

## 급성 신성 고혈압 쥐의 전신성 동맥계 및 폐 동맥계에 대한 Angiotensin II의 반응성

이병호<sup>#</sup> · 신화섭 · 허인회\* · 안형수\*\* · 노정구

한국화학연구소 스크리닝·안전성연구센터, \*중앙대학교 약학대학, \*\*동덕여자대학교 약학대학

(Received September 18, 1993)

### Angiotensin II Reactivity in Systemic and Pulmonary Arterial System of Acute Renal Hypertensive Rats

Byung-Ho Lee<sup>#</sup>, Hwa-Sup Shin, In-Hoe Huh\*, Hyung-Soo Ann\*\* and Jung-Ku Roh

*Screening and Toxicology Research Center, Korea Research Institute of  
Chemical Technology, Taejon 305-606, Korea*

*\*College of Pharmacy, Chungang University, Seoul 156-756, Korea*

*\*\*College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea*

**Abstract**—To investigate the endothelial dependence of angiotensin II(A II)-induced responses in the systemic and pulmonary arterial system of acute renal hypertensive rats of 2-kidney, 1-ligation type (RHRs), A II-induced vasocontractile and pressor effects were evaluated in isolated arteries and in vivo, respectively. A II dose-dependently contracted intact thoracic aorta and pulmonary artery ( $E_{max}$ : 40% at  $10^{-7}$ M and 80% at  $3 \times 10^{-8}$ M, respectively) from normotensive rats(NRs), which was significantly increased by removal of endothelial cells or pretreatment with EDRF inhibitors. In NRs, A II increased mean systemic and pulmonary arterial pressure(33 and 5.6 mmHg at 0.1  $\mu$ g/kg, respectively), the effect being significantly increased ( $P < 0.01$ ) by L-NAME(30 mg/kg, i.v.). However, A II-induced contraction of intact thoracic aorta and pulmonary artery( $E_{max}$ : 33% at  $10^{-7}$ M and 93% at  $3 \times 10^{-8}$ M, respectively) from RHRs were not changed after endothelial function was disrupted as above; similarly, pressor effects of A II on the systemic and pulmonary arterial pressure in RHRs did not altered by L-NAME. A II tachyphylactic responses for intact thoracic aorta from NRs and RHRs(65 and 87% at  $10^{-8}$ M, respectively) were greater than those for pulmonary artery(19 and 19% at  $10^{-8}$ M, respectively). Disruption of endothelial function significantly ( $P < 0.01$ ) depressed A II tachyphylaxis for thoracic aorta, but not for pulmonary artery. These results suggest that vascular reactivity to A II is not altered in RHRs, and it is greater for pulmonary arterial system than for systemic arterial system. A II reactivity is EDRF-dependent in both arterial systems of NRs, but EDRF-independent for RHRs. Finally, EDRF is one of the major factors underlying A II tachyphylaxis for thoracic aorta, but not for pulmonary artery.

**Keywords** □ renal hypertensive rat, angiotensin II, systemic arterial system, pulmonary arterial system, EDRF.

#### 서 론

Angiotensin II(A II)는 심장순환계의 전반적인 생리적 상태를 조절하는 역할을 할 뿐만 아니라, 고혈압

및 심부전과 같은 심장 순환계 질환과도 관련된 중요한 호르몬으로 알려져 있는데,<sup>1)</sup> 특히, 혈관계에 대한 A II의 생리작용은 prostacyclin, 내피유래 이완인자(EDRF), 내피유래 탈분극인자(EDHF) 등의 혈관 이완성 물질과 endothelin 등의 혈관 수축성 물질등을

<sup>#</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

생성, 유리하는 혈관내피 기능과 관련성이 있는것으로 보고되고 있다. 즉, Gruetter 등은<sup>2)</sup> 소의 폐동맥과 정맥에서는 내피가 A II 유발성 수축반응에 대해 영향이 없다고 하였으며, Saye 등도<sup>3)</sup> 비슷한 결과를 토끼의 적출 대동맥에 대해 발표한 바 있다. 그러나, 이와달라 흰쥐의 흉곽 대동맥,<sup>4)</sup> 토끼의 흉곽 대동맥과 장간막 혈관,<sup>5)</sup> 소의 관상 동맥등에서는<sup>2)</sup> 내피가 A II의 반응성에 현저한 영향을 준다고 알려져있어, A II의 수축반응에 대한 내피세포의 조절작용은 동물종이나 혈관계의 부위에 따라 다르다는 것을 시사한다. 실제 고혈압 상태에서는 혈관계의 구조나 반응성이 현저히 변하게 되는데, 내막이 비후되거나 내피세포의 팽윤 또는 subendothelial space가 넓어지는등의 조직형태학적 변화외에도,<sup>6,7)</sup> acetylcholine, histamine과 같은 내피의존성 이완물질의 반응성이 감소하거나, EDRF의 생성과 유리가 감소하게된다.<sup>8)</sup> 이와같은 변화들은 신성 고혈압에서도 부분적으로 일어나고 있는데, 신성 고혈압의 병태 생리학적 연구를 위해서는 임상적으로 이와 비슷한 신성 고혈압쥐 모델을 많이 이용하게 된다.

본 실험에서 사용한 2-kidney, 1-ligation 모델(이하 신성 고혈압쥐)은 신동맥을 결찰하는 방법으로, RAS의 활성이 크게 증가하기 때문에<sup>9,10)</sup> 비 펩타이드성 angiotensin II(A II) 수용체 길항제의 개발에 이상적인 모델로 이용되고 있다.<sup>11,12)</sup> 신동맥 결찰 신성 고혈압쥐는 결국 renin 형성이 증가함에 따라 A II 생성이 많아지며, 또한 혈관조직내에서 내피세포 손상이 예상되는 바, 이에따른 A II 반응 및 내피의 조절작용도 정상 혈압쥐와 다르게 나타날것으로 추측되며, 상대적인 혈압차이로 인해 대동맥계와 폐동맥계 간에 정도의 차이가 있을것으로 보인다.

이에 본 연구에서는 2-kidney, 1-ligation 형태의 신성 고혈압쥐에 있어서 혈압과 혈장 renin의 경시변화를 측정하고, 급성 신성 고혈압쥐의 전신성 동맥계와 폐동맥계에 있어서 A II 유발성 반응의 내피의존성을 규명하기 위하여, 적출 흉곽대동맥 및 폐동맥, 전신성 동맥압 및 폐 동맥압에 대한 A II 작용을 측정하였다.

### 실험방법

재료 및시약—Acetylcholine chloride, (–) norepi-

nephrine hydrochloride, angiotensin II acetate, N-nitro-L-arginine methyl ester, urethane,  $\alpha$ -chloralose 등은 Sigma 사에서 구입하였으며, 기타 시약들은 Junsei사로 부터 구입하였다. Acetylcholine chloride (ACh)와 angiotensin II(A II)는 흡습성이 강한 시약이어서, 각 실험마다 조제의 편차를 피하기 위하여 ACh은 10 mM, A II 는 1 mM의 stock용액을 만들어 여러 시험관에 분획하여  $-20^{\circ}\text{C}$  에 저장하였으며, 매 시험시 마다 하나씩 실온에서 녹인다음 연속회석법에 따라 회석하여 사용하였다. Urethane은 주사용 생리 식염수에 가온용해 하였으며,  $\alpha$ -chloralose는 propylene glycol에 가열용해하였다. 기타 시약들은 실험 개시 직전에 조제하여 사용하였으며, 적출조직 실험 용은 2차 증류수에, 정맥주사용은 주사용 생리식염수에 녹여서 사용하였다.

**실험동물**—한국화학 연구소 안전성 센터에서 SPF 상태로 사육한 4주령의 Sprague-Dawley계 숫컷 흰쥐를 분양받아, 일정한 온도와 습도를 유지한 일반 사육실에서 사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 한 상태에서 사육하여 체중 350~450 g 이된 흰쥐를 실험에 사용하였다.

**신성 고혈압 모델(RHR)**—신성 고혈압을 유발 시키기 위하여 좌측 신동맥 결찰을 행하였으며, 반대편 신장은 그대로 두었다. S.D.계 흰쥐를 ether로 마취 시키고 좌복부의 수술부위를 제모와 함께 소독한후 세로로 약 1 cm가량 절개한다음 복부 대동맥 가까이 의 신동맥을 주위조직 및 정맥으로부터 조심스럽게 분리하여 봉합사(4/0 sterile surgical silk)로 신동맥을 완전히 결찰하였다. 이어 needle이 달린 봉합사(4/0 sterile surgical silk with needle)로 근육층을 봉합하고 같은 방법으로 피부를 봉합하였다. 감염방지를 위하여 수술부위를 소독약으로 소독한후 cefazolin sod. 주사액(200~250 mg/kg/day)을 2일간 근육주사 하였다.

신동맥 결찰 후 시간 경과에 따른 high renin성 신성고혈압 모델의 형성정도를 확인하기 위하여, 신동맥 결찰전과 결찰 후 각각 6, 7, 8, 28일 경과한 동물 5군에 대해, 동물의 꼬리로부터 비마취상태의 혈압을 측정하는 tail-cuff법을 이용하여 Multichannel 8000(TSE) 으로 수축기 혈압을 측정하는 한편 혈장 renin 활성도를 측정하였다.

**혈장 renin활성(PRA)측정**—PRA측정을 위해 먼저 흰쥐를 ether로 가볍게 마취한 후, 심장천자법으로 혈액 1.4 ml를 채취하여 EDTA(1 mg/ml)와 혼합한 후 4°C에서 1,200 rpm으로 원심분리하였다. 혈장만을 따로 분리하여 PRA측정시까지 -80°C의 deep freezer에 보관 하였다. 측정당일 냉동시킨 혈장을 4°C에서 녹인다음 angiotensin I [125I] radio immuno assay kit(New England Nuclear)를 사용하여 Haber 등의 방법에 따라<sup>13)</sup> gamma counter로 혈장 renin활성도를 측정하였다. 혈장 renin활성도는 ng/ml/hr angiotensin I으로 나타내었으며, 또한 체중에 대한 신장무게의 비율을 구하여 결찰을 행한 신장의 비대 여부를 확인하였다. 신동맥 결찰 후 시간경과에 따른 high renin성 신성 고혈압모델의 형성확인 실험결과 결찰 후 6, 7, 8일 경과군이 혈압상승과 PRA와의 상관성을 보임에 따라 결찰 6~8일 후 수축기혈압이 180 mmHg 이상인 동물을 신성 고혈압동물로 선정하여 다음의 실험에 사용하였다.

**적출혈관에 대한 A II의 반응성**—S.D.계 정상 흰쥐와 신성 고혈압쥐의 후두부를 강타하여 실신시키고 경동맥을 절단하여 실험시킨 후, 흉곽 대동맥 및 폐 동맥을 적출하여 결합조직과 지방조직을 제거하고 폭 2~3 mm의 ring을 각각 2개씩 얻었다. 각각 하나씩은 그대로, 다른 하나씩은 면봉을 사용하여 내피를 제거한 후 20 ml organ bath내에 특수 제작된 stainless tissue holder에 현수하였다. 생리액은 Krebs-Ringer bicarbonate solution을 사용하였으며, 조성은(mM) KCl 4.7, CaCl<sub>2</sub> 2.5, MgSO<sub>4</sub> 1.2, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaCl 118.0, NaHCO<sub>3</sub> 25.0 및 Glucose 11.0 이었다. 용액은 PH 7.4를 유지하도록 95% O<sub>2</sub>와 5% CO<sub>2</sub>의 혼합 gas를 포화시켰고, bath 내의 온도는 37°C로 유지 하였다. 적출대동맥은 2g, 폐동맥은 1g의 resting tension을 준후 매 15분마다 용액을 바꿔주면서 1시간 동안 안정시켰으며, 혈관의 수축 이완반응은 Multicorder MC 6625(Hugo Sachs Elec.)에 연결된 force transducer FT03(Grass Ins.)으로 측정하였다. 각 적출 조직은 NaCl을 KCl로 대체한 high K<sup>+</sup>(122.7 mM)용액으로 연속 2회 수축시켜, 수축제 (A II)에 의해 재현성있는 균일한 크기의 반응성을 나타내도록 하고 high K<sup>+</sup> 용액에 의한 두번째 수축반응을 reference contraction으로 정하였다. 생리액을 바꿔주면서 충분히 wa-

shing(45분)한 후, A II(10<sup>-10</sup>~10<sup>-7</sup> M)를 누적법으로 투여하여 농도 반응곡선을 구하였다. 다른 실험 군에서는 상이한 두 기전에 의해 EDRF의 기능을 억제하는 methylene blue(soluble guanylate cyclase 활성 억제<sup>14,15)</sup>)와 L-NAME(nitric oxide생합성 억제<sup>16)</sup>) 10<sup>-5</sup> M을 전처치한 후 각각 15, 10분 후에 A II의 농도 반응곡선을 구하였으며, EDRF억제제를 전처치 하지 않은군과 비교분석하여 A II 반응성에 대한 EDRF의 관련성을 규명하고자 하였다. 모든 실험군에 있어서 A II에 의한 수축반응은 reference contraction에 대한 비율(%)로서 나타내었으며 각 실험에 있어서 A II 유발성 수축반응을 얻은 후 충분한 washing(45분)을 한 다음 재차 A II로 수축반응을 얻어서, 초회수축 반응에 대한 재수축시의 반응감소율을 A II에 대한 tachyphylaxis 지수로 삼았다. 각 조직에서 내피세포의 제거는 norepinephrine(10<sup>-7</sup> M)으로 혈관을 수축 시켰을때 acetylcholine(10<sup>-5</sup> M)이 이완 반응을 일으키지 않는다는 사실로 확인하였다.

**혈압에 대한 A II의 반응성**—S.D.계 정상 흰쥐 및 신성 고혈압쥐를 urethane(900 mg/kg, i.p.)과  $\alpha$ -chloralose(90 mg/kg, i.p.)로 마취시킨 후, 기관지를 cannulation 하여 rodent ventilator(Harvard Apparatus)를 사용하여 실내공기로 호흡시켰다. 이때 호흡은 동물로부터 채취한 혈액 0.2 ml에 대한 blood gas analyzer 분석결과 가장 적당하다고 판단된 조건으로(용적 : 1 ml/100 g 체중 ; stroke : 60회/min) 조절하였다. Heparinized saline(20 IU/ml)으로 채운 cannula(PE 50)를 좌측 경동맥에 삽입한 후 cannula의 다른쪽 끝은 pressure transducer(P23 XL, Grass Ins.)에 연결하여 Gould 2000 recorder(Gould Ins.)를 통해 전신성 동맥압의 변화를 측정하였다. 또한 좌측 흉곽을 약 1 cm 절개하여 심장을 노출시키고 PE 50에 PE 10을 연결시킨 cannula의 한쪽끝을 우심실을 거쳐 폐동맥 안으로 삽입한 다음 역시 Gould 2000 recorder를 통해 폐 동맥압의 변화를 측정하였다. 그리고, 약물을 정맥투여하기 위하여 PE 50에 PE 10을 연결시킨 cannula를 대퇴정맥에 삽입 하였으며, thermocouple amplifier에 연결된 온도 센서를 직장에 삽입하여 직장체온이 항상 36.5±0.5°C를 유지하도록 하였다. 수술이 끝난 후 40분간 안정시켜 전신성 동맥압 및 폐 동맥압 그리고 심박동수가 안정된 것을 확인한 후,

대퇴정맥에 삽입한 cannula를 통하여 A II 0.01, 0.1, 1, 3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 을 1.0 ml/kg의 용적으로 각각 5분 간격으로 투여하여, A II에 의한 전신성 동맥압 및 폐동맥압의 변화를 측정하였다. 심박동수는 전신성 동맥압의 pulse로 부터 ECG/Biotacho amplifier(Gould Ins.)를 통해 측정하였다. 다른 실험군에서는 L-NAME(30 mg/kg)을 정맥투여하여 반응이 plateau에 도달한 후 A II를 5분 간격으로 농도별로 투여하였다.

**통계처리**— 실험결과는  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$ 으로 나타내었으며, Pharmacological Calculation System(R.J. Tallarida, R.B. Murray)을 이용하여 paired 또는 unpaired student's t-test로 유의성 검정을 하였다.

## 결 과

**신성 고혈압 모델(RHR)**— S.D.계 정상 흰쥐의 좌측 신동맥을 결찰한 후 혈압은 결찰 3-4일 후 부터 상승되기 시작하여 6-8일 사이에 최대에 이르렀는데, 결찰수술 동물의 80~90%에서 고혈압이 발생되었으며, 수축기 혈압이 결찰전  $154.29 \pm 1.83 \text{ mmHg}$ 에서  $190 \sim 215 \text{ mmHg}$ 로 상승하여 유의성있는 변화를 보였으며( $P > 0.01$ ) 결찰 28일 후에는 다시 감소경향을 보였다. 혈장 renin 활성도 혈압변화와 유사한 양상을 보였는데, 결찰전  $7.31 \pm 0.63 \text{ ng/ml/hr}$  A I에 비해 결찰 6-8일 후에는  $19 \sim 22 \text{ ng/ml/hr}$  A I으로 증가하여 유의성있는 차이를 나타냈으며( $P < 0.01$ ), 결찰 28일 후에는 결찰전과 비슷한 정도로 회복되었다. 신동맥 결찰부위의 신장의 크기는 결찰 7일 후 결찰전에 비해 현저히 증가하여 신장의 비대 현상이 관찰되었으나, 28일 후에는 정상신장 보다 작아졌다.

결찰동물의 10~20%는 결찰부위의 신장이 완전경색되어 고혈압이 발생되지 않았고, 또한 혈장 renin 활성도의 변화도 나타나지 않았다. 신동맥결찰 후 시간경과에 따른 혈압 및 혈장 renin 활성도의 측정 결과를 Table I에 나타내었다.

**적출혈관에 대한 A II의 반응성**— 정상 혈압쥐의 흉곽대동맥 및 폐동맥은 내피세포 존재시 A II에 의해 용량의존적인 수축반응을 나타냈으며, 흉곽대동맥의 경우  $10^{-9} \text{ M}$  농도에서 수축반응을 보이기 시작하여  $10^{-7} \text{ M}$  농도에서 최대수축( $40.00 \pm 6.63\%$ )을 나타내었다(Fig. 1). 폐동맥의 경우 흉곽대동맥에서 보다 낮은 농도인  $3 \times 10^{-10} \text{ M}$  농도에서 수축을 일으키기 시작하였으며, 그 수축력은 A II 모든 농도에서 흉곽대동맥에 비하여 유의성있게( $P < 0.01$ ) 컸으며,  $3 \times 10^{-8} \text{ M}$  농도에서 관찰된 최대 수축반응은  $80.00 \pm 3.66\%$ 로서 흉곽대동맥에 비해 2배 정도 강하였다(Fig. 2). 신성 고혈압쥐의 흉곽 대동맥 및 폐동맥도 내피세포 존재시 각각  $34.18 \pm 5.77\%$ ( $10^{-7} \text{ M}$ ),  $93.08 \pm 3.10\%$ ( $3 \times 10^{-8} \text{ M}$ )의 최대 수축반응을 보여 내피세포가 존재하는 흉곽대동맥 및 폐동맥에 대한 A II 유발성 수축반응은 정상 혈압쥐와 신성 고혈압쥐 사이에 유의성있는 차이가 없다는 것을 알수 있었다. 정상혈압쥐의 흉곽대동맥 및 폐동맥의 경우 내피세포를 제거하거나 EDRF 억제제인 L-NAME 및 MB로 전처리하였을때, A II에 의한 수축반응은 거의 모든 농도에서 유의성있게( $P < 0.01$ ) 증가되었다(Fig. 1, 2). 그러나, 신성 고혈압쥐의 흉곽대동맥 및 폐동맥에서는 내피세포 제거 후 또는 EDRF 억제제의 전처리 후에도 A II에 의한 수축반응이 유의성있게 증가하지 않았다(Fig. 1, 2).

**Table I.** Plasma renin activity levels(PRA), systolic arterial pressure(SAP), heart rate(HR) and ratio of kidney weight to body weight(KW/BW $\times 100$ ) before and 6, 7, 8 and 28 days after ligation of left renal artery. Data are expressed as  $\text{mean} \pm \text{S.E.M.}$

	Days after renal artery ligation				
	0	6	7	8	28
PRA (ng/ml/hr)	$7.31 \pm 0.63$	$22.00 \pm 2.82 \star\star$	$20.16 \pm 3.42 \star\star$	$19.74 \pm 2.29 \star\star$	$6.41 \pm 0.88$
SAP (mmHg)	$154.29 \pm 1.83$	$191.50 \pm 4.25 \star\star$	$206.86 \pm 9.45 \star\star$	$214.78 \pm 13.72 \star\star$	$173.67 \pm 3.12 \star\star$
HR (beats/min)	$355.88 \pm 24.00$	$364.25 \pm 16.80$	$407.71 \pm 34.12$	$427.22 \pm 22.08$	$345.22 \pm 13.06$
KW/BW $\times 100$	$0.46 \pm 0.010$		$0.67 \pm 0.055 \star\star$		$0.045 \pm 0.004 \star\star$
No. of animals	34	8	7	9	9

$\star\star P < 0.01$  compared with normal rats("0" days).

A II( $10^{-10}$ ~ $10^{-7}$  M)를 일정시간 후(45분 washing) 동일 혈관에 재차 반복투여시 tachyphylaxis가 유발되었는데, 각 농도에서의 초회 수축반응에 대한 재수축시의 반응 감소율(%)을 계산하여 tachyphylaxis 지수로 삼았다. 정상 혈압쥐의 흉곽대동맥은 내피세포 존재시 tachyphylaxis 지수가 61~67%인데 반해, 같은 조건의 폐동맥은 15~20%로서 A II에 의한 tachyphylaxis 현상은 흉곽 대동맥에서 더 강한 것을 알수 있다(Table II). 정상혈압쥐의 흉곽대동맥의 tachyphylaxis지수는 내피세포를 제거하거나 L-NAME 또는

MB로 전처리 할 경우 유의성있게( $P<0.01$ ) 감소하였으나, 폐동맥의 tachyphylaxis 지수는 유의성있는 변화가 없었다. 신성 고혈압쥐의 흉곽대동맥과 폐동맥에 대한 A II tachyphylaxis현상도 정상혈압쥐와 비슷한 양상으로 나타났으나, 흉곽 대동맥의 경우 내피세포 제거시에는 A II에 의한 tachyphylaxis가 유의성있게 감소한 반면, L-NAME 전처치시에는 유의성 있는 변화가 없었다(Table III).

**혈압에 대한 A II의 반응성**— 정상 혈압쥐에 A II(0.01, 0.1, 1, 3  $\mu$ g/kg)를 정맥주사 하였을 때 전신성 동맥

**Table II.** Tachyphylactic responses to A II of thoracic aorta(TA) and pulmonary artery(PA) with (+) or without(-) endothelium from normotensive rats. Data are expressed as mean% decrease from initial response  $\pm$  S.E. M.(n=4).

		A II(log M)			
		$3 \times 10^{-9}$	$10^{-8}$	$3 \times 10^{-8}$	$10^{-7}$
TA(+)	A II		65.10 $\pm$ 9.63	66.88 $\pm$ 3.14	61.03 $\pm$ 5.84
	NAME+A II		48.35 $\pm$ 6.90	36.33 $\pm$ 4.26**	35.85 $\pm$ 2.97**
	MB+A II		25.85 $\pm$ 6.35*	17.95 $\pm$ 8.00**	16.45 $\pm$ 4.13**
TA(-)	A II		44.18 $\pm$ 6.15	35.65 $\pm$ 6.04**	28.43 $\pm$ 5.96**
	NAME+A II		41.48 $\pm$ 5.95	31.18 $\pm$ 9.83**	25.13 $\pm$ 9.66
	MB+A II		29.25 $\pm$ 10.86	7.20 $\pm$ 4.46	9.85 $\pm$ 3.02
PA(+)	A II	20.38 $\pm$ 10.04	19.25 $\pm$ 9.14	14.98 $\pm$ 5.97	
	NAME+A II	30.55 $\pm$ 13.10	15.80 $\pm$ 7.46	13.25 $\pm$ 3.79	
	MB+A II	13.90 $\pm$ 13.92	9.83 $\pm$ 6.54	8.48 $\pm$ 3.91	
PA(-)	A II	22.88 $\pm$ 4.34	13.40 $\pm$ 1.39	9.33 $\pm$ 0.90	
	NAME+A II	39.70 $\pm$ 11.22	26.40 $\pm$ 7.34	15.30 $\pm$ 2.90	
	MB+A II	16.25 $\pm$ 3.77	8.03 $\pm$ 1.87	8.58 $\pm$ 0.80	

Muscle strips were treated with L-NAME and MB( $10^{-5}$  M) for 15 and 10 minutes, respectively.

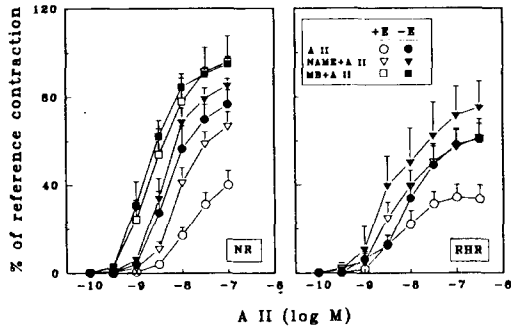
\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$  compared with TA(+) A II group.

**Table III.** Tachyphylactic responses to A II of thoracic aorta(TA) and pulmonary artery(PA) with (+) or without(-) endothelium from renal hypertensive rats. Data are expressed as mean % decrease from initial response  $\pm$  S.E.M. (n=5-9).

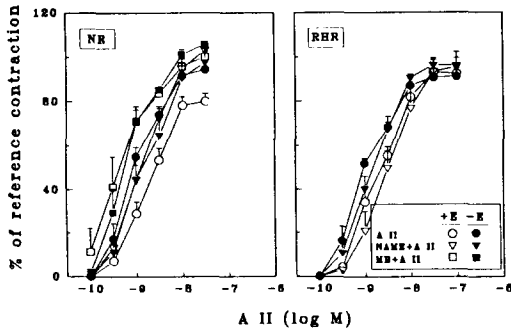
		A II(log M)			
		$3 \times 10^{-9}$	$10^{-8}$	$3 \times 10^{-8}$	$10^{-7}$
TA(+)	A II		87.63 $\pm$ 5.20	56.55 $\pm$ 10.63	47.08 $\pm$ 12.9
	NAME+A II		46.98 $\pm$ 17.39	46.36 $\pm$ 11.39	36.10 $\pm$ 9.78
TA(-)	A II		-11.56 $\pm$ 13.24**	2.84 $\pm$ 5.77**	-6.46 $\pm$ 5.85**
	NAME+A II		36.34 $\pm$ 17.79	33.62 $\pm$ 8.14	26.50 $\pm$ 4.72
PA(+)	A II	35.62 $\pm$ 13.42	19.35 $\pm$ 6.23	20.70 $\pm$ 5.84	17.50 $\pm$ 5.50
	NAME+A II	45.58 $\pm$ 18.86	26.36 $\pm$ 11.13	17.86 $\pm$ 6.25	17.84 $\pm$ 5.26
PA(-)	A II	31.80 $\pm$ 8.19	21.67 $\pm$ 4.81	17.40 $\pm$ 4.42	
	NAME+A II	36.58 $\pm$ 9.86	22.26 $\pm$ 6.87	15.76 $\pm$ 3.83	

Muscle strips were treated with L-NAME and MB( $10^{-5}$  M) for 15 and 10 minutes, respectively.

\*\* $P<0.01$  compared with TA(+) A II group.

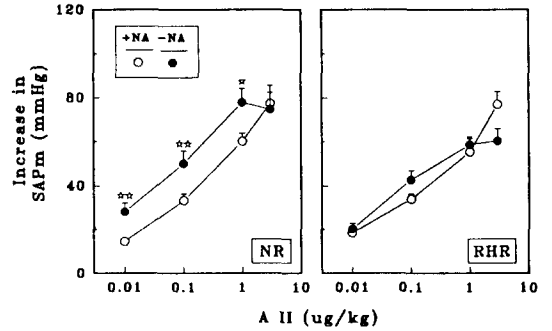


**Fig. 1**—Contractile effects of A II on thoracic aorta from normotensive(NRs) and renal hypertensive rats(RHRs) in the presence(+E) and absence(-E) of functional endothelium. Muscle strips were pretreated with L-NAME and MB ( $10^{-5}$  M) for 15 and 10 min, respectively. Data were expressed as percentages of the reference contraction induced by high  $K^+$  solution. Each point represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 4~9 experiments.

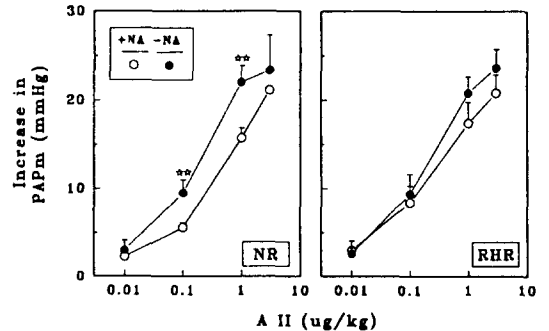


**Fig. 2**—Contractile effects of A II on pulmonary artery from normotensive(NRs) and renal hypertensive rats(RHRs) in the presence(+E) and absence(-E) of functional endothelium. Muscle strips were pretreated with L-NAME and MB ( $10^{-5}$  M) for 15 and 10 min, respectively. Data were expressed as percentages of the reference contraction induced by high  $K^+$  solution. Each point represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 4~9 experiments.

압이 용량 의존적으로 상승되었으며( $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$  투여시 평균압 상승치  $33.42 \pm 2.96 \text{ mmHg}$ ), 신성 고혈압쥐에서도 비슷한 결과를 나타내며( $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$  투여시 평균압 상승치  $34.00 \pm 2.35 \text{ mmHg}$ ), 전신성 동맥압에 대한 A



**Fig. 3**—Pressor effects of A II on mean systemic arterial pressure(SAPm) in anesthetized open-chest normotensive(NRs) and renal hypertensive rats(RHRs). Rats were pretreated with L-NAME(+NA, 30 mg/kg, i.v.). Each point represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 5-12 experiments.  $\star P < 0.05$ ,  $\star\star P < 0.01$  compared with none-NAME treated NR group.



**Fig. 4**—Pressor effects of A II on mean pulmonary arterial pressure(PAPm) in anesthetized open-chest normotensive(NRs) and renal hypertensive rats(RHRs). Rats were pretreated with L-NAME(+NA, 30 mg/kg, i.v.). Each point represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 5-12 experiments.  $\star\star P < 0.01$  compared with none-NAME(-NA) treated NR group.

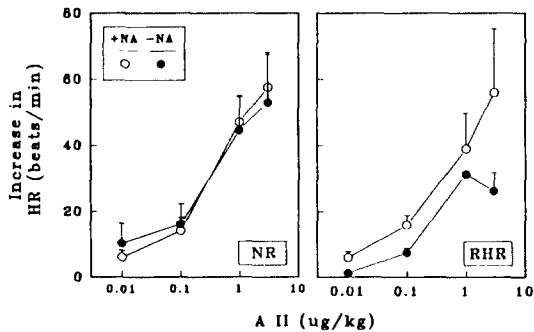
II의 승압반응은 정상 혈압쥐와 신성 고혈압쥐 사이에 유의성있는 차이가 없었다(Fig. 3). 그러나 L-NAME 전처치로 EDRF생성을 억제하였을때(L-NAME 30 mg/kg을 정맥투여시 혈압상승은 90~120분 이상 지속되었음), 전신성 동맥압에 대한 A II의 승압반응은 두 동물군간에 유의성있는 차이를 보였는데, 정상 혈압쥐에서는 A II에 의한 전신성 동맥압의 상승이

**Table IV.** Differential pressor effects of A II on systemic(SAPm) and pulmonary arterial pressure(PAPm) in normotensive(NR) and renal hypertensive rat(RHR). Data are expressed as mean % increase from basal pressure  $\pm$  S.E.M. (n=5-12).

		basal pressure(mmHg)	A II( $\mu$ g/kg)			
			0.01	0.1	1.0	3.0
NRs	SAPm	83.17 $\pm$ 5.68	20.29 $\pm$ 5.23	43.07 $\pm$ 8.13	70.93 $\pm$ 9.76	93.97 $\pm$ 11.82
	PAPm	17.00 $\pm$ 0.59	14.00 $\pm$ 3.94	33.27 $\pm$ 4.90	93.81 $\pm$ 9.45	129.40 $\pm$ 9.28 $\star\star$
RHRs	SAPm	88.80 $\pm$ 9.53	20.22 $\pm$ 1.37	38.58 $\pm$ 3.14	62.50 $\pm$ 6.69	89.54 $\pm$ 12.11
	PAPm	16.20 $\pm$ 1.16	17.44 $\pm$ 5.31	47.86 $\pm$ 8.53	101.60 $\pm$ 8.85 $\star\star$	122.32 $\pm$ 6.71 $\star\star$

$\star\star$ P<0.01 compared with NRs SAPm.

$\star\star$ P<0.01 compared with RHRs SAPm.



**Fig. 5**—Effects of A II on heart rate(HR) in anesthetized open-chest normotensive(NRs) and renal hypertensive rats(RHRs). Rats were pretreated with L-NAME(+NA, 30 mg/kg, i.v.). Each point represents the mean  $\pm$  S.E.M. of 5-12 experiments.

L-NAME 전처치 후 유의성있게(0.01, 0.1  $\mu$ g/kg, P<0.01; 1  $\mu$ g/kg, P<0.05) 증가한 반면, 신성 고혈압 쥐에서는 변화가 나타나지 않았다(Fig. 3).

A II는 정상혈압쥐의 폐동맥압도 용량 의존적으로 상승시켰는데(0.1  $\mu$ g/kg 투여시 평균압 상승치 5.55  $\pm$  0.56 mmHg), 이 결과는 신성 고혈압쥐의 폐동맥압에 대한 결과와 비슷하여(0.1  $\mu$ g/kg 투여시 평균압 상승치 8.40  $\pm$  1.91 mmHg) 폐동맥압에 대한 A II의 승압 반응에서도 정상 혈압쥐와 신성 고혈압쥐 사이에 유의성있는 차이가 없었다(Fig. 4). 그러나 L-NAME 전처치 후 정상 혈압쥐에서는 A II에 의한 폐동맥압의 상승이 유의성있게(0.1, 1  $\mu$ g/kg, P<0.01) 증가한 반면, 신성 고혈압쥐에서는 A II에 의한 폐동맥압의 상승에는 차이가 없었다(Fig. 4). 한편, 정상 혈압쥐에서 A II에 의한 폐동맥압의 증가율(3  $\mu$ g/kg시 129.40  $\pm$  9.28

%)은 전신성 동맥압의 증가율(3  $\mu$ g/kg시 93.97  $\pm$  11.82 %)보다 유의성있게 (P<0.01) 컸으며, 신성 고혈압쥐에서 폐동맥압의 증가율(3  $\mu$ g/kg시 122.32  $\pm$  6.71%)도 전신성 동맥압의 증가율(3  $\mu$ g/kg시 89.54  $\pm$  12.11%)보다 유의성있게 (P<0.01) 크게 나타났다(Table IV). A II 투여시 혈압상승과 함께 빈맥이 초래되었는데, 정상혈압쥐 및 신성 고혈압쥐간에(3  $\mu$ g/kg 용량에서 각각 최대 56.67  $\pm$  9.92, 56.00  $\pm$  19.26 beats/min) 차이는 없었으며, L-NAME 전처치 후에도 유의성있는 차이가 없었다(Fig. 5).

## 고찰

신성 고혈압 동물모델은 신성 고혈압의 발생기전에 대한 연구 및 AT<sub>1</sub> 수용체 길항물질의 개발 등에 많이 이용되고 있는데, 1934년 Goldblatt 등이 신혈류량이 감소하게 되면 만성 고혈압이 유발된다고 주장한 이래로 다양한 방법에 의해 여러동물들에서 고안되어 왔다.<sup>17,18)</sup> 이렇게 해서 발생된 고혈압에는 경중의 차이가 있고, 병태생리학적 상태도 제각기 달라서 RAS, extracellular distribution, 교감신경계, 혈관확장 인자 및 혈관 수축성 인자 등 여러 복합적 요인들이 고혈압발생에 깊이 관련되어 있다.<sup>17)</sup> 여러형태의 모델중에서도 신동맥 결찰(two-kidney, one-ligation)에 의한 신성 고혈압쥐 모델은 RAS의 활성화와 교감신경계의 기능항진이 주로 관련되어 있는 것으로 알려져 있는데, 이에 대해 Cangiano 등은<sup>17)</sup> 결찰 초기단계에서는 혈압상승과 renin 생성 증가사이에 일정한 상관성이 유지되지만, 결찰 2~3주 후의 후기 단계로 접어들면 고혈압의 계속적인 유지에도 불구하고 renin 활성도는 다시 감소하여 정상 상태로 되돌아 온다고 보고

하였으며, 이같은 사실은 신동맥 결찰 6~8일 사이에 혈압과 혈장 renin 활성도가 함께 유의성있게 상승하여 서로 상관성을 보이고, 결찰 4주 후에는 혈압 상승에도 불구하고 혈장 renin 활성도가 결찰전의 수준으로 회복된 본 실험의 결과와도 일치한다. 후기 고혈압단계에서는 RAS의 활성이 감소하거나 salt 또는 수분저류가 일어나지 않게되는데,<sup>18)</sup> Fernandez 등은<sup>19)</sup> 이 시기에는 교감신경계가 중요한 역할을 한다고 보고하고 있어 RAS 이외의 다른 인자들도 신성 고혈압에 있어서 특히 후기단계에서 혈압유지에 기여하고 있다는 것을 시사한다. 혈관벽을 구성하고 있는 내피는 각종물질의 통과를 조절하는 barrier로서의 기능외에 EDRF, PGI<sub>2</sub>, EDHF, endothelin 등 많은 내인성 물질들을 생성, 유리하여 혈관의 수축이완을 조절하는 기능을 갖고 있으며, 본태성 고혈압 등 여러형태의 고혈압 발생유지에 관련되어 있음이 최근의 많은 연구결과 밝혀지고 있다.

본 연구에서는 혈장 renin 활성도와 혈압상승간에 밀접한 상관성을 보인 two-kidney, one-ligation type의 급성(신동맥 결찰 6~8일 후) 신성 고혈압쥐의 전신성 동맥계와 폐동맥계에 있어서, RAS계의 주요 생리활성 물질인 A II의 반응성과 이에대한 EDRF의 역할을 규명하고자 정상 혈압쥐의 결과와 비교 검토 하였다.

정상 혈압쥐의 흉곽 대동맥과 폐동맥을 사용한 적출조직 실험에서 A II는 용량의존적으로 수축반응을 나타냈으며, A II의 수축반응은 내피세포를 제거하거나 EDRF억제제인 L-NAME과 MB에 의해 유의성있게( $P < 0.01$ ) 증가되었다. A II는 동물종이나 조직에 따라 내피세포로부터 prostacyclin의 유리를 촉진<sup>5,20)</sup> 또는 억제하거나 아무 영향도 갖지 않으며,<sup>21)</sup> 흰쥐의 적출대동맥이나 소의 관상동맥 등에서는 A II에 의한 수축반응이 내피세포로부터 유리된 EDRF에 의해 감소되며, 내피세포 제거시 증가된다는 보고는<sup>2)</sup> A II에 의한 수축반응에 내피세포에서 유리된 prostacyclin 과 EDRF와 같은 이완인자들이 관련되어 있음을 시사한다. EDRF 억제제를 사용한 본 실험의 결과는 흰쥐의 흉곽대동맥과 폐동맥 내피세포에서 유리된 EDRF가 A II에 의한 수축반응을 감소한다는 사실을 보여준다. In vivo 동물실험에 의하면 A II는 전신성 동맥압과 폐동맥압을 증가시키며 A II에 의한 이와

같은 혈압상승 작용은 L-NAME 전처치에 의해 유의성있게( $P < 0.01$ ) 증가하여 적출조직 실험 결과와 일치함을 알 수 있다. 이와같은 in vitro 및 in vivo 실험결과를 종합해 볼때 정상 혈압쥐의 전신성 동맥계와 폐동맥계에서는 내피에서 유리된 EDRF가 A II에 의한 과도한 혈압상승 작용을 완화하는 기능을 갖고 있음을 시사한다고 사료된다.

한편, 신성 고혈압쥐의 흉곽대동맥 및 폐동맥에 대한 A II의 수축반응은 내피세포 존재시 정상 혈압쥐와 비교할때 유의성있는 차이가 없었으나, 내피세포 제거 또는 EDRF 억제제의 전처치 후에는 정상 혈압쥐에서와는 달리 A II의 수축반응이 유의성있게 증가되지 않았다. 또한 in vivo 실험에서도 같은 양상으로서 전신성 동맥압과 폐동맥압에 대한 A II의 승압반응에는 정상 혈압쥐와 차이가 없었으나, L-NAME 전처치 후 정상 혈압쥐에서는 승압반응이 유의성있게 증가한 반면, 신성 고혈압쥐에서는 증가되지 않았다.

이와같은 결과는 정상동물의 전신성 동맥계와 폐동맥계에서는 EDRF의 기능이 정상적으로 유지되고 있으나 신성 고혈압쥐에서는 EDRF의 기능이 저하되어 있거나 결핍되어 있다는 것을 알 수 있다. 신성 고혈압쥐에서의 EDRF 기능저하의 가능한 기전으로서는 최근에 보고된 바와같이 EDRF의 유리를 매개할것으로(A II-stimulated release) 보이는 AT<sub>1</sub>수용체수의 감소 또는 친화력의 감소나 혈관내피의 손상 또는 EDRF 생합성과정의 이상 등을 고려할 수 있는데, 선천성 고혈압쥐등 여러 고혈압 동물 모델에서 보고된 바와같이 신성 고혈압쥐에서도 내피손상의 가능성이 높은것으로 보인다. 본 실험결과 신성 고혈압쥐에서 EDRF의 기능 손상의 가능성이 있고 다른 연구들에 의해 몇가지 기전이 제시되었음에도 불구하고 A II 유발성 수축반응과 혈압상승 반응이 정상 혈압쥐와 신성 고혈압쥐의 전신성 및 폐동맥계에서 각각 유사하였다는 사실은 A II에 대한 신성 고혈압쥐의 혈관 평활근의 반응성이 저하되었다는 것을 시사하는데, 이는 이 모델에서 RAS계의 지속적 기능향진으로 인한 A II수용체 기능의 down-regulation과 관련이 있을것으로 사료된다. 그리고 A II에 대한 반응은 흉곽대동맥 보다는 폐동맥에서, 전신성 동맥압 보다는 폐 동맥압에 대해 더 강하게 나타났는데( $P < 0.$



01), 이것은 전신성 동맥계보다는 폐 동맥계에서 EDRF의 유리가 적거나 또는 유리된 EDRF에 대한 혈관 평활근의 반응성이 작은 경우(data 미수록), 그리고 두 혈관계의 평활근에 존재하는 A II 수용체수와 친화력의 차이에 기인한 A II의 반응성 차이 등 여러인자에 의한 가능성을 생각할 수 있다.

In vitro 적출 혈관실험에서 A II에 대한 농도반응 곡선을 동일혈관에 대해 일정시간 간격으로 재차 얻었을 때, tachyphylaxis 현상이 초래되었는데, 이 tachyphylaxis 현상은 폐동맥보다는 흉곽대동맥에서 더 강하게 일어났으며, 흉곽대동맥에서 유발된 tachyphylaxis는 내피세포 제거 후 또는 EDRF 억제제의 전처치후 유의성있게 감소하였으나, 폐동맥에서는 유의성있게 감소되지 않았다. 이와같은 결과는 Gruetter 등의<sup>22)</sup> 보고와 일치하고 있는데, 그들은 A II와 A III에 의한 tachyphylaxis는 내피세포 손상으로 감소는 되지만, 완전히 차단되지는 않는것으로 미루어 흰쥐의 대동맥에서 A II 유발성 tachyphylaxis에는 내피 의존성기전과 비의존성 기전이 존재한다고 하였으며, 이와같은 사실은 Wakabayashi 등에<sup>23)</sup> 의해서도 확인되고 있는 바, A II 유발성 tachyphylaxis의 강약은 조직에 따라 다르고, 특히 흉곽대동맥에서는 EDRF가 tachyphylaxis에 중요한 인자로 작용하지만, 폐동맥에서는 EDRF가 아닌 다른 인자에 의해 조절되고 있는것을 의미한다고 사료된다.

## 결 론

신성 고혈압쥐의 전신성 동맥계와 폐동맥계에 대한 A II 유발성 반응의 내피 및 EDRF 의존성을 규명하기 위하여 적출 흉곽대동맥 및 폐동맥, 전신성 동맥압 및 폐 동맥압에 대한 A II의 반응성을 내피세포 제거 후 및 EDRF 억제제 전처치 후 비교분석하여 다음의 결과를 얻었다.

1. 정상 혈압쥐의 흉곽대동맥 및 폐동맥은 내피세포 존재시 A II에 의해 용량의존적인 수축반응을 나타냈으며(최대수축반응: 각각 40% $[10^{-7}]$ , 80% $[3 \times 10^{-8}]$ ), 이 수축반응은 내피세포 제거후와 EDRF 억제제 전처치에 의해 유의성있게 증가하였다.

2. 정상 혈압쥐의 전신성 동맥압과 폐동맥압에 대해 A II는 용량의존적으로 승압반응을 일으켰으며(0.1

$\mu\text{g/kg}$  농도에서 각각 33, 5.6 mmHg), L-NAME(30 mg/kg) 전처치에 의해 유의성있게 증가하였다.

3. 신성 고혈압쥐의 흉곽대동맥 및 폐동맥은 내피세포 존재시 A II에 의해 수축반응을 일으켰으며(최대수축반응: 각각 33% $[10^{-7} \text{M}]$ , 93% $[3 \times 10^{-8} \text{M}]$ ), 이는 내피세포 제거 또는 EDRF 억제제 전처치후에도 유의성있게 증가하지 않았으며, 전신성 동맥압과 폐 동맥압에 대한 A II의 승압반응도 적출혈관에서의와 같이 L-NAME 전처치후에도 유의성있게 증가하지 않았다.

4. 정상 혈압쥐와 신성 고혈압쥐의 내피세포 존재 흉곽대동맥에서 A II에 대한 tachyphylaxis 현상은( $10^{-8} \text{M}$ 에서 각각 65, 87%) 내피세포 존재 폐동맥에서보다( $10^{-8} \text{M}$ 에서 각각 19, 19%) 강하였으며, 흉곽대동맥에서는 내피세포 제거 또는 EDRF 억제제의 전처치 후 tachyphylaxis현상이 유의성있게 감소하였으나, 폐동맥에서는 감소하지 않았다.

이상의 결과는, 전신성 동맥계와 폐 동맥계에 대한 A II의 반응성은 급성 신성 고혈압쥐에서도 변하지 않으며, 특히 A II는 정상 혈압쥐에서는 EDRF 의존적으로, 신성 고혈압쥐에서는 EDRF 비의존적으로 작용함을 제시해준다. 또한 정상 및 신성 고혈압쥐 어느 경우나 A II에 대한 반응성은 전신성 동맥계보다 폐동맥계에서 강하고, A II에 대한 tachyphylaxis현상은 흉곽대동맥에서는 EDRF에 의해, 폐동맥에서는 EDRF가 아닌 다른 인자에 의해 조절됨을 제시해준다.

## 문 헌

- 1) Timmermans, P. B. M. W. M., Wong, P. C., Chiu, A. T., Herblin, W. F., Benfield, P., Carini, D. J., Lee, R. T., Wexler, R. R., Saye, J. M., Smith, R. D.: Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacological Reviews* **45**(2): 205-251 (1993).
- 2) Gruetter, C. A., Ryan, E. T., Lemke, S. M., Bailly, D. A., Fox, M. K., Schoepp, D. D.: Endothelium-dependent modulation of angiotensin II-induced contraction in blood vessels. *Eur. J. Pharmacol.*, **146**, 85-95 (1988).
- 3) Saye, J. A., Singer, H. A., Peach, M. J.: Role of endothelium in conversion of angiotensin I to

- angiotensin II in rabbit aorta. *Hypertension*, **6**, 216-219 (1984).
- 4) Egleme, C., Cressier, F., Wood, J. M.: Local formation of angiotensin II in the rat aorta: effect of endothelium. *Br. J. Pharmacol.*, **100**, 237-240 (1990).
  - 5) Yilmaz, G. Y., Aksulu, H. E., Demirel, E., Ercan, Z. S., Zengil, H., Turker, R. K.: Modulation by endothelium of the vascular effects of angiotensin II. *Agents and Actions*, **21**, 184-190 (1987).
  - 6) Gabbiani, G., Elmer, G., Guelpa, C. H., Vallotton, M. B., Badonnel, M. C., Huttner, I.: Morphologic and functional changes of the aortic intima during experimental hypertension. *Am. J. Pathol.*, **96**, 399-422 (1979).
  - 7) Haudenschild, C. C., Prescott, M. F., Chobanian, A. V.: Effects of hypertension and its reversal on aortic intima lesions of th rat. *Hypertension*, **2**, 33-44 (1980).
  - 8) Van de Voorde, J., Leusen, I.: Endothelium-dependent and independent relaxation of aortic rings from hypertensive rats. *Am. J. Physiol.*, **250**, H711-H717 (1986).
  - 9) Gross, F.: The renin-angiotensin system and hypertension. *Ann. Int. Med.*, **75**, 777-787 (1971).
  - 10) Fekete, A., Forgacs, I., Gaal, K., Meszaros, T.: Renin activity of renal venous blood in experimental hypertension induced by ligation of one renal artery in dogs. *Acta Medica Academiae Scientiarum Hungaricae*, **28**(2), 181-196 (1971).
  - 11) Wong, P. C., Hart, S. D., Chiu, A. T., Herblin, W. F., Carini, D. J., Smith, R. D., Wexler, R. R., Timmersmans, P. B. M. W. M.: Pharmacology of DuP 532, a selective and noncompetitive AT<sub>1</sub> receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **259**(2), 861-870 (1991).
  - 12) Timmersmans, P. B. M. W. M., Wong, P. C., Chiu, A. T., Herblin, W. F.: Nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. *TiPS*, **12**, 55-62 (1991).
  - 13) Haber, E., Koerner, T., Page, L. B., Kliman, B., Purnode, A.: Application of a radioimmunoassay for angiotensin I to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects. *J. Clin. Endocr.* **29**, 1349-135 (1969).
  - 14) Yamazaki, J., Fujita, N., Nagao, T.: NG-Monomethyl-L-arginine-induced pressor response at developmental and established stages in spontaneously hypertensive rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **259**(1), 52-57 (1991).
  - 15) Rees, D. D., Palmer, R. M. J., Schultz, R., Hodson, H. F., Moncada, S.: Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br. J. Pharmacol.*, **101**, 746-752 (1990).
  - 16) Ignarro, L. J., Burke, T. M., Wood, K. S., Wolin, M. S., Kadowitz, P. J.: Association between cyclic GMP accumulation and acetylcholine-elicited relaxation of bovine intrapulmonary artery. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **228**(3), 682-690 (1984).
  - 17) Cangiano, J., Rodriguez-Sargent, C., Martinez-Maldonado, M.: Effects of antihypertensive treatment on systolic blood pressure and renin in experimental hypertension in rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **208**(2), 310-313 (1979).
  - 18) Freeman, R. H., Davis, J. O., Watkins, B. E., Lohmeier, T. E.: Mechanisms involved in two-kidney renal hypertension induced by constriction of one renal artery. *Circ. Res.*, **40**(5) suppl I, I-29-I-35 (1977).
  - 19) Fernandes, M., Onesti, G., Fiorentini, R., Bellini, G., Gould, A. B., Kim, K. E., Swartz, C.: Role of adrenergic innervation in experimental renal hypertension. *Life Sci.*, **20**, 623-626 (1977).
  - 20) Yoshida, K., Yamazaki, M., Toda, N.: Different modulation by cyclooxygenase inhibitors of the responses to angiotensin II in monkey arteries and veins. *Japan J. Pharmacol.*, **55**, 469-475 (1991).
  - 21) Haberl, R. L., Anneser, F., Villringer, A., Einhaupl, K. M.: Angiotensin II induces endothelium-dependent vasodilation of rat cerebral arterioles. *Am. J. Physiol.*, **258**, H1840-H1846 (1990).
  - 22) Gruetter, C. A., Ryan, E. T., Schoepp, D. D.: Endothelium enhances tachyphylaxis to angiotensin II and III in rat aorta. *Eur. J. Pharmacol.*, **143**, 139-142 (1987).
  - 23) Wakabayashi, I., Sakamoto, K., Hatake, K., Yoshimoto, S., Kurahashi, M.: Effect of age on contractile response to angiotensin II in rat aorta. *Life Sci.*, **47**(9), 771-779 (1990).