

연근 추출물이 뇌혈류역학에 미치는 효과

이금수 · 정현우*

동신대학교 한의과대학 병리학교실

Effects of *Nelumbinis Rhizomatis Nodus* Extract on Cerebral Hemodynamics in Rats

Keum Soo Lee, Hyun Woo Jeong*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Dongshin University

This Study was designed to investigate the effects of *Nelumbinis Rhizomatis Nodus* (NRN) on the change of cerebral hemodynamics [regional cerebral blood flow (rCBF), pial arterial diameter (PAD) and mean arterial blood pressure (MABP)] in normal and cerebral ischemic rats. And, this study was designed to investigate the inhibition of lactate dehydrogenase activity in neuronal cells. The results were as follows : NRN significantly increased rCBF and PAD in a dose-dependent manner, and NRN increased MABP in a dose-dependent manner. This results suggested that NRN significantly increased rCBF by dilating PAD. Both rCBF and PAD were significantly and stably increased by NRN (10 mg/kg, i.p.) during the period of cerebral reperfusion, which contrasted with the findings of rapid and marked increase in control group. NRN significantly inhibited lactate dehydrogenase activity in neuronal cells. This results suggested that NRN prevented the neuronal death. It is suggested that NRN had an anti-ischemic effect through the improvement of cerebral hemodynamics and inhibitive effect on the brain damage.

Key words : *Nelumbinis Rhizomatis Nodus*, cerebral hemodynamics, cerebral ischemia, lactate dehydrogenase

서 론

뇌는 심장에서부터 박출되는 혈액의 공급을 받아 산소와 포도당 등의 영양물질을 얻음으로써 제 기능을 수행하는데¹⁾, 뇌혈류량이 10 ml/100 g/min이하로 감소되면 허혈성 뇌손상이 나타나게 됨으로써 이온성 장애, ATP 감소, 유리지방산 증가 그리고 젖산 증가에 의한 세포내 산증과 같은 에너지 대사 장애가 초래되어 뇌신경 조직 손상이 나타나게 된다²⁻⁴⁾.

최근 뇌혈관계 질환의 발생빈도가 높아지고 있어⁵⁾ 靑皮⁶⁾ · 六君子湯⁷⁾ 등⁸⁻⁹⁾을 이용해 뇌허혈에 대한 뇌혈류역학적 효과 작용기전에 대하여, 勝金散¹⁰⁾ 등¹¹⁾을 이용해 허혈성 심장 및 심근질환에 미치는 실험적 효과에 대하여, 蘇合香元¹²⁾ 등¹³⁾을 이용해 뇌경색 병태모델에 미치는 영향에 대하여 보고되고 있다.

蓮根¹⁴⁻¹⁵⁾은 藕 또는 藕節 · 光藕節 · 藕節疤라고도 불리며, 연꽃과에 속한 多年生 水生草本인 연꽃의 根莖 및 節部로 收澁止

血과 化瘀의 효능이 있는데, 蓮根에 대한 연구들을 살펴보면 정¹⁶⁾은 蓮根의 성분을, 김¹⁷⁾은 신부전에 미치는 효과를, 원¹⁸⁾은 사회 심리적 스트레스에 미치는 효과를 보고하였을 뿐 뇌혈류역학에 관한 보고는 아직까지 없었다.

이에 저자는 蓮根이 정상 및 뇌허혈시의 뇌혈류역학(국소 뇌혈류량, 뇌연막 동맥의 직경, 평균혈압)에 미치는 효과와 신경세포내 lactate dehydrogenase 활성도를 측정한 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 체중 300 g내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 화인 실험 동물 센터에서 구입하여 사용하였다. 동물은 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 교형사료 (삼양주식회사, Korea)와 1차 증류수를 충분히 공급하면서 실험실 환경 (실내온도 24±2 ℃, 습도 55±5%, 12 시간 dark/light)에 적응시킨 후 사용하였다.

* 교신저자 : 정현우, 전남 나주시 대호동 252, 동신대학교 한의과대학

· E-mail : hwdolsan@dsu.ac.kr, · Tel : 061-330-3524

· 접수 : 2005/07/01 · 수정 : 2005/12/05 · 채택 : 2005/12/14

2) 약제

실험에 사용된 蓮根 (Nelumbinis Rhizomatis Nodus, NRN)¹⁴⁾은 전남 무안에서 채취한 것 (Nelumbo nucifera GAERTN)으로 동신대학교 한의과대학 본초학 교실에서 정선받아 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

건조된 NRN 250 g을 4,300 ml 증류수와 함께 전기 약탕기로 120 분 가열한 후 전탕액을 얻어 여과지로 여과한 다음 5,000 rpm으로 30 분 원심분리시켜 상청액을 취하였다. 그 후 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)에 넣어 감압 농축한 후 freeze dryer로 동결 건조시켜 41.9 g (수득율 16.76%)을 검액으로 얻었다.

2) 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화 관찰

(1) 국소 뇌혈류량 변화 측정

흰쥐를 stereotaxic frame (DKI, U.S.A.)에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6 mm 측방, -2~1 mm 전방에 직경 5~6 mm의 두개창 수술을 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막의 출혈을 방지하도록 하였다. Laser doppler flowmeter (Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe (직경 0.8 mm)를 대뇌 (두정엽)피질 표면에 수직이 되도록 stereotaxic micromanipulator를 사용하여 뇌연막 동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험 protocol에 따라 NRN을 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, rCBF)을 용량별로 각각 30 분 동안 측정하였다¹⁹⁾.

(2) 폐쇄 두개창 설치

흰쥐의 체위를 복위로 변경시키고 두부를 stereotaxic frame에 고정시킨 다음 정중선을 따라 두피를 절개한 후 두개골의 관상 봉합 미측 두정골에 saline-cooled drill (Dremel, USA)을 사용하여 craniotomy (5×5 mm)를 시행하였다. 뇌경막과 지주막을 절개하여 제거함으로써 뇌연막 표면을 노출시키고, craniotomy 주위를 dental acrylic으로 둘러싼 후 dental acrylic mount속에 세 개의 polyethylene tube (두 개는 관류용, 나머지 한 개는 두개내압 측정용)를 심어 놓았다. 그 후 dental acrylic위에 직경 12 mm의 cover glass를 놓고 cyanoacrylate를 사용하여 즉시 밀봉시킨 후 95% O₂와 5% CO₂로 포화시킨 인공 뇌척수액을 관류시켰다. 이때 두개창의 용적은 약 0.8 ml, 그리고 두개내압은 5~8 mm Hg로 유지토록 하였다²⁰⁾. 인공 뇌척수액의 조성은 다음과 같다. Na⁺ 156.5 mEq/l, K⁺ 2.95 mEq/l, Ca²⁺ 2.5 mEq/l, Mg²⁺ 1.33 mEq/l, Cl⁻ 138.7 mEq/l, HCO₃⁻ 24.6 mEq/l, dextrose 66.5 mg/dl 및 urea 40.2 mg/dl (pH 7.35~7.40).

(3) 뇌연막 동맥 직경 변화 측정

흰쥐의 두정골에 폐쇄두개창을 설치하고 실험 protocol에 따라 NRN을 용량별 (0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 뇌연막 동맥 (안정시의 직경 약

18.77±1.83 μm)의 직경 (pial arterial diameter, PAD)을 용량별로 각각 30 분 동안 측정하였다²¹⁾. 실험기간 동안 변화되는 PAD는 폐쇄 두개창을 통한 video-microscopy 방법과 width analyzer (Model C3161, Hamamatsu Photonics, Japan)를 사용하여 TV monitor에 나타나는 혈관 영상을 video cassette recorder (S-VHS, Mitsubishi)에 녹화 보존해 두었다가 필요시마다 재생 확인하였다.

(4) 평균혈압 변화 측정

흰쥐를 urethane (750 mg/kg, i.p.)으로 마취시킨 후 체온이 37~38 °C로 유지될 수 있도록 heat pad 위에 복위로 고정시켰다. NRN 투여 용량 (0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)에 따른 평균혈압 (mean arterial blood pressure, MABP)은 흰쥐의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer (Grass, U.S.A.)를 통하여 MacLab과 macintosh computer로 구성된 data acquisition system으로 용량별로 각각 30 분 동안 측정하였다¹⁹⁾.

3) 뇌허혈 병태모델의 뇌혈류역학 변동에 미치는 개선 효과 관찰

(1) 뇌허혈 병태모델 유발

뇌허혈 병태 모델 유발은 Longa 등의 방법²²⁾에 따라 중대뇌 동맥 폐색법 (middle cerebral artery occlusion, MCAO)을 이용하였다. 정상 흰쥐의 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 내·외경 동맥의 분지점으로부터 내경 동맥내로 외경동맥을 통하여 3-0 단선조 나일론 봉합사를 삽입함으로써 MCA 기저부를 폐쇄하였다. 2 시간 후 내경 동맥내에 삽입되어 있는 단선조 나일론 봉합사를 MCA 기저부로부터 제거해 줌으로써 혈액을 재관류시켰다.

(2) 뇌허혈 병태 모델의 국소 뇌혈류량 변동 측정

뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 후 실험 protocol에 따라 정상 시 유의한 효과를 나타낸 NRN (10 mg/kg, i.p.)을 투여하였다. 병태모델 유발 2 시간 후 혈류를 재관류시켜 변동되는 rCBF를 상기 방법으로 4 시간 측정하였다¹⁹⁾. rCBF 측정은 6 시간 동안 30 분 간격으로 측정하였다.

(3) 뇌허혈 병태 모델의 뇌연막 동맥 직경 변동 측정

뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 후 실험 protocol에 따라 정상 시 유의한 효과를 나타낸 NRN (10 mg/kg, i.p.)을 투여하였다. 병태모델 유발 2 시간 후 혈류를 재관류시켜 변동되는 PAD를 상기 방법으로 4 시간 측정하였다²¹⁾. PAD 측정은 6 시간 동안 30 분 간격으로 측정하였다.

4) 생쥐의 신경 세포내 lactate dehydrogenase 활성도 측정

생쥐의 뇌조직 적출은 Choi의 방법²³⁾에 의하였다. 생쥐의 뇌 조직을 적출한 다음 Ca²⁺과 Mg²⁺이 들어 있지 않은 Hank's balanced salt solution (GibcoBRL 14180-061)에 5 mg/ml glucose, 7 mg/ml sucrose 및 0.35 mg/ml NaHCO₃가 첨가된 배양액에 넣었다. 임체현미경하에서 뇌막을 제거하고 대뇌피질을 얻어 잘게 조각을 낸 다음 0.25% trypsin이 함유된 상기 배양액에 넣어 37 °C에서 15 분간 처치한 후 1,000 rpm에서 5 분간 원심분리한 다음 trypsin이 들어 있는 용액을 제거하고, 분리된 세포를 eagle's minimal essential medium (GibcoBRL 11430-030)에 2 mM glutamine과 10% fetal bovine serum (Hyclone A1111-L) 및 10%

horse serum(Hyclone A3311-L)이 포함된 배양액 1~2 ml에 넣은 다음 구멍이 좁혀진 파이펫으로 약 10 회 분쇄하였다. Epidermal growth factor (Sigma E4127)를 10 ng/ml 농도로 첨가한 후 24 well plate (Primaria, Falcon)에 0.5 hemisphere/ plate 밀도로 각 well 당 400 μ l씩 도포하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂와 100% 습도가 유지되는 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 약물 투여군의 분류는 2~4 주 후 교세포 (glial cell)가 충분히 증식한 다음 약물 처리 전 배양액으로 3 회 세척한 후 24 well plate에 NRN을 처리하지 않은 정상군, N-methyl-D-aspartic acid (Sigma M3262, NMDA) 30 μ M을 처리한 대조군, NMDA 30 μ M 처리 후 NRN을 농도별 (1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 100 μ g/ml)로 처리한 실험군으로 하였다. 모든 약물은 증류수에 희석하여 원액을 만든 다음 각 well당 4~8 μ l씩 되게 배양액에 희석하여 배양액 교환과 함께 투여하였다. 약물 투여 24 시간 후 96 well plate의 각 well에 배양액 25 μ l를 넣고, buffer 125 μ l, 0.3 mg/ml NADH 100 μ l, 22.7 mM pyruvate 30 μ l를 넣은 다음 곧 바로 microplate reader를 이용하여 340 nm 파장에서 lactate dehydrogenase (LDH) 양을 측정하였다.

3. 통계처리

NRN의 효과에 대한 통계처리는 Student's t-test에 의하였고, p-value는 0.05 미만인 경우에만 유의성을 인정하였다²⁴⁾.

실험성적

1. NRN이 정상 흰쥐의 뇌혈류역학에 미치는 효과

NRN이 뇌혈류역학에 미치는 효과를 알아보기 위하여 NRN을 용량별(0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, 1.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 rCBF, PAD 및 MABP를 관찰하였다(Fig. 1). NRN을 투여하지 않은 정상 흰쥐의 rCBF를 100.00 \pm 0.03%로 환산하였을 때, NRN 0.01 mg/kg과 0.1 mg/kg을 투여하였을 때의 rCBF는 각각 107.56 \pm 0.06%와 114.87 \pm 0.08%로 정상시보다 증가되었고, NRN 1.0 mg/kg을 투여하였을 때의 rCBF는 131.51 \pm 0.05%로 정상시보다 유의성(P<0.01) 있게 증가되었으며, NRN 10.0 mg/kg을 투여하였을 때의 rCBF도 141.48 \pm 0.05%로 정상시보다 유의성(P<0.001) 있게 증가되었다. NRN을 투여하지 않은 정상 흰쥐의 PAD를 100.00 \pm 0.10%로 환산하였을 때, NRN을 용량별로 투여하였을 때의 PAD는 105.45 \pm 0.09%, 120.00 \pm 0.10%, 130.23 \pm 0.12%, 148.18 \pm 0.09%로 용량 의존적으로 확장되었고, 특히 NRN 10.0 mg/kg을 투여하였을 때의 PAD는 정상시에 비해 유의성(P<0.05) 있게 확장되었다. NRN을 투여하지 않은 정상 흰쥐의 MABP를 100.00 \pm 0.06%로 환산하였을 때, NRN을 용량별로 투여하였을 때의 MABP는 각각 100.60 \pm 0.06%, 101.82 \pm 0.05%, 106.03 \pm 0.07%, 114.44 \pm 0.06%로 정상시보다 증가되었다.

2. NRN이 뇌허혈 병태 모델의 뇌혈류역학 변동에 미치는 개선 효과

1) NRN이 국소 뇌혈류량 변동에 미치는 개선 효과
 뇌허혈 병태 모델의 rCBF 변동에 미치는 NRN의 개선 효과

를 관찰하기 위하여 MCAO로 뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 다음 NRN (10 mg/kg, i.p.)을 투여하여 뇌허혈-재관류 후에 변동되는 rCBF를 관찰하였다(Fig. 2). 대조군의 rCBF 기저치를 100.0 \pm 0.06%라 하였을 때, 뇌허혈 상태 대조군의 rCBF는 뇌허혈 2 시간 동안 각각 39.9 \pm 0.15%, 34.6 \pm 0.26%, 43.5 \pm 0.09%, 44.3 \pm 0.13%로 차단되었다. 그러나 대조군의 rCBF는 재관류 후 2 시간 동안 기저치보다 각각 143.7 \pm 0.06%, 146.8 \pm 0.12%, 144.0 \pm 0.21%, 132.8 \pm 0.09%로 불안정한 증가상태를 나타내었고, 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 129.0 \pm 0.15%, 128.6 \pm 0.25%, 127.0 \pm 0.09%, 126.7 \pm 0.10%로 감소되는 경향을 보였으나 기저치보다는 증가되었다. 실험군의 rCBF 기저치를 100.0 \pm 0.10%라 하였을 때, NRN을 투여한 뇌허혈 상태 실험군의 rCBF는 뇌허혈 2 시간 동안 각각 49.2 \pm 0.09%, 48.1 \pm 0.12%, 46.0 \pm 0.14%, 49.5 \pm 0.10%로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안에는 기저치보다 각각 112.5 \pm 0.05%, 128.4 \pm 0.05%, 131.3 \pm 0.05%, 126.1 \pm 0.02%로 불안정하게 증가되었으나 재관류 시간이 경과될수록 각각 111.2 \pm 0.10%, 113.5 \pm 0.08%, 108.2 \pm 0.08%, 107.2 \pm 0.06%로 정상시와 유사하게 나타났다. 그러나 실험군의 rCBF는 대조군의 불안정한 rCBF에 비해 유의성(P<0.05) 있게 안정적으로 개선되었다.

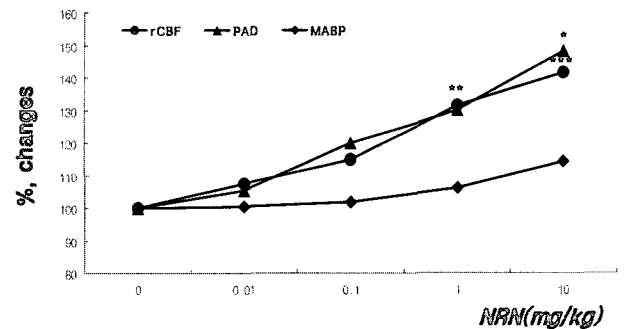


Fig. 1. Effect of NRN on the rCBF, PAD and MABP in normal rats. NRN : *Nelumbinis Rhizomatis Nodus* extract, 0 : After NRN non-injected, group-measured for 30 min, 0.01, 0.1, 1, 10 : After NRN (0.01, 0.1, 1.0, 10.0 mg/kg, i.p.) injected, group-measured for 30 min rCBF : regional cerebral blood flow, PAD : pial arterial diameter, MABP : mean arterial blood pressure. The present data were expressed as mean \pm SE of 6 experiments. * : Statistically significant compared with 0 group (* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001).

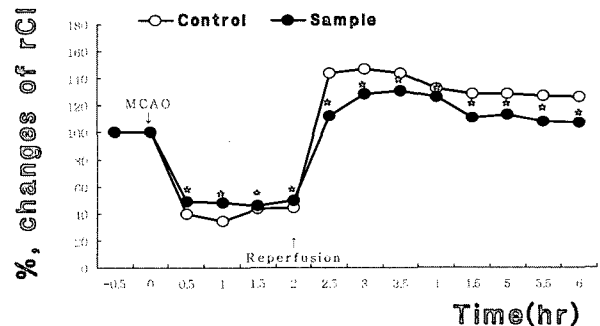


Fig. 2. Effect of NRN on the rCBF response in cerebral ischemic rats. NRN : *Nelumbinis Rhizomatis Nodus* extract, MCAO : right middle cerebral artery occlusion, Control : NRN non-treated group. Sample : NRN (10 mg/kg, i.p.) treated group. rCBF : regional cerebral blood flow. The present data were expressed as mean \pm SE of 6 experiments. * : Statistically significant compared with Control group (* : P<0.05).

2) NRN이 뇌면막 동맥 직경 변동에 미치는 개선 효과

뇌허혈 병태 모델의 PAD 변동에 미치는 NRN의 개선효과를 관찰하기 위하여 MCAO로 뇌허혈 병태 모델을 유발시킨 다음 NRN (10 mg/kg, i.p.)을 투여하여 뇌허혈-재관류 후에 변동되는 PAD를 관찰하였다(Fig. 3). 대조군의 PAD 기저치를 100.00±0.10%라 하였을 때, 뇌허혈 상태 대조군의 PAD는 뇌허혈 2 시간 동안 각각 54.17±0.21%, 55.16±0.14%, 53.64±0.19%, 52.68±0.15%로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안의 PAD는 각각 138.16±0.11%과 143.08±0.09%, 146.29±0.17%, 139.27±0.21%로 기저치보다 불안정한 확장상태를 나타내었다. 이후 재관류 시간이 경과될수록 각각 131.52±0.08%, 129.67±0.13%, 128.32±0.11%, 123.59±0.13%로 감소되었지만 기저치보다는 확장된 PAD를 나타내었다. 실험군의 PAD 기저치를 100.00±0.04%라 하였을 때, NRN을 투여한 뇌허혈 상태 실험군의 PAD는 뇌허혈 2 시간 동안 각각 59.28±0.07%, 59.91±0.13%, 63.63±0.15%, 53.61±0.12%로 차단되었고, 재관류 후 2 시간 동안의 PAD는 각각 112.15±0.07%, 129.24±0.09%, 139.14±0.07%, 133.69±0.08%로 확장되었으나 이후 재관류 시간이 경과될수록 실험군의 PAD는 각각 126.02±0.07%, 112.77±0.10%, 109.30±0.08%, 98.80±0.07%로 기저치와 유사하게 나타났다. 실험군의 PAD는 대조군의 불안정한 PAD에 비해 유의성(P<0.05) 있게 안정적으로 개선되었다.

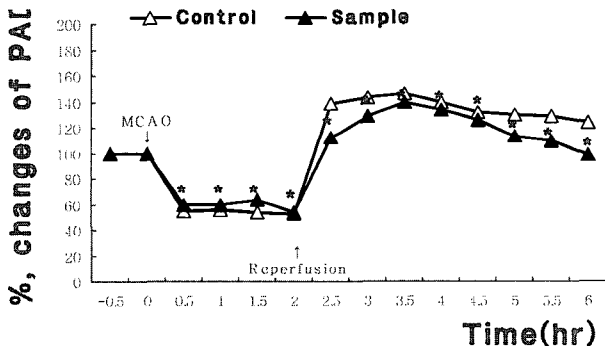


Fig. 3. Effect of NRN on the PAD response in cerebral ischemic rats. PAD : pial arterial diameter. Other legends are the same as Fig. 2. The present data were expressed as mean±SE of 6 experiments. * : Statistically significant compared with Control group (* : P<0.05).

3. NRN이 생쥐의 신경 세포내 LDH 활성도에 미치는 효과

NRN이 신경 세포의 손상을 억제하는지에 대하여 알아보기 위하여 NMDA를 처리한 신경 세포에 NRN을 농도별 (1.0 µg/ml, 10.0 µg/ml, 100.0 µg/ml)로 투여한 결과 LDH의 활성도는 다음과 같았다(Fig. 4). NRN을 처리하지 않고 NMDA만을 처리한 대조군의 LDH 활성도를 100.00±0.02%라 하였을 때, NMDA와 NRN을 처리하지 않은 정상군의 LDH 활성도는 80.71±0.02%이었다. NMDA와 NRN을 처리한 실험군중 NRN 1 µg/ml를 투여한 실험군의 LDH 활성도는 92.25±0.02%로 대조군에 비해 유의성(P<0.05) 있게 감소되었고, NRN 10 µg/ml를 투여한 실험군의 LDH 활성도는 87.73±0.01%로 대조군에 비해 유의성(P<0.01) 있게 감소되었으며, NRN 100 µg/ml를 투여한 실험군의 LDH 활성도는

85.23±0.01%로 대조군에 비해 유의성(P<0.001) 있게 감소되었다.

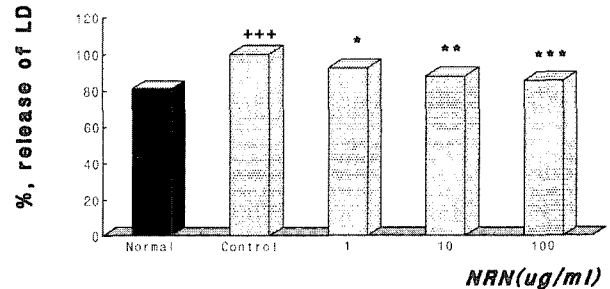


Fig. 4. Effect of NRN on the LDH activity in neuronal cells. NRN : *Nelumbinis Rhizomatis Nodus* extract, Normal : NMDA and NRN non treated group, Control : NMDA (30 µM) treated, but NRN non-treated group, 1, 10, 100 : NRN (1.0 µg/ml, 10.0 µg/ml, 100.0 µg/ml) and NMDA treated group. The present data were expressed as mean±SE of which were the % of control. + : Normal group vs Control group (+ + + : P<0.001). * : Sample group vs Control group (* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001).

고 찰

뇌는 심장에서부터 박출되는 혈액의 공급을 받아 산소와 포도당 등의 영양물질을 얻음으로써 제 기능을 수행하지만 뇌는 신체의 다른 조직과는 달리 뇌조직내에 산소와 포도당을 비축할 능력이 없기 때문에 뇌로 공급되는 혈류에 장애가 발생되면 산소결핍과 함께 포도당이 부족하게 되어 신경계 손상을 포함한 뇌기능 장애가 나타난다^{4,25}.

뇌혈류량은 뇌관류압에 비례하고 뇌혈관 저항에 반비례하는데, 뇌관류압은 생리적 상태에서 뇌정맥압이 매우 낮아 평균 동맥압에 비례하며, 뇌혈관 저항은 뇌혈관 직경의 4승에 반비례하기 때문에 정상적인 뇌혈류 유지를 위해서는 혈압이 하강될 경우 뇌혈관은 확장되어야 하고, 혈압이 상승하게 될 경우 반대로 뇌혈관은 수축되어야 한다²⁶. 혈압은 심장의 박동과 수축력, 말초혈관, 자율신경의 활성 및 renin-angiotensin계를 포함한 각종 호르몬과 생체내 내인성 활성물질 등에 의해 조절된다^{27,29}.

정상적인 뇌혈류 (50 ml/100 g/min)¹에 이상이 초래되어 15~18 ml/100 g/min으로 감소되면 신경 접합부에서 신경자극이 완전히 전달되지 못하여 특징적인 등電性 뇌파가 나타나나 세포자체의 기능은 어느 정도 유지된다^{30,31}. 그러나 뇌혈류량이 10 ml/100 g/min이하로 감소하게 되면 이온성 장애, ATP 감소, 유리 지방산 증가 그리고 젖산 증가에 의한 세포내 산증과 같은 에너지 대사 장애가 초래되어 치명적인 뇌신경 조직의 손상이 나타난다^{2,4}.

중추신경세포의 사멸에는 여러 가지 인자가 관여하나 중추신경계의 주된 신경전달물질인 glutamate의 과잉분비에 의해 일어나는 흥분 독성^{23,32}과 각종 활성산소에 의해 유도되는 산화성 손상^{33,34}이 있다. 이 중 glutamate에 의한 흥분 독성은 glutamate 수용체중 ionotropic 수용체 (NMDA 혹은 non-NMDA)로 인해 신경 세포가 사멸되는 것을 말한다²³. 다시 말해 뇌혈류가 비정상적으로 감소하게 되어 허혈성 뇌손상이 나타나게 되면 일련의 대사물질 (산소자유기 혹은 글루탐산 등)이 생성되거나 침착하게 되어 뇌신경 세포를 포함한 뇌조직이 손상 및 사멸이 초래됨으로써

운동마비·지각마비 등의 신경학적 증상들이 출현하게 된다^{26,35)}.

최근 식생활 및 정신적 스트레스 등으로 각종의 성인병과 노인성 질환들이 다발되고 있는데, 그 중에서도 뇌혈관계 질환의 발생빈도가 높아 사회적으로 많은 관심을 기울이고 있다. 뇌혈류에 대한 연구 동향을 살펴보면 石菖蒲³⁶⁾·靑皮³⁶⁾·蔓荊子³⁸⁾를 이용하여 정상동물의 뇌혈류역학에 미치는 영향을 살펴보는 동시에 혈관확장 억제제를 전처치하여 그 작용기전을 밝혔고, 중대뇌동맥 폐색으로 유발된 뇌허혈 병태 모델에 미치는 연구에서 임 등^{8,39)}은 滋陰健脾湯加枳殼·天麻가 교감신경 β수용체와 cyclooxygenase에 영향을 주어 뇌연막 동맥의 직경을 확장시킴으로써 뇌혈류역학을 안정적으로 개선시키는 등의 항허혈 작용이 있었다고, 김 등⁷⁾은 六君子湯이 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase와 관련되어 IL-10의 생성능을 촉진시키고, 염증 촉발 사이토카인의 생성능을 억제하여 뇌혈류 변동을 개선시킴과 동시에 LDH의 활성도를 감소시킴으로써 뇌허혈로 인해 나타나는 초기 뇌손상을 억제시킬 수 있는 약물이라고, 양 등⁹⁾은 天麻半夏湯이 cyclooxygenase와 관련되어 뇌연막 동맥의 직경을 확장시킴으로써 뇌혈류를 개선시키는 것으로 나타나 風痰으로 인한 뇌질환에 임상적으로 이용될 수 있을 것이라고 보고하였다. 蓮根은 藕 또는 藕節·光藕節·藕節이라고도 불리는 것으로 연꽃과에 속한 水生草本인 연꽃의 根莖 및 節部이다. 蓮根은 收澁止血·化痰시키기 때문에 吐血·咯血·尿血·便血 등 각종의 출혈에 사용되고 있고, 성숙한 종자인 蓮子肉은 養心安神·益腎固澁·健脾止瀉의 효능이 있으며, 靑嫩한 胚芽인 蓮子芯은 清心安神·止血澁精·降血壓하는 효능이 있고, 성숙한 花托인 蓮房은 消痰止血·祛濕의 효능이 있으며, 葉인 荷葉은 清暑利濕·升發脾陽·化痰止血하는 효능이 있고, 葉梗과 花梗인 荷梗은 清熱解暑·通氣行水하는 효능이 있다¹⁴⁻¹⁵⁾. 최근까지의 蓮根에 대한 연구를 살펴보면 정¹⁶⁾은 蓮根의 성분에 대하여, 김¹⁷⁾은 신부전에 미치는 효과에 대하여, 원¹⁸⁾은 사회심리적 스트레스에 미치는 효과에 대해 보고하였을 뿐 각 부위마다 다른 효능을 갖고 있는 蓮에 대한 연구는 활발히 이루어지지 않았다.

이에 저자는 蓮에 대한 연구의 일환으로 비록 蓮根이 문헌상 뇌혈류에 대한 효능은 기재되어 있지 않으나 일상 생활에서 식생활로 애용되고 있는 측면에서 蓮根이 뇌혈류에 미치는 효과를 객관적으로 살펴보고자 하였다. 이에 대한 방법으로 蓮根 추출물(NRN)을 정상 흰쥐에 투여하여 뇌혈류역학(rCBF, MABP, PAD)에 미치는 효과를 살펴보고, 뇌허혈시 변동되는 rCBF 및 PAD의 개선 효과를 살펴보는 동시에 신경세포 사멸과정에서 생성되는 LDH 양의 억제 효과를 관찰하였다.

NRN이 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화에 미치는 효과를 알아보기 위하여 NRN을 투여한 결과 rCBF는 용량에 의존해 정상시보다 141.48%로 유의성 있게 증가되었고, PAD도 용량에 의존해 정상시보다 148.18%로 유의성 있게 확장되었으며, MABP도 용량 의존적으로 114.44%로 증가되었다. 이와 같은 뇌혈류역학 변화 중 MABP의 변화폭보다 PAD의 변화 폭이 크기 때문에 NRN 투여로 나타난 rCBF 증가는 혈압의 상승보다는 뇌연막 동맥의 직경이 확장되어 나타난 결과라 생각된다.

최근 보고에 의하면 허혈성 뇌손상은 허혈 당시보다는 허혈이 일어난 조직으로 산소가 재공급될 때 주로 일어난다⁴⁰⁾하여 일과성 뇌허혈을 유발시킨 후 NRN을 투여한 결과 재관류 후 불안정한 증가상태를 보였던 대조군의 rCBF 변동보다 유의성 있게 안정적으로 증가되었고, 재관류 4 시간 후에는 기저치와 유사한 결과를 나타내었다. 뇌허혈 병태 모델의 PAD도 재관류 후 불안정한 PAD 확장상태를 보였던 대조군보다 유의성 있게 안정적으로 확장되었으며, 재관류 4 시간 후에는 rCBF 변동 개선 효과와 같이 기저치와 유사한 결과를 나타내었다. 이로 미루어 볼 때 정상 흰쥐에서 뇌혈류역학을 유의성 있게 변화시킨 NRN은 뇌허혈시에도 유의한 뇌혈류역학 변동을 개선시킴으로써 허혈로 인한 뇌손상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다.

뇌허혈이 발생되어 ATP가 저하되면 ATP 의존성 Na⁺-K⁺ 수송계 억제, 세포내 Na⁺ 축적, Na⁺-Ca²⁺ antiport의 역전 및 내형질 세망으로부터 세포질로의 칼슘 유리, 특히 NMDA 수용체를 통한 칼슘유입이 나타남으로써 허혈성 세포손상이 나타난다⁴¹⁻⁴²⁾. 이에 뇌혈류 변동을 유의성 있게 개선시킨 NRN이 뇌세포의 사멸시 생성되는 LDH 양을 억제시킬 수 있는지에 대하여 알아보 고자 NMDA로 뇌세포 사멸을 유도시킨 후 NRN을 투여한 결과, 전 투여 농도에서 유의성 있게 LDH 활성도를 억제하였다. 이는 뇌혈류 감소로 인해 뇌조직 혹은 뇌세포가 과사되는 과정에 NRN을 투여하게 되면 뇌혈류 변화를 통한 뇌세포의 사멸을 억제할 수 있음을 보여주는 결과라 생각된다.

결론

뇌혈류역학 변화 및 뇌세포 사멸 억제에 미치는 蓮根 추출물의 억제 효과를 알아보기 위하여 정상 흰쥐에서 rCBF, MABP, PAD에 미치는 효과, 뇌허혈 병태 모델의 rCBF 및 PAD 변동 개선에 미치는 효과, 생쥐의 신경세포에서 LDH 양에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 정상 흰쥐에 蓮根 추출물을 투여한 결과, rCBF는 용량 의존적으로 유의성 있게 증가되었고, PAD는 유의성 있게 확장되었으며, MABP는 증가되었다. 뇌허혈 병태 모델에 蓮根 추출물을 투여한 결과, 실험군의 rCBF는 재관류시 대조군의 불안정한 변동보다 유의성 있게 안정적으로 개선되었다. 뇌허혈 병태 모델에 蓮根 추출물을 투여한 결과, 실험군의 PAD는 재관류시 대조군의 불안정한 변동보다 안정적으로 개선되었다. 신경세포에 蓮根 추출물을 투여한 결과, LDH 활성도는 전 투여 농도에서 유의성 있게 억제되었다. 이상의 결과, 蓮根 추출물은 뇌혈류 변동을 개선시키는 물론 뇌허혈로 인한 뇌세포 사멸에도 관여하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Kety, S.S., Schmidt, C.F. The nitrous oxide method for the man ; theory, procedure and normal values, J. Clin Invest 27:476-483, 1948.
2. Harris, R.J., Symon, L., Branston, N.M., Bayhan, M.

- Changes in extracellular calcium activity in cerebral ischemia, *J. Cereb Blood Flow Metab.* 1:203-209, 1981.
3. Wieloch, T., Siesjo, B.K. Ischemic brain injury ; the importance of calcium, lipolytic activities and free fatty acids, *Pathol Biol(Paris)*. 30:269-277, 1982.
 4. 이경은, 김경환. 허혈, 재관류 손상에서 뇌조직 아민 변동과 Free Radical과의 관련성, *大韓神經科學會誌* 8(1):2-8, 1990.
 5. 나영실, 윤상협, 민병일: 最近 腦卒中에 대한 力學的 考察, *慶熙醫學* 7, pp 280-286, 1991.
 6. 이금수, 정현우. 청피가 뇌혈류역학에 미치는 실험적 연구, *동신대학교 대학원(碩士)*, 2001.
 7. 김희성, 이상록, 정현우. 육군자탕이 뇌허혈에 미치는 억제효과, *동의생리병리학회지* 18(2):419-426, 2004.
 8. 임광모, 박철훈, 정현우. 자음건비탕가지각·천마가 뇌세포 및 뇌혈류역학 변동에 미치는 영향, *동의생리병리학회지* 17(1):64-70, 2003.
 9. 양기호, 윤영대, 정현우. 천마한하탕이 뇌허혈로 인한 뇌허혈역학적 변동에 미치는 영향, *동의생리병리학회지* 18(3):783-788, 2004.
 10. 전찬용. 虛血性心臟에 대한 勝金散의 實驗的 研究, *慶熙醫學*, 36:80-92, 1995.
 11. 姜名石. 虛血性 心筋에 補心丹이 미치는 影響, *慶熙大學校 大學院(碩士)*, 1996.
 12. 崔恩禎. 蘇合香元이 實驗的 腦梗塞 環위의 局所腦血流量 및 梗塞 면적에 미치는 影響, *東國大學校 大學院(碩士)*, 1997.
 13. 姜영록. 遠志와 石菖蒲의 單獨 및 混合投與가 白鼠의 腦損傷에 미치는 影響, *大田大學校 大學院(碩士)*, 1997.
 14. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編. 本草學, 永林社, 서울, p 389, 1999.
 15. 辛民教. 臨床本草學, 永林社, 서울, pp 504-508, 1997.
 16. 정석진. 연근속의 Niacin 분석에 관한 연구, *전북대학교 대학원*, 1982.
 17. 김형우. Cisplatin 유도 신부전에 대한 연근 추출물의 억제 효과, *동신대학교 대학원*, 2004.
 18. 원호영. Effects of Nodus Nelumbinis Rhizoma extracts on sociopsychological stress in mine, *동신대학교 대학원*, 2004.
 19. Chen, S.T., Hsu, C.Y., Hogan, E.L., Maricque, H., Balentine, J.D. A model of focal ischemic stroke in the rat ; reproducible extension cortical infarction, *Stroke* 17:738-743, 1986.
 20. Morii, S., Ngai, A.C., Winn, H.R. Reactivity of rat pial arterioles and venules to adenosine and carbon dioxide ; with detailed description of the closed cranial window technique in rats, *J. Cereb Blood Flow Metab.* 6(1):34-41, 1986.
 21. Joseph, E., Lebasseeur, M.S., Wei, E.P., Raper, A.J., Kontos, H.A. and Patterson, J.L. Detailed description of a cranial window technique for acute and chronic experimentals, *Stroke* 6:308-317, 1975.
 22. 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.
 23. Choi, D.W. Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system, *J. Neuron* 1:623-634, 1988.
 24. Snedecor, G.H. and Cochran, W.G. *Statistical Methods*, 6th ed. Amos, Iowastate Univ., 1967.
 25. 대한병리학회. 병리학, 고문사, 서울, pp 87-99, 1263-1264, 1994.
 26. 대한신경외과학회. 신경외과학, 중앙문화사, 서울, pp 150-156, 275-279, 284-285, 299, 1997.
 27. 서울대학교 의과대학 내과학교실편. 내과학, 군자출판사, 서울, pp 146-158, 1996.
 28. 李文鎬, 金鍾暉, 許仁穆. 內科學(上), 學林社, 서울, pp 77-81, 1986.
 29. 金祐謙 : 인체의 생리, 서울대학교 출판부, 서울, pp 30-47, 107-118, 1985.
 30. Sharbrough, F.W., Messick, M.K. Jr., Sundt, T.M. Jr. Correlation of continuous electroencephalograms with cerebral blood flow measurements during carotid endarterectomy, *Stroke* 4:672-683, 1973.
 31. Trojaborg, W., Boysen, G. Relation between EEG, regional cerebral blood flow and internal carotid artery pressure during carotid endarterectomy, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 34:61-69, 1973.
 32. Choi, D.W. Excitotoxic cell death, *J. Neurobiology* 23, pp 1261-1276, 1992.
 33. Halliwell, B. Oxidants and the central nervous system ; some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? *Acta Neurol. Scand Suppl.* 126:23-33, 1989.
 34. Halliwell, B. Reactive oxygen species and the central nervous system, *J. Neurochem.* 59:1609-1623, 1992.
 35. 의학교육연구원. 물리요법, 서울대학교 출판부, 서울, pp 399-403, 1996.
 36. 이금수, 정현우, 강성용. 석창포가 백서의 뇌연막동맥의 직경에 미치는 기전연구, *대한보초학회지* 15(2):1-7, 2000.
 37. 강성용, 이원석, 정현우, 한종현. 청피의 실험적 연구(1), *대한방재학회지* 8(1):329-342, 2000.
 38. 신영일, 조경화, 정현우, 강성용, 황경택. 만형자의 뇌혈류역학에 대한 연구, *대한동의병리학회지* 14(1):90-98, 2000.
 39. 정현우. 자음건비탕가지각·천마가 뇌허혈 동물의 뇌혈류역학 변동 개선에 미치는 작용기전, *동의생리병리학회지* 17(5):1194-1201, 2003.
 40. McCord, J.M. Mechanisms of disease : oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury, *New Eng J. Med.* 312:159-163, 1985.
 41. Cheung, J.Y., Bonventre, J.V., Malis, C.D., Leaf, A. Mechanisms of disease ; calcium and ischemic injury, *New Eng J. Med.* 26:1670-1676, 1986.
 42. Weisfeldt, M.L. Reperfusion and Reperfusion injury, *Clin Res.* 35:13-20, 1987.