

# 八正散 藥鍼이 글리세롤로 유발된 흰쥐의 급성 신부전에 미치는 영향

이소영<sup>1</sup> · 김민호<sup>2</sup> · 윤여충<sup>3</sup> · 조수인<sup>1</sup> · 임세현<sup>4</sup> \*

## The Effect of Paljeong-San Pharmacopuncture Treatment on Glycerol-Induced Acute Renal Failure in Rats

Lee So-Young<sup>1</sup> · Kim Min-Ho<sup>2</sup> · Cho Su-In<sup>3</sup> · Yun Yeo-Choong<sup>1</sup> · Lim Se-Hyun<sup>4</sup> \*

<sup>1</sup>School of Korean Medicine, Pusan National University,

<sup>2</sup>Blue-Dragon Korean Medical Clinic,

<sup>3</sup>College of Korean Medicine, Dongshin University,

<sup>4</sup>School of Public Health, Far East University

Objective: The primary objective this study was to evaluate the effect of Paljeong-san (PJS) pharmacopuncture treatment on against the glycerol-induced acute renal failure in rats.

Methods: Glycerol injection decreased GFR (glomerular filtration rate) and increased urine volume, serum creatinine, BUN level, urine albumine secretion and fractional excretion of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>. PJS was selected in the basis of invigorating kidney which can eliminate pathogens. Rats were treated with PJS pharmacopuncture on Shin-shu (BL23) and Chon-chu (ST25) point for 3 days, followed by 50% concentration of glycerol injection (5 ml/kg body weight).

Results: After the 3 days treatment period, Paljeong-san (PJS) pharmacopuncture treatment improved renal function. In addition, Glycerol injection increased lipid peroxidation, and decreased Na-K-ATPase in renal cortex and which were prevented by PJS treatment.

Conclusion: This study suggests that Paljeong-san (PJS) pharmacopuncture treatment show favorable effect on glycerol-induced acute renal failure in rats.

Key words : Paljeong-san, pharmacopuncture, acute renal failure

### I. 서론

급성 신부전은 급격한 사구체 여과율 (Glomerular filtration rate, GFR)의 감소와 질소 대사산물의 저류 그리고 세포 외액의 양과 전

해질, 산염기 항상성의 교란을 특징으로 하는 질환으로, 핏뇨는 자주 발생하나 항상 동반하는 임상양상은 아니며 대개 증상이 없으면서 혈중 BUN이나 Creatine 상승으로 진단된다. 최근 의학의 발달에도 불구하고 국내외의 여러 보고에 의하면 급성신부전의 사망률은 40-60%에 달한다<sup>1)</sup>.

韓醫學에서 급성신부전은 小便不通, 關格, 水腫의 범주에 속한다고 볼 수 있으며<sup>2)</sup> 膀胱濕熱

\* 교신저자 : 임세현. 충청북도 음성군 감곡면 왕장리 산5번지 극동대학교 보건계열 간호학과. Tel:043) 880-3840. E-mail: ab3402@hanmail.net  
투고일 : 2012년 6월28일 게재일 : 2012년 7월 9일

腎元虧虛·肺失肅降·肝失疏泄·脾氣不升·瘀濁內停 등의 원인으로 三焦의 氣化 기능이 영향을 받아 발생하며 각 病因病機에 따라 清利濕熱·滋補腎陰·清肺熱·疎利氣機·升降濁 등의 治法을 사용한다<sup>3)</sup>.

八正散은 濕熱下注로 인한 病證을 치료하는 처방으로<sup>4)</sup> 許<sup>5)</sup>는 膀胱積熱 小便癃閉不通을 치료하였으며 근대 이르러 康<sup>6)</sup>은 濕熱下注하여 膀胱에 蓄熱하므로써 小便不通하고 小腹急滿한 證을 治하는 方劑라 하였다.

八正散 또는 加減方에 관한 기존의 연구 논문으로는 이 등<sup>7-8)</sup>이 방광염을 포함한 요로 감염에, 김 등<sup>8)</sup>은 비만에 유효함을 말하였고 현 등<sup>9)</sup>이 난치성 애역과 관련된 연구를 한 것 등이 있다.

급성신부전에 대한 藥鍼치료는 박 등<sup>10)</sup>이 丹蔘藥鍼에 대한 연구와 조 등<sup>11)</sup>이 車前子 藥鍼으로 유효한 결과를 발표하였다. 복합처방의 신부전에 관한 연구로는 윤 등<sup>12)</sup>의 消腫調脾順氣湯에 대한 보고가 있었고 이 등<sup>13)</sup>의 大分清飲에 대하여 유효한 효과를 보인 것과 이 등<sup>14)</sup>이 사상인 처방인 荊防地黃湯과 十二味寬中湯에 대한 연구가 있었으나 이들은 모두 경구 투여한 것이고, 복합처방의 藥鍼으로 급성신부전과 관련된 연구는 아직 부족한 실정이다.

이에 본 연구에서는 글리세롤을 이용하여 급성신부전을 유발한 흰쥐를 대상으로 八正散 藥鍼을 실시하여 급성신부전을 억제하는 것을 관찰하였고 통계적으로 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

200g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 대한실험동물 (한국)에서 공급받아 사용하였으며, 고형사료 (삼양 배합사료 실험동물용, 삼양유지사료, Korea)와 물을 충분히 공급하면서, 2주 이상 실험실 환경 (온도, 22±2℃; 밤/낮, 12 hrs)에 적응시킨 후 사용하였다.

### 2) 약제

본 실험에 사용된 八正散은 東醫寶鑑<sup>5)</sup>에 기재된 내용에 준하였고, 이를 구성하는 약제는 시중 원료 의약품 판매전문 제약회사 (광명생약, 전남)에서 구입·정선하여 사용하였으며 처방의 내용은 Table 1과 같다.

Table 1. Prescription of Paljeong-San.

韓藥名 (Herbal Name)	生藥名 (Scientific Name)	重量 (Weight, g)
瞿麥	Dianthi Herba	
大黃	Rhei Racix Et Rhizoma	
木通	Akebiae Caulis	
篇蓄	Polygoni Avicularis Herba	각 등분 (Share equally)
滑石	Talcum	
梔子	Garseniae Fructus	
車前子	Plantaginis Semen	
甘草	Glycyrrhizae Radix	
燈心	Junci Medulla	
Total Amount		36g

### 3) 시약 및 기기

실험에 사용된 NaCl, KCl, Tris-HCl, CaCl<sub>2</sub>, glucose, phosphoric acid, thiobarbituric acid 등은 Sigma (Sigma Chemical, USA) 제품을, 1-Butanol은 Junsei (Junsei Chemical, Japan) 제품을, methanol은 Fisher (Fisher Scientific, Korea) 제품을 사용하였다. 혈청 중 크레아티닌, BUN, glucose 등의 측정은 시중에서 AM119-K, AM 165-K, AM 201-K 등의 국산 측정용 키트 (아산제약, 한국)을 구입하였으며, 측정을 위해 사용된 기기는 분광광도계 (U-2800, Hitachi, Japan), 분쇄기 (DIAX 600, Heidolph, Germany), 원심분리기 (VS-15000CFN, Vision, 한국), 동결건조기 (E20, Eyela, Japan), 전자저울 (AR2140, OHAUS, USA) 등이었다.

## 2. 방법

### 1) 藥鍼液 제조

2점 분량에 해당하는 八正散 72g에 증류수 1,500 ml을 가한 후 대용약탕기 (DWP-1800T, 한국)로 2시간 전탕한 후 찌꺼기를 제거한 후 추출액을 부직포와 Whatman paper No. 1 으로 여과한 후 동결 건조기 (SFDSM06, 삼원, 한국)를 이용하여 최후의 건조물은 8.7g을 얻었다. 시료를 사용하지 않을 때에는 냉동 보관해 두었다가 실험 직전에 꺼내 사용하였다. 藥鍼 주입용으로는 전탕한 후 여과한 여액에 에탄올을 가하여 약 75% 에탄올 용액으로 만든 다음, 교반하고 저온에 방치하여 생성된 침전물을 제거하였다. 여액을 다시 감압 농축하여 증류수를 가하여 용해한 후 에탄올을 가하여 85% 에탄올 용액으로 만들었다. 교반 후 저온에 방치하여 생성된 침전물을 제거하고 다시 감압농축하여 농축액을 증류수에 용해시키고 에탄올을 가하여 95% 에탄올 용액으로 만들었고 교반 후 저온에 방치하여 생성된 침전물을 제거하였다. 여액을 다시 감압농축하여 생리식염수를 가하여 pH를 7.0으로 맞춘 후 전량이 1,000 ml 되도록 한 다음 이를 저온에서 24시간 방치한 후 0.45  $\mu$ m와 0.2  $\mu$ m pore size membrane filter를 이용하여 차례로 filtering 과정을 거쳐 멸균하여 사용하였다.

### 2) 글리세롤에 의한 급성 신부전 유발

실험동물을 정상군, 대조군, 실험군의 세 군으로 구분하였으며, 각 7마리씩 실험 시작 전 24시간 동안 물과 사료의 공급을 차단하여 탈수시킨 후 대조군과 실험군은 글리세롤을 생리 식염수에 녹여 50% 글리세롤을 5 ml/kg body weight 로 1회 대퇴근의 양측에 나누어 주입하였고, 정상군은 생리식염수만을 주입하였다.

### 3) 八正散 藥鍼液 주입

글리세롤 주입이 시작된 날부터 실험군에는 八正散 藥鍼을 腎俞 (BL23)15) 와 좌측 天樞 (ST25) 상응 부위에 흰쥐 체표의 털을 제거한 후 주입하였다.

藥鍼 주입기로는 용량 1.0 ml의 1회용 주사기 (주사침 26 guage, 보인메디카, 한국)을 사용하였다.

腎俞(BL23)의 위치는 실험 동물의 제2요추 횡돌기 부위로 척추 정중선에서 0.5 cm 떨어진 부위에 2 mm 내외의 깊이로 주입하였으며, 藥鍼液의 용량은 0.5 ml/kg/day 되도록 좌측 및 우측에 나누어 주입하였고, 天樞(ST25)의 위치는 실험 동물의 挾臍 兩傍 약 0.7 cm 떨어진 부위로 정하고 좌측에 1.0 ml/kg/day가 되도록 7 mm 내외의 깊이로 주입하였다. 대조군의 경우에는 藥鍼液 대신에 동량의 생리식염수를 해당 經穴 부위에 주입하였다.

八正散 藥鍼은 글리세롤 주입 30분 후부터 매일 1회 같은 시각에 3일간 시술하였다.

### 4) 실험 동물로부터 뇨 및 혈액의 채취

24시간 뇨는 글리세롤 주입 후 매일 대사 케이지를 통해 채집하였고, 혈액은 심장을 천자하여 채혈하였다.

뇨는 채집 후 600×g에서 15분간 원심 분리한 후 상청액을 취하였고, 혈액은 실온에 30분 이상 방치한 다음 1,300×g에서 25분간 원심 분리하여 얻은 혈청으로부터 크레아티닌, BUN 등을 측정용 kit(아산제약 주식회사, Korea)을 이용하여 측정하였다. 글리세롤 주입 후 3일 경과 후 희생시켰으며 신장을 적출하여 신장 피질에서의 지질 과산화 정도 등을 측정하였다.

### 5) 신장 기능의 평가

채취된 혈액 및 뇨를 이용하여 뇨량, 혈청 생화학적 지표, 뇨중 glucose, 사구체 여과율 등을 확인함으로써 八正散 藥鍼의 신부전 억제 효과를 평가하였다.

### 6) 신장 피질에서의 MDA 함량 측정

실험용 흰쥐를 희생시킨 후 신장을 들어내어 130mM NaCl, 5mM KCl, 10mM Tris-HCl (pH 7.4)로 된 차가운 용액을 신동맥에 주입하여 혈액을 제거하고 바깥의 단단한 피막을 제거한 다

음 Stadie-Riggs microtome (Tomas Co. USA) 으로 약 1 cm<sup>2</sup> 넓이와 약 0.3~0.5 mm 두께의 신장 피질 조직 절편을 만들었다. 이 조직 절편을 이용하여 신장 조직 내 MDA 함량을 측정하였으며, 그 방법은 Uchiyama 등의 방법<sup>15)</sup>에 준하여 신장 조직 절편을 1% phosphoric acid 3 ml과 0.6% thiobarbituric acid 용액 1 ml을 첨가하여 끓는 물에서 60분간 가열하였다. 1-Butanol 4 ml을 첨가하여 완전히 섞은 다음 800×g에서 25분간 원심분리 한 후, 상층액의 흡광도를 534 nm와 510 nm에서 측정하였다. MDA 값은 단백질 1 mg 당 pmoles로 표시하였으며, 단백질 농도는 Bradford의 방법<sup>17)</sup>으로 측정하였다.

위의 방법을 시행하기 위한 신장 피질 절편의 제작은 다음과 같은 방법을 사용하였다. 우선 흰쥐의 경추를 탈구시켜 희생시킨 후 신장을 적출하여 130mM NaCl, 5mM KCl, 10mM Tris-HCl (pH 7.4)로 된 냉장 보관 용액을 혈관 내로 주입하여 혈액을 제거하였다. 신장 바깥의 단단한 피막은 제거하였다. 신장 피질 조직을 Stadie-Riggs microtome (Tomas, U.S.A.)을 사용하여 가로 및 세로의 길이는 각각 1 cm, 두께는 약 0.3-0.5 mm 되도록 절편을 제작하였다.

#### 7) 신장 피질 내 GSH 함량 측정

GSH 함량은 Anderson의 방법<sup>18)</sup>으로 측정하였다. 0.248 mg/ml NADPH (143 mM sodium phosphate, 6.3 mM Na<sub>4</sub>-EDTA, pH. 7.5를 함유하고 있는) 용액 700 μl, 6mM 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) 용액 100 μl와 증류수 198 μl를 cuvette에 넣어 30°C에서 15분간 데운 후 시료 2 μl를 넣고 섞은 다음 266 U/ml GSSG reductase 10 μl를 첨가하여 412 nm에서 흡광도의 변화를 관찰하였고 단위는 μg/mg protein으로 나타내었다.

#### 8) Microsome에서 Na-K-ATPase 활성 측정

신장 조직으로부터 microsome을 Kim 등<sup>19)</sup>의 방법으로 분리한 후, ATPase 활성은 기질로써

이용된 ATP로부터 유리되는 무기 인산의 농도를 측정하여 산정하였다. 총 ATPase 활성은 100mM Na<sup>+</sup>, 20mM K<sup>+</sup>, 3mM Mg<sup>2+</sup>, 2mM EDTA, 40mM imidazole, 3mM ATP를 함유하는 용액 내에서 측정하였으며, Mg<sup>2+</sup>-ATPase 활성은 상기 용액 내에서 K<sup>+</sup>이 없고 1mM ouabain이 들어 있는 용액 내에서 측정하여 총 ATPase와 Mg<sup>2+</sup>-ATPase 활성의 차이를 Na-K-ATPase 활성으로 하였다. 상기 용액을 37°C에서 5분간 preincubation한 후 microsome을 넣어 반응을 시작하였으며 반응 10분 후에 차가운 6% perchloric acid를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 반응액을 3500×g에서 10분간 원심 침전시킨 후 상층액 속에 들어있는 무기 인산의 농도를 Fiske 등의 방법<sup>20)</sup>으로 측정하였다.

#### 9) 광학현미경 관찰

흰쥐의 신장조직을 적출하여 4%의 paraformaldehyde를 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, paraffin으로 포매한 후 microtome을 사용하여 조직을 5μm 두께로 절편<sup>21)</sup>하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시켰다. 이를 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 100%, 90%, 80% ethanol 과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 함수과정을 거치게 하였다. Hematoxylin과 eosin으로 이중염색을 한 다음 탈수를 하였다. Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

#### 10) 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 SPSS (Ver. 12)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준오차 (mean±SE)로 나타내었으며, 각 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

### III. 실험 성적

#### 1. 혈청 크레아티닌 함량

혈청 크레아티닌 수치는 정상군이  $0.43 \pm 0.03$  mg/dl, 대조군이  $0.97 \pm 0.05$  mg/dl, 실험군이  $0.79 \pm 0.04$  mg/dl로 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다 (Fig. 1).

Changes of Rat Serum Creatinine

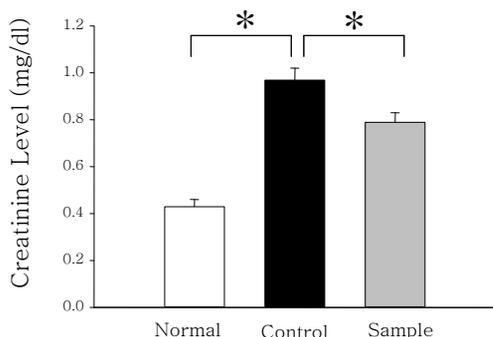


Fig. 1. Effect of PJS treatment on changes in serum creatinine level in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*,  $p < 0.05$ .

#### 2. 혈청 BUN 함량

혈청 BUN 수치는 정상군이  $44.1 \pm 8.6$  mg/dl, 대조군이  $96.8 \pm 13.1$  mg/dl, 실험군이  $52.7 \pm 7.2$  mg/dl로 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다 (Fig. 2).

Changes of Rat Serum BUN

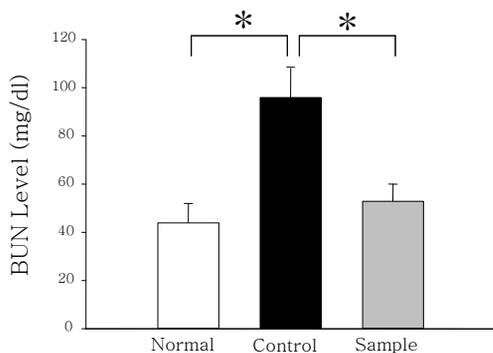


Fig. 2. Effect of PJS treatment on changes in serum BUN level in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*,  $p < 0.05$ .

#### 3. 뇨 중 글루코스 함량

뇨 중 글루코스 수치는 정상군이  $9.2 \pm 1.4$  mg/dl, 대조군이  $95.4 \pm 13.5$  mg/dl, 실험군이  $21.3 \pm 3.6$  mg/dl로 대조군에 비해 유의하게 억제되었다 (Fig. 3).

Changes of Rat Urine Glucose

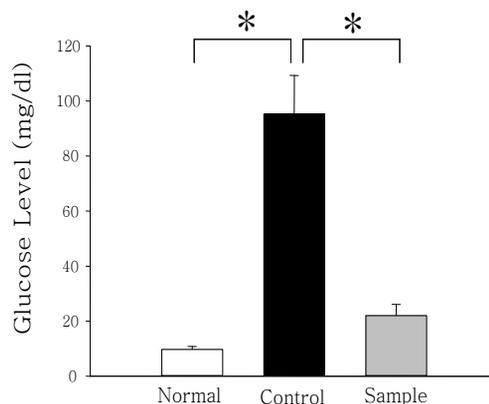


Fig. 3. Effect of PJS treatment on changes in urine glucose level in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*,  $p < 0.05$ .

#### 4. 뇨 중 albumin 배설량 변화

24시간 동안의 뇨 중 알부민 배설량은 정상군이  $138 \pm 25$  mg, 대조군이  $365 \pm 36$  mg, 실험군이  $303 \pm 32$  mg로 대조군에 비해 유의한 차이가 없었으나 감소의 경향을 보였다 (Fig. 4).

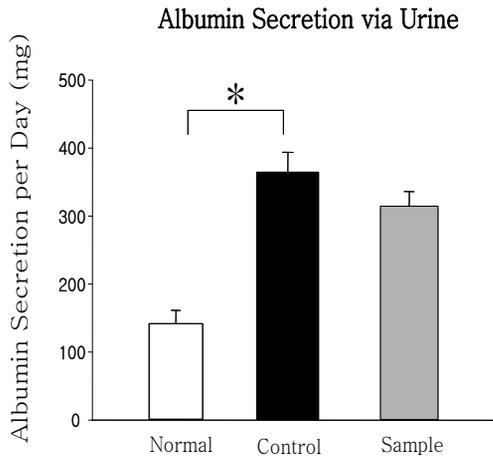


Fig. 4. Effect of PJS treatment on changes in albumin secretion via urine for 24 hours in glycerol-induced acute renal failure in rats. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*, p <0.05.

5. 사구체 여과율

사구체 여과율은 정상군이 0.83±0.12 L/Day/kg, 대조군이 0.11±0.06 L/Day/kg, 실험군이 0.31±0.09 L/Day/kg로 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다 (Fig. 5).

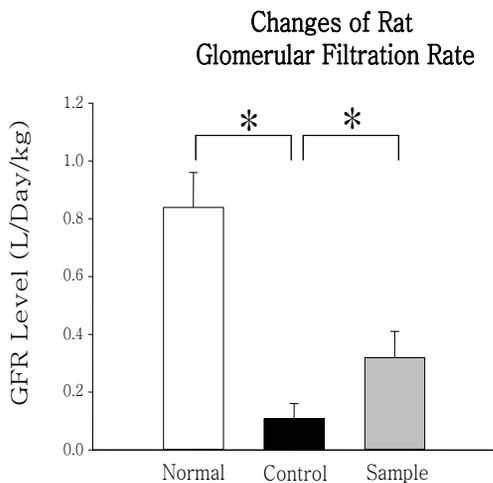


Fig. 5. Effect of PJS treatment on changes in GFR in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*, p <0.05.

6. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 배설 분율 변화

사구체 여과율과 관련한 여러 지표 중 Na<sup>+</sup> 과 K<sup>+</sup> 의 배설 분율을 측정하여 보았다. Na<sup>+</sup> 과 K<sup>+</sup> 의 배설 분율 모두에서 유사한 결과가 나타났는데 먼저 Na<sup>+</sup> 배설 분율은 정상군이 2.26±0.52%, 대조군이 16.19±3.12%, 실험군이 6.70±0.56%로 대조군에 비하여 억제되었으며 K<sup>+</sup> 배설 분율은 정상군이 254.1±66.3%, 대조군이 606.2±87.0, 실험군이 279.9±58.3%로 대조군에 비하여 억제되었다 (Fig. 6, 7).

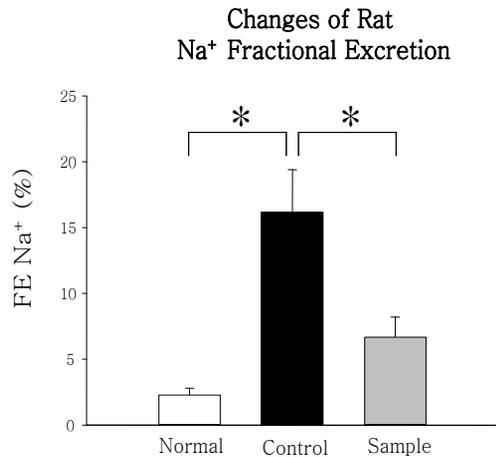


Fig. 6. Effect of PJS treatment on changes in FE Na<sup>+</sup> in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*, p <0.05.

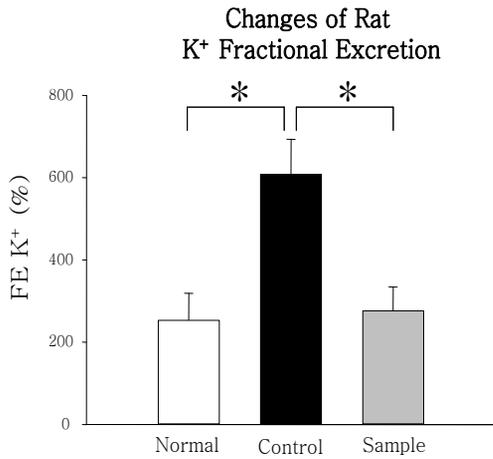


Fig. 7. Effect of PJS treatment on changes in FE K<sup>+</sup> in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*, p <0.05.

7. 신장 피질 내 GSH 함량

신장 피질 내 GSH 함량은 정상군이 1.2±0.2 μmole/g wet wt., 대조군이 0.6±0.2 μmole/g wet wt., 실험군이 0.7±0.3 μmole/g wet wt.로 대조군과 유의한 차이는 없었으나 증가하는 경향을 보였다 (Fig. 8).

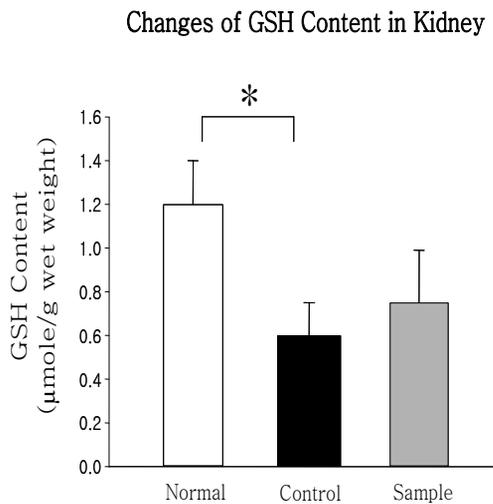


Fig. 8. Effect of PJS treatment on changes in GSH content of cortex of kidneys in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*, p <0.05.

8. 신장 피질 조직 내 microsome에서 Na-K-ATPase 활성

신장 피질 조직 내 microsome에서 Na-K-ATPase 활성은 정상군이 27±4 μM Pi/mg/hr, 대조군이 13±2 μM Pi/mg/hr, 실험군이 22±2 μM Pi/mg/hr로 유의하게 증가되었다 (Fig. 9).

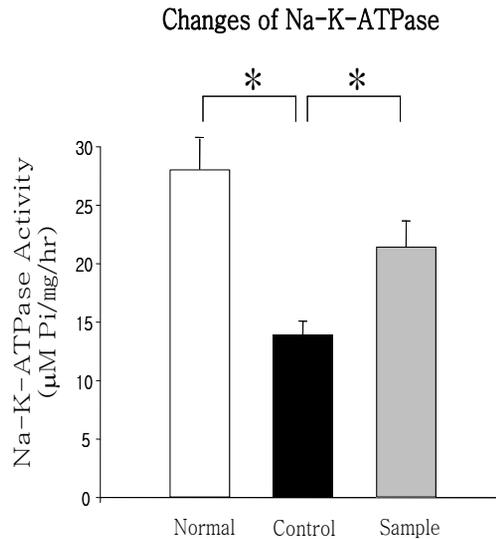


Fig. 9. Effect of PJS treatment on changes in Na-K-ATPase of cortex of kidneys in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*, p <0.05.

9. 신장 피질에서의 지질 과산화

지질 과산화는 정상군이  $60.0 \pm 12.0$  pmole MDA/mg protein, 대조군이  $160.0 \pm 20.3$  pmole MDA/mg protein, 실험군이  $82.4 \pm 16.5$  pmole MDA/mg protein로 대조군에 비하여 유의하게 억제되었다 (Fig. 10).

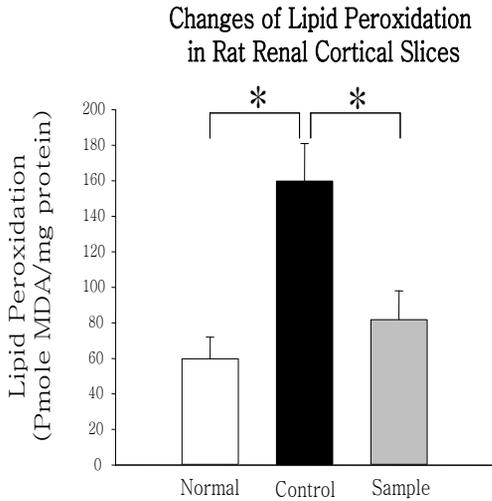


Fig. 10. Effect of PJS treatment on changes in renal cortical lipid peroxidation in glycerol-induced acute renal failure. Data are mean±SE of five experiments. Normal, normal group; Control, glycerol treated group; Sample, glycerol and PJS treated group. \*,  $p < 0.05$ .

10. 신장 사구체 조직 소견의 변화

대조군 사구체의 모세혈관 멍치는 정상군에 비하여 응축되어 있었으며 사구체낭의 벽쪽층과 내장쪽층이 매우 확장되어 있었다. 근위곱슬세관의 일부는 에오신에 특이적으로 과염되어 있었으며, 원위곱슬세관의 내강은 정상군 (Fig. 11-A)에 비하여 다소 팽창되어 있었다 (Fig. 11-B). 실험군의 사구체는 정상군에 가까운 정도로 병리적 소견이 미약하게 나타났는데 근위곱슬세관과 원위곱슬세관 모두 정상에 가까운 소견을 보여주었다 (Fig. 11-C).

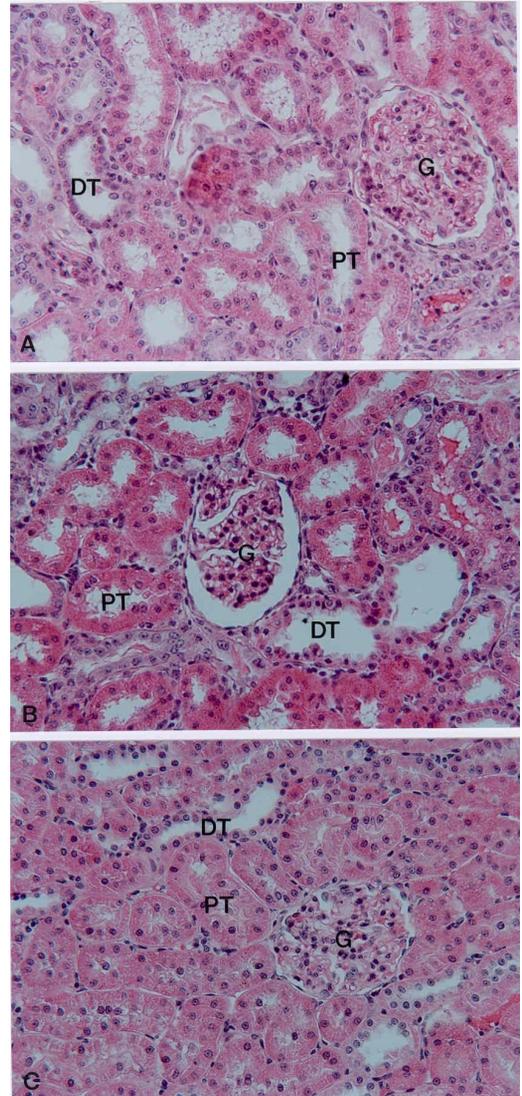


Fig. 11. Light micrographs of normal(A), control(B), and experimental group(C). DT, distal convoluted tubule; G, glomerulus; PT, proximal convoluted tubule. Hematoxylin-eosin stain,  $\times 200$ .

IV. 고찰

八正散은 膀胱濕熱을 清熱利水시키는 대표적인 처방으로 太平惠民和制局方에 최초로 수록<sup>22)</sup>되었고 그 후 많은 醫家들이 활용하였다. 八正散

과 관련하여 曹 등<sup>23)</sup>이 加味八正散 및 金木八正散이 근위세뇨관 손상에 유효함을 실험한 바 있고, 康<sup>6)</sup>은 濕熱下注하여 膀胱에 蓄熱하므로써 小便不通하고 小腹急滿한 證을 治하는 方劑라 하는 등 腎기능의 손상에 多用되어 지는 처방으로 알려져 있다.

동양에서 腎이란 장기의 하나로 臟腑陰陽의 본이며 生命의 근본이 된다고 여겨 “先天之本”이 된다고 생각 하였고<sup>24)</sup>, 서양의학에서 신장(kidney)은 체내의 노폐물 제거, 체내의 수분 및 전해질량과 삼투질 농도를 조절하며 생체의 항상성을 유지하는 기관으로써 동서양을 막론하고 腎이란 인체 생명활동에 중요한 장기로 인식되어 지고 있다.

일반적으로 급성신부전은 신장의 급성 기능장애에 의해 혈액요소질소(blood urea nitrogen, BUN)또는 크레아티닌(creatinine)과 같은 노폐물의 체내 축적이 일어나는 것을 의미하며, 임상적으로 흔히 관찰되는 질환 중 하나로 내원한 환자의 4-5% 정도에서 급성신부전으로 진행되는 것으로 알려져 있다<sup>25)</sup>.

韓醫學에서 급성신부전은 小便不通·關格·水腫의 범주에 속한다고 볼 수 있으며<sup>2)</sup> 膀胱濕熱·腎元虧虛·肺失肅降·肝失疏泄·脾氣不升·癆濁內停 등의 원인으로 三焦의 氣化 기능이 영향을 받아 발생하며 각 病因病機에 따라 清利濕熱·滋補腎陰·清肺熱·疎利氣機·升清降濁 등의 治法을 사용한다<sup>3)</sup>. 본 실험에서 사용된 藥鍼治療는 침자극과 약물의 주입을 結合시킨 治療法으로써 한국에서는 70年代에 들어서 藥鍼治療에 대한 논문이 발표되기 시작하여, 현재는 다양한 임상 및 실험논문이 報告되고 있다<sup>26)</sup>. 또한, 腎俞(BL23)<sup>27)</sup>는 足太陽膀胱經의 경혈로 腎의 背俞穴으로써 제2요추 아래 양쪽으로 각 1촌 5푼에 위치하며 滋補腎陰·祛水濕·強腰脊·益聰明目 등의 효능이 있으며, 이러한 효능으로 인해 腎臟炎·腎虛腰痛·小便濁·水腫 등의 병증에 많이 응용되고, 腎氣의 轉輸之處로서 신장의 기능과 밀접한 연관성을 가진다. 또한 천추(ST25)는 足陽明胃經의 經穴로 大腸의 腹募穴이며 挾臍 兩傍 2寸에 위치하고 疎調

腸腑·理氣消滯 하는 효능이 있어서 嘔吐·下痢·腹痛·便秘 등의 소화기계 질환 및 淋濁·不妊·帶下 등의 비뇨생식기계 질환에 응용되는 경혈이다<sup>28)</sup>.

본 연구에서는 글리세롤을 사용하여 급성신부전을 유발한 흰쥐를 대상으로 하였으며, 글리세롤에 의한 급성 신부전은 신장 동맥의 강력한 수축으로 인한 신동맥혈류의 감소가 그 원인으로 인정되고 있으므로 결과적으로 허혈성 신부전과 그 기전이 유사할 것으로 생각된다<sup>20-30)</sup>. Glycerol은 쥐를 대상으로 한 급성신부전유도에 많이 사용되는데, 급성신부전이 유도되면 신장내 ATP 수치가 감소되며<sup>31)</sup>, 급성의 경우에는 6시간 이내에 급성신부전이 유도 되고, 신장혈류흐름(renal blood flow)과 사구체 nitric oxide 수치가 감소한다. 그리고 hemoglobin과 myoglobin에서 철이 방출되어 혈액 내 heme기 농도가 증가하고, hemoglobin과 myoglobin이 hydroxyl 라디칼 형성을 촉진하는 fenton reagent으로 작용함으로써 프리라디칼, 지질과 산화물 등의 생산이 촉진 된다<sup>32)</sup>. 또한, 막 투과성이 감소하고, P-glycoprotein 수치와 BUN, glutamic puruvic transminase 수치가 증가한다<sup>33)</sup>.

BUN은 단백질분해 대사산물인 요소질소(urea nitrogen)의 혈중 함량을 나타내는 혈액생화학적 지표로, 혈중 BUN상승은 일반적으로 신장질환의 존재를 의미한다<sup>34)</sup>. 또한, creatinine은 비단백질 유래의 근육 대사에 의해 형성되는 질소산물(nitrogenous product)로, BUN 및 creatinine 함량의 증가는 사구체 여과율의 감소를 의미<sup>35)</sup>하므로 이들 혈중 BUN 및 creatinine 함량의 변화는 급성신부전을 판단하는 기본적인 지표로 이용되어 왔다.

위와 같은 작용을 하는 글리세롤을 이용하여 허혈성 신부전을 유발한 흰쥐에게 清熱利水の 효능을 가지고 있는 八正散을 腎 기능의 증대를 목적으로 腎俞(BL23)와 天樞(ST25)에 藥鍼治療를 시행하여 八正散이 급성신부전에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

먼저 급성신부전을 판단하는 기본적인 지표인

혈중 BUN 및 creatinine 함량의 변화를 살펴본 결과 신부전이 유발된 대조군에서 상승되었던 혈청 크레아티닌 및 BUN 수치가 실험군에서 유의하게 감소함을 볼 수 있었다 (Fig. 1, 2). 세뇨관 재흡수 장애에 의한 뇨중 글루코스 함량의 증가 역시 실험군이 대조군에 비해 유의하게 감소되었으며 (Fig. 3), 24시간 동안 배설된 알부민의 양은 실험군의 경우 대조군에 비해 유의하지는 않았지만 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 4).

신장 기능의 가장 대표적인 지표 중 하나인 사구체 여과율 역시 대조군에 비해 실험군에서 유의하게 증가하였으며 (Fig. 5), 전해질의 배설 분율도 유의하게 감소시켰다 (Fig. 6, 7).

우리 몸의 세포 속에는 GSH와 같은 항산화제 역할을 하는 물질을 가지고 있어 세포의 정상적인 대사과정 중에 발생하는 반응성 산소기들은 이들 효소나 물질들에 의해 제거되고 있다. 그러나 그 발생하는 양이 많거나 항산화제 역할을 하는 이들의 체내 농도가 감소하게 되면 세포는 손상을 받아서 여러 가지 질병을 유발시키는 원인이 된다<sup>36-37)</sup>. 본 실험에서는 신장 피질 내 GSH 함량이 실험군에서 유의하지는 않았지만 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였다 (Fig. 8).

신장 피질 조직 내 microsome에서 Na-K-ATPase 활성도 측정하였는데, Na-K-ATPase 활성이 저해되면 결과적으로 신장이 제 기능을 발휘할 수 없는데, 글리세롤 주입으로 인한 Na-K-ATPase 활성 감소가 八正散 藥鍼 시술로 인해 유의하게 증가 되었으며 (Fig. 9) 이는 八正散 藥鍼이 신장 손상을 억제하는 과정에 Na-K-ATPase 활성이 관여함을 보여준 것이다.

위와 같은 실험 결과는 흰쥐 신장 피질에서의 과산화지질 함량 평가를 통해 재확인되었는데 지질의 과산화는 산화에 의한 세포 손상을 나타내는 표현의 하나로 널리 알려져 있으며<sup>38)</sup> 본 연구 결과 八正散 藥鍼으로 인해 대조군에서 급격히 진행된 지질 과산화가 실험군에서는 유의하게 손상이 억제됨을 볼 수 있었다 (Fig. 10). 또한 신장 사구체 조직조건에서 대조군에서 사구체의 모

세혈관 뭉치가 정상군에 비하여 응축되어 있는 등 병리적 소견이 관찰된데 비해 실험군의 사구체는 정상군에서와 유사한 정도로 정상적인 소견을 보여주었다 (Fig. 11-A, B, C).

이상의 결과를 종합하면 글리세롤을 주입하여 만성신부전을 유발한 대조군에 八正散 藥鍼을 腎俞 (BL23)과 天樞 (ST25)혈에 주입하였을 때 유의성있게 급성 신부전을 방지 할 수 있음을 관찰 할 수 있었다. 따라서 八正散 藥鍼이 허혈성 급성신부전의 치료나 예방에 이용될 수 있을 것으로 보여지며 향후 八正散 藥鍼이 급성신부전에 작용하는 효과에 대한 정확한 기전 연구가 필요하리라 생각된다.

## V. 결론

글리세롤로 유발된 흰쥐의 급성 신부전에 대한 八正散 藥鍼의 억제 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈청 크레아티닌 함량은 실험군이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다.
2. 혈청 BUN 함량은 실험군이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다.
3. 뇨중 글루코스 함량은 실험군이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다.
4. 사구체 여과율은 실험군이 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.
5. Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> 배설분율은 실험군이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다..
6. 신장 피질 조직 내 microsome에서 Na-K-ATPase 활성은 실험군이 대조군에 비해 유의하게 증가하였다.
7. 신장 사구체 조직은 실험군이 대조군에 비해 정상군에서와 유사한 정도로 정상적인 소견을 보여주었다.

이상의 결과를 종합하면 八正散 藥鍼이 글리세롤로 유발된 흰쥐의 급성 신부전에 매우 양호한 효과를 보이는 것으로 판단된다.

## 참고문헌

- Braunwald E, Fauci A, Kasper D, Hase S, Longo D, Jameson J. Harrison's principles of internal medicine. 서울, MIP, pp.1794-803, 2006.
- 杜鎬京. 臨床腎系學研究. 서울. 정보사. 1995;293-297.
- 方藥中, 鄧鐵濤, 李克光, 陳可翼, 金壽山, 黃星垣, 董建華 編著. 實用中醫內科學. 上海, 上海科學技術出版社, pp.287, 289, 1986.
- 이상인, 김동걸, 김영중, 노승현, 주영승, 김영관. 編譯方劑學. 서울. 永林社. 1994;283-284.
- 許浚 編著. 東醫寶鑑 內景篇 外形篇. 서울. 大星文化社. 1992;20.
- 康舜洙, 李相仁. 방제학. 서울. 癸丑文化社. 1971;178-179.
- 이민수, 이승희, 송미덕. 八正散으로 방광염을 치료한 2례. 한방성인병학회지. 2000;6(1):102-105.
- 노기환, 문상관. 뇌졸중환자의 요로감염 합병증에 대한 金木八正散의 임상효과. 한방성인병학회지. 1999;5(1):286-295.
- 현민경, 신원용, 최은영, 현진오, 윤철호, 임성우 등. 난치성 애역환자를 팔정산으로 치료한 1례. 한방내과학회지. 2005;26(2):506-511.
- 朴世貞, 張慶田, 宋春浩, 安昌範. 단삼약침이 Rhabdomyolysis에 의한 급성신부전에 미치는 영향. 한국침구학회지. 1999;16(2):233-248.
- 趙時庸, 宋春浩. 차전자 약침이 글리세롤로 유발된 급성신부전 백서에 미치는 영향. 대한약침학회지. 2000;3(2):41-54.
- 윤경민, 강석봉. 消腫調脾順氣湯이 Cisplatin으로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2011;32(2):248-287.
- 이연경, 윤경민, 장수영, 강석봉. 大分清飲이 Cisplatin으로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2009;30(4):821-831.
- 이형선, 김일환, 김효수. 荊防地黃湯과 十二味寬中湯이 Glycerol로 유발된 흰쥐의 급성신부전에 미치는 영향. 사상체질의학회지. 2003;17(2):103-112.
- 徐正浩, 張慶田, 宋春浩, 安昌範 胡桃水鍼이 毒性物質에 의해 誘發된 家兔의 急性腎不全에 미치는 影響. 대한침구학회지. 1999;16(1):473-484.
- Uchiyama M, Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. Anal Biochem. 1987;86(5):271-278.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dry binding. Anal Biochem. 1976;72(3):248-524.
- Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. Methods Enzymol. 1985;113(5):548-554.
- Kim YK, Byun HS, Kim YH, WOO JS, Lee SH. Effect of cisplatin on renal function in rabbits. Mechanism of reduced glucose reabsorption. Toxicol Appl Pharmacol. 1995;130(8):19-26.
- Fiske CH and Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. J Biol Chem. 1925;66(2):375-400.
- 전국임상병리교수협의회. 조직학. 서울. 고려의학. 1997;32-35.
- 陳承. 太平惠民和制局方(卷之五). 臺北. 旋風出版社. 1992;89.
- 조동현, 강석봉, 두호경. 加味八正散 및 金木八正散이 Gentamycin Sulfate로 유발된 白鼠腎損傷에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1990;13:1-25.

24. 나창수, 맹웅재, 채우석. 한의학 기초이론. 서울. 의성당. 2000;141.
25. Anderson RJ. Revention and management of acute renal failure. *Hosp Prac.* 1993;28(2):61-75.
26. 전국한외과대학 침구경혈학교실. 침구학. 서울. 집문당. 1994;89-490.
27. 전국한외과대학 침구경혈학 교실 편저. 鍼灸學. 서울. 집문당. 1988;489, 1457.
28. 안영기 編著. 經穴學叢書. 서울, 정보사, pp.176-7, 1991.
29. Lochhead KM, Kharasch ED, Zager RA. Anesthetic effects on the glycerol model of rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9(2):305-309.
30. Roberts PR, Black KW, Zaloga GP. Eternal feeding improves outcome and protects against glycerol-induced acute renal failure in the rat. *Am J Respair Crit Care Mea.* 1997;156(4):1265-1269.
31. Anna LT, Myong WK, Benjamin FT. Metabolic studies of glycerol-induced acute renal failure in the rat. *Experimental and Molecular Pathology.* 1981;35(1):1-13.
32. Reineck JH, O'Connor GJ, Lifschitz MD, Stein JH. Sequential studies on the patho- physiology of glycerolinduced acute renal failure. *J Lab Clin Med.* 1980;96(4):357-362.
33. Zhao HH, Teruo M, Atsuko O, Ryoko Y, Junya N, Mikihisu T. Expression and function of P-glycoprotein in rats with glycerol-induced acute renal failure. *European J Pharmacology.* 2000;406(8):453-460.
34. Shirwaikar A, Malini S, Kumari SC. Protective effect of *Pongamia oinnata* flowers againgt cisplatin and gentamicininduced nephrotoxicity in rats. *Indian J Exp Biol.* 2003;41(4):58-62.
35. Sodikoff CH. Laboratoty profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis (2nd ed). 1995 ;1-34.
36. Reiter RJ. Oxidative process and antioxidative defense mechanisms in the aging brain. *FASEB J.* 1995; 9(5):526-533.
37. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE. Free radicals, antioxidants, and human disease. Where are we now? *J Lab Clin Med.* 1992;119(3):598-620.
38. Farber JL, Kyle ME, Coleman JB. Biology of disease. Mechanism of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest.* 1990;62(6):6