



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



**저작자표시.** 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



**비영리.** 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



**변경금지.** 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2008年2月

碩士學位論文

신성고혈압쥐에서 *Pinacidil*에 의한  
혈관 이완반응에 있어 산소유리기의 역할

朝鮮大學校 大學院

醫學科

柳 壬 峻

신성고혈압쥐에서 *Pinacidil*에 의한  
혈관 이완반응에 있어 산소유리기의 역할

*The Role of Oxygen-Derived Free Radicals in Vascular  
Relaxations to Pinacidil in Renal Hypertensive Rats*

2008 年 2 月 日

朝鮮大學校 大學院

醫學科

柳 壬 峻

신성고혈압쥐에서 *Pinacidil*에 의한  
혈관 이완반응에 있어 산소유리기의 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

2007 年 10 月 日

朝鮮大學校 大學院

醫 學 科

柳 壬 峻

柳 壬 峻 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

2007 年 11 月 日

朝鮮大學校 大學院

# 목 차

<i>Abstract</i> -----	8
I. 서 론 -----	10
II. 실험방법 -----	12
1. 실험동물 -----	12
2. 혈관의 장력기록 -----	12
3. 분석 및 통계 -----	15
III. 결 과 -----	16
IV. 고 찰 -----	24
V. 결 론 -----	28
참고문헌 -----	29

## 표 목 차

Table 1. Effects of catalase, superoxide dismutase and deferoxamine on relaxations to pinacidil in sham-clipped rats -----	23
--	----

## 도 목 차

Fig. 1. A schematic representation of the recording system for isometric contraction with 15 mL tissue bath. -----	14
Fig. 2. Systolic blood pressure in sham-operated control and 2K1C hypertensive rats. -----	17
Fig. 3. Dose-relaxation curves to pinacidil in sham-clipped and 2K1C rats. -----	18
Fig. 4. Dose-relaxation curves to pinacidil in the presence of glibenclamide in sham-clipped and 2K1C rats. -----	19

Fig. 5. Dose-relaxation curves to pinacidil in the absence and in the presence of catalase in 2KIC rats. ----- 20

Fig. 6. Dose-relaxation curves to pinacidil in the absence and in the presence of SOD in 2KIC rats. ----- 21

Fig. 7. Dose-relaxation curves to pinacidil in the absence and in the presence of deferoxamine in 2KIC rats. ----- 22



## *ABSTRACT*

The Role of Oxygen-Derived Free Radicals in Vascular Relaxations  
to Pinacidil in Renal Hypertensive Rats

by *Yoo Im-June*

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

*Department of Medicine, Graduate School, Chosun University*

Evidence has emerged that oxygen-derived free radicals may induce vascular relaxations via ATP-sensitive  $K^+$  ( $K_{ATP}$ ) channels and the level of free radicals is increased in animal models of hypertension. The present study was conducted to determine whether relaxations to an  $K_{ATP}$  channel opener, pinacidil, are increased in the aorta from two-kidney, one clip (2KIC) hypertensive rats and whether free radical scavengers reduce these relaxations. 2KIC hypertension was induced by clipping the left renal artery and age-matched control rats received a sham treatment. Rings of aortae without endothelium were suspended for isometric force recording. Relaxations to pinacidil ( $10^{-8}$  to  $10^{-5}$  M), which are abolished by glibenclamide ( $10^{-5}$  M), were augmented in the aorta from 2KIC rats, compared to those from control rats. In the aorta from 2KIC rats, catalase (1200U/mL), but neither superoxide dismutase (150 U/mL) nor deferoxamine ( $10^{-4}$  M), reduced relaxations to pinacidil, whereas in the aorta from control rats, the free radical scavengers did not

affect these relaxations. These results suggest that in 2K1C hypertension, vasorelaxation to an  $K_{ATP}$  channel opener is augmented and that hydrogen peroxide in smooth muscle cells may partly contribute to these relaxations.

***Key words:***  $K_{ATP}$  channel, Hydrogen peroxide, Vasorelaxation, Renal hypertension.

## I. 서 론

산소유리기 (oxygen free radical)는 생체내에서 호기성 세포의 대사과정중 생성되어<sup>1)</sup> 여러가지 생리적 기능에 영향을 미치며 혈관에도 강력하게 작용함이 알려져 있다<sup>2-4)</sup>. 세포내 ATP 감소에 의해 활성화되는 ATP-의존성  $K^+$ ( $K_{ATP}$ ) 통로는 그 실체가 심근세포를 통해 처음으로 시사된 후<sup>5)</sup> 혈관 평활근 세포를 포함한 다른 조직에도 존재함이 확인되었다<sup>6)</sup>.  $K_{ATP}$  통로는 glibenclamide나 tolbutamide와 같은 sulfonylurea 유도체에 의해 특이하게 차단되며<sup>7)</sup> pinacidil을 비롯한 여러 가지  $K_{ATP}$  통로 개방제 (opner)에 의해 활성화 된다<sup>8-10)</sup>.  $K_{ATP}$  통로의 활성화는 세포막의 과분극 및 혈관 평활근 확장을 야기시키므로  $K_{ATP}$  개방제는 임상적으로 고혈압이나 협심증 치료에 사용될 수 있다<sup>11)</sup>.

Hydrogen peroxide 및 peroxyxynitrite와 같은 산소유리기는 뇌혈관에서  $K_{ATP}$  통로를 경유하여 이완작용을 나타낸다고 하며<sup>12)</sup>  $K_{ATP}$  통로 개방제에 의해 야기된 뇌혈관 확장효과가 비특이성 항산화제 (antioxidant)에 의해 억제됨이 보고된 바 있다<sup>13)</sup>. 또한 심근세포에서 xanthine oxidase로 유발시킨  $K_{ATP}$  전류가 유리기 소거제 (scavenger)로 알려진 superoxide dismutase (SOD)나 catalase에 의해 소실됨이 확인됨으로써<sup>14)</sup> 이러한 결과들은 산소유리기가  $K_{ATP}$  통로의 활성화에 관여함을 시사한다.

고혈압이나 동맥경화증과 같은 병적인 상태에서는 산소유리기의 생성이 증가됨이 보고된 바<sup>15)</sup>  $K_{ATP}$  통로를 경유한 혈관 이완효과도 향진될

것이다. 실제로 고혈압 동물의 혈관에서  $K_{ATP}$  통로 개방제에 의한 이완 작용이 증가됨이 확인되었으며<sup>16)</sup> Kinoshita 등<sup>17)</sup>은 고혈압 상태에서 산소유리기의 역할을 검토하여 자발성 고혈압쥐 (spontaneous hypertensive rats, SHR)의 경우 산소유리기 중 특히 hydrogen peroxide가  $K_{ATP}$  통로 개방제에 의한 항진된 혈관 이완효과에 관여함을 시사하였다. 더불어 세포내 hydrogen peroxide의 농도는 혈관 수축인자 이면서 동시에 평활근 세포의 성장인자인 angiotensin II에 의해 병태 생리 상태에서 증가된다고 한다<sup>18)</sup>. 따라서 인위적으로 renin-angiotensin system (RAS)을 항진시킨 two-kidney, one clip (2K1C) 신성고혈압 상태에서도  $K_{ATP}$  통로 개방제에 의한 혈관 이완작용 및 산소유리기의 역할이 변이될 가능성을 배제할 수 없으나 그에 대해서는 아직 보고되지 않은 듯하다.

본 연구는 적출 흰쥐 흉부 대동맥 표본을 통하여  $K_{ATP}$  통로 개방제인 pinacidil에 의한 이완효과가 신성고혈압 상태에서 차이가 있는지 확인하고 나아가서 혈관 이완작용에 미치는 산소유리기의 역할을 구명하고자 시도하였다.

## II. 실험 방법

### 1. 실험동물

#### 1) 2K1C 신성고혈압의 유발

동일한 조건에서 번식 사육한 체중 160~180 g의 흰쥐 (Sprague-Dawley, ♂)를 thiopental (40 mg/kg, IP) 마취하에 개복한 후 좌측 신동맥에 내경 0.2 mm의 silver clip을 장치하고 신속히 봉합하였다. 마취에서 깨어난 후 사료와 물을 충분히 공급하면서 1주 간격으로 꼬리 혈압을 간접법으로 (Harvard, K10766) 측정하여 고혈압 유발과정을 확인하였고 RAS 활성화의 영향을 배제하기 위하여 6주 후에<sup>19)</sup> 사용하였으며 수축기혈압이 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 내피층을 제거한 후 15 mL 수조에 매달고  $37\pm 0.5$  °C를 유지하면서 95% O<sub>2</sub> 와 5% CO<sub>2</sub>의 혼합기체를 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, NaHCO<sub>3</sub> 25, MgCl<sub>2</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, CaCl<sub>2</sub> 2.5, glucose 11.1 mM 이었으며 pH는 7.4±0.1로 유지되도록 하였다(Fig. 1). 혈관표본에 2 g의 장력을 주어 약 90~120분 동안 평형시키고 장력이 일정하게 되면 먼저 60 mM KCl (영양액 조성을 KCl 변동양 만큼 NaCl로 치환시킴)에 대한 수축반응을 확인한 후 본 실험을 시작하였다. 한편 혈관 내피층은 phenylephrine (PE, 10<sup>-6</sup> M)으로 수축시킨 후 acetylcholine (10<sup>-5</sup> M)으로 이완되지 않으면 내피층이 제거된 것으로 간주하였다.

PE (3×10<sup>-7</sup> M)로 수축시켜 수축의 크기가 안정되었을 때 K<sub>ATP</sub> 통로 개방제인 pinacidil (10<sup>-8</sup>~10<sup>-5</sup> M)에 의한 이완반응을 기록하였다. Cyclooxygenase 억제제인 indomethacin (10<sup>-5</sup> M), K<sub>ATP</sub> 통로 차단제인 glibenclamide (10<sup>-5</sup> M) 및 산소 유리기 소거제인 catalase (1200 U/mL), superoxide dismutase (SOD, 150 U/mL), deferoxamine (10<sup>-4</sup> M)을 PE 수축 30분, 15분 또는 5분 전에 각각 전처리<sup>17)</sup>하여 그 영향을 2K1C 고혈압군과 대조군에서 비교 검토하였다. 사용된 약물은 모두 Sigma사 (미국 미주리주, ST. Louis) 제품이였다. Pinacidil, indomethacin 및 glibenclamide는 dimethylsulfoxide (DMSO)에 용해하였으며 그 외의 시약은 3차 증류수에 용해하였다. 수조내 DMSO의 최종농도는 0.05% 이내로 하였다.

## ISOLATED TISSUE BATH

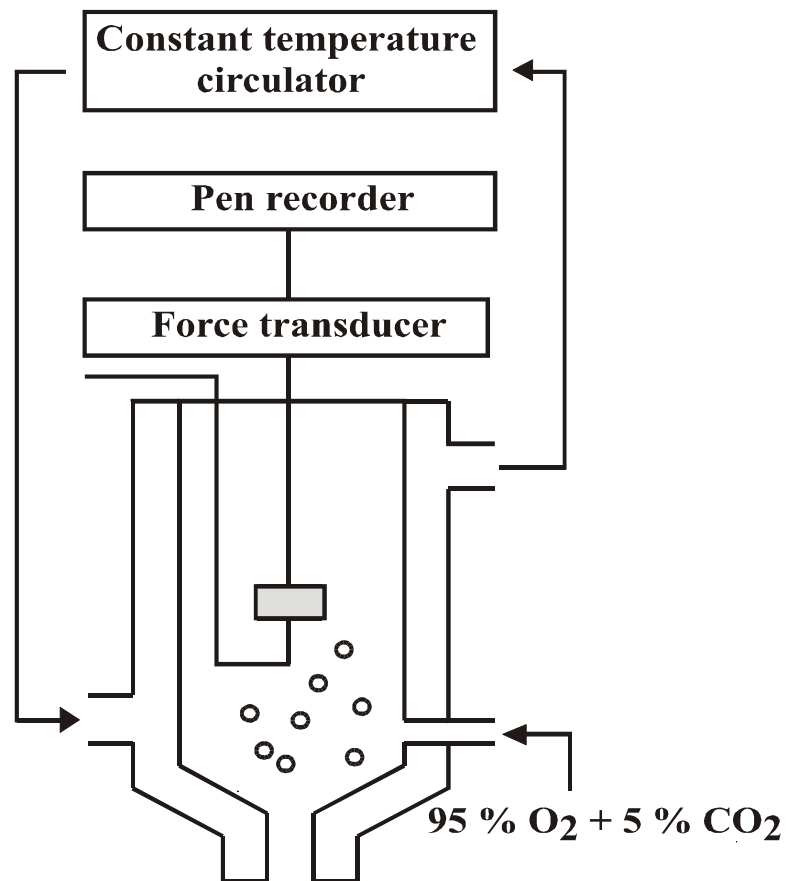


Fig. 1. A schematic representation of the recording system for isometric contraction with 15 mL tissue bath.

### 3. 분석 및 통계

실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며 pinacidil에 의한 이완반응의 크기는 PE 수축반응에 대한 %로 표시하였다. IC<sub>50</sub> 값은 pD<sub>2</sub> 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 ( $185 \pm 5.7$  mmHg,  $n=37$ )이 대조군 ( $130 \pm 6.3$  mmHg,  $n=28$ )에 비해 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 높았다(Fig. 2).

PE로 수축시킨 후 pinacidil 투여는 용량의존 이완반응을 보였으며 pinacidil에 의한 혈관 이완반응은 2K1C 고혈압군에서 대조군에 비해 항진되었다( $pD_2$  :  $6.44 \pm 0.08$  및  $6.06 \pm 0.07$ ,  $p < 0.05$ , Fig. 3). Glibenclamide를 전처치할 경우 고혈압군과 대조군 모두 pinacidil에 의한 이완반응이 소실되었다(Fig. 4). 2K1C 고혈압군에서 pinacidil에 의한 이완반응은 hydrogen peroxide 소거제인 catalase 전처치시 유의하게 억제되었으나 ( $pD_2$  :  $6.45 \pm 0.09$ 에서  $6.09 \pm 0.07$ ,  $p < 0.05$ , Fig. 5) superoxide anion 소거제인 SOD 및 hydroxyl radical 소거제인 deferoxamine은 pinacidil의 이완반응에 영향을 미치지 않았다( $pD_2$  :  $6.37 \pm 0.09$ 에서  $6.43 \pm 0.11$  및  $6.37 \pm 0.13$ 에서  $6.29 \pm 0.10$ , Fig. 6, 7). 한편 대조군에서는 어느 경우에도 유리기 소거제의 영향을 받지 않았다(Table 1). 유리기 소거제 단독투여는 고혈압군과 대조군 모두 혈관의 기초장력에 변화를 주지 않았으며 또한 indomethacin은 고혈압군에서 pinacidil에 의한 혈관 이완반응에 영향을 미치지 않았다(수치 보이지 않음).

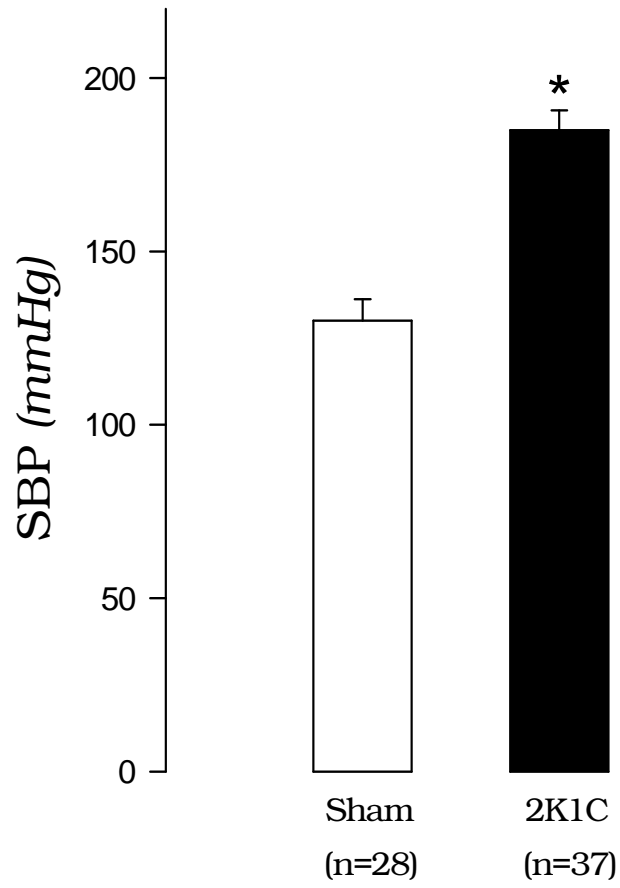


Fig. 2. Systolic blood pressure in sham-operated control and 2K1C hypertensive rats. \*  $P < 0.05$ , compared with the sham value.

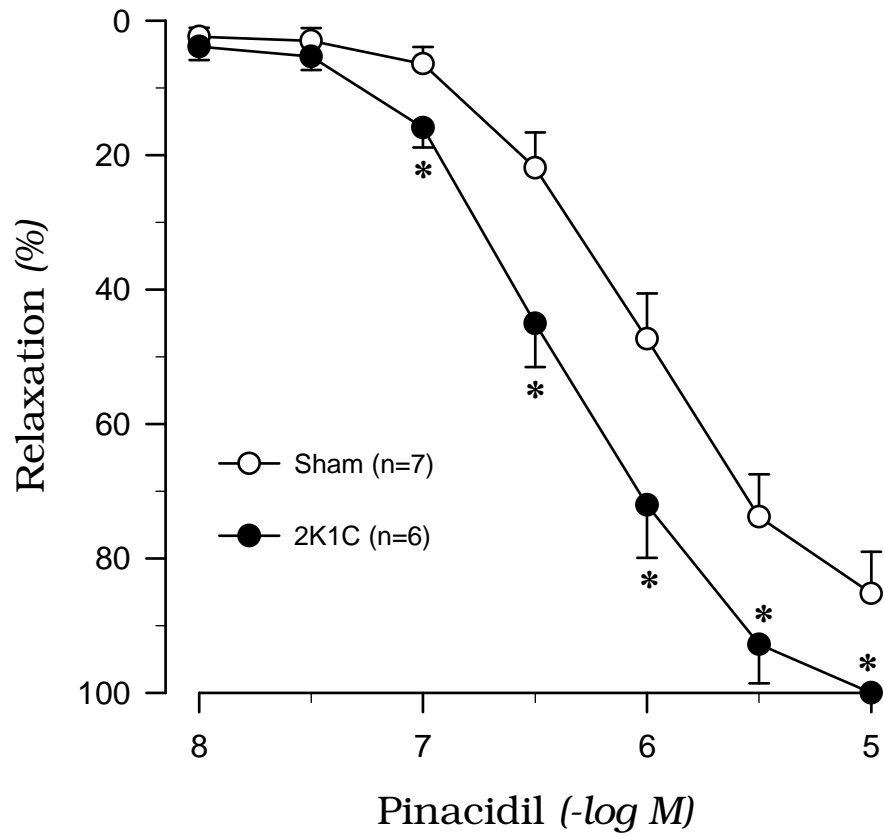


Fig. 3. Dose-relaxation curves to pinacidil in aortic rings from sham-clipped and 2K1C rats. Relaxation is expressed as a percent change from the maximum contraction attained by phenylephrine. Values are mean $\pm$ SE of n experiments. \*P<0.05, compared with sham values

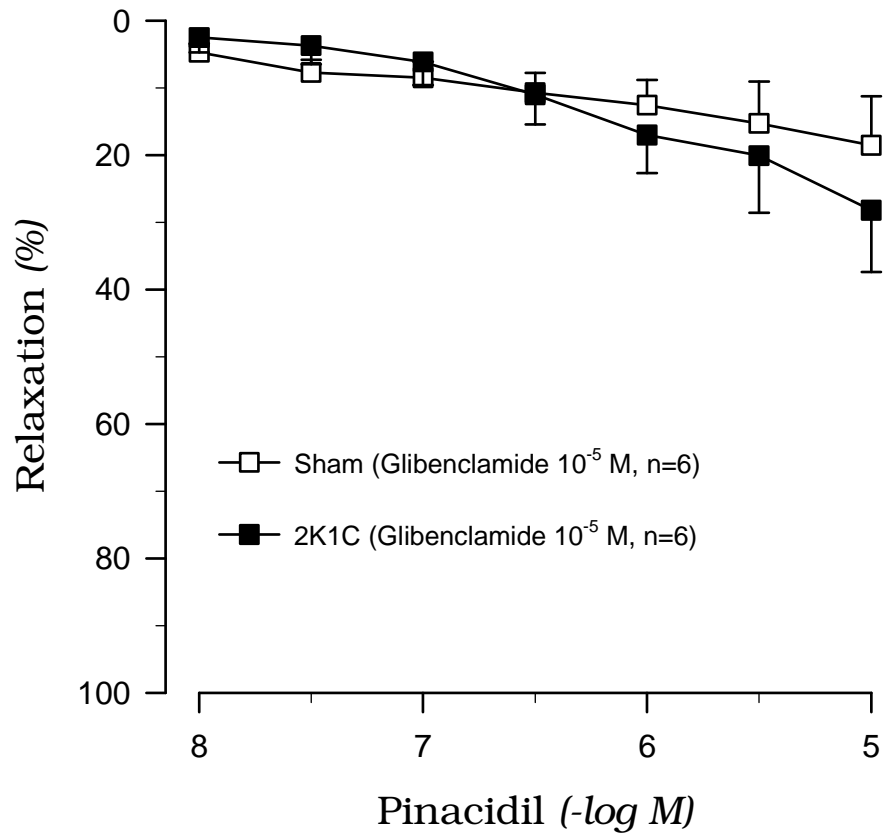


Fig. 4. Dose-relaxation curves to pinacidil in the presence of glibenclamide in aortic rings from sham-clipped and 2K1C rats. Other legends as in Fig. 3.

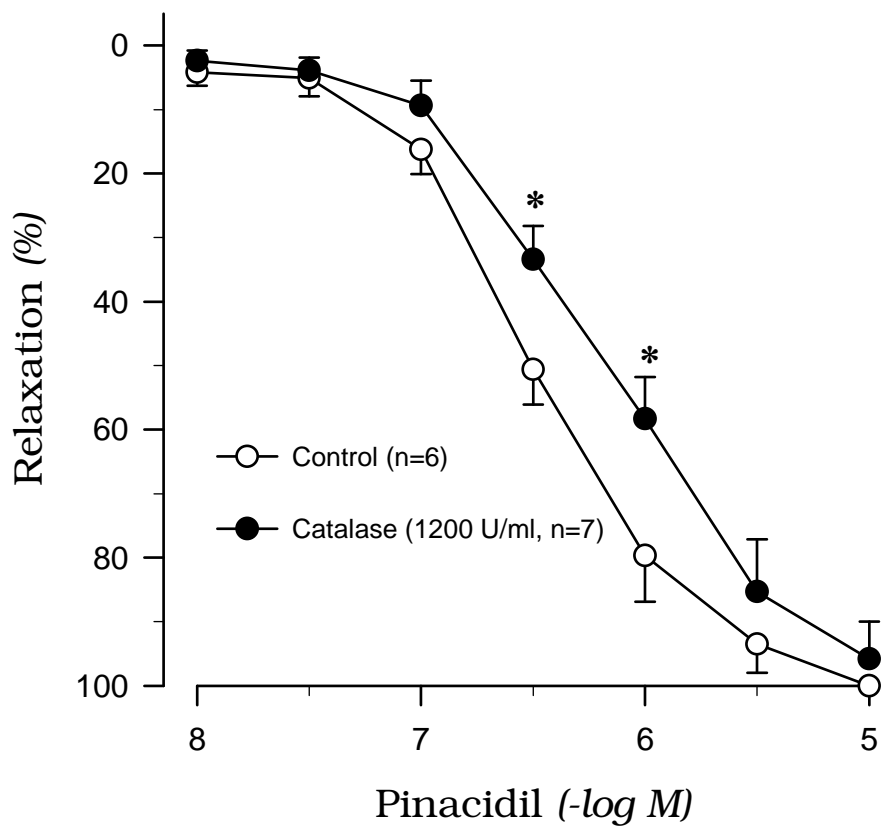


Fig. 5. Dose-relaxation curves to pinacidil in the absence and in the presence of catalase in aortic rings from 2K1C rats. Relaxation is expressed as a percent change from the maximum contraction attained by phenylephrine. Values are means $\pm$ SE of n experiments. \*  $P < 0.05$ , compared with control values.

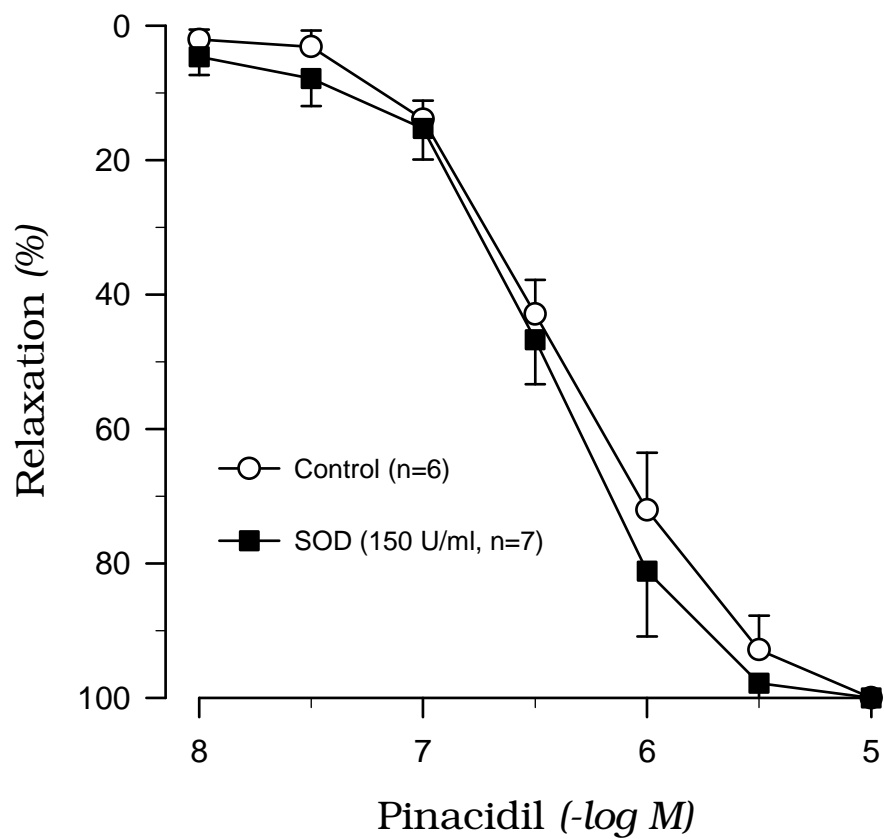


Fig. 6. Dose-relaxation curves to pinacidil in the absence and in the presence of superoxide dismutase (SOD) in aortic rings from 2K1C rats. Other legends as in Fig. 5.

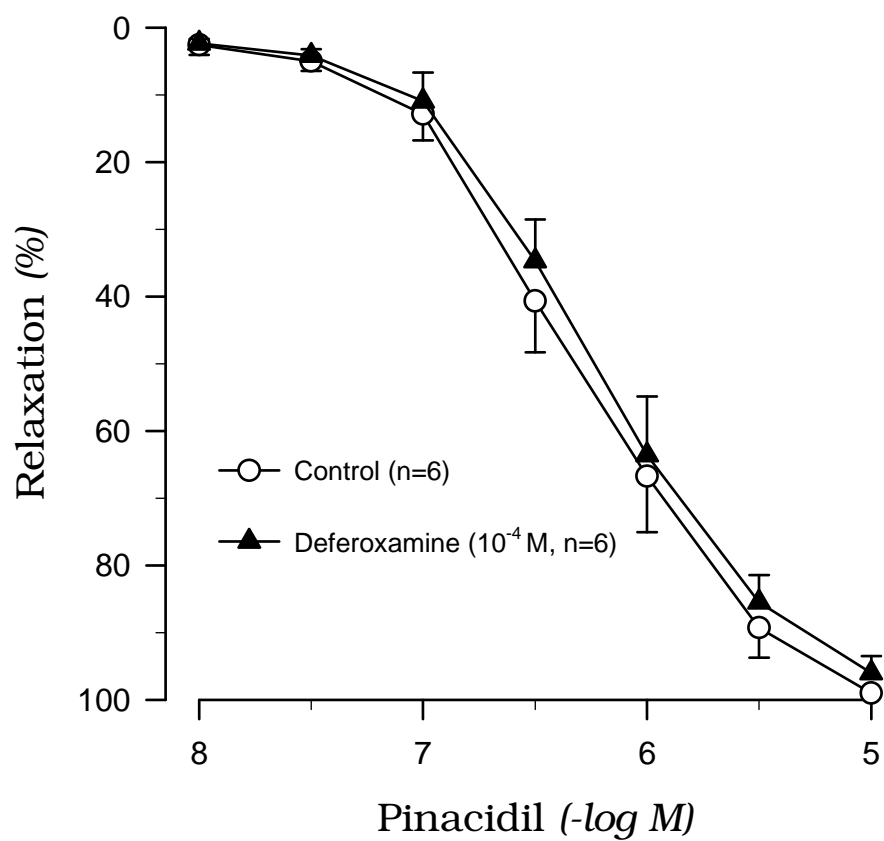


Fig. 7. Dose-relaxation curves to pinacidil in the absence and in the presence of deferoxamine in aortic rings from 2K1C rats. Other legends as in Fig. 5.

Table 1. Effects of catalase (1200U/mL), superoxide dismutase (SOD, 150 U/mL) and deferoxamine ( $10^{-4}$  M) on relaxations to pinacidil in aortic rings from sham-clipped rats

	n	$pD_2$	maximal relaxation(%)
Control	7	6.06±0.07	85.2±6.2
Catalase (1200 U/mL)	7	5.97±0.09	89.7±7.3
SOD (150 U/mL)	6	6.03±0.07	79.8±5.7
Deferoxamine ( $10^{-4}$ M)	6	5.92±0.12	83.5±6.6

Results are means±SE of n experiments.  $pD_2$  denotes  $IC_{50}$  values which are expressed as the negative log molar concentration.



## IV. 고 찰

본 연구에서 pinacidil에 의한 혈관 이완작용은 2KIC 고혈압군에서 대조군에 비해 증가되었으며 pinacidil에 의한 이완효과가  $K_{ATP}$  통로를 선택적으로 차단하는 glibenclamide에<sup>20)</sup> 의해 양군 모두 소실됨을 보임으로써  $K_{ATP}$  통로 개방제에 의한 혈관 이완효과가 만성적 신성 고혈압쥐에서도 SHR의 경우와 유사하게<sup>16,17)</sup> 향진됨을 의미한다. 고혈압 동물에서  $K_{ATP}$  통로 개방제에 의한 혈관 이완반응이 정상혈압 동물에 비해 증가된 기전에 대해서는 아직 명확히 밝혀진 바 없으나, 고혈압 상태에서  $K_{ATP}$  통로의 특성이 달라지거나<sup>21)</sup> 또는 다양한 화학적 구조를 지닌 통로 개방제에 의한 세포내  $K_{ATP}$ 를 비롯한 여러가지 이온들의 감응성 (sensitivity)변화<sup>22)</sup> 및 신호전달 체계의 변이<sup>23)</sup> 등이 제시되어 있다.

2KIC 고혈압군에서 pinacidil에 의한 혈관 이완반응은 산소유리기 소거제인 SOD 및 deferoxamine 전처치시 영향 받지 않았으나 catalase에 의해 유의하게 억제됨으로써 고혈압 상태에서 pinacidil로 유발시킨 혈관 이완효과에 있어 산소유리기 중 superoxide anion 이나 hydroxyl radical 보다는 hydrogen peroxide가 관여함을 시사한다. 이와 관련되어 hydrogen peroxide가  $K_{ATP}$  통로를 경유하여 대뇌혈관을 이완시키거나<sup>12)</sup> 신 상피세포에서  $K_{ATP}$  통로를 활성화시킴이<sup>24)</sup> 보고된 바 있으며, SHR의 경우에도 또 다른  $K_{ATP}$  통로 개방제인 levcromakalim에 의한 혈관 이완반응이 고혈압 상태에서 증가되는데 있어 혈관 평활근 세포에서 생성된 hydrogen peroxide가 부분적으로 관여함이 시사된 바 있다

<sup>17)</sup>. 더불어 고혈압 동물의 대동맥 혈관벽에는 다량의 hydrogen peroxide 생성이 가능한 단핵세포가 존재함이 밝혀졌으며<sup>25)</sup> 또한 혈관 수축인자이면서 동시에 평활근 세포의 성장인자인 angiotensin II에 의해 병태생리 상태에서 세포내 hydrogen peroxide의 농도가 증가됨이 대동맥 혈관 평활근 세포배양을 통해 확인되었다<sup>18)</sup>. 따라서 본 실험에서 유발시킨 2KIC 고혈압군에서 angiotensin II의 활성이 hydrogen peroxide 생성에 직접적으로 영향을 미쳤는지는 알수 없으나 고혈압 상태에서 항진된 pinacidil에 의한 혈관 이완효과는 부분적으로 체내에서 생성된 hydrogen peroxide 경로를 통해 나타났을 것으로 추측된다. 나아가서 catalase가 혈관 기초장력에 영향을 미치지 않는 것으로 보아 기초상태에서 유리된 hydrogen peroxide는 pinacidil의 항진된 이완반응에 관여하지 않은 듯하며, 고혈압 동물의 평활근 세포에서 pinacidil 자체가 hydrogen peroxide의 생성을 촉진시키거나 hydrogen peroxide에 대한  $K_{ATP}$  통로의 감응성이 증가될 가능성<sup>17)</sup>도 배제할 수 없으나 그에 대해서는 추후 검토되어야 할 것으로 생각된다.

산소유리기가  $K_{ATP}$  통로를 활성화 시키는 확실한 기전은 아직 밝혀지지 않았으나 심실근 세포를 통하여 활동전위기간 (action potential duration)의 감소와 더불어 생성된 산소유리기가  $Ca^{++}$  전류의 감소 및 외향성 전류 (outward current)의 증가를 야기시켜  $K_{ATP}$  통로를 개방시킴이 제시된 바 있으며<sup>26)</sup> 보다 구체적인 기전으로서 산화제가 직접적으로 ATP 농도를 감소시켜 세포 대사활동에 영향을 미치거나 또는  $K_{ATP}$  통로내에 산화제와 민감하게 작용하는 부위가 존재할 가능성<sup>12)</sup>을 생각할 수 있다.

한편 2KIC 고혈압군과 달리 대조군에서는 본 실험에서 사용한 유리기 소거제들이 어느 경우에도 pinacidil에 의한 혈관 이완반응에 영향을 미치지 않았다. 이는 이전의 보고와 유사한 결과로서 정상 혈압동물에서는 산소유리기가 혈관 평활근 세포에서  $K_{ATP}$  통로를 경유한 이완효과에 관여하지 않음을 시사하며 간접적으로는 본 연구에서 사용한 유리기 소거제가 선택적으로 작용하였음을 의미한다.

나아가서 고혈압 동물의 혈관에서는 superoxide anion의 생성이 증가된다고 하며<sup>27)</sup> 고혈압 상태에서 혈관 이완효과가 억제되는데 있어 superoxide anion이 관여함이 보고된 바<sup>28,29)</sup> 이는 고혈압상태에서 pinacidil의 혈관 이완반응이 SOD의 영향을 받지 않은 본 실험의 결과와는 차이를 보이고 있다. 이러한 차이는 이전의 보고<sup>27-29)</sup>들의 경우 혈관 내피층 존재하의 실험결과인 반면에 본 연구에서는 내피층이 제거된 상태의 결과인 바 실험방법의 차이에 기인할 것으로 생각되며 실제로 superoxide radical은 혈관 내피층에서 nitric oxide (NO)와 반응하여 peroxynitrite를 생성함으로써 NO를 불활성화시켜 혈관이완을 억제시킴이 알려져 있다<sup>30)</sup>. 더불어  $K_{ATP}$  통로가 혈관 내피세포에도 존재함이 시사되어 있으며<sup>31)</sup> 또한 2KIC 고혈압 상태에서는 내피층의 기능이 변이됨이 확인된 바<sup>32,33)</sup> 혈관 내피세포에서도  $K_{ATP}$  통로의 활성화에 미치는 산소유리기의 역할이 달라질 가능성을 배제할 수 없을 듯하다.

만성적 고혈압동물의 모델에서 prostaglandin계는 혈관 이완을 억제시킬 수 있으므로<sup>34)</sup> 2KIC 고혈압 상태에서 pinacidil의 혈관 이완효과가 항진되는데 있어 prostaglandin계의 영향이 나타날 가능성을 생각할 수 있으나 본 실험에서 pinacidil에 의한 혈관 이완반응이 indomethacin에

의해 영향받지 않는 것으로 보아 prostaglandin계가  $K_{ATP}$  통로 개방제에 의한 혈관 이완반응에 관여하지 않음을 의미한다.

이상의 실험결과를 요약하면 2KIC 신성고혈압 상태에서  $K_{ATP}$  통로 개방제인 pinacidil에 의한 혈관 이완작용이 항진되며 고혈압상태에서 증가된 이완효과는 부분적으로 평활근 세포에서 생성된 hydrogen peroxide가 매개할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

Pinacidil에 의한 혈관 이완반응이 two-kidney, one clip (2K1C) 신성 고혈압 모델에서 차이가 있는지 확인하고 또한 혈관 이완효과에 미치는 산소유리기의 역할을 규명하고자 흰쥐 흉부 대동맥 표본을 적출하여 pinacidil에 의한 혈관 이완반응을 기록하면서 glibenclamide 및 산소유리기 소거제들을 각각 전처치하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) Pinacidil에 의한 혈관 이완반응은 2K1C 고혈압군에서 대조군에 비해 항진되었다.
- 2) Glibenclamide 전처치시 pinacidil에 의한 이완반응은 소실되었다.
- 3) 고혈압군에서 pinacidil에 의한 이완반응은 catalase 처치시 억제되었으나 superoxide dismutase(SOD) 및 deferoxamine은 pinacidil의 이완반응에 영향을 미치지 않았다.
- 4) Indomethacin은 고혈압군에서 pinacidil에 의한 혈관 이완반응에 영향을 미치지 않았다.
- 5) 대조군에서는 어느 경우에도 유리기 소거제의 영향을 받지 않았다.

이상의 실험결과는 pinacidil의 혈관 이완반응이 2K1C 신성고혈압 상태에서 항진되며 고혈압 상태의 이완효과에 부분적으로 hydrogen peroxide가 관여함을 시사한다.

## 참 고 문 헌

- 1) Kleinhans H, Mann O, Schurr PG, Kaifi JT, Hansen B, Izbicki JR, Strate T : Oxygen radical formation does not have an impact in the treatment of severe acute experimental pancreatitis using free cellular hemoglobin. *World J Gastroenterol* 12:2914-2918, 2006
- 2) Wei EP, Kontos HA : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and end endothelium-dependent cerebral arteriolar dilation: implications for the identity of endothelium-derived relaxing factor generated by acetylcholine. *Hypertension* 16:162-169, 1990
- 3) Liu S, Beckman JS, Ku DD : Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs. *J Pharmacol Exp Ther* 268: 1114-1121, 1994
- 4) Bandali KS, Belanger MP, Wittnich C : Hyperoxia causes oxygen free radical-mediated membrane injury and alters myocardial function and hemodynamics in the newborn. *Am J Physiol* 287:H553-H559, 2004
- 5) Noma A : ATP-regulated K<sup>+</sup> channels in cardiac muscle. *Nature* 305:147-148, 1983
- 6) Standen NB, Quayle JM, Davies NW, Brayden JE, Huang Y, Nelson MT : Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in arterial smooth muscle. *Science* 245:177-180, 1989

- 7) Hamada E, Takikawa R, Ito H, Iguchi M, Terano A, Sugimoto T, Kurachi Y : Glibenclamide specifically blocks ATP-sensitive  $K^+$  channel current in atrial myocytes of guinea pig heart. *Jpn J pharmacol* 54: 473-477, 1990
- 8) Snaguinetti MC, Scott AL, Zingaro GL, Siegl PK : BRL 34915 (cromakalim) activates ATP-sensitive  $K^+$  current in cardiac muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 8360-8364, 1988
- 9) Arena JP, Kass RS : Activation of ATP-sensitive  $K^+$  channels in heart cells by pinacidil: dependence on ATP. *Am J Physiol* 257: H2092-H2096, 1989
- 10) Kwak YG, Park SK, Kang HS, Kim JS, Chae SW, Cho KP, Yoo SE, Kim D : KR-30450, a newly synthesized benzopyran derivative, activates the cardiac ATP-sensitive  $K^+$  channel. *J Pharmacol Exp Ther* 275: 807-812, 1995
- 11) Quast U : Potassium channel openers: pharmacological and clinic aspects. *Fundam Clin Pharmacol* 6: 279-293, 1992
- 12) Wei EP, Kontos HA, Beckman JS : Mechanisms of cerebral vasodilation by superoxide, hydrogen peroxide, and peroxynitrite. *Am J Physiol* 271:H1262-H1266, 1996
- 13) Wei EP, Kontos HA, Beckman JS : Antioxidants inhibit ATP-sensitive potassium channels in cerebral arterioles. *Stroke* 29: 817-823, 1998
- 14) Tokube K, Kiyosue T, Arita M : Openings of cardiac  $K_{ATP}$

- channel by oxygen free radicals produced by xanthine oxidase reaction. *Am J Physiol* 271: H478-489, 1996
- 15) Miller FJ Jr, Cutterman DD, Rios CD, Heistad DD, Davidson BL : Superoxide production in vascular smooth muscle contributes to oxidative stress and impaired relaxation in atherosclerosis. *Circ Res* 82: 1289-1305, 1998
- 16) Kwan YW, To KW, Lau WM, Tsang SH : Comparison of the vascular relaxant effects of ATP-dependent K<sup>+</sup> channel openers on aorta and pulmonary artery isolated from spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Eur J Pharmacol* 365: 241-251, 1999
- 17) Kinoshita H, Kakutani T, Iranami H, Hatano Y : The Role of oxygen-derived free radicals in augmented relaxations to levcromakalim in the aorta from hypertensive rats. *Jpn J Pharmacol* 85: 29-33, 2001
- 18) Zafari AM, Ushio-Fukai M, Akers M, Yin Q, Shah A, Harrison DG, Taylor WR, Griendling KK : Role of NADH/NADPH oxidase-derived H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in angiotensin II-induced vascular hypertrophy. *Hypertension* 32: 488-495, 1998
- 19) Okamura T, Miyazaki M, Inagami T, Toda N : Vascular renin-angiotensin system in two kidney, one clip hypertensive rats. *Hypertension* 8: 560-565, 1986
- 20) Kinoshita H, Ishikawa T, Hatano Y : Role of K<sup>+</sup> channels in



- augmented relaxations to sodium nitroprusside induced by mexiletine in rat aortas. *Anesthesiology* 92: 813-820, 2000
- 21) Ohya Y, Setoguchi M, Fujii K, Nagao T, Abe I, Fujishima M : Impaired action of levcromakalim on ATP-sensitive  $K^+$  channels in mesenteric artery cells from spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 27: 1234-1239, 1996
- 22) Shen WK, Tung RT, Machulda MM, Kurachi Y : Essential role of nucleotide diphosphates in nicorandil-mediated activation of cardiac ATP-sensitive  $K^+$  channels. A comparison with pinacidil and lemakalim. *Circ Res* 69: 1152-1158, 1991
- 23) Tuttle JB, Spitsbergen JM, Stewart JS, McCarty RM, Steers WD : Altered signalling in vascular smooth muscle from spontaneously hypertensive rats may link medial hypertrophy, vessel hyperinnervation and elevated nerve growth factor. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1: S117-S119, 1995
- 24) Filipovic DM, Reeves WB : Hydrogen peroxide activates glibenclamide-sensitive  $K^+$  Channels in LLC-PK<sub>1</sub> cells. *Am J Physiol* 272: C737-C743, 1997
- 25) Capers Q 4th, Alexander RW, Lou P, De Leon H, Wilcox JN, Ishizaka N, Howard AB, Taylor WR : Monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic tissues of hypertensive rats. *Hypertension* 30: 1397-1402, 1997
- 26) Goldhaber JJ, Ji S, Lamp ST, Weiss JN : Effects of exogenous

- free radicals on electromechanical function and metabolism in isolated rabbit and guinea pig ventricle. Implications for ischemia and reperfusion injury. *J Clin Invest* 83: 1800-1809, 1989
- 27) Kerr S, Brosnan MJ, McIntyre M, Reid JL, Dominiczak AF, Hamilton CA : Superoxide anion production is increased in a model of genetic hypertension—Role of the endothelium -. *Hypertension* 33: 1353-1358, 1999
- 28) Grunfeld S, Hamilton CA, Mesaros S, McClain SW, Dominiczak AF, Bohr DF, Malinski T : Role of superoxide in the depressed nitric oxide production by the endothelium of genetically hypertensive rats. *Hypertension* 26: 854-857, 1995
- 29) Tschudi MR, Mesaros S, Luscher TF, Malinski T : Direct in situ measurement of nitric oxide in mesenteric resistance arteries—Increased decomposition by superoxide in hypertension. *Hypertension* 27: 32-35, 1996
- 30) Moro MA, Darley-Usmar VM, Goodwin DA, Read NG, Zamora-Pino R, Feelisch M, Radomski MW, Moncada S : Paradoxical rate and biological action of peroxynitrite on human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 6702-6706, 1994
- 31) Katnik C, Adams DJ : An ATP-sensitive potassium conductance in rabbit arterial endothelial cells. *J Physiol (Lond)* 485: 595-606, 1995
- 32) Jun JY, Yeum CH, Moon SH, Cho CH, Jun KB, Chung JH,

- Yoon PJ : Altered endothelial modulation of vasoconstriction in chronic two-kidney, one clip hypertensive rats. *Korean J Nephrol* 20: 381-392, 2001
- 33) Jeong SA, Kim H, Cha KH, Jun JY, Yoon PJ, Yeum CH, Park J, Cho NS, Hong SP: Influence of vascular endothelium in contraction induced by phorbol ester in renal hypertensive rats. *Korean Circ J* 33:1036-1043, 2003
- 34) Kauser K, Rubanyi GM : Gender difference in endothelial dysfunction in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 25: 517-523, 1995