산화질소합성효소 억제제가 척수 후각세포의 감작에 미치는 영향

연세대학교 대학원

의 학 과

이 규 래

산화질소합성효소 억제제가 척수 후각세포의 감작에 미치는 영향

지도 남 택 상 부교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

1999년 12월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

이 규 래

이규래의 박사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

1999년 12월 일

감사의 글

무사히 박사 과정을 마치도록 채찍질하여 주신 여러 스승님들께 감사를 드리며 특히, 논문이 완성되는 데에 지도 편달하여 주신 남택상 교수님, 논문교정에 애써주신 강복순, 백광세, 최승강, 선우일남 교수님께도 감사를 드립니다. 논문을 완성하는 순간까지 많이 도와주신 곽영섭 선생님 그리고 생리학교실 여러분들께 감사의 인사를 전합니다.

또한 늦게까지 학업을 할 수 있도록 애써주신 부모님께 감사드리며, 아울러 사랑하는 나의 딸과 아들, 용휘와 혜연에게 이 논문을 바치는 바입니다.

저 자 씀

목 차

국문요약 1

I. 서 론 2

II. 재료 및 방법 4
1. 신경병성 통증 동물모델의 제작 및 행동학적 검사 4
2. 이온영동적 약물투여 및 척수후각세포의 활성도 기록 4

III. 결 과 6
1. 정상쥐와 통증 모델쥐에서 일련의 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응 6
2. 정상쥐에서 L-NAME 투여가 일련의 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응에 미치는 영향 7
3. 모델쥐에서 L-NAME 투여가 일련의 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응에 미치는 영향 11

IV. 고 찰 12

V. 결 론 14

참고문헌 15

영문요약 18

표 목 차

표 1. 정상쥐에서 L-NAME가 brush, pressure 및 pinch반응에 미치는 영향에 대한 세포 분포 9

표 2. 모델쥐에서 L-NAME가 brush, pressure 및 pinch반응에 미치는 영향에 대한 세포 분포 11

그 림 목 차

그림 1. 이온영동법(iontophoresis)의 회로 및 측정 system 5

그림 2. 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활동전압 빈도 histogram의 한 예 7

그림 3. 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활동전압 발생수 7

그림 4. 정상쥐에서 L-NAME가 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활성도에 미치는 영향의 histogram 예 8

그림 5. 정상쥐에서 L-NAME 투여가 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활동전압 발생수에 미치는 영향 9

그림 6. 정상쥐에서 L-NAME 투여가 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응에 미치는 영향의 상대적 크기 9

그림 7. 모델쥐에서 L-NAME가 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활성도에 미치는 영향의 histogram 예 10

그림 8. 모델쥐에서 L-NAME 투여가 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활동전압 발생수에 미치는 영향 12

그림 9. 모델쥐에서 L-NAME 투여가 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응에 미치는 영향의 상대적 크기 12

국문요약

산화질소합성효소 억제제가 척수후각세포의 감작에 미치는 영향

말초신경 손상후에는 자발적 통증을 포함하여 여러 형태의 통증자극에 대해 통증을 강하게 느끼는 hyperalgesia와 비통증자극인 낮은 강도의 자극에 대해 통각으로 느끼는 allodynia (이질통) 등 여러 통각과민 현상을 보인다. 이에 대한 기전의 일부는 손상된 말초신경으로부터 자발적인 활동전압이 발생되고 이러한 비정상적인 신호에 의해 척수후각신경세포의 흥분성이 증가 즉 감작되기 때문으로 생각하고 있으며 이러한 항진된 척수후각세포의 활성도가 행동학적 검사에서 나타나는 통각과민 현상과 연관되어 있으리라 생각하고 있다.

한편 중추신경계에서 산화질소가 중요한 신호전달물질중의 하나로 인식되면서 근래에는 통증과민 현상과도 연관되어 있음이 점차 알려지고 있다. 최근 신경병성 통증 동물모델에서 통각과민 현상이 산화질소합성효소 억제제에 의해 억제된다는 사실이 행동학적 연구를 통해 보고된 바 있다. 따라서 본 실험에서는 신경병성 통증 동물모델을 이용하여 이온영동적으로 투여한 산화질소합성효소 억제제(N^G-nitro-L-arginine methyl ester: L-NAME)가 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 전기적 활성도에 어떤 영향을 미치는지 관찰하여 척수후각세포의 감작과정에 산화질소가 매개되어 있을 가능성을 전기생리학적 방법으로 검증하고자 하였다. 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 신경병성 통증 모델쥐의 경우 정상쥐와 비교하여 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 전기적 활성도가 항진되어 있었으며 따라서 기계적 자극에 대한 반응이 감작되어 있음을 알 수 있었다.

2. 정상쥐의 경우 산화질소합성효소 억제제가 유해자극에 대한 척수후각세포의 활성도를 선택적으로 억제하였다.

3. 신경병성 통증 모델쥐의 경우에는 산화질소합성효소 억제제에 의해 유해자극 뿐 아니라 비유해자극에 대한 항진된 반응도 억제되었다.

이상의 결과로부터 척수에서의 산화질소효소계가 유해자극에 의한 정상적인 통증 전달과정에 관여할 뿐 아니라 말초신경이 손상된 경우에는 통증과민 및 감작기전에도 관여하고 있음을 알 수 있었다.

핵심되는 말: 신경병성 통증, 척수후각세포, 산화질소, 이온영동, 기계적 자극

산화질소합성효소 억제제가 척수후각세포의 감작에 미치는 영향

<지도 **남 택 상** 부교수>

연세대학교 대학원 의학과

이 규 래

I. 서 론

말초신경이 손상된 경우 자발성 통증을 포함하여 여러 형태의 기계적 혹은 열적 유해자극(noxious stimulation)을 가했을 때 정상에 비해 통증을 강하게 느끼는 hyperalgesia와 비유해자극(non-noxious stimulation)인 낮은 강도의 기계적 혹은 열적 자극에 대해서도 통각으로 인식되는 이질통(allodynia) 등 통각과민 현상을 흔히 볼 수 있다(McMahon, 1991; Sato 및 Perl, 1991; Seltzer 및 Shir, 1991).

말초신경 손상에 의한 통각과민 기전으로 몇 가지 가설이 제시되었다. 첫째, 손상된 말초신경에서 자발적인 활동전압이 발생됨을 볼 수 있는데(Devor, 1989; Devor 및 Rappaport, 1990) 이러한 비정상적인 신호가 통각과민 상태를 유발하고 유지하는데 중요한 인자가 되며, 둘째, 교감신경절후섬유에서 비정상적으로 섬유싹이 자라나 감각신경섬유와 기능적인 연결이 이루어진다는 것이다(Chung 등, 1993). 이는 교감신경의 활성화에 의해 감각신경의 활성도를 더욱 증가시켜 교감신경의존성 통증을 유발하게 된다. 셋째, 상기한 기전들에 의해 지속적 구심성 신경임펄스가 발생하여 2차적으로 중추신경계의 변화를 유도하여 척수후각신경세포의 흥분성을 증가시키게 되는데 이를 중추성 감작(central sensitization)이라 한다. 즉 피부나 관절에 인위적으로 염증을 일으키거나 신경손상 모델 등 여러 형태의 지속적 통증 모델에서 척수후각세포의 수용야(receptive field)가 확장되며 여러 형태의 자극에 대한 척수후각세포의 반응도가 현저히 증가하는 현상을 관찰할 수 있다(Haley 등, 1990; Neugebauer 및 Schaible, 1990; Corderre 및 Melzack, 1992; Dougherty 등, 1992; Laird 및 Bennett, 1992; Schaible, 1992). 한편 비유해자극에 의한 척수후각세포의 반응이 정상에 비해 항진되는 현상은 비유해자극이 통증을 유발하게 되는 기전의 하나로 제시된 바 있다(Leem 등, 1996). 이러한 중추성 감작은 만성통증을 제어하기 힘들게 만드는 한 요인으로 간주되고 있으며 따라서 이에 대한 연구는 매우 중요한 과제로 생각하고 있다.

여러 실험결과를 종합해 볼 때 척수후각세포의 감작과정에 통증전달에 관여하는 일차구심성섬유의 지속적인 활성화와 이때 유리되는 신경전달물질(흥분성 아미노산 및 neuropeptide)이 중요한 역할을 할 것으로 생각하고 있으며 특히 glutamate수용체중의 하나인 N-methyl-D-aspartate (NMDA)수용체의 활성화가 매우 중요하다는 사실이 보고되었다(Kitto 등, 1992; Meller 등, 1992; Malmberg 및 Yaksh, 1993; Meller 등, 1994). 척수강내 NMDA antagonist 투여는 신경병성 동물모델(neuropathic animal model)을 포함한 여러 지속적 통증 모델에서 thermal hyperalgesia를 억제시키며(Davar 등, 1991; Murray 등, 1991; Mao 등, 1992; Meller 등, 1992; Yamamoto 및 Yaksh, 1992) 척수강내 NMDA 투여는 mechanical hyperalgesia 및 mechanical allodynia를 유발하고(Siegan 및 Sagan, 1995) 인위적으로 염증을 유발시킨 통증 모델에서 NMDA antagonist가 mechanical hyperalgesia를 억제한다는 실험결과(Ren 및 Dubner, 1993)는 열적, 기계적 자극에 대한 통각과민 현상의 발생 및 유지에 NMDA수용체의 활성화가 매개됨을 지지하는 실험결과들이다.

한편 혈관 평활근의 이완이 혈관내피세포에서 유리되는 endothelium-derived relaxing factor (EDRF)를 매개로 하며, EDRF가 산화질소(nitric oxide: NO)라는 사실이 알려진 후 중추신경계 중 소뇌에서 NMDA수용체가 활성화 될 때 산화질소가 유리된다는 사실이 보고되었고 (Garthwaite 등, 1988) 그 후 산화질소는 중요한 신경계 신호매개체 중의 하나로 인식되었다 (Garthwaite, 1991; Bredt 및 Snyder, 1992; Fazelli, 1992; Mccall 및 Vallance, 1992). Free radical gas인 산화질소는 L-arginine으로부터 산화질소합성효소(NO synthase)에 의해 합성되며 산화질소합성효소는 Ca^{2+}-calmodulin system에 의해 활성화되는데 NMDA수용체의 활성화는 세포내로 Ca^{2+}을 유입시키고 궁극적으로는 산화질소계를 매개로 하여 그 효과를 나타낼 것으로 생각하고 있다(Meller 및 Gebhart, 1993). 특히 hippocampus에서의 long-term potentiation현상과 NMDA수용체, 산화질소계와의 연관성에 대해 많은 연구가 이루어져 왔으며 근래에는 산화질소계가 통증계의 과민현상과도 관계있다는 사실이 알려지면서 통각과민 현상과 산화질소계와의 관계를 밝히는 연구가 활발히 진행중에 있다.

Thermal hyperalgesia가 NMDA수용체와 연관되고 NMDA수용체 활성화의 효과에 궁극적으로는 산화질소가 매개되어 있을 것이라는 가설이 제안되었으며 실제로 척수강내 NMDA 투여에 의해 유발된 thermal hyperalgesia가 산화질소합성효소 억제제(N^G-nitro-L-arginine methyl ester: L-NAME) 투여에 의해 억제되며(Kitto 등, 1992; Meller 등, 1992) 척수강내 L-arginine (NO synthase substrate) 투여는 thermal hyperalgesia를 유발한다(Meller 등, 1992). 이러한 실험결과들은 thermal hyperalgesia의 유발 및 유지에 산화질소계가 매개되어 있음을 시사한다.

상기한 여러 보고들은 주로 통증을 유발하는 여러 약물 혹은 물질을 척수강내 투여하거나 피부에 가하여 통증을 유발시킨 동물모델을 이용하였다. 그러나 실제로 임상적으로 중요하고 지속적인 통증이 보다 장기간 유지되는 신경병성 통증(neuropathic pain) 기전에 산화질소계가 매개되어 있을 가능성에 대한 실험은 극히 드문 실정이다.

신경병성 통증에 대한 연구는 지금까지 적당한 동물모델이 없어 진전되지 못해 왔으나 근래 쥐를 이용한 모델들이 개발되어(Bennett 및 Xie, 1988; Seltzer 등, 1990; Kim 및 Chung, 1992) 신경병성 통증에 대한 연구에 활기를 띄고 있다. 이들 모델쥐에서는 임상적으로 신경병성 통증 환자들에서 나타나는 증세와 유사한 행동학적 징후를 관찰할 수 있다. 즉 외부에서 자극이 없을 때도 가끔 신경손상을 받은 쪽의 다리를 들고 핥는 행동을 보이며 이러한 행동은 경미한 촉각자극에 의해서 더욱 심해져 때로는 소리를 지르거나 다리를 움츠리고 방어자세를 취하기도 한다. 특히 Kim 및 Chung (1992) 모델의 경우 L5와 L6 요척수신경을 결찰함으로써 좌골신경을 부분적으로 손상시켰는데 경미한 기계적 자극에 대한 통각과민 현상을 잘 보이며 모델제작과정에서 실험자들간에 발생할 수 있는 변차(variation)를 줄이고 반복적으로 일정하게 재현할 수 있는 등 여러 장점들이 보고되었다.

최근 Yoon 등(1998)은 Kim 및 Chung (1992)의 신경병성 통증 동물모델에서 L-NAME 투여에 의해 행동학적으로 기계적 자극에 대한 통각과민 현상도 억제됨을 보고한 바 있다. 따라서 본 실험에서는 동일한 통증 동물모델을 이용하여 통증전달에 관여하고 기계적 자극에 의해 반응하는 척수후각세포의 전기적 활성도에 대한 L-NAME 효과를 관찰하여 기계적 자극에 대한 통각과민 기전에 산화질소계가가 매개하고 있다는 가설을 전기생리학적 방법으로 검증하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 신경병성 통증 동물모델의 제작 및 행동학적 검사

신경병성 통증 동물모델의 제작 및 행동학적 검사는 Kim 및 Chung (1992)의 방법을 이용하였다. 체중 150～200 gm의 흰쥐(Sprague-Dawley)를 halothane (1～2%), O_2 및 N_2O (2 : 1)의 혼합개스로 마취시킨 후 요추부위 척추를 따라 정중선을 절개한 후 주위 근육을 젖혀 한쪽의 제 5 및 제 6 요척수신경을 노출시켰다. 이 신경들을 3-0 silk thread로 묶어 결찰(tight ligation)시킨 다음 근육과 피부를 다시 봉합하였다. 모델제작 후 1, 3, 5, 7, 14일에 기계적 자극으로서 von Frey filament (2.5～3 gm 정도)를 동물의 발바닥에 2～3초 간격으로 10번 가해 주었을 때 몇 번이나 발을 도피하였는가를 측정함으로써 발의 도피반응빈도(frequency of withdrawal response)를 조사하였다. 신경결찰을 수행했던 쪽의 다리가 수행치 않았던 쪽의 다리의 경우보다 50% 이상의 높은 값을 보인 동물을 성공적인 모델로 삼아 실험을 실시하였다. 수술과정은 같으나 신경을 결찰하지 않은 sham operated rat을 만들어 대조군으로 사용하였다.

2. 이온영동적 약물투여 및 척수후각세포의 활성도 기록

본 실험에서는 통증전달에 관여하는 것으로 알려져 있는 wide dynamic range neuron

(WDR neuron)을 대상으로 하였다.

Pentobarbital sodium (40 mg/kg)을 쥐의 복강내에 투여하여 마취시키고 약물주입을 위해 경정맥에 그리고 인공호흡을 위해 기관에 삽관하였다. 척수후각신경세포의 활성도를 기록하기 위해 배측 정중선을 따라 피부를 절개한 후 제 12 흉추에서 제 4 요추까지 척추후궁절제술(laminectomy)을 시행하여 척수를 노출시켰다. 머리와 척추를 정위고정대(stereotaxic frame)에 복와위로 고정하고 pancronium bromide (0.5 mg)을 주사해 근마비시킨 후 인공호흡기로 호흡시켰다. 전 실험기간중 근마비를 유지시키기 위해 pancronium bromide (0.8～1.2 mg/kg/hr)을 일정하게 주입시켰다. 인공호흡은 end-tidal CO_2농도가 3.5～4.5%로 유지되도록 조절하였으며 직장내 온도는 Servo-controlled heating pad를 이용해 37°C로 유지시켰다.

L3-L5 척수후각세포의 활성도 기록 및 이온영동적 약물의 투여는 multi-barrel glass microelectrode를 제작하여 사용하였다. 중앙 barrel은 carbon filament를 삽입하여 척수후각신

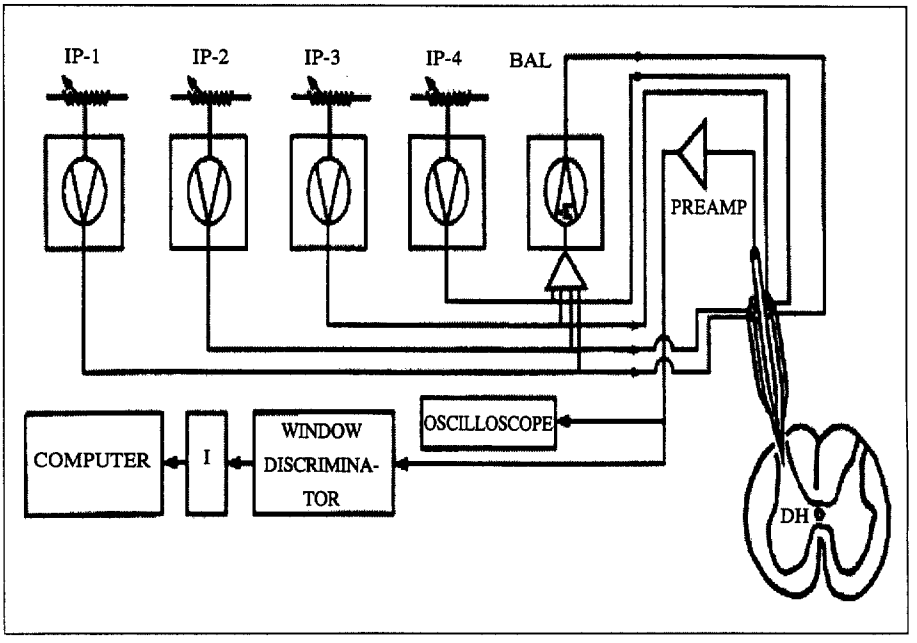

그림 1. 이온영동법(iontophoresis)의 회로 및 측정 system. 전극으로는 7-barrel electrode를 제작하여 사용하였으며 7개의 barrel중 중앙의 것은 신경세포의 활성도 기록용으로, 나머지는 약물의 주입 및 전류평형용으로 사용하였고 전극이 척수후각에 삽입되어 있는 상태를 표시하고 있다. 이온영동기의 5개 module중 IP-1, 2, 3, 4는 전류를 이용하여 약물을 주입하는 module이며 오른쪽의 마지막 module은 전류평형용인데, 약물주입을 위해 각 barrel에 흘리는 전류가 이곳으로 되돌아오게 함으로써 주입전류 자체가 신경세포에 미치는 영향을 최소화시키게 된다. 나머지 부분은 신경세포의 활성도를 기록하는 일반적인 장치로 척수후각세포의 활성도는 preamplifier로 증폭시킨 후 oscilloscope로 관찰하고 또한 window discriminator를 통해 원하는 단일신경세포를 분리한 후 interface를 통해 computer로 입력시켜 peristimulus time histogram으로 나타내었다. IP-1, 2, 3, 4: iontophoretic pump module 1, 2, 3, 4, BAL: balancing module, PREAMP: preamplifier, I: interface (CED), DH: dorsal horn.

경세포의 활성도 기록용으로, 주변 barrel들은 전류평형용(200 mM NaCl, pH 7.2) 및 산화질소합성효소 억제제(L-NAME: in 150 mM NaCl, pH 6.5) 주입용으로 사용하였다. L-NAME는 positive current (50 nA)를 이용하여 투여하였으며 약물투여기간 사이에는 약물의 확산을 최소화하기 위해 10~15 nA의 파지전류(retaining current)를 지속적으로 가하였다(그림 1).

척수후각세포의 활성도는 세포외 기록법(extracellular recording)을 이용하였다. Electrode를 척수내로 진입시키는 동안 발의 피부에 있는 수용야(receptive field)를 반복적으로 자극하면서 이에 반응하는 단일 척수후각신경세포(WDR neuron)를 찾았다. 찾은 세포의 피부 수용야에 일련의 기계적 자극들(brush, pressure, pinch)을 가하고 이에 대한 반응을 CED interface를 거친 후 computer로 입력시키고 spike counting analysis program을 이용하여 척수후각세포의 활성도를 분석하였다. Pressure나 pinch자극은 calibrated forceps를 이용하였다.

먼저 정상쥐에서 강도가 다른 기계적 자극(brush, pressure, pinch)을 피부 말초수용야에 가했을 때 나타나는 척수후각세포의 반응을 기록한 후 산화질소합성효소 억제제를 이온영동적으로 투여하면서 30초 후 동일한 기계적 자극을 가했을 때의 반응을 관찰하여 산화질소계가가 정상상태에서 무해한 혹은 유해한 기계적 자극에 대한 척수후각 세포의 반응성에 어떤 영향을 미치는지 조사하였다. 신경병성 통증 동물모델에서도 정상동물에서 시행한 것과 동일한 일련의 기계적 자극을 가하여 척수후각세포의 반응도를 관찰한 후 산화질소합성효소 억제제에 의한 척수후각세포의 활성도 변화를 관찰하였다.

실험성적은 mean±standard error (S.E.)으로 표시하였고 통계처리는 Student t test를 이용하였으며 p value 0.05 미만시 유의한 차이로 간주하였다.

III. 결 과

1. 정상쥐와 통증 모델쥐에서 일련의 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응

정상쥐와 모델쥐에서 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활성도를 기록하였다(그림 2). 정상 쥐에서는 총 52개의 척수후각세포에서 활성도를 기록하였는데, 10초 동안의 brush, pressure 및 pinch자극에 의해 유발된 평균 활동전압수는 각각 371.1±33.7, 418.2±33.0, 680.3±33.1개로 brush, pressure, pinch자극순으로 활성도가 증가하는 양상을 보였다(그림 3).

한편 모델쥐에서는 총 69개의 척수후각세포에서 기록하였는데 동일한 자극으로 유발된 평균 활동전압수가 brush 543.2±35.4, pressure 520.0±35.1, pinch 782.2±32.3개로 정상쥐와 비교하여 기계적 자극에 대한 활성도가 항진되어 있었으며 이는 모델쥐에서 척수후각세포의 기계적 자극에 대한 반응의 감수성이 증가 즉 감작되어 있음을 의미한다(그림 3).

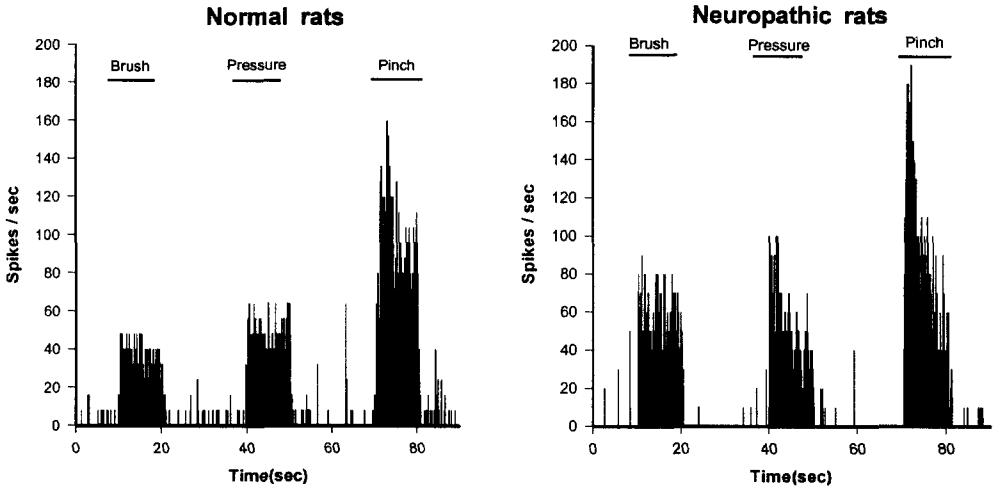

그림 2. 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활동전압 빈도 histogram의 한 예. 피부 수용야에 가해준 brush, pressure 및 pinch 자극에 대한 척수후각세포의 반응양상을 활동전압 빈도로 표시한 histogram으로 신경결찰수술을 받은 모델쥐의 경우 정상쥐에 비해 brush, pressure 및 pinch 자극에 대한 활동전압의 발생빈도가 증가되어 있음.

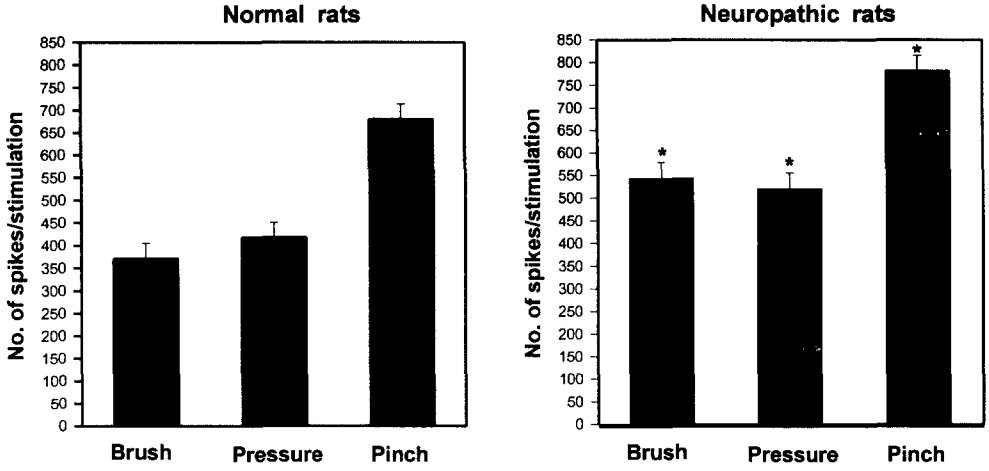

그림 3. 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활동전압 발생수. 각 자극기간(10초)동안 유발된 총 활동전압수의 평균치를 나타내었음(좌측: 정상쥐 n=52, 우측: 모델쥐 n=69). 모델쥐에서 brush, pressure 및 pinch자극에 대한 활성도가 정상 쥐보다 의의있게 증가되어 있음(*: $p < 0.05$).

2. 정상쥐에서 L-NAME 투여가 일련의 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응에 미치는 영향

정상쥐에서 L-NAME 투여시 기계적 자극에 대한 반응은 세포에 따라 다양하게 나타났다(그림 4). Brush반응의 경우 증가되는 세포는 48.1% (25/52), 거의 변화가 없는 세포는

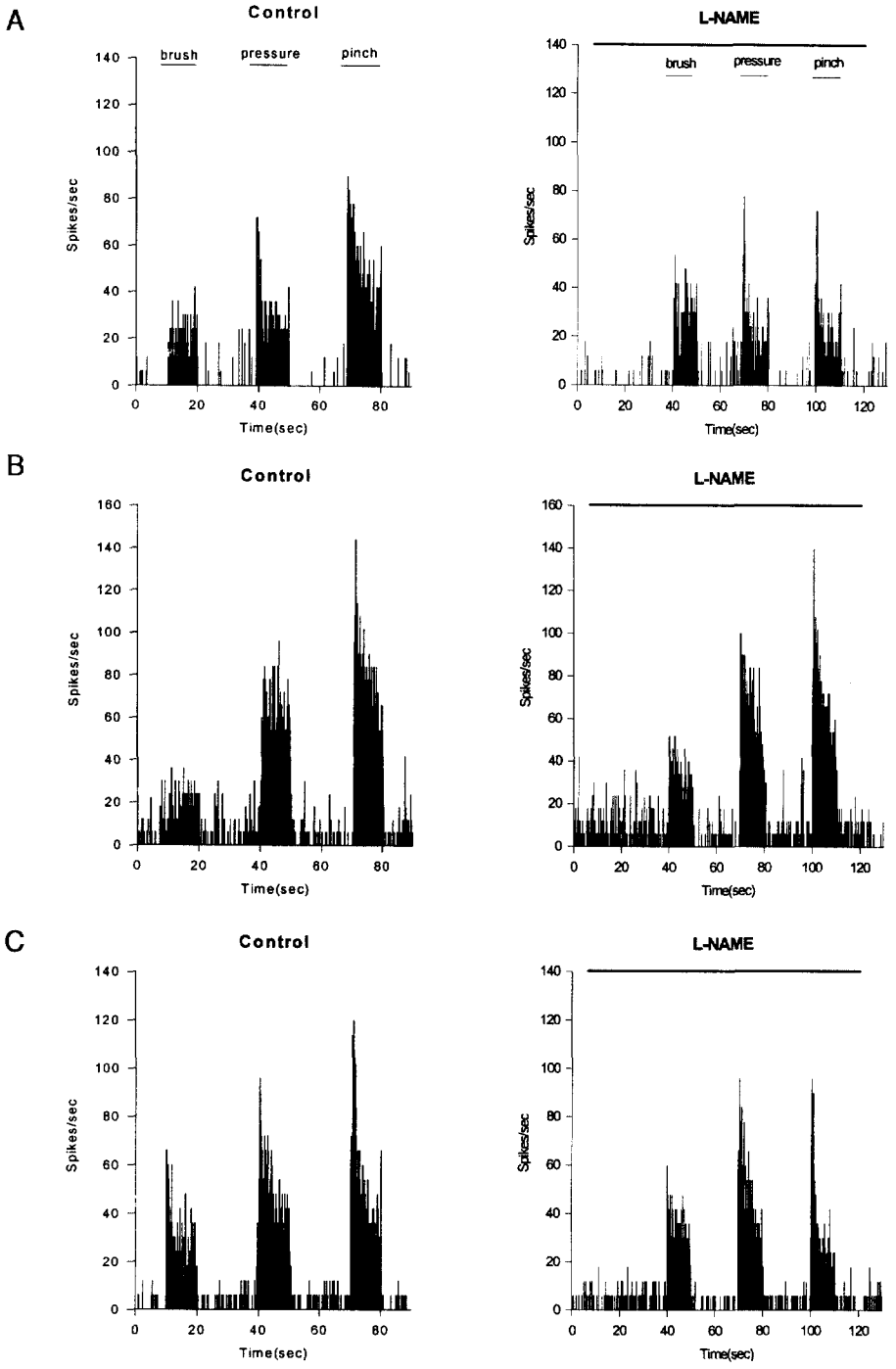

그림 4. 정상쥐에서 L-NAME가 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활성도에 미치는 영향의 histogram 예. 정상쥐에서 L-NAME가 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활성도에 미치는 영향은 세포에 따라 다양하였는데 A는 pressure, pinch반응이 감소하는 예, B는 brush에 대한 반응이 증가하는 예, C는 특히 pinch반응이 감소하는 예를 보여주고 있음.

25.0% (13/52), 감소되는 경우는 26.9% (14/52)의 분포를 보였고 pressure반응의 경우, 증가 40.4% (21/52), 무변 21.1% (11/52), 감소 38.5% (20/52) 그리고 pinch반응의 경우에는 증가 28.8% (15/52), 무변 11.5% (6/52), 감소 59.6% (31/52)의 분포를 보였다(표 1). 측정된 전체세포에서 기계적 자극에 대한 활동전압 발생수의 평균적인 변화는 brush반응의 경우 371.1±33.7개에서 400.2±36.8개로 증가되었으나 통계적 의의는 없었으며 pressure반응의 경우 418.2±33.0개에서 423.5±45.6개로 거의 변화가 없었고, pinch반응의 경우에는 680.3±33.1개에서 614.8±33.6개로 의의있게 감소되었다(그림 5).

표 1. 정상쥐에서 L-NAME가 brush, pressure 및 pinch반응에 미치는 영향에 대한 세포 분포

	정상쥐		
	Brush	Pressure	Pinch
Increase	48.1% (25/52)	40.4% (21/52)	28.8% (15/52)
No change	25.0% (13/52)	21.1% (11/52)	11.5% (6/52)
Decrease	26.9% (14/52)	38.5% (20/52)	59.6% (31/52)

정상쥐에서 L-NAME가 기계적 자극에 대한 반응에 미치는 영향은 세포에 따라 다양하게 나타났는데 정상쥐의 경우 pinch자극에 대한 반응을 억제시키는 경우가 가장 많음을 알 수 있음(증가, 감소는 15% 이상의 변화를 기준하였음).

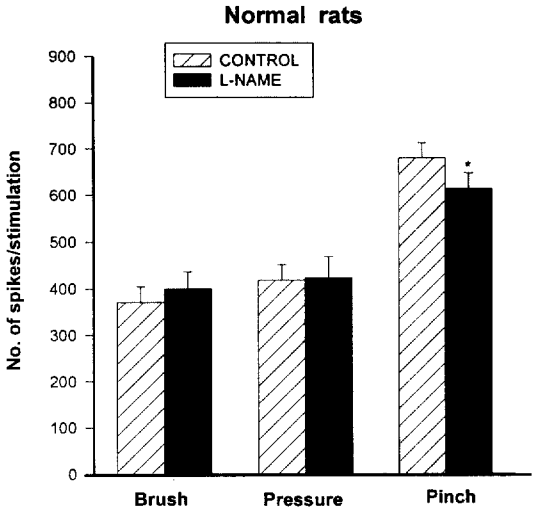

그림 5. 정상쥐에서 L-NAME 투여가 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활동전압 발생수에 미치는 영향. 정상쥐에서 L-NAME 투여전과 투여후 각 자극기간(10초)동안 유발된 총 활동전압수의 평균치를나타내었음. L-NAME 투여 후 특히 pinch자극에 대한 활성도가 정상쥐보다 의의있게 감소되어 있음 (n=52, *: $p<0.05$).

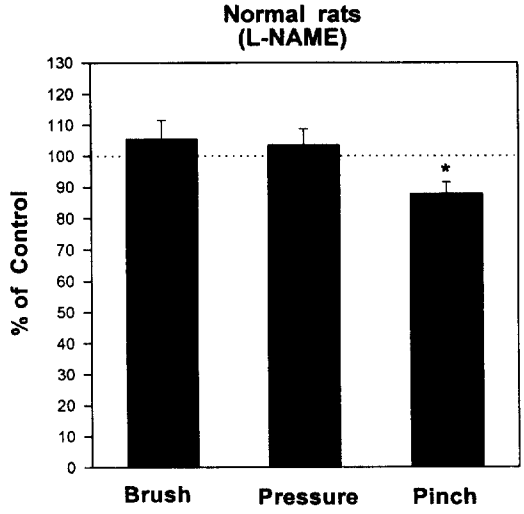

그림 6. 정상쥐에서 L-NAME 투여가 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응에 미치는 영향의 상대적 크기. 정상쥐의 각 척수후각세포에서 L-NAME 투여후 자극기간(10초)동안 유발된 총 활동전압수를 투여전에 대한 %로 통계처리한 막대 그래프로 L-NAME 투여 후 선택적으로 pinch자극에 대한 활성도가 87.6±3.9%로 의의있게 감소되어 있음(n=52, *: $p<0.05$).

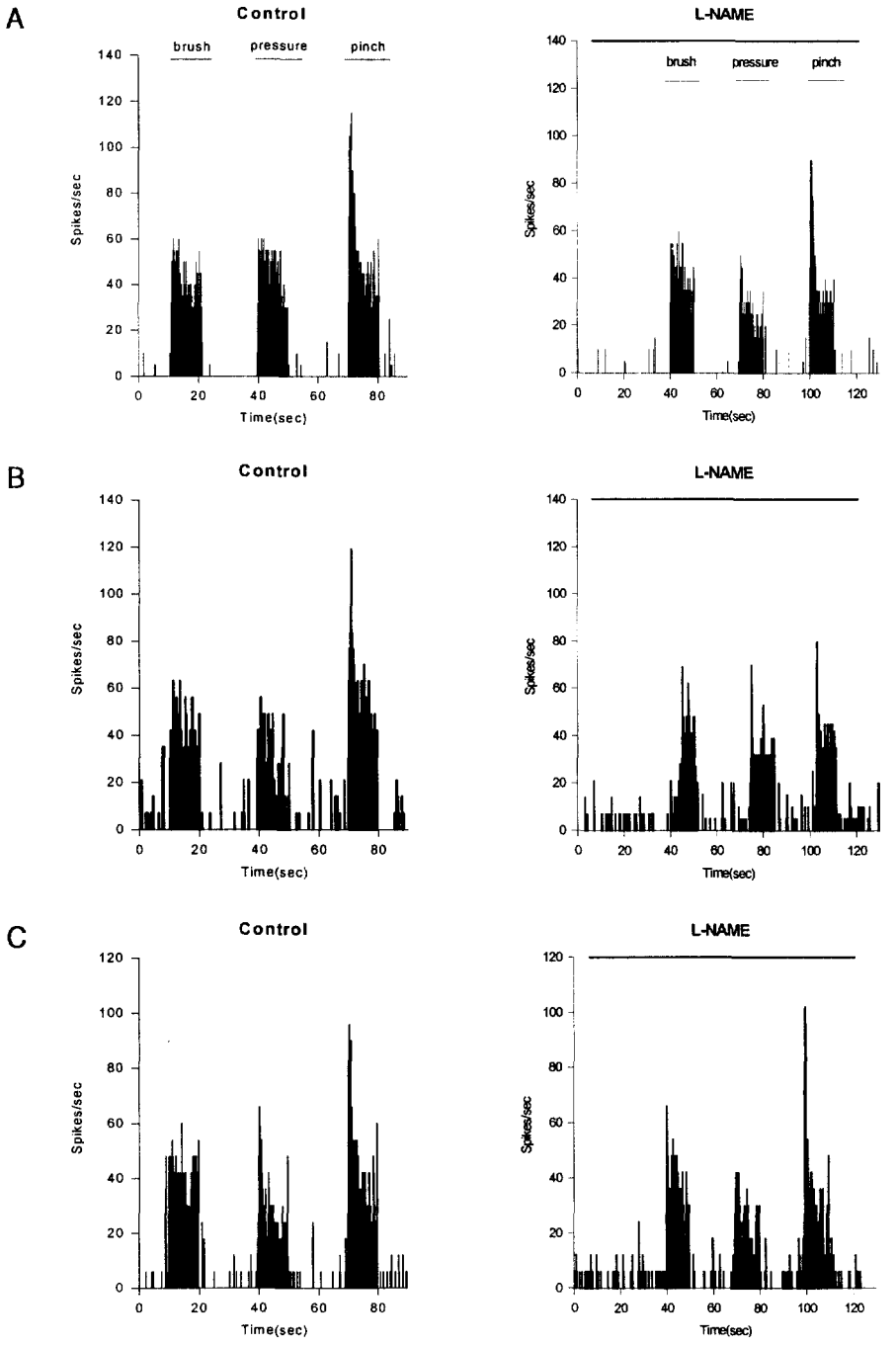

그림 7. 모델쥐에서 L-NAME가 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활성도에 미치는 영향의 histogram 예. 신경병성 모델쥐에서 L-NAME가 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활성도에 미치는 영향은 세포에 따라 다양하였는데 A는 pressure, pinch가 감소하는 예, B는 특히 pinch에 대한 반응의 감소가 현저한 예, C는 brush, pressure 및 pinch 모두가 감소하는 예를 보여주고 있음.

측정한 각 척수후각세포에서 L-NAME 투여후 활동전압수를 투여전 활동전압수에 대한 상대적 %로 통계처리한 결과 brush반응의 경우 평균 105.3±6.1%, pressure반응의 경우 103.4±5.3%로 변화되었으나 통계적 의의는 없었으며 pinch반응은 87.6±3.9%로 의의있게 감소되어 L-NAME 투여후 선택적으로 pinch자극에 대한 활성도가 감소됨을 알 수 있었다 (그림 6).

3. 모델쥐에서 L-NAME 투여가 일련의 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응에 미치는 영향

모델쥐에서도 L-NAME 투여시 기계적 자극에 대한 반응은 다양한 양상을 나타내었다 (그림 7). Brush반응의 경우 증가되는 세포는 40.6% (28/69), 거의 변화가 없는 세포는 15.9% (11/69), 감소되는 경우는 43.5% (30/69)의 분포를 보였고, pressure반응의 경우 각각 27.5% (19/69), 11.6% (8/69), 60.9% (42/69), pinch반응의 경우 각각 17.4% (12/69), 13.0% (9/69), 69.6% (48/69)의 분포를 보였다(표 2).

측정된 전체 세포에서 기계적 자극에 대한 활동전압 발생수의 평균적인 변화는 brush반응의 경우 543.2±35.4개에서 520.9±38.6개로 감소되었으나 통계적인 유의성은 없었으며 pressure반응의 경우 520.0±35.1개에서 440.8±26.1개로 그리고 pinch반응은 782.2±32.3개에서 660.4±33.9개로 의의있게 감소되었다(그림 8).

측정한 각 척수후각세포에서 L-NAME 투여후 활동전압수를 투여전 활동전압수에 대한 %로 통계 처리한 결과 pressure반응의 경우 평균 88.0±4.5%로, pinch반응은 82.0±3.2%로 의의있게 감소되었으며($p<0.05$) brush반응의 경우 97.5±3.3%로 감소되었으나 통계적 의의는 없었다. 즉 모델쥐의 경우 정상쥐와는 달리 유해성 자극뿐 아니라 일부 비유해성 자극에 대한 활성도도 억제함을 알 수 있었다(그림 9).

표 2. 모델쥐에서 L-NAME가 brush, pressure 및 pinch반응에 미치는 영향에 대한 세포 분포

	모델쥐		
	Brush	Pressure	Pinch
Increase	40.6% (28/69)	27.5% (19/69)	17.4% (12/69)
No change	15.9% (11/69)	11.6% (8/69)	13.0% (9/69)
Decrease	43.5% (30/69)	60.9% (42/69)	69.6% (48/69)

모델쥐에서 L-NAME가 기계적 자극에 대한 반응에 미치는 영향은 세포에 따라 다양하였는데 유해성 pinch자극뿐 아니라 무해성 pressure자극에 대한 반응이 억제되는 경우도 높은 분포를 보임(증가, 감소는 15% 이상의 변화를 기준하였음).

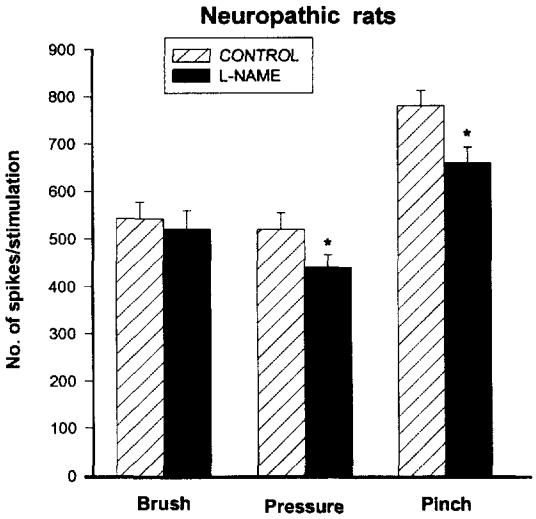

그림 8. 모델쥐에서 L-NAME 투여가 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 활동전압 발생수에 미치는 영향. 신경결찰수술을 받은 모델쥐에서 L-NAME 투여전과 투여후 각 자극기간(10초)동안 유발된 총 활동전압수의 평균치를 나타내었음. L-NAME 투여 후 pressure 및 pinch자극에 대한 활성도가 정상쥐보다 의의있게 감소되어 있음(n=69, *: $p<0.05$).

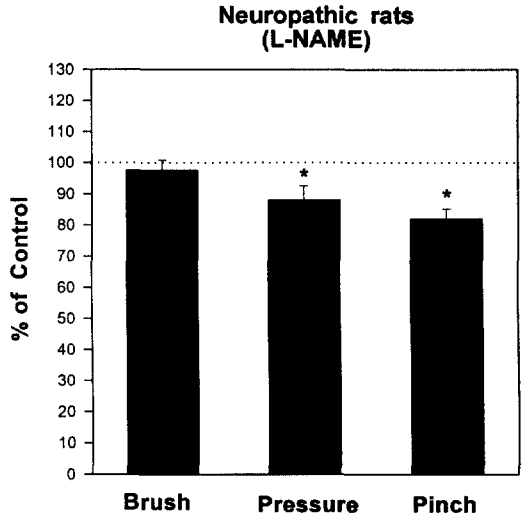

그림 9. 모델쥐에서 L-NAME 투여가 세 가지 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 반응에 미치는 영향의 상대적 크기. 신경결찰수술을 받은 모델쥐의 각 척수후각세포에서 L-NAME 투여후 각 자극기간(10초)동안 유발된 총 활동전압수를 투여전에 대한 %로 통계처리한 막대 그래프로 L-NAME 투여후 유해자극인 pinch 뿐 아니라 비유해자극인 pressure자극에 의한 활성도도 의의있게 감소됨(n=69, *: $p<0.05$).

IV. 고 찰

근래에 들어 산화질소와 통증전달 그리고 NMDA수용체와의 연관성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Kitto 등, 1992; Meller 및 Gebhart, 1993; Meller 등, 1994; Budai 등, 1995; Choi 등, 1996; Gordh 등 1998).

Glutamate receptor는 활성화되는 특성에 따라 크게 NMDA수용체와 non-NMDA수용체로 분류한다. NMDA수용체는 신경전달물질의 결합과 함께 막전압이 탈분극됨에 따라 Mg^{2+}의 이온통로 차단작용이 제거되야만 열리는 일종의 막전압의존성 이온통로이다. 따라서 일반적으로 약한 무해자극에 대한 반응은 주로 non-NMDA수용체에 의해 매개되며 강한 유해성 자극의 경우는 막전압이 충분히 활성화됨에 따라 주로 NMDA수용체에 의해 매개되는 것으로 알려져 있다(Dougherty 등, 1992). 한편 NMDA수용체 이온통로의 특성중 하나는 non-NMDA수용체 이온통로와 비교하여 Ca^{2+} 이온에 대한 투과도가 높으며 따라서 활성화되면 Ca^{2+}이 세포내로 유입된다. 유입된 Ca^{2+}은 Ca^{2+}-calmodulin system에 의해 산화질소합성효소를 활성화시키며 이어 산화질소가 생성된다(Meller 및 Gebhart, 1993). 따라서

NMDA수용체가 활성화되는 경우 일부는 산화질소계를 통해 그 효과가 나타나리라 생각하고 있다.

실제 이온영동적으로 투여한 NMDA에 의한 척수후각세포의 전기적 활성도가 L-NAME에 의해 억제되고(Budai 등, 1995) 유해자극에 의해 유발된 척수후각세포의 활성도 역시 L-NAME에 의해 감소됨이 보고된 바 있다(Radhakrishnan 및 Henry, 1993; Budai 등, 1995). 이러한 실험결과는 NMDA수용체 활성화에 의한 반응이 산화질소를 매개로 하고 있으며 유해자극에 의한 반응 역시 NMDA수용체의 활성화와 산화질소계를 매개로 하고 있을 가능성을 암시하는 결과들이다. 본 실험에서 정상쥐의 경우 특히 유해한 자극에 의한 척수후각세포의 활성도가 L-NAME에 의해 억제된 것은 상기한 다른 연구자의 보고와 일치하는 것으로 생각된다.

한편 신경병성 통증 모델쥐의 경우 무해한 자극에 대한 척수후각세포의 반응도 L-NAME에 의해 억제되었는데 그 가능성으로 모델쥐의 경우 척수후각세포의 흥분성이 증가되어 있는 것으로 보아 안정막전압도 탈분극되어 있으리라 추측되며 이는 NMDA수용체가 활성화되기 쉬운 조건이 되며 따라서 약한 무해한 자극에 대해서도 NMDA수용체가 활성화 될 수 있었을 것으로 추측된다. 또한 행동학적 연구에서도 NMDA수용체 길항제가 이질통의 증상을 완화시키는 것으로 보아(Kim 등, 1997) 본 실험에서의 모델쥐의 경우 무해한 자극에 대한 반응이 NMDA수용체의 활성화를 유발했을 가능성이 있다. 그러나 이를 확인하기 위해서는 보다 직접적인 실험이 이루어져야 하리라 생각된다.

한편 본 실험에서는 이온영동적 방법으로 L-NAME를 투여하였는데 이 경우 L-NAME의 작용 부위가 척수후각세포에 직접 작용하였을 가능성 외에 시냅스전 신경말단에 작용했을 가능성도 배제할 수 없다. 현재 보고된 바로는 신경병성 통증 모델쥐의 경우 배근신경절(dorsal root ganglion)내의 산화질소합성효소의 발현이 증가되며(Steel 등, 1994) 이러한 항진된 효소의 활성도에 산화질소합성효소 억제제가 작용한 결과보다 현저하게 억제효과가 나타났을 가능성도 있으리라 본다.

산화질소는 개스형태의 물질로 생성된 장소로부터 어느 정도 떨어져 있는 부위에도 작용할 수 있다(Dawson 및 Snyder, 1994). 본 실험에서 산화질소합성효소 억제제가 어디서 산화질소의 생성을 억제하였는지 또 산화질소생성의 억제가 어느 부위에 영향을 주었는지는 확실치 않다. 현재 알려져 있기로는 산화질소 donor를 이온영동적으로 투여하면 NMDA에 의한 척수후각세포의 전기적 활성도가 항진되는 것으로 보고되었고(Budai 등, 1995) 또한 산화질소가 일차구심성섬유의 신경말단에서 흥분성 아미노산의 분비를 촉진시키는 것으로 알려져 있다(Lawrence 및 Jarrott, 1993; Guevara-Guzman 등, 1994). 따라서 본 실험에서 L-NAME의 효과가 상기한 여러 인자와 연관되어 나타났을 가능성도 있다.

본 실험에서 L-NAME의 유해자극에 대한 반응억제 효과가 모든 척수후각세포에서 나타나지는 않았으며 오히려 항진시키는 양상을 보인 세포도 일부 관찰되었다. 이러한 세포군

이 어떤 특정 기능을 담당하는지에 대해서는 현재 알 수 없으나 Budai 등도 L-NAME가 유해자극에 대한 반응을 증가시키는 경우가 일부 관찰된다고 하여 본 실험결과와 유사한 결과를 보고하였다(Budai 등, 1995). 산화질소의 NMDA수용체에 대한 작용은 아직 논란의 대상이 되고 있다. 즉 산화질소가 신경계에 독작용을 한다는 보고(Lipton 등, 1993)와 오히려 보호작용을 한다는 보고(Lei 등, 1992)가 양립하고 있는데 이러한 상이한 결과를 설명할 수 있는 하나의 가설로써 산화질소의 redox state를 고려해야 한다는 것이다(Lipton 등, 1994). 즉 산화질소의 redox state가 어떻게 되는냐에 따라 NMDA수용체에 대한 영향이 달라 신경계에 독작용이 나타나기도 하고 보호작용이 나타나기도 한다. 산화질소의 redox state가 주위의 산화환원 환경에 따라 nitrosonium 이온(NO^+)이 되는 경우 NMDA수용체를 S-nitrosylation시켜 NMDA활성도를 억제하기도 한다(Lei 등, 1992). 본 실험에서 측정된 세포에 따라 혹은 정상쥐와 모델쥐에 따라 주위환경의 redox state가 달라 다양한 반응을 유발하였을 가능성도 있다고 본다. 그러나 아직 정상쥐와 신경병성 통증 모델쥐간에 혹은 각 척수후각세포의 산화환원 환경에 차이가 있는지에 대해서는 검증된 바 없다.

한편 본 실험에서 L-NAME에 의해 무해자극에 대한 척수후각세포의 활성도가 항진되는 세포도 발견되는데 그 기전에 대해서는 현재 알 수 없다. 보고된 바로는 산화질소가 substance P의 분비도 항진시키는 것으로 알려져 있는데(Garry 등, 1994), substance P를 이온영동적으로 투여하는 경우 NMDA, non-NMDA수용체의 활성도에 서로 반대로 영향을 주어 어떤 세포에서는 NMDA수용체 활성도를 항진하고 non-NMDA수용체 활성도를 억제하기도 하고 어떤 세포에서는 반대로 non-NMDA수용체 활성도를 항진하고 NMDA수용체 활성도를 억제하기도 하는 현상이 보고된 바 있다(Dougherty 등, 1993). 본 실험에서의 결과도 L-NAME가 상기한 작용특성이 있는 substance P의 분비에 영향을 주어 나타났을 가능성도 배제할 수 없다.

요약하면 정상쥐의 경우 산화질소합성효소 억제제가 유해자극에 대한 척수후각세포의 활성도를 선택적으로 억제하였으며, 신경병성 통증 모델쥐의 경우 산화질소합성효소 억제제가 유해자극 뿐 아니라 비유해자극에 대한 항진된 반응도 억제하였다.

이상의 결과로부터 척수에서의 산화질소계가 유해자극에 의한 정상적 통증전달과정에 관여할 뿐 아니라 말초신경이 손상된 경우에는 통증과민 및 감작기전에도 관여하고 있으리라 생각한다. 그러나 본 실험에서 산화질소합성효소 억제제의 효과가 나타난 자세한 기전에 대해서는 앞으로 연구되어져야 할 것으로 생각한다.

V. 결 론

정상쥐와 신경병성 통증 모델쥐에서 산화질소합성효소 억제제가 기계적 자극에 의한 척수후각세포의 전기적 활성도에 미치는 영향을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 신경병성 통증 모델쥐의 경우 정상쥐와 비교하여 기계적 자극에 대한 척수후각세포의 전기적 활성도가 항진되어 있었으며 따라서 기계적 자극에 대한 반응이 감작되어 있음을 알 수 있었다.

2. 정상쥐의 경우 산화질소합성효소 억제제가 유해자극에 대한 척수후각세포의 활성도를 선택적으로 억제하였다.

3. 신경병성 통증 모델쥐의 경우에는 산화질소합성효소 억제제에 의해 유해자극 뿐 아니라 비유해자극에 대한 항진된 반응도 억제되었다.

이상의 결과로부터 척수에서의 산화질소계가 유해자극에 의한 정상적인 통증전달과정에 관여할 뿐 아니라 말초신경이 손상된 경우에는 통증과민 및 감작기전에도 관여하고 있으리라 생각한다.

참 고 문 헌

Bennett GJ, Xie YK: A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain 33: 87-107, 1988*

Bredt DS, Snyder SH: Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron 8: 3-11, 1992*

Budai D, Wlicox GL, Larson AA: Effects of nitric oxide availability on responses of spinal wide dynamic range neurons to excitatory amino acids. *Eur J Pharmacol 278: 39-47, 1995*

Choi Y, Raja SN, Moore LC, Tobin JR: Neuropathic pain in rats is associated with altered nitric oxide synthase activity in neural tissue. *J Neurol Sci 138: 14-20, 1996*

Chung K, Kim HJ, Na HS, Park MJ, Chung JM: Abnormalities of sympathetic innervation in the area of an injured peripheral nerve in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett 162: 85-88, 1993*

Corderre TJ, Melzack R: The contribution of excitatory amino acids to central sensitization and persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *J Neurosci 12: 3665-3670, 1992*

Davar G, Hama A, Deykin A, Vos B, Maciewicz R: MK-801 blocks the development of thermal hyperalgesia in a rat model of experimental painful neuropathy. *Brain Res 553: 327-330, 1991*

Dawson TM, Snyder SH: Gases as biological messengers: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J Neurosci 14: 5147-5159, 1994*

Devor M: The pathophysiology of damaged peripheral nerves. In Wall PD, Melzack R, eds. *Textbook of pain. 2nd ed. London, Churchill-Livingston, 1989, pp 63-81*

Devor M, Rappaport ZH: Pain and the pathophysiology of damaged nerve. In Fields H, ed. *Pain syndromes in neurology. London, Butterworths, 1990, pp 47-81*

Dougherty PM, Palecek J, Zorn S, Wills WD: Combined application of excitatory amino acids and substance P produces long-lasting changes in responses of primate spinothalamic tract neurons. *Brain Res Brain Res Rev 18: 227-246, 1993*

Dougherty PM, Sluka KA, Sorkin LS, Westlund KN, Willis WD: Enhanced responses of spinothalamic tract neurons to excitatory amino acids parallel the generation of acute arthritis

in the monkey. *Brain Res Rev 17: 1-13, 1992*

Fazelli MS: Synaptic plasticity: on the trail of the retrograde messenger. *Trends Neurosci 15: 115-117, 1992*

Garry MG, Richardson JD, Hargreaves KM: Sodium nitroprusside evokes the release of immunoreactive calcitonin gene-related peptide and substance P from dorsal horn slices via nitric oxide-dependent and nitric oxide-independent mechanism. *J Neurosci 14: 4329-4337, 1994*

Garthwaite J, Charles SL, Chess-Williams R: Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature 336: 385-388, 1988*

Garthwaite J: Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system. *Trends Neurosci 14: 60-67, 1991*

Gordh T, Sharma HS, Alm P, Westman J: Spinal nerve lesion induces upregulation of neuronal nitric oxide synthase in the spinal cord. *Amino Acids 14: 105-112, 1998*

Guevara-Guzman R, Emson PC, Kendrick KM: Modulation of in vivo striatal transmitter release by nitric oxide and cyclic GMP. *Neurochemistry 62: 807-810, 1994*

Haley JE, Sullivan AE, Dickenson AH: Evidence for spinal N-methyl-D-aspartate receptor involvement in prolonged chemical nociception in the rat. *Brain Res 518: 218-226, 1990*

Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain 50: 355-363, 1992*

Kim YI, Na HS, Yoon YW, Han HC, Ko KH, Hong SK: NMDA receptors are important for both mechanical and thermal allodynia from peripheral nerve injury in rats. *Neuroreport 8: 2149-2153, 1997*

Kitto KF, Haley JE, Wilcox GL: Involvement of nitric oxide in spinally mediated hyperalgesia in the mouse. *Neurosci Lett 148: 1-5, 1992*

Laird JMA, Bennett GJ: Dorsal root potentials and afferent input to the spinal cord in rats with an experimental peripheral neuropathy. *Brain Res 584: 181-190, 1992*

Lawrence AJ, Jarrott B: Nitric oxide increases interstitial excitatory amino acid release in the rat dorsomedial medulla oblongata. *Neurosci Lett 151: 126-129, 1993*

Leem JW, Choi EJ, Park ES, Paik KS: N-methyl-D-aspartate (NMDA) and non-NMDA glutamate receptor antagonists differentially suppress dorsal horn neuron responses to mechanical stimuli in rats with peripheral nerve injury. *Neurosci Lett 211: 37-40, 1996*

Lei SZ, Pan ZH, Aggarwal SK, Chen HSV, Hartman J, Sucher NJ, Lipton SA: Effects of nitric oxide production on the redox modulatory site of the NMDA receptor-channel complex. *Neuron 8: 1087-1099, 1992*

Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, Lei SZ, Chen HS, Sucher NJ, Singel DJ, Loscalzo J, Stamler JS: A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds. *Nature 364: 626-632, 1993*

Lipton SA, Singel DJ, Stamler JS: Redox-activated states of nitric oxide determine neuronal protection versus neuronal injury. *Tokyo, Nitric oxide(Japanese Scientific Society Press, CRC Press), 1994, pp 183-189*

Malmberg AB, Yaksh TL: Spinal nitric oxide synthase inhibition blocks NMDA-induced thermal

hyperalgesia and produces antinociception in the formalin test in rats. *Pain 54: 291-300, 1993*

Mao J, Price DD, Mayer DJ, Lu J, Hayes RL: Intrathecal MK-801 and local nerve anesthesia synergistically reduce nociceptive behaviors in rats with peripheral mononeuropathy. *Brain Res 576: 254-262, 1992*

Mccall T, Vallance P: Nitric oxide takes centre-stage with newly defined roles. *Trends Pharmacol Sci 13: 1-6, 1992*

McMahon SB: Mechanism of sympathetic pain. *Br Med Bull 47: 584-600, 1991*

Meller ST, Cummings CP, Traub RJ, Gebhart GF: The role of nitric oxide in the development and maintenance of the hyperalgesia produced by intraplantar injection of carrageenan in the rat. *Neuroscience 60: 367-374, 1994*

Meller ST, Gebhart GF: Nitric oxide (NO) and nociceptive processing in the spinal cord. *Pain 52: 127-136, 1993*

Meller ST, Pechman PS, Gebhart GF, Maves TJ: Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience 50: 7-10, 1992*

Murray CW, Cowan A, Larson AA: Neurokinin and NMDA antagonists (but not a kainate acid antagonist) are antinociceptive in the mouse formalin model. *Pain 44: 179-185, 1991*

Neugebauer V, Schaible HG: Evidence for a central component in the sensitization of spinal neurons with joint input during development of acute arthritis in cat's knee. *J Neurophysiol 64: 299-311, 1990*

Radhakrishnan V, Henry JL: L-NAME blocks responses to NMDA, substance P and noxious cutaneous stimuli in cat dorsal horn. *Neuroreport 4: 323-326, 1993*

Ren K, Dubner R: NMDA receptor antagonists attenuate mechanical hyperalgesia in rats with unilateral inflammation of the hindpaw. *Neurosci Lett 163: 22-26, 1993*

Sato J, Perl ER: Adrenergic excitation of cutaneous pain receptors induced by peripheral nerve injury. *Science 251: 1608-1610, 1991*

Schaible HG: Nociceptive processes in the spinal cord evoked by acute arthritis. In Willis WD, ed. Hyperalgesia and Allodynia, *Symposium on Pain Research. New York, Raven Press, 1992, pp 203-220*

Seltzer Z, Dubner R, Shir Y: A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain 43: 205-218, 1990*

Seltzer Z, Shir Y: Sympathetically maintained causalsiform disorders in a model for neuropathic pain: a review. *J Basic Clin Physiol Pharmacol 2: 17-61, 1991*

Siegan JB, Sagan J: Attenuation of NMDA-induced spinal hyperalgesia by adrenal medullary transplants. *Brain Res 680: 88-89, 1995*

Steel JH, Terenghi G, Chung JM, Na HS, Carlton SM, Polak JM: Increased nitric oxide synthase immunoreactivity in rat dorsal root ganglia in a neuropathic pain model. *Neurosci Lett 169: 810-814, 1994*

Yamamoto T, Yaksh TL: Spinal pharmacology of thermal hyperesthesia induced by incomplete ligation of sciatic nerve. *Pain 49: 121-128, 1992*

Yoon WY, Sung BK, Chung JM: Nitric oxide mediates behavioral signs of neuropathic pain in an experimental rat model. *Neuroreport 9: 367-372, 1998*

Abstract

The effects of nitric oxide synthase inhibitor on sensitization of dorsal horn neuron

Kyu Rae Lee

Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University

(Directed by Associate Professor Taick-Sang Nam)

Partial nerve injury to a peripheral nerve may induce the development of neuropathic pain which is characterized by symptoms such as spontaneous burning pain, allodynia and hyperalgesia. Though underlying mechanism has not fully understood, sensitization of dorsal horn neurons may contribute to generate such symptoms. Nitric oxide acts as an inter- and intracellular messenger in the nervous system and is produced from L-arginine by nitric oxide synthase (NOS). Evidence is accumulating which indicate that nitric oxide may mediate nociceptive information transmission. Recently, it has been reported that NOS inhibitor suppress neuropathic pain behavior in an neuropathic pain animal model.

This study was conducted to determine whether nitric oxide is involved in the sensitization of dorsal horn neurons in neuropathic animal model. Neuropathic animal model was made by tightly ligating left L5 and L6 spinal nerve and we examined the effects of iontophoretically applied NOS inhibitor (L-NAME) on dorsal horn neuron's response to mechanical stimuli in receptive fields.

In normal animal, NOS inhibitor specifically suppressed responses to noxious stimuli. In neuropathic animal, dorsal horn neuron's response to mechanical stimuli was enhanced and NOS inhibitor suppress the dorsal horn neuron's enhanced response to non-noxious stimli as well as those to noxious stimuli. These result suggests that nitric oxide may mediate nociceptive transmission in normal animal and also mediate sensitization of dorsal horn neuron in neuropathic pain state.

Key Words: neuropathic, L-NAME, nitric oxide, allodynia, hyperalgesia, NMDA, iontophoresis