

L-NAME으로 誘發된 학습·기억장애와 腦虛血 損傷에 關한 大造丸의 效果

김근우, 구병수

동국대학교 한의과대학 신경정신과교실

Effects of *Daejo-hwan*(*Tatsao-wan*) on L-NAME Induced Learning and Memory Impairment and on Cerebral Ischemic Damage of the Rats

Geun-Woo Kim, Byung-Su Gu

Department of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Objectives : This study demonstrates the effects of *Daejo-hwan* on learning and memory impairment induced by L-NAME (75 mg/kg) treatment and on cerebral ischemic damage induced by middle cerebral artery (MCA) occlusion in rats.

Methods : *Daejo-hwan* emulsion (73.3 mg/100 g/1 ml) was administered to rats along a timed study schedule. The Morris water maze was used for learning and memory test of the rats. The MCA was occluded by using the intraluminal thread method. The brain slices were stained by 2 % triphenyl tetrazolium chloride (TTC) and 1 % cresyl violet solution. Infarct size, neuron cell number and size in penumbra was measured by using computer image analysis system.

Results :

1. The escape latency of the *Daejo-hwan* treated group decreased significantly with respect to the control group.
2. The memory score of the *Daejo-hwan* treated group showed increase tendency. And the swimming distance was not different between the normal, the control, and the *Daejo-hwan* treated group.
3. The infarct size of the *Daejo-hwan* treated group decreased significantly with respect to the control group.
4. The total infarct volume of the *Daejo-hwan* treated group showed decrease tendency. And the brain edema index of the *Daejo-hwan* treated group decreased significantly with respect to the control group.
5. The neuron cell number and cell size in penumbra of the *Daejo-hwan* treated group increased significantly with respect to the control group.

Conclusions : According to the above results, it is supposed that *Daejo-hwan* is clinically applicable to the vascular dementia. (*J Korean Oriental Med* 2000;21(2):25-36)

Key Words: *Daejo-hwan*(*Tatsao-wan*), Learning and memory impairment, Cerebral ischemia, Vascular dementia.

서론

최근 의학의 급속한 발달로 인하여, 인간의 평균 수명

이 과거에 비해 현저히 길어져 노인인구가 증가함에 따라 국가 사회적인 차원뿐만 아니라 의학적인 면에서도 새로운 문제를 야기하고 있으며, 특히 60세 이상에서 기능적 정신질환이 계속 증가함과 동시에 기질적 뇌증후군도 증가하고 있다.^{1,2)}

기질적 뇌증후군 중에는 腦硬塞이 포함되며, 이는 뇌

· 접수 : 2000년 5월 20일 · 수정 : 7월 4일 · 채택 : 8월 4일
· 교신저자 : 김근우, 서울특별시 강동구 성내동 551-3
우신향한방병원
(Tel. 02-477-9661, E-mail: kgwoo86@hanmail.net)

를 관류하는 頭蓋內外的 腦動脈 硬化에 의한 협착 및 폐색, 또는 血栓형성에 의한 腦血流 장애로 腦虛血이 발생한다³⁴⁾. 이러한 뇌의 병리적 변화가 반복됨으로써 뇌의 여러 부위에 硬塞이 발생하여 인지기능이 황폐화되어 多發性 硬塞 치매가 발생하는데, 이것은 혈관성 치매의 대부분을 차지하며, 인지장애가 대표적인 임상증상 및 평가척도이다⁴⁶⁾.

최근 腦血流과 관련해서는 nitric oxide (NO)가 腦血流 조절의 매개인자로 작용하며, nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)이나 nitro-L-arginine (L-NA)와 같은 nitric oxide synthase (NOS) 억제제의 투여는 腦血流을 감소시키고, 해마의 long-term potentiation을 억제함으로써 학습 및 기억 장애를 초래한다^{7,8)}고 보고되었으며, 勃起不全에 대해서도 영향을 주는 것으로 보고되고 있다⁹⁾.

인지기능은 한의학에서 內經에 “兩精相搏 謂之神... 心有所憶 謂之意 意之所存 謂之志... 因慮而處物 謂之智”라고 한 것과 같이 여러 문헌에서 광의적으로는 神, 협의적으로 意, 志의 기능과 상통한다. 또한 神은 意와 志를 포함하는 개념으로 보며, 인지장애는 癡狂, 健忘, 虛勞 및 呆病의 범주에 속한다¹⁰⁻¹²⁾. 그리고 “腦爲元神之府”¹³⁾라 하여 神은 뇌에 저장되며¹⁴⁾, 內經에 “兩精相搏 謂之神... 腎藏精”, “心者 君主之官 神明出焉”, “血脈和利 精神乃居”라 하여 뇌는 腎精과 心血의 물질적 기초에 의해서 그 기능을 발휘하는 것이다^{10-12,15-16)}.

大造丸은 明代 李時珍의 本草綱目¹³⁾에 기재된 처방으로, 각종 문헌에서, 養陰補精, 大補氣血, 滋補肺腎의 효능을 가지며¹⁷⁾, 임상적으로 咳嗽, 慢性腎炎, 身體消瘦, 怔忡, 五臟虛損, 老年虛勞 등에 응용되고, 腎精의 滋養을 받는 뇌에도 작용하고 있다¹⁸⁾.

大造丸에 관해서는 이¹⁹⁾의 문헌연구와 조²⁰⁾의 실험적 腦硬塞 연구가 있었으나, 학습 및 기억장애에 대한 연구 및 腦虛血로 유발된 뇌혈관 장애를 통한 치매에 대한 연구는 없었다.

이에 저자는 흰쥐에 L-NAME을 투여한 후 학습 및 기억장애에 미치는 大造丸의 영향을 Morris 수중미로 실험²¹⁾을 통하여 관찰하였으며, 나아가 中大腦動脈의 폐쇄에 의한 직접적인 腦虛血 손상에 대한 영향을 관찰하

여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 동물 및 약재

1) 동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 흰쥐로 대한실험동물 센터에서 구입하여 2주간 실험실 환경에 적응시킨 후 250g 전후의 개체를 실험에 사용하였다. 실험실 적응기간동안은 물과 펠릿사료를 자유롭게 먹도록 하였으며, 온도 (21~24℃)와 습도 (40~60%)가 일정하게 유지되는 환경에서 사육되었다.

2) 약재

본 실험에 사용된 약재는 東醫寶鑑¹⁷⁾에 기재된 내용에 의거해 동국대학교 한방병원에서 제조된 大造丸을 사용하였다. 제조방법은 각 약재를 깨끗이 씻어서 건조 후 배합하여 분말을 만든 후 米糊를 이용하여 作丸하였다. 그 처방의 구성은 다음과 같다.

韓藥物名	生藥名	用量 (g)
生乾地黃	Rehmanniae Radix	150.00
紫河車	Hominis Placenta	80.00
龜板	Testudinis Carapax	56.25
杜沖	Eucommiae Cortex	56.25
天門冬	Asparagi Radix	56.25
黃栢	Phellodendri Cortex	56.25
牛膝	Achyranthis Radix	45.00
麥門冬	Liriois Tuber	45.00
當歸	Angelicae Sinensis Radix	45.00
人蔘	Ginseng Radix	37.50
五味子	Schizandrae Fructus	18.75
總量		646.25

3) 검액의 조제

대조환 1포의 용량은 평균 4.4 g이었으며, 흰쥐에의 투여량은 체중 60kg의 성인에 대한 체중 비례의 10배 용량인 73.3 mg/100g을 1회 투여량으로 하였다. 이를 위하여 대조환 10포 44g을 60 ml의 온수에 넣은 후 hot plate 상에서 완전히 녹여 용액으로 만들어 사용하였다.

2. L-NAME 투여에 의한 학습 및 기억 장애에 미치는 영향에 대한 관찰

1) 실험장치

본 실험에 사용된 장치는 Morris 수중미로 장치²¹⁾로 원형 수조와 도피대 및 computer tracker로 구성되었다. 수조는 스테인레스 스틸로 직경 1.32m, 높이 50cm의 원형으로 만들어졌으며, 도피대는 높이 42cm, 직경 9cm인 백색 아크릴로 만들어졌다. Computer tracker는 수조 위 2.4m에 설치된 CCD camera와 transducer, monitor, IBM computer로 구성되었으며, 실험동물의 행동양상 추적 및 분석은 San Diego Instrument사(USA)의 software를 사용하였다.

도피대는 수조의 중심을 지나는 가상적인 두 개의 직교되는 선을 그어 수조를 4등분하고 그 중 하나의 사분면 중앙 지점에 설치하였고, 도피대 위 2cm까지 수조에 물을 채우고 1kg의 탈지분유를 풀어 도피대가 보이지 않게 하였다. 실험실은 외부 빛이 차단된 독립공간 내에서 일정한 조도를 유지하였으며, 실험기간동안 물의 온도는 22±2℃로 유지하였다. 수조의 주변 환경은 카메라, 실험대, 컴퓨터, 의자 등 공간단서들을 일정하게 유지하였고, 실험기간동안 실험자의 위치 또한 동일하게 하였다.

2) 실험군의 분류

실험군은 정상군 (normal group), 대조군 (control group), 약물투여군 (sample group)으로 나누고 각 군당 12마리씩 실험을 진행하였다. 정상군은 정상 상태의 흰쥐에 3일간 매일 1ml의 생리식염수를 복강주사하고, 2ml의 생리식염수를 경구 투여한 다음 1시간 후에 실험을 시행하였다. 대조군은 정상 상태의 흰쥐에 3일간 매일 L-NAME 75 mg/kg을 복강주사하고, 2ml의 생리식염수를 경구투여한 다음 1시간 후에 실험을 시행하였다. 약물투여군은 정상 상태의 흰쥐에 3일간 매일 L-NAME 75 mg/kg을 복강주사하고, 대조용액 1 ml/100g을 경구투여한 다음 1시간 후에 실험을 시행하였다.

3) 학습검사²²⁾

실험동물의 학습검사는 2일 동안 하루 8회의 시행을 실시하였으며, 실험 시작 1시간 전에 실험동물을 행동 관찰실로 옮기고 안정시켰다. 1회의 시행은 실험동물을 Morris 수중미로의 출발지점에 놓는 순간부터 도피대를 찾아 올라가는 것으로 구성되며, 이에 소요되는 시간을 측정하여 이를 학습검사의 지표로 하였다.

각 실험동물은 Morris 수중미로 사분면의 중앙으로부터 각 방향으로 10cm 정도 유영을 유도한 후 자유유영에 의하여 도피대를 찾아가게 하였으며, 유영 유도 방향은 각 시행 때마다 달리하였다. 유영 방향의 순서는 90°를 이루는 4개의 방향 즉 N, E, S, W의 순서로 8회를 시행하였다. 이때 도피대의 위치는 변경하지 않으며, 도피대를 찾는 시간은 최대 60초로 제한하고 만일 60초를 경과하여도 도피대를 찾지 못하는 경우 실험자가 실험동물을 도피대로 유도하여 도피대의 위치를 알려주었다. 도피대를 찾아 올라가면 15초의 주변 상황인식기를 갖은 다음 실험동물 cage로 옮겨 다음 시행 전까지 휴식기를 갖게 하였다 (Fig. 1).

4) 기억검사²²⁾

실험동물은 2일간의 학습 및 학습검사 후 3일째에 기억검사를 실시하였다. 기억검사는 수조에서 도피대를 제거한 후 각각 N방향을 향하여 60초동안 자유유영을

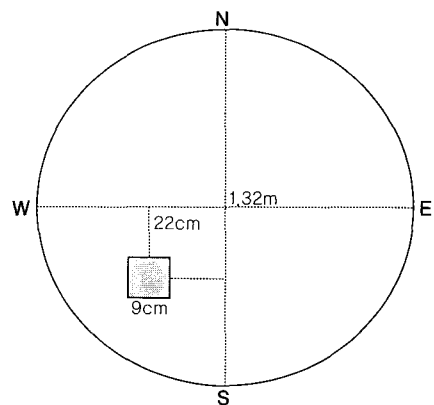


Fig. 1. Diagram of the maze pool and location of the platform.

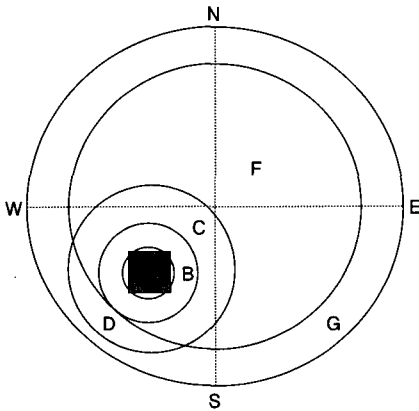


Fig. 2. Diagram of the superimposed score grid on the maze pool

시키며, 유영직전 동물의 두정부에 부착한 인식 스티커를 통하여 실험동물이 60초동안 도피대를 찾기 위하여 유영한 상태를 컴퓨터로 추적하였다. 기억성적은 분석 software와 computer에 입력된 수조의 영역별 점수에 근거하여 target area (도피대 위치)에 들어간 횟수, 최초 시간, 각 영역별 머문 시간 등에 의하여 계산되었다 (Fig. 2).

$$\begin{aligned} \text{Memory Score} = & [(\text{time in zone A}) \times 10] \\ & + [(\text{time in zone B}) \times 8] \\ & + [(\text{time in zone C}) \times 6] \\ & + [(\text{time in zone F}) \times 2] \\ & + [(\text{time in zone D}) / (\text{time in zone G}) \times 15] \end{aligned}$$

3. 뇌허혈 손상에 미치는 영향의 관찰

1) 실험군의 분류

실험군은 정상군 (normal group), 대조군 (control group), 약물투여군 (sample group)으로 나누고 각 군당 6마리씩 실험하였다.

정상군은 정상 상태의 흰쥐에 생리식염수를 경구투여하였고, 대조군은 中大腦動脈 폐쇄 수술에 의한 腦虛血 유발전 1 시간과 유발 4 시간 후에 각각 1 회 생리식염수를 경구투여하였다. 약물투여군은 中大腦動脈 폐쇄 수술에 의한 腦虛血 유발전 1 시간과 유발 4 시간 후

에 각각 1 회 1.0 ml/100g의 대조환용액을 경구투여 하였다.

2) 중대뇌동맥 폐쇄에 의한 뇌허혈 손상 유발²³⁾

흰쥐에 腦虛血 손상을 유발시키기 위하여 Ludmila의 편측 中大腦動脈 (middle cerebral artery, MCA)의 폐쇄 방법을 사용하였다.

실험동물은 수술시행 12시간 전부터 절식시켰으며, 마취는 3.5% chloral hydrate를 복강주사하는 방법을 사용하였다. 마취된 흰쥐를 heating pad 위에 놓힌 후 수술용 현미경 (Carl Zeiss, Zeiss, Germany) 하에서 먼저 전경부의 근육들을 정리하고 총경동맥 (common carotid artery, CCA)과 외경동맥 (external carotid artery, ECA) 및 내경동맥 (internal carotid artery, ICA)을 노출시킨 후 혈관들을 정리하였다. ECA의 원위부를 결찰하고, 5-0 silk suture로 고정고리를 두 개 만들어 놓은 후, ICA와 CCA는 3-0 silk suture 와 artery clamp를 사용하여 혈행을 완전 차단하였다. Microdissecting spring scissor로 ECA의 혈관벽을 약간 절개한 후 끝을 둥글게 만든 4-0 nylon suture를 삽입한 다음 ICA와 CCA를 다시 관류시켰다. 4-0 nylon suture를 carotid bifurcation으로부터 ICA를 거쳐 18~20 mm 전진시켜 nylon suture가 MCA의 시작부위를 폐쇄하도록 하였다. 다음 전경부의 피부를 소독 및 봉합하고 마취에서 깨어난 후 자유롭게 움직이게 하였다.

3) 뇌의 적출²⁴⁾

腦虛血 유발 24 시간 후에 실험동물을 단두하고, 뇌를 적출하여 차가운 생리식염수에 넣어 약간 굳힌 다음 rat brain matrix (ASI, USA)와 rat brain atlas의 interaural distance에 따라 2 mm 두께의 6개 뇌절편을 제작하였다.

4) 뇌절편의 염색²⁵⁾

腦虛血 손상부위의 관찰을 위하여 2 mm 두께로 제작된 뇌절편을 2% triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 용액에 담귀 37℃에서 30 분간 염색하였다. 또한 뇌세포들을 관찰하기 위하여 TTC 염색된 뇌절편을

Carnoy's solution에 1시간 고정하고 80 % ethanol에서 TTC를 제거하였다. 다음 paraffin 포매하여 20 μm 두께의 절편을 제작하고 1 % cresyl violet solution으로 20 분간 염색하였다.

5) 뇌허혈 손상 면적의 관찰

TTC로 염색된 각 뇌절편을 사진촬영을 한 후 scanner (Epson, GT-9500, Japan)로 scan하여 컴퓨터 (Macintosh, Power PC G3, USA)에 입력한 다음 영상 분석용 "NIH Image" software (NIH, Ver. 1.66, USA)를 사용하여 면적을 측정하였다. 腦虛血 손상부위의 면적은 부종에 의하여 면적이 늘어난 것을 보정하기 위하여, 먼저 정상측 대뇌반구의 면적을 측정하고 손상측 대뇌반구의 정상조직 면적을 측정한 다음 정상측 대뇌반구의 면적에서 손상측 대뇌반구의 정상조직 면적을 감하는 방법으로 계산하였다.

$$\text{腦虛血 손상 면적} = \text{정상측 대뇌반구의 면적} - \text{손상측 대뇌반구의 정상조직 면적}$$

6) 뇌허혈 손상 체적의 관찰²⁶⁾

腦虛血 손상 면적의 관찰에서 얻어진 각 뇌절편의 손상 면적으로부터 아래와 같은 식을 이용하여 腦虛血 손상 체적을 계산하였다.

$$\text{뇌허혈손상체적(mm}^3\text{)} = \frac{\text{각 뇌절편의 손상면적 총합}}{\text{뇌절편의 수}} \times 12\text{mm(최대뇌허혈손상거리)}$$

7) 손상측 대뇌반구의 부종 비율 관찰

腦虛血 손상 면적의 관찰에서 얻어진 각 뇌절편의 손상 면적으로부터 아래와 같은 식을 이용하여 손상측 대뇌반구의 부종 비율을 계산하였다.

$$\text{뇌부종 비율 (\%)} = \frac{(\text{손상측 대뇌반구 면적} - \text{정상측 대뇌반구 면적})}{\text{정상측 대뇌반구 면적}} \times 100$$

8) 신경세포 위축 정도와 수의 관찰²⁷⁾

Cresyl violet 염색된 뇌조직 slide를 광학현미경

(Olympus, VANOX AHBS-3, JAPAN)의 200배 하에서 腦虛血 손상 부위에 나타나는 조직학적 변화를 관찰하면서 컴퓨터 (Macintosh, Power PC G3, USA)에 영상을 입력하였다. 이를 "NIH Image" software를 사용하여 동일한 일정 면적 (320μm×466μm) 내에서 20μm² 이상의 면적을 가지는 세포 수와 세포들의 위축정도를 측정하였다.

실험성적

1. L-NAME 투여에 의한 학습장애에 미치는 영향

도피대를 찾는데 걸리는 시간은 정상군이 첫회 54.2 ±2.6 초에서 3회에는 17.7±5.1 초로 빨라졌으며, 이후 8회까지 10 초대를 유지하였고, 다음 날 9회에서는 45.2 ±4.2 초로 늦어졌다가 10회 이후부터는 다시 약 10초대를 유지하였다. 대조군은 첫회 59.4±0.6 초에서 3~5회에 계속 약 40초, 6~8회에 약 30초가 걸렸으며, 다음 날 10~13회에 약 30초, 14~16회에 약 20초가 걸려 정상군에 비하여 도피대를 찾는 시간이 매우 길어져 학습장애를 나타내었다.

약물투여군은 대조군에 비하여 4, 5 및 6회에서 각각 29.8±4.2 초, 28.8±3.0 초 및 23.9±4.4 초가 걸려 P<0.05의 유의한 시간단축효과가 있었으며, 8회에서는 18.5±2.5 초가 걸려 P<0.02의 유의한 시간단축효과가 있었다. 또한 다음날 13회에서도 19.8±3.8 초를 나타내어 P<0.05의 유의한 시간단축효과를 나타내어 L-NAME에 의하여 유발된 학습장애의 개선효과가 있는 것으로 판단된다 (Fig. 3).

2. L-NAME 투여에 의한 기억장애에 미치는 영향

2일간의 학습 후 3일째 기억에 의하여 도피대를 찾는 데 걸리는 시간 및 유영양상에 의하여 계산된 정상군의 기억점수는 115.1±3.6 이었고, 대조군은 75.9±5.7로 정상군에 비하여 34%가 감소한 유의한 기억장애를 나타내었다. 약물투여군은 90.4±5.5로 대조군에 비하여 19% 증가하였으나 유의성은 없었다. 60초간의 총유영 거리는 3군 모두 약 18 m로 유사하여 각 군간의 기억점수 차이는 유영거리의 차이에 의하지 않는 것으로 판단

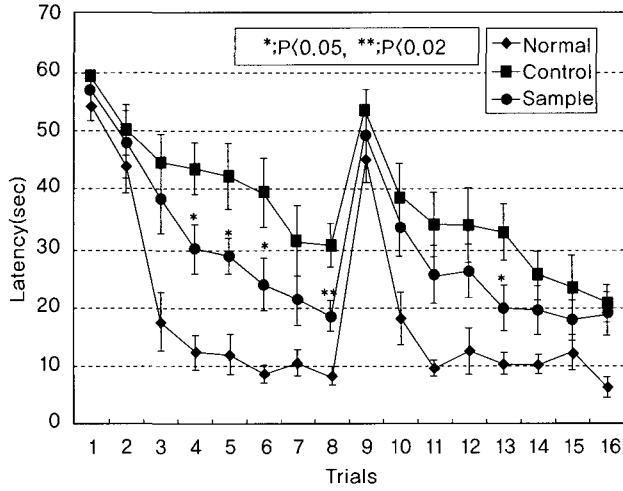


Fig. 3. Effect of *Daejo-hwan* on swimming latency of learning defected rats induced by L-NAME.

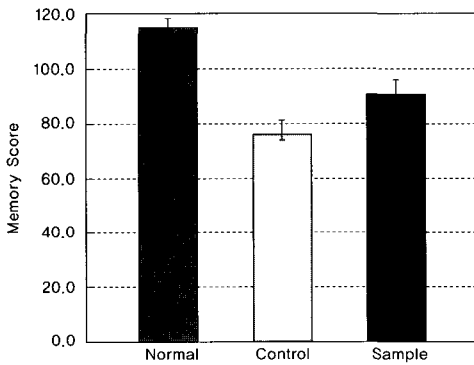


Fig. 4. Effect of *Daejo-hwan* on memory score of learning defected rats induced by L-NAME.

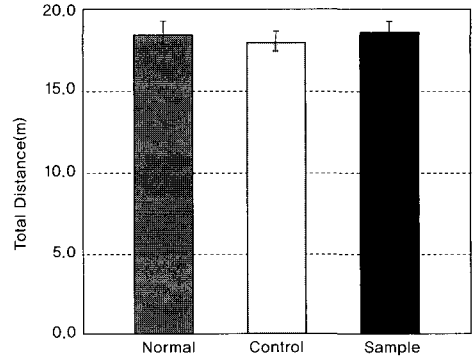


Fig. 5. Effect of *Daejo-hwan* on total swimming distance of learning defected rats induced by L-NAME.

된다(Fig. 4,5).

3. 뇌허혈 손상 면적에 미치는 영향

中大腦動脈 폐쇄에 의하여 유발된 腦虛血 손상면적은 대조군에서 interaural distance에 따라 12, 10, 8, 6, 4 및 2 mm에서 각각 $19.2 \pm 3.0 \text{ mm}^2$, $29.8 \pm 3.3 \text{ mm}^2$, $26.6 \pm 3.5 \text{ mm}^2$, $24.7 \pm 4.1 \text{ mm}^2$, $9.7 \pm 2.1 \text{ mm}^2$ 및 $6.3 \pm 1.9 \text{ mm}^2$ 이었다. 약물투여군은 각각 $16.3 \pm 4.1 \text{ mm}^2$, $25.3 \pm 4.8 \text{ mm}^2$, $16.2 \pm 3.0 \text{ mm}^2$, $13.3 \pm 2.3 \text{ mm}^2$, $8.3 \pm 1.9 \text{ mm}^2$ 및 $2.1 \pm 0.9 \text{ mm}^2$ 로 interaural distance 8 mm와 6 mm에서 대조군에 비하여 $P < 0.05$ 의 유의성 있는 腦虛血 손상면적 감소의 효과를 나타내었다(Fig. 6,7,8).

4. 뇌허혈 손상 체적 및 부종 비율에 미치는 영향

中大腦動脈 폐쇄에 의하여 유발된 腦虛血 손상 체적은 대조군에서 $232.6 \pm 22.5 \text{ mm}^3$ 이었으나 약물투여군에서는 $163.0 \pm 29.1 \text{ mm}^3$ 으로 29.9% 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 7,8,9).

中大腦動脈 폐쇄에 의하여 유발된 뇌부종 비율은 대조군에서 $17.1 \pm 1.6 \%$ 이었으나 약물투여군에서는 $11.1 \pm 1.9 \%$ 로 대조군에 비하여 $P < 0.05$ 의 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 7,8,9).

5. 뇌허혈에 의한 신경세포 수 및 위축에 미치는 영향

정상군의 대뇌피질내 세포 수는 단위면적 당 $204.5 \pm$

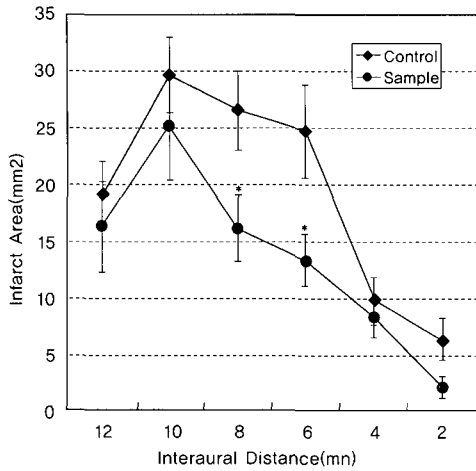


Fig. 6. Effect of *Daejo-hwan* on infarct area of rat brain following MCA occlusion.

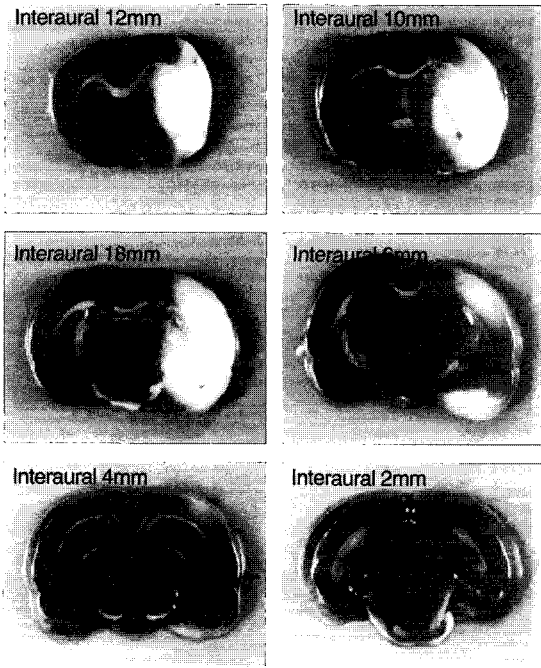


Fig. 8. TTC stained brain section of Sample group

17.4 개 이었고, 中大腦動脈 폐쇄에 의하여 유발된 腦虛血 손상에 따라 대조군은 105.6 ± 15.7 개로 감소하였으 며, 약물투여군에서는 165.8 ± 19.1 개로 증가하여 대조 군에 비하여 $P < 0.05$ 의 유의성 있는 세포 수 감소의 역

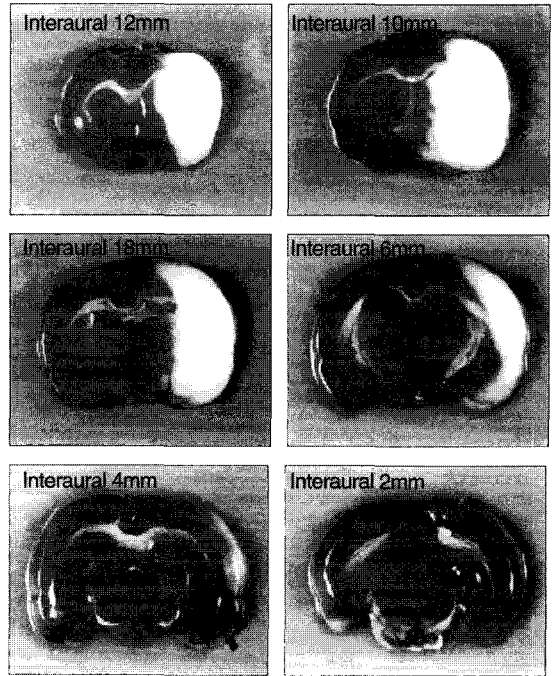


Fig. 7. TTC stained brain section of Control group.

제효과를 나타내었다(Fig. 10,11).

정상군에서 측정된 대뇌피질내 세포의 크기는 $75.2 \pm 4.1 \mu\text{m}^2$ 이었고, 中大腦動脈 폐쇄에 의하여 유발된 腦虛血 손상에 따라 대조군은 $34.2 \pm 4.2 \mu\text{m}^2$ 로 위축되었 으며, 약물투여군에서는 $47.2 \pm 3.4 \mu\text{m}^2$ 로 증가하여 대 조군에 비하여 $P < 0.05$ 의 유의성 있는 세포 위축의 억제 효과를 나타내었다(Fig. 10,11).

고 찰

치매란 다양한 원인으로 인해 생길 수 있는 정신 증 상이며²⁸⁾, 분류에 있어서도 DSM-IV-R 및 ICD-10에 따 라서 보면 크게 Alzheimer형 치매와 뇌혈관에 병리적 원인을 둔 치매 즉, 혈관성 치매로 나누어진다^{1,3,6,29)}.

혈관성 치매(Vascular Dementia)는 腦出血이나 腦硬 塞으로 인해서 생긴 치매를 의미한다. 이 중에서 특히 시상, 기저핵, 뇌간과 대뇌의 백질 등 광범위한 부위에 多發性 硬塞으로 인해서 치매가 생긴 경우를 多發性 硬 塞 치매(Multi-infarct Dementia)라 하며, 이는 대표적인

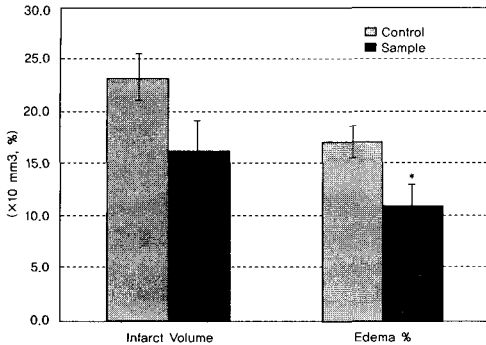


Fig. 9. Effect of *Daejo-hwan* on infarct volume and edema percent of rat brain following MCA occlusion.

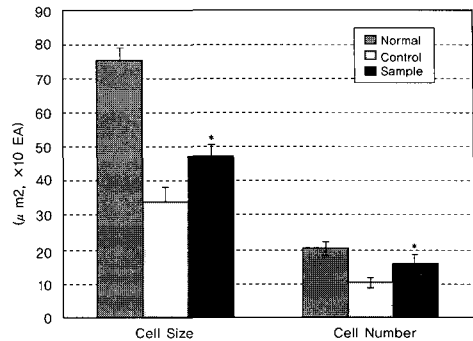


Fig. 10. Effect of *Daejo-hwan* on cell account and size in rat cerebral cortex following MCA occlusion.

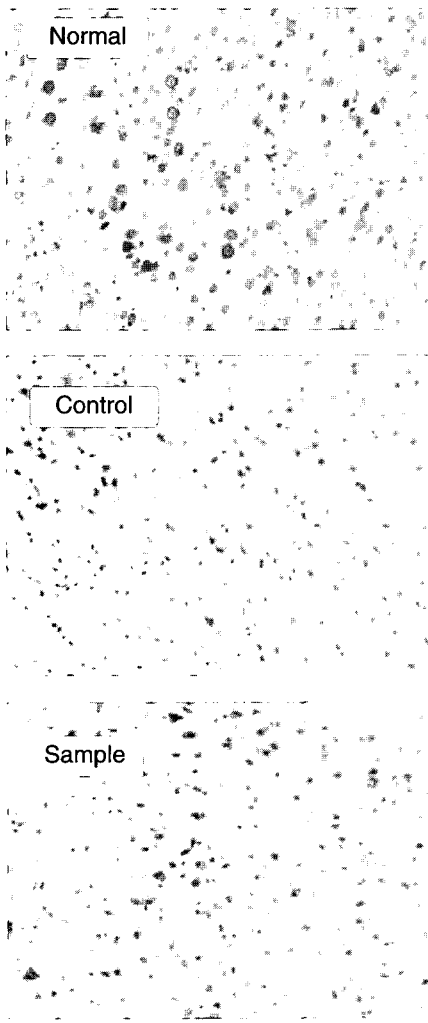


Fig. 11. Cresyl Violet stained brain section.

혈관성 치매이다^{1,4-6,28}.

일반적으로 백인에 있어서는 Alzheimer형 치매가 혈관성에 의한 것보다 많은 비율을 차지하나, 일본과 중국 인들을 대상으로 시행된 연구에서는 혈관성 치매가 Alzheimer형 보다 많다는 결과가 많은 것으로 보이나^{1,29}, 같은 지역권에 있는 우리나라에서도 뇌혈관의 장애를 병리적 기초로 하는 치매가 Alzheimer형보다는 많으리라 생각된다.

치매의 임상 양상 중 진단상 기준이 되는 것은 기억 장애를 포함한 知的 기능의 저하로 요약할 수 있다^{1,14}. 치매환자에 있어서 기억장애는 시간이 진행됨에 따라 점점 심해져 쉽게 감별할 수 있기에⁶, 이를 포함하는 인지기능의 장애는 진단척도의 하나로써 이용될 수 있다^{6,30}.

인지기능은 인간이 思考나 感知의 대상을 생각하고 느끼고 기억하는 과정을 의미하는 대뇌피질 기능이며³⁰, 뇌손상을 일으키는 수많은 신경과 질환에 의해서 혹은 나이가 들에 따라 저하된다^{1,5}. 특히, 연령이 증가함에 따라서 기억을 비롯한 여러 가지 인지기능이 감퇴하는 경우에 있어서, 노인에서는 이러한 인지장애를 나타내는 뇌의 변화가 나타나는데, 대뇌 萎縮으로 특징지어지는 여러 현상과 Alzheimer병에서 특징적으로 나타나는 老人斑(senile plaques)이 전반적으로 나타난다^{3,28,30,32}. 이것과 함께 노인 뇌에 있어서는 중요한 혈관의 粥腫斑(atheromatous palque)으로 일부분이 폐색되고 충분히 확장되기 어려워 대뇌의 혈액순환을 감소시키고 뇌기

능 손상으로 확대된다³²⁾. 이것은 반복되는 뇌졸중을 유발하며 뇌의 여러 부위에 硬塞이 생김으로써 인지기능이 황폐되는 것이다^{14,6,28)}. 즉 노인 뇌의 자연스런 노화와 뇌혈관의 장애는 혈관성 치매의 원인이 되는 것이다.

그러므로 뇌기능의 장애, 특히 腦血流의 장애를 인위적으로 일으켜 간접적인 인지기능의 장애를 유발시킬 수 있었고, 더 나아가 뇌혈관의 장애로 인한 경색성 치매의 병태생리를 관찰할 수 있었다.

韓醫學에서는 뇌기능을 학습 및 기억을 포함하는 인지기능의 관점에서 神과 意·志로서 그 의미를 찾을 수가 있다.

神은 광의적 의미에서 <靈樞·天年篇>에 “失神者死得神者生”¹⁰⁾이라 하여 생명현상 그 자체를 의미하며^{14,15)}, 협의적으로는 정신, 심리활동 내용을 포괄하고 있다^{11,12,33)}.

神의 기능 중 의식, 사유 활동을 포함하는 정신활동적인 면은 七神¹⁰⁾의 내용에 잘 표현되어 있으며, 이러한 七神의 내용 중 인간의 인지기능과 특히 관련이 있는 것은 意와 志이다. 이는 <靈樞·本神篇>에 “心有所憶謂之意 意之所存謂之志”¹⁰⁾라고 한 것과 같이 수준 높은 사유, 분석, 판단 등의 이성적 본능이라고 할 수 있다¹⁵⁾.

이러한 인지기능으로서의 神은 腦를 그 발현처로 하여 心, 腎精, 氣·血의 영향을 받는다.

內經에서는 기본적으로 心을 중심으로 한 五臟이 정신활동의 원천이며, 腦는 그 발현처가 된다고 인식하였는데^{11,12,15)}, <素問·靈蘭秘典論> 등에서 각각 “心者 君主之官 神明出焉”¹⁶⁾, “心者 神之舍也 心者五臟六腑之大主也 精神之所舍也”¹⁰⁾라 하여 인간의 정신, 의식, 사유활동을 의미하는 神이 心에서 나오는 것으로 보았다^{12,33)}.

心이 君主의 입장에서 神의 기능 즉 인간의 정신 사고활동을 주관하는 것이라면, 실제적인 정신 사유활동은 腦에서 일어난다^{11-12,15)}. 神이 활동하기 위한 물질적 기초는 <靈樞·本神篇>에 각각 “兩精相搏謂之神, 腎藏精 精舍志”¹⁰⁾라 한 바와 같이 腎精이다. 즉 神은 精氣가 化하여 이루어진 것이며, 精을 저장 배출하는 곳은 腎이다^{11-12,14)}.

神은 氣·血에 의해서도 영향을 받는데, <素問·八正神明論>에 “血氣者 人之神 不可不謹養”¹⁶⁾이라 하고, 李³⁴⁾

는 “有血肉之心…, 有神明之心 神者 氣血所化 生之本也”라 하여 氣血이 腦主神明的 작용에 영향을 준다고 말하고 있다.

인지기능에 있어 중요한 학습 및 기억의 단계적인 의미인 意와 志는 앞에서 밝힌바와 같이 <靈樞·本神篇>의 五臟과의 관계로서 볼 때 脾, 腎을 臟腑의 근거로 한 바, 기억도 脾가 統攝하는 營血 그리고 腎精과 밀접한 관계를 가지며, 이를 조절함으로써 기억장애를 조절할 수 있다³⁵⁾.

노인의 경우는 대부분 心, 腎, 腦力の 쇠퇴를 병리적인자로 보고 있는데³⁶⁾, 王³⁶⁾은 “年高無記性者 腦髓漸空 腦氣虛 腦縮小…不但無靈氣 必死一時”라 하고, 林³⁷⁾은 “老人健忘者 腦漸空也”라 한 바와 같이 사람이 나이가 들면 腎精枯萎하고 化氣生血이 어려운 것을 강조하고 있고, 또한 心氣가 虛할 경우도 心의 ‘主血脈·神志’의 기능이 실조됨으로써 血脈의 운행이 지체되고, 心의 神志활동에 필요한 氣血의 滋養을 받지 못하여 痴呆를 비롯한 기타 정신활동장애를 수반하는 腦의 퇴행성 질환이 발생한다³⁸⁾.

이상에서 살펴본 바와 같이 한의학적인 면에서, 인간의 인지기능은 크게는 神으로, 중요한 학습·기억은 意·志로 볼 수 있으며, 그 발현처는 시대적으로 차이가 있으나 해부학이 발달하기 시작한 明代 이후³⁹⁾부터 腦에 바탕을 두며, 인지장애에 해당하는 神 및 意·志의 작용의 장애는 腎精의 不足, 心血과 이를 推動하는 氣의 虛損으로 볼 수 있다. 神, 意·志의 병리적인 면을 바로 잡을 수 있는 약물은 또한 뇌기능 향상을 통해 인지기능 장애를 개선할 수 있는데, 이러한 측면에서 大造丸은 養陰補精, 大補氣血, 滋補肺腎의 효능¹⁷⁾으로 神의 물질적 기초 및 기능적인 면을 보충할 수 있을 것으로 생각된다.

본 실험의 실험방제인 大造丸은 紫河車 生乾地黃 龜板 杜沖 天門冬 黃栢 牛膝 麥門冬 當歸身 人蔘으로 구성되었으며, 각 약물의 효능을 살펴보면 紫河車는 補精 大補氣血, 治虛損하고, 生乾地黃은 滋陰補血 冷血退熱하고, 龜板은 補陰益腎 滋陰潛陽하고, 黃栢은 降火 除濕熱하고, 杜沖 牛膝은 補肝腎 強筋骨하고, 天門冬 麥門冬은 滋陰清熱 補腎益精 潤肺하며, 人蔘은 補元氣 生津 寧神

益智하고, 五味子是 斂肺滋腎, 澁精止瀉하는 효능을 가진다¹⁷⁾.

본 실험에서는 Chapman⁸⁾ 등이 보고한 바에 따라 과다한 NOS 억제제의 투여, 즉 75mg/kg의 L-NAME을 복강주사하여 뇌혈류의 감소와 해마의 long-term potentiation 억제에 의한 학습 및 기억 장애를 유발시킨 흰쥐를 사용하여 Morris 수중미로 실험을 실시하였다. 흰쥐가 도파대를 찾는 시간을 통하여 관찰한 학습장애에 미치는 영향은 大造丸 투여군에서 도파대를 찾는 시간이 L-NAME군에 비하여 4, 5 및 6회에서 각각 P<0.05의 유의한 시간 단축효과가 있었으며, 8회에서는 P<0.02의 유의한 시간 단축효과를 나타내었고 다음날 13회에서도 P<0.05의 유의한 시간 단축효과를 나타내어 L-NAME에 의하여 유발된 학습장애의 개선효과가 있는 것으로 판단되었다. 또한 2일간의 학습 후 3일째에 기억에 의하여 도파대를 찾는 데 걸리는 시간 및 유영 양상에 의하여 계산된 기억점수는 大造丸 투여군에서 유의성은 없었으나 L-NAME군에 비하여 19% 증가한 결과를 나타내었다.

中大腦動脈 기시부의 폐쇄에 의하여 腦虛血 손상을 유발시킨 흰쥐를 사용하여 직접적인 腦虛血 손상에 미치는 大造丸의 영향을 관찰한 결과는 interaural distance 8mm와 6mm에서 MCA occlusion군에 비하여 P<0.05의 유의성 있는 腦虛血 손상면적 감소의 효과를 나타내었으며, 손상 체적은 MCAO군에 비하여 감소하였으나 통계학적 유의성은 없었다. 中大腦動脈 폐쇄에 의하여 유발된 뇌부종 비율은 MCAO군에 비하여 P<0.05의 유의성 있는 감소를 나타내었고, 또한 MCAO군에 비하여 P<0.05의 유의성 있는 세포 수 감소 및 세포 위축의 억제효과를 나타내었다.

본 실험에 있어서는 뇌조직의 기질적인 손상 방법보다는 腦血流 조절인자의 변화에 따른 기능적 변화에 대한 효과의 검증과 뇌조직의 虛血 손상에 대하여도 초기 腦虛血 상태 유발의 억제 차원에서 24시간 이내의 단기적인 효과검증 방법을 사용하였다. 이러한 실험의 결과를 종합해보면 大造丸은 腦虛血에 의하여 일어나는 뇌손상에 대하여 유의한 억제효과를 가지고 있는 것으로 판단된다.

이상에서 살펴본 바와 같이 인지기능 장애와 뇌기능 장애, 특히 腦虛血로 인한 장애는 腦硬塞에 의한 혈관성 치매의 평가 기준과 함께 병리적인 원인을 제공한다. 그러므로 한의학적 측면에서 인지기능 및 腦虛血로 인한 혈관성 치매는 腎, 心 및 氣와 血을 조절함으로써 극복할 수 있을 것으로 생각된다. 이에 紫河車를 君藥으로 하며 주로 腎臟에 歸經하는 약물로 구성되어, 腦와 腎에 작용하고, 氣血의 不足을 補하는 大造丸은 혈관성 치매, 노인의 인지기능개선 및 腦血流에 좋은 영향을 줄 것으로 생각된다.

결론

大造丸이 L-NAME로 유발된 흰쥐의 학습 및 기억장애와 中大腦動脈의 폐쇄에 의한 腦虛血 손상에 대한 영향을 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 도파대를 찾는 시간을 16회에 걸쳐서 평가한 결과, 大造丸 투여군이 4, 5, 6 및 13회에서 P<0.05, 8회에서 P<0.02의 有意성을 가지며 대조군에 비하여 감소하였다.
2. 기억점수에 있어, 大造丸 투여군이 L-NAME를 투여한 대조군에 비하여 有意성은 없었으나 향상되었으며, 유영거리에 있어서는 정상군·대조군·大造丸 투여군 모두 차이가 없었다.
3. 腦虛血 손상면적 비교에 있어, interaural distance 8mm와 6mm에서 大造丸 투여군이 대조군에 비하여 有意성을 가지며 감소하였다.
4. 腦虛血 손상 체적은 대조군에 비하여 大造丸 투여군이 有意성은 없었으나 감소하였고, 뇌부종 비율은 大造丸 투여군이 有意성 있게 감소하였다.
5. 腦虛血에 의한 신경세포 수 및 위축 정도에 있어서, 대조군에 비하여 大造丸 투여군이 有意성 있게 각각 세포 수는 증가하였으며 세포 위축은 감소하였다.

이상의 실험결과를 종합해보면 大造丸은 혈관성치매에 임상적으로 예방 및 치료에 활용이 가능할 것으

로 思料된다.

참고문헌

1. 노인정신의학회 저. 노인정신의학. 서울:중앙문화사. 1998:61,146,152-154,519.
2. 신명기, 정의기, 이충경. 노인정신장애환자의 추적치료 실태에 대한 고찰. 神經精神醫學. 1995;34(3): 663-671.
3. 徐舜圭. 成人病 老人病學. 서울:고려의학. 1995:192.
4. 金永錫. 임상중풍학. 서울:서원당. 1997:325-329,467-468.
5. 민성길. 최신정신의학 제3개정판. 서울: 一潮閣. 1997: 529,532-533.
6. 대한신경정신의학회. 神經精神科學. 서울:하나의학사. 1997:152,189,207-213.
7. Zorumski CF and Izumi Y. Nitric oxide and hippocampal synaptic plasticity. Biochem Pharmacol. 1993: 46(5):777-785.
8. Chapman PF, Atkins CM, Allen MT, Haley JE, Steinmetz JE. Inhibition of nitric oxide synthase impairs two different forms of learning. Neuroreport. 1992;3:567-570.
9. 金敬東. 金櫻子 抽出物이 陰莖海面體의 nitric oxide synthase 活性 및 亢酸化 효과에 미치는 영향. 大韓韓方內科學會誌. 1998;19(1):452-464.
10. 洪元植. 精校黃帝內經 靈樞. 서울:東洋醫學研究院出版部. 1985:68-69,79,168,172,174,342,399.
11. 王克勤. 中醫神主學說. 서울:醫聖堂. 1994:2-7,19-31,36.
12. 金完熙, 申玟圭, 梁基相. 東醫生理學. 서울:慶熙大學校出版局. 1993:61-62,69-71,73-74,324,326, 371-373,384-385.
13. 李時珍. 本草綱目. 北京:人民衛生出版社. 1982: 1936,2965.
14. 黃義完, 金知赫. 東醫精神醫學. 서울:現代醫學書籍社. 1887:54,55,270,271,327,401.
15. 丁彰炫, 朴贊國. 神에 대한 研究. 경희한의대논문집. 1996;19(2):174-223.
16. 洪元植. 精校黃帝內經 素問. 서울:東洋醫學研究院出版部. 1985:12,24,34,36,49,101,146,172.
17. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:南山堂. 1994:105,445-446,704,720-721,727,739,741.
18. 張伯輿. 中醫內科學. 北京:人民衛生出版社. 1988:138-139,200,212.
19. 이동원, 신길조, 이원철. 大造丸에 대한 문헌적 고찰. 韓方成人病學會誌. 1997;3(1):45-63.
20. 조규선, 이원철, 윤상협. 흰쥐의 中大腦動脈 폐쇄후 大造丸 투여가 대뇌반구 및 시상위축에 미치는 영향. 韓方成人病學會誌. 1998;4(1):163-175.
21. Morris RGM. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Methods. 1984;11:47-60.
22. Smith DH, Okiyama K, Thomas MJ, and McIntosh TK. Effects of the excitatory amino acid receptor antagonists kynurenate and indole-2-carboxylic acid on behavioral and neurochemical outcome following experimental brain injury. J Neurosci. 1993;13(12):5383-5392.
23. Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema, I: a new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. Jpn J Stroke 8. 1986:1-8.
24. Paxinos G and Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. Boston, USA: Academic Press. 1997.
25. Bederson JB, Pitts LH, Germano SM, NishimuraMC, Davis RL, Bartkowski HM. Evaluation of 2, 3, 5 - triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarct in rats. Stroke. 1986;17:1304-1308.
26. Bartus RT, Hayward NJ, Elliott PJ, Sawyer SD, Baker KL, Dean RL, Akiyama A, Straub JA, Harbeson SL, Li Z, Powers J : The calpain inhibitor, AK295, protects neurons from focal brain ischemia: effects of post-occlusion, intra-arterial administration. Stroke. 1994: 25(11):2265-2270.
27. Bartus RT, Dean RL, Cavanaugh K, Eveleth D, Carriero DL, and Lynch G : Time-related neuronal changes following middle cerebral artery occlusion: implications for therapeutic intervention and the role of calpain. J Cereb Blood Flow Metab. 1995;15:969-979.
28. 의학교육연수원. 노인의학 제6집. 서울:서울대학교출판부. 1997;9:22,568.
29. 이정균. 精神醫學. 서울:一潮閣. 1990:460,466,488,600.
30. 배철영, 이영진. 노인의학. 서울:고려의학. 1996:30-31,204.
31. 김현택, 박동건, 성한기. 심리학(인간의 이해). 서울:학지사. 1996:276.
32. 이근후, 우행원, 박영숙. 최신임상정신의학. 서울:하나의학사. 1988:217.
33. 何裕民. 中醫傳統精神病理學. 上海:上海科學普及出版

(150) 대한한의학회지 제21권 제2호(2000년 6월)

- 社. 1995:31-32,34,50,84,89,90,91.
34. 李槿. 編註醫學入門(1). 서울:南山堂. 1986:414,473.
35. 張伯華 編著. 中醫心理學. 北京:新華書店北京發行所. 1995:42-43,60-62.
36. 王清任. 醫林改錯. 台北:旋風出版社. 1984:2-3.
37. 林佩琴. 類證治裁. 台北:旋風出版社. 1978:255-268.
38. 柳熙英. 東醫精神科學. 서울:南山堂. 1988:57.
39. 洪元植. 中國醫學史. 서울:東洋醫學研究院. 1984:303-304.