

## 익숙한 운동과 새로운 운동이 뇌내 출혈 환자의 운동기능에 미치는 효과 비교

장상훈<sup>1</sup>, 황경옥<sup>2</sup>, 김진상<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>대구대학교 대학원 재활과학과, <sup>2</sup>대구대학교 재활과학대학 물리치료학과

### Abstract

#### Comparison of the Effects of Familiar Exercise and Novel Exercise on the Motor Function in Rat of Intracerebral Hemorrhage

Sang-hun Jang<sup>1</sup>, MSc, PT, Kyoung-ok Hwang<sup>2</sup>, MSc, PT, Jin-sang Kim<sup>2</sup>, PhD, DVM

<sup>1</sup>Dept. of Rehabilitation Science, The Graduate School, Daegu University,

<sup>2</sup>Dept. of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Daegu University

The purpose of the present study was to investigate the effects of familiar exercise and novel exercise on motor function after intracerebral hemorrhage (ICH) in rats. The rats were subjected to a unilateral striatal ICH via collagenase infusion. The rats were randomly divided into the following three groups: the CON (control group; rested one week post-ICH), the FE (familiar exercise group; familiar exercise was performed two weeks after one-week post-ICH period), and NE (novel exercise group; novel exercise was performed two weeks after one-week post-ICH period). We measured neurological behavior using a ladder rung walking test and a beam walking test; we measured the level of nerve growth factor (NGF) using immunohistochemistry and western blot analysis. We performed a one-way ANOVA test to analyze the scores obtained from the neurological behavior tests and the differences of NGF protein levels among the three groups. In the present study, the FE group and the NE group showed significant improvement during the neurological behavior tests and in their expression of NGF protein level, as compared to the CON group. Especially, NE group more increase than FE group in neurological behavior tests, the expression of NGF on motor cortex. In conclusion, these results suggest that, after ICH, familiar exercise and novel exercise enhance motor function and, novel exercise is more effective than familiar exercise.

[Sang-hun Jang, Kyoung-ok Hwang, Jin-sang Kim. The Effects of Familiar Exercise and Novel Exercise on Motor Function in Rat of Intracerebral Hemorrhage. Phys Ther Kor. 2012;19(3):72-80.]

**Key Words:** Intracerebral hemorrhage; Motor function; Nerve growth factor; Novel exercise.

### I. 서론

뇌내 출혈(intracerebral hemorrhage; ICH)은 뇌 실질 안으로 외상없이 자발적인 출혈이 발생하는 뇌혈관 사고(cerebral vascular accident)이다. 뇌내 출혈은 지속적인 만성 고혈압에 의해 자발적으로 발생하거나 뇌혈관 질환이나 뇌종양 등과 관련되어 속발성으로 발생하게 된다(Butcher와 Laidlaw, 2003). 뇌내 출혈로 인하여 발생하는 뇌졸중 환자는 전체 뇌졸중 환자의 10~

15%에 이르고, 뇌내 출혈 환자의 34%는 3개월 안에 사망하며, 20%의 뇌내 출혈 환자들만이 독립적인 기능 수준을 회복한다(Andres 등, 2008; Broderick 등, 2007; Ferro, 2006; Mayer와 Rincon, 2005).

뇌내 출혈 환자들은 의식변화, 감각 및 운동기능 손상 그리고 인지기능의 저하로 인하여 일상생활동작을 수행하는데 장애를 나타낸다(Sudlow와 Warlow, 1997; Su 등, 2007). 다양한 물리치료의 적용은 뇌손상 환자의 손상을 회복시킬 수 있는데, 최근 뇌손상 회복정도

를 조직수준에서 분석하기 위하여 동물 모델을 이용하여 다양한 연구가 이루어지고 있으며 동물 모델에서 대표적인 물리치료 중재방법으로 트레드밀 운동과 수영 운동이 있다. 트레드밀 운동과 수영 운동은 세포자멸사(apoptosis)를 유발하는 카스파제(caspase) 활성을 억제하고 신경전구세포의 활성을 증가시켜 신경세포생성 및 신경보호 작용을 나타내어 뇌손상 유발 흰쥐의 운동기능을 회복시키는 유용한 훈련으로 보고되고 있다(김보균 등, 2009; 김호성 등, 2005; Lee 등, 2003). 또한 최근에는 뇌손상 이전의 운동이 뇌손상 이후 증가된 뇌혈관 장벽의 투과도를 떨어뜨리고, 글루탐산염(glutamate)의 과도한 유리를 억제시켜 신경독성 효과를 감소시키는 것으로 알려지면서 뇌손상 이전 운동에 대한 중요성도 부각되고 있다(Ding 등, 2006; Jia 등, 2009).

뇌손상 이후의 운동을 뇌손상 이전의 운동과 비교하였을 때, 뇌손상 이후의 운동과 뇌손상 이전의 운동과 같은 형태일 때 뇌손상 흰쥐에게 익숙한 운동(familiar exercise)이라고 할 수 있으며, 뇌손상 이후의 운동과 뇌손상 이전의 운동이 다른 형태일 때 뇌손상 흰쥐에게 새로운 운동(novel exercise)이라고 할 수 있다. 이전 연구에서 원숭이를 대상으로 뇌손상 이전에 실시한 운동과 같은 형태의 운동 즉 익숙한 운동을 뇌손상 이후 실시하였을 때, 뇌손상 회복 및 운동기능 증진을 나타내는 보고는 있었으나(Barbay 등, 2006), 뇌손상 동물 모델에게 새로운 운동의 효과 및 익숙한 운동과 새로운 운동의 효과 비교에 대한 연구는 미비한 실정이다.

본 연구에서는 뇌내 출혈을 유발시킨 흰쥐에게 뇌기능 회복에 효과적이라고 보고되고 있는 트레드밀 운동과 수영 운동을 이용하여 익숙한 운동과 새로운 운동을 적용시키고 신경학적 운동행동 검사와 운동피질에서 신경영양성 인자 중 하나인 신경성장요소(nerve growth factor; NGF)의 발현양상을 통하여 각각의 운동이 흰쥐의 운동기능 회복에 미치는 효과를 비교하여 뇌손상 이전의 운동 형태와 관련하여 뇌졸중 환자의 적절한 운동 방법을 위한 과학적 기초자료를 제공하고자 하였다.

## II. 연구방법

### 1. 연구대상

본 연구에서는 체중 240~270g, 생후 8주의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 실험기간 중 흰쥐는 온도 23±2°C, 습도 60±5% 조건의 사육실에서 한 케이지 당 3마리씩 사육되었으며, 1일 오전 7시부터 오후 7시까지 12시간의 광주기와 오후 7시부터 오전 7시까지 12시간의 암주기를 적용하였다. 흰쥐는 사육되는 환경에 익숙해지기 위하여 5일 동안의 적응기간을 거친 후 훈련을 실시하였다. 실험기간 중 흰쥐에게 사료와 물을 자유롭게 공급하였다.

흰쥐는 무작위 분류방법을 통하여 2주간 트레드밀 운동을 실시하고 뇌내 출혈을 유발한 후 1주일 휴식을 취한 대조군(n=10), 2주간 트레드밀 운동을 실시하고 뇌내 출혈 유발 후 1주일 휴식 후 2주간 트레드밀 운동을 실시한 익숙한 운동군(n=10) 그리고 2주간 트레드밀 운동을 실시하고 뇌내 출혈 유발 후 1주일 휴식 후 2주간 수영 운동을 실시한 새로운 운동군(n=10)으로 나누어 실험을 실시하였다.

### 2. 뇌내 출혈 유발

본 실험은 왼쪽 줄무늬체(striatum) 안으로 뇌내 출혈을 유발하기 위하여 이전 연구에서 사용한 아교질분해효소(collagenase)를 이용한 뇌내 출혈 유발 모델을 수정하여 적용하였다(Beray-Berthet 등, 2010). 흰쥐의 전신마취를 위하여 졸레틸(Zoletil)과 럽퐁(Rompun)을 1:1로 혼합하여 복강 내에 주사하였다(2 ml/kg). 흰쥐가 마취된 이후 뇌정위 수술기구에 흰쥐를 고정시키고, 치과드릴을 사용하여 정중봉합(sagittal suture)에서 왼쪽 3.5 mm 부위에 구멍을 만들었다. 헤밀턴 정밀 주사기를 이용하여 뇌표면 7.00 mm 깊이에서 5분에 걸쳐 .12 U의 아교질분해효소<sup>1)</sup>가 함유된 1.0 µl 식염수(saline)를 주사하고 주사한 이후 주사바늘을 뇌에서 바로 제거하지 않고 추가적으로 5분 동안 주사바늘을 주사한 자리에 남겨두었다. 이후 주사바늘을 천천히 조심스럽게 제거하고 봉합사로 상처부위를 봉합하였다.

### 3. 운동 적용

#### 가. 익숙한 운동의 적용

흰쥐에게 익숙한 운동을 적용하기 위하여 뇌내 출혈 유발 이전의 운동 형태(트레드밀 훈련)와 같은 트레드

1) Collagenase from Clostridium histolyticum, SIGMA-ALDRICH Co., St. Louis, U.S.A.  
2) DUAL-TREADMILL, JEUNGDO Bio & Plant Co., Ltd., Seoul, Korea.

밀 훈련을 실시하였다. 트레드밀 훈련은 소형동물용 트레드밀<sup>2)</sup>에서 적용하였다. 최대산소섭취량( $VO_2max$ )의 55%에 해당하는 달리기 속도 15 m/min로 2주 동안 하루 1회씩 15분간 적용하였다(Mogharnasi 등, 2009). 트레드밀 뒤쪽 금속판에 2.0 mA 이하의 전기가 흐르도록 하여 흰쥐가 쉬지 않고 지속적으로 달릴 수 있도록 유도하였다.

#### 나. 새로운 운동의 적용

흰쥐에게 새로운 운동을 적용하기 위하여 뇌내 출혈 유발 이전의 운동 형태(트레드밀 훈련)와 다른 수영 훈련을 실시하였다. 수영훈련은 물 받기와 물 빼기가 용이한 개수대(60×80 cm)에서 실시하였다. 물의 온도는 30~35°C 를 유지하였으며, 물의 깊이는 흰쥐가 쉬지 않고 지속적으로 수영훈련을 할 수 있도록 꼬리로 체중을 바닥에서 지지할 수 없는 50 cm로 하였다. 흰쥐에게 최대산소섭취량( $VO_2max$ )의 50~60%에 해당하는 무부하 상태의 자유유영을 2주 동안 하루 1회씩 15분간 실시하였다(Kwon, 2005).

### 3. 결과 측정

#### 가. 신경학적 운동행동 검사

##### 1) 막대 걷기 검사(beam walking test)

막대 걷기 검사는 흰쥐가 좁은 막대를 얼마나 잘 걷는지 관찰하여 감각 기능 및 운동 수행능력을 평가하는 도구이다(Urakawa 등, 2007). 본 연구에서는 Urakawa 등(2007)의 방법을 참고하여 실시하였으며, 손상 후 3일과 손상 후 2주간의 증재 이후 측정하였다. 길이 80 cm, 폭 5 cm의 좁은 나무막대를 건널 때의 이동을 평가하였는데 발의 미끄러짐 없이 좁은 막대를 횡단한다면 0점, 좁은 막대의 옆면을 집으면서 횡단한다면 1점, 발의 미끄러짐과 같은 보행 장애를 보이지만 건널 수 있다면 2점, 보행 장애로 인하여 좁은 막대를 건너는데 상당한 양의 시간이 소요된다면 3점, 좁은 막대를 건널 수 없다면 4점, 좁은 막대 위에서 몸통 혹은 사지를 움직일 수 없다면 5점, 좁은 막대 위에서 균형을 잡고 10초 동안 유지할 수 없다면 6점으로 주었다. 총 3회 실시하여 평균값을 사용하였다.

##### 2) 사다리 걷기 검사(ladder rung walking test)

사다리 걷기 검사는 감각운동 기능의 결손과 회복을

측정하기 위한 검사방법이다(Riek-Burchardt 등, 2004). 길이 1 m, 폭 10 cm, 가로막대 사이 간격 1.5 cm의 수평으로 위치한 사다리를 횡단하는 동안 비디오 카메라로 촬영하여 손상측인 오른쪽 다리를 측정하였다. 채점 방식은 Metz와 Whishaw(2002)의 채점 방법을 참고하여 사다리를 짚지 못하고 사다리 사이를 발을 떨어뜨려 몸의 자세와 균형이 무너질 때 0점, 체중부하를 하는 발이 사다리에서 미끄러져 발이 떨어질 때 1점, 체중부하를 하는 발이 미끄러지거나 발이 떨어지거나 균형이 무너지지 않고 사다리를 지속적으로 걸을 수 있을 때 2점, 발이 사다리 위에 있지만 체중부하를 하기 전에 빠르게 들어 다른 사다리로 옮길 때 3점, 발이 목표한 가로막대를 지나 다른 가로막대를 짚을 때 재빨리 발을 재위치 시킬 때 4점, 발이 엄지발가락과 발뒤꿈치 혹은 앞발의 손목부위 혹은 집게손가락 부위가 사다리에 걸쳐 위치하고 있을 때 5점, 발바닥의 중간 부위에 위치하고 완전한 체중부하를 하고 있을 때 6점을 주었다. 동시에 다른 점수가 발생하였을 때 가장 낮은 점수를 기록한다. 연속되는 스텝만을 측정하기 위하여 첫 번째와 두 번째 스텝 그리고 마지막 스텝과 마지막 바로 전의 스텝은 기록에서 제외하였다. 0, 1, 혹은 2점일 때 실수(error)라고 정의하였으며 실수 점수는 각각 발의 총 실수 스텝 수(number of errors)를 총 스텝 수(number of counted steps)로 나누어 백분율로 환산하여 나타내었다.

#### 나. 조직학적 검사

##### 1) 뇌조직 표본 채취

실험동물로부터 뇌조직을 채취하기 위하여 졸레틸과 럽폰을 1:1로 혼합하여 복강 내로 주사하여(2 ml/kg) 전신마취를 시킨 후, 9% 염화나트륨용액을 이용하여 심장관류를 실시하여 혈액을 제거하고 4% 파라포름알데하이드(paraformaldehyde) 용액을 이용하여 조직 전고정을 실시한 후 뇌조직을 적출하였다.

##### 2) 면역조직화학적 검사(immunohistochemistry)

손상측인 왼쪽 운동피질의 NGF 단백질의 발현양상을 현미경으로 관찰하기 위하여 면역조직화학적 검사를 실시하였다. 적출한 뇌조직을 24시간 동안 4% 파라포름알데하이드 용액(4°C)에 보관하여 후고정을 실시한 이후, 극저온 냉동기로 -20°C~-30°C로 냉동시키고 미세박절기를 이용하여 30  $\mu$ m 두께로 절단하였다. 0.1M

인산완충식염수(phosphate buffer saline)에 24시간 보관한 이후 슬라이드를 제작하였고, 제작된 조직 슬라이드에 1차 항체를 도포하고 실온에서 24시간 처리하였다. 이후 조직 슬라이드는 .01M 인산완충식염수에 10분씩 3회 수세하고, 2차 항체를 도포하고 실온에서 90분 처리하였다. 2차 항체처리가 완료된 조직 슬라이드는 다시 .01M 인산완충식염수에 10분씩 3회 수세과정을 거친 후, 항원-항체 반응이 일어난 부위에 발색반응이 일어나도록 DAB (3'5'-diaminobenzidine) 착색제에 10분간 침수시켰다. 착색제 처리과정이 완료되면 .01M 인산완충식염수에 10분씩 3회, 증류수에 10분씩 3회 수세한 이후, 에탄올을 이용한 탈수과정을 거쳐 봉입제를 이용하여 커버 글라스(cover glass)로 최종 봉입하였다. 광학현미경을 이용하여 조직 내 발현 양상을 관찰하였다.

3) 웨스턴 블랏 분석(western blot analysis)

손상측인 왼쪽 운동피질의 NGF 단백질을 정량적으로 분석하기 위하여 웨스턴 블랏 분석을 실시하였다. 적출한 뇌조직을 완충액(137mM NaCl, 8.1mM Na2HPO4, 2.7mM KCL, 1.5mM KH2PO4, 2.5mM EDTA, 1mM dithiothreitol, .1mM PMSE, 10µg/ml leupeptin [pH 7.5])으로 물리적으로 용해시킨 후 원심 분리를 이용하여 4°C에서 10분 동안 원심분리하고 조직의 상층액을 수집하여 새로운 튜브로 옮겨 세포질 분획으로 이용하였다. 각 세포질 분획은 Bradford(1976)의 방법을 이용하여 단백질량을 정량하였다. 정량된 시료를 10% 전기영동 겔(sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel)에서 1시간 동안 160 mV 전압으로 전기영동을 실시하고, 나이트로셀룰로스(nitrocellulose) 막으로 전이시켰다. 전이된 나이트로셀룰로스 막은 Tris-buffered saline Tween20 (TBST) 세척액으로 수세한 다음, 5% 탈지분유를 이용하여 차단시켰다. 4°C에

서 24시간 동안 1차 항체처리를 실시하고, 다시 TBST 세척액으로 수세한 다음, 2차 항체(goat anti-rabbit IgG)를 이용해서 표지된 표적물질을 ECL kit<sup>3)</sup>를 사용하여 확인하였다.

3. 자료 분석

본 연구에서는 신경학적 운동행동 검사, 면역조직화학적 검사 그리고 웨스턴 블랏 분석을 통해 얻어진 결과를 평균±표준편차로 기술하였고, 집단 간의 운동 효과를 비교하기 위해 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 집단 간의 유의성을 분석하기 위해 최소유의차검증법(least significance difference; LSD)을 이용하여 사후분석을 실시하였다. 통계 처리는 PASW ver. 18.0 프로그램을 이용하였고, 유의수준 α=.05로 하였다.

III. 결과

1. 신경학적 행동검사

가. 막대 걷기 검사

막대 걷기 검사에서 일원배치 분산분석을 통한 집단 간의 유의성 검증 결과 유의한 차이를 보였다(p<.05)(표 1). 사후검정을 실시한 결과 익숙한 운동군과 새로운 운동군은 대조군과 비교하여 막대 걷기 검사 점수가 유의하게 감소하였다(p<.05)(표 1). 또한 새로운 운동군은 익숙한 운동군과 비교하여 막대 걷기 검사 점수가 유의하게 감소하였다(p<.05)(표 1).

나. 사다리 걷기 검사

손상측인 오른쪽 전지의 실수 점수는 일원배치 분산 분석을 통한 집단 간의 유의성 검증 결과 유의한 차이

표 1. 신경학적 행동검사 비교

(단위: 점)

집단	대조군(n=10)	익숙한 운동군(n=10)	새로운 운동군(n=10)	F	p
막대 걷기 점수	3.87±.42 <sup>a</sup>	2.90±.94 <sup>b</sup>	2.07±1.06 <sup>b,c</sup>	11.072	.000
전지 사다리 걷기 실수 점수	14.13±2.83	10.38±3.17 <sup>b</sup>	9.34±2.27 <sup>b</sup>	8.202	.002
후지 사다리 걷기 실수 점수	14.39±4.67	10.54±3.77 <sup>b</sup>	6.94±3.07 <sup>b,c</sup>	9.155	.001

<sup>a</sup>평균±표준편차, <sup>b</sup>최소유의차검증법을 이용한 사후분석 결과 대조군과 유의한 차이(p<.05), <sup>c</sup>최소유의차검증법을 이용한 사후분석 결과 익숙한 운동군과 유의한 차이(p<.05).

3) Amersham ECL, GE Healthcare, Little Chalfont, UK.

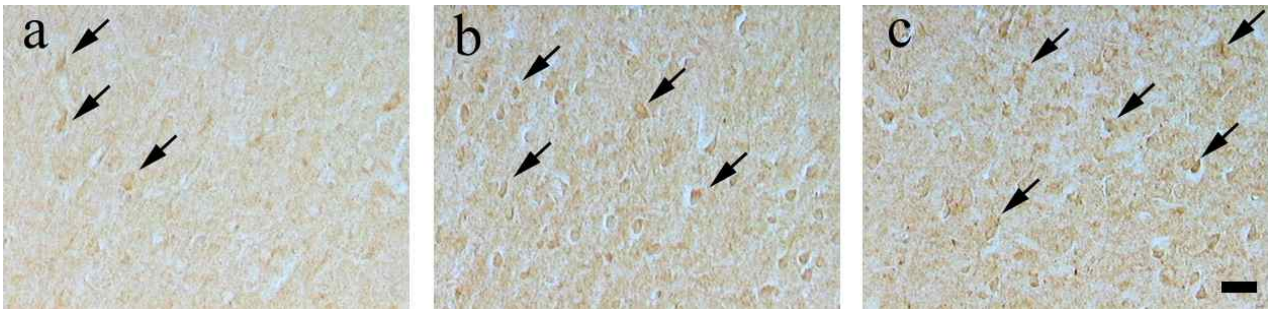


그림 1. 손상측 운동피질의 면역조직화학법 검사 결과 비교(a: 대조군, b: 익숙한 운동군, c: 새로운 운동군, 막대: 20  $\mu$ m, 화살표: NGF 발현부위).

를 보였다( $p < .05$ )(표 1). 사후검정을 실시한 결과 익숙한 운동군과 새로운 운동군은 대조군과 비교하여 실수 점수가 유의하게 감소하였다( $p < .05$ )(표 1). 익숙한 운동군과 새로운 운동군 간에는 유의한 차이가 나타나지 않았다(표 1). 손상측인 오른쪽 후지의 실수 점수는 일원 배치 분산분석을 통한 집단 간의 유의성 검증 결과 유의한 차이를 보였다( $p < .05$ )(표 1). 사후검정을 실시한 결과 익숙한 운동군과 새로운 운동군은 대조군과 비교하여 실수 점수가 유의하게 감소하였다( $p < .05$ )(표 1). 또한 새로운 운동군은 익숙한 운동군과 비교하여 실수 점수가 유의하게 감소하였다( $p < .05$ )(표 1).

## 2. NGF 발현양상

손상측인 왼쪽 운동피질의 집단 간 NGF 발현양상을 알아보기 위하여 면역조직화학적 검사를 실시한 결과

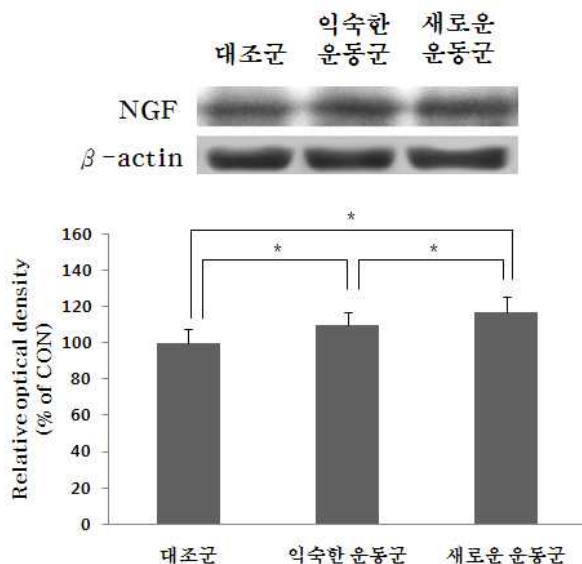


그림 2. 손상측 운동피질의 웨스턴 블랏 분석 결과 비교(\* $p < .05$ ).

대조군과 비교하여 익숙한 운동군과 새로운 운동군에서 NGF 발현양상이 증가한 것을 관찰할 수 있었으며(그림 1), 웨스턴 블랏을 통하여 대조군의 NGF 발현양과 비교하여 정량적으로 일원배치 분산분석을 실시한 결과 대조군 100.00 $\pm$ 7.59%, 익숙한 운동군 109.45 $\pm$ 7.34% 그리고 새로운 운동군 116.77 $\pm$ 8.50%로 집단 간 유의한 차이가 나타났다( $F=11.526$ ,  $p < .05$ )(그림 2). 사후검정을 실시한 결과 익숙한 운동군과 새로운 운동군은 대조군과 비교하여 NGF 발현이 유의하게 증가하였으며, 새로운 운동군은 익숙한 운동군과 비교하여 NGF 발현이 유의하게 증가하였다(그림 1).

## IV. 고찰

본 연구에서는 아교질분해효소를 이용하여 뇌내 출혈을 유발시킨 흰쥐에게 뇌내 출혈 이전 운동 형태와 같은 운동 즉 익숙한 운동 그리고 뇌내 출혈 이전 운동 형태와 다른 운동 즉 새로운 운동을 적용시키고 신경학적 운동행동 검사와 운동피질의 NGF 발현양상을 관찰하여 각각의 운동이 뇌내 출혈 유발 흰쥐의 운동기능회복에 미치는 효과를 비교분석하고자 하였다.

뇌내 출혈 모델은 아교질분해효소 모델(collagenase model)과 혈액 모델(blood model)이 있는데 본 연구에서 사용한 아교질분해효소 모델은 혈액 모델에 비하여 자발적인 회복정도도 낮으며, 행동학적 과제 수행의 결손도 크게 나타난다고 알려져 있다(MacLellan 등, 2006). 아교질분해효소를 줄무늬체 내부로 주입하면 아교질분해효소가 뇌혈관의 바닥막을 파괴하여 뇌실질 내부로 출혈을 야기시키며, 주입부위 출혈 및 행동학적 결손양상이 일관된 양상을 보이는 것으로 보고되고 있다(MacLellan 등, 2008). 아교질분해효소의 용량은 중등도 정도의 뇌내 출혈을 유발시킬 수 있는 .12 U로 하였

으며, .12 U은 24시간 이후 뇌의 이마면에서 명백한 혈종(hematoma)을 확인할 수 있는 용량이다(Beray-Berthaut 등, 2010; MacLellan 등, 2006).

뇌내 출혈 이후 나타나는 흰쥐의 임상적 양상을 신경학적 운동행동 평가를 통하여 확인할 수 있는데(Beray-Berthaut 등, 2010), 본 연구에서는 뇌내 출혈 유발 흰쥐의 신경학적 운동행동을 평가하기 위하여 막대 걷기 검사와 사다리 걷기 검사를 실시하였다.

막대 걷기 검사는 좁은 막대를 얼마나 잘 걷는지 관찰하여 흰쥐의 감각 및 운동기능 그리고 균형능력을 평가하는 도구이다(Urakawa 등, 2007). 뇌내 출혈 유발 흰쥐는 막대 걷기 점수가 본 연구에서 막대 걷기 검사 결과 익숙한 운동군과 새로운 운동군이 대조군과 비교하여 막대 걷기 점수가 유의하게 감소하였는데 이와 같은 결과는 뇌내 출혈 유발 흰쥐에게 익숙한 운동과 새로운 운동이 운동기능회복에 효율적인 훈련임을 나타내는 결과이다.

사다리 걷기 검사는 운동 시스템 손상과 관련하여 전지와 후지의 걷기 기능을 평가하는데 유용한 도구로 알려져 있다(Metz와 Whishaw, 2002). 정상 흰쥐와 비교하여 뇌손상 흰쥐는 사다리 걷기 검사에서 실수 점수가 유의하게 증가하는 양상을 보이며(Metz와 Whishaw, 2002) 사다리 걷기 검사의 실수 점수는 뇌손상 부위의 크기와 유의한 상관관계가 나타난다(Riek-Burchardt 등, 2004). 본 연구에서 사다리 걷기 검사 결과 익숙한 운동군과 새로운 운동군의 손상측 전지와 후지 실수 점수가 대조군과 비교하여 유의하게 감소하였다. 이 결과는 익숙한 운동과 새로운 운동이 손상측 전지와 후지의 걷기 능력 향상에 유용한 훈련이라는 것을 나타내는 것이다. 선행 연구에서 뇌내 출혈 유발 흰쥐를 대상으로 환경강화(environmental enrichment) 훈련을 적용하고 뇌내 출혈 유발 흰쥐에게 사다리 걷기 검사를 실시한 이후 실수 점수의 유의한 감소를 통하여 환경강화 훈련의 걷기 능력의 증진을 설명하였는데(Nguyen 등, 2008) 이와 같은 결과는 뇌내 출혈 유발 흰쥐에게 물리치료적 중재를 적용하였을 때 운동기능의 향상을 나타내는 본 연구의 결과와 일치하는 결과라고 할 수 있다. 또한 후지 실수 점수에서는 새로운 운동군이 익숙한 운동군과 비교하여 실수 점수가 유의하게 더 감소하였는데 이것은 새로운 운동이 익숙한 운동보다 후지의 운동기능회복에 더 효과적이었다는 것을 나타내는 결과이다.

뇌는 복잡한 네트워크를 형성하고 있어 뇌의 손상

영역으로부터 떨어진 영역의 기능이 감소할 수 있는데(Tanaka 등, 1996), 뇌내 출혈 환자의 뇌기능을 증진시키기 위하여 손상 영역과 떨어진 영역의 신경세포 손상 억제제는 아주 중요하다고 할 수 있다(Yanagihara, 2001). 특히, 임상적으로 흔하게 발생하는 줄무늬체 출혈은 대뇌피질의 신경세포 변성으로 이어질 수 있는데(Yanagihara, 2001), 흰쥐의 운동피질 영역은 움직임과 관련된 수염(whisker)의 반복적인 움직임을 유발할 수 있는 영역으로 흰쥐의 운동조절을 담당하는 주요 구조물이라고 알려져 있다(Brecht 등, 2004). 뇌손상 동물모델에서 중추신경계의 회복과 관련하여 다양한 신경영양성 인자들이 보고되고 있으며, 대표적으로 뇌유래신경영양인자(brain derived neurotrophic factor; BDNF), 뉴로트로핀-3(neurotrophin-3; NT-3) 그리고 NGF가 있다(Cowansage 등, 2010; Shimazu 등, 2006; Jang 등, 2007) 특히 NGF는 주로 티로신인산화효소(tyrosine kinase) A 수용체와 주로 결합하여 세포자멸사를 방지하고 세포분화를 증진시키는 것으로 알려져 있으며, 동물모델에서 중추신경계 질환의 치료를 위하여 유용한 표지자로 사용된다(Jang 등, 2007). 본 연구에서는 줄무늬체 영역의 출혈을 유발한 흰쥐의 운동기능회복을 알아보기 위하여 운동피질에서 NGF의 발현양상을 확인하였다.

본 연구에서 운동피질의 NGF 발현양상을 확인한 결과, 익숙한 운동군과 새로운 운동군의 NGF 발현이 대조군과 비교하여 증가된 양상을 나타내었다. 이와 같은 결과는 뇌내 출혈 유발 흰쥐에게 익숙한 운동과 새로운 운동이 운동조절을 담당하는 운동피질 영역의 신경영양성 인자발현에 유용한 훈련임을 나타내는 결과라고 할 수 있다. 신체운동은 중추신경계의 NGF 발현양상을 증가시키는 것으로 알려져 있는데(Ang와 Gomez-Pinilla, 2007), Gelfo 등(2011)은 환경강화 훈련을 통하여 대뇌피질 영역의 NGF 발현양상 증가를 보고하였으며, Kim 등(2012)은 기술적 뺨기 훈련(skilled reach training)이 운동피질 영역의 신경영양성 인자발현을 증가시키고 운동기능을 향상시킨다고 보고하였다. 이와 같은 선행연구의 결과는 본 연구의 결과 같이 흰쥐에게 뇌내 출혈을 유발시킨 이후, 물리치료적 중재를 적용하였을 때 대뇌피질 영역의 NGF 발현에 긍정적인 영향을 미친 결과로 생각할 수 있다. 새로운 운동군과 익숙한 운동군의 운동피질 영역의 NGF 발현양상을 비교한 결과 새로운 운동군의 NGF 발현양상이 익숙한 운동군과 비교하여

더 증가한 것을 확인할 수 있는데 이것은 새로운 운동이 익숙한 운동보다 운동피질 영역의 NGF 발현을 증가시키는데 더 효과적인 운동임을 나타내는 결과이다.

Woodlee(2006)는 새로운 운동을 처음 시작할 때 신경영양성 인자발현이 증가되는 양상을 보이지만 운동을 지속적으로 반복수행하면 증가된 신경영양성 인자발현 양상이 운동을 시작하기 이전의 수준으로 돌아간다고 보고하였다. 이와 같은 결과는 운동을 이전에 수행하지 않은 새로운 운동일 경우 신경영양성 인자발현의 증가 그리고 신경가소성 강화와 같은 뇌의 긍정적인 효과를 일으키지만 수행한 운동이 이전에 수행한 적이 있는 익숙한 운동이라면 위와 같은 효과가 감소한다는 것을 의미한다. 본 연구에서 뇌내 출혈 유발 흰쥐에게 뇌내 출혈 유발 이전의 운동과 같은 형태인 익숙한 운동과 뇌내 출혈 유발 이전의 운동과 다른 형태인 새로운 운동을 실시한 결과 새로운 운동이 익숙한 운동과 비교하여 신경학적 운동행동 검사와 운동피질의 NGF 발현양상에서 더 긍정적인 효과가 나타났다. 이는 뇌내 출혈 유발 흰쥐에게 뇌내 출혈 유발 이전의 운동과 다른 형태인 새로운 운동을 하는 것이 익숙한 운동을 실시하는 것보다 운동기능 회복에 더 효과적이라는 것을 나타내는 것이다.

최근에는 건강을 위하여 평소에 다양한 운동을 실시하며, 이러한 운동은 사람모델과 동물모델 연구에서 뇌의 건강과 기능을 유지하는데 광범위한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있고 뇌손상 이후에도 사람모델과 동물모델에서 뇌기능을 회복하는데 긍정적인 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다(Cotman 등, 2007). 이와 같이 운동의 효과에 대한 다양한 연구가 보고되고 있으나 뇌손상 환자의 뇌기능 회복에 있어 뇌손상 이후의 운동 형태와 뇌손상 이전의 운동 형태의 연관성에 대한 의문점을 다루는 연구는 미흡하여 본 연구를 실시하였다. 사람모델이 뇌손상 이전의 활동을 조절하기 힘든 문제점으로 인하여 본 연구에서는 뇌내 출혈 유발 흰쥐를 대상으로 연구를 실시하여야 하는 제한점이 있었다. 이러한 제한점으로 인하여 본 연구의 결과를 임상적으로 적용하기에는 어려움이 있지만 본 연구에서 나타난 훈련 효과의 차이는 임상적으로 실시하는 운동치료에 있어 뇌손상 이전의 운동 형태에 대한 충분한 고려가 필요하다는 것을 나타내는 결과라고 할 수 있다. 또한 흰쥐에게 적용된 운동이 임상과는 달리 자발적인 요소보다 강제적인 요소가 더 크다는 점 그리고 새로운 운동

과 익숙한 운동이 트레드밀과 물이라는 다른 환경에서 흰쥐에게 적용된 점은 본 연구의 제한점이라고 할 수 있다. 따라서 차후 사람모델과 동물모델을 대상으로 뇌손상 이후의 운동 형태에 대한 다각적인 연구가 필요할 것이라 생각된다.

## V. 결론

본 연구는 흰쥐를 대상으로 아교질분해효소를 이용하여 줄무늬체 부위의 뇌내 출혈을 유발시킨 후 뇌내 출혈 유발 이후의 운동이 뇌내 출혈 유발 이전의 운동과 같은 형태인 익숙한 운동과 뇌내 출혈 유발 이후의 운동과 뇌내 출혈 발생 이전의 운동과 다른 형태의 새로운 운동을 적용하고 신경학적 운동행동 검사와 운동피질의 NGF 발현양상을 통하여 흰쥐의 운동기능 회복 양상을 확인하였다.

연구 결과, 익숙한 운동군과 새로운 운동군이 대조군과 비교하여 신경학적 운동행동 검사에서 유의하게 향상된 결과를 나타내었으며, 운동피질의 NGF 발현양상에서도 증가된 양상을 확인할 수 있었다. 특히 새로운 운동군은 익숙한 운동군과 비교하여 신경학적 운동행동 검사와 운동피질의 NGF 발현양상에서 익숙한 운동군과 비교하여 더욱더 긍정적인 효과를 나타내었다. 이와 같은 결과는 뇌내 출혈 유발 흰쥐에게 운동과 같은 물리치료적 중재는 운동기능 회복에 긍정적인 영향을 미치며 특히 뇌내 출혈 유발 이전의 운동과 다른 형태인 새로운 운동이 뇌내 출혈 유발 이전의 운동과 같은 형태인 익숙한 운동보다 흰쥐의 운동기능 회복에 더 효과적인 운동이라는 것을 나타내는 것이다.

## 인용문헌

- 김보균, 신말순, 김창주 등. 뇌출혈 유발 흰쥐에서 수영 운동이 nitric oxide synthase 발현에 미치는 영향. 한국생활환경학회지. 2009;16(4):436-443.
- 김호성, 김덕호, 이정필 등. 수영 훈련이 뇌출혈 유발 흰쥐의 해마 치아이랑에서 뇌신경생성과 기능적 능력에 미치는 영향. 한국전문물리치료학회지. 2005;12(3):11-21.
- Andres RH, Guzman R, Ducray AD, et al. Cell re-

- placement therapy for intracerebral hemorrhage. *Neurosurg Focus*. 2008;24(3-4):E16
- Ang ET, Gomez-Pinilla F. Potential therapeutic effects of exercise to the brain. *Curr Med Chem*. 2007;14(24):2564-2571.
- Barbay S, Plautz EJ, Friel KM, et al. Behavioral and neurophysiological effects of delayed training following a small ischemic infarct in primary motor cortex of squirrel monkeys. *Exp Brain Res*. 2006;169(1):106-116.
- Beray-Berthat V, Delifer C, Besson VC, et al. Long-term histological and behavioural characterisation of a collagenase-induced model of intracerebral haemorrhage in rats. *J Neurosci Methods*. 2010;191(2):180-190.
- Bradford MM. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-254.
- Brecht M, Schneider M, Sakmann B, et al. Whisker movements evoked by stimulation of single pyramidal cells in rat motor cortex. *Nature*. 2004;427(6976):704-710.
- Broderick J, Connolly S, Feldmann E, et al. Guidelines for the management of spontaneous intracerebral hemorrhage in adults: 2007 update: A guideline from the american heart association/american stroke association stroke council, high blood pressure research council, and the quality of care and outcomes in research interdisciplinary working group. *Stroke*. 2007;38(6):2001-2023.
- Butcher K, Laidlaw J. Current intracerebral haemorrhage management. *J Clin Neurosci*. 2003;10(2):158-167.
- Cotman CW, Berchtold NC, Christie LA. Exercise builds brain health: Key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends Neurosci*. 2007;30(9):464-472.
- Cowansage KK, LeDoux JE, Monfils MH. Brain-derived neurotrophic factor: A dynamic gatekeeper of neural plasticity. *Curr Mol Pharmacol*. 2010;3(1):12-29.
- Ding YH, Ding Y, Li J, et al. Exercise pre-conditioning strengthens brain microvascular integrity in a rat stroke model. *Neurol Res*. 2006;28(2):184-189.
- Ferro JM. Update on intracerebral haemorrhage. *J Neurol*. 2006;253(8):985-999.
- Gelfo F, Cutuli D, Foti F, et al. Enriched environment improves motor function and increases neurotrophins in hemicerebellar lesioned rats. *Neurorehabil neural repair*. 2011;25(3):243-252.
- Jang SW, Okada M, Sayeed I, et al. Gambogic amide, a selective agonist for trka receptor that possesses robust neurotrophic activity, prevents neuronal cell death. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(41):16329-16334.
- Jia J, Hu YS, Wu Y, et al. Pre-ischemic treadmill training affects glutamate and gamma aminobutyric acid levels in the striatal dialysate of a rat model of cerebral ischemia. *Life Sci*. 2009;84(15-16):505-511.
- Kwon, DK, Hwang KH, Kim YK, et al. Effects of swimming training on immune function of growing rats fed a high-fat diet. *J Hum Environ Syst*. 2005;8(1/2):13-18.
- Kim MH, Lee SM, Koo HM. Ipsilateral and contralateral skilled reach training contributes to the motor function and brain recovery after left haemorrhagic stroke of rats. *Brain Inj*. 2012;26(9):1127-1135.
- Lee HH, Kim H, Lee MH, et al. Treadmill exercise decreases intrastriatal hemorrhage-induced neuronal cell death via suppression on caspase-3 expression in rats. *Neurosci Lett*. 2003;352(1):33-36.
- MacLellan CL, Auriat AM, McGie SC, et al. Gauging recovery after hemorrhagic stroke in rats: Implications for cytoprotection studies. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006;26(8):1031-1042.
- MacLellan CL, Silasi G, Poon CC, et al. Intracerebral hemorrhage models in rat: Comparing collagenase to blood infusion. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2008;28(3):516-525.



Mayer SA, Rincon F. Treatment of intracerebral haemorrhage. *Lancet neurol.* 2005;4(10):662-672.

Metz GA, Whishaw IQ. Cortical and subcortical lesions impair skilled walking in the ladder rung walking test: A new task to evaluate fore- and hindlimb stepping, placing, and co-ordination. *J Neurosci Methods.* 2002;115(2):169-179.

Mogharnasi M, Gaeni AA, Javadi E, et al. The effect of endurance training on inflammation biomarkers and lipid profiles in wistar rats. *World Journal of Sport Sciences.* 2009;2(2):82-88.

Riek-Burchardt M, Henrich-Noack P, Metz GA, et al. Detection of chronic sensorimotor impairments in the ladder rung walking task in rats with endo-thelin-1-induced mild focal ischemia. *J Neurosci Methods.* 2004;137(2):227-233.

Shimazu K, Zhao M, Sakata K, et al. Nt-3 facilitates hippocampal plasticity and learning and memory by regulating neurogenesis. *Learn Mem.* 2006;13(3):307-315.

Tanaka A, Yoshinaga S, Nakayama Y, et al.

Cerebral blood flow and clinical outcome in patients with thalamic hemorrhages: A comparison with putaminal hemorrhages. *J Neurol Sci.* 1996;144(1-2):191-197.

Urakawa S, Hida H, Masuda T, et al. Environmental enrichment brings a beneficial effect on beam walking and enhances the migration of double-cortin-positive cells following striatal lesions in rats. *Neuroscience.* 2007;144(3):920-933.

Woodlee MT. The impact of motor activity and inactivity on the brain. *Psychological Sci.* 2006;15(4):203-206.

Yanagihara H. Degenerating and regenerating changes in remote areas from the caudo-putaminal mass lesion in rats. *Bull Yamaguchi Med Sch.* 2001;47(3-4):69-79.

---

논문 접수 일	2012년 7월 30일
논문 심사 일	2012년 7월 30일
논문 게재 승인 일	2012년 9월 4일