Amrinone이 가토 폐동맥 긴장도에 미치는 영향

한양대학교 의과대학 마취과학교실

조상윤 · 서정국 · 신우종 · 염종훈
오미경 · 김경현 · 유희구

- Abstract -

Effects of Amrinone on the Vascular Tension of the Isolated Rabbit Pulmonary Artery

Sang Yoon Cho, M.D., Jung Kook Suh, M.D., Woo Jong Shin, M.D., Jong Hoon Yeom, M.D.
Mi Kyung Oh, M.D., Kyoung Hun Kim, M.D., and Hee Koo Yoo, M.D.

Department of Anesthesiology, School of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

Background: Amrinone is a noncatecholamine, nonglycoside compound, which is known to possess both cardiac inotropic and vasodilatory actions. This drug has been increasingly used in clinical practice for the management of low cardiac output syndrome during anesthesia, particularly for patients associated with right heart failure and pulmonary hypertension. The aim of this study was to explore the direct vasoactive effect of amrinone and its action mechanisms in the isolated rabbit pulmonary artery.

Methods: The rabbits' pulmonary arteries were dissected free and cut into rings (3–4 mm) and mounted for isometric tension in a tissue chamber. The effects of amrinone (5×10^{-6} – 5×10^{-4} M) on the vascular tension were assessed in the by KCl (40 mM)- or norepinephrine (NE, 10^{-6} M)-precontracted pulmonary arterial rings with or without endothelium. Also effects of K^+ channel blockers (tetraethyl ammonium 20 mM, glybenclamide 2.5×10^{-5} M, 4-aminopyridine (4-AP) 5×10^{-4} M), protein kinase A & G inhibitor (H8), L-NAME, methylene blue and indomethacin on the amrinone-induced vascular responses were investigated. Also studied was effects of amrinone on the Ca^{2+} influx through voltage operated channel (VOC) and receptor operated channel (ROC) of the vascular cells.

Results: Amrinone produced vasorelaxation of KCl- or NE-precontracted pulmonary artery in a dose-dependent fashion. The amrinone-induced vasorelaxation was not affected by the denudation of the endothelium. Pretreatment with L-NAME and methylene blue did not affect the vasodilatory effect of amrinone, suggesting that nitric oxide is not involved. Following pretreatment with indomethacin (a cyclooxygenase inhibitor) or K^+ channel blockers, the amrinone-induced vasorelaxation was not altered. After exposure to Ca^{2+} free solution, amrinone attenuated the KCl- or NE-induced contraction even in the presence of Ca^{2+} , implying that VOC and ROC are blocked by amrinone. On the other hand, protein kinase A blocker (H8) completely abolished the amrinone-induced relaxation in the KCl-precontracted pulmonary artery.

논문접수일 : 1999년 3월 14일

책임저자 : 서정국, 서울 성동구 행당동 17, 한양대학병원 마취과, 우편번호: 133-792

Tel: 2290-8680, Fax: 2299-0742, E-mail: jksuh@email.hanyang.ac.kr

박사학위 논문임.

Conclusions: These findings suggest that the amrinone-induced vasorelaxations result from inhibition of VOC and ROC as well as from the activation of protein kinase A in the isolated rabbit pulmonary artery. (Korean J Anesthesiol 1999; 37: 694~703)

Key Words: Arteries: rabbit pulmonary artery. Ion channel: Ca^{2+} channel; K^+ channel. Pharmacology: amrinone; L-nitro arginine methyl ester; indomethacin; methylene blue; tetraethyl ammonium; glybenclamide; 4-aminopyridine; H8.

서 론

Amrinone은 1981년 Levine¹⁾ 의해 bipyridine phosphodiesterase III (PDE III) 억제제로 밝혀졌으며, PDE III 억제제는 cyclic adenosine monophosphate (cAMP)의 세포내 가수분해를 억제하므로써 cAMP를 증가시킨다고 한다.²⁾ PDE에는 다섯 아형(PDE I, II, III, IV, V)이 있으며 이들은 세포내에서 cAMP 또는 cyclic guanosine monophosphate (cGMP)를 감소시킨다고³⁾ 하며, PDE III 억제제로는 amrinone, milrinone 및 enoximone 등이 있다.^{4,5)} Milrinone은 고농도($> 10^{-5}$ M)에서는 PDE IV와 V 억제제로 작용하는데, PDE IV는 cAMP를 가수분해하며 PDE V는 cGMP를 주로 가수분해한다고 한다. PDE IV 억제제에 의한 혈관 이완은 nitro^G-L-arginine methyl ester (L-NAME)와 methylene blue (MB)에 의해 소실되는바, PDE IV 억제제효과는 nitric oxide 생성과 soluble guanylate cyclase의 활성화에 의존적임을 알 수 있다.⁶⁾ 또한 milrinone은 저 농도에서는 PDE III 억제제로 작용하는데 내피세포기능과는 무관하다고 한다. 심장에서는 PDE III 억제제에 의해 세포내 cAMP가 증가하면 양성변력 작용이 나타나는 바,⁷⁾ 이 작용은 β -수용체의 down-regulation이 있는 환자에서 특히 중요하다.

우심부전과 폐동맥고혈압이 있는 환자는 마취상태에서는 심박출량이 감소하는데 amrinone은 이의 치료에 유용하며 이 약물의 사용은 더욱 증가하고 있는 추세에 있다.^{7,10)} 임상적으로 전신혈관과 폐혈관의 강력한 직접적인 혈관이완제로 알려져 있는 amrinone은 심박출량을 증가시키고 폐모세혈관폐기압, 우심방압, 그리고 전신 및 폐혈관저항은 감소시키나 심박수와 혈압은 변동시키지 않는다고 한다.^{7,8,10,11)} PDE III 억제제는 심장과 혈관평활근에서 세포내 cAMP를 증가시키는데 있어 독특한 비교감신경 축

진경로를 통한다고 밝혀져 있으며, 이 경로는 심장의 β -교감신경 수용체와 무관할 뿐만 아니라 Na-K adenosine triphosphatase (Na-K ATPase) 작용을 억제하지 않는다고 한다.^{9,10,12)} 또한 PDE III 억제제는 비교감신경성경로를 통해서 작용하기 때문에 관상동맥 우회술 시행시 인공심폐기로부터의 이탈시 국소적 허혈성 장애를 방지하기 위해 카테콜아민 대신 cAMP-PDE억제제의 단독 투여나 공동 투여가 대단히 유용하다고 보고된 바 있다.¹³⁾

한편 혈관평활근에서 세포내 cAMP의 증가는 근소포체(sarcoplasmic reticulum)에 의한 세포질내의 Ca^{2+} 의 재흡수를 초래하여 세포질내의 Ca^{2+} 농도를 감소시키므로써 혈관 이완을 일으킨다고 알려져 있으나,¹⁴⁾ amrinone의 작용기전과 세포막의 Ca^{2+} channel이나 protein kinase A (PKA)와 상관성이 있는지에 관해서는 아직 밝혀진 바가 없다.

본 실험에서는 amrinone이 가토의 폐동맥평활근의 긴장도에 미치는 효과를 조사하고 아울러 이 약물의 작용과정에 EDRF (endothelium derived relaxing factor)나 prostacyclin, protein kinase, Ca^{2+} channel 및 K^+ channel이 관여하는지를 관찰함으로써 amrinone의 작용 기전을 구명하고자 하였다.

대상 및 방법

본 실험에서는 체중 2.0~2.5 kg의 가토 20마리를 성의 구별 없이 사용하였다. 실험동물의 체중 kg당 40 mg의 pentothal sodium을 정주 하여 마취한 후 총 경동맥을 절단하여 사혈하였다.

환상절편의 제작

폐동맥을 분지점 이후에서 분리 적출하여 95% 산소와 5% 이산화탄소를 통기하는 Krebs 용액(4°C)이 담긴 Petri dish내에서 장력이 가해지지 않게 지방조

직과 결체조직을 제거하여 길이 3-4 mm의 환상 절편을 만들었다.

혈관평활근의 장력기록

통상적인 방법에 따라 제작된 혈관절편은 $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지하며, 95% 산소와 5% 이산화탄소의 혼합기체로 통기중인 5 ml의 Krebs 용액(NaCl 120.0, NaHCO_3 25.0, KCl 5.0, MgSO_4 1.2, CaCl_2 2.5, NaH_2PO_4 1.4, glucose 11.0 mM)이 담긴 실험조(tissue bath)내에 일측을 고정하고 다른 일측을 force displacement transducer (Grass FT-03®, Grass Instrument Co., USA)에 연결한 후 90분간 평형시기를 거치면서 이 기간 중 15분마다 Krebs 용액을 교환하였으며 최종 휴지기장력을 1.5 g으로 유지하였다. 혈관 평활근의 장력은 polygraph (Grass model 7 polygraph®, Grass Instrument Co., USA)상에서 연속 기록하였다.

혈관내피의 제거

약물의 작용에 혈관내피가 관여하는 지를 알아보기 위한 내피제거군에서는 혈관내면을 면봉으로 3-4회 마찰시켜 제거하였으며, 그후 혈관절편을 norepinephrine (NE) 10^{-6} M로 전수축시킨 후 acetylcholine (ACh) 10^{-6} M을 투여하여 이완 여부로써 내피

Fig. 1. Tracings of the response to acetylcholine (ACh) in the isolated rabbit pulmonary artery precontracted with norepinephrine (NE). In endothelial intact ring segment, vasorelaxation was induced by ACh.

ED (+): endothelium intact.

ED (-): endothelium denuded.

NE: norepinephrine 10^{-6} M.

ACh: acetylcholine 10^{-6} M.

전재 유무를 구분하였다(Fig. 1).

Amrinone이 폐동맥절편의 장력에 미치는 효과

먼저 혈관절편을 KCl 40 mM과 NE 10^{-6} M로 전수축시켰으며, 이때의 장력을 대조치로 하였다. KCl 전수축군에서는 내피전재군($n = 29$)과 내피제거군($n = 14$)으로 나누어 각각 5×10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} 및 5×10^{-4} M의 amrinone을 10분 간격으로 연속적으로 투여하였고, 또한 NE 전수축군에서도 역시 내피전재군($n = 26$)과 내피제거군($n = 21$)으로 나누어 각각 5×10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} M의 amrinone을 같은 방법으로 투여하였으며 이때의 혈관 장력변화를 실험치로 하였다.

Amrinone에 의한 nitric oxide 및 prostacyclin 생성여부 확인

Amrinone에 의한 혈관이완과정에 EDRF 및 prostacyclin (PGI_2)이 관여하는 지를 알아보기 위하여 혈관절편을 KCl 및 NE로 전수축시키기 20분전에 nitric oxide synthase inhibitor인 L-NAME (3×10^{-4} M, $n = 7, 8$) 및 cyclooxygenase inhibitor인 indomethacin (Indo, 2.8×10^{-6} M, $n = 8, 6$)으로 전처리하였다. 또한 cGMP가 관여하는지 알아보기 위하여서는 soluble guanylate cyclase inhibitor인 methylene blue (MB, 2×10^{-5} M, $n = 7, 8$)를 KCl, NE와 동시에 투여한 후 amrinone (5×10^{-5} M)에 의한 혈관장력의 변동을 관찰하였다.

Ca^{2+} channel에 대한 영향

Ca^{2+} 이 amrinone에 의한 혈관이완작용에 미치는 효과를 관찰하기 위해서는 혈관절편을 Ca^{2+} 을 제거한 2 mM의 ethylene glycol tetraacetic acid (EGTA) 함유한 Krebs 용액으로 10분간 관류하였으며 다시 10분 후에 실험군에서는 amrinone (5×10^{-5} M)을 투여하였고 대조군에서는 amrinone을 투여하지 않았다. 그후 혈관절편을 KCl (40 mM) 또는 NE (10^{-6} M)와 Ca^{2+} 2.5 mM을 동시에 투여하여 실험군과 대조군의 장력변동을 관찰하였다.

K^+ channel의 영향

K^+ channel의 활성이 amrinone의 혈관이완기전에 관여하는 지를 알아보기 위해서는 혈관절편을 tetra-

ethyl ammonium (TEA, Ca^{2+} activated K^{+} channel blocker, $n = 7, 8$) 20 mM, glybenclamide (Glyb, ATP sensitive K^{+} channel blocker, $n = 6, 8$) 2.5×10^{-5} M, 또는 4-aminopyridine (4-AP, delayed rectifier K^{+} channel blocker, $n = 8, 7$) 5×10^{-4} M로 전처리한 후 KCl (40 mM) 또는 NE (10^{-6} M)로 전수축을 유발시켰다. 그후 amrinone 5×10^{-5} M을 투여하고 혈관평활근의 이완정도를 관찰하여 voltage operated calcium channel (VOC)과 receptor operated calcium channel (ROC)의 관여 여부를 관찰하였다.

Protein Kinase A의 영향

먼저 혈관절편을 강력한 protein kinase A (PKA)와 G (PKG)의 억제제인 H8(N-[2-(methylamino)ethyl]-5-isoquinoline sulfonamide hydrochloride, 100 μM)로 전처리한 후 KCl 40mM로 전수축시켰으며 그후 5×10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} 및 10^{-4} M의 amrinone을 10분 간격으로 연속적으로 투여하면서 장력변동을 기록하였다.

사용 약물들

실험에 사용된 KCl, NE, ACh, L-NAME, indomethacin, methylene blue, EGTA, TEA, glybenclamide 등의 약제들은 Sigma Co. (USA)에서 구입하였고, 4-AP, H8 등은 Research Biochemicals Incorporated (RBI, USA)에서 구입하였다. Amrinone은 Inocor[®] (Sanofi Winthrop Pharmaceuticals, USA)을 사용하였다.

통계처리

전수축시의 혈관장력을 대조치로 하고 amrinone투여시의 실험치는 이에 대한 백분율로 계산하였으며, 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였다. 용량 반응 곡선과 EC_{50} 는 Prism 2[®] (Graphpad software, USA)를 이용하여 non-linear regression analysis를 시행하여 구하였으며 평균 $\pm$ 표준 오차로 표시하였다. 실험치간의 차이비교에는 Friedman test를 이용하였으며, 실험군 간의 비교에는 Kruskal Wallis test를 시행하였고 사후 검정으로서 Mann Whitney U test를 시행하여 $P < 0.05$ 일 때를 통계적 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

Amrinone이 폐동맥 평활근의 긴장도에 미치는 효과

KCl 40 mM 전수축군에서 5×10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} 및 5×10^{-4} M의 amrinone을 10분 간격으로 연속적으로 투여한 결과 내피전재군과 내피제거군의 폐동맥 평활근의 장력은 각각 -11.6 ± 6.7 , -18.6 ± 7.7 , -34.5 ± 8.6 , -49.8 ± 7.3 , $-62.2 \pm 10.7\%$ 와 -7.0 ± 6.8 , -12.3 ± 8.1 , -26.4 ± 7.2 , -40.5 ± 8.6 , $-59.3 \pm 7.7\%$ 로 변동하였다.

또한 NE 10^{-6} M 전수축군에서 5×10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} M의 amrinone을 10분 간격으로 연속적으로 투여한 경우 내피전재군과 내피제거군의 적출폐동맥의 장력은 각각 -19.5 ± 7.7 , -33.8 ± 10.0 , -59.1 ± 10.3 , $-86.5 \pm 7.2\%$ 와 -21.4 ± 15.1 , -37.6 ± 20.6 , -67.6 ± 22.2 , $-89.8 \pm 11.4\%$ 로 변동하였다.

KCl 40 mM과 NE 10^{-6} M 전수축군 모두에서 amrinone은 농도에 비례하여 폐동맥장력을 유의하게 저하시켰으며($P < 0.05$), amrinone에 의한 혈관이완 반응은 NE 전수축군에서 더 현저하였다($P < 0.05$) (Fig. 2, 3).

Fig. 2. Effects of amrinone on the vascular tension of the isolated rabbit pulmonary artery precontracted with KCl (A) or NE (B). Amrinone induced vasorelaxation in concentration relating manner.

K⁺: KCl 40 mM. NE: norepinephrine 10^{-6} M. Amri: Amrinone (M).

Fig. 3. Dose response curve of the isolated rabbit pulmonary artery with (● ■) or without (○ □) endothelium to amrinone (5×10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} , 5×10^{-4} M) in KCl (■ □) and NE (● ○) precontracted groups. Data are expressed as Mean $\pm$ SD.

KCl: 40 mM. NE: norepinephrine 10^{-6} M.

*: $P < 0.05$ compared with control value in all amrinone concentration.

†: $P < 0.05$ NE precontracted group compared with KCl precontracted group in all amrinone concentration.

Table 1. EC_{50} of Amrinone in the KCl- or Norepinephrine-Precontracted Isolated Rabbit Pulmonary Artery with or without Endothelium

KCl (40 mM)	
ED (+)	$4.38 \pm 1.53 \times 10^{-5}$ M
ED (-)	$1.79 \pm 1.43 \times 10^{-4}$ M
Norepinephrine (10^{-6} M)	
ED (+)	$3.72 \pm 1.75 \times 10^{-5}$ M
ED (-)	$2.18 \pm 1.39 \times 10^{-5}$ M

All values are expressed as Mean $\pm$ SEM.

ED (+): endothelium intact. ED (-): endothelium denuded.

한편 amrinone의 EC_{50} 는 KCl 전수축시 내피전재군과 내피제거군에서 각각 $4.38 \pm 1.53 \times 10^{-5}$ M과 $1.79 \pm 1.43 \times 10^{-4}$ M이었으며 NE 전수축시 내피전재군과 내피제거군에서는 각각 $3.72 \pm 1.75 \times 10^{-5}$ M과 $2.18 \pm 1.39 \times 10^{-5}$ M이었다(Table 1).

혈관내피 유·무가 이완기전에 미치는 영향

Amrinone에 대한 폐동맥평활근의 반응에 혈관내피가 관여하는지를 알아보기 위해 기계적으로 혈관내

Fig. 4. Effect of amrinone (5×10^{-5} M) on the vascular tension of KCl (40 mM)- or NE (10^{-6} M)-precontracted rabbit pulmonary arteries before and after pretreated with LNAME ($n = 7, 8$), Indo ($n = 7, 8$). LNAME, Indo and MB pretreatments did not produce any significant changes in the amrinone-induced vascular response.

LNAME: nitro^G-L-arginine methyl ester 3×10^{-4} M

Indo: indomethacin 2.8×10^{-6} M

MB: methylene blue 2×10^{-5} M

피를 제거한 후 amrinone을 투여하여 본바 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig. 3).

Nitric Oxide 및 Prostacyclin의 영향

Amrinone의 작용과정에서 nitric oxide나 prostacyclin을 생성하는지를 구명하기 위하여 폐동맥절편을 L-NAME, Indomethacin 및 MB 등으로 전처리한 후 amrinone의 혈관반응을 관찰하였다. Amrinone에 의한 혈관이완반응은 L-NAME, Indomethacin 및 MB에 의해 변동되지 않음을 알 수 있었다(Fig. 4).

Ca^{2+} channel이 이완기전에 미치는 영향

Ca^{2+} 제거 Krebs 용액에서 Ca^{2+} 2.5 mM 투여 후 유발된 최종장력은 amrinone 전처치를 안한 군(대조군)의 장력은 Ca^{2+} 함유 Krebs 용액에서 전수축시의 장력(대조치)과 유사하였으며 amrinone (5×10^{-5} M)을 전처리한 군(실험군)에서는 amrinone으로 유도된 혈관 장력(실험치)과 유사한 수준이었다(Fig. 5). 이는 amrinone이 voltage operated calcium channel (VOC)와 receptor operated calcium channel (ROC)를

Fig. 5. Effects of amrinone on the mobilization of Ca^{2+} through VOC (voltage-operated calcium channel) and ROC (receptor-operated calcium channel) in the KCl- and NE-precontracted isolated rabbit pulmonary artery. Ca^{2+} influx through VOC and ROC were decreased by amrinone.

K^+ : KCl 40 mM.

NE: norepinephrine 10^{-6} M.

Amri: Amrinone 5×10^{-5} M.

Ca^{2+} (-): Ca^{2+} free Krebs solution.

Ca^{2+} : calcium 2.5 mM.

통한 Ca^{2+} 의 세포내 유입을 차단함을 의미한다.

K^+ channel 억제제가 이완기전에 미치는 영향

K^+ channel이 amrinone에 의한 폐동맥 평활근 이완과정에 관여할 가능성을 조사하기 위해 적출 폐동맥절편을 Ca^{2+} -activated K^+ channel ($\text{K}_{\text{Ca}^{2+}}$) 차단제, ATP sensitive K^+ channel (K_{ATP}) 차단제 및 delayed rectifier K^+ channel (K_{dr}) 차단제 등으로 전처리한 후 amrinone을 투여하였던 바 KCl 40 mM 및 NE 10^{-6} 로 전수축시킨 모든 군에서 TEA, glybenclamide 및 4-AP는 amrinone에 의한 혈관이완반응에 아무런 영향을 미치지 않음을 볼 수 있었다(Fig. 6).

Protein Kinase A가 이완기전에 미치는 영향

Amrinone에 의한 혈관이완반응에 protein kinase A가 관여하는지를 확인하기 위해 적출 폐혈관절편을 PKA 억제제인 H8 (100 μM)로 전처리한 후 KCl (40 mM)로 전수축시킨 다음 amrinone (5×10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} 및 10^{-4} M)을 투여하여 본 바 amrinone에 의한 혈관평활근이완효과는 완전히 소실되었다(Fig. 7).

Fig. 6. Effect of amrinone (5×10^{-5} M) on the vascular tension of KCl (20 mM)- or NE (10^{-6} M)- precontracted rabbit pulmonary arteries before and after pretreated with TEA (n = 7, 8), Glyb (n = 6, 8), 4-AP (n = 8, 7). TEA, Glyb and 4-AP pretreatments did not produce any significant changes in the amrinone-induced vascular response.

TEA: Tetraethylammonium 20 mM.

Glyb: Glybenclamide 2.5×10^{-5} M

4-AP: 4-Aminopyridine 5×10^{-4} M

Fig. 7. Effect of H8, a protein kinase A and G inhibitor, on the amrinone-induced vasorelaxation in the KCl-precontracted rabbit pulmonary artery. After pretreatment H8, the amrinone-induced vasorelaxations were completely abolished.

K^+ : KCl 40 mM.

H8 (100 μM): potent protein kinase A and G inhibitor. 1, 2, 3, 4: amrinone 5×10^{-6} , 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} M, respectively.

고 찰

Amrinone의 혈관이완에 대한 효과는 임상과 실험 연구에서 보고되어왔다.^{11,15,16} Amrinone은 주로 심폐

기로 부터의 이탈시 투여되며, 울혈성심부전환자에서 평균폐동맥압은 약 20%, 폐혈관저항은 30-50%, 우측심실 수축기말 박출혈액량은 $23 \pm 8\%$ 감소시키며, 우측심실박출계수는 $31 \pm 10\%$ 증가시킨다는 보고도 있다.^{10,17)} Amrinone에 의한 우측심실기능의 향상은 폐혈관이완에 따른 우측심실 후부하감소에 따른 폐내 우좌측 선트의 증가에 기인한다는 견해도 있다.¹⁸⁾ Amrinone은 개의 관상동맥, 장간막동맥, 문정맥을 이완시킨다고 하며,¹⁹⁾ 쥐의 적출관류폐에서는 신속히 폐혈관을 이완시키며 또한 decompensated cor pulmonale환자에서는 심기능을 호전시킨다고 보고된바 있다.²⁰⁾

혈관 평활근의 긴장도의 조절인자로는 신경전달물질(norepinephrine, ATP, Nitric Oxide), 내피유래인자들(endothelium derived relaxing factor[EDRF], endothelium derived hyperpolarizing factor[EDHF], endothelins), 대사성 영향(PO_2 , PCO_2 , pH, temperature), 체액성물질(NE, epinephrine, histamine, angiotensin II, vasopressin, vasoactive intestinal peptide[VIP], atrial natriuretic peptide 등) 및 근육성 영향(intraluminal pressure & stretch) 등이 알려져 있다. 대부분의 경우에 혈관평활근의 긴장도 조절은 주로 두 가지 조절기관, 혈관내피와 교감신경계에 의해 이루어진다.²¹⁾ 혈관내피는 특정 혈관주위의 화학적, 물리적 환경의 변화에 의해 혈관활성화물질을 유리함으로써 혈관긴장도를 변화시킨다. 두 조절기관간의 상호작용에 있어 중요한 기전은 평활근 세포의 세포원형질내 Ca^{2+} 농도의 변동이다. 휴식기의 세포내 Ca^{2+} 농도는 $0.1 \mu M$ 정도이나, 최고 활성화시에는 $1-10 \mu M$ 까지 증가한다. 세포외액의 고농도 K^+ 또는 길항제에 의한 혈관평활근막의 탈분극은 세포원형질내의 Ca^{2+} 농도를 신속히 증가시키나 탈분극이 지속되는 경우에는 Ca^{2+} 농도는 다소 감소된다. 혈관평활근의 긴장도는 혈관평활근세포의 막전위차에도 상관성이 있으므로 세포막에 있는 이온 채널의 활성의 변동은 혈관평활근의 긴장도의 변동을 초래할 수 있다. 혈관평활근의 세포막전위는 주로 Ca^{2+} 과 K^+ 의 유입과 유출에 의해 좌우된다. Ca^{2+} 채널중 VOC는 세포막의 탈분극으로 인한 막전위의 증가시 개방되어 Ca^{2+} 유입을 초래하게 되고 따라서 세포질내 Ca^{2+} 이 증가하게 된다. 이러한 Ca^{2+} 의 증가로 수축성 단백질이 활성화되어 수축이 초래되며 세포 외부로부터의

Ca^{2+} 의 유입은 VOC외에도 ROC, nonselective cation channels (NSCC), reversed Na^+/Ca^{2+} exchange 등의 기전을 통해 일어난다고 한다. 혈관평활근의 세포막의 ion pump로는 Na^+/K^+ pump와 Ca^{2+} pump 뿐만 아니라 Na^+/H^+ , HCO_3^-/Cl^- , Na^+/Ca^{2+} exchanger가 있다.²²⁾

Amrinone의 혈관이완효과는 투여량에 비례하며, 환자의 임상 상태와 혈관 평활근내에 존재하는 cAMP 저장량에 의존한다고 한다.¹⁴⁾ Lee 및 Hou는²⁾ 가토를 이용한 실험에서 amrinone은 대동맥보다는 폐동맥에서 이완작용이 현저하며 KCl로 전수축시킨 혈관보다는 NE로 전수축시킨 혈관에서 이완효과가 크다고 하였다. 그 기전으로는 근소포체로부터의 Ca^{2+} 방출의 직접적인 억제 또는 Ca^{2+} 채널 차단효과에 의한 세포내로의 Ca^{2+} 유입감소와 이에 따른 Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release (CICR)의 감소에 의한다고 추정하였다. 또한 amrinone의 혈관이완작용은 혈관내피 유무에 의해 영향을 받지 않으므로 EDRF와는 무관하다고 주장하였다. 본 실험에서도 amrinone은 농도에 비례하여 적출폐동맥절편을 의의있게 이완시켰으며, KCl에 비해 NE에 의해 전수축된 경우에 더 현저한 혈관이완효과가 관찰되었다. 이러한 결과는 Harris 등이²³⁾ 개의 혈관을 이용한 실험결과와 일치하는 것으로 amrinone은 VOC보다는 ROC mediated mechanisms에 의해 유발된 평활근의 수축을 더 선택적으로 이완시키는 것으로 사료된다. 또한 amrinone에 의한 폐동맥이완반응은 혈관내피 유무에 따라 구분한 양군간에서 유의한 차이는 보이지 않았다. 즉 amrinone에 의한 폐동맥이완반응은 혈관내피에 비의존적이었다. 한편 Salmenperä 및 Levy에¹³⁾ 의하면 U46619 (thromboxane A_2 analogue)로 전수축시킨 인간의 내유동맥에서 내유동맥 이완작용에 미치는 amrinone과 milrinone의 EC_{50} 는 각각 $4.3 \pm 2.2 \times 10^{-5} M$, $0.3 \pm 0.1 \times 10^{-5} M$ 로서 milrinone이 amrinone보다 15배 강하다고 하였다. 내유동맥을 이용한 관상동맥우회술 후의 NE로 유도되는 내유동맥의 경련으로 인한 수축 예방에 papaverine과 같은 PDE III 억제제의 이용도 가능하다고 하였다. 본 실험에서도 폐동맥이완반응의 EC_{50} 는 KCl 및 NE로 전수축시 내피전재군에서 각각 $4.38 \pm 1.53 \times 10^{-5}$ 및 $3.72 \pm 1.75 \times 10^{-5} M$ 이었으며 NE로 전수축시가 더 민감한 혈관 이완반응이 초래되었다. 이는 폐

동맥 고혈압을 동반한 심질환자에서 교감신경자극 향진으로 인한 폐동맥 고혈압의 조절에 유효한 양성 변력작용제임을 시사한다.

Amrinone투여 20분전에 폐동맥절편을 NO synthetase의 억제제인 L-NAME로²⁴⁾ 전처리한 결과 혈관이완반응에는 별 영향이 없었으며 이러한 결과는 인체의 피하동맥을 이용한 Vroom 등의²⁵⁾ 실험결과와 일치하는데, 따라서 amrinone에 의한 혈관이완반응이 nitric oxide 유리와는 무관함을 시사한다. 그러나 동물 실험에서 PDE 일부 아형의 억제제에 의한 혈관이완효과는 혈관 내피세포 의존성이라는 사실이 밝혀진 바 있다.^{26,27)} 또한 cGMP가 혈관이완에 직접 관여하는지를 확인하기 위해 guanylate cyclase의 활성화를 억제시키고 cGMP축적을 방해하는 MB로 전처리한 결과 amrinone에 의한 혈관이완반응에 영향이 없음을 알 수 있었다. cGMP가 amrinone으로 유도된 혈관이완에 관여하지 않음은 cGMP의존성인 PKG도 amrinone의 혈관이완 기전과는 무관함을 시사한다. 혈관내피에서의 arachidonic acid로부터 생성되는 prostaglandin 중의 하나인 prostacyclin은 cyclooxygenase pathway의 최종산물의 하나이며²⁸⁾ 강력한 혈관이완제로 알려져 있는데 EDRF와는 다른 물질로서 ATP로부터 adenylate cyclase에 의해 cAMP의 생성을 증가시키므로서 혈관평활근을 이완시킨다. 일반적으로 혈관이완반응이 혈관내피에서 생성되는 prostacyclin에서 기인하는지를 밝히기 위해서는 cyclo-oxygenase 차단제인 indomethacin, acetylsalicylic acid 등이 이용된다.²⁹⁾ 본 실험에서는 amrinone을 투여하기 20분전에 혈관절편을 indomethacin으로 전처리하여 보았으나 amrinone에 의한 혈관이완반응에는 유의한 변동이 없었다. 이러한 내피유래이완 기전들에 의한 이완반응이 차단되지 않음은 amrinone은 평활근에 직접 작용하여 혈관평활근을 이완하는 것으로 사료된다.

Adenylate cyclase의 자극 또는 PDE 억제에 의한 세포내 cAMP 증가는 세포 활동의 기능적 변화, 특히 심혈관계와 연관이 있다고 하며,^{30,32)} 혈관에서는 이완작용을 나타낸다고 한다. 그러나 모든 평활근 이완 약물이 cAMP의 생성 또는 축적에 의해 작용하는 것은 아니며, 또한 평활근 조직내 cAMP 농도 증가가 이완에 반드시 필요한 것도 아니다.³²⁾ 이론적으로 cAMP는 심근세포에 서는 세포막을 통해서 세포내로 Ca^{2+} 유입을 자극하고, 근소포체에서 세포

원형질대로 유입을 초래한다. 반면 혈관에서는 근세포체으로의 Ca^{2+} 의 재흡수를 초래하여 혈관이완을 초래한다. Ca^{2+} 채널에 미치는 amrinone의 영향을 확인하고자 시행한 실험에서 amrinone 전처리군의 장력은 amrinone으로 유도된 이완정도의 장력이었고, amrinone을 전처리하지 않은 군의 장력은 전수축시의 장력과 일치하였다. 즉, amrinone은 VOC와 ROC를 통한 Ca^{2+} 유입을 억제함으로써 폐동맥의 이완이 일어남을 알 수 있었다.

cAMP의 신호전달계(signal transduction system)는 세포 외부로부터의 신호에 대하여 세포내 반응을 일으키는 이차전달물질(second messenger)에 의존하는 여러 경로중 하나이며, 이러한 cascade의 일차 요소는 cAMP-dependent protein kinases (PKA)이며, 이 효소는 인산화에 의해 cAMP의 작용 대부분을 중개한다.³³⁾ PKA의 작용은 VOC를 통한 Ca^{2+} 유입을 조절하는 세포내 주요인자이다.^{34,35)} PKA에 의한 인산화 작용은 adenylate cyclase 활성화 및 cAMP의 상승에 의하여 L-type Ca^{2+} channel의 개방을 초래하며, Ca^{2+} current를 증가시키고, 심장에서는 β -adrenoreceptor에 의한 수축을 일으킨다.^{36,37)} Hidaka 및 Kobayashi는³⁸⁾ H8이 PKA와 PKG의 활성을 억제한다고 하였다. 한편, Maggi 등은³⁹⁾ guinea pig의 요관을 이용한 실험에서 PKA 억제제 중의 하나인 H8을 10-300 μ M을 투여한 경우 KCl 80 mM에 의한 수축반응이 억제됨을 관찰할 수 있었다고 한다. 또한 PKA에 의한 인산화는 평활근에서 L-type Ca^{2+} channels의 이용도를 증가시킨다고 한다. 본 실험에서도 H8 100 μ M을 KCl과 동시에 투여하고 10분이 경과한 뒤 amrinone에 의한 혈관장력변화 등을 비교 관찰하였던 바 amrinone에 의한 혈관이완반응을 완전히 소실됨을 볼 수 있었다. 이는 강력한 PKA, PKG 억제제인 H8이 MB 전처리 실험에서 관찰된 바와 같이 cGMP 경로의 하나인 PKG와는 무관하며 단지 PKA 통로에 영향을 미침으로서 amrinone투여 시 유발되는 혈관이완반응을 증가된 cAMP가 cAMP dependent PKA 통로를 통하여 일어남을 시사한다.

결론적으로 본 연구를 통하여 amrinone은 내피유무에 상관없이 농도에 비례하여 이완시킨다. 그 기전으로서는 VOC와 ROC를 차단하여 Ca^{2+} 의 세포내 유입을 감소시켜 세포질내의 Ca^{2+} 의 감소로 인하여 이완이 초래된다. 특히 amrinone에 의한 Ca^{2+} chan-

nel 차단작용은 ROC가 더욱 민감하다. 한편 amrinone에 의해 증가된 cAMP는 PKA 통로를 통하여 혈관이완을 초래하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Levine S, Jacoby M, Satriano T, Schlondorff D: The effects of amrinone on transport and cAMP metabolism in toad urinary bladder. *J Pharmacol Exp Ther* 1981; 216: 220-4.
- Lee TS, Hou X: Comparative vasoactive effects of amrinone on systemic and pulmonary arteries in rabbits. *Chest* 1995; 108: 1364-7.
- Beavo JA: Multiple isoenzymes of cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Adv Second Messenger and Phosphoprotein Res* 1988; 22: 1-37.
- Weishaar RE, Burrows SD, Kobylarz DC, Quade MM, Evans DB: Multiple molecular form of cyclic nucleotide phosphodiesterase in cardiac and smooth muscle and in platelets. Isolation, characterization and effects of various reference phosphodiesterase inhibitors and cardiotonic agents. *Biochem Pharmacol* 1986; 5: 787-800.
- Thompson WJ: Cyclic nucleotide phosphodiesterases: Pharmacology, biochemistry and function. *Pharmacol Ther* 1991; 51: 17-33.
- Lugnier C, Komars N: Modulation of vascular cyclic nucleotide phosphodiesterases by cyclic GMP: role in vasodilation. *European Heart Journal* 1993; 14(Suppl. D): 141-8.
- Kaplan JA: Cardiac Anesthesia. 3rd ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993, pp1058-94.
- 곽영란, 유은숙, 임현교, 이춘수, 홍용우, 방서욱 등: 폐동맥고혈압 환자에서 amrinone이 전신 및 폐순환에 미치는 영향 대한마취과학회지 1996; 30: 160-5.
- Bailey JM, Levy JH, Rogers HG, Szalam F, Hug CC Jr: Pharmacokinetics of amrinone during cardiac surgery. *Anesthesiology* 1991; 75: 961-8.
- Fita G, Gomar C, Jimenez MJ, Pacheco M, Mulet J, Nalda MAL: Amrinone in perioperative low cardiac output syndrome. *Acta Anaesthesiol Scand* 1990; 34: 482-5.
- Gage J, Rutman H, Lucido D, LeJemtel TH: Additive effects of dobutamine and amrinone on myocardial contractility and ventricular performance in patients with severe heart failure. *Circulation* 1986; 74: 367-73.
- LeJemtel TH, Keung E, Sonnenblick EH, Ribner HS, Matsumoto M, Davis R, et al: Amrinone: a new non-glycosidic, non-adrenergic cardiotonic agent effective in the treatment of intractable myocardial failure in man. *Circulation* 1979; 59: 1098-104.
- Salmenperä M, Levy JH: The in vitro effects of phosphodiesterase inhibitors on the human internal mammary artery. *Anesth Analg* 1996; 82: 954-7.
- Olsen KH, Kluger J, Fieldman A: Combination of high dose amrinone and dopamine in the management of moribund cardiogenic shock after open heart surgery. *Chest* 1988; 94: 503-6.
- Mancini D, LeJemtel TH, Sonnenblick EH: Intravenous use of amrinone for the treatment of the failing heart. *Am J Cardiol* 1985; 56: 8B-15B.
- Rutman HI, LeJemtel TH, Sonnenblick EH: Newer cardiotonic agents: implications for patients with heart failure and ischemic heart disease. *J Cardiothorac Anesth* 1987; 1: 59-70.
- Konstam MA, Cohen SR, Salem DN, Das D, Aronovitz MJ, Brockway BAL: Effects of amrinone on right ventricular function: predominance of afterload reduction. *Circulation* 1986; 74: 359-66.
- Prielipp RC, Butterworth JF, Zaloga GP, Robertie PG, Royster RL: Effects of amrinone on cardiac index, venous oxygen saturation and venous admixture in patients recovering from cardiac surgery. *Chest* 1991; 99: 820-5.
- Ross G, Dabestoni A, Patel AL: Effects of amrinone on vascular smooth muscle. *Fed Proc* 1981; 40: 659.
- Hill NS, Rounds S: Amrinone dilates pulmonary vessels and blunts hypoxic vasoconstriction in isolated rat lungs. *Proc Soc Exp Biol Med* 1983; 173: 205-12.
- Bosnjak ZJ: Ion channels in vascular smooth muscle. *Anesthesiology* 1993; 79: 1392-401.
- Van Breeman C, Cauvin C, Johns A, Leijten P, Yamamoto H: Ca^{2+} regulation of vascular smooth muscle. *Fed Proc* 1986; 45: 2746-51.
- Harris AL, Grant AM, Silver PJ, Evans DB, Alousi AA: Differential vasorelaxant effects of milrinone and amrinone on contractile responses of canine coronary, cerebral, and renal arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1989; 13: 238-44.
- Rees DD, Palmer RMJ, Schulz R, Hodson HF, Moncada S: Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 1990; 101: 746-52.
- Vroom MB, Pfaffendorf M, Van Wezel HB, Van Zwieten PA: Effect of phosphodiesterase inhibitors on human arteries in vitro. *Br J Anaesth* 1996; 76: 122-9.

26. Clarke WR, Soltow LO: Amrinone causes vasodilation by both endothelium-independent and endothelium-dependent mechanisms in small pulmonary arteries. *Am Rev Res Dis* 1991; Suppl A773.
27. Martin W, Furchgott RF, Villani GM, Jothianandan D: Phosphodiesterase inhibitors induce endothelium-dependent relaxation of rat and rabbit aorta by potentiating the effects of spontaneously released endothelium derived relaxing factor. *J Pharmacol Exp Ther* 1986; 237: 539-47.
28. Johns RA, Peach MJ: Metabolism of arachidonic acid and release of endothelium derived relaxing factors. Edited by Vanhauette PM. Clifton, Humana. 1988, pp 65-89.
29. Asher EF, Alsip NL, Zhang PY, Harris PD: Prostaglandin related microvascular dilation in pentobarbital and etomidate anesthetized rats. *Anesthesiology* 1992; 76: 271-8.
30. Evans DB: Overview of cardiovascular physiologic and pharmacologic aspects of selective phosphodiesterase peak III inhibitors. *Am J Cardiol* 1989; 63: 9A-11A.
31. Suematsu E, Hirata M, Kuriyama H: Effects of cAMP- and cGMP- dependent protein kinases, and calmodulin on Ca^{2+} uptake by highly purified sarcolemmal vesicles of vascular smooth muscle. *Biochim Biophys Acta* 1984; 773: 83-90.
32. Kuovetz WR, Poch G, Holzmann S: Cyclic nucleotides and relaxation of vascular smooth muscle: vasodilatation. New York, Raven Press. 1981, pp 339-53.
33. Beebe SJ: The cAMP-dependent protein kinases and cAMP signal transduction. *Semin Cancer Biol* 1994; 5: 285-94.
34. Reuter H: Calcium channel modulation by neurotransmitters, enzyme and drugs. *Nature* 1983; 301: 569-74.
35. Trautwein W, Cavalie A, Flockerzi V, Hofmann E, Pelzer D: Modulation of calcium channel function by phosphorylation in guinea pig ventricular cells and phospholipid bilayer membranes. *Circ Res* 1987; 61(Suppl.1): 17-23.
36. Kameyama M, Hescheler J, Hofmann F, Trautwein W: Modulation of Ca current during the phosphorylation cycle in the guinea-pig heart. *Pflugers Arch* 1986; 407: 123-8.
37. Trautwein W, Hescheler J: Regulation of cardiac L-type calcium current by phosphorylation and G-protein. *Annu Rev Physiol* 1990; 52: 257-74.
38. Hidaka H, Kobayashi R: Pharmacology of protein kinase inhibitors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1992; 32: 377-97.
39. Maggi CA, Santicoli P, Giuliani S: Protein kinase A inhibitors selectively inhibit the tonic contraction of the guinea pig ureter to high potassium. *Gen Pharmacol* 1996; 27: 341-8.