

防風當歸飲이 중대뇌동맥 폐쇄 후 재관류 모델에 미치는 영향

- 육안·광학현미경 소견 -

洪天杓, 鄭承鉉, 朴仁植*, 辛吉祚, 李源哲

동국대학교 한의과대학 내과학교실, 동국대학교 한의과대학 해부학교실*

The effect of *Bangpungdangkwi-eum* extracts on reperfusion following the middle cerebral artery occlusion in rats

Cheon-Pyo Hong, Sung-Hyun Jeong, In-Sick Park*, Gil-Cho Shin, Won-Chul Lee

Department of Internal Medicine, Department of Anatomy*, Dongguk University, College of Oriental Medicine, Seoul Korea

To evaluate the effect of *Bangpungdangkwi-eum* extracts on reperfusion following the middle cerebral artery occlusion in Sprague Dawley rats, the neuron protection effect were investigated through examining the size of cerebral infarction, cerebral edema, and the morphologic change of neuron.

The results were obtained as follows;

1. The size of cerebral infarction in sample group is significantly decreased compared with that in control group. Sample group has approximately 17% cerebral infarction parts induced by ischemia in cerebrum while control group has approximately 22%.
2. The volume of cerebral edema in sample group is significantly decreased compared with that in control group. The volume in sample group is increased by approximately 4.4% compared with that in normal group while that in control group is increased by approximately 7.7%.
3. The optical microscopic examination reveals that the damage of neurons in the ischemic parts and CA1 and CA3 region of hippocampus in the same side of the ischemic parts was the most high and the damage in sample group is decreased compared with that in control group.

Key Word : middle cerebral artery occlusion, *Bangpungdangkwi-eum* extracts, Rat.

I. 緒 論

뇌경색은 발병율이 높고 치료에도 많은 시간이 소요되는 질환으로 노년층 인구가 증가하고 있는 현대에 많은 문제점을 야기하고 있는 질환이다¹⁾.

뇌세포가 허혈에 의하여 손상되거나 죽는 기전으로는 1980년대 초반까지 약 40여년동안 단순하게 세포의 항상성을 유지하는 이온펌프 및 구성분자의 이동기전을 주관하는 에너지의 부족으로 인해 야기되는 것^{2,3)}으로 생각되었다.

그러나 짧은 기간의 허혈 다음에 서

서히 진행되는 과정 중에 나타나는 뇌세포의 죽음을 실험적으로 확인하였고, 허혈 후의 며칠 동안에 지연성신경세포사(delayed neuronal death or maturation phenomenon)를 나타내는 특정 세포집단이 존재함이 해마에서 증명되었으며, 일시적인 뇌허혈 후 뇌의 에너지 상태가 매우 빨리 회복된다는 보고 등에 의하여 허혈로 인한 뇌세포의 죽음이 전적으로 에너지 부족에 기인한다고 볼 수는 없게 되었다⁴⁾. 그러므로 혈전과 혈류량 감소에 따른 장애, 흥분적 신경전달, 허혈로 인한 염증 반응, 유리

기(free radical) 등 다양한 인자들이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 생각되고 있다⁵⁾.

최근 이러한 뇌허혈의 병태생리가 밝혀지면서 그 치료에 있어서도 많은 연구가 진행되고 있는데, 허혈상태에서 신경세포의 생존기간을 늘리기 위하여 재관류에 도움을 주는 혈전용해제와 신경세포의 손상을 최소화하기 위한 신경세포보호제의 개발에 주력하고 있다^{6,7)}.

한의학에서 뇌허혈을 유발시킨 후 한약치료의 유효성과 관련된 연구로는 potassium cyanide(KCN)으로 유발된 뇌허혈에 미치는 星香正氣散⁸⁾·蘇合香元⁹⁾·六一順氣湯¹⁰⁾·補陽還五湯¹¹⁾의 효

과, 중대뇌동맥 폐쇄 후 나타나는 뇌실질의 형태학적 변화에 대한 蘇合香元¹²⁾·大造丸¹³⁾·黃連解毒湯¹⁴⁾ 등의 효과에 대한 실험 연구는 있었으나, 內傷之火로 인한 虛火를 다스리는 防風當歸飲^{15,16)}이 중대뇌동맥(middle cerebral artery ; MCA) 폐쇄 후 재관류모델에 미치는 영향에 대한 연구는 이제까지 없었다.

이에 저자는 防風當歸飲이 중대뇌동맥 폐쇄 후 재관류 모델에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 흰쥐를 이용하여 뇌경색의 부피·뇌부종·광학현미경에 의한 신경세포의 변화 등을 살펴 신경세포 보호작용을 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 동물

대한동물실험센터에서 구입한 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐(250-350g)를 대상으로 실험을 실시하였다. 자유롭게 사료와 물을 먹을 수 있게끔 하였으며

12시간씩 빛과 어둠을 제공하였다. 예비실험 결과 체중이 250 g 이하인 경우에는 거의 대부분 수술후 회복기에 사망하였다.

실험동물은 정상군(Normal group) 5마리, 중대뇌동맥 폐쇄 후 재관류 모델 유발군인 대조군(Control group) 40마리, 그리고 중대뇌동맥 폐쇄 후 재관류 모델 유발 후 防風當歸飲을 투여한 실험군(Sample group) 35마리로 분류하였다.

2. 防風當歸飲 추출액의 제조

실험에 사용된 防風當歸飲은 동국대학교 한방병원에서 조제된 것으로, 1첩의 분량은 Table 1과 같다. 防風當歸飲 추출액의 제조는 우선 2첩을 증류수 1,000 ml에 넣어 2시간동안 전탕한 다음 원심분리 후 여과하고, 그 여액을 rotary evaporator에서 100ml로 농축하여 사용하였다.

3. 국소적 뇌허혈의 유발 및 약재 투여

국소적 뇌허혈의 유발을 위해서 Longa 등¹⁷⁾이 언급한 방법을 변형하여 왼쪽 중대뇌동맥을 결찰하였다.

실험동물은 자발적으로 room air에서 호흡하게 하였으며 필요에 따라 인공호흡을 시행하였다. 마취 중 발생하는 저체온증을 예방하기 위하여 자동으로 조절되는 보온판을 이용하여 37℃로 체온을 유지시켰다.

목의 정중선의 피부를 절개한 후 좌측 외경동맥(external carotid artery : ECA)을 노출시키고, 두개골 바깥에 위치하는 내경동맥의 유일한 분지인 익상구개동맥(pterygopalatine artery : PPA)을 분리시켰다. 혈관 속으로 삽입된 실이 익상구개동맥속으로 들어가지 않게 하기 위하여 익상구개동맥의 시작 부위를 미세혈관 clip을 이용하여 결찰시켰다. 외경동맥의 가지들은 전기인두를 이용하여 소작시키고, 총경동맥(common carotid artery : CCA)의 기시부위에서 1cm 정도 원위부위를 6-0

Table 1. The Amount and Composition of Bangpungdangkwium Extracts

Species	Part used	Latin name	Weight(g)
Talcum	Mg3(Si4O10)(OH)2	Talcum	12
Rheum coreanum NAKAI	Roots	Rhei Rhizoma	2
Scutellaria baicalensis GEORGI.	Roots	Scutellariae Radix	2
Bupleurum falcatum L.	Roots	Bupleuri Radix	2
Ledebouriella seseloides(HOFFM.) WOLF.	Roots	Ledebouriellae Radix	2
Panax ginseng C.A. MEY.	Roots	Ginseng Radix	2
Glycyrrhiza uralensis FISCH.	Roots	Glycyrrhizae Radix	2
Angelica gigas NAKAI	Roots	Angelicae Gigantis Radix	2
Paeonia lactiflora PALL.	Roots	Paeoniae Radix Alba	2
Zingiber officinale ROSC.	Rhizomes	Zingiveris Rhizoma	6

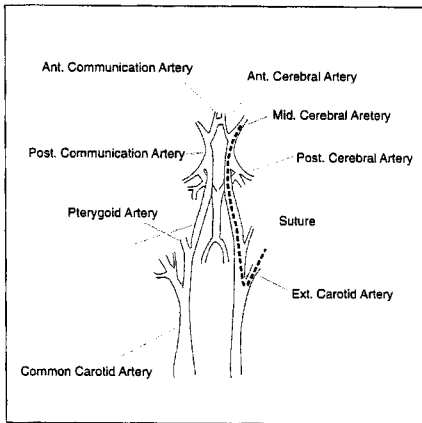


Fig 1. Diagram of cerebrovascular anatomy in rats illustrates extracranial and intracranial vascular relations exploited in our method of reversible occlusion of middle cerebral artery.

silk suture 실로 묶었다. 6-0 silk suture 실로 외경동맥의 원위부위를 느슨하게 묶고, 일시적으로 외경동맥의 근위부위에 미세혈관 clip으로 결찰하였다. 외경동맥의 근위부와 원위부 사이에 미세가위를 이용하여 구멍을 내고 20mm 단일가닥의 3-0 나일론 실을 절개 부위를 통하여 외경동맥에서 내경동맥쪽으로 밀어 넣었다. 외경동맥 절개부위와 단일가닥의 3-0 나일론 실 사이의 출혈을 방지하기 위하여 6-0 silk suture 실을 이용하여 밀어 넣은 단일가닥의 3-0 나일론 실과 외경동맥을 가볍게 묶고, 미세혈관 clip을 제거한 후 나일론 실을 부드럽게 내경동맥속으로 밀어 넣었다. 혈관속으로 들어가는 실의 끝부분은 미세한 sandpaper로 갈아 등글게 하였다. 나일론 실이 약 17.5mm 정도 들어간 후 faint resistance가 느껴졌는데, 이로 인하여 실의 끝부분이 두개강내의 내경동맥 분지부와 중대뇌동맥의 시작부위에 도달했음을 알 수 있었다. 중대뇌동맥의 혈관계쇄를 통한 혈액공급의 중단은 그 후 1시간 동안 유지하였다.

중대뇌동맥의 재순환은 나일론 실을

외경동맥으로 뽑아내고 내경동맥으로 혈액이 흐르는지를 확인함으로써 재개되었다. 또한 절개 부위의 출혈을 방지하기 위하여 외경동맥의 근위부를 6-0 silk suture 실로 묶은 후 절개된 피부를 봉합하였다(Fig. 1). 수술의 전 과정은 20-25분간 수행되었다.

본 연구를 위하여 중대뇌동맥 폐쇄 후 재관류시킨 실험동물들을 대조군과 실험군으로 나누었다. 대조군은 72 시간 동안 생존시켰다가 희생시켜 실험에 사용하였고, 실험군은 매일 2회씩 防風當歸飲 추출액을 1.65 ml/kg 씩 구강투여하였으며 72시간 후 희생시켜 실험에 사용하였다.

4. TTC 염색

중대뇌동맥을 1시간 동안 결찰하여 혈류 분포 부위에 뇌허혈을 유발한 후 재관류시킨 실험동물에 72시간 후 TTC 염색을 시행하였다. TTC 염색의 결과 정상세포에서는 미토콘드리아 내의 dehydrogenase와 반응하여 붉게 보이나, 뇌경색의 경우 dehydrogenase가 소실되어 염색이 되지 않는 백색으로 보인다. 먼저 실험 동물을 단두하여 희생시키고 뇌를 적출한 후, 두께 2 mm의 뇌절편을 제작하였다. 그 후 뇌절편들을 1% 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride(Tetrazolium Red:TTC) 용액에 넣어 염색을 시행한 후 사진을 찍었다.

5. 뇌경색의 부피 및 뇌부종의 측정

뇌경색의 부피(cerebral infarction volume)는 TTC로 염색 처리한 각각의 절편 절단면에 뇌경색의 부위를 표시하였다. 이 표시된 부위를 따라서 image analyzer(Optimas 5.0, USA)를 이용하여 경색부위 면적을 구하고, 절편의 두께(2mm)를 곱하여 각 절편의 뇌경색

부피를 얻고, 이들 절편을 합하여 전체 뇌경색의 부피를 구하였다. 전체 뇌 부피는 각 절편의 절단면의 면적을 구하고 각 절편의 두께를 곱한 후, 전체 절편을 더하여 구하였다. 전체 뇌경색의 부피를 전체 뇌부피로 나누고 100을 곱하여 전체 뇌부피에 대한 전체 뇌경색 부피의 비율을 백분율로 표시하였다. 뇌부종(cerebral edema)의 측정은 정상측과 뇌경색측 대뇌반구의 부피를 위와 같은 방법으로 측정하여 정상측에 대한 뇌경색 부위의 비율을 구하고, 그 비율을 뇌부종의 지표로 삼았다.

6. 광학현미경용 표본제작

신선한 뇌조직 표본을 얻기 위해서 심장을 통한 관류고정(cardiac perfusion fixation)을 실시하였다. 즉 외과적 수술 72시간 후 생존한 모든 동물을 복강으로 sodium pentobarbital(40mg/kg)을 주사하여 마취시키고, 전흉벽을 열고 좌심실에서 대동맥쪽으로 카테타를 삽입한 후 생리식염수를 주입(약 30ml)하면서 우심방의 심방귀부분을 열어 혈관내의 혈액을 제거하였다. paraffin 포매용으로는 500ml 10% neutral buffered formalin (pH 7.4)으로 관류고정시켰으며, 동결절편용으로는 500ml 4% paraformaldehyde in 0.1M phosphate buffered saline(이하 PBS, pH 7.4, 4℃)으로 관류고정시켰다. 그 후 두개골에서 뇌를 적출하여 염색방법에 따라 적절히 처리하였다.

7. 결과분석

본 실험에서 얻어진 결과의 통계처리와 유의성 검정은 Sigma Plot program 4.0(Sigma, USA)에 의하여 처리하였다.

III. 結果

흰쥐를 pentobarbital sodium으로 마취하고 외경동맥을 통하여 실을 넣어 중대뇌동맥을 결찰시키는 시술을 위한 시간은 약 20~25분 정도 소요되었으며, 실험동물들은 수술 후 2~3시간내에 마취에서 깨어났다.

실험군의 약 20%는 수술 도중 및 회복기간에 사망하였다. 수술 후의 신경학적인 행동변화를 관찰하였는데 신경학적인 관찰은 Bederson 등¹⁸⁾에 따라서 5단계의 간격으로 나누었다. 즉 0단계는 현저한 결손이 없을 때, 1단계는 수술 동측의 눈에만 이상이 있을 때, 2단계는 앞다리가 굽혀지는 등 약간의 결손을 보일 때, 3단계는 회전하지는 않지만 앞다리가 굽혀지고 lateral push에 저항력이 약할 때, 4단계는 3단계의 행동과 유사하나 마비된 방향으로 회전하는 등 현저한 결손이 보일 때로 구분하였다. 한편 실험동물들은 4단계의 신경학적인 행동변화를 보인 흰쥐를 주로 사용하였다. 수술한 동물의 약 50% 정도는 수술 후 0에서 3단계의 행동변화를 보임으로 본 연구에서 제외되어 수술한 동물의 약 30%만이 본 연구에 사용되었다.

Fig. 2는 단일가닥의 3-0 나일론 실을 이용하여 실험동물의 왼쪽 중대뇌동맥을 결찰시킨 후 관찰한 뇌의 외형이다. 그림과 같이 오른쪽 중대뇌동맥이 분포하는 부위의 혈액공급이 저해되는 것을 관찰할 수 있었다.

1. TTC 염색 소견

중대뇌동맥을 1시간동안 결찰하여 혈류 분포 부위에 뇌허혈을 유발한 후 재관류시킨 대조군을 72시간 후 TTC로 염색한 결과, 전 부위가 염색이 되지 않았다. 즉 신경세포의 괴사 부위는 꼬

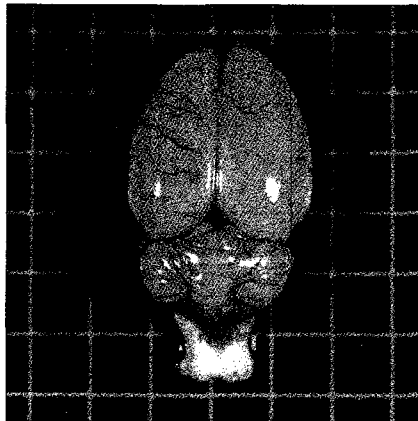


Fig 2. Dorsal view of rat brain. Right cerebral hemisphere represent ischemia after right middle cerebral artery occlusion.

리피각(caudoputamen)의 전체 혹은 대부분과, 이곳을 중심으로 대뇌의 신피질(neocortex) 및 편도체(amygdala)에서도 나타났다. 그리고 대뇌피질층의 경색 형성은 흑색질(substantia nigra)의 관상부위까지 관찰할 수 있었다. 영상분석기로 그 부피를 측정한 결과 뇌허혈을 유발시킨 쪽에서 약 22% 정도의 장해부위를 관찰할 수 있었다.

또한, 허혈로 인한 장애가 유발된 경우에는 양쪽 대뇌반구 중 동측의 부피가 커져서 균형이 깨어져 있음을 관찰할 수 있었다(Fig. 3A). 그리고 대조군의 약 20%는 선택적으로 대뇌의 신피질과 해마에 영향을 주는 신경세포의 괴사를 나타내고 있었다. 실험군은 대조군에 비하여 TTC에 의해 염색이 되지 않았는데, 꼬리피각의 괴사 부위는 거의 대조군과 유사하게 나타났으나, 대뇌의 신피질이나 편도체 부위 등은 전체적으로 허혈에 의한 장해부위가 약 17%로 줄어들었다(Fig. 3B). 일부 실험동물에서는 특이하게도 허혈을 유발시킨 반대쪽의 대뇌피질 부위에서 TTC 양성반응을 나타내기도 하였다(Fig. 3C).

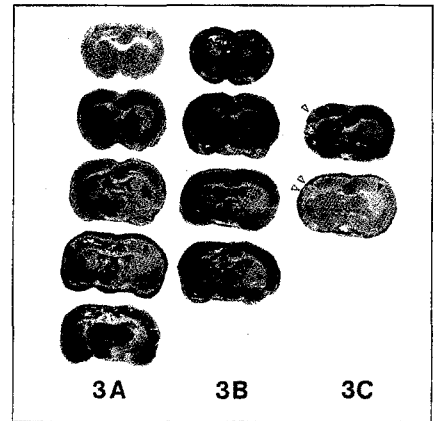


Fig 3. Coronal section of brain slice from occlusion of the left middle cerebral artery rats. These photographs therefore represent structures surrounding the central core of the infarct. In every cases, a greater part of the left cerebral cortex was infarcted. The damaged brain structures were unable to react with TTC and therefore were revealed as unstained white area in the left side hemisphere (arrowheads). Areas of the traumatized hemispheres were larger than those of the contralateral hemispheres and the midline of both brain slices protruded to the right, as a result of tissue swelling. In some cases, the infarct white area of contralateral hemispheres also appeared in right side of brain (empty arrowhead). A ; Control B ; Sample C ; Other

2. 뇌경색의 부피

1시간동안 왼쪽 중대뇌동맥을 결찰시켜 뇌허혈을 유발시킨 후 재관류시킨 흰쥐를 72시간 후에 희생시켜 뇌실질에서의 경색 정도를 측정한다. 결과, 대조군의 뇌경색의 부피는 대뇌반구의 평균 22%였으며, 실험군은 17%로 줄어들어 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다($P < 0.05$)(Table 2).

3. 뇌부종의 측정

1시간동안 왼쪽 중대뇌동맥을 결찰시켜 뇌허혈을 유발시킨 후 재관류 시킨

Table 2. Cerebral Infarction/Hemisphere Volumes(B/AE3) of Rats Following the MCA Occlusion

	Infarct volume	Total volume	Infarct percentage(%)
Normal	0	815	0
Control	187 ± 9.46 ^{a)}	852 ± 12.16	22
Sample	142 ± 7.90	836 ± 13.04	17*

a) Mean ± Standard Error

Normal : Normal rats

Control : MCA occlusion elicited rats

Sample : MCA occlusion elicited rats with Bangpungdangkwi-eum extracts treatment

* P < 0.05 compared with control group

Table 3. Cerebral Edema of Rats Following the MCA Occlusion

reatment	n	Right hemisphere	Left hemisphere	Lt/Rt ratio(%)
		volume	volume	
Normal	1	407.5	407.5	100
Control	5	392 ± 14.27 ^{a)}	447 ± 12.16	114.0
Sample	5	397 ± 12.48	426 ± 13.04	107.3*

Control : MCA occlusion elicited rats

Sample : MCA occlusion elicited rats with Bangpungdangkwi-eum extracts treatment

* P < 0.05 compared with control group

흰쥐를 72시간 후에 희생시켜 뇌허혈에 의한 뇌부종의 정도를 양쪽대뇌반구를 비교하여 관찰하였다. 그 결과 대조군은 정상군보다 약 14% 정도 부피가 커져 왼쪽 대뇌반구가 오른쪽 대뇌반구쪽으로 치우쳐져 있었다. 그러나 실험군은 정상군보다 약 7.3% 정도만 커져 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다(P < 0.05) (Table III).

4. 광학현미경 소견

정상군에서 광학현미경으로 관찰한 해마형성체(hippocampal formation) 부위는 고유 해마부위 전체와 치아이랑(dentate gyrus) 부위로 나눌 수 있었다. 고유 해마부위는 다시 위쪽인 CA1 지역과 아래쪽인 CA3 지역으로 나눌 수 있었으며, 치아이랑 부위는 과립세포층과 분자층으로 나눌 수 있었다. 그러므로 해마형성체는 CA1 지역에서 CA3

지역으로 이어지는 돌기가 많은 피라미드 세포층(pyramidal cell layer)과 치아이랑 부위의 과립세포층으로 나눌 수 있었는데, 이들은 주로 많은 가지돌기를 가진 다극성 신경세포층을 이루고 있었다(Fig. 5 A). CA1 지역에서는 약 5층의 둥근 세포체와 많은 돌기를 가진 피라미드 세포층이 규칙적으로 배열됨을 관찰할 수 있었으며(Fig. 6), CA3 지역에서는 외측으로 갈수록 세포층이 증가되는 것을 볼 수 있었다. 그리고 치아이랑의 과립세포층은 cresyl violet에 진하게 염색되는 약 8~10층의 세포들을 관찰할 수 있었다.

대조군에서 허혈을 유발시킨 부위와 동측의 해마형성체를 관찰하면 CA1 지역에서의 피라미드형 세포는 전체적으로 어둡게 염색되고 핵과 세포질이 위축되어 나타났으며, 부분적으로 선택적 괴사 형태를 나타내고, 세포층도 줄어들

었으며 그 배열도 불규칙적, 불연속적인 형태를 나타내었다(Fig. 7). CA3 지역에서는 CA1 지역에 비해 형태적으로 큰 변화가 관찰되었는데, 핵과 세포질이 어둡게 염색되고 위축된 세포들이 많이 관찰되었으며, 많은 부위에서 세포질에 액포가 형성되어 팽창되고 전형적인 괴사가 진행중인 세포가 다수 관찰되었다. 그리고 CA3 지역의 말단부위에서는 어둡게 염색되고 위축된 세포들이 많이 관찰되었으며, 세포층이나 규칙성 정도가 많이 파괴되어 가장 많은 장해를 입은 것으로 관찰되었다.

허혈을 유발시킨 후 1주일 후에 희생시킨 동물의 해마형성체 부위에서는 치아이랑의 일부분을 제외하고는 거의 모든 부위의 세포들이 장해를 입고 있었는데, CA1 지역과 CA3 지역 전체에서 cresyl violet에 거의 염색이 되지 않아 해마의 각층이 거의 구별되지 않았다(Fig. 5 B).

실험군에서 동측의 해마형성체를 관찰하면 CA1 지역에서 대조군에 비하여 더 많은 세포층이 규칙적으로 배열되어 있었다. 그러나 역시 핵이 위축되거나 세포질이 팽창된 세포가 피라미드 세포층을 비롯하여 전층에서 많이 발견되었다(Fig. 8). CA3 지역에서도 대조군보다는 약하지만 많은 세포들이 장해를 입은 것으로 나타났다.

IV. 考 察

최근 뇌허혈의 병태생리가 밝혀지면서 그 치료를 위한 많은 연구가 진행되고 있는데, 허혈상태에서 신경세포가 생존할 수 있는 시간이 극히 제한되어 뇌허혈의 급성기에 재관류를 위한 혈전용해와 therapeutic window^{6,7)}를 늘리며 신경세포 손상을 최소화시킬 수 있는

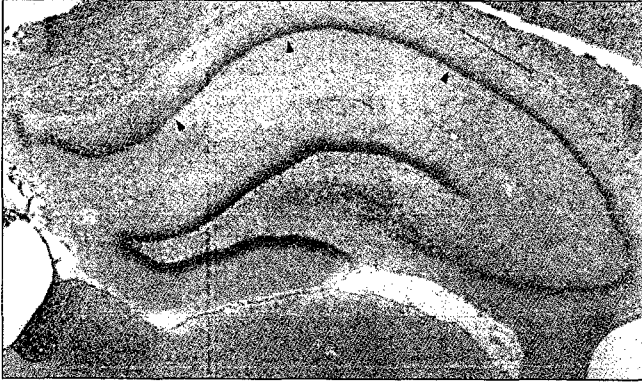


Fig. 5. A: Cresyl violet staining in hippocampus in normal group. Note the CA1 pyramidal cells (arrowhead) are well preserved under light microscopy. $\times 40$

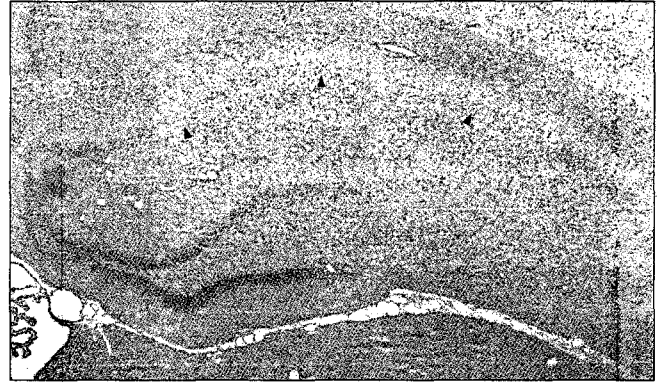


Fig. 5. B: Cresyl violet staining in hippocampus in 7 days after ischemia. Note the CA1 (arrowhead), CA2, CA3 pyramidal layers were disappeared. $\times 40$

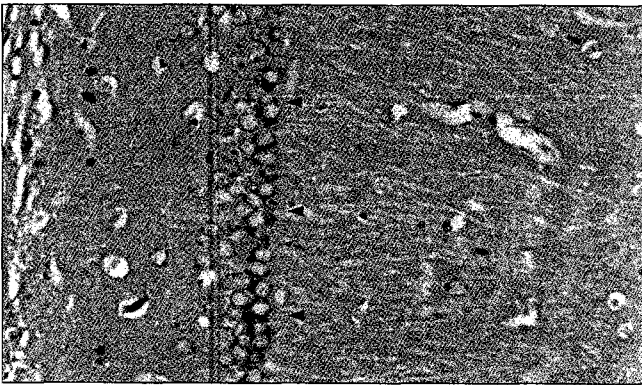


Fig. 6. Cresyl violet staining in CA1 region of hippocampus in normal group. $\times 200$

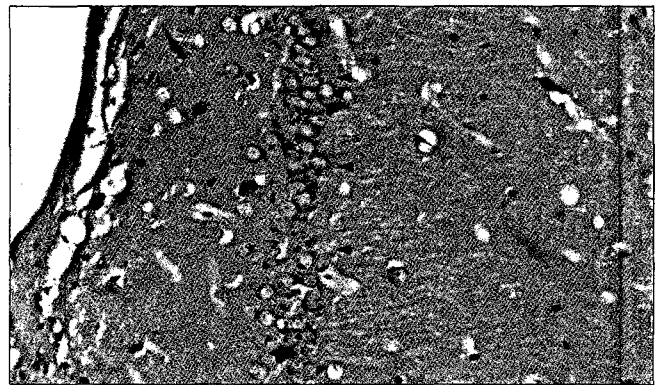


Fig. 7. Cresyl violet staining in CA1 region of hippocampus in 72 hr after ischemia. $\times 200$

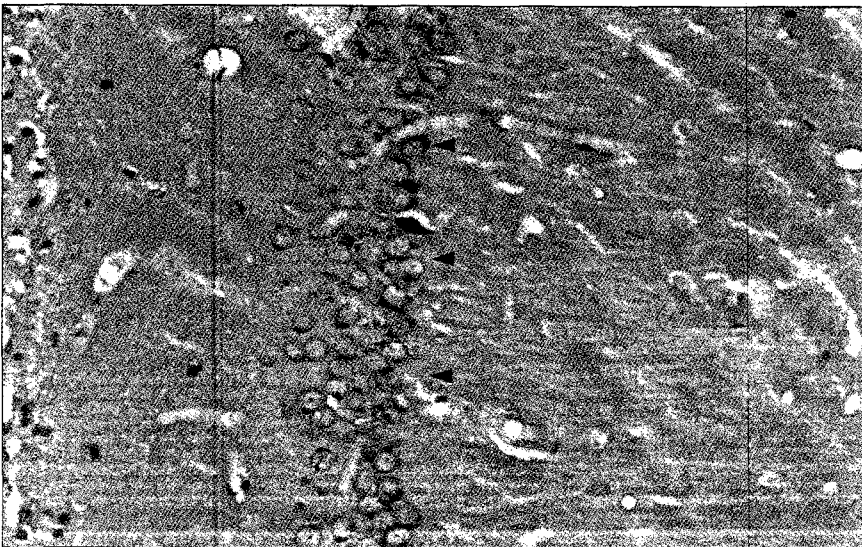


Fig. 8. Cresyl violet staining in hippocampus in 72 hr after ischemia with drug treatment. Note the CA1 pyramidal cells (arrowhead) were arranged more regular form than that of control group. $\times 200$

적절한 신경보호제 개발이 주요과제 중의 하나로 부각되고 있다.

매년 전세계적으로 수백만명이 허혈성 뇌졸중에 의하여 뇌기능 손상을 입고 있는데, 최근에 개발된 여러 종류의 약들은 동물의 뇌졸중모델에서 뇌경색 크기를 감소시키는 효과가 있으나, 현재 까지 승인된 치료법은 인간의 뇌졸중 크기나 신경학적 장애를 감소시키지 못하는 실정이다⁶⁾.

대부분의 연구자들은 최후의 뇌조직 회복 과정에 재관류가 없다면 심각한 뇌손상이 진행된다는 사실에는 동의하지만, 재관류 상태에서는 오히려 뇌혈류의 회복으로 인하여 더 나쁜 악영향을 회복 과정에 미칠 수도 있다. 그러한 재

관류로 인한 손상(reperfusion injury)은 자연적이거나 약리학적인 혈전 용해 후의 뇌졸중에서 발생할 수 있다¹⁹⁾.

만약 혈전 용해(dissolve clot), 혈류량 회복(restore blood flow), 흥분적 신경 전달의 차단(block excitatory neurotransmission), 허혈로 인한 염증 반응 방지(prevent the ischaemic inflammatory response) 및 유리기 청소(scavenge free radicals) 등 효과있는 치료법이 위약군과 비교된(placebo-controlled) 임상 실험에서 유용하다고 증명된다면 뇌졸중 치료법을 변화시킬 수 있을 것이다⁵⁾.

한의학에 있어서의 중풍치료는 병인·병태에 따른 변증치료와 체질치료를 기본으로 하며, 卒中期는 응급치료에, 回復期는 기능회복치료에 주안점을 둔다¹⁵⁾. 일반적으로는 淸火熱·通利大小便·祛風疎風·祛瘀·順氣理氣·補虛 치료를 기본으로 한다^{15,20)}. 특히, 火邪는 實火와 虛火를 막론하고 모두 炎火灼外·浮動亂神·津液耗傷·生風動血·邪火犯肺의 특징이 있으므로, 淸火熱法은 急性期 中風治療에 있어 利大小便과 함께 대표적인 치료법 중의 하나이다^{8,21)}.

劉素素는 <黃帝素問宣明方論·補養門>의 첫번째 처방으로 防風當歸飲을 기록하여 脾腎眞陰虛損·肝心風熱鬱甚·陽盛陰衰·邪氣上逆·上實下虛·怯弱不耐한 증에 사용하였으며⁹⁾, 李樾은 防風當歸飲이 心肝의 陽氣를 瀉하고 脾腎의 陰氣를 補하되 辛香 燥熱한 약이 들어있지 않아, 風熱·燥熱·濕熱에 挾虛한 것을 治療하는 良劑이며, 그 치료 효과가 防風通聖散보다 크며 益元散보다 降火作用이 強하다고 하였다²²⁾.

처방 중 滑石은 三焦濕熱의 妄火를 降下시켜 小便으로 나가게 하고, 大黃은

陽明濕熱을 瀉下하여 大便을 따라 나가게 하며, 黃芩은 胸膈을 서늘하게 하며 柴胡는 肌肉을 解熱하고 防風은 頭目を 맑게 한다. 人蔘·甘草는 補氣하고, 當歸·芍藥은 補血한다²³⁾. 즉 防風當歸飲은 전체적으로 火를 降下, 瀉下시키면서 인체의 氣血이 손상되지 않도록 하는 扶正祛邪의 효능을 지닌 처방으로, 火와 虛의 두가지 병태를 겸한 중풍의 치료에 유효한 처방이다.

허혈성 뇌졸중은 기능적 장애 및 뇌의 구조적 통합성의 손실과 연관된 혈액동력학적 신경생리학적·생화학적 변화에 의하여 발생한다²³⁾. 뇌허혈성 병변에 대한 약물의 효능을 실험하기 위한 전제조건인 뇌손상 정도의 측정은 첫째, 뇌경색 혹은 뇌허혈성 병변 범위의 광범성을 기준하여 그 손상 정도를 측정하는 방법^{24,26)} 둘째, 생화학적 방법²⁷⁾ 셋째, 광학 현미경이나 전자 현미경적 소견을 기초로 하여 뇌세포 미세 구조물의 변화 혹은 뇌조직의 파괴 정도와 같은 병리학적 소견으로 손상 정도를 추정하는 방법^{24,26)} 등이 있다.

임상에서 빈발하는 중대뇌동맥 폐쇄는 대부분 색전으로 발병하게 된다²⁹⁾. 많은 예들에서 색전이 용해되고 재관류가 이루어지는 과정이 중대뇌동맥 폐쇄 후의 재관류 모델과 유사하므로³⁰⁾, 뇌경색 연구에는 가역성 뇌경색 실험 모델이 필요하다. 특히, 중대뇌동맥 폐쇄 후의 재관류 모델은 첫째, 개두술로 인한 뇌손상을 줄이고 둘째, 기압펌프(pneumatic pump)³¹⁾나 기계적 폐쇄장치³²⁾ 또는 미세 clip 등과 비교하여 혈관에 미치는 외상이 경미하며 셋째, 뇌허혈에 보호적으로 작용하는 마취에 의한 영향을 극소화시킬 수 있으며 넷째, 뇌허혈에 대한 보상기전을 관찰하는 데

필요한 재관류가 가능하다는 장점을 가지고 있다.

이에 저자는 임상에서 다용될 수 있는 防風當歸飲이 흰쥐의 중대뇌동맥 폐쇄 후 재관류 모델에 미치는 효과를 알아보기 위하여 실험적으로 국소허혈을 일으킨 후 뇌경색의 크기, 뇌부종, 광학 현미경에 의한 신경세포의 변화를 측정하였다.

본 연구에서는 중대뇌동맥을 1시간동안 결찰한 후 재관류시킴으로서 인위적인 뇌졸중을 유발하였는데, TTC 염색의 결과 괴각(putamen)을 비롯한 뇌조직에서 많은 장애가 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, 수술한 동측이 뇌부종 상태가 되어 반대쪽을 심하게 누르고 있음이 관찰되었다. 일부 표본에서는 허혈이 유발된 동측뿐만 아니라 반대쪽 대뇌반구에서도 허혈로 인한 장애가 관찰되었는데, 이는 뇌부종의 결과로 인한 뇌손상으로 추정되었다. 따라서 뇌허혈에서 기인된 신경세포의 괴사(neuronal necrosis)는 가벼운 뇌허혈 상태(mild brain ischemia)의 결과로 인해 서서히 진행되는 선택적 신경세포 손상(selective neuronal injury)뿐만 아니라, 뇌허혈이 유발된 지역으로부터 멀리 떨어진 곳에서도 일어나는 것(exo-focal postischemic neuronal death)으로 보아, 뇌허혈 후의 신경세포 손상(postischemic neuronal injury)은 단일 과정이 아닌 다양한 기전을 통해 일어나는 것으로 추정된다.

1시간동안 왼쪽 중대뇌동맥을 결찰시켜 뇌허혈을 유발시킨 후 재관류시킨 흰쥐를 72시간 후에 희생시켜 뇌실질에서의 뇌경색 정도를 측정된 결과, 뇌허혈로 인한 뇌경색의 부피는 대조군에서는 대뇌반구의 평균 22%를 점유하고 있었으나, 실험군에서는 대뇌반구의

17%로 감소되어 유의성 있는 감소효과를 나타내었다. 한편 뇌허혈로 인한 뇌부종 정도를 양쪽 대뇌반구를 비교하여 관찰한 결과, 대조군은 정상군보다 약 14% 정도 부피가 커졌으며, 실험군은 정상군보다 약 7.3% 정도만 커져 역시 유의성 있는 감소 효과를 나타내었다.

이는 치명적인 손상을 받은 허혈 중심과 정상적인 관류가 이루어지는 뇌조직 사이에 존재하는 뇌경색 주변부는 제한된 혈류량으로 어느 정도 손상을 받으나, 구제될 수 있는 조직이 존재한다는 것을 의미한다⁶⁾.

대뇌의 허혈은 뇌조직의 다양한 생리학·생화학·형태학적 변화를 일으키는데, 이때 해마의 피라미드 세포, 선조체의 중간크기의 신경세포, 대뇌피질의 피라미드 세포들은 선택적으로 퇴화가 일어난다³³⁾. 이들 가운데 대표적인 것이 대뇌피질과 해마의 피라미드 세포들로 특히 해마의 CA1 지역 신경세포가 선택적으로 감소되면 심한 기억장애가 초래되는데³⁴⁾, 흥미롭게도 CA1 피라미드 세포들은 일시적 허혈 이후 바로 피사되지 않고 며칠 후 지연성으로 사망한다^{35,36)}. 그러나 CA3 지역과 치상회 지역은 비교적 신경세포의 손상이 심하지 않는데^{37,38)}, 이러한 신경세포의 취약성 차이에 대한 명확한 기전은 아직까지 밝혀진 것은 없다.

본 연구에서는 수술 후 72시간이 지난 후 해마의 변화를 관찰하였는데, CA1 지역을 중심으로 피라미드 세포의 장애를 관찰할 수 있었으나, 防風當歸飲을 투여한 실험군에서는 허혈로 인한 CA1 지역의 장애정도가 대조군에 비하여 현격히 줄었다. 이는 특정 취약 신경세포의 보호를 위한 적절한 치료체계의 개발이라는 의미에서 그 의의를 찾을 수 있을 것이다.

생체내에서 防風當歸飲 추출액의 효과는 흰쥐의 중대뇌동맥 폐쇄 후 재관류 모델의 신경세포 손상을 억제하여 신경세포 보호 효과를 가지는 것으로 생각되며, 앞으로 구체적인 작용 양상 및 기전에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

V. 結 論

防風當歸飲이 중대뇌동맥 폐쇄 후 재관류 모델에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 흰쥐를 이용하여 뇌경색의 부피·뇌부종·광학현미경에 의한 신경세포의 변화를 살펴본바 신경세포 보호작용을 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 뇌경색의 부피는 대조군이 약 22% 차지하였고, 실험군이 약 17%를 차지하여 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
2. 뇌부종은 대조군이 정상군보다 약 14%, 실험군이 정상군보다 약 7.3% 정도 부피가 커져 실험군이 대조군보다 유의성 있게 감소하였다.
3. 광학현미경적 소견으로는 대조군은 허혈을 유발시킨 부위와 동측의 해마형성체의 CA1 지역·CA3 지역에 위치하는 신경세포가 가장 많은 장애를 입는 것으로 관찰되었고, 실험군은 대조군보다 장애 정도가 감소하였다.

VI. 參 考 文 獻

1. 통계청. 사망원인통계연보(1997). 서울: 1999;21-60
2. Kogure K, Hara H. Biochemistry and mechanism of ischemia induced brain injury. In: Orfofozo JM and Gottfries CG(EDs): Progress in Dementia Research, Parthenon, New Jersey 1989;63-98

3. Levy DE, Duffy TE. Cerebral energy metabolism during transient ischemia and recovery in the gerbil. J. Neurochem 1997;28:63-70
4. Pulsinelli WA, Brierley JB, Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. Ann. Neurol. 1982;11:491-498
5. Walter J Koroshetz, Michael A Moskowitz, Emerging treatments for stroke in humans. TiPS. 1996;17:227-2339
6. Ginsberg MD, Pulsinelli WA. The ischemic penumbra, injury thresholds, and the therapeutic window for acute stroke. Ann Neurol. 1994;36(4):553-554
7. Heiss WD. Experimental evidence of ischemic thresholds and functional recovery. stroke. 1992;23(11):1668-1672
8. 유종삼. 星香正氣散이 흰쥐의 腦損傷에 미치는 影響. 대전대학교 대학원 1992
9. 김순신. 蘇合香元이 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響. 대전대학교 대학원 1993
10. 정승현, 신길조, 이원철. 六一順氣湯 抽出物이 생쥐의 全腦虛血에 미치는 影響. 東國韓醫學研究所論文集 1999;7(2):149-154
11. 설인찬, 김병탁. 加味補陽還五湯이 高脂血症, 血栓, 高粘度血症, 高血壓, 및 腦損傷에 미치는 영향. 韓方成人病學會誌 1998;4(1):133-162
12. 최은정, 신길조, 이원철. 蘇合香元이 實驗的 腦梗塞 흰쥐의 局所腦血流量 및 梗塞 면적에 미치는 영향. 한의학학회지 1997;18(1):462-465
13. 조규선, 이원철, 윤상협. 흰쥐의 中大腦動脈 閉鎖後 大造丸 投與가 大腦半球 및 視床萎縮에 미치는 영향. 韓方成人病學會誌 1998;4(1):163-175
14. 김선영, 윤상협, 이원철. 흰쥐의 중대뇌동맥 폐쇄후 黃連解毒湯 투여가 대뇌반구 및 시상 위축에 미치는 영향. 동국논총 1998;37:229-246
15. 김영석. 중풍(뇌졸중). 중풍학술대회는문집 1995;1-56
16. 劉完素. 金元四大家醫學全書 黃帝素問宣明論方. 天津: 天津科學技術出版社. 1992;92-93
17. Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral

- artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1987;20:84-91
18. Bederson JB, Pitts LH, Germano SM, Nishimura MC, Davis RL, Barkowski HM. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chrolide as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. *Stroke* 1986;17:1304-1308
 19. Hideaki Hara, Takayuki Sukamoto, Kyuya Kogure. Mechanism and Pathogenesis of ischemia-induced neuronal damage. *Progress in Neurobiology* 1993;40:645-670
 20. 김영석. 임상중풍학. 서울;서원당, 1997:498-509
 21. 강화정, 문병순. 中風의 治療에 있어 淸熱法에 대한 文獻的 考察. 한국한의학회 연구소논문집 1996;2(1):26-39
 22. 李挺. 原本編註醫學入門. 서울: 남산당, 1985:1998-1999
 23. Hideaki Hara, Takayuki Sukamoto, Kyuya Kogure. Mechanism and Pathogenesis of ischemia-induced neuronal damage. *Progress in Neurobiology* 1993;40:645-670
 24. 박세혁, 이규호, 이규창. 실험적 뇌경색 후 신경학적 및 병리학적 소견에 대한 nimodipine의 효과. 대한신경외과학회지. 1990;19:5-13
 25. Brierley JB, Meldrum BS, Brown AW. The threshold and neuropathology of cerebral "anoxic-ischemic" cell change. *Arch Neurol.* 1973;29:367-374
 26. Garcia JH, Kamijyo Y. Cerebral infarction. Evolution of histo-pathological changes after occlusion of a middle cerebral artery in primates. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1974;33:408-421
 27. Ramzi SC, Vinay K, Stanley LR. Robbins pathologic basis of disease, 4th edi. WB Saunders Company. 1989;9-12
 28. 박춘근, 정철구, 김달수 등. 실험적 중대뇌 동맥 폐쇄에 의한 지연성 어혈성 뇌경색. 제 1 부 : 뇌경색의 시간경과에 따른 변화. 대한신경외과학회지. 1989;:18:505-514
 29. 이광우, 정희원. 임상신경학. 서울:고려의학, 1997:418
 30. Nagasawa, Kogure. Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion. *Stroke.* 1989;20(8):1037-1043
 31. Spetzler RF, Selman WR, Weinstein P, et al. Chronic reversible cerebral ischemia : Evaluation of a new baboon model. *Neurosurgery.* 1980;7:257-261
 32. Little JR. Implanted device for middle cerebral occlusion in conscious cats. *Stroke.* 1977;8:258-260
 33. Brierley JB. Cerebral hypoxia. In : Greenfield's neuropathology (Blackwood W, Corsellis JAN, eds). Chicago : Year Book Medical Publishers. 1976;43-85
 34. Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral G. Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J Neurosci.* 1986;6:2950-2967
 35. Kirino T. Delayed neuronal death in the gerbil hippocampus following ischemia. *Brain Research.* 1982;239:57-69
 36. Pulsinelli WA, Brierley JB, Plum F. Temporal profile of neuronal damage in model of transient forebrain ischemia. *Ann Neurol.* 1982;11:491-498
 37. Hori N, Doi S. Appearance of NMDA receptors triggered by anoxia independent of voltage in vivo and in vitro. *Exp Neurol.* 1991;112:304-311
 38. Pulsinelli W, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke.* 1979;10:267-272