

국소 허혈성 뇌졸중 모델 흰쥐의 인지기능에 반복경두개자기자극이 미치는 효과

이정인 · 김계엽¹ · 남기원¹ · 이동우² · 김기도³ · 김경윤¹

동신대 목포한방병원 물리치료실, ¹동신대학교 물리치료학과, ²광주중앙병원 물리치료실,
³한국국제대학교 물리치료학과

Effects of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation on Enhancement of Cognitive Function in Focal Ischemic Stroke Rat Model

Jung-in Lee, PT, MS, Gye-yeop Kim, VET, PhD¹, Ki-won Nam, PT, PhD¹
Dong-woo Lee, PT, PhD², Ki-do Kim, PT, PhD³, Kyung-yoon Kim, PT, PhD¹

Department of Physical Therapy, Dongshin University Oriental Hospital

¹Department of Physical Therapy, Dongshin University

²Department of Physical Therapy, Gwangju Jungang Hospital

³Department of Physical therapy, Korea International University

<Abstract>

Purpose : This study is intended to examine the repetitive transcranial magnetic stimulation on cognitive function in the focal ischemic stroke rat model.

Methods : This study selected 30 Sprague-Dawley rats of 8 weeks. The groups were divided into two groups and assigned 15 rats to each group. Control group: Non-treatment after injured by focal ischemic stroke; Experimental group: application of repetitive transcranial magnetic stimulation(0.1 Tesla, 25 Hz, 20 min/time, 2 times/day, 5 days/2 week) after injured by focal ischemic stroke. To assess the effect of rTMS, the passive avoidance test, spatial learning and memory ability test were analyzed at the pre, 1 day, 7th day, 14th day and immunohistochemistic response of BDNF were analyzed in the hippocampal dentate gyrus at 7th day, 14th day.

Results : In passive avoidance test, the outcome of experimental group was different significantly than the control group at the 7th day, 14th day. In spatial learning and memory ability test, the outcome of experimental group was different significantly than the control group at the 7th day, 14th day. In immunohistochemistic response of BDNF in the hippocampal dentate gyrus, experimental groups was more increased than control group.

Conclusion : These result suggest that improved cognitive function by repetitive transcranial magnetic stimulation after focal ischemic stroke is associated with dynamically altered expression of BDNF in hippocampal dentate gyrus and that is related with synaptic plasticity.

Key Words : Focal ischemic stroke, rTMS, Cognitive function, BDNF

I. 서 론

뇌졸중 환자의 10~82%는 인지장애를 보이며, 알츠하이머 병보다 뇌졸중으로 인한 인지기능 장애의 발생률이 더 높은 것으로 알려져 있다(Rasquin 등, 2004). 인지기능 장애는 재활에 있어서 중요한 문제가 되며, 재활 프로그램에 참여하는 의욕, 동기, 운동기능의 습득 능력에 까지 영향을 미치며(Diamond 등, 1996), 인지기능 회복 여부에 따라 성공적인 재활을 가능할 수 있는 중요한 요인 중 하나이다(Paolucci 등, 1996). 인지처리 과정을 향상시키는 방법으로 약물치료와 함께 고식적 인지 훈련들이 시행되고 있는 가운데(신승훈 등, 2002), 최근 뇌신경 과학 기술의 발달로 뇌의 기능적 조율(modulation)이나 회복과 관련한 뇌의 가소성 및 재조직화의 촉진을 위한 새로운 치료 방법들이 제시되고 있으며, 이를 위한 다양한 기기가 개발되고 있다(Jang 등, 2009; 권용현 등, 2009).

뇌에 비침습적인 자극을 통한 신경조절접근 방법으로 경두개자기자극(transcranial magnetic stimulation; TMS), 경두개직류자극(transcranial direct current stimulation; tDCS)이 대표적이며 특히, 반복경두개 자기자극은 자기자극을 특정 뇌 부위에 주파수를 달리하여 피질의 흥분성을 높이거나 낮출 수 있다는 것이 알려지면서 기억능력을 향상시키는 분야에서 많은 연구자의 관심이 집중되고 있으며, 뇌신경 재활과 인지과학 분야에 새로운 치료적 접근성을 제시하였다(Webster 등, 2006; Post 등, 1999). 반복 경두개자기자극이 인지 신경망 연구에 처음 쓰인 것은 외측전두엽이 단기 기억에 있어서 중요하게 작용함을 보고한 결과이며(Pascual-Leone와 Hallett, 1994), Pape 등(2006)과 Mally와 Stone(2007)은 뇌졸중과 퇴행성 뇌질환 등의 중추신경계 환자에서 인지기능과 기억력 증진에 유의한 효과가 있었으며,

외상성 뇌손상 환자의 우울증과 의식회복에도 유용하다고 보고하였다. 그러나, 지금까지의 경두개자기 자극과 관련된 대부분의 연구들은 사람을 대상으로 하여 대뇌피질의 흥분도를 변화시켜 운동, 감각, 인지 재활 등에 영향을 주거나 조절이 가능하다는 보고가 대부분이며(Chang 등, 2010; Picarelli 등, 2010; Minussi와 Rossini, 2011), 이에 대한 효과 입증 시 임상적 관찰을 토대로 한 효과의 원인을 추정할 뿐이며, 실제 뇌신경 세포의 활성화에 대해 신경계의 기능향상과 재조직화가 일어나는 기전과 과정을 직접적으로 입증한 연구는 많지 않으며(Wang 등, 2011; Gersner 등), 경두개자기자극이 뇌 기능에 미치는 효과에 대해서는 아직도 명확하지 않은 상태이다(Ogiue-Ikeda 등, 2003).

한편, 해마는 학습 및 새로운 기억을 담당하는 중요한 영역으로써 해마의 새로운 신경세포 생성은 학습능력과 기억력 향상에 매우 밀접하다(Shors 등, 2001). 해마의 기능 향상을 위해서는 신경원의 구조적 변화가 일어나야 하고, 이를 위해서는 신경영양 인자와 전사인자가 작용해야 하는데(천송희, 2009), BDNF(brain-derived neurotrophic factor)는 신경세포의 생성과 생존을 조절하는 단백질 인자로서(Rossi 등, 2006), 다양한 학습과제에서 기억의 형성(Lee 등, 2004)과 형성된 기억을 장기 기억으로 전환해 유지하는데 필수적 물질로 알려져 있다(Bekinschtein 등, 2008).

이에 본 연구에서는 뇌졸중 모델 흰쥐를 대상으로 비침습적 경두개자기자극 시 인지기능과 관련된 행동지표와 해마의 치상회에서 신경인자 변화를 관찰함으로써 추후 인지장애를 가진 환자에게 적용할 임상적 기초지식을 구축함을 목적으로 하였다.

II. 연구 방법

Table 1. Neurologic examination grading system

| Dgree | Grade | State |
|----------|-------|---|
| Normal | 0 | No observable deficit |
| Moderate | 1 | Forelimb flexion |
| Severe | 2 | Decreased resistance to lateral push without circling |
| | 3 | Same behavior as grade 2 with circling |

1. 실험동물

체중 250±50g의 Sprague-Dawley계 백서(8주령, 웅성, 대한실험동물) 30마리를 사용하였으며, 국소 허혈성 뇌손상 유발 유무 판단을 위한 개체 선별을 위해 Bederson 등(1986)의 방법으로 신경학적 검사를 실시하여 2등급 이상의 개체만을 선별하여 사용하였다(Table 1). 국소 허혈성 뇌손상이 유도된 개체를 무작위로 선별하여 비자극군(대조군, n=15)과 반복경두개자기자극군(실험군, n=15)으로 나누었으며, 경두개자기자극을 시행한 것 외에는 같은 조건을 적용하였다. 사육실의 온도는 25±1℃, 습도 55±10%를 유지 하였으며, 명암은 12시간 주기로 하였다. 실험기간 동안 사료와 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다. 인지기능 관련 행동평가는 각 날짜 별(국소 허혈성 뇌졸중 유발 전, 유발 1, 7, 14일 후)로 수동회피검사(passive avoidance performance test)와 공간지각 학습능력 검사(spatial learning and memory ability test)를 각각 실시하였고, 해마에서의 면역조직화학적 검사는 유발 7일과 14일 후에 실시하였다.

2. 국소 허혈성 뇌졸중 유발

국소 허혈성 뇌졸중 유발 모델을 제작하기 위해 70% N₂O와 28.5% O₂ 가스에 1.5% 엔플루란(Isoflurane, 중외제약)을 혼합한 마취가스로 전신마취를 시킨 후 수술대에 고정하여 Longa 등(1989)의 방법에 따라 중대뇌동맥(middle cerebral artery; MCA) 폐쇄 수술을 시행하였다. 흡입 전신마취 후 직장온도계와 열 패드를 이용하여 체온을 일정하게 유지시켰다. 백서의 목 정중부를 절개하고 좌측 총경동맥을 박리하여 총경동맥을 따라 근위부로 진행하여

외경동맥과 내경동맥을 분리한 후 총경동맥과 외경동맥을 결찰하고 총경동맥 분지부에 monofilament nylon(40호) 실 끝을 뭉통하여 하여 밀어 넣는 방법으로 중대뇌동맥을 폐쇄한 후 봉합 및 소독하였다.

3. 반복경두개자기자극(rTMS)

반복경두개자기자극은 박해운 등(2008)의 연구서와 같은 방법으로 적용하였다. 반복경두개자기자극 기기는 주문 제작한 Biocon-1000 Pro(Mcube Technology Co., Korea) 기종을 사용하였으며, 코일 직경이 70mm이고, 최대 자기 자극은 0.2 Tesla로서 370 μs의 펄스 폭을 가진 최대 50Hz 주파수의 지속



Fig. 1. The device of transcranial magnetic stimulation

적인 와전류(eddy current)를 발생시킬 수 있는 원형 코일을 사용하였다. 백서가 움직이지 않도록 아크릴 상자에 넣고 약 20분간 안정을 시킨 후 백서의 두 개골 위에서 1cm 떨어진 위치에 코일을 놓고 자기장이 백서의 뇌에 형성되도록 반복 자기자극을 시행하였다. 비자극군은 코일을 백서의 두개골에 수직 방향으로 놓아 자기장이 옆으로 발생하도록 위치하였으나 실제 자기자극은 들어가지 않도록 하였다. 자기장 자극은 자극강도 50%(0.1 Tesla)로 하여 1회에 20분씩 25Hz(자극 3초, 휴식 3초)의 자극을 가하여 1일 2회, 주 5일에 걸쳐 2주간 실시하였다.

4. 행동평가

가. 수동회피 검사(Passive avoidance test)

뇌손상 유발 전 1일에 3회씩 1주일간 training을 실시한 후 본 실험에 사용하였다. 실험동물들은 전기충격을 경험하였던 어두운 방으로 들어가지 않아야 한다는 것을 학습하게 되고 불빛에 머물러야 한다는 것을 학습하게 되는데, 측정기기는 내부가 두 개의 방으로 구성된 상자(shuttle box)로 각각 4×13×10cm으로 이루어져 있으며, 그 가운데에는 개폐가 가능한 작은 출입구(7×5cm)로 두 개의 방을 연결하였다. 훈련시험에서 실험동물들은 불빛이 없는 방을 등진채로 불빛이 있는 방에 놓고, 동물들이 완전히 불빛이 없는 방으로 움직였을 때 감전(0.4mA, 2초동안)을 받게 하였다. 동물들을 빛이 있는 방에 두어 어두운 방으로 들어가려는 잠재기를 측정하였다. 이때 어두운 방으로 들어갔을 때 걸린 시간을 측정하였으며, 이를 이동 잠재기(transfer latency; TL)라고 부르며 기억력 검사는 600초 이내로 지정하고 실행하였다(Van der Zee 등, 2004).

나. 공간지각 학습능력 검사(Spatial learning and memory ability test)

공간지각 학습능력 검사를 위하여 수중미로 검사(Morris water maze test)를 실시하였다. 수조는 직경이 150cm, 높이가 50cm인 원통 통으로 온도가 25±1℃로 유지되는 물을 28cm 높이로 채웠다. 수중미로의 주변은 비디오 카메라, 실험대, 그리고 실험대

위에 있는 수온 조절용 장치 등 공간 단서들을 일정하게 유지시켰다. 도피대(escape platform)는 직경 15cm, 높이 30cm인 원형 투명 아크릴에 받침대를 부착하고, 수면보다 2cm 낮게 위치시켰다. 수조 내의 물은 흰색 물감을 풀어서 도피대를 보이지 않게 하여 시각단서를 사용할 수 없게 하였다. 수중미로는 4개의 동일 한 사분원으로 나누어져 북동(NE), 북서(NW), 남동(SE), 남서(SW)로 구분되고, 이중 남서 사분원의 중심부에 도피대를 높이고, 나머지 중 하나를 출발위치로 하였다. 실험에 사용된 백서는 뇌손상 유발 전, 180초간 1일 1회 7일간 훈련을 실시하였다. 평가는 수조 안에 백서가 출발에서부터 도피대로 올라가는데 걸린 시간을 측정하였고, 그 행적을 SMART JUNIOR 프로그램(PanLab, Spain)을 이용하여 분석하였다(Morris, 1984).

5. 조직학적 검사

가. 조직절편 제작

반복경두개자기자극의 인지기능에 대한 조직학적 효과를 알아보기 위하여 뇌손상 유발 7일과 14일 후에 각 군당 5마리씩 70% N₂O와 28.5% O₂ 가스에 1.5% 엔플루란(Isoflurane, 중외제약)을 혼합시킨 마취가스로 전신마취를 시행한 후 흉강을 열고 관류수세기를 이용하여 0.9% NaCl로 관류 수세하였다. 혈액이 제거된 후에는 4% 중성 파라포름알데하이드(paraformaldehyde)로 관류하여 조직 전 고정을 실시하였고, 뇌를 적출하여 4% 중성 파라포름알데하이드 용액에 4℃에서 24시간 동안 침전시켜 후 고정을 실시하였다. 후고정이 끝난 조직은 에탄올을 이용한 탈수(dehydration)과정과 자일렌(xylene)을 이용한 청명(cleaning)과정을 거쳐 파라핀 포매(paraffin embedding)를 실시하였다. 제작된 파라핀 블록은 회전식 미세 박절기(Sakura 2040, Japan)를 사용하여 5 μm 두께로 박절한 후 슬라이드를 제작하여 면역조직화학 염색을 실시하였다.

나. 면역조직화학 염색법

뇌 조직절편을 0.01M PBS로 여러 번 세척한 후 남아 있는 고정액 성분을 제거하기 위하여 1% normal

blocking serum sodium borohydride로 1시간 처리하였다. 면역조직화학염색을 위한 전처리과정으로 0.3%의 과산화수소(hydrogen peroxide) 용액에 20분간 처리하였다. 다시 0.01M PBS로 여러 번 세척한 후 Novostain Super ABC kit(Novocastra Lab, Benton Lane, UK)를 사용하여 20분간 반응시키고 1:500으로 희석한 anti-BDNF(AB1513, Chemicon, USA)를 4℃에서 24시간 처리한 후 0.01M PBS로 수세하고, 희석된 바이오티닐 이차항체액(diluted biotinylated secondary antibody solution)으로 30분간 배양하였다. 다시 PBS로 세척하고 Novostain Super ABC Reagent로 30분간 배양하고 PBS로 세척하였다. 발색을 위해 DAB(Serotec Ltd. BUF021B, UK)에 10분간 적용 후 Mayer's Hematoxyline(Sigma, MHS-32, USA)으로 대조염색(counter staining)을 실시하였으며, 흐르는 물에 5분간 수세하고 슬라이드 표본을 건조시킨 후 통상의 탈수과정을 거쳐 봉입을 실시하였다. 조직학적 분석은 광학현미경(Olympus BX50, Japan)에 장착된 CCD 카메라(Foculus F2, Germany)와 개인용 컴퓨터를 연결시켜 Image-proplus ver 4.0 for windows(media cybernetics, USA)를 사용하여 해마의 치상회를 중심으로 반정량적 방법(semiquantitative manner)으로 구분하여 음성반응(-), 약한 염색성을 보인 경우 경도의 양성반응(+), 중등도의 염색성을 보인 경우 중등도의 양성반응(++), 강한 염색성을 보인 경우 강한 양성반응(+++)으로 등급을 정하여 평가하였다.

6. 통계방법

모든 통계학적 분석은 SPSS 12.0 ver. for window를 사용하였다. 각 실험 결과 값은 평균 및 표준편차로 나타내었으며, 대조군과 실험군 간 비교 및 시

간 흐름에 따른 통증역치 변화 비교는 반복측정분산분석(repeated measures ANOVA)을 이용하였으며, 각 측정시간에서의 비교검정은 Independent t-test를 실시하였다. 통계적 유의수준은 p값이 0.05미만인 경우로 하였다.

III. 결 과

1. 수동회피 검사(Passive avoidance test) 결과

실험군에서 수동회피검사의 변화는 국소 허혈성 뇌손상 유발전 251.17±28.03초에서 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 1일차에는 116.17±13.16초(대조군 115.33±14.99초)였으며, 경과 관찰에서 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 7일차에 150.25±12.71초로 대조군에 비해 유의한 인지 기능 회복을 보였으며(p<.005), 14일차에도 두군간의 유의한 차이를 나타내었다(p<.001)(Table 2).

2. 공간지각 학습능력 검사(Spatial learning and memory ability test) 결과

실험군에서 공간지각 학습능력의 변화는 국소 허혈성 뇌손상 유발전 66.89±7.91초에서 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 1일차에는 78.41±8.23초(대조군 79.82±9.82초)였으며, 경과 관찰에서 국소 허혈성 뇌손상 유발 후 7일차에 67.88±7.54초로 대조군에 비해 유의한 인지 기능 회복을 보였으며(p<.005), 14일차에도 두군간의 유의한 차이를 나타내었다(p<.001)(Table 3)(Fig. 2).

3. 해마의 치상회에서 BDNF 면역조직화학적 반응 결과

Table 2. The changes of passive avoidance test score in each groups

| Group | (sec) | | | |
|--------------------|--------------|--------------|---------------------|----------------------|
| | Day Pre | 1 day | 7 th day | 14 th day |
| Control group | 247.17±31.42 | 115.33±14.99 | 137.08±16.89 | 154.92±17.04 |
| Experimental group | 251.17±28.03 | 116.17±13.16 | 150.25±12.71* | 185.33±21.38** |

* Statistically significant as compared with control group (p<.005)

** Statistically significant as compared with control group (p<.001)

Table 3. The changes of spatial learning and memory ability test score in each groups (sec)

| Group | Day | Pre | 1 day | 7 th day | 14 th day |
|--------------------|-----|-------------|------------|---------------------|----------------------|
| Control group | | 65.34±10.85 | 79.82±9.82 | 74.52±7.45 | 68.98±6.48 |
| Experimental group | | 66.89±7.91 | 78.41±8.23 | 67.88±7.54* | 58.7±8.17** |

* Statistically significant as compared with control group (p<.005)
 ** Statistically significant as compared with control group (p<.001)

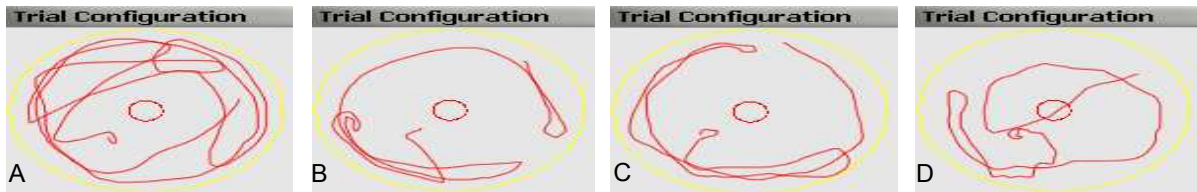


Fig. 2. The changes of Morris water maze test in each groups A: Control group in 7th day, B: Experiment group in 7th day, C: Control group in 14th day, D: Experimental group in 14th day

경두개자기자극의 인지기능에 대한 회복 여부를 알아보기 위하여 뇌손상 유발 후 7일째와 14일째에 각각의 뇌조직에서 BDNF 면역조직화학적 염색을 통하여 관찰한 결과, 뇌손상 유발 7일째에 대조군은 약한 양성반응(+)을 보였고, 실험군은 중간 양성반응(++)을 보였다. 뇌손상 유발 14일째에 대조군은 약한 양성반응(+)으로 7일째와 차이가 없었으나 실험군은 강한 양성반응(+++)을 보였다(Table 4)(Fig. 3). 반복 경두개자기자극을 적용함으로써 대조군에 비해 증가된 BDNF 면역양성반응을 확인할 수 있었다.

Table 4. The changes of BDNF immunoreactivity on hippocampal dentate gyrus in each groups

| Group | Day | 7 th day | 14 th day |
|--------------------|-----|---------------------|----------------------|
| Control group | | + | + |
| Experimental group | | ++ | +++ |

- negative, + mild, ++ moderate, +++ severe

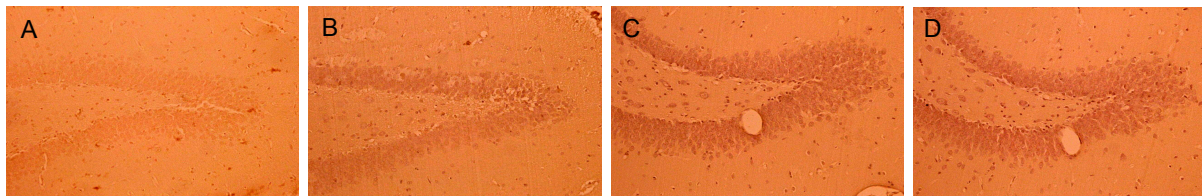


Fig. 3. The Immunohistochemical findings of BDNF reaction on hippocampal dentate gyrus in each groups (Immunohistochemical stain, ×200) A: Control group in 7th day, B: Experiment group in 7th day, C: Control group in 14th day, D: Experimental group in 14th day

IV. 고 찰

인지기능 장애는 뇌졸중 후 기능회복에 있어서 불량한 예후 인자이며, 재활치료 과정의 장애물이 된다. 뇌손상 질환들로 인한 인지 및 운동기능의 손상을 개선시키기 위해 다양한 치료적 중재가 모색되고 있는데, 임상적으로 인지기능을 향상시키는 방법으로 인지 운동치료(이성아와 이향숙, 2005), 컴퓨터 기반 인지훈련(신승훈 등, 2002), 약물치료(김연희 등, 2002) 등 인지기능을 개선시키기 위한 다양한 방법들이 제시되고 있다. 최근 뇌 자극의 새로운 치료방법으로 부각되고 있는 경두개자기자극은 비침습적 방법으로서 부작용이 적으면서 조직 깊숙이 침투하여 신경세포의 수상돌기(dendrite)의 성장, 축삭의 길이 증가 등 신경재생을 위한 치료의 한 방법으로 관심이 증가하고 있으나(Post 등, 1999; Longo 등, 1999), 말초신경에 대한 연구가 대부분이며, 중

추신경계의 신경변화에 관한 연구는 미비한 실정이다(Longa 등, 1989). 현재까지 사람을 대상으로 경두개자극 시 인지기능에 대한 연구는 일부 보고된 바 있으나(고명환 등, 2004; 온석훈, 2007), 실험적 조작이 가능하여 객관적 연구가 가능한 실험동물을 대상으로 인지기능에 대한 기억력 및 공간 학습 능력과 관련하여 뇌의 기제 및 조직학적 변화와 관련한 연구는 매우 부족한 실정이다.

본 연구는 뇌졸중 모델 흰쥐를 대상으로 반복적 경두개자극 시 인지기능관련 행동지표(수동회피 검사, 모리스 수중미로 검사)와 함께 기억 중추 기관의 하나인 해마 치상회에서의 BDNF 단백질 발현변화를 평가하여 인지기능에 대한 경두개자극의 임상적 효용성을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다. 인지기능 행동평가로 사용된 수동회피검사는 학습 및 기억능력을 측정하는 방법으로 실험동물에 전기충격을 가하여 자극에 대한 단순기억을 측정하는 평가도구이다(Myhrer, 2003). 본 연구에서 수동회피검사 결과, 경두개자극을 반복적으로 적용한 실험군에서 대조군에 비해 뇌손상 유발 후 7일($p<.005$)과 14일($p<.001$)에 각각 유의한 차이를 나타내었다. 모리스 수중 미로 검사는 공간 학습 능력과 기억을 평가하는 도구로 허혈성 또는 외상성 뇌손상 모델에서 널리 사용되고 있는 방법이다(Van der Zee 등, 2004). 본 연구에서 공간지각 학습 능력 검사 결과, 수동회피 검사 결과와 유사하게 경두개자극을 반복적으로 적용한 실험군에서 대조군에 비해 뇌손상 유발 후 7일($p<.005$)과 14일($p<.001$)에 각각 유의한 차이를 나타내었다. 이러한 연구결과는 저산소 허혈성 뇌손상 백서를 대상으로 실험한 선행연구결과와 일치하였다(Ikeda 등, 2001; Balduini 등, 2000).

해마는 학습과 기억의 뇌 중추로서 해마 치상회(hippocampal dentate gyrus)에서 일어나는 신경세포 생성은 학습, NMDA 수용체 길항제, 세로토닌, 에스트로젠 및 운동자극 등으로 향상되는데(Fuchs와 Gould, 2000; Gould와 Tanapat, 1999), 신경세포 생성의 중요한 기전의 하나로 뇌로부터 유도되는 다양한 신경영양인자가 있다(Cameron 등, 1998). 신경영양인자는 신경돌기의 성장과 분화를 촉진시키고,

신경세포를 보호하며, 시냅스 연결을 향상시키는 역할을 함으로서 신경보호 및 신경가소성의 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Cotman과 Berchtold, 2002). 특히 BDNF는 신경계에서만 유일하게 발견되는 단백질로 신경손상 시, 신경세포의 가소성 정도에 매우 중요한 영향을 미치는 인자로 알려져 있다(Benowitz와 Routtenberg, 1997). 최근 재활 분야에서는 이러한 신경영양인자를 촉진하는 다양한 방법들이 제시되고 있는데, 대표적으로 운동(Ploughman, 2008), 전기자극(노민희와 박수경, 2010), 약물(Castren과 Rantamaki, 2010) 등에 의해 촉진됨이 보고된 바 있다. 한편, 경두개자극은 전류에 저항적인 두피나 두개골을 쉽게 통과할 수 있어 효과적으로 뇌피질을 자극할 수 있어 다양한 연구들이 수행되고 있으나 아직까지는 정확한 신경생물학적 기전을 모르고 있으며, 최적의 자극 강도나 기간, 자극 주파수, 총 자극 횟수 등에 대한 공통된 기준은 없는 실정이다(Pascual-Leone 등, 1996). 본 연구에서는 허혈성 뇌손상 유발 후 반복 경두개자극 시 해마 치상회에서의 BDNF 발현에 어떠한 영향을 주는지 알아보았다. 그 결과, 뇌손상 유발 7일째 대조군과 실험군의 해마 치상회 BDNF 단백질 발현 차이 비교에서 실험군의 발현이 높게 나타나 유의한 차이를 보였으며, 뇌손상 유발 7일째와 14일째의 비교에서는 대조군의 발현은 차이가 거의 없었으나 실험군의 발현은 유의한 증가를 나타냈다. 즉, 반복 경두개자극을 적용한 실험군에서 대조군에 비해 증가된 BDNF 면역양성반응을 확인할 수 있었다. 이는 자기자극으로 다양한 세포 자극 시 신경전달물질과 신경조절물질체계를 조절하여(Keck 등, 2000), 해마 치상회에 존재하는 세포막의 변화, 세포증식, 세포활성 등에 영향을 준 것으로 생각된다(Bersani 등, 1997; Roman 등, 2005). 물리치료 분야에서 인지 기능의 손상은 매우 흔하고 다양한 증상으로 나타나며, 이러한 인지기능 장애의 치료에 대해 적극적으로 개입할 수 있는 비침습적 뇌자극 기법을 확립하는 것은 뇌질환 이후 기능 회복의 극대화를 이루는데 매우 중요하다.

본 연구에서는 실험동물 모델을 대상으로 반복 경두개자극 적용 시 기억 기능에 대한 향상 효

과를 규명함으로써 인지기능을 증진시킬 수 있는 비침습적 뇌자극 방법의 근거를 제공할 수 있었으며, 추후 본 연구를 바탕으로 뇌질환 이후 인지기능 장애가 초래된 환자들에게 활용할 수 있는 기초자료가 될 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 국소 허혈성 뇌손상 백서 모델을 이용하여 반복 경두개자기자극을 2주간 지속적으로 시행한 후 인지기능 관련 행동지표에 대한 수동회피 검사 및 공간지각학습 평가에서 실험군은 대조군에 비해 뇌손상 유발 후 7일과 14일에서 인지기능의 유의한 개선효과를 관찰할 수 있었다. 또한 대조군에 비해 실험군의 해마 치상회에서 BDNF 발현이 증가됨을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과로 보아 인지기능 회복에 있어 비침습적 방법 중 하나인 rTMS가 유용한 방법임을 확인할 수 있었으며, 인지재활에 있어 본 연구는 임상적 활용가능성을 제시하는 기초 근거가 될 수 있을 것으로 생각된다.

Acknowledgement

이 논문은 2011년 동신대학교 학술연구비에 의하여 연구되었음

참 고 문 헌

고명환, 서정환, 장성호, 유우경, 김연희. 반복 경두개 자기자극을 이용한 작업기억 및 시공간 주의력 뇌 신경망 연구. 대한재활의학회지. 2004;28(4): 301-5.

권용현, 김중선, 장성호. 경두개 직류전류 자극이 대 뇌피질의 뇌 활성도에 미치는 영향. 대한물리치료학회지. 2009;21(4):73-9.

김연희, 신승훈, 박성희, 고명환. 뇌질환 후 인지 장애 환자에서 Donepezil이 인지 기능에 미치는 효과. 대한재활의학회지. 2002;26(4):374-8.

노민희, 박수경. 3-Acetylpyridine에 의한 운동실조 동물모델에서 로타로드 운동과 전침이 근활성도

와 혈청 BDNF에 미치는 영향. 한국콘텐츠학회논문지. 2010;10(4):236-46.

박해운, 김수정, 서정민, 조윤우, 장민철, 김동규, 안 상호. 척수손상 모델 흰쥐에서의 기능적 자기 자극 치료의 효과. 대한재활의학회지. 2008;32(6): 612-8.

신승훈, 고명환, 김연희. 컴퓨터 인지재활 프로그램을 이용한 뇌손상 환자의 인지치료 효과. 대한재활의학회지. 2002;26(1):1-8.

온석훈. 비침습적 경두개 뇌자극술이 정상인의 인지 기능 향상에 미치는 영향. 연세대학교 석사학위 논문. 2007.

이성아, 이향숙. 실제적이고 방법적인 인지운동치료. 재활복지. 2005;9(2):142-64.

천송희. 해마-의존과 비의존 과제 훈련이 난소절제술을 시행한 흰쥐의 해마 기능에 미치는 영향. 대구대학교 박사학위 논문. 2009.

Balduini W, De Angelis V, Mazzoni E et al. Long-lasting behavioral alternations following a hypoxic/ischemic brain injury in neonatal rats. Brain Res. 2000;859(2):318-25

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):472-6.

Bekinschtein P, Cammarota M, Katche C et al. BDNF is essential to promote persistence of long-term memory storage. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105(7):2711-6.

Benowitz LI, Routtenberg A. GAP-43: an intrinsic determinant of neuronal development and plasticity. Trends Neurosci. 1997;20(2):84-91.

Bersani F, Marinelli F, Ognibene A et al. Intramembrane protein distribution in cell cultures is affected by 50Hz pulsed magnetic fields. Bioelectromagnetics, 1997;18(7):463-9.

Cameron HA, Hazel TG, McKay RD. Regulation of neurogenesis by growth factor and neurotransmitters. J Neurobiol. 1998;36(2):287-306.

Castren E, Rantamaki T. Role of brain-derived

- neurotrophic factor in the aetiology of depression: implication for pharmacological treatment. *CNS Drug*. 2010;24(1):1-7.
- Chang WH, Kim YH, Bang OY et al. Long-term effects of rTMS on motor recovery in patients after subacute stroke. *J Rehabil Med*. 2010;42(8):758-64.
- Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in Neurosci*. 2002;25(6):295-301.
- Diamond PT, Felsenthal G, Macciocchi SN et al. Effect of cognitive impairment on rehabilitation outcome. *Am J Phys Med Rehabil*. 1996;75(1):40-3.
- Fuchs E, Gould E. Mini-review: in vivo neurogenesis in the adult brain: regulation and functional implications. *Eur J Neurosci*. 2000;12(7):2211-4.
- Gersner R, Kravetz E, Feil J et al. Long-term effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on markers for neuroplasticity: differential outcomes in anesthetized and awake animals. *J Neurosci*. 2011;31(20):7521-6.
- Gould E, Tanapat P. Stress and hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry*. 1999;46(11):1472-9.
- Ikeda T, Mishima K, Yoshikawa T et al. Selective and long-term learning impairment following neonatal hypoxic-ischemic brain insult in rats. *Behav Brain Res*. 2001;118(1):17-25.
- Jang SH, Ahn SH, Byun WM et al. The effect of transcranial direct current stimulation on the cortical activation by motor task in the human brain: an fMRI study. *Neurosci Lett*. 2009;460(2):117-20.
- Keck ME, Sillaber I, Ebner K et al. Acute transcranial magnetic stimulation of frontal brain regions selectively modulates the release of vasopressin, biogenic amines and amino acids in the rat brain. *Eur J Neurosci*. 2000;12(1):3713-20.
- Lee JL, Everitt BJ, Thomas KL. Independent cellular processes for hippocampal memory consolidation and reconsolidation. *Science*. 2004;304(5672):839-43.
- Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*. 1989;20(1):84-91.
- Longo FM, Yang T, Hamilton S et al. Electromagnetic fields influence NGF activity and levels following sciatic nerve transection. *J Neurosci Res*. 1999;55(2):230-7.
- Mally J, Stone TW. New advances in the rehabilitation of CNS disease applying rTMS. *Expert Rev Neurother*. 2007;7(2):165-77.
- Minussi C, Rossini PM. Transcranial magnetic stimulation in cognitive rehabilitation. *Neuropsychol Rehabil*. 2011;21(5):579-601.
- Morris RG. Development of a water maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Meth*. 1984;11;47-60.
- Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Res Rev*. 2003;41(2-3):268-87.
- Ogiue-Ikeda M, Kawato S, Ueno S. The effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on long-term potentiation in rat hippocampus depends on stimulus intensity. *Brain Res*. 2003;993(1-2):222-6.
- Paolucci S, Antonucci G, Gialloreti LE et al. Predicting stroke inpatient rehabilitation outcome: the prominent role of neuropsychological disorders. *Eur Neurol*. 1996;36(6):385-90.
- Pape TL, Roesnow J, Lewis G. Transcranial magnetic stimulation: a possible treatment for TBI. *J Head Trauma Rehabil*. 2006;21(5):437-51.
- Pascual-Leone A, Hallett M. Introduction of errors in a delayed response task by repetitive transcranial magnetic stimulation of the dorsolateral prefrontal cortex. *Neuroreport*. 1994;5(18):2517-20.
- Pascual-Leone A, Rubio B, Pallardo F et al. Rapid-rate transcranial magnetic stimulation of left dorsolateral prefrontal cortex in drug-resistant

- depression. *Lancet*. 1996;348(9022):233-7.
- Picarelli H, Teixeira MJ, de Andrade DC et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation is efficacious as an add-on to pharmacological therapy in complex regional pain syndrome (CRPS) type I. *J Pain*. 2010;11(11):1203-10.
- Ploughman M. Exercise is brain food: the effects of physical activity on cognitive function. *Dev Neurorehabil*. 2008;11(3):236-40.
- Post A, Muller MB, Engelmann M et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation in rats: evidence for a neuroprotective effect in vitro and in vivo. *Eur J Neurosci*. 1999;11(9):3247-54.
- Post RM, Kimbrell TA, McCann UD et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation as a neuropsychiatric tool: present status and future potential. *J ECT*. 1999;15(1):39-59.
- Rasquin SM, Lodder J, Ponds RW et al. Cognitive functioning after stroke: a one-year follow-up study. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2004;18(2):138-44.
- Roman A, Zyss T, Nalepa I. Magnetic field inhibits isolated lymphocytes' proliferative response to mitogen stimulation. *Bioelectromagnetics*. 2005;26(3):201-6.
- Rossi C, Angelucci A, Costantin L et al. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment. *Eur J Neurosci*. 2006;24(7):1850-6.
- Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A et al. Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature*. 2001;410(6826):372-6.
- Van der Zee EA, Biemans BA, Gerkema MP et al. Habituation to a test apparatus during associative learning is sufficient to enhance muscarinic acetylcholine receptor- immunoreactivity in rat suprachiasmatic nucleus. *J Neurosci Res*. 2004;78(4):508-19.
- Wang HY, Crupi D, Liu J et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation enhances BDNF-TrkB signaling in both brain and lymphocyte. *J Neurosci*. 2011;31(30):11044-54.
- Webster BR, Celnik PA, Cohen LG. Noninvasive brain stimulation in stroke rehabilitation. *NeuroRx*. 2006;3(4):474-81.