

ผลของพิษงูแมวเซาต่อหน้าที่ของไตในการควบคุมการขับฟอสฟอรัสออกทางปัสสาวะในสุนัข



นายประเสริฐ มีรัตน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สหสาขาวิชา สรีรวิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พศ. 2529

ISBN 974-567-363-3

013702

I 16436234

EFFECT OF RUSSELL'S VIPER VENOM ON THE RENAL HANDLING
OF INORGANIC PHOSPHORUS IN DOGS



Mr. Prasert Meeratana

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirements for the Degree of Master of Science

Inter Department of Physiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1986

ISBN 974-567-363-3



Thesis Title Effect of Russell's Viper Venom on the renal
 handling of inorganic phosphorus in dogs.

By Mr. Prasert Meeratana

Inter-Department Physiology

Thesis Advisor Associated Professor Narongsak Chaiyabutr, Ph.D.

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in
 partial fulfillment of the requirements for Master's degree.

Thavorn Vajravbhaya
 Dean of Graduate School
 (Professor Thavorn Vajravbhaya, Ph.D.)

Thesis Committee

Twinsri Worawan Chairman
 (Associate Professor Twinsri Worawan, MD.)

Prapa Loypetjra Member
 (Associate Professor Prapa Loypetjra, DVM.)

Bungorn Chomdej Member
 (Associate Professor Bungorn Chomdej, Ph.D.)

Narongsak Chaiyabutr Member
 (Associate Professor Narongsak Chaiyabutr, Ph.D.)

Choogiart Sucanthapree Member
 (Assistant Professor Choogiart Sucanthapree, Ph.D.)

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของพิษงูแมวเซาต่อหน้าที่ของไตในการควบคุมการขับฟอสฟอรัส

ออกทางปัสสาวะ ในสุนัข

ชื่อนิสิต

นายประเสริฐ มีรัตน์

อาจารย์ที่ปรึกษา

รศ.ดร. ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร

สหสาขาวิชา

สรีรวิทยา

ปีการศึกษา

2529



บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้ทำขึ้นเพื่อศึกษาผลของพิษงูแมวเซาต่อการทำงานของระบบไหลเวียนเลือดและหน้าที่ของไตที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมการขับฟอสฟอรัสทางปัสสาวะ โดยทำการศึกษาในสุนัขพันธุ์ทางเพศผู้ 16 ตัวในขณะได้รับยาสลบ แบ่งสุนัขออกเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 8 ตัว กลุ่มที่ 1 เป็นสุนัขปรกติ ใช้เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์ 24 ชม. ก่อนการทดลอง สุนัขแต่ละตัวได้รับพิษงูแมวเซาโดยการฉีดเข้าทางหลอดเลือดแดงของไตอย่างต่อเนื่อง ขนาด 0.02 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ด้วยอัตรา 0.32 มิลลิตร ต่อนาที ในระยะแรกหลังจากฉีดพิษพบว่า ค่าเฉลี่ยความดันโลหิตในหลอดเลือดแดง ค่าความดันซีพจร และอัตราการเต้นของหัวใจลดลงทั้งสองกลุ่ม หลังจากนั้นค่าเฉลี่ยความดันโลหิตในหลอดเลือดแดง และอัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ค่าความดันซีพจรลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ตลอดการทดลอง การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวของสุนัขกลุ่มปรกติจะเด่นชัดกว่ากลุ่มที่ตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์ซึ่งเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าและกลับเข้าสู่ระดับปรกติได้เร็วกว่า ค่าปริมาณเม็ดเลือดคอกแทนของทั้งสองกลุ่มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระยะเริ่มแรกของการฉีดพิษงู จากนั้นจะลดลงสู่ระดับปรกติอย่างช้า ๆ ตลอดการทดลอง ค่าความเข้มข้นของ โซเดียม คลอไรด์ และแคลเซียมในพลาสมาของทั้งสองกลุ่มไม่เปลี่ยนแปลงตลอดการทดลอง สำหรับค่าความเข้มข้นของแคลเซียมในพลาสมาของ กลุ่มที่ตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์จะต่ำกว่ากลุ่มปรกติอย่างมีนัยสำคัญและคงที่ตลอดการทดลอง ค่าความเข้มข้นของโปรตีนซีรัมในพลาสมาของทั้งสองกลุ่มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับพิษงูไปจนถึงสิ้นสุดการทดลอง ส่วนค่าความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในพลาสมาของ กลุ่มที่ตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์ เพิ่มขึ้นในช่วง 1 1/2 - 3 ชั่วโมงหลังจากได้รับพิษงู แล้ว

กลับสู่ระดับปกติในช่วง 4 ชั่วโมงที่ 4 แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในกลุ่มปกติ อัตราการไหลของพลาสมาผ่านไต อัตราการไหลของเลือดผ่านไต อัตราการกรองผ่านกรอเมอรูลัส อัตราการไหลของปัสสาวะและปริมาณการกรองผ่านของอิเล็กโทรไลต์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในทั้งสองกลุ่ม ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของความต้านทานของหลอดเลือดที่ไตหลังจากได้รับพิษงู แต่พบว่ากลุ่มที่ตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์จะมีการตอบสนองที่น้อยกว่าและกลับสู่ระดับปกติเร็วกว่ากลุ่มปกติ ค่าเฉลี่ยแลนซ์ของน้ำอัสระของกลุ่มปกติเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระยะแรกของการได้รับพิษงูแล้วจึงลดลงอย่างช้า ๆ ขณะที่กลุ่มที่ถูกตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์จะลดลงอย่างช้า ๆ ตลอดการทดลอง ในระยะแรกของการได้รับพิษงูพบว่า ค่าเฉลี่ยแลนซ์ของน้ำอัสระของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ในช่วง 4 - 5 หลังจากฉีดพิษงูจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ค่าแปรคชันของการกรองของทั้งสองกลุ่มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระยะแรกของการได้รับพิษงูแล้วลดลงสู่ระดับปกติอย่างช้า ๆ ตลอดการทดลองและไม่พบว่ามี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มตลอดการทดลอง การขับออกของ โซเดียม โปตัสเซียม คลอไรด์ แคลเซียม ฟอสฟอรัส และกรดไตเตรเตเบิลทางปัสสาวะ ของทั้งสองกลุ่ม ลดลงอย่างมีนัยสำคัญควบคู่ไปกับการลดลงของอัตราการไหลของปัสสาวะและพบว่ากลุ่มที่ตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์จะลดลงน้อยกว่าและกลับสู่ปกติได้เร็วกว่ากลุ่มปกติ ค่าแปรคชันการขับออกของโซเดียม แคลเซียม และฟอสฟอรัสทางปัสสาวะในกลุ่มที่ตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในช่วง 4 ชั่วโมงที่ 5 หลังจากได้รับพิษงู ขณะที่กลุ่มปกติมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นในระยะหลัง ๆ ของการได้รับพิษงู ส่วนค่าแปรคชันการขับออกของคลอไรด์ทั้งสองกลุ่มจะเพิ่มขึ้นในลักษณะเดียวกับการเพิ่มขึ้นของค่าแปรคชันการขับออกของโซเดียม ของแต่ละกลุ่ม

จากข้อมูลทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า การตัดต่อมธัยรอยด์และพาราธัยรอยด์จะลดผลของพิษงูแมวเซาต่อระบบไหลเวียนเลือดในร่างกาย การไหลเวียนเลือดในไต และหน้าที่ของท่อไต ซึ่งเชื่อว่าจะเป็นผลจากการลดลงของพลาสมาแคลเซียม โดยมีส่วนร่วมในลำดับการตอบสนองต่อพิษงูแมวเซาของภายในเซลล์ สำหรับผลของพิษงูแมวเซาต่อการเพิ่มการขับฟอสฟอรัสออกทางปัสสาวะนั้นพบว่าไม่ขึ้นกับ พาราธัยรอยด์ฮอร์โมน ระดับของแคลเซียมในพลาสมา และการเพิ่มขึ้นของของเหลวภายนอกเซลล์ เชื่อว่าเป็นผลโดยตรงของพิษงูแมวเซาในการยับยั้งระบบการขนส่งรวมของโซเดียมและฟอสเฟตในท่อไต ในขณะเดียวกัน ความไม่สมดุลของกรด-ด่างในร่างกายภายหลังได้รับพิษงูอาจมีส่วนร่วมในการขับฟอสฟอรัสออกทางปัสสาวะเพิ่มขึ้น เช่นกัน

Thesis Title Effect of Russell's viper venom on the renal
 handling of inorganic phosphorus in dogs.
Name Mr. Prasert Meeratana
Thesis Advisor Associated Professor Narongsak Chaiyabutr, Ph.D.
Inter-Department Physiology
Academic Year 1986



ABSTRACT

The investigation was performed to study the effects of Russell's viper venom on general circulation and renal function on the relation to renal handling of inorganic phosphorus. Experiment was done on sixteen anesthetized male mongrel dogs. Two groups of eight animals were divided into intact animals as control group and thyroparathyroidectomized (TPTX) group. Each animal received 0.02 mg/kg.bw of Russell's viper venom by intrarenal arterial infusion at the rate of 0.32 ml/min. During initial post infusion period, a transient fall in mean arterial blood pressure (MAP), narrow pulse pressure (PP) and a decrease in heart rate (HR) were observed in intact and TPTX animals. A rising in mean arterial blood pressure, narrowing in pulse pressure and heart rate were significant throughout the experiment following a transient decrease. The magnitude of the rising in mean arterial blood pressure, heart rate and narrowing in pulse pressure was apparent in intact animals whereas, the TPTX animals was returned to the control level within a short time. The packed cell volume increased slightly at the initial postinfusion period, then it gradually declined to control level in both groups.

Plasma sodium, chloride and calcium concentrations did not alter throughout the experiment in both groups. The plasma calcium concentration of TPTX group showed significant less than the intact group throughout the study period. The plasma potassium concentration increased significantly throughout the experiment in intact and TPTX groups. Plasma inorganic phosphorus concentration of TPTX animals increased significantly during 1 1/2 - 3 hours after envenomation and it returned to the control level within 4 hours period. The renal plasma flow, renal blood flow, glomerular filtration rate, urine flow rate and filtered load of electrolytes decreased significantly in accordance with the increase in renal vascular resistance throughout the postinfusion period of both groups. The magnitude of those responses of TPTX animals were alleviated and returned to control level within a short time as compared to the intact animals. Free water clearance of intact animals increased slightly during the initial postinfusion period, while it decreased gradually throughout the experiment in the TPTX animals. The initial changes in free water clearance of both groups were not statistically significant, but at 4 - 5 hours after envenomation a significant differences between groups were apparent. The filtration fraction increased slightly at the initial postinfusion period and then it declined to the control level till the end of experiment. There was no significant difference in filtration fraction between intact and TPTX groups. The urinary excretion of sodium, potassium, chloride, calcium, inorganic phosphorus and titratable acid of both groups decreased significantly along with to a decrease in the rate of urine flow. The decrease of those variables of TPTX group were alleviated and returned to control

condition within a short time when compared with the intact group. The fractional excretion of potassium increased significantly in both groups after envenomation. The fractional excretion of sodium, calcium and inorganic phosphorus of TPTX group increased significantly at the last portion of postinfusion period, while it showed a tendency to increase in intact group. The fractional excretion of chloride showed the same respond as fractional excretion of sodium of each group.

These data indicate that TPTX alleviated the effect of Russell's viper venom on general circulation, renal hemodynamics and tubular function as compared to the intact animals. It is possible that, extracellular calcium concentration contributed to the sequence of intracellular events which culminate in those response. It could be concluded that the phosphaturic effect of Russell's viper venom is independent on parathyroid hormone, hypocalcemia, and extracellular volume expansion. The hyperphosphaturia is most likely mediated by aninhibition on sodium-inorganic phosphate cotransport system in the renal tubule. Possible disturbance in acid-base balance could not be ruled out during envenomation.

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ACKNOWLEDGEMENT

I would like to express my deep gratitude to my advisor, Associate Professor Dr. Narongsak Chaiyabutr for his keen interest, suggestions, critical reading of the manuscript and constant encouragement throughout the preparation of this thesis.

I am especially indebted to Professor Dr. Ayus Pichaichanarong and Associate Professor Prapa Loypetjra for provision the facilities used in experimental work.

It is a pleasure to acknowledge the kind assistance I have requested and received from Miss Siripen Komolvanich in laboratory technique involving chemistry. I am grateful, too, to Mrs. Supatra Amartayakoul for her help, sincerity and friendship. In addition I would like to thank the Pasteur Institution of the Thai Red-Cross Association for the donation of Russell's viper venom.

Finally, I am extremely grateful to my parent for their support and encouragement.

There is no doubt that my research could not have been completed with out the support from the Somdej Phramahittalhathibeth Research Fund.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



TABLE OF CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT.....	iii
ENGLISH ABSTRACT.....	v
ACKNOWLEDGEMENT.....	viii
TABLE OF CONTENTS.....	ix
LIST OF TABLES.....	xi
LIST OF FIGURES.....	xii
SYMBOLS AND ABBREVIATION.....	xvi
CHAPTER	
I. INTRODUCTION AND AIMS.....	1
II. BACKGROUND INFORMATION.....	4
1. Russell's viper venom.....	6
2. Absorption of the venom.....	7
3. Distribution of the venom.....	8
4. Fate and excretion of the venom.....	9
5. Symptomatology.....	9
6. Hemodynamic effects.....	12
7. Russell's viper venom and hematological abnormalities.....	14
8. Nephrotoxicity of Russell's viper venom..	17
9. Factors influence renal handling of inorganic phosphorus.....	26
III. MATERIAL AND METHODS	
1. Animals preparation.....	27
2. Surgical procedure.....	27

3. Experimental protocol.....	29
4. Experimental procedures.....	30
5. The calculation.....	32
IV. RESULTS	
1. Effect of Russell's viper venom on general circulation.....	34
2. Effect of Russell's viper venom on renal hemodynamics.....	39
3. Effect of Russell's viper venom on electrolytes excretion.....	62
V. DISCUSSION.....	78
APPENDIX.....	87
BIBLIOGRAPHY.....	88
BIOGRAPHY.....	106

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

LIST OF TABLES

Table	Page
1. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on general circulation of eight intact dogs.....	35
2. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on general circulation of seven TPTX dogs.	36
3. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on renal hemodynamics of eight intact dogs..	40
4. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on renal hemodynamics of eight TPTX dogs..	43
5. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on electrolytes excretion of eight intact dogs	63
6. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on electrolytes excretion of eight TPTX dogs	64

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย


LIST OF FIGURES

Figure	Page
A. A diagrammatic illustration of the technique used for studying renal hemodynamics and renal functions.....	28
1. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on mean arterial blood pressure (MAP) and pulse pressure (PP).....	37
2. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on heart rate (HR) and packed cell volume (PCV).....	38
3. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on renal vascular resistance (RVR).....	41
4. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on effective renal plasma flow (ERPF).....	47
5. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on effective renal blood flow (ERBF).....	48
6. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on plasma sodium (P_{Na}) chloride (P_{Cl}) and potassium (P_K) concentration.....	49
7. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on plasma calcium (P_{Ca}) and inorganic phosphorus (P_{Pi}) concentration.....	50
8. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on plasma osmolarity (P_{Osm}).....	51

Figure	Page
9. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on glomerular filtration rate (GFR).....	52
10. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on urine flow (V).....	53
11. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on osmolar clearance (C_{Osm}).....	54
12. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on free water clearance (C_{H_2O}).....	55
13. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on filtration fraction (FF).....	56
14. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on filter load of sodium (FL_{Na}).....	57
15. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on filter load of potassium (FL_K).....	58
16. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on filter load of chloride (FL_{Cl}).....	59
17. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on filter load of calcium (FL_{Ca}).....	60
18. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on filter load of inorganic phosphorus (FL_{Pi}).....	61
19. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on fractional excretion of sodium (FE_{Na})....	67
20. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on fractional excretion of potassium (FE_K).....	68

Figure	Page
21. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on fractional excretion of chloride (FE_{Cl}).....	69
22. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on fractional excretion of calcium (FE_{Ca})....	70
23. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on fractional excretion of inorganic phosphorus (FE_{Pi}).....	71
24. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on urinary excretion of sodium ($U_{Na}V$).....	72
25. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on urinary excretion of potassium (U_KV).....	73
26. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on urinary excretion of chloride ($U_{Cl}V$).....	74
27. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on urinary excretion of calcium ($U_{Ca}V$).....	75
28. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on urinary excretion of inorganic phosphorus ($U_{Pi}V$).....	76
29. Effect of intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom on urinary excretion of titratable acid (U_HV).....	77

Figure	Page
30. The relationship between urinary excretion of inorganic phosphorus ($U_{Pi}V$) and the urinary excretion of titratable acid (U_HV) after intrarenal arterial infusion of Russell's viper venom.....	84
31. The proposal model of the possible inhibitory mechanism of Russell's Viper venom on tubular transport of inorganic phosphorus (P_i).....	87



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



SYMBOLS AND ABBREVIATION

PP	=	Pulse pressure (mm.Hg)
MAP	=	Mean arterial pressure (mm. Hg)
HR	=	Heart rate (beat/min)
PCV	=	Packed cell volume (%)
V	=	Urine flow rate (ml/min)
Ps	=	Systolic blood pressure (mm.Hg)
Pd	=	Diastolic blood pressure (mm.Hg)
P _{in}	=	Plasma concentration of inulin (mg/ml)
U _{in}	=	Urinary concentration of inulin (mg/ml)
P _{PAH}	=	Plasma concentration of PAH (µg/ml)
U _{PAH}	=	Urinary concentration of PAH (µg/ml)
P _{Osm}	=	Plasma osmolarity (mOsm/kg)
U _{Osm}	=	Urinary osmolarity (mOsm/kg)
C _{Osm}	=	Osmolar clearance (µl/min)
C _{H₂O}	=	Free water clearance (µl/min)
P _e	=	Plasma concentration of electrolytes (mEq/L)
U _e	=	Urinary concentration of electrolytes (mEq/L)
U _e V	=	Urinary electrolytes excretion (µEq/min)
Na	=	Sodium
K	=	Potassium
Cl	=	Chloride
Ca	=	Calcium
Pi	=	Inorganic phosphorus
FE	=	Fractional excretion

FL	=	Filtered load
ERPF	=	Effective renal plasma flow (ml/min)
ERBF	=	Effective renal blood flow (ml/min)
GFR	=	Glomerular filtration rate (ml/min)
U_HV	=	Urinary titratable acid excretion (uEq/min)
PAH	=	Para-aminohippuric acid
c-AMP	=	Cyclic 3' 5' adenosine monophosphate
NSS	=	Normal saline solution
RVV	=	Russell's viper venom
mg	=	Milligram
ml	=	Millilitre
min	=	Minute
mm.Hg	=	Millimeter mercury
mEq	=	Milliequivalent
mOsm	=	Milliosmole
μ Eq	=	Microequivalent
μ l	=	Microlitre
L	=	Litre
/	=	Per
Fig	=	Figure
TPTX	=	Thyroparathyroidectomy