

Original Article

뇌졸중 쥐모델에서 비침습적뇌자극치료 이후 신경생리학적 검사에서 나타난 뇌가소성과 연관된 변화

충남대학교 의학전문대학원 재활의학교실¹, 신경과학교실²

손민균¹ · 송희정² · 지성주¹

Plasticity Associated Changes in Neurophysiological Tests Following Non Invasive Brain Stimulation in Stroke Rat Model

Min Kyun Sohn¹, Hee-Jung Song², Sungju Jee¹

Departments of ¹Rehabilitation Medicine and ²Neurology,
Chungnam National University School of Medicine, Daejeon, Korea

Background: Neuromodulation therapy has been used to an adjunctive treatment promoting motor recovery in stroke patients. The objective of the study was to determine the effect of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) on neurobehavioral recovery and evoked potentials in rats with middle cerebral artery occlusion. **Methods:** Seventy Sprague-Daley rats were induced permanent middle cerebral artery occlusion (MCAO) stroke model and successful stroke rats (n=56) assigned to the rTMS (n=28) and sham (n=28) group. The 10 Hz, high frequency rTMS gave on ipsilesional forepaw motor cortex during 2 weeks in rTMS group. The somatosensory evoked potential (SSEP) and motor evoked potential (MEP) were used to evaluate the electrophysiological changes. Behavioral function of the stroke rat was evaluated by the Rota rod and Garcia test. **Results:** Forty rats (N_{rTMS}=20; N_{sham}=20) completed all experimental course. The rTMS group showed better performance than sham group in Rota rod test and Garcia test at day 11 ($p<0.05$) but not day 18 ($p>0.05$). The amplitude of MEP and SSEP in rTMS group was larger than sham group at day 18 ($p<0.05$). **Conclusions:** These data confirm that the high frequency rTMS on ipsilesional cerebral motor cortex can help the early recovery of motor performance in permanent middle cerebral artery stroke model and it may simultaneously associate with changes in neurophysiological activity in brain. (Korean J Clin Neurophysiol 2014;16:62-69)

Key Words: Stroke, Rat, Transcranial magnetic stimulation, Evoked potential

Received 7 April 2014; received in revised form 7 November 2014; accepted 5 December 2014.

Address for correspondence;

Sungju Jee

Department of Rehabilitation Medicine, Chungnam National University School of Medicine, 266 Munhwa-ro, Jung-gu, Daejeon 301-747, Korea
Tel: +82-42-338-2423 Fax: +82-42-338-2461

E-mail: drjeesungju@cnuh.co.kr

*This study was supported by a grant of the Korean Health Technology R&D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (H13C1990) and Research Fund 2012 of Daejeon Geriatric Medical Center, Chungnam, National University Hospital.

Copyright 2014 by The Korean Society of Clinical Neurophysiology

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서론

신경조절치료(neuromodulation therapy)는 전기자극이나 자기자극을 이용하여 뇌 활성을 증진시키는 재활치료의 한 분야로서 최근 주목을 받고 있다.¹ 신경조절치료는 치료에 관련된 공간 요소와 시간적 요소를 탄력적으로 이용할 수 있고, 뇌활성을 증가시키거나 억제시킬 수 있고, 약물치료와 병행할 수 있으며, 다른 재활치료와 신경조절치

료의 시간을 조절하여 뇌의 활성화도에 변화를 줄 수 있다.² 신경조절치료를 위하여 사용되는 자극원은 전기자극과 자기자극을 많이 사용하는데, 전기를 이용하는 신경조절치료의 방법은 경두개직류전류자극(transcranial direct current stimulation)과 뇌피질전기자극(cortical electrical stimulation), 짝지은 연관 자극(paired associative stimulation) 등이 있다.¹ 경두개직류전류자극은 두피에 전극을 부착하고 전기자극을 주는데, 자극이 뇌피질까지 전달된다. 비침습적이며 자극을 위한 장치가 휴대할 수 있고, 비용이 저렴하며 재활 훈련과 동시에 자극을 줄 수 있다는 점 등 여러 이점이 있다. 하지만 자극 후 약 90분 정도 대뇌피질의 흥분성이 지속된다고 하였으나, 자극하고자 하는 대뇌의 국소부위만 선택적으로 자극하기가 어렵고 두피층, 두개골, 뇌막 등 여러 층을 통과하면서 자극 에너지가 소실되는 문제가 있다.^{3,4}

반복경두개자기자극(repetitive transcranial magnetic stimulation)은 1985년 Barker 등에 의해 처음으로 소개되었으며, 대뇌피질, 척수, 뇌신경 그리고 말초신경 등 신경조직에 전기자극을 제공 할 수 있는 대표적인 비침습적 신경조절 치료방법이다.^{5,6} 자기자극은 전기자극에 비해 국소적인 신경망(neural circuit)의 활성도를 변화시킬 수 있는데, 이는 전기자극에 비해 자기자극이 좀 더 국소적인 대뇌피질의 활성도를 변화시킬 수 있기 때문이다.⁷ 자기자극치료가 도입되던 초기에는 주로 우울증과 같은 정신질환 영역이나 파킨슨씨 병과 같은 운동기능장애 질환을 대상으로 한 연구가 주를 이루었으나, 최근에는 뇌졸중 환자를 대상으로 반복경두개자기자극 후 운동기능이나 언어기능, 작업 기억력 등이 향상되었다는 연구들이 발표되고 있다.⁸⁻¹⁰ 특히 만성뇌졸중 환자에서 병변 측 운동피질에 고빈도 경두개자기자극치료를 시행하여 움직임에 기반을 둔 뇌가소성이 유발되고 운동 학습을 촉진하는 바가 보고 되었고, 이는 대뇌피질활성도의 증가와 연관된다고 하였다.¹⁰ 그러나 뇌가소성과 피질활성도 간의 연관관계에 대한 기본적인 기전은 밝혀지지 않았다. 자기자극의 분자생물학적 기전을 밝히기 위하여 건강한 쥐를 대상으로 실험이 진행되었고, 반복경두개자기자극이 신경전달물질(neurotransmitter)과 glutamate, N-methyl-D-aspartate (NMDA), brain brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 같은 신경영양인자(neurotrophin)의 생성을 증가시키는 것이 보고되었다.¹¹⁻¹³ 또한 반복경두개자기자극이 세포사멸과정을 조절하여 신경보호효과를 나타낸 연구도 있다.^{14,15} 하지만, 뇌경색을 유발한 뇌에 대한 경두개자기자극치료를의 기전을 밝히는 연구는 충분하지 않은 실정이다.

이에 본 연구진들은 반복경두개자기자극치료가 뇌졸중 백서 모델의 운동기능 회복에 도움이 되는지 확인하고, 이에 연관되는 뇌의 신경생리학적 변화를 밝혀 뇌신경조절치료의 치료 기전을 규명하고자 하였다.

대상과 방법

연구 대상

250-300 g의 성숙한 스프래그 쥐(Sprague – Dawley종, SD)를 사용하였다. 모든 쥐는 물과 음식을 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 실험동물 사육사 온도는 22°C로 유지하고, 12시간 간격으로 조명을 조절하였다.

연구 방법

연구적 중대뇌동맥 폐색 모델 제작 및 실험의 흐름

SD 쥐에게 케타민(30 mg/kg, ketara[®]; 유한, 서울, 대한민국)을 복강 내 주사하여 마취를 유도하고, 수술을 시행하였다. 연구적 중대뇌동맥 폐색 모델은 Longa의 방법을 변형한 방법으로, 내경정동맥(internal carotid artery)을 통해 말단 부위가 특수 실리콘 코팅된 4-0 나일론 실(Doccol Corporation, Sharon, MA, USA)을 밀어 넣어 중대뇌동맥의 혈류를 차단하는 시술이다. 특히 기존의 방법과 달리 혈류 재개통을 시행하지 않았으며, 이는 일시적 중대뇌동맥 폐색방법에 비해 심한 뇌졸중 모델을 제작할 수 있다.¹⁶ 수술 중 직장 체온계를 이용하여 동물의 체온을 측정하였으며, 온열판의 온도를 조절하여 동물의 체온을 37±0.5°C로 유지하였다. 70마리의 동물들에게 수술을 하였고, 이 중 수술 4일째에 가르시아 검사(Garcia test)가 10점 이하의 쥐들만 동물모델 성공으로 분류하였으며,¹⁷ 총 56마리에서 성공을 하였다. 이들 56마리들을 각각 자기자극군(n=28)과 위자극군(n=28)으로 성공한 순서대로 배정하였다. 동물들은 자기자극 및 위자극을 2주 동안 총 10차례 시행 받았으며, 운동치료는 시행하지 않았다. 실험도중에 영양부족 및 전기생리학적평가를 위한 마취 도중 사망한 쥐가 16마리 있었으며, 마지막까지 살아남은 쥐는 자기자극군 20마리, 위자극군 20마리로 총 40마리였다(Fig. 1).

반복경두개자기자극(repetitive transcranial magnetic stimulation)

모든 동물들은 좌측 중대뇌동맥 폐색수술을 받았기 때문에, 좌측 반구에서 열점(hot spot)을 찾는 것은 적절하지 않았다. 따라서 우측 대뇌반구에서 열점을 찾아 대칭적으로 반대측인 위치를 좌측 대뇌반구의 열점으로 하였다. 좌

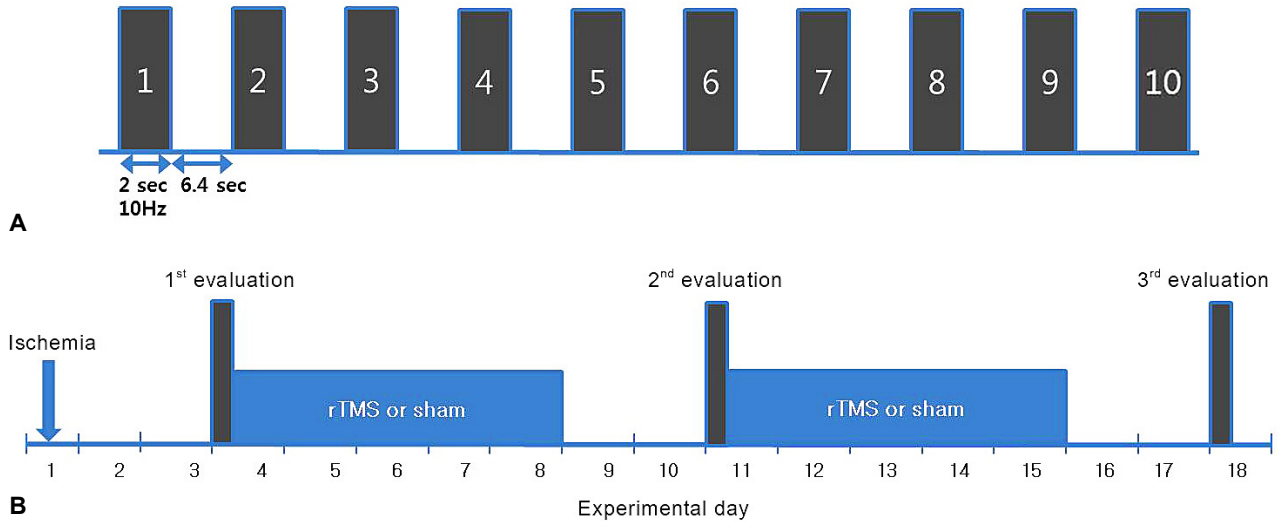


Figure 1. Stimulation method of rTMS for a session (A) and experimental schedule (B). Ten 2 s trains at a rate of 10 Hz with 6.4 s inter-train interval per a day (A). After surgery, the 1st behavioral (Garcia test and Rota rod test) and electrophysiological evaluations were performed at postoperative day 4. The intervention such as rTMS or sham stimulation was applied for 10 days over a 2 week period with a 2 day rest, which was followed by the 3rd behavioral and electrophysiological evaluation at day 18. At day 11, behavioral tests were performed for 2nd evaluation. rTMS; repetitive transcranial magnetic stimulation.

측 대뇌반구의 열점 부위에 10 Hz 빈도, 운동유발역치의 90% 강도로 2초 자극 6.4초 휴식의 간격으로 매일 일정한 시간에 200회의 자극을 주었다. 치료는 10일 동안 시행하여, 총 2,000회의 자극을 제공하였다. 위자극(sham stimulation)은 코일의 방향을 180도 반대로 하고, 두피에서 5 cm 떨어진 부위에서 시행하였다. 반복경두개자극은 반복적인 마취의 영향을 없애기 위해, 마취를 시행하지 않으며, 쥐가 깨어 있는 상태에서 손으로 고정하여 시행하였다.

행동학적 평가(behavioral tests)

동물들의 신경행동 기능을 측정하기 위해 두 가지 평가 방법을 사용하였으며, 평가는 동물의 치료 방법을 알지 못하는 전공의가 단독으로 시행하였다.

1) 로타로드 운동능력 검사(Rota rod performance test)

뇌경색 수술 3일 전부터 매일 3회 연습을 시키고 학습이 잘된 동물을 선별하여 실험에 참여시켰으며, 붕이 돌아가는 속도는 분당 10회로 지속하였으며 동물이 붕에서 떨어지거나, 장치를 붙잡거나, 달리려는 노력 없이 붕과 같이 2 바퀴 이상 돌아가면 평가를 종료하였다. 붕의 지름은 9 cm 이며 3회 시행하여 3번의 평균 지속 시간 및 거리를 측정하였다.^{18,19}

2) 가르시아 검사(Garcia test)

가르시아 검사는 6가지 항목들로 구성되어 있으며, 일중변이를 막기 위하여 하루 중 일정한 시각에 시행하였다.²⁰ 6가지 항목은 자발활동성(spontaneous activity), 사지 움직임의 대칭성(symmetry in the movement of four limbs), 앞발 신전능력(forepaw outstretching), 기어오르기(climbing), 몸의 고유수용감각(body proprioception), 콧수염 접촉에 대한 반응(response to vibrissae touch) 등의 평가항목으로 구성되어 있다. 총점은 3점부터 18점까지로 나누어지게 되며, 높은 점수일수록 좋은 운동기능을 말해준다.

전기생리학적 검사(electrophysiological studies)

1) 체성감각 유발전위(somatosensory evoked potential, SSEP)

동물을 수술과 같은 방법으로 전신 마취한 후 고정을 하고, 전기자극기를 이용하여 5.1 Hz 사각 파형(square-shaped wave)을 사용하여 상완 이두근(biceps brachii) 중앙부의 정중신경 주행경로를 따라 자극하였다. 자극강도는 운동유발역치의 두 배로 하였으며, 운동유발역치는 근수축이 눈으로 관찰되는 강도로 하였다.²¹⁻²⁴ 대뇌피질에서 체성감각 유발전위의 기록은 브레그마(bregma) 후방 0.2 mm, 중심선에서 3.8 mm에 바늘 전극을 피하 삽입하여 시행하였으며,²³ 신호는 10,000배 증폭하고, 2-2,000 Hz의 밴드패스 필터를

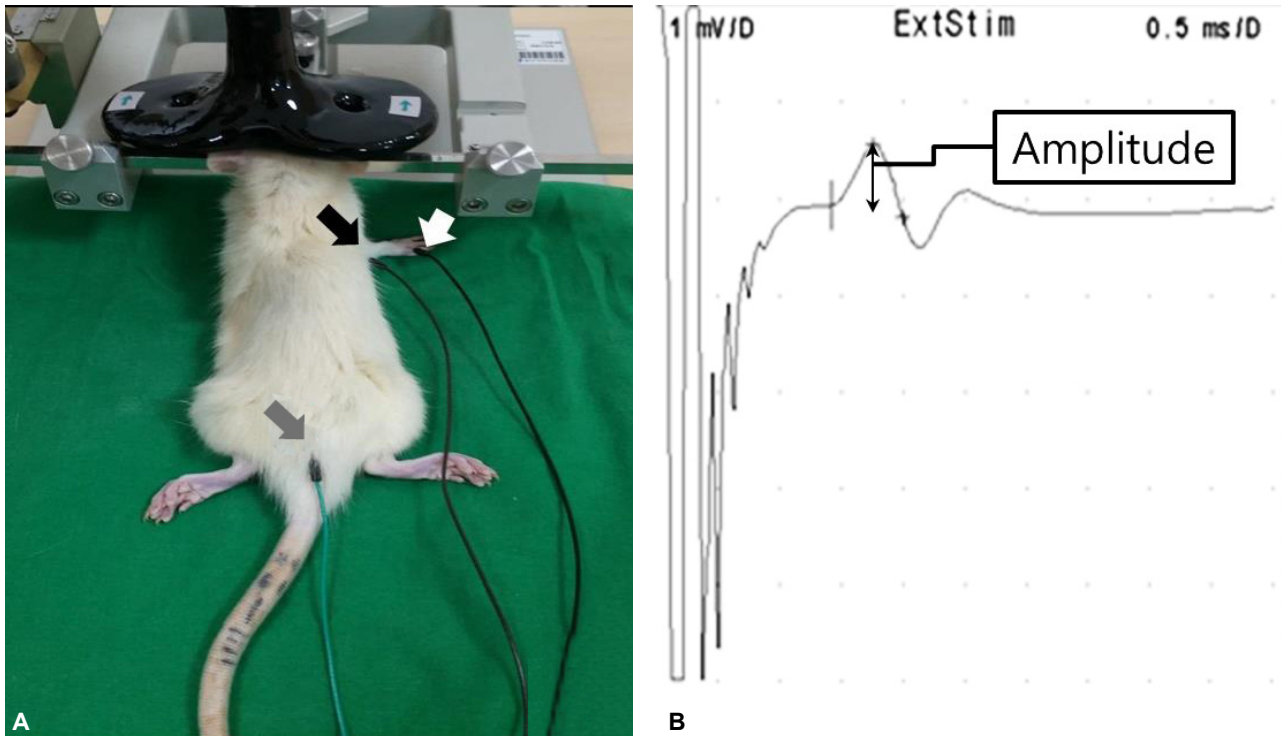


Figure 2. Active (black arrow), reference (white arrow), ground (gray arrow) electrode and the coil position (A) and the representative motor evoked potential (B).

거쳐 얻었다. 체성감각 유발전위를 얻기 위하여 500회의 신호를 모아서 평균치를 계산하였다. 측정은 유발전위 및 근전도 장비(Sierra Wave, Caldwell, Kennewick, WA, USA)를 이용하였으며, 진폭은 첫 번째 양성 peak와 음성peak 사이의 진폭을(peak to peak amplitude)을 측정하였다.

2) 운동유발전위(motor evoked potential, MEP)

마취된 쥐는 정위고정틀에 위치하고 경두개자기자극을 시행하였다. 특별히 제작된 동물용 팔자형 코일을 이용하여 일상성 전류파형(monophasic current waveform)을 적용하였고, 자극 강도(intensity)는 퍼센트(%)로 기술하고, 100%는 자기자극발생장비(Magstim Rapid², Carmarthenshire, UK)가 자기 코일을 통해 유발할 수 있는 가장 강한 진폭의 전류를 유발하는 것을 의미한다.²⁵ 열점의 위치는 기존의 연구에서 사용하였던 방식을 참고하여 가장 낮은 자극강도에서 최대의 운동유발전위 진폭(amplitude)을 얻을 수 있는 부위로 정하였다.²⁵ 코일의 위치가 정해지면, 운동 역치를 찾기 위해 자극 강도를 단계적으로 조절해서 30%부터 MEP가 관찰될 때까지 5%씩 상승시켰다. 반대편에서 MEP가 확실히 보이면 1%씩 섬세하게 조절하여 가장 낮은 자극 강도를 찾는다. 이때 운동 역치는 10회의 자극 중 5회

에서 20 μ V 이상의 진폭을 얻는 가장 낮은 자극강도를 말한다. 운동 유발전위 측정은 우측 이두박근에서 단극성 바늘 전극을 이용하여 근전도 신호를 기록하고, 참고전극은 2번째와 3번째 앞 발가락 사이의 발바닥에 위치시켰다. 꼬리 시작부위에 전극을 위치시켜 전기적 접지를 시행하였다. 운동유발전위는 측정된 운동 역치의 120%의 강도로 자기자극을 시행하고 동시에 얻어지는 신호의 진폭을 기록하였다(Fig. 2).

통계 분석

마지막까지 살아남아 모든 실험과정에 참여한 40마리의 쥐의 자료를 분석에 사용하였다. 통계에 포함된 자료가 정규분포를 따르지 않아 비모수 통계를 사용하였다. Mann Whitney *U* test를 사용하여 각 군사이의 수술시간의 차이 여부, 치료 시작 전, 치료 도중, 치료 후 시점에서 각 군별 운동기능점수의 차이 여부를 확인하였다. 각 군 사이 검사 시점에 따른 운동기능의 호전여부는 일원 배치 반복측정 분산분석(one way analysis of variance with repeated measure, RM ANOVA)을 사용하여 확인하였으며, Bonfferoni 방식으로 사후 검증을 통해 유의하게 향상된 기간을 확인하였다. 신경생리학적검사들은 Mann Whitney *U* test를 사용

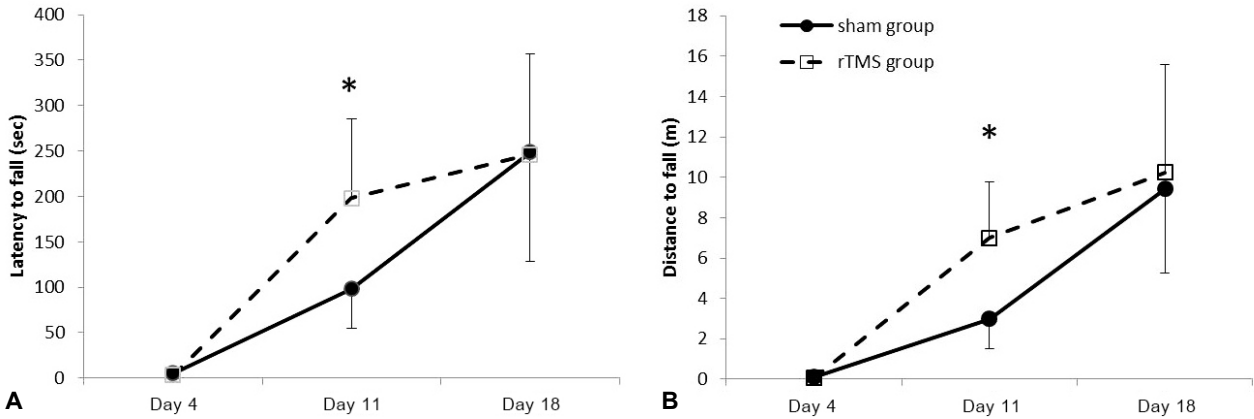


Figure 3. The Rota rod test showed improvement of distance (A) and latency (B) with time in both groups. At day 11, there was significant difference between groups. * $p<0.001$ by Mann Whitney U test. rTMS; repetitive transcranial magnetic stimulation.

하여 치료 전, 후 시점에서 군 간 진폭의 차이 유무를 확인하였다. Wilcoxon signed-rank test를 이용하여 군내에서 치료 전, 후에 진폭의 변화를 확인하였다. 통계학적 유의성은 $p<0.05$ 인 경우로 하였다. 통계 프로그램은 SPSS (version 20.0; SPSS, Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 모든 값들은 중위수(25퍼센타일-75퍼센타일)로 기술하였다.

결 과

영구적 중대뇌동맥 폐색 모델 제작

70마리의 쥐들 중에 56마리의 성공한 동물 모델을 얻었다. 성공한 모델로 분류된 56마리를 제작 순서대로 28마리씩 각각 자기자극군과 위자극군으로 나누어 배정하였다. 이 56마리 중 40마리가 수술 18일까지 살아남았다. 평균 수술 시간은 자기자극군 28.50 (26.00-34.75)분, 위자극군 29.50 (25.50-34.75)분으로 측정되어 수술시간의 차이는 없었다($p=0.820$).

행동학적 평가

로타 로드 운동 검사(Rota rod performance test)

수술 4일에 시행한 로타 로드 운동 검사는 자기자극군 및 위자극군 각각 낙상 시까지 운동시간 2.10 (0.50-6.00)초, 3.50 (0.50-10.00)초, 운동 거리는 0.03 (0.00-0.10)미터, 0.06 (0.00-0.20)미터로 측정되었으며, 운동시간 및 운동거리 모두 군 간 차이는 없었다. 수술 11일에 평가한 운동 지속 시간은 자기자극 군 및 대조군 각각 217.50 (191.00-252.00)초, 109.00 (97.00-126.00)초, 운동 지속 거리는 7.50 (6.90, 8.00)미터, 3.15 (2.30-3.80)미터로 측정되었다. 수술

18일에 평가한 운동 지속 시간은 자기자극군 및 위자극군 각각 257.00 (252.00, 280.00)초, 260.00 (245.00-290.00)초, 운동 지속 거리는 10.75 (9.50-12.00)미터, 9.50 (9.30-11.20)미터로 측정되었다(Fig. 3). 각 군에서 시간에 따라 운동 지속 시간(자기자극군: $F [1.163, 10.471]=72.949, p<0.001$, 위자극군: $F [1.164, 10.475]=106.861, p<0.001$) 및 운동거리(자기자극군: $F [1.084, 9.759]=101.587, p<0.001$, 위자극군: $F [1.208, 10.876]=119.991, p<0.001$)가 시간에 따라 의미 있게 상승하는 것을 확인하였다. 사후검증에서 4일째에서 11일째($p<0.001$), 11일에서 18일 사이($p<0.001$)에서 두 군 모두 의미 있는 차이를 보였다. 수술 11일에는 자기자극군의 운동거리($p=0.009$) 및 운동시간($p=0.011$)이 위자극군에 비해 더 좋았다. 18일에는 운동시간($p=0.436$) 및 운동거리($p=0.739$)가 모두 군 간 차이를 보이지 않았다.

가르시아 검사(Garcia test)

치료시작 전(수술 후 4일)에 검사결과는 자기자극군 및 대조군 각각 8.00 (7.00-9.00), 8.00 (7.00-9.00)이었다. 수술 후 11일에 측정된 점수는 자기자극군, 대조군 각각 13.00 (12.00-15.00), 11.00 (10.00-12.00)으로 측정되었다. 수술 후 18일에 측정된 값은 각각 18.00 (16.00-18.00), 17.00 (15.00-18.00)이었다(Fig. 4).

각 군에서 시간에 따라 가르시아 검사 점수(자기자극군: $F [1.941, 17.470]=80.734, p<0.001$, 위자극군: $F [1.733, 15.595]=316.217, p<0.001$)가 의미 있게 상승하는 것을 확인하였다. 사후검증에서 4일째에서 11일째($p<0.001$), 11일에서 18일 사이($p<0.001$)에서 두 군 모두 의미 있는 차이를 보였다. 수술 11일에는 가르시아 검사 점수가 위자극군에

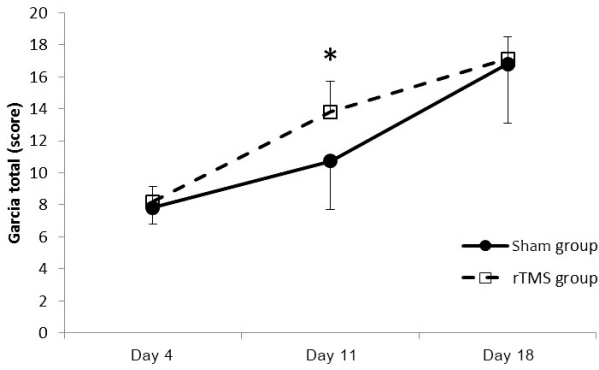


Figure 4. Garcia score showed improvement with time in both groups. At day 11, there was significant difference between groups. * $p < 0.001$ by Mann Whitney U test. rTMS; repetitive transcranial magnetic stimulation.

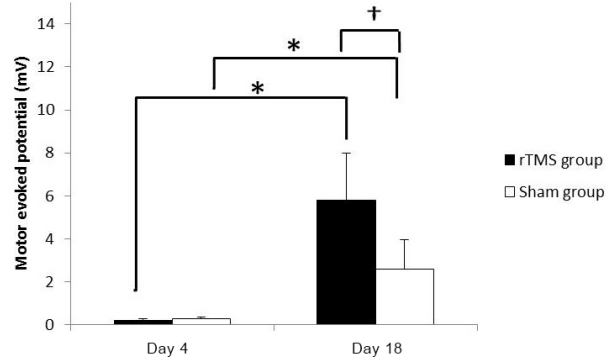


Figure 6. The peak amplitude of motor evoked potential in rTMS group was larger amplitude at day 18 than sham group. *By Wilcoxon signed-rank test $p < 0.05$, †by Mann Whitney U test $p < 0.05$. rTMS; repetitive transcranial magnetic stimulation.

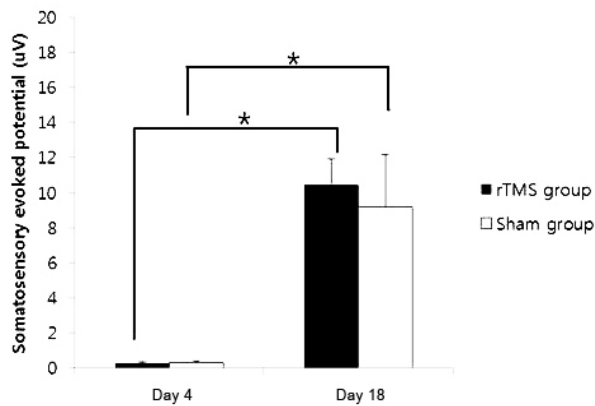


Figure 5. The peak to peak amplitude of somatosensory evoked potential in rTMS group showed larger amplitude at day 18 than sham group. *By Wilcoxon signed-rank test $p < 0.05$. rTMS; repetitive transcranial magnetic stimulation.

비해 더 높았다($p = 0.001$). 18일에는 군 간 차이를 보이지 않았다($p = 0.853$).

신경생리학적분석

체성감각유발전위(somatosensory evoked potential, SSEP)

치료 전에 마비측 앞발에서 유발하여 얻은 체성감각유발전위의 진폭(peak to peak amplitude)은 자기자극군, 위자극군 각각 $0.30 (0.23-0.32) \mu V$, $0.30 (0.24-0.37) \mu V$ 이었으며, 군 간 차이는 없었다($p = 0.315$). 치료 종료 후 측정된 값은 각각 $10.43 (9.37-11.35) \mu V$, $8.67 (7.27-10.24) \mu V$ 이었다. 두 군 모두 체성감각유발전위의 진폭이 치료 전에 비해 치료 후 통계적으로 의미 있는 상승을 보였다(자기자극군:

$p = 0.005$, 위자극군: $p = 0.005$). 치료 후 측정된 진폭은 자기자극군이 위자극군에 비해 큰 양상을 보였지만, 통계적으로 유의하지 않았다($p = 0.12$) (Fig. 5).

운동유발전위(motor evoked potential, MEP)

수술 4일째 마비측 상완 이두근에서 측정된 운동유발전위의 평균 진폭은 자기자극군, 위자극군 각각 $0.19 (0.15-0.23) mV$, $0.20 (0.19-0.26) mV$ 로 군 간에 차이는 없었다($p = 0.436$). 수술 18일째 마비측 앞발의 같은 근육에서 측정된 운동유발전위의 진폭은 자기자극군, 위자극군 각각 $6.35 (3.86-7.27) mV$, $3.07 (2.67-4.34) mV$ 로 측정되었다. 두 군 모두에서 치료 전에 비해 치료 후 통계학적으로 증가된 양상을 보였다(자기자극군: $p = 0.007$, 위자극군: $p = 0.007$). 수술 18일에 시행한 검사에서 자기자극군의 평균진폭은 위자극군에 비해 통계적으로 유의하게 컸다($p = 0.02$) (Fig. 6).

안전성 문제

총 70마리에게 수술을 시행하였으며, 4마리가 수술 중 사망하였다. 안전하게 수술을 마친 66마리의 쥐들 중 가르시아 점수가 기준에 부합되지 않았던 10마리의 쥐들은 실험에서 제외되었다. 전기생리학적 평가를 위한 마취과정에서 6마리 및 영양공급의 문제로 사망한 쥐의 개체는 10마리였다. 그러나 반복뇌자기자극 치료 중에 사망한 쥐는 없었다.

고 찰

본 연구는 영구적 중대뇌동맥 경색 쥐모델에서 뇌신경

조절치료가 뇌경색 후 행동기능의 회복 및 뇌신경활성에 미치는 영향을 밝히고자 하였다. 뇌경색 유발 3일째부터 반복경두개자기자극치료를 시행하였으며, 자극군은 위자극군에 비해 운동능력평가에서 회복 속도가 빠른 양상을 보였다. 또한 자기자극군에서는 치료 종료 후 시행한 체성감각유발전위 및 운동유발전위의 진폭이 위자극군에 비해 더 큰 것으로 확인되었다.

뇌경색 백서 모델을 이용한 연구는 많지 않은데, 병변측 대뇌반구에 3,500회의 고빈도 자기자극을 시행한 후 뇌경색 모델의 행동기능회복 정도를 비교하였던 연구에서 자기자극군이 위자극군에 비해 행동학적 평가에서 의미 있는 호전양상을 보였다.²⁶ 본 연구에서는 2,000회의 고빈도 자극을 시행하였으며, 1주일에서 시행한 행동학적 평가에서 자극군에서 유의하게 좋은 양상을 보였으나, 2주 뒤 시행한 검사에서는 군 간 차이는 보이지 않았다. 이는 자기자극치료가 뇌졸중 후 빠른 행동학적 호전을 이끌어 내지만, 장기적으로는 동물모델의 특성상 군 간에 차이를 나타내지는 못하는 것으로 이해할 수 있다. 또한 Yoon 등²⁶의 연구와 달리 본 연구에서는 2,000회의 고빈도자극을 시행했기 때문에 장기적인 효과가 상대적으로 낮을 수도 있다고 생각한다. 또한 본 연구는 영구적 중대뇌동맥 뇌경색 모델이고, 기존의 연구는 일시적 뇌허혈이기 때문에 본 연구에서 사용된 모델의 중증도가 높음을 고려하였을 때, 2주 뒤 운동기능의 호전 정도의 차이가 경증 모델에 비해 나타나지 않을 수 있다. 흉추 척수손상 쥐 모델에서 앞발, 뒷발에서 유발한 체성감각유발전위의 특징에 대해 분석하였던 연구에서, 척수손상 유발 전에 비해 앞발의 유발전위 진폭이 증가된 양상을 나타냈고, 뒷발에서는 진폭이 낮은 것을 보고하였다.²¹ 척수손상 쥐의 이러한 특징을 신경가소성으로 설명하였는데, 즉 앞발에서 유발한 체성감각유발전위 진폭의 증가는 뒷발기능의 상실을 보상하기 위한 뇌의 어떤 기전 때문이라고 설명되고 있다. 특히 뇌피질영역지도에서 앞발 부위의 면적이 넓어지는 것은 손상에 의해 뒷발에서 들어오는 신호입력이 부분적으로 손실되어 나타나는 뇌의 반응으로 볼 수 있다고 주장하고 있다. 이러한 연구는 결국 뇌의 신경가소성의 가능성을 열어 주었다. 본 연구에서도 고빈도자기자극을 제공한 후에 측정된 체성감각유발전위 및 운동유발전위의 진폭이 증가한 것을 확인하였고, 이 또한 뇌피질의 활성도를 높이는 고빈도 자기자극이 뇌에서의 신경 재조직화(reorganization)를 촉진하였기 때문이라고 해석할 수 있다.

실험적 뇌경색 쥐 모델에서도 뇌 신경가소성에 대한 신경조절치료의 효과를 보기 위한 연구가 진행되었는데, 경

두개직류전류자극을 제공하여 시간에 따른 운동기능 회복 정도 및 뇌백질 축삭의 변화, 뇌경색 크기의 변화 등을 관찰하여, 운동기능회복 속도가 치료군에서 빠른 것을 보았지만, 뇌경색의 크기 변화는 차이를 보이지 않았다.²⁷ 이는 운동기능 회복이 빠른 것에 대한 본 연구의 결과와 유사했다. 경두개직류전기자극 연구에서는 신경생리변화를 관찰하지는 않았지만, 뇌백질축삭의 변화를 관찰하여 경두개직류전류자극의 뇌백질 보호 효과를 밝히고자 하였으며, 경두개직류전류자극군에서 대조군에 비해 뇌백질축삭의 보존이 잘 되어있는 것으로 확인하였다. 결국 뇌백질 축삭 보호 효과는 경두개직류전류자극이 칼슘 채널과 NMDA 수용체의 기능을 억제를 통한 뇌신경보호 효과로 설명하고 있으며,²⁷ 본 연구에서 보여준 경두개뇌자극치료에 따른 피질척수로의 변화에도 같은 기전이 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. 하지만, 경두개직류전류자극이 NMDA 수용체의 효과를 증가시킨다는 보고도 있어,²⁸ 뇌자기자극의 뇌신경보호효과에 대해서는 추가 연구가 필요할 것으로 생각한다. 본 연구는 기존 연구들에 비해 상대적으로 뇌경색의 범위가 넓고, 중증도가 높은 영구적 중대뇌동맥 모델을 대상으로 반복경두개자기자극치료를 시도하여, 신경조절치료의 안전성과 치료 효과를 밝혔다는데 의미가 있다. 또한 뇌경색 유발 후 3일째인 급성기부터 뇌신경조절치료를 시행하였으며, 뇌신경조절치료로 인해 직접적으로 동물모델이 사망한 경우는 없기 때문에 급성기 뇌신경조절치료의 안전성에 대해서도 어느 정도 가능성을 보여주었다는데 의미가 있다고 생각한다.

본 연구의 제한점으로는 적은 수의 개체를 대상으로 수행된 연구라는 점이다. 좀 더 많은 수의 개체를 대상으로 연구를 한다면 가르시아 검사에서도 통계적으로 유의한 차이를 수술 후 10일에 나타낼 수 있을 것으로 기대한다. 결과의 영향력을 높이기 위해서도 좀 더 많은 수의 개체를 이용한 연구가 필요하다. 또한 좀 더 자주 행동학적 평가를 시행하면 군 간에 차이를 나타내기 시작하는 시점이 언제인지 확인할 수 있으며, 다시 행동학적 평가가 유사해지는 시점을 확인할 수 있을 것이다. 가장 중요한 제한점으로 해부학적 검사가 시행되지 않은 점이다. 향후에는 해부학적 검사를 통해 각 군 사이의 뇌경색의 크기 차이, 뇌신경기능회복과 관련된 다양한 단백질의 발현도의 차이, 뇌신경신호전달물질 수용체들의 활동성의 차이 등을 밝히는 것이 필요하다.

본 연구는 고빈도 반복경두개자기자극치료는 쥐모델에서 빠른 운동기능회복에 기여를 하였으며, 이는 반복경두개자기자극치료에 의한 뇌신경의 가소성의 변화가 동시에

연관되어 있음을 보여준다. 본 연구의 성과는 향후 뇌신경 조절치료가 뇌경색 후 회복에 미치는 해부학·병리학적 기전을 밝히는 데, 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

REFERENCES

- Walsh V, Desmond JE, Pascual-Leone A. Manipulating brains. *Behav Neurol* 2006;17:131-134.
- Alonso-Alonso M, Fregni F, Pascual-Leone A. Brain stimulation in poststroke rehabilitation. *Cerebrovasc Dis* 2007;24:157-166.
- Harvey RL, Nudo RJ. Cortical brain stimulation: a potential therapeutic agent for upper limb motor recovery following stroke. *TopStroke Rehabil* 2007;14:54-67.
- Minhas AS, Woo EJ, Lee SY. Magnetic flux density measurement with balanced steady state free precession pulse sequence for MREIT: a simulation study. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2009;2009:2276-2278.
- Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1985;1:1106-1107.
- Kobayashi M, Pascual-Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol* 2003;2:145-156.
- Sokhadze EM, El-Baz AS, Sears LL, Opris I, Casanova MF. rTMS neuromodulation improves electrocortical functional measures of information processing and behavioral responses in autism. *Front Syst Neurosci* 2014;8:134.
- Maeda F, Keenan JP, Tormos JM, Topka H, Pascual-Leone A. Interindividual variability of the modulatory effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on cortical excitability. *Exp Brain Res* 2000;133:425-430.
- Martin PI, Naeser MA, Theoret H, et al. Transcranial magnetic stimulation as a complementary treatment for aphasia. *Semin Speech Lang* 2004;25:181-191.
- Kim YH, You SH, Ko MH, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation-induced corticomotor excitability and associated motor skill acquisition in chronic stroke. *Stroke* 2006;37:1471-1476.
- Yue L, Xiao-lin H, Tao S. The effects of chronic repetitive transcranial magnetic stimulation on glutamate and gamma-aminobutyric acid in rat brain. *Brain Res* 2009;1260:94-99.
- Muller MB, Toschi N, Kresse AE, Post A, Keck ME. Long-term repetitive transcranial magnetic stimulation increases the expression of brain-derived neurotrophic factor and cholecystinin mRNA, but not neuropeptide tyrosine mRNA in specific areas of rat brain. *Neuropsychopharmacology* 2000;23:205-215.
- Kole MH, Fuchs E, Ziemann U, Paulus W, Ebert U. Changes in 5-HT1A and NMDA binding sites by a single rapid transcranial magnetic stimulation procedure in rats. *Brain Res* 1999;826:309-312.
- Antonsson B. Bax and other pro-apoptotic Bcl-2 family "killer-proteins" and their victim the mitochondrion. *Cell Tissue Res* 2001;306:347-361.
- Fujiki M, Kobayashi H, Abe T, Kamida T. Repetitive transcranial magnetic stimulation for protection against delayed neuronal death induced by transient ischemia. *J Neurosurg* 2003;99:1063-1069.
- Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke* 1989;20:84-91.
- Lee SU, Kim DY, Park SH, Choi DH, Park HW, Han TR. Mild to moderate early exercise promotes recovery from cerebral ischemia in rats. *Can J Neurol Sci* 2009;36:443-449.
- Chen J, Li Y, Wang L, Zhang Z, Lu D, Lu M, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2001;32:1005-1011.
- Hamm RJ, Pike BR, O'Dell DM, Lyeth BG, Jenkins LW. The rotarod test: an evaluation of its effectiveness in assessing motor deficits following traumatic brain injury. *J Neurotrauma* 1994;11:187-196.
- Garcia JH, Wagner S, Liu KF, Hu XJ. Neurological deficit and extent of neuronal necrosis attributable to middle cerebral artery occlusion in rats. Statistical validation. *Stroke* 1995;26:627-634.
- Bazley FA, All AH, Thakor NV, Maybhate A. Plasticity associated changes in cortical somatosensory evoked potentials following spinal cord injury in rats. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2011;2005-2008.
- Agrawal G, Thakor NV, All AH. Evoked potential versus behavior to detect minor insult to the spinal cord in a rat model. *J Clin Neurosci* 2009;16:1052-1055.
- Agrawal G, Kerr C, Thakor NV, All AH. Characterization of graded multicenter animal spinal cord injury study contusion spinal cord injury using somatosensory-evoked potentials. *Spine* 2010;35:1122-1127.
- All AH, Agrawal G, Walczak P, Maybhate A, Bulte JW, Kerr DA. Evoked potential and behavioral outcomes for experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. *Neurol Sci* 2010;31:595-601.
- Rotenberg A, Muller PA, Vahabzadeh-Hagh AM, Navarro X, López-Vales R, Pascual-Leone A, et al. Lateralization of forelimb motor evoked potentials by transcranial magnetic stimulation in rats. *Clin Neurophysiol* 2010; 121:104-108.
- Yoon KJ, Lee YT, Han TR. Mechanism of functional recovery after repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in the subacute cerebral ischemic rat model: neural plasticity or anti-apoptosis? *Exp Brain Res* 2011;214:549-556.
- Kim SJ, Kim BK, Ko YJ, Bang MS, Kim MH, Han TR. Functional and histologic changes after repeated transcranial direct current stimulation in rat stroke model. *J Korean Med Sci* 2010;25:1499-1505.
- Nitsche MA, Paulus W. Sustained excitability elevations induced by transcranial DC motor cortex stimulation in humans. *Neurology* 2001;57:1899-1901.