

개의 적출방광 평활근에서 Imipramine과 K⁺ 통로 봉쇄제와의 상호작용

영남대학교 의과대학 약리학교실

허 준 영 · 최 은 미 · 최 형 철
하 정 희 · 이 광 윤 · 김 원 준

= Abstract =

Interaction of Imipramine and K⁺ Channel Blockers on Detrusor Muscle Strips Isolated from Canine Urinary Bladder

Joun Young Huh, Eun Mee Choi, Hyoung Chul Choi, Jeoung Hee Ha,
Kwang Youn Lee and Won Joon Kim

*Department of Pharmacology, Yeungnam University School of Medicine,
Taegu 705-035, Korea*

The study was undertaken to examine the possibility of the involvement of K⁺ channels in the mechanism of relaxant-action of imipramine on the isolated canine detrusor muscle strips.

Canine urinary bladder were isolated, and smooth muscle strips of 15 mm long and 2 mm wide from the mid-portion of anterior wall were made in the Tyrode solution of 0~4°C. The strips were prepared for isometric myography in Biancani's isolated muscle chamber containing 1 ml of Tyrode solution, which was maintained with pH 7.4 by aeration with 95% O₂/5% CO₂ at 37°C.

RP 52891, a non-specific K⁺ channel opener, concentration-dependently suppressed the spontaneous phasic contractions of the detrusor strips.

Imipramine, a tricyclic antidepressant, also reduced the spontaneous contractions in a concentration-dependent manner. RP 52891 was more potent than imipramine (p<0.05), and Imipramine was more efficient than RP 52891 (p<0.05).

Procaine, a voltage-dependent K⁺ channel blocker, glibenclamide, an ATP-dependent K⁺ channel blocker, and apamin, a calcium-dependent K⁺ channel blocker antagonized the relaxant effect of RP 52891, but not of imipramine.

Imipramine reduced the electric field stimulation(EFS)-induced contractions concentration-dependently. None of the K⁺ channel blockers employed for this study, procaine, glibenclamide or apamin antagonized the inhibitory action of imipramine on the EFS-induced contraction.

These results suggest that in canine detrusor, the K⁺ channels of the characteristics of voltage-dependent, ATP-dependent and/or calcium-dependent are exist, and the inhibitory action of imipramine on the contractility of the detrusor is independent from the K⁺ channels.

Key Words: Imipramine, Urinary bladder, Potassium channel blocker

* 본 연구는 1993년도 재단법인 천마의학연구재단 지원 연구비에 의해 이루어짐.

서 론

배뇨근의 불안정성(instability, hyperreflexia)이 주된 원인으로 되어 나타나는 배뇨장애의 약물치료를 위하여는 콜린성수용체봉쇄제들과 항이노호르몬의 유도체인 desmopressin(1-deamino-8-D-arginine vasopressin, dDAVP) 및 삼환계항우울제인 imipramine이 주로 시도되어 왔다(Miller 등, 1992; Rushton 1993). 그중 imipramine은 유노증 치료제로서 오랫동안 사용되어 왔으나, 부작용으로서 소변 저류, 입마름, 위장 장애를 포함한 항콜린성 작용들과 졸음, 신경과민, 성격변화등 중추신경계 증상들을 나타낸다. 이와 같은 부작용은 이 약물의 임상응용에 제한요소로 작용하고 있으며, 비교적 오랫동안 많은 연구자들이 관심을 가지고 연구해왔으나, 아직도 그 방광기능에 대한 작용기전이 분명히 밝혀지지 않고 있어, imipramine과 유사하거나 보다 나은 임상효과를 가지면서도 보다 부작용이 경미한 제제의 개발이 요구된다.

Imipramine의 유노증에 대한 치료효과의 기전에 대해서는 Winsberg 등(1972)과 Rapoport 등(1980) 등에 의해 그 항우울작용이 항유노작용의 합당한 기전이 될 수 있는가가 토론된 바 있는데, 이들은 imipramine의 유노억제 효과가 그 항우울작용에 기인한다고 보기는 어렵다고 하였다. 또한 이 약물의 수면에 미치는 영향이 치료효과를 나타낸다는 견해도 있으나(Martin 1971), imipramine은 낮동안의 요실금(urinary incontinence)에도 효과가 있으며, 투여시 수면 시기와 야뇨 빈도와 사이에서 유의한 상관관계가 없다는 보고도 있다(Kales 등 1977; Rapoport 등, 1980). Imipramine의 말초성 작용으로, 방광 평활근이나 배뇨반사를 조절하는 자율 신경 기능에 대한 영향에 관한 보고는 다음과 같다. 즉 무스카린성 수용체 길항 작용(Levin 등, 1983; Nilvebrant 등, 1985; Noronha-Blob 등, 1989), 신경 말단내로의 catecholamine 재섭취 방해 작용

(Axelrode 등 1961; Sulser 등, 1968), 및 직접적인 방광근 이완 작용(Shaffer 등, 1979; Levin 등, 1983)등이 제시되어 왔으나, 그중 어느 하나도 항유노 효과의 주된 기전으로 인정되고 있지는 못하다. 그러나 근래에 imipramine의 항유노 효과는 직접적인 방광 평활근 이완작용에 의해 일어나며, 이에는 칼슘이동 억압 작용이 중요한 역할을 할 것이라고 시사되었다(Akah 1986; Malkowicz 등, 1987; Grover 등, 1988). Imipramine의 방광에 대한 직접작용에 관한 연구보고를 보면, Lee 등(1992)은 imipramine의 흰쥐 배뇨근에 대한 수축 억제작용의 주된 기전은 평활근세포에 직접 작용하여 세포의 칼슘의 유입을 억제하는 것이라 하였다. 한편 Ha 등(1993)은 흰쥐의 방광에서 ATP-의존성 K^+ 통로가 존재하며 K^+ 통로개방제들이 방광근을 이완시킨다고 하였다. 또 Lee 등(1994)은 수종의 K^+ 통로개방제들이 흰쥐의 배뇨근 절편을 이완시켰으며, ATP-의존성 K^+ 통로봉쇄제인 glibenclamide가 K^+ 통로개방제들에 의한 배뇨근절편의 이완을 길항하였다고 하였다.

본 연구에서는 개의 배뇨근에 대한 imipramine의 이완작용이 어떤 K^+ 통로봉쇄제에 의해 억제되는지를 관찰함으로써 그 작용기전이 K^+ 통로와 어떤 관련성이 있는지를 탐구하고, 나아가서는 보다 유용한 유노증 치료제의 개발을 위한 참고자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

개의 방광을 적출하여 배뇨근의 전면 중간 부위로부터 길이 15 mm, 폭 2 mm의 배뇨근절편을 만들었다. 이들 절편은 양끝을 견사로 결찰하여 한쪽 끝을 1 ml의 Tyrode 영양액이 함유되어 있는 적출근편실험조(Biancani's isolated muscle bath)의 기저부에 고정하고 다른 한쪽 끝을 등척성 장력측정기(Force displacement transducer, FT-03, Grass)에 고정하여, polygraph(Grass, Model 79)에 그 수축력을 묘기하였다. 실험조내 영양액의 온도는 37°C로 유지시키고, 95% 산소와 5% 이

산화탄소의 혼합 기체를 공급하여 pH를 7.4로 유지하였다. 본 실험에 사용한 Tyrode 영양액은 NaCl 136.9, KCl 2.68, NaHCO₃ 11.90, NaH₂PO₄ 0.42, MgCl₂ 1.05, CaCl₂ 1.84, Glucose 5.5(mM)로 제조하였다. 상기의 영양액내에서 최초 3g의 수동 장력을 가한 후 60분 동안 관류시켰다가, 관류를 멈춘 후 최소한 60분 이상 근절편을 안정시켜 그 장력과 자율운동이 일정하게 유지된 상태에서 다음과 같이 실험을 실시하였다.

1) Imipramine과 RP 52891의 농도-반응 실험

실험조 내에서 안정된 배뇨근 절편에 본 실험의 주 관찰 약물인 imipramine과 비특이성 potassium 통로 개방 약물이며 흰쥐의 방광배뇨근을 강하게 이완시킨 RP 52891을 누적 농도로 첨가하여 자율운동의 변동을 관찰하였다. 이들 약물의 농도는 10⁻⁶M에서 부터 0.5 Log 간격으로 10⁻³ M까지 첨가 하였다. 또한 전위의존성 potassium 통로 봉쇄제인 procaine, ATP-의존성 potassium 통로

봉쇄제인 glibenclamide 및 calcium-의존성 potassium 통로 봉쇄제인 apamin 등을 전처리한 상태에서 상기 실험약물들의 누적농도-반응 실험을 반복 실시하여 자율운동의 변화를 비교, 관찰하였다. 본 실험의 말미에는 실험조 내에 ethylene-diamine tetraacetic acid(EDTA) 20 mM를 첨가하여 근절편이 최대한 이완되게 함으로써 그 근절편에 가해진 수동장력을 구하였다.

실험성적의 처리 방법은 다음과 같다. 먼저 polygraph에서 출력된 정보를 데이터 변환장치 (Experimental Data Acquisition System; Workstation, Model MP100)를 이용하여 매킨토시 컴퓨터에 수록하고, 실험데이터 처리 프로그램인 Acqknowledge 881(Macintosh v3.0)을 이용하여 약물첨가후 일정시간동안의 총 활동량을 측정하였다(Fig. 1). 이 성적을 약물첨가전의 안정기 활동량에 대한 백분율로 환산하였으며, 그 활동량의 변화곡선을 Multifit[®] program(Macintosh v2.01, Day Computing, Cambridge, UK)을 이용하여 Clark의 약물-수용체 상호작용 공식에 적용시켜,

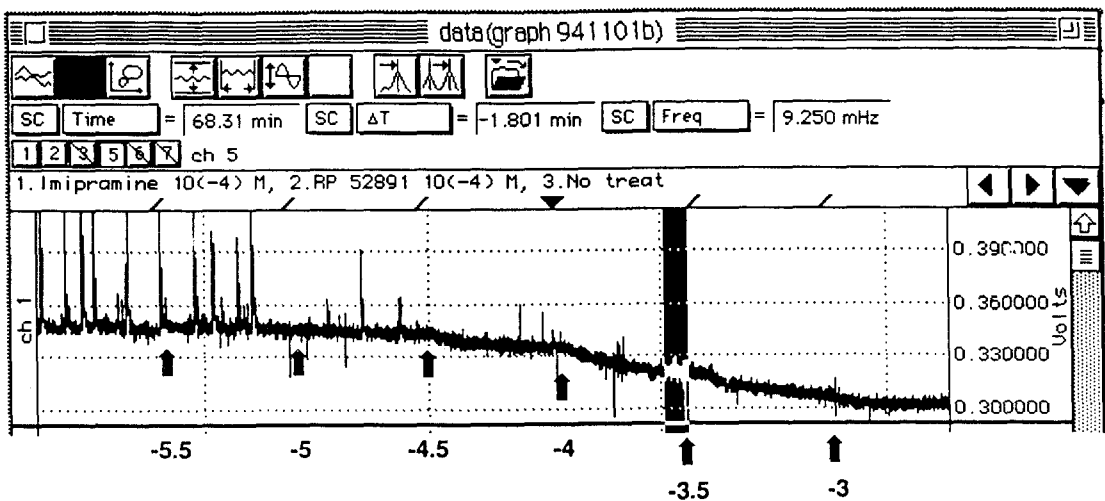


Fig. 1. Exhibition of concentration-response tracing on data acquisition program. The highlighted area indicates the area which reflects the activity of a canine detrusor muscle strip. The integrated area between o-line and the tension-line for last 2 minutes of a concentration period was employed as the equilibrated contractility of the strips.

↑ ; Addition of imipramine by the concentrations of 10⁻⁴M.

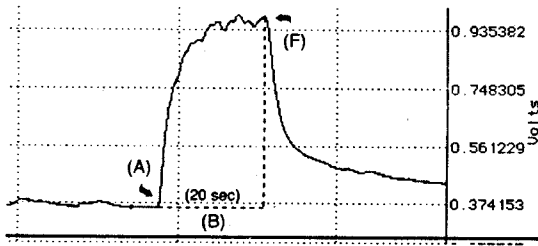


Fig. 2. Exhibition of the measurement of Electric field stimulation-induced contraction of canine detrusor muscle strips. The integrated area surrounded by both beginning(A) and a perpendicular line coming down from the ending point of stimulation(F) of the stimulation, baseline (B) and the tracing of tension reflects the total activity induced by electric stimulation.

중간유효농도(EC₅₀)와 최대반응치(E_{max})를 산출하였다.

2) 전기장 자극-유발 수축에 대한 imipramine의 작용과 그에 미치는 K⁺ 통로봉쇄제들의 영향

전기자극기는 Nihon-Koden 제 Model 3201을 사용하였으며, 배뇨근 절편 양측에 설치된 0.8 mm의 백금선 전극을 통하여 전기장 자극(20 msec duration; 1, 2, 5, 10, 20 Hz; 20 sec train)을 가하였다. 수축의 측정은 Acknowledge 881을 이용하여 Fig. 2에서와 같이 전기장 자극이 시작된 시점에서부터 자극이 종료되는 20초 후의 시점 사이에서 변화된 전위차의 총량(integration)을 계산한 후 같은 시간동안의 휴식기 자율운동량을 뺀 값을 그 자극시의 수축량으로 간주하여 이를 Vsec (voltage×seconds)로 나타냈었다. 대조실험으로 약물의 전처치 없이 전기장자극을 가한 군, imipramine 120⁻⁶ M 또는 10⁻⁵ M를 첨가한 군 및 procaine, glibenclamide 또는 apamin 각 10⁻⁵ M를 전처치한 후 imipramine 10⁻⁶ M를 첨가한 군 등의 성적을 각각 비교 하였다.

성적의 유의성 검정은 Student's t-test(unpaired)를 사용하였으며 p값이 0.05 미만인 것을

유의한 것으로 판정하였다.

본 실험에 사용한 약물 중 RP 52891(Rhone-Poulenc Rorer, 기증)과 glibenclamide(Sigma)는 순수 ethanol을 사용하여 10⁻³ M의 농축용액을 만들어 -20°C에 보관하였다가, 실험 직전에 증류수로 희석하여 사용하였다. 그 외 apamin(Sigma), EDTA disodium salt dihydrate(Fluka AG), procaine(Sigma)등의 약물은 증류수에 용해시켜 사용하였다. 이렇게 제조한 용액 상태의 약물은 micropipette를 사용하여 1 ml 용량의 실험조내에 약물 10 ml를 점적함으로써 약물이 실험조내에서 100배로 희석되어 목표로 하는 최종 농도에 이르게 하였다.

결 과

RP 52891은 배뇨근 절편의 자율수축을 농도의존적으로 억제하였는데, 10⁻⁶ M에서는 14.1±0.7%, 10⁻⁴ M에서는 65.7±0.9%이었으며, 10⁻³ M에서는 69.7±0.9%이었다. Logistic curve fitting에 의한 이 수축억제작용의 중간유효농도(EC₅₀)는 7.4±0.8 μM이었고 이론상의 최대 효능(E_{max})은 70.3±0.9%이었다. Imipramine도 역시 배뇨근 절편의 자율수축을 농도 의존적으로 억제하였는데, 10⁻⁶ M의 농도에서는 5.5±0.4%였고 10⁻⁴ M에서는 63.0±0.9%였으며, 10⁻³ M에서는 69.7±0.9%이었다. 이 농도-반응곡선의 EC₅₀는 29.2±1.8 μM이었고 E_{max}는 79.9±0.9%이었다. 이들 성적을 Fig. 3에 나타내었는데, EC₅₀는 RP 52891이 유의하게(p<0.05) 낮았고, E_{max}는 imipramin이 유의하게(p<0.05) 높았다.

Fig. 4는 RP 52891의 배뇨근이완 작용에 대한 procaine, glibenclamide 및 apamin의 길항작용을 나타낸 것이다. RP 52891에 의한 배뇨근이완은 procaine 10⁻⁵ M 존재하에서, 10⁻⁶ M에서 3.2±0.5%, 10⁻⁴ M에서는 57.5±4.2% 등이었고, 그 EC₅₀는 21.9±2.9 μM로서 대조군의 7.4±0.8 μM에서 비하여 유의하게(p<0.05) 높았으며, E_{max}는 70.2±5.5%로서 대조군의 70.3±0.9%에 비하여

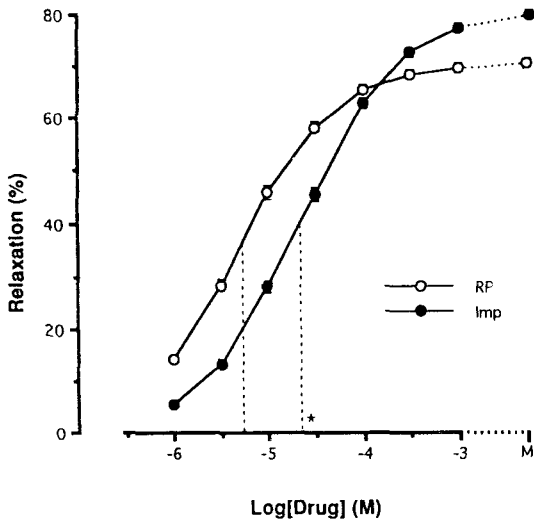


Fig. 3. Concentration-response curves of RP 52891 and imipramine on the isolated canine detrusor muscle strips. Data were fitted to the Clark's equation of Drug-Receptor interaction to calculate EC_{50} and E_{max} . ($n=15$ for each group) Intersections of the dotted lines with curves and abscissa indicate the $1/2E_{max}$ and EC_{50} , respectively. M; concentration of drug that elicit the maximum effect on logistic curve. * $p < 0.05$; significantly different between groups.

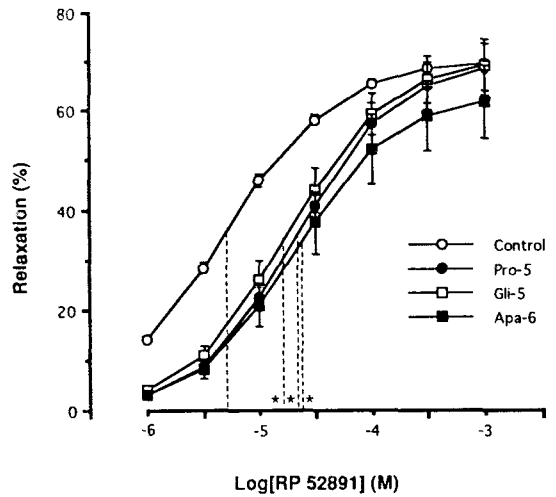


Fig. 4. Concentration-Responses of RP 52891 in the presences of procaine 10^{-5} M, glibenclamide 10^{-5} M and apamin 10^{-6} M. Bars on each data point indicate SEM. ($n=12$ for control, 5 for exp.) Data were fitted to the Clark's equation of Drug-Receptor interaction to calculate EC_{50} and E_{max} . Intersections of the dotted lines with curves and abscissa indicate the $1/2E_{max}$ and EC_{50} , respectively. * $p < 0.05$; significantly different from control.

유의한 차이가 인정되지 않았다. Glibenclamide 10^{-5} M 존재하에서는 10^{-6} M에서 $4.1 \pm 0.8\%$, 10^{-4} M에서는 $59.4 \pm 4.1\%$ 의 이완을 보였는데, EC_{50} 는 $19.6 \pm 5.3 \mu M$ 로서 대조군에 비하여 유의하게 ($p < 0.05$) 높았으며, E_{max} 는 $70.9 \pm 5.5\%$ 로서 대조군과 차이가 없었다. Apamin 10^{-5} M 존재하에서는 10^{-6} 에서 $3.1 \pm 0.8\%$, 10^{-4} M에서는 $52.3 \pm 7.0\%$ 의 이완을 보였는데, EC_{50} 는 $22.1 \pm 4.1 \mu M$ 로서 대조군에 비하여 유의하게 ($p < 0.05$) 높았으며, E_{max} 는 $63.4 \pm 7.3\%$ 로서 대조군에 비해 약간 낮은 경향을 보였으나 통계적 유의성은 인정되지 않았다.

Imipramine에 의한 배뇨근이완을 보면, procaine 10^{-5} M를 전처치하였을 때, 10^{-6} M에서 $5.2 \pm 4.1\%$, 10^{-4} M에서 $57.6 \pm 8.6\%$ 등이었고, EC_{50} 는 $47.8 \pm 18.3 \mu M$, E_{max} 는 $80.4 \pm 4.6\%$ 로서 대조

군에 비하여 유의한 차이가 없었다. Procaine을 10^{-4} M로 전처치한 경우에는 10^{-6} M의 $5.9 \pm 1.1\%$ 로 부터 10^{-3} M의 $79.0 \pm 6.2\%$ 까지 이완시켜 오히려 imipramine의 이완작용을 강화하는 경향을 보였고, 실제로 E_{max} 의 통계적 유의성은 인정되지 않았으나 EC_{50} 는 $14.3 \pm 3.5 \mu M$ 로서 대조군에 비하여 유의하게 ($p < 0.05$) 낮았다(Fig. 5).

Glibenclamide 10^{-5} M를 전처치 하였을 때는 10^{-6} M에서 $8.2 \pm 5.9\%$, 10^{-3} M에서는 $69.4 \pm 9.0\%$ 의 이완을 보여, EC_{50} 는 $22.2 \pm 8.8 \mu M$, E_{max} 는 $71.1 \pm 9.5\%$ 로서 대조군과 유의한 차이가 없었다. Glibenclamide의 첨가 농도를 10^{-4} M로 증량하였을 때는 EC_{50} 는 $18.8 \pm 4.4 \mu M$, E_{max} 는 $77.2 \pm 1.2\%$ 로서 imipramine의 이완작용을 오히려 강화하는 경향으로 나타났다(Fig. 6).

Apamin 10^{-5} M 존재하에서는 EC_{50} 가 15.2 ± 6.2

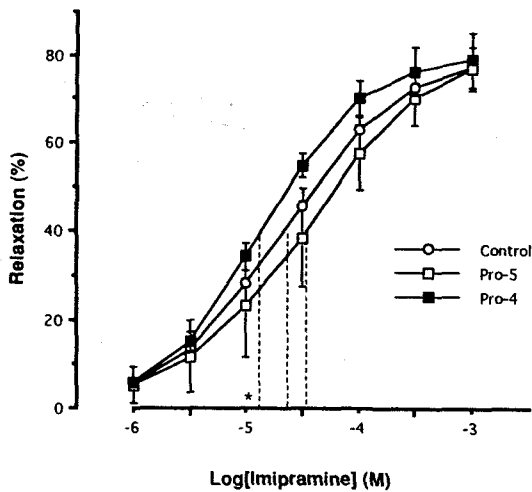


Fig. 5. Concentration-responses of imipramine on the isolated canine detrusor muscle strips in the presence of procaine. Imp; imipramine(n=15). Pro-5 and Pro-4 mean concentrations of procaine, 10^{-5} M(n=8) and 10^{-4} M(n=8), respectively. Values are mean \pm SEM. Data were fitted to the Clark's equation of Drug-Receptor interaction to calculate EC_{50} and E_{max} . Intersections of the dotted lines with curves and abscissa indicate the $1/2E_{max}$ and EC_{50} , respectively.

* $p < 0.05$; significantly different from control.

μ M로서 대조군과 유의한 차이는 인정되지 않았으나 약간 그 이완작용을 강화하는 경향을 보였으며, E_{max} 는 $76.5 \pm 1.4\%$ 로서 대조군과 별다른 차이가 없었다(Fig. 7).

Fig. 8은 전기장자극-유발 수축에 대한 imipramine의 길항효과를 나타낸 것이다. 근절편은 주파수의존성 수축현상을 보였는데, 1 Hz에서는 20초간의 지속적인 자극에 의하여 5.84 ± 0.66 Vsec의 수축을 보였고, 2 Hz에서는 7.07 ± 0.74 , 5 Hz에서는 9.64 ± 0.91 , 10 Hz와 20 Hz에서는 각각 11.66 ± 1.02 및 11.98 ± 1.04 Vsec의 수축을 보였다. Imipramine 10^{-6} M 전처치군에서는 1 Hz에서는 2.29 ± 0.27 Vsec로서 대조군에 비해 유의하게($p < 0.05$) 낮았으며, 이어서 2, 5, 10 및 20 Hz에서도 3.09 ± 0.40 , 4.69 ± 0.59 , 5.58 ± 0.67

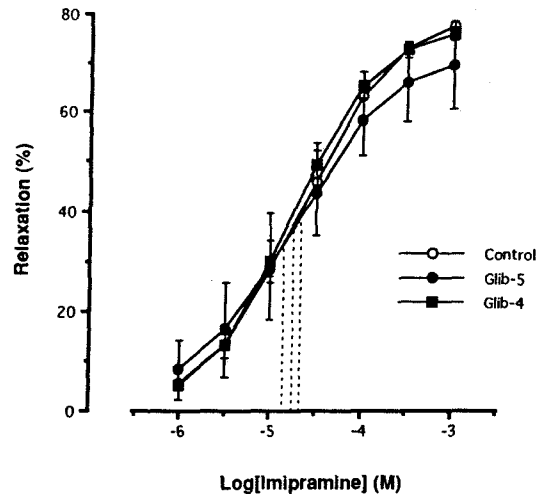


Fig. 6. Concentration-responses of imipramine on the isolated canine detrusor muscle strips in the presence of glibenclamide. Imp; imipramine(n=15). Gli-5 and Gli-4 mean concentrations of glibenclamide, 10^{-5} M(n=8) and 10^{-4} M(n=10), respectively. Values are mean \pm SEM. Data were fitted to the Clark's equation of Drug-Receptor interaction to calculate EC_{50} and E_{max} . Intersections of the dotted lines with curves and abscissa indicate the $1/2E_{max}$ and EC_{50} , respectively.

및 5.43 ± 0.62 Vsec로서 대조군에 비해 유의하게($p < 0.05$) 낮은 수축을 보였다. 10^{-5} M의 imipramine을 전처치한 군에서는 1, 2, 5, 10, 20 Hz에서 각각 1.69 ± 0.60 , 1.73 ± 0.69 , 1.97 ± 0.92 , 2.09 ± 0.96 및 1.94 ± 0.91 Vsec의 수축만을 보였으며 모든 경우에서 대조군에 비해 유의하게($p < 0.05$) 낮은 수축을 보였다.

Imipramine의 전기장자극-유발 수축 억제작용에 대하여 procaine, glibenclamide 및 apamin이 어떤 영향을 주는지를 관찰한 결과는 다음과 같다. Procaine 10^{-5} M 첨가군에서는 imipramine 10^{-6} M와 함께 첨가했을 때 1 Hz에서 1.01 ± 0.36 Vsec로서 대조군에 비해 유의하게($p < 0.05$) 낮았으며, 이어 2, 5, 10 및 20 Hz에서도 각각 1.25 ± 0.48 , 1.94 ± 0.56 , 2.26 ± 0.59 및 2.60 ± 0.58 Vsec

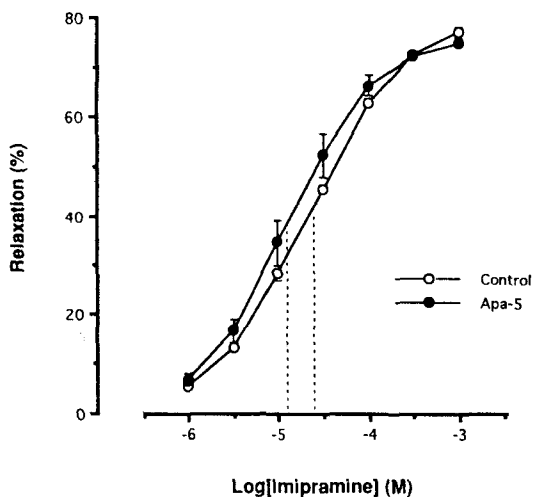


Fig. 7. Concentration-responses of imipramine on the isolated canine detrusor muscle strips in the presence of apamin. Imp; imipramine(n=15). Values are mean \pm SEM. Apa-5 means the concentration of apamin, 10^{-5} M(n=7). Data were fitted to the Clark's equation of Drug-Receptor interaction to calculate EC_{50} and E_{max} . Intersections of the dotted lines with curves and abscissa indicate the $1/2E_{max}$ and EC_{50} , respectively.

로서 대조군에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 낮았다. 이 성적은 imipramine 단독 첨가의 경우에 비해서 유의성은 인정되지 않았으나 대체로 그 수축성이 더욱 감소되는 경향을 보였다(Fig. 9). Glibenclamide 10^{-5} M를 imipramine과 함께 첨가한 군에서는 1 Hz부터 20 Hz까지 2.80 ± 0.95 Vsec내지 6.29 ± 0.60 Vsec로서 대조군에 비하여 유의하게 ($p < 0.05$) 낮았으며, imipramine 단독 전처치군의 2.77 ± 0.35 내지 7.28 ± 0.68 Vsec에 비해서는 거의 같은 수준으로서 차이가 없었다(Fig. 10). Apamin을 imipramine과 함께 첨가한 군에서는 1 Hz부터 20 Hz까지 2.04 ± 0.80 내지 5.44 ± 1.87 Vsec의 수축을 보였으며, 이는 대조군에 비해서는 유의하게 (< 0.05) 낮았고 imipramine 단독 첨가군에 비해서는 약간 높은 경향을 보였으나 유의하게 길항하지는 못하였다(Fig. 11).

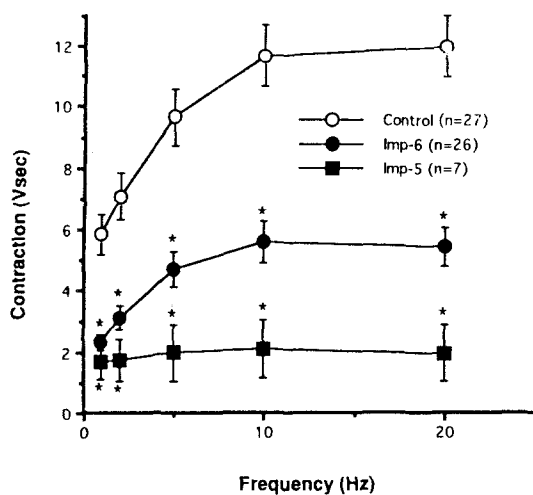


Fig. 8. Effect of imipramine on the electric field stimulation-induced contraction of isolated canine detrusor muscle strip. Bars on each data point indicate SEM. n=27 for control. Imp-6 and Imp-5 mean the concentrations of imipramine 10^{-6} M(n=26) and 10^{-10} M(n=7), respectively. * $p < 0.05$; significantly different from control

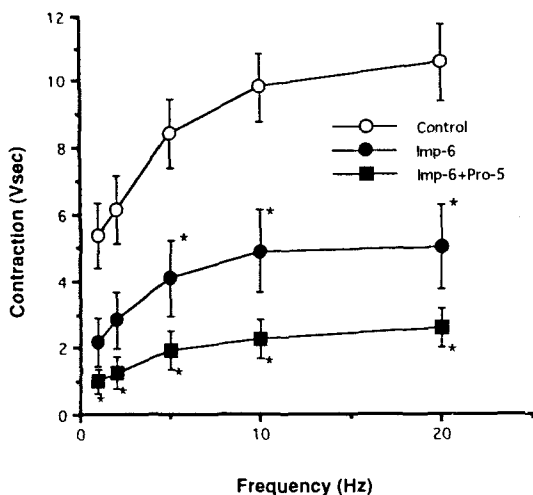


Fig. 9. Effect of procaine on the inhibitory action of imipramine on the electric field stimulation-induced contraction of isolated canine detrusor muscle strips. Imp-6; imipramine 10^{-6} M. Pro-5; procaine 10^{-5} M Bars on each data point indicate the SEM.(n=5) * $p > 0.05$; significantly different from control.

고 찰

배뇨장애를 동반하는 방광질환은 전립선비대, 전립선종양, 전립선염, 또는 방광경부암 또는 외상으로 인한 뇨로협착 등의 배뇨곤란을 동반하는 질병이 있는 한편, 빈뇨, 뇨실금, 다뇨증, 유뇨증 또는 야뇨증 등 배뇨과다를 나타내는 질환들이 있다. 배뇨의 과다를 주증상으로 하는 질환들 중에서 방광과민증(bladder hyper-reflexia)이나 원인을 알 수 없는 유뇨증(urinary incontinence) 또는 소아의 야뇨증(nocturia)의 치료를 위하여 사용되는 약물은 oxybutynin 등의 콜린성수용체봉쇄제들과 항이노호르몬의 유도체인 desmopressin 및 삼환계항우울제인 imipramine이 주로 시도되어 왔다(Miller 등, 1992; Rushton 1993). 그중 imipramine의 방광기능에 대한 작용기전은 아직 분명히 밝혀지지 않고 있으며, 임상적용시의 부작용으로서 소변 저류, 입마름, 위장 장애를 포함한 항콜린성 작용들과 졸음, 신경과민, 성결변화등 중추신경계 증상들을 나타낸다. 이와 같은 imipramine의 부작용 중 콜린성신경 봉쇄작용은 imipramine 뿐만 아니라 oxybutynine의 임상적용이 제한되어 온 가장 중요한 이유이며, 이와 유사하거나 보다 나은 임상효과를 나타내면서 보다 부작용이 경미한 제제의 개발이 요구된다.

Desmopressin은 imipramine과 동일한 효과를 보이면서도 부작용이 적어서 보다 유용하다고 하나(Rushton 1993), 이는 vasopressin과 유사한 아미노산 배열을 가진 항이노호르몬의 일종으로서, Guillaud 등(1993)에 의하면 야뇨증을 치료하기 위하여 desmopressin을 투여한 소아에서 심한 수분 중독이 발생한 경우가 있으므로, 이는 항이노호르몬 부족증으로 과다한 뇨생성이 유뇨증의 원인임이 밝혀진 환자에 국한해서 투여해야 한다고 하였다.

그러므로 imipramine의 작용기전을 규명하기 위한 연구는 계속되어야 하며, 그 임상응용시 부작용을 줄이기 위한 수단 또한 강구되어야만 할 것

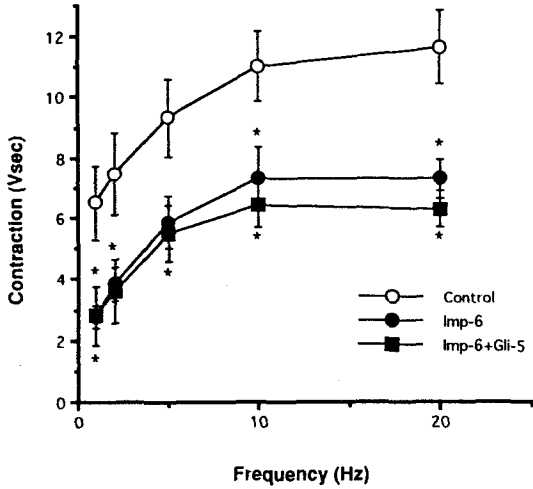


Fig. 10. Effect of glibenclamide on the inhibitory action of imipramine on the electric field stimulation-induced contraction of isolated canine detrusor muscle strips. Imp-6; imipramine 10^{-6} M. Gli-5; glibenclamide 10^{-5} M. Bars on each data point indicate the SEM.(n=9)
* $p < 0.05$; significantly different from control.

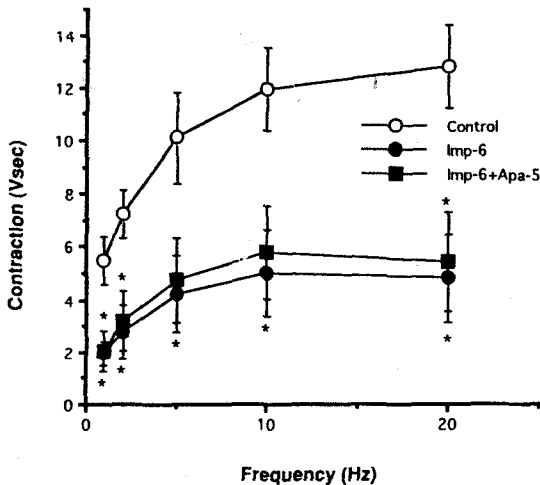


Fig. 11. Effect of apamin on the inhibitory action of imipramine on the electric field stimulation-induced contraction of isolated canine detrusor muscle strips. Imp-6; imipramine 10^{-6} M. Apa-5; apamin 10^{-5} M. Bars on each data point indicate the SEM.(n=5)
* $p < 0.05$; significantly different from control.

이다.

Imipramine의 방광에 대한 직접작용에 관한 연구보고를 보면, Lee 등(1992)은 imipramine의 흰쥐 배뇨근에 대한 수축 억제작용의 주된 기전은 평활근세포에 직접 작용하여 세포의 칼슘의 유입을 억제하는 것이라 하였다. 한편 Ha 등(1993)은 흰쥐의 방광에 ATP-의존성 K^+ 통로가 존재하며 K^+ 통로개방제들이 배뇨근을 이완시킨다고 하였다. 또 Lee 등(1994)은 수종의 K^+ 통로개방제들이 흰쥐의 배뇨근 절편을 이완시켰으며, ATP-의존성 K^+ 통로봉쇄제인 glibenclamide가 K^+ 통로개방제들에 의한 배뇨근절편의 이완을 길항하였다고 하였다.

본 연구에서는 흰쥐 배뇨근을 이용한 Ha 등(1993)과 Lee 등(1994)의 보고를 토대로 개의 배뇨근 절편에서 K^+ 통로의 존재를 확인하고, imipramine의 배뇨근 이완작용의 기전이 K^+ 통로와 어떤 관련이 있는지를 조사하여 보기로 하였다. 과연 개의 배뇨근에서도 K^+ 통로개방제가 이완작용을 나타내는지, 또 어떤 형의 K^+ 통로봉쇄제가 그 이완작용을 길항하는지, 또 imipramine의 이완작용은 그 K^+ 통로봉쇄제들에 의해 길항되는지, 길항된다면 어떤 형에 의해서 주로 길항되는지 등을 관찰해보기로 하였다.

개의 배뇨근 절편은 K^+ 통로개방제인 RP 52891에 의하여 농도의존적인 이완반응을 나타내었다. RP 52891은 thioformamide 유도체로서 흰쥐의 배뇨근을 이용한 Lee 등(1994)의 실험에서 pinacidil이나 BRL 38227보다 더 강력한 이완효과를 보여주었고, 본 실험에서도 개의 배뇨근을 imipramine보다 약 4배정도 강하게 이완시켰는데, 이는 개의 배뇨근에도 K^+ 통로가 존재하며 배뇨근의 긴장도 조절에 기여하고 있음을 시사한다고 사료된다.

개의 배뇨근에서 이완작용을 매개하는 K^+ 통로가 어떤 종류인지 조사하기 위하여 전위의존성 potassium 통로 봉쇄제인 procaine, 칼슘의존성 potassium 통로 봉쇄제인 apamin 및 ATP 의존성 potassium 통로 봉쇄제인 glibenclamide를 각각

전처치한 후에 RP 52891의 배뇨근 이완효과를 관찰하였다.

전위의존성 potassium 통로는 신경세포나 골격근 및 평활근 세포에 존재하며 세포막의 탈분극시에 개방되어 재분극에 기여하는데, 그 봉쇄제인 procaine은 잘 알려진 국소마취제로서 신경세포에서 sodium통로와 potassium통로를 봉쇄하며 (Borchard와 Drouin, 1980; Stolc 1988) 평활근 세포에서의 potassium 통로 봉쇄작용에 관한 연구도 진행되고 있다(Stockbridge 등, 1992).

칼슘의존성 potassium 통로의 봉쇄제인 apamin은 1970년대 후반에 벌의 독액으로부터 분리정제 및 생합성된 polypeptide neurotoxin(Sandberg와 Ragnarsson, 1978)으로서, Burgess 등(1981)과 Jones 등(1990)은 apamin이 해명의 간장세포와 기관근에서 각각 칼슘의존성 potassium 통로를 봉쇄한다고 보고하였다.

ATP 의존성 potassium 통로는 췌장의 β -세포, 심근 세포 및 혈관 평활근에서 발견되었는데 (Schmid-Antomarchi 1990), 이는 sulfonylurea계 통의 혈당 강하제인 glibenclamide에 의해 봉쇄된다(De Weille 등, 1988).

본 실험에서는 RP 52891에 의한 배뇨근 이완작용이 세가지 K^+ 통로봉쇄제 즉 procaine, glibenclamide 및 apamin에 의해 다같이 유의하게 억제되었다. Potassium 통로개방제의 배뇨근에 대한 작용의 연구보고는 많지 않은데, Grant와 Zuzack(1991) 및 Fujii 등(1991)은 해명의 배뇨근에 전위의존성 및 ATP 의존성 potassium 통로가 함께 존재한다고 하였다. 또 Lee 등(1994)의 보고에 의하면 흰쥐 배뇨근에는 췌장의 베타세포의 것과는 다른 종류의 ATP 의존성이며 glibenclamide 반응성인 potassium 통로가 존재한다고 하였다. 사람의 배뇨근에 대한 연구보고를 보면, Anderson 등(1988)과 Fovaeus 등(1989)은 pinacidil이 사람의 적출배뇨근에서 potassium 통로를 개방하여 세포막을 과분극시킴으로써 이완작용을 나타내었다고 하였다. 그러나 최근 pinacidil을 임상에 적용해본 Hedlund 등(1991)의

보고를 보면, 혈압을 유의하게 강하시키는 용량에서 배뇨근 반사 항진에 대한 치료효과를 얻지 못하였다고 하였다. 이와 같이 실험동물에 따라 각기 사람과 다른 결과가 보고되어 있는데, 본 실험의 결과로는 개의 배뇨근에는 어느 특정한 K^+ 통로 봉쇄제만이 존재하지않고 세가지가 공존하거나 아니면 세가지의 특성을 공통적으로 가진 종류의 K^+ 통로가 있어서 배뇨근 긴장도의 조절에 기여하고 있는 것으로 사료된다.

Imipramine역시 배뇨근 절편의 자율운동을 농도의존적으로 억제하였는데, 그 이완작용은 본 실험에 사용된 세가지 K^+ 통로봉쇄제의 어느것에 의하여서도 길항되지 않았다. 기본장력과 자율운동은 평활근세포 자체의 자율적 탈분극에 의해서 유지되는데, RP 52981이 procaine, glibenclamide 및 apamin에 의하여 길항되는 것과는 대조적으로 imipramine의 이완작용은 이들 K^+ 통로봉쇄제에 의하여 전혀 길항되지 않았다. Imipramine이 배뇨근의 자율운동을 억제한것은 배뇨근 자체의 내인성 탈분극에 의한 수축성을 억제한 것이나, 각종 K^+ 통로봉쇄제에 의하여 전혀 길항되지 않았다. Imipramine이 배뇨근의 자율운동을 억제한것은 배뇨근 자체의 내인성 탈분극에 의한 수축성을 억제한 것이나, 각종 K^+ 통로봉쇄제에 의하여 길항되지 않은 것은 그 억제작용이 K^+ 통로와는 관련성이 없음을 시사한다. procaine은 10^{-5} M에서는 imipramine의 이완작용을 약간 억제하는 경향을 보였으나, 보다 고농도인 10^{-4} M에서는 오히려 그 이완작용을 유의하게 강화하였다. 이러한 현상은 procaine이 K^+ 통로봉쇄작용 이외에 평활근의 칼슘 이용기전에 대한 억제적 작용이 있다는 보고와 연관된다고 생각된다. 즉 Zholos 등(1991)은 해명의 회장 평활근 세포에서 procaine이 세포내 저장소로부터의 칼슘 유리를 억제하여 세포질내의 유리 칼슘 농도를 저하시켰다고 하였고, Khoyi 등(1993) 또한 흰쥐의 정관에서 procaine에 의한 칼슘 유리 억제를 관찰하였다. 또 procaine 뿐만 아니라 고농도의 glibenclamide(10^{-4} M)나 apamin(10^{-5} M)역시 imipramine의 배뇨근 이완

작용을 강화하는 경향을 보인 것은 K^+ 통로봉쇄제인 lidocaine이 사람의 결장상피세포에서 carbachol에 의한 칼슘의 유입을 억제하였다는 Illek 등(1992)의 보고와도 일맥상통하는 바가 있다고 생각되며 향후 이들 K^+ 통로 봉쇄제의 calcium 이동 억제작용에 대한 연구도 필요할 것으로 사료된다. 이러한 현상은 이후에 실시한 전기장자극 실험에서도 유사한 경향으로 관찰되었다.

배뇨근 절편은 전기장자극에 의하여 주파수-의존성 수축반응을 나타내었는데, imipramine은 이 전기장자극-유발 수축을 유의하게 억제하였다. 이러한 imipramine의 전기장자극-유발 수축 억제작용에 대하여 glibenclamide나 apamin은 각각 10^{-5} M의 농도에서 아무런 영향을 주지 못하였고, procaine은 10^{-5} M를 첨가하였을 때 이를 오히려 강화하는 경향을 보였다. 이 또한 자율운동의 실험에서 관찰된 바와 유사한 결과이다.

전기장자극에 의한 평활근의 수축은 기본적으로 부교감신경자극에 의한 콜린성-무스카린성 수축임이 잘 알려져 있다. Imipramine은 이러한 배뇨근의 수축을 억제하였고, 본 실험에서의 K^+ 통로 봉쇄제들은 그 이완작용을 길항하지 못하였으며 그중 procaine은 imipramine의 근이완작용을 강화하는 경향을 보였다. 이 또한 앞서 말한 Illek 등(1992)의 보고를 주목하게 한다.

이상의 결과를 종합하면 개의 배뇨근에서는 전위의존성, ATP-의존성 및 칼슘의존성 K^+ 통로가 공존하거나 이들의 특성을 공유하는 K^+ 통로가 존재하는데, imipramine의 배뇨근 이완작용은 K^+ 통로와는 무관한 기전에 의한다고 사료된다.

결 론

개의 배뇨근에 대한 imipramine의 이완작용이 K^+ 통로봉쇄제들과 어떤 상호작용이 있는지를 관찰함으로써 그 작용기전이 K^+ 통로와 어떤 관련성이 있는지를 탐구하기위하여 다음과 같은 실험을 하였다.

개의 방광을 적출하여 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 의 Tyrode 영양액 내에서 길이 15 mm, 폭 2 mm의 배뇨근절편을 만

들었다. 이들 절편을 1 ml의 Tyrode 영양액이 함유되어 있는 적출 근편 실험조에 현수하여 등척성 장력을 측정하였다. 실험조내 영양액의 온도는 37°C로 유지시키고, 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합 기체를 공급하여 pH를 7.4로 유지하였다. 삼환계 항우울제인 imipramine과 비특이성 K⁺ 통로개방제인 RP 52891은 배뇨근 절편을 농도의존적으로 이완시켰다.

RP 52891의 배뇨근이완작용은 전위의존성 K⁺ 통로 봉쇄제인 procaine, ATP 의존성 K⁺ 통로 봉쇄제인 glibenclamide 및 calcium 의존성 K⁺ 통로 봉쇄제인 apamin 모두에 의하여 길항되었으나, imipramine의 작용은 세가지 K⁺ 통로 봉쇄제 중 어느 것에 의해서도 길항되지 않았다.

Imipramine은 배뇨근절편의 전기장자극-유발 수축을 농도-의존적으로 억제하였으나, 이 억제작용 또한 procaine, glibenclamide 또는 apamin 중 어느 것에 의해서도 길항되지 않았다.

이상의 결과를 종합하면 개의 배뇨근에는 전위의존성, ATP-의존성 및 칼슘의존성 K⁺ 통로가 공존하거나 이들의 특성을 공유하는 K⁺ 통로가 존재하는데, imipramine의 배뇨근 이완작용은 K⁺ 통로와는 무관한 기전에 의한다고 사료된다.

참 고 문 헌

- Akah PA: *Tricyclic antidepressant inhibition of the electrical evoked responses of the rat urinary bladder strip-Effect of variation in extracellular Ca⁺⁺ concentration.* Arch Int Pharmacodyn Ther 284(3): 231-238, 1986
- Andersson KE, Andersson PO, Fovaeus M, Hedlund H, Malmgren A and Sjogren C: *Effects of pinacidil on bladder muscle.* Drugs 36(Suppl 7): 41-49, 1988
- Axelrod J, Whitby LG and Hertting G: *The effect of psychotropic drugs on the uptake of 3H-norepinephrine by tissues.* Science 133: 383-384, 1961
- Borchard U and Drouin H: *Carticaine: action of the local anesthetic on myelinated nerve fibres.* Eur J Pharmacol 62(1): 73-79, 1980
- Burgess GM, Claret M and Jenkinson DH: *Effects of quinine and apamin on the calcium-dependent potassium permeability of mammalian hepatocytes and red cells.* J Physiol(Lond) 317(8): 67-90, 1981
- De Weille J, Schmid-Antomarchi H, Fosset M and Lazdunski M: *ATP-sensitive K⁺ channels that are blocked by hypoglycemia-inducing sulfonylureas in insulin-secreting cells are activated by galanin, a hyperglycemia-inducing hormone.* Proc Natl Acad Sci U S A 85(4): 1312-1316, 1988
- Fovaeus M, Andersson KE and Hedlund H: *The action of pinacidil in the isolated human bladder.* JUrol 141(3): 637-40, 1989
- Fujii K, Foster CD, Brading AF and Parekh AB: *Potassium channel blockers and the effects of cromakalim on the smooth muscle of the guinea pig bladder.* Br J Pharmacol 99(44): 779-785, 1990
- Grant TL and Zuzack JS: *Effects of potassium channel blockers and cromakalim(BRL 34915) on the mechanical activity of guinea pig detrusor smooth muscle.* J Pharmacol Exp Ther 259(3): 1158-1164, 1991
- Grover R, Wein AJ, Ruggieri MR and Levin RM: *Functional effects of imipramine on the rabbit urinary bladder: an in-vitro study.* Pharmacology 37(3): 148-153, 1988
- Guillaud R, Amram S, Lememme F and Lesbros D: *Desmopressin and water intoxication. Apropos of a case treated for enuresis.* Pediatrie (FRANCE) 48(10): 697-699, 1993
- HaJH, Lee KY and Kim WJ: *Actions of potassium channel openers in rat detrusor urinae.* J Kor Med Sci 8(1): 53-59, 1993
- Hedlund H, Mattiasson A and Andersson KE: *Effects of pinacidil on detrusor instability in men with bladder outlet obstruction.* J Urol 146(5): 1345-1347, 1991
- Illek B, Fischer H and Machen TE: *Intracellular Ca²⁺ signalling is modulated by K⁺ channel blockers in colonic epithelial cells(HT-29/B6)/ Pflugers Arch 422: 48-54, 1992*
- Jones TR, Charette L, Garcia ML and Kaczorowski

- GJ: *Selective inhibition of relaxation of relaxation of guinea-pig trachea by charybdotoxin, a potent Ca⁺⁺-activated K⁺ channel inhibitor. J Pharmacol Exp Ther* 255(2): 697-706, 1990
- Kales A, Kales JD, Jacobson A, Humphrey FJ and Soldatos CR: *Effect of imipramine on the enuretic frequency and sleep stage. Pediatrics* 60 (4): 431-436, 1977
- Khoyi MA, Dalziel HH, Zhang L, Bjur RA, Gerthoffer WT, Buxton IL and Westfall DP: *[Ca²⁺]_i-sensitive, IP₃-independent Ca²⁺ influx in smooth muscle of rat vas deferens revealed by Procaine. Br J Pharmacol* 110(4): 1353-1358, 1993
- Lee JB, Yoo KJ, Ha JH, Kwon OC, Lee KY and Kim WJ: *Mechanism of inhibitory effect of imipramine on isolated rat detrusor muscle in relation to calcium modulation. Kor J Pharmacol* 28(1): 81-89, 1992
- Lee KY, Jang MS, Kwon OC, Ha JH and Kim WJ: *Characteristics of potassium channel in the isolated rat urinary bladder. Can J Physiol Pharmacol* 72(Suppl 1): 576, 1994
- Levin RM, Staski DR and Wein AJ: *Analysis of the anticholinergic and musculotropic effects of desmethylimipramine on the rabbit urinary bladder. Urol Res* 11(6): 259-262, 1983
- Malkowicz SB, Wein AJ, Ruggieri MR and Levin RM: *Comparison of calcium antagonist properties of antispasmodic agents. J Urol* 138(3): 666-670, 1987
- Martin GI: *Imipramine pamoate in the treatment of childhood enuresis. Am J Dis Child* 122(1): 42-47, 1971
- Miller K, Atkin B and Moody ML: *Drug therapy for nocturnal enuresis. Current treatment recommendations. Drugs(UNITED STATES)* 44(1): 47-56, 1992
- Noronha-Blob L, Lowe VC, Peterson JS and Hanson RC: *The anticholinergic activity of agents indicated for urinary incontinence is an important property for effective control of bladder dysfunction. J Pharmacol Exp Ther* 251(2): 586-593, 1989
- Nilvebrant L, Andersson KE and Mattiasson A: *Characterization of the muscarinic cholinergic receptors in the human detrusor. J Urol* 134(2): 418-423, 1985
- Rapoport JL, Mik Kelsen EJ, Zavadil A, Lee L, Gruenau C, Mendelson W and Gillin JC: *Childhood enuresis II: Psychopathology, tricyclic antidepressants concentration in plasma and antienuretic effect. Arch Gen Psychiatry* 37 (10): 1146-1152, 1980
- Rushton HG: *Older pharmacologic therapy for nocturnal enuresis. Clin Pediatr Phila(USA) Spec No: 10-13, 1993*
- Sandberg BE and Ragnarsson U: *Solid phase synthesis of apamin, the principal neurotoxin in bee venom. Isolation and characterization of acetamidomethyl apamin. Int J Pept Protein Res* 11(3): 238-245, 1978
- Schmid-Antomarchi H, Amoroso S, Fosset M and Lazdunski M: *K⁺ channel openers activate brain sulfonylurea-sensitive K⁺ channels and block neurosecretion. Proc Natl Acad Sci USA* 87(9): 3489-3492, 1990
- Shaffer D, Stephenson JD and Thomas DV: *Some effects of imipramine on micturition and their relevance to its anti-enuretic activity. Neuropharmacology* 18(1): 33-37, 1979
- Stockbridge N, Zhang H and Weir B: *Potassium currents of rat basilar artery smooth muscle cells. Pflugers Arch* 421(1): 37-42, 1992
- Stolc S: *Comparison of effects of selected local anesthetics on sodium and potassium channels in mammalian neuron. Gen Physiol Biophys* 7(2): 177-189, 1988
- Sulser F, Vetulani J and Mobley PL: *Mode of action of antidepressant drugs. Biochem Pharmacol* 27(3): 257-261, 1978
- Winsberg B, Bailer J and Kupietz S: *Effect of imipramine and dextroamphetamine on behavior of neuropsychiatrically impaired children. Am J Psychiatry* 128(11): 1425-1431, 1972
- Zholos AV, Baidan LV and Shuba MF: *The inhibitory action of caffeine on calcium currents in isolated intestinal smooth muscle cells. Pflugers Arch* 419(3-4): 267-273, 1991