

저항동맥의 수축성에 대한 연구

함시영* · 김기환** · 서경필***

=Abstract=

Effects of Na-K Pump Inhibition on the Contractility of Resistant Arteries in the Rabbit

Shee Young Hahm, M.D.*, Kee Whan Kim, M.D.**, Kyung Pill Seo, M.D.***

Recently endogenous digitalis-like substances were found in the blood of various cardiovascular diseases and they have been considered one of the causes of evoking hypertension. However, the mechanism of endogenous digitalis-like substances-induced hypertension is not clarified yet. Therefore, the effects of Na-K pump inhibition on the contractility of vascular smooth muscle (conduit and resistant artery) were investigated, using organ bath and bioassay experiment. Aortic and carotid arterial rings (conduit artery) and the branches of brachial and superior mesenteric artery (resistant artery) were used to find the effect of Na-K pump inhibition.

The results obtained were as follows ;

The magnitudes of contractions induced by norepinephrine, serotonin, or acetylcholine in all these arteries were significantly increased by the inhibition of Na-K pump. The increased contractile responses to these agonists, especially to serotonin, were much more prominent in resistant arteries. Nitroprusside-induced relaxations were attenuated by Na-K pump inhibition and there were no significant differences in the effects of Na-K pump inhibition on nitroprusside-induced relaxations of these blood vessels. Endothelium-dependent relaxation was suppressed by the inhibition of Na-K pump, especially by the administration of ouabain, and this inhibitory effect was much more prominent in the branches of superior mesenteric artery, compared with other arteries. In the branches of superior mesenteric arteries, endothelium-dependent relaxation was completely blocked by ouabain. The release of EDRF was partially suppressed by Na-K pump inhibition.

From the above results, it is suggested that the hypertension due to the increase in vascular resistance can be evoked by the inhibition of Na-K pump and endogenous digitalis-like substances induce hypertension through this mechanism.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 28: 1079-95)

Key words : 1. Vasoactive substance
2. Vasoconstriction

* 한양대학교 의과대학 흉부외과학교실

* Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Hanyang University KuriHospital, Hanyang University College of Medicine

** 서울대학교 의과대학 생리학교실

** Department of Physiology, Seoul National University College of Medicine

*** 서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

*** Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Seoul National University Hospital, Seoul National University College of Medicine

논문접수일: 95년 2월 7일 심사통과일: 95년 7월 27일

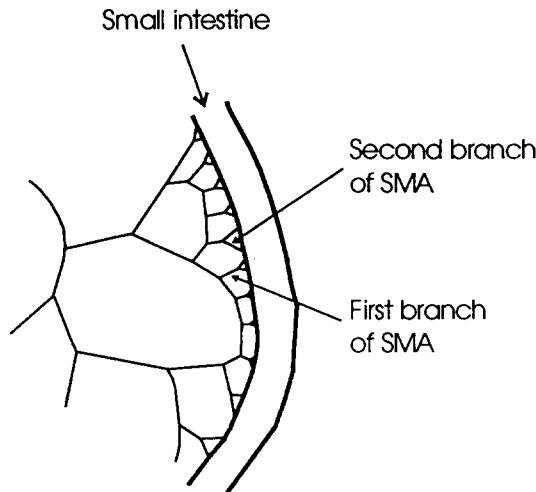
통신저자: 함시영, (471-020) 경기도 구리시 교문동 249-1, Tel. (0346) 60-2300

서 론

고혈압의 80~90%를 차지하는 것으로 알려진 본태성 고혈압의 병태생리학적 특성에 대하여 다음의 두가지 학설이 있다. 첫째, 혈관평활근 세포와 혈관내피세포의 기능에 이상이 있어서 혈액 속에 있는 여러가지 혈관 활성물질에 대하여 과민반응을 하거나 혈관평활근의 수축 및 이완 기전의 이상 즉 수축 기전과 이완 기전의 균형이 파괴됨에 의하여 고혈압이 유발된다는 설¹⁻⁵⁾과 둘째, 혈관평활근의 구조적인 이상에 의한 혈관벽의 비후로 인하여 혈관내경에 대한 혈관벽의 두께 비가 증가하여 고혈압이 유발된다는 설⁶⁾이다. 고혈압 동물에서 발견되는 혈관벽의 비후가 고혈압의 원인인지 아니면 혈압상승에 의한 이차적인 변화인지에 대하여는 이론의 여지가 있으나, 일반적으로 혈관평활근의 비후는 혈압상승에 대한 적응현상(adaptive phenomenon)으로 생각된다⁷⁾. 그러나 혈관평활근의 구조적인 이상이 혈관활성물질(vasoactive substances)에 대한 혈관평활근의 과민반응을 일으키므로 혈압상승에 의하여 야기된 혈관평활근의 비후는 혈관평활근의 수축력과 말초혈관의 저항을 증가시켜 고혈압을 유지하는 기전으로 작용할 가능성이 있다. 즉 고혈압은 혈관평활근 세포나 혈관내피세포의 기능적인 이상에 의하여 유발될 가능성이 높으며, 고혈압에 의하여 생긴 혈관벽의 비후가 고혈압을 더욱 진행시키거나 유지하게 하는 기전으로 작용하리라 생각된다. 그러므로 혈관평활근 혹은 혈관내피세포의 기능적인 이상으로 인한 혈관평활근의 수축과 이완기전의 불균형 즉 혈관평활근의 수축성이 증가하거나 이완기전의 이상으로 인한 vasomotor tone의 증가로 고혈압이 발생할 것이라는 가설이 우세하며 이를 입증하기 위한 연구가 많이 진행되고 있다. 한편 혈관평활근의 수축과 이완기전의 불균형을 혈관평활근 세포막의 이온이동의 이상에 따른 세포내 이온의 불균형을 통해서 밝히고자 하는 실험이 많이 시도되고 있다. 여러 세포막 이온 이동 기전 중에서 본태성 고혈압과 관련하여 가장 큰 관심을 받고 있는 것이 Na-K 펌프이며 내인성 digitalis-like substances가 본태성 고혈압을 유발시키는 원인물질로 생각되고 있다. Na-K 펌프는 세포의 부피와 Ca²⁺ 농도 및 흥분성 조절에 많은 영향을 주는데, 이는 세포 외에서는 Na⁺ 농도가 세포 내에서는 K⁺ 농도가 높은 정상적인 세포내외의 이온 분포를 결정하는데 많은 영향을 주며, 세포내 Ca²⁺ 농도는 세포내 Na⁺ 농도에 의하여 많이 조절되며 세포의 흥분성은 세포내외의 이온 조성에 의하여 영향을 많이 받기 때문이다. 즉 Na-K 펌프를 억제하면 혈관평활근 세포의 부피와 흥

분성의 변화를 초래하여 혈관평활근의 vasomotor tone과 혈관활성물질에 대한 반응성을 변화시켜 고혈압을 일으킬 가능성을 예측할 수 있다. 한편 Na-K 펌프 억제제로 작용하는 내인성 digitalis-like factors의 존재가능성은 deWarder and Clarkson⁸⁾에 의해서 제안된 이후 사람의 혈청 및 소변에서 분리되었으며^{8, 9)}, 내인성 digitalis-like substances가 일부 본태성 고혈압 및 임신관련 고혈압과 관련이 있음이 알려졌다¹⁰⁾. 그리고 Mathews 등¹¹⁾은 mass spectral analysis 방법으로 내인성 digitalis-like factors중 하나의 성상은 ouabain과 동일함을 보고하였으며, Bova 등¹²⁾은 내인성 digitalis-like substances의 작용이 ouabain과 유사함을 밝혔다. Na-K 펌프의 억제에 의한 능동적인 Na⁺ 이동 억제가 혈관평활근 수축성에 미치는 영향에 관한 연구에서 실험 동물, 사용 혈관의 종류에 따라 제각기 다양한 결과를 보고하고 있다. 특히 conduit artery와 resistant artery의 경우 서로 상반된 결과가 보고되고 있는데, 이는 Na-K 펌프 억제에 의하여 혈관평활근 수축성을 증가시키는 기전으로 생각되고 있는 Na⁺-Ca²⁺ 교환기전의 유무에 따른다. 즉 토끼와 쥐의 대동맥^{13, 14)}이나 사람의 crural vessels과 omental vessels¹⁵⁾에서는 Na-K 펌프 억제에 의하여 혈관평활근 수축력의 증가를 유발한 반면, resistant vessels에서는 그렇지 않다고 보고되었기 때문에^{7, 16)} large arteries에는 Na⁺-Ca²⁺ 교환기전이 있으나 resistant arteries에는 Na⁺-Ca²⁺ 교환기전이 없을 가능성이 제시되고 있다. 혈관평활근의 이완기전 중 내피세포 의존성 이완기전에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과에 대하여서도 실험 동물, 사용 혈관의 종류에 따라 제각기 다양한 결과를 보고하고 있다. 즉 ouabain은 사람의 복부 저항혈관의 아세틸콜린에 의한 이완을 농도와 작용 시간에 비례해서 억제하였고¹⁷⁾, 쥐의 흉부대동맥¹⁸⁾을 이용한 실험도 동일한 결과를 보고하였으나, 개의 관상동맥¹⁹⁾에서는 아세틸콜린에 의한 혈관이완에 미치는 ouabain의 영향은 없는 것으로 보고하였다. Na-K 펌프 억제시 resistant vessel의 저항이 증가되고 이로 인하여 본태성 고혈압이 발생될 것인가에 대하여는 아직 이론의 여지가 있다. 그러나 내인성 digitalis-like substances를 주입하였을 때 혈압 상승이 유발될 가능성²⁰⁾이 제시되고 있고 Mulvany 등⁷⁾의 보고와는 달리 resistant arteries에도 Na⁺-Ca²⁺ 교환기전이 있을 가능성이 제시되고 있음²¹⁾을 생각할 때, endogenous digitalis-like substances가 고혈압을 유발시킬 가능성을 밝혀내기 위해서는 Na-K 펌프 억제가 혈관평활근의 수축성에 미치는 영향 특히 혈관 부위별 및 large arteries와 resistant arteries에 미치는 영향 차이를 규명하고 혈관평활근의 이완기전에 미치는 Na-K 펌프 억제

(A) Branches of SMA



(B) Branches of brachial artery

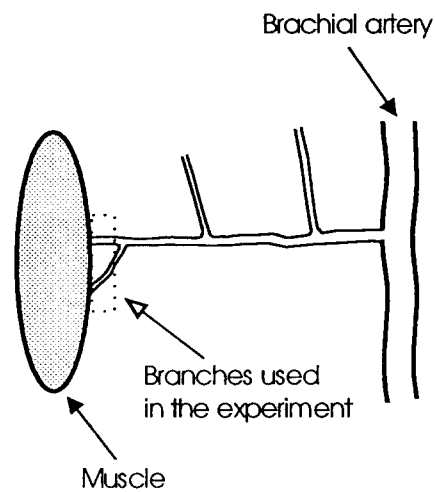


Fig. 1. A schematic representation of the branches of superior mesenteric(SMA) and brachial artery. The 1st branch of SMA (I.D., 100~150 μ m) and the perforating branch of brachial artery (I.D., 150~200 μ m) were used as representative resistant arteries in this experiment.

효과를 밝히는 것이 필요하다고 사료된다. 그러므로 본 연구에서는 현재 본태성 고혈압의 한가지 원인으로 사료되는 내인성 digitalis-like substances의 발병 기전을 밝히기 위하여 Na-K 펌프 억제제가 여러가지 종류의 혈관평활근 특히 저항혈관의 수축 및 이완에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

대상 및 방법

1. 실험 동물

체중 2.5kg 내외의 토끼를 암수 구별없이 사용하였다. 토끼는 pentothal sodium (40mg/kg)으로 마취한 다음 대퇴동맥을 절단하여 실험시켜 즉사시키고 대동맥, 경동맥, 상장간막동맥, 상완동맥을 적출하였다. 내피세포는 Furchgott와 Zawadzki의 방법에 따라 작은 스텐틸 혹은 stainless steel pin을 이용하여 제거하였으며, 내피세포의 제거 여부는 아세틸콜린 (10^{-6} M)에 의한 내피세포 의존성 이완 반응 발생여부로 판정하였다. 모든 실험은 37°C에서 시행하였다.

2. Organ bath study

대동맥, 경동맥은 너비 2mm 정도의 환형 절편 (arterial ring)을 만들어 실험에 이용하였으며, 상장간막동맥은 제

1 분지 (내경 100~150 μ m)를, 상완동맥은 주위 근육으로 perforating하는 branch (내경 150~200 μ m)를 근육 속으로 들어가기 바로 전 부위를 이용하여 너비 1mm 정도의 환형절편을 만들어 실험절편으로 사용하였다 (Fig. 1). 이 절편들을 95% O₂/5% CO₂로 포화된 modified Krebs-Ringer 용액 (NaCl 118.3, KCl 4.7, CaCl₂·2H₂O 2.5, MgSO₄·6H₂O 1.2, KH₂PO₄ 1.2, NaHCO₃ 25.0, calcium disodium ethylene diamine tetraacetic acid 0.026, glucose 11.1mM)이 4ml/min의 속도로 흐르고 있는 실험용기 (용량 0.5ml)에 옮겨 L 자형의 stainless steel (대동맥, 경동맥은 직경 250 μ m 정도의 stainless steel, 상장간막동맥의 분지와 상완동맥의 분지는 직경 50 μ m 정도의 stainless steel)을 이용하여 수축고정기와 근수축변환기 (Grass FT-03, Harvard)를 연결하고 physiograph (Grass)에서 등장성 수축을 기록하였다. 실험용기에서는 1시간 정도 회복시킨 다음 피동장력이 2g (대동맥, 경동맥)이 되게 절편의 길이를 늘려 주며, 상장간막동맥과 상완동맥의 분지는 30mM KCl에 의한 수축이 최대로 될 때까지 절편의 길이를 늘려주고 다시 1시간 정도 회복시킨 다음 실험을 시행하였으며 각 실험 사이의 간격은 1시간 정도로 충분히 회복시킨 다음 시행하였다. 내피세포를 제거한 혈관평활근들은 노에피네프린, 세로토닌, 아세틸콜린을 사용하여 수축시키고, 아세틸콜린을 사용하여 내피세포성 이완인자를 분비시켜 내피세포 의존성

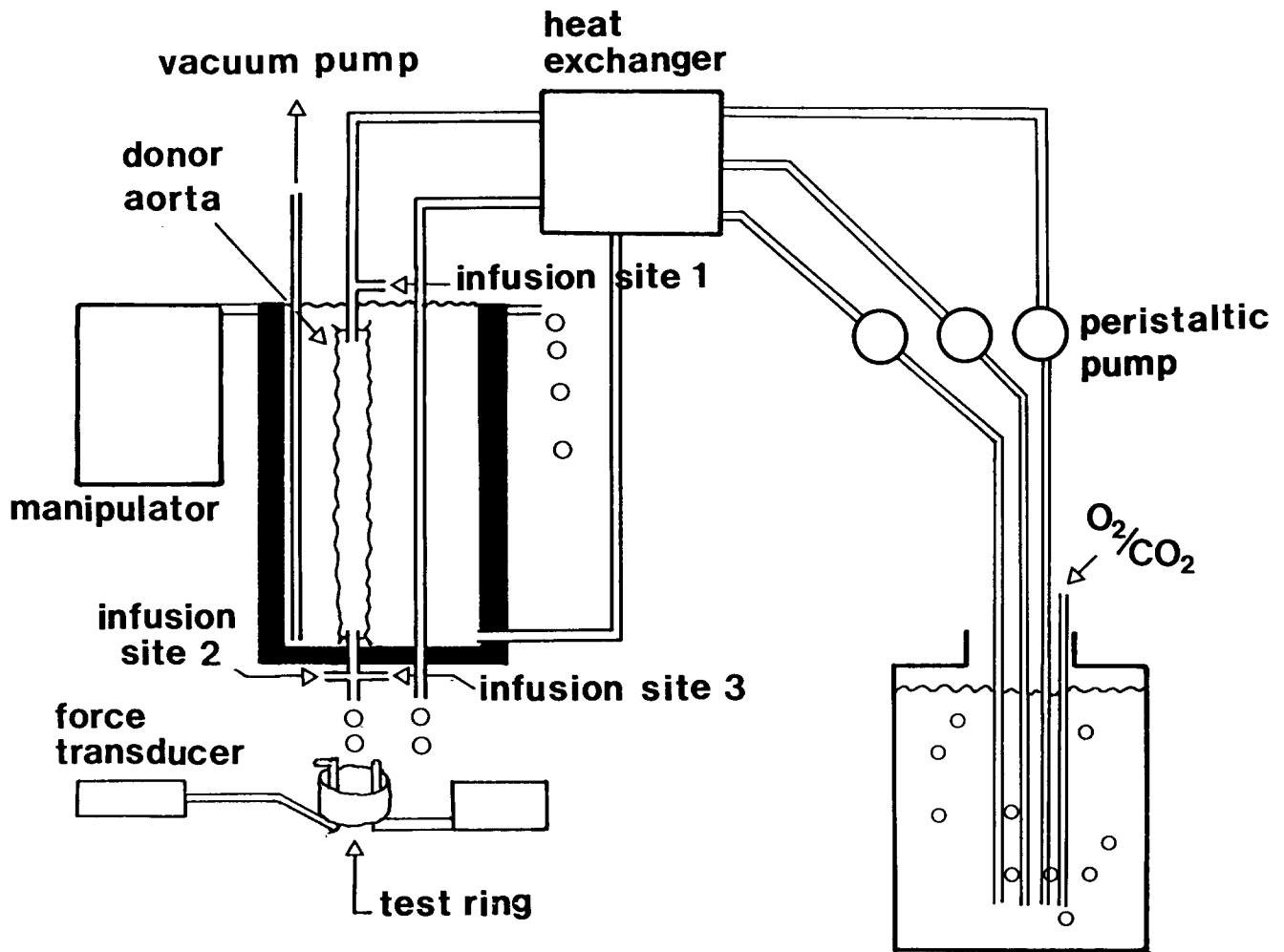


Fig. 2. A schematic representation of bioassay apparatus. Aorta with intact endothelium was used as a donor aorta of EDRF, and common carotid artery without endothelium as a test arterial ring.

혈관이완을 관찰하였으며, sodium nitroprusside를 이용하여 내피세포 비의존성 이완을 유발시켰다.

3. Bioassay of Endothelium Derived Relaxing Factor (EDRF)

토끼 총경동맥을 너비 2mm 정도로 자르고 내피세포를 제거하여 시험절편(test strip)으로 사용하였다. 흉부 및 복부 대동맥(신동맥이 분지하는 곳까지, 약 6cm)은 분지하는 혈관을 모두 묶은 다음 내피세포성 이완인자의 공급혈관(donor aorta)으로 사용하였다. 내피세포성 이완인자 공급혈관의 양끝을 polyethylene tubing으로 삽관하여 organ chamber에 설치하며 혈관 안팎을 각각 peristaltic pump로 95% O₂/5% CO₂로 포화된 modified Krebs-Ringer 용액을

흐렸다. 혈관 속을 관류하는 용액과 밖을 흐르는 용액은 서로 혼합되지 않도록 하며, 혈관을 관류한 관류액을 시험 절편에 떨어뜨렸다(Fig. 2). 혈관수축제인 노에피네프린과 내피세포성 이완인자의 분비 유발제인 아세틸콜린은 각각 infusion pump로 관류용액에 주입하였으며 내피세포성 이완인자의 분비 정도는 노에피네프린에 의하여 유발된 수축의 크기에 대한 이완 정도로 추정 비교하였다. 내피세포성 이완인자의 분비 및 이완작용에 미치는 영향을 알아보기 위해 사용되는 약물들은 실험의 목적에 맞추어 주입장소를 선정하여 주입하였다. 내피세포성 이완인자 공급혈관이 담겨있는 organ bath는 manipulator를 이용하여 움직일 수 있도록 하여, 공급혈관을 관류한 용액 혹은 polyethylene tubing을 관류한 용액 중에서 선택하여 시험절편

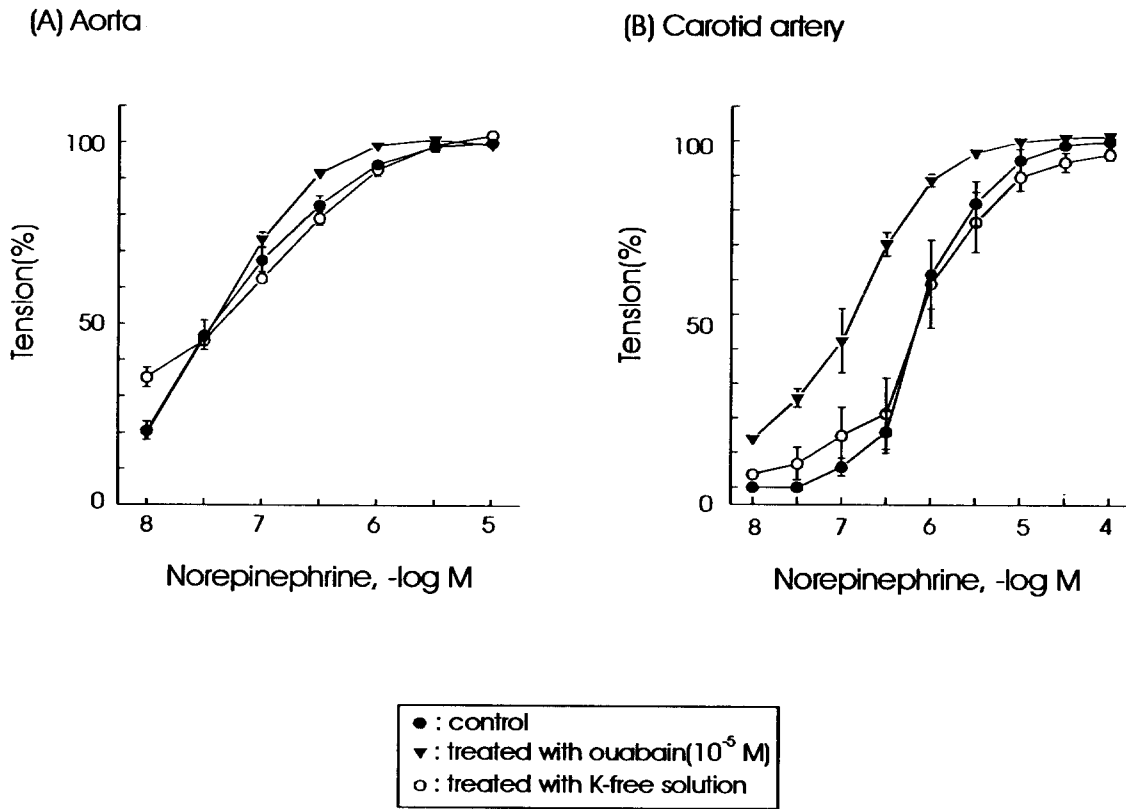


Fig. 3. Effect of Na-K pump inhibition on the contraction induced by norepinephrine(NE) in aorta (A) and carotid artery(B) without endothelium. Results are shown as mean \pm SEM and are expressed as percent of the contraction induced by 10^{-5} M (aorta, n=6) or 10^{-4} M NE(carotid artery, n=6).

에 떨어뜨릴 수 있도록 하였다. 실험 용액은 peristaltic pump로 2ml/min의 속도로 혈관 안팎으로 흘렸으며, 실험에 사용한 약물들은 infusion pump (Scientific & Research Instruments LTD)를 이용하여 0.02ml/min의 속도로 관류액에 주입하였다. Infusion pump로 주입되는 용액의 양은 관류액의 2~3%로 5%를 넘지 않게 하여 infusion pump로 주입되는 용액에 의하여 발생할 수 있는 오류를 최소화 하였다. 시험절편은 37℃에서 1시간 회복시킨 후 피동장력이 2g이 되게 길이를 늘여 주며 2시간 더 회복시키고 다음 실험을 시행하였다. 실험과 실험 사이는 1시간으로 충분히 회복시킨 다음 시행하였다.

4. Statistics

모든 통계자료는 평균과 표준편차로 표현하고 유의성 정도는 paired T-test와 unpaired T-test로 하여 유의 수준 $p < 0.05$ 로 검증하였다.

5. Drugs

실험에 사용된 약물은 다음과 같다.

Acetylcholine chloride, L-arterenol bitartrate, ouabain, nitroprusside, serotonin hydrochloride (Sigma).

Na-K 펌프는 ouabain 10^{-5} M 혹은 K-free 용액으로 30분간 전처치함으로써 억제하였다.

결 과

1. Na-K 펌프 억제가 혈관 수축물질들에 대한 혈관평활근 반응성에 미치는 영향

1) 노에피네프린에 의한 수축에 미치는 효과

노에피네프린에 의한 수축에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과를 대동맥과 총경동맥은 Fig. 3에, 상완동맥의 분지와

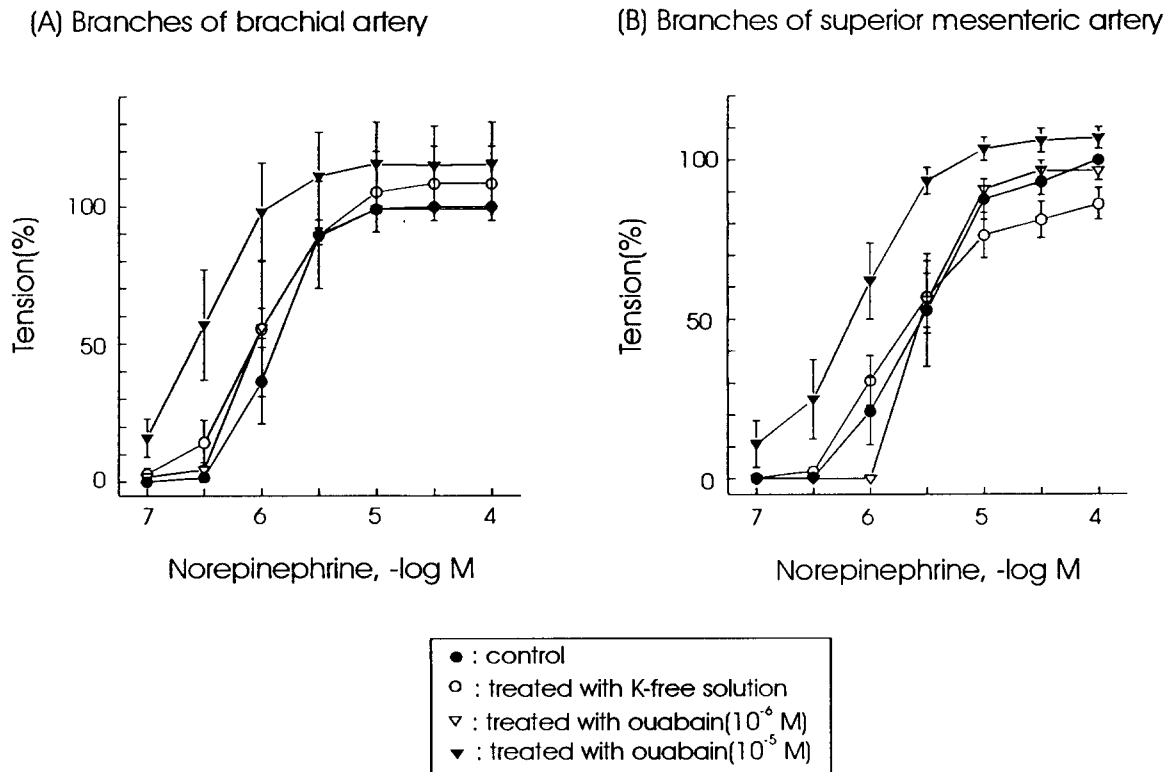


Fig. 4. Effect of Na-K pump inhibition on the contraction induced by NE in the branches of brachial(A) and superior mesenteric artery(B) without endothelium. Results are shown as mean \pm SEM and are expressed as percent of the contraction induced by $10^{-4} M$ NE (n=6).

상장간막동맥의 분지는 Fig. 4에 나타내었다. K-free 용액으로 Na-K 펌프를 억제하였을 때에는 노에피네프린에 의한 수축에 유의한 변화가 없었다. 그러나 ouabain에 의해서 대동맥에서는 유의한 변화가 없는 반면 총경동맥, 상완동맥과 상장간막동맥의 분지에서는 수축력의 증가를 관찰할 수 있었으며 ED_{50} 가 감소하는 것으로 미루어 노에피네프린에 대한 sensitivity가 증가함을 알 수 있었다.

2) 세로토닌에 의한 수축에 미치는 효과

세로토닌에 의한 수축에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과를 대동맥과 총경동맥은 Fig. 5에 상완동맥과 상장간막동맥의 분지는 Fig. 6에 각각 나타내었다. Na-K 펌프 억제에 의하여 세로토닌에 의한 수축이 모든 혈관에서 증가된 양상을 보이고 있다. 상완동맥과 상장간막동맥의 분지들에서는 대동맥이나 총경동맥과는 달리 $10^{-6} M$ ouabain에 의해서도 세로토닌에 대한 반응성이 유의하게 증가되었다. 특히 상장간막동맥의 분지는 ouabain에 의한 세로토닌

에 대한 수축성 증가가 다른 혈관에 비하여 더욱 크게 관찰되었다. Fig. 6(B)에서 보는 바와 같이 $10^{-4} M$ 세로토닌에 의한 수축은 500% 이상 증가되었다. 이 실험결과로 미루어 Na-K 펌프 억제 특히 ouabain에 의하여 세로토닌에 의한 혈관평활근의 반응성이 증가되는 데 특히 저항혈관에서 더욱 크게 증가됨을 알 수 있다.

3) 아세틸콜린에 의한 수축에 미치는 효과

아세틸콜린에 의한 수축에 미치는 ouabain의 효과를 Fig. 7에 나타내었다. 총경동맥에서는 아세틸콜린을 투여하였을 때 수축이 발생하는 반면 상완동맥이나 상장간막동맥의 분지에서는 아세틸콜린에 의한 수축이 관찰되지 않았다. 그러나 ouabain의 전처치에 의하여 총경동맥에서는 아세틸콜린에 의한 수축이 크게 증가하였고 상완동맥과 상장간막동맥의 분지에서도 수축이 기록되었다. 이 실험결과로 미루어 ouabain에 의하여 아세틸콜린에 의한 수축도 증가됨을 알 수 있다.

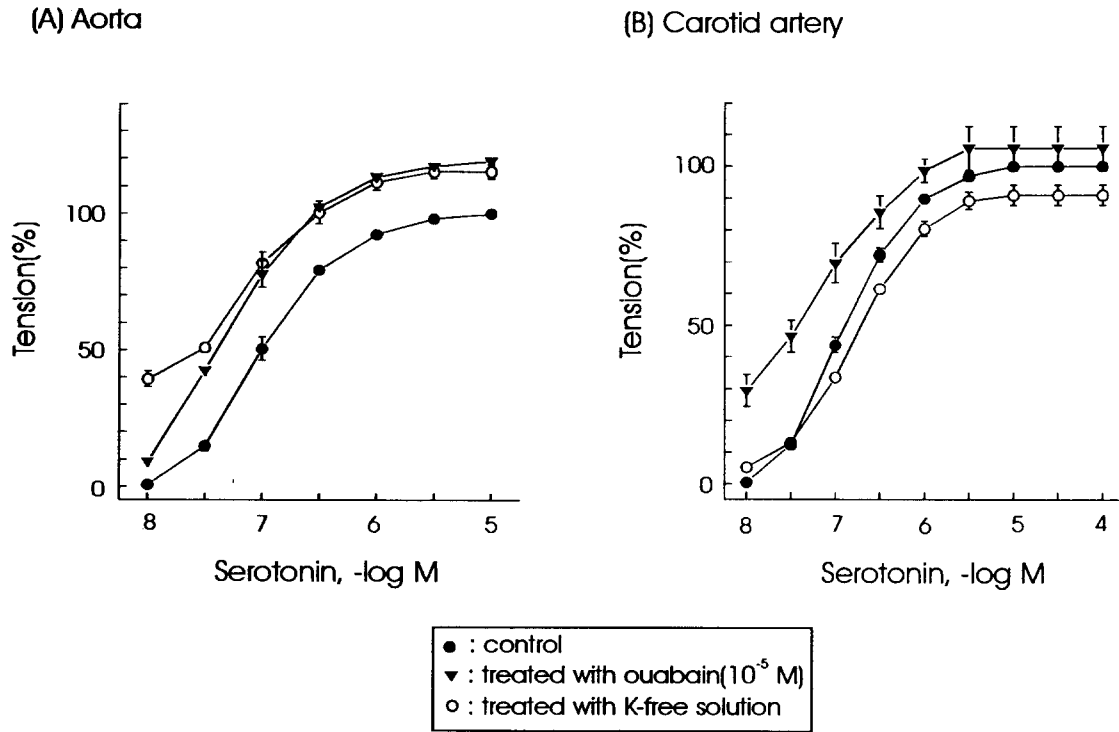


Fig. 5. Effect of Na-K pump inhibition on the contraction induced by serotonin in aorta(A) and carotid artery(B) without endothelium. Results are shown as mean \pm SEM and are expressed as percent of the contraction induced by 10^{-5} M (aorta, n=6) or 10^{-4} M serotonin(carotid artery, n=6).

2 Na-K 펌프 억제제가 nitroprusside에 의한 혈관평활근 이완에 미치는 영향

Sodium nitroprusside에 의한 내피세포 비의존성 이완에 미치는 ouabain의 효과를 Fig. 8, Fig. 9에 나타내었다. Ouabain의 전처치에 의하여 nitroprusside에 의한 이완이 대동맥과 상완동맥의 분지, 상장간막동맥의 분지에서 억제됨을 알 수 있다.

3 Na-K 펌프 억제제가 아세틸콜린에 의한 내피세포 의존성 이완에 미치는 영향

노에피네프린으로 수축을 시켰을 때 아세틸콜린에 의한 내피세포 의존성 이완에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과를 대동맥과 총경동맥은 Fig. 10에 상완동맥과 상장간막동맥의 분지는 Fig. 11, Fig. 12에 각각 나타내었다. Na-K 펌프 억제에 의하여 아세틸콜린에 의한 이완이 억제되었다. 그러나 그 억제정도는 혈관의 종류마다 차이를 보였는데, 총경동맥에서 억제정도가 가장 작았으며 상장간막동맥의 분지에서 가장 크게 나타났다. 상장간막동맥의 분지에서는

ouabain에 의하여 아세틸콜린에 의한 내피세포 의존성 이완이 완전히 억제되었다(Fig. 11, Fig. 12). 상장간막동맥의 분지에서 ouabain에 의하여 내피세포 의존성 이완이 완전히 억제되는 것은 혈관수축물질에 따른 차이는 없었다. 세로토닌으로 수축을 시켰을 때에도 아세틸콜린에 의한 내피세포 의존성 이완이 완전히 억제되었다(Fig. 13).

4 Na-K 펌프 억제제가 내피세포성 이완인자의 분비에 미치는 영향

Na-K 펌프 억제제가 내피세포성 이완인자의 분비에 미치는 영향을 Fig. 14에 나타내었다. Fig. 14(A)는 내피세포성 이완인자 공급혈관을 관류하는 관류액을 K-free 용액으로 관류를 시키면서 Fig. 2의 주입장소 2에서 K^+ 을 주입하여 관류 후의 K^+ 농도를 정상으로 보정하였을 때 즉 내피세포성 이완인자 공급혈관만을 K-free 용액에 노출하였을 때의 실험결과이다. Fig. 14(B)는 내피세포성 이완인자 공급혈관과 시험절편에 떨어지는 용액을 각각 달리한 상태에서 내피세포성 이완인자 공급혈관을 관류하는 용액에 ouabain(10^{-5} M)을 투여하고 30분 경과 후 내피세포성 이

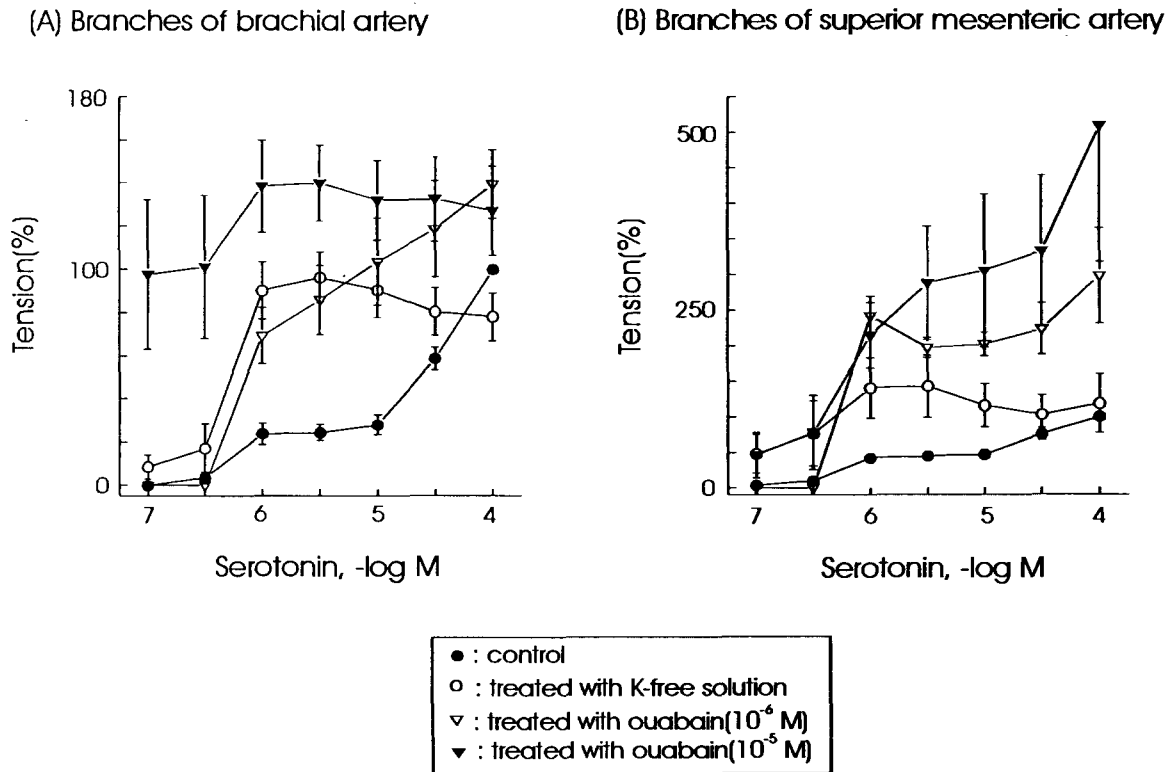


Fig. 6. Effect of Na-K pump inhibition on the contraction induced by serotonin in the branches of brachial (A) and superior mesenteric artery (B) without endothelium. Results are shown as mean \pm SEM and are expressed as percent of the contraction induced by 10^{-4} M serotonin (n=6).

완인자 공급혈관을 관류한 용액이 시험절편에 떨어지게 한 후 시행한 실험결과이다.

Fig. 14(A) 즉 내피세포성 이완인자 공급혈관만 K-free 용액에 노출하여 시험절편의 Na-K 펌프는 억제하지 않고 내피세포성 이완인자 공급혈관만 억제하였을 때 관류액에 의한 시험절편의 이완이 감소하여 내피세포성 이완인자의 분비가 감소함을 알 수 있었다. Fig. 14(B) 즉 내피세포성 이완인자 공급혈관은 ouabain으로 30분간 전처치를 하여 Na-K 펌프를 충분히 억제한 반면 시험절편은 실험시작 이후 ouabain에 노출되어 Na-K 펌프 억제에 의한 효과가 충분히 발현되기 전에도 시험절편의 이완이 감소하였다. Ouabain에 짧은 시간 동안 노출되는 경우 내피세포 의존성 이완이 억제되지 않음을 고려할 때 ouabain에 의하여 내피세포성 이완인자의 분비가 감소함을 알 수 있다.

고 찰

1. Na-K 펌프 억제가 혈관평활근의 수축성에 미치는 영향
노에피네프린에 대한 수축은 Na-K 펌프 억제에 의하여

대동맥에서는 유의한 증가가 관찰되지 않는 반면 총경동맥 및 상완동맥과 상장간막동맥의 분지에서 특히 ouabain에 의하여 유의하게 증가되었다. 세로토닌에 의한 수축에 미치는 Na-K 펌프 억제의 효과는 도관동맥 보다는 저항동맥에서, 저항혈관 중에서는 상장간막동맥의 분지에서 더 크게 나타났다. 즉 Na-K 펌프 억제에 의하여 노에피네프린, 세로토닌, 아세틸콜린에 의한 수축성이 증가하는데 세로토닌에 대한 수축성이 특히 크게 증가하였으며, K-free 용액 보다는 ouabain에 의하여 더 크게 증가하였으며, 도관동맥에 비하여 저항동맥에서 특히 상장간막동맥의 분지에서 더 크게 증가하였다. 약물에 대한 효과가 부위별 종류별로 차이가 나는 것은, 그 약물에 대한 receptors의 분포가 혈관 부위별, 종류별로 차이가 있으며 분포해 있는 receptors의 종류도 다를 가능성이 있기 때문에 당연한 결과로 사료된다. 그러므로 세로토닌에 대한 반응이 Na-K 펌프 억제에 의하여 저항혈관에서 도관동맥에 비하여 특히 크게 증가하는 현상은 두 혈관 사이에 있는 세로토닌 receptors 분포나 종류의 차이에 기인할 수 있다.

또한 Na-K 펌프 억제에 의한 혈관수축체에 대한 반응

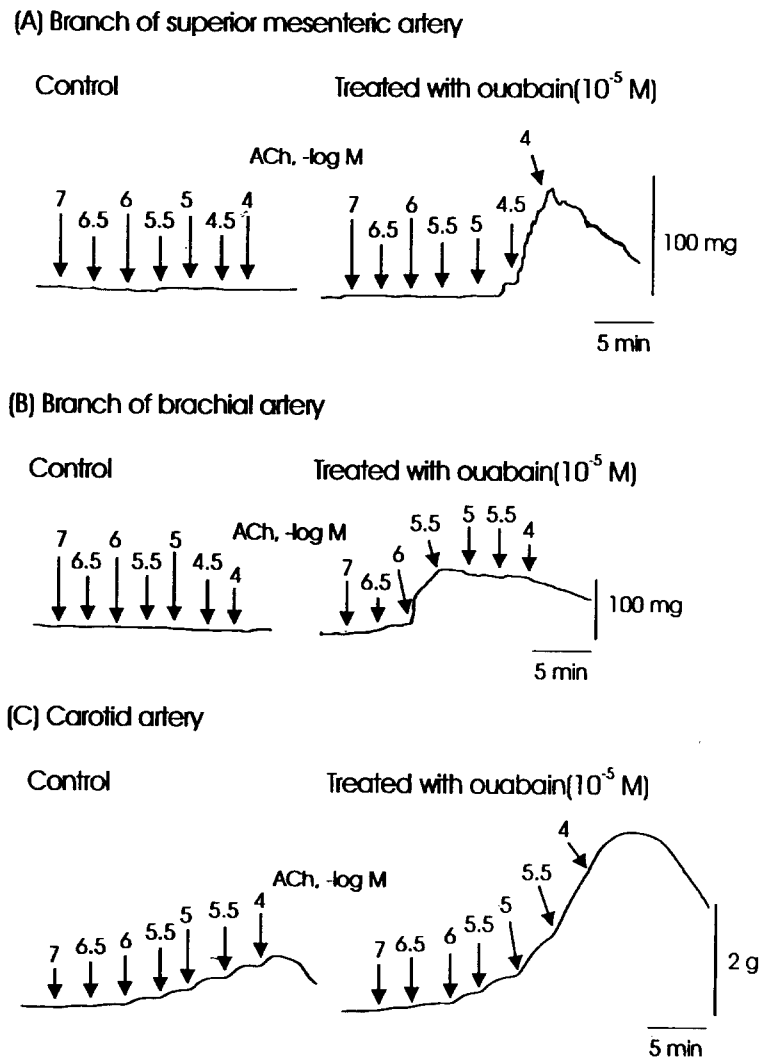


Fig. 7. Representative presentation showing the effect of Na-K pump inhibition on ACh-induced contraction in the branches of superior mesenteric(A) and brachial artery(B) and carotid artery(C) without endothelium (n=2).

성의 증가가 저항혈관에서 도관동맥에 비하여 더 크게 나타나는 것은 저항혈관과 도관동맥 혈관평활근의 세포막 성질(membrane property)의 차이에 의하여 기인할 수 있다. Na-K 펌프 억제에 의하여 혈관평활근의 수축성이 증가되는 기전은 Na-K 펌프 억제에 의하여 세포내 Na⁺ 농도가 증가하고 증가된 세포내 Na⁺에 의하여 Na⁺-Ca²⁺ 교환기전이 활성화되어 세포내 Ca²⁺ 농도가 높아짐에 의하는 것으로 알려져 있다. 그러므로 Na-K 펌프 억제에 의한 혈관수축제에 대한 반응성의 증가가 저항혈관에서 도관동맥에 비하여 더 크게 나타나는 현상은 저항혈관과 도관혈관 사이에 있는 Na-K 펌프의 활성화도 및 분포의 차이 혹은

Na⁺-Ca²⁺ 교환기전의 차이에 의한 가능성을 배제할 수 없다. 즉 Na-K 펌프의 활성화도 혹은 분포 정도가 도관동맥에 비하여 저항동맥에서 더 크거나 Na⁺-Ca²⁺ 교환기전이 저항혈관에서 도관혈관에 비하여 더 크게 작용함으로써 Na-K 펌프 억제에 의한 혈관수축제에 대한 반응성의 증가가 저항혈관에서 도관동맥에 비하여 더 크게 나타날 가능성을 배제할 수 없다. 그러나 Na-K 펌프 억제 특히 ouabain에 의한 기초장력의 변화가 혈관 종류에 따라 유의한 차이가 없다는 점과 저항혈관에서 Na-K 펌프 억제에 의한 혈관수축제에 대한 반응성의 증가가 노에피네프린에 비하여 세로토닌에 대한 반응성이 더욱 증가하였다는 점

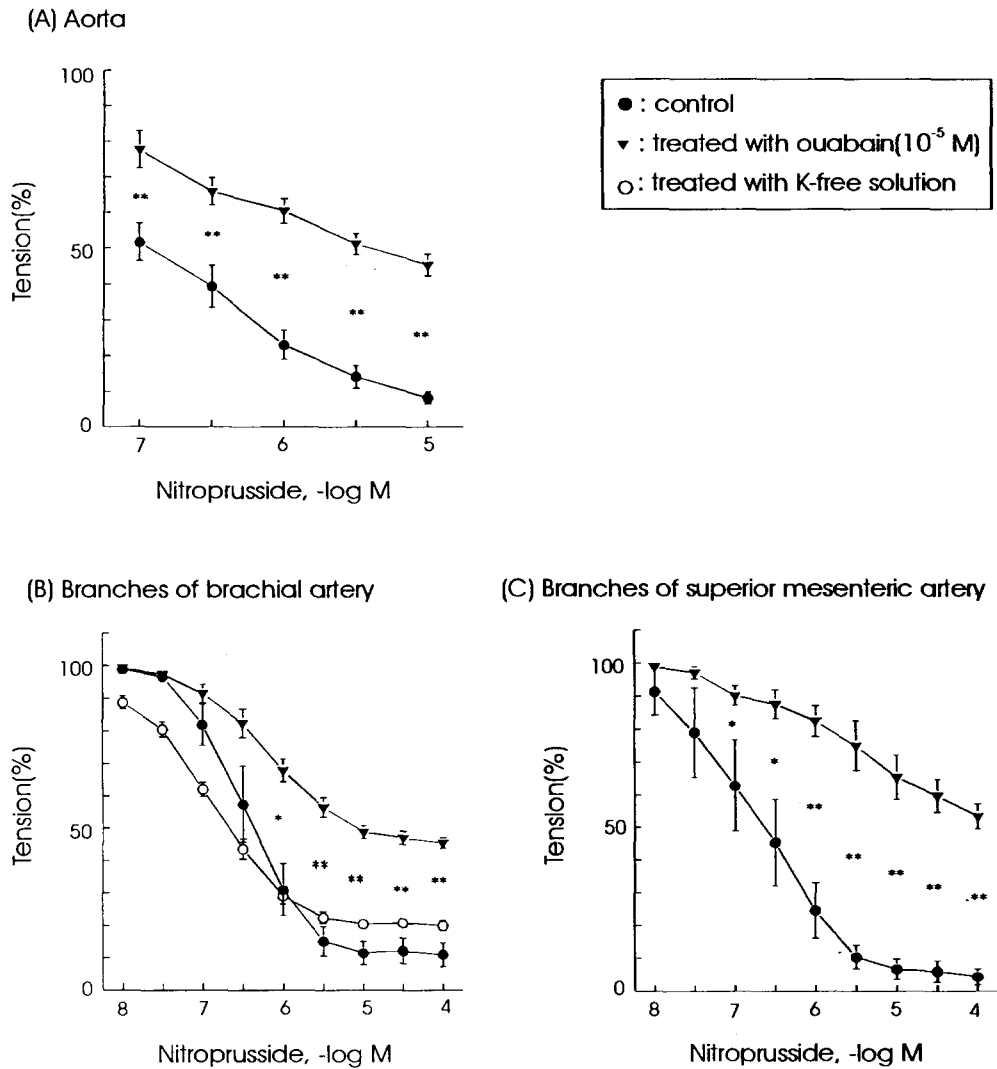


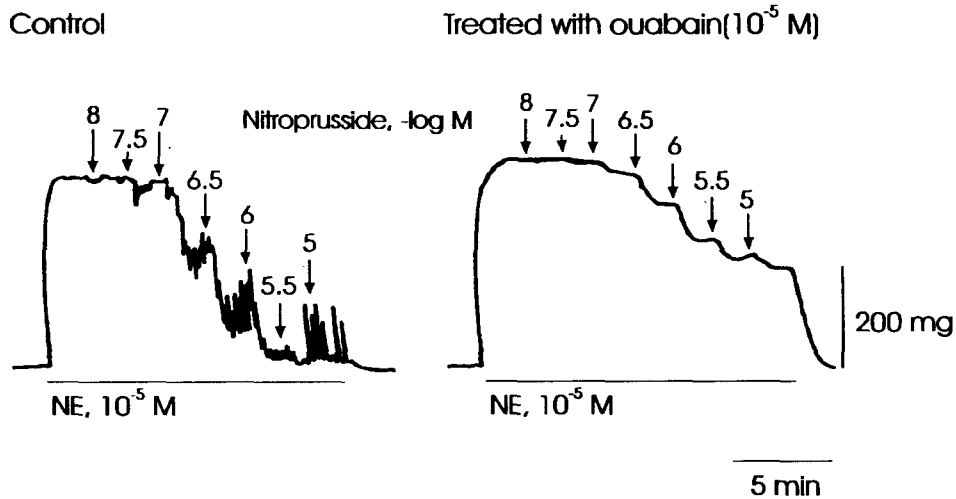
Fig. 8. Effect of Na-K pump inhibition on nitroprusside-induced endothelium-independent relaxation in aorta (A) and branches of brachial (B) and superior mesenteric artery (C). Results are shown as mean \pm SEM and are expressed as percent relaxation of the contraction induced by 10^{-6} M NE (aorta) and 10^{-5} M NE (branches of brachial and superior mesenteric artery). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with the control groups and rings treated with ouabain ($n=6$).

으로 미루어 이 현상은 세포막 성질의 차이 보다는 세로토닌 receptors의 분포 및 종류의 차이에 기인하였을 가능성이 크다. 혈관수축성의 증가는 혈관 저항의 증가를 초래하므로 Na-K 펌프 억제 특히 ouabain에 의하여 혈관평활근의 혈관수축물질에 대한 반응성이 도관혈관에 비하여 저항혈관에서 더욱 크게 증가하는 것은 Na-K 펌프 억제로 인하여 혈관 저항 특히 말초혈관 저항의 증가를 유발하고 이로 인하여 혈압이 증가할 가능성을 설명해 주리라 사료된다.

2. 혈관평활근의 이완에 미치는 Na-K 펌프 억제의 효과

혈관내피세포가 자율신경과 함께 혈관평활근의 수축성을 조절하는 것은 이미 잘 알려진 바 있다. 자율신경은 전신적인 혈관의 수축성을 조절하는 반면 혈관내피세포는 국소부위의 혈관평활근 수축성을 조절하는 것으로 알려져 있다. 한편 내피세포 의존성 이완의 감소는 다음 네가지 기전에 의하여 발생한다. 첫째, 내피세포성 이완인자에 대한 반응성의 감소 둘째, 혈관평활근 수축성의 증가 셋째,

(A) Branches of brachial artery



(B) Branches of superior mesenteric artery

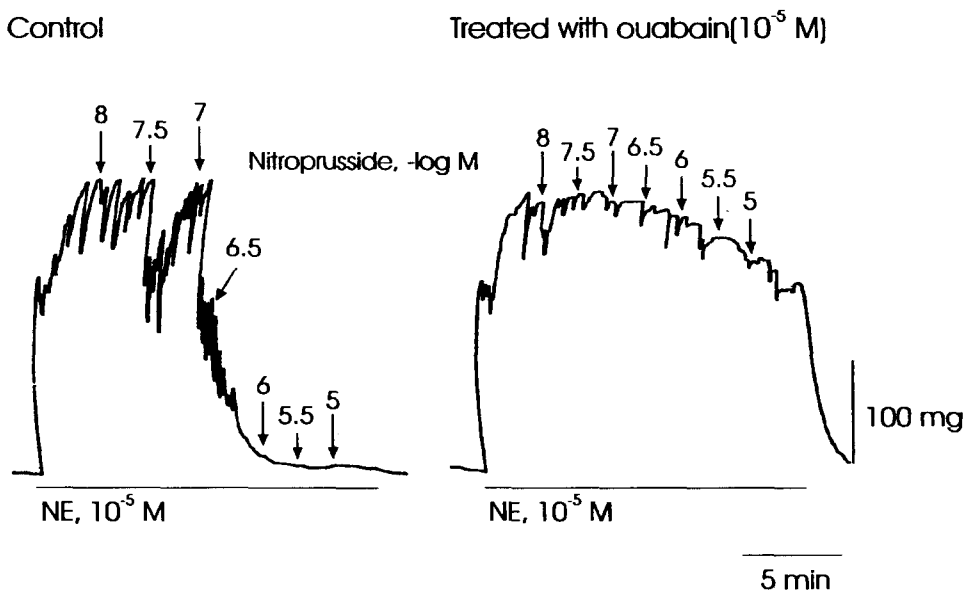


Fig. 9. Representative presentation showing the effect of Na-K pump inhibition on nitroprusside-induced relaxation in the branches of brachial (A) and superior mesenteric artery (B).

내피세포성 이완인자 분비의 감소 내재, 위 세가지 기전이 복합적으로 작용하여 내피세포 의존성 이완이 감소하는 네가지 기전으로 분류할 수 있다. 첫번째 기전에 대하여 살펴보면 Na-K 펌프 억제에 의하여 내피세포 의존성 이완이 억제되는 것은 Na-K 펌프 억제에 의하여 nitroprus-

side에 의한 이완이 감소하는 것으로 미루어 내피세포성 이완인자에 대한 반응성이 감소하였을 가능성이 있다. 그러나 이것으로는 Na-K 펌프 억제에 의한 내피세포 의존성 이완의 억제 정도가 상장간막동맥의 분지에서 더욱 크게 나타나는 현상을 설명하기에는 불충분하다. Nitroprus-

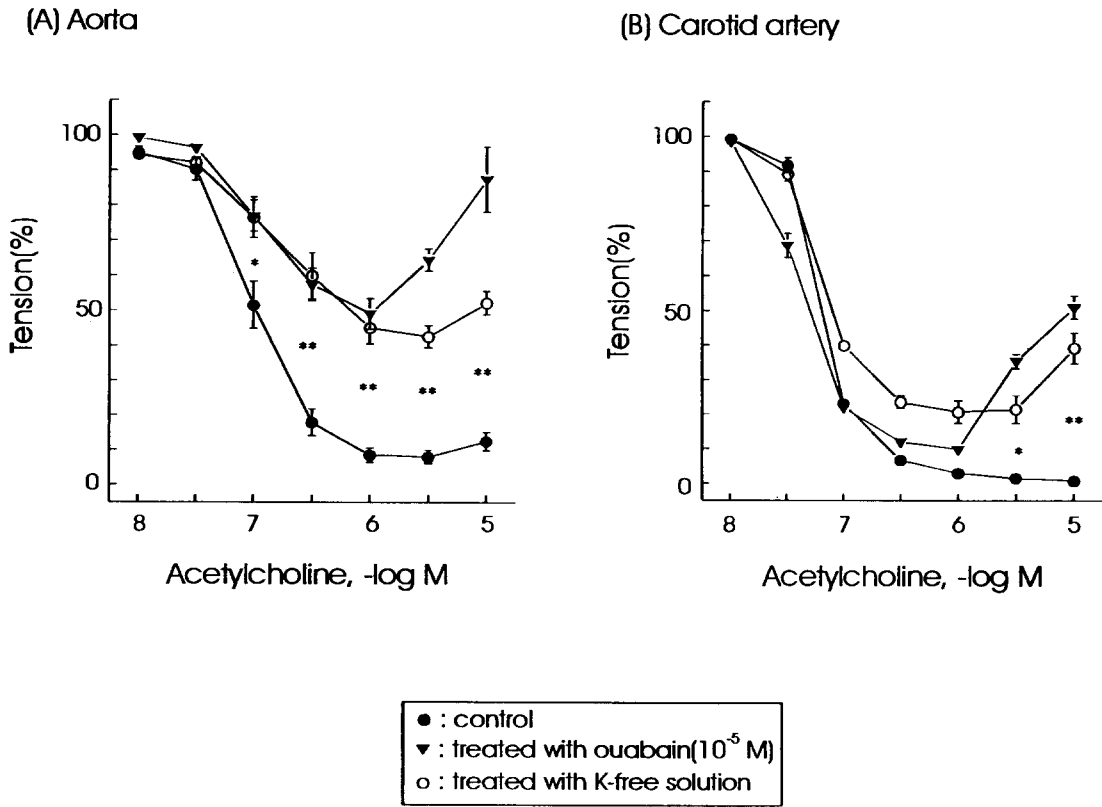


Fig. 10. Effect of Na-K pump inhibition on ACh-induced endothelium-dependent relaxation in aorta(A) and carotid artery(B). Results are shown as mean \pm SEM and are expressed as percent relaxation of the contraction induced by 10^{-6} M NE. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ as compared with the control groups and rings treated with ouabain ($n=6$).

side에 의한 이완에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과가 상완동맥의 분지와 상장간막동맥의 분지 사이에 유의한 차이가 없으나, Na-K 펌프 억제에 의한 내피세포 의존성 이완 억제가 상장간막동맥의 분지에서 더욱 크게 나타나는 것으로 미루어 볼때 Na-K 펌프 억제에 의하여 내피세포성 이완인자에 대한 반응성이 상장간막동맥의 분지가 상완동맥의 분지에 비하여 더 크게 일어나지 않음을 나타낸다.

두번째 기전을 살펴보면, 일반적으로 수축이 증가하면 내피세포 의존성 이완은 감소한다. 세로토닌에 의한 수축에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과는 상장간막동맥의 분지가 상완동맥의 분지에 비하여 더 크게 나타나지만 노에피네프린과 아세틸콜린에 의한 수축에 미치는 영향은 두 분지 사이에 차이가 없다. 그러나 내피세포 의존성 이완은 Na-K 펌프 억제로 인하여 상완동맥의 분지에 비하여 상장간막동맥 분지에서 더욱 크게 관찰되어 Na-K 펌프 억제에 의한 내피세포 의존성 이완의 억제 정도가 상장간막동맥의 분지에서 더욱 크게 나타나는 것은 Na-K 펌프 억

제에 기인한 혈관수축물질에 대한 반응성 증가가 서로 달라서 즉 상장간막동맥의 분지에서 더 크게 증가함에 의하여 일어날 가능성은 적으리라 사료된다. 세번째 기전에 대하여 살펴보면, Fig. 14에서 보는 바와 같이 Na-K 펌프를 억제하면 내피세포성 이완인자의 분비는 감소한다. 이는 다음과 같은 기전에 의한 것으로 사료된다. 즉 Na-K 펌프를 억제하는 경우 세포막이 저분극된다. 한편 혈관내피세포에서 내피세포성 이완인자를 분비하기 위해서는 내피세포 내 Ca²⁺ 농도의 증가가 있어야 하며 내피세포내 Ca²⁺의 유입은 혈관내피세포에서는 voltage operated Ca²⁺ channel이 없으므로 receptor operated Ca²⁺ channel(ROC)에 의한다. Receptor operated Ca²⁺ channel을 통한 Ca²⁺의 유입은 Ca²⁺이 양이온이므로 세포막이 저분극될수록 driving force가 작아져서 감소하게 된다. 그러므로 Na-K 펌프 억제로 인하여 세포막 전압이 저분극되면 혈관내피세포내로 Ca²⁺의 유입이 감소하게 되고 내피세포성 이완인자의 분비가 감소하게 된다. 그러나 Na-K 펌프 억제에 의한 내

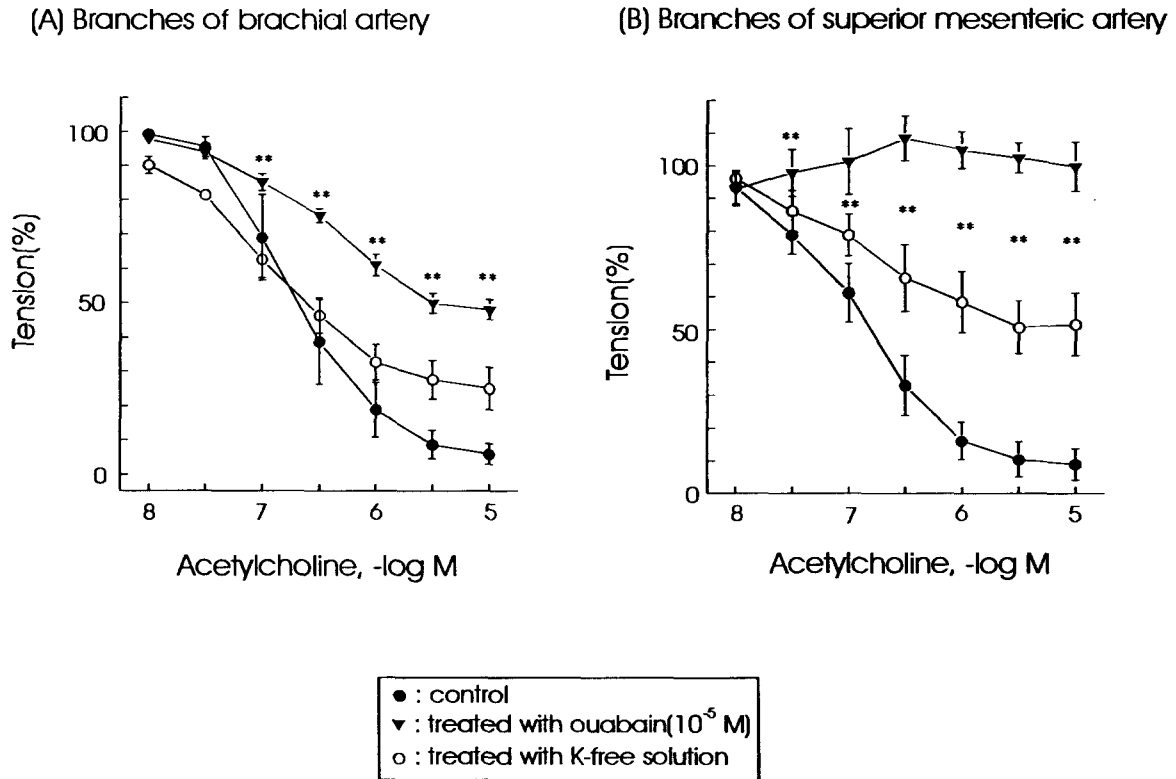


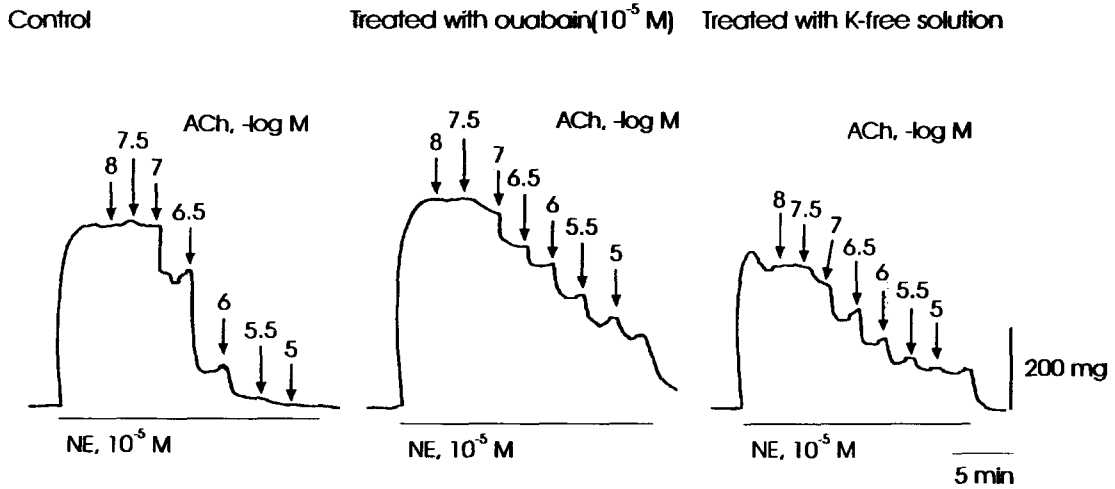
Fig. 11. Effect of Na-K pump inhibition on ACh-induced endothelium-dependent relaxation in the branches of brachial(A) and superior mesenteric artery(B). Results are shown as mean \pm SEM and are expressed as percent relaxation of the contraction induced by 10⁻⁵ M NE. *p < 0.05, **p < 0.01 as compared with the control groups and rings treated with ouabain (n=6).

피세포 의존성 이완의 억제 정도가 상장간막동맥의 분지에서 더욱 크게 나타나는 것을 설명하기 위해서는 상장간막동맥의 내피세포가 Na-K 펌프 억제에 의하여 다른 혈관들의 내피세포에 비하여 더 저분극됨을 증명해야 한다. 한편 Na-K 펌프 억제가 내피세포 의존성 과분극에 미치는 영향이 다를 가능성도 배제할 수 없다. 내피세포 의존성 과분극은 그 자체가 혈관평활근을 이완시킬 수 있으며 내피세포성 이완인자에 의한 반응성과 내피세포성 이완인자의 분비에도 영향을 줄 수 있다. 그러므로 Na⁺-K⁺ 펌프 억제가 내피세포 의존성 이완을 억제하고 그 억제 정도가 상장간막동맥의 분지에서 다른 혈관들에 비하여 더 크게 나타나는 기전을 밝히기 위해서는 세포막 전압과 내피세포 의존성 과분극에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과와 혈관 부위별 및 종류별로 그 억제효과 정도를 밝혀야만 할 것이다.

3. 내피세포성 이완인자의 분비에 미치는 Na-K 펌프의 영향

Fig. 14에서 관찰한 바와 같은 내피세포성 이완인자의 분비에 미치는 Na-K 펌프의 효과는 일반적인 신경전달물질의 분비에 미치는 Na-K 펌프의 작용과는 다른 양상이다. 즉 신경전달물질의 분비는 Na-K 펌프 억제에 의하여 증가되고 Na-K 펌프를 활성화시키면 신경전달물질의 분비는 억제되는 것으로 알려져 있다^{22, 23}. 이는 다음 두가지 기전에 의한 것이다. 첫째, Na-K 펌프를 억제하는 경우 세포내 Na⁺이 증가하게 되는데 이로 말미암아 Na-Ca 교환기전이 촉진되고 세포내 Ca²⁺ 저장고에서 Ca²⁺이 분비되어 세포내 Ca²⁺ 농도가 증가되어 신경전달물질의 분비가 증가한다. 두번째, Na-K 펌프를 억제하면 세포막 전압이 저분극되는데 세포막의 저분극은 세포막을 통한 Ca²⁺의 이동

(A) Branches of brachial artery



(B) Branches of superior mesenteric artery

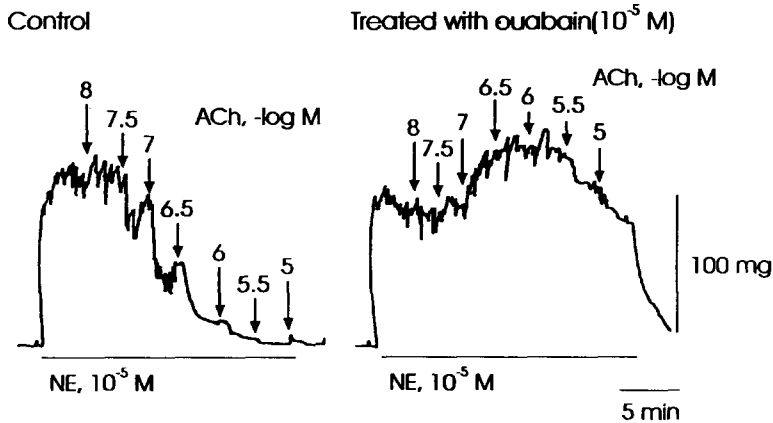


Fig. 12. Representative presentation showing the effect of Na-K pump inhibition on ACh-induced relaxation in the branches of brachial(A) and superior mesenteric artery(B), contracted with NE.

에 영향을 줌으로써 세포내 Ca^{2+} 농도에 영향을 미치게 되고 궁극적으로는 신경전달물질의 분비에 영향을 끼친다. 이것에 의하여 내피세포성 이완인자의 분비에 미치는 Na-K 펌프의 역할이 다른 신경전달물질의 분비에 미치는 영향과는 달라지는 것으로 사료된다. 즉 내피세포성 이완물질의 분비는 내피세포의 과분극에 의하여 촉진되는 반면 신경전달물질의 분비는 저분극에 의하여 촉진되기 때문이다. 내피세포성 이완인자의 분비에 대하여서도 Na-K 펌프는 위 두가지 기전에 의하여 영향을 주리라 사료된다. 즉 Na-K 펌프는 Na-Ca 교환기전과 세포막전압에 영향을 줌으로써 내피세포성 이완인자의 분비를 조절하리라 사료된다.

다. Na-K 펌프를 억제하면 Na-Ca 교환기전에 의하여 내피세포성 이완인자의 분비가 증가되는 반면, 세포막 전압이 저분극되면 ROC만 있는 혈관내피세포에서는 세포내로 Ca^{2+} 의 유입이 감소하게 되고 이로 말미암아 내피세포성 이완인자의 분비가 감소하게 됨에 의할 것으로 사료된다. Fig. 14의 결과는 이런 점에서 근본적인 문제점을 가지고 있다. Na-Ca 교환기전에 의한 영향을 고려하지 못한 실험결과이기 때문이다. 즉 내피세포성 이완인자가 Na-Ca 교환기전에 의하여 분비되리라 예상되기 때문에 아세틸콜린에 의한 더 이상의 내피세포성 이완인자의 분비가 감소될 가능성과 내피세포성 이완인자의 substrate인 L-

Branch of superior mesenteric artery

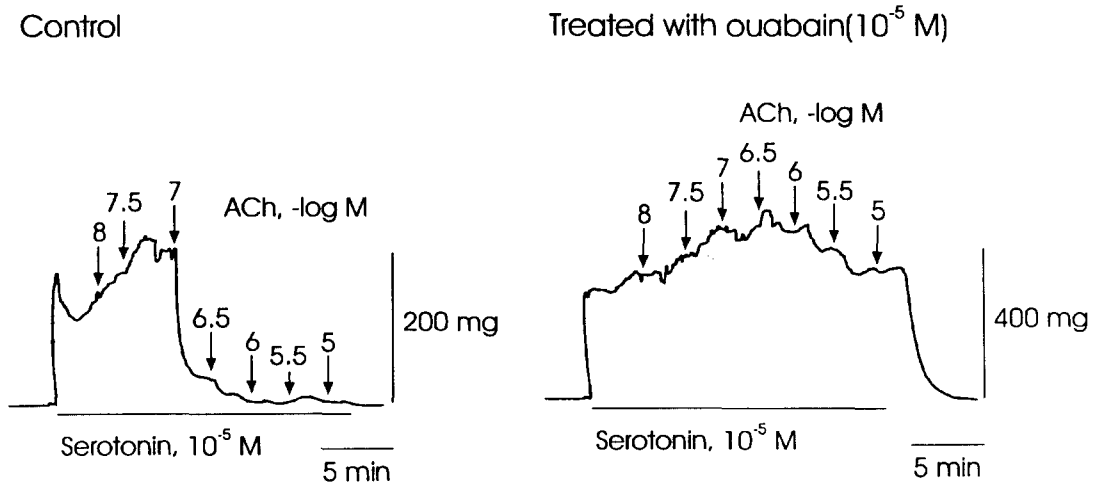


Fig. 13. Representative presentation showing the effect of Na-K pump inhibition on ACh-induced relaxation in the branches of superior mesenteric artery, contracted with serotonin (n=2).

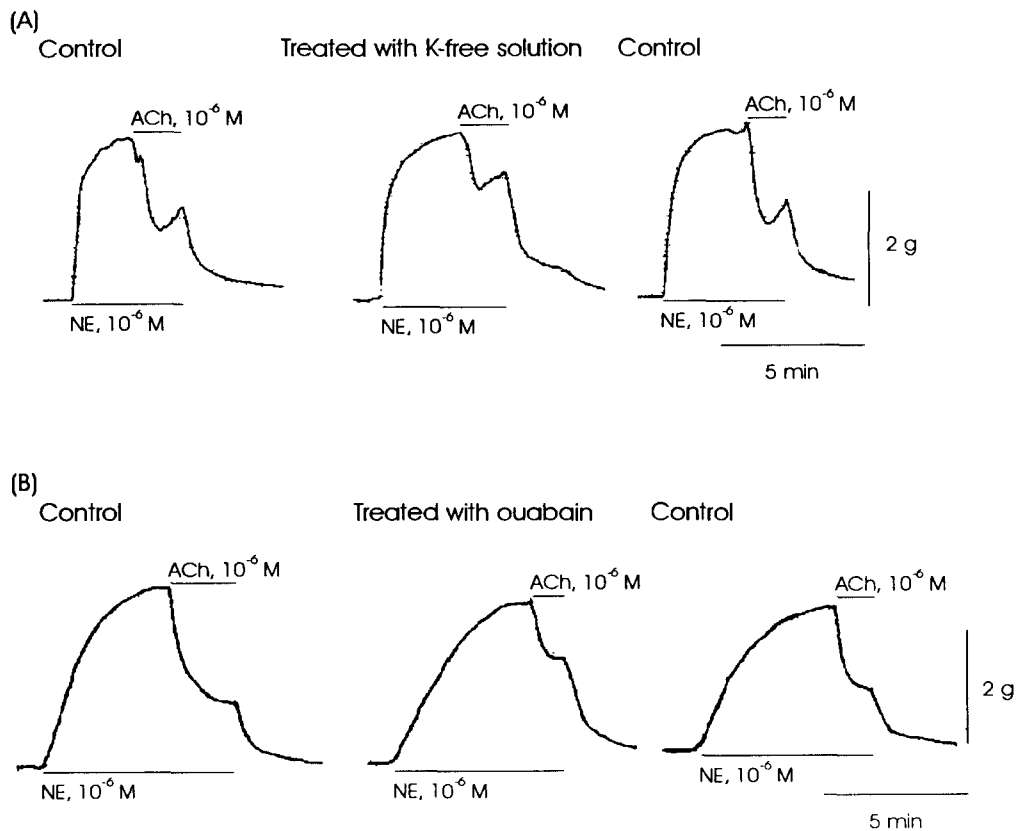


Fig 14. Effect of K-free solution(A) and ouabain(B) on the release of EDRF(s) from the thoracic aortic segment in bioassay experiment. Selective inhibition of Na-K pump of EDRF donor aorta with K-free solution or ouabain for 30 minutes decreased the magnitude of relaxation of test strip.

arginine이 고갈되어 아세틸콜린에 의한 내피세포성 이완 인자의 분비가 감소될 가능성을 배제하지 못하고 있기 때문이다.

4. 고혈압 병태생리 기전에서의 중요성

Endogenous digitalis-like substance가 정상적인 사람들의 혈장에서 발견이 되는데 그것이 ouabain과 동일하며 53 pM이라는 것이 밝혀졌으며^{24, 25}, Goto 등²⁶은 사람의 소변에서 digoxin을 발견하였다. 이러한 endogenous digitalis-like substance가 고혈압 질환에서 증가된다²⁷. 본태성 고혈압에서 발견되는 혈관긴장도 증가에 endogenous digitalis-like substance가 관여하리라는 것을 이미 오래전부터 제시된 바 있다²⁸. Endogenous digitalis-like substances가 혈관긴장도를 증가시키는 기전에 대하여서는 Na-K 펌프의 억제에 의한 저분극에 의하여 노에프네프린의 분비가 증가하고 이것이 혈관평활근의 수축성에 영향을 줄 가능성이²⁹이 제시되고 있으나 아직 명확하게 밝혀진 것이 없다. Na-K 펌프 억제에 의하여 혈관이완물질에 대한 이완이 감소하고 국소 부위 혈관의 수축성에 큰 영향을 미치는 내피세포 의존성 이완이 감소하는데, 특히 상장간막동맥의 분지에서 더욱 감소함은 Na-K 펌프 억제에 의하여 혈관의 수축성이 증가할 가능성을 보여주며, 혈관 수축성의 증가는 혈관저항의 증가를 유발하므로 결국 혈압을 상승시키는 기전으로 작용하리라 사료된다. 한편 복부 내장 영역의 혈류량은 심박출량의 약 25%를 차지한다. 저항혈관 중에서 내장의 혈류를 담당하는 상장간막동맥의 분지가 근육으로 가는 상완동맥의 분지에 비하여 Na-K pump 억제에 의한 효과가 더 크게 나타남은 Na-K 펌프 억제에 의한 말초혈관 저항 증가의 가능성을 뒷받침하는 것으로 사료된다.

결 론

본 연구에서는 Na-K 펌프 억제가 혈관수축물질 및 이완물질에 대한 혈관평활근의 반응성과 내피세포 의존성 이완에 미치는 영향을 혈관종류별 부위별 특히 저항혈관을 중심으로 관찰하였다. 도관동맥으로는 토끼 대동맥과 총경동맥을 저항혈관으로는 상완동맥의 분지와 상장간막동맥의 분지를 사용하였으며 organ bath study와 bioassay experiment 방법을 이용하여 노에피네프린, 세로토닌, 아세틸콜린에 대한 혈관평활근의 반응성과 nitroprusside에 의한 이완에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과와 내피세포성 이완인자의 분비에 미치는 Na-K 펌프 억제 효과를 관찰

하였으며 실험결과는 다음과 같다.

1. Ouabain에 의하여 노에피네프린, 아세틸콜린에 의한 수축성이 증가하였는데 대동맥에 비하여 총경동맥, 상완동맥의 분지, 상장간막동맥의 분지에서 더 크게 증가되었다.
2. Ouabain에 의하여 세로토닌에 의한 수축성이 증가하였는데 대동맥과 총경동맥에 비하여 상완동맥의 분지, 상장간막동맥의 분지에서 더욱 크게 증가되었다.
3. Na-K 펌프 억제에 의하여 nitroprusside에 의한 이완이 감소하였는데 대동맥, 상완동맥의 분지, 상장간막동맥의 분지에서 유의한 차이는 없었다.
4. Ouabain에 의하여 내피세포 의존성 이완이 감소하였는데 상장간막동맥에서는 완전히 억제되어 다른 혈관들에 비하여 더욱 크게 억제되었다.
5. Na-K 펌프 억제에 의하여 내피세포성 이완인자의 분비는 억제되었다.

이상의 결과로부터 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

Na-K 펌프 억제 특히 ouabain에 의하여 혈관평활근의 혈관수축물질에 대한 반응성이 증가하고 혈관이완물질에 대한 반응성은 감소하며, Na-K 펌프 억제에 의하여 내피세포성 이완인자의 분비가 감소된다. 이러한 현상은 저항혈관에서 더욱 현저하게 나타났는데 이러한 현상이 endogenous digitalis-like substances에 의한 고혈압 발병기전으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Johns AW, Hart RC. Altered ion transport in aortic smooth muscle during deoxycorticosterone acetate hypertension in the rat. *Circ Res* 1975;37:333-41
2. Harder DR, Contney SJ, Willems WJ, Stekiel WJ. Norepinephrine effect on in situ venous membrane potential in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 1981;24:H837-42
3. Webb RC, and Bohr DF. Potassium relaxation of vascular smooth muscle from spontaneously hypertensive rats. *Blood Vessels* 1979;16:71-9
4. Webb RC, Bohr DF. Recent advances in the pathogenesis of hypertension: Consideration of structural, functional, and metabolic vascular abnormalities resulting in elevated arterial resistance. *Am Heart J* 1981;102:251-67
5. Lischer TF, Vanhoutte PM, Boulanger C, Dohi Y, Buhler FR. Endothelial dysfunction in hypertension. In: Rubanyi GM. *Cardiovascular Significance of Endothelium-Derived Vasoactive Factors*. New York Futura Publishing Company, Inc. 1991:199-221
6. DeWardener HE, Clarkson EM. *Concept of natriuretic hor-*

- mone*. *Physiol Rev* 1985;65:12-85
7. Mulvany MJ, Aalkjaer C, Nilsson H, Korsgaard N, Peterson T. Raised intracellular sodium consequent to sodium-potassium-dependent ATPase inhibition does not cause myogenic contractions of 150 micron arteries from rat and guinea pig. *Clin Sci* 1982;63:45s-8s
 8. Cloix JF. *Endogenous digitalis-like compounds. A tentative update of chemical and biological studies*. Hypertension Dallas 10, Suppl I. 1987;167-70
 9. Hamlyn JM, Harris DW, Ludens JH. *Digitalis-like activity in human plasma. Purification, affinity, and mechanism*. *J Biol Chem* 1989;264:7395-404
 10. Hamlyn JM, Ringel R, Schaeffer, et al. *A Circulating inhibitor of (Na⁺-K⁺)ATPase associated with essential hypertension*. *Nature* 1982;300:650-2
 11. Mathews WR, DuCharme DW, Hamlyn JM, Harris DW, Mandel F, Clark, Ludens JH. *Mass spectral characterization of an endogenous digitalis-like factor from human plasma*. *Hypertension* 1991;17:930-5
 12. Bova S, Blaustein MP, Ludens JH, Harris DW, DuCharme DW, and Hamlyn JM. *Effects of an endogenous ouabainlike compound on heart and aorta*. *Hypertension* 1991;17:944-50
 13. Reuter H, Blaustein MP, Haeusler G. *Na-Ca exchange and tension development in arterial smooth muscle*. *Philos Trans R Soc London (Biol)* 1973;265:87-94
 14. Blaustein MP. *Sodium ions, calcium ions, blood pressure pressure regulation, and hypertension: A reassessment and a hypothesis*. *Am J Physiol* 1977;233:C165-73
 15. Mikkelsen E, Andersson KE, Pedersen OL. *Effects of digoxin on isolated human peripheral arteries and veins*. *Acta Pharmacol Toxicol* 1979;45:249-56
 16. Aalkjaer C, Mulvany MJ. *Effect of ouabain on tone, membrane potential and sodium efflux compared with [³H] ouabain binding in rat resistant vessels*. *J Physiol (London)* 1985;362:215-31
 17. Woolfson RG, Poston L. *Effect of ouabain on endothelium-dependent relaxation of human resistant arteries*. *Hypertension* 1991;17:619-25
 18. Rapoport RM, Schwartz, Murad F. *Effects of Na-K pump inhibitors and membrane depolarizing agents on acetylcholine-induced endothelium-dependent relaxation and cyclic GMP accumulation in rat aorta*. *Eur J pharmacol* 1985;110:203-9
 19. Chen G, Hashitani H, Suzuki H. *Endothelium-dependent relaxation and hyperpolarization of canine coronary artery smooth muscles in relation to the electrogenic Na-K pump*. *Br J Pharmacol* 1989;98:950-6
 20. Blaustein MP, Hamlyn JM. *Role of a natriuretic factor in essential hypertension: a hypothesis*. *Ann Intern Med* 1983;98:785-92
 21. Woolfson RG, Hilton PJ, Poston L. *Effects of ouabain and low sodium on contractility of human resistant arteries*. *Hypertension* 1990;15:583-90
 22. Vizi ES. *Na⁺-K⁺-activated adenosine triphosphatase as a trigger in transmitter release*. *Neuroscience* 1978;3:367-84
 23. Santos MS, Goncalves PP, Carvalho AP. *Release of gamma-[³H]aminobutyric acid from synaptosomes: effect of external cations and of ouabain*. *Brain Res* 1991;547:135-41
 24. Hermsmeyer K. *Membrane electrical contribution to increased arterial reactivity in hypertension*. In: Bevan JA, Godgrained T, Maxwell RA, Vanhoutte PM. *Vascular Neuroeffector Mechanisms*. New York, Raven Press 1980:365-7
 25. Hamlyn JM, Blaustein MP, Bova S, et al. *Identification and characterization of ouabain-like compound from human plasma*. *Proc natn Acad Sci* 1991;88:6259-63
 26. Goto A, Yamata K, Ishii M, et al. *Urinary sodium pump inhibitor raises cytosolic free calcium concentration in rat aorta*. *Hypertension*. 1989;13:916-21
 27. Hamlyn JM. *Increased levels of a humoral digitalis-like factor in deoxycorticosterone acetate-induced hypertension in the pig*. *J Endocrin* 1989;122:409-20
 28. Poston L. *Endogenous sodium pump inhibitors: a role in essential hypertension?* *Clin Sci* 1987;72:647-55
 29. Oberfrank F, Vizi ES, Baker PF, et al. *Comparison of the effects of a bufodienolide and ouabain on neuronal and smooth muscle preparations*. *Neurosci Res* 1991;10:235-44