

CWS-A 방의 뇌혈류역학적 변화 및 안전성에 관한 연구

최찬헌 · 김정상¹ · 정현우² · 송민선³ · 채우석^{4*}

동신대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 해부학교실, 2: 병리학교실, 3: 간호학과, 4: 침구학교실

Study for the Effect of CWS-A on the Cerebral Hemodynamic Changes and the Safety Examination

Chan Hun Choi, Jeong Sang Kim¹, Hyun Woo Jeong², Min Sun Song³, Woo Seok Chae^{4*}

Department of Physiology, 1: Anatomy, 2: Pathology, 3: Nursing, 4: Acupuncture, Oriental Medical School, Dongshin University

This study was designed to investigate the effects of a new herbal medicine named CWS-A on the changes in regional cerebral blood flow (rCBF) and mean arterial blood pressure (MABP) in normal rats, and further to determine the mechanism of action. Also, this study was designed to investigate the effects of CWS-A on the changes in rCBF in cerebral ischemic rats and the safety examination of CWS-A in rats regared to body weight change, renal and liver function test, CBC, LD₅₀ and histological observation in rats. The rCBF was significantly and stably increased and MABP was significantly decreased by CWS-A during the period of cerebral reperfusion in normal rats. However, there were no here were no significant changes of rCBF in ischemic rats. In additional, there were no significant changes on the safety examination. In conclusion, these results suggest that medication of CWS-A is effective for the improve the cerebral blood flow and CWS-A can be prescribed as vertigo(眩暈) symptoms treatment.

Key words : Herbal medicine(CWS-A), vertigo, rCBF, MABP, safety examination

서 론

현대사회에서는 인구의 노령화, 성인병의 증가 및 복잡한 환경으로 인하여 어지럼증 환자의 수가 증가하는 추세로 노인층에서는 유병률이 20-40%, 활동기 인구의 유병률은 23%에 이르고 있다¹⁾. 어지럼증은 한의학에서는 眩暈이라는 용어로 불리는데, 眩은 眼目的昏眩이고 暈은 腦의 量轉을 의미한다^{2,5)}. 眩暈의 병인에 대해서 『黃帝內經』에서는 “諸風掉眩皆屬於肝”, “上氣不足”, “髓海不足” 등의 여러 가지 원인을 언급하고 있으며⁵⁾, 劉河間⁶⁾은 火, 朱丹溪⁷⁾은 痰, 張景岳⁸⁾은 虛를 중심으로 眩暈의 병인을 설명하고 있고, 임상에서도 이에 준한 病證으로 眩暈을 치료하고 있다³⁾.

본 연구에 사용된 CWS-A 방은 鹿茸, 昆布, 薏苡仁, 黃栢, 玄胡索, 三七根, 丹蔘, 蓬朮, 杜冲, 牛膝酒蒸, 白芍藥, 牡丹皮, 香附子, 薑黃, 當歸, 黃芪, 白芥子 등의 17가지 약재로 구성된 創案方으로 G광역시 D대학 부속한방병원에서 관절질환과 眩暈에 선택

적으로 사용되어지고 있는데, 실제 임상적으로는 眩暈에 효과를 보이고 있지만 CWS-A 방의 투여가 실험적으로 어떠한 효능을 가지는 지에 대한 기전 규명의 필요성이 대두되었기에 본 연구를 진행하게 되었다. 임상적으로 뇌혈류역학적 변화를 통해 眩暈을 연구한 예는 변 등⁹⁾의 연구가 대표적이며, 이는 眩暈이 뇌혈류 역학적 장애와 연관이 있음을 규명한 것이다.

이를 바탕으로 본 연구는 CWS-A 방의 뇌혈류량과 혈압과의 상관관계를 실험적으로 규명하고자 정상 흰쥐의 국소 뇌혈류량과 평균 혈압에 미치는 효과를 살펴보고, 아울러 뇌허혈을 유발시킨 후 재관류 시 불안정하게 증가되는 뇌혈류량의 변동을 관찰해 전반적인 뇌혈류역학에 미치는 효과를 알아보았다. 또한 CBC 및 간기능과 신기능 검사지표, LD50 그리고 단회투여 독성 실험과 간과 신장의 조직학적 검사를 통해 CWS-A 방의 안정성에 대한 검증을 수행하였고, 소기의 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

* 교신저자 : 채우석, 전남 나주시 대호동, 동신대학교 한의과대학 침구학교실

· E-mail : chawose@dsu.ac.kr, · Tel : 062-350-7800

· 접수 : 2011/12/29 · 수정 : 2012/01/13 · 채택 : 2012/01/17

1) 동물

체중 200~210 g의 내외의 6주령의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 구입하여 사용하였으며, 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경(실내온도 24±2℃, 습도 55±5%, 12시간 dark/light)에 1주일 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약물

본 실험에서 사용한 CWS-A 방은 G광역시 D대학 부속한방병원에서 장안되어 사용 중인 처방으로 처방 내용 및 생약명^{11,12)}은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Prescription of CWS-A

Herb Name	Pharmacognostic nomenclatures	Amount (g)
鹿茸	<i>Cornu Cervi Pantotrichum</i>	10.0
昆布	<i>Laminaria Japonica</i>	6.0
薏苡仁	<i>Semen Coicis</i>	6.0
黄栢	<i>Cortex Phellodendri</i>	6.0
玄胡索	<i>Rhizoma Corydalis</i>	5.0
三七根	<i>Radix Notoginseng</i>	5.0
丹参	<i>Radix Salviae Miltiorrhizae</i>	5.0
蓬朮	<i>Rhizoma Zwoariae</i>	5.0
杜冲	<i>Cortex Eucommiae</i>	5.0
牛膝酒蒸	<i>Radix Achyranthis Bidentatae</i>	5.0
白芍藥	<i>Radix Paeoniae Alba</i>	4.0
牡丹皮	<i>Cortex Moutan Radicis</i>	4.0
香附子	<i>Rhizoma Cyperi</i>	4.0
薑黃	<i>Rhizoma Curcuma Longae</i>	4.0
當歸酒洗	<i>Radix Angelicae Sinens</i>	4.0
黃芪	<i>Radix Astragali</i>	4.0
白芥子	<i>Semen Sinapis Albae</i>	3.0
Totally		70.0

2. 방법

1) 시료의 조제

CWS-A 방 40첩 분량 2,800 g을 11,200 ml 증류수와 함께 탕전기(인화ENG No-001, Korea)로 180분 동안 전탕하여 얻어진 추출액 4,800 ml을 거즈로 거른 다음, 원심분리기(eppendorf, Germany)를 이용하여 5,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 찌꺼기를 버리고 상층액을 얻었다. 얻어진 상층액은 감압농축기(EYELA, Japan)를 이용하여 감압 농축한 다음, 동결건조하여 최종적으로 197.14 g을 얻어 시료로 사용하였다.

2) 국소 뇌혈류량 변화 측정

흰쥐를 stereotaxic frame(DKI, U.S.A.)에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 두개창 수술을 시행하고, Laser doppler flowmeter(Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8 mm)를 대뇌 피질 표면에 수직이 되도록 stereotaxic micromanipulator를 사용하여 뇌연막 동맥에 조심스럽게 근접시킨다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험 절차에 따라 CWS-A 방을 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 국소 뇌혈류량(regional cerebral blood flow)을 각각 30분 동안 측정하였다. 이 때 10 mg의 증류수에 CWS-A 동결건조 시료 8.7 g를 녹여 stock 용액을 만든 후 각각 10배씩 희석하여 사용하였다.

3) 평균 혈압 변화 측정

흰쥐를 750 mg/kg의 urethane(Sigma, U.S.A)으로 마취시킨 후 체온이 37~38℃로 유지될 수 있도록 heat pad 위에 복와위로 고정시킨다. CWS-A 방 투여 용량(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)에 따른 평균 혈압(mean arterial blood pressure) 변화는 흰쥐의 대뇌동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass, U.S.A.)를 통하여 MacLab과 macintosh computer로 구성된 data acquisition system으로 각각 30분 동안 측정하였다.

4) 뇌허혈 유발 뇌허혈 유발

Longa¹²⁾ 등의 방법에 따라 중대뇌동맥 (middle cerebral artery, MCA) 폐색법을 이용하였다. 병태 모델은 정상 흰쥐의 중경동맥과 외경동맥을 결찰하고, 내·외경동맥의 분지점으로부터 내경동맥내로 외경동맥을 통하여 3-0 단선조 나일론 봉합사를 삽입함으로써 MCA 기저부를 폐색시킨다. 120분 후 내경동맥내에 삽입되어 있는 단선조 나일론 봉합사를 MCA 기저부로부터 제거해 줌으로써 혈액을 재관류시켰다.

5) 뇌허혈 유발 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동 측정

뇌허혈을 유발시킨 후 실험 절차에 따라 CWS-A 방(10 mg/kg, i.p.)을 투여한 실험군과 시료를 투여하지 않은 대조군으로 분류하였다. 뇌허혈을 유발시킨 120분 후 혈류를 재관류시켜 변동되는 국소 뇌혈류량을 상기 방법으로 240분 동안 측정하였다.

6) 안정성 검사 방법

CWS-A 1배량과 2배량을 4주간 매일 반복투여한 후 체중, CBC 및 간기능과 신기능 지표를 측정하였으며, 투여 방법은 경구투여용 존대가 부착된 일회용 주사기를 이용하여 CWS-A 1배량(16.5 mg/0.2 kg/day)과 2배량(33.0 mg/0.2 kg/day)을 30일 동안 매일 아침 일정한 시간에 경구 투여하였다. 이때 체중은 투여 직전에, 투여 후 1주일 간격으로 측정하였고, CBC 및 간기능과 신기능 지표는 4주 투여가 끝난 후 희생시켜 관찰하였다.

7) CBC 관찰 및 간기능(GOT, GPT), 신기능검사(Creatinine, BUN)

30일간의 반복투여가 끝난 후 실험동물을 희생시킨 다음 이들의 혈액에서 WBC, RBC, Hb, PLT 등을 관찰하고 혈청을 분리한 후 GOT, GPT, Creatinine, BUN 등을 관찰하였으며, 이를 통해 CWS-A 방을 투여한 군의 간기능 및 신기능의 변화를 관찰한다.

8) LD₅₀ 및 단회투여 독성시험

시험물질의 임상적용 용량은 60 kg 사람을 기준으로 하여 CWS-A 방을 33.0 mg/0.2 kg/day양으로 투여하였다. 시험물질을 임상적용 용량의 5배와 10배에 해당하는 용량을 적용하여 수컷 10마리에 각각 투여하여 LD₅₀을 및 단회투여 독성시험을 하였다. 일반증상은 투여 당일부턴 시험동물의 행동양상의 특이소견을 관찰하였으며, 매일 2회 시험이 완료되는 날 까지 일반증상 및 사망 유무를 관찰하였다.

9) 광학현미경 관찰

흰쥐의 간과 신장 조직을 적출하고 Bouin 용액을 사용하여 6시간 동안 고정시킨 다음, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100% I, 100% II와 같이 알코올 농도를 상승시켜 탈수한 다음 xylene으로 투명화 과정을 거친 후 paraffin으로 포매하였고, 포

매된 조직을 microtome을 사용하여 5 μm 두께로 절편하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시키고 xylene으로 paraffin을 제거한 다음 100%, 90%, 80% ethanol 과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담가 흡수과정을 거친 후 Hematoxylin과 Eosin으로 이중염색을 한 다음 탈수하였다. Canada balsam으로 봉합한 후 카메라 부착 광학현미경(Olympus BX51, Japan)으로 관찰한 후 사진을 촬영하였다.

3. 통계분석

뇌혈류 실험 결과에 대한 통계적 처리는 SAS(Statistical Analysis System) program을 이용하였다. CWS-A 방을 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)에 따른 국소 뇌혈류량, 평균 수축기 혈압과 이완기 혈압의 차이는 반복측정 분산분석(Repeated Measure ANOVA)를 이용하였다. 유의한 결과는 Bonferroni 수정을 통한 사후검정을 시행하였으며, 유의수준은 모두 p<0.05로 정하였다. CWS-A 방 투여에 따른 실험군과 대조군의 동질성 검정은 Wilcoxon Signed Rank test를 시행하였으며, 실험군과 대조군의 뇌혈류량의 변동의 차이는 반복측정 분산분석(Repeated Measure ANOVA)를 이용하였다. 시점에 따른 유의한 결과는 Bonferroni 수정을 통한 사후검정을 시행하였으며, 유의수준은 모두 p<0.05로 정하였다.

안정성 검사를 위한 통계방법으로는 Normal, control, CWS-A×1, CWS-A×2 의 4개군의 주별 체중의 차이, CBC(WBC, RBC, Hb, PLT), 혈청검사(GOT, GPT, Creatinine, BUN)의 차이는 SPSS 프로그램(버전14.0)을 사용하여 ANOVA로 분석하였으며, 통계적으로 유의한 경우 사후검정은 Tukey 방법을 시행하였으며, 유의수준은 모두 p<0.05로 정하였다.

결 과

1. 용량별 국소 뇌혈류량 변화

CWS-A 방을 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여하였을 경우 처음 뇌혈류량에 비해 용량이 0.01 mg/kg인 경우 감소하였으나 0.1mg/kg부터는 증가하여 용량별로 유의한 차이를 보였다(p<0.001). Bonferroni 사후검정에서 용량에 따라서 선형적으로 증가하였다(p=0.017)(Table 2, Fig. 1)

Table 2. Results on the rCBF by inject CWS-A in normal rats

	0 mg/kg ^a (Mean±SE)	0.01 mg/kg ^b (Mean±SE)	0.1 mg/kg ^c (Mean±SE)	1.0 mg/kg ^d (Mean±SE)	10.0 mg/kg ^e (Mean±SE)	F	p
rCBF (AU)	374.33±13.57	371.87±16.26	387.37±18.44	406.53±20.29	427.85±17.64	6.54	<0.001

rCBF : Regional cerebral blood flow. CWS-A : Prescription of CWS-A freeze dried powder.

Table 3. Results on the MABP by inject CWS-A in normal rats

	0 mg/kg ^a (Mean±SE)	0.01 mg/kg ^b (Mean±SE)	0.1 mg/kg ^c (Mean±SE)	1.0 mg/kg ^d (Mean±SE)	10.0 mg/kg ^e (Mean±SE)	F	p
MABP (mmHg)	89.65±2.78	85.05±3.37	82.48±2.78	81.49±2.69	81.57±2.12	7.14	<0.001

MABP : Mean arterial blood pressure. CWS-A : Prescription of CWS-A freeze dried powder.

Table 4. Test of homogeneity of variances

	실험군 (Mean±SE)	대조군 (Mean±SE)	p
Cerebral blood flow (rCBF)	167.24±9.31	151.40±8.16	0.270

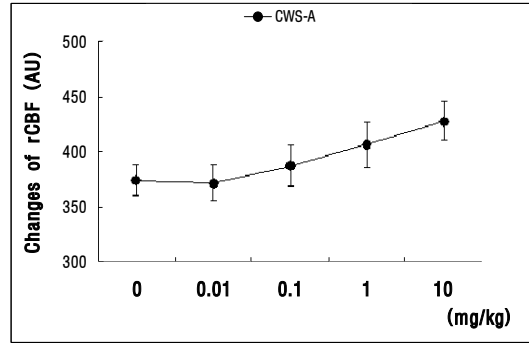


Fig. 1. Effects of CWS-A on the rCBF in normal rats. rCBF : Regional cerebral blood flow. CWS-A : Prescription of CWS-A freeze dried powder. The present data were expressed as mean±SE of 8 experiments

2. 용량별 혈압의 변화

CWS-A 방을 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여하였을 경우 수축기혈압의 변화는 용량이 증가할수록 감소하여 용량별로 유의한 차이를 보였다(p<0.001). Bonferroni 사후검정에서 용량에 따라서 선형적으로 감소하였다(p<0.001)(Table 3, Fig. 2).

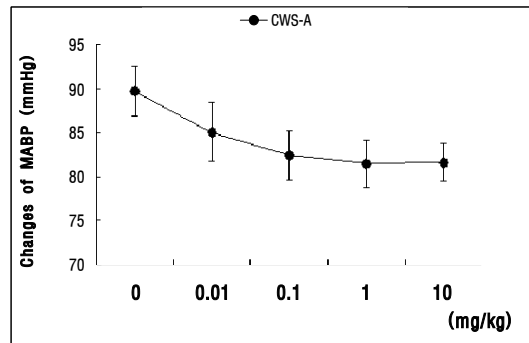


Fig. 2. Effects of CWS-A on the MABP in normal rats. MABP : Mean arterial blood pressure. CWS-A : Prescription of CWS-A freeze dried powder. The present data were expressed as mean±SE of 8 experiments.

3. 뇌허혈 유발 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동

1) 실험군과 대조군의 동질성 검증

뇌허혈 유발 후 측정된 뇌혈류량에 대한 실험군과 대조군의 동질성 검증에서 실험군은 167.24±9.31 ml, 대조군은 151.40±8.16 ml로 통계적으로 유의한 차이가 없어 동질한 집단으로 확인되었

Table 5. The changes of the rCBF by meditation of CWS-A in cerebral ischemic rats

	0분	30분	60분	90분	120분	30분	60분	90분	120분	150분	180분	210분	240분	Source	F	p
Exp (AU)	354.96 ±13.54	156.01 ±8.36	159.43 ±8.57	163.68 ±9.48	167.24 ±9.18	362.60 ±9.31	406.79 ±13.81	433.79 ±10.83	415.29 ±12.98	402.80 ±9.94	383.56 ±11.00	369.54 ±10.35	355.71 ±13.43	Group	5.70	0.032
Cont (AU)	364.28 ±10.79	162.09 ±8.89	156.28 ±8.93	184.76 ±34.15	151.40 ±8.16	382.69 ±10.68	416.49 ±16.66	466.27 ±12.47	462.09 ±11.17	425.62 ±9.65	395.35 ±12.23	384.64 ±12.02	380.45 ±12.95	G+T	1.25	0.278

Exp.=experimental group; Con.=control group; G=group; T=time.

다(p=0.270)(Table 4).

2) 뇌허혈 유발 흰쥐의 국소 뇌혈류량 변동

뇌허혈을 유발시킨 120분 후 혈류를 재관류시켜 변동되는 국소 뇌혈류량을 측정 한 결과, 120분을 기준으로 하여 반복측정 분산분석을 측정하였다. 실험군에서 뇌허혈을 유발한 후 처음 측정 한 뇌혈류량은 167.24±9.31 AU였고 CWS-A방을 투여하고 재관류시킨 후 30분 간격으로 측정 한 결과 90분까지는 증가하여 433.79±10.83 AU였다가 120분에는 다시 감소하여 240분에는 355.71±13.43 AU였다. 뇌혈류량을 반복측정분산 분석한 결과 시기와 집단간의 상호작용(F=1.25, p=0.278)은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 5, Fig. 3).

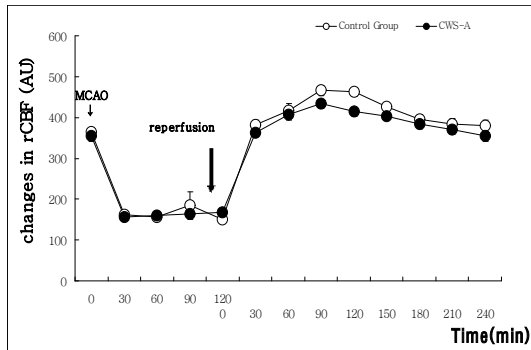


Fig. 3. Effect of CWS-A on the rCBF response in cerebral ischemic rats. After treatment with pharmacopuncture solution, MCAO was exerted for 120 min, then Reperfusion was also exerted. Control Group were untreated group, Sample was treated CWS-A 10.0 mg/kg to cerebral ischemic rats. MCAO was right middle cerebral artery occlusion, and rCBF was regional cerebral blood flow. The data were expressed as Means±SE in 8 rats.

4. 체중변화

각 주마다 측정 한 체중의 변화는 아래와 같으며 이를 분석 해 보면 모든 주차에서 4개군은 유의한 차이가 없었으며 이를 통해 CWS-A 방의 투여가 체중의 변화에 미치는 영향을 없었음을 알 수 있었다(Table 6).

Table 6. The variation of body weight in rats

		Normal	Control	CWS-A ×1	CWS-A ×2
1 weeks (g)	Mean	210.5	209.1	211.2	205.5
	SD	±4.43	±7.10	±5.52	±16.75
2 weeks (g)	Mean	279.0	266.2	263.2	271.8
	SD	±12.75	±20.27	±14.10	±11.70
3 weeks (g)	Mean	319.8	314.8	304.1	316.8
	SD	±19.92	±17.45	±15.75	±14.33
4 weeks (g)	Mean	345.3	337.7	325.5	337.1
	SD	±24.78	±19.55	±19.06	±18.94
Expire (g)	Mean	353.8	346.81	340.7	347.8
	SD	±30.14	±22.04	±18.61	±17.63

5. 간기능 및 신기능 검사 결과

30일 간의 CWS-A 투여 후 흰쥐를 희생시켜 측정 한 GOT, GPT, Creatinine, BUN의 변화는 아래 표와 같으며 이를 분석해 보면 GOT(F=0.608 p=0.614), GPT(F=0.686, p=0.567), creatinine(F=0.580, p=0.632), BUN(F=0.580 p=0.632)로 나타나 각 군간의 유의성은 없었으며 이를 통해 간기능과 신기능에 미치는 영향이 없었음을 알 수 있었다(Table 7).

Table 7. Effects of CWS-A on levels of renal and liver function test in rats

		Normal	Control	CWS-A ×1	CWS-A ×2
GOT	Mean	117.00	137.75	116.58	115.33
	SD	±36.28	±77.93	±15.62	±20.32
GPT	Mean	33.00	37.58	32.83	31.42
	SD	±3.46	±18.17	±6.53	±5.21
Creatinine	Mean	0.25	0.26	0.25	0.23
	SD	±0.06	±0.05	±0.05	±0.09
BUN	Mean	21.98	19.90	19.15	18.63
	SD	±2.29	±2.48	±2.24	±1.94

6. CBC 검사결과

30일 간의 CWS-A 투여 후 흰쥐를 희생시켜 측정 한 WBC(F=0.20, p=0.898), RBC(F=1.24, p=0.309), Hb(F=1.93, p=0.142), PLT(F=1.02, p=0.394)의 변화는 아래와 같으며 각 군간의 유의성은 없었으며 이를 통해 CWS-A의 투여가 CBC 변화에 미치는 영향을 없었음을 알 수 있었다(Table 8).

Table 8. Effects of CWS-A on levels of CBC in rats.

		Normal	Control	CWS-A ×1	CWS-A ×2
WBC	Mean	5.73	5.12	5.52	5.38
	SD	±1.35	±1.20	±2.30	±1.39
RBC	Mean	9.12	9.06	8.08	8.42
	SD	±0.33	±0.44	±2.42	±0.73
Hb	Mean	15.24	15.62	14.46	14.24
	SD	±0.36	±0.98	±2.26	±1.36
PLT	Mean	826.20	965.08	771.00	934.73
	SD	±82.93	±299.86	±312.29	±340.02

7. LD₅₀ 및 단회투여 독성시험

임상적용에서 일반적으로 사용하는 용량의 5배와 10배에 해당하는 용량을 단회 투여한 후 14일 동안 관찰하였으나, 사망하거나 이상소견을 보인 실험동물은 없었으며, 14일 후 회복하여 장기를 육안적 관찰한 결과 또한 이상 소견은 없었다.

8. 반복투여 독성검사

간독성을 검색한 결과, 정상군(Fig. 4A)과 생리식염수를 투여한 대조군(Fig. 4B)의 흰쥐에서 간소염의 증상에 있는 중심

정맥을 중심으로 부챗살모양으로 간세포판이 배열되어 있었으며, 동굴모세혈관이 뚜렷이 관찰되었다. CWS-A 1배량을 30일 동안 매일 투여한 실험군(Fig. 4C)과 2배량의 약물을 투여한 실험군(Fig. 4D)의 간조직 또한 병리적 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 4).

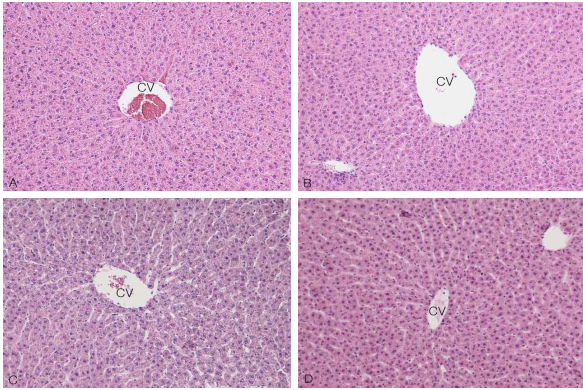


Fig. 4. Light micrographs of liver 30 days. Representative hemotoxylin-eosin-stained sections of liver were examined by light microscopy in normal rats (A), saline treatment control rats (B), CWS-A extract 33.0 mg/0.2 kg/day administered rats (C), and CWS-A extract 33.0 mg/0.2 kg/day administered rats. (D). CV, central vein. Original magnification set at $\times 100$.

신장독성을 검색한 결과, CWS-A 1배량을 30일 동안 매일 투여한 실험군(Fig. 5C)과 2배량의 약물을 투여한 실험군(Fig. 5D)은 정상군(Fig. 5A)이나 생리식염수를 투여한 대조군(Fig. 5B)과 비슷한 조직학적 소견을 보여 약물의 신장독성은 없었다(Fig. 5).

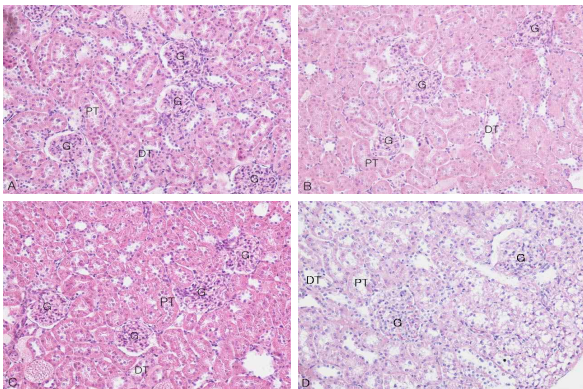


Fig. 5. Light micrographs of kidneys 30 days. Representative hemotoxylin-eosin-stained sections of kidney were examined by light microscopy in normal rats (A), saline treatment control rats (B), CWS-A extract 16.5 mg/0.2 kg/day administered rats (C), and CWS-A extract 33.0 mg/0.2 kg/day administered rats show slightly enlarged glomerulus and histopathological changed tubules on the right lower portion(D). DT, distal convoluted tubule; G, glomerulus; PT, proximal convoluted tubule. Original magnification set at $\times 100$.

고 찰

어지럼증은 회전감, 부동감, 암흑감 등을 동반하는 평행장애로 나타나는 주관적인 증상을 의미¹³⁾하며 이비인후과적인 말초성 요인과 추골기저동맥계의 일과성 뇌허혈 등의 중추성 요인이 많은 부분을 차지하고 있다^{1,14)}.

한의학에서 어지럼증을 의미하는 眩暈이란 용어는 『三方』¹⁵⁾에서 처음으로 언급되었지만, 이미 『黃帝內經』에 掉眩, 頭眩, 眩冒, 目眩으로 기재되어 있으며^{4,5)}, 이에 대한 병인에 대해서도 『黃帝內經·至真要大論』¹⁾에서는 肝의 문제를 병인으로 삼았고, 『黃帝內經·口問』²⁾에서는 上氣不足으로, 『黃帝內經·衛氣』³⁾에서는 上虛로, 『黃帝內經·海論』⁴⁾에서는 髓海不足을 원인으로 기술하고 있다^{2,4)}. 이외에도 朱丹溪⁷⁾는 痰을 중심으로 氣虛와 火가 혼합되어 있다고 주장하였으며, 劉河間⁶⁾은 火의 動을, 張景岳⁸⁾은 虛함이 眩暈의 중요 병인이 된다고 주장하였고^{4,16)}, 『東醫寶鑑』에서도 風暈, 濕暈, 熱暈, 氣暈, 痰暈, 虛暈 등의 6 가지 병인으로 변증하였다¹⁷⁾. 이처럼 한의학에서 바라보는 眩暈의 병인은 다양하며, 실제로 한방병원에 내원한 眩暈환자의 변증을 분석한 김¹⁶⁾의 연구에서는 眩暈환자들을 腎精不足, 肝陽上搖, 濕痰中阻, 氣血虧虛 등으로 구별하여 변증할 수 있음을 보고하였다.

임상에서도 眩暈을 다양한 변증을 통해 치료하였으며, 이를 기존에 보고된 眩暈에 대한 한의학적 임상 예를 통해 살펴보면, 김 등¹⁸⁾은 미로성 어지럼증을 大柴胡湯에 氣鬱과 風을 제거할 목적으로 각각 香附子와 天麻를 가미한 처방과 신경경적인 요소를 감안하여 分心氣飲을 2차 투여한 효과를 보고하였고, 김 등¹⁸⁾은 중추성 眩暈환자를 上焦風熱로 진단하여 清咽理腸湯을 사용하여 치료한 경우를, 이 등²⁰⁾은 소뇌위축증으로 인한 眩暈 환자에게 加減地黃飲子를 투여해 치료한 예를, 권 등²¹⁾은 七氣湯으로 치료한 예를 보고하였다.

본 연구는 이러한 眩暈을 치료할 목적으로 G광역시의 D대학 부속한방병원에서 창안된 CWS-A 방에 대해 흰쥐를 이용하여 실험적으로 眩暈에 대한 효과를 관찰하고 아울러 안전성에 대한 검증을 도모하기 위해 시행되었다.

이를 위해 임상적으로 경두개 도플러 초음파를 통해 眩暈이 뇌혈류역학적 장애와 연관이 있음을 규명한 변 등⁹⁾의 연구를 기초로 하여 정상 흰쥐의 국소 뇌혈류량과 평균 혈압에 미치는 효과를 laser doppler flowmeter 등을 활용하여 살펴보고 아울러 뇌허혈을 유발시킨 후 재관류 시 불안정하게 증가되는 뇌혈류량의 변동 개선을 통해 전반적인 뇌혈류역학에 미치는 효과를 관찰하였다. 또한 체중과 CBC, GOT, GPT, BUN, creatinine, LD₅₀ 및 단회투여 독성시험을 시행하였고 간과 신장의 조직학적 검사를 통해 안전성에 대한 검증을 수행하였다.

실험 결과, CWS-A 방은 투여 용량에 비례하여 국소 뇌혈류량을 증가시켰고, 기저치에 비해 0.1 mg/kg부터는 통계적으로 유의한 차이를 보였으며 선형적 증가 유형을 보였고, 평균 혈압은 용량이 증가할수록 감소하였다. 이를 뇌혈류역학적 변화로 고찰해보면, 뇌혈관을 확장시킴으로써 뇌혈류량을 증가시키고 평균 혈압을 감소시킨 것으로 생각된다. 이는 정상적인 뇌혈류량이 유지되기 위해서는 뇌관류압과 뇌혈관의 직경 변화가 유기적으로 작용해야 하는데, 이 때 혈압이 하강될 경우에는 뇌혈관이 확장

1) 諸風掉眩 皆屬於肝
2) 上氣不足 腦爲之不滿 耳之苦鳴 頭爲之苦傾 目爲之眩
3) 下虛即厥 不盛即熱 上虛即眩 上盛即熱痛
4) 髓海不足即 腦轉耳鳴脛痠眩冒目 無所見

되어야 하고, 혈압이 상승하게 될 경우에는 뇌혈관은 반대로 수축되어야 하기 때문이다²²⁾.

뇌허혈을 유발시킨 후 재관류 시 불안정하게 증가되는 뇌혈류량의 변화를 관찰하기 위하여 Longa¹²⁾의 방법으로 뇌허혈을 유발시킨 120분 후 관류시켜 변동되는 국소 뇌혈류량을 측정하였다. CWS-A 방을 투여하고 재관류시킨 후 30분 간격으로 측정된 결과 90분까지는 증가하였고, 120분에는 다시 감소하여 안정되는 경향은 보였지만 뇌혈류량을 반복측정분산 분석한 결과 시기와 집단간의 상호작용은 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

이와 같은 결과는 CWS-A 방이 뇌혈관을 확장시켜 뇌혈류를 증가시킴으로써 경증의 어지럼증이나 또는 혈류 감소로 인하여 나타나는 저림 증상 등의 임상 증상에 사용될 수 있음을 시사해 준다. 이에 대한 한의학적 고찰을 위해 CWS-A 방 중 구성약물을 크게 분류해 보자면 補肝腎 및 强筋骨의 효능이 있는 鹿茸(壯元陽, 生精髓, 强筋骨), 杜冲(補肝腎, 壯筋骨), 牛膝(通利關節, 引血引火下行, 補肝腎, 强腰膝)과, 理氣의 효능이 있는 香附子(理氣解鬱, 調經止痛)와 活血의 효능이 있는 三七根(化瘀止血, 活血定痛), 牡丹皮(清熱涼血, 活血行瘀), 補血의 효능이 있는 白芍藥(養血斂陰, 平抑肝陽, 柔肝止痛)과, 活血과 補血을 겸한 當歸(補血活血, 調經止痛), 丹蔘(活血調經, 涼血消癰, 養血安神), 理氣와 活血(破血)의 효능이 있는 玄胡索(活血祛瘀, 理氣止痛), 蓬朮(行氣破血, 消積止痛), 薑黃(破血行氣 通經止痛), 濕痰을 제거하는 효능의 昆布(消痰結, 散癭瘤)와 薏苡仁(利水滲濕, 除濕痺, 清肺排膿, 健脾止瀉), 白芥子(溫肺祛痰, 利氣散結, 通絡止痛), 黃柏(清熱燥濕, 瀉火解毒)과 黃芪(補氣升陽, 固表止汗, 托毒排膿, 生肌, 利水退腫)로 구성되어 있어, 補精·補肝腎의 약물군과 理氣하는 약물군, 活血 및 補血의 약물군, 그리고 祛濕痰의 약물군으로 구분할 수 있다.

이를 뇌혈류 개선과 관련된 연구들과 비교해 보면 鹿茸을 대상으로 한 실험 중 백 등²³⁾의 연구에서 補精하는 六味에 鹿茸이 가미된 처방이 뇌혈류를 증가시키고 혈압을 낮추었다는 보고해 본 연구와 비슷한 결과를 보였고, 十全大補湯에 鹿茸을 가미한 처방이 十全大補湯 본방보다 뇌혈류 개선이 유효했다는 이²⁴⁾의 연구와도 관련이 있어, CWS-A 방에서 군약으로 사용된 鹿茸이 뇌혈류개선에 효과적이었던 것으로 판단된다. 이 외의 뇌혈류 개선 처방으로 연구되어 진 것으로는 四君子湯, 二陳湯, 六君子湯²⁵⁾, 八物湯²⁶⁾, 導痰湯加味方^{27,28)} 등이 있어 氣, 血, 濕痰과 관계하여 뇌혈류를 개선시켜 뇌혈류 장애를 치료할 수 있다는 연구가 진행되었는데, 이는 위에서 언급한 眩暈의 병인들과도 연관이 있으며 CWS-A 방에서 구성하고 있는 補精·補肝腎之劑, 理氣之劑, 活血·補血之劑, 祛濕痰之劑의 분류와도 어느 정도 일치하고 있으며 이러한 방제의 구성으로 인해 뇌혈류 개선이 이루어졌다고 판단지어 진다.

안전성 검증을 위해 CWS-A 방 1배량과 2배량을 4주간 투여하며 관찰한 결과, 체중에서는 실험군과 대조군에서 유의한 차이가 없었으며 이를 통해 CWS-A의 투여가 체중의 변화에 미치는 영향을 없었음을 알 수 있었다. 간기능 검사와 신기능 검사를 위

해 혈청을 분리한 후 측정된 GOT, GPT, Creatinine, BUN의 변화도 각 군마다 유의한 차이가 없었으며 이를 통해 간기능과 신기능에 미치는 영향이 없었음을 알 수 있었고, WBC, RBC, Hb, PLT의 차이도 관찰되지 않았다. 이들을 최종 희생시킨 후 간과 신장 조직을 관찰한 결과 역시 별다른 병리적 소견이 보이지 않았다. 또한 LD₅₀ 및 단회투여 독성시험을 위해 임상에 적용되는 정량에 5배와 10배량의 용량을 단회 투여한 후 14일 동안 관찰하였으나, 사망하거나 이상소견을 보인 실험동물은 없었다. 이를 통해 CWS-A 방의 투여는 혈액학적 및 조직학적으로 안전하다고 판단되어 진다.

이상에서의 실험 결과를 종합해 보면, CWS-A 방이 뇌혈관을 확장시켜 뇌혈류를 증가시켰다는 것은 뇌혈류 감소로 인한 眩暈 등의 임상 증상에 사용될 수 있음을 의미한다. 다만 CWS-A 방이 뇌혈관을 확장시켜 뇌혈류를 증가시킴으로써 뇌허혈로 인한 질환에 사용될 수 있지만 혈관을 확장시키기 때문에 저혈압 등의 환자에게 사용하는 것은 주의해야 할 것으로 생각되며, 혈액학적 및 조직학적 안정성에는 문제가 없음을 알 수 있었다.

결론

CWS-A 방의 뇌혈류역학 유효성과 안전성을 관찰하기 위하여 뇌혈류량 및 평균 혈압, 뇌허혈에서 재관류 시 변동되는 뇌혈류량을 분석하고 안전성을 관찰해 본 결과, 투여용량에 비례하여 뇌혈류량이 증가하였고, 혈압은 감소하였으며 뇌허혈 후 재관류 시 불안정한 증가 상태를 보였던 대조군의 국소 뇌혈류량보다 개선되었다. 또한 GOT, GPT, Creatinine, BUN, WBC, RBC, Hb, PLT 및 LD₅₀ 그리고 단회투여 독성시험과 간과 신장의 조직학적 관찰에서도 별다른 특이성이 발견되지 않았다.

감사의 글

본 연구는 동신대학교 부속 광주한방병원의 지원으로 진행되었음

참고문헌

1. 김 각, 홍용성, 조휴채, 조용호, 장철호, 조용범. 어지럼을 주소로 응급실에 내원한 1060예의 임상적 고찰. Korean J. Otorhinolaryngol-Head Neck Surg., 52: 302-306, 2009.
2. 탁명임. 黃帝內經에 나타난 眩暈에 대한 연구. 동의대학교 대학원, 2011.
3. 송춘호, 안창범, 장경진, 윤현민. 眩暈의 침구치료에 대한 문헌적 고찰 대한경락경혈학회지 20(4):121-136, 2003.
4. 설인찬, 김병탁. 眩暈에 대한 문헌적 考察. 대전대학교 한의과대학연구소 논문집, 5(1):205-210, 1996.
5. 洪元植 校合編纂. 精校黃帝內經. 서울, 동양의학연구원 출판부, p 187, 263, 269, 299, 1981.

6. 劉完素. 劉河間傷寒六書. 서울, 成輔社, p 257, 1976.
7. 朱震亨. 丹溪心法. 臺北, 中國書店出版社, pp 277-278, 1986.
8. 張介賓. 景岳全書. 臺北, 中國中醫藥出版社, pp 218-221, 1994.
9. 변준석, 임희룡. 경두개 도플러 초음파를 이용한 眩暈 환자의 뇌혈관 혈류 측정에 관한 임상적 연구. 동서의학, 32(4):33-47, 2007.
10. 신민교. 임상분초학. 서울, 영림사, pp 194-196, 209-210, 204-205, 236-239, 240-224, 385-387, 405-407, 477-478, 479-480, 497-498, 517-518, 519-521, 525-527, 654-657, 731-732, 736-737, 2006.
11. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외. 完譯 中藥大辭典. 서울, 도서출판 정담, pp 141-147, 393-397, 1036-1043, 1117-1126, 1159-1168, 1451-1455, 2020-2022, 2179-2183, 2769-2175, 4170-4186, 4418-4425, 6124-6130, 6460-6471, 6512-6525, 1998.
12. Longa, E.Z., Weinstein, P.R., Carlson, S., Cummins, R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats, Stroke 20(1):84-91, 1989.
13. Stone, H.E. Vertigo: A practical approach, Emer. Mrd. Australas. 16(1):13-16, 2004.
14. 김진우. 眩暈환자의 MMPI 프로파일 특성과 한의학적 치료효과에 대한 연구. 원광대학교 대학원, 2006.
15. 陳無擇. 三因方. 臺北, 臺聯國風出版社, pp 6-7, 1978.
16. 김진수, 김성훈. 眩暈의 病因病機에 관한 小考. 대전대학교 한의과연구소 논문집, 7(1):465-475, 1998.
17. 허 준. 新對譯 東醫寶鑑. 서울, 법인문화사, pp 572-576, 2007.
18. 김지연, 김종대. 미로성 어지럼증으로 추정되는 환자의 한방 치료 증례보고 동서의학회지 34(2):29-36, 2009.
19. 이제원, 장우석, 백경민. 眩暈을 호소하는 올리브소뇌위축증 양한방 협진 치험 1례. 동서의학회지 35(4):73-83, 2010.
20. 권정남, 김형균. 眩暈에 대한 七氣湯의 치험예. 한방성인병학회지 4(1):251-257, 1998.
21. 대한신경외과학회. 신경외과학. 서울, 중앙문화사, pp 150-156, 275-279, 284-285, 299, 1997.
22. 백영찬, 김정상, 김영희, 정현우. 六味地黃湯加味方이 뇌혈류역학에 미치는 기전연구. 동의생리병리학회지 15(5):687-692, 2001.
23. 이상영, 십전대보탕 및 十全大補湯加鹿茸이 血虛生風證 병태 모델에 미치는 실험적 연구. 동신대학교 대학원, 2010.
24. 정현우, 김희성. 四君子湯, 二陳湯, 六君子湯이 뇌혈류역학 변동에 미치는 실험적 연구. 동의생리병리학회지 18(1):75-83, 2004.
25. 박철훈, 김계엽, 정현우. 八物湯이 뇌혈류역학 변화에 미치는 작용기전. 동의생리병리학회지 18(6):1714-1722, 2004.
26. 宋政錫, 鄭鉉雨. 祛風導痰湯이 白鼠의 腦血流變化에 미치는 機轉研究. 東醫生理病理學會誌 16(1):99-103, 2002.
27. 金義成, 鄭鉉雨. 清熱導痰湯이 腦血流改善 및 作用機轉에 미치는 영향. 東醫生理病理學會誌 15(2):325-331, 2001.