

백서에서 Gabapentin 전신투여가 Facial Formalin Test에 미치는 영향

부산대학교 의과대학 마취과학교실

김철홍 · 백승완 · 김해규 · 권재영 · 김경훈 · 최성환

Abstract

The Effects of Gabapentin on Facial Formalin Test

Chul-Hong Kim, Seong-Wan Baik, Hae-Kyu Kim, Jae-Young Kwon
Kyoung-Hun Kim, and Sung-Hwan Choi

Department of Anesthesia and Pain Medicine, College of Medicine, Pusan National University

Background: Gabapentin is a novel anti-epileptic drug, which is used in clinical practice to treat epilepsy. This drug is also used as an analgesic in pain patients. The antinociceptive effect of this drug was assessed using the formalin test in the rat.

Methods: In order to investigate the effects of gabapentin on the trigeminal nerve territory, we injected 0.5% formalin into the upper lip. Adult, male, Sprague-Dawley rats received a 50 μ l subcutaneous injection of 5% formalin into one vibrissal pad and the consequent, facial grooming behavior was monitored. Consistent with previous investigations using the formalin model, animals exhibited biphasic nocifensive grooming (phase 1, 0-12 min; phase 2, 12-60 min).

Results: The intraperitoneal administration gabapentin 5 minutes prior to the formalin injection led to a significant, dose-dependent reduction in grooming time during phase 2. In high doses, gabapentin also reduced the time of grooming during phase 1.

Conclusions: The Intraperitoneal injection of gabapentin has an analgesic effect in the facial formalin rat model and this analgesic effect increases dose-dependently. (JKDSA 2003; 2: 92~97)

Key Words: Formalin, Gabapentin

서 론

두부와 안면부에는 치통, 편두통, 측두하악 관절 통, 삼차신경통 등과 같은 다양한 통증 질환이 있으

책임저자 : 김철홍, 부산광역시 서구 아미동 1-10

부산대학교병원 마취통증의학과

우편번호: 602-739

Tel: 051-240-7934, 7399, Fax: 051-242-7466

E-mail: anekch@pusan.ac.kr

석사학위 논문임.

대한치과마취과학회지 게재예정된 논문임.

며, 이들은 염증성과 신경병증성 원인을 모두 가지고 있다. 특히 삼차신경의 분지부에 통증을 가지고 있는 경우에 척수 신경계 이상으로 인한 통증과 비교하여 진통제에 대한 효과가 다를 수 있다. Clavelou 등(1989)은 악안면부에 포르말린(formalin)을 주사하여 삼차신경 분지부의 통증에 대한 기전과 진통제에 대한 반응을 연구하는데 적용할 수 있다고 하였다. 포르말린 시험(formalin test)은 중추성 감각(central sensitization)에 대한 실험적 모델이다(Coderre et al, 1990). 중추성 감각은 많은 병적 통증에서 중요한 역할을 담당하고 있다(Coderre et al, 1993).

항경련제는 진통효과를 가지고 있으며 이들 중 몇몇은 임상적으로 통증치료에 사용되고 있다(Mao and Chen, 1996). Gabapentin은 구조적으로 γ -aminobutyric acid (GABA) 유도체로서 새로이 소개된 항경련제로서 간질 치료를 위한 약제였으나 우연한 대상포진후 신경통과(Segal and Rordorf, 1996) 반사성 교감신경 위축증의(Mellick and Mellicy, 1995) 치료에서 진통 효과가 있음이 알려졌다. 이후 여러 임상연구와(Backonja et al, 1998; Rowbotham et al, 1998) 동물실험에서(Xiao and Bennett, 1996; Singh et al, 1996; Hunter et al, 1997; Hwang and Yaksh, 1997; Chapman et al, 1998; Gillin and Sorkin, 1998; Boyce et al, 1999; Field et al, 1999; Pan et al, 1999) 신경병증성 통증에 효과적인 약물로 최근 관심이 집중되고 있다. 구조적인 동질성에도 불구하고 gabapentin은 GABA 수용체나 다른 신경전달물질의 수용체를 매개하여 작용을 나타내지 않는다(Taylor et al, 1998). Taylor 등(1998)이 몇몇 가설을 주장하였으나 아직까지 신경병증성 통증에서 gabapentin의 작용부위와 작용기전은 증명되지 않고 있다.

삼차신경 영역에서 발생한 신경병증성 통증에 대한 gabapentin의 효과를 알아보기 위하여 백서에 여러 가지 농도의 gabapentin을 투여하고 안면부에 formalin test를 시행하였다.

대상 및 방법

실험 대상

부산대학교 의학연구소의 사용 승인을 받은 Sprague-Dawley계 백서를 사용하였다. 실험 대상이 된 백서는 12 시간 간격으로 명암이 조절되는 사육실에서 물과 먹이를 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다. 체중 280-350 g의 수컷 S-D계 백서 52마리를 실험에 사용하였고 사용한 백서는 enflurane을 이용하여 마취한 후 안락사 시켰다.

포르말린 시험

포르말린 시험을 시행하기 전 실험동물은 투명한 플라스틱 상자(25 × 25 × 15 cm)에 약 5분간 넣어 적응기간을 거쳤으며, 포르말린 용액을 생리식염수에 희석하여 5% 포르말린 용액으로 만들고 0.05ml를 26 G 바늘이 부착된 1 ml 주사기에 넣어 백서의

우측 상순의 바깥쪽에 가능한 한 신속하게 피하 주사하였다. 곧바로 백서를 투명 플라스틱 통에 넣고 관찰을 시행하였다. 통증 행동은 동측의 앞발로 주사부위를 쓰다듬는 행동(grooming)을 하는 시간을 측정하였으며 매 3분 간격으로 45분 동안 측정하였다.

실험 방법

먼저 12마리의 백서를 대상으로 약물을 투여하지 않고 안면부에 포르말린 시험을 시행하여 결과치의 신뢰도를 조사하였다. 백서 40마리를 5군으로 나누어 각각 생리 식염수(대조군, C, n = 8), gabapentin 10 mg/kg (G10, n = 8), 30 mg/kg (G30, n = 8), 75 mg/kg (G75, n = 8), 150 mg/kg (G150, n = 8)을 1 ml 주사기를 이용하여 복강 내 주사하였다. Gabapentin은 생리식염수에 녹여서 사용하였고, 복강 내로 투여되는 약물이나 생리식염수의 양은 실험 동물 모두에서 동일한 양이 되도록 1 ml로 만들어 주사하였다. 주사 후 5분간 기다린 후 포르말린 시험을 시행하였다.

통계

모든 측정치는 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 각 실험 군간의 비교는 analysis of variance를 사용하였고 post-hoc으로 Scheffe test를 실시하였다. 모든 통계처리는 개인용 컴퓨터용 Statview 5.0 (SAS institute, Cary, NC, USA) 프로그램을 이용하였고 P 값이 0.05 이하인 경우를 통계적으로 유의하게 판단하였다.

결 과

약물을 투여하지 않고 실시한 formalin test에서 이전의 연구에서와 비슷한 결과를 얻어지는 것을 확인하였다. 생리 식염수를 복강내 주입한 백서에서는 5% formalin을 백서의 안면부에 주사한 직후 grooming이 나타났다가 현저한 감소 없이 12분에서부터 그 빈도가 서서히 증가하여 45분까지 서서히 감소하는 양상을 보였다(Fig. 1).

Gabapentin 10 mg/kg을 복강 내로 투여한 군(G10)에서는 대조군과 비교하여 18분, 21분, 24분, 36분, 39분, 45분에 측정된 grooming 시간이 유의하게 감소된 소견을 보였다(Fig. 2).

Gabapentin 30 mg/kg을 복강 내로 투여한 군(G30)

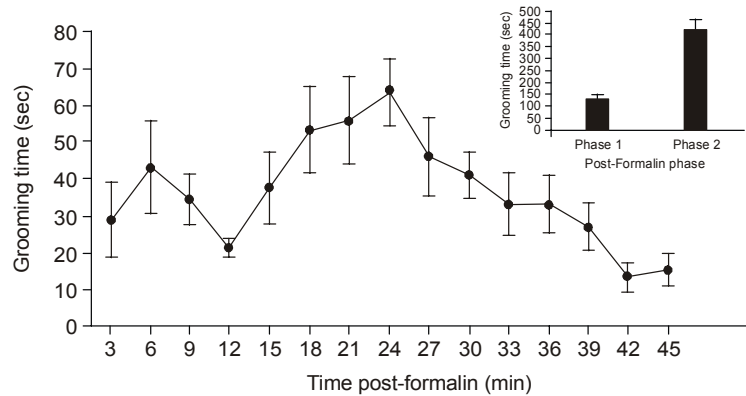


Fig. 1. Time course of formalin-induced nociceptive behavior. Animals received a 50 micro l injection of a 5% formalin solution into the vibrissal pad after intraperitoneal injection of normal saline. Total time(s) spent grooming the injected area was measured for each animal. Data are expressed as the mean \pm SEM for each of 15 successive, 3-min, post-injection periods. Inset: Pooled data from main figure showing the mean \pm SEM of all animals for 0-12 min (phase 1) and 12-45 min (phase 2) of the post-formalin period.

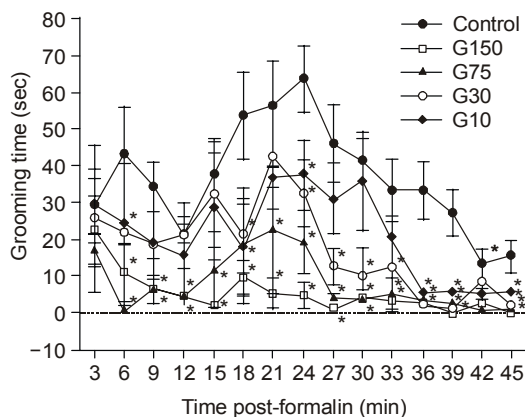


Fig. 2. Effects of intraperitoneally administered gabapentin on facial formalin test. *Differences between the control and the each dosages of gabapentin ($P < 0.05$).

에서는 대조군과 비교하여 21분, 24분, 27분, 30분, 36분, 39분, 45분에 측정된 grooming 시간의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

Gabapentin 75 mg/kg을 복강 내로 투여한 군(G75)에서는 3분, 15분을 제외한 나머지 측정값이 대조군과 비교하여 유의하게 감소되었다(Fig. 2).

Gabapentin 150 mg/kg을 복강 내로 투여한 군(G150)에서는 3분을 제외한 모든 측정 시간이 대조군과 비

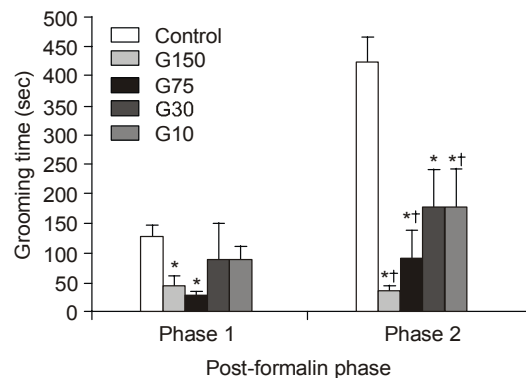


Fig. 3. Intraperitoneal injection of gabapentin decrease pain behavior after formalin injection dose-dependently in phase 2 but not in phase 1. Phase 1 is 0-12 min and phase 2 is 12-45 min of the post-formalin period. *Differences between the control and each groups of gabapentin ($P < 0.05$). † Differences between the each groups of gabapentin ($P < 0.05$).

교하여 유의한 감소를 보였다(Fig. 2).

각 군의 측정 시간을 12분을 경계로 하여 1기와 2기로 나눈 뒤 총 grooming 시간을 합한 값은 1기에서는 G150, G75군이 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 감소된 grooming 시간을 보였고 2기에서는 대조군에 비해 gabapentin 투여군(G150, G75, G30, G10)

들에서 통계적으로 유의한 감소가 있었다(Fig. 3).

Gabapentin의 용량을 달리한 군간의 비교에서는 1기에서는 군간에 유의한 차이를 보이지 않았고 2기에서는 각 군에서 통계적으로 유의한 grooming 시간의 감소를 보인다(Fig. 3).

고 찰

통증의 발생은 일반적으로 말초에 침해성 자극이 가해졌을 때 통증 수용체가 그 자극을 수용하고 통증의 전달 경로를 통하여 중추신경으로 전달됨으로써 느끼게 된다. 급성으로 침해성 혹은 침습성 자극이 인체에 가해져서 조직이 손상되면 우선적으로 침해수용체에 의하여 통증이 수용되어 통증을 느끼게 된다. 이러한 통증을 생리적인 통증이라 한다면, 병적 통증이란 조직의 손상에 따르는 염증에 의한 통증이나 신경계에 손상으로 발생하는 통증을 말한다. 이러한 통증들은 명확한 자극이 없이도 나타나고, 자극에 의한 통증의 강도나 기간이 증가되며, 통증을 유발하는 자극의 역치가 감소되어 있고, 통증이 조직의 손상과 관계가 없는 부위나 손상 부위에서 떨어진 곳에서도 느낀다는 점에서 생리적인 통증과 다르며 교감신경계와 체성 신경계간에 병적인 상호작용이 개재된다는 특징이 있다(Woolf, 1989).

실험동물에서 포르말린을 피하주사하면 이상성의(biphasic) 통증 반응을 보인다(권재영 외, 1997). 1상(phase 1)에서 나타나는 극심한 통증반응은 첫 5분 동안에 일어나며, 10-15분에서 점차 사라진다. 2상(phase 2)에서 나타나는 지속적인 통증반응은 20-60분에 걸쳐 보인다. 포르말린 주사 후 나타나는 초기의 통증반응은 통각수용체에 대한 직접적인 자극 때문이고 후기에 보이는 통증반응은 중추성 감각 때문이라고 알려져 있다.

포르말린 시험에서 제2상 반응은 중추성 감각을 나타내며, 후각신경세포의 감각에는 NMDA와 NK-1 수용체 활성화 정도 세포 내로 Ca^{2+} 의 유입으로 인한 이차적 전달계의 활성이 관여한다. 이들 중 어떤 것이 차단된다 하더라도 후각신경세포의 감각을 억제할 수 있다. 이러한 작용을 억제하는 물질들은 포르말린 시험의 2상 반응을 차단하지만 1상 반응에는 거의 영향을 미치지 않는다(Yasksh and Malmberg, 1994).

백서의 안면부에 포르말린을 피하주사하면 주사한 동측의 안면부를 쓰다듬는(grooming) 행동이 증가하게 되는데, 이 양상은 비교적 grooming 행동이 적게 나타나는 기간을 경계로 하여 초기반응(제1상, 0-6분)과 후기 반응(제2상, 12-42분)을 보인다(Clavelou et al, 1989; Clavelou et al, 1995; Klein, 1991; Eisenberg et al, 1993; Eisenberg et al, 1996). 포르말린 시험에서 초기에 보이는 통증반응은 화학적 자극에 의한 직접적인 침해수용체 활성화에 의한 반응이고, 후기에 보이는 통증반응은 중추신경의 감각에 의한 반응으로 N-methyl-D-aspartate (NMDA)와 α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA) glutamate 수용체가 중요한 역할을 담당하고 있다(Florenzano and DeLuca, 1999). 특히 제2상 반응은 통각과민 상태를 반영하고 있다.

0.5% 포르말린을 백서의 안면부에 투여한 후 측정된 grooming 시간은 Clavelou 등(1989)의 연구에서와 유사한 양상을 보였으나 초기에 보이는 통증 반응의 양상은 이들의 연구와 차이를 보였다. 이의 원인은 백서에서 grooming 행동을 유발하는 인자가 다양하기 때문이라고 생각된다. Vos 등(1998)의 연구에서 실험동물에서 grooming 행동이 동측의 안면부 통증을 나타내는 지표로 사용할 수 있다고 하였고, 통증반응의 양상이 고전적인 포르말린 시험의 양상과 동일하였다.

오래 전부터 항경련제가 신경병증성 통증의 치료로 사용되어 왔다. 이 중에서 Gabapentin이 최근에 관심이 집중되고 있는데 이는 gabapentin이 여러 임상연구(Backonja et al, 1998; Rowbotham et al, 1998) 및 동물실험에서(Backonja et al, 1998; Rowbotham et al, 1998) 동물실험에서(Xiao and Bennett, 1996; Singh et al, 1996; Hunter et al, 1997; Hwang and Yaksh, 1997; Chapman et al, 1998; Gillin and Sorkin, 1998; Boyce et al, 1999; Field et al, 1999; Pan et al, 1999) 신경병증성 통증에 효과가 있다는 보고들 때문이다. Gabapentin은 구조적으로 GABA 유도체이기는 하지만 여러 가지 면에서 GABA와는 다른 특징을 가진다. 현재까지 알려진 gabapentin의 특징은 전신적으로 투여하여도 혈액-뇌 장벽을 쉽게 통과하고, GABA 수용체와 결합하지 않고 수용체 부위에서 활성화되지 않으며, GABA의 흡수에 영향을 미치지 않고, GABA의 대사 효소인 GABA transaminase를 억제하지 않는

다(Mao and Chen, 2000). 또한 다른 항경련제의 작용 부위인 전압의존성 Na^+ channels에도 영향을 미치지 않는다(권재영 외, 1997).

Gabapentin의 약리학적 작용기전이 아직 확실히 밝혀지지 않았으나, 뇌에서 γ -aminobutyric acid (GABA)의 합성을 증가시키거나, Ca^{2+} channel이나 Na^+ channel에 작용하거나, 사람에서 serotonin의 농도를 증가시키며 glutamate 합성을 억제한다는 가설들이 있다(Pan et al, 1999). Gabapentin이 GABA의 합성과 분비에 영향을 미친다 하더라도 내인성 GABA의 흡수와 대사에는 영향을 미치지 않는다. Mao 등(2000)은 gabapentin이 NMDA-glycine 작용부위에 대하여 길항제로 작용하며, D-serine은 경쟁적으로 gabapentin의 효과를 길항한다고 하였다. 하지만 gabapentin과 NMDA 수용체간의 직접적인 상호작용을 밝히는 데는 실패하였다. 많은 연구에도 불구하고 Gabapentin의 작용기전은 불확실한 채로 남아있으며, GABA 수용체를 차단하더라도 이질통에 대한 gabapentin의 효과는 변화가 없기 때문에 비록 gabapentin이 GABA의 합성에 영향을 미치지만 이것만으로 작용기전을 설명할 수는 없다.

이전의 연구에서 gabapentin의 항진통효과는 중추성 작용에 의한 것이라고 여겨진다고 말하고 있으며, 이를 뒷받침하는 여러 연구를 근거로 하여 Singh 등(1996)은 gabapentin이 중추성 작용부위만 가지고 있다고 결론 내리고 있다.

Gabapentin은 전신으로 투여하든지 척수강 내 투여하든지 간에 단지 포르말린 시험의 2상 반응만을 감소시킨다는 연구 결과가 있으나(Yoon and Yaksh, 1999) Carlton 등(1998)은 gabapentin과 포르말린을 동시에 백서의 뒷발에 피하주사한 실험에서 국소적으로 투여한 gabapentin의 진통효과를 증명하였다. 이 실험에서 제 1상에서 고용량의 gabapentin을 투여한 군에서 대조군과 비교하여 유의한 grooming 시간의 감소가 관찰되었는데 이는 gabapentin의 여러 가지 작용기전 중에서 말초작용 부위를 가진다는 Carlton 등의 연구에서 밝혀진 국소 진통작용 때문일 것으로 생각된다.

결론적으로 gabapentin을 전신적으로 투여하여 안면부 포르말린 시험에 진통효과가 있음을 알 수 있었고 앞으로 삼차신경 분지부의 통증과 진통제의 효과 연구를 위해 안면부 포르말린 시험이 유용하게

사용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 권재영, 김철홍, 김해규, 백승완, 김인세, 정규섭: 백서에서 척수강내 투여한 Morphine, Clonidine 및 MK-801이 formalin 자극반응에 미치는 영향. 대한마취과학회지 1997; 32: 354-9.
- Backonja M, Beydoun A, Edwards K, Schwarz SL, Fonseca V, Hes M, et al: Gabapentin for the symptomatic treatment of painful neuropathy in patients with diabetes mellitus. J Am Med Assoc 1998; 280: 1931-6.
- Boyce C, Wyatt A, Webb JK, O'Donnell R, Mason G, Rigby M, et al: Selective NMDA NR2B antagonist induce antinociception without motor dysfunction: correlation with restricted localisation of NR2B subunit in dorsal horn. Neuropharmacology 1999; 38: 611-23.
- Carlton SM, Zhou S: Attenuation of formalin-induced nociceptive behaviors following local peripheral injection of gabapentin. Pain 1998; 76: 201-7.
- Chapman V, Suzuki R, Chamarette HLC, Rygh LJ, Dickenson AH: Effects of systemic carbamazepine and gabapentin on spinal neuronal responses in spinal nerve ligated rats. Pain 1998; 75: 261-72.
- Clavelou P, Dalle R, Orliaguet T, Woda A, Raboisson P: The orofacial formalin test in rats: effects of different formalin concentrations. Pain 1995; 62: 295-301.
- Clavelou P, Pajot J, Raboisson P: Application of the formalin test to the study of orofacial pain in the rat. Neurosci Lett 1989; 103: 346-53.
- Coderre TJ, Katz J, Vaccarino AL, Melzack R: Contribution of central neuroplasticity to pathological pain: review of clinical and experimental evidence. Pain 1993; 52: 259-85.
- Coderre TJ, Vaccarino AL, Melzack R: Central nervous system plasticity in the tonic pain response to subcutaneous formalin injection. Brain Res 1990; 535: 155-8.
- Eisenberg E, Vos BP, Strassman AM: The NMDA antagonist memantine blocks pain behavior in a rat model of formalin-induced facial pain. Pain 1993; 54: 301-7.
- Eisenberg E, Vos BP, Strassman AM: The peripheral analgesic effects of morphine in a rat model of nociceptive and inflammatory facial pain. Neuroscience 1996; 72: 519-25.
- Field MJ, McCleary S, Hughes J, Singh L: Gabapentin and pregabalin, but not morphine and amitriptyline, block both static and dynamic components of mechanical allodynia induced by streptozocin in the rat. Pain 1999; 80: 391-8.

- Florenzano F, DeLuca B: Nociceptive stimulation induces glutamate receptor down-regulation in the trigeminal nucleus. *Neuroscience* 1999; 90: 201-7.
- Gillin S, Sorkin LS: Gabapentin reverses the allodynia produced by the administration of anti-GD2 ganglioside, an immunotherapeutic drug. *Anesth Analg* 1998; 86: 111-6.
- Hunter JC, Gogas KR, Hedley LR, Jacobson LO, Kassotakis 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.
- 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.
- Klein BG: Chronic functional consequences of adult infraorbital nerve transection for trigeminal for rat trigeminal subnucleus interpolaris. *Somatosens Motor Res* 1991; 8: 175-91.
- Mao J, Chen LL: Gabapentin in Pain Management. *Anesth Analg* 2000; 91: 680-7.
- Mellick GA, Mellicy LB: Gabapentin in the management of reflex sympathetic dystrophy. *J Pain Sympt Manage* 1995; 10: 265-6.
- Pan HL, Eisenach JC, Chen SR: Gabapentin supresses ectopic nerve discharges and reverse allodynia in neuropathic rats. *J Pharmacol Exp Ther* 1999; 288: 1026-30.
- Rock DM, Kelly KM, Macdonald RL: Gabapentin actions on ligand- and voltage-gated responses in cultured rodent neurons. *Epilepsy Res* 1993; 16: 89-93.
- Rowbotham M, Harden N, Stacey B: Gabapentin for the treatment of postherpetic neuralgia. *J Am Med Assoc* 1998; 280: 1837-42.
- Segal AZ, Rordorf G: Gabapentin as a novel treatment for postherpetic neuralgia. *Neurology* 1996; 46: 1175-6.
- 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.
- Taylor CP, Gee NS, Su TZ, Kocsis JD, Welty DF, et al: A summary of mechanistic hypotheses of gabapentin pharmacology. *Epilepsy Res* 1998; 29: 233-49.
- Vos BP, Hans G, Adriaensen H: Behavioral assessment of facial pain in rats: face grooming patterns after painful and non-painful sensory disturbances in the territory of the rat's infraorbital nerve. *Pain* 1998; 76: 173-8.
- Woolf CJ: Recent advances in the pathophysiology of acute pain. *Br J Anaesth* 1989; 63: 139-46.
- Xiao WH, Bennett GJ: Gabapentin has an antinociceptive effect mediated via a spinal site of action in a rat model of painful peripheral neuropathy. *Amalgnesia* 1996; 2: 267-73.
- Yaksh TL, Malmberg AB: Central pharmacology of nociceptive transmission. In P.D. Wall and Melzack (Eds.), *The Textbook of Pain*, Churchill Livingstone, London, 1994, pp. 165-200.
- Yoon MH, Yaksh TL: The effect of intrathecal gabapentin on pain behavior and hemodynamics on the formalin test in the rat. *Anesth Analg* 1999; 89: 434-9.