

전뇌허혈 유발 후 침전극저주파자극 적용이 소뇌의 세포자멸사 억제에 미치는 영향

왕중산* · 박주현** · 문옥곤*** · 김년준**** · 최정현***** · 김지성*****

The Effect of Needle Electrode Electrical Stimulation Following Global Ischemia on the Suppression of Apoptosis in the Cerebellum

Joong-San Wang* · Joo-Hyun Park** · Ok-Kon Moon*** · Nyeon-Jun Kim**** · Jung-Hyun Choi***** · Ji-Sung Kim*****

요 약

본 연구는 온목동맥의 일시적 폐색에 의해 유발된 전뇌허혈로 인해 발생한 SD 랫드 소뇌 부위의 세포자멸사에 대한 침전극저주파자극(Needle Electrode Electrical Stimulation : NEES) 적용의 효과를 알아보기 위하여 면역조직화학적검사를 통하여 조직을 관찰하였다. 연구를 통하여 대조군과 전뇌허혈유발군, 침전극저주파자극시행군의 세포자멸사 관련 인자의 발현정도를 비교하여 분석한 결과 전뇌허혈 후 침전극저주파의 적용은 SD 랫드 소뇌 부위의 c-fos 발현 감소에 유의한 효과를 보였으며, bax, caspase-3의 발현 감소에는 유의한 영향이 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 보아 전뇌허혈 후 침전극저주파자극의 적용은 세포자멸사 관련 인자의 발현 억제에 일부 효과성이 있는 것으로 사료된다.

ABSTRACT

This study conducted observation of tissues using the immunohistochemistry methods in order to see the effect of Needle Electrode Electrical Stimulation(: NEES) on apoptosis in the SD rat cerebellum caused by global ischemia which came from common carotid artery occlusion. The comparison and analysis results of expression of factors related to apoptosis among the control group, the global ischemia group and the NEES group showed that NEES following global ischemia had a significant effect on the reduction of c-fos expression in the SD rat cerebellum, and didn't have a significant effect on the reduction of bax and caspase-3 expression. In conclusion, it is considered that NEES following global ischemia is partially effective in suppressing the expression of factors related to apoptosis.

키 워드

Common Carotid Artery Occlusion, Global Ischemia, Apoptosis, Needle Electrode Electrical Stimulation
온목동맥폐색, 전뇌허혈, 세포자멸사, 침전극저주파자극

* 제1저자 : 여주대학교 물리치료과(king9665@empas.com)

* 수원여자대학교 물리치료과(park33sp@empal.com)

*** 군장대학교 물리치료과(okmoon1230@naver.com)

**** 포항대학교 물리치료과(ineplus@hanmail.net)

***** 남서울대학교 물리치료학과(vchoi77@empas.com)

***** 교신저자(Corresponding author) : 수원여자대학교 물리치료과 교수(sparkler7@naver.com)

접수일자 : 2013. 10. 28

심사(수정)일자 : 2013. 11. 25

게재 확정일자 : 2013. 12. 16

1. 서론

뇌졸중은 뇌의 혈액 공급 장애에 의한 급성 신경학적 손상의 결과로 발생하며, 뇌졸중의 80% 이상은 자연 발생적인 허혈이 원인이다[1], [2], [3], [4], [5]. 이 중 뇌에 급격한 혈액 공급 감소로 발생하는 허혈은 혈관 폐색의 정도에 따라서 전체 뇌(전뇌허혈) 또는 뇌의 한정된 부위(국소허혈)에서 유발되며, 전뇌허혈은 심장마비(Cardiac Arrest), 관상동맥 우회술(Coronary Artery Bypass Surgery)과 같은 조건 또는 짧은 기간 뇌에 혈액 공급이 중단된 상태에서 발생한다[6], [7].

전뇌허혈(Global Ischemia)은 뇌에서 손상받기 쉬운 부위의 신경세포 사멸을 일으키며, 전뇌허혈 이후 적절한 응급처치와 초기치료를 통하여 살아남은 사람들은 생존했다하더라도 감각, 운동, 자율기능, 언어기능 등에 장애가 올 수 있으며, 신체적, 인지적, 심리사회적 기능에 심각한 장애를 가져 올 수 있다[8].

허혈성 뇌졸중은 괴사, 세포자멸사, 염증, 뇌-혈관장벽(Blood-Brain Barrier : BBB) 붕괴 그리고 부종형성 등과 같은 다양한 병리적인 과정의 원인이 되며, 허혈에 의한 뇌신경 세포 사멸은 주로 괴사의 특성을 보이는 것으로 알려져 왔으나 최근 실험동물을 이용한 뇌허혈 모델에서 자멸성 사멸도 관여함이 많이 보고되고 있다. 세포자멸사는 세포의 자가 사멸(Programed Cell Death)로 알려져 있으며, 그 작용은 세포의 항상성 유지와 성장에 없어서는 안 되는 역할이며[9], 세포사의 생리학적 기전이다[10], [11].

뇌 손상이 일어난 후 C-fos mRNA와 단백질은 뇌 피질 전반의 병변이 있는 부위로 신속하게 일시적인 축적이 일어난다. 더욱이 C-fos와 COX-2(Cyclooxygenase-2)는 최근 염증과 연관된 세포독성(Cytotoxicity)에 중요한 결정소로 알려져 있으며, 지속적인 C-fos의 유도는 허혈성 손상 후 신경 사멸(Neuronal Death)을 촉진시킨다[12].

BCL-2(B Cell Lymphoma-2)는 세포내 미토콘드리아 막이나 핵막에 존재하는 단백질로 세포 내에서 이중체(Dimer)를 형성하여 작용하는데 BCL-2/BCL-2인 동종이중체(Homodimer)를 형성하여 작용하거나, 또 다른 BCL-2 family 단백질 BAX와 BCL-2/BAX의 이종이중체(Heterodimer)를 형성하여 작용하는 것으로 알

려져 있다. 즉 다시 말하면 BAX의 양이 상대적으로 많으면 세포가 잘 죽고 BCL-2의 양이 상대적으로 많으면 세포가 잘 죽지 않는다는 것을 의미한다. 또한 세포자멸사에 있어서 BAX의 과발현은 caspase라고 불리는 특정 단백질분해효소의 활성을 야기하며 결국 세포를 파괴한다.

최근 뇌손상의 예후 분석 인자로써 여러 가지 싸이토카인, 호르몬, 그리고 접착분자(adhesion molecules) 등에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며, 이를 치료하기 위하여 다양한 치료방법이 사용되어지고 있고, 근래에 들어와서 대체 의학으로서 동양의 침술이 새로운 치료방법으로 사용되고 있다[13].

침술(Acupuncture)은 동양의학에서 다양한 질환에 대한 임상적 치료법으로 사용되고 있으며, 항상성(Homeostasis)의 증진, 뇌 혈액순환 개선, 통증 조절 그리고 중추신경계에서의 신경조절기능(Neuromodulatory Function)의 개선 등과 같은 다양한 효과를 가지고 있다[9], [14]. 또한 침을 이용한 치료는 특히 허혈을 포함한 뇌혈관사고(Cerebrovascular Accidents)의 증상 개선에 특별한 효과를 가지고 있다[15], [16], [17].

전기자극의 효과와 침의 장점을 결합시킨 전침(Electro-Acupuncture : EA)은 여러 나라에서 사용되고 있으며, 특히 물리치료 분야에서는 침전극저주파자극(Needle Electrode Electrical Stimulation : NEES)이라는 치료법으로 사용되고 있다. 이러한 전침은 일반 침자극과 동일하게 통증치료, 우울증 등 신경계, 뇌졸중 등의 질환에 이용되고 있으며[18], [19], [20], [21], 이에 대한 연구는 1950년경 중국에서 여러 논문들이 발표되면서 미국이나 유럽에서도 이들에 대한 학문적 접근이 새롭게 시도되고 있다[20].

일반적으로 뇌졸중에는 백회(GV.20), 인중(GV.26), 합곡(LL4), 삼음교(SP6), 족삼리(S36) 등이 흔히 사용되고 있으며, 이들 침점들은 신경보호 효과를 가지고 있다[23]. 이중 합곡(LL4)이 두면부(頭面部)의 질환에 가장 효과적인 혈위라고 생각된다[24]. 하지만 많은 연구들이 전침이 허혈성 뇌 손상에 대하여 신경보호 작용을 한다고 제시하고 있지만, 그 보호 기전에 대해서는 충분히 이해되지 못하고 있다[25].

이에 본 연구에서는 침전극저주파자극의 적용이 전뇌허혈 유발 후 발생한 SD 랫드의 소뇌 부위 세포자멸사 억제에 미치는 영향을 알아보고자 한다.

II. 본 론

2.1. 실험방법 및 절차

2.1.1. 실험동물

1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 체중 300g 내외의 8주령 특정 병원체 부재(Specific Pathogen Free : SPF) SD 랫드(Sprague Dawley Rat) 수컷 24마리를 사용하였으며(오리엔트바이오(주), 경기도 가평 소재), 물과 사료는 충분히 공급해 주었다. 사육장의 온도는 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$, 습도는 45~55%정도를 유지하여 사육하였다.

2.1.2. 온목동맥폐색(Common Carotid Artery Occlusion)모델

온목동맥 폐색모델은 기존에 보고된 온목동맥결찰로 전뇌허혈(global ischemia(이하 GI))를 유발하여 사용하였다(Kuge 등, 1995). 랫드를 3% 아이소플루레인(isoflurane, 중외제약, 한국)으로 마취 상태를 유지하면서, 목 정중선에서 왼쪽 2cm 부분을 정중 절개한 후 미주신경 등을 분리하고 온목동맥을 노출시켰다. 그 후 온목동맥을 비흡수성 봉합사로 완전히 결찰하여 5분간 유지한 후 봉합사를 제거하여 혈액이 재관류(reperfusion) 할 수 있게 하였다. 폐색시간을 기준으로 24시간이 경과한 후 랫드를 다음 단계의 각각의 실험 수행에 사용하였다.

2.1.3. 실험군의 구분

본 연구에서는 온목동맥폐색모델과 비교하기 위하여 온목동맥폐색을 유발하지 않은 대조군과 온목동맥폐색을 유발한 global ischemia군(이하 GI군), GI를 유발시킨 뒤 침전극저주파자극(NEES)을 시행한 NEES군으로 구분하여 연구를 시행하였다. GI군과 NEES군은 온목동맥폐색 후 24시간 동안 혈액을 재관류시킨 뒤 GI군은 30분간 3% 아이소플루레인을 이용한 마취만 시킨 후에 회복시켰고, NEES군은 마취 유도와 함께 30분간 침전극저주파자극을 시행 하였다.

- ① 대조군(n=8) : 아무런 처치도 시행하지 않았다.
- ② Global ischemia(GI)군(n=8) : 전뇌허혈 유발 후 24시간이 경과한 뒤 30분 동안 마취를 시행 하였다.
- ③ 침전극저주파자극(NEES)군(n=8) : 전뇌허혈 유

발 후 24시간이 경과한 뒤 마취상태에서 30분 동안 양쪽 합곡(Ho-Gu, LI4) 부위에 침전극저주파자극(NEES)을 시행하였다.

2.1.4. 침전극저주파자극(NEES)

침전극저주파자극은 3% 아이소플루레인을 이용하여 마취상태를 유도한 뒤 SD 랫드의 좌·우측에 경혈점 합곡(LL4) 부위에 해당하는 곳을 선정하고 침전극저주파자극기(PG6, ITO, JAPAN, 9 V, 교류, 2Hz)를 이용하여 30분간 지속적으로 침전극저주파자극을 시행하였다. 침전극저주파자극의 강도는 자극에 의해 SD 랫드의 자극지점 주위 근육의 움직임이 나타나면 곧바로 강도를 약간 감소시켜 근육의 움직임이 사라진 상태에서 자극을 시행하였다.

2.1.5. 면역조직화학적 검사법

온목동맥 폐색에 의한 GI 유발 모델 랫드의 소뇌(cerebellum) 부위를 선택하여 면역조직화학적 검사법을 실시하였다. 4% paraformaldehyde에 고정된 뇌를 동결절편 하였고, free-floating 법으로 실시하였으며, vectastatin ABC Kit(Vector, USA)를 사용하였다. 박 절된 조직을 0.1M PBS로 5분간 3회 수세한 후 1% H_2O_2 로 blocking(peroxidase blocking, 0.1M PBS)시킨 뒤 2% normal goat serum에서 30분간 실온에 방치하였다. 일차항체는 anti-c-fos, anti-bax, anti-caspase-3를 사용하였고, 일차항체를 4°C 에서 3일간 반응시킨 뒤 0.1M PBS에 5분간 3회 수세하고, 이차항체(biotinylated antibody)를 1일간 4°C 에서 반응시켰다. 그 후 0.1M PBS에 5분간 3회 수세하고, avidin-biotin Peroxidase(HRP) complex를 3시간 동안 상온에서 반응시킨 후 0.1M PBS에 5분간 3회 수세하였다. DAB(Sigma, USA) 발색 후 3% 젤라틴(gelatin) 용액으로 조직을 슬라이드(slide)에 올린 후 드라이오븐(dry oven)에 2시간 정도 건조시켰으며, 탈수와 투명과정을 거쳐 permount(Fisher, USA)용액으로 봉입시켰다.

2.2. 통계학적 분석

수집된 모든 자료는 부호화 후 컴퓨터를 이용한 통계처리 프로그램(SPSS 13.0/PC)으로 분석하였으며, 연구 대상의 특성별 분포를 알아보기 위해 기술통계

(descriptive statistics)를 이용하여 빈도(frequency)와 백분위(percentage)를 계산하였다. 그리고 각 치료방법별로 대조군, GI군, NEES군 효과를 알아보기 위해 유의수준 $\alpha=0.05$ 범위에서 Kruskal-Wallis 분석을 사용하였다.

III. 연구 결과

본 연구에서는 온목동맥의 일시적 폐색에 의해 유발된 전뇌허혈로 인해 발생한 SD 랫드 소뇌 부위의 세포자멸사에 대한 침전극저주과자극(Needle Electrode Electrical Stimulation : NEES) 적용의 효과를 알아보기 위하여 면역조직화학적검사법을 통하여 조직을 관찰하였다. 면역조직화학적 검사법을 통한 반응세포 수의 변화는 광학현미경하에서 소뇌 부위를 중심으로 항체(antibody)에 반응한 세포수를 현미경상의 한 영역(field)을 기준으로 파악하였다.

3.1. 조직학적 변화 관찰

3.1.1 면역조직화학적 검사법

3.1.1.1. C-fos

각 군에 대한 c-fos 반응세포 수를 분석한 결과, 대조군과 비교하여 GI군, NEES군 모두에서 증가하였으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p<0.05$).

또한 Mann-Whitney의 U 검정을 통해 두 집단 간의 차이를 분석한 결과, GI군, NEES군 모두 유의한 차이가 나타나 NEES 자극이 c-fos 감소에 유의한 효과가 있는 것으로 나타났다(Table 1, 2, Fig. 1, 2).

표 1. 각 그룹 c-fos의 면역조직화학적 결과분석
Table 1. Results analysis of c-fos immunohistochemistry methods for each group

Items	Group	N	Scores (Rank Sums)	χ^2	df	Prob.	
cerebellum	control	3	2.00	7.26	2	0.027	A
	GI	3	8.00				C
	NEES	3	5.00				B

$p<0.05$

표 2. 소뇌부위의 c-fos 반응세포 수
Table 2. The number of c-fos reactive cells in cerebellum

Items	Group	Mean	SD	Max.	Min.
cerebellum	control	7.67	1.53	9	6
	GI	15.67	2.08	18	14
	NEES	11.67	0.58	12	11

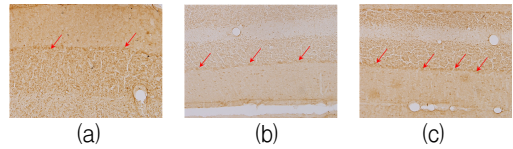


그림 1. 소뇌부위의 c-fos 반응

Fig. 1 C-fos reaction in the cerebellum (arrow : c-fos).
(a) control(X 200) (b) GI(X 200) (c) NEES(X 200)

3.1.1.2 Bax

각 군에 대한 bax 반응세포 수를 비교 분석한 결과, 대조군과 비교하여 GI군, NEES군 모두에서 증가하였으나, 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p<0.05$)(Table 3, 4, Fig. 2).

표 3. 각 그룹 bax의 면역조직화학적 결과분석
Table 3. Results analysis of bax immunohistochemistry methods for each group.

Items	Group	N	Scores (Rank Sums)	χ^2	df	Prob.
cerebellum	control	3	4.33	1.14	2	0.565
	GI	3	6.33			
	NEES	3	4.33			

$p<0.05$

표 4. 소뇌부위의 bax 반응세포 수
Table 4. The number of bax reactive cells in cerebellum

Items	Group	Mean	SD	Max.	Min.
cerebellum	control	9.67	1.53	11	8
	GI	10.67	1.53	12	9
	NEES	9.67	1.15	11	9

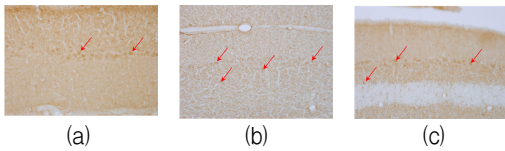


그림 2. 소뇌부위의 bax 반응

Fig. 2 Bax reaction in the cerebellum (arrow : bax).
(a) control(X 200) (b) GI(X 200) (c) NEES(X 200)

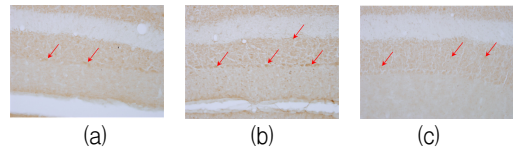


그림 3. 소뇌부위의 caspase-3 반응

Fig. 3. Caspase-3 reaction in the cerebellum (arrow : caspase-3).
(a) control(X 200) (b) GI(X 200) (c) NEES(X 200)

3.1.1.3 Caspase-3

각 군에 대한 caspase-3 반응세포 수를 비교 분석한 결과, 대조군과 비교하여 GI군, NEES군 모두에서 증가하였으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다 ($p < 0.05$).

또한 Mann-Whitney의 U 검정을 통해 두 집단 간의 차이를 분석한 결과, GI군과 NEES군의 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다 (Table 5, 6, Fig. 3).

표 5. 각 그룹 caspase-3의 면역조직화학적 결과분석
Table 5. Results analysis of caspase-3 immunohistochemistry methods for each group

Items	Group	N	Scores (Rank Sums)	χ^2	df	Prob.	
cerebellum	control	3	2.67	6.06	2	0.048 *	A
	GI	3	8.00				B
	NEES	3	4.33				A

$p < 0.05$

표 6. 소뇌부위의 caspase-3 반응세포 수
Table 6. The number of caspase-3 reactive cells in cerebellum.

Items	Group	Mean	SD	Max.	Min.
cerebellum	control	7.67	1.53	9	6
	GI	15.00	2.00	17	13
	NEES	9.33	1.53	11	8

IV. 논 의

뇌의 허혈은 뇌혈류 장애 등과 같은 여러 원인으로 인해 발생하며, 이로 인해 발생하는 병리적인 상태는 뇌에서의 신경 사멸을 촉진시키게 된다고 보고되어 있다[26].

이러한 신경사멸은 세포사와 염증에 의해 주로 유발되는데, 세포사는 여러 가지 다양한 기전에 의해 이루어지며, 넓게 괴사(necrosis)와 세포자멸사(apoptosis)에 의해 발생한다. 세포자멸사는 생리적 또는 화학적 자극에 의해서 일어나며, 괴사와 구별되는 형태학적으로는 세포질과 핵의 농축, 세포벽의 공포화 등 여러 가지 생화학적 변화가 나타난다[27]. 그러나 정상적으로 계획된 세포자멸사가 일어난 세포는 주변의 세포들이나 대식세포 등의 식세포 작용에 의해 제거되므로 생명체에게 세포의 죽음으로 인한 피해를 주지 않는다[28], [29].

세포자멸사가 진행된다면 caspase-3을 활성화시키는 사립체와 관련한 내인성경로(intrinsic pathway)와 외인성경로(extrinsic pathway) 그리고 caspase independent AIF(apoptosis inducing factor)의 경로로 세포사가 진행된다. 먼저 내인성경로는 사립체에서 세포질로 시토크롬c(cytochrome c)가 방출되어 Apaf-1 (apoptosis activation factor-1)과 복합체를 이루어 caspase-9를 활성화 시키고, 활성화된 caspase-9는 결국 caspase-3을 활성화시켜 세포자멸사를 유발한다 [30], [31], [32]. 외인성경로는 Fas 또는 TNF (tumor necrosis factor)-membrane receptor system에 의해서 활성화된 caspase-8이 caspase-3을 활성화시켜 세포자멸사가 일어난다[31], [32]. 그리고 caspase independent AIF(apoptosis inducing factor)의 경로는 사립체에서 방출된 AIF가 세포자멸성 작용을 보이고[33][34], 이는

caspase independent 양상으로 염색질 농축(chromatin condensation)과 핵 응축(nuclear shrinkage)을 유발하여 세포자멸사를 일으킨다[33], [34].

Caspase 활성화는 세포자멸사 진행의 중심이 되는 기전이며[31], 다른 caspase를 직접적으로 분할시켜 세포자멸사를 일으키게 한다. 특히 caspase-3은 다양한 기질을 파괴하는 주된 effector caspase로 알려져 있다. 이 caspase-3는 procaspase-3에서 활성화된 caspase-9에 의해 활성화 되는데 그 형태가 caspase-3 p17로 알려져 있다.

Jang 등(2003)[36]은 침술 치료가 허혈로 유도된 해마 CA1 부위에서의 C-fos, TUNEL 및 caspase-3 양성 세포수의 증가를 억제하였으며, 가장 강력한 억제 효과는 족삼리에서 관찰되었고, 또한 침술 치료는 정상적인 상태에서는 이러한 세포의 수에 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. Chung 등(2007)[35]은 침이 다양한 장애로부터 기능적인 회복을 증대시키기 위해 사용된다고 보고하였으며, 일과성 전뇌허혈 유발 후 gerbils의 해마 치상회에서의 세포자멸사와 새로운 세포 증식에 대한 침의 효과에 관한 연구에서 침이 세포자멸사와 새로운 세포 증식을 약 70% 억제하였는데, 이러한 결과는 침 치료가 허혈에 의해 유도된 세포자멸사를 경감시켜 허혈성 뇌 손상을 회복시키는 치료적 효과를 가져왔다고 보고하였다. 그리고 Pang 등(2003)[25]은 전침은 허혈 후 글루타메이트 분비 및 제관류 손상 억제 이 두 가지 과정을 통하여 신경 보호작용을 하는 것으로 보고하였다.

또한, 전침은 일과성 전뇌허혈 후 해마의 다양한 부위의 신경원, 특히 CA1 부위에서 면역반응과 같은 c-fos 단백질의 유도를 충분히 가능하게 하며, 동시에 전침은 허혈 후 지연성 변성으로부터 대부분의 CA1 세포를 보호한다. 이러한 결과는 전침은 뇌 허혈 이후에 해마의 신경원에 대하여 보호작용이 있다는 것을 나타내며, c-fos는 이러한 일련의 과정과 연관이 있다(Ying S.X.과 Cheng J.S., 1994)[17]는 보고가 있었다.

그리고 Jang 등(2003(b))[36]도 gerbils의 해마 부위에 허혈상태를 유발하여 c-fos와 세포자멸사를 유도한 뒤 족삼리 부위에 침자극을 시행하여 c-fos와 세포자멸사 부위가 감소되었다고 하였다.

본 연구에서도 GI가 유발하는 세포자멸사를 확인하기 위하여 면역조직화학적검사를 통하여 관찰한 결

과, 소뇌부위에서 GI에 의한 c-fos의 발현 증가가 확인되었다. 또한 NEES 적용시 유의성 있는 변화를 보여 선행연구의 전침이 c-fos의 감소를 유발한다는 결과와 유사하였다.

또 다른 세포자멸사의 인자인 bax는 소뇌에서 발현이 증가되어 GI에 의해 bax의 증가가 확인되었지만 NEES 적용시 유의성 있는 변화는 나타나지 않아 NEES 적용이 GI상태에서 bax의 발현에 유의한 영향을 미친다고 판정하기는 어려운 것으로 사료된다.

Yang 등(2007)[37]은 선조체에서의 caspase-3의 발현은 선조체내 출혈에 의해서 증가하며, 침 치료에 의해서 유도된 선조체에서의 caspase-3 발현을 억제시켰고, 이러한 결과는 선조체내 출혈(Intrastriatal Hemorrhage)에 의해 유도된 신경세포사멸에 대한 신경보호작용을 침 치료가 나타내었다는 보고하였다. 또한 Wang 등(2002)[38]은 쥐의 중대뇌동맥을 허혈 상태로 만들어 뇌를 손상시킨 뒤 증가한 caspase-9가 전침자극에 의해 감소하였다고 보고하였으며, 김수한(2004)[40]은 고정에 의한 스트레스 상태에서 증가한 caspase-3와 9의 면역반응세포가 침이나 침전극저주파자극에 의해 감소하였으며, 이는 침과 전기자극이 세포고사와 관련한 물질의 생성을 차단하거나 억제시키기 때문이라고 하였다.

본 연구에서도 소뇌에서 caspase-3의 발현이 유의하게 증가한 것으로 나타났으며, 또한 NEES 적용시 유의성 있는 변화를 보여 NEES 적용이 GI상태에서 caspase-3의 발현에 유의한 영향을 미치는 것으로 판단된다.

VI. 결론 및 제언

본 연구에서는 전뇌허혈 유발 후 침전극저주파자극의 적용이 소뇌의 세포자멸사 억제에 미치는 영향을 면역조직화학적검사를 통하여 관찰한 결과 전뇌허혈 후 침전극저주파의 적용은 SD 랫드 소뇌 부위의 c-fos 발현 감소에 유의한 효과를 보였으며, bax 및 caspase-3의 발현 감소에는 유의한 영향이 없는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 보아 전뇌허혈 후 침전극저주파자극의 적용은 세포자멸사 관련 인자의 발현 억제에 일부분 효과성이 있는 것으로 사료되며, 후후

침전극저주파자극이 허혈성 뇌손상에 미치는 영향을 보다 체계적으로 연구하기 위해서는 뇌허혈 유발 정도, 자극 시간 및 자극 부위 등 다양한 변수를 고려한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

참고 문헌

- [1] Chiarugi A, "Poly(ADP-ribosyl)ation and stroke", *Journal of Pharmacology Research*, Vol. 52, pp. 15-24, 2005.
- [2] Sharma S.S, and Thiyagarajan M, "Molecular mechanism of cerebral ischemia", In: Thakur M.K, Prasad S., editors. *Molecular and Cellular Neurobiology*. New Delhi: Narosa Publishing House, pp. 191-202, 2005.
- [3] Eun-Jin Seo, Hyun-Hui Beak, Jeong-Ja Kim, "The Effect of Direct Swallowing Treatment on the Swallowing Function and Quality of Life of the Stroke Patient", *The Journal of the Korea Institute of Electronic Communication Science*, Vol. 8, No. 9, pp. 1413-1420, 2013.
- [4] Yun-Hee Son, Ji-On Park, Hyun-Sook Hwang, "Research on the Effects of the Dementia Prevention Program on the Retired Seniors in the Industrial Age", *The Journal of the Korea Institute of Electronic Communication Science*, Vol. 8, No. 10, 1601-1608, 2013.
- [5] Sun-Mi Park, "The Relationship between Dysmenorrhea and Alternative Medicine among the Internet Age", *The Journal of The Korea Institute of Electronic Communication Sciences*, Vol. 8, No. 7, pp. 1108-1109, 2012.
- [6] Petit C.K, Feldmann E., Pulsinelli W.A. and Plum F, "Delayed hippocampal damage in humans following cardiorespiratory arrest", *Journal of Neurology*, Vol. 37, pp. 1281-1286, 1987.
- [7] Lim C, Alexander M.P, LaFleche G, Schnyer D.M. and Verfaellie M, "The neurological and cognitive sequelae of cardiac arrest", *Journal of Neurology*, Vol. 63, pp. 1774-1778, 2004.
- [8] Osullivan Susan B, and Schmitz Thomas J, "Physical rehabilitation : Assessment and Treatment. 3ed", Philadelphia, F.A Davis Company, 1994.
- [9] Jang M.H, Shin M.C, Koo G.S, Lee C.Y, Kim E.H, and Kim C.J, "Acupuncture decrease nitric oxide synthase expression in periaqueductal gray area of rats with streptozotocin-induced diabetes", *Journal of Neuroscience*, Vol. 337, pp. 155-158, 2003.
- [10] Vaux D.L, and Strasser A, "Molecular biology of apoptosis", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 93, pp. 2239-2244, 1996.
- [11] Jacobson M.D, Weil M. and Raff M.C, "Programmed cell death in animal development", *Journal of Cell*, Vol. 88, pp. 347-354, 1997.
- [12] Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, Lee L, Isakson P., "Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 91, No. 25, pp. 12013-12017, 1994.
- [13] Leak R. and Broderick J.E, "Treatment efficacy of acupuncture : a review of the research literature", *Journal of Integrative medicine*, Vol. 1, pp. 107-115, 1998.
- [14] Uchida S, Kagitani F, Suzuki A. and Aikawa Y, "Effect of acupuncture like stimulation on cortical cerebral blood flow in anesthetized rats", *Japan Journal of Physiology*, Vol. 50, pp. 495-507, 2000.
- [15] Gao H, Guo J, Ahao P. and Cheng J, "The neuroprotective effect of electro-acupuncture on focal cerebral ischemia in monkey", *Journal of Acupuncture Electro-Therapy Research*, Vol. 27, pp. 45-57, 2002.
- [16] Kim E.H, Kim Y.J, Lee H.J, Huh Y, Chung J.H, Seo J.C, Kang J.E, Lee H.J, Yim S.V. and Kim C.J, "Acupuncture increase cell proliferation in dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils", *Journal of Neuroscience Letter*, Vol. 277, pp. 21-24, 2001.
- [17] Ying S.X. and Cheng J.S, "Effects of electro-acupuncture on C-fos expression in gerbils hippocampus during transient global ischemia", *Journal of Acupuncture Electro-Therapy Research*, Vol. 19, No. 4, pp. 207-213, 1994.
- [18] Chen Y.M. and Fang Y.A, "108 cases of hemiplegia caused by stroke: the relationship

- between CT scan results, clinical findings and the effect of acupuncture treatment", *Journal of Acupuncture Electro-Therapy Research*, Vol. 15, No. 1, pp. 9-17, 1990.
- [19] Luo H., Meng F, Jia Y. and Zhao X, "Clinical research on the therapeutic effect of the electro-acupuncture treatment in patients with depression", *Journal of Psychiatry Clinical Neuroscience*, Vol. 52, pp. S338-40, 1998.
- [20] Ulett G.A, Han S. and Han J.S, "Electroacupuncture: mechanisms and clinical application", *Journal of Biology & Psychiatry*, Vol. 44, No. 2, pp. 129-38, 1998.
- [21] Wong A.M, Su T.Y, Tang F.T, Cheng P.T. and Liaw M.Y, "Clinical trial of electrical acupuncture on hemiplegic stroke patients", *American journal of physical medicine & rehabilitation*, Vol. 78, No. 2, pp. 117-22, 1999.
- [22] Kyung-Ok Min, "Electrotherapy", *Hyunmoon-sa*, pp.52-82, 466-492, 2001.
- [23] Wei G.W, Huang Y.L, Wu G.C. and Cao X.D, "Regulation of glial cell line-derived neurotrophic factor expression by electroacupuncture after transient focal ischemia", *Journal of Acupuncture Electro-Therapy Research*, Vol. 25, pp. 81-90, 2000.
- [24] Geon-Mok Lee, Yoo-Sun Yang, Sung-Jin Kim, Yoo-Jin Hwang, Dong-Soo Lyu, Min-Ja Kim, Eun-Hee Cho, Hyun-Jung Kim, Myeong-Bok Yang, Beung-Cheul Lee, In Lee, "The nuclear medical study on the effect of Hap-Kok(LI4) Acupuncture on cerebral blood flow ", *Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society*, Vol. 18, No. 6, 2001.
- [25] Pang J, Itano Y, Sumitani K, Negi T. and Miyamoto O, "Electroacupuncture attenuates both glutamate release and hyperemia after transient ischemia in gerbils", *American Journal of Chinese Medicine*, Vol. 31, No. 2, pp. 295-303, 2003.
- [26] Sugawara T, Lewen A, Noshita N, Gaschie Y. and Chan P.H, "Effect of global ischemia duration on neuronal, astroglial, oligodendroglial, and microglial reactions in the vulnerable hippocampal CA1 subregion in rats", *Journal of Neurotrauma*, Vol. 19, pp. 85-98, 2002.
- [27] Compton M.M. and Cidlowski J.A, "Rapid in vivo effect of glucocorticoids on the integrity of rat lymphocyte genomic DNA", *Journal of Endocrinology*, Vol. 118, pp. 38-45, 1994.
- [28] Wang S, Miura M, Y-K Hong Z, Galiardini V, Shi L, Greenberg A. and Yuan J, "Identification and characterization of Ich-3, a member of the ICE/Ced-3 family and an upstream regulator of ICE", *Journal of Biology & Chemistry*, Vol. 271, pp. 20580-20587, 1996.
- [29] Orth K, O'Rourke K, Salvesen G.S. and Dixit V.M, "Molecular ordering of apoptotic mammalian CED/ICE like protease", *Journal of Biology & Chemistry*, Vol. 271, pp. 20977-20980, 1996.
- [30] Saleh A, Srinivasula S.M, Acharya S, Fishel R. and Alnemri E.S, "Cytochrome c and dATP-mediated oligomerization of apaf-1 is a prerequisite for procaspase-9 activation", *Journal of Biology & Chemistry*, Vol. 274, pp. 17941-17945, 1999.
- [31] Rao RV, Peel A, Logvinova A, Rio G.D, Hermelm E., Yokota T, Goldsmith P.C, Ellerby L.M, Ellerby H.M. and Bredesen D.E, "Coupling endoplasmic reticulum stress to the cell death program : role of the ER chaperone GRP78", *Federation of American Societies for Experimental Biology*, Vol. 514, pp. 122-128, 2002.
- [32] Graham S.H. and Chen J, "Programmed cell death in cerebral ischemia", *Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism*, Vol. 21, pp. 99-109, 2001.
- [33] Susin S.A, Dugas E, Ravagnam L, Samejima K, Zamzami N, Loeffler M, Costantini P, Ferri K.F, Irinopoulou T, Prevost M.C, Brothers G, Mak T.W, Peninger J, Earnshaw W.C. and Kroemer G, "Two distinct pathways leading to nuclear apoptosis", *Journal of Experimental Medicine*, Vol. 192, pp. 571-580, 2000.
- [34] Dugas E, Susin S.A, Zamzami N, Ferri K.F, Irinopoulou T, Larochette N, Prevost M.C, Leber B, Andrew D, Penninger J. and Kroemer G, "Mitochondrio-nuclear translocation of AIF in apoptosis and necrosis. Federation of American Societies for Experimental Biology", Vol. 14, pp. 729-739, 2000.
- [35] Chung J.H, Lee E.Y, Jang M.H, Kim J, Kim

C.J, Ha E, Park H.K, Choi S, Lee H, Park S.H, Leem K.H, and Kim E.H, "Acupuncture decreases ischemia-induced apoptosis and cell proliferation in dentate gyrus of gerbils", Journal of Neurological Research, Vol. 29, No. 1, pp. 23-27, 2007.

- [36] Jang M.H, Shin M.C, Lee T.H, Lim B.V, Shin M.S, Min B.I, Kim H, Cho S, Kim E.H. and Kim C.J, "Acupuncture suppresses ischemia-induced increase in c-Fos expression and apoptosis in the hippocampal CA1 region in gerbils. Journal of Neuroscience, Vol. 347, No. 1, pp. 5-8, 2003(b).
- [37] Yang Y.J, Kim Y.S, Shin M.S, Chang H.K, Lee T.H, Sim Y.J, Shin M.C, Park H.Y, Kim S, Park H.K. and Kim C.J, "Effects of acupuncture on the intrastriatal hemorrhage-induced caspase-3 expression and newly cell birth in rats" Journal of Neurological Research, Vol. 29, No. 1, pp. S65-71, 2007.
- [38] Wang SJ, Omori N, Li F, Jin G, Zhang WR, Hamakawa Y, Sato K, Nagano I, Shoji M. and Abe K, "Potentiation of Akt and suppression of caspase-9 activations by electroacupuncture after transient middle cerebral artery occlusion in rats", Journal of Neuroscience, Vol. 331, No. 2, pp. 115-118, 2002.
- [39] Soo-Han Kim "The effect of needle electrode electrical stimulation on the change of caspase-3, 9 and neuronal nitric oxide synthase immunoreactive cells in the sprague dawley rats ", Hanseo University A doctor's degree, 2004.

저자 소개



왕중산(Joong-San Wang)

2005년 2월 용인대학교 재활보건의과학대학원 물리치료학전공(물리치료학 석사)

2013년 현재 용인대학교 대학원 물리치료학 전공(물리치료학 박사과정)

2013년 현재 여주대학교 물리치료과 교수

※ 관심분야 : 정형도수물리치료, 노인물리치료



박주현(Joo-Hyun Park)

2008년 8월 용인대학교 재활보건의과학대학원 물리치료학전공(물리치료학 석사)

2013년 2월 용인대학교 대학원 물리치료학 전공(물리치료학 박사)

2013년 현재 수원여자대학교 물리치료과 교수

※ 관심분야 : 정형도수물리치료, 검사 및 평가



문옥곤(Ok-Kon Moon)

2001년 2월 용인대학교 재활보건의과학대학원 물리치료학전공(물리치료학 석사)

2011년 2월 용인대학교 대학원 물리치료학 전공(물리치료학 박사)

2013년 현재 군장대학교 물리치료과 교수

※ 관심분야 : 정형도수물리치료, 전기치료



김년준(Nyeon-Jun Kim)

2008년 8월 용인대학교 재활보건의과학대학원 물리치료학전공(물리치료학 석사)

2013년 8월 용인대학교 대학원 물리치료학 전공(물리치료학 박사)

2013년 현재 포항대학교 물리치료과 교수

※ 관심분야 : 신경계 물리치료, 노인물리치료



최정현(Jung-Hyun Choi)

2005년 8월 용인대학교 재활보건의과학대학원 물리치료학전공(물리치료학 석사)

2010년 2월 용인대학교 대학원 물리치료학 전공(물리치료학 박사)

2013년 현재 남서울대학교 물리치료학과 교수

※ 관심분야 : 전기생리학, 운동치료



김지성(Ji-Sung Kim)

2001년 2월 용인대학교 재활보건
과학대학원 물리치료학전공(물리치
료학 석사)

2008년 2월 용인대학교 대학원 물
리치료학 전공(물리치료학 박사)

2013년 현재 수원여자대학교 물리치료과 교수

※ 관심분야 : 정형도수물리치료, 전기치료학