

흰쥐의 가역성과 비가역성 허혈성 뇌경색모형에서 중대뇌동맥 폐쇄후 시간경과에 따른 뇌경색 크기*

계명대학교 의과대학 신경외과학교실

송동식 · 임만빈 · 이장철 · 손은익 · 김동원 · 김인홍

= Abstract =

Cerebral Infarction Size According to the Duration of the Middle Cerebral Artery Occlusion in the Reversible and Irreversible Ischemic Infarction Models in the Rat*

Dong Sik Song, M.D., Man Bin Yim, M.D., Chang Chull Lee, M.D.,

Eun Ik Son, M.D., Dong Won Kim, M.D., In Hong Kim, M.D.

Department of Neurosurgery, School of Medicine, Keimyung University, Taegu, Korea

To establish a simple recirculation model in rats without craniectomy and to determine the recirculation time necessary to benefit the infarction area with restoration of the blood flow in a series of 30 adult rats, the authors induced irreversible ischemia(group I) in 15 rats through unilateral occlusion of the middle cerebral artery(MCA) by inserting a 16mm length of 4-0 nylon surgical thread through the internal carotid artery(ICA). Reversible ischemia (group II) was induced by pulling the thread that occluded the MCA with 3 hours recirculation in 15 rats.

The author again divided the rats into 4 hours(Ia and IIa), 6 hours(Ib and IIb) and 12 hours(Ic and IIc) groups designated as according to the sacrifice time of rats in group I and the starting time of recirculation in group II following the MCA occlusion. The percentage of the infarction area to the total brain was calculated by a computer image analysis system, and the infarction size between reversible and irreversible groups were compared.

The results showed that although the total average infarction sizes of irreversible ischemic groups were larger than those of reversible ischemic groups, the difference of the infarction size between each group of irreversible and reversible ischemia was not significant(group Ia Vs. IIa : $7.78 \pm 8.37\%$ Vs. $3.28 \pm 1.98\%$; group Ib Vs. IIb : $9.07 \pm 4.72\%$ Vs. $6.61 \pm 3.19\%$; group Ic Vs. IIc : $8.35 \pm 4.47\%$ Vs. $6.90 \pm 6.07\%$. $p > 0.05$, one-way ANOVA test). However, the degree of difference of the infarction size between irreversible and reversible ischemia decrease along with the prolongation of ischemic duration(difference between group Ia and IIa : 4.5%; group Ib and IIb : 2.46%; group Ic and IIc : 1.45%).

* 본 논문의 요지는 1994년 한국 뇌혈관 질환 연구회 학술대회에서 발표되었음.

논문접수일: 1995년 2월 15일

심사완료일: 1995년 5월 8일

The author concludes that ischemic brain injury may be decreased by making a restoration of the blood flow within 4 hours after occlusion of a blood vessel in rats, and this kind of reversible ischemic model may be useful in various studies on the focal cerebral ischemia without manipulation of the brain tissue and blood vessel.

KEY WORDS : Cerebral infarction · Extracranial approach · MCA occlusion · Reversible · Irreversible · Rats.

서 론

급성기 뇌경색의 치료는 허혈후 뇌세포가 괴사하게 되는 병적 진행과정을 차단하거나 또는 빠른 시간내에 재순환을 시켜 치료하는 방법이 있을 것으로 생각한다. 뇌세포가 괴사에 이르는 과정을 차단하여 치료하는 방법에 대한 연구는 비가역성 허혈성 뇌경색 동물실험 모형에서도 가능하나, 재순환을 시키므로써 치료하는 방법을 연구하기 위하여서는 가역성 허혈성 뇌경색 동물실험 모형이 필요하다.

가역성 허혈성 뇌경색 동물실험 모형을 만드는 방법은 개두술후 중대뇌동맥을 폐쇄후 재순환 시키는 방법<sup>2)5)9)
25)26)</sup>과 개두술없이 양측 경동맥 폐쇄후 저혈압 상태를 유도하여⁴⁾²⁴⁾ 또는 흰쥐에서 나일론사를 내경동맥을 통하여 전대뇌쪽으로 진전시켜 중대뇌동맥을 폐쇄하였다가 견인하여 재관류시키는 방법¹²⁾¹³⁾¹⁸⁾¹⁹⁾등이 이용되고 있다. 개두술후 중대뇌동맥을 폐쇄하였다가 재순환 시키는 방법은 개두술에 기인한 대뇌손상이나 중대뇌동맥의 조작에 따른 혈관 연축 혹은 혈관벽의 손상으로 실험결과에 영향을 미칠수 있는 단점이 있고¹⁸⁾¹⁹⁾³⁰⁾ 양측 경동맥 폐쇄후 저혈압 상태를 유도하는 방법도 실험동물에 스트레스(stress)가 가하여져 역시 실험결과에 영향이 미칠수 있는 단점이 있어¹⁸⁾. 최근에는 Nagasawa와 Kogure¹⁸⁾가 개발한 흰쥐에서 나일론사를 이용하여 중대뇌동맥을 폐쇄하였다가 재관류 시키는 가역성 뇌경색 모형을 많이 이용하고 있다.

한편 Meyer 등¹⁴⁾은 중대뇌동맥이 색전에 의하여 폐쇄된 환자들에서 응급수술로 색전을 제거하고 재관류를 시킨 바 신경학적 장애의 개선을 보고하였고, Mori 등¹⁶⁾도 역시 중대뇌동맥이 혈전색전증에 의하여 폐쇄된 환자들에서 카테터를 동맥내에 삽입후 urokinase를 주입하여 혈전이나 색전을 용해시켜 중대뇌동맥 폐쇄후 평균 4.5시간내에 재관류를 시킨 바 신경학적 장애의 호전과 함

께 뇌전산화단층촬영상 뇌경색 크기의 감소를 보고하였다.

임상적으로 재관류후 이러한 호전된 보고도 있으나, 출혈성 뇌경색으로의 전환과 뇌부종이 재관류후 야기될 수 있어⁹⁾ 뇌경색이 유발된 후 어느 기간까지 재관류를 시킬때 이러한 합병증없이 효과가 있는지에 대하여서는 아직까지 정립되어 있지 않다¹⁾³⁾¹¹⁾¹³⁾²⁰⁾.

따라서 저자는 최근에 많이 이용되는 Nagasawa와 Kogure¹⁸⁾가 개발한 개두술없이 중대뇌동맥을 폐쇄하였다가 뇌혈류를 재순환시킬 수 있는 가역성 뇌경색 모형을 만들어, 뇌경색을 유발후 시간경과에 따른 뇌경색의 크기를 비가역성과 가역성 뇌경색모형에서 비교 관찰하여 뇌경색 유발후 어느 시간내에 재관류를 시키면 뇌경색크기를 줄일 수 있는지를 알아보고자 하였고, 아울러 향후 이 모형을 이용하여 뇌경색 유발후 재순환시 야기되는 병리생리학적 변화를 연구하는데 이용하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물 및 재료

체중 230~410g의 건강한 흰쥐 30마리를 암수 구별 없이 사용하였고, 실험군은 비가역성 뇌경색군 15마리, 가역성 뇌경색군 15마리의 2군으로 나누었으며 비가역성 뇌경색군에서는 뇌경색을 유도후 사망시키는 시간에 따라, 가역성 뇌경색군은 중대뇌동맥을 폐쇄하였다가 재관류를 시키는 시간에 따라 4시간, 6시간 및 12시간군으로 다시 나눈후 실험군당 각각 5마리씩 사용하였다 (Table 1). 뇌경색 부위는 triphenyltetrazolium chloride(이하 TTC이라 함)(Sigma, U.S.A.)로 염색하여 확인하였다.

2. 실험 방법

마취는 nembutal 0.05mg/g을 복강내에 주입하여 시

Table 1. Experimental groups of animals

	No. of animals
Group I. Irreversible ischemia	
a : sacrifice at 4 hrs following MCA occlusion	5
b : sacrifice at 6 hrs following MCA occlusion	5
c : sacrifice at 12 hrs following MCA occlusion	5
Group II. Reversible ischemia	
a : recirculation for 3 hrs after 4 hrs of ischemia	5
b : recirculation for 3 hrs after 6 hrs of ischemia	5
c : recirculation for 3 hrs after 12 hrs of ischemia	5

Abbreviation : No = number ; hrs = hours ; MCA = middle cerebral artery

행하였고, 대퇴동맥에 25gauge 도관을 삽입하여 실험기간중 이 도관을 이용하여 혈중 PaO_2 , PaCO_2 , pH 및 평균동맥압(mean arterial blood pressure)등을 측정하였다. 체온은 항문을 통해 측정하였으며, 열전구(heat lamp)를 이용하여 정상 범위로 유지시켰다.

가역성 및 비가역성 뇌경색을 만드는 방법은 Nagasawa와 Kogure¹⁸⁾의 방법을 약간 변형하여 만들었다. 즉 흰쥐의 경부를 무균 소독한 다음 목을 신전시키고 수술용 현미경(Topcon OMS 80, Japan)하에서 피부에 약 2cm의 정중절개를 가하였다. 견인기를 사용하여 이복근과 흉쇄유돌근을 견인한 후 미주신경이 손상받지 않도록 주의하면서 우측 총경동맥과 외경동맥 및 내경동맥을 노출시켰다. 다음에 4번 흑견사(4-0 black silk)로 총경동맥과 외견동맥을 결찰하고, 내경동맥은 4번 흑견사로 감고 매듭을 만든후 확보해 두었다. 이후 수술에 사용하는 4번 나일론사(4-0 nylon silk, Dafilon, U.S.A.)를 길이가 약 25mm되도록 자른 다음 한쪽 끝의 5mm정도를 열을 가하여 둥글게 만든 다음 길이가 정확히 18mm가 되도록 잘랐다. 다음에 미세수술용 가위를 사용하여 총경동맥의 분지부 근처에 길이가 약 1mm되는 절개를 가하고, 이미 준비한 18mm 길이의 4-0 나일론사를 끝이 둥근쪽을 대뇌쪽으로 하여 내경동맥을 통하여 전대뇌동맥쪽으로 16mm를 삽입하고 2mm는 내경동맥 밖으로 남겼다. 이후 내경동맥을 삽입한 나일론사와 함께, 먼저 고리를 만들어 준비해두었던 4번 흑견사를 땋겨 결찰하고 수술부위를 봉합하였다.

비가역성 뇌경색모형에서는 중대뇌동맥을 폐쇄한후 4시간, 6시간 및 12시간에 쥐를 회생시켰다. 가역성 뇌경색모형에서는 중대뇌동맥을 폐쇄한 후 4시간, 6시간 및 12시간에 쥐를 관찰하여 반신마비나 움직임이 둔해지는 등의 신경학적 이상소견이 보이는 경우에 한하여

nembutal 0.05mg/g을 다시 복강내에 주입하여 마취를 시행하고, 경부의 실험 조작부위를 다시 열어 내경동맥과 총경동맥을 노출시킨 후 삽입된 나일론사를 10mm정도 뒤쪽으로 빼내어 전교통동맥과 후교통동맥을 통한 측부순환을 재개시켜 3시간 재관류를 시킨 후 실험동물을 회생시켰다(Fig. 1).

3. 뇌경색 크기 측정

뇌경색 크기 측정은 김 등¹⁰⁾이 시행하였던 방법과 동일하게 시행하였다.

즉 수술용 현미경하에서 회생시킨 실험동물의 전뇌를 적출하고 전두엽 전단부터 약 3mm간격으로 관상으로 절단하여 8절편으로 만든 후, 2% TTC용액으로 염색하고 증류수에 세척한 후 10% 포르말린 용액에 고정하였다.

뇌경색의 크기 측정은 Computer image analysis system(IBAS 2,000, Kontron, West Germany)를 사용하여 측정하였다. 각 절편의 두께를 측정하고 TTC로 염색되지 않은 뇌경색 부위를 각각의 절편에서 확인하고 표시한후 각 절편에서 절단부위의 면적을 구하고 각 절편의 두께를 곱한 후 8개 절편의 합을 구하여 전뇌의 전체 면적을 구하였다. 이후 같은 방법으로 각 절편에서 절단부위의 뇌경색 부위의 면적을 구하고 각 절편의 두께를 곱한 후 8개 절편의 합을 구하여 전체 뇌경색 면적을 구하였다. 이후 전체 뇌경색 크기는 전체 뇌경색 면적을 뇌의 전체 면적으로 나눈 후 100을 곱하여 퍼센트(%)로 표시하였다.

4. 통계처리

각 군간의 심 폐 기능 측정치의 차이에 대한 검정은 Mann Whitney test로, 뇌경색 크기 측정치의 차이에 대한 검정은 one-way ANOVA test를 사용하였다. p

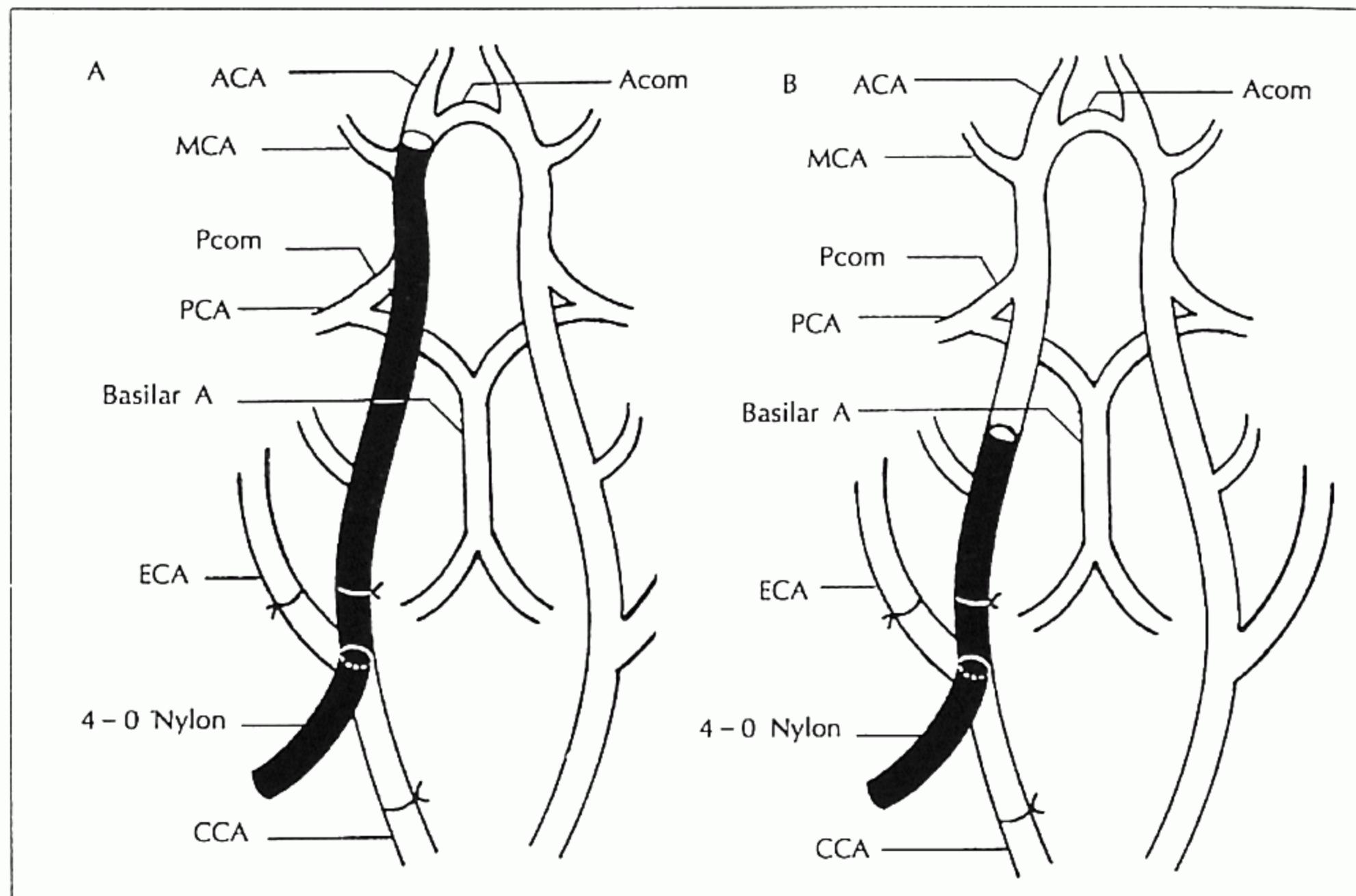


Fig. 1. Schematic drawing of position of 4-0 nylon thread during occlusion of middle cerebral artery(A) and after re-circulation(B).

Abbreviation : ACA = anterior cerebral artery ; Acom = anterior communicating artery ; Pcom = posterior communicating artery ; PCA = posterior cerebral artery ; Basilar A = basilar artery ; ECA = external carotid artery ; CCA = common carotid artery.

값이 0.05이하는 통계학적 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

1. 심폐기능 측정치

평균 동맥압은 비가역성 뇌경색 모형인 group I에서 중대뇌동맥 폐쇄후 상승하는 경향을 보였으나 폐쇄전과 비교하여 유의한 차이는 없었고, 가역성 뇌경색 모형인 group II에서도 중대뇌동맥 폐쇄전, 폐쇄후 및 재순환시킨후의 서로간의 비교에서 차이가 없었으며, 또한 group I과 group II 간의 상호 비교에서도 유의한 차이는 없이 정상 범위의 평균 동맥압을 보였다.

혈중 pH도 group I 및 group II 모두에서 7.4 근처로 측정되어 산증(acidosis) 및 알카리증(alkalosis) 없이 정상범위로 유지되었다.

동맥혈중 PaCO_2 는 중대뇌동맥을 폐쇄후 6시간에 희생시킨 group Ib에서 중대뇌동맥 폐쇄후 4시간에 측정한 수치가 $29.82 \pm 5.78 \text{ mmHg}$ 로 가장 낮았고, 4시간 중대뇌동맥을 폐쇄하고 3시간 재순환시킨 group IIa에서 중대뇌동맥을 폐쇄하고 4시간에 측정한 수치가 $40.01 \pm$

4.45 mmHg 로써 가장 높았으며 그 이외는 모두 이 범위 안의 수치로 측정되어 정상 범위였다. 또한 group간, 상호간의 비교에서도 유의한 차이는 없었다.

동맥혈중 PaO_2 는 중대뇌동맥 폐쇄후 4시간에 희생시킨 group Ia에서 희생시키기 전 측정한 수치가 $80.72 \pm 5.30 \text{ mmHg}$ 로써 가장 낮았고, 중대뇌동맥 폐쇄후 6시간에 희생시킨 group Ib에서 중대뇌동맥 폐쇄후 4시간에 측정한 수치가 $95.68 \pm 3.66 \text{ mmHg}$ 로 가장 높았으며 그 이외는 모두 이 범위안에 있었다.

직장으로 측정한 체온은 4시간 중대뇌동맥을 폐쇄하고 재순환시킨 group IIa에서 중대뇌동맥을 폐쇄하기 전에 측정한 체온이 $37.25 \pm 0.10^\circ\text{C}$ 로 가장 높았고, 역시 이 group에서 중대뇌동맥 폐쇄후 4시간에 측정한 체온이 $36.60 \pm 0.40^\circ\text{C}$ 으로 가장 낮았으며 그 이외는 모두 이 범위안에 있었다.

따라서 각 실험군에서 측정한 평균동맥압, pH, PaCO_2 , PaO_2 및 체온은 정상범위였고, 또한 각군간 상호비교에서도 유의한 차이는 없었다(Table 2).

2. 육안적 소견

흰쥐를 희생시키고 대뇌를 적출시 내경동맥을 통하여

Table 2. Mean arterial blood pressure, gas analysis and rectal temperature in experimental animals

	Pre MCAO	4h PO	6h PO	12h PO	3h AR
MABP(mmHg)					
Group Ia	96.4 ± 7.2	105.6 ± 7.2			
Group Ib	94.3 ± 18.3	99.1 ± 9.0	107.4 ± 14.3		
Group Ic	103.2 ± 10.2	96.1 ± 9.5	105.2 ± 10.2	101.2 ± 7.9	
Group IIa	92.3 ± 7.3	91.3 ± 9.2			88.4 ± 9.1
Group IIb	92.1 ± 8.2	91.4 ± 7.3	90.6 ± 14.3		91.2 ± 6.0
Group IIc	89.2 ± 9.0	92.4 ± 8.0	88.4 ± 9.0	94.8 ± 7.4	114.6 ± 8.1
Arterial pH					
Group Ia	7.47 ± 0.04	7.47 ± 0.04			
Group Ib	7.41 ± 0.03	7.42 ± 0.03	7.42 ± 0.02		
Group Ic	7.43 ± 0.03	7.42 ± 0.03	7.42 ± 0.02		
Group IIa	7.44 ± 0.02	7.44 ± 0.01			7.41 ± 0.03
Group IIb	7.42 ± 0.24	7.42 ± 0.05	7.42 ± 0.05		7.44 ± 0.05
Group IIc	7.46 ± 0.05	7.47 ± 0.02	7.46 ± 0.02	7.45 ± 0.02	7.86 ± 0.90
Arterial PaCO₂(mmHg)					
Group Ia	32.38 ± 4.04	31.70 ± 2.78			
Group Ib	34.92 ± 5.67	29.82 ± 5.78	32.94 ± 4.12		
Group Ic	39.96 ± 4.65	36.16 ± 4.01	35.58 ± 2.85	38.90 ± 4.43	
Group IIa	36.78 ± 4.70	40.01 ± 4.45			38.48 ± 5.18
Group IIb	38.52 ± 5.08	37.22 ± 12.69	39.50 ± 6.52		37.52 ± 6.61
Group IIc	30.98 ± 2.49	32.24 ± 2.71	32.22 ± 2.91	31.20 ± 2.15	30.74 ± 1.89
Arterial PaO₂(mmHg)					
Group Ia	85.08 ± 11.67	80.72 ± 5.30			
Group Ib	90.28 ± 5.34	95.68 ± 3.66	94.14 ± 3.83		
Group Ic	94.22 ± 2.65	83.90 ± 12.08	92.16 ± 2.08	95.34 ± 2.63	
Group IIa	81.48 ± 16.72	89.98 ± 7.62			87.98 ± 10.80
Group IIb	93.58 ± 5.23	84.56 ± 15.29	86.10 ± 11.42		85.56 ± 8.11
Group IIc	83.70 ± 11.28	83.14 ± 10.33	84.68 ± 12.20	84.64 ± 10.32	81.70 ± 9.29
Temperature(°C)					
Group Ia	36.92 ± 0.39	36.76 ± 0.36			
Group Ib	36.78 ± 0.92	36.92 ± 0.34	36.82 ± 0.45		
Group Ic	36.94 ± 4.45	37.00 ± 0.37	36.98 ± 0.36	37.00 ± 0.14	
Group IIa	37.25 ± 0.10	36.60 ± 0.40			37.08 ± 0.15
Group IIb	36.84 ± 0.42	37.14 ± 0.31	37.00 ± 0.47		36.92 ± 0.05
Group IIc	36.64 ± 0.36	37.24 ± 0.33	37.22 ± 0.08	37.04 ± 0.36	37.14 ± 0.30

Value are mean ± SD. Statistical significance among groups by Mann Whitney test : p > 0.05.

Abbreviation : MCAO = middle cerebral artery occlusion ; H = hours ; Po = post-occlusion ; AR = after recirculation ; MABP = mean arterial blood pressure

삽입한 4~0 나일론사의 위치를 확인한 바, 비가역성 뇌경색 모형에서는 전 예에서 나일론사가 후교통동맥의 분지부 및 중대뇌동맥의 분지부를 지나 전교통동맥 직전의 전대뇌동맥에 위치하고 있다(Fig. 2). 가역성 뇌경색 모형에서는 전 예에서 삽입한 나일론사가 후교통동맥의 분지부 근위부의 내경동맥에 위치하여 적출한 대뇌에서는

나일론사를 확인할 수 없었고, 또한 혈전이 형성되어 혈관이 폐쇄된 예들도 없었다.

뇌경색 부위는 약간 창백하게 보였으며 주로 전두 및 두정엽에 형성되어 있었다. 대뇌를 적출하여 절편으로 만들고 TTC로 염색하여 육안으로 확인한 뇌경색부위는 가역성 및 비가역성 뇌경색군 모두에서 공히 기저핵 부

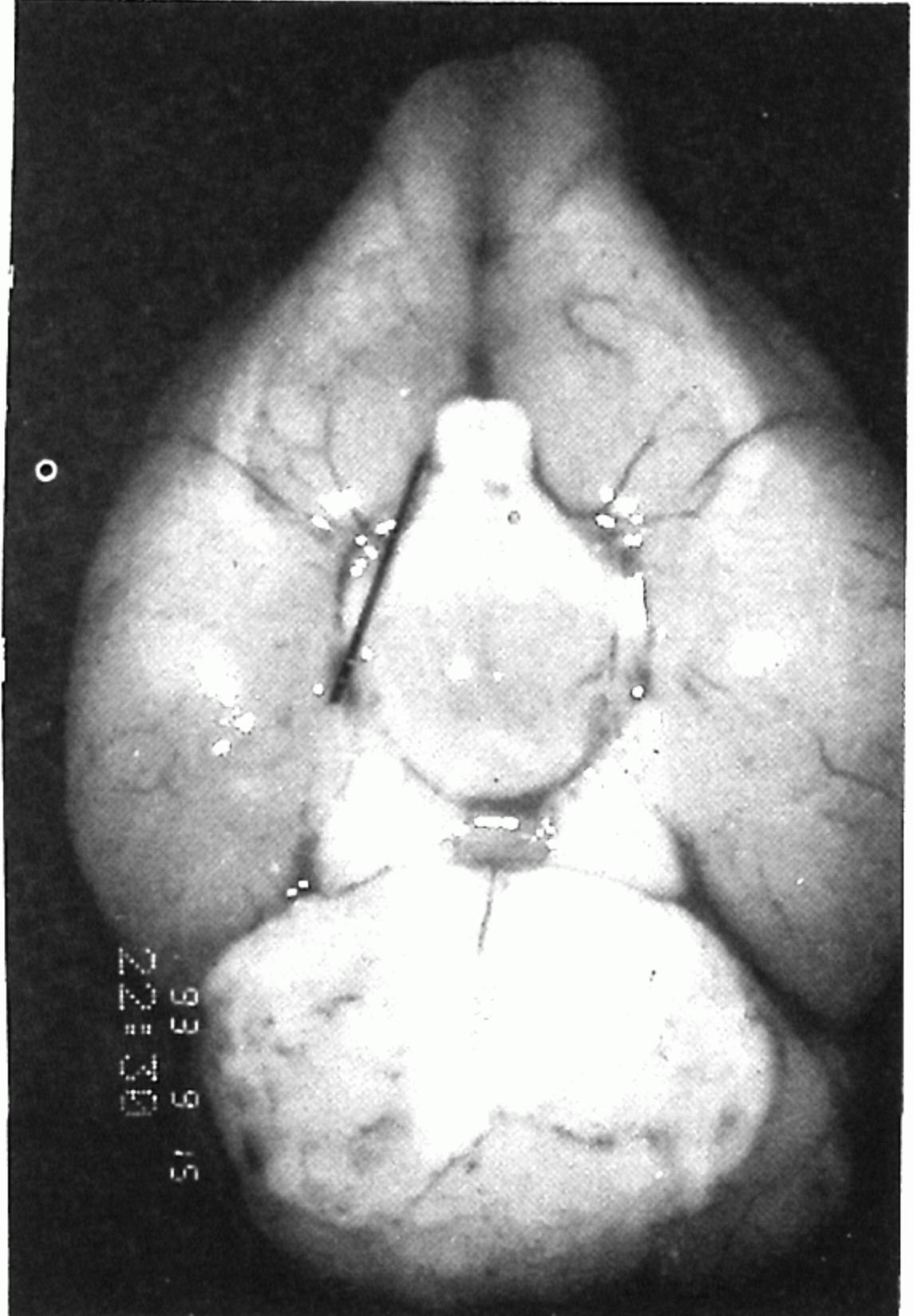


Fig. 2. Basal view of rat brain shows a piece of 4-0 nylon thread inserted from right internal carotid artery (ICA). This thread obstructed blood flow from the ICA and collateral blood flow from anterior communicating artery and posterior communicating artery to the middle cerebral artery(arrow).

위를 중심으로 하여 전두엽 후반부 및 감각 운동 영역인 대뇌의 중간부가 현저하였고 중대뇌동맥 폐쇄 시간이 경과할수록 뇌경색 면적이 확대되었다.

육안적으로 비가역성 뇌경색군과 가역성 뇌경색군에서의 뇌경색 크기를 비교한 바 12시간군에서는 상호 큰 차이를 발견할 수 없었으나, 4시간군 및 6시간군에서는 상호 차이를 관찰할 수 있었으며, 특히 4시간군에서 현저하였다(Fig. 3).

3. 가역성 뇌경색군과 비가역성 뇌경색군에서 뇌경색 유발후 시간경과에 따른 각각의 뇌조직 절편에서의 뇌경색 크기의 비교

중대뇌동맥 폐쇄후 4시간에 재순환 없이 희생시킨 비가역성 뇌경색군 group Ia와 3시간 재순환후 희생시킨 가역성 뇌경색군 group IIa에서의 뇌경색 크기를 비교한 바, 기저핵 부위인 절편 3에서는 group Ia가 $13.9 \pm$

11.6% , group IIa가 $13.9 \pm 9.4\%$ 로써 서로간에 큰 차이가 없었으나 절편 4에서는 group Ia가 $14.9 \pm 16.8\%$, group IIa가 $7.4 \pm 6.5\%$ 였으며, 절편 5에서는 group Ia가 $13.3 \pm 12.6\%$, group IIa가 $5.0 \pm 4.4\%$ 로써, 천공동맥(perforating artery)이 주로 혈류를 공급하고 측북순환(collateral circulation)이 회박한 기저핵 부위는 서로간에 큰 차이가 없었으나, 측부순환이 가능한 부위인 절편 4 및 5에서는 재관류를 시킨 가역성 뇌경색군이 비가역성 뇌경색군보다 현저히 뇌경색 크기가 감소하였다.

중대뇌동맥 폐쇄후 6시간에 재순환 없이 희생시킨 비가역성 뇌경색군 group Ib와 재순환시킨 가역성 뇌경색군 group IIb의 비교에서 역시 절편 3에서는 group Ib가 $20.6 \pm 11.3\%$, group IIb가 $18.7 \pm 14.5\%$ 로 서로간에 큰 차이가 없었으나, 절편 4에서는 Ib가 $21.4 \pm 10.2\%$, group IIb가 $12.7 \pm 9.3\%$ 였고 절편 5에서는 Ib가 $13.2 \pm 11.4\%$, IIb가 $7.7 \pm 6.1\%$ 로써, 역시 측부순환이 가능한 부위의 뇌경색 크기가 감소하였다.

중대뇌동맥 폐쇄후 12시간에 재순환 없이 희생시킨 group Ic와 재순환후 희생시킨 group IIc에서는 절편 3에서 group Ic가 $21.9 \pm 11.4\%$, group IIc가 $21.0 \pm 10.6\%$ 로써 역시 큰 차이가 없었다. 또한 절편 4에서 group Ic가 $21.4 \pm 11.5\%$, group IIc가 $16.7 \pm 16.8\%$, 절편 5에서는 group Ic가 $10.9 \pm 12.1\%$, group IIc가 $9.3 \pm 12.3\%$ 로 12시간후 재순환시킨 군에서는 4시간 및 6시간후 재순환시킨 군들과 다르게 재순환이 이를 부위의 뇌경색 크기를 현저히 감소시키지 못하였다(Table 3).

4. 가역성과 비가역성 뇌경색군에서 시간경과에 따른 전체 평균 뇌경색크기의 비교

전체 대뇌부위에 대한 뇌경색부위의 백분율은 비가역성 뇌경색군에서는 4시간군 $7.7 \pm 8.37\%$, 6시간군 $9.07 \pm 4.72\%$, 12시간군 $8.35 \pm 4.47\%$ 였고, 가역성 뇌경색군에서는 4시간군 $3.28 \pm 1.98\%$, 6시간군 $6.61 \pm 3.19\%$, 12시간군 $6.90 \pm 6.07\%$ 였다(Table 4). 양군간의 차이는 4시간군 4.5% , 6시간군 2.46% , 12시간군 1.45% 로 비록 양군간에 유의한 차이는 없었으나($p > 0.05$, one-way ANOVA test), 중대뇌동맥 폐쇄 기간이 짧을수록 양군간의 차이가 크고 기간이 길수록 차이가 감소하였다(Table 4, Fig. 4).

Irreversible group(group I)

Reversible group(group II)



Fig. 3. A gross photograph of the coronal section of a rat's brain with TTC staining in group I(irreversible ischemic group) and group I(reversible ischemic group). The infarcted area of the brain was revealed as those area that had not stained into deep red by the TTC. The sizes of the infarcted area of the group II which recirculated at 4 and 6 hours following MCA occlusion were smaller than those of group I.

Table 3. The average percentage of the infarction area* in each slice of the brain

Group	No. of slice**				
	2	3	4	5	6
Ia	8.9±12.6	13.9±11.6	14.9±16.8	13.3±12.6	11.4±15.6
Ib	11.5± 8.9	20.6±10.2	21.4±10.2	13.2±11.4	5.9± 9.7
Ic	10.9±10.1	21.9±11.4	21.4±11.5	10.9±12.1	1.7± 3.8
IIa	0	13.9± 9.4	7.4± 6.5	5.0± 4.4	0
IIb	10.3± 8.9	18.7±14.5	12.7± 9.3	7.7± 6.1	3.5± 6.6
IIc	5.0± 5.2	21.0±10.6	16.7±16.8	9.3±12.3	3.4± 5.4

* : percent : sum of infarction area(infarction size × thickness) of each slice of brain

** : No evidence of the infarction in slices 1, 7 and 8

Values are mean±SD

Statistical significance among groups by one-way ANOVA test : p > 0.05

Table 4. The difference of average percentage of the infarction size between reversible and irreversible groups

Subgroup	Group	Irreversible	Reversible
		(I)	(II)
a		7.78±8.47	3.28±1.98
b		9.07±4.72	6.61±3.19
c		8.35±4.47	6.90±6.07

a : 4 hours ; b : 6 hours ; c : 12 hours

Values are mean±SD

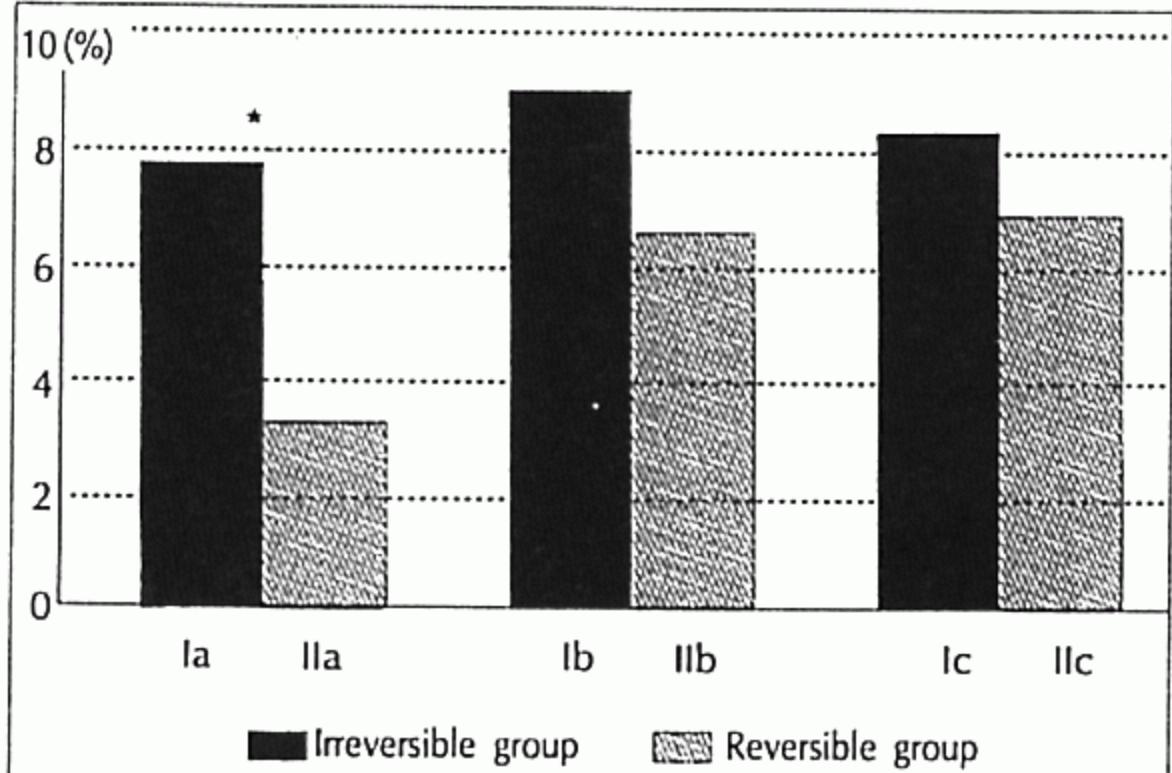


Fig. 4. The comparision of the average infarction size between irreversible and reversible groups.

* : One-way ANOVA test : Ia Vs. IIa : $p = 0.072$

고 찰

뇌경색을 연구한 많은 실험논문은 개두술후 측두하로 접근하여 중대뇌동맥을 폐쇄한 비가역성 뇌경색 동물실험 모형에서 이루어져 왔으나⁶⁾⁷⁾¹⁰⁾²²⁾²³⁾²⁸⁾²⁹⁾, 임상에서 경험하는 중대뇌동맥 폐쇄는 대부분 색전에 기인되고²¹⁾ 또한 많은 예들에서 색전이 용해되고 재관류가 이루어져 가역성 뇌경색 모형에 유사하므로¹⁸⁾, 가역성 뇌경색 실험모형에서의 뇌경색 연구가 필요하다.

동물실험에서의 가역성 뇌경색 실험모형을 만드는 방법은 크게 개두술을 시행하고 혹은 개두술 없이 만드는 것이 대별된다. 개두술후 만드는 방법은 과거에는 총경동맥의 결찰없이 중대뇌동맥을 노출하여 폐쇄하였다가 개통시키는 방법²⁾⁵⁾⁹⁾²⁵⁾²⁶⁾이 주로 이용되었으나 최근에는 총경동맥을 결찰하고 개두술후 중대뇌동맥을 폐쇄하였다가 개통시키는 방법이 이용되고 있다¹⁾⁸⁾. 한편 개두술 없이 만드는 방법은 경동맥을 겸자(clamp)하고 혈압을 하강시켰다가 상승시켜⁴⁾²⁴⁾ 혹은 내경동맥을 통하여 나일론사를 주입하여 중대뇌동맥을 폐쇄하였다가 견인하여 재관류시켜¹²⁾¹³⁾¹⁸⁾¹⁹⁾ 만드는 방법이 이용되고 있다.

개두술후 만드는 방법은 개두술에 기인한 대뇌손상이나 중대뇌동맥의 조작으로 인한 혈관연축이나 혈관벽의 손상으로¹⁸⁾¹⁹⁾³⁰⁾, 개두술없이 경동맥을 겸자하고 혈압을 하강시켰다가 상승시키는 방법은 스트레스가 가하여져¹⁸⁾ 실험 결과에 영향을 미칠 수 있어, 나일론사를 사용하여 중대뇌동맥을 폐쇄하였다가 개통시키는 방법을 최근에는 많이 이용하고 있다.

이 뇌경색 모형에서 중대뇌동맥을 폐쇄하기 위하여 나일론사를 주입하는 방법은 총경동맥에 절개를 가한후 내경동맥을 통하여 주입하는 방법¹³⁾¹⁸⁾과 외경동맥에 절개를 가한후 외경동맥과 내경동맥을 통하여 주입하는 방법¹²⁾이 있으나, 총경동맥을 통하여 나일론사를 주입하면 내경동맥이 총경동맥과 일직선상에 있어 나일론사의 삽입시 혈관벽의 손상을 줄일수 있는 장점이 있어 저자들도 이 방법을 이용하였다.

삽입한 나일론사의 크기는 많은 연구자들¹²⁾¹³⁾¹⁸⁾이 사용하였던 수술용 4번 나일론사를 사용하였고, 삽입시 혈관벽의 손상을 줄이고자 혈관내로 삽입되는 나일론사의 원위부 5mm정도를 불로 살짝 가열하여 끝을 둥글게 한 점은 Nagasawa와 Kogure¹⁸⁾의 방법과 동일하다. 삽입하는 나일론사의 길이는 실험에 사용하는 쥐의 몸무게에 따라 다르다. Nagasawa와 Kogure¹⁸⁾는 280~300g의 쥐를 대상으로 실험시 총경동맥의 분지부에서 16mm, Longa 등¹²⁾은 400~500g의 쥐에서 17mm, Memezawa 등¹³⁾은 290~350g의 쥐에서 18.5mm~19.5mm를 내경동맥을 통하여 두개강쪽으로 삽입하면 중대뇌동맥을 폐쇄할 수 있었다고 보고하였다.

저자들도 본 실험에 앞서 시행한 예비실험에서 200~300gm의 흰쥐 5마리를 대상으로 총경동맥의 절개부위에서 두개강쪽으로 나일론사를 내경동맥을 통하여 16mm 삽입하고 회생시켜 확인한 바 삽입된 나일론사는 모든 예들에서 후교통동맥과 중대뇌동맥의 분지부를 지나 전교통동맥 직전의 전대뇌동맥 근위부에 위치하므로 씨 전교통동맥 및 후교통동맥을 통한 측부순환을 막으면서 중대뇌동맥을 폐쇄함을 확인할 수 있었다. 따라서 저자들도 18mm의 나일론사를 사용하여 뒤쪽 2mm를 남기고 총경동맥의 절개부위에서 부터 16mm 진전시켜 중대뇌동맥을 폐쇄하였다.

한편 쥐에서는 중대뇌동맥을 효과적으로 폐쇄시 운동마비등의 신경학적 장애가 대부분 나타난다고 보고되어¹²⁾¹³⁾¹⁸⁾, 중대뇌동맥을 폐쇄후 실험동물을 관찰하여 반신마비와 같은 신경학적 이상소견을 보이는 실험동물에 한하여 가역성 뇌경색군으로하여 재순환을 시키고 뇌경색 면적을 측정하였다.

한편 본 저자들이 이용한 실험방법은 두개강외 접근으로 대뇌나 뇌혈관의 조작없이 가역성 및 비가역성 뇌경색 모형을 간편히 만들 수 있는 장점이 있으나, 중대뇌동맥에 혈류가 완전히 차단되는지 혹은 재관류가 완전히

이루워지는지를 직접 확인할 수 없는 단점이 있다³⁰⁾. 또한 개체간의 혈관내경의 차이로 혈류의 완전 차단이 이루어 지지 않은 예들도 실험군에 포함될 수 있으며, 아울러 혈관내막의 손상이 초래되어 혈관내 혈전을 형성할 수도 있는 단점이 있다¹⁹⁾. 다행스럽게도 저자들의 실험에서는 대뇌 적출시 확인한 바 가역성 뇌경색 모형에서 혈전형성으로 뇌혈관이 폐쇄된 예는 없었다.

뇌경색 유발후 어느 정도의 시간경과후까지 재관류를 시킬때 영구적으로 뇌혈류를 차단한 예들과 비교하여 뇌조직의 손상을 방지 혹은 소생시킬 수 있는지에 대해서는 많은 연구들이 행하여져 왔으며, 이는 혈전 혹은 색전에 기인하여 중대뇌동맥이 폐쇄된 환자에 동맥내 urokinase를 주입하여 혈전 혹은 색전을 용해시켜 재순환을 시키는 방법이 임상에 이용되면서¹⁶⁾ 중요한 관점으로 부상되고 있다. 그러나 이러한 시간은 실험동물에 따라 혹은 실험방법에 따라 차이가 나서 고양이에서는 6시간²⁶⁾ 내지 8시간³⁰⁾, 원숭이에서는 3시간⁵⁾ 내지 4시간²⁷⁾, 개에서 3시간²⁰⁾, 토끼에서 12시간¹¹⁾등으로 발표되었고, 쥐에서는 Memezawa 등¹³⁾이 90~120분으로 가장 짧게 발표하였고 Buchan 등¹⁾ 및 Nagasawa와 Kogure¹⁸⁾가 3시간, Kaplan 등⁸⁾이 3~4시간으로 발표하였으며 특히 DeGraba 등³⁾은 칼슘길항제의 사용시는 적어도 뇌경색 유발후 4시간이내에 사용하여야 효과가 있다고 하였다. 이와같이 실험동물에 따라 차이가 나는것은 실험동물에 따른 측부혈행의 형성정도가 다른 것이 주요 원인이 된 나¹⁵⁾, 마취제의 신경세포에 대한 보호효과의 차이³⁰⁾, 실험시 혈압을 포함한 심 폐 기능 및 체온의 변화가 역시 원인이 될 수 있다. 특히 Morikawa 등¹⁷⁾은 쥐의 가역성 뇌경색 모형에서 뇌의 체온을 저하시킨바 뇌경색 면적의 감소를 보고하였다.

저자들은 열전구를 이용하여 실험기간 동안 체온을 정상 범위로 유지시켰고 또한 혈압을 포함하여 심 폐 기능도 정상 범위로 유지하였다. 실험 결과에서 가역성 뇌경색군의 뇌경색 크기가 비가역성 뇌경색군과 비교하여 4시간군에서 현저히 감소한 결과는 뇌경색 유발후 4시간내에 재관류시 뇌조직의 손상을 방지 혹은 감소시킬 수 있다는 상기 저자들의 결과에 비교적 일치한다.

재관류후 뇌경색의 크기가 감소하거나 신경학적 장애가 개선되는 기전은 뇌경색 중심부보다 주변부 즉 penumbra지역의 손상된 뇌세포가 소생되거나 기능이 회복되어 그러한 것으로 알려져 있다¹³⁾¹⁶⁾²¹⁾. 저자들의 4시

간 및 6시간 실험군에서 절편에 따른 가역성과 비가역성 뇌경색 크기의 비교에서 기저핵 부위인 절편 3에서는 차이가 없었으나 측부혈행이 가능한 절편 4 및 5에서는 가역성에서의 뇌경색 크기가 비가역성에서의 뇌경색 크기 보다 현저히 적으므로써 재관류가 이들지역, 즉 penumbra지역의 뇌경색을 개선시켜 그러한 것으로 생각되었다.

한편 본 실험에서 뇌경색 크기의 퍼센트는 다른 연구자들⁶⁾¹¹⁾¹⁹⁾의 결과와 비교시 상대적으로 적은 수치로 표시되어 있다. 이는 뇌경색 크기의 퍼센트를 계산하는 방법의 차이에 기인되어 그러한 것으로 생각한다. 저자는 Buchan 등¹⁾이 계산한 방법과 비슷한 방법을 사용하여 관상으로 절단한 절편에서 뇌경색 면적을 구하고 절편의 두께로 곱한 후 8절편을 합하여 전체 뇌경색 면적을 구하고 또한 절단한 절편에서의 전체 면적을 두께로 곱하고 8절편을 합하여 전체 뇌의 면적을 내서 전체 뇌의 면적에 대한 전체 뇌경색의 면적을 퍼센트로 산출하여 표시하였다.

그러나 상기한 다른 연구자들⁶⁾¹¹⁾¹⁹⁾은 절단한 절편에서 전체 면적에 대한 뇌경색 면적을 산출하였기 때문에 본 연구자의 수치와 차이가 있는 것으로 생각된다.

한편 본 교실에서 이미 시행한 김 등¹⁰⁾의 결과와 비교해 볼 때 6시간군에서 김 등¹⁰⁾의 결과는 뇌경색 크기가 $6.83 \pm 0.82\%$ 였으나 본 실험의 비가역성군에서는 $7.78 \pm 8.47\%$ 로써 김 등¹⁰⁾이 이용한 개두술후 측두하로 접근하여 중대뇌동맥을 폐쇄시켜 뇌경색을 유발한 방법에서의 뇌경색의 크기보다 두개강외로 접근하여 내경동맥을 통하여 나일론사를 주입하여 뇌경색을 유발한 본 방법에서 뇌경색의 크기가 컸다. 이는 옥 등¹⁹⁾의 실험 결과와 비슷한데 그들은 개두술후 중대뇌동맥을 폐쇄시켜 만든 뇌경색군과 저자의 실험방법과 비슷하게 내경동맥에 나일론사를 주입하여 만든 뇌경색군에서 뇌경색 크기를 비교한 바 역시 나일론사를 주입하여 만든 군에서 뇌경색의 크기가 커다고 발표하면서, 이는 이 방법이 측부혈행을 더 효과적으로 방지하기 때문이라고 설명하고, 이 뇌경색모형이 이론적으로 더 타당하기 때문에 향후 내경색 연구에 이 모형을 이용하도록 권유하였다.

저자들도 옥 등¹⁹⁾과 같은 의견이나 이 모형을 이용하여 연구시 유념할 점은 삽입하는 나일론사의 직경은 일정하나 혈관의 크기는 사용하는 동물의 몸무게에 따라 차이가 있을 수 있으므로 실험 결과의 정확성을 기하기 위하

여 최대한 일정한 몸무게의 쥐를 사용하는 것이 매우 중요할 것으로 생각한다.

요 약

저자들은 30마리의 흰쥐를 실험동물로 사용하여 개두술없이 두개외접근으로 비가역성 및 가역성 뇌경색 모형을 만들고 중대뇌동맥 폐쇄후 몇 시간내에 재관류를 시킬때 뇌경색의 크기를 감소시킬 수 있는지를 알아보고자 하였다. 비가역성 뇌경색은 내경동맥을 통해 18mm길이의 4번 나이론사를 전대뇌쪽으로 16mm정도 진전시켜 중대뇌동맥을 폐쇄하여 만들었고, 가역성 뇌경색은 삽입된 나일론사를 빼내어 전교통동맥 및 후교통동맥을 통해 재관류를 시켜 만들었다. 뇌경색 크기를 측정하기 위하여 대뇌 적출시 확인한 바, 비가역성 뇌경색 모형에서는 전예에서 나이론사가 중대뇌동맥 분지부를 지나 전대뇌동맥의 근위부에 위치하고 있었고, 가역성 뇌경색 모형에서는 나일론사가 후교통동맥 분지부 전의 내경동맥에 위치하고 뇌혈관내 혈전형성은 없어, 전교통동맥 및 후교통동맥을 통한 재관류가 이루워짐을 확인할 수 있었다.

가역성 뇌경색군과 비가역성 뇌경색군에서의 뇌경색 크기를 비교한 바 중대동맥 폐쇄후 4시간 및 6시간후에 재관류를 시킨 가역성 뇌경색군에서 비가역성 뇌경색군에 비해 뇌경색 크기가 감소하였고, 4시간군에서 현저하였으며 특히 기저핵부위 이외의 측부혈행이 가능한 부위의 뇌경색이 감소하였다. 그러나 12시간 후에 재관류시킨 군에서는 그 차이가 거의 없었다.

결론적으로 저자가 이용한 가역성 및 비가역성 뇌경색 모형은 개두술없이 간편하게 만들 수 있는 방법이므로 향후 뇌경색의 연구에 많이 이용할 수 있을 모형으로 생각된다. 또한 재순환은 뇌혈관 폐쇄후 적어도 4시간내에 이루어져야 기질적 뇌경색을 감소시킬 것으로 생각되고 이러한 재순환후 뇌경색의 감소는 뇌경색 중심부보다 측부혈행이 가능한 주변부의 뇌경색이 호전되므로 그러한 것으로 추정된다.

References

- 1) Buchan AM, Xue D, Slivka A : *A new model of temporary focal neocortical ischemia in the rat.* *Stroke* 23 : 273-279, 1992
- 2) Crowell RM, Marcoux FW, DeGirolami U : *Variability and reversibility of focal cerebral ischemia in unanesthetized monkeys.* *Neurology* 31 : 1295-1302, 1981
- 3) DeGraba TL, Ostrow PT, Grotta JC : *Threshold of calcium disturbances after focal cerebral ischemia in rats.* *Stroke* 24 : 1212-1217, 1993
- 4) Grøgaard B, Gerdin B, Arfors KE : *Forebrain ischemia in the rat. Relation between duration of ischemia, use of adjunctive ganglionic blockade and long-term recovery.* *Stroke* 17 : 1010-1015, 1986
- 5) Jones TH, Morawets RB, Crowell RM, et al : *Thresholds of focal cerebral ischemia in awake monkeys.* *J Neurosurg* 54 : 773-782, 1981
- 6) Jung JM, Chung YS, Park IS, et al : *The time evolution of cerebral infarction in rat middle cerebral artery occlusion.* *J Kor Neurosurg Soc* 22 : 404-412, 1993
- 7) Kang JK, Lee CJ, Sung TK, et al : *Effects of the rheomacrodex and alteration of blood pressure after experimental occlusion of the middle cerebral artery.* *J Kor Neurosurg Soc* 7 : 307-322, 1978
- 8) Kaplan B, Brint S, Tanabe J, et al : *Temporal thresholds for neocortical infarction in rats subjected to reversible focal cerebral ischemia.* *Stroke* 22 : 1032-1039, 1991
- 9) Kim HJ, Jung HW, Han DH, et al : *An experimental study on cerebral recirculation in acute regional cerebral infarction.* *J Kor Neurosurg Soc* 13 : 203-215 1984
- 10) Kim IS, Yim MB, Lee JC, et al : *The evaluation and quantification of cerebral infarction following a middle cerebral artery occlusion in rats.* *J Kor Neurosurg Soc* 21 : 97-108, 1992
- 11) Lee KJ, Choi CR : *Effect of tissue plasminogen activator on autologous arterial emboli in the cerebral circulation of rabbit model.* *J Kor Neurosurg Soc* 23 : 999-1008, 1994
- 12) Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al : *Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats.* *Stroke* 20 : 84-91, 1989
- 13) Memezawa H, Smith ML, Siesjö BK : *Penumbral tissue salvaged by reperfusion following middle cerebral artery occlusion in rats.* *Stroke* 23 : 552-559, 1992

- 14) Meyer FB, Piepgras DG, Sundt TM, et al : *Emergency embolectomy for acute occlusion of the middle cerebral artery*. *J Neurosurg* 62 : 639-647, 1985
- 15) Michenfelder JD, Milde JH, Sundt TM : *Cerebral protection by barbiturate anesthesia. Use after middle cerebral artery occlusion in Java monkeys*. *Arch Neurol* 33 : 345-350, 1970
- 16) Mori E, Tabuchi M, Yoshida T, et al : *Intracarotid urokinase with thromboembolic occlusion of the middle cerebral artery*. *Stroke* 19 : 802-812, 1988
- 17) Morikawa E, Ginsberg MD, Dietrich WD, et al : *The significance of brain temperature in focal cerebral ischemia : histopathological consequences of middle cerebral artery occlusion in the rat*. *J Cereb Blood Flow Metab* 12 : 380-388, 1992
- 18) Nagasawa H, Kogure K : *Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion*. *Stroke* 20 : 1037-1043, 1989
- 19) Ok KH, Chu JW, Lee HK, et al : *Reperfusion models of rat middle cerebral artery occlusion : Extracranial and transcranial methods*. *J Kor Neurosurg Soc* 22 : 619-627, 1993
- 20) Okada Y, Shima T, Oki S, et al : *Experimental microsurgical embolectomy after middle cerebral artery embolization in the dog*. *J Neurosurg* 58 : 259-266, 1983
- 21) Oslen TS : *Regional cerebral blood flow after occlusion of the middle cerebral artery*. *Acta Neurol Scand* 73 : 321-337, 1986
- 22) Park CK, Jung CK, Kim DS, et al : *Prolonged ischemic cerebral infarction in the rat after middle cerebral artery occlusion. Part 1 : Evolution and time course of the infarction*. *J Kor Neurosurg Soc* 18 : 505-514, 1989
- 23) Shigeno T, McCulloch J, Graham DI, et al : *Pure cortical ischemia versus striatal ischemia. Circulatory, metabolic, and neuropathologic consequences*. *Surg Neurol* 24 : 47-51, 1985
- 24) Smith ML, Bendek G, Dahlgren N, et al : *Models for studying long-term recovery following forebrain ischemia in the rat. A 2-vessel occlusion model*. *Acta Neurol Scand* 69 : 385-401, 1984
- 25) Sundt TM, Waltz AG : *Experimental cerebral infarction : Retro-orbital, extradural approach for occluding the middle cerebral artery*. *Mayo Clin Proc* 41 : 159-168, 1966
- 26) Sundt TM, Grant WC, Garcia JH : *Restoration of middle cerebral artery flow in experimental infarction*. *J Neurosurg* 31 : 311-322, 1969
- 27) Sundt TM, Michenfelder JD : *Focal transient cerebral ischemia in the squirrel monkey. Effect on brain adenosin triphosphate and lactate levels with electrocorticographic and pathologic correlation*. *Circ Res* 30 : 703-712, 1972
- 28) Taumura A, Graham DI, McCulloch J, et al : *Focal cerebral ischemia in the rat : I. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion*. *J Cereb Blood Flow Metabol* 1 : 54-60, 1981
- 29) Tyson GW, Teasdale GM, Graham DI, et al : *Cerebrovascular permeability following MCA occlusion in the rat. The effect of halothane-induced hypotension*. *J Neurosurg* 57 : 186-196, 1982
- 30) Weinstein PR, Anderson GG, Telles DA : *Neurological deficit and cerebral infarction after temporary middle cerebral artery occlusion in unanesthetized cats*. *Stroke* 17 : 318-324, 1986