고혈압 혈관조직의 장력-연관 신호전달과 물리치료의 상관성

The Journal Korean Society of Physical Therapy

■김중환, 김일현[1], 황병용
■용인대학교 보건복지대학 물리치료학과, [1]용인대학교 재활보건과학대학원 석사과정

The Hypertensive Vascular Tension-related Signal Transduction and the Relationship of Physical Therapy

Jung-Hwan Kim, PT, PhD; Il-Hyun Kim[1], PT; Byong-Yong Hwang, PT, PhD

Department of Physical Therapy, College of Health & Welfare, Yongin University, [1]Department of Physical Therapy, the Graduate School of Rehabilitation and Health Science, Master Course, Yongin University

Purpose: Alterations in the structure and function of vascular smooth muscle cells (VSMCs) are important in cardiovascular disease and maintaining chronic hypertension. Chronic hypertension is associated with changes in vascular smooth muscle tone. The spontaneous or myogenic tone of a blood vessel reflects the ability to adapt smooth muscle tone to changes in transmural pressure. However, the intracellular signaling mechanisms involved in myogenic tone are not fully understood.

Methods: Here, we investigated the relationship between mitogen-activated protein kinases (MAPKs) and phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) in isometric contraction and enzymatic activity using muscle strips from rats made hypertensive with aldosterone-analogue deoxycorticosterone acetate (DOCA) salts.

Results: Changes in myogenic tone and intracellular Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$) were different after physiological salt solution (PSS) in normotensive and hypertensive rats. The myogenic tone and quiescent phosphorylation induced by the PSS treatment were inhibited by 10 μM PD098059, an extracellular-regulated protein kinase 1/2 (ERK1/2) inhibitor, and 10 μM wortmannin, an inhibitor of PI3K, in hypertensive rats.

Conclusion: The development of DOCA-induced hypertension is associated with altered isometric contractions and $[Ca^{2+}]_i$ via changes in activation of ERK1/2 and PI3K after DOCA-salt treatment. Therefore, ERK1/2 and PI3K activity affect hypertension and may be suitable targets for physical therapy in cardiovascular disease.

Key Words: Hypertension, Mitogen-activated protein kinase, Resting tension

논문접수일: 2008년 8월 25일
수정접수일: 2008년 10월 11일
게재승인일: 2008년 11월 7일
교신저자: 김중환 junghwankim3@yongin.ac.kr

Ⅰ. 서론

원발성 및 이차성 고혈압은 뇌졸중(stroke)을 비롯한 뇌혈관질환을 유발시키는 매우 중요한 위험인자 중 하나로써 여러 물리·화학적 자극이 원인으로 유발되는 혈관반응성의 변화와 그로 인한 안정장력(resting tension)의 증가, 혈관평활근세포의 유주(migration), 콜라겐의 증가 및 혈관리모델링의 형성 등과 매우 밀접한 상관성을 지니고 있다(Bund, 2001; Kim 등, 2004; Heeneman 등, 2007). 특히 혈관조직의 근 긴장성 변화와 기능적 변동은 특히 신경물리치료 영역에서 임상적으로 중요시하는 협심증(angina pectoris) 및 뇌출혈(encephalorrhagia) 등으로 유도되는 편마비환자의 발생과 밀접한 연관성이 존재하는 이유로 그 중요성이 대두되고 있다(황병용, 2007; Kim 등, 2004; Tofler와 Muller, 2006).

또한 고혈압 연관 혈관긴장도 증가 및 악화 등에 IP3-유도 Ca^{2+} 유리(IP3-induced Ca^{2+} release, IICR) 등과 같은 근형질세망(sarcoplasmic reticulum, SR)에서의 Ca^{2+} 유리와 세포 외 Ca^{2+} 유입(Ca^{2+} influx)으로 인한 세포 내 Ca^{2+} 증가가 중요한 역할을 한다는 것이 알려져 있다(Murphy와 Khalil, 2000; Smith 등, 2003). 그러나 대부분의 연구가 일차적 고혈압 모델동물(spontaneously hypertensive rat, SHR)에 의한 결과들이며, 알도스테론 유도체 DOCA (deoxycorticosterone acetate) 소금염 유도 이차성 고혈압 모델에 대한 세포 내 Ca^{2+} 변화의 결과는 매우 드물다. 특히 본 연구에 사용한 고혈압 모델은 하루 평균 13 g 이상의 소금염 섭취(WHO 권장량의 2.5~3배 섭취)와 스트레스로 유도되는 우리나라 사망원인 2위의 뇌혈관질환과 밀접한 연관성이 있어 적절한 연구모델 적용의 타당성이 있는 것으로 사료된다(보건복지부, 2005; 통계청 2004). 또한 레닌-안지오텐신-알도스테론 체계[RAS (renin-angiotensin-aldosterone) system]와 관련하여 단백질 인산화 부활효소 C(protein kinase C, PKC)와 타이로신 단백질 인산화 부활효소(protein tyrosine kinase, PTK), 이노시톨 인산화 부활효소(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), 저분자량 단량체 GTP 결합단백질(small G protein)인 Rho associated Protein Kinase(ROCK) 및 유사분열물질-활성단백질 부활효소(mitogen-activated protein kinases, MAPKs) 등이 고혈압-연관 혈관장력의 증가 유도와 악화 기전에 있어서 매우 중요한 요소라는 결과가 보고되고 있어 주목을 받고 있다(김중환, 2007; Fatehi-Hassanabad 등, 2004; Kim 등, 2004; Hilgers 등, 2007).

그러나 많은 연구결과에도 불구하고 고혈압 이환의 명확한 원인과 해결책을 얻지 못하고 있다. 더욱이 고혈압 및 그로 인해 야기될 수 있는 동맥경화, 혈전의 형성 및 뇌경색, 관상동맥질환 등에 대한 심혈관질환 전문물리치료 영역의 측면에서 접근한 보고는 전기침자극(electroacupuncture)과 경동맥동에 적용한 마사지(carotid sinus massage) 및 경피신경전기자극(transcutaneous electrical nerve stimulation)의 부분적 효과가 있었다는 몇몇 보고를 제외하고는 거의 이루어져 있지 않다(Kaada 등, 1991; McIntosh 등, 1994; Tjen-A-Looi 등, 2007). 따라서 본 연구자들은 알도스테론-유도체 DOCA-소금염 적용으로 유도되는 고혈압 연관 안정장력의 변동과 그 반응기전에 관여하는 MAPK 특히 ERK1/2(extracellular signal-regulated protein kinase 1과 2 혹은 p44MAPK & p42MAPK)과 PI3K의 상관성 및 물리치료 영역에서 운동치료를 비롯해 접근 가능한 내용 등을 살펴봄으로써 물리치료 연구의 기초자료로 활용하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 용량-의존성 고혈압 모델 쥐의 제조 및 혈압의 측정

체중 190~200 g, 웅성의 흰쥐 15마리를 본 실험에 사용하였다. 흰쥐를 1주일간 환경(22±2℃, 50±5%, 12시간 명암주기, 천우이엔씨)에 적응시킨 후 오른쪽 신장제거수술을 시행하였다. 고혈압군의 경우, 수술시행 후 1주일간 회복기간을 거쳐 알도스테론 유도체DOCA(deoxycorticosterone acetate) 200 mg/kg을 피하에 이식하고 봉합술을 실시하였다. 반면, 정상혈압군은 DOCA를 이식하지 않고 피부절개 수술을 실시하였다(Kim 등, 2004). 고혈압군에는 0.9% NaCl과 0.2% KCl 혼합음료와 함께 실험동물 전용사료(대한바이오링크)를 공급하였으며 정상혈압군에는 일반음료와 함께 사료를 무제한 공급하였다. 본 실험은 DOCA를 이식한 4주에 실시하였다(Kim 등, 2004). 수술 후 4주에 정상혈압군과 고혈압군의 모델동물에 마취를 실시한 후, 수술용 고정판에 위치시키고 전 경부를 절개하였다. 좌총경동맥을 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(Figure 1A). 혈압의 기록은 약 15분 정도의 혈압 안정상태를 유지시킨 후 나타나는 혈압을 측정하였다(Kim 등, 2004) (Figure 1A). 혈압 측정용 카테터 내에는 헤파린(heparin, 10 Unit/mℓ)이 처리된 0.9% NaCl을 넣어 혈액응고를 방지하였으며, 기록용 펜의 속도는 2.5 mm/sec를 유지하였다.

2. 세포 내 Ca^{2+} 농도의 측정

용량-의존성 고혈압 유·무에 대한 세포 내 Ca^{2+} 농도(이하 $[Ca^{2+}]_i$)의 변동은 Kim 등(1992)의 연구에서 사용한 동일한 방법으로 Ca^{2+}의 형광지시약인 fura-PE3를 이용하여 측정하였다. 실험진행은 수축 측정 시와 동일한 방법으로 작성된 흉대동맥 근육조직을 fura-PE3의 acetoxy-methyl ester(fura-PE3/ AM, 5μ M)로 실온에서 5~6시간 혹은 4℃에서 24시간 동안 처리하였다. Fura-PE3/AM의 세포막 투과를 증가시키기 위하여 비세포독성 계면활성제인 cremophor EL(0.02%)을 추가하였다. 근육표본에 대한 fura-PE3의 부하가 끝난 후, 비분해형 fura-PE3/AM을 제거하기 위하여 PSS에서 20분간 순화시켰다. 그 후 근육표본을 7 mℓ 용량의 조직 표본조에 고정시키고 37℃에서 $[Ca^{2+}]_i$을 기록하였다. 근육표본은 340 nm와 380 nm의 두 파장의 발광을 48 Hz로 순차적으로 조사하였고, 이때 발생되는 500 nm의 형광(F340과 F380)을 형광광도계(CAF110,

JASCO, Japan)로 분석하였다(Figure 1B). $[Ca^{2+}]_i$의 변화는 F340과 F380의 비율(R340/380)로서 표시하였다. 세포질에서 Ca^{2+}에 대한 fura-PE3의 결합계수는 실험체(In Vitro)에서의 결과와 차이가 있으므로 $[Ca^{2+}]_i$의 절대치를 산정하지 않고 정지 시와 고농도의 KCl의 자극 시에 얻어진 비율을 각각 $[Ca^{2+}]_i$의 0%와 100%로 하였다(Kim 등, 1992).

3. 근 장력 측정

본 연구에서는 정상혈압 쥐와 고혈압 쥐의 안정장력을 관찰하기 위해 근수축력 측정을 실시하였다(Kim 등, 2004). 즉, 흰쥐의 흉대동맥(thoracic aorta)과 신동맥(renal artery) 및 장간막동맥(mesenteric artery)을 적출하여 생리적 식염수(physio-logical salt solution, PSS)가 든 용기에 옮긴 후 결합조직과 지방을 제거하였다. 흉대동맥 조직은 윤상근 방향으로 폭 2 mm, 길이 10 mm가 되도록 절단하였고, 신동맥과 장간막동맥은 길이 2 mm의 링의 형태로 절단하여 한쪽은 근육 고정기에 다른 한쪽 끝은 장력변환기(Force Displacement Transducer, FT 03, Grass, USA)에 연결하여 생리현상기록기(Physiograph, 7WC, Grass, USA)로 기록하였다. 본 실험 전, 근 표본은 각각 10 mN과 2 mN의 정지장력을 걸고 약 20분간 안정화시킨 후 고농도 KCl과 PSS의 처치를 3회 이상 반복하여 고농도 KCl에 대한 반응이 일정하게 나타난 것을 확인한 후 실시하였다(Kim 등, 2004).

4. ERK1/2의 발현과 인산화 측정

유사분열활성단백질 부활효소(MAPKs) 중 하나인 ERK1/2의 발현과 인산화를 측정하기 위해 Kim 등(2004)이 실시한 내용과 동일한 과정으로 본 연구를 실시하였다. 준비된 근 조직은 조직분쇄용 완충액에서 파쇄하였다. 표본을 14,000×G에서 10분간 원심분리(High-speed centrifuge, Micro 17R, Hanil Science Industrial Co., Ltd., Korea)하여 상층액을 취하였다. 단백질농도는 측정용 용액을 BSA 용액(0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1 mg/mℓ) 및 샘플을 50:1의 비율로 섞어 상온에서 2분간 반응시켜 측정하였다. 그 발색정도는 자외선 분광광도계(Uvikon 860 spectrophotometer, Kontron instruments, Italy)로 파장 750 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선을 구하였다. 샘플은 조직분쇄용 완충액을 이용하여 1 mg/mℓ의 농도가 되도록 희석하였다. 희석된 단백질 샘플은 gel loading sampling buffer와 1:1로 혼합하여 최종 농도를 0.5 mg/mℓ로 만들었다. 그 후 단백질 샘플을 95℃에서 5분간 변성시켰다. SDS-PAGE 겔을 작성한 후 전기영동용 수조에 장착하여 영동용 완충액으로 전기영동을 실시하였다. 준비용 겔에서는 50 ㎷로 분리용 겔에서는 50~80 mV로 3~4시간 전기영동을 실시하였다. 전기영동 된 겔은 Coomassie blue로 20분간 염색한 후 탈색하여 단백질의 분리 상태를 확인하였다. 전기영동 된 겔은 떼어낸 후 전사용액으로 약 10분간 세척하고, polyvinylidene fluoride(PVDF) 막에 겔 당 40 mA로 1~2시간 전사하였다. 전사된 PVDF 막은 세척과정을 거친 후, 1차 항체의 비특이적인 결합을 막기 위하여 5% 탈지분유(Skim milk, Seoul Milk, Co., Korea)로 30분간 진탕하였다. 그 후 1차 항체(1:1000)를 넣고 4℃에서 12시간 반응 및 Horseradish peroxidase-linked anti-rabbit IgG (1:5000)와 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 PBST로 4~5회 세척하였다. ECL Kit를 이용해서 암실에서 X-ray 필름에 노출시키고 노출된 필름을 현상액에 넣어 면역활성밴드를 관찰한 후 증류수로 세정하여 정착액에서 정착시켰다. 노출시간은 2분을 기준으로 하여 발현이 많은 것은 20초까지 시간을 줄여가면서 발현을 관찰하였으며, 발현이 약할 경우에는 5분, 10분 그리고 30분까지 노출시켰다.

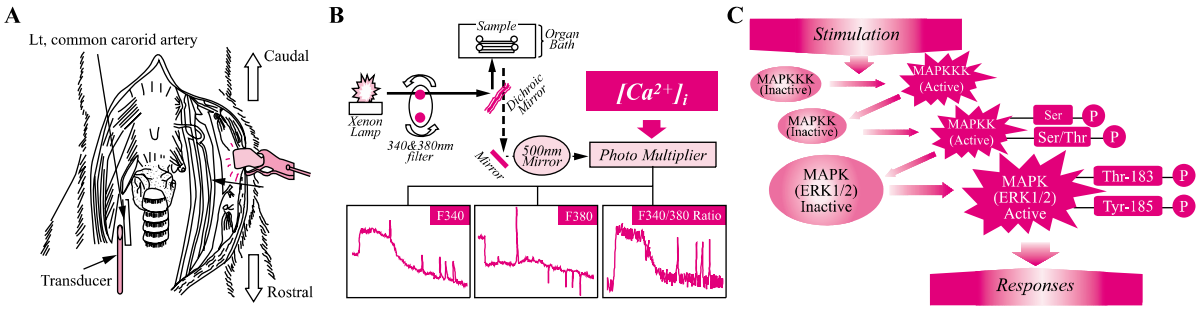

Figure 1. Schematic representation of the blood pressure mesurement (A), cytosolic Ca^{2+} concentration (B), and MAPK activation (C) on the environmental stimulation from eukaryotic cell.
F340: fluorescence 340nm & 380nm, MAPKKK: mitogen-activated protein kinase kinase kinase, MAPKK: mitogen-activated protein kinase kinase, MAPK: mitogen-activated protein kinase, ERK1/2: extracellular signal-regulated protein kinase 1 and 2, Ser: serine residue, Thr: threonine residue, Tyr: tyrosine residue, p: phosphorylation.

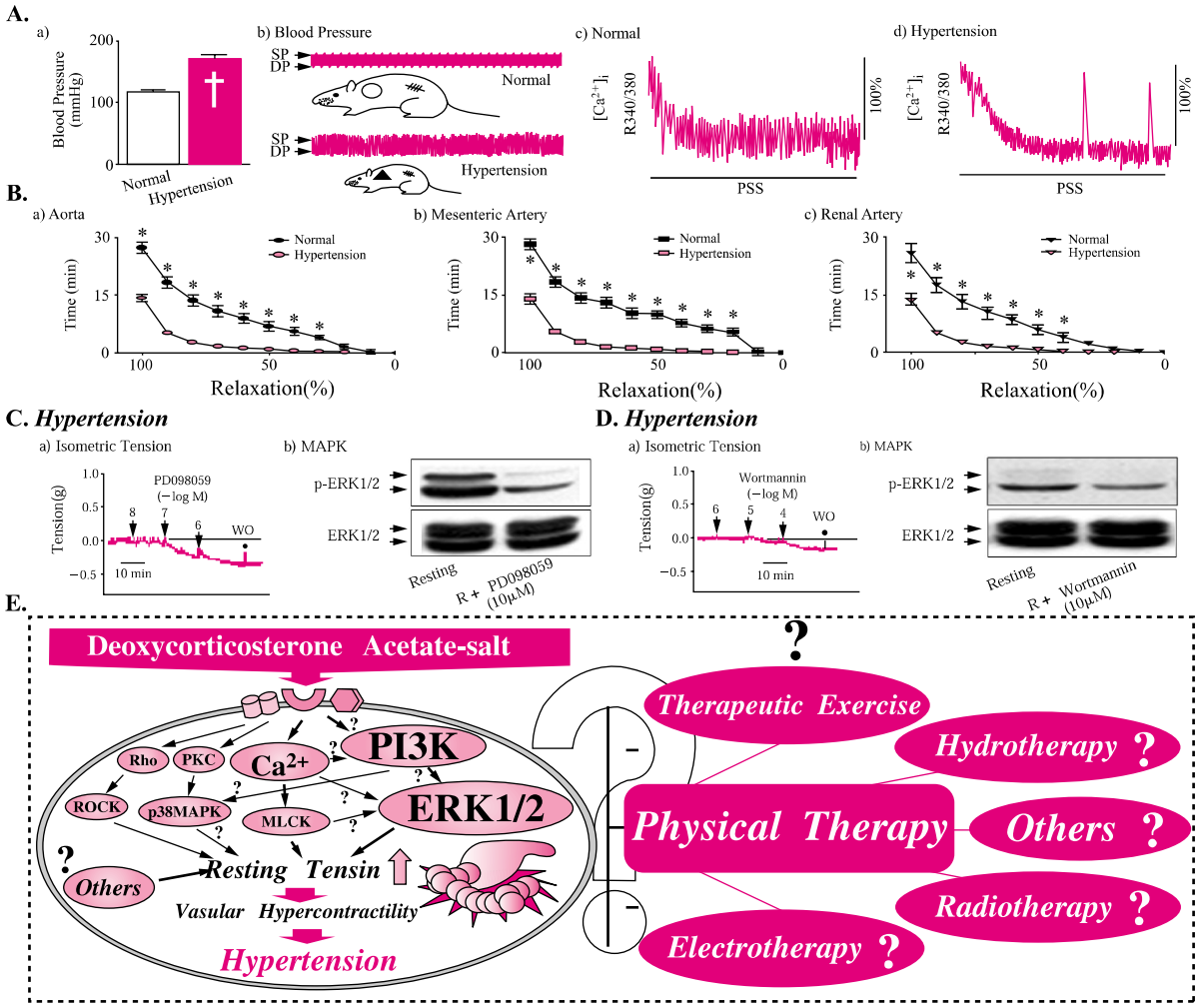

Figure 2. The effects of DOCA-salt treatment blood pressure, myogenic tone, $[Ca^{2+}]_i$, phosphorylation of ERK1/2 and PI3K from rat aortic smooth muscle strips.
SP: systolic pressure, DP: diastolic pressure, $[Ca^{2+}]_i$: intracellular or cytosolic Ca^{2+} concentration, MLCK: myosin light chain kinase, ERK1/2: extracellular-regulated protein kinase 1/2, PI3K: phosphatidylinositol-3 kinase, MAPK: mitogen-activated protein kinase, PKC: protein kinase C, Rho: small GTP binding protein, ROCK: Rho-associated protein kinase, *,†p<0.05.

PVDF 막이나 X-ray 필름에 나타난 면역활성밴드는 이미지 분석기(Bioprofil, Vilber Lourmat, France)로 정량하였다(Kim 등, 2004). 특히, 본 연구에서 사용한 ERK1/2의 항체는 아미노산 염기서열 183번의 threonine과 185번의 tyrosine에 특이적으로 결합하여 인산화시키는 ERK1/2 항체[phosphorylated ERK1/2 antibody(T183/ Y185)]를 결합시켜 ERK1/2의 활성을 측정하였다. 그리고 혈관조직 분해질의 단백질 함량을 관찰하기 위한 측정은 비인산화 ERK1/2 항체(non-phosphorylated ERK1/2 antibody)를 사용하였다(Figure 1C).

5. 자료분석

본 연구결과에 대한 자료 분석은 SAS 통계프로그램 ver. 6.12를 사용하여 평균과 표준편차를 산출하였으며, 유의수준 α 는 0.05로 설정하여 Student's t-test로 검정하였다.

III. 결과

1. 고혈압 유무에 대한 혈압 및 안정기 세포 내 Ca^{2+}의 변동

고혈압 모델작성을 위한 수술조작 후 4주에 정상혈압군과 고혈압군에 해당하는 쥐의 혈압을 직접 혈압법(Kim 등, 2004)으로

측정하였다. 결과 정상혈압군(117.2±3.3 mmHg)에 비해 고혈압군(170.3±7.2 mmHg)에서 혈압의 유의한 증가를 나타냈다(Figure 2A-a). 또한 정상혈압군의 경우 맥압이 약 30 mmHg이면서 심장리듬이 규칙적인 반면 ADHR군의 맥압은 약 60~80 mmHg이면서 심장리듬이 불규칙하게 나타났다(Figure 2A-b).

또한 고혈압 유무에 대한 안정상태의 $[Ca^{2+}]_i$의 변동을 확인한 결과 정상혈압군에 고농도 KCl을 투여하여 $[Ca^{2+}]_i$의 증가 반응을 유발시킨 후, PSS의 적용으로 Ca^{2+}이 급격히 감소되어 안정상태(기저상태)로 회복됨을 관찰하였다. 그러나 고혈압군에 적용한 PSS의 반응은 완만한 경사의 감소와 함께 안정상태 기간 동안에 간헐적으로 급격히 증가하는 $[Ca^{2+}]_i$의 반응이 반복적으로 관찰되었다(Figure 2A-c, 2A-d).

2. 고혈압 유무에 대한 안정장력과 ERK1/2 인산화의 변동

정상혈압군과 고혈압군의 흉대동맥과 장간막동맥 및 신동맥조직을 적출하여 안정장력(resting tension)으로 도달하는 시간적 특성을 비교한 결과 다음과 같다. 먼저 안정장력을 유발시키기 위해 전압-의존성 Ca^{2+} 채널(voltage-dependent Ca^{2+} channel, VDCC)을 활성화시켜 근 수축을 유발시키는 고농도 KCl을 각 군의 동맥 조직에 적용하여 긴장성 수축 반응을 유발 및 유지하였다. 이어서 PSS로 근 이완반응을 유도한 후, 안정 혹은 정지장력으로 도달하는 시간을 측정하였다. 결과 50%와 100% 이완반응에 소요되는 시간의 경우, 정상혈압군(50%; 흉대동맥: 0.8±0.1min, 장간막동맥: 0.8±0.1min, 신동맥: 0.7 ±0.2min, 100%; 흉대동맥: 14.2±0.8min, 장간막동맥: 13.9 ±1.3min, 신동맥: 13.5±1.0min)에 비하여 고혈압군(50%; 흉대동맥: 0.8±0.1min, 장간막동맥: 9.9±0.9min, 신동맥: 6.0 ±1.3min, 100%; 흉대동맥: 27.3±1.5min, 장간막동맥: 28.2 ±1.3min, 신동맥: 25.9±2.6min)에서 유의한 증가를 나타냈다(Figure 2B). 또한 정지 및 안정상태(quiescent state)의 근 긴장도에 미치는 MAPK와 PI3K의 상관성 유무를 살펴보기 위해 정상혈압군과 고혈압군의 흉대동맥조직에 각각 ERK1/2 (PD098059)와 PI3K(wortmannin)의 억제제를 1회 처리하였다. 결과 고혈압군의 혈관조직에서 농도-의존적(PD098059; 10 nM~1 μM, wortmannin; 1~100 μM) 수축의 억제반응과 단일농도의 억제제(PD098059; 10 μM, wortmannin; 10 μM)에 의해 ERK1/2 인산화의 활성이 부분적으로 억제되는 양상을 관찰할 수 있었다(Figure 2C, 2D).

IV. 고찰

고혈압의 유발과 악화는 여러 원인으로 유인되는 혈관장력의 변동 및 혈관구조의 변화 등으로 야기되는 말초저항의 증가와 매우 밀접한 연관성을 가지고 있다(Bae 등, 2007a; Bund 2001). 특히, 말초혈관저항의 증가는 혈관평활근 안정장력의 변동 및 변화가 직접적 연관성이 있음에도 불구하고 그 기전에 대한 연구는 미비한 상태에 있다.

본 연구의 결과 정상혈압에 비하여 고혈압의 혈관조직에서 근이완 반응의 시간이 지연됨과 함께 안정상태에서 나타나는 위상성수축이 반복되는 형태는 안정상태의 혈관 흥분성의 증가와 수축의 지속성이 고혈압에서 유인됨을 관찰할 수 있었다. 또한 안정상태의 세포 내 Ca^{+}의 변동 역시 정상 흉대동맥 조직에서는 균일한 세포 내 농도의 양상을 나타내지만 고혈압 흉대동맥 조직의 경우, 수축과 평행하게 급격한 위상성 증가와 급격한 감소를 나타내는 불규칙한 세포 내 Ca^{+} 농도의 변동 양상을 나타내었다. 이러한 병적 반응은 알도스테론-유도체 DOCA 소금염 적용으로 유발되는 고혈압의 병적 상태가 악화되면서 유도되는 안정막전압(resting membrane potential, RMP)의 불안정성 즉, 세포 외 Ca^{+} 의존성으로 생성되는 활동전압의 한 무리(bursts of action potentials)가 마치 "페이스메이커-유사 활성(pacemaker-like activity)"의 형태로 야기된다는 보고가 본 결과를 뒷받침해 준다(Hollenberg와 Sandor, 1984; Lamb과 Webb, 1989). 또한 세포간극(gap junction)을 구성하는 connexin43의 활성증가 및 신호전달체계의 변화로 야기된다고 보고하고 있어 그 중요성이 보고되어 있다(Watts와 Webb, 1996). 그러나 그 외에 이렇다 할 연구결과는 보고되어 있지 않다. 또한 본 연구의 결과 장간막 동맥과 신동맥에 적용한 고농도 KCl에 이어 PSS 적용으로 나타난 근이완 반응의 지연 역시 고혈압에 직접적으로 작용하는 말초혈관저항이 심혈관질환에 중요하다는 내용을 뒷받침해 주며, 신사구체 주변세포(juxtaglomerular cell)에서 분비되는 단백질 분해효소 레닌의 생성 및 안지오텐신 II 등 일련의 작용을 통해 나타나는 혈압증가기전이 매우 중요한 내용임을 확인시켜 준다고 할 수 있다(Bae 등, 2007b; Simon, 2004).

또한 일차성 고혈압과 Dahl 소금염 의존성 고혈압(Dahl salt-sensitive hypertension)을 비롯한 알도스테론 유도체 DOCA 소금염 의존성 고혈압의 유발과 악화에 관여하는 신호전달 기전에 MAPKs의 중요성이 보고되었다(Hamaguchi 등, 2000; Kim 등, 2004; Kubo 등, 2000). 또한 고혈압 이환 시 동반되는 혈관의 과도수축이나 심근의 비대, 혈관 내피세포의 병변 및 혈관조직의 경화 등과 같은 병리적 변화에 관여하는 인자로 MAPKs의 중요성이 보고되어 그 역할이 강조되고 있다

(Florian과 Watts, 1999; Kim 등, 2004; Muthalif 등, 2000). 특히, 고혈압으로 유발되는 심장의 비대와 혈관조직의 리모델링 및 신장조직의 손상과 같은 장기의 변화가 MAPKs 억제제를 투여함으로써 감소되는 항고혈압 효과가 보고되고 있어 그 중요성이 더욱 부각되고 있다(Olzinski 등, 2005). 이러한 이전의 연구보고는 본 결과에서 나타난 안정장력의 불규칙성과 이에 관여하는 신호전달 기전에 ERK1/2가 작용하며, 정확히 상위체계인지 하위체계인지는 정확히 알 수 없으나 PI3K가 부분적으로 관여할 수 있다는 내용이 동일한 맥락의 증거자료라 사료된다. 또한 본 연구의 내용은 고혈압-유도 안정장력의 증가와 이러한 기전에 verapamil-비의존적이면서 ERK1/2-연관 PKC가 관여하며, ROCK 경로는 관여하지 않는다고 보고한 연구내용을 뒷받침해 준다(Kim 등, 2005). 그러나 이러한 안정장력의 변동 및 신호전달기전의 파악에 대한 물리치료적 측면의 연구보고는 전무한 상태에 있는 이유로 이에 대한 성공적인 연구가 수행될 경우, 고혈압 조절 물리치료적 측면에서 중요한 의의를 가질 것으로 사료된다.

한편, MAPKs의 작용 중에서 근 수축 반응과 함께 유해자극으로 유발되는 통증신호 전달경로에 중요한 신호전달 전령의 역할을 하는 것으로 보고하고 있어 통증전문물리치료 영역에서 그 중요성이 보다 강조되고 있다(Mizushima 등, 2005; Zhuang 등, 2005). 이러한 내용들을 근거로 미루어 본 연구결과가 부분적 중요성을 차지한다고 할 수 있으나 극히 부분적인 결과에 불과하기 때문에 단정 짓기는 어렵다. 이러한 본 연구결과와 함께 물리치료와 연관성이 있는 연구내용으로써 혈압을 억제시킬 목적으로 온열자극의 한 방법인 뜸과 전기침자극, 경피신경전기자극이 혈압을 억제시킨다는 부분적 보고가 선행되어 왔다(Hoffmann과 Thorén, 1986; Kaada 등, 1991; Lee 등, 1997; Averill 등, 2000; Tjen-A-Looi 등, 2007). 그러나 이러한 선행연구는 물리치료적 관점 및 적용방법으로부터 상이한 부분이 없지 않으며, 결과의 해석에 있어서도 한계가 있음을 알 수 있다. 그럼에도 불구하고 치료적 운동요법과 수치료적 접근 및 레이저를 비롯한 광선치료 영역 등에서 접근한 연구보고는 거의 전무한 상태에 있다(Figure 2E). 따라서 심혈관질환 전문물리치료의 영역에서 임상 및 실험의 측면에서 체계적이고 다각적인 연구수행이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

IV. 결론

본 연구는 심혈관질환 전문물리치료의 체계적 연구 및 활성에 기초자료로 활용하기 위해 알도스테론 유도체 데옥시코르티코스테론 소금염 자극으로 유도되는 혈관평활근의 장력변동 및 변화에 관여하는 ERK1/2와 PI3K 인산화 증감의 연관성을 확인하고자 하였다.

결과, 고혈압 유·무에 따라 혈압의 증감과 함께 안정상태의 $[Ca^{2+}]_i$ 변동 및 혈관평활근의 이완반응에 차이가 있었다. 또한 고혈압 이환으로 유도된 혈관평활근 이완반응의 변동에는 ERK1/2와 PI3K가 부분적으로 관여함을 수축반응과 ERK1/2의 인산화 측정을 통해 관찰할 수 있었다. 이러한 본 연구를 통하여 알도스테론 유도체 데옥시코르티코스테론 소금염 적용으로 유도되는 이차성 고혈압의 혈관평활근의 안정장력에 ERK 1/2와 PI3K의 활성증감이 부분적으로 관여한다는 내용을 이해할 수 있었다(Figure 2E). 그러나 심혈관질환 전문물리치료의 영역(운동치료와 전기치료 및 수치료 등)에서 이에 대한 조절 및 그 효과, 기전 등에 대한 연구보고는 거의 전무한 상태이다. 따라서 향후, 보다 객관적이면서 체계적이고 심도 있는 기초물리치료학적 측면에서 연구가 성공적으로 이루어질 경우, 물리치료의 발전에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

김중환. 탈분극과 근장그물 내 Ca^{2+} 고갈-유도 평활근의 수축 및 세포 내 Ca^{2+} 변동에 관여하는 L-형 Ca^{2+} 통로의 상관성, 대한물리치료학회지, 2007;19(5):65-76.

보건복지부. 국민건강영양조사: 영양조사 I. 보건복지부, 2005.

황병용. 고유수용성 조절과 시각적 피드백이 만성 편마비 환자의 안정성 한계에 미치는 영향. 대한물리치료학회지. 2007; 19 (6):27-31.

통계청. 2004년 사망원인통계연보, 통계청, 2004.

Averill A, Cotter AC, Nayak S et al. Blood pressure response to acupuncture in a population at risk for autonomic dysreflexia. Arch Phys Med Rehabil. 2000;81(11): 1494-7.

Bae YM, Kim A, Lee YJ et al. Enhancement of receptor-operated cation current and TRPC6 expression in arterial smooth muscle cells of deoxycorticosterone acetate- salt hypertensive rats. J Hypertens. 2007a;25(4):809-17.

Bae YM, Sung DJ, Noh HJ et al. Serotonin-induced ion channel modulations in mesenteric artery myocytes from normotensive and DOCA-salt hypertensive rats. J Smooth Muscle Res. 2007;43(3):85-97.

Bund SJ. Spontaneously hypertensive rat resistance artery structure related to myogenic and mechanical properties. Clin Sci (Lond). 2001;101(4):385-93.

Fatehi-Hassanabad Z, Fatehi M, Shahidi MI. Endothelial

dysfunction in aortic rings and mesenteric beds isolated from deoxycorticosterone acetate hypertensive rats: possible involvement of protein kinase C. Eur J Pharmacol. 2004; 494(2-3):199-204.

Florian JA, Watts SW. Epidermal growth factor: a potent vasoconstrictor in experimental hypertension. Am J Physiol. 1999;276(3 Pt 2):H976-83.

Hamaguchi A, Kim S, Izumi Y et al. Chronic activation of glomerular mitogen-activated protein kinases in Dahl salt-sensitive rats. J Am Soc Nephrol. 2000;11(1):39-46.

Heeneman S, Sluimer JC, Daemen MJ. Angiotensin-converting enzyme and vascular remodeling. Circ Res. 2007; 101(5):441-54.

Hilgers RH, Todd J Jr, Webb RC. Increased PDZ-RhoGEF/RhoA/Rho kinase signaling in small mesenteric arteries of angiotensin II-induced hypertensive rats. J Hypertens. 2007;25(8):1687-97.

Hoffmann P, Thorén P. Long-lasting cardiovascular depression induced by acupuncture-like stimulation of the sciatic nerve in unanaesthetized rats. Effects of arousal and type of hypertension. Acta Physiol Scand. 1986;127(1): 119-26.

Hollenberg NK, Sandor T. Vasomotion of renal blood flow in essential hypertension. Oscillations in xenon transit. Hypertension. 1984;6(4):579-85.

Kaada B, Flatheim E, Woie L. Low-frequency transcutaneous nerve stimulation in mild/moderate hypertension. Clin Physiol. 1991;11(2):161-8.

Kim B, Kim J, Bae YM et al. p38 mitogen-activated protein kinase contributes to the diminished aortic contraction by endothelin-1 in DOCA-salt hypertensive rats. Hypertension. 2004;43(5):1086-91.

Kim BK, Mitsui M, Karaki H. The long-term inhibitory effect of a Ca^{2+} channel blocker, nisoldipine, on cytosolic Ca^{2+} and contraction in vascular smooth muscle. Eur J Pharmacol. 1992;223(2-3):157-62.

Kim J, Lee YR, Lee C et al. Mitogen-activated protein kinase contributes to elevated basal tone in aortic smooth muscle from hypertensive rats. Eur J Pharmacol. 2005; 514(2-3):209-15.

Kubo T, Ibusuki T, Saito E et al. Different activation of vascular mitogen-activated protein kinases in spontaneously and DOCA-salt hypertensive rats. Eur J Pharmacol. 2000; 400(2-3):231-7.

Lamb FS, Webb RC. Regenerative electrical activity and arterial contraction in hypertensive rats. Hypertension. 1989;13(1):70-6.

Lee HS, Yu YC, Kim ST et al. Effects of moxibustion on blood pressure and renal function in spontaneously hypertensive rats. Am J Chin Med. 1997;25(1):21-6.

McIntosh SJ, Lawson J, Kenny RA. Heart rate and blood pressure responses to carotid sinus massage in healthy elderly subjects. Age Ageing. 1994;23(1):57-61.

Mizushima T, Obata K, Yamanaka H et al. Activation of p38 MAPK in primary afferent neurons by noxious stimulation and its involvement in the development of thermal hyperalgesia. Pain. 2005;113(1-2):51-60.

Murphy JG, Khalil R. Gender-specific reduction in contractility and $[Ca^{2+}]_i$ in vascular smooth muscle cells of female rat. Am J Physiol Cell Physiol. 2000;278(4): C834-44.

Muthalif MM, Benter IF, Khandekar Z et al. Contribution of Ras GTPase/MAP kinase and cytochrome P450 metabolites to deoxycorticosterone-salt-induced hypertension. Hypertension. 2000;35(1 Pt 2):457-63.

Olzinski AR, McCafferty TA, Zhao SQ et al. Hypertensive target organ damage is attenuated by a p38 MAPK inhibitor: role of systemic blood pressure and endothelial protection. Cardiovasc Res. 2005;66(1):170-8.

Smith L, Payne JA, Sedeek MH et al. Endothelin-induced increases in Ca^{2+} entry mechanisms of vascular contraction are enhanced during high-salt diet. Hypertension. 2003;41(3 Pt 2):787-93.

Tjen-A-Looi SC, Li P, Longhurst JC. Role of medullary GABA, opioids, and nociceptin in prolonged inhibition of cardiovascular sympathoexcitatory reflexes during electroacupuncture in cats. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2007;293(6):H3627-35.

Tofler GH, Muller JE. Triggering of acute cardiovascular disease and potential preventive strategies. Circulation. 2006;114(17):1863-72.

Watts SW, Webb RC. Vascular gap junctional communication is increased in mineralocorticoid-salt hypertension. Hypertension. 1996;28(5):888-93.

Zhuang ZY, Gerner P, Woolf CJ et al. ERK is sequentially activated in neurons, microglia, and astrocytes by spinal

nerve ligation and contributes to mechanical allodynia in this neuropathic pain model. Pain. 2005;114(1-2): 149-59.