

신장 허혈이 토끼 신기능과 lysine 및 alanine 배설에 미치는 영향

남윤정 · 김용근* · 김주현

경상대학교 수의과대학

부산대학교 의과대학*

(1995년 7월 27일 접수)

Effect of renal ischemia on renal function and excretion of lysine, alanine in the rabbit

Yun-jeong Nam, Yong-keun Kim*, Joo-heon Kim

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University

College of Medicine, Pusan National University*

(Received July 27, 1995)

Abstract : This study was carried out to determine the effect of renal ischemia on renal function and excretion of amino acid in rabbit. The animal models of renal ischemia induced experimentally by clamping the renal artery for different lengths of time. These results were summarized as follows:

1. Ischemia for 30 or 60 min produced a polyuria which is accompanied by an increase in Na^+ excretion. Glomerular filtration rate(GFR) and p-aminohippurate plasma(C_{PAH}) were not altered by 30 min of ischemia, indicating that transient ischemia results in a marked tubular dysfunction before a reduction in GFR or renal blood flow.
2. Reabsorption of glucose and amino acids such as alanine and lysine was markedly reduced after 30 min of ischemia, and the effect was more pronounced after 60 min of ischemia.

Key words : renal ischemia, renal function, lysine, alanine

서 론

허혈성 신부전증은 외상, 저혈압 및 외과적 수술시 일시적으로 신혈류량이 감소하거나 신장이식 과정에서 발생되는데 신장의 허혈증상은 급성신부전증의 가장 보편적인 원인으로 알려져 있으며¹ 이에 대한 병태

생리를 밝히는 것은 대단히 중요하다.

허혈성 신부전증을 실험적으로 유발하는 방법으로는 실험동물의 신동맥 혈류를 일시적으로 차단시키는 방법이 가장 많이 이용되고 있으며² 이 모델에 의한 허혈성 신부전증은 사람의 허혈성 신부전시 나타나는 병태생리학적 변화와 매우 유사한 것으로 알려져 있

Address reprint requests to Dr Joo-heon Kim, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Republic of Korea.

다³.

허혈성 신부전시 나타나는 신장의 여러 기능장애가 허혈에 의한 신세뇨관의 구조적 변화에 의해 나타날 것으로 추측되어 현재까지 형태학적 변화에 대해서 많은 연구가 수행되어 왔다^{2,4,5,6,7}. 이들 보고에 의하면 근위세뇨관이 가장 민감하게 손상을 받으며, 근위세뇨관세포의 피사 및 brush border membrane의 탈락 등이 가장 특징적인 소견으로 밝혀졌다. 그러나 Jons-ton et al⁸은 쥐에서 허혈 후 다시 혈류를 재유통시켰을 때 2-4시간 후에 탈락되었던 근위세뇨관의 brush border membrane이 60-70% 정도 정상적인 형태로 회복되었으나 포도당과 Na⁺의 재흡수 기능은 회복되지 않았다고 보고하였다. 그러므로 허혈성 신부전시 나타나는 형태적 변화만으로는 세뇨관의 기능 변화를 확인할 수 없음을 알 수 있다. 또한 허혈성 신부전시 나타나는 신장의 기능의 변화는 사구체 여과율의 감소^{4,9,10,11}, Na⁺ 재흡수 감소^{4,12} 및 포도당의 재흡수장애^{5,13} 등이 보고되었으나 아미노산 배설의 변화에 대해서는 보고된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 토끼의 신동맥 혈류를 차단하는 방법을 사용하여 실험적으로 허혈성 신부전증을 유발시킨 후 허혈이 신기능과 아미노산 배설에 어떠한 영향을 주는지 밝히고자 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물 : 성별 구별없이 임상적으로 건강하다고 인정되는 1.5-2.5kg의 New Zealand White종 토끼를 사용하였으며, ketamine(25mg/kg)과 xylazine(5mg/kg)으로 근육주사하여 마취한 후, 기관을 절개하여 자유롭게 호흡할 수 있게 한 다음 우경동맥내에 카테터를 설치하여 혈압측정과 채혈에 이용하였다. 복강을 열고 양쪽 뇌관에 캐뉼리를 넣어 좌·우 신장에서 나오는 뇌를 각각 따로 채취하였으며, 전 실험기간동안 이정맥을 통해 생리식염수를 투여함으로써 체액의 손실을 보충하였다. 처음 1시간 동안은 30분 간격으로 뇌와 혈액을 채취하여 양쪽 신장기능을 관찰한 후 우신동맥은 정상상태로 유지시키고 좌신동맥은 결합하여 혈류를 완전히 차단시킨 다음, 30분 또는 60분 후에 각각 신동맥의 결찰을 풀어 혈류를 2시간 동안 재유통시키면서 뇌와 혈액을 30분 간격으로 채취하여

신장기능을 조사하였다.

p-aminohippurate(PAH)의 혈장제거율 : PAH를 6mg/kg농도가 되도록 주입한 후, 혈액내 일정한 농도를 유지시키기 위하여 0.2mg/ml 농도의 PAH가 함유된 생리식염수를 전 실험기간동안 0.5ml/min로 계속 주입하였고, PAH 농도는 Smith et al¹³의 방법으로 측정하였으며 PAH의 혈장제거율은 일반적인 방법으로 계산하였다.

사구체여과율 : creatinine의 혈장 제거율로써 평가하였으며, creatinine농도는 creatinine 측정시약(Wako Technical Bulletin No 271-10509, Wake Pure Chemical Ind. Osaka, Japan)을 사용하여 측정하였다.

뇌와 혈장에서 Na⁺, K⁺, 포도당 및 아미노산농도 측정 : Na⁺과 K⁺ 농도는 flame photometer(KLINA, Beckman)로 측정하였고, 포도당 농도는 포도당 측정시약(Sigma Diagnostics No. 315, Sigma Chemical Co)을 사용하여 측정하였으며, 아미노산 농도는 아미노산분석기(alpha plus amino acid analyzer, LKB)를 이용하여 측정하였다.

통계처리 실험 결과들은 mean±SE로 나타내었고, 통계학적 유의성은 Student's t-test를 사용하여 검정하였으며 p값이 0.05미만인 것을 유의한 것으로 하였다.

결 과

신기능에 있어 허혈의 효과를 관찰한 결과 뇌량, Na⁺의 배설량, 포도당 배설량 및 K⁺ 배설량 모두 30분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때 유의한 증가를 보였으며, 60분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때에는 그 배설량이 더욱 증가하였다. 그리고 시구체여과율과 PAH의 혈장제거율은 30분 동안 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때에는 유의한 변화가 없었으나 60분간 혈류를 차단시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때에는 유의한 감소를 나타내었다(Table 1). 이러한 결과로써 30분 정도 혈류가 차단된 후 혈류를 재유통되어도 뇌의 농축능력은 현저히 저해되며, 사구체여과율이나 신혈류량이 변하기 전에 신세뇨관의 기능장애가 먼저 일어남을 알 수 있었다.

허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때 뇌로 배설되는 아미노산량을 나타낸 것으로 30분 동안 허혈시킨

Table 1. Effect of renal ischemia on renal function

	Ischemic time(min)	Control kidney	Postischemic kidney
UF(ml/min/kg)	30	0.012±0.006	0.081±0.005**
	60	0.019±0.016	0.132±0.025**
$U_{Na} \cdot V(\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{kg})$	30	1.505±0.290	8.121±1.820**
	60	1.220±0.130	11.920±2.280**
$U_K \cdot (\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{kg})$	30	0.950±0.140	2.404±0.930**
	60	1.149±0.073	2.048±0.198*
GFR(ml/min/kg)	30	0.909±0.027	0.990±0.080
	60	1.160±0.120	0.730±0.070*
$C_{PAH}(\text{ml}/\text{min}/\text{kg})$	30	3.579±0.490	3.941±0.430
	60	3.639±0.416	2.630±0.200*
$U_{Gl} \cdot V(\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg})$	30	3.299±0.862	18.853±5.290**
	60	3.250±0.830	34.130±0.601**

UF, urine flow; C_{PAH} , PAH plasma clearance; $U_{Gl} \cdot V$, glucose excretion; $U_{Na} \cdot V$, Na excretion; $U_K \cdot V$, K excretion; GFR, glomerular filtration rate.

All values were obtained during 2 hours of reflow after ischemia. Data are the mean±SE of ten animals. *P<0.05, **P<0.01 compared with the respective control.

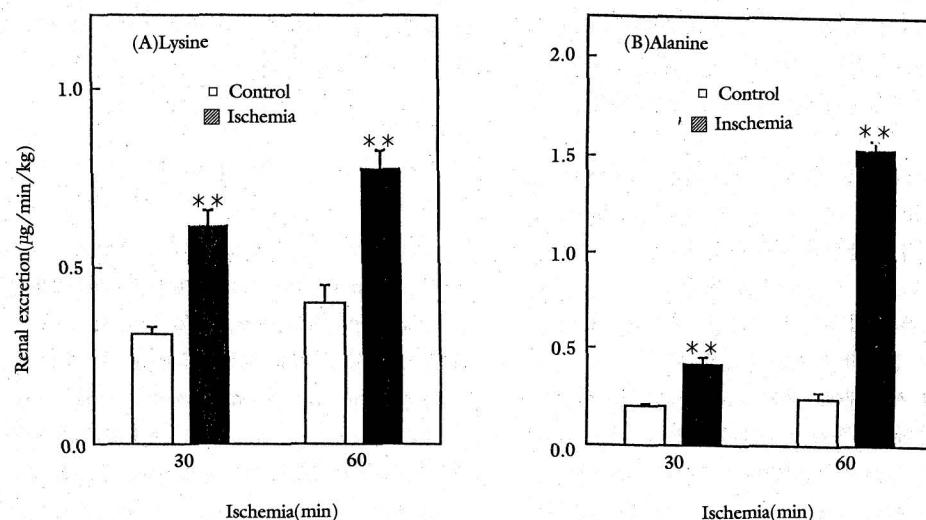


Fig 1. Alterations in renal excretion of amino acids lysine and alanine in ischemic kidney. Data are the mean±SE of six experiments. *P<0.05, **P<0.01 compared with the respective control.

후 혈류를 재유통시켰을 때 대조군에 비해 alanine과 lysine 모두 배설량이 현저히 증가하였으며, 60분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때에는 alanine이 6배, lysine은 2배로 그 배설량이 더욱 증가하였다 (Fig 1). 이와 같은 결과로 볼 때 30분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때에도 아미노산의 재흡수가 심하게 장애받고 있음을 알 수 있었다.

고 칠

본 실험에서 30분 또는 60분 동안 좌신동맥을 차단하여 허혈시킨 후 혈류를 재유통시키면서 신장기능을 관찰한 결과, 뇨량의 현저한 증가와 함께 뇨중 Na^+ 배설량도 현저히 증가하였다. 이러한 결과는 신장이 30분 허혈되어도 뇨 농축능력이 현저히 저해됨을 가르킨다.

본 실험에서 나타난 신장 허혈 후 혈류를 재유통시켰을 때 뇨량의 증가는 Herminghuysen et al⁴과 Seguro et al⁵ 및 Hellberg et al⁶이 쥐에서 보고한 결과와는 일치하였으나, Halasz et al⁷은 개에서 60분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때 60분동안 뇨의 배설이 없었다고 보고하였고, Lieberthal et al⁸은 45분간, Bird et al⁹은 60분간 쥐에서 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켜도 뇨량에는 변화가 없었음을 보고한 결과와는 일치하지 않았다. 이와 같이 허혈시 나타나는 뇨량의 차이는 실험동물이나 실험방법의 차이에 기인할 것으로 예상되나 확실한 원인은 밝혀져 있지 않다.

30분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시킨 신장에서 포도당과 아미노산의 배설이 현저히 증가함으로써 근위세뇨관에서 이를 물질의 재흡수 기능이 저해되었음을 보였으며, 30분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때 보다 60분간 혈류를 차단시킨 후에 근위세뇨관의 손상이 더욱 현저함을 가리키고 있다.

본 실험에서 사구체여과율과 PAH의 혈장제거율은 30분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때 유의한 변화를 보이지 않았으나 60분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때에는 유의한 감소를 보였다. 이러한 결과는 뇨 농축능력과 물질의 재흡수기능이 현저히 저해된 상태에서도 사구체여과율과 PAH 혈장제거율이 영향을 받지 않는다는 것으로 보아 본 실험에서는

허혈시 신혈류량이 변화가 없었음을 가리키며, 이는 Kashgarian et al¹⁰이 허혈성 신부전시 나타나는 사구체여과율과 신혈류량의 감소가 세뇨관의 기능 장애로 인하여 2차적으로 나타난다고 주장한 가설과는 일치하지 않았다.

결 론

신장 근위세뇨관에서 허혈이 신기능과 아미노산의 이동에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 토끼의 신동맥을 결찰하여 허혈을 유발한 *in vivo* 실험을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 30분 또는 60분 동안 허혈시킨 후 혈류를 재유통시키면서 신장기능의 변화를 관찰한 결과 뇨량 및 Na^+ 의 배설량이 현저히 증가하였으며, 사구체여과율과 PAH 혈장제거율은 30분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때에는 변화가 없었으나, 60분간 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때에는 억제되었다. 이와 같은 결과로 사구체여과율이나 신혈류량의 감소가 나타나기 이전에 신세뇨관의 기능장애가 나타나고 있음을 알 수 있었다.

2. 아미노산의 배설은 30분 허혈시킨 후 혈류를 재유통시켰을 때 현저히 증가하였고, 60분간 허혈 후 혈류를 재유통시켰을 때에는 더욱 증가하였다. 이와 같은 결과로 신세뇨관에서 아미노산의 재흡수가 심하게 장애받고 있음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

- Levinsky NG, Alexander EA. Acute renal failure. In: Brenner BM and Rector FC(ed): *The kidney*. Philadelphia: Saunders, 1976; 806-856.
- Stein HJ, Lifshitz MD, Barnes LD. Current concepts on the pathophysiology of acute renal failure. *Am J Physiol* 1978; 243: F172-F181.
- Myers BD, Miller DC, Mehigan JT, et al. Nature of the renal injury following total renal ischemia in man. *J Clin Invest* 1984; 73: 329-341.
- Herminghuysen D, Welbourne CJ, Welbourne TC. Renal sodium reabsorption, oxygen con-

- sumption and $\text{r}\text{-glutamyltransferase}$ excretion in the postischemic rat kidney. *Am J Physiol* 1985; 248: F804-F809.
5. Johnston PA, Rennke H, Levinsky NG. Recovery of proximal tubular function from ischemic injury. *Am J Physiol* 1984; 246: F159-F166.
 6. Paddock JK, Lada W, Lowenstein LM. Regeneration of the brush border after renal ischemia in rats. *Am J Physiol* 1981; 241: F28-F33.
 7. Vekatachalam MA, Bernard DB, Konohoe JE, et al. Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: difference among the S1, S2 and S3 segment. *Kid Int* 1978; 14: 31-49.
 8. Hopfer U, Nelson K, Perrotto J, et al. Glucose transport in isolated brush border membranes from rat small intestine. *J Biol Chem* 1973; 248: 25-32.
 9. Bird JE, Mihoan K, Wilson CB, et al. Ischemic acute renal failure and antioxidant therapy in the rat. The relation between glomerular and tubular dysfunction. *J Clin Invest* 1988; 81: 1630-1638.
 10. Friedman SM, Johnson RL, Friedman CL, et al. The pattern of recovery of renal function following renal artery occlusion in the dog. *Circ Rec* 1954; 2: 231-235.
 11. Karlberg L, Norlen BJ, Kallskog O, et al. Impaired medullary circulation in postischemic acute renal failure. *Act Physiol Scand* 1983; 118: 11-17.
 12. Joo WS, Nam YJ, Jung NG, et al. Effect of renal cortical slices. *Kor J Physiol* 1991; 25(2): 171-177.
 13. Spiegel DM, Wilson PD, Molitoris BA. Epithelial polarity following ischemia: a requirement for normal cell function. *Am J Physiol* 1989; 256: F403-F436.
 14. Smith HW, Finkelstein N, Aliminosa L, et al. The renal clearance of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J Clin Invest* 1945; 24: 388-404.
 15. Seguro AC, Shimizu MHM, Monteiro TL, et al. Effect of potassium depletion on ischemic renal failure. *Nephron* 1989; 51: 350-354.
 16. Hellberg ROA, Kallskog O, Wolgast M. Nephron function in the early phase of ischemic renal failure. Significance of erythrocyte trapping. *Kid Int* 1990; 38: 432-439.
 17. Halasz NA, Elsmere R, Garvie RS, et al. Renal recovery from ischemia: a comparative study of harbor seal and dog kidneys. *Am J Physiol* 1974; 227: 1331-1335.
 18. Lieberthal W, Scheridan, Valeri CR. Protective effect of atrial natriuretic factor and mannitol following renal ischemia. *Am J Physiol* 1990; 258: F1266-1272.
 19. Kim YK, Jung JS, Lee SH. Dicarboxylate transport in renal basolateral and brush-border membrane vesicles. *Can J Physiol Pharmacol* 1992; 70(1): 106-112.