

백서의 말초신경 통증 모델에서 신경결찰 전 말초에 주입된 Bupivacaine이 기계적 통각과민 발현에 미치는 영향

*울산대학교 의과대학 마취과학교실, †연세대학교 의과대학 생리학교실

정용보* · 임중우[†] · 정은정* · 이정찬* · 최 윤*

= Abstract =

Effects of Bupivacaine Pretreatment at the Periphery on the Expression of Mechanical Hyperalgesia in a Rat Model of Peripheral Neuropathy

Yong Bo Chung*, Joong Woo Leem, Ph.D.[†], Eun Jung Chung, M.D.*
Jung Chan Lee, B.S.*, and Yoon Choi, M.D.*

*Department of Anesthesiology, Ulsan University College of Medicine,
[†]Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Although several mechanisms of causalgia, which results from a partial injury to the peripheral nerve trunk, have been proposed, whether or not antidromic impulses from the injured neurons contribute to the development of the mechanical hyperalgesia has not been studied. The purpose of this experiment is was to investigate the role of antidromic impulses to the peripheral sensory receptor site on the development of mechanical hyperalgesia in a rat model of peripheral neuropathy.

Methods: Rats were prepared with tight ligation of by tightly ligating the left fifth and sixth lumbar spinal nerves. The effect of bupivacaine pretreatment on the development of mechanical hyperalgesia was evaluated by injecting 0.5% bupivacaine (0.3 ml) into the plantar surface of the left hind paw before the skin incision was made. For the control group, normal saline (0.3 ml) was injected instead of bupivacaine. To measure the mechanical hyperalgesia, paw withdrawal thresholds were measured using a series of von Frey hairs. Mechanical hyperalgesia was measured a the day before, and 1, 2, 3, 4, 7, and 14 days after the surgery.

Results: The control group showed decreased withdrawal thresholds from the day after the surgery (the values were 14.0 ± 0.5 , 8.9 ± 1.3 , 8.4 ± 1.6 , 6.9 ± 1.2 , 8.8 ± 1.5 , 10.5 ± 1.3 , and 8.6 ± 1.3 g; at -1, 1, 2, 3, 4, 7, and 14 days after the surgery, respectively). However, withdrawal thresholds of the bupivacaine-pretreated group showed increased withdrawal thresholds for three days after the surgery (14.5 ± 0.3 , 12.6 ± 1.4 , 12.7 ± 1.1 , 10.5 ± 1.3 g; at 1, 1, 2, 3 days after the surgery).

Conclusions: Our result suggests that antidromic impulses to the peripheral sensory receptors are at least partly responsible for the initial development of mechanical hyperalgesia in a rat model of peripheral neuropathy.

Key Words: Afferent sensory nerve, Antidromic impulses, Causalgia, Pain, Peripheral neuropathy, Receptor sensitization

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

Tel: 02-2224-3868, Fax: 02-470-1363, E-mail: ychoi@www.amc.seoul.kr

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구(1999-2-21300-004-3) 지원으로 수행되었음.

서 론

말초신경에 손상을 받을 경우 손상된 부위의 팔이나 다리에서 자율신경계, 감각신경계 및 운동신경계의 이상이 수반되는데, 특히 감각신경계의 이상에 의한 증상으로서 작열통(causalgia)이 빈번하게 나타난다.^{1,2)} 임상적으로 작열통 환자에서 특징적으로 관찰되는 통각 증상으로는 자발적이며 지속적으로 타는 듯한 통증(자발성연소통), 가벼운 접촉 자극에 대해 유발되는 통증(이질통) 그리고 강한 자극에 대해서는 그 정도가 항진된 통증(과민통) 등이 있다.^{1,2)} 이러한 통각 증상은 스트레스, 피부온도변화, 감정상태의 혼란, 돌발적인 시·청각자극 등과 같은 교감신경계를 자극하는 상황에서는 그 통증의 정도가 더욱 심화되는데,³⁾ 이는 작열통이 교감신경계의 신경활동에 의존적임을 시사한다.

작열통과 같은 교감신경활동 의존성 통증의 유발 기전에 대한 연구는 말초 및 중추신경계의 형태적 및 기능적인 측면에서의 변화에 초점을 맞추어 여러 가설 및 실험증거를 제시하고 있다. 특히 말초신경계의 변화로서 신경손상 후 교감신경절후섬유가 비정상적으로 자라나 구심성 체감각신경과 연결을 이룰 것이라고 제안되었는데, 이는 교감신경활동이 체감각신경을 통한 통각체계에 영향을 주어 비정상적인 통증 유발에 공헌할 수 있다는 점에서 설득력 있게 받아들여지고 있다. 실제로 말초신경손상 후 교감신경섬유와 체감각신경 간에 비정상적인 연결이 유도되었음에 대한 형태학적 증거가 제시되었으며,^{4,8)} 이러한 형태학적 연결이 기능적 시냅스를 이루고 있음도 여러 실험을 통하여 밝혀진 바 있다.^{9,12)} 그러나 이러한 교감신경과 체감각신경간의 시냅스를 통하여 교감신경활동이 체감각신경으로 전달되는 과정을 매개하는 아드레날린수용체의 종류에 대해서는 아직 확실하게 규명되지 않고 있다. 즉, Perl은¹¹⁾ 부분적 말초신경 손상 후 교감신경절 후 섬유가 퇴화되면서 그 근처에 존재하던 체감각수용체에서 아드레날린에 대한 과민감성이 발현되고, 그 결과 체감각수용체가 아드레날린에 대하여 반응을 하게되는데 이러한 비정상적인 반응은 α_2 수용체에 의하여 매개될 것이라고 보고하였다. 한편 임상연구 결과에 의하면 교감신경활동 의존성 통증 환자 중 교감신경

절제술 치료에 의하여 통증이 일시적으로 사라졌다가 재발된 환자의 경우에서 통증 유발 부위에 주사해 준 아드레날린에 대하여 심한 통증이 유발되었으며 반대편 정상 피부에 아드레날린을 가했을 때는 통증이 유발되지 않았음이 관찰되었는데, 이 경우 아드레날린에 의한 통증 유발이 α_1 수용체의 활성화에 의하여 이루어 질 것이라고 하였다.^{13,14)} 따라서 작열통을 포함하는 교감신경활동 의존성 통증에서 교감신경활동에 의존적으로 체감각신경의 흥분을 매개하는 아드레날린성 수용체에 관해서는 논란이 있으며 아직 확실히 규명되지 않고 있다.

말초신경 손상 후 손상 부위의 구심성 체감각신경의 신경활동이 항진됨이 보고되었다.¹⁵⁾ 이렇게 항진된 신경임펄스는 물론 중추로도 입력될 수 있지만 반대 방향인 말초의 체감각수용체 쪽으로도 전파되어 나갈 수도 있다. 이러한 역방향성 임펄스(antidromic impulse)는 체감각신경의 말초 쪽 말단에서 혈관확장, 염증유발, 통증유발 등에 관여하는 물질의 분비를 유도할 수 있다.^{16,17)} 이러한 가정은 말초피부에 강한 자극을 가해준 후 자극 받은 부위에서는 발적(red flare), 부종(edema), 열감, 통증 등과 같은 염증의 특징적인 증세를 관찰할 수 있다는 사실에 의하여 설득력 있게 받아들일 수 있다. 이러한 염증을 신경인성염증(neurogenic inflammation)이라 하는데, 작열통의 유발 기전으로써 신경인성염증에 의한 체감각수용체의 과민화가 있을 수 있음을 예상할 수 있으나, 이에 관한 연구는 전혀 이루어지지 않고 있는 실정이다.

본 연구에서는 작열통의 병태생리기 전에 관하여 손상 부위의 체감각신경에서 생성되는 신경임펄스 중 말초로 전파되는 임펄스는 체감각수용체의 과민화를 유도할 것이라는 가설을 세운 후 이에 대한 증거를 얻기 위하여 통증 모델을 만들기 전에 수술부위의 발바닥에 bupivacaine을 미리 주입한 후 수술을 시행하여 신경절절시 발생하는 신경 임펄스 중 말초에 영향을 줄 수 있는 임펄스를 차단한 후 이것이 기계적 통각과민(mechanical hyperalgesia)의 발현에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

실험 동물로는 수술 당시 150-200 g의 수컷 백서

(Sprague-Dawley)를 사용하였다. 실험에 사용될 백서는 검사 시작 1주일 전에 사육실에 도착하여 새 환경에 적응하게 하였으며, 12시간(오전 6시-오후 6시)의 광주기성을 유지시켰다. 쥐들은 실험에 들어가기 1주일 전부터 본 실험과 동일한 행동학적 검사를 3번 이상 실행하여 미리 실험 상황에 익숙하게 만들었다. 실험군은(15마리) 3% enflurane으로 마취시킨 후 좌측발의 발바닥에 0.5% bupivacaine 0.3 ml를 피하주사한 후, 요추부위 피부의 털을 깎고 척추의 정중선을 따라 피부를 절개한 다음, 주위 근육을 제거 좌측 좌골신경으로 합쳐지는 세개의 요척수신경(L4-L6) 중 L5와 L6신경을 노출시키고 이를 6-0 실크실로 묶어 절찰한 후 근육과 피부를 다시 봉합하였다. 또한 다른 15마리의 쥐에 대하여는 bupivacaine 대신에 생리식염수를 0.3 ml 주입한 후 신경절찰을 시행하고 이들을 대조군으로 삼았다. 마취에서 완전히 깨어난 것을 확인한 다음 동물들은 사육실로 옮겨져서 사육되었다.

기계적 통각과민을 알아보기 위하여는 대상 쥐를 바닥이 철망으로 된 조그만 통속에 넣고, von Frey filament를 철망을 통하여 아래쪽으로부터 동물의 발바닥에 자극을 가한 후 회피역치를 측정하였다. 여덟개의 von Frey filament (0.40, 0.70, 1.20, 2.00, 3.63, 5.50, 8.50, 15.1 g)을 낮은 것에서부터 높은 쪽으로 순차적으로 filament가 약간 휘어질 정도로 6초씩 자극을 가했을 때 급작스런 발의 회피반응을 보이거나 발을 핥을 경우 양성반응으로 간주하였고, 회피역치의 판정은 up-down 방법을 이용하였다.¹⁸⁾ 이상의 행동검사는 수술 하루 전, 수술 후 1, 2, 3, 4, 7, 14일에 시행하였다.

모든 data는 평균 ± 표준오차로 나타내었고, 군간의 비교는 unpaired t-test를 이용하였으며, P값이 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

수술 전의 회피 역치는 bupivacaine 전처치군과 대조군에서 각각 14.6 ± 0.3 , 14.0 ± 0.5 g으로서 유의한 차이를 보이지 않았다.

실험결과는 Fig. 1을 통해 나타내었다. 신경절찰 후 대조군은 수술 다음날부터 회피역치가 낮아진 후 측정기간 내내 통각과민을 보였으나(8.9 ± 1.3 , 8.4

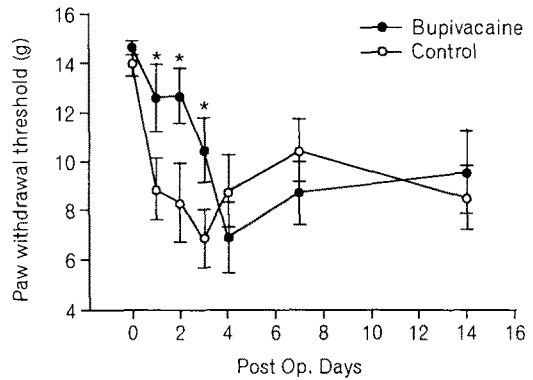


Fig. 1. Effect of bupivacaine pretreatment at the periphery on the development of mechanical hyperalgesia was investigated. Rats injected with 0.5% bupivacaine 0.3 ml into the paw before nerve ligation showed delayed development of mechanical hyperalgesia when compared with those of control group (n = 15, each). Data are presented as mean S.E.M. *: significantly different from control group (P < 0.05).

± 1.6, 6.9 ± 1.2 , 8.8 ± 1.5 , 10.5 ± 1.3 , 8.6 ± 1.3 g; 각각 수술 후 1, 2, 3, 4, 7, 14일), bupivacaine 전처치 군은 절찰 후 1, 2, 3일에서는 12.6 ± 1.4 , 12.7 ± 1.1 , 10.5 ± 1.3 g으로 대조군에 비해 유의하게 회피역치가 높았으나, 이후부터는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다(6.9 ± 1.4 , 8.7 ± 1.3 , 9.6 ± 1.7 ; 각각 수술 후 4, 7, 14일).

고 찰

본 실험을 통하여 신경절찰전 말초에 bupivacaine 전처치를 할 경우 약 3일에 걸쳐서 기계적 통각과민의 발현이 지연됨을 알 수 있었다.

작열통을 포함하는 교감신경활동 의존적 통증을 연구하기 위하여 여러 동물모델이 쥐를 이용하여 개발되었는데, 이들 모델 쥐에서는 공통적으로 임상에서의 작열통 환자에서 전형적으로 나타나는 자발성 연소통, 기계적 이질통 및 냉파민통과 유사한 행동학적 징후가 관찰되었다.¹⁹⁻²¹⁾ 특히 본 실험에 이용된 모델은 L5, L6 척수신경을 선택적으로 절찰하고 L4 척수신경을 온전히 놓아둠으로써 신경손상의 정도를 비교적 일정하게 할 수 있고, 한 신경다발 내에서 손상된 부위와 손상되지 않은 부위의 변화를 분리하

여 연구할 수 있다는 장점이 있으므로 본 실험을 위한 동물 모델로 채택하였다.

역방향성 임펄스에 의해 유발되는 신경인성염증은 구심성 신경섬유의 기계적 자극뿐만 아니라 화학적 및 전기적 자극에 의해서도 유발될 수 있으며,^{16,17)} 이러한 신경인성염증 유발에 관여한다고 예측되는 대표적인 후보 물질로서 substance-P 등이 있는데, 이는 주로 통각섬유의 말단에서 분비되는 물질로써 혈관이란, 염증 중재 물질 유도, 체감각수용체의 과민화 등에 관여한다고 알려져 있다.²²⁾ 그러므로, 본 실험에서는 신경결찰 전 bupivacaine을 말초에 투여함으로써 신경결찰 후 말초로 향하는 임펄스를 수시간 동안 차단시켰으며, 이 결과 신경결찰시 발생한 역방향성 임펄스가 말초에서 substance-P 등의 신경전달물질을 유리하고 이것들이 말초 통각수용체를 감작시키지 못하게 하였다고 생각해볼 수도 있다. 같은 통증모델에서 신경 손상 후 말초 수용체 등의 감작은 이미 보고된 바 있다.²³⁾

손상 받은 부위의 구심성 체감각신경에서 생성되는 항진된 신경임펄스는 말초로 전파되는 한편 척수로도 입력되는데 그 결과 척수 내에서 통각정보 전달에 관여하는 제 2 차 체감각신경을 과민화시켜 통각유발에 관여함은 여러 실험에 의하여 밝혀진 바 있다.^{24,26)} 이밖에도 척수로 입력되는 항진된 구심성 임펄스는 말초로 출력되는 교감신경활동에 영향을 미칠 수 있을 것이다. 만약 이러한 구심성 임펄스에 의하여 말초로 출력되는 교감신경활동이 증가된다면 이는 말초의 체감각신경활동을 더욱 항진시키는 악순환을 되풀이하면서 교감신경활동 의존적 통증을 더욱 악화시킬 것이다. 이러한 가능성은 통각행동을 보이는 동물에서 교감신경활동을 억제하는 약물의 척수 수막강내 투여가 통각행동을 억제한다는 관찰에 의하여 간접적으로 지지 받을 수 있다.²⁷⁾ 그러나 본실험의 경우와 같은 작열통의 경우 구심성 체감각신경을 통하여 척수로 입력되는 다량의 임펄스가 척수내에서 원심성 신경절이전교감신경의 신경활동에 미치는가 여부는 아직 보고되고 있지 않다.

본 실험은 말초신경손상 후 말초로의 임펄스가 말초통각수용체를 감작시킨다는 가정을 확인하는 하나의 증거가 될 수 있다고 본다. 본 실험의 결과로는 말초신경 손상 초기에 발생하는 말초로의 임펄스만을 차단한 결과 기계적 통각과민의 초기 발현이 억

제됨을 보였으나 신경결찰 후 역방향의 임펄스가 얼마나 지속되는지, 만약 오래 지속된다면 이에 의한 영향은 어떠한지는 밝힐 수 없었으며, 향후 재미있는 연구대상이 될 것이다.

이상의 결과로부터 말초신경 손상 전 말초에 bupivacaine 전치치를 할 경우 수술 후 약 3일간 기계적 통각과민의 발현이 지연되는 것으로 보아 말초신경 손상시 발생하는 역방향 임펄스가 이 통증모델에서의 초기의 기계적 통각과민의 발현에 최소한 일부분을 기여함을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Bonica JJ: The management of pain. 2nd ed. Philadelphia, Lea and Febiger. 1990, pp 220-43.
2. Mitchell SW, Morehouse GR, Keen WW: Gunshot wounds and injuries of nerves. Philadelphia, JB Lippincott. 1864, pp 23-41.
3. Merskey H, Bogduk N: Classification of chronic pain: descriptions of chronic pain syndromes and definitions of pain terms. Seattle, IASP Press. 1994, pp 40-3.
4. McLachlan EM, Janig W, Devor M, Michaelis M: Peripheral nerve injury triggers noradrenergic sprouting within dorsal root ganglia. *Nature* 1993; 363(6429): 543-6.
5. 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* 1993; 162: 85-8.
6. Chung K, Lee BH, Yoon YW, Chung JM: Sympathetic sprouting in the dorsal root ganglia of the injured peripheral nerve in a rat neuropathic pain model. *J Comp Neurol* 1996; 376: 241-52.
7. Ramer MS, French GD, Bisby MA: Wallerian degeneration is required for both neuropathic pain and sympathetic sprouting into the DRG. *Pain* 1997; 72: 71-8.
8. Ramer MS, Bisby MA: Normal and injury-induced sympathetic innervation of rat dorsal root ganglia increases with age. *J Comp Neurol* 1998; 394: 38-47.
9. Devor M, Janig W, Michaelis M: Modulation of activity in dorsal root ganglion neurons by sympathetic activation in nerve-injured rats. *J Neurophysiol* 1994; 71: 38-47.
10. Janig W, McLachlan M: The role of modifications in noradrenergic peripheral pathways after nerve lesions in the generation of pain. In: Fields HL, Liebeskind JC (Eds.), *Pharmacological approaches to the treat-*

- ment of chronic pain: new concepts and critical issues. Seattle, IASP Press. 1994, pp 101-28.
11. Perl ER: A reevaluation of mechanisms leading to sympathetically related pain. In: Fields HL, Liebeskind JC (Eds.), Pharmacological approaches to the treatment of chronic pain: new concepts and critical issues, Seattle, IASP Press. 1994, pp 129-50.
 12. Peterson M, Zhang J, Zhang J-M, LaMotte RH: Abnormal spontaneous activity and responses to norepinephrine in dissociated dorsal root ganglion cells after chronic nerve constriction. *Pain* 1996; 67: 391-7.
 13. Wallin G, Torebork E, Hallin R: Preliminary observations on the pathophysiology of hyperalgesia in the causalgic pain syndrome. In: Zotterman Y(Ed.), Sensory functions of the skin in primates. Oxford, Pergamon Press. 1976, pp 489-99.
 14. Davis KD, Treede RD, Raja SN, Meyer RA, Campbell JN: Topical application of clonidine relieves hyperalgesia in patients with sympathetically-maintained pain. *Pain* 1991; 47: 309-17.
 15. Kajander KC, Wakisaka S, Bennett GJ: Spontaneous discharge originates in the dorsal root ganglion at the onset of a painful peripheral neuropathy in the rat. *Neurosci Lett* 1992; 138: 225-8.
 16. Kenins P: Identification of the unmyelinated sensory nerves which evoke plasma extravasation in response to antidromic stimulation. *Neurosci Lett* 1981; 25: 137-41.
 17. Coderre TJ, Basbaum AI, Levine JD: Neural control of vascular permeability: interactions between primary afferents, mast cells, and sympathetic efferents. *J Neurophysiol* 1989; 62: 48-58.
 18. Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL: Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Meth* 1994; 53: 55-63.
 19. Bennett GJ, Xie Y-K: A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 1988; 33: 87-107.
 20. Seltzer Z, Dubner R, Shir Y: A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain* 1990; 43: 205-18.
 21. Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in rat. *Pain* 1992; 50: 356-63.
 22. Lembeck F, Holzer P: Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilatation and neurogenic plasma extravasation. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1979; 310: 175-83.
 23. Leem JW, Willis WD, Chung JM: Cutaneous sensory receptors in the rat foot. *J Neurophysiol* 1993; 69: 1684-99.
 24. Woolf CJ: Evidence for a central component of post-injury pain hypersensitivity. *Nature* 1983; 306: 686-8.
 25. Torebjork HE, Lundberg LER, LaMotte RH: Central changes in processing of mechanoreceptor input in capsaicin-induced sensory hyperalgesia in human. *J Physiol* 1992; 448: 765-80.
 26. 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* 1996; 211: 37-40.
 27. Lavand'homme P, Pan HL, Eisenach JC: Intrathecal nestigmine, but not sympathectomy, relieves mechanical allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Anesthesiology* 1998; 89: 493-9.