

원저

## 태계(KI<sub>3</sub>) 전침의 항산화 효과에 대한 실험적 연구

김성래 · 홍권의 · 김영일

대전대학교 한의과대학 침구학교실

### Abstract

## The Study on the Effect of Electroacupuncture at Taegye(KI<sub>3</sub>) on Anti-oxidation

Kim Sung-lae, Hong Kwon-eui and Kim Young-il

Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University

*Objectives* : The purpose of this study is to observe the anti-oxidative effects of electroacupuncture at Taegye(KI<sub>3</sub>) in rats.

*Methods* : The methods are measures of experimental items including change of body weight, relative liver weight, level of albumin, total bilirubin, LDL-cholesterol, LDH, GOT and GPT in blood serum, level of SOD, GSH, catalase, NO and MDA concentration in liver, histological change of liver.

*Results* :

1. The KI<sub>3</sub>-EA group lost weight in the beginning, and gained it gradually.
2. The liver ratio of the KI<sub>3</sub>-EA group increased compared to the holder group, without any statistical significance.
3. The SOD activity, Glutathione concentration, and Catalase concentration increased, and the NO concentration and MDA concentration decreased in the KI<sub>3</sub>-EA group significantly, compared to the holder group.
4. KI<sub>3</sub>-EA group had more similar density to the normal group, than the holder group.

*Conclusion* : The electroacupuncture application on KI<sub>3</sub> has anti-oxidation effect, by improving the body defence against the oxidation stress- induced cytotoxicity, and by supressing the oxidative liver damage.

· 접수 : 2007년 5월 10일 · 수정 : 2007년 5월 10일 · 채택 : 2007년 5월 17일  
 · 교신저자 : 김영일, 대전광역시 서구 둔산동 1136번지 대전대학교 부속둔산한방병원 침구과  
 Tel. 042-470-9137 E-mail : roundy63@hanmail.net

Key words : Anti-oxidation, Taegye (KI<sub>3</sub>), Electroacupuncture

## I. 서론

인체의 산화 기전에 대한 연구는 호흡을 통해 섭취한 산소(O<sub>2</sub>)의 95% 이상은 세포의 산화-환원 대사 과정에서 전자(e<sup>-</sup>)와 결합하여 물(H<sub>2</sub>O)로 환원되지만, 2-3%의 일부 산소(O<sub>2</sub>)는 불완전 환원되어 전자(e<sup>-</sup>)를 흡수하려는 산화 과정에서 세포의 파괴 작용을 초래한다는 이론이 지배적이다<sup>1)</sup>. 자유유리기(free radical)는 산소와 결합한 것이 세포 파괴에 많은 영향을 주며<sup>2)</sup>, 이것을 활성산소(active oxygen)라고 하는데 인체 내에서 직접 생성되는 활성산소는 O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH<sup>-</sup> 등이 있고, 이러한 활성산소(active oxygen)와 과산화지질의 증가로 세포가 점차 쇠퇴하여 세포 손상 및 세포 노화가 진행된다고 할 수 있다<sup>3)</sup>.

여기에 SOD(superoxide dismutase), Glutathione과 Catalase와 같이 세포의 항산화 효과를 갖는 화합물<sup>4)</sup>은 활성산소(active oxygen)의 형성을 억제하거나, 혹은 직접 제거하여 세포의 항산화기전을 강화시키는 작용을 하며 세포 손상 방지 및 세포 노화 지연에 관여할 수 있는 인자이다<sup>5,6)</sup>.

항산화 관련된 한의학적 연구로는 정<sup>7)</sup>과 최<sup>8)</sup>, 김<sup>9)</sup>, 양<sup>10)</sup>, 우<sup>11)</sup>, 허<sup>12)</sup>의 처방에 대한 연구와 김<sup>13)</sup>, 문<sup>14)</sup>, 신<sup>15)</sup>, 이<sup>16)</sup> 등의 약침에 대한 연구가 보고되었으나, 태계(KI<sub>3</sub>)의 전침 자극에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 흰 쥐에 AAPH로 산화적 스트레스를 유발하고, 滋腎陰, 退虛熱, 壯元陽, 剛健腰膝의 효능<sup>17)</sup>이 있는 태계(KI<sub>3</sub>)에 저주파 전침 자극을 가한 후, 간 조직에서의 항산화 효과를 갖는 효소를 검사한 결과 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

### 1. 재료

### 1) 동물

실험동물은 (주)대한 바이오 링크(Korea)로부터 공급받은 웅성의 6주령 Sprague-Dawley Rat(180±10g) (이하 SD Rat)을 1주일 동안 일정한 조건의 실험실 환경(온도 22±2℃, 습도 50%, 명암 12시간 light/dark cycle)에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

### 2) 시약

#### (1) 시약

시약명	제조사	제조국
SOD assay kit		
Glutathione kit	Dojondo	Japan
Catalase kit		
Lipid peroxidation assay kit	Oxford	U.S.A
Nitric Oxide assay kit		

## 2. 방법

### 1) 실험군 설정

각 실험군은 8마리씩 하였다.

① Normal군 : normal SD rat군

② Control군 : 1주간 매일 AAPH(50mg/kg)를 복강투여한 군

③ Holder군 : 1주간 매일 AAPH(50mg/kg)를 복강투여하고 주 3회 15분간 아크릴 홀더에 구속한 군

④ Sham EA군 : 1주간 매일 AAPH (50mg/kg)를 복강투여하고 주 3회 아크릴 홀더에 넣은 상태에서 좌측 둔부에 15분간 전침자극한 군

⑤ KI<sub>3</sub>-NR군 : 1주간 매일 AAPH(50mg/kg) 복강투여하고 주 3회 아크릴 홀더에 넣은 상태에서 왼쪽 태계(KI<sub>3</sub>)에 자침 후 15분간 유침한 군

⑥ KI<sub>3</sub>-EA군 : 1주간 매일 AAPH(50mg/kg) 복강투여하고 주 3회 아크릴 홀더에 넣은 상태에서 왼쪽 태계(KI<sub>3</sub>)에 자침 후 15분간 전침자극한 군

## 2) AAPH에 의한 산화적 스트레스 유발

정상군을 제외한 모든 군의 실험동물에게 AAPH를 매일 오전에 50mg/kg씩 1주일간 복강에 투여하여, 산화적 스트레스를 유발하였으며, 각 군에 맞게 전침처치를 실시하였다.

## 3) 취혈 및 전침 처치

길이 20cm, 지름 5cm의 원통형 아크릴 홀더를 제작하여 4개의 구멍을 뚫어 실험동물의 사지를 노출하여 자침 및 전침을 시행할 수 있도록 하였다. 실험동물을 특수제작한 아크릴 홀더에 넣고 멸균된 stainless steel 호침(0.25×30mm, Dong Bang Acupuncture Co. Korea)으로 골도 분촌법에 준하여 인체의 태계(KI<sub>3</sub>)에 상응하는 부위를 실험동물의 좌측 전지에 취하여 약 2~3mm 깊이로 자침한 후 전침 자극기(PG-6, Ito Co., Japan)를 사용하여 2Hz의 저빈도에서 근육의 수축이 육안으로 확인되는 정도의 강도로 전압을 조절하여 15분간 자극하였다. 전침자극은 AAPH 투여 기간 동안 격일로 오후에 시행하였다. 전침 자극군은 0.5×1cm<sup>2</sup>의 패드를 좌측 해계(ST<sub>41</sub>) 상응 부위에 부착한 후, 저주파 치료기(PG-6, Suzuki iryoki, Japan)의 한쪽 극을 자입된 침의 끝에 연결하고 다른 한쪽 극을 패드에 연결하여 2Hz의 저빈도에서 근육의 수축이 육안으로 확인되는 정도로 전압을 조절하여 15분간 자극을 가하였다. 임의 혈 대조군은 좌측 둔부에 같은 방법으로 전침자극을 가하였고, 태계 자침군은 좌측 태계에 자침 후 전침 자극을 가하지 않고 15분간 유침하였다.

## 4) 항산화 효과 측정

### (1) 체중 및 간 비중 측정

실험 기간 동안, 매일 실험동물의 체중을 측정하여, 산화적 스트레스로 인한 체중의 변화를 확인하였으며, 실험 종료 시의 체중에 대한 간 무게의 비율을 계산하여 전체 몸에서 차지하는 간의 비중을 확인 하였다.

### (2) 혈액학적 분석

실험 종료 후, ethyl ether를 이용하여 rat를 마취하고 심장 채혈법으로 채취하였다. 채혈한 혈액으로 (주)이원 임상검사센터(Daejeon, Korea)에 의뢰하여 혈중 LDL Cholesterol, total bilirubin, albumin,

glucose, GOT, GPT를 측정하였다.

### (3) 간에서의 항산화 효과 측정

#### ① 간 조직의 적출 및 분획

생리 식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 간과 비장 조직의 일부를 적출하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal 등<sup>18)</sup>의 방법에 의해 간 조직 1g에 4배의 150mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화 하였다. 균질화한 조직을 600×g에서 10분간 원심분리하여 균질화 되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리 하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 원심분리하여 cytosolic fraction을 얻고, 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하고 현탁 시켜 microsomal fraction을 얻었다. microsomal fraction은 glutathione의 함량과 MDA의 함량을 측정하였고 cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과와 NO 함량을 측정하였다. Mitochondrial fraction에서 catalase의 활성 측정하였다.

#### ② SOD activity

SOD 활성도는 SOD assay kit(Dojindo, Japan)을 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정 후 SOD 활성도를 계산하였다.

#### ③ Glutathione

조직내 Glutathione함량은 kit(Dojindo, Japan)를 이용하여 405nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

#### ④ NO assay

조직 내 NO함량은 kit(Oxford, USA)을 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

#### ⑤ Lipid peroxidation

Lipid peroxidation assay kit(Oxford Biomedical Research, USA)을 이용하여 측정하였고 586nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA를 계산하였다.

#### ⑥ Catalase

Catalase assay kit(Oxford Biomedical Research, USA)를 이용하여 측정하였으며, 520nm에서 흡광

도를 측정하여 계산하였다.

### 5) 조직학적 분석

실험 종료 후, 간 조직을 취하여 cryotome을 이용 절편한 후, Hematoxylin and eosin염색을 하고, 100 또는 400 배율로 현미경에서 관찰을 하였으며, 사진 촬영을 실시하였다.

### 6) 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대하여 ANOVA multi t-test(JAVA, Bonferroni Ver II)로 분석하여 p값 구했다. 각 실험군을 비교하여  $p < 0.05$ 일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

에서는 체중이 증가하다가 감소하였다. KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 처음에는 체중이 감소하다가 점차 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 1).

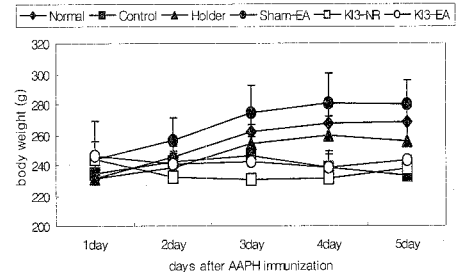


Fig. 1. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on body weight of oxidized rats

Values represent mean  $\pm$  SEM(n=8).

## III. 성 적

### 1. 체중 변화

실험 종료시점에서 normal군과 holder군, sham-EA군에서 꾸준한 체중의 증가를 나타내었고, control군

### 2. 간 비중 측정

Control군에 비하여 holder군, sham-EA군, KI<sub>3</sub>-EA군에서 유의성 있게 감소하였으며, KI<sub>3</sub>-NR군에서는 holder군과 sham-EA군에 비해 유의성 있게 증가하였다. KI<sub>3</sub>-EA군은 holder군에 비하여 증가하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 2).

Table 1. Effect of the EA at KI<sub>3</sub> on Blood chemistry of oxidized rat

Parameter	Normal	Control	Holder	Sham-EA	KI <sub>3</sub> -NR	KI <sub>3</sub> -EA
Albumin (g/dl)	2.72 $\pm 0.156$	2.538 $\pm 0.153$	2.628 $\pm 0.064$	2.557 $\pm 0.015$	2.608 $\pm 0.052$	2.646 $\pm 0.128$
Total bilirubin (mg/dl)	0.455 $\pm 0.107$	0.298 $\pm 0.091$	0.327 $\pm 0.1$	0.26 $\pm 0.075$	0.312 $\pm 0.162$	0.448 $\pm 0.17$
LDL-cholesterol (mg/dl)	11.2 $\pm 2.168$	31.5 $\pm 1.291$	29.75 $\pm 2.062$	30.667 $\pm 2.517$	10.6 $\pm 2.408$	18.4 $\pm 2.302$
LDH(IU/l)	2771 $\pm 266.806$	2556.25 $\pm 240.336$	2274.5 $\pm 372.305$	2142 $\pm 256.351$	2543.2 $\pm 281.236$	1948.8 $\pm 214.039$
Glucose (mg/dl)	132.8 $\pm 25.869$	157.75 $\pm 37.642$	201.25 $\pm 10.626$	54.667 $\pm 11.504$	119.8 $\pm 42.282$	78.2 $\pm 48.936$
GOT(IU/l)	250.25 $\pm 31.7$	297.5 $\pm 128.969$	366.25 $\pm 133.615$	238.333 $\pm 48.346$	249.4 $\pm 43.489$	287 $\pm 83.502$
GPT(IU/l)	44.75 $\pm 5.56$	65.75 $\pm 24.254$	54.5 $\pm 15.286$	49.667 $\pm 4.619$	45.6 $\pm 12.896$	57.2 $\pm 14.822$

Values represent mean  $\pm$  SEM(n=5).

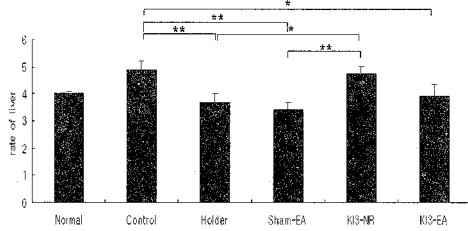


Fig. 2. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on liver index of oxidized rats  
Values represent mean ± SEM(n=8).  
\*\*\*: P<0.001, \*\*: P<0.01, \*: P<0.05 by ANOVA test.

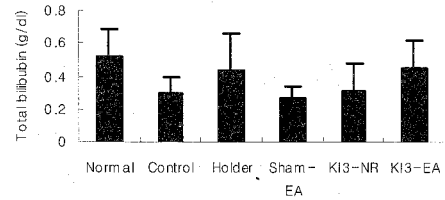


Fig. 4. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on total bilirubin level in oxidized rat serum  
Values represent mean ± SEM(n=5).

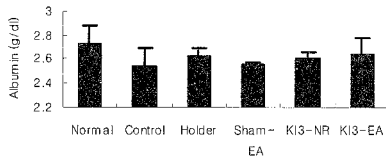


Fig. 3. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on albumin level in oxidized rat serum  
Values represent mean ± SEM(n=5).  
\*\*\*: P<0.001, \*\*: P<0.01, \*: P<0.05 by ANOVA test.

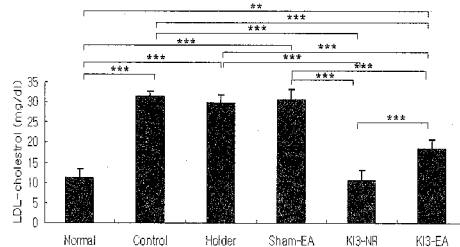


Fig. 5. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on LDL-cholesterol in oxidized rat serum  
Values represent mean ± SEM(n=5).  
\*\*\*: P<0.001, \*\*: P<0.01, \*: P<0.05 by ANOVA test.

### 3. 혈액학적 분석

각 실험군의 혈청으로부터 혈청 단백질인 albumin, total bilirubin, LDL-cholesterol, LDH, glucose, GOT 및 GPT의 농도를 측정하였다(Table 1).

#### 1) Albumin

Normal군에 비해 control군과 holder군, sham-EA군에서 감소하였으나 유의성은 없었으며, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군과 holder군, sham-EA군에 비해 증가하였으나 유의성은 없었다(Table 1, Fig. 3).

#### 2) Total bilirubin

Normal군에 비해 control군과 holder군, sham-EA군에서 감소하였으나 유의성은 없었으며, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군과 sham-EA군에 비해 증가하였으나 유의성은

없었다(Table 1, Fig. 4).

#### 3) LDL cholesterol

Normal군에 비하여 control군과 holder군, sham-EA군, KI<sub>3</sub>-EA군에서 유의하게 증가하였으며, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군과 holder군, sham-EA군에 비하여 유의하게 감소하였고, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 KI<sub>3</sub>-NR군에 비해 유의하게 증가하였다(Table 1, Fig. 5).

#### 4) LDH

Control군과 holder군 및 sham-EA군, KI<sub>3</sub>-NR군에서는 normal군에 비해 LDH가 감소하였지만 유의성은 없었고, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 normal군과 KI<sub>3</sub>-NR군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Table 1, Fig. 6).

#### 5) Glucose

Normal군에 대하여 holder군은 증가하였으나 유의

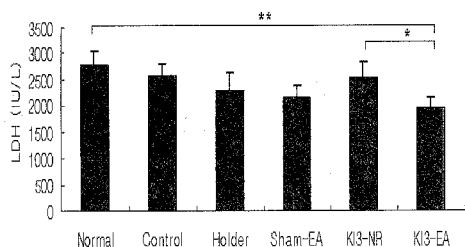


Fig. 6. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on LDH level in oxidized rat serum  
Values represent mean ± SEM(n=5).

성은 없었고, sham-EA군은 유의성 있는 감소가 나타났다. Holder군에 비하여 KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서 유의성 있는 감소를 나타냈다(Table 1, Fig. 7).

#### 6) GOT

Normal군에 비해 control군과 holder군에서 증가하였으나 유의성은 없었고, sham-EA군, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 holder군에 비해 GOT 농도가 감소하였으나 유의성은 없었다(Table 1, Fig. 8).

#### 7) GPT

Normal군에 비해 control군과 holder군, sham-EA군에서 증가하였으나 유의성은 없었다. KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군의 GPT 농도는 normal군에 비해서 증가하였으나 유의성이 없었고, control군에 비해서 감소하였으나 유의성이 없었다(Table 1, Fig. 9).

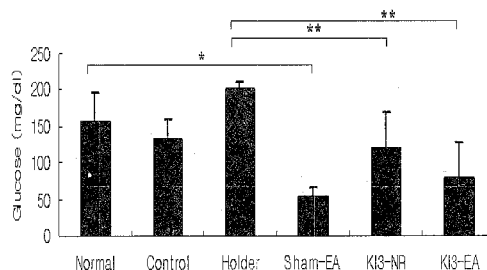


Fig. 7. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on glucose level in oxidized rat serum  
Values represent mean ± SEM(n=5).  
\*\*\*: P<0.001, \*\*: P<0.01, \*: P<0.05 by ANOVA test.

### 4. 간에서의 항산화 효과

분획한 간 조직으로부터 SOD activity, glutathione 농도, catalase activity 및 NO 농도, MDA 농도를 측정하였다(Table 2).

#### 1) SOD activity

Normal군에 비해 control군, holder군, KI<sub>3</sub>-NR군에서 유의성 있게 감소하였고, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군과 holder군에 비해 증가하였으나 유의성은 없었다(Table 2, Fig. 10).

#### 2) Glutathione

Normal군에 비해서 control군 및 holder군에서는 유의성 있게 감소하였으며, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군 및 holder군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Table 2, Fig. 11).

Table 2. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on concentration of various oxidants and antioxidants in oxidized rat liver

Parameter	Normal	Control	Holder	Sham-EA	KI <sub>3</sub> -NR	KI <sub>3</sub> -EA
SOD activity(%)	62.369 ±2.741	33.276 ±1.154	35.779 ±7.353	48.432 ±15.942	29.961 ±7.452	50.055 ±7.104
GSH conc. (umol/l)	96.28 ±1.969	47.8±8.73	54.25 ±5.895	73.11 ±4.782	97.66 ±8.419	98.723 ±16.917
NO conc. (umol/l)	16.01 ±0.91	46.83 ±15.86	62.01 ±13.01	32.37 ±1.54	30.83 ±2.4	31.783 ±5.481
MDA conc. (umol/ml)	0.357 ±0.015	0.547 ±0.092	0.467 ±0.122	0.347 ±0.012	0.363 ±0.015	0.35 ±0.01
Catalase conc.(U/mg)	167.773 ±0.155	126.38 ±0.426	152.25 ±0.426	162.78 ±0.087	167.267 ±0.087	167.317 ±0.155

Values represent mean ± SEM(n=3).

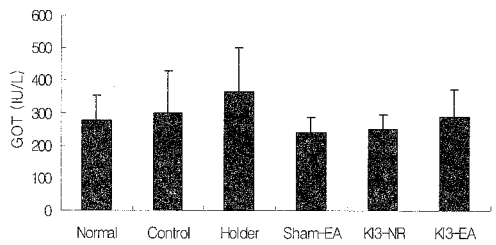


Fig. 8. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on GOT in serum of oxidized rat  
Values represent mean ± SEM(n=5).  
\*\*: P<0.01, \*: P<0.05 by ANOVA test.

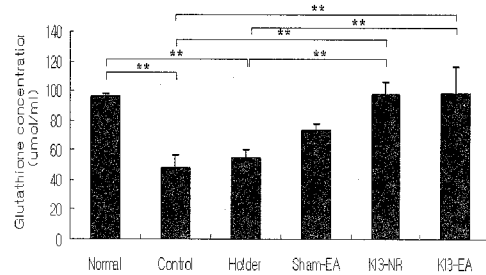


Fig. 11. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on glutathione level in oxidized rat liver  
Values represent mean ± SEM(n=3).

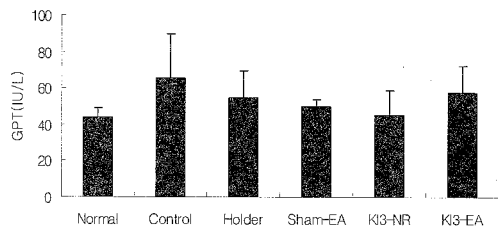


Fig. 9. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on GPT in serum of oxidized rat  
Values represent mean ± SEM(n=5).  
\*\*: P<0.01 by ANOVA test.

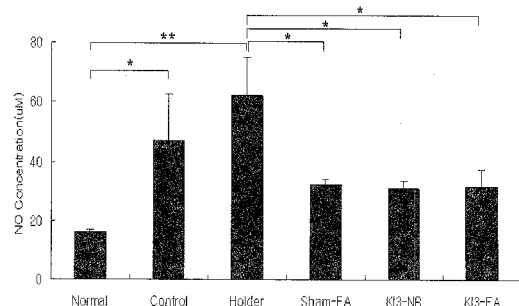


Fig. 12. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on NO concentration in oxidized rat liver  
Values represent mean ± SEM(n=3).  
\*\*: P<0.01 by ANOVA test.

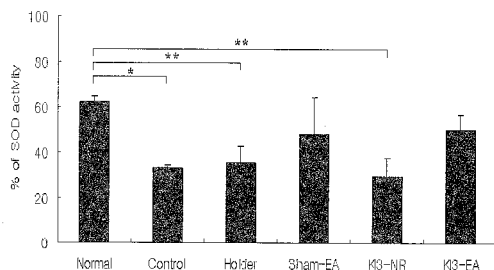


Fig. 10. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on SOD activity in oxidized rat liver  
Values represent mean ± SEM(n=3).  
\*\*: P<0.01, \*: P<0.05 by ANOVA test.

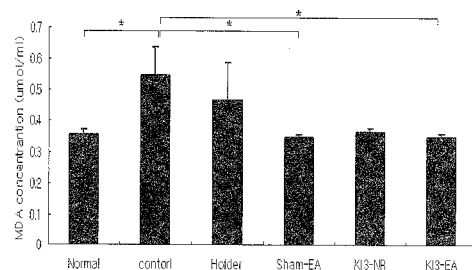


Fig. 13. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on MDA concentration in oxidized rat liver  
Values represent mean ± SEM(n=3).  
\*\*: P<0.01, \*: P<0.05 by ANOVA test.

### 3) Nitric oxide concentration

Normal군에 비하여 control군과 holder군에서 NO concentration이 유의성 있게 증가하였고, sham-EA군과 KI<sub>3</sub>-NR군, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 holder군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Table 2, Fig. 12).

### 4) MDA concentration

Normal군에 비하여 control군에서 유의성 있게 증가하였다. Holder군과 sham-EA군, KI<sub>3</sub>-NR군, KI<sub>3</sub>-EA군에서 control군보다 감소하였으나, sham-EA군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서만 유의성이 있었다(Table 2, Fig. 13).

## IV. 고찰

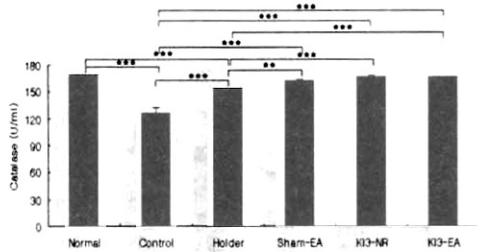


Fig. 14. Effect of EA at KI<sub>3</sub> on catalase activity in oxidized rat liver  
Values represent mean  $\pm$  SEM(n=3).  
\*\*\*: P<0.001, \*\*: P<0.01.  
\*: P<0.05 by ANOVA test.

### 5) Catalase activity

Normal군에 비하여 control군과 holder군에서 유의 있게 감소하였고, control군과 holder군에 비하여 sham-EA군과 KI<sub>3</sub>-NR군, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 유의성 있게 증가하였다(Table 2, Fig. 14).

### 5. 조직학적 분석

간 조직에서의 변화를 확인하기 위하여 간 조직을 적출하여 조직의 구조를 관찰하기 위한 염색법인 H&E 염색법으로 살펴본 결과, Normal군(A)에 비해 Control군(B)의 간 조직의 세포내 세포질의 조밀도가 떨어진 것을 확인하였으며, 세포의 크기가 증가 된 것을 확인 할 수 있었다. KI<sub>3</sub>-NR군(E)과 KI<sub>3</sub>-EA군(F)에서는 세포질의 조밀도는 Normal군과 유사하였다(Fig. 15).

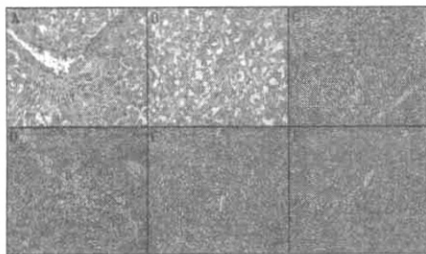


Fig. 15. Histological analysis of oxidized rat liver tissue  
A: Normal( $\times 400$ ), B: Control( $\times 400$ ).  
C: Holder( $\times 100$ ), D: Sham-EA( $\times 100$ ).  
E: KI<sub>3</sub>-NR( $\times 100$ ), F: KI<sub>3</sub>-EA( $\times 100$ ).

인체는 산화 촉진물(pro-oxidants)과 산화 억제물질(antioxidants)들이 균형을 이루고 있다<sup>19)</sup>. 신체 활동이 정상일 때에는 이런 활성산소를 제거하는 기능이 효과적으로 작용하고 있으나, 균형이 깨져 산화 촉진 쪽으로 기울게 되면 세포에 해로운 영향을 끼치게 되는데, 이러한 유해한 작용을 산화적 스트레스(oxidative stress)라고 한다<sup>20)</sup>.

자유유리기 이론(free radical theory)은 산소에서 변환된 자유유리기(free radical)에 의해 산화적 스트레스(oxidative stress)가 증가하고, 세포내 산화적 손상이 축적되어 질병과 죽음을 초래한다는 이론이다<sup>21)</sup>. 이 이론에 의하면 인체에 흡입된 산소의 일부가 대사과정에서 불완전 환원되어 자유유리기인 활성산소(active oxygen)로 변환되고, 활성산소(active oxygen)가 세포막을 형성하는 주성분인 지질의 과산화 반응을 일으켜 세포막의 파괴, 세포의 노화와 괴사 등을 진행시켜서<sup>22)</sup>, 각종 암, 노화촉진, 스트레스성 호르몬이나 면역물질(cytokine)의 활성도 감소 등을 유발한다는 보고가 있으며, 질병의 90%가 활성산소에 의해 발생된다고 한다<sup>23)</sup>.

세포의 산화방지 효과를 가지는 화합물은 자유유리기(free radical)의 형성을 억제, 혹은 직접 제거하거나, 세포의 항산화기전을 강화시키는 작용을 할 수 있다<sup>24)</sup>. 이러한 항산화제는 산소유리기에 의한 지질의 과산화과정에서 지질의 자유기 생성을 억제하거나 혹은 자유기 형태의 지질을 보다 안정한 형태의 생성물로 변환시킴으로써 지질의 연속적인 산화를 방지한다<sup>6)</sup>.

항산화제인 SOD(Superoxide Dismutase), catalase, glutathione peroxidase, protein bound-SH, nonprotein-SH 등은 활성산소의 발생을 억제하는 기전과 생성된 활성산소들을 제거하는 기전이 있다<sup>24)</sup>. 이는 SOD, catalase, glutathione peroxidase, protein bound-SH, nonprotein-SH 등이 노화의 지연에 관여될 수 있으며, 노화의 주원인인 산화적 스트레스(oxidative stress)로부터 인체를 방어할 수 있다고 할 수 있다.

AAPH는 수용성의 azo화합물로서 산소분자와 반응하여 열성 분해과정을 거쳐 탄소 자유기(carbon radical)는 과산화 자유기(peroxyl radical)을 생성한



다<sup>25,26</sup>). 이들은 순환 혈액과의 직접적인 접촉에 의해 혈액에 있는 고분자 또는 세포의 원형질막과 반응할 수 있어서 혈구 및 모세혈관에 직접적인 손상을 준다. 이러한 과정을 거쳐 다양한 생물학적 분자와 물리화학적 변질을 유발하여 생체막의 구조를 해체시킨다<sup>27</sup>).

실험결과 체중은 normal군과 holder군, sham-EA군에서는 꾸준한 증가를 나타내었고, control군에서는 체중이 증가하다가 감소하였다. KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 초반에는 체중이 감소하다가 점차적으로 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 1).

간 비중은 control군에 비하여 holder군, sham-EA군, KI<sub>3</sub>-EA군에서 유의성 있게 감소하였으며, KI<sub>3</sub>-NR군에서는 holder군과 sham-EA군에 비해 유의성 있게 증가하였다. KI<sub>3</sub>-EA군은 holder군에 비하여 증가하였으나, 통계적 유의성은 없었다(Fig. 2).

Albumin 농도는 normal군에 비해 control군과 holder군, sham-EA군에서 감소하였으나 유의성은 없었으며, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군과 holder군, sham-EA군에 비해 증가하였으나 유의성은 없었다(Table 1, Fig. 3).

Total bilirubin 농도의 변화는 normal군에 비해 control군과 holder군, sham-EA군에서 감소하였으나 유의성은 없었으며, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군과 sham-EA군에 비해 증가하였으나 유의성은 없었다(Table 1, Fig. 4).

LDL cholesterol 생성변화는 normal군에 비하여 control군과 holder군, sham-EA군, KI<sub>3</sub>-EA군에서 유의하게 증가하였으며, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군과 holder군, sham-EA군에 비하여 유의하게 감소하였으며, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 KI<sub>3</sub>-NR군에 비해 유의하게 증가하였다(Table 1, Fig. 5). 이는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 동맥경화를 감소시켜 항산화 효과가 있는 것으로 사료되나, 유침 효과와 전침 효과에 대한 비교 연구가 추후 필요하리라 사료된다.

LDH는 장기손상의 비특이적 marker로서 손상장기에서 효소 유출을 검색하는 데에 유용하다<sup>28</sup>). Control군과 holder군 및 sham-EA군, KI<sub>3</sub>-NR군에서는 normal군에 비해 LDH가 감소하였지만 유의성은 없었고, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 normal군과 KI<sub>3</sub>-NR군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Table 1, Fig. 6). 이러한 결과는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 간 손상을 예방에 일정 부분 효과가 있는 것으로 사료된다.

Glucose의 함량은 normal군에 대하여 holder군은 증가하였으나 유의성은 없었고, sham-EA군은 유의

성 있는 감소가 나타났다. Holder군에 비하여 KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서 유의성 있는 감소를 나타냈다(Table 1, Fig. 7). 이는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 대사를 활성화하는 작용이 있는 것으로 사료된다.

혈중 간기능의 지표인<sup>28</sup>) GOT의 수치 변화는 normal군에 비해 control군과 holder군에서 증가하였으나 유의성은 없었고, sham-EA군, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 holder군에 비해 GOT 농도가 감소하였으나 유의성은 없었다(Table 1, Fig. 8).

GPT 농도는 normal군에 비해 control군과 holder군, sham-EA군에서 증가하였으나 유의성은 없었다. KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군의 GPT 농도는 normal군에 비해서 증가하였으나 유의성이 없었고, control군에 비해서 감소하였으나 유의성이 없었다(Table 1, Fig. 9).

GOT와 GPT 농도의 감소를 고려할 때, 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 간세포 손상에 일정한 영향을 주지만, 향후 이에 대한 검사가 필요하리라 사료된다.

SOD는 초과산화 이온(O<sub>2</sub>)을 조효소나 H<sup>+</sup>에 의해 안정된 산소나 물로 변환시키는 작용을 한다<sup>3,29</sup>). SOD activity를 측정된 결과, normal군에 비해 control군, holder군, KI<sub>3</sub>-NR군에서 유의성 있게 감소하였으며, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 holder군에 비해 증가하는 것을 확인하였으나 유의성은 없었다(Table 2, Fig. 10). 이는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 SOD의 증가에 영향을 주는 것으로 보이나, 향후 이에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Glutathione은 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 물(H<sub>2</sub>O)로 변환시켜 산화를 억제하는 작용을 한다<sup>3,29</sup>). Glutathione의 함량을 측정된 결과, normal군에 비해서 control군 및 holder군에서는 유의성 있게 감소하였으며, KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 control군 및 holder군에 비하여 유의하게 증가하였다(Table 2, Fig. 11). 이는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 자유유리기인 산소(O)를 제거함으로써 산화를 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

분획한 간 조직으로부터 산화물질인 NO concentration을 측정하였다. NO는 다양한 세포에서 발생되어 정상적인 세포 기능에 중요한 역할을 하는 자유기로 생체 방어와 활성 산소에 의한 유발된 조직 손상에 기여한다. 실험 결과 normal군에 비하여 control군과 holder군에서 NO concentration이 유의성 있게 증가하였고, sham-EA군과 KI<sub>3</sub>-NR군, KI<sub>3</sub>-EA군에서는 holder군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Table 2, Fig. 12). 이는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 NO를 감소시

킴으로써 항산화 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

산화물질인 MDA concentration을 측정된 결과, normal군에 비하여 control군에서 유의성 있게 증가하였다. Holder군과 sham-EA군, KI<sub>3</sub>-NR군, KI<sub>3</sub>-EA군에서 control군보다 감소하였으며, KI<sub>3</sub>-EA군에서 유의성이 있었다(Table 2, Fig. 13). 이는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 산화물질인 MDA를 감소시킴으로써 항산화에 영향을 주는 것으로 사료된다.

Catalase는 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 물(H<sub>2</sub>O)과 산소(O)로 분해시키는 작용을 하며, SOD와 협력관계를 통해 활성산소 제거의 속도를 조절한다<sup>3,29)</sup>. 항산화 효소인 catalase activity를 측정된 결과, normal군에 비하여 control군과 holder군에서 유의성 있게 감소하였고, control군과 holder군에 비하여 sham-EA군과 KI<sub>3</sub>-NR군, KI<sub>3</sub>-EA군에서 유의성 있게 증가하였다(Table 2, Fig. 14). 이는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 항산화제인 catalase를 증가시켜 산화를 억제하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

간 조직에서의 변화를 확인하기 위하여 간 조직을 적출하여 조직의 구조를 관찰하기 위한 염색법인 H&E 염색법으로 살펴본 결과, normal군에 비해 control군의 간 조직의 세포내 세포질의 조밀도가 떨어진 것을 확인하였으며, 세포의 크기가 증가된 것을 확인 할 수 있었다. KI<sub>3</sub>-NR군과 KI<sub>3</sub>-EA군에서는 세포질의 조밀도는 normal군과 유사하였다. 이는 태계(KI<sub>3</sub>) 전침 자극이 간 손상 억제에 어느 정도 관여하는 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하면 KI<sub>3</sub>-EA군은 다른 군에 비해서 유의성 있는 항산화 효과를 나타내었지만, sham-EA군에 비해서는 항산화 경향만 있었고 유의성은 없었다. 태계(KI<sub>3</sub>) 전침의 항산화 효과에 대한 향후 지속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

## V. 결 론

AAPH로 산화적 스트레스를 유발시킨 흰 쥐를 대상으로 태계(KI<sub>3</sub>) 전침이 항산화에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 체중은 KI<sub>3</sub>-EA군에서 초반에 감소하였으나, 점차적으로 증가하는 경향을 나타냈다.

2. 간 비중은 KI<sub>3</sub>-EA군에서 Holder군에 비해 증가하였으나, 통계적 유의성은 없었다.
3. SOD activity는 KI<sub>3</sub>-EA군에서 Holder군에 비해 증가하였으나, 통계적 유의성은 없었다.
4. Glutathione과 Catalase concentration은 KI<sub>3</sub>-EA군에서 Holder군에 비해 유의성 있게 증가하였다.
5. NO와 MDA concentration은 KI<sub>3</sub>-EA군에서 Holder군에 비해 유의성 있게 감소하였다

이상의 결과로부터, 태계(KI<sub>3</sub>) 전침은 산화적 스트레스로 인한 세포 독성에 대하여 생체 방어능력을 향상시키고, 산화적 간손상을 억제하여 항산화 효과를 발휘하는 것으로 사료된다.

## VI. 참고문헌

1. Allesio HM & Goldfab AH. Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise. Adaptive response to training. J Appl Physical. 1998 ; 46(4) : 1333-1336.
2. Jenkins RR. Free radical chemistry. Relationship to exercise. Sport med. 1988 ; 5 : 156-170.
3. Kim Hyun-Joon. The relationship of exercise-induced superoxide radicals and aging. 평생체육연구소논문집. 2000 ; 12 : 37-54.
4. McCord JM. and I Fridovich J. Biol. Chem. 244. 1996 : 6049.
5. Ames BN, Gold LS, Willet WC. The causes and prevention of cancer. Procd Natl Acad Sci. 1995 ; 92 : 5258-5265.
6. Kim Sung-II. Antioxidant effects of SR Aqua-acupuncture Extract Solution in vitro. The journal of Korean acupuncture & moxibustion society. 1999 ; 16(1) : 497-509.
7. 鄭智天. 左歸飲과 右歸飲에 의한 活性酸素類의 消去作用과 抗酸化 酵素系의 活性增加 效果에 대한 研究. 大韓韓醫學會誌. 1996 ; 17(1) : 21-36.
8. 崔樹德 主編. 中藥大全. 河北省 : 黑龍江科學技術出版社. 1989 : 551.

9. 金鳴. 活血化痰投與自由機損傷. 中草藥. 1993 ; 24(5) : 269.
10. 梁灣春. 腎虛, 衰老與自由機的關係以及補腎藥對自由機的影響. 中西醫結合雜誌. 1990 ; 10(8) : 51-512.
11. 禹大潤. 人工膜과 Rat의 肝細胞를 이용한 血府逐瘀湯의 抗酸化 作用에 관한 研究. 大韓韓醫學會誌. 1996 ; 17(1) : 465-477.
12. 許柿虎. 中醫藥研究中有關自由機研究近況. 中國中西醫結合雜誌. 1995 ; 15(3) : 185-187.
13. 김철홍. 시호약침액의 유리기 소거와 항산화 효과에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2003 ; 20(4) : 209-219.
14. 문진영. 당귀약침액의 항산화 효과에 관한 연구. 대한침구학회지. 1997 ; 14(1) : 383-396.
15. 신의변. 녹용약침 제제가 흰쥐 신장 조직의 항산화 작용에 미치는 영향. 한국한의학연구원논문집. 1996 ; 2(1) : 192-204.
16. 이종무. 택사약침의 항산화효과에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2003 ; 20(1) : 159-176.
17. 안영기. 경혈학총서. 서울 : 정보사. 2000 : 442.
18. Bansal VS, Hattori H, Orihel D, Kanfer N. Distribution of selected phospholipid modifying enzymes in rat brain microsomal subfractions prepared by density gradient zonal rotor centrifugation. NeurochemRes. 1985 ; 10(4) : 439-451.
19. 김주영. 흡연 여고생의 지질과산화물 및 항산화 관련효소 활성도와 무기질 영향상태 평가. 서울여자대학교 석사학위 논문. 1998.
20. Sies H. Oxidative stress, Oxidants and antioxidants Academic press. HB Jovanovich publishers. 1991.
21. Harman D. Free radical theory of aging. J Gerontol. 23. 1968 : 476-482.
22. 오유진. 활성산소가 질병의 원인이었다. 서울 : 이화문화출판사. 1997 : 57-67.
23. 이강평. 최대운동시 활성산소에 의한 잠재적 악영향 및 항산화제 투여효과. 한국체육학회지. 1993 ; 36(1) : 243-255.
24. McCord JM. and I. Fridovich, J. Biol. Chem. 244. 1966 : 6049.
25. Yamamoto Y. Oxidation of biological membranes and its inhibition : Free radical chain oxidation of erythrocyte ghost membranes by oxygen. Biochim. Biophys. Acta. 1985 ; 27-86.
26. Yamamoto Y. Oxidation of Lipids. Oxidation of phosphatidylcholines in homogeneous solution and in water dispersion. Biochim. Biophys. Acta. 1984 ; 795 : 332-340.
27. 우기민. 흰쥐에서 자유 radical 투여에 의해 유발된 간독성화의 생화학적 연구. 순천향의대논문집. 2004 ; 10(3) : 1725-1736.
28. 이귀녕. 임상병리파일. 제3판. 서울 : 의학문화사. 2003 : 125, 180, 182, 218, 334, 335, 345, 367, 373, 374, 399, 498, 955.
29. 여남희. Circuit weight training이 비만 여고생의 혈청 항산화 작용에 미치는 영향. 동아대학교 부속스포츠과학연구논문집. 2004 ; 22(12).