

SSP 주파수 진폭변조가 Vasoactive Intestinal Peptide와 β -endorphin, cGMP에 미치는 영향

대원과학대학 물리치료과, 경기대학교 물리학과, 인하대병원 물리치료실
최영덕, 심규리, 장문경

Effects of frequency – amplitude electrical stimulation on sympathetic neurotransmitter and vasoactive intestinal peptide

Choi, Youngduk, Shim, Kyu-Rhee, Chang, Moon-kyung,

Dept. of Physical Therapy, Daewon Science College

Dept. of Physics, Kyonggi University

Dept. of Physical Therapy, In-Ha Hospital University

-ABSTRACT-

Vasoactive intestinal peptide (VIP) is a very potent dilatator and a nonadrenergic, noncholinergic (NANC) neurotransmitter or neuromodulator in the peripheral and the central nervous systems. The mechanisms of action of VIP were examined in aortic circular and in

uterine longitudinal smooth muscle strips of the rat. The effects of sympathetic neurotransmitter were investigated in gastric and aortic circular muscle strips of the mouse and the rat. The effects of silver spike point, SSP, low frequency electrical stimulations of VIP, sympathetic neurotransmitter and β -endorphin were examined in plasma, serum and 24h urine from the healthy volunteer. In gastric smooth muscle strips from the mouse, adrenergic neurotransmitter norepinephrine was inhibitory effected, followed by caused phasic and tonic contraction to the, muscrine receptor agonist carbachol and acetylcholine, respectively. In urine from the healthy volunteer, both norepinephrine and epinephrine were significantly decreased in continue type and low frequency (3 Hz) of SSP electrical stimulations. The contractile responses to 5-HT in uterine longitudinal smooth muscle strips of the rats were completely decreased by a VIP 1 μ M. The contractile responses to PGF 2α were not decreased by a VIP. In plasma and serum from the healthy volunteer, both VIP and β -endorphin were significantly increased in continue type and low frequency (3 Hz) of SSP electrical stimulations. Therefore, this study demonstrate that VIP has the capacity to relax vascular or gastric smooth muscles in part by stimulating the generation of NO, and silver spike point low frequency electrical stimulation has the capacity both to decrease sympathetic neurotransmitters and to increase VIP, β

-endorphin.

Key word: SSP, VIP, NO, β -endorphin, sympathetic neurotransmitter

I. 서 론

유해자극에 대해 인체에서는 통증과 함께 교감신경의 흥분이 유발된다. 이러한 통증을 억제시키기 위한 방법으로 경피신경 전기자극(transcutaneous electrical nerve stimulation, TENS)이나 맛사지, 침, 도수교정, 온열자극 혹은 저주파 전침요법(electroacupuncture) 등의 연구가 상당수 이루어지고 있다. 특히 침 자극이나 일반 저주파, 능동운동으로 VIP의 생성이 증가한다는 보고와 혈관활성장관펩타이드(Vasoactive intestinal peptide, 이하 VIP라 칭함)가 강력한 혈관확장 물질로서 작용하여 통증을 감소시킨다는 보고가 있다.

VIP는 Said 와 Mutt가 1970년에 돼지의 십이지장에서 처음으로 분리해 낸 펩타이드이다. VIP라는 이름은 위 장관 근육축의 이완효과가 장시간 지속되는 것으로부터 유래되었다. VIP는 28 아미노산 잔기로 구성된 분자량 3326의 polypeptide로서 구조가 pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP)와 매우 유사한 형태를 띠고 있다(Klimaschewsk 1997). VIP는 위장관벽에 존재하는 신경, 말초신경, 중추신경의 축삭이나 세포체에서 발견되었으며, 기능은 non-adrenergic

non-cholinergic (NANC) neuropeptide neuro- transmitter 혹은 신경조절 인자 (neuromodulator)로서 역할을 담당한다. 이것은 Immunofluorescent 와 radioimmunoassay를 통해 세포체 (soma) 와 수상돌기 (dendrite)에 존재하면서 시냅스전 신경말단 (presynaptic nerve terminal)에서 유리되는 것을 확인하였다 (Goyal 등 1980, Fahrenkrug 1989). 세포체로 부터 생성된 VIP가 신경말단까지 이동 (transport)하는데 걸리는 시간은 약 9 mm/h 라고 한다 (Lundberg 등 1981). VIP의 혈 중 반감기는 1분 정도이며, 혈 중 농도는 약 2×10^{-12} M이 존재하다가 위 장관 자극을 받을 경우 4.5×10^{-12} M로 증가한다 (Domschke 등 1978). 이처럼 극히 미량으로 존재하면서 반감기가 짧으나, 매우 높은 활성도와 여러 단계의 신호체계를 거치면서 신호가 증폭되는 이유로 장시간 이완효과가 지속될 수 있다.

한편, VIP의 수용체는 심장과 혈관 그 외 여러 조직에 존재하는 것으로 밝혀졌으며, 분자량 43,000 - 8,000 dalton으로 VPAC1 과 VPAC2의 subtype이 랫드와 인간의 조직으로부터 클로닝 되었다 (Adamou 등 1995, Huang과, Sreedharan 등 1993). VIP 수용체는 전형적인 nucleotide binding protein (G protein) - coupled receptor family의 하나이다 (Ulrich 등 1998). VIP로 인한 혈관확장 효과에는 두 가지 견해가 대립되고 있다. 즉 VIP의 혈관확장 효과가 내피세포 - 의존적으로 일어난다는 주장으로, 여기에는 guanylate cyclase (GC)와 cyclic guanosine monophosphate (cGMP)와 cyclic adenosine monophosphate (cAMP), nitric oxide (NO)가 관여한다는 내용 (Ignarro 등 1987, Jovanovic 등 1998, Pelligrino 등 1998)과 내피세포에 비의존적으로 나타난다는 주장이

그것이다 (Amenta 등 1988, Beny 등 1986, Duckles 등 1982, Varga 등 1986). 그러나 VIP의 혈관확장 효과에 대한 정확한 기전은 밝혀져 있지 않다. 또 다른 주장으로 VIP의 혈관확장효과는 혈관 평활근 세포막의 과분극 (hyperpolarization)으로 인하여 세포외 칼슘 유입의 저하 결국 세포내 칼슘농도의 저하로 혈관확장이 일어난다는 보고도 있다 (Nakashima 등 1997, Standen 등 1989).

경혈점 자극을 이용한 전기자극법인 저주파 은-침점 전기자극 (silver spike point, SSP, electrical stimulation)으로 인한 VIP의 변화에 대한 연구는 많이 이루어져 있지 않다. 더욱이 주파수와 진폭변조 유무에 대한 실험결과는 거의 전무한 상태에 있다. 따라서 본 연구의 목적은 은-침점 저주파 전기자극에 따른 VIP와 β -endorphin 등이 어떤 양상을 나타내는지를 살펴보고자 한다.

II. 실험 방법

1. 실험 대상

본 실험은 나이 20~27세, 체중 53.66 ± 6.24 kg, 키 161.70 ± 4.07 cm (Mean \pm S.D.)인 건강에 이상이 없는 여성 10 명을 무작위로 선발하여 본 실험에 임하였다. 실험에 들어가기에 앞서 생리기간에 해당되는 피 실험자는 실험에서 제외시켰다. 실험에 대한 내용은 피 실험자에게 언급하지 않은 상태에서 실시하였다. 실험실 환경은 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 온도를 유지하였다. 생체기전의 오차를 줄이고자 24 시간동안 통제하에 제한 식이, 동일한

숙식 과 생활환경을 제공하였다.

2. 실험 계획

본 실험은 은-침점 전기자극 (Silver Spike Point, SSP, electrical stimulation)을 가하지 않은 대조군 (control group, Cont.) 과 전기자극을 적용한 실험군으로 나누었다. 실험군은 다시 일정한 파형의 전기자극 (Continue type, Con) 과 진폭변조 전기자극 (amplitude modulation type, AM), 주파수변조 전기자극 (frequency modulation type, FM)의 3 군으로 나누어 실시하였다. 각 군에 해당하는 10 명의 지원자는 동일인이며, 계획된 실험은 6 일 간격으로 실시하였다. 실험시간은 09-12 시와 13-18 시로 나누어 2 회 실시하였다. 모든 실험조작은 피 실험자를 바로 누운 자세 (supine position)에서 실시하였으며 실험에 들어가기에 앞서 30 - 60분 정도 안정을 취하도록 하였다.

3. 은-침점 저주파 전기 자극

(Silver Spike Point, SSP, electrical stimulation)

본 실험에서는 은-침점 저주파 전기자극으로 Dynaroshiftor DS-3004 (Asahi Denshi Co., Japan)를 사용하였다. 전기자극의 각 도자는 경혈점인 중극 (中極), 관원 (關元), 대혈 (大赫), 삼음교 (三陰交), 태충 (太衝), 지실 (志室), 대장유 (大腸俞), 방광유 (膀胱俞), 차료 (次膠)에 적용하였다 (경혈집성,1995, 침구대성, 1984). 각각의 전기자극은 위상기간 (phase duration); 190 μ sec, 전극흡입력 (vacuum); 3, 전기자극 시간; 15

분의 동일한 조건으로 실시하였다.

본 실험에 적용한 전류의 파형과 주파수를 유형별로 설명하면 다음과 같다. 1) 일정한 파형의 전기자극 (Continue type) 군으로 진폭에는 변화가 없으면서 쌍방향성 대칭파가 3 Hz로 일정하게 통전되는 형태이며, 2) 진폭변조 (amplitude modulation type) 군은 주파의 진폭이 1-10초 사이에 점진적으로 증가하는 형태 (ramping)를 이루는 T1 통전과 전류가 흐르지 않는 휴지기 (1-10초)가 반복되는 형태이다. 3) 주파수변조 (frequency modulation type) 군은 주파의 진폭에는 변화가 없으면서 주파수의 변화가 30Hz-3Hz-30Hz로 반복 통전되는 형태이다. 또 다른 실험 계획 군으로 진폭에는 변화가 없으면서 쌍방향성 대칭파의 전류를 저빈도 (3 Hz) 주파수와 고빈도 (100 Hz) 주파수로 나누어 적용하였다.

그리고 실험에 이용한 모든 전기자극은 피 실험자의 적용부위에 가시 수축이 일어나지 않는 범위와 참을 수 있는 정도의 따끔거리는 지점까지 전류강도를 높여 본 실험을 실시하였다 (10-25 mA).

4. 혈액 채취와 분석

혈액채취는 전기자극을 적용한 양와위 자세를 유지하여 주와정맥에서 약 8 mL 의 혈액을 취하였다. 특히 VIP의 혈장에서의 반감기를 고려하여 전기자극 후 1분 이내에 혈액을 채취하였다 (Domschke 등 1978). 취한 혈액의 약 3 mL은 VIP 전용 튜브에 넣어 냉장보관 하였다. 동시에 약 4 mL의 혈액은 유리튜브에 넣어 실온에서 30-60분 방치한 후 원심분리기를 사용하여 10분간 3000 rpm으로 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 혈

청분리관으로 옮겨 측정 시까지 냉동보관 하였다. VIP, cGMP, β -endorphin은 radioimmunoassay kit (Bio Rad, USA)를 이용하여 측정하였다.

5. 사용 시약

본 실험에 사용된 시약은 다음과 같다. Vasoactive intestinal peptide와 β -endorphine는 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다. 8-Bromoguanosine cyclic 3',5'-monophosphate sodium salt (8-bromo cGMP)는 Tocris Co. (United Kingdom)에서 구입하였다.

6. 통계학 분석

본 연구의 통계학적 유의성은 Statistica를 이용한 ANOVA test와 각 군 사이에는 student's t test로 분석하였다 ($P < 0.05$).

III. 실험 결과

1. 은-침점 저주파 전기자극에 대한 VIP 와 β -endorphin, cGMP의 변화

(1) Vasoactive intestinal peptide (VIP)

은-침점 저주파 전기자극에 대한 교감신경 전달물질 변화의 실험 결과(대한물리치료사학회지 제7권 제2호: 인체에 적용한 주파수 진폭 변

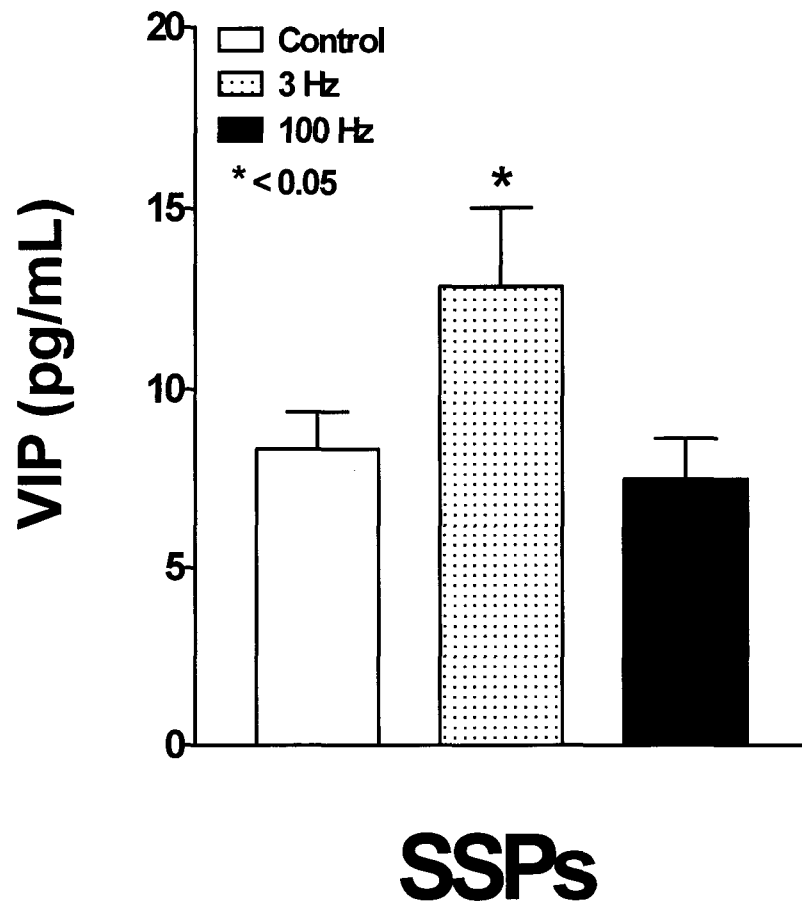
조 은침점 전기자극이 Epinephrine과 Norepinephrine에 미치는 효과)를 바탕으로 VIP, β -Endorphin, cGMP의 측정은 continue type의 전류를 선택하여 고빈도, 저빈도 주파수 변화에 따른 실험을 실시하였다. 그 결과 VIP는 대조군 (Control, 8.33 ± 2.58 pg/mL)에 비하여 3 Hz의 저빈도 전기 자극 (12.83 ± 5.35 pg/mL)에서 유의한 증가를 보였다. 그러나 100 Hz의 고빈도 전기자극 (7.50 ± 2.81 pg/mL)에서는 대조군에 비해 별다른 변화를 나타내지 않았다 (그림 1).

(2) β -Endorphin

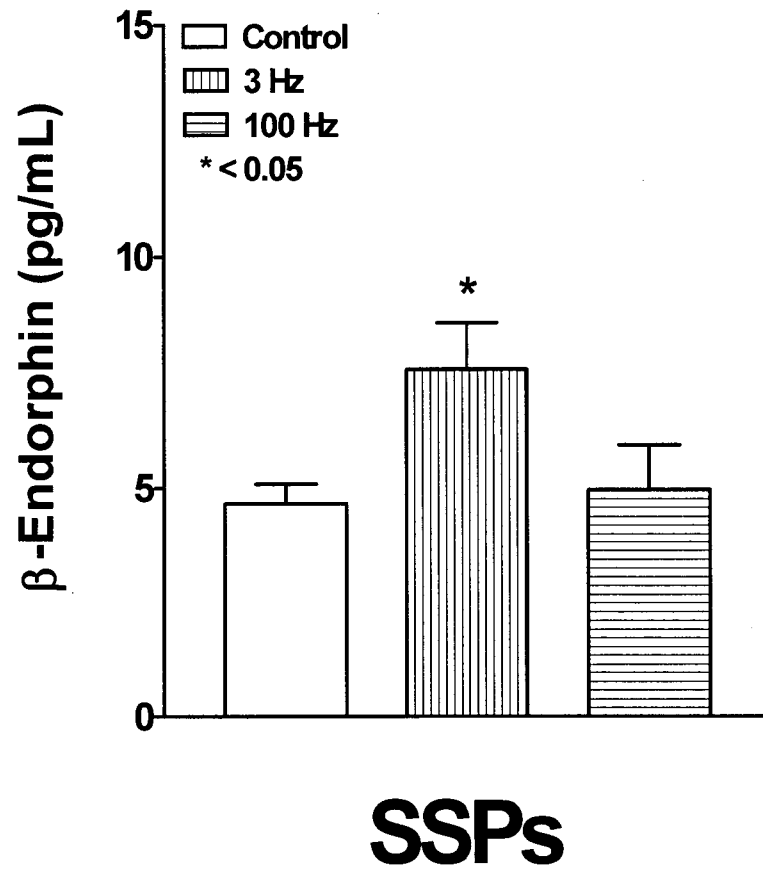
실험 결과 β -Endorphin은 대조군 (Control, 4.67 ± 0.93 pg/mL)에 비하여 3 Hz의 저빈도 전기자극 (7.57 ± 2.22 pg/mL)에서 유의한 증가를 보였다. 그러나 100 Hz의 고빈도 전기자극 (4.96 ± 2.18 pg/mL)에서는 대조군에 비해 별다른 변화를 나타내지 않았다 (그림 2).

(3) Cyclic guanosine monophosphate (cGMP)

실험 결과 cGMP는 대조군 (Control, 0.65 ± 0.18 pg/mL)에 비하여 3 Hz의 저빈도 전기자극 (0.67 ± 0.19 pg/mL) 과 100 Hz의 고빈도 전기자극 (0.68 ± 0.27 pg/mL)에서 유의한 차이를 나타내지 않았다 (그림 3).

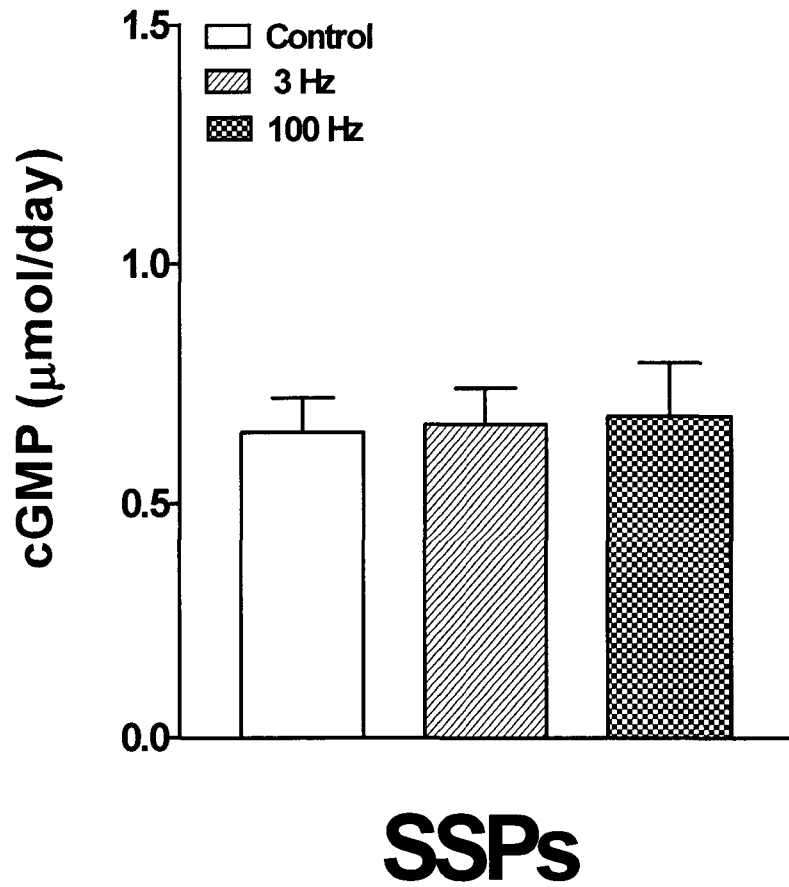


(그림 1) 주파수 변화 은-침점 저주파 전기자극에 대한 VIP의 변화
 SSPs stimulation; silver spike point stimulation, *, $P < 0.05$



(그림 2) 주파수 변화 은-침점 저주파 전기자극에 대한
 β -endorphin의 변화

SSPs stimulation; silver spike point stimulation, *; $P < 0.05$



(그림 3) 주파수 변화 은-침점 저주파 전기자극에 대한 cGMP의 변화
cGMP; cyclic guanosine monophosphate, SSPs stimulation; silver
spike point stimulation, *, $P < 0.05$

IV. 고 찰

유해성 자극에 대한 인체의 인지, 보호반응으로 동통이 대표적인 반응 중에 하나이다. 혈관을 비롯한 위 장관 조직 등에 작용하여 강력한 이완효과를 나타내는 혈관활성장관펩타이드 (VIP)가 허혈성 질환으로 인한 동통 감소 (Bojo 등 1993)나 허혈성 심근질환의 개선 (Henning 과 Sawmiller 2001, Lucia 등 1995), 내인성물핀 연관성 진통효과 (Macasai 등 1998) 등에 기여한다는 보고가 있다. 또한 배근신경절에서 감각신경 전달의 조절에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Dickinson 과 Fleetwood-Walker 1999, Hadjipavlou 등 1998).

그러나 여러 가지의 치료방법에 대한 VIP 와 β -endorphin 효과의 정도에는 차이가 있다. Kaada 와 Torsteinbø는 12명의 환자를 대상으로 실시한 결합조직 마사지 (connective tissue massage) 와 핫팩 (heat pack) 적용의 결과 plasma VIP는 아무런 변화가 없었다고 하였으나, Woie 등은 7명의 지원자를 대상으로 실시한 26분간의 능동운동 (heavy ergometer cycling)으로 plasma VIP가 대조군에 비해 70% 증가했다고 하였으며, Kaada 등은 11명의 지원자를 대상으로 실시한 경피신경자극 (transcutaneous nerve stimulation, TNS) 2 Hz, 45분을 실시한 결과 plasma VIP가 대조군에 비해 30-35% 증가하였다고 보고 하였다. 또한 Furgala 등은 경피신경전기자극 (transcutaneous electrical nerve stimulation, TENS)이 통증을 경감의 치료목적으로 사용되는데 여기에는 VIP의 유리를 전제하에 정상인을 대상으로 6 Hz의 저빈도로 자극했을 때

위 장관 근전류 활성 (gastric myoelectric activity)도가 변화했다고 하였다 (Furgala 등 2001). Petti 등은 여러 가지 동통성 질환으로 고생하고 있는 환자 90명을 대상으로 족삼리 (ST 36)와 합곡 (LI 4)에 자침한 결과 β -endorphin, VIP, CD3, CD4, CD8의 수준이 증가했다고 하였다 (Petti 등 1998). Day 등은 정상인 21명을 대상으로 요배부에 실시한 마사지 (complete back massage)의 결과 serum β -endorphin 과 β -lipotrophin 의 증감의 효과가 나타나지 않았다고 보고하였다 (Day 등 1987). 반면에 Kaada 와 Torsteinbø는 12명의 지원자를 대상으로 실시한 30분간의 요배부 결합조직마사지 (connective massage)의 결과 plasma β -endorphin의 수준이 대조군에 비해 16% 증가했다고 보고하였다 (Kaada 와 Torsteinbø 1989). 이러한 보고들과 비교해 볼 때 본인이 시행한 In Vitro 실험의 결과 VIP의 혈관을 비롯한 위 장관 평활근의 이완효과에 NO 경로가 관여함을 확증할 수 있었으며, 일정한 파형과 저빈도 (3 Hz) 주파수의 은-침점 저주파 전기자극이 VIP 와 β -endorphin을 유의한 차이로 증가시키는 것을 관찰하였다. 따라서 은-침점 저주파 전기자극 특히, 일정한 파형과 함께 3 Hz 내외의 저빈도 주파수의 자극이 교감신경 의존성 동통이나 고혈압, 정신적 스트레스로 인한 위장관계 질환, 생리주기와 관련된 동통과 정신적 긴장, 허혈성 동통 등에 매우 효과적일 것으로 사료된다. 하지만 은-침점 전기자극 외에도 다른 치료적 접근이 VIP에 어떠한 영향을 미칠 수 있는 가능성과 VIP의 작용기전에 대한 보다 심도 깊고 체계적인 연구가 더욱 필요하다고 본다.

V. 결 론

주파수-진폭 변조 유무의 저주파 은-침점 전기자극을 통한 인체의 혈관활성장관펩타이드 (vasoactive intestinal peptide, VIP), β -endorphin 효과에 대한 실험결과 다음과 같은 내용을 알 수 있었다.

1. 은-침점 전기자극 (Silver Spike Point, SSP, electrical stimulation) 을 가하지 않은 대조군 (control group, Cont.)에 비하여 일정한 파형의 전기자극군 (Continue type, Con)과 주파수변조 전기자극군 (frequency modulation type, FM), 진폭변조 전기자극군 (amplitude modulation type, AM) 순으로 VIP와 β -endorphin이 많이 생성되었다.

2. 은-침점 전기자극 (Silver Spike Point, SSP, electrical stimulation) 을 가하지 않은 대조군 (control group, Cont.)과 3Hz 주파수를 인체에 적용한 군과 100Hz를 적용한 군에서는 3Hz에서 VIP와 β -endorphin이 가장 많이 생성된다는 것을 알 수 있었고, 100Hz와 control 군에서는 별 차이가 없었다.

3. 실험 결과 cGMP는 대조군에 비하여 3Hz의 저빈도 전기자극과 100Hz의 고빈도 전기자극에서 유의한 차이를 나타내지 않았다.

이상의 연구결과에 의하여 은-침점 전기자극을 continue type과 3Hz의 주파수를 인체에 적용하였을 때 VIP와 β -endorphin이 가장 많이 생성된다는 것을 알 수 있었다. 은-침점 전기자극은 교감신경 의존성 동통이나 고혈압, 정신적 스트레스로 인한 위장관계 질환, 생리주기와 관련된 동통과 정신적 긴장, 허혈성 동통 등에 매우 효과적일 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Klimaschewski, L.: VIP - a 'very important peptide' in the sympathetic nervous system?, *Anat. Embryol.* 196, 269-77, 1997.
2. Goyal, R.K., Rattan, S. and Said, S.I.: VIP as a possible neurotransmitter of non-cholinergic non-adrenergic inhibitory neurones, *Nature* ,288(5789), 378-80, 1980.
3. Fahrenkrug, J.: VIP and autonomic neurotransmission, *Pharmacol. Ther.* 41(3), 515-34, 1989.
4. Lundberg, J.M., Fahrenkrug, J., Brimijoin, S.: Characteristics of the axonal transport of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in nerves of the cat, *Acta. Physiol. Scand.* 112, 427-36, 1981.
5. Domschke, S., Domschke, W., Bloom, S.R., Mitznegg, P., Mitchell, S.J., Lux, G., Strunz, U.: Vasoactive intestinal peptide in man: pharmacokinetics, metabolic and circulatory effects, *Gut* 19(11), 1049-53, 1978.
6. Adamou, J.E., Aiyar, N., Van Horn, S., Elshourbagy, N.A.: Cloning and functional characterization of the human vasoactive intestinal peptide (VIP)-2 receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 209, 385-92, 1995.
7. Huang, M. and Rorstad, O.P.: VIP receptors in mesenteric and

- coronary arteries: a radioligand binding study, *Peptides* 8, 477-85, 1987.
8. Sreedharan, S.P., Patel, D.R., Huang, J.X., Goetzl, E.J.: Cloning and functional expression of a human neuroendocrine vasoactive intestinal peptide receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 193, 546-53, 1993.
 9. Ulrich, C.D. 2nd, Wood, P., Hadac, E.M., Kopras, E., Whitcomb, D.C., Miller, L.J.: Cellular distribution of secretin receptor expression in rat pancreas, *Am. J. Physiol.* 275(6 Pt 1), G1437-44, 1998.
 10. Ignarro, L.J., Byrns, R.E., Buga, G.M., Wood, K.S.: Mechanisms of endothelium-dependent vascular smooth muscle relaxation elicited by bradykinin and VIP, *Am. J. Physiol.* 253(5 Pt 2), H1074-82, 1987.
 11. Jovanovic, A., Jovanovic, S., Tulic, I., Grbovic, L.: Predominant role for nitric oxide in the relaxation induced by vasoactive intestinal polypeptide in human uterine artery, *Mol. Hum. Reprod.* 4(1), 71-6, 1998.
 12. Pelligrino, D.A. and Wang, Q.: Cyclic nucleotide crosstalk and the regulation of cerebral vasodilation, *Prog. Neurobiol.* 56(1), 1-18, 1998.
 13. Amenta, D., Iacopino, L., Amenta, F.: Vasoactive intestinal polypeptide-sensitive cyclic adenosine monophosphate generating

system in the rat portal vein, *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 291, 88-95, 1988.

14. Beny, J.L., Brunet, P.C., Huggel, H.: Effect of mechanical stimulation, substance P and vasoactive intestinal polypeptide on the electrical and mechanical activities of circular smooth muscles from pig coronary arteries contracted with acetylcholine: role of endothelium, *Pharmacology*. 33(2), 61-8, 1986.
15. Duckles, S.P. and Said, S.I.: Vasoactive intestinal peptide as a neurotransmitter in the cerebral circulation, *Eur. J. Pharmacol.* 78(3), 371-4, 1982.
16. Varga, G., Kiss, J.Z., Papp, M., Vizi, E.S.: Vasoactive intestinal peptide may participate in the vasodilation of the dog hepatic artery, *Am. J. Physiol.* 251(2 Pt 1), G280-4, 1986.
17. Nakashima, M., Morrison, K.J., Vanhoutte, P.M.: Hyperpolarization and relaxation of canine vascular smooth muscle to vasoactive intestinal polypeptide, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 30(3), 273-7, 1997.
18. Standen, N.B., Quayle, J.M., Davies, N.W., Brayden, J.E., Huang, Y., Nelson, M.T.: Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K⁺ channels in arterial smooth muscle, *Science*. 245(4914), 177-80, 1989.
19. 채우석: 경혈집성, 대성문화사, 1995.
20. 양계주: 침구대성, 대성문화사, 1984.

21. Domschke, S., Domschke, W., Bloom, S.R., Mitznegg, P., Mitchell, S.J., Lux, G., Strunz, U.: Vasoactive intestinal peptide in man: pharmacokinetics, metabolic and circulatory effects, *Gut* 19(11), 1049-53, 1978.
22. Bojo, L., Lefebvre, R.A., Nellgardm P., Cassuto, J.: Involvement of vasoactive intestinal polypeptide in gastric reflex relaxation, *Eur. J. Pharmacol.* 236(3), 443-8, 1993.
23. Henning, R.J. and Sawmiller, D.R.: Vasoactive intestinal peptide: cardiovascular effects, *Cardiovasc. Res.* 49(1), 27-37, 2001.
24. Lucia, P., Caiola, S., Coppola, A., Maroccia, E., Belli, M., Colliardo, A., Borelli, L.G., De Martinis, C., Buongiorno, A.: The physiological role and prognostic value of the vasoactive intestinal peptide in acute myocardial infarct, *Cardiologia* 40(8), 579-84, 1995.
25. Macsai, M., Szabo, G., Telegdy, G.: Vasoactive intestinal polypeptide induces analgesia and impairs the antinociceptive effect of morphine in mice, *Neuropeptides* 32(6), 557-62, 1998.
26. Dickinson, T. and Fleetwood-Walker, S.M.: VIP and PACAP: very important in pain?, *Trends. Pharmacol. Sci.* 20(8), 324-9, 1999.
27. Hadjipavlou, A.G., Simmons, J.W., Yang, J.P., Bi, L.X., Simmons, D.J., Necessary, J.T.: Torsional injury resulting in disc degeneration in the rabbit: II. Associative changes in dorsal root ganglion and spinal cord neurotransmitter production, *J. Spinal Disord.* 11(4),

318-21, 1998.

28. Kaada, B. and Torsteinbø, O. : Vasoactive intestinal polypeptides in connective tissue massage with a note on VIP in heat pack treatment, *Gen. Pharmac.* 18(4), 379-84, 1987.
29. Woie, L, Kaada, B. and Opstad, P.K.: Increase in plasma vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in muscular exercise in human, *Gen.*
30. Furgala, A., Thor, P.J., Kolasinska-Kloch, W., Krygowska-Wajs, A., Kopp, B., Laskiewicz, J.: The effect of transcutaneous nerve stimulation (TENS) on gastric electrical activity,; *J. Physiol.*
31. Petti, F., Bangrazi, A., Liguori, A., Reale, G., Ippoliti, F.: Effects of acupuncture on immune response related to opioid-like peptides, *J. Tradit. Chin. Med. in abstract*, 18(1), 55-63, 1998.
32. Day, J.A., Mason, R.R., Chesrown, S.E.: Effect of massage on serum level of β -endorphin and β -lipotropin in healthy adults, *Physical Ther.* 67(6), 926-30, 1987.
33. Kaada, B. and Torsteinbø, O.: Increase of plasma β -endorphins in connective tissue massage, *Gen. Pharmac.* 20(4), 487-9, 1989.