

박사학위논문

홍삼이 흰쥐 Punch Drunk Syndrome 모형의
학습 및 기억장애에 미치는 영향

지도교수: 손 낙 원

경희대학교 대학원

한의학과

이 민 영

2007년 2월

홍삼이 흰쥐 Punch Drunk Syndrome 모형의
학습 및 기억장애에 미치는 영향

지도교수: 손 낙 원

이 논문을 한의학 박사학위 논문으로 제출함.

경희대학교 대학원

한의학과

이 민 영

2007년 2월

이민영의 한의학 박사학위 논문을 인준함.

주심교수: 신 현 대 (인)

부심교수: 이 중 수 (인)

부심교수: 정 석 희 (인)

부심교수: 정 혁 상 (인)

부심교수: 손 낙 원 (인)

경희대학교 대학원

2007년 2월

목 차

List of Figures

List of Tables

I. 서 론	1
II. 실험방법	3
1. 동물 및 재료	3
2. Punch Drunk Syndrome 유발	4
3. 홍삼의 투여	5
4. Morris 수중미로 장치에 의한 학습 및 기억능력 측정	6
5. 공간 기억력 유지 검사	7
6. 뇌조직의 처리	8
7. 면역조직화학염색	9
8. 통계처리	9
III. 실험성적	10
1. 반복적인 두부충격에 의한 PDS 모형의 유의성	10
2. 홍삼이 PDS 모형 흰쥐의 학습능력에 미치는 영향	12
3. 홍삼이 PDS 모형 흰쥐의 유영패턴에 미치는 영향	15
4. 홍삼이 PDS 모형 흰쥐의 기억능력에 미치는 영향	17
5. 홍삼이 PDS 모형 흰쥐 뇌조직의 HIF-1 α 단백질 발현에 미치는 영향	21
IV. 고 찰	29
V. 결 론	35
VI. 참고문헌	36
ABSTRACT	44

List of Figures

Fig. 1. Schematic diagram of experimental schedule	4
Fig. 2. Schematic diagram of the experimental PDS device	5
Fig. 3. Schematic diagram of Morris water-maze	7
Fig. 4. Schematic diagram of graded zones divided by the distance from the platform	8
Fig. 5. Representative photographs of hypodermal bleeding	11
Fig. 6. Effect of Red Ginseng on escape latency of PDS rats	14
Fig. 7. Representative swimming pathways in water maze	16
Fig. 8. Effect of Red Ginseng on memory retention score of PDS rats	18
Fig. 9. Effect of Red Ginseng on swimming times in graded zones during memory retention test of PDS rats	20
Fig. 10. Representative sections of HIF-1 α expressions in hippocampus	23
Fig. 11. Representative sections of HIF-1 α expressions in cerebral cortex	25
Fig. 12. Representative sections of HIF-1 α expressions in caudate putamen	27

List of Tables

Table 1. Changes of Memory Retention Score in Pilot Study for PDS-Model Setting	11
Table 2. Changes of Escape Latency of PDS Rats	13
Table 3. Changes of Memory Retention Score of PDS Rats	18
Table 4. Changes of Swimming Times in Graded Zones during Memory Retention Test of PDS Rats	19
Table 5. Changes of HIF-1 α Immuno-Reactivity in Brain Regions of PDS Rats	22

I. 서론

외상성 뇌손상 (traumatic brain injury)은 외부 충격에 의한 뇌의 손상으로 일시적이거나 지속적인 장애 또는 전체적인 기능장애를 야기하여 심리·사회적 부적응을 일으킬 수 있는 손상이라 정의된다.^{1,2)} 교통사고, 낙상, 폭행, 스포츠 손상에 의해 주로 발생되며,^{3,4)} 의식의 감소나 변화가 일어나고, 인지능력과 신체기능에 장애를 초래한다.^{5,6)} 지속적 외상성 뇌손상의 일종인 권투선수명정증후군 (Punch Drunk Syndrome, PDS)은 권투선수치매 혹은 진행성 외상성 뇌질환이라고도 하며, 반복적인 뇌진탕에 의해서 기억력과 지능 정도가 떨어지고, 복합정보처리 및 의사소통 장애와 같은 인지적인 결함이 나타날 수 있다.⁷⁻⁹⁾ 또한 공격성, 무감동, 우울증과 같은 행동결함과 운동장애로 인한 편마비와 사지마비, 균형감각 감소, 운동기능의 실조와 협응장애 및 감각결함 역시 유발될 수 있다.¹⁰⁻¹²⁾

점차 과격한 운동경기를 선호하는 사회적 분위기 속에서 권투선수뿐만 아니라 각종 격투기 경기자, 더 나아가 축구 등 신체접촉 운동경기자들에게도 PDS 발생이 우려되고 있다.^{13,14)} 현재 많은 은퇴 권투선수들이 PDS로 고통받고 있는 상황이지만 이에 대한 의학적 개선 및 치료대책이 명확하지 못한 상태이다.¹⁵⁾ 이에 저자는 PDS에 대한 한약물의 효능을 연구하고자 하였다.

한국 홍삼 (Red Ginseng)의 다양한 효능 중 뇌질환과 관련하여, 뇌허혈 손상으로 인한 신경세포의 감소와 해마 신경세포의 손상 등에 대하여

방어효능이 있다고 보고되어 있다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 특히 해마 손상,¹⁹⁾ 노령,^{19,20)} ethanol,²¹⁾ scopolamine²²⁾ 등에 의한 학습 및 기억 장애에 대하여 홍삼이 유의한 개선 효능을 나타내었다고 보고되어 있고, 임상적으로도 유의하다고 하였다.²³⁾ 그러나 권투선수명정증후군과 같은 반복적인 외상성 뇌 손상에 의한 학습 및 기억 장애에 대한 효능을 보고한 연구는 찾아볼 수 없었다.

본 연구에서는 실험동물에 장기적이고 반복적인 물리적 두부충격을 가하는 방법으로 PDS에 해당하는 실험동물 모형을 설정하고, 수중미로 검사를 통하여 공간인지 학습수행과 기억력에 대한 행동변화의 관찰 및 5주간의 홍삼 투여가 학습수행과 기억력 증진에 미치는 영향을 관찰하였으며, 뇌 부위별 HIF-1 α 단백질 발현의 변화를 관찰한바 유의한 결과를 얻어 이에 보고하는 바이다.

II. 실험방법

1. 동물 및 재료

1) 동물

실험동물은 샘타코(주)에서 구입한 약 200-250 g 사이의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 흰쥐는 온도 (21~23 ℃), 습도 (40~60 %), 조명 (12 시간 명/암)이 자동적으로 유지되는 사육실에서 음용수와 사료가 자유롭게 공급되었으며, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2) 약물의 제조

한국담배인삼공사 (KT&G)에서 구입한 홍삼 300 g을 2,000 ml의 증류수로 전탕하고, 여과액을 rotary evaporator로 감압 농축한 후 동결건조 (-70 ℃, 10 mmHg)하여 66.0 g의 건조된 분말엑기스를 얻었으며, 수율은 22 % 이었다.

3) 실험군의 구분

실험동물을 무작위로 분류하여 정상군 (Normal), 대조군 (Control), 그리고 홍삼투여군 (Red Ginseng)으로 나누었다. 대조군과 홍삼투여군의 실험동물 모두에게는 무게추를 사용한 장치를 이용하여 PSD를 유발시켰다. 홍삼투여군은 PSD유발 전과 후 40일간 홍삼추출물을 경구투여 하였

으며, 대조군에는 생리식염수를 동량 경구투여 하였다.



Fig. 1. Schematic diagram of experiment schedule. Red Ginseng extract and normal saline were given orally once daily over whole research.

2. Punch Drunk Syndrome 유발

PDS는 무게추 낙하모델 (weight-drop model)을 응용하여 유발하였다.²⁴⁾ 흰쥐를 가볍게 마취시킨 상태에서, 둥근 형태 고무 재질의 65 g 무게추를 30 cm 높이에서 진자운동을 유발하여 흰쥐의 두부를 타격하도록 하였다 (Fig. 2). 운동량 보존법칙($\frac{1}{2}mv^2 = mgh$)에 의하여, 30 cm 높이에서 자유낙하 시킬 경우 무게추가 흰쥐를 가격할 때의 속력이 약 2.4 m/s 이므로, 이때의 충격량은 약 0.16 Ns ($\text{kg} \cdot \text{m/s}$)가 된다. 장치를 이용한 실험동물에의 타격은 오전과 오후 각 20회씩 1일 총 40회 타격하였으며, 이러한 타격을 6주간 시행하였다.

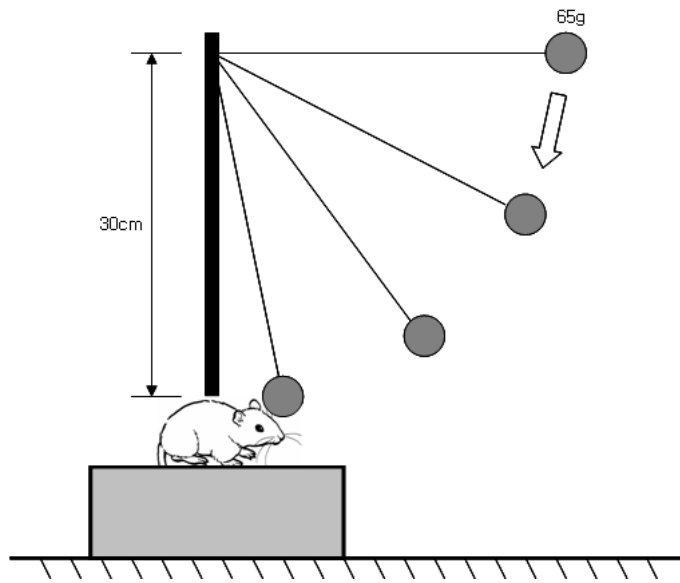


Fig. 2. Schematic diagram of the experimental PDS device. The device has 65 g weighted circular mass. The circular mass was dropped at a height of 30 cm and hit the head of the rat with 0.16 Ns ($\text{kg} \cdot \text{m/s}$).

3. 홍삼의 투여

홍삼은 매일 한차례 일정한 시간인 오전 10시경에 건조엑기스를 생리식염수에 녹여 5주간 투여하였다. 실험동물에의 약물 투여량은 70 kg 성인의 1일 10 g 복용을 가정하고, 흰쥐에 대한 체중비례로 계산하여 체중 100 g 당 14.3 mg을 매일 1회 경구투여 하였다.

4. Morris 수중미로 장치에 의한 학습 및 기억능력 측정

수중미로로 이용되는 수조는 직경이 200 cm, 높이가 35 cm인 원형 스테인리스 수조로 온도가 23 ± 1 °C 되는 물이 20.5 cm 높이로 채워지게 하였다. 수중미로의 주변은 비디오카메라, 실험대, 그리고 수조 주위에 각종 도형의 공간단서 (visual cue)들을 설치하고 동일하게 유지하였다. 도피대는 직경이 14.5 cm, 높이가 20 cm인 원통형 투명 아크릴받침대로 수면보다 약 0.5 cm 낮게 위치시켰다. 또한 흰쥐가 육안으로 도피대를 찾아갈 수 없도록 물에 분유를 일정량 혼합하여 불투명하게 하였다. 수중미로는 사분면으로 나누어 북동 (NE), 북서 (NW), 남동 (SE), 남서 (SW)로 구분하였으며, 이중 북동 사분원의 중심부에 도피대를 설치하고, 반대측인 남서 사분원의 중앙부를 출발지점으로 사용하였다 (Fig. 3).²⁵⁾

학습능력의 측정은 흰쥐들을 수조 속에서 자유롭게 수영할 수 있도록 한 상태에서 숨겨진 도피대를 찾아서 도달하는 시간을 측정하였다. 스스로 도피대를 찾아낸 흰쥐들은 약 10 초간 도피대 위에서 머물면서 자유롭게 주위를 관찰하도록 허용하였으며, 60 초 이내에 도피대를 스스로 찾아내지 못한 흰쥐들은 실험자가 조심스럽게 도피대 쪽으로 유도하여 도피대의 위치를 인지할 수 있도록 학습시켰다. 학습실험은 이러한 방식으로 첫 타격 후 4 주째 되는 날로부터 4 일간 매일 4 회씩 총 16 회를 시행하였다.²⁶⁾ 모든 동물들의 수영패턴은 비디오카메라로 녹화 기록한 후, SMART 프로그램 (ver. 2.5.1, Panlab, Barcelona, Spain)을 이용하여 분석하였다.

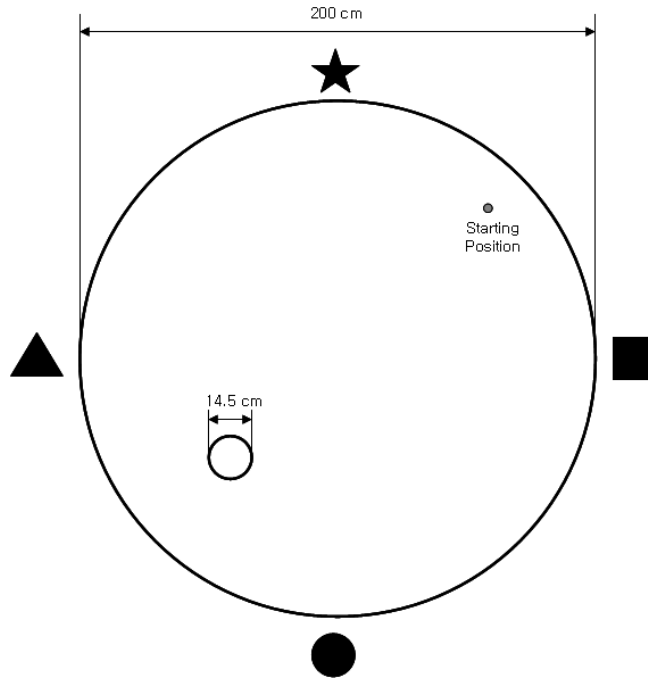


Fig. 3. Schematic diagram of Morris water-maze. The apparatus consisted of a circular water tank (diameter 200 cm) filled to a depth of 20.5 cm with water maintained at 23 ± 1 °C. The water was made opaque by adding milk. A platform (diameter 14.5 cm) was submerged 0.5 cm below the water surface and placed at the midpoint of one quadrant.

5. 공간 기억력 유지 검사

수중미로 검사 마지막 날에는 공간 기억력 유지 검사를 위해서 각 군의 흰쥐들에게 도피대가 제거된 채로 60 초간 자유 수영 검사를 시행하였다. 수조를 5 개의 구역으로 나누고, 도피대로 부터의 거리에 따라 각각의 구역에 서로 다른 점수 (Zone 1, +8; Zone 2, +5; Zone 3, +2;

Zone 4, +1; Platform, +10)를 할당하였으며, 각 실험동물들이 60 초간 자유롭게 수영하며 도피대를 찾는 동안의 수영 궤적을 기록하여 각각의 구역별로 수영한 시간과 부여된 점수의 곱을 합산하여 공간 기억력 유지 능력에 대한 점수를 산출하였다 (Fig. 4).²⁶⁾

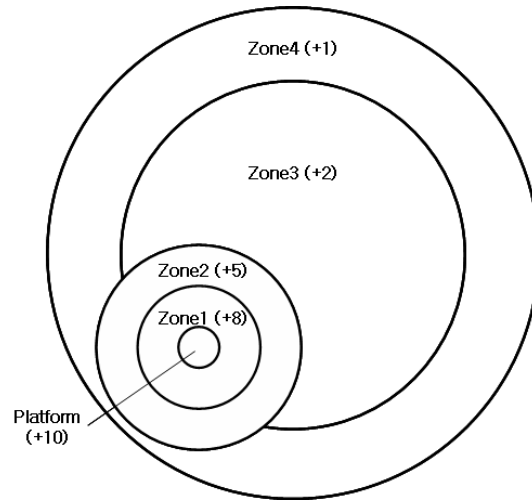


Fig. 4. Schematic diagram of graded zones divided by the distance from the platform. The different points was allocated to each zone (Zone 1, +8; Zone 2, +5; Zone 3, +2; Zone 4, +1; Platform, +10).

6. 뇌조직의 처리

행동실험이 끝난 직후 실험동물을 sodium pentobarbital (25 mg/kg, i.p.)로 마취시키고, 생리식염수 100 ml에 이어 4% formalin 고정액을 심장을 통해 관류하였다. 이후 뇌를 꺼내어 같은 고정액으로 24시간 동안

고정시키고 20% sucrose가 함유된 완충액 (phosphate buffer saline, PBS)에 넣어 4 °C에서 하루 동안 보관하였다. 고정된 뇌는 50 μ m의 두께로 냉동절편하여 면역조직화학염색에 사용하였다.

7. 면역조직화학염색

뇌조직 절편을 0.05 M PBS로 5 분간 3 회 씻어내고, 1% H₂O₂에서 10-15 분정도 반응시킨 다음 다시 3 회 씻어낸 뒤 10% normal goat serum과 bovine serum albumin을 PBS에 섞은 blocking solution에 한 시간 정도 반응시켰다. 이후 3 회 씻어 낸 후, primary antibody를 처리하였다. Primary antibody는 anti-HIF-1 α (NB100-105, 1:100, Novus Biologicals, Colorado, USA)로, PBS와 Triton X-100을 섞은 용액으로 희석한 후 4 °C에서 12 시간 반응시켰다. 이후 조직을 PBS로 씻어내고, abidin-biotin immunoperoxidase의 방법 (ABC Vectastain Kit)에 따라 각각 1 시간씩 반응시켰다. 다음 NiCl₂·H₂O (Sigma, USA)를 섞은 diaminobenzidine tetrachloride (Sigma, USA) 용액에서 5-10분간 발색 반응시키고, 조직을 poly-L-lysine 코팅된 슬라이드에 붙인 후 2-3 시간 건조시킨 다음 탈수, 봉합하여 조직표본을 제작하였다.

8. 통계처리

실험결과분석은 Student's T-test를 행하여 P<0.05를 유의성이 있다고 평가하였다.

III. 실험성적

1. 반복적인 두부충격에 의한 PDS 모형의 유의성

두부충격을 받지 않은 흰쥐의 공간 기억능력이 132.1 ± 10.0 인 것에 비하여, 4 주간 반복적인 두부충격을 받은 흰쥐는 77.5 ± 6.7 , 6 주에는 75.9 ± 3.7 을 나타내어 4 주 이상 두부충격이 지속되는 경우 정상상태에 비하여 공간 기억능력의 유의한 감소가 관찰되었다 (Table 1). 또한 4 주간의 두부충격 후 타격된 부위의 피하에 출혈이 존재하였으나 두개골 아래 뇌 실질에는 육안적인 뇌조직 손상은 관찰되지 않았다 (Fig. 5).

Table 1. Changes of Memory Retention Score in Pilot Study for PDS-Model Setting

	0 week	4th week	6th week
Total Score	132.1±10.0	77.5±6.7*	75.9±3.7**
n	7	8	7

The total scores of each rat were calculated in summation of multiplying swimming times by different points of each zone (Mean±S.E., **; p<0.01 vs 0 week).

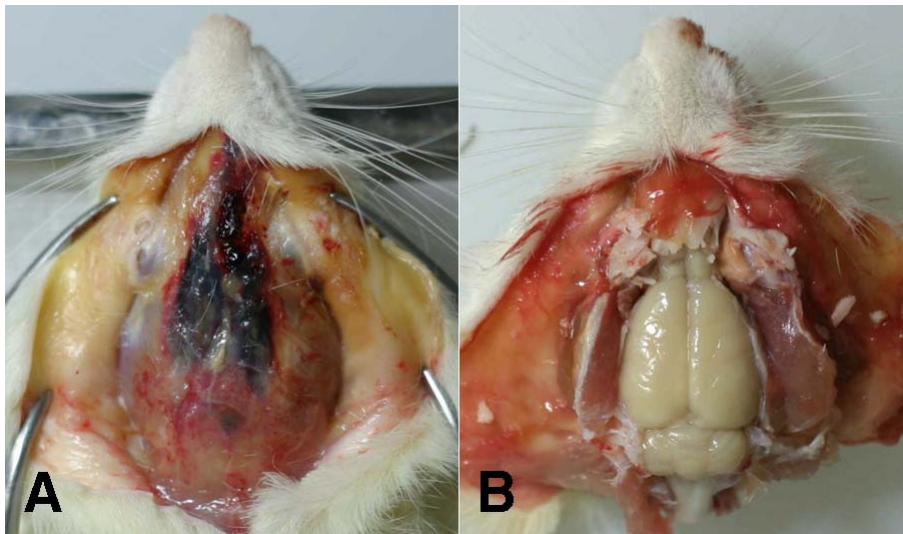


Fig. 5. Representative photographs of hypodermal bleeding. (A) the hypodermal bleeding was induced by weight drop hit, (B) but there was not a damage on the brain.

2. 홍삼이 PDS 모형 흰쥐의 학습능력에 미치는 영향

수중미로 장치 실험에서 각 군의 실험동물들이 도피대를 찾아서 오르기까지의 회피시간 (escape latency)은 Table 2와 같다. 정상군의 경우 학습검사 1 일째 첫 시행에서 105.7 ± 14.3 sec를 기록하고 4, 8, 12 및 16 회 시행에서 각각 53.0 ± 17.6 sec, 27.3 ± 9.2 sec, 30.4 ± 11.4 sec 및 8.6 ± 0.6 sec를 기록하여 학습검사 시행기간동안 전반적으로 측정 횟수가 증가함에 따라 회피시간이 점차 줄어드는 것이 관찰되었다. 반면에 대조군에서는 학습검사 1 일째 첫 시행에서 105.7 ± 14.3 sec를 기록하고 4, 8, 12 및 16 회 시행에서 각각 70.8 ± 16.0 sec, 71.9 ± 18.2 sec, 82.4 ± 18.7 sec 및 64.5 ± 21.0 sec를 기록하여 정상군에 비해 회피시간이 유의하게 감소되지 않았다. 홍삼투여군에서는 학습검사 1 일째 첫 시행에서 101.1 ± 10.0 sec를 기록하고 4, 8, 12 및 16 회 시행에서 각각 55.1 ± 14.1 sec, 61.1 ± 13.0 sec, 60.9 ± 14.4 sec 및 12.9 ± 3.4 sec를 기록하여 시행 횟수에 따른 회피시간이 대조군에 비해서 감소되는 것이 관찰되었으며, 6 회와 4 일째의 13-16 회에서의 회피시간은 대조군에 비해 $P < 0.05$ 의 유의성 있는 감소를 나타내었다 (Table 2, Fig. 6).

Table 2. Changes of Escape Latency of PDS Rats

Day	Trials	Groups		
		Normal	Control	Red Ginseng
1st	1	105.7±14.3	108.9±11.1	101.1±10.0
	2	54.7±7.9	94.3±13.9	91.1±11.6
	3	63.3±15.3	79.8±18.6	71.6±17.3
	4	53.0±17.6	70.8±16.0	55.1±14.1
2nd	5	85.0±14.7	103.9±12.8	101.5±10.2
	6	50.6±9.6	112.9±7.1	83.0±10.4*
	7	48.6±8.6	78.8±12.3	71.0±15.8
	8	27.3±9.2	71.9±18.2	61.1±13.0
3rd	9	53.0±14.9	88.4±12.9	81.3±11.8
	10	31.3±5.7	72.0±16.5	58.1±12.6
	11	28.1±3.6	72.9±18.2	49.5±13.3
	12	30.4±11.4	82.4±18.7	60.9±14.4
4th	13	42.7±13.8	92.0±13.6	54.8±10.3*
	14	16.9±3.1	68.5±15.0	33.3±7.0*
	15	14.9±4.6	53.5±15.0	18.6±5.5*
	16	8.6±0.6	64.5±21.0	12.9±3.4*

On each trial, the rats were placed in the pool at one starting position. They were allowed to swim freely or until they found the platform. The time required to escape onto the hidden platform was recorded (Mean±S.E., *; P<0.05 vs Control).

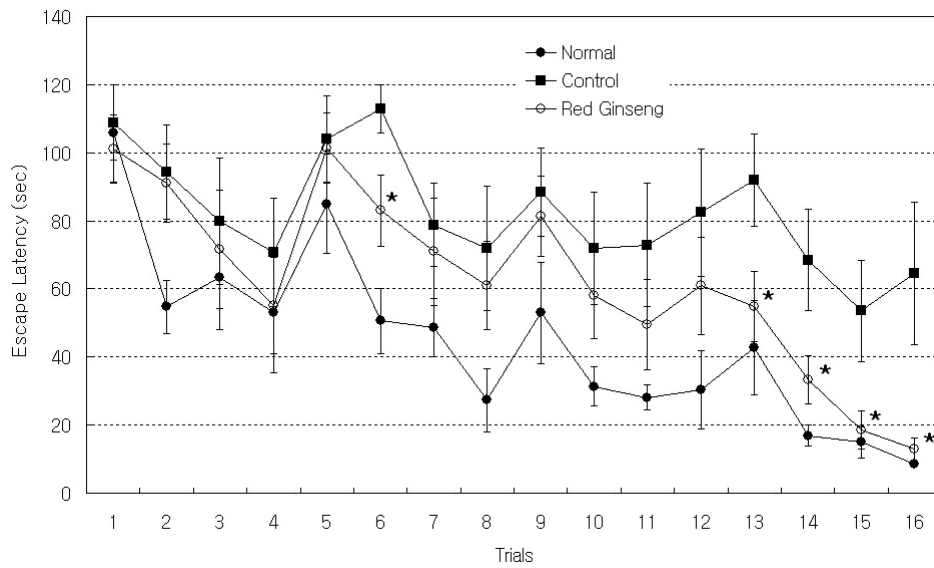


Fig. 6. Effect of Red Ginseng on escape latency of PDS rats. Animals were hit for 4 weeks prior to the first training day. Red Ginseng extract and normal saline were given orally once daily over whole research (Mean±S.E., *; P<0.05 vs Control).

3. 홍삼이 PDS 모형 흰쥐의 수영패턴에 미치는 영향

수중미로 검사 5 일째에 공간 기억력 유지 정도를 측정하기 위한 60 초간 자유수영 검사에서 각 실험동물이 수영한 궤적은 아래 그림과 같다 (Fig. 7). 정상군의 경우 실험동물들이 이전 도피대가 있던 자리를 쉽게 찾아내고, 그 주변에서 계속 맴도는 형태를 보이고 있음이 관찰되었다 (Fig. 7-B). 반면에 대조군의 실험동물들은 이전 도피대의 자리를 잘 찾아내지 못하며, 또한 활동성도 정상군에 비해 현저히 떨어짐이 관찰되었다 (Fig. 7-C). 그러나 홍삼투여군의 경우 모두 이전의 도피대 위치를 찾아가는 시도와 활동성이 대조군에 비하여 호전됨이 관찰되었다 (Fig. 7-D).

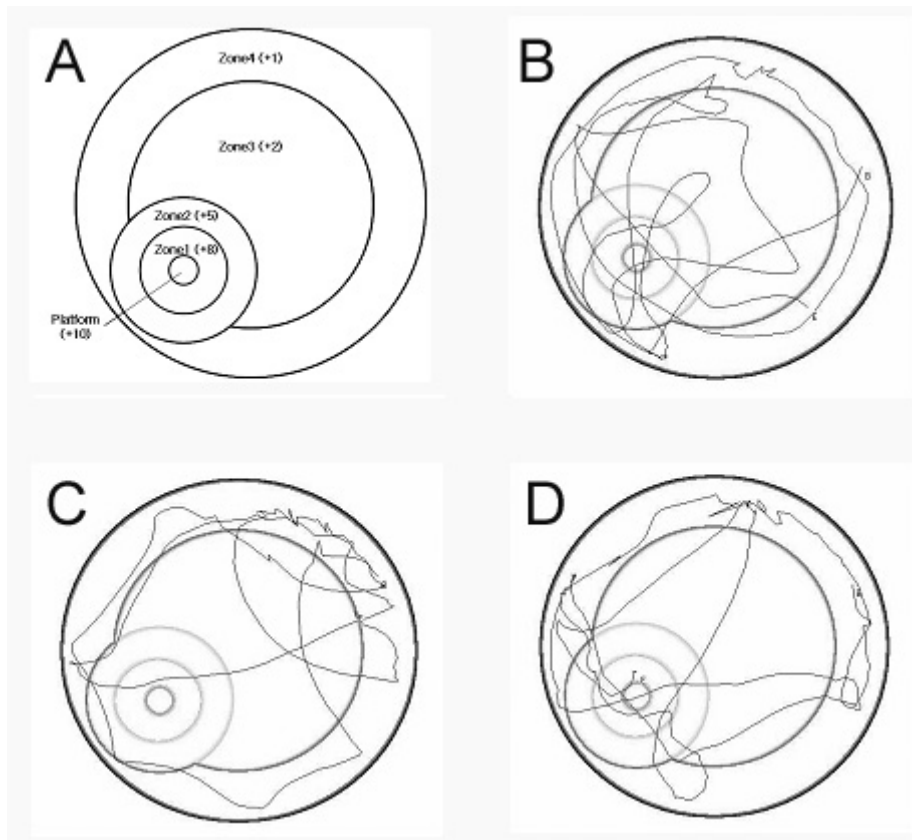


Fig. 7. Representative swimming pathways in water maze. Section A shows swimming zones. Normal group (B) indicated swimming pathway from the typical mouse pathway after 4 day-training. Control group (C) lost its directional bearings and thus employed more random search strategy than straight search strategy. Red Ginseng treated group (D) showed recovery in the pathway to find the hidden platform.

4. 홍삼이 PDS 모형 흰쥐의 기억능력에 미치는 영향

실험동물이 구역별로 수영한 시간과 점수에 따라 공간 기억 유지능력을 수치적으로 계산한 결과, 정상군은 132.1 ± 10.0 이었고, 대조군은 77.5 ± 6.7 로 정상군에 비해 현저히 낮아져서 대조군의 기억능력에 장애가 유발된 것으로 나타났다. 이에 비하여 홍삼투여군은 110.2 ± 7.1 로 대조군에 비해 유의성 ($P < 0.01$) 있는 증가를 나타내어 기억능력의 호전이 관찰되었다 (Table 3, Fig. 8).

또한 60 초의 자유수영 검사 동안에 이전 도피대가 있던 자리와 각 구역별로 수영한 시간을 측정한 결과는 Table 4와 같다. Zone 3와 Zone 4 및 도피대 구역에서는 각 군간에 큰 차이가 없었으나, 도피대와 가장 근접한 구역인 Zone 1과 Zone 2에서 수영한 시간이 대조군은 0.4 ± 0.3 sec와 2.2 ± 1.1 sec인데 비하여 홍삼투여군은 각각 2.6 ± 0.6 sec와 5.6 ± 1.4 sec로 도피대 근처에서의 수영시간이 대조군에 비하여 유의성 ($P < 0.01$ 과 $P < 0.05$) 있는 증가를 나타내었다 (Table 4, Fig. 9).

Table 3. Changes of Memory Retention Score of PDS Rats

	Normal	Control	Red Ginseng
Total Score	132.1±10.0	77.5±6.7	110.2±7.1**
n	7	8	8

The total scores of each rat were calculated in summation of multiplying swimming times by different points of each zone (Mean±S.E., **; p<0.01 vs 0 week).

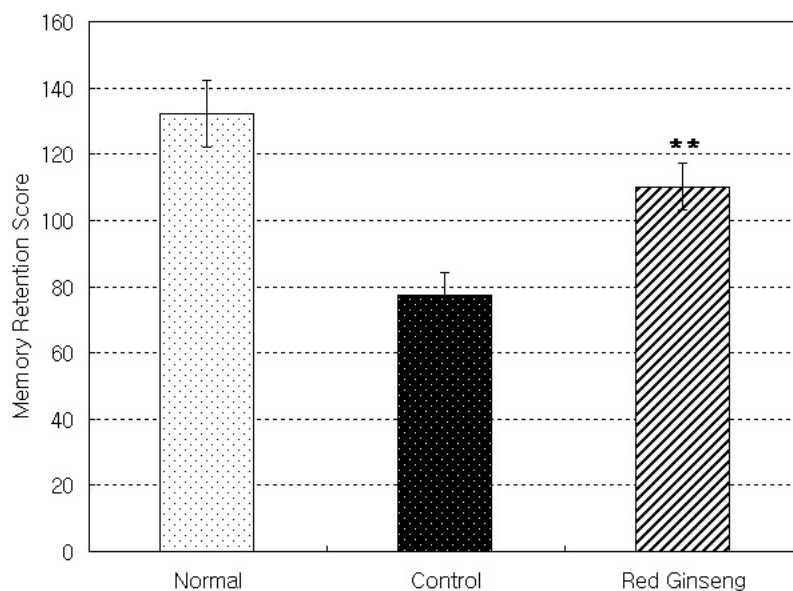


Fig. 8. Effect of Red Ginseng on memory retention score of PDS rats. Red Ginseng treated group demonstrated significant improve of memory retention score (Mean±S.E.; **, p<0.01 vs Control).

Table 4. Changes of Swimming Times in Graded Zones during Memory Retention Test of PDS Rats

	Normal	Control	Red Ginseng
zone 1	3.9±1.1	0.4±0.3	2.6±0.6**
zone 2	7.1±0.9	2.2±1.1	5.6±1.4*
zone 3	12.0±2.2	6.3±2.3	7.6±1.6
zone 4	35.3±2.6	50.4±2.5	43.3±2.0
Platform	0.6±0.3	0.0±0.0	0.3±0.1

At day 5, each rat was allowed to swim freely for 60s. The times that the rats stayed at each zone were recorded (Mean±S.E.; unit, sec.; *, p<0.05; **, p<0.01 vs Control).

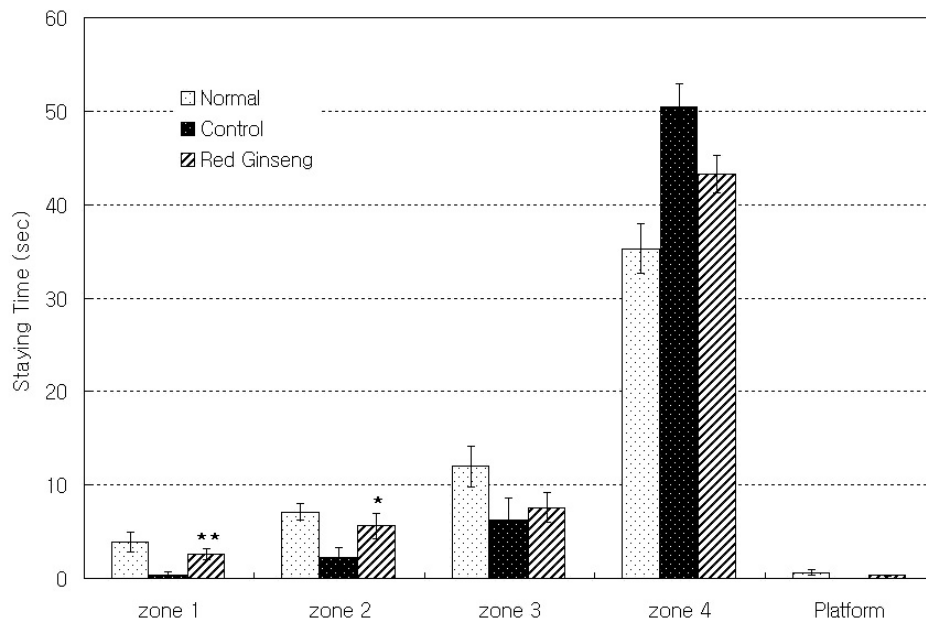


Fig. 9. Effect of Red Ginseng on swimming times in graded zones during memory retention test of PDS rats. Red Ginseng treated group demonstrated significant increases of times stayed in zone 1 and 2 (Mean±S.E.; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$ vs Control).

5. 홍삼이 PDS 모형 흰쥐 뇌조직의 HIF-1 α 단백질 발현에 미치는 영향

Hippocampus에서의 HIF-1 α 단백질 발현은 정상군의 경우 거의 관찰되지 않았으나 대조군에서는 CA1 영역을 중심으로 강하게 발현되었다. 홍삼투여군은 대조군에 비하여 발현이 현저히 감소하였다 (Table 5, Fig. 10). Cerebral cortex에서는 정상군과 대조군 모두에서 HIF-1 α 의 발현이 관찰되었으며, 대조군에서 더 강한 발현을 나타내었다. 홍삼투여군은 cortex 부위에서 HIF-1 α 발현이 관찰되었으나 대조군에 비해 감소된 양상을 나타냈다 (Table 5, Fig. 11). Caudate putamen에서는 정상군에서는 거의 발현되지 않았으나 대조군에서는 비교적 강한 HIF-1 α 의 발현이 관찰되었다. 홍삼투여군은 HIF-1 α 의 발현이 대조군에 비해 상대적으로 현저히 감소하여 거의 발현되지 않음이 관찰되었다 (Table 5, Fig. 12).

Table 5. Changes of HIF-1 α Immuno-Reactivity in Brain Regions of PDS Rats

	Normal	Control	Red Ginseng
Hippocampus	-	++	-
Cerebral Cortex	+	++	+
Caudate Putamen	-	+	-

Immuno-reactivity against HIF-1 α was presented as negative (-), mild positive (+), and strong positive (++).

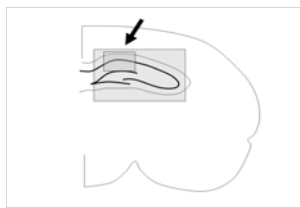
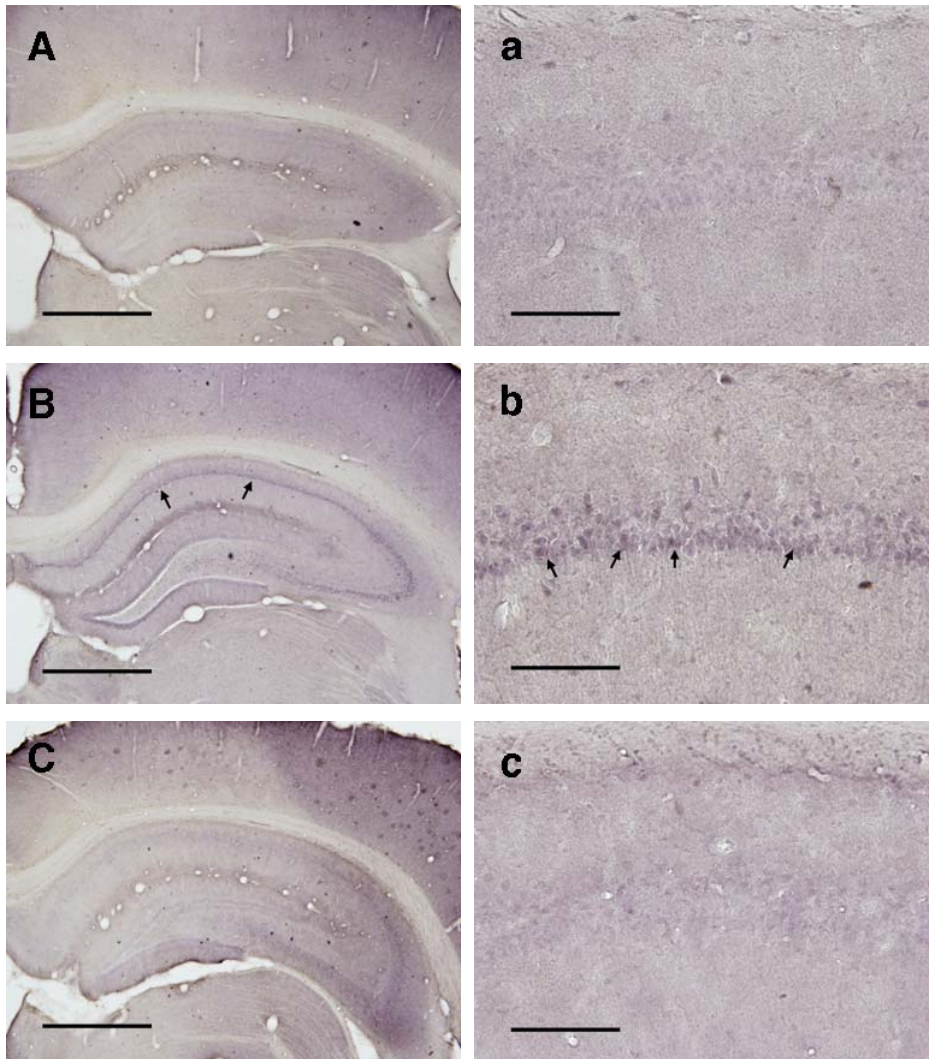


Fig. 10. Representative sections of HIF-1 α expressions in hippocampus of Normal (A, a), Control (B, b), and Red Ginseng treated (C, c) groups. HIF-1 α expression was scarcely observed in the cytoplasm of CA1 neurons of normal group. Immuno-reactivity of HIF-1 α was detected very strongly at CA1 neurons of control group. In CA1 neurons, Red Ginseng treated group demonstrated significant decrease of HIF-1 α expression compare to control group (Scale bar; 1.0 mm in sections A, B, C; 100 μ m in sections a, b, c).

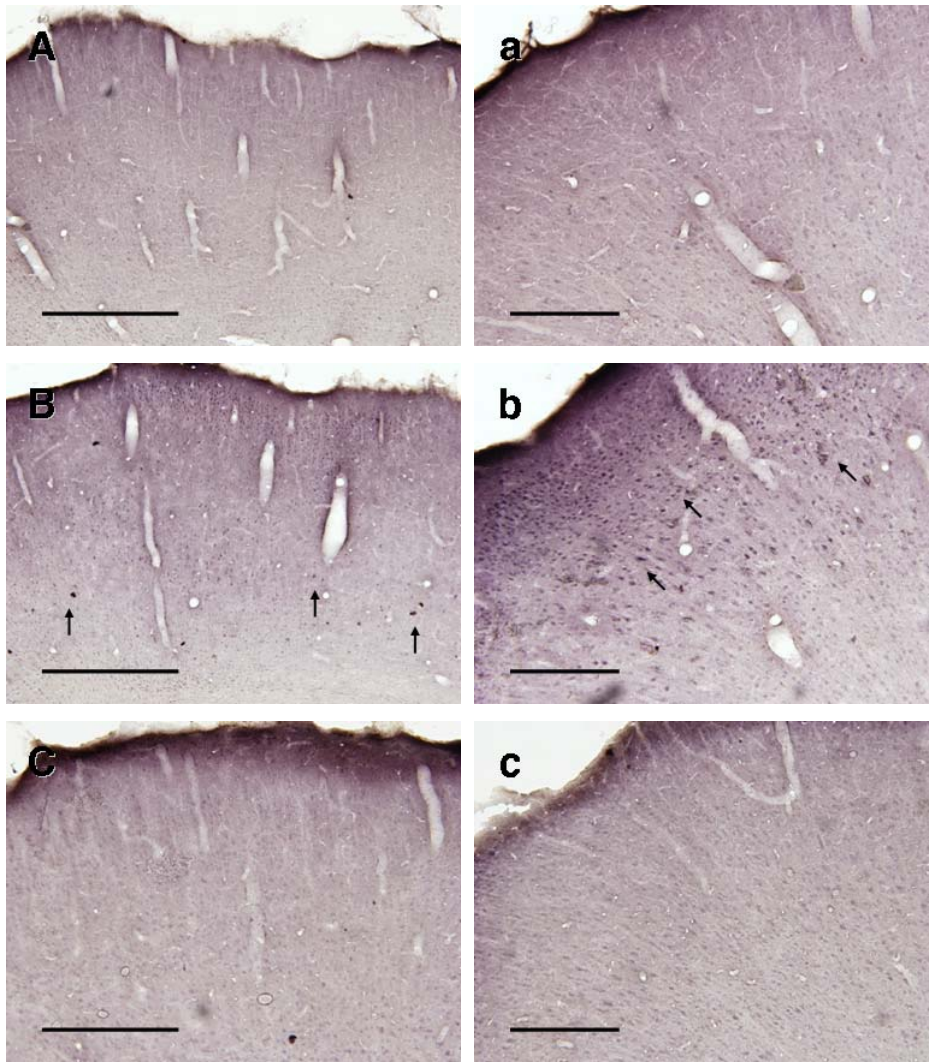


Fig. 11. Representative sections of HIF-1 α expressions in cerebral cortex of Normal (A, a), Control (B, b), and Red Ginseng treated (C, c) groups. HIF-1 α expression was weakly observed in cerebral cortex of normal group. Immunoreactivity of HIF-1 α was detected very strongly in cerebral cortex of control group. Red Ginseng treated group demonstrated significant decrease of HIF-1 α expression compare to control group (Scale bar; 1.0 mm in sections A, B, C; 100 μ m in sections a, b, c).

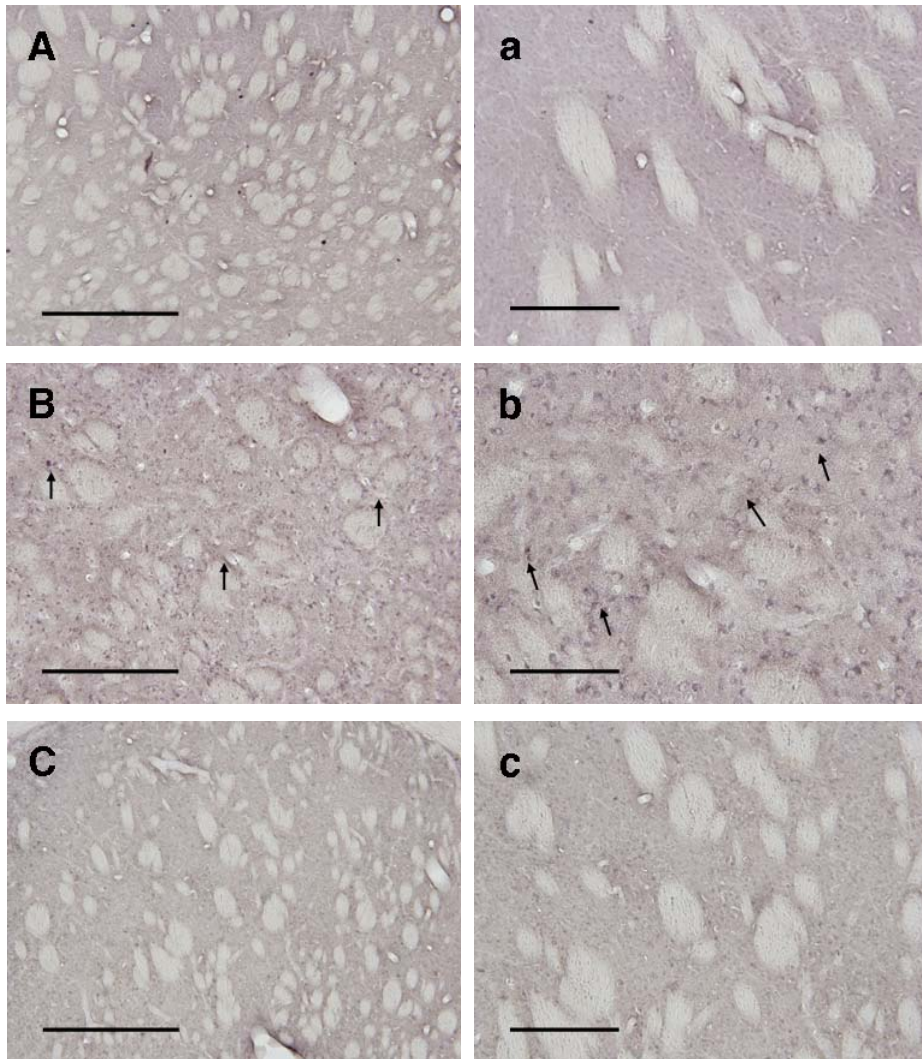


Fig. 12. Representative sections of HIF-1 α expressions in caudate putamen of Normal (A, a), Control (B, b), and Red Ginseng treated (C, c) groups. HIF-1 α expression was not observed in caudate putamen of normal group. Immunoreactivity of HIF-1 α was detected very strongly in caudate putamen of control group. Red Ginseng treated group demonstrated significant decrease of HIF-1 α expression compare to control group (Scale bar; 1.0 mm in sections A, B, C; 100 μ m in sections a, b, c).

IV. 고찰

권투선수명정증후군 (Punch Drunk Syndrome, PDS)은 장기간의 반복적인 뇌진탕 (cerebral concussion)에 의해서 유발된다. 뇌진탕은 가장 대표적인 외상성 뇌손상 (traumatic brain injury)이며, 일반적으로 두개골의 골절이 없는 상태에서 갑작스러운 뇌기능의 촉진 (acceleration) 또는 부진 (deceleration)에 의하여 일시적으로 신경계 작동에 장애가 일어나는 것이다.²⁷⁻²⁹⁾ 권투는 물론이고 하키나 미식축구, 축구와 같은 신체접촉 운동경기, 추락이나 충돌, 신체적 폭력, 교통사고 등 뇌진탕을 유발하는 원인은 매우 다양하다.³⁰⁾ 뇌진탕의 가장 특징적인 현상은 사망한 것 같이 의식과 움직임이 없이 약 1-3 분 정도 바닥에 쓰러졌다가 점차 의식을 회복한다는 것이다.^{27,28)} 뇌진탕의 경우 신경계에 병리적인 소견이 나타나기도 하지만 병리소견이 반드시 나타나는 것은 아니고, 또한 병리소견이 필수적인 요인도 아니라고 하였다. 이는 뇌진탕이 뇌의 구조적인 장애가 아니라 기능적인 장애라는 것을 의미하는 것이다.^{31,32)}

뇌진탕의 두 번째 특징은 외상성 기억상실 (traumatic amnesia)의 유발이다.^{33,34)} 외상성 기억상실은 뇌진탕이 일어나기 직전의 사건들에 대해서 기억을 상실하는 외상전 기억상실 (pre-traumatic or retrograde amnesia)과 의식을 회복한 이후의 사건들에 대한 기억을 상실하는 외상후 기억상실 (post-traumatic or anterograde amnesia)로 구분할 수 있으며, 외상후 기억상실의 기간이 뇌진탕의 강도와 일치하는 것으로 보고되어 있다.^{35,36)} 또한 외상성 뇌손상은 뇌에 명확한 구조적인 결함이 없는

상태에서 기억상실은 물론 집중장애나 불안과 같은 인지 및 감정 장애를 유발한다.³⁷⁾ 이러한 뇌진탕후 증후군 (postconcussive syndrome)은 대부분의 경우 수주일 이내에 회복되지만, 반복적이고 심한 경우 수개월 또는 수년간 장기간의 학습 및 기억 장애를 유발하게 된다.³⁸⁻⁴⁰⁾ 외상성 뇌손상에 의하여 유발되는 인지장애의 발생기전에 대해서는 아직 명확하게 규명되지 않았으나 미만성 신경축삭손상 (diffuse axonal injury)이 가장 근접한 설명으로 보고되어 있다.⁴¹⁾

지속적인 뇌진탕후 증후군에 대한 치료약물의 개발에는 적절한 실험동물 모형의 설정이 중요한 관건이다. 그러나 소형 실험동물에서 외상성 뇌손상을 유발하는 것은 실험적으로 매우 어려운 사안이다. 기존의 연구들에 응용된 액체충격 (fluid-percussion)이나 대뇌피질 타격 (cortical impact) 또는 국소 타박 (focal brain contusion) 등의 방법은 사람의 뇌진탕에서 볼 수 없는 복잡한 양상의 국소 뇌손상이나 출혈, 경련 등을 유발하며,^{42,43)} 반대로 타격강도를 낮추면 원하는 실험모형이 유발되지 않는 결과를 나타낸다.⁴⁴⁾

본 연구에서는 PDS에 좀 더 유사한 실험모형을 구축하기 위하여 실험동물을 마취시킨 상태에서 두개골 천공 없이, 약 65 g 무게추를 30 cm 높이에서 진자운동으로 타격하였다. 이후 Morris 수중미로 장치를 사용하여 학습과 기억능력을 측정한 결과, 1일 40 회씩 4 주 이상 두부충격이 반복한 경우 정상 실험동물에 비하여 공간 기억능력의 유의한 감소가 관찰되었으며, 타격된 부위를 중심으로 피하출혈은 존재하였으나 두개골 아래 뇌 실질에는 육안적인 뇌조직 손상은 관찰되지 않았다. 이는 본

연구에 사용된 두부충격의 정도와 기간이 뇌 실질에 대한 직접적인 조직 병리학적 손상은 유발하지 않은 상태에서 공간 기억능력의 감퇴가 유발되어, 적절한 PDS 실험모형이 설정되었다는 것을 의미한다.

한국 홍삼 (Red Ginseng)은 항암작용, 항피로 및 항스트레스, 혈압 조절 및 동맥경화 예방, 면역기능 강화, 조혈 및 빈혈회복, 노화방지, 알콜해독, 위장장애 개선 등 다양한 효능이 있는 것으로 보고되어 있다.^{21,45-48)} 또한 뇌허혈 손상으로 인한 신경세포의 감소와 해마 신경세포의 손상 등에 대하여 방어효능이 있으며,¹⁶⁻¹⁸⁾ 특히 뇌 해마부위의 손상이나 노령에 의한 학습과 기억능력의 감퇴는 물론 ethanol이나 scopolamine 등과 같은 약물투여에 의한 학습 및 기억 장애에 대하여도 유의한 효능이 있다고 보고되어 있다.¹⁹⁻²²⁾

본 연구의 결과, 수중미로 장치 실험에서 각 군의 실험동물들이 도피대를 찾아서 오르기까지의 회피시간은 PDS가 유발된 대조군에서는 학습검사 1 일째 첫 시행에서 약 105.7 sec를 기록하고 4, 8, 12 및 16 회 시행에서 약 64.5-82.4 sec를 기록하여 정상군에 비해 회피시간이 유의하게 감소되지 않았으나 홍삼투여군에서는 학습검사 1 일째 첫 시행에서 약 101.1 sec를 기록하고 4, 8, 12 및 16 회 시행에서 약 12.9-61.1 sec를 기록하여 시행 횟수에 따른 회피시간이 대조군에 비해서 감소되는 것이 관찰되었다. 또한 6 회와 4 일째의 13-16 회에서의 회피시간은 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다. 이는 홍삼투여가 두부충격에 의한 학습능력의 저하를 유의하게 개선하는 효능이 있다는 것을 나타낸다. 공간기억 유지능력을 측정한 실험에서도 홍삼투여군은 약 110.2로

대조군의 약 77.5에 비해 유의성 있는 공간기억력의 증가를 나타내었으며, 도피대 근처에서의 유영시간 또한 대조군에 비하여 유의성 있는 증가를 나타내었다. 이는 홍삼투여군의 실험동물들이 도피대의 위치를 기억하는 능력이 향상되었음을 나타내는 결과이다.

외상성 뇌손상은 충격으로 즉시 나타나는 손상과 뇌손상으로 인하여 2차적으로 나타나는 손상으로 구분할 수 있다.⁴⁹⁾ 2차적인 뇌손상은 뇌압의 증가, 저산소와 허혈로 인하여 발생하며, 미만성 신경축삭손상 시 흥분성 신경전달물질의 분비가 증가되어 뇌손상을 촉진시킨다.^{50,51)} 즉, 뇌손상 시 뇌혈류는 감소되나 대사는 증가하므로 이에 충분한 산소공급을 하지 못하게 되어 뇌손상을 더욱 커지게 한다고 하였다.⁵²⁾ 따라서 2차 손상의 정도를 억제하는 것 또한 외상성 뇌손상 치료의 목표가 된다. 이전 연구에 따르면 2차적 허혈 손상은 외상성 뇌손상 후의 예정된 신경세포의 자연사 (apoptotic cell death)에 중요한 작용을 하며, hypoxia inducible factor (HIF)-1 α 의 발현이 실험적 외상성 뇌손상 후의 apoptotic cell death를 유발하는 인자 중 하나로 보고되었다.⁵³⁾

HIF-1은 저산소 상태의 자극에 특별한 감수성을 지닌 전사인자로서,⁵⁴⁾ HIF-1 α 와 HIF-1 β 로 구성되며 뇌의 전영역 신경세포에서 발현된다.^{55,56)} 뇌허혈 손상은 전사인자인 HIF-1에 의해 조절되는 다수의 유전자들의 발현을 유발하며, 저산소 상태는 HIF-1 α 를 활성화시켜 저산소 상태에 적응하기 위해 필수적인 단백질들을 생산하는 전사인자로서 작용한다.^{56,57)} 뇌손상의 경우 국소뇌허혈 또는 전뇌허혈 모든 경우에 신경세포에서 HIF-1 α mRNA와 단백질의 발현이 증가됨이 보고되어 있다.^{56,58)} 그

러므로 HIF-1 α 는 장시간 혹은 만성적인 저산소 상태에 대한 신경세포의 자발적인 보호작용과 적응기능이 주된 역할로 여겨진다. 또한 최근 연구에 의하면 홍삼의 성분인 ginsenoside Rb1이 HIF-1 α 를 증가시켜 VEGF 생산을 자극함으로써 피부화상 환자의 신생혈관의 생성을 촉진하는 효능이 있는 것으로 보고되었다.⁵⁹⁾

본 실험에서 PDS 유발후 뇌조직에서 HIF-1 α 단백질 발현의 변화를 관찰한 결과 HIF-1 α 의 발현이 장기적인 두부충격에 의하여 선택적으로 증가됨이 관찰되었다. 즉, 정상군의 경우 HIF-1 α 는 cortex 주변부에서만 약하게 발현될 뿐, hippocampus와 caudate putamen 부위에서는 발현되지 않았다. PDS를 유발한 대조군의 경우는 cortex, hippocampus 및 caudate putamen 부위에서 모두 강하게 발현되었다. PSD 유발후 홍삼을 투여한 군의 경우는 대조군에 비해 상대적으로 발현이 감소하여 전체적으로 정상군과 유사한 양상을 나타내었다. 이를 통해, 5주간 홍삼추출물의 투여는 장기적이고 반복적인 두부충격으로 인하여 증가된 HIF-1 α 발현을 유의하게 억제하는 것으로 볼 수 있다. 이러한 결과는 홍삼이 저산소 상태에 적응하기 위한 단백질을 생산하기 위해 HIF-1 α 발현을 증가시키기 보다는, 두부충격으로 인한 저산소 상태의 유발 자체를 억제하는 작용에 의한 것으로 추측할 수 있다. 이러한 설명은 기존의 연구들에서 HIF-1 α 가 신경세포의 생존 기전과 사망 기전 모두에 관여하는 이중적인 작용을 보여주고 있는 것에 근거한다.^{60,61)} 하지만 뇌조직 신경세포에서 HIF-1 α 발현의 이러한 이중적인 작용에 대한 홍삼의 영향을 구체적으로 밝히기 위해서는 뇌손상 후 시간경과에 따른 HIF-1 α 발현의 변화를 관찰

하는 진전된 연구가 필요하다.

본 연구의 결과들을 총괄하면, 흰쥐에 4 주 이상의 장기적인 두부충격은 뇌 실질에 조직학적 손상이 유발되지 않은 상태에서도 학습과 기억능력의 감퇴를 유발하였으며, 홍삼은 PSD 실험모형 흰쥐의 학습능력 및 기억능력의 저하를 유의하게 개선하는 효능을 나타내었다. 또한 홍삼은 PSD 실험모형 흰쥐의 대뇌피질과 해마에서 HIF-1 α 단백질 발현 증가를 유의하게 억제하는 효능을 나타내었다. 이상의 결과로 보아 홍삼추출물은 권투선수명정증후군과 같은 만성적 외상성 뇌손상에 의한 학습과 기억능력 감퇴에 유의한 예방 및 개선 효능이 있는 것으로 생각된다. 나아가 홍삼의 작용기전을 보다 구체적으로 설명하기 위해서는 외상성 뇌손상 상태에서 HIF-1 α 이외의 apoptosis 관련 인자들에 대한 영향을 관찰하는 추가적인 연구가 필요할 것이다.

V. 결 론

흰쥐에 장기적이고 반복적인 물리적 두부충격을 가하는 방법으로 권투선수명정증후군 (PDS)에 해당하는 동물실험모형을 설정하고 이에 대한 홍삼의 효능을 관찰하고자, 수중미로 검사를 통하여 공간인지 학습수행과 기억력에 대한 영향과 뇌 부위별 HIF-1 α 단백질 발현의 변화를 관찰한바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 흰쥐에 4 주 이상의 장기적인 두부충격은 뇌 실질에 조직학적 손상이 유발되지 않은 상태에서도 학습과 기억 능력의 감퇴를 유발하였다.
2. 홍삼은 PSD 실험모형 흰쥐의 학습능력 저하를 유의하게 개선하는 효능을 나타내었다.
3. 홍삼은 PSD 실험모형 흰쥐의 기억능력 저하를 유의하게 개선하는 효능을 나타내었다.
4. 홍삼은 PSD 실험모형 흰쥐의 대뇌피질과 해마에서 HIF-1 α 단백질 발현 증가를 유의하게 억제하는 효능을 나타내었다.

이상의 결과로 보아 홍삼추출물은 권투선수명정증후군과 같은 만성적 외상성 뇌손상에 의한 학습과 기억능력 감퇴에 유의한 예방 및 개선 효능이 있는 것으로 생각된다.

VI. 참고문헌

1. LeBlanc J, de Guise E, Gosselin N, Feyz M. Comparison of functional outcome following acute care in young, middle-aged and elderly patients with traumatic brain injury. *Brain Inj.* (2006) 20(8):779-790.
2. Nortje J, Menon DK. Traumatic brain injury: physiology, mechanisms, and outcome. *Curr Opin Neurol.* (2004) 17(6):711-718.
3. Bailes JE, Hudson V. Classification of Sport-Related Head Trauma: A Spectrum of Mild to Severe Injury. *J Athl Train.* (2001) 36(3):236-243.
4. Cassidy JD, Carroll L, Cote P, Holm L, Nygren A. Mild traumatic brain injury after traffic collisions: a population-based inception cohort study. *J Rehabil Med.* (2004) 43:15-21.
5. Frencham KA, Fox AM, Maybery MT. Neuropsychological studies of mild traumatic brain injury: a meta-analytic review of research since 1995. *J Clin Exp Neuropsychol.* (2005) 27(3):334-351.
6. Webbe FM, Barth JT. Short-term and long-term outcome of athletic closed head injuries. *Clin Sports Med.* (2003) 22(3):577-592.
7. Jordan BD. Chronic traumatic brain injury associated with boxing. *Semin Neurol.* (2000) 20(2):179-185.
8. Clausen H, McCrory P, Anderson V. The risk of chronic

- traumatic brain injury in professional boxing: change in exposure variables over the past century. *Br J Sports Med.* (2005) 39(9):661-664.
9. Zhang L, Ravdin LD, Relkin N, Zimmerman RD, Jordan B, Lathan WE, Ulug AM. Increased diffusion in the brain of professional boxers: a preclinical sign of traumatic brain injury? *Am J Neuroradiol.* (2003) 24(1):52-57.
 10. Erlanger DM, Kutner KC, Barth JT, Barnes R. Neuropsychology of sports-related head injury: Dementia Pugilistica to Post Concussion Syndrome. *Clin Neuropsychol.* (1999) 13(2):193-209.
 11. Ross RJ, Casson IR, Siegel O, Cole M. Boxing injuries: neurologic, radiologic, and neuropsychologic evaluation. *Clin Sports Med.* (1987) 6(1):41-51.
 12. Jordan BD. Neurologic aspects of boxing. *Arch Neurol.* (1987) 44(4):453-459.
 13. Putukian M. Heading in soccer: is it safe? *Curr Sports Med Rep.* (2004) 3(1):9-14.
 14. Rutherford A, Stephens R, Potter D. The neuropsychology of heading and head trauma in Association Football (soccer): a review. *Neuropsychol Rev.* (2003) 13(3):153-179.
 15. Zazryn T, Cameron P, McCrory P. A prospective cohort study of injury in amateur and professional boxing. *Br J Sports Med.* (2006) 40(8):670-674.
 16. Bae EA, Hyun YJ, Choo MK, Oh JK, Ryu JH, Kim DH.

- Protective effect of fermented red ginseng on a transient focal ischemic rats. *Arch Pharm Res.* (2004) 27(11):1136-1140.
17. Lim JH, Wen TC, Matsuda S, Tanaka J, Maeda N, Peng H, Aburaya J, Ishihara K, Sakanaka M. Protection of ischemic hippocampal neurons by ginsenoside Rb1, a main ingredient of ginseng root. *Neurosci Res.* (1997) 28(3):191-200.
 18. Wen TC, Yoshimura H, Matsuda S, Lim JH, Sakanaka M. Ginseng root prevents learning disability and neuronal loss in gerbils with 5-minute forebrain ischemia. *Acta Neuropathol.* (1996) 91(1):15-22.
 19. Zhong YM, Nishijo H, Uwano T, Tamura R, Kawanishi K, Ono T. Red ginseng ameliorated place navigation deficits in young rats with hippocampal lesions and aged rats. *Physiol Behav.* (2000) 69(4-5):511-525.
 20. Kurimoto H, Nishijo H, Uwano T, Yamaguchi H, Zhong YM, Kawanishi K, Ono T. Effects of nonsaponin fraction of red ginseng on learning deficits in aged rats. *Physiol Behav.* (2004) 82(2-3):345-355.
 21. Lee SC, Moon YS, You KH. Effects of red ginseng saponins and nootropic drugs on impaired acquisition of ethanol-treated rats in passive avoidance performance. *J Ethnopharmacol.* (2000) 69(1):1-8.
 22. Jin SH, Park JK, Nam KY, Park SN, Jung NP. Korean red ginseng saponins with low ratios of protopanaxadiol and protopanaxatriol saponin improve scopolamine-induced learning

- disability and spatial working memory in mice. *J Ethnopharmacol.* (1999) 66(2):123-129.
23. Nishijo H, Uwano T, Zhong YM, Ono T. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: effects of red ginseng on learning and memory deficits in an animal model of amnesia. *J Pharmacol Sci.* (2004) 95(2):145-152.
 24. Ucar T, Tanriover G, Gurer I, Onal MZ, Kazan S. Modified experimental mild traumatic brain injury model. *J Trauma.* (2006) 60(3):558-565.
 25. Morris RGM. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.* (1984) 11:47-60.
 26. Smith DH, Okiyama K, Thomas MJ, Claussen B, McIntosh TK. Evaluation of memory dysfunction following experimental brain injury using the Morris water maze. *J Neurotrauma.* (1991) 8:259-269.
 27. Trotter W. Certain minor injuries of the brain. *Lancet.* (1924) 1:935- 939.
 28. Denny-Brown D, Russell WR. Experimental cerebral concussion. *Brain.* (1941) 64:93-164.
 29. Rosenthal M. Mild traumatic brain injury syndrome. *Ann Emerg Med.* (1993) 22:1048-1051.
 30. Kraus JF, Nourjah P. The epidemiology of mild, uncomplicated brain injury. *J Trauma.* (1988) 28:1637-1643.
 31. Ropper AH. Trauma of the head and spine. In: Isselbacher KJ,

- Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL (Eds), Harrison's Principles of Internal Medicine, 13th Edition, Vol 2. McGraw-Hill, New York, (1994) 2320-2328.
32. Verjaal A, Van'T Hooft F. Commotio and contusio cerebri (cerebral concussion). In: Vinken PJ, Bruyn GW, Braakman R (Eds), Handbook of Clinical Neurology, Vol 23. North-Holland, Amsterdam, (1975) 417-444.
 33. Russell WR, Nathan P. Traumatic amnesia. Brain. (1946) 69:280-300.
 34. Symonds CP. Concussion and its sequelae. Lancet. (1962) 1:1-5.
 35. Fisher CM. Concussion amnesia. Neurology. (1966) 16:826-830.
 36. Yarnell PR, Lynch S. Retrograde memory immediately after concussion. Lancet. (1970) 1:863-864.
 37. Ryan LM, Warden DL. Post concussion syndrome. Int Rev Psychiatry. (2003) 15:310-316.
 38. Levin HS. Memory deficit after closed head injury. J Clin Exp Neuropsychol. (1990) 12:129-153.
 39. Rimel RW, Giordani B, Barth JT, Boll TJ, Jane JA. Disability caused by minor head injury. Neurosurgery. (1981) 9:221-228.
 40. Zola-Morgan S, Squire LR, Amaral DG. Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. J Neurosci. (1986) 6:2950- 2967.
 41. Adams JH, Doyle D, Ford I, Gennarelli TA, Graham DI, Mcllellan

- DR. Diffuse axonal injury in head injury: definition, diagnosis and grading. *Histopathology*. (1989) 15:49–59.
42. Kibby MY, Long CJ, Minor head injury: attempts at clarifying the confusion. *Brain Inj*. (1996) 10:159–186.
43. King NS. Post-concussion syndrome: clarity amid the controversy? *Br J Psychiatry*. (2003) 183:276–278.
44. Zohar O, Schreiber S, Getslev V, Schwartz JP, Mullins PG, Pick CG. Closed-head minimal traumatic brain injury produces longterm cognitive deficits in mice. *Neuroscience*. (2003) 118:949–955.
45. Suh SO, Kroh M, Kim NR, Joh YG, Cho MY. Effects of red ginseng upon postoperative immunity and survival in patients with stage III gastric cancer. *Am J Chin Med*. (2002) 30(4):483–494.
46. Wu XG, Zhu DH, Li X. Anticarcinogenic effect of red ginseng on the development of liver cancer induced by diethylnitrosamine in rats. *J Korean Med Sci*. (2001) 16:S61–65.
47. Kaneko H, Nakanishi K. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: clinical effects of medical ginseng, korean red ginseng: specifically, its anti-stress action for prevention of disease. *J Pharmacol Sci*. (2004) 95(2):158–162.
48. Jeon BH, Kim CS, Park KS, Lee JW, Park JB, Kim KJ, Kim SH, Chang SJ, Nam KY. Effect of Korea red ginseng on the blood

- pressure in conscious hypertensive rats. *Gen Pharmacol.* (2000) 35(3):135-141.
49. Fritz HG, Bauer R. Secondary injuries in brain trauma: effects of hypothermia. *J Neurosurg Anesthesiol.* (2004) 16(1):43-52.
50. Katayama Y, Maeda T, Koshinaga M, Kawamata T, Tsubokawa T. Role of excitatory amino acid-mediated ionic fluxes in traumatic brain injury. *Brain Pathol.* (1995) 5(4):427-435.
51. Sahuquillo J, Poca MA, Amoros S. Current aspects of pathophysiology and cell dysfunction after severe head injury. *Curr Pharm Des.* (2001) 7(15):1475-1503.
52. Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: similarities and differences. *J Cereb Blood Flow Metab.* (2004) 24(2):133-150.
53. Yu R, Gao L, Jiang S, Guan P, Mao B. Association of HIF-1 α expression and cell apoptosis after traumatic brain injury in the rat. *Chin J Traumatol.* (2001) 4(4):218-221.
54. Semenza GL, Wang GL. A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol.* (1992) 12(12):5447-5454.
55. Bergeron M, Gidday JM, Yu AY, Semenza GL, Ferriero DM, Sharp FR. Role of hypoxia-inducible factor-1 in hypoxia-induced ischemic tolerance in neonatal rat brain. *Ann Neurol.* (2000) 48(3):285-296.

56. Bergeron M, Yu AY, Solway KE, Semenza GL, Sharp FR. Induction of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) and its target genes following focal ischaemia in rat brain. *Eur J Neurosci.* (1999) 11(12):4159-4170.
57. Kietzmann T, Knabe W, Schmidt-Kastner R. Hypoxia and hypoxia-inducible factor modulated gene expression in brain: involvement in neuroprotection and cell death. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* (2001) 251(4):170-178.
58. Chavez JC, LaManna JC. Activation of hypoxia-inducible factor-1 in the rat cerebral cortex after transient global ischemia: potential role of insulin-like growth factor-1. *J Neurosci.* (2002) 22(20):8922-8931.
59. Kimura Y, Sumiyoshi M, Kawahira K, Sakanaka M. Effects of ginseng saponins isolated from Red Ginseng roots on burn wound healing in mice. *Br J Pharmacol.* (2006) 148(6):860-870.
60. Matsuda T, Abe T, Wu JL, Fujiki M, Kobayashi H. Hypoxia-inducible factor-1 α DNA induced angiogenesis in a rat cerebral ischemia model. *Neurol Res.* (2005) 27(5):503-508.
61. Greijer AE, van der Wall E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. *J Clin Pathol.* (2004) 57(10):1009-1014.

ABSTRACT

Effects of Red Ginseng on Learning and Memory Impairment of Rats Attended with Punch Drunk Syndrome

Min Young Lee

Major in Anatomy

Department of Oriental Medicine

Graduate School

Kyung Hee Univeristy

(directed by Prof. Nak-Won Sohn, PhD, OMD)

This study aimed first to establish the punch drunk syndrome (PDS) on the rats by repeated long-term mechanical impact on the rat head, furthermore effects of red ginseng on learning and memory impairment of the rats attended with PDS were observed. Effects of red ginseng were evaluated by escape latency and memory retention score with Morris water-maze. And HIF-1 α expressions in the brain regions of the PDS rats were observed with immunohistochemistry.

The results obtained are as follows;

1. Impairment of learning and memory resulted from repeated mechanical impact on the rat head for 4 weeks without histopathological brain damage.

2. Red ginseng treatment for 5 weeks improved learning deficit of rats attended with PDS.

3. Red ginseng treatment for 5 weeks increased memory retention score of rats attended with PDS.

4. Red ginseng treatment for 5 weeks reduced HIF-1 α expressions in cerebral cortex and hippocampus of rats attended with PDS.

These results suggest that red ginseng has a protective effect on learning and memory impairment of the punch drunk syndrome and traumatic brain injury.