

## DHEA 투여가 뇌허혈 유발 쥐의 Type I, II 근육에 미치는 효과\*\*\*

안경주\* · 최명애\*\*

- Abstract -

Key words : DHEA, cerebral ischemia, Type I muscle, Type II muscle, muscle atrophy

### Effect of DHEA on Type I and II muscles in a focal cerebral ischemia model rat

An, Gyeong Ju\* and Choe, Myoung-Ae\*\*

The purpose of this study was to determine the effect of DHEA on Type I(soleus) and II muscles(plantaris, gastrocnemius) in a focal brain ischemia model rat.

Thirty-seven male Sprague-Dawley rats with 200~250g body weights were randomly divided into four groups : CINS(cerebral ischemia + normal saline), CIDH(cerebral ischemia + DHEA), SHNS(sham + normal saline), SHDH(sham + DHEA). Both the CINS and CIDH groups were undergone a transient right middle cerebral artery occlusion operation. In the SHNS and SHDH groups, a sham operation was done. DHEA was administered daily at a dose of 0.34mmol/kg, and normal saline was administered daily at the same dose by intraperitoneal injection for 7days after operation. Cerebral infarction in the CINS and CIDH groups was identified by staining with 2% triphenyltetrazolium chloride solution for 60 minutes. The data were analyzed by Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U test using the SPSSWIN 9.0 program.

The results were summarized as follows :

1) The muscle weights of soleus(Type I), plantaris and gastrocnemius(Type II) in CINS

\* Doctoral Graduate, College of Nursing, Seoul National University

\*\* Professor, College of Nursing, Seoul National University

\*\*\* 2002년 8월 서울대학교 박사학위논문임

group were significantly less than those of the SHNS group( $p < .01$ ). The muscle fiber cross-sectional area of the CINS group was significantly less than that of the SHNS group in Type I muscle fiber of the soleus and Type II muscle fiber of the plantaris and gastrocnemius( $p < .05$ ). The myofibrillar protein content of the CINS group was significantly less than that of the SHNS group in the left gastrocnemius and right soleus( $p < .05$ ).

- 2) The muscle weights of the soleus, plantaris and gastrocnemius except the unaffected side of the plantaris in the CIDH significantly increased compared to those of the CINS group( $p < .05$ ). The muscle fiber cross-sectional area of the CIDH group significantly increased compared to that of the CINS group in Type II muscle fiber of the plantaris and gastrocnemius( $p < .05$ ). The myofibrillar protein content of the CIDH group significantly increased compared to that of the CINS group in the left soleus( $p < .05$ ).
- 3) On the post-op 8 day, the body weight of the CINS group was significantly less than that of the CIDH, SHNS and SHDH groups( $p < .01$ ). Total diet intake of the CINS and CIDH groups was significantly less than that of the SHNS and SHDH groups( $p < .01$ ).

Based on these results, it was identified that muscle atrophy could be induced during the 7 days after cerebral infarction, and DHEA administration during the early stage of cerebral infarction might attenuate muscle atrophy.

## I. 서론

### 1. 연구의 필요성

뇌졸중은 뇌의 순환장애로 인해 주위 뇌조직의 부종과 뇌세포 허혈이 발생하여 운동 장애, 감각 장애, 인지 장애 및 언어 장애 등을 수반하는 뇌혈관 질환이다(전중선, 전세일, 박승현, 백소영 및 김동아, 1998). 특히, 뇌졸중이 일어난 부위에 따라 연하곤란이나 식욕부진이 유발되어 영양부족 상태에 이르게 되며(Dennis, 2000), 반대측 사지의 편마비로 인한 운동 장애로 활동이 저하됨으로써 점차 근원섬유 숫자가 감소하고 근섬유 횡단면적이 작아져서 근육 질량이 소실되는 근위축을 초래하게 된다(Chokroverty, Reyes, Rubino, & Barron,

1976 ; Scelsi, Lotta, Lommi, & Marchetti, 1984). 뇌졸중 발생 후 편마비가 초래된 환자에서 환측 하지들레가 정상측보다 감소하며(Chokroverty et al., 1976), 외측광근 근섬유 직경이 작아졌음을 관찰하여(Kenji, Yuichi, & Hajime, 1997) 뇌졸중 발생 후 편마비로 인해 근위축이 초래됨을 보고한 바 있다. 동물 모형을 이용한 연구에서도 탈신경(denervation)이 유발되면 족척근의 Type II 근원섬유 크기가 감소되었고(Haddad, Arnold, Zeng, & Baldwin, 1997), 뇌졸중 유발 후 7일 동안에 쥐의 근육 무게가 감소하여 근위축이 유발되었음을 확인하였다(안경주, 이윤경, 임지희, 최스미 및 최명애, 2000).

근위축은 뇌졸중 환자의 일상생활활동에 장애를 주며 신체를 뇌졸중 발병 전 상태로 회복시키는 데 소요되는 시간을 연장시키므로 뇌졸중 치료의 필수 과정인 재활요법의 수행에 있어 저해 요

인으로 지적되고 있다(Bourbonnais & Noven, 1989). Jorgensen과 Jacobson(2001)은 뇌졸중 발생 후 2개월에 환측 하지 근육무게가 6% 이상 소실되었음을 관찰하였고 이러한 근위축 상태는 회복이 어려우므로 근위축을 뇌졸중 초기에 경감시켜야 된다는 필요성을 제시하였으나, 뇌졸중 발병부터 재활치료를 시작하기까지의 기간은 1주 이내가 30%, 1주 이후가 70%로 나타나 대부분의 환자에서 재활과 관련된 치료가 뇌졸중 발병 초기부터 시작되지 않아 장애를 경감시키려는 시도가 지연되는 것으로 나타났다(조성찬, 최경효, 이동재 및 하상배, 1998). 또한, 대부분의 뇌졸중 관련 근위축 연구가 뇌졸중 발생 후 1~6개월 이상 경과된 환자들을 대상으로 이미 근위축이 진행된 상태를 보고하였거나 이 시기에 등속성 운동이나 트레드밀 운동을 적용하여 그 효과를 규명한 것이 대부분이었다(신지철, 윤태식, 전세일, 김민영 및 임길병, 1994; Chokroverty et al., 1976; Scelsi et al., 1984). 따라서 뇌졸중 발생 직후 초기의 근위축 진행이나 근위축 경감방안에 관한 연구는 동물모형을 이용하여 뇌졸중 초기에 유발되는 근위축을 뇌졸중 발생 직후 초기 7일간 트레드밀을 이용한 지구력운동을 수행하게 함으로써 근육무게를 증가시킬 수 있다고 제시한 연구(안경주 등, 2000) 외에는 거의 이루어지지 않았다.

뇌졸중 발생 초기부터 운동 등 재활치료가 필수적이지만 임상적으로 뇌졸중 발생 초기의 무의식 환자나 움직임의 장애가 심한 환자인 경우에는 이러한 운동을 적용하기에 어려움이 있으므로 이들에게 적용가능한 근위축 경감 방안의 하나가 Dehydroepiandrosterone(DHEA)의 투여라고 본다.

DHEA는 대부분 부신에서 분비되는 스테로이드 호르몬으로 체지방을 감소시키고 단백질 합성을 증진시켜 체단백질을 증가시킨다고 알려져 있다(Nestler, Barlaschini, Clore, & Blackard, 1988; Tagliaferro, Davis, Truchon, & Hamont, 1986). 특히, DHEA는 미국 식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)에서 의사의 처방이 필요없는 over the counter(OTC) 의약품으로 허가하고

있다(정윤석, 1997).

DHEA 투여로 인한 단백질 합성의 증가에 대한 연구들은 대부분이 정상 성인(Brown, et al., 1999; Nestler et al., 1988) 또는 정상 노인(Morales et al., 1998; Yen et al., 1995)을 대상으로 수행되었고, 병리적 상황에서는 근긴장성 이영양증 환자(Sugino et al., 1998; Tsuji, Furutama, & Ohsawa, 1999) 또는 스테로이드 유발성 근위축 쥐를 대상으로 이루어진 연구였으며(최명애, 신기수, 이은주 및 안경주, 2001; Robinzon & Cutolo, 1999), 뇌졸중에 의해 유발된 근위축에 대해 DHEA를 적용한 연구는 국내외적으로 거의 없는 실정이다. 이런 맥락에서 뇌졸중 환자를 대상으로 DHEA를 투여하여 근위축이 경감되는지를 규명할 필요성이 증대되었으며, DHEA의 투여효과를 순수하게 규명하기 위해서는 뇌졸중을 동일한 방법에 의해 유발시키고 동시에 침범된 범위를 확인할 수 있는 동물 모형이 필요하다.

따라서 본 연구에서는 뇌허혈 유발 모형을 이용하여 DHEA의 근위축 경감 효과를 규명하고자 한다. 특히, 근위축이 상지보다 체중부하가 많은 하지에서 더 빠른 시간내에 심하게 진행되므로(최명애, 1991) 본 연구에서는 하지의 Type I 근육인 가자미근(soleus muscle) 및 Type II 근육인 족척근(plantaris muscle)과 비복근(gastrocnemius)에 미치는 영향을 규명하고자 한다.

## 2. 연구의 목적

본 연구에서는 DHEA를 뇌허혈 유발 쥐에 7일간 투여하여 Type I 근육인 가자미근(soleus muscle), Type II 근육인 족척근(plantaris muscle)과 비복근(gastrocnemius muscle)에 미치는 영향을 규명하고자 하며, 구체적인 연구 목표는 다음과 같다.

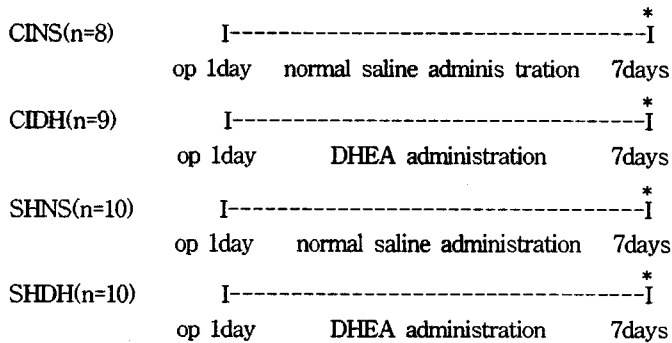
- 1) 뇌허혈 발생 7일 후 Type I, II 근육의 근위축이 유발되는가를 규명한다.
- ① 뇌허혈 발생 7일 후 Type I, II 근육 무게가 감소되는지를 규명한다.

- ② 뇌허혈 발생 7일 후 Type I, II 근육의 근섬유 횡단면적이 감소되는지를 규명한다.
  - ③ 뇌허혈 발생 7일 후 Type I, II 근육의 근원섬유 단백질 함량이 감소되는지를 규명한다.
- 2) 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 Type I, II 근육에 유발되는 근위축을 경감시키는지를 규명한다.
- ① 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 Type I, II 근육 무게를 증가시키는지를 규명한다.
  - ② 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 Type I, II 근육의 근섬유 횡단면적을 증가시키는지를 규명한다.
  - ③ 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 Type I, II 근육의 근원섬유 단백질 함량을 증가시키는지를 규명한다.

## II. 연구방법

### 1. 연구 대상

체중 200~250g의 8주령 male Sprague-Dawley



\* Muscle dis section & brain section

op : cerebral ischemia and sham operation

DHEA : dehydroepiandrosterone

CINS : cerebral ischemia with normal saline administration

CIDH : cerebral ischemia with DHEA administration

SHNS : sham with normal saline administration

SHDH : sham with DHEA administration

Figure 1. Experimental design

rats(Daehan Experimental Animal Co., Korea) 37 마리를 실험 대상으로 사용하였다. 연구대상 쥐들은 동일한 환경에 수용하였으며 24시간 생체주기(circadian rhythm)를 위해 12시간은 밝고 12시간은 어둡도록 조명을 조정하였다. 모든 연구대상 쥐들에게 고휘사료(Samyang Co., Korea)와 물은 마음대로 먹을 수 있게 하였다.

### 2. 연구 설계

Figure 1에 제시된 바와 같이 실험동물은 CINS군, CIDH군, SHNS군, SHDH군의 4군으로 무작위 배정하였다. CINS군은 뇌허혈 유발 후 다음날부터 7일간 생리식염수를 투여받은 군이고, CIDH군은 뇌허혈 유발 후 7일간 DHEA를 투여받은 군이며, SHNS군은 모의수술 후 7일간 생리식염수를 투여받은 군이고, SHDH군은 모의수술 후 7일간 DHEA를 투여받은 군이다. 네 군 모두 수술 후 7일 경과 후에 Type I 근육인 가자미근과 Type II 근육인 족척근, 비복근을 절제하였고 뇌를 적출하였다.

### 3. 실험 방법

#### 1) 뇌허혈 유발

본 연구에서는 Nagasawa와 Kogure(1989)가 개발한 국소 뇌허혈 모형(focal cerebral ischemia model)을 이용하였다(Figure 2).

1.5% enflurane을 혼합한 마취가스로 전신마취를 시킨 후 쥐의 우측 총경동맥(common carotid artery)을 노출시키고 내경동맥(internal carotid artery)을 분리하였다. 내경동맥 위쪽에 미세하게 절개를 하고 1.8cm 길이의 나일론 봉합사에 실리콘으로 코팅한 probe를 삽입하여 2시간 동안 우측 중뇌동맥(middle cerebral artery)으로 가는 뇌혈류를 폐색시켰다. 뇌혈류 폐색 2시간 경과 후에 probe를 제거한 후 재관류시키고 수술 부위를 봉합하였다.

뇌허혈 수술 후 8일째에는 뇌허혈 유발로 뇌경색이 어느 정도 발생되었는지 확인하기 위해 쥐를 단두하여 뇌를 적출하였고, 적출한 뇌는 뇌 절편기구(brain slicer)를 이용하여 2mm 두께로 7개

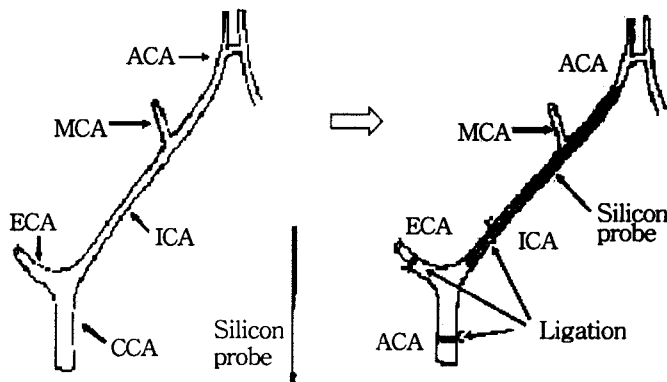
의 조각으로 절제하여 2% triphenyltetrazolium chloride(TTC) 용액에 넣어 실온에서 60분간 염색하였다(Benderson, Pitts, Nishimura, Davis & Bartkowski, 1986). 정상조직인 경우에는 적색으로 염색이 되지만 경색 부위는 염색이 되지 않아 하얗게 나타나게 되므로 뇌경색 면적을 확인할 수 있었다(Figure 3).

#### 2) 모의수술(Sham operation)

뇌허혈 유발수술군과 동일한 방법으로 마취하여 뇌혈관을 노출시킨 후 뇌혈류를 폐색시키지 않고 재봉합하는 수술이다.

#### 3) DHEA 투여

Ethanol 5ml와 MCT(medium-chain triglycerides) oil 45ml를 혼합한 용액에 DHEA(5-androsten-3 $\beta$ -ol-17-one, Sigma, USA) 1.25g을 용해시켜 주사액으로 만든 후, 뇌졸중 유발 수술 다음날부터 SHDH군과 CIDH군에 0.34mmol/kg of body weight의 용량으로 1회/일, 7일간 복강내 주사(intraperitoneal injection)하였다.



ACA, anterior cerebral artery ; MCA, middle cerebral artery ; ICA internal cerebral artery ; ECA, external cerebral artery ; CCA, common carotid artery

Figure 2. Focal cerebral ischemia model. This figure shows that the occlusion using silicon probe obstructs the blood flow to MCA in focal cerebral ischemia model, which is developed by Nagasawa and Kogure(1989). This figure was cited from Park (2002).

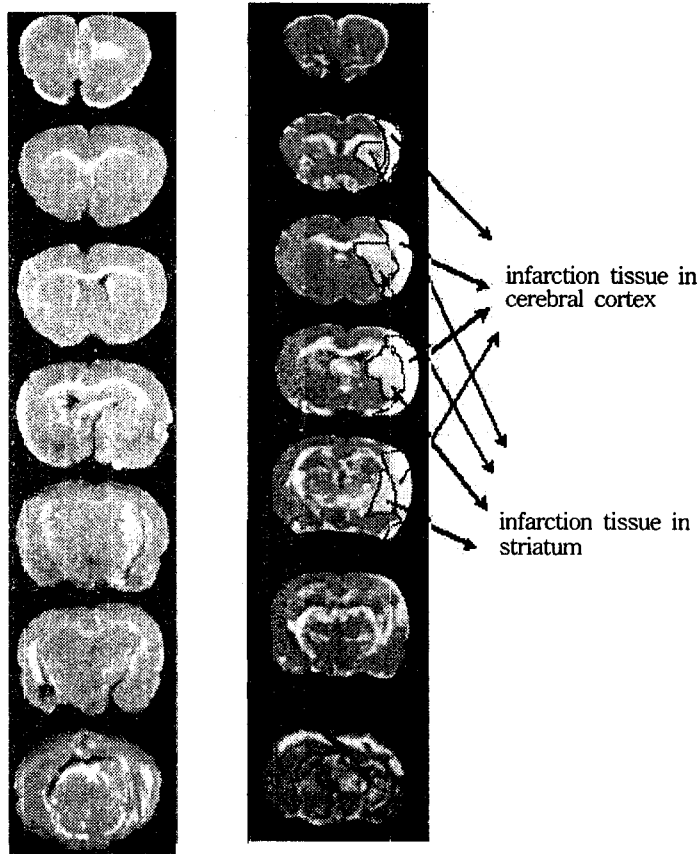


Figure 3. Brain tissue in sham and cerebral ischemia rats. These figures represent that difference of brain tissue between sham rats(left) and cerebral ischemia rats(right). Infarction tissue appears as white whereas normal tissue appears as grey.

#### 4. 측정 방법

##### 1) 근육무게 측정

실험 마지막 날에 pentobarbital sodium을 50~70mg/kg의 용량으로 복강내 주사로 투여하여 마취시켰다. 양쪽 뒷다리에서 가자미근, 족척근, 비복근을 절제하여 생리식염수로 세척하고 지방 조직과 결체조직을 신중히 잘라내어 microbalance (Mettler PE160, USA)에서 무게를 측정하였다.

##### 2) Type I, II 근섬유의 비율과 횡단면적 측정

근섬유 형태를 Type I과 Type II로 구분하기 위해 myosin-ATPase(adenosinotriphosphatase) 조직화학법을 실시하였다(이동규, 손낙원, 정동식, 조성계 및 진영수, 1990). 이 근육표본을 광학현미경(BH-2, Olympus, Japan)으로 보아 어둡게 보이는 근섬유는 Type I, 밝게 보이는 근섬유는 Type II로 분류하였다(Brooke & Kaiser, 1970). 근섬유의 단면적은 microscopic image analyzer(LECO 2001 Image Analysis System)를 이용하여 100배의 배율하에 최소한 50~100개의 근섬유를 측정하

여 Type I, II 근섬유의 유형별 횡단면적과 상대적 분포비율을 산출하였다.

### 3) 근원섬유의 단백질 함량 측정

단백질 정량은 분광광도계(spectrophotometer, UV1601, SHIMADZU, Japan)를 이용하여 Serva Blue G dye가 함유된 Bio-Rad(Bio-Rad Laboratories, USA) 1ml를 10 $\mu$ l의 sample을 100배 희석한 용액에 혼합하여 Bradford assay 방법으로 분석하였다(Bollag, Rozycki, & Edelstein, 1996). 소혈청 알부민(bovine serum albumin)을 표준용액으로 이용하여 분광광도계에서 나타난 흡광도(absorbance, A595) 수치( $\mu$ g/ml)를 읽어 해당 근육의 단백질 함량(mg/g)을 산출하였다.

## 5. 자료수집절차

실험에 이용된 쥐들은 3일간 실험실 환경에 적응하는 기간을 두었다. 뇌허혈 유발수술 전일부터 매일 체중과 사료섭취량을 측정하였고, 실험 마지막 날에 체중을 측정한 후 근육을 절제하고 뇌를

## 6. 자료분석

수집된 자료는 SPSSWIN 9.0 프로그램을 이용하여 각 군의 체중, Type I, II 근육무게, Type I, II 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량, 사료섭취량은 평균과 표준편차로 나타내었다. 네 군의 차이는 Kruskal-Wallis test로 분석하였으며 두 군간의 차이는 Mann-Whitney U test를 통해 분석하였다. 모든 통계적 유의수준은 p<.05에서 채택하였다.

## III. 연구결과

### 1. Type I, II 근육 무게

뇌허혈 유발 후 8일에 하지에서 절제한 Type I, II 근육무게는 Table 1에 제시된 바와 같이 네 군의 양측 가자미근, 족척근, 비복근에서 모두 유의

Table 1. Muscle weight in four groups

Group	Left(affected)			Right(unaffected)		
	Soleus	Plantaris	Gastrocnemius	Soleus	Plantaris	Gastrocnemius
CINS (n=8)	79 $\pm$ 7.0 <sup>^</sup>	191 $\pm$ 10 <sup>^</sup>	969 $\pm$ 78 <sup>^</sup>	87 $\pm$ 11.3 <sup>^</sup>	206 $\pm$ 19 <sup>^</sup>	1009 $\pm$ 66 <sup>^</sup>
CIDH (n=9)	97 $\pm$ 5.1 <sup>+</sup>	216 $\pm$ 14 <sup>+</sup>	1178 $\pm$ 130 <sup>+</sup>	101 $\pm$ 5.8 <sup>+</sup>	222 $\pm$ 11	1257 $\pm$ 130 <sup>+</sup>
SHNS (n=10)	100 $\pm$ 6.6	238 $\pm$ 22 <sup>#</sup>	1306 $\pm$ 116 <sup>#</sup>	103 $\pm$ 11.1	243 $\pm$ 29	1351 $\pm$ 169
SHDH (n=10)	101 $\pm$ 7.5	257 $\pm$ 19	1345 $\pm$ 83	104 $\pm$ 9.3	248 $\pm$ 25	1382 $\pm$ 97

Values are mean $\pm$ SD(mg)

n : number of animals

CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration

CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration

SHNS : Sham with normal saline administration

SHDH : Sham with DHEA administration

p<.05 + : Significant between CINS & CIDH

^ : Significant between CINS & SHNS

# : Significant between CIDH & SHNS

한 차이를 나타내었다.

뇌허혈 유발로 CINS군의 근육무게가 감소했는지를 SHNS군과 비교분석한 결과, CINS군의 환측 가자미근, 족척근, 비복근 무게는 SHNS군에 비해 감소하였고(p=.001), CINS군의 정상측 가자미근 무게 87±11.3mg이 SHNS군의 103±11.1mg보다 감소하였고(p=.010), 정상측 족척근 무게에서 CINS군의 206±19mg은 SHNS군의 243±29mg에 비해 감소하였으며(p=.008), 정상측 비복근 무게도 CINS군의 1009±66mg이 SHNS군의 1351±169mg에 비해 감소하였다(p=.001).

DHEA 투여로 CIDH군의 근육무게가 증가했는지를 CINS군과 비교분석한 결과, 환측 가자미근 무게는 CIDH군의 97±5.1mg이 CINS군의 79±7.0mg보다 증가하였다(p=.004). 환측 족척근 무게에서 CIDH군의 216±14mg은 CINS군의 191±10mg에 비해 증가하였으며(p=.012) 환측 비복근 무게는 CIDH군의 1178±130mg이 CINS군의 969±78mg에

비해 증가하였다(p=.001). 정상측 가자미근 무게는 CIDH군의 101±5.8mg이 CINS군의 87±11.3mg보다 증가하였으며(p=.001), 정상측 비복근 무게는 CIDH군의 1257±130mg이 CINS군의 1009±66mg에 비해 증가하였다(p=.030).

DHEA투여가 근육무게를 어느 정도 회복시키는지 CIDH군과 SHNS군을 비교분석한 결과, CIDH군의 근육무게는 SHNS군에 비해 환측 족척근과 비복근에서 각각 9.8%, 10.9% 유의하게 작은 것으로 나타나 정상치로 회복하지 못하였다.

## 2. Type I, II 근섬유 유형별 비율과 횡단면적

### (1) 가자미근

가자미근의 근섬유 횡단면적은 Table 2에서 보는 바와 같이 네 군의 환측과 정상측 Type I 근

Table 2. Muscle fiber type proportion and cross-sectional area of soleus muscle

Group	Left(affected)				Right(unaffected)			
	Proportion(%)		Cross-sectional area( $\mu\text{m}^2$ )		Proportion(%)		Cross-sectional area( $\mu\text{m}^2$ )	
	Type I	Type II	Type I	Type II	Type I	Type II	Type I	Type II
CINS (n=8)	93.0±2.0	7.0±2.4	3142±581 <sup>^</sup>	650±210	86.9±2.1	13.1±2.1	3337±536 <sup>^</sup>	847±213
CIDH (n=9)	87.1±4.9	12.9±4.9	3208±456	973±254	82.5±5.0	17.5±5.0	3313±408	972±274
SHNS (n=10)	89.6±2.9	10.4±2.9	3567±788	976±298	89.1±2.4 <sup>#</sup>	10.9±2.4 <sup>#</sup>	4232±672 <sup>#</sup>	883±238
SHDH (n=10)	89.3±2.1	10.7±2.1	3843±450 <sup>@</sup>	990.±349	90.6±1.6	9.4±1.6	4094±683	906±303

Values are mean±SD

n : numbers of animals

CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration

CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration

SHNS : Sham with normal saline administration

SHDH : Sham with DHEA administration

p<.05 <sup>^</sup> : Significant between CINS & SHNS

<sup>#</sup> : Significant between CIDH & SHNS

<sup>@</sup> : Significant between SHNS & SHDH



섬유에서 유의한 차이가 나타났다. 네 군의 Type I, II 근섬유 유형별 비율은 정상측에서 유의한 차이를 보였다.

환측 가지미근의 Type I 근섬유 횡단면적에서 CINS군의  $3142 \pm 581 \mu\text{m}^2$ 은 SHNS군의  $3567 \pm 788 \mu\text{m}^2$ 에 비해 12% 감소되었으며( $p=.036$ ), 정상측 가지미근 Type I 근섬유 횡단면적은 CINS군의  $3337 \pm 536 \mu\text{m}^2$ 이 SHNS군의  $4232 \pm 672 \mu\text{m}^2$ 에 비해 21% 감소한 것으로 나타났다( $p=.036$ ).

DHEA 투여로 CIDH군의 Type I, II 근섬유 횡단면적이 CINS군에 비해 증가하였는지를 비교분석한 결과 유의한 차이가 나타나지 않았다. Figure 4에 나타난 바와 같이 환측 가지미근 Type I 근섬유 비율에서 CIDH군의 87.1%는 CINS군의 93.0%에 비해 감소하는 경향을 나타내었고 Type II 근섬유 비율은 CIDH군의 12.9%가 CINS군의 7.0%에 비해 증가하는 경향을 나타내었다.

DHEA투여가 Type I, II 근섬유 횡단면적을 어느 정도 회복시키는지를 분석한 결과, 정상측 Type I 근섬유 횡단면적은 CIDH군의  $3313 \pm 408 \mu\text{m}^2$ 이 SHNS군의  $4232 \pm 672 \mu\text{m}^2$ 와 비교하여 유의한 차이가 있는 것으로 나타나( $p=.025$ ) 정상치로 회복하지 못하였다.

또한, DHEA 투여로 SHDH군의 Type I, II 근섬유 횡단면적이 SHNS군에 비해 증가하였는지를 분석한 결과, 환측 Type I 근섬유 횡단면적은 SHDH군의  $3843 \pm 450 \mu\text{m}^2$ 이 SHNS군의  $3567 \pm 788 \mu\text{m}^2$ 보다 증가하였다( $p=.032$ ).

## (2) 족척근

족척근의 근섬유 횡단면적은 Table 3에서 보는 바와 같이 네 군의 환측과 정상측의 Type II 근섬유 횡단면적에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다( $p=.008$ ,  $p=.008$ ). 환측 족척근 Type II 근섬유 횡단면적은 CINS군의  $2538 \pm 189 \mu\text{m}^2$ 이 SHNS군의  $3733 \pm 146 \mu\text{m}^2$ 에 비해 32% 감소하였으며( $p=.036$ ), 정상측 족척근 Type II 근섬유 횡단면적은 CINS군의  $3608 \pm 278 \mu\text{m}^2$ 이 SHNS군의  $4187 \pm 101 \mu\text{m}^2$ 에 비해 21% 감소하였다( $p=.036$ ).

DHEA 투여로 CIDH군의 Type I, II 근섬유 횡단면적이 CINS군에 비해 증가하였는지를 분석한 결과, Figure 5에 제시된 바와 같이 환측 족척근 Type II 근섬유 횡단면적은 CIDH군의  $3442 \pm 264 \mu\text{m}^2$ 이 CINS군의  $2538 \pm 189 \mu\text{m}^2$ 에 비해 35.6% 증가하였다( $p=.049$ ).

DHEA투여가 Type I, II 근섬유 횡단면적을 어느 정도 회복시키는지 분석한 결과, 정상측 Type

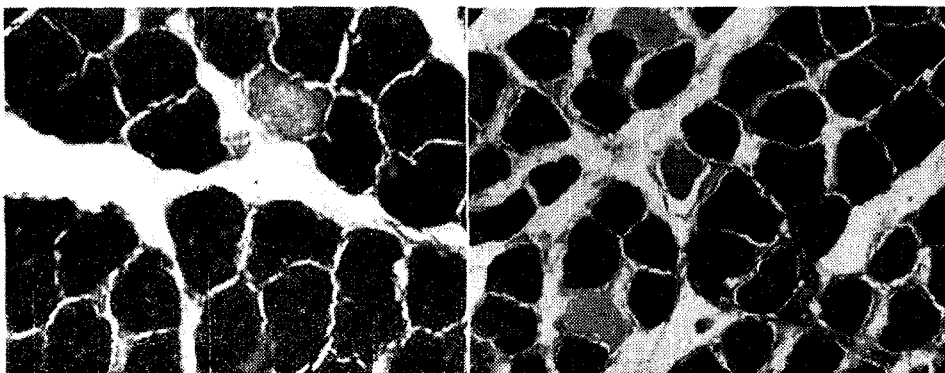


Figure 4. Left(affected) soleus muscle in CINS & CIDH rats. CINS: Cerebral ischemia with normal saline administration ; CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration. This figure represents Type I and II muscle fibers of the soleus in CINS rats on the left and that of CIDH rats on the right. Affected soleus muscle shows variation in proportion of Type II muscle fiber. Type I muscle fibers are dark and Type II muscle fibers are light(ATPase stain, X 100).

Table 3. Muscle fiber type proportion and cross-sectional area of plantaris muscle

Group	Left(affected)				Right(unaffected)			
	Proportion(%)		Cross-sectional area( $\mu\text{m}^2$ )		Proportion(%)		Cross-sectional area( $\mu\text{m}^2$ )	
	Type I	Type II	Type I	Type II	Type I	Type II	Type I	Type II
CINS (n=8)	18.3±9.6	81.7±9.6	1193±224	2538±189 <sup>^</sup>	15.2±3.7	84.8±12.5	892±189	3608±278 <sup>^</sup>
CIDH (n=9)	13.4±2.4	86.6±2.4	881±161	3442±264 <sup>+</sup>	18.9±8.2	81.1±8.2	896±122	3795±165
SHNS (n=10)	19.9±3.2 <sup>#</sup>	80.1±3.2 <sup>#</sup>	958±191	3733±146	14.7±1.6	85.3±1.6	813±214	4187±101 <sup>#</sup>
SHDH (n=10)	14.8±6.0	85.2±6.0	850±266	4089±338	14.3±2.8	85.7±2.8	886±170	4420±248

Values are mean±SD

n : number of animals

CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration

CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration

SHNS : Sham with normal saline administration

SHDH : Sham with DHEA administration

p<.05 + : Significant between CINS & CIDH

^ : Significant between CINS & SHNS

# : Significant between CIDH & SHNS

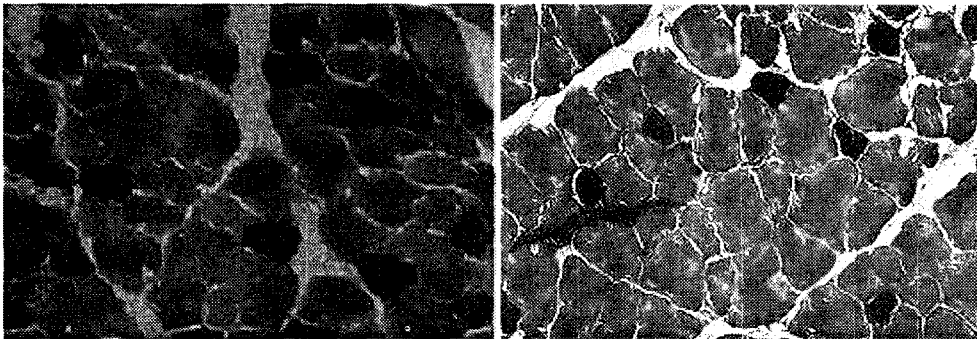


Figure 5. Left(affected) plantaris muscle in CINS & CIDH rats. CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration ; CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration. This figure represents Type I and II muscle fiber of plantaris in CINS rats on the left and that of CIDH rats on the right. Affected plantaris muscle shows variation in proportion of Type II muscle fibers between CINS and CIDH. Type I muscle fibers are dark and Type II muscle fibers are light(ATPase stain, X 100).

II 근섬유 횡단면적은 CIDH군의  $3795 \pm 165 \mu\text{m}^2$ 이 가 있는 것으로 나타나( $p=.025$ ) 정상치로 회복하 SHNS군의  $4187 \pm 101 \mu\text{m}^2$ 와 비교하여 유의한 차이 지 못하였다.

### (3) 비복근

비복근(gastrocnemius)의 근섬유 횡단면적은 Table 4에서 보는 바와 같이 네 군의 환측과 정상측의 Type II 근섬유에서 유의한 차이를 나타냈다( $p=.026$ ,  $p=.024$ ). 환측 비복근 Type II 근섬유 횡단면적은 CINS군의  $3063\pm485\mu\text{m}^2$ 이 SHNS군의  $4673\pm939\mu\text{m}^2$ 에 비해 34.5% 감소하였으며( $p=.029$ ), 정상측 비복근 Type II 근섬유 횡단면적은 CINS군의  $2727\pm403\mu\text{m}^2$ 이 SHNS군의  $5158\pm602\mu\text{m}^2$ 에 비해 47.2% 감소하였다( $p=.001$ ).

DHEA 투여로 CIDH군의 Type I, II 근섬유 횡단면적이 CINS군에 비해 증가하였는지를 분석한 결과 Figure 6에 제시된 바와 같이 환측 비복근 Type II 근섬유 횡단면적은 CIDH군의  $5426\pm968\mu\text{m}^2$ 이 CINS군의  $3063\pm485\mu\text{m}^2$ 에 비해 77.1% 증가하였으며( $p=.014$ ), 정상측 비복근 Type II 근섬유

횡단면적은 CIDH군의  $4748\pm564\mu\text{m}^2$ 가 CINS군의  $2727\pm403\mu\text{m}^2$ 에 비해 74.1% 증가하였다( $p=.004$ ). DHEA투여가 Type I, II 근섬유 횡단면적을 어느 정도 회복시키는지를 분석한 결과, CIDH군과 SHNS군간에 양측 비복근의 Type I, II 근섬유 횡단면적은 유의한 차이가 없는 것으로 나타나 정상치로 회복된 것으로 볼 수 있다.

### 3. Type I, II 근육의 근원섬유 단백질 함량

Type I, II 근육의 근원섬유 단백질 함량은 Table 5에 제시된 바와 같이 네 군의 환측과 정상측 가자미근에서 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

뇌허혈 유발로 CINS의 근원섬유 단백질 함량이 감소되는지를 분석한 결과, 환측 비복근의 근원섬유 단백질 함량에서 CINS군의  $324.3\pm16.5\text{mg/g}$

Table 4. Muscle fiber type proportion and cross-sectional area of gastrocnemius muscle

Group	Left(affected)				Right(unaffected)			
	Proportion(%)		Cross-sectional area( $\mu\text{m}^2$ )		Proportion(%)		Cross-sectional area( $\mu\text{m}^2$ )	
	Type I	Type II	Type I	Type II	Type I	Type II	Type I	Type II
CINS (n=8)	23.9±8.9	76.1±8.9	1307±228	3063±485 <sup>^</sup>	22.7±3.2	77.3±3.2	1256±128	2727±403 <sup>^</sup>
CIDH (n=9)	19.9±15.5	80.1±15.5	1062±919	5426±968 <sup>+</sup>	13.8±5.4	86.2±5.4	801±421	4748±564 <sup>+</sup>
SHNS (n=10)	24.2±13.6	75.8±13.6	1680±720	4673±939	15.2±4.4	84.8±4.4	1013±295	5158±602
SHDH (n=10)	15.1±9.4	84.9±9.4	1087±511 <sup>@</sup>	5773±927	15.1±6.9	84.9±6.9	1006±500	5484±518

Values are mean±SD

n : number of animals

CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration

CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration

SHNS : Sham with normal saline administration

SHDH : Sham with DHEA administration

$p<.05$  . + : Significant between CINS & CIDH

^ : Significant between CINS & SHNS

@ : Significant between SHNS & SHDH

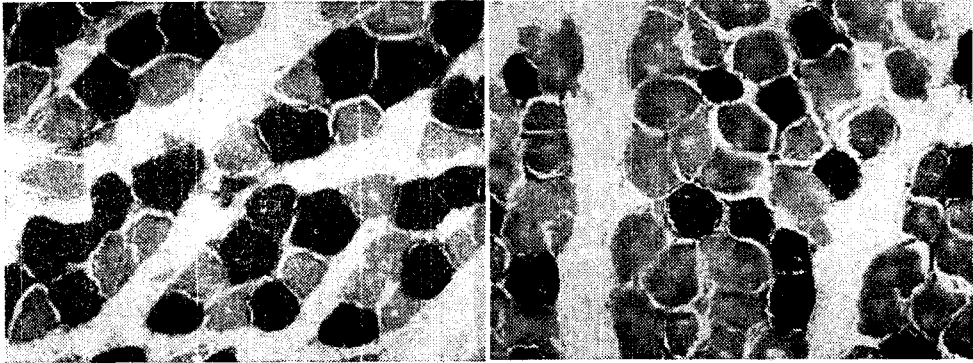


Figure 6. Left(affected) gastrocnemius muscle in CINS & CIDH rats. CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration, CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration. This figure represents Type I and II muscle fiber of gastrocnemius in CINS rats on the left and that of CIDH rats on the right. Affected gastrocnemius muscle shows variation in proportion between Type I and Type II muscle fibers. The number of Type II muscle fibers in CINS rats are less than that of CIDH rats. Type I muscle fibers are dark and Type II muscle fibers are light(ATPase stain, X 100).

Table 5. Myofibrillar protein content of Type I and II muscles

Group	Left(affected)			Right(unaffected)		
	Soleus)	Plantaris	Gastrocnemius	Soleus	Plantaris	Gastrocnemius
CINS (n=4)	48.9±14.5	72.9±3.3	324±16.5 <sup>^</sup>	51.0±4.3 <sup>^</sup>	74.4±3.7	331±9.7
CIDH (n=5)	65.0±5.3 <sup>+</sup>	76.7±10.0	328±27.2	63.3±11.4 <sup>+</sup>	76.2±6.9	337±24.4
SHNS (n=5)	59.2±10.7	78.9±3.3	342±6.3	63.3±9.9	77.7±3.5	327±11.6
SHDH (n=5)	63.6±5.9	78.3±4.4	330±8.4	60.9±7.8	78.8±3.5	331±15.3

Values are mean±SD(mg/g)

n : number of animals

CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration

CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration

SHNS : Sham with normal saline administration

SHDH : Sham with DHEA administration

p<.05 + : Significant between CINS & CIDH

^ : Significant between CINS & SHNS

은 SHNS군의 342.5±6.3mg/g에 비해 감소하였으며(p=.049), 정상측 가자미근 근원섬유 단백질 함량은 CINS군의 51.0±4.3mg/g이 SHNS군의 63.3±9.9mg/g에 비해 감소하였다(p=.038).

DHEA 투여로 CIDH군의 Type I, II 근육의 근원섬유 단백질 함량이 CINS군에 비해 증가하였는지를 분석한 결과, 환측 가자미근의 근원섬유 단백질 함량은 CIDH군의 65.0±5.3mg/g이 CINS군의

48.9±14.5mg/g에 비해 35% 증가하였다(p=.032).

DHEA 투여가 뇌허혈로 인한 근원섬유 단백질 함량 저하를 어느 정도 회복시키는지 분석한 결과, CIDH군의 환측과 정상측 근육에서 근원섬유 단백질 함량은 SHNS군과 비교하여 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다.

#### 4. 체 중

네 군의 실험 기간 중 체중변화가 Figure 7에 제시되어 있다. 뇌허혈 유발 후 1일의 체중은 CINS군 242±16.3g, CIDH군 247±16.3g, SHNS군 238±9.9g, SHDH군 235±8.8g으로 네 군 모두 수술 전 체중에 비해 감소하였으나, CIDH군, SHNS군, SHDH군은 수술 후 2일부터 점차 체중이 증가하였다. 그러나 CINS군은 뇌허혈 유발수술 후 1일부터 체중이 저하되어 수술 후 8일까지도 실험 시작시의 체중으로 회복하지 못하였다.

실험시작시의 체중과 근육절제 직전의 체중을 분석한 결과는 Table 6에서 보는 바와 같이, CINS군의 실험시작시 체중 264±17.9g은 근육절제 직전의 체중 238±28.3g과 비교하여 감소되었다(p=.049). CIDH군의 실험시작시 체중 263±13.3g은 근육절제

직전 체중 269±12.1g에 비해 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다. SHNS군의 실험시작시 체중 259±8.9g에 비해 근육절제 직전 체중이 273±11.0g으로 증가하였으며(p=.009) SHDH군의 근육절제 직전 체중은 실험시작시 체중인 262±10.1g에 비해 증가한 것으로 나타났다(p=.005).

Table 6. Pre and post body weight in four groups

Group	Pre-wt	Post-wt	Post-wt /Pre-wt(%)	p
CINS(n=8)	264±17.9	238±28.3	90.1±13.1	.049*
CIDH(n=9)	263±13.3	269±12.1	102.2±3.9	.751
SHNS(n=10)	259±8.9	273±11.0	105.3±4.1	.009*
SHDH(n=10)	262±10.1	277±8.7	105.9±3.8	.005*

\*p<.05 Values are Mean±SD(g)

n : number of animals

CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration

CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration

SHNS : Sham with normal saline administration

SHDH : Sham with DHEA administration

Pre-wt : Body weight at the start of experiment

Post-wt : Body weight on the last day of experiment

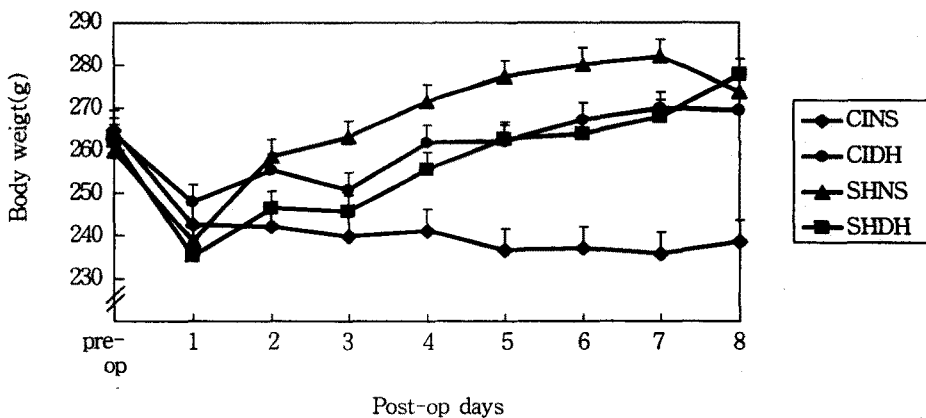
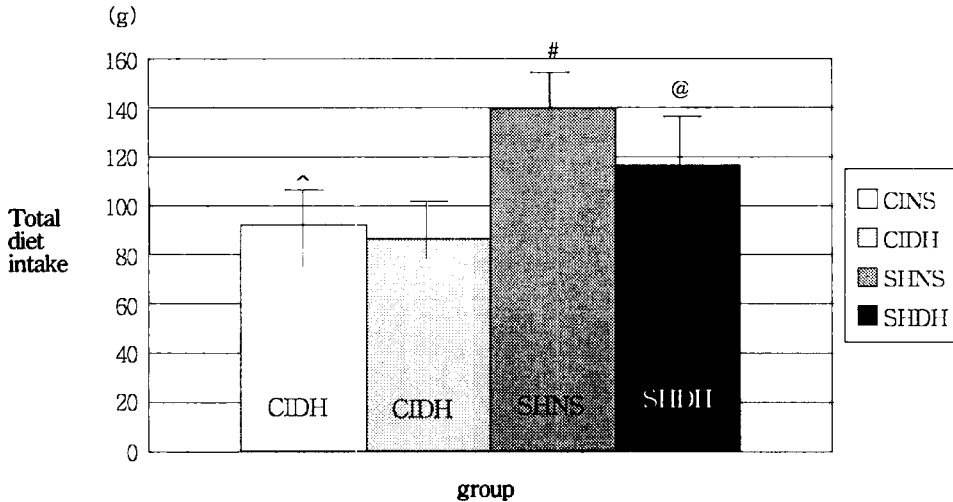


Figure 7. Changes of body weight in four groups. CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration ; CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration ; SHNS : Sham with normal saline administration ; SHDH : Sham with DHEA administration.



Values are mean±SD(g)

p<.05 ^ : Significant between CINS & SHNS

# : Significant between CIDH & SHNS

@ : Significant between SHNS & SHDH

Figure 8. Total diet intake in four groups. CINS : Cerebral ischemia with normal saline administration CIDH : Cerebral ischemia with DHEA administration SHNS : Sham with normal saline administration SHDH : Sham with DHEA administration

### 5. 총사료섭취량

총사료섭취량은 Figure 8에서 보는 바와 같이 CINS군은 91.1±22.1g, CIDH군은 86.9±13.8g, SHNS군은 139.8±9.5g, SHDH군은 114.5±11.6g으로 네 군간에 차이가 있었다(p=.001). CINS군과 CIDH군의 총사료섭취량은 유의한 차이가 없었으며, CINS군의 총사료섭취량은 SHNS군에 비해 감소된 것으로 나타났다(p=.001).

가 SHNS군에 비해 환측이 25.9%, 24.1%, 34.7% 감소하였고 정상측은 18.0%, 17.7%, 33.8%로 감소하여, 뇌경색 발생 7일이라는 급성기 동안에 환측과 정상측 Type I, II 근육의 무게가 감소되어 근위축이 초래되었음을 제시하고 있다.

그러나 CINS군의 환측과 정상측의 근육무게가 유의한 차이가 없는 것으로 나타난 본 연구 결과는 본 연구에서 사용된 중뇌동맥 혈류를 차단하는 Nagasawa와 Kogure(1989)의 국소 뇌허혈 모형으로 하지에 탈신경의 영향을 주지 않았음을 의미한다. 이는 중뇌동맥이 전두엽과 두정엽 외측 부분에 혈류를 공급하고 있기 때문에 중뇌동맥으로 가는 혈류 폐색으로 전두엽의 운동중추에 손상을 입혀 반대측 상지와 하지에 운동 마비가 오지만 그 중에서도 하지보다 상지에 더 큰 영향을 주는 경

## IV. 논 의

### 1. 뇌허혈 발생으로 인한 근 위축

본 연구 결과, CINS군의 Type I 근육인 가자미

우가 많으므로(송계용, 지계근 & 함의근, 1998), 하지에 유의한 영향이 없었던 것으로 생각된다. 그러나 Schneider와 Gautier(1994)가 하지 쇠약이 발생한 63명의 급성 뇌졸중 환자를 조사한 결과에서는 그중 11명이 중뇌동맥 영역이나 중뇌동맥과 전뇌동맥 영역에 병변이 있다고 보고하여 실제로 중뇌동맥 폐색이 하지마비를 유발할 수 있음을 제시하였다. 또한, Dattola 등(1993), Scelsi 등(1984), Chokroverty 등(1976), Kenji 등(1997)은 뇌졸중 후 1개월 이상 경과한 편마비 환자를 대상으로 근육 생검을 통해 Type II 근섬유의 위축을 규명하였으며 이러한 근위축의 원인이 탈신경으로 인한 피질척수로(corticospinal tract)의 단절때문이라고 보고하였다. 이와 같이 뇌졸중 후 1개월 이상 경과한 환자들에서 탈신경성 근위축이 관찰되었으므로 뇌졸중 발생 후 탈신경성 근위축이 뇌졸중 발생 후 1개월 이상 경과한 경우에 나타난다는 사실을 시사하고 있다. 따라서 본 연구기간인 뇌허혈 유발 직후 7일 동안에는 탈신경성 하지마비가 현저하게 나타나지 않았을 것으로 생각된다.

그러나 뇌허혈 유발 후 7일동안 매일 관찰한 바에 의하면 뇌허혈 유발 쥐들의 환측 상지는 유의하게 구부러져 있어 바닥을 딛을 수 없을 정도였으며 뇌허혈 유발 쥐들의 활동량은 모의수술군에 비해 현저하게 저하되어 있었다. 따라서 본 연구 결과 뇌허혈 유발 쥐에서 근육무게가 유의하게 저하된 것은 상지마비로 인한 활동저하에 의한 것으로 생각된다. 7일간의 뒷다리 부유 모형에 의해 활동저하를 유도한 쥐에서 활동저하 3일만에 가자미근의 단백질 합성속도가 21% 저하되었고 단백질 분해속도는 100% 증가했으며(Loughna, Goldspink, & Goldspink, 1986), 동일한 모형으로 시행된 다른 연구에서는 활동 저하 3일만에 근육질량의 7%가 감소되었고 5일째에는 20%가 감소된 것으로 나타났다(Fell, Steffen, & Musacchia, 1985). 따라서 본 연구에서도 뇌허혈 유발 쥐에서 7일간의 활동저하가 근육무게를 유의하게 저하시킨 것으로 설명할 수 있다.

또한, 본 연구에서 뇌허혈 수술을 받은 CINS군

과 CIDH군의 사료섭취량이 SHNS군과 SHDH군에 비해 유의하게 저하된 것으로 나타났다. 이러한 결과는 본 연구와 동일한 국소 뇌허혈 모형 쥐를 이용한 안경주 등(2000)의 연구에서 뇌졸중군의 사료섭취량이 유의하게 감소한 결과와 일치하였으며, 뇌졸중으로 인한 연하곤란과 식욕상실 등으로(Axelsson 등, 1984) 뇌경색이 초래된 지 1주일만에 영양부족 상태에 이르게 된다는 Davalos 등(1996)의 연구결과와도 부합한다. 본 연구에서 중뇌동맥으로 가는 혈류를 차단하였으므로 중뇌(mesencephalon)로의 혈류 공급 감소로 섭식중추(feeding center)가 있는 시상하부에 영향을 주게 되어 식욕 저하를 유발시킴으로써(Martini et al., 2001) 식이섭취량이 감소된 것으로 이해될 수 있다. 그러나 Holecek(2001)의 연구에 의하면 식이섭취를 제한시킨 쥐에서 6일 이내에는 근육 유리 아미노산인 leucine, isoleucine, valine의 산화효소 감소로 근육 유리 아미노산의 손실이 방지되며 오히려 6일 이후에 산화효소의 활성 증가로 단백질 분해가 가속화된다고 하였다. 따라서 본 연구결과 뇌허혈 유발 후 7일에 근육무게가 감소된 것은 식이섭취 저하로 인한 근육 단백질 분해 증가로 근육 단백질이 소실되는 것보다는 식이섭취 저하에 따른 영양공급의 부족으로 단백질 동화작용이 저해되는 것에 의한 것이라고 볼 수 있다. 또한 사료섭취량 저하로 영양저하 상태가 되면 힘이 없어 움직일 수 없게 되므로 활동저하에 의해 근육무게가 저하될 수 있으리라고 생각된다.

뇌졸중 발생 후 근위축이 유발되는 것은 뇌허혈 유발로 뇌경색이 발생되면 환측 사지의 편마비가 나타나고 이로 인해 활동이 저하되며 식욕감퇴로 식이섭취량이 저하되는 복합적인 요인에 의한 것으로 가정하였으나 뇌허혈 유발 후 7일동안 하지에 탈신경의 영향은 거의 나타나지 않았다고 볼 수 있으며, 이 기간 중의 근위축은 주로 사료섭취량 저하와 활동저하에 의한 영향을 받은 것으로 해석할 수 있다.

Type I, II 근육의 근원섬유 단백질 함량은 CINS군이 SHNS군에 비해 대부분 저하되는 경향

을 나타내었고 특히 환측 비복근과 정상측 가자미근이 각각 5.4%, 19.4%로 유의하게 감소하였다. CINS군의 환측 비복근 근원섬유 단백질 함량이 감소된 것은 Kenji 등(1997)의 연구에서 뇌졸중 발생시 탈신경과 근육 사용 저하로 Type II 근육의 위축이 초래된다고 제시한 결과와 일부 일치한다. 또한 CINS군의 정상측 가자미근 근원섬유 단백질 함량이 감소된 것으로 나타난 결과는 활동저하에 의해 주로 Type I 근육의 위축이 현저하다는 Kasper(1993)의 주장을 토대로 본 연구에서 정상측은 활동저하의 영향을 받아 Type I 근육인 가자미근에 더 큰 영향을 주었을 것으로 이해된다. 뒷다리 부유후 가자미근의 단백질 함량이 저하되었고(Steffen & Musacchia, 1984) 활동저하로 수축성 단백질의 합성이 저하되고 단백질 분해가 증가되어 1일 8g의 단백질이 분해된다(Joki & Konstadt, 1983)는 연구결과를 토대로, 본 연구에서도 7일간의 활동저하가 근육 단백질 합성 저하와 분해 증가로 근육 단백질 소실을 유발시켰을 것으로 생각된다.

뇌허혈 발생이 근세포 횡단면적을 어느 정도 감소시키는지를 규명한 바에 의하면 CINS군의 가자미근의 Type I 근섬유와 족척근과 비복근의 Type II 근섬유 횡단면적이 SHNS군에 비해 감소한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 좌골신경이 탈신경된 쥐의 가자미근과 장지신근에서 근원섬유 단백질 함량이 작을수록 근육의 횡단면적도 작아진다는 연구보고(Taylor & Kandarian, 1994)를 토대로 본 연구에서 뇌허혈 유발로 근원섬유 단백질 함량이 감소됨에 따라 Type I, II 근섬유의 횡단면적도 감소된 것으로 설명할 수 있다. 특히, 족척근과 비복근에서 Type II 근섬유의 횡단면적이 현저히 감소된 본 연구결과는 Chokroverty 등(1976), Dattola 등(1993) 및 Scelsi 등(1984)이 제시한 뇌허혈 발생 후 Type II 근섬유의 위축이 초래된다는 연구결과와 부합한다고 생각된다. 이는 뇌허혈 유발로 발생된 근위축은 Type II 근섬유에 더 큰 영향을 준다는 사실을 제시한다.

CINS군의 체중은 실험 전과 비교하여 10% 정

도 감소하였으며 이러한 결과가 나타난 것은 사료 섭취량이 감소된 것과 관련이 있다. 위에 언급한 바와 같이 사료섭취량 저하는 섭취중추가 있는 시상하부가 중뇌동맥의 심부 가지가 관여하는 영역이기 때문에(Martini et al., 2001) 뇌경색 유발로 섭취중추에 영향을 주어 식욕을 저하시켜 체중이 감소된 것으로 본다. 또한, 본 연구에서 뇌허혈 유발 후 환측 비복근과 정상측 가자미근의 근원섬유 단백질 함량이 유의하게 감소되었고 가자미근, 족척근, 비복근의 근육무게도 현저히 감소된 것으로 나타난 결과는 체중의 15%가 단백질이며 그중 골격근이 65% 이상을 차지한다는 사실(McArdle et al., 1996)에 비추어 볼 때 골격근의 단백질 소실이 체중감소에 영향을 주었으리라 생각된다.

본 연구에서 뇌허혈 발생후 7일동안 하지에 대한 탈신경의 영향은 관찰할 수 없었지만 주로 활동저하와 식이섭취 저하라는 요인이 영향을 미침으로써 Type I, II 근육 무게, 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량이 유의하게 감소하였다. 탈신경, 활동저하 및 식이섭취 저하라는 세 가지 요인들이 뇌허혈 후 근위축에 각각 어느 정도의 영향을 주는지에 관해서는 알 수 없었으나 본 연구 결과를 통해 뇌허혈 발생 직후부터 근위축이 진행되며 따라서 뇌허혈 발생 초기에 근위축 예방을 위한 중재를 적용해야 할 필요성을 확인할 수 있었다.

## 2. 뇌허혈 유발 후 DHEA 투여가

### Type I, II 근육에 미치는 영향

뇌허혈 유발 후 DHEA를 투여한 CIDH군의 Type I 근육인 가자미근과 Type II 근육인 족척근, 비복근의 근육무게가 뇌허혈 유발 후 생리식염수를 투여한 CINS군에 비해 환측이 18.1%, 13.0%, 21.5% 증가하였고 정상측은 15.8%, 7.7%, 24.5% 증가한 것으로 나타난 본 연구 결과는 DHEA의 근육 단백질 합성 효과에 의한 것으로



생각된다.

본 연구 결과, CIDH군의 환측 가자미근, 족척근 및 비복근의 근원섬유 단백질 합량에서 CINS군에 비해 각각 32.9%, 5.0%, 1.1% 증가하였고 정상측인 경우에는 19.4%, 2.4%, 1.7% 증가한 것으로 나타났다. 이는 본 연구에서 DHEA의 단백질 합성기전을 규명하지는 못하였으나 선행연구에서 제시한 DHEA의 단백질 합성기전에 의한 결과라고 생각한다. 즉, DHEA는 체내에서 insulin-like growth factor-I(IGF-I)를 활성화시켜 근육 단백질 합성을 촉진시키며(Fryburg, Jahn, Hill, Oliveras, & Barrett, 1995; Hornsby, 1997), 또 다른 기전은 DHEA가 단백질 동화작용을 하는 것으로 알려진 테스토스테론으로의 전환이 증가되어 근육 단백질 합성을 촉진시킨다는 것이다(Griggs et al., 1989). 그러나 DHEA가 테스토스테론으로 전환되는 것이 여성에서 60%인 반면에 남성에서는 1.8%라고 보고한 Brown 등(1999)의 연구결과에 비추어 볼 때 본 연구에서는 슛컷 쥐를 이용하였기 때문에 본 연구에서의 근육 단백질 합성 증진 기전은 테스토스테론으로의 전환에 의한 것이라기보다는 IGF-I 활성화 촉진으로 인해 이루어졌으리라 유추할 수 있다. 또한, 본 연구에서의 DHEA 투여 기간이 7일밖에 되지 않았으나 이 기간중에도 DHEA의 단백질 합성 증진 효과가 나타난 것으로 볼 수 있는 근거는 Millward, Garlick, Stewart, Nanyelugo, 및 Waterlow(1975)가 tyrosine을 이용하여 쥐에서 골격근 단백질 분해와 합성이 이루어지는 turnover를 측정한 결과 3일인 반면에 인체에서는 7~10일(Bezkorovainy & Rafelson, 1995)이라는 사실을 토대로 설명할 수 있다. 따라서 본 연구에서 DHEA 투여 기간이 7일간이라는 단기간이지만 쥐의 단백질 대사주기가 3일이기 때문에 7일간의 DHEA 투여로 단백질 합성 증진 효과가 나타날 수 있다고 본다.

본 연구 결과, CIDH군의 가자미근, 족척근 및 비복근의 Type I 근섬유의 횡단면적은 CINS군에 비해 차이가 없었으나 Type II 근섬유의 횡단면적은 유의한 증가를 나타내었다. 이러한 결과는 정

상인을 대상으로 8주간 DHEA 투여 후 근육의 유형별 분포 변화를 분석한 결과 Type I 근섬유의 횡단면적에 변화가 없었으나 Type II 근섬유의 횡단면적이 증가하였다고 보고한 Brown 등(1999)의 연구 결과와 연구대상과 DHEA 투여기간에 차이는 있었으나 일치되는 결과임을 의미한다. 이는 DHEA가 근육 단백질 합성 효과가 있으며 그 중에서도 특히 Type II 근섬유에 유의한 효과가 있었음을 제시하고 있다.

CIDH군의 체중은 실험 전과 비교하여 거의 변화되지 않았으며 사료섭취량은 CINS군보다 약간 적은 것으로 나타났다. 그러나 CIDH군의 근육무게는 CINS군에 비해 증가하였으며 근섬유 횡단면적과 근원섬유 단백질 합량도 증가한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 DHEA가 지질의 활용을 촉진하여 지방분해(lipolysis)를 높이고 지방 저장량을 감소시킨다는 Goldfarb 등(1994)의 연구 결과와 DHEA 투여로 체지방은 감소하고 체단백질은 증가한 Tagliaferro 등(1986)의 연구 결과에 비추어 체지방은 감소하고 체단백질은 증가함으로써 체중이 증가하지 않은 것으로 생각된다. 또한, 28일간 DHEA 투여로 체지방이 3.8kg 감소한 반면 무지방체중은 4.5kg가 증가하여 결국 체중 변화가 거의 없었다는 Nestler 등(1988)의 연구 보고와 부합되는 결과이다.

그러나 CIDH군의 사료섭취량이 CINS군과 비슷하게 나타났으며 SHDH군과 SHNS군의 사료섭취량도 유의한 차이가 없었으며 오히려 SHNS군보다 SHDH군의 사료섭취량이 적은 경향을 보인 본 연구 결과는 DHEA가 식욕에 영향을 주지 않거나 혹은 저하시키는 것으로 생각할 수 있다. DHEA를 투여받은 실험군과 대조군이 열량 섭취량, 탄수화물 섭취량, 단백질 섭취량에서 유의한 차이가 없었다는 선행 연구(Brown 등, 1999)와, DHEA가 식욕을 저하시키므로(Svec & Porter, 1995) 0.3% DHEA 혼합사료를 슛컷에 투여하여 식이섭취량이 감소하였다는 연구보고(Han, Hansen, Chen, & Holloszy, 1998)를 토대로 본 연구에서는 DHEA가 사료섭취량과 무관하게 근육의 단백질

합성을 촉진시킨 것으로 생각된다.

CIDH군의 근육무게가 CINS군에 비해 유의하게 증가한 반면 SHDH군의 근육무게는 SHNS군에 비해 유의한 변화가 없는 것으로 나타난 본 연구 결과는 CINS군과 CIDH군의 경우에 뇌허혈로 인해 근위축이 진행중인 반면 SHNS군과 SHDH군은 근위축이 진행되지 않는 상태이기 때문으로 생각할 수 있다. 이러한 결과는 근위축이 진행 중인 노인(Yen, Morales, & Khorram, 1995)이나 근긴장성 이영양증 환자에서 DHEA의 단백질 합성 효과가 나타나는 반면 정상인을 대상으로 한 연구에서는 일관성 있는 결과가 나타나지 않았다는 연구보고와 연관시켜 볼 때 병리적 상태에서 DHEA의 단백질 합성 효과가 크다는 것을 알 수 있다. 그러나 이에 대한 기전이 불분명하다는 지적도 있으므로(Proctor, Balagopal, & Nair, 1998), 병리적 상태에서 DHEA의 단백질 합성효과가 증가되는 기전을 밝히는 연구가 필요하다고 본다.

이상과 같이 뇌허혈 유발 후 급성기에 DHEA를 투여하여 위축근의 Type I, II 근육무게, 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 합량 및 근력을 증가시킴으로써 DHEA가 근위축 경감에 효과가 있는 것으로 볼 수 있다.

## VII. 결론 및 제언

### 1. 결론

본 연구는 뇌허혈 유발 후 7일간의 DHEA 투여가 근 위축을 경감시키는지를 규명하기 위해 시도되었다. 200~250g의 Sprague-Dawley rat 37마리를 CINS군(뇌허혈 후 생리식염수 투여군), CIDH군(뇌허혈 후 DHEA 투여군), SHNS군(모의수술 후 생리식염수 투여군), SHDH군(모의수술 후 DHEA 투여군)의 4군으로 무작위 배정하였다.

CINS군과 CIDH군은 중뇌동맥으로 가는 혈류

를 2시간 폐쇄하여 뇌허혈을 유발시켰으며 SHNS군과 SHDH군에게는 모의수술을 실시하였다. DHEA는 0.34mmol/kg의 용량으로 1일 1회 7일간 복강내주사로 투여하였으며 생리식염수도 DHEA와 동일한 용량을 동일한 방법에 의해 투여하였다. 실험기간 동안 체중과 사료섭취량을 매일 측정하였고 실험 마지막 날에 환측과 정상측 뒷다리근의 Type I 근육인 가자미근, Type II 근육인 족척근과 비복근을 절제하고 뇌를 적출하였다. CINS군과 CIDH군의 뇌경색은 2% triphenyltetrazolium chloride에 60분간 염색하여 뇌경색 용적을 확인하였다. 네 군의 체중, 사료섭취량, 근육무게, 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 합량은 SPSSWIN 9.0 프로그램을 이용하여 Kruskal-Wallis와 Mann-Whitney U test로 분석하였고 통계적 유의수준은  $p < .05$ 로 채택하였다.

본 연구의 결과는 다음과 같다.

1) 뇌허혈 발생 7일 후 Type I, II 근육의 근위축이 유발되었는지를 규명하기 위해 CINS군과 SHNS군을 분석한 결과, CINS군의 가자미근(Type I 근육), 족척근과 비복근(Type II 근육) 무게는 SHNS군에 비해 감소되었으며, Type I 근섬유 횡단면적은 CINS군이 SHNS군보다 양측 가자미근에서 감소하였고 Type II 근섬유 횡단면적은 양측 족척근과 비복근에서 감소하였다. 근원섬유 단백질 합량은 CINS군이 SHNS군에 비해 환측 비복근과 정상측 가자미근에서 저하되었다.

2) 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 Type I, II 근육에 유발되는 근위축을 경감시키는지를 규명하기 위해 CINS군과 CIDH군을 분석한 결과, CIDH군의 정상측 족척근을 제외한 모든 근육 무게는 CINS군보다 증가되었다. CIDH군은 CINS군에 비해 환측 족척근, 양측 비복근의 Type II 근섬유 횡단면적이 증가되었으며 근원섬유 단백질 합량은 CIDH군이 CINS군에 비해 양측 가자미근에서 증가하였다.

3) 뇌허혈 유발 전 체중은 네 군간에 차이가 없었지만 뇌허혈 유발 후 8일의 체중은 CINS군이 SHNS군에 비해 감소하였으며 CINS군의 뇌허혈

유발 후 8일의 체중은 뇌허혈 유발 전에 비해 감소하였다. 총사료섭취량은 CINS군이 SHNS군에 비해 감소하였다. 뇌허혈 유발 후 8일의 체중은 CIDH군이 CINS군보다 증가하였다. 총사료섭취량은 CIDH군과 CINS군간에 유의한 차이가 나타나지 않았다.

이상의 연구결과를 토대로 뇌허혈 유발 7일 후에 Type I, II 근육의 위축이 발생함을 규명하였으며, 뇌허혈 유발 후 7일간의 DHEA 투여가 Type I, II 근육무게, Type II 근섬유 횡단면적, 가자미근의 근원섬유 단백질 함량을 증가시켜 근위축을 경감시킬 수 있음을 제시하였다. 뇌허혈 유발 직후 초기부터 근위축이 진행되지만 이를 경감시키기 위한 운동중재를 시행할 수 없는 대부분의 환자들을 위해 DHEA 투여의 효과를 규명한 본 연구는 뇌허혈 후 초래되는 초기 근위축 예방에 일정한 기여를 할 수 있을 것으로 본다.

## 2. 제 언

이상의 연구 결과를 토대로 다음과 같이 제언하고자 한다.

첫째, 동물모형이 아닌 인체를 대상으로 하는 임상실험연구를 통해 DHEA의 효과를 검증할 필요가 있다. 특히, 본 연구의 실제 적용 대상자인 뇌경색이 유발된 직후의 환자에게 DHEA를 투여함으로써 근위축 경감 효과를 규명할 필요가 있다.

둘째, 본 연구에서는 뇌허혈 유발 모형 쥐의 생존이 7~10일 이상 넘기기 어려워 근위축을 장기적으로 규명할 수 없었으므로 추후 인체를 대상으로 한 장기적인 연구가 시도되어야 할 것이다.

셋째, 근위축이 유발되는 다른 병리적 상황에서도 DHEA 투여가 근위축을 경감시키는지에 관한 연구가 필요하다.

## 참고문헌

- 박명숙(2002). 어유 섭취가 뇌허혈 유발 쥐의 뇌경색 크기 및 항산화효소 활성도에 미치는 영향. 서울대학교 대학원 석사학위논문.
- 송계용, 지재근 및 함의근(1998). 핵심 병리학. 서울: 고려의학.
- 신지철, 윤태식, 전세일, 김민영 및 임길병(1994). 정상인과 편마비환자에서 주관절 굴근과 신근의 근력 양상. 대한재활의학회지, 18(1), 20-27.
- 안경주, 이윤경, 임지희, 최스미 및 최명애(2000). 지구력 운동이 급성기 뇌졸중 쥐의 뒷다리근 질량에 미치는 영향. 대한기초간호학회지, 2(2), 67-80.
- 이동규, 손낙원, 정동식, 조성계 및 진영수(1990). 지구성 훈련이 흰쥐의 후기근섬유의 조성에 미치는 영향. 대한스포츠과학연구소 보고서.
- 전중선, 신정순 및 전세일(1992). 편마비환자에 대한 등속성 운동치료의 효과. 대한재활의학회지, 15(1), 57-66.
- 전중선, 전세일, 박승현, 백소영 및 김동아(1998). 뇌졸중의 최근 역학적 동향. 대한재활의학회지, 22(6), 1159-1165.
- 정윤석(1997). DHEA의 최신지견. 대한내분비학회지, 12(1), 1-7.
- 조성찬, 최경효, 이동재 및 하상배(1998). 뇌졸중 발병 후 종합병원 입원 및 재활 치료 시기에 대한 조사. 대한재활의학회지, 22(1), 9-14.

- 최명애(1991). 운동이 쥐의 위축가자미근의 질량과 상대근 무게에 미치는 영향, 대한간호학회지, 21(3), 281-294.
- 최명애, 신기수, 이은주 및 안경주(2001). Dexamethasone 투여시 DHEA의 시기별 병용 투여가 쥐의 Type I, II 근육에 미치는 영향. 기초간호자연과학회지, 3(1), 63-74.
- Axelsson, K., Asplund, K., Norberg, A., & Alafuzoff, I.(1988). Nutritional status in patients with acute stroke. Acta Medica Scandinavica, 224, 217-224.
- Benderson, J. B., Pitts, L. H., Nishimura, M. C., Davis, R. I., & Bartkowski, H. M.(1986). Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. Stroke, 49, 671-690.
- Bezkorovainy, A. & Rafelson, M. E.(1995). Concise Biochemistry. New York : Maecel Dekker. 546-548.
- Bollag, D. M., Rozycki, M. D., & Edelstein, S. J.(1996). Protein Methods.(2nd Ed). Wiley-Liss Co.
- Bourbonnais, D. & Noven, S. V.(1989). Weakness in patients with hemiparesis. The American Journal of Occupational Therapy, 313-319.
- Brooke, M. H., & Kaiser, K. K.(1970). Muscle fiber types: how many and what kind? Archives of Neurology, 23, 369-379.
- Brown, G. A., Vukovich, M. D., Sharp, R. L., Reifenrath, T. A., Parsons, K. A. & King, D. S. (1999). Effect of oral DHEA on serum testosterone and adaptations to resistance training in young men. Journal of Applied Physiology, 87(6), 2274-2283.
- Chokroverty, S., Reyes, M. G., Rubino, F. A., & Barron, K. D.(1976). Hemiplegic amyotrophy. Archives of Neurology, 33, 104-110.
- Dattola, R., Giralanda, P., Vita, G., Santoro, M., Roberto, M. L., Toscano, A., Venuto, C., Baradello, A., & Messina, C.(1993). Muscle rearrangement in patients with hemiparesis after stroke: an electrophysiological and morphological study. European Neurology, 33(2), 109-114.
- Davalos, A., Ricart, W., Gonzalez, F., Soler, S., Marrugat, J., Molins, A., Suner, R., & Genis, D.(1996). Effect of malnutrition after acute stroke on clinical outcome. Stroke, 27(6), 1028-1032.
- Fell, R. D., Steffen, J. M., & Musacchia, X. J.(1985). Effect of hypokinesia-hypodynamia on rat muscle oxidative capacity and glucose uptake. American Journal of Physiology, 249(18), R308-312.
- Fryburg, D. A., Jahn, L. A., Hill, S. A., Oliveras, D. M., & Barrett, E. J.(1995). Insulin and insulin-like growth factor-I enhance human skeletal muscle protein anabolism during hyperaminoacidemia by different mechanism. The Journal of Clinical Investigation, 96, 172-1729.
- Goldfarb, A. H., McIntosh, M. K., Boyer, B. T. & Fatouros, J.(1994). Vitamin E effects on indexes of lipid peroxidation in muscle from DHEA-treated and exercised rat. Journal of Applied Physiology, 76(4), 1630-1635.
- Griggs, R. C., Kingston, W., Josefowicz, R. F., Herr, B. F., Forbes, G., & Haliday, D.(1989). Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. Journal of Applied Physiology, 66, 498-503.
- Haddad, F., Arnold, C., Zeng, M., & Baldwin, K.(1997). Interaction of thyroid state and denervation on skeletal myosin heavy chain expression. Muscle & Nerve, 20, 1487-1496.

- Han, D. H., Hansen, P. A., Chen, M. M., & Holloszy, J. O.(1998). DHEA treatment reduces fat accumulation and protects against insulin resistance in male rats. The Journals of Gerontology Series A : Biological Sciences & Medical Sciences, 53(1), B19-24.
- Holecek, M.(2001). Effect of starvation on branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase activity in rat heart and skeletal muscle. Physiology Research, 50(1), 19-24.
- Hornsby, P.(1997). DHEA: A biologist's perspective. The Journal of the American Geriatrics Society, 45(11), 1395-1401.
- Jokl, P. & Konstadt, S.(1983). Effect of hindlimb immobilization on muscle function and protein composition. Clinical Orthopedics, 174, 222-228.
- Jorgensen, L., & Jacobson, B. K.(2001). Changes in muscle mass, fat mass, and bone mineral content in the legs after stroke : a lyear prospective study. Bone, 28(6), 655-659.
- Kasper, C. E.(1993). Skeletal muscle atrophy. In Pathophysiological phenomna in nursing : Human responses to illness.(2nd Ed.), Philadelphia : W. B. Saunders Co.
- Kenji, H., Yuichi, U., & Hajime, O.(1997). Disuse muscle atrophy of lower limbs in hemiplegic patients. Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, 78, 13-18.
- Loughna, P., Goldspink, G., & Goldspink, D. F.(1986). Effect of inactivity and passive stretch on protein turnover in phasic and postural rat muscles. Journal of Applied Physiology, 61(1), 173-179.
- Martini, F. H., Ober, W. C., Garrison, C. W., Welch, K., & Hutchings, R. T.(2001). Fundamentals of Anatomy & Physiology. New Jersey : Prentice Hall.
- Millward, D. J., Garlick, P. J., Stewart, R. J., Nnanyelugo, D. O., & Waterlow, J. C.(1975). Skeletal muscle growth and protein turnover. Journal of Biochemistry, 150, 235-243.
- Morales, A. J., Haubrich, R. H., Hwang, J. Y., Asakura, & Yen, S. S. C.(1998). The effect of six months treatment with a 100mg daily dose of DHEA on circulating sex steroids, body composition and muscle strength in age-advanced men and women. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 78, 1360-1367.
- Nagasawa, H., & Kogure, K.(1989) Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion. Stroke, 20, 1037-043.
- Nestler, J. E., Barlaschini, C. D., Clore, J. N., & Blackard, W.G.(1988). DHEA reduces serum low lipoprotein levels and body fat but does not alter insulin sensitivity in normal men. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 66, 57.
- Proctor, D. N., Balagopal, P., & Nair, K. S.(1998). Age-related sarcopenia in humans is associated with reduced synthetic rates of specific muscle proteins. The Journal of Nutrition, 128(2), 351S-355S.
- Robnson, B. & Cutolo, M.(1999). Should dehydroepi-androsterone replacement therapy be provided with glucocorticoids? Rheumatology, 38(6), 488-495.
- Scelsi, R., Lotta, G., Lommi, P. & Marchetti, C.(1984). Hemiplegic atrophy. Acta Neuropathology(Berl), 62, 324-331.
- Schneider, R. & Gautier, J. C.(1994). Leg weakness due to stroke : site of lesions, weakness

- patterns and causes. Brain, 117, 347-354.
- Steffen, J. & Musacchia, X. J.(1984). Effect of hypokinesia and hypodynamia on protein, RNA and DNA in rat hindlimb muscles. American Journal of Physiology, 247, R728-732.
- Sugino, M., Ohsawa, N., Ito, T., Ishida, S., Yamasaki, H., Kimura, F., & Shinoda, K.(1998). A pilot study of dehydroepi-androsterone sulfate in myotonic dystrophy, Neurology, 51(2), 586-589.
- Svec, F. & Porter, J. R.(1995). Synergistic anorectic effect of DHEA and fenfluramine on Zucker rat food intake and selection. Annals of the New York Academy of Sciences, 332-334.
- Tagliaferro, A. R., Davis, J. R., Truchon, S., & Hamont, N.(1986). Effects of DHEA on metabolism, body weight and composition of male and female rats. Journal of Nutrition, 116, 1977-1983.
- Taylor, J. A. & Kandarian, S. C.(1994). Advantage of normalizing force production to myofibrillar protein in skeletal muscle cross-sectional area. Journal of Applied Physiology, 76(2), 974-978.
- Tsuji, K., Furutama, D., & Ohsawa, N.(1999). Specific binding and effects of DHEA-S on skeletal muscle cells. Life Sciences, 65(1), 17-26.
- Yen, S. S. C., Morales, A., & Khorram, O.(1995). Replacement of DHEA in aging men and women : Poential remedial effects. Annals of the New York Academy of Sciences, 774, 128-142.