

흰쥐에서 경부 교감신경절제술이 안압의 일차변동에 미치는 영향

임남기 · 김태형 · 송준경 · 유지명

경상대학교 의과대학 안과학교실

목적: 흰쥐에서 안압의 일차변동을 측정하고, 교감신경절제술이 안압의 일차변동에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.
대상과 방법: 8주생 수컷 Sprague-Dawley 쥐 9마리를 12시간 간격의 명암주기환경에 3주간 적응시킨 후 Tonopen을 사용하여 양안의 안압을 24시간동안 4시간 간격으로 측정하였다. 이후 우측 경부 교감신경절제술을 시행하여 술 후 1주, 2주, 3주, 그리고 4주째 양안의 안압을 같은 방법으로 측정하여 비교하였다.
결과: 술 전 흰쥐의 안압은 양안의 차이는 없었고, 명암주기에 따른 일차변동을 보이며, 명주기에 비해 암주기에서 통계적으로 유의하게 증가되었다. 교감신경절제술 이후 비수술안에서는 일차변동이 유지되었으나, 수술안에서는 일차변동이 소실되어 술 후 4주째까지 지속되었다.
결론: 흰쥐의 안압 일차변동에 교감신경계가 관여할 것으로 생각된다.
(대한안과학회지 2008;49(11):1839-1844)

개체에서 일어나는 일차변동에 생체시간의 개념이 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었으며, 이러한 생체 시간은 환경적 시간에 국한되지 않고 환경적 시간 없이도 지속되는 것으로 알려져 있다.¹ 환경적 시간에서 중요한 역할을 담당하는 것이 명암주기로, 명암주기는 송과체와 혈류 및 망막 내 melatonin과 serotonin N-acetyltransferase 활성도의 일차변동을 담당하는 것으로 알려져 있다.²⁻⁴

안압의 일차변동은 녹내장성 시신경 손상에서 중요한 기능을 담당할 것으로 알려져 있으나, 그 역할 및 기전은 정확히 알려져 있지 않다. 녹내장 환자군이나 고안압증환자군에서 비녹내장환자군과는 다른 24시간 안압의 일차변동을 보이는 것으로 보고되었으며, 안압의 일차변동에 대한 연구가 안압의 상승 등과 같은 녹내장 위험인자들과 같이 중요한 연구 대상이 되고 있다.^{5,6}

쥐에서 안압의 일차변동은 낮시간에는 낮고, 밤시간 대에서는 높은 이상형(biphasic) 구조를 보이고, 이러

한 일차변동은 빛주기(light cycle)가 중요한 영향을 미치는 것으로 보고되었다.^{7,8} 이러한 안압의 일차변동은 지속적인 빛자극을 통해 그 구조가 소실되는 양상을 보이는 것으로 알려져 있다.⁹

토끼를 이용한 실험에서 안압의 일차변동에서 암주기 동안의 안압상승이 교감신경계의 자극과 관련되며, 이와 함께 신경전달물질인 norepinephrine (NE), cyclic adenosine monophosphate (cAMP)이 방수 내에서 상승되는 것이 보고된 바 있다.¹⁰⁻¹²

이에 저자들은 쥐에서 나타나는 안압의 일차변동을 측정하고, 동일 쥐에서 편측 교감신경절제술을 시행하여 교감신경절제술이 안압의 일차변동에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상과 방법

8주생 체중 200~300 g의 수컷 Sprague-Dawley 흰쥐 9마리를 12시간 간격의 명암주기환경에 3주간 적응시킨 후 실험을 시행하였다. 사육장내의 점등시간은 6시, 점멸시간은 18시로 실험을 진행하였으며 명암주기 환경은 6시에서 18시까지 12시간의 명주기(light period)와 18시에서 6시까지 12시간의 암주기(dark period)로 구성되었으며, 사육장내의 빛의 강도는 명주기동안은 300 lux, 암주기동안은 3~5 lux 였으며, 내부온도와 습도는 각각 22~23℃, 70%로 유지하였다.

(접수일 : 2008년 5월 20일, 심사통과일 : 2008년 7월 10일)

통신저자 : 유 지 명
경상남도 진주시 칠암동 92
경상대학교병원 안과
Tel: 055-750-8164, Fax: 055-758-4158
E-mail: yjm@gnu.ac.kr

* 본 논문의 요지는 2007년 대한안과학회 제98회 추계학술대회에서 구연으로 발표되었음.

안압의 측정은 0.5% proparacaine hydrochloride (Alcaine®)을 한방울 점안하여 국소마취하에 시행하였으며, Tonopen-XL tonometer (Mentor O&O, Norwell, MA)를 사용하여 의식이 있는 상태로 측정하였다. 정확한 안압 측정값을 얻기 위해 Tonopen-XL tonometer에 기록되는 수치 중 각막에 접지되지 않고 기록된 수치와 안검과 함께 접지된 경우, 그리고 5 mmHg 이하의 수치와, 50 mmHg 이상의 수치는 배제하였다. 기구에서 자동화되는 평균값을 취하는 대신, 안압을 각각 10회 측정하여 그 평균값을 이용하였다. 가급적 쥐를 편안하게 유지하기 위해 쥐를 수건으로 덮은 상태에서 두부를 노출시켜, 가능한 적은 압력으로 쥐를 잡고, 쥐의 엉덩이 부분은 손바닥으로 누르고, 검지를 머리위로 펴서 두부를 고정하고, 다른 손가락들은 쥐몸통을 감싸 안은 채로 편평한 받침대위에 쥐를 고정시킨 상태로 실험을 진행하였다. 안압측정을 시행한 실험실내의 환경도 사육장과 유사하게 빛의 강도, 내부온도, 습도를 유지하였다. 안압은 4시간 간격으로 8시, 12시, 16시, 20시, 24시, 4시에 측정하였으며 교감신경절제술 이후에도 같은 시간대에 같은 방법으로 시행하였다.

본 실험에서 시행한 교감신경절제술은 상경부교감신경절제술(superior cervical ganglionectomy)로써 흰쥐를 근육주사로 전신마취를 시킨 후 우측에 수술을 시행하였다. 흰쥐의 배쪽 경부를 절개하여 우측 공통경동맥을 따라 미주신경과 나란히 주행하는 교감신경의 주행을 찾아낸 뒤 경동맥의 분기점 부근에서 상경부교감신경절을 찾아내어 신경절전신경섬유(preganglionic nerve fiber)와 신경절을 함께 제거하였다. 교감신경

절제술 시행 후 시술의 적합성을 판별하기 위해 시술한 다음날부터 수술을 시행한 우안에 눈꺼풀치짐 증상이 나타남을 확인하여 수술의 성공여부를 판별하였다.

교감신경절제술을 시행 후, 모든 흰쥐들은 다시 사육장내에서 같은 12시간간격의 명암주기환경에서 사육되었으며 시술을 시행한 후 각 1주, 2주, 3주, 그리고 4주째 안압을 측정하여 안압의 일차변동 변화를 관찰하였다.

통계분석은 SPSS 12.0 프로그램을 사용하여 시행하였으며, 모든 값들은 평균치와 표준편차를 이용하여 나타내었으며, 각각의 안압은 one-way ANOVA와 Student's *t*-test를 사용하여 평가하였고, *P*값은 0.01 미만시 통계적으로 의미있는 것으로 정의하였다.

결 과

교감신경절제술 전 측정한 좌우안의 안압은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(*P*>0.01). 명주기동안 평균 안압은 우안 21.31±4.51 mmHg, 좌안 20.57± 4.68 mmHg이었으며, 암주기가 시작된 이후 측정된 평균 안압은 우안 27.07±7.33 mmHg, 좌안 26.46± 6.76 mmHg로 암주기동안 통계적으로 유의한 안압의 상승이 나타남을 확인할 수 있었다(*P*<0.01)(Fig. 1).

수술 후 명주기동안 1주와 2주째까지는 안압이 우안에서 좌안보다 높게 (1주째 12시, 2주째 08시) 측정되는 구간이 보이는 등 명주기동안 안압이 불안정한 모습을 보이지만, 술 후 3주와 4주째에 측정된 안압에서는 명주기동안 측정된 안압이 우안과 좌안에서 통계적으로 차이가 없게 측정되며 안정화되는 모습을 볼 수 있었다(*P*<0.01)(Fig. 2).

수술 후 암주기동안 좌안은 술전 암주기에서 안압의 상승을 보이던 일차변동의 양상이 유지되는데 비해 우안은 일차변동이 소실되어 좌안과의 안압의 차이가 1주째 3.11±8.18 mmHg, 2주째 3.76±6.47 mmHg, 3주째 3.37±6.85 mmHg, 4주째 3.77±5.57 mmHg로 통계적으로 유의하게 유지되었다(*P*<0.01)(Fig. 2).

고 찰

안압을 포함한 일차변동에 관련된 연구에서 실험개체 각각의 소인이나 환경적 소인에 의해 실험결과가 영향을 받을 가능성을 줄이기 위한 여러 방법이 제시되었다. 이전에 발표된 생쥐나 토끼의 안압의 일차변동 실험에서도 여러 소인들의 영향을 적게 하기 위해 대한 실험개체의 나이, 성별, 무게 등에 의한 실험적 변수나 다양한 환경적 영향을 최소화하는 실험방법을 제시하고

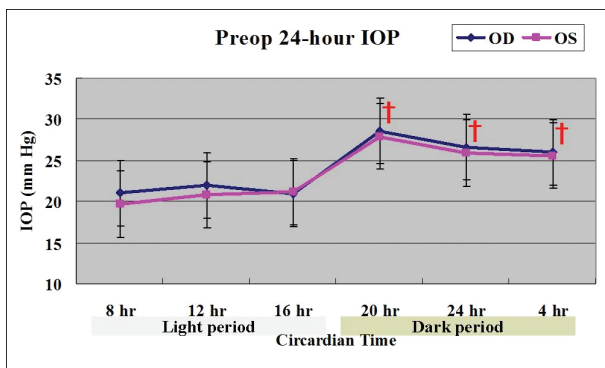


Figure 1. Twenty-four-hour IOP pattern of SD rats exposed to 12-hour light/dark cycle. Circadian rhythm of IOP showed a biphasic pattern that appeared to be sinusoidal with 12-hour light/dark cycle. In the dark period, more elevated IOPs were checked than in the light period (*P*<0.01). * indicates that IOP of rats in the dark period was higher than in the light period.

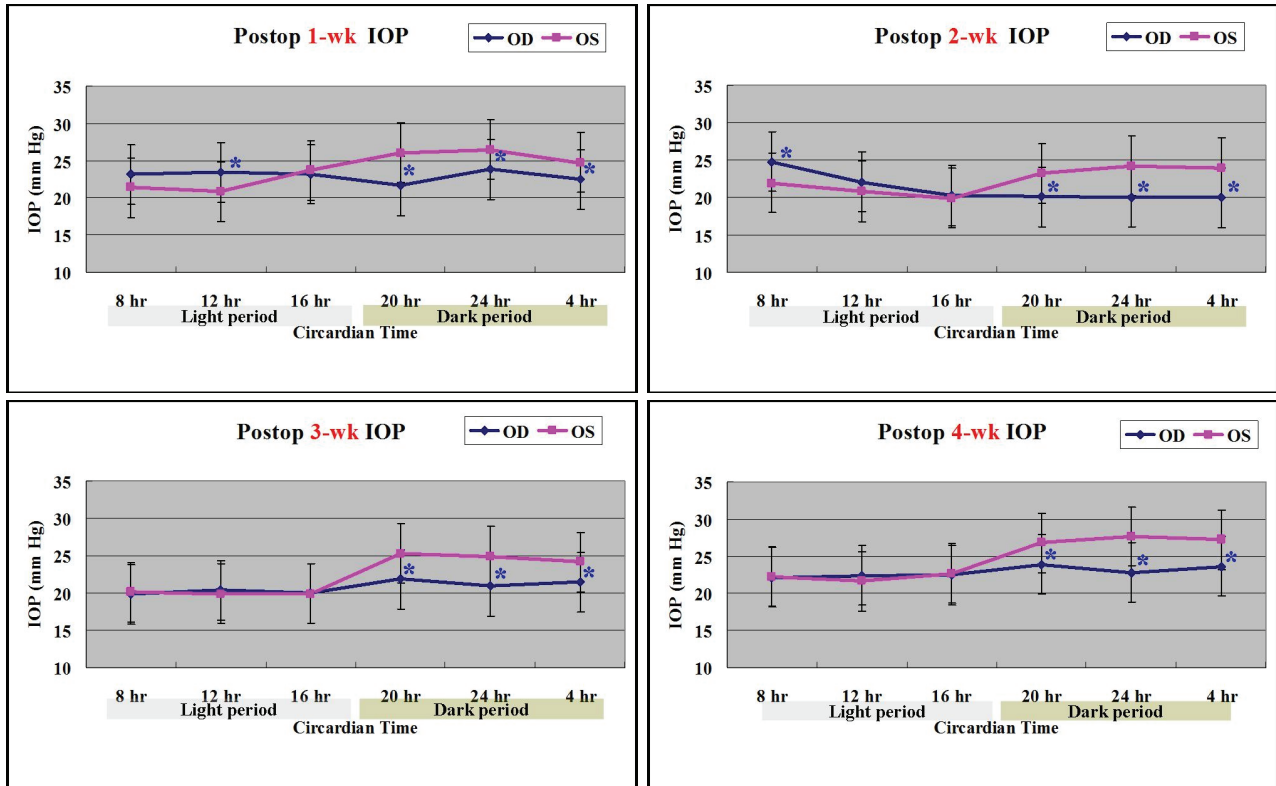


Figure 2. Change of 24-hours IOP pattern of rats after unilateral cervicalganglionectomy. After unilateral sympathectomy, the circadian rhythm of IOP in unoperated side was maintained as similar pattern in pre-sympathectomy. But in operated side, the circadian rhythm of IOP was disappeared. At 1 and 2 weeks, there was a difference of IOP in both eyes in the light & dark period. But after 3 weeks, the difference of IOP in both eyes can be only seen in the dark period ($P<0.01$).

* indicate the points that present difference of IOP in both eyes; OD=eye of operated side; OS=eye of unoperated side.



Figure 3. Unilateral cervical ganglionectomy was done in the right side of the rats. One day after operation, generalized ptosis appeared on the operated side (A. preoperative photograph, B. intraoperative photograph, C. postoperative photograph).

있다.^{8,13,14} 본 실험에서도, 안압변동에 개체 소인을 줄이기 위해 실험동물은 각각 8주령, 체중 200~300 g의 수컷으로 실험개체의 일관성을 유지하고, 안압의 측정이전에 최소 3주간 12시간 명암주기 환경에 실험쥐를 적응시켜 환경적 소인을 최소화하였다.

실험동물에서 안압의 측정방법은 여러 방법이 제시

되고 있다. 토끼나 원숭이 등 안구의 크기가 압평안압계를 사용하기 충분할 경우에는 Perkinson applanation tonometer나 applanation pneumatonometer를, 실험개체의 안구 크기가 작은 생쥐나 쥐의 경우 Tonopen tonometer나 microneedle method를 사용한 실험이 보고되고 있다.¹⁵⁻¹⁷ Tonopen을 이

용한 안압의 측정시 개체의 움직임이 안압의 측정에 영향을 주어 전신마취하에 술기를 행한 경우도 있으나 본 실험에서처럼 의식이 있는 상태에서도 전신마취하에 안압을 측정했을 때와 같은 정도로 측정치의 재현성이 유지되는 것으로 알려져 있다.⁹

전신마취에 사용되는 isoflurane, halothane, ketamine 등의 약제들은 사람 및 실험동물에서 안압의 하강을 유도하며 실험동물에서 수분섭취, 체온, 호르몬수준, 혈압 및 심박동 등이 생체의 전반적인 일차변동에까지 영향을 주는 것으로 알려져 있다.^{18,19} 본 실험에서는 이러한 약제의 영향을 배제하기 위해 점안마취제를 이용하여 의식이 있는 상태에서 실험을 시행하여 전신마취제에 따른 안압의 변화를 제거하였으며, 시술 전후에서 약물의 영향을 줄일 수 있었다.

교감신경절제술 이후 나타나는 임상적인 변화로는 시술한 편측의 눈꺼풀틈새의 감소, 동공크기의 감소, 경도의 결막충혈, 동측 귀부위 체온상승 등이 있으며, 눈꺼풀의 운동에서 Müller muscle의 기능장애로 눈꺼풀처짐 증상이 나타날 수 있다.²⁰ 본 실험에서는 경부교감신경절제술시행 후 임상적으로 알아보기 쉬운 눈꺼풀처짐 증상으로 시술의 성공여부를 판별하였으며, 모든 실험쥐에서 만족할 만한 시술 결과를 관찰하였다 (Fig. 3).

안압의 일차변동에 영향을 미치는 인자에 대해서는 많은 연구들이 진행되어 왔으며, 현재에도 일차변동의 담당중추 및 신경계의 작용에 대해 다양한 연구가 진행되고 있다. 안압의 일차변동을 담당하는 중추신경계 영역으로는 suprachiasmatic nucleus (SCN)가 제시되고 있으며, 이는 SCN의 손상시 나타나는 안압의 일차변동소실 및 조절장애를 통해 알 수 있다. 또한 SCN은 melatonin 합성의 일차변동과 연관되어 나타남으로써 안압의 일차변동과 melatonin의 연관성에도 중요한 단서를 제공하고 있다.^{21,22}

안압의 일차변동에 교감신경계가 중요한 역할을 한다는 것을 토끼 실험을 통해 보고된 바 있으며, 24시간 동안의 방수내 NE와 melatonin, cAMP 농도 변화가 안압 일차변동에 관여한다는 보고가 있다.^{2,23,24} Adrenergic receptor가 결여되거나, cAMP의 대사를 변형시킨 다양한 knockout strain animal model에서 24시간 안압의 일차변동의 연구들이 발표되면서 이러한 내용이 더욱 설득력을 얻고 있다.^{25,26} 최근 clock gene에 대한 개념이 등장하면서 이 분야의 연구가 더욱 진행되고 있는 단계이다.²⁷⁻²⁹

본 실험에서는 흰쥐에서 빛주기에 따른 안압의 일차변동이 있었으며, 명주기에 비해 암주기동안 통계적으로 의미있는 안압의 상승이 나타남을 알 수 있었다. 또

한 쥐에서도 교감신경계가 일차변동에 중요한 역할을 할 것이라는 가정하에 편측의 상경부교감신경절제술을 시행하여 교감신경계가 안압의 일차변동에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 실험 결과 상경부교감신경절제술 후 수술한 쪽의 눈에서 명주기 때 수술전과 비교하여 안압의 변화가 없었으나, 암주기때는 수술전에 비해 적은 안압의 상승을 보이며 안압의 일차변동이 소실됨을 알 수 있었다. 시술 후 안압의 일차변동 소실을 통해 안압의 변화에서 안압의 일차변동에 교감신경계가 관여하는 것을 알 수 있었다.

교감신경절제술 후 나타난 술 후 초기 1주와 2주째 명주기의 안압상승에 대해 정확한 원인을 제시하기는 어렵다. Yoshitomi et al은 토끼를 이용한 실험에서 교감신경에 영향을 받는 방수흐름과 안압의 연관성 및 교감신경절제술 이후 방수흐름이 4~8주째 안정화된 일차변동을 보였다고 보고하였다.¹¹ 수술 후 초기에 방수흐름이 안정화되는 과정에서 안압이 불안정한 양상을 보이는 것으로 사료된다. 그러나 수술 후 초기 안압변화의 기전에 보다 세부적이고 명확한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

본 실험은 쥐에서 교감신경절제술 시행 후 나타나는 안압의 일차변동 소실을 초점으로 실험이 진행되었으나, 향후 안내의 미세구조 변화에 대한 연구 및 교감신경계에서 분비되는 신경전달물질과 안압의 일차변동의 연관성에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

- 1) Braslow RA, Gregory DS. Adrenergic decentralization modifies the circadian rhythm of intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1987;28:1730-2.
- 2) Lee TC, Kiuchi Y, Gregory DS. Light exposure decreases IOP in rabbits during the night. *Curr Eye Res* 1995;14:443-8.
- 3) Peschke E, Peschke D, Huhn C. Circannual morphometric investigations of the rat suprachiasmatic nucleus after pinealectomy, ganglionectomy and thyroidectomy. *Brain Res* 1996;740:81-8.
- 4) Maeda A, Tsujiya S, Higashide T, et al. Circadian intraocular pressure rhythm is generated by clock genes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:4050-2.
- 5) Shuba LM, Doan AP, Maley MK, et al. Diurnal fluctuation and concordance of intraocular pressure in glaucoma suspects and normal tension glaucoma patients. *J Glaucoma* 2007;16:307-12.
- 6) Dinn RB, Zimmerman MB, Shuba LM, et al. Concordance of diurnal intraocular pressure between fellow eyes in primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 2007;114:915-20.
- 7) Sugimoto E, Aihara M, Ota T, et al. Effect of light cycle on

- 24-hour pattern of mouse intraocular pressure. *J Glaucoma* 2006;15:505-11.
- 8) Aihara M, Lindsey JD, Weinreb RN. Twenty-four-hour pattern of mouse intraocular pressure. *Exp Eye Res* 2003;77:681-6.
- 9) Moore CG, Johnson EC, Morrison JC. Circadian rhythm of intraocular pressure in the rat. *Curr Eye Res* 1996;15:185-91.
- 10) Yoshitomi T, Horio B, Gregory DS. Changes in aqueous norepinephrine and cyclic adenosine monophosphate during the circadian cycle in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:1609-13.
- 11) Yoshitomi T, Gregory DS. Ocular adrenergic nerves contribute to control of the circadian rhythm of aqueous flow in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:523-8.
- 12) Liu JH, Dacus AC. Central cholinergic stimulation affects ocular functions through sympathetic pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:1332-8.
- 13) Devlin PF, Kay SA. Circadian photoperception. *Annu Rev Physiol* 2001;63:677-94.
- 14) Reppert SM, Weaver DR. Coordination of circadian timing in mammals. *Nature* 2002;418:935-41.
- 15) Vareilles P, Conquet P, Le Douarec JC. A method for the routine intraocular pressure (IOP) measurement in the rabbit: range of IOP variations in this species. *Exp Eye Res* 1977;24:369-75.
- 16) Morris CA, Crowston JG, Lindsey JD, et al. Comparison of invasive and non-invasive tonometry in the mouse. *Exp Eye Res* 2006;82:1094-9.
- 17) Avila MY, Múnera A, Guzmán A, et al. Noninvasive intraocular pressure measurements in mice by pneumotonometer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:3274-80.
- 18) Erickson-Lamy KA, Kaufman PL, McDermott ML, et al. Comparative anesthetic effects on aqueous humor dynamics in the cynomolgus monkey. *Arch Ophthalmol* 1984;102:1815-20.
- 19) Mirakhur RK, Elliott P, Shepherd WF, et al. Comparison of the effects of isoflurane and halothane on intraocular pressure. *Acta Anaesthesiol Scand* 1990;34:282-5.
- 20) Thompson HS, Mensher JH. Adrenergic mydriasis in Horner's syndrome Hydroxyamphetamine test for diagnosis of postganglionic defects. *Am J Ophthalmol* 1971;72:472-80.
- 21) Perreau-Lenz S, Kalsbeek A, Garidou ML, et al. Suprachiasmatic control of melatonin synthesis in rats: inhibitory and stimulatory mechanisms. *Eur J Neurosci* 2003;17:221-8.
- 22) Gupta N, Yücel YH. Glaucoma in the brain: a piece of the puzzle. *Can J Ophthalmol* 2006;41:541-2.
- 23) Liu JH, Dacus AC. Endogenous hormonal changes and circadian elevation of intraocular pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:496-500.
- 24) Liu JH, Dacus AC, Bartels SP. Adrenergic mechanism in circadian elevation of intraocular pressure in rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:2178-83.
- 25) Rohrer DK. Physiological consequences of beta-adrenergic receptor disruption. *J Mol Med* 1998;76:764-72.
- 26) Patel TB, Du Z, Pierre S, et al. Molecular biological approaches to unravel adenylyl cyclase signaling and function. *Gene* 2001;269:13-25.
- 27) Honma S, Kawamoto T, Takagi Y, et al. Dec1 and Dec2 are regulators of the mammalian molecular clock. *Nature* 2002;419:841-4.
- 28) Ruby NF, Brennan TJ, Xie X, et al. Role of melanopsin in circadian responses to light. *Science* 2002;298:2211-3.
- 29) Van Gelder RN, Gibler TM, Tu D, et al. Pleiotropic effects of cryptochromes 1 and 2 on free-running and light-entrained murine circadian rhythms. *J Neurogenet* 2002;16:181-203.

=ABSTRACT=

The Effect of Sympathectomy on Circadian Rhythm of Intraocular Pressure in Rat

Nam Kee Lim, M.D., Tae Hyung Kim, M.D., Joon Kyeong Song, M.D., Ji Myong Yoo, M.D.

Department of Ophthalmology, Gyeongsang National University School of Medicine, Gyeongnam, Korea

Purpose: The present study was undertaken to determine the 24-hour pattern of intraocular pressure (IOP), and to reveal the effect of unilateral decentralization on circadian rhythm of IOP in eyes of rats.

Methods: Nine male Sprague-Dawley rats were exposed to a 12-hour light/dark cycle for 3 weeks. 24-hours IOP pattern was measured at six time points (8, 12, 16, 20, 24, and 4 circadian time) by Tonopen XL tonometer in awake state. After unilateral sympathectomy (cervical ganglionectomy), IOP measurements were performed at the same time points on post-operation 1, 2, 3, and 4 weeks.

Results: 24-hour IOP pattern of rats showed a rhythmic pattern that appeared to be sinusoidal with 12-hour light/dark cycle. IOPs were low during the light phase and high during dark phase. After unilateral sympathectomy, the circadian rhythm of IOP was maintained in control eyes. But in sympathectomized eyes, the circadian rhythm of IOP was loss.

Conclusions: These results show that sympathetic nervous systems contribute to the circadian rhythm of IOP in rats.

J Korean Ophthalmol Soc 2008;49(11):1839-1844

Key Words: Circadian rhythm, Intraocular pressure, Sympathectomy

Address reprint requests to **Ji Myong Yoo, M.D.**

Department of Ophthalmology, Gyeongsang National University School of Medicine

#92 Chilam-dong, Chinju, Gyeong-nam 660-280, Korea

Tel: 82-55-750-8164, Fax: 82-55-758-4158, E-mail: yjm@gnu.ac.kr