

神經生理學的 動物實驗의 基礎

田 珍 淑*

Techniques for the Neurophysiological Experiments of Brain and Behavior

Jin-Sook Cheon, M.D., Ph.D.*

— ABSTRACT —

The neurophysiological study has been widely used in the search of the relation between brain and behavior. The basic techniques for the animal experiments of this kind such as stereotaxic techniques, lesioning methods, the methods of electrical stimulation and confirmation of histological location were simply reviewed. Nevertheless, the importance of complementary neurochemical, neuroanatomical and behavioral studies can not be neglected.

KEY WORDS : Stereotaxic techniques · Lesioning · Electrical stimulation · Histology.

————— *Sleep Medicine and Psychophysiology 1(2) : 145-155, 1994*

서 론

동물에서 전기 현상은 1773년 John Hunter에 의해 전기뱀장어에서 최초로 발견되었으나, 근대 전기생리학은 Luigi Galvani(1737~1798)에 의해서 시발되었다고 볼 수 있다(1, 2). 1784년 Galvani가 개구리 신경을 자극하면 근육이 수축됨을 발견한 이래, 말초 및 중추신경계의 연구에 전기가 사용된 것은 DuBois Reymond(1848~1849), Fritsch 및 Hitzig, Hess등 신경 연구의 선구자들에 의해 이루어졌다(3, 4). 여러 형태의 전기적 자극은 일차적인 감각자극을 수용하는 뇌 부위를 밝히는데 사용되었을 뿐만 아니라 심리학적 연구에서 동기적 도구로서 널리 사용되어 왔다. 최근에는 이론과 기술적인 면에서의 현저한 발전으로 뇌기능의 기전을 밝히는 도구로서, 또한 심리적 과

정에 근저한 행동적 및 신경생리학적 기전을 규명하는데 유용하게 사용되고 있을 뿐만 아니라 치료적 목적으로도 사용되고 있다.

행동의 신경적 기전을 연구하는데 사용되는 가장 중요한 기법은 병소화, 자극, 전기적 기록 및 화학적 분석이다(5). 그러나 신경생리학적 연구는 행동의 기전과 더불어 뇌 활동의 공간적인 구조도 설명할 수 있어야 한다. 따라서 저자는 뇌와 행동의 기전을 연구하는 한 방법으로서 신경생리학적 접근에 흔히 사용되는 기본적인 기법을 간략히 정리해 보고자 한다. 여기서는 주로 전기생리학적 기법에 중점을 둘 것이나, 병소화와 자극의 부위를 확인하는데 필요한 신경해부학적 기법에 관해서도 간단히 언급하고자 한다.

실험 동물

1. 실험동물의 선택

인간의 뇌와 행동의 관계를 연구함에 있어서 인간이

*高神大學校 醫科大學 神經精神科學教室
Department of Neuropsychiatry, Kosin University, School of Medicine, Pusan, Korea

아닌 다른 종(species)을 사용하는 것이 과연 타당한가의 문제는 아직도 논란이 많다. 종의 선택은 연구에 근저한 문제의 성격에 따라야 한다. 신경생리학적 연구의 노선은 크게 세 방향으로 나눌 수 있으며, 각각 다른 이유로 인해 연구 방향에 따라 사용하는 종이 선택된다(6).

1) 뇌 기능의 기초적인 기전을 이해하기 위한 연구

이러한 형태의 연구에서는 의문의 성격에 따라 종이 선택된다. 즉, 신경생리학자들은 신경이 크고 접근하기가 쉬우므로 신경활동의 연구에 squid의 거대신경 섬유를 많이 선택한다. 시각연합피질의 역할에 대한 연구에 고양이나 원숭이가 많이 이용되는데 이는 그들은 인간과 마찬가지로 커다란 시각연합부위를 지녔기 때문이다. 때로는 단지 편리함이나 가격 때문에 그 종으로 선택하는 수도 있다.

2) 인간의 신경학적 장애 및 정신질환의 model을 만들고자 고안된 연구

이러한 연구의 목적은 먼저 그 장애나 그와 유사한 상태를 만들어내고, 그 다음 여러 변인들을 조작해서 그 장애의 원인과 경과를 이해할 수 있게 되도록 시도하고, 결국은 치료를 공식화 하는 것이다. 파킨슨씨 질환의 모델은 쥐를 사용하는데 인간의 파킨슨씨 질환의 증상에 타당한 비교를 할 수 있다.

3) 뇌의 계통발생학적 발달(phylogenetic development)을 기술하도록 고안된 연구

뇌의 진화적 발달을 연구하기 위해서는 Hodos와 Campbell(7)이 말한 준진화순서(quasi-evolutionary sequence)를 구성하는 밀접히 연관된 종을 선택할 필요가 있다. 예를 들어 주머니쥐, 고슴도치, 나무두더지, 원숭이는 인간의 조상과 매우 밀접한 살아있는 동물이다.

2. 실험동물의 관리(Animal Care)

동물실험에 요구되는 것은 실험동물이 깨끗하고, 안락하며, 질병이 없도록 유지되는 것이다(8). 대부분의 동물실험은 실험동물에게 불편을 가져오며, 실험자는 가능하면 이들의 불편을 극소화시키도록 계속 노력해야 한다. 미국 Society for Neuroscience의 Com-

mittee on Animals in Research에서 제정한 “신경과학 연구에서 동물 사용에 관한 지침서”에 기술되어 있는 내용중 일부를 소개하겠다(9).

1) 실험의 고안에 관계된 요소

윤리적인 동물실험의 기본 원칙은 실험동물이 피할 수도 있는 고통이나 불편을 그대로 받도록 되어서는 안된다는 것이다. 실험계획을 고안할 때 연구자들은 사용할 동물의 수를 최소화시키고, 위험에 놓인 동물을 소모하지 않도록 고안해야 한다. 실험 방법의 진보, 동물의 좀 더 효율적인 사용, 대상내 고안(within-subject designs), 현대적인 통계기술 등이 연구에서 사용되는 동물의 수를 최소화시킬 수 있는 방법들이다.

2) 실험의 실행에 관계된 요소

실험동물은 “NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals”의 지침에 따라 얻어지고 보살펴져야 한다(10). 다음은 1978년도 NIH Guide for Grants and Contracts에서 일부 발췌한 동물사용의 원칙이다(11).

① 살아있는 척추동물 및 연구를 목적으로 살아있는 동물로부터 수취한 조직을 포함하는 실험은 즉시 자격있는 생물학, 행동학, 또는 의학 과학자의 감독하에 수행되어야 한다.

② 모든 실험동물의 주거, 돌봄, 급식은 자격있는 의사 또는 그러한 일에 능력있는 다른 과학자의 감독을 받아야 한다.

③ 그 연구는 사회적 이익을 위한 풍부한 결과를 얻을 수 있으며, 무작위적이거나 불필요한 성질의 것이 아니어야 한다.

④ 실험은 연구에 근저한 질환이나 문제의 지식을 기초로 하며, 기대되는 결과가 실험의 수행을 정당화시킬 수 있어야 한다.

⑤ 통계적 분석, 수학적 모델, 시험관내의 생물학적 체계는 동물실험을 보완하기에 적합하며, 사용되는 동물의 수를 감소시킬 수 있도록 사용되어야 한다.

⑥ 실험은 동물에게 모든 불필요한 고통과 손상을 피하도록 시행되어야 한다.

⑦ 실험을 책임지고 있는 과학자는 실험의 지속이 동물에게 불필요한 손상이나 고통을 초래한다고 믿

으면 언제든지 실험을 끝낼 준비가 되어 있어야 한다.

⑧ 만약 실험이나 시술이 마취한 것보다 더 큰 불편을 가져오면 먼저 그 동물이 통증을 지각할 수 없게 해야 하며, 실험이나 시술이 끝날 때까지 그 상태가 유지되어야 한다.

⑨ 동물의 수술후 관리는 수의학적 조치에 따라 불편과 실험으로 초래된 불구의 결과를 극소화시키도록 해야 한다.

⑩ 만약 실험동물을 희생시킬 필요가 있으면 그 연구소의 위원회에서 허용하는 절차에 따라 인도주의적인 태도로, 죽사가 확실한 방법으로 시행되어야 한다. 어떠한 동물도 사망이 확실하기 전까지 폐기되어서는 안된다.

3. 실험동물의 마취

1) 약물투여의 원칙

실험동물에 약물 투여시 제일 먼저 인식해야 할 중요 사항은 종에 따라 대사율, 약물 대사의 효소적 경로가 다르므로 종에 따라 특정 약물에 대한 반응을 변화시킬 수 있다는 점이다. 예를 들면 고양이에게 morphine을 투여하면 과잉흥분 반응을 보인다. 또한 동물 개개의 차이에 따라 단일 종에서도 약물투여에 대한 반응에 질과 양적인 차이가 있다는 점을 인식해야 한다. 이 경우 반응의 변화는 체중, 연령, 성별, 성질, 투여경로, 건강상태나 질병, 과거의 약물 경험 등에 의한다. 마지막으로 실험동물에 투여한 약물은 실험 결과에 영향을 끼치므로, 약물을 투여하기 전에 임상가와 연구자 간에 충분한 대화가 무엇보다 필요하며, 투여된 용량을 정확히 기록하는 것도 중요하다.

2) 약물 투여 경로

(1) 경구 투여

먹이나 물에 섞어서 주는 경구투여법은 편리하다는 장점이 있으나 질병, 입맛의 변화, 용액 속 혹은 공기나 빛에의 노출로 인한 약물의 안정성의 문제로 섭취가 감소될 가능성이 있다. 여러 삼관법으로 투여하기도 하고, 큰 동물 중에서는 알약으로 투여하기도 한다.

(2) 정맥내 투여

정맥내 경로로 약물을 투여하려면 각각의 종별로

주사를 놓기 쉬운 말초 정맥의 위치를 알아야 하며, 신체적 구속과 정맥천자의 기술이 있어야 한다. 정맥내 투여의 이점은 혈중 약물 농도가 빨리 증가되며, 신체의 조직과 기관에 즉시 분포되는 것이다. 마취제의 선택은 수술 유형에 달렸으며, 예를들어 백서에서 오랫동안 마취가 필요한 급성 실험에서는 barbiturate가 흔히 사용된다.

(3) 복강내 투여

복강내 투여는 자극성이 없는 다량의 용액 제제를 투여하는데 유용하며, 약물의 작용 시작은 정맥내 투여 후의 약 1/2 내지 1/4이다(12). 어른 흰쥐 수컷에서 pentobarbital은 체중당 30~40mg/kg 사용하며, 흔히 1 ml의 증류수나 생리식염수에 용해시킨 용액을 체중 100g당 0.1ml 사용한다(13). Hexobarbital은 100mg/kg의 용량으로 복강내 투여한다.

(4) 근육내 투여

이는 소량의 자극성인 약물 투여에 사용된다. 약물 작용 시작은 정맥내 투여와 피하 투여의 중간 정도이다. 근육내 주사는 대퇴 상부 근육과 둔근에 놓으나, 더 큰 종에서는 등의 근육에 놓기도 한다(14).

(5) 피하 투여

비자극성의 약물의 느리고 지속적인 흡수가 요구되는 때에 사용하며, 목의 뒷 부분이나 액와 부위의 피하에 놓는다.

(6) 흡입 마취

흰쥐에서 가장 안전하고 쉽고 경제적이며 널리 쓰이는 흡입 마취제는 ether이며, 호흡반사와 근긴장도를 관찰함으로써 마취의 깊이를 결정할 수 있다. 예를들면 무통과 섬망 단계에는 호흡이 불규칙적이고 빠르며, 반사와 근긴장도는 거의 변하지 않으나, surgical anesthesia(plane 3)에 달하면 호흡은 규칙적이고 좀 더 알아지며, 반사는 없어지고, 골격근은 힘이 없어진다.

3) 약물 용량

동물의 마취에 많이 쓰이는 약물의 용량(12, 15)을 말쉴해 보았다(Table 1).

Table 1. Drug dosages for laboratory animals(12, 15)

Drugs(mg/kg)	Primate	Cat	Rat
Acepromazine	0.5-1 IM, SC	1.1-2.2 IM ; 1-3 PO	-
Chlorpromazine	1-3 IM ; 25 PO	2-4 IM ; 1-6 PO	0.5 IM
Promazine	2-4 IM	2-4 IM, PO	0.5-1 IM
Meprobamate	100-400 PO	50 PO	150 IM
Pentobarbital	35 IV ; 60 IP	30 IV	25 IV ; 50 IP
Thiopental	25 IV	28 IV	20 IV, 40 IP
Phencyclidine	0.5-3.0 IM	-	-
Ketamine	13-50 IM	11-44 IM	22-44 IM
Droperidol-Fentanyl	1ml/9kg IM	-	0.2ml/kg IM
Alpha-Chloralose	-	75 IV ; 50 IP	55 IP
Urethane	-	1500 IP	780 IP
Chloral hydrate	-	300 IV	300 IP
Atropine	0.04 IM, IV, SC	0.04 IM, IV, SC	0.05 SC, IM

전기생리학적 실험의 기법

1. 정위법

병소 만들기, 화학물질의 주입, 자극, 기록 등 대 부분 뇌의 실험적 조작에 정위법(stereotaxic technique)의 응용이 요구된다. 정위적 기구는 뇌 도해서에 적혀있는 좌표를 기초로 하여 뇌의 특정 부위에 전극과 관을 정확한 위치에 놓게 한다. 흰쥐의 뇌 도해서는 몇 가지가 있으나, Pellegrino등(16)이 만든 두 유형의 정위적 좌표가 적힌 흰쥐의 뇌 도해서가 흔히 이용되고 있다(Fig. 1).

1) System A

이것은 de Groot(17)의 좌표 체계이다. 여기에서 수평 기저면(horizontal zero plane)은 상절치능(upper incisor bar)과 이간선(interaural line)에서 0.5mm 상방의 접선으로서 전교련(anterior commissure)과 후교련(posterior commissure)을 통과한다. 배측-복측 좌표(dorsal-ventral coordinate)는 각 도해면의 우측에 눈금으로 나와 있다. 문미 좌표(rostral-caudal coordinate)는 관상 도해에서 우측 상부에 적혀있고, 시상 도해에서는 밑에 눈금으로 나와 있다. 이것은 수직기저면(vertical zero plane)의 후부에 있으면 (-)로 표시된다. 내측 좌표(medial-lateral coordinate)는 관상 도해의 밑에 눈금으로 표시되고, 시상 도해에서는 우측 하단에 적혀 있다.

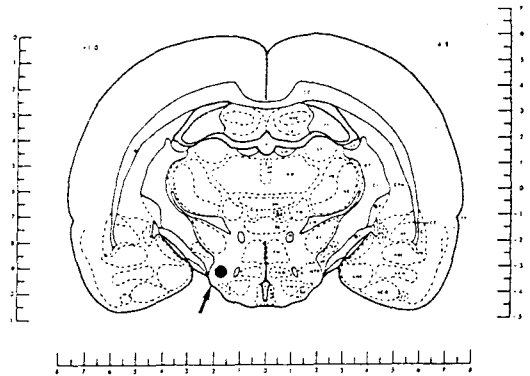


Fig. 1. Plate from Pellegrino et al(16) stereotaxic atlas of the rat brain.

2) System B

이것은 de Groot 체계를 간단히 수정한 것으로서 관상 도해에서만 사용할 수 있다. 문미 기저점은 두 개골의 관상봉합과 시상봉합이 교차되는 지점인 전정(bregma)이며, 문미 좌표는 관상 도해의 좌상단에 적혀있다. 전정의 후부는 (-)로 표시된다.

2. 병소만드는 방법

여러 유형의 병소화 기법은 수년간 신경회로와 기능을 분석하는데 널리 사용 되어 왔다. 병소적 접근의 이론적 배경은 척추동물에서 축삭 절단(axotomy) 후 축삭의 분리된 뒷부분에 변성이 오고(anterograde degeneration), 세포체에 축삭반응(axon reaction)이라 부르는 변화가 일어나다가 결국 세포사망(retrograde

degeneration)에 이르며, 같은 회로에서 손상받은 신경단위와 직접 또는 간접적인 연결을 하는 신경단위의 위축이나 변성을 초래할 수도 있다(transneuronal degeneration)는 실험 결과들과 연관된다(18). 병소를 만들기 위해 수년간 수술적 또는 전해적인 비선택적 기법이 흔히 사용되어 왔었으나, 최근 이십년 전부터 화학적 신경독적 접근법이 발달되고 있다.

1) 비선택적 병소화 기법

① 절개도로 신경 경로나 구조물을 절단하는 절개도 기법(knife methods).

② 전극을 통해서 직류가 지나가게 하거나(electrolytic methods) 또는 고주파(radiofrequency current)를 지나가게 해서 열응고(thermocoagulation)로 구조물을 파괴시키는 기법 : 직류 전기분해(DC electrolysis)는 기체 방울의 생산이나 금속성 이온의 확산에 의해서 조직을 파괴시킨다. 전극 끝 주변의 손상 범위는 전류의 양과 전류가 흐르는 기간에 달렸다. 이외에 중요한 지표로서 전극 끝의 직경, 비절연 부위의 범위, 전극을 구성하는 금속의 유형, 전류의 극성(양 또는 음), 손상받은 조직의 성질(화백질 또는 백질) 등을 들 수 있다(19).

따라서 믿을만한 지침을 제공하기는 어려우므로, 연구자들은 전류 수준과 기간을 다양하게 변화시켜서 행한 예비실험의 지표를 기초로 함이 좋다. 예를들면 흰쥐의 편도에 1mm 직경의 타원형 병소를 만들려면 0.5mm 비절연시킨 0.2mm 직경의 stainless steel 전극 끝으로 1 mA의 양전류(anodal current)를 10초간 지나가게 하면 된다(19). 전류의 강도와 시간을 두 배로 늘이면 2mm 직경의 병소를 만들 수 있으나, 흰쥐 뇌에 대해서 5 mA 이상의 전류는 바람직하지 않다. 전극은 platinum이 좋으나, 보통 stainless steel 전극이 사용된다. 일반적으로 흰쥐에서 1~3mm 직경의 병소를 만들려면, 직경이 0.2~1.0mm 사이의 전극을 사용한다.

③ 절개도나 흡인(aspiration technique)을 통해서 조직을 제거하는 기법.

④ 냉각, 확산억제(spreading depression), 국소 마취, 간질의 유도에 의한 가역적인 기능적 병소화.

2) 선택적 병소화 기법

① 6-hydroxydopamine에 의해 catecholamine을 고

갈시키고 ibotenic acid에 의해 세포체의 선택적 파괴를 일으키는 장기적인 효과, 또는 p-chlorophenylalanine에 의한 serotonin의 고갈과 같은 단기적 효과 등 신경화학적 병소.

가. Monoamine neurotoxins : 6-hydroxydopamine, 6-hydroxy-DOPA, 6-aminodopamine, DSP4, guanethidine, dihydroxytryptamines, halogenated amphetamines.

나. Excitotoxic amino acids : kainic acid, ibotenic acid.

② Nerve growth factor에 대한 antiserum, dopamine-β-hydroxylase에 대한 항체의 사용 등 면역학적 병소화.

③ 기타 capsaicin, colchicine과 vinca alkaloids, pronase와 같은 단백질 용해 효소의 세포내 주입, Lucifer yellow CH 등 형광 염료 주사후 청색 빛을 조사함으로써 변성을 일으켰다는 보고도 있다(18).

3. 전기적 자극법

신경단위막을 통과하는 전류는 이온에 대한 투과성을 변화시켜서 신경의 자극과동을 유발시킨다(20, 21). 전기적인 뇌 자극 기법은 뇌와 행동의 관계를 밝히기 위한 다음과 같은 실험에서 유용하게 쓰이고 있다(19).

① 전기적인 자기-자극(self-stimulation).

② 피질하 자극에 의한 복잡한 행동의 도출.

③ 사지운동이 자극에 의해 유발될 수 있는 대뇌 피질 운동영역의 지도화.

④ 고전적인 조건화 연구에서 조건 또는 무조건적인 자극으로서 사용.

⑤ 인간에서 뇌 자극에 의해 경험을 말하거나 회상하게 하는데 사용.

⑥ 기억상실을 유도하거나 반대로 학습을 촉진시키는데 사용.

1) 일반적인 방법

전극은 목적에 따라 단극성 또는 양극성 전극을 사용할 수 있다. 그러나 자극 전류의 확산을 정확하게 한정지을 수 있으므로 0.5~1.0mm 간격으로 가까이 놓은 양극성 전극이 널리 쓰이고 있다. 부식하지 않으므로 장기적인 뇌 자극에 백금이 가장 좋으나, 더

싸고 쉽게 구입할 수 있는 stainless steel 제품이 많이 쓰인다. 철사 끝의 직경은 0.1~0.3mm로서, 끝을 제외하고는 절연되어야 한다.

전기적 자극은 train duration, pulse duration, pulse frequency, amplitude 등의 지표를 조절할 수 있는 상품화된 stimulator를 사용한다(Fig. 2). 전해로 인한 손상은 교류(AC) 자극으로 극소화시킬 수 있으나, 0.1~0.5msec 동안의 매우 짧은 단일 방향의 직류(DC) 파동(pulse)이 쓰일 수도 있다. 전기적 자극의 voltage는 oscilloscope을 통해 알 수 있으며(22), 다음의 Ohm의 법칙(21)에 의해 전류 수준을 측정할 수 있다.

$$\text{Current}(I) = \frac{\text{Voltage}(E)}{\text{Resistance}(R)}$$

자극의 빈도는 30~100Hz 사이가 많이 쓰이며, 일련의 자극(stimulus train)의 지속시간은 일반적으로 자기-자극 실험에는 0.1~0.5sec 동안, 자극에 연결된 행동을 유발시키는 실험에서는 1분까지도 가능하다(19).

2) 세포외 자극(Extracellular Stimulation) 및 세포내 자극(Intracellular Stimulation)

세포의 자극법(23)에서 전류가 세포 외로 통과할 때 대부분의 voltage 변화는 세포 밖의 voltage에 있으므로, 세포 밖의 voltage를 변화시킴으로써 일차적으로 막통과 전위(transmembrane potential)를 변화

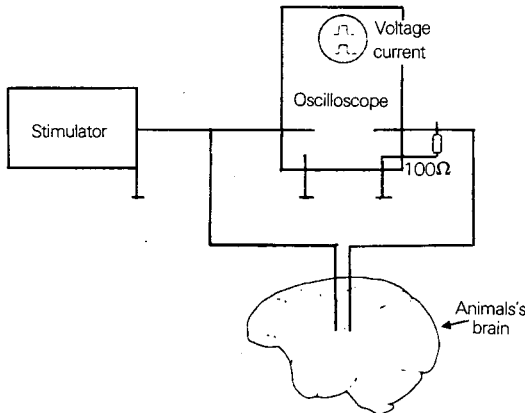


Fig. 2. Circuit arrangement to monitor voltage and current simultaneously during electrical stimulation (22).

시킬 수 있다. 신경단위에서 직류의 흐름과 연관된 voltage 변화는 두 종류가 있다. 즉, 세포질의 저항을 통한 전류의 흐름에 의한 voltage 변화와 막저항을 통과하는 전류의 흐름에 의한 voltage 변화이다.

세포내 자극법(24)에서 개개 신경단위의 막전위를 변화시키는데 사용되는 가장 단순한 방법은 하나는 막전위를 기록하는데 쓰고, 하나는 자극하는데 쓰는 두 미세전극을 세포에 꽂는 것이다(Fig. 3). 그러나 이 기법은 개개의 신경단위가 크고 표면에 있는 무척추동물 신경절(ganglia)에서 가능하며 척추동물에서는 힘들다.

3) 미세자극법(Microstimulation Technique)

미세자극법(25)은 전극 근처의 작은 부위에 위치한 신경단위군을 자극하기 위해 고안되었으며, 이 기법의 장점은 같은 전극으로 동일한 신경단위군을 자극하고 기록할 수 있다는 점이다. Pipette과 금속전극이 다 쓰이나, 금속전극은 저항(impedance)이 더 낮아서 자극과 기록을 안정시킬 수 있으며, 속에 금속철사가 들어 있어서 삽입시 조직으로 막히지 않고, 끝이 더 단단해서 목표에 똑바로 나아갈 수 있으며, 전극이

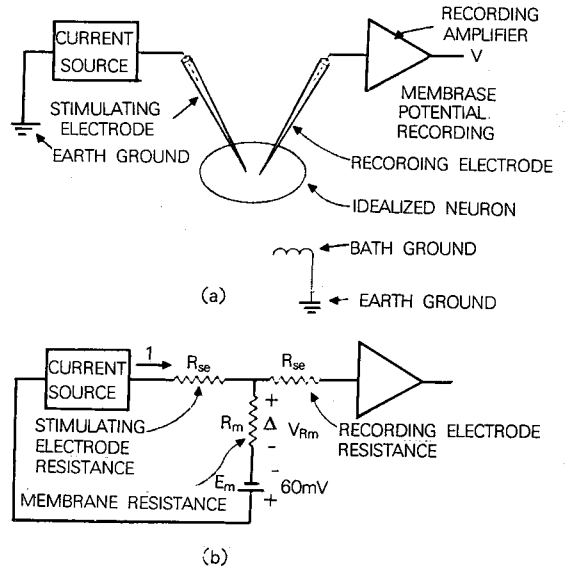


Fig. 3. Intracellular stimulation and recording with separate electrodes ; (a) a schematic diagram of typical experimental arrangement, (b) an equivalent electrical circuit diagram of the experimental arrangement in part(a)(24).

지나간 길을 다시 만들기 위한 병소만들기가 더 쉽다.

전극은 조직 손상을 피하기 위해서 작아야 하며, shaft는 자극 전류가 새는 것을 막기 위해 medium으로부터 절연되어야 한다. 이 목적을 위해 glass pipette를 사용하는데, 이는 바깥 직경이 0.2mm인 표준 유리관의 끝을 electrode puller로 가늘게 늘이고 이 끝의 직경이 10 μ m가 되도록 부러뜨린다. 그 다음 tungsten wire를 끝까지 집어넣고, 튀어나온 부분은 누출된 끝이 10~15 μ m가 되도록 현미경하에서 전해적 부식(etching)으로 짧게 만든다. 부식을 위해 50% KCN과 30% NaOH 혼합액을 사용하며 2~6V의 교류를 준다. 이 전극은 100 μ A 이상의 전류 파동을 통과할 수 있으나, 이 이상에서는 전극 끝에서 기포가 생기고 조직이 파괴된다. 일반적으로 좀 더 긴 train(30~40 msec)의 고 빈도(300~400Hz)의 파동이 훨씬 효과적이다. 전극의 자극을 찾아내기 위해서는 10초 동안 5, 10, 20A의 음전류를 사용하며 병소의 크기는 각각 100, 200, 300 μ m이다.

4) 뇌의 심부 자극(Depth Stimulation)(4)

조직 전도성(conductivity)은 수분 함량에 달렸으며, 뇌 내에서는 구조물에 따라 다르다. 심부 자극에서는 작은 접촉으로 인해 이러한 문제가 극소화된다.

4. 측정 및 기록

측정도구로는 volt-ohm-ammeter, 표준 cathode-ray oscilloscope(CRO), audio generator, pulse generator, resistors, capacitors, test board, soldering iron 등이 필요하다(5). 저자가 행한 전기생리적 실험에서 얻어진 기록의 자료를 예로 들겠다. 도 4는 정위기구를 사용해서 흰쥐 척수에 미세절개도로 병소를 만든 후 대뇌 피질의 운동영역에서 기록한 실험의 예이다(26). 도 5는 정위법을 사용해서 부위를 결정한 흰쥐의 척핵과 망상핵에 전기적 자극을 가하고 척수에서 기록한 실험의 예이며(27, 28), 도 6은 정위기구를 사용해서 흰쥐의 척수에 전극을 꽂아 일정 깊이에서 심부 기록한 예이다(29-31).

5. 조직학적 부위 확인

전기생리학적 실험의 기록이 끝나면 반드시 자극 또는 병소를 만든 부위를 신경해부학적으로 확인해야 한다. 여기에서는 실험실에서 많이 사용하는 심장내

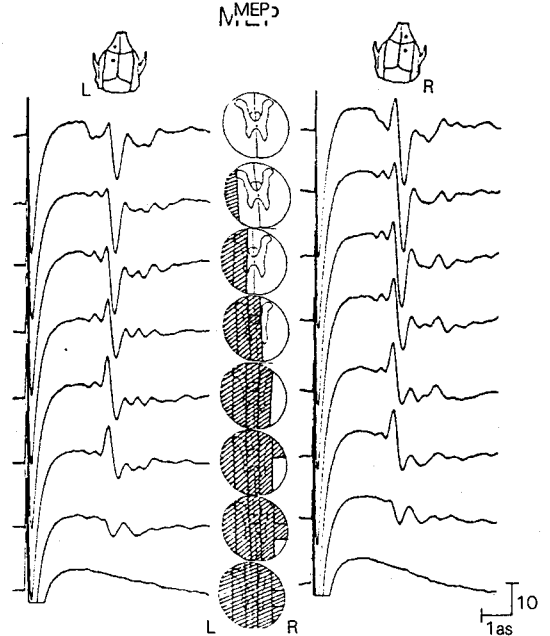


Fig. 4. An example of recorded electrical potentials (MEP= motor evoked potentials) elicited from the spinal cords lesioned by microknives during the stimulation of motor cortices(26).

관류법과, 들어낸 뇌 조직의 동결절편 후에 기본적인 신경 조직의 염색법으로서 cresyl violet법과 neutral red 염색법에 대해 간단히 설명하겠다.

1) 심장내 관류법(5, 32)

마취된 동물의 등을 밑으로 놓고, 흉골의 좌우를 수술용 가위로 잘라서 흉곽을 연 다음, 고무관에 고정시킨 삽관을 좌심실에 삽입하고, saline이 흐르도록 하며, 좀 더 빨리 혈액이 용액으로 대치되도록 우심실을 작게 자른다(Fig. 7). Saline이 혈액을 밖으로 씻어낸 후, formalin 관류액이 혈액 순환계에 흐르도록 한다.

2) 뇌의 박리

수술용 가위와 rongeur를 사용해서 두개골을 제거하고 뇌를 10% formalin액에 최소한 하루동안 담가 둔다.

3) 조직괴 만들기(Blocking)

전극의 삽입한 방향에 평행되게, 실험중 사용한 정위적 도해서를 참고로 절편을 만든다. 조직학적으로

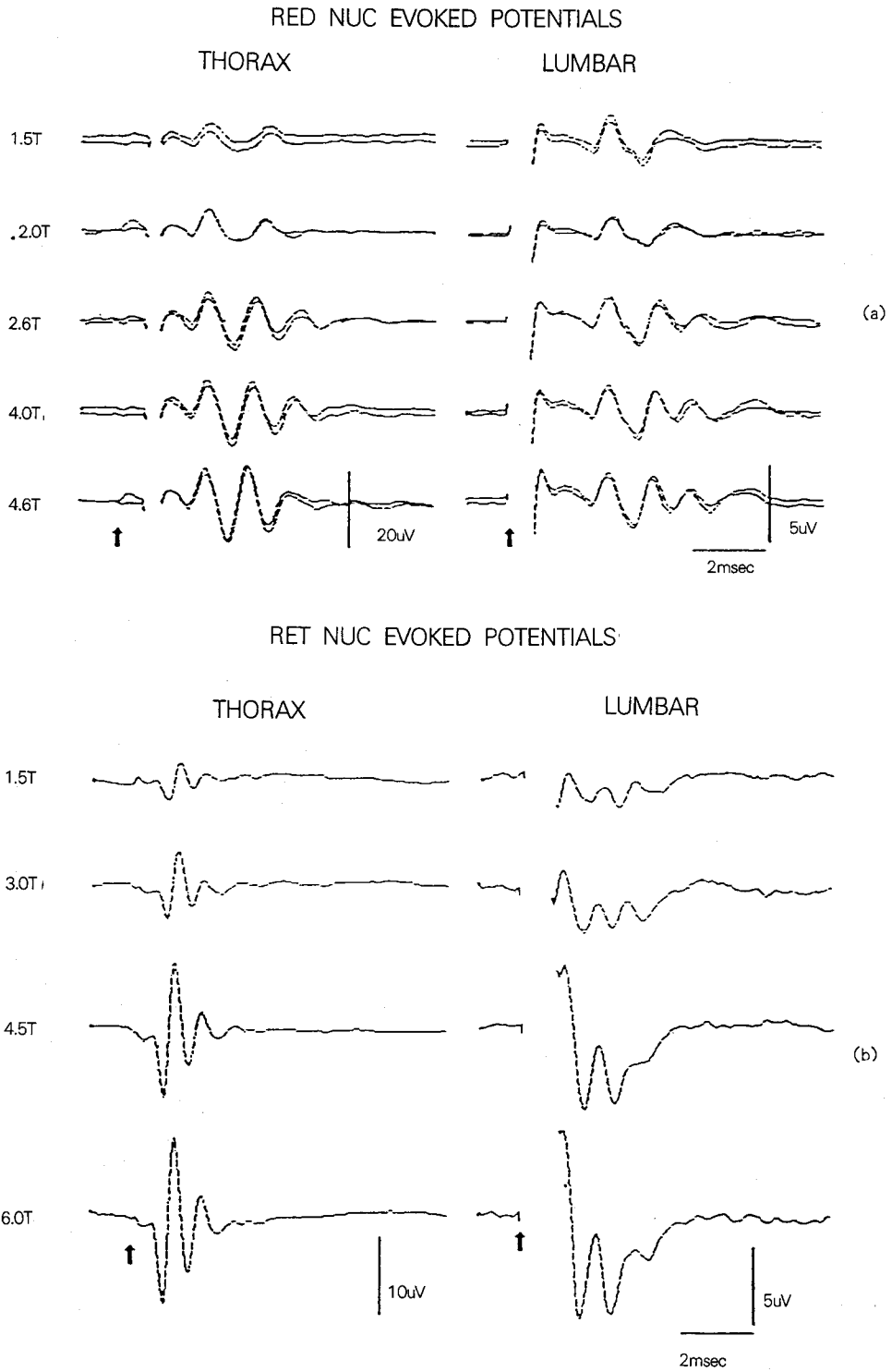


Fig. 5. An example of electrical potentials recorded at spinal cords while stimulating stereotaxically determined red nuclei(a) and reticular nuclei at various stimulation intensities(T=threshold)(b)(27, 28).

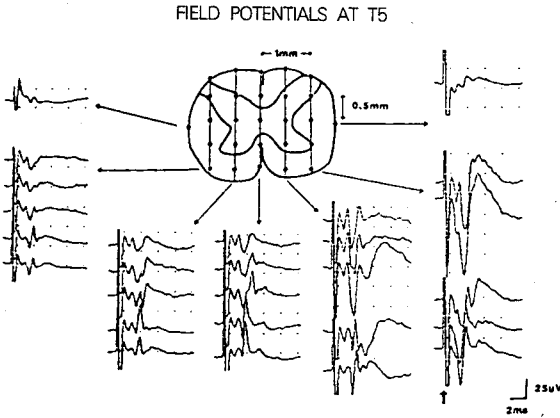


Fig. 6. An example of depth recording and stimulation at the spinal cord(29-31).

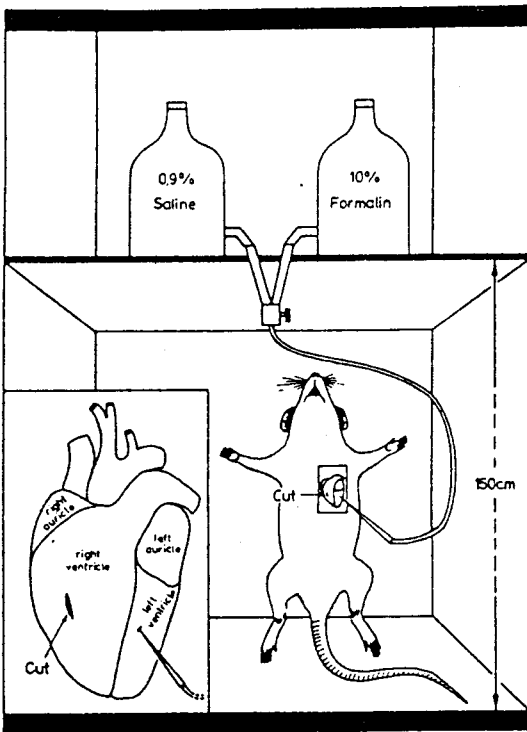


Fig. 7. A perfusion system(5, 32).

검사하고자 하는 뇌 부위로부터 2~3mm 앞 뒤로 절단하는 것이 좋다.

4) 동결절편법(frozen sectioning)

동결절편법은 시간이 적게 드는 이점이 있으므로 널리 쓰이며, 보통 25~100 μ m 두께로 절편을 만든다

(33).

5) 봉입(mounting)

조직을 0.5~1%의 formalin이나 물이 담긴 그릇에 넣고, 붓으로 gelatin을 묻힌 slide에 올린다.

6) 염 색

동결절편한 뇌 조직을 염색하는 순서는 다음과 같다.

① Neutral Red 염색법(34)

1~3분간 염색

증류수	30초
70% ethanol	30초
95% ethanol	30초
100% ethanol	30초
100% ethanol	1분
xylene	1분
xylene	1분
coverslip	

② Cresyl Violet 염색법(34, 35)

3분간 염색

증류수	30초
50% ethanol	1분
70% ethanol	1분
95% ethanol에 몇방울의 빙초산	1~7분
95% ethanol	30초
100% ethanol	5분
100% ethanol	5분
xylene	5분
xylene	5분
coverslip	5분

결 론

신경생리학적 연구 방법은 뇌와 행동의 관계를 밝히는데 널리 사용되고 있다. 저자는 신경생리학적 동물실험에 많이 쓰이고 있는 기법으로서 정위법, 병소만들기, 전기적 자극, 조직학적 부위 확인 등 일련의 과정에 대해 간단히 설명하였다. 그러나 이러한 연구의 결과는 신경화학적 연구, 좀 더 고차원적인 신경해부학적 연구, 기능을 점검해 볼 수 있는 행동

학적 연구로서 보완이 될 때에 믿을만한 결론을 도출해 낼 수 있을 것으로 생각된다.

중심 단어 : 정위법 · 병소만들기 · 전기적 자극 · 조직학적 확인.

REFERENCES

- 1) 김중명. 의과학개론. 2판, 서울, 형설출판사, 1986 ; 183-228.
- 2) Blakemore C. Chuang Tzu and the butterfly. In : Mechanics of the Mind, New York, Cambridge University Press, 1977 ; 29-59.
- 3) Bloom FE, Lazerson A. Introduction to the nervous system. In : Brain, Mind, and Behavior, 2nd ed, New York, Freeman, 1988 ; 3-27.
- 4) Delgado JMR. Depth stimulation of the brain. In : Electrical Stimulation Research Techniques, ed by Patterson MM, Kesner RP, New York, Academic Press, 1981 ; 107-140.
- 5) Bureš J, Huston JP. Physiological psychology research. In : Techniques and Basic Experiments for the Study of Brain and Behavior, 2nd ed, ed by Bureš J, Burešová O, Huston JP, Amsterdam, Elsevier, 1983 ; 1-76.
- 6) Kolb B, Whishaw IQ. Problems and principles underlying interspecies comparisons. In : Behavioral Approaches to Brain Research, ed by Robinson TE, New York, Oxford University Press, 1983 ; 237-263.
- 7) Hodos W, Campbell CBG. Scale nature : Why there is no theory on comparative psychology. Psychological Review 1969 ; 76 : 337-350.
- 8) National Institutes of Health. Preparation and Maintenance of Higher Mammals during Neuroscience Experiments, ed by Van Sluyters RC, Oberdorfer MD, Bethesda, 1991 ; 9-45.
- 9) Society for Neuroscience. Handbook for the Use of Animals in Neuroscience Research. Washington DC, 1992 ; 1-14.
- 10) National Institutes of Health. NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Bethesda, 1985.
- 11) National Institutes of Health. NIH Guide for Grants and Contracts(1978). cited from Bureš J, Huston JP. Physiological psychology research, In : Techniques and Basic Experiments for the Study of Brain and Behavior, 2nd ed, ed by Bureš J, Burešová O, Huston JP, Amsterdam, Elsevier, 1983 ; 1-76.
- 12) Latt RH. Drug dosages for laboratory animals. In : Handbook of Laboratory Animal Science, vol 3, ed by Melby EC Jr, Altman NH, Cleveland, CRC Press, 1976 ; 561-568.
- 13) Ben M, Dixon RL, Adamson RH. Anesthesia in the rat. Federation Proceedings 1969 ; 28(4) : 1522-1527.
- 14) 최철순. 동물실험 및 외과수기 - 권편 -. 서울, 대한교과서주식회사, 1985 ; 5-62.
- 15) Kruckenberg SM. Drugs and dosages. In : The Laboratory Rat, vol 1, New York, Academic Press, 1979 ; 413-421.
- 16) Pellegrino LJ, Pellegrino AS, Cushman AJ. A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain. 2nd ed, New York, Plenum, 1979 ; 3-7.
- 17) de Groot J. The rat forebrain in stereotaxic coordinates(1959). cited from Pellegrino LJ, Pellegrino AS, Cushman AJ. A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain, 1979 ; 3-7.
- 18) Jonsson G. Lesion methods in neurobiology. In : Techniques in Neuroanatomical Research, ed by Heym Ch, Forssmann W-G, Berlin, Springer-Verlag, 1981 ; 71-99.
- 19) Huston JP. Ablation and stimulation of the brain. In : Techniques and Basic Experiments for the Study of Brain and Behavior, 2nd ed, ed by Bureš J, Burešová O, Huston JP, Amsterdam, Elsevier, 1983 ; 217-263.
- 20) Dubel J. Excitation of nerve and muscle. In : Fundamentals of Neurophysiology, 3rd ed, ed by Schmidt RF, New York, Springer-Verlag, 1985 ; 19-68.
- 21) Brazier MAB. The propagation of the nervous impulse. In : Electrical Activity of the Nervous System, 4th ed, Baltimore, Williams & Wilkins, 1977 ; 51-65.
- 22) Delgado JMR. Chronic implantation of intracerebral electrodes in animals(1961). cited from Delgado JMR. Depth stimulation of the brain, In : Electrical Stimulation Research Techniques, ed by Patterson MM, Kesner RP, New York, Academic Press, 1981 ; 107-140.
- 23) Ranck JBJr. Extracellular stimulation. In : Electrical Stimulation Research Techniques, ed by Patterson MM, Kesner RP, New York, Academic Press, 1981 ;

- 2-36.
- 24) **Byrne JH.** Intracellular stimulation. In : *Electrical Stimulation Research Techniques*, ed by Patterson MM, Kesner RP, New York, Academic Press, 1981 ; 37-59.
- 25) **Asanuma H.** Microstimulation technique. In : *Electrical Stimulation Research Techniques*, ed by Patterson MM, Kesner RP, New York, Academic Press, 1981 ; 61-70.
- 26) **Park YG, Cheon JS, Lee WH, Kim JH.** Pathways conducting motor evoked potentials in the spinal cord of rat. In : *Society for Neuroscience Abstracts*, vol 16, part 1, Washington DC, Society for Neuroscience, 1990 ; 112.
- 27) **Kim JH, Cheon JS, Park YG, Prado R, Levy WJ.** Electrophysiological assessment of descending motor pathways following spinal cord injury in rat. In : *Society for Neuroscience Abstracts*, vol 15, part 1, Washington DC, Society for Neuroscience, 1989 ; 920.
- 28) **Park YG, Kim JH, Prado R, Holets VR, Cheon JS, Levy WJ.** Characterization of motor evoked potential in the spinal cord injured rat. In : *Society for Neuroscience Abstracts*, vol 15, part 2, Washington DC, Society for Neuroscience, 1989 ; 1238.
- 29) **Cheon JS, Kim JH, Levy WJ.** Characterization of cerebellar evoked potential in rat. In : *Society for Neuroscience Abstracts*, vol 15, part 2, Washington DC, Society for Neuroscience, 1989a ; 1238.
- 30) **Cheon JS, Park YG, Kim JH, Levy WJ.** Pathways conducting cerebellar evoked potentials in the spinal cord of the rat. In : 1989 International Motor Evoked Potential Symposium Abstract, Chicago, 1989b ; 73.
- 31) **Cheon JS, Levy WJ.** Pathways conducting cerebellar evoked potentials in the spinal cord of rat. *J Korean Neuropsychiat Ass* 1991 ; 30(3) : 485-499.
- 32) **Forssmann W-G.** General methods in transmission electron microscopy of the nervous system. In : *Techniques in Neuroanatomical Research*, ed by Heym Ch, Forssmann W-G, Berlin, Springer-Verlag, 1981 ; 21-40.
- 33) **Gruber H.** General methods in light microscopy of the nervous system. In : *Techniques in Neuroanatomical Research*, ed by Heym Ch, Forssmann W-G, Berlin, Springer-Verlag, 1981 ; 3-20.
- 34) **LaBossiere, Glickstein M.** *Histological Processing for the Neural Sciences.* Springfield, Charles C Thomas, 1976 ; 39-43.
- 35) **Clark G, Clark MP.** *A Primer in Neurological Staining Procedures.* Springfield, Charles C Thomas, 1971 ; 28-33.