

실험적 신장해 모델의 특성 비교

심 창 구

서울대학교 약학대학
(1987년 11월 25일 접수)

Characteristics of Some Animal Models of Experimental Renal Failure

Chang-Koo Shim

College of Pharmacy, Seoul National University
(Received November 25, 1987)

Renal dysfunction can have pronounced effects on the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of drugs. Because the exploration of these effects in patients may be limited by ethical and practical considerations, it often become necessary to perform studies on animals with experimental renal failure(ERF). ERF was produced in rats by the administration of uranyl nitrate, glycerol, salicylate, gentamicin and folate in this study. Changes in glomerular filtration rate(GFR) and renal secretion clearance of tetraethylammonium bromide(CL_{TEA}^{scn}), together with morphological changes of kidney cortex were evaluated and compared among ERF models. GFR(or glomeruli) and CL_{TEA}^{scn} (or renal tubules) were not damaged parallely in some ERF model rats. Therefore, it seemed to be necessary to adjust dosage regimen of some basic drugs like TEA in renal dysfunction considering the functional changes of renal secretion in addition to glomerular filtration.

腎不全은 약물의 체내속도론 및 藥力學的 특성에 큰 영향을 미치는 경우가 많다¹⁾. 이 영향을 환자를 써서 탐색하는 연구는 윤리상 또는 실제적으로 제한을 받아 용이하지 않다. 이럴 때 실험동물을 써서 인공적으로 腎障害를 유발시킬 수 있다면 매우 편리할 것이다²⁻³⁾.

동물에게 실험실적으로 신장해나 신부전을 유발시키는 방법은 여러가지가 보고되어 있고 그중 어떤 방법은 상당히 널리 쓰이고 있다^{2,4-10)}. 그러나 사람의 신장해에 대한 병태생리학적 요인이 무엇인지 잘 안 밝혀져 있는 부분이 많기 때문에²⁾, 실험동물에 어떤 신장해 모델을 만드는 것이 사람에게서의 신장해의 임상조건과 일치할 것인가를 결정하기란 어려운 실정이다. 보통은 모델병태의 안정성, 再現性 및 시간 등을 고려하여 모델을 선택하

고 있는 것 같다.

이 연구에서는 신장해 모델로서 자주 이용되고 있는 glycerol¹¹⁻¹³⁾, folate¹⁴⁻¹⁸⁾, uranium¹⁹⁻²²⁾, salicylate²³⁾ 및 gentamicin²⁴⁻²⁹⁾을 각각 rat에게 투여하여 유발시킨 각 신장해 모델의 특성을 비교하고자 하였다. 비교항목으로는 腎사구체여과속도(GFR), 腎세뇨관의 分泌클리어런스(CL_{scn})와 몇가지 병태생리학적 파라메타, 그리고 신장조직의 현미경 관찰을 택하였다.

실험방법

실험동물

건강한 Wistar계 웅성 rat(체중 250~300g)을 사용하였다. 사료는 일본 Clea의 CE-2를 주고 물

Table I – Induction of Experimental Renal Failure (ERF).

ERF model	Dose (per kg)	Rx	Injection volume (per kg)
Control	—	—	—
Glycerol	5ml	50% (saline)	10ml, s.c.
Folate	250mg	5% (0.3M-NaHCO ₃)	5ml, i.v.
Uranium	5mg	0.5% (saline)	1ml, i.v.
Salicylate	4 g	160% (saline)	2.5ml, i.v.
Gentamicin	40mg/day	0.8% (saline)	5ml × 7, s.c.

은 수돗물을 자유로 마실 수 있게 하였다. 사육실의 온도는 약 24°C의 항온이었다.

시 약

folic acid, glycerol, sodium salicylate, uranyl nitrate, gentamicin sulfate(역가 570 μg/mg)는 각각 東京化成, 和光純藥, 小宗藥品, TAAB Lab 및 鹽野義제약의 특제 또는 특급품을 사용하였으며 기타 시약은 前報³⁰⁾에 준하였다.

신장해의 유발

신장해의 유발 방법을 요약하면 Table I과 같다. 즉 glycerol 신장해¹¹⁻¹³⁾는 본 실험 시작 24시간 전에 50 v/v%의 glycerol액(생리식염수로 희석)을 rat 체중 1kg당 10ml의 용량으로 皮下주사하였다. folate 신장해¹⁴⁻¹⁸⁾는 역시 24시간 전에 5w/v%의 folic acid용액(0.3M NaHCO₃용액에 넣고 수용상에서 가온, 용해시킴)을 kg당 5ml의 용량으로 下肢대정맥에 주사하였다. salicylate 신장해²³⁾는 본 실험 시작 48시간 전에 160w/v%의 sodium salicylate용액(생리식염수에 용해)을 kg당 2.5ml의 용량으로 下肢대정맥에 주사하였다. 우라늄신장해^{4,6,19-22)}는 본 실험 시작 120시간 전에 0.5w/v%의 uranyl nitrate 용액(생리식염수용액)을 kg당 1ml의 용량으로 下肢대정맥에 주사하였다. gentamicin 신장해²⁴⁻²⁹⁾는 0.8w/v%의 gentamicin sulfate용액(생리식염수용액)을 kg당 5ml의 용량으로 매 24시간마다 皮下에 7회 반복주사하고 7번째 주사후 24시간이 지나 본 실험에 사용하였다. 이상에서 정맥주사시에는 가볍게 에텔마취를 하였다. 대조군으로서는 아무 처리도 하지 않은 건강한 rat을 사용하였다.

클리어런스 실험

前報³⁰⁾에 준하여 tetraethylammonium bromide(TEA)의 腎클리어런스(CL_{TEA}^{total})와 inulin의 腎클리어런스(GFR)을 구하고 두 값의 차이로부터 腎세뇨관에서의 分泌클리어런스(CL_{TEA}^{secn})를 구하였다.

腎조직의 현미경 관찰

클리어런스 실험이 끝난 rat의 下大정맥 카테터를 통해 공기를 주입시켜 rat를 치사시켰다. 곧 좌우의 신장을 떼어내어 가볍게 물로 씻고 tissue paper로 물기를 닦아 내어 固定시킬 때까지 -20°C의 freezer에서 보존하였다. 固定은 신장의 縱斷面(좌우가 대칭이 되도록)을 따라 반으로 자른 신장을 4%의 formaldehyde에 넣어 고정하였다. 이를 상법에 따라 파라핀에 끼워 넣어 두께 약 6μ의 절편을 만들었다. 이를 hematoxylin-eosin을 써서 염색한 다음 2장의 slide glass 사이에 고정시켜 놓고 현미경으로 관찰하면서 사진을 찍었다.

실험결과 및 고찰

신장해에 의한 腎클리어런스의 변동

신장해에 의한 inulin과 TEA의 腎배설 클리어런스의 변동을 요약하면 Fig. 1과 같다. 클리어런스의 계산은 (1)식에 따랐다.

$$CL = \frac{Cu \times Vu}{C_p \times T} \quad (1)$$

여기에서 CL은 inulin 또는 TEA의 腎클리어런스로 체중 1kg당의 값(ml/min/kg)으로 規格化한 값을, Cu는 尿중 약물농도(μg/ml), T는 체뇨시간(min), Vu는 체중 1kg당 T分間の 尿量

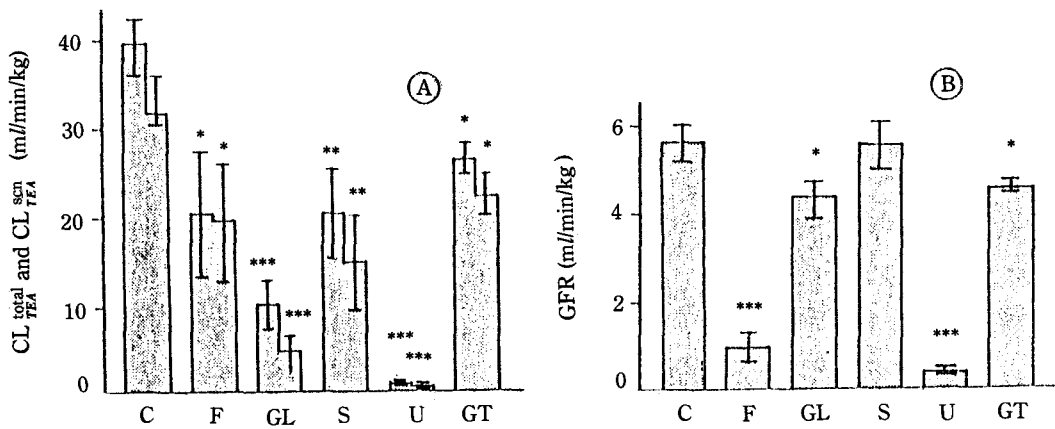


Figure 1 — Influence of experimental renal failure on CL_{TEA}^{total} (upper parts of each column in (A)), CL_{TEA}^{scn} (lower parts of each column in (A)) and GFR (B). Each column represents the mean \pm S.E.
 Key: C = control(8), F = folate (5), GL = glycerol (3), S = salicylate (4), U = uranium (7), GT = gentamicin (3)-treated rats. Significance level of difference to the control group: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

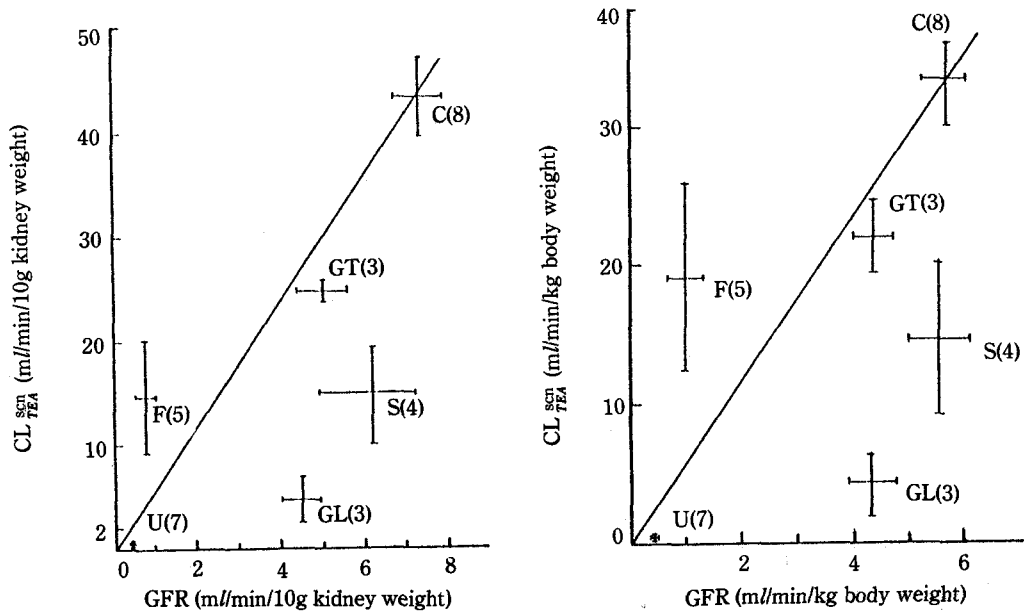


Figure 2 — Correlation between GFR and renal secretion clearance of TEA (CL_{TEA}^{scn}) in rats of experimental renal failure. Each value represents the mean \pm S.E. normalized for 10g kidney (left) and for kg body weight (right). Numbers in the parenthesis indicate the number of experiments.

Key: C = control, S = salicylate, GT = gentamicin, GL = glycerol, F = folate, U = uranium model.

(mL/kg)을, \bar{C}_p 는 채노기간중의 inulin 또는 TEA의 평균혈장중 농도(mg/mL)를 의미한다. TEA의腎배설에는再吸收과정がない다고 생각되기 때문에³¹⁾ TEA의 총腎클리어런스(CL_{TEA}^{total})에서

GFR을 빼면 세노관 분비클리어런스(CL_{TEA}^{scn})가 될 것이다. 즉,

$$CL_{TEA}^{scn} = CL_{TEA}^{total} - GFR \quad (2)$$

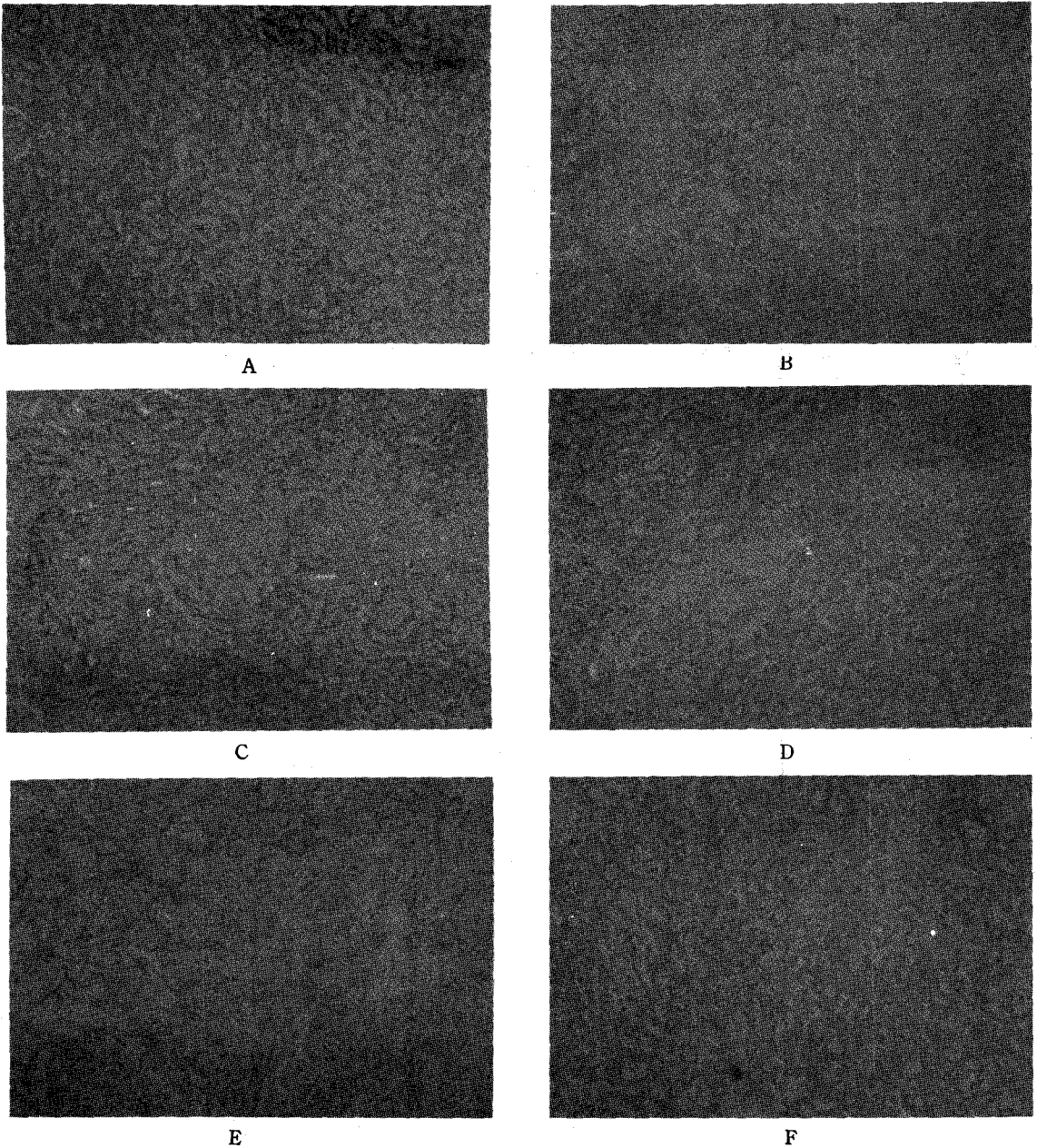


Figure 3—Light micrographs of the renal cortexes from ERF rats ($\times 100$).

A, intact kidney (GFR=5.7, $CL_{T_{EA}}^{total} = 45.3 \text{ ml/min/kg}$); B, glycerol model (GFR=1.3, $CL_{T_{EA}}^{total} = 4.3 \text{ ml/min/kg}$); C, folate model (GFR=1.2, $CL_{T_{EA}}^{total} = 21.1 \text{ ml/min/kg}$); D, salicylate model (GFR=5.7, $CL_{T_{EA}}^{total} = 27.5 \text{ ml/min/kg}$); E, uranium model (GFR=0.15, $CL_{T_{EA}}^{total} = 0.27 \text{ ml/min/kg}$); F, gentamicin model (GFR=2.0, $CL_{T_{EA}}^{total} = 14.6 \text{ ml/min/kg}$).

여기에서 GFR로는 inulin의腎클리어란스를 사용하였다.

Fig. 1로부터 salicylate 신장해의 GFR을 제외한 모든 신장해 모델에서의 클리어란스는 대조군

에 비해 유의성있게 낮아졌음을 알 수 있다. 또 Fig. 1의 ㉠로부터 본 연구에서의 신장해 모델은 세뇨관의 cation transport system³²⁾의 기능에도 장애를 주고 있음을 알 수 있다. 그러나

salicylate 모델에서는 GFR의 유의성있는 저하가 보이지 않았다. 이것은 사구체여과와 세뇨관분비의 두 기능이 평행적으로 진행되지 않는다는 것을 시사한다.

Fig. 2에 GFR과 CL_{TEA}^{scn} 과를 신장해 모델별로 플랫폼하였다. 역시 GFR과 CL_{TEA}^{scn} 과는 저해를 받는 정도가 다름을 알 수 있다. 예컨대 folate 모델에서는 GFR만이 현저하게 저하하고, salicylate와 glycerol 모델에서는 CL_{TEA}^{scn} 만이 격감하는 예가 있었다. Fig. 2로부터 TEA와 같은 염기성 약물의 분비클리어란스를 GFR로부터 예측하는 것은 병태에 따라서 불가능하다는 것을 알 수 있다.

현미경 소견

신장의 병리절편의 현미경 사진을 Fig. 3에 보였다. glycerol 신장해(B)에서는 Preuss¹³⁾, Westenfelder 등¹⁴⁾의 보고와 같이 사구체보다 세뇨관쪽의 장해(diffusion)가 심하였다. gentamicin 신장해(F)에서는 Luft 등²⁴⁾, Kosek 등²⁵⁾, Houghton 등²⁶⁾의 보고와 같이 cortex 부위의 세뇨관에 넓고 큰 壞疽(necrosis)가 생겼다. folate 신장해(C)에서는 Schmidt 등¹⁵⁾, Schubert¹⁷⁾의 보고에서와 같이 분명한 클리어란스 저하가 있었음에도 불구하고 피쳐는 glycerol 신장해보다 가벼웠다. 또 Preuss 등¹⁸⁾은 folate 신장해시의 腎중량의 증대³⁰⁾는 glycerol의 경우(세뇨관의 necrosis)와 달리 세뇨관에서의 obstruction에 의한 것이라고 보고하였다. Fig. 3의 C에서도 마찬가지로 세뇨관의 팽창이 보였다. uranium 신장해(E)에서는 Carone 등¹⁹⁾, Bencosome 등²⁰⁾의 소견과 같이 사구체 및 세뇨관의 분명한 장해가 보였다. salicylate 신장해(D)에서는 Calder 등²³⁾이 보고한 nephrotoxicity와 같은 분명한 장해는 보이지 않았으나 세뇨관이 팽창되어 있음은 보였다.

현미경 소견으로부터 신장해의 정도를 정량적으로 해석하는 것은 매우 어렵고, folate의 예에서 보는 것처럼 클리어란스의 저하와 현미경소견이 일치하지 않는 경우가 있음을 알 수 있다.

결 론

검토한 모든 모델은 클리어란스나 현미경 소견 등의 면에서 신장해 모델로 적절하였다. 전 모델에 있어서 TEA의 분비클리어란스(CL_{TEA}^{scn})는 유의

성있게 저하하였다. 그 저하의 정도를 GFR로부터 예측하기란 folate 등의 예에서 볼 수 있듯이 일반적으로 가능한 일이 아니었다. folate 모델의 경우에는 GFR이 주로, glycerol과 salicylate 모델의 경우에는 분비클리어란스가 주로 저하하는 예가 많았다. 이것은 신장해가 사구체 여과기능과 세뇨관 분비기능에 평행하게 일어나지 않는다는 신장해의 部位특이성을 나타내 주는 것으로 생각된다.

TEA와 같은 염기성 약물의 분비클리어란스의 저하 정도는 BUN值나 腎중량 또는 조직절편의 현미경 소견 등과도 일치하지 않았기 때문에 N¹-methylnicotinamide(NMN)와 같은 內因性 염기성물질의 분비클리어란스를 써서 측정³⁰⁾하는 것이 바람직하리라 생각된다.

이상의 결과로부터 腎不全환자에게 투약계획을 수정할 때에 GFR의 변화만을 고려하는 종래의 방법들³³⁻⁴⁰⁾은, 세뇨관에서 분비됨에 의해 배설되는 염기성 약물에 대해서는 한계가 있음을 알 수 있다. 즉 신장해시의 음이온성 약물의 분비클리어란스를 p-aminohippurate의 분비클리어란스로 예측하는 것¹³⁾처럼 염기성 약물의 분비클리어란스를 NMN의 분비클리어란스를 써서 예측하는 것이 GFR을 써 예측하는 것보다 정확하리라 생각된다.

문 헌

- 1) R.E. Cutler, A.U. Gyselneck, W.P. Fleet and A.W. Forrey, Correlation of serum creatinine concentration and gentamicin half-life, *J. Am. Med. Assoc.*, **219**, 1037-1041 (1972)
- 2) N.G. Levinsky, Pathophysiology of acute renal failure, *N. Engl. J. Med.*, **296**, 1453-1458 (1977)
- 3) S.M. Reberts and G. Levy, Pharmacokinetic studies of propoxyphene IV: Effect of renal failure on systemic clearance in rats, *J. Pharm. Sci.*, **69**, 363-364 (1980)
- 4) W. Flamenbaum, R.J. Hamburger, M.L. Huddleston, J. Kaufman, J.S. McNeil, J.H. Schwartz and R. Nagle, *Kid. Int.*, **10**, S115-S122 (1976)
- 5) D.E Oken, *Prog. Biochem. Pharmacol.*, **7**, 219 (1972)

- 6) W. Flamenbaum, M.L. Huddleston, J.S. McNeil and R.J. Hamburger, *Kid. Int.*, **6**, 408-418 (1974)
- 7) E.E. Selkurt, Effect of urethral blockade on renal blood flow and urinary concentrating ability, *Am. J. Physiol.*, **205**, 286-292 (1963)
- 8) R. Platt. M.H. Roscoe and F.W. Smith, Experimental renal failure. *Clin. Sci.*, **11**, 217-232 (1952)
- 9) R.P. Fischer, E.T. Peter and J.F. Mullane, Experimental stress ulcers in acidotic and nonacidotic renal insufficiency., *Arch. Surg.*, **109**, 409-411 (1974)
- 10) H.C. Stoerk, J.H. Laragh, R.M. Aceto and T. Budzilovich, Edema and ascites following the ligation of both ureters in rats, *Am. J. Phthol.* **58**, 51-68 (1970)
- 11) H.G. Preuss, Tubular function in experimental acute tubular necrosis in rats, *Kid. Int.*, **10**, S51-S57 (1976)
- 12) R. Carrol. K. Kovacs and E. Tapp, The pathogenesis of glycerol induced renal tubular necrosis, *J. Pathol. Bacteriol.*, **89**, 573-580 (1965)
- 13) C. Westenfelder, G.J. Arevalo, P.W. Crawford, P. Zerwer, R.L. Baranowski, F.M. Birch, W.R. Earnest, R.K. Hamburger, R.D. Coleman and N.A. Kurtzman, Renal tubular function in glycerol-induced acute renal failure *Kid. Int.*, **18**, 432-444 (1980)
- 14) U. Schmidt and U.C. Dubach. Acute renal failure in the folate-treated rat: Early metabolic changes in various structure of the nephron, *Kid. Int.*, **10**, S39-S45 (1976)
- 15) U. Schmidt, J. Torhorst, M. Huguenin and U.C. Dubach, Acute renal failure after folate: Na-K-ATPase in isolated rat renal tubule., Ultramicrochemical and clinical studies, *Eur. J. Clin. Invest.*, **3**, 169-178 (1973)
- 16) G. Ayer, U. Schmidt and B. Truniger, *Intrarenal hemodynamics in two different models of acute renal failure*, Proc. 5th Int. Congr. Nephrol. (Mexico, 1971), pp. 165
- 17) G.E. Schubert, Folic acid-induced acute renal failure in the rat: Morphologic studies, *Kid. Int.*, **10**, S46-S50 (1976)
- 18) H.G. Peuss, F.R. Weiss, R.H. Janicki and H. Goldin, Studies on the mechanism of folate-induced growth in rat kidneys, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **180**, 754-758 (1972)
- 19) F.A. Carone and W.G. Spector, The suppression of experimental proteinuria in the rat by compounds that increased capillary permeability., *J. Pathol. Bacteriol.*, **80**, 55-62 (1960)
- 20) R.C. Blantz and K. Konnen, The mechanism of acute renal failure after uranyl nitrate *J. Clin. Invest.*, **55**, 621-635 (1975)
- 21) A.P. VanPeer and F.A. Belpaire, Hepatic oxidative drug metabolism in rats with experimental renal failure, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **228**, 180-183 (1977)
- 22) S.A. Bencosme, R.S. Stone, H. Latta and S.C. Madden, Acute tubular and glomerular lesions in rat kidneys after uranium injury, *A.M.A. Arch. Path.*, **69**, 122-128 (1960)
- 23) I.C. Calder, C.C. Funder, C.R. Green, K.N. Ham and J.D. Tange, Comparative nephrotoxicity of aspirin and phenacetin derivatives, *Brit. Med. J.*, **4**, 518-521 (1971)
- 24) F.C. Luft, G.R. Aronoff, A.P. Evan. B.A. Connors, M.H. Weinberger and S.A. Aleit, The renin-angiotensin system in aminoglycoside-induced acute renal failure, *J. Pharm. Exp. Ther.*, **220**, 433-439 (1982)
- 25) J.C. Kosek, R.I. Mazze and M.J. Cousins, Nephrotoxicity of gentamicin, *Lab. Invest.*, **30**, 48-57 (1974)
- 26) D.G. Houghton, M. Hartnett, M.C. Boswell, G. Porter and W. Bennett, A light microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats, *Am. J. Pathol.*, **82**, 589-599 (1976)
- 27) N. Schor, I. Ichikawa, H.G. Rennke, J.L. Troy and B.M. Brenner, Pathophysiology of altered glomerular function in aminoglycoside-treated rats, *Kid. Int.*, **19**, 288-296 (1981)
- 28) G.K. Kaloyanides and E.P. Munoz, Aminoglycoside nephrotoxicity, *Kid. Int.*, **18**, 571-582 (1980)
- 29) W.M. Bennet, C.E. Plamp, D.N. Gilbert, and G.A. Porter, Kinetics of gentamicin uptake in rat cortical slices and the effect of aminogly-

- coside pretreatment on the transport of para-aminohippurate and N-methylnicotinamide., in *"Nephrotoxicity"* edited by J.P. Fillastre, New York, Masson Publishing USA Inc., 1978, pp. 143-156
- 30) C.K. Shim, Y. Sawada, T. Iga and M. Hanano, Estimation of renal secretory function for organic cations by endogenous N¹-methylnicotinamide in rats with experimental renal failure, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **12**, 23-42 (1984)
 - 31) B.R. Rennick and G.K. Moe, Stop flow localization of renal tubular excretion of tetraethylammonium, *Am. J. Physiol.*, **198**, 1267-1270 (1960)
 - 32) B.R. Rennick, Renal tubule transport of organic cations, *Am. J. Physiol.*, **240**, F83-89 (1981)
 - 33) L. Dettli, *"Elimination kinetics and dosage adjustment of drugs in patients with kidney disease."* Gustav Fisher Verlag, New York, 1977
 - 34) W.J. Jusko, *"Clinical pharmacokinetics of digoxin."* in *"Clinical Pharmacokinetics."* edited by G. Levy., American Pharmaceutical Association Academy of Pharmaceutical Sciences., 1974, pp. 31-43
 - 35) J. Fiabre and L. Balant, Renal failure, drug pharmacokinetics and drug action, *Clin. Pharmacokin.*, **1**, 99-120 (1976)
 - 36) L. Dettli, Drug dosage in renal disease, *Clin. Pharmacokin.*, **1**, 126-134 (1976)
 - 37) L. Dettli, Individualization of drug dosage in patients with renal disease, *Med. Clin. N. Am.*, **58**, 977 (1974)
 - 38) W.L. Chiou and F.H. Hsu, Pharmacokinetics of creatinine in man and its implications in the monitoring of renal function in dosage regimen modifications in patients with renal insufficiency, *J. Clin. Pharmacol.*, **15**, 427 (1975)
 - 39) W.A. Ritschel, *"Handbook of Basic Pharmacokinetics."* Drug Intelligence Publications, INC., Hamilton, Illinois, 1976
 - 40) L.A. Pagliaro and L.Z. Benet, Pharmacokinetic data. Critical Compilation of terminal half-lives, percent excreted unchanged, and changes of half-life in renal hepatic dysfunction for studies in humans with references, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **3**, 333-383 (1975)