

## 선천성 고혈압 쥐의 연령별 뇌조직 중의 모노아민 함량 및 MAO 활성 변화

朴 根 熙 · 鄭 惠 珠 · 高 光 浩

서울대학교 藥學大學

(Received October 18, 1985)

### Age-related Changes of Brain Monoamine Contents and Monoamine Oxidase (MAO) Activities in Spontaneously Hypertensive Rats

Keun Hee Park, Hye Joo Chung and Kwang Ho Ko

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151, Korea

**Abstract**—The age-related changes of monoamine contents and monoamine oxidase (MAO) activities in the whole brain and blood pressures were measured and compared every week during the ages of 5 weeks to 12 weeks in two types of animals; (1) spontaneously hypertensive rats (SHR) and (2) normotensive Sprague-Dawley rats (NR). Blood pressures in SHR began to rise at the ages of 7 or 8 weeks and were significantly higher thereafter than in NR. Abnormally low MAO activities in the brain of SHR were detected from the ages of 8 weeks. Comparisons were also made between brain monoamine-norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine contents of SHR and those of NR at the same ages throughout the test period. In SHR, none of those monoamine values was consistently higher or lower than in NR during the test period. Protein contents of the brain between SHR and NR were not significantly different at any ages. These observations suggest that the abnormally low MAO activities in SHR brain may be one of the underlying neurological factors for the susceptibilities to hypertension and the deficit of MAO activities may be due to the changes in properties rather than in amount of this enzyme.

인간의 본태성 고혈압과 많은 유사점을 지닌 선천성 고혈압쥐(spontaneously hypertensive rats; SHR)가 소개된 이래로 이 동물을 이용하여 고혈압 발생기전을 밝히려는 연구가 활발히 진행되어 왔다.<sup>1,2)</sup> SHR을 이용한 과거의 연구는 혈압조절에 관여하는 말초신경계인 교감신경계의 활성변화<sup>3~8)</sup> 및 그 지배기관인 부신등에서의 생화학적 현상<sup>9,10)</sup>과 순환계의 요인인 총말초저항<sup>11~13)</sup> 또는 혈관계의 조직학적 특성<sup>14,15)</sup> 등에 관한 것이 대부분이었다. 혈압의 조절기전에서 신경계의 역할은 중요하며<sup>17~20)</sup> 혈관계에 대한 직접적인 영향은 말초신경계의 활성이 주로 좌우하지만<sup>21,22)</sup> 이들 말초신경계의 활성이 중추신경계의 직접적인 지배하에서 민감하게 조절된다<sup>23~26)</sup>는 점에서 고혈압 발생기전을 중추신경계 분야에서 규명하는 것이 이 분야에 대한 이해 증진에 기여하리라 생각된다. 최근 들어 중추신경계 현상을 기준으로 한 SHR에 대한 연구 결과가 소개되기 시작하고 있으며<sup>27~32)</sup> 특히 뇌중의 모노아민성 신경계가 중요한 역할을 할지도 모른다는 증거들이 있다.<sup>33~36)</sup> 그러나 고혈압 현상을 일관성 있게 지배하는 중추신경계 요인을 직접적인 방법으로 증명한 연구 결과는 드물어서 이에 대한 연구가 필요하다.

본 연구에서는 SHR에서의 연령에 따른 고혈압 발생과<sup>29,34)</sup> 중추신경계 중 모노아민성 신경계의 활성변화의 관련성 여부를 알아보기 위하여 SHR의 뇌에 존재하는 모노아민 및 MAO(monoamine

oxidase) 활성이 연령에 따라 변화하는지, 만약 변화한다면 혈압 변화와 어떤 상관성이 있는가를 알아보고 정상 혈압쥐와 비교하여 어떠한 차이가 있는지를 알아보았다.

### 실 험 방 법

**실험동물 및 시약**—실험동물로는 동일조건에서 사육한 정상 혈압을 유지하는 건강한 Sprague-Dawley系 쥐와 고혈압을 나타내는 SHR을 생후 5주부터 12주까지 각 주별로 암수 구별없이 사용하였다.

사용한 시약 중 5-hydroxytryptamine creatinine sulfate, artrenol bitartrate, 3-hydroxytyramine HCl, bovine serum albumine, cystein 등은 Sigma에서 구입하였고 alumina는 Merck에서, o-phthalaldehyde는 東京化成에서 구입하였으며 n-butanol, iodine, folin-ciocalteu reagent, alkaline sulfate 등 기타 시약은 1급 시약을 사용했다. 물은 달이온한 2차 증류수를 사용했다.

**혈압 측정**—실험동물을 온도조절장치가 부착된 housing holder(Narco, Biosystem)에다 40°C에서 10분간 고정시켜 꼬리 정맥이 완전히 확장되게 한 후, Pfeffer 등<sup>40)</sup>의 indirect tail-cuff법에 의해 혈압을 측정하였다. Programmed Electro-Sphygmomanometer PE-300(Narco, Biosystem)에 연결된 occlusion cuff를 통하여 일정압력을 걸어준 후 korotkoff sounds microphone으로 측정된 혈압을 physiograph(Narco Trace<sup>TM</sup>-80)에 기록하였으며 이 때 처음 pulse가 나타나는 점을 systolic blood pressure(수축기 혈압)로 한다. 혈압은 각 동물당 5회 반복 측정한 후 그 평균치를 채택하였다.

**MAO 활성의 측정**—쥐 머리를 단두대로 절단한 후 頭部를 절개하여 얻은 뇌조직에서 Whittaker 등<sup>41)</sup>의 방법으로 미토콘드리아 분획을 얻어 효소원으로 사용하였다. MAO 활성은 serotonin을 기질로 하여 Sjoerdsma 등<sup>42)</sup>의 방법에 의해 측정하였는데 MAO에 의해 대사된 serotonin량은 반응액 속에 존재하는 반응 전후의 serotonin 양의 차이로서 정했으며 이 때 serotonin의 정량은 Udenfriend 등<sup>43)</sup>의 방법에 의하여 U.V. spectrophotometer(Hitachi)를 이용하여 측정하였다. MAO 활성은 nmole/mg protein/hr로 나타내었다.

**단백질 정량**—효소원으로 준비한 뇌 미토콘드리아 분획 내의 단백질 함량은 Lowry 등<sup>44)</sup>의 방법에 따라 측정하였다.

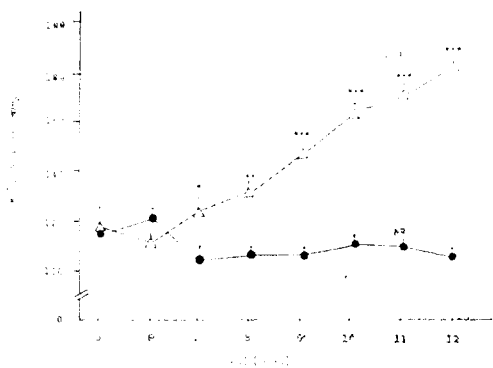
**Norepinephrine, Dopamine 및 serotonin의 정량**—쥐의 頭部를 절개하여 얻은 뇌조직을 polytron을 사용하여 homogenization한 후 Ansell 등<sup>45)</sup>의 방법에 의하여 norepinephrine(385nm/485nm)과 dopamine(320nm/370nm)의 함량을 spectrofluorimeter(FARAND)를 이용하여 측정하였고 serotonin(360nm/480nm)은 Curzon 등<sup>46)</sup>의 방법에 따라 동일기계로 형광도를 측정하였다. 각각의 농도는 ng/g tissue로 나타내었다.

**유의성 검정**—One-tailed student's t-test에 의하여 실험치 간의 차이에 대한 유의성 검정을 실시하였다.

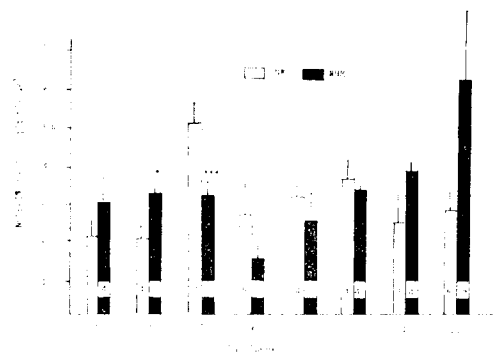
### 실 험 결 과 및 고 찰

**선천성 고혈압 쥐에서의 연령별 혈압변화**—선천성 고혈압 쥐와 정상혈압 쥐의 연령별 혈압변화를 Fig. 1에 나타내었다.

정상혈압 쥐의 경우 생후 5주부터 12주 사이에서 연령 변화에 따른 혈압변화를 관찰할 수 없었으나 선천성 고혈압쥐의 혈압은 생후 7주부터 유의성 있게 증가하였으며 ( $p < 0.05$ ), 그 이후에도



**Fig. 1**—Changes of blood pressure in SHR and NR at different ages. Each point represents the mean±S.E.M. from at least five replicates. \* indicates a significant difference from Normotensive rats (\* $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ).

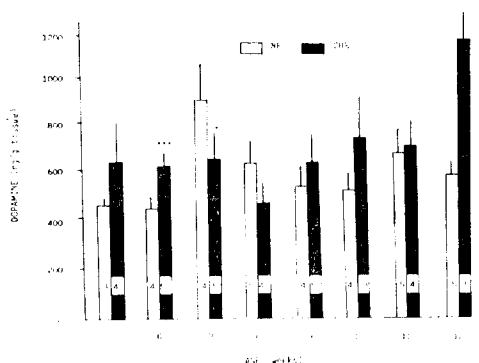


**Fig. 2**—Norepinephrine content of whole brain from SHR and NR at different ages (Mean±S.E.M.). The number of animals used for the determination of each mean is indicated within bars. \* indicates a significant difference from Normotensive rats(\* $p < 0.05$ ; \*\*\*  $p < 0.001$ ).

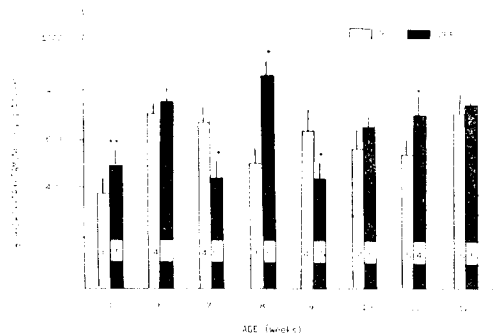
누진적으로 유의성 있게 증가하였다. 선천성 고혈압쥐와 정상혈압쥐를 각 주별로 비교하였을 때, 생후 7주부터 선천성 고혈압 쥐의 혈압이 정상혈압 쥐보다 높았으며 ( $p < 0.05$ ) 이후 계속 높은 상태를 유지하였다.

**선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중의 연령별 카테콜아민 및 serotonin 함량 변화**—선천성 고혈압 쥐와 정상혈압 쥐의 뇌조직 중의 카테콜아민—노르에피네프린, 도파민—및 serotonin 함량 변화를 측정된 결과는 Fig. 2, 3 및 4와 같다.

각 주별로 비교하였을 때, 고혈압이 발생되기 전 상태 (prehypertensive state)인 생후 5주 및 6주에서는 선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중 카테콜아민 및 serotonin 함량은 정상혈압쥐의 경우에



**Fig. 3**—Dopamine content of whole brain from SHR and NR at different ages (Mean±S.E.M.). The number of animals used for the determination of each mean is indicated within bars. \* indicates a significant difference from Normotensive rats(\* $p < 0.05$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ).



**Fig. 4**—5-Hydroxytryptamine content of whole brain from SHR and NR at different ages (Mean±S.E.M.). The number of animals used for the determination of each mean is indicated within bars. \* indicates a significant difference from Normotensive rats (\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ ).

비해 약간 높은 경향이었으나 고혈압이 발생되는 시기인 생후 7주에서는 선천성 고혈압쥐에서 모두 유의성 있게 저하되어 있음을 관찰할 수 있었다. 그러나 생후 7주 이후에는 선천성 고혈압 쥐의 혈압이 정상혈압 쥐에 비하여 계속적으로 높아지는 양상을 보이는 데도 불구하고 이들 동물의 뇌조직 중에 존재하는 노르에피네프린이나 도파민의 함량에서는 지속적이고 유의성 있는 차이를 발견할 수가 없었다.

선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중의 serotonin 함량도 연령 증가에 따른 함량 변화가 일관성이 없었으며 혈압 증가와 어떠한 연관성을 찾아볼 수 없었다. 혈압은 생후 7주 이후 지속적으로 증가하는 반면 뇌조직 중의 serotonin의 함량은 증가와 감소가 반복되었기 때문이다.

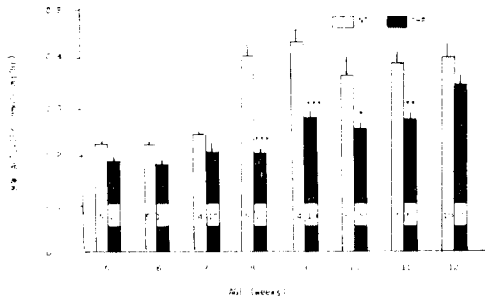
선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중의 카테콜아민 및 serotonin 함량과 관련된 여러가지 연구 보고 중 대부분의 실험결과에서 일치점을 발견한 경우는 드물었다. 또한 카테콜아민 및 serotonin의 함량 변화를 측정된 경우는 없었고 단지 고혈압 발생시기와 고혈압이 충분히 발생한 생후 16주 정도에서 측정된 경우가 있었으며 그 결과 또한 실험자에 따라 차이가 있었다.<sup>27,34,37,50)</sup> 본 실험의 결과로서 얻어진 선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중의 도파민 함량 변화는 혈압변화와 직접적인 연관성을 지을 수는 없으나 생후 7주에서의 카테콜아민의 변화는 혈압 변화와 관련해서 중요성을 내포할지도 모른다고 사료된다. 선천성 고혈압 쥐에서 혈압이 정상혈압 쥐보다 높아지기 시작하는 것은 생후 7주부터이며 바로 이 시점에서 카테콜아민의 뇌중 함량이 일시적이지만 유의성 있게 감소했고 그 이후에는 정상 동물과 유의성 있는 차이를 나타내지 않았기 때문이다.

선천성 고혈압 쥐에서 고혈압을 유발시킬 수 있는 비중추성 요인으로서 말초신경계와 관련 기관<sup>37-10)</sup>, 순환계<sup>11-13)</sup> 또는 조직학적 특성<sup>14,15)</sup> 등이 주요 대상으로 거론되어 왔다. 이러한 특성들이 직접 고혈압 발생과 관련이 있다 하더라도 잠재적으로 존재하는 이러한 고혈압 유발인자가 환상화되는 과정, 즉 이들 고혈압 유발인자에 감수성이 증가되는 과정이 고혈압이 구체적인 현상으로 나타나는 데 결정되는 필수적인 작용기전이라면 생후 7주에서 뇌중의 카테콜아민의 일시적이지만 급격한 함량 감소가 바로 여러 고혈압 유발인자에 대한 감수성의 증가를 촉발시키는 중추성 요인일 수도 있다고 사료된다. 선천성 고혈압 쥐에서 일단 고혈압이 발생한 이후인 생후 8주에서 12주 사이에는 혈압의 지속적인 증가에도 불구하고 뇌중의 카테콜아민의 함량이 변화하지 않는 것으로 보아 뇌중의 카테콜아민이 고혈압의 촉발에는 관여하나 이미 발생된 고혈압을 유지시키는 데는 관여하지 않을지도 모른다고 사료되며, 이러한 개념은 고혈압 발생에 대한 Erinoff<sup>29)</sup>와 Lowey<sup>39)</sup> 등의 이론과도 합치된다고 할 수 있다.

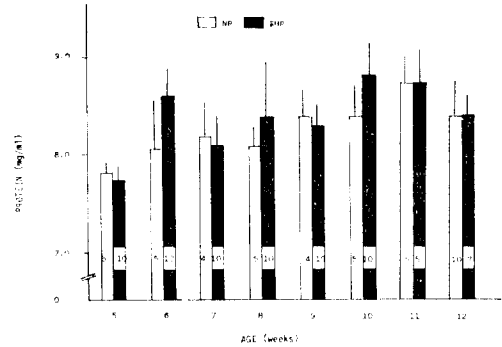
**선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중의 연령별 MAO 활성변화 및 단백질 함량변화**—선천성 고혈압 쥐 및 정상혈압쥐의 뇌조직 중 연령별 MAO 활성과 단백질 함량은 Fig. 5, 6에 나타났다.

선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중 MAO 활성은 생후 9주부터 유의성 있게 증가하였으며( $p < 0.001$ ), 정상혈압 쥐의 경우 생후 8주부터 유의성 있게 증가하였다( $p < 0.001$ ). 선천성 고혈압 쥐와 정상혈압 쥐를 각 주별로 비교하였을 때 선천성 고혈압 쥐의 경우 MAO 활성이 생후 8주부터 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 지속적으로 낮았다. 또한 뇌조직 중 단백질 함량은 전 실험기간을 통하여 선천성 고혈압 쥐와 정상혈압 쥐 모두 변화가 없었다.

뇌조직 중 MAO의 생리학적 기능은 주로 신경전달물질인 카테콜아민 및 serotonin의 대사작용이다.<sup>51)</sup> 본 실험 결과에서 보는 바와 같이 선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중 MAO 활성은 저하된 상태이며 효소활성이 저하된 시기가 고혈압이 유발된 후 지속적으로 혈압 증가가 나타나는 연령과 일치한다. MAO는 기질의 종류에 따라 MAO-A와 MAO-B로 구분될 수 있으며<sup>52)</sup> serotonin을

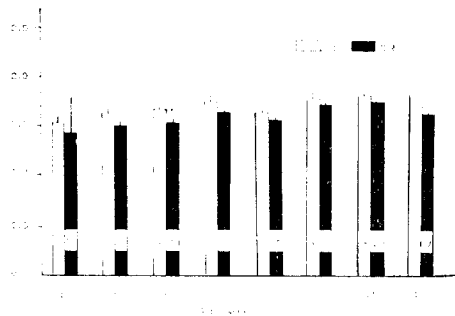


**Fig. 5-**MAO activity in whole brain from SHR and NR at different ages (Mean±S.E.M.). The number of animals used for the determination of each mean is indicated within bars. \* indicates a significant difference from Normotensive rats (\*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\*p<0.001).



**Fig. 6-**Protein content of whole brain from SHR and NR at different ages (Mean±S.E.M.). The number of animals used for the determination of each mean is indicated within bars.

기질로 하는 MAO-A는 카테콜아민의 대사에 관여하는 반면 벤질아민등을 기질로 하는 MAO-B는 뇌의 모노아민류 대사와는 상관성이 없다.<sup>53)</sup> 본 실험에서 측정된 효소활성은 MAO-A에 대한 것으로 이 효소활성이 선천성 고혈압 쥐의 뇌에 부족한 것은 카테콜아민을 포함한 뇌의 모노아민의 대사과정에서 비정상적인 변화가 일어날 가능성을 제시하고 있다. 뇌중의 MAO-A의 활성이 낮은 경우 모노아민의 대사가 충분치 않아서 뇌중의 모노아민 합량이 비정상적으로 증가된 상태를 기대할 수 있으나 본 실험의 결과에서는 그 반대 현상이 나타나고 있다. 즉 선천성 고혈압 쥐에서 고혈압이 발생한 후 정상혈압 쥐에 비해 지속적으로 혈압 증가가 나타나는 기간인 생후 8주 이후에 뇌 MAO-A의 활성은 일관성 있게 감소된 상태였으며 동일 기간에 관찰된 뇌조직 중 카테콜아민 및 serotonin의 함량은 차이를 나타내지 않고 있다. 이 사실은 선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중 MAO-A 활성 저하가 단순히 뇌조직 중 모노아민의 함량 변화를 유발시킴으로써 혈압의 지속적인 상승을 유발시키는데 기여한 것은 아니라는 점을 암시한다. 따라서 뇌 조직 중 모노아민 함량 변화가 뇌 MAO-A의 활성 저하의 결과에 의해 유발되지 않았다면 이 효소활성의 저하는 유전성 요인에 의한 것이거나 또는 고혈압 현상의 결과에 의해서 후천적으로 유발되었을 가능성이 있다. 그러나 선천성 고혈압 쥐와 DOCA-salt에 의해 유도된 후천성 고혈압 쥐의 뇌 MAO 활성에는 차이가 있었으며 이러한 차이는 clonidine에 의한 고혈압 억제 후에도 변화하지 않은 점<sup>54)</sup>으로 보아 선천성 고혈압쥐의 뇌 MAO-A 활성 저하는 유전성인 것으로 사료되며, 이 저하는 뇌조직 중 카테콜아민의 함량 변화가 아닌 다른 과정을 통



**Fig. 7-**Brain weight from SHR and NR at different ages(Mean±S.E.M). The number of animals used for the determination of each mean is indicated within bars. \* indicates a significant difference from Normotensive rats (\*p<0.05).

해 이 동물의 고혈압 유발인자에 대한 감수성을 증가시키는데 관여할 것으로 사료되나 그 정확한 기전은 앞으로 계속 연구해야 할 과제이다.

선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 무게의 연령별 변화—선천성 고혈압 쥐의 연령별 뇌조직 무게는 Fig. 7과 같다.

선천성 고혈압 쥐와 정상혈압 쥐의 뇌조직 무게는 유의성 있는 변화를 관찰할 수 없었으므로 선천성 고혈압쥐의 뇌조직 발육의 양적인 변화는 고혈압 유발요인으로서 관련되지 않은 것으로 사료된다.

## 결 론

선천성 고혈압 쥐의 연령별 혈압변화와 뇌조직 중의 카테콜아민 및 serotonin 함량변화, 이들의 분해효소인 MAO활성, 단백질합량변화 및 뇌무게를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 선천성 고혈압 쥐의 혈압은 생후 7주부터 정상혈압 쥐의 혈압보다 높았으며 그 후에도 누진적으로 유의성 있게 증가하였다.
2. 선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중 카테콜아민 및 serotonin 함량은 고혈압이 발생하는 시기, 즉 생후 7주에 모두 정상혈압 쥐에 비해 유의성 있게 낮았다.
3. 선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중 MAO 활성은 혈압이 계속 증가된 시기인 생후 8주부터 정상혈압 쥐에 비해 유의성있게 낮은 상태를 유지하였다.
4. 선천성 고혈압 쥐의 뇌조직 중 단백질 합량 및 뇌조직의 무게는 전 실험기간을 통하여 정상혈압 쥐와 차이가 없었다.

본 연구는 문교부 학술연구 조성비의 지원을 받아 수행되었다.

## 문 헌

1. K. Okamoto and K. Aoki, Development of a strain of spontaneously hypertensive rats, *Jap. Circ. J.* 27, 282 (1963).
2. K. Okamoto, The spontaneously hypertensive rat (SHR) An animal model for hypertensive research, *Jap. Heart J.* 14, 182 (1973).
3. D.S. Goldstein and C.R. Lake, Plasma norepinephrine and epinephrine levels in essential hypertension, *Fed. Proc.* 43, 57 (1984).
4. L.P. Schramm, H.J. Gunther, K. Mckenna and G.N. Barton, Sympathetic hyperactivity and hypertension in adult spontaneously hypertensive rats despite early dorsolateral funicular lesions, *Brain Res.* 167, 402 (1979).
5. T. Nishimura, I. Nishio, K. Motoki, S. Jimbo, M. Kuchii and Y. Masuyama, The changes of plasma noradrenaline in SHR and experimental hypertensive rats, *Jap. Circ. J.* 42, 561 (1978).
6. C.H. Pak, M. Matsunaga, K. Morimoto, A. Hara and C. Kawai, Plasma catecholamine of spontaneously hypertensive rats, *Jap. Circ. J.* 42, 729 (1978).
7. C.H. Pak, Plasma adrenaline and noradrenaline concentrations of the spontaneously hypertensive rats, *Jap. Heart J.* 22, 987 (1978).
8. W.V. Judy, A.M. Watanabe, D.P. Henry, H.R. Besch, W.R. Murphy and G.M. Hockel, Sympathetic Nerve Activity. Role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rat, *Circ. Res.* 38 (Suppl. II), II-21 (1976).
9. H. Grobecker, M.F. Roizen, V. Weise, J.M. Saavedra and I.J. Kopin, Sympathoadrenal medullary activity in young, spontaneously hypertensive rats, *Nature*, 258, 267 (1975).
10. T.A. Slotkin and H.O. Green, Adrenal medullary storage vesicles of the spontaneously hypertensive rat, *Biochem. Pharmacol* 24, 173 (1975).

11. J. Irichijima, Y. Numao and H. Suga, Effect of increasing age on hemodynamics of spontaneously hypertensive rats, *Jap. Heart J.* **16**, 257 (1975).
12. L.T. Lais, R.A. Shaffer and M.J. Brody, Neurogenic and humoral factors controlling vascular resistance in the spontaneously hypertensive rat, *Circ. Res.* **35**, 764 (1974).
13. N.C. Trippodo and E.D. Frohlich, Similarities of genetical (spontaneous) hypertensive, *Circ. Res.* **48**, 309 (1981).
14. G. Göthberg and B. Folkow, Age dependent alterations in the structurally determined vascular resistance, pre- to post-glomerular resistance ratio and glomerular filtration capacity in kidneys, as studies in aging normotensive rats and spontaneously hypertensive rats, *Acta Physiol. Scand* **117**, 547 (1983).
15. J.H. Coote and Y. Sato, Reflex regulation of sympathetic activity in the spontaneously hypertensive rat, *Circ. Res.* **40**, 571 (1977).
16. M.P. Galloway and T.C. Westfall, The release of endogenous norepinephrine from the coccygeal artery of spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats, *Circ. Res.* **51**, 225 (1982).
17. V. Dequattro, P. Sullivan, R. Minagawa, I. Kopin, J. Bornheimer, A. Foti and R. Barndt, Central and peripheral noradrenergic tone in primary hypertension, *Fed. Proc.* **43**, 47 (1984).
18. B. Chernow, G.P. Zaloga, C.R. Lake, M.D. Coleman and M.G. Ziegler, Effect of antihypertensive therapy on sympathetic nerve system activity in patients with essential hypertension, *Fed. Proc.* **43**, 72 (1984).
19. J. Buggy, S. Huot, M. Pamnani and F. Haddy, Periventricular forebrain mechanisms for blood pressure regulation, *Fed. Proc.* **43**, 25 (1984).
20. S. Yamada, H.I. Yamamura and W.R. Roeske, Alterations in central and peripheral adrenergic receptors in deoxycorticosterone/salt hypertensive rats, *Life Sci.* **27**, 2405 (1980).
21. M.G. Ziegler and C.R. Lake, Autonomic degeneration and altered blood pressure control in humans, *Fed. Proc.* **43**, 62 (1984).
22. H. Ibsen and S. Julius, Pharmacologic tools for assessment of adrenergic nerve activity in human hypertension, *Fed. Proc.* **43**, 67 (1984).
23. P. Rylett, H.G. Dean and M.R. Lee, Brain tyrosine hydroxylase activity and systolic blood pressure in rats treated with either deoxycorticosterone and salt or angiotensin, *J. Pharm. Pharmacol.* **28**, 559 (1976).
24. N. Jackson, P.A. Gulliver and H.G. Dean, Whole brain tyrosine hydroxylase activity during the development of deoxycorticosterone acetate-1% sodium chloride-induced hypertension in rats, *J. Pharm. Pharmacol.* **33**, 445 (1981).
25. M. Ozaki, Catecholamine content and metabolism in the spontaneously hypertensive rats, *Jap. Heart J.* **14**, 171 (1973).
26. K. Nakamura, M. Gerold and H. Thoenen, Genetically Hypertensive Rats: Relationship between the development of hypertension and the changes in norepinephrine turnover of peripheral and central adrenergic neurons, *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak.* **271**, 157 (1971).
27. T. Nagatsu, K. Ikuta, Y. Numuta, T. Kato and M. Sano, Vascular and brain dopamine  $\beta$ -hydroxylase activity in young spontaneously hypertensive rats, *Science*, **191**, 290 (1976).
28. K. Nakamura, Role of the central nervous system on development and maintenance of hypertension in spontaneously hypertensive rats (SHR), *Jap. J. Pharmacol.* **31** (Suppl. D), 44 (1981).
29. L. Erinoff, A. Heller and S. Oparil, Prevention of hypertension in the SH rat: Effect of differential central catecholamine depletion, *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)* **150**, 748 (1975).
30. E.H. Cantor, S. Abraham and S. Spector, Central neurotransmitter receptor in hypertensive rats, *Life Sci.* **28**, 519 (1981).
31. J.P. Chalmers, Brain amines and models in experimental hypertension, *Circ. Res.* **36**, 469 (1975).
32. A. Scriabine, B.V. Clineschmidt and C.S. Sweet, Central noradrenergic control of blood pressure, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 113 (1976).
33. Y. Yamori, W. Lovenberg and A. Sjoerdsma, Norepinephrine metabolism in brainstem of spontaneously hypertensive rats, *Science*, **170**, 544 (1970).
34. T. Nagatsu, T. Kato, Y. Numuta, 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**, 538 (1977).
35. M. Ogawa, Y. Fujiita, 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**, 586 (1977).
  36. J.M. Saavedra, H. Grobecker and J. Axelrod, Changes in central catecholaminergic in the spontaneously (genetic) hypertensive rat, *Circ. Res.* **42**, 529 (1978).
  37. K. Nakamura and K. Nakamura, Activation and central noradrenergic and adrenergic neurons in young and adult spontaneously hypertensive rats, *Jap. Heart J.* **19**, 635 (1978).
  38. M. Ogawa and M. Ozaki, Serotonin metabolism in hypertension produced by chemical lesion of the locus coeruleus in the rat, *Jap. Heart J.* **19**, 637 (1978).
  39. A.D. Loewy, S. Mckellar, E.E. Swensson and W.M. Panneton, Onset of hypertension in spontaneously hypertensive rats despite the depletion of spinal cord catecholamines, *Brain Res.* **185**, 449 (1980).
  40. 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**, 957 (1971).
  41. V.P. Whittaker and L.A. Barker, *Method of Neurochemistry* (Fried, R, ed), Marcel Dekker, New York (1972).
  42. A. Sjoerdsma, T.F. Smith, T.D. Stevenson and S. Udenfriend, Metabolism of 5-hydroxytryptamine by monoamine oxidase, *Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)* **89**, 36 (1955).
  43. S. Udenfriend, H. Weissbach and B.B. Brodie, *Method of Biochemical Analysis*, **6**, 95 (1958).
  44. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall, Protein measurement with the folin-phenol reagent, *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
  45. G.B. Ansell and M.F. Beeson, A rapid and sensitive procedure for the combined assay of noradrenaline, dopamine, and serotonin in a single brain sample, *Anal. Biochem.* **23**, 196 (1968).
  46. G. Curzon and A.R. Green, Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid in small regions of rat brain, *Br. J. Pharmacol.* **39**, 653 (1970).
  47. Y. Osumi, C. Tanaka and S. Takaori, Levels of tyrosine and tryptophan in the plasma and brain of spontaneously hypertensive rats, *Jap. J. Pharmacol.* **24**, 715 (1974).
  48. J. F.M. Smits, H. V. Essen and H. A.J. Struyker-Boudier, Serotonin-mediated cardiovascular responses to electrical stimulation of the raphe nuclei in the rat, *Life Sci.* **23**, 173 (1978).
  49. Y. Yamori, W.D. Jong, H. Yamabe, W. Lovenberg and A. Sjoerdsma, Effect of L-dopa and inhibitors of decarboxylase and monoamine oxidase on brain noradrenaline levels and blood pressure in spontaneously hypertensive rats, *J. Pharmacol.* **24**, 690 (1972).
  50. 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).
  51. D.S. Robinson, Changes in monoamine oxidase and monoamine with human development and aging, *Fed. Proc.* **34**, 103 (1975).
  52. J.E. Pintar and X.O. Breakefield, Monoamine oxidase (MAO) activity as a determinant in human neurophysiology, *Behavior Genetics* **12**, 53 (1982).
  53. H. Kumagai, T. Utagawa, H. Yamada, Y. Yamori and K. Okamoto, Amine oxidase activity in various tissues of the spontaneously hypertensive rats, *Jap. Heart J.* **15**, 192 (1974).
  54. K.J. Lee, N.D. Kim and K.H. Ko, The relationship between presynaptic  $\alpha$ -receptor and monoamine oxidase activity in the rat brain, *Yakhak Hoeji* **28**, 305 (1984).