

# 丹蔘, 紅花가 흰쥐의 뇌허혈에 미치는 영향

김방울, 김정상\*, 김경수\*\*, 전상윤, 홍 석

동신대학교 한의과대학 심계내과학교실, 동신대학교 한의과대학 해부학교실\*

동신대학교 순천한방병원 가정의학과\*\*

## Abstract

### The Effects of *Salviae miltiorrhizae Radix*, *Carthami Flos* on Brain Ischemia Experimentally Induced from the Occlusion of Left Common Carotid Artery in Rats

Bang-Oul Kim, Jeong-Sang Kim\*, Kyung-Soo Kim\*\*, Sang-Yoon Jeon, Seok Hong

Department of Circulatory Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dong-shin University

Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Dong-shin University\*

Department of Family Medicine, Dong-shin University Oriental Medicine Hospital, Suncheon, Korea\*\*

**Objectives:** This study investigates the effects of *Salviae miltiorrhizae Radix*, *Carthami Flos* on Brain ischemia of the rats induced from the Occlusion of Lt. Common Carotid Artery.

**Methods:** I observed effects using light microscopes and examined tissue of parietal lobe and hippocampus and VEGF-immunoreactive cells.

**Results:** A small number of VEGF-immunoreactive cells are observed in the control group. VEGF-immunoreactive cells in *Salviae miltiorrhizae Radix*-administered

---

교신저자 : 홍 석

동신대학교 한의과대학 심계내과학교실

광주 남구 월산동 377-12 동신대학교부속한방병원

전화 : (062) 350-7283

FAX : (062) 366-1882

E-mail : 17under@hanmail.net

접수 : 2003/11/17

수정 : 2003/11/27

채택 : 2003/12/12

group were slightly increased compared with control group. VEGF-immunoreactive cells in Carthami Flos-administered group were significantly increased compared with control group.

Neurons of parietal lobe and pyramidal cells of hippocampus in the control group were greatly damaged.(neuronal density, form of dendrite and axon) On the other hand, neurons of parietal lobe and pyramidal cells of hippocampus in Salviae miltiorrhizae Radix-administered group were less damaged. Neurons of parietal lobe and pyramidal cells of hippocampus in Carthami Flos-administered group were significantly less damaged compared with control group.

Conclusion: Salviae miltiorrhizae Radix, Carthami Flos can effect on stimulating angiogenesis and reducing the damage of neurons in the rats induced from the Occlusion of Lt. Common Carotid Artery.

Key Word : Brain ischemia, Salviae miltiorrhizae Radix, Carthami Flos.

## I. 緒 論

뇌허혈 후 신경세포의 손상기전은 시기에 따라 두가지로 나누어지는데 초기의 손상은 혈관계쇄로 산소와 포도당 공급이 소실되어 세포대사에 변화가 발생되어 뇌조직이 비가역적인 손상을 입는 것이고<sup>1-3</sup>, 후기의 손상은 뇌허혈 주변 세포에서 발생하는 지연성 신경세포괴사로 해마의 피라 및 세포에서 선택적으로 일어난다<sup>4-5</sup>.

뇌혈관질환의 하나인 허혈성 뇌졸중은 뇌혈관의 협착, 내경의 변화, 혈액의 점도 이상 등으로 인해 신경학적 손상을 일으키는 질환으로 의식장애, 운동장애, 감각장애, 언어장애 등의 증상을 나타내며 한의학적으로는 中風의 범주에 속하는데 급성기에는 開竅, 豁痰, 順氣, 活血, 疏風 등의 治法이 많이 사용되고 있다<sup>1,6</sup>.

단삼(*Salviae miltiorrhizae Radix*)은 活血調經, 涼血消癰, 養血安神 등의 효능이

있으며, 홍화(*Carthami Flos*)는 活血通經, 祛瘀止痛하는 효능이 있는데, 최근에는 活血化癥작용에 근거하여 이 약물들을 心絞痛, 血栓症 등에 응용하고 있다<sup>7-8</sup>.

단삼, 홍화에 대한 실험적 연구로는 선<sup>9</sup>의 단삼의 세포독성연구, 이<sup>10</sup>의 홍화의 Adjuvant 관절염에 대한 영향, 박<sup>11</sup>의 홍화의 혈전증에 대한 영향, 손<sup>12</sup>의 홍화의 catecholamine 함량에 대한 영향, 정<sup>13</sup>의 홍화의 혈전증, 고점도혈증에 대한 작용에 관한 실험적 연구 등이 있었다. 그러나 단삼, 홍화가 뇌허혈시 혈류개선 및 혈관 신생, 뇌신경세포 손상에 미치는 영향에 대한 연구는 없었다.

이에 저자는 활혈화어약인 단삼, 홍화가 뇌허혈시 혈관신생을 통한 뇌혈류 개선 및 뇌세포 손상 방어에 미치는 영향을 알아보고 좌총경동맥을 차단한 백서의 뇌허혈 모델에서 혈관신생유발인자인 VEGF의 면역반응성 세포와 두정엽 부위 및 해마 부위의 뇌신경세포 손상 정도를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 실험동물

체중 250g내외의 웅성 백서(Sprague dawley strain)를 다물사이언스(주)로부터 구입한 후 동신대학교 한의과대학 동물사육실에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

### 2. 약물추출

본 실험에 사용한 홍화와 단삼은 동신대학교 한방병원에서 구입하여 사용하였다. 홍화와 단삼을 60g씩 증류수 1200ml와 함께 각각의 약탕기에 넣고 3시간 동안煎湯한 후煎湯液을 고속원심분리기(Centricon T-42K, Kontron)로 원심분리(5,000rpm)하여 침전물을 제거하고 rotatory evaporator(Buchi, Netheland)로 농축 후 동결 건조하여 홍화 78.4mg과 단삼 35g을 얻었다.

### 3. 뇌허혈 유발

Pentobarbital sodium(80mg/kg, i.p.)을 투여하여 마취한 흰쥐를 Levine<sup>14</sup>의 방법에 따라 목부위의 피부를 절개한 다음 흉쇄유돌근을 짓히고 좌총경동맥을 봉합사로 결찰하였다. 절개된 피부를 봉합한 후 소독을 하고 terramycin을 투여하였다.

### 4. 약물의 투여 및 실험군 분류

뇌허혈을 유발시킨 다음 대조군은 통상적인 식이를 하도록 하였으며, 홍화군은 1.3mg/kg의 홍화추출액을, 단삼군은 0.58g/kg의 단삼추출액을 매일 1회 7일간 구강 투여하였다.

### 5. VEGF의 면역반응성 세포 검사

흰쥐의 뇌조직에서 VEGF를 관찰하기 위하여 심장을 통해 PBS(0.9% NaCl)를 관류시켜 혈액을 제거한 다음 4% paraformaldehyde(0.1M PBS, pH 7.4)로 관류고정하고 뇌조직을 적출한 다음 4%의 paraformaldehyde를 사용하여 24시간 동안 재고정하였다. Paraffin으로 포매한 뇌조직을 microtome을 사용하여 5 $\mu$ m 두께로 절편하여 slide glass 위에 부착시킨 다음 Xylene에 담구어 탈파라핀하고 100%, 90%, 80% ethanol과 같이 농도가 낮아지는 순으로 함수과정을 거치게 하였다.

뇌조직을 pH 7.4, 0.1M의 PBS(0.9% NaCl) 용액에 하루 동안 배양시키고 다시 15분간 PBS로 세척하고 10% horse serum을 함유한 blocking solution을 사용하여 20분 동안 배양시켜 PBS용액으로 15분간 세척하였다.

세척된 각각의 뇌조직을 VEGF 항체를 처리한 후 습도가 높은 상온의 배양접시에서 2시간 동안 배양시키고 15분간 PBS용액으로 세척한 후 biotinylated anti-mouse IgG를 처리하여 30분간 배양시킨 후 다시 15분간 PBS용액에 담구어 세척하였다.

조직에 avidin-biotinylated enzyme complex(ABC) reagent(Vector Lab, CA, USA)를 처리하여 30분간 반응시킨 후 PBS용액에서 15분간 세척하였다.

DAB 발색시약을 조직에 떨어뜨려 2분간 발색시킨 후 흐르는 물에 과량의 염색시약을 제거하고, 이를 50, 60, 70, 80%까지의 ethanol에 수초 동안 담그고 90, 95, 100-I, 100-II, Xylene+100% EtOH, Xylene까지 5분씩 담구어 수분을 완전히 제거하였다.

Xylene이 마르지 않은 상태에서 Canada balsam을 한 방울 떨어뜨려 cover glass로 씌운 다음 hot plate 위에서 고정하고 광학현미경으로 검경 후 사진을 촬영하였다.

## 6. Cresyl violet stain

흰쥐를 pentobarbital sodium(80mg/kg, i.p.) 마취하에서 심장을 통해 0.9% saline을 관류시켜 혈액을 제거한 후 4% paraformaldehyde로 관류고정하고 뇌조직을 적출하여 동일 고정액으로 2시간 동안 고정한 다음 20% sucrose가 함유된 PBS에 넣어 4°C에서 24시간 침적한 후 냉동절편기(Shandon cryotome E, UK)를 이용하여 30 $\mu$ m 두께의 시상 연속절편을 제작하였다. 절편을 PBS로 3번 수세한 다음 수화과정을 거쳐 cresyl violet buffer로 염색하였으며, 두정엽 부위와 해마 부위를 관찰하였다.

## 7. 통계처리

실험결과에 대한 통계는 SAS(statistical analysis system) program에 의하여 각 실험군별로 평균치와 표준오차를 계산하였고, p-value가 최소한 0.05이하의 수준에서 유의성을 검정하였다<sup>15</sup>.

# Ⅲ. 結果

## 1. VEGF-면역반응성 세포 계수

VEGF에 면역반응성을 보인 세포를 4cm<sup>2</sup> 당 계수한 결과 단삼군은 대조군에 비하여 높게 나타났으나 유의성은 없었고, 홍화군

은 유의성 있게 증가하였다(Fig. 1).

## 2. Cresyl violet 염색 후 두정엽 부위의 신경세포 계수

좌측경동맥 결찰 7일후 뇌조직을 적출하여 cresyl violet 염색한 다음 두정엽 부위의 신경세포를 4cm<sup>2</sup> 당 계수한 결과 단삼군은 대조군에 비하여 높게 나타났으나 유의성은 없었고, 홍화군은 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Fig. 2).

## 3. 두정엽 부위의 VEGF-면역반응성 세포 및 cresyl violet stain 후의 현미경적 관찰

VEGF-면역반응성 세포를 검사 한 결과 대조군에서는 소수의 세포들만이 관찰되었다(Fig. 3). 단삼군에서는 대조군에 비하여 면역반응성 세포들이 증가하였으며, 모세혈관 내피세포에서도 면역반응성을 보여주었다(Fig. 4). 홍화군에서는 대조군과 단삼군에 비해 면역반응성 세포수가 증가되고 반응성도 강하게 나타났으며, 모세혈관의 내피세포에서도 높은 면역반응성을 보여주었다(Fig. 5).

Cresyl violet stain하여 두정엽 부위를 관찰한 결과 대조군에서는 세포체의 염색성이 매우 약하고 수상돌기들은 거의 관찰되지 않았으며 전반적으로 신경세포의 밀도가 낮게 나타났다(Fig. 6). 단삼군은 대조군에 비해서 세포체의 염색성이 강하고 수상돌기들이 뚜렷하게 관찰되었으며 신경세포의 밀도도 높게 나타났다(Fig. 7). 홍화군은 대조군이나 단삼군에 비해 신경세포의 형태가 뚜렷하고 수상돌기가 발달되었으며 신경세포의 밀도도 높게 나타났다(Fig. 8).

#### 4. 해마 부위의 cresyl violet stain 후의 현미경적 관찰

대조군 해마의 CA1 영역 피라밋 세포는 염색성이 약하고 세포 밀도도 낮아 전반적으로 손상된 형태로 나타났으며(Fig. 9), 단삼군은 대조군에 비하여 염색성이 높고 피라밋 세포의 축삭이 뚜렷이 관찰되었으며 세포밀도도 높았다(Fig. 10). 홍화군은 대조군이나 단삼군에 비하여 피라밋 세포의 밀도가 높게 나타나고 염색성이 높으며 축삭이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 11). 해마의 CA3 영역을 관찰한 결과 대조군은 세포의 손상형태가 뚜렷이 관찰되었으며(Fig. 12), 단삼군은 대조군에 비하여 세포의 밀도와 염색성이 높고 축삭의 형태가 뚜렷이 나타났다(Fig. 13). 홍화군은 대조군과 단삼군에 비하여 허혈에 의한 세포 손상 정도가 경미하여 피라밋 세포의 염색성이 높으며 축삭의 형태가 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 14)

### IV. 考 察

뇌손상을 유발하는 뇌졸중은 허혈성과 출혈성으로 분류되는데, 과거에는 출혈성 뇌졸중의 발병율이 높았으나 최근에는 고혈압의 적극적인 치료와 식생활의 변화로 인하여 허혈성 뇌졸중이 증가 추세에 있다. 뇌졸중은 의식장애와 운동장애, 감각장애, 언어장애 등의 증상을 나타내는데 한의학적으로 中風의 범주에 속한다<sup>1,3,6</sup>.

중풍의 치료에 있어서 清代에 王淸任<sup>16</sup>이 補氣 活血祛瘀를 주장하고 唐容川<sup>17</sup>이 “離經之血 雖清血 鮮血 亦是瘀血.”이라는 개념을 정립한 이후로 최근에 活血化瘀를

위주로 한 많은 연구<sup>18-20</sup>가 진행되고 있다.

瘀血은 생리적 기능을 상실한 혈액이 凝聚하여 형성된 일종의 병리적인 산물인 동시에 致病因子가 되는 것으로 혈액순환 장애, 혈류 속도 감소 및 혈액 성분 변화의 병리상태를 포괄하며<sup>21</sup> 근래에 이르러 金 등<sup>21-22</sup>은 생리적 기능을 상실하고 체내 일정 부위에 瘀滯되었거나 脈管을 벗어난 離經의 혈액이라 하였다.

단삼은 活血祛瘀, 通利血脈, 除煩熱, 排膿生氣, 養血安神 등의 효능이 있어 血脈阻滯로 인한 心絞痛, 氣滯血瘀로 인한 月經不調, 月經痛 등의 부인병, 신경쇠약으로 인한 心悸, 失眠, 煩燥 등에 사용되며, 고혈압이나 뇌혈관 질환에도 응용되고 있다<sup>7-8,23</sup>.

홍화는 活血通經, 祛瘀止痛하는 효능이 있어 血滯로 인한 經閉, 腹痛, 癥瘕 또는 產後眩暈에 응용되고, 또한 創傷으로 인한 瘀血疼痛, 關節痠痛, 瘡癰腫毒 등의 瘀血阻滯로 인한 병증에 적용되며, 임상에서는 活血祛瘀의 要藥으로 널리 활용되고 있다<sup>7-8,23</sup>.

단삼, 홍화에 대한 실험적 연구로는 선<sup>9</sup>의 단삼의 세포독성연구, 이<sup>10</sup>의 홍화의 Adjuvant 관절염에 대한 영향, 박<sup>11</sup>의 홍화의 혈전증에 대한 영향, 손<sup>12</sup>의 홍화의 catecholamine 함량에 대한 영향, 정<sup>13</sup>의 홍화의 혈전증, 고점도혈증에 대한 작용에 관한 실험적 연구 등이 있었으나 뇌허혈시 혈류개선 및 혈관 신생, 뇌신경세포 손상에 미치는 영향에 관련된 것은 없었다.

뇌허혈발작시 어느정도의 뇌허혈량 감소는 보상기전이 작용되어 신경 조직내에 공급되는 혈류부족에 따른 영향을 조절할 수도 있으나 지속적이면서 뇌허혈부위가

확대되는 경우에는 뇌조직의 대사작용에 장애를 초래한다<sup>3,24</sup>.

뇌허혈로 인해 보상기전 작용이 소실될 정도가 되면 뇌세포의 동적 평형을 유지할 수 없게 되고, 단백질합성, 세포막의 기능유지, 전해질 및 여러 이온간의 균형을 유지하는데 필요한 에너지 생산의 차질이 오게 되며, 세포구조 자체의 변화가 초래됨으로써 세포막의 여러 이온들의 선택적 투과성에 변화가 일어나 비정상적으로  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  등의 이온이 세포내로 유입된다. 이러한 세포내 이온농도를 해소하기 위해 더 많은 에너지 소비가 일어나 신경세포내 ATP는 점차 감소되고 phosphocreatine의 조직 농도도 0으로 감소되며 무기성 당분해작용이 일어나 젖산(lactic acid) 농도가 증가되면 세포외액이 산성화되어 신경조직은 피사하게 된다<sup>3,24</sup>.

따라서 뇌신경세포사를 방어하기 위해서는 혈관신생을 통해 혈류를 개선시키거나 세포내로의  $\text{Ca}^{2+}$  유입을 차단하는 등의 세포피사과정을 차단하는 등 치료법의 개발이 필요하다<sup>1,24-26</sup>.

혈관신생과 관련된 인자로는 VEGF, acidic and basic fibroblast growth factor, platelet derived growth factor 등의 혈관신생유발인자와 interferon- $\alpha$ , angiostatin, endostatin 등의 내피세포의 이동과 증식을 차단하고 혈관내피의 증식을 억제하여 혈관신생을 차단하는 혈관신생억제자가 보고되고 있는데<sup>27-28</sup> 이 중 대표적인 혈관신생인자로 알려진 VEGF는 정상세포와 형질전환된 세포에서 합성되어 내피세포의 증식과 이동, 세포외 기질의 재형성, 모세혈관의 형성과 같은 혈관신생을 일으키는 데 관여함으로써 심혈관계의 발생, 정상혈

관계의 생리적 현상<sup>29-31</sup> 및 뇌허혈시 혈관의 증식을 통하여 혈류량을 증가시킴으로써 뇌신경세포를 보호, 유지하는 역할을 한다<sup>29-32</sup>.

현재까지 뇌허혈과 관련된 실험들은 예<sup>33</sup>의 성향정기산의 신경전달물질에 대한 영향, 강<sup>34</sup>의 석창포의 뇌신경보호효과, 조<sup>35</sup>의 우황청심원의 뇌허혈에 미치는 영향, 이<sup>36</sup>의 청피활성분획의 뇌혈류역학에 미치는 영향, 안<sup>19</sup>의 가미통전화어탕의 뇌허혈증 및 뇌손상에 대한 영향 등이 있었으나 단삼, 홍화 단일약제에 대한 연구는 접해보지 못하였다.

이에 본 실험에서는 뇌허혈시 단삼, 홍화가 혈관신생을 통한 뇌혈류 개선 및 뇌세포 손상에 미치는 영향을 알아보고자 좌총경동맥의 혈류를 차단하여 뇌허혈이 유발된 백서에 단삼추출액을 매일 1회 7일간 구강투여한 단삼군, 홍화추출액을 매일 1회 7일간 구강투여한 홍화군, 그리고 통상적인 식이만을 한 대조군으로 구분하여 백서의 뇌를 적출한 후 두정엽의 뇌조직을 절편하여 광학현미경으로 4cm<sup>2</sup> 당 VEGF-면역반응성 세포를 계수함과 동시에 전체적인 단면 조직을 비교 관찰하였다.

대조군에서는 소수의 VEGF-면역반응성 세포들만이 관찰되었고(Fig. 3), 단삼군에서는 대조군에 비하여 VEGF-면역반응성 세포들이 증가하였으며 모세혈관 내피세포에서도 면역반응성을 보여주었다(Fig. 4). 홍화군에서는 대조군에 비해 VEGF-면역반응성 세포들이 유의성 있게 증가하였고(Table. 1 & Fig. 1), 면역반응성 또한 강하게 나타났으며 많은 모세혈관의 내피세포에서도 높은 면역반응성을 보여주었다(Fig. 5).

이와 같이 대조군에 비해 단삼군, 특히 홍화군에서 VEGF-면역반응성 세포들이 증가하고 면역반응성이 강하게 나타나며 많은 모세혈관의 내피세포에서 면역반응성이 나타난 것으로 판단할 때 활혈화어약인 단삼, 홍화가 내피세포의 이동을 용이하게 하기 위한 모혈관의 기저막 단백 분화와 모세혈관의 발아, 혈관신생 자극원을 향한 내피세포의 이동, 이동 세포 바로 다음 부위의 내피세포의 증식, 내피세포의 성숙과 모세혈관으로 분화과정을 통하여 혈관신생을 유발한다고 사료된다.

다음으로 허혈의 지속에 따른 신경세포의 손상정도를 규명하기 위하여 뇌조직을 cresyl violet stain을 하여 두정엽 부위를 광학현미경으로 관찰한 결과, 대조군에서는 세포체의 염색성이 매우 약하고 수상돌기들은 거의 관찰되지 않았으며 전반적으로 신경세포의 밀도도 낮게 나타났다(Fig. 6). 이에 비해 단삼군에서는 세포체의 염색성이 강하고 수상돌기들도 뚜렷하게 관찰되었으며 신경세포의 밀도도 높게 나타났다(Fig. 7). 홍화군은 대조군이나 단삼군에 비해 신경세포의 형태가 뚜렷하고 수상돌기가 발달되어 있으며 신경세포의 밀도도 높게 나타났다(Fig. 8). 특히 두정엽 부위의 신경세포를 4cm<sup>2</sup> 당 계수한 결과 홍화군은 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Table. 2 & Fig. 2).

이와 같이 대조군에 비해 단삼군, 홍화군에서 신경세포의 형태가 뚜렷하고 밀도가 높으며 수상돌기가 발달해 있는 것은 단삼, 홍화가 뇌허혈에 의한 신경세포 손상을 감소시키기 때문인데 단순하게 혈류 개선에 의한 것인지, Ca<sup>2+</sup> 통로 차단이나 흥분성 신경전달물질의 감소에 의한 것인지

정확한 기전에 대한 연구가 더 필요하리라 사료된다.

뇌허혈에 의한 신경세포의 손상은 뇌의 다양한 곳에서 발생할 수 있는데 특히 해마의 피라밋 세포에서는 뇌허혈 후 24시간 경과까지는 정상 상태를 유지하다가 이후에 신경세포 손상이 일어나는 지연성 신경세포괴사가 선택적으로 발생한다<sup>4-5,37</sup>.

이러한 허혈에 의한 지연성 신경세포괴사 정도를 규명하기 위하여 실험 백서 해마의 CA1, CA3 영역의 피라밋 세포를 cresyl violet stain한 후 광학현미경으로 관찰한 결과 대조군 해마의 CA1 영역 피라밋 세포(pyramidal cells)의 염색성은 약하고 세포의 밀도도 낮아 전반적으로 손상된 형태로 나타났다(Fig. 9). 단삼군은 대조군에 비하여 높은 염색성과 피라밋 세포의 축삭이 뚜렷이 관찰되었으며 세포밀도도 높았다(Fig. 10). 홍화군은 대조군이나 단삼군에 비하여 피라밋 세포의 밀도와 염색성이 높으며 축삭이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 11).

대조군 해마의 CA3 영역에서는 전반적으로 세포의 손상형태가 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 12). 단삼군은 대조군에 비하여 세포 밀도와 염색성이 높고 축삭의 형태가 뚜렷이 나타났다(Fig. 13). 홍화군은 대조군과 단삼군에 비하여 허혈에 의한 세포 손상 정도가 경미하여 피라밋 세포의 염색성이 높으며 축삭의 형태가 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 14).

이와 같이 대조군에 비해 단삼군, 홍화군에서 해마의 피라밋 세포의 밀도와 염색성이 높으며 축삭이 뚜렷이 관찰되는 것으로 판단할 때 단삼, 홍화가 뇌허혈에 의한 지연성 신경세포 괴사에 대해 방어작용을

한다고 사료된다.

이상의 결과를 종합할 때 활혈화어약인 단삼, 홍화 특히 홍화는 뇌허혈이 유발된 백서의 혈관신생과 뇌세포손상 방어에 유효한 것으로 사료되나 뇌세포 손상 감소가 단순한 혈관 신생을 통한 혈류 개선에 의한 것인지,  $Ca^{2+}$  통로 차단이나 흥분성 신경전달물질의 감소에 의한 것인지 등의 정확한 기전에 대한 연구가 더 필요하리라 사료된다.

## V. 結 論

좌총경동맥 결찰로 유발된 흰쥐의 뇌허혈에 단삼, 홍화가 미치는 영향을 규명하고자 뇌조직의 VEGF-면역반응성 세포, 두정엽과 해마의 신경세포를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. VEGF-면역반응성 세포를 계수한 결과 단삼군은 대조군에 비해 세포수가 많이 나타났으나 유의성은 없었고, 홍화군은 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.
2. VEGF-면역반응성 세포 관찰 결과 단삼군은 대조군에 비해 면역반응성이 강하게 나타났고, 홍화군은 대조군과 단삼군에 비해 면역반응성이 더욱 강하게 나타났다.
3. Cresyl violet stain 후 두정엽 부위의 신경세포를 계수한 결과 단삼군은 대조군에 비해 세포수가 증가하였으나 유의성은 없었고, 홍화군은 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.

4. Cresyl violet stain 후 두정엽 부위를 광학현미경으로 관찰한 결과 단삼군은 대조군에 비해 세포체와 수상돌기의 염색성이 강하게 나타났고, 홍화군은 대조군과 단삼군에 비하여 세포체와 수상돌기의 염색성이 더욱 강하게 나타났다.
5. Cresyl violet stain 후 해마부위를 광학현미경으로 관찰한 결과 단삼군은 대조군에 비해 세포밀도와 축삭의 염색성이 강하게 나타났고, 홍화군은 대조군과 단삼군에 비하여 피라밋세포의 염색성이 높고 축삭의 형태가 뚜렷하게 관찰되었다.

이상의 결과로 보아 단삼과 홍화는 뇌허혈이 유발된 흰쥐의 혈관신생과 뇌세포손상 방어에 유효한 결과를 보여준 것으로 사료된다.

## 參 考 文 獻

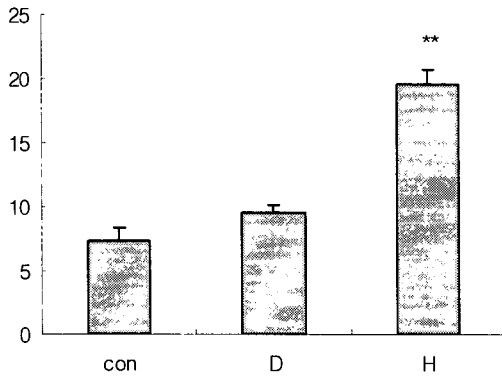
1. Raymond D. Adams et al. 아담스 신경과학. 서울: 도서출판정담; 1998, 715-28.
2. Walter J Jorosgetz, Michael A Moskowitz. Emerging treatments for stroke in humans. TiPS 1996;17:227-33.
3. 대한신경외과학회. 신경외과학. 서울: 중앙문화사; 1998, 275-313.
4. Arai H, Passonneau JV, Lust WD. Energy metabolism in delayed neuronal death of CA1 neurons of



- hippocampal following transient ischemia in the gerbil. *Brain Dis* 1986;1:263-78.
5. Izumiyama K, Kogure K. Prevention of delayed neuronal death in gerbil hippocampus by ion channel blockers. *Stroke* 1988;19:1003-7.
  6. 전국한의과대학심계내과학교실편. 심계내과학. 서울: 서원당; 1999, 420-30, 502, 505-6.
  7. 康秉秀, 金永坂. 임상배합본초학. 서울: 영림사; 1996, 380-2, 416-7.
  8. 凌一揆. 중약본초학. 서울: 보건신문사; 1999, 492-4, 501-2.
  9. 선중기, 신민교. 단삼의 L1210세포에 대한 세포 독성의 연구. *신경정신과학회지* 1992;3(1):84-90.
  10. 이희태, 이학인. 홍화약침이 Adjuvant 관절염에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. *동서의학* 1998;23(3):6-20.
  11. 박은숙, 윤종화, 김갑성, 송춘호, 안창범. 홍화 수침이 Endotoxin에 의한 백서혈전증에 미치는 영향. *침구과학회지* 1993;10(1):265-87.
  12. 손철훈, 김재규, 안병철. 농도별 홍화 수침 자극이 흰쥐 뇌부위별 catecholamine 함량에 미치는 영향. *침구과학회지* 1992;9(1):53-69.
  13. 정찬길, 안규석, 문준진. 혈전증과 고점도혈증에 미치는 황기, 계지 및 홍화의 효능에 관한 실험적 연구. *병리학회지* 1989;4(1):74-92.
  14. Levine S. Anoxic-ischemic encephalopathy in rats. *Am J Pathol* 1960;36:1-17.
  15. 송문섭 외. SAS를 이용한 통계자료분석. 서울: 자유아카데미; 1989, 31-5.
  16. 王清任. 醫林改錯. 서울: 일중사; 1992, 61-5.
  17. 唐容川. 血證論, 台北; 力行書局有限公司; 1973, 115-20.
  18. 정용준, 김동용. 뇌혈관 질환에 의한 편마비 환자에서 보양환오탕의 효과. *대한동의병리학회지* 1999;13(2):54-8.
  19. 안택원, 김병탁. 가미통전화어탕이 혈전증과 뇌허혈증 및 뇌손상에 미치는 영향에 대한 실험적 연구. *대전대논문집* 1999;8(1):379-401.
  20. 임준식, 이진섭. 중풍치료에 있어서 활혈화어법에 대한 문헌적 고찰. *혜화의학* 1996;5(1):115-28.
  21. 김정제. 어혈에 대한 고찰. *동양의학* 1977;8:31.
  22. 최승훈. 어혈의 병리에 관한 문헌적 고찰. *대전대논문집* 1985;4:399-406.
  23. 王浴生. 中藥藥理와 應用. 北京: 人民衛生出版社; 1983, 223-7.
  24. 김인세. 뇌허혈과 뇌보호. *대한마취과학회지* 1997;33:195-203.
  25. Choi DW. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture is calcium dependent. *Neurosci Lett* 1985;58:293-7.
  26. Connor JA, Wadman WJ, Hockberger PE. Sustained dendritic gradients of Ca<sup>++</sup> induced by excitatory amino acids CA1 hippocampal neurons. *Science* 1988;240:649-53.
  27. Weidong-Richard JI et al. Characterization of kringle domains of angiostatin as antagonists of endothelial cell migration, an

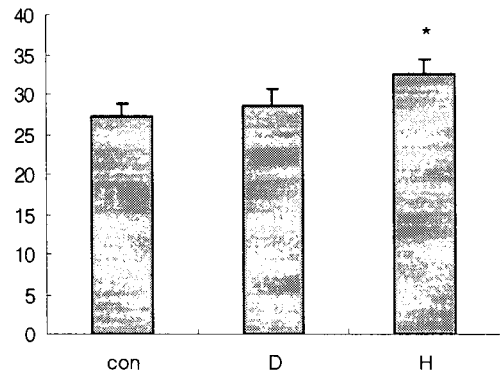
- important process in angiogenesis. FASEB 1998;17:31-8. 158-68.
28. Domenick J, Falcone et al. Macrophage formation of angiostatin during Inflammation. J Bio Chem 1998;273:31480-5.
  29. Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. Bio Chem 1992;267:10931-4.
  30. Risau W, Flamme I. Mechanism of angiogenesis. Nature 1997;386:671-4.
  31. Hu D-E, Fan T-P D. Suppression of VEGF-induced angiogenesis by the protein tyrosine kinase inhibitor lavendustin A. Br J Phamacol 1995a;114:262-8
  32. 고규영. 혈관신생인자 및 수용체. 대한 내분비학회지 2001;16(3):277-83.
  33. 예경옥, 박치상, 이은주, 송지혜, 김미려, 조정숙 등. 성향정기산이 뇌허혈을 유발시킨 백서의 신경전달물질에 미치는 영향. 대한한방내과학회지 2000;21(1):116-25.
  34. 강승준, 금현수, 전연이, 이은주, 박치상, 박창국 등. 石菖蒲가 뇌허혈을 유발시킨 백서의 뇌신경보호효과. 대한한방내과학회지 2001;22(3):341-51.
  35. 조규선, 정승현, 신길조, 이원철. 牛黃清心元이 중대뇌동맥 결찰로 유발된 뇌허혈에 미치는 영향. 대한한의학회지 2001;22(1):78-89.
  36. 이원석, 정현우. 청피활성분획이 일과성 뇌허혈 병태모델의 뇌혈류역학에 미치는 실험적 효과. 동의생리병리학회지 2001;15(6):899-904.
  37. 원무호. 뇌허혈에 의한 지연성 신경세포사의 기전. 생화학뉴스 2002;22(2):

Fig. 1. The changes of the number of VEGF-immunoreactive cells according to the administered of *Salviae miltiorrhizae Radix* extracts(D) or *Carthami Flos* extracts(H) for 7 days.

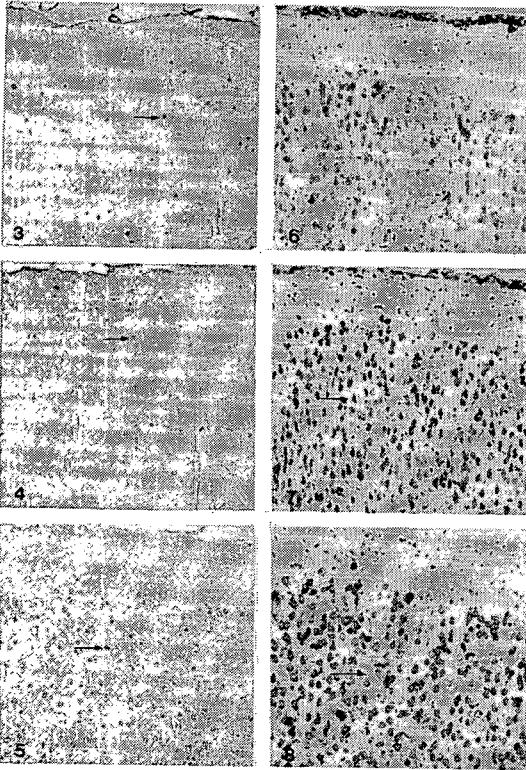


Con : control group  
 D: *Salviae miltiorrhizae Radix* extracts administered group  
 H: *Carthami Flos* extracts administered group  
 \*\*: Significantly different from Vehicle Control with  $P < 0.01$

Fig. 2. The changes of the number of neurons according to the administered of *Salviae miltiorrhizae Radix* extracts(D) or *Carthami Flos* extracts(H) for 7 days.

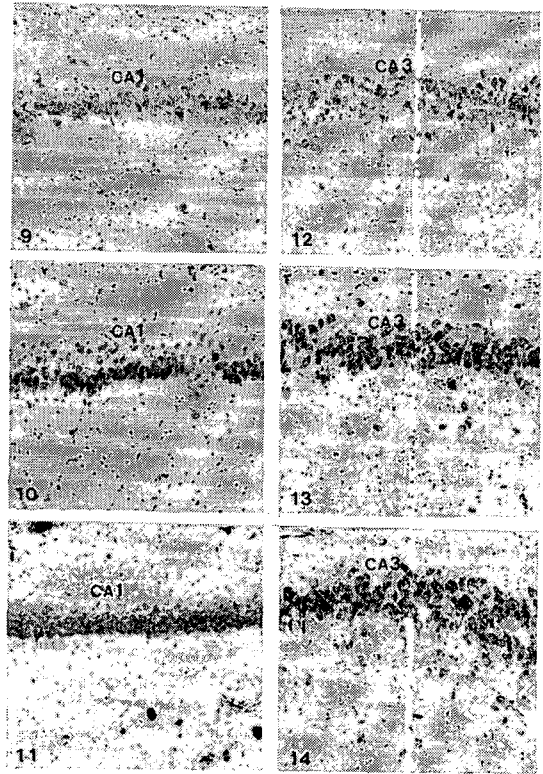


Con : control group  
 D: *Salviae miltiorrhizae Radix* extracts administered group  
 H: *Carthami Flos* extracts administered group  
 \* : Significantly different from Vehicle Control with  $P < 0.05$



Figs. 3-5. Light micrographs of VEGF-immunoreactive cell in the parietal lobe after 7 days ligation of left common carotid artery. A few of VEGF-immunoreactive cell are observed in the control group(Fig. 3) and *Salviae miltiorrhizae Radix*-administered group(Fig. 4), but a number of VEGF-immunoreactive cells are occurred in the *Carthami Flos*-administered group(Fig. 5).  
VEGF-immunostain,  $\times 100$ .

Figs. 6-8. Light micrographs of parietal lobe after 7 days ligation of left common carotid artery. Control group(Fig. 6) revealed, *Salviae miltiorrhizae Radix*-administered group(Fig. 7) and *Carthami Flos*-administered group (Fig. 8).  
Cresyl violet stain,  $\times 100$ .



Figs. 9-11. Light micrographs of CA1 area of hippocampus after 7 days ligation of left common carotid artery. Control group(Fig. 9) revealed, *Salviae miltiorrhizae Radix*-administered group(Fig. 10) and *Carthami Flos*-administered group (Fig. 11).  
Cresyl violet stain,  $\times 100$ .

Figs. 12-14. Light micrographs of CA3 area of hippocampus after 7 days ligation of left common carotid artery. Control group(Fig. 12) revealed, *Salviae miltiorrhizae Radix*-administered group(Fig. 13) and *Carthami Flos*-administered group (Fig. 14).  
Cresyl violet stain,  $\times 100$ .