

2006年 8月

碩士學位論文

신성 고혈압쥐에서 *SNAP*에 의한
혈관 이완작용에 있어 Ca^{2+} 의존성
K-통로의 역할

朝鮮大學校 大學院

醫學科

金 炯

신성 고혈압쥐에서 *SNAP*에 의한
혈관 이완작용에 있어 Ca^{2+} 의존성
K-통로의 역할

*Role of K(Ca) Channel in SNAP-Induced Relaxation
of Aorta from Renal Hypertensive Rats*

2006 年 8 月 日

朝鮮大學校 大學院

醫 學 科

金 炯

신성 고혈압쥐에서 *SNAP*에 의한
혈관 이완작용에 있어 Ca^{2+} 의존성
K-통로의 역할

指導教授 廉 哲 鎬

이 論文을 醫學碩士學位 申請論文으로 提出함

2006 年 4 月 日

朝鮮大學校 大學院

醫 學 科

金 炯

金 炯 의 碩士學位論文을 認准함

委員長 大學校 教授 _____印

委 員 大學校 教授 _____印

委 員 大學校 教授 _____印

2006 年 5 月 日

朝鮮大學校 大學院

목 차

<i>Abstract</i>	4
I. 서 론	6
II. 실험방법	8
1. 실험동물	8
2. 혈관의 장력기록	8
3. 분석 및 통계	11
III. 결 과	12
IV. 고 찰	19
V. 결 론	23
참고문헌	24

표 목 차

Table 1. Isometric tension developed by phenylephrine in aortic rings from sham-clipped and 2K1C rats -----	14
--	----

도 목 차

Fig. 1. A schematic representation of the recording system for isometric contraction with 15 mL tissue bath. -----	10
Fig. 2. Systolic blood pressure in sham-operated control and 2K1C hypertensive rats. -----	13
Fig. 3. Effects of MB and ITX on the time course of relaxation to SNAP in sham-clipped rats.-----	15
Fig. 4. Effects of MB and ITX on the time course of relaxation to SNAP in 2K1C rats. -----	16
Fig. 5. Effects of pretreatments with MB or ITX on dose-relaxation curves to SNAP in sham-clipped rats. -----	17

Fig. 6. Effects of pretreatments with MB or ITX on dose-relaxation curves to SNAP in 2K1C rats. ----- 18

ABSTRACT

Role of K(Ca) Channel in SNAP-Induced Relaxation of Aorta from
Renal Hypertensive Rats

by *Kim Hyoung*

Advisor : Prof. Yeum Cheol-Ho, Ph.D.

Department of Medicine, Graduate School, Chosun University

S-nitroso-N-acetylpenicillamine(SNAP), a nitric oxide(NO) donor, is thought to relax vascular smooth muscle by stimulation of soluble guanylate cyclase, accumulation of its product cyclic GMP(cGMP) level. Evidence has emerged that NO-induced vasodilatation is also mediated by stimulating Ca^{2+} -activated K(K_{Ca}) channels directly or indirectly through cGMP. The aim of the present study was to investigate the possible involvement or the alteration of K_{Ca} channels in the mechanism of vasodilation induced by SNAP in two-kidney, one clip(2K1C) hypertensive rats. 2K1C hypertension was made by clipping the left renal artery and age-matched control rats received a sham treatment. Using rings prepared from thoracic aortae, we studied changes in isometric tension of the rings in response to SNAP to evaluate effects of a soluble guanylate cyclase inhibitor methylene blue(MB), and a specific blocker of K_{Ca} channel iberiotoxin(ITX). Aortic rings from 2K1C hypertensive and sham-clipped control rats precontracted with phenylephrine showed

similar relaxation to SNAP. MB markedly suppressed the SNAP-induced relaxation in both groups, leaving about 30% of MB-resistant relaxation. ITX nearly completely eliminated the MB-resistant relaxation in control rats, but it did not affect in 2K1C rats. These results suggest that SNAP-induced vasorelaxation is mediated through cGMP-dependent and cGMP-independent K_{Ca} channel involvings mechanisms, the latter may be altered in 2K1C renal hypertension.

Key words: NO donor, K_{Ca} channel, Vasorelaxation, Renal hypertension.

I. 서 론

혈관 내피층으로부터 혈관 평활근을 이완시키는 여러 가지 물질이 유리되며 이 가운데 이완인자로서 대표적인 물질이 nitric oxide(NO)이다.¹⁾ NO donor인 S-nitroso-N-acetylpenicillamine(SNAP)^{2,3)}과 같은 nitrovasodilator 는 guanylate cyclase 를 자극하여 세포내 cGMP 합성을 증가시킴으로써⁴⁾ Ca^{2+} 농도를 감소시켜⁵⁾ 혈관 평활근을 이완시키는 것으로 알려져 있다. 혈관 평활근 세포막에 풍부하게 분포되어 있는 Ca^{2+} 의존성 $K(K_{Ca})$ -통로⁶⁾는 세포내 Ca^{2+} 의 증가와 더불어 활성화되어 세포막을 과분극 시킴으로써⁷⁾ 평활근을 이완시키는 바, nitrovasodilator 에 의한 혈관 이완반응에 있어 세포내 cGMP 농도의 증가와 더불어 K_{Ca} -통로의 활성화가 수반됨이 보고되어 있으며^{8,9)} NO가 혈관 평활근에서 직접적 또는 간접적으로 K_{Ca} -통로를 활성화 시킨다고 한다.¹⁰⁾

고혈압은 궁극적으로 혈관구경 변화에 의한 말초저항의 상승이 수반된 바 혈관 평활근 이완에 관여하는 K -통로의 역할이 달라질 수 있을 것이며, 실제로 고혈압 상태에서는 혈관 확장과 관련된 K -통로의 활성이 억제된다고 한다.¹¹⁾ 또한 Fukami 등⁹⁾은 임상적으로 널리 사용되어 온 NO donor의 일종인 nitroglycerin 에 의한 혈관 이완반응이 부분적으로 cGMP 경로와는 별도로 K_{Ca} -통로 활성화에 의해 유지됨을 확인하였으며 자발 고혈압쥐(spontaneously hypertensive rats, SHR)의 경우에는 K_{Ca} -통로의 활성이 감소됨을 시사하였다. 한편 인위적으로 renin-angiotensin system(RAS)을 항진시킨 신성고혈압 상태에서 혈관

내피층 의존 이완반응이 억제되는 현상이 세포내 K 활성화와 관련된 과분극 억제에 기인함이 보고된 바¹²⁾ 신성고혈압 동물에서도 NO에 의한 혈관 이완 반응에 있어 K_{Ca} -통로의 활성이 변이될 가능성을 배제할 수 없을 듯하다.

본 연구는 적출 흰쥐 흉부 대동맥 표본에서 SNAP에 의한 혈관 이완 반응에 있어 cGMP 및 K_{Ca} -통로의 활성을 검토하고 나아가서 실험적으로 유발시킨 two-kidney, one clip(2K1C) 신성 고혈압 상태에서 그 기능적 역할이 차이가 있는지 구명하고자 시도하였다.

II. 실험 방법

1. 실험동물

1) 2K1C 신성고혈압의 유발

동일한 조건하에서 번식 사육한 체중 150-200 g의 흰쥐 (Sprague-Dawley, ♂)를 thiopental (40 mg/kg, IP) 마취하에 개복한 후 좌측 신동맥에 직경 0.2 mm의 silver clip을 장치하고 신속히 봉합하였다. 마취에서 깨어난 후 사료와 물을 충분히 공급하면서 1주 간격으로 꼬리 혈압을 간접법(Harvard 10766)으로 측정하여 고혈압 유발과정을 확인하였으며 RAS의 영향을 배제하기 위하여 6주 후에¹³⁾ 사용하였다. 수축기 혈압이 160 mmHg 이하인 경우는 실험대상에서 제외하였다.

2) 정상혈압쥐

신성고혈압쥐와 동일한 조건이나 다만 clip을 장치하지 않는 군 (sham-clipped)을 대조군으로 하였다.

2. 혈관의 장력기록

흉부 대동맥 혈관을 적출하여 길이 2-3 mm의 환상표본을 만들어 15 mL 수조에 매달고 37 ± 0.5 °C를 유지하면서 95% O₂와 5% CO₂의 혼합 기체를 지속적으로 공급하였다. 동맥환 표본의 한쪽 끝은 수조 하단에

고정하고 반대쪽은 등장성 장력변환기 (Grass, FT03)에 연결하여 그 장력변동을 Polygraph (Grass, Model 79)상에 기록하였다. 사용한 영양액의 조성은 NaCl 118.3, KCl 4.7, NaHCO₃ 25, MgCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, glucose 11.1 mM 이었으며 pH는 7.4±0.1로 유지되도록 하였다(Fig. 1). 혈관표본에 2 g의 장력을 주어 약 1.5~2시간 평형시키고 장력이 일정하게 되면 먼저 50 mM KCl (영양액 조성을 KCl 변동양만큼 NaCl로 치환시킴)에 대한 수축반응을 확인한 후 본 실험을 시작하였다.

Phenylephrine (PE, 10⁻⁶ M)으로 수축시켜 수축의 크기가 안정되었을 때 SNAP (10⁻¹⁰~10⁻⁶ M)에 의한 이완반응을 기록하였다. cGMP 억제제인 methylene blue (MB, 10⁻⁵ M) 및 K_{Ca}-통로 차단제인 iberiotoxin (ITX, 3×10⁻⁸ M)은¹⁴⁾ PE 수축 20분 전에 전처치하여 그 영향을 2K1C 고혈압군과 대조군에서 각각 비교 검토하였다. 경우에 따라 억제제에 의한 이완반응의 시간적 경과 (time-course)를⁹⁾ 확인하기 위하여 SNAP 최대농도 (10⁻⁶ M)에 의한 이완양상을 20분 동안 관찰하였다. 약물은 모두 Sigma 사 (미국 미주리주, ST. Louis) 제품이었으며 3차 증류수에 용해하여 사용하였다.

Fig. 1. A schematic representation of the recording system for isometric contraction with 15 mL tissue bath.

3. 분석 및 통계

실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며 SNAP에 의한 이완반응의 크기는 10^{-6} M PE 수축반응에 대한 %로 표시하였다. IC_{50} 값은 pD_2 치 (the mean of the negative log molar concentration)로 환산하였다. 각 군간 차이는 ANOVA (analysis of variance) 또는 t-test를 이용하여 검정하였으며 $p<0.05$ 인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

III. 결 과

6주째에 간접법으로 측정된 수축기 혈압은 2K1C 고혈압군 (188 ± 7.4 mmHg, $n=27$)이 대조군 (134 ± 5.5 mmHg, $n=29$)에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 높았다(Fig. 2). 50 mM KCl에 대한 수축반응의 크기는 고혈압군 (1.21 ± 0.09 g)과 대조군 (1.09 ± 0.08 g)에서 차이가 없었다.

PE 투여시 수축반응은 2K1C 고혈압군에서 대조군에 비해 항진되었다. MB 전처치시 대조군의 경우 PE에 의한 수축의 크기가 유의하게 증가되었으나 고혈압군은 영향받지 않았으며 ITX에 의해서는 양군 모두 변화가 없었다. MB와 ITX의 단독투여는 양군에서 혈관의 기초장력에 영향을 미치지 않았다. 고혈압군에서 보인 수축반응의 항진은 MB 및 ITX 처치시에도 유지되었다 (Table 1).

PE 수축후 SNAP (10^{-6} M) 투여시 2K1C 고혈압군과 대조군에서 거의 100 % 이완을 보였으며 SNAP의 이완반응은 MB 전처치시 고혈압군과 대조군에서 유사한 정도로 억제되었다(고혈압군: 69 ± 5.4 %, 대조군: 66 ± 4.7 %). ITX는 SNAP의 이완반응을 대조군의 경우 44 ± 4.1 % 억제시켰으나 고혈압군에는 영향을 미치지 않았다(Fig. 3, Fig. 4). SNAP 농도에 따른 이완반응은 고혈압군과 대조군에서 유사한 양상을 보였으며 (IC_{50} : 8.12 ± 0.13 및 8.23 ± 0.23) MB와 ITX를 병용 처치시 대조군의 경우 SNAP에 의한 이완반응이 거의 소실되었으나 고혈압군에서는 ITX 추가 투여에 의한 영향을 볼수 없었다(Fig. 5, Fig. 6).

Fig. 2. Systolic blood pressure in sham-operated control and 2K1C hypertensive rats. *P<0.05, vs Sham value.

Table 1. Isometric tension developed by 10^{-6} M phenylephrine in aortic rings from sham-clipped and 2K1C rats

	Control	MB	ITX	ITX+MB
Sham-clipped	78±5.7	109±4.3*	85±4.9	115±4.8*
2K1C	127±7.5†	134±8.3†	130±6.7†	137±8.5†

Data are means±SE of five to eight experiments, which are expressed as a percentage of the contraction developed by the 50 mM KCl.

* $P < 0.05$, vs Control. † $P < 0.05$, vs Sham-clipped values. MB: methylene blue, ITX: iberiotoxin.

Fig. 3. Effects of methylene blue(MB) and iberiotoxin(ITX) on the time course of relaxation to S-nitroso-N-acetylpenicillamine(SNAP) in aortic rings from sham-clipped rats. Relaxation is expressed as a percent change from the maximum contraction attained by phenylephrine. Values are mean \pm SE of n experiments. * P<0.05, vs Control.

Fig. 4. Effects of methylene blue(MB) and iberiotoxin(ITX) on the time course of relaxation to S-nitroso-N-acetylpenicillamine(SNAP) in aortic rings from 2K1C rats. Other legends as in Fig. 3.

Fig. 5. Effects of pretreatments with methylene blue(MB) or iberiotoxin (ITX) on dose-relaxation curves to S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) in aortic rings from sham-clipped rats. Values are mean±SE of n experiments. * P<0.05, vs Control. † P<0.05, vs MB values.

Fig. 6. Effects of pretreatments with methylene blue(MB) or iberiotoxin (ITX) on dose-relaxation curves to S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) in aortic rings from 2K1C rats. Other legends as in Fig. 5.

IV. 고 찰

고혈압이나 동맥경화증과 같은 병적 상태에서는 혈관 평활근 세포내에서 수축기능과 관련된 여러가지 내원성 효소의 활성화 및 Ca^{2+} 의 유리 등이 증가되어 활성물질에 대한 혈관 수축반응이 항진된다고 한바,^{15,16)} 본 연구에서도 PE에 의한 수축반응의 크기가 2K1C 고혈압군에서 대조군에 비해 항진되었다. 따라서 2K1C 고혈압 모델에서도 평활근 세포내 수축 조절기전의 변화가 PE의 수축반응이 대조군에 비해 증가되는데 부분적으로 영향을 미쳤을 것으로 추정되며 이전의 보고^{17,18)}를 통해 이미 확인한 바 있다. 한편 고혈압 상태에서 평활근 자체의 긴장성이 달라질 가능성도 생각할 수 있으나 본 실험에서 수축 유발기전이 다른 KCl에 대한 수축양상은 2K1C 고혈압군과 대조군에서 차이가 없었으며 이는 다른 연구자에 의해서도 보고된 바 있다.¹⁹⁾

PE에 의한 수축반응은 MB 전처치시 대조군은 그 크기가 유의하게 증가되었으나 2K1C 고혈압군은 영향받지 않음으로써 차이를 보였다. 이는 혈관내피층으로부터 유래된 NO의 작용이 cGMP-경로를 통하여 혈관 평활근을 이완시키므로²⁰⁾ 대조군의 경우 MB에 의한 NO 활성 억제에 기인하여 PE의 수축반응이 항진된 것으로 추정할 수 있다. 한편 고혈압군에서는 PE의 수축반응이 MB의 영향을 받지 않음으로써 PE 수축반응에 대한 혈관 내피층의 억제효과가 감소되거나 소실됨을 의미한다. 이와 관련하여 고혈압 상태에서는 활성물질의 혈관수축반응에 대한 내피층의 억제기능이 약화됨이 2K1C 고혈압^{18,21)}이나 또는 다른 고

혈압 모델²²⁾에서 확인된 바 있다.

나아가서 SHR의 경우 혈압상승에 대한 보상반응으로 기초상태에서 혈관 평활근 세포막의 K_{Ca} -통로의 활성이 증가됨이 시사되었으나²³⁾ 고혈압상태에서도 기초상태는 물론 활성물질에 의한 혈관수축시 K_{Ca} -통로의 활성이 차이가 없다는 보고도 있다.⁹⁾ 본 연구에서 K_{Ca} -통로 차단제로 사용된 ITX 역시 고혈압군과 대조군에서 단독투여시 및 PE 수축시에 혈관장력에 영향을 미치지 않음으로써 K_{Ca} -통로의 활성이 안정상태나 혈관 활성물질에 의한 수축이 유지될 때 달라지지 않음을 의미한다. 이러한 차이는 실험동물의 종 및 실험방법의 차이에 기인할 가능성¹¹⁾을 배제할 수 없을 듯하다.

SNAP과 같은 nitrovasodilator에 의한 혈관 이완반응은 고혈압 동물에서도 정상혈압 동물과 유사한 양상을 나타냄이 보고된 바^{9,24)} 본 연구에서도 2K1C 고혈압군과 대조군에서 SNAP에 의한 IC_{50} 값이 차이가 없었다. SNAP에 의한 혈관 이완반응은 MB 전처치시 고혈압군과 대조군에서 약 70% 정도 억제됨으로써 양군 모두 SNAP에 의한 이완효과가 대부분 세포내 cGMP-경로를 통해 유발됨을 의미한다. 흥미로운 것은 MB 처치시 PE의 수축반응이 고혈압군과 대조군에서 차이를 보였으나 SNAP에 의한 이완반응은 양군에서 유사한 양상을 보인 결과이다. 이와 관련되어 Miyata 등²⁴⁾은 고혈압 동물에서 혈관내피층의 변조에 의해 혈관 활성물질에 의한 수축반응이나 내피의존 이완물질인 acetylcholine 에 의한 이완반응이 정상혈압동물과 차이가 있으나 cGMP 유도체의 일종인 8-Br-cGMP에 의한 혈관 이완반응이 고혈압군과 대조군에서 유사함을 확인하고 고혈압 상태에서도 cGMP에 대한 감

수성(sensitivity)이 차이가 없음을 시사한 바 있다.

2K1C 고혈압군과 대조군에서 MB 처치후에도 유지되는 SNAP의 이완반응은 NO에 의한 혈관 이완반응에 있어 cGMP-경로와는 다른 기전이 존재함을 시사한다. 본 연구에서 관심이 집중되는 부분은 K_{Ca} -통로 차단제인 ITX 전처치시 SNAP에 의한 혈관 이완반응이 대조군의 경우 억제되었으나 고혈압군은 영향받지 않은 결과이다. 더구나 MB와 ITX를 병용투여시 SNAP의 이완반응이 대조군에서는 거의 소실되었으나 고혈압군은 ITX 추가투여에 의한 효과가 나타나지 않았다. 이는 SNAP에 의한 혈관 이완기전에 있어 대조군의 경우 cGMP-경로와는 별도로 K_{Ca} -통로의 활성이 관여하나 고혈압군에서는 K_{Ca} -통로의 활성이 약화되거나 존재하지 않음을 의미한다. 따라서 2K1C 고혈압 모델에서도 유전성 고혈압의 경우⁹⁾와 유사하게 nitrovasodilator에 의한 혈관 이완기전에 있어 K_{Ca} -통로의 활성이 변이될 것으로 추정된다. 더불어 신성고혈압 동물에서 세포막의 K-통로 활성억제에 기인한 과분극 억제효과가 고혈압 상태에서 내피의존 이완반응이 억제되는데 기여함이 보고된 바 있으며²⁵⁾ SHR의 경우에도 고혈압동물에서 나타나는 혈관 수축반응의 증가가 평활근 세포막을 통한 K-통로 활성억제와 관련됨이 시사된 바 있다.¹¹⁾ K_{Ca} -통로는 혈관 활성물질에 의한 평활근 세포내 Ca^{2+} 농도가 증가되었을 때 활성화 되어 세포막을 과분극시킴으로써 세포내의 Ca^{2+} 유입을 중지시켜 평활근 이완을 야기시키는 바²⁶⁾ 고혈압 상태에서 K_{Ca} -통로의 변조는 말초혈관의 저항을 변동시켜 고혈압이 유지되는데 부분적으로 기여할 수 있을 것으로 추측된다. 나아가서 본 연구의 경우 고혈압 동물에서 혈관 이완과 관련된 K_{Ca} -통로의 활성이 변이되었음에도

불구하고 SNAP에 의한 이완반응이 2K1C 고혈압군과 대조군에서 유사한 양상을 보임으로써 고혈압 상태의 혈관 이완기전에 있어 K_{Ca} -통로 활성화제와 관련된 보상성 기전이 따로 존재할 가능성을 배제할 수 없는 바 그에 대해서는 추후 검토되어야 할 것으로 생각된다.

이상의 실험결과를 요약하면 SNAP에 의한 혈관 이완기전에 있어 cGMP-경로 뿐만 아니라 cGMP와는 독립적으로 K_{Ca} -통로 활성화에 의한 기전이 존재하며 2K1C 신성고혈압 상태에서는 K_{Ca} -통로의 활성이 약화될 것으로 사료된다.

V. 결 론

S-nitroso-N-acetylpenicillamine(SNAP)에 의한 혈관 이완반응에 있어 cGMP 및 Ca^{2+} 의존성 $K(K_{Ca})$ -통로의 활성을 검토하고 two-kidney, one clip(2K1C) 신성고혈압 모델에서 차이가 있는지 구명하고자 적출 흰쥐 흉부 대동맥 표본을 methylene blue(MB) 및 iberiotoxin(ITX)으로 전처치한 상태에서 phenylephrine(PE)으로 수축시킨 후 SNAP으로 이완시켜 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) PE에 의한 수축반응은 2K1C 고혈압군에서 대조군에 비해 항진되었다.
- 2) PE의 수축반응은 MB 전처치시 대조군에서 증가되었으나 고혈압군은 영향받지 않았으며 ITX에 의해서는 양군 모두 변화가 없었다.
- 3) SNAP에 의한 이완반응은 고혈압군과 대조군에서 유사한 양상을 보였다.
- 4) MB는 SNAP의 이완반응을 억제시켰으며 그 정도는 고혈압군과 대조군에서 차이가 없었다.
- 5) ITX는 SNAP의 이완반응을 대조군에서 억제시켰으나 고혈압군에는 영향을 미치지 않았다.

이상의 실험결과는 SNAP의 혈관 이완반응이 cGMP-경로 및 K_{Ca} -통로 활성화에 의해 유지되며 2K1C 신성고혈압 상태에서는 K_{Ca} -통로의 활성이 변이됨을 시사한다.

참 고 문 헌

- 1) Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S : Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 327:524-526, 1987
- 2) Movahed P, Hogestatt ED, Petersson J : Effect of hypoxia on vasodilator responses to S-nitroso-N-acetylpenicillamine and levcromakalim in guinea pig basilar artery. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 367:532-537, 2003
- 3) Figueroa S, Lopez E, Arce C, Oset-Gasque MJ, Gonzalez MP : SNAP, a NO donor, induces cellular protection only when cortical neurons are submitted to some aggression process. *Brain Res* 1034:25-33, 2005
- 4) Itoh T, Kanmura Y, Kuriyama H, Sasaguri T : Nitroglycerine- and isoprenaline-induced vasodilatation: assessment from the actions of cyclic nucleotides. *Brit J Pharmacol* 84:393-406, 1985
- 5) Lincoln TM, Cornwell TL : Towards an understanding of the mechanism of action of cyclic AMP and cyclic GMP in smooth muscle relaxation. *Blood vessels* 28:129-137, 1991
- 6) Walsh JV, Singer JJ : Identification and characterization of major ionic currents in isolated smooth muscle cells using the voltage-clamp technique. *Pflugers Arch* 408:83-97, 1987

- 7) Singer JJ, Walsh JV : Characterization of calcium-activated potassium channels in single smooth muscle cells using the patch-clamp technique. *Pflugers Arch* 408:98-111, 1987
- 8) Robertson BE, Schubert R, Hescheler J, Nelson MT : cGMP-dependent protein kinase activates Ca-activated K channels in cerebral artery smooth muscle cells. *Am J Physiol* 265:C299-C303, 1993
- 9) Fukami Y, Toki Y, Numaguchi Y, Nakashima Y, Mukawa H, Matsui H, Okumura K, Ito T : Nitroglycerin-induced aortic relaxation mediated by calcium-activated potassium channel is markedly diminished in hypertensive rats. *Life Sci* 63:1047-1055, 1998
- 10) Bolotina VM, Najibi S, Palacino JJ, Pagano PJ, Cohen RA : Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. *Nature* 368:850-853, 1994
- 11) Berg T : The vascular response to the K⁺ channel inhibitor 4-aminopyridine in hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 466:301-310, 2003
- 12) Van de Voorde J, Vanheel B, Leusen I : Endothelium-dependent relaxation and hyperpolarization in aorta from control and renal hypertensive rats. *Circ. Res* 70:1-8, 1992
- 13) Okamura T, Miyazaki M, Inagami T, Toda N : Vascular renin-angiotensin system in two kidney, one clip hypertensive

- rats. *Hypertension* 8:560-565, 1986
- 14) Nevala R, Paukku K, Korpela R, Vapaatalo H : Calcium-sensitive potassium channel inhibitors antagonize genistein- and daidzein-induced arterial relaxation in vitro. *Life Sci* 69:1407-1417, 2001
 - 15) Bohr DF, Webb RC : Vascular smooth muscle membrane in hypertension. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 28:389-409, 1988
 - 16) Turla MB, Webb RC : Augmented phosphoinositide metabolism in aortas from genetically hypertensive rats. *Am J Physiol* 258:H173-H178, 1990
 - 17) Yeum CH, Jun JY, Yoon PJ, Shin MK, Cho HH, Jang JS, Hong SP, Yeum CH : Role of tyrosine kinases in norepinephrine-induced vascular contraction in renal hypertensive rats. *Kor Circ J* 32:894-910, 2002
 - 18) Jeong SA, Kim H, Cha KH, Jun JY, Yoon PJ, Yeum CH, Park J, Cho NS, Hong SP : Influence of vascular endothelium in contraction by phorbol ester in renal hypertensive rats. *Kor Circ J* 33:1036-1043, 2003
 - 19) Ceron PI, Bendhack LM : Increased contractile response induced with ouabain is abolished by thapsigargin in aorta of renal hypertensive rats. *Gen Pharmacol* 29:707-712, 1997
 - 20) Hyman AL, Kadowitz PJ, Lipton HC : Methylene blue selectively inhibits pulmonary vasodilator responses in cats. *J*

- Appl Physiol 66:1513-1517, 1989
- 21) Yeum CH, Oh HK, Jun JY, Jun KB, Hong SP, Yeum CH, Yoon PJ : Cardiovascular effects of nitric oxide synthesis inhibitor in renal hypertensive rats. J Kor Soci Hyperten 7:35-45, 2001
 - 22) Dohi Y, Kojima M, Sato K : Endothelial modulation of contractile responses in arteries from hypertensive rats. Hypertension 28:732-737, 1996
 - 23) Rusch NJ, Runnells AM : Remission of high blood pressure reverses arterial potassium channel alterations. Hypertension 23:941-945, 1994
 - 24) Miyata N, Tsuchida K, Tanaka M, Otomo S : Impairment of endothelium-dependent relaxation and changes in levels of cyclic GMP in carotid arteries from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. J Pharm Pharmacol 42:763-766, 1990
 - 25) Van de Voorde J, Vanheel B, Leusen I : Endothelium-dependent relaxation and hyperpolarization in aorta from control and renal hypertensive rats. Circ Res 70:1-8, 1992
 - 26) Waldron GJ, Cole WC : Activation of vascular smooth muscle K^+ channels by endothelium-derived relaxing factors. Clin Exp Pharmacol Physiol 26:180-184, 1999