동의신경정신과 학회지
J. of Oriental Neuropsychiatry
Vol. 20. No. 2, 2009

침전극저주파 자극이 해마의 세포사 차단에 미치는 영향

이정숙, 김병기*, 김성원† , 김지성‡ , 김동일§, 송치원‖
동주대학교 작업치료학과, 동의대학교 생물학과*, 한영대학교 작업치료학과† , 수원여자대학교 물리치료학과‡ ,
동국대학교 부인학과§, 국립독성과학원 연구지원과‖

The Effects of Needle Electrode Electrical Stimulation on Cellular Necrosis Blocking the Hippocampus after Induction of Ischemia

Jung-Sook Lee, Byung-Ki Kim*, Sung-Won Kim† , Ji-Sung Kim‡ Dong-il Kim§, Chi-Won Song‖
Department of Occupation Therapy, Dong-ju, College University
Department of Molecular Biology, Dong-eui University*
Department of Occupation Therapy, Han-yeong College University, Yeosu, Korea†
Department of Physical Therapy, Suwon Women's College‡
Department of Ob&Gy Dongguk Univ. Ilsan Korean Medicine Hospital§
Division of General Services, National Institute of Toxicological Research, Seoul, Korea‖

Abstract

Objectives :
This study was performed to investigate the effects of Needle Electrode Electrical Stimulation (NEES) on ischemia-induced cerebrovascular accidents. After obstruction and reperfusion of ** arteries in white mice, the amounts of necrosis and inflammation related substances IL-6, Caspase-3, and PARP, C-fos were measured in neurons of the hippocampus. The following results were obtained.

Methods :
This study used 21 male specific pathogen free (SPF) SD (Sprague Dawley) rats, 8 weeks of age and approximately 300 g in weight, that were given at least 1 week to adapt to the lab environment Each exposed artery was completely occluded with non-absorbent suture thread and kept in that state for 5 minutes. The sutures were then removed to allow reperfusion of blood. Test group is control group for comparison with the common carotid artery occlusion models, a GI group that underwent common carotid artery occlusion, and a needle electrode electrical stimulation (NEES) group that underwent NEES after artery occlusion.

투고일 : 5/11 수정일 : 6/8 채택일 : 6/13
교신저자 : 송치원, 122-704 서울 은평구 녹번동 통일로 194 국립독성과학원 연구지원과
Tel : 02-380-1884, Fax : 02-355-6035, E-mail : songcw@kfda.go.kr

The GI and NEES groups were given 12, 24, or 48 hours of reperfusion before NEES. NEES device (PG6, ITO, Japan, 9V, current, 2Hz) was used to stimulate the right and left acupoint ST36 of the SD rats for 30 minutes while they were sedated with 3% isoflurane. An immunohistochemistry test was done on the forebrains of the GI induced rats. All the data collected from this study was symbolized and analyzed using a statistics processing program (SPSS 12.0K/PC). The level of significance was set at α=0.05 and a T-TEST analysis was used to find out the effects of treatment on each of the groups: the normal group, the CVA induced group, and the treatment after CVA induction group.

Results :
Both PARP and C-fos immuno-reactive cells, related to apoptosis, were greater in the GI groups than the NEES group. Caspase and IL-6 immuno-reactive cells, related to inflammation, were greater in the GI and NEES groups than the control group.

Conclusions :
This research was conducted to study the effects of NEES on CVA due to ischemia. Occlusion and reperfusion was performed on the common carotid arteries of white rats, after which amounts of substances related to neuron necrosis and inflammation - PARP, IL-6, Caspase-3, and C-fos - were measured in the Hippocampus

Key Words :
Apoptosis, Hippocampus, Inflammation, Necrosis, NEES, Reperfusion

I. 서 론

뇌졸중은 우리나라 3대 사인중의 하나이며 장기간의 수고와 비용이 필요한 질병이다. 또한 그 빈도가 지속적으로 증가하고 있다[1]. 뇌의 영역 중 해마는 기억 저장의 중추적인 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 단기기억을 장기기억으로 전환시키는 역할을 한다.

만약 해마가 손상되었을 경우 새로운 정보들을 기억할 수 없기 때문에 뇌졸중이 발생하게 되면 기능적인 장애유발과 2차 장애를 유발할 가능성이 높다. 그러므로 이에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며 향후에도 지속적인 연구가 필요할 것이다. 재활이란 무능(inability)의 상태에서 유능(ablilty)의 상태로 훈련되어지는 과정을 활성화라고 하며, 유능의 상태에서 어떠한 질병이나 외상 등으로 일상생활동작의 일부를 상실하였을 때 이를 장해(dis-ability)의 상태라 부른다. 이렇게 일부 상실한 기능을 다시(re-) 활성화(habilitation)되어지는 과정을 재활(rehabilitation)이라 한다. 재활의 궁극적인 목적은 일상생활의 문제가 아니라 장애인과 그 가족의 삶의 질(quality of life)에 있다.

중추신경계 재활치료는 음악을 적용하여 진정효과를 입증한 연구와 전기를 적용한 다양한 치료에 대한 연구가 있다. 특히 전기적인 자극은 18세기 중세시대에 신경계의 질병을 위한 가장 대중적인 치료였으며[2,3] 신경재생에서 주로 사용하는 약한 DC전류는 생체 밖에서는 재생을 촉진시키는 것으로 알려져 있다[4,5].

침구치료의 효과는 경혈의 적절한 선택과 선

택된 경혈에 올바른 자극(전기적인 자극이나 기계적인 자극; 자극의 특이성)에 의해 좌우된다[6]. 경혈점에 따라서 각각의 치료적 효과가 달라지므로 경혈을 선택하고 배합하는 것은 침구치료에서 중요한 비중을 차지한다[7].

경혈점 중에서 족삼리(足三里)에 관한 연구는 매우 다양하며 그 중에서 뇌의 활성과 관련한 연구로는 자가 방사능기록 측정법을 이용하여 족삼리(足三里)와 태충(太衝)에 전기자극 후 경혈의 특이성에 따른 뇌 대사 활성변화를 보고한 연구[8]와 족삼리에 전통적인 침자법을 적용하거나 전기자극법을 시행하여 동통억제 효과에 대한 보고가 있다[9]. 이러한 전기자극은 대뇌피질 내에 존재하는 신경전달물질에 작용하여 여러 신경세포에 변화를 입증함으로써 중추신경계의 수많은 peptidegic system를 활성화시킨다[10].

중추신경계의 허혈에 의한 세포자멸사는 허혈 발생 시 미토콘드리아에서 cytochrome C가 유리되는데 이것은 caspase 9를 활성화하고 이것이 caspase 3을 활성화하여 세포자멸사를 초래한다[11]. 또한 괴사는 직접적으로 타격을 받은 부위에서는 물론 뇌압의 상승과 저 산소 및 허혈 등의 2차적인 요인에 의해서도 일어나는 것으로 알려져 있다[12]. Cytokine중에서 interleukin-6(IL-6)는 뇌의 별아교세포(astrocytes)와 미세아교세포(microglia)에 의해 생성되며 뇌손상 후 콜라겐의 생성, 내피기능의 활성화, 혈관생성, 성상세포 증식과 뇌의 염증 뇌 부종 및 회복에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다[13]. 허혈이 발생하는 동안 PARP의 광범위한 활성화가 일어나며 PARP의 작용은 괴사성 세포 사멸에서 과활성(hyperactivation)된다. IL-6는 염증에 관여하는 염증성 사이토카인이 대표적 물질이다. 재활의 전기치료 학문분야와 중추신경계에 많은 효과를 보여주고 있는 한의학의 경락 경혈의 학문의 접목은 동서양의 장점을 결합시켜 보다 효과적인 치료법을 개발할 수 있을 것이다.

Ⅱ. 연구 방법

1. 실험방법 및 절차

1) 실험동물

본 연구에서는 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 체중 300 g 내외의 8주령 특정 병원체 부재(specific pathogen free, SPF)인 SD 쥐(Sprague Dawley rat) 수컷 30마리를 사용하였다(오리엔트바이오(주), 경기도 가평 소재). 온도와 습도, 공기 청정 상태를 일정하게 유지하며 물과 사료는 충분히 공급해 주었으며, 실험실의 온도는 22±1℃, 습도는 45~55%정도를 상시 유지하였다.

2) 온목동맥폐쇄모델(Common Carotid Artery Occlusion)

온목동맥(common carotid artery)폐쇄모델은 기존에 보고된 온목동맥결찰 방법을 이용 Global ischemia(이하 GI)를 유발하여 사용하였다. 흰쥐를 3% isoflurane(중외제약, 한국)으로 마취 상태를 유지하며, 목 정중선에서 양쪽의 온목동맥 부분을 2 ㎝ 정중 절개한 후 미주신경 등을 분리하고 온목동맥을 노출시켰다.

노출시킨 양측의 온목동맥을 비흡수성 봉합사로 완전히 결찰한 후 5분간 유지하였으며, 이후 봉합사를 제거하여 혈액이 재관류(reperfusion) 할 수 있게 하였다. 폐쇄시간을 기준으로 12시간, 24시간, 48시간이 경과한 후 흰쥐를 다음 단계의 실험에 사용하였다.

3) 실험군의 구분

본 연구에서는 온목동맥(common carotid artery)폐쇄모델과 비교하기 위하여 온목동맥폐쇄를 유발하지 않고 30분간 마취만 시킨 대조군과 온목동맥폐쇄를 유발한 global ischemia군

(이하 GI군), GI를 유발시킨 뒤 침전극저주파자극(needle electrode electrical stimulation, 이하 NEES)을 시행한 NEES군으로 구분하여 연구를 시행하였다. GI군과 NEES군은 온목동맥폐쇄 후 12시간, 24시간, 48시간 동안 혈액을 재관류(reperfusion) 시킨 뒤 GI군은 30분간 3% isoflurane을 이용한 마취만 시킨 후에 회복시켰고, NEES군은 3% isoflurane 마취 유도와 함께 30분간 침전극저주파자극을 시행 하였다.

(1) 대조군 : 30분간 마취를 시행하였다.
(2-1) Global ischemia군 : Global ischemia 유발 후 12시간이 경과한 뒤 30분 동안 마취를 시행하였다(이하 GI-I군).
(2-2) Global ischemia군 : Global ischemia 유발 후 24시간이 경과한 뒤 30분 동안 마취를 시행하였다(이하 GI-II군).
(2-3) Global ischemia군 : Global ischemia 유발 후 48시간이 경과한 뒤 30분 동안 마취를 시행하였다(이하 GI-III군).
(3-1) 침전극저주파자극군 : Global ischemia 유발 후 12시간이 경과한 뒤 마취상태에서 30분 동안 양쪽 족삼리(ST36) 부위에 침전극저주파자극(NEES)을 시행하였다(이하 NEES-I군).
(3-2) 침전극저주파자극(NEES-II)군 : Global ischemia 유발 후 24시간이 경과한 뒤 마취상태에서 30분 동안 양쪽 족삼리(ST36) 부위에 침전극저주파자극(NEES)을 시행하였다(이하 NEES-II군).
(3-3) 침전극저주파자극군 : Global ischemia 유발 후 48시간이 경과한 뒤 마취상태에서 30분 동안 양쪽 족삼리(ST36) 부위에 침전극저주파자극(NEES)을 시행하였다(이하 NEES-III군).

4) 침전극저주파자극(needle electrode electrical stimulation, NEES)

침전극저주파자극은 3% isoflurane을 이용하여 마취상태를 유도한 뒤 SD 흰쥐의 좌·우측에 경혈점 족삼리(ST36) 부위에 해당하는 곳을 선정하고 침전극저주파자극기(PG6, ITO, JAPAN, 9 V, 교류, 2 ㎐)를 이용하여 30분간 지속적으로 침전극저주파자극을 시행하였다. 침전극저주파자극의 강도는 자극에 의해 SD 흰쥐의 자극지점 주위 근육의 움직임이 나타나면 곧바로 강도를 약간 감소시켜 근육의 움직임이 사라진 상태에서 자극을 시행하였다.

5) 면역조직화학적염색법 (Immunohistochemistry method)

온목동맥폐색에 의한 GI 유발 모델 흰쥐의 해마(hippocampus)를 선택하여 면역조직화학적 검사법을 실시하였다. 4% paraformaldehyde에 고정된 뇌를 동결절편 하였고, free-floating 법으로 실시하였으며, Vectastain ABC Kit(Vector , USA)를 사용하였다. 박절된 조직을 0.1M PBS로 5분간 3회 수세한 후 1% H2O2로 blocking(peroxidase blocking, 0.1M PBS)시킨 뒤 2% normal goat serum에서 30분간 실온에 방치하였다. 일차항체는 Anti-c-fos, Anti-IL6, Anti-PARP, Anti-Caspase-3을 사용하였고, 일차항체를 4℃에서 3일간 반응시킨 뒤 0.1M PBS에 5분간 3회 수세하고, 이차항체(biotinylated antibody)를 1일간 4℃에서 반응시켰다. 그 후 0.1M PBS에 5분간 3회 수세하고, Avidin-Biotin Peroxidase complex를 3시간 동안 상온에서 반응 시킨 후 0.1M PBS에 5분간 3회 수세 하였다. DAB(Sigma, USA) 발색 후 1% gelatin 용액으로 조직을 slide에 올린 후 dry oven에 2시간 정도 건조 시켰으며, 탈수와 투명과정을 거쳐 permount(Fisher, USA)용액으로 봉입시켰다.

6) 통계학적 분석

본 연구에서 수집된 모든 자료는 부호화 후 컴퓨터를 이용한 통계처리 프로그램(SPSS 12.0K/PC)으로 분석하였다. 두 번째에서는 각 치료방법별로 정상군, 뇌졸중 유발군, 뇌졸중 유발 후 치료군의 효과를 알아보기 위해 유의수준은 α=0.05로 설정하고, ANOVA 분석을 사용하여 정상군과, 뇌졸중 유발군, 뇌졸중 유발군과 뇌졸중 유발 후 치료군, 정상군과 뇌졸중 유발후 치료군간의 검정을 실시하여 구체적인 차이 분석을 실시하였다.

7) 연구의 제한점

본 연구의 제한점은 다음과 같다.

(1) 본 연구를 통해서 얻어진 실험 결과를 사람에게 그대로 적용 할 수는 없다.
(2) 본 연구는 실험동물 개체에 따른 전뇌허혈(global ischemia) 유발 정도의 차이가 있을 수 있으므로 본 실험의 결과를 모든 동물들에게 일반화 하기는 어렵다.

Ⅲ. 연구 결과

본 실험에서 온목동맥의 일시적 폐쇄에 의해 유발된 전뇌허혈로 인해 발생한 SD 흰쥐 뇌의 세포사에 대한 침전극 저주파 자극(needle electrode slectrical stimulation, NEES)이 해마(hippocampus)의 세포사 차단에 미치는 영향 및 그 기전을 알아보기 위하여 면역조직화학적 검사법을 통하여 조직을 관찰하였다. 면역 조직화학적 검사법을 통한 반응세포 수의 변화는 광학현미경하에서 뇌의 해마 부위가 항체에 반응한 세포수를 현미경상의 한 field를 기준으로 확인 관찰 하였다.

1. 면역조직화학적 검사법 (Immunohistochemistry method)

1) caspase-3

각 군에 대한 해마에서의 caspase-3 반응세포 수를 시간대별로 비교 분석한 결과, caspase-3 반응세포의 수는 GI군과 NEES군에서는 모두 증가하는 양상을 나타내고 있었으며, 특히 GI군 내에서는 GI II군에서 증가하였으며, GI III군에서는 차츰 감소하는 양상을 나타내었으나 NEES군 역시 차츰 증가하여 NEES II군에서 가장 많이 관찰되었으며, 이후 감소하는 경향을 나타내었고, 이 군 역시 반응세포의 수는 GI II군에서 나타난 수보다 적게 관찰되었다(Table Ⅰ, Fig. 1).

Table Ⅰ. The Number of Caspase-3 Immunoreactive Cells in Each Group

Group		Cell respons		
		12h	24h	48h
Control	1.67 ± 0.58	3.33± 0.58	12.00± 1.00	9.00± 1.00
GI				
NEES		3.33± 0.58	11.33± 1.53	6.00± 2.00

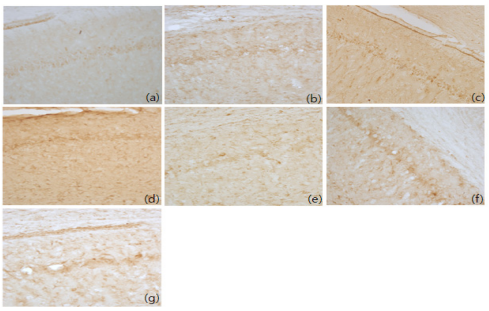


Fig. 1. Caspase-3 immunoreactive cells in the hippocampus.
(a) control(X 200), (b) GI I(X 200), (c) GI II(X 200), (d) GI III(X 200), (e) NEES I(X 200), (f) NEES II(X 200), (g) NEES III(X 200).

2) C-Fos

각 군에 대한 해마에서의 C-Fos 반응세포 수를 시간대별로 비교 분석한 결과, C-Fos 반응세포의 수는 GI군과 NEES군에서는 증가 후 감소하는 양상을 나타내고 있었으며, 특히 GI군에서는 GI I군에서 상승하였으며, GI III군에서 현저하게 감소하는 양상을 나타내었으나 NEES군에서는 NEES II군에서 증가가 관찰되었으며, 이후 감소하는 경향을 나타내었고, 이 군 역시 c-fos 반응세포의 수는 전체 GI I군에서 나타난 수보다 적게 관찰되었다(Table Ⅱ, Fig. 2).

Table Ⅱ. The Number of C-Fos Immunoreactive Cells in Each Group

Group	Cell response			
		12h	24h	48h
Control	2.67± 1.15	15.33± 2.31	14.67± 2.31	7.67± 0.58
GI		3.67± 0.58	5.33± 0.58	5.33± 0.58
NEES				

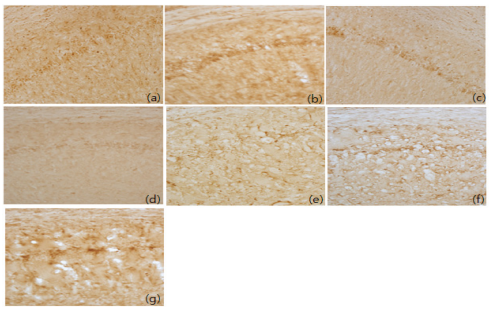


Fig. 2. C-fos immunoreactive cells in the hippocampus.
(a) control(X 200), (b) GI I(X 200), (c) GI II(X 200), (d) GI III(X 200), (e) NEES I(X 200), (f) NEES II(X 200), (g) NEES III(X 200).

3) Interleukins-6(IL-6)

각 군에 대한 해마에서의 IL-6 반응세포 수를 시간대별로 비교 분석한 결과, IL-6 반응세포의 수는 GI군과 NEES군에서는 모두 증가하는 양상을 나타내고 있었으며, 특히 GI군에서는 GI I, GI II군에서 상승하다가, GI III군에서 감소하는 양상을 나타내었다. NEES군 역시 증가하여 NEES III군에서 가장 많이 관찰되었으며, 이 군 역시 IL-6 반응세포의 수는 GI II, GI III군에서 나타난 수보다 적게 관찰되었다(Table Ⅲ, Fig. 3).

Table Ⅲ. The Number of IL-6 Immunoreactive Cells in Each Group

Group	Cell response			
		12h	24h	48h
Control	6.68± 2.31	8.68± 0.58	16.33± 1.53	10.67± 1.15
GI		8.33± 1.53	9.67± 2.08	11.00± 1.73
NEES				

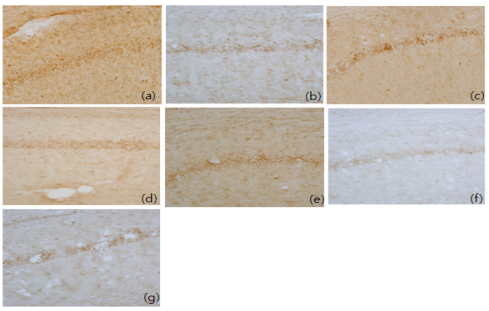


Fig. 3. IL-6 immunoreactive cells in the hippocampus.
(a) control(X 200), (b) GI I(X 200), (c) GI II(X 200), (d) GI III(X 200), (e) NEES I(X 200), (f) NEES II(X 200), (g) NEES III(X 200).

4) Poly(ADP-ribose) polymerase(PARP)

각 군에 대한 해마에서의 PARP 반응세포 수를 시간대별로 비교 분석한 결과, PARP반응세포의 수는 GI군과 NEES군에서는 증가 후 서서히 감소하는 양상을 나타내고 있었으며, 특히 GI군에서는 GI I군에서 급격히 상승하였으며, GI III군에서 감소하는 양상을 나타내었으며, NEES군에서는 NEES I군에서 가장 많이 관찰되었으며, 이후 감소하는 경향을 나타내었고, 이 군 역시 PARP 반응세포의 수는 GI I군에서 나타난 수보다 적게 관찰되었다(Table Ⅳ, Fig. 4).

Table Ⅳ. The Number of PARP Immunoreactive Cells in Each Group

Group	Cell response			
		12h	24h	48h
Control	6.33± 0.58	13.68± 0.58	9.33± 0.58	9.00± 1.00
GI		10.33± 0.58	9.33± 0.58	8.00± 1.00
NEES				

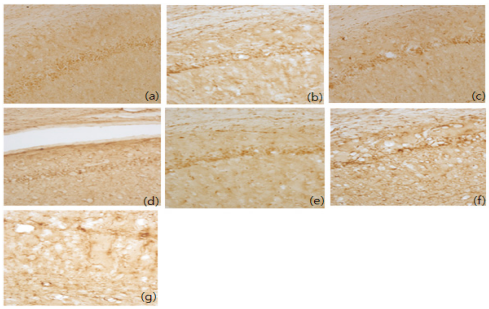


Fig. 4. PARP immunoreactive cells in the hippocampus.
(a) control(X 200), (b) GI I(X 200), (c) GI II(X 200), (d) GI III(X 200), (e) NEES I(X 200), (f) NEES II(X 200), (g) NEES III(X 200).

Ⅳ. 고 찰

해마는 측두엽의 내측 종말부분이 확장되어 형성된 구조로 측뇌실의 바닥 일부를 형성하고 있다. 원심성 연결은 수많은 축삭으로 이루어진 유수신경섬유다발인 뇌궁(formix)을 통해 이루어지는데, 이는 해마지각과 해마의 추체세포에서 기원되어 간뇌 시상하부의 유두체에 까지 연결되어 있다. 해마형성체-뇌궁 -유두체-시상전핵-대상회-내후각뇌피질을 연결하는 신경섬유의 회로를 파페츠회로라고 하는데, 이는 변연계의 중요한 기능인 기억에 작용하는 중심회로이다. 신경세포 손상에 있어 몇몇 주된 기전들이 보고되었는데 흥분성 독작용, 자유 라디칼 스트레스 및 세포자멸사(apoptosis)등이다.[14-16] 특히 일과성 전뇌허혈 후 caspase-3활성증가가 신경세포 손상 호발부위에서 관찰되는데 이는 세포자멸사 손상의 중요한 증거가 된다[17].

해마 부분의 허혈성 뇌졸중이 발생하게 되면 위에서 언급한 기억력장애와 인지기능 장애를 유발한다. 그러므로 이러한 장애를 최소화하기 위하여 손상이후에 재활치료가 필요한데 이러한 재활치료 중에서 침전극 저주파 자극기는 효과가 매우 높다.

대뇌피질, 해마, 소뇌의 Purkinje세포는 신경세포 중에서도 허혈성 손상에 민감한 부위로 알려져 있다

Pulsinelli[18]는 흰쥐를 일과성 전뇌허혈시켜 신경원 손상을 관찰한 연구에서 세포의 형태변화가 뇌의 전부위에 걸져 비슷한 정도가 아니라 부위에 따라 차이가 나는 선택적 취약성을 보인다고 하였다. 해마와 신피질이 취약하며 특히 해마는 이러한 특징을 잘 보여준다.

일과성 전뇌허혈(transient global ischemia)은 해마 CA1 부위의 c-fos, TUNEL 및 caspase-3 양성세포(positive cell)의 수를 증가시키는 것으로 나타났으며, 일과성 전뇌허혈에 의한 c-fos 유전자 유도 증가는 c-fos 단백질이 세포자멸사를 유발하는 원인이 되는 작용을 증명하는 중요한 현상이다[19,20].

Jang 등[21]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. Cheng 등[22]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 세

포자멸사와 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[23]은 전침(electroacupuncture, EA)은 허혈 후 글루타메이트 분비 및 재관류 손상 억제 이 두가지 과정을 통하여 신경 보호 작용을 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 있다는 보고가 있었다[24].

뇌 허혈 손상에서는 경색의 크기와 상응하는 정도로 뇌 조직 IL-6의 변화가 나타나며, 이것은 저산소증으로 인한 국소 효과가 뇌손상 범위와도 관련이 있음을 나타낸다. Wayne M[25]등은 뇌척수액과 혈장의 IL-6 농도는 환자의 기능적 회복을 예견하고, 경색의 크기와도 일치한다고 하였고. IL-6 mRNA는 중추신경계 허혈 후에 상향조절 되는 것으로 보고 하였다

V. 결 론

본 연구에서는 허혈 유발 후 침전극저주파 자극이 해마에 미치는 영향을 연구하기 위하여 흰쥐의 온목동맥을 폐쇄한 뒤 다시 재관류 시킨 후에 해마부위를 대상으로 뇌신경세포의 세포사와 염증에 관련된 물질 caspase-3 ,IL-6, c-Fos, PARP의 발현 정도를 알아보았으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 침전극 저주파 자극이 허혈성 뇌졸중 이후 해마내의 신경세포의 파괴와 염증유발을 억제하는데 효과가 있는 것으로 나타나 침전극 저주파 자극 적용이 뇌손상 이후 기억력 회복에 도움이 될 것으로 기대된다.

2. 침전극저주파 자극은 허혈성 뇌손상 발생 후 비교적 초기에 적용해야 효과가 큰 것을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. 이영애. 뇌졸중 환자의 경험. 재활간호학회지. 2001:4.
2. Du Bois-Reymond E. Untersuchungen uber Thierische Elektricitat. Berlin:SpringerVerlag. 1848.
3. Duchenne de Boulongne. De L'Electrisation Localise, et de son Application a La Physilogie, a La Pathologie et a La Therpeuticque. Paris:Bailliere. 1855.
4. Hinkle L, McCaug CD, Robinson KR. The direction of growth of differentiating neurons and myoblasts from frog embryos in an applied electric field. J Physol. 1981;314:121-35.
5. Patel N, Poo MM. Orientation of neurite growth by extracellular electric fields. J Neurosci. 1982;2(4):483-96.
6. Lunderberg T. Does acupuncture work?. IASP. 1996;4(3):1-4.

7. 전국한의과대학 침구경혈학교실 편저. 침구학. 집문당. 1988:382-4, 407-9, 330-2, 1169-74.
8. 손영주, 정혁상, 구자승, 원란, 김용석, 박영배, 손낙원. 흰쥐의 족삼리 및 태충 신권성 足三里 鍼刺가 疼痛抑制에미치는影響. 석사학위논문. 원광 대학교. 1999.
9. 서영아, 송형근, 나창수, 이상호. 족삼리의 전기침자극에 대한 개구반사 크기의 변화. 대한소아치과학회지. 1998;25(4):789-96.
10. 김창환, 김용석, 허영범, 유진화. 전침자극이 SHR 흰쥐 대뇌의 NADPH-diaphorase와 Neuropeptide Y 신경세포에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999;16(4):283-91.
11. Zheng Z, Zhao H, Steinberg GK, Yenari MA. Cellular and molecular events underlying ischemia-induced neuronal apoptosis. Drug News Perspect. 2003;16:497-503.
12. Hausmann R, Biermann T, Wiest I, Tubel J, Betz P. Neuronal apoptosis following human brain injury. Int J Legal Med. 2004;118(1):32-6.
13. Frei K, Malipiero UV, Leist, TP, Zinkernagel RM, Schwab ME, Frontana A. Production of B cell stimulatory factor-2 and interferon ɣ in the central nervous system during viral meningitis and encephalitis. J Exp Med. 1989;168:449-53.
14. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons. Physiol Rev. 1999;79:1431-568.
15. Chan PH. Reactive oxygen radical sin signal in gand damage in the ischemic brain. J Cereb Blood Flow Metab. 2001;21:2-14.
16. Lo EH, Dalkara T, Moskowitz MA. Mechanisms challenges and opportunities in stroke. Nat Rev Neurosci. 2003;4:399-415.
17. Chen J, Nagayama T, Jin K, Stetler RA, Zhu RL, Graham SH, Simon RP. 25 Induction of caspase-3- like protease may mediate delayed neuronal death in the hippocampus after transient cerebral ischemia.J Neurosci. 1998;18:4914-28.
18. Pulsinelli WA, Brierley JB, Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. Ann. Neurol. 1982;11:491-8.
19. Cho S, Park EM, Kim T, Liu N, Gal J, Volpe BT, Joh TH. Early c-fos induction after cerebral ischemia: a possible neuroprotective role. J. Cereb. blood Flow Metab. 2001;21:550-6.
20. Domanska-Janik K, Bong P, Bronisz-Kowalczyk A, Zajzc H, Zablocka B. AP1 transcriptional factor activation and its relation to apoptosis of hippocampal CA1 pyramidal neurons after transient ischemia in gerbils. J. Neurosci. Res. 1999;57:840-6.
21. Jang MH, Shin MC, Koo GS, Lee CY, Kim EH, Kim CJ. Acupuncture decrease nitric oxide synthase expression in periaqueductal gray area of rats with streptozotocin-induced diabetes. Neurosci. Lett. 2003;337:155-8.
22. Cheng JH, Lee EY, Jang M.H, Kim J, Kim CJ, Ha E, Park HK. Choi S, Lee H, Park SH, Leem KH, Kim EH. Acupuncture decreases ischemia-induced apoptosis and cell proliferation in dentate gyrus of gerbils. Neurol. Res. 2007;29(1):S23-7.
23. Pang J, Itano Y, Sumitani K, Negi T, Miyamoto O. Electroacupuncture attenuates both glutamate release and hyperemia after transient ischemia in gerbils. Am. J. Chin.

Med. 2003;31(2):295-303.

24. Ying SX, Cheng JS. Effects of electro-acupuncture on C-fos expression in gerbils hippocampus during transient global ischemia. Acupunct. Electro-Ther. Res. 1994;19(4):207-13.
25. Wayne M, Clark MD, Lisa G, Rinker BS, Nikola S, Lessov MD, Kristin Hazel BA, Jennifer K, Hill, BS. Lack of Interleukin-6 Expression Is Not Protective Against Focal Central Nervous System Ischemia. Stroke. 2000;31(7):1715-20.