

# Derleme Makaleler

Pharmacia-JTPA

27: 58(1), 23-29, 1987

## VANADAT'IN FARMAKOLOJİK VE BİYO-KİMYASAL ÖNEMİ

V.Melih ALTAN(\*)

Nilgün ALTAN(\*\*)

Yusuf ÖZTÜRK(\*\*\*)

Nuray YILDIZOĞLU(\*)

### ÖZET:

Vanadat'ın farmakolojik ve biyokimyasal etkilerine ilişkin araştırmalar özellikle son on yılda büyük bir ivme kazanmıştır.  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPaz}$ 'ı inhibe ettiği gösterildikten sonra vanadat'ın, sodyum pompasının fizyolojik bir inhibitörü olduğu ve bir tür endojen digital işlevi gördüğü öne sürülmüştür. Öte yandan vanadat ile ilgili araştırmaların, kardiyak glikozidlerin günümüzde bile kesinlik kazanamayan pozitif inotropik etkilerinin mekanizmasının aydınlatılmasına katkıda bulunacağı umulmuştur. Ancak çeşitli nedenlerden ötürü, her iki yaklaşımın da doğruluğu kanıtlanamamıştır.

### THE PHARMACOLOGICAL AND BIOCHEMICAL SIGNIFICANCE OF VANADATE

#### SUMMARY:

Research on the pharmacological and biochemical actions of vanadate has increased during the past ten years. Following its discovery as an inhibitor of  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ , vanadate was claimed to a physiological inhibitor of the sodium pump, representing some sort of endogenous cardiac glycoside. It was also the hope that vanadate could help to clarify the yet unproven mechanism of positive inotropic action of cardiac glycosides. Both suggestions have failed due to several reasons.

$\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPaz}$  enzimine ilişkin çok sayıda kinetik çalışmada farklı kaynaklardan sağlanan ve farklı saflık derecelerinde ATP kullanan araştırmacılar, anormal ölçüde nitelenebilecek kadar farklı sonuçlar elde ettiler. Araştırmaların çoğunun Sigma firmasının ürettiği ATP'yi kullandığını gözlemleyen Harvard Üniversitesinden Dr. Cantley sonuçlardaki farklılığa sözü

edilen firmanın ürettiği ATP'ler içinde bulunması olası bir kirliliğin yolaçabileceğini düşündü. Cantley ve ark., 1977 de Sigma firmasının ürettiği ATP'den saflaştırarak izole ettikleri bir maddenin  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPaz}$ 'ı güçlü bir şekilde inhibe ettiğini gösterdiler, sonrasında bu maddenin sodyum ortovanadat ( $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ) olduğunu saptadılar(1).

(\*) Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Tandoğan-ANKARA.

(\*\*) Gazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Etiler-ANKARA.

(\*\*\*) Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Tepebaşı-ESKİŞEHİR

Memelilerde birçok dokuda bulunması ve çeşitli  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPaz}$  preparatlarını mikromolar ve nanomolar konsantrasyonlarda inhibe edebilmesi(2) gibi özellikleri kısa bir süre içinde vanadat'a sodyum pompasının endojen regülatörü görevinin yakıştırılmasına yolaçtı.

Bilindiği gibi kardiotonik glikozidler de, sodyum pompasının biyolojik eşdeğeri sayılan  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPaz}'ı$  özgün bir şekilde inhibe ederler ve de en belirgin farmakolojik özellikleri olan pozitif inotropik etkilerinin de, sodyum pompasının özgün inhibisyonu sonucu oluştuğu varsayılır(3). Vanadat'ın da  $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPaz}$  üzerinde benzer etkinlik göstermesi ve izole papiler kasta beta-adrenoseptörleri uyarılmaksızın kasılma gücünü artırabilmesi, spekülatif bir yaklaşımla, vanadat'ın bir tür endojen kardiotonik glikozid olabileceği varsayımını getirdi(4,5). Aradan geçen çok kısa bir süre içinde vanadat'ın bu tür bir etkinliği olmadığı anlaşıldı, ancak bu varsayım ve sonrasında elde edilen bulgular vanadat'ın fizyolojik, biyokimyasal ve farmakolojik rolünü aydınlatmaya yönelik çalışmaların birdenbire hızlanmasını sağladı.

Vanadyum, molekül ağırlığı 50.9 olan bir eser elementtir. Bileşiklerinde +3, +4, +5 oksidasyon basamaklarında bulunur. Oksijen, hava ve oksidleyici ajanlar (örn. diamid) varlığında vanadyum +5, askorbik asid gibi indirgeyici ajanlar varlığında +4 değerliklidir. pH 7.4 deki fizyolojik koşullarda +5 değerlikli vanadyum anyonik şekli olan vanadat ( $\text{VO}_3^-$ ,  $\text{VO}_4^{3-}$ ) kökünde, + değerlikli vanadyum ise vanadil ( $\text{VO}^{2+}$ ) kökünde bulunur.

Vanadyum sıçanlar ve tavuklarda esansiyel bir maddedir. Bu hayvanlarda vanadyum yoksunluğu büyümenin inhibisyonuna, plazma kolesterol düzeylerinin artmasına, üreme yeteneğinin azalmasına ve kemiklerde malformasyona yolaçar. Yalnız hemen belirtmek gerekir ki, bu hayvanlarda yoksunluk semptomlarının ortaya çıkması için diyetle alınan vanadyum'un diyetin g'ı başına 10-100 ng dan az olması gerekir. Vanadyum'un insanlarda esansiyel

olup olmadığı henüz tüm açıklığıyla anlaşılamamıştır. Hastane dietlerinde genellikle diyetin g'ı başına 20-50 ng bulunur ve günde alınan toplam miktar 12.4-28 ug kadardır. Bu miktar bazı hayvanlarda yoksunluk semptomlarının oluşumuna yolaçabilir. Görünüşte insanların vanadyum gereksinimi daha da azdır(6,7).

Meslekleri gereği kronik olarak vanadyum'a maruz kalan bireylerin idrarlarında yüksek konsantrasyonlarda vanadyum bulunur. Bu insanların tırnaklarında sistin konsantrasyonlarının da belirgin ölçüde azaldığı saptanmıştır. Çok yüksek dozlarda olası görülen vanadyum intoksikasyonu ise gastrointestinal semptomlar, pnömoni, konjonktivit, anemi ve dilde yeşil renk ile karakterizedir(5,8,9).

Son yıllarda yapılan bir araştırmada plazma vanadyum düzeylerinin manik-depresif hastalarda normal bireylere oranla oldukça yüksek olduğu saptanmıştır(10). Ayrıca, üremi olgularında da serum vanadyum konsantrasyonlarının belirgin ölçüde yüksek bulunduğu bildirilmiştir(11). Eğer sözü edilen bulgular başka araştırmalarla desteklenirse durum klinik açıdan oldukça ilginçleşecektir. Çünkü vanadat oldukça güçlü bir vazokonstriktör maddedir ve bu etkinliğini özellikle koroner arterler üzerinde gösterir(5). Gerçekten de, progresif böbrek yetmezliği olan hastalar genellikle hipertansiyondan yakınır ve bunlarda koroner kalp hastalıklarının sıklığı yüksektir.

Vanadyum un serum düzeyleri uygulanan ölçüm yöntemlerine göre oldukça büyük farklılıklar göstermektedir(5). Atomik absorpsiyon spektrometresi ve emisyon spektrografi ile bulunan serum vanadyum düzeyleri 400 ng/ml dir(8,11). Ancak bu yöntemlerin güvenilir vanadyum ölçümleri yapabilmek için yeterince duyarlı olmadığına ilişkin kuşkular da vardır. Günümüzde nötron aktivasyon analiz yöntemi vanadyum ölçümü için en geçerli yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu yönteme göre normal bireylerde serum vanadyum konsantrasyonları 0.1-1.0 ng/ml dir(5). Bu nedenle yukarıda sözü edilen klinik çalışmaların sonucu, insanlarda

vanadyum intoksikasyonunun çok seyrek olarak olduğu da göz önünde tutularak oldukça titiz bir şekilde değerlendirilmiştir. Örneğin, kronik olarak vanadyum'a maruz kalan işçilerle yapılan bir çalışmada serum düzeyleri ortalama 2.9 ng/ml olarak saptanmasına karşın toksik belirtilere rastlanmamıştır(12). Öte yandan çeşitli organlardaki vanadyum düzeyleri, kandaki düzeylerine oranla çok yüksektir. Sonuç olarak, insanlarda vanadyum'un biyolojik önemi henüz iyi anlaşılamamıştır.

Vanadat ( $\text{NH}_4\text{VO}_3$ ,  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ ) mikromolar konsantrasyonlarda bile çeşitli deney hayvanlarından hazırlanan ventrikül preparatlarında güçlü pozitif inotropik etkinlik gösterir(4,13-16). Vanadat'ın bu etkisi günümüzden yaklaşık 75 yıl önce Jackson adlı bir araştırmacı tarafından saptanmış ve "dijital'e oldukça benzer etki" olarak tanımlanmıştır(16). Vanadat'ın pozitif inotropik etkisi beta-adrenoseptörlerin stimülasyonu ile ilgili değildir. Çünkü beta-adrenerjik reseptör blokerleri bu etkiyi antagonize etmemektedir(15,17). Ayrıca, simetidin ve mepiramin de pozitif inotropik etkinin önlenmesinde etkisiz olduklarından histamin'in  $\text{H}_1$  ve  $\text{H}_2$  reseptörleriyle de bağlantılı değildir(15). İlginc olarak vanadat kobay ve kedide atrial preparatlarda ventriküler preparatlarda oluşturduğu etkinin bütünüyle tersi bir etki göstererek negatif inotropiye neden olmaktadır. Bu farklılığın nedeni bazı araştırmacılarca, çeşitli hayvan türlerinde atrial T-sisteminin ventriküle oranla çok daha az önemli olmasına bağlanmaktadır. Ayrıca, henüz anlaşılacakla birlikte atriumun yapısal bazı karakteristiklerinin de bu etkinin oluşumunda rol oynadığı öne sürülmektedir. Gerek atrial gerekse ventriküler kastan saflaştırılan  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz enziminin vanadat tarafından inhibe edilmesi bu maddenin, atrial ve ventriküler kaslarda oluşturduğu farklı etkilerin  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz üzerindeki etkinliğinin zıt olmasından kaynaklanmadığını göstermektedir(13,14,18).

Vanadat çok düşük konsantrasyonlarda bile sıçanlarda belirgin diürece neden

olur (19,20). Ancak kedi ve köpeklerde idrar hacmini azaltır ve bu etkisine güçlü vazokonstriktör etkisi sonucu ulaşan hipertansiyon eşlik eder (21,22). Vazokonstriktör etkisi büyük bir olasılıkla düz kaslar üzerindeki direkt etkisine bağlıdır (23,24). Bu etkisi nedeniyle intakt hayvanlarda vanadat'ın inotropik etkisini değerlendirmek oldukça güçtür. Çünkü özellikle koronerlerde oluşturduğu belirgin vazokonstriksiyon kalp atımında azalmaya ve myokardın kasılma gücünde düşüklüğe yol açar. Bu nedenle vanadat'ın etki mekanizmasını hücresel düzeyde değerlendirmek daha kolaydır (5).

Vanadat'ın biyokimyasal yönden en önemli etkinliği ise izole kardiak hücre membranı preparatlarında  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz aktivitesini inhibe etmesidir. Sıçanlarda kalp dokusundan izole edilen enzim üzerinde ouabainden bile daha güçlü inhibisyon oluşturur.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz enzimi membranda  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  un birbirine kenetlenmiş olarak oluşan aktif transportundan sorumlu sodyum pompasının esansı oluşturduğundan, vanadat'ın izole enzim üzerindeki etkinliğine bakılarak intakt kardiak preparatlarda da bu iyonların membran transportunu aynı şekilde etkileyeceğini düşünmek mantıksal bir yaklaşımdır(25). Kaldı ki vanadat, intakt eritrositlerde de sözkonusu enzimi inhibe eder ve  $\text{K}^+$  uptake'ini azaltır(26). Ancak, sıçanda intakt kardiak hücrelerde  $\text{K}^+$  uptake'ini inhibe etmez(27). Öte yandan, kültürlenmiş sıçan myokard hücrelerinde hem  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz etkinliğini hem de  $\text{K}^+$  uptake'ini artırır. Başka bir deyimle, vanadat izole kardiak hücre membranında  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz'ı inhibe eder, ne varki intakt kardiak preparatlarda tersine stimulan etki gösterir. Bu bulgulara dayanarak vanadat'ın pozitif inotropik etkisinin  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz enzimiyle ilişkili olduğunu söyleyebilmek olası değildir. Öte yandan sözü edilen bulgular subselüler hücre fraksiyonlarından elde edilen sonuçların olduğu gibi intakt hücrelere yansıtılmasının çok hatalı olabileceği konusunda da araştırmacıları uarmaktadır(5).

Yukarıdaki çelişkili durumun açıklanması şu şekilde yapılmaktadır: Hücreiçi vanadyum büyük bir olasılıkla "vanadil" şeklinde proteinlere bağlanmaktadır ve vanadil de  $Na^+/K^+$ -ATPaz üzerinde inhibitör etkinlikten yoksundur(28,29,30). Aslında, parçalanmış hücre membranı preparatlarında işaretli vanadat'ın enzimi inhibe ettiği gösterilmiştir ancak hücre içine geçince vanadil'e dönüştürüldüğünden intakt preparatlarda sodyum pompasını inhibe etmez. Vanadat'ın insan eritrositlerinde glutathion tarafından vanadil'e dönüştürüldüğü saptanmıştır(31). Glutathion'un çok sayıda hücrede oldukça yüksek konsantrasyonlarda (3-5 mM) bulunduğu gözönüne alınır, en azından intakt myokard hücrelerinde  $Na^+/K^+$ -ATPaz'ın vanadat'tan neden etkilenmediği anlaşılabilir.

Vanadat'ın pozitif inotropik etkisine ilişkin bir başka yaklaşım ise  $Ca^{2+}$  kanallarıyla ilgili olanıdır. Vanadat'ın izole sıçan atrial preparatında kas kontraksiyonu için gerekli  $Ca^{2+}$  girişini arttırdığı bunun yanında izole kobay atrial kas preparatında ise "yavaş  $Ca^{2+}$  kanallarını" inhibe ettiği saptanmıştır(27). Mekanizması bilinmemekle birlikte vanadat'ın bu etkileri sonucu sıçanda hücreiçi  $Ca^{2+}$  düzeylerinin artması pozitif inotropik etkiye, kobayda ise hücreiçi  $Ca^{2+}$  düzeylerinin azalması negatif inotropik etkiye yol açmaktadır.

İzole sıçan yağ hücreleri membranı ve kobay kardiyak hücre membranlarında vanadat'ın doza bağımlı olarak adenilat siklazı stimüle ettiği saptanmıştır(32,33). Vanadil'in ise bu tür bir etkinliği yoktur (34). Vanadat'ın adenilat siklaz enzimini aktive ettiği saptandıktan sonra yoğunlaştırılan çalışmalar, bu bulguya paralel olarak hücreiçi siklik AMP düzeylerinin de yükseldiğini göstermiştir. Adrenalin, glukagon ve histamin gibi çok sayıda endojen madde kalp üzerindeki etkilerini siklik AMP aracılığıyla oluşturduklarından bu bulgu önemlidir. Buna dayanarak vanadat'ın pozitif inotropik etkisinin, hücreiçi siklik AMP düzeylerindeki artışın bir sonucu olduğu düşünülebilir. Ancak

vanadat'ın siklik AMP'yi arttırıcı etkinliğinin izoprenalin'e oranla düşük olması, ayrıca hem atrial hem de ventriküler kasta—kardiyak etkilerinin farklı olmasına karşın— adenilat siklaz üzerinde aynı yönlü etki göstermesi, bu varsayımın da geçerliğine gölge düşürmektedir(5,15).

İnsülin,  $Na^+$  ve  $K^+$  iyonlarının geçişini etkileyerek hücreiçi  $K^+$  konsantrasyonlarının ise azalmasına yol açar. İnsülin'in bu etkinliğinin membran permeabilitesinde oluşturduğu değişiklikten kaynaklandığı sanılmaktadır(35-37). Sıçanda kalp kası hücrelerinde vanadat da insülin-benzeri bir etkiyle  $K^+$  girişini arttırarak hücreiçi  $K^+$  düzeylerini yükseltir, buna karşın  $Na^+$  düzeylerini azaltır(38).

Vanadat'ın insülin-benzeri etkinliği yalnızca  $Na^+/K^+$  transportuna kısıtlı kalmaz. Bu etkisinden başka sıçanların yağ dokusu hücrelerinde glukoz transport ve oksidasyonu ile glikojen sentez aktivitesini arttırır(39,40,41). Ayrıca, insülin gibi vanadat'ın da yağ hücresi membranında ve endoplazmik retikulumunda  $Ca^{2+}$  transport sistemlerini inhibe ettiği yeni gösterilmiştir(42). İnsülin'in moleküler düzeyde etki mekanizması henüz bilinmediğinden vanadat'ın da insülin-benzeri etkilerinin mekanizmasına getirilen yaklaşımlar genellikle spekülatifdir ayrıca biyolojik önemi de henüz saptanmamıştır.

Vanadyum bileşikleri, çelişkili görünmesine karşın incelenen doku ve hücre tiplerine bağlı olarak  $Na^+/K^+$  transportunu inhibe ya da stimüle etmektedir(38). Vanadyum eğer +5 oksidasyon basamağında bulunuyorsa  $Na^+/K^+$ -ATPaz'ın etkin bir inhibitörüdür ve digital-benzeri etkinlik gösterir(28). +4 oksidasyon basamağında ise bu enzimin güçlü bir stimulanıdır ve insülin-benzeri etkinlik gösterir (40). Bu nedenle hücrenin vanadat'ı vanadil'e dönüştürme kapasitesine bağlı olarak ya digital-benzeri inhibitör ya da insülin-benzeri stimulan etkisi ortaya çıkar.

$Na^+/K^+$ -ATPaz'ı inhibe ettiği saptandıktan sonra vanadat'ın sodyum pompasını fizyolojik bir inhibitörü ve bir tür endojen kardiyotoni glikozid işlevi gördüğü düşünülmüştür. Öte yandan kardiyotoni

glikozidlerin henüz bütünüyle anlaşılama-  
yan etki mekanizmalarının açıklığa ka-  
vuşturulmasına katkısı olacağı da sanıl-  
mıştır. Ne var ki, yukarıda belirtilen ne-  
denlerden ötürü her iki yaklaşım'da çarpı-  
cı birer görüş olmaktan öteye gidememiş-  
tir. Vanadat'ın kalpteki pozitif inotropik  
etkisi yanıtlanmamış bir soru olarak kal-  
maya devam etmektedir. Vanadat'ın bu  
etkinliği yalnızca in vitro deneylerde gös-  
terilebilmekte, in vivo çalışmalarda özel-  
likle koroner arterler üzerindeki belirgin  
vazokonstriktör etkisi nedeniyle negatif  
inotropik etkinliği öne çıkmaktadır. Bu  
nedenle intakt hayvanlarda pozitif inotro-  
pik bir ajan olarak rol oynamadığından  
izole kardiyak preparatlardaki etkisinin  
önemi tartışmaya açık bir biçimde dur-  
maktadır. Sonuç olarak vanadat'ın insan-  
larda esansiyel olup olmadığını anlayabil-  
mek için öncelikle kalp fonksiyonları ve  
metabolizması üzerindeki etkilerinin iyice  
anlaşılması gerekmektedir.

#### KAYNAKLAR:

1. Cantley, L.C.Jr., Josephson, L., Warner, R., Yanagisawa, M., Leche-  
ne, C., Guidotti, G.: Vanadate is a  
potent (Na,K)-ATPase inhibitor  
found in ATP derived from muscle.  
*J. Biol. Chem.* 252, 74-21-7423,  
(1977).
2. Simons, T.J.P.: Vanadate, a new  
tool for biologist. *Nature* 281, 337-  
338, (1979).
3. Schwartz, A.: Is the cell membrane  
 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase enzyme system  
the pharmacological receptors for  
digitalis? *Circulation Res.* 39, 1-7,  
(1976).
4. Hackbarth, I., Schmitz, W., Scholz,  
H., Erdmann, E., Krawitz, W., Phil-  
lip, G.: Possible inotropism of vana-  
date in cat papillary muscle. *Nature*  
275, 67, (1978).
5. Erdmann, E., Werdan, K., Krawietz,  
W., Schmitz, W., Scholz, H: Vana-  
date and its significance in bioche-  
mistry and pharmacology. *Biochem.*  
*Pharmacol.* 33, 945-950, (1984).

6. Nielsen, F.H., Sandstead, H.H.: Are  
nickel vanadium, silicon, fluorine  
and tin essential for man? *Am. J.*  
*Clin. Nutr.* 27, 515-520, (1974).
7. Myron, D.R., Zimmermann, T.J.,  
Shuler, T.R., Klevay, L.M., Lee, D.  
E., Nielsen, F.H.: Intake of nickel  
and vanadium by humans. A survey  
of selected diets. *Am. J. clin. Nutr.*  
31, 527-531, (1978).
8. Schroeder, H.A., Balassa, J.J., Tip-  
ton, I.H.: Abnormal trace metals in  
man-vanadium. *J. chron. Dis.* 16,  
1047-1071, (1963).
9. Dreisbach, R.H. (Ed.): *Metallic Poi-  
sons., Handbook of Poisoning'de,*  
*Lange Med. Publ., Los Altos, Cali-  
fornia* (1974) s. 193-220.
10. Dick, D.A.T., Dick, E.G., Naylor,  
G.J.: Plasma vanadium concentra-  
tion in manic depressive illness., *J.*  
*Physiol.* 310, 24P, (1981).
11. Bello-Reuss, E.N., Grady, T.P.,  
Mazumdar, D.C.: Serum vanadium  
levels in chronic renal disease., *Ann.*  
*intern. Med.* 91, 743, (1979).
12. Thürauf, J., Syga, G., Schaller, K.H.  
*Felduntersuchungen zur beruflichen*  
*Vanadium-Exposition., Zbl. Bakt.*  
*Hyg.* 168, 273-290, (1979).
13. Borchard, U., Fox, A.A.L., Greeff,  
K., Schlieper, P.: Negative and posi-  
tive inotropic action of vanadate on  
atrial and ventricular myocardium.,  
*Nature* 279, 339-341, (1979).
14. Takeda, K., Temma, K., Akera, T.:  
Inotropic effects of vanadate in iso-  
lated rat and guinea-pig heart under  
conditions which modify calcium  
pools involved in contractile activa-  
tion. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 222,  
132-139, (1982).
15. Grupp, G., Grupp, I., Johnson, C.L.,  
Wallick, E.T., Schwartz, A.: Effects  
of vanadate on cardiac contraction  
and adenylate cyclase., *Biochem.*  
*biophys. Res. Commun.* 88, 440-  
447, (1979).
16. Jackson, D.E.: The pharmacological  
action of vanadium., *J. Pharmacol.*  
*Exp. Ther.* 3, 477-514, (1912).
17. Hackbarth, I., Schmitz, W., Scholz,  
H., Wetzels, E., Erdmann, E., Kra-  
wietz, W., Phillip, G.: Stimulatory  
effect of vanadate on cyclic AMP

- levels in cat papillary muscle., *Biochem. Pharmacol.* 29, 1429-1432, (1980).
18. Hackbarth, I., Schmitz, W., Scholz, H., Erdmann, E., Krawietz, W., Philipp, G.: Positive inotropism of vanadate in cat papillary muscle., *Nature* 275, 67, (1978).
  19. Balfour, W.E., Grantham, J.J., Glynn, I.M.: Vanadate stimulated natriuresis., *Nature* 275, 768, (1978).
  20. Roman, R.J., Bonventre, J.V., Silva, P., Lechene, C.: Sodium orthovanadate diuresis in man., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 218, 168-174, (1981).
  21. Mills, I.H., Newport, P.A.: Renal vasoconstriction, hypertension and fall in urinary osmolality produced by arterial vanadate infusion., *J. Physiol.* 296, 92P, (1979).
  22. Larsen, J.A., Thomsen, O.O.: Vascular effects of vanadate. *Bas. Res. Cardiol.* 75, 428-432, (1980).
  23. Rapp, J.P.: Aortic responses to vanadate: independence from (Na, K)-ATPase and comparison of Dahl salt-sensitive and salt resistant rats., *Hypertension* 3, 1168-172, (1981).
  24. Bell, M.V., Kelly, K.F., Sargent, J. R.: Sodium orthovanadate, a powerful vasoconstrictor in the gills of the common eel, *anguilla-anguilla.*, *J. mar. biol.* 59, 429, (1979).
  25. Skou, J.C.: Enzymatic basis for active transport of  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  across cell membrane., *Physiol. Rev.* 45, 596-617, (1965).
  26. Cantley, L.C., Resh, M.D., Guidotti, G.: Vanadate inhibits the red cell  $(\text{Na}^+, \text{K}^+)$  ATPase from the cytoplasmic side., *Nature* 272, 552-554, (1978).
  27. Takeda, K., Akeru, T., Yamamoto, S., Shieh, I.-S.: Possible mechanisms for inotropic actions of vanadate in isolated guinea-pig and rat heart preparations., *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac.* 314, 161-170 (1980).
  28. Cantley, L.C.Jr., Aisen, P.: The fate of cytoplasmic vanadium., *J. biol. Chem.* 254, 1781-1784, (1979).
  29. Grantham, J.J., Glynn, I.M.: Renal Na, K-ATPase: determinants of inhibition by vanadium., *J. Am. Physiol.* 236, F530-535, (1979).
  30. Vyskocil, F., Teisinger, J., Dlouha, H.: The disparity between effects of vanadate (V) and vanadyl (IV) ions on  $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$  and  $\text{K}^+$ -phosphatase in skeletal muscle., *Biochem.*, *biophys. Res. Commun.* 100, 982-987, (1981).
  31. Macara, I.G., Kustin, K., Cantley, L.C.Jr.: Glutathion reduces cytoplasmic vanadate. Mechanism and physiological implications. *Biochim. biophys. Acta* 629, 95-106, (1980).
  32. Schwabe, U., Puchstein, C., Hanemann, H., Söchtig, E.: Activation of adenylate cyclase by vanadate., *Nature* 277, 143-145, (1979).
  33. Krawietz, W., Werdan, K., Erdmann, E.: Stimulatory effect of vanadate on adnylate cyclase of cardiac tissue., *Biochem. Pharmacol.* 28, 2517-2520, (1979).
  34. Schmitz, W., Scholz, H., Erdmann, E., Krawietz, W., Werdan, K.: Effect of vanadium in the  $+5$ ,  $+4$  and  $+3$  oxydation states on cardiac force of contraction, adenylate cyclase and  $(\text{Na}^+ - \text{K}^+) - \text{ATPase}$  activity., *Biochem. Pharmacol.* 31, 3853-3860, (1982).
  35. Czech, M.P.: Molecular basis of insulin action., *Annu. Rev. Biochem.* 46, 359-384, (1977).
  36. Clausen, T., Kohn, P.G.: The effect of insulin on transport of sodium and potassium in rat soleus muscle., *J. Physiol.* 265, 19-42, (1977).
  37. Zierler, K.L., Rogus, E.M.: Rapid hyperpolarization of rat skeletal muscle induced by insulin., *Biochim. biophys. Acta* 640, 687-692, (1981).
  38. Werdan, K., Bauriedel, G., Fischer, B., Krawietz, W., Erdmann, E., Schmitz, W., Scholz, H.: Stimulatory (insulin-mimetic) and inhibitory (ouabain-like) action of vanadate on potassium uptake and cellular sodium and potassium in heart cells in culture., *Biochim. biophys. Acta* 687, 79-93, (1982).
  39. Dubyak, G.R., Kleinzeller, A.: The insulin-mimetic effects of vanadate in isolated rat adipocytes., *J. biol. Chem.* 255, 5306-5312, (1980).
  40. Shechter, Y., Karlisch, S.J.D.: Insulin-like stimulation of glucose oxy-

dation in rat adipocytes by vanadyl (IV) ions., *Nature* 284, 556-558, (1980).

41. Tamura, S. Brown, T.A., Whipple, J.H., Fujita-Yamaguchi, Y., Dubler, R.E., Cheng, K., Larner, J.: A novel mechanism for the insulin-like effect of vanadate on glycogen synthase in

rat adipocytes., *J. biol. Chem.* 259, 6650-6658, (1984).

42. Delfert, D.M., McDonald, J.M.: Vanadyl and vanadate inhibit  $Ca^{2+}$  transport systems of the adipocyte plasma membrane and endoplasmic reticulum., *Arch. Biochem. Biophys.* 241, 665-672, (1982).