

## 백서를 이용한 포르말린 통증 모형하에서 뇌실 내 Gabapentin의 효과

전남대학교 의과대학 마취통증의학교실, \*치과대학

윤명하 · 곽상현 · 정성수\* · 유경연 · 정창영 · 임웅모

= Abstract =

### The Effect of Intracerebroventricular Gabapentin on the Formalin Test in Rats

Myung Ha Yoon, M.D., Sang Hyun Kwak, M.D., Sung Su Chung, M.D.\*  
Kyung Yeon Yoo, M.D., Chang Young Jeong, M.D.  
and Woong Mo Im, M.D.

Departments of Anesthesiology, Pain Medicine, Chonnam National University,  
Medical School, \*College of Dentistry, Kwangju, Korea

**Background:** Systemic or intrathecal administration of gabapentin has been shown to reverse various pain states. However, until now, the effect of intracerebroventricular (ICV) gabapentin to noxious stimuli has not been reported. The authors' aim of this study was to determine the effect of ICV gabapentin on the inflammatory nociceptive model, formalin test, in rats.

**Methods:** ICV catheters were implanted under halothane anesthesia. For the nociceptive test, 50  $\mu$ l of 5% formalin was subcutaneously injected into the hindpaw. The effect of ICV gabapentin, administered 10 min before formalin injection, were examined on flinching, mean arterial pressure and heart rate evoked by a injection of formalin.

**Results:** Injection of formalin into the paw resulted in a biphasic flinching and cardiovascular response. ICV gabapentin produced a dose-dependent suppression of the flinching and mean arterial pressure response during phase 1. In contrast, in phase 2, ICV gabapentin did not attenuate the pain behavior. ICV gabapentin did not affect on the baseline mean arterial pressure and heart rate.

**Conclusions:** ICV gabapentin was effective for the acute noxious stimulus but it had no effect on the facilitated states induced by tissue injury.

**Key Words:** Analgesics, intracerebroventricular: gabapentin. Pain: acute noxious stimulus; facilitated state.

## 서 론

Gabapentin은  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA)의 구조

책임저자 : 윤명하, 광주광역시 동구 학동 8번지

전남대학교병원 마취과, 우편번호: 501-757

Tel: 062-220-6893, 3166, Fax: 062-232-6294

이 논문은 1998년도 전남대학교 학술연구비 및 1999년 전남대학교병원 임상연구소 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

적 유사체로 합성된 항경련제이다<sup>1)</sup>. 여러 연구들에 의하면 전신적 혹은 척수강 내로 투여한 gabapentin은 신경변증성 통증 모델에서 항이질통<sup>2)</sup>과 항통각과민<sup>3)</sup> 작용을 나타내며 지주막하 substance-P 또는 NM DA 투여로 유도된 통각과민<sup>4)</sup>과 열 손상에 의한 통각과민<sup>5)</sup>을 감소시키고 포르말린 시험의 제2상 반응<sup>6,8)</sup>도 억제한다고 한다. 그러나, 전신적이나 척수강 내로 주입한 gabapentin은 hot plate나 tail flick과 같은 급성 열성 유해 자극에 대해서는 항침해 효과를

보이지 않는다고 한다<sup>9,10</sup>. 한편, 뇌실 내로 투여한 gabapentin이 통증반응에 어떠한 영향을 미치는 지에 대해서는 알려진 바가 없다.

쥐 발바닥에 포르말린을 주입하게 되면 쥐는 주입 받은 발을 바닥에서 빠르게 들어올리거나 핏거나 물어뜯는 등의 특징적인 통증 회피행동(flinching)을 보이고 동시에 혈압 및 심박수의 상승 등 심혈관계 변화를 나타낸다<sup>11</sup>. 이처럼 통증에 의해 유발된 심혈관계 반응에 대한 뇌실 내 gabapentin의 효과에 대해서도 보고된 바는 없다.

따라서 저자들은 포르말린 유발 통증 모형을 이용하여 뇌실 내 투여한 gabapentin이 통증과 심혈관계에 어떠한 영향을 미치는 지를 알아보고자 본 실험을 실시하였다.

### 대상 및 방법

실험대상은 수컷 Sprague-Dawley 쥐(300~325 g)로 하였다. 모든 쥐에게 사료와 물을 자유롭게 섭취할 수 있도록 해주었다.

뇌실 내로 약물을 주입하기 위해서 뇌실 내로 stainless steel guide 도관을 거치 시켰다. Halothane 마취 하에 뇌 정위고정기에 쥐의 머리를 고정하고 관상(coronal) 봉합선에서 0.5 mm 하방과 시상(sagittal) 봉합선 1 mm 외측에 천두공(burr hole)을 뚫고 이곳을 통하여 도관을 경막(dura)부터 3 mm 깊이까지 삽입 하였다. 못을 두개골에 삽입한 다음 두개성형(cranio-plastic) 시멘트를 이용하여 못과 도관을 두개골에 고정시켰다. 도관 내는 가는 철사로 막아 놓았다.

수술적 조작이 끝나면 모든 쥐를 마취에서 각성시켜 각각의 쥐장에 넣어 두었다. 술 후 신경학적 이상소견을 보인 쥐는 사용하지 않았으며 본 실험은

뇌실 도관 거치 후 4~5일째에 시행하였다.

실험에 사용한 약물은 gabapentin (1-[aminomethyl] cyclohexanacetic acid; Neurotin<sup>®</sup>, Parke Davis, USA)이었다. 약물은 생리식염수에 희석하여 10 µl의 용량으로 하여 기어장치 수동식 주사기에 카테타를 연결하여 뇌실 내로 투여하였다.

포르말린 통증모형은 30 게이지 바늘을 이용하여 5% 포르말린 용액 50 µl를 쥐의 발바닥의 피하조직에 주입함으로써 유발된다. 포르말린 주입 후 쥐는 flinching을 보이고 이 반응은 이상성(biphasic)으로 나타난다. 따라서 이러한 자발적인 통증반응 횟수를 주기적으로 측정하여 정량화 한다. 즉, flinching의 횟수는 포르말린 주입 후 1분과 5분 그리고 10분부터 60분까지는 5분 간격으로 1분 동안 측정한다. 이상성 반응에 따라 포르말린 주입 후 0~9분까지를 제1상으로 10~60분까지를 제2상으로 각각 정의한다.

혈역학 측정을 위해 halothane 마취 후 쥐의 꼬리 동맥 내로 polyethylene tube (PE)-50 도관을 삽입하였다. 도관 삽입후 각 실험쥐는 0.5 ml 헤파린 용액으로 도관을 씻은 후 8×20×8 cm 크기의 아크릴 실린더에 넣어두고 마취에서 각성시켰다. 동맥도관을 pressure transducer를 통하여 polygraph와 연결하여 지속적으로 혈압과 심박수를 측정하였다.

꼬리동맥 내로 도관 삽입 후 30~40분 동안의 적응기간이 지나면 혈액과 심박수를 측정하여 기본 값으로 하였다. 실험은 gabapentin을 포르말린 주입 10분전에 뇌실 내로 투여하고 포르말린에 의해 유발된 flinching 횟수, 혈압 그리고 심박수 변화에 대한 gabapentin의 효과를 시간경과 및 용량반응을 이용하여 관찰하였다.

모든 자료는 평균±표준오차로 표시하였다. 시간 반응 자료는 분당 flinches 횟수 및 평균동맥압과 심

**Table 1.** Change of Mean Arterial Pressure (mmHg)/Heart Rate (bpm) Following Intracerebroventricular Gabapentin Administration in Resting State

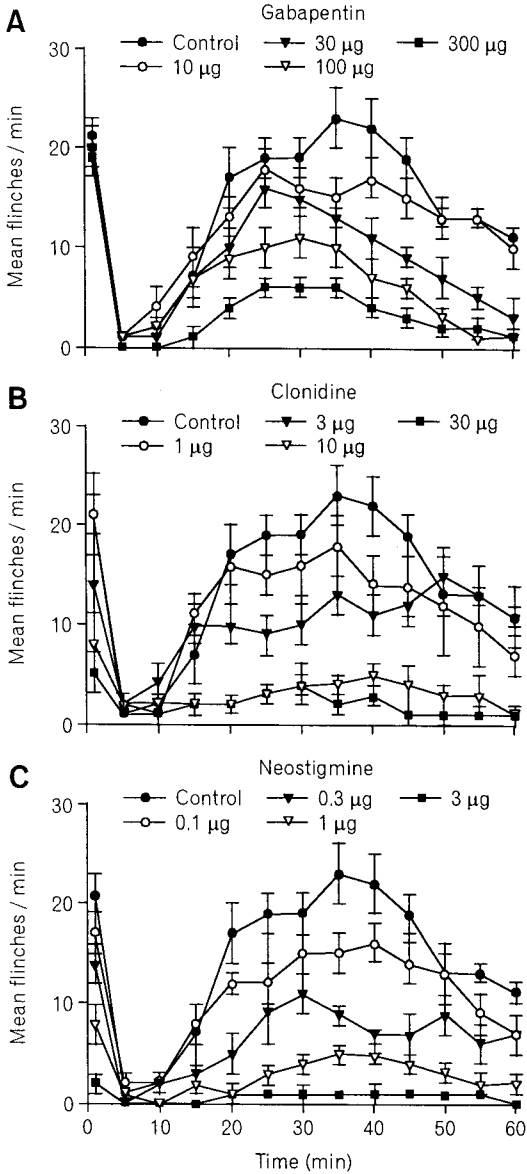
Dose (µg)	Time (min)						
	B	10	20	30	40	50	60
10	106/427	106/430	106/424	106/418	108/429	110/425	110/407
300	107/419	105/416	109/436	107/423	110/409	111/404	113/409

bpm: beat per min. B: baseline. Values are mean.

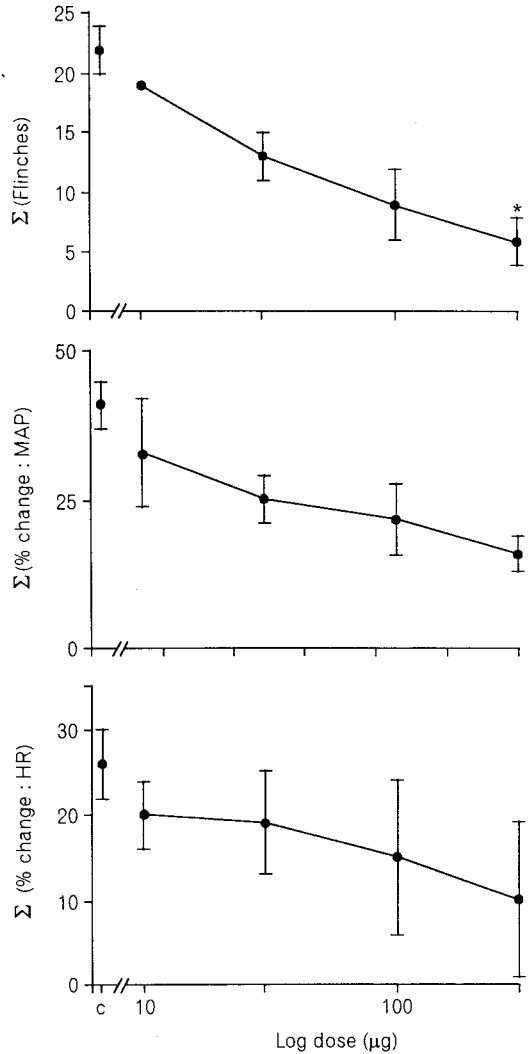
박수의 기본 값에 대한 변화율(%)로 표시하였다. 용량반응자료는 제1상 및 2상에서 각각 flinches 횟수의 합계나 평균동맥압과 심박수에 대한 변화율의 합

계로 하였다. 용량반응의 통계적 분석은 one-way analysis of variance (ANOVA)를 이용하였다.

평균동맥압과 심박수의 구간 기본 값은 one-way ANOVA로 비교하였다. Gabapentin 자체의 혈역학 효과는 repeated-measured ANOVA를 이용하여 분석하였으며  $P < 0.05$ 를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.



**Fig. 1.** Time effect curve of intracerebroventricular gabapentin (GP) for the flinching, mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR). GP was administered 10 min before formalin (F) injection. The number of flinches and percentage change of MAP and HR from baseline are plotted against time. Each line represents the mean  $\pm$  SEM.



**Fig. 2.** Dose response curve of intracerebroventricular gabapentin for the flinching, mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) during phase 1. Response is presented as the sum of flinches or the sum of percent change of MAP and HR. Each dose represents the mean  $\pm$  SEM. C= control. \* $P < 0.05$ . †:  $P < 0.001$ .

결 과

뇌실 내로 투여한 gabapentin은 pinna, 각막반사 및 운동기능 등에 장애를 초래하지 않았다. 일부 쥐는 300  $\mu$ g 투여 후 경미 진정 소견을 보였다.

모든 쥐(n=54)의 약물투여 전 평균동맥압과 심박

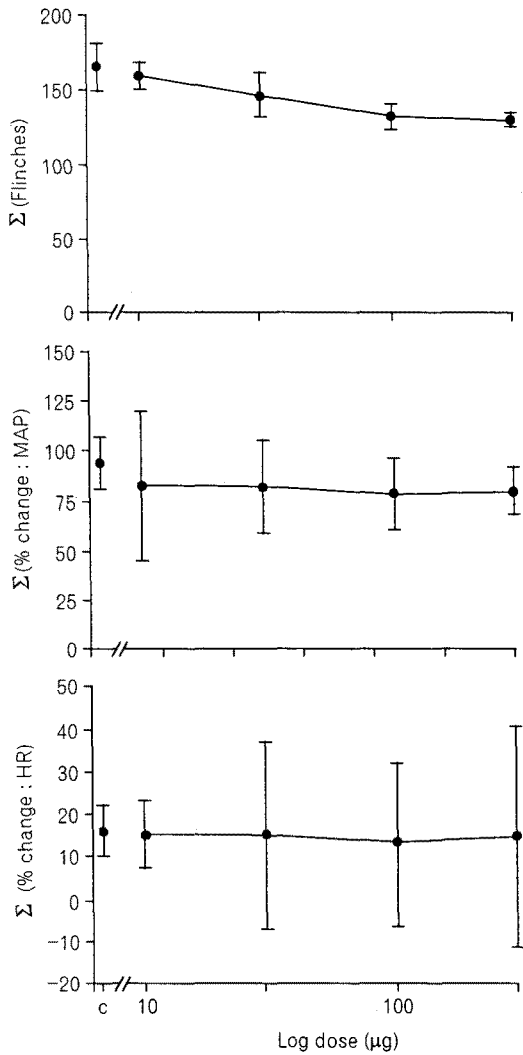


Fig. 3. Dose response curve of intracerebroventricular gabapentin for the flinching, mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) during phase 2. Response is presented as the sum of flinches or the sum of percent change of MAP and HR. Each dose represents the mean  $\pm$  SEM. C=control.

수는 각각  $101 \pm 1$  mmHg와  $421 \pm 3$  bpm이었다. 약물 투여 전 평균동맥압과 심박수의 기본 값들은 약물처치 군간에 유의한 차이가 없었다. 쥐의 발바닥에 피하 주입한 포르말린은 주입 받은 발에서 이상성의 flinching을 초래하였고 동시에 평균동맥압과 심박수의 이상성 증가를 일으켰다.

포르말린 자극이 없는 경우, 뇌실 내 투여한 gabapentin은 평균동맥압과 심박수의 기본 값에 영향을 미치지 못하였다(Table 1). 포르말린 주입 10분 전에 뇌실 내로 투여한 gabapentin은 제1상 동안 flinches 횟수와 평균동맥압의 증가폭을 용량 의존적으로 억제하였고 심박수의 증가폭도 감소는 시켰으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 1, 2). 포르말린 제2상 동안 뇌실 내 gabapentin은 flinching을 감소시키는 경향 ( $P=0.15$ )을 보인 반면 평균동맥압과 심박수 변화에 대해서는 영향이 없었다(Fig. 3).

고 찰

피하조직 내로 포르말린을 주입하면 즉각적으로 구심성 C 섬유 활성화의 자발적 활성도가 강력하게 증가하고 이어서 매우 낮은 수준의 지속적인 구심성 C 섬유 활성도가 일어나는 이상성 반응을 보인다. 이러한 반응은 척수에서 wide dynamic range (WDR) 신경세포의 활성화를 반영하는 것이다<sup>12)</sup>. 즉 구심성 섬유의 낮은 활성도에도 불구하고 WDR 세포는 제2상에서 제1상과 유사한 정도의 강력한 반응을 보이게 된다. 또한 포르말린 주입 후 보이는 특징적인 행동반응인 flinching도 이상성으로 나타나게 되는데 이 반응은 시간 경과에 따른 WDR 신경세포 활성도의 이상성 양상과 일치한다<sup>13)</sup>. 이와 같은 이상성 현상은 포르말린 실험에서 제1상과 2상 반응이 근본적으로 서로 다르다는 것을 의미한다. 즉 포르말린 주입에 의해 유발된 구심성 자극은 포르말린 주입 직후 척수에서 통증 유발 물질인 glutamate 및 neurokinins와 같은 흥분성 아미노산과 펩타이드를 유리시키고 동시에 강력한 통증 행동반응인 flinching을 보이는 제1상 반응을 일으킨다. 이후 거의 통증 반응을 보이지 않는 얼마간의 정지기(quiescent period)를 거친 후 다시 통증 행동반응을 보이는 제2상 반응을 나타낸다. 이러한 제2상 반응은 포르말린 자극에 의해 척수에서 분비된 glutamate 및 neurokinins들이 각

각의 *N*-methyl-D-aspartate와 neurokinin-1 수용체를 통하여 개시되어지고 이어서 세포내  $Ca^{++}$  증가, kinase의 활성화<sup>14)</sup> 그리고 prostaglandin 생성 증가<sup>15)</sup> 등을 통하여 facilitated 상태에 이르게 된다. 따라서 제2상 반응은 facilitated 상태를 반영한다고 할 수 있다. 또한 유발된 통증은 체교감성 반응을 항진시켜 혈압과 심박수를 증가시키며 이러한 심혈관계 반응은 flinches 통증 행동반응과 일치하여 이상성으로 나타난다고 한다<sup>11)</sup>. 본 실험에서도 포르말린 주입 후 특징적인 이상성 flinches와 심혈관계 반응을 보였다.

본 실험결과 뇌실 내 투여한 gabapentin은 포르말린 시험 제1상 동안 flinching과 심혈관계 증가 반응을 유의하게 억제한 반면, 제2상 동안에는 flinching 반응을 차단하지 못하였다. 이는 뇌실 내 투여한 gabapentin이 긴장성(tonic)보다 위상성(phasic) 특징의 급성 유해자극에 더 효과적임을 의미한다. 이러한 소견은 전신적 혹은 척수강 내 투여한 gabapentin이 포르말린 시험 제2상 동안만 탁월한 항침해 효과를 보이고 제1상 동안에는 효과가 없었다는 다른 연구들의 보고<sup>6,8)</sup>와는 대조적이었다.

이처럼 포르말린 유발 통증모형에서 gabapentin의 항침해 효과가 주입 경로에 따라 다르게 나타나는 이유에 대해서는 본 실험을 통해서 알 수 없었다.

한편 본 실험에서 사용한 gabapentin의 최대용량에서 일부 쥐들은 경미한 진정 소견을 보였으나 corneal 및 pinna 반사 등은 정상이었으며 휴식기의 혈압 및 심박수에 변화를 일으키지 않았으므로 gabapentin 용량이 실험 측정치에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

Gabapentin의 작용기전은 확실히 밝혀져 있지 않지만 몇 가지의 가설들이 제시되고 있다. 첫째, GABAergic 체계와의 관련성이다. Leach등<sup>16)</sup>은 gabapentin이 GABA 체계를 통해 효과를 나타내나 뇌의 GABA농도에는 영향을 없다고 하였다. Taylor등<sup>1)</sup>은 gabapentin이 뇌에서 GABA의 합성과 유리를 촉진시키나 GABAA 혹은 GABAB 수용체와는 상호작용이 없다고 하였다. 둘째, Su등<sup>17)</sup>은 gabapentin이 세포형 질막의 L-amino acid transporter를 통하여 세포 내로 들어가 효과를 나타낸다고 한 반면 Cheng등<sup>18)</sup>은 꼭 그렇지는 않는다고 하였다. 셋째, Bryans등<sup>19)</sup>은 voltage-sensitive calcium 통로의  $\alpha 2\delta$  아형을 gabapentin의

작용점으로 제시하였다. 넷째, NMDA 수용체와 gabapentin이 결합한다는 보고는 없으나 여러 연구에서 NMDA 수용체의 nonstrychinine site의 촉진제인 D-serine이 gabapentin의 효과를 길항시킴으로써 NMDA 수용체를 gabapentin의 작용점으로 제시하였다<sup>1,6,8)</sup>. 그 외 gabapentin이 monoamine neurotransmitters의 분비를 감소시키거나 glutamate dehydrogenase를 활성화시킨다는 보고 등<sup>1,20)</sup>도 있다. 이상의 가설들은 gabapentin의 작용기전이 다양하고도 복잡하다는 것을 시사한다. 특히 뇌실 내 투여한 gabapentin과 통증에 관한 보고는 현재까지 전혀 없어서 본 실험 성적을 다른 연구결과와 비교를 할 수가 없었다. 따라서 뇌에서 gabapentin의 작용기전을 밝히기 위한 보다 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론적으로, 뇌실 내 투여한 gabapentin은 포르말린 시험에서 급성유해자극인 제1상 반응은 감소시키지만 facilitated 상태를 반영하는 제2상 반응에 대해서는 효과가 없었다. 또한 이 약물자체가 심혈관계에는 영향을 미치지 않았다.

## 참 고 문 헌

- 1) Taylor CP, Gee NS, Su TZ, Kocsis JD, Welty DF, Brown JP, et al: A summary of mechanistic hypotheses of gabapentin pharmacology. *Epilepsy Res* 1998; 29: 233-49.
- 2) Hwang JH, Yaksh TL: Effect of subarachnoid gabapentin on tactile-evoked allodynia in a surgically induced neuropathic pain model in the rat. *Reg Anesth* 1997; 22: 249-56.
- 3) Xiao W-H, Bennet GJ: Gabapentin has an antinociceptive effect mediated via a spinal site of action in a rat model of painful peripheral neuropathy. *Analgesia* 1997; 2: 267-73.
- 4) Partridge BJ, Chaplan SR, Sakamoto E, Yaksh TL: Characterization of the effects of gabapentin and 3-isobutyl-gamma-aminobutyric acid on substanceP-induced thermal hyperalgesia. *Anesthesiology* 1998; 88: 196-205.
- 5) Jun JH, Yaksh TL: The effect of intrathecal gabapentin and 3-isobutyl  $\gamma$ -aminobutyric acid on the hyperalgesia observed after thermal injury in the rat. *Anesth Analg* 1998; 86: 348-54.
- 6) Singh L, Field MJ, Ferris P, Hunter JC, Oles RJ, Williams RG, et al: The antiepileptic agent gabapentin

- (Neurontin) possesses anxiolytic-like and antinociceptive actions that are reversed by D-serine. *Psychopharmacology*. 1996; 127: 1-9.
- 7) Shimoyama N, Shimoyama M, Davis AM, Inturrisi CE, Elliot KJ: Spinal gabapentin is antinociceptive in the rat formalin test. *Neurosci Lett* 1997; 222: 65-7.
  - 8) Yoon MH, Yaksh TL: The effect of intrathecal gabapentin on pain behavior and hemodynamic on the formalin test in the rat. *Anesth Analg* 1999; 89: 434-9.
  - 9) Taylor CP: Emerging perspectives on the mechanism of action of gabapentin. *Neurology* 1994; 44: S10-6.
  - 10) Hunter JC, Gogas HR, Hedley LR, Jacobson LO, Kasotakis L, Thompson J, et al: The effect of novel anti-epileptic drugs in rat experimental models of acute and chronic pain. *Eur J Pharmacol* 1997; 324: 153-60.
  - 11) Taylor BK, Peterson MA, Basbaum AI: Persistent cardiovascular and behavioral nociceptive responses to subcutaneous formalin require peripheral nerve input. *J Neurosci* 1995; 11: 7575-84.
  - 12) Dickenson AH, Sullivan AF: Subcutaneous formalin-induced activity of dorsal horn neurons in the rat: differential response to an intrathecal opiate administered pre- or postformalin. *Pain* 1987; 30: 349-60.
  - 13) Wheeler-Aceto H, Porreca F, Cowan A: The rat paw formalin test: comparison of noxious agents. *Pain* 1990; 40: 229-38.
  - 14) Wilcox GL, Seybold V: Pharmacology of spinal afferent processing. *anesthesia: Biologic Foundations*. 1st ed. Philadelphia, Lippincott Raven Publishers. 1997, pp557-76.
  - 15) Malmberg AB, Yaksh TL: Cyclooxygenase inhibition and the spinal release of prostaglandin E<sub>2</sub> and amino acids evoked by paw formalin injection: a microdialysis study in anesthetized rats. *J Neurosci* 1995; 15: 2768-76.
  - 16) Leach JP, Sillis GJ, Butler E, Forrest G, Thomson GG, Brodie MJ: Neurochemical actions of gabapentin in mouse brain. *Epilepsy Res* 1997; 27: 175-80.
  - 17) Su TZ, Lunney E, Campbell G, Oxender DL: Transport of gabapentin,  $\gamma$ -amino acid drug, by system L a-amino acid transporters: a comparative study in astrocyte, synaptosomes, and CHO cells. *J Neurochem* 1995; 64: 2125-31.
  - 18) Cheng JK, Pan HL, Eisenach JC: Antiallodynic effect of intrathecal gabapentin and its interaction with clonidine in a rat model of postoperative pain. *Anesthesiology* 2000; 92: 1126-31.
  - 19) Bryans JS, Davies N, Gee NS, Dissanayake VU, Ratacliffé GS, Horwell DC, et al: Identification of novel ligands for the gabapentin binding site on the alpha 2 delta subunit of a calcium channel and their evaluation as anticonvulsant agents. *J Med Chem* 1998; 41: 1838-45.
  - 20) Cho SW, Cho EH, Choi SY: Activation of two types of brain glutamate dehydrogenase isoproteins by gabapentin. *FEBS Lett* 1998; 426: 196-200.