

틸라피아 배대동맥의 아드레날린성 반응의 특성

최동립 · 정준기*

국립수산진흥원 서해수산연구소 군산분소

*부산수산대학교 수산과학대학 어병학과

경골어류의 혈관평활근에 대한 adrenaline성 조절기작을 규명의 일환으로 틸라피아의 배대동맥을 사용하여 Adrenergic agonist의 효과와 그 매개에 관여하는 수용체의 subtype에 대한 연구를 하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. Epinephrine, norepinephrine, phenylephrine, clonidine 및 methoxamine은 tilapia의 배대동맥에 대하여 농도의존적인 혈관수축효과만을 나타내었으며, 효력은 epinephrine, norepinephrine, phenylephrine, clonidine, methoxamine의 순이었으며, 이들 수축반응은 혈관내피세포의 존재유무에 영향을 받지 않았다.

2. Epinephrine, norepinephrine, phenylephrine 및 clonidine의 농도의존적인 혈관수축반응곡선은 선택적인 α_2 -adrenergic 수용체 길항제인 yohimbine의 농도가 증가함에 따라 오른쪽으로 평행이동되었으며, epinephrine과 norepinephrine은 선택적인 α_1 -수용체 길항제인 prazosin의 농도가 증가함에 따라 오른쪽으로 평행이동되었다.

3. Epinephrine과 norepinephrine의 혈관수축반응은 calcium제거 생리적 완충용액에서는 각각 약 41%, 51% 소실되었으며, calcium 유입차단제인 verapamil에 의해서도 거의 유사한 경향을 보였다.

이상의 실험결과들을 종합하면 Catecholamine류는 수축효과만을 나타내었으며 혈관내피세포 존재 유무와는 무관하였다. 이러한 수축작용은 α_1 - 및 α_2 -adrenergic receptor가 모두 매개하였으며 voltage dependent Ca^{2+} channel을 통하여 유입된 세포외액의 Ca^{2+} 과 세포내 Ca^{2+} 의 해 일어난다고 사료된다.

Key words : Tilapia dorsal aorta, Adrenergic receptor, Catecholamines, Voltage dependent Ca^{2+} channel

Norepinephrine(NE)은 교감신경계의 중요한 신경전달물질중의 하나로 adrenergic receptor와 결합하여 흥분반응을 나타낸다. NE의 흥분반응은 조직장기의 고유한 특성에 따라 비록 동일한 약물일 지라도 각 장기의 기능을 흥분시키기도 하고, 억제시키기도 한다. NE에 대한 수용체를 전자의 경우 α -adrenergic receptor로, 후자의 경우 β -adrenergic receptor로 구분하고 있다(Ahlquist, 1948; Ahlquist, 1979). 또한 아드레날린성 신경지배를 받는

혈관에 있어서 내인성 또는 외인성 NE은 Prejunctional α -adrenergic receptor와 Postjunctional α -adrenergic receptor를 모두 흥분시키는 것으로 보고되었다(Mey and Vanhoutte, 1981). 이때 Postjunctional α -adrenergic receptor는 주효세포의 수축반응을 야기하지만, Prejunctional α -adrenergic receptor는 신경전달 물질 분비에 길항하는 negative feedback을 매개하는 것으로 알려져 있다(Somlyo and Somlyo, 1970; Starke *et al.*, 1975; Vanhoutte,

1978). 근래 Adrenergic agonist 및 수용체를 선택적으로 봉쇄하는 antagonist들의 개발로 이러한 두 성질의 adrenergic receptor에 관한 약리학적 연구 결과에서 Adrenergic receptor agonist들의 효능과 길항제와의 affinity의 차이에 의해 적어도 2가지의 이상의 α -adrenergic receptor(α_1 및 α_2)의 존재가 확인되었다(Vanhoutte, 1978; Mey and Vanhoutte, 1981; Agrawal *et al.*, 1984).

경골어류의 전신성 혈관계는 안정 상태에 있어서는 주로 신경성 지배를 받으나 스트레스하에 놓이면 체액성 지배를 받게 된다(Chung, 1991; Satchell, 1991). 즉, 어류의 취급 혹은 저산소, 낮은 pH등과 같은 다양한 스트레스 요인이 혈액내의 catecholamine류의 농도를 증가시켜 전신혈관계의 순환에 영향을 미치게 된다(Butler *et al.*, 1986; Nakano and Tomlinson, 1967; Opdyke *et al.*, 1982; Satchell, 1991; Wood *et al.*, 1978). 경골어류의 전신 혈관계에 대한 아드레날린성 효과는 주로 α -adrenergic vasoconstriction receptor를 통해 일어난다고 보고되어 있다(Wood and Shelton, 1975; Holmgren, 1978). 대구나 무지개 송어에서 적출한 coeliac artery의 수축 반응은 α -adrenergic receptor에 의해 매개되며, catecholamine류의 효력은 epinephrine > norepinephrine > phenylephrine의 순이고(Holmgren and Nilsson, 1974). 무지개 송어의 적출한 복대동맥 표본에서 norepinephrine의 내인성 활성(intrinsic activity)은 epinephrine의 40% 정도이며, dopamine, tyramine 및 amphetamine등은 효과가 없었다(Kirby and Burnstock, 1969; Klaverkamp and Dyer, 1974). Epinephrine과 norepinephrine은 모두 무지개 송어의 적출 관류한 전신 혈관계의 말초 저항(peripheral resistance)를 증가시키나 epinephrine이 norepinephrine 보다 약 3배정도 효능이 크며, 선택적인 α -adrenergic receptor agonist인 phenylephrine과 methoxamine은 아무런 효과를 나타내지 않으며, dopamine는 약한 혈관 수축반응을 나타내었다. 또한 이러한 norepinephrine 및 epine-

phrine에 의한 혈관 수축반응은 phenoxybenzamine이나 yohimbine에 의하여 차단되는 것으로 나타났다(Wood, 1976).

한편, 이러한 경골어류에 있어 α -adrenergic receptor의 존재 확인이나 혈관 수축반응에 대한 보고는 있으나 α -adrenergic receptor의 보다 상세한 생리학적 및 약리학적 특성에 관한 자료는 빈약하다(Satchell, 1991). 따라서 본 연구는 아직까지 자율신경적 조절에 관한 연구가 전혀 없는 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)를 대상으로 α -adrenergic receptor agonist인 epinephrine, norepinephrine, phenylephrine, methoxamine, clonidine의 효능을 비교하였으며, 또한 α_1 -adrenergic receptor antagonist인 prazosin과 α_2 -adrenergic receptor antagonist인 yohimbine을 사용하여 주효세포(target cell)의 감수성을 비교함으로써 α -adrenergic receptor의 성질을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험어

부산수산대학교 부속 양어장에서 공급받은 평균 체중 800 g인 암수 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)를 평균수온 22°C, 평균 용존산소(D.O.) 6.4 ppm, 평균 pH 7.4인 지하수에 7일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 혈관표본제작

실험어의 두부를 강타하여 폐사시키고 개복한 후 척추를 따라 나란히 놓여 있는 배대동맥을 적출하였다. 적출혈관은 신속히 생리적 완충용액(mM: NaCl 100; KCl 20; CaCl₂ 3.0; MgCl₂ 3.0; NaHCO₃ 30; glucose 5.6)이 담긴 petri dish에 옮겨 주위 결합 조직을 조심스럽게 제거한 뒤 혈관길이 방향으로 잘라 길이가 3 mm인 단편이 되게 하였다. 이중 일부 혈관에서는 stainless needle을 사용하여

혈관 내벽을 부드럽게 문지름으로써 혈관내피를 제거시켰다(Furchgott and Zawadski, 1980).

3. 실험 방법

1) α -adrenergic receptor agonist의 효과 비교
 혈관 표본을 95% O₂ - 5% CO₂ 혼합 가스로 포화시킨 생리적 완충용액이 담긴 20 ml 용적의 반응조(organ bath)내로 옮겨 30 gauge stainless needle로 만든 두개의 L자 모양의 고리 사이에 걸어 한쪽 끝은 지지봉에 고정하고 다른 한쪽 끝은 physiograph recorder(Narco MK IV)에 연결된 Myograph force transducer(Narco F-60)에 연결하였다. 이때 생리적 완충용액에 β -adrenergic receptor를 차단하기 위해 5×10^{-6} M의 propranolol을 처치하였으며, 반응조 내의 온도는 30°C로 유지하고, 혈관 표본은 0.5 g의 기본 장력(resting tension) 하에 90분 동안 방치하여 안정시켰다. 이 기간 동안 반응조 내의 생리적 완충용액은 매 15분 간격으로 동용액으로 교환하였다.

안정화된 혈관표본에 1×10^{-5} M의 epinephrine을 30분 간격으로 두차례 최대 수축시킨 후 세척하여 다시 60분간 방치하여 안정화시킨 다음 epinephrine의 특이적인 혈관수축반응을 측정하였다. 또한 norepinephrine, phenylephrine, clonidine 및 methoxamine의 α -adrenergic receptor 효능제의 혈관수축 효과를 비교하기 위하여 반응조 내에 각 약물들의 농도를 단일 혹은 누적으로 증가시켜 넣었다. 혈관 표본에 대한 각 약물의 누적 농도-수축반응곡선(cumulative concentration-contractile response curve)을 얻기 위하여 각 농도의 약물에 대한 반응이 평형점에 도달했을 때 반응조 내의 농도를 약 3배씩 증가시켰고, 최대 수축 반응이 유도된 후에는 혈관 표본을 다시 세척하여 기본 장력으로 돌아올때까지 회복시킨 후 60분 간격을 두고 2~4번 반복하여 얻었다.

이중, 첫번째 농도 반응 곡선은 epinephrine의 누적 반응곡선으로서 동일한 혈관 표본의 나머지

약물의 누적반응곡선에 대한 대조군에 해당하며, 두번째 반응곡선은 각 효능제의 누적-농도 반응 곡선으로 실험군에 해당한다. 즉, 첫번째 epinephrine의 최대수축반응을 100으로 하였을때 각 효능제의 수축반응의 크기를 백분율로 환산하여 수축 반응 효과를 비교 관찰하였다.

2) α -adrenergic receptor agonist의 수축반응에 대한 길항제의 효과

위의 1과 같이 1×10^{-5} M의 epinephrine으로 30분 간격으로 두차례 각 혈관 표본을 최대 수축시킨 후 세척하여 다시 60분간 방치하여 안정시킨 다음 α -adrenergic receptor agonist들의 혈관수축효과에 대하여 α -adrenergic receptor 길항제인 prazosin(α_1)과 yohimbine(α_2)의 효과를 비교하기 위하여 반응조 내에 각 agonist들을 누적으로 증가시켜 적용한 다음 혈관 표본에 대한 각 약물의 첫 누적 농도-수축 반응곡선을 얻었다. 60분이 경과한 후 두번째 누적-농도 반응곡선을 얻기 30분전에 yohimbine과 prazosin을 전처치하였다.

4. Norepinephrine과 epinephrine의 수축반응에 대한 calcium제거 생리적 완충용액과 calcium 유입차단제인 verapamil의 효과

Norepinephrine과 epinephrine의 혈관수축반응에 세포내 calcium의 관여여부를 알기 위하여 단일 농도 (1×10^{-6})의 norepinephrine과 epinephrine에 의한 수축 반응을 기록한 후 60분간 평형을 유지한 다음 calcium제거 생리적 완충용액으로 교환하거나 verapamil을 처치하여 20분간 방치한 후 두번째 수축 반응을 얻었다. Calcium제거 생리적 완충용액의 조성은 정상적인 생리적 완충용액의 조성 중 CaCl₂만 제거함으로써 조제하였다.

5. 실험 약물

본 실험에 사용된 약물들은 다음과 같다. : Epinephrine hydrochloride, phenylephrine hydrochloride

ride, clonidine, methoxamine, methylene blue, norepinephrine, verapamil hydrochloride(Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, USA).

Norepinephrine, epinephrine 및 prazosin을 제외한 모든 약물들은 사용 직전에 증류수에 녹여서 사용하였으며, norepinephrine과 epinephrine은 0.1 N HCl용액에 녹여서 증류수로 희석하여 사용하였고, prazosin은 dimethyl sulfoxide(DMSO) 0.2ml에 녹여서 증류수로 희석하여 사용하였다.

6. 자료 분석

Norepinephrine, epinephrine, phenylephrine, methoxamine 및 clonidine에 의한 농도반응곡선은 epinephrine(1×10^{-5} M)에 의한 최대수축반응의 백분율로서 나타내었으며, 최대수축반응을 나타내는 epinephrine의 농도(EC_{50})는 개개의 누적 농도 반응곡선 상에서 보간법에 의하여 구하였다. 각 길항제의 효력을 나타내는 PA_2 ($-\log K_b$)는 아래와 같은 Schild 방정식(Arunlakshana and Schild, 1959)을 이용하여 구하였다.

$$\log(A'/A-1) = \log B - \log K_b$$

여기서 B는 길항제의 농도며, A'와 A는 각각 길항제가 있을 때와 없을 때의 각 약물의 EC_{50} 값이며, K_b 는 길항제의 해리상수를 나타낸다. 모든 실험 결과는 평균값 \pm 표준오차(mean \pm S.E.)로 나타내었고, 자료의 통계학적 유의성은 student's *t* test로 비교하여 *p*의 값이 0.05 이하일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. Epinephrine의 효과

Epinephrine($1 \times 10^{-9} \sim 3 \times 10^{-5}$ M)은 기본장력 하의 적출한 tilapia의 배대동맥에 대하여 농도의존적인 수축반응을 나타내었으며, 이와같은 epine-

phrine의 혈관수축반응은 내피세포의 존재유무에는 영향을 받지 않았다(Fig. 1). 혈관수축반응에 대한 epinephrine의 역치 농도와 최고반응농도는 각각 3×10^{-9} M과 3×10^{-6} M이었다.

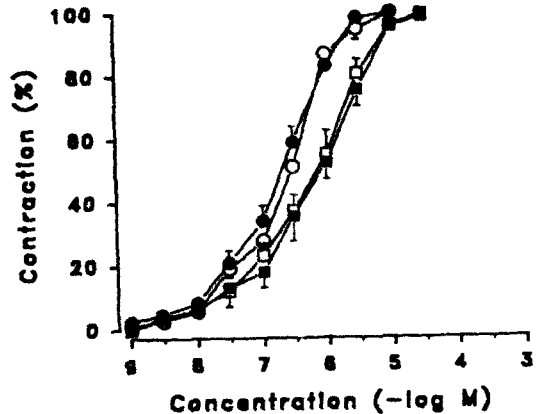


Fig. 1. The concentration-contraction responses to epinephrine and norepinephrine in tilapia dorsal aorta with (●, epinephrine; ■, norepinephrine) and without (○, epinephrine; □, norepinephrine) endothelium. Values are expressed as a percentage of the maximal response to epinephrine(1×10^{-5} M) and norepinephrine(1×10^{-5} M), respectively ($n=6$). These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranolol. Data points are means \pm S.E.M..

2. α -아드레날린성 agonist의 효력 비교

Epinephrine, norepinephrine, phenylephrine, clonidine 및 methoxamine 등의 α -adrenergic receptor agonist의 누적-농도 수축반응곡선은 Fig. 2와 같으며 epinephrine의 최대수축반응에 대한 백분율로 나타내었다. 실험에 사용한 모든 agonist의 수축효과는 농도의존적인 증가를 보였다. Phenylephrine, clonidine 및 methoxamine의 최대수축반응은 각각 1×10^{-5} M의 epinephrine에 의한 수축반응의 약 60~65%, 40~55% 및 40~60%를 나타내었다.

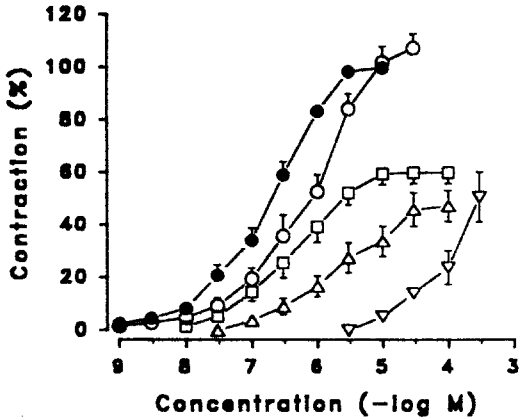


Fig. 2. Cumulative dose-response curves obtained for agonists in tilapia dorsal aorta. ●, epinephrine; ○, norepinephrine; □, phenylephrine; △, clonidine; ▽, methoxamine. All responses are expressed as a percentage of the maximal response to 1×10^{-5} M epinephrine. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranolol. Data points are given as the mean S.E.M. (n=6-12).

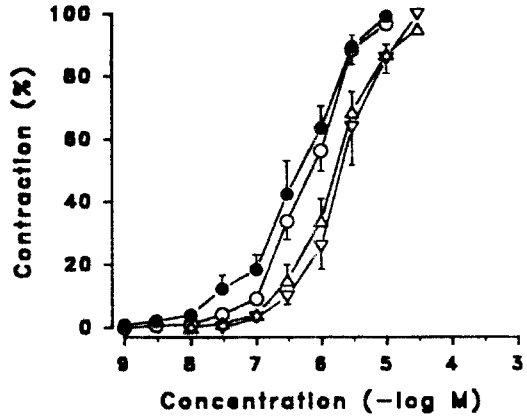


Fig. 3. Cumulative dose-response curves to epinephrine in tilapia dorsal aorta under the absence (●) and presence of increasing concentrations (○, 10^{-8} ; △, 3×10^{-8} ; ▽, 10^{-7} M) of yohimbine. All responses are expressed as a percentage of the maximal response to epinephrine in absence of yohimbine. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranolol. Data points are given as the mean S.E.M. (n=6-12).

3. α_2 -아드레날린성 agonist 작용에 대한 yohimbine의 효과

Epinephrine(Fig. 3), norepinephrine(Fig. 4) 및 phenylephrine(Fig. 5)에 의한 누적농도 반응곡선에 미치는 α_2 -adrenoceptor antagonist인 yohimbine(1×10^{-8} , 3×10^{-8} , 1×10^{-7} M)의 효과는 농도 증가에 따라 곡선이 오른쪽으로 평행이동하였다. Clonidine에 누적농도 반응곡선에 미치는 yohimbine의 효과는 가장 높은 1×10^{-7} M에서 $3 \times 10^{-7} \sim 3 \times 10^{-5}$ M의 clonidine에 의한 수축반응을 유의하게 억제하였다(Fig. 6).

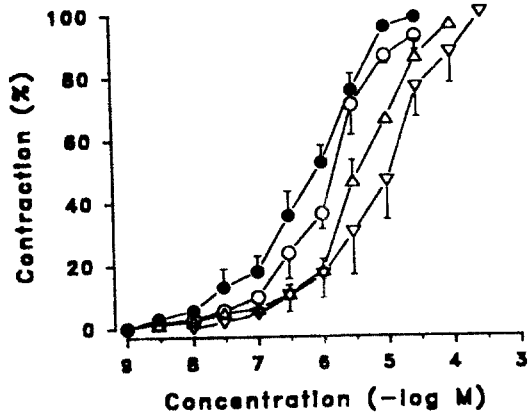


Fig. 4. Cumulative dose-response curves to norepinephrine in tilapia dorsal aorta under the absence (●) and presence of increasing concentrations (○, 10^{-8} ; △, 3×10^{-8} ; ▽, 10^{-7} M) of yohimbine. All responses are expressed as a percentage of the maximal response to norepinephrine in absence of yohimbine. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranolol. Data points are given as the mean S.E.M. (n=6-12).

4. α_1 -아드레날린성 agonist 작용에 대한 prazosin의 효과

Epinephrine에 의한 누적농도 반응곡선에 대한 α_1 -아드레날린성 antagonist인 prazosin의 효과를 Fig. 7에 나타내었다. 1×10^{-11} 과 3×10^{-11} M의 pra-

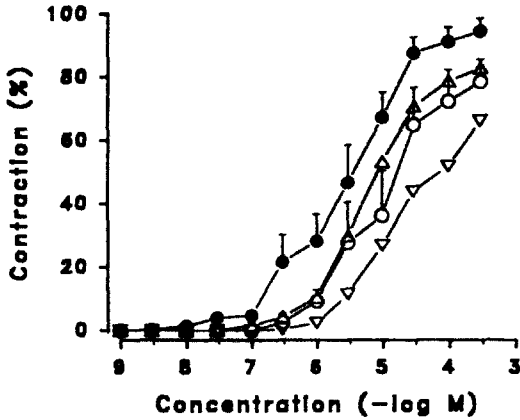


Fig. 5. Cumulative dose-response curves to phenylephrine in tilapia dorsal aorta under the absence (●) and presence of increasing concentrations (○, 10^{-8} ; △, 3×10^{-8} ; ▽, 10^{-7} M) of yohimbine. All responses are expressed as a percentage of the maximal response to epinephrine in absence of phenylephrine. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranol. Data points are given as the mean S.E.M. (n=6-12).

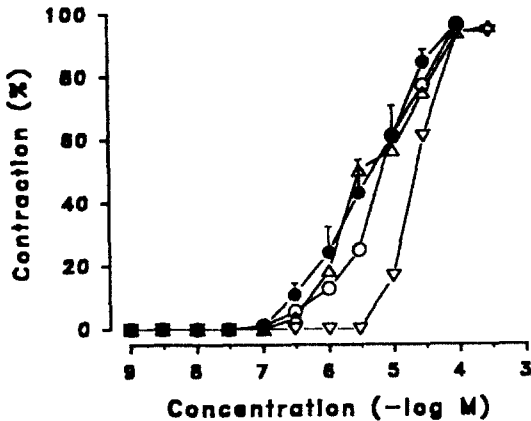


Fig. 6. Cumulative dose-response curves to clonidine in tilapia dorsal aorta under the absence (●) and presence of increasing concentrations (○, 10^{-8} ; △, 3×10^{-8} ; ▽, 10^{-7} M) of yohimbine. All responses are expressed as a percentage of the maximal response to epinephrine in absence of clonidine. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranol. Data points are given as the mean S.E.M. (n=6-12).

zosin 존재하에서 1×10^{-9} 에서 3×10^{-6} M 농도까지의 epinephrine에 의한 누적-농도 반응곡선에는 유의한 차이가 없으나 1×10^{-5} M에서 최대수축반응이 다소 억제되었다. 그러나 1×10^{-10} M의 prazosin의 존재하에서 3×10^{-8} 에서 1×10^{-5} M의 epinephrine에 의한 누적-농도 반응 및 최대수축반응이 유의하게 억제되었다. Norepinephrine에 의한 누적농도 반응곡선에 대한 prazosin의 효과는 농도 증가에 따라 오른쪽으로 이동하는 경향을 보였다 (Fig. 8). 1×10^{-11} , 3×10^{-11} 및 1×10^{-10} M의 prazosin에 의하여 norepinephrine에 의한 최대수축반응폭이 감소되었다.

5. α -아드레날린성 agonist에 대한 Ca^{2+} 제거 생리적 완충용액 및 verapamil의 효과

1×10^{-6} M의 epinephrine과 norepinephrine은 정상 생리적 완충용액 하에서는 신속하고 강한 혈관수축반응을 나타내었다. 그러나 Ca^{2+} 제거 생리적 완충용액하에서는 epinephrine (Fig. 9)과 norepine-

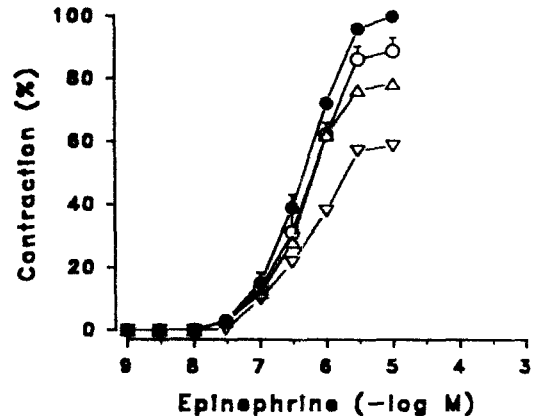


Fig. 7. Cumulative dose-response curves to epinephrine in tilapia dorsal aorta under the absence (●) and presence of increasing concentrations (○, 10^{-11} ; △, 3×10^{-11} ; ▽, 10^{-10} M) of prazosin. All responses are expressed as a percentage of the maximal response to epinephrine in absence of prazosin. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranol. Data points are given as the mean S.E.M. (n=6-12).

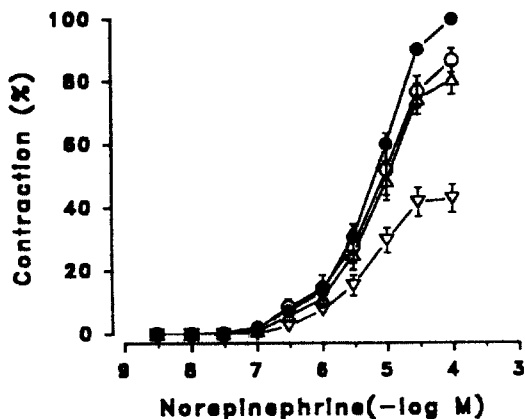


Fig. 8. Cumulative dose-response curves to norepinephrine in tilapia dorsal aorta under the absence(●) and presence of increasing concentrations (○, 10^{-11} ; △, 3×10^{-11} ; ▽, 10^{-10} M) of prazosin. All responses are expressed as a percentage of the maximal response to norepinephrine in absence of prazosin. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranol. Data points are given as the mean S.E.M.(n=6-12).

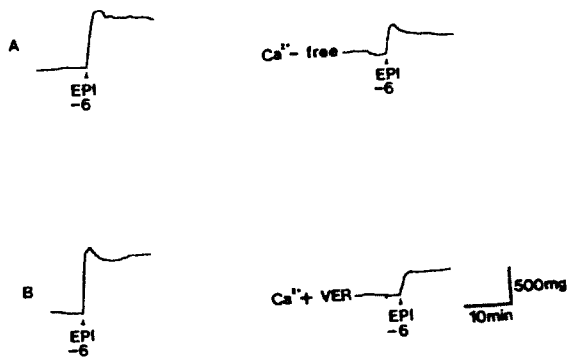


Fig. 9. Effects of Ca^{2+} -free solution(A) and verapamil(B) on the contractile response to epinephrine(EPI, 1×10^{-6} M) in isolated tilapia dorsal aorta. Verapamil(VER, 3×10^{-6}) was added 20 min before the second response to epinephrine. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranol. All concentrations are final bath concentrations and are expressed as log units.

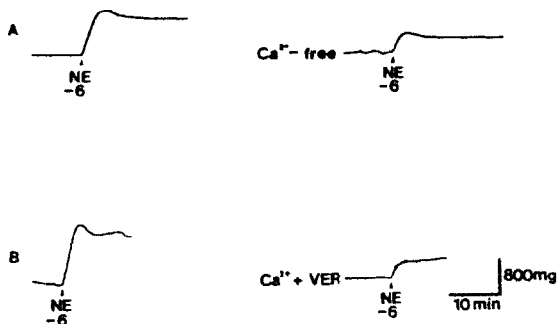


Fig. 10. Effects of Ca^{2+} -free solution(A) and verapamil(B) on the contractile response to norepinephrine(NE, 1×10^{-6} M) in isolated tilapia dorsal aorta. Verapamil(VER, 3×10^{-6}) was added 20 min before the second response to norepinephrine. These experiments were carried out in the medium containing 5×10^{-6} M propranol. All concentrations are final bath concentrations and are expressed as log units.

phine(Fig. 10) 모두 수축효과가 현저하게 억제되었다. 또한 calcium 유입차단제인 verapamil(3×10^{-6} M)을 20분전에 전처리하였을때 거의 유사한 억제 현상을 보였다. 정상 생리적 완충용액하에서 1×10^{-6} M의 norepinephrine과 epinephrine에 의한 혈관 수축반응을 각각 100%로 하였을때 calcium제거 생리적 완충용액 하에서의 반응은 각각 약 41%와 51%, verapamil 존재하에서의 반응은 각각 약 39%와 40%에 해당하였다(Fig. 9, 10).

고 찰

척추동물의 경우 catecholamines은 아드레날린성 신경전달물질로서 adrenergic receptor를 통해 그 효과가 일어난다고 알려져 있다(Agrawal *et al.*, 1984). 무지개송어나 대구등의 경골어류에 있어 전신혈관계에 대한 아드레날린성 혈관수축효과는 주로 α -adrenergic receptor를 통하는 것으로 보고 되어 있다(Holmgren, 1978; Wood and Shelton, 1975). 본 연구에서 tilapia의 배대동맥표본에 대한

혈관수축효과는 무지개송어와 대구(Holmgren and Nilsson, 1974)의 경우와 같이 α -adrenergic receptor를 매개하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 이러한 혈관수축반응은 내피세포의 존재유무에 영향을 받지 않는 농도의존적인 증가를 나타내었다(Fig. 1). 그리고 본 연구에 사용한 catecholamine류의 효력은 각 최대반응에서 epinephrine>norepinephrine>phenylephrine>clonidine>methoxamine의 순이었으며, 대구와 무지개송어의 coeliac artery를 사용한 연구결과와 유사하였다(Holmgren and Nilsson, 1974). 그러나 무지개송어의 경우 α -adrenergic agonist인 phenylephrine과 methoxamine이 전신혈관계에 효과가 없었다는 결과(Wood, 1976)와는 달리 본 연구에서는 농도의존적인 혈관수축반응을 나타내었다. 또한 포유류에서 α -adrenergic agonist로서 partial adrenergic agonist인 clonidine으로 대구의 coeliac artery에서 epinephrine의 혈관수축효과를 농도의존적으로 봉쇄된 결과(Johansson, 1979)와는 반대로 본 실험결과에서 clonidine은 partial agonist로서의 혈관수축효과를 나타내었다(Fig. 2). 따라서 tilapia 배대동맥의 혈관수축에는 adrenergic receptor의 역할이 중요하며, 다른 경골어류와는 구분되는 종 특이적인 전신혈관계의 조절기작을 가지는 것으로 사료된다.

α_2 -Adrenergic antagonist로 알려진 yohimbine의 처리에 의하여 epinephrine의 누적-농도 혈관수축반응곡선은 yohimbine(1×10^{-8} , 3×10^{-8} , 1×10^{-7} M)의 농도가 증가함에 따라 차단효과가 있는 것으로 나타났다(Fig. 3). 또한 norepinephrine과 phenylephrine에 의한 누적-농도 혈관수축반응이 차단작용이 있는 것으로 간주되며(Fig. 4, 5), clonidine도 고농도(1×10^{-5} M)에서 차단작용이 나타났다(Fig. 6). α_1 -Adrenergic antagonist인 prazosin에 의해 epinephrine과 norepinephrine의 수축효과가 차단되는 것으로 간주된다(Fig. 7, 8). 또한 1×10^{-7} M의 yohimbine 존재하에서 phenylephrine과 clonidine의 수축효과가 완전히 억제되었다. 이러한 결

과들은 tilapia 배대동맥의 혈관평활근에는 α_1 - 및 α_2 -adrenergic receptor가 모두 존재한다고 추정하게 한다. 개와 쥐의 경우 장혈관에 α_1 - 및 α_2 -adrenergic receptor가 모두 존재(Agrawal *et al.*, 1984) 하는 것으로 알려져 있기 때문에 tilapia의 α -adrenergic receptor는 미분화된 이들의 원시형인 것으로 사료되며, 추후 receptor의 확인을 위한 면역세포화학적 혹은 형광화학적인 방법등의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

세포외액내 Ca^{2+} 은 세포막에 존재하는 voltage-dependent Ca^{2+} channel이나 혹은 receptor-linked Ca^{2+} channel을 통하여 세포질내로 들어 온다(Van Breenen *et al.*, 1979; Triggle, 1981; Weiss, 1981). 본 실험에서 epinephrine과 norepinephrine에 의한 혈관수축효과가 Ca^{2+} 제거 생리적 완충용액하에서 반이상 억제되었으며, Ca^{2+} 유입차단약인 verapamil에 의해서도 거의 유사한 억제경향을 보였다(Fig. 9, 10). Verapamil은 voltage-dependent Ca^{2+} channel을 차단한다고 보고되어 있다(Fleckenstein, 1977). 따라서 적출 tilapia 배대동맥에 대한 epinephrine과 norepinephrine의 수축효과에는 세포외액의 Ca^{2+} 이 모두 관여하며, 이들 세포외액의 Ca^{2+} 유입은 주로 voltage dependent Ca^{2+} channel을 통하여 일어난다고 추정할 수 있다.

이상의 실험결과를 종합하면 catecholamine류는 tilapia 배대동맥에 대한 수축효과에는 α_1 - 및 α_2 -adrenergic receptor가 모두 매개하여, voltage dependent Ca^{2+} channel을 통하여 유입되는 세포외액내의 Ca^{2+} 과 세포내 Ca^{2+} 에 의해 일어난다고 사료된다. 또한 이들 수축작용은 내피세포에 의한 조절은 받지 않는다고 사료된다.

참 고 문 헌

- Agrawal, D. K., Triggle, C. P. and Daniel, E. E.
: Pharmacological characterization of the post-synaptic alpha adrenoceptor in vascular smooth

- muscle from canine and rat mesenteric vascular beds. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 229 : 831-838, 1984.
- Ahluquist, R. P. : A study of the adrenotropic receptors. *Am. J. Physiol.*, 153 : 586-600, 1948.
- Ahluquist, R. P. : Adrenoceptors. *TIPS*, 1 : 16-17, 1979.
- Arunlakshana, O. and Schild, H. O. : Some quantitative uses of drug antagonists. *Br. J. Pharmacol.*, 14 : 48-58, 1959.
- Bultler, P. J., Metcalfe, J. D. and Ginley, S. A. : Plasma catecholamines in the lesser spotted dogfish and rainbow trout and during different level of exercise. *J. Exp. Biol.*, 123 : 409-421, 1986.
- Chung, J. K. : The pharmacological properties of cardiovascular system in the teleost. *J. Fish Pathol.*, 4 : 49-57, 1991.
- Fleckenstein, A. : Specific pharmacology of calcium in myocardium, cardiac pacemakers and vascular smooth muscle. *A. Rev. Pharmacol.*, 17 : 149-166, 1977.
- Furchgott, R. F. and Zawadzki, J. V. : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature(Lond.)*, 288 : 373-376, 1980.
- Holmgren, S. : Sympathetic innervation of the coeliac artery from a teleost, *Gadus morhua*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 60C : 27-32, 1978.
- Holmgren, S. and Nilsson, S. : Drug effects on isolated artery strips from two teleosts, *Gadus morhua* and *Salmo gairdneri*. *Acta Physio. Scand.*, 90 : 431-437, 1974.
- Johansson, P. : Antagonistic effects of synthetic alpha adrenoceptor agonists on isolated artery strips from the cod, *Gadus morhua*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 63 : 267-268, 1979.
- Kirby, S. and Burnstock, G. : Comparative pharmacological studies of isolated spiral strips of large arteries from lower vertebrates. *Comp. Biochem. Physiol.*, 28 : 307-319, 1969.
- Klaverkamp, J. F. and Dyer, D. C. : Autonomic receptors in isolated rainbow trout vasculature. *European J. Pharmacol.*, 28 : 25-34, 1974.
- Mey, J. De and Vanhoutte, P. M. : Uneven distribution of post junctional alpha₁- and alpha₂-like adrenoceptors in canine arterial and venous smooth muscle. *Circ. Res.*, 48 : 875-884, 1981.
- Nakano, T. and Tomlinson, N. : Catecholamine and carbohydrate concentration in rainbow trout(*Salmogairdneri*) in relation to physical disturbance. *J. Fisher. Res. Board Can.*, 24 : 1701-1705, 1967.
- Opdyke, D. F., Carroll, R. G. and Keller, N. E. : Catecholamine release and blood pressure changes induced by exercise in dogfish. *Am. J. Physiol.*, 242 : R306-310, 1982.
- Satchell, G. H. : Physiology and fish circulation. Cambridge University Press, Cambridge, 1991.
- Somlyo, A. P. and Somlyo, A. V. : Vascular smooth muscle. II. Pharmacology of normal and hypertensive vessels. *Pharmacol. Rev.*, 22 : 249-353, 1970.
- Starke, K., Endo, T. and Taube, H. D. Relative pre- and postsynaptic potencies of alpha-adrenoceptor agonists in the rabbit pulmonary artery. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.*, 291 : 55-78, 1975.
- Triggle, T. J. : Calcium antagonists. Basic chemical and pharmacological aspects. *In* new perspectives on calcium antagonists, pp. 1-18, ed., Weiss, Baltimore, G. B., Williams and Wilkins, 1981.

- Van Breemen, C., Aaronson, P. and Loutzenhiser, R. : Sodium-calcium interactions in mammalian smooth muscle. *Pharmac. Rev.*, 30 : 167-208, 1979.
- Vanhoutte, P. M. : Heterogeneity in vascular smooth muscle. *In Microcirculation, Vol II*, pp. 181-309, ed., Kaley, G. and Altur, B. M., Baltimore, University Park Press, 1978.
- Weiss, G. B. : Sites of action of calcium antagonists in vascular smooth muscle. *In new perspectives on calcium antagonists* pp. 83-94, ed., Weiss, G. B., Williams and Wilkins, Baltimore. 1981.
- Wood, C. M. : Pharmacological properties of the adrenergic receptors regulating systemic vascular resistance in the rainbow trout. *J. Comp. Physiol. B*, 107 : 211-228, 1976.
- Wood, C. M. and Shelton, G. : Physiological and adrenergic factors affecting systemic vascular resistance in the rainbow trout : a comparison with branchial vascular resistance. *J. Exp. Biol.*, 63 : 505-523, 1975.
- Wood, C. M., McMahon, B. R. and McDonald, D. G. : Oxygen exchange and vascular resistance in totally perfused rainbow trout. *Am. J. Physiol.*, 239 : R201-208, 1978.

The characteristics of adrenergic responses in tilapia dorsal aorta

Dong-Lim Choi and Joon-Ki Chung*

*Kunsan Laboratory, West Sea Fisheries Research Institute,
National Fisheries Research & Development Agency, Kunsan 573-030*

**Department of Fish Pathology, College of Fisheries Science,
National Fisheries University of Pusan, Busan 608-737, Korea*

The present study was undertaken to investigate the physiological characteristics of the adrenergic responses in the tilapia dorsal aorta. Epinephrine, norepinephrine, clonidine and methoxamine in the presence of propranolol (3×10^{-6} M), induced only endothelium-independent and concentration-dependent vasoconstrictions in tilapia dorsal aorta. The rank order of potency of adrenergic agonists inducing vasocontraction was epinephrine > norepinephrine > phenylephrine > clonidine > methoxamine. Yohimbine produced a parallel shift of the concentration-vasocontraction curves of epinephrine, norepinephrine, phenylephrine and clonidine to the right, while prazosin depressed the maximum responses of epinephrine and norepinephrine. Calcium-free physiological solution and verapamil markedly reduced epinephrine or norepinephrine-induced vasoconstrictions. These results suggest that α -adrenergic agonists produce only on endothelium-independent vasoconstrictions in tilapia dorsal aorta and these effect of α -adrenergic agonists, which might be associated with both calcium release from intracellular stores and calcium influx through voltage-dependent calcium channel.

Key words : Tilapia dorsal aorta, Adrenergic receptor, Catecholamines, Voltage dependent Ca^{2+} channel