

가토의 좌골신경봉합술후 저전류 직류 자극이 좌골신경의 재생에 미치는 영향

고신대학교 의학부 정형외과학 교실
울산병원 정형외과*
고신대학교 의학부 재활의학과 교실†

김재도 · 문용식 · 권영호 · 이규용* · 정호중†

The Effect of Direct Current Electric Stimulation on the Regeneration of Sciatic Nerve after Neurorrhaphy in Rabbit

Jae Do Kim, M.D., Yong Sik Moon, M.D., Young Ho Kwon, M.D.,
Kyu Yong Lee, M.D.*, Ho Joong Cheong, M.D.†

Department of Orthopaedic Surgery, Kosin Medical College
*Department of Orthopaedic Surgery, Ulsan Hospital**
Department of Rehabilitation Medicine, Kosin Medical College†

Abstract

Background Although the application of d.c electric current has been proposed as a means to improve peripheral nerve regeneration, its usefulness has not been firmly established. The present study was, therefore, undertaken to reevaluate the effect of d.c. current on the regeneration of peripheral nerve and to determine if intraoperative stimulation and recording technique is practical in clinics. **Method** Sciatic nerves of rabbits were transected and sutured with 8-0 prolene. The sutured nerves were then either treated with 15 μ A d.c.

current for 1, 2, or 3 weeks (Neurorrhaphy + d.c. group) or maintained without any treatment (Neurorrhaphy group). At one-week intervals after operation, compound muscle action potentials and intraoperative compound nerve action potentials were recorded in each group to evaluate the functional recovery of the nerve. At the end of third week experiments, sciatic nerve samples were prepared for histologic examination of regeneration.

Result There existed a significant positive correlation between the onset latencies of intraoperative nerve action potential and compound muscle action potential($r=0.68$, $p=0.003$). Histologic examination indicated that sciatic nerve of the Neurorrhaphy +d.c. 1-week group contain less vacuoles than those in controls and the number of myelinated fibers in the Neurorrhaphy+d.c. 1-week group(1685 ± 321) was significantly($p<0.05$) higher than that in the Neurorrhaphy group after 3 weeks(1324 ± 374). The results of the study demonstrated that while excellent regeneration occurred on the sciatic nerve treated with d.c. electric field for 1 week, the long application of d.c. electric fields could not support the regeneration of peripheral nerve. **Conclusion** Such results indicate that short applied d.c electric field might decrease the latency period, or the extent of retrograde dieback. These results suggested that intraoperative use of stimulating and recording technique was practical and useful.

Key Word : Nerve regeneration. d.c. electric stimulation. Intraoperative compound nerve action potential.

서 론

최근 말초신경계 손상의 재생에 관해 많은 연구가 진행되고 있으며, 저전류 전기장이 말초 신경 재생을 촉진한다고 보고되고 있다.¹⁻³⁾ Borgen 등⁴⁾은 기니피그 척수손상 후 손상된 척수에 직접 직류전기장을 이용한 전기자극을 줄 때 피부체간근 반사등의 기능회복이 촉진하는 것을 보고한 후 McDevitt 등⁵⁾은 $10\mu A$ 직류 전기장을 쥐의 좌골신경 문합부에 1일 자극한 후 좌골신경재생이 촉진되는 것을 보고하였으며, 최근 Shen과 Zhu는⁶⁾ 흰쥐 좌골신경에 직류 전기장 $0.63\mu A$ 를 3주동안 자극한 후 말초신경 재생이 촉진됨을 보고하였다. 이와는 반대로 Hanson과 McGinnis 등²⁾은 흰쥐 좌골신경을 $10\mu A$ 직류전기장에 노출시킨 후 축삭 재생을 조직학적으로 관찰한 결과, 직류 전기장 노출에 의해 좌골신경의 축삭 재생이 억제됨을 관찰,

보고하였다.

말초신경손상에 대한 검사방법으로는 근전도 검사, 체성감각유발전위 검사, 조직검사, 생화학 검사 등이 있다. 이중 근전도검사는 축삭과 수초의 손상정도, 현재의 기능 상태 및 예후 판정까지 가능한 검사로 정확하고 예민하며 객관성이 높은 것으로 알려져 있다.^{4,7)} 술중 복합신경활동전위 측정법(intraoperative compound nerve action potential)은 수술 중 신경 자극전극과 기록전극을 직접 말초신경에 부착하여 신경전도 및 신경활동전위 진폭을 측정하는 것으로써,¹⁾ 술중 신경 손상정도 및 예후 판정을 할 수 있는 장점 때문에 최근에 그 이용율이 증가하고 있다.

본 실험에서는 신경 절단 후 봉합한 가토 좌골신경을 $15\mu A$ 의 직류 저전류장에 1주, 2주 또는 3주간 지속적으로 노출시킨 다음 말초신경의 재생을 조직학적으로 조사함과 동시에 기능적 회복을 술중 복합신경 활동전위 검사와

기존의 표준화된 복합근 활동전위검사를 통해 비교함으로써, 말초신경 손상 중 가장 흔한 외상성 손상인 직류 저전기장 자극이 말초 신경 재생에 미치는 영향과 술중신경활동전위 검사의 효율성을 연구하였다.

연구대상 및 방법

암수 구별 없이 생후 7개월 된 체중 2-3kg의 가토 36마리를 대조군, 실험군으로 나누었다. 실험군은 각각 2군으로 신경봉합군(실험군 A)과 저전류 전기자극군(실험군 B)으로 세분하였고, 실험군 A는 15마리 가토에서 좌골신경 절단후 신경봉합을 시행하고 각각 5마리씩 3군으로 세분하여 1주, 2주, 3주후에 신경전도검사를 실시하였다. 실험군 B는 15마리 가토를 각각 5마리씩 3군으로 세분하였고, 좌골신경을 절단한 후 신경을 봉합하고 세분된 각 군마다 1주, 2주, 3주씩 저전류 직류전기를 지속적으로 자극하였다. 대조군은 좌골신경에 손상을 가하지 않은 6마리의 가토였다.

1) 좌골신경의 저전류 전기자극

각 군의 가토를 전신마취한 다음 양와위로 고정하여 대퇴부 중상부위를 중심으로 5cm 표피를 종절개하였고, 전외측 도달법을 이용하여 대퇴이두근과 내측광근을 절개 분리한 후 좌골신경을 약 6cm 노출시켰다. 좌골 신경에 저전류 전기자극을 가하기 위하여 직경 0.6mm의 silastic관으로 피복된 은선을 좌골신경 봉합부 근위부 20mm 신경주위에 고정시켰다. 좌골신경 봉합 근위부에 음극을 고정하였고 양극 전극은 원위부 비골신경 주위 근육에 고정하였다. 저전류 전기자극기는 Hanson과 McGinnis 등²⁾이 고안한 전기 자극기를 변형하여 제작(한독의료기, Postech)하였다. 전기자극기의 무게는 5gm, 원통형(3x1x1.5cm)모양으로, 6V battery

에 15 μ A 구형파가 흐르도록 제작하였다. 저전류 전기자극기는 피하에 고정시켰다.

2) 신경전도 검사

복합근활동전위(CMAP) 및 술 중 복합 신경 활동전위(CNAP)는 Excell Plus(Cadwell Lap. Inc. USA)근전도기를 이용하여 각각의 잠시를 측정하였다. 복합근활동전위검사를, 경피쌍극 전기자극으로 좌골결절 상부에서 자극하였으며, 기록전극의 활성전극은 단극 침전극을 사용하여 가자미근의 중앙에 삽입하고, 기준전극은 표면전극으로 활성전극의 하방에 부착하였다. 여과설정은 10Hz-10KHz, 소인속도와 진폭은 각각 2msec/div와 500uV-2mV/div로 설정하였다.

술중 복합신경활동전위 검사는 좌골신경 근위부에서 Surgical Double Pole Nerve Electrode(Medelec, USA)로 자극하고, 5-6cm 하방의 총비골신경에서 Surgical Double Pole Nerve Electrode로 기록전극을 설치하였다. 여과설정은 10Hz-10KHz, 소인속도와 진폭은 각각 1msec/div와 50-200uV/div로 하였다.

3) 조직 검사

실험 3주째에 신경전도 검사 후 노출된 좌골신경을 육안적으로 관찰한 뒤 실험한 부위를 포함하여 약 3cm를 절제하여 toluidine blue 및 hematoxylin & eosin 염색한 후 유수신경 섬유 변화의 변화를 광학현미경 100, 400배율로 각각 5배에서 관찰하여 유수신경 섬유수를 산출하였다.

4) 통계학적 검정

통계 검정은 PC-SAS (windows for 6.11)을 이용하여 Wilcoxon signed rank test로 하였고, 술중 신경활동전위와 복합근활동 전위의 상관관계는 Pearson 상관계수로 검정하였다.

결 과

1. 전기 생리학적 관찰

근전도기를 이용한 복합근활동전위검사(Compound muscle action potential)상 대조군에서는 잠시가 0.42 ± 0.27 ms이었다. 신경봉합 후 저전류 전기자극 1주일군의 발생잠복기는 1주, 2주, 3주후에 각각 1.25 ± 0.12 , 1.23 ± 0.32 , 1.17 ± 0.25 msec였으며 신경봉합후 저전류 전기자극에 노출되지 않은 신경봉합군의 잠시는 1주, 2주, 3주 후에 1.53 ± 0.25 , 1.22 ± 0.26 , 1.19 ± 0.14 msec로서 전자가 후자에 비해 1주 후의 잠시에서 유의하게($p < 0.05$) 낮은 값을 보였다(Table 1).

슬중 신경활동 전위검사(intraoperative nerve action potential)상 대조군에서는 잠시가 0.42 ± 0.27 ms이었다. 신경봉합 후 저전류 전기자극 1주일군의 발생잠복기는 1주, 2주, 3주후에 각각 1.54 ± 0.21 , 1.39 ± 0.22 , 1.25 ± 0.25 ms 인 반면 저전류 전기자극에 노출되지 않은 신경봉합군의 발생잠복기는 1.97 ± 0.26 , 1.58 ± 0.26 , 1.47 ± 0.14 ms로서 저전류 전기자극군의 발생잠복기가 비자극군의 발생잠복기보다 신경봉합 1주후에는 유의하게($p < 0.01$) 짧았으나 2주 및 3주 후에는 오히려 길어지는 경향을 보였다(Table 2). 복합근활동전위 검사와 수술중 복합 신경활동전위검사(Compound muscle action potential)에서 1주간 저전류 전기자극군의 잠시는 유의한 양의 상관성을 보였다($r = 0.68$, $p = 0.003$).

Table 1. The latency of onset of compound muscle action potential

Group	Latency of onset (msec)		
	1 week	2 weeks	3 weeks
Neurorrhaphy with d.c. group [†]			
Day 7	$1.25 \pm 0.12^*$	1.23 ± 0.32	1.17 ± 0.25
Day 14		1.52 ± 0.19	1.38 ± 0.19
Day 21			1.30 ± 0.25
Neurorrhaphy only	1.53 ± 0.25	1.22 ± 0.26	1.19 ± 0.14
Control	1.13 ± 0.17		

Values are means $\pm$ SD ; n=5.

* Significantly different ($p < 0.05$) from the corresponding value in Neurorrhaphy group by Wilcoxon signed rank test.

[†] d.c group : The sutured nerve was treated with 15μ A direct current

Table 2. The latency of onset of intraoperative compound nerve action potential

Group	Latency of onset (msec)		
	1 week	2 weeks	3 weeks
Neurorrhaphy with d.c. group [†]			
Day 7	$1.54 \pm 0.12^*$	1.39 ± 0.22	1.25 ± 0.25
Day 14		1.71 ± 0.26	1.48 ± 0.19
Day 21			1.50 ± 0.21
Neurorrhaphy only	1.97 ± 0.26	1.58 ± 0.26	1.47 ± 0.14
Control	1.12 ± 0.15		

Values are means $\pm$ SD ; n=5.

* Significantly different ($p < 0.01$) from the corresponding value in Neurorrhaphy group by Wilcoxon signed rank test.

[†] d.c group : The sutured nerve was treated with 15μ A direct current

2. 조직학적 관찰

정상 대조군 좌골신경의 횡단면은 hematoxylin & eosin 염색에서(100배율, 400배율) 유수신경 섬유는 중심부에 축삭이 위치하고 주위로 ring형태로 Schwann 세포가 둘러싸고 있으며 특히 toluidine blue염색에서 명확히 관찰된다. 종단면에서는 Schwann 세포와 축삭이 물결모양으로 종적으로 배열되어 있음을 보여주고 있다(Fig. 1).

1주간 저전류 전기장에 노출한 후, 실험 3주째 좌골신경의 횡단면 hematoxylin & eosin 염색에서 대조군에 비하여 공포성 변성이 적었으며(Fig. 2), toluidine blue염색시 유수신경의 수도 신경봉합군에 비하여 증가된 소견을 보였다(Fig. 3). 유수 신경섬유수는 1주간 저전류 전기장에 노출후 3주째 1685 ± 321 로 신경봉합군의 1324 ± 374 보다 유의하게 증가하였다($p=0.041$) (Table 3).

Table 3. Number of myelinated fiber at 3 weeks

Group	Myelinated fiber
Neurorrhaphy with d.c. group	
Day 7	$1685 \pm 231^*$
Day14	1483 ± 261
Day21	1397 ± 311
Neurorrhaphy only	1324 ± 374
Control	5632 ± 391

* Data represent means $\pm$ SD ; n=5.

* Significantly different($p<0.05$) from the value in Neurorrhaphy only group by T-test.

† d.c group : The sutured nerve was treated with $15 \mu A$ direct current

고 찰

말초신경 손상 후 기능회복을 위한 전기치료법에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다. 그러나 손상된 말초신경을 저전류 직류전기장에 노출시킨 후 신경재생이 촉진한다는 보고와 신경

재생이 억제된다는 상반된 보고가 있어서, 본 실험에서는 가토 좌골신경을 절단 후 저전류 전기자극을 하지 않은 신경봉합한 군과 지속적 저전류 전기장에 노출시킨 신경봉합군 사이의 신경재생 차이를 비교하였다.

전기자극시 손상신경 근위부에 음극으로 자극하면 신경재생이 촉진하고 양극을 근위부에 자극하면 억제된다는 연구결과에 따라,^{8,9)} 본 실험에서도 원위부에 양극을, 봉합부위 20mm 근위부에 음극전극을 고정하였다. 현재까지 보고된 연구에 따르면 지속적인 저전류 전기자극을 $0.6 \sim 15 \mu A$ 까지 다양하게 자극하여 신경재생 효과를 관찰하였다.^{1,3,4)} 본 실험에서는 $15 \mu A$ 저전류 전기자극 하여 초기 신경재생 효과를 연구하였는데, $15 \mu A$ 의 저전류 전기장을 7일간 자극한 가토 좌골신경에서 저전류 전기자극하지 않은 신경봉합군보다 빠른 신경 전도속도 및 짧은 잠복기를 보였다. 이러한 결과는 Kern과 Freeman이³⁾ $0.6 \mu A$ 로 자극한 쥐의 좌골신경 재생이 촉진된다는 보고와 일치하였다. 따라서 $0.6 \sim 15 \mu A$ 범위의 저전류 전기자극은 신경재생을 촉진하며, 본 실험결과와 같이 초기 1주일 전기자극이 신경재생을 촉진하는 이유는 저전류 전기자극이 신경재생 초기 잠복기의 단축과 후향성 신경변성(dieback) 현상이 감소되기 때문이라는 생각된다.⁹⁾

저전류 전기자극이 신경재생을 촉진시키는 기전은 손상된 신경의 기능회복을 위한 신경재생의 기본적인 필수적인 과정인 sprouting기전을 촉진시키는 것인데, 이는 신경축삭에 음전류로 전기자극하면 손상된 신경축삭내 calcium 유입이 감소하여 축삭의 변성을 예방할수 있어 축삭의 손상이 감소되고,⁴⁾ 또한 세포막에 있는 단백질에 영향을 미쳐서 신경의 재생을 촉진시키는 것으로 보고되었다.¹⁰⁾

말초신경 손상 후 신경재생의 정도를 평가하는 방법은 신경 자체의 재생정도를 평가하는 방법과 신경의 지배를 받는 말단 기관의 기능회복 정도를 평가하는 방법이 있다.^{3,11)} 신경 재생의 궁극적인 목적이 그 신경의 지배를 받는

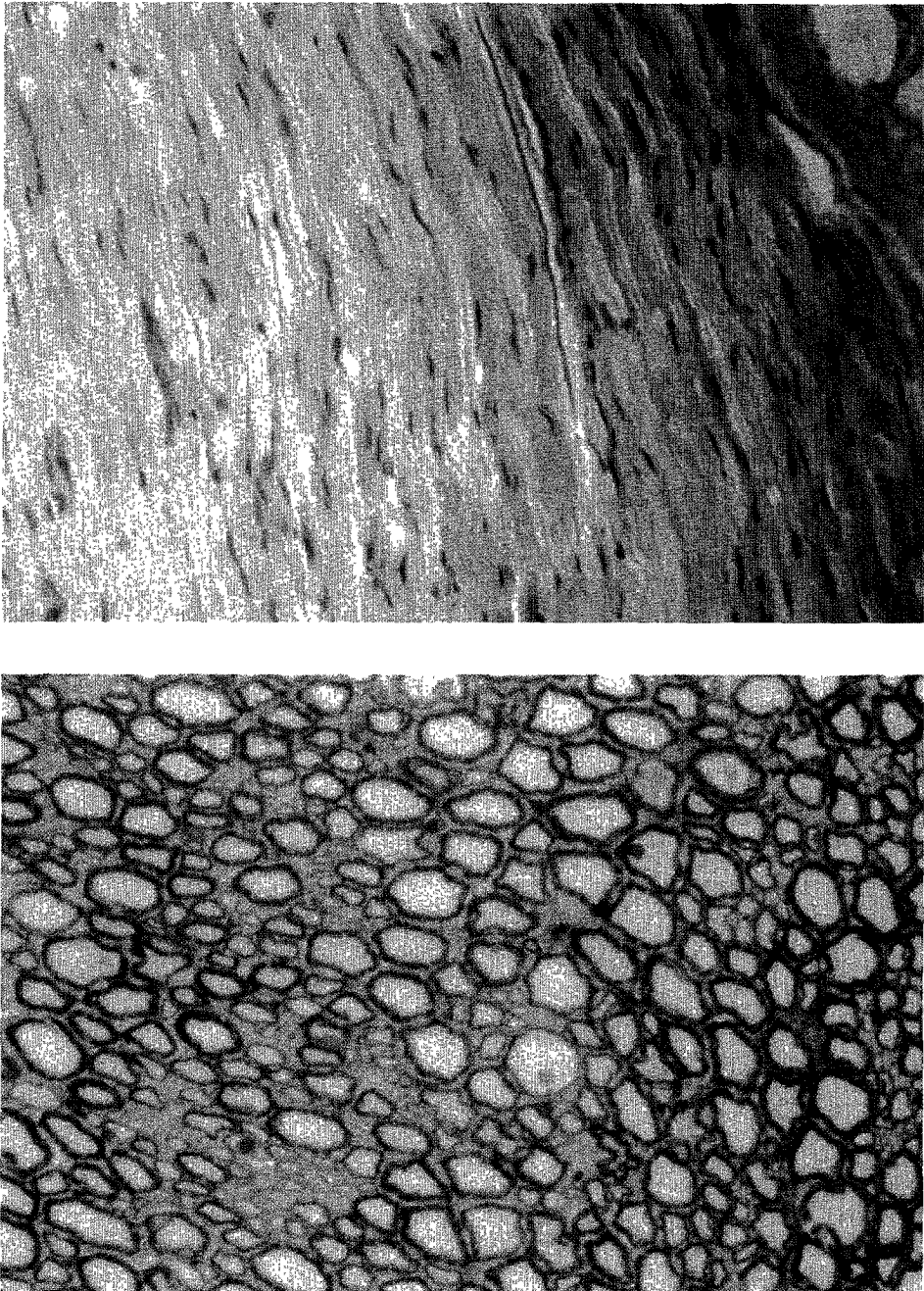


Fig. 1. Normal architecture of nerve fibers of control group.
A : Longitudinal section of sciatic nerve(H&E stain, x 100)
B : Cross section of sciatic nerve(Toluidine blue stain, x 400)

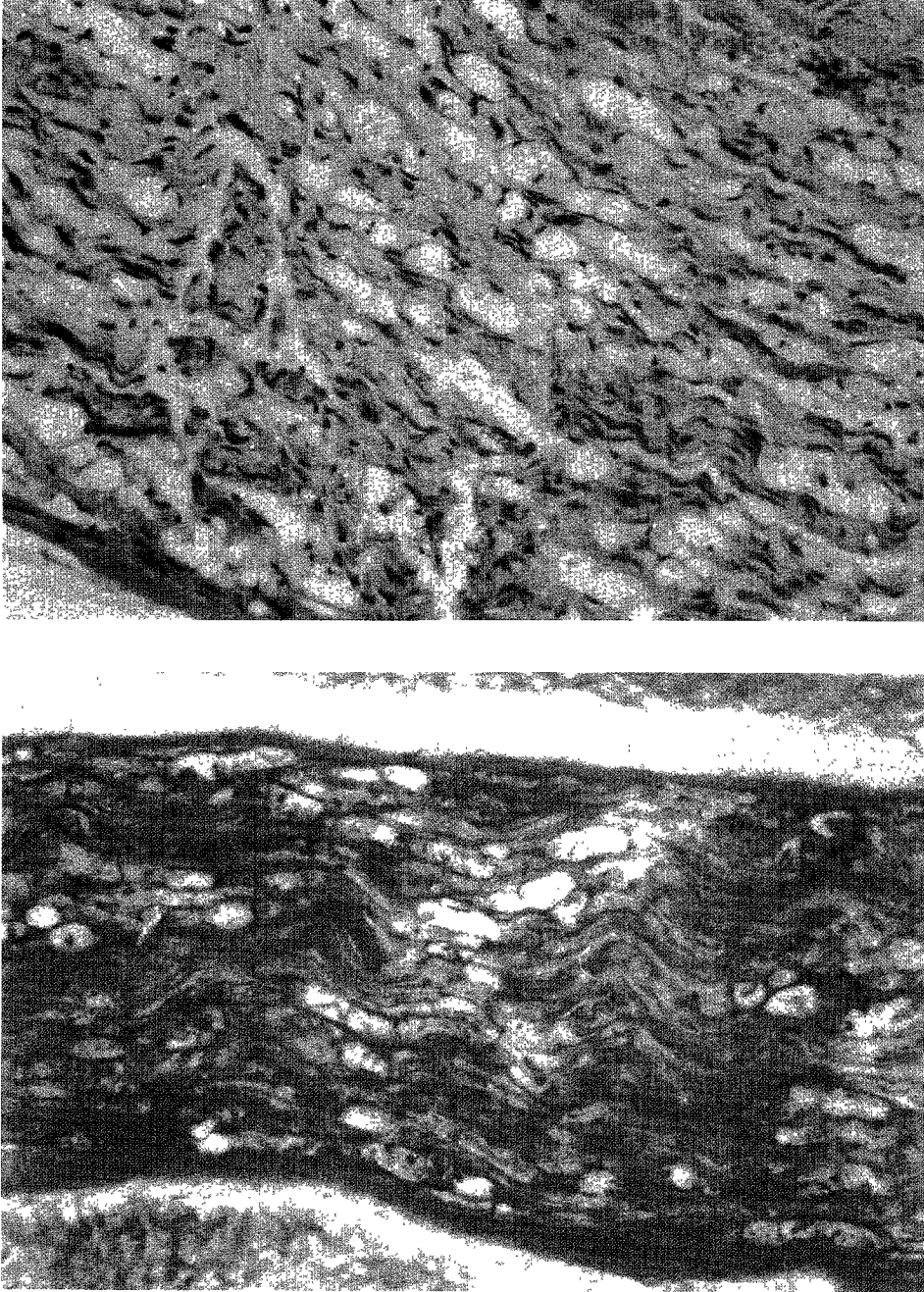


Fig. 2. Change of nerve fiber on longitudinal section of sciatic nerve(H&E stain x 400)
A : Diffuse degenerative change of nerve fiber in neurorrhaphy groups.
B : Minimal degenerative change of nerve fiber in d.c. treated groups.

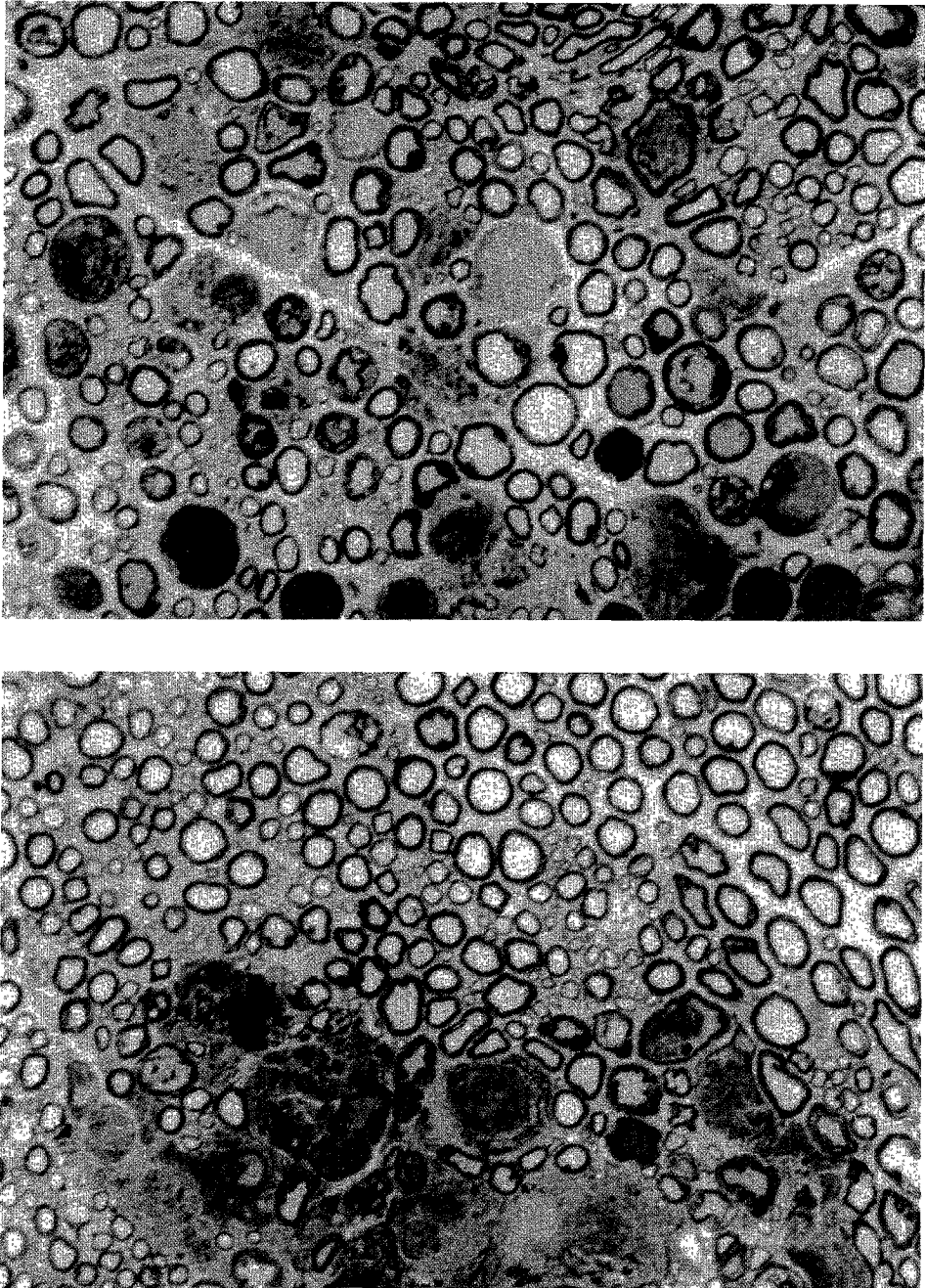


Fig. 3. Change of nerve fiber on cross section of sciatic nerve(Toluidine blue x 400)
A : Widespread axonal degeneration in neurorrhaphy groups.
B : A population on fall out in myelinated fiber in d.c. treated groups.

말단 기관의 기능회복인 만큼 두가지 방법중 후자의 방법이 더 이상적이어서 현재 이를 위해 사용되고 있는 전기생리학적 방법과 신경자체에 대한 재생의 평가방법인 신경 세포, 신경 섬유, 형태학적 관찰 계측을 병행하여 검사하였다.²⁾

최근에 표준화된 복합 근활동전위 검사 대신 술중 직접 손상된 말초신경에 자극전극 및 기록전극을 부착하여 신경손상 정도 및 예후 판정이 가능하며, 검사 비용이 저렴한 술중 신경활동 전위검사에 대한 연구 보고가 있어,¹⁾ 본 실험에서도 기존의 복합근활동 전위검사와 수술중 신경활동전위 검사를 비교하였는데, 복합근활동 전위검사에서의 정상 가토좌골신경의 잠시는 1.13msec이었으며, 이는 김희상과 안경희 등²⁾이 보고한 1.20msec와 유사한 소견을 보였다.

복합근 활동전위 검사와 수술중 신경활동 전위검사의 결과값은 차이가 있었지만 시간 경과에 따른 실험군의 발생 잠복기의 변화 양상은 유사하였다. 복합근활동 전위검사 결과는 Kerns 등⁸⁾의 결과와 차이가 없었지만, 술중 신경전도 검사는 연구보고가 거의 없어, 향후 반복적인 실험으로 표준화시키면 임상에서 유용하게 이용할 수 있을것으로 생각된다.

결 론

말초신경 손상의 가장 흔한 원인인 외상성 열상을 가한 후 봉합 한 가토 좌골신경을 지속적인 직류 저전류장 $15\mu A$ 로 자극하여 1주, 2주, 3주 후 말초신경 재생의 조직학적 변화를 관찰함과 동시에 기능적 회복을 술중 신경활동 전위 검사와 기존의 표준화된 복합 근활동 전위검사를 통해 조사하여, 말초신경에 직류저전기장을 자극하는 것이 신경재생에 미치는 영향과 술중 신경 활동전위 검사의 효율성을 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

수술중 신경활동 전위검사에서 잠시는 저전류 전기자극 1주일군에서 신경봉합군의 잠시보다 짧은 경향을 보였으며 특히 1주 후의 값은 전기자극군이 비자극군에 비해 유의있게 짧았으며, 복합근활동전위 검사와 수술중 신경활동 전위검사에서 1주간 저전류 전기자극군의 잠시는 유의한 양의 상관성을 보였다. 수술중 신경활동전위 검사에서 신경봉합 후 신경전도속도는 지속적 저전류전기자극 1주군에서 신경봉합만을 실시한 군의 신경 전도속도보다 빠르게 나타났다.

조직학적 검사상 실험 3주째 신경봉합 후 지속적 저전류 전기장 1주 처리한 좌골신경은 신경봉합만을 실시한군에 비하여 공포성 변성이 적었으며, 유수신경의 수도 증가된 소견을 보였다. 따라서 말초신경 손상 후 첫 1주일 동안의 저전류 전기자극이 초기 신경재생을 촉진시킬 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Beek AV, Hubble DB, Kinked L, Torros S, and Hans Suchy BS : Clinical use of nerve stimulation and recording techniques. Plast Recon Surg 2 : 225-236, 1983
2. Hanson SM, and McGinnis ME : Regeneration of rat sciatic nerves in silicone tubes : Characterization of the response to low intensity d.c. stimulation. Neuroscience 58 : 411-421, 1994
3. Kerns JM, Freeman JA, Fakhouri A, and Weinrib H : Effects of D.C. electrical stimulation on nerve regeneration in the rat sciatic nerve. Anat Rec 7 : 11-20, 1986
4. Borgens RB, Roderer E, and Cohen M J : Enhanced spinal cord regeneration in lamprey by applied electrical field. Science 213 : 611-617, 1981
5. McDevitt L. Fortner P, and Pomeranz

- B : Application of weak electric field to the hindpaw enhances sciatic motor nerve regeneration in the adult rat. *Brain Res* 416 : 308-314, 1987
6. Shen NJ, and Zhu JK : Experimental study using a direct current electrical field to promote peripheral nerve regeneration. *J Recon Microsur* 11 : 189-193, 1995
7. Golseth JG, and Fizzel A : Electromyographic studies on cats after section and suture of the sciatic nerve. *Am J Physiol* 150 : 588-594, 1947
8. Kerns JM, Pavkovic JM, Wickersheim KL, and Freeman JA : An experimental implant for applying a DC electrical field to peripheral nerve. *J Neurosci Method* 19 : 217-223, 1987
9. Pomeranz B, Mullen M, and Markus H : Effects of applied electrical fields on sprouting of intact saphenous nerve in the adult rat. *Brain Res* 303 : 331-340, 1984
10. Patel NB, and Poo MM : Perturbation of neurite growth by pulse and focal electric fields. *J Neurosci* 4 : 2939-2947, 1984
11. Bain JR, Mackinnon SE, and Hunter DA : Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg* 83 : 129-138, 1989
12. 김희상, 안경희 : 토끼에서 Ganglioside의 말초신경 재생효과에 대한 실험적 연구. *대한재활의학학회지* 16(2) : 154-167, 1992