

알도스테론 동족체-유도 노인성질환-연관 고혈압의 유해와 노인에 적용한 은침점전기자극의 알도스테론 억제

-심혈관질환전문물리치료 연구를 위한 기초물리치료학적 접근을 중심으로-

용인대학교 노인재활복지학과¹⁾, 한마음병원²⁾, 포항1대학 물리치료과³⁾,
평촌성심병원 물리치료실⁴⁾, 한마음병원 통증전문물리치료실⁵⁾, 용인대학교 물리치료학과⁶⁾,
민-물리치료연구센터^{#)}, 용인대학교 재활보건과학대학원 물리치료학 박사^{†)} 및 박사과정^{‡)}

이숙희^{1+ #)} · 강준환^{2+ *)} · 이상빈^{3+ #)} · 안호정^{4+ #)} · 김무기⁵⁾ · 김순희^{6#)} · 김중환^{6#)}

The Noxiousness of Aldosterone Analogue-induced Senile Disease-related
Hypertension and Inhibition of the Aldosterone by Silver Spike Point
Electrical Stimulation in Elderly People

-The Approach of Basic Physical Therapy for the Study of Cardiovascular Disease-related
Specialized Physical Therapy-

Lee, Sook Hee^{1+ #)}, P.T., M.S. · Kang, Joon Hwan^{2+ *)}, M.D, Ph.D. · Lee, Sang Bin^{3+ #)}, P.T., M.S.
An, Ho Jung^{4+ #)}, P.T., M.S. · Kim, Moo Gi⁵⁾, P.T., M.S. · Kim, Soon Hee^{6#)}, P.T., Ph.D.
Kim, Jung Hwan^{6#)}, P.T., Ph.D.

*Dept. of Senior Rehabilitation Welfare, Yongin University¹⁾, Dept of General Surgery, Hanmaun Hospital²⁾
Dept. of Physical Therapy, Pohang 1 College³⁾, Dept of Physical Therapy, Pyoungchon Sungshim Hospital⁴⁾,
Dept of Pain Specialized Physical Therapy, Hanmaun Hospital⁵⁾, Dept. of Physical Therapy, Yongin University⁶⁾
Min's Research Center^{#)}, Dept of Physical Therapy, the Graduate School of Rehabilitation and Health Science, Yongin University^{† ‡)}*

ABSTRACT

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 healthy volunteer. The gross examination and morphometric-histological changes, such as hypertrophy, production of necrotic tissues, and the changes of cell arrangement on the kidney, and adrenal gland were markedly observed in aldosterone-analogue DOCA-salt hypertensive rats compared with those from normotensive sham-operated rats. The systolic blood pressure, weight of kidney and adrenal gland were significantly increased in ADHR than that in NSR. The required time of PSS-induced resting tone was significantly increased in ADHR than that in NSR. However, the voltage-dependent K⁺ (K_v) currents were significantly decreased in ADHR than that in NSR. The urine analysis showed that the concentration of aldosterone was significantly decreased in resting state from the elderly people compared with those from the adolescent healthy volunteer. The current of 1 Hz continue type of SSP electrical stimulation significantly decreased in the concentration of aldosterone of 24 hour urine from the elderly people. These results suggest that the development of aldosterone analogue-induced hypertension is associated with changed the weight of kidney and adrenal gland, blood pressure, resting tone and K_v currents, which directly affects blood pressure. Therefore, the hypertension is a risk factor on cerebrovascular disease. Moreover, these results suggest that the diminished responsiveness to SSP electrical stimulation, especially current of 1Hz continue type, in elderly people may be, in part, related by the increased of antihypertensive effects.

I. 서론

알도스테론(Aldosterone)은 물리-화학적 자극으로부터 부신피질의 사구대(*zona glomerulosa*)에서 유리되며, 탄소 21개로 구성된 전형적 스테로이드 호르몬으로써 신원(*nephron*)의 원위곡세뇨관(*distal convoluted tubule*)과 집합관(*collecting duct*)의 상피세포에서 Na⁺ 이온을 재 흡수하는 역할이 잘 알려져 있다(Guyton과 Hall, 1996)(그림 4A). 그러나 이러한 반응이 비정상적 혹은 병적으로 지나치게 지속될 경우, 심혈관질환과 같은 만성질환의 유발과 악화에 중요한 병태기전이 될 수 있다는 내용이 보고되어 주목을 받고 있다(Kim 등, 2004b, 2005; Franco와 Oparil, 2006). 이러한 만성질환 가운데 중요한 부분을 차지하는 것이 심혈관질환이며 이를 유발시키는 위험인자 중에서 결정적 역할을 담당하는 것이 고혈압이다(Schiffrin, 1998; Kim 등, 2004b, 2005). 더

욱이 이러한 일련의 반응은 스트레스로 인한 교감신경계의 기능항진과 소금염의 과다섭취 등이 부가적으로 작용하여 문제가 되는 것으로 그 중요성이 강조되고 있다(Watts, 1998; Kim 등, 2004b, 2005; Lee 등, 2006). 실제 우리나라 성인의 하루 평균 소금섭취량은 약 15~20g 정도로 생리적 요구량의 약 2배 정도 많은 양을 섭취하는 것으로 보고 되는바(한국영양학회, 1995), 소금염-의존성 고혈압 이환의 위험에 많이 노출되어 있다. 또한 과다한 소금염의 섭취와 함께 만성적 스트레스에 노출된 결과 레닌-안지오텐신-알도스테론 활성체계(*renin-angiotensin-aldosterone system*)를 통한 신장의 원위세뇨관이나 대장, 그리고 타액선에서의 알도스테론-유도 Na⁺ 이온과 물의 재 흡수로 인한 혈류량 증가 및 심장의 부담증가로 인한 고혈압의 생성과 악화는 우리나라의 성인병 형 고혈압과 매우 밀접한 연관성이 있다(Guyton과 Hall, 1996; Stewart, 1999; Kim 등, 2004b, 2005; 통계

청, 2004; 천기영 등, 2004). 이러한 고혈압은 반드시 극복되어야 할 과제이나, 평생을 두고 조절해야 하는 문제와 함께 가계부담, 약물의 부작용 등이 뒤따르는 문제점이 산재해 있다. 지금까지 사용되고 있는 고혈압 조절제로써 이뇨제(*diuretics*)와 함께 교감신경 차단제(*adrenergic inhibitor*), 칼슘 길항제(*calcium antagonist*), 안지오펜신 전환효소 억제제(*angiotensin converting enzyme, ACE, inhibitor*) 등이 사용되고 있으나(Dworkin 등, 1990; Li 등, 1996) 장기투여로 인한 혈중 칼륨의 저하나 혈중 요산(*uric acid*) 수치의 증가로 인한 통풍(*gout*) 유발의 위험도 증가, 혈중 콜레스테롤 수치의 상승, 구강건조, 불면증(*insomnia*), 기립성저혈압(*standing hypotension*), 혈관부종 및 하지부종 등의 부작용이 문제시되고 있다(Fletcher, 1991; Gavras, 2001). 따라서 약물요법의 투여량을 경감시키면서 함께 병용할 수 있는 보조요법 혹은 대체요법의 필요성이 절실하다. 이러한 대체요법 중에서 한방물리치료 영역의 한 방법인 침(*acupuncture*) 자극 혹은 뜸(*moxibustion*)과 같은 기계적 및 온열자극이 혈압을 억제시켰다는 소수의 내용이 보고 되었으나 그 효과의 검증이 미비한 상태에 있다(Lee와 Kim, 1994; Kim 등, 1997). 특히 은침점전기자극¹⁾-유도 알도스테론 변동에 대한 연구내용은 매우 미비한 상태에 있으며, 60세 이상 노인들을 대상으로 실시한 보고는 전무한 상태에 있다.

한편, 은침점전기자극은 한방물리치료 이론을 근거로 제작된 전기치료의 한 방법으로써 피부에 상온 혹은 현훈(眩暈, *dizziness*) 및 감염과 같은 음성적 부작용이 거의 없으면서 경혈자극-유도 호르몬체계 및 대사의 조절이 용이하여 원인치료가 가능한 치료법으로

주목을 받고 있다(Sugimoto 등, 1995; 민경옥과 이태용, 1995; 천기영 등 2003, 2004). 따라서 본 연구에서는 은침점전기자극 적용 후 나타나는 뇨 중 알도스테론의 변동을 관찰하였다. 이와 동시에 알도스테론-유도체 물질로 유발되는 고혈압의 발증과 악화, 생체막전류의 변동 및 그 신호전달체계를 살펴봄으로써 본 연구의 이해와 신뢰성 및 심혈관질환전문물리치료의 기초 연구에 도움이 되고자 하였다.

II. 연구방법

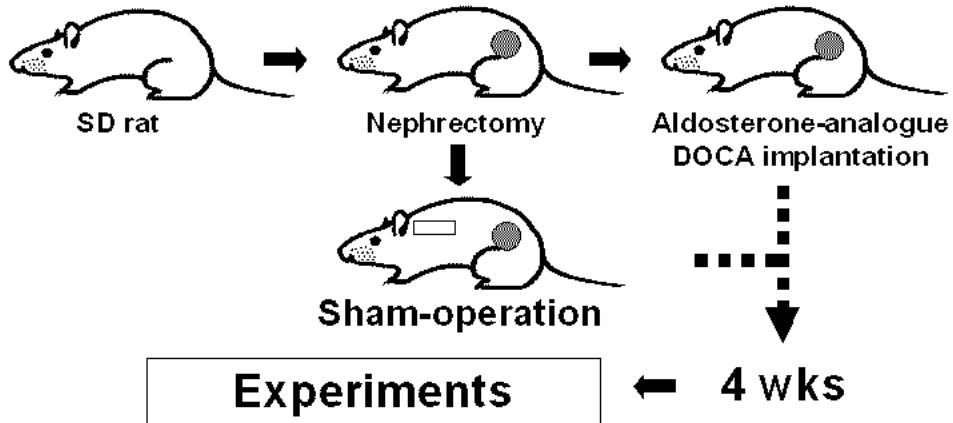
1. 실험동물 연구

1) 알도스테론-유도체 DOCA-소금염 고혈압 모델 쥐 작성

체중 190~200g, 웅성의 랫드 55두를 본 실험에 사용하였다(대한바이오팅크, 충북 음성 소재). 랫드를 1주일간 사육실 환경에 적응시킨 후 오른쪽 신장 제거 수술(*nephrectomy*)을 시행하였다. 수술시행 후 1주일간의 회복기간을 거쳐 알도스테론-유도체 테옥시코르티코스테론 아세테이트-소금염 유도 이차성 고혈압 [*aldosterone-analogue deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt hypertensive rats*, 이하 ADHR] 군에는 DOCA를 팻취 형태로 제작하여 각 마리 당 200mg/kg의 DOCA-팻취를 후두부와 양쪽 견배부의 피하에 이식하고 봉합술을 실시하였다(Berecek 등, 1980; Kim 등, 2004c). 반면 대조군인 정상혈압 *sham*-수술군(*normotensive sham-operated rats*, 이하 NSR)은 DOCA-팻취를 이식하지 않고 후두 및 견배

¹⁾ 은침점전기자극(*silver spike point, SSP, electrical stimulation, 銀鍼点電氣刺戟*): 한방이론의 경혈(經穴, *meridian point*)을 자극하여 호르몬 및 체액의 변동을 조절해 줌으로써 원인치료가 가능한 물리치료의 한 방법이다. 전류의 파형은 쌍방향성 대칭파의 특징을 나타내며, 1~5Hz의 주파수를 침-유사자극의 목적으로 사용한다(Sugimoto 등, 1995; 민경옥과 이태용, 1995).

A. Surgical Procedures



B

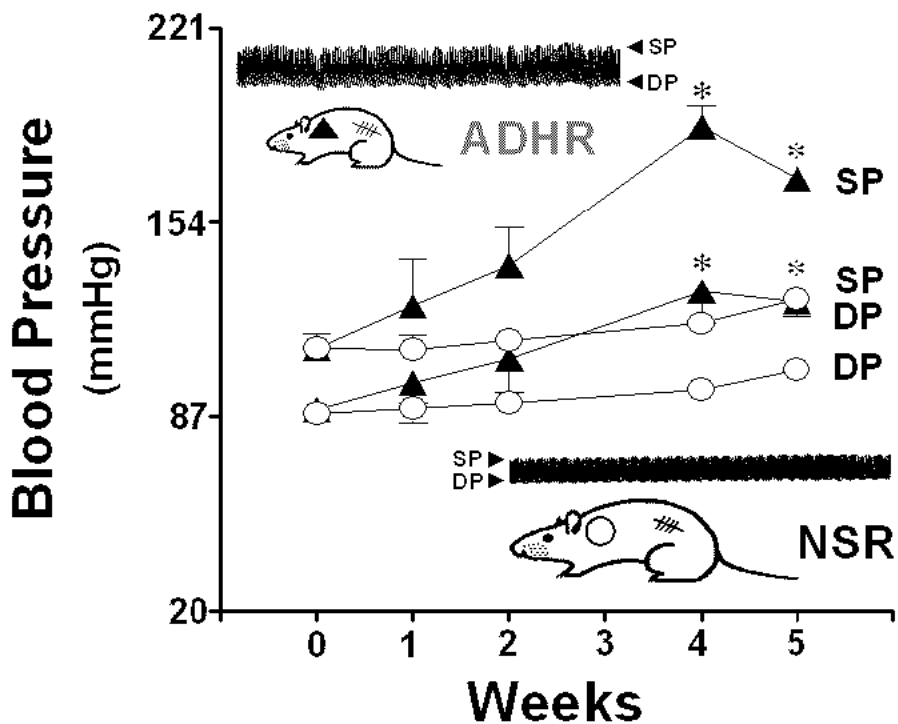


그림 1. Schematic representation on surgical procedures of the experimental animals and systolic and diastolic blood pressure of sham-treated and aldosterone-analogue DOCA(200mg/kg)-salt-treated rats during the first week and fifth week of DOCA-salt application.

The amplitude and quality of the waveform permit assessment of both systolic (SP) and diastolic pressures (DP). SD rat, Sprague-Dawley rat; NSR, normotensive sham-operated rats; ADHR, aldosterone-analogue deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt hypertensive rats. *: $p < 0.05$

부의 피부절개 및 봉합술만 실시하였다(그림 1A). ADHR군에는 0.9% NaCl과 0.1% KCl의 혼합음료와 함께 실험동물 전용사료(대한바이오링크)를 공급하였으며, NSR군에는 정상적 음료(*normal tap water*)와 함께 실험동물 전용사료를 무제한 공급하였다. 본 연구에서 실시한 신장제거 수술과 DOCA 적용 및 소금염 섭취의 근거는 신장제거 수술 및 DOCA 적용의 유무가 혈압증가변동에 차이를 나타냄과 동시에, *sham* 수술과 함께 고농도 소금염을 섭취하게 한 군과 DOCA 적용과 함께 정상농도의 소금염을 섭취한 군에서 나타난 혈압증가가 DOCA 적용과 함께 고농도 소금염 적용군에서 나타난 혈압의 증가보다 높지 않았다는 연구결과 때문이다(Watts, 1998; Muthalif 등, 2000). 또한 이러한 내용은 Dahl에 의해 제시된 소금염-의존성 고혈압 모델동물[Dahl-salt (DS) rats]에서 나타난 소금염 의존성 여부에 따른 혈압증가의 결과가 이를 뒷받침해 준다(Dahl 등, 1963; Kim 등, 1997). 따라서 본 연구에는 알도스테론-유도체 DOCA-소금염을 적용한 4주 혹은 5주체에 해당되는 동물의 혈압을 측정하여 수축기혈압이 유의·적정 수준에 이른 동물을 희생하여 본 연구에 사용하였다(Soltis와 Field, 1986; Kim 등, 2004b).

2) 실험동물의 혈압측정

본 측정연구를 시행하기에 앞서 각 군의 실험동물을 전신마취제로 마취를 실시하였다. 마취된 실험동물을 수술용 고정판에 위치시킨 후 전 경부를 절개하였다. 다음 좌측 총경동맥(*common carotid artery*)을 확인한 후, 한쪽 끝이 장력변환기(*Force Displacement Transducer, FT.03, Grass, USA*)에 연결된 혈압 측정용 카테터(*Physiological Pressure Transducer, P23XL, Viggo-Spectramed, USA*)를 삽입하여 수축기혈압(*systolic pressure, SP*)과 이완기혈압(*diastolic pressure, DP*) 및 맥압(*pulse pressure*)을 측정하였다. 혈압의 기록은 약 15분 정도의 혈압 안정 상태를 유지시킨 후 나타나는 혈압을 측정하였다(Kim 등, 2004b, 2005)(그림 1B). 혈압 측정용 카테

터 내에는 헤파린(*heparin, 10Unit/ml*)이 처리된 0.9% NaCl을 넣어 혈액응고를 방지하였으며, 기록용 펜의 속도는 2.5mm/sec를 유지하였다.

3) 조직학 분석

본 연구는 각 군에서 심장과 혈관, 신장 및 부신 조직을 적출하여 4% 포르말린 용액에 고정하였다. 고정 24 시간 후 육안검사과정을 거쳐 파라핀 블록을 제작하였다. 준비된 블록 조직을 3 μ m 두께로 박절한 후 유리슬라이드를 60 $^{\circ}$ C에서 30분간 가온하였다. 이어서 탈 파라핀화와 건조과정을 거쳐 헤마톡실린-에오신(*hematoxylin-eosin, HE*) 염색을 실시하였다. 염색된 조직은 봉입제(*Malinol, Muto Pure Chemicals Ltd, Japan*)로 봉입하여 상온에서 약 7일간 건조시켰다. 판독은 광학현미경(*Automatic photomicrographic systems PM-10ADS, Olympus optical Co., Ltd., Japan*)으로 확인하였다. 판독의 공정성을 위해 고정 관찰자가 3 회 판독하였으며, 관찰자 외에 이 실험과 관계없는 조직병리 전문의 1인이 함께 판독하도록 하였다.

4) 근 장력 측정의 분석

연구군에 해당하는 알도스테론-유도체 DOCA-소금염 고혈압 쥐와 대조군인 *sham* 수술 쥐의 후두부를 강타하여 실신시킨 후 경부를 절개하여 혈액을 충분히 방혈시켰다. 그리고 좌측 흉복부를 절개하여 흉대동맥(*thoracic aorta*)을 적출하였다. 적출된 조직은 실온에서 생리적 식염수(*physiological salt solution, PSS*)가 담긴 용기에 옮긴 후, 핀으로 고정하고 실체현미경(*Zoom Stereomicroscope, SZ-ST, Olympus, Japan*) 하에서 결합조직과 지방을 조심스럽게 제거하였다. 혈관은 링의 형태로 자른 후 내피세포(*endothelial cell*)를 제거하여 근 절편을 준비하였다. 준비된 근 절편은 윤상근(*circular muscle*) 방향으로 폭 2mm, 길이 10mm가 되도록 절단하여 한쪽은 근육 고정기에 다른 한쪽 끝은 장력변환기(*Force Displacement Transducer, FT.03, Grass, USA*)에

연결하였다. 조직은 7ml 용량의 표본조에 옮겨 생리현상기록기(Physiograph, 7WC, Grass, USA)로 기록하였다(Kim 등, 2003, 2004b).

5) 단일 혈관평활근 세포의 분리와 전압-의존성 K⁺ 전류 (Voltage-dependent K⁺ current, Kv current)의 측정

본 연구에서는 세 번째 가지의 장간막동맥(Third order mesenteric arteries) 근 절편을 정상 Tyrode 용액에서 분리하였다. 그 후 근 절편을 collagenase 2 mg/ml (1차, Wako, Japan), papain 1mg/ml (2차, Sigma, USA), bovine serum albumin 1mg/ml, dithiothreitol 1mg/ml이 포함된 Tyrode 용액을 시험관에 넣은 후 37°C에서 진탕하며 17-25분 소화시켰다. 소화 후 소화효소와 Ca²⁺이 없는 Tyrode 용액에서 2회 세척하였다. 세척 후 열로 가열한 피펫을 사용하여 조직으로부터 단일세포를 분리하였다(Kim 등, 2004a). 분리 후 Kraft-Bruhe (KB) 용액에 넣어 측정 시까지 냉장 보관하였다. 전압-의존성 K⁺ 전류 (voltage-dependent K⁺, Kv, current)를 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, 수평전극 견인기(horizontal electrode puller: Sutter Instruments Co., Navato, CA, USA)로 제작한 후 화염-연마하여 저항 2~3MΩ 사이의 것을 사용하였다. 피펫은 세포막에 접근시켜 whole cell patch mode에서 실험을 실시하였으며, K⁺ 전류의 측정은 막전압-고정 전류 증폭기(patch clamp amplifier: Axopatch-1A; Axon Instruments, Foster city, CA, USA)를 사용하여 기록하였다(Hamil 등, 1981). 기록된 자료는 pCLAMP 소프트웨어(version 6.0.3, Axon Instruments)를 사용하여 분석하였다. 자료는 1~10 KHz와 1 KHz에서 low pass filter를 사용하였다. 단일 평활근 세포의 K⁺ 전류를 기록하기 위하여 사용된

피펫 용액의 조성은 (이하 mM): 140KCl, 5NaCl, 5MgATP, 10HEPES, 10BAPTA이고 KOH를 사용하여 pH 7.25로 적정하였다. 전류에 대한 정량적인 측정실험에는 계단상 전류 증가 실험계획(step protocol: holding potential -80mV에서 step pulse를 -60mV에서 +50mV 까지 주었다)에 따라 적용하였다(Kim 등, 2004a).

2. 인체 연구

1) 측정연구를 위한 연구대상과 연구 환경

본 측정연구는 연령 20~27세, 체중 54±6.2kg, 신장 162±4.1cm (mean±SEM)인 자원자 여성 10 명을 무작위로 선발하여 진행하였다. 본 연구에 들어가기에 앞서 피 연구자의 생리기간을 피하였으며, 일절 실험에 대한 내용을 언급하지 않은 상태에서 24시간 노를 채집하였다. 생체기전(In Vivo)의 오차를 줄이고자 24시간의 흡숙통제와 함께 동일한 제한식이와 제한음료를 제공하였다. 또한 이천시 노인종합복지관을 이용하면서 건강에 이상이 없으며 책임감 및 의식이 명료한 여성노인 15명(연령 62~81세, 체중 60±1.3 kg, 신장 151±1.5cm)을 무작위로 선발하여 은침점전기 자극-유도 물질변동 연구에 임하도록 하였다. 연구 환경은 23±1°C의 온도를 유지시켰으며, 모든 연구조작은 자극부위에 따라 바로누운자세와 옆드려누운자세에서 실시하였다. 최소한의 오차를 줄이고자 음주와 흡연, 투약 및 과식을 금지하도록 하였으며, 기준선이 기록된 음료용 컵을 제공하여 음수한 컵의 수를 정(正)자로 표시하도록 하였다. 음수는 물 이외의 것은 배제하도록 하였다. 또한 본 연구 기간 즉, 24시간 동안의 소변채취 기간에는 우선으로 2~3회 연락을 취하여 중간점검을 실시하였다.

2) 은침점전기 자극(silver spike point, SSP, electrical stimulation)

본 연구는 은침점전기 자극을 가하지 않은 대조군(Control group)과 전기자극을 적용한 연구군의 2군

으로 나누었다. 연구군에 적용한 전기자극은 진폭에 변화가 없으면서 양방향성 대칭파가 1Hz로 일정하게 통전되는 전류형태(Continue type)를 적용하였다. 본 연구에서 사용한 전기자극은 은침점전기자극기(Silver Spike Point Trimix 303H, Nihon Medix Co., Japan)를 사용하였다. 전기자극의 조건은 1Hz의 주파수와 50 μ s의 펄스기간 및 강도 3의 도자의 흡착력을 각 세트별로 15분 통전을 실시하였다. 연구 진행시간은 오전(10~12시)과 오후(13~16시)로 나누어 총 2회의 60분 전기자극을 적용하였다. 각 군에 해당하는 15 명의 여성노인은 모두 동일인이며, 연구조작은 7일 간격으로 총 2회를 실시하여 결과를 통계처리 하였다. 은침점전기자극은 인체의 경혈을 선택하였으며, 도자의 제한 된 수에 따라 2세트로 나누어 실시하였으며 다음과 같다. 1세트는 임맥(任脈)의 중극(中極, CV-3) 1혈과 같은 경맥의 관원(關元, CV-4) 1혈, 족소음신경(足少陰腎經)의 대혈(大赫, Ki-12) 2혈, 족태음비경(足太陰脾經)의 삼음교(三陰交, SP-6) 2혈, 그리고 족厥음간경(足厥陰肝經)의 태충(太衝, LR-3) 2혈의 경혈에 각각 동일한 코드에서 나오는 2개의 도자 8개를 바로 누운 자세에서 15분간 적용하였다. 이어서 족태양방광경(足太陽膀胱經)의 지실(志室, BL-52) 2혈과 대장유(大腸俞, BL-25) 2혈, 방광유(膀胱俞, BL-28) 2혈 그리고 차료(次髎, BL-32) 2혈의 경혈의 2세트를 엎드려 누운 자세에서 15분간 적용하였다(양갑삼, 1994; 천기영 등, 2003, 2004). 또한 전기자극의 강도는 근육의 가시수축이 일어나지 않는 범위에서 피 연구자가 견딜 수 있는 정도의 따끔 거리는 역치(Threshold)까지 전류강도(10~99mA)를 증가시켜 본 연구를 진행하였다. 모든 연구조작을 시행하기에 앞서 피 연구자로 하여금 바로누운자세에서 약 30분의 휴식을 취하도록 하였다.

3) 뇨 알도스테론의 분석

은침점전기자극의 유무 및 연령층 비교에 따른 알도스테론 측정을 위해 24시간 뇨를 채집하였다. 뇨의 채취는 오전 8시부터 다음 날 오전 8시까지의 신선뇨를

취하였다. 뇨의 부패를 방지하기 위해 6N HCl 10ml을 첨가하여 사용하였다. 채집된 뇨에서 약 40~50ml의 뇨를 테스트 튜브(Sewon Medical Co., Korea)에 옮겨 담아 측정내용에 따라 측정 시까지 냉장보관 하였다. 알도스테론의 측정은 Abbott Laboratories의 aldosterone II RIA diagnostic kit를 사용하여 측정하였다(Seoul Clinical Laboratories, 서울소재).

4) 통계학적 분석

본 연구의 통계처리는 SAS 소프트웨어(version 6.12)를 사용하여 평균과 표준편차를 산출하였다. 또한 각 비교군 사이의 통계적 유의성을 검정하기 위한 유의수준은 $\alpha = .05$ 로 설정하여 t-검정과 일원분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, P 값이 0.05 미만인 것을 통계학적으로 유의한 것으로 판단하였다. 연구 성적은 mean \pm SEM으로 나타내었다.

III. 연구 결과

1. 실험동물 연구의 결과

1) 고혈압(ADHR)과 정상혈압(NSR) 동물에서 나타나는 혈압의 변동

수술조작 후 NSR군과 ADHR군의 혈압을 직접 혈압측정의 방법(Kim 등, 2004b, 2005)으로 기간에 따라 변동되는 수축기혈압(SP)과 이완기혈압(DP) 및 맥압을 관찰하였다(그림 1B). 결과 수술 후 1, 2주에는 SP와 DP 모두에서 군에 따른 차이를 나타내지 않은 반면에, 수술조작 후 4주와 5주가 경과된 시점에서는 NSR군과 ADHR군에 차이를 나타내었다. 즉 수축기혈압의 경우, NSR군(4주; 125 \pm 2.0mmHg, 5주; 128 \pm 2.2mmHg)에 비하여 ADHR(4주; 178 \pm 3.6mmHg, 5주; 169 \pm 3.4mmHg)군에서 혈압의 유의한 증가를 나타냈다(그림 1B). 또한 이완기혈압의 경우 역시, NSR군(4주; 96 \pm 3.0mmHg, 5주; 103 \pm

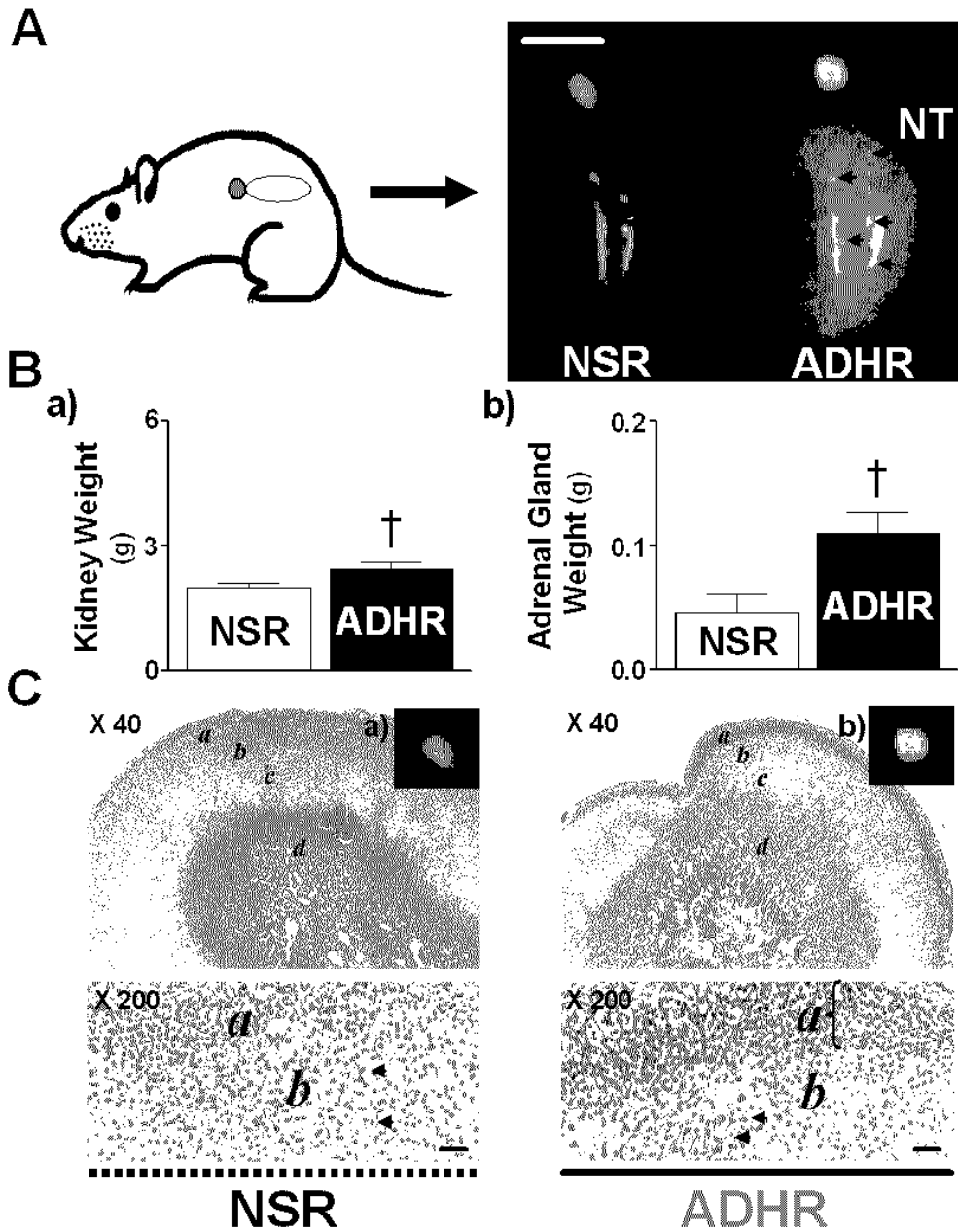


그림 2. Representative graphs and light micrographs of renal and adrenal tissues obtained from normotensive sham-operated (control) and aldosterone-analogue DOCA-salt hypertensive rats.

The arrows (A) indicate aldosterone-analogue DOCA-induced necrotic tissues (NT).

The arrows (C) indicate vacuolation of zona fasciculata in adrenal gland.

NSR: normotensive sham-operated rats, ADHR: aldosterone-analogue DOCA-salt hypertensive rats.

□: 10mm, *a*: zona glomerulosa, *b*: zona fasciculata, *c*: zona reticularis, *d*: adrenal medulla.

■: 50μm, +: $p < 0.05$

2.3mmHg)에 비하여 ADHR군(4주; 130 ± 10.7 mmHg, 5주; 126 ± 4.8 mmHg)에서 혈압의 유의한 증가를 나타내었다(그림 1B). 또한 NSR군의 경우 맥압이 약 30mmHg이면서 심장리듬이 규칙적이고 일정한 반면에, ADHR군의 맥압은 약 50~70mmHg이면서 심장리듬이 간혹 나타나지 않는 휴지기와 함께 불규칙적인 부정맥의 양상을 나타내었다(그림 1B).

2) 고혈압(ADHR)과 정상혈압(NSR) 동물의 신장과 부신조직의 변화

대조군인 NSR군과 고혈압군인 ADHR군의 신장과 부신조직을 적출하여 무게의 변동을 살펴본 결과 다음과 같다. 신장조직의 경우, NSR군(2.0 ± 0.12 g)에 비하여 ADHR군(2.5 ± 0.16 g)에서 유의한 증가를 나타내었다(그림 2A, 2B-a). 이러한 결과는 부신조직의 경우(NSR; 0.05 ± 0.01 g, ADHR; 0.11 ± 0.02 g)에서도 동일한 양상을 나타내었다(그림 2A, 2B-b). 또한 육안적 변화의 경우, NSR군의 신장조직은 암갈색을 나타낸 반면, ADHR군의 신장조직은 황색을 띠고 동시에 백색반점상의 피사 및 지방-침착 조직이 전체에 다발성으로 산재하였다(화살표)(그림 2A). 이러한 결과는 용량 의존성 고혈압 특히, 알도스테론-유도체 DOCA-소금염으로 유발되는 고혈압에 이환 될 경우, 신기능에 부하가 증가되어 신장 및 부신조직의 비대가 필연적으로 동반됨을 확인할 수 있었다. 또한 HE 염색결과 NSR군에 비해 ADHR군의 부신피질에 존재하는 구상대(*zona glomerulosa*)의 세포증식과 함께 핵 배열이 치밀해짐이 관찰되었다(그림 2C). 또한 ADHR군은 NSR군과는 달리 속상대(*zona fasciculata*)와 망상대(*zona reticularis*)의 영역이 감소하였으며, 부신피질의 영역이 상대적으로 증가하였다. 특히 속상대의 세포질 부분이 공포화(*vacuolation*)가 감소되면서 비정상적인 공포화가 무리를 지어 나타나는 특징을 나타내었다(그림 2C).

3) 고혈압(ADHR)과 정상혈압(NSR) 혈관조직에 대한 안정장력의 변동

대조군인 NSR군과 고혈압군인 ADHR군의 흉대동맥 조직을 적출하여 안정장력으로 도달하는 시간적 특성을 비교한 결과 다음과 같다. 세포막의 탈분극 및 전압-의존성 Ca^{2+} 채널(*VDCC*)을 활성화시켜 근 수축을 유발시키는 고농도 염화칼륨(*KCl*)을 각 군의 흉대동맥 조직에 적용하여 긴장성 수축(*tonic contraction*) 반응을 유발 및 유지하였다. 이어서 생리적 식염수(*PSS*)로 근 이완반응을 유도한 후, 안정 혹은 정지장력으로 도달하는 시간을 측정하였다. 결과 30% 이완반응에 소요되는 시간의 경우, NSR군이 0.2 ± 0.0 min이 소요된 것에 비하여 ADHR군은 3.8 ± 0.6 min의 소요로 유의한 증가를 나타냈다(그림 3A). 또한 100% 이완반응의 경우, NSR군이 14.2 ± 0.8 min이 소요된 반면에 ADHR군에서 나타난 이완반응의 시간은 31.3 ± 3.9 min이 소요됨으로써, NSR군에 비하여 ADHR군의 이완반응에 소요된 시간이 유의한 증가를 나타내었다(그림 3A). 또한 정지 및 안정상태(*quiescent state*)의 근 긴장도가 대조군인 NSR군에 비하여 실험군인 ADHR군에서 막전압이 탈분극 및 L-형 Ca^{2+} 통로가 활성화되어 있는 것을 L-형 Ca^{2+} 통로 억제제(*selective L-type Ca^{2+} channel blocker*)인 *verapamil* 10 μ M과 *nifedipine* 10 μ M의 적용을 통해 확인할 수 있었다(*data not shown*).

한편 근 이완반응의 수축-이완 형태가 각 군에서 다르게 나타났다. 즉 NSR군의 경우, 이완반응이 급하게 이루어지면서 매끄러운 긴장성수축의 형태를 유지 및 안정상태로 회복되는 반면에, ADHR군의 이완반응은 완만한 이완반응의 유지와 간헐 및 지속적으로 위상성 수축(*phasic contraction*)과 이완 혹은 "contractile oscillations" 반응이 나타났었다(그림 3A-a). 또한 대부분의 ADHR군에서 이완반응의 초기에 급격한 감소를 보이다가 반전되어 고농도 KCl의 60~95% 부분까지 상승하는 위상성-긴장성 수축반응이 나타나는 특징을 나타내었다(그림 3A-a). 이러한 반응은 혈압이 높거나 맥압이 큰 동물의 경우에서 보다 현저하였다.

4) 고혈압(ADHR)과 정상혈압(NSR)의 단일 혈관평활근 세포에서 나타나는 전압-의존성 K^+ 전류의 변동
대조군인 NSR군과 고혈압군인 ADHR군의 장간막
동맥 조직을 적출하여 전압 의존성 K^+ 전류(voltage

dependent K^+ K_v current)의 특성을 비교한 결과
다음과 같았다. NSR군에 비하여 ADHR군에서 전압
의존성 K^+ 전류가 감소되어 있는 것을 관찰할 수 있
었다(그림 3B). 또한 0mV와 +50mV에서의 평균 전류

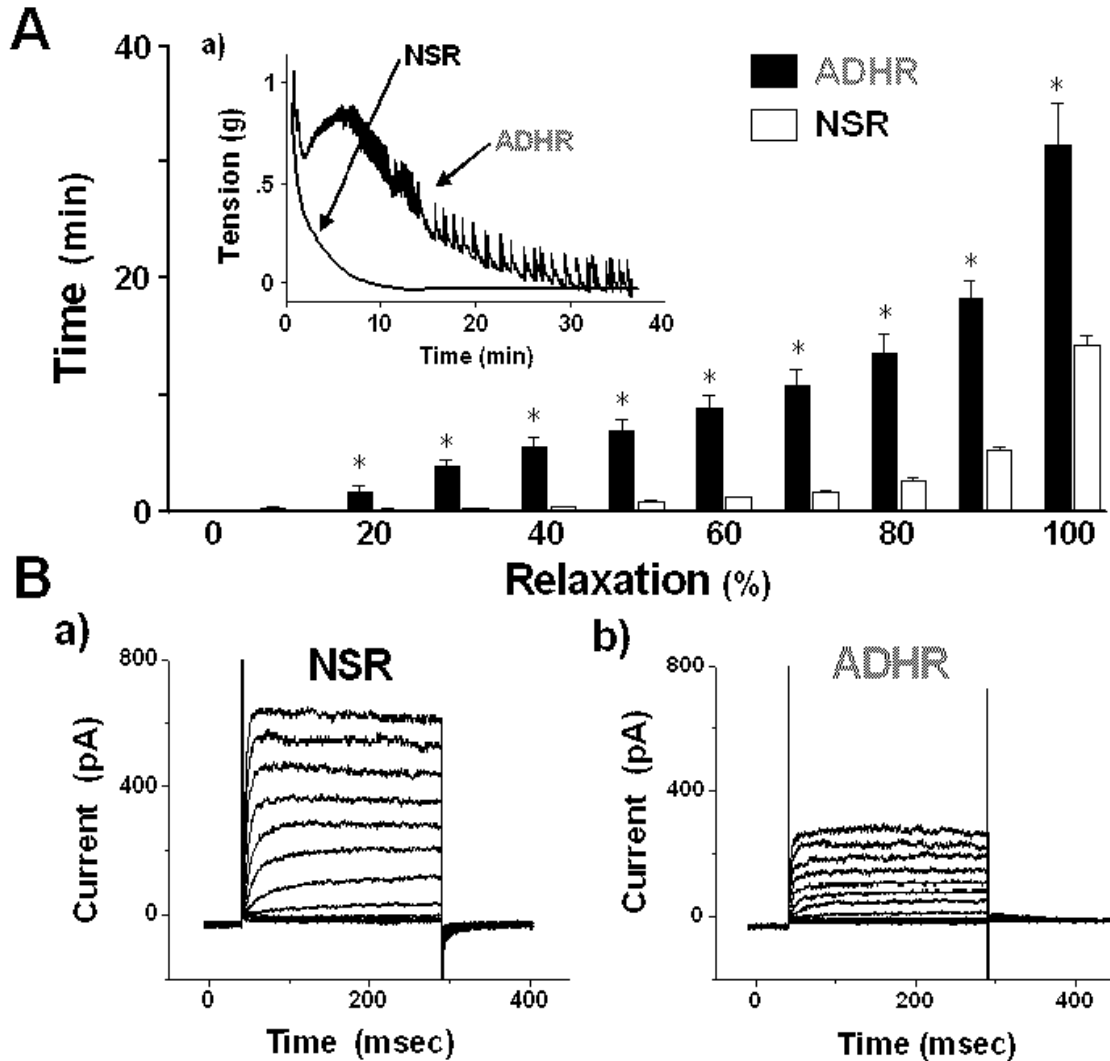


그림 3. The difference of the time to maximal relaxation (resting tension) and quiescent voltage-dependent K^+ (K_v) currents between sham-treated and aldosterone-analogue DOCA(200mg/kg)-salt-treated rats.

Representative tracing (a) for 70mM KCl-induced contraction followed by PSS-induced relaxation in endothelium-denuded in rat aortas.

NSR: normotensive sham-operated rats, ADHR: aldosterone-analogue DOCA-salt hypertensive rats, K_v current: voltage-dependent K^+ current, *,†: $P < 0.05$.

밀도를 유도한 결과, 0mV에서 NSR군(27 ± 3.2 pA/pF)에 비하여 ADHR군(15 ± 1.6 pA/pF)에서 유의한 감소를 나타내었으며, +50mV의 경우 NSR군(70 ± 7.0 pA/pF)에 비하여 ADHR군(42 ± 4.3 pA/pF)에서 유의한 감소를 나타내었다(data not shown).

2. 인체의 경혈에 적용한 은침점전자극으로 나타나는 노알도스테론(Aldosterone)의 변동 결과

본 측정연구의 결과 24시간 유리되는 알도스테론은 20대 청년층(youth: $11.5 \pm 0.9 \mu\text{g/day}$)에 비하여 60세 이상의 노년층(senior: $5.5 \pm 0.4 \mu\text{g/day}$)에서 유의한 감소가 나타남을 확인할 수 있었다(그림 4B). 또한 60세 이상 노인들에게 적용한 60분의 은침점전자극군($3.5 \pm 0.3 \mu\text{g/day}$)이 자극하지 않은 대조군(control: $5.5 \pm 0.4 \mu\text{g/day}$)에 비하여 유의한 감소가 나타남을 확인할 수 있었다(그림 4B).

IV. 고찰

우리나라 성인의 사망원인통계결과에 의하면 신생물(65,505명)에 이어 심혈관질환(58,382명)이 2위의 순으로 사망률이 보고 됨으로써 고혈압 등의 원인으로 유발되는 심혈관질환의 위험성을 확인할 수 있다(통계청, 2004). 특히, 60세 이상 노인의 85.9~91.0%가 고혈압을 비롯한 만성질환에 한 가지 이상 이환되어 있다는 선행 연구보고의 결과는 문체의 심각성을 반영해주고 있다(서미경, 1995; 정경희 등, 1998; 천기영 등, 2004). 이러한 심혈관질환의 위험인자로 작용하는 고혈압의 생성과 악화는 여러 유해 자극으로 나타나는 혈관반응성의 변화와 혈관벽 압력의 증가, 호르몬 분비의 변동 및 혈관벽의 신장 등으로 야기되는 말초저항의 증가와 매우 밀접한 연관성

을 가지고 있다(Kim 등, 2004b, 2005, 2006). 또한 혈관의 근 긴장성 변화와 구조적 및 기능적 변화는 임상적으로 고혈압과 같은 성인병과 직접적으로 연관되어 있어 그 중요성이 강조되고 있다(Schiffrin, 1998; Kim 등, 2004b, 2005, 2006). 이와 함께 생리적 요구량을 초과하는 양의 소금염 섭취는 혈압의 증가와 Endothelins 단백질의 과활성, 카테콜아민(catecholamine)과 세로토닌(5-hydroxytryptamine, serotonin)의 활성증가, TGF- β 1(transforming growth factor- β 1) 및 EGF(epidermal growth factor)과 같은 성장인자의 활성을 증가시킴으로써 결국 고혈압-연관 노인성질환의 진행을 가속화시키는 내용이 보고 되고 있다(Plato 등, 2000; Tostes 등, 2002; Kim 등, 2004b, 2005, 2006; Lee 등, 2006). 이러한 내용은 많은 양의 소금염을 섭취하는 우리나라의 식습관과 밀접한 연관성을 나타내고 있으며, 특히 노화가 진행됨에 따라 나타나는 미각의 감퇴현상은 과다 소금염 섭취의 위험성을 부각시켜주고 있다(Rolls, 1999; Osada 등, 2003; Kim 등, 2004b; 천기영 등, 2004).

실제 본 연구의 결과 알도스테론-전구체-유도 고혈압에 이환 될 경우, 조직학적 병리-변화와 함께 정지장력의 수축/이완과 같은 수축형태의 변화 및 정지상태로 이행되는 시간의 변동이 나타남을 확인할 수 있었다. 본 연구에서 확인된 수축성의 반응은 알도스테론-전구체 유도 DOCA 고혈압 쥐에서 이전의 연구로부터 제시되었음에도 불구하고 왜 이러한 반응이 나타나는 것에 대한 정확한 해답은 모르고 있다. 다만 이러한 차이가 알도스테론-유도체 DOCA-소금염 의존 고혈압의 병적 상태가 악화되면서 나타나는 안정막전압(resting membrane potential, RMP)의 불안정성 즉, 세포 외 Ca^{2+} -의존성으로 생성되는 활동전압의 한 무리(bursts of action potentials)가 마치 "페이스메이커-유사 활성(pacemaker-like activity)"의 형태로 야기된다는 보고가 있다(Hollenberg와 Sandor, 1984; Lamb과 Webb, 1989). 이와 함께 세포간극(gap junction)에서 나타나는 connexin43의 활성증

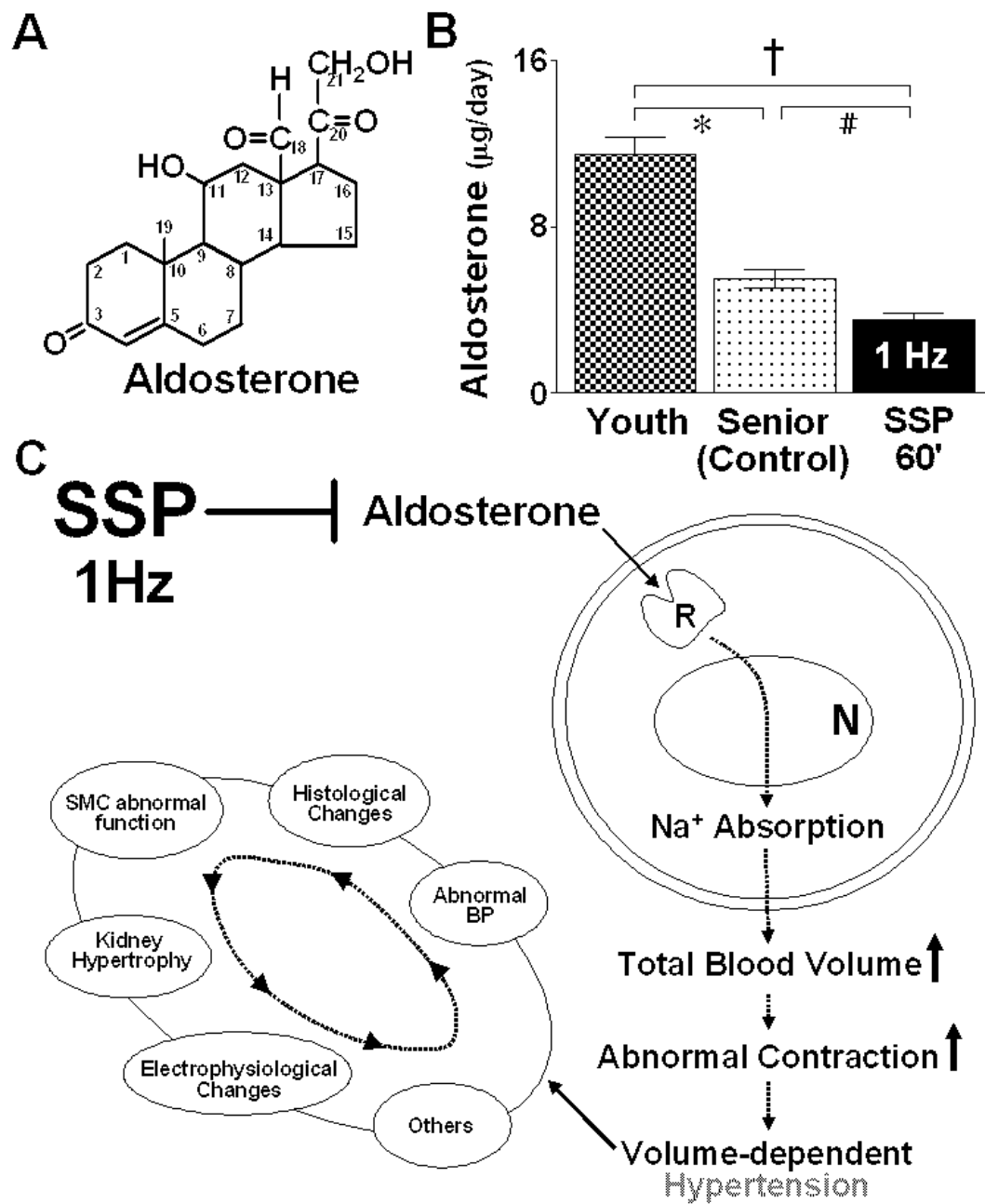


그림 4. The inhibitory effects of SSP electrical stimulation on urine aldosterone and schematic representation of anti-hypertensive effects of SSP electrical stimulation on aldosterone-related noxious metabolic responses. SSP; silver spike point electrical stimulation, R; aldosterone receptor, N; nucleus, SMC; smooth muscle cell, BP; blood pressure. *, #, † p < 0.05

가 및 신호전달체계의 변화로 야기된다고 보고하고 있어 그 중요성이 보고 되고 있을 뿐이다(Watts와 Webb, 1996). 또한 고혈압 동물에서 전압-의존성 K^+ 전류가 작은 것을 관찰하였는데, 이러한 결과는 지속적인 고혈압 상태에서부터 기인한 세포막 전압의 탈분극(*depolarization*) 상태가 유발되어 있는 것으로 볼 수 있으며(Martens와 Gelband, 1996; Harper 등, 1997), 이것은 알도스테론-전구체-유도 고혈압이 유발될 경우 혈관평활근 세포막의 전기적 흥분성이 증가하거나 혹은 세포내 신호전달 체계가 불안정하여 나타나는 전기생리학적 결과로 해석할 수 있다. 특히, 안정막전압을 결정해주는 전류가 전압의존성 K^+ 전류인 만큼(Guyton과 Hall, 1996), 용량의존성 고혈압 이환으로 나타난 K_v 전류의 변화는 그 의의가 매우 크다고 사료된다. 이러한 실험의 결과로 미루어 인체가 알도스테론-전구체-유도 용량의존성 고혈압에 이환될 경우 인체에 미칠 수 있는 영향을 추정할 수 있었다.

한편, 증가된 혈압을 억제시킬 목적으로 한방물리치료 영역에서 사용되는 뜸 자극과 침 혹은 전침자극 및 저주파 전기자극에 대한 보고가 선행되어 왔다(Hoffmann과 Thor, 1986; Mannheimer 등, 1990; Lee와 Kim, 1994; Bucinskaite 등, 1996; Lee 등, 1997; Averill 등, 2000). 그러나 은침점전기 자극에 대한 항고혈압 효과에 대한 연구 결과는 거의 전무한 상태에 있는 이유로 본 연구에서는 60세 이상의 노인들을 대상으로 은침점전기자극을 적용하여 고혈압 유발 및 악화에 관여하는 알도스테론에 대한 억제 유무를 관찰하였다. 또한 노령화에 따른 물질변동을 관찰하기 위하여 20대 청년층의 물질변동과 비교해 봄으로써 변화추이를 파악하였다. 결과 알도스테론은 청년층에 비하여 노인층에서 유의한 감소를 나타내었다. 이것은 아마도 노화가 진행됨에 따라 필연적으로 동반되는 신장기능의 감소를 포함한 대사기능의 감퇴 및 퇴행으로 이행되는 현상으로 이해된다(Belmin 등, 1994; Eiam-Ong과 Sabatini, 1999; Worsfold 등, 1999). 또한 은침점전기자극의 적용으

로 나타난 유의성 있는 알도스테론의 감소는 용량의존성 고혈압 유발에 대한 근본적 원인제공 물질을 억제시킨다는 관점에서 그 중요성은 크다고 사료된다. 더욱이 본 연구에서 사용한 고혈압 모델동물의 혈압 증가가 레닌-안지오텐신-알도스테론의 축으로 이어지는 활성의 결과 원위곡세뇨관과 집합관에서의 Na^+ 재흡수와 함께 물의 세포 내 이동을 촉진하여 혈압이 높아지게 되는 전형적인 용량의존성 고혈압 모델이기 때문이다(De Champlain 등, 1969; Berecek 등, 1980; Kim 등, 2004b). 또한 알도스테론 및 그 유도체인 DOCA 자체가 Na^+ 이온의 저류(*retention*) 혹은 혈관 리모델링 및 집합관에서 PKC-MAPK 경로의 활성화가 이온이동의 조절에 직접 관여한다는 내용은 본 연구의 중요성을 부각시켜 준다(Jiang 등, 2004; Markos 등, 2005).

V. 결론

이상의 결과로 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상 쥐와 알도스테론-전구체 유도 고혈압 쥐의 신장과 부신조직의 무게와 외견상의 변화, 조직학적 세포배열 증식에 차이가 있다.
2. 정상 쥐와 알도스테론-전구체 유도 고혈압 쥐의 혈관 생리적 식염수-유도 정지장력에 이르는 이완시간과 수축양상에 차이가 있다.
3. 정상 쥐와 알도스테론-전구체 유도 고혈압 쥐의 단일 혈관평활근세포에서 나타나는 안정상태의 전압-의존성 K^+ 전류에 차이가 있다.
4. 1 Hz의 주파가 일정하게 통전되는 은침점전기자극이 노 알도스테론을 유의하게 감소시켰다.

따라서 극히 부분적 결과이나 은침점전기자극이 알도스테론 조절에 효과가 있는 것으로 사료된다.

참고문헌

- 민경옥과 이태용. SSP요법. 현문사. 1995.
- 서미경. 한국 노인의 만성질환 상태 및 보건 의료대책. 한국노년학, 제15권 1호, 28-39, 1995.
- 양갑삼. 침구학. 의성당. 1994.
- 정경희, 조애지, 오영희, 변재관, 변용찬, 문현상. 1998년도 전국 노인생활실태 및 복지욕구 조사, 한국보건사 회연구원, 1998.
- 천기영, 김입술, 최경규, 김종자, 김정순, 이상애, 김중환. 소금염-의존성 고혈압의 유해성과 고혈압-관련 교감 신경전달물질의 변동에 대한 물리적 자극의 효과 -노인종합복지회관 내 물리치료시설의 활용을 중심으로-. 한국노년학, 제24권 3호, p1-11. 2004.
- 천기영, 김중환, 김순희, 민경옥. Aldosterone 유도체-고혈압의 음성적 유해와 은침점 전기자극의 aldosterone 억제. 대한물리치료사학회지, 제10권 2호, p199-207. 2003.
- 김중환, 민경옥, 최영덕, 김순희, 천기영. 노르에피네프린-유도 생체조직의 반응특성과 저빈도 주파수 은침점 전기자극의 노르에피네프린 억제. 대한물리치료사학회지, 제12권 2호, p45-55. 2005.
- 천기영, 김중환, 민경옥, 김순희. 저빈도-주파수 은침점 전기자극의 인체적용이 17-Hydroxycorticosteroid의 변 동에 미치는 효과. 대한물리치료사학회지, 제12권 1호, p15-21. 2005.
- 통계청. 한국통계연감. 서울: 통계청. 2004.
- 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. 81, 1494-1497, 2000.
- Belmin J, Levy BI, and Michel JB. Changes in the renin-angiotensin-aldosterone axis in later life. Drugs Aging. 5(5), 391-400, 1994.
- Berecek KH, Stocker M, and Gross F. Changes in renal vascular reactivity at various stages of deoxycorticosterone hypertension in rats. Circ Res. 46, 619-624, 1980.
- 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. 8, 382-387, 1996.
- Dahl LK, Heine M, and Tassinari L. Effects of chronic excess salt ingestion: evidence that genetic factors play an important role in susceptibility to experimental hypertension. J Exp Med. 115, 1173-1190, 1963.
- De Champlain J, Krakoff L, and Axelrod J. Interrelationships of sodium intake, hypertension, and norepinephrine storage in the rat. Circ Res. 24(5), 75-92, 1969.
- Dworkin LD, Levin RI, Benstein JA, Parker M, Ullian ME, Kim Y, and Feiner HD. Effects of nifedipine and enalapril on glomerular injury in rats with deoxycorticosterone-salt hypertension. Am J Physiol. 259, F598-F604, 1990.
- Eiam-Ong S and Sabatini S. Age-related changes in renal function, membrane protein metabolism, and Na,K-ATPase activity and abundance in hypokalemic F344 x BNF(1) rats. Gerontology. 45(5), 254-264, 1999.
- Fletcher AE. Adverse treatment effects in the trial of the european working party on high blood pressure in the elderly. Am J Med. 90(3A),

- 42S-44S, 1991.
- Franco V and Oparil S. Salt sensitivity, a determinant of blood pressure, cardiovascular disease and survival. *J Am Coll Nutr.* 25(3 Suppl), 247S-55S, 2006.
- Gavras HP. Issues in hypertension: drug tolerability and special populations. *Am J Hypertens.* 14(7 Pt 2). 231S-236S, 2001.
- Guyton AC and Hall JE. *Textbook of medical physiology.* 9th ed. W.B. Saunders Co., 1996.
- 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.* 391, 85-100, 1981.
- Harper AA, Davis JP, and Chipperfield AR. Activation of two inward chloride transport systems in rat femoral arterial smooth muscle in deoxycorticosterone acetate/salt hypertension. *Clin Sci.* 93(4), 295-298, 1997.
- Hoffmann P and Thor 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.* 127, 119-126, 1986.
- Hollenberg NK and Sandor T. Vasomotion of renal blood flow in essential hypertension. Oscillations in xenon transit. *Hypertension.* 6(4), 579-585, 1984.
- Jiang W, Yang JH, Pan CS, Qi YF, Pang YZ, and Tang CS. Effects of adrenomedullin on cell proliferation in rat adventitia induced by aldosterone. *J Hypertens.* 22(10), 1953-1961, 2004.
- Kim A, Bae YM, Kim J, Kim B, Ho WK, Earm YE, and Cho SI. Direct block by bisindolylmaleimide of the voltage-dependent K⁺ currents of rat mesenteric arterial smooth muscle. *Eur J Pharmacol.* 483(2-3), 117-126, 2004a.
- Kim B, Kim J, Bae YM, Cho SI, Kwon SC, Jung JY, Park JC, and Ahn HY. p38 mitogen-activated protein kinase contributes to the diminished aortic contraction by endothelin-1 in DOCA-salt hypertensive rats. *Hypertension.* 43(5), 1086-1091, 2004b.
- Kim B, Kim YS, Ahn J, Kim J, Cho S, Won KJ, Ozaki H, Karaki H, and Lee SM. Conventional-type protein kinase C contributes to phorbol ester-induced inhibition of rat myometrial tension. *Br J. Pharmacol.* 139(2), 408-414, 2003.
- Kim J, Lee CK, Park HJ, Kim HJ, So HH, Lee KS, Lee HM, Roh HY, Choi WS, Park TK, and Kim B. Epidermal Growth Factor Induces Vasoconstriction Through the Phosphatidylinositol 3-Kinase-Mediated Mitogen-Activated Protein Kinase Pathway in Hypertensive Rats. *J Pharmacol Sci.* 2006. [Epub ahead of print]
- Kim J, Lee YR, Lee CH, Choi WH, Lee CK, Kim J, Bae YM, Cho S, and Kim B. Mitogen-activated protein kinase contributes to elevated basal tone in aortic smooth muscle from hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.* 514(2-3), 209-215, 2005.
- Kim S, Murakami T, Izumi Y, Yano M, Miura K, Yamanaka S, and Iwao H. Extracellular signal-regulated kinase and c-Jun NH2-terminal kinase activities are continuously and differentially increased in aorta of hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 236(1), 199-204, 1997.

- Lamb FS and Webb RC. Regenerative electrical activity and arterial contraction in hypertensive rats. *Hypertension*. 13(1), 70-76, 1989.
- 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*. XXII(3-4), 215-219, 1994.
- 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*. XXXV(1), 21-26, 1997.
- Lee YR, Lee CK, Park HJ, Kim H, Kim J, Kim J, Lee KS, Lee YL, Min KO, and Kim B. c-Jun N-terminal kinase contributes to norepinephrine-induced contraction through phosphorylation of caldesmon in rat aortic smooth muscle. *J Pharmacol Sci*. 100(2), 119-125, 2006.
- Li JS, Sventek P, and Schiffrin EL. Effect of antihypertensive treatment and N^ω-nitro-L-arginine methyl ester on cardiovascular structure in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *J Hypertension*. 14(11), 1331-1339, 1996.
- Mannheimer C, Emanuelsson H, and Waagstein F. The effect of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) on catecholamine metabolism during pacing-induced angina pectoris and the influence of naloxone. *Pain*. 41(1), 27-34, 1990.
- Markos F, Healy V, and Harvey BJ. Aldosterone rapidly activates Na⁺/H⁺ exchange in M-1 cortical collecting duct cells via a PKC-MAPK pathway. *Nephron Physiol*. 99(1), 1-9, 2005.
- Martens JR and Gelband CH. Alterations in rat interlobar artery membrane potential and K⁺ channels in genetic and nongenetic hypertension. *Circ Res*. 79(2), 295-301, 1996.
- Muthalif MM, Benter IF, Khandekar Z, Gaber L, Estes A, Malik S, Parmentier JH, Manne V, and Malik KU. Contribution of Ras GTPase/MAP kinase and cytochrome P450 metabolites to deoxycorticosterone-salt-induced hypertension. *Hypertension*. 35(1 Pt 2), 457-463, 2000.
- Osada K, Komai M, Bryant BP, Suzuki H, Tsunoda K, and Furukawa Y. Age related decreases in neural sensitivity to NaCl in SHR-SP. *J Vet Med Sci*. 65(3), 313-317, 2003.
- Plato CF, Pollock DM, and Garvin JL. Endothelin inhibits thick ascending limb chloride flux via ET(B) receptor-mediated NO release. *Am J Physiol Renal Physiol*. 279(2), F326-F333, 2000.
- Rolls BJ. Do chemosensory changes influence food intake in the elderly? *Physiol Behav*. 66(2), 193-197, 1999.
- Schiffrin EL. Endothelin and endothelin antagonists in hypertension. *J Hypertens*. 16(12Pt 2), 1891-1895, 1998.
- Soltis EE and Field FP. Extracellular calcium and altered vascular responsiveness in the deoxycorticosterone acetate-salt rat. *Hypertension*. 8, 526-532, 1986.
- Stewart PM. Mineralocorticoid hypertension. *Lancet*. 353(17), 1341-1347, 1999.
- 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 temporomandibular joint dysfunction. *Acupunct Electrother Res*. 20(1), 7-13, 1995.

- Tostes RC, Touyz RM, He G, Ammarguellat F, and Schiffrin EL. Endothelin A receptor blockade decreases expression of growth factors and collagen and improves matrix metalloproteinase-2 activity in kidneys from stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol.* 39(6), 892-900, 2002.
- Watts SW. The development of enhanced arterial serotonergic hyperresponsiveness in mineralocorticoid hypertension. *J Hypertens.* 16, 811-822, 1998.
- Watts W and Webb RC. Vascular gap junctional communication is increased in mineralocorticoid-salt hypertension. *Hypertension.* 28, 888-893, 1996.
- Worsfold M, Davie MW, and Haddaway MJ. Age-related changes in body composition, hydroxyproline, and creatinine excretion in normal women. *Calcif Tissue Int.* 64(1), 40-44, 1999.