



Original Article / 원저

오령산(五苓散)의 본태성 고혈압 동물모델에서 혈압강하 및 혈관 이완 효과

장윤재^{1,2,3}, 김혜음^{1,3}, 홍미현^{1,3}, 윤정주^{1,3}, 이호섭^{1,2,3}, 강대길^{1,2,3*}

¹원광대학교 한의과대학 생리학교실, ²한의학전문대학원 천연물 개발학,
³원광대학교 한방심신증후군연구센터

Effect of Oryeongsan on Spontaneously Hypertensive Rat decrease of Blood Pressure and Vasodilatory

Youn Jae Jang^{1,2,3}, Hye Yoom Kim^{1,3}, Mi Hyeon Hong^{1,3}, Jung Joo Yoon^{1,3}, Ho Sub Lee^{1,2,3},
Dae Gill Kang^{1,2,3*}

¹Department of Physiology, College of Korean Medicine

²Department of herbal Resources, Professional Graduate School of Korean
Medicine

³Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Wonkwonag University

ABSTRACT

Oryeongsan (ORS), a formula composed of five herbal medicines, has long been used to treat impairments of the regulation of body fluid homeostasis. The purpose of this study was to determine the antihypertensive and renal protective effects of ORS in rats with hypertension. Spontaneously hypertensive rats (SHR) were divided into two groups with similar mean baseline systolic blood pressure (SBP). Then, 1 mL/kg of vehicle (distilled water) or 1.5, 3 g/kg of ORS extract were administered orally once a day for 4 weeks. SBP and diastolic blood pressure (DBP) were measured at weeks 1, 2, 3 and 4. At the end of the experiment, blood was collected, and heart were removed for histology. By the 2 weeks after initiation of treatment, the ORS treated group had significantly lower SBP than SHR rats. The ORS treatment significantly improved blood pressure and echocardiogram parameters compared to hypertensive rats. Additionally, the left ventricular (LV) remodeling and LV dysfunction were significantly improved in ORS treated group hypertensive rats. Furthermore, an increase in fibrotic area has been observed in SHR rats compared with Wistar-Kyoto rats (WKY). Furthermore, administration of ORS significantly attenuated cardiac fibrosis in hypertensive rats. Therefore, these findings suggest that ORS has a protective effect on heart failure by alleviating hypertensive heart disease and cardiovascular dysfunction in SHR.

Key words : Oryeongsan, Hypertension, Spontaneously hypertensive rat, Cardiovascular dysfunction.

I. 서론

현대사회에서 고혈압 (hypertension)은 주요 사망원인으로 그 중 심혈관 손상이 주요 위험 요소로 작용한다¹⁾. 혈압의 상승은 혈관의 이상을 초래하는데, 혈관내경 및 혈관 구조를 변화시키는 크게 구조적인 변화와, 심혈관의 기능장애가 나타나는 기능적인 변화로 나눌 수 있다²⁾. 예를 들어, 고혈압이 유발되면 혈관내경 및 혈관 구조를 변화시키고 심장의 콜라겐 함량의 증가로 인해 심근 섬유증 (fibrosis)을 유발하는 병리학적 변화로 좌심실비대 (left ventricle hypertrophy)가 일어나 심부전을 유발하는 등의 구조적인 변화가 나타나며³⁾, 죽상경화증을 유발하여 내피세포의 장벽 기능에 대한 손상으로 인하여 심혈관 기능 장애를 유발하는 염증 반응을 더욱 증가시켜 기능적인 장애를 야기시킨다^{4,5)}. 염증 (inflammation)은 말기 장기 손상의 중요한 위험 요소이며, 고혈압과 관련이 있다^{6,7)}. 염증성 사이토카인은 심혈관 질환의 병리 생리학에서 필수적인 역할을 한다⁸⁾. 내피세포의 장벽 기능에 대한 손상은 심혈관 기능 장애를 유발하는 염증 반응을 더욱 증가시킨다⁹⁾. 혈관 내피는 혈관조직을 총체적으로 유지하는데 중요한 조직으로 혈관내피세포의 기능이 상실되면 결과적으로 혈관 손상이 일어나게 된다¹⁰⁾. 혈관내피세포는 endothelium-driven relaxing factor (EDRF)인 혈관 이완 인자 nitric oxide (NO)를 생성하여 endothelin-1 (ET-1), angiotensin II (Ang-II)와 같은 혈관 수축 인자와 균형을 이루게 된다¹¹⁾. 심혈관계에서 NO는 혈관 이완 작용이 중요하며 혈관 평활근 세포의 증식과 이동의 억제작용을 한다고 알려져 있다^{12,13)}. 이러한 NO는 L-arginine 으로부터 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 합성되는 물질로 때로는 독소로 작용할 수 있는 특이한 물질이다¹⁴⁾. endothelial NOS (eNOS)는 내피 세포에서 첫 번째로 확인되었고, 상피세포, 평활근세포, T림프구세포에서도 나타난다^{15,16)}. Chou 등은 본태성 고혈압 흰쥐 (spontaneously hypertensive rats, SHR)의 대동 맥에서 eNOS의 활성과 단백질이 감소되는 반면, inducible

NOS (iNOS)의 활성과 단백질이 증가된다고 하였고, 고혈압 발병에 산화질소와 NOS가 관련이 있다고 하였다¹⁷⁾. 따라서 혈관 내피에서 eNOS는 혈관 이완 및 혈압의 변화에 중요한 영향을 미친다. 또한 여러 연구에서 혈관 확장제인 NO가 항고혈압제, 항비후제 및 신장보호제로서의 역할을 한다고 밝혀졌다¹⁸⁾. NO는 혈압 조절에 기여할 뿐만 아니라¹⁹⁾ 레닌-안지오텐신 시스템²⁰⁾, 교감신경계²¹⁾ 및 황화수소²²⁾와 같은 기타 기체 전달체와 같은 다른 시스템과 매개함으로써 고혈압 환자에서 신기능 보호 역할 또한 한다고 알려져 있다. 따라서 혈압과 체액의 관계는 연계가 있다는 것을 알 수 있다.

한의학에서 심혈관계 질환에 있어서 특성, 병의 경중, 증상 및 병인에 따라 분류되어지고 있으며 침구 및 약물로 예방과 치료를 하였고 치료에 사용된 약물 및 처방은 다양하다²³⁾. 대표적인 고혈압 치료제로써 이뇨제 (diuretics)를 사용하여 혈액 중의 나트륨을 소변을 통해 배설함으로써 혈압을 떨어뜨리는 효과가 있고²⁴⁾, 이는 체액 조절로 인하여 고혈압을 치료할 수 있기에 오령산(Oryeongsan; ORS)의 체액 개선 효과로 인한 고혈압의 개선 효과를 확인하는 것은 의미가 크다고 볼 수 있다. 본 연구에서 사용된 오령산(五苓散)은 택사(澤瀉), 지령(猪苓), 복령(赤茯苓), 백출(白朮), 계지(桂枝) 5가지 한약재로 이루어진 방제이다. 상한태양병(傷寒太陽病) 때 열이 속으로 들어가 머리가 아프고 열이 나며 가슴이 답답하고 갈증이 나면서 소변이 잘 나오지 않는 증상과 몸이 붓고 무거우며 소변이 잘 나오지 않을 때 사용하는 처방으로 알려져 있다²⁵⁾. 또한, 급·만성 신염, 신장 질환, 급성 방광염 등에 쓰인다고 보고 되고 있다²⁶⁾. 따라서 오령산이 소변 배설에 의한 체액 조절과 혈압 개선에 연관이 있는 것으로 착안하여 본 연구를 수행하게 되었다.

II. 재료 및 방법

1. 오령산 시료

본 연구에서 사용된 오령산(五苓散)은 택사(澤瀉),

*Corresponding author: Dae Gill Kang, Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University, 460 Iksan-daero, Iksan-si, Jeollabuk-do, 54538, Republic of Korea
Tel : +82-63-850-6447, E-mail : host@wku.ac.kr

•Received : July 22, 2022 / Revised : August 19, 2022 / Accepted : August 25, 2022

저령(猪苓), 복령(赤茯苓), 백출(白朮), 계지(桂枝)로 5가지 한약재로 이루어진 방제이다. 이 오령산 추출물(=오령산료)은 한풍제약 (Hanpoong Pharm & Foods Co., Wanju, Korea)에서 일반의약품으로 판매되고 있는 제품으로써 본 연구를 위해 제공 받았다. 오령산료는 담갈색의 과립제로 목마름, 요량감소, 구역, 구토, 복통 등 어느 것을 수반하는 다음 증상에 물설사, 급성 위장염, 더위먹음, 두통, 부종에 사용된다고 명시되어 있다.

2. 실험 동물

실험은 수컷 본태성 고혈압 쥐(SHRs, 7주)와 본 연구에 사용된 Wistar-Kyoto 쥐(WKY, 7주)를 대상으로 하였으며, 동물보호실에서 표준광(12시간 명/암), 온도($22 \pm 2^\circ\text{C}$) 및 습도($40 \pm 10\%$) 하에서 유지했다. 총 5 그룹으로 실험군을 나누었으며 각 그룹은 7마리씩 순서는 다음과 같다. 1) WKY (wistar-kyoto rats, 정상대조군), 2) SHR (spontaneously hypertensive rats, SHR, 본태성고혈압흰쥐, 음성대조군), 3) SHR + LOS (losartan, 선택적 안지오텐신 II(Ang II) 유형 1(AT1) 수용체 길항제, 20 mg/kg/day, 양성대조군), 4) SHR + ORS 저농도(오령산, oryeongsan, 1.5 g/kg/day), 5) SHR + ORS 고농도(ORS 3 g/kg/day)로 나뉘었으며 4주 동안 매일 경구 투여하였다. 본 연구에 기술된 실험은 미국생리학회와 동물보호 및 이용에 대한 지침의 원칙에 따라 수행되었다. 모든 실험동물은 원광대학교의 기관 동물 관리 및 사용 위원회(WKU20-26)의 승인을 받았다.

3. 수축기 혈압 측정

일주일 동안 안정화시킨 후 모든 동물 그룹에서 tail-cuff CODA™ High Throughput System (Kent Scientific Corporation, Torrington, CT, USA)로 주 1회 측정하였다. 먼저 실험동물을 36°C 에서 15~20분간 안정시킨 후 cuff를 꼬리에 부착하고 수축기 혈압을 측정하였다.

4. 혈액생화학분석

실험동물을 희생시켜 나온 혈액은 1 mg/ml ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA) 튜브에 수집하였다 수집한 혈액은 3000 rpm, 15분, 4°C 에서 원심분리하여 혈청만 분리해 lactate dehydrogenase (LDH)의 혈장 수준은 자동화된 임상 화학 분석기

(FUJI DRI-CHEM NX700, FUJIFILM Corporation, Tokyo, JAPAN)를 사용하여 측정하였다.

5. 심초음파측정

14 MHz의 주파수로 설정된 18LS probe (VINNO6, Vinno Corporation, China)가 있는 초음파 장치를 사용하여 4주 후 심장초음파를 수행했다. 동물은 산소와 혼합된 4% 이소플루란에서 마취하였다. M-모드를 통해 각 쥐에 Ejection fraction (EF), fractional shorting (FS)를 측정하였다.

6. 조직검사

광학 현미경적 검사를 위해 심장과 혈관을 10% 중성 포르말린 용액으로 고정 후 절단하였다. 통상의 방법에 따라 수세, 파라핀 포매과정을 거쳐 $5 \mu\text{M}$ 의 연속 절편을 만든 후 슬라이드에 부착했다.

7. Masson's trichrome staining 염색

적출된 혈관, 심장 조직을 5% 포르말린 (pH 7.4)에 7 일 고정시킨 후, 수세로써 조직 내에 남아있는 포르말린을 제거하였다. 50% 알코올에서부터 100% 알코올까지 농도 상승 순으로 탈수하고 xylene으로 치환하였다. 파라핀 침투과정을 거친 후 포매하여 블록을 제작하였다. 그리고 심장 섬유증을 평가하기 위해 Masson's trichrome staining 염색 키트(BBC Biochemical, USA)의 protocol을 이용하여 심장 조직을 염색하였다.

8. 통계분석

실험 군 간의 유의성은 SigmaPlot (Saint Louis, Missouri, USA) 프로그램을 이용하여 Students t-test를 통하 여 p가 0.05 이하인 경우 유의한 차이로 판정하였다.

III. 결과

1. ORS가 쥐의 혈압과 심박수에 미치는 영향

SHR의 수축기 혈압(systolic blood pressure, SBP)은 4주 동안 유의한 변화가 없었다. 반면 ORS 투여군에서는 투여 1주 부터 4주 동안 유의적으로 감소하였다(Figure 1A). LOS 군 또한 감소한 것으로 나타났다. 마지막 4 주차 결과로 SHR군은 $178.5 \pm 8.6 \text{ mmHg}$ 로 나타내었고 ORS 고농도 $114.01 \pm 7.5 \text{ mmHg}$,

LOS 122.0 ± 3.4 mmHg로 SHR군에 비해 유의적으로 감소된 것을 확인하였다 (Figure 1B). 이러한 결과 ORS 치료에 의해 혈압강하 효과가 나타났다.

2. ORS의 혈관 이완 효과에 미치는 영향

WKY, SHR 및 투여군을 4주간 투여하여 마지막 날 내피 비의존성 혈관 이완성은 내피세포를 제거한 흉대 동맥을 수축시킨 후 SNP를 최종 농도 5.5M이 되도록 누적 투여하여 관찰하다. ORS과 SHR 사이의 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Figure 2A). 내피세포가 건재한 흉대동맥을 수축시킨 후 acetylcholin (Ach)를 최종 농도 5.5 M이 되도록 누적 투여하여 이완효과를 관찰한 결과 ORS 와 LOS의 투여 용량이 많을수록 혈관이완 효과가 증가하는 결과를 보였다(Figure 2B). 또한, 혈장에서 고혈압 매개변수 LDH 분비는 고혈압 쥐에서 증가했지만 ORS 치료에 의해 감소하였다(Figure 2C).

3. ORS의 심장기능에 보호 효과에 미치는 영향

ORS 치료 4주 후 심장 기능에 영향을 미치는지 확인하기 위해 M-모드 심장초음파를 사용했다(Figure 3A). EF 및 FS를 측정된 결과 EF는 WKY군은 $91.2 \pm 1.6\%$ 로 나타내었고 SHR은 $72.3 \pm 3.6\%$ 로 유의적으로 감소한 것을 확인하였다. LOS군 $89.9 \pm 2.4\%$ ORS군 저농도 $81.4 \pm 1.9\%$, 고농도 $85.8 \pm 0.8\%$ 로 ORS의 치료는 고혈압으로 인한 손상된 좌심실의 EF를 유효하게 개선하였다(Figure 3B). 또한, FS는 WKY군 $56.2 \pm 2.8\%$ 측정되었고 SHR $37.9 \pm 2.6\%$, LOS $53.3 \pm 3.6\%$ 약물군인 ORS군은 저농도 $47.2 \pm 2.7\%$, 고농도 $50.0 \pm 1.0\%$ 로 유의하게 개선하였다(Figure 3C). 이러한 결과는 ORS 의 사용이 심장 리모델링 및 기능을 개선할 수 있음을 확인하였다.

4. ORS의 투여에 의한 몸무게, 심장에 미치는 영향

심장 비대에 대한 ORS 투여 후 무게를 측정된 결과 실험동물 희생 후 심장 무게를 몸무게로 나눈 결과 비율은 SHR 3.95 ± 0.06 g/kg과 WKY는 2.97 ± 0.05 g/kg과 비교했을 때 유의하게 증가하였다. 또한, LOS 3.53 ± 0.05 g/kg과 ORS 고농도 3.47 ± 0.08 g/kg 군은 SHR군에 비해 유의하게 감소하였다(Figure 4A,B). 좌심실 무게를 몸무게로 나눈 결과 비율은 SHR 2.47 ± 0.05 g/kg 그룹에 비해 ORS 고농도 2.15 ± 0.10 g/kg에 의해 감소하였으며, 이는 SHR

그룹에서 증가하고 ORS 의해 감소한 것을 확인하였다.

5. ORS의 투여에 의한 혈관 비대 및 섬유증에 대한 효과

Masson's trichrome staining을 사용한 쥐는 ORS 치료로 인한 흉부 대동맥 비대 역제를 확인하였다(Figure 5A). 결과적으로, 흉부 대동맥 조직은 혈관 평활근 세포에서 비대가 발생함을 보여주었다. ORS 치료로 인한 흉부 대동맥 비대 역제를 확인하였다(Figure 5A). 또한, 혈관의 섬유화 정도를 확인하기 위하여 Masson's trichrome staining 염색을 시행하였다. 그 결과 SHR군에서 $26 \pm 0.5\%$ 로 섬유화를 확인할 수 있었으며 ORS 고농도 $17.1 \pm 0.3\%$ 로 ORS 처리한 군에서 섬유화가 감소하였음을 확인하였다(Figure 5C).

6. ORS의 투여에 의한 심장 섬유증에 대한 효과

심장의 섬유화 정도를 확인하기 위하여 LV의 대표적인 현미경 사진은 Masson's trichrome staining을 시행하였다(Figure 6A). 그 결과 SHR $19.1 \pm 0.4\%$ 섬유화가 증가를 확인할 수 있었다. LOS군에서 $8.6 \pm 0.2\%$ 로 감소하였다. 또한, ORS 고농도 $6.6 \pm 0.3\%$ 처리한 군에서 섬유화가 감소하였음을 확인하였다. 이러한 결과는 ORS 투여가 심장 섬유화를 개선하였다(Figure 6B).

IV. 고찰

고혈압은 심혈관 손상과 밀접한 관련이 있으며, 좌심실비대 및 심부전을 동반한 고혈압은 심혈관 관련 이환율 및 사망률에 대한 중요한 위험 요소로 작용한다²⁷⁾. 또한 고혈압은 좌심실비대, 좌심방비대, 좌심실 수축기 및 이완기 기능의 손상과 같은 심장의 구조적 및 기능적 변화에 기인한다²⁸⁾. 전신순환장애의 일종인 SHR의 경우 보통 유전, 나이, 성별, 비만, 기저질환, 흡연, 음주, 식습관 등에 의해서 발병한다²⁹⁾. 발생 병태로는 말초혈관의 탄력성감소나 말초저항의 증대, 신장의 기능 이상으로 인한 나트륨 체내 저류 등 체액의 이상으로 인하여 고혈압이 일어난다고 보고되고 있다³⁰⁾. 따라서, 본 연구는 자발적인 고혈압 쥐에서 체액 조절에 효과적인 오령산이 심혈관계 질환에도 효과가 있는지 확인하고, 이때 혈압강하 효과와 심혈관 리모델링 개선 효과에 관하여 조사하기 위해 고안되었다.

고혈압 유발로 인하여 나타날 수 있는 합병증으로 심장 비대나 심장기능 상실을 들 수 있다. 이러한 인간의 선천성 고혈압과 유사한 동물모델인 자발적인 고혈압 쥐(spontaneously hypertensive rats, SHR)³¹⁾ 즉, SHR 쥐를 사용하여 본 연구를 수행하게 되었다. SHR 쥐는 고혈압의 기전과 효과적인 치료 전략을 이해하기 위해 활용되는 대표적인 고혈압 동물모델이며³²⁾, 심근으로 인한 심혈관 리모델링을 포함한 생리적 변화와 관련되어 좌심실 비대를 초래하는 특징을 가지고 있다³³⁾. SHR은 생후 6~7주에 혈압이 상승하여 안정적인 고혈압 수준에 도달한 후 진행성 심장 비대, 심근 섬유증 및 심부전이 발생한다^{34,35)}. 따라서 오령산의 효과를 확인하기에 적절한 동물모델로 판단, 본 연구를 위하여 선정했다. 본 연구에서 양성 대조군으로 사용된 losartan은 안지오텐신 수용체 차단제로서 주로 고혈압 치료에 사용되어 혈압을 낮추는 효과가 있다고 알려져 있기에³⁶⁾ 양성 대조군으로 선택하게 되었다³⁷⁾. 또 다른 연구에서, 안지오텐신 전환 효소 억제제 또는 안지오텐신 II 1형 수용체 길항제를 사용하여 고혈압 쥐에게 losartan을 치료하면 고혈압과 이에 수반되는 좌심실 비대가 완전히 예방된다고 보고되었다³⁸⁾. 우리의 기존 연구 결과에 따르면 오령산이 안지오텐신 II 수용체를 경유하여 신장에 영향³⁹⁾을 주는 것으로 확인 되었기에 losartan과 같이 고혈압과 이에 수반되는 좌심실 비대에 효과적일 수 있다고 판단됨에 따라 오령산의 효과를 연구하는데 의의가 있다고 보았다. 우리는 혈압 변화를 살펴보기 위하여 매주 tail-cuff 방법으로 자발적 고혈압 쥐의 수축기 동맥압을 측정 한 결과, 기존의 연구 결과와 같이 수축기 동맥압 증가하였으며 고혈압이 유발 되었음을 확인할 수 있었으며, 오령산의 투여로 인해 혈압 강하 효과가 나타나는 것으로 확인됐다.

고혈압 모델인 SHR에서 심장 기능과 심장 벽 두께에 영향을 미치는지 여부를 평가하기 위하여 심장초음파 검사를 수행했다. 심장 초음파는 별도의 수술 없이 실시간으로 심장내부의 심방과 심실의 크기와 모양, 판막의 움직임, 대동맥의 크기 등 심장의 구조를 확인하여 각종 심장 질환을 진단하고 기능을 평가 할 수 있어 동물실험에도 유용하게 쓰인다⁴⁰⁾. 특히 좌심실 기능의 측정치로 좌심실구혈률 (Ejection fraction, EF)과 분획단축률 (fractional shorting, FS)이 있다. Escudero 등⁴¹⁾은 SHR에서 심초음파를 통해 좌심실 수축기 기능 지표로 EF 와 FS가 감소되는 것으로 좌심실 기능 이상

이 나타남을 확인했다고 밝혔다. 우리의 결과에서도 마찬가지로 SHR군에서 WKY군에 비하여 현저하게 감소되었던 좌심실 기능이 오령산의 투여로 회복되는 것을 확인할 수 있었다.

고혈압은 혈관 및 심근의 병태생리학적 변화를 통해 내피 기능 장애, 비대성 심장 기능 장애, 섬유증 증가 및 염증성 변화와 같은 심혈관 기능 장애를 유발한다^{42,43)}. 고혈압의 주요 병리학적 변화는 좌심실 비대로⁴⁴⁾ 근육 세포 크기의 증가와 섬유화 및 혈관 재건을 특징으로 한다⁴⁵⁾. 심장 비대는 고혈압 치료의 주요 목표로 간주되며⁴⁶⁾, 좌심실 벽의 보상적 비후는 고혈압 쥐의 벽 스트레스를 정상화하기 위해 존재한다⁴⁷⁾. 이전 연구에서도 고혈압이 혈관 두께, 좌심실 내경 및 단면적 증가로 인해 재형성되는 것으로 나타났다^{48,49)}. 따라서 심장초음파 및 Masson's trichrome 염색 분석을 통해 오령산의 투여가 고혈압 쥐의 심근 비대와 심장 재형성을 약화시킴을 확인했다 (Figure. 6). 이 연구에서 우리는 WKY에 비해 고혈압 쥐의 흉부 대동맥에서 심장 섬유증이 유도된다는 것을 발견했다. 반면 오령산의 치료는 좌심실과 흉부 대동맥 조직의 섬유증을 완화시켰다. 또한, 아세틸콜린에 의해 유도된 대동맥 고리 이완은 정상 쥐에 비해 고혈압 쥐에서 유의하게 약화됐다 (Figure 2). 이러한결과 혈관 내피 기능 장애가 고혈압 쥐에서 발생했음을 나타낸다⁵⁰⁾. 또한, 오령산이 고혈압 쥐에서 내피 기능의 개선을 통해 매개되는 항고혈압 효과를 나타낸다. 따라서 결과적으로 오령산이 심혈관 리모델링에 잠재적인 역할을 할 수 있으며 오령산 치료가 고혈압 쥐의 혈압을 감소시키고 심장 기능장애를 유의하게 개선함을 시사한다. 오령산의 효과를 생리학적 지표를 통해 확인하였기에 후속연구로 분자생물학적 실험을 통해 기전연구가 필요할 것으로 생각되어 진다.

V. 결론

본 연구에서 오령산의 자발적인 고혈압 쥐(SHR, 고혈압 쥐)에서 항고혈압 및 심혈관 리모델링 개선 효과가 있음을 입증했다. 또한, 우리의 결과는 오령산이 심장 섬유증 및 고혈압을 예방하고 심혈관 기능 장애를 개선하는 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 오령산은 심혈관계 질환 개선 소재로 활용이 가능할 것이라 사료된다.

감사의 글

본 논문의 연구는 원광대학교 (2021)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Katholi RE, Couri DM. Left ventricular hypertrophy: Major risk factor in patients with hypertension: Update and practical clinical applications. *Int. J. Hypertens.* 2011;495349.
2. Mancia G, Omboni S, Parati G. The importance of blood pressure variability in hypertension. *Blood Press Monit.* 2000;5:S9-S15.
3. Creemers EE, Pinto YM. Molecular mechanisms that control interstitial fibrosis in the pressure-overloaded heart. *Cardiovasc. Res.* 2011;89:265-272.
4. Eriguchi M, Tsuruya K, Haruyama N, Yamada S, Tanaka S, Suehiro T, Noguchi, H, Masutani K, Torisu K, Kitazono T. Renal denervation has blood pressure-independent protective effects on kidney and heart in a rat model of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2014;87:16-127.
5. Cho E, Kim M, Ko YS, Lee HY, Song M, Kim HK, Cho WY, Jo SK. Role of inflammation in the pathogenesis of cardiorenal syndrome in a rat myocardial infarction model. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2013;28:2766-2778.
6. Cardinale JP, Sriramula S, Pariaut R, Guggilam A, Mariappan N, Elks C, Francis J. HDAC inhibition attenuates inflammatory, hypertrophic, and hypertensive responses in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2010;56:437-444.
7. Elks CM, Mariappan N, Haque M, Guggilam A, Majid DS, Francis J. Chronic NF- κ B blockade reduces cytosolic and mitochondrial oxidative stress and attenuates renal injury and hypertension in SHR. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2009;296:F298-F305.
8. Moubarak M, Jabbour H, Smayra V, Chouery E, Saliba Y, Jebara V, Fares N. Cardiorenal syndrome in hypertensive rats: Microalbuminuria, inflammation and ventricular hypertrophy. *Physiol. Res.* 2012; 61:13-24.
9. Liu Y, Zhang R, Qu H, Wu J, Li L, Tang Y. Endothelial microparticles activate endothelial cells to facilitate the inflammatory response. *Mol. Med. Rep.* 2017;15:1291-1296.
10. Hsueh WA, Quinones MA, Creager MJ, Endothelium in insulin resistance and diabetes. *Diabetes Rev.* 1997; 5:343-52.
11. S Godo, H Shimokawa. *Endothelial Functions. Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;Sep;37(9): e108-e114.
12. Busse R, Fleming I. The endothelial organ. *Curr Op Cardiol.* 1993;8: 719-27.
13. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med.* 1990;323:27-36.
14. Gibbons GH, Dzau VJ. Molecular therapy for vascular diseases. *Science.* 1996;272:689-93.
15. Reiling N, Kroncke R, Ulmer AJ. Nitric oxide of synthase:expression the endothelial, Ca²⁺/calmodulin-dependent isoform in human B and T lymphocytes. *Eur J Immunol.* 1996;26:511-6.
16. Shaul PW, North AJ, Wu LC. Endothelial nitric oxide synthase is expressed in cultured human bronchiolar epithelium. *J Clin Invest.* 1994;94: 2231-6.
17. Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension.* 1998;31: 643-8.
18. Ahmad A, Dempsey SK, Daneva Z, Azam M, Li N, PL Li, Ritter JK. Role of Nitric Oxide in the Cardiovascular and Renal Systems. *Int J Mol Sci.* 2018 Sep 3;19(9):2605.
19. Waghe P, Sarath TS, Gupta P, Kandasamy K, Choudhury S, Kutty HS, Mishra SK, Sarkar SN. Arsenic causes aortic dysfunction and systemic hypertension in rats: Augmentation of angiotensin II signaling. *Chem. Biol. Interact.* 2015;237:104-114.

20. Ichiki T, Usui, M, Kato M, Funakoshi Y, Ito K, Egashira K, Takeshita A. Downregulation of angiotensin II type 1 receptor gene transcription by nitric oxide. *Hypertension* 1998;31:342–348.
21. Flanagan ET, Buckley MM, Aherne CM, Lainis F, Sattar M, Johns EJ. Impact of cardiac hypertrophy on arterial and cardiopulmonary baroreflex control of renal sympathetic nerve activity in anaesthetized rats. *Exp. Physiol.* 2008;93:1058–1064.
22. Grossi L. Hydrogen sulfide induces nitric oxide release from nitrite. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009;19:6092–6094.
23. JY Kang, KW Kang, MJ Jeong, HJ Kim, IS Jang. A Survey of Hypertension Treatment in Korean Medicine. *The Journal of Internal Korean Medicine.* 2016;37(6):1022–1029.
24. Brouwers S, Sudano I, Kokubo Y, Sulaica EM. Arterial hypertension. *Lancet.* 2021; Jul 17;398(10296): 249–261.
25. Liu W, Tang F, Deng Y, Li X, Lan T, Zhang X. Berberine reduces fibronectin and collagen accumulation in rat glomerular mesangial cells cultured under high glucose condition. *Mol Cell Biochem.* 2009;325:99.
26. He L, Rong X, Jiang J, M Liu, P Q, Li L. Amelioration of anti-cancer agent adriamycin-induced nephritic syndrome in rats by Wulingsan (Gorei-San), a blended traditional Chinese herbal medicine. *Food Chem Toxicol.* 2008;46:1452.
27. Katholi RE, Couri DM. Left ventricular hypertrophy: major risk factor in patients with hypertension: update and practical clinical applications. *Int J Hypertens.* 2011;49:5349.
28. Messerli FH, Rimoldi SF, Bangalore S. The transition from hypertension to heart failure: contemporary update. *JACC Heart Fail.* 2017;5: 543–551.
29. Pravenec M, Křen V, Landa V, Mlejnek P, Musilová A, Šilhavý J, Šimáková M, Zidek V. Recent progress in the genetics of spontaneously hypertensive rats. *Physiol Res.* 2014;63(Suppl 1):S1–8.
30. Hultström M. Development of structural kidney damage in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens.* 2012;Jun;30(6):1087–91.
31. Pinto YM, Paul M, Ganten D. Lessons from rat models of hypertension: From Goldblatt to genetic engineering. *Cardiovasc. Res.* 1998;39:77–88.
32. Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. *Jpn. Circ. J.* 1963;27:282–293.
33. Schlaich MP, Kaye DM, Lambert E, Sommerville M, Socratous F, Esler MD. Relation between cardiac sympathetic activity and hypertensive left ventricular hypertrophy. *Circulation* 2003;108: 560–565.
34. Conrad CH, Brooks WW, Hayes JA, Sen S, Robinson KG, Bing OH. Myocardial fibrosis and stiffness with hypertrophy and heart failure in the spontaneously hypertensive rat. *Circulation* 1995;91: 161–170.
35. Bing OH, Brooks WW, Robinson KG, Slawsky MT, Hayes JA, Litwin SE, Sen S, Conrad CH. The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1995;27:383–396.
36. Friberg P, Sundelin B, Bohman SO, Bobik A, Nilsson H, Wickman A, Gustafsson H, Petersen J, Adams MA. Renin-angiotensin system in neonatal rats: Induction of a renal abnormality in response to ACE inhibition or angiotensin II antagonism. *Kidney Int.* 1994;45:485–492.
37. Tufro-McReddie A, Romano LM, Harris JM, Ferder L, Gomez RA. Angiotensin II regulates nephrogenesis and renal vascular development. *Am. J. Physiol.* 1995;269:F110–F115.
38. Shibasaki Y, Masaki H, Nishiue T, Nishikawa M, Matsubara H, Iwasaka T. Angiotensin II type 1 receptor antagonist, losartan, causes regression of left ventricular hypertrophy in end-stage renal disease. *Nephron.* 2002;90(3):256–61.
39. Kim HY, Ahn YM, Na SW, Jang YJ, Kang DG, Lee HS, Cho KW. Oryeongsan (Wulingsan) ameliorates impaired ANP secretion of atria from spontaneously hypertensive rats. *Biomed Pharmacother.* 2022;146:112433.

40. Lerman LO, Kurtz TW, Touyz RM, Ellison DH, Chade AR, Crowley SD, Mattson DL, Mullins JJ, Osborn J, Eirin A, Reckelhoff JF, Iadecola C, Coffman TM. Animal Models of Hypertension: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Hypertension*. 2019;73(6):e87–e120
41. Escudero EM, Hurtado de MCC, Pérez NG, Tufare AL. Echocardiographic assessment of left ventricular midwall mechanics in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Echocardiogr*. 2004;5(3): 169–175,
42. Frohlich ED. An updated concept of left ventricular hypertrophy risk in hypertension. *Ochsner J*. 2009;9:181–190.
43. Raman SV. The hypertensive heart. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2010;55:91–96.
44. Devereux RB, Pickering TG, Alderman MH, Chien S, Borer JS, Laragh JH. Left ventricular hypertrophy in hypertension. Prevalence and relationship to pathophysiologic variables. *Hypertension* 1987;9: 53–60.
45. Zanchetti A. Cardiac hypertrophy as a target of antihypertensive therapy. *Nat Rev Cardiol*. 2010;7: 66–67.
46. Heagerty AM, Aalkjaer C, Bund SJ, Korsgaard N, Mulvany MJ. Small artery structure in hypertension. Dual processes of remodeling and growth. *Hypertension*, 1993;21:391–397.
47. Mitchell CJ, Churchward–Venne TA, West DW, Burd NA, Breen L, Baker SK, Phillips SM. Resistance exercise load does not determine training–mediated hypertrophic gains in young men. *J Appl Physiol*, 2012;113:71–77.
48. Intengan HD, Schiffrin EL. Vascular remodeling in hypertension: Roles of apoptosis, inflammation, and fibrosis. *Hypertension* 2001;38: 581–587.
49. Mitchell CJ, Churchward–Venne TA, Parise G, Bellamy L, Baker SK, Smith K, Atherton PJ, Phillips SM. Acute post–exercise myofibrillar protein synthesis is not correlated with resistance training–induced muscle hypertrophy in young men. *PLoS ONE*, 2014;9:e89431.
50. Chou TC, Yen MH, Li CY, Ding YA. Alterations of nitric oxide synthase expression with aging and hypertension in rats. *Hypertension* 1998;31:643–648.

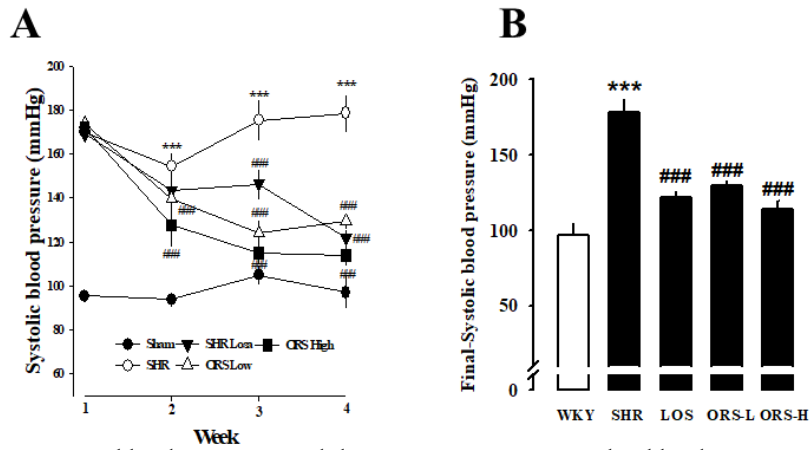


Fig. 1. Effects of ORS on blood pressure and heart rate in rats. Systolic blood pressure (A). Final-Systolic blood pressure (B). The values represent the means \pm standard error ($n = 5$ for each group). *** $p < 0.001$ vs. WKY; ### $p < 0.001$ vs. SHRs.

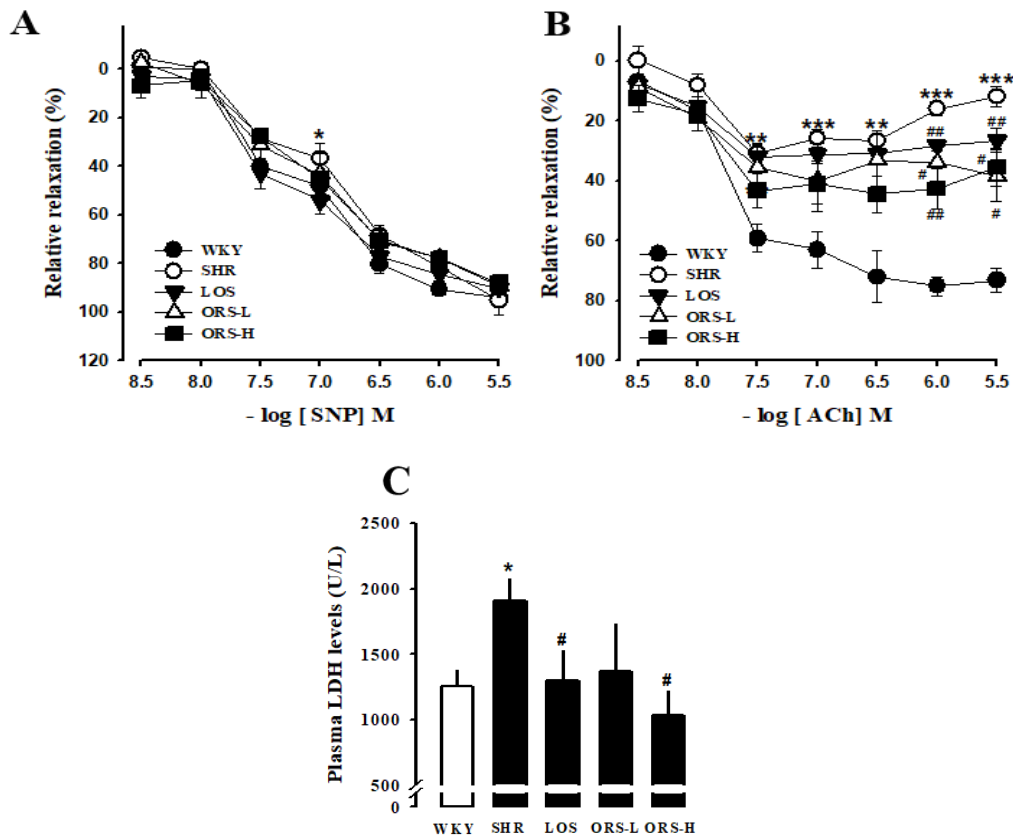


Fig. 2. Effects of ORS on the endothelium-dependent relaxant effects of acetylcholine in phenylephrine contracted arteries from WKY or SHR. Concentration-response curves following sodium nitroprusside (SNP, A) and acetylcholin (ACh, B) treatments of WKY or SHRs aortic rings. This attenuated relaxation was sangdanghi improved by ORS-H treatment. The levels of plasma lactate dehydrogenase (LDH, C). The values represent the means \pm standard error ($n = 5$ for each group). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. WKY; # $p < 0.05$, and ## $p < 0.005$ vs. SHRs.

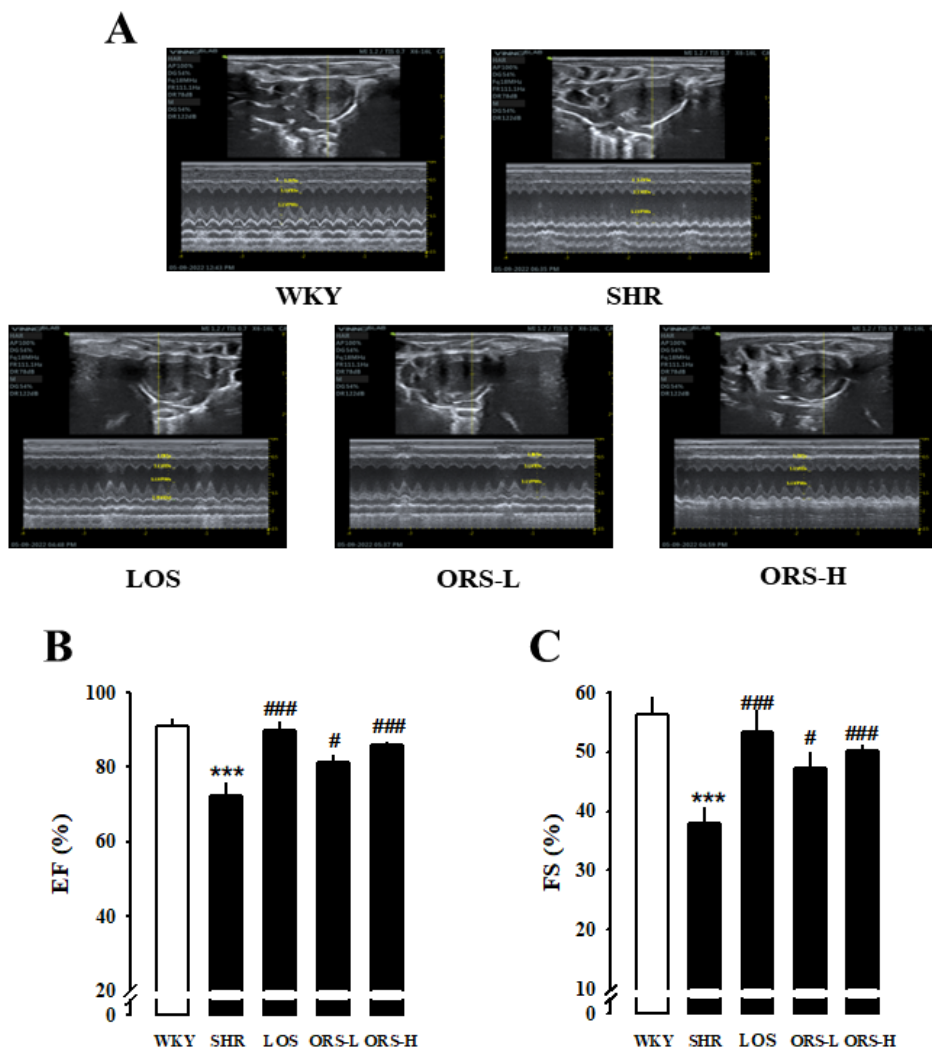


Fig. 3. Effect of ORS decoction in the left ventricular function. Measurement has been taken by echocardiography. M-Mode echocardiogram images were represented from individual groups (A). The values of ejection fraction (EF, B) and fractional shortening (FS, C) were calculated by echocardiographic parameters. The values represent the means \pm standard error ($n = 5$ for each group). *** $p < 0.001$ vs. WKY; # $p < 0.05$, and ### $p < 0.001$ vs. SHRs.

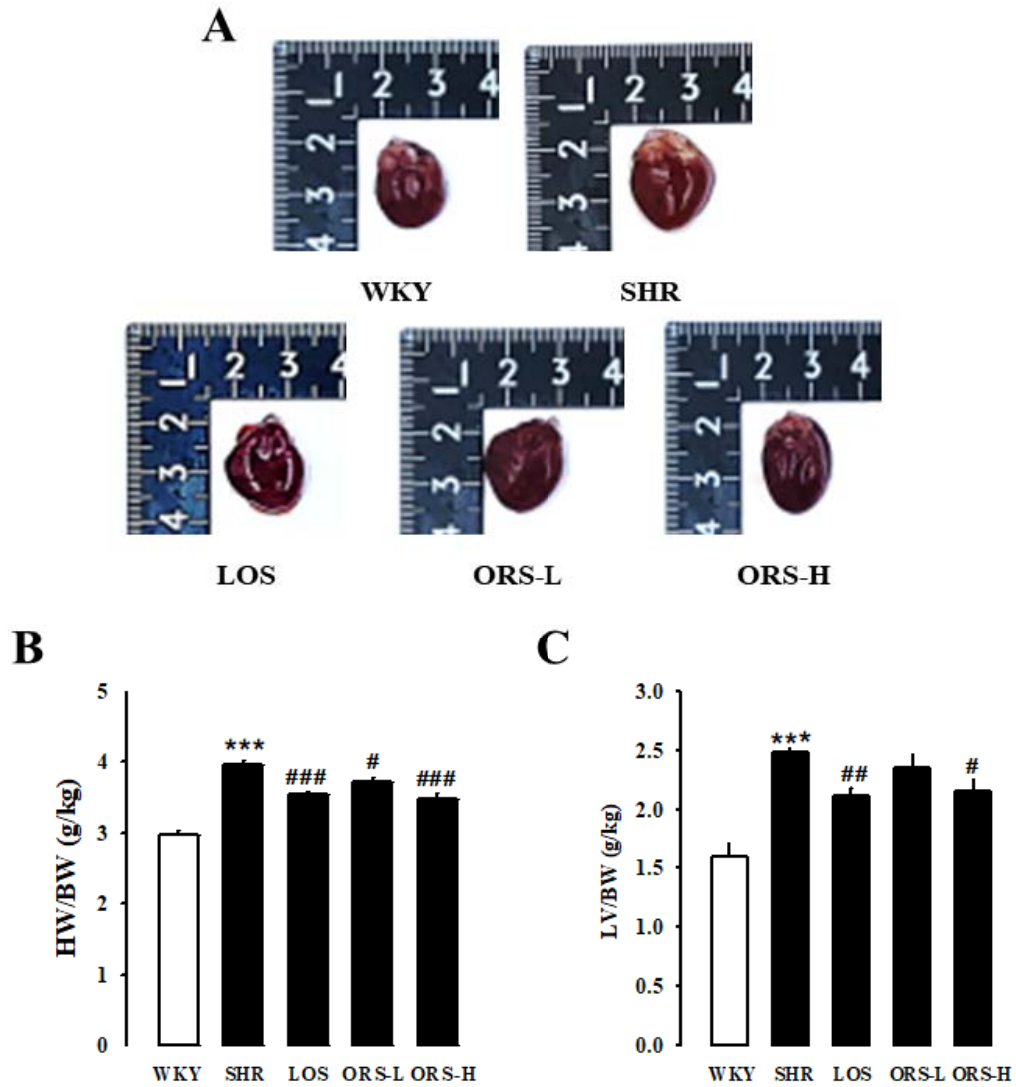


Fig. 4. Effects of ORS on cardiac hypertrophy. Heart macroscopic images(A). heart weight (HW)/body weight (BW)(B) and Left ventricle (LV)/BW(C) ratios for the indicated groups. The values represent the means \pm standard error (n = 5 for each group). *** p < 0.001 vs. WKY; #p < 0.05, ##p < 0.005, and ###p < 0.001 vs. SHRs.

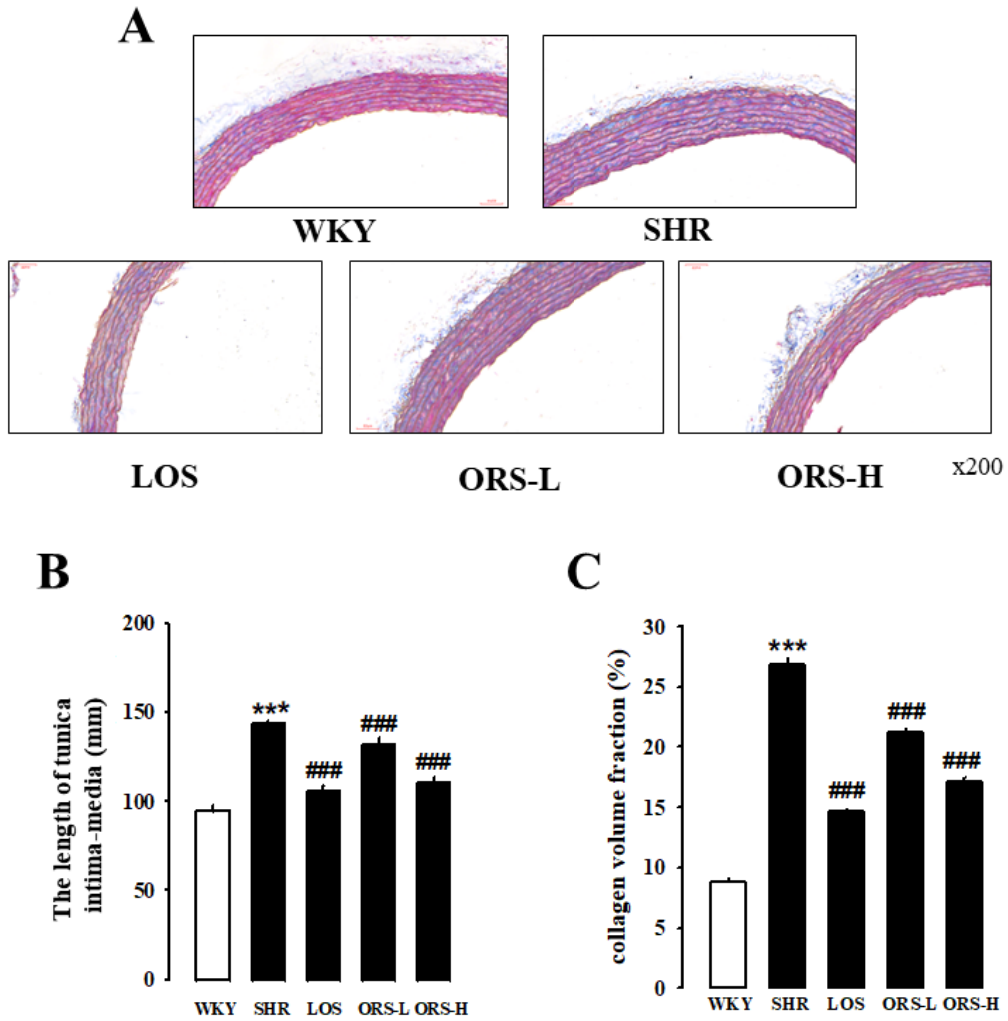


Fig. 5. Masson's trichrome staining in SHR hypertension rats (Magnification x40)(A), area(B) and fibrosis(C) in SHR hypertension rats. The values represent the means \pm standard error (n = 3 for each group). ***p < 0.001 vs. WKY; ###p < 0.001 vs. SHRs.

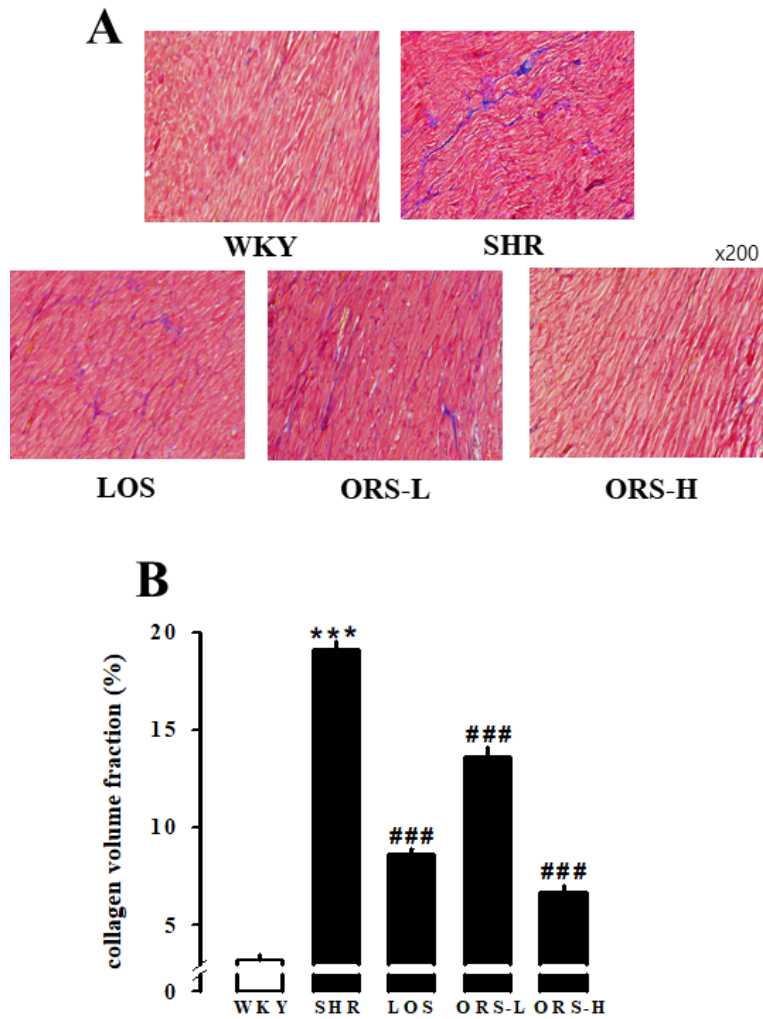


Fig. 6. Effect of ORS on histological changes in cardiac fibrosis. The detailed anatomy of the changes in Masson's trichrome staining (A,B). The values represent the means \pm standard error ($n = 3$ for each group). *** $p < 0.001$ vs. WKY; ### $p < 0.001$ vs. SHRs.