

선천성 고혈압 쥐의 고혈압 현상과 중추 도파민 신경계 활성의 상관성

김 경 만* · 고 광 호

서울대학교 약학대학, *듀크대학교 의과대학

Relationship between Hypertension and Central Dopaminergic Neural Activity in Spontaneously Hypertensive Rats

Kyeong Man Kim* and Kwang Ho Ko

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul, Korea

**Duke University Medical Center, Durham, North Carolina, U.S.A.*

ABSTRACT

The role of central dopaminergic neural activity for the maintenance of hypertension was tested. Two groups of animals were prepared; 1) Spontaneously hypertensive rats (SHR) at 14 weeks of age which reveal hypertension and 2) age-matched normotensive Wistar Kyoto rats (WKY).

Blood pressures and dopamine turnover rate were measured from animals in each group. Dopamine turnover rate was determined in four brain regions such as telencephalon, hypothalamus/thalamus, midbrain and pons/medulla, from concentration of dopamine at time zero, 1 and 2 hours after alpha-methyl-para-tyrosine (AMPT) was injected into animals. In SHR dopamine turnover rate was greater than normotensive rats in only midbrain. The result from the present study implicates that dopaminergic neural activity in midbrain may be positively coupled to the manifestation of hypertension in SHR.

서 론

선천성 고혈압쥐 (Spantaneously Hypertensive

Rat: SHR)의 고혈압 현상에 미치는 중추신경계의 역할은 다양하게 제시되고 있으며^{1~5)} 특히 중추신경계 내의 모노아민신경계 (Monoaminergic Nervous System)의 관련성이 크게 주목되고 있다^{6~9)}.

대부분의 연구에서 고혈압 발생과 연령^{3,7)} 및 중추 신경계내의 모노아민 신경계의 활성 상관성^{1,7,9,17)}이 주로 고혈압이 발생하는 시기인 생후 6, 7주와 고혈압이 완성된 후인 14~16주에서 비교 검토되고 있다. 실험결과는 실험자에 따라서 차이가 많을 뿐만 아니라^{1,8,11,17,18)} 대부분은 노르아드레날린성 신경계 (Noradrenergic Nervous System)에 관한 것들이었다^{6~8,10,12~17,19,20)}.

모노아민신경계중 도파민신경계가 SHR의 고혈압 현상에 미치는 역할에 관한 연구는 거의 행해지지 않았으나, 최근 약간의 연구결과가 보고된 바 있다^{21~23)}. 이들 결과중에서 Pauline 등은 Rat의 Striatum에서 16~20주된 SHR의 경우 정상혈압쥐에 비해서 Dopamine Receptor의 숫자가 증가되어 있음을 보고하였고, Meyers 등은 forebrain에서 Dopamine Receptor의 숫자 증가를 보고한 바 있다. 또 Maarten 등²³⁾은 6-hydroxydopamine(6-OHDA)에 의한 혈압 감소현상의 원인을 규명하기 위하여 WKY와 SHR에 6-OHDA으로 부터 노르아드레날린성 신경을 보호하는 DMI (Demethyl Imipramine)과 노르아드레날린성 신경만 특이적으로 파괴하는 DSP-4 (N-(2-chloroethyl) N-ethyl-2-bromobenzylamine)을 사용하여 노르아드레날린성 신경파괴와 도파민성 신경파괴를 분리하였다. 이 결과 6-OHDA과 DMI를 동시에 투여했을 경우엔 노르아드레날린의 함량은 정상이고 도파민의 함량만 감소되었으나 혈압은 여전히 감소되었고, DSP-4를 투여하였을 경우에는 노르아드레날린의 함량만 감소되고 혈압변화는 없었다. 이 결과에서 SHR의 고혈압 발생에 관여하는 도파민성 신경계의 역할에 대한 중요성이 제시되었다. 한편, Reis 등²⁴⁾은 9~13주된 rat의 Telencephalon에서 Dopamine Turnover Rate는 SHR과 정상혈압쥐에 유의성있는 차이를 발견하지 못했다.

이러한 사실들을 기본으로 SHR에서 12주 이후의 고혈압 지속현상과 도파민 신경계의 상관성을 알아보고자, 고혈압이 발생하여 완전히 정착되는 시기인 14주에 신경활성의 척도라 할 수 있는 Turnover Rate를 혈압조절의 중추²⁵⁾인 뇌간(중뇌, 뇌교/연

수)과 대뇌, 시상/시상하부에서 측정하고 아울러 혈압변화도 측정함으로써 고혈압현상에 대한 중추도파민성 신경활성의 역할을 규명하고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험재료

① 실험동물

고혈압이 완전히 발생한 상태의 14주된 Wistar Kyoto Rat와 선천성 고혈압쥐 (Spontaneous Hypertensive Rat: SHR) 중에서 자성만 사용하였다.

② 시약

3-Hydroxytyramine HCl, Diethyl dithio carbamic acid sodium-salt, α -Methyl-p-tyrosine methyl ester는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo)에서 구입하였고, n-Butanol, EDTA, Iodine, Sod. Acetate, Alkaline sulfite, n-Heptane 등은 시판되는 최고순도의 제품을 사용하였다. 그리고 실험 전과정을 통하여 물은 탈이온 2차 증류수를 사용하였다.

2. 실험방법

① 뇌 분리

동물을 단두치사 시키고 두뇌를 적출하여 얼음위에서 Glowinski²⁶⁾ 방법에 따라 대뇌, 간뇌, 중뇌 및 뇌교/연수로 분리하여 무게를 잰 후 각 조직을 실험에 사용할 때까지 -60°C 에 보관하였다.

② 도파민 교체율의 측정

Brodie 등²⁶⁾의 방법에 따라 동물에 α -Methyl-p-tyrosine (AMPT, 400 mg/kg i.p.)을 투여하여 Dopamine 합성 enzyme인 Tyrosine Hydroxylase을 억제하여 Dopamine의 합성을 차단하고, Disulfiram (200 mg/kg i.p.)을 투여하여 Dopamine이 Noradrenaline으로 전향되는 것을 막아서 Dopamine이 자연스럽게 소실되게 만든 후 time zero, 1시간, 2시간에 각각 남아있는 Dopamine량을 정량하여, 이 값들로부터 도파민 교체율을 계산하였다.

③ Dopamine 정량

뇌조직에 10배량의 Acidified Butanol을 가한 후 Glass Homogenizer로 균질화 시켜 얻은 균질액으로 부터 Cox 등²⁷⁾의 방법에 의해서 추출한 도파민의 량을 320/370 nm에서 Spectrofluorimeter (RAIROATOMIC)로 정량하였다.

④ 혈압측정

실험동물은 혈압측정 전에 온도조절 장치가 부착된 Housing Holder에 40°C에서 10분간 고정시켜서 꼬리정맥을 완전히 확장시킨 후 Pfeffer 등²⁸⁾의 indirect tail-cuff법에 의하여 혈압을 측정하였다.

실험결과

1. 각 부위별 도파민 Turnover Rate

정상 혈압쥐와 선천성 고혈압쥐의 두뇌 각 부위에 서 Turnover Rate의 비교는 Fig. 1, 2, 3, 4 및 Table 1에 나타나 있다. 도파민 Turnover Rate는 중뇌에서 정상혈압쥐의 127.9 ± 22.5 ng/g/h에 비해 선천성 고혈압쥐의 225.5 ± 24.6 ng/g/h ($p <$

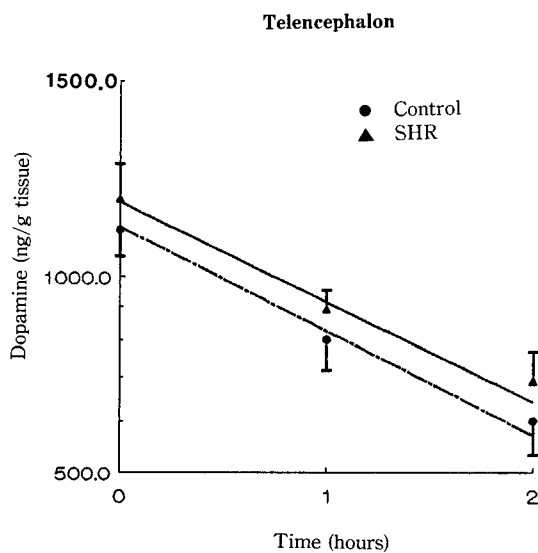


Fig. 1. Decline in tissue dopamine concentration following inhibition of tyrosine hydroxylase. α -Methyl-p-tyrosine (400 mg/kg, i.p.) was treated at time zero. Each point represents the mean \pm S.E.M. from at least 4 animals.

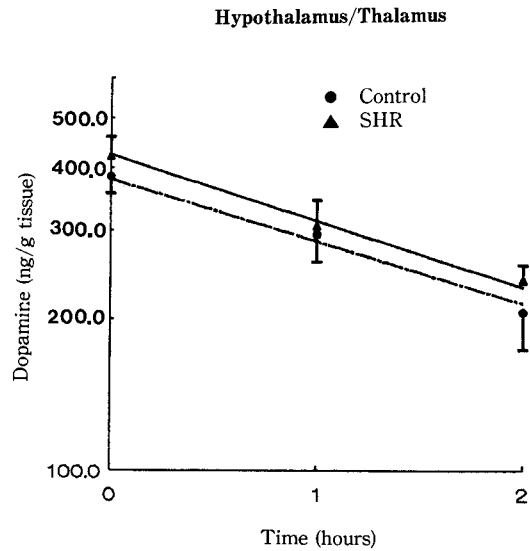


Fig. 2. Decline in tissue dopamine concentration following inhibition of tyrosine hydroxylase. α -Methyl-p-tyrosine (400 mg/kg, i.p.) was treated at time zero. Each point represents the mean \pm S.E.M. from at least 4 animals.

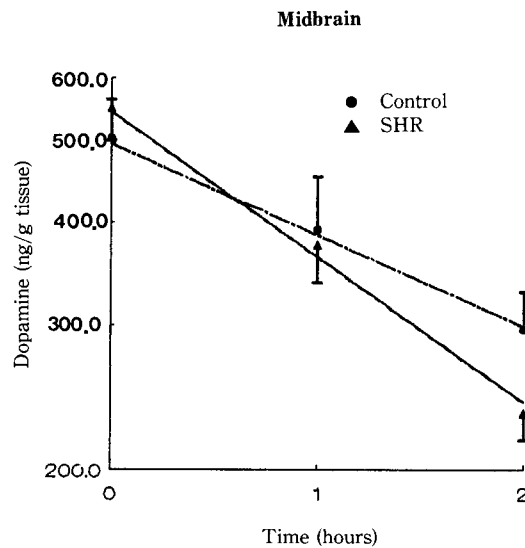


Fig. 3. Decline in tissue dopamine concentration following inhibition of tyrosine hydroxylase. α -Methyl-p-tyrosine (400 mg/kg, i.p.) was treated at time zero. Each point represents the mean \pm S.E.M. from at least 4 animals.

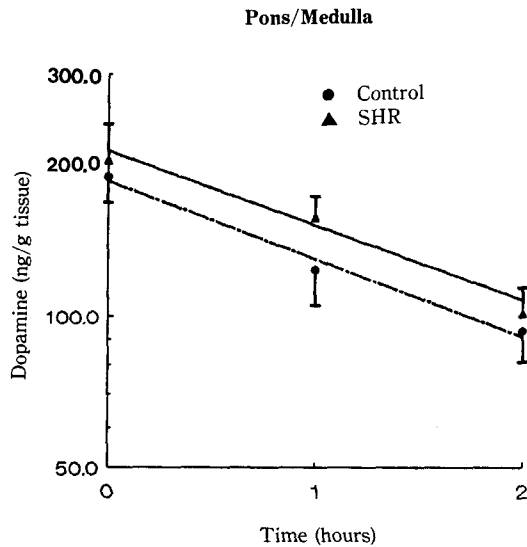


Fig. 4. Decline in tissue dopamine concentration following inhibition of tyrosine hydroxylase. α -Methyl-p-tyrosine (400 mg/kg, i.p.) was treated at time zero. Each point represents the mean \pm S.E.M. from at least 4 animals.

0.05)가 높았으며 (Fig. 3) 그외 대뇌, 간뇌 및 뇌 교/연수에서는 두가지 동물군에서 유의성 있는 차이가 나타나지 않았다 (Table 1).

2. 혈압변화

정상 혈압쥐와 선천성 고혈압쥐에서 Tyrosine Hydroxylase 억제 후 혈압변화는 Fig. 5에 나타나 있다. AMPT 처치 이전에는 정상 혈압쥐의 $132 \pm$

12 mmHg에 비해서 선천성 고혈압쥐의 192 ± 19 mmHg가 혈압이 현격히 높았으며 ($p < 0.05$) 약물 처리 후 두가지 동물 모두에서 혈압이 하강하였다.

고찰

본 연구의 결과에서 선천성 고혈압쥐는 생후 14주령에서 WKY에 비해 고혈압 현상이 분명히 나타나

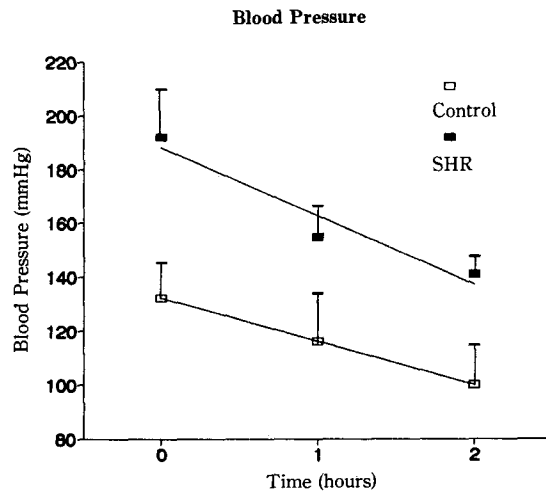


Fig. 5. Decline in blood pressure following inhibition of tyrosine hydroxylase. α -Methyl-p-tyrosine (400 mg/kg, i.p.) was treated at time zero. Each point represents the mean \pm S.E.M. from at least 4 animals.

Table 1. Summary of Results.

CNS Area	Animals	Observed Zero Time Dopamine (ng/g)	Calculated Zero Time Dopamine (ng/g) (a)	Fractional Rate Constant (Kt) (h^{-1})	Turnover (Kt \times a) (ng/g/h)
Telencephalon	Control	1181.4 \pm 106.0	1196.1 \pm 103.7	0.369 \pm 0.032	441.4 \pm 38.3
	SHR	1317.4 \pm 179.3	1304.9 \pm 114.1	0.354 \pm 0.031	461.9 \pm 40.4
Hypothalamus/Thalamus	Control	383.6 \pm 28.4	379.8 \pm 48.1	0.284 \pm 0.036	108.2 \pm 13.7
	SHR	421.2 \pm 37.2	424.4 \pm 39.4	0.302 \pm 0.028	128.2 \pm 11.9
Midbrain	Control	506.6 \pm 58.1	499.5 \pm 87.4	0.256 \pm 0.045	127.9 \pm 22.5
	SHR	552.0 \pm 49.0	546.7 \pm 59.6	0.407 \pm 0.045*	225.5 \pm 24.6*
Pons/Medulla	Control	188.0 \pm 20.3	185.1 \pm 16.1	0.354 \pm 0.031	65.5 \pm 5.7
	SHR	202.8 \pm 35.9	212.3 \pm 20.6	0.338 \pm 0.033	71.8 \pm 7.0

*means $p < 0.05$

고 있고 (Fig. 5) 이때 도파민 교체율 (Turnover rate)은 중뇌에서 유의성 있게 증가된 상태로 나타나고 있다 (Fig. 3, Table 1). 이러한 결과는 선천성 고혈압쥐에서의 고혈압 유지과정에 도파민 신경계의 활성이 연계되어 있음을 시사한다고 볼 수 있다. 또한 본 실험 결과에서 AMPT 처치를 한 후에는 혈압의 강하가 선천성 고혈압쥐뿐 아니라 WKY에서도 나타나는 것으로 보아 (Fig. 5) 도파민을 포함한 모노아민의 함량 감소, 즉 모노아민 신경계의 활성 감소가 혈압강하에 기여했음을 나타낸다고 생각할 수 있다. AMPT에 의한 모노아민류의 감소가 단순히 도파민에만 국한하는 것이 아니라 노르에피네프린 등에도 적용될 수 있기 때문에 본 실험 결과에서 관찰되는 혈압 감소가 도파민에 의한 것이냐 또는 노르에피네프린에 의한 것이냐의 선별판정에는 본 연구 결과가 직접적인 답을 제공하지는 않았으나 Maarten 등²³⁾의 보고에서 도파민의 역할이 혈압 조절에 우세할 가능성이 있다는 해석을 유추할 수 있다. 즉 6-OH DA 처치전에 Dimethyl imipramine 처치를 한 경우와 안한 경우 혈압변동은 노르에피네프린 함량 변동보다 도파민 함량 변동에 더욱 유의성 있는 상관관계를 나타낸다고 보고한 바 있기 때문이다.

도파민 교체율의 변동이 도파민 신경계의 활성변동을 나타낸다는 점에 비추어²⁹⁾ 고혈압이 유지되는 시점에서 선천성 고혈압쥐 중뇌중의 도파민 교체율이 정상혈압쥐에 비해 높았다는 결과는 중뇌중의 도파민 신경활성이 고혈압 현상과 연계되는 현상임을 파악할 수 있으며 이때 중뇌중의 도파민 교체율 증가 상태는 선천성 고혈압쥐에서 고혈압 현상과 관련해서 두가지 가능성을 제시한다고 볼 수 있다. 첫째는 중뇌중의 도파민의 교체율 증가가 고혈압의 발현 또는 유지에 직접 기여하는 요인이 될 수 있고, 둘째는 중뇌중의 도파민 교체율 증가가 고혈압 현상에 의해 유발된 2차적인 결과에 해당할 가능성도 배제할 수는 없다고 생각된다.

Loewy 등²⁰⁾은 생후 7주의 선천성 고혈압쥐에 6-OHDA를 뇌실에 투여해도 고혈압 발생을 지연시키기만 하고 완전히 차단시키지는 못하였으며 이는

곧 고혈압 유발은 신경성이지만 고혈압 유지는 비카테콜아민 신경활성 또는 혈관 평활근 비정상에 그 원인이 있을 것으로 추정될 수 있다. 고혈압과 관련하여 도파민 수용체의 감수성 저하에 의한 신경전달기능의 저하상태를 보상하기 위한 수단으로 도파민 신경활성이 증가된 상태일 수도 있다^{30,31)}. 또한 고혈압 상태의 선천성 고혈압쥐에서 교감신경 활성 또는 혈관 경직성이 증가된 상태를 보상하기 위해 이를 조절하는 교감 신경계에 presynaptic inhibition 역할을 하는 기전으로 도파민 신경활성 증가를 유추할 수도 있다^{24,32)}. 그러나 도파민 신경계 활성 변동이 고혈압 현상의 원인이나 결과에 해당되느냐에 대한 궁극적인 분리증명은 후속적인 일련의 실험에 의해서만 가능할 것이다.

결 론

1. 14주된 고혈압쥐에서, 혈압은 정상 혈압쥐에 비해서 유의성 있게 높았다.
2. 14주된 고혈압쥐에서 각 부위별 도파민 교체율은 중뇌에서만 정상혈압쥐에 비해서 높았다. 그러나 대뇌, 시상/시상하부 및 뇌교/연수에서는 고혈압쥐와 정상혈압쥐간에 차이가 없었다.

고혈압쥐의 중뇌에서 Dopamine Turnover Rate가 정상쥐에 비해서 비정상적으로 큰 것이 고혈압쥐의 고혈압현상을 발현하는데 기인하는 신경계 요인 중의 하나일 것이라는 사실을 제시했다고 생각되며 아울러 이러한 비정상이 고혈압 현상에 의해 2차적으로 유발된 결과일 가능성도 배제할 수는 없다고 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 생리분자과학 연구센터의 연구비 지원에 의해 수행되었음.

REFERENCES

1. T. Nagatsu, K. Ikuta, Y. Numata, T. Kato and

- M. Sano; Vascular and brain dopamine β -hydroxylase activity in young spontaneously hypertensive rats. *Science*, **191**, 290 (1976)
2. K. Nakamura; Role of the central nervous system on development and maintenance of hypertension in spontaneously hypertensive rats (SHR). *J. Pharmacol.*, **31** (Suppl. I), 44 (1981)
 3. L. Erinoff, A. Heller and S. Oparil; Prevention of hypertension in SH rat: Effect of differential central catecholamine depletion. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*, **150**, 748 (1975)
 4. E.H. Cantor, S. Abraham and S. Spector; Central neurotransmitter receptor in hypertensive rats. *Life Science*, **28**, 519 (1981)
 5. J.P. Chalmers; Brain amines and models in experimental hypertension. *Circ. Res.*, **36**, 469 (1975)
 6. Y. Yamori, W. Lovenberg and A. Sjoerdsma; Norepinephrine metabolism in brainstem of spontaneously hypertensive rats. *Science*, **170**, 544 (1970)
 7. I. Nagatsu, T. Kato, Y. Numata, K. Ikuta, M. Sano, I. Nagatsu, H. Umezawa, M. Matsuzaki and T. Takeuchi; Noradrenaline synthesizing enzymes in brain, serum, sympathetically innervated tissues, and adrenals of spontaneously hypertensive rats. *Jap. Heart J.*, **18**(4), 538 (1977)
 8. M. Ogawa, Y. Fujita, M. Niwa, N. Takami and M. Ozaki; Role on blood pressure regulation of noradrenergic neurons originating from the locus coeruleus in the Kyoto-Wistar rat. *Jap. Heart J.*, **18**(4), 586 (1977)
 9. J.M. Saavedra, H. Grobecker and J. Axelrod; Changes in central catecholaminergic neurons in the spontaneously (genetic) hypertensive rats. *Circ. Res.*, **42**(4), 529 (1978)
 10. K. Nakamura; Activation and central noradrenergic and adrenergic neurons in young and adult spontaneously hypertensive rats. *Jap. Heart J.*, **19**, 635 (1978)
 11. M. Ogawa and M. Ozaki; Serotonin metabolism on hypertension produced by chemical lesion of the locus coeruleus in the rat. *Jap. Heart J.*, **19**, 637 (1978)
 12. J.L. William, R.K. Kenneth, J.K. Irwin and A. Sjoerdsma; Catecholamine metabolism in hypertensive rats. *Circ. Res.*, **27**, 509 (1970)
 13. I. Kobrin, R. Ebstein and D. Ben-Ishay; Cyclic AMP generation in hypothalamus of hypertension-prone and-resistant rats. *Clinical Science*, **59**, 247S (1980)
 14. K.H. Quan-Bui, E. Jean-Luc, D.Y. Marie-Aude and D. Meyer; Early changes in noradrenaline content of some brain nuclei in spontaneously hypertensive rats. *Clinical Science*, **59**, 243S (1980)
 15. D.H. Squarez, B.L. Degram and E.D. Frohlich; Systemic and regional haemodynamics in spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *Clinical Science*, **59**, 251S (1980)
 16. G. Schmid, M. Palkovits, U. Bahner and A. Heidland; Altered cyclic AMP levels in specific cardiovascular brain centers of spontaneously hypertensive rats. *Klin. Wochenschr*, **58**, 1091 (1980)
 17. K. Nakamura, M. Gerold and H. Thoenen; Genetically hypertensive rats: Relationship between the development of hypertension and the change in noradrenaline turnover of peripheral and central adrenergic neurons. *Naunyn-schmiedeberg's Arch. Pharmak.*, **271**, 157 (1970)
 18. A. Ito and S.M. Schanberg; Central nervous system mechanism responsible for blood pressure elevation induced by p-chloro-phenylalanine. *J. Pharm. Exp. Ther.*, **181**, 65 (1971)
 19. L.P. Schramm, H.J. Gunther, K.E. McKenna and G.N. Barton; Sympathetic hypertensive and hypertension in adult spontaneously hypertensive rats despite early dorsolateral funicular

- lesions. *Brain research*, **167**, 402 (1979)
20. A.D. Loewy, S. MeKellar, E.E. Swinsson and W. M. Panneton; Onset of hypertension in spontaneously hypertensive rats despite the depletion of spinal cord catecholamines. *Brain Research*, **185**, 449 (1979)
 21. C. Pauline, G. Rajakumar, C. Simon, C.Y. Kwan and R.K. Mishra; Enhanced (^3H) spiroperidol binding in striatum of spontaneously hypertensive rats (SHR). *European Journal of Pharmacology*, **82**, 243 (1982)
 22. M.M. Meyers, S.R. Whittemore and E.D. Hindly; Changes in catecholamine neuronal uptake and receptor binding in the brains of spontaneously hypertensive rats (SHR). *Brain Research*, **220**, 325 (1981)
 23. B. Maarten, D.H.G. Versteeg and J. Wybren; Role of dopamine in the development of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension*, **6**(6), 899 (1984)
 24. D.J. Reis, A.R. Granata, T.H. Joh, C.A. Ross, D. A. Ruggiero and D.H. Park; Brainstem catecholamine mechanisms in tonic and reflex control of blood pressure. *Hypertension Suppl. II*, **6**(5), II-7 (1984)
 25. J. Glowinski and L.L. Iverson; Regional studies of catecholamines in the rat brain I. The disposition of ^3H -DA and ^3H -DOPA in various regions of the brain. *J. Neurochem.*, **13**, 655-9 (1966)
 26. B.B. Brodie, E. Costa, A. Diabac, N.H. Neff and H.H. Smookler; Application of steady state kinetics to the estimation of synthesis rate and turnover time of tissue catecholamines. *J. of Pharmacol. and Exp. Ther.*, **154**(3), 499 (1966)
 27. R.H. Cox and J.L. Perbach; A sensitive, rapid and simple method for the simultaneous spectrophotometric determination of norepinephrine, dopamine, 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindole acetic acid in discrete area of brain. *J. Neurochem.*, **20**, 1777 (1973)
 28. J.M. Pfeffer, M.A. Pfeffer and E.D. Frohlich; Validity of indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J. Lab. Clin. Med.*, **78**(6), 957 (1971)
 29. C.J. Pycock and P.V. Taberner; Central neurotransmitter turnover, University Park Press, Baltimore, 20-58 (1981)
 30. M.F. Lokhandwals and R.J. Barrett; Cardiovascular dopamine receptors: Physiological, pharmacological and therapeutic implications. *J. Autonom. Pharmacol.*, **2**, 189 (1982)
 31. O.E. Brodde; Vascular dopamine receptors: Demonstration and characterization by in vitro studies. *Life Science*, **31**, 289 (1982)
 32. T.M. Dolak and L.I. Goldberg; Renal blood flow and dopaminergic agonists. *Annu. Ref. Med. Chem.*, **16**, 103 (1981)