

신성 고혈압 가토에서 Adenosine 유사체가 신장기능에 미치는 영향

전북대학교 의과대학 생리학교실, 전남대학교 의과대학 소아과학교실* 및 수도통합병원 신경정신과**

마 재 숙* · 조 경 우 · 김 선 희
고 규 영 · 서 만 욱**

(1990년 4월 20일 접수)

= Abstract =

Effects of Unilateral Renal Arterial Infusion of Adenosine and Its Analogues on Renal Function in Two-Kidney One Clip Hypertensive Rabbits

Jae Sook Ma*, Kyung Woo Cho, Sunn Hee Kim,
Gou Young Koh and Man Wook Seo**

Department of Physiology, Jeonbuk National University Medical School, Jeonju
**Department of Pediatrics, Chonnam National University Medical School, Kwangju*
***Department of Neuropsychiatry, Sodo General Hospital*

Recently, it has been suggested that the endogenous adenosine may be the mediator for the intercellular communication in the regulation of tubuloglomerular feedback control and renin release. Even though two subclasses of adenosine receptors, A1 and A2, have been described, their functional roles are controversial. The present study was undertaken to clarify the role of adenosine receptors in hypertensive rabbit caused by clamping of renal artery.

Experiments were done in two-kidney one clip Goldblatt hypertensive rabbits (2K1GHR) and sham-operated normotensive rabbits. Adenosine, N6-cyclohexyladenosine (CHA) and 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA) were infused into a renal artery. The decreases in urine volume, renal blood flow, glomerular filtration rate and excreted amounts of electrolytes caused by adenosine and CHA were significantly attenuated in 2K1GHR. However, changes in renal function caused by A2 adenosine receptor agonist, NECA, tend to be accentuated in 2K1GHR.

These results suggest that the attenuation of renal effect caused by adenosine and A1 adenosine receptor agonist may be due to the modification of adenosine receptor in the kidney in Goldblatt hypertensive rabbits.

Key Words: Renal hypertension, Renal function, Renal hemodynamics, Adenosine

서 론

일측 신장이 절제된 one kidney Goldblatt 고혈압의 개 모형 (Miller et al, 1977)에서나 two-kidney one clip Goldblatt 고혈압의 백서모형 (2K1C GH)

(Coleman & Guyton, 1975)에서나 모두 고혈압의 초기에 angiotensin I-converting enzyme inhibitor (CEI)를 사용함으로써 고혈압 발생을 억제할 수 있음이 밝혀져 신성고혈압의 초기에 renin-angiotensin 계가 중요한 역할을 함이 밝혀졌다. 그러나 2K1C GH 백서모형의 후기에서는 angiotensin II 차단제

인 saralasin에 의하여 혈압하강을 관찰하지 못하였으며, 이는 고혈압의 유지가 renin과는 별개의 기전에 의함을 암시하고 있다. 신성고혈압의 발생 및 유지의 기전은 사용하는 동물, 일측 신장의 존재유무 등의 실험방법에 따라 차이가 있으며 (Bianchi & Ferrari, 1983), 이러한 경우 혈장 renin 활성화도 및 신장 renin 함량에도 차이 (Gross et al, 1964)가 있음이 알려져 있다. 그러나 실험적 신성고혈압의 경우 초기에는 혈장 renin 활성화도의 증가가 있음을 여러 학자들에 의하여 알려졌다 (Carretero & Gulati, 1978; Sen et al, 1979; Gross, 1971; Cho & Kim, 1982) 말기에는 고혈압의 상태에도 불구하고 혈장 renin 활성화도는 정상 또는 억제되어 있음이 보고되었다 (Carretero & Gulati, 1978; Sen et al, 1979; Gross, 1971). 백서 신성고혈압 모형에 있어 혈장 renin 활성화도는 신장 renin 활성화도와 깊은 관련이 있음이 보고 되었으며 (Cho & Kim, 1982), 또한 신장으로부터의 renin 유리는 신장 renin 함량과 밀접한 관련이 있음도 보고되었다 (Park et al, 1978; Cho, 1979; Brooks et al, 1978).

한편 Miller 등 (1978)은 ischemia와 같은 에너지 결핍시에 adenosine의 생성이 증가되어 신혈관을 수축시킨다고 보고하였다. 신성고혈압 야기시 가해지는 신동맥의 협착으로 인한 ischemia에 의해 adenosine이 증가될 것이며, 이 반대쪽 unclipped 신장의 adenosine 양은 어떻게 변화하며, 이에 의하여 어떠한 영향을 받을지는 아직 알려진바 없다. 신장의 기능을 수행하는 대사과정으로 생성된 adenosine은 일반적으로 대부분의 혈관을 이완시켜 장기내 혈류량을 증가시키나 (Hashimoto & Kumakura, 1965; Haddy & Scott, 1968) 신장에서는 혈관을 수축시켜 (Spielman & Thompson, 1982) 사구체여과율의 감소 (Arena et al, 1984; Osswald, 1986; Tagawa & Vander, 1970; Osswald et al, 1978; Spielman et al, 1986)와 아울러 신혈류량을 일시적으로 감소시킨 후에 증가시키는 biphasic 효과 (Arena et al, 1984; Osswald, 1986; Tagawa & Vander, 1970; Osswald et al, 1978; Spielman et al, 1986)를 야기한다고 알려져 있다. Spielman과 Thompson (1982)과 Osswald 등 (1980)은 adenosine이 전해질배설의 조절기전에 중요한 내재적 조절인자로서, tubuloglomerular

feedback 조절기전에 중요한 역할을 한다고 보고하였다.

최근 연구결과 세포막에는 두 종류의 adenosine 수용체가 존재함이 밝혀졌다 (Londos et al, 1978; Daly, 1982). Adenosine analogue 중 N-6-cyclohexyladenosine (CHA)는 A1-adenosine 수용체에, 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA)는 A2-adenosine 수용체에 선택적으로 작용함이 알려졌다. 이러한 adenosine 유사체는 세포내로 uptake되거나 쉽게 대사되지 않아 세포막에 존재하는 adenosine 수용체의 기능을 구명하는데 유용한 정보를 제공하였다.

저자들은 adenosine과 A1 및 A2 adenosine 수용체에 비교적 선택적으로 작용하는 adenosine 유사체를 신성고혈압 가토의 일측 신동맥내로 직접 투여하여 신장기능의 변화를 정상혈압을 가진 군과 비교 관찰함으로써 고혈압때 신장기능에 미치는 adenosine의 역할을 구명하고자 연구를 시도하였다.

실험재료 및 방법

실험동물은 체중 1.8 kg 내외의 New Zealand 백색 가토를 암수 구별없이 사용하였으며, 실험전 1주일간은 물과 사료를 충분히 주어 안정시킨 후 사용하였다.

1. Two-kidney one clip Goldblatt hypertensive rabbits (2 KIC GHR)

수술 전날 절식시킨 가토의 정맥내에 20 mg/kg의 thiopental sodium을 투여하여 마취시키고 배를 위로하여 고정대에 고정시킨 후 일측에 5~6 cm의 paramedian incision을 가하였다. 장을 생리적 식염수가 젖은 천으로 복강내에서 한쪽으로 밀어 좌측 신동맥을 조심스럽게 노출시켜 내경이 0.6 mm인 silver clip을 신동맥에 가하여 고정시킨 후 절개부위를 봉합하였다. 반대측 신장은 아무런 처치를 하지 않았으며 수술에서 완전히 회복되기를 기다려 토끼장에 넣어서 안정시켰다. Sham 수술군은 silver clip을 가하는 과정만 제외하고 동일한 방법으로 수술하였다. 수술 4주에 실험을 시작하였으며 실험당일까지 물과 사료를 충분히 주었다.

2. 일측 신정맥내 약물 투여

실험당일 20 mg/kg thiopental sodium을 정맥에 투여하여 마취시키고 고정대에 배를 위로하여 고정하였다. 이(耳)정맥에 24 G Neoflon needle tubing (Viggo, Sweden)을 통하여 hypotonic solution을 15 ml/kg/hr의 속도로 주입하였으며, 이때 사용한 용액의 조성은 glucose 3%, NaCl 0.3% 그리고 creatinine 0.3%였다. 중심이동맥에 polyethylene (PE)관을 삽입하여 필요에 따라 채혈하고, 전신동맥압은 중심이동맥에 삽입된 PE관에 Statham 압력 변환 장치를 연결하여 physiograph (MK IV, Narco Bio System, Huston, Texas, U.S.A.)에서 기록하였다. 집뇨는 하복부에 중앙절개를 하여 요관을 노출시키고 silicon관을 삽입하여 양측요를 각각 분리하여 채취하였다. 3시간동안 hydration 시킨 후 일측 신동맥내 직접 약물투여는 Cho등(1987b)의 방법을 변용하여 clip을 가하지 않은 우측신장에 약물을 주입하였다. 즉 PE관이 신동맥 분지 앞에 위치하도록 조작한 후 PAH 8 mg/kg을 priming하고 PAH 0.04%를 함유한 hypotonic solution으로 hydration시켰다. 요량이 일정해짐에 따라 10분 간격으로 양측뇨를 각각 3~4회 집뇨하여 대조치로 사용하였으며, 10분간 약물을 투여하고 계속하여 5~6회 집뇨하였다.

3. 약물투여

Adenosine, adenosine 유사체 중 A2 수용체 agonist의 대표적인 약물인 NECA와 A1 수용체 agonist의 대표적인 약물인 CHA를 일측 신동맥내 투여하였다. Adenosine은 saline에 녹여 1.0, 3.0, 10 nmole/min로, NECA는 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min로 10분간 투여하였으며, CHA는 10% ethylalcohol이 포함된 saline에 녹여 각각 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min로 10분간 투여하였다. 투여방법은 대퇴동맥 cannula를 Harvard infusion pump (Model 944, Harvard Apparatus, Millis, MA, U.S.A.)에 연결하여 주입속도 0.1 ml/min로 투여하였으며, 상기한 약물은 일정한 비율로 inulin이 들어있는 용액에 녹인 후 투여하여 실제 일측 신동맥내로 투여된량은 요중 배설되는 inulin량을 측정하여 산출하였다(Cho et al,

1987b). 약물투여전과 약물투여 후에는 생리적 식염수를 같은 속도로 계속해서 주입하였다.

4. 화학적 분석

채집한 요와 혈액의 화학적 분석중 PAH는 Smith등(1945)의 방법을 이용하여 발색시켰고, 사구체여과율을 보기 위해 측정된 creatinine은 Phillips(1964)의 방법을 이용하여 발색시켜 spectrophotometer로 측정하였으며, inulin 측정은 Vurek와 Pegram(1966)의 방법에 따른 fluorospectrophotometry에 의하였으며, Cl은 chloridometer (Model 4~2500, Buchler Ins., Fort Lee, NO, U.S.A.)를 사용하였고, osmolality 측정은 빙점강하를 이용한 osmometer (Model 3D II, Advanced Instruments Ins., Needham Heights, MA, U.S.A.)를 사용하였다.

5. Renin 활성도 측정을 위한 방사면역측정법

혈장 renin 활성도 (plasma renin activity, PRA) 및 신장내 renin 함량은 소량의 시료에 대량의 renin 기질을 사용하여 생성된 angiotensin I을 측정하는 plasma renin concentration (PRC)로 측정하였다 (Cho et al, 1987a; 1989).

Angiotensin I의 방사면역측정은 BSA를 포함한 Tris-a-cetate buffer (pH 7.40, 0.1 M)을 사용하는 일반적인 방법에 따라 실시하였다. 4°C에서 18~30시간 방치후 charcoal suspension (activated Norit A charcoal, 6.0 g; Dextran T-70, 0.625 g; phenylmercuric acetate, 34 mg; Tris-acetate buffer, pH 7.40, 0.1 M로 1 liter 되게 함)으로 bound form과 free form을 분리하였으며, gamma counter를 사용하여 radioactivity를 측정하였다.

6. 사용약물

사용한 약물 중 가토 및 우혈청 albumin, 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine, N-6-cyclohexyladenosine, adenosine, EDTA, 8-hydroxyquinoline, angiotensin I, phenylmethylsulfonyl fluoride, neomycin, Trizma, phenylmercuric acetate, maleic acid, creatinine, para-aminohippuric acid, inulin은 Sigma제 (Sigma Chemical Company, ST. Louis, MO, U.S.A.), Dextran T-70은 Pharmacia제 (Pharmacia Fine

Chemicals, Uppsala, Sweden), glucose 는 Fluka 제 (Fluka AG, CH-9470 Buchs, Switzland), Na 125-I는 Amersham제 (Amersham International Plc, Buckinghamshire, England)를 사용하였다.

7. 통계적 처리

실험의 통계적 처리는 Students t-test 및 ANOVA 와 Dunnett test에 의하였으며, P-value가 최소 0.05 의 값을 보이는 경우 유의한 차이의 한계로 삼았다. 실험치의 표현은 mean±SE로 하였다.

Table 1. Blood pressure (BP), plasma (PRC) and renal renin concentration (RRC) in two-kidney one-clipped hypertensive rabbit (2K1CHR).

	2K1CHR	Sham
Blood pressure (mmHg)	125.50±3.43** (n=20)	98.50±3.85 (n=10)
PRC (ngAI/ml/h)	21.40±5.72 (n=21)	16.25±3.42 (n=10)
RRC (ngAI/mg/h)	876.60±227.60*	234.25±20.25
	Clipped (n=12)	Unclipped (n=10)

Values are the mean±SE. *Significantly different from sham-operated rabbits, *p<0.05, **p<0.01.

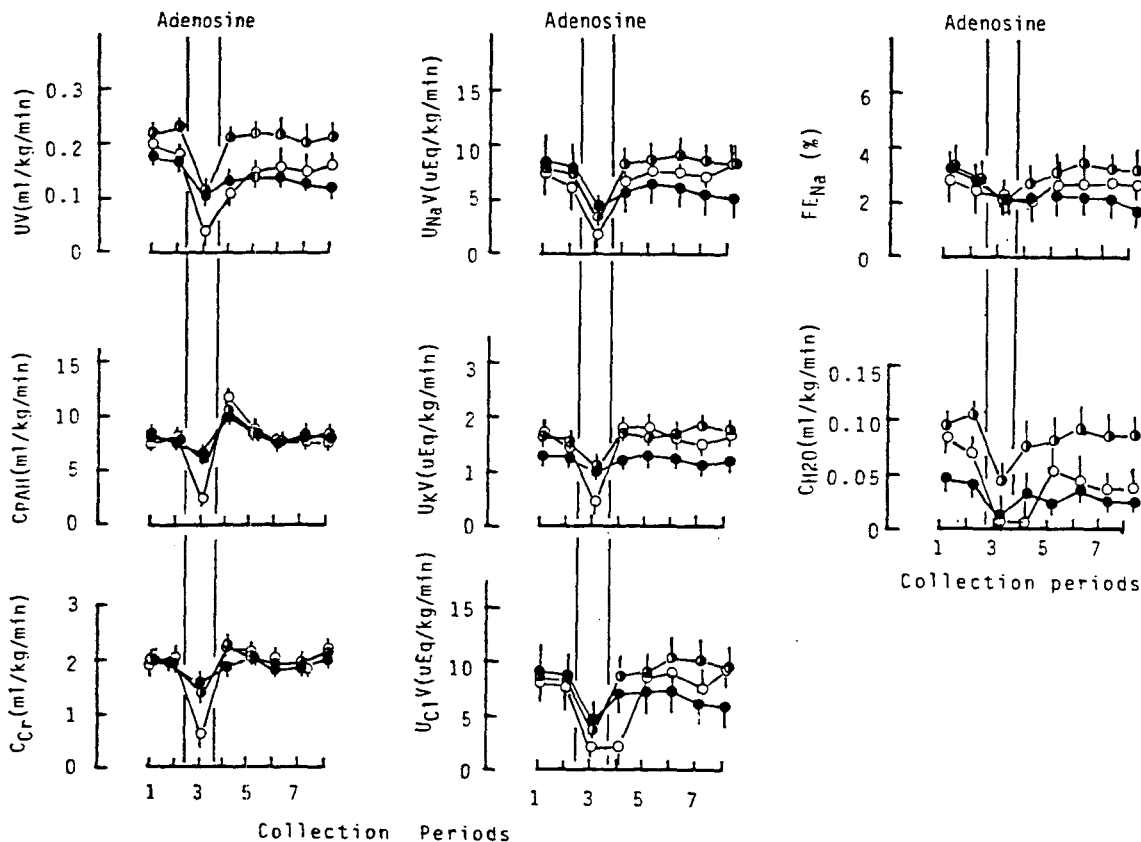


Fig. 1. Effect of unilateral renal arterial infusion of adenosine on renal function in sham-operated rabbits. Adenosine was infused into unilateral renal artery at a dose of 1 (●), 3 (◐), 10 (○) nmole/min. UV, Urine volume; C PAH, C Cr, clearance of para-amino-hippuric acid and creatinine, respectively; UNaV, urinary excreted amount of sodium; UKV, urinary excreted amount of potassium; FENa, fractional excretion of sodium; CH2O, clearance of free water. *, Significantly different from control period using Dunnett test, *p<0.05, **p<0.01

실 험 결 과

1. 혈압, 신장내 renin 함량 및 혈장 renin 활성도

신성 고혈압 가토에서 혈압은 128.80 ± 3.39 mmHg로 대조군인 sham 수술군의 98.5 ± 3.85 mmHg에 있었으며, clipped 신장내의 renin 함량 역시 876.60 ± 227.60 ng AI/mg/hr로 sham 수술군의 234.25 ± 20.25 ng AI/mg/hr에 비해 현저히 증가되어 있었다. 그러나 혈장 renin 활성도는 신성고혈압 가토에서 21.40 ± 5.72 로 sham 수술군의 16.25 ± 3.42 ng AI/mg/hr와 유의한 차이를 발견할 수 없다 (Table 1).

2. 신동맥내로 투여한 adenosine이 신장기능에 미치는 영향

Sham 수술가토의 일측 신동맥내로 adenosine을 1.0, 3.0 또는 10 n mole/min 투여시 요량은 0.17 ± 0.02 에서 0.11 ± 0.01 ml/kg/min로, 0.23 ± 0.02 에서 0.12 ± 0.01 ml/kg/min로, 그리고 0.18 ± 0.03 에서 0.04 ± 0.01 ml/kg/min로 용량의존적으로 현저히 감소하였다가 바로 회복되었다 (Fig. 1). 신혈류량은 adenosine 1, 3, 그리고 10 nmole/min 투여시 7.71 ± 0.31 에서 6.44 ± 0.15 ml/kg/min로, 7.87 ± 0.25 에서 6.15 ± 0.40 ml/kg/min로, 7.83 ± 0.52 에서 2.53 ± 0.68 ml/kg/min로 각각 감소하였으며 3과 10 nmole/min의 adenosine 투여 정지 10분 후에 현저한 신혈

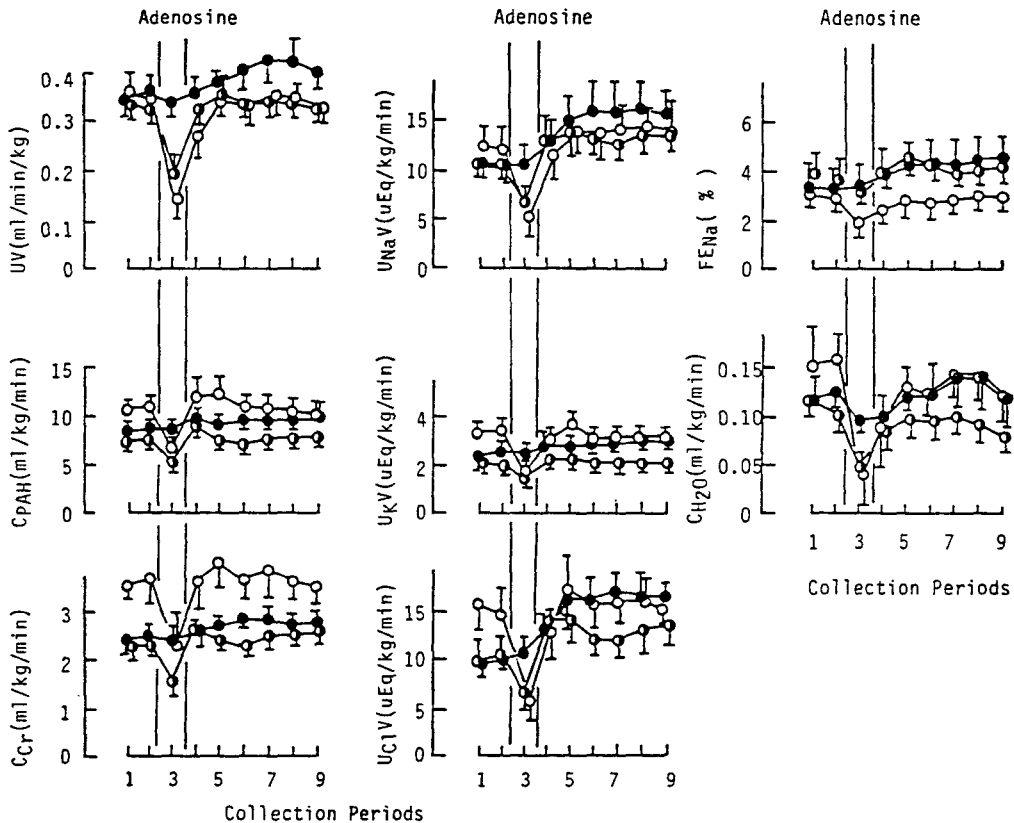


Fig. 2. Effect of right renal arterial infusion of adenosine on renal function in two-kidney one clip hypertensive rabbits. Adenosine was infused into right renal artery at a rate of 3 (●), 10 (◐), and 30 (○) nmole/min. Other legends are the same as in Figure 1.

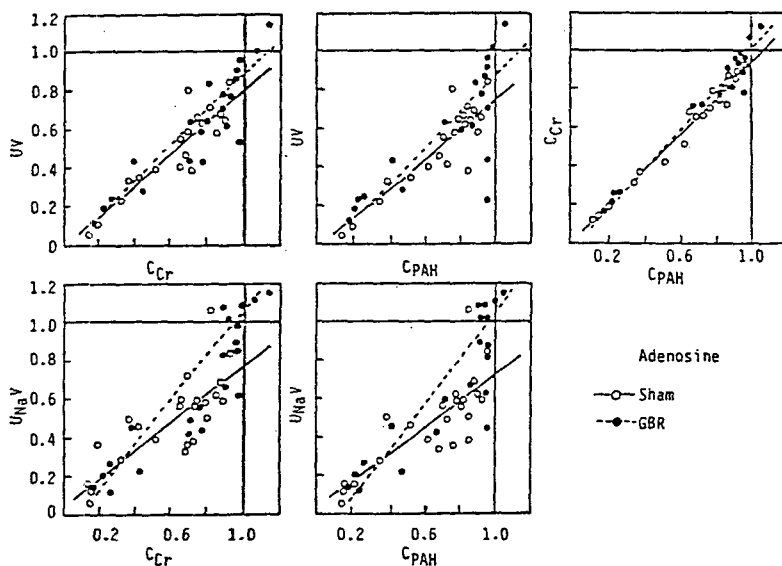


Fig. 3. Relations between changes in various renal parameters. The values represent the ratio of experimental period over control period during infusion of adenosine in experimental kidney. Significant linear correlations between all parameters exist. Other legends are the same as in Figure 1.

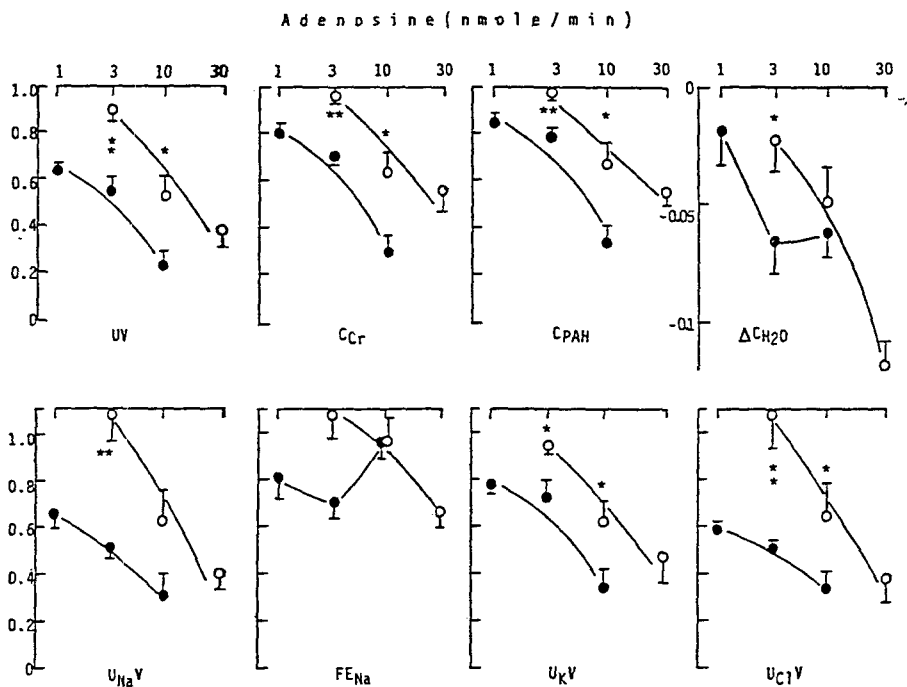


Fig. 4. Right shift of dose response curve of changes in renal function caused by adenosine in two-kidney one clip hypertensive rabbits. Open dots indicate changes in renal function in two-kidney one clip hypertensive rabbits and closed dots indicate changes in renal function in sham-operated rabbits. Student's nonpaired t-test was used. *, Significantly different from sham-operated rabbits, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$. Other legends are the same as in Figure 1.

류량의 증가를 볼 수 있었다. 사구체여과율 역시 신혈류량의 변화와 유사한 양상으로 용량의존적으로 감소하였다가 3이나 10 nmole/min의 adenosine 투여 10분 후에 증가하는 양상을 보였다. 요중 Na 배설량은 adenosine 1 nmole/min 투여시 7.07 ± 2.26 에서 4.62 ± 1.30 uEq/kg/min로 현저히 감소하였으며 3, 10 nmole/min 투여시 7.42 ± 2.44 에서 3.54 ± 1.14 uEq/kg/min로, 6.08 ± 1.84 에서 1.74 ± 0.54 uEq/kg/min로, 용량의존적으로 감소하였으며 투여정지 후에는 바로 대조치로 회복되었다. 요중 K 및 Cl 배설량 역시 Na 배설량의 변화와 유사한 양상으로 감소하였다. Na의 분획배설량은 투여시 2.90 ± 0.80 에서 $2.11 \pm 0.59\%$ 로, 2.87 ± 0.95 에서 $2.07 \pm 0.73\%$ 로 그리고 2.52 ± 0.74 에서 $2.39 \pm 0.1\%$ 로 감소하는 경향은 보였으나 용량의존적이지는 않았다. 유리수분

배설량은 용량의존적으로 감소하였다.

신성고혈압 가토에서 unclipped 신장내로 adenosine 3, 10, 30 nmole/min를 투여시 신혈류역학, 요량 및 요중 전해질배설량은 현저히 감소하였으며 용량의존적인 양상이었고(Fig. 2), 요량 및 요중 Na 배설량의 변화와 유의한 상관관계를 보였다(Fig. 3). 그러나 adenosine에 의한 신장기능의 변화는 sham 수술군에 비해 유의하게 약화되어 있었다(Fig. 4).

3. 신동맥내 투여한 NECA가 신장기능에 미치는 영향

Sham 수술가토의 일측 신동맥내로 NCA 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min 투여시 요량은 0.22 ± 0.04 에서 0.17 ± 0.03 nmole/kg/min로, 0.22 ± 0.03 에서 $0.11 \pm 0.$

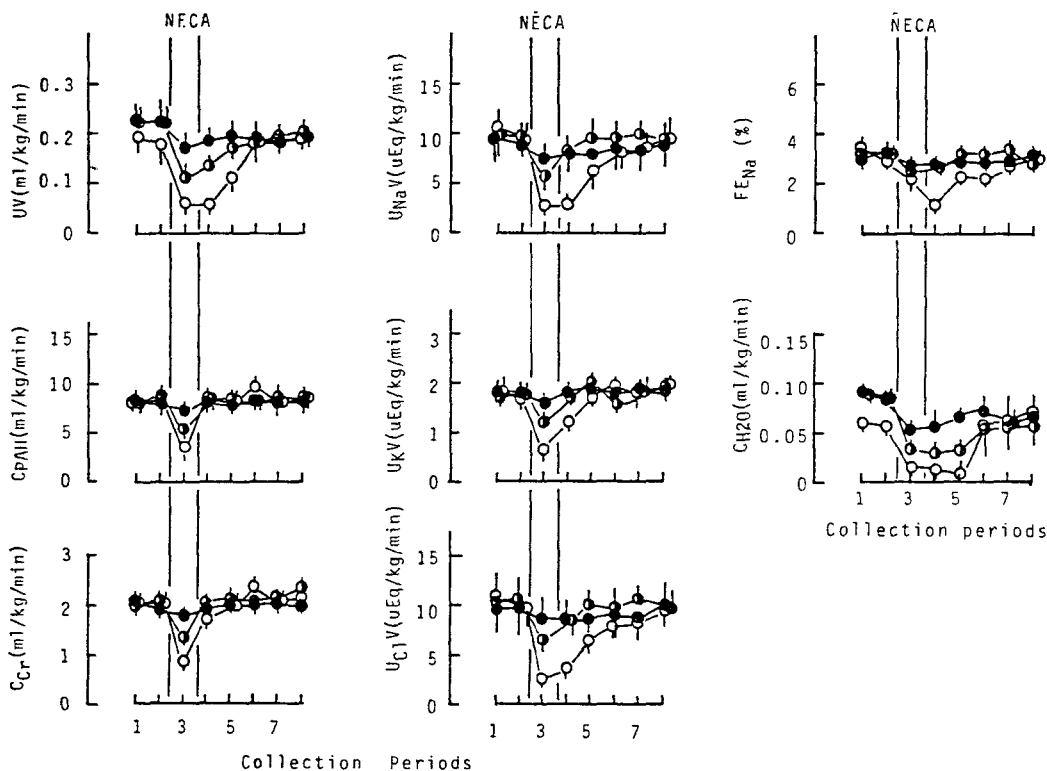


Fig. 5. Effect of unilateral renal arterial infusion of 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA) on renal function in sham-operated rabbits. NECA was infused into unilateral renal artery at a rate of 0.03 (●), 0.1 (◐), and 0.3 (○) nmole/min. *, Significantly different from control period using Dunnett test. Other legends are the same as in Figure 1.

03 ml/kg/min로, 0.18 ± 0.04 에서 0.06 ± 0.02 ml/kg/min로 용량의존적으로 감소하였다(Fig. 5). 신혈류량 및 사구체여과율 역시 현저히 감소하였다. 요중 Na 배설량은 NECA 0.03 nmole/min 투여에 의해 9.01 ± 1.85 에서 7.23 ± 1.48 uEq/kg/min로, 0.1 nmole/min 투여에 의해 9.66 ± 1.43 에서 5.57 ± 1.26 uEq/kg/min로, 그리고 0.3 nmole/min 투여에 의해 9.03 ± 1.64 에서 2.68 ± 0.69 uEq/kg/min로 용량의존적으로 감소하였다. 요중 K 및 Cl 배설량과 유사한 양상으로 감소하였으며, Na 배설분획량 및 유리수분배설량 역시 용량의존적으로 감소하였다.

신성고혈압 가토에서 신동맥내로 NECA 0.01, 0.03, 0.1 nmole/min를 투여시 요량 및 요중 Na 배설량이 감소하고, 사구체여과율 및 산혈류량이 현저히 감소하였으며 이는 용량의존적이었다(Fig. 6).

NECA 투여에 의한 요량 및 요중 Na 배설량의 감소는 신혈류역학의 감소와 유의한 상관관계를 보였다(Fig. 7). 신성고혈압 가토에서의 NECA의 신장효과는 sham 수술군에 비해 강화되는 경향을 보였으나 유의하지는 않았다(Fig. 8).

4. 신동맥내 투여한 CHA가 신장기능에 미치는 영향

Sham 수술가토의 일측 신동맥내로 CHA 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min를 투여시 요량은 0.18 ± 0.02 에서 0.15 ± 0.02 ml/kg/min로, 0.20 ± 0.02 에서 0.10 ± 0.02 ml/kg/min로, 그리고 0.17 ± 0.03 에서 0.04 ± 0.01 ml/kg/min로 용량의존적으로 감소하였다(Fig. 9). 신혈류량 및 사구체여과율 역시 현저히 감소하였다가 adenosine 투여 정지후에 바로 회복되었으며 이

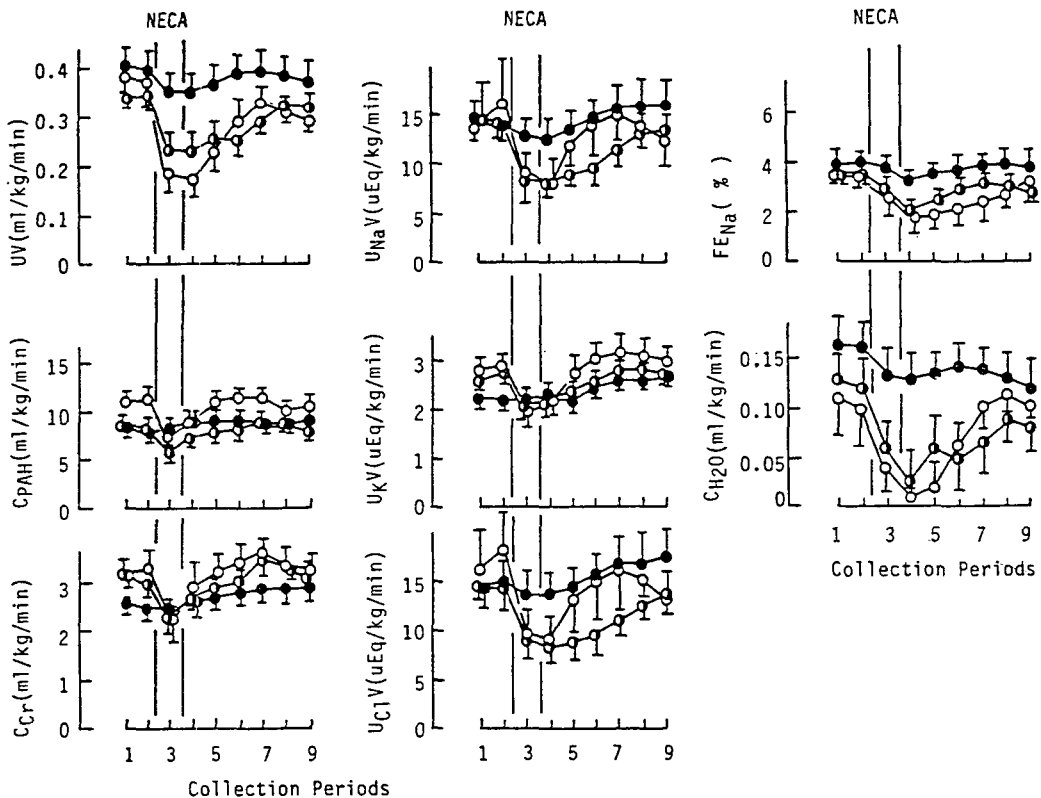


Fig. 6. Effect of right renal arterial infusion of 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA) on renal function in two-kidney one-clip hypertensive rabbits. NECA was infused into right renal artery at a rate of 0.03 (●), 0.03 (○), and 0.10 (○) nmole/min. Other legends are the same as in Figure 2.

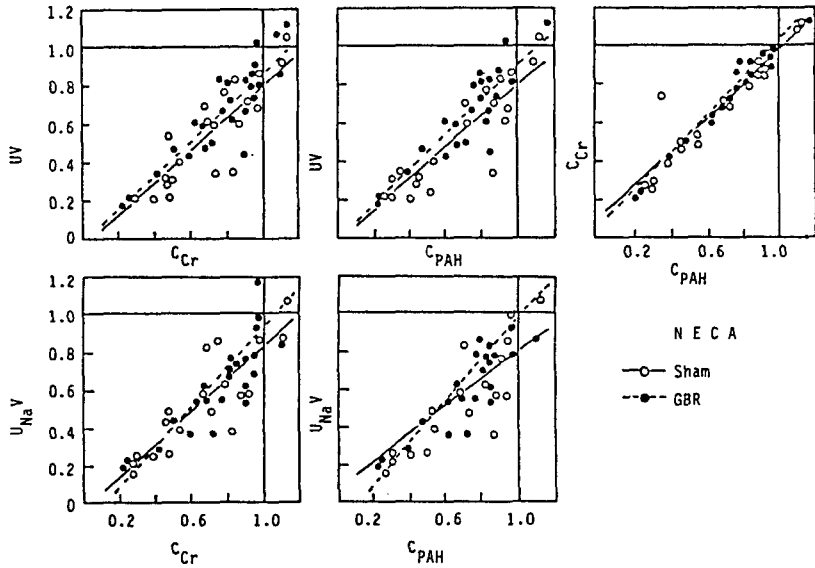


Fig. 7. Relations between changes in various renal parameters. The values represent the ratio of experimental period over control period during infusion of 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine in experimental kidney. Significant linear correlations between all parameters exist. Other legends are the same as in Figure 1.

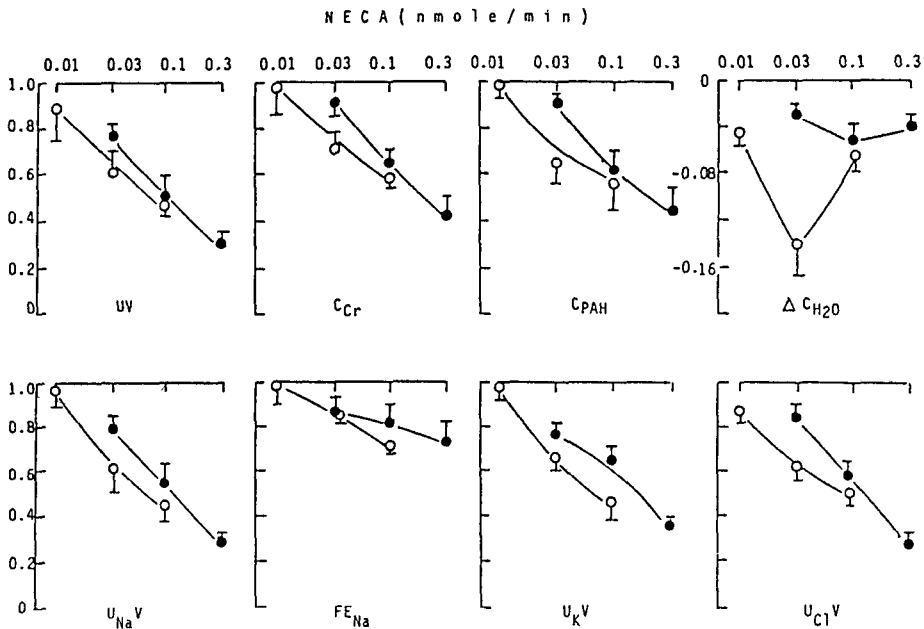


Fig. 8. Left shift of dose response curve of changes in renal function caused by 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine in two-kidney one-clip hypertensive rabbits. Open dots indicate changes in renal function in two-kidney one clip hypertensive rabbits and closed dots indicate changes in renal function in sham-operated rabbits. Other legends are the same as in Figure 4.

러한 신혈류량의 변화와 사구체여과율의 변화는 유의한 상관관계를 보였다(Fig. 11). 요중 Na 배설량은 CHA 0.03, 0.1 및 0.3 nmole/min 투여시 5.75±0.17에서 4.48±0.35 uEq/kg/min로, 5.67±1.43에서 2.82±0.88 uEq/kg/min로, 그리고 8.06±0.06에서 1.66±0.27 uEq/kg/min로 용량의존적으로 감소하였으며 요중 Cl 및 K 배설량 역시 현저히 감소하였다. 소량 투여에 의한 신장기능의 변화는 투여정지 후에 바로 회복되었으나 0.3 nmole/min 투여시에는 감소하였다가 서서히 회복되었다. CHA 투여에 의한 요량 및 요중 Na 배설량의 감소는 신혈류량 및 사구체여과율의 감소와 유의한 상관관계를 보였다(Fig. 11). Na 분획배설량 역시 감소하는 경향은 보였으나 용량의존적이지는 않았으며, 유리수분배설량은 CHA 0.03, 0.1 및 0.3 nmole/min 투여시 0.071±0.020에서 0.063±0.017 ml/kg/min로 0.090±

0.014에서 0.034±0.016 ml/kg/min로, 그리고 0.015±0.022에서 0.008±0.004 ml/kg/min로 감소하였다.

신성고혈압 가토에서 unclipped 신장내로 CHA 0.1, 0.3 nmole/min를 투여시 요량은 용량의존적으로 감소하였으나 sham 수술군에 비해 현저히 약화되어 있었다(Fig. 10, 12). 신혈류량 및 사구체여과율 역시 CHA 투여에 의해 용량의존적으로 감소하였으나 sham 수술군에 비해 현저히 약화되어 있었다. 요중 Na 배설량은 CHA 투여에 의해 15.45±7.41에서 14.48±7.78 uEq/kg/min로, 10.29±1.98에서 5.71±1.56 uEq/kg/min로, 그리고 12.60±3.68에서 4.90±1.22 uEq/kg/min로 감소하였으며 Cl 및 K 배설량도 CHA 투여량에 따라 현저히 감소하였으나 sham 수술군에 비해 현저히 감소되어 있었다.

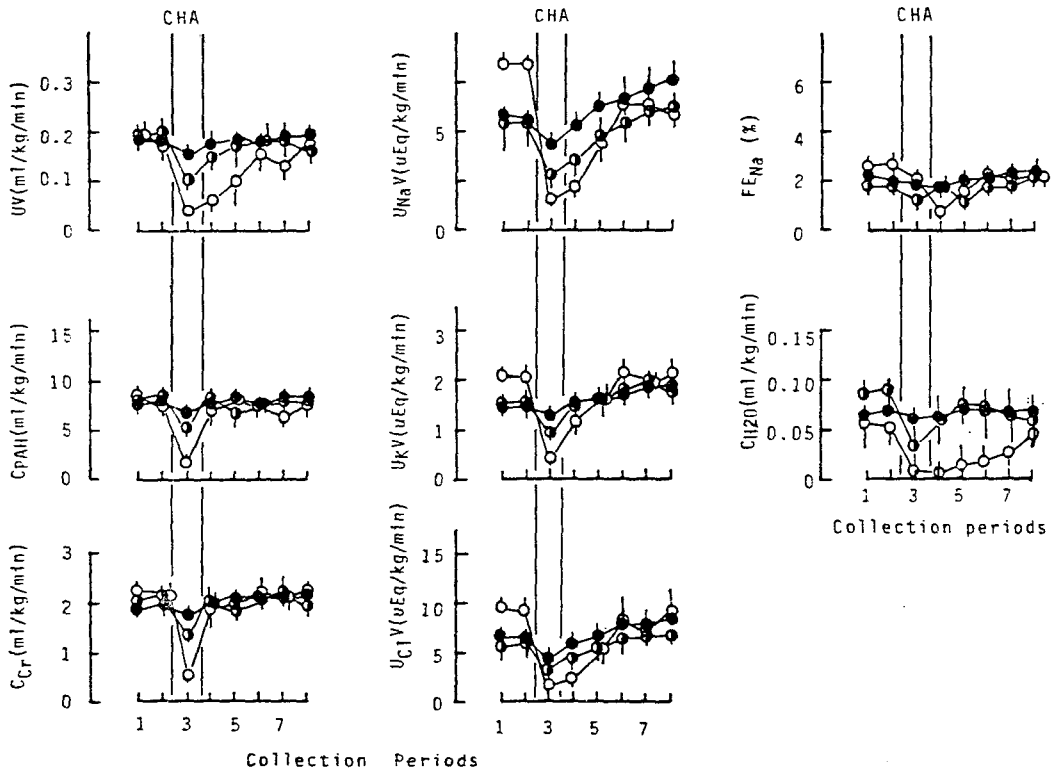


Fig. 9. Effect of unilateral renal arterial infusion of N6-cyclohexyladenosine (CHA) on renal function in sham-operated rabbits. CHA was infused into unilateral renal artery at a rate of 0.03 (●), 0.1 (◐), and 0.3 (○) nmole/min. Other legends are the same as in Figure 1.

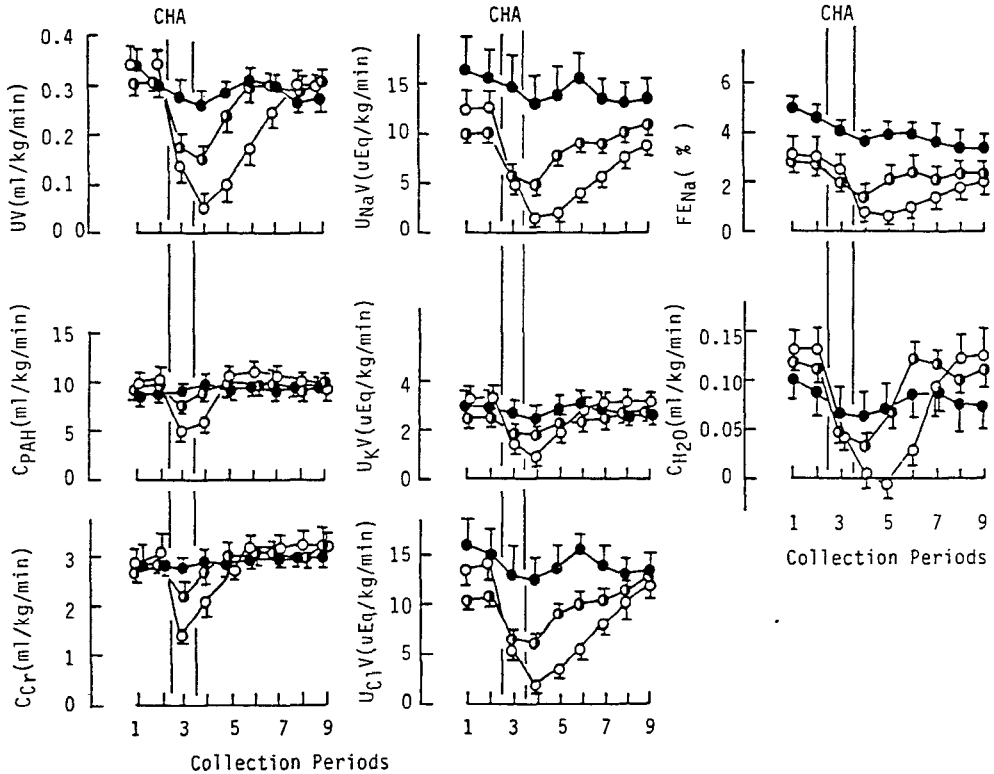


Fig. 10. Effect of right renal arterial infusion of N6-cyclohexyladenosine (CHA) on renal function in two-kidney one clip hypertensive rabbits. CHA was infused into right renal artery at a rate of 0.3 (●), 0.3 (◐), and 1.0 (○) nmole/min. Other legends are the same as in Figure 2.

고 안

2K1C GH 가토 모형에서 clip을 가한 신장내 renin 함량은 현저히 증가되어 있었으며, 반대측 신장내 renin 함량은 감소되어 있었다. 그러나 혈장 renin 활성도는 정상혈압군과 유의한 차이를 보이지 않았으며 혈압과도 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

본 실험결과는 2K1C GH 가토군과 대조군 사이에 혈장 renin 활성도 및 aldosterone 농도의 차이를 발견할 수 있었던 Machida등(1988)의 보고와 일치하였다. 그러나 Yoshida등(1986)은 신동맥에 clip을 가한 일주일 후에 혈압과 혈장 renin 활성도 사이에 유의한 상관관계를 볼 수 있었으나 5주군에서는

유의한 상관관계를 발견할 수 없었다고 보고하였다. Lohmeier와 Davis (1976)는 가토의 신동맥 협착 30일 후에 혈압과 혈장 renin 활성도 사이에 유의한 상관관계가 있다고 보고하였다. 실험적 신성고혈압 백서 모형에서도 수술 4주 후에는 혈장 renin 활성도는 증가하지 않으며, one-kidney one clip Goldblatt hypertension (1K1C GH) 모형과는 달리 혈장 renin 활성도는 clipped 신장내에 남아있는 신 실질조직에 의해 차이가 날 수 있음이 보고되었다 (Gross, 1971; Murphy, 1984). 따라서 2K1C GH 모형에서 남아있는 신 실질조직의 양이나 사용하는 clip의 크기 및 동물의 사용시기에 따라 혈장 renin 활성도 및 고혈압발생에 차이가 있을 수 있으며, 이외에도 채혈방법이나 사용한 동물에 따라 그 결과가 상이하리라 사료된다. Adenosine의 수용체중 A1에

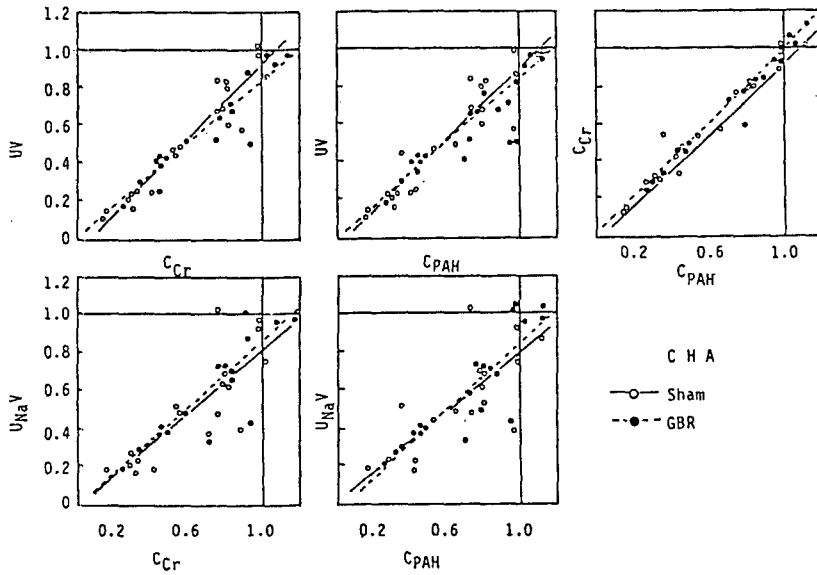


Fig. 11. Relations between changes in various renal parameters. The values represent the ratio of experimental period over control period during infusion of N6-cyclohexyladenosine in experimental kidney. Significant linear correlations between all parameters exist. Other legends are the same as in Figure 1.

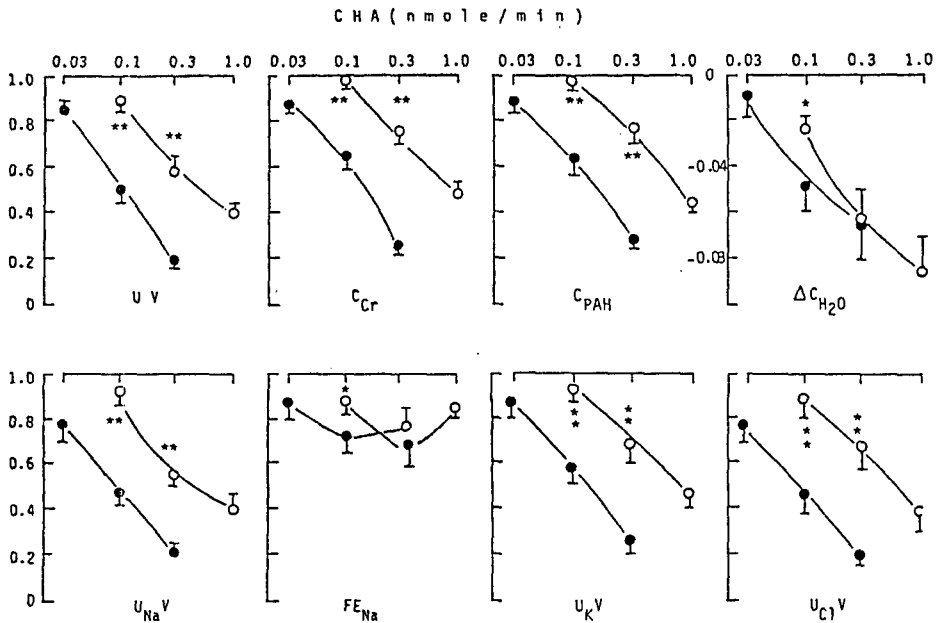


Fig. 12. Right shift of dose response curve of changes in renal function caused by N6-cyclohexyladenosine in two-kidney one clip hypertensive rabbits. Open dots indicate changes in renal function in two-kidney one-clip hypertensive rabbits and closed dots indicates change in renal function in sham-operated rabbits. Other legends are the same as in Figure 4.

선택적 agonist인 CHA와 A2 수용체에 선택적 agonist인 NECA 그리고 adenosine을 신성고혈압 가토와 정상 가토군의 일측신동맥내에 투여하였다. Adenosine, NECA 그리고 CHA의 투여량에 비례하여 신장기능이 현저하게 감소하였으며 CHA, NECA 그리고 adenosine 순으로 강하게 나타났다. Adenosine의 신장기능에 미치는 영향을 규명하고자 한 거의 모든 실험에서 사구체여과율의 감소현상은 보고된 바 있으며(Spielman & Thompson, 1982; Osswald et al, 1978; Spielman et al, 1986) 본 실험에서도 adenosine 과 adenosine 유사체 투여로 A1과 A2 adenosine 수용체의 구별에 관계없이 모두 감소현상을 보였으며 A1 수용체에 보다 더 민감하게 작용하여 Song(1988)의 보고와 일치하였다. Churchill 등(1986)은 마취된 백서에서 CHA 와 NECA 모두가 유사한 정도로 사구체여과율을 감소시킨다고 하였으며 백서의 적출관류 신장모형에서는 NECA와 CHA가 사구체여과율에 반대로 작용한다고 하였다(Murray & Churchill, 1984). 이와 같이 adenosine 유사체 투여에 의한 사구체여과율의 변화에 대한 보고가 일정하지 않은 것은 아마도 사용한 실험동물, 마취여부, 사용량 및 실험모형의 차이에서 기인한 것으로 보이나 전신혈압 변화없이 CHA, adenosine 및 소량의 NECA 투여에 의하여 사구체여과율이 감소한 것은 일차적으로 수입세동맥을 수축시켜 나타나는 것으로 생각된다.

Adenosine, NECA 및 CHA 투여에 의하여 나타나는 요중 전해질배설량의 감소는, Na 분획배설량의 감소와 더불어 신혈류역학에 비례적으로 전해질 배설량이 변화하는 점으로 미루어 신혈류역학의 변동에 기인하는 것으로 생각된다.

2K1C GH 모형에서 adenosine과 CHA투여시 신기능 효과는 정상혈압 가토군에 비해 현저히 약화되며, A2 adenosine 수용체 agonist인 NECA 투여에 의해서는 강화되는 경향을 보였다. Miller등(1978)은 신동맥 절찰 후에 신정맥 및 신조직내 adenosine 양이 증가하고 요중 adenosine 배설량이 증가한다고 보고하였으며, 이때 생성된 adenosine에 의해 신혈관 수축이 야기된다고 하였다. 이외에도 신장내 adenosine 은 angiotensin II(Freedholm & Hedgqvist, 1978)나 catecholamine 투여에 의해, 그리고

교감신경의 흥분에 의해 증가한다고 알려져 있다. 본 실험에서는 2K1C GH 가토의 clip을 가한 신장과 반대측 신장내의 adenosine양을 측정하지 못했기 때문에 실제적인 양은 알 수 없으나 Miller등(1978)의 보고에 의하면 clip을 가한 신장내의 adenosine 함량은 많아졌을 것으로 기대되며, 반대측 신장내의 adenosine 함량에 대해서는 알 수 없다. Clip을 가한 신장에서의 기능을 할 수 있는 신장 실질조직이 감소해 있으므로 반대측 신장에서 hyperfunction이 일어나 세뇨관에서의 Na 재흡수가 많아져서 adenosine 함량이 증가될 것으로 기대된다(Spielman & Thompson, 1982; Osswald et al, 1980).

2K1C GH 가토의 반대측 신장내로 A1과 A2 adenosine 수용체 agonist 투여시 CHA의 효과는 약화되나 NECA 효과는 강화되는 경향을 보였다. 신장기능 및 renin 분비에 미치는 영향에 있어서 A1과 A2 adenosine agonist 사이에 위치한 adenosine (Churchill & Bidani, 1986)의 효과 또한 현저히 약화되어 있었다. Clip을 가하지 않은 신장내에 adenosine 함량이 대조군에 비해 증가되어 있다면 이때 밖에서 투여한 adenosine의 효과는 감약되어 나타날 것이다. 그러나 Porter등(1983)은 NECA로 전처리한 백서의 striatal membrane에서 A2 adenosine 수용체는 desensitization되나 A1 adenosine 수용체는 영향을 받지 않는다고 보고한 바 있다. 이처럼 고혈압 가토 모형에서 A1 adenosine 수용체 agonist에 대한 신장의 반응성만 약화되어 있는 이유가 신장내 내재하는 adenosine양의 변화나 혈압의 변화 및 다른 hormone계의 영향에 의한 adenosine 수용체의 변조에 의한 것인지는 이 실험만으로는 확실히 알 수 없으나 고혈압가토 모형에서 adenosine 수용체의 반응성이 구분된다는 것은 매우 흥미로운 사실이다.

총 괄

신성 고혈압가토의 일측 신동맥내 A1 adenosine 수용체 agonist인 CHA, adenosine과 A2 adenosine 수용체 agonist인 NECA를 투여시 나타나는 신장기능의 변화를 관찰하고 이를 sham 수술 가토와 비교하여 신성 고혈압가토에서 adenosine의 역할을 규명

하려 하였다.

1) CHA, adenosine 투여에 의하여 나타나는 요량, 요중 Na 배설량의 감소 및 신혈류역학의 감소 등은 신성 고혈압가토에서 sham 수술 가토에 비해 현저히 약화되어 있었다.

2) A2 adenosine 수용체 agonist인 NECA 투여에 의하여 나타나는 요량, 요중 Na 배설량의 감소 및 신혈류역학의 감소등은 신성 고혈압가토에서 sham 수술 가토에 비해 강화되는 경향을 보였다.

이상의 결과로 신성 고혈압가토에서 A1 adenosine 수용체 agonist에 대한 신장 반응성은 다르며 그러한 변화는 신장내 adenosine 수용체의 변조에 의하여 나타났을 것이라 사료된다.

ACKNOWLEDGEMENTS

실험을 위하여 도움을 준 남경화, 나은진, 왕경숙 양과 원고를 준비하는데 도움을 준 설경미양에게 깊은 감사를 드립니다.

REFERENCES

Arena LJ, Haramati A, Thompson CI & Spielman WS (1984). Adenosine induced decrease in renin release. *Am J Physiol* 247, F447-F452

Bianchi G & Ferrari P (1983). Animal models for arterial hypertension. In: Genest J, Kuchel O & Hamet K (ed) *Hypertension*. McGraw-Hill, New York, p 534-555

Brooks VL, Cho KW, Malvin RL & Cohen BJ (1980). Central and hormonal regulation of renin release by Baboon kidneys. *Proc Soc Exp Biol Med* 165, 147-150

Carretero OA & Gulati OP (1978). Effects of angiotensin antagonist in rats with acute, subacute, and chronic two-kidney renal hypertension. *J Lab Clin Med* 91, 264-271

Cho KW (1979). Renin-angiotensin system of the spontaneously hypertensive rats in vitro. *Jeonbug Univ Med J* 3, 73-93 (in Korean)

Cho KW & Kim SH (1982). Factors affecting the relationship between renal renin activity and plasma renin activity. *Kor J Physiol* 16, 63-69 (in Korean)

Cho KW, Kim SH & Koh GY (1987a). Radioimmuno-

say and characterization of renin-angiotensin system in the fresh-water turtle. *J Exp Zool* 242, 255-263

Cho KW, Koh GY, Kim SH & Seul KH (1987b). Unilateral renal arterial infusion and renal vein catheterization in rabbits: Study of renal function and renin release. *Renal Physiol* 10, 93-101

Cho KW, Kim SH, Koh GY, Seul KH, Huh KS, Chu D, Rapp NS, Moon HB, Kim KK & Kook YJ (1989). Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in different phases of Korean hemorrhagic fever. *Nephron* 51, 215-219

Churchill PC & Bidani A (1986). Neural effects of selective adenosine receptor agonists in anesthetized rats. *Am J Physiol* 252, F299-F303

Coleman TGM & Guyton AC (1975). The pressor role of angiotensin in salt deprivation and renal hypertension in rats. *Clin Sci Med* 48, 45s-48s

Daly JW (1982). Adenosine receptors: targets for future drugs. *J Med Chem* 25, 197-207

Fredholm BB & Hedqvist P (1978). Release of (3H) purines from (3H) adenosine labelled rabbit kidney following sympathetic nerve stimulation, and its inhibition by alpha adrenoceptor blockade. *Br J Pharmacol* 64, 239-245

Gross F (1971). The renin-angiotensin system and hypertension. *Ann Intern Med* 75, 777-787

Gross F, Schaechtelin G, Brunner H & Peters G (1964). The role of the renin-angiotensin system in blood pressure regulation and kidney function. *Can Med Assoc J* 90, 258-262

Haddy FJ & Scott JB (1968). Metabolically linked vasoactive chemicals in local regulation of blood flow. *Physiol Rev* 48, 688-707

Hashimoto K & Kumakura K (1965). The pharmacological features of the coronary, renal, mesenteric and femoral arteries. *Jpn J Physiol* 15, 540-551

Lohmerier TE & Davis JO (1976). Renin-angiotensin-aldosterone system in experimental renal hypertension in the rabbit. *Am J Physiol* 230, 311-318

Londos CD, Cooper MF & Wolff J (1980). Subclass of external adenosine receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 77, 2551-2554

Machida J, Ueda S, Yoshida M, Soejima H & Ikegami K (1988). Role of sodium and renal prostaglandin E₂

- in the maintainance of hypertension in the chronic phase of two-kidney one-clip renovascular hypertension in rabbits. *Nephron* 49, 74-80
- Miller ED, Jr Samuels AI, Haber E & Barger AC (1972). Inhibition of angiotensin conversion in experimental renovascular hypertension. *Science* 22, 1108-1109
- Miller WL, Thomas RA, Berne RM & Rubio R (1978). Adenosine production in the ischemic kidney. *Circ Res* 43, 390-397
- Murphy WR, Coleman TG, Smith TL & Stanak KA (1984). Effects of graded renal artery constriction on blood pressure, renal artery pressure, and plasma renin activity in Goldblatt hypertension. *Hypertension* 6, 68-74
- Murray RD & Chur Chill PC (1984). Effects of adenosine receptor agonists in the isolated, perfused rat kidney. *Am J Physiol* 247, H343-H348
- Osswald H (1986). Renal effects of adenosine and their inhibition by theophylline. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Pharmacol* 288, 79-86
- Osswald H, Hermes H & Nabakowski G (1980). Adenosine as a possible mediator of metabolic control of glomerular filtration rate. *J Biochem* 12, 263-267
- Osswald H, Spielman S & Knox FG (1978). Mechanisms of adenosine-mediated decrease in glomerular filtration rate in dogs. *Circ Res* 43, 465-469
- Park CS, Malvin RL, Murray RD & Cho KW (1978). Renin secretion as a function of renal renin content in dogs. *Am J Physiol* 234, F506-F509
- Phillips RA (1964). In: Peter V (ed) *Quantitative clinical chemistry*. Vol 2. Williams & Wilkins, Baltimore
- Porter NM, Radulovacki M & Green RD (1983). Desensitization of adenosine and dopamine receptors in rat brain after treatment adenosine analogs. *J Pharmacol Exp Ther* 244, 218-225
- Sen S, Smeby RR, Bumpus FM & Turciotte JG (1979). Role of renin-angiotensin system in chronic renal hypertensive rats. *Hypertension* 1, 427-434
- Smith HW, Finkelstein N, Aliminos A, Crawford B & Graber M (1945). The renal clearance of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dogs and man. *J Clin Invest* 24, 388-404
- Song YS, Choi BS, Kim SH & Cho KW (1988). Effect of adenosine analogues on the renal function and renin release in unanesthetized rabbit. *Kor J Physiol* 22, 319-332 (in Korean)
- Spielman WS, Britton SL & Fiksen-Olsen MJ (1986). Effect of adenosine on the distribution of renal blood flow in dogs. *Circ Res* 46, 449-456
- Spielman WS & Thompson CI (1982). A proposed role for adenosine in the regulation of renal hemodynamics and renin release. *Am J Physiol* 242, F423-F435
- Tagawa H & Vander AJ (1970). Effects of adenosine compounds on renal function and renin secretion in dogs. *Circ Res* 26, 327-338
- Vurek CG & Pegram SE (1966). Fluorometric method for the determination of nanogram quantities of inulin. *Anal Biochem* 16, 409-419
- Yoshida M, Soejima H, Ueda S & Ikegami LK (1986). Role of renal prostaglandin E2 in two-kidney, one-clip renovascular hypertension in rabbits. *Nephron* 44, 142-149