

산화 질소 억제제가 문맥 고혈압 쥐의 혈역학 변화에 미치는 영향

영남대학교 의과대학 내과학교실
김필영 · 장병익 · 김태년 · 정문관

The Effects of Nitric Oxide Inhibitor on Hyperdynamic Circulation in Portal Hypertensive Rats

Pill Young Kim, Byeong Ik Jang, Tae Nyeun Kim, Moon Kwan Chung

*Department of Internal Medicine
College of Medicine, Yeungnam University, Taegu, Korea*

- Abstract -

Background: Nitric oxide, a vasodilator synthesized from L-arginine by vascular endothelial cells, accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor. Previous studies demonstrated that nitric oxide inhibitor, N^o-Nitro-L-Arginine(NNA) diminished the hyperdynamic splanchnic and systemic circulation in portal hypertensive rats.

The present study was done to determine the role of nitric oxide in the development of hyperdynamic circulations in the prehepatic portal hypertensive rat model produced by partial portal vein ligation.

Methods: The portal hypertensive rats were divided into water ingestion group and NNA ingestion group. After partial portal vein ligation, NNA ingestion group and water ingestion group received NNA, 1mg/kg/day and plain water through the mouth for 14 days, respectively. Cardiac output, mean arterial pressure, organ blood flow and porto-systemic shunting were measured by radioisotope labeled microsphere methods. Vascular resistances were calculated by standard equation.

Results: There were significant decreases in mean arterial pressure, increases in cardiac output and cardiac index, and decreases in total systemic and splanchnic vascular resistance in portal hypertensive rats compared to normal control group($p < 0.01$). Compared to the water ingestion group, significantly increased mean arterial pressure with decreased cardiac output and cardiac index were developed in the NNA ingestion group. Total systemic and splanchnic vascular resistance were significantly increased in the NNA ingestion group compared to water ingestion group($p < 0.05$). But, there was no significant difference in portal pressure between the two groups.

Conclusion: The hemodynamic results of this study indicate that hyperdynamic circulation in prehepatic portal hypertensive rat model was attenuated by ingestion of NNA. Nitric oxide may play an important role in the development of hyperdynamic circulation with splanchnic vasodilation in chronic portal hypertension.

Key Words: Portal hypertension, Nitric oxide, Hyperdynamic circulation

서 론

간경변이나 문맥협착 등에 수반되는 만성 문맥압 항진증에서는 동맥압 저하 전말초 저항의 감소, 심박출량 및 조직혈류량의 증가 등의 혈역학적 변화를 나타내는 과혈류 순환 상태가 된다(Kowalski와 Abelmann, 1953; Claypool 등, 1957; Murray 등, 1958; Kontos 등, 1964). 문맥압 항진증에서 말초 혈관의 이완에 따른 전말초 저항의 감소는 중심성 저혈량(central hypovolemia)과 염분의 축적 및 체액량의 증가를 유발시킴으로써 과혈류 순환의 형성에 중요한 역할을 한다(Schrier 등, 1988). 그러나 말초혈관을 이완시키는 기전에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않으나 체액성 인자 혹은 국소적인 내피세포성 인자가 내장 혈액 순환계의 혈관 확장을 유발시키는 요소로써 작용하리라 생각되며 이에 대한 연구(Lee 등, 1988; Sitemann 등, 1989; Mosca 등, 1992)가 활발히 진행되고 있다.

최근 많이 연구되고 있는 endothelium derived relaxing factor(EDRF)인 산화질소(Furchgott와 Zawadzki, 1980, Palmer 등, 1987)가 혈관 평활근 세포에서 guanylate cyclase를 활성화하여 혈관의 평활근을 이완시켜 혈압의 조절에 중요한 역할을 한다고 알려지면서(Polio와 Groszmann, 1993) 만성 문맥압 항진증에서도 산화질소가 말초 혈관이완 및 과혈류 순환에 관여할 것으로 추측되고 있다. Lee 등(1992)은 문맥 고혈압 쥐에서 산화질소 합성효소 억제제인 N^o-Nitro-L-Arginine(이하 NNA)를 투여할 경우 혈관 수축제인 methoxamine에 대해 혈관 저반응성이 나타남을 관찰하고서 산화질소가 문맥압 항진증에서 혈관의 이완에 작용한다고 보고하였다. 장병익(1996)은 간전 문맥압 항진 쥐에서 NNA를 투여할 경우 동맥압의 증가와 심박출량의 감소, 내장 및 말초 저항의 증가를 관찰하였

으나, 산화질소의 전구물질인 L-arginine을 전처치한 후 NNA를 투여하였을 때에는 혈역학적 변화가 상쇄되는 것을 관찰하고 산화질소가 만성 문맥압 항진증에서의 혈역학적 변화, 즉 말초 혈관의 이완과 과혈류 순환에 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

저자들은 쥐에서 문맥을 부분 결찰하여 간전 문맥압 항진증을 유발시킨 직후부터 장기간 NNA를 경구 투여한 다음 혈행 동태의 변화를 측정하여 NNA가 만성 문맥압 항진증의 혈행 동태의 변화에 미치는 영향을 관찰하고 말초혈관 이완과 과혈류 순환의 원인으로써 산화질소의 역할을 규명하고자 이 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

실험 동물은 체중 250g 내외의 Sprague-Dawley 중 수컷 흰쥐를 사용하였으며, 문맥을 부분 결찰하여 간전 문맥 고혈압을 유발시킨 문맥 협착군과 문맥의 결찰없이 결보기 수술(sham operation)만을 시행한 대조군으로 나누었다. 문맥 협착군은 다시 NNA 투여군과 식수 투여군으로 나누어 NNA 투여군은 문맥 부분 결찰후 혈행 동태 측정 전까지 산화질소 억제제인 N^o-Nitro-L-Arginine(NNA)을 체중 1kg당 1mg씩 식수에 섞어 매일 경구 투여(NNA 투여군)하였으며, 식수 투여군은 NNA를 섞지 않은 식수를 경구 투여(식수 투여군)하였다.

문맥협착을 유발시킨 문맥 고혈압군중 NNA 투여군과 식수 투여군은 각각 9마리였으며, 결보기 수술만을 시행한 정상 대조군은 7마리였다. 각 군에서 수술 후 혈행 동태 측정은 수술후 평균 2주일이 지난 후에 실시하였다.

각군 모두 실험전 약 12시간 동안 물을 제외한 모든 종류의 먹이를 주지 않았으며 마취는 ketamine

hydrochloride를 체중 1kg당 100mg을 근육 주사하여 유도시켰고 모든 시술은 무균 조작하였다. 문맥협착은 Reynell(1951)의 방법에 따라 문맥을 부분 절찰하여 문맥 고혈압을 유발시켰다. 문맥의 부분 절찰은 실험 동물을 마취시켜 양와위로 고정시키고, 복벽의 중앙부를 절개하여 문맥을 간 동맥과 분리시켜 노출시킨 후 20-gauge 주사 바늘을 문맥과 나란히 놓고 3-0 실크를 이용하여 문맥과 주사 바늘을 동시에 묶은 다음 바늘을 제거하는 방법으로 문맥을 부분 절찰시켰으며, 절찰 근위부에 문맥이 팽창됨을 확인한 후 복벽을 2중으로 봉합하였다. 대조군은 문맥 고혈압군과 동일한 방법으로 시술하되, 다만 문맥을 노출시킨 다음 문맥을 절찰하지 않고 바로 복벽을 봉합하였다.

혈압, 맥박수, 심박출량, 국소 조직의 혈류량, 문맥-전신 단락률 등의 혈행 동태 측정을 위한 실험은 양군 모두 수술후 2주일이 경과한 다음 아래 방법에 따라 시행하였다. 먼저 실험 동물을 마취시킨 후 양와위로 고정시키고 PE-50 도관을 좌측 대퇴 동맥에 삽관하였다. 삽관 후 혈압과 맥박이 안정될 때까지 기다린 다음 삽관된 도관을 strain-gauge transducer에 연결하고 Acqknowledge 881 컴퓨터 소프트웨어(MP 100ws, BIOPAC system, Inc. USA)를 이용하여 혈압과 맥박수를 측정하였고, 심박출량과 조직혈류량 측정을 위한 reference blood sample은 이 도관을 통해 채취하였고, radioisotope labelled microsphere를 좌심실 내로 주입하기 위해 PE-50 도관을 경동맥내로 삽관하고 이 도관을 strain-gauge transducer에 연결한 후 혈압 곡선을 관찰하면서 좌심실까지 밀어 넣었다. 문맥압의 측정을 위해 복벽의 중앙부를 절개한 후 회결장 정맥을 노출시키고 PE-50 도관 끝에 23-gauge 주사 바늘을 부착하여 회결장 정맥 내로 삽입한 후 고정시키고 내장을 다시 복강 내로 넣고 도관만 외부로 노출시킨 상태에서 복벽을 봉합하였다. 문맥압은 도관을 strain-gauge transducer에 연결한 후 Acqknowledge 881 컴퓨터 소프트웨어를 이용하여 안정된 혈압 곡선이 나타날 때까지 기다린 다음 측정하였다.

심박출량과 조직혈류량은 radioisotope labelled microsphere(Malik 등, 1976; Tsuchiyi 등, 1981)를 이용한 reference sample 방법으로 측정하였고,

문맥-전신 단락률은 Chojkier와 Grozmann(1981)의 방법을 이용하여 측정하였다. Harvard infusion withdrawal pump(Harvard apparatus, Millis, MA)를 이용하여 reference blood sample을 하였는데 그 방법으로 먼저 좌측 대퇴 동맥으로부터 분당 약 0.85ml의 속도로 혈액을 60초 동안 채취하였고, 또 reference blood sample 채취 시작 10초 후부터 약 55000개의 ^{51}Cr -labelled microsphere($15.5 \pm 0.13\mu\text{m}$ diameter: sp act, 33.49mCi/g: New England Nuclear, Boston, MA)가 함유된 0.3ml의 용액을 경동맥으로 삽관된 도관을 통하여 좌심실 내로 20초에 걸쳐 서서히 주입하였으며, 주입이 끝난 후에 0.4ml의 생리식염수로 도관을 세척하였다. 이때 ^{51}Cr -labelled microsphere는 주입전 적어도 10분간 vortex shaker로 충분히 혼합한 다음 사용하였다. 다음 문맥-전신 단락률은 약 35,000개의 ^{57}Co -labelled microsphere($15 \pm 0.1\mu\text{m}$ diameter: sp act, 14.43mCi/g: New England Nuclear, Boston, MA)가 함유된 0.2ml의 용액을 이용하여 측정하였는데 측정전 10분간 vortex shaker로 충분히 혼합 후 이 용액을 회결장 정맥 내로 약 20초에 걸쳐 서서히 주입하였다. 이상의 시술을 시행하고 약 20분 후에 대퇴 동맥을 통하여 2M KCl 용액을 정주하여 실험동물을 치사케 하였다.

장기의 방사능은 실험동물에서 폐, 간, 비장, 위, 소장, 대장, 장간막, 췌장, 신장 및 고환을 각각 분리하여 무게를 측정한 다음, 각 장기별로 조직을 절편해 튜브에 넣어 각각의 방사능을 gamma scintillation counter로 측정하였고, reference blood sample도 gamma scintillation counter로 측정하였으며 ^{57}Co 의 방사능 측정시 ^{51}Cr 의 방사능이 ^{57}Co channel 내로 중복되어 나타나는 것은 ^{57}Co 과 ^{51}Cr 의 표준치를 이용하여 교정하였다. Microsphere가 충분히 골고루 혼합되었는지의 여부는 좌측 및 우측 신장의 방사능 양을 비교하여 검증하였는데 양쪽 신장의 방사능 차이가 10%이하인 경우에 골고루 혼합되었다고 판단하였으며, 10% 이상인 경우에는 microsphere가 골고루 섞이지 않았다고 판단하고 실험 대상에서 제외시켰다.

심박출량, 각 장기의 혈류량, 문맥-전신 단락률(Porto-systemic shunt, PSS)은 아래 식에 의해 산출하였다.

$$\text{Cardiac output} = \frac{\text{injected}^{51}\text{Cr radioactivity (cpm)} \times \text{reference blood flow (ml/min)}}{\text{reference blood}^{51}\text{Cr radioactivity (cpm)}} \text{ (ml/min)}$$

$$\text{Organ blood flow} = \frac{\text{organ}^{51}\text{Cr radioactivity (cpm)} \times \text{reference blood flow (ml/min)}}{\text{reference blood}^{51}\text{Cr radioactivity (cpm)}} \text{ (ml/min)}$$

$$\text{PSS (\%)} = \frac{\text{lung}^{57}\text{Co radioactivity (cpm)}}{(\text{lung+liver})^{57}\text{Co radioactivity (cpm)}}$$

문맥으로 유입되는 총혈류량(portal venous inflow, PVI)은 위, 소장, 대장, 비장, 장간막-췌장의 혈류량의 합계로 나타내었고 문맥 혈류량(portal blood flow, PBF)은 문맥-전신 단락에 영향을 받기 때문에 아래 식으로 교정해 산출하였다. 간장의 총혈류량은 문맥 혈류량과 간 동맥을 통한 혈류량을 합하여 구하였다.

$$\text{PBF (ml/min)} = \text{PVI} - \frac{\text{PVI} \times \text{PSS}}{100}$$

각 내장 장기의 혈관 저항은 평균혈압과 문맥압의 차이와 조직혈류량을, 전말초 저항은 평균 동맥압과 우심방압의 차이와 심박출량을, 그리고 문맥 저항(portal venous resistance)은 문맥압과 문맥으로 유입되는 혈류량을 이용하여 표준 공식에 따라 산출하였다. 전내장 저항(splanchnic arteriolar resistance, R_s)은 위장(R_{st}), 소장(R_{si}), 대장(R_{co}), 장간막-췌장(R_{me}), 비장(R_{sp})의 혈관 저항을 각각 구한 다음 아래 식으로 산출하였다.

$$\frac{1}{R_s} = \frac{1}{R_{st}} + \frac{1}{R_{si}} + \frac{1}{R_{co}} + \frac{1}{R_{me}} + \frac{1}{R_{sp}}$$

모든 결과치는 평균±표준오차로 나타내었으며 SPSS-PC 컴퓨터 통계 프로그램을 이용하여 ANOVA 와 Student's t-test로서 검정하였고, 유의 수준은 0.05 미만인 경우로 하였다.

성 적

심박출량은 식수 투여군이 144.2±17.9ml/min

로 대조군의 105.2±6.5ml/min에 비해 증가되어 있었으며(p<0.01), NNA 투여군은 89.9±14.4ml/min로 식수 투여군에 비해 감소되었으나(p<0.01), 대조군의 그것과 비등하였다. 심박수는 각군 사이에 차이가 없는 것으로 미루어 보아 심박출량의 변동은 주로 1회 심박출량의 증감으로 초래되었다(표 1, 그림 1).

평균 동맥압은 대조군은 129.3±9.6mmHg로 식수 투여군의 111.3±5.5mmHg에 비해 낮았으며(p<0.01), NNA 투여군은 128.7±19.8mmHg로 식수 투여군에 비해 높았으나(p<0.05) (표 1, 그림 1), 대조군의 그것과는 같았다. 전말초 저항은 심박출량 및 평균 동맥압의 성적을 미루어 보아 대조군과 NNA 투여군에서는 비등하였고 식수 투여군에서 낮았다(p<0.01, p<0.05) (표 1, 그림 1).

문맥으로 유입되는 혈류량, 즉 간장을 제외한 전내장의 전혈류량(portal venous inflow)은 식수 투여군은 29.66±4.27ml/min로서 대조군 및 NNA 투여군의 16.61±5.03ml/min, 11.43±2.24ml/min에 비해 뚜렷이 증가되었으며(p<0.01, p<0.05) NNA 처치에 따른 혈류량의 감소는 있었으나 대조군의 그것보다는 적었다(p<0.05) (표 2, 3, 그림 2).

문맥-전신 단락률은 대조군의 1.35±0.42%에 비해 식수 투여군은 95.42±2.73%로써 단락량이 현저히 증가하여(p<0.01) 문맥 혈류량의 대부분이 전신 순환계로 유입되었으며, NNA 투여군은 73.36±17.67%로서 식수 투여군에 비해 상당히 감소되었다(p<0.05) (표 2, 그림 2).

문맥압은 식수 투여군 및 NNA 투여군에서는 각각 17.16±3.17mmHg, 16.67±2.24mmHg로써 양군이 비등하였으나 대조군의 7.94±1.29mmHg 보다 높았으며(p<0.01, p<0.05), NNA 처치에

Table 1. Systemic hemodynamics in portal hypertensive rats

Systemic Hemodynamics	Control (n=7)	Portal hypertensive rats	
		Water (n=9)	NNA (n=9)
Heart rate (beats/min)	338.1 ± 16.9	326.9 ± 18.2	329.3 ± 43.7
Cardiac output (ml/min)	105.2 ± 6.5	144.2 ± 17.9**	89.9 ± 14.4*
Cardiac index (ml/min/g)	0.33 ± 0.03	0.52 ± 0.09**	0.32 ± 0.03*
Mean arterial pressure (mmHg)	129.3 ± 9.6	111.3 ± 5.5**	128.7 ± 19.8*
Total SVR (dyne · s/cm ⁵ × 10 ⁵)	9.5 ± 0.8	6.0 ± 0.9**	11.2 ± 2.1*

Values are means ± SE.

SVR indicates systemic vascular resistance.

** p < 0.01 vs control. * p < 0.05 vs water.

Table 2. Hepatic hemodynamics in portal hypertensive rats

Hepatic Hemodynamics	Control (n=7)	Portal hypertensive rats	
		Water (n=9)	NNA (n=9)
Hepatic arterial flow (ml/min)	3.54 ± 1.77	6.87 ± 1.68**	2.92 ± 1.34*
Portal venous inflow (ml/min)	16.61 ± 5.03	29.66 ± 4.27**	11.43 ± 2.24*
Portal blood flow (ml/min)	16.40 ± 4.99	1.35 ± 0.80**	3.34 ± 2.67*
Portal-systemic shunt (%)	1.35 ± 0.42	95.42 ± 2.73**	73.36 ± 17.67*
Total hepatic blood flow (ml/min)	19.93 ± 6.41	8.22 ± 1.85**	6.25 ± 3.31*
Portal pressure (mmHg)	7.94 ± 1.29	17.16 ± 3.17**	16.67 ± 2.24
Portal vein resistance (dyne · s/cm ⁵ × 10 ⁵)	4.40 ± 2.58	4.74 ± 1.20	12.23 ± 3.93*

Values are mean ± SE.

** p < 0.01 vs control. * p < 0.05 vs water.

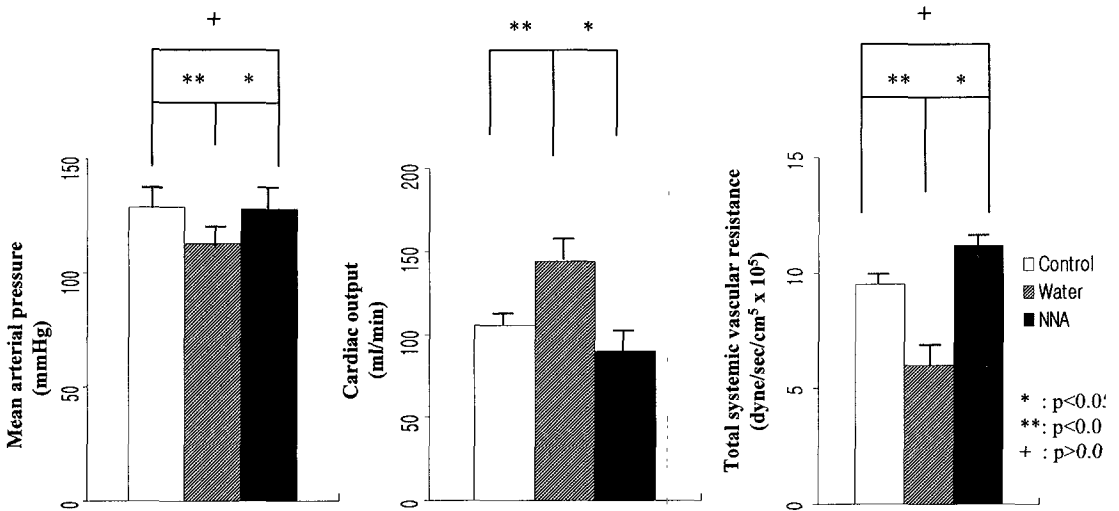


Fig 1. Systemic hemodynamics in portal hypertensive rats.

Table 3. Blood flows of splanchnic organs in portal hypertensive rats

Splanchnic Organs	Control (n=7)	Portal hypertensive rats	
		Water (n=9)	NNA (n=9)
Stomach (ml/min)	1.30±0.47	1.91±0.59**	1.10±0.36*
Small intestine (ml/min)	10.34±3.26	19.01±2.95**	5.62±1.03*
Large intestine (ml/min)	1.32±0.31	2.43±0.751**	1.80±0.36*
Mesentry-Pancreas (ml/min)	2.28±0.99	4.26±0.65**	1.88±0.65*
Spleen (ml/min)	1.37±0.61	2.04±0.46**	1.02±0.58*

Values are means±SE.

** p<0.01 vs control. * p<0.05 vs water.

Table 4. Vascular resistance of splanchnic organs in portal hypertensive rats

Splanchnic Organs (dyne s/cm ⁵ ×10 ⁵)	Control (n=7)	Portal hypertensive rats	
		Water (n=9)	NNA (n=9)
Stomach	87.09±21.30	42.88±12.75**	103.50±25.43*
Small intestine	10.99±6.15	4.04±0.64**	16.32±3.68*
Large intestine	77.17±18.19	34.17±12.44**	51.86±13.99*
Mesentry-Pancreas	49.44±19.39	18.16±3.75**	59.51±33.22*
Spleen	90.28±31.08	38.66±9.88**	111.60±20.78*
Splanchnic resistance	6.61±3.08	2.59±0.44**	8.09±2.04*

Values are means±SE.

** p<0.01 vs control. * p<0.05 vs water.

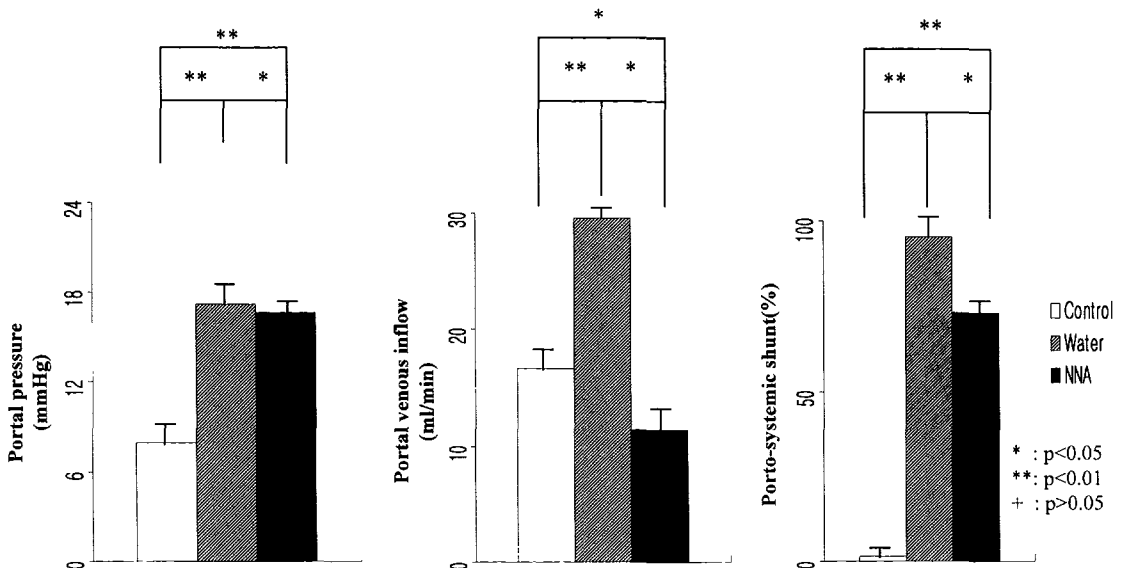


Fig. 2. Hepatic hemodynamics and porto-systemic shunt.

Table 5. Arterial blood flow of systemic organs in portal hypertensive rats

Splanchnic Organs	Control (n=7)	Portal hypertensive rats	
		Water (n=9)	NNA (n=9)
Kidney (ml/min)			
Right	6.73±2.49	7.29±1.04	2.83±1.07*
Left	6.50±2.46	7.36±0.85	2.76±0.85*
Testis (ml/min)	0.59±0.38	0.76±0.29	0.58±0.69*
Lung [†] (ml/min)	2.95±0.98	3.85±0.75	1.99±0.66*

Values are means±SE.

* p<0.05 vs water.

[†] represents blood flows perfused via bronchial arteries.

다른 압 저하의 정도가 낮았다(표 2, 그림 2).

문맥 혈류량은 식수 투여군 및 NNA 투여군은 각각 1.35±0.80ml/min, 3.34±2.67ml/min로서 후자에서 약간 증가하였으나(p>0.05) 양군 다같이 대조군의 16.40±4.99ml/min에 비해 현저히 감소되었다(p<0.01, p<0.01). 문맥 저항은 대조군과 식수 투여군의 양군 사이에 차이가 없었으나 NNA 투여군에서 높았다(p<0.01) (표 2, 4).

간동맥 혈류량은 식수 투여군에서 6.87±1.68 ml/min로서 대조군의 3.54±1.77ml/min에 비해 약 2배 증가되었으며(p<0.01), NNA 투여군에서는 2.92±1.34ml/min로 식수 투여군에 비해 감소되었으나(p<0.05), 대조군의 그것과 비등하였다(표 2).

전간 혈류량(total hepatic blood flow)은 식수 투여군 및 NNA 투여군은 각각 8.22±1.85 ml/min, 6.25±3.31ml/min로 후자에서 약간 감소되어 있었다(p<0.05). 양군은 다같이 대조군의 19.93±6.41ml/min에 비해 감소되었으며(p<0.01, p<0.01) 그 감소의 정도가 NNA 투여군에서 뚜렷한 것은 간동맥 혈류량보다 문맥혈류량의 증가의 정도가 낮았기 때문이었다(표 2).

신장, 고환 및 기관지 동맥 혈류량은 대조군에 비해 식수 투여군에서 증가하는 경향이 있었으며, NNA 투여군에서는 식수 투여군에 비해 감소되었다(p<0.05) (표 5).

고찰

문맥압 항진증은 간경변증에 수반되는 심각한 휴

유증의 하나로써 문맥압의 상승과 함께 문맥-전신 우회측부혈관의 발달로 인해 단락의 증가와 위-식도 정맥류, 간뇌증, 복수 등의 심각한 합병증을 유발할 수 있다(Genecin과 Groszmann, 1993). 문맥-전신 측부 순환은 문맥 혈류의 대부분을 전신순환으로 받아들여 만성 문맥압 항진증에서 나타나는 동맥압의 저하 및 심박출량의 증가, 내장혈관 저항 및 말초 저항의 감소 등으로 전혈류량이 증가되는 과혈류 순환 상태에 중요한 영향을 미친다(Kowalski와 Abelman, 1953; Claypool 등, 1957; Murray 등, 1958; Kontos 등, 1964). 그러나 이러한 측부 순환을 통한 혈류의 변화를 조절하는 인자에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 여기에 관여하는 요인으로 체액성 인자(humoral factor) (Lee 등, 1988, Sitemann 등, 1989) 혹은 국소적 혈관내피성 혈관 이완 인자(EDRF) (Palmer 등, 1987, Lee 등, 1992; Mosca 등, 1992; Polio와 Groszmann, 1993)가 제시되고 있으며, 최근 연구에서 이들의 증가가 만성 문맥압 항진증의 특징적인 말초혈관 이완과 과혈류 순환을 야기시키는 것으로 보고되고 있으나 아직 병인은 정립되어 있지는 않다. 문맥압 항진증의 병인은 문맥압 항진증의 대표적인 임상상인 문맥-전신 단락, 간뇌증, 위-식도 정맥류, 복수증 등의 합병증 발생을 예방하고 치료하기 위해 꼭 밝혀져야 할 것으로 생각된다.

과혈류 순환을 매개하는 체액성 인자 즉 순환 혈관 이완 인자(circulating vasodilator factor)로는 다양한 종류의 gut peptide가 제안되고 있으며 그중 가장 주목받고 있는 물질로 glucagon(Sherwin 등,

1974; Sekuler와 Groszmann, 1986)이 있다. 문맥압 항진증 환자에서 glucagon치가 상승되어 있는 것으로 알려져 있는데, Sikuler와 Groszmann (1986)은 문맥압 항진증이 있는 쥐에서 관찰되는 양과 같은 정도의 glucagon을 정상 동물에 주입하였을 때 의미 있는 내장혈관 저항의 감소를 관찰하였으나, glucagon의 양과 혈관이완 정도 사이의 상관관계가 없는 것으로 보고하였다. Benoit 등(1986)은 glucagon 특이 항혈청을 투여할 경우 portal venous inflow의 감소는 있었지만 동맥압의 저하와 함께 문맥압도 저하되어 전신 과혈류 순환을 개선하지는 못하였다고 보고하였다. 또한 glucagon의 분비를 억제하는 somatostatin을 투여할 경우 내장 및 전신혈관의 수축이 유발되었는데(Albillos 등, 1993), glucagon과 somatostatin을 동시에 투여하였을 때에는 somatostatin을 단독 투여했을 때와 같은 수준의 문맥압과 portal venous inflow의 감소를 관찰할 수 있었다(Pizcueta 등, 1991). 이런 결과는 문맥압 항진증에서 내장혈관의 울혈(splanchnic hyperemia)을 일으키는 glucagon의 작용을 수궁케 한다. 그러나 glucagon 치의 상승만으로는 과혈류 순환을 설명할 수 없으며, 과혈류 순환의 체액성 매개체로써 다양한 내인성 혈관이완 물질이 제시되고 있다.

문맥압 항진증 환자에서 혈관이완 작용이 있는 것으로 알려진 담즙산(Genecin, 1990)이 증가되어 이것이 과혈류 순환을 일으키는데 중요한 역할을 할 것으로 추정하였지만, 실제 간전 문맥 고혈압을 유발시킨 쥐를 이용한 실험에서 순환 담즙산을 정상 수준으로 유지시켜도 혈행 이상이 호전되지 않았으며, 다만 담즙산의 혈중 농도를 정상이하로 저하시키면 내장 울혈이 호전되는 정도였다(Thomas 등, 1991). 그 외 adenosin이나 histamine 등의 혈관이완제가 연구되고 있지만 아직 그 역할은 크게 인정되지 않고 있다(Genecin과 Groszmann, 1994).

최근의 문맥압 항진 쥐에서 장기적인 propranolol (Colombato 등, 1991; Lin 등, 1991; Sarin 등, 1991)이나 clonidine(Lin 등, 1991)의 투여로 문맥압의 저하와 함께 문맥-전신 단락의 형성이 감소됨을 관찰하고 문맥고혈압이 문맥 혈관계의 측부혈관 발달의 중요한 촉진 요소라고 보고되었지만 이는

문맥-전신 측부 혈관을 통한 혈류량의 감소에 따른 이차적인 문맥 혈류량의 감소에 의해 문맥압이 저하되고 이로 인해 문맥-전신 단락 형성의 감소가 초래된 것이기 때문에 이들 약제에 의한 문맥-전신 단락 형성 방지 효과는 명확하게 규명되어 있지 않은 상태이다.

Furchgott와 Zawadzki(1980)가 혈관내피 세포에서 혈관 확장을 일으키는 물질을 EDRF라고 처음 명명한 이후 EDRF가 산화질소로 밝혀지면서 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 산화질소는 짧은 생물학적 반감기를 갖는 무색 기체로써 혈관내피 세포에서 L-arginine이 산소와 산화질소 합성효소(NO synthetase, 이하 NOS)에 의해 L-citrulline으로 전환될 때 생성된다(Ignarro, 1989; Claria 등, 1992). NOS는 전신 혹은 혈관내피 세포내에 존재하는 Ca²⁺-calmodulin과 관계된 구성형 효소(constitute enzyme, 이하 cNOS)와 대식세포등이 endotoxin 혹은 cytokine으로 인해 만드는 유도형 효소(inducible enzyme, 이하 iNOS)로 나눌 수 있다(Förstermann 등, 1993). Lumsden 등(1988)은 간경변 환자에서 문맥혈중의 endotoxin이 증가되어 있음을 보고하였으며, Vallance와 Moncada(1991)는 간경변에서 심혈관계의 합병증은 endotoxin에 의한 직접적인 영향 혹은 cytokine에 의한 간접적인 영향으로 iNOS가 자극 받아 지속적인 산화질소의 합성과 분비가 증가된다는 가설을 정립하였다. 장병익(1996)은 간전 문맥압 항진 쥐에서 산화질소 억제제인 NNA를 투여한 군에서 동맥압의 상승과 심박출량의 감소, 내장혈관 및 전말초 저항의 증가를 보고하였으며, 산화질소의 전구 물질인 L-arginine을 전처치한 후 NNA를 투여하여 NNA에 의해 유발된 혈액학적 변화가 상쇄되는 것을 관찰하고 산화질소가 만성 문맥압 항진증의 혈행이상 즉 말초혈관 이완과 과혈류 순환에 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

본 실험에서 문맥 고혈압군과 문맥고혈압 유발 초기에 NNA를 투여한 군의 문맥압은 각각 17.1 mmHg, 16.6mmHg으로 양군에서 압이 비등한데도 단락률은 전자의 95%, 후자의 73%로 현저한 감소를 보인 성적을 미루어 보아 산화질소가 측부혈관망 형성에 어느 정도 관여하는 것으로 추정된다.

NNA를 투여한 군은 심박출량, 평균동맥압, 전말초 저항 및 간동맥혈류량은 문맥고혈압이 없는 대조군의 그것들과 비등한 수준을 유지하였으며 내장 전혈류량 감소와 문맥혈류량 증가 등의 문맥순환의 혈행 이상이 개선되는 것으로 보아 산화질소가 문맥고혈압의 병인에 중요한 역할을 하는 것을 수긍케 한다.

NNA를 체중 1kg당 2mg 이상을 매일 단기간 투여한 후 혈행 동태를 측정한 Claria 등(1992)의 성적과 문맥 고혈압을 유발시킨 직후부터 장기간 동안 체중 1kg당 NNA 1mg 이하의 저용량을 매일 경구 투여한 본 연구를 비교해 볼 때 평균 동맥압의 상승 폭이 Claria 등(1992)의 그것 보다 컸다. 이는 만성 문맥압 항진증에서 혈관 이완 상태(vasodilator status)가 충분히 형성되기 이전에 산화질소의 생성을 억제함으로써 보다 효율적으로 혈역학적 변화를 개선시킬 수 있었다고 생각된다.

본 실험에서 NNA 투여군에서 문맥압의 변화 없이 문맥 혈류 유입량(portal vein inflow)의 의미 있는 감소를 보여 산화질소의 생성 억제에 의해 측부혈관의 저항이 증가되는 변화가 야기되었음을 알 수 있었다. NNA 투여로 초래되는 측부혈관 저항의 증가는 propranolol 투여(Colombato 등, 1991; Sarin 등, 1991)에 의한 문맥혈관 저항의 감소 효과보다도 현저하였으며, 문맥-전신 단락 생성의 예방 효과도 더 높았다. NNA 투여후 측부 혈관 저항의 증가는 문맥 혈류 유입량의 감소뿐만 아니라 문맥 측부 혈관망에서 산화질소의 분비를 억제하는 직접적인 영향에 의해서도 유발된다고 생각된다.

문맥압 항진증 쥐의 문맥 측부 혈관망에서 산화질소가 증가되는 기전은 아직 잘 알려져 있지 않지만 문맥 측부 혈관을 통한 혈액 유입량의 증가에 의한 산화질소 분비의 강력한 자극제인 산소 농도의 증가와(Miller 등, 1986), 측부혈관의 발달과정에서 새로운 혈관 내피세포의 증식이 중요한 역할을 하는 것으로 추측되며, 만성 문맥압 항진증시 발생하는 내독소의 증가나 세균의 translocation(Oliver, 1992)도 산화질소의 생성에 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다.

본 실험에서 문맥압 항진증 쥐에서 관찰한 심박출량 증가, 평균 동맥압 저하, 전말초 저항 감소 및 문맥 전신 단락의 현저한 증가 등의 혈행변화는 문

맥압 항진을 유발시킨 초기에 산화질소 생성 억제제인 NNA를 2주간 지속적으로 투여하여 과혈류 순환 상태의 뚜렷한 개선이 있었던 성적으로 미루어 보아 NNA는 문맥고혈압의 병인에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되며 임상적으로 치료에 어려움이 있는 단락혈관 발달을 예방함은 물론 치료제로서의 임상 응용도 가능할 것으로 생각된다.

만성간질환은 대개 문맥압항진을 수반하게 되며 특히 간경변증은 문맥고혈압의 가장 흔한 원인으로 알려져 있다. 간경변증에서는 재생 간세포에 의한 결절 및 섬유조직에 의해서 문맥가지부가 압박되는 병리적 변화로서 야기되는 간내성 문맥고혈압형이며, 본 실험에서 문맥결찰로서 유발한 간외성고혈압 사이에는 혈역학적 변동면에 차이가 있는 것인지 또는 간경변증에 속발된 문맥고혈압에서 산화질소의 역할 및 NAA의 혈행동태에 미치는 영향 등은 추후 다른 각도에서 계획된 실험에서 규명되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

만성 문맥압 항진증에서 관찰되는 과혈류 순환과 말초혈관 이완에 대한 산화질소의 역할을 규명하기 위해 본 연구를 시행하였다. 실험동물은 수컷 흰쥐를 이용하여 문맥을 부분결찰하여 문맥 고혈압을 유발시킨 군과 결보기 수술만을 시행한 대조군으로 구분하고 문맥 고혈압군은 문맥 부분 결찰후 부터 혈역학 측정 전까지 식수를 경구 투여한 식수 투여군과 산화질소 억제제인 N^o-Nitro-L-Arginine (1mg/kg/day)를 경구 투여한 NNA 투여군으로 나누었다. 혈역학적 측정은 수술 2주 후에 시행하였고 ⁵¹Cr과 ⁵⁷Co-labeled microspheres를 이용하여 심박출량, 조직 혈류량, 문맥-전신 단락률, 문맥압, 말초혈관 저항 내장혈관 저항 등을 측정하였다.

평균 동맥압은 대조군 129.3±9.6mmHg, 식수 투여군은 111.3±5.5mmHg로 대조군에 비해 유의하게 감소되어 있었고, NNA 투여군은 128.7±19.8 mmHg로 식수 투여군에 비해 증가되어 있었다. 심박출량은 대조군의 105.2±6.5ml/min에 비해 식수 투여군에서 144.2±17.9ml/min로 증가되었으

며, NNA 투여군은 89.9±14.4ml/min로 식수 투여군에 비해 감소되어 있었다. 전말초 저항은 식수 투여군에서 6.0±0.9dyne/sec/cm⁵x10⁵로 대조군의 9.5±0.8dyne/sec/cm⁵x10⁵에 비해 감소되었고, NNA 투여군은 11.2±2.1dyne/sec/cm⁵x10⁵로 식수 투여군에 비해 증가되어 있었다. 문맥으로 유입되는 혈류량은 대조군 16.61±5.03ml/min, 식수 투여군은 29.66±4.27ml/min로 식수 투여군에서 유의한 증가가 있었으며, NNA 투여군은 11.43±2.24ml/min로 식수 투여군에 비해 감소되어 있었다. 내장혈관 저항은 식수 투여군에서 2.59±0.44dyne/sec/cm⁵x10⁵로 대조군의 6.61±3.08dyne/sec/cm⁵x10⁵에 비해 감소되었으며, NNA 투여군은 8.09±2.04dyne/sec/cm⁵x10⁵로 식수 투여군에 비해 증가되어 있었다. 문맥-전신 단락율은 대조군의 1.35±0.42%에 비해 식수 투여군은 95.42±2.73%로 증가되었으며, NNA 투여군은 73.36±17.67%로 식수 투여군보다 감소되어 있었다. 문맥압은 대조군 7.94±1.29mmHg, 식수 투여군 17.16±3.17mmHg, NNA 투여군은 16.67±2.24mmHg로 대조군에 비해 식수 투여군과 NNA 투여군에서 증가되었으나, 양군 사이에 유의한 차이는 없었다. 문맥 저항은 NNA 투여군에서 12.23±3.93dyne/sec/cm⁵x10⁵로 식수 투여군의 4.74±1.20dyne/sec/cm⁵x10⁵에 비해 증가되었다.

결론적으로 문맥의 부분결찰로 유도된 만성 문맥압 항진 쥐에서 산화질소 합성 억제제인 NNA를 투여할 경우 문맥압의 변화 없이 동맥압의 증가, 심박출량의 감소, 내장 및 전신 혈관 저항의 증가 등이 유발되었다. 이상의 결과를 고려해 볼 때 만성 문맥압 항진증시 관찰되는 과혈류 순환의 형성에 산화질소가 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

장병익: 산화질소 억제제가 문맥 고혈압쥐의 과혈류 순환에 미치는 효과. 박사학위논문, 영남대학교 대학원, 1996, pp 1-28.
 Albillos A, Colombato LA, Lee FY, Groszmann RJ: Chronic octreotide treatment ameliorates

peripheral vasodilatation and prevents sodium retention in portal hypertensive rats. *Gastroenterology* 104: 568-572, 1993.
 Benoit JN, Zimmerman B, Permen AJ, Go VL, Granger DN: Role of glucagon in the splanchnic hyperemic of chronic portal hypertension. *Am J Physiol* 251: G674-677, 1986.
 Chojkier M, Groszmann RJ: Measurement of portal-systemic shunting in the rat by using γ -labeled microspheres. *Am J Physiol* 240: G371-375, 1981.
 Claria J, Jimenez W, Ros J, Asbert M, Castro A, Arroyo V, Rivera F: Pathogenesis of arterial hypotension in cirrhotic rats with ascites: role of endogenous nitric oxide. *Hepatology* 15: 343-349, 1992.
 Claypool JG, Delp M, Lin TK: Hemodynamic studies in patients with Laennec's cirrhosis. *Am J Med* 234: 48-55, 1957.
 Colombato LA, Albillos A, Genecin P, Sarin S, Groszmann RJ: Prevention of portal-systemic shunting in propranolol-treated and in sodium-restricted cirrhotic rats(abstr). *Gastroenterology* 100: A730, 1991.
 Förstermann U, Pollock JS, Nakane M, Tracey WR: Isoforms of nitric oxide synthetase-function in the cardiovascular system. *Eur Heart J* 14: 10-15, 1993.
 Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288:373-376, 1980.
 Genecin P, Groszmann RJ: Biology of portal hypertension. *In* Arias I, Boyer JL, Fausto N, Jakoby W, Schachter D, Shafritz D: The liver. Biology and pathophysiology. Raven Press, New York, 1994, pp 1327-1342.
 Genecin P, Groszmann RJ: Portal hypertension. *In* Schiff E, Schiff D: Diseases in the liver. 7th ed, JB Lippincott, Philadelphia, 1993, pp 935-973.
 Genecin P, Polio J, Colombata LA, Ferraioli G, Reuben A, Groszmann RJ: Bile acids do not mediate the hyperdynamic circulation in the

- portal hypertensive rats. *Am J Physiol* 259: G 21-25, 1990.
- Ignarro LJ: Biological actions and properties of endothelium-derived nitric oxide formed and released from artery and vein. *Circ Res* 65: 1-21, 1989.
- Kontos HA, Hsapiro W, Mauck HP, Patterson JL: General and regional circulatory alterations in cirrhosis of the liver. *Am J Med* 37: 526-535, 1964.
- Kowalski HJ, Abelmann WH: The cardiac output at rest in Laennec's cirrhosis. *J Clin Invest* 32: 1025-1032, 1953.
- Lee FY, Albillos A, Colombato LA, Groszmann RJ: The role of nitric oxide in the vascular hyporesponsiveness to methoxamine in portal hypertensive rats. *Hepatology* 16: 1043-1048, 1992.
- Lee SS, Moreau R, Hadengue A, Cerinic R, Koshy A, Lebrec D: Glucagon selectively increase splanchnic blood flow in the patients with well compensated cirrhosis. *Hepatology* 8(6) 1501-1505, 1988.
- Lin HC, Soubrane O, Cailmail S, Lebrec D: Early chronic administration of propranolol reduces the severity of portal hypertension and portal-systemic shunts in conscious portal vein stenosed rats. *J Hepatology* 13: 213-219, 1991.
- Lin HC, Soubrane O, Lebrec D: Prevention of portal hypertension and porto-systemic shunts by chronic administration of clonidine in conscious portal vein-stenosed rats. *Hepatology* 14: 325-330, 1991.
- Lumsden AB, Henderson JM, Kutner MH: Endotoxin levels measured by chromogenic assay in portal, hepatic and peripheral venous blood in patients with cirrhosis. *Hepatology* 8: 232-236, 1988.
- Malik AB, Kaplan JE, Saba TM: Reference sample method for cardiac output and regional blood flow determinations in the rat. *J Appl Physiol* 40(3): 472-475, 1976.
- Miller VM, Aarhus LL, Vanhoutte PM: Modulation of endothelium-dependent responses by chronic alteration of blood flow. *Am J Physiol* 251: H 520-527, 1986.
- Mosca P, Lee FY, Kaumann AJ, Groszmann RJ: Pharmacology of portal-systemic collaterals in portal hypertensive rats: role of endothelium. *Am J Physiol* 263: G544-550, 1992.
- Murray JP, Dawson AM, Sherlock S: Circulatory changes in chronic liver disease. *Am J Med* 24: 358-367, 1958.
- Oliver JA: Endothelium-derived relaxing factor contributes to the regulation of endothelial permeability. *J Cell Physiol* 15: 506-511, 1992.
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelial-derived relaxing factor. *Nature* 327: 524-526, 1987.
- Pizcueta MP, Garcia-Pagan JC, Fernandez M, Casamitjana R, Bosch J, Rodes J: Glucagon hinders the effects of somatostatin on portal hypertension. A study in the rats with partial portal vein ligation. *Gastroenterology* 101: 1710-1715, 1991.
- Polio J, Groszmann RJ: Pharmacologic control of portal hypertension. In Boyer J, Ockner R. *Progress in liver diseases*. Vol. XI, Saunders, Philadelphia, 1993, pp 231-249.
- Reynell PC: Portal hypertension in the rat. *Br J Exp Path* 33(1): 19-24, 1951.
- Sarin SK, Groszmann RJ, Mosca PG, Rojkind M, Stadecker MJ, Bhatnagar R, Reuben A, et al.: Propranolol ameliorates the development of portal-systemic shunting in a chronic murine schistosomiasis model of portal hypertension. *J Clin Invest* 87: 1032-1036, 1991.
- Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, Epstein M, Henriksen JH, Rodes J: Peripheral arterial vasodilation hypothesis: a proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. *Hepatology* 8: 1151-1157, 1988.
- Sekuler E, Groszmann RJ: Hemodynamic studies in long and short term portal hypertensive rats: the relationship to systemic glucagon levels. *Hepatology* 6: 414-418, 1986.
- Sherwin R, Joshi P, Hendler R, Felig P, Conn HO: Hyperglucagonemia in Laennec's cirrhosis. The role of portal-systemic shunting. *N Engl J*

- Med 290: 239-242, 1974.
- itemann JV, Bulky GB, Mitchell MC, Campbell K. Role of prostacyclin in the splanchnic hyperemia contributing to portal hypertension. Ann Surg 209: 322-327, 1989.
- Thomas SH, Joh T, Benoit JN. Role of bile acids in splanchnic hemodynamic response to chronic portal hypertension. Dig Dis Sci 36: 1243-1248, 1991.
- Tsuchiyi M, Ferrone RA, Walsh GM, Frohlich RA. Regional blood flows measured in conscious rats by combined Fick and microspheres. Am J Physiol 240: G371-375, 1981.
- Vallance P, Moncada S: Hyperdynamic circulation in cirrhosis: a role for nitric oxide? Lancet 337: 776-778, 1991.