

니트릭옥사이드의 합성 억제제인 N^G-니트로-L-아르기닌의 신장작용

고석태* · 유강준 · 황명성

조선대학교 약학대학

(Received June 12, 1998)

Renal Action of N^G-Nitro-L-Arginine, Nitric Oxide Synthase Inhibitor, in Dog and Rabbit

Suk-Tai Ko*, Kang-Jun Yu and Myung-Sung Hwang

College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju, 501-759, Korea

Abstract: This study was performed in order to investigate the effect of renal function of N^G-nitro-L-arginine (L-NOARG), inhibitor of nitric oxide (NO) synthase, in dog and rabbit. L-NOARG, when given intravenously in dogs, exhibited the decrease in urine flow (vol), renal plasma flow (RPF), osmolar clearance (C_{osm}) and amounts of sodium and potassium excreted in urine (E_{Na}, E_K). These renal functions of L-NOARG showed the same aspect in rabbit, too. L-NOARG, when administered into a renal artery, showed the same pattern as was obtained when given intravenously in both experimental and control kidney in dog. L-NOARG administered into the carotid artery showed the decrease in Vol, RPF, E_{Na} in a low doses that did not show any effect when given intravenously. Above results suggest that L-NOARG produces antidiuretic action in dog and rabbit, and these antidiuretic actions may be mediated by central action.

Keywords □ N^G-nitro-L-arginine, inhibitor of nitric oxide(NO) synthase, antidiuretic action, dog.

혈관 내피 세포에는 endothelium-derived relaxing factor(EDRF)가 있어 평활근 세포를 이완시켜 혈압 조절에 관여 한다는 것이 알려져 있으며 이러한 EDRF의 화학적 특성에 대한 연구의 결과 EDRF는 nitric oxide(NO)와 일치함이 밝혀졌다.¹⁻⁵⁾ NO는 L-arginine을 기질로 하여 guanidino group에 포함되어 있는 질소 원자로부터 합성되어 nitric oxide와 citrulline이 발생하는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 또한 혈관 내피세포나 신경조직에서 L-arginine이 NO로 합성되는데 필요한 효소^{7,8)}는 세포내 Ca²⁺ 농도를 상승시키고^{9,10)} 이 Ca²⁺은 단백질의 일종인 calmodulin과 결합¹¹⁾함으로써 활성화 된다. NO는 혈소판 응집 억제작용^{12,13)}과 더불어 적출 혈관에서 혈관 이완 작용¹⁴⁻¹⁶⁾을 나타내어

심장 혈관 조절의 호르몬계에도 관여한다. 한편 L-arginine의 guanidino group에 있는 질소원자의 위치에 methyl기, amino기, 혹은 nitro기가 부착된 기질 유사체는 NO의 합성에 경쟁적 억제제로 작용 한다는 것이 알려져 있다.¹⁷⁾ 이 가운데 가장 흔히 사용되는 것은 N^G-monomethyl-L-arginine(L-NMMA)과 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)이다. 신장 작용에 대한 NO의 역할로는 acetylcholine이나 bradykinin과 같은 내피 의존성 혈관 확장제의 심혈관 확장과 어느 정도의 염류 배설 촉진 작용을 매개 하지만 arterial natriuretic peptide(ANP), prostaglandin I₂ 및 nitroprusside와 같은 내피 의존성 혈관 확장제의 신장 작용에는 관여하지 않는다는 것도 밝혀졌으나¹⁸⁾ NO의 합성을 억제 하였을때 신장 기능에 어떠한 영향을 미치는가에 대해서는 밝혀진 바가 없다. 따라서 NO의 합성 억제제인 L-NOARG과 실험 동물로써 개와 토끼를 이용하여 이를

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 062-230-6368 (팩스) 062-234-3016

규명하고자 하였다.

실험방법

재료 - 사용약물은 N^G -nitro-L-arginine(RBI, USA), creatinine anhydrous(Sigma, USA), p-aminohippuric acid(Sigma, USA), pentobarbital sodium(Entobar[®] 한림제약)등이며 pentobarbital sodium은 Entoar[®]주사제를 그대로 사용하였으며 기타 약물은 0.9% 식염액에 용해시켜 사용하였으나 N^G -nitro-L-arginine은 필요에 따라 0.1N HCl을 몇 방울 떨어 뜨려 완전히 용해시켰다. 사용기기는 spectrophotometer (Shimadzu Co., Japan), flame photometer(Ciba-Corning Co., England), osmometer(Advanced Ins., USA), peristaltic pump(Tokyo Rikakikai Co., Japan), infusion pump(KD scientific, USA), physiology(Grass Co., USA), 원심분리기(Kukusan En-sinki Co., Japan)등이며 실험동물은 체중 8~15 kg의 개와 1.5~2.5 kg의 가토를 암수 구별없이 사용하였다.

방법 - 실험동물은 실험 전날부터 단식 시켰으나 물은 자유로이 취하도록 하였다. 개를 이용하여 실험하는 경우, 마취는 pentobarbital sodium을 35.0 mg/kg, i.v.로 투여하고 필요에 따라 실험 중 추가 투여 하였다. 마취된 개는 동물 고정대에 背位로 고정하고 호흡을 용이하게 하기 위하여 기도내에 endotracheal tube를 삽입 고정 하였다. 주입액의 주입은 상지 정맥내에 peristaltic pump를 이용하여 시행하였고 정맥내 약물을 주입하는 경우는 주입약을 주입하는 상지의 다른쪽 상지의 정맥내에 infusion pump를 이용하였다. 집뇨는 고정된 개를 정중절개로 개복한 다음 방광을 노출시켜 양측 수뇨관에 적당한 크기의 polyethylene관(PE관)을 삽입 고정하여 10분 간격으로 시행 하였다. 한쪽 신동맥내의 약물 투여는 양측 수뇨관에 PE관을 삽입 고정하여 뇨를 따로 모으도록 한 다음, 개를 좌좌위로 재고정하고 좌측 절개로 좌측 신동맥을 노출시켜 낚시 모양으로 구부린 23 gauge 주사침을 PE관으로 infusion pump와 연결한 다음, 신동맥내로 穿刺하여 18 ml/hr의 속도로 생리 식염액을 계속 주입하여 주사침이 막히지 않도록 하였다가 약액과 교환하여 주입하거나 주사기를 이용하여 bolus로 주사하였다. 경동맥내에 약물을 투여 하는 경우는 경부를 절개하여 경동맥을 노출시킨 후 신동맥내 약물을 투여 했을때와 같은 방법으

로 하되 infusion pump에 연결된 낚시 모양의 주사침을 경동맥내로 穿刺하여 시행 하였다. 이때의 생리 식염액의 주입 속도는 12 ml/hr로 하였다. Clearance는 clearance 물질(creatinine, PAH)을 일정한 혈중 농도에 일시에 도달 하도록 초회량(creatinine 50.0 mg/kg, PAH 6.0 mg/kg)을 투여한 후 곧이어 뇨중에 배설되는 양 만큼 주입액에 첨가하여 계속 주입 하였으며 매 clearance 중간에 대퇴 동맥에 heparin-생리 식염액(400 IU/ml)으로 채워서 삽입 고정하여 둔 PE관을 통해 채혈하여 곧 원침한 다음 혈장을 분리하여 냉장고에 보관 하였다가 뇨와 함께 분석에 사용 하였다.

도끼를 이용하여 실험 하는 경우, 마취는 25% urethane을 4.0 ml/kg, s.c.로 투여하여 시행 하였다. 마취된 도끼를 동물 고정대에 背位로 고정하고 기관에 T자 관을 삽입하여 호흡을 용이하게 하였고 한쪽 귀 정맥에 적당한 크기의 PE 관으로 infusion pump와 연결하여 0.5 ml/min의 속도로 주입액을 주입 하였다. 주입액의 조성은 0.3% NaCl, 0.3% creatinine, 45 mg% PAH, 3% glucose로 실험 당일 만들어 사용 하였다. 집뇨는 개의 실험에서와 마찬가지로 하복부를 정중절개로 개복하여 방광을 노출시킨 다음 양측 수뇨관에 적당한 크기의 PE 관을 삽입 고정하여 시행 하였다. 정맥내의 약물 투여는 귀 정맥에 삽입 고정된 PE 관을 통하여 주입액과 교환하여 시행하였다. 주입액의 주입을 시작한 후 3~4 시간이 지나면 뇨량이 증가하여 일정하게 되는데 이때 2~3 회의 대조 집뇨기를 둔 다음 약물을 투여하여 20분 간격으로 집뇨 하였다. 매 집뇨기의 중간에 대퇴 동맥에 heparin-생리 식염액으로 채워서 삽입 고정시킨 PE 관을 통해 채혈하고 곧 원침 분리한 다음 혈장을 분리하여 냉장고에 보관 하였다가 뇨와 함께 분석에 사용 하였다.

Clearance 물질인 creatinine은 Phillips의 방법,¹⁹⁾ PAH는 Smith 등의 방법²⁰⁾에 의하였으며 Na^+ 과 K^+ 는 flame photometer로, osmolarity는 osmometer로 측정 하였다. 통계적 유의성의 검토는 대조치로부터의 변동을 Student's paired *t-test*²¹⁾로 하였다.

실험결과

정맥내 투여한 N^G -nitro-L-arginine(L-NOARG)의 신장작용 - 생리식염액 일정량을 정맥내로 주입하여 뇨량이 일정하게 유출 되었을때 두번의 대조기를 거친 후

Table I— Effect of N^G-nitro-L-arginine (200.0 µg/kg/min) infused into vein on renal function in dog

Parameter \ Time	Control	0~10	10~20	20~30 (min)
Vol (ml/min)	4.69±0.27	4.53±0.26	3.63±0.23*	3.35±0.27*
GFR (ml/min)	46.2±1.73	45.4±2.16	49.1±2.97	48.3±2.56
RPF (ml/min)	94.8±1.48	89.8±3.10	87.9±2.78*	88.5±3.07*
C _{osm} (ml/min)	4.39±0.39	3.73±0.67*	3.63±0.18*	3.50±0.13*
C _{H₂O} (ml/min)	0.30±0.29	0.26±0.20	0.00±0.32*	-0.15±0.17*
E _{Na} (µEq/min)	362.7±22.03	371.7±21.97	313.8±17.78*	293.1±5.12*
R _{Na} (%)	94.9±0.53	94.5±0.36	96.4±0.17	95.9±0.25
E _K (µEq/min)	35.1±2.32	33.9±1.36	32.0±1.24	31.3±1.15*
R _K (%)	84.6±1.46	85.0±0.69	86.7±0.95	86.9±0.75*
K ⁺ /Na ⁺ (%)	9.8±0.15	9.4±0.08	10.4±0.15	10.8±0.35

Mean±S.E. from 6 experiments. Abbreviation: Vol: Urine flow rate, GFR: Glomerular filtration rates calculated by creatinine clearance, RPF: Renal plasma flow calculated by p-aminohippuric acid clearance, C_{osm} and C_{H₂O}: Clearance of osmolar substance and free water, resp, E_{Na} and E_K: Amounts of sodium and potassium excreted in urine, resp. R_{Na} and R_K: Reabsorption rates of sodium and potassium in urine tubules, resp. Asterisks indicate the significant change as compared with corresponding control values (p<0.05). The agent was given at 0 min time.

Table II— Effect of N^G-nitro-L-arginine (200.0 µg/kg/min) infused into vein on renal function in rabbit

Parameter \ Time	Control	0~20	20~40	40~60	60~80 (min)
Vol (ml/min)	0.19±0.03	0.13±0.03	0.15±0.04	0.13±0.03	0.11±0.03*
GFR (ml/min)	15.6±1.26	11.3±2.70*	11.9±2.98*	11.4±2.10*	9.47±1.39*
RPF (ml/min)	32.3±8.41	23.5±2.49*	24.0±2.21*	25.9±2.76*	20.4±2.11*
C _{osm} (ml/min)	0.28±0.06	0.23±0.07	0.23±0.06	0.25±0.08	0.21±0.06
C _{H₂O} (ml/min)	-0.10±0.03	-0.10±0.04	-0.09±0.03	-0.11±0.06	-0.09±0.04
E _{Na} (µEq/min)	5.07±0.79	3.87±1.11	5.03±1.53	4.85±1.34	4.20±1.08
R _{Na} (%)	99.8±0.05	99.8±0.06	99.8±0.04	99.8±0.04	99.8±0.04
R _K (µEq/min)	2.60±0.71	2.19±0.77	2.31±0.71	2.54±1.02	2.26±0.87
R _K (%)	96.3±1.18	96.1±1.31	96.0±1.27	96.3±1.16	94.2±1.08
K ⁺ /Na ⁺ (%)	48.3±6.48	63.9±9.64	53.5±9.57	55.5±10.8	53.1±10.1

Mean±S.E. from 6 experiments. Legends are the same as in Table I.

정맥내 L-NOARG을 투여하여 나타나는 신장 기능의 변화를 대조기의 신장 기능과 비교 검토 하였다. 뇨량의 감소와 더불어 사구체 여과율(GFR)을 제외한 신장 기능 전체의 억제 효과를 나타내었다.

Table I은 L-NOARG을 200.0 µg/kg/min으로 정맥내에 투여한 후 나타나는 신장 기능의 변화를 관찰한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. Table I에서 나타난 바와 같이 뇨량의 경우 4.69±0.27 ml/min의 대조치에 비하여 첫번째기(0~10 min)에서는 4.53±0.26 ml/min 로써 통계적인 유의성이 없었으나 두번째기(10~20 min) 와 세번째기(20~30 min)에서는 3.63±0.23과 3.35±0.27 ml/min으로써 유의적인 감소 현상을 나타내었다. 이때의 신장 기능의 변화를 보면

사구체 여과율(GFR)은 별다른 변화가 없었으나 신혈류량(RPF)은 대조치 94.8±1.48 ml/min에서 두번째기(10~20 min)와 세번째기(20~30 min)에서 각각 87.9±2.78과 88.5±3.07 ml/min으로 유의적인 감소를 나타내었다. 삼투질 제거율(C_{osm})과 자유수 제거율(C_{H₂O}), 뇨중 Na⁺과 K⁺의 배설량(E_{Na}, E_K)도 같이 감소 하였다.

Table II와 Table III는 토끼의 정맥내 L-NOARG을 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리 한 것이다. Table II및 Table III은 L-NOARG, 200.0 µg 및 600.0 µg/kg/ min을 정맥내 각각 투여한 실험을 종합한 것이다. 결과는 개의 실험에서와 같이 뇨량의 감소와 더불어 신혈류량(RPF), 삼투질 제거율(C_{osm})및 Na⁺배설량

Table III— Effect of N^G-nitro-L-arginine (600.0 ug/kg/min) infused into vein on renal function in rabbit

Parameters \ Times	Control	0~20	20~40	40~60	60~80 (min)
Vol (ml/min)	0.16±0.02	0.10±0.02*	0.08±0.02*	0.10±0.03*	0.12±0.03*
GFR (ml/min)	13.3±2.58	10.4±0.81*	8.63±1.29*	7.81±0.61*	7.94±0.69*
RPF (ml/min)	19.4±2.14	14.0±0.61*	9.94±0.82*	10.7±0.77*	13.4±0.57*
C _{osm} (ml/min)	0.24±0.02	0.16±0.02*	0.12±0.04*	0.17±0.05*	0.14±0.02*
C _{H₂O} (ml/min)	-0.08±0.01	-0.06±0.01	-0.05±0.01	-0.07±0.03	-0.02±0.01*
E _{Na} (μEq/min)	5.14±0.73	3.44±0.18*	2.65±0.30*	2.22±0.16*	2.85±0.37*
R _{Na} (%)	99.7±0.10	99.7±0.06	99.7±0.11	99.6±0.14	99.7±0.04
E _K (μEq/min)	2.21±0.24	1.54±0.09*	1.15±0.21*	1.75±0.65	1.56±0.30
R _K (%)	95.3±1.26	95.7±1.17	95.4±1.39	95.1±1.77	94.7±1.25
N ⁺ /Na ⁺ (%)	46.0±5.34	45.1±2.63	45.3±2.07	47.3±5.59	56.1±7.97

Mean±S.E. from 6 experiments. Legends are the same as in Table I.

Table IV— Effect of N^G-nitro-L-arginine (20.0 μg/kg/min) infused into a renal on renal function in dog

Parameter \ Time	Control	0~10	10~20	20~30 (min)
Vol (ml/min) L	2.31±0.10	2.32±0.15	2.05±0.07	1.88±0.19*
R	2.23±0.10	2.18±0.16	2.05±0.16	1.90±0.18*
GFR (ml/min) L	29.7±2.73	32.1±2.96	31.4±3.61	28.4±2.95
R	26.3±1.81	26.4±2.65	25.8±2.48	27.6±2.82
RPF (ml/min) L	70.4±3.93	70.6±6.12	63.1±5.58*	56.5±4.35*
R	57.1±2.01	55.3±2.72	54.9±3.53*	54.5±3.94*
C _{osm} (ml/min) L	1.75±0.13	1.79±0.22	1.65±0.21	1.51±0.19
R	1.70±0.12	1.69±0.22	1.61±0.21	1.49±0.18
C _{H₂O} (ml/min) L	0.56±0.15	0.52±0.23	0.40±0.22	0.37±0.22
R	0.19±0.10	0.17±0.16	0.16±0.16	0.14±0.16
E _{Na} (μEq/min) L	160.2±11.53	173.5±17.21	155.6±15.71	145.0±14.63*
R	171.2±11.49	179.5±16.63	174.1±16.25	157.3±12.96*
R _{Na} (%) L	96.4±0.13	96.1±0.29	96.3±0.28	96.4±0.26
R	95.8±0.13	95.4±0.13	95.4±0.12	96.0±0.12
E _K (μEq/min) L	24.6±2.51	28.5±3.89	25.8±3.56	26.3±3.07
R	24.5±2.60	27.2±4.17	25.8±3.59	25.9±3.34
R _K (%) L	83.6±1.00	80.4±2.13	81.4±2.21	80.1±2.28
R	82.9±1.01	79.7±2.02	80.0±1.96	80.2±2.17
K ⁺ /Na ⁺ (%) L	13.3±0.48	15.6±0.86	15.8±1.01	17.1±1.03*
R	13.3±0.74	14.1±1.24	14.2±1.17	16.1±1.46*

Mean±S.E. from 6 experiments. L: Left experimental kidney. R: Right control kidney. Legends are the same as in Table I.

(E_{Na})의 감소 현상이 나타났으며 그 반응은 L-NOARG, 600.0 μg/kg/min, i.v.에서 더욱 뚜렷하게 나타났다. 개의 실험 결과와의 차이점은 노량이 감소 하였을 때 사구체 여과율(GFR)의 감소가 나타난 것이며 이러한 현상은 개의 실험에서는 뚜렷한 작용이 아니었다.

한쪽 신장 동맥내에 투여한 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)의 신장작용 - 정맥내 투여했을 때 나타나는 L-NOARG의 항이뇨 작용이 신장에 대한 직접 작용인

지, 아니면 내인성 물질이나 신경을 통한 간접 작용인지를 검토하기 위하여 한쪽 신장 동맥내에 L-NOARG를 주입하여 나타나는 신장 기능의 변화를 L-NOARG를 주입하지 않은 대조 신장의 기능 변화와 비교 관찰 하였다.

Table IV는 L-NOARG을 20.0 μg/kg/min으로 한쪽 신장 동맥내에 주입한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. 노량의 경우, 실험 신장과 대조 신장에서 각각 2.31±0.10 ml/min과 2.23±0.10 ml/min의 대

Table V — Effect of N^G-nitro-L-arginine (60.0 µg/kg/min) infused into a renal artery on renal function in dog

Parameter	Time	Control	0~10	10~20	20~30	30~40 (min)
	Vol (ml/min)	L R	2.31±0.10 2.23±0.10	1.75±0.17* 1.78±0.16*	1.70±0.18* 1.78±0.15*	1.60±0.18* 1.68±0.16*
GFR (ml/min)	L R	29.7±1.72 26.3±1.54	28.4±2.61 26.4±2.51	30.1±2.91 27.2±2.84	28.2±2.67 25.3±2.62	30.6±10.58 26.2±2.84
RPF (ml/min)	L R	70.4±3.90 57.1±2.01	62.5±5.30* 53.0±3.08*	62.4±5.42* 51.1±3.66*	59.7±4.75* 51.6±3.57*	58.6±5.65* 50.6±2.89*
C _{osm} (ml/min)	L R	1.75±0.15 1.70±0.15	1.44±0.17 1.44±0.18	1.39±0.13 1.45±0.17	1.29±0.11* 1.34±0.14*	1.26±0.10* 1.31±0.12*
C _{H₂O} (ml/min)	L R	0.56±0.15 0.19±0.10	0.31±0.21 0.09±0.16	0.31±0.22 0.10±0.15	0.31±0.22 0.11±0.16	0.31±0.21 0.15±0.15
E _{Na} (µEq/min)	L R	160.2±11.53 171.2±11.49	140.8±11.63* 149.7±12.05*	138.5±8.75* 153.4±11.42*	129.8±6.00* 143.1±8.60*	129.6±4.96* 142.4±7.01*
R _{Na} (%)	L R	96.4±0.13 95.8±0.04	96.3±0.33 96.0±0.21	96.4±0.39 95.9±0.22	96.4±0.40 95.8±0.26	96.5±0.44 95.8±0.31
E _K (µEq/min)	L R	24.6±2.51 24.5±2.61	25.3±3.06 25.6±3.29	25.4±2.81 26.1±3.41	24.4±2.58 24.9±3.13	24.1±2.73 24.8±3.09
R _K (%)	L R	83.6±1.01 82.9±1.01	79.8±2.45 79.2±2.57	79.9±2.73 79.1±2.73	79.2±3.00 78.0±3.24	79.7±3.42 77.9±3.50
K ⁺ /Na ⁺ (%)	L R	13.3±0.47 13.3±0.74	17.0±0.97* 16.3±1.46*	17.4±1.08* 16.2±1.55*	17.8±1.31* 16.6±1.75*	17.7±1.59* 16.8±1.83*

Mean±S.E. from 6 experiments. Legends are the same as in Table I.

Table VI — Effect of N^G-nitro-L-arginine (10.0 µg/kg/min) infused into the carotid artery on renal function in dog

Parameter	Time	Control	0~10	10~20	20~30 (min)
	Vol (ml/min)		4.54±0.07	4.25±0.05	3.58±0.02*
GFR (ml/min)		57.7±2.85	50.8±4.15	50.4±3.40	51.6±3.96*
RPF (ml/min)		105.7±4.77	98.1±6.23	98.0±7.32	99.8±9.70*
C _{osm} (ml/min)		4.92±0.23	4.85±0.46	4.31±0.35	4.35±0.33
C _{H₂O} (ml/min)		-0.39±0.28	-0.60±0.42	-0.73±0.43	-0.89±0.29
E _{Na} (µEq/min)		359.4±15.95	346.0±28.12	312.0±18.42*	303.0±12.13*
R _{Na} (%)		95.8±0.03	95.4±0.07	96.2±0.03	96.0±0.15
E _K (µEq/min)		37.0±2.73	36.7±4.88	36.6±4.38	37.7±3.93
R _K (%)		85.0±1.66	82.6±3.54	85.4±2.43	83.5±2.78
K ⁺ /Na ⁺ (%)		11.8±1.28	12.4±2.41	12.9±2.17	13.1±1.83*

Mean±S.E. from 6 experiments. Legends are the same as in Table I.

조치에 비하여 첫번째기(0~10 min)와 두번째기(10~20 min)에서는 양쪽 신장에서 다같이 별다른 영향을 관찰할 수 없었다. 그러나 세번째기(20~30 min)에서는 실험신과 대조신에서 각각 1.88±0.19 ml/min와 1.90±0.18 ml/min으로 약물투여전에 비하여 양쪽 신장에서 다같이 유의성인 감소 현상을 나타내었다. 이때 신혈류량(RPF)과 Na⁺배설량(E_{Na})이 양쪽 신장에서 다같이 유의성 있게 감소 하였다.

Table V는 L-NOARG을 60.0 µg/kg/min.으로 증량

하여 한쪽 신장 동맥내에 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. 이 실험에서는 첫번째기(0~10 min)부터 양쪽 신장에서 다같이 노량의 유의성인 감소 현상을 나타내었다. 이때의 신장 기능의 변화는 Table IV에서 나타난 결과와 유사하게 신혈류량(RPF)과 Na⁺배설량(E_{Na})이 감소 하는것을 관찰할 수 있었다.

경동맥내 투여한 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)의 신장작용 - L-NOARG을 한쪽 신장 동맥내에 투여 했을 때 양쪽 신장에서 다같이 항이뇨 작용이 나타났는데

Table VII— Effect of N^G-nitro-L-arginine (30.0 µg/kg/min) infused into the carotid artery on renal function in dog

Time Parameter	Control	0~10	10~20	20~30	30~40 (min)
Vol (ml/min)	4.54±0.07	3.33±0.06*	3.23±0.02*	3.10±0.07*	3.13±0.04*
GFR (ml/min)	57.7±2.85	50.3±5.40	50.7±4.76	52.5±4.60	52.2±4.63
RPF (ml/min)	105.7±4.77	100.2±9.86	97.9±9.93*	93.0±7.90*	96.0±9.32*
C _{osm} (ml/min)	4.92±0.23	3.99±0.26	3.87±0.23	3.86±0.12	3.95±0.15
C _{H₂O} (ml/min)	-0.39±0.28	-0.66±0.18	-0.64±0.13	-0.76±0.18	-0.82±0.19
E _{Na} (µEq/min)	359.4±15.95	286.9±8.58*	288.0±4.53*	272.8±2.57*	275.5±2.53*
R _{Na} (%)	95.8±0.03	95.9±0.30	96.0±0.32	96.3±0.35	96.2±0.33
E _K (µEq/min)	37.0±2.73	38.4±4.01	41.7±5.32	43.0±5.85	43.0±5.51
R _K (%)	85.0±1.66	81.6±3.22	80.3±3.95	80.6±3.73	80.5±3.72
K ⁺ /Na ⁺ (%)	11.8±1.28	13.9±1.82	14.8±2.08*	15.6±1.95*	15.5±1.85*

Mean±S.E. from 6 experiments. Legends are the same as in Table I.

이것은 L-NOARG의 항이뇨 작용이 신장에 대한 직접 작용이 아니라 중추를 통한 간접 작용임을 암시한다. 따라서 이러한 중추적 작용의 가능성을 확인하기 위하여 정맥내 투여시 작용이 나타나지 않은 극히 적은량을 경동맥에 투여하여 신장 기능의 변화를 관찰 하였다.

Table VI은 L-NOARG을 10.0 µg/kg/min으로 경동맥내에 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. Table VI에서 나타난 바와 같이 뇨량의 경우 두 번째기(10~20 min)와 세 번째기(20~30 min)에서 각각 3.58±0.02 ml/min과 3.43±0.13 ml/min으로써 대조치 4.54±0.07 ml/min에 비하여 유의성인 감소를 나타내었고 이때의 신장 기능의 변화도 정맥내 투여시와 유사하게 나타났다.

Table VII은 L-NOARG을 30.0 µg/kg/min으로 증량하여 경동맥내에 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. 뇨량의 감소와 더불어 신장 기능의 변화가 L-NOARG 10.0 µg/kg/min 투여시와 유사하게 나타났다으나 그 변화율이 더욱 심화 되었음을 확인할 수 있었다.

고 찰

Nitric oxide(NO)의 합성 억제제인 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)을 개의 정맥내 투여시 뇨량(Vol)의 감소와 더불어 신혈류량(RPF), 삼투질 제거율(C_{osm}) 및 뇨중 Na⁺과 K⁺의 배설량(E_{Na}, E_K)이 감소하였다. L-NOARG를 토끼의 정맥내에 투여한 실험에서도 개에서와 같은 양상을 나타내었다. 개의 한쪽 신장 동맥내에 투여한 L-NOARG은 투여 신장 뿐만 아니라

대조 신장에서도 정맥내 투여시와 같은 양상을 나타내었다. L-NOARG을 개의 경동맥내 투여했을때, 정맥내 투여시에는 아무런 작용을 나타내지 않는 적은량에서 뇨량의 감소와 더불어 RPF및 E_{Na}의 감소 현상이 나타났다. 이러한 결과로 보아 L-NOARG는 중추를 통하여 항이뇨 작용을 나타내는 것으로 사료된다. 항이뇨 작용이 중추적이라는 그 첫째 이유는 L-NOARG을 한쪽 신장 동맥내에 투여했을때 투여 신장 뿐만 아니라 L-NOARG을 투여하지 않는 다른 신장 즉, 대조 신장에서도 투여 신장(실험신)과 같은 비율의 항이뇨 작용을 나타냈기 때문이다. 신장내에서의 직접 작용이라면 투여 신장에서만 그 작용이 나타났을 것이며, 만약 L-NOARG의 한쪽 신장 동맥내 투여량이 과다하여 투여 신장에서 작용하고 남은 L-NOARG이 신정맥을 통하여 배설되어 대조 신장에 유입될 가능성도 있다. 이런 경우 대조신에 유입되는 L-NOARG의 양은 실험 신장에 비하여 극히 적기 때문에 그 항이뇨 작용이 나타나지 않거나 나타난다 하여도 그 강도는 실험 신장의 작용에 비하여 뚜렷한 차이가 있을 것이다. 그러나 본 실험에서는 그 항이뇨작용 비율이 양쪽 신장에서 유사하게 나타났다. 둘째 이유는 정맥내 투여시는 신장 기능에 전혀 영향을 미치지 않는 적은량을 경동맥내 투여시, 뚜렷한 항이뇨 작용을 나타냈기 때문이다. 이런 L-NOARG의 항이뇨 현상은 토끼의 측뇌실내에 투여시에서도 나타났다(未發表). 나아가 이런 점들을 종합하여 보았을 때 L-NOARG는 중추적 작용을 통하여 항이뇨작용을 나타냄이 분명하다. L-NOARG의 신장내 작용점에 대하여 검토하여 보면 혈류역학적 억제에 의하는 것으로 평가되어진다. 구체적으로는 Vas efferens의 수축에 기인한

것으로 생각된다. 항이뇨 작용이 신세뇨관에서 Na⁺ 재 흡수 촉진에 의하여 일어났다면 E_{Na} 감소와 더불어 신세뇨관에서의 Na⁺ 재흡수율(R_{Na})의 증대가 수반될 것이다. 그러나 본 실험에서는 뇨량의 감소와 더불어 E_{Na}의 유의성인 감소가 일어났으나 R_{Na}에는 별다른 변화를 관찰할 수 없었다. 따라서 신세뇨관에서의 작용으로 간주할 수가 없다. 일반적으로 혈류역학적 변화란 GFR와 RPF의 변화를 뜻한다. GFR과 RPF는 Vas afferens와 Vas efferens의 tone의 차에 의하여 크게 좌우되는데 다음의 네가지 경우를 생각할 수 있다. 즉 1) Vas afferens의 확장은 GFR의 증가와 RPF의 증대를 가져오고, 2) Vas efferens의 확장은 GFR의 감소와 RPF의 증가를, 3) Vas afferens의 축소는 GFR과 RPF의 감소를, 4) Vas efferens의 축소는 GFR의 증가 또는 불변과 RPF의 감소를 초래한다.²²⁾ 본 실험에서 L-NOARG는 GFR의 불변과 RPF의 감소를 가져왔기 때문에 Vas efferens에 작용하여 이를 수축시킨 결과라고 생각할 수 있다. 또한 L-NOARG는 뇨량과 RPF의 감소와 더불어 K⁺/Na⁺비의 증가현상이 나타났다. 이것은 L-NOARG의 항이뇨작용이 신혈류역적 변화외에 부분적으로 신세뇨관, 특히 원위세뇨관에서 Na⁺-K⁺ 교환 pump의 활성을 일으키는 것으로 고려할 수도 있다. 그 이유는 K⁺/Na⁺ 비의 증가현상이 나타났기 때문이다. 원위세뇨관에 존재하는 Na⁺-K⁺ 교환 pump의 활성화가 이루어져 Na⁺의 재흡수가 촉진된다면 자연적으로 K⁺의 배설량이 증대하게 된다. 이에 따라 본 실험의 결과처럼 K⁺/Na⁺비가 증대한다²³⁾(Table VII). 따라서 신세뇨관 중 원위부도 관여하는 것으로 고려된다.

결 론

Nitric oxide(NO)의 합성 억제제인 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)의 신장에 대한 영향을 검토하기 위하여 개와 토끼를 이용하여 본 실험을 시행하였다. L-NOARG을 개의 정맥내 투여 했을때 뇨량(vol)의 감소와 더불어 신혈류량(RPF), 삼투질 제거율(C_{osm}) 및 뇨중 Na⁺과 K⁺의 배설량(E_{Na}, E_K)이 감소하였다. 이러한 L-NOARG의 신장 작용은 토끼의 정맥내에 투여했을 때에도 같은 양상을 나타내었다. 개의 한쪽 신장 동맥내에 투여한 L-NOARG은 투여 신장뿐 아니라 대조 신장에서도 정맥내 투여시와 같은 양상을 나타내었다. 또한 L-NOARG을 개의 경동맥내에 투여

했을때, 정맥내 투여시에는 아무런 작용을 나타내지 않는 적은량에서 뇨량의 감소와 더불어 RPF 및 E_{Na}의 감소 현상이 나타났다. 이상의 결과로 보아 L-NOARG은 개와 토끼에서 항이뇨 작용을 나타내며 이 항이뇨 작용은 중추적인 작용에 의하는 것으로 사료된다.

감사의 말씀

본 연구는 1997년도 한국 학술진흥재단 연구비에 의하여 일부 충당되었으며 이에 감사한다.

문 헌

- 1) Moncada, S., Palmer, R. M. J., Higgs, E. A. : The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension*, **12**, 365 (1988).
- 2) Furchgott, R. F., Vanhoutte, P. M. : Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEBJ*, **3**, 2007 (1989).
- 3) Innarro, L. J. : Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **30**, 535 (1990).
- 4) Furchgott, R. F. : The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **24**, 175 (1984).
- 5) Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. & Monacada, S. : Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, **327**, 524 (1987).
- 6) Marletta, M. A. : Nitric Oxide: Biosynthesis and biological significance. *Trens. Biochem. Sci.*, **14**, 488 (1989).
- 7) Bredt, D. S., Snyder, S. H. : Isolation of nitric oxide synthetase, a calmodulin-requiring enzyme. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 682 (1990).
- 8) Kim, P. Sundt, T. M. Jr., Vanhoutte, P. M. : Alterations in endothelium-dependent responsiveness of the canine basilar artery after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.*, **69**, 239 (1988).
- 9) Mulsch, A., Bassenge, E., Busse, R. : Nitric oxide synthesis in endothelial cytosol: Evidence for a calcium-dependent and acalcium-independent mechanism Naunyn-schmiedeberg. *Arch. Phar-*

- macol.* **340**, 767 (1989).
- 10) Mayer, B., Schmidt, K., Humbert, P., Bohme, E. : Biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: A cytosolic enzyme in porcine aortic endothelial cells Ca^{2+} -dependently converts L-arginine into an activator of soluble guanylyl cyclase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **164**, 678 (1989).
 - 11) Busse, R., Mulsch, A. : Calcium-dependent nitric oxide synthesis in endothelial cytosol is mediated by calmodulin. *FEBS. Lett.* **265**, 133 (1990).
 - 12) Radomski, M. W., Palmer, R. M. J., Moncada, S. : The anti-aggregating properties of vascular endothelium: Interaction between prostacyclin and nitric oxide. *Br. J. Pharmacol.* **92**, 639 (1987).
 - 13) Radomski, M. W., Palmer, R. M. J., Moncada, S. : Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet.* **2**, 1057 (1987).
 - 14) Furchgott, R. F., Zawadzki, J. V. : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature (Lond).* **288**, 373 (1980).
 - 15) Furchgott, R. F. : Role of the endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ. Res.* **53**, 557 (1983).
 - 16) Luscher, T. F., Diederich, D., Siebenmann, R., Lehmann, K., Stulz, P., Von Segesser, L., Yang, Z., Turina, M., Gradel, E., Weber, E., Buhler, F. R. : Difference between endothelium-dependent relaxations in arterial and in venous coronary bypass grafts. *N. Engl. J. Med.* **319**, 462 (1988).
 - 17) Palmer, R. M. J., Rees, D. D., Ashton, D. S., Moncada, S. : L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **153**, 1251 (1988).
 - 18) Romero, J. C., Lahera, V., Salom, M. G. and Maria, L. B. : Role of the endothelium-dependent relaxing factor nitric oxide on renal function. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2**, 1371 (1992).
 - 19) Phillips, B. A. : Quantitative Clinical Chemistry by Peters and Van Slyke, Baltimore, Williams, Wilkins. *Methods.* **Vol. 2.** (1944).
 - 20) Smith, H. W., Finkelstein, N., Aliminosa, L., Crawford, B. and Graber, B. : The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J. Clin. Invest.* **21**, 388 (1945).
 - 21) Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. : *Statistical Methods*, 7th. ed. Iowa State Univ. (1980).
 - 22) Suh, B. C. : Action of serotonin on the renal function in the dog. *Korean J. Pharmacol.* **2**, 13 (1966).
 - 23) Gill, W. S. : Formation and excretion of urine. *J of RIMSK.* **2**, 468 (1970).