

ATP 의존성 K⁺ Channel 차단작용이 있는 Glibenclamide가 개의 신장기능에 미치는 영향

고석태* · 임광남
조선대학교 약학대학 약물학교실

Effects of Glibenclamide, an ATP-dependent K⁺ Channel Blocker, on Renal Function in Dog

Suk Tai KO* and Kwang Nam YIM

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

(Received July 10, 1999; accepted August 24, 1999)

Abstract—Glibenclamide(GLY)(1.0 and 3.0 mg/kg), an ATP-dependent K⁺ channel blocker, when given into the vein in dogs, produced the diuretic action accompanied with the increase of osmolar clearance(C_{osm}), urinary excretion of Na⁺ and K⁺ (E_{Na} , E_K), and with the decrease in reabsorption rates for Na⁺ and K⁺ in renal tubules (R_{Na} , R_K), and then ratios of K⁺ against Na⁺ (K^+/Na^+) were decreased. GLY did not affect mean arterial pressure at any doses used. At a low dose(0.1 mg/kg), GLY injected into a renal artery brought about the diuretic action in both experimental and control kidney, however at a higher dose(0.3 mg/kg), GLY appeared significant diuretic action in the control kidney, but not in experimental kidney and the decrease of glomerular filtration rates(GFR), renal plasma flow(RPF), E_K , and the increase in E_{Na} . In the control kidney, these changes in renal function exhibited the same aspect as shown in intravenous experiments. In experiments given into carotid artery of GLY(0.5 and 1.5 mg/kg), changes in all renal function included the increase in urine volume were the same pattern as shown in intravenous experiments. The above results suggest that glibenclamide produces diuretic action through central function and the action site of the GLY in kidney is the renal distal tubules in dogs.

Keywords □ glibenclamide, diuretic action, dog

Glibenclamide(GLY)는 2-Chloro-N-[2-[4-[[[(cyclohexyl-amino)carbonyl]amino]-sulfonyl]phenyl]ethyl]-2-methoxybenzamide($C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$)의 구조(The Merk Index, 1989)를 가진 약물로서 ATP-dependent K⁺ channel 차단제로 알려져 있다(Clark 등, 1993; Zini 등, 1991; Quast와 Cook, 1989; Skilman과 Feldman, 1981). 또한 이 GLY는 sulfonylurea체로서 insulin 비의존성 당뇨병의 치료에 효과적인 약물로 사용되어 왔다(Skilman과 Feldman, 1981; Feldman, 1985). GLY는 ATP-sensitive $^{86}Rb^+$ 유출을 억제(Buckingham 등, 1989)하고 ATP-sensitive K⁺ channel (K_{ATP})를 통한 전류의 흐름과 여러 K⁺ channel 개방제의 작용을 상경적으로 차단한다(Zini 등, 1991; Quast와 Cook, 1989). Glibenclamide는 in vitro에서 K⁺ channel 개방제에 대해서 선택적인 길항제(Buckingham 등, 1989; Cavero와 Mestre, 1989)로 작용할 뿐 아니라 췌장(Sturgess 등,

*To whom correspondence should be addressed.

1988), 심장(Escande 등, 1989), 장관막(Standen 등, 1989)에서 K_{ATP} 의 개방을 억제한다고 알려져 있다. 나아가 sulfonylurea 수용체와의 친화성과 tolbutamide를 포함한 sulfonylurea류의 저혈당 작용간에는 아주 밀접한 관련성이 있는 것 같다(Schmid-Antomarchi 등, 1987; Boyd 등, 1991; Boyd 등, 1990). 이것은 바로 sulfonylurea 수용체가 통로 단백질(channel protein) 이거나 K_{ATP} 와 밀접한 관련성이 있는 다른 단백질이라는 것을 암시하는 것이다(Schmid-Antomarchi 등, 1987; Boyd 등, 1990; Sturgess 등, 1985). 최근에는 심근계 내에서 K⁺ channel의 역할이 심도 있게 연구되어졌고 성질이 다른 많은 K_{ATP} 이 포유 및 양서류 동물의 신장의 상피세포 내에서 확인되었다(Wang과 Geibisch, 1992). 특히 포유동물의 신장에서는 Na⁺ 재흡수율에 관여하는 Henle's loop의 상행각과 K⁺ 분비의 주된 부위인 피질 집합관 세포의 선단막에서 존재함이 알려져 있다(Clark 등, 1993). 또한 마취하지 않은 흰쥐에서 복강

에 주사한 GLY는 K_{ATP} 의 차단에 의하여 Na^+ 의 재흡수를 억제하며 그것 때문에 K^+ 의 재순환과 Henle's loop에서의 $Na^+-2Cl-K^+$ 의 동시 이동을 방해한다는 보고도 있다(Clark 등, 1993). GLY와 같은 K_{ATP} 차단제는 신장 상피세포에 있는 K^+ channel의 생리적인 역할을 규명하는데 아주 좋은 약리학적 도구이다. 따라서 본 실험은 glibenclamide의 개(dog) 신장기능에 대한 영향을 검토한바 없으므로 이를 확인하기 위하여 개를 실험 모델로 시행하였다.

실험방법

재료

사용약물은 glibenclamide(RBI, USA), creatinine anhydrous(Sigma, USA), P-aminohippuric acid(Sigma, USA), pentobarbital sodium(Entobar® 한림제약) 등이며 pentobarbital sodium은 주사제인 Entobar®을 그대로 사용하였고 glibenclamide는 Quast 등(Boyd 등, 1991)의 방법에 따라 1 N NaCl 0.6 ml, ethanol 1.0 ml, polyethyleneglycol 400 1.0 ml, H_2O 0.4 ml(total 3.0 ml)에 glibenclamide 30.0 mg을 실험직전에 용해시켜 사용하였다. 기타 약물은 0.9% saline에 용해시켜 사용하였다. 사용기기는 spectrophotometer(Shimadzu, Japan), flame photometer(Ciba-Corning, England), osmometer (Advanced Ins., USA), peristaltic pump(Tokyo Rikakikai, Japan), infusion pump(KD Scientific, USA), physiograph(Grass, USA), centrifuge(Vision Scientific, Korea), thermoregulating apparatus(Fine Science Tools, USA) 등이며 실험동물을 체중 10~13 kg의 잡견을 암수 구별없이 사용하였다.

방법

실험동물인 개는 실험 전날부터 단식 시켰으나 물은 자유로이 취하도록 하였다. 마취는 pentobarbital sodium을 35.0 mg/kg, i. v.로 투여하고 필요에 따라 실험중 추가 투여하였다. 마취된 개는 동물 고정대에 배위로 고정하고 호흡을 용이하게 하기 위하여 기도내에 endotracheal tube를 삽입 고정하였다. 주입액의 주입과 정맥내의 약물 투여는 상지 정맥내에 peristaltic pump를 이용하여 주입하고, 집뇨는 배위로 고정한 개를 정중절개로 개복한 다음 방광을 노출시켜 양측 수뇨관에 적당한 크기의 polyethylene관(PE관)을 삽입 고정하여 10분 간격으로 시행하였다. 한쪽 신동맥내의 약물 투여는 양측 수뇨관에 PE관을 삽입 고정하여 높을 때로 모으도록 한 다음 개를 측좌위로 재 고정하고 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 주사

하였다. 경동맥내에 약물을 투여하는 경우는 경부를 절개하여 경동맥을 노출 시킨 후 신동맥내 약물을 투여 했을때와 같은 방법으로 하되 infusion pump에 연결된 낚시 모양의 주사침을 경동맥내로 穿刺하여 시행하였다. 이때의 생리 식염액의 주입 속도는 12 ml/hr로 하였다. 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 침가하여 계속 주입하였으며 매 clearance 중간에 고동맥에 heparin-saline으로 채워서 삽입 고정하여 둔 PE관을 통해 채혈하여 곧 원침한 다음 혈장을 분리하여 냉장고에 보관하였다가 뇨와 함께 분석에 사용하였다. 혈압의 변동은 다른 쪽 고동맥에 pressure transducer를 연결하여 physiograph상에 기록하여 계측하였다. 체온을 일정하게 유지하기 위하여 thermoregulating apparatus를 이용하였다. Clearance 물질인 creatinine은 Phillips의 방법(Philips, 1944), PAH는 Smith 등의 방법(Smith 등, 1945)에 의하였으며 Na^+ 과 K^+ 는 flame photometer로, osmolarity는 osmometer로 측정 하였다. 통계적 유의성의 검토는 대조치로부터의 변동을 Student's paired t-test(Snedecor와 Cochran, 1980)로 하였다.

실험결과

정맥내 투여한 glibenclamide(GLY)의 신장작용

생리식염수를 일정량 주입하여 뇨량이 일정하게 되었을 때 10분 간격으로 두 번의 대조기를 거친 다음 정맥내에 GLY를 투여한 후 나타나는 신장기능의 변화를 대조기의 신장기능과 비교 관찰하였다. 이 실험에서 GLY에 의한 뇨량의 증가와 더불어 뇨중 Na^+ 과 K^+ 의 배설량이 증가하였다.

Table I은 GLY를 1.0 mg/kg, i. v.로 투여한 후 나타나는 신장기능의 변화를 관찰한 실험($n=8$)을 종합 통계 처리한 것이다. Table I에서 나타난 바를 보면 뇨량(Vol)의 경우, 대조치 2.22 ± 0.21 (mean \pm S.E.) ml/min에서 GLY투여 후 제1기부터 제3기까지 각각 3.19 ± 0.24 , 3.44 ± 0.22 와 3.55 ± 0.22 ml/min로 증가하였으며 통계적으로도 유의성인 현상을 나타내었다. 이때의 신장기능의 변화를 보면 사구체 여과율(GFR)과 신혈류량(RPF)는 전혀 변화하지 않았으나, 뇨중 Na^+ 배설량(E_{Na})은 대조치 169.0 ± 14.02 $\mu Eq/min$ 에서 각각 256.2 ± 18.73 , 291.0 ± 18.40 및 287.8 ± 16.59 $\mu Eq/min$ 로 증가하였음을 뿐아니라 통계적 유의성도 나타났다. 또한 뇨중 K^+ 의 배설량(E_K)의 경우 E_{Na} 와 비슷하게 증가하였음을 관찰할 수 있었다. 이에 대하여 신세뇨관에서 Na^+ 와 K^+ 의 재흡수율(R_{Na} , R_K)은 E_{Na} 와 E_K 의 증가에 반비례하여 감소하였음을 확인할 수 있었다. 또한 삼투질체거울(C_{osm})의 증가와 K^+/Na^+ 비의 감소가 나타났으나

Table I. Effect of glibenclamide (1.0 mg/kg) given into vein on renal function in dog

Time (min)	Vol (ml/min)	GFR (ml/min)	RPF (ml/min)	Cosm (ml/min)	C_{H_2O}	E_{Na} (μEq/min)	R_{Na} (%)	E_K (μEq/min)	R_K (%)	K^+/Na^+ (%)	MAP (mmHg)
-20-0	2.22 ± 0.21	38.2 ± 3.69	76.5 ± 5.54	2.63 ± 0.29	-0.40 ± 0.11	169.0 ± 14.02	97.2 ± 0.51	31.1 ± 1.98	82.9 ± 2.54	26.3 ± 2.11	111.8 ± 2.35
Glibenclamide (1.0 mg/kg), i.v.											
0-10	3.19* ± 0.24	42.2 ± 3.25	79.4 ± 4.80	3.70* ± 0.33	-0.51 ± 0.11	256.2* ± 18.73	96.1° ± 0.72	38.6* ± 2.27	81.2° ± 2.61	21.6 ± 1.93	120.5 ± 3.14
10-20	3.44* ± 0.22	38.9 ± 3.95	74.7 ± 4.51	4.01* ± 0.33	-0.58 ± 0.10	291.0* ± 18.40	95.3° ± 0.76	34.2 ± 2.04	81.1° ± 4.42	19.0° ± 2.15	119.7 ± 2.18
20-30	3.55* ± 0.22	40.0 ± 2.98	74.8 ± 5.15	3.89* ± 0.29	-0.34 ± 0.12	287.8* ± 16.59	95.2° ± 0.73	34.0 ± 2.55	82.0 ± 3.80	18.8° ± 2.16	120.7 ± 2.61

Mean ± S.E. from 8 experiments. Abbreviation: Vol; Urine flow rate. GFR; Glomerular filtration rates calculated by creatinine clearance. RPF; Renal plasma flows calculated by p-aminohippuric acid clearance. C_{osm} and C_{H_2O} ; Clearances 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 renal tubules, resp. K^+/Na^+ ; Ratios of E_K against E_{Na} . MAP; Mean arterial pressure as calculated from (diastolic pressure + 1/3 pulse pressure). Significant increases were marked with asterisks(*) and significant decreases with open circle(°) from corresponding control values by Student's pair *t*-test.

Table II. Effect of glibenclamide (3.0 mg/kg) given into vein on renal function in dog

Time (min)	Vol (ml/min)	GFR (ml/min)	RPF (ml/min)	Cosm (ml/min)	C_{H_2O}	E_{Na} (μEq/min)	R_{Na} (%)	E_K (μEq/min)	R_K (%)	K^+/Na^+ (%)	MAP (mmHg)
-20-0	2.22 ± 0.21	38.2 ± 3.69	76.5 ± 5.54	2.63 ± 0.29	-0.40 ± 0.05	169.0 ± 14.02	97.2 ± 0.51	31.1 ± 1.98	82.9 ± 2.54	26.3 ± 2.12	111.8 ± 2.35
Glibenclamide (3.0 mg/kg), i.v.											
0-10	4.84* ± 0.30	40.4 ± 3.21	70.7 ± 4.60	4.93* ± 0.33	-0.09* ± 0.06	368.6* ± 28.35	94.1° ± 0.95	41.0* ± 4.18	79.5° ± 2.22	14.7° ± 1.31	121.1 ± 3.07
10-20	5.49* ± 0.22	39.7 ± 3.38	69.5 ± 4.81	5.32* ± 0.33	0.11* ± 0.06	425.1* ± 29.27	93.1° ± 0.86	40.5* ± 4.55	78.8° ± 2.92	11.4° ± 0.89	120.8 ± 3.66
20-30	5.09* ± 0.15	40.1 ± 2.74	67.9 ± 3.73	5.08* ± 0.24	0.01* ± 0.06	398.0* ± 15.96	93.4° ± 0.45	37.3* ± 4.57	80.9° ± 2.53	10.0° ± 0.62	120.4 ± 3.63
30-40	4.71* ± 0.21	39.2 ± 2.17	64.9 ± 5.60	4.83* ± 0.13	-0.01 ± 0.06	360.6* ± 10.11	93.8° ± 0.55	39.8* ± 5.55	79.1° ± 3.27	10.6° ± 0.55	120.4 ± 3.63

Mean ± S.E. from 8 experiments. Other legends are the same as in table I.

자유수제거율(C_{H_2O})과 평균혈압(MAP)는 유의성인 변화를 관찰할 수 없었다. 이 실험에 앞서 GLY의 용매는 신장기능에 아무런 영향을 미치지 않음을 확인하였다.

Table II는 GLY의 투여량을 증대하여 3.0 mg/kg, i. v.로 투여한 실험(n=8)을 종합한 것이다. 여기에서 나타난 신장기능의 변화를 관찰하면 Table I에서 나타난 바와 같이뇨량(Vol)의 증가와 더불어서 E_{Na} , E_K 및 C_{osm} 의 통계적 유의성인 증가와 R_{Na} , R_K 와 K^+/Na^+ 비의 유의성인 감소가 나타났으며 Table I의 결과와의 차이는 Vol의 증가를 비롯한 신장기능의 변화의 정도가 더욱 심화되었다는 것과 C_{H_2O} 의 증가현상이 나타난 것이다. C_{H_2O} 의 경우, 대조치 -0.40 ± 0.05 ml/min에서 GLY, 3.0 mg/kg, i.v. 후 -0.09 ± 0.06 , 0.11 ± 0.06 , 0.01 ± 0.06 및 -0.01 ± 0.06 ml/min로 유의성인 증가를 나타내었다.

한쪽 신장동맥내에 투여한 GLY의 신장작용

정맥에 투여한 GLY는 이뇨작용을 나타내었다. 이 이뇨작용이 신장내에서의 작용인지 중추를 통한 이차적 작용인 가를 검토하기 위하여 한쪽 신동맥내에 GLY를 투여한 후 나타난 신장기능 변화를 GLY를 투여하지 않은 다른 쪽 신장(대조치)의 기능 변화와 비교 관찰하였다.

Table III는 GLY를 정맥내 투여량의 10분의 1에 해당하는 0.1 mg/kg을 한쪽 신동맥내에 투여한 실험(n=6)을 종합하여 통계처리한 것이다. Table III에서 L은 좌측의 실험신장을, R은 우측의 대조 신장을 뜻한다. 뇨량을 관찰하면 실험신(L)의 경우, 대조치 1.80 ± 0.19 ml/min에 비하여 제1기부터 제3기까지 각각 3.40 ± 0.25 , 2.68 ± 0.16 과 2.58 ± 0.17 ml/min로 유의성인 증가를 나타내었다. 대조신(R)의 경우 1.25 ± 0.08 ml/min의 대조치에 비하여 각각 1.61 ± 0.18 , 1.53 ± 0.09 와 1.65 ± 0.10 ml/min로 증대하였으며 통계적 유의성도 나타내었다. 그러나 그 증가비는 L에 비하

Table III. Effect of glibenclamide (0.1 mg/kg) given into a renal artery on renal function in dog

Parameters	Times	Control	0 ~ 10	10 ~ 20	20 ~ 30(min)
Vol(ml/min)	L	1.80 ± 0.19	3.40 ± 0.25*	2.68 ± 0.16*	2.58 ± 0.17*
	R	1.25 ± 0.08	1.61 ± 0.18*	1.53 ± 0.09*	1.65 ± 0.10*
GFR(ml/min)	L	25.3 ± 2.22	27.6 ± 3.54	22.7 ± 2.41	21.8 ± 2.20
	R	20.6 ± 3.67	21.8 ± 2.39	21.9 ± 1.98	21.6 ± 2.22
RPF(ml/min)	L	48.0 ± 3.28	52.1 ± 5.95	40.2 ± 3.73	42.4 ± 3.57
	R	40.3 ± 3.16	46.0 ± 4.38	39.3 ± 3.43	43.2 ± 3.84
Cosm(ml/min)	L	1.93 ± 0.08	3.31 ± 0.11*	2.68 ± 0.06*	2.65 ± 0.08
	R	1.42 ± 0.14	1.80 ± 0.29	1.86 ± 0.15	1.99 ± 0.14
C _{H₂O} (ml/min)	L	-0.13 ± 0.08	0.09 ± 0.08	0.00 ± 0.08	-0.08 ± 0.07
	R	-0.17 ± 0.09	-0.19 ± 0.13	-0.34 ± 0.12	-0.35 ± 0.11
E _{Na} (μEq/min)	L	140.0 ± 10.18	261.4 ± 13.18*	217.3 ± 8.43*	218.2 ± 11.78*
	R	104.0 ± 10.18	140.9 ± 13.12*	152.4 ± 6.43*	157.9 ± 5.13*
R _{Na} (%)	L	94.2 ± 0.99	91.1 ± 1.31	91.4 ± 1.26	91.4 ± 1.22
	R	96.0 ± 0.61	95.3 ± 0.58	94.8 ± 0.63	94.3 ± 0.88
E _K (μEq/min)	L	21.8 ± 0.96	30.7 ± 2.52*	23.6 ± 1.82	22.2 ± 1.68
	R	19.0 ± 1.17	23.3 ± 2.15	21.0 ± 1.71	20.0 ± 1.70
R _K (%)	L	78.6 ± 3.82	73.5 ± 4.13	76.5 ± 3.51	77.9 ± 2.52
	R	80.4 ± 1.16	77.7 ± 1.76	79.9 ± 2.01	80.4 ± 1.96
K ⁺ /Na ⁺ (%)	L	18.5 ± 3.31	11.6 ± 1.28	10.9 ± 1.49	10.7 ± 2.04
	R	18.3 ± 2.12	17.5 ± 3.54	13.5 ± 1.67	12.5 ± 1.95

Mean ± S.E. from 6 experiments. L: Left(experimental) kidney, R: Right(control) kidney. Other legends are the same as in table I.

Table IV. Effect of glibenclamide (0.3 mg/kg) given into a renal artery on renal function in dog

Parameters	Times	Control	0 ~ 10	10 ~ 20	20 ~ 30	30 ~ 40 (min)
Vol(ml/min)	L	2.06 ± 0.23	2.87 ± 0.22*	2.43 ± 0.18	2.33 ± 0.17	2.15 ± 0.14
	R	1.28 ± 0.11	2.13 ± 0.12*	2.23 ± 0.06*	2.47 ± 0.10*	2.53 ± 0.16*
GFR(ml/min)	L	27.5 ± 2.22	18.9 ± 2.31	16.6 ± 2.14	19.5 ± 2.13	17.0 ± 2.35
	R	21.3 ± 2.33	23.8 ± 2.50	21.7 ± 2.11	23.2 ± 2.43	24.1 ± 2.48
RPF(ml/min)	L	50.9 ± 2.15	38.4 ± 2.54	36.5 ± 2.46	40.4 ± 2.50	36.5 ± 2.89
	R	42.3 ± 4.22	47.6 ± 4.62	48.7 ± 4.46	49.0 ± 5.29	50.4 ± 5.26
Cosm(ml/min)	L	2.03 ± 0.16	2.72 ± 0.25*	2.33 ± 0.34	2.23 ± 0.31	2.09 ± 0.26
	R	1.34 ± 0.09	2.36 ± 0.12*	2.41 ± 0.06*	2.62 ± 0.09*	2.71 ± 0.20*
C _{H₂O} (ml/min)	L	0.03 ± 0.08	0.15 ± 0.04	0.10 ± 0.06	0.11 ± 0.06	0.06 ± 0.06
	R	-0.07 ± 0.04	-0.22 ± 0.07	-0.17 ± 0.07	-0.16 ± 0.08	-0.18 ± 0.06
E _{Na} (mEq/min)	L	148.2 ± 13.41	238.1 ± 22.92*	209.5 ± 20.31*	177.2 ± 15.87*	163.6 ± 13.00*
	R	99.5 ± 5.39	191.0 ± 12.93*	191.7 ± 6.45*	226.2 ± 13.85*	238.4 ± 13.63*
R _{Na} (%)	L	93.7 ± 1.33	89.2 ± 2.25	89.6 ± 2.09	91.6 ± 1.74	90.4 ± 1.27
	R	96.1 ± 0.42	94.0 ± 0.33	93.4 ± 0.43	92.2 ± 0.63	92.4 ± 0.69
E _K (μEq/min)	L	23.4 ± 1.10	17.9 ± 2.62	15.6 ± 2.43	16.0 ± 2.07	16.4 ± 1.88
	R	19.5 ± 1.57	25.4 ± 2.44*	25.3 ± 2.48*	29.7 ± 3.42*	31.3 ± 3.95*
R _K (%)	L	77.7 ± 2.58	79.3 ± 2.98	80.1 ± 2.94*	80.2 ± 3.07*	77.4 ± 2.41
	R	80.2 ± 1.57	77.6 ± 1.41	75.4 ± 1.84	71.9 ± 2.76	72.2 ± 2.43
K ⁺ /Na ⁺ (%)	L	19.7 ± 2.69	10.6 ± 1.11	9.24 ± 0.74	11.1 ± 0.83	11.1 ± 0.59
	R	19.6 ± 1.33	12.6 ± 0.62	12.7 ± 1.03	12.2 ± 0.72	12.7 ± 0.44

Mean ± S.E. from 6 experiments. Other legends are the same as in table I and III.

여 낮은 것으로 나타났다. 이때 신기능의 변화는 양쪽 다 같이 C_{osm} 과 E_{Na} 의 증가와 R_{Na} 와 K^+/Na^+ 비가 감소하였다. 그러나 GFR와 RPF는 L에서 감하였으나 R에서는 의의있는 변화가 없었다.

Table IV는 GLY를 0.3 mg/kg으로 증량하여 한쪽 신동맥에 투여한 실험(n=6)을 종합한 것이다. 노량의 경우 L에 있어서 GLY 투여 후 제1기를 제외한 제2, 3, 4기에서 유

의성인 증가현상이 나타나지 않았다. R에서는 제1기에서 제4기까지 각각 2.13 ± 0.12 , 2.23 ± 0.06 , 2.47 ± 0.10 , 2.53 ± 0.16 ml/min로써 대조치 1.28 ± 0.11 ml/min에 비하여 통계적으로 의의있는 증가를 나타내었다. 이때의 신장기능의 변화를 관찰하면 GFR과 RPF는 L에서는 전 기간에 걸쳐 유의성인 감소를 나타내었으나 R의 경우, 통계적 의의는 없으나 약간의 증가의 경향을 나타내었다. E_{Na} 는 L과 R에

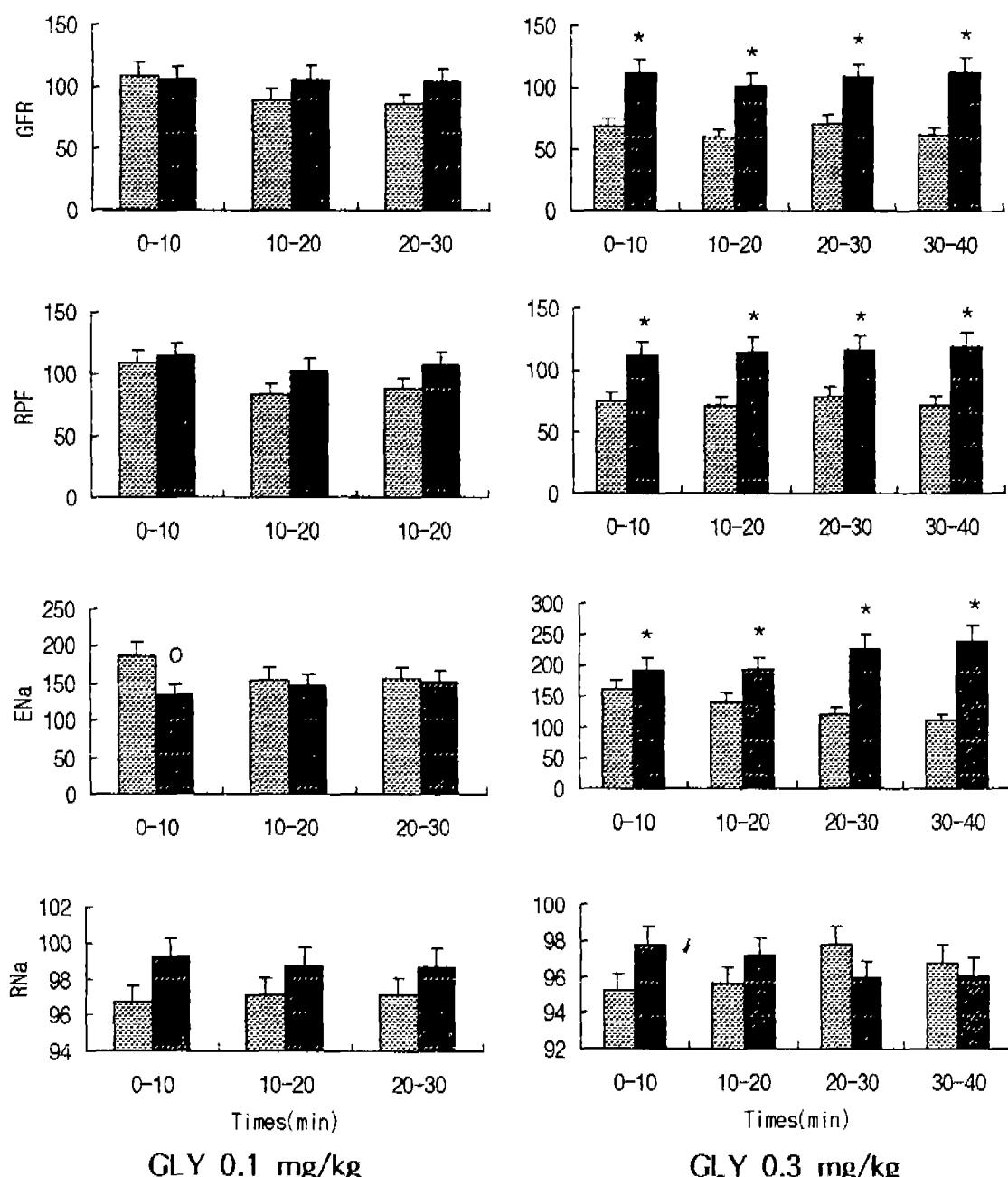


Fig. 1. Percent changes of renal function by glibenclamide given into a renal artery in dog.

Data from table III and IV. GLY: glibenclamide. P-values were obtained by comparing of corresponding experimental (L) values. Other legends are the same as in table I. : experimental left kidney, ■: control right kidney.

Table V. Effect of glibenclamide (0.5 mg/kg) given into carotid artery on renal function in dog

Time (min)	Vol (ml/min)	GFR (ml/min)	RPF (ml/min)	C_{osm} (ml/min)	C_{H_2O} (ml/min)	E_{Na} (μ Eq/min)	R_{Na} (%)	E_K (μ Eq/min)	R_K (%)	K^+/Na^+ (%)	MAP (mmHg)
-20-0	3.17 ± 0.20	55.9 ± 6.49	91.7 ± 6.81	3.12 ± 0.25	0.05 ± 0.17	212.3 ± 15.72	96.9 ± 0.49	46.7 ± 8.37	80.7 ± 2.87	21.0 ± 1.00	117.5 ± 8.99
Glibenclamide (0.5 mg/kg) into carotid artery											
0-10	3.20 ± 0.28	56.9 ± 6.37	91.4 ± 6.30	3.29 ± 0.21	-0.09 ± 0.18	245.0* ± 14.44	96.3 ± 0.73	45.2 ± 6.77	80.6 ± 3.18	18.1 ± 1.13	119.6 ± 9.28
10-20	2.85 ± 0.15	56.2 ± 6.59	91.9 ± 6.03	3.53 ± 0.26	-0.68 ± 0.22	228.8 ± 16.20	96.0 ± 1.24	37.1 ± 9.10	82.9 ± 4.48	15.1° ± 1.57	122.0 ± 7.74
20-30	2.80 ± 0.13	54.4 ± 5.89	89.0 ± 5.89	3.44 ± 0.19	-0.64 ± 0.19	227.9 ± 14.48	96.2 ± 1.05	36.7 ± 7.26	82.1 ± 4.64	15.0° ± 1.14	123.6 ± 7.82

Mean ± S.E. from 6 experiments. Other legends are the same as in table I.

Table VI. Effect of glibenclamide (1.5 mg/kg) given into carotid artery on renal function in dog

Time (min)	Vol (ml/min)	GFR (ml/min)	RPF (ml/min)	C_{osm} (ml/min)	C_{H_2O} (ml/min)	E_{Na} (μ Eq/min)	R_{Na} (%)	E_K (μ Eq/min)	R_K (%)	K^+/Na^+ (%)	MAP (mmHg)
-20-0	3.17 ± 0.20	55.9 ± 6.49	91.7 ± 6.81	3.12 ± 0.25	0.05 ± 0.17	212.3 ± 15.72	96.9 ± 0.49	46.7 ± 8.37	80.7 ± 2.87	21.0 ± 1.00	117.5 ± 8.99
Glibenclamide (1.5 mg/kg) into carotid artery											
0-10	4.17* ± 0.30	57.5 ± 6.25	93.8 ± 6.53	4.54* ± 0.29	-0.38 ± 0.29	326.3* ± 17.54	95.1° ± 1.07	52.4 ± 7.76	77.5° ± 4.28	15.7° ± 0.67	122.9 ± 8.03
10-20	5.23* ± 0.57	57.5 ± 6.10	93.0 ± 6.19	5.18* ± 0.43	0.06 ± 0.19	406.2* ± 35.18	94.6° ± 0.75	62.6* ± 9.93	74.4° ± 3.95	15.6° ± 0.28	124.4 ± 7.54
20-30	4.83* ± 0.70	56.6 ± 6.33	86.6 ± 5.56	4.94* ± 0.52	-0.11 ± 0.18	382.5* ± 44.23	94.9° ± 0.77	61.6* ± 9.44	77.8° ± 1.90	17.6 ± 1.18	126.3 ± 8.73
30-40	3.67* ± 0.52	57.7 ± 6.51	91.8 ± 6.05	4.21* ± 0.46	-0.54* ± 0.21	317.3* ± 39.24	95.5° ± 1.04	53.6* ± 9.05	76.3° ± 5.47	18.6 ± 1.58	126.3 ± 10.59

Mean ± S.E. from 6 experiments. Other legends are the same as in table I.

서는 다 같이 전 기간에서 유의성인 증가를 나타냈다. 그러나 R_{Na} 와 K^+/Na^+ 비는 양쪽 다 같이 전 기간을 통하여 감소하였다.

Fig. 1은 GLY를 한쪽 신동맥에 투여한 후 나타난 신장기능의 변화를 백분율로 도시한 것이다. GLY, 0.1 mg/kg에서는 뇨량의 경우, 양쪽 신장에서 증가율의 차이는 있으나 다 같이 증가하였다. 그러나 GLY, 0.3 mg/kg에서는 대조신에서는 뚜렷한 뇨량의 증가현상이 나타났으나 실험신에서는 별다른 변화를 발견할 수 없었다. 이때 신기능을 보면 GFR와 RPF가 대조신은 별다른 변화가 없었으나 실험신에서는 감소하였다. 그러나 ENa의 경우, GLY, 0.1 mg/kg에서는 양쪽에서 유사한 비율로 증가하였으나 0.3 mg/kg에서는 L에서 약간의 증가가, R에서는 뚜렷한 증가가 나타났다. 이때 R_{Na} 는 L이나 R에서 비슷한 비율로 감소하였다. 그러므로 L에서는 E_{Na} 의 증가와 R_{Na} 의 감소가 일어나는데도 불구하고 GFR와 RPF의 감소로 인하여 뇨량 증가 현상이 나타나지 않는 것으로 사료되었다. 이때 뇨량을 비롯한 GFR, RPF, E_{Na} 와 E_K 가 실험신에 비하여 대조신의 증가율이 더욱 뚜렷하였으며 통계적 차이도 나타내었다. 경동맥에 투여한 GLY의 신장작용

경동맥 내에서는 정맥에 투여한 2분의 1에 해당하는 양을 투여한 후 신장기능의 변화를 관찰하였다.

Table V는 GLY, 0.5 mg/kg을 경동맥내에 투여한 실험(n=6)을 종합한 것이다. Table V에서 나타난바와 같이 전체적으로 뚜렷한 신장기능의 변화를 관찰할 수 없었다. 다만 E_{Na} 의 제1기에서의 증가와 C_{H_2O} 와 K^+/Na^+ 비의 제2기 및 제3기에서 감소현상이 발견되었다.

Table VI는 GLY를 1.5 mg/kg으로 증량하여 경동맥내에 투여한 실험 6예를 종합하여 통계 처리한 것이다. 여기에서 뇨량의 뚜렷한 증가와 C_{osm} 과 E_{Na} 및 E_K 의 증가와 R_{Na} 와 R_K 및 K^+/Na^+ 비의 감소 등이 뚜렷하게 나타났으며 이런 현상은 GLY를 정맥내 투여하였을 때의 양상과 아주 유사하였다. 이때 혈압은 117.5±8.99 mmHg에서 126.3±10.59 mmHg로 약 7.5% 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다.

고 찰

K^+ channel 차단제인 glibenclamide를 정맥내에 투여시 뇨량이 증가하였으며 이때 신장기능의 변화는 삼투질제거

율(C_{osm})과 뇌중 Na^+ 과 K^+ 의 배설량(E_{Na} , E_K)의 증가와 신세뇨관에서의 Na^+ 과 K^+ 의 재흡수율(R_{Na} , R_K)의 감소였다. 나아가 N_{a+} 에 대한 K^+ 의 비(K^+/Na^+)도 감소하였으나 혈압에는 별다른 영향이 없었다. 한쪽 신동맥내에 GLY를 투여한 경우, GLY의 적은 양(0.1 mg/kg)에서는 양쪽 신장(투여신(L)과 대조신(R))에서 다 같이 뇌량의 증가현상이 나타났다. 그러나 많은 양(0.3 mg/kg)의 경우, 대조신에서는 뚜렷한 이뇨작용을 나타냈으나 실험신에서는 뇌량의 유의성인 증가현상이 나타나지 않았다. 이때 실험신의 경우 사구체 여과율(GFR)과 신혈류량(RPF)의 유의성인 감소현상이 나타났으며 E_{Na} 는 증가하였고 E_K 는 감소하였다. 대조신에서의 신장기능의 변화는 정맥내 투여시와 같은 양상을 나타내었다. GLY의 경동맥내 투여시에도 뇌량의 증가와 더불어 모든 신장기능의 변화가 정맥내 투여시와 같은 양상을 나타내었다. 이상의 결과로 보아 glibenclamide의 중추적으로 초래된 일련의 변화가 신장내의 원위세뇨관에 영향을 미쳐 이뇨작용을 나타내는 것으로 사료된다. GLY가 이뇨작용을 나타내며 이 작용이 중추적이라고 추정하는 것은 첫째, 한쪽 신장 동맥내에 투여시, 투여신(실험신)에서 보다는 오히려 대조신에서 이뇨작용이 뚜렷하였으며 둘째, 경동맥내에 GLY를 투여시에도 뚜렷한 이뇨작용이 나타났을 뿐아니라 신장기능의 변화도 정맥내 투여시, 또는 한쪽 신동맥내 투여하였을 때 대조신에서 나타나는 양상과 같은 양상을 나타냈기 때문이다. 신세뇨관에서의 GLY의 작용점을 원위부로 생각하는 이유는 첫째 Suki 등(Suki 등, 1965)의 이론에 따라 C_{osm} 과 C_{H2O} 로써 검토하면 C_{osm} 과 C_{H2O} 가 동시에 증가하는 경우 그 작용점은 근위세뇨관이며 C_{osm} 가 증가하고 C_{H2O} 가 감소하거나 불변하는 경우 그 작용점은 원위세뇨관이나 Henle's loop인데 원위세뇨관일 때는 E_{Na} 의 증가와 E_K 의 감소나 불변으로 K^+/Na^+ 비가 감소하게 되며 Henle's loop인 때는 E_{Na} 와 E_K 가 동시에 증가하므로 K^+/Na^+ 비는 증가하거나 불변한다. 따라서 본 실험에서는 C_{osm} 의 증가, C_{H2O} 의 감소 및 불변이며 나아가 E_K 가 감소하였거나, 증가하는 경우에도 그 증가율이 극히 낮은데 비하여 E_{Na} 는 뚜렷한 증가로 인한 K^+/Na^+ 비가 감소하였으므로 GLY의 작용점이 원위세뇨관으로 고려되어진다. 사구체에서 여과된 대부분의 Na^+ 은 근위세뇨관에서 재흡수되며 나머지 부분은 원위세뇨부에서 이루어지는데 여기에는 $K^+(H^+)-Na^+$ 교환 pump가 있고 이 pump는 부신피질에서 분비되는 광질대사 호르몬인 aldosterone으로 이루어진다. 다시 설명하면 이 pump가 활성화되면 Na^+ 재흡수와 K^+ 의 분비가 증진하게 된다. 이로써 K^+/Na^+ 비는 증대하게 되지만 반대의 경우 Na^+ 재흡수가 감소하게 되면 (E_{Na} 증가), K^+ 의 분비도 감소하게 된다. 이 이론에 따라 본 실험의 결과를 검토하면 K^+/Na^+ 비가 감소하였으므로 GLY의

작용점은 Henle's loop가 아니고 원위세뇨부로 사료된다. K^+ channel이 포유동물의 Henle's loop와 더불어 K^+ 분비부위인 원위부에 존재한다(Clark 등, 1993)는 것을 상정한다면 GLY의 신장내 작용이 이 K^+ channel을 통한 가능성이 배제할 수는 없다. 그러나 이 점을 확실히 하기 위하여 추가실험이 요망된다.

감사의 말씀

본 연구는 1998년도 조선대학교 연구 조성비에 의하여 일부 충당되었으며 이에 감사한다.

참고문헌

- Buckingham, R. E., Hamilton, T. C., Howlett, D. R., Mootoo, S. and Wilson, C. (1989). Inhibition by glibenclamide of the vasorelaxant action of cromakalim in rat. *Br. J. Pharmacol.* **97**, 57-64.
- Boyd, A. E., III, Aguilar-Bryan, L. and Nelson, D. A. (1990). Molecular mechanism of action of glyburide on the beta cell. *Am. J. Med.* **89**, 3S-10S.
- Boyd, A. E., III, Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., Kunze, D. L., Moss, L., Nelson, D. A., Rajan, A. S., Raef, H., Xiang, H. D. and Yaney, G. C. (1991). Sulfonylurea signal transduction. *Recent Prog. Horm. Res.* **47**, 299-317.
- Cavero, I., Mondot, S. and Mestre, M. (1989). Vasorelaxant effects of cromakalim in rats mediated by glibenclamide-sensitive potassium channels. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **248**, 1261-1268.
- Clark, M. A., Hunphrey, S. J., Smith, M. P. and Ludens, J. H. (1993). Unique natriuretic properties of the ATP-sensitive K^+ channel blocker glyburide in conscious rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **265**, 933-937.
- Eltze, M. (1989). Glibenclamide is a competitive antagonist of cromakalim, pinacidil and RP49356 in guinea pig pulmonary artery. *Eur. J. Pharmacol.* **165**, 231-239.
- Escande, D., Thuringer, D., LE Guern, S., Courteix, J., Laville, M. and Cavero, I. (1989). Potassium channel openers act through an activation of ATP-sensitive K^+ channel in guinea pig cardiac myocytes. *Pflügers Arch.* **414**, 669-675.
- Feldman, J. M. (1985). Glyburide: A second generation hypoglycemic agent. History, chemistry, metabolism pharmacokinetics, clinical use and adverse effects. *Pharmacotherapy* **5**, 43-62.
- Gill, W. S. (1970). Formation and excretion of urine. *Journal of RIMSK*. **2**, 468-472.
- Phillips, B. A. (1944). Quantitative Clinical Chemistry by Peters and Van Slyke, Baltimore, Williams, Wilkins. Vol.2. Methods.
- Quast, U. and Cook, N. S. (1989). In vitro and in vivo comparison of two K^+ channel openers, diazoxide and cromakalim and their inhibitor by glibenclamide. *J.*

- Pharmacol. Exp. Ther.* **250**, 26-271.
- Schmid-Antomarchi, H., De Weille, J., Fosset, M. and Lazdunski, M. (1987). The receptor for antidiabetic sulfonylureas control the activity of the ATP-modulated K⁺ channel in insulin-secreting cells. *J. Biol. Chem.* **262**, 15840-15844.
- Skilman, T. G. and Feldman, J. M. (1981). The pharmacology of sulfonylurea. *Am. J. Med.* **70**, 361-372.
- 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. etc. Iowa State Univ.
- Standen, N. B., Quayle, J. M., Davies, N. W., Brayden, J. E. Hwang, Y. and Nelson, M. T. (1989). Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle. *Science*. **245**, 177-180.
- Sturgess, N. C., Kozlowski, R. Z., Carrington, C. A., Hales, C. N. and Ashford, M. L. J. (1988). Effects of sulphonylurea and diazoxide on insulin secretion and nucleotide-sensitive channels in an insulin secreting cell line. *Br. J. Pharmacol.* **95**, 83-94.
- Sturgess, N. C., Ashford, M. L., Cook, D. L. and Hales, C. N. (1985). The sulfonyl urea receptor may be an ATP-sensitive K⁺ channel. *Lancet* **2**, 474-475.
- Suki, W., Rector, F. C. and Selin, D. W. (1965). The site of action of furosemide and other sulfonamide diuretics in the dog. *J. Clin. Invest.* **44**, 1458-1465.
- The Merk Index. 11th Ed. (1989). Merk Co., Inc. USA. No 4372.
- Wang, W., Sackin, H. and Geibisch, G. (1992). Renal potassium channels and their regulation. *Annu. Rev. Physiol.* **54**, 81-96.
- Zini, S., Ben-Ari, Y. and Ashcroft, M. L. (1991). Characterization of sulfonylurea receptors and the action of potassium channel openers on cholinergic ueurotransmission in guinea pig isolated small intestine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **259**, 566-573.