

## 흰쥐의 척수에서 Cyclic Nucleotides 및 Glipizide가 Baclofen의 심혈관반응에 미치는 영향

신 인 철 · 고 현 철 · 하 지 희

한양대학교 의과대학 약리학교실

**Effects of Cyclic Nucleotides and Glipizide on the Cardiovascular Response of Baclofen in the Rats.** In Chul Shin, Hyun Chul Koh, and Ji Hee Ha Department of Pharmacology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

The purpose of present study is to investigate the influence of a spinal gamma-aminobutyric acid B(GABA<sub>B</sub>) receptor on a central regulation of blood pressure(BP) and heart rate(HR), and to define its mechanism in the spinal cord. In urethane-anesthetized, d-tubocurarine-paralyzed and artificially ventilated male Sprague-Dawley rats, intrathecal administration of drugs were carried out using injection cannula(33-gauge stainless steel) through the guide cannula(PE 10) which was inserted intrathecally at lower thoracic level through the puncture of a atlantooccipital membrane. Intrathecal injection of an GABA<sub>B</sub> receptor agonist, baclofen(30, 60, 100 nmol) decreased both BP and HR dose-dependently. Pretreatment with 8-bromo-cAMP(50 nmol), a cAMP analog, or glipizide(50 nmol), a ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel blocker, attenuated the depressor and bradycardic effects of baclofen(100 nmol), but not with 8-bromo-cGMP(50 nmol), a cGMP analog.

These results suggest that the GABA<sub>B</sub> receptor in the spinal cord plays an inhibitory role in central cardiovascular regulation and that this depressor and bradycardic actions are mediated by the decrease of cAMP via the inhibition of adenylate cyclase and the opening of K<sup>+</sup> channel.

Key Words: Baclofen, Spinal cord, cAMP, cGMP, Glipizide, Blood pressure, Heart rate

### 서 론

흉수에 위치하는 교감신경절전뉴론(sympathetic preganglionic neuron)은 중추신경계에서 말초장기로 신호를 전달하는 최종 신호전달 경로로서 중추신경계의 지배하에서 자율신경의 기능 즉 체온 및 체액과 에너지 균형의 조절 뿐만아니라 심혈관 조절에도 관여된다고 알려져 있다(Laskey & Polosa, 1988). 이 흉수의 교감신경절전뉴론은 흉수의 상부와 하부에 분포하여 혈관수축을 일으키는 뉴론과 상부 흉수에만 존재하여 심장축진을 일으키는 뉴론이 존재한다고 한다(Henry & Calaresu, 1972; Sundaram et al, 1989). Barber와 Henry(1982)의 해부학적 및 생화학적 연구에 의하면 흰쥐의 척수에는 GABA( $\gamma$ -amino-

butyric acid)를 함유하는 신경체세포와 신경말단이 존재한다고 보고하였으며, Backman과 Henry(1983)의 전기생리학적 연구에서도 GABA의 척수강내 투여시 교감신경절전 섬유들의 기능들이 억제될 수 있다고 하였다.

GABA 수용체는 주로 신경의 접합부전(presynaptic) 부위에 위치하여 chloride 이온 유입의 증가를 매개로 하여 작용하는 GABA<sub>A</sub> 수용체(McCormick, 1989; Sivillotti & Nistri, 1991)와 신경의 접합부전 뿐만 아니라 접합부후(postsynaptic) 부위에도 존재하는 GABA<sub>B</sub> 수용체로 나누어 지고(Kerr et al, 1987), 최근에 GABA<sub>A</sub> 수용체와 비슷하게 chloride 이온과 관련있지만 GABA<sub>A</sub>와 다른기능을 하는것으로 알려진 GABA<sub>C</sub> 수용체가 존재한다고 한다. 접합부전 부위에 존재하는 GABA<sub>B</sub> 수용체는 calcium channel 억제를 통해 작용을 나타낸다고 하며(Tsien et al, 1988), 접합부후 부위의 수용체는 potassium channel 활성화화를 매개로 작용한다고 알려짐으로써(Thompson & Ga-

hwiler, 1992) GABA<sub>B</sub> 수용체 활성화는 접합부전과 접합 부후 부위에서 다른기전을 통해서 작용한다고 한다 (Deisz et al, 1993).

한편 신경세포에서 GABA<sub>A</sub> 수용체의 활성화는 세포내 cAMP(cyclic adenosine monophosphate) 증가에 의한 인산화 과정으로 억제된다고 하며(Heuschneider & Schwartz, 1989; Harrison & Lambert, 1989; Schwartz et al, 1990), GABA<sub>B</sub> 수용체는 adenylate cyclase 억제제로 인한 cAMP 농도의 감소로 이 수용체의 작용을 매개한다고 알려져 있다(Karbon & Enna, 1984; Kamatchi & Ticku, 1990; Gerber & Gahwiler, 1994). Malcangio와 Bowery(1993)는 척수에서 GABA<sub>B</sub> 수용체와 cAMP와의 연관성을 보고하였는데 이들은 forskolin 자극에 의한 척수세포내의 cAMP 농도 증가는 GABA<sub>B</sub> 수용체의 활성화에 의해 억제됨을 관찰하였다.

최근에 GABA<sub>B</sub> 수용체는 중추 신경계에서 다른 수용체와 같이 중추 혈압 조절에 중요한 역할을 담당하고 있다는 증거들이 보고되고 있다. Amano와 Kubo(1993)와 Avanzino 등(1994)은 문측 복외측 연수(rostral ventrolateral medulla)에서 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약에 의해 혈압하강 및 심박수 감소가 유발된다는 것을 보고하였다. Florentino 등(1990)과 Sved와 Sved(1990)는 고속핵(nucleus tractus solitarius)에 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약을 투여하였을 때에는 혈압상승 및 심박수 증가를 일으키며 이 반응은 GABA<sub>B</sub> 수용체 길항제에 의해 억제된다고 보고하였으며, Trippebach와 Lake(1994)도 무마취 상태에서 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약은 동맥압과 심박수의 증가를 유발시킨다고 보고함으로써 GABA<sub>B</sub> 수용체에 의한 중추 심혈관 조절은 중추신경 부위 또는 마취 유무에 따라 다르게 조절될 가능성을 제시하였다. 척수에서 GABA<sub>B</sub> 수용체의 심혈관 조절작용도 보고되고 있는데 Hong과 Henry(1990, 1991<sub>b</sub>)와 Hassessian 등(1991)은 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약을 상부 흉수 수준에 국소적으로 투여하였을 때 혈압하강 및 심박수 감소를 관찰하였다. 그러나 중추 심혈관 조절에 있어서 척수의 GABA<sub>B</sub> 수용체의 역할과 그 조절기전에 대해서는 아직 명확하게 규명되어 있지 않다.

그러므로 본 실험은 하부 흉수 수준에서 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약인 baclofen의 자극에 의한 심혈관 조절을 관찰하고, 그 조절 기전으로 cAMP, cGMP(cyclic guanosine monophosphate) 및 potassium channel이 관여되는지를 알아보고자 시행 하였다.

## 실험재료 및 방법

### 재 료

실험동물: 실험동물로서 250 g 내외의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였다.

사용한 약물: Baclofen(D-β-(aminomethyl)-4-chlorobenzenepropanoic acid), 8-bromo-cAMP, 8-bromo-cGMP 및 glipizide는 RBI사(미국)로부터 구입하였다. Baclofen, 8-bromo-cAMP 및 8-bromo-cGMP는 0.9% NaCl용액에 용해시켜 사용하였으며, glipizide는 2.0% dimethylsulfoxide (DMSO)용액에 용해시켜 사용하였다.

### 방 법

실험군: 실험군은 다음과 같이 5군으로 하였으며, 각각의 약물들은 척수강내(intrathecaly, i.t.)로 투여하였다.

- 1) GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약인 baclofen(30, 60, 100 nmol)의 용량에 따른 혈압 및 심박수 변동 관찰군(n=7)
- 2) cAMP 유사체인 8-bromo-cAMP(50 nmol) 투여 10분 후 baclofen(100 nmol) 투여군(n=5)
- 3) cGMP 유사체인 8-bromo-cGMP(50 nmol) 투여 10분 후 baclofen(100 nmol) 투여군(n=5)
- 4) ATP-sensitive potassium channel 억제제인 glipizide(50 nmol) 투여 10분 후 baclofen(100 nmol) 투여군(n=5)

일반 실험법 및 혈압측정: 흰쥐에 urethane(1.15 g/kg)을 복강내 주사하여 마취하고 1시간 후 다시 urethane(0.23 g/kg)을 피하주사하여 마취를 유지하였으며, 기관절개 후 cannula를 삽입하였다. d-Tubocurarine(0.5 mg/kg, i.m.)으로 호흡근육을 마비시킨 후 호흡기(Ugobasili, Model 7025, 미국)를 이용하여 인공호흡을 유지시키고, 자동체온 조절기(Carnegie Medicine, CMA 150, 스웨덴)를 이용하여 36.5~37.0°C 사이의 체온을 유지하였다. 혈압측정을 위하여 대퇴동맥에 polyethylene tube(PE 50, Clay Adams, 미국)를 삽입하였다. 혈압측정은 흰쥐의 대퇴동맥에 heparin(200 units/ml)을 채운 polyethylene tube를 삽입하고, 이를 압력 변환기(pressure transducer; Spectramed, Model P23XL, 미국)와 polygraph(Grass, 미국)에 연결하여 기록하였다.

척수강내 약물투여법: 흰쥐를 뇌정위 고정장치(Stoelting Instrument, 미국)에 복외위 자세에서 목의 근육들과 근막을 박리하여 atlantooccipital membrane을 노출시켜 약 1.5 mm를 절개 후 guide cannula로서 polyethylene tube(PE 10)를 membrane에서 6.5 cm를 밀어 넣어 하부 흉수 수준에 위치 선정을 하였다. 척수강내의 약물 투여는 stainless steel cannula(33-gauge)에 약물을 채운 후 guide cannula 속으로 밀어 넣고 한쪽 끝은 polyethylene tube(PE 20)를 이

용하여 10  $\mu$ l Hamilton 주사기에 부착시켰다. 약물은 Hamilton 주사기내에 부착시킨 micrometer를 이용하여 5  $\mu$ l의 부피를 1분 동안에 주사하였다.

통계분석: 실험성적은 평균 $\pm$ 표준오차로 표시하였고 Student의 t검정으로 유의성을 검정하였다.

결 과

척수강내 투여한 baclofen의 용량에 따른 혈압 및 심박수 변동

본 실험에서 사용한 흰쥐의 평균 기저동맥압은 85.7  $\pm$  6.5 mmHg이었고, 평균 기저심박수는 396  $\pm$  41.3 bpm이었다. GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약인 baclofen 30 nmol(i.t.)

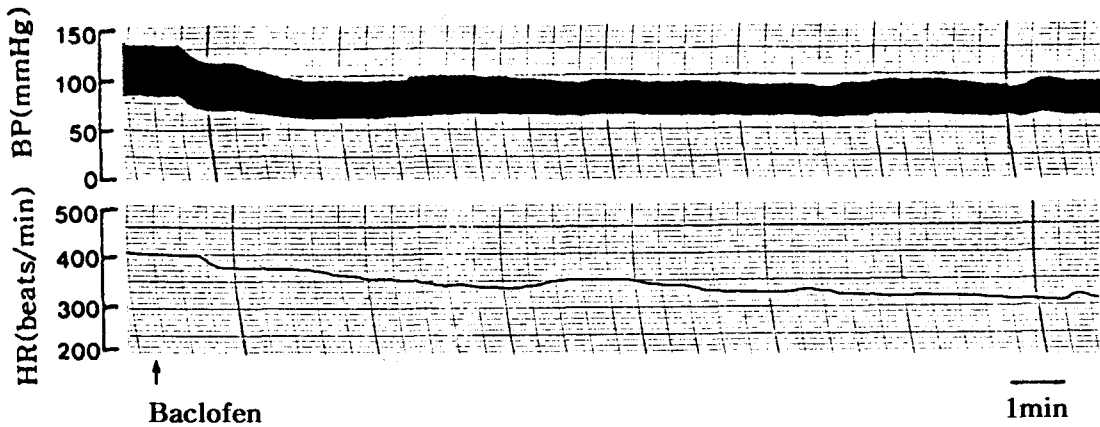


Fig. 1. Representative tracings depicting the changes of blood pressure(BP) and heart rate(HR) following microinjection of baclofen(100 nmol, i.t.).

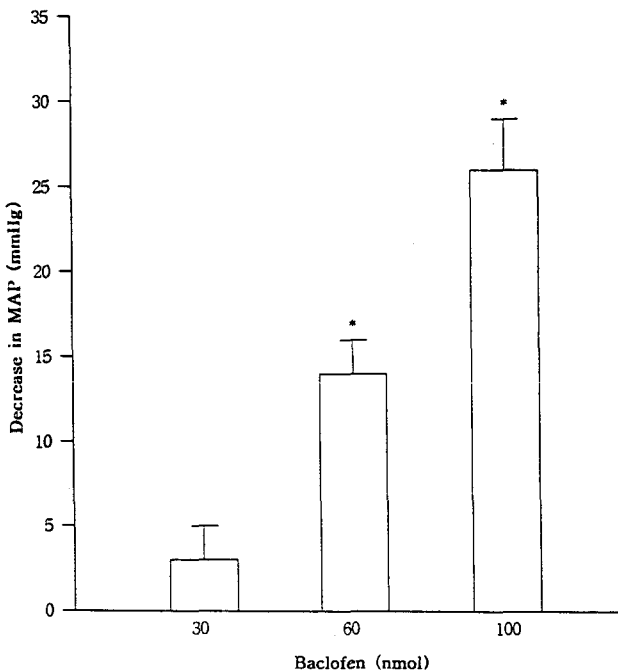


Fig. 2. Dose-dependent decrease in mean arterial pressure (MAP) elicited by injection of baclofen(30, 60, 100 nmol, i.t.). The values are expressed as mean $\pm$ S.E.. \*p<0.01, compared to basal MAP.

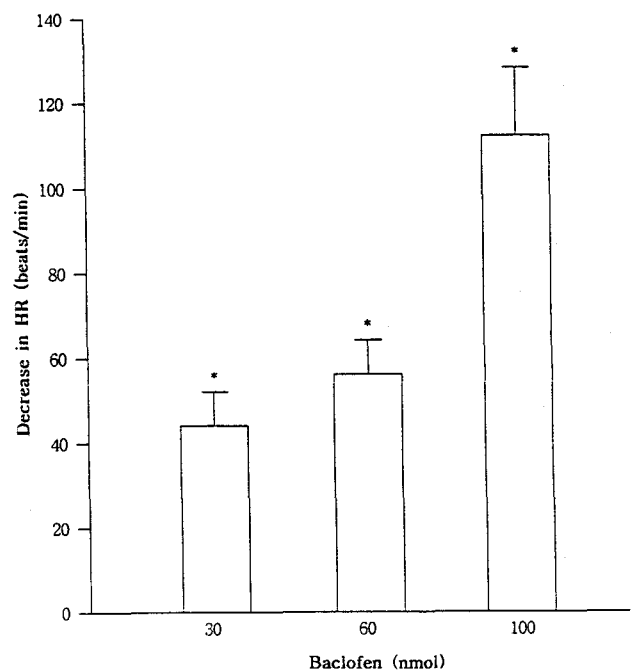


Fig. 3. Dose-dependent decrease in heart rate(HR) elicited by injection of baclofen(30, 60, 100 nmol, i.t.). The values are expressed as mean $\pm$ S.E.. \*p<0.01, compared to basal HR.

투여에 의한 평균 동맥압의 변화는  $2.8 \pm 2.5$  mmHg 만큼 감소하였지만 평균 기저동맥압에 비해 유의성이 없었다. Baclofen 60 nmol 및 100 nmol(i.t.)에 의한 평균 동맥압의 반응은 각각  $13.7 \pm 2.2$ ,  $26.3 \pm 3.0$  mmHg 만큼 용량의존적으로 감소하였고, baclofen의 동맥압하강이 최고치에 도달하는 시간은 평균 19.3분 이었다.

이들 용량에서 유발된 동맥압하강은 평균 기저동맥압에 비해 유의하였다( $p < 0.01$ ; Fig. 1, 2).

Baclofen 30 nmol, 60 nmol 및 100 nmol(i.t.)에 의한 평균 심박수의 반응은 각각  $43 \pm 11.9$ ,  $54 \pm 13.7$ ,  $108 \pm 20.6$  bpm 만큼 용량의존적으로 감소하였다. Baclofen의 심박수 감소가 최고에 도달하는 시간은 15.7분 이었다. 이들

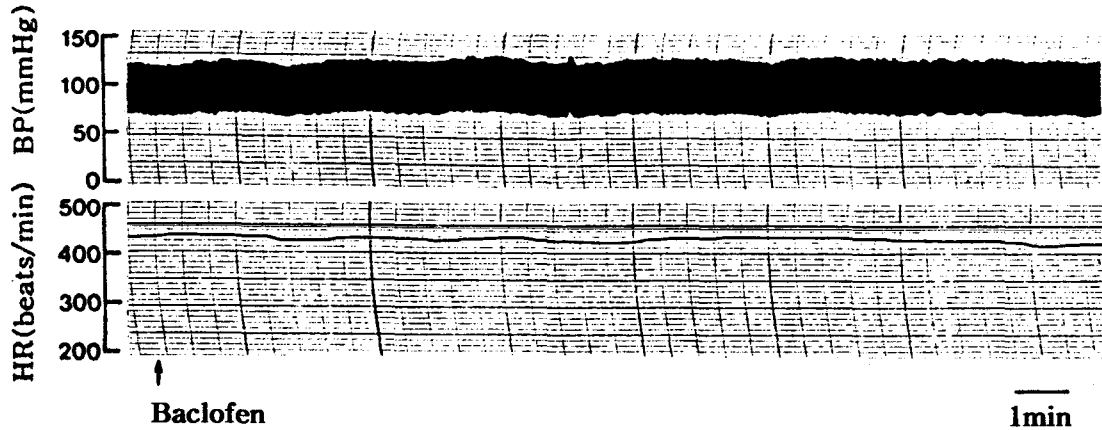


Fig. 4. Representative tracings depicting the changes of blood pressure(BP) and heart rate(HR). Baclofen(100 nmol, i.t.) was microinjected 10 minutes after the pretreatment with 8-bromo-cAMP salt(cAMP; 50 nmol, i.t.).

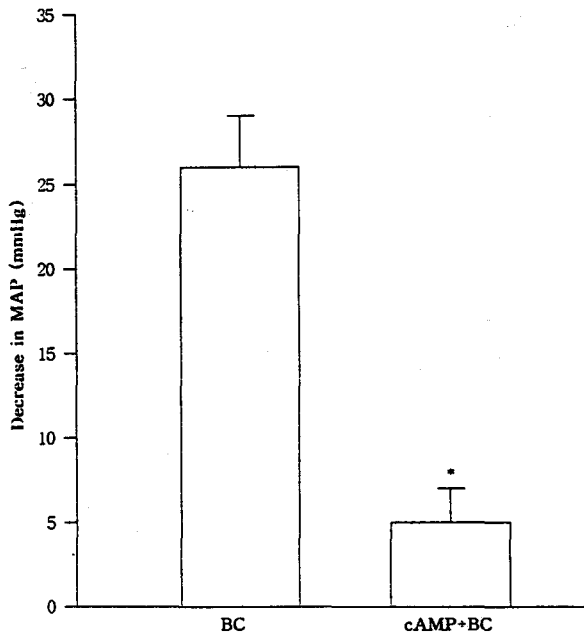


Fig. 5. Change in mean arterial pressure e(MAP) elicited by baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) alone and baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) after the pretreatment with 8-bromo-cAMP salt(cAMP+BC). 8-Bromo-cAMP salt(cAMP; 50 nmol, i.t.) was pretreated 10 min before the injection of BC. The values are expressed as mean  $\pm$  S.E.. \* $p < 0.01$ , compared to BC-treated group.

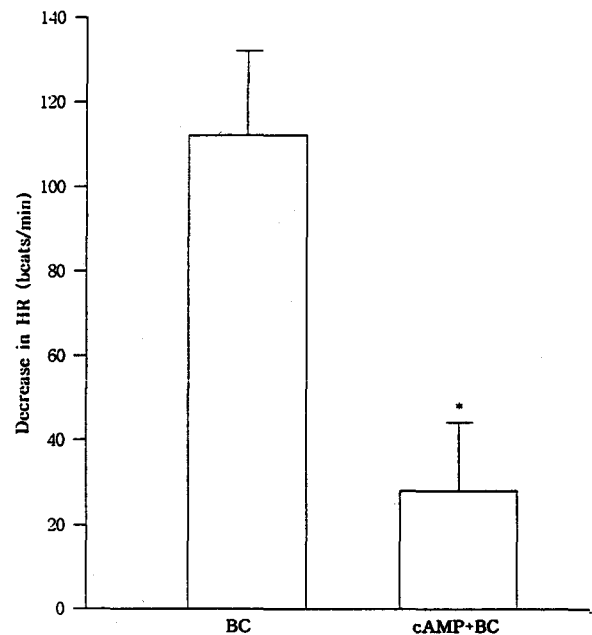


Fig. 6. Change in heart rate(HR) elicited by baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) alone and baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) after the pretreatment with 8-bromo-cAMP salt(cAMP+BC). 8-Bromo-cAMP salt(cAMP; 50 nmol, i.t.) was pretreated 10 min before the injection of BC. The values are expressed as mean  $\pm$  S.E.. \* $p < 0.01$ , compared to BC-treated group.

용량에서 유발된 심박수는 평균 기저심박수에 비해 유의하게( $p < 0.01$ ) 감소하였다(Fig. 1, Fig. 3). Baclofen을 용해시키기 위해 사용한 0.9% NaCl 용액의 척수강내 투여에 의한 동맥압 및 심박수의 변화는 없었다.

척수강내 8-bromo-cAMP 전처치 후 baclofen에 의한 혈압 및 심박수 변동

8-Bromo-cAMP(50 nmol, i.t.) 전처치 후 같은 부위에 동량의 baclofen(100 nmol, i.t.) 투여에 의한 평균 동맥압 및 심박수의 변화는 평균 기저동맥압 및 심박수에 비해 각

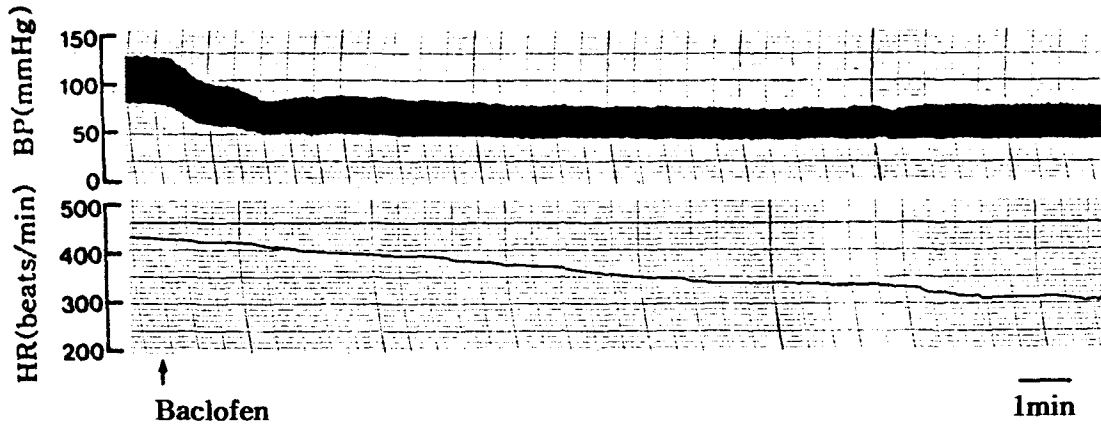


Fig. 7. Representative tracings depicting the changes of blood pressure(BP) and heart rate(HR). Baclofen(100 nmol, i.t.) was microinjected 10 minutes after the pretreatment with 8-bromo-cGMP salt(cGMP; 50 nmol, i.t.).

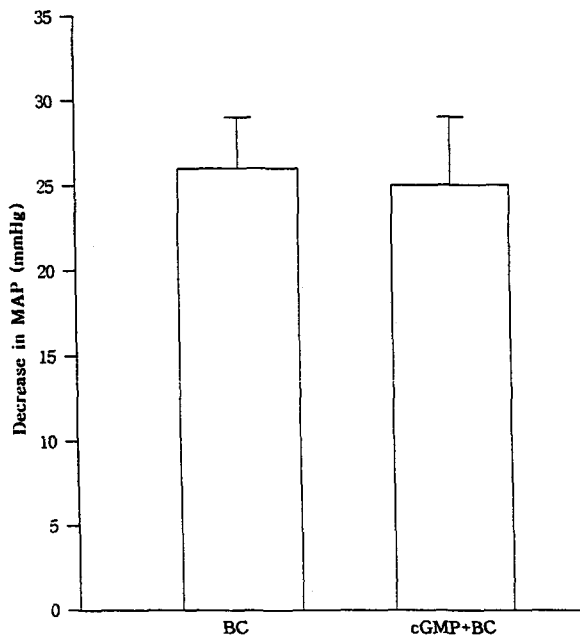


Fig. 8. Change in mean arterial pressure(MAP) elicited by baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) alone and baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) after the pretreatment with 8-bromo-cGMP salt(cGMP + BC). 8-Bromo-cGMP salt(cGMP; 50 nmol, i.t.) was pretreated 10 min before the injection of BC. The values are expressed as mean  $\pm$  S.E.. \* $p < 0.01$ , compared to BC-treated group.

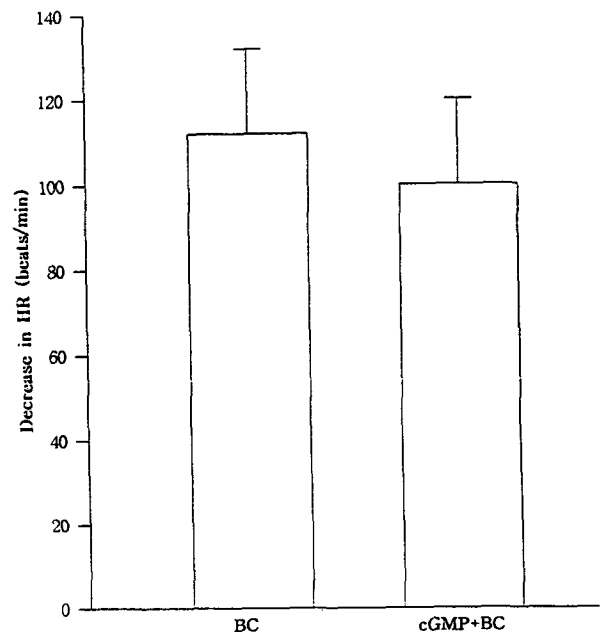


Fig. 9. Change in heart rate(HR) elicited by baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) alone and baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) after the pretreatment with 8-bromo-cGMP salt(cGMP + BC). 8-Bromo-cGMP salt(cGMP; 50 nmol, i.t.) was pretreated 10 min before the injection of BC. The values are expressed as mean  $\pm$  S.E.. \* $p < 0.01$ , compared to BC-treated group.

5.3±2.2 mmHg, 24±19.5 bpm 만큼 감소되었고, baclofen 단독 투여군에 비해 각각 80%, 78%의 유의한( $p < 0.01$ ) 감소 억제효과가 있었다(Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6). 8-Bromo-cAMP을 용해시키기 위해 사용한 0.9% NaCl 용액의 척수강내 투여 및 8-bromo-cAMP(50 nmol, i.t.) 단독투여에 의한 동맥압 및 심박수의 변화는 없었다.

척수강내 8-bromo-cGMP 전처치 후 baclofen에 의한 혈압 및 심박수 변동

8-Bromo-cGMP(50 nmol, i.t.) 전처치 후 같은 부위에 동량의 baclofen(100 nmol, i.t.) 투여에 의한 평균 동맥압 및 심박수의 변화는 평균 기저동맥압 및 심박수에 비해 각각 25.5±5.4 mmHg, 99±23.2 bpm 만큼 감소함으로써

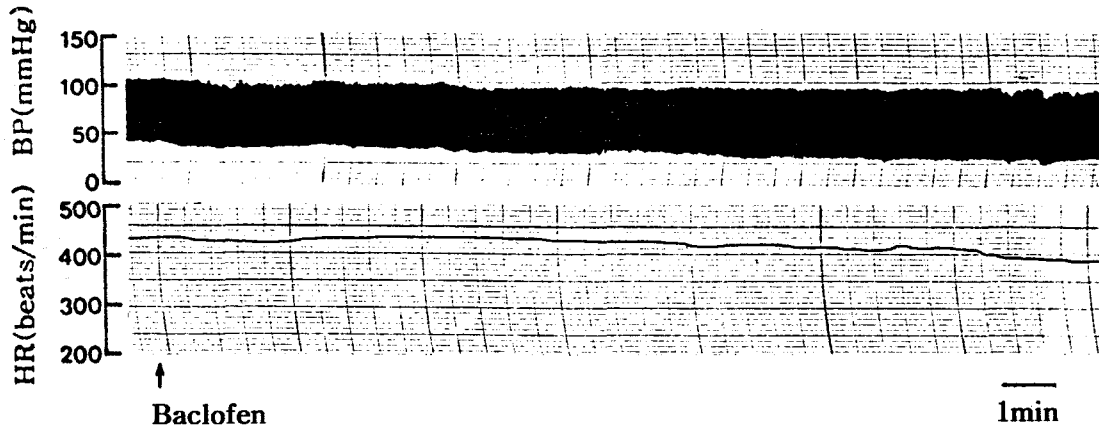


Fig. 10. Representative tracings depicting the changes of blood pressure(BP) and heart rate(HR). Baclofen(100 nmol, i.t.) was microinjected 10 minutes after the pretreatment with glipizide(50 nmol, i.t.).

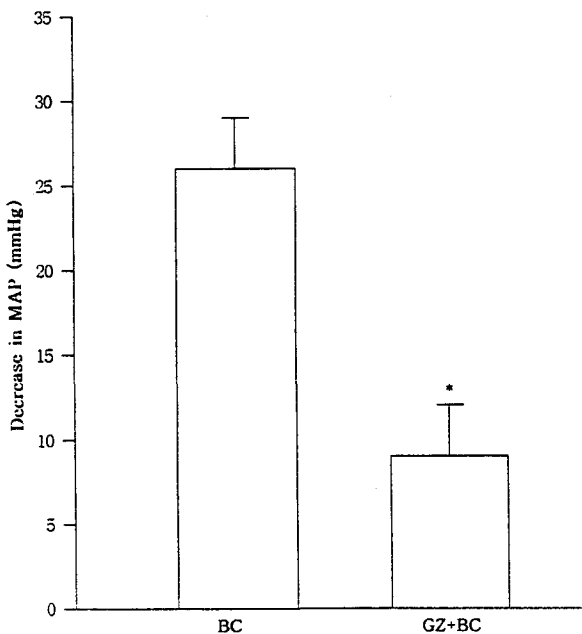


Fig. 11. Change in mean arterial pressure(MAP) elicited by baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) alone and baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) after the pretreatment with glipizide(GZ+BC). Glipizide(GZ; 50 nmol, i.t.) was pretreated 10 min before the injection of BC. The values are expressed as mean ± S.E.. \* $p < 0.01$ , compared to BC-treated group.

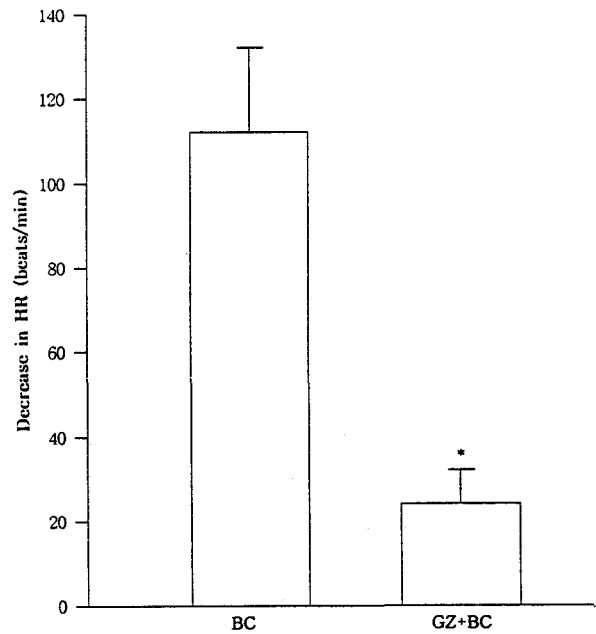


Fig. 12. Change in heart rate(HR) elicited by baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) alone and baclofen(BC; 100 nmol, i.t.) after the pretreatment with glipizide(GZ+BC). Glipizide(GZ; 50 nmol, i.t.) was pretreated 10 min before the injection of BC. The values are expressed as mean ± S.E.. \* $p < 0.01$ , compared to BC-treated group.

baclofen 단독 투여군에 비하여 차이가 없었다(Fig. 7, Fig. 8, Fig. 9). 8-Bromo-cGMP을 용해시키기 위해 사용한 0.9% NaCl 용액의 척수강내 투여 및 8-bromo-cGMP(50 nmol, i.t.) 단독투여에 의한 동맥압 및 심박수의 변화는 없었다.

척수강내 glipizide 전처치 후 baclofen에 의한 혈압 및 심박수 변동

Glipizide(50 nmol, i.t.) 전처치 후 같은 부위에 동량의 baclofen(100 nmol, i.t.) 투여에 의한 평균 동맥압 및 심박수의 변화는 평균 기저동맥압 및 심박수에 비해 각각  $9.1 \pm 3.2$  mmHg,  $24 \pm 8.9$  bpm 만큼 감소되었고, baclofen 단독투여군에 비해 각각 65%, 78%의 유의한( $p < 0.01$ ) 감소 억제효과가 있었다(Fig. 10, Fig. 11, Fig. 12). Glipizide를 용해시키기 위해 사용한 2.0% dimethylsulfoxide (DMSO) 용액의 척수강내 투여 및 glipizide(50 nmol, i.t.) 단독투여에 의한 동맥압 및 심박수의 변화는 없었다.

## 고 찰

중추신경계에 존재하는 GABA<sub>B</sub> 수용체는 심혈관계 조절에 중요한 역할을 한다고 많은 연구자들은 주장하였다(Florentino et al, 1990; Sved & Sved 1990; Hassessian et al, 1991; Hong & Henry, 1990, 1991<sub>a,b</sub>; Amano & Kubo, 1993; Avanzino et al, 1994). 본 연구에서는 척수의 GABA<sub>B</sub> 수용체를 활성화 시켰을 때 동맥압 및 심박수에 미치는 영향과 그 조절 기전에 대하여 조사하였다.

본 실험에서 척수의 하부 흉수 부위에 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약인 baclofen 30, 60 및 100 nmol를 투여하였을 때 용량의존적으로 동맥압이 하강되었고 심박수가 감소되었다. 이 결과는 Hong과 Henry(1990, 1991<sub>a</sub>, 1991<sub>b</sub>)의 결과와 유사한데, 이들은 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약을 척수강내 국소적으로 투여하였을 때 동맥압 하강과 심박수의 감소를 일으키며, 이는 GABA<sub>B</sub> 수용체 길항제의 전처치에 의해 억제됨을 관찰하였다. Amano와 Kubo(1993)와 Avanzino 등(1994)도 문축 복외측 연수(rostral ventrolateral medulla)에서 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약은 혈압하강 및 심박수 감소를 일으킨다고 보고하였다. 그러나 Florentino 등(1990)과 Sved와 Sved(1990)는 고속핵(nucleus tractus solitarius)에 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약을 투여하였을 때에는 혈압상승 및 심박수 증가를 일으키고 이 반응은 GABA<sub>B</sub> 수용체 길항제에 의해 억제된다고 보고하였고, Trippenbach와 Lake(1994)는 무마취 상태에서 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약은 동맥압 상승과 심박수의 증가가 유발된다고 보고함으로

써 GABA<sub>B</sub> 수용체에 의한 중추 심혈관 조절은 중추신경 부위 또는 마취유무 상태에 따라 다르게 조절될 가능성을 제시하였다.

한편 GABA는 중추 혈압조절 작용에서 신경전달물질 혹은 신경조절물질로서 작용할 가능성이 높은 것으로 제시되고 있다. 중추 혈압 조절부위인 문축 복외측 연수(rostral ventrolateral medulla; Blessing 1988), 척수(Madorin & Calaresu, 1994; Hong & Henry, 1991<sub>a</sub>, 1991<sub>b</sub>), 뇌실내(Kimura et al, 1993) 및 후시상하부(posterior hypothalamus; Lisa et al, 1989)에 GABA나 GABA 수용체 작용약을 투여하였을 때 혈압이 하강되고 심박수가 감소됨이 관찰되었고, Gieroba와 Blessing(1992)은 미축 복외측 연수(caudal ventrolateral medulla)에서 GABA는 혈압 상승 및 심박수 증가를 일으킨다고 보고함으로써 GABA에 의한 심혈관 조절은 긴장성(tonic)으로 조절될 가능성을 제시하였다.

최근에는 GABA에 의한 중추 심혈관 조절작용을 GABA<sub>A</sub> 및 GABA<sub>B</sub> 수용체로 나누어 설명하고 있다. GABA<sub>A</sub> 수용체 작용약을 문축 복외측 연수(Amano & Kubo 1993), 시상하부(Wible et al, 1989)에 투여시는 혈압하강 및 심박수 감소를 유발하지만 고속핵(Catelli & Sved, 1988)에 투여시는 혈압하강 및 심박수 증가를 일으키고, GABA<sub>A</sub> 수용체 길항제를 척수(Hassessian et al, 1991)에 투여시 혈압하강 및 심박수 증가를 일으켜 GABA<sub>A</sub> 수용체에 의한 심혈관 조절작용 또한 부위마다 다르게 조절된다는 것을 암시하고 있다. 그러나 Hong과 Henry(1991)는 척수에서 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약에 의한 혈압하강과 심박수 감소는 GABA<sub>B</sub> 수용체 길항제에 의해 억제되지만 GABA<sub>A</sub> 수용체의 작용약에 의한 혈압하강 및 심박수 감소는 GABA<sub>A</sub> 수용체 길항제에 의해 혈압하강만 억제되었고 심박수 감소는 억제되지 못하였으므로 척수에서의 GABA<sub>A</sub> 수용체와 GABA<sub>B</sub> 수용체에 의한 심혈관조절은 서로 다른 기전을 통해서 작용할 것이라고 생각된다.

본 실험에서 척수강내에 baclofen의 투여에 의한 동맥압 하강 및 심박수 감소는 cGMP 유사체인 8-bromo-cGMP 전처치에 의해 억제되지 않았지만, cAMP 유사체인 8-bromo-cAMP 전처치에 의해 약화되는 결과를 보였다. 이는 척수에서 GABA<sub>B</sub> 수용체가 adenylate cyclase 활성을 억제하여 cAMP 농도를 감소시켜 작용을 나타내는 것으로 사료된다. 이 결과와 관련된 보고로, Wojcik와 Neff(1984)는 소뇌세포에서, Nishikawa와 Kuriyama(1989)는 해마세포에서 GABA<sub>B</sub> 수용체의 작용은 adenylate cyclase 활성 억제를 통한 세포내 cAMP 감소에 의해 유발됨을 관찰하였고, 척수에 존재하는 GABA<sub>B</sub> 수용체도 adenylate cyclase와 관련이 있음이 보고 되었다(Kamatchi & Ticku, 1990; Malcangio & Bowery, 1993). 그러나 Karbon과 Enna

(1984)는 대뇌피질에서 adenylate cyclase 활성제인 forskolin에 의한 cAMP의 축적은 GABA<sub>B</sub> 수용체의 활성화에 의해 억제되는 반면, 카테콜아민에 의해 유발되는 cAMP의 증가는 GABA<sub>B</sub> 수용체의 활성화에 의해 cAMP의 축적을 더욱 강화시킨다고 보고하였다. 이는 GABA<sub>B</sub> 수용체에 의한 세포내 cAMP 농도조절은 상황에 따라 작용이 상반될 수 있다는 것을 제시하는 것이다. 본 실험에서 8-bromo-cAMP 전처치에 의한 GABA<sub>B</sub> 수용체의 혈압하강 및 심박수 감소 억제 효과는 adenylate cyclase 활성이 억제되어 세포내 cAMP 농도가 감소됨으로써 유발되는 것으로 사료된다.

한편 cAMP와 cGMP는 각각 cAMP-dependent protein kinase와 cGMP-dependent protein kinase를 독립적으로 활성화시킨다고 알려져 있다(Hardman 1984; Healslip et al, 1987). 그러나 Jiang 등(1992)은 isoproterenol 저농도에 의한 cAMP 증가는 cAMP-dependent protein kinase 활성만을 유발하지만 isoproterenol 고농도에 의한 cAMP 증가는 cAMP-dependent protein kinase 뿐만아니라 cGMP-dependent protein kinase 활성도 증가시킨다고 보고함으로써 cAMP와 cGMP 작용의 연관성을 제시하였다. 그러나 본 실험에서는 GABA<sub>B</sub> 수용체의 작용이 8-bromo-cAMP 전처치에 의해 억제되었지만 8-bromo-cGMP 전처치에 의해서는 억제되지 않았으므로 GABA<sub>B</sub> 수용체의 심혈관 조절 작용의 신호전달에는 cAMP 단독으로 작용될 것이라고 생각된다.

본 실험에서 척수강내에 투여한 GABA<sub>B</sub> 수용체 작용약에 의한 동맥압 하강 및 심박수 감소는 ATP-sensitive potassium channel 억제제인 glibenclamide에 의해 억제되는 결과가 관찰되었다. 이는 척수에서 GABA<sub>B</sub> 수용체는 potassium channel의 활성화를 통해서 작용이 일어난다고 보고한 Kamatchi와 Ticku(1990)의 결과와 유사하다. GABA 수용체는 주로 신경의 접합부전(presynaptic) 부위에 위치하여 chloride 이온 유입의 증가를 매개로 하여 작용하는 GABA<sub>A</sub> 수용체(McCormick, 1989; Sivillotti & Nistri, 1991)와 신경의 접합부전 뿐만 아니라 접합부후(postsynaptic) 부위에도 존재하는 GABA<sub>B</sub> 수용체로 나누어진다고 알려져 있다(Kerr et al, 1987). 접합부전 부위에 존재하는 GABA<sub>B</sub> 수용체는 calcium channel 억제를 통해 작용을 나타낸다고 하며(Tsien et al, 1988), 접합부후 부위의 수용체는 potassium channel 활성화를 매개로 작용한다고 알려짐으로써(Thompson & Gahwiler, 1992) GABA<sub>B</sub> 수용체 활성화는 접합부전과 접합부후 부위에서 다른기전을 통해서 작용한다고 보고하였다(Deisz et al, 1993). 최근에 Watts 등(1995)은 흑질(substantia nigra)에서 GABA<sub>B</sub> 수용체는 접합부전(presynaptic) 뿐만아니라 접합부후(postsy-

naptic)의 ATP-sensitive potassium channel을 매개로 작용한다고 보고하였다. 이상의 결과로부터 하부 척수에 존재하는 GABA<sub>B</sub> 수용체는 척수에서 동맥압 하강 및 심박수 감소를 유발시키며, 이 심혈관 조절작용에는 세포내 cAMP 감소와 potassium channel의 활성화가 관여되는 것으로 사료된다. 그리고 접합부전 GABA<sub>B</sub> 수용체의 작용기전으로 알려진 calcium channel에 의한 심혈관계 반응에 대한 연구는 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

- Amano M, Kubo T. Involvement of both GABA<sub>A</sub> and GABA<sub>B</sub> receptors in tonic inhibitory control of blood pressure at the rostral ventrolateral medulla of the rat. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* 348: 146-153, 1993
- Avanzino GL, Ruggeri P, Bianchi D, Cogo CE, Ermirio R, Weaver LC. GABA<sub>B</sub> receptor-mediated mechanisms in the RVLM studied by microinjections of two GABA<sub>B</sub> receptor antagonists. *Am J Physiol* 266: H1722-H1728, 1994
- Backman SB, Henry JL. Effects of GABA and glycine on sympathetic preganglionic neurons in the upper thoracic intermediolateral nucleus of the cat. *Brain Res* 277: 365-369, 1983
- Barber RP, Henry JL. The cytoarchitecture of GABAergic neurons in rat spinal cord. *Brain Res* 238: 305-328, 1982
- Blessing WW. Depressor neurons in rabbit caudal medulla act via GABA receptors in rostral medulla. *Am J Physiol* 254: H686-692, 1988
- Catelli JM, Sved AF. Enhanced pressor response to GABA in the nucleus tractus solitarius of the spontaneously hypertensive rat. *Eur J Pharmacol* 151: 243-248, 1988
- Deisz RA, Billard JM, Zieglansberger W. Pre- and postsynaptic GABA<sub>B</sub> receptors of rat neocortical neurons differ in their pharmacological properties. *Neurosci Lett* 154: 209-212, 1993
- Florentino A, Varga K, Kunos G. Mechanism of the cardiovascular effects of GABA<sub>B</sub> receptor activation in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res* 535: 264-270, 1990
- Gerber U, Gahwiler BH. GABA<sub>B</sub> and adenosine receptors mediate enhancement of the K<sup>+</sup> current, I<sub>AHP</sub>, by reducing adenylyl cyclase activity in rat CA3 hippocampal neurons. *J Neurophysiol* 72: 2360-2367, 1994
- Gieroba ZJ, Blessing WW. Effects of nucleus solitarius lesions on cardiovascular responses elicited from the caudal ventrolateral medulla. *J Auton Nerv Syst* 39: 97-104, 1992.
- Hardman JG. Cyclic nucleotides and regulation of vascular smooth muscle. *J Cardiovasc Pharmacol* 6: suppl 4, S639-S645. 1984



- Harrison NL, Lambert NA. Modification of GABA<sub>A</sub> receptor function by an analog of cyclic AMP. *Neurosci Lett* 105: 137–142, 1989
- Hassessian H., Champlain APJD, Couture R. Regulation of cardiovascular sympathetic neurons by substance P and  $\gamma$ -aminobutyric acid in the rat spinal cord. *Eur J Pharmacol* 202: 51–60, 1991
- Healslip RJ, Giesa FR, Rimele TJ, Grimes D. Co-regulation of tracheal tone by cyclic AMP-and GMP-dependent mechanism. *J Pharmacol Exp Ther* 243: 1018–1026, 1987
- Henry JL, Calaresu FR. Distribution of cardioacceleratory sites in the intermediolateral nucleus of the cat. *Am J Physiol* 222: 700–704, 1972
- Heuschneider G, Schwartz RD. cAMP and forskolin decrease  $\gamma$ -aminobutyric acid-gated chloride flux in rat brain synaptoneurosomes. *NProc Natl Acad Sci USA* 86: 2938–2942, 1989
- Hong Y, Henry JL. Spinal mediation of the increase in arterial pressure and heart rate in response to intrathecal administration of bicuculline. *Brain Res* 513: 86–90, 1990
- Hong Y, Henry JL. Cardiovascular responses to intrathecal administration of L- and D-baclofen in the rat. *Eur J Pharmacol* 192: 55–61, 1991<sub>a</sub>
- Hong Y, Henry JL. Phaclofen-reversible effects of GABA in the spinal cord of the rat. *Eur J Pharmacol* 201: 171–177, 1991<sub>b</sub>
- Jiang H, Colbran JL, Francis SH, Corbin JD. Direct evidence for cross-activation of cGMP-dependent protein kinase by cAMP in pig coronary arteries. *J Biol Chem* 267: 1015–1019, 1992
- Kamatchi GL, Ticku MK. Functional coupling of presynaptic GABA<sub>B</sub> receptors with voltage-gated Ca<sup>2+</sup> channel: regulation by protein kinase A and C in cultured spinal cord neurons. *Mol Pharmacol* 38: 342–347, 1990
- Karbon EW, Enna SJ. Characterization of the relationship between  $\gamma$ -aminobutyric acid B agonists and transmitter-coupled cyclic nucleotide-generating systems in rat brain. *Mol Pharmacol* 27: 53–59, 1984
- Kerr DIB, Prager ORH, Gynther BD, Curtis DR. Phaclofen, a peripheral and central baclofen antagonist. *Brain Res* 405: 150–154, 1987
- Kimura T, Yamamoto T, Ota K, Shoji M, Inoue M, Ohta M, Sato K, Funyu T, Abe T. The roles of GABA in the central regulation of AVP and ANP release and blood pressure in hypertonic saline infusion and hemorrhage. *J Auton Nerv Syst* 43: 171–178, 1993
- Laskey W, Polosa C. Characteristics of the sympathetic preganglionic neuron and its synaptic input. *Prog Neurobiol* 31: 47–81, 1988
- Lisa M, Marmo E, Wible JH, DiMicco JA. Injection of muscimol into posterior hypothalamus blocks stress-induced tachycardia. *Am J Physiol* 257: R246–251, 1989
- Madorin WS, Calaresu FR. Cardiovascular changes elicited by microinjection of glycine and GABA into the spinal intermediolateral nucleus in urethane-anesthetized rats. *Brain Res* 634: 13–19, 1994
- Malcangio M, Bowery NG. GABA<sub>B</sub> receptor-mediated inhibition of forskolin-stimulated cyclic AMP accumulation in rat spinal cord. *Neurosci Lett* 158: 189–192, 1993
- McCormick DA. GABA as an inhibitory neurotransmitter in human cerebral cortex. *J Neurophysiol* 62: 1018–1027, 1989
- Nishikawa M, Kuriyama K. Functional coupling of cerebral gamma-aminobutyric acid(GABA<sub>B</sub>) receptor with adenylate cyclase system:effect of phaclofen. *Neuchem Int* 14: 85–90, 1989
- Schwartz RD, Heuschneider G, Edgar PP, Cohn JA. cAMP analogs inhibit  $\gamma$ -aminobutyric acid-gated chloride flux and activate protein kinase A in brain synaptoneurosomes. *Mol Pharmacol* 39: 370–375, 1990
- Sivilotti L, Nistri A. GABA receptor mechanisms in the central nervous system. *Prog Neurobiol* 36: 35–92, 1991
- Sundaram K, Murugaian J, Sapru H. Cardiac responses to microinjection of excitatory amino acids into the intermediolateral cell column of the spinal cord. *Brain Res* 482: 12–22, 1989
- Sved AF, Sved JC. Endogenous GABA acts on the GABA<sub>B</sub> receptors in the nucleus tractus solitarius to increase blood pressure. *Brain Res* 526: 235–240, 1990
- Thompson SM, Gahwiler BH. Comparison of the action at pre- and postsynaptic receptors in the rat hippocampus in vitro. *J Physiol* 451: 339–345, 1992
- Trippenbach T, Lake N. Excitatory cardiovascular and respiratory effects of baclofen in intact rats. *Can J Physiol Pharmacol* 72: 1200–1207, 1994
- Tsien RW, Lipscombe D, Madison DV, Bley KR, Fox AP. Multiple types of neuronal calcium channels and their selective modulation. *Trends Neurosci* 11: 431–438, 1998
- Watts AE, Hicks GA, Henderson G. Putative pre- and postsynaptic ATP-sensitive potassium channels in the rat substantia nigra in vitro. *J Neurosci* 15(4): 3065–74, 1995
- Wible JH, DiMicco JA, Luft FC. Hypothalamic GABA and sympathetic regulation in spontaneously hypotensive rats. *Hypertension* 14: 623–628., 1989
- Wojcik WJ, Neff NH.  $\gamma$ -Aminobutyric acid B receptors are negatively coupled to adenylate cyclase in brain and in the cerebellum. These receptors may be associated with granule cells. *Mol Pharmacol* 25: 24–28, 1984