

Aldosterone 유도체-고혈압의 음성적 유해와 은침점전기자극의 aldosterone 억제

이천시 노인-아동 종합복지관 물리치료실 · 용인대학교 물리치료학과 외래교수¹⁾ · 용인대학교 물리치료학과²⁾

천 기 영 · 김 중 환¹⁾ · 김 순 희²⁾ · 민 경 옥²⁾

Negative noxiousness of aldosterone analogue-induced hypertension and inhibition of aldosterone by silver spike point electrical stimulation

Kiyoung Chon · Junghwan Kim¹⁾ · Soon Hee Kim²⁾ · Kyung Ok Min²⁾

Dept of Physical Therapy, I-Chon old, child welfare center

The Graduate School of Rehabilitation Health Science, Yongin University¹⁾

Dept of Physical Therapy, Yongin University²⁾

The present study examined that in vivo/vitro test is investigated in normotensive sham-operated rats(NSR) and aldosterone-analogue deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt hypertensive rats(ADHR) and that the antihypertensive effect was induced by silver spike point(SSP) electrical stimulation at meridian points(CV-3, -4, Ki-12, SP-6, LR-3, BL-25, -28, -32, -52), specifically, such as aldosterone in 24 hour urine analysis from normal volunteer.

The heart weight, the tickness of vascular wall, collagen fiber and the systolic blood pressure were significantly increased in ADHR than that in NSR. The required time of PSS-induced resting tone and the phosphorylation of stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal protein kinase(SAPK/JNK) were significantly increased in ADHR than that in NSR. However, the Kv currents were significantly decreased in ADHR than that in NSR. The current of 1 Hz continue type of SSP electrical stimulation significantly decreased in excretion of urine aldosterone from normal volunteer.

These results suggest that the development of aldosterone analogue-induced hypertension is associated with changed heart weight, content of collagen fiber, tickness of vascular wall, blood pressure, resting tone, voltage-dependent K⁺ current(Kv) and phosphorylation of SAPK/JNK, which directly affects blood pressure. Therefore, the hypertension is a risk factor on cerebrovascular disease. Moreover, These results suggest that the

SSP electrical stimulation, especially current of 1 Hz continue type, significantly regulates excretion of urine aldosterone from volunteer.

Key Word : aldosterone, hypertension, silver spike point electrical stimulation

I. 서 론

사구체인접기구(Juxtaglomerular apparatus)에서 신호를 인지하여 renin-angiotensin - aldosterone 체계가 활성화 되면 결과 혈관평활근의 긴장성 증가와 Na⁺ 이온과 수분 흡수와 같은 일련의 반응이 일어난다는 사실은 잘 알려져 있다(Guyton과 Hall, 1996). 그러나 이러한 반응이 지나치게 지속될 경우 고혈압의 유발과 진행악화에 중요한 병태기전이 될 수 있다(Schiffirin, 1998). 더욱이 이러한 일련의 반응은 스트레스로 인한 교감신경계의 기능항진과 소금염의 과다섭취 등이 문제가 된다(Gomez-Sanchez 등, 1996; Watts, 1998). 특히, 과도한 소금염의 섭취와 만성적인 스트레스에 노출로 인한 고혈압의 생성과 악화는 우리나라의 성인병형 고혈압과 매우 밀접한 관계가 있다(통계청, 1999).

현재 사용되고 있는 고혈압 조절제는 장기투여로 여러 가지 부작용이 문제시되고 있다. 따라서 이러한 문제점을 최소로 하면서 효과적으로 혈압을 감소시킬 수 있는 물리치료를 연구해 보고자 한방 물리치료의 한 방법인 은침점전기자극(silver spike point, SSP, electrical stimulation)을 인체의 경혈점에 적용하여 고혈압 유발물질인 aldosterone의 변화를 살펴보고자 하였다(민, 1995; Sugimoto 등, 1995). 이전의 연구결과에 의하면 한방이론을 기초로한 침(acupuncture), 뜸(moxibution)의 기계적, 온열자극이 혈압을 낮추었다는 결과가 보고되고 있으나(Lee와 Kim, 1994; Kim 등, 1997), 은침점전기자극에 대한 효과는 보고가 매우 미약하다. 따라서 본 연구는 aldosterone-유도체로 고혈압을 유발시켜 야기되는 여러 가지 부정적인 유해를 혈관평활근 조직을 이용한 근 수축실험

과 조직학적 관찰, 단백질 인산화 측정 그리고 전기생리학적 기록을 통해 확인하고자 한다.

또한 은침점전기자극을 인체의 경혈에 적용하여 고혈압 유발물질인 aldosterone의 변화를 살펴보고자 한다. 특히 전류파형의 변조유무에 따라 나타나는 변화를 동시에 관찰함으로써 보다 효과적인 전기자극 형태를 알아보려고 한다.

II. 연구방법

1. Aldosterone-유도체 고혈압 모델동물 연구

1) Aldosterone-유도체 고혈압 쥐 작성

체중 190 - 200g, 웅성의 Sprague-Dawley(SD) 랫드 40두를 본 실험에 사용하였다. 랫드를 1주일간 환경에 적응시킨 후 오른쪽 신장제거수술을 시행하였다. 수술시행 후 1주일간 회복기간을 거쳐 aldosterone-유도체 deoxycorticosterone acetate (DOCA) 200mg kg⁻¹을 피하에 이식하고 봉합술을 실시하였다(aldosterone-analogue DOCA hypertensive rat, ADHR). 대조군인 정상혈압 수술쥐(normotensive sham-operated rat, NSR)는 피부절개 수술만 실시하였다. ADHR 군에는 0.9% NaCl과 0.2% KCl 혼합용액을 공급하였으며 NSR 군은 정상적인 음료와 사료를 공급하였다.

2) 조직학 분석

각 군에서 심장과 혈관을 적출하여 4% formalin 용액에 고정하였다. 고정 24시간 후 육안검사과정을 거쳐 파라핀 블럭을 만들었다. 만들어진 블럭을 3μm

두께로 박절한 후 유리슬라이드를 60°C에서 30분간 incubation 시켰다. 다음 탈파라핀화와 건조과정을 거쳐 hematoxylin-eosin 염색을 실시하였다. 특히, 콜라겐 섬유(collagen fiber)의 염색을 위해 Verhoeff의 특수염색을 실시하였다(Prado Reis와 Ferraz de Carvalho, 1988). 염색된 조직은 malinol로 봉입하여 상온에서 약 7일간 건조시켰다. 판독은 Olympus 광학현미경(Automatic photomicrographic systems PM-10ADS, Olympus optical Co., Ltd., Japan)으로 확인하였다. 혈관조직의 두께(tickness, T)측정은 200배율 하에서 얻은 결과를 대조군인 NSR을 100%로 하여 ADHR을 비교하였다(Fig. 1A - b~e). 판독의 공정성을 위해 고정관찰자가 3회 판독하였으며, 관찰자 외에 이 실험과 관계없는 조직병리 전문의 1인이 함께 판독하도록 하였다.

3) 실험동물의 혈압측정

수술 후 1주, 2주, 4주와 5주에 ADHR 군과 NSR 군에 해당하는 쥐를 xylazine hydrochloride 3.5mg kg⁻¹과 ketamine hydrochloride 100mg kg⁻¹로 전신마취를 실시하였다. 마취 후 수술과정을 거쳐 총경동맥(common carotid artery)을 확인하고 한쪽 끝이 장력 변환기(Force Displacement Transducer, FT.03, Grass, USA)에 연결된 혈압측정기를 삽입하여 수축기 혈압(systolic pressure)을 측정하였다(Fig. 2B-b).

4) 혈관평활근의 수축측정

근 수축실험을 위해 ADHR 군과 NSR 군에 해당하는 실험동물에서 흉대동맥(thoracic aorta)을 적출하였다. 혈관은 링(ring) 형태로 자른 후 내피세포(endothelial cell)를 제거하여 근 절편을 만들었다(2 × 10 mm). 근 수축의 측정은 Kim 등이 실시한 방법으로 시행하였다(Kim 등 2003).

5) Stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal protein kinase (SAPK/JNK) 발현과 인산화 측정

Stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal

protein kinase(SAPK/JNK)의 발현과 활성을 측정하였다. 분리한 각 조직은 조직분쇄용 완충액[50mM Tris-HCl(pH 7.4), 5mM EGTA, 5mM DTT, 300μM PMSF, 20mM β-glycero phosphate, 1mM NaF, 2mM Na₃VO₄, 5μg ml⁻¹ aprotinin, 5μM leupeptin, 1% Triton X, 10% glycerol, 150mM NaCl]에서 파쇄하였다. 표본을 14,000×G에서 10분간 원심분리(High-speed centrifuge, Micro 17R, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Korea)하여 상층액을 취하였다. 단백질농도는 Bradford 법(1976)을 이용하여 측정하였다. 준비된 샘플은 gel loading sampling buffer[4% SDS, 40mM Tris-HCl(pH 6.8), 8mM EDTA, 4% mercaptoethanol, 0.01% bromophenol blue, 40% glycerol]와 1 : 1로 혼합하여 최종 농도를 0.5mg ml⁻¹로 만들었다. 그 후 단백질 샘플을 95°C에서 5분간 변성시켰다. SDS용 겔을 작성한 후 전기영동을 실시하였다. 전기영동된 겔은 nitrocellulose(NC) paper에 겔당 40mA로 1-2시간 전사하였다. 전사된 NC paper는 5% 탈지분유(Skim milk)로 60분간 진탕하였다. 그 후 1차 항체(1 : 1000)를 넣고 4°C에서 12시간 정도 반응시켰다. 다음 Horseradish peroxidase-linked anti-rabbit IgG(1 : 5000)와 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. ECL Kit를 이용하여 암실에서 X-ray film에 노출시키고 현상액과 정착액을 거쳐 immunoreactive band를 확인하였다. X-ray 필름에 나타난 immunoreactive band는 이미지 분석기(Bioprofil, Vilber Lourmat, France)로 정량하였다.

6) 단일세포의 분리와 전압-의존성 K⁺ 전류의 기록

세 번째 가지의 장간막동맥(Third order mesenteric arteries) 근 절편을 정상 Tyrode 용액(이하 mM : 143NaCl, 5.4KCl, 0.33NaH₂PO₄, 1.8CaCl₂, 0.5MgCl₂, 5HEPES, 11glucose이고 NaOH를 사용하여 pH 7.4로 적정하였다)에서 분리하였다. 그 후 근 절편을 collagenase 2mg ml⁻¹(1차, Wako, Japan), papain 1mg ml⁻¹(2차, Sigma, USA), bovine serum albumin 1mg ml⁻¹, dithiothreitol 1mg ml⁻¹이 포함된 Tyrode 용

액을 시험관에 넣은 후 37°C에서 진탕하며 17-25분 소화시켰다. 준비된 세포는 4°C에서 측정 시 까지 보관하였다.

K⁺ 전류를 측정하기 위해 세포가 바닥 유리에 부착된 후 모양이 길고 세포막의 윤곽이 뚜렷한 세포를 선택하였다. 피펫은 외경 1.2mm, 내경 0.8mm인 borosilicate glass(Clark Electromedical Instruments, Pangbourne, UK)를 사용하였고 horizontal electrode puller(Sutter Instruments Co., Navato, CA, USA)로 제작한 후 fire polish하여 저항 2-3M Ω 사이의 것을 사용하였다. 피펫은 세포막에 접근시켜 whole cell patch mode에서 실험을 실시하였으며, 전류는 patch clamp amplifier(Axopatch-1A; Axon Instruments, Foster city, CA, USA)를 사용하여 기록하였다(Hamil 등, 1981). 기록된 자료는 pCLAMP software(version 6.0.3, Axon Instruments)를 사용하여 분석하였다. 자료는 1-10 KHz와 1 KHz에서 low pass filter를 사용하였다. Whole cell K⁺ 전류를 기록하기 위해 사용된 피펫 용액의 조성은 (이하 mM) : 140KCl, 5NaCl, 5MgATP, 10HEPES, 10BAPTA이고 KOH를 사용하여 pH 7.25로 적정하였다. 전류에 대한 정량적인 실험에는 Step protocol(holding potential -80mV에서 step pulse를 -60mV에서 50mV 까지 주었다)을 사용하였다.

2. 인체연구

1) 피 연구자와 연구환경

본 연구는 나이 20-27세, 체중 54 \pm 6.2kg, 키 162 \pm 4.1cm(Mean \pm SEM)인 건강에 이상이 없는 자원자 여성 10 명을 무작위로 선발하여 본 연구에 임하였다. 연구에 들어가기에 앞서 피 연구자의 생리기간을 피하였으며, 일절 실험에 대한 내용을 언급하지 않은 상태에서 본 연구를 실시하였다. 연구환경은 23 \pm 1°C의 온도를 유지시켰으며, 모든 연구조작은 피 연구자를 바로 누운 자세에서 실시하였다. 생체기전의 오차를 줄이고자 24시간의 합숙통제와 함께 동일한 제한 식이와 음료를 제공하였다.

2) 은침점전기자극

본 실험은 은침점전기자극(silver spike point, SSP, electrical stimulation)을 가하지 않은 대조군과 전기자극을 적용한 연구군의 2군으로 나누었다. 연구군은 다시 주파수변조와 진폭변조에 따라 continue type(Continue), amplitude modulation type(Amplitude M.) 그리고 frequency modulation type(Frequency M.) 전기자극군의 3군으로 나누어 실시하였다. 본 연구에서 사용된 전기자극은 은침점전기자극기(Dynaroshiftor DS-3004, Asahi Denshi Co., Japan)를 사용하였다. 전기자극의 조건은 위상기간(phase duration)을 190 μ sec, 도자의 흡착력을 강도 3으로 하여 15분 동안 통전하였다. 연구 진행시간은 오전(09-12시)과 오후(13-18시)로 나누어 총 2회 60분의 전기자극을 시행하였다. 각 군에 해당하는 8명의 자원자는 모두 동일인이며, 연구조작은 6일 간격으로 총 4회를 실시하여 결과를 통계처리 하였다. 전기자극 부위는 인체의 경혈을 선택하였으며 다음과 같다. 임맥의 중극(CV-3) 1혈과 같은 경맥의 관원(CV-4) 1혈, 족소음신경의 대혈(Ki-12) 2혈, 족태음비경의 삼음교(SP-6) 2혈, 그리고 족궤음간경의 태충(LR-3) 2혈의 경혈에 각각 동일한 코드에서 나오는 2개의 도자 8개를 바로 누운자세에서 15분간 적용하였다. 이어서, 족태양방광경의 지실(BL-52) 2혈과 대장유(BL-25) 2혈, 방광유(BL-28) 2혈 그리고 차료(BL-32) 2혈의 경혈을 엮드려 누운자세에서 15분간 적용하였다(양, 1994; 민, 1995). 또한 이러한 은침점전기자극은 근육의 가시수축이 일어나지 않는 범위에서 피 연구자가 참을 수 있는 정도의 따끔거리는 역치까지 전류강도(10-25mA)를 높여 실시하였다.

3) 뇨 알도스테론 분석

뇨 알도스테론(urine aldosterone)을 측정하기 위해, 뇨의 채취는 오전 8시부터 다음 날 오전 8시까지의 24시간 뇨를 취하였다. 뇨의 부패를 방지하기 위해 6N HCl 10ml을 첨가하여 사용하였다. 약 40ml의 뇨를 혈청분리관에 담아 측정 시 까지 냉동보관 하였으며, 측정을 위한 이동은 드라이아이스로 냉동을

유지시켰다. Aldosterone은 Abbott Laboratories의 aldosterone II RIA diagnostic kit (Japan)를 이용하여 측정하였다(현대병리 임상검사센터, 서울소재).

4) 통계학적 분석

본 연구의 통계처리는 SAS software version 6.12를 사용하였으며, Student's t-test를 이용하여 $p < 0.05$ 일 때 유의한 차가 있는 것으로 보았다. 연구성적은 $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 으로 나타내었다.

III. 결 과

1. Aldosterone-유도 고혈압 모델동물의 결과

1) Aldosterone-유도체 고혈압 군(ADHR)과 대조군(NSR)의 비교

(1) 심장과 혈관의 육안-조직학적 변화

수술조작 후 4주 경의 NSR과 ADHR의 심장을 적출하여 관찰한 결과 ADHR의 심장에 흰 빛깔을 띠는 괴사조직(necrotic tissue, NT) 부위가 여러 곳 발견되었다(Fig. 1A-a). 심장의 무게는 NSR($1.13 \pm 0.02\text{g}$)에 비해 ADHR이 $1.46 \pm 0.04\text{g}$ 으로 유의한 증가를 나타냈다(Fig. 1B). 콜라겐 섬유(collagen fiber)의 변화를 알아보기 위해 Verhoeff의 특수염색을 실시한 결과 ADHR의 좌심실 부위(Fig. 1A-c $\times 100$, c' $\times 200$)와 심장근 사이에 존재하는 미세혈관(Fig. 1A-e $\times 100$, c' $\times 200$)에 콜라겐 섬유가 증식되어 붉게 보임(화살표)을 확인할 수 있었다. 흉대동맥을 적출하여 혈관벽 두께(T)의 차이와 조직학적 변화를 알아보기 위해 hematoxylin-eosin 염색을 실시한 결과 NSR에 비해 ADHR에서 $141.7 \pm 13.27\%$ 로 두께가 유의한 차이로 증가하였다(Fig. 2B-a). 또한 ADHR의 혈관 내피세포(endothelial cell)가 NSR에 비해 증식되어 있음을 알 수 있었다(Fig. 2A-b $\times 40$, b' $\times 100$, b'' $\times 200$, 화살표).

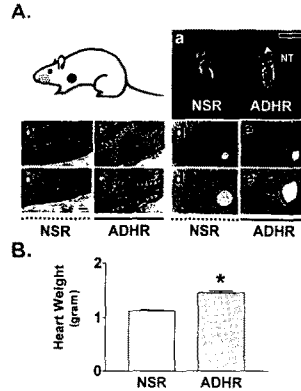


Fig. 1. Differentiation of histologic changes (collagen fiber, A) and of heart weight (B) from normotensive sham-operated rats (NSR) and aldosterone-alogue DOCA-salt hypertensive rats (ADHR).

NT, necrotic tissue; \square , 10 mm; \blacksquare , 50 μm ; b, c, d, e ($\times 100$); b', c', d', e' ($\times 200$). * $p < 0.05$ vs NSR.

(2) 혈압의 변화

수술조작 후 1주, 2주, 4주와 5주에 ADHR 군과 NSR 군에 해당하는 쥐의 혈압을 직접 혈압법(Touyz 등, 1991)으로 측정하였다. 결과 4주의 NSR 군($119.0 \pm 2.59\text{mmHg}$)에 비해 ADHR 군($187.1 \pm 7.14\text{mmHg}$)에서 유의한 차이로 증가하였으며, 5주의 NSR 군($127.6 \pm 2.17\text{mmHg}$)에 비해 ADHR 군($169.3 \pm 3.35\text{mmHg}$)에서 유의한 차이로 증가하였다(Fig. 2B-b).

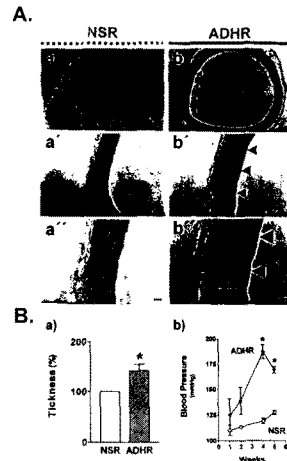


Fig. 2. Differentiation of histologic changes (T, A-a~b*, B-a) and of systolic blood pressure (B-b) from normotensive sham-operated rats (NSR) and aldosterone-alalogue DOCA-salt hypertensive rats (ADHR).

T, tickness of vascular wall: \blacksquare , 50 μm ; a, b ($\times 40$); a", b" ($\times 200$). * $p < 0.05$ vs NSR.

(3) 근 수축 반응의 변화

수술조작 후 4주 경의 NSR과 ADHR의 동맥을 적출하여 70mM KCl로 근 수축을 유발한 후 생리적 식염수(PSS)로 근 이완을 유도하고 정지장력(resting tone)으로 도달하는 시간을 측정하였다. 결과 30% 이완의 경우 NSR($0.2 \pm 0.0 \text{ min}$)에 비해 ADHR($3.8 \pm 0.6 \text{ min}$)에서 유의한 증가를, 100%이완의 경우 NSR($14.2 \pm 0.8 \text{ min}$)에 비해 ADHR($31.3 \pm 3.9 \text{ min}$)에서 유의한 증가를 나타냈다(Fig. 3A-a~c). 또한 ADHR의 근 이완 중에 긴장성 수축(tonic contraction)이 지속되면서 간헐적으로 위상성 수축(phasic contraction)이 반복되었다(Fig. 3A-b).

(4) 전압-의존성 K^+ 전류의 변화

ADHR에서 근 수축의 결과 나타난 긴장성, 위상성 수축이 세포막의 이온전류의 변화와 연관성이 있다고 추정하여 전압-의존성 K^+ 전류(voltage-dependent K^+ current, Kv)를 측정하였다. 결과 ADHR에 비해 NSR에서 K^+ 전류가 증가되어 있는 것을 알 수 있었다(Fig. 3B-a,b,c). 또한 0mV와 50mV에서의 평균 전류 밀도를 유도한 결과 0mV에서 ADHR($15 \pm 1.6 \text{ pA/pF}$)에 비해 NSR($27 \pm 3.2 \text{ pA/pF}$)에서 유의한 증가를, 50 mV에서 ADHR($42 \pm 4.3 \text{ pA/pF}$)에 비해 NSR($70 \pm 7.0 \text{ pA/pF}$)에서 유의한 증가를 나타냈다(Fig. 3B-d). 이것은 고혈압에 이환될 경우 혈관의 세포막이 저분극(depolarization) 되어 있음을 시사해 준다.

(5) SAPK/JNK 발현과 인산화의 변화

ADHR에서 근 수축의 결과 나타난 긴장성, 위상성

수축이 SAPK/JNK의 인산화 정도의 변화와 연관성이 있다고 추정하여 단백질의 발현 정도와 인산화를 측정하였다. 결과 단백질의 발현정도는 NSR과 ADHR에서 차이가 없는 반면에 인산화는 NSR에 비해 ADHR($195.8 \pm 40.47\%$)에서 유의하게 증가하였다(Fig. 4A).

2. 인체연구의 결과

1) 은침점전기자극이 뇨 Aldosterone의 변동에 미치는 효과

24시간의 뇨를 받아 aldosterone을 측정한 결과, 대조군($114.8 \pm 1.4 \text{ pg mL}^{-1}$)에 비해 진폭의 변화가 없으면서 1Hz의 일정한 주파가 통전되는 continue 형의 전기자극군($94.3 \pm 4.4 \text{ pg mL}^{-1}$)에서 유의한 감소를 나타냈다. 그러나 진폭 변조(amplitude M.)와 주파수 변조(frequency M.)의 전기자극군은 별다른 차이가 없었다(Fig. 4B).

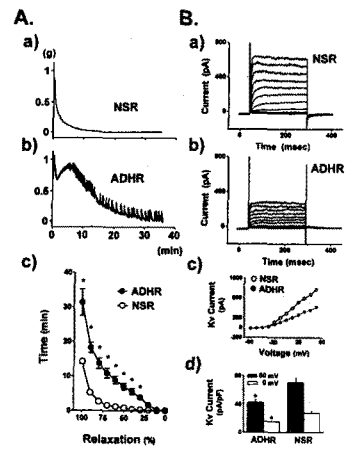


Fig. 3. Representation tracing obtained by PSS-induced resting tone (A) and differentiation of voltage-dependent K current (Kv , B) from normotensive sham-operated rats (NSR) and aldosterone-alalogue DOCA-salt hypertensive rats (ADHR).

pA, pico ampere; pF, pico farad, msec, milli

second; mV, milli volt. * $p < 0.05$ vs NSR.

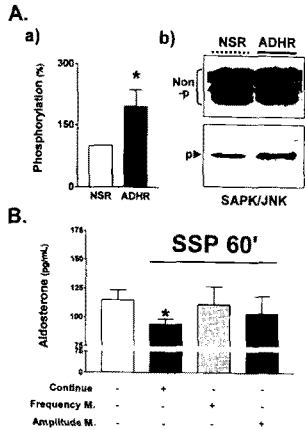


Fig. 4. Differentiation of phosphorylation of SAPK/JNK (A) from normotensive sham-operated rats (NSR) and aldosterone-alologue DOCA-salt hypertensive rats (ADHR) and effects of SSP on urine aldosterone from volunteer.

SAPK/JNK, stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal protein kinase; SSP, silver spike point electrical stimulation; continue, current of continue type; frequency M., frequency modulation; amplitude M., amplitude modulation. * $p < 0.05$ vs NSR.

IV. 고찰

우리나라 사람의 하루 평균 소금의 섭취량은 약 20g 정도로 WHO의 권장량인 4-6g에 비하면 매우 많은 양을 섭취하고 있다(한국영양학회, 1995). 이러한 우리나라 사람들의 식습관은 aldosterone-유도체 DOCA 고혈압 쥐(이하 ADHR)에서의 혈압증가와 매우 흡사한 형태를 취한다(통계청, 1999; Berecek 등, 1980). 만성적인 스트레스와 긴장 등으로 인한 혈관긴장도의 증가와 말초저항의 증가 또한 고혈압 유발에 중요한 위험인자에 속한다.

근 수축반응의 경우, 탈분극에 의한 수축 후 생리

적 식염수로 유도한 이완과정에서 정상 쥐와 ADHR 군에서 두드러진 차이를 나타냈다(Fig. 3A). 정지장력(resting tone)으로 완전히 이완되는 시간이 정상 쥐에 비해 매우 길었으며, 긴장성 수축(tonic contraction)과 일과적 위상성 수축(transient phasic contraction), 그리고 이완이 반복적으로 나타났다. 이것은 이전의 연구결과와 일치한 현상으로 특히 Watts와 Webb은 이러한 현상이 혈관평활근 세포 사이에 존재하는 간극결합(gap junction)에서 일어나는 신호전달의 흥분성이 고혈압 쥐에서 보다 높아져 있다고 보았다(Watts와 Webb, 1996). 또한 정상 쥐에 비해 ADHR 군에서 심장의 무게증가와 괴사조직의 출현 심근 내 콜라겐 섬유증의 증가(Fig. 1A,B), 그리고 혈관 벽 두께의 증가(Fig. 2) 등의 결과는 만성적인 긴장과 스트레스가 고혈압에 중요한 위험요소라는 것을 반증해 준다(Sindermann 등, 2002). 또한 정상 위에 비해 ADHR 군에서 전압-의존성 K^+ 전류(K_v)가 작은 것(Fig. 3B)은 지속적인 고혈압 상태로 기인한 세포막 전압의 저분극(depolarization) 상태가 유발되어 있는 것으로 볼 수 있으며, 이것은 aldosterone-유도체 고혈압이 유발될 경우 혈관평활근 세포막의 전기적 흥분성이 증가하거나 혹은 세포내 신호전달 체계가 불안정하여 나타나는 전기생리학적 결과로 해석할 수 있다. 고혈압은 만성적인 정신적, 육체적 스트레스로 인한 긴장으로 악화되거나 유발될 수 있다는 것은 잘 알려져 있다. 최근 이와 관련하여 mitogen-activated protein kinase(MAPK)가 고혈압 조절에 매우 중요한 요소라는 것이 보고 되고 있다(Watts, 1998; Touyz 등, 1999). 일반적으로 MAPK는 세포의 유사분열 촉진, 성장과 세포사(apoptosis), 세포 생활사 조절 등의 역할이 잘 알려져 있다(Kyriakis와 Avruch, 2001). 이러한 MAPK에는 4종류가 있는데 extracellular signal-regulated protein kinase 1과 2(ERK1/2), p38 mitogen-activated protein kinase(p38 MAPK), stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal protein kinase(SAPK/JNK), 그리고 big MAPK-1(BMK1)이 그것이다(Kyriakis와

Avruch, 2001). 그런데 이러한 MAPK가 혈압증가에 따라 활성이 증가한다는 보고(Xu 등, 1996)와 혈관 수축 반응성에 직접작용 한다는 보고(Watts, 1998), 그 결과 고혈압 조절에 필수적이라는 것이 보고 되면서 주목을 받고 있다. 본 연구의 결과 SAPK/JNK의 활성이 정상 쥐에 비해 ADHR 군에서 유의하게 증가하였다(Fig. 4A).

이러한 동물실험의 결과로 미루어 이차성 고혈압 특히 용량의존성 aldosterone-유도체 고혈압에 이환될 경우, 심장과 혈관조직의 특성 변화, 혈관수축의 반응성과 SAPK/JNK의 활성 변화 그리고 전압-의존성 K⁺ 전류의 변화와 같은 음성적인 유해들을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 미루어 인체가 aldosterone-유도 용량의존성 고혈압에 이환될 경우 인체에 미칠 수 있는 영향을 추정할 수 있었다.

인체에 많은 유해를 가하는 고혈압의 혈압강하 효과에 대한 연구로 동양 물리치료인 뜸(moxibution)을 이용한 온열자극과 침(acupuncture) 자극 전기 침자극(electroacupuncture) 그리고 저주파 전기자극에 대한 보고가 있어왔다(Yao 등, 1982; Hoffmann과 Thoren, 1986; Lee와 Kim, 1994; Bucinskaite 등, 1996; Lee 등, 1997; Averill 등, 2000). 본 연구의 결과에서도 경혈에 적용한 은침점전기자극이 뇨 aldosterone을 유의하게 감소시키며, 특히 1 Hz의 일정한 전류에서 현저한 억제효과를 관찰할 수 있었다.

V. 결 론

이상의 결과로 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상 쥐와 Aldosterone-유도체 고혈압 쥐의 혈관 조직의 두께와 심장조직의 무게, 콜라겐 증식에 차이가 있다.
2. 정상 쥐와 Aldosterone-유도체 고혈압 쥐의 혈관 생리적 식염수-유도 정지장력에 이르는 이완시간과 수축양상에 차이가 있다.
3. 정상 쥐에 비해 Aldosterone-유도체 고혈압 쥐에서 stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal protein kinase(SAPK/JNK)의 활성이

증가되어 있다.

4. 1 Hz의 주파가 일정하게 통전되는 은침점전기 자극이 뇨 aldosterone을 유의하게 감소시켰다. 따라서 은침점전기자극은 aldosterone 조절의 효과가 있는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 민경옥. SSP요법. 현문사. 1995.
 양갑삼. 침구학. 의성당. 1994.
 통계청. 사망원인통계연보. 1999.
 한국영양학회. 한국인영양권장량. 중앙문화진수출판사. 1995.
- Averill A, Cotter AC, Nayak S, Matheis RJ, and Shiflett SC. Blood pressure response to acupuncture in a population at risk for autonomic dysreflexia. Arch Phys Med Rehabil. 2000; 81 : 1494-1497.
- Berecek KH, Stocker M, and Gross F. Changes in renal vascular reactivity at various stages of deoxycorticosterone hypertension in rats. Circ Res. 1980; 46 : 619-624.
- Bradford, MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72 : 248-54.
- Bucinskaite V, Theodorsson E, Crumpton K, Stenfors C, Ekblom A, and Lundeborg T. Effects of repeated sensory stimulation(electroacupuncture) and physical exercise(running) on openfield behaviour and concentrations of neuropeptides in the hippocampus in WKY and SHR rats. Eur J Neurosci. 1996; 8 : 382-387.
- Gomez-Sanchez, EP., Zhou, M., and Gomez-Sanchez, CE. Mineralocorticoids, salt and high blood pressure. Steroids, 1996; 61 : 184-188.
- Guyton, AC. and Hall, JE. Textbook of medical physiology. 1996, 9th ed. W.B. Saunders Co.

- Hamil, OP., Mart, A., Neher, E., Sakmann, B., and Sigworth, FJ. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and free membrane patches. *Pflugers. Arch.* 1981; 391 : 85-100.
- Hoffmann P and Thoren P. Long-lasting cardiovascular depression induced by acupuncture-like stimulation of the sciatic nerve in unanaesthetized rats. Effects of arousal and type of hypertension. *Acta Physiol Scand.* 1986; 127 : 119-126.
- Kim, B, Kim, YS, Ahn, J, Kim, J, Cho, S, Won, KJ, Ozaki, H, Karaki, H, Lee, SM. Conventional-type protein kinase C contributes to phorbol ester-induced inhibition of rat myometrial tension. *Br. J. Pharmacol.* 2003; 139(2) : 408-414.
- Kyriakis, JM, and Avruch, J. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiological Rev.* 2001; 81(2) : 807-869.
- Lee HS and Kim JY. Effects of acupuncture on blood pressure and plasma renin activity in two-kidney one clip goldblatt hypertensive rats. *Am J Chin Med.* 1994; XXII(3-4) : 215-219.
- Lee HS, Yu YC, Kim ST, and Kim KS. Effects of moxibustion on blood pressure and renal function in spontaneously hypertensive rats. *Am J Chin Med.* 1997; XXV(1) : 21-26.
- Prado Reis, F, and Ferraz de Carvalho, CA. Functional architecture of the splenic vein in the adult human. *Acta. Anat.* 1988; 132(2) : 109-113.
- Schiffirin EL. Endothelin and endothelin antagonists in hypertension. *J Hypertens.* 1998; 16(12 Pt 2) : 1891-5.
- Sindermann, JR, Smith J, Kobbert, C, Plenz, G, Skaletz-Rorowski, A, Solomon, JL, Fan, L, March, KL. Direct evidence for the importance of p130 in injury response and arterial remodeling following carotid artery ligation. *Cardiovasc. res.* 2002; 54 : 676-683.
- Sugimoto K, Konda T, Shimahara M, Hyodo M, and Kitade T. A clinical study on SSP (silver spike point) electro-therapy combined with splint therapy for temporo-mandibular joint dysfunction. *Acupunct Electrother Res.* 1995; 20(1) : 7-13.
- Touyz, RM, Mabrouk, ME, He, G, Wu, XH, and Schiffrin, EL. Mitogen-activated protein/extracellular signal-regulated kinase inhibition attenuates angiotensin II-mediated signaling and contraction in spontaneously hypertensive rat vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.* 1999; 84 : 505-515.
- Watts, SW. The development of enhanced arterial serotonergic hyperresponsiveness in mineralocorticoid hypertension. *J. Hypertens.* 1998; 16 : 811-822.
- Watts, W, and Webb, RC. Vascular gap junctional communication is increased in mineralocorticoid-salt hypertension. *Hypertension.* 1996; 28 : 888-893.
- Yao T, Andersson S, and Thoren P. Long-lasting cardiovascular depression induced by acupuncture-like stimulation of the sciatic nerve in unanaesthetized spontaneously hypertensive rats. *Brain Res.* 1982; 240 : 77-85.
- Xu, Q, Liu, Y, Gorospe, M, Udelsman, R, and Holbrook, NJ. Acute hypertension activates mitogen-activated protein kinases in arterial wall. *J. Clin. Invest.* 1996; 97 : 508-514.