

토끼의 혈장내 Aldosterone 농도에 미치는 Aspirin 과 Furosemide 의 영향

가톨릭의과대학 약리학교실

서영진 · 이권행 · 김옥녀 · 이상복 · 조규철

=Abstract=

Effects of Aspirin and Furosemide on Plasma Aldosterone Level in Rabbits

Y.J. Suh, K.H. Lee, O.N. Kim, S.B. Lee and K.C. Cho

Department of Pharmacology, Catholic Medical College

It has been generally recognized that the secretion of aldosterone is mainly regulated by angiotensin II in animals and humans, however, potassium and ACTH are also proposed as other humoral factors involved in the aldosterone secretory process.

Recently, stress, anesthesia, adrenergic stimulation, low sodium intake or water deprivation stimulate plasma renin activity, while high sodium intake and deoxycorticosteroid have been reported to cause suppression of renin activity in animals. It seems that overall response of aldosterone secretory mechanisms reflects complex interactions both intrarenal and extrarenal components.

Furosemide has been widely used to investigate the control of renin secretion by the kidney, and the relationship between diuretics and the disposition of endogenous aldosterone were reported(Oh, 1984).

The sequential with 10 min interval samples of plasma were collected following administration of furosemide(1 mg/kg), aspirin(10 mg/kg), respectively. And also similar experiment was performed in the propranolol(10 mg/kg) pretreated rabbits.

The results were as follows:

1) The concentration of plasma aldosterone was average of 426.1~485.5 pg/ml in normal rabbits. Plasma concentrations of aldosterone rised significantly after injection of furosemide during 50 min, and the rise of plasma aldosterone was blocked by the propranolol pretreatment.

2) Significant fall in the plasma level of aldosterone after injection of aspirin was noted.

This result indicates that the increased secretion of aldosterone induced by furosemide administration is mediated through β -receptors, and the possible role of prostaglandin is substantiated.

* 본 연구의 일부는 1984년도 가톨릭중앙의료원 학술연구 조성비로 이루어졌음.

머 리 말

재 료 및 방 법

부신의 실유대(zona fasciculata)에서 분비되는 glucocorticoids가 주로 뇌하수체의 ACTH의 조절을 받는 것(Yates & Urguhart, 1962)과는 대조적으로 부신의 사구대(zona glomerulosa)에서 분비되는 aldosterone은 주로 RAS(renin-angiotensin-system)와 혈중 전해질의 농도등에 의해 조절을 받는다고 보고 있다(Ganong et al., 1966).

Aldosterone의 분비 조절 요인 가운데 특히 angiotensin II가 가장 중요한 것으로 인식되고 있는데(Feldberg & Lewis, 1964; Pardo et al., 1965) 혈중 sodium 저하나 potassium 증가시 부신피질에서 aldosterone 분비가 증가되는(Bojesen, 1966) 기전이 angiotensin II의 농도가 증가되기 때문(Boyd et al., 1972)이라고 보고되었다.

Angiotensin II는 신장의 방사구체(juxtaglomerular apparatus)에서 여러가지 요인으로 유리되는 renin(Daris, 1971)에 의해 전구체인 angiotensinogen으로부터 형성된다.

신장 원위세뇨관내의 sodium 농도의 저하도 renin 유리의 요인이 되며(Vander, 1967) 교감 신경계의 β -수용체가 방사구체에 존재하는 것도 보고되어 있다(Winer et al., 1969).

그러나 angiotensin II의 직접주입에 의한 aldosterone 분비 향진의 정도가 sodium 결핍에 의한 aldosterone 분비향진보다 약한 경우가 있어서(Blair-West et al., 1963; Bojesen, 1966; Oelkers et al., 1975) 혈중 전해질의 농도의 변화에 의한 aldosterone의 분비 변동이 반드시 renin-angiotensin계에 의한 것만이 아니고 다른 어떤 요인이 작용하는 것인지의 여부가 중요한 연구과제가 되었다.

뇌하수체를 적출한 쥐에서(Palmore et al., 1970)나 뇌하수체 기능저하증의 환자에서(Williams et al., 1971) sodium 결핍에 의한 aldosterone의 분비향진의 정도가 정상에 비해서 현저하게 감소한다는 보고가 있다.

저자는 furosemide로 급격한 생체내의 전해질 평형에 변동을 야기시킬 경우와 propranolol 전처치 및 aspirin을 투여할때 혈중 aldosterone의 농도에 어떤 변동이 야기될 것인가를 알아보고저 본 실험을 시도하였다.

실험동물은 건강한 2.0 kg 내외의 토끼를 암수 구별 없이 사용하였다.

실험동물은 다음과 같은 4군으로 나누었다.

- 1) 대조군(생리식염수 0.5 mg/kg 주사)
- 2) Furosemide(1 mg/kg) 정맥주사군
- 3) Propranolol(10mg/kg) + Furosemide(1mg/kg) 주사군
- 4) Aspirin(10 mg/kg) 정맥주사군

토끼는 체중 kg 당 25% urethan을 5 ml씩 복강내에 주사하여 마취한 후 고정대 위에 배위(背位)로 고정된 다음 경부의 털을 제거하고 기관을 노출하여 cannula를 삽입하여 호흡을 원활하게 하였으며 좌측 대퇴정맥과 동맥을 각각 노출하였다. 대퇴정맥에는 polyethylene tube(No. 21)를 삽입하여 생리식염수를 0.5 ml/min/kg의 속도로 주입하였다.

대퇴동맥에는 polyethylene tube(No. 19)를 삽입하여 heparin 용액(200 unit/ml)을 채웠던 주사기에 연결하여 채혈이 필요할 때마다 사용하였다.

혈액은 10분마다 매번 2ml씩 채혈한 후 좌측대퇴정맥을 통하여 같은 용량의 생리식염수를 보충해 주었고 채혈한 혈액은 즉시 혈장을 분리하여 필요한 분석을 시행하였다.

Aldosterone의 측정에는 RIA kit(Abbott Lab. Chicago, U.S.A.)를 사용하여 다음과 같은 요령으로 시행하였다.

Plasma를 시험관에 100 μ l씩 duplicate로 취한 후 125 I-aldosterone(0.09 μ Ci/ml) 100 μ l와 혼합한 다음 antiserum 500 μ l를 가하고 5초간 vortex mixing한 다음 20~30°C에서 3시간동안 incubation하였다. 다음으로 polyethyleneglycol 1 ml를 가하여 10초간 혼합한 후 1,700 xg에서 15분간 원심분리하여 상등액은 버리고 침전물을 취하여 gamma counter로 방사능을 측정하여 standard curve에 의해 농도를 구하였다.

본 실험에 사용한 약물은 furosemide(Laxis, 한독약품, 한국), aspirin(유한양행, 한국), propranolol(Merck, U.S.A.) 및 각종 측정에 사용되는 표준품시약들이었다.

모든 실험성적은 평균과 표준편차로 표시하고 유의성은 t-test로 판정하였다.

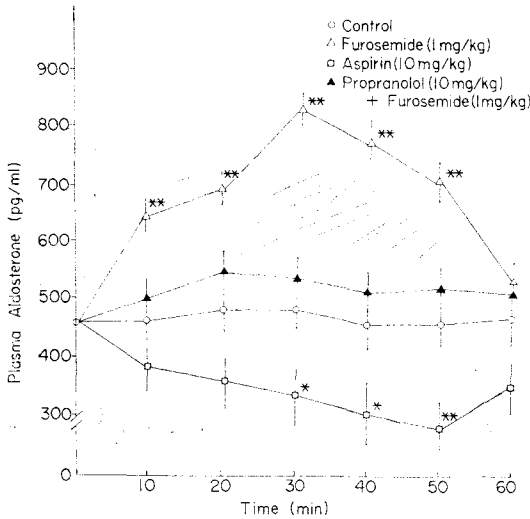


Fig. 1. Effect of furosemide, aspirin and furosemide with propranolol pretreatment on the aldosterone concentration of plasma in rabbits.

**p<0.01 *p<0.05

number in parenthesis: number of animals

성 적

1) 혈중 aldosterone 농도

각약물을 투여한 후 혈중 aldosterone 의 농도의 변동을 Fig. 1에 제시하였다.

대조군의 혈중 aldosterone 농도는 평균 426.1~485.5 pg/ml 이었다.

Furosemide 투여군에서 aldosterone 의 혈중농도는 약물투여후 10분에 평균 640.1 pg/ml(p<0.01), 20분에 평균 681.6 pg/ml(p<0.01), 30분에 평균 813.4 pg/ml(p<0.01), 40분에 평균 774.6 pg/ml(p<0.01), 50분에 평균 711.6 pg/ml(p<0.01)로 각각 해당시간의 대조군에 비해 유의한 증가를 나타냈으며 60분에는 평균 512.4 pg/ml로 거의 대조군과 비슷한 값이 되었다.

Aspirin 투여군에서 혈중 aldosterone 농도는 약물투여후 10분, 20분, 30분, 40분, 50분 및 60분에 각각 평균 388.5 pg/ml, 381.2 pg/ml, 340.4 pg/ml(p<0.05), 301.5 pg/ml(p<0.05), 282.6 pg/ml(p<0.01) 및 352.3 pg/ml로 30분, 40분 및 50분에 대조군보다

유의하게 낮았다.

Propranolol을 전처치후 furosemide를 투여한 군에서는 약물투여후 10분, 20분, 30분, 40분, 50분 및 60분의 혈중 aldosterone 농도가 각각 평균 491.3 pg/ml, 521.4 pg/ml, 515.6 pg/ml, 501.2 pg/ml, 504.4 pg/ml 및 501.0 pg/ml로 대조군과 유의한 차가 없었다.

고 찰

신장의 원위세뇨관에서 sodium 재흡수를 촉진시키는 호르몬이 aldosterone임이 밝혀진(Simpson et al., 1954)이후 aldosterone 은 부신피질의 사구대에서 주로 합성되며(Girond et al, 1956) 정상인의 하루 생산량은 평균 150 μg 정도이나 식사, 성별등에 따른 차이가 많아서 대체로 하루에 50~350 μg 정도가 생성분비된다고 보고되었다(Cope et al., 1961; Flood, 1961; Larragh et al., 1966). 이중 약 5%정도인 10 μg 정도가 신장으로 배설되고 나머지는 간에서 대사된다고 한다(Ayres et al., 1958; Ulick et al., 1958).

수분의 결핍, 출혈, 염류제한등의 조건아래서 aldosterone 의 분비는 현저하게 증가되며(Bartter, 1957; Cox et al., 1959; Fine et al., 1958) 반대로 고염류식이나 고장용액 혹은 albumin 등의 주입시 aldosterone 의 분비는 감소한다(Bartter, 1957; Muller et al., 1956).

이같은 aldosterone 의 분비항진이나 감소를 조절하는 기전이 현재까지 알려진 바로는 angiotensin II(Larragh et al., 1960; Davis et al., 1961; Carpenter et al., 1961), potassium(Blair-West et al., 1963; Gann et al., 1964; Dluhy et al., 1972)과 ACTH(Giroud et al., 1956; Kaplar and Bartter, 1962)의 3가지로 보고 있다.

본 실험에서 furosemide를 투여한 직후에 혈중 aldosterone 의 농도가 급격히 상승하였다. Furosemide는 신세뇨관에서 특히 Henle's loop의 상행자에서 Cl⁻의 재흡수를 선택적으로 차단하여 이뇨작용이 나타나는 것으로 알려져 있다(Burg et al., 1973). 따라서 원위세뇨관근방의 방사구체에 도달되는 세뇨관강내의 Na 농도는 고장액이 되어 있으므로 renin 분비는 오히려 감소될 것으로 예상되나(Vander, 1967) 본 실험결과는 그 반대로 나타났다. 이같은 현상은 방사구대에 furosemide가 직접 작용해서 renin의 분비를 촉진시

키든지 아니면 부신피질에 직접 작용하여 부신의 사구대에서 aldosterone의 분비를 촉진시켰다고 볼 수 있다.

Lush 등(1983)은 무마취상태의 양에서 furosemide가 renin 유리를 시키지 못하나 마취상태의 양에서는 현저한 renin 분비증강이 나타남을 관찰하고 방사구대의 Na⁺수용체가 여러가지 요인 특히 prostaglandin의 매개로 영향을 받는 것 같다고 시사한바 있다.

본 실험에서 aspirin 투여로 혈중 aldosterone 농도가 유의하게 감소한 사실은 이같은 주장을 뒷받침한다고 본다.

그러나 본 실험에서 propranolol을 전처치하고 furosemide를 투여하였을 경우 furosemide 단독 투여로 야기되는 혈중 aldosterone 농도의 상승이 완전히 차단되는 것으로 보아서 방사구대의 β 수용체는 교감신경의 β 수용체와 밀접한 관계가 있음을 시사한다.

Propranolol 전처치후 aldosterone의 변동은 차단되었음에도 불구하고 furosemide의 이노작용은 변화없이 나타난 사실로도 명백하다(오창규, 1984).

이같은 실험결과를 볼 때 macula densa 수용체(Meger et al., 1968)의 활성이 Na⁺농도이외에 교감신경계의 β 수용체와도 유관할 것임을 시사한 Stella & Zambetti(1977)와 prostaglandin 합성과도 유관함을 시사한 보고(Bailie et al., 1976)들처럼 복합적인 작용기전을 가지고 있는 듯하며 중추신경계의 직접조절도 배제할 수 없는 문제(Lush et al., 1983)이기 때문에 앞으로 더 연구가 필요하다고 생각된다.

맺 음 말

토끼에 furosemide(1 mg/kg) 및 aspirin(10 mg/kg)를 각각 정맥내 투여하였을 때와 propranolol(10 mg/kg)을 전처치하고 furosemide(1 mg/kg)를 투여하였을 때 혈중 aldosterone 농도에 어떤 변동이 나타나는가를 비교 관찰하여 부신피질에서 aldosterone이 분비되는 기전에 대한 영향을 알아보도록 실험을 실시한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 혈중 aldosterone의 농도는 정상군에서 평균 426.5~485.5 pg/ml이었다. Furosemide 투여군에서 혈중 aldosterone 농도는 급격한 상승을 나타냈었으며 50분동안 유의한 증가를 보였다. Propranolol 전처치로 이같은 furosemide에 의한 혈중 aldosterone 농도의 증가가 차단되었다.

2) aspirin의 정맥주사는 혈중 aldosterone 농도를

현저하게 감소시켰다.

이상의 결과로 aldosterone 분비는 furosemide로 촉진되며 그 기전은 β 수용체를 매개한 것으로 사료되는 동시에 prostaglandin도 중요한 역할을 하는 것으로 본다.

REFERENCES

- Ayres, P.J., Barlow, J., Garrod, O., Kellie, A.E., Tait, A.A., Tait, J.F. & Walker, G.: *The metabolism of (16-³H) aldosterone in man*. p. 73, *aldosterone*, London, Churchill, 1958.
- Bailie, M.D., Crosslan, K. & Hook, J.B.: *Natriuretic effect of furosemide after inhibition of prostaglandin synthetase*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 199:469-476, 1976.
- Bartter, F.C.: *The role of aldosterone in the regulation of body fluid volume and composition*. *Scand. J. Clin. Invest. Supple.*, 50:28-32, 1957.
- Blair-West, J.R., Coghalan, J.P., Denton, D.A., Gooding, J.R., Wintour, M. & Wright, R.D.: *The control of aldosterone and corticosterone secretion*. *Recent Progr. Horm. Res.*, 19:311-383, 1963.
- Bojesen, E.: *Concentration of aldosterone and corticosterone in peripheral plasma of rats: the effects of sodium depletion, potassium loading and intravenous injections of renin and angiotensin II*. *Europ. J. Steroids.*, 1:145-169, 1966.
- Boyd, G.W., Adamson, A.R., Arnold M., James, V.H.T. & Peart, W.S.: *The role of angiotensin II in the control of aldosterone secretion in man*. *Clin. Sci.*, 49:91-104, 1972.
- Burg, M., Stoner, L., Cardinal, J. & Green, N.: *Furosemide effect on isolated perfused tubules*. *Am. J. Physiol.*, 225:119-124, 1973.
- Carpenter, C.C.J., Davis, J.O. & Ayers, C.R.: *Relation of renin, angiotensin II and experimental renal hypertension to aldosterone secretion*. *J. Clin. Invest.*, 40:2026-2042, 1961.
- Cope, C.L., Nicolis, G. & Fraser, B.: *Measurement*

- of aldosterone secretion rate in man by the use of a metabolite. *Clin. Sci.*, 21:367-380, 1961.
- Cox, J.R., Singer, B. & Verel, D.: *The relationship between urinary aldosterone, plasma volume, extracellular fluid volume and total body water.* *Clin. Sci.*, 18:569-578, 1959.
- Davis, J.O.: *What signals the kidney to release renin?* *Circ. Res.*, 28:301-306, 1971.
- Davis, J.O., Carpenter, C.C.J., Ayers, C.R., Holman, J.E. & Bahn, R.C.: *Evidence for secretion of an aldosterone-stimulating hormone by the kidney.* *J. Clin. Invest.*, 40:684-696, 1961.
- Decarvalho, J.G.R., Emery, A.C. & Frohlich, E. D.: *Spirolactone and triamterene in volume dependent essential hypertension.* *Clin. Pharmacol. Ther.*, 27:53-56, 1980.
- Dluhy, R.G., L. Axelrod, R.H. Underwood, & Williams, G.H.: *Studies of the control of plasma aldosterone concentration in normal man. II, Effect of dietary potassium and acute potassium infusion.* *J. Clin. Invest.*, 51:1950, 1972.
- Feldberg, W. & Lewis, G.P.: *The action of peptides on the adrenal medulla, Release of adrenaline by bradykinin and angiotensin.* *J. Physiol.(London)*, 171:98-108, 1964.
- Fine, D., Meiselas, L.E. & Auerbach, T.: *The effect of acute hypovolemia on the release of aldosterone and on the renal excretion of sodium.* *J. Clin. Invest.*, 37:232-243, 1958.
- Flood, C.: *Investigation of the urinary metabolites and secretion rates of aldosterone and cortisol in man and a description of methods for their measurement.* *Acta Endocr.*, 36:237-264, 1961.
- Gann, D.S., Delea, C.S., Gill, J.R., Thomas, J.P. & Bartter, F.C.: *Control of aldosterone secretion by change of body potassium in normal man.* *Am. J. Physiol.*, 207:104-108, 1964.
- Ganong, W.F., Biglieri, E.G. & Mulrow, P.J.: *Mechanisms regulating adrenocortical secretion of aldosterone and glucocorticoids.* *Recent Progr. Horm. Res.*, 22:381-422, 1966.
- Giround, C.J.P., Raffran, M., Schally, A.V., Stachens, P.J. & Venning, Z.H.: *Production of aldosterone by rat adrenal glands in vitro.* *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 92:855-859, 1956.
- Goldblatt, H.: *The renal origin of hypertension, Springfield, Ill., ed. Thomas, Pub, 1948.*
- Kaplan, N.M., & Bartter, F.C.: *The effect of ACTH, renin, angiotensin II and various precursors on biosynthesis of aldosterone by adrenal slices.* *J. Clin. Invest.*, 41:715-724, 1962.
- Laragh, J.H., Angers, M. Kelly, W.G. & Lieberman, S.: *Hypotensive agents and pressor substances.* *J.A.M.A.*, 74:234-240, 1960.
- Laragh, J.H., Sealey, J.E. & Sommers, S.C.: *Patterns of adrenal secretion and urinary excretion of aldosterone and plasma renin activity in normal and hypertensive subjects.* *Circ. Res.* 18-19; *Supple. 1*, 1966.
- Lush, D.J. Munday, K.A. & Noble, A.R.: *Furosemide fails to alter plasma active or inactive renin in conscious sheep but does so in anesthetized animals.* *J. Physiol.*, 340:57-75, 1983.
- Meyer, P., Menard, J., Papanicolaou, N., Alexander, J.M., Devaux, C. & Milliez, P.: *Mechanism of renin release following furosemide diuresis in rabbits.* *Am. J. Physiol.*, 215:908-915, 1968.
- Muller, A.F., Riodel, A.M. & Mach, R.S.: *Control of aldosterone excretion by changes in volume of body fluid.* *Lancet.*, 270:831-832, 1956.
- Oelkers, W., Schoenenschofer, M., Schultze, G., Brown, J.J., Fraser, R., Morton, J.J., Lever, A.F. & Robertson, J.I.S.: *Effect of prolonged low dose angiotensin II infusion on the sensitivity of adrenal cortex in man.* *Circ. Res.*, 36:49-56, 1975.
- 오창규 : 토끼의 aldosterone 분비에 미치는 몇가지 이노제의 영향. 가톨릭대학 의학부 논문집, 37: 749-759, 1984.
- Palmore, W.P., Anderson, R. & Mulrow, P.J.: *Role of the pituitary in controlling aldosterone production in sodium depleted rats.* *Endocrin.*, 86:728-733, 1970.

- Pardo, E.G., Bargas, R. & Virdrio, H.: *Antihypertensive drug action. Ann. Rev. Pharmacol.*, 5: 77-98, 1965.
- Simpson, S.A., Tait, J.F., Wettstein, A., Neher, R., Zuw, J., Schindler, O. & Reichstein, T.: *Konstitution des aldosterone, des neuen Mineralocorticosteroids. Experientia(Basel)*, 10: 132-141, 1954.
- Stella, A. & Zanchetti, A.: *Effects of renal denervation on renin release in response to tilting and furosemide. Am. J. Physiol.*, 232:H500-507, 1977.
- Ulick, S., Laragh, J.H. & Lieberman, S.: *The isolation of a urinary metabolite of aldosterone and its use to measure the rate of secretion of aldosterone by the adrenal cortex of man. Trans. Ass. Am. Physc.*, 71:225-235, 1958.
- Vander, A.J.: *Control of renin release. Physiol. Rev.*, 47:359-382, 1967.
- Williams, G.H., Rose, L.L., Dluhy, R.H., Dingman, J.F. & Lancer, D.P.: *Aldosterone response to sodium restriction and ACTH stimulation in panhypopituitarism. J. Clin. Endocr. Metab.*, 32:27-35, 1971.
- Winer, N., Chokshi, D.S. & Freedman, A.D.: *Adrenergic receptor mediation of renin secretion. J. Clin. Endocrinol.*, 29:1168-1175, 1969.
- Yates, F.E. & Urquhart, J.: *Control of plasma concentrations of adrenocortical hormones. Physiol. Rev.*, 42:359-375, 1962.
-