

중풍 동물 모델에서의 트레드밀 운동이 허혈성 신경손상에 미치는 효과: 뇌혈관 통합성 강화

강경아¹ · 성호현² · 진한별² · 박종민³ · 이종민⁴ · 전재용⁵ · 김연정⁶

¹목포가톨릭 대학교 간호학과 전임강사, ²경희대학교 간호과학대학 학부생, ³경희대학교 간호과학대학 대학원생

⁴건국대학교 의과대학 재활의학과 교수, ⁵울산대학교 의과대학 서울아산병원 재활의학교실 교수

⁶경희대학교 간호과학대학 · 동서간호학연구소 교수

The Effect of Treadmill Exercise on Ischemic Neuronal Injury in the Stroke Animal Model: Potentiation of Cerebral Vascular Integrity

Kang, Kyoung Ah¹ · Seong, Hohyun² · Jin, Han-Byeol² · Park, Jongmin³ · Lee, Jongmin⁴ · Jeon, Jae-Yong⁵ · Kim, Youn Jung⁶

¹Full-time Lecturer, Department of Nursing, Mokpo Catholic University, Mokpo

²Undergraduated Student, College of Nursing Science, Kyung Hee University

³Graduated Student, College of Nursing Science, Kyung Hee University

⁴Professor, Department of Rehabilitation, College of Medicine, Konkuk University

⁵Professor, Department of Rehabilitation Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine

⁶Professor, College of Nursing Science, East West Nursing Institute, Kyung Hee University, Seoul, Korea

Purpose: This study was done to identify whether pre-conditioning exercise has neuroprotective effects against cerebral ischemia, through enhance brain microvascular integrity. **Methods:** Adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups: 1) Normal (n=10); 2) Exercise (n=10); 3) Middle cerebral artery occlusion (MCAo), n=10; 4) Exercise+MCAo (n=10). Both exercise groups ran on a treadmill at a speed of 15 m/min, 30 min/day for 4 weeks, then, MCAo was performed for 90 min. Brain infarction was measured by Nissl staining. Examination of the remaining neuronal cell after MCAo, and microvascular protein expression on the motor cortex, showed the expression of Neuronal Nuclei (NeuN), Vascular endothelial growth factor (VEGF) & laminin. **Results:** After 48 hr of MCAo, the infarct volume was significantly reduced in the Ex+MCAo group (15.6±2.7%) compared to the MCAo group (44.9±3.8%) ($p<.05$), and many neuronal cells were detected in the Ex+MCAo group (70.8±3.9%) compared to the MCAo group (43.4±5.1%) ($p<.05$). The immunoreactivity of laminin, as a marker of microvessels and Vascular endothelial growth factor (VEGF) were intensively increased in the Ex+MCAo group compared to the MCAo group. **Conclusion:** These findings suggest that the neuroprotective effects of exercise pre-conditioning reduce ischemic brain injury through strengthening the microvascular integrity after cerebral ischemia.

Key words: Exercise, Brain ischemia, Evidence-based nursing

서 론

뇌졸중은 암에 이어 국내 사망원인 2위(통계청, 2009)로 치료 후에도 반신마비나 언어장애 등 심각한 후유증을 남기는 뇌혈관 질환

환이며 장기간의 회복과정을 요구하는 만성질환으로 질병 발생 전 예방활동이 건강한 삶을 유지하는 데 매우 중요하다.

뇌졸중의 발생을 증가시키는 고위험 요인들로는 비만, 고혈압, 당뇨병 등이 있으며 이들은 부적절한 식습관 및 생활습관과 매우 밀

주요어: 운동, 뇌허혈, 신경보호, 근가-중심 간호

*본 논문은 2007년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2007-313-E00393).

*This study was supported by Korea Research Foundation Grant funded by Korean Government (MOEHRD) (KRF-2007-313-E00393).

Address reprint requests to: Kim, Youn Jung

College of Nursing Science, Kyung Hee University, 1 Hoegi-dong, Dongdaemun-gu, Seoul 130-701, Korea

Tel: +82-2-961-0311 Fax: +82-2-961-9398 E-mail: yj129@khu.ac.kr

투고일: 2010년 6월 26일 심사완료일: 2010년 6월 29일 게재확정일: 2011년 4월 15일

접한 관계가 있으며 최근의 연구결과에 의하면 규칙적인 신체활동은 체중, 혈압, 혈청 콜레스테롤 및 혈당을 조절함으로써 앞에서 언급한 위험요인을 감소시켜 뇌졸중의 발생을 감소시킨다고 하였다 (Greenlund, Giles, Keenan, Croft, & Mensah, 2002). 국내 연구결과에서도 운동이 체중감소, 체지방량 감소 및 혈중 지질 농도를 감소시키는 데에 효과적인 것으로 나타났다(Kim, 2002; Lee, 2006).

국소적 뇌경색을 유발시킨 중뇌동맥 폐색 동물 모델(Middle Cerebral Artery Occlusion, MCAo)의 연구에서도 뇌경색을 일으키기 전에 treadmill 운동이나 자발적인 움직임(voluntary locomotion) 증가로 신체적인 활동이 증가된 쥐의 경우 뇌경색을 일으킨 후의 뇌 손상 및 신경세포의 손상이 감소되었다고 하였다(Ang, Wong, Mochhala, & Ng, 2003).

동물실험에서 국소적 뇌경색이 유발되면 수 분 내에 내피 부종(endothelial swelling)으로 인해 모세혈관 내경이 좁아지게 되며 또한 무산소성 에너지 대사 산물인 젖산이 축적되는데 이는 혈관 내피 세포, 신경세포 및 별아교세포의 세포부종을 초래하여 뇌경색 유발 1-3일경 뇌-혈관 장벽(Blood-brain barrier, BBB)의 손상이 최고점에 이르게 된다. 뇌혈관 장벽의 밀착결합 부위의 손상을 통한 혈장의 유출은 조직부종을 발생시키고 결국 관류장애로 인한 뇌혈관 손상은 신경세포에서의 산소를 이용한 에너지 대사 장애를 초래하여 신경세포 손상 및 사멸을 유도한다(Ding et al., 2004).

이와 같이 뇌 조직이 심한 손상을 받게 되는 뇌경색의 경우, 별아교세포, 희소돌기아교세포 및 미세아교세포 등은 손상으로부터 뇌 기능을 보호하거나 재생시키는 데 중요한 역할을 하는 것으로 생각되어지고 있으며 특히 별아교세포의 경우 영양소를 공급하거나 활성산소를 제거함으로써 신경세포를 보호한다고 알려져 있다(Trendelenburg & Dirnagl, 2005).

별아교세포는 neurovascular unit의 중요한 구성요소로서 혈관으로 둘러싸여 있고 아교세포의 종말단주에는 뇌내 모세혈관의 벽이 맞닿아 있으며 이를 통해 신경세포 및 조직에 필요한 산소 및 영양 대사 물질의 교환이 일어날 수 있도록 모세혈관과 신경세포 간의 교량 역할을 수행하고 있다(del Zoppo & Mabuchi, 2003; Simard, Arcuino, Takano, Liu, & Nedergaard, 2003).

뇌경색이 유발된 후 시간이 경과함에 따라 내피세포가 증식하기 시작하여 신생혈관이 형성되는 일련의 혈관 재건 과정이 일어나게 되는데 이때 혈관형성에는 angiopoietins, Matrix metalloproteinase (MMP)-9 및 Vascular endothelial growth factor (VEGF) 등 많은 인자들이 관여하게 되는데 그중 신경세포와 별아교세포 등에서 분비되는 VEGF는 성장한 동물의 상처치유과정 초기에 혈관형성에 관여한다고 보고되고 있다(Shibuya, 2009; Weis & Cheresh, 2005).

Croll과 Weigand (2001)는 VEGF 그 자체는 수 분 내에 미세혈관의

투과성을 증가시켜 혈장단백질을 유출시키는 강력한 인자로서 작용하는데 국소적 뇌경색을 유발시킨 동물실험에서 첫 1-3시간 내에 VEGF가 발현되기 시작하여 24-48시간 이내에 VEGF의 발현이 최고점을 이룬다고 한다. 경색 유발 후 24시간 이상이 경과하여 나타나는 지연된 VEGF의 발현은 혈관신생(angiogenesis)을 향상시키며 신경세포의 사멸을 막고 뇌경색의 크기 또한 줄이며(Kaya et al., 2005), BBB의 견고성을 유지하는 데 관여하며 뇌경색 유발 28일이 지난 후까지도 VEGF가 지속되면서 신생혈관 형성을 향상시킨다고 하였다(Zhang et al., 2000).

따라서 본 연구에서는 뇌졸중 예방을 위한 간호증재로서 운동의 효과를 근거 기반 간호의 기초 자료로써 활용하기 위해 다음의 실험을 시도하였다. 4주간의 지속적인 treadmill 운동이 국소적 뇌경색 동물의 뇌내 신경-혈관계의 통합성을 견고하게 유지하여, 허혈성 뇌손상을 감소시켜 신경보호 효과가 있음을 행동학적 운동기능 검사와 뇌경색 정도, VEGF 발현 및 Laminin의 발현정도를 알아보고자 하였다.

연구 방법

1. 연구 설계

실험동물은 무작위로 Sham (정상군), Exercise (Ex군), Middle Cerebral Artery occlusion (MCAo군), Exercise+MCAo (Ex+MCAo군)으로 구분하였다. 정상군은 MCAo군과 동일하게 마취를 한 후 정중 경부를 절개한 뒤 바로 봉합한 군이며 MCAo군은 운동은 하지 않고 중뇌동맥 폐색술을 실시한 군이다. 모든 Exercise군은 기울기가 0°인 treadmill (Exer-6M, Columbus Instruments, USA)에서 하루 30분씩 15 m/min의 속도로 총 4주 동안 운동을 한 군이며 뇌경색을 유발하는 수술은 4주간의 운동이 끝난 다음 날 중뇌동맥 폐색술을 실시한 후, 48시간 후에 뇌경색크기와 신경세포 및 미세혈관 조직 내 단백질 발현 변화를 비교분석하였다.

2. 실험 방법

1) 실험동물 및 국소 뇌경색 동물모델(Experimental animal & focal ischemia animal model)

(1) 실험동물

본 연구는 K대학교의 실험동물윤리 위원회의 승인을 받은 후 규정에 따라 실행하였다. 수컷 Sprague Dawley rat (280-300 g, 오리엔트바이오, Korea)을 정상군, MCAo군, Ex군, Ex+MCAo군으로 나누어 각 군에 10마리씩 무작위로 배정하였다. 실험동물은 전 실험기간을 통

하여 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였으며 밤낮 주기 (12시간 light/12시간 dark)가 조절되는 실험실 환경에서 사육하였다.

(2) 중뇌동맥 폐색술(MCAo)

실험동물의 뇌졸중 유발 방법은 나일론 봉합사를 이용해 90분 간 중뇌동맥을 폐색함으로써 국소적 뇌경색 모델(Focal ischemia animal model)을 유발시키는 중뇌동맥 폐색술을 이용하였다. 모든 실험동물들은 2% isoflurane과 함께 7:3의 질소 산소 혼합기체로 흡입마취를 한 다음 정중경부를 절개하여 외경동맥을 노출시킨 후 수술용 4.0 나일론 봉합사(Ethicon, Edinburg, UK)의 끝을 실리콘으로 코팅하여 외경동맥으로 삽입한 후 내경동맥을 거쳐 우측 중뇌동맥에 삽입시켜 뇌혈류를 차단하였으며 90분 뒤에 나일론을 제거하여 재관류를 시켰다.

(3) 뇌 적출 및 조직처리

모든 실험동물은 MCAo를 실시한 후 48시간 후에 희생시켰으며 좌심실을 통하여 50mM 인산염 완충 식염수(phosphate buffered saline, PBS)를 관류시켜 혈관 내 혈액성분을 제거한 후 4% paraformaldehyde (PFA) in 20 mM phosphate buffer (PB)로 뇌를 고정시켰다. 그 후 뇌를 적출한 다음 4% PFA 고정액에 담가 4°C에서 24-48시간 침전시킨 후 고정을 하였다. 고정된 뇌 조직은 30% sucrose 용액으로 옮겨 2-5일간 침전시킨 후 Cryotome (CM 3050S, Leica, Germany)을 이용하여 뇌 조직을 40 µm 두께로 연속 관상 절편하였다.

2) 면역조직염색화학법(Immunohistochemistry)

(1) 뇌경색 크기 측정(Measurement of infarction volume)

절편한 뇌 조직을 0.5% Nissl staining (cresyl violet, Sigma, USA)을 하여 광학 현미경으로 촬영한 뒤 이미지 분석 프로그램(Image pro 6.1, Olympus, Japan)을 이용하여 뇌경색 부위의 크기를 측정하였다. 뇌경색 크기 측정방법은 뇌경색을 유발한 부위의 반대쪽 뇌 면적에서 뇌경색을 유발한 쪽의 정상 면적을 빼서 측정하는 간접법을 사용하였다.

(2) 신경세포 및 미세혈관 조직 내 단백질 발현

Motor cortex의 신경세포 소실 및 미세혈관 조직 내 단백질 발현을 확인하기 위해 각각 mouse anti-NeuN (Neuronal nuclei; chemicon, USA, 1:3,000)과 rabbit anti-Laminin (Sigma, USA, 1:500), 그리고 rabbit anti-VEGF (Milipore, USA, 1:500)를 1차 항체로 사용하여 3% Triton X-100/50 mM PBS 용액에 각각 희석하여 조직 절편과 함께 넣어 shaker 위에 올려 놓은 후 상온에서 하룻밤을 반응시켰다. 다음 날 이를 50 mM PBS 용액으로 5분간 세 차례 세척한 후 이차항체를 희

석하여 실온에서 1시간 동안 흔들여 반응시켰다.

다시 50 mM PBS로 세척한 후, 30분 전에 미리 준비된 avidin-biotin complex (Vector, USA, 1:200)를 1시간 동안 반응시켰다. 발색반응은 0.03% 과산화수소수와 발색제인 DAB (Diaminobenzidine, vector, USA)을 희석한 용액에 넣어 발색시킨 후 다시 완충액으로 세척하여 slide glass에 조직을 붙여 물기가 마를 때까지 건조시켰다. 그 후 탈수를 위해 70, 80, 90, 95, 100% ethanol 과정을 각 단계별로 5-10분씩 실시하였고 각각 10분간 두 단계의 xylene 처리를 거쳐 조직을 투명화한 후 permount (Fisher SP15-500, USA)로 봉입하여 광학현미경 (BX51, Olympus, Japan) 100배하에서 관찰하였다.

3. 자료 분석

모든 실험결과는 평균과 표준오차를 산출하고 그룹 간 평균비교는 independent t-test와 one-way ANOVA로 분석한 후 scheffe로 사후 검증하였으며 모든 통계처리는 SPSS 14.0을 이용하였으며 통계적 유의 수준은 $p < .05$ 에서 채택하였다.

연구 결과

1. 뇌경색 크기의 감소

뇌경색을 유발한 뒤 48시간 후에 동물을 희생시킨 후, Nissl staining을 하여 뇌경색 크기의 차이를 측정한 결과 Figure 1에서 보는 바와 같이 4주간 treadmill 운동을 실시한 Ex+MCAo군의 뇌경색 크기가 $15.6 \pm 2.7\%$ 로 MCAo군의 $44.9 \pm 3.8\%$ 에 비하여 유의한 감소를 보였다($p < .001$) (Table 1).

2. 신경세포 소실의 감소

Motor cortex의 신경세포 소실 정도를 확인하기 위해 anti-NeuN을 염색한 뒤 남아 있는 신경세포의 수를 세어 그 결과를 Figure 2에 제시하였다. MCAo군에서 NeuN의 발현은 $43.4 \pm 5.1\%$ 로 정상군에 비해 56.6% 감소를 보였으며($p < .001$), Ex+MCAo군에서는 $70.8 \pm 3.9\%$ 로 나타나 남아 있는 신경세포의 수가 MCAo군에 비해 증가하였으며 통계적으로도 유의하였다($p < .001$) (Table 2).

3. 미세혈관 조직 내 단백질 발현의 변화

조직괴사(necrosis)가 일어난 부위(core)와 인접한 가장자리인 penumbra에서의 미세혈관 조직 내 단백질 발현의 변화를 확인한

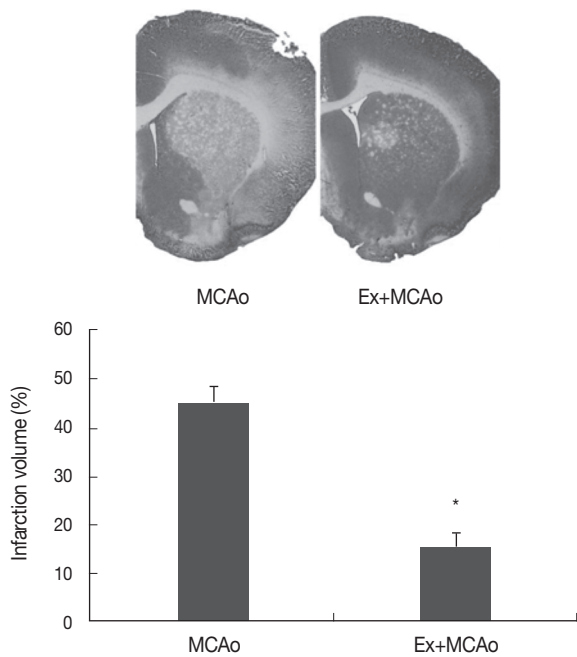


Figure 1. The effect of pre-conditioning exercise on the infarct volume induced by middle cerebral artery occlusion (MCAo) in the motor cortex was measured by Nissl staining. Infarct volume was reduced in Ex+MCAo group compared to MCAo group. Values are mean \pm SE (* p < .05 vs MCAo). MCAo = middle cerebral artery occlusion; Ex = exercise.

Table 1. The Measurement of Infarction Volume

	MCAo	MCAo+Ex
Infarction volume	44.9 \pm 3.8%	15.6 \pm 2.7%

p < .001.

MCAo = middle cerebral artery occlusion; Ex = exercise.

Table 2. Neuronal Cell Count in Motor Cortex

	Control	MCAo	MCAo+Ex
NeuN-positive cell	100	43.4 \pm 5.1%	70.8 \pm 3.9%

p < .001.

MCAo = middle cerebral artery occlusion; Ex = exercise; NeuN = neuronal nuclei.

결과는 다음과 같다. 혈관 내피세포의 표지자(marker)로 알려진 laminin의 발현은 Figure 3에 나타난 바와 같이 MCAo군은 정상군과 Ex군에 비하여 현저히 줄어들었음을 볼 수 있으며 Ex+MCAo군의 경우 laminin의 발현이 MCAo군에 비해 증가되어 있음을 볼 수 있었다. 한편, anti-VEGF를 조직 염색한 결과는 Figure 4에 제시하였다. VEGF 발현 양상은 MCAo군에서 가장 많이 증가된 양상이고, Ex+MCAo군, Ex군의 순서로 발현의 정도가 높았으며 운동을 하지 않은 정상군에서는 거의 발현되지 않는 양상을 보여주었다.

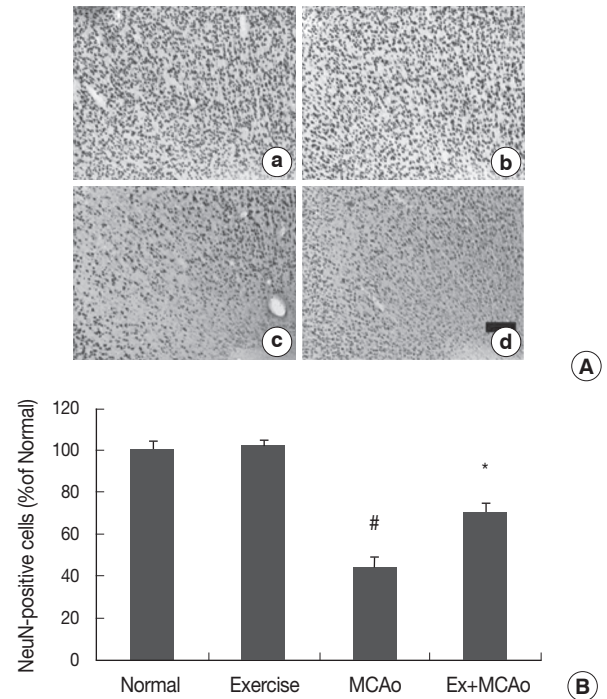


Figure 2. (A) Photographs of NeuN immunoreactivity in the motor cortex. There are many NeuN-positive cells in Normal (a) and Ex. group (b), compared to MCAo group (c). However, in Ex+MCAo group, (d) NeuN-positive cells were increased compared to MCAo group (scale bar, 100 μ m). (B) Exercise significantly increased NeuN-positive cells in the motor cortex. Values are mean \pm SE (# p < .05 vs Normal, * p < .05 vs MCAo). MCAo = middle cerebral artery occlusion; Ex = exercise; NeuN = neuronal nuclei.

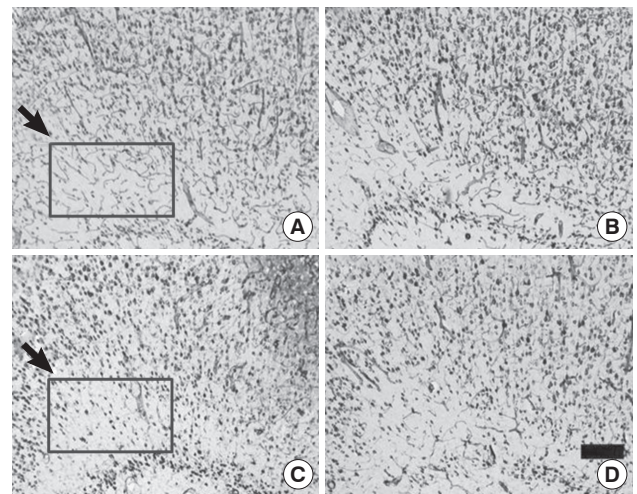


Figure 3. The immunoreactivity of laminin in motor cortex. In normal (A) and Ex. group (B), micro vessels were intensively marked by laminin, and very little immunoreactivity of laminin was marked in MCAo group (C). However, in Ex+MCAo group (D), laminin expression was increased compared to MCAo group (scale bar, 100 μ m), MCAo = middle cerebral artery occlusion; Ex = exercise.

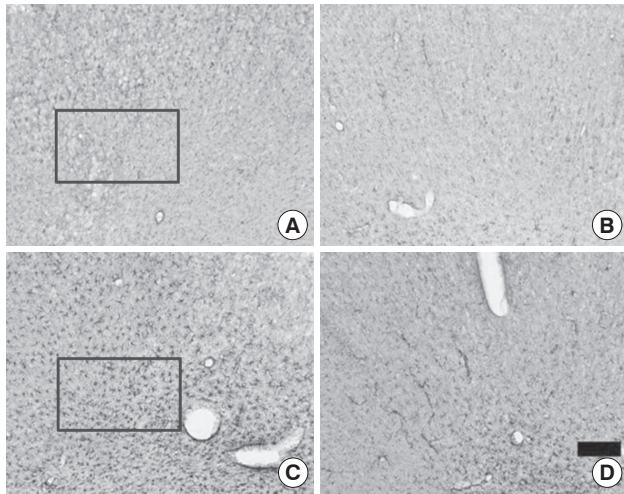


Figure 4. Intensively VEGF immunoreactivity was shown in MCAo group (C) In Ex+MCAo group (D), little VEGF expression was observed, however, there was no VEGF immunoreactivity in either normal (A) or Ex. group (B) (scale bar, 100 μ m). MCAo=middle cerebral artery occlusion; Ex=exercise; VEGF=vas-cular endothelial growth factor.

논 의

뇌 안의 모세혈관을 통한 산소의 확산은 신경세포의 에너지 대사를 위한 매우 중요한 단계이다. 국소적 뇌경색을 유발하여 뇌혈류를 차단시킨 후, 수 분 내에 뇌경색 중심부위(core)에서부터 조직 손상이 일어나는데 이 부분의 뇌 혈류량은 80% 이상 감소된 상태로 세포사멸이 빠르게 일어나며, 수 시간이 지난 후에는 뇌경색의 부위가 부분적으로 에너지 대사가 남아 있는 주변주위(penumbra)로 확산이 되며 이 단계에서는 미토콘드리아 장애와 활성산소의 증가로 인한 세포사멸사가 일어난다(Lo, Moskowitz, & Jacobs, 2005).

운동의 신경보호효과에 대한 연구로 Ding 등(2004)은 국소적 뇌경색 동물모델에서 3주간 treadmill에서 pre-conditioning exercise를 시행한 결과 신경학적 결손 및 뇌경색의 크기를 감소시키는 효과가 있다고 하였으며 이에 대한 기전으로 nerve growth factor (NGF) 및 brain-derived neurotrophic factor (BDNF)와 같은 신경성장인자(neurotrophic factor)의 증가와 혈관신생 등에 의한 효과로 제시하였으며 또한, Ang 등(2003)은 12주간의 treadmill 운동이 MCAo 모델에서 뇌경색 크기를 줄였으며 이는 treadmill 운동이 NGF mRNA의 발현을 증가시켜 뇌손상을 줄였다고 하였다. 또한 사람에게 있어서, 운동의 다양한 좋은 효과는 인체 여러 부분에서 충분히 언급되어 있고 (Mattson, Duan, Wan & Guo, 2004), 특히 뇌졸중 예방에 운동의 탁월한 효과에 대해서 여러 과학자들의 가설이 제시되어지고 있다. 운동은 지방대사에서 HDL-cholesterol을 정상화시켜, 혈관내피 기능을 호전시키는데, 이는 endothelial nitric oxide synthase (eNOS)와 세포의 superoxide dismutase (ecSOD)를 증가시켜, 혈관 이완작용을 가

져온다고 알려져 있다(Chrysohoou et al., 2005; Endres et al., 2003). 이러한 운동의 효과는 심혈관계, 지방-콜레스테롤 균형, 에너지 대사, 당 내성 및 인슐린 감수성과 염증 등의 다양한 전신 효과를 나타낼 뿐 아니라(Carroll & Dudfield, 2004), 뇌 가소성(neural plasticity) 및 인지 기능 향상에 따른 뇌 건강에 효과를 나타낸다고 알려져 있다.

본 연구는 국소적 뇌경색을 유발시킨 동물모델을 이용해 4주간의 지속적인 treadmill 운동이 국소적 뇌경색 동물의 뇌내 신경혈관계의 통합성을 견고하게 유지하여, 허혈성 뇌손상을 감소시켜 신경보호 효과 여부를 확인해 보고자 하였다. 그 결과 MCAo군에 비하여 4주간 treadmill 운동을 실시한 Ex+MCAo군의 뇌경색의 크기가 감소하는 경향을 보였으며 또한 신경세포의 표지자(marker)인 NeuN을 염색하여 motor cortex 부위의 남아 있는 신경세포의 수를 측정한 결과에서도 MCAo군에 비해 Ex+MCAo군에서 신경세포의 사멸이 감소되어 있음을 확인하였다. 이는 기존의 연구 결과와도 일치하는 것으로 pre-conditioning exercise가 뇌경색 발생 후에 허혈성 뇌 손상과 신경세포의 사멸을 감소시키는 신경보호효과가 있음을 재확인하였다.

Li 등(2005)은 운동행위(motor behavior)와 관련된 전두두정엽 피질부위와 등가쪽 선조체(dorsolateral striatum)에서 혈관신생 및 별아교세포의 밀도가 운동으로 인해 크게 증가하였다고 보고하였고, 또한 일반적으로 뇌경색 유발 후에 뇌경색 부위의 vascular density 증가가 관찰되는데 이로 인한 혈류의 증가는 혈류차단으로부터 조직뿐 아니라 penumbra라고 불리는 아직 생존 가능한 부위를 보호하기 위한 것으로 추정되고 있다(Heiss, Sobesky, & Hesselmann, 2004).

이에 본 연구자들은 운동으로 유발되는 대뇌 실질 조직 내 미세혈관계의 변화와 신경보호 작용의 연관성을 확인하기 위하여 Laminin 및 VEGF 발현의 변화를 관찰하였다.

뇌경색이 유발되면 1-3일경에 뇌-혈관 장벽(BBB)의 손상이 최고점에 이르며 손상부위로부터 혈장의 유출 및 뇌 관류 장애로 인해 뇌경색 중심부(core)에서 주변 부위(penumbra)로의 조직손상이 진행되게 된다. BBB는 뇌 내로 유입되는 물질들을 조절하는 관문으로 내피 내 밀착연접, 기저막, 혈관주변의 별아교세포로 구성되어 있다(del Zoppo & Mabuchi, 2003). BBB의 세포외기질(extracellular matrix, ECM)은 기저막으로 구성되어 있으며 기저막의 주요 구성성분으로는 collagen IV, laminin, cellular fibronectin 등이 있다(Yurchenco & Schittny, 1990). 뇌경색에 대한 반응으로 대뇌 미세혈관의 벽은 빠르게 변화되는데 특히 신경세포의 손상과 동시에 기저막 기질(matrix)에서의 변화가 나타나며 laminin, collagen IV, cellular fibronectin 등 기저막 기질의 구성성분의 발현이 뇌경색 유발과 함께 급격히 감소한다고 하였다(Hamann, Okada, Fitridge, & del Zoppo, 1995). 본 연구 결과에서도 MCAo군이 정상군과 Ex군에 비하여 laminin

에 의해 염색되어 나타난 대뇌 미세혈관들이 현저히 줄어 있음을 볼 수 있었으며 또한 Ex+MCAo군의 경우 미세혈관 내 laminin의 발현이 MCAo군에 비해 증가되어 있음을 볼 수 있었다. 이는 treadmill 운동이 기저막 기질(basal lamina matrix)을 형성하는 여러 단백질들의 활성을 유지하여 대뇌 미세혈관구조를 견고하게 함으로써 혈류 차단으로 인한 손상을 감소시킨 결과로 사료된다.

VEGF는 기존의 혈관으로부터 새로운 모세혈관을 생성(sprouting)시키는 즉, 신생혈관 형성을 증진시키는 물질로서 Cobbs, Chen, Greenberg와 Graham (1998)은 뇌경색과 같은 저산소성 상태에서 유발되는 혈관신생은 증가된 VEGF 발현의 결과라고 알려져 있다. VEGF는 국소적 뇌경색을 유발시킨 동물실험에서 첫 1-3시간 내에 발현되기 시작하여 24-48시간 이내에 VEGF의 발현이 최고점을 이룬다고 한다.

그러나 VEGF 발현시기에 따른 기능은 매우 역설적이어서, 경색 후 24시간 이내에는 미세혈관의 투과성 증가로 혈장 단백을 유출시켜, BBB 손상을 악화시키고, 경색 유발 후 24시간 이상이 경과하여 나타나는 지연된 VEGF의 발현은 혈관신생을 향상시키며 신경세포의 사멸을 막고 뇌경색의 크기 또한 줄이며(Kaya et al, 2005), BBB의 견고성을 유지하는 데 관여하며 뇌경색 유발 28일이 지난 후까지도 VEGF가 지속되면서 신생혈관 형성을 향상시킨다고 하였다(Zhang et al., 2000).

본 연구에서 Motor cortex에서의 VEGF 발현을 보기 위해 조직 염색한 결과, 별아교세포에서 발현되는 VEGF는 MCAo군에서 가장 높게 나타났으며 그다음으로 Ex+MCAo군, Ex군의 순서로 Kaya 등 (2005)이 국소적 뇌경색 유발 후 첫 1-3시간 내에 VEGF가 발현되기 시작하여 24-48시간 이내에 VEGF의 발현이 최고점을 이룬다고 하였던 결과와 일치하였다(Lennmyr, Terént, Syvänen, & Barbany, 2005). 본 연구의 결과에서 MCAo군의 높은 VEGF 발현은 뇌경색 부위로 혈액공급을 시키기 위한 보상작용의 하나로 VEGF가 내피세포의 증식(proliferation) 및 이주(migration)를 촉진하고 새로운 모세혈관 생성을 증진시켜 그 결과 측부 순환(collateral circulation)이 증가된 결과로 추정된다. 이는 MCAo군의 허혈성 신경세포 손상의 정도가 매우 크기 때문에 이에 대한 보상기전으로 VEGF의 발현이 가장 높게 나온 것으로 분석된다.

Ding 등(2004)은 지속적인 운동으로 형성된 미세혈관들이 MCAo 유발 후 재관류 시기에 더 많은 산소와 대사에 필수적인 물질들(glucose, amino acid)을 많이 유도하여 적절한 혈액 공급을 해 줌으로써 뇌허혈이라는 자극에 대해 신경세포의 내성을 증진시킨다고 하였다. Ex+MCAo군에서 MCAo군에 비해 VEGF의 발현이 더 적게 나타난 것은 4주간의 treadmill 운동으로 인한 혈관 견고성이 증가되어 MCAo로 인해 혈류공급이 차단되어도 그에 대한 저항력

이 생겨, BBB 손상으로 수반되는 뇌 혈관조직 손상 및 이에 뒤따르는 신경세포 손상이 MCAo군에 비해 적으므로, VEGF 발현이 감소되는 양상으로 나타났다고 사료된다. 본 연구결과, 4주간의 treadmill 운동이 뇌경색 크기 및 신경세포 사멸의 보호효과가 있음을 확인하였는데 이는 운동이 대뇌 미세혈관구조의 견고성을 강화시킴으로써 뇌경색 유발 후 급격히 감소하는 혈류공급에 대한 저항력을 증가하는 것으로 laminin과 VEGF의 발현의 변화로 이를 규명하였다.

본 연구 결과는 규칙적이고 지속적인 운동이 뇌졸중으로 인한 뇌손상을 감소시키는 예방 효과를 가진다는 과학적인 근거를 제시하며 이를 바탕으로 뇌졸중 위험성이 높은 대상자에 대한 간호교육의 기초적인 자료를 제공할 뿐 아니라 임상과 지역사회에서 뇌졸중 환자에게 근거중심 간호중재를 제공하는 데 학문적 기초가 될 것으로 생각된다.

결론

본 연구는 4주간의 treadmill 운동이 국소적 뇌허혈을 유발시켰을 때, 뇌경색 부위 경감 및 신경세포 사멸의 감소를 확인하였다. 이는 지속적인 운동이 뇌혈관계의 기질 단백질인 laminin 발현의 강화를 통해 저산소증으로 의한 뇌혈관계의 구조적 손상을 막아 신경세포 손상을 경감시킨 것으로 사료되고, VEGF의 발현이 Ex+MCAo군보다 MCAo군에서 강하게 증가된 양상으로 보아 뇌 내 모세혈관계의 구조적 손상이 적었음을 확인할 수 있었다. 이러한 동물실험을 통해 지속적 운동의 뇌기능 보호 효과에 대한 과학적인 근거를 마련하고, 치료적 혹은 예방적 운동이 간호 활동의 중요한 영역으로 명시되어야 함을 제언하고 싶다.

REFERENCES

- Ang, E. T., Wong, P. T., Moolchala, S., & Ng, Y. K. (2003). Neuroprotection associated with running: Is it a result of increased endogenous neurotrophic factors? *Neuroscience*, 118, 335-345.
- Carroll, S., & Dudfield, M. (2004). What is the relationship between exercise and metabolic abnormalities? A review of the metabolic syndrome. *Sports Medicine*, 34, 371-418.
- Chrysohoou, C., Pitsavos, C., Kokkinos, P., Panagiotakos, D. B., Singh, S. N., Stefanadis, C. (2005). The role of physical activity in the prevention of stroke. *Central European Journal of Public Health*, 13, 132-136.
- Cobbs, C. S., Chen, J., Greenberg, D. A., & Graham, S. H. (1998). Vascular endothelial growth factor expression in transient focal cerebral ischemia in the rat. *Neuroscience Letters*, 249, 79-82.
- Croll, S. D., & Weigand, S. J. (2001). Vascular growth factors in cerebral ischemia. *Molecular Neurobiology*, 23, 121-135.

- del Zoppo, G. J., & Mabuchi, T. (2003). Cerebral microvessel responses to focal ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 23, 879-894.
- Ding, Y., Li, J., Luan, X., Ding, Y. H., Lai, Q., Rafols, J. A., et al. (2004). Exercise pre-conditioning reduces brain damage in ischemic rats that may be associated with regional angiogenesis and cellular overexpression of neurotrophin. *Neuroscience*, 124, 583-591.
- Endres, M., Gertz, K., Lindauer, U., Katchanov, J., Schultze, J., Schröck, H., et al. (2003). Mechanisms of stroke protection by physical activity. *Annals of Neurology*, 54, 582-590.
- Greenlund, K. J., Giles, W. H., Keenan, N. L., Croft, J. B., & Mensah, G. A. (2002). Physician advice, patient actions, and health-related quality of life in secondary prevention of stroke through diet and exercise. *Stroke*, 33, 565-571.
- Hamann, G. F., Okada, Y., Fitridge, R., & del Zoppo, G. J. (1995). Microvascular basal lamina antigens disappear during cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke*, 26, 2120-2126.
- Heiss, W. D., Sobesky, J., & Hesselmann, V. (2004). Identifying thresholds for penumbra and irreversible tissue damage. *Stroke*, 35, 2671-2674.
- Kaya, D., Gürsoy-Ozdemir, Y., Yemisci, M., Tuncer, N., Aktan, S., & Dalkara, T. (2005). VEGF protects brain against focal ischemia without increasing blood-brain permeability when administered intracerebroventricularly. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 25, 1111-1118.
- Kim, I. H. (2002). The effects of exercise therapy and exercise-behavior modification therapy on obesity, blood lipids, and self-esteem of the obese middle-aged women. *Journal of Korean Academy of Nursing*, 32, 844-854.
- Kleim, J. A., Cooper, N. R., & VandenBerg, P. M. (2002). Exercise induces angiogenesis but does not alter movement representations within rat motor cortex. *Brain Research*, 934, 1-6.
- Lee, J. I. (2006). Effects of walking exercise intensities on fatigue, serum lipids and immune function among middle-aged women. *Journal of Korean Academy of Nursing*, 36, 94-102.
- Lenmyr, F., Terént, A., Syvänen, A. C., & Barbany, G. (2005). Vascular endothelial growth factor gene expression in middle cerebral artery occlusion in the rat. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 49, 488-493.
- Li, J., Ding, Y. H., Rafols, J. A., Lai, Q., McAllister, J. P. II, & Ding, Y. (2005). Increased astrocyte proliferation in rats after running exercise. *Neuroscience Letters*, 386, 160-164.
- Lo, E. H., Moskowitz, M. A., & Jacobs, T. P. (2005). Exciting, radical, suicidal: How brain cells die after stroke. *Stroke*, 36, 189-192.
- Mattson, M. P., Duan, W., Wan, R., Guo, Z. (2004). Prophylactic activation of neuroprotective stress response pathways by dietary and behavioral manipulations. *NeuroRx*, 1(1), 111-116.
- Shibuya M. (2009). Brain angiogenesis in developmental and pathological processes: Therapeutic aspects of vascular endothelial growth factor. *Federation of European Biochemical Societies Journal*, 276, 4636-4643.
- Simard, M., Arcuino, G., Takano, T., Liu, Q. S., & Nedergaard, M. (2003). Signaling at the gliovascular interface. *Journal of Neuroscience*, 23, 9254-9262.
- Statistics Korea (2009, August 31). Annual report of causes of death in Korea. Retrieved August 31, 2009, from http://kostat.go.kr/portal/korea/kor_nw/2/6/1/index.board?bmode=read&bSeq=&aSeq=66244&pageNo=2&rowNum=10&navCount=10&currPg=&Target=title&sTxt
- Trendelenburg, G., & Dirnagl, U. (2005). The neuroprotective role of astrocytes in cerebral ischemia: Focus on ischemic preconditioning. *Glia*, 50, 307-320.
- Weis, S. M., & Cheresh, D. A. (2005). Pathophysiological consequences of VEGF-induced vascular permeability. *Nature*, 437, 497-504.
- Yurchenco, P. D., & Schittny, J. C. (1990). Molecular architecture of basement membranes. *The FASEB Journal*, 4, 1577-1590.
- Zhang, Z. G., Zhang, L., Jiang, Q., Zhang, R., Davies, K., Powers, C., et al. (2000). VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain. *Journal of Clinical Investigation*, 106, 829-838.