

발현성 고혈압쥐의 관상순환 기능과 심장근의 에너지 대사에 관한 생체외 에너지원의 관류연구

김 은 지·강 영 희

한림대학교 자연과학대학 식품영양학과

Substrate-Perfusion Studies on Coronary Circulation and Myocardial Energy Metabolism in Spontaneously Hypertensive Rat Hearts

Kim, Eun Ji · Kang, Young Hee

Department of Food and Nutrition, Hallym University, Chuncheon, Kangwon-do, Korea

ABSTRACT

The effects of energy-yielding substrates on coronary circulation, myocardial oxygen metabolism, and intramyocytic adenylates of perfused Wistar control rat(WC) and spontaneously hypertensive rat(SHR) hearts were examined under basal and β -adrenergic stimulation conditions. The perfusion medium(1.0mM Ca^{2+}) contained 5mM glucose(+5U/l insulin) in combination with 5mM pyruvate, 5mM lactate, 5mM acetate, or 5mM octanoate as energy substrates. Hearts were perfused with each substrate buffer for 20min under basal conditions. Coronary functional hyperemia was induced by infusing for 20min isoproterenol(ISO, 1 μ M), a β -receptor agonist. Cardiac adenylates, glycolytic intermediates, and coronary venous lactate were measured by using an enzymatic analysis technique. Under basal conditions, acetate and octanoate significantly increased coronary flow(CF) of WC in parallel with myocardial oxygen consumption. However, CF of SHR was partly attenuated by coronary vasoconstriction despite metabolic acidosis. In addition, pyruvate and lactate depressed ISO-induced coronary functional hyperemia in SHR. It should be noted that octanoate exhibited coronary dysfunction under ISO conditions. On the other hand, fat substrates depleted myocardial high energy phosphate pool and accumulated breakdown intermediates. In SHR with coronary vasoconstriction under basal conditions, and with depressed coronary functional hyperemia, high energy phosphates were greatly depleted. These results suggest that energy substrates in the myocardium and coronary smooth muscle alter remarkably coronary circulation, and that coronary circulatory function is associated with a reserve of high energy phosphates and a balance between breakdown and nono synthesis of energy phosphates. These findings could be explained by alterations in the cytosolic redox state manipulated by LDH and hence in the cytosolic phosphorylation potential, which might be involved in hypertension of SHR.

KEY WORDS : spontaneously hypertensive rat · pyruvate · lactate · acetate · octanoate · coronary circulation · cardiac adenylates · glycolytic intermediates · lactate dehydrogenase.

서 론

유전적 요인에 의한 고혈압은 혈관근육의 흥분성과 수축력, 혈관의 이완성 및 교감신경성 작용 등에 영향을 끼친다고 알려져 있다^{1,4)}. 그러나, 여러가지 고혈압의 동물 model들을 이용한 연구들은 고혈압을 유발시키는 유전적인 요인들은 다양하다고 보고하고 있다. 발현성 고혈압쥐(spontaneously hypertensive rat)를 동물 model로 한 연구결과에 따르면, 유전적 고혈압에서 나타나는 비정상적인 혈관활동은 내피세포의 결함, 세포막 이온투과성의 변화, 혈관근육의 Ca^{2+} 민감성, 또는 근세포체의 Ca^{2+} handling 결함 등에 기인한다고 한다^{4,8)}. 고혈압쥐에서 나타나는 이러한 비정상적인 혈관활동의 원인에 대한 기전은 여전히 풀어야 할 과제로 남아있다. 관상혈류 자동조절능(coronary autoregulation)과 대사적인 혈류량 증가현상(metabolic vasodilation)은 관상혈류의 조절 기능을 담당하는 핵심적인 요인들이다⁹⁾¹⁰⁾. 여러가지 요인에 의해 변화하는 대사적인 관상순환 조절능과 공존하고 있기 때문에 혈류 자동조절능은 달라질 수가 있고, 일반적으로 관류된 심장에서 자연적인 관상혈류량과 심장근의 에너지 보유상태는 서로 역행하는 관계를 가지고 있다¹¹⁻¹³⁾. 뿐만 아니라, 최근의 한 연구는 관상혈류 자동조절능 및 관상 혈관저항(coronary vascular resistance, CVR)은 관류된 심장에 주어진 에너지원에 따라 상당히 변한다는 사실을 발표하였다¹²⁾. 지금까지 고혈압과 관련되어 나타나는 혈관 확장작용의 손상, 심장근의 허혈상태, 그리고 혈관작용을 변화시키는 심장의 외재적 또는 내재적인 요인에 대한 관상혈관의 반응성을 심장근의 에너지상태와 연관지어 수행된 연구는 전무한 것 같다.

본 연구는 서로 다른 에너지원 기질을 관류시킨 유전적 고혈압쥐 심장에서 관상순환 기능과 심장근의 산소대사에 대한 에너지원의 직접적인 효과를 관찰하기 위하여 관상순환과 관련된 관류역학적 param-

eters를 조사하였다. 이러한 조건에서 심장근의 고에너지 화합물, 해당작용의 대사산물 및 lactate dehydrogenase(LDH)를 측정하여 고혈압의 유전적 소질의 관상 관류역학에 대한 작용기전을 규명하고자 하였다. 또한 isoproterenol(ISO)에 의한 심장근의 수축력 증가로 심장근의 산소수급률(myocardial oxygen supply-demand ratio)에 불균형이 초래되었을 때 고혈압쥐의 관상관류 기능적 증가현상(coronary functional hyperemia)을 관찰하였고, 고혈압쥐 심장에 관류된 서로 다른 에너지원 기질의 관상관류 증가현상에 대한 작용을 규명하기 위하여 심장근의 에너지 대사산물들을 조사하였다. 심장근의 산소수급에 불균형이 초래되면 고에너지 화합물이 분해되어 혈관 확장작용을 유발시키는 여러가지 내재적 혈관활성화 물질들이 유리된다고 알려져 있다¹⁴⁻¹⁵⁾. 모든 관류실험은 충분히 oxygenated된 관류용액을 사용하여 적출된 심장에서 실시되었으며, Wistar 백서를 정상혈압을 지닌 대조쥐로 사용하였다. 에너지원 기질은 glucose를 기본으로 하고, 여기에 당질원으로 pyruvate 또는 lactate, 또는 지방원으로 acetate 또는 octanoate를 각각 관류용액에 첨가하여 적출된 심장에 직접 관류하였다. 이러한 연구활동의 접근은 고혈압 유전적 요인의 심장 및 관상순환 기능에 대한 특이성을 밝혀줄 수 있을 뿐만 아니라, 고혈압의 병리상태를 연구하는 데에 유익한 정보를 제공하리라 본다.

실험재료 및 방법

1. Langendorff heart 적출과 관류

본 연구는 250~300g 정도의 숫컷 Wistar 정상백서와 발현성 고혈압쥐로부터 심장을 적출하여, 이미 보고된 연구자료의 심장 관류방법을 토대로 하여 95% O_2 와 5% CO_2 의 혼합가스로 equilibrate된 Krebs-Henseleit bicarbonate 관류용액(pH 7.40 ± 0.02 , $37^\circ C$)으로 관류시켰다¹⁶⁻¹⁸⁾. 이 관류용액에는 5U/l bovine in-

sulin(Sigma, St. Louis, MO)과 함께 기본적인 에너지원인 5mM glucose에 5mM pyruvate, 5mM lactate, 5mM acetate 또는 5mM octanoate가 각각 첨가되었다.

심장은 100cmH₂O의 정수압인 관상내압(coronary perfusion pressure, CPP)에서 자동적으로 박동하였다. 관상혈관으로부터 나온 effluent량(coronary sinus plus right ventricular thebesian flow, CF)은 cannulate된 폐동맥에서 측정되었다¹²⁾. 대동맥으로 들어가는 관류용액(inflow)과 effluent 용액을 혐기적인 상태에서 각각 수집하였고, 심장근의 산소소비량(myocardial oxygen consumption, MVO₂)을 수량적으로 표시하기 위하여 각 용액의 pO₂, pCO₂, 그리고 pH를 blood pH/gas analyzer(CIBA-Corning, model 238, Orangeburg, NY)로 측정하였다¹²⁾. 좌심실의 배수장치로써 잘려져 나간 승모판으로 구부러지기 쉬운 가느다란 tubing을 삽입하였다¹²⁾.

2. 실험단계 설정

먼저 100cmH₂O의 정상적인 관상내압에서 5mM glucose와 2mM pyruvate의 에너지원이 첨가된 관류용액으로 심장이 관류역학적으로 안정상태에 도달하도록 15~20분간 심장을 관류하였다(post-extraction 관류기간). 그런 후에, 관상 관류역학적인 측정을 실시하였고 대동맥의 inflow와 관상혈관의 effluent를 각각 수집하였다. 자동 심박동수, 관상관류량인 CF, 관상내압, 그리고 inflow와 effluent의 pO₂ 등이 지속적으로 추적되었다.

1) 고혈압쥐 심장에서 에너지원 이용도와 관상순환 기능에 관한 실험

이 실험과정에서는 각각의 에너지원군에 따라 Wistar 백서와 고혈압쥐 8~11 마리를 각각 사용하였다. Post-extraction 관류기간을 거친 후, 같은 관상내압에서 심장을 5mM glucose에 5mM pyruvate, 5mM lactate, 5mM acetate 또는 5mM octanoate가 첨가된 관류용액으로 20분간 계속 관류하였다. 관류기간 20분이 경과하면서 심장이 새로운 관류역학적인 안정상태에 도달하게 되었을 때, 모든 관상 관류역학적인 측정과 inflow 및 effluent 수집이 반복되었다.

2) β adrenergic 수용체 자극조건에서 고혈압쥐

심장의 에너지원 이용도와 coronary functional hyperemia에 관한 실험

ISO 실험과정에는 4~6 마리의 Wistar 백서와 고혈압쥐가 서로 다른 에너지원군에 나누어져 각각 사용되었다. 각각의 에너지원이 첨가된 관류용액으로 심장을 15분간 관류한 후 관류역학 data(-ISO)를 측정하고 각각 inflow와 effluent의 수집도 병행 실시하였다. 그런 후, 계속 같은 관류용액으로 심장을 관류시키면서 1M ISO를 20분간 대동맥내로 주입하여 관상혈관의 기능적 hyperemia를 유발시켰다. ISO 주입을 중지하기 마지막 2~3분 전에 관류역학 data(+ISO)를 측정하였다.

3. Analytical measurements

위에서 언급된 각각의 실험과정은 액체질소의 온도에서 미리 차갑게 한 Wollenberger tongs를 사용하여 박동하고 있는 심장을 재빨리 clamp시켜 중지되었다. 그리고 clamp된 심장조직은 tissue extraction 및 분석실험을 위하여 액체질소에 담겨 보관되었다. 심장조직의 extraction과 대사산물의 효소적 측정은 이미 보고된 연구자료를 토대로 하여 수행되었다¹³⁾ 19). Creatine phosphate(CrP), creatine(Cr), inorganic phosphate(Pi), adenosine triphosphate(ATP), adenosine diphosphate(ADP), adenosine monophosphate(AMP), pyruvate 및 lactate 등의 고에너지 화합물과 에너지 대사산물들은 UVICON Model 930 spectrophotometer(Kontron Instruments, Tegimenta, Switzerland, $\epsilon=6.13 \text{ cm}^2 \cdot \mu\text{mol}^{-1}$)를 사용하여 340nm의 파장에서 측정되었다. 관상혈관에서 나온 effluent의 pyruvate와 lactate도 효소적인 방법으로 분석되었다¹³⁾ 19).

4. 심장조직의 LDH 활성도(LDH_{act}) 측정

심장조직의 LDH는 Braasch 연구팀²⁰⁾이 사용한 분석방법에 따라서 측정되었다. 냉동된 심장조직을 분말로 분쇄하여 8ml phosphate buffer 용액(0.1M KH₂PO₄, 1mM ADP, 10mM glutathione, and 10mM EDTA, pH 7.2)에서 homogenize 하였다. 이 homogenate를 100,000_{gmax}(Beckman Model XL-90, rotor SW 40)의 속도로 20분간 원심분리하여 상층액을 따로 수집하고, 남은 pellet은 다시 4ml phosphate buffer

고혈압 쥐 심장근의 에너지 대사

에서 다시 homogenize 시켜 원심분리를 위와 같이 반복하였다. 여기에서 나온 상층액을 처음 것과 혼합하여 37°C에 보관하여 LDH_{act}를 측정하였다. 심장 조직의 LDH_{act}는 tris buffer(pH 7.2)와 pyruvate를 이용하여 340nm의 파장에서 3분간 흡광도를 측정함으로써 결정되었다. 한편, LDH 상층액의 단백질 함량은 LDH_{act}의 비교분석을 위하여 상품화된 Bicinchoninic acid protein assay reagent kits(Pierce Co., Rockford, IL)으로 측정되었으며 각각의 효소 활성도의 단위는 단백질 단위 mg 당으로 표시되었다.

5. Data 분석과 통계처리

각각의 data는 means±SEM로 표시되었다. Unpaired와 paired 평균치 값의 single comparison은 Student's t test로 이루어졌고 multiple comparison을 위해서는 Tukey's multiple range test와 병행하여 analysis of variance (two-way ANOVA) test로 이루어졌다. P values는 95%의 신뢰도에서 유의성을 검증하였다.

실험결과 및 고찰

1. Basal 상태에서 에너지원 기질의 관상 관류역학과 에너지 대사작용에 미치는 효과

Table 1은 각각의 주어진 에너지원들에 의한 관상

순환 기능과 심장근의 산소대사의 반응을 요약한 것이다. 당질원이 기질이었을 때와 비교하여 지방원은 CF와 MVO₂를 Wistar 정상혈압의 백서와 SHR 고혈압 쥐 모두에서 증가시켰고, 반면에 CVR은 감소시켰다. Basal 상태에서의 심장근의 산소추출율(myocardial oxygen extraction, EO₂)은 에너지원과 상관없이 유의적인 변화는 보이지 않았다(정상백서에서 60~70%). 이러한 결과들은 관상혈관으로 관류된 에너지원에 의하여 관상 관류역학은 달라질 수 있다는 것을 제시하고 있다. 최근의 한 연구에서 당질원의 pyruvate는 CF를 MVO₂로 수정하였을 때 관상내압의 변화에도 불구하고 관상동맥의 혈류 자동조절능을 거의 완벽하게 유지하였지만, 지방원의 acetate와 octanoate는 자동조절능에 장애를 초래한다는 사실을 증명하였다¹²⁾. 또한, pyruvate는 ischemic injury와 같은 cardiac stress에 대해서 reperfusion 기간동안의 관상혈류량과 심장근 수축력의 기능회복에 이로운 효과를 준다고 알려져 있다²¹⁾. 정상백서의 심장과 비교하여 고혈압 쥐 관상혈관은 각각의 주어진 에너지원 기질과는 무관하게 관상혈관의 수축현상(coronary vasoconstriction)을 초래하였다(Table 1). 지방원이 관류된 고혈압 쥐 심장에서 MVO₂는 EO₂의 상승(0.72~0.78)에도 불구하고 CF의 감소로 인하여 정

Table 1. Effects of energy-yielding substrates on cardiac hemodynamics and myocardial oxygen metabolism in Wistar and spontaneously hypertensive rats

Rats Substrates		CF (ml · min ⁻¹ g wet wt ⁻¹)	CVR (cmH ₂ O · ml ⁻¹ min ⁻¹ g wet wt ⁻¹)	EO ₂	MVO ₂ (μmol · min ⁻¹ g wet wt ⁻¹)
WC	Pyr	7.68 ± 0.61 ^a	13.22 ± 1.27 ^a	0.64 ± 0.05 ^{ab}	3.40 ± 0.16 ^a
	Lac	6.87 ± 0.82 ^a	15.53 ± 1.87 ^a	0.60 ± 0.02 ^a	2.87 ± 0.27 ^b
	Acet	10.44 ± 0.85 ^b	9.84 ± 0.89 ^b	0.66 ± 0.04 ^b	4.68 ± 0.34 ^c
	Oct	12.24 ± 1.10 ^b	8.64 ± 0.93 ^b	0.70 ± 0.03 ^b	5.86 ± 0.53 ^d
SHR	Pyr	6.33 ± 0.63 ^{a*}	16.60 ± 1.50 ^{a*}	0.77 ± 0.02 ^{ab*}	3.25 ± 0.27 ^a
	Lac	6.19 ± 0.58 ^a	16.59 ± 1.46 ^a	0.72 ± 0.03 ^{a*}	3.02 ± 0.30 ^a
	Acet	7.23 ± 0.75 ^{a*}	13.43 ± 1.95 ^{a*}	0.78 ± 0.01 ^{b*}	3.92 ± 0.43 ^{b*}
	Oct	9.04 ± 0.82 ^{b*}	11.40 ± 0.96 ^{b*}	0.75 ± 0.02 ^{ab*}	4.06 ± 0.39 ^{b*}

All values are means±SEM(n=8~11). Hearts were perfused using a buffer supplemented with each energy substrate for 20min. WC, Wistar control rats; SHR, spontaneously hypertensive rats; CF, coronary flow; CVR, coronary vascular resistance; EO₂, myocardial oxygen extraction; MVO₂, myocardial oxygen consumption; Pyr, pyruvate; Lac, lactate; Acet, acetate; Oct, octanoate. Values in a column not sharing a common superscript letter are significantly different within WC or SHR hearts(ANOVA, followed by Tukey's test, p<0.05). *Differences between each substrate WC heart group and its SHR heart group are significant(unpaired Student's t test, p<0.05).

상백서의 그것과 비교하여 낮았다. 본 실험조건에서 고혈압쥐의 심장근 산소추출능은 장애를 받지 않았다.

Fig. 1은 각각의 서로 다른 에너지원을 정상백서와 고혈압쥐 심장에 관류하였을 때의 관상혈관의 arterio-venous pH(Δ pH)와 venous-arterial pCO_2 (ΔpCO_2)를 나타낸 것이다. 여기서 pH와 pCO_2 그 자체는 관류용액의 조제와 혼합가스의 equilibrate 과정의 실험조작에 의하여 유의적인 변화를 초래하지 않았다. 고혈압쥐의 Δ pH와 ΔpCO_2 는 상응하는 모든 에너지원 기질에 의해서 팔목할 만한 상승을 보여주었고, 대동맥으로 들어간 관류용액의 pH와 pCO_2 는 각각 7.40 ± 0.02 와 35 ± 1 정도로 일정하게 유지되었기 때문에 이것은 고혈압쥐 관상혈관의 대사적인 acidosis를 의미하는 것이다. 이러한 결과들은 고혈압쥐의 자연발생적인 CVR은 대사적인 acidosis에 의한 혈관 확장작용에 의해서 얼마간 약화되었다는 것을 암시하고 있다. 한편, Δ pH와 ΔpCO_2 는 정상백서와 고혈압쥐 심장에 주어진 에너지원 기질에 따라 현저한 차이를 나타내었다. 고혈압쥐 심장에서 lactate 및 지방원인 acetate와 octanoate는 Δ pH와 ΔpCO_2 를 상당히 감소시켰고, 정상백서에서는 지방원만이 유의적인 감소를 나타내었다. 고혈압쥐의 관상혈관이 지방원의 관류에 의해서 덜 acidic한 것은 CF의 증가에 따른 산소수급의 불균형의 해소에 기인한다고 볼 수 있고, 관상 순환기능에 이롭지 못한 lactate와 지방원⁽¹²⁾⁽²¹⁾은 pyruvate에 비해 심장근의 수축력을 감소시키고 cardiac arrhythmia를 초래하여 심장근의 work load가 줄어들면서 이러한 결과를 보였다고도 볼 수 있다.

관상혈관의 lactate 생성과 LDH_{act} 에 대한 실험결과를 Table 2에 요약하였다. 예상했던 대로 acetate와 octanoate의 지방원을 준 쥐심장에서의 pyruvate 생성은 극히 적었다. Pyruvate가 아닌 다른 기질을 주었을 때의 pyruvate 생성은 심장근의 에너지 이용에 있어서 lactate가 pyruvate로 전환되었기 때문이라고 할 수 있다. 그러나, 첨가된 관류용액에 pyruvate가 오염되었을 가능성도 배제할 수는 없다. 그럼에도 불구하고, 지방원은 고혈압쥐 심장의 pyruvate 생성을 정상백서에서 보다 유의적으로 상승시켰다. 뿐만 아니라, lactate가 에너지원으로 이용된 경우를 제외하고는 정상백서와 비교하여 lactate 생성은 증가하였다.

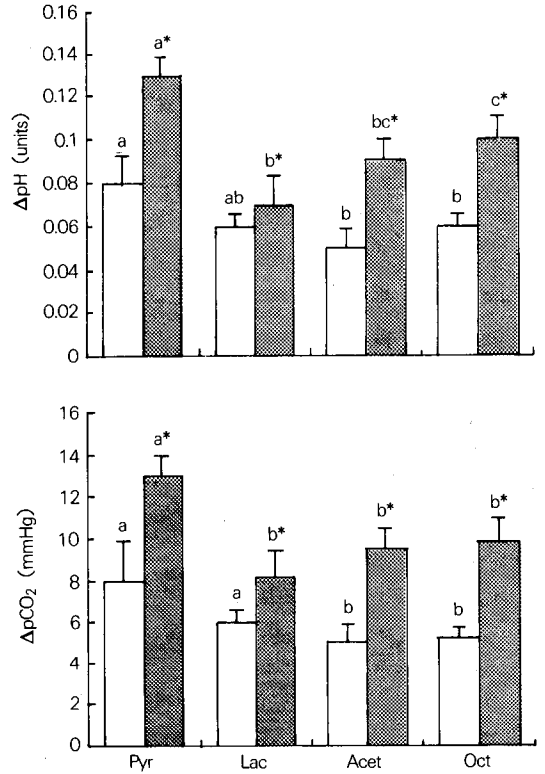


Fig. 1. Bar graph showing the changes of coronary venous pH and pCO_2 under perfusion conditions of basal substrates in Wistar control rats(WC, □) and spontaneously hypertensive rats(SHR, ■). Means \pm SEM. Pyr, pyruvate; Lac, lactate; Acet, acetate; Oct, octanoate; Δ pH, arterial minus venous pH; ΔpCO_2 , venous minus arterial partial pressure of carbon dioxide. Values not sharing a common superscript letter are significantly different within WC or SHR hearts(ANOVA, followed by Tukey's test, $p < 0.05$). *Differences between each substrate WC heart group and its SHR heart group are significant (unpaired Student's t test, $p < 0.05$).

이러한 상승된 관상혈관의 lactate 생성은 감소된 CF에 의한 심장근의 산소수급의 불균형에 기인된다. 관상혈관의 국소적 순환기능은 H^+ , CO_2 , lactate 및 adenosine 등의 화학적 조절에 의해 1차적으로 이루어지므로⁽¹⁴⁾⁽¹⁷⁾⁽²²⁾, 고혈압쥐에서 나타난 혈관 수축현상은 혈관 확장작용을 유발시키는 이러한 물질들에 의하여 어느 정도는 상쇄되었다고 할 수 있다. 이러한 사실은 고혈압쥐 심장의 에너지원 이용도에 있어서 심장조

Table 2. Coronary venous lactate production and cardiac lactate dehydrogenase with and without isoproterenol in perfused rat hearts

Rats	Substrates	[Pyr] _{lv} ($\mu\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}$)	V _{pyr} ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g wet wt}^{-1}$)	[Lac] _{lv} ($\mu\text{mol} \cdot \text{ml}^{-1}$)	V _{lac} ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g wet wt}^{-1}$)	LDH _{act} ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$)
WC	Pyr	3.883 ± 0.086 ^a	30.163 ± 2.837 ^a	0.132 ± 0.028 ^a	1.023 ± 0.192 ^a	2.67 ± 0.24 ^a
	Lac	0.158 ± 0.031 ^b	0.974 ± 0.171 ^b	3.683 ± 0.253 ^b	25.015 ± 3.304 ^b	2.96 ± 0.36 ^a
	Acet	0.007 ± 0.002 ^c	0.065 ± 0.017 ^c	0.050 ± 0.012 ^c	0.483 ± 0.123 ^c	3.88 ± 0.22 ^b
	Oct	0.003 ± 0.001 ^c	0.033 ± 0.014 ^c	0.022 ± 0.008 ^d	0.213 ± 0.059 ^d	4.21 ± 1.02 ^b
SHR	Pyr	4.022 ± 0.092 ^a	24.776 ± 2.635 ^a	0.331 ± 0.053 ^{a*}	1.760 ± 0.249 ^{a*}	4.32 ± 0.13 ^{a*}
	Lac	0.156 ± 0.017 ^b	0.925 ± 0.080 ^b	3.616 ± 0.247 ^b	22.498 ± 2.798 ^b	4.28 ± 0.62 ^{a*}
	Acet	0.028 ± 0.006 ^{c*}	0.194 ± 0.036 ^{c*}	0.127 ± 0.027 ^{c*}	0.831 ± 0.124 ^{c*}	3.82 ± 0.97 ^a
	Oct	0.016 ± 0.007 ^{c*}	0.181 ± 0.096 ^{c*}	0.049 ± 0.018 ^{d*}	0.434 ± 0.141 ^{d*}	3.96 ± 1.29 ^a

All values are means ± SEM (n=8~11). Hearts were freeze-clamped after 20min basal perfusion for measurements of the lactate dehydrogenase (see METHODS). WC, Wistar control rats; SHR, spontaneously hypertensive rats; [Pyr]_{lv}, coronary venous pyruvate concentration; V_{pyr}, coronary venous pyruvate output; [Lac]_{lv}, coronary venous lactate concentration; V_{lac}, coronary venous lactate release; LDH_{act}, cardiac lactate dehydrogenase activity; Pyr, pyruvate; Lac, lactate; Acet, acetate; Oct, octanoate. Values in a column not sharing a common superscript letter are significantly different within WC or SHR hearts (ANOVA, followed by Tukey's test, p<0.05). *Differences between each substrate WC heart group and its SHR heart group are significant (unpaired Student's t test, p<0.05).

직내 LDH에 병리적인 의미에서의 중요성을 부여하고 있다. 게다가, 세포내 에너지상태는 cytosolic redox 상태에서의 LDH equilibrium과 밀접한 관계를 유지하고 있다¹⁹⁾²¹⁾. Pyruvate가 lactate로 전환될 때 NADH는 NAD⁺ reducing equivalent로 변하여 전체적인 cellular oxidation을 초래한다. 본 연구에서 고혈압 쥐 관상혈관의 lactate 생성이 상승한 것과 마찬가지로, 관상관류량의 획기적인 상승을 보여준 octanoate의 경우를 제외하고는 고혈압 쥐 심장조직에서도 pyruvate pool로부터 LDH에 의한 lactate로의 flux가 활성화되어 심장조직에 lactate가 축적되었다(Table 3). 여기서 산소수급의 불균형은 해당작용을 통한 혐기적인 산화를 활성화하여 cytosolic NADH/NAD⁺ ratio를 증가시켰을 것이다. 관상혈관의 수축현상으로 인하여 관류량이 감소하고, 그것으로 인하여 산소공급이 제한된 고혈압 쥐 심장에서는 LDH_{act}가 증가한 것이 이러한 가정을 뒷받침하고 있다. 심장조직의 LDH는 pyruvate와 lactate 같은 산재하여 있는 에너지원 의해서 조절되어진다고 알려져 있다²³⁾.

에너지원에 따른 심장조직의 고에너지 화합물과 분해산물에 대한 결과는 Table 3에 요약되었다. 지방원은 당질원에 비해 ATP 소모가 촉진되면서 분해산물인 ADP와 AMP로의 전환을 증가시켰다. 정상백서에서 당질원인 lactate는 pyruvate와 비교하여 ATP pool을 거의 변화시키지 않으면서 고에너지 화합물인 CrP를 소모시켜 에너지대사의 지표인 CrP/Pi 비율을 감소시켰다. 한편, 고혈압 쥐에서는 정상백서와 비교하여 당질원도 ATP, CrP 및 CrP/Pi를 유의적인 수준까지 소모시켰으며, 지방원은 고갈상태를 지속시켜 심장조직의 전체 고에너지 화합물의 함량이 25% 정도 더 소모되었다. CF가 감소하여 산소공급이 제한된 고혈압 쥐에서 고에너지 화합물의 생합성이 감소한 것은 에너지원의 해당작용 과정에 의한 이용도가 증가되어 심장조직의 lactate 축적을 초래하면서 에너지 효율성이 떨어진 것으로 설명된다(Table 2, 3).

Octanoate는 정상백서와 고혈압 쥐 모두에서 심장조직의 고에너지 화합물의 생합성과 분해의 균형상태를 유지하는 면에서 유리하지 못하였고, 결국 고에너지 화합물의 고갈은 심장 및 관상순환 기능에 장애를 초래하였다고 볼 수 있다. Octanoate는 ATP의 분해를

Table 3. Cardiac adenylates and metabolites after 20min basal perfusion in wistar and spontaneously hypertensive rats

Rats-substrates	ATP		CrP	Cr	Pi (μmol · g dry mass ⁻¹)				ADP	AMP	Pyr	Lac	CrP/Pi
	WC-Pyr	Lac	Acet	SHR-Pyr	Lac	Acet	SHR-Pyr	CrP	ADP	AMP	Pyr	Lac	CrP/Pi
WC-Pyr	21.1±0.8 ^a	21.3±1.8 ^b	17.1±1.3 ^b	15.5±2.3 ^b	17.8±0.7 ^{a*}	17.6±1.2 ^{a*}	15.0±0.9 ^{b*}	42.2±2.1 ^a	22.9±1.4 ^a	0.29±0.16 ^a	ND ^a	16.54±0.91 ^a	1.85±0.07 ^a
Lac	21.3±0.7 ^a	31.3±1.8 ^b	32.5±2.0 ^a	29.1±2.4 ^b	31.3±1.2 ^{a*}	30.8±1.7 ^a	27.7±1.6 ^{b*}	30.3±3.6 ^b	29.0±2.5 ^b	4.09±0.10 ^b	0.92±0.10 ^b	0.56±0.05 ^b	1.13±0.11 ^b
Acet	17.1±1.3 ^b	32.5±2.0 ^a	29.1±2.4 ^b	15.5±2.3 ^b	31.3±1.2 ^{a*}	30.8±1.7 ^a	27.7±1.6 ^{b*}	30.1±2.2 ^b	31.9±2.1 ^b	3.88±0.32 ^b	1.36±0.11 ^c	0.19±0.07 ^c	1.08±0.10 ^b
Oct	15.5±2.3 ^b	29.1±2.4 ^b	17.8±0.7 ^{a*}	15.5±2.3 ^b	31.3±1.2 ^{a*}	30.8±1.7 ^a	27.7±1.6 ^{b*}	35.8±3.8 ^b	34.9±2.9 ^b	3.81±0.16 ^b	0.80±0.11 ^b	0.12±0.03 ^c	0.86±0.10 ^c
SHR-Pyr	17.8±0.7 ^{a*}	31.3±1.2 ^{a*}	17.8±0.7 ^{a*}	15.5±2.3 ^b	31.3±1.2 ^{a*}	30.8±1.7 ^a	27.7±1.6 ^{b*}	31.5±1.8 ^{a*}	31.3±2.6 ^{a*}	1.36±0.52 ^{a*}	0.03±0.03 ^a	12.64±0.87 ^{a*}	0.91±0.08 ^{a*}
Lac	17.6±1.2 ^{a*}	30.8±1.7 ^a	17.8±0.7 ^{a*}	15.5±2.3 ^b	31.3±1.2 ^{a*}	30.8±1.7 ^a	27.7±1.6 ^{b*}	32.6±1.9 ^a	32.9±1.6 ^a	4.32±0.31 ^b	0.78±0.11 ^b	0.71±0.11 ^b	0.92±0.08 ^{a*}
Acet	15.0±0.9 ^{b*}	27.7±1.6 ^{b*}	17.8±0.7 ^{a*}	15.5±2.3 ^b	31.3±1.2 ^{a*}	30.8±1.7 ^a	27.7±1.6 ^{b*}	38.0±2.1 ^{b*}	38.6±1.1 ^{b*}	4.32±0.26 ^b	1.42±0.16 ^c	0.20±0.04 ^c	0.73±0.06 ^{b*}
Oct	15.9±0.7 ^b	28.3±1.3 ^b	17.8±0.7 ^{a*}	15.5±2.3 ^b	31.3±1.2 ^{a*}	30.8±1.7 ^a	27.7±1.6 ^{b*}	37.2±0.8 ^b	38.7±2.8 ^b	3.61±0.24 ^c	0.81±0.06 ^b	0.20±0.03 ^{c*}	0.74±0.07 ^b

All values are means±SEM (n=6~8). Hearts were freeze-clamped after 20min basal perfusion for myocardial extraction(see Methods). WC, Wistar control rats; SHR, spontaneously hypertensive rats; Pyr, pyruvate; Lac, lactate; Acet, acetate; Oct, octanoate; ATP, adenosine triphosphate; CrP, creatine phosphate; Cr, creatine; Pi, inorganic phosphate; ADP adenosine diphosphate; AMP, adenosine monophosphate; CrP/Pi, creatine phosphate and creatine ratio; ND, non-detectable. Values in a column not sharing a common superscript letter are significantly different within WC or SHR hearts(ANOVA, followed by Tukey's test, p<0.05). *Differences between each substrate WC heart group and its SHR heart group are significant(unpaired Student's t test, p<0.05).

촉진시켰지만 분해산물인 ADP와 AMP는 오히려 감소하였다. 이것은 분해과정이 더 진행되어 분해산물이 관상동맥내로 유리되었다는 것을 유추할 수 있다. 심장조직내의 AMP는 endo 또는 ecto 5'-nucleotidase에 의하여 adenosine으로 분해되어 관상동맥의 smooth muscle에 작용하기도 하고, 이것은 좀 더 분해되어 xanthine과 uric acid로 변한다. Adenosine은 유력한 관상혈관 확장작용을 가진 분해산물로서, 본 연구실험에서 octanoate가 CF를 엄청나게 증가시킨 것은 ATP의 분해로 인한 adenosine이 다량 생성되어 관상동맥의 smooth muscle에 작용한 것으로 보인다.

2. ISO에 의한 coronary functional hyperemia와 에너지 이용도에 대한 효과

Table 4에는 ISO에 대한 관상 관류역학의 결과를 표시하였다. Octanoate가 관류되었을 때를 제외하고는 ISO는 정상백서와 고혈압쥐 모두에서 반응 정도의 차이는 있지만 관상혈관의 기능적 hyperemia를 나타내었다. Acetate와 비교하여 당질원은 ISO의 β 수용체 자극에 대해서 관상혈관의 EO₂의 거의 최고치를 유지시키면서 훨씬 큰 CF의 증가현상을 보여주었고 MVO₂를 정상백서에서 136~212%로 상승시켰다. Octanoate는 기능적 hyperemia 현상을 유발시키지 못하였고, 결국 EO₂의 유의적인 상승에도 불구하고 심장근의 산소 uptake를 증가시키지 못하였다. 이러한 결과들은 지방원이 약리적인 조건에서 이용될 때 정상적인 심장 및 관상순환 기능에 장애를 초래한다는 것을 보여주었다. 뿐만 아니라 guinea pig 심장을 이용한 최근의 한 연구¹¹⁾에서 acetate와 octanoate는 관상순환의 혈류 자동조절능에 장애를 초래한다는 것을 입증하였다. 한편, 고혈압쥐 심장에서는 당질원도 ISO에 대해서 CF를 41~84% 정도만 상승시켜 기능적 hyperemia의 반응정도가 정상백서과 비교하여 훨씬 낮았고 MVO₂는 정상백서의 2.7배 증가에 비해서 73~132%만이 증가하였을 뿐이다. 여기에서도 고혈압쥐 심장근의 산소추출 능력은 그대로 유지되어 EO₂가 거의 최고치까지 증가하였지만 관상혈관 수축작용이 관여한 것으로 보인다(Table 4). 본 연구는 ISO에 의한 관상혈관내의 purines 생성을 측정하지 않았지만, catecholamine들에 의한 기능적 hyperemia은 MVO₂ 상승과 함께 adenosine 형성을 수반한

Table 4. Cardiac hemodynamic responses to isoproterenol under perfusion conditions of different energy-yielding substrates in Wistar and spontaneously hypertensive rats

Rats-substrate	CF (ml · min ⁻¹ g wet wt ⁻¹)		EO ₂		MVO ₂ (μmol ± min ⁻¹ g wet wt ⁻¹)	
	-ISO	+ISO	-ISO	+ISO	-ISO	+ISO
WC-Pyr	7.65 ± 0.44 ^a	13.05 ± 0.85 ^{**}	0.67 ± 0.04 ^a	0.86 ± 0.01 ^{**}	3.39 ± 0.39 ^a	8.01 ± 0.62 ^{**}
Lac	6.48 ± 0.99 ^a	15.49 ± 1.47 ^{**}	0.66 ± 0.01 ^a	0.88 ± 0.01 ^{**}	3.05 ± 0.49 ^a	9.51 ± 0.82 ^{**}
Acet	10.73 ± 1.82 ^b	14.58 ± 1.08 ^{**}	0.70 ± 0.02 ^a	0.89 ± 0.01 ^{**}	5.47 ± 0.78 ^b	8.84 ± 0.63 ^{**}
Oct	13.24 ± 0.49 ^c	10.77 ± 0.88 ^{**}	0.68 ± 0.04 ^a	0.90 ± 0.02 ^{**}	6.44 ± 0.38 ^b	6.89 ± 0.41
SHR-Pyr	6.66 ± 0.55 ^{ab*}	9.37 ± 1.13 ^{**} †	0.74 ± 0.03 ^{ab*}	0.89 ± 0.01 ^{**}	3.36 ± 0.28 ^a	5.80 ± 0.70 ^{**} †
Lac	6.14 ± 0.37 ^a	11.31 ± 0.91 ^{**} †	0.72 ± 0.02 ^{ab*}	0.90 ± 0.01 ^{**} †	3.10 ± 0.10 ^a	7.18 ± 0.47 ^{**} †
Acet	7.48 ± 0.83 ^{bc*}	8.83 ± 2.20	0.75 ± 0.03 ^{ab*}	0.88 ± 0.01 ^{**} †	3.83 ± 0.74 ^{ab*}	5.43 ± 0.88 ^{**} †
Oct	9.60 ± 2.22 ^{c*}	9.12 ± 2.22	0.81 ± 0.02 ^{bc*}	0.90 ± 0.01 ^{**} †	5.78 ± 0.89 ^{bc*}	6.13 ± 1.64

All values are means ± SEM (n=4-6). Cardiac inotropism was increased by infusing isoproterenol (1 μM) for 15 min. WC, Wistar control rats; SHR, spontaneously hypertensive rats; ISO, isoproterenol; CF, coronary flow; EO₂, myocardial oxygen extraction; MVO₂, myocardial oxygen consumption; ΔpCO₂, venous-arterial partial pressure of carbon dioxide; Pyr, pyruvate; Lac, lactate; Acet, acetate; Oct, octanoate. Values in each column not sharing a common superscript letter are significantly different within WC or SHR hearts (ANOVA, followed by Tukey's test, p < 0.05). * Differences between each substrate WC heart group and its + ISO heart group are significant (unpaired Student's t test, p < 0.05). ** Differences between each substrate - ISO heart group and its + ISO heart group are significant (unpaired Student's t test, p < 0.05). † Differences between each substrate WC + ISO heart group and its SHR + ISO heart group are significant (paired Student's t test, p < 0.05).

다고 알려져 있다¹⁴⁾¹⁵⁾²²⁾. 심장근의 에너지원의 활용에서 있어서 변화가 초래되거나, 에너지원 또는 산소수급에서의 불균형은 관상혈관의 확장물질인 adenosine 생성을 촉진하여 발생된 여러가지 기능변화와 불균형을 원상복구 시키고 정상적인 심장기능을 유지하도록 한다. 그러나, ISO에 의한 CF와 MVO₂의 증가상태를 고려하면 고혈압쥐에서는 adenosine이 주요인자로 작용하지 않는 것 같다. 또한, ISO의 주입기간 동안에 prostaglandins 및 superoxides와 같은 미지의 혈관 수축물질들이 유리되면서 adenosine에 의한 혈관확장작용을 억제하였다고도 볼 수 있다.

ISO에 의한 관상혈관의 lactate output (V_{Lac})는 Fig. 2에 나타내었다. Lactate인 경우를 제외하고는 basal 상태에서는 고혈압 쥐 심장으로부터 lactate의 생성이 일반적으로 증가하였으나 (Table 2), ISO에 의한 lactate 생성은 pyruvate인 경우에서만 정상백서에 비해 상대적으로 증대되었다. 이것은 지방원을 이용한 고혈압쥐에서 ISO에 의한 hyperemia가 억제되었기 때문이라고 볼 수 있으며 (Table 4), 지방원이 심장활동을 저하시키면서 심장근의 에너지 이용도가 감소하였다고도 볼 수 있다. 게다가, pyruvate는 고혈압쥐의 lactate 생성을 3배로 증가시켰지만, LDHact는 ISO에 의해서 11%만 상승하였으므로 지방원은 ISO에 의한 LDHact의 증가를 수반하지 못한 것 같다 (unpublished data).

Fig. 3에는 ISO에 의한 심장조직의 에너지 화합물과 대사산물에 대한 결과를 요약하였다. ISO에 의한 work load가 증가하였을 때에 정상백서에서 당질원은 고에너지 화합물 ATP + CrP를 40~45 mol · g dry mass⁻¹ 정도로 유지하였지만, 지방원은 정상백서에서도 상당한 소모를 초래하였고 CrP/Pi도 유의적인 감소를 나타내었다. 특히, pyruvate는 심장의 약리적인 조건에서 에너지 화합물의 분해와 생합성의 균형상태를 유지하여 심장 및 관상순환 기능을 정상화시키는 데에 유리한 에너지원으로 작용한다는 것이 입증되었다 (Fig. 3, Table 4). Basal 상태와 마찬가지로, ISO의 약리적인 조건에서도 lactate는 고혈압쥐에서 고에너지 화합물 보유상태에 있어서 유리한 에너지원으로 작용하지 못했다. 이와같이, lactate와 지방원은 고에너지 화합물의 소모를 초래하면서 ADP + AMP의 유

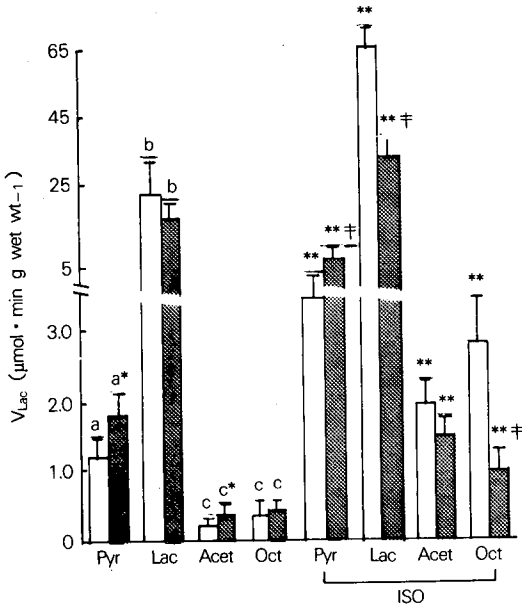


Fig. 2. Bar graph showing release of coronary venous lactate with perfusion of different substrates in absence and presence of isoproterenol. All values are means \pm SEM. Cardiac inotropism was increased by infusing isoproterenol(ISO, 1 μ M) for 15min. \square , Wistar control rats; \blacksquare , spontaneously hypertensive rat; V_{Lac} , coronary venous lactate release. Values not sharing a common superscript letter are significantly different within WC or SHR hearts(ANOVA, followed by Tukey's test, $p < 0.05$). *Differences between each substrate WC heart group and its SHR heart group are significant(unpaired Student's t test, $p < 0.05$). **Differences between each substrate -ISO heart group and its +ISO heart group are significant(unpaired Student's t test, $p < 0.05$). †Differences between each substrate WC+ISO heart group and its SHR+ISO heart group are significant(paired Student's t test, $p < 0.05$).

의적인 증가를 일으켰다. 여기서 octanoate는 고에너지 화합물의 상당한 고갈에도 불구하고 lactate나 acetate에 비해 팔복할 만한 ADP+AMP의 축적은 일어나지 않고 오히려 감소하였다. 이것은 ADP와 AMP의 분해작용이 더 진행되어 이것의 분해산물들이 관상혈관내로 방출된 것으로 볼 수 있다. 그러므로, 심장으로 관류되는 에너지원과 심장조직의 에너지상태는 정상적인 관상 순환기능을 유지시키는 데 중요한 역

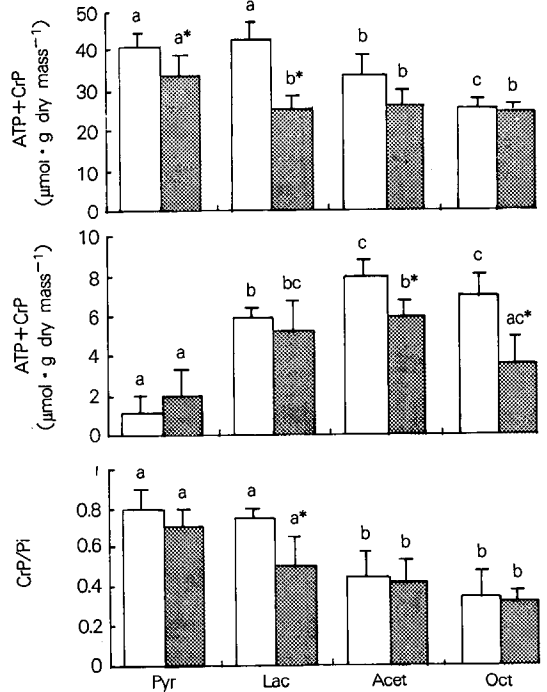


Fig. 3. Cardiac adenylates and metabolites in Wistar and spontaneously hypertensive rats in the presence of isoproterenol. Hearts were freeze-clamped after perfusion with different energy-yielding substrates for myocardial extraction(see Methods). All values are means \pm SEM. Cardiac inotropism was increased by infusing isoproterenol (1 μ M) for 15min. \square , Wistar control rats (WC); \blacksquare , spontaneously hypertensive rat (SHR); ATP, adenosine triphosphate; CrP, creatine phosphate; ADP, adenosine diphosphate; AMP, adenosine monophosphate; Pi, inorganic phosphate; Pyr, pyruvate; Lac, lactate; Acet, acetate; Oct, octanoate. Values not sharing a common superscript letter are significantly different within WC or SHR hearts (ANOVA, followed by Tukey's test, $p < 0.05$). *Differences between each substrate WC heart group and its SHR heart group are significant (unpaired Student's t test, $p < 0.05$).

할을 담당한다고 볼 수 있다¹¹⁻¹³⁾²¹⁾.

고혈압쥐 심장에서 기능적 hyperemia의 반응성과 심장근의 수축력 감소는 관상혈관의 smooth muscle과 심장근의 비정상적인 excitation-contraction 접합과정에 기인된다고도 볼 수 있다. 여기에는 근소포체와

미세 근섬유의 불안정한 배열, 근세포막의 β adrenergic 수용체 조절작용의 변화 및 근세포체의 calcium handling에서의 비정상 상태 등이 포함된다⁵⁾⁶⁾⁸⁾²⁴⁾²⁵⁾. 최근의 연구보고에 따르면, basal 상태에서나 β adrenergic 자극에서 근세포체의 Ca^{2+} ATPase 활성도와 calcium uptake는 고혈압쥐에서 감소하였다²⁶⁾. 심장근의 contraction-relaxation 회로에서의 비정상적인 세포내 Ca^{2+} dynamics는 고혈압쥐 심장의 β 수용체의 반응성이 감소한 것과 연관이 있다고 할 수 있다. 이외에도 고혈압쥐에서 세포내 calcium 결합단백질의 감소, 근세포체 연결부위의 Ca^{2+} 회로 및 β postreceptor 기전에서의 변화 등이 β adrenergic 자극에 대한 반응성의 감소에 관련이 있다고 볼 수 있다²⁷⁾²⁸⁾.

고혈압쥐의 관상 소동맥 내피세포에서는 prostaglandins, short-lived superoxides 및 그의 다른 혈관 수축물질들이 pressure-induced vascular stretching에 의하여 유리된다고 한다²⁹⁾. 만약 이러한 수축물질들이 관여한다면, 관상혈관 수축작용이 공존하여 고혈압쥐의 대사적인 혈류 조절작용을 설명하기는 쉽지 않으리라 본다. 뿐만 아니라, 내피세포로부터 유리되는 혈관 확장작용을 나타내는 relaxing factor들의 감소는 관상혈관의 smooth muscle tone을 증가시킬 것이다. Acetylcholine에 의한 혈관 확장작용은 내피세포가 손상된 여러가지 질병에서 종종 나타나지 않는다³⁰⁻³²⁾. 그러므로, 고혈압쥐에서 관상혈관의 내피세포로부터 유리되는 혈관 확장물질이 감소하거나 반대로 혈관 수축인자들의 유리가 증가한다는 것이 고혈압쥐의 관상 혈관저항을 증대시키는 요인으로 간주될 수 있다.

요약 및 결론

본 연구는 서로 다른 에너지원을 사용하여 basal 상태와 β adrenergic 자극에서 에너지원의 정상백서와 고혈압쥐의 심장 및 관상순환 기능에 대한 효과를 조사하였다. Basal 상태의 경우 지방원인 acetate와 octanoate는 정상백서에서 심장근의 산소소비량의 상승과 함께 상당한 관상관류량의 증가를 보여주었지만, 고혈압쥐에서는 관상혈관의 수축현상이 작용하여 대사적인 acidosis를 초래하면서도 관류량의 증가가 감

소하였다. 뿐만 아니라, 고혈압쥐는 정상백서에 비해서 관류된 에너지원이 당질원인 pyruvate와 lactate인 경우에서도 isoproterenol에 대한 관상혈관의 기능적 hyperemia가 억제되었다. 특히, octanoate는 이러한 약리적인 조건에서 정상백서의 심장 및 관상순환 기능을 정상화시키지 못하였다. 한편, 지방원은 고에너지 화합물의 상당한 고갈을 초래하는 반면에 고에너지 화합물의 분해산물들을 축적하였다. 또한, basal 상태에서의 관상혈관의 수축작용을 일으키고 isoproterenol에 대한 기능적 hyperemia의 억제작용이 나타나는 고혈압쥐에서는 고에너지 화합물의 상당한 소모가 초래되었다. 이러한 결과들은 심장근이나 관상혈관의 smooth muscle로 관류되는 에너지원은 심장 및 관상순환 기능에 상당한 영향을 미친다는 것을 제시하였고, 정상적인 관상순환 기능은 심장근의 고에너지 화합물의 보유상태 및 고에너지 화합물의 분해와 생합성과의 균형상태와 상관관계를 유지한다는 사실을 암시하고 있다. 이러한 사실은 심장내의 lactate dehydrogenase에 의해 조절되는 cytosolic redox 상태와 나아가서 심장조직의 에너지상태인 cytosolic phosphorylation potential에 의해 설명되어질 수 있으며, 결국 고혈압쥐에서 초래되는 혈압상승의 기전도 심장근의 에너지 대사와 연관지어 설명할 수 있다.

■ 감사의 글

본 연구는 1993년도 한국학술진흥재단의 지방대학 육성과제 학술연구조성비의 지원으로 이루어진 것이므로 감사드립니다. 예비적인 연구결과 data는 1994년 제 2회 교육부지원 기초의학 학술대회에서 일부 발표되었습니다(초록집 UG 2, pp38).

Literature cited

- 1) Treasure CB, Klein JL, Vita JA, Manoukian SV, Renwick GH, Selwyn AP, Ganz P, Alexander RW. Hypertension and left ventricular hypertrophy are associated with impaired endothelium-mediated in human coronary resistance vessels. *Circulation* 87 : 86-93, 1993
- 2) Wallin BG, Kunimoto MM, Sellgren J. Possible genetic influence on the strength of human muscle sym-

- pathetic activity at rest. *Hypertension* 22 : 282-284, 1993
- 3) Hayakawa H, Hirata Y, Suzuki E, Sugimoto T, Matsuoka H, Kikuchi K, Nagano T, Hirobe M, Sugimoto T. Mechanisms for altered endothelium-dependent vasorelaxation in isolated kidneys from experimental hypertensive rats. *Am J Physiol* 264 : H1535-H1541, 1993
 - 4) England SK, Wooldridge TA. Enhanced single-channel K^+ current in arterial membranes from genetically hypertensive rats. *Am J Physiol* 264 : H1337-H1345, 1993
 - 5) Sharma RV, Butters CA, Bhalla RC. Alterations in plasma membrane properties of the myocardium of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 8 : 583-591, 1986
 - 6) Pérez GN, Petroff MV, Mattiazzi A. Rested-state contractions and rest potentiation in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 22 : 306-314, 1993
 - 7) Nabika T, Velletri PA, Beaven MA, Endo J, Lovenberg W. Vasopressin-induced calcium increases in smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Life Sci* 37 : 579-584, 1985
 - 8) Hojo Y, Ebata H, Ikeda U, Tsuruya T, Natsume T, Shimada K. Enhanced spontaneous calcium efflux and decrease of calcium-dependent calcium release from isolated perfused heart of spontaneously hypertensive rats. *J Hypertension* 10 : 513-520, 1992
 - 9) Scott JB, Hardin RA, Haddy FJ. Pressure-flow relationship in the coronary vascular bed of the dog. *Am J Physiol* 199 : 765-769, 1963
 - 10) Gregg DE. Effect of coronary perfusion pressure or coronary flow on oxygen usage of the myocardium. *Circ Res* 13 : 497-500, 1960
 - 11) Nuutinen EM, Nishiki K, Erecinska M, Wilson DF. Role of mitochondrial oxidative phosphorylation in regulation of coronary blood flow. *Am J Physiol* 243 : H159-H169, 1982
 - 12) Kang YH, Mallet RT, Bünger R. Coronary autoregulation and purine release in normoxic heart at various cytoplasmic phosphorylation potentials : Disparate effects of adenosine. *Pflügers Arch* 421 : 188-199, 1992
 - 13) Bünger R, Mallet RT, Kang YH. Guinea pig cardiac free, bound and interstitial adenylates : Energy-linked and energy-independent adenosine release. In : Imai S, Nakazawa M, eds. Role of adenosine and adenine nucleotides in the biological system. *Elsevier Science Publishers, Amsterdam/New York/Oxford* 337-353, 1991
 - 14) Badenheuer H, Schrader J. Supply-to-demand ratio for oxygen determines formation of adenosine by the heart. *Am J Physiol* 250 : H173-H180, 1986
 - 15) Martin SE, Lenhard SD, Schmarkey LS, Offenbacher S, Odle BM. Adenosine regulates coronary flow during increased work and decreased supply. *Am J Physiol* 264 : H1438-H1446, 1993
 - 16) Bünger R, Haddy FJ, Querengässer A, Gerlach E. An isolated guinea pig heart preparation in vivo-like features. *Pflügers Arch* 353 : 317-326, 1975
 - 17) Merrill GF, Haddy FJ, Dabney JM. Adenosine, theophylline and perfusate pH in the isolated, perfused guinea pig heart. *Circ Res* 42 : 225-229, 1978
 - 18) 김은지 · 김은미 · 강영희. Guinea pig heart의 관상동맥 순환기능과 calcium release에 있어서 caffeine이 미치는 영향. *한국영양학회지* 25(7) : 597-607, 1992
 - 19) Bünger R, Soboll S. Cytosolic adenylates and adenosine release in perfused working heart : Comparison of whole tissue with cytosolic non-aqueous fractionation analyses. *Eur J Biochem* 159 : 202-215, 1986
 - 20) Braasch W, Gudbjarnason S, Purl PS, Ravens KG, Bing RJ. Early changes in energy metabolism in the myocardium following acute coronary artery occlusion in anesthetized dogs. *Circ Res* 23 : 429-438, 1968
 - 21) Mallet RT, Hartman DA, Bünger R. Glucose requirement for postischemic recovery of perfused working heart. *Eur J Biochem* 188 : 481-493, 1990
 - 22) Olsson RA, Bünger R. Metabolic control of coronary blood flow. *Prog Cardiovasc Dis* 24 : 369-387, 1987
 - 23) Laughlin MR, Taylor J, Chesnick AS, DeGroot M, Balaban RS. Pyruvate and lactate metabolism in the in vivo dog heart. *Am J Physiol* 264 : H2068-H2079, 1993
 - 24) Aoki K, Ikeda N, Yamashita K, Hotta K. ATPase activity and Ca^{2+} interaction of myofibrils and sarcoplasmic reticulum isolated from the hearts of spontaneously hypertensive rats. *Jpn Heart J* 15 : 475-484,

1974

- 25) Kowarski S, Cowen I, Schachter D. Decreased content of integral membrane calcium-binding protein (IMCAL) in tissues of spontaneously hypertensive rat. *Proc Natl Acad Sci* 83 : 1097-1100, 1986
- 26) 김은지 · 강영희. Actions of isoproterenol for coronary circulation in spontaneously hypertensive rat hearts. *순환기* 24(5) : 709-716, 1994
- 27) Moravec CS, Kelly E, Bond M. Altered relaxation and Sarcoplasmic Reticulum calcium content in cardiac muscle from the aging spontaneously hypertensive rat. *Circulation* 88(Supp) : I-629, 1993
- 28) Saragoca M, Tarazi R. Impaired cardiac contractile response to isoproterenol in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 3 : 380-385, 1981
- 29) Katusic FS, Shepherd JT, Vanhoutte PM. Vanhoutte-dependent contraction to stretch in canine basilar arteries. *Am J Physiol* 252 : H671-H673, 1987
- 30) Ludmer PL, Selwyn AP, Shook RL. Paradoxical vasoconstriction produced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 315 : 1046-1051, 1986
- 31) Lokette W, Otsuka Y, Carretero O. The loss of endothelium-dependent vascular relaxation in hypertension. *Hypertension* 8(Supp II) : 61-66, 1986
- 32) Lüscher TF, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contraction to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 8 : 344-348, 1986