

후두 손상으로 스트레스 유발시킨 랫드에 쥘잎추출물을 투여 후 항산화작용과 뇌 조직에 미치는 영향

이태종^{1*}, 예준정²

¹대구파티마병원, ²계명문화대학교

Antioxidant Activity and Effects on Brain Tissues After Administering Kudzu Leaf Extract on Rats with Induced Stress Due to Laryngeal Injury

Tae-Jong Lee^{1*} and Chun-Jung Yea²

¹Department of Pathology, Daegu Fatima Hospital

²Department of Public Health, Keimyung college

요 약 본 연구는 후두 손상 후 목소리 장애로 인해 스트레스변화에 미치는 영향을 알아보기로 SD계 랫드에 후두 손상을 유발시킨 후 실험동물에서 나타나는 변화와 스트레스 경감효과에 미치는 영향을 진정작용이 있는 쥘잎추출물을 투여 후 변화를 보고자 하였다. 실험은 정상군, 대조군, 실험군(1, 2)으로 하여 군당 6마리씩 총 24마리를 이용하였고, 지정된 용량으로 1일 1회 일정한 시간대에 주 6회씩 5주간 경구투여 후 항산화실험과 분자화학적 검사를 하였다. 결과는 정상군에 비하여 대조군에서는 통계적으로 유의성 있게 높았으며($p < 0.05$), 실험군에서는 대조군에 비해 통계적 유의성 있게 낮아져($p < 0.05$), 정상군보다도 좋게 나타났다. 실험결과를 종합해 보면 쥘잎추출물은 대조군과 비교할 때 통계적으로 유의성 있는 변화를 확인하였다. 따라서 쥘잎추출물 투여 시 스트레스 경감효과에 효과가 있는 것으로 사료된다.

Abstract To examine the effects of voice disorders after a laryngeal injury on the changes in stress, this study examined the effects of the changes observed in laboratory animals and on stress reduction effects, by inducing a laryngeal injury in SD type rats after administering a kudzu leaf extract, which has a sedation effect. For testing, a total of 24 rats comprising the normal group, control group and experimental groups (1 and 2 6 rats in each group) were used, and antioxidant experiments and molecular and chemical tests were conducted by administering a specified amount of kudzu tea orally once a day at a set time, 6 times per week for 5 weeks. The control group appeared to be significantly higher (ed note: What is higher?) than the normal group ($p < 0.05$), whereas the experimental group showed significant decreases compared to the control group ($p < 0.05$), showing a better result than the normal group. The test results showed that the kudzu leaf extract resulted in significant changes compared to the control group. Overall, the administration of kudzu leaf extract has stress reduction effects.

Key Words : anti-oxidant, Kudzu, laryngeal, molecular, stress

1. 서론

환경의 변화에 따라 사회가 발달할수록 더 다양한 시

각에서 삶의 질에 대한 욕구가 높아지고 음성 장애를 호소하는 질환자들의 욕구도 증가되어 이로 인해 스트레스성 합병증 또한 증가하는 추세이며 이와 더불어 치료에

*Corresponding Author : Tae-Jong Lee(Daegu Fatima Hospital)

Tel: +82-53-940-7484 email: taejongok@hanmail.net

Received August 21, 2013

Revised (1st September 10, 2013, 2nd September 23, 2013)

Accepted December 5, 2013

대한 기대와 삶의 만족도에 대한 기대치가 매우 커지고 있다. 생체에 여러 기능을 조절하는데 있어서 중요한 역할을 담당하고 있는 호르몬을 통한 균형 있는 스트레스는 인체에 도움이 되지만 과도한 스트레스 상황이 되면 뇌는 여러 경로를 통하여 반응을 유도하게 된다[1]. 스트레스를 감지한 후 신경세포들이 노르에피네프린의 활성을 증가시키는 작용을 하게 되며 교감신경계를 활성화시키게 되고 이것에 의해 부신수질에서 에피네프린과 노르에피네프린을 방출하게 되며 이물질들은 혈액을 타고 전신에 퍼져서 각장기와 뇌에 영향을 미치게 된다[2,3]. 음성을 변화시키는 후두 병변의 관찰에서부터 진단 그리고 치료까지 그 목적과 언어적인 차이에 따라 다양하게 치료되고 있지만 최근 음성호전을 목적으로 그와 관련된 합병증에 대한 치료와 관심에 대해선 아주 미비하여 만족스럽지 못한 실정이며 음성으로 인한 부작용으로 혀나 구강점막 및 생리기능의 변화로 뇌에 미치는 부작용이 발생하는 경우가 종종 보고되고 있으며[4], 이로 인해 호르몬 변화에 따른 뇌 조직의 스트레스 저항성 및 신호전달체계에 관여하는 DREB(Dehydration responsive element bindin) 유전자를 클로닝 하여 스트레스의 증감 작용으로 삶의 질에 많은 영향을 미치므로[5], 최근 동향으로 Bae[2], Yoo[6], Cashman[8]등의 후두 음성 연구가 발표되고 있다.

음성으로 인한 스트레스가 발생하게 되면 스트레스를 감소시키거나 제거하기위하여 생리활성기능의 대응 반응이 일어남으로 대뇌에서 지각되어 변연계에 변화를 일으키게 된 스트레스는 시상하부로 전달되어 신경계통을 통한 시상하부, 자율신경계, 부신수질축 및 내분비계를 통한 시상하부, 뇌하수체 전엽부, 부신피질 축을 자극하여 기능을 활성화 시킨다[6]. 또한 자율신경계의 교감신경계가 활성화가 되면 심박동율의 증가, 동공확장, 내장기관의 수축 및 뇌와 근육에서 혈류량의 증가 등이 발생되고 이에 따른 위기대응 반응으로 혈류를 통한 신체를 순환하여 뇌하수체 전엽을 자극하여 부신훈르몬의 분비를 촉진시켜 뇌 조직에 물질분비 반응이 일어나게 된다[7,8].

본 연구에 사용된 침입추출물은 타이랜드 북부의 험준한 산악지대에서 주로 서식 하는 다년생의 콩과 덩굴 식물의 일종으로 호르몬 분비와 침의 주요성분인 카테킨이 많이 존재하는 폴리페놀류 물질로 강한 항산화 능과 진정작용 등이 있어 대사활성화를 통해 산화적 스트레스를 유도하여 뇌 조직에서 진정작용을 일으키는 것으로 알려져 있다[9].

이에 본 실험에서는 환경변화에 따른 후두 손상된 사람들과에서 목소리 장애 시 스트레스변화로 인해 뇌 조직에 미치는 영향을 알아보고자 Sprague-Dawley계 랫드에

후두손상을 유발시킨 후 실험동물에 나타나는 뇌 조직의 분자화학적 변화와 항산화 물질에 따른 변화를 알아보고, 진정작용이 있는 침입추출물을 투여 후의 변화를 보아, 후두 손상 시 심리적 안정제로서의 활용 가능성을 알아보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 기기 및 시약

실험기기로는 Laryngoscope(Olympus, Japan), homogenizer(IKA, T25 basic, Malaysia), mini centrifuge(Hitachi, MIKRO 200R, Japan), electronic balance(Sartorius, CP224S, Germany), 시료추출은 초고속 갑압 저온 추출기(COSMOS-660, Korea)를, cDNA synthesis 와 Real-Time RT-PCR kit 및 GAPDH 의 primer 는 Roche(Germany)제품을, 실험에 사용된 시약의 마취제는 Ketamine chloride(Korea)와 항생제 Amoxycillin(Korea)를 사용하였다.

2.2 동물실험 과정

Sprague-Dawley계 5주령(200~220 g)된 수컷 랫드를 대한바이오링크(주)에서 구입하여, 적응과정을 1주간 거쳐 실험에 사용하였다. 사육실 온도는 22±1℃, 습도는 50±5%, 명암주기 12시간 밤과 낮 단위로 조절되는 표준 사육 환경에서 사육하고 실험기간 동안 물과 사료(삼양사, 한국)의 양은 제한 없이 공급하였다.

2.3 시료 조제

경북 영천의 한약 재료상에서 침입 600 g 을 구입하여 물 6 l를 첨가 후 100℃의 온도, 60분간 초고속 갑압 저온추출기로 열수 추출한 후 0.6 l로 농축하여 1일 투여량씩 진공 파우치 포장 후 사용 하였다. 동결 건조로 측정 한 침입추출물의 수율(yield rate)은 26.30%였다. 실험군 시료는 동결 건조시킨 침입 열수추출물을 용매 {propyleneglycol: ethanol: water (5:3:2)}에 2% 농도로 용해시켜 사용하였다.

2.4 실험동물 후두 손상 모델 제작

랫드 6마리씩을 임의로 4개 실험군으로 배치하여 본 실험에서는 총 24마리를 사용하였다.

후두 손상 모델제작은 Sulica[8]의 방법에 준하여 랫드의 다리 근육에 동물용 마취제인 Ketamine chloride(유한, 서울, 한국, 1~3uL/mL) 25 mg(0.5 ml)를 주사하여 마취

하였다. 랫드를 앞으로 누힌 자세에서 목을 고정시킨 후 후두부 노출을 용이하게 하여 75% 알코올로 소독한 후 1 cm 정도 절개 후 대조군, 실험군 E1, E2 군에 후두를 손상하였다. 손상직후부터 3일간 동물용 항생제인 Amoxycillin 0.1 mg을 근육주사 하였으며, 1주 후 부터 1일 1회 일정한 시간대에 주 6회씩 5주간 경구투여 후 실험군의 분류표에 따라 실험하였다.

<실험군의 분류>

정상군: saline(0.25ml/kg BW/day)

대조군: saline(0.25ml/kg BW/day)

실험군 E1: Kudzu 0.25ml(0.35g/kg BW/day)

실험군 E2: Kudzu 0.5ml(0.70g/kg BW/day)

2.5 처치 및 시료채취

실험동물의 처치는 각 군별 SD 랫드 6마리씩 총 24마리를 일중 변동리듬을 감안하여 일정한 시간에 실시하였으며, 실험종료 12시간 전부터 절식시킨 후, diethyl ether로 흡입 마취시키고 개두 하여 뇌 조직을 적출하여 무게를 측정하고 실험에 사용하였다.

2.6 항산화능 변화 측정

뇌 조직을 냉동 하에서 절취한 조직 중 일정량을 칭량한 후 4배량의 0.25M 인산완충액을 가하여 glass teflon homogenizer를 이용하여 20%(w/v) 마쇄균질액을 만들고, 이 균질액을 600×g에서 10분간 원심 분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 다음 상층액을 10,000×g에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 얻었다. 마쇄균질액은 thiobarbituric acid 반응에 사용하였고, 상층액은 효소활성에 측정하였다.

2.6.1 Xanthine oxidase (XO)

활성도 XO는 Stripe와 Della[10]의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.

2.6.2 Superoxide dismutase (SOD)

뇌 조직 중 SOD 활성도는 헤마톡실린 자동산화의 억제 정도를 관찰하는 Martin 등[11]의 방법에 따라 0.1mM EDTA가 함유된 50mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10μM hematoxylin 및 효소액을 가해 25℃에서 반응시켜 생성된 hematein을 560nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1unit

로 하여 단백질 1mg이 1분 동안 반응한 unit로 표시하였다.

2.6.3 Catalase (CAT)

CAT 활성도는 hydrogen peroxide를 기질로 하여 환원되는 정도를 파장 240nm에서 그 흡광도를 읽고 분자흡광계수($E=0.04\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi[12]의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 뇌 조직의 효소액 중에 함유된 단백질 1mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 hydrogen peroxide 양을 nmole로 표시하였다.

2.6.4 Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

지질과산화 TBARS 시험은 Ohkawa[13]의 방법에 따라 측정하였다. 효소 시료 속의 과산화지질을 산성조건 하에서 thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생긴 TBARS의 흡광도를 500nm에서 측정하였다. TBARS 함량은 단백질 g당 nmole로 표시하였다.

2.7 뇌 조직의 분자생물학적 관찰

2.7.1 RNA 추출

-80℃에서 냉동 보관하였던 뇌 조직을 액화질소에 담아 이송한 후 얼음으로 저온을 유지시키며 조직 50mg당 1ml의 Trizol(Invitrogen, New Zealand)을 첨가하여 조직을 마쇄하고 실온에서 5분간 incubation시킨 후 chloroform 200μl를 첨가하여 실온에서 3분간 방치 후 15,000rpm, 4℃, 10분간 원심분리 하였다. 상층액을 취한 후 isopropyl alcohol을 500μl 첨가한 다음 15,000rpm, 4℃, 15분간 원심분리 후 상층액은 제거하고 70% ethanol 1ml를 첨가하여 RNA pellet을 washing하고 15,000rpm, 4℃, 2분간 원심분리 하여 나온 상층액은 제거하고 남은 RNA pellet을 건조 후 diethylpyrocarbonate (DEPC)로 희석하여 260nm에서 OD값을 측정하여 RNA를 정량하였다. 280nm에서 OD값을 측정하고 absorbance ratio(A260/A280)가 1.8~2.0 사이인 지 확인하였다.

2.7.2 cDNA 합성

BioNEER사의 CycleScript RT PreMix(dT20) kit에서 제공하는 protocol에 따라 total RNA 양이 0.1~1μg/μl가 되도록 RNA sample을 넣고 DEPC를 20μl까지 채운 후 30℃에서 1분간, 50℃에서 4분간 12 cycle 반응시키고 95℃에서 5분간 가열하여 반응을 종결시켰다.

2.7.3 Real-time RT-PCR

Roche사의 AccuPower™ PCR PreMix kit를 구입하여

사용하였다. Template $2\mu\text{l}$, forward primer와 reverse primer($10\text{pmole}/\ell$, BioNEER, Korea)를 각각 $1.4\mu\text{l}$, 멸균된 증류수 $15.2\mu\text{l}$ 를 섞고 PCR 반응(Bio-RAD, MycyclerTM thermal cycler, USA)을 실시하였다. Primer는 대조군으로 GAPDH(57°C , 35 cycle), 실험군으로 DREB(60°C , 35 cycle), GFAP(60°C 35 cycle)를 사용하였으며 사용된 primer들의 염기서열은 Table 1과 같다.

2.8 통계처리

SPSS 18.0 for windows(SPSS Inc., USA)를 이용하여 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 각 그룹 간의 차이를 검정하기 위해 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후분석을 하였다. 통계학적 유의수준은 $p<0.05$ 로 하였다

[Table 1] Nucleotide sequence of the primers

Items	Primers		Expected size(bp) ³⁾
GAPDH ¹⁾	Forward (5'→3')	GCCACTAACATCAAATGG GG	487
	Reverse (5'→3')	TCACATTGGGGGTAGGAA CA	
GFAP ²⁾	Forward (5'→3')	ACTGGTCCTGCTGGTCCT G	357
	Reverse (5'→3')	TTGCCTCTGTCACTTGT TCG	
DREB	Forward (5'→3')	AAGAAGCGAGATGTTCAA GAAGC	398
	Reverse (5'→3')	GTTGTGACGGTGGCAGA GG	

¹⁾GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehyd rogenase

²⁾GFAP: Glial fibrillary acidic protein

³⁾bp: basepair

3. 결과 및 고찰

3.1 뇌 조직의 항산화능 변화 측정

뇌 조직의 항산화능 관련된 유해산소 효소 활성 및 지질과산화 함량 연구결과는 Table 2와 같다. XO, SOD, CAT 활성치 및 TBARS 함량은 대조군이 정상군에 비하여 XO와 TBARS가 각각 통계적 유의성 있게 높았고 ($p<0.05$), 침입추출물을 투여한 실험군(E1, E2)에서는 대조군에 비하여 XO와 TBARS는 유의하게 낮았으며 ($p<0.05$), 실험군(E) 별로 XO와 TBARS의 활성도는 E2에서 가장 낮게 나타났다. SOD와 CAT는 정상군에 비하여 대조군이 유의하게 낮았다($p<0.05$). 실험군(E1, E2)은

대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 높았으며($p<0.05$), 실험군간 비교에서 E2군에서 가장 높게 나타났다. 이는 침입추출물의 물질 용량에 따라 SOD와 CAT를 다르게 활성화시켜 스트레스물질에 의한 지질 과산화변화에 대해 항산화 효과를 갖는 것으로 사료된다. 이를 볼 때 마늘추출물 첨가 식이가 랫드에서 지질 과산화를 억제하였다는 보고와[14], 스트레스 물질에 의해 유발된 뇌 작용 후 침입추출물을 투여하여 SOD, CAT GST, GPx가 현저하게 증가 할 수 있다는 보고[15]와도 일치하였으며, 또한 자연추출물 식이가 항산화 및 지질효소 활동 변화에도 많은 영향이 작용 된다는 보고와도[16,17] 유사하여 본 실험의 결과를 볼 때 추출물 용량에 따른 변화도 참고하여야 될 것이다.

3.2 뇌 조직의 분자생물학적 관찰

본 실험에서 적출한 뇌 조직의 분자생물학적 유전자 발현량의 측정 결과는 Table 3과 같다. *real-time* RT-PCR을 이용하여 평가한 결과 DREB, GFAP의 mRNA 발현량은 대조군에서는 정상군에 비해 통계적으로 유의하게 높은 발현량을 확인하였다($p<0.05$). 실험군(E1, E2)은 대조군에 비하여 DREB, GFAP은 각각 유의하게 낮았으며 ($p<0.05$), E2군은 E1군에 비해 DREB, GFAP의 mRNA 발현량은 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 있었다. Koufman[18]에 따르면 thioacetamide로 장기 및 뇌 신경 손상 유도된 랫드의 DREB, GFAP의 mRNA 발현량 측정에서 hepatocyte growth factor formation에 따라서 발현량이 다르게 나타난다는 보고와, Winholtz 등[19]은 식물 추출물로 유도된 동물 실험에서 DREB, GFAP 및 TGF- β 1,의 발현량이 투여 시간이나 조건에 따라 다르게 발현된다는 보고와, 반응 인자 부착 단백질 DREB는 신호전달체계와 식물 스트레스 반응에 관여하는 중요한 전사조절인자로 알려져 있다[7,19]. 가뭄이나 염류집적, 저온 등의 환경 스트레스로 식물 성장과 생산성에 있어서 중요한 영향을 끼치는데, 이러한 스트레스들은 동물, 식물로 하여금 여러 가지 유전인자들의 이상 발현을 초래한다는 Enzinger 등의 실험을 볼 때[20], 본 실험에서 침입추출물의 용량에 따라 다르게 발현되는 부분이 유사하였다. 이는 추출물의 성분, 용량에 따른 발현량의 차이로 사료되고 항산화적 변화와도 일치하였으며, 선행 연구를 볼 때 언어장애로 과도한 스트레스는 뇌 조직에도 영향이 미치며[21] 호르몬 변화에 의한 신경줄기세포나 희소돌기 아교세포선조세포의 활성변화에도 따라서 GFAP의 양성 반응이 강하다는 Enzan의 결과[22] 와도 유사하며, 자연추출물을 이용한 신경줄기세포의 활성화를 유도하여 신경세포의 분화, 신경성장인자의 분비촉진, 신경세포

의 기능유지 등에[23] 관여됨을 볼 때 침입 추출물이 스트레스 물질을 감소시켜 뇌세포 조직에도 영향을 미칠 수도 있음을 유전분석학 적으로 확인할 수 있었다.

[Table 2] Effect of *Kudzu* leaf extract on brain tissue of XO, SOD, CAT and TBARS activity laryngoparalysis in rats.

Items	Normal	Control	Experimental	
	N	C	E1	E2
XO ¹⁾	1.53±0.03 ^c	2.74±0.02 ^d	1.42±0.05 ^b	1.33±0.02 ^a
CAT ²⁾	6.97±0.64 ^b	2.96±0.27 ^a	8.24±0.18 ^c	9.01±0.12 ^d
SOD ³⁾	25.47±0.83 ^b	15.30±0.82 ^a	35.42±0.62 ^c	42.42±0.24 ^d
TBARS ⁴⁾	2.01±0.04 ^c	5.24±0.12 ^d	1.89±0.05 ^b	1.56±0.04 ^a

Values are mean±SD of 6 rats.

N: saline (0.25 ml/kg BW/day)

C: Laryngoparalysis + saline (0.25 ml/kg BW/day)

E1: Laryngoparalysis + *Kudzu* 0.25 ml (0.35 g/kg BW/day)

E2: Laryngoparalysis + *Kudzu* 0.5 ml (0.70 g/kg BW/day)

¹⁾Unit: nmole 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate/mg protein/min

²⁾Unit: nmole H₂O₂ reduced/mg protein/min

³⁾Unit: U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/mg protein/min

⁴⁾Unit: nmole/mg protein

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range test.

[Table 3] Effect of *Kudzu* leaf extract on brain tissue of DREB and GFAP activity laryngoparalysis in rats.

Items	Normal	Control	Experimental	
	N	C	E1	E2
DREB	3.01±0.04 ^c	4.69±0.31 ^d	2.72±0.03 ^b	2.14±0.05 ^a
GFAP	1.23±0.05 ^b	0.38±0.02 ^a	1.43±0.08 ^c	2.52±0.01 ^d

These results are shown relative to those the housekeeping gene GAPDH by *real-time* RT-PCR.

Values are mean±SD of 6 rats.

N: saline (0.25 ml/kg BW/day)

C: Laryngoparalysis + saline (0.25 ml/kg BW/day)

E1: Laryngoparalysis + *Kudzu* 0.25 ml (0.35 g/kg BW/day)

E2: Laryngoparalysis + *Kudzu* 0.5 ml (0.70 g/kg BW/day)

Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range test.

4. 결론

본 연구는 후두 손상으로 인해 스트레스변화에 영향을 받은 SD계 랫드의 뇌 조직을 이용하여 생리적 기능과 항산화적 변화를 보기위해 *Real-time* RT-PCR과 항산화능

검사를 실시하여 실험동물에서 나타나는 변화와 스트레스 경감효과에 미치는 영향을 진정작용이 있는 침입추출물을 투여 후 변화를 보고자 하였다. 실험은 정상군, 대조군, 실험군(1, 2)으로 하여 군당 6마리씩 총 24마리를 이용하여 지정된 용량으로 1일 1회 일정한 시간대에 주 6회씩 5주간 경구투여 후 처치하여 실험 하였다. 결과는 정상군에 비하여 대조군에서는 통계적으로 유의성 있게 높았으며(p<0.05), 실험군에서는 대조군에 비해 통계적 유의성 있게 낮아져(p<0.05), 실험군의 뇌 조직에서 산화스트레스를 감소시키고 투여량에 따른 증감작용 및 스트레스 저항성과 신호전달체계에 관여하는 유전자에 대한 변화를 확인하였다.

이상의 실험결과를 종합해 보면 침입추출물은 스트레스 완화제로 활용 가능성이 있을 것으로 사료되며 차후 투여 용량 및 침입추출물 성분별 효능 연구도 추가적으로 필요할 것으로 판단된다.

References

- [1] Cashman, S., Simpson, C. B., and McGuff, H. S., "Soft tissue response of the rabbit larynx to Gore- Tex implants," *Ann Otolaryngology Rhinol Laryngology*, 111(11), 977-982, 2002.
- [2] Bae, S. H., and Lee, S. J., "Comparison of vocal outcome after autologous fat injection and medialization thyroplasty for unilateral vocal cord paralysis," *Korean Journal of Otolaryn gol-Head Neck Surgery*, 53, 24-29, 2010.
- [3] Rosen, C. A., Gartner-Schmidt, J., Casiano, R., and Anderson T. D., "Vocal fold augmentation with calcium hydroxylapatite: twelve-month report," *Laryngoscope*, 119, 1033-1041, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/lary.20126>
- [4] Isshiki, N., Morita, H., Okamura, H., and Hiramoto, H., "Thyroplasty as a new phonosurgical technique," *Acta Otolaryngology*, 78(5-6), 451-457, 1974.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3109/00016487409126379>
- [5] Ramadan, H. H., and Wax, M. K., "Outcome and changing cause of unilateral vocal cord paralysis," *head Neck Surgery*, 118, 192-202, 1998.
- [6] Yoo, Y. S., Choi, C., and Kim, H. J., "New thyroplasty technique using balloon catheter," *Korean Journal of Logopedics and Phoniatrics*, 18(2), 118-121, 2007.
- [7] Cashman, S., Simpson, C. B., and McGuff, H. S., "Soft tissue response of the rabbit larynx to Go re- Tex

- implants," Ann Otolaryngology Rhinol Laryngology, 111(11), 977-982, 2002.
- [8] Sulica, L., and Blitzer, A., "Vocal fold paresis: evidence and controversies," Curr Opin Otolaryngology -Head Neck surgery, 15, 159-162, 2007.
- [9] Krause, E., and Schirra, J., "Botulinum toxin Atreatment of cricopharyngeal dysphagia after subarachnoid hemorrhage," Dysphagia, 23, 406-410, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00455-007-9132-1>
- [10] Stripe, F., and Della, C. E., "The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase(type D) oxidase(type O)," Journal of Biological Chemistry, 244, 14, 3855-3863, 1969.
- [11] Martin, J. P., Dailey, M., and E., "Sugarman. N egative and positive assays of superoxide dismut as ebased on hematoxylin autoxidation," Archives of Biochemistry and Biophysics, 255, 329-336, 1987.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861\(87\)90400-0](http://dx.doi.org/10.1016/0003-9861(87)90400-0)
- [12] Aebi, H., "Catalase in vitro," Methods in Enzym ology, 105, 121-126, 1984.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- [13] Ohkawa, H., Ohishi, N., and Yagi. K., "Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction," Analytical Biochemistry, 95, 351-358, 1979.
- [14] Mehta, D., and Hillman, R., "Voice assessment: updates on perceptual acoustit aero dynamic, and endoscopic imaging methods," Curr Opin Otolaryngol-Head Neck surg,16, 211-215, 2008.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/MOO.0b013e3282fe96ce>
- [15] Kennedy, B. P., Blum, J. D., Keith, H., and Nisl ow, L F., "Comparing naturally occurring stable is otopes of nitrogen, cabon and strontium as mar krs for the rearing location of atlantis salmon," Canada Journal Fish Aquat sciences, 62, 48-57, 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1139/f04-184>
- [16] Heman-Ackah, Y. D., and Batory, M., " Determi nig the etiology of mild vocal fold hypomobility," Journal Voice, 17, 579-588, 2003.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1067/S0892-1997\(03\)00085-7](http://dx.doi.org/10.1067/S0892-1997(03)00085-7)
- [17] Simpson, C. B., Cheung, E. L., and Jackson, C. J., "Vocal fold paresis clinical and electrophysiologic features in a tertiary laryngoigy practice," Journal Voice, 23, 96-398, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvoice.2007.10.011>
- [18] Koufman, J. A., Postam G. N., Cummins M. M., and Blalock P. D., "Vocal fold paresis." Otolaryngol-Head Neck surg, 122, 537-541, 2000.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0194-5998\(00\)70097-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0194-5998(00)70097-0)
- [19] Winholtz, W. S., and Raming, L., "Vocal tremor analysis with the vocal demodulator," Journal of speech and hearing research, 35(3), 562-573, 1992.
- [20] Enzinger, F. M., "Malignant fibrous histocytoma 20 years after stout," American Journal of Surg Pathology, 1, 43-53, 1986.
- [21] Yarcheski, A. C., "Kanpp-Spooner. Stressors Associated with Coronary Bypass Surgery," Clinical Nursing reseach, 3(1), 57-68, 1994.
- [22] Enzan, F., Johnson, J. E., Waldo, M., and Johnson, R. G., "Stress and perceived health status in the rural elderly," Journal of Gerontological Nursing, 19(9), 24-29, 1993.
- [23] Thase, M. E., "Depression, sleep, and antidepressants," Jo urnal of Clinical Psychiatry, 59(4), 55-65, 1998.

예 춘 정(Kil-Dong Hong)

[정회원]



- 2002년 2월 : 대구한의대학교 대학원 보건학과 (보건학석사)
- 2005년 2월 ~ 2006년 2월 : 대구한의대학교 대학원 보건학과 (보건학박사)
- 2013년 9월 ~ 현재 : 계명문화대학교 보건학부 부교수

<관심분야>

보건학, 의. 생명공학

이 태 종(Tae-Jong Lee)

[정회원]



- 2003년 2월 : 계명대학교 계명대학원 의료경영학과(의료보건관리학석사)
- 2009년 3월 : 계명대학교 계명대학원 공중보건학과 (보건학박사)
- 2013년 9월 ~ 현재 : 대구파티마병원 병리과

<관심분야>

의. 생명공학, 보건병리학