

Nitric Oxide의 합성 억제제인 N^G-Nitro-L-Arginine의 항이뇨작용 기전에 관한 연구

고석태* · 유강준

조선대학교 약학대학 약물학교실

Studies on Mechanism of Antidiuretic Action of N^G-Nitro-L-Arginine, Nitric Oxide Synthase Inhibitor, in Dog

Suk-Tai KO* and Kang-Jun YU

Dept. of Pharmacology, College of Pharmacy, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

(Received June 12, 1998; accepted August 20, 1998)

Abstract – This studies were performed for investigation of mechanism on central antidiuretic action of L^G-Nitro-L-arginine (L-NOARG), nitric oxide synthase inhibitor, in dog. Antidiuretic action of L-NOARG infused into the carotid artery was not affected by renal denervation but inhibited by pretreatment with arginine, NO precursor. Furthermore, L-NOARG inhibited the diuretic action of dopamine induced by hemodynamic development. Above results suggest that antidiuretic actions of L-NOARG mediated by endogenous substances not associated with renal nerve. Therefore, it is demonstrated that those endogenous substances might be associated with NO which mediate the diuretic action of dopamine.

Keywords □ N^G-nitro-L-arginine, antidiuretic action, denervation, arginine, dopamine, dog

Endothelium-derived relaxing factor(EDRF)는 혈관 내피 세포에 존재하는 물질로써 평활근을 이완시켜 혈압조절에 관여한다는 것이 알려져 있으며, 이 EDRF의 화학적 특성을 연구한 결과 EDRF는 nitric oxide(NO)와 일치함이 밝혀졌다(Moncada 등, 1988; Furchgott와 Vanhoutte, 1989; Ignarro, 1990; Furchgott, 1984; Palmer 등, 1987). NO는 L-arginine을 기질로 하여 guanidino group에 포함되어 있는 질소 원자로부터 합성되어 nitric oxide와 citrulline이 발생하는 것으로 보고 되었다(Marletta, 1989). NO는 혈소판 응집 억제작용(Radomski 등, 1987; Radomski 등, 1987)과 더불어 적출 혈관에서 혈관 이완 작용(Furchgott와 Zawadzki, 1980; Furchgott, 1983; Luscher 등, 1988)을 나타내며 심장 혈관 조절의 호르몬 계에도 관여한다. 한편 L-arginine의 guanidino group에 있는 질소원자의 위치에 methyl기, amino기, 혹은 nitro기가 부착된 기질 유사체는 NO의 합성에 경쟁적 억제제로 작용 한다는 것이 알려져 있으며(Palmer 등, 1988), 이 가운데 가장 흔히 사용되는 것은 N^G-monomethyl-L-arginine(L-NMMA)과 N^G-nitro-L-arginine(L-

NOARG)이다(Moore 등, 1989). 이중 L-NOARG는 본인 등이 개의 정맥내 투여시 항이뇨작용이 나타났을 뿐 아니라 한쪽 신동맥내 투여시 양쪽 신장에 다 같이 항이뇨작용이 나타났다. 또한 경동맥내 투여시는 정맥내 투여시 신장작용에 전혀 영향을 미치지 않은 적은 양에서 정맥내 투여시와 같은 양상을 나타내므로써 L-NOARG는 중추를 통한 항이뇨작용을 나타내는 것으로 결론하였다(未發表). 따라서 이 L-NOARG의 중추적 항이뇨작용 기전을 검토하기 위하여 실험동물로 개를 이용하여 본 실험을 시행하였다.

실험방법

재료

사용약물은 N^G-nitro-L-arginine(RBI, USA), L-arginine Hcl(Sigma, USA), dopamine Hcl(Sigma, USA), creatinine anhydrous(Sigma, USA), p-aminohippuric acid(Sigma, USA), pentobarbital sodium(Entobar[®] 한림제약) 등이며 pentobarbital sodium은 Entobar 주사제를 그대로 사용하였으며 기타 약물은 0.9% 식염수에 용해시켜 사용하였으나 N^G-nitro-L-arginine은 필요에 따라 0.1N Hcl을 몇 방울 떨

* To whom correspondence should be addressed.

어 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), physiography (Grass Co., USA), 원심분리기(Kukusan Ensinki Co., Japan) 등이며 실험동물은 체중 8~15 kg의 개를 암수 구별 없이 사용하였다.

방법

실험동물은 실험 전 24시간 이상 단식 시켰으나 물은 자유로이 취하도록 하였다. 마취는 pentobarbital sodium을 35.0 mg/kg, i.v.로 투여하고 필요에 따라 실험 중 추가 투여하였다. 마취된 개는 동물 고정대에 背位로 고정하고 호흡을 용이하게 하기 위하여 기도내에 endotracheal tube를 삽입 고정하였다. 생리식염수의 주입은 상지 정맥내에 peristaltic pump를 이용하여 10.0 ml/min의 속도로 주입하였고 정맥내 약물을 주입하는 경우는 주입액을 주입하는 상지의 다른 쪽 상지의 정맥내에 infusion pump를 이용하였다. 집뇨는 고정된 개를 정중절개로 개복한 다음 방광을 노출시켜 양측 수뇨관에 수뇨관의 크고 작음에 따라 needle gauge로 18~22 중 적당한 크기의 polyethylene관(PE관)을 삽입

고정하여 10분 간격으로 시행하였다. 경동맥내에 약물을 투여하는 경우는 경부를 절개하여 경동맥을 노출시킨 후 낚시모양으로 구부린 23 gauge 주사침을 PE관으로 infusion pump와 연결한 다음, 경동맥내에 천자하여 12 ml/hr의 속도로 생리식염수를 계속 주입하여 주사침이 막히지 않도록 하였다가 약액과 교환하여 주입하거나 주사기를 이용하여 bolus로 주사하였다. 한쪽 신장의 신경 제거는 Elsa 등의 방법(Elsa 등, 1975)에 따라 좌측 신동맥을 노출시킨 후 신장 pedicle 주위의 조직을 분리한 다음 육안으로 볼 수 있는 모든 신경을 절단하고 얇은 막(aventitia)을 완전히 벗긴 후 무수 알콜로 만든 10% alcoholic phenol 용액을 흠뻑 적신 탈지면으로 신동맥의 주위를 약 20분 동안 피복하여 신장 신경의 기능을 제거하였다. 10% alcoholic phenol 용액으로 피복이 끝난 후에는 0.9% 생리 식염액으로 여러 번 세척하였다. Clearance는 clearance 물질(Creatinine, PAH)을 일정한 혈중 농도에 일시에 도달하도록 초회량(Creatinine 50.0 mg/kg, PAH 6.0 mg/kg)을 투여한 후 곧이어 뇨중에 배설되는 양만큼 주입액에 첨가하여 계속 주입하였으며 때 clearance 중간에 대퇴 동맥에 heparine-생리 식염액(400 IU/ml)으로 채워서 삽입 고정하여 둔 PE관을 통해 채혈하여 곧

Table I. Effect of renal denervation on antidiuretic action of N^G-nitro-L- arginine (10.0 μg/kg/min) infused into the carotid artery in dog

Parameter	Time	Control	0~10	10~20	20~30(min)
Vol (ml/min)	L	1.74±0.05	1.53±0.09	1.47±0.12*	1.40±0.13*
	R	1.90±0.08	1.52±0.14	1.43±0.13*	1.43±0.15*
GFR (ml/min)	L	27.5±0.40	25.9±0.74	28.2±0.40	24.7±0.38
	R	26.2±0.32	25.1±0.36	27.6±0.17	24.8±0.52
RPF (ml/min)	L	69.4±3.01	62.1±4.60*	63.6±4.58*	59.2±4.98*
	R	68.0±2.61	58.2±4.09*	58.7±3.66*	58.7±4.29*
Cosm (ml/min)	L	1.83±0.01	1.74±0.02	1.61±0.03	1.47±0.03
	R	1.80±0.03	1.71±0.04	1.62±0.06	1.54±0.08
C _{H₂O} (ml/min)	L	-0.29±0.05	-0.24±0.09	-0.15±0.09	-0.08±0.09
	R	-0.31±0.06	-0.20±0.10	-0.19±0.09	-0.17±0.07
E _{Na} (μEq/min)	L	144.5±1.39	130.8±3.26	128.4±5.84*	118.9±6.73*
	R	145.6±3.75	135.3±7.35	129.6±7.96*	120.0±9.45*
R _{Na} (%)	L	96.7±0.05	96.6±0.07	97.0±0.10	96.8±0.14
	R	96.5±0.08	96.4±0.15	96.9±0.19	96.7±0.19
E _K (μEq/min)	L	24.0±0.93	25.1±1.49	25.9±1.66	26.3±1.95
	R	22.8±0.87	23.7±1.47	25.0±1.58	25.8±1.90
R _K (%)	L	82.6±0.60	80.8±0.83	81.9±0.94	79.1±1.33
	R	82.6±0.61	81.3±0.94	81.8±1.19	79.6±1.23
K ⁺ /Na ⁺ (%)	L	17.6±0.52	18.9±0.71	19.8±0.45*	21.6±0.69*
	R	16.7±0.28	17.5±0.48	19.4±0.66*	20.8±1.06*

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

원칙한 다음 혈장을 분리하여 냉장고에 보관하였다가 뇨와 함께 분석에 사용하였다.

Clearance 물질인 creatinine은 Phillips의 방법(Phillips, 1944), PAH는 Smith 등의 방법(Smith 등, 1945)에 의하여 측정하였으며 Na⁺과 K⁺는 flame photometer로, osmolarity는 osmometer로 측정하였다. 통계적 유의성의 검토는 대조치로부터의 변동을 Student's paired *t*-test(Snedecor와 Cochran, 1980)로 하였다.

실험결과

경동맥내 투여한 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)의 항이뇨 작용에 대한 신장신경 제거의 영향

L-NOARG의 항이뇨 작용은 중추를 통한 간접 작용인 것으로 알려져 있다. 이 중추적 항이뇨 작용이 신경을 통한 것인지 또는 내인성 물질을 통한 것인지를 검토하기 위하여 한쪽 신장 동맥의 신경을 제거한 후 L-NOARG을 경동맥내 투여하여 나타나는 신장 기능의 변화를 신경을 제거하지 않은 정상 신장의 기능 변화와 비교 검토하였다.

Table I은 신장 신경 제거후 L-NOARG 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 을 경동맥내 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. Table I에서 나타난 바와 같이 양쪽 신장에서 다같이 뇨량의 감소 현상과 신혈류량(RPF)과 Na⁺배설량(E_{Na})의 감소 현

상을 관찰할 수 있었다. 뇨량은 양쪽 신장에서 다같이 신장 신경 제거의 영향을 받지 않고 L-NOARG 투여 후 두번째기(10~20 min)부터 유의적인 감소 현상이 나타났다. 이때 나타나는 신장 기능의 변화에서는 신경제거 신장과 정상 신장의 기능 변화가 동일한 양상으로 변화 하는 것을 발견할 수 있었다.

Table II는 한쪽 신장 신경을 제거한 후 L-NOARG을 증량하여 30.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 으로 경동맥내에 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. 양쪽 신장에서 다같이 뇨량의 감소를 비롯한 전체적인 신장 기능의 변화가 L-NOARG 10.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 투여시와 유사하게 나타났다. 다만 그 변화율이 심화 되었다. 결과적으로 L-NOARG의 중추적 항이뇨 작용은 신장 신경과는 무관하며 내인성 물질에 의한다는 것을 의미한다.

경동맥내에 투여한 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)의 항이뇨 작용에 대한 arginine의 영향

L-NOARG은 arginine을 전구체로 하는 NO의 생성을 억제하는 약물이다. 따라서 L-NOARG의 항이뇨 작용이 arginine과 어떤 관련이 있는가를 검토 하고저 arginine을 정맥내에 투여하여 전처리 한 다음 L-NOARG을 경동맥내에 투여했을 때 나타나는 신장 기능의 변화를 관찰하였다.

Table III은 L-NOARG의 항이뇨작용에 대한 arginine의 영향에 검토에 앞서 arginine 자체의 신장에 대한 영향을 검

Table II. Effect of renal denervation on antidiuretic action of N^G-nitro-L-arginine (30.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$) infused into the carotid artery in dog

Parameter	Time	Control	0~10	10~20	20~30	30~40 (min)
Vol (ml/min)	L	1.74±0.05	1.37±0.14*	1.27±0.11*	1.27±0.12*	1.20±0.12*
	R	1.69±0.08	1.38±0.13*	1.30±0.13*	1.32±0.12*	1.30±0.15*
GFR(ml/min)	L	27.5±0.40	24.9±0.45	24.7±0.45	25.8±0.44	20.8±1.49
	R	26.2±0.32	24.9±0.24	23.8±0.35	23.8±0.37	22.3±0.59*
RPF (ml/min)	L	69.7±3.01	56.0±4.11*	51.7±3.23*	53.1±3.14*	42.1±2.22*
	R	68.0±2.61	54.7±3.23*	49.3±2.45*	43.9±2.14*	42.0±2.68*
Cosm (ml/min)	L	1.83±0.01	1.51±0.05	1.39±0.05	1.29±0.05*	1.21±0.05*
	R	1.80±0.03	1.51±0.06	1.42±0.07	1.31±0.09*	1.27±0.09*
C _{H₂O} (ml/min)	L	-0.29±0.05	-0.15±0.07	-0.13±0.06	-0.03±0.07	-0.13±0.07
	R	-0.31±0.06	-0.13±0.07	-0.12±0.07	-0.01±0.07	-0.03±0.08
E _{Na} ($\mu\text{Eq}/\text{min}$)	L	144.5±1.39	114.0±5.89*	105.3±5.70*	105.5±7.01*	98.2±6.84*
	R	145.6±3.75	120.4±8.59*	110.2±7.72*	107.7±10.26*	101.9±9.67*
R _{Na} (%)	L	96.7±0.05	97.0±0.14	97.2±0.15	97.2±0.20	96.4±0.47
	R	96.5±0.08	96.7±0.26	96.9±0.24	96.9±0.30	96.9±0.33
E _K ($\mu\text{Eq}/\text{min}$)	L	24.0±0.93	26.7±2.00	25.0±1.87	25.9±2.10	26.2±2.53
	R	22.8±0.87	25.9±2.18	23.8±1.88	26.7±2.49	23.5±2.28
R _K (%)	L	82.6±0.60	78.9±1.01	80.0±1.32	80.0±1.46	72.3±2.96
	R	82.6±0.61	79.2±1.67	80.1±1.40	77.7±2.04	79.2±1.74
K ⁺ /Na ⁺ (%)	L	17.6±0.52	22.8±0.79*	23.2±0.79*	24.3±0.92*	26.0±1.07*
	R	16.7±0.28	20.9±1.19*	21.7±1.22*	24.9±0.92*	23.9±1.30*

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

Table III. Effect of arginine (3.0 mg/kg/min) infused into vein on renal function in dog

Parameter \ Time	Control	0~10	10~20	20~30	30~40 (min)
Vol (ml/min)	2.63±0.14	3.03±0.16*	3.34±0.04*	3.43±0.30*	3.40±0.29*
GFR (ml/min)	50.1±3.01	50.9±3.11	51.6±3.10	50.4±4.45	50.5±4.00
RPF (ml/min)	114.5±9.69	122.4±5.45*	125.4±6.58*	127.2±7.45*	126.0±7.33*
Cosm (ml/min)	3.65±0.23	4.08±0.33*	4.49±0.43*	4.98±0.44*	4.85±0.42*
C _{H₂O} (ml/min)	-1.03±0.08	-1.05±0.12	-1.15±0.11	-1.55±0.13*	-1.45±0.14*
E _{Na} (μEq/min)	266.5±26.60	302.2±30.4*	331.1±23.6*	360.5±22.3*	360.0±21.3*
R _{Na} (%)	96.4±0.31	96.0±0.50*	95.8±0.54*	94.3±1.38*	94.5±1.20*
E _K (μEq/min)	46.5±6.56	48.0±5.41	49.5±6.98	55.2±5.33*	55.8±5.08*
R _K (%)	82.8±1.29	81.2±1.73	81.2±2.00	73.5±6.38*	74.0±5.40*
K ⁺ /Na ⁺ (%)	16.7±1.38	16.7±1.97	15.8±1.90	16.5±1.86	16.0±1.45

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

Table IV. Effect of arginine (3.0 mg/kg/min) infused into vein on antidiuretic action of N^G-nitro-L-arginine (60.0 μg/kg/min) infused into the carotid artery in dog

Parameter \ Time	Control	0~10	10~20	20~30	30~40 (min)
Vol (ml/min)	3.91±0.15	4.28±0.06	4.05±0.02	4.05±0.07	4.03±0.01
GFR (ml/min)	58.1±2.37	47.5±4.12	56.7±0.87	57.7±1.59	53.9±1.45
RPF (ml/min)	137.8±1.79	139.4±1.57	135.6±2.48	132.8±0.89	128.2±0.16
Cosm (ml/min)	5.64±0.24	5.60±0.13	5.57±0.31	5.27±0.18	5.16±0.21
C _{H₂O} (ml/min)	-1.62±0.15	-1.37±0.18	-1.52±0.34	-1.22±0.25	-1.12±0.21
E _{Na} (μEq/min)	450.6±23.29	471.4±10.1	438.6±13.0	433.4±10.1	436.5±16.5
R _{Na} (%)	95.5±0.58	93.0±0.60	94.9±0.07	95.0±0.25	94.0±0.04
E _K (μEq/min)	67.8±1.64	75.1±1.45	73.1±0.04	66.6±2.53	79.1±1.86
R _K (%)	78.2±1.25	66.1±4.27	74.2±0.38	76.7±1.52	70.5±1.50
K ⁺ /Na ⁺ (%)	15.9±0.89	15.9±0.60	16.8±0.47	15.3±0.22	18.3±1.12

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

토하기 위하여 arginine을 3.0 mg/kg/min으로 정맥내 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. Table III에 나타난 것처럼 노량을 비롯하여 신혈류량(RPF), 삼투질 제

거울(C_{osm}), Na⁺ 배설량(E_{Na})과 K⁺ 배설량(E_K)이 증가하였으며 자유수 제거율(C_{H₂O}) 및 Na⁺과 K⁺의 재흡수율(R_{Na}, R_K)이 감소하였다. 이러한 반응은 세번째기(20~30 min)까지 계

Table V. Effect of N^G-nitro-L-arginine (200.0 μg/kg/min) infused into vein on renal function of dopamine (6.0 μg/kg/min) infused into vein in dog

Parameter \ Time	Control	0~10	10~20	20~30	30~40 (min)
Vol (ml/min)	3.49±0.38	3.84±0.83	3.80±0.85	3.73±0.90	3.63±0.90
GFR (ml/min)	48.7±2.78	46.6±1.39	47.3±2.61	40.1±5.86	49.1±1.19
RPF (ml/min)	98.2±2.93	98.5±1.32	103.1±4.11	99.9±6.68	98.2±5.45
Cosm (ml/min)	3.57±0.16	3.31±0.59	3.29±0.62	3.31±0.41	3.21±0.69
C _{H₂O} (ml/min)	-0.07±0.16	0.52±0.26	0.51±0.27	0.42±0.19	0.42±0.22
E _{Na} (μEq/min)	303.5±13.88	274.6±48.3	219.5±56.0	295.5±64.6	268.7±60.7
R _{Na} (%)	96.2±0.24	96.1±0.75	95.6±0.77	96.0±0.81	96.4±0.74
E _K (μEq/min)	31.7±1.18	32.2±4.83	36.7±5.08	36.8±6.17	35.0±5.32
R _K (%)	86.8±0.85	86.2±2.08	86.1±1.29	84.7±2.18	85.9±1.87
K ⁺ /Na ⁺ (%)	10.5±0.27	12.1±0.54	11.6±1.18	13.8±1.41	14.5±1.34

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

속적으로 증가하였으나 네번째기(30~40 min)부터는 그 이상 증가 하지 않고 세번째기(20~30 min)의 증가 상태가 연속되었음을 확인하였다.

Table IV는 arginine을 정맥내로 투여하여 전처리한 후 arginine의 신장 작용이 일정하게 나타나고 있는 상태에서 L-NOARG을 경동맥내 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. Table IV에 나타난 바와 같이 L-NOARG 60.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 의 경동맥 투여에 의하여 노량을 비롯한 전체적인 신장 기능이 별다른 영향을 나타내지 않았다. 노량의 경우, 대조치 $3.91 \pm 0.15 \text{ ml}/\text{min}$ 에 비하여 4.28 ± 0.06 , 4.05 ± 0.02 , 4.05 ± 0.07 및 $4.03 \pm 0.01 \text{ ml}/\text{min}$ 으로 통계적인 유의성은 없으나 오히려 증가하는 양상을 나타내었고 신혈류량(RPF)은 네번째기(30~40 min)에서 약간 감소 하는 듯 하였으나 유의적인 것은 아니었고 다른 신장 기능들은 별다른 변화가 없음을 확인할 수 있었다.

Dopamine의 이노작용에 대한 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)의 영향

Dopamine은 신혈류량의 증가에 의하여 이노작용을 나타낸다는 사실은 이미 보고된 바가 있다(McNay 등, 1965; Ko와 Kang, 1984). 이런 dopamine의 이노작용에 대하여 L-NOARG이 어떤 영향을 미치는가를 검토코자 하였다.

Table V는 L-NOARG을 200.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 으로 정맥내 투여하여 전처리 한 후 dopamine을 6.0 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 으로 투여한 실험 6례를 종합하여 통계 처리한 것이다. Table V에 나타난 것처럼 L-NOARG의 전처리에 의하여 dopamine의 신장 기능에 별다른 영향을 나타내지 않았다.

고 찰

Nitric oxide의 합성억제제인 N^G-nitro-L-arginine(L-NOARG)의 중추성 항이노작용 기전을 규명하기 위하여 본 실험이 수행되었다. 개의 경동맥내 투여한 L-NOARG의 항이노작용은 신장 신경 제거에 의하여 영향을 받지 않았으나 nitric oxide의 전구체인 L-arginine의 전처리에 의하여서는 억제되었다. 나아가 정맥내에 투여한 L-NOARG은 혈류역학적 개선으로 이노작용을 나타내는 dopamine(McNay 등, 1965; Yeh 등, 1969; Ko와 Kang, 1984)의 신장작용을 차단하였다. 이상의 결과로 보아 L-NOARG 중추적 항이노작용은 신장 신경과 무관한 내인성 물질에 의하며 이 내인성 물질은 dopamine의 이노작용을 매개하는 NO와 관련이 있는 것으로 사료된다. 중추적 작용은 내인성 물질에 의하는 경우와 신경을 통하는 경우를 고려할 수 있는데 본 실험에서 내인성 물질에 의하는 것이라고 보는 이유는 L-NOARG의 경동맥내 투여시 나타나는 항이노작용이 신장 신경 제거에 의하여 전혀 영향을 받지 않았기 때문이다(Table I, II). 만약 이 항이노작용이 신장 신경이 매개하는 경우라면 신장

신경을 제거한 실험 신장에서는 그 항이노작용이 나타나지 않을 것이다. 그러나 본 실험에서는 정상 신장(intervated kidney)과 똑같은 비율로 항이노작용이 나타났다. 나아가 이 내인성 물질이 NO와 관련이 있다고 사료 되는 것은 NO의 합성 전구체인 L-arginine의 전처리에 의하여 경동맥에 투여한 L-NOARG의 항이노작용이 나타나지 않았기 때문이다. 다시 설명하면, L-NOARG이 신장내의 직접 작용에 의하여 신장 혈관 세포 내에서의 합성 억제에 의해 신장 동맥의 tone을 증가시켜 RPF를 감소시키고 이에 따라 항이노작용이 나타나는 것이 아니고 L-NOARG이 중추에서 신장 혈관내의 세포에서 NO의 합성을 억제하는 어떤 물질을 유리할 가능성이 있다는 것이다. 만약 L-NOARG이 신동맥내 세포에서 NO의 합성 억제에 의하는 것이라면 한쪽 신장 동맥내에 주입한 실험에서 실험 신장에서만 항이노작용을 나타냈어야 할 것이기 때문이다. 그 내인성 물질이 어떤 것인가에 대하여서는 본 실험만으로는 정확히 파악할 수 없다. NO가 평활근 세포의 효소를 자극하면 세포질내의 cGMP를 높이고 이 cGMP가 평활근 이완 효과를 나타낸다(Kowaluk와 Fung, 1990; Ignarro, 1989). NO는 혈관 반응을 조절할 수 있는데 실제로 endothelium의 존재는 norepinephrine이나 serotonin에 의한 수축 반응을 억제하고 이러한 억제 작용은 N^G-monomethyl-L-arginine(L-NMMA)과 같은 NO합성 억제제에 의해 거의 차단된다. 또한 NO는 적출 혈관에서 혈관 이완 작용과 더불어 혈소판 응집 억제 작용을 나타낸다(Romero 등, 1992). 개의 적출 혈관을 acetylcholine(ACh) (Vidal 등, 1988)으로 자극 했을 때 배양된 돼지의 내피세포에서 bradykinin(Boulanger 등, 1988)에 의해 유리되는 NO는 신장 절편에서 renin의 유리를 감소시킨다. 대부분의 혈관 이완제는 나트륨 이노(Romero 등, 1987)를 수반한 신장 혈관 확대를 일으키므로 신장에 대한 NO의 역할을 규명하기 위한 연구는 NO가 신장 혈류 역학적 변화를 일으키는가 또는 나트륨 이노작용이 있는가의 검토와 함께 NO 합성 억제제의 주입으로 이러한 작용이 차단되는가에 대한 연구로부터 시작되었다. Nonsteroidal antiinflammatory drug인 meclufenamate로 전처리한 개에서 bradykinin을 신장 동맥내에 주입하면 GFR의 변화없이 RPF, Vol, E_K, E_{Na}의 증가가 나타나는데(Lahera 등, 1991) bradykinin의 주입을 중지하면 이러한 지표들이 곧 대조치로 회복된다. 또한 NO의 합성억제제인 L-NMMA를 신장 동맥내에 주입한 상태에서 bradykinin을 투여하면 bradykinin의 신장의 혈류역학적 변화 또는 나트륨 배설 효과가 나타나지 않지만 L-arginine의 투여에 의해서 bradykinin의 효과는 다시 회복된다. 이러한 결과는 NO가 bradykinin에 의한 혈류 반응과 나트륨 배설 반응에 매개체임을 나타낸다(Romero 등, 1992; Lahera 등, 1991). L-NMMA는 혈관 내피세포, 대식세포, 뇌세포 등을 포함한 여러 조직에서 NO

와 유사한 물질의 생성을 억제하는 것으로 알려져 왔다 (Monacada 등, 1989). L-NOARG의 약물학적인 특성은 L-NMMA와 매우 유사하며 NO합성 억제제로서 L-NOARG은 L-NMMA보다 강력하기 때문에 이 분야의 연구에 더욱 많이 쓰여지고 있다(Moore 등, 1989; Ishii 등, 1990). L-NOARG과 작용이 유사한 L-NMMA의 단독 투여는 신혈관 저항을 증가시키고 노중 cGMP와 신혈류를 감소시킬 뿐 아니라 ACh에 의해 일어나는 신혈류나 뇨량 증가 효과는 차단하지만 나트륨 배설에는 영향을 미치지 않는다(Romero 등, 1992). 혈류역학적 개선에 의하여 나타나는 dopamine의 이뇨작용이 NO와 관련이 있는 것으로 사료되는 것은 NO의 합성 억제제인 L-NOARG의 전처치에 의하여 dopamine의 작용이 완전히 봉쇄되었기 때문이다(Table V). 이 결과는 bradykinin의 신장 혈류역학적 개선에 의한 이뇨작용이 NO의 합성 억제제에 의하여 차단되므로(Romero 등, 1992) 써 NO와 관련이 있는 것으로 결론하는 것과 유사한 결과라고 생각한다. 또한 L-NOARG의 항이뇨작용이 NO의 합성억제에 기인되는 것으로 고려되는 이유는 경동맥에 투여하였을 때 가장 뚜렷하게 나타나는 L-NOARG의 항이뇨작용이 NO의 전구체인 L-arginine에 의하여 억제되었기 때문이다(Table IV). 본 실험에서 NO의 전구체인 L-arginine에 의하여 GFR의 변화 없이 RPF의 증가와 R_{Na} 의 감소를 동반한 E_{Na} 의 증가에 의하는 이뇨작용을 나타내었다(Table III). 이런 현상은 NO에 의하여 나타나는 이뇨작용양상과 일치함을 발견하였다. 결과적으로 L-arginine이 체내에서 NO로 변화한 후 신장작용을 나타내는 것으로 생각되었다. 이런 작용은 NO와 관련되는 ACh의 이뇨작용이 L-NMMA에 의하여 RPF와 뇨량의 증가는 차단되지만 E_{Na} 의 증가엔 영향을 미치지 못하는 것은 ACh이 NO에 의한 신장혈관 확장 작용외에 신 세뇨관 작용이 있을 가능성을 생각할 수 있는가하면 한편으로는 L-NMMA가 NO의 신장혈관 작용은 차단하지만 신세뇨관 작용은 차단하지 못할 가능성도 있다고 고려되었다(Romero 등, 1992). 이런 L-NOARG의 작용들이 L-arginine에 의하여 차단(Table IV)되었다는 실험 결과로 보아 L-NOARG의 신장작용은 NO의 합성억제와 관련되는 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 1997년도 한국학술진흥재단의 연구비 지원에 의하여 일부 충당되었으며 이에 감사한다.

참고문헌

Boulanger, C., Vidal-Ragout, M., Fiksen-Olsen, M., Romero, J. C. and Vanhoutte, P. M. (1988). Cultured endothelial cells release a non prostanoid inhibitor of renin release.

- Clin. Res.* **36**, 539A.
- Elsa, B. R., Romulo, E. C., Enrique, P. M., Robert, A. M. and Carl, W. G. (1975). Effects of acute unilateral renal denervation in the rat. *J. Clin. Invest.* **56**, 208-212.
- Furchgott, R. F. (1984). The role of endothelium in the responses of vascular smooth muscle to drugs. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **24**, 175-197.
- Furchgott, R. F. (1983). Role of the endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ. Res.* **53**, 557-573.
- Furchgott, R. F. and Vanhoutte, P. M. (1989). Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEBJ.* **3**, 2007-2018.
- Furchgott, R. F. and Zawadzki, J. V. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature(Lond).* **288**, 373-376.
- Ignarro, L. J. (1989). Endothelium-derived nitric oxide: Pharmacology and relationship to the action of organic nitric esters. *Pharmacol. Res.* **6**, 651-659.
- Ignarro, L. J. (1990). Biosynthesis and metabolism of endothelium-derived nitric oxide. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **30**, 535-560.
- Ishii, K., Chang, B., Kerwin, J. F. Jr., Huang, I. J. and Marad, F. (1990). N^G -nitro-L-arginine: a potent inhibitor of Endothelium-derived relaxing factor formation. *Eur. J. pharmacol.* **176**, 219-223.
- Ko, S. T. and Kang, H. Y. (1984). Influence of dopamine on intrarenal blood flow in dog. *Yakhak Hoeji.* **28**, 149-160.
- Kowaluk, E. A. and Fung, H. L. (1990). Spontaneous liberation of nitric oxide cannot account for in vitro vascular relaxation by S-nitrosothiols. *J. pharmacol Expt. Thera.* **255**, 1256-1264.
- Lahera, V., Salom, M. G., Fiksen-Olsen, M. J. and Romero, J. C. (1991). Mediatory role of endothelium-derived nitric oxide in renal vasodilatory and excretory effects of bradykinin. *Am. J. Hypertens.* **4**, 260-262.
- Luscher, T. F., Diederich, D., Siebenmann, R., Lehmann, K., Stulz, P., Von Segesser, L., Yang, Z., Turina, M., Gradel, E., Weber, E. and Buhler, F. R. (1988). Difference between endothelium-dependent relaxations in arterial and in venous coronary bypass grafts. *N. Engl. J. Med.* **319**, 462-467.
- Marletta, M. A. (1989). Nitric Oxide. Biosynthesis and biological significance. *Trens. Biochem. Sci.* **14**, 488-492.
- McNay, J. L., Mc Donald, R. H., Jr. and Goldberg, L. I. (1965). Direct renal vasodilation produced by dopamine in the dog. *Circ. Res.* **16**, 510-518.
- Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A. (1988). The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension.* **12**, 365-372.
- Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A. (1989). Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem. Pharmacol.* **38**, 1709-1715.
- Moore, P. K., AL-Swayeh, O. A., Chong, N. W. S., Evans, R. A., Mirzazadeh, S. and Gibson, A. (1989). L- N^G -nitro arginine (NOARG) inhibits endothelium dependent vasodilation in the rabbit aorta and perfused rat mesentery. *Br. J. Pharmacol.* **98**, 905-910.

- Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. and Moncada, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. **327**, 524-526.
- Palmer, R. M. J., Rees, D. D., Ashton, D. S. and Moncada, S. (1988). L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **153**, 1251-1256.
- Phillips, R. A. (1944). *Quantitative Clinical Chemistry*. Vol. 2. *Methods*. edited by J. P. Peters and D. D. Van Slyke, Williams & Wilkins.
- Radomski, M. W., Palmer, R. M. J. and Moncada, S. (1987). The anti-aggregating properties of vascular endothelium: Interaction between prostacyclin and nitric oxide. *Br. J. Pharmacol.* **92**, 639-646.
- Radomski, M. W., Palmer, R. M. J. and Moncada, S. (1987). Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*. **2**, 1057-1068.
- Romero, J. C., Lahera, V., Salom, M. G. and Binondi, M. L. (1992). Role of the endothelium-dependent relaxing factor nitric oxide on renal function. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2**, 1371-1387.
- Romero, J. C., Raij, L., Granger, J. P., Ruilope, L. M. and Rodicio, J. C. (1987). Multiple effects of calcium entry blockers on renal function in hypertension. *Hypertension*. **10**, 140-151.
- Smith, H. W., Finkelstein, N., Aliminosa, L., Crawford, B. and Graber, B. (1945). The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J. Clin. Invest.* **21**, 388-404.
- Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. (1980). *Statistical Methods*. 7th. ed. Iowa State Univ.
- Vidal, M. J., Romero, J. C. and Vanhoutte, P. M. (1988). Endothelium-derived relaxing factor inhibits renin release. *Eur. J. Pharmacol.* **149**, 401-402.
- Yeh, B. K., Mcnay, J. L. and Goldberg, L. I. (1969). Attenuation of dopamine renal and mesenteric vasodilation receptor. *J. Pharmacol, Exp. Ther.* **168**, 303-310.