

본태성 고혈압 환자 적혈구막의 Na^+ - Li^+ Countertransport 및 Na^+ - K^+ Pump 활성에 관한 연구*

성분도병원 내과**, 부산대학교 의과대학 생리학교실***, 내과학교실****

손성표** · 김용근*** · 신영기****

= Abstract =

Na^+ - Li^+ Countertransport and Na^+ - K^+ Pump of Red Blood Cells in Patients with Essential Hypertension

Seong Pyo Son, M.D.,** Yong Kun Kim, M.D.,*** Yeong Kee Shin, M.D.****

Department of Internal Medicine,** St. Benedict Hospital, Pusan, Korea

Department of Physiology,*** Internal Medicine,**** College of Medicine, Pusan University, Pusan, Korea

Background : This study was performed in order to investigate the changes of Na^+ transport system in the red blood cells of the patients with essential hypertension.

Methods : Na^+ - Li^+ countertransport and Na^+ - K^+ pump activity were measured in 30 cases of essential hypertension and 20 healthy normal controls. And these measurements were analyzed in terms of some important clinical parameters in the patients, i.e., body mass index(BMI), status of hypertension and plasma lipids.

Results : Na^+ and K^+ contents of red cells in hypertensive patients were 16.9 ± 1.4 and 77.8 ± 2.1 mmol/L cells, respectively, and no significant difference was found compared with respective values of normal control (14.2 ± 0.9 and 82.8 ± 2.8 mmol/L cells).

Na^+ - Li^+ countertransport in the patient group was significantly increased compared with control group (62.2 ± 4.5 and 46.8 ± 3.0 $\mu\text{mol/L cells.hr}$), and Na^+ - K^+ pump activity was also showed a significant depression (8.72 ± 0.80 and 12.79 ± 0.52 $\mu\text{mol Pi/mg.hr}$).

In the analysis regarding the relationship between Na^+ transport system and some important clinical parameters of the patients with essential hypertension, Na^+ - Li^+ countertransport was related to BMI, and the level of triglyceride. On the other hand, Na^+ - K^+ pump activity was related to the WHO stage and the levels of total cholesterol and triglyceride. But the level of blood pressure did not show a significant correlation with either are of the two Na^+ transport system.

Conclusion : These results suggest that Na^+ - Li^+ countertransport and Na^+ - K^+ pump activity in patients with essential hypertension were significantly altered compared with healthy normal controls, and these Na^+ transport system were also influenced by BMI, WHO stage, and the levels of cholesterol and triglyceride. And the individual variations in Na^+ transport systems

*본 논문의 요지는 1990년도 대한 순환기학회 추계 학술대회 석상에서 발표하였음.

were also suggested by the findings being overlapped between hypertensive patients and controls.

KEY WORDS : Essential Hypertension · Na^+ - Li^+ countertransport · Na^+ - K^+ pump.

서 론

Na^+ 의 과량섭취가 본태성 고혈압의 진행에 중요한 영향을 미치는 것으로 알려져 왔고¹⁾, 또한 세포막을 통한 Na^+ 이동의 변화가 고혈압 발생에 어떤 결정적인 역할을 할것이라는 연구결과들이 발표됨으로서^{2,4)} 여러조직에서의 Na^+ 이동의 변화에 대한 연구가 광범위하게 진행되고 있다.

1960년 Losses등⁵⁾이 본태성 고혈압 환자 적혈구에서 Na^+ 함량이 다소 증가되어 있음을 보고한 이래 여러 연구자들이 유사한 결과를 보고하였다⁶⁻⁸⁾. 이러한 적혈구내 Na^+ 농도 증가는 세포막을 통한 Na^+ 이동계의 변화에 기인되며, 이러한 적혈구막에서의 Na^+ 이동의 변화가 혈관 평활근을 포함한 다른 조직의 세포막에서의 Na^+ 이동의 변화를 반영하는 것으로 추정되어 왔다. 그리고 Gary와 Meyer⁹⁾는 이러한 적혈구막의 비정상적인 Na^+ 이동은 본태성 고혈압이 발생할 수 있는 유전적 소인을 가진 개체를 알아낼 수 있을 뿐만 아니라 본태성 고혈압과 2차성 고혈압을 구별하기 위한 유용한 표적으로 이용할 수 있을 것이라 하였다. 적혈구막에서의 Na^+ 이동과정에는 Na^+ - K^+ pump, Na^+ - K^+ cotransport, Na^+ - Li^+ countertransport 및 Na^+ 의 수동적 이동등이 관여하는 것으로 알려져 있으며⁷⁾ 이들 중 Na^+ - Li^+ countertransport가 본태성 고혈압 환자에서 증가되어 있다는 것이 여러 연구자들에 의해 보고되고 있다^{2,10,11)}. 우리나라에서도 1989년 김 등¹²⁾이 본태성 고혈압 환자군에서 대조군에 비하여 통계학적 유의성 있는 차이는 인정할 수 없었으나 환자군의 약 20%에서 대조군의 최대치 보다 높았다는 연구 결과를 보고하였다. 한편으로 Canessa등¹³⁾은 흑인 고혈압 환자에서 Na^+ - Li^+ countertransport의 변화가 없음을 보고하여 민족에 따라 차이가 있음을 시사하였다.

Na^+ - K^+ pump 즉, Na^+ - K^+ -ATPase 활성화에 관해서는 증가¹⁴⁾, 감소^{15,16)} 또는 변화가 없다^{17,18)}는 보고들이 있어 연구자들간에 차이를 보이고 있다.

저자는 본 연구에서 우리나라 본태성 고혈압 환자 적혈구에서 Na^+ 이동계의 변화가 있는지를 알아보기 위하여 적혈구내 Na^+ 및 K^+ 함량과 Na^+ 이동계 중 그 특징이 잘 알려진 Na^+ - Li^+ countertransport 및 Na^+ - K^+ -ATPase 활성을 관찰하여 정상 대조군과 비교하여 보았다. 그리고 이들 Na^+ 이동계의 변화와 고혈압 환자의 몇가지 중요한 임상적 요인들과의 관련을 관찰하였다.

연구대상 및 방법

1. 연구대상

본태성 고혈압 환자 30예를 관찰군으로 하고 정상건강인 20예를 대조군으로 하였다. 고혈압군 및 대조군의 성별, 연령, 신장, 체중, 체 질량지수 (body mass index, BMI)는 Table 1과 같다. 그리고 고혈압의 정도는 평균수축기 혈압 $182 \pm 4.3\text{mmHg}$, 확장기 혈압 $122.0 \pm 1.5\text{mmHg}$ 였으며, 이들 고혈압 관찰군 중 12예에서는 전혀 고혈압 치료를 받은 일이 없는 신환이었고 나머지 18예는 최소한 채혈하기전 2주 이상 고혈압 치료약물 또는 혈장 전해질 및 지질 성분 함량에 영향을 줄수 있는 약물투여를 중지하였다.

2. 적혈구 분리

정맥혈 30ml를 heparin이 들어 있는 시험관에 채혈하여 3000g에서 5분 동안 원심침전한 후 상층의 혈장과 buffy coat를 제거하고 적혈구만을 분리하였다.

3. 세포내 Na^+ , K^+ 및 물의 함량측정

적혈구를 세척용액 (85mM sucrose, 75mM MgCl_2 , 10mM glucose, 10mM Tris-HCl, pH7.4, 4°C) 속에 부유시킨 후 7,000g에서 2분 동안 원심침전시켜 세척하였으며 이를 4회 반복하였다. 세척한 적혈구를 세척용액에 50vol. % 되게 부유시킨 후 해마토크리트를 측정한 다음 증류수로써 50배 되게 희석하여 용혈시킨 다음 Na^+ 과 K^+ 을 원자흡광 분광분석기(Shimadzu AA 646)로써 측정하였다. 세포내

Table 1. Clinical characteristics of subjects included in the study

Variable	Hypertensives	Controls
Cases	30	20
Age(yr)	58.8 ± 1.7 (36 - 77)	46.1 ± 3.0 (25 - 70)
Height(cm)	162.21 ± 1.2 (148 - 178)	166.7 ± 1.4 (155 - 175)
Weight(kg)	58.6 ± 1.8 (45 - 84)	59.9 ± 1.6 (48 - 76)
BMI*(kg/m ²)	21.2 ± 0.6 (18 - 30)	21.5 ± 0.4 (18 - 25)
Blood pressure(mmHg)	182.4 ± 4.3 / 122.0 ± 1.5 (150 - 240) (90 - 160)	121.4 ± 3.1 / 80.5 ± 1.5 (110 - 130) (70 - 90)

Values are mean ± SE. Number within parenthesis indicates the range of each value.

* : Body mass index

물의 함량은 50vol. % 적혈구 부유액 1.5ml를 취하여 원심침전시켜 적혈구만을 얻은 다음 건조기에 넣고 80°C에서 24시간 건조시켜 측정하였다.

4. Na⁺-Li⁺ countertransport 측정

Na⁺-Li⁺ 교환이동은 Hannaert와 Garay¹⁹⁾의 방법을 이용하여 정상인 20예와 고혈압 환자 22예에서 측정하였다. 적혈구를 150mM NaCl, 10mM glucose, 10mM Tris-HCl(pH7.4)로 된 Na⁺ 부하 용액속에 부유시킨 후 37°C에서 4시간 동안 incubation 하였다. 원심침전하여 새로운 부하용액속에 부유시키고 다시 4°C에서 20시간 방치한 다음 원심침전시켜 Na⁺이 부하된 적혈구를 얻었으며, 세척용액속에 50vol. %로 부유시켜 헤마토크립, 세포내 Na⁺ 및 K⁺ 농도를 측정한 다음 나머지를 Na⁺ 유출실험에 사용하였다. Na⁺ 유출실험은 Li⁺이 들어 있는 용액(150mM LiCl, 10mM glucose, 0.1mM ouabain, 10mM Tris-HCl, pH7.4)과 Li⁺이 없는 용액(85mM sucrose, 75mM MgCl₂, 10mM glucose, 0.1mM ouabain, 10mM Tris-HCl, pH7.4) 각 5ml에 Na⁺이 부하된 적혈구 0.5ml를 첨가하여 37°C에서 incubation 하였다. 30분 incubation후에 1.5ml를 취하여 1분 동안 원심침전시켜 상층액 속에 들어 있는 Na⁺ 농도를 원자흡광 분광 분석기로 측정하였다. Na⁺이 부하된 적혈구 0.1ml를 상기 incubation 용액 2ml속에 첨가하여 incubation없이 즉시 원심침전시킨후 얻은 상층액속에 Na⁺ 농도를 측정하였으며, 이를 0시간 값으로 하여 30분 incu-

bation하여 얻은 값에서 제하여 순수한 Na⁺ 유출량을 계산하였다.

5. ATPase 활성 측정

ATPase 활성은 Cole과 Waddell²⁰⁾의 방법으로 20예의 정상인과 30예의 고혈압환자의 적혈구에서 측정하였다. 간단히 설명하면, 분리된 적혈구를 5mM Tris, 0.1mM EDTA(pH7.6, 4°C)로 된 용액내에 넣고 용혈시킨 후 23,500g에서 20분 동안 원심침전시키고 상층액을 제거한 다음 0.017mM NaCl, 5mM Tris(pH7.6)로 된 용액으로 3번 세척하였다. 총 ATPase(total ATPase) 활성을 측정하기 위해서는 75mM NaCl, 25mM KCl, 3mM ATP, 3mM MgCl₂, 0.1mM EDTA 및 25mM Tris-HCl, (pH7.4)로 된 incubation 용액 2ml에 0.5ml의 세포막 부유액을 첨가하여 37°C에서 incubation 하였고, ouabain-insensitive ATPase(Mg²⁺-ATPase)활성은 상기 용액중 K⁺이 없고 1mM ouabain을 첨가하여 측정하였다. 20분 동안 incubation 후에 냉한 15% perchloric acid 0.4ml를 가하여 반응을 정지시켰으며, 23,500g에서 15분 동안 원심침전한 후 상층액속에 있는 ATP로부터 유리된 무기인산(Pi)의 농도를 Fiske와 Subbarow²¹⁾의 방법으로 측정하여 ATPase의 활성으로 하였다. 세포막 부유액의 단백질 농도는 Lowry 방법²²⁾로 측정하여 효소 활성을 $\mu\text{mol Pi/mg protein.hr}$ 단위로 나타내었다. 총 ATPase 활성과 ouabain-insensitive ATPase 활성의 차이를 ouabain-sensitive ATPase(Na⁺-K⁺-ATPase)활성으로 하였다.

6. 혈장내 지질 농도 측정

Cholesterol과 triglyceride 농도는 효소법으로, HDL농도는 단백질을 제거 후 각각 측정 kit(Abott Laboratories Diagnostic Medicine International Co., Chicago)를 이용하여 분석하였다. 이들을 분석할 때는 Biochromatic analyzer(Abott VP series II)를 사용하였다.

7. 통계분석

실험 성적들은 $\text{mean} \pm \text{S.E.}$ 로 나타내었으며 유의성은 Student's t-test로 검정하여 P값이 5% 이하일 때 유의한 것으로 하였다. 상관 계수는 Pearson correlation coefficient로 계산하였다.

연구 결과

1. 적혈구내 Na^+ , K^+ 및 물의 함량

Table 2에서 보는 바와 같이 Na^+ 의 함량은 고혈압군에서 $16.9 \pm 1.4 \text{ mmol/L cells}$ 로 대조군의 $14.2 \pm 0.9 \text{ mmol/L cells}$ 에 비해 높은 값을 보였으며, 반면 K^+ 의 함량은 고혈압군에서 $77.8 \pm 2.1 \text{ mmol/L cells}$ 이었고 대조군의 $83.8 \pm 2.8 \text{ mmol/L cells}$ 에 비해 낮은 값을 보였다. 그러나 이들 차이에서 통계학적 유의성은 인정되지 않았다. 그리고 적혈구내 물의 함량에 있어서도 각각 64.7 ± 3.6 과 $66.9 \pm 1.8 \%$ (w/v)로서 양 군에서 통계적 유의성이 있는 차이를 나타내지 않았다.

2. Na^+ - Li^+ countertransport

고혈압 환자군 및 대조군에서 Na^+ 유출(Na^+ efflux)을 시험하기 위하여 Na^+ 를 적혈구내에 부하시킨 후 Na^+ 유출을 Li^+ 이 함유된 용액과 없는 용액내에서 관찰하였다. 그 결과 용액내 Li^+ 이 있을 때 Na^+ 의 유출은 고혈압군과 대조군에서 각각 113.2 ± 5.8 과 $98.2 \pm 5.4 \mu\text{mol/L cells.hr}$ 로서 고혈압군에서 유의한 증가를 보였다. 그러나 용액내 Li^+ 이 없을 때 그 값은 각각 51.0 ± 5.0 과 $51.2 \pm 0.4 \mu\text{mol/L cells.hr}$ 로서 유의한 차이를 보이지 않았다. 용액내 Li^+ 이 있을 때와 없을 때 나타난 Na^+ 유출의 차이는 Na^+ - Li^+ countertransport에 해당하며 이 값은 고혈압군과 대조군에서 각각 66.2 ± 4.5 와 $46.8 \pm 3.0 \mu\text{mol/L cells.hr}$ 로 고혈압군에서 유의한 증가를 보였다(Table 3, Fig. 1). 그러나 고혈압군과 대조군의 적혈구막에서 Na^+ - Li^+ countertransport의 분포상태를 비교한 결과 Fig. 2에서 보는바와 같이 많은 증예에서 고혈압군에서 이동율이 대조군의 것과 중첩되어 있음을 볼 수 있었다.

3. 적혈구막의 Na^+ - K^+ -ATPase 활성의 변화

Table 4와 Fig. 3은 총(total) ATPase, ouabain-sensitive 및 ouabain-insensitive ATPase(Mg^{2+} -ATPase) 활성을 나타낸 것이다. 고혈압군의 적혈구막에서의 총 ATPase와 ouabain-sensitive ATPase(Na^+ - K^+ -ATPase)는 각각 21.0 ± 1.38 과 $8.72 \pm 0.80 \mu\text{mol Pi/mg.hr}$ 로 대조군에서 측정된 25.28 ± 0.78 및 12.79 ± 0.52

Table 2. Red blood cell electrolytes and water contents in hypertensive subjects and controls

Group	n	Na^+ (mmol/L cells)	K^+	Water (%, w/v)
Hypertensive	10	16.9 ± 1.4	77.8 ± 2.1	64.7 ± 3.6
Controls	10	14.2 ± 0.9	83.8 ± 2.8	66.9 ± 1.8
		NS	NS	NS

Values are $\text{mean} \pm \text{SE}$, n: number of subjects, NS indicates nonsignificant difference.

Table 3. Na^+ efflux in red blood cells of patients with essential hypertension and controls

Group	n	Li^+ Medium	Li^+ -free Medium	Countertransport
			($\mu\text{mol/L cells.hr}$)	
Hypertensive	22	113.2 ± 5.8	51.0 ± 5.0	62.2 ± 4.5
Controls	20	98.2 ± 5.4	51.2 ± 0.4	46.8 ± 3.0
P values		< 0.05		

Data are $\text{mean} \pm \text{SE}$, n: number of subjects.

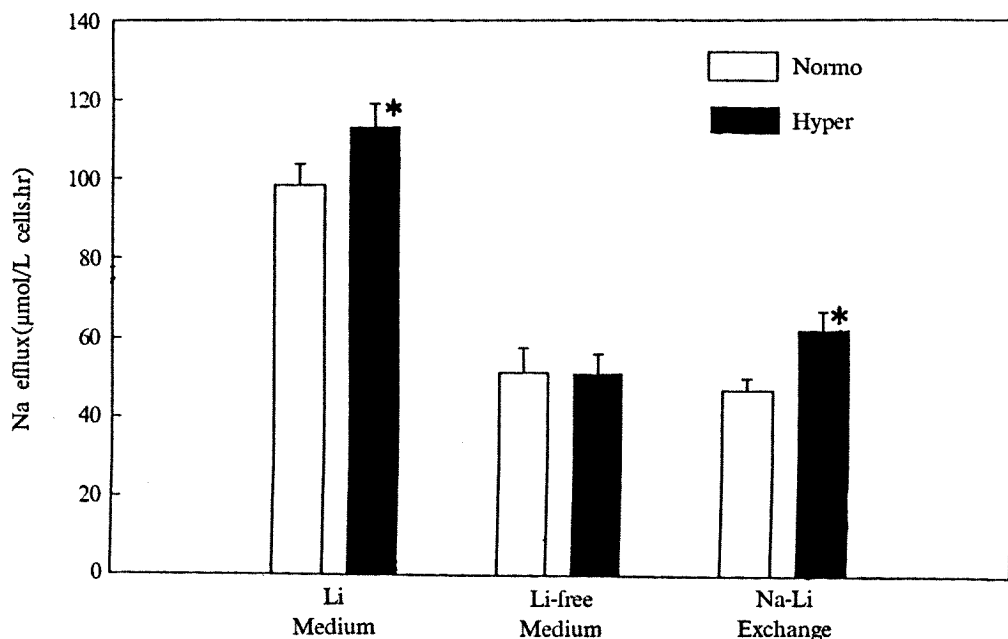


Fig. 1. Na⁺-Li⁺ countertransport in red blood cells of normotensive(n=20) and hypertensive(n=22) subjects. Values are mean±SE.

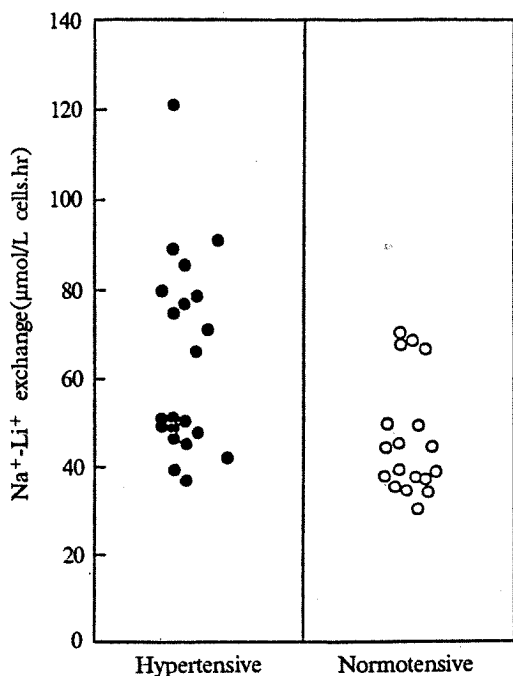


Fig. 2. Distribution of Na⁺-Li⁺ countertransport in red blood cells of normotensive and hypertensive subjects.

μmol Pi/mg.hr에 비해 유의하게 감소되어 있었다. 그러나 Mg²⁺-ATPase 활성은 고혈압군과 대조군에서 각각 12.78 ± 0.68 과 12.86 ± 0.85 μmol Pi/mg.hr로서 유의한 차이를 보이지 않았다. 고혈압군과 대조군의 적혈구막에서의 Na⁺-K⁺-ATPase 활성의 분포상태에 있어서도 비교한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 많은 증예에서 고혈압군의 효소활성과 대조군의 그것 사이에 중첩되어 있음을 볼수 있었다.

4. Na⁺ 이동계와 BMI와의 관계

고혈압 환자 전체 대상군의 평균치에 가까운 BMI 22(kg/m²)를 기준으로 하여 그 이상인 군과 미만인 군의 Na⁺ 이동계를 비교하였던 바 22 이상인 군에서 미만인 군에 비하여 Na⁺-Li⁺ countertransport는 유의하게 증가되어 있었으나($p < 0.01$), Na⁺-K⁺-ATPase 활성은 양군에서 유의한 차이를 나타내지 않았다(Table 5).

5. Na⁺ 이동계와 혈압 및 장기침습정도(WHO 병기)와의 관계

혈압의 높이와 Na⁺ 이동계 사이에는 유의한

Table 4. ATPase activity in red blood cells of patients with essential hypertension and controls

Group	n	Total	Ouabain-insensitive	Ouabain-sensitive
(μmol/mg protein.hr)				
Hypertensive	30	21.0 ± 1.38	12.78 ± 0.68	8.72 ± 0.80
Controls	20	25.28 ± 0.78	12.86 ± 0.85	12.79 ± 0.52
P values		< 0.05		

Data are mean ± SE, n : number of subjects.

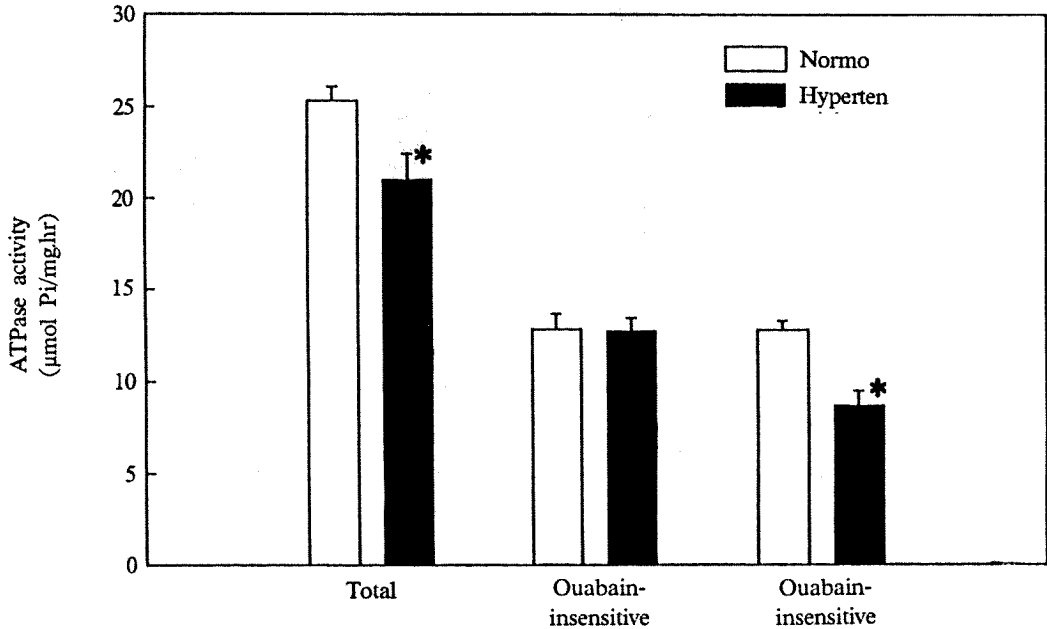


Fig. 3. ATPase activity in red blood cells of normotensive(n=20) and hypertensive(n=30) subjects. Values are mean ± SE.

상관관계를 나타내지 않았다(Table 6).

WHO 병기와의 관계에 있어서 I기군에 비하여 II기군에서 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport는 각각 66.38 ± 9.44 와 $60.56 \pm 4.76 \mu\text{mol/L cells.hr}$ 로서 유의성있는 차이를 나타내지 않았으나 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성은 두 군에서 각각 9.75 ± 1.42 와 $7.80 \pm 1.01 \mu\text{mol Pi/mg.hr}$ 로서 유의한 차이를 나타내었다($p < 0.05$, Table 7). III기에 속한 환자는 단지 3예 뿐이어서 분석에서 제외 하였다.

6. Na^+ 이동계와 혈장지질 함량과의 관계

혈장내 cholesterol 농도를 우리나라 국민 전체 정상인 평균치에 가까운 180mg/dl 을 기준으로 하여 그 이상인 군과 미만인 군으로 고혈압 환자를 구분하여 비교하여 보았는데 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertrans-

port는 양 군에서 유의한 차이를 인정할 수 없었으나 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성은 180mg/dl 이상인 군에서 유의한 억제를 나타내었다($p < 0.01$). 그리고 triglyceride에 있어서는 관찰군 전체 평균치인 200mg/dl 을 기준으로 할때 그 이상인 군에서 미만인 군에 비하여 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport는 유의하게 증가, 그리고 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성은 유의하게 억제되어 있었다($p < 0.05$, Table 8).

고 안

많은 연구자들이 본태성 고혈압 환자 적혈구에서 여러 Na^+ 이동계의 변화를 관찰 하였는데 이들 중 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport가 고혈압 환자에서

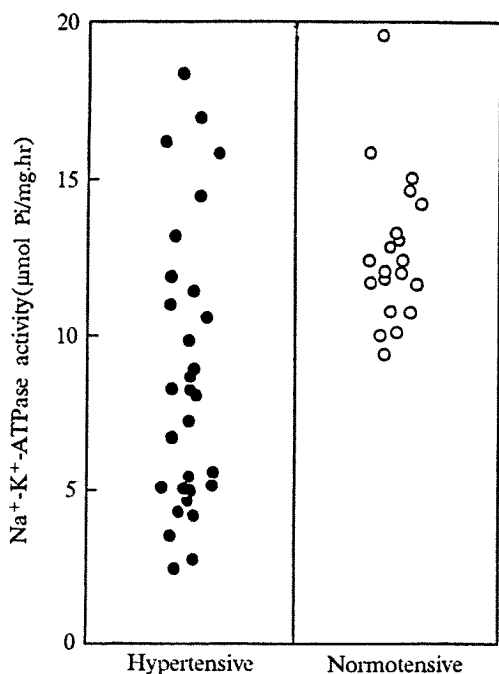


Fig. 4. Distribution of $\text{Na}^+\text{-Li}^+\text{-ATPase}$ activity in red blood cells of normotensive and hypertensive subjects.

정상인에 비하여 증가되어 있다는 보고들이 많으며^{2,10,11)}, 이 이동계의 변화가 고혈압 발생의 병인에 관계될지도 모른다는 가능성이 증대되고 있다²³⁾. 적혈구막에서 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport가 어떤 기능이나 역할을 가지고 있는지에 대해서는 명확히 알려지지 않았으나 Mahnensmith와 Aronson²⁴⁾은 적혈구막에 있는 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport와 신 근위세뇨관의 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ countertransport 사이에 많은 유사성을 확인하였다. 그들은 적혈구막에서의 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport의 증가는 동시에 신 근위세뇨관에서의 $\text{Na}^+\text{-H}^+$ countertransport의 증가를 의미하며 이는 Na^+ 재흡수를 증가하게 될 것이고 이러한 Na^+ 재흡수의 자극은 고혈압 병인으로

Table 6. Correlations of Na^+ transport with arterial blood pressure in patients with essential hypertension(Pearson correlation coefficients)

	$\text{Na}^+\text{-Li}^+$ Countertransport	$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ Activity
Systolic BP	0.0455	-0.2109
Diastolic BP	-0.0024	-0.3056

이어지게 될 수 있을 것으로 가정 하였다. 고혈압 환자의 적혈구에서의 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport의 변화는 그 자체가 고혈압을 유발하는 직접적인 원인은 아니다. 그러나 적혈구에서의 Na^+ 이동의 이상은 혈장 평활근에서의 Na^+ 이동의 이상을 반영하는 것이며, 나아가서 이러한 변화는 혈관 평활근을 수축하게 될 것으로 가정하고 있다. Blaustein²⁵⁾은 혈관 평활근 세포내 Na^+ 농도 변화는 $\text{Na}^+\text{-Ca}^{2+}$ 교환기전에 의해 세포내 Ca^{2+} 의 농도를 증가시키고 이로 말미암아 혈관 평활근의 긴장을 증가시키는 것으로 추측하였다. 본 연구에서 저자가 관찰한 고혈압 환자 적혈구에서의 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport는 정상인에 비하여 유의하게 증가되어 있었다. 그러나 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertransport의 분포 상태를 관찰한 결과 고혈압 환자와 정상 대조군의 분포사이에는 많은 대상에서 서로 그 이동율의 크기가 중첩되고 있어 고혈압 환자군 전 예에서 대조군보다 증가되어 있는 것은 아니었다. 적혈구막에서의 Na^+ 의 능동적 이동체인 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump 즉, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성이 본태성 고혈압 환자에서 어떤 변화가 있는지에 대해서는 보고자들에 따라 차이를 보이고 있다. Swarts등¹⁷⁾, Erdmann등²⁶⁾은 정상인과 ATPase 활성에 차이가 없다고 보고한 반면 Wambach등¹⁴⁾은 효소활성의 증가를, Aderounmu 와 Salako³⁾, Edmondsou¹⁵⁾등, Postnov등¹⁶⁾, Rahmann등²⁷⁾은 효소활성이 감소함을 보고하였다.

본 연구에서 본태성 고혈압 환자 적혈구에서

Table 5. Effects of BMI on Na^+ transport systems in patients with essential hypertension

BMI (kg/m ²)	$\text{Na}^+\text{-Li}^+$ Exchange		$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$	
	n	Flux (μmol/L cells.hr)	n	Activity (μmol Pi/mg.hr)
< 22	12	55.55 ± 3.78	17	8.35 ± 1.35
> 22	10	70.18 ± 2.46	13	9.00 ± 0.95
P values		< 0.02		NS

Data are mean ± SE, n : number of subjects, NS indicates nonsignificant difference.

Table 7. Relationship between Na⁺ transport systems and stage of hypertension by WHO classification

Stage	Na ⁺ -Li ⁺ Countertransport		Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	
	n	Flux ($\mu\text{mol/L cells.hr}$)	n	Activity ($\mu\text{mol Pi/mg.hr}$)
I	8	66.38 \pm 9.44	12	9.75 \pm 1.42
II	13	60.56 \pm 4.76	15	7.80 \pm 1.01
P value		NS		< 0.05

Data are mean \pm SE, n : number of subjects, NS indicates nonsignificant difference.

Table 8. Effect of plasma lipid concentrations on Na⁺ transport systems in patients with essential hypertension

Lipids (mg/dl)	Na ⁺ -Li ⁺ Countertransport		Na ⁺ -K ⁺ -ATPase	
	n	Flux ($\mu\text{mol/L cells.hr}$)	n	Activity ($\mu\text{mol Pi/mg.hr}$)
Cholesterol				
< 180	12	60.34 \pm 5.49	17	10.30 \pm 1.16
> 180	10	64.39 \pm 7.39	13	6.66 \pm 0.72
P values		NS		< 0.01
Triglyceride				
< 200	8	48.99 \pm 2.50	14	10.47 \pm 1.14
> 200	14	69.75 \pm 6.10	16	7.18 \pm 0.96
P values		< 0.05		< 0.05

Data are Mean \pm SE, n : number of subjects, NS indicates nonsignificant difference.

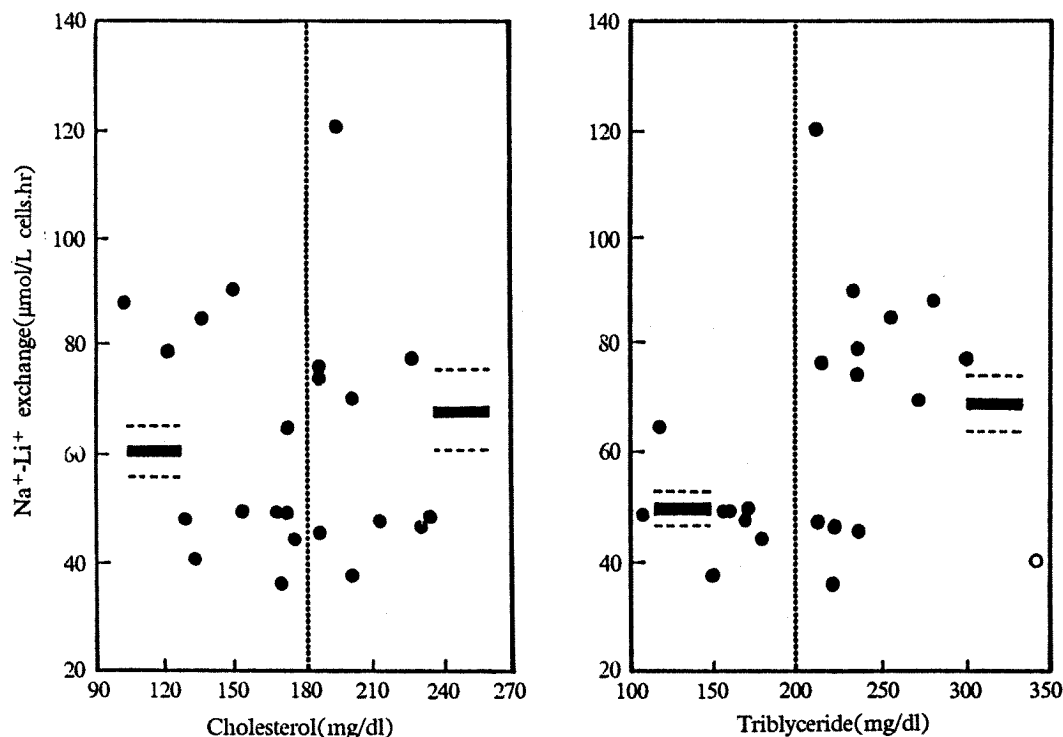


Fig. 5. Correlation between Na⁺-Li⁺ countertransport and plasma levels of cholesterol and triglyceride in hypertensive patients.

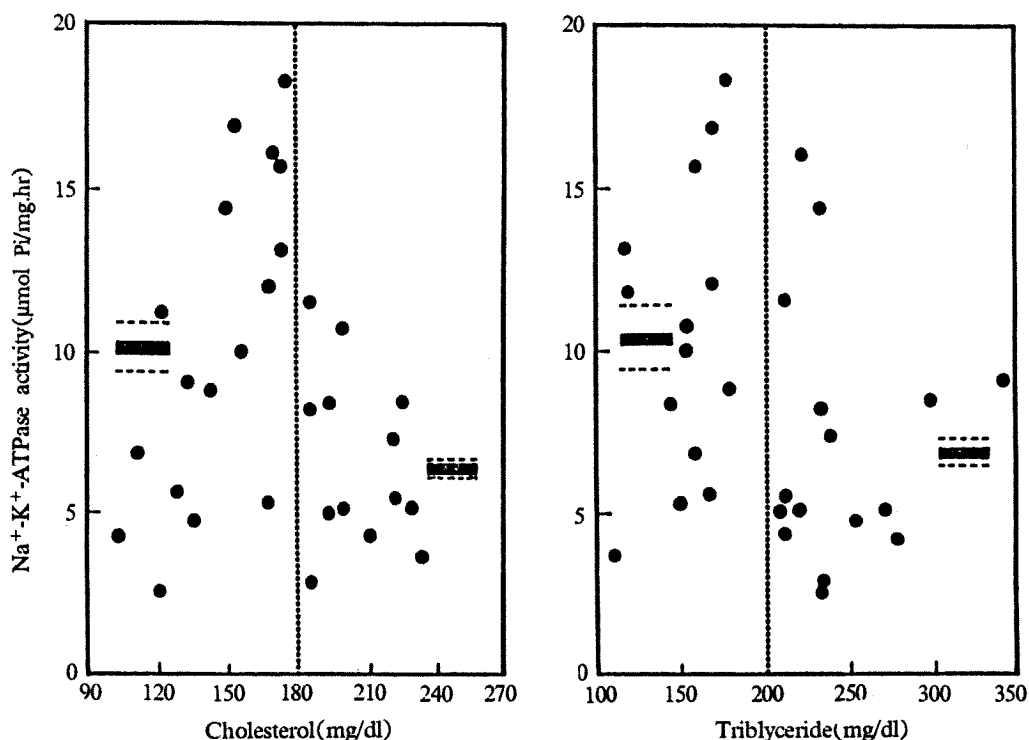


Fig. 6. Correlation between $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity and plasma levels of cholesterol and triglyceride in hypertensive patients.

측정한 ATPase 활성은 ouabain 존재하에서 나타나는 ouabain-insensitive 부분은 대조군에 비해 차이가 없었으나 ouabain-sensitive 부분 즉, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성은 유의하게 감소되어 있었다. 환자 및 대조군간에 효소활성의 분포상태를 관찰한 결과 여기서도 많은 대상에서 중첩되어 있어 개체에 따라 많은 차이가 있음을 보였다. ATPase 활성에 대한 연구 결과가 연구자들간에 차이가 나는데 대해서는 정확히 알수 없지만 ATPase 활성이 민족²⁸⁾, 임신 상태^{20,29)}, 피임약의 복용^{30,31)} 등에 따라서 차이가 날 수 있고, 측정하는 방법에 따라서도 다를 수 있기 때문²⁷⁾일 것으로 추측되고 있다. 적혈구막에 존재하는 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump의 억제가 고혈압의 발생과 관계를 가지게 되는 기전은 적혈구막에서의 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ pump의 억제가 혈관 평활근에서의 유사한 pump 활성 억제를 반영하는 것으로 유추하는 것이다. 실제로 혈관 평활근에 ATPase 활성을 억제하게 되면 수축이 유발된다는 것이 Blaustein과 그의 공동연구자들^{25,32)}에 의해 입증되었다. 또한 몇몇

연구자들³³⁻³⁷⁾은 실험적으로 유발한 여러 형태의 고혈압에서 ATPase 활성을 억제하는 물질이 혈장 내에 존재한다는 사실을 확인 하였다. De Wardner와 MacGregor^{38,39)}는 본태성 고혈압의 발생과정을 다음과 같이 추측하였다. 즉 신장에서 Na^+ 배설 장애가 생기고 그로 인해 체액이 증가하게 되면 혈관은 수축하고 ATPase 활성을 억제하는 물질이 순환혈액내로 유리하게 되며, 이 물질의 작용으로 체액은 정상으로 회복되나 고혈압이 유발되게 된다는 것이다.

본 실험에서 나타난 고혈압 환자 적혈구에서의 ATPase 활성의 감소는 효소활성의 억제 물질에 의해서 직접 나타난 결과는 아닐 것으로 생각한다. 왜냐하면 본 실험에서는 혈액내 억제 물질이 있었다 하더라도 ATPase 활성을 측정하기 전에 적혈구를 세척하였기 때문에 억제 물질에 의한 억제라기 보다는 세포막에 있는 효소자체의 활성 차이로 인정된다.

고혈압 환자 적혈구에서의 $\text{Na}^+\text{-Li}^+$ countertran-

sport의 증가가 BMI⁴⁰⁾ 또는 체중⁴¹⁾과 직접 상관 관계를 가진다는 연구보고들이 있다. 저자의 연구에서도 고혈압 환자군의 전체평균 BMI에 가까운 22 이상과 미만 군으로 구분하였을 경우 Na⁺-K⁺ pump 활성은 양군간에 유의한 차이가 없었으나 이상인 군에서 Na⁺-Li⁺ countertransport는 유의하게 증가를 보임으로서 적혈구 Na⁺ 이동의 변화가 BMI와 관련이 있음을 가르키고 있다.

또한 혈장내 지질 함량과 Na⁺-Li⁺ countertransport와 연구자들의 보고가 있는데 Hunt등⁴¹⁾과 Corrocher등⁴²⁾은 고혈압 환자에서 이 이동계의 증가와 cholesterol, 또는 triglyceride 및 HDL과 유의한 상관관계를 보였다고 하였으나 Adragna등⁴³⁾은 혈장 지질 중 cholesterol은 상관관계를 보이지 않으나 triglyceride 및 HDL은 유의한 상관관계를 나타낸다고 하였다. 최근에 Carr등⁴⁴⁾도 고혈압 환자 중에서 혈장내 지질 농도가 높은 환자에서 정상지질 농도를 가진 환자보다 Na⁺-Li⁺ countertransport가 더 증가되어 있음을 보고하였다. 저자의 연구 결과에 있어서도 혈장내 cholesterol은 180mg/dl 이상인 군에서 그 이하인 군에 비하여 Na⁺-Li⁺ countertransport는 유의한 차이가 없었으나 Na⁺-K⁺ pump 활성은 유의하게 억제된 것을 보였다. 그리고 triglyceride에 있어서는 200mg/dl 이상인 군에서 두 Na⁺ 이동계 모두에서 유의한 차이를 나타내어 전자는 증가, 후자는 억제를 보였다. 이러한 결과들은 혈장내 지질이 본태성 고혈압에서 Na⁺ 이동계의 변화에 어떤 역할을 할 가능성을 암시하고 있다.

많은 연구자들이 적혈구에서의 Na⁺ 이동을 연구하여 본태성 고혈압의 소인과 병인을 구명하기 위하여 많은 노력을 시도하였으나 아직도 그 결과는 만족하지 못한 상태이다. 본 연구에서도 고혈압환자의 적혈구에서 정상인에 비하여 Na⁺-Li⁺ countertransport가 유의하게 증가되어있고, Na⁺-K⁺ pump는 유의하게 억제되어 있으나 많은 대상에서 두 군간에 그 활성이 중첩되어 있어 적혈구에서의 Na⁺ 이동의 변화로서 본태성 고혈압의 소인이나 병인을 밝히는데 많은 어려움을 시사해준다. 이러한 원인은 적혈구에서의 Na⁺의 이동이 유전적 요인에 의해 변화될 수도 있지만 그외 환경적 요인이 중요하게 영향을 미치는 것²³⁾도 그 이유중의 하나라고 생각된다.

요 약

연구배경 및 방법 :

본태성 고혈압 환자 적혈구박의 Na⁺ 이동아. 정상인에 비해 어떤차이가 있는지를 알아보기 위해서 고혈압환자 30예, 정상대조군 20예를 대상으로 하여 Na⁺-Li⁺ countertransport 및 Na⁺-K⁺ pump를 측정하였고 아울러 이들 Na⁺ 이동계와 BMI, 혈압, 혈장지질 등과의 관계를 고찰하였다.

결 과 :

1) 적혈구내 Na⁺ 함량은 고혈압군과 대조군에서 각각 16.9 ± 1.4 과 14.2 ± 0.9 mmol/L cells 이었고, 적혈구내 K⁺은 양군에서 각각 77.8 ± 2.1 과 83.8 ± 2.8 mmol/L cells로서 양 군간에 Na⁺, K⁺ 모두 유의한 차이를 보이지 않았다.

2) Na⁺-Li⁺countertransport는 고혈압 환자 적혈구에서 62.2 ± 4.5 μmol/cell.hr 로서 대조군(46.8 ± 3.0 μmol/L cell.hr)에 비해 유의하게 증가되었고, Na⁺-K⁺ pump 활성은 고혈압 환자에서 8.72 ± 0.80 μmol Pi/mg.hr로서 대조군(12.79 ± 0.52 μmol Pi/mg.hr)에 비해 유의하게 억제되었다. 그러나 이들 Na⁺-Li⁺ countertransport 및 Na⁺-K⁺ ATPase활성의 분포상태를 관찰한 결과 많은 증예에서 고혈압군과 대조군 사이에 중첩되어 있음을 볼수있다.

3) 고혈압 환자에서 주요 임상요인들과 Na⁺이동계와의 관계에 있어서는 Na⁺-Li⁺ countertransport는 BMI 및 triglyceride의 농도가 높은 군에서 낮은 군에 비하여 유의하게 증가되어 있는 반면, Na⁺-K⁺ pump는 고혈압의 병기(WHO)가 진행된 군에서, 그리고 cholesterol 및 triglyceride농도가 높은 군에서 낮은 군에 비하여 유의하게 억제되어 있음을 보였다. 그러나 혈압의 정도와 이들 두 Na⁺ 이동계 사이에는 유의한 상관 관계를 보이지 않았다.

결 론 :

이상의 결과를 종합하면 고혈압 환자에서 Na⁺-Li⁺ countertransport 및 Na⁺-K⁺ pump 활성의 변화가 인정되며 이들은 BMI, 고혈압 병기, cholesterol 및 triglyceride 농도 등에 의하여 영향을 받고 있음을 알수 있었다. 그리고 정상인과의 사이에 중첩이 많음으로 개체에 따라 차이가 있음을 알 수 있다.

따라서 본태성 고혈압환자 적혈구에서의 Na^+ 이동이 선천적인 개체의 차이와 후천적인 여러 인자들에 의하여 영향을 받는 것으로 시사되었다.

References

- 1) Dahl LK : Salt intake and hypertension. In : *Hypertension*, edited by Genest, J Koiw, E Kuchel, O, pp548-559, New York : McGraw-Hill 548, 1977
- 2) Canessa M, Adragna N, Solomon HS, Connolly B and Tosteson DC : Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 302 : 772-776, 1980
- 3) Walter U and Distler A : Abnormal sodium efflux in erythrocytes of patients with essential hypertension. *Hypertension* 4 : 205-210, 1982
- 4) Garay RP : Kinetic aspects of red blood cell sodium transport systems in essential hypertension. *Hypertension* 10 : 1-14, 1987
- 5) Losse H, Wehmeyer H, Wessels F : Der Wasser- und Elektrolyt-gehalt von Erythrozyten bei arterieller Hypertonie. *Klin Wochenschr* 38 : 393-395, 1960
- 6) Aderounmu FA and Salako LA : Abnormal cation composition and transport in erythrocytes from hypertensive patients. *Eur J Clin Invest* 9 : 369-375, 1979
- 7) Tedde R, Sechi LA, Marigliano A and Campus S : Sodium concentration in erythrocytes in arterial hypertension. *J Hypertens(suppl 2)* 1 : 140-151, 1983
- 8) Ringel RE, Hamlyn SM, Schaeffer J, et al : Red cell cotransport activity and sodium content in black men. Relationship to essential hypertension. *Hypertension* 6 : 724-730, 1984
- 9) Garay RP and Meyer P : A new test showing abnormal net Na^+ and K^+ fluxes in erythrocytes from essential hypertensive patients. *Lancet* 1 : 349-353, 1979
- 10) Turner S, Boerwinkle E, Johnson M, Richelson E and Sing C : Sodium-lithium countertransport in ambulatory hypertensive and normotensive patients. *J Hypertens* 1 : 24-34, 1987
- 11) Adragna N, Canessa M, Solomon HS, Salter E and Tostenson DC : Red cell sodium-lithium countertransport and sodium cotransport in patients with essential hypertension. *Hypertension* 4 : 795-804, 1982
- 12) 김원배 · 오병희 · 김성연 · 이영우 : 본태성 고혈압 환자에서 적혈구막의 Na^+ - Li^+ countertransport. 대한내과학회잡지, 부록 155, 1989
- 13) Canessa M, Spalvins A, Adragna N and Falkner B : Red cell sodium countertransport and cotransport in normotensive and hypertensive blacks. *Hypertension* 6 : 344-351, 1984
- 14) Wambach G, Helber A, Bonner G and Hummerich W : Natrium-Kalium-ATPase-Aktivitat in Erythrozytenghost und Elektrolytkonzentrationen in Erythrozyten von Patienten mit essentieller Hypertonie. *Verh Dtsch Ges Inn Med* 84 : 800-805, 1979
- 15) Edmondson RPS, Thomas RD, Hilton PJ, Patrick J and Jones NF : Abnormal leukocyte composition and sodium transport in essential hypertension. *Lancet* 3 : 1003-1009, 1975
- 16) Postnov YV, Orlov SN, Shevchenko A and Adler AM : Altered sodium permeability, calcium binding and Na-K-ATPase activity in red blood cell membrane in essential hypertension. *Pflugers Arch* 371 : 263-269, 1977
- 17) Swarts HGP, Bonting SL, De Pont JJHMM, Schuurmans Stekhoven FMAH, Thien TA and Vant'T Laar A : Cation Fluxes and $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)$ -activated ATPase activity in erythrocytes of patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens* 3 : 831-838, 1981
- 18) Tuck ML, Gross C, Maxwell MH, Brickman AS, Krasnoshtein G and Mayes D : Erythrocyte $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ cotransport and Na^+ , K^+ pump in black and caucian hypertensive patients. *Hypertension* 6 : 536-544, 1984
- 19) Hannaert PA and Garay RP : A kinetic analysis of Na-Li countertransport in human red blood cells. *J Gen Physiol* 87 : 353-368, 1986
- 20) Cole CH and Waddel RW : Alteration in intracellular sodium concentration and ouabain-sensitive ATPase in erythrocytes from hyperthyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab* 42 : 1056-1062, 1976
- 21) Fiske CH and Subbarow Y : The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66 : 375-400, 1926
- 22) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 267-275, 1951

- 23) Canessa M, Brugnara C and Escobales N : *The Li^+ - Na^+ exchange and Na^+ - K^+ - Cl^- cotransport systems in essential hypertension*. *Hypertension*, 10 (suppl 1) : 1-4-I-10, 1987
- 24) Mahnensmith RL and Aronson PS : *The plasma membrane sodium-hydrogen exchanger and its role in physiological and processess*. *Circ Res* 56 : 773-778, 1985
- 25) Blaustein MP : *Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension : a reassessment and a hypothesis*. *Am J Physio* 232 : 165-173, 1977
- 26) Erdmann E, Werdan K, Hegelberger R, Pruchniewski M and Christl ST : *Determination of the number of Na^+ - K^+ -ATPase molecules, their enzymatic activity and the active Na^+ / K^+ -transport of human erythrocytes in hypokalemia and hypertension*. In : *Intracellular elecrolytes and arterial hypertension*. edited by Zunkley H, Loose H, pp164-195, New York, Thieme-Stratton, 1980
- 27) Rahmann M, Koh H, Primera MI, Greco FD and Quintanilla AP : *Na-K-adenosine triphosphatase and cation content in the erythrocyte in essential hyprrtension*. *J Lab Clin Med* 107 : 337-341, 1986
- 28) Lasker N, Hopp L, Grossmann S, Bamforth R and Aviv A : *Race and sex differences in erythrocyte Na^+ , K^+ and Na^+ - K^+ -adenosine triphosphatase*. *J Clin Invest* 75 : 1813-1820, 1985
- 29) Lowenstein JM : *Increased rubidium uptake by red cells during pregnancy*. *Am J Physio* 203 : 1191-1197, 1963
- 30) Aronson JK, Moore MP, Redman CWG and Harper C : *Sodium-lithium countretransport in erythrocytes of pregnant women*. *N Engl J Med* 307 : 1645, 1982
- 31) Smith JB, Ash KO, Hntschel WM, Worley RJ, Astle CD and Williams RR : *Sodium-lithium countertransport in erythrocytes of pregnant women*. *N Engl J Med* 307 : 1645, 1982
- 32) Hamlyn JM, Ringel R, Schaeffer J, Levinson RD, Hamilton BP, Kowarski AA and Blaustein MP : *A circulating inhibitor of (Na^+ - K^+) ATPase associated with essential hypertension*. *Nature* 300 : 650-652, 1982
- 33) Haddy FJ, Pamnani MB and Clough DI : *Humoral factors and the sodium-potassium pump in volume expanded hypertension*. *Life Sci* 24 : 2105-2109, 1979
- 34) Gonick HC, Kramer HJ, Paul W and Lu E : *Circulating inhibitor of sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase after expansion of extracellular fluid volume in rats*. *Clin Sci Mol Med* 53 : 329, 1977
- 35) Overbeck HW, Pamnani MB, Akera T, Brody Mol Med, Haddy FJ : *Depressed function of a ouabain-sensitive sodium-potassium pump in blood vessels from renal hypertensive dogs*. *Circ Res* 38(suppl 2) : 11-48, 1976
- 36) Pamnani MB, Clough DC and Haddy FJ : *Altered activity of the Na^+ - K^+ pump in arteries with steroid hypertension*. *Clin Res* 26 : 511A, 1978
- 37) Gruber KA, Rudel LL and Bullock BC : *Increased circulating levels of an endogenous digoxin-like factor in hypertensive monkeys*. *Hypertension* 4 : 348-353, 1982
- 38) De Wardener HE and MacGregor GA : *Dahl's hypothesis that a saluretic substance may be responsible for a sustained rise in arterial pressure : Its possible role in essential hypertension*. *Lancet* 2 : 1450-1459, 1982
- 39) De Wardener HE, MacGregor GA : *The natriuretic hormone and essential hypertension*. *Lancet* 2 : 1450-1459, 1982
- 40) Trevisan M, Ostrow D, Cooper R, Liu K, Sparks D, Okoneck A, Stevens E, Marquardt J and Stamiller J : *Abnormal red blood cell ion transport and hypertension. The people's gas company study*. *Hypertension* 5 : 363-367, 1983
- 41) Hunt SJ, Willams R, Smith JB and Ash KO : *Association of 3 red blood cell cation transport systems with plasma lipids in utah subjects*. *Hypertension* 8 : 30-36, 1986
- 42) Corrocher R, Steinmayr M, Ruzzenente O, Brugnara C, Bertinato L, Mazzi M, Furri C, Bonfanti C and De Sandre G : *Elevation of red cell Na-Li CT in hyperlipidaemias*. *Life Sci* 36 : 649-655, 1985
- 43) Adragna N, Chang S, Morey M and Willams R : *Effects of exercise on cation transport in human red cells*. *Hypertension* 7 : 132-139, 1985
- 44) Carr SJ, Thomas TH, Laker MF and Wilkinson R : *Elevated sodium-lithium countertransport : a familial marker of hypertipidaemia and hypertension*. *Hypertension* 8 : 139-146, 1990