

흰쥐 악하선 도관에서의 전해질 이동에 관한 연구

서울대학교 치과대학 구강생리학교실

김 중 수

TRANSPORT OF ELECTROLYTES BY PERFUSED EXCRETORY DUCT OF RAT SUBMAXILLARY GLAND

Kim, Joong Soo, D.D.S.

Department of Oral Physiology, College of Dentistry, Seoul National University

.....»Abstract«.....

This experiment was performed to study the influence of perfusion rate and metabolic inhibitor on transport of electrolytes in excretory duct of rat submaxillary gland and to clarify the role of main excretory duct on formation of final excreted saliva.

Adult albino rats, weighing 250—350g, were anesthetized with urethane (100 mg/100g body weight, ip) and tracheotomized. One main excretory duct of submaxillary gland was separated from duct of sublingual gland and doubly cannulated. One cannula (O.D. 1.0mm) was inserted into the lumen at the orifice of duct in oral cavity for collecting the sample of perfusate. At hilar end of the duct, polyethylene tubing (I.D. 0.61mm) was inserted into the lumen distally and ligated.

The composition of perfusion solution was, in milliequivalents per liter, Na 140, K 4, Ca 3.6 and HCO₃ 24. Cyanide was added at concentration of 4 mM and 6 mM to control solution in perfusion of cyanide solution.

Perfusion of main excretory duct was accomplished by use of constant infusion pump (Sage Instrument and Scientific & Research Instruments). Perfusion was begun at a rate of 3.56 μ l/min and reduced step-wise to 1.84, 1.16, 0.92 and 0.78 μ l/min, and in perfusion of cyanide solution, rate of 1.84, 1.16 and 0.78 μ l/min was used.

After a sufficient time had elapsed at each perfusion rate for wash out of dead space, a sample was collected. Samples of 20—50 μ l were made up a 1:200 dilution with the 15 mEq/L Li solution and the concentration of sodium and potassium was determined by using the flame photometer.

The results obtained were as follows:

1. The concentration of sodium was decreased from 135.2 ± 1.08 mEq/L of sodium

concentration at highest perfusion rate to 103.0 ± 0.98 mEq/L at the perfusion rate of $0.78 \mu\text{l}/\text{min}$ in perfusion of control solution.

2. There was a rise in potassium concentration at all perfusion rate as high as 28.3 ± 0.67 mEq/L at the lowest rate in control perfusion.
3. Transport of sodium was inhibited in perfusion of 4 mM cyanide solution considerably.
4. Transport of potassium was also inhibited by cyanide and inhibitory effect of 6 mM cyanide was more potent than 4 mM cyanide solution.

I. 서 론

타액선 도관은 단순히 분비된 타액이 지나가는 통로 할을 하며 타액성분의 변화에는 거의 작용이 없는 것으로 생각하였다¹⁾.

그러나 타액선에서 미소전자법을 이용하여 선포에서 비된 타액의 성분을 분석한 결과 전해질 농도는 혈장 전해질 농도와 비슷하였으며, 개재도관이나 선포관에 채취한 타액의 성분은 처음 분비된 타액 성분과 상한 차이가 있는 것으로 보아 도관이 타액 성분변화에 의한 역할을 한다는 사실이 알려졌다^{6, 8, 9, 10)}.

악하선 도관에서 미소관류법을 이용하여 전해질 이동 연구한바^{2, 12, 13)} K는 도관내로 분비되고 Na는 능동으로 화학적 및 전기적 경사에 역행하여 재흡수되고 다²⁰⁾.

타액선 도관에 있어서 전해질 이동에 미치는 신경자의 영향, 각종 약물 및 호르몬의 작용이 보고된 바고^{3, 14, 16, 17, 18)} Young(1967, 1970)^{21, 23)} 등은 cyanide

악하선 도관에서 전해질 이동에 미치는 영향에 관한 언급한 바 있으며, Mangos등(1966, 1973)^{6, 7)}과 hneyer (1960)¹¹⁾는 타액의 분비속도와 전해질 성분의 화에 대하여 보고하였다.

저자는 흰쥐의 악하선 도관에서 일정농도의 Na과 K액을 미소관류시킬 경우 관류된 용액의 Na과 K의 농가 관류속도에 따라 어떻게 변화하며, 대사과정을 억 하는 물질이 농도에 따라 어떤 영향을 주는가를 관찰 고 구강내로 배설되는 타액 형성에 도관이 어떤 역할 하는가를 규명하기 위하여 본 실험에 착수하였다.

II. 실험 방법

실험동물로 체중이 250~350그램인 흰쥐를 성의 구별 이 사용하였다. 20% Urethane 용액을 체중 100그램

당 0.5ml씩 복강내 주사하여 마취하고 경부 피부를 정 중선으로 절개하여 기관을 박리한 후 기도 카놀을 삽입 하여 호흡장치를 방지하였다.

악하선과 설하선의 복합 타액선을 박리한 후 조심하 여 악하선과 설하선을 분리하였다. 분리된 도관 시작부 에 외경이 0.61mm인 폴리에틸렌관(Clay Adams 회사 제품)을 개구부로 향해 삽입하여 관류액 주입에 사용하 였고, 외경이 1.0mm인 폴리에틸렌관을 구강내의 총배 설관 개구부에 삽입하여 관류된 용액을 채취하는 데 사 용하였다.

관류용액의 성분은 혈장의 전해질 성분과 유사하게 하였다. Na 140 mEq/L, K 4 mEq/L, Ca 3.6 mEq/L, HCO₃ 24 mEq/L를 배조 관류액으로 사용하였고, 동일 한 관류액에 cyanide를 농도가 4mM, 6mM이 되도록 하여 실험관류액으로 사용하였다.

관류시는 Constant infusion pump (Sage Instrument 및 Scientific & Research Instrument 회사제)를 이용하 여 일정한 속도로 관류하였으며, 사용한 관류속도는 3.56, 1.84, 1.16, 0.92, 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 였고, cyanide용액 관류시는 주로 1.84, 1.16 및 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 를 사용하였다.

도관을 관류한 용액은 주입하는 폴리에틸렌관 내에 phenol red(Merck 회사제)로 착색된 관류액을 10~20 μl 넣고 phenol red가 완전히 씻겨 버린 후에 liquid paraffin(일본시약 제품)을 넣은 시험관에 성분조사에 필요한 량을 채취하였다.

용액내의 Na과 K농도는 채취된 용액을 micropipet (Gilson 회사제)로 50 μl 내지 20 μl 를 취하여 15 mEq/L Li용액으로 1 : 200 희석하여 flame photometer(Corning Model 430)로 측정하였다.

III. 실험 성적

흰쥐 악하선 도관에서 관류속도를 변화시키면서 측정 한 Na과 K의 평균농도를 제 1도에 표시하였다.

Na농도는 관류속도가 감소함에 비례하여 3.56 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 평균농도($\pm\text{S.E}$)가 135.2 \pm 1.08 mEq/L, 1.84 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 126.6 \pm 1.32 mEq/L였고, 1.16 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 123.6 \pm 1.78 mEq/L, 0.92 $\mu\text{l}/\text{min}$ 와 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 각각 109.5 \pm 4.97 mEq/L, 103.0 \pm 0.98 mEq/L로 감소하였다.

K농도는 관류용액 농도인 4 mEq/L보다 모든 관류속도에서 증가하여, 최소 관류속도에서 최대 농도를 나타내었다. 각 관류속도에서의 평균농도($\pm\text{S.E}$)는 3.56 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서 6.7 \pm 0.48 mEq/L, 1.84 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 14.5 \pm 0.84 mEq/L였으며 관류속도가 1.16 $\mu\text{l}/\text{min}$, 0.92 $\mu\text{l}/\text{min}$ 일 때는 각각 20.1 \pm 1.09 mEq/L, 23.7 \pm 1.32 mEq/L를 나타내었으며 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 28.3 \pm 0.67 mEq/L로 최대이었다.

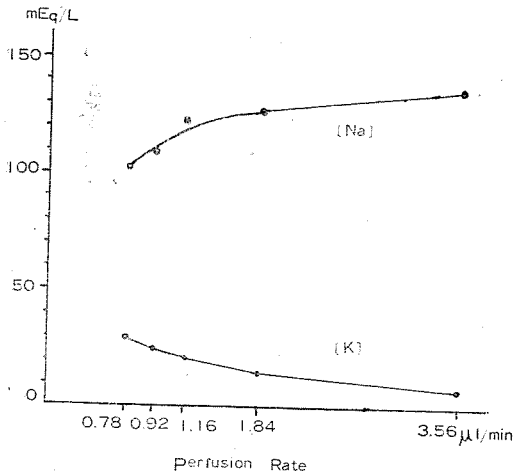


Fig. 1 Changes on concentration of sodium and potassium at various perfusion rate

대사억제 물질인 cyanide를 4mM, 6mM농도로 관류액에 첨가하였을 경우의 Na 농도를 제 2도에 표시하였다. 4mM 농도의 경우 Na평균 농도($\pm\text{S.E}$)는 1.84 $\mu\text{l}/\text{min}$ 관류에서 134.3 \pm 1.42 mEq/L, 1.16 $\mu\text{l}/\text{min}$, 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 관류에서는 각각 128.5 \pm 2.33 mEq/L, 118.0 \pm 4.32 mEq/L였으며, 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 와 1.84 $\mu\text{l}/\text{min}$ 관류속도에서의 Na 농도는 대조용액 관류시 보다 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 6mM농도 경우 1.84 $\mu\text{l}/\text{min}$, 1.16 $\mu\text{l}/\text{min}$ 의 관류속도에서는 각각 135.3 \pm 0.96 mEq/L, 131.8 \pm 1.38 mEq/L였고 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 관류속도에서는 124.3 \pm 0.88 mEq/L를 나타내어 같은 속도의 대조용액 관류시 보다 유의하게 높은 농도를 보였으나 ($p < 0.05$), 4mM

cyanide 용액 관류시 관찰된 Na 농도와는 유의한 차이를 보이지 않았다.

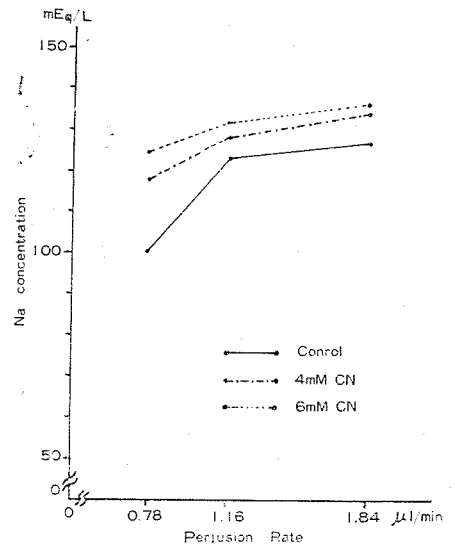


Fig. 2 Effects of cyanide on concentration of sodium

Cyanide 농도가 4mM인 용액을 관류하였을 때의 K평균농도($\pm\text{S.E}$)는 1.84 $\mu\text{l}/\text{min}$ 관류시 9.6 \pm 0.81 mEq/L였고 1.16 $\mu\text{l}/\text{min}$, 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 관류속도에서 각각 13.5 \pm 1.15 mEq/L, 19.5 \pm 0.89 mEq/L였으며, 6mM의 경우는 1.84 $\mu\text{l}/\text{min}$ 및 1.16 $\mu\text{l}/\text{min}$ 관류속도에서는 각각 7.3 \pm 0.69 mEq/L, 8.9 \pm 1.28 mEq/L였고 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 12.8 \pm 2.22 mEq/L로 대조용액 관류시 보다

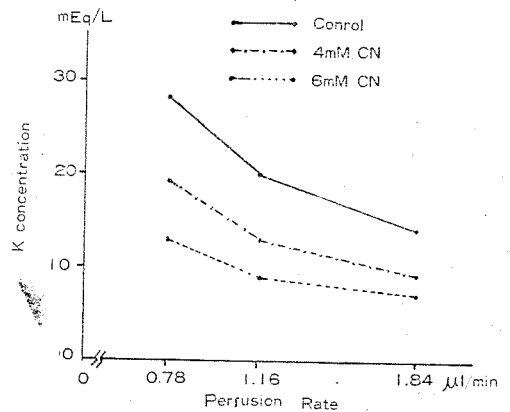


Fig. 3 Effects of cyanide on concentration of potassium

유의하게 낮은 농도를 나타냈으며 제 3 도에서 볼 수 있다.

IV. 고 찰

실험실에서 분비되는 타액은 배설되는 동안 전해질 농도의 변화를 나타내며 이 현상은 도관계통의 작용에 의한 것으로 그 주작용 부위는 선조관과 소엽내도관이라 하나⁷⁾ 총배설관도 관여하고 있다¹⁵⁾.

흰쥐 악하선의 총배설관은 풍부한 혈관 분포를 나타내며 도관내에 삽입한 카테터를 고정하기 위하여 결찰하여도 충분한 혈류가 유지되고 있으며^{12, 20)}, 총배설관의 수분 투과성은 매우 불량하여 관류하는 동안 수분 이 이동은 매우 낮은 관류속도(85 nl/min 이하)를 제외하고는 유의한 차이가 없으며^{12, 17, 21, 22, 23)} 본 실험에서 사용한 관류액은 등장성 용액이므로 수분 이동이 전해질 농도 변화에 미치는 영향은 무시할만 하다 하겠다.

Koefoed-Johnsen과 Ussing(1954)⁴⁾이 처음으로 제시한 개구리 피부에서의 Na 운반 모형에서 보면 Na는 확산에 의해 외부로부터 세포내로 이동하고 세포의 내측막에서는 조직간질로 능동적으로 운반되며 이때 K를 세포내로 운반하는 Na-K펌프가 있으며 이 K는 세포밖으로 확산해 나간다고 한다.

타액선 도관에서도 ouabain($10^{-3}M$)을 관류하였을 경우 Na 이동에 대하여 거의 영향을 주지 않거나 매우 미약한 효과만을 나타내는 것을 보아^{13, 21)} 총배설관의 상피세포도 개구리 피부에서 볼 수 있는 Na 이동 기전을 갖는 것 같으며, 총배설관에서의 Na 이동은 포화되는 것을 볼 수 있고²⁾ 또 세포흡수 능력에도 한정이 있다고 한다¹⁸⁾.

총배설관에 있어서의 K는 도관내로 이동하며 매우 낮은 관류속도에서 135 mEq/L 까지 증가하고 능동적 이동에 의해 이루어 진다²¹⁾. 타액선 도관 관류시 K 이동은 Na와 연관이 있으며 ouabain의 영향은 거의 받지 않지만 amiloride, cytochalasin B에 의해 억제되는 것을 볼 수 있고^{4, 14, 16)} K의 능동적 이동은 도관상피세포의 내강측에 있는 것이 아니며 이 부위에서는 운반체에 의한 이동이 일어난다고 한다¹³⁾.

Cyanide의 Na 이동 억제는 개구리 피부에서도 볼 수 있으며¹⁰⁾ 흰쥐 악하선 도관에서는 묽은 용액일 때는 거의 영향을 주지 않지만 6mM 농도에서는 Na와 K의 이동을 억제하여 Na 이동은 50% 감소하고 K 운반은 30% 정도 감소된다고 한다²²⁾. 본 실험의 결과 4mM cyanide 용액에서도 Na, K 농도는 대조용액 관류시 보다 유의

한 차를 나타내어 상당히 억제되는 것 같으며 Na는 6mM 용액 관류시와 유의한 차이가 없었으나 K는 낮은 관류 속도에서 6mM 용액시 보다 유의하게 높은 농도를 나타내는 것을 보아 K 이동은 Na 이동에 비해 어느 정도 유지되는 것 같으며 이런 문제는 타액선 도관에서의 전해질 유량을 측정함으로써 보다 명확하게 규명할 수 있을 것이다.

Schneyer(1970)는 악하선에서 Na 농도 변화는 분비율과 상관없는 것 같다고 하였으나 Mangos(1973, 1976) 등^{3, 17)}은 흰쥐 이하선에서는 분비율이 감소하면 Na 농도가 감소하고 K 농도는 증가한다고 하였으며, Young(1970)²³⁾이 보고한 결과는 본 실험결과와 유사하였다. 이것은 관류속도가 감소함에 따라 도관의 상피세포에서 Na와 K의 능동적 이동이 일어 날 수 있는 접촉시간이 충분해짐으로써 많은 양의 Na와 K이 이동될 수 있기 때문인 것으로 사료된다.

타액선 도관에서의 Na와 K 이동은 cyanide에 의해 억제되는 능동적 이동을 하고 있으나 능동적 이동이 일어나는 부위에 대해서는 논란이 되고 있다.

V. 총 찰

체중이 250-350 그램인 흰쥐를 20% Urethane 용액을 체중 100그램 당 0.5ml씩 복강내 주사하여 마취하고 경부 피부를 정중선으로 절개한 후 기도 카눌을 삽입하였다.

악하선과 설하선을 박리하고 악하선 총배설관만 주의하여 분리한 후 도관 시작부에서 외경 0.61mm인 폴리에틸렌관을 삽입하여 관류액 주입에 사용하였고 구강내의 총배설관 개구부에 외경 1.0mm의 폴리에틸렌관을 삽입하여 관류액 채취에 사용하였다. 관류용액의 전해질 농도(mEq/L)는 Na 140, K 4, Ca 3.6, HCO₃ 24였으며 cyanide의 농도는 4mM, 6mM로 하였다.

관류시는 constant infusion pump (Sage Instrument 및 Scientific & Research Instruments 회사제)를 사용하였으며 관류속도는 3.56 μ l/min, 1.84 μ l/min, 1.16 μ l/min, 0.92 μ l/min, 0.78 μ l/min로 하였고 cyanide 용액 관류시에는 주로 1.84 μ l/min, 1.16 μ l/min, 0.78 μ l/min를 사용하였다.

Na와 K 농도는 채취된 관류용액을 15 mEq/L Li 용액으로 1:200 희석하여 flame photometer (Corning Model 430)로 측정하여 흰쥐 악하선 총배설관의 미소관류시 관류속도의 변화와 대사억제 물질이 관류액의 Na와 K 농도에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음의 결론

을 얻었다.

1. 관류속도가 감소함에 따라 Na 농도는 감소하여 3.56 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서 135.2 \pm 1.08 mEq/L 이던 것이 최소 관류속도인 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 103.0 \pm 0.98 mEq/L를 나타내었다.

2. K농도는 전 관류속도에서 증가하여 3.56 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 6.7 \pm 0.48 mEq/L였으며 0.78 $\mu\text{l}/\text{min}$ 에서는 28.3 \pm 0.67 mM으로 증가 하였다.

3. Cyanide 용액 관류시 Na농도는 대조용액 관류시 보다 높았으며 4mM 농도에서도 Na 운반은 상당히 억제되었다.

4. 4mM과 6mM cyanide 용액 관류시 K농도는 대조 용액 관류시 보다는 낮았으며 6mM 농도에서 K이동 억제 효과가 더 심하였다.

References

- 1) Babkin, B.P.: Secretory mechanism of the digestive glands, p.710, Paul B. Hoeber, Inc, New York, 1950.
- 2) Field, M.J. and J.A. Young: Kinetics of Na transport in the rat submaxillary main duct perfused in vitro Pflügers Arch. 345 : 207, 1973.
- 3) Gruber, W.D., H. Knauf and E. Frömter: The action of aldosterone on Na⁺ and K⁺ transport in the rat submaxillary main duct Pflügers Arch. 344 : 33, 1973.
- 4) Koefoed-Johnsen, V. and H.H. Ussing: The nature of the frog skin potential Acta Physiol. Scand. 42 : 298, 1954.
- 5) Mangos, J.A. and G. Braun: Excretion of total solute, sodium and potassium in the saliva of the rat parotid gland Pflügers Arch. 290 : 184, 1966.
- 6) Mangos, J.A., G. Braun and K.F. Hamann: Micropuncture study of sodium and potassium excretion in the rat parotid saliva Arch. Ges. Physiol. 291 : 99, 1966.
- 7) Mangos, J.A., N.R. McSherry and S.N. Arvanitakis: Autonomic regulation of secretion and transductal fluxes of ions in the rat parotid Am. J. Physiol. 225 : 683, 1973.
- 8) Martin, C.J. and J.A. Young: Electrolyte concentrations in primary and final saliva of the rat sublingual gland studied by micropuncture

and catheterization techniques Arch. Ges.

Physiol. 324 : 344, 1971.

- 9) Martinez, J.R., H. Holzgreve and A. Fric: Micropuncture study of submaxillary glands adult rats Arch. Ges. Physiol. 290 : 124, 1971.
- 10) Mullen, T.L. and T.U.L. Biber: Sodium uptake across the outer surface of the frog skin, Membrane transport processes, Vol. 1, edited by J.F. Hoffman, pp.199-212, Raven Press, New York, 1978.
- 11) Schneyer, C.A. and L.H. Schneyer: Electrolyte levels of rat salivary secretions in relation to fluid-flow rate Am. J. Physiol. 199 : 55, 1960.
- 12) Schneyer, L.H.: Secretory process in perfused excretory duct of rat submaxillary gland Am. J. Physiol. 215 : 664, 1968.
- 13) Schneyer, L.H.: Secretion of potassium in the perfused excretory duct of rat submaxillary gland Am. J. Physiol. 217 : 1324, 1969.
- 14) Schneyer, L.H.: Amiloride inhibition of ion transport in perfused excretory duct of rat submaxillary gland Am. J. Physiol. 219 : 1050, 1970.
- 15) Schneyer, L.H., J.A. Young and C.A. Schneyer: Salivary secretion of electrolytes Physiol. Rev. 52 : 720, 1972.
- 16) Schneyer, L.H.: Differential effects of cytochalasin B on Na and K transport in a perfused salivary duct Am. J. Physiol. 227 : 606, 1974.
- 17) Schneyer, L.H.: Sympathetic control of Na, K transport in perfused submaxillary main duct of rat Am. J. Physiol. 230 : 341, 1976.
- 18) Schneyer, L.H.: Parasympathetic control of Na, K transport in perfused submaxillary duct of the rat Am. J. Physiol. 233 : F22, 1977.
- 19) Schögel, E. and J.A. Young: Micropuncture and perfusion investigation of sodium and potassium transport in the rat submaxillary gland J. Physiol. (London) 183 : 73, 1965.
- 20) Shackelford, J.H. and L.H. Schneyer: Ultrastructural aspects of the main excretory duct of rat submandibular gland Anat. Rec. 169 : 679, 1971.
- 21) Young, J.A., E. Frömter, H. Schögel and K. Hamann: A microperfusion investigation

sodium reabsorption and potassium secretion by the main excretory duct of the rat submaxillary Pflügers Arch. 295 : 157, 1967.

2) Young J.A.: Microperfusion investigation of chloride fluxes across the epithelium of the main excretory duct of the rat submaxillary gland

Pflügers Arch. 303 : 366, 1968.

23) Young, J.A., C.J. Martin, R. Asz and F.D. Weber: A microperfusion investigation of bicarbonate secretion by the rat submaxillary gland Pflügers Arch. 319 : 185, 1970.

各種齒科材料一切

大宇齒科材料商社

崔壯祚·崔南祚

서울 特別市 中區 봉래동 1가 65의 10 (유하빌딩 202호)

電話 (28) 4 5 7 9