

아드레날린 수용체가 백서 좌골신경의 신경전도에 미치는 영향

울산대학교 의과대학 마취과학교실, ¹연세대학교 의과대학 생리학교실
²충북대학교 의과대학 마취과학교실

이 청 · 정성량 · 최 윤 · 임중우¹ · 임항수
양현철 · 한성민 · 공현석 · 임승운²

= Abstract =

Effect of Adrenergic Receptors on the Nerve Conduction in Rat Sciatic Nerves

Chung Lee, M.D., Sung Lyang Chung, M.D., Yoon Choi, M.D., Joong Woo Leem, M.D.¹
Hang Soo Lim, M.D., Hyun Cheol Yang, M.D., Sung Min Han, M.D.
Hyun Seok Kong, M.D. and Seung Woon Lim, M.D.²

Department of Anesthesiology, College of Medicine, University of Ulsan

¹Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine

²Department of Anesthesiology, College of Medicine, ChungBuk National University

Background: Clonidine, an α_2 adrenergic agonist blocks nerve conduction. However, in our previous experiment we found that adrenaline neither blocks nerve conduction by itself nor augment nerve conduction blockade by lidocaine near clinical concentrations. Possible explanations are: 1) there may be antagonism between some of adrenergic receptors, 2) clonidine may block nerve conduction via non-adrenergic mechanism. The purpose of this study is to obtain dose-response curves of several different forms of adrenergic receptor agonist to see the relative potencies of each adrenergic receptors to block nerve conduction.

Methods: Recordings of compound action potentials of A-fiber components (A-CAPs) were obtained from isolated sciatic nerves of adult male Sprague-Dawley rats. Nerve sheath of the sciatic nerve was removed and desheathed nerve bundle was mounted on a recording chamber. Single pulse stimuli (0.5 msec, supramaximal stimuli) were repeatedly applied (2Hz) to one end of the nerve and recordings of A-CAPs were made on the other end of the nerve. Dose-response curves of epinephrine, phenylephrine, isoproterenol, clonidine were obtained.

Results: ED₅₀ of each adrenergic agonist was: 4.51×10^{-2} M for epinephrine; phenylephrine, 7.74×10^{-2} M; isoproterenol, 9.61×10^{-2} M; clonidine, 1.57×10^{-3} M.

Conclusion: This study showed that only clonidine, α_2 adrenergic agonist, showed some nerve blocking action while other adrenergic agonists showed similar poor degree of nerve blockade. This data suggest that non-effectiveness of epinephrine in blocking nerve conduction is not from the antagonism between adrenergic receptors.

Key Words: Pharmacology, adrenergic receptor agonists: clonidine; epinephrine; isoproterenol; phenylephrine. Physiology, nerve conduction: compound action potential. Rat, sciatic nerve.

책임저자 : 최 윤, 서울시 송파구 풍납동 388-1, 울산대학교 의과대학 마취과학교실, 우편번호: 138-736

Tel: 2224-3868, Fax: 470-1363, E-mail: ychoi@www.amc.seoul.kr

아산생명과학 연구소 연구비(97-191)에 의해 이루어졌음.

서 론

선행실험을 통하여 epinephrine은 그 자체로는 신경전도를 억제시키지 않으며 리도카인에 의한 신경전도 차단 또한 강화시키지 않음을 알 수 있었다.¹⁾ 두가지의 구조적으로 서로 다른 α_2 아드레날린 수용체 작용제인 clonidine과 guanfacine이 쥐 좌골신경의 신경전도를 억제시킨다는 연구 결과로 보아,²⁾ α_2 아드레날린 수용체의 활성화가 신경전도를 억제시킬 가능성은 있다. 그렇다면, 역시 α_2 아드레날린 수용체에도 작용할 수 있는 epinephrine이 임상농도에서 신경전도를 억제시키지 않는 이유에 대한 가능한 설명으로는, 첫째로는 epinephrine이 α_2 아드레날린 수용체에 작용함으로써 신경 전도를 차단시키지만, α_2 아드레날린 수용체 이외의 다른 아드레날린 수용체에 대한 작용이 α_2 아드레날린 수용체에 의한 신경전도 차단작용을 길항할 가능성도 있으며, 두 번째로는 clonidine의 작용이 실제로는 아드레날린 수용체에 의해 매개되지 않을 가능성이다.

이번 실험에서는 첫 번째의 가능성을 확인하기 위해 epinephrine이 α_2 아드레날린 수용체에 작용함으로써는 신경 전도를 차단시키지만 α_2 이외의 다른 아드레날린 수용체에 대한 작용이 α_2 아드레날린 수용체에 의한 신경전도 차단작용을 길항할 것이라는 가설을 세우고 이 가설을 증명하는 것을 목표로 삼았다.

대상 및 방법

실험 동물로는 300~400 g 정도의 숫컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 사용하였다. 우레탄(1 g/kg, i.p.) 마취 하에 양측 대퇴부에서 각각 피부의 털을 깎고 피부를 절개 한 후 주위 근육을 적혀 좌골신경을 5 cm 정도의 길이로 조심스레 적출해 내었다. 적출된 좌골신경은 실험용액을 뿌려가며 건조되지 않도록 조심스레 수술 현미경하에서 신경외막을 제거한 후 실험세트에 위치시켰다(Fig. 1).

실험세트는 자극 chamber, 실험용액 chamber, 기록 chamber로 이루어 졌으며, 적출된 신경의 한쪽은 자극 chamber 내에 위치한 약 2 mm간격을 둔 두께 0.3 mm의 전기 자극용 백금선(World Precision Instru-

ment, USA)에 신경을 올려놓고, 약 20 mm의 거리를 두고 위치한 기록 chamber 내의 기록용 백금선에 다른 한쪽의 신경을 올려놓았다. 각 전극 주위로는 바셀린을 가볍게 발라 절연 효과와 동시에 실험용액이 기록 및 자극 chamber에 흘러들지 않도록 하였고, 기록 및 자극 chamber에는 파라핀 용액을 추가하여 절연을 확실히 기하도록 하였다. 실험 chamber 내에는 기록전극에 대한 참조전극(reference electrode)과 접지전극을 위치시켰다. 실험 중 실험 용액을 통하는 산소 95%, 이산화탄소 5%의 혼합 가스가 관류되었으며, 실험 용액은 주입펌프를 이용하여 분당 3 ml 정도의 일정한 속도로 실험 chamber에 관류되도록 하였다.

기본 실험용액은 modified Krebs 용액(NaCl 118, KCl 5, CaCl₂ 2.5, NaHCO₃ 30, KH₂PO₄ 1, MgSO₄ 1, Glucose 11 mM)을 pH 7.4로 맞춘 후 사용하였다. 실험 용액은 기본 실험 용액에 원하는 약제를 첨가하여 원하는 농도로 만든 후 다시 pH를 맞추어 실험에 이용하였다.

본 실험에서 Labview (National Instrument, USA)로 작성한 프로그램을 이용하여 A/D D/A 전환기를 조합함으로써 원하는 기간과 주파수를 가진 5 V 크기의 펄스신호가 원하는 시기에 출력되도록 하였고, 이 출력신호는 신경 자극기(stimulator/stimulation isolator, World Precision Instrument, USA)로 보내져서 같은 모양의 정해진 전류가 신경을 자극하도록 하였다. 본 실험을 위하여는 0.5 ms의 기간을 가진 직각 펄스의 전기 자극을 2초 간격으로 신경 자극기에 보

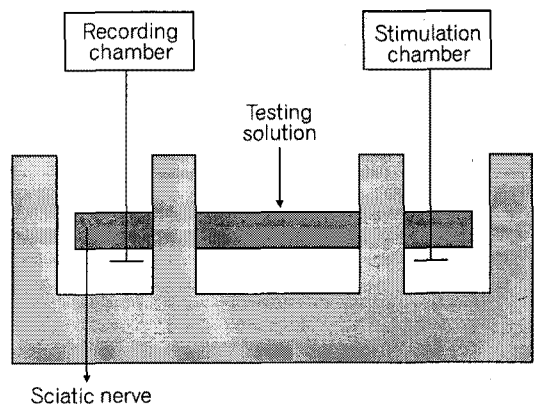


Fig. 1. Experimental setup.

내진 후 신경의 복합활동전압이 최대치로 기록되는 최소한의 전류보다 30% 더 큰 최대상자극(supra-maximal stimulus)으로 신경을 지속적으로 자극하였다. 전기 자극에 의하여 발생한 활동전압은 증폭기로 200배 증폭되고 필터된 후(0.3~10,000 Hz) A/D 전환기를 통해 입력되었다. 입력된 신호는 A-fiber 범위의 복합활동전압(compound action potential, CAP; A-CAP)은 0~4 ms 사이의 신호를 보여주는 창에서 나타나게 하였고, C-fiber CAP (C-CAP)는 0~120 ms 사이의 신호를 보여주는 창에서 나타나게 한 후 각 구간마다 자동으로 최고점과 최저점을 찾아내어 그 당시의 CAP의 크기로 정하였다. 이렇게 정해진 A 및 C-CAP는 정해진 기간마다 그 크기가 측정되어 모니터에 그 변화양상을 나타내는 동시에 데이터로 기록하였으며, 입력 값들은 실제 활동전압의 크기로 환산한 후 기록하였다. 특히 C-CAP는 매우 크기가 작고 잡신호에 묻혀있으므로 동기화된 연속적인 활동전압을 중첩시킨 후 평균을 내어 잡신호를 제거하는 신호평균(signal averaging)기법을 이용하였는데 본 실험에서는 12개의 연속되는 CAP의 평균을 내어 그 당시의 데이터로 삼았다.

단, 실험에 들어가기 전 30분 간 측정된 A-CAP의 크기가 4 mV보다 작은 경우 그 신경을 실험에서 제외시켰으며 또한 재판류 후 A-CAP가 다른 신경에 비해 현저히(50% 이내) 회복되지 못하는 신경 역시 분석에서 제외시켰다.

실험 1. 실험환경에서 신경 활동전압의 지속 기간의 관찰

본 실험에서는 여러 가지 약물의 농도를 순차적으로 관류하여 그에 대한 신경차단의 정도를 기록하여 용량-반응곡선을 구할 계획이었으므로 Krebs 용액을 포함하여 한 용액 당 30분씩, 즉 최대 3시간동안 신경 활동전압이 안정적으로 기록되는 것이 매우 중요하므로 Krebs 용액에서 3시간동안 CAP를 기록하여 지속성을 확인하였다.

실험 2. 아드레날린 수용체 작용제들의 신경전도 차단에 대한 용량-반응곡선의 결정

임상농도 근처에서는 epinephrine이 신경전도에 영향이 없음이 확인되었으나 임상농도와 관계없이 아드레날린 및 아드레날린성 수용체 작용제들의 신경

전도에 대한 용량-반응 곡선을 작성하는 것은 각 약제의 신경전도에 미치는 영향을 비교 분석하는데 필수적이다. 단, 이번 실험에서는 시약의 포장 단위량이 매우 적고 값이 매우 비싼 관계로, 작은 부피의 고농도 실험용액을 실험 chamber에 넣음으로써 용량-반응곡선을 구하였다. 실험 chamber의 부피는 반복 측정결과 2.6 ml로 일정하게 측정되었다. 예를 들어 1 M 용액 A 0.1 ml를 chamber에 첨가하였을 경우 chamber내의 실험 용액의 농도는 1/2.7 M의 농도로 계산된다. 이와 같은 방법 하에 예비 실험을 통하여 적절한 실험용액 농도 범위를 정한 후: epinephrine은 8.43×10^{-3} , 4.97×10^{-2} , 1.28×10^{-1} M; α_1 아드레날린 수용체 작용제인 phenylephrine은 4.64×10^{-2} , 9.09×10^{-2} , 1.34×10^{-1} M; β 아드레날린 수용체 작용제인 isoproterenol은 3.81×10^{-2} , 7.48×10^{-2} , 1.10×10^{-1} M; α_2 아드레날린 수용체 작용제인 clonidine은 6.95×10^{-4} , 2.07×10^{-3} , 5.42×10^{-3} M의 농도가 되도록 실험 용액들을 만든 후 실험을 시행하였다. 좌골신경을 적출하여 실험세트에 거치시킨 후 Krebs 용액을 30분간 관류시켜 CAP가 안정적으로 기록되는 것을 확인한 후 마지막으로 측정된 CAP 값을 기저치로 삼았다(CAP_base). 그 이후 해당 용액들을 순차적으로 30분씩 관류시켜 각각의 최종 관측치를 해당 용액에서의 CAP 값으로 삼았다(CAP_d). 각 시기의 실험용액에 의한 신경차단의 정도는 $(1 - \text{CAP}_d / \text{CAP}_{\text{base}}) \times 100$ 으로 계산되었다. 각 측정치는 평균±표준오차로 표시하였다.

결 과

실험 1. 실험환경에서 신경 활동전압의 지속 기간의 관찰

실험 세트에 거치된 후 Krebs 용액으로 관류시킨 신경은 A-CAP의 경우 초기에는 CAP 값이 계속적으로 증가하다가 30분 정도면 일정해지는 양상을 보였다. 이를 근거로 Krebs 용액 관류 30분 후에 측정된 CAP 값을 100으로 잡고 시간에 상대적인 따른 변화를 3시간에 걸쳐 측정한 결과 측정기간 중 기준 값의 90% 이내로 안정적으로 측정됨을 확인하였다(n=8; Fig. 2A).

C-CAP는 A-CAP와는 달리 기록시작 후부터 차츰 감소하여 약 15분 후부터는 비교적 일정하게 유지되

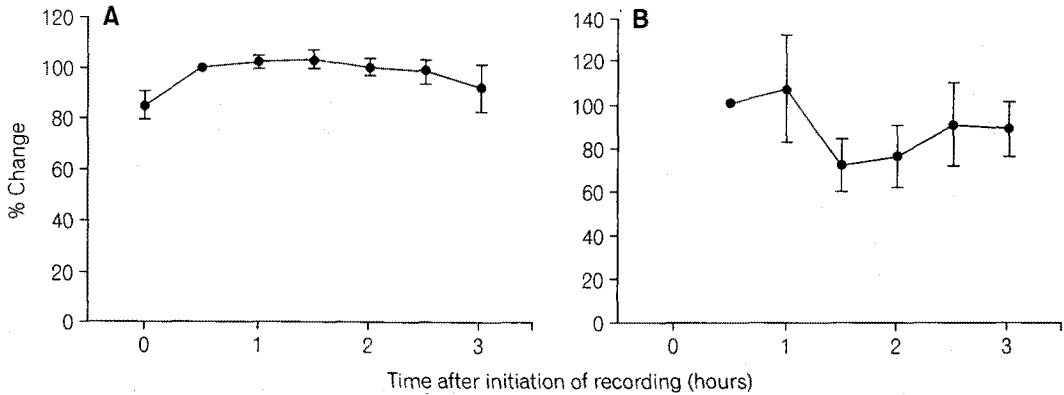


Fig. 2. Nerve stability in the experimental setting. A. Stability of A-fiber compound action potential (A-CAP). A-CAP increased over time after it was mounted in the experimental chamber. The size of A-CAP reached plateau within 30 minutes and it was kept relatively constant (with 10% difference from that measured at 30 minutes after mounting) for at least 3 hours. B. Stability of C-CAP. The size of C-CAP decreased over time. However, it remained relatively constant in most cases (n=8).

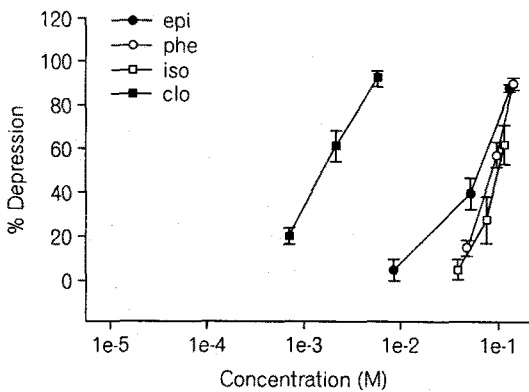


Fig. 3. Dose-response curve for the effects of adrenergic agents on nerve conduction. ED50s of each agent were: epi; epinephrine (4.51×10^{-2} M; n=8), iso; isoproterenol (9.61×10^{-2} M; n=8), phe; phenylephrine (7.74×10^{-2} M; n=8), clo; clonidine (1.57×10^{-3} M; n=10).

였지만 실험에 따른 편차가 매우 컸다(n=8; Fig. 2B).

실험 2. 아드레날린 수용체 작용제들의 신경전도 차단에 대한 용량-반응곡선의 결정

실험 중 C-CAP는 많은 경우에서 안정적으로 측정되지 못하였으므로 A-CAP에 대한 신경차단 정도만을 분석에 이용하였다.

각 약제의 ED₅₀은, epinephrine은 4.51×10^{-2} M (n=8); isoproterenol은 9.61×10^{-2} M (n=8); phenylephrine은 7.74

$\times 10^{-2}$ M (n=8); clonidine은 1.57×10^{-3} M (n=10)로서 adrenaline, phenylephrine, isoproterenol은 비슷한 높은 농도에서 신경차단을 일으켰고, clonidine은 이들 보다 약 1/50의 농도에서 신경 차단 작용을 보였다(Fig. 3).

고 찰

본 연구를 통하여 여러 종류의 아드레날린성 수용체 작용제들 중 α_2 아드레날린 수용체 작용제인 clonidine만이 낮은 농도에서 신경차단을 일으키고 다른 작용제들은 높은 농도에서 비슷한 정도의 신경차단을 일으킬을 알 수 있었다. 처음 가설을 세운바와 같이 만약 epinephrine이 α_2 아드레날린 수용체에 작용함으로써 신경 전도를 차단시키지만 다른 아드레날린 수용체에 대한 작용이 α_2 아드레날린 수용체에 의한 신경전도 차단작용을 길항할 것이라면 용량반응곡선의 위치는 epinephrine의 용량반응 곡선의 좌측에 clonidine의 용량반응곡선이 위치하고 이와 대칭적으로 epinephrine의 우측에 어떤 아드레날린 수용체 작용제가 위치하여야 할 것이다. 하지만 본 연구 결과 이미 알려진 바와 같이 clonidine은 epinephrine에 비해 약 1/50의 낮은 농도에서 신경차단 작용을 보였으나 epinephrine은 임상농도의 1000배 이상의 농도에서 신경차단 작용을 보였고 다른 작용제들도 epinephrine과 비슷한 정도의 차단작용을 보였다.

만약, clonidine의 신경차단 작용에 대한 길항작용을 하는 다른 아드레날린성 수용체가 존재한다면 그 수용체의 활성화에 의한 신경전도 차단의 용량 반응곡선은 다른 수용체의 활성화에 의한 것 보다 더 우측에 위치하여야 할 것이다. 하지만 본 실험에서는 clonidine을 제외한 다른 수용체의 활성화는 비슷한 정도의 신경차단을 일으켰다. 이렇게 비슷한 질량의 서로 다른 작용제들이 임상농도보다 1000배 이상 높은 농도에서 비슷한 정도의 신경차단 정도를 보이는 것으로 보아 이들에 의한 신경전도 차단은 수용체의 활성화에 의한 것이라기 보다는 osmotic effect 등의 비특이적인 기전을 통한 가능성이 시사되나 정확한 원인의 규명을 위하여는 좀더 연구가 필요할 것이다.

과연 신경 말단이 아닌 신경 축색에 아드레날린성 수용체가 존재하는지, 혹시 있다하더라도 이의 작용이 신경전도에 얼마나 중요할 것인가는 아직 확실한 단언하기는 힘들다. 비록 양서류에서 좌골 신경의 유수 신경섬유에는 내재성 조절물질과 외인성 유사물질에 대한 생리적인 수용체들이 존재한다고는 하지만⁴⁾ 아직 포유류의 신경에서는 아드레날린성 수용체의 존재가 증명된 바는 없다. 하지만, 해부학적인 확증이 없더라도 약력학적인 실험을 통하여 수용체의 존재를 증명하는 것은 항상 가능하며, 비록 이러한 신경내의 수용체들이 정상 상태에서 생리적인 기능을 수행할 수는 없다 하더라도 신경막에 존재하는 수용체의 성질을 연구하는데는 유용하다고 할 수 있다.⁴⁾

Sabelli와 Gorosito는 신경외막이 제거된 두꺼비의 좌골신경과 in vivo에서 D-adrenaline은 신경전도를 차단하는 반면; L-adrenaline은 신경차단을 억제한다고 하였다.⁴⁾ 이러한 입체적 특이성은 아드레날린성 수용체의 존재 가능성을 시사한다. Bulbring과 Whitteridge,⁵⁾ Goffart와 Holms⁶⁾ 또한 epinephrine에 의한 활동전압의 증가와 역치의 감소를 관찰하였다. 하지만 Shapiro⁷⁾와 Stampfli⁸⁾ 등은 개구리의 좌골신경에서 이와 같은 epinephrine의 작용을 관찰하지 못했다.

실험용액 온도의 변화는 신경전도에 여러 가지의 영향을 미친다. 실험용액의 온도가 감소함에 따라 신경전도가 억제된다고 보고되었고, 국소마취제에 의한 신경차단도 강화된다고 한다.^{9,10)} 본 연구에서도 약제들의 작용이 실제 임상 사용시보다 강화되어 측정되었을 것이나, 20~22도의 비교적 일정한 온도

범위 내에서 시행되었으므로 실험군 간의 상대적인 비교가 가능하며, CAP의 크기가 충분히 발현될 수 있는 여건 하에서 실험이 진행되었다고 볼 수 있다.

본 실험에 사용된 Krebs 용액은 가장 흔히 이용되는 생리용액들 중 하나이며, 본 실험을 통하여 신경전도가 안정되게 유지됨이 확인되었다. A-CAP는 대개 실험시작 5~20분 동안 그 크기가 점차 커지면서 안정되었고, 실험을 통하여 이후 CAP의 크기가 대개 10% 이내로 유지되었으므로 실험 시작 30분의 CAP의 크기를 기저치로 삼았다. C-CAP의 경우는 A-CAP와는 달리 실험 시작 5분 이내부터 CAP의 크기가 감소하기 시작하였으며 1시간 이후로는 그 크기가 더욱 감소하여 30분 당시의 크기에 60% 근처에서 유지되는 경향을 보였으며 신경간의 편차가 매우 컸다. 이러한 이유로 본 실험에서 용량-반응 곡선을 계산한 것은 A-CAP에 대하여만 하게 되었다. 이는 본 실험이 실온에서 시행되었고 C-fiber는 대사 및 온도 변화 등에 매우 예민하므로 본 실험과 같은 결과를 보인 것으로 생각된다. 앞으로 체온 범위 내에서 실험을 할 수 있도록 실험 세팅을 바꾼다면 좀더 안정적인 C-CAP를 측정할 수 있을 것으로 생각된다.

이상의 연구를 통하여 여러 종류의 아드레날린성 수용체 작용제들 중 α_2 아드레날린 수용체 작용제인 clonidine만이 낮은 농도에서 신경차단을 일으키고 epinephrine을 포함한 다른 작용제들은 임상농도의 1000배 이상의 높은 농도에서 비슷한 정도의 신경차단을 일으키는 것으로 보아 이들에 의한 신경전도 차단은 수용체의 활성화에 의한 것이라기 보다는 삼투압 현상 등의 비특이적인 기전을 통한 가능성이 시사되나 정확한 원인의 규명을 위하여는 좀더 연구가 필요할 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Choi Y, Leem JW, Lee DM: Epinephrine perfused on isolated peripheral nerve produce no effect on conduction block by the lidocaine. *Anesthesiology* 1998; 89 (3A): A827.
- 2) Butterworth JF, Strichartz GR: The alpha 2-adrenergic agonists clonidine and guanfacine produce tonic and phasic block of conduction in rat sciatic nerve fibers. *Anesth Analg* 1993; 76: 295-301.

- 3) Sabelli HC: Drug studies on earthworm isolated ventral cord. *Fedn Proc* 1963; 22: 391.
- 4) Sabelli HC, Gorosito M: Evidence for biogenic amine receptors in toad sciatic nerves. *Int J Neuropharmacol* 1969; 8: 495-513.
- 5) Bulbring E, Whitteridge D: The effect of adrenaline on nerve action potentials. *J Physiol(Lond.)* 1941; 99: 201-7.
- 6) Goffart M, Holms O: The effect of adrenaline on mammalian C and A fibers. *J Physiol (Lond.)* 1941; 162: 18-9.
- 7) Shapiro H: Electrical properties of frog sciatic nerve as affected by epinephrine and hydrogen ions. *J Cell Comp Physiol* 1962; 59: 15-29.
- 8) Stampfli A: Conduction and transmission in the nervous system. *Ann Rev Physiol* 1963; 25: 495-522.
- 9) Franz DN, Perry RS: Mechanisms for differential block among single myelinated and non-myelinated axons by procaine. *J Physiol (Lond)* 1974; 236: 193-210.
- 10) Rosenberg PH, Heavner JE: Temperature-dependent nerve blocking action of lidocaine and halothane. *Acta Anaesthesiol Scand* 1980; 24: 314-20.