

국소 허혈성 뇌손상 흰쥐 모델에서 환경강화 조건 하 수정된 건측억제유도 운동치료가 앞다리 운동기능 증진에 미치는 영향

이삼규

전남대학교 의과대학 재활의학과

김계엽, 남기원, 오명화, 김용익, 김은정, 장미경, 김경윤
동신대학교 보건복지대학

정현우

동신대학교 한의과대학 병리학교실

김종만

서남대학교 물리치료학과

Abstract

Effects of Improved Forelimb Sensorimotor Function on the Modified CIMT Applied
Under the influence of Environmental Enrichment
in a Focal Ischemic Brain Injury Rat Model

Sam-gyu Lee, M.D.

Dept. of Physical Medicine & Rehabilitation, Chonnam National University

Gye-yeop Kim, Ph.D., D.V.M.

Ki-won Nam, Ph.D., P.T.

Myung-hwa Oh, Ph.D., P.T., O.T.

Young-eok Kim, M.D.

Eun-jung Kim, M.Sc., P.T.

Mi-kyoung Jang, M.Sc.

Kyung-yoon Kim, Ph.D., P.T.

College of Health & Welfare, Dongshin University

Hyun-woo Jeong, O.M.D., Ph.D.

Dept. of Pathology, College of Oriental Medicine, Dongshin University

Jong-man Kim, Ph.D., P.T.

Dept. of Physical Therapy, Division of Health, Seonam University

Environmental Enrichment (EE) alone is not capable of enhancing the fine digit and the forelimb functions. Therefore, we applied modified constraint-induced movement therapy (mCIMT) under the influence of EE to assess its effect on promoting improved forelimb sensorimotor functions. Focal ischemic brain injury was produced in Sprague-Dawley rats (60 rats, 250±50 g) through middle cerebral artery occlusion (MCAO). Before MCAO induction, all rats were trained in modified limb placing tests and reaching tasks for 1 week. Then they were randomly divided into three groups: Group I: application of standard environment (SE) after MCAO induction (n=20), Group II: application of EE after MCAO induction (n=20), Group III: MCAO+EE, mCIMT and task-oriented training that was initiated at 10th day after MCAO induction (n=20). We also applied mCIMT (between 9 AM and 5 PM/daily) which included

restraining the forelimb ipsilateral to the lesion using the 'Jones & Schallert' method. We assessed the change of modified limb placing, single pellet reaching test and the immunoreactivity of BDNF by immunohistochemistry (pre, 1st, 5th, 10th and 20th day). Group I showed no improved outcome, whereas group II and III significantly improved on the use of the forelimb and the immunoreactivity. The qualitative analysis of the skilled reaching test, of group III showed the greatest improvement in the fine digit and the forelimb function. These results suggest that EE combined with mCIMT is more functional in promoting enhanced fine digit and forelimb functional movements.

Key Words: Brain-derived neurotrophic factor; Environmental enrichment; Modified constraint-induced movement therapy; Sensorimotor function.

I. 서론

환경은 행동을 촉진시키는 사회적 자극원으로서 중요하다. 상호작용을 통해 신체적 활동과 각성수준도 증가시킨다. 또한 환자에게 적절한 치료적 환경과 다양한 경험은 손상된 뇌 내에서 가소성(plasticity)을 변화시킬 수 있는 중요한 요소이며, 운동행동을 일으킬 수 있는 촉진기(facilitator) 또는 억제기(inhibitor)로서의 역할을 한다(Carr와 Shepherd, 1987). 물리치료에 있어서도 환자의 동기과 성취는 실생활과 비슷한 환경과 과제에서 향상되므로, 효율적이고 목적 있는 운동행동을 이끌어 내기 위해서는 환경이 무엇보다 중요하다.

그러나 대부분의 뇌졸중 환자는 일상생활환경에서 환측 사용에 대한 자발적 자극과 활동 부족으로 최적 기능 상태로 돌아갈 수 있는 가능성이 감소되고(Taub, 1980), 건측을 지나치게 사용하는 환경에 노출되어 운동과 감각 기능이 일부 회복되더라도 이미 환측 사용이 익숙치 않도록 학습되어진다. 환측 사용감소는 근력감소, 비정상적 움직임, 경직증가, 연부조직 단축 및 통증 등을 야기하게 되어 결국 삶의 질에 영향을 미치게 된다(Ryerson과 Levit, 1997). 이러한 학습된 비사용 현상을 극복하기 위해 임상적으로 적용된 치료법이 건측 억제유도 운동치료(constraint-induced movement therapy: CIMT)이다.

건측억제유도는 기능적 움직임에 대한 집중적인 반복적 학습을 통해 손상 받지 않은 피질 회로와 손상된 인접 부위의 운동감각피질(sensorimotor cortex)에 자극을 유발하여 국소적 종말 발화(local terminal sprouting)와 기능적 연결 재조직화(functional synaptic reorganization)를 촉진시킴으로써 정확하고, 섬세한 움직임을 개선시키는 것으로 보고되고 있다(Rossini와 Pauri, 2000). 그러나 이러한 증명들은 환자를 대상으로한 결과에 중점을 둔 해석이며, 신경계의 기능향상과 재조직화가 일

어나는 기전과 과정에 대한 설명으로는 한계가 있다.

최근 감각운동영역의 피질과 기능변화를 신경학적 구조와 관련지어 행동학적 변화를 이해하려는 많은 연구들이 진행되고 있으며(Biernaskie와 Corbett, 2001; Grabowski 등, 1993; Taub과 Uswatte, 2000), 그에 따른 뇌졸중 동물 모델을 통한 연구가 특성화 및 발달되고 있다. 이러한 실험동물을 통한 연구로 뇌 손상 발생 시 수많은 병태생리학적 복합 과정을 거치는 기전을 밝혀내고 있다. 뇌손상 후 신경화학적 변화는 세포사 반응과 신경보호 기전이 함께 일어나는데, 신경보호 기전의 중요한 인자로 NGF(nerve growth factor), BDNF(brain-derived neurotrophic factor), NT-3(neurotrophin-3), NT-4/5(neurotrophin-4/5) 등과 같은 신경영양인자(neurotropic factor)가 있다(McAllister 등, 1999). 그 중 BDNF는 신경손상시 재생, 환경, 운동과 관련된 영향을 측정하는 지표로 많이 사용되고 있으며(Cotman과 Berchtold, 2002), 활동-의존적 신경원 생존 인자로서 작용하여 운동신경의 생존능력을 촉진할 수 있는 것으로 보고되어 지고 있다(Ikeda 등, 1995).

Johansson과 Ohlsson(1996)은 동물실험에서 국소 허혈 뇌손상 전이나 후에 강화된 환경 노출이 여러 가지 감각운동성 과제(sensorimotor task)에 대한 행동학적 결과증진을 가져오며, 이와 관련하여, NGF, bFGF와 같은 여러 신경영양인자의 발현을 변화시키고, 재활치료 시작시 회복을 촉진시켜주는 것으로 확인되었다(Biernaskie와 Corbett, 2001). 그러나 Grabowski 등(1993)과 Biernaskie와 Corbett(2001)는 강화된 환경만으로는 앞다리와 지체 손상에 따른 고도의 도달하기(reaching)와 잡기(grasping) 개선에 큰 효과가 없음을 보고하였다. 따라서 본 연구는 건측 억제유도운동이 환경강화로 손상된 지체의 정확하고, 섬세한 움직임을 조절하는 감각운동영역의 기능회복에 영향을 줄 수 있는

지 측정시간에 따른 운동행동학적 및 신경화학적 변화 관계를 통해 건축 억제유도운동에 대한 임상적 효율성의 기초 자료로 제공하고자 실시하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물

체중 약 250±50 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐(8주령, 웅성, 대한실험동물) 60마리를 사용하였다. 개체 선별을 위해 Bederson 등(1986)의 방법으로 신경학적 검사를 실시하여 2등급 이상의 흰쥐를 사용하였다(표 1). 운동행동평가는 각 날짜별(국소 허혈성 뇌손상 유발 전, 유발 1, 5, 10, 20일째)로 수정된 앞다리 배치검사와 단일 팰릿 달기 검사를 실시하였고, 면역조직화학적 검사는 각 시간대에 5마리씩을 희생시켜 표본을 제작하여 검사하였다. 실험군 I은 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 일반 환경군(n=20), 실험군 II는 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 환경강화군(n=20), 실험군 III은 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 환경강화 조건 하 10일째부터 수정된 건축 억제유도운동 시작 및 과제훈련군(n=20)으로 나누었다. 사육실의 온도는 25±1℃, 습도 55±10%를 유지하였으며, 명암은 12시간 주기로 하였다.

2. 실험방법

가. 국소 허혈성 뇌손상 유발

Nagasawa와 Kogure(1989)의 방법에 따라 중대뇌동맥(middle cerebral artery: MCA) 폐쇄 수술을 시행하였다. 흡입전신마취 후 직장온도계와 열 패드를 이용하여 체온을 일정하게 유지시켰다. 좌측 총경동맥을 미주 신경과 분리시키고, 총경동맥으로부터 외경동맥과 내경동맥을 분리하여 실로 느슨하게 걸어 놓은 후 총경동맥과 외경동맥은 미리 걸어 놓은 실로 결찰하고 내경동맥

분지는 미세혈관클립을 사용하였다. 내경동맥 분지 기시부를 절개하여 1.5 cm 길이의 4-0 나일론 수술용 봉합사에 실리콘¹⁾으로 코팅하여 만든 probe를 내경동맥 쪽으로 밀어 넣고 내경동맥에 걸어 둔 실을 묶어 probe를 고정하고 미세클립을 제거하였다. 수술부위는 봉합, 소독 후 다른 서식장에 넣어 회복시켰다. 재순환(reperfusion)은 중대뇌동맥 폐쇄 1시간 후 실리콘을 제외한 봉합사를 제거하였다.

나. 환경강화(Enriched environment)

서식장은 Biernaskie와 Corbett(2001)의 연구를 수정하여 90 × 60 × 60 cm 크기의 서식장에 전체면을 철망으로 제작하여 바닥에 깔짚을 깔았다. 내부는 2 × 2 × 60 cm의 막대와 직경 2 cm의 로프를 수직과 세로로 각각 설치하였고, 경사대를 30°로 설치하였다. 서식장 정중앙에는 높이 15 cm 정도에 450 × 300 mm 크기의 철망판을 설치하여 그 위에 먹이를 두고, 물병은 입구가 아래로 향하도록 설치하였다. 바닥에는 T-모양의 플라스틱 터널을 설치하였고, 두꺼운 플라스틱 컵, 삼각형 나무토막 등 여러 가지 모양의 물건을 두었다. 서식장 환경은 2주마다 변화를 주었다. 식이는 행동평가 시기를 제외하고 자유롭게 먹도록 하였다.

다. 수정된 건축 억제유도운동치료(Modified constraint-induced movement therapy)

Jones와 Schallert(1994)의 방법을 이용하여 석고 고정을 통해 건축 앞다리를 제한하였다. 흉골(sternum)쪽으로 자연스럽게 구부러 건축 앞다리 몸통 윗부분을 감싸서 고정하였으며, 건축 억제유도운동은 오전 9시에서 오후 5시까지 실시하였다. 고정을 제거한 이후에는 자유롭게 사용할 수 있도록 관절가동범위에 제한을 하지 않았다.

표 1. 손상정도의 신경학적 검사

정도	등급	상태
정상	0	관찰되는 결손이 없음
중간	1	앞다리(forelimb)의 굴곡(flexion)이 나타남
심각	2	회전(circling)이 없고 편측 밀기(lateral push)와 앞다리 굴곡(forelimb flexion)에 대해 저항이 감소됨
	3	회전(circling)을 하고 2등급과 같은 행동이 나타남

1) Xantopren, Bayer Dental, Germany.

라. 신경학적 운동행동 평가(Neurological motor behavioral test)

국소 허혈성 뇌손상 유발 전 1주일간 하루 1회 단일 펠릿 달기 과제 훈련을 실시하였다. 훈련에 적응하지 못한 흰쥐는 연구에서 제외시켰다. 정량적 분석을 위한 비디오 기록은 디지털 비디오 캠코더²⁾를 사용하였으며, 평가는 실험에 관한 내용을 모르는 사람이 실시하도록 하였다.

1) 수정된 앞다리 배치 검사(Modified forelimb placing test)

Jeong 등(2003)의 연구방법에 따라 3종류의 감각운동능력을 검사하였다. 전방 시야 체지 배치 검사(forward visual limb placing test)는 꼬리를 잡고 앞다리가 지면에서 10 cm 떨어지도록 하여 앞다리의 신전 정도를 점수화하였다. 양 앞다리가 신전되면 0점, 한쪽 앞다리가 비정상적으로 굴곡되면 1점으로 하였다. 두 번째는 고유수용체감각 검사로서 흰쥐를 테이블 모서리에 위치시켜 양 앞다리를 모서리 밖으로 늘어뜨려 움직임에 방해가 없도록 붙들었다. 앞다리에 대해 모서리 아래로 잡아당겼다 놓으면 모서리 위로 되돌아오는지 점수화하였다. 정상적 반응은 0점, 2초 이상 지연 또는 불완전한 위치회복은 1점, 무반응은 2점으로 하였다. 세 번째는 측면 시야 체지 배치 검사(lateral visual limb placing test)로서 테이블 모서리에 콧수염을 스쳐 동측 앞다리의 위치반응을 살폈다. 테이블에 앞다리를 정상적으로 위치시키면 0점, 반응이 지연 또는 불완전하면 1점, 무반응은 2점으로 하였다.

2) 단일 펠릿 달기 검사(Single pellet reaching test)

Whishaw 등(1986)의 연구방법에 따라 앞다리의 운동 기능을 검사하기 위해 실시하였다. 25 × 35 × 30 cm의 투명아크릴로 제작하였고, 정면 벽에는 폭 1 cm의 수직 틈 slit을 바닥으로부터 높이 2 cm에서 시작하여 높이 15 cm까지 만들고, 벽 밖의 수직 틈 정면에 바닥으로부터 높이 3 cm, 폭 2 cm의 선반을 만들었다. 20개의 먹이 펠릿³⁾(90 mg)당 앞다리가 도달하여 흘리지 않

고 정확하게 입으로 가져가 먹은 먹이의 수에 대한 백분율로 하루에 3회씩 실시하여 평가하였다.

성공점수(Success score)는 다음과 같이 환산하였다.

$$\text{성공 점수}(\%) = \frac{\text{흘리지 않고 먹은 펠릿 수}}{20} \times 100$$

마. 조직절편 제작

실험군은 국소 허혈성 뇌손상 유발 전, 유발 1, 5, 10, 20일째에 럼퐁⁴⁾을 복강주사(6 mg/kg)하여 마취한 후, 10% 중성 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)으로 심장관류로 전고정하였다. 그 후 두개골을 제거하고 뇌 신경들을 절단한 후에 뇌를 적출하여 10% 중성 파라포름알데하이드에 24시간 후고정하고, 파라핀 포매하여 180 μm 간격을 두고 두께 5 μm로 박절하였다. Paxinos와 Watson (2005)의 도보를 참고하여, Bregma 후방 2 mm 부위(Bregma -2) 인접조직을 선별하였다. 박절한 뇌 절편은 BDNF 단백질 면역조직화학염색을 실시하였다.

바. 면역조직화학염색법

박절한 조직절편은 .01 M phosphate buffered saline(PBS)로 여러 번 세척한 후 남아 있는 고정액 성분을 제거하기 위하여 1% sodium borohydride로 1시간 처리하였다. 면역조직화학염색의 전처리과정으로 .3%의 과산화수소(hydrogen peroxide)용액에 20분간 처리하였다. 다시 .01 M PBS로 여러 번 세척한 후 Novostain Super ABC Kit⁵⁾를 사용하여 20분간 반응시키고 anti-BDNF⁶⁾ (1:200)로 4°C에서 24시간 처리한 후 .01 M PBS로 수세하고, anti-rabbit IgG (vector, PI-1000, 1:3000 희석)로 반응시킨 후 .1% Triton X-100으로 90분 동안 반응시켰다. 다시 .01 M PBS로 10분씩 3회 수세 후 PBS로 희석한 ABC-Kit⁷⁾로 60분간 반응시켰으며, .01 M PBS로 수세과정을 거쳐 10분간 DAB⁸⁾(3,3'-Diaminobenzidine)로 발색을 실시하였다. .01 M PBS로 10분씩 3회, 증류수로 10분씩 3회 수세한 후 조직을 슬라이드에 올

2) Cannon ZR 30 MC, Japan.

3) Rodent Chow food pellets, Bioserve Inc., U.S.A.

4) Bayer, Korea.

5) Novocastra Lab., Benton Lane, UK.

6) AB1513, Chemicon, U.S.A.

7) Vector, U.S.A.

8) ZYMED Lab., Germany.

려 Hematoxylin⁹⁾으로 3분간 염색한 후 흐르는 물에 5분간 세척하고 슬라이드 표본을 건조시킨 후 통상의 탈수과정을 거쳐 관찰할 수 있도록 봉입하였다.

사. 형태학적 및 면역조직화학적 관찰

형태학적 관찰에는 광학현미경¹⁰⁾을 이용하였고, 현미경에 장착된 CCD 카메라¹¹⁾로 촬영하였다. 면역조직화학염색 처리과정을 거친 절편들의 발현 정도는 반정량적 방법(semiquantitative manner)으로 구분하여 저급 발현(+), 중급 발현(++), 고급 발현(+++)로 평가하였다.

3. 분석방법

본 연구의 통계학적 분석은 SPSS version 12.0 프로그램을 사용하였다. 환경강화 조건 하 건축 억제유도운동의 감각운동에 미치는 유의성 검정은 반복측정 분산분석(repeated measures analysis of variance)을 실시하였고, 사후검정은 투키의 다중검사(tukey's multiple range test)로 실시하였고, 측정 시기간에 따른 운동행동 변화에 대한 유의성 검정은 짝비교(paired) t-검정을 실시하였다. 분석 시 유의수준은 $\alpha=.05$ 로 설정하여 검정하였다.

III. 결과

1. 신경학적 운동행동 평가(Neurological motor behavioral test)

가. 수정된 앞다리 배치 검사(Modified limb placing test)

건축 억제유도운동 시작시기에 따른 수정된 앞다리 배치의 변화를 반복측정 분산분석을 한 결과, 실험군간 ($p<.005$) 및 측정 시기 간($p<.001$)에 따른 변화에서 각각 유의한 차이를 나타냈다. 사후검정을 통한 실험군간 차이에서 III군은 I군에 비해 호전된 차이가 유의하게 빠르게 나타났다(표 2). 실험군별 측정 시기 간 변화를 짝비교(paired) t-검정을 한 결과, 국소 허혈성 뇌손상 유발 1일째에 비해 I군은 유발 10일째($p<.05$), 20일째($p<.001$)에서 호전된 차이가 각각 유의하게 나타났고, II군은 유발 10일째 및 20일째($p<.01$)에서 호전된 차이가 각각 유의하게 나타났다. III군에서는 유발 10일째($p<.01$) 및 20일째($p<.001$)에서 호전된 차이가 각각 유의하게 빠르게 나타났다(표 2).

나. 단일 펠릿 닿기 검사(Single pellet reaching test)

1) 성공률(Success rate of single pellet reaching)

건축 억제유도운동 시작시기에 따른 성공률 변화를 반복측정 분산분석을 한 결과, 실험군간 및 측정 시기간에 따른 변화에서 각각 유의한 차이를 나타냈다($p<.001$). 사후검정을 통한 실험군간의 차이에서 모든 군에 비해 III군은 호전된 성공률 차이가 유의하게 가장 높게 나타났고, I군과 II군의 비교에서 호전된 성공률 차이가 각각 유의하게 나타났다(표 3). 실험군별 측정 시기간의 변화를 짝비교(paired) t-검정을 한 결과, 국소 허혈성 뇌손상 유발 1일째에 비해 I군은 유발 5일째와 10일째($p<.05$), 유발 20일째($p<.01$)에서 호전된 성공률 차이가 각각 유의하게 나타났고, II군은 유발 5일

표 2. 수정된 앞다리 배치 검사의 점수 변화

군	유발 전	1일째	5일째	10일째	20일째	F(날짜)
I	0	4.80±.45 ^a	4.80±.84	3.40±.55 ^{*b}	2.20±.45 ^{***b}	
II	0	4.80±.84	3.80±.84	2.60±.55 ^{***b}	2.00±.71 ^{***b}	138.00 ^{***}
III	.20±.45	4.80±.45	3.40±1.34	2.40±.89 ^{***b}	1.40±.55 ^{***b}	

F (군) 2.89*

^a평균±표준편차.

^b1일째 점수와의 유의성.

* $p<.05$, ** $p<.01$, *** $p<.001$.

사후검정을 통한 실험군간 차이: 실험군 III-실험군 I ($p<.05$).

실험군 I: 일반 환경군, 실험군 II: 환경강화군, 실험군 III: 환경강화 및 수정된 건축 억제유도운동군.

9) Sigma, U.S.A.

10) Olympus Bx 50, Japan.

11) Toshiba, Japan.

표 3. 단일 펠릿 당기 검사의 점수 변화

단위: %

군	유발전	1일째	5일째	10일째	20일째	F (날짜)
I	63.67±3.62	24.67±1.83 ^a	29.00±1.90* ^b	33.00±2.47* ^b	43.00±3.21** ^b	448.63***
II	59.00±3.84	26.67±2.64	32.11±2.66** ^b	39.00±2.53** ^b	53.33±3.12*** ^b	
III	64.00±3.46	25.67±2.53	31.33±1.40* ^b	41.33±2.74** ^b	57.67±1.49*** ^b	

F (군) 29.60***

^a평균±표준편차.

^b1일째 점수와의 유의성.

*p<.05, **p<.01, ***p<.001.

사후검정을 통한 실험군간 차이: 실험군 III-실험군 I (p<.001), 실험군 II(p<.05).

실험군 I: 일반 환경군, 실험군 II: 환경강화군, 실험군 III: 환경강화 및 수정된 건축 억제유도운동군.

표 4. 앞다리 영역의 감각운동피질에서 BDNF 면역조직 화학반응 변화

군	1일째	5일째	10일째	20일째
I	+1	+	++2	++
II	+	++	++	+++3
III	+	++	+++	+++

+1: 저급 발현, ++2: 중급 발현, +++3: 고급 발현.

실험군 I: 일반 환경군, 실험군 II: 환경강화군, 실험군 III: 환경강화 및 수정된 건축 억제유도운동군.

제와 10일째(p<.01), 유발 20일째(p<.001)에서 호전된 성공률 차이가 각각 유의하게 높게 나타났다. III군은 유발 5일째(p<.05), 유발 10일째(p<.01), 유발 20일째(p<.001)에서 호전된 성공률 차이가 각각 유의하게 높게 나타났다(표 3).

다. 뇌 조직의 BDNF 면역조직화학 반응

각 실험군의 절편들 중 Bregma 후방 2 mm까지 인접 부위의 조직을 골라 광학현미경을 통해 손상된 피질의 반구 중 앞다리 감각운동영역을 BDNF에 대한 면역조직 화학 반응으로 관찰하였다. I군은 국소 허혈성 뇌손상 유발 1일째와 5일째에 낮은 면역 양성 반응 세포가 드물게 관찰되었으며, 관찰되는 경우에도 면역반응성이 열게 염색되다가 10일째와 20일째에는 면역 양성 반응의 증가를 보였다. II군과 III군은 낮은 면역 양성 반응을 보이다가 국소 허혈성 뇌손상 유발 5일째부터 점차 증가하여 II군은 20일째에 증가되는 반응을 보였으나 III군은 10일째부터 상당히 증가되는 반응을 보였고, III군이 상대적으로 좀 더 높은 면역 양성 반응을 보였다(표 4)(그림 1).

IV. 고찰

본 연구는 강화된 환경 조건하에서 감각운동회복을 증진시킬 수 있는 수정된 건축 억제유도운동을 적용하여 앞다리 감각운동성 기능 회복에 어떠한 영향을 주는지 운동행동학적 및 신경화학적 변화 관계를 평가하여 임상적 효율성을 위한 기초 자료로 제공하고자 실시하였다.

건축 억제유도운동은 집중적이고 반복적 연습을 통해 환측 팔의 사용을 증가시키게 되는데, 최근 연구들에서 운동학적 분석으로 해석되는 운동패턴의 변화, 손상 받지 않은 피질 회로와 손상된 영역 인접 부위의 감각피질 자극을 유발하여 국소적 종말 발화 또는 기능적 연결 재조직화촉진과 관련하여 설명되고 있다(Nelles 등, 2001; Rossini와 Pauri, 2000). 또한 능동적이며 반복적인 운동학습이 운동기능 습득을 유도하며, 기능적 운동을 조절하는데 기여하는 신경계의 상호의존성 및 상호관련성 이론들로 발표되고 있다(Nelles 등, 2001).

국소 허혈성 뇌손상 흰쥐 모델에서 병변에 따른 기능적 손상은 병변의 위치에 따라 다양하게 나타날 수 있는데 사람과 같이 일측 병변에 의해 보행장애와 같은 대운동 기능의 저하가 지속적으로 남아있지 않고 빨리 회복되는 양상을 보여 허혈에 따른 기능적 장애를 추시 관찰하기 위해서는 섬세한 기능적 평가가 필요하다.

본 연구에서는 시각, 촉각, 그리고 고유수용감각(proprioceptive)에 반응하는 앞다리의 감각운동 통합 평가를 위해 수정된 앞다리 배치 검사를 실시하였다. Placing deficit은 피질척수로의 손상과 감각 기능의 장애 특히, 고유수용감각 결함으로 발생된다(Barth 등, 1990). 또한, 앞다리의 지속적 및 반복적 훈련과 앞다리로 먹이를 잡는데(grasping) 있어 약간의 결함들까지 구별 지을 수 있는 섬세한 감각운동 기능평가로 단일

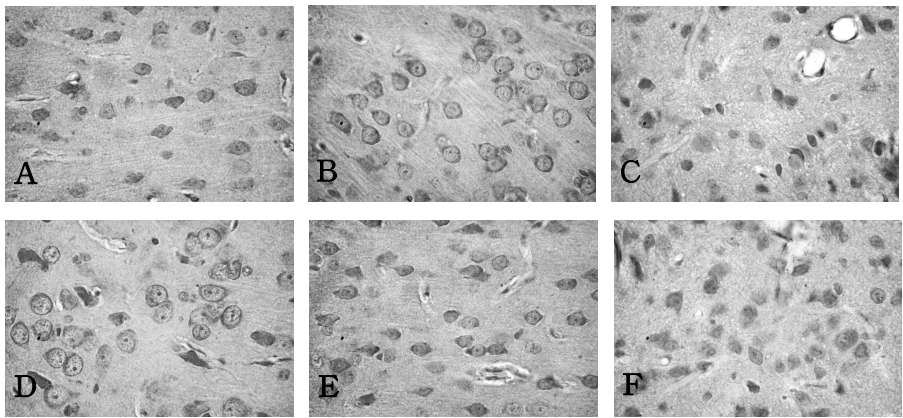


그림 1. 앞다리 영역의 감각운동피질에서 BDNF 면역조직화학 반응 변화.
A: 실험군 I (유발 10일째, ×200), B: 실험군 I (유발 20일째, ×200), C: 실험군 II (유발 10일째, ×200), D: 실험군 II (유발 20일째, ×200), E: 실험군 III (유발 10일째, ×200), F: 실험군 III (유발 20일째, ×200).

펠릿 달기 검사를 실시하였다.

운동행동학적 평가의 주된 결과는 뇌손상 유발 후 일반 환경 조건을 적용한 I 군에 비해 강화된 환경 조건 하에서 10일째부터 수정된 건측 억제유도운동 및 과제훈련을 시작한 III 군이 호전된 차이가 가장 유의하게 빠르게 나타났고, 강화된 환경 조건만을 적용한 II 군의 순으로 호전된 차이가 유의하게 나타났다.

강화된 환경의 적용으로 앞다리의 감각운동성 기능이 증진됨을 확인할 수 있었고, 이는 환측 지체 사용과 관련된 긍정적 강화를 제공하여, 보상적 운동 전략 발달 증진과 잔여 운동 기능 사용으로 인한 기능적 결손을 줄일 수 있는 기초 제공으로 앞다리에 대한 신경계가 지속적이고, 능동적인 영향을 받은 것으로 사료되며, 많은 선행연구들의 결과와 일치하였다(Biernaskie와 Corbett, 2001; Paban 등, 2005). 또한 Nudo 등(2000)은 반복적 운동 훈련으로 집중적인 사용을 하게 되면 중추 신경 가소성 변형을 증진시키며, Yang 등(2003)은 학습된 비사용 증후군을 극복하기 위해 환측 지질의 사용을 위해 특수성 훈련(specific training) 즉, 건측 억제유도운동이나 초기 트레드밀 훈련이 뇌손상 후 민감한 기간(sensitive period) 동안 정상운동패턴의 회복을 증진시킬 수 있고, Taub과 Uswatte(2000)는 뇌졸중 동물 모델 연구에서 건측 억제유도운동 적용으로 먹이먹기(feeding), 손질하기(grooming) 등과 같은 기능 활동에서의 운동회복을 보였다는 결과와 일치하였다.

최근 많은 연구들에서 분자생물학적 측면으로 기능회복에 따른 행동반응 결과들의 기전 중 일부로 생각되

는 감각운동피질에서의 신경세포 생존 및 성장물질의 관찰을 통해 그 상관성을 규명하려는 노력들이 활발히 이루어지고 있다(Gharbawie와 Whishaw, 2006). 본 연구에서도 운동행동학적 변화와 관련하여 신경세포의 생존과 성장에 관여하는 BDNF의 발현 정도를 관찰하였다. 뇌손상 유발 후 일반 환경 조건을 적용한 I 군에서 10일째와 20일째에 증가된 면역 양성 반응 세포 수를 보인 것에 비해, 강화된 환경 조건을 적용한 II 군과 10일째부터 수정된 건측 억제유도운동 및 과제훈련을 시작한 III 군은 낮은 면역 양성 반응을 보이다가 뇌손상 유발 5일째부터 점차 증가하여 II 군은 20일째에 증가되는 반응을 보였으나 III 군은 10일째부터 상당히 증가되는 반응을 보여 운동행동학적 평가 결과와 연관성이 있음을 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 보아 국소 허혈성 뇌손상 후 환측 앞다리 운동 기능 증진에 환경강화 조건 하에서 수정된 건측 억제유도운동의 적용은 운동행동반응평가와 신경조직화학 변화에서 감각운동 통합과 섬세한 감각운동 기능 획득에 유의한 영향을 주었음을 확인할 수 있었다. 따라서 임상에서 적용하고 있는 건측 억제유도운동이 뇌손상의 운동 기능 향상의 기전 중 신경영양인자의 변화를 통해 치료적 효율성을 입증할 수 있었다.

V. 결론

본 연구를 통해 국소 허혈성 뇌손상 후 일반환경군과 환경강화군에 비해 환경강화 조건 하 수정된 건측

억제유도 및 과제훈련의 적용이 감각운동 통합과 섬세한 감각운동 기능 증진에 긍정적 영향을 주었음을 확인할 수 있었다. 따라서 건축 억제유도 및 과제훈련의 적용은 환경강화의 치료적 효율성을 높일 수 있는 적절한 치료중재임을 증명할 수 있었다.

인용문헌

- Barth TM, Jones TA, Schallert T. Functional subdivisions of the rat somatic sensorimotor cortex. *Behav Brain Res.* 1990;39(1):73-95.
- Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: Evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke.* 1986;17(3):472-476.
- Biernaskie J, Corbett D. Enriched rehabilitative training promotes improved forelimb motor function and enhanced dendritic growth after focal ischemic injury. *J Neurosci.* 2001;21(14):5272-5280.
- Carr JH, Shepherd RB. *A Motor Relearning Programme for Stroke.* 2nd ed. London, Oxford, Butterworth-Heinemann, 1987:152-172.
- Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: A behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci.* 2002;25(6):295-301.
- Gharbawie OA, Whishaw IQ. Parallel stages of learning and recovery of skilled reaching after motor cortex stroke: "Oppositions" organize normal and compensatory movements. *Behav Brain Res.* 2006;175(2):249-262.
- Grabowski M, Brundin P, Johansson BB. Paw-reaching, sensorimotor, and rotational behavior after brain infarction in rats. *Stroke.* 1993;24(6):889-895.
- Ikeda K, Klinkosz B, Greene T, et al. Effects of brain-derived neurotrophic factor on motor dysfunction in wobbler mouse motor neuron disease. *Ann Neurol.* 1995;37(4):505-511.
- Jeong SW, Chu K, Jung KH, et al. Human neural stem cell transplantation promotes functional recovery in rats with experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke.* 2003;34(9):2258-2263.
- Johansson BB, Ohlsson AL. Environment, social interaction, and physical activity as determinants of functional outcome after cerebral infarction in the rat. *Exp Neurol.* 1996;139(2):322-327.
- Jones TA, Schallert T. Use-dependent growth of pyramidal neurons after neocortical damage. *J Neurosci.* 1994;14(4):2140-2152.
- McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci.* 1999;22:295-318.
- Nagasawa H, Kogure K. Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion. *Stroke.* 1989;20(8):1037-1043.
- Nelles G, Jentzen W, Jueptner M, et al. Arm training induced brain plasticity in stroke studied with serial positron emission tomography. *Neuroimage.* 2001;13(6 pt 1):1146-1154.
- Nudo RJ, Barbay S, Kleim J. Role of neuroplasticity in functional recovery after stroke. In: Levin HS, Grafman J, eds. *Cerebral Reorganization of Function after Brain Damage.* New York, Oxford University Press, 2000:168-197.
- Paban V, Jaffard M, Chambon C, et al. Time course of behavioral changes following basal forebrain cholinergic damage in rats: Environmental enrichment as a therapeutic intervention. *Neuroscience.* 2005;132(1):13-32.
- Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.* San Diego, Academic Press Inc., 2005:13-38.
- Rossini PM, Pauri F. Neuromagnetic integrated methods tracking human brain mechanisms of sensorimotor areas 'plastic' reorganization. *Brain Res Brain Res Rev.* 2000;33(2-3):131-154.
- Ryerson S, Levit K. *Functional Movement Reeducation.* New York, Churchill Livingstone, 1997:15-53.
- Taub E. Somatosensory deafferentation research with monkeys: Implications for rehabilitation medicine. In: Ince LP, ed. *Behavioral Psychology in Rehabilitation Medicine: Clinical applications.* New York, Williams & Wilkins, 1980:371-401.

- Taub E, Uswatte G. A new approach to treatment and measurement in physical rehabilitation: Constraint-induced (CI) movement therapy. In: Frank RG, Elliott TR, eds. Handbook of Rehabilitation Psychology. Washington, American Psychological Association, 2000:142-172.
- Whishaw IQ, O'Connor WT, Dunnett SB. The contributions of motor cortex, nigrostriatal dopamine and caudate-putamen to skilled forelimb use in the rat. Brain. 1986;109(pt 5):805-843.
- Yang YR, Wang RY, Wang PS. Early and late treadmill training after focal brain ischemia in rats. Neurosci Lett. 2003;339(2):91-94.

논문접수일 2007년 5월 28일

논문게재승인일 2007년 8월 10일