四君子湯, 二陳湯, 六君子湯이 腦血流力學 변동에 미치는 실험적 연구

정현우* · 김희성

동신대학교 한의과대학 병리학교실

The Study of Sagunja-tang, Ijin-tang, Yukgunja-tang on the Change of Cerebral Hemodynamics in Rats

Hyun Woo Jeong*, Hee Seong Kim

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Dongshin University

This experimental study was designed to investigate the effects of Sagunja-tang(SGJT), Ijin-tang(IJT), Yukgunja-tang(YGJT) on the change of cerebral hemodynamics [regional cerebral blood flow(rCBF), mean arterial blood pressure(MABP), and pial arterial diameter (PAD)] in normal rats, and further to determine the mechanism of action of YGJT. And, this Study was designed to investigate whether YGJT inhibit lactate dehydrogenase(LDH) activity in neuronal cells. The results were as follows ; 1. SGJT significantly increased rCBF but MABP was not changed comparing with normal MABP(100 %). This results were suggested that SGJT significantly increased rCBF by dilating PAD. 2. IJT significantly decreased rCBF in a dose-dependent, but significantly increased MABP in a dose-dependent. This results were suggested that IJT significantly decreased rCBF by contracting PAD. 3. YGJT significantly increased rCBF and PAD in a dose-dependent, and YGJT increased MABP compared with normal MABP(100 %). This results were suggested that YGJT significantly increased rCBF by dilating PAD. 4. The YGJT-induced increase in rCBF was significnatly accelerated by pretreatment with indomethacin (IDN, 1 ㎎/㎏, i.p.), an inhibitor of cyclooxygenase but was significnatly inhibited by methylene blue (MTB, 10 ㎍/㎏, i.p.), an inhibitor of guanylate cyclase. 5. The YGJT-induced increase in PAD and MABP were accelerated by pretreatment with IDN but was significnatly inhibited by MTB. This results suggested that the mechanism of YGJT is mediated by guanylate cyclase. 6. YGJT inhibited significantly LDH activity in neuronal cells. This results were suggested that YGJT prevented the neuronal death. I thought that YGJT should have improvement of cerebral hemodynamics and inhibitive effect on the brain damage

Key words : Sagunja-tang(四君子湯), Ijin-tang(二陳湯), Yukgunja-tang(六君子湯), cerebral hemodynamics, lactate dehydrogenase, cyclooxygenase, guanylate cyclase

서 론

六君子湯은 健脾養胃하는 四君子湯에 燥濕痰하는 二陳湯을 合方한 方劑로[1] "痰挾氣虛發飽"을 치료한다[2] 하였다. 痰飮은 脾肺腎 三臟의 기능저하로 津液輸布에 장애가 발생되어 나타나는 병리적 산물중의 하나로[3-4] 역대의가들은 肥人들의 중풍을 일으키는 속발성 발병인자라 인식하였으며[5-7], 근래에는 뇌혈관장애 등을 일으키는 원인중 하나라 인식하였다[8-9].

뇌혈류는 50 ㎖/100 g/min10)가 공급되어야만 제 기능을 수행하지만 만약 10 ㎖/100 g/min이하로 감소하게 되면 허혈성 뇌손상이 발생해 glutamate의 과잉분비로 일련의 대사물질이 생성되거나 침착하게 됨으로써 뇌신경세포 사멸 및 운동마비 · 지각마비 등을 포함한 신경학적 증상들이 출현하게 된다[11-15]. 최근, 노년인구의 증가 등으로 뇌에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 宋 등[16]은 祛風導痰湯을, 金 등[17]은 淸熱導痰湯을 이용하여 정상동물의 뇌혈류역학에 미치는 효과와 작용기전을 보고하였고, 任 등[18]은 滋陰健脾湯加枳殼 · 天麻를 이용하여 중대뇌동맥

* 교신저자 : 정현우, 전남 나주시 대호동, 동신대학교 한의과대학
· E-mail : hwdolsan@dsu.ac.kr, · Tel : 061-330-3524
· 접수 : 2003/10/20 · 수정 : 2003/11/27 · 채택 : 2004/01/09

폐색으로 인한 뇌허혈 병태모델에 미치는 항허혈 효과 및 작용기전을 보고하였으며, 六君子湯에 대한 연구로는 장 등[19]이 위액분비 및 적출 위 운동에 대하여, 강 등[20]이 손상된 비장조직의 회복효과에 대하여 보고하였을 뿐 뇌혈류역학 변화 및 뇌손상 억제에 미치는 실험적 효과는 아직까지 보고되지 않았다.

이에 저자는 四君子湯과 二陳湯이 合方된 六君子湯이 氣虛痰盛한 肥人의 中風에 활용될 수 있는 바, 각각의 方劑가 뇌혈류역학 변화에 미치는 효과를 비교 관찰하고, 이 중 六君子湯에 대한 작용기전 및 뇌손상 억제 효과를 알아본 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 생후 2일째의 ICR 생쥐와 체중 300 g내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐를 (주)다물사이언스 및 화인실험동물센타로부터 구입하여 항온항습 장치가 부착된 사육장에서 고형사료(삼양주식회사, Korea)와 1차 증류수를 충분히 공급하면서 실험실 환경(실내온도 24±2℃, 습도 55±5 %, 12 시간 drak/light)에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약재

실험에 사용된 四君子湯, 二陳湯, 六君子湯은 동신대학교 부속 광주한방병원에서 구입한 후 정선해서 사용하였고, 분량 및 생약명은 다음과 같다[21-22](Table 1).

Table 1. Contents of Prescription

	Herbs		Quantity(g)
四君子湯 (SGJT)	白 朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	5.000
	人 參	Ginseng Radix	5.000
	白茯苓	Poria	5.000
	炙甘草	Glycyrrhizae Radix	5.000
Totality			20.000
二陳湯 (IJT)	半 夏	Pinelliae Rhizoma	8.000
	赤茯苓	Poria	4.000
	陳 皮	Aurantii nobilis Pericarpium	4.000
	炙甘草	Glycyrrhizae Radix	2.000
	生 薑	Zingiberis Rhizoma Recens	11.000
Totality			29.000
六君子湯 (YGJT)	半 夏	Pinelliae Rhizoma	6.000
	白 朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	6.000
	人 參	Ginseng Radix	4.000
	白茯苓	Poria	4.000
	陳 皮	Aurantii nobilis Pericarpium	4.000
	炙甘草	Glycyrrhizae Radix	2.000
	生 薑	Zingiberis Rhizoma Recens	11.000
	大 棗	Jujubae Fructus	8.000
Totality			45.000

2. 방법

1) 검액의 조제

四君子湯(Sagunjatang, SGJT), 二陳湯(Ijintang, IJT), 六君子湯(Yukgunjatang, YGJT) 각각 1첩 분량(20.0 g, 29.0 g, 45.0 g)을 3,000 ㎖ 환저 플라스크에 증류수 1,500 ㎖와 함께 120 분간 가열한 다음 전탕액을 여과지로 여과한 뒤 5,000 rpm으로 30 분간 원심분리하였다. 그 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에 넣어 감압농축한 후 Freeze dryer(SFDSM 06, Korea)로 동결건조시켜 각각 5.2 g, 1.9 g, 9.8 g을 얻었다.

2) 국소뇌혈류량 변화 측정

흰쥐를 stereotactic frame(DKI, U.S.A.)에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6 ㎜ 측방, -2~1 ㎜ 전방에 직경 5~6 ㎜의 두개창 수술을 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막외 출혈을 방지하도록 하였다. Laser doppler flowmeter(Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8 ㎜)를 대뇌(두정엽) 피질 표면에 수직이 되도록 stereotactic micromanipulator를 사용하여 뇌연막동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정시간 동안 안정시킨 후 실험 protocol에 따라 각각의 시료를 농도별(0.01 ㎎/㎏~10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 국소뇌혈류량(regional cerebral blood flow, rCBF)을 30 분간씩 측정하였다[23].

3) 평균혈압 변화 측정

흰쥐를 urethane(750 ㎎/㎏, i.p.)으로 마취시킨 후 체온이 37~38 ℃로 유지될 수 있도록 heat pad 위에 복와위로 고정시켰다. 각각의 시료 투여 농도(0.01 ㎎/㎏~10.0 ㎎/㎏, i.p.)에 따른 평균혈압(mean arterial blood pressure, MABP) 변화는 동물의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass, U.S.A.)를 통하여 MacLab과 Macintosh computer로 구성된 data acquisition system으로 투여농도별로 30 분간씩 측정하였다[23].

4) 폐쇄두개창 설치

흰쥐의 체위를 복와위로 변경시키고 두부를 stereotactic frame에 고정시킨 다음 정중선을 따라 두피를 절개한 후 두개골의 관상 봉합 미측 두정골에 saline-cooled drill(Dremel, USA)을 사용하여 craniotomy(5×5 ㎜)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 ㎜의 cover glass를 놓고 cyanoacrylate를 사용하여 즉시 밀봉시킨 후 95 % O_2와 5 % CO_2로 포화시킨 인공 뇌척수액을 관류시켰다. 이때 두개창의 용적은 약 0.8 ㎖, 그리고 두개내압은 5~8 ㎜Hg로 유지토록 하였다[24].

인공 뇌척수액의 조성은 다음과 같다 : Na^+ 156.5 mEq/ℓ, K^+ 2.95 mEq/ℓ, Ca^{2+} 2.5 mEq/ℓ, Mg^{2+} 1.33 mEq/ℓ, Cl^- 138.7 mEq/ℓ, HCO_3^- 24.6 mEq/ℓ, dextrose 66.5 ㎎/㎗ 및 urea 40.2 ㎎/㎗(pH 7.35~7.40).

5) 뇌연막동맥 직경 변화 측정

흰쥐의 두정골에 4)와 같이 폐쇄두개창을 설치하고 실험 protocol에 따라 YGJT를 농도별(0.01 ㎎/㎏~10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 뇌연막동맥(안정시의 직경 약 35~45 ㎛)의 직경(pial arterial diameter, PAD)을 30 분간씩 측정하였다[25].

실험기간동안 변화되는 PAD는 폐쇄두개창을 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.

6) 정상동물의 뇌혈류역학 변화에 미치는 기전 관찰

YGJT 투여로 변화된 rCBF, MABP 및 PAD에 미친 작용기전을 알아보기 위하여 prostaglandin의 생성효소인 cyclooxygenase 억제제 indomethacin(IDN, 1 ㎎/㎏, i.p., Sigma I7378) 그리고 cyclic guanosine monophosphate(cGMP)의 생성효소인 guanylate cyclase 억제제 methylene blue(MTB, 10 ㎍/㎏, i.p., Sigma M9140)를 전처치한 후 YGJT를 농도별(0.01 ㎎/㎏~10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 rCBF, MABP 및 PAD를 30 분간씩 측정하였다[26].

7) 신경세포내 lactate dehydrogenase(LDH) 활성도 측정

생쥐의 뇌조직을 적출한 다음 Ca^{2+}과 Mg^{2+}이 들어 있지 않은 Hank's balanced salt solution(GibcoBRL 14180-061)에 5 ㎎/㎖ glucose, 7 ㎎/㎖ sucrose 및 0.35 ㎎/㎖ $NaHCO_3$가 첨가된 배양액에 넣었다. 입체현미경하에서 뇌막을 제거하고 대뇌피질을 얻어 잘게 조각을 낸 다음 0.25 % trypsin이 함유된 상기 배양액에 넣어 37 ℃에서 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 ㎖에 넣은 다음 구멍이 좁혀진 파이펫으로 약 10 회 분쇄하였다.

Epidermal growth factor(Sigma E4127)를 10 ng/㎖ 농도로 첨가한 후 24 well plate(Primaria, Falcon)에 0.5 hemisphere/plate 밀도로 각 well 당 400 ㎕씩 도포하여 37 ℃, 5 % CO_2와 100 % 습도가 유지되는 CO_2 배양기(VS-9108MS, Korea)에서 배양하였다.

2~4 주 후 교세포(glial cell)가 충분히 증식한 다음 약물처리전 배양액으로 3 번 씻어주고 나서 YGJT를 농도별(1 ㎍/㎖, 10 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖)로 처리하였다. YGJT 투여 24 시간 후 96 well plate의 각 well에 배양액 25 ㎕를 넣고, buffer 125 ㎕, 0.3 ㎎/㎖ NADH 100 ㎕, 22.7 mM pyruvate 30 ㎕를 넣은 다음 곧 바로 microplate reader를 이용하여 340 ㎚ 파장에서 세포독성을 측정하였다[27].

약물처리 방법은 24 well plate를 이용하여 맨 첫줄(4 well)은 약물처리하지 않은 허위군으로, 둘째 줄(4 well)은 N-methyl-D-aspartate(NMDA, 30 ㎛M)를 처리한 대조군으로, 셋째줄부터 다섯째줄까지는 YGJT을 처리한 실험군으로 하였다.

3. 통계처리

실험적 효과에 대한 통계처리는 Student's paired and/or unpaired t-test에 의하였고, p-value는 0.05 이하인 경우에만 유의성을 인정하였다[28].

실험성적

1. SGJT가 뇌혈류역학 변화에 미치는 효과

SGJT가 rCBF 및 MABP에 미치는 변화를 알아보기 위하여 SGJT를 농도별(0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 rCBF 및 MABP를 관찰하였다(Fig. 1). SGJT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 rCBF를 100.00±0.04 %로 환산하였을 때, SGJT 0.01 ㎎/㎏을 투여하였을 때의 rCBF는 123.73±0.11 %로 증가되었고, SGJT 0.1 ㎎/㎏을 투여하였을 때의 rCBF는 142.77±0.10 %로 유의성(P<0.05)로 증가되었다. 그러나 SGJT 1.0 ㎎/㎏을 투여하였을 때의 rCBF는 139.40±0.08 %로 감소되었으나 정상시보다는 유의성(P<0.01)있게 증가되었고, SGJT 10.0 ㎎/㎏을 투여하였을 때의 rCBF도 128.17±0.07 %로 감소되었으나 정상시보다는 유의성(P<).05)있게 증가되었다.

SGJT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 MABP를 100.00±0.14 %로 환산하였을 때, SGJT를 농도별로 투여한 결과, MABP의 변화는 각각 98.29±0.13 %, 102.31±0.09 %, 104.75±0.12 %, 102.98±0.10 %로 정상시와 비슷하게 나타났다.

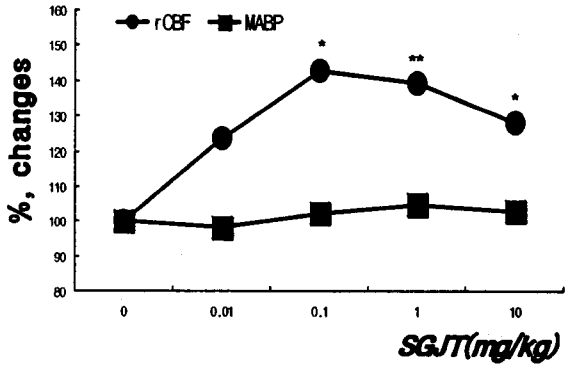

Fig. 1. Effects of SGJT on the rCBF and MABP by injected dosage in normal rats. SGJT : Sagunjatang extract, 0 : After SGJT non-injected, group-measured during 30 min, 0.01, 0.1, 1, 10 : After SGJT(0.01, 0.1, 1.0, 10.0 ㎎/㎏, i.p.) injected, group-measured during 30 min. rCBF : regional cerebral blood flow. MABP : mean arterial blood pressure. * : Statistically significance compared with 0 group(* ; P<0.05, ** ; P<0.01).

2. IJT가 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화에 미치는 효과

IJT가 rCBF 및 MABP에 미치는 변화를 알아보기 위하여 IJT를 농도별(0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 rCBF를 관찰하였다(Fig. 2).

IJT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 rCBF를 100.00±0.05 %로 환산하였을 때, IJT를 농도별로 투여하였을 때의 rCBF는 83.62±0.10 %로 감소되었고, IJT 0.1 ㎎/㎏과 1.0 ㎎/㎏을 투여하였을 때의 rCBF도 79.77±0.07 %와 75.95±0.12 %로 정상시보다 유의성(P<0.05)있게 감소되었으며, IJT 10.0 ㎎/㎏를 투여하였을 때의 rCBF도 75.81±0.12 %로 투여농도에 의존해 감소되었다. 그러나 IJT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 MABP를 100.00±0.04 %로 환산하였을 때, IJT를 농도별로 투여한 결과, MABP의 변화는 각각 102.11±0.03 %, 107.54±0.04 %, 114.62±0.06 %, 116.83±0.05 %

로 정상시에 비해 농도의존적으로 증가되었다. 특히 IJT 10.0 ㎎/㎏을 투여하였을 때의 MABP는 정상시에 비해 유의성(P<0.05)있게 감소되었다.

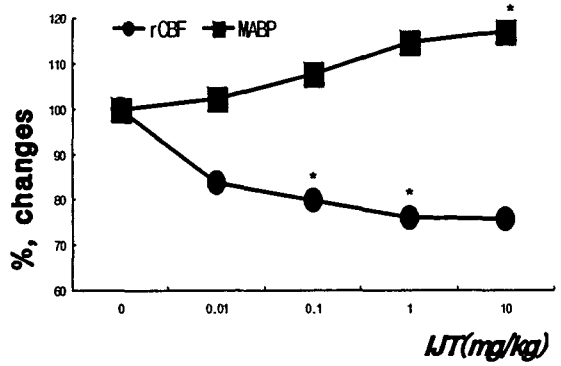

Fig. 2. Effects of IJT on the rCBF and MABP by injected dosage in normal rats. IJT : Ijintang extract, 0 : After IJT non-injected, group-measured during 30 min, 0.01, 0.1, 1, 10 : After IJT(0.01, 0.1, 1.0, 10.0 ㎎/㎏, i.p.) injected, group-measured during 30 min. rCBF : regional cerebral blood flow. MABP : mean arterial blood pressure. * : Statistically significance compared with 0 group(* : P<0.05).

3. YGJT가 정상 흰쥐의 뇌혈류역학 변화에 미치는 효과

YGJT가 rCBF, MABP 및 PAD에 미치는 변화를 알아보기 위하여 YGJT를 농도별(0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여한 다음 변화되는 rCBF, MABP 및 PAD를 관찰하였다(Fig. 3).

YGJT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 rCBF를 100.00±0.06 %로 환산하였을 때, YGJT를 농도별로 투여하였을 때의 rCBF는 각각 105.54±0.03 %, 124.28±0.14 %, 134.61±0.20 %, 150.81±0.16 %로 정상시보다 증가되었다. 또한 YGJT 1.0 ㎎/㎏과 10.0 ㎎/㎏을 투여하였을 때의 rCBF는 정상시에 비해 유의성(P<0.05)있게 증가되었다. YGJT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 MABP를 100.00±0.10 %로 환산하였을 때, YGJT를 농도별로 투여한 결과 MABP의 변화는 농도의존적으로 각각 101.59±0.07 %, 106.18±0.07 %, 110.65±0.06 %, 112.45±0.08 %로 정상시보다 증가되었다.

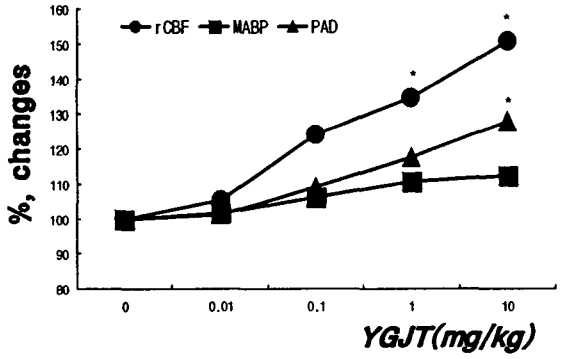

Fig. 3. Effects of YGJT on the rCBF, MABP and PAD by injected dosage in normal rats. YGJT : Yukgunjatang extract, 0 : After YGJT non-injected, group-measured during 30 min, 0.01, 0.1, 1, 10 : After YGJT(0.01, 0.1, 1.0, 10.0 ㎎/㎏, i.p.) injected, group-measured during 30 min. rCBF : regional cerebral blood flow. MABP : mean arterial blood pressure. PAD : pial arterial diameter. * : Statistically significance compared with 0 group(* : P<0.05).

YGJT를 투여하지 않은 정상 흰쥐의 뇌연막동맥 기저직경을 100.00±0.09 %로 환산하였을 때, YGJT를 농도별로 투여하였을 때의 PAD는 101.20±0.08 %, 109.11±0.06 %, 117.51±0.07 %, 127.82±0.06 %로 농도의존적으로 확장되었다. 특히 YGJT 10.0 ㎎/㎏을 투여하였을 때의 PAD는 정상시에 비해 유의성(P<0.05)있게 확장되었다.

4. IDN 및 MTB 전처치 후 YGJT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 국소뇌혈류량에 미치는 효과

YGJT 투여로 변화된 rCBF의 작용기전을 알아보기 위하여 YGJT 투여로 유의성있게 증가된 rCBF를 대조군으로 하고, cyclooxygenase의 억제제인 IDN을 전처치한 다음 YGJT 투여로 변화된 rCBF를 IDN군으로, guanylate cyclase의 억제제인 MTB를 전처치한 다음 YGJT 투여로 변화된 rCBF를 MTB군으로 하였다(Fig. 4).

IDN을 전처치하고 YGJT를 투여하지 않았을 때의 rCBF를 100.00±0.10 %라 하였을 때, IDN 전처치한 후 YGJT를 용량별(0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여하였을 때의 rCBF는 각각 112.06±0.10 %, 129.61±0.10 %, 146.40±0.13 %, 155.08±0.15 %로 용량의존적으로 증가되었다. IDN의 rCBF 변화는 대조군의 rCBF 변화보다 투여용량에 의존해 유의성(P<0.05)있게 증가되었다. MTB를 전처치하고 YGJT를 투여하지 않았을 때의 rCBF를 100.00±0.06 %라 하였을 때, MTB를 전처치한 후 YGJT를 용량별(0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여하였을 때의 rCBF는 각각 118.60±0.15 %, 121.27±0.14 %, 125.61±0.13 %, 144.33±0.13 %로 투여용량 의존적으로 증가되었다. 그러나 MTB군의 rCBF 변화는 대조군의 변화된 rCBF에 비해 유의성(P<0.01)있게 감소되었다.

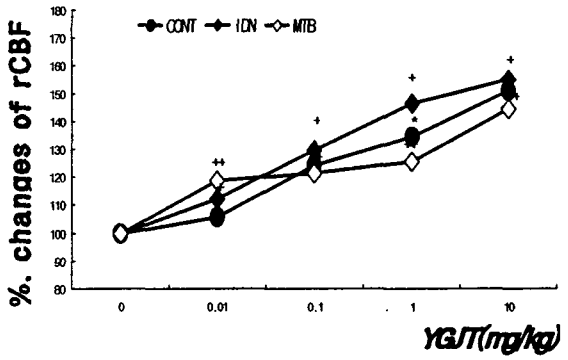

Fig. 4. Effects of pretreatment with indomethacin and methylene blue on the YGJT-induced changed rCBF in normal rats. IDN : indomethacin(1 ㎎/㎏, i.p.) treated group, MTB : methylene blue(10 ㎍/㎏, i.p.) treated group, CONT : YGJT treated group 0 : After indomethacin and methylene blue treated but YGJT non-treated, group-measured during 30 min, 0.01, 0.1, 1, 10 : After indomethacin and methylene blue treated and YGJT(0.01, 0.1, 1.0, 10.0 ㎎/㎏, i.p.) treated, group-measured during 30 mim. rCBF : regional cerebral blood flow. Other legends are the same as Fig. 3. + : Statistically significance compared with Control group(+ : P<0.05).

5. IDN 및 MTB 전처치 후 YGJT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 평균혈압에 미치는 효과

YGJT로 인해 변화된 MABP의 작용기전을 알아보기 위하여 YGJT 투여로 증가된 MABP를 대조군으로 하고, IDN을 전처치한 다음 YGJT 투여로 변화된 PAD를 IDN군으로, MTB를 전처치한 다음 YGJT 투여로 변화된 MABP를 MTB군으로 하였다(Fig. 5).

IDN을 전처치하고 YGJT를 투여하지 않았을 때의 MABP를 100.00±0.06 %라 하였을 때, IDN을 전처치한 후 YGJT를 용량별 (0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여하였을 때의 MABP는 각각 100.57±0.05 %, 106.42±0.03 %, 110.91±0.03 %, 113.54±0.03 %로 투여용량 의존적으로 증가되었다. IDN군의 MABP 변화는 대조군의 변화된 MABP와 유사하게 나타났다. MTB를 전처치하고 YGJT를 투여하지 않았을 때의 MABP를 100.00±0.05 %라 하였을 때, MTB를 전처치한 후 YGJT를 용량별((0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여하였을 때의 MABP는 97.82±0.07 %, 102.61±0.09 %, 105.97±0.09 %, 108.52±0.09 %로 감소후 투여용량 의존적으로 증가되었다. 그러나 MTB군의 MABP 변화는 대조군의 변화된 MABP에 비해 유의성(P<0.05)있게 감소되었다.

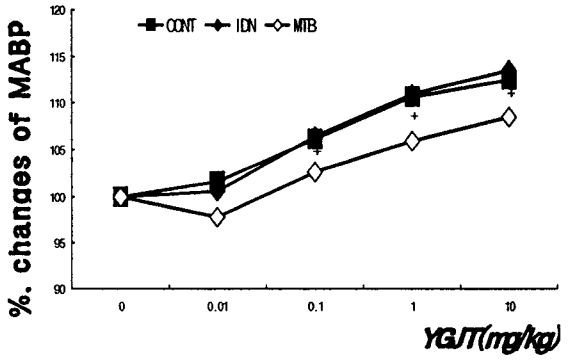

Fig. 5. Effects of pretreatment with indomethacin and methylene blue on the YGJT-induced changed MABP in normal rats. MABP : mean arterial blood pressure. Other legends are the same as Fig. 4. + : Statistically significance compared with Control group(+ ; P(0.05).

6. IDN 및 MTB 전처치 후 YGJT 투여로 변화된 정상 흰쥐의 뇌연막동맥 직경에 미치는 효과

YGJT 투여로 인해 변화된 PAD의 작용기전을 알아보기 위하여 YGJT 투여로 유의성있게 확장된 PAD를 대조군으로 하고, IDN을 전처치한 다음 YGJT 투여로 변화된 PAD를 IDN군으로, MTB를 전처치한 다음 YGJT 투여로 변화된 PAD를 MTB군으로 하였다(Fig. 6).

IDN을 전처치하고 YGJT를 투여하지 않았을 때의 PAD를 100.00±0.08 %라 하였을 때, IDN을 전처치한 후 YGJT를 용량별 (0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여하였을 때의 PAD는 각각 102.91±0.07 %, 111.85±0.08 %, 127.99±0.05 %, 139.92±0.04 %로 용량의존적으로 확장되었다. IDN군의 PAD 변화는 대조군의 변화된 PAD보다도 투여용량에 의존하여 더욱 확장되었다.

MTB를 전처치하고 YGJT를 투여하지 않았을 때의 PAD를 100.00±0.14 %라 하였을 때, MTB를 전처치한 후 YGJT를 용량별(0.01 ㎎/㎏, 0.1 ㎎/㎏, 1.0 ㎎/㎏, 10.0 ㎎/㎏, i.p.)로 투여하였을 때의 PAD는 각각 97.56±0.13 %, 98.61±0.12 %, 104.91±0.12 %, 110.28±0.13 %로 투여용량 의존적으로 확장되었다. 그러나 MTB군의 PAD 변화는 대조군의 변화된 PAD에 비해 유의성 (P<0.05)있게 수축되었다.

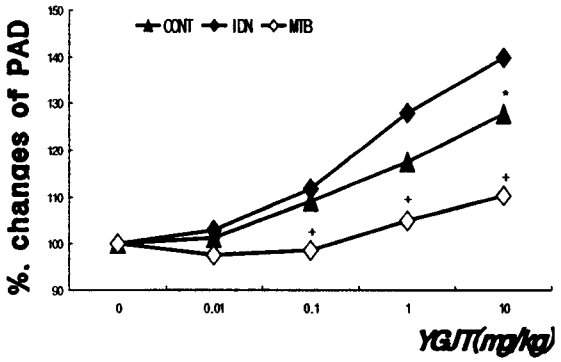

Fig. 6. Effects of pretreatment with indomethacin and methylene blue on the YGJT-induced changed PAD in normal rats. PAD : pial arterial diameter. Other legends are the same as Fig. 4. + : Statistically significance compared with Control group(+ ; P(0.05).

7. YGJT가 신경세포의 LDH 활성도에 미치는 효과

YGJT가 신경세포의 손상을 억제하는지에 대하여 알아보기 위하여 NMDA를 처리한 신경세포에 YGJT를 농도별(1 ㎍/㎖, 10 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖)로 투여한 결과 다음과 같았다(Fig. 7).

YGJT를 처리하지 않고 NMDA만을 처리한 대조군의 LDH 활성도를 100.00±0.04 %라 하였을 때, NMDA와 YGJT를 처리하지 않은 허위군의 LDH 활성도는 77.91±0.01 %이었다. NMDA와 YGJT를 처리한 실험군중 YGJT 1 ㎍/㎖과 10 ㎍/㎖를 투여한 실험군의 LDH 활성도는 81.85±0.03 %과 79.68±0.02 %로 대조군에 비해 유의성(P<0.01)있게 감소하였고, YGJT 100 ㎍/㎖을 투여한 실험군의 LDH 활성도도 78.90±0.01 %로 대조군에 비해 유의성 (P<0.05)있게 감소되어 허위군과 유사한 LDH 활성도를 보였다.

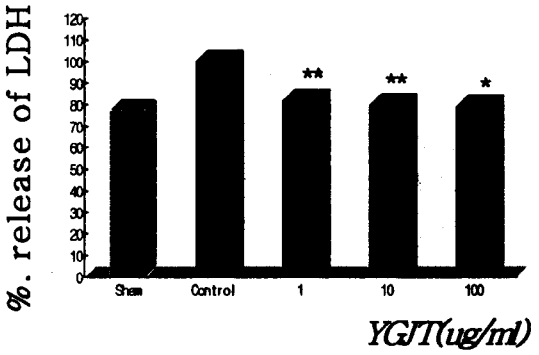

Fig. 7. Effects of YGJT on the LDH activity in neuronal cells. YGJT : Yukgunja-tang extract, Sham : NMDA and YGJT non treated group, Control : NMDA(30 ㎛ M) treated, but YGJT non-treated group, 1 : YGJT 1.0 ㎍/㎖ and NMDA treated group, 10 : YGJT 10.0 ㎍/㎖ and NMDA treated group, 100 : YGJT 100.0 ㎍/㎖ and NMDA treated group. * : Statistically significance compared with Control group(* ; P(0.05, ** ; P(0.01).

고 찰

뇌는 심장으로부터 박출되는 혈액의 공급을 받아 산소와 포도당 등의 영양물질을 얻음으로써 제 기능을 수행한다[29-30]. 정상적인 뇌혈류는 뇌조직에서 필요로하는 산소와 포도당을 충분히 공급하기 위하여 50 ㎖/100 g/min만큼씩 전달되어야 하는데[10], 만약 뇌혈류량이 15~18 ㎖/100 g/min으로 감소되면 신경 접합부에서 신경자극이 완전히 전달되지 못하여 특징적인 等電性 뇌파가 나타나나 세포자체의 기능은 어느 정도 유지된다[31-32]. 그러나 10 ㎖/100 g/min이하로 감소하게 되면 이온성 장애, ATP 감소, 유리지방산 증가 그리고 젖산 증가에 의한 세포내 산증과 같은 에너지 대사 장애가 초래되어 치명적인 뇌신경 조직의 손상이 나타난다[11-13].

중추신경세포의 사멸 과정에는 여러 가지 인자가 관여함이 잘 알려져 있으나 중추신경계의 주된 신경전달물질인 glutamate의 과잉분비에 의해 일어나는 흥분독성[27,33]과 각종 활성산소에 의해 유도되는 산화성 손상[34-35]이 있다. 이중 glutamate에 의한 흥분독성은 glutamate 수용체중 ionotropic 수용체(NMDA 혹은 non-NMDA)로 인해 신경세포가 사멸되어 신경학적인 증상이 나타난다[27].

신경세포의 손상이나 국소뇌혈류가 감소하게 되면 허혈성 뇌질환이 나타나게 되고, 허혈성 뇌질환이 나타나게 되면 일련의 대사물질(산소자유기 혹은 글루탐산 등)이 생성되거나 침착하게 되어 뇌신경세포를 포함한 뇌조직이 손상됨으로써 운동마비 · 지각마비 등의 신경학적 증상들이 출현하게 된다[14-15].

중풍은 卒然昏倒 · 人事不省 · 口眼喎斜 · 半身不遂 · 言語不利 등이 나타나는 질환으로 역대 의가들은 그 원인에 대해 主火說[36] 및 主氣說[37] 등을 제기하였지만 朱[5]는 "濕熱生痰"이라 하여 濕痰說을 제창하였고, 근래에 이르러서는 年老體衰 · 肝腎陰虛 등의 本虛와 風 · 火 · 痰 · 瘀 등의 標實로 인한다하였다[7].

痰飮은 脾肺腎 三臟의 기능저하로 津液輸布에 장애가 발생되어 나타나는 병리적 산물중의 하나로[3-4] 발한장애나 신장의 여과장애, 순환장애, 염증, 삼출액의 증가, 조직변성, 세포내부종 및 조직액의 정체 등을 포함하는 병리적 변화들을 초래하고, 근래에 이르러서는 뇌의 대사장애나 뇌혈관장애, 뇌부종, 고혈압성 뇌증, 뇌연화증 및 관상동맥부전증, 협심증, 심근경색 등을 일으키는 원인중의 하나라고도 인식하고 있다[8-9].

六君子湯은 健脾養胃하는 四君子湯에 祛濕痰하는 二陳湯을 合方한 方劑[1]로 虞가 "痰挾氣虛發餠"[2]을 치료한다 수록한 이후 許[6]는 氣虛痰盛에, 李[38] · 朱[39]는 脾胃不和에, 汪[40]은 氣虛有痰 및 脾虛肺損에 사용할 수 있다하였다.

최근 뇌에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 化痰之劑를 이용하여 뇌혈류역학 변화를 살펴본 연구로는 祛風導痰湯[16], 淸熱導痰湯[17], 淸暈化痰湯[41], 淸暈化痰湯加味方[41-42]이 뇌혈관을 확장시킴으로써 뇌혈류를 증가시켰다는 보고가 있지만 六君子湯에 대한 연구는 위액분비 및 적출 위 운동에 미치는 영향[19]과 손상된 비장조직의 회복효과[20]가 보고되었을 뿐 뇌혈류 및 뇌손상 억제효과에 대한 연구보고를 접할 수 없었다.

이에 저자는 중풍의 원인이 本虛와 標實에 있고, 標實에 해당되는 痰이 뇌혈관장애 등과 관련이 있으며, 氣虛로 인한 痰飮이 발생될 때 六君子湯이 사용되고 있기 때문에 四君子湯(SGJT), 二陳湯(IJT) 및 六君子湯(YGJT)이 뇌혈류역학에 미치는 효과를 비교관찰한 후 뇌혈류역학에 미친 YGJT의 작용기전을 확인하고자 하였다.

뇌혈류량은 뇌관류압(평균동맥압-평균뇌정맥압)에 비례하고 뇌혈관저항에 반비례하는데, 뇌관류압은 생리적 상태하에서 뇌정맥압이 매우 낮아 평균동맥압(혈압)에 비례하고, 뇌혈관저항은 혈액의 점도, 뇌혈관의 길이에 비례하며 뇌혈관직경의 4승에 반비례한다. 그 중에서도 뇌혈관저항은 주로 뇌혈관의 직경에 큰 영향을 받기 때문에 정상적인 뇌혈류 유지를 위해 혈압이 하강될 경우 뇌혈관은 확장되어야 하고, 혈압이 상승하게 될 경우 반대로 뇌혈관은 수축되어야 한다[15]. 혈압은 심장의 박동과 수축력, 말초혈관, 평활근의 긴장도, 체액의 양과 조성, 자율신경의 활성 및 renin-angiotensin계를 포함한 각종 호르몬과 생체내 내인성 활성물질 등에 의해 조절된다[43-45].

SGJT가 정상동물의 뇌혈류역학 변동에 미치는 효과를 알아보기 위하여 SGJT를 투여한 결과 rCBF는 농도에 의존해 정상시보다 140 %정도 유의성있게 증가되다가 고농도를 투여할수록 점차 감소되었으나 정상시에 비해서는 유의성있게 증가되었으나 MABP는 투여농도와 관계없이 정상시와 비슷해 SGJT은 뇌혈관을 확장시켜 뇌혈류량을 증가시키고, 투여농도는 고농도보다는 저농도 투여가 더욱 유효하리라 생각된다.

IJT가 정상동물의 뇌혈류역학 변동에 미치는 효과를 알아보기 위하여 IJT를 투여한 결과 rCBF는 농도에 의존해 정상시보다 유의성있게 감소되었고, MABP는 오히려 투여농도에 의존적으로 유의성있게 증가되어 IJT는 혈관을 수축시키는 것으로 생각된다. YGJT가 정상동물의 뇌혈류역학 변동에 미치는 효과를 알아보기 위하여 YGJT를 투여한 결과 rCBF는 농도에 의존해 정상시보다 150 %정도 유의성있게 증가되었고, PAD도 투여농도에 의존해 정상시보다 125 %정도 유의성있게 확장되었으며, MABP도 투여농도에 의존적으로 110 %정도 증가되었다. 이와 같은 rCBF, PAD 그리고 MABP의 증가폭들을 고려할 때, YGJT 투여로 증가된 rCBF는 혈압의 상승보다는 뇌연막동맥의 직경이 확장되어 나타난 결과라 생각된다.

혈관확장에 관여하는 인자로는 혈류변화와 혈관내피세포에서 유리되는 prostaglandin 및 endothelium-derived relaxing factor(EDRF) 등이 있는데, 현재까지 알려진 EDRF로는 nitric oxide(NO) 등이 있다[26,46]. NO에는 대식세포 및 호중구에서 분비되는 inducible NOS(iNOS)[47]와 혈관내피세포나 뇌에서 발견되는 constitutive NOS(cNOS)가 있다. 이 중 cNOS는 주위의 혈소판에 작용하여 혈소판내 세포전령 분자물질인 cGMP 양을 증가시키는 동시에 그의 생성효소로써 혈관을 이완시키는 guanylate cyclase도 활성화시킨다[48-54]. 또한 Prostaglandin은 renin-angiotensin계에 작용하는 약물로 혈관을 이완시키는 작용과 함께 혈압을 강하시키는 작용을 한다[26]. 이러한 혈관확장에 관여하는 인자들을 억제할 수 있는 약물로는 여러 가지가 있지만 그 중

에서도 MTB[55]는 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase를 억제하는 약물이고, IDN[56]은 prostaglandin의 생성효소인 cyclooxygenase를 억제하는 약물이다.

YGJT 투여로 변동된 뇌혈류역학의 작용기전을 밝히고자 cyclooxygenase의 억제제인 IDN을 전처치한 후 YGJT를 투여한 결과 rCBF는 YGJT 투여로 유의성있게 증가된 rCBF 변동보다 오히려 유의성있게 증가되었고, PAD도 YGJT 투여로 유의성있게 확장된 PAD 변동보다 오히려 확장되었으며, MABP는 저농도 투여시 YGJT 투여로 증가된 MABP보다 감소되었지만 고농도 투여시에는 rCBF 및 PAD의 변동과 같이 오히려 더욱 증가되었다. 이와 같은 결과는 Bakalova[57] 등[58]이 IDN 처치로 rCBF가 감소되는 것은 cyclooxygenase와 관련이 있다는 보고와는 상반된 결과로 YGJT 투여로 나타난 뇌혈류역학의 작용기전은 cyclooxygenase와 관련이 없는 것으로 생각된다.

YGJT 투여로 변동된 뇌혈류역학의 다른 작용기전을 알아보고자 guanylate cyclase의 억제제인 MTB를 전처치한 후 YGJT를 투여한 결과 rCBF는 YGJT 투여로 유의성있게 증가된 rCBF 변동보다 유의성있게 감소되었고, PAD도 YGJT 투여로 유의성있게 확장된 PAD 변동보다 유의성있게 수축되었으며, MABP도 YGJT 투여로 증가된 MABP보다 유의성있게 감소되었다. 이는 Shin 등[59-61]이 MTB 전처치로 rCBF가 감소되는 것은 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase와 관련이 있다고 보고한 바와 같은 것으로 YGJT의 작용기전은 guanylate cyclase와 밀접한 관련이 있는 것으로 생각된다.

뇌허혈에 의해 ATP가 저하되면 ATP 의존성 Na^+-K^+ 수송계 억제, 세포내 Na^+ 축적, 막 탈분극, 전압의존성 칼슘통로 개방, Na^+-Ca^{2+} antiport의 역전 및 내형질 세망으로부터 세포질로의 칼슘 유리 특히 NMDA 수용체를 통한 칼슘유입이 나타남으로써 허혈성 세포손상이 나타난다[62-63]. 이에 뇌혈류를 유의성 있게 변화시킨 YGJT가 뇌세포의 사멸시 분비되는 LDH의 양을 억제시킬 수 있는지 알아보기 위하여 NMDA로 뇌세포 사멸을 유도한 후 YGJT를 투여한 결과, 전 투여농도에서 유의성있는 LDH 활성도를 억제하였다. 이는 뇌혈류감소로 인해 뇌조직 혹은 뇌세포가 괴사되는 과정에 YGJT를 투여하게 되면 뇌혈류 변화를 통한 뇌세포의 사멸을 억제할 수 있음을 보여주는 결과라 생각된다.

이상의 결과, YGJT는 비록 SGJT과 IJT이 합방된 처방이지만 SGJT 및 IJT과 달리 뇌혈관을 확장시킴으로써 뇌혈류를 유의성있게 증가시키는 것으로 생각되고, 그 작용은 cGMP의 생성효소인 guanylate cyclase와 관련이 있는 것으로 판단된다. 또한 YGJT은 LDH의 활성도를 감소시킴으로써 뇌손상도 억제시킬 수 있는 뇌보호 약물이라 생각된다.

결 론

四君子湯, 二陳湯 및 六君子湯이 뇌혈류역학에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

정상 흰쥐에서 rCBF는 四君子湯 투여시 저농도에서 유의성있게 증가되었으나 二陳湯 투여시에는 유의성있게 감소되었고, 六君子湯 투여시에는 투여농도에 의존해 유의성있게 증가되었다. MABP는 四君子湯 투여시 변화를 나타내지 않았고, 二陳湯 투여시에는 투여농도에 의존해 유의성있게 증가되었으며, 六君子湯 투여시에는 투여농도에 의존해 증가되었다. PAD는 六君子湯 투여시 투여농도에 의존해 유의성있게 확장되었다. 정상 흰쥐에 IDN을 전처치한 후 六君子湯을 투여한 결과, rCBF는 대조군에 비해 유의성있게 증가되었고, PAD 및 MABP도 확장·증가되었으며, MTB를 전처치한 후 六君子湯을 투여한 결과에서는 rCBF 및 MABP가 대조군에 비해 유의성있게 감소되었고, PAD는 유의성있게 수축되었다. 신경세포에 六君子湯을 투여한 결과, LDH 활성도는 전 투여농도에서 유의성있게 억제되었다.

이상의 결과, 六君子湯은 guanylate cyclase와 관련되어 뇌혈류역학의 변동을 개선시킴으로써 허혈로 인한 뇌손상을 억제하는 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2003학년도 동신대학교 학술연구비에 의하여 연구되었음

참고문헌

1. 尹用甲 : 東醫方劑와 處方解說, p. 216, 서울, 醫聖堂, 1998.
2. 龔 搏 : 醫學正傳, p. 133, 人民衛生出版社, 北京, 1981.
3. 上海中醫學院 : 中醫學基礎, p. 216, 221, 尙務印書館, 香港, 1981.
4. 鄭遇悅 : 韓方病理學, pp. 58~90, 圓光大學校 韓醫科大學 病理學敎室, 益山, 1980.
5. 方 廣 : 丹溪心法附錄(上), pp.67~69, 大星文化社, 서울, 1982.
6. 許浚 : 東醫寶鑑, p. 134, 359, 南山堂, 서울, 1983.
7. 歐陽忠興 主編 : 心腦病證治精要, pp. 430~451, 科學技術文獻出版社, 北京, 1999.
8. 神戶中醫學研究會 : 漢方臨床入門, pp. 58, 243, 251, 成輔社, 서울, 1985.
9. 金世吉 : 風의 病理的 意味糾明과 中風의 原因 및 治療에 대한 東西醫學的 比較, 大韓韓醫學會誌 16(1) : 96~117, 1995.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 이경은, 김경환 : 허혈, 재관류 손상에서 뇌조직 아민 변동과 Free Radical과의 관련성, 大韓神經科學會誌 8(1):2~8, 1990.
14. 의학교육연구원 : 물리요법, pp. 399~403, 서울, 서울대학교

출판부, 1996.
15. 대한신경외과학회 : 신경외과학, pp. 276~279, 284~285, p. 299, 서울, 중앙문화사, 1997.
16. 宋政錫, 鄭鉉雨 : 祛風導痰湯이 白鼠의 腦血流變化에 미치는 機轉硏究, 東醫生理病理學會誌 16(1) : 99~103, 2002.
17. 金義成, 鄭鉉雨 : 淸熱導痰湯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.
18. 임광모, 정현우 : 滋陰健脾湯加枳殼·天麻가 腦細胞 및 腦血流力學 變動에 미치는 영향, 동의생리병리학회지 17(1) : 64~70, 2003.
19. 장인규, 박성일 : 육군자탕이 위액분비 및 적출 위운동에 미치는 영향에 관한 연구, 생약학회지 12(3) : 128~133, 1984.
20. 강윤호, 권오성 : 육군자탕이 Cyclophosphamide로 손상된 비장조직의 회복에 미치는 영향, 동국한의학연구소 논문집 2(1) : 167~176, 1993.
21. 黃度淵 : 證脈·方藥合編, p. 195, 201, 212, 南山堂, 서울, 1985.
22. 全國韓醫科大學 本草學敎授 共編 : 本草學, pp. 136~137, 302~304, 347~349, 448~449, 531~533, 536~537, 540~543, 永林社, 서울, 1999.
23. Chen, S.T., Hsu, C.Y., Hogan, E.L., Maricque, H., Balentine, J.D. : A model of focal ischemic stoke in the rat : reproducible extension cortical infarction, Stroke 17 : 738~743, 1986.
24. 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.
25. Joseph, E., Lebasseur, 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.
26. 김경환 : 이우주의 약리학 강의(제4판), pp. 82, 120~124, 146, 355, 397, 404, 432~442, 의학문화사, 서울, 1998.
27. Choi, D.W. : Glutamate neurotoxicity and disease of the nervous system, J. Neuron 1 : 623~634, 1988.
28. Snedecor, G.H. and Cocharn, W.G. : Statistical Methods, 6th ed. Amos, Iowastate Univ., 1967.
29. 김기석 : 뇌, pp. 49~50, 성원사, 서울, 1989.
30. 대한병리학회 : 병리학, pp. 1263~1264, 고문사, 서울, 1994.
31. Sharbrough, F.W., Messick, M.K. Jr., Sundt, T.M. Jr. : Correlation of continnous electroencephalograms with cerebral blood flow measurments during carotid endarterectomy, Stroke 4 : 672~683, 1973.
32. 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.
33. Choi, D.W. : Excitotoxic cell death, J. Neurobiology 23 : 1261~1276, 1992.
34. 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.
35. Halliwell, B. : Reactive oxygen species and the central nervous system, J. Neurochem. 59 : 1609~1623, 1992.
36. 劉完素 : 素問玄機原病式, pp. 170~172, 浙江科學技術出版社, 浙江, 1984.
37. 李東垣 : 東垣十種醫書, pp. 635~636, 成輔社, 서울, 1983.
38. 李 梴 : 醫學入門, pp. 562~563, 大星文化社, 서울, 1989.
39. 朱丹溪 : 丹溪心法, p. 336, 北京市中國書店, 北京, 1986.
40. 汪 昂 : 醫方集解, pp. 28~30, 杏林出版社, 서울, 1977.
41. 金天中, 趙秀仁, 鄭鉉雨 : 淸暈化痰湯이 局所腦血流量에 미치는 實驗的 硏究, 東醫生理病理學會誌 16(2) : 316~321, 2002.
42. 閔丙一, 任光模, 鄭鉉雨 : 淸暈化痰湯加荊芥가 局所腦血流量 및 平均血壓에 미치는 作用機轉, 東醫病理學會誌 16(4) : 701~707, 2002.
43. 서울대학교 의과대학 내과학교실편 : 내과학, pp. 146~158, 군자출판사, 서울, 1996.
44. 李文鎬, 金鍾暉, 許仁穆 : 內科學(上), pp. 77~81, 學林社, 서울, 1986.
45. 金祐謙 : 인체의 생리, pp. 30~47, 107~118, 서울대학교 출판부, 서울, 1985.
46. 성호경 : 생리학(제6판), p. 110, 의학문화사, 서울, 1996.
47. Hibbs, J.B.Jr., Taintor, R.R., Vavrin, Z. : Macrophage cytotoxicity ; role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite, Science, 235(4787) : 473~476, 1987.
48. Nathan, C. : Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells, FASEB J. 6 : 3051~3064, 1992.
49. Garthwaite, J., Charles, S.L. and Chess-Williams, R. : Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the Brain, Nature 336 : 385~388, 1988.
50. Hibbs, J.B., Taintor, R.R., Vavrin, Z. and Rachlin, E.M. : Nitric oxide ; A cytotoxic and activated macrophage effector molecule, Boichem Biophysic Res Commum 157 : 87~94, 1988.
51. Kubes, P., Kanwar, S., Niu, X. and Gaboury, J.P. : Niric oxide sythesis inhibition induced leukocyte adhesion via superoxide and master cell, FASEB J. 7 : 1293~1299, 1993.
52. Palmer, P.M.J., Ferrige, A.G. and Monacada, S. : Nitric oxiderelease accounts for the biology activity of endothelium derived relaxing factor, Nature 327 : 524~

526, 1990.

53. Shibuki, K. and Okada, D. : Endogenous nitric oxide release required for long term synatic depression in the cerebellum, Nature 349 : 326~328, 1991.
54. Stuehr, D.J. and Nathan, C.F. : Nitric oxide macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells, J. Exp. Med. 169 : 1543~1555, 1989.
55. Iwamoto, J., Yoshinaga, M., Yang, S.P., Krasney, E. and Krasney, J. : Methylene blue inhibits hypoxic cerebral vasodilation in awake sheep, J. Appl Physiol. 73(6) : 2226~2232, 1992.
56. Wang, Q., Pelligrino, D.A., Paulson, O.B. and Lassen, N.A. : Comparison of the effects of NG-nitro-L-arginine and indomethacin on the hypercapnic cerebral blood flow increase in rats, Brain Res. 641(2) : 257~264, 1994.
57. Bakalova, R., Matsuura, T., Kanno, I. : The cyclooxygenase inhibitors indomethacin and Rofecoxib reduced regional cerebral blood flow evoked by somatosensory stimulation in rats, Exp. Biol. Med. 227(7) : 465~473, 2002.
58. Okamoto, H., Ito, O., Roman, R.J., Hudetz, A.G. : Role of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 endotoxin-induced cerebral hyperemia, Stroke 29(6) : 1209~1218, 1998.
59. Shin, H.K., Shin, Y.W., Hong, K.W. : Role of adenosine A(2B) receptors in vasodilation of rat pial artery and cerebral blood flow autoregulation, Am J. Physiol Heart Circ Physiol. 278(2) : 339~344, 2000.
60. Yamamoto, S., Nishizawa, S., Yokoyama, T., Ryu, H., Uemura, K. : Subarachnoid hemorrhage impairs cerebral blood flow response to nitric oxide but not to cyclic GMP in large cerebral arteries, Brain Res. 757(1) : 1~9, 1997.
61. Iadecola, C., Zhang, F., Xu, X. : SIN-1 reverses attenuation of hypercapnic cerebrovasodilation by nitric oxide synthase inhibitors, Am J. Physiol. 267(1Pt 2) : 228~235, 1994.
62. Cheung, J.Y., Bonventre, J.V., Malis, C.D., Leaf, A. : Mechani는 of disease ; calcium and ischemic injury, New Eng J. Med. 26 : 1670~1676, 1986.
63. Weisfeldt, M.L. : Reperfusion and Reperfusion injury, Clin Res. 35 : 13~20, 1987.