

DHEA 투여가 국소 뇌허혈 모형 쥐의 하지근에 미치는 효과

안 경 주¹⁾

서 론

연구의 필요성

뇌졸중은 뇌의 순환장애로 인해 주위 뇌조직의 부종과 뇌 세포 허혈이 발생하여 운동 장애, 감각 장애, 인지 장애 및 언어 장애 등을 수반하는 뇌혈관 질환이다. 특히, 뇌졸중이 일어난 부위에 따라 연하곤란이나 식욕부진이 유발되어 영양 부족 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(Scelsi, Lotta, Lommi, & Marchetti, 1984). 뇌졸중 발생 후 편마비가 초래된 환자에서 환측 하지둘레가 정상측보다 감소하며, 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 7 일동안에 쥐의 근육 무게가 감소하여 근위축이 유발되었음을 확인하였다(An, Lee, Im, Choi, & Choe, 2000).

근위축은 뇌졸중 환자의 일상생활활동에 장애를 주며 신체를 뇌졸중 발생 전 상태로 회복시키는데 소요되는 시간을 연장시키므로 뇌졸중 치료의 필수 과정인 재활요법의 수행에 있어 저해 요인으로 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 발생부터 재활치료를 시작하기까지의 기간은 1주 이내가 30%, 1주 이후가 70%로 나타나 대부분의 환자에서 재활과 관련된 치료가 뇌졸중 발생 초기부터 시작되지 않아 장애를 경감시키려는 시도가 지연되는 것으로 나타났다(Cho, Choi, Lee, & Ha, 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(Shin, Yoon, Chun, Kim, & Yim, 1994; 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(An et al., 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 투여이다.

DHEA는 대부분 부신에서 분비되는 스테로이드 호르몬으로 체지방을 감소시키고 단백질 합성을 증진시켜 체단백질을 증가시킨다고 알려져 있다(Nestler, Barlascini, Clore, & Blackard,

주요어 : 뇌허혈, 근위축, DHEA

1) 대구가톨릭대학교 의과대학 간호학과

투고일: 2003년 9월 25일 심사완료일: 2004년 2월 11일

1988; Tagliaferro, Davis, Truchon, & Hamont, 1986). 특히, DHEA는 미국 식품의약국(Food and Drug Administration, FDA)에서 의사의 처방이 필요없는 over the counter(OTC) 의 약품으로 허가하고 있으며 대체요법 측면에서 치료적 접근이 가능하다.

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)을 대상으로 수행되었고, 병리적 상황에서는 근긴장성 이영양증 환자 또는 스테로이드 유발성 근위축 쥐를 대상으로 이루어진 연구였으며(Robinson & Cutolo, 1999), 뇌졸중에 의해 유발된 근위축에 대해 DHEA를 적용한 연구는 국내외적으로 거의 없는 실정이다. 이는 DHEA에 관한 연구가 1990년대 후반부터 본격적으로 진행되었기 때문에 많은 선행연구가 이루어지지 않았으며, 뇌졸중 환자를 대상으로 이루어진 연구에서 근위축 문제에 대한 관심이 많지 않았기 때문이다. 하지만 뇌졸중 환자가 회복기에 재활운동을 하기 위해서는 근위축을 예방하는 것이 필수적인 요인이므로 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.

DHEA 투여 기간은 예비실험 결과에서 본 연구에서 사용한 뇌허혈 유발 모형 쥐의 생존기간이 7~10일이었으며 본 연구의 목적이 뇌졸중 발생 직후 초기에 DHEA의 효과를 규명하기 위한 것이므로 뇌허혈 발생 후 초기 7일간 투여하는 것으로 하였다.

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

연구의 목적

본 연구에서는 DHEA를 뇌허혈 유발 쥐에 뇌허혈 발생 초기인 7일간 투여하여 가자미근, 족척근과 비복근에 미치는 영향을 규명하고자 하며, 구체적인 연구 목표는 다음과 같다.

- 뇌허혈 발생 7일 후 하지근에 근위축이 유발되는가를 규명한다.
- 뇌허혈 발생 7일 후 근육 무게가 감소되는지를 규명한다.
- 뇌허혈 발생 7일 후 근섬유 횡단면적이 감소되는지를 규명한다.

- 뇌허혈 발생 7일 후 근원섬유 단백질 함량이 감소되는지를 규명한다.
- 뇌허혈 발생 7일 후 근력이 감소되는지를 규명한다.

- 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 하지근에 유발되는 근위축을 경감시키는지를 규명한다.
- 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 하지근 무게를 증가시키는지를 규명한다.
- 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 하지근 근섬유 횡단면적을 증가시키는지를 규명한다.
- 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 하지근의 근원섬유 단백질 함량을 증가시키는지를 규명한다.
- 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 근력을 증가시키는지를 규명한다.

연구 방법

연구대상

체중 200-250g의 8주령 male Sprague-Dawley rats(Daehan Experimental Animal Co., Korea) 27마리를 실험 대상으로 사용하였다. 연구대상 쥐들은 동일한 환경에 수용하였으며 24시간 생체주기(circadian rhythm)를 위해 12시간은 밝고 12시간은 어둡도록 조명을 조정하였다. 모든 연구대상 쥐들에게 고형사료(Samyang Co., Korea)와 물은 마음대로 먹을 수 있게 하였다.

연구설계

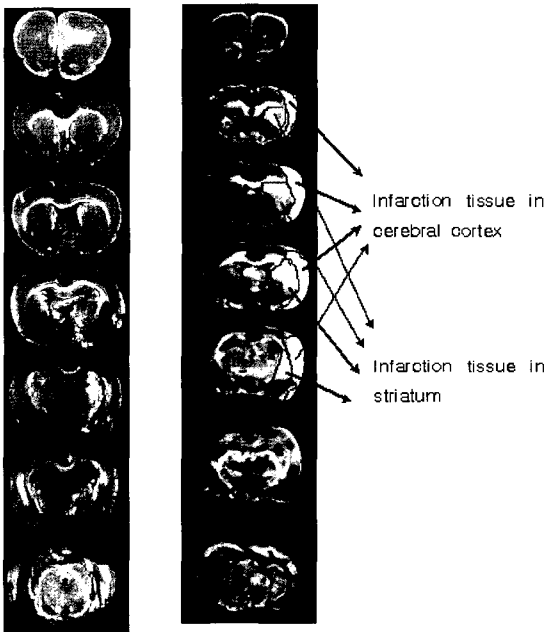
실험동물은 CINS(Cerebral ischemia with normal saline administration)군, CIDH(Cerebral ischemia with DHEA administration)군, SHNS(Sham with normal saline administration)군의 3군으로 무작위 배정하였다. CINS군은 뇌허혈 유발 후 다음날부터 7일간 생리식염수를 투여받은 군이고, CIDH군은 뇌허혈 유발 후 7일간 DHEA를 투여받은 군이며, SHNS군은 모의수술 후 7일간 생리식염수를 투여받은 군이다. 세 군 모두 수술 후 7일 경과 후에 가자미근, 족척근, 비복근을 절제하였고 뇌를 적출하였다.

실험방법

- 뇌허혈 유발
- 본 연구에서는 Nagasawa와 Kogure(1989)가 개발한 국소 뇌허혈 모형(focal cerebral ischemia model)을 이용하였다. 1.5%

enflurane을 혼합한 마취가스로 전신마취를 시킨 후 쥐의 우측 중경동맥을 노출시키고 내경동맥을 분리하였다. 내경동맥 위쪽에 미세하게 절개를 하고 1.8cm 길이의 나일론 봉합사에 실리콘으로 코팅한 probe를 삽입하여 2시간동안 우측 중뇌동맥으로 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 7개의 조각으로 절제하여 2% triphenyltetrazolium chloride(TTC) 용액에 넣어 실온에서 60분간 염색하였다. 정상 조직인 경우에는 적색으로 염색이 되지만 경색 부위는 염색이 되지 않아 하얗게 나타나게 되므로 뇌경색 면적을 확인할 수 있다<Figure 1>.



<Figure 1> Brain tissue in sham and cerebral ischemia rats. This figure represents 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.

● 모의수술(Sham operation)

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

● DHEA 투여

Ethanol 5ml와 MCT(medium-chain triglycerides) oil 45ml를 혼합한 용액에 DHEA(5-androsten-3 β -ol-17-one, Sigma, USA) 1.25g을 용해시켜 주사액으로 만든 후, 뇌졸중 유발 수술 다음날부터 CIDH군에 0.34mmol/kg의 용량으로 1회/일, 7일간 복강내 주사하였다(Kwak et al., 2000).

측정방법

● 근육무게 측정

실험 마지막 날에 pentobarbital sodium을 50-70mg/kg의 용량으로 복강내 주사로 투여하여 마취시킨 후, 환측인 좌측 뒷다리에 가자미근, 족척근, 비복근을 절제하여 microbalance(Mettler PE160, USA)에서 무게를 측정하였다.

● Type I, II 근섬유의 횡단면적 측정

근섬유 형태를 Type I과 Type II로 구분하기 위해 myosin-ATPase(adenosinotriphosphatase) 조직화학을 실시하였다. 이 근육표본을 광학현미경(BH-2, Olympus, Japan)으로 보아 어둡게 보이는 근섬유는 Type I, 밝게 보이는 근섬유는 Type II로 분류한다. 근섬유의 단면적은 microscopic image analyzer(LECO 2001 Image Analysis System)를 이용하여 100배의 배율하에 최소한 50개의 근섬유를 측정하여 Type I, II 근섬유의 유형별 횡단면적을 산출하였다.

● 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 Bradford assay 방법으로 분석하였다. 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)을 표준용액으로 이용하여 분광광도계에서 나타난 흡광도(absorbance, A595) 수치(μ g/ml)를 읽어 해당 근육의 단백질 함량(mg/g)을 산출하였다.

● 근력 측정

Yonemori, Yamaguchi, Yamada와 Tamura(1998)가 만성 뇌허혈 쥐 모형을 이용하여 운동기능, 특히 근력을 평가하기 위해 사용했던 방법으로, 각도를 40°, 45°로 조절할 수 있는 스텐레스 경사판(inclined plane)을 이용하여 근력을 측정하였다.

자료수집절차

실험에 이용된 쥐들은 3일간 실험실 환경에 적응하는 기간을 두었다. 뇌허혈 유발수술 전일부터 매일 체중과 사료섭취

량을 측정하였고, 실험 마지막 날에 체중을 측정한 후 근육을 절제하고 뇌를 적출하였다.

자료분석

수집된 자료는 SPSSWIN 9.0 프로그램을 이용하여 각 군의 체중, 근육무게, 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량, 근력, 사료섭취량은 평균과 표준편차로 나타내었다. 세 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며 사후검정은 Scheffé 검정을 이용하였다. 모든 통계적 유의수준은 $p < .05$ 에서 채택하였다.

연구 결과

하지근 근육 무게

뇌허혈 유발 후 8일에 하지에서 절제한 근육무게는 <Table 1>에 제시된 바와 같이 세 군의 가자미근($F=27.896, p=.000$), 족척근($F=10.704, p=.000$), 비복근($F=24.276, p=.000$)에서 모두 유의한 차이를 나타내었다.

뇌허혈 유발로 CINS군의 근육무게가 감소했는지를 SHNS군과 비교분석한 결과, CINS군의 가자미근($p=.000$), 족척근($p=.000$), 비복근($p=.002$) 무게는 SHNS군에 비해 감소하였고, DHEA 투여로 근육무게가 증가했는지를 분석한 결과, CIDH군의 가자미근($p=.001$), 족척근($p=.048$), 비복근($p=.014$) 무게가 CINS군에 비해 증가하였다.

Type I, II 근섬유 횡단면적

가자미근의 근섬유 횡단면적은 <Table 2>에서 보는 바와 같이 세 군의 가자미근의 Type I 근섬유($F=8.325, p=.011$), 족

척근의 Type II 근섬유($F=36.648, p=.001$)와 비복근의 Type II 근섬유($F=6.482, p=.021$)에서 유의한 차이가 나타났다. 가자미근의 Type I 근섬유 횡단면적에서 CINS군은 SHNS군에 비해 12% 감소되었으며($p=.020$), CIDH군은 CINS군과 유의한 차이가 나타나지 않았다. 족척근 Type II 근섬유 횡단면적은 CINS군이 SHNS군에 비해 32.1% 감소하였으며($p=.001$), DHEA 투여로 CIDH군이 CINS군에 비해 36.3% 증가하였다($p=.001$). 비복근 Type II 근섬유 횡단면적은 CINS군이 SHNS군에 비해 34.4% 감소하였으며($p=.029$), DHEA 투여로 CIDH군은 CINS군에 비해 43.5% 증가하였다($p=.024$)<Figure2>.



<Figure 2> 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).

근원섬유 단백질 함량

하지근의 근원섬유 단백질 함량은 <Table 1>에 제시된 바와 같이 세 군의 가자미근($F=5.055, p=.024$)과 비복근($F=8.747,$

<Table 1> Muscle weight & Myofibrillar protein content

	Muscle weight(mg)			Myofibrillar protein content(mg/g)		
	Soleus	Plantaris	Gastrocnemius	Soleus	Plantaris	Gastrocnemius
CINS(n=8)	79.0±7.0 [^]	198.2±17.2 [^]	951.9±43.3 [^]	46.9±11.9	74.5± 4.5	79.0±2.6 [^]
CIDH(n=9)	94.1±7.1 ⁺	221.1±18.7 ⁺	1102.1±118.5 ⁺	65.0±5.3 ⁺	76.7±10.0	83.4±6.6
SHNS(n=10)	105.0±8.7	239.6±21.9	1288.9±126.3	59.2±10.7	78.9± 3.3	91.2±3.1

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.

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

[^] : Significant between CINS & SHNS($p < .05$).

<Table 2> Muscle fiber type cross-sectional area

Group	Soleus		Plantaris		Gastrocnemius	
	Type I	Type II	Type I	Type II	Type I	Type II
CINS(n=8)	3142±581 [^]	650±210	1193±224	2538±189 [^]	1307±228	3063±485 [^]
CIDH(n=9)	3208±456	973±254	881±161	3442±264 ⁺	1062±919	5426±968 ⁺
SHNS(n=10)	3567±788	976±298	958±191	3733±146	1680±720	4673±939

Values are mean±SD(μm^2).

n: numbers of animals.

CINS: Cerebral ischemia with normal saline administration.

CIDH: Cerebral ischemia with DHEA administration.

SHNS: Sham with normal saline administration.

+ : Significant between CINS & CIDH(p<.05).

[^] : Significant between CINS & SHNS(p<.05).

p=.004)에서 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

뇌허혈 유발로 CINS의 근원섬유 단백질 함량이 감소되는지를 분석한 결과, 비복근의 근원섬유 단백질 함량에서 CINS군이 SHNS군에 비해 13.4% 감소하였으며(p=.004), DHEA 투여로 CIDH군의 가자미근 근원섬유 단백질 함량이 CINS군에 비해 27.9% 증가하였다(p=.025).

근력

근력은 <Table 3>에 나타난 바와 같이 뇌허혈 유발 수술 전에는 세 군간에 유의한 차이가 없었으나 수술 후 1일에 측정된 40°경사판 검사(F=9.66, p=.001)와 45°경사판 검사(F=8.040, p=.002)에서 유의한 차이가 있었고, 수술 후 7일에 측정된 40°경사판 검사(F=4.141, p=.027)와 45°경사판 검사(F=4.279, p=.024)에서도 세 군간에 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

뇌허혈 유발로 인한 CINS군의 근력 저하를 분석한 결과, CINS군은 SHNS군에 비해 수술 후 1일에 측정된 40°경사판 검사에서 근력이 저하되었고(p=.014) 45°경사판 검사에서도 근력이 저하된 것으로 나타났다(p=.003). 수술 후 7일의 40°경사판 검사에서 CINS군은 SHNS군에 비해 유의하게 감소하였

으며(p=.041), 45°경사판 검사에서도 CINS군은 SHNS군에 비해 근력이 저하된 것으로 나타났다(p=.027). DHEA 투여로 CIDH군의 근력이 CINS군에 비해 증가하였는지를 분석한 결과, 뇌허혈 유발 후 1일에 측정된 40°와 45° 경사판 검사에서 CIDH군과 CINS군의 근력은 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다, 수술 후 7일의 40° 경사판 검사에서 CIDH군의 근력은 CINS군에 비해 증가하였으며(p=.047). 수술 후 7일의 경사판 검사에서 CIDH군은 CINS군에 비해 유의하게 증가하였다(p=.040).

체중

실험시작시 체중(Pre-wt)과 근육절제 직전(Post-wt)의 체중을 분석한 결과는 <Table 4>에서 보는 바와 같이, pre-wt은 세 군간에 유의한 차이가 없었으며 post-wt은 세 군간에 차이가 있는 것으로 나타났다(F=24.74, p=.009). CINS군의 post-wt은 SHNS군에 비해 13.9% 감소하였으며(p=.001), CIDH군은 CINS군에 비해 11.5% 증가한 것으로 나타났다(p=.001).

총사료섭취량

<Table 3> Muscle strength measured by inclined plane test

Group	Pre-op		Post-op 1st day		Post-op 7th day	
	40°	45°	40°	45°	40°	45°
CINS(n=8)	47.3±15.3	8.0±4.1	27.6±21.8 [^]	3.0±2.6 [^]	29.6±27.3 [^]	5.7±5.5 [^]
CIDH(n=9)	46.2±15.8	6.7±4.7	26.1±18.4	6.3±6.1	52.7±14.5 ⁺	24.5±23.7 ⁺
SHNS(n=10)	42.6±16.4	6.1±2.9	56.1±4.5	14.2±8.6	54.9±8.2	24.9±18.2

Values are mean±SD(sec).

n: number of animals.

CINS: Cerebral ischemia with normal saline administration.

CIDH: Cerebral ischemia with DHEA administration.

SHNS: Sham with normal saline administration.

+ : Significant between CINS & CIDH(p<.05).

[^] : Significant between CINS & SHNS(p<.05).

<Table 4> Body weight and total diet amount

Group	Pre-wt	Post-wt	Total diet
CINS(n=8)	264±20.5	238±28.3 [^]	91.1±22.1 [^]
CIDH(n=9)	263±13.3	269±12.1 ⁺	86.9±13.8
SHNS(n=10)	259± 8.9	273±11.0	139.8±9.5

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.

Pre-wt: Body weight at the start of experiment.

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

+ : Significant between CINS & CIDH(p<.05).

[^] : Significant between CINS & SHNS(p<.05).

7일간 총사료섭취량은 <Table 4>에 제시된 바와 같이 세 군간에 유의한 차이가 있었다(F=11.44, p=.001). CINS군은 SHNS군에 비해 34.9% 적게 섭취한 것으로 나타났으며 (p=.009), CINS군과 CIDH군의 총사료섭취량은 유의한 차이가 없었다.

논 의

본 연구에서는 뇌허혈 유발 쥐에서 뇌경색 발생 후 7일간 DHEA를 투여하여 하지근 근육에 미치는 효과를 규명하였으며, 그 결과를 바탕으로 다음과 같이 논의하고자 한다.

뇌허혈 발생으로 인한 근 위축

본 연구 결과, CINS군의 가자미근, 족척근, 비복근의 근육 무게가 SHNS군에 비해 25.9%, 24.1%, 34.7% 감소하여, 뇌경색 발생 7일이라는 급성기 동안에 환측 하지근 근육의 무게가 감소되어 근위축이 초래되었음을 제시하고 있다.

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 상지 가비로 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), 본 연구에서도 뇌허혈 유발 쥐에서 7일간의 활동저하가 근육무게를 유의하게 저하시킨 것으로 설명할 수 있다.

또한, 본 연구에서 뇌허혈 수술을 받은 CINS군과 CIDH군의 사료섭취량이 SHNS군과 SHDH군에 비해 유의하게 저하된

것으로 나타난다. 이러한 결과는 본 연구와 동일한 국소 뇌허혈 모형 쥐를 이용한 An 등(2000)의 연구에서 뇌졸중군의 사료섭취량이 유의하게 감소한 결과와 일치하였으며, 뇌졸중으로 인한 연하곤란과 식욕상실 등으로 뇌경색이 초래된 지 1주일만에 영양부족 상태에 이르게 된다는 Davalos(1996)의 연구결과와도 부합한다. 본 연구에서 중뇌동맥으로 가는 혈류를 차단하였으므로 중뇌로의 혈류 공급 감소로 섭식중추가 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 근육 단백질 분해 증가로 인한 근육 단백질 소실이기보다는 식이섭취 저하에 따른 영양공급의 부족으로 단백질 동화작용이 저해되었기 때문으로 볼 수 있다.

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 Scelsi 등(1984)이 제시한 뇌허혈 발생 후 Type II 근섬유의 위축이 초래된다는 연구결과와 부합한다고 생각된다. 이는 뇌허혈 유발로 발생한 근위축은 Type II 근섬유에 더 큰 영향을 준다는 사실을 제시한다.

뇌허혈 유발수술 후 7일째에 실시한 근력 측정 결과, CINS군의 근력이 SHNS군의 근력보다 유의하게 저하되었으며 특히 뇌허혈 유발수술 후 1일째부터 근력이 저하되기 시작하여 실험 마지막 날까지 회복되지 못한 것으로 나타났다. 근력은 근섬유의 횡단면적에 따라서 좌우되기 때문에(Choe, et al., 2001) 본 연구에서 뇌허혈 유발로 인해 가자미근의 Type I 근섬유, 족척근과 비복근의 Type II 근섬유의 횡단면적이 감소하였으므로 따라서 근력도 저하되었다고 볼 수 있다.

CINS군의 체중은 실험 전과 비교하여 10.8% 감소하였으며 이러한 결과가 나타난 것은 사료섭취량 감소와 관련이 있다. 위에 언급한 바와 같이 사료섭취량 저하는 섭식중추가 있는 시상하부가 중뇌동맥의 심부 가지가 관여하는 영역이기 때문

에(Martini et al., 2001) 뇌경색 유발로 섭식중추에 영향을 주어 식욕을 저하시켜 체중이 감소된 것으로 본다. 또한, 본 연구에서 뇌허혈 유발 후 비복근 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 탈신경, 활동저하 및 식이섭취 저하라는 세가지 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.

뇌허혈 유발 후 DHEA 투여가 Type I, II 근육에 미치는 영향

뇌허혈 유발 후 DHEA를 투여한 CIDH군의 하지근 근육무게가 뇌허혈 유발 후 생리식염수를 투여한 CINS군에 비해 18.1%, 10.4%, 13.6% 증가한 것으로 나타난 본 연구 결과는 DHEA의 근육 단백질 합성 효과에 의한 것으로 생각된다.

본 연구 결과, CIDH군의 가자미근 근원섬유 단백질 함량이 CINS군에 비해 27.9% 증가한 것으로 나타났다. 이는 본 연구에서 DHEA의 단백질 합성기전을 규명하지는 못하였으나 선행연구에서 제시한 DHEA의 단백질 합성기전에 의한 결과라고 볼 수 있다. 즉, DHEA는 체내에서 insulin-like growth factor-I(IGF-I)를 활성화시켜 근육 단백질 합성을 촉진시키며(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 수컷 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 기간 중에도 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 측정할 결과 3일인 반면에 인체에서는 7-10일(Bezkorovainy & Rafelson, 1995)이라

는 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 족척근과 비복근 Type II 근섬유의 횡단면적이 유의한 증가를 나타내었다. 이러한 결과는 정상인을 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 투여기간의 차이는 있으나 일치되는 결과임을 의미한다. 이는 DHEA가 근육 단백질 합성 효과가 있으며 그 중에서도 특히 Type II 근섬유에 유의한 효과가 있었음을 제시하고 있다.

뇌허혈 유발수술 후 7일째에 실시한 근력 측정 결과, DHEA 투여로 CIDH의 근력이 CINS군의 근력보다 유의하게 증가하였으며 따라서 DHEA 투여로 근력이 증진된다는 것을 확인하였다. 근력은 근육 1cm의 횡단면적이 최대 3-4kg의 부하(load)를 수축시킬 수 있으므로 근육의 횡단면적과 직접적으로 비례하며(Choe, et al., 2001), 근원섬유의 단백질인 마이오신과 액틴은 상호작용에 의해 근 수축을 일으키고 근력을 증가시키므로, 근력은 근섬유 횡단면적과 근원섬유 단백질 함량과 밀접한 관계에 있다. 따라서 DHEA 투여로 뇌허혈 유발 후 7일째 근력이 증가한 본 연구결과는 DHEA에 의한 Type II 근섬유 횡단면적의 증가와 근원섬유 단백질 함량 증가로 근력이 증가되었다고 생각된다.

CIDH군의 체중은 실험 전과 비교하여 거의 변화되지 않았으며 사료섭취량은 CINS군보다 약간 적은 것으로 나타났다. 그러나 CIDH군의 근육무게는 CINS군에 비해 증가하였으며 근섬유 횡단면적과 근원섬유 단백질 함량도 증가한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 DHEA가 지질의 활용을 촉진하여 지방분해(lipolysis)를 높이고 지방 저장을 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. DHEA를 투여받은 실험군과 대조군이 열량 섭취량, 탄수화물 섭취량, 단백질 섭취량에서 유의한 차이가 없었다는 Brown 등(1999)의 연구결과를 토대로 본 연구에서는 DHEA가 사료섭취량과 무관하게 근육의 단백질 합성을 촉진시킨 것으로 생각된다.

이상과 같이 뇌허혈 유발 후 급성기에 DHEA를 투여하여

위축근의 근육무게, Type II 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량 및 근력을 증가시켰으므로 DHEA가 근위축 경감에 효과가 있는 것으로 볼 수 있다.

결론

본 연구는 뇌허혈 유발 후 7일간의 DHEA 투여가 근 위축을 경감시키는지를 규명하기 위해 시도되었다. 200-250g의 Sprague-Dawley rat 27마리를 CINS군(뇌허혈 후 생리식염수 투여군), CIDH군(뇌허혈 후 DHEA 투여군), SHNS군(모의수술 후 생리식염수 투여군)의 3군으로 무작위 배정하였다.

CINS군과 CIDH군은 중뇌동맥으로 가는 혈류를 2시간 폐쇄하여 뇌허혈을 유발시켰으며 SHNS군에게는 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 가자미근, 족척근과 비복근을 절제하고 뇌를 적출하였다. 세 군의 체중, 사료섭취량, 근육무게, 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량은 SPSSWIN 9.0 프로그램을 이용하여 ANOVA 분석과 Post-hoc으로 분석하였다.

본 연구의 결과는 다음과 같다.

- 뇌허혈 발생 7일 후 하지근에 근위축이 유발되었는지를 규명하기 위해 CINS군과 SHNS군을 분석한 결과, CINS군의 가자미근, 족척근과 비복근 무게는 SHNS군에 비해 감소되었으며, Type I 근섬유 횡단면적은 CINS군이 SHNS군보다 가자미근에서 감소하였고 Type II 근섬유 횡단면적은 족척근과 비복근에서 감소하였다. 근원섬유 단백질 함량은 CINS군이 SHNS군에 비해 비복근에서 저하되었다. 뇌허혈 유발 후 1일과 7일의 근력에서 CINS군은 SHNS군에 비해 저하되었다.
- 뇌허혈 발생 후 7일간의 DHEA 투여가 하지근에 유발되는 근위축을 경감시키는지를 규명하기 위해 CINS군과 CIDH군을 분석한 결과, CIDH군의 하지근 근육 무게는 CINS군보다 증가되었다. CIDH군은 CINS군에 비해 족척근, 비복근의 Type II 근섬유 횡단면적이 증가되었으며 근원섬유 단백질 함량은 CIDH군이 CINS군에 비해 가자미근에서 증가하였다. CIDH군은 뇌허혈 유발 후 7일의 근력에서 CINS군에 비해 증가하였다.
- 뇌허혈 유발 전 체중은 세 군간에 차이가 없었지만 뇌허혈 유발 7일후의 체중은 CINS군이 SHNS군에 비해 감소하였으며 CINS군의 뇌허혈 유발 7일후의 체중은 뇌허혈 유발 전에 비해 감소하였다. 총사료섭취량은 CINS군이

SHNS군에 비해 감소하였다. 뇌허혈 유발 7일후의 체중은 CIDH군이 CINS군에 비해 증가하였으며 총사료섭취량은 CIDH군과 CINS군간에 유의한 차이가 없었다.

이상의 연구결과를 토대로 뇌허혈 유발 7일 후에 하지근 근육의 위축이 발생함을 규명하였으며, 뇌허혈 유발 후 7일간의 DHEA 투여가 하지근 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 예방을 위한 간호중재 개발에 기초자료가 될 것으로 본다.

이상의 연구 결과를 토대로 다음과 같이 제언하고자 한다.

첫째, 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.

둘째, 근위축이 유발되는 다른 병리적 상황에서도 DHEA 투여가 근 위축을 경감시키는지에 관한 연구가 필요하다.

References

- An, G. J., Lee, Y. K., Im, J. H., Choi, S. M., & Choe, M. A. (2000). Effect of endurance exercise on hindlimb muscle mass of acute stroke rat. *J Korean Biol Nurs Sci*, 2(2), 67-80.
- Choe, M. A., Hong, H. S., Park, M. J., Choi, S. M., Lee, K. S., Seo, H. S., & Shin, G. S. (2001). *Pathophysiology*. Seoul: Kyecheuk Co.
- Cho, S. C., Choi, K. H., Lee, D. J., & Ha, S. B. (1998). Interval between initial hospital arrival and start of rehabilitation therapy in stroke patients of tertiary medical center. *J Korean Acad Rehab Med*, 22(1), 9-14.
- Bezkorovainy, A., & Rafelson, M. E. (1995). *Concise Biochemistry*. New York: Maecel Dekker. 546-548.
- Bourbonnais, D., & Noven, S. V. (1989). Weakness in patients with hemiparesis. *Am J Occup Therapy*, 313-319.
- Brown, G. A., Vukovich, M. D., Sharp, R. L., Reifnath, T. A., Parsons, K. A., & King, D. S. (1999). Effect of oral DHEA on serum testosterone and adaptations to resistance training in young men. *J Appl Physiol*, 87(6), 2274-2283.
- Dattola, R., Girlanda, 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. *Eur Neurol*, 33(2), 109-114.
- Devalos, 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.
- Dennis, M. (2000). Nutrition after stroke. *Br Med Bull*, 56(2), 466-475.
- 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. *J Appl Physiol*, 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. *J Appl Physiol*, 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.
- Holecek, M. (2001). Effect of starvation on branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase activity in rat heart and skeletal muscle. *Physiol Res*, 50(1), 19-24.
- Hornsby, P. (1997). DHEA: A biologist's perspective. *J Am Geriatr Soc*, 45(11), 1395-1401.
- Jorgensen, L., & Jacobson, B. K. (2001). Changes in muscle mass, fat mass, and bone mineral content in the legs after stroke: a 1year prospective study. *Bone*, 28(6), 655-659.
- Kenji, H., Yuichi, U., & Hajime, O. (1997). Disuse muscle atrophy of lower limbs in hemiplegic patients. *Arch Physical Med Rehab*, 78, 13-18.
- Kwak, C. S., Kang, C. M., Kang, H. S., Song, K. Y., Lee, M. S., Song, S. C., & Park, S. C. (2000). Dehydroepiandrosterone-dependent induction of peroxisomal proliferation can be reduced by aspartyl esterification without attenuation of inhibitory bone loss in ovariectomy animal model. *J Korean Med Sci*, 15, 533-541.
- Loughna, P., Goldspink, G., & Goldspink, D. F. (1986). Effect of inactivity and passive stretch on protein turnover in phasic and postural rat muscles. *J Appl Physiol*, 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.
- McArdle, W. D., Katch, F. I., & Katch, V. L. (1996). *Exercise physiology*. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Millward, D. J., Garlick, P. J., Stewart, R. J., Nnanyelugo, D. O., & Waterlow, J. C. (1975). Skeletal muscle growth and protein turnover. *J 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. *J Clin Endocrinol Metab*, 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. *J Clin Endocrinol Metab*, 66, 57.
- Robinson, B., & Cutolo, M. (1999). Should dehydroepiandrosterone replacement therapy be provided with glucocorticoids?, *Rheumatology*, 38(6), 488-495.
- Scelsi, R., Lotta, G., Lommi, P., & Marchetti, C. (1984). Hemiplegic atrophy. *Acta Neuropathol(Berl)*, 62, 324-331.
- Shin, J. C., Yoon, T. S., Chun, S. I., Kim, M. Y., & Yim, K. B. (1994). Strength of elbow flexors and extensors in normal and hemiplegic subjects. *J Korean Acad Rehab Med*, 18(1), 20-27.
- 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. *J Nutr*, 116, 1977-1983.
- Taylor, J. A. & Kandarian, S. C. (1994). Advantage of normalizing force production to myofibrillar protein in skeletal muscle cross-sectional area. *J Appl Physiol*, 76(2), 974-978.
- Yonemori, F., Yamaguchi, T., Yamada, H., & Tamura, A. (1998). Evaluation of motor deficit after chronic focal ischemia in rats. *J Cerebr Blood Flow Metab*, 18(10), 1099-1106.

Effect of DHEA on Hindlimb Muscles in a Focal Cerebral Ischemia Model Rat

An, Gyeong-Ju¹⁾

Department of Nursing, Catholic University of Daegu¹⁾

Purpose: The purpose of this study was to determine the effect of DHEA on hindlimb muscles(soleus, plantaris and gastrocnemius) in a focal brain ischemia model rat. **Method:** Twenty-seven male Sprague-Dawley rats were randomly divided into three groups: CINS(cerebral ischemia + normal saline), CIDH(cerebral ischemia + DHEA), or SHNS(sham + normal saline). Both the CINS and CIDH groups underwent a transient right middle cerebral artery occlusion operation. In the SHNS group, a sham operation was done. 0.34mmol/kg DHEA was administered daily by an intraperitoneal injection for 7days. **Results:** The muscle weight, muscle fiber cross-sectional area of the Type I muscle fiber of soleus and Type II muscle fiber of plantaris and gastrocnemius, myofibrillar protein content of gastrocnemius, and muscle strength in the CINS group decreased compared with the SHNS group. The muscle weight, muscle fiber cross-sectional area of the Type II muscle fiber of plantaris and gastrocnemius, myofibrillar protein content of soleus, and muscle strength in the CIDH group increased compared with the CINS group. **Conclusion:** It was identified that muscle atrophy could be induced during 7 days after a cerebral infarction, and DHEA administration during the early stages of a cerebral infarction might attenuate muscle atrophy.

Key words : DHEA, Cerebral ischemia, Muscle atrophy

• Address reprint requests to : An, Gyeong-Ju

Department of Nursing, Catholic University of Daegu, Korea.

3056-6, Daemyeong4-dong, Nam-gu, Daegu, 705-718, Korea

Tel: +82-053-650-4831 Fax: +82-053-621-4106 E-mail: antheresa@cu.ac.kr