

흰쥐 말초신경에서 반복검사가 가능한 운동 및 감각신경의 비침습 전기생리검사

이화여자대학부속 동대문병원 신경과학교실

박 기 덕

이화여자대학부속 목동병원 신경과학교실

최 경 규

Abstract

Noninvasive Repeatable Motor and Sensory Nerve Conduction Studies of Rat Peripheral Nerves

Kee Duk Park

Department of Neurology, Ewha Womans University Dongdaemun Hospital

Kyung Gui Choi

Department of Neurology, Ewha Womans University Mokdong Hospital

There has been a need for animal experimental models to study the peripheral nerves to evaluate the peripheral neuropathy. However, electrophysiologic test methods to confirm peripheral neuropathy in small experimental animals has not been properly addressed due to technical difficulties and also the limitation of numbers of examinations due to the invasive natures of previous techniques of peripheral nerve conduction studies in experimental animals.

The purpose of this experiment is to find out easy, reliable and noninvasive repeatable techniques of nerve conduction study of peripheral nerves of rat.

The electrophysiologic tests including motor and sensory nerve conduction studies were performed in both hind limbs of 64 rats. And the results were reported with detailed description of techniques. The mean value(\pm SD) of motor nerve conduction velocity was 41.8 ± 3.0 m/sec and that of the sensory nerve conduction velocity was 29.7 ± 1.7 m/sec and they showed stable results. In addition to its accuracy, this technique is a relatively simple and noninvasive repeatable methods of nerve conduction study of rat. But the amplitudes of compound muscle action potential(CMAP) and compound nerve action potential(CNAP) revealed wide ranges of variability.

연구 목적

실험동물을 사용한 전기생리검사는 여러 가지 연구

목적으로 많이 활용될 가치가 있는 방법이다. 그러나 실제적으로 사람과 크기가 비슷하게 큰 동물을 사용하면 검사의 기술적인 면은 쉽겠으나 동물을 다루기

어렵고 마취 또한 큰 문제로서 한 두 마리라면 모르겠으나 많은 수의 동물에서 검사를 한다는 것은 현실적으로 불가능하다고 할 것이다. 따라서 구하기 쉽고 다루기 편한 실험동물을 사용하게 되는데 이때는 역시 동물의 크기가 작기 때문에 검사 방법이 사람에게서와 같지가 않고 각각의 동물에 맞는 검사 방법을 개발하여야 하는 문제가 있다. 이에 현재 실험용으로 많이 사용되는 흰쥐에서 정확하고 안정된 기법으로 말초신경을 검사하는 전기생리검사법을 개발하는 것은 실험동물에 유발된 말초신경병을 확인하고 그 경과 관찰이나 치료약제 투여시의 효과 확인 등의 연구 방법을 확보할 수 있다는 면에서 중요한 의미가 있다고 하겠다.

실험 대상 및 방법

1. 실험재료

건강한 생후 10내지 12주(몸무게 170g~265g)의 스프라그 달리(Sprague-Dawley)계 흰쥐 64마리를 사용하였다.

2. 마 취

케타민(ketamine hydrochloride)을 사용하여 마취를 유도하였는데 75~100mg/kg의 용량을 피하주사로 흰쥐에 투여후 흰쥐의 움직임이 둔화되면 곧 고정판에 복와위로 고정하고 마취한 다음 운동신경전도검사와 감각신경전도검사 순으로 시행하였다. 신경전도검사는 가능한 신속히 시행하였으나 감각신경전도검사에 마취에서 깨어나는 경우는 소량의 케타민을 투여하여 검사를 시행하였다.

3. 신경전도 검사방법

검사기구는 Cadwell Excel EMG system을 사용하였으며 전기자극과 전위를 검출하기 위한 전극으로는 쥐의 발목에 맞도록 특별히 제작된 고리형 전극과 침전극(platinum alloy needle electrode)을 이용하였다. 검사도중 쥐가 움직이면 정확한 전위파를 검출하기 어렵기 때문에 모든 전기생리 검사는 제작된 동물 고정판과 고정용 집게등을 사용하여 흰쥐를 고정된 상태에서 시행하였다. 신경 전기생리검사로는 운동신경전도검사와 감각신경전도검사를 시행하였다. 각 전기생리검사의 검사조건은 Table 1과 같으며 검사구획의 체온은 피부온도계와 가열 전등을 사용하여

35±1°로 유지하였다.

검사는 양하지 모두에서 실시하여 운동신경전도검사와 감각신경전도검사 각각 128회를 시행하였다.

1) 운동신경전도

마취된 흰쥐를 복와위로 고정판에 고정된 다음 운동신경전도검사를 시행하였다. 전기자극과 전위의 검출에는 모두 침전극을 사용하였다. 복합근활동전위(compound muscle action potential : CMAP)를 검출하기 위한 활동전극(active electrode)은 첫번째와 두번째 발가락 사이의 발바닥 근육에 삽입하였고 기준전극(reference electrode)은 두번째 발가락 중간에 삽입하였다(Fig. 1). 전기 자극은 침전극을 발목부위의 경골신경 및 좌골패임(sciatic notch)의 좌골신경 부위에 삽입하고, 각 부위에서 따로 0.1msec rectangular pulse를 최대위 자극강도(supramaximal stimulation)로 자극하였다. 이상의 방법으로 검출된 복합근활동전위(CMAP) 파형은 2~3회 반복 자극하여 정확히 측정되는 것을 확인하고 기록하였다.

운동신경 전달속도는 발목부위에서 자극한 복합근

Table 1. 흰쥐 전기생리검사의 관찰조건

	운동신경전도검사	감각신경전도검사
주 파 여 과	20-10,000Hz	20-2,000Hz
감 수 성	5mV/cm	50μV/cm
관 찰 시 간	10msec	10msec



Fig. 1. 흰쥐의 운동신경전도검사 방법. 자극용 음극(cathode)을 발목의 경골신경과 좌골패임의 좌골신경 가까이 삽입하고 양극(anode)은 각 자극전극 상방 1.5cm에 삽입한다. 활동전극은 발바닥 근육에 삽입하고 기준전극은 두번째 발가락 중간에 삽입하며, 접지전극은 자극전극과 기록전극 사이에 삽입한다.

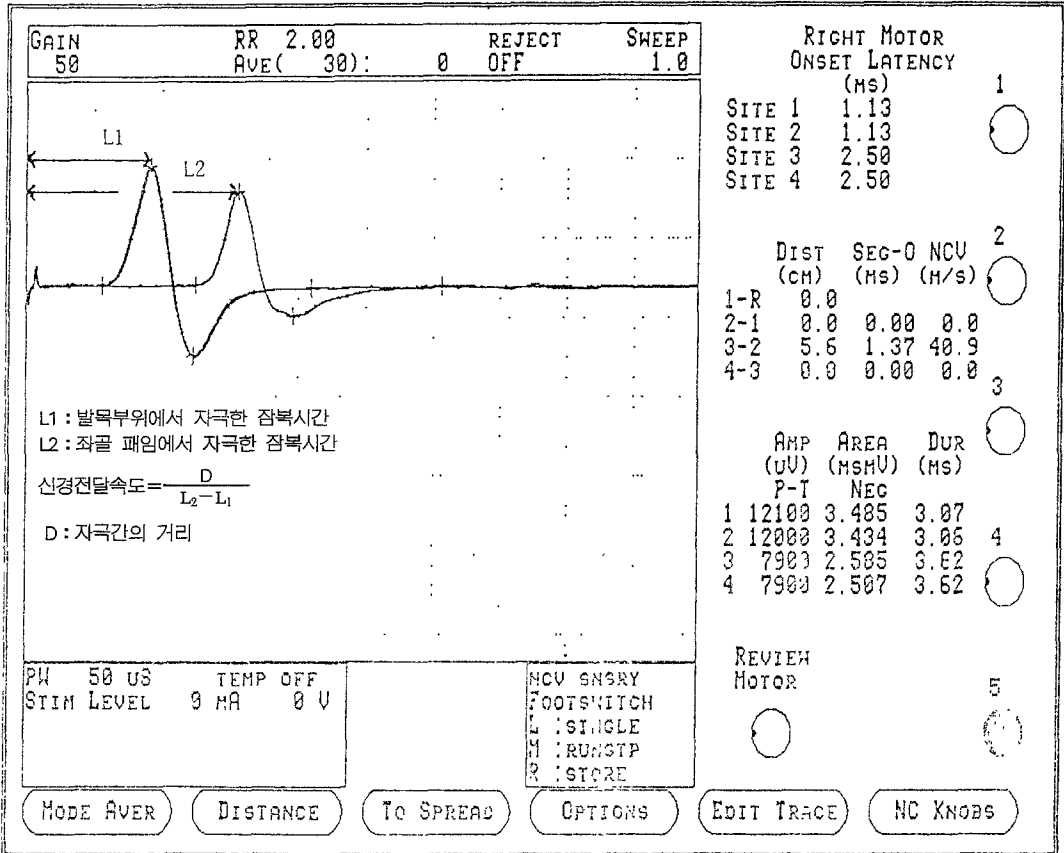


Fig. 2. 흰쥐에서 침전극을 사용하여 얻은 복합근활동전위의 파형, 좌골패임에 삽입된 전극과 발목부위에 삽입된 전극 사이의 거리를 이 두 자극부위를 따로 자극할 때 검출되는 파형의 기시부 잠복기 차로 나누어서 운동신경전달속도를 계산한다. 복합근활동전위의 전위 폭은 경골신경을 자극할 때 나타난 전위파의 정점간 진폭으로 측정한다. 신경전달속도의 단위는 meter/second이고 진폭의 단위는 mV이다.

활동전위와 좌골패임에서 자극한 복합근 활동전위의 기시부 잠복기(onset latency)의 차이로 두 자극전극 사이의 거리를 나눈 가장 빠른 전달속도를 계산하였다. 전위 폭은 발목에서 자극하여 얻은 복합근활동전위의 정점간 진폭을 측정하였다(Fig. 2).

2) 감각신경전도

감각신경전도검사는 최근 Parry 및 Kozu(1990)가 발표한 말단 부 감각신경전도검사방법을 참조하여 예비 실험을 통해 얻어진 방법으로 다음과 같이 시행하였다. 전기자극과 전위 검출에는 모두 침전극을 사용하는데 활동전극은 발목부위 경골신경에 근접하여 삽입하고 기준전극은 활동전극의 상방 1.5cm의 피하에 삽입한 다음 두번째 발가락신경을 전기자극할 때 유발되는 복합신경활동전위(compound nerve ac-

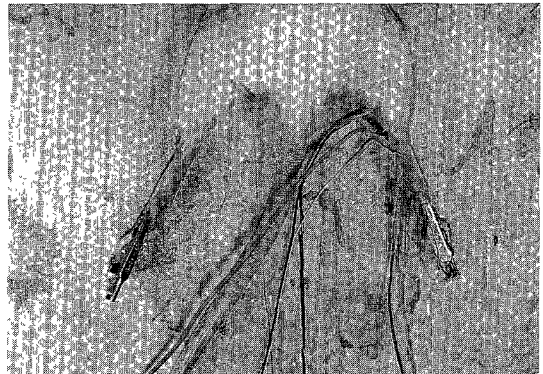


Fig. 3. 흰쥐의 감각신경전도검사 방법 자극용 음극 및 양극을 두번째 발가락 좌우에 삽입하고 활동전극은 내측 발목에, 기준전극은 활동전극 상방 1.5cm 부위 피하에 삽입한다. 접지전극은 자극전극과 활동전극의 중간에 삽입한다.

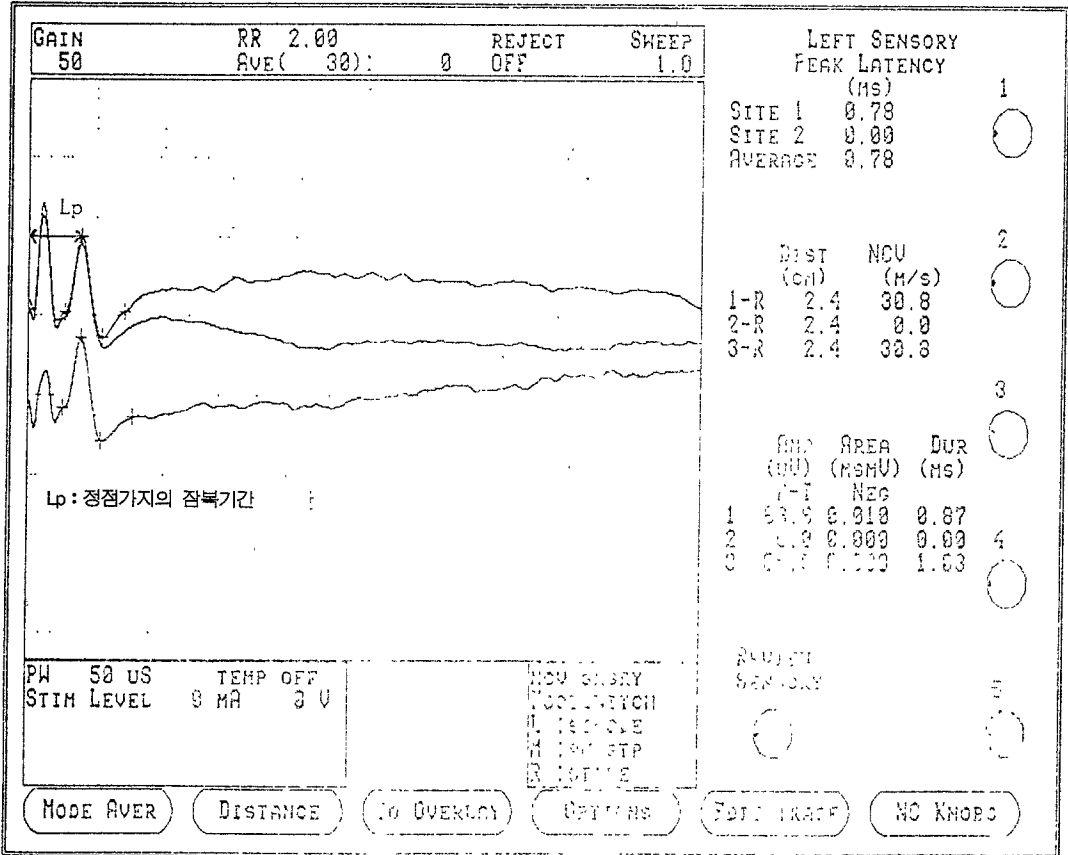


Fig. 4. 흰쥐에서 침전극을 사용하여 얻은 복합신경활동전위의 파형. 두번째 발가락 신경을 자극하여 얻은 복합신경활동전위의 음정점 잠복기로 자극전극과 활동전극 사이의 거리를 나누어서 감각신경 전달속도를 계산한다. 복합신경활동전위 앞에 나타나는 작은 전위는 전기자극에 의해 발생한 전위 변화임.

tion potential : CNAP)를 검출하였다(Fig. 3). 관찰은 복합신경활동전위 음정점까지의 잠복기와 양에서 음정점간 진폭을 측정하였는데 전달속도는 자극전극과 기록전극 사이의 거리를 음정점까지의 잠복기로 나누어 계산하였다(Fig. 4).

결 과

1. 운동신경전도

운동신경 전달속도는 41.8 ± 3.0 m/s로 측정값 사이의 편차가 적었으나 복합근 활동전위는 7293 ± 2232 μ V로 측정값 사이의 차이가 크게 관찰되었다.

2. 감각신경전도

감각신경 전달속도 역시 29.7 ± 1.7 m/s로 측정값 사이의 편차가 적었으나 복합신경 활동전위는 $30.0 \pm$

21.1 μ V로 측정값에 따른 전위의 변화가 심하였다.

고 찰

실험동물을 이용한 말초신경의 전기생리검사를 통하여 질병을 연구하려는 노력은 일찍부터 시도되었다. Uy등¹⁾은 좌골신경을 노출시킨 다음 이를 전기자극할 때 유발되는 장딴지 근의 복합근활동전위로 운동신경전도검사를 하였고, 감각신경전도검사는 후궁절제술로 노출된 감각신경절에서 좌골신경을 전기자극할 때 나타나는 복합신경전위를 검출하였다. 그러나 후궁절제술은 상당한 수기를 요하는 방법일 뿐만 아니라 소요되는 시간도 매우 길어 검사를 많이 하기가 어려웠다. 쥐보다 좀 더 큰 동물인 기니피크(guinea pig)을 이용하여 연구한 Bradley²⁾는 보다 향상된 검사 기술인

Table 2. 운동신경 전달속도 및 복합근활동전위

	최소치	최대치	평균	표준편차	검사수
운동신경전달 속도(m/sec)	34.5	52.4	41.8	3.0	128
복합근활동전위(μ V)	2280	14300	7293	2232	128

Table 3. 감각신경 전달속도 및 복합신경활동전위

	최소치	최대치	평균	표준편차	검사수
감각신경전달속도(m/sec)	24.5	33.3	29.7	1.7	128
복합신경활동전위(μ V)	1	110	30.0	21.1	128

Fullerton³⁾의 방법을 사용하여 신경을 노출시키지 않고 침전극을 사용하여 좌골신경과 경골신경을 자극하는 운동신경전도검사를 시행하였다. 이러한 방법 외에도 말초신경의 기능장애를 개체신경섬유의 전기생리검사 방법으로 확인한 연구⁴⁾가 있다. 이 연구는 현미경하의 미세수술기법을 이용한 것으로 매우 어렵고 숙련된 기술을 요하는 것으로서 고양이와 가자미근에 연결된 구심성 신경과 원심성신경을 수술 현미경 아래에서 하나하나 분리하고 최후의 후궁절제술을 함께 시행하여 개체신경에서 신경 전도검사를 하는 방법이다. 그러나 이 검사방법은 la 감각신경 섬유와 원심성 운동신경에 미치는 영향을 따로 관찰할 수 있다는 장점이 있는 반면 기존 검사 법처럼 말초신경의 전기생리 변화를 반복 추적 관찰할 수 없다는 단점이 있었다. 또다른 방법⁵⁾도 있지만 역시 신경을 적출하여 산소 perfusion chamber에서 검사를 하는 일회 검사의 한계를 벗어나지는 못하였다.

실제 사람의 말초신경병증에서 감각장애가 주증상이라는 점을 감안한다면 실험동물에서도 감각신경전도검사가 운동신경전도검사보다 더 예민할 것으로 예상된다. 그럼에도 불구하고 말초신경병의 실험동물 연구에서 감각신경전도검사의 추적 관찰 보고가 거의 없었다는 사실은 감각신경의 비침습 전기생리검사가 기술적으로 어렵기 때문인 것으로 생각할 수 있는데 본 연구에서 참조한 Parry 및 Kozu⁶⁾의 감각신경전도검사법은 반복 검사가 가능하다는 점에서 우선 높게 평가할 수 있다. 그뿐 아니라 일반적으로 독성 혹은 대사성 말초신경병에서는 말단부터 몸통부위로 신경 기능장애가 진행하는데, 이 검사 법은 기존 침습적 검사방법보다 더욱 말단부위를 검사하는 방법이기 때문에 과거 이 방면의 연구에서 관찰되지 않았던 전기생리검사의 이상소견이 검출될 가능성이 높다는 장점도 있다.

그러나 이와 같은 운동신경 및 감각신경의 전기생리검사를 시행하는데 가장 큰 문제점은 전위의 진폭 변화가 심하다는 것인데 본 실험에서도 Table 2와 Table 3에서 보이듯이 전위의 진폭 범위가 넓은데 특히 감각신경전도검사에서는 1~110으로 매우 차이가 심함을 보여주고 있다. 이는 비록 해부학적으로 같은 자리에 전극을 삽입하였다 하더라도 전기 자극에 반응하는 근육이나 신경과 활동전극 사이의 거리를 일정하게 유지할 수 없다는 문제에 기인한다고 생각된다. 진폭의 크기가 거리의 제곱에 비례하여서 작아진다는 사실⁷⁾은 이미 잘 알려져 있는데 본 연구에서 진폭의 변화가 일관성이 없었던 것은 전위 발생부위와 검출전극사이의 거리 차이에 따른 진폭의 변화가 크기 때문인 것으로 보이며 바로 이점이 본 연구에서 이용한 비침습 전기생리검사법에서 보완되어야 할 점이라고 하겠다. 그러나 신경전달속도의 측정에는 무관한 현상으로 전위 폭의 변화보다 전달속도의 변화를 측정하는 경우에 본 실험 방법은 매우 편리하면서도 정확하고 또 반복검사가 가능하여 상당한 장점을 갖고 있는 방법이라고 볼 수 있다.

결 론

실험용 흰쥐에서 유발된 말초신경병을 확인하고 경과를 추적 관찰하거나 치료약제의 효과 판정 등에 사용될 수 있는 전기생리검사인 운동 및 감각신경전도검사 방법을 과거에 발표된 방법을 토대로 새로이 반복검사가 가능한 방법으로 개발하여 그 정확성을 확인해 보고 그 자세한 방법과 결과를 기술하였다.

References

- 1) Uy QL, Moens TH, Johns RJ, Owens AH : Vincristine

- neurotoxicity in rodents. Johns Hopk Med J 1967 : 121 : 349-360*
- 2) Bradley WG : *The neuromyopathy of vincristine in the guinea pig-An electrophysiological and pathological study. J Neurol Sci 1970 : 10 : 133-162*
 - 3) Fullerton PM : *Chronic peripheral neuropathy by lead poisoning in guinea-pigs. J Neuropath Exp Neurol 1966 : 25 : 214-236*
 - 4) Goldstein BD, Lowndes HE, Cho ES : *Neurotoxicology of vincristine in the cat-electrophysiological studies. Arch Toxicol 48 : 253-264, 1981*
 - 5) Favaro G, Gregorio FD, Panozzo C, Fiori MG : *Ganglioside treatment of vincristine-induced neuropathy, an electrophysiologic study. Toxicology 1988 : 49 : 325-329*
 - 6) Parry GJ, Kozu H : *Piroxicam may reduce the rate of progression of experimental diabetic neuropathy. Neurology 1990 : 4- : 1446-1449*
 - 7) Buchthal F, Guld C, Rosenfalck P : *Volume conduction of the spike of the motor unit potential investigated with a new type of multielectrode. Acta Physiol Scan 1957 : 38 : 331-354*