

## 자연발생 고혈압 흰쥐와 정상흰쥐에서 타우린의 체내동태 및 뇌투과성

강영숙\* · 임지현 · 김안근  
숙명여자대학교 약학대학

### Pharmacokinetics and Blood-Brain Barrier Permeability of Taurine in Spontaneously Hypertensive Rats and Normotensive Rats

Young-Sook KANG\*, Ji-Hyoun LIM and An-Keun KIM

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

(Received April 15, 2000; accepted June 15, 2000)

**Abstract** – Taurine, 2-aminoethanesulfonic acid is widely distributed in animal tissues and has a variety of biological activities. A recent worldwide study demonstrated beneficial effects of taurine on aging and age-associated disorders. In general, taurine levels in the brain decrease when an animal is subjected to pathologic conditions such as ischemia-anoxia and seizure. But the taurine levels tend to increase in the brain in hypertensive state. In the present study, the blood-brain barrier (BBB) transport of [<sup>3</sup>H]taurine was compared between spontaneously hypertensive rats (SHR) and normotensive Sprague-Dawley rats (SD) using intravenous injection technique *in vivo*. We also obtained pharmacokinetic parameters of plasma volume marker, [<sup>14</sup>C]sucrose and [<sup>3</sup>H]taurine after inject to rats simultaneously. BBB permeability surface area product (PS) value of [<sup>3</sup>H]taurine in SHR ( $16.1 \pm 2.9 \times 10^{-3}$  ml/min/g) was significantly higher than that in SD ( $7.4 \pm 0.8 \times 10^{-3}$  ml/min/g). There is also significant difference for brain uptake of [<sup>3</sup>H]taurine between SHR ( $0.195 \pm 0.031$  %ID/g) and SD ( $0.058 \pm 0.003$  %ID/g). This is due to difference of area under the plasma concentration-time curve (AUC) and that of total clearance (Clss) between SHR and SD. No significant difference was indicated from other organ uptakes such as lung, heart, liver between SHR and SD. But also kidney uptake was much higher in SHR. In conclusion, [<sup>3</sup>H]taurine in plasma was slowly eliminated in SHR than in SD and brain uptake of [<sup>3</sup>H]taurine in SHR is much higher than that of SD. This results suggest increased taurine level in the brain in hypertension state have an any effect on the brain uptake of taurine.

**Keywords** □ pharmacokinetics, brain uptake, taurine, spontaneously hypertensive rat

2-Aminoethane sulfonic acid, taurine은 척추 동물의 중추신경계에 가장 풍부한 아미노산 중의 하나이며 주로 포유동물의 뇌와 간에서 methionine이나 cysteine으로부터 합성되고 (R.J Huxtable, 1992) bile acid 합성과정의 속도 제한 효소인 cholesterol 7 $\alpha$ -hydroxylase의 활성을 촉진하여 혈중 cholesterol의 양을 저하시킨다(Margaret 등, 1990; Hiroshi 등, 1996; Shigeru 등, 1996). 또한 taurine은 본태성 고혈압 환자나 자연발생 고혈압 흰쥐 (Spontaneously hypertensive rat; SHR)에 장기간 경구투여시 혈압강하 효과를 나타낸다 (Nara 등, 1978; Fujita 등 1984). SHR은 교감 신경계의 작용과 renin-angiotensin system (RAS)의 기능이 항진되어(Judy 등, 1976; Lundin 등 1984) 유전적 고혈압의 연구 model로 널리 사용되고 있으며 SHR의

vascular smooth muscle cell은 세포증식이 빠르고 정상쥐 보다 cholesterol이 더 많이 침착되기 때문에 약물의 혈중의 콜레스테롤의 생성 저하 또는 항 아테롬성 경화 작용을 평가하는데 훌륭한 실험 모델이 될 수 있다 (Yamori 등 1988; Murakami 등, 1995). 뇌의 약물투과를 제한하는데는 두가지 관문, 즉 혈액-뇌 관문 (blood-brain barrier, BBB)과 혈액-뇌척수액 관문 (blood-cerebrospinal fluid barrier, BCSFB)이 작용하는데 전자는 뇌의 모세혈관 내피 세포로 이루어 졌으며, 후자는 뇌척수액의 분비조직인 맥락총으로 형성되어 있다(W. M. Pardridge, 1995). 특히 BBB는 BCSFB의 500배 이상의 표면적을 나타내므로 약물의 뇌 수송에 있어서 BBB의 역할은 매우 중요하며 (Crone, 1971) 이 관문이 생체내 세포내외의 이온의 농도 변화나 혈압변화에 따라 영양물질 및 여러 가지 약물의 혈액-뇌 관문 투과성에 영향을 미치는 지를 검토하는 것은

\*To whom correspondence should be addressed.

환자에 있어서 약물투여에 많은 정보를 제공할 수 있으므로 중요한 의미를 갖는다.

본 연구는 SHR과 정상쥐에 intravenous injection technique법을 이용하여 중성 아미노산 중에서 taurine을 선택하여 pharmacokinetic parameter를 비교 산출한 후 이로부터 BBB permeability surface area product(PS)와 organ uptake 및 clearance를 산출하여 고혈압상태에서 물질의 BBB 투과성을 비교 검토하였다.

## 실험방법

### 실험물질

본 연구에 사용된 [<sup>3</sup>H]taurine(NET-541, specific activity; 24.1 Ci/mmol, NEN Dupont)은 동아제약 연구소(주)에서 공급받았고, [<sup>14</sup>C]sucrose(NEC-100X, specific activity; 442.0 mCi/mmol)은 NEN Dupont제품(부경사, 서울)을 구입하여 사용하였다.

### 실험 동물

(1) 정상혈압의 흰쥐로서 Sprague-Dawley (SD)계 웅성 흰쥐를 삼육 실험동물(주)에서 구입하여 시판 배합 사료와 물을 자유로이 공급하면서 1-2주가량 숙명여대 동물실의 환경에 적응시킨후 230-270 g의 흰쥐를 실험에 사용하였다. 혈압 측정기로 평균 수축기 혈압을 측정한 결과는 118±3 mmHg (n=18)을 나타내었다.

(2) 자연발생 고혈압 흰쥐 (Spontaneously hypertensive rat, SHR)는 한림대학교 실험동물 연구소에서 4주령된 암, 수 3쌍을 분양 받아 교배시킨 후 다음 세대에서 8주령된 웅성 흰쥐 (230-250 g)를 실험에 사용하였다. 혈압 측정기로 평균 수축기 혈압을 측정한 결과는 189±3 mmHg(n=18)을 나타내었다.

### 시약 및 기구

Normal saline은 중외제약 제품을, sodium heparin은 Elkins-Sinn, Inc. 제품을 구입하였고, 마취제로 ketamine-HCl(유한양행)을 사용하였고, 조직 용해보조제로 soluene 350(Packard, 새한산업)을 사용하였다. 방사성 물질은 hionic fluor(Packard, 새한산업)을 가하여 측정하였고, 기타 시약으로 HEPES(N-2-hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid), CaCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, bovine serum albumin(BSA, Fr.5, Cat. No.: A4503), rat serum albumin(RSA, Fr.5, Cat. No.: A2018) 등은 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 사용하였고, choline chloride, KNO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, KHCO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KCl, NaCl, D-glucose, NaOH 및 HCl은 덕산이화학에서 구입하였다.

또한 본 실험에 사용된 기계 및 기구는 다음과 같다.

Infusion/withdrawal pump(KD scientific, model 210), thermostatic blanket(Temperature control unit, Letica, HB10 1/2), bipolar coagulator(Union medical Co. Surgitor UM 880-A), microcentrifuge(한일 과학 산업(주), Union 55R, Micro 17TR), pH meter(Mettler, delta 340), hot plate/stirrer(Coning, PC320), 단두기(대중기기), balance(Sarorius, AC2115), 수술 기구, β-radioscintillating counter(Beckman, LS6500), blood pressure analyzer(IITC Life Science).

### Intravenous injection technique법

230~270 g의 웅성 정상흰쥐와 230-250 g의 웅성 SHR에 ketamine을 근육주사하여 마취시킨 후 좌측 대퇴 동맥과 정맥에 PE-50관을 삽입하였다. [<sup>3</sup>H]Taurine (3 μCi/rat)과 [<sup>14</sup>C]sucrose (1 μCi/rat)를 Ringer's-HEPES buffer (RHB, pH 7.4; 10mM HEPES, 14 mM NaCl, 4mM KCl, 2.8 mM CaCl<sub>2</sub>)에 혼합하여 조제한 액 200 μl를 주사기에 넣어 대퇴 정맥으로 주입하였다. 대퇴 동맥으로부터 0.25, 1, 2, 5, 15, 30 및 60분에 혈액을 취한 후 원심분리하여 혈장을 얻어서 soluene-350 3 ml를 가하여 용해시킨 후 hionic fluor 10 ml를 차례로 가하여 혼합한 후 <sup>3</sup>H/<sup>14</sup>C double-isotope scintillation counting을 하였다.

약액을 투여한 후 60분에 즉시 단두하여 뇌, 폐, 신장, 간, 심장을 적출하여 수술가위를 이용하여 균질화 시킨 후, 각 조직 100 mg이상의 일정량을 취하여 칭량하고 soluene-350 3 ml를 가하여 60°C, 3시간 동안 가열하여 용해시킨 후 hionic fluor 10 ml를 넣어 각 조직중의 방사성 활성을 측정하였다.

### Pharmacokinetic parameters와 brain uptakes

Pharmacokinetic parameter는 plasma radioactivity data를 UCLA Health Science Computing Facilities에서 개발한 derivative-free nonlinear regression analysis (PARBMDP, Biomedical Compute P Series)를 이용하여 biexponential equation에 적용하여 Gibaldi와 Perrier (1982)의 정의에 따라 계산하였다.

$$A(t) = A_1 e^{-k_1 t} + A_2 e^{-k_2 t}$$

여기에서 A(t)는 plasma radioactivity의 %ID/ml이며 ID는 투여량이다.

Data는  $weight = 1/(concentration)^2$ 를 이용하였으며 여기서 concentration은 %ID/ml을 의미한다.

Plasma clearance (CL), steady-state에서의 apparent volume of distribution (V<sub>ss</sub>), 혈장중 농도-시간 곡선하면적(area under the plasma concentration-time curve, AUC)과 평

균체류시간(mean residence time, MRT)은 A1, A2, k1, k2로부터 구하였다(Kang 등, 1995; Kang과 Pardridge, 1994).

$$CL = \frac{D}{AUC}$$

$$AUC = \frac{A_1}{k_1} + \frac{A_2}{k_2}$$

$$MRT = \frac{(A_1/K_1^2 + A_2/K_2^2)}{AUC}$$

$$V_{dss} = \frac{D(A_1/K_1^2 + A_2/K_2^2)}{AUC^2}$$

여기서 D는 투여량 (dose)이다.

Brain에 있어서 각 물질의 BBB permeability-surface area product (PS)는 다른 장기에서의 organ clearance rate, Ki (μl/min/g)와 동일한 의미이며 다음과 같이 계산되었다 (Pardridge등, 1995).

$$PS \text{ 또는 } K_i = \frac{[V_D - V_0]C_p(T)}{\int_0^T C_p(t)dt}$$

Cp(T) = 종말기의 혈장중 농도

V0 = 혈관내용적 표식체인 [<sup>14</sup>C]sucrose의 장기분포용적

VD = 뇌 또는 각 장기에서의 물질의 분포용적

정맥 투여 일정 시간 후에 뇌 또는 다른 장기로 약물이 송달된 양은 %ID/g으로 나타내어지며 다음과 같이 PS와 plasma AUC로 나타내어진다 (Pardridge등, 1995).

$$\frac{\%ID}{g}(t) = PS \text{ 또는 } K_i AUC(t)$$

$$AUC(t) = \int_0^t C_p(t)dt$$

$$= \frac{A_1(1 - e^{-k_1 t})}{k_1} + \frac{A_2(1 - e^{-k_2 t})}{k_2}$$

여기서 K<sub>i</sub>는 표지된 약물이 혈액으로부터 조직으로 unidirectional influx가 일어난 다음, 조직으로부터 혈액으로의 efflux가 일어난 정도를 나타내는 것으로 organ uptake는 주사후에 일정 시간에서의 %ID/g로 나타내어진다.

**결과 및 고찰**

**Pharmacokinetics**

정상흰쥐 (SD)와 SHR에서 [<sup>3</sup>H]taurine과 plasma volume

marker인 [<sup>14</sup>C]sucrose를 정맥투여한 후 60분 동안의 혈장중 %ID/ml를 Fig.1에서 비교하였다. [<sup>14</sup>C] sucrose의 혈장중 소실속도는 두 그룹에서 유의적인 차이가 없으나 혈장중 [<sup>3</sup>H]taurine의 소실은 정상흰쥐에서 보다 SHR에서 천천히 나타나고 있음을 알 수 있다.

PARBMDP program을 이용하여 계산된 각각의 물질의 parameter들을 SHR과 정상흰쥐에서 비교하여 Table 1에 나타내었다. 순시에 정맥주사하고 60분 후의 pharmacokinetic parameter들을 비교해 보면 [<sup>3</sup>H]taurine의 elimination 반감기 (t<sub>1/2</sub>, min)는 SHR이 33.0±1.0, 정상흰쥐는 32.7±2.5분으로 두 동물 군에서 [<sup>3</sup>H]taurine의 소실 반감기는 유사함을 알 수 있었다. 또한, 총클리어런스는 정상흰쥐에서는 36.5±1.3 ml/min/kg이었고, SHR에서는 27.6±1.0 ml/min/kg으로 SHR에서 25% 정도의 감소를 보였다. 본 연구에서 얻어진 정상흰쥐에서의 [<sup>14</sup>C]sucrose의 각 parameter의 값들이 기존에 보고된 논문의 값 (Amir 등, 1994)과 유사하므로 동시에 투여한 [<sup>3</sup>H]taurine에서 얻어진 각 parameter의 값들도 신뢰할 수 있다고 사료된다.

정상흰쥐와 SHR에 있어서 [<sup>3</sup>H]taurine의 organ uptake 와 clearance는 각각 Fig. 2와 Table 3에 정리하여 비교하였다. Taurine은 수용성이므로 kidney에서 흡수 및 배설이 다른 장기에 비해 높게 나타났고 SHR에서 [<sup>3</sup>H]taurine의 AUC가 정상흰쥐에 비해 높았기 때문에 전체적으로 각 장기별 흡수정도가 SHR에서 높게 나타났다.

**Brain uptakes**

Parameter로써 얻어진 AUC의 값을 이용하여 [<sup>3</sup>H]taurine의 brain PS 및 uptake (%ID/g)를 계산한 결과는 Table 2에 나타내었다. [<sup>3</sup>H]Taurine의 brain uptake값은 SHR (0.20±0.03 %ID/g)에서 정상흰쥐 (0.058±0.003 %ID/g)에

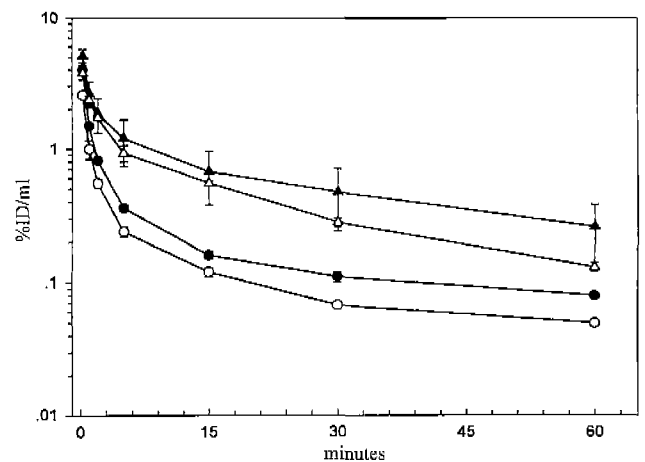
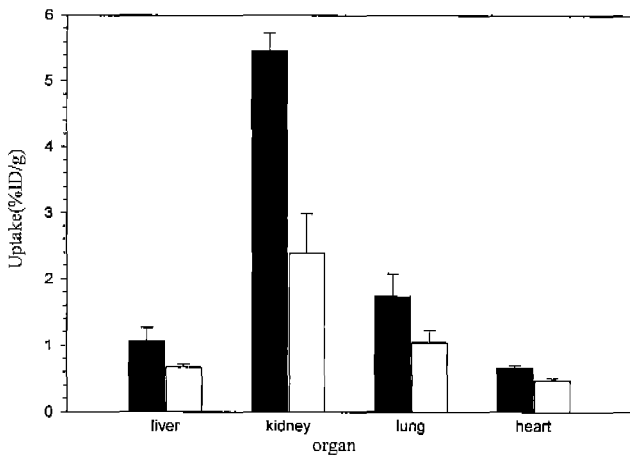


Fig. 1. Plasma clearance profile [<sup>3</sup>H]taurine or [<sup>14</sup>C]sucrose in SHR and normal rats vs time after single intravenous injection

**Table I.** Pharmacokinetic parameters of [<sup>3</sup>H]taurine or [<sup>14</sup>C]sucrose in SHR and normal rats

Parameters	normal		SHR	
	[ <sup>3</sup> H]taurine	[ <sup>14</sup> C]sucrose	[ <sup>3</sup> H]taurine	[ <sup>14</sup> C]sucrose
A1 (%ID/ml)	2.14 ± 0.24	3.13 ± 0.46	3.66 ± 0.48	4.73 ± 1.44
A2 (%ID/ml)	0.16 ± 0.01	0.79 ± 0.03	0.23 ± 0.02	1.44 ± 0.22
K1 (min <sup>-1</sup> )	0.82 ± 0.07	0.59 ± 0.15	0.87 ± 0.09	0.72 ± 0.11
K2 (min <sup>-1</sup> )	0.021 ± 0.07	0.030 ± 0.001	0.021 ± 0.001	0.027 ± 0.003
t1/2 (min)				
Distribution	0.86 ± 0.07	1.34 ± 0.32	0.81 ± 0.09	1.03 ± 0.18
Elimination	32.7 ± 2.5	22.8 ± 0.89	33.0 ± 1.00	27.5 ± 1.9
AUC <sub>0-60</sub> (%ID/min/ml)	7.96 ± 0.35	27.3 ± 0.52	12.2 ± 0.71**	51.3 ± 7.5
AUC <sub>tot</sub> (%ID/min/ml)	10.0 ± 0.23	31.6 ± 0.43	15.4 ± 0.78	64.3 ± 11.2
V <sub>dss</sub> (ml/kg)	1290 ± 158	369 ± 20	968 ± 54	240 ± 28
CL <sub>tot</sub> (ml/min/kg)	36.5 ± 1.3	13.4 ± 0.1	27.6 ± 1.0**	6.88 ± 1.03
MRT(min)	35.2 ± 4.0	27.4 ± 1.6	35.0 ± 0.8	35.4 ± 3.2

Plasma measurements were extended up to 60 min for [<sup>3</sup>H]taurine and [<sup>14</sup>C]sucrose. \*\*:P<0.01



**Fig. 2.** Organ uptakes of [<sup>3</sup>H]taurine in SHR and normal rat was measured at 60 min intravenous injection

비해 약 3배가 크게 나타났다. 이는 AUC<sub>0→60</sub>가 SHR (12.2±0.71 %ID/min/ml)에서 정상흰쥐 (7.96±0.35 %ID/min/ml)보다 1.5배 증가 하였고 물질의 고유투과상수인 PS의 값이 SHR (16.1±2.9 μl/min/g)에서 정상흰쥐 (7.4±0.8 μl/min/g)에 비해 약 2배 증가하였기 때문에 PS와 AUC의

**Table III.** Organ clearance of [<sup>3</sup>H]taurine

organ	Clearance (ul/min/ml)	
	SHR	normal
Liver	84.0 ± 16.0	84.0 ± 5.2
Kidney	458 ± 15	301 ± 74
Lung	138 ± 27	116 ± 8.3
Heart	59.0 ± 3.7	59.2 ± 3.7

Data values are mean ± S.E (n=3)

곱으로 계산되는 %ID/g, 즉 brain uptake가 SHR에서 유의적인 차이를 나타내었다.

SHR에서는 taurine의 합성과정중 cysteine에서 cysteine sulfinate로의 단계를 촉진하는 cysteine deoxygenase의 활성이 약화되었기 때문에 뇌의 시상하부와 소뇌, striatum에서 측정되는 cysteine sulfinate와 taurine의 농도는 정상흰쥐에 비해 감소된 상태이다 (Kuriyama 등, 1984). 본 연구에서는 내인성 taurine의 농도가 다른 병태모델흰쥐 (SHR)과 정상흰쥐에서 taurine의 brain uptake를 측정, 비교하였고 taurine의 체내역동학 연구결과를 비교하였다. 그러나 taurine의 정확한 brain uptake를 측정하기 위해서는 혈중의 내인성 taurine의 농도변화와 관계없이 평가할 수

**Table II.** Brain Uptake for [<sup>3</sup>H]taurine and [<sup>14</sup>C]sucrose in SHR and normal rats

Parameters	normal		SHR	
	[ <sup>3</sup> H]taurine	[ <sup>14</sup> C]sucrose	[ <sup>3</sup> H]taurine	[ <sup>14</sup> C]sucrose
Brain V <sub>d</sub> (ul/g)	1190 ± 79	68.0 ± 9.0	2690 ± 417	436 ± 273
PS(ul/min/g)	7.3 ± 90.76	0.32 ± 0.05	16.1 ± 2.9*	2.80 ± 1.60
%ID/g	0.058 ± 0.003	0.0091 ± 0.0013	0.20 ± 0.03*	0.13 ± 0.06

Parameters were estimated after 60 min intravenous injection

Data values are mean ± S.E, \*: P<0.05

있는 뇌관류법을 시행하여 고혈압상태에서의 이온의 변화 등에 따른 taurine의 brain uptake에 대한 검토가 뒤 따라야 할 것이다.

### 감사의 말씀

본 연구는 KISTEP 1999년도 숙명여자대학교 연구기반 확충사업의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Benrabb, H., Bourre, J. M. and Lefauconnier, J. M. (1995). Taurine transport at the blood-brain barrier; in vivo brain perfusion study. *Brain Res.* **692**, 57-65.
- Crone, C. (1971). The blood-brain barrier-facts and question. In; *Ion homeostasis of the brain*, pp. 52-62. Munksgaard, Copenhagen.
- Fujita, T. and Sato, Y. (1984). The antihypertensive effect of taurine in DOCA-salt rat. *J. Hypertension.* **2**, suppl 3, p 563-565.
- Gibaldi, M. and Perrier, D. (1982). *Pharmacokinetics*, pp. 1-329. Marcel Dekker Inc., New York
- Huxtable, R. J. (1992). Physiological actions of taurine. *Physiol. Rev.* **72**, 101-163.
- Judy, W. V., Watanabe, A. M., Henry, D. P., Besch, H. R., Murphy, W. R. and Hockel, M. A. (1976). Sympathetic nerve activity; role in regulation of blood pressure in spontaneously hypertensive rat. *Circ. Res.* **38**, Suppl. II 21-29.
- Kang, Y.S., Saito, Y. and Pardridge, W.M. (1995). Pharmacokinetics of [<sup>3</sup>H]biotin bound to different avidin analogues. *J. Drug Target.* **3**, 159-165.
- Kang, Y.S. and Pardridge, W.M. (1994). Use of neutral avidin improves pharmacokinetics and brain delivery of biotin bound to an avidin-monoclonal antibody conjugate. *J. Pharm. Exp. Ther.* **269**, 344-350.
- Kuriyama, K., Ida, S. and Ohkuma, S. (1984). Alteration of cerebral taurine biosynthesis in spontaneously hypertensive rats. *J. Neurochem.* **42**, 1600-1606.
- Lundin, S., Ricksten, S. E. and Thoren, P. (1984). Renal sympathetic activity in spontaneously hypertensive rat and normotensive controls as studied by three different methods. *Acta. Physiol. Scan.* **120**, 265-272.
- Margaret, A., Petty, Kintz, J. and Giuseppe F. DiFrancesco (1990). The effect of taurine on atherosclerosis development in cholesterol-fed rabbit. *Euro. J. Pharmacol.* **180**, 119-127.
- Murakami, S., Araki, H., Otomo, S., Nara, Y. and Yamori, Y. (1995). Effects of HL-004, novel ACAT inhibitor, on cholesterol accumulation and removal in cultured smooth muscle cells from stroke-prone spontaneous hypertensive rats. *Life Sci.* **56**, 509-520.
- Murakami, S., Yamagishi, I., Asami, Y., Ohta, Y., Toda, Y., Nara, Y. and Yamori, Y. (1996). Hypolipidemic effect of taurine in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Pharmacology* **52**, 303-313.
- Nara, Y., Yamori, Y., Lovenberg, W. (1978). Effect of dietary taurine on blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Biochem. Pharmacol.* **27**, 2689-2692.
- Ogawa, H. (1996). Effect of dietary taurine on lipid metabolism in normcholesterolemic and hypercholesterolemic stroke-prone spontaneously hypertensive rats, pp. 107-115. Plenum Press, New York.
- Pardridge, W. M. (1995). Transport of small molecules through the blood-brain barrier; biology and methodology. *Adv. Drug. Del. Rev.* **15**, 5-36.
- Pardridge, W. M., Kang, Y.S., Buciak, J.L. and Yang, J. (1995). Human insulin receptor monoclonal antibody undergoes high affinity binding to human brain capillaries in vitro and rapid transcytosis through the blood-brain barrier in vivo primate. *Pharm. Res.* **12**, 807-816.
- Samii, A., Bickel, U., Stroth, U. and Pardridge, W. M. (1994). Blood-brain barrier transport of neuropeptides; analysis with a metabolically stable demorphin analogue. *Am. J. Physiol.* **267**, E124-E131.
- Takasato, Y., Rapoport, S. I. and Smith, Q. R. (1984). An in situ brain perfusion technique to study cerebrovascular transport in the rat. *Am. J. Physiol.* **247**, H484-H493.
- Yamori, Y., Igawa, T., Kanbe, T., Nara, Y. and Tagami, M. (1988). Enhance growth rate of cultured smooth muscle cells from spontaneous hypertensive rats. *Heart Vessel* **4**, 94-99.