

흰쥐 대동맥에서 imipramine의 혈관이완 작용기전

강형섭 · 이상우 · 백성수 · 조성진 · 김진상*

전북대학교 생체안전성연구소
(제작일: 2003년 12월 1일)

Mechanism of the relaxant action of imipramine in isolated rat aorta

Hyung-sub Kang, Sang-woo Lee, Sung-su Baek, Sung-gun Joe, and Jin-shang Kim*

Bio-Safety Research Institute, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea

(Accepted: December 1, 2003)

Abstract : Although the antidepressant effects of imipramine (IMI) have been well known in several studies, the effects on cardiovascular system, particularly the vasorelaxant effects, have not been clearly known. We hypothesized that IMI-induced vasorelaxation involves NO (nitric oxide), activation of guanylate cyclase (GC) and Ca²⁺ channel. The possible roles of the endothelium and Ca²⁺ in IMI-induced responses were investigated using isolated rings of rat thoracic aorta and anesthetized rats. In KCl-precontracted rings, IMI produces endothelium-dependent and endothelium-independent relaxations in intact (+E) as well as endothelium-denuded (-E) rat aorta in a concentration-dependent manner. In phenylephrine (PE)-precontracted rings, the IMI-induced relaxation was significantly greater in +E rings. The IMI-induced relaxations were suppressed by nitric oxide synthase (NOS) inhibitors, N(G)-nitro-L-arginine (L-NNA), N(omega)-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) and aminoguanidine, a non-selective GC inhibitor, methylene blue, Na⁺ channel blockers, lidocaine and procaine, or Ca²⁺ channel blockers, nifedipine and verapamil, in PE-precontracted +E rings, but not in PE-precontracted -E rings. These relaxations were also suppressed by lidocaine or procaine in -E aortic rings. However, IMI-induced relaxations were not inhibited by a PLC inhibitor 2-nitro-4-carboxyphenyl-n,n-diphenylcarbamate (NCDC), an inositol monophosphatase inhibitor, lithium, indomethacin and dexamethasone in +E and -E rings. *In vivo*, infusion of IMI elicited significant decrease in arterial blood pressure. After intravenous injection of saponin, NOS inhibitors, MB and nifedipine, infusion of IMI inhibited the IMI-lowered blood pressure markedly. These findings suggest that the endothelium-dependent relaxation induced by IMI is mediated by activation of NO/cGMP signaling cascade or inhibition of Ca²⁺ entry through voltage-gated channel, and this mechanism may contribute to the hypotensive effects of IMI in rats.

Key words : imipramine, endothelium, relaxation, blood pressure, aorta

서 론

Imipramine 및 protriptyline 등과 같은 3환계 항우울제는 중추신경계에서 noradrenaline (NE) 재흡수를 억제하여 [1] 증가된 NE에 의하여 아드레날린성 신호전달을 강화시킨다 [16]. 3환계 항우울제는 오랫동안 우울증 치료에 효과적이고 안전하게 사용되어 왔으나 원하는 치

료 작용 못지 않게 심맥관계에 부작용을 초래하였다 [10, 29]. 특히, 저혈압, 방설 빈맥, ECG 변동 또는 혈관 평활근 이완 등을 일으킬 수 있다 [11, 19, 25]. 심장 충동 전도 변동은 3환계 항우울제가 국소마취제와 같은 Na⁺ 통로 억제에 의한 결과이며 [2, 21], 혈관 및 기타 평활근의 이완은 muscarinic 및 adrenergic 수용체에 길항 작용과 [8, 11, 13, 27, 34] 평활근 이완 작용으로 직접적

*Corresponding author: Jin-shang Kim

Department of Pharmacology, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University, Chonju 561-756, Korea
[Tel: 82-63-270-2554, Fax: 82-63-270-3780, E-mail: kimjs@chonbuk.ac.kr]

인 Ca^{2+} 유입 억제에 의한다고 [11, 14, 34] 하였다. 또한 Na^+ 통로 차단제와 같은 type I 항부정맥제 (imipramine과 desipramine 포함)가 흰쥐 대동맥에서 전압의존성 또는 수용체 연결 Ca^{2+} 통로를 억제할 뿐만 아니라 세포내 저장소로부터 Ca^{2+} 유리를 억제하여 KCl 및 NE에 의한 혈관 수축을 억제한다고 하였다 [9]. 3환계 항우울제에 의한 평활근 이완, 혈관 수축억제 및 혈압 하강 기전을 상기와 같이 설명하였으나 혈관 이완 기전으로 중요한 내피 유래성 혈관 이완 인자 (endothelium-derived relaxing factor, EDRF), phospholipase C (PLC)계 및 prostacyclin과의 관계에 대해서는 연구 보고가 없다. 단지 3환계 항우울제에 의한 인간 장간막 동맥 이완에 대해 nitric oxide synthase (NOS) 억제제 및 indomethacin의 영향이 없다는 보고가 [34] 있지만 desipramine의 저혈압 효과에 대해 nitric oxide (NO)가 관여된다는 보고에 [22] 따르면 NOS계가 3환계 항우울제의 혈관 이완 기전에 관련될 수 있음을 의미한다. 또한 혈관 평활근에서 α_1 -adrenoceptor 자극은 PLC를 활성화시켜 inositol 1,4,5-triphosphate (IP_3)을 생성함으로써 세포내 Ca^{2+} 저장소로부터 Ca^{2+} 을 유리시키고 diacylglycerol (DAG)에 의한 protein kinase C (PKC) 활성으로 Ca^{2+} 통로가 인산화되어 Ca^{2+} 유입이 촉진된다 [26, 30, 35]. 따라서 3환계 항우울제는 adrenoceptor를 길항하거나 Ca^{2+} 조절계를 억제할 [9, 11, 12, 14, 24] 수 있으므로 α_1 -adrenoceptor 신호 전달계 또는 관련 이온 조절계를 억제하여 혈관 평활근을 이완시킬 수 있을 것으로 사료된다. 이와 같은 결과를 근거로 이 연구에서는 혈관내피, NOS계, prostacyclin 계, Na^+ 과 Ca^{2+} 조절계 및 PLC계 등이 imipramine에 의한 흰쥐 대동맥 이완에 관련되는지를 검토하고 이 혈관 이완과 혈압 하강효과와의 관계를 규명하고자 하였다.

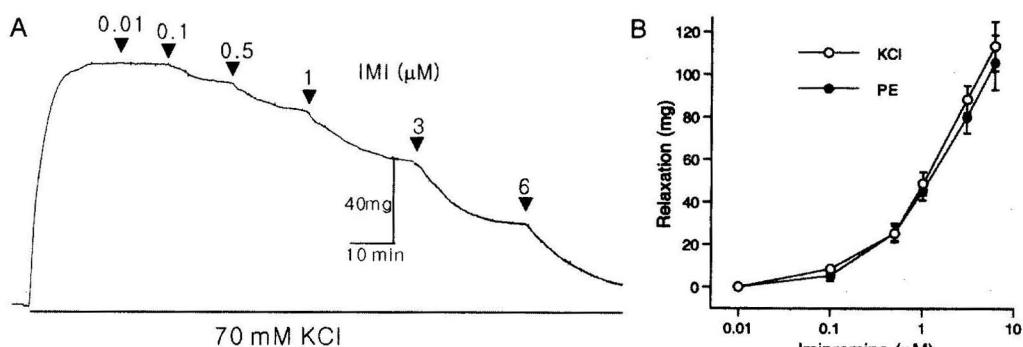


Fig. 1. Concentration-dependent effects of imipramine (IMI) on phenylephrine (PE)- or KCl-induced contraction in endothelium-intact (+E) rat aortic rings. A: typical tracing of the concentration-dependent effect of IMI on 70 mM KCl-precontracted ring. B: graph showing the vasorelaxant effect of IMI on 5 μM PE- or KCl-precontracted ring. Each point represents means \pm SE expressed as tension (mg) of IMI-induced relaxation. n=4.

재료 및 방법

혈관 적출 및 수축력 측정

수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley, 250~300 g)를 두부를 타격하여 방혈시킨 후 흉부 대동맥을 적출하여 30°C의 산소 포화 영양액 (133.0 mM NaCl, 5.0 mM KCl, 2.5 mM CaCl_2 , 1.2 mM MgSO_4 , 1.0 mM KH_2PO_4 , 11.0 mM glucose 및 12.0 mM NaHCO_3 과 95% O_2 : 5% CO_2 , pH 7.3~7.4)으로 혈액을 제거한 다음 실체 현미경하에서 지방 및 결합 조직편을 제거하고 약 2~3 mm의 길이로 절단하였다. 절단한 한 개의 혈관 고리를 상기 영양액이 관류 (4 ± 0.5 mL/min)되는 tissue chamber내에 직경 50 μm 고정핀에 고정하고 한쪽은 직경 25 μm 은선에 연결된 고리를 연결한 후 tension transducer (400A, Cambridge)에 연결하였다. 연결 후 250~300 μg 의 장력 (정지 장력)을 준 후 안정되면 등장성 40~70 mM KCl의 영양액을 20~30분간 1~2회 관류시켜 장력을 안정시켰다. 이 장력의 변동은 recording system (3400, Gould)을 이용하여 기록하였다.

약물처치 및 내피제거

상기에서와 같이 내피가 존재한 상태에서 수축력을 측정한 후 정지 장력이 유지된 상태에서 saponin (0.3 mg/ml)을 영양액에 녹여 12~15분간 관류시켜 내피를 제거하였다. 내피 존재 유무는 0.5 μM 의 acetylcholine을 투여하여 이완 여부로 확인하였다. 이와 같이 영양액이 관류되는 tissue chamber내에서 직접 내피를 제거하여 단일 조직에서 내피 유무에 따른 병행실험을 하였다. 70 mM KCl 또는 phenylephrine (PE)을 투여하여 수축력을 일정해지면 imipramine을 투여하여 그 이완 효과를 관

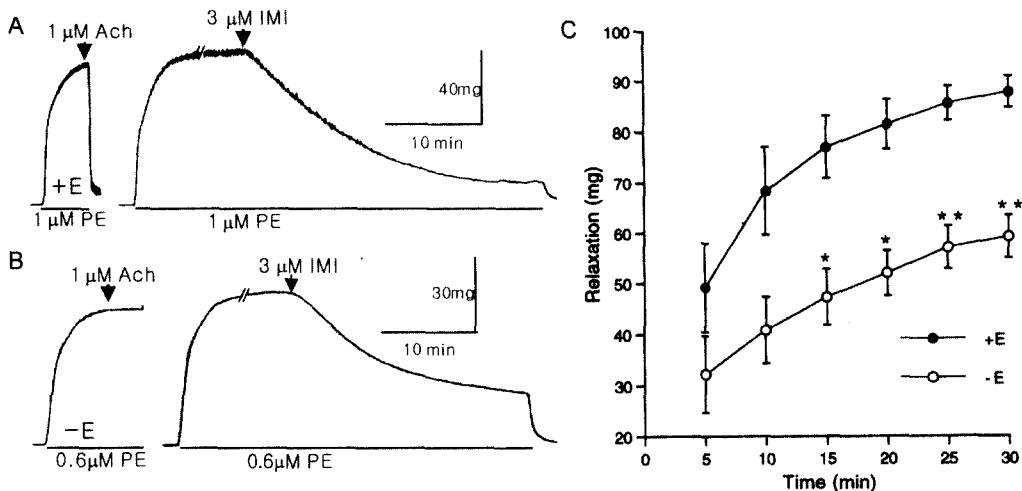


Fig. 2. Effects of IMI on PE-precontracted +E or endothelium-denuded (-E) isolated rat aortic rings. In -E rings (B), 0.6 μM PE was employed to induce similar degree of tone to that of endothelium-containing rings (A) induced by 1 μM PE. Where indicated, chemicals were added to the perfusing medium. Endothelium was denuded by adding saponin to the perfusing medium. A and B: typical tracings of the relaxant effect of IMI in +E (A) and -E (B) rings. C: graph showing time-dependent relaxant effect of IMI. Each point represents means±SE expressed as tension (mg) of IMI-induced relaxation. *P<0.05, **P<0.001 vs. +E rings; n=3~4.

찰하였다. KCl 및 PE 수축 혈관에서 imipramine의 혈관이완 실험은 농도 증가에 따른 각 농도의 최대 이완효과가 늦게 나타나는 관계로 농도에 따른 이완 효과 (Fig. 1)만을 관찰하였고 이 이완 효과에 미치는 각종 약물의 효과는 단일 농도의 imipramine을 투여하여 시간에 따른 효과를 나타냈다 (Fig. 2 이하). Imipramine의 혈관이완 작용기전을 규명하기 위하여 각종 약물은 30분~5시간 동안 전 치치 후 imipramine을 투여하여 그 이완효과를 관찰하였다. 내피제거, GC 억제제, NOS 억제제, cyclooxygenase 억제제 PLC 억제제 및 Ca^{2+} -channel 차단제 등의 전 치치 시에는 PE에 의한 수축력이 강화되거나 약화되기 때문에 비슷한 수축 상태에서 상기 혈관 이완 물질의 반응을 관찰하기 위하여 PE의 농도를 조절하여 비슷한 수축 크기에서 실험하였다.

혈압 측정

실험동물을 urethane으로 마취하고, 체온 유지를 위해 hot plate에 고정한 후 약 20분 동안 안정시켰다. 기도 유지를 위해 기관에 catheter를 삽입하여 고정하고 ventilator로 호흡을 유지하였다. 혈관내 약물을 투여하기 위해 왼쪽 목정맥에 관을 삽입하여 고정하였고, 혈압을 측정하기 위해 대퇴동맥에 관을 삽입하여 고정하고 생리 기록

계를 연결하였다. 동맥에 삽입한 관에는 heparin (1000 IU/mL)이 함유된 생리식염수를 채워서 혈액응고를 억제하였다. 혈압이 안정되면 imipramine에 의한 혈압 변동을 관찰하였다. 각종 약물의 효과는 imipramine의 혈압 변동을 관찰한 후 안정되면 적정시간 동안 전 치치 후 다시 imipramine을 투여하여 혈압 반응을 관찰하였다. Imipramine의 반복 투여에 따른 혈압 하강 차이가 없음을 확인하였다. 생체내에서 imipramine의 혈압하강 효과에 대한 혈관내피세포의 영향을 관찰하기 위하여 saponin을 투여하여 내피를 제거하였고 내피 존재 유무는 혈압 관찰 후 혈관을 적출하여 상기 방법에 준하여 대동맥에서 acetylcholine의 이완반응 여부를 관찰하여 판정하였다.

사용 약물 및 통계처리

Phenylephrine, imipramine, heparin, acetylcholine, saponin, nifedipine, verapamil, L-N^G-nitro-arginine methyl ester (L-NAME), L-N^G-nitro-arginine (L-NNA), amino-guanidine, 2-nitro-4-carboxyphenyl-n,n-diphenylcarbamate (NCDC), indomethacin, dexamethasone, lidocaine, procaine, lithium 및 methylene blue는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 실험성적은 means±SE로 나타냈고, 각 실험 결과의 유의성은

Student's *t*-test에 의해 검정하였다.

결 과

PE 및 고농도 KCl 수축 혈관에서 imipramine의 농도 의존적 혈관이완 효과

내피가 존재하는 혈관을 70 mM KCl 또는 3~5 μ M PE로 수축시킨 후 0.01, 0.1, 0.5, 1, 3 및 6 μ M imipramine을 투여한 결과 농도 의존적으로 혈관을 이완시켰다 (Fig. 1A, B).

혈관 내피 제거가 imipramine의 혈관 이완효과에 미치는 영향

내피가 존재하는 혈관과 제거한 혈관을 PE으로 수축시킨 후 단일 농도 (3 μ M)의 imipramine을 투여한 후 최대 이완효과가 나타날 때까지 시간 (5분 간격)에 따른 효과를 비교 관찰하였다. 내피가 존재하는 혈관에서 imipramine 투여 5, 10, 15, 20, 25 및 30분 후 각각 49.2 \pm 8.8, 68.3 \pm 8.7, 77.0 \pm 6.1, 81.5 \pm 4.9, 85.6 \pm 3.4 및 87.8 \pm 3.1 mg을 이완시켰다. 그러나 내피를 제거한 혈관에서 imipramine은 시간에 따라 32.2 \pm 7.5, 40.8 \pm 6.5, 47.3 \pm 5.5, 52.0 \pm 4.5, 57.1 \pm 4.3 및 59.2 \pm 4.2 mg을 이완시켜 imipramine에 의한 이완효과가 내피 제거에 의하여 약

화되었다 (Fig. 2).

NOS 억제제가 imipramine의 혈관 이완효과에 미치는 영향

내피가 존재하는 혈관을 PE로 수축시킨 후 3 μ M imipramine 투여는 시간에 따라 49.2 \pm 8.8, 68.3 \pm 8.7, 77.0 \pm 6.1, 81.5 \pm 4.9, 85.6 \pm 3.4 및 87.8 \pm 3.1 mg을 이완시켰으나 NOS 억제제인 100 μ M L-NAME 존재하에서 3 μ M imipramine 투여로 17.8 \pm 6.3, 32.4 \pm 5.9, 42.5 \pm 5.4, 49.3 \pm 4.6, 54.5 \pm 4.3 및 57.5 \pm 4.1 mg 이완되었으며, 10 μ M L-NNA 존재하에서는 31.5 \pm 7.6, 39.4 \pm 7.2, 46.8 \pm 6.4, 52.2 \pm 5.4, 55.9 \pm 4.9 및 58.2 \pm 4.1 mg 이완되었고, 400 μ M aminoguanidine (AG) 존재하에서는 29.3 \pm 7.1, 42.8 \pm 6.4, 47.6 \pm 5.9, 55.8 \pm 5.4, 59.3 \pm 5.0 및 61.3 \pm 4.9 mg을 이완되어 각각의 NOS 억제제들에 의하여 imipramine의 혈관 이완효과가 유의성 있게 억제되었다 (Fig. 3).

Guanylate cyclase (GC), PLC 및 inositol monophosphatase 억제제가 imipramine의 혈관 이완효과에 미치는 영향

내피가 존재하는 혈관에서 3 μ M imipramine은 시간에 따라 49.2 \pm 8.8, 68.3 \pm 8.7, 77.0 \pm 6.1, 81.5 \pm 4.9, 85.6 \pm 3.4 및 87.8 \pm 3.1 mg을 이완시켰으나 10 μ M methylene

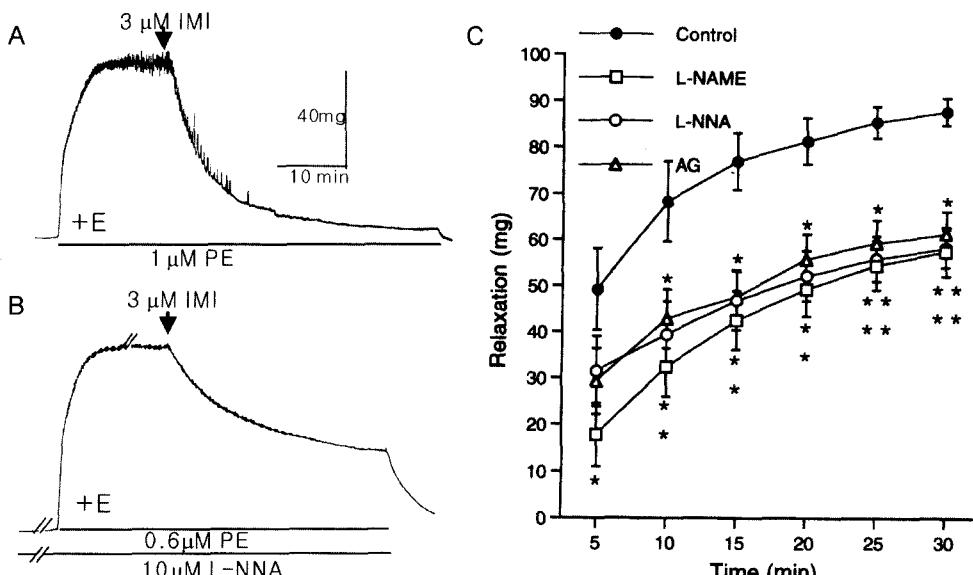


Fig. 3. Effects of NOS inhibitors (100 μ M L-NAME, 10 μ M L-NNA or 500 μ M AG) on the IMI-induced relaxation in PE-precontracted +E rings. A and B: typical tracings of the relaxant effect of IMI in the absence (A) and the presence (B) of L-NAME. C: graph showing the effects of NOS inhibitors on the IMI-induced relaxation. Each point represents means \pm SE expressed as tension (mg) of IMI-induced relaxation. *P<0.05, **P<0.01 vs. control (in the absence of NOS inhibitor); n=4~5.

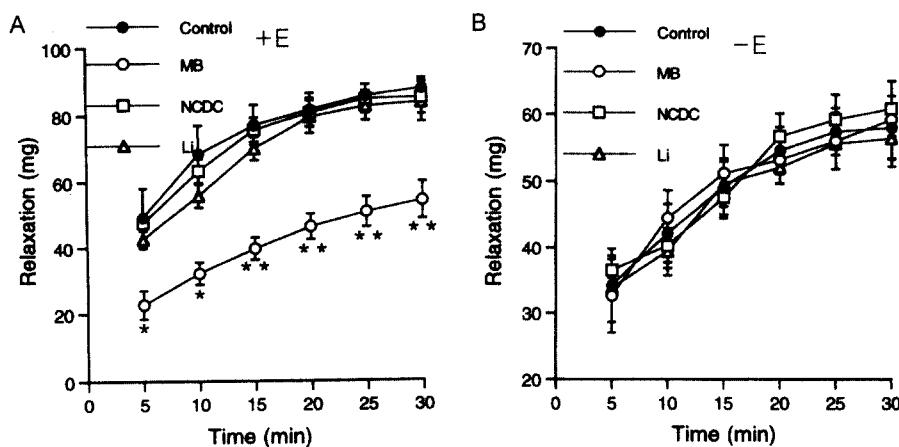


Fig. 4. Effects of GC inhibitor (10 μ M methylene blue, MB), PLC inhibitor (100 μ M NCDC) and inositol monophosphatase inhibitor (50 μ M lithium) on the IMI-induced relaxation in PE-precontracted +E (A) and -E (B) rings. Each point represents means \pm SE expressed as tension (mg) of IMI-induced relaxation. * $P<0.05$, ** $P<0.001$ vs. control; n=5.

blue 존재하에서 imipramine은 시간에 따라 22.6 ± 4.3 , 32.1 ± 3.4 , 39.6 ± 3.4 , 46.2 ± 3.9 , 50.7 ± 4.6 및 54.2 ± 5.6 을 이완시켜 GC 억제제에 의하여 imipramine의 혈관 이완효과가 유의성 있게 억제되었다. 그러나 내피가 제거된 혈관에서는 imipramine의 혈관 이완효과가 GC 억제제에 의하여 억제되지 않았다. 혈관이완 기전 중 또 하나는 PLC 억제를 통한 IP₃ 생성 억제 또는 PKC 활성 억제이다. PE로 수축시킨 내피 존재 및 제거 혈관에서 3 μ M imipramine은 시간에 따라 이완시켰고 이 이완 효

과가 PLC인 억제제인 100 μ M NCDC 또는 inositol monophosphatase inhibitor인 50 μ M lithium 존재하에서 억제되지 않았다 (Fig. 4).

Dexamethasone과 indomethacin이 imipramine의 혈관 이완효과에 미치는 영향

내피 존재 또는 제거 혈관에서 1 μ M dexamethasone 또는 10 μ M indomethacin은 3 μ M imipramine의 혈관 이완효과에 영향을 미치지 못했다 (Fig. 5).

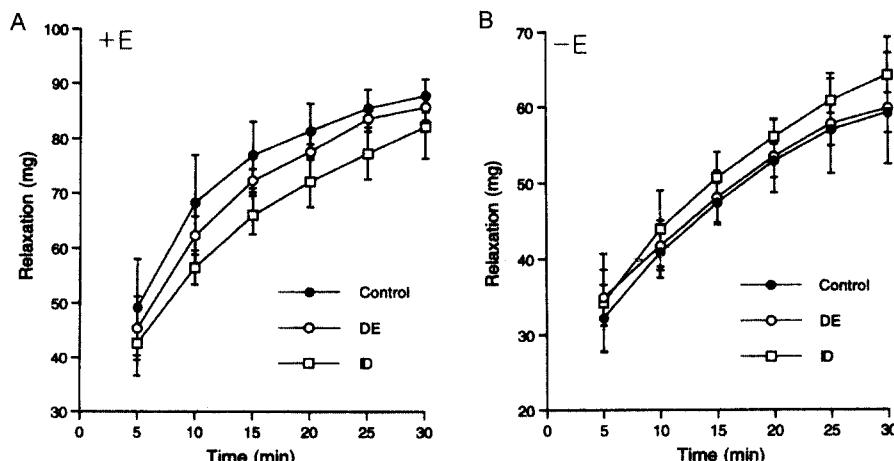


Fig. 5. Effects of 10 μ M indomethacin (ID) and 1 μ M dexamethasone (DE) on the IMI-induced relaxation in PE-precontracted +E (A) and -E (B) rings. Each point represents means \pm SE expressed as tension (mg) of IMI-induced relaxation. n=4~5.

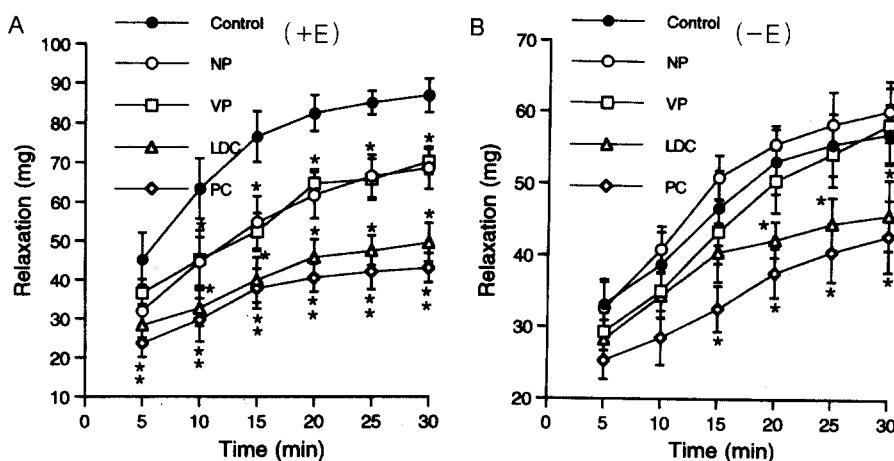


Fig. 6. Effects of 0.5 μ M nifedipine (NP), 5 μ M verapamil (VP), 400 μ M lidocaine (LDC) and 500 μ M procaine (PC) on the IMI-induced relaxation in PE-precontracted +E (A) and -E (B) rings. Each point represents means \pm SE expressed as tension (mg) of IMI-induced relaxation. * $P<0.005$ vs. control; $n=4\sim 5$.

Ca²⁺ 통로 및 Na⁺ 통로 차단제가 imipramine의 혈관 이완효과에 미치는 영향

내피가 존재하는 혈관에서 3 μ M imipramine은 시간

에 따라 45.2 ± 6.8 , 63.3 ± 7.7 , 76.5 ± 6.4 , 82.4 ± 4.5 , 85.1 ± 3.0 및 86.9 ± 4.2 mg을 이완시켰고 0.5 μ M nifedipine 존재하에서 imipramine은 시간에 따라 각각 31.8 ± 8.1 ,

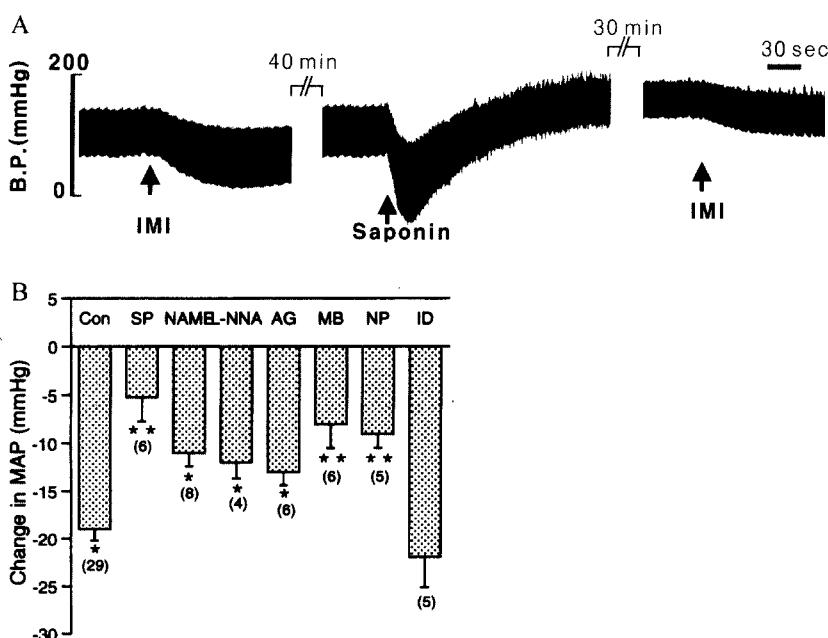


Fig. 7. Typical tracings (A) and the data summary (B) of the effect of saponin (SP, 18 mg/kg), L-NAME (5 mg/kg), L-NNA (3 mg/kg), AG (9 mg/kg), MB (20 mg/kg), NP (150 μ g/kg) and ID (2 mg /kg, i.v.) on IMI (Con, 2 mg/kg)-induced decrease in blood pressure. Chemicals were treated 20-40 minutes before the treatment of IMI. Each bar represents means \pm SE expressed as mmHg of decrements of mean arterial blood pressure (MAP). * $P<0.05$, ** $P<0.001$ vs. Con. Numbers in parentheses indicate number of experiments.

44.6 ± 7.6 , 54.7 ± 7.1 , 61.7 ± 6.3 , 66.5 ± 5.4 및 68.6 ± 4.3 mg을 이완시켰으며 $5 \mu\text{M}$ verapamil 존재 하에서 imipramine은 36.5 ± 3.6 , 45.2 ± 7.5 , 52.3 ± 4.8 , 64.6 ± 3.6 , 65.7 ± 5.2 및 70.2 ± 3.2 mg를 이완시켜 Ca^{2+} 통로 차단제에 의해 imipramine의 혈관 이완효과가 유의성 있게 억제되었다 (Fig. 6A). 그러나 내피가 제거된 혈관에서는 imipramine의 혈관 이완효과가 Ca^{2+} 통로 차단제에 의하여 억제되지 않았다 (Fig. 6B). 또한 Na^+ 통로 차단제인 $400 \mu\text{M}$ lidocaine 또는 $500 \mu\text{M}$ procaine을 전처치한 혈관에서 imipramine은 각각 28.2 ± 5.4 , 32.6 ± 4.6 , 39.9 ± 5.8 , 45.8 ± 4.6 , 47.5 ± 3.8 및 49.6 ± 5.0 mg 그리고 23.6 ± 3.5 , 29.6 ± 5.6 , 37.7 ± 5.2 , 40.5 ± 3.7 , 42.1 ± 4.6 및 43.1 ± 3.8 mg를 이완시켜 imipramine의 이완효과가 유의성 있게 억제되었다 (Fig. 6A). 역시 내피제거 혈관에서도 lidocaine 또는 procaine에 의하여 imipramine의 혈관 이완효과가 억제되었다 (Fig. 6B).

각종 약물에 의한 imipramine의 혈압 하강 억제 효과

상기 *in vitro* 실험에서 imipramine은 혈관을 이완시켰고 그 이완효과가 혈관 내피제거, NOS 억제제, GC 억제제, PLC 억제제, 및 Na^+ , Ca^{2+} 통로 차단제에 의하여 억제되었다. 따라서 이들 화합물의 imipramine에 의한 혈압 변동에 미치는 영향을 검토한 결과 마취한 환쥐에서 imipramine (2 mg/kg , i.v.)에 의하여 혈압 하강효과가 관찰되었고 이 하강효과 (평균혈압, mmHg)가 역시 혈관 이완작용과 같이 saponin (SP, 18 mg/kg), L-NAME (5 mg/kg), L-NNA (3 mg/kg), AG (9 mg/kg), methylene blue (20 mg/kg) 및 nifedipine ($150 \mu\text{g/kg}$)에 의해서는 유의성 있게 억제되었으나 indomethacin (2 mg/kg) 전처리에 의해서는 억제되지 않았다 (Fig. 7).

고 찰

이 연구에서 imipramine의 흉대동맥 이완효과와 마취 환쥐에서 정맥내 투여에 의한 혈압 하강효과를 관찰하였다. 혈관 이완은 혈압하강의 주요 요인인기 때문에 임상적 적용 약물의 부작용인 혈압 하강 원인 규명을 위해 혈관 이완 기전을 파악함이 매우 중요하다. 따라서 이 연구에서는 혈관 이완 기전 규명에 중점을 두었고 부분적으로 imipramine에 의한 혈압 하강효과와 혈관 이완과 관련성을 파악하고자 하였다. 혈관 이완은 다양한 기전에 의하여 일어날 수 있다. 항우울제에 의한 혈관 이완 기전 중 하나가 α_1 -adrenoceptor 길항으로 인한 혈관 수축억제이다 [8, 11, 13, 14, 27, 34]. 즉, 환쥐 대동맥과 인간 장간막 동맥에서 3환계 항우울제인

protriptyline과 amitriptyline의 혈관 수축억제 효과와 이완기전이 adrenoceptor 길항제와 같은 작용, Ca^{2+} 유입 억제 또는 직접적인 혈관 수축억제라고 하였다 [14, 34]. 그 직접적인 증거로 뇌에서 동위원소 실험을 통한 항우울제의 α -adrenoceptor 길항작용을 [28] 제시하였다. 이 연구에서는 PE로 수축시킨 혈관은 물론 고농도 KCl로 수축시킨 혈관에서도 imipramine에 의하여 혈관이 이완되어 그 기전을 adrenoceptor 길항작용만으로 해석하기는 어렵다. 그 이유는 PE와 같은 수용체 효현제에 의한 혈관 평활근 수축은 주로 수용체 자극 경로를 경유한 Ca^{2+} 통로의 개방에 의한 세포외 Ca^{2+} 의 세포내로의 유입, 세포내 저장소로부터의 Ca^{2+} 유리 및 비선택적 양이온 통로를 경유한 Ca^{2+} 유입 (Ca^{2+} permeable non-selective cation channel)에 [18, 20] 의하기 때문이다. 이 연구 결과에서도 PE로 수축시킨 혈관에서 imipramine에 의한 혈관 이완된 결과를 볼 때 이 α -adrenoceptor 길항작용 결과라고 할 수 있으나 세포막 전위 의존성 Ca^{2+} 통로 개방에 의한 세포외 Ca^{2+} 유입에 의하여 혈관을 수축시키는 고농도 KCl에 [15] 의한 혈관 수축도 역시 imipramine에 의하여 농도 의존적으로 혈관이 이완되었기 때문이다. 추가적으로 PE 및 NE에 의한 혈관 수축은 α_1 -adrenoceptor 자극으로 세포막의 PLC가 활성화되어 PIP_2 가 가수분해됨으로써 두 종류의 2nd messenger인 IP₃와 DAG가 형성되어, IP₃에 의한 세포내 Ca^{2+} 유리 및 DAG에 의한 PKC를 활성화에 의한 Ca^{2+} 유입 촉진으로 [26, 30, 35] 혈관은 수축한다. 따라서 imipramine에 의한 혈관이완이 α_1 -adrenoceptor 차단 결과라고 한다면 이 경로의 일부인 PLC, IP₃ 또는 DAG가 관여한다. 그러나 이 실험 결과에서 PLC 억제제인 NCDC는 물론 inositol monophosphatase 억제제인 lithium에 의하여 imipramine에 의한 혈관 이완효과가 억제되지 않았음으로 α_1 -adrenoceptor 수용체 차단에 의한 혈관 이완기전을 제외하고 다음과 같은 혈관 이완 기전과 관련성에 중점을 두었다.

평활근 이완 기전 중 가장 중요한 하나는 혈관내피세포 및 혈관 평활근에서의 cGMP 활성이다. 즉, cGMP 활성에 의한 세포내 Ca^{2+} 감소와 평활근 수축 구조의 Ca^{2+} 에 대한 감응도 감소이다 [5]. 혈관 내피세포가 존재한 경우 이완 인자인 NO 유리는 물론 평활근에서 NO는 cGMP를 증가시키기 때문에 많은 혈관이완 및 수축 기전 연구에서 혈관내피세포의 유무와 NOS 억제 및 활성 상태는 매우 중요하다. 그러나 3환계 항우울제들의 혈관 수축 억제 및 이완에 관한 연구가 소수에 불과할 뿐만 아니라 이들 연구에서 혈관 이완이 혈관내피 세포에 비의존적으로 일어나며 [14, 34] NOS 억제제인 L-NAME는 항우울제에 의한 혈관 이완에 영향을 미치지

않는다는 결과가 [34] 보고되어 있을 뿐이다. 이 연구에서는 imipramine의 혈관 이완 및 혈압 하강 효과가 1차적으로 혈관내피세포와 관련이 있는지를 밝히기 위하여 내피 존재 또는 제거혈관과 NOS 억제제 존재 유무하에 서 실험하였다. Imipramine에 의한 혈관 이완 및 혈압 하강효과가 saponin에 의한 혈관내피세포 제거 및 생체 내 투여에 의해서 부분적으로 유의성 있게 억제되어 이 혈관 이완 효과 중 일부가 혈관 내피 의존적이고 혈압 하강과 일치함을 관찰하였다. 내피제거는 내피가 존재 한 상태에서 imipramine의 혈관 이완 결과를 관찰한 후 동일 혈관에 saponin을 처리하고 기본장력을 내피 존재 혈관에서와 비슷하게 재조정 후 안정되면 imipramine의 이완효과를 관찰하였다. 혈관내피 존재하에서 약물의 효과를 관찰한 결과와 물리적으로 혈관 내피를 제거한 다른 혈관에서의 결과를 검토한 다른 연구자들의 방법과 비교할 때 본 연구 방법이 보다 정확하다고 할 수 있다. 또한 혈관 내피세포에서 유리되는 NO는 NOS 활성에 의한 L-arginine으로부터 유래함으로 NOS 활성이 혈관 이완과 관련된다. NOS 억제제인 L-NNA 및 L-NAME 은 물론 induce NOS 선택적 억제제인 aminoguanidine의 전처리에 의하여 imipramine에 의한 혈관 이완 및 혈압 하강효과가 부분적으로 유의성 있게 억제되었다. 그러나 유전자 발현에 의한 NOS 합성을 억제하는 dexamethasone을 [17] 장시간 동안 전처리에 의해서는 억제되지 않았다. 상기 NOS 억제제들에 의한 imipramine 의 혈관 이완 억제효과가 내피세포를 제거한 혈관에서는 억제되지 않아 이 혈관 이완효과는 혈관내피 의존적임을 알 수 있다.

그리고 혈관 내피와 평활근 세포에서 GC 활성에 의한 cGMP 증가이다. GC 억제제에 의해서 imipramine의 혈관 이완 및 혈압 하강 효과가 억제되었으나 혈관 내 피가 제거된 혈관에서는 GC 억제제에 의하여 억제되지 않았다. GC 활성에 의한 cGMP 증가는 혈관 평활근에서도 일어날 수 있기 때문에 혈관 내피 유무에 관계없 으나 내피제거 혈관에서는 억제되지 않은 결과에 의하면 imipramine에 의한 혈관 이완 및 혈압 하강이 내피 세포에서 NOS에 의해 활성화된 NO에 의한 GC의 활 성으로 cGMP 증가에 의한 결과로 사료된다. 한편 다른 혈관 이완 및 수축 기전에 관련된 내인성 물질로써 cyclooxygenase에 의해 생성되는 prostacyclin과 thromboxane을 [12] 들 수 있으므로 cyclooxygenase system 과의 관계를 확인해보기자 indomethacin을 전처리 후 imipramine의 효과를 관찰하였으나 혈관 이완 및 혈압 하강효과에는 영향을 미치지 않았다.

혈관 이완 기전 중 또 다른 하나는 세포내 Ca^{2+} 감소 이다. Ca^{2+} 감소기전으로 Ca^{2+} -활성 K^+ 통로 활성, 세포

막 Ca^{2+} 통로 억제, 세포질 Ca^{2+} 펌프 활성, 근세망 Ca^{2+} 펌프 활성, IP_3 수용체 억제 및 IP_3 생성 억제 등이며 [5] 평활근 수축은 수용체 경유 및 전압 의존성 Ca^{2+} 통로의 활성에 의한다 [18, 33]. 따라서 imipramine도 직접적으로 Ca^{2+} 통로를 억제하여 혈관을 이완시킬 수 있다. 그 이유로 imipramine에 의한 혈관 이완효과가 막전위 의존성 Ca^{2+} 통로 활성에 의하여 혈관을 수축시키는 고농도 KCl에 의한 수축 혈관에서도 imipramine에 의하여 혈관이 이완되었고, imipramine에 의한 혈관 이완효과가 nifedipine에 의하여 억제되었음을 들 수 있다. 일반적으로 고농도 KCl에 의한 혈관 수축은 세포외 Ca^{2+} 제거나 L-type Ca^{2+} 통로 차단제에 의하여 완벽하게 억제되기 [6] 때문에 KCl에 의한 수축은 전압의 존성 Ca^{2+} 통로를 경유한 Ca^{2+} 유입에 의존적임을 의미한다. 이와 같은 세포외 Ca^{2+} 의존적 혈관수축을 imipramine이 이완시켰기 때문에 흰쥐 대동맥 세포막 탈분극에 의한 Ca^{2+} 유입을 imipramine이 억제할 수 있다고 사료된다. 고농도 KCl 뿐만 아니라 PE 및 NE 도 상기 신호전달 경로를 경유하여 세포내 Ca^{2+} 저장소로부터 Ca^{2+} 을 유리시켜 혈관을 수축시키고 수용체 활성 Ca^{2+} 통로 개구에 의해서도 혈관을 수축시킨다 [6]. 따라서 class I 항부정맥제에 의한 혈관 이완이 세포내 저장소로부터 Ca^{2+} 유리나 Ca^{2+} 통로 억제에 의한 결과일 수도 있다고 하였다 [4, 7, 23]. 그러나 이 연구에서는 세포내 Ca^{2+} 유리와의 관련성은 밝히지 못했으나 세포외 Ca^{2+} 유입 억제와 관련될 수 있음을 알 수 있었다. 보충적인 결과로 항부정맥제로 쓰이는 lidocaine이나 procaine에 의하여 imipramine의 혈관 이완 효과가 억제되었기 때문이다. 항부정맥제는 Na^+ 유입을 억제함으로써 세포내 Na^+ 농도가 낮아져 $\text{Na}^+ \cdot \text{Ca}^{2+}$ 교환기를 억제하여 세포내 Ca^{2+} 농도를 감소시킬 수 있다. 그러나 혈관 평활근에는 Na^+ 통로가 드물고 [32] Na^+ 통로 차단제인 tetrodotoxin이 흰쥐 대동맥 수축에 영향을 미치지 않는다는 보고 [24] 및 모든 class I 항부정 맥제 [9] 또는 protriptyline과 amitriptyline과 같은 3환계 항우울제는 [24, 34] 전압의존성 또는 수용체 활성 Ca^{2+} 통로를 통한 Ca^{2+} 유입 억제에 의하여 혈관을 이완시킨다는 보고에 따르면 imipramine에 의한 혈관 이완은 Na^+ 통로 억제에 의한 결과로 볼 수 없고 전압의존성 L-type Ca^{2+} 통로를 경유한 Ca^{2+} 의 유입을 억제한 결과일 수 있다. 이상의 결과를 종합하면 imipramine에 의한 혈관 이완과 혈압 하강은 매우 일치하며 imipramine의 혈관 내피세포 의존적 이완효과는 NO/cGMP 신호전달계 활성과 전압 의존성 Ca^{2+} 통로를 통한 Ca^{2+} 유입억제와 관련되고 이러한 이완기전이 혈압 하강의 원인이 될 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

적출 대동맥 및 마취 환취에서 3환계 항우울제 중 하나인 imipramine의 혈관 이완 및 혈압 변동 효과는 다음과 같았다. 내피세포가 존재하는 혈관은 PE 또는 고농도 KCl로 수축시킨 후 imipramine 처치는 농도 의존적으로 이완시켰다. 단일 농도 ($3\text{ }\mu\text{M}$)의 imipramine에 의한 혈관 이완효과가 혈관내피 제거 (saponin에 의한 제거)에 의하여 억제되었을 뿐만 아니라 NOS 억제제, GC 억제제, Na^+ 통로 차단제 또는 Ca^{2+} 통로 차단제에 의하여 억제되었으며 혈관 내피가 제거된 혈관에서는 GC 억제제 또는 Ca^{2+} 통로 차단제에 의하여 억제되지 않았으나 Na^+ 통로 차단제에 의하여 억제되었다. 또한 내피 존재 및 제거 혈관에서 imipramine에 의한 혈관 이완효과가 indomethacin, dexamethasone, PLC 억제제 또는 inositol monophosphatase 억제제에 의해서 억제되지 않았다. Imipramine에 의한 혈압 하강효과는 혈관 이완효과에서와 유사하게 L-NNA, L-NAME, aminoguanidine, nifedipine, methylene blue 및 saponin 전처리에 의해서는 억제되었으나 indomethacin에 의하여 억제되지 않았다. 결론적으로 imipramine의 혈관 내피세포 의존적 이완효과는 NO/cGMP 신호전달계 활성화 및 Ca^{2+} 통로를 통한 Ca^{2+} 유입억제와 관련되고 이 기전에 의한 혈관 이완효과가 혈압 하강의 원인이 될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Bassett, J. R., Cairncross, K. D., Hacket, N. B. and Story, M.** Studies on the peripheral pharmacology of fenazoxine, a potential antidepressant drug. *Br. J. Pharmacol.* 1969, **37**, 69-78.
- Barber, M. J., Starmer, C. F. and Grant, A. O.** Blockade of cardiac sodium channels by amitriptyline and diphenylhydantoin. Evidence for two use-dependent binding sites. *Circ. Res.* 1991, **69**, 677-696.
- Berridge, M. J.** Rapid accumulation of inositol trisphosphate reveals that agonists hydrolyse polyphosphoinositides instead of phosphatidylinositol. *Biochem. J.* 1983, **212**, 849-858.
- Caron, R., Perez-Vizcaino, F., Delpon, E. and Tamargo, J.** Effects of propafenone on ^{45}Ca movements and contractile responses in vascular smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 1991, **103**, 1453-1457.
- Carvajal, J. A., Germain, A. M., Huidobro-Toro, J. P. and Weiner, C. P.** Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *J. Cell. Physiol.* 2000, **184**, 409-420.
- Cauvin, C., Loutzenhiser, R. and Van Breemen, C.** Mechanism of calcium-antagonist induced vasodilation. *Annu. Rev. Pharmacol.* 1983, **23**, 373-396.
- del Pozo, B. F., Perez-Vizcaino, F., Villamor, E., Zaragoza, F. and Tamargo, J.** Stereoselective effects of the enantiomers, quinidine and quinine, on depolarization- and agonist-mediated responses in rat isolated aorta. *Br. J. Pharmacol.* 1996, **117**, 105-110.
- Doggrell, S. A. and Vincent, L.** The postsynaptic effects of antidepressant drugs in the rat anococcygeus muscle. *J. Pharm. Pharmacol.* 1981, **33**, 720-724.
- Fernandez del Pozo, B., Perez-Vizcaino, E., Fernandez, C., Zaragoza, F. and Tamargo, J.** Effects of several class I antiarrhythmic drugs on isolated rat aortic vascular smooth muscle. *Gen. Pharmacol.* 1997, **29**, 539-543.
- Glassman, A. H., Roose, S. P. and Bigger, J. T. Jr.** The safety of tricyclic antidepressants in cardiac patients. Risk-benefit reconsidered. *JAMA*, 1993, **269**, 2673-2675.
- Hrdina, P. D. and Ling, G. M.** Studies on the mechanism of the inhibitory effect of desipramine (DMI) on vascular smooth muscle contraction. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1970, **173**, 407-415.
- Hishinuma, T., Tsukamoto, H., Suzuki, K. and Mizugaki, M.** Relationship between thromboxane/prostacyclin ratio and diabetic vascular complications. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids.* 2001, **65**, 191-196.
- Huang, Y.** Inhibition of contractions by tricyclic antidepressants and xylamine in rat vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.* 1997, **327**, 41-47.
- Huang, Y.** Inhibitory effect of noradrenaline uptake inhibitors on contractions of rat aortic smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 1996, **117**, 533-539.
- Hudgins, P. M. and Weiss, G. B.** Differential effects of calcium removal upon vascular smooth muscle contraction induced by norepinephrine, histamine and potassium. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1968, **159**, 91-97.
- Iversen, L. L.** The inhibition of noradrenaline uptake by drugs. *Adv. Drug Res.* 1965, **2**, 1-46.
- Kanno, K., Hirata, Y., Imai, T. and Marumo, F.** Induction of nitric oxide synthase gene by interleukin in vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 1993, **22**, 34-39.

18. Karaki, H., Ozaki, H., Hori, M., Mitsui-Saito, M., Amano, K., Harada, K., Miyamoto, S., Nakazawa, H., Won, K. J. and Sato, K. Calcium movements, distribution, and functions in smooth muscle. *Pharmacol. Rev.* 1997, **49**, 157-230.
19. Kirch, W. Hemodynamic effects of extracardiac drugs. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.* 1995, **33**, 190-193.
20. Nakajima, T., Hazama, H., Hamada, E., Wu, S. N., Igarashi, K., Yamashita, T., Seyama, Y., Omata, M. and Kurachi, Y. Endothelin-1 and vasopressin activate Ca^{2+} -permeable non-selective cation channels in aortic smooth muscle cells: mechanism of receptor-mediated Ca^{2+} influx. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1996, **28**, 707-722.
21. Pancrazio, J. J., Kamatchi, G. L., Roscoe, A. K. and Lynch, C. Inhibition of neuronal Na^+ channels by antidepressant drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1998, **284**, 208-214.
22. Pentel, P. R., Wanrukul, W., Scarlett, W. and Keyler, D. E. Nitric oxide contributes to desipramine-induced hypotension in rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 1996, **15**, 320-328.
23. Perez-Vizcaino, F., Duarte, J. and Tamargo, J. Effects of flecainide on isolated vascular smooth muscles of rat. *Br. J. Pharmacol.* 1991, **104**, 726-730.
24. Perez-Vizcaino, F., Fernandez del Pozo, B., Zaragoza, F. and Tamargo, J. Voltage- and time-dependent inhibitory effects on rat aortic and porcine coronary artery contraction induced by propafenone and quinidine. *Br. J. Pharmacol.* 1994, **113**, 1281-1288.
25. Preskorn, S. H. and Irwin, H. A. Toxicity of tricyclic antidepressants-kinetics, mechanism, intervention: a review. *J. Clin. Psychiatry.* 1982, **43**, 151-156.
26. Rapoport, R. M. Effects of norepinephrine on contraction and hydrolysis of phosphatidylinositols in rat aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1987, **242**, 188-194.
27. Rehavi, M., Weiss, H., Nissenkorn, I., Rubinstein, R. and Cohen, S. A comparative study of the affinities of some tricyclic antidepressants for the muscarinic cholinergic receptor in human and guinea-pig bladder, ileum and brain in relation to differential drug potency. *Life Sci.* 1987, **40**, 1819-1827.
28. Richelson, E. and Nelson, A. Antagonism by antidepressants of neurotransmitter receptors of normal human brain *in vitro*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1984, **230**, 94-102.
29. Roose, S. P., Glassman, A. H., Giardina, E. G., Walsh, B. T., Woodring, S. and Bigger, J. T. Tricyclic antidepressants in depressed patients with cardiac conduction disease. *Arch. Gen. Psychiatry.* 1987, **44**, 273-275.
30. Shearman, M. S., Sekiguchi, K. and Nishizuka, Y. Modulation of ion channel activity: a key function of the protein kinase C enzyme family. *Pharmacol. Rev.* 1989, **41**, 211-237.
31. Somlyo, A. P. and Himpens, B. Cell calcium and its regulation in smooth muscle. *FASEB J.* 1989, **3**, 2266-2276.
32. Sturek, M. and Hermsmeyer, K. Calcium and sodium channels in spontaneously contracting vascular muscle cells. *Science*, 1986, **233**, 475-478.
33. Taggart, M. J., Menice, C. B., Morgan, K. G. and Wray, S. Effect of metabolic inhibition on intracellular Ca^{2+} , phosphorylation of myosin regulatory light chain and force in rat smooth muscle. *J. Physiol.* 1997, **499**, 485-496.
34. Vila, J. M., Medina, P., Segarra, G., Lluch, P., Pallardo, F., Flor, B. and Lluch, S. Relaxant effects of antidepressants on human isolated mesenteric arteries. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 1999, **48**, 223-229.
35. Villalobos-Molina, R., Uc, M., Hong, E. and Garcia-Sainz, J. A. Correlation between phosphatidylinositol labeling and contraction in rabbit aorta: effect of alpha-1 adrenergic activation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1982, **222**, 258-261.