흰쥐에서 아산화질소가 조혈기능에 미치는 영향과 Folinic Acid에 의한 예방효과

가톨릭대학 의학부 마취과학교실

이종호 · 최진환 · 성춘호 · 문세호 · 정운혁

= Abstract =

Folinic Acid Protection Against Hematopoietic Cell Depression Induced by Nitrous Oxide in Rats

Jong Ho Lee, M.D., Jin Whan Choi, M.D., Choon Ho Sung, M.D.
Se Ho Moon, M.D. and Woon Hyok Chung, M.D.

Department of Anesthesiology, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

The degree of hematopoietic depression and spontaneous recovery of depressed cells with 50% nitrous oxide inhalation for 6 or 12 hours were studied in 120 Sprague-Dawley rats.

Immediately after, 1 day, 3 days and 1 week after nitrous oxide inhalation, precursor cells of granulocyte-monocyte and T lymphocyte in bone marrow and blood were sampled and cultured.

After one week of culture period, the numbers of colony forming unit-granulocyte monocyte (CFU-GM) and colony forming unit-T lymphocyte (CFU-TL) were counted.

There was no change in the number of colony immediately after inhalation of nitrous oxide, but was significant decrease in number of colony 1 day and 3 days after inhalation of nitrous oxide ($p < 0.001$). One week after cessation of nitrous oxide inhalation, spontaneous recovery of number of colony developed without any treatment.

To evaluate the protective effect of folinic acid (Rescuvolin®) against hematopoietic depression, Rescuvolin 0.1 mg/0.3 ml were injected intraperitoneally at 12 hours and 1 hour before, 1 hour before and immediately after nitrous oxide inhalation, respectively. The data of each group were compared with that of the animals which have inhaled nitrous oxide for 6 hours without folinic acid. Folinic acid injected groups showed significant increase in numbers of colony ($p < 0.001$) especially in 12 and 1 hour before nitrous oxide inhalation.

In conclusion, the longer the duration of nitrous oxide inhalation, the faster and severer hematopoietic depression developed. The pretreatment of folinic acid may prevent the bone marrow depression by a long-term and repeated use of nitrous oxide.

In clinical anesthesia, it is recommended to avoid to use nitrous oxide for the patients with bone marrow depressed disease such as leukemia and aplastic anemia.

Key Words: Nitrous oxide, Hematopoietic depression, Folinic acid

서 론

*본 논문은 1988년도 가톨릭 중앙의료원 학술연구 보조비 및 1988년도 문교부 학술연구 조성비에 의한 자유공모 과제로 선정되어 연구 되었음.

아산화질소는 흡입마취제 중 인체에 부작용이 없는 가장 안전한 약제로 알려져 왔으나, 장기간 흡입시키면

백혈구와 혈소판의 감소 및 거대적아구성 변화 등의 골수억제 현상이 일어난다는 보고¹⁾가 있는 후, 이 약제의 조혈기능에 미치는 영향이 주목을 받게 되었다. 또한 임신 초기에 아산화질소의 흡입으로 태아기형과 유산빈도가 증가되고^{2,3)}, 장기간 노출시 신경계 손상이 초래된다는 보고도 있다^{4,5)}.

아산화질소에 의한 조혈기능 억제현상은 장시간, 고농도 또는 반복 흡입시 나타날 수 있으며, 건강한 사람에게서는 통상적 마취시간과 농도로는 일시적 기능저하를 초래할 뿐 곧 회복되어 큰 문제가 되지않는다고 알려져 있다⁶⁾. 이러한 조혈기능의 억제 현상은 말초혈액 검사상 백혈구와 혈소판의 감소, 과분엽핵 백혈구의 증가, 골수세포 흡입상 거대적아구성 변화 및 deoxyuridine suppression test 이상 등의 간접적인 방법에 의해 확인되었을 뿐, 골수 조혈모세포에 미치는 영향은 거의 알려진 바 없었다.

골수세포 배양법을 이용하여 아산화질소에 의한 골수억제 현상을 규명하려는 노력은 Nunn등⁷⁾이 24~48시간 동안 시험관 내 실험으로 세포집락수의 감소를 보고한 것 이외에는 전무한 실정이다.

저자들은 6시간 또는 12시간 동안 아산화질소를 흡입시킨 쥐를 이용한 생체실험에서 골수와 혈액의 조혈모세포를 배양하여, 과립구-단핵구 세포집락(colony forming unit-granulocyte monocyte, CFU-GM)과 T 림프구 세포집락(colony forming unit-T lymphocyte, CFU-TL)의 수적 변화를 관찰함으로써, 아산화질소 흡입시간에 따른 조혈기능 억제의 정도와 흡입 중단 후의 자연 회복현상 및 folinic acid에 의한 예방효과를 규명하기 위해 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

1) 실험 동물

150~250 g의 건강한 Sprague-Dawley 계 쥐 120마리를 암수 구별없이 아산화질소 흡입기간과 folinic acid 주입여부에 따라 다음과 같이 4군으로 나누어, 각각 골수와 혈액을 채취하였다.

(1) 제 1군—대기흡입 상태에서 정상사육한 대조군(n=10)

(2) 제 2군—50% 아산화질소를 6시간 흡입시킨 직후와 흡입후 1일, 3일 및 1주에 각각 골수와 혈액을 채취한

군(n=40)

(3) 제 3군—50% 아산화질소를 12시간 흡입시킨 직후와 흡입후 1일, 3일 및 1주에 각각 골수와 혈액을 채취한 군(n=40)

(4) 제 4군—50% 아산화질소 6시간 흡입전 또는 후에 folinic acid (Rescuvolin,® Haarlem, Holland) 0.1 mg/0.3 ml를 복강내 주입한 후, 흡입후 3일에 골수와 혈액을 채취한 군(n=30)

제 4 군은 folinic acid 주입 방법에 따라 다음의 세 아군으로 나누었다.

4-a 군; 아산화질소 흡입 전 12시간과 1시간에 2회 주입한 군

4-b 군; 아산화질소 흡입 전 1시간에 1회만 주입한 군

4-c 군; 아산화질소 흡입 직후에 주입한 군

2) 실험 방법

(1) 마취 방법: 투명한 acryl로 특수제작된 용적 100 liter (80×50×25 cm)의 밀폐된 통 속에 대조군을 제외한 8마리씩의 쥐를 넣고, 마취기계(Quantiflex,® Fraser-Sweatman, U.S.A.)의 유량계로 부터 Tygon 튜브를 통해 아산화질소와 산소를 공급하였다. 이때 흡입관 중간부위에 연결한 산소 농도측정기(Oxycheck,® Critikon, U.S.A.)를 이용하여 흡입산소의 농도를 측정함으로써 아산화질소의 농도를 50%로 유지하였다.

흡입구 반대편 상단에 배기구를 만들어 초과가스를 누출시켰으며, 배기관 중간부위에 이산화탄소 농도측정기(Normocap,® Datex, Finland)를 연결하여 배기가스 중의 이산화탄소 농도를 측정하였다.

초기에는 분당 전유량 8 liter(아산화질소: 산소=41:41)로 공급하여 통 속을 충만시킨 후, 배기가스 중의 이산화탄소 농도가 1.0%내외가 되도록 흡입가스의 유량을 조절하였다. 물과 사료는 통 속에 넣어 자유롭게 먹을 수 있게 하였다.

흡입시간에 따른 조혈기능의 억제효과를 비교하기 위해 6시간과 12시간 흡입군을 병행하였으며, 아산화질소를 흡입시킨후 대기흡입 상태로 정상사육 하면서, 흡입 직후와 흡입후 1일, 3일 및 1주에 각각 2마리에서 골수와 혈액을 채취하는 실험을 반복하였다.

Folinic acid에 의한 조혈기능 억제의 예방효과를 관찰하기 위해 조혈기능 억제가 가장 심했던 아산화질소 흡입후 3일의 성적과 비교하였다.

(2) 골수와 혈액의 채취 및 세포분리 : Pentobarbital (엔토발, 한림제약) 15 mg을 복강내 주입하여 마취하였으며, 양측 대퇴부와 복부를 70% alcohol로 소독한 뒤 양측 대퇴골과 경골을 적출하여 무균상태의 충류실 내에서 배양액(TC-199, Gibco Lab., U.S.A.) 5 ml로 1~2 회 골수를 세척하여 골수부유액을 얻었다. 또한 방부제가 들어있지 않은 heparin (Connaght Lab., Canada) 을 문힌 1회용 주사기로 하대정맥에서 5 ml의 혈액을 채혈하였다.

과립구-단핵구 세포배양을 위해 골수부유액 또는 혈액을 Hank's balanced salt solution (HBSS, Gibco Lab., U.S.A.)에 1:1로 희석시킨 다음, Ficoll hypaque (Sigma Chemical Co., U.S.A.)가 들어있는 시험관에 넣고, 실온에서 원심분리(400×g, 45분)하여 중간층의 단핵구를 분리하였다.

T 임파구 세포배양을 위해 골수부유액 또는 혈액 8 ml 에 Hetastarch (Kendall McGaw Lab., U.S.A.) 1 ml 를 혼합하여 실온에 30분간 방치한 후, 상층액을 추출하여 적혈구가 0.1%정도 남도록 HBSS로 세척하였다.

(3) 과립구-단핵구 전구세포의 배양 : 3.5×10 mm의 배양접시(Falcon, U.S.A.)에 Burgess⁸⁾들의 방법으로 제조한 인체태반 조건배지(human placental conditioned media) 0.1 ml를 세포집락 촉진인자로 사용하였으며, 15% 우태혈청(fetal calf serum, Gibco Lab., U.S.A.)이 포함된 Dulbecco 배양액(Gibco Lab., U.S.A.) 1 ml, penicillin 100 ug/ml, streptomycin 100 ug/ml를 첨가하여 세포농도가 2×10⁵/ml되게한 후, 한천의 최종농도가 0.3%로 되도록 조절하였다. 37℃, 완전 습윤된 5% 이산화탄소 배양기(Nabco 1600, U.S.A.)에 1 주간 배양하였다.

(4) T 임파구 전구세포의 배양 : Interleukin-2 조건배지(Sigma Chemical Co., U.S.A.) 2 units를 배양접시에 넣고, 상층에 Dulbecco 배양액, 20% 우태혈청, 1% PHA-LCM(phytohemagglutinin-leucocyte conditioned media)의 혼합액 1 ml를 넣어, 세포농도가 2×10⁵/ml로 되게한 후, 한천의 최종농도가 0.3%로 되도록 조절하였다. 37℃, 완전 습윤된 5% 이산화탄소 배양기에 1주간 배양하였다.

(5) 세포집락과 세포집합의 관찰 : 1주간 배양한 후, aceto-orcein 염색하여 역상 현미경으로 100배 배율로 관찰하였다. 40개 이상의 세포가 모인 것을 세포집락(colony)으로, 3~39개의 세포가 모인것을 세포집합(cluster)으로 정하였으며, 배양접시의 전체 면적에서 세포집락과 세포집합의 수를 계산하였다. 실험의 오차를 줄이기위해 삼중복 실시하여 그 평균으로 성적을 얻었다.

(6) 통계 분석 : 모든 측정치는 평균±표준편차로 표시하였으며, 측정치에 대한 통계검정은 ANOVA를 이용하였고, p<0.05를 유의수준으로 하였다.

성 적

1) 세포배양 기간

대조군에서의 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL은 1주간의 배양 만으로도 세포집락과 세포집합수가 모두 최대로 증식하였으며, 2주간의 배양 결과 세포 집락수는 동일하게 유지되었으나, 세포집합수가 오히려 감소하였다(Table 1).

따라서 이후 모든 세포배양은 1주 배양법을 실시하였다.

Table 1. Differential Values of CFU-GM and CFU-TL in Bone Marrow and Peripheral Blood for Culture Period of 1 Week and 2 Weeks (Mean ± SD)
(n=10, each)

Culture period	Bone Marrow				Peripheral Blood			
	CFU-GM		CFU-TL		CFU-GM		CFU-TL	
	Colony	Cluster	Colony	Cluster	Colony	Cluster	Colony	Cluster
1 week	141.60 ± 7.59	87.80 ± 6.21	166.40 ± 8.26	164.20 ± 8.92	84.00 ± 7.77	77.20 ± 6.81	156.00 ± 7.30	158.80 ± 10.84
2 weeks	145.20 ± 7.55	46.00 ± 6.32	159.20 ± 10.12	70.80 ± 6.55	91.80 ± 10.30	44.00 ± 6.25	145.20 ± 8.85	53.40 ± 5.50

CFU-GM : colony forming unit-granulocyte monocyte

CFU-TL : colony forming unit-T lymphocyte

Fig. 1. Changes of CFU-GM and CFU-TL colony in bone marrow and peripheral blood after 6 hours inhalation of 50% N_2O (Mean $\pm$ SD, $n=10$, each). *** $P < 0.001$
CFU-GM; colony forming unit-granulocyte monocyte
CFU-TL; colony forming unit-T lymphocyte

2) 6시간 아산화질소 흡입후 시간 경과에 따른 세포 집락수의 변화

흡입직후에는 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL은 대조군에 비해 차이가 없었다.

흡입후 1일에 골수의 CFU-GM은 62.4 ± 6.59 (대조군에 비해 44.1%), CFU-TL은 80.8 ± 7.00 (48.6%), 혈액의 CFU-GM은 49.2 ± 5.98 (58.6%), CFU-TL은 64.4 ± 10.41 (41.3%)로 각각 유의있게 감소하였다 ($p < 0.001$).

흡입후 3일에 골수의 CFU-GM은 60.8 ± 6.75 (42.9%), CFU-TL은 78.4 ± 9.28 (47.1%), 혈액의 CFU-GM은 52.0 ± 9.24 (61.9%), CFU-TL은 62.4 ± 6.59 (40.0%)로 각각 유의있게 감소하였다 ($p < 0.001$).

흡입후 1주에 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL은 모두 대조군 치로 회복되었다 (Fig. 1).

3) 12시간 아산화질소 흡입후 시간 경과에 따른 세포 집락수의 변화

흡입직후에는 골수의 CFU-GM은 130.7 ± 4.00 (대조

군에 비해 92.3%)로 ($p < 0.05$), 혈액의 CFU-GM은 68.9 ± 4.37 (82.0%)로 유의있게 감소하였으나 ($p < 0.001$), 골수와 혈액의 CFU-TL은 대조군에 비해 차이가 없었다.

흡입후 1일에 골수의 CFU-GM은 62.7 ± 7.75 (44.3%), CFU-TL은 80.4 ± 7.06 (48.3%), 혈액의 CFU-GM은 45.3 ± 6.32 (54.0%), CFU-TL은 60.9 ± 6.25 (39.0%)로 각각 유의있게 감소하였다 ($p < 0.001$).

흡입후 3일에 골수의 CFU-GM은 83.6 ± 6.15 (59.0%), CFU-TL은 88.9 ± 8.19 (53.4%), 혈액의 CFU-TL은 83.6 ± 5.08 (53.6%)로 ($p < 0.001$), 혈액의 CFU-GM은 73.3 ± 6.93 (87.3%)로 각각 유의있게 감소하였으며 ($p < 0.05$), 흡입후 1일의 성적에 비하면 점차 회복되었다.

흡입후 1주에 골수의 CFU-TL과 혈액의 CFU-GM, CFU-TL은 대조군 치로 회복되었으나, 골수의 CFU-GM만은 108.5 ± 8.59 (76.8%)로 유의있게 감소하였다 ($p < 0.001$, Fig. 2).

Fig. 2. Changes of CFU-GM and CFU-TL colony in bone marrow and peripheral blood after 12 hours inhalation of 50% N_2O (mean $\pm$ SD, $n=10$, each).

* $P < 0.05$, *** $p < 0.001$

CFU-GM; colony forming unit-granulocyte monocyte

CFU-TL; colony forming unit-T lymphocyte

Fig. 3. Effects of folinic acid injection on CFU-GM and CFU-TL colonies of bone marrow and peripheral blood. The effects of folinic acid was compared with the results of the animals inhaled 50% N_2O for 6 hours and exposed to air for 3 days (mean $\pm$ SD, $n=10$, each). *** $P < 0.001$

4) Folinic acid 주입군에서의 세포집락수의 변화

Folinic acid 주입방법에 관계없이 세포집락수가 의의있게 증가하였다($p < 0.001$). 특히 아산화질소 흡입전 12시간과 1시간에 2회 주입한 군에서 골수의 CFU-GM은 108.8 ± 6.75 (대조군에 비해 179%), CFU-TL은 174.0 ± 3.40 (222%), 혈액의 CFU-GM은 100.6 ± 4.74 (193%), CFU-TL은 155.2 ± 5.27 (249%)로 현저히 증가하였으며($p < 0.001$), 흡입전 1시간에 주입한 군과 흡입직후에 주입한 군에서도 골수의 CFU-GM은 77.2 ± 5.98 (127%), 85.2 ± 3.79 (140%), CFU-TL은 136.0 ± 4.99 (173%), 129.6 ± 5.06 (165%), 혈액의 CFU-GM은 71.4 ± 5.48 (137%), 77.2 ± 5.67 (148%), CFU-TL은 106.8 ± 4.24 (171%), 110.4 ± 4.30 (177%)로 각각 의의있게 증가하였다($p < 0.001$, Fig. 3).

고 찰

아산화질소는 무색, 무취, 무자극성의 불활성 기체로서, 1772년 Priestley에 의해 합성되고 1844년 Wells에 의해 처음으로 임상에 사용된 이후, 심혈관계와 호흡계는 물론 다른 인체부위에도 부작용이 거의 없는 약제로 알려져, 낮은 마취효과에도 불구하고 진신마취시의 단독 마취제, 강력한 흡입마취제의 운반가스 및 정맥마취의 보조제로서 뿐 아니라 진통제로서 지난 140여년 간 폭넓게 사용되어왔다.

1956년 Lassen등¹⁾은 과신통 환자의 진통목적으로 50% 아산화질소를 7일간 흡입시킨 결과, 백혈구 감소, 혈소판 감소 및 거대 적아구성 변화 등의 골수억제 현상이 나타났으며, 흡입 중지 3~4일 후에는 정상으로 회복되었다고 보고한 이후 아산화질소의 조혈기능에 미치는 영향과 그의 기전에 대해 많은 연구가 이루어졌다.

아산화질소 흡입에 의한 골수억제 현상은 아산화질소가 빠르게 세포막을 통과하여 사립체 내로 들어가서 methyl cobalamine 상태의 비타민 B₁₂를 비가역적으로 산화시킴으로서, 활동성인 cob (I) alamine을 비활동성인 cob (II) alamine과 cob (III) alamine으로 불활성화하여, methyl기의 전달을 방해하기 때문이라고 밝혀졌다⁹⁾, 따라서 비타민 B₁₂ 의존성 효소인 methionine synthetase의 활성이 억제되어 methionine과 s-adenosyl methionine의 합성이 감소되고¹⁰⁾, folate 대사의 장

어로 thymidylate 합성이 안되어 결국 DNA의 합성이 억제된다는 것이다¹¹⁾.

DNA 합성억제에 의해 조혈기능이 가장 예민하게 반응하며, 태아기형과 유산빈도의 증가^{2,3)} 및 신경계 손상^{4,5)}도 보고되고 있다.

아산화질소의 흡입에 의해 DNA 합성이 억제되었음은 말초혈액 검사 이외에도 methionine synthetase의 활성이 간^{12~15)}과 태아에서¹⁶⁾ 억제되며, methionine 농도가 혈액, 간과 뇌에서 저하되고^{17,18)}, 혈중 folate가 증가되며¹⁹⁾, 간내 folate의 감소등으로 알 수 있으며²⁰⁾, 또한 골수세포 흡입상 거대적아구성 변화와 DNA 합성장애 여부의 가장 예민한 지표인 deoxyuridine suppression test의 이상소견등^{21,22)}의 간접적인 방법에 의한 연구 뿐이었다.

한편 Cullen등²³⁾은 24시간 아산화질소를 흡입시킨 사람의 골수에서 DNA flow microfluorimetry를 이용하여, 세포내 DNA 농도를 측정함으로써 세포분화의 분포를 관찰한 결과, DNA 합성시작 직후에 분화가 정지되었음을 발견하였고, Nunn등²⁴⁾은 쥐의 골수세포를 배양하면서 아산화질소를 배양기 내로 24~48시간 동안 공급하여, 조혈모세포의 세포집락과 세포집합수를 관찰함으로써, 마취약제가 세포분화에 미치는 영향을 시험관 내 실험으로 보고하였다.

저자들은 아산화질소에 의한 골수억제 현상이 조혈모세포의 분화단계 중 어느 단계에 영향을 미치는지 확인하기 위해 골수와 혈액의 조혈모세포를 배양하였는데, 1주간 배양에서 골수와 혈액의 세포집락과 세포집합수가 모두 최대로 증식하였으며, 2주 배양에서는 오히려 세포집합수가 감소하였다. 즉 세포집합은 분화되어 세포집락으로 이행되었고 더 이상의 세포집합의 생성은 안되기 때문이라 생각되었으며, 이후 1주 배양법에 의해 골수와 혈액의 세포집락과 세포집합수를 비교하였다.

6시간 아산화질소 흡입직후에는 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL의 세포집락수가 변화가 없었으나, 흡입후 1일과 3일에 각각 대조군에 비해 의의있게 감소하였는데 흡입후 3일에 더욱 심하였으며, CFU-GM보다는 CFU-TL이, 골수보다 혈액에서의 감소가 현저하였음을 알 수 있었다.

이러한 현상은 6시간 이내의 흡입으로는 골수세포의 형태나 deoxyuridine suppression test상 이상소견이 없었다는 보고²⁴⁾와는 달리 임상에서의 통상적 마취시간

에서도 골수억제 현상이 나타날 수 있음을 보여주고 있다.

12시간 흡입직후에 세포집락수는 골수와 혈액의 CFU-GM은 의의있게 감소하였으나, CFU-TL은 차이가 없었다. 흡입후 1일에는 골수와 혈액에서 모두 현저히 감소하였으나, 흡입후 3일에 골수의 CFU-GM과 CFU-TL, 혈액의 CFU-TL은 의의있게 감소하였으며, 혈액의 CFU-GM은 약간 감소하여, 흡입후 1일의 성적에 비하면 약간 증가하였다.

아산화질소 흡입후 1일과 3일에 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL의 세포집락수가 의의있게 감소한 것은 흡입후 2일내 거대적아구성 변화와 deoxyuridine suppression test상 이상 소견이 나타나고, 3~4일 후 백혈구 감소가 나타난다는 주장¹⁹⁾과 일치한다.

한편 24시간 이상 노출시 모든 예에서 2일 이내에 거대적아구성 변화와 deoxyuridine suppression test상 이상소견, 백혈구 수와 methionine의 감소를 나타낸다고 하였는데^{19,21)}, 저자들의 관찰에서도 12시간 흡입군에서 억제 정도가 더욱 심하였으며, 최대억제가 일어난 시간도 흡입후 1일로 일찍 나타났다. 이는 흡입시간이 길수록 억제의 정도가 심하고 빠르다는 것을 의미한다.

특히 중환자에서는 단지 2시간 정도의 흡입으로도 골수억제가 생길 수 있으며, 질병의 심한정도가 흡입기간보다 중요하다고 하였고²¹⁾, 비타민 B₁₂ 결핍상태에서 더욱 심하다고 하였다²⁵⁾.

저자들은 아산화질소를 흡입한 쥐의 골수와 혈액에서 분리된 조혈모세포 중 과립구-단핵구 전구세포와 T림파구 전구세포를 배양하는 생체실험을 통해, 임상적으로 상용되는 농도인 50% 아산화질소 6시간 흡입으로도 조혈모세포의 분화 초기단계에 억제현상이 나타남을 알게되었다.

흡입시간에 관계없이 아산화질소 흡입후 대기흡입 상태로 정상사육하면, 아무런 처치없이도 흡입후 1주에 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL의 세포집락수가 대조군 치료 정상회복되었는데, 이러한 현상은 아산화질소 흡입중지후 12시간²⁴⁾ 또는 24시간¹⁷⁾에 회복된다는 의견과는 많은 차이가 있었으나, 흡입중지후 6일²¹⁾, 또는 1주¹¹⁾에 회복된다는 의견 들과는 일치하였다.

이러한 자연회복 현상은 골수억제에 대한 보상반응으로 betaine pathway에 의한 새로운 DNA의 합성¹⁸⁾과

음식물을 통한 비타민 B₁₂와 methionine의 섭취에 의한 것이라고 하였다¹¹⁾. 즉 골수기능이 정상인 사람에서는 임상적으로 상용되는 아산화질소의 농도와 시간으로도 골수 조혈기능의 억제가 일어날 수도 있으나 곧 회복되어 임상적인 문제를 일으키지 않는다고 하였다⁶⁾.

아산화질소에 의한 골수억제 현상을 예방, 치료하기 위해 비타민 B₁₂²¹⁾, cyanocobalamine, pteryglutamic acid (PGA)등²⁶⁾으로 부분보정이 가능하다고 하였으나, folate의 완전 환원형태인 folinic acid (5-formyl tetrahydrofolate)가 가장 효과적이라고 보고되었다^{17,24,27)}.

저자들은 folinic acid 제제인 Rescuvolin을 0.1 mg/0.3 ml로 희석하여, 조작의 간편함과 주입시 자극을 적게하기 위해 복강내로 주입하였으며²⁸⁾, 흡입전 12시간과 1시간에 2회 주입, 흡입전 1시간에 1회 주입 또는 흡입직후에 1회 주입한 세가지 방법의 예방 또는 치료효과를 확인하기 위해, 세포집락수가 가장 현저히 감소한 6시간 흡입후 3일의 성적과 각각 비교하였다.

흡입전 12시간과 1시간에 2회 주입한 군에서 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL 세포집락수가 가장 효과적으로 증가하여 대조군과 비슷할 정도로 회복되었으며, 주입방법에 관계없이 세포집락수가 현저히 증가하였다. 이러한 현상은 folinic acid가 5, 10 methylene tetrahydrofolate로 전환되어 thymidylate의 합성에 기여함으로써 DNA 합성을 촉진시키기 때문이다²⁴⁾.

흡입전 12시간과 1시간에 2회 주입한 군에서 가장 효과적이었던 것은 folinic acid의 혈중 농도가 높게 유지되었기 때문이며, 흡입직후에 주입한 군이 흡입전 1시간에 주입한 군보다 오히려 효과적이었던 것은 folinic acid의 주입량과 방법에 따라 그 효과가 달라질 수 있음을 의미한다.

저자들의 실험결과로 미루어 백혈병, 재생불량성 빈혈 등의 골수 조혈기능이 저하된 환자의 마취시 아산화질소의 사용은 신중을 기해야할 것으로 생각되며, 아산화질소의 장시간 또는 반복사용이 필요한 경우에는 folinic acid의 전처치가 골수억제의 예방에 도움이 될 것으로 생각되었다.

결 론

아산화질소 흡입에 의한 조혈기능의 억제현상을 관찰하기위해 Sprague-Dawley 계 쥐에게 6시간 또는 12시

간 동안 아산화질소를 흡입시킨 후, 골수와 혈액의 조혈 모세포를 배양하여 과립구-단핵구 세포집락(CFU-GM)과 T 임파구 세포집락(CFU-TL)의 수를 관찰한 결과 다음의 결과를 얻었다.

1) 50% 아산화질소 흡입직후에 골수와 혈액의 세포 집락수는 대조군에 비해 차이가 없었으나, 12시간 흡입 직후에 골수와 혈액의 CFU-GM 세포집락수 만은 의의 있게 감소하였다.

2) 6시간 흡입군에서는 흡입후 1일과 3일에, 12시간 흡입군에서는 흡입후 1일에 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL 세포집락수가 모두 대조군에 비해 의의있게 감소하였다. 즉 흡입시간이 길수록 억제 정도가 심하고 빨랐다.

3) 아산화질소 흡입후 대기흡입 상태로 정상사육하면, 흡입시간에 관계없이 흡입후 1주에 골수와 혈액의 CFU-GM과 CFU-TL 세포집락수가 아무런 처치없이도 대조군 치료 정상회복되었다.

4) Folinic acid 주입방법을 각기 달리하여 조혈기능 억제현상의 예방 또는 치료효과를 관찰하였는데, 주입 방법에 관계없이 골수와 혈액의 세포집락수가 현저히 증가하였다. 아산화질소 흡입전 12시간과 1시간에 주입한 군에서 가장 효과적으로 예방되었으며, 아산화질소를 흡입하지않은 대조군 치료 회복되었다. 흡입전 1시간에 주입한 군과 흡입직후 주입한 군에서도 folinic acid 주입않고 6시간 아산화질소 흡입한 군보다 현저히 증가하였다.

참 고 문 헌

- 1) Lassen HCA, Henriksen E, Neukirch F, et al: *Treatment of tetanus. Severe bone-marrow depression after prolonged nitrous-oxide anaesthesia. Lancet* 1:527, 1956
- 2) Fink BR, Shepard TH, Blandau RJ: *Teratogenic activity of nitrous oxide. Nature* 214:146, 1967
- 3) Lane GA, Nahrwold ML, Tait AR: *Anesthetics as teratogens: Nitrous oxide is fetotoxic, xenon is not. Science* 210:899, 1980
- 4) Layzer RB: *Myeloneuropathy after prolonged exposure to nitrous oxide. Lancet* 2:1227, 1978
- 5) Rodier PM, Aschner M, Lewis LS, et al: *Cell proliferation in developing brain after brief exposure to nitrous oxide or halothane. Anesthesiology* 64:680, 1986
- 6) Nunn JF: *Clinical aspects of the interaction between nitrous oxide and vitamin B₁₂. Br J Anaesth* 59:3, 1987
- 7) Nunn JF, Sturrock JE, Howell A: *Effect of inhalation anaesthetics on division of bone-marrow cells in vitro. Br J Anaesth* 48:75, 1976
- 8) Burgess AW, Wilson EMA, Metcalf D: *Stimulation by human placental conditioned medium of hemopoietic colony formation by human marrow cells. Blood* 49:573, 1977
- 9) Banks RGS, Henderson RJ, Pratt JM: *Reactions of gases in solution. part III. Some reactions of nitrous oxide with transition-metal complexes. J Chem Soc (A)* 3:2886, 1968. cited from Eger E I II: *Nitrous Oxide/N₂O*. New York, Elsevier, 1987
- 10) Vina JR, Davis DW, Hawkins RA: *The influence of nitrous oxide on methionine, s-adenosyl methionine, and other amino acids. Anesthesiology* 64:490, 1986
- 11) Nunn JF, Sharer NM, Gorchein A, et al: *Megaloblastic haemopoiesis after multiple short-term exposure to nitrous oxide. Lancet* 1379, 1982
- 12) Deacon R, Lumb M, Perry J, et al: *Selective inactivation of vitamin B₁₂ in rats by nitrous oxide. Lancet* 1023, 1978
- 13) Koblin DD, Watson JE, Deady JE, et al: *Inactivation of methionine synthetase by nitrous oxide in mice. Anesthesiology* 54:318, 1981
- 14) Koblin DD, Waskell L, Watson JE, et al: *Nitrous oxide inactivates methionine synthetase in human liver. Anesth Analg* 61:75, 1982
- 15) Baden JM, Serra M, Mazze RI: *Inhibition of fetal methionine synthase by nitrous oxide. Br J Anaesth* 56:523, 1984
- 16) Baden JM, Serra M, Mazze RI: *Inhibition of rat fetal methionine synthase by nitrous oxide. Br J Anaesth* 59:1040, 1987
- 17) Skacel PO, Hewlett AM, Lewis JD, et al: *Studies on the haemopoietic toxicity of nitrous oxide (N₂O) in man. Br J Haematol* 53:189, 1983
- 18) Lumb M, Sharer N, Deacon R, et al: *Effects of nitrous oxide-induced inactivation of cobalamine on methionine and s-adenosyl methionine metabolism in the rat. Biochemica et Biophysica Acta* 756:354, 1983
- 19) Skacel P, Chanarin I, Lumb M, et al: *Serial studies on the effects of nitrous oxide in man. Br J Haematol* 49:137, 1981
- 20) Lumb M, Deacon R, Perry J, et al: *The effect of*

- nitrous oxide inactivation of vitamin B₁₂ on rat hepatic folate. Biochem J 186:933, 1980*
- 21) Amess JAL, Burman JF, Rees GM, et al: *Megaloblastic haemopoiesis in patients receiving nitrous oxide. Lancet 2:339, 1978*
- 22) Amos RJ, Amess JAL, Hinds CJ, et al: *Incidence and pathogenesis of acute megaloblastic bone-marrow change in patients receiving intensive care. Lancet 2: 835, 1982*
- 23) Cullen MH, Rees GM, Nancekievill DG, et al: *The effect of nitrous oxide on the cell cycle in human bone marrow. Br J Haematol 42:527, 1979*
- 24) O'Sullivan H, Jennings F, Ward K, et al: *Human bone marrow biochemical function and megaloblastic hematopoiesis after nitrous oxide anesthesia. Anesthesiology 55:645, 1981*
- 25) O'leary PW, Combs MJ, Schilling RF: *Synergistic deleterious effects of nitrous oxide exposure and vitamin B₁₂ deficiency. J Lab Clin Med 105:428, 1985*
- 26) Deacon R, Chanarin I, Perry J, et al: *Marrow cells from patients with untreated pernicious anaemia can not use tetrahydrofolate normally. Br J Haematol 46: 523, 1980*
- 27) Amos RJ, Amess JAL, Nancekievill DG, et al: *Prevention of nitrous oxide-induced megaloblastic changes in bone marrow using folinic acid. Br J Anaesth 56:103, 1984*
- 28) Keeling PA, Locke DA, Nunn JF, et al: *Folinic acid protection against nitrous oxide teratogenicity in the rat. Br J Anaesth 58:528, 1986*
-