changes in urine-blood P_{CO_2} compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 111
19. Percentage changes in urinary titratable acid excretion ($U_{TA}V$) and urinary ammonium excretion ($U_{NH_4}V$) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 113
20. Percentage changes in fractional net acid excretion (NAE/GFR) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 114
21. Percentage changes in fractional water excretion (V/GFR) and fractional osmolar clearance (C_{osm}/GFR) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 116
22. Percentage changes of fractional free water clearance (C_{H_2O}/GFR) compaired to control period of each group in six groups of animals response to intravenous infusion of sodium metavanadate 117
23. Plot of tubular glucose reabsorption per millilitre of GFR (T_G/GFR) against plasma glucose concentration (PANEL A) or fractional sodium excretion (PANEL B) before (squares), during (triangles), and after (circles) intravenous sodium metavanadate infusion in dogs 127
24. Plot of tubular bicarbonate reabsorption per litre of GFR (T_{HCO_3}/GFR) against blood bicarbonate concentration (PANEL A) or fractional chloride excretion (PANEL B) before (squares), during (triangles) and after (circles) intravenous sodium metavanadate infusion in dogs 129
25. Plot of tubular PAH secretion per millilitre of GFR (T_{PAH}/GFR) against free plasma PAH concentration before (squares), during (triangles) and after (circles) intravenous sodium metavanadate infusion in dogs 131

ABBREVIATION

ACh	=	Acetylcholine
AMP	=	Adenosine monophosphate
AT	=	Atenolol
ATP	=	Adenosine triphosphate
B	=	Blood
C	=	Clearance
cAMP	=	Cyclic adenosine monophosphate
CEI	=	Converting enzyme inhibitor
C_{H_2O}/GFR	=	Fractional free water clearance
C_{osm}/GFR	=	Fractional osmolar clearance
EF_{PAH}	=	Extraction fraction of PAH
ERPF	=	Effective renal plasma flow
ERBF	=	Effective renal blood flow
FE_e	=	Fractional excretion of electrolyte
FF	=	Filtration fraction
G	=	Glucose
GFR	=	Glomerular filtration rate
$GFR \times P_e$	=	Filtered load of electrolyte
HR	=	Heart rate
In	=	Inulin
IR	=	Intrarenal arterial infusion
IV	=	Intravenous infusion
kg.bw.	=	Kilogram of body weight
MAP	=	Mean arterial blood pressure
MK 422	=	Enalapril Maleate

NAE	= Net acid excretion
$NaVO_3$	= Sodium metavanadate
NH_4	= Ammonium
NSS	= Normol saline solution
Osm	= Osmolality
P	= Plasma
P_d	= Diastolic blood pressure
P_s	= Systolic blood pressure
PAH	= p-aminohippuric acid
PCV	= Packed cell volume
Pra	= Prazosin
RVR	= Renal vascular resistance
TA	= Titratable acid
T	= Tubular transport (reabsorption or secretion)
U	= Urine
UV	= Urinary excretion
v	= Intravenous injection
V	= Urine flow rate
Ver	= Verapamil
V/GFR	= Fractional water excretion