

DOCA-Salt 고혈압 쥐에서 시간변동에 따른 Endogenous Ouabain 변화

고려대학교 의과대학 순환기내과학교실

박창규 · 홍순준 · 서순용 · 임홍의 · 김진원 · 서홍석 · 오동주 · 노영무

Time-Related Alterations of Endogenous Ouabain in DOCA-Salt Hypertensive Rats

Chang Gyu Park, MD, Soon Jun Hong, MD, Soon Yeong Suh, MD, Hong Euy Lim, MD,
Jin Won Kim, MD, Hong Seok Seo, MD, Dong Joo Oh, MD and Young Moo Ro, MD

Department of Internal Medicine, Korea University Medical College, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Controversy exists regarding the role of endogenous ouabain in the pathogenesis of DOCA-salt induced hypertension. The purpose of this study was to investigate the role of endogenous ouabain in the development of hypertension in DOCA-salt rats. **Materials and Methods** : The mean blood pressure and heart rate were recorded in 1, 2 and 4 week old control and DOCA-salt treated rats. The endogenous levels of ouabain in the plasma, hypothalamus, pituitary and adrenal glands of the 1, 2 and 4 week old control and DOCA-salt treated rats were also measured using a radioimmunoassay. **Results** : The mean blood pressures in the 2 and 4 week old DOCA-salt treated rats were significantly higher than those of the controls. There was no significant change in the heart rate between the DOCA-salt treated and control groups. In the 4 week old DOCA-salt treated rats, the endogenous level of ouabain in the adrenal glands was higher than that in the control rats, but this was only weakly significant. The endogenous level of ouabain in the hypothalamus was significantly higher in the 1 week old DOCA-salt treated rats than in the control, but this significance disappeared in the 2 and 4 week old DOCA-salt treated rats. **Conclusion** : These results suggest that the endogenous level of ouabain contributes to the development and maintenance of high blood pressure in DOCA-salt rats. Further studies will be required to elucidate the relationship between the endogenous level of ouabain and DOCA-salt hypertension. (Korean Circulation J 2004;34(12):1216-1222)

KEY WORDS : Ouabain ; DOCA-salt rat ; Hypertension.

서론

Endogenous ouabain (EO)는 레닌, 엔지오텐신 시스템과 더불어 식염섭취에 의해 예민하게 혈압이 상승하는

고혈압(salt-sensitive hypertension)의 원인인자 중 하나로 알려져 왔다.¹⁻³⁾ 실제로 엔지오텐신 type I 수용체 차단제인 Losartan이나 Fab fragment (Digibind)를 뇌의 lateral ventricle로 장기간 투여했을 때 spontaneous hypertensive rat (SHR)과,⁴⁾⁵⁾ Dahl sensitive (Dahl S) rat에서 혈압상승을 억제된다.⁶⁾⁷⁾ 이러한 소견은 뇌의 엔지오텐신 type I 수용체나 EO의 활성이 SHR과 Dahl S rat의 고혈압 발현과 관계가 있다는 것을 시사하고 있다.

DOCA-salt 고혈압 쥐는 실험적으로 한쪽 신장절제

논문접수일 : 2004년 7월 1일
수정논문접수일 : 2004년 8월 26일
심사완료일 : 2004년 10월 6일
교신저자 : 박창규, 152-050 서울 구로구 구로동 80
고려대학교 의과대학 순환기내과학교실
전화 : (02) 818-6635 · 전승 : (02) 864-3062
E-mail : parkcg@kumc.co.kr

(unilateral nephrectomy) 후 deoxycorticosterone (DOCA) 투여에 의해 고혈압이 유발되는 대표적인 mineralocorticoid 항진에 의한 salt-sensitive 고혈압 실험모델로서 체내 수분저류와 이로 인한 절대 볼륨증가에 의해 고혈압이 초래되며 매우 낮은 혈중 레닌(renin)치를 보이기 때문에 low renin형 고혈압의 발생기전과 병태생리를 밝혀내고 치료효과를 알아보는 데 널리 사용되고 있다.⁸⁾ DOCA-salt 고혈압 쥐는 대개 DOCA와 식염투여 후 1주까지는 혈압의 변화가 없다가 서서히 상승하여 2주 경부터 고혈압을 나타나게 되며,⁹⁻¹³⁾ 4주 경에는 DOCA 투여를 중지하더라도 지속적인 고혈압을 나타낸다.¹⁴⁾

DOCA-salt 고혈압 쥐에서도 뇌의 엔지오펜신 시스템이 고혈압의 병인에 관계되는 것은, 이미 본 교실의 연구에서 DOCA-salt 고혈압 쥐 모델에서 뇌실내로 losartan의 단기¹⁵⁾ 및 장기¹⁶⁾ 투여에 고혈압 예방 및 조직보호작용을 나타내는 것을 보고한 바 있다. 그러나 아직까지 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 EO의 역할에 대해서는 논란이 있다. 일부 연구¹⁷⁻¹⁹⁾에 따르면 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 혈중 EO의 유의한 증가를 관찰하여 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 EO가 병인으로 작용할 가능성을 제시하였다. 그러나 이와 같은 연구들은 EO측정에 사용한 방법들이 서로 달라 일관된 결과를 보이지 못했으며 단지 혈중 EO농도만을 측정하였기에, EO를 직접 생산, 분비하는 것으로 알려진 뇌의 시상하부, 뇌하수체나, 부신에서의 EO가 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 어느 시기에 어떻게 작용하는지 전혀 구분할 수 없다. 따라서 본 연구의 목적은 첫째, DOCA-salt 고혈압 쥐에서 EO가 고혈압의 병인으로 작용하는지 유무와, EO의 혈중 농도 뿐 아니라 뇌하수체 및 부신조직의 EO농도를 1주 DOCA-salt 투여 쥐, 2주 DOCA-salt 투여 쥐 및 4주 DOCA-salt 투여 쥐에서 각각 측정하여 고혈압의 전단계, 발생, 안정 및 유지의 시기에 따라 EO 생성에 관계되는 각 조직내 EO의 변화를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

5주 된 체중 140~170 g의 수컷 Wistar 쥐들을 구입한 다음 섭씨 24도 정도의 비교적 일정한 온도에서 밤, 낮 12시간 사이클을 유지하고 일반 쥐용 chow와 tap

water를 먹이며 실험 전 최소 5일간 적응기간을 가졌다.

1, 2, 4주 DOCA-salt 고혈압 쥐 만들기

할로탄(halothane) 마취하에 좌측 신장을 적출하였다. 좌측 신장 적출 후 24시간 후부터 대조군과 DOCA-salt군으로 나눴다. DOCA-salt군은 일주일에 3번씩 DOCA(25 mg/kg)를 쥐 무게 100 g 당 참기름 0.1 mL에 용해하여 피하주사하고 1% 생리 식염수를 음료수로 투여하였다. 대조군은 쥐 무게 100 g 당 참기름 0.1 mL만을 피하주사하고 증류수를 음료수로 투여하였다. 쥐들은 따로 분류하여 서로 다른 기간(1주, 2주, 4주) 동안 양육 하였다.

대 상(각각 8마리씩)

- 1주 : 대조군 vs DOCA-salt 군
- 2주 : 대조군 vs DOCA-salt 군
- 4주 : 대조군 vs DOCA-salt 군

혈압측정

모든 대상 쥐에서 DOCA-salt 치료 후 4주에 동맥도관을 시행하였다. 전경부를 정중앙 절개술하고 조직을 박리하여 우측 경동맥을 노출시키고 헤파린 식염수로 채워진 PE-50 폴리에틸렌 튜브를 넣어 도관한 다음 반대편 끝을 목 뒤로 돌려 피부밖으로 노출시켰다. 마취에서 깨어난 뒤 4~5시간이 지난 뒤 PE-50 튜브에 혈압 변환기를 연결하여 쥐가 의식이 있는 정상상태에서 혈압과 심박수를 측정했다.

샘플 채취와 Endogenous ouabain(EO) 측정

1주, 2주, 4주 대조군과 DOCA-salt군 각각에서 30분 동안 혈압과 심박수를 측정한 뒤 혈액 3 mL를 채취하여 혈장 EO 측정을 위해 냉장 보관된 EDTA 튜브에 넣고 10분 동안 3000 rpm에서 원심분리하여 혈장을 분리한 다음, 혈장을 섭씨 영하 70도 냉동고에 보관하였다. 혈액학적 검사가 모두 끝난 뒤에 pentotal sodium을 체중 100 g당 0.2 mL를 생리 식염수와 혼합하여 카테터를 통해 동맥주사하여 쥐를 안락사시킨 후 머리를 절단하여 시상하부와 뇌하수체를 분리한 뒤 저울로 뇌하수체무게를 측정한 다음, 복부를 절개하여 양쪽 부신을 적출하여 무게(wet weight)를 측정한 뒤 영하 70도 냉동고에 보관하였다. EO의 측정은 조직을 2 mL 증류

수에 넣고 sonicator로 균일하게 녹인 다음 원심 분리하여 상층액을 Se-Pak C18 column(Waters-Millipore, Milford, MA)에 통과시켰다. 60% acetonitrile로 column을 통과시킨 액체를 pump에서 증발시킨 후 다음 OLA를 측정하였다. OLA의 정량분석은 ouabain이나 조직, 혈청 추출물의 일정량을 개의 신장에서 조제된 ouabain-sensitive Na-K-ATPase(Sigma Chemical Co)에 용해된 [r-P]-ATP(New England Nuclear, Boston, MA)에서 방출되는 P를 베타 카운터에서 측정하여 결정하였다.

통 계

모든 측정값은 평균±표준오차로 나타내었고 1주, 2주, 4주 대조군과 DOCA-salt군의 data값 비교는 Student t-test를 이용하여 하였고, 시간경과에 따른 1주, 2주, 4주 기간동안에 대조군과 DOCA-salt 각 군에서 data 변화는 1-way ANOVA를 이용하여 분석하였다. p값이 0.05 미만인 경우에 통계적 유의성을 부여하였다.

결 과

혈역학적 변화

Table 1은 DOCA-salt군과 대조군에서, 1주, 2주, 4주 각각의 평균혈압(MBP) 과, 심박수를 요약한 것이다. 평균혈압은 DOCA-salt군에서 1주에는 대조군보다 유의하지 않게 약간 증가하는 경향을 보였지만 2주에는 유의한 증가를 나타냈고 혈압상승은 4주 후에는 더욱 심해져 대조군에 비해 현저한 상승을 나타냈다. 1주, 2주, 4주 DOCA-salt군과 대조군에서 심박수의 차이는 없었다.

시간경과에 따른 혈액 및 조직의 EO 변화 수치(Table 2)

혈청 EO는 DOCA-salt군과 대조군 모두 1주 때에 비해, 2주에 증가추세를 보이다가, 4주에 다시 감소하는 양상을 나타냈다. DOCA-salt군에서 혈청 EO는 대조군과 비교하여 1주에는 차이가 없었고, 2주에 증가경향을 보였으나 의미있는 차이가 없었으며, 4주에는 DOCA-salt군이 대조군보다 높은 경향을 보였다(p=0.051).

Table 1. Time-related change of blood pressure and heart rate

	Baseline	1 week	2 weeks	4 weeks	p
Mean BP (mmHg)					
DOCA-salt	113.2± 4.2	119.5± 3.7	141.0±9.0 [†]	185.7± 7 [†]	<0.001
Control	110.7± 5.0	113.7± 4.0	105.0±5.8	113.0±3.0	0.56
Heart rate (bpm)					
DOCA-salt	400.9±18.9	382.7±18.7	392.0±16	403.0± 14	0.32
Control	387.3±13.7	396.3±15.7	387.0±13	383.0±8.7	0.83

Results are mean±SEM, DOCA-salt, DOCA-salt hypertensive rat. *: p=0.05-0.1, compared with control, †: p<0.01, compared with control. DOCA: deoxycorticosterone

Table 2. Time-related change of endogenous ouabain in plasma, adrenal gland, pituitary gland and hypothalamus

	1 week	2 weeks	4 weeks	p
Plasma (ng/mL)				
DOCA-salt	358.0±55.7	493.3±43.7	342.3±59.2	0.02
Control	357.4±42.0	403.0±42.7	291.3±47.6	0.228
Adrenal (ng/mL)				
DOCA-salt	8.3± 1.6	5.7± 1.2	10.3± 2.5*	0.384
Control	8.2± 2.7	9.1± 4.5	4.6± 1.4	0.007
Pituitary (ug/mL)				
DOCA-salt	62.9± 2.2	47.0± 6.1	33.7± 3.2	0.679
Control	54.1±16.6	43.9± 7.1	24.7± 3.2	0.159
Hypothalamus (ug/mL)				
DOCA-salt	229.1±12.3 [†]	144.8±13.7	237.8± 9.9	0.003
Control	157.0±10.4	152.7±14	235.8± 7.6	0.006

Results are mean±SEM, DOCA-salt, DOCA-salt hypertensive rat. *: p=0.07, compared with control, †: p<0.01, compared with control

Table 3. Time-related weight change of adrenal gland and pituitary gland

	1 week	2 weeks	4 weeks	p
Adrenal (ng/mL)				
DOCA-salt	54.1±5.4	60.5±5.7	57.2±3.7 [†]	0.679
Control	60.8±6.3	71.8±4.0	75.0±4.4	0.172
Pituitary (ug/mL)				
DOCA-salt	7.9±0.6	8.4±0.4*	7.2±0.9*	0.721
Control	8.1±0.6	9.5±0.2	10.5±0.5	0.019

Results are mean±SEM, DOCA-salt, DOCA-salt hypertensive rat. *: $p<0.05$, compared with control, †: $p=0.0148$ compared with control

부신 EO는 DOCA-salt군에서 대조군에 비해 1주에 차이가 없었고, 2주에 증가경향을 보였으나 의미있는 차이가 없었으며, 4주에는 DOCA-salt군이 대조군보다 경계성의 유의성을 보이며 증가했다($p=0.07$). 시상하부 EO는 1주에는 DOCA-salt군에서 대조군보다 유의하게 증가하였으나($p<0.05$), 2주와 4주째에는 차이가 없었다. 뇌하수체 EO는 DOCA-salt군과 대조군 사이에 1, 2, 4주에 차이가 없었다($p=0.09$).

시간경과에 따른 부신과 뇌하수체 무게 변화

대조군에서는 부신과 뇌하수체의 무게가 시간경과에 따라 계속 증가하였다. 반면에 DOCA-salt군은 1주 때에 비해, 2주에 증가추세를 보이다가, 4주에 다시 감소하는 양상을 나타냈는데 대조군에 비해 부신무게는 4주에, 뇌하수체의 무게는 2주부터 유의한 감소를 나타냈다($p<0.05$) (Table 3).

고 찰

본 연구에서 DOCA-salt군에서 혈청과 뇌하수체 및 부신의 EO 시간경과에 따라서 대조군과 비교하여 증가하는 경향을 보였으나 의미있는 차이가 없었다. 시상하부 EO는 1주에는 DOCA-salt군에서 대조군보다 유의하게 증가하였으나($p<0.05$), 2주와 4주째에는 차이가 없었다.

EO가 고혈압의 원인으로 작용하는지는 아직 논란이 있다. Na, K-ATPase는 세포가 기능을 유지하기 위해서 없어서는 안되는 필수적인 효소이다. 1961년 de Wardener 등²⁰⁾은 신세뇨관의 Na, K-ATPase를 억제하는 호르몬 성질을 지닌 제 3의 물질이 있다고 보고한 이래 이 물질은 디지털리스와 비슷한 구조를 가진 물질로서,

최근에는 식물에서 추출되는 ouabain과 같은 작용을 지닌 거의 동일한 물질인 것을 알게 되었고, 내인성 ouabain 양 물질(endogenous ouabain : EO)라고 불리게 되었다.²¹⁾²²⁾ EO는 본태성 고혈압 환자의 30~45%에서 증가되어 있어 고혈압의 병인 중 하나로 간주되고 있는데,²³⁾ EO가 혈압을 상승시키는 기전은 콩팥의 세뇨관에서 Na, K-ATPase 억제로 인한 이뇨(natriuresis)를 일으킴에도 불구하고 혈관과 심근세포의 Na, K-ATPase 억제에 의한 이차적인 세포내 칼슘이온의 증가로 말미암아 혈관수축과 심근수축향진으로 인해 혈압을 상승시킨다. Ouabain을 직접 피하나 뇌실(intracerebral ventricle)로 주사하면 혈압이 상승하며, 이때 ouabain에 의한 교감신경계의 항진이 혈압상승에 매우 중요한 역할을 하게 된다.²⁴⁾

EO는 고혈압 연구에 사용되는 대표적인 유전적 고혈압 쥐인 spontaneous hypertensive rat (SHR)과 Dahl sensitive (Dahl S) rat에서 EO의 길항제인 Fab fragment (Digibind)를 투여했을 때 혈압상승이 억제되는 것을 관찰하여, EO가 이러한 유전적 고혈압 쥐모델에서 고혈압을 일으키는 원인으로 작용한다는 사실을 알게 되었다. 흥미로운 사실은 EO가 brain에 많이 존재하고 있어 뇌실로 직접 Fab fragment (Digibind)를 급성, 또는 만성으로 투여했을 때도 SHR²⁵⁾²⁶⁾과 Dahl S rat²⁷⁾²⁸⁾에서 혈압강하 및 고혈압 발생을 예방할 수 있다는 실험결과가 보고되었다.

그러나 EO가 DOCA-salt 고혈압의 원인으로 작용하는지는 명확하지 않다. Yuan 등²⁹⁾은 장기간 ouabain 투여가 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 고혈압을 일으킨다고 보고했고, Kojima 등¹⁷⁾은 DOCA-salt treated rats에서 혈중 digoxin-like immunoreactivity가 증가된 것을 관찰했다.

Nakamura 등¹⁸⁾도 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 혈중 EO가 증가했다는 사실을 관찰하였지만 이와 같은 연구들은 EO측정에 사용한 방법들이 서로 달라 일관된 결과를 보이지 못했다. Krep 등³⁰⁾은 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 digoxin의 길항제인 Fab fragment를 주면 BP가 감소하는 것을 관찰하여 DOCA-salt 고혈압과 EO의 연관성을 제시하였다. 그러나 이와 상반된 연구결과도 만만치 않은데, Mann 등³¹⁾은 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 Fab fragment 10 mg/kg 정맥 투여 후 혈압의 변화가 없는 것을 관찰하였고, 그 밖의 쥐, 양, 개를 이용한 실험과 심지어 인간에서 ouabain을 투여한 연구에서도 혈압상승의 효과는 관찰할 수 없었다.³²⁻³⁴⁾ 이러한 DOCA-salt 고혈압에서 EO의 역할에 관한 연구는 단지 혈중 EO농도만을 측정할 것이며, 어느 한 시점에서만 plasma의 농도를 측정하였고, EO를 생성, 분비하는 시상하부, 뇌하수체 및 부신의 관계에 대해서는 연구된 바 없었다. 따라서 본 연구에서는 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 현재까지 알려진 EO의 생산, 분비에 관계되는 주요 조직인 뇌의 시상하부와 뇌하수체 및 부신 조직에서 EO의 농도를 측정하였으며 특히 고혈압 발생전, 고혈압 발생, 고혈압 유지 등 특정시기에 따라서 EO를 측정하여 EO가 DOCA-salt 고혈압에서 고혈압 발생에 관여하는지 유지에 관여하는지를 알아보고자 시도했다. 본 연구결과 혈압은 DOCA-salt rat에서 대조군과 비교해서 1주에는 차이가 없었으나 2주뒤부터 유의한 증가를 보였는데 이와 같은 소견은 기존의 연구결과와 비슷한 결과이다. DOCA-salt rat에서 4주 뒤에 평균혈압은 더 심하게 상승하여 중증 고혈압을 보였으며 일반적으로 DOCA-salt 고혈압 쥐는 악성 고혈압에 의한 뇌출혈과 심부전 또는 신부전으로 사망하게 된다. 이와 반면에 심박수는 DOCA-salt rat군과 대조군에서 유의한 차이를 나타내지 않았는데 이 역시 기존 연구와 비슷한 결과이다.

국내에는 아직까지 ouabain에 대한 연구는 거의 전무한 상태이며, 특히 본 연구에서와 같이 DOCA-salt 고혈압 쥐를 만들어서 혈중 및 조직내 endogenous ouabain(EO) 농도를 측정한 연구는 국내외를 망라해서 처음으로 시도된 것이다.

금번 연구에서 혈액내 EO의 농도는 DOCA-salt 쥐군과 대조군에서 1주에는 차이가 없었고, 2주에는 DOCA-salt 쥐군에서 대조군보다 증가하는 경향을 보였으나 유의하지는 않았다. 4주에는 DOCA-salt 쥐군이 대조군

보다 유의하게 증가되어 있었다. 이와 같은 소견은 뇌하수체 및 부신에서도 대체로 비슷한 양상을 보였는데 DOCA-salt 쥐군에서 조직의 EO 농도는 1주에 대조군과 비교하여 비슷하였고, 2주째에는 대조군보다 증가하는 경향을 보였으나 유의하지는 않았으며, 4주째에는 대조군보다 경계성의 유의성을 가지고 증가되는 양상을 보였다. 반면에 EO생성에 가장 중요한 기관인 시상하부에서는 1주에는 DOCA-salt 쥐군에서 대조군보다 유의하게 증가하였으나 2주와 4주째에는 차이가 없었다. 이 같은 소견에서 유추할 수 있는 사실은 DOCA-salt 쥐에서 처음 1주기간에 시상하부에서 EO의 생성이 증가하지만 2주내에 EO의 생성은 대조군과 비슷해지고 시상하부에서 생성된 증가된 EO가 뇌하수체에 저장 및 분비되면서 부신에도 EO생성의 자극을 주어, 2주째부터는 혈액 및 뇌하수체와 부신에 EO농도가 대조군에 비해 시간 증가에 따라 증가하며, 4주째에는 경계성의 유의성을 가질만큼 더 분비가 증가될 가능성이 있다. 즉 시상하부에서 생성된 EO가 뇌하수체에 저장된 후 혈액으로 분비되고 역시 부신에서 생성된 EO가 혈액으로 분비되는데, 1주, 2주, 4주째 혈액의 EO 변화 양상과 뇌하수체 및 부신에서의 EO 변화는 같은 추이를 나타냈다. 이러한 가설에 기초하면 2주때부터 증가한 EO가 DOCA-salt rat군에서 2주부터 초래되는 고혈압 발생의 원인으로 가능성이 있다. 또한 4주째에는 대조군에 비해 EO가 상당한 증가를 나타내는데 이것이 심한 고혈압 발생 및 유지에 연관이 있을 것으로 생각된다. 하지만 본 연구결과만 가지고는 EO가 DOCA-salt 쥐에서 고혈압 발생 및 유지에 중요원인으로 작용할 가능성은 그리 높지 않아 보인다.

본 연구는 DOCA-salt 고혈압 쥐의 뇌하수체 및 부신의 시간 경과에 따른 무게변화를 측정했다. 대조군에서는 2주 및 4주의 시간 경과에 따라서 점차 무게가 유의하게 증가하였지만, DOCA-salt 고혈압 쥐에서는 2주에는 뇌하수체 및 부신의 무게가 증가하였지만 4주째에는 오히려 무게가 감소하였는데 뇌하수체 무게는 1주 때보다도 유의하게 감소했다. 이 같은 변화는 DOCA-salt의 투여에 의한 이차적 변화로 예측되며 뇌하수체 및 부신의 시간 경과에 따른 무게변화에 대한 최초 연구결과다.

결론적으로 DOCA-salt 쥐군에서 혈압은 1주째에는 유의하지 않게 약간 증가하는 경향을 보였지만 2주에는

유의한 증가로 인한 고혈압을 나타냈고 4주째 혈압상승은 더욱 심했다. 혈액 및 뇌하수체와 부신의 EO농도는 DOCA-salt 쥐군에서 1, 2, 4주에 유의한 차이가 없었다. 그러나 DOCA-salt 쥐군에서 혈압상승 추세와 혈액 및 뇌하수체와 부신의 EO농도증가의 주기의 유사성을 나타내, 향후 이에 대한 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

요 약

배경 및 목적 :

DOCA-salt 고혈압 쥐에서 혈중 endogenous ouabain (EO)의 증가가 관찰하여 DOCA-salt 쥐의 고혈압 발생에 병인으로 작용할 가능성이 제시되었으나. 이와 같은 연구들은 EO측정에 사용한 방법들이 서로 달라 일관된 결과를 보이지 못했으며 단지 혈중 EO농도만을 측정하였기에, EO를 직접 생산, 분비하는 것으로 알려진 뇌의 시상하부, 뇌하수체나, 부신에서의 EO가 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 어느 시기에 어떻게 작용하는지 전혀 구분할 수 없다. 따라서 DOCA-salt 고혈압 쥐에서 EO가 고혈압의 병인으로 작용하는지를 알아보기 위해, EO의 혈중 농도 뿐 아니라 뇌하수체 및 부신조직의 EO 농도를 1주 DOCA-salt 투여 쥐, 2주 DOCA-salt 투여 쥐 및 4주 DOCA-salt 투여 쥐에서 각각 측정하여 고혈압의 발생 및 유지에 EO가 어떻게 작용하는지 알아보고자 하였다.

방 법 :

1주, 2주, 4주 대조군과 DOCA-salt 군(각 8마리씩)에서 혈압과 심박수를 측정한 뒤, 혈액을 채취하고 시상하부와 뇌하수체를 분리하고 부신을 적출하여 무게를 측정한 뒤 혈액과 조직의 EO를 ouabain-sensitive Na-K-ATPase에 용해된[r-P]-ATP(New England Nuclear, Boston, MA)에서 방출되는 P를 베타 카운터에서 측정하여 결정하였다.

결 과 :

평균혈압은 DOCA-salt군에서 1주에는 대조군보다 유의하지 않게 약간 증가하는 경향을 보였지만 2주에는 유의한 증가를 나타냈고 혈압상승은 4주 후에는 더욱 심해져 대조군에 비해 현저한 상승을 나타냈다. DOCA-salt 쥐군에서 혈청과 뇌하수체 및 부신의 EO는 대조군과 비교하여 1, 2, 4주에는 차이가 없었다. 시상하부 EO

는 1주에는 DOCA-salt군에서 대조군보다 유의하게 증가하였으나($p < 0.05$), 2주와 4주째에는 차이가 없었다.

결 론 :

DOCA-salt 쥐군에서 혈압상승과 혈액 및 뇌하수체와 부신의 EO 농도증가는 유의한 연관관계를 나타내지 못했다. 이와 같은 소견은 DOCA-salt 쥐에서 고혈압 발생 및 유지에 EO가 중요한원인으로 작용할 가능성이 적음을 시사했다. 그러나 DOCA-salt 고혈압의 병인과 EO의 관계에 대해서는 보다 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

중심 단어 : 고혈압 · DOCA-salt · Ouabain.

본 연구는 2001년도 대한순환기학회의 산학협동연구비(2001-8) 지원에 의해 이루어졌음.

REFERENCES

- 1) Wilson KM, Sumners C, Hathaway S, Fregly MJ. Mineralocorticoids modulate central angiotensin II receptors in rats. *Brain Res* 1986;382:87-96.
- 2) Takahashi H, Matsuzawa M, Okabayashi H, Suga K, Ikegaki I, Yoshimura M, Ijichi H, Okamura H, Murakami S, Ibata Y. Evidence for digitalis-like substance in the hypothalamopituitary axis in rats: implications in the central cardiovascular regulation associated with excess intake of sodium. *Jpn Circ J* 1987;51:1199-207.
- 3) Takahashi H, Matsuzawa M, Suga K, Ikegaki I, Nishimura M, Yoshimura M, Ihara N, Yamada H, Sano Y. Hypothalamic digitalis-like substance is released with sodium-loading in rats. *Am J Hypertens* 1988;1:146-51.
- 4) Oparil S, Yang RH, Jin HG, Chen SJ, Meng QC, Berecek KH, Wyss JM. Role of anterior hypothalamic angiotensin II in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Med Sci* 1994;307:S26-S37.
- 5) Huang BS, Leenen FH. Brain ouabain and angiotensin in salt-sensitive hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1996;28:1005-12.
- 6) Teruya H, Muratani H, Takishita S, Sesoko S, Matayoshi R, Fukiyama K. Brain angiotensin II contributes to the development of hypertension in Dahl-Iwai salt-sensitive rats. *J Hypertens* 1995;13:883-90.
- 7) Huang BS, Leenen FH. Both brain angiotensin and ouabain contribute to sympathoexcitation and hypertension in Dahl S rats on high salt intake. *Hypertension* 1998;32:1028-33.
- 8) Gavras H, Brunner HR, Laragh JH, Vaughan ED Jr, Koss M, Cote LJ, Gavras I. Malignant hypertension resulting from deoxycorticosterone acetate and salt excess. *Circ Res* 1975;36:300-9.
- 9) Liu DT, Birchall I, Kincaid-Smith P, Whitworth JA. Effect of dietary sodium chloride on the development of renal glomerular and vascular lesions in hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1993;20:763-72.
- 10) Haddy F, Pamnani M, Clough D. The sodium-potassium pump in volume expanded hypertension. *Clin Exp Hypertens* 1978;

- 79;1:295-336.
- 11) Wauquier I, Pemollet MG, Delva P, Lacour B, Devynck MA. High sodium diet and circulating digitalis-like compound in the rat. *J Hypertens* 1986;4:463-9.
 - 12) Kojima I, Yoshihara S, Ogata E. Involvement of endogenous digitalis-like substance in genesis of deoxycorticosterone-salt hypertension. *Life Sci* 1982;30:1775-81.
 - 13) Vargas F, Casanova I, Haro JM, Luna JD, Garcia del Rio C. Urinary excretion of digoxin-like factor (DLF) and ADH during DOCA-salt and Goldblatt 2 kidney-1 clip hypertension development. *Horm Metab Res* 1990;22:352-5.
 - 14) Morton JJ, Kenyon CJ, Beattie EC. Hormone and electrolyte changes in post-deoxycorticosterone salt hypertension in rats. *J Hypertens* 1990;8:1021-6.
 - 15) Park CG, Leenen FH. Effects of centrally administered losartan on deoxycorticosterone-salt hypertension rats. *J Korean Med Sci* 2001;16:553-7.
 - 16) Lee SJ, Park CG, Park JS, Kim EJ, Shin SH, Jin DK, Ahn JC, Seo HS, Oh DJ, Ro YM. Effects of central losartan on DOCA-salt hypertension rats. *Korean Circ J* 2004;34:84-91.
 - 17) Kojima I. Circulating digitalis-like substance is increased in DOCA-salt hypertension. *Biochem Biophys Res Commun* 1984;122:129-36.
 - 18) Nakamura T, Ichikawa K, Sato K, Tajima Y, Fujita H, Murata K. Time-related alterations in an endogenous digitalis-like factor in the development of DOCA-salt hypertension in rats. *Clin Exper Hypertens A* 1987;9:1733-44.
 - 19) Hamlyn JM. Increased levels of a humoral digitalis-like factor in deoxycorticosterone acetate-induced hypertension in the pig. *J Endocrinol* 1989;122:409-20.
 - 20) de Wardener HE, Mills IH, Clapham WF, Hayter CJ. Studies on the efferent mechanism of the sodium diuresis which follows the administration of intravenous saline in the dog. *Clin Sci* 1961;21:249-58.
 - 21) Gomez-Sanchez EP, Foecking MF, Sellers D, Blankenship MS, Gomez-Sanchez CE. Is the circulating ouabain-like compound ouabain? *Am J Hypertens* 1994;7:647-50.
 - 22) Hilton PJ, Hilton MJ, Forni L. Poisons and regulators of the sodium pump. *Hypertension* 1995;25:460.
 - 23) Masugi F, Ogihara T, Hasegawa T, Kumahara Y. Ouabain-like and nonouabain-like factors in plasma of patients with essential hypertension. *Clin Exp Hypertens A* 1987;9:1233-42.
 - 24) Hamlyn JM, Hamilton BP, Manunta P. Endogenous ouabain, sodium balance and blood pressure. *J Hypertens A* 1996;14:151-67.
 - 25) Huang BS, Leenen FH. Brain ouabain and central effects of dietary sodium in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 1992;70:430-7.
 - 26) Gomez-Sanchez EP, Foecking MF, Sellers D, Blankenship MS, Gomez-Sanchez CE. Is the circulating ouabain-like compound ouabain? *Am J Hypertens* 1994;7:647-50.
 - 27) Huang BS, Leenen FH. Brain 'ouabain' and desensitization of arterial baroreflex by high sodium in Dahl salt-sensitive rats. *Hypertension* 1995;25:372-6.
 - 28) Huang BS, Leenen FH. Blockade of brain "ouabain" prevents sympathoexcitatory and pressor responses to high sodium in SHR. *Am J Physiol* 1996;271:H103-8.
 - 29) Yuan CM, Manunta P, Hamlyn JM, Chen S, Bohlen E, Yeun J, Haddy FJ, Pamnani MB. Long-term ouabain administration produces hypertension in rats. *Hypertension* 1993;22:178-87.
 - 30) Krep H, Price DA, Soszynski P, Tao QF, Graves SW, Hollenberg NK. Volume sensitive hypertension and the digoxin-like factor: reversal by a Fab directed against digoxin in DOCA-salt hypertensive rats. *Am J Hypertens* 1995;8:921-7.
 - 31) Mann JF, Miemietz R, Ganten U, Ritz E. Haemodynamic effects of intact digoxin antibody and its Fab fragments in experimental hypertension. *J Hypertens* 1987;5:543-9.
 - 32) Nirasawa Y, Temma K, Fink GD, Akera T. In ability of Na⁺, K⁺-ATPase inhibitor to cause hypertension in sodium-loaded or deoxycorticosterone-treated one kidney rats. *Life Sci* 1985;37:767-74.
 - 33) Wang J, Tempini A, Schnyder B, Montani JP. Regulation of blood pressure during long-term ouabain infusion in Long-Evans rats. *Am J Hypertens* 1999;12:423-6.
 - 34) Pidgeon GB, Richards AM, Nicholls MG, Charles CJ, Rademaker MT, Lynn KL, Bailey RR, Lewis LK, Yandle TG. Chronic ouabain infusion does not cause hypertension in sheep. *Am J Physiol* 1996;270:E386-92.