

## 만성 뇌졸중 환자에서 상지 경직에 대한 충격파 치료의 효과

순천향대학교 의과대학 부천병원 재활의학교실

김상현 · 석 현 · 김선우

### Effect of Shock Wave Therapy on Upper Limb Spasticity in Chronic Stroke

Sang Hyun Kim, M.D., Hyun Seok, M.D. and Sunwoo Kim, M.D.

Department of Physical Medicine and Rehabilitation, Bucheon Hospital, Soonchunhyang University College of Medicine

**Objective:** To investigate the effect and optimal therapeutic frequency of extracorporeal shock wave therapy (ESWT) on upper limb spasticity in chronic stroke patients.

**Method:** Total 16 patients with chronic stroke were evaluated. Patients were divided into 2 groups, one group applied with 4 Hz stimulation, and the other group applied with 8 Hz stimulation. All patients were applied with sham stimulation (0 mJ/cm<sup>2</sup>) at the initial time and with active stimulation (0.030 mJ/cm<sup>2</sup>) 4 weeks later. Target muscles were dorsal interossei and flexor digitorum profundus. The primary outcome was the finger flexor spasticity using the modified Ashworth scale (MAS), which was serially measured before, after 1 week and after 4 week respectively.

**Results:** Before the study, the MAS of 4 Hz group was  $3.90 \pm 0.87$  and 8 Hz group was  $3.89 \pm 0.93$ , which showed no significant difference. After 1 week of active stimulation, the MAS of 4 Hz group ( $2.90 \pm 0.81$ ) was significantly smaller than the MAS of 8 Hz group ( $3.33 \pm 0.88$ ). Treatment effects had been continued to 4 weeks. There were no complications associated with ESWT.

**Conclusion:** ESWT could be used to reduce spasticity of the upper limb muscles in chronic stroke patients. (Brain & NeuroRehabilitation 2010; 3: 94-98)

**Key Words:** ESWT, spasticity, stroke

## 서 론

만성 뇌졸중 환자에서 상지의 경직은 단순히 상지 운동 기능의 저하 뿐만 아니라 삶의 질과 관련된 기능적인 부분인 옷입기, 세면 등 일상생활 동작 수행에 심각한 장애를 유발한다.<sup>1</sup> 심각한 상지 경직을 보이는 환자들의 치료를 위해 최근 많이 사용되는 치료법은 Botulinum toxin type A의 근육 내 주사로, 상지 근육의 긴장을 감소시켜 상지의 기능을 향상시키고 합병증을 줄인다고 보고되어왔다.<sup>2-5</sup> 하지만 몇몇 환자들에서 Botulinum toxin에 대한 중화 항체의 생성이 관찰되어 이 항체로 인해 치료 효과가 감소될 수 있고, 광범위하고 심각한 경직에서 Botulinum의 치료 용량을 결정하는 것은 적절하지 않을 수 있다.

이에 Botulinum toxin을 대체할 비침습적인 치료 방법들이 연구되었고 그 가운데 하나가 체외 충격파 치료로, 지금까지 재활의학과 영역에서는 주로 족저근막염, 외측 상과염 등 근골격계 질환의 비침습적 치료에 이용되고 있는 치료 방법이다. 최근 근골격계 질환 외에 체외 충격파 치료의 응용에 대한 연구가 진행되었고 그 가운데 하나가 경직의 치료이다. 경직의 치료에 적용된 연구로는 Lohse-Busch 등<sup>6</sup>이 경직성 뇌성마비 환자의 하지에 체외 충격파 치료를 적용시켜 경직이 줄어들었다는 보고가 있다. 또 Manganotti 등<sup>7</sup>은 2005년 뇌경색 환자를 대상으로 상지 경직의 치료에 적용하여 3개월 이상 치료효과가 지속된 연구결과를 보고한 바 있으며, Amelio와 Manganotti도 뇌성마비 환자의 족저굴근 경직 치료에 체외 충격파 치료의 효과를 보고한 바 있다.<sup>8</sup> 그렇지만 이 연구들 외에 경직에 체외 충격파 치료를 적용한 연구는 없었다.

비노기과적 영역의 체외 충격파 쇄석술에서는 최적의 치료 주파수에 대한 연구 및 고찰들이 보고 되어왔으나,<sup>9,10</sup> 재활의학과 영역에서는 근골격계 질환 및 경직 치료에서도 체외 충격파의 주파수 차이에 따른 치료 효과 차이를 비교한 연구는 전혀 없었다.

접수일: 2010년 5월 27일, 1차 심사일: 2010년 7월 5일  
2차 심사일: 2010년 8월 3일, 게재승인일: 2010년 8월 10일  
교신저자: 김선우, 경기도 부천시 원미구 중1동  
☎ 420-767, 순천향대학교 부천병원 재활의학과  
Tel: 032-621-5057, Fax: 032-621-5016  
E-mail: doiloveu@dreamwiz.com

이에 본 연구자들은 심한 상지 경직을 보이는 뇌졸중 환자를 대상으로 상지에 체외 충격파 치료가 경직의 감소에 유의한 효과가 있는지, 체외 충격파 치료를 각기 다른 주파수로 적용할 경우 주파수 차이에 따른 치료 효과에 차이가 있는지 확인하고자 하였다.

## 연구대상 및 방법

뇌졸중 환자에서 수지굴근의 경직을 나타내고 발병 후 1년 이상 경과된 환자를 대상으로 Botulinum toxin이나 신경블록으로 치료받거나 수지굴근에 관절구축이 있는 환자들은 제외하였다. 환자들은 두 그룹으로 나뉘어져, 무작위로 4 Hz 그룹과 8 Hz 그룹으로 배정되었다. 체외 충격파 치료는 Piezo wave (Richard Wolf, Gent, Belgium)를 이용하였다. Sham stimulation이 시행된 4주일 후 active stimulation이 시행되었고, sham stimulation 및 active stimulation은 심수지굴근(flexor digitorum profundus)에 1,600회, 각각의 배측골간근(dorsal interossei)에 800회씩을 가하였다(Fig. 1). 심수지굴근의 자극은 환자가 바로누운 상태에서 전완부를 굴곡, 회외 시키고 초음파로 심수지굴근인 것을 확인한 후 바로 그 자리에 자극을 가했으며, 골간근의 자극은 환자가 최대한 손가락을 벌린 상태에서 4개의 배측골간근의 손등 쪽으로 중수골체(body of metacarpal)의 중간에서 시행하였다. 체외 충격파의 강도는 sham stimulation에서는  $0 \text{ mj/cm}^2$ 으로 해서 환자가 기계에서 나오는 소음은 들을 수 있지만 실제로는 치료자극이 들어가지 않도록 하였으며, active stimulation은 두 그룹 공통적으로  $0.030 \text{ mj/cm}^2$ 의 강도로 시행하였다.

총 8주의 연구기간 동안 치료 효과에 대한 평가를 위해 경직에 대한 평가를 시행하였으며 sham stimulation 전과 sham stimulation 1주 후(연구기간 1주차)와 4주 후(연구기간 4주차, active stimulation 전), active stimulation 1주 후(연구기간 5주차)와 4주 후(연구기간 8주차)로 총 다섯 차례 동안 수지굴근의 경직을 modified Ashworth scale (MAS) (0~5)로 평가하였다. 수지굴근의 경직은 한꺼번에 2~5번째 수지를 손목을 중립자세로 고정시킨 상태에서 중수관절(metacarpophalangeal joint)의 경직을 측정하였다. 평가자간 오차를 줄이기 위해서 숙달된 1명의 평가자가 계속 측정하였으며 같은 요일, 같은 시간에 측정하였다.

Active stimulation 후 신경 손상 여부를 파악하기 위해 척골 신경의 운동 신경전도 검사 및 F파 검사를 active stimulation 직전과 4주 후에 측정하였다. 척골 신경의 운동 신경전도 검사는 전도 속도 및 소지외전근(abductor digiti minimi)의 복합근활동전위의 원위부 잠시 및 진폭을 측정하였다. F파 검사는 소지외전근에서 F파의 잠시와 진폭을 7회 측정하여 그 평균값을 구하였다.

연구 결과의 통계 처리는 SPSS 12.0을 사용하였다. 경직의 변화량을 보기 위해서 repeated measure ANOVA를 시행하였고 사후검정은 본페르니 수정을 시행하였다. 전기생리학적 변화를 측정하기 위해서는 각각의 군에서 paired t-test를 시행하였다.

## 결 과

2008년 6월 1일부터 2009년 6월 30일까지 본원을 내원



Fig. 1. A patient was applied with shock wave therapy on the 2<sup>nd</sup> dorsal interossei (left) and flexor digitorum profundus (right).

한 입원환자 및 외래환자 16명을 대상으로 실험하였다. 남자 10명, 여자 6명으로 뇌졸중 발생 후 평균 유병 기간은  $25.6 \pm 10.6$ 개월이었다(Table 1). 9명은 뇌출혈 환자, 7명은 뇌경색 환자였고, 환자들 중 12명은 항고혈압제제를, 7명은 항혈소판제제를 복용하고 있었고 연구기간 동안 이 약물들을 포함한 어떠한 약물에 대해서도 조절을 하지 않았다.

4 Hz 그룹에서는 sham stimulation 전과 1주 후의 경직 및 active stimulation 전(연구기간 4주차)의 경직은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 2). Active stimulation 1주째(연구기간 5주차)와 4주째(연구기간 8주차)의 경직은 sham stimulation 전에 비해 각각 유의하게 감소되었다.

8 Hz 그룹에서도 sham stimulation 전과 1주 후의 경직 및 active stimulation 전(연구기간 4주차)의 경직은 통계적으로 유의한 차이가 없었다. Active stimulation 1주째(연구기간 5주차)의 경직은 sham stimulation 전의 경직과 유

의한 차이를 보이지 않았으나 4주째(연구기간 8주차)의 경직은 sham stimulation 전의 경직에 비해 유의하게 감소되었다.

그룹간의 비교에서는 active stimulation 후 1주째(연구기간 5주차)에서 8 Hz 그룹에 비해 4 Hz 그룹의 경직이 유의하게 감소되었으나, active stimulation 4주째(연구기간 8주차)에서는 두 그룹 간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

운동 신경전도 검사 및 F파 검사에서는 4 Hz 그룹과 8 Hz 그룹에서 모두 active stimulation 전과 4주째를 비교했을 때, 어떤 지표에서도 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3).

모든 환자에서 체외 충격파 치료 도중이나 이후에 통증이나 감각이상 등은 관찰되지 않았다.

## 고 찰

체외 충격파 치료를 이용한 경직의 치료에서 작용 기전에 대해 정확하게 밝혀진 바는 아직 없다. 하지만 이 연구에서 시행된 운동 신경전도 검사와 F파 검사는 Manganotti 등<sup>7</sup>의 연구 결과와 마찬가지로 치료 전후에 유의한 변화를 보이지 않았기 때문에 체외 충격파로 인한 신경손상이

**Table 1.** General Characteristics of Subjects

|  | 4 Hz group      | 8 Hz group      |
|--|-----------------|-----------------|
| Gender (Male : Female)                   | 5 : 3           | 4 : 4           |
| Age (years)                              | $63.9 \pm 12.4$ | $59.7 \pm 14.5$ |
| Time since Stroke (month)                | $26.4 \pm 11.5$ | $24.3 \pm 9.7$  |
| Type of Stroke (Hemorrhage : Infarction) | 4 : 4           | 5 : 3           |

Values are mean±standard deviation.

**Table 2.** The Changes of Modified Ashworth Scale

|            | Pre-sham                    | 1 week          | 4 week<br>(active stimulation) | 5 week                 | 8 week                        |
|------------|-----------------------------|-----------------|--------------------------------|------------------------|-------------------------------|
| 4 Hz group | $3.90 \pm 0.87^{*,\dagger}$ | $3.80 \pm 0.93$ | $3.90 \pm 0.90$                | $2.90 \pm 0.81^{*,\S}$ | $2.50 \pm 0.74^{\dagger}$     |
| 8 Hz group | $3.89 \pm 0.93^{\ddagger}$  | $3.89 \pm 0.81$ | $3.78 \pm 0.92$                | $3.33 \pm 0.88^{\S}$   | $2.78 \pm 0.89^{\ddagger,\S}$ |

Values are mean±standard deviation. \*Denotes significant difference within 4 Hz group (pre-sham vs 5 week) (\*p<0.05), <sup>†</sup>Denotes significant difference within 4 Hz group (pre-sham vs 8 week) (<sup>†</sup>p<0.05), <sup>‡</sup>Denotes significant difference within 8 Hz group (pre-sham vs 8 week) (<sup>‡</sup>p<0.05), <sup>§</sup>Denotes significant difference between 4 Hz group and 8 Hz group at 5 week (<sup>§</sup>P<0.05).

**Table 3.** Electrophysiological Findings of 4 Hz Group and 8 Hz Group

|  | 4 Hz group                |                                  | 8 Hz group                |                                  |
|--|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
|  | Before active stimulation | 4 weeks after active stimulation | Before active stimulation | 4 weeks after active stimulation |
| Ulnar motor NCV (m/s)                  | $58.8 \pm 4.8$            | $57.8 \pm 4.1$                   | $60.7 \pm 3.7$            | $62.8 \pm 5.9$                   |
| Distal latency of CMAP of ADM (ms)     | $2.6 \pm 0.2$             | $2.6 \pm 0.4$                    | $2.8 \pm 0.7$             | $2.7 \pm 0.7$                    |
| Amplitude of CMAP of ADM (mV)          | $10.1 \pm 3.2$            | $10.7 \pm 2.6$                   | $9.9 \pm 2.7$             | $10.3 \pm 2.8$                   |
| Ulnar F wave mean latency (ms)         | $25.6 \pm 2.1$            | $25.1 \pm 1.6$                   | $25.1 \pm 2.0$            | $25.1 \pm 2.2$                   |
| Ulnar F wave mean amplitude ( $\mu$ V) | $700 \pm 358$             | $897 \pm 689$                    | $752 \pm 572$             | $893 \pm 637$                    |

Values are mean±standard deviation. NCV: nerve conduction velocity, CMAP: compound motor action potential, ADM: abductor digiti minimi.

나 척수흥분도(spinal excitability)의 변화로 경직이 줄지는 않았을 것으로 생각된다.

체외 충격파 치료의 작용 기전에 대한 연구들에서 체외 충격파가 enzymatic NO (nitric oxide) synthesis와 nonenzymatic NO synthesis를 유도한다는 보고들이 있다.<sup>11-13</sup> NO는 산화환원 상태에 따라 신경 조직에 다른 효과를 보여서, 신경독소로 작용할 수도 있고 신경 보호 작용을 할 수도 있다. NO는 말초신경계의 신경근 접합부 형성에 관여하고, 신경전달, 기억 등 중추신경계의 생리학적 기능에 중요한 역할을 담당한다.<sup>14,15</sup>

이런 체외 충격파에 의한 NO 합성에 따른 효과들은 단지 근골격계 질환의 치료 기전 뿐만 아니라, 만성적으로 경직된 근육의 섬유화 및 유동적 부분(rheologic component)들에 작용하여 만성 경직의 치료에 관여한다고 생각된다.<sup>7</sup>

Takahashi 등<sup>16</sup>은 rat의 발바닥에 시행된 체외 충격파에 의해 후근신경절(dorsal root ganglion neuron)에서 calcitonin gene-related peptide (CGRP)가 감소했다고 보고한 바 있다. CGRP는 뇌졸중 환자의 경직에 관여한다고 생각되는 제 Ia형, 제 II형 그리고 제 IV형 신경섬유를 비롯한 여러 구심 신경섬유에서 작용하는 신경전달 물질이다.<sup>1</sup> McCarthy 등<sup>17</sup>은 전기생리학적 연구를 통해 후근신경절의 CGRP 면역활성(immunoreactivity) 신경 중 46%가 C 신경섬유, 33%가 A $\delta$  신경섬유, 17%가 A $\alpha/\beta$  신경섬유라고 보고한 바 있다. 이를 종합해 볼 때, 체외 충격파 치료 후 후근신경절(dorsal root ganglion neuron)에 있는 A $\alpha/\beta$  신경섬유를 포함한 CGRP 면역활성 신경의 감소는 근육방추(muscle spindle)에서 비롯된 구심성 신경자극을 감소시키며, 이로 인해 monosynaptic stretch reflex가 감소되는 것이 체외 충격파에 의한 경직 감소의 치료 기전의 한 가설로 제시될 수 있을 것이다. 하지만 아직 체외충격파 시술 이후 A $\alpha/\beta$  신경섬유의 감소에 관해 신경생리학적으로 조사한 연구는 없으므로 이에 대한 후속연구가 필요할 것이다.

한편 Abed 등<sup>18</sup>은 sheep의 피부 및 골막에 체외 충격파 치료 및 radial pressure wave therapy (RPWT)를 시행하였을 때 CGRP를 포함하는 신경섬유가 체외 충격파 치료 및 RPWT에 영향을 받지 않는다고 보고한 바 있다. 그러나 이 연구자들에서는 피부와 골막의 CGRP활성 신경을 측정했기이라 후근 신경절을 조사한 연구와는 차이점이 있다.

경직치료를 포함한 근골격계 체외 충격파 치료에 있어서 세계적으로 주파수에 관한 비교 연구가 보고된 적은 없었다. 다만 신장결석에 대한 체외 충격파 쇄석술의 경우 최적의 치료 효과를 보이는 주파수에 대한 몇 편의 연구가

있을 뿐이다. Yilmaz 등<sup>9</sup>은 신장 결석 환자 170명을 대상으로 60 Hz, 90 Hz, 120 Hz에서의 체외 충격파 치료 효과를 비교하였을 때, 90 Hz에서 가장 좋은 효과를 얻었다고 보고하였다. 또 Semins 등<sup>10</sup>은 60 Hz와 120 Hz의 체외 충격파 쇄석술을 비교한 메타분석에서 60 Hz의 체외 충격파가 더 치료효과가 좋은 것으로 보고하였다.

본 연구에서는 4 Hz 그룹에서 8 Hz 그룹에 비해 치료 1주째부터 치료효과가 나타났지만 4주째에서는 두 군간에 차이를 보이지 않았다. 아마도 본 연구에서 사용하는 주파수 차이가 크지 않았기 때문일 수도 있고 앞서 언급한 체외 충격파로 인한 NO 생성에 관한 연구에서 체외 충격파로 인해 NO synthase가 즉시 활성화되고 NO가 증가된다는 보고에 미루어<sup>13</sup> 4 Hz의 자극이 8 Hz 자극보다 NO synthase를 더 빨리 활성화시켜 치료효과가 빨리 나타났을 가능성이 있으나 이에 관해서는 후속연구가 필요할 것으로 보인다.

본 연구에서 사용한 기구가 8 Hz의 주파수 까지만 지원하기 때문에 그 이상의 주파수에 대한 연구를 할 수 없었으며, 1 Hz로 적용할 경우 한 환자당 치료 시간이 약 80분에 가깝게 걸려 환자의 적응도가 떨어져 적용하지 못했기 때문에 보다 큰 주파수 차이에 대한 연구를 시행하지 못했다. 또한 충분하지 않은 연구 대상의 크기도 본 연구의 한계점 중 하나이다. 더불어 주파수에 따른 치료효과 차이가 장기적으로 나타나는 지에 관해서도 후속 연구가 필요할 것으로 보인다.

## 결론

본 연구 결과에 따르면, 체외 충격파 치료는 만성 뇌졸중 환자의 상지 경직 치료에 통계적으로 유의한 치료 효과를 보였으며 4 Hz 그룹과 8 Hz 그룹의 치료 효과를 비교했을 때 치료 1주일 후에는 4 Hz active stimulation이 통계적으로 유의하게 더 좋은 치료 결과를 보였지만, 4주 후에는 두 그룹 간에 유의한 차이는 없었다. 그리고 체외 충격파 치료 도중이나 이후에 통증이나 감각이상 등은 관찰되지 않았다. 이에 체외 충격파 치료가 Botulinum toxin 치료나 신경차단을 시행할 수 없는 만성 뇌졸중 환자의 경직 치료에 안전하고 비침습적인 대안이 될 수 있을 것으로 보이며 주파수에 따른 치료효과나 효과가 나타나는 시기에 관한 연구는 후속 연구가 필요할 것으로 보인다.

## 참고문헌

- 1) Mayer NH. Clinicophysilogic concepts of spasticity and

- motor dysfunction in adults with an upper motoneuron lesion. *Muscle Nerve*. 1997;Suppl 6:S1-S13
- 2) Brashear A, Gordon MF, Elovic E, Kassicheh VD, Marciniak C, Do M, Lee CH, Jenkins S, Turkel C. Botox Post-Stroke Spasticity Study Group. Intramuscular injection of botulinum toxin for the treatment of wrist and finger spasticity after stroke. *N Engl J Med*. 2002;347:395-400
  - 3) Simpson DM, Alexander DN, O'Brien CF, Tagliati M, Aswad AS, Leon JM, Gibson J, Mordaunt JM, Monaghan EP. Botulinum toxin type A in the treatment of upper limb spasticity: a randomized double blind, placebo controlled trial. *Neurology*. 1996;46:1306-1310
  - 4) Lagalla G, Danni M, Reiter F, Ceravolo MG, Maria G, Provinciali L. Post-stroke spasticity management with repeated botulinum injections in the upper limb. *Am J Phys Med Rehabil*. 2000;79:377-384
  - 5) Smith SJ, Ellis E, White S, Moore AP. Double blind placebo controlled study of botulinum toxin in upper limb spasticity after stroke or head injury. *Clin Rehabil*. 2000;14:5-13, 2
  - 6) Lohse-Busch H, Kraemer M, Reime U. The use of extracorporeal shock wave fronts for treatment of muscle dysfunction of various etiologies: an overview of first results. In: Siebert W, Buch M, eds. *Extracorporeal Shock Waves in Orthopaedics*. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer; 2007: 215-230
  - 7) Manganotti P, Amelio E. Long-term effect of shock wave therapy on upper limb hypertonia in patients affected by stroke. *Stroke*. 2005;36:1967-1971
  - 8) Amelio E, Manganotti P. Effect of shock wave stimulation on hypertonic plantar flexor muscles in patients with cerebral palsy: a placebo-controlled study. *J Rehabil Med*. 2010;4: 339-343
  - 9) Yilmaz E, Batislam E, Basar M, Tugul D, Mert C, Basar H. Optimal frequency in extracorporeal shock wave lithotripsy : prospective randomized study. *Urology*. 2005;66:1160-1164
  - 10) Semins MJ, Trock BJ, Matlaga BR. The effect of shock wave rate on the outcome of shock wave lithotripsy: a meta-analysis. *J Urol*. 2008;179:194-197
  - 11) Mariotto S, Cavalieri E, Ciampa A, Carcereri de Prati A, Amelio E, Russo S, Marlinghaus E, Suzuki H. Effect of shock wave on the catalytic activity of endothelial nitric oxide synthase in umbilical vein endothelial cells. *The Ital J Biochem*. 2003;52:n.3
  - 12) Gotte G, Amelio E, Russo S, Marlinghaus E, Musci G, Suzuki H. Short-time non-enzymatic nitric oxide synthesis from L-arginine and hydrogen peroxide induced by shock waves treatment. *FEBS Lett*. 2002;520:153-155
  - 13) Mariotto S, Cavalieri E, Amelio E, Ciampa AR, Carcereri de Prati A, Marlinghaus E, Russo S, Suzuki H. Extracorporeal shock waves: from lithotripsy to anti-inflammatory action by NO production. *Nitric Oxide*. 2005;12:89-96
  - 14) Molina JA, Jiménez-Jiménez FJ, Ortí-Pareja M, Navarro JA. The role of nitric oxide in neurodegeneration. Potential for pharmacological intervention. *Drugs Aging*. 1998;12:4:251-259
  - 15) Blottner D, Luck G. Just in time and place: NOS/NO system assembly in neuromuscular junction formation. *Microsc Res Tech*. 2001;55:171-180
  - 16) Takahashi N, Wada Y, Ohtori S, Saisu T, Moriya H. Application of shock waves to rat skin decreases calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in dorsal root ganglion neurons. *Auton Neurosci*. 2003;107:81-84
  - 17) McCarthy PW, Lawson SN. Cell type and conduction velocity of rat primary sensory neurons with calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivity. *Neuroscience*. 1990;34: 623-632
  - 18) Abed JM, McClure SR, Yaeger MJ, Evans RB. Immunohistochemical evaluation of substance P and calcitonin gene-related peptide in skin and periosteum after extracorporeal shock wave therapy and radial pressure wave therapy in sheep. *Am J Vet Res*. 2007;68:323-328