creative commons

COMMONS DEED

저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:

저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.

변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 이용허락규약(Legal Code)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

Disclaimer

dCollection

[UCI]I804:24011-200000236133

2008년 2월

박사학위 논문

수영운동이 뇌출혈 흰쥐의 단기기억능력과 세포생성에 미치는 영향

조선대학교 대학원

체 육 학 과

박 후 성

수영운동이 뇌출혈 흰쥐의 단기기억능력과 세포생성에 미치는 영향

The effects of swimming exercise on the short-term memory and apoptotic neuronal cell death following intrastriatal hemorrhage in rats

*2008*년 *2*월

조선대학교 대학원

체 육 학 과

박 후 성

수영운동이 뇌출혈 흰쥐의 단기기억능력과 세포생성에 미치는 영향

지도교수 위 승 두

이 논문을 체육학박사학위신청 논문으로 제출함.

*2007*년 *10*월 일

조선대학교 대학원

체 육 학 과

박 후 성

박후성의 박사 학위논문을 인준함

위원장 전남 대학교 교수 김 동 희 인

위 원 한남 대학교 교수 윤 진 환 인

위 원 조선 대학교 교수 윤 오 남 인

위 원 조선 대학교 교수 서 영 환 인

위 원 조선 대학교 교수 위 승 두 인

*2007*년 *12*월 일

조 선 대 학 교 대 학 원

<목 차>

I. 서 론 ····· *1*

1. 연구의 필요성 및 목적 ····· 1
2. 연구의 가설 ····· 3

II. 이론적 배경 ····· *4*

1. 뇌신경의 세포사멸 ····· 4
2. 뇌신경의 세포생성 ····· 5
3. 운동과 뇌의 가소성 ····· 7
4. 뇌에 대한 운동의 효과 ····· 9

III. 연구방법 ····· *12*

1. 실험동물 ····· 12
2. 실험 도구 및 시약 ····· 12
3. 실험 방법 및 절차 ····· 13
   1) 뇌출혈 유발 ····· 13
   2) 단기 기억 측정 ····· 14
   3) 운동 프로토콜 ····· 14
   4) BrdU 주사 ····· 14
   5) 조직 처리 ····· 15
   6) 면역조직화학 염색 ····· 15
4. 자료 처리 ····· 17

IV. 연구결과 ····· *18*
1. 단기기억능력 측정 ····· 18
2. 선조체에서의 병변 부위의 변화 ····· 20
3. 선조체에서의 caspase-3-양성 세포수 ····· 21
4. 선조체에서의 TUNEL-양성 세포수 ····· 22
5. 해마 치상회에서의 BrdU-양성 세포수 ····· 23

V. 논의 ····· *25*

VI. 결 론 ····· *28*

<표 목 차>

<Table 1> Experimental equipments ····· 13

<그림 목차>

<Fig 1> Effect of swimming exercise on latency in step-down avoidance task. ····· 19
<Fig 2> Effect of swimming exercise on the size of intrastriatal lesions. ····· 20
<Fig 3> Effect of swimming exercise on caspase-3 in the striatum. ····· 21
<Fig 4> Effect of swimming exercise on DNA fragmentation in the striatum ····· 22
<Fig 5> Effect of swimming exercise on cell proliferation in the dentate gyrus. ····· 24

ABSTRACT

The effects of swimming exercise on the short-term memory and apoptotic neuronal cell death following intrastriatal hemorrhage in rats

Park Hoo-Sung
Advisor : Prof. Wee Seung-Doo
Department of Physical Education,
Graduate School of Chosun University

Intracerebral hemorrhage is one of the most devastating types of stroke. It is known to cause severe neurological damage and is also associated with a very high mortality rate. In the present study, we investigated the effects of swimming exercise on short-term memory and apoptotic neuronal cell death in the striatum following intracerebral hemorrhage in rats. Intracerebral hemorrhage was induced by the injection of collagenase into the striatum using a stereotaxic instrument. The animals in the swimming groups were forced to swim for 30 min once daily for ten consecutive days. The present results showed that lesion size and apoptotic neuronal cell death in the striatum were significantly increased following intrastriatal hemorrhage and that swimming exercise reduced the size of the hemorrhage-induced lesions and inhibited apoptotic neuronal cell death in the striatum. Swimming exercise also suppressed the intrastriatal hemorrhage-induced cell proliferation in the dentate gyrus, which is a compensatory response to the excessive neuronal cell death induced by hemorrhage. Here in this study, we demonstrated that swimming exercise overcomes intracerebral hemorrhage-induced apoptotic neuronal cell death and thus facilitates recovery following intracerebral hemorrhage.

I. 서 론

1. 연구의 필요성 및 목적

뇌출혈은 뇌혈관 질환 (cerebrovascular accident)의 한 형태로, 뇌는 뇌출혈로 인해 전반적, 또는 국소적인 손상을 입게 되며 구조물들의 변위가 발생하게 된다 (Matsushita et al., 2000; Griesbach et al., 2004). 또한 뇌출혈은 대부분의 경우 진행적인 증상을 보이게 되며, 짧은 기간 내에 뇌에 치명적인 손상을 입히게 되고 그 예후가 뇌경색보다 위험할 정도로 심각한 신경세포의 손상을 유발하여 인지적, 기능적, 형태적으로 회복이 어렵게 되는 질환이다 (Qureshi et al., 2003). 이러한 뇌출혈은 과거 고령인구에서 집중적으로 나타났던 것에 비해 그 유발연령이 대부분의 성인병과 같이 점차적으로 낮아지고 있는 추세이기 때문에 뇌출혈에 대한 예방법과 유발 이후 손상에 대한 회복방법 등에 대한 관심도가 증가하고 있고, 따라서 그에 관한 다양한 연구들이 이루어지고 있다 (Thrift et al., 1995).

중추신경계 (central nerve system)는 신체활동을 통합하고 수의적 움직임을 조절하는 것 외에 사전에 경험한 반응형태를 파악 또는 인지하고 이러한 경험을 저장하는 역할을 한다. 중추신경계의 기능적 손상은 운동, 감각, 인지 기능의 소실 및 기억상실과 증상들을 야기한다. 중추신경계 손상에 대한 실험적 연구는 주로 뇌출혈 손상 및 저산소증, 간질, 알코올 중독 등을 유발시킨 신경질환 실험동물을 통하여 이루어지고 있다 (Kerr et al., 1972). 뇌출혈로 일어나는 이러한 현상들이 복잡한 병리 생리적 과정을 통하여 신경세포사 (neuronal cell death)가 초래되어 (Li et al., 1997; Linnik, 1995) 결국 비가역적인 신경학적 손상을 일으킨다. 뇌출혈에 의한 신경세포사는 전통적으로 수동적인 괴사성 과정 (necrotic processes)으로 여겨져 왔다. 그러나 최근에는 세포사멸 (apoptosis)이라는 능동적인 세포사 과정이 신경세포사에 중요한 역할을 한다는 것이 입증되고 있다 (Li et al., 1997; Linnik, 1995; Shigeno et al., 1990).

뇌출혈은 세포사멸을 유발하는 동시에 손상부위의 분자적, 세포적 복구 기전 (repair mechanism)을 일으키는데, 그 복구 기전의 하나로 뇌출혈시 신경세포생

성이 활성화되는 것으로 생각되고 있다 (Cramer & Chopp, 2000). 사람을 포함한 포유동물의 특정 뇌 부위에는 성장이 끝난 후에도 신경간세포 (neural stem cell)가 존재하여 새로운 신경세포생성 (neurogenesis)이 지속적으로 일어난다 (Biebl et al., 2000; Eriksson et al., 1998). 특히, 새로운 신경세포의 생성이 이루어진다고 보고된 부위 중 해마 (hippocampus)는 학습과 기억의 뇌 중추로서 해마 치상회 (hippocampal dentate gyrus)에서 일어나는 신경세포생성은 학습, *N*-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체 길항제, 세로토닌, 에스트로겐 및 운동자극으로 향상되는 반면, 부신피질 홀몬, 스트레스와 노화로 인하여 억제된다 (Fuchs & Gould, 2000; Gould & Tanapat, 1999). 뇌출혈 손상과 같은 병리적 상태에서는 해마 치상회의 신경세포생성이 증가되는 것으로 보고되었다 (Liu et al., 1998; Parent et al., 1997).

신체 운동은 여러 가지 형태의 뇌 손상으로 유발되는 신경학적 장애를 개선하고 기능적 회복을 촉진하는 것으로 보고되고 있다. 뇌성마비, 뇌졸중 등의 뇌 손상이나 알츠하이머병, 파킨슨병과 같은 퇴행성 뇌 질환 환자에서 치료적 운동은 기능회복을 촉진시켰으며 (Johansson & Ohlsson, 1996; Lehmann et al., 1975), 인지기능을 향상시켰다 (Blomquist & Danner, 1987; Fordyce & Wehner, 1993). Chodzko-Zajko 와 Moore (1994)는 인간의 체력과 인지 능력에 밀접한 관계가 있다면서 규칙적인 운동이 뇌 기능을 향상시킬 수 있다고 보고하였다. 또한 운동 후에는 신경전구세포의 생존과 분화와 관련이 있는 신경영양인자(neurotrophic factor)의 분비가 증가하고 (Trejo et al., 2001; Gómez-Pinilla et al., 1998; Tao et al., 1996; Neeper et al., 1995), 시냅스 가소성(synaptic plasticity)이 증가되며, 장기강화가 증가되어 기억 기능이 향상된다(Fordyce & Wehner, 1993). 운동은 혈관형성 (Isaacs et al., 1992)과 세로토닌 분비 등을 증가시켜 (Fujino et al., 2002; Weicker & Struder, 2001; Chaouloff, 1989) 신경세포생성, 장기강화, 기억, 학습에 영향을 주는 것으로 여겨진다 (van Praag et al., 1999a). 실제 임상에서도 중추신경계 손상 환자들을 위한 치료의 한 방법으로 치료적 운동이 많이 사용되고 있다 (Carro et al., 2001; Cotman & Berchtold, 2002). 이렇듯 운동이 뇌출혈시 인지능력을 향상시키고, 신경학적 장애를 완화시키는데 유용한 치료적 방법이라는 것은 분명하지만, 운동이 어떠한 기전을 통하여 뇌신경세포에 대한 신

경보호적 효과 (neuroprotective effect)를 발휘하는 가에 대한 연구는 국내외적으로 윤진환(2007), 심영제(2004), 임백빈(2003)등에 의하여 매우 한정적으로 진행되어 왔다.

이에 본 연구자는 운동이 뇌출혈시 유발되는 세포의 사멸 및 생성에 직접적인 영향을 미칠 것으로 생각하고 이 연구를 계획하였다.

본 실험은 흰쥐를 대상으로 뇌출혈 (hemorrhage) 유발 후 지구성 수영 운동이 해마 치상회의 단기기억능력과 뇌 세포사멸 및 세포생성에 미치는 영향을 규명하고자 실시하였다.

2. 연구의 가설

본 연구의 목적을 달성하기 위하여 다음과 같은 가설을 설정하였다.

1) 뇌출혈은 선조체의 세포사멸과 해마 치상회의 세포생성에 영향을 미칠 것이다.
2) 수영 운동은 정상 상태 선조체의 세포사멸과 해마 치상회의 세포 생성에 영향을 미칠 것이다.
3) 수영 운동은 뇌출혈이 유발된 선조체의 세포사멸과 해마 치상회의 세포생성에 영향을 미칠 것이다.
4) 뇌출혈은 단기 기억 능력에 영향을 미칠 것이다.

II. 이론적 배경

1. 뇌신경의 세포사멸

세포사멸은 세포사가 일어날 때 사전에 준비된 세포사 프로그램을 작동시켜 발생하는 능동적이고 자발적인 사망기전으로, 세포예정사 (programmed cell death)라고도 하며 신경세포의 발생, 사멸, 항상성 유지 등에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Danial et al., 2004; Griesbach et al., 2004). 이러한 세포사멸은 기존의 세포괴사와는 달리 세포가 수축되고 핵 염색체의 응축이 일어난다. 또한 핵이 분리되어 세포사멸체를 형성 후 대식세포 (macrophage)나 인접 세포에 의하여 제거되는 특징을 가졌으며, DNA 분해효소에 의하여 laddering 형태의 DNA 분절을 나타낸다. 특정 유전적 또는 환경적 요인들에 의해 세포사멸이 정상적인 조절과정에서 벗어나 비정상적으로 발생되거나 억제될 경우 생명체는 필연적으로 질병의 상태가 된다. 또한 세포사멸은 뇌의 손상에 뒤따른 이차 손상의 중요한 매개체이며, 생체 내 불필요한 세포를 제거하는 기작으로서 항상성 유지를 위해 필수적인 생리현상으로, 생물체의 발생과 분화 및 적절한 세포수의 유지를 위해 필수적인 기작이다 (Song et al., 1999; Schafer & Kornbluth, 2006). 세포사멸은 다양한 세포 종류의 변성으로 괴사를 동반하며, 주로 백색질을 제한하고, 희소돌기아교세포 (oligodendrocyte)와 미세아교세포 (microglial cell)를 포함하는 세포 변성을 유도하는 과정이다. 그러나 아직까지 뇌 손상 후 세포사멸과 다양한 신경 보호 물질들과의 상호 연관성에 관한 연구는 정확한 결론을 제시하지 못하고 있으며, 신경 보호물질들의 상호 연관 작용 또는 전신적인 합병증에 관한 연구도 기초 연구 단계 수준이다.

세포에 가해진 자극에 의해서 발생하는 세포사멸은 여러 세포사멸 유전자들이 관여하여 정확하게 세포사멸을 조절하는 것으로 알려져 있다. 이러한 세포사멸을 조절하는 단백질로서 Bcl-2 family 구성원들의 핵심적인 역할은 이미 알려져 있으며, 현재까지 사람에게는 20종이 넘는 Bcl-2 구성원이 존재하는 것으로 밝혀져 있다. Bcl-2군은 Noxa, Harakiri, Bad, Bim, Bak. Bax, Bok, Bid 등이 존재하며, 세포상처의 센서역할을 하여 마이토콘드리아 외부막을 깨고 세포의 죽음을 유발

시키는 것으로 알려져 있다 (Adams & Cory, 1998; Danial & Korsmeyer, 2004).

ced-3에 유사한 포유동물 유전자는 인터루킨 (interleukin)-1β 전환효소 (ICE: 현재 caspase-1 이라 지칭)로 밝혀졌으며, 그 이후 많은 이들 효소군들을 caspase (cytein protease cleave after aspatic acid)로 분류하였으며 (Alnemri et al., 1996), 지금까지 14종의 caspase가 보고되었다. Caspase들은 단백질내의 특정 부위를 절단하는 특징을 가지고 있다. 즉, 세포사멸의 신호를 받게되면 caspase 계열 효소가 단계별로 활성화되어 최종적으로 caspase-1, -3 및 -4 등이 세포내의 여러 단백질을 분해함으로써 세포사멸이 이루어진다. Caspase들에 의해 분해되는 기질 단백질들은 세포의 기능을 조절하는 데에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 이들이 활성화된 caspase에 의해 절단됨으로써 세포 생존에 관련된 단백질은 불활성화 되고, 또한 세포의 구조에 중요한 세포골격단백질을 절단하게 되어 특이한 구조적인 변화를 유발하는 것으로 생각된다.

뇌출혈 동물모델에서 실시한 초기 연구에서는 단백질 합성 억제제 및 신경성장인자가 해마에서의 뇌출혈 신경세포사를 완화시켰음을 보고하여 (Shigeno et al., 1990; Hashimoto et al., 1992) 약리학적으로 뇌출혈로 인한 신경세포사가 세포사멸이라는 것을 밝혔다. 뇌출혈을 유발한 동물모델에서도 세포사멸을 나타내는 DNA 분절이 손상부위 세포에서 발견되었다 (Charriaut-Marlangue et al., 1996; Li et al., 1997).

이러한 형태학적, 약리학적 연구들 이외에 분자생물학적 연구의 결과들도 뇌출혈의 신경세포사에 대한 세포사멸의 기여 가능성을 뒷받침하고 있다.

2. 뇌신경의 세포생성

뇌출혈 후 해마의 신경세포생성이 향상된다는 Lord (1967)의 연구결과보고 이후 해마 치상회와 대뇌피질에서 세포생성 및 생존을 증가시킨다는 결과가 계속 보고되었다 (Lee et al., 2005; Ohnishi et al., 2007). 이들 연구에서 공통적으로, 해마 치상회에서 관찰된 BrdU-양성 세포수는 증가하였다고 보고하고 있다. 더욱이 일부 신경과학자들은 성년기 정상 뇌에서조차도 세포생성의 개념을 항상성 유지를 위한 기전의 하나로 생각하였다 (Thompson, 1995). 최근 한 연구에서는

세포사멸이 세포생성의 부위에서 일어난다는 것을 보여주었으며 (Magavi et al., 2000), 이러한 맥락에서 볼 때 치상회에서 병리적 상태시 증가되는 신경 간세포 활성도는 뇌 손상으로 유도된 세포사멸의 증가로 인해 일어나는 것으로 생각되어진다. 이러한 가설은 이미 뇌 손상으로 인한 세포사멸을 막는 보호적 기전, 예를 들면 glutamate 수용체 차단제가 세포사멸 뿐만 아니라 세포생성도 감소시켰음을 보여주는 많은 연구들에서 입증되었다 (Bernabeu & Sharp, 2000). 설치류나 포유동물을 대상으로 한 많은 실험에서 외측부 뇌실의 뇌실하 영역과 해마 치상회의 과립하 영역 등, 뇌의 특정 부위에서 신경세포생성이 일생동안 지속적으로 일어난다는 것이 보고되었다 (Kato et al., 2001). 특히 말기 암환자들을 대상으로 한 Eriksson 등(1998)의 연구는 가장 복잡하고 고도로 진화된 인간의 뇌에서도 새로운 신경세포들의 생성이 일생을 통해 지속된다는 것을 증명해 주었다.

신경세포생성 (neurogenesis)은 신경세포가 증식되고 생존하여 분화하는 과정을 거치게 된다. 성숙한 쥐에서 신경전구세포는 해마의 치상회의 과립세포하 영역에서 생성되어 과립층으로 지속적으로 이동하여 신경세포로 분화되고, 축삭을 내어 다른 신경세포와 시냅스를 이루어 성숙한 신경세포를 형성한다 (Bernabeu & Sharp, 2000; Gage, 2000). 새로운 신경세포가 생성되는 곳으로는 측뇌실 전측의 뇌실하 영역과 해마 치상회의 과립세포하 영역으로 알려져 있다 (Parent et al., 2002; Barth et al., 2007). 또한 해마 치상회는 독특한 세포특성과 신경연접 특성을 가지고 있어 장기강화라는 기전을 통하여 학습과 기억에 중요한 역할을 하는 부분으로, 새로운 기억을 저장하는 것으로 알려져 있다. 이러한 해마의 신경 세포생성이 억제되었을 경우에는 감정과 과련된 질환과 우울증 및 기억 감퇴를 유발한다 (Kempermann & Kronenberg, 2003). Kempermann 등(1997)은 다양한 환경에서 사육된 쥐가 단순한 환경에서 사육된 쥐보다 치상회에서 신경세포 생성이 많았음을 관찰하고 환경이 신경세포생성에 중요한 조절자임을 제시하였다. 또한 Gould et al. (1999)은 물 속 미로의 공간학습을 통해서 해마 의존적 학습과제가 신경세포생성에 긍정적인 영향을 주는 중요한 요인임을 입증하였다.

포유동물의 특정 뇌 부위에서 신경발생이 일어난다는 것을 인정하면서, 이 현상에 대한 연구의 초점은 어떠한 자극이 이들 새로운 신경세포의 증식과 생존을

조절하는 가에 맞춰져 진행되었다. 새로이 생성된 신경세포의 생존은 복잡한 환경 자극에 의하여 조절된다고 하여 신경세포의 생성은 사회적, 신체적 활동에 따라 조절될 수 있다는 가능성이 제시되었다.

해마에서 신경세포 생성은 세로토닌(serotonin), 에스트로겐, *N*-methyl-Daspartate (NMDA) 수용체 길항제, 뇌출혈, 뇌졸중, 발작 그리고 운동에 의하여 신생 세포 생성이 향상되었으며 (Cameron et al., 1995; Gould et al., 1997), 특히 뇌출혈시 신경세포생성은 7일째 시작되어 11일에 최고 수준에 도달하였다가 그 후 감소하였다 (Liu et al., 1998). 뇌출혈시 신경세포생성이 증가되는 기전은 손상으로 인한 과도한 세포사멸이 신경세포생성을 자극한다는 것이다 (Gould & Tanapat, 1997; Jin et al, 2001; Sharp et al., 2002).

해마는 학습과 기억에 중요한 역할을 수행하는 뇌 영역이다. 해마 손상시 학습 능력과 기억 능력이 저하되고 손상 전 단기 기억이 상실된다 (Squire & Zola, 1996).

3. 운동과 뇌의 가소성

운동은 학습과 기억에 관련된 뇌기능을 향상시키고, 뇌 질환을 치료하는 방법으로 제시되고 있다. 최근에는 중추신경계 환자의 회복을 촉진시키기 위하여 다양한 치료방법이 시도되고 있는데, 특히 중추신경계에 대한 운동의 효과를 밝히려는 연구가 폭넓게 진행되고 있다.

신체 운동은 인지능력을 향상시키고, 치상회에서 신경세포생성을 향상시키는 것으로 보고되었다 (Parent et al., 2002; Lee et al., 2005; Jin et al., 2006). 또한 뇌 손상질환 환자의 회복을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 이에 운동은 중추신경계 질환을 가지고 있는 환자들의 회복능력을 촉진하기 위한 하나의 방법으로 이용되고 있다. van Praag 등(1999b)은 자발적인 휠 달리기가 신경세포의 생성과 생존을 향상시켰음을 보고하였고, Trejo 등(2001)은 운동이 인슐린-유사 성장인자-Ⅰ (IGF-Ⅰ)의 섭취 향상기전을 통하여 쥐의 해마에서 신경세포생성을 증가시켰음을 보고하였다.

운동은 여러 가지 형태의 뇌 손상으로 유발되는 신경학적 장애를 개선하고 기

능적 회복을 촉진하는 것으로 보고되고 있다. 뇌성마비, 뇌졸중 등의 뇌 손상이나 알츠하이머 병, 파킨슨병과 같은 퇴행성 뇌 질환 환자에서 치료적 운동은 기능회복을 촉진시켰으며 (Lehmann et al., 1975; Johansson & Ohlsson, 1996) 또한 인지기능을 향상시켰다 (Blomquist & Danner, 1987; Fordyce & Wehner, 1993). 나아가 뇌졸중 환자에서 조기의 활동으로 혈전증, 폐렴 등의 이차적 합병증이 방지되었다 (Risedal et al., 2002). 실제 임상에서도 중추신경계 손상 환자들을 위한 치료의 한 방법으로 치료적 운동이 많이 사용되고 있다(Carro et al., 2001; Cotman & Berchtold, 2002).

또한 운동과 같은 신체활동은 뇌 질환의 회복에 많은 도움이 되는 것으로 알려져 있으며, 운동이 학습과 기억에 관련된 뇌기능 및 인지기능을 향상시키고, 뇌 질환으로부터 뇌를 보호하는 방법으로 제시되고 있다. 최근에는 중추신경계 환자의 회복을 촉진시키기 위하여 다양한 치료방법이 시도되고 있는데, 특히 중추신경계에 대한 운동의 효과를 밝히려는 연구가 폭넓게 진행되고 있다. Fordyce 와 Farrar (1991)는 장기간의 트레드밀 달리기를 수행한 쥐에서 해마의 콜린성 기능이 향상되었음을 보고하였다. 또한 인지 형성과정에 깊이 관련되는 뇌 카테콜라민의 농도가 운동에 의해 변화되며 (Beninger & Miller, 1998; Ferry et al., 1999), Tong 등(2001)은 3주간의 휠 달리기 후 쥐의 해마에서 신경가소성, 대사, 면역 기능 및 사멸억제 기능에 직접적으로 영향을 주는 것으로 알려진 유전자의 발현이 변화되었음을 보고하였다. Schuman 등(1999)은 뇌의 신경가소성을 향상시키며, 장기강화 (long-term potentiation: LTP)를 증가시킴으로써 뇌 기능을 향상시킨다고 하였다 (Blomquist & Danner, 1987; Fordyce & Wehner, 1993). 그리고 신체 운동은 뇌에서 유전자 발현에도 영향을 미치며, 뇌혈관의 형성 및 모세혈관의 성장을 촉진시킨다.

신체 운동은 뇌혈관 손상으로 인한 신경학적 장애의 회복을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 운동으로 인해 뇌졸중 환자에서 조기의 활동으로 혈전증, 폐렴 등의 이차적 합병증이 방지되었다 (Risedal et al., 2002). 실제 임상에서 중추신경계 질환 환자들의 뇌 기능을 회복하고 뇌 가소성을 향상시키기 위한 치료의

한 방법으로 운동치료적 접근법이 많이 사용되고 있다 (Carro et al., 2001; Cotman & Berchtold, 2002).

4. 뇌에 대한 운동의 효과

일반적으로 운동은 체중조절, 근골격계의 유지 및 발달 그리고 스트레스와 불안감을 해소시켜 정신적·신체적 건강을 증진시키는 효과가 있다. 최근에는 운동이 뇌에 미치는 효과에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 특히 운동이 신경가소성에 큰 영향을 미침으로써 학습과 기억에 관련된 뇌 기능을 향상시키고 손상으로부터 뇌를 보호한다는 연구가 폭넓게 진행되고 있다. 즉 신체운동은 뇌의 신경·생화학적 변화를 유발하여 신경전달물질의 활성과 유전자 발현을 유도함으로써 뇌 신경세포의 증식 및 생존에 영향을 미치고, 학습 및 기억의 인지기능을 유지, 향상시키며 뇌 손상으로부터 신경보호적인 작용한다는 것이다(심영제, 2004).

뇌에서의 인지형성과정에 깊이 관여하는 것으로 알려진 여러 종류의 신경전달물질들이 운동의 영향을 받는다. 신체운동으로 대퇴피질과 기저핵, 특히 해마에서 choline acetyl transterase의 활성이 증가되고, 콜리성 기능이 향상되었음이 보고되었다(Fordyce & Farrar, 1991; Somani & Dube, 1992). 또한 선조체와 흑질에서 도파민의 대사가 증가되었으며 (Chaouloff, 1989; Hattori, Noai & Nishino, 1994), 해마와 뇌간에서 노어에피네프린의 합성과 분해가 향상되었다(Chaouloff, 1989). 신체운동은 엔돌핀의 농도 뿐만 아니라 (Harber & Sutton, 1984; Shyu, Anderson & Thoren, 1982) neuropeptide Y, neurokinin A, neurotensin, substance P와 같은 다른 종류의 신경전달 펩티드의 발현에도 영향을 미친다(Bucinskaite, Theodorsson, Crumpton, Stenfors, Ekblom & Lundeberg, 1996). Weicker & Struder (2001)는 운동이 뇌에서 세로토닌계의 신경조절을 통하여 신경세포 생성을 촉진하는 중요한 인자임을 보고하였다.

해마 치상회에서 신경세포 생성은 중요한 기전의 하나로 뇌로부터 유도되는 다양한 신경영양 인자가 있다(Cameron, Hazel & MxKay, 1998). 신경영양 인자는 신경돌기의 성장과 신경분화를 촉진시키고, 허혈성 손상이나 축삭절단으로부

터 신경세포를 보호하며 시냅스 연결을 향상시키는데, 즉 신경영양적, 신경보호적 및 신경가소성의 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Cotman et al., 2002). 신체운동은 뇌에서의 신경영양 인자 발현에 영향을 미치고 (Carro et al., 2001; Neeper, Gomez-Pinilla, Choi & Cotman, 1996; Trejo et al., 2001; Tong, Shen, Perreau, Balazs & Cotma, 2001), 흥분성 뇌 손상가전에 관여하는 glutamate 수용체의 발현을 하향 조절하는 것으로 보고되고 있다(Guezennec, Abdelmalki, Serrurier, Merino, Bigard, Berthelot, Pierard & Peres, 1998). Neeper et al., (1996)은 7일간 자발적인 휠 달리기를 한 쥐 해마에서 뇌유래 신경영양 인자 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) mRNA의 발현이 증가되었음을 보고하였으며, Gomez-Pinilla et al. (1998)은 신경전구세포의 생존과 분화와 관련된 기본 섬유세포성장 인자 (basic fibroblast growth factor, bFGF)가 운동 후 해마에서 유의하게 증가되었다고 보고하였다. Carro et al. (2001)과 Trejo et al. (2001)은 트레드밀 운동이 뇌로의 인슐린-유사 성장 인자(Insulin-like growth factor, IGF-I)의 흡수를 증가시키며, 운동을 제약한 쥐의 피하에 IGF-I을 주사하였을 때 해마에서 신경세포 생성이 급격하게 증가되는 것으로 보아, IGF-I이 운동에 의한 뇌의 성장과 기능을 돕는다고 하였다. Fernandez, de la Bega & Torres-Aleman (1998)과 Pulford, Whalen, Ishii (1999)는 뇌 손상 후 뇌 기능회복에 대한 신체운동의 효과는 혈류로부터 IGF-I 이 뇌로 흡수되는 것과 관련지을 수 있다고 보고하여 혈류의 IGF-I 이 뇌에 필수적인 성장요인이 될 수 있다고 하였다. 운동이 뇌에 미치는 많은 긍정적 효과들이 이러한 운동으로 유발된 신경성장 인자들에 의해 매개되는 것으로 제안되고 있다(심영제, 2004).

이러한 뇌 신경전달물질 및 신경영양 인자들을 매개로 하여 운동이 뇌 신경세포의 생성 및 생존을 증가시키고, 노화성 신경세포 소실이나 사멸을 감소시킨다는 연구보고가 있다. Kohl, Kuhn, Cooper-Kuhn, Winkler, Aigner & Kempermann (2002)은 신경세포 생성이 활발한 어린 쥐에서 신체활동을 제한시킨 결과, 해마의 신경세포 생성이 억제되었음을 보고하여 신체활동이 신경세포 생성 반응을 유발하는 필수적인 인자임을 제안하였다. 중강도와 저강도의 지구성 운동이 노인들의 인지기능 저하 및 치매의 위험을 감소시켰으며 (Laurin,

Verreault, Lindsay, MacPherson & Rockwood, 2001), 뇌졸중, 알츠하이머병, 다발성 경화증 등 여러 퇴행성 뇌질환으로 인한 신경학적 장애를 완화시켰다 (Arkin, 1999; Petajan & White, 1999).

III. 연구 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용된 동물은 9주령의 암컷 흰쥐 (Sprague-Dawley 계)를 국가공인 동물취급업체 (Daehan Biolink Co., Korea)로부터 공급받았다. 실험동물을 3일간의 환경적응 기간을 거치게 한 후 정상군, 정상 수영군, 뇌출혈군, 뇌출혈 수영군으로 구분하여 그룹당 8마리씩 배정하였다. 각 그룹별로 흰쥐들을 사육케이스 (30 cm × 20 cm)에 넣고 항온 (20 ± 2℃), 항습 (60%)이 유지되며 12시간 간격으로 낮과 밤을 교대시키는 동일한 실험실 환경에서 사육하였다.

2. 실험 도구 및 시약

본 연구에 사용된 도구 및 시약은 <Table 1>과 같다.

<Table 1> Experimental equipments

사용도구	회사명
Freezing microtome	Leica, Nussloch, Germany
Water bath	Korea
Light microscope	BX-51, Olympus, Japan
Multiscan	Fullerton, CA, USA
사용시약	**회사명**
5-Bromo-2′-deoxyuridine (BrdU)	
BrdU-specic® mouse monoclonal antibody	Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA
In Situ Cell Death Detection Kit®	Roche, Mannheim, Germany
Caspase-3® mouse monoclonal antibody	Roche, Mannheim, Germany
Biotinylated mouse secondary antibody	Roche, Mannheim, Germany
Avidin-biotin-horseradish perxidase complex	Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA
Zoletil 50®	Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA
	Vibac Laboratories, Carros, France

3. 실험 방법 및 절차

1) 뇌출혈 유발

뇌출혈유발 모델동물을 제작하기 위하여 콜라게나제 (collagenase)를 흰쥐의 우측 선조체에 주입하였다. 뇌출혈유발을 위하여 흰쥐들에게 Zoletil 50® (10 ㎎/㎏ i.p.; Vibac, Carros, France)을 복강에 주입하여 마취한 후 뇌정위수술 기구 (stereotaxic frame; David Kopf, USA)를 이용하여 고정 후에, 머리부분의 털을 면도하고 두피를 절개한 후 전기드릴을 이용하여 직경 2 mm정도의 구멍을 뚫어 정수리 (bregma)에서 앞쪽으로 0.0 mm, 중앙선에서 옆으로 3.0 mm, 경막에서 6.0 mm에 Hamilton syringe (26 G)를 삽입하고 20 ㎍/4 ㎕의 콜라게나제 (Type

4; Sigma chemical Co., St. Louis, MO. USA)를 0.1% L-ascorbic acid (Sigma, USA)에 녹여서 1 ㎕/min의 속도로 3분간 주입하였다. 3분을 기다린 후 주사기를 분당 1 mm의 속도로 서서히 빼고 절개부위를 봉합하였다. 뇌출혈을 유발시킨 후 2일간 안정을 취하였다. 뇌출혈을 유발 시키지 않는 흰쥐들은 뇌출혈 유발 흰쥐와 동일한 방법으로 식염수를 주입하였다.

2) 단기 기억 측정

수술에서 회복된 쥐들에게는 최초 7 × 25 cm 플랫폼 (높이 2.5 cm)에서 2분간 안정을 취하게 한 후 step-down avoidance test를 실시하였다. 기록은 platform 위에 놓인 쥐들이 평행하게 놓인 1 cm 간격의 스테인리스 강철막대기 (42 × 25 cm)에 네 발이 모두 닿았을 때 측정하였다. 플랫폼에서 내려온 흰쥐들에게 0.3-mA의 전기 자극을 2초간 주어 쥐들에게 기억을 시킨 뒤 48시간 후 테스트를 실시하였으며, 기록측정은 동일한 절차로 하고 전기자극은 부여하지 않았다. 플랫폼에서 네발이 모두 닿는 시간은 최대 300초까지 기록하였다.

3) 운동 프로토콜

연구에 사용된 수영운동 프로토콜은 직경 25 cm, 높이 85 cm, 그리고 물의 깊이 75 cm의 플라스틱 탱크에 33 ± 1°C의 물을 채우고 1일 30분, 연속 10일간의 운동을 실시하였다.

4) BrdU 주사

5-bromo-2′-deoxyuridine (BrdU; 50 mg/kg in saline)을 수술 이틀 후부터 10일간 1일 1회 피하 내로 운동 30분전에 주사하였다.

5) 조직 처리

실험이 끝난 동물은 Zoletile 50®으로 마취시킨 후 흉강을 열고 좌심실을 통하여 50 mM phosphate buffer saline (PBS)를 5분간 주입하였다. 계속해서 100 mM의 phosphate buffer (PB)에 녹인 4% paraformaldehyde (PFA)용액을 4℃에서 10분간 관류시킨 후 뇌를 적출하고, 4℃에서 4% PFA용액에 24시간 침전시킨 후 고정하였다. 고정된 뇌조직을 30% sucrose 용액에 일주일간 침전시킨 후 freezing microtome (Leica, Nussloch, Germany)으로 40 ㎛의 두께로 연속관상절편을 제작하였다.

6) 면역조직화학 염색

해마 치상회의 신경 세포사멸은 caspase-3 면역조직화학법과 TUNEL 염색법을 이용하여 관찰하였으며, 신경세포생성은 BrdU 면역조직화학법을 이용하여 관찰하였다.

(1) TUNEL 염색법

신경 세포사멸을 나타내는 DNA 분절을 측정하기 위하여 TUNEL 염색을 시행하였다. 염색방법은 In Situ Cell Death Detection Kit® (Roche, Mannheim, Germany)를 사용하였다. 세포사멸을 일으킨 세포에 특이적으로 존재하는 단편화된 DNA의 유리 3'-OH 말단을 terminal deoxyuncleotidy1 transferase를 사용하여 표식하고 incorporated fluorescein을 horseradish peroxidase (POD)를 결합한 anti-fluorescein antibody Fab fragment로 표식하고 발색기질로 DAB을 사용하였다. ethanol-acetic acid (2:1) 용액으로 -20℃에서 5분간 반응시킨 후 PBS로 5분간 3회 세척하였고, 0.1% sodium citrate에 0.5% Triton X-100이 함유된 용액으로 얼음에서 2분 동안 반응시켰다. PBS로 5분간 3회 세척 후 PBS 29 ㎖와 H_2O_2 원액 1 ㎖의 용액으로 실온에서 5분간 반응시키고, PBS로 3회 세척한 후 조직을 슬라이드에 부착시켰다. 각 조직위에 100 ㎍/㎖ proteinase K를 점적 후 1 시간동안 37℃에서 반응시키고 PBS로 2분간 5회 세척 후 슬라이드 주변의 용

액을 제거하고 20 ㎕의 효소 용액을 점적 후 습도를 유지하면서 37℃에서 1시간 동안 반응시켰다. PBS로 2분간 5회 세척 후 주위 물기를 제거하고 converter-POD를 각 조직 당 30 ㎕ 점적 후 37℃에서 습도를 유지하며 30분간 반응시키고 PBS로 2분간 5회 세척하였다. 발색제로는 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (이하 DAB)을 50 mM Tris 완충액 (pH 7.6)에 0.02% 농도로, H_2O_2는 0.003%로 사용하였다. 발색반응은 상온에서 10분간 시켰으며, 반응이 끝난 후 조직을 PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 발색이 끝난 조직은 gelatin-coated slide에 얹어서 2시간 동안 실온에서 건조시킨 후 에탄올의 농도를 높여가며 탈수시키고 xylene으로 투명화 시켜서 polymount로 봉입한 후 광학 현미경으로 관찰하여 TUNEL-양성 세포수를 측정하였다.

(2) Caspase-3 면역조직화학법

Caspase-3 발현을 측정하기 위하여 caspase-3 면역조직화학법을 시행하였다. 각 그룹에서 8장의 뇌 절편을 선택하여 먼저 조직 내에 존재하는 내재성 peroxidase를 비활성화 시키기 위해서 50 mM PBS에 1%로 희석된 과산화수소 (H_2O_2)에 30분간 반응시킨 후, 3회 50 mM PBS로 세척하고 1% BSA와 10%의 horse serum으로 1시간 동안 반응시킨 후 mouse anti-caspase-3 (1:500) antibody, 0.05% BSA와 0.3% Triton X-100이 들어있는 일차 항체용액에서 12시간 동안 실온에서 진탕하면서 반응시켰다. 일차 항체용액에서 반응이 끝나면 조직을 PBS로 3번 세척한 후에 1% BSA에 한 번 더 반응시킨 후, 2차 항체용액 (1:200, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에서 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. Vector Elite ABC Kit® (1:100, Vector Laboratories)로 반응을 증폭시킨 후 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척한 다음, 조직을 3,3-diaminobenzidine (DAB) 발색용액으로 반응시킨 후 표본을 gelatin-coating된 슬라이드에 놓고 탈수시킨 다음 고정하였다.

(3) BrdU 면역조직화학법

BrdU 면역조직화학법을 이용하여 해마 치상회에서 새로 생성된 세포를 측정하였다. 각 그룹에서 각각 최소 12장의 뇌 절편을 선택하여 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척한 후, 0.5% Triton X-100으로 20분간 incubation을 시켰다. 그 다음 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척한 후, 50% formamide-2 × standard saline citrate (SSC) 용액에 조직을 넣고 65℃의 수조에서 2시간 동안 shaking incubation시켰으며, 다시 2 × SSC 용액으로 5분간 2번 세척한 후, 2N HCl에 조직을 옮겨 37℃에서 30분간 incubation을 시켰다. 계속해서 100 mM sodium borate (pH 8.5)로 25℃에서 10분 이상 중화시키고, 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척한 후 1시간 동안 1% BSA와 10%의 horse serum 그리고 3% Triton X-100으로 blocking을 실시하였다. Blocking 후 primary antibody인 BrdU (1:600; Roche, Mannheim, Germany)로 24시간 incubation시키고, 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척한 후 실온에서 1시간 동안 2차 항체용액 (1:200, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)에서 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. Vector Elite ABC Kit® (1:100, Vector Laboratories)로 반응을 증폭시킨 후 50 mM PBS에서 3분씩 3번 세척하고, 조직을 3,3-diaminobenzidine (DAB) 발색용액으로 반응시킨 다음, 표본을 gelatin-coating된 슬라이드에 놓고 탈수시킨 후 고정하였다.

4. 자료 처리

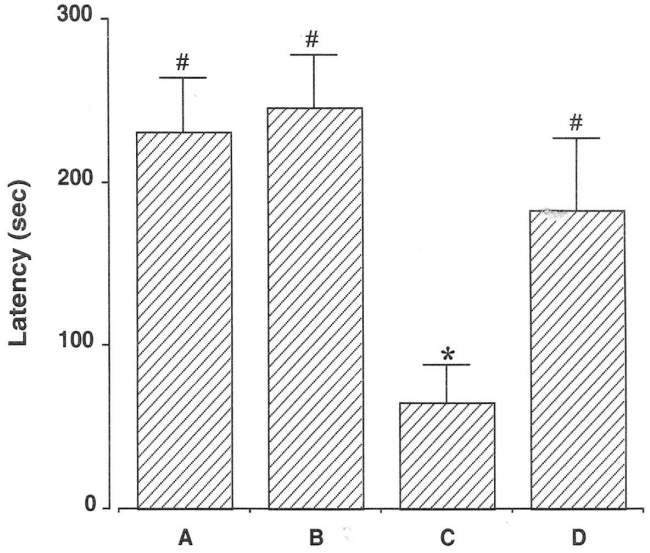
본 실험에서 얻은 자료는 SPSS (version 12.0) 통계프로그램을 이용하여 처리하였다. 측정치는 평균 ± 표준편차로 표시하고 그룹 간 비교를 위하여 one-way ANOVA를 이용하였다. 또한 유의차에 대한 사후검증은 Duncan's post hoc test를 실시하였으며, 통계적 유의수준은 α= .05로 설정하였다.

IV. 연구결과

본 연구에서는 뇌출혈 유발 흰쥐에서 수영 운동을 통한 단기기억능력 및 해마 치상회에서 뇌신경세포의 사멸과 생성에 미치는 효과를 규명하고자 하였다. 단기기억능력의 평가를 위해 step-down avoidance test를 실시하였고, 뇌신경세포 사멸 양상은 DNA 분절을 나타내는 TUNEL 염색법과 세포사멸의 증거인 caspase-3에 대한 면역조직화학법을 이용하였으며, 뇌신경세포 생성 양상은 BrdU에 대한 면역조직화학법을 이용하였다.

1. 단기기억능력 측정

단기기억능력의 측정을 위한 단기기억능력 테스트 결과, 평균값은 아래에서 보는 바와 같이 정상군 230.57 ± 33.51초, 정상 수영군 245.57 ± 32.67초, 뇌출혈군 65.71 ± 22.85초, 뇌출혈 수영군 182.71 ± 44.17초로 나타났다. 정상군과 정상 수영군의 단기기억능력의 유의차는 없었고, 뇌출혈군은 해마 치상회에서 단기기억능력을 유의하게 감소시켰으며, 뇌출혈 수영군은 수영 운동에 의하여 단기 기억능력을 유의하게 향상시킨 것으로 나타났다 <Fig. 1>.



<Fig 1> Effect of swimming exercise on latency in step-down avoidance task.

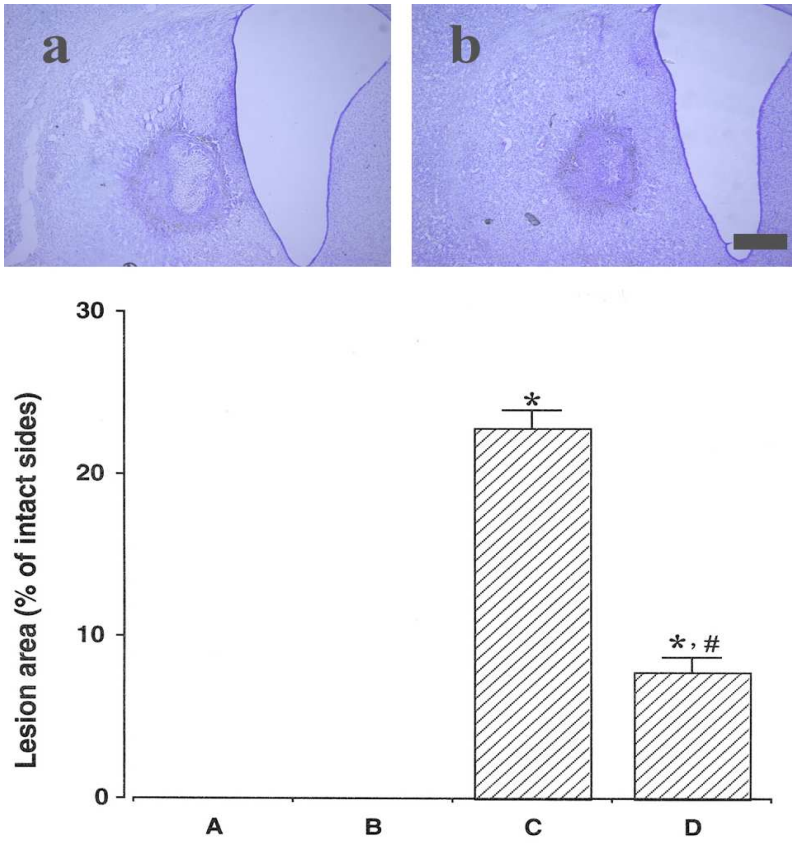
The data presented as the mean±SD. A, normal group; B, normal swimming group; C, hemorrhage group; D, hemorrhage swimming group.

# $p<.05$ compared to the A, B, D group.

* $p<.05$ compared to the C group.

2. 선조체에서의 병변 부위의 변화

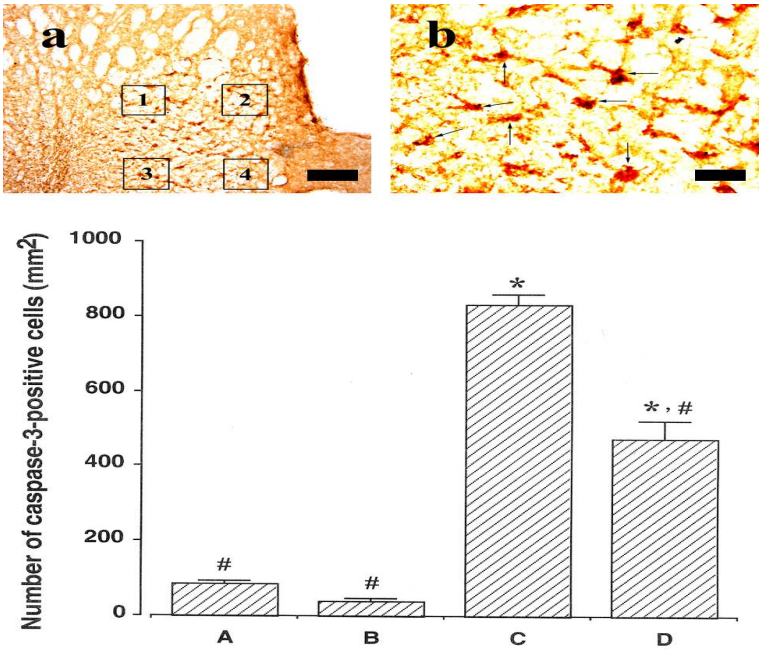
선조체에서의 병변 부위의 크기 변화의 평균값은 아래에서 보는 바와 같이 뇌출혈군 22.84 ± 3.96%, 뇌출혈 수영군 7.79 ± 3.675%로 나타났다. 정상군과 정상 수영군의 병변부위는 나타나지 않았으며, 뇌출혈군은 정상군과 비교해 통계적으로 유의한 병변 부위 증가를 나타내었다. 뇌출혈 수영군은 수영 운동에 의하여 병변 부위를 유의하게 감소시켰다 <Fig. 2>.



<Fig 2> Effect of swimming exercise on the size of intrastriatal lesions.

3. 선조체에서의 *caspase-3*-양성 세포수

선조체에서의 caspase-3-양성 세포의 평균값은 아래에서 보는 바와 같이 정상군 88.47 ± 23.40/mm^2, 정상 수영군 41.00 ± 29.77/mm^2, 뇌출혈군 832.71 ± 115.98/mm^2, 뇌출혈 수영군 473.60 ± 46.81/mm^{2}으로 나타났다. 정상군과 정상 수영군의 선조체에서의 caspase-3-양성 세포의 유의차는 없었고, 뇌출혈군은 선조체에서 caspase-3-양성 세포 수를 유의하게 증가시켰으며, 뇌출혈 수영군은 수영 운동으로 선조체에서의 caspase-3-양성 세포수를 유의하게 감소시켰다 <Fig. 3>.



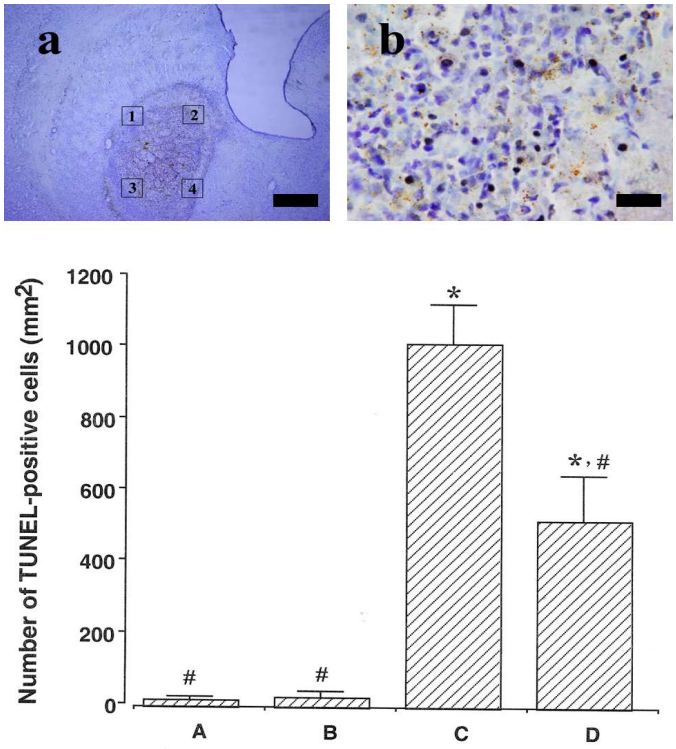
<Fig 3> Effect of swimming exercise on caspase-3 in the striatum.

#, p<.05 compared to the A, B, D group.

*, p<.05 compared to the C, D group.

4. 선조체에서의 *TUNEL*-양성 세포수

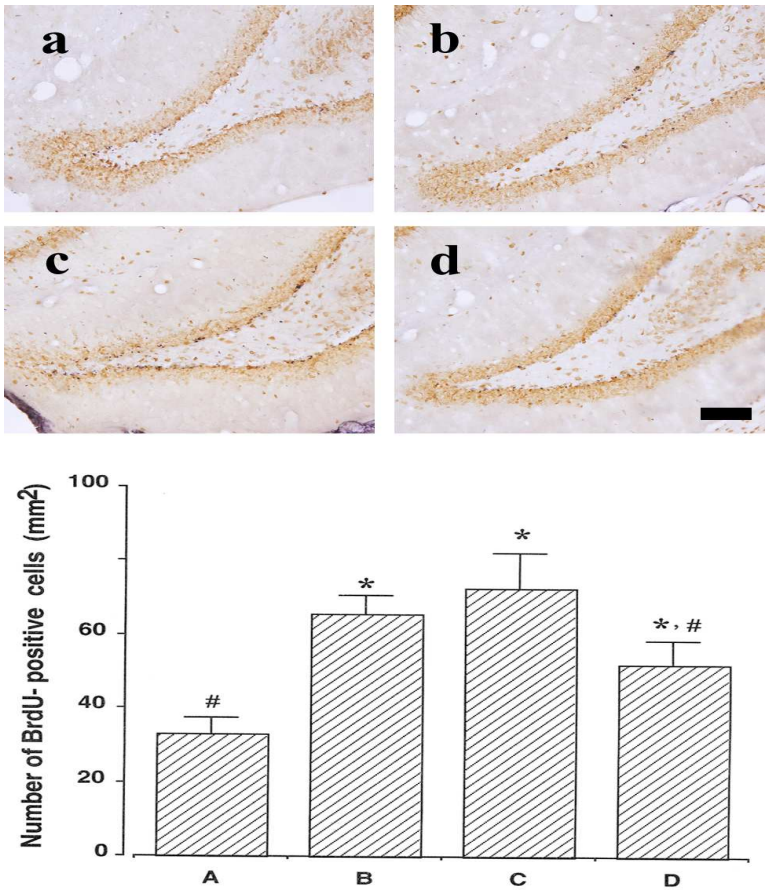
선조체에서의 TUNEL-양성세포수의 평균값은 아래에서 보는 바와 같이 정상군 20.27 ± 7.32/mm^2, 정상 수영군 28.80 ± 15.06/mm^2, 뇌출혈군 1017.33 ± 110.53/mm^2, 뇌출혈 수영군 524.63 ± 124.00/mm^{2}으로 나타났다. 정상군과 정상 수영군의 선조체에서 TUNEL-양성 세포의 유의차는 없었고, 뇌출혈군은 선조체에서 TUNEL-양성 세포 수를 유의하게 증가시켰으며, 뇌출혈 수영군은 수영 운동으로 선조체에서의 TUNEL-양성 세포수를 유의하게 감소시켰다 <Fig. 4>.



<Fig 4> Effect of swimming exercise on DNA fragmentation in the striatum

5. 해마 치상회에서의 *BrdU*-양성 세포수

BrdU-양성 세포는 치상회의 과립하세포층 (SGZ)에서 관찰되었다. 해마 치상회에서 BrdU-양성 세포수의 평균값은 아래에서 보는 바와 같이 정상군 33.21 ± 4.42/mm2, 정상 수영군 65.67 ± 4.89/mm^2, 뇌출혈군 72.70 ± 9.34/mm^2, 뇌출혈 수영군 34.44 ± 6.55/mm^2으로 나타났다. 정상군과 정상 수영군의 해마 치상회에서 BrdU-양성 세포수의 유의차는 없었고, 뇌출혈군은 해마 치상회에서의 BrdU-양성 세포를 유의하게 증가시켰으며, 뇌출혈 수영군은 수영 운동으로 해마 치상회에서의 BrdU-양성 세포수를 유의하게 감소시켰다 <Fig. 5>.



<Fig 5> Effect of swimming exercise on cell proliferation in the dentate gyrus.

#, p<.05 compared to the A, D group.

*, p<.05 compared to the B, C, D group.

V. 논의

뇌혈관장애는 뇌혈관의 출혈성 손상으로 인하여 발생되는 갑작스러운 전신 또는 국소적인 신경학적 장애이다 (Voelker, 1997; Qureshi et al., 2001; Golding 2002). 뇌출혈 환자들을 위한 치료의 일차적인 목적은 뇌 손상의 영역을 줄여 신경학적 장애를 최소화하는 것이며, 더 나아가 이미 세포사가 진행된 경색부위의 주변부 (peri-infarct rim)에서 신경가소성을 활성화시키는 것이다 (Cramer & Chopp, 2000).

최근에 뇌출혈의 실험모델을 이용한 많은 연구에서 선조체에서 죽은 세포에서 세포사멸의 전형적인 형태학적 및 생화학적 특성이 관찰되었다 (Ardizzone et al., 2007; Barth et al., 2007). 뇌출혈 후 뇌출혈 부위의 뇌 조직에서 일반적인 세포사멸의 표식으로 여겨지는 DNA 분절이 일어난다 (Lee et al., 2005; Ohnishi et al., 2007). 또한 뇌출혈 후 caspase의 발현이 증가되었으며, caspase 길항제 투여시 뇌출혈로 유발된 세포사멸이 감소하였다 (Love et al., 2000; Lee et al., 2003; Yang et al., 2007).

본 연구에서도 뇌출혈 후 선조체에서 TUNEL-양성 세포와 caspase-3-양성 세포의 수가 유의하게 증가되어 뇌출혈에 의한 세포사멸의 증가를 확인하였다.

뇌출혈 후 해마의 신경세포생성이 향상된다는 Lord (1967)의 연구결과가 보고된 이후로 해마 치상회와 대뇌피질에서 세포생성 및 생존이 뇌출혈에 의하여 증가된다는 사실이 계속 보고되었다 (Lee et al., 2005; Ohnishi et al., 2007). 이들 연구에서 공통적으로 해마 치상회에서 관찰된 BrdU-양성 세포수는 증가되었다. 본 실험에서도 뇌출혈에 의해 세포생성이 현저히 증가하였다. 세포사멸과 세포생성은 태아기와 출생기에 중추신경계에서 일어나는 동시적인 현상으로 발생한다 (Bengzon et al., 1997; Barth et al., 2007). 더욱이 신경과학자들은 성년기 정상 뇌에서조차도 세포생성의 개념을 항상성 유지를 위한 기전의 하나로 생각하였다 (Thompson, 1995). 최근 한 연구에서는 세포사멸이 세포생성의 부위에서 일어난다는 것을 보여주었으며 (Magavi et al., 2000), 이러한 맥락에서 볼 때, 치상회에서 병리적 상태시 증가되는 신경 간세포 활성도는 뇌 손상으로 유도된 세포사멸의 증가로 인해 일어나는 것으로 생각된다. 이러한 가설은 이미 뇌 손상으로 인

한 세포사멸을 막는 보호적 기전, 예를 들면 glutamate 수용체 차단제가 세포사멸뿐만 아니라 세포생성도 감소시켰음을 보여주는 많은 연구들에서 입증되었다 (Bernabeu & Sharp, 2000).

본 연구에서도 뇌출혈이 세포사멸과 세포생성을 증가시켰다. 따라서 뇌출혈로 유발된 세포생성은 뇌출혈에 인한 과도한 세포사멸에 대한 보상적 적응기전으로 생각된다.

신체 운동은 인지능력을 향상시키고, 치상회에서 신경세포생성을 향상시키는 것으로 보고되었다 (Parent et al., 2002; Lee et al., 2005; Jin et al., 2006). 또한 뇌 손상질환 환자의 회복을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 이에 운동은 중추신경계 질환을 가지고 있는 환자들의 회복능력을 촉진하기 위한 하나의 방법으로 이용되고 있다. van Praag et al. (1999b)은 자발적인 휠 달리기가 신경세포의 생성과 생존을 향상시켰음을 보고하였고, Trejo et al. (2001)은 운동이 인슐린-유사 성장 인자-Ⅰ (IGF-Ⅰ)의 섭취 향상기전을 통하여 쥐의 해마에서 신경세포생성을 증가시켰음을 보고하였다.

본 연구에서도 수영 운동은 비운동군의 쥐와 비교하여 정상 수영 운동군의 해마 치상회에서 세포생성을 증가시켰다. 덧붙여 본 연구에서 사용된 수영 운동이 강제성 운동으로 세포사멸을 초래하는 스트레스로 작용하는 지를 알아본 결과, TUNEL-양성 세포와 caspase-3-양성 세포의 수는 정상군과 비교하여 변화되지 않았다. 이러한 결과는 정상 쥐의 치상회에서 온도에 의한 자연스러운 환경을 조성하여 줌으로써 (Gobetto et al., 2001; Radak et al., 2001), 수영 운동은 세포사멸의 정도는 변화시키지 않고, 세포생성을 증가시켰음을 보고한 선행 연구와 일치하였다 (van Praag et al., 1999b; Lee et al., 2006).

과도한 세포사멸은 뇌출혈 시 발생되는 뇌 손상의 원인이 되므로, 뇌출혈의 치료는 세포사멸로부터 신경세포를 보호하는 것이 매우 중요하다 (Van praag et al., 1999a; Reed, 2000). 본 연구에서는 수영 운동이 뇌출혈로 인하여 유발된 DNA 분절과 caspase-3의 발현을 의미 있게 억제하였다.

신체 운동은 흥분성 뇌 손상 기전에 관여하는 glutamate 수용체의 발현을 하향조절하고 (Guezennec et al., 1998), 항산화 작용을 향상시키며 (Ji, 2002), 뇌의 신경세포 생존, 분화 및 시냅스 가소성을 조절하는 신경영양인자를 증가시키는

것으로 알려져 있다 (Gómez-Pinilla et al., 1998). 특히 Trejo et al. (2001)은 운동으로 증가되는 insulin-like growth factor I (IGF-I)가 흰쥐 해마에서 새로운 신경세포를 증가시킨다고 하였다. 더욱이 van Praag et al. (1999a)는 실험적으로 유발한 흥분성 손상 또는 에너지 불균형으로 인한 신경세포 소실과 그에 따른 운동 장애를 수영 운동을 통하여 최대한 예방할 수 있다고 보고하였다.

본 연구에서도 수영 운동에 의하여 뇌출혈로 인하여 급격히 증가된 세포사멸이 정상군의 비슷한 수준으로 감소되었다. 또한 뇌출혈시 보상기전으로 증가된 해마의 세포생성은 수영 운동으로 억제되었는데, 이러한 세포생성의 억제는 뇌출혈로 인한 세포사멸이 감소되어 나타난 결과로 생각되어진다.

뇌 손상 시 뇌에 대한 신체 운동의 이점은 많은 선행연구에서 입증되었다. 운동을 통하여 쥐의 공간 학습기능이 향상되었으며 (van Praag et al, 1999b; Anderson et al., 2000), 노인에게 지구성 운동은 학습과 기억과 같은 인지 기능을 향상시켰다 (Fabre et al., 2002). 또한 달리기 운동을 통하여 선조체에서의 뇌출혈 후 흰쥐의 단기기억능력이 향상되었다. (Lee et al., 2003).

본 연구에서도 수영 운동을 통하여 선조체에서의 뇌출혈 후 흰쥐의 단기기억능력이 향상된 것을 확인하였다.

신체 운동은 뇌혈관 손상으로 인한 신경학적 장애의 회복을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, 뇌졸중 환자에서 조기의 활동으로 혈전증, 폐렴 등의 이차적 합병증이 방지되었다 (Risedal et al., 2002). 실제 임상에서 중추신경계 질환 환자들의 뇌 기능을 회복하고 뇌 가소성을 향상시키기 위한 치료의 한 방법으로 운동치료적 접근법이 많이 사용되고 있다 (Carro et al., 2001).

본 실험의 결과 뇌출혈 흰쥐의 해마 치상회에서 세포사멸과 세포생성을 유의미하게 증가시켰으며, 수영 운동은 뇌출혈로 증가된 세포사멸과 세포생성을 억제시켰다. 이러한 결과는 수영 운동이 뇌출혈 후 일어나는 신경세포 소실을 방지함으로써 신경학적 장애를 최소화할 수 있는 치료 및 재활방법으로 사용될 수 있는 가능성을 제시하고 있다고 생각된다.

VI. 결 론

본 연구는 9주령의 흰쥐를 대상으로 뇌출혈을 유발시킨 후, 해마 치상회에서 뇌출혈에 의한 세포사멸과 세포생성의 양상을 관찰하고, 수영 운동이 뇌출혈로 유발된 선조체 부위에서 세포사멸과 해마치상회에서 세포생성의 변화 및 단기기억능력을 알아 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 뇌출혈은 선조체 부위의 세포사멸과 해마치상회의 세포생성을 유의하게 증가시켰다.
2. 수영 운동은 정상 상태의 선조체 부위에서 세포사멸을 유의하게 감소시켰으며, 해마치상회 부위에서 세포생성은 유의하게 증가시켰다.
3. 수영 운동은 뇌출혈이 유발된 선조체 부위에서 세포사멸과 해마치상회 부위에서 세포생성을 유의하게 감소시켰다.
4. 뇌출혈은 단기 기억 능력을 유의하게 감소시켰다.

이상의 결론을 종합하면, 본 연구에서 수영 운동은 흰쥐의 해마 치상회에서 뇌출혈로 증가된 선조체에서 세포사멸 및 해마치상회에서 세포생성을 유의하게 감소시켰다. 또한 수영 운동은 뇌출혈 흰쥐의 단기기억능력을 유의하게 향상시켰다. 이러한 결론은 운동이 뇌출혈 환자에서 세포사멸로 인한 뇌 손상을 줄이고 그로써 신경학적 장애를 최소화할 수 있는 효과적인 치료 및 재활 방법으로 사용될 수 있음을 제시하는 바이다.

참고문헌

심영제(2004). 트레드밀 운동이 뇌허혈 유발쥐의 해마 치상회에서 세포사멸과 세포생성 및 단기 기억에 미치는 영향. 고려대학교 대학원 박사논문.

윤진환(2007). 트레드밀 운동이 노화흰쥐에서 뇌출혈로 유발되는 신경세포사멸에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사논문.

임백빈(2003). 수영이 흰쥐 해마 치상회에서 신경세포생성과 산화질소합성효소의 발현에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사논문.

Adams, J. M., & Cory, S. (1998). The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science, 281*(2), 1322-6.

Alnemri, E. S., Livingston, D. J., Nicholson, D. W., Salvesen, G., Thornberry, N. A., Wong, W. W., & Yuan, J. (1996). Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell, 87*(2), 171.

Anderson, B. J., Rapp, D. N., Baek, D. H., McCloskey, D. P., Coburn-Litvak, P. S., & Robinson, J. K. (2000). Exercise influences spatial learning in the radial arm maze. *Physiology & Behavior, 70*(5), 425-429.

Ardizzone, T. D., Zhan, X, Ander, B. P., & Sharp, F. R. (2007). SRC kinase inhibition improves acute outcomes after experimental intracerebral hemorrhage. *Stroke, 38*(5), 1621-5.

Arkin, S. M. (1999). Elder rehab: a student-supervised exercise program for Alzheimer's patients. *Gerontologist, 39*(6), 729-735.

Barth, A., Guzman, R., Robert H. Andres, R. H., Mordasinii, P., Barth, L., & Widmer, H. R. (2007). Experimental intracerebral hematoma in the rat. *Restor Neurol Neurosci 25*(1), 1-7.

Bengzon, J., Kokaia, Z., Elmer, E., Nanobashvili, A., Kokaia, M., & Lindvall, O. (1997). Apoptosis and proliferation of dentate gyrus neurons after single and intermittent limbic seizures. *Proceedings of the National*

Academy of Science s of the United States of America, 94(19), 10432-10437.

Beninger, R. J., & Miller, R. (1998). Dopamine D1-like receptors and reward-related incentive learning. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews, 22*(2), 335-345.

Bernabeu, R., & Sharp, F. R. (2000). NMDA and AMPA/kainate glutamate receptors modulate dentate neurogenesis and CA3 synapsin-I in normal and ischemic hippocampus. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 20*(12), 1669-1680.

Biebl, M., Cooper, C. M., Winkler, J., & Kuhn, H. G. (2000). Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neuroscience Letters, 291*(1), 17-20.

Blair, S. N., Kohl, H. W., Barlow, C. E., Paffenbarger, R. S. Jr., Gibbons, L. W., & Macera, C. A. (1995). Changes in physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy and unhealthy men. *Journal of the American Medical Association., 273*(14), 1093-1098.

Blomquist, K. B., & Danner F. (1987). Effects of physical conditioning on information-processing efficiency. *Perceptives in Motor Skills. 65*(1), 175-186.

Bruno, A., Levine, S. R., Frankel, M. R., Brott, T. G., Lin, Y., Tilley, B. C., Lyden, P. D., Broderick, J. P., Kwiatkowski, T. G., & Fineberg, S. E. (2002). NINDS rt-PA Stroke Study Group, Admission glucose level and clinical outcomes in the NINDS rt-PA Stroke Trial. *Neurology, 59*(5), 669-674.

Bucinskaite, V., Theodorsson, E., Crumpton, K., Stenfors, C., Ekblom, A., & Lundeberg, T. (1996). Effects of repeated sensory stimulation(electro-acupuncture) and physical exercise (running) on open-fiend behaviour and concentrations of neuropeptides in the hippocampus in WKY and SHR rats. *European Journal of Neuroscience,* 8(2), 382-387.

Cameron, H. A., McEwen, B. S., & Gould, E. (1995). Regulation of adult neurogenesis by excitatory input and NMDA receptor activation in the dentate gyrus. *Journal of Neuroscience, 15*(6), 4687-4692.

Cameron, H. A., Tanapat, P., & Gould, E. (1998). Adrenal steroids and N-methyl-D-aspartate receptor activation regulate neurogenesis in the dentate gyrus of adult rats through a common pathway. *Neuroscience*, 82(2), 349-354.

Carro, E., Trejo, J. L., Busiguina, S., & Torres-Aleman, I. (2001). Circulating insulin-like growth factor I mediates the protective effects of physical exercise against brain insults of different etiology and anatomy. *Journal of Neuroscience, 21*(15), 5678-5684.

Chaouloff, F. (1989). Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiologica Scandinavica, 137*(1), 1-13.

Charriaut-Marlangue, C., Aggoun-Zouaoui, D., Represa, A., & Ben-Ari, Y. (1996). Apoptotic features of selective neuronal death in hemorrhage, epilepsy and gp 120 toxicity. *Trends in Neuroscience, 19*(3), 109-114.

Chodzko-Zajko, W. J. & Moore, K. A. (1994). Physical fitness and cognitive functioning in aging. *Exercise Sport Science Revolution, 22,* 195-220.

Cotman, C. W., & Berchtold, N. C. (2002) Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in Neuroscience, 25*(6), 295-301.

Cramer, S. C., & Chopp, M. (2000). Recovery recapitulates ontogeny. *Trends in Neuroscience, 23*(6), 265-271.

Danial, N. N., & Korsmeyer, S. J. (2004). Cell death: critical control points. *Cell 116*(1), 205-19.

Eriksson, P. S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A. M., Nordborg, C., Peterson, D. A. & Gage, F. H. (1998). Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nature Medicine, 4*(11), 1313-1317.

Feickert, H. J., Drommer, S., & Heyer, R. (1999). Severe head injury in children: impact of risk factors on outcome. *Journal of Trauma, 47*(1),

33-38.

Fernadez, A. M., de la Bega, A. G., & Torres-Aleman I. (1998). Insulin-like growth factor I restores motor coordination in a rat model of cerebellar ataxia. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 95(3), 1253-1258.

Ferry, B., Roozendaal, B., & McGaugh, J. L., (1999). Role of norepinephrine in mediating stress hormone regulation of long-term memory storage: a critical involvement of the amygdala. *Biological Psychiatry 46*(9), 1140-1152.

Fordyce, D. E., & Farrar, R. P. (1991). Physical activity effects on hippocampal and parietal cortical cholinergic function and spatial learning in F344 rats. *Behavioural Brain Research, 43*(2), 115-123.

Fordyce, D. E., & Wehner, J. M. (1993). Physical activity enhances spatial learning performance with n associated alteration in hippocampal protein kinase C activity in C57BL/6 and BA/2 mice. *Brain Research, 619*(1-2), 111-119.

Fuchs, E., & Gould, E. (2000). Mini-review: in vivo neurogenesis in the adult brain: regulation and functional implications. *European Journal of Neuroscience, 12*(7), 2211-2214.

Fujino K., Yoshitake T., Inoue O., Ibii N., Kehr J., Ishida J., Nohta H. & Yamaguchi M. (2002). Increased serotonin release in mice frontal cortex and hippocampus induced by cute physiological stressors. *Neuroscience Letters, 320*(1-2), 91-95.

Gage, F. H. (2000). Mammalian neural stem cells. *Science, 287*(5457), 1433-1438.

Gobatto, C. A., Mello, M. A., Sibuya, C. Y., Azevedo, J. R., Santos, L. A., & Kokubun, E. (2001). Maximal lactate steady state in rats submitted to swimming exercise. Comparative Biochemistry and Physiology. *Comparative Physiology, 130*(1), 21-27.

Golding, E. M. (2002). Sequelae following traumatic brain injury: The cerebrovascular perspective. *Brain Research, 38*(3), 377-388.

Gómez-Pinilla, F., So, V., & Kesslak, J. P. (1998). Spatial learning and physical activity contribute to the induction of fibroblast growth factor: neural substrates for increased cognition associated with exercise. *Neuroscience, 85*(1), 53-61.

Gould, E., & Tanapat, P. (1997). Lesion-induced proliferation of neuronal progenitors in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience, 80*(2), 427-436.

Gould, E., & Tanapat, P. (1999). Stress and hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry, 46*(11), 1472-1479.

Gould, E., Beylin, A., Tanapat, P., Reeves, A., & Shors, T. J. (1999). Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nature Neuroscience, 2*(3), 260-265.

Gould, E., McEwen, B. S., Tanapat, P., Galea, L. A., & Fuchs, E. (1997). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *Journal of Neuroscience, 17*(7), 2492-2498.

Griesbach G.S., Hovda D.A., Molteni R., Wu A., & Gomez-Pinilla F., 2004. Voluntary exercise following traumatic brain injury: brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. *J. Neurosci.* 125, 129 - 139.

Guezennec, C. Y., Abdelmalki, A., Serrurier, B., Merino, D., Bigard, X., Berthelot, M., Pierard, C. & Peres, M. (1998). Effects of prolonged exercise on brain ammonia and amino acids. *International Journal of Sports Medicine, 19*(5), 323-327.

Harber, V. J., & Sutton, J. R. (1984). Endorphins and exercise. Sports Medicine, 1(2), 154-171.

Hashimoto, Y., Kawatsura, H., Shiga, Y., Furukawa, S., & Shigeno, T. (1992). Significance of nerve growth factor content levels after transient forebrain hemorrhage. *Neuroscience Letters, 139*(1), 45-46.

Hastings, N. B., & Gould, E. (1999). Rapid extension of axons into the CA3

region by adult-generated granule cells. *Journal of Composition Neurology, 413*(1), 146-154.

Hattori, S., Naoi, M., & Nishino, H. (1994). Striatal dopamine turnover during treadmill running in the rat: relation to the speed of running. *Brain Research Bulletin, 35*(1), 41-49.

Hetzel, A., Guschlbauer, B., & Reinhard, M. (2003). Time delay as a parameter for cerebrovascular reactivity in patients with severe carotid stenosis. *Cerebrovascular Diseases, 16*(1), 14-20.

Isaacs, K. R., Anderson, B. J., Alcantara, A. A., Black, J. E., & Greenough, W. T. (1992). Exercise and the brain: angiogenesis in the adult rat cerebellum after vigorous physical activity and motor skill learning. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 12*(1), 110-119

Ji, L. L. (2002). Exercise-induced modulation of antioxidant defense. *Annals of the New York Academy of Sciences, 959*, 82-92.

Jin, K., Minami, M., Lan, J. Q., Mao, X. O., Batteur, S., Simon, R. P., & Greenberg, D. A. (2001). Neurogenesis in dentate SGZ and rostral SVZ after focal cerebral ischemia in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 98*(8), 4710-4715.

Jin, K., Wang, X., Xie, L., Mao, X. O., Zhu, W., Wang, J., Shen, J., Mao, Y., Banwait, S., & Greenberg, D. A. (2006). Evidence for stroke-induced neurogenesis in the human brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 103*(35), 13198-13202

Johansson, B. B., & Ohlsson, A. L. (1996). Environment, social interaction, and physical activity as determinants of functional outcome after cerebral infarction in the rat. *Experimental Neurology, 139*(2), 322-327.

Kato, T., Yokouchi, K., Fukushima, N., Kawagishi, K., Li, Z., & Moriizumin, T. (2001). Continual replacement of newly-generated olfactory neurons in adult rats. *Neuroscience Letters, 307*(1), 17-20.

Kempermann, G., Kuhn, H. G., & Gage, F. H. (1997). Genetic influence on

neurogenesis in the dentate gyrus of adult mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 94*(19), 10409-10414.

Kempermann, G., & Kronenberg, G. (2003). Depressed new neurons adult hippocampal neurogenesis and a cellular plasticity hypothesis of major depression. *Biological psychiatry, 54*(5), 499-503.

Kerr, J. F. R., Wyllie, A. H., & Currie, A. R (1972) Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer, 26,* 239-257.

Klintsova, A. Y., Cowell, R. M., Swain, R. A., Napper, R. M., Goodlett, C. R., & Greenough, W. T. (1998). Therapeutic effects of complex motor training on motor performance deficits induced by neonatal binge-like alcohol exposure in rats. I. Behavioral results. *Brain Research, 800*(1), 48-61.

Kohl, Z., Kuhn, H. G., Cooper-Kuhn, C. M., Winkler, J., Aigner, L., & Kempermann, G. (2002). Preweaning enrichment has no lasting effects on adult hippocampal neurogenesis in four-month-old mice. *Genes, Brain and Behavior,* 1(1), 46-54.

Lapchak, P. A. (2002). Hemorrhagic transformation following ischemic stroke: significance, causes, and relationship to therapy and treatment. *Current Neurology and Neuroscience Reports, 2*(1), 38-43.

Larsen, J. O., Skalicky, M., & Viidik, A. (2000). Does long-term physical exercise counteract age-related purkinje cell loss? A stereological study of rat cerebellum. *Journal of Comparative Neurology, 428*(2), 213-222.

Laurin, D., Verreault, R., Lindsay, J., MacPherson, K., & Rockwood, K. (2001). Physical activity and risk of cognitive impairment and dementia in elderly persons. *Archives of Neurology, 58*(3), 498-504.

Lee, H. H., Kim, H., Lee, J. W., Kim, Y. S., Yang, H. Y., Chang, H. K., Lee,

T. H., Shin, M. C., Lee, M. H., Shin, M. S., Park, S., Baek, S., & Kim, C. J. (2006). Maternal swimming during pregnancy enhances short-term memory and neurogenesis in the hippocampus of rat pups. *Brain & Development 28*(3), 147-54.

Lee, H. H., Kim, H., Lee, M. H., Chang, H. K., Lee, T. H., Jang, M. H., Shin, M. C., Lim, B. V., Shin, M. S., Kim, Y. P., Yoon, J. H., Jeong, I. G., & Kim, C. J. (2003). Treadmill exercise decreases intrastriatal hemorrhage-induced neuronal cell death via suppression on caspase-3 expression in rats. *Neuroscience Letter, 352*(1), 33-6.

Lee, H. H., Shin, M. S., Kim, Y. S., Yang, H. Y., Chang, H. K., Lee, T. H., Kim, C. J., Cho, S., & Hong, S. P. (2005). Early treadmill exercise decreases intrastriatal hemorrhage-induced neuronal cell death and increases cell proliferation in the dentate gyrus of streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Journal of Diabetes and Its Complications, 19*(6):339-46.

Lehmann, J. F., Delateur, B. J., Fowler R. S., & Warren, C. G. (1975). Stroke rehabilitation, outcome and prediction. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, 56*(9), 383-387.

Li, Y., Chopp, M., Powers, C., & Jiang, N. (1997). Apoptosis and protein expression after focal cerebral ischemia in rat. *Brain Research, 765*(2), 301-312.

Linnik, M. D. (1995). Programmed cell death in cerebral ischemia: Therapeutic implication. *CNS Drugs, 3,* 2392-2344.

Liu, J., Solway, K., Messing, R. O., & Sharp, F. R. (1998). Increased neurogenesis in the dentate gyrus after transient global ischemia in gerbils. *Journal of Neuroscience, 18*(19), 7768-7778.

Lord, BI. (1967). Erythropoietic cell proliferation during recovery from acute haemorrhage. *British Journal of Haematology, 13*(2), 160-7.

Love, S., Barber, R,. & Wilcock, G. K. (2000). Neuronal death in brain in

man. *Neuropathology and Applied Neurobiology, 26,* 55-66.

Magavi, S. S., Leavitt, B. R., & Macklis, J. D. (2000). Induction of neurogenesis in the neocortex of adult mice. *Nature, 405,* 951-955.

Matsushita K., Meng W., Wang X., Asahi M., Asahi K., Moskowitz M. A., & Lo E. H. (2000). Evidence for apoptosis after intercerebral hemorrhage in rat striatum. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 20*(2), 396 - 404.

Mattson, M. P. (2000). Neuroprotective signaling and the aging brain: take away my food and let e run. *Brain Research, 886*(1-2), 47-53.

Mun-Brycea, S., Wilkersona, A., Pachecoa B., Zhanga, T., Raia, S., Wanga, Y., & Okada, Y. (2004). Depressed cortical excitability and elevated matrix metalloproteinases in remote brain regions following intracerebral hemorrhage. *Brain Research, 1026*(2), 227-234

Neeper S. A., Gomez-pinilla F., Choi J. & Cotman C. (1995). Exercise and brain neurotrophins. *Nature, 373*(6510), 109.

Neeper, S. A., Gomez-Pinilla, F., Choi, J. & Cotman, C. W. (1996). Physical activety increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Research,* 726(1～2), 49-56.

Ohnishi, M., Katsuki, H., Fujimoto, S., Takagi, M., Kume, T., & Akaike, A. (2007). Involvement of thrombin and mitogen-activated protein kinase pathways in hemorrhagic brain injury. *Experimental Neurology, 206*(1),43-52.

Parent, J. M., Valentin, V. V., & Lowenstein, D. H. (2002). Prolonged seizures increase proliferating neuroblasts in the adult rat subventricular zone - olfactory bulb pathway. *The Journal of Neuroscience 22*(8), 3174-3188.

Parent, J. M., Yu, T. W., Leibowitz, R. T., Geschwind, D. H., Sloviter, R. S., & Lowenstein, D. H. (1997). Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization

in the adult rat hippocampus. *Journal of Neuroscience, 17*(10), 3727-3738.

Petajan, J. H., & White, A. T. (1999) Recommendations for physical activity in patients with multiple sclerosis. *Sports Medicine, 27*(3), 179-191.

Pulford, B. E., Whalen, L. R., & Ishii, D. N. (1999). Peripherally administered insulin-like growth factor-I preserves hindlimb reflex and spinal cord noradrenergic circuitry following a central nervous system lesion in rats. *Experimental Neurology*, 159(1), 114-123.

Qureshi A. I., Suri M. F., Ostrow P. T., Kim S. H., Ali Z., Shatla A. A., Guterman L. R., & Hopkins L. N. (2003). Apoptosis as a form of cell death in intracerebral hemorrhage. *Neurosurg. 52*, 1041 - 1047.

Qureshi, A. I., Tuhrim, S., Broderick, J. P., Batjer, H. H., Hondo, H., & Hanley, D.F. (2001). Spontaneous intracerebral hemorrhage. *New England Journal of Medicine, 344*(9), 1450-1460.

Radak, Z., Sasvari, M., Nyakas, C., Kaneko, T., Tahara, S., Ohno, H. and Goto, S. (2001). Single bout of exercise eliminates the immobilization-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochemistry International, 39* (11), 33-38.

Reed, J. C. (2000). Mechanisms of apoptosis. *American Journal of Pathology, 157*(5), 1415-1430.

Risedal, A., Mattsson, B., Dahlqvist, P., Nordborg, C., Olsson, T., & Johansson, B. B. (2002). Environmental influences on functional outcome after a cortical infarct in the rat. *Brain Research Bulletin, 58*(3), 315-321.

Schafer, Z. T., & Kornbluth, S. (2006). The apoptosome:physiological developmental and pathological modes of regulation. *Developmental cell*, 10(2), 549-61.

Schuman, E. M. (1999). Neurotrophin regulation of synaptic transmission. *Current Opinion in Neurobiology, 9*(1), 105-109.

Sharp, F. R., Liu, J., & Bernabeu, R. (2002). Neurogenesis following brain ischemia. *Developmental Brain Research, 134*(1-2), 23-30.

Shigeno, T., Yamasaki, Y., Kato, G., Kusaka, K., Mima, T., Takakura, K., Graham, D. I., & Furukawa, S. (1990). Reduction of delayed neuronal death by inhibition of protein synthesis. *Neuroscience Letters, 120*(1), 117-119.

Shyu, B. C., Anderson, S. A., & Thoren, P. (1982). Endorphin mediated increase in pain treshold induced by long-lasting exercise in rats. *Life Science,* 30(10), 833-840.

Somani, S. M., & Dube, S. N. (1992). Endurance training changes central and peripheral responses to physostigmine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior.* 41(4), 773-781.

Song, Q., Kuang, Y., Dixit, V. M., & Vincenz, C. (1999). Boo,a novel negative regulator of cell death, interacts with Apaf-1. *EMBO Journal 18*(1), 167-78.

Squire, L. R., & Zola, S. M. (1996). Ischemic brain damage and memory impairment: a commentary. *Hippocampus, 6*(5), 546-552.

Stummer, W., Weber, K., Tranmer, B., Baethmann, A., & Kempski, O. (1994). Reduced mortality and brain damage after locomotor activity in gerbil forebrain ischemia. *Stroke,* 25(9), 1862～1869.

Tao Y., Black I. B. & DiCicco-Bloom E. (1996). Neurogenesis in neonatal rat brain is regulated by peripheral injection of basic fibroblast growth factor(bFGF). *Journal of Comparative Neurology, 376*(4), 653-663.

Thompson, C. B. (1995). Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science, 267*(5203), 1456-1462.

Thrift A. G., Donnan G. A., McNeil J. J. (1995). Epidemiology of intracerebral hemorrhage. *Epidemiol. Rev.,* 17:361-381.

Tong, L., Shen, H., Perreau, V. M., Balazs, R., & Cotman, C. W. (2001). Effects of exercise on gene-expression profile in the rat hippocampus. *Neurobiology of Disease, 8*(6), 1046-1056.

Trejo, J. L., Carro, E., & Torres-Aleman, I. (2001). Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of

new neurons in the adult hippocampus. *Journal of Neuroscience, 21*(5), 1628-1634.

van Praag, H., Christie, B. R., Sejnowski, T. J., & Gage, F. H. (1999a). Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 96*(23), 13427-13431.

van Praag, H., Kempermann, G., & Gage, F. H. (1999b). Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience, 2*(3), 266-270.

Voelker, J. L., & Kaufman, H. H. (1997). Intraparenchymal hemorrhage. *New Horizons. 5*(4), 342-351.

Weicker H. & Struder H. K. (2001). Influence of exercise on serotonergic neuromodulation in the brain. *Amino Acids, 20*(1), 35-47.

Yang, Y. J., Kim, Y. S., Shin, M. S., Chang, H. K., Lee, T. H., Sim, Y. J., Shin, M. C., Park, H. Y., Kim, S., Park, H. K., & Kim, C. J. (2007). Effects of acupuncture on the intrastriatal hemorrhage-induced caspase3 expression and newly cell birth in rats. *Neurological Research, 29*(1), S65-71.

저작물 이용 허락서

학 과	체 육	학 번	20057431	과 정	박 사
성 명	한글: 박 후 성 한문: 朴 候 成 영문: Park Hoo-Sung				
주 소	광주 서구 유촌동 상무버들주공 109동 1603호				
연락처	E-MAIL: weight21@hanmail.net				
논문제목	한글 : 수영운동이 뇌출혈 흰쥐의 단기기억능력과 세포생성에 미치는 영향 영문: The effects of swimming exercise on the short-term memory and apoptotic neuronal cell death following intrastriatal hemorrhage in rats				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건 아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집・형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포・전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송・출력을 허락함.

2008년 1월 일

저작자: 박 후 성 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하