Tetraethylammonium chloride가 Bupivacaine 에 의한 신경차단 효과에 미치는 영향

한림대학교 의과대학 마취과

이 승 준 · 김 병 중 · 최 현
이 성 우 · 김 호 영 · 윤 영 준

= Abstract =

The Effect of Tetraethylammonium Chloride on the Impulse Conduction Block by Bupivacaine

Seung Joon Lee, M.D., Byung Jung Kim, M.D., Hyun Choi, M.D.,
Sung Woo Lee, M.D., Ho Yeong Kil, M.D. and Young Joon Yoon, M.D.

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

Potassium channel blockers slow depolarization, broaden the action potential, and thus promote the open and inactivated Na^+ channel states. The ability of local anesthetics to reduce the amplitude of compound action potential(CAP) of rat sciatic nerve was examined in the presence and absence of tetraethylammonium chloride(TEA) that selectively block K^+ channels. In the presence of $1.3 \times 10^{-5}\text{M}$ bupivacaine that inhibit the CAP by 22.5% at tonic stimulation, the addition of TEA(10^{-1}M) increased this inhibition by another 27.5% and increased another 50% by phasic stimulation(20Hz). Also, dose response curve of bupivacaine in the presence of TEA(10^{-1}M) showed marked shift to left of curve. The recovery kinetics of bupivacaine in the presence of various concentration of TEA(10^{-2} – 10^{-1}M) showed marked delay of recovery($2 \times 10^{-2}\text{M}$), recurrence of inhibition(90min, $5 \times 10^{-2}\text{M}$), even no recovery(10^{-1}M). TEA alone slightly depolarized the resting membrane which was represented as increment of CAP height from 0.9%(3min) to 12.3%(80min), and broadened mid-peak amplitude width by 2 times in $5 \times 10^{-1}\text{M}$, 5.3 times in 1M .

These experiments directly demonstrated that TEA potentiated the inhibition of CAP by bupivacaine and showed the possibility of mixture of TEA and local anesthetics to potentiate impulse conduction blockade.

Key Words : K^+ channel blocker, Tetraethylammonium chloride, Bupivacaine, Compound action potential

서 론

최근 국소마취제의 가장 신빙성 있는 작용 기전

으로는 국소마취제가 세포막의 Na^+ channel에 직접 작용하여 Na^+ 의 세포 내로의 이동을 방해함으로써 membrane depolarization을 방지하는 것이다. 이러

한 Na^+ channel은 세포막의 막전위(membrane potential)에 따라 resting, open, inactive state의 구조적 변화를 하게 된다. 이중 open 및 inactive state에서 국소마취제가 더욱 잘 부착되며, tonic stimulation ($<1\text{Hz}$) 보다는 phasic stimulation($5-100\text{Hz}$)에서 sodium permeability(P_{Na})의 억제 효과가 큰 것으로 알려지고 있다^{1,2)}.

같은 논리로 K^+ channel blocker인 Tetraethylammonium chloride (TEA)는 신경 자극에 따른 활성전위의 repolarization time을 증가 시켜 open state의 Na^+ channel을 증가 시키며, 또한 그 자체로 약간의 depolarization 효과가 있어 inactive state의 Na^+ channel을 증가 시킨다^{3,4)}. 따라서 TEA와 국소마취제의 혼합 사용시 국소마취제에 의한 신경차단 효과의 증가가 예견된다. 저자들은 본 실험에서 이러한 가정을 검토하고자 쥐의 좌골신경을 전기 자극하여 $1.3 \times 10^{-5}\text{M}$ 의 bupivacaine 단독 혹은 다양한 농도의 TEA와 혼합시 tonic 혹은 phasic stimulation에 대한 신경의 compound action potential의 크기 및 모양의 변화, dose response curve, recovery kinetics의 변화를 비교 검토 하였다.

대상 및 방법

실험대상

동일 조건에서 사육된 체중 $450-550\text{gr}$ 의 수컷 Sprague-Dawley종의 쥐에 pentobarbital 50mg/kg 를 복강내 주사하여 마취시킨후 좌골신경을 가능한 최대 ($4-5\text{cm}$)로 박리해 내었다.

이 신경을 실험 전까지 30분간 5개의 백금선이 장치된 용적 20ml 의 nerve conduction chamber 내에서 pH 7.4의 mammarian ringer solution(MRS, NaCl 4.5gr , KCl 1.5mg , CaCl_2 1.3mg , NaHCO_3 1.0mg in filtered water)에 방치시켜 평형을 이루게 하였다.

본 실험에 사용된 시약중 bupivacaine은 MRS에 희석시켜 $1.3 \times 10^{-4}\text{M}$ 로 만든후 냉장고에 -20°C 로 보관 하였으며, Tetraethylammonium chloride

(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)는 MRS에 희석하여 1M 을 만든후 냉장고에 $1-2^\circ\text{C}$ 로 보관하였다. 각 시약은 실험전 ice container내의 15ml 시험관에서 MRS에 희석하여 적정 농도로 만든다음 사용하였다.

실험방법

1. Bupivacaine 단독 및 TEA와 혼합시 tonic 및 phasic stimulation에 대한 CAP의 변화($n=6$) 쥐의 좌골신경을 박리하여 MRS에서 30분이상 방치하여 충분히 평형을 이룬후 용액을 완전제거한 다음 Grass S6 stimulator를 사용하여 threshold potential의 2배인 $4-7\text{Volt}$, duration 0.02msec , rectangular pulse, 1Hz 로 전기자극하여 amplifier에서 10배 증폭후 DC coupled preamplifier를 통과 시킨다음 storage oscilloscope에 compound action potential(CAP)을 display 시키고 polaroid camera로 촬영하였으며 이를 control CAP로 하여 100%회복의 지표로 삼았다.

이러한 방법으로 MRS에서 각각 10Hz , 20Hz 로 30분간 자극후 control CAP 와 비교하였다. 이 실험은 oscilloscope 화면상 CAP가 30mV 이상이고 10분간에 걸쳐 $1-2\text{mV}$ 이상의 차이를 보이지 않을때만 실험을 진행하였다. 또한 상기와 동일한 방법으로 $1.3 \times 10^{-5}\text{M}$ bupivacaine 및 $1.3 \times 10^{-5}\text{M}$ bupivacaine + 3×10^{-2} , 6×10^{-2} , 10^{-1}M 의 TEA에서 1, 10, 20Hz 로 30분간 자극후 용액을 완전 제거한 다음 CAP를 측정하여 비교 관찰하였다. 측정치는 각 frequency의 MRS에서 측정한 CAP를 100%로 기준 하여 각 약제의 혼합액에서의 inhibition정도를 control에 대한 %로 표시하였으며 각 군 간의 차이는 ANOVA test로 검증하였고 $P < 0.05$ 이하인 것을 유의한 것으로 간주하였다.

2. Bupivacaine 단독 및 bupivacaine + 10^{-1}M TEA의 dose response curve($n=6$).

Bupivacaine에 비해 bupivacaine + TEA가 bupivacaine의 다양한 농도에서 CAP에 미치는 영향

을 관찰하고자 신경을 30분간 MRS에 방치하여 4-7V, 0.02msec, 10Hz의 rectangular pulse로 전기 자극하여 control CAP를 측정하여 0% inhibition의 지표로 삼은 다음, 10^{-7} M- 5×10^{-4} M 농도의 bupivacaine 단독 혹은 10^{-1} M TEA와의 혼합 용액에서 각각 20분간 방치후 conduction chamber의 용액을 완전히 제거한 다음 CAP를 측정하여 비교 관찰하였다.

3. Bupivacaine+TEA 에 방치되었던 nerve의 recovery kinetics의 비교(n=6).

Bupivacaine에 노출된 신경의 회복시 TEA가 미치는 영향을 관찰하고자 신경을 MRS 및 TEA에 각각 30분간 방치하여 4V-7V, 0.02msec, 10Hz의 rectangular pulse로 전기자극하여 각각의 control CAP를 구한 다음 2×10^{-4} M bupivacaine + 10^{-1} M TEA 용액에 30분간 방치한 후 각각 10^{-1} M TEA 및 MRS 용액에서 전기자극하여 시간 경과에 따른 CAP의 회복 정도를 비교 관찰하였다.

4. TEA에 의한 CAP의 모양 및 크기의 변화.

신경을 다양한 농도의 TEA 용액에 노출시켰을 때의 CAP의 모양 및 크기의 변화를 관찰하고자, 신경을 30분간 MRS에 방치하여 control CAP를 구한 다음 10^{-3} M-1M의 TEA에 각각 20분간 방치하였다.

다음 conduction chamber내에서 용액을 제거후 CAP를 측정후 baseline으로 부터의 크기 및 peak amplitude 크기의 1/2 지점에서의 amplitude의 width, CAP의 모양 등을 관찰하여 control CAP와 비교 관찰하였다.

1) 시간 경과에 따른 TEA가 CAP의 크기에 미치는 영향 (n=10).

쥐의 좌골신경을 30분간 MRS에 방치하여 control CAP를 구한 후 10^{-1} M TEA가 들어 있는 conduction chamber에서 10Hz, 0.02msec, 4-7V로 계속 자극하면서 CAP의 변화를 처음 1분-10분은 3분마다 10분-60분은 10분마다 이후 100분까지 20분마다 사진 촬영하여 서로 비교 하였다.

2) TEA 농도에 따른 CAP의 shape 및 mid-peak

amplitude width의 변화 (n=10).

쥐의 좌골신경을 30분간 MRS에 방치하여 control CAP를 구한 후 10^{-2} M, 5×10^{-2} M, 10^{-1} M, 5×10^{-1} M, 1M의 TEA에 각각 30분간 방치후 10Hz로 전기 자극하여 얻은 CAP의 baseline부터 peak amplitude의 중간 부분에서 width를 측정하여 control CAP와 비교 하였으며 또한 그 모양도 비교 관찰하였다.

결 과

1. Bupivacaine 단독 및 TEA와 혼합시 tonic 및 phasic stimulation에 대한 CAP의 변화(n=6) 1.3×10^{-5} M의 bupivacaine 단독 및 3×10^{-2} M- 10^{-1} M TEA와 혼합한 용액내에서 tonic 및 phasic stimulation하여 CAP 억제효과를 관찰하였고, tonic 혹은 phasic stimuli에 대한 bupivacaine 및 bu+TEA의 CAP inhibition 정도를 측정한 결과 자극의 빈도가 높을수록 또한 bupivacaine에 TEA를 고농도로 혼합할수록 control에 대한 CAP 억제의 정도가 증가하여 bupivacaine의 frequency dependent block 및 TEA에 의해 bupivacaine의 신경차단 효과가 강화됨을 관찰할 수 있었다 (Tab. 1, Fig. 1).

Table. 1. The Change of Inhibition of CAP in Tonic or Phasic Stimulation (n=6)

Druge	CAP inhibition after electrical stimulation(%).		
	1Hz	10Hz	20Hz
10^{-1} TEA+Bu	50.0±4.5	92.4±3.2	100.0±0.0
6×10^{-3} TEA+Bu	33.3±4.3	43.3±2.8	51.7±5.8
3×10^{-3} TEA+Bu	23.8±3.3	30.1±3.1	32.1±4.1
Bupivacaine	22.5±4.7	28.4±2.4	30.8±3.8
MRS	0.0±0.0	0.5±0.2	0.51±0.3

TEA: tetraethylammonium chloride

Bu: bupivacaine(1.3×10^{-5} M)

MRS: mammarian ringer solution

CAP: compound action potential

Values are expressed as mean±SD

2. Bupivacaine 단독 및 bupivacaine + 10^{-1} M TEA의 dose response curve(n=6).

TEA에 의한 bupivacaine의 CAP 억제효과의 강화 정도를 알기 위해 1.3×10^{-5} M bu 및 1.3×10^{-5} M bu + 10^{-1} M TEA 용액에 의한 CAP 억제 효과를 관찰한 결과, bupivacaine의 각 농도에서 10^{-1} M TEA를 첨가한 경우 CAP의 억제 정도는 20%-30% 정도 증가 하였으며 또한 bupivacaine 단독 보다는 TEA를 첨가하는 경우 상대적으로 Bupivacaine의 저농도에서 CAP를 억제하는 것으로 보아 TEA의 첨가가 CAP의 억제를 증가 시킴을 알 수 있었다 (Tab. 2, Fig. 2).

3. Bupivacaine + TEA에 방치되었던 nerve의 recovery kinetics의 비교(n=6).

TEA가 bupivacaine에 의한 신경차단 후 회복에 어떤 영향을 주는가 알기 위해 bu + 10^{-1} M TEA에 30분 방치 후 MRS 및 TEA의 각 농도에서 회복시 CAP를 관찰한 결과, TEA의 농도가 높을수록 bupivacaine에 의한 신경차단 후 회복이 현저히 지연되었으며 5×10^{-2} M TEA에서는 75분부터 오히려 회복이 역전 되는 현상을 보였고,

10^{-1} M TEA의 경우 15분 후 오히려 회복되지 않고 신경차단이 강화된 것으로 나타났다 (Tab. 3, Fig. 3).

4. TEA에 의한 CAP의 영향

1) 시간 경과에 따른 TEA가 CAP의 크기에 미치는 영향 (n=10).

TEA가 그 자체로 신경막에 어느 정도의 depolarization 효과를 보이는가 알기 위해 10^{-1} M TEA 용액 내에서 지속적으로 4-7V, 0.02m sec, 1Hz로 전기 자극을 하면서 CAP를 측정 한 결과 자극 후 1분까지는 CAP 높이의 변화가 없으나 3분 후부터 점차 CAP 높이가 증가하기 시작하여 자극 후 80분에 12.3%까지 증가하였으며 이후는 더 이상 특별한 변화를 보이지 않았다 (Tab. 4, Fig. 4).

2) TEA 농도에 따른 CAP의 shape 및 mid-peak amplitude width의 변화 (n=10).

TEA 농도에 따른 CAP의 shape 및 width의 변화를 알아 보고자 다양한 농도의 TEA에 방치 후 전기 자극하여 baseline으로 부터 최고점

Table. 2. Changes in CAP inhibition of Bupivacaine in the Presence or Absence of 10^{-1} M TEA (n=6)

Conc of Bu (M)	% of CAP inhibition	
	Bupivacaine	Bu + 10^{-1} M TEA
10^{-7}	0	$23.1 \pm 4.6^*$
10^{-6}	8.6 ± 1.1	$37.8 \pm 3.8^*$
10^{-5}	10.1 ± 5.0	$40.1 \pm 5.8^*$
3×10^{-5}	32.8 ± 3.8	$56.9 \pm 4.8^*$
6×10^{-5}	56.1 ± 4.4	$85.0 \pm 2.7^*$
10^{-4}	77.2 ± 6.8	$100.0 \pm 0.0^*$
2×10^{-4}	91.1 ± 3.6	
5×10^{-4}	99.5 ± 0.6	

Bu: Bupivacaine TEA: tetraethylammonium chloride.

CAP: compound action potential.

Values are expressed as mean $\pm$ SD

*P < 0.05

Fig. 1. The change of inhibition of CAP in tonic or phasic stimulation. This figure shows frequency dependent block of bupivacaine and enhanced CAP inhibition by addition of TEA. MRS: mammarian ringer solution TEA: tetraethylammonium chloried, BU; bupivacaine, Values are expressed as mean $\pm$ SD (% inhibition).

과의 중간지점에서 CAP의 width를 구해본 결과 TEA의 농도가 높을수록 width가 대조군에 비해 10^{-1} M에서 6.7%, 5×10^{-1} M에서 220%, 1M에서 533% 증가하였으며 이는 농도에 따

Table. 3. Recovery Kinetics of Rat Sciatic Nerve which was Incubated in Bu+10-1M TEA.(n=6)

Time (min)	Rexovery of CAP(%)			
	MRS	TEA(10^{-2})	TEA(5×10^{-2})	TEA(10^{-1})
control	27.5±1.3	26.4±4.5	27.3±2.2	28.5±3.5
15min	42.4±3.7	30.9±0.9	30.2±3.6	36.2±4.6
30min	55.7±3.4	56.3±4.4	43.5±2.5*	31.6±1.1*
45min	72.6±2.0	61.7±2.0*	50.9±0.8*	21.4±4.4*
60min	87.4±2.8	65.3±3.2*	55.7±3.9*	11.2±4.3*
75min	98.3±2.9	69.3±0.7*	57.3±2.8*	2.4±4.8*
90min	99.7±0.6	72.5±2.5*	51.3±5.4*	0.0±0.0*
105min	100.0±0.0	73.7±2.4*	39.7±4.6*	0.0±0.0*

MRS: mammarian ringer solution
TEA: tetraethylammonium chloride
CAP: compound action potential
Values are expressed as mean±SD
*P<0.05

Table. 4. The Change of CAP Height after Incubation in 10^{-1} M TEA

Time (min)	CAP height mm, (%increase)
0	3.42±0.6(0%)
1	3.42±0.7(0)
3	3.45±0.7(0.9)
6	3.52±0.4(2.8)*
10	3.60±0.5(5.0)*
20	3.63±0.8(5.8)*
40	3.70±0.6(7.6)*
60	3.80±1.1(10)*
80	3.90±0.9(12.3)*
100	3.90±0.9(12.3)*

CAP: Compound action potential
Values are expressed as mean±SD
*P<0.05

Fig. 2. The effect of TEA on the CAP inhibition by bupivacaine. This figure shows enhanced CAP inhibition of bupivacaine by addition of TEA. Values are expressed as mean±SD, *P<0.05

Fig. 3. The recovery kinetics of nerve which was incubated in 0.2mM bupivacaine +10(-1)M TEA. The recovery kinetics of nerve delayed markedly in $10(-2)$ M TEA solution and even no recovery in $10(-1)$ M TEA. Values are expressed as mean±SD, *P<0.05

Fig. 4. The effect of TEA on the height of CAP. The height of CAP increased significantly after 6min of electrical stimulation. Values are expressed as mean±SD, *P<0.05

큰 repolarization time의 증가 및 open state의 Na^+ channel의 증가를 암시해 준다 (Tab. 5, Fig. 5, Fig. 6).

고 안

국소마취제의 작용 기전에 대해서는 많은 가설이 제기되어 왔으나 최근의 여러 실험결과에 의하면 국소마취제가 Na^+ channel내의 수용체에 부착하여

Table. 5. The Change of Mid-Peak Amplitude Width according to Concentration of TEA

Conc.of TEA	Mid-peak amplitude of CAP(mm, % increase)
10^{-2}M	$7.5 \pm 1.4(0)$
$5 \times 10^{-2}\text{M}$	$7.5 \pm 1.3(0)$
10^{-1}M	$8.0 \pm 0.7(6.7\%)$
$5 \times 10^{-1}\text{M}$	$16.5 \pm 1.7(220\%)$
1M	$40.0 \pm 2.6(533\%)$

TEA: tetraethylammonium chloride
CAP: compound action potential
Values are expressed as mean $\pm$ SD

Fig. 5. The change of mid-peak amplitude width of CAP according to concentration of TEA. This figure shows the mid-peak amplitude of CAP increased significantly when was incubated over $5 \times 10^{-1}\text{M}$ TEA and electrically stimulated. Values are expressed as times to control, * $P < 0.05$

이 channel을 통한 Na^+ 의 정상적인 이동을 방해함으로써 action potential의 발생을 저지한다는 이론이 가장 신빙성있는 기전으로 간주되고 있다⁵⁾.

이러한 Na^+ channel의 mammalian myelinated peripheral nerve에서의 분포도를 보면 주로 node of Ranvier에 국한되어 있으며 internodal region에는 극히 적은 반면, K^+ channel은 주로 internodal region에 존재하며 node of Ranvier에는 거의 없어 impulse전달에 영향이 거의 없다고 한다⁶⁻⁸⁾.

또한 mammalian brain 혹은 skeletal muscle의 Na^+ channel은 분자량 25만-35만 정도의 large glycoprotein으로 구성되어 있다^{8,10)}. Na^+ channel의 흥미로운 점은 membrane potential의 정도에 따라 resting, open, inactive state^{11,12)} 등의 여러 상태로 구조적인 변화^{1,2)}를 한다는 사실인데 그 작용 기전은 channel molecule이 구조상 전기를 띄고 있으며, 수용체 pore 주위의 일정 부위가 이런 변화의 sensor로 작용하여 membrane potential의 변화에 따라 Na^+ channel의 개폐를 조절하기 때문 이라고 한다. Na^+ channel의 opening의 빈도 및 속도는 membrane의 depolarization 정도에 비례하며 depolarization이

Fig. 6. The shape of CAP according to concentration of TEA. This figure shows the shape of CAP markedly changed after incubation over 10^{-1}M TEA.

클수록 Na^+ channel의 open 가능성이 크고, depolarization의 빈도가 커질수록 resting state에서 open state로 변화가 많아진다. Na^+ channel의 구조적 변화중 inactive form은 prolonged depolarization 시 야기될 수 있으며 sodium channel의 일부가 open되는 경향이 있고 더욱 negative potential인 경우는 resting state로 남아 depolarization시 open state로 변하게 된다.

일반적으로 국소마취제는 resting state보다는 open 및 inactive 상태에서 더욱 쉽게 수용체에 부착하며¹³⁻¹⁵⁾ 특히 tonic stimulation에 비해 phasic stimulation시에는 약물의 receptor로 부터의 해리시간이 짧아 약물의 부착 시간이 증가함에 따라 closed state에서의 drug의 해리가 늦어지게 되며 따라서 국소마취제의 phasic inhibition이 커지게 된다^{16,17)}. 똑같은 논리로 생각해 볼때 이러한 open, inactive state의 Na^+ channel을 증가시킬수있는 조건으로는 K^+ channel blocker를 고려해 볼 수 있으며 대표적인 약물로는 TEA 및 4-aminopyridine 등이 있다. 본 실험에서 저자들은 TEA를 bupivacaine과 혼합 사용시 쥐의 좌골신경에서 약물에 대한 compound action potential(CAP)의 변화를 관찰하여 이러한 사실을 확인하고자 하였다.

Stanfield¹⁷⁾ 등에 의하면 TEA는 거의 모든 종류의 K^+ channel을 차단할 수 있으며 TEA의 dose response curve에 의하면 10^{-3}M 에서 약70%, 10^{-2}M 에서 약75%, 10^{-1}M 의 농도에서는 거의 100% K^+ 의 outward current를 차단할 수 있는 것으로 나타났다. K^+ channel내에서의 TEA의 작용 부위는 Tasaki¹⁸⁾, Shrager¹⁹⁾ 등은 각각 squid giant axon, crayfish 등에서 channel의 inside, Wong²⁰⁾, Hille²¹⁾ 등은 각각 Myxicola, frog 등에서 inside 혹은 outside, Kirsh²²⁾ 등은 cytoplasmic margin에서 25% 지점, Tagliatela²³⁾ 등은 transmembrane segment 5와 6사이 (S5-S6)를 주장 했으며 Davies²⁴⁾ 등은 3곳의 binding site를 주장하여 아직 논란의 여지가 많다. 또한 TEA는 상대적으로 lipid membrane에 불용성이므로 세포 내로의 침투가 상대적으로 느린 것으로 알려지고 있다²⁵⁾. TEA의 신경의 membrane

potential에 대한 영향을 살펴보면 첫째로 action potential을 broadening 시킴으로써 repolarization time을 증가시켜 open state의 Na^+ channel을 증가시키며 따라서 국소마취제의 회복을 지연시키는 사실이다. Bostock³⁾ 등은 쥐의 dorsal 및 ventral spinal root에서 TEA에 의한 half-peak amplitude의 width를 측정 한 결과 $2 \times 10^{-2}\text{M}$ 에서 8.6%, $6 \times 10^{-2}\text{M}$ 에서 11.2%의 증가를 보고하였다.

본 연구에서는 table 5에서 보듯이 TEA의 각 농도에 따른 half peak amplitude에서 width를 측정 한 결과 $5 \times 10^{-2}\text{M}$ 농도의 TEA까지는 MRS의 대조치에 비해 큰 변화를 보이고 있지 않으나 10^{-1}M 에서 6.7%, $5 \times 10^{-1}\text{M}$ 에서 220%, 1 M에서 533%의 증가를 보여 10^{-1}M 이상의 농도에서 급격한 repolarization time의 증가현상을 보여주고 있다.

둘째로 TEA는 steady state의 depolarization을 증가시켜 inactive state의 Na^+ channel의 수를 증가시킴으로 open channel때 보다 국소마취제의 부착 속도는 느리지만 더욱 강하게 부착된다^{3,4)}. 이런 현상은 본 실험에서 TEA에 노출시킨후 20Hz의 지속적인 자극을 가한 결과 신경에서 노출 3분후 대조군에 비해 0.9% amplitude의 증가를 보이기 시작하여 80분후 12.3%까지 시간 경과에 따라 지속적인 증가를 나타낸 사실로 증명된다 (Fig.5). 또한 Devor²⁶⁾ 등은 TEA를 nerve ending에 노출시, excitation의 연장, firing정도의 증가등의 현상을 발견하였다. 한편 sodium current에 영향을 주는 tetrodotoxin, lidocaine등의 약제가 TEA와 약리학적 간섭을 하지는 않는데, 즉 Hille²⁷⁾ 등에 의하면 1.2mM xylocaine에 의해 Na^+ current를 제거 시켰어도 6mM TEA의 효과에는 영향이 없었다. 상기와 같은 TEA의 신경에 대한 영향은 국소마취제와 같이 사용시 phasic stimulation동안 더욱 CAP의 억제력을 강하게 하는데, 저자들의 실험에서 table 1과 같이 tonic stimuli 보다는 phasic stimuli에서 또한 TEA의 농도가 높을수록 억제의 정도가 증가하여 phasic stimuli및 TEA가 국소마취제의 신경전달 억제효과에 상승적인 작용을 나타냄을 알수있다.

또한 본 연구에서는 실제로 bupivacaine의 CAP

억제가 TEA에 의해 어느 정도 증가 하는지를 알아 보고자 bupivacaine의 서로 다른 농도에서 TEA $10^{-1}M$ 을 첨가 하여 CAP의 억제 정도를 알아본결과 약 20%-30% 정도의 CAP 억제가 추가로 증가하고 상대적으로 약한 농도에서부터 억제가 시작되는 것으로 보아 TEA가 bupivacaine의 CAP 억제에 상승효과를 갖고있는것으로 나타났다 (Fig. 2).

또한 이와 같은 견지에서 도표에서 보듯 TEA의 bupivacaine로 부터의 recovery에 대한 영향을 알아 본 결과, $10^{-1}M$ TEA를 bupivacaine과같이 incubation 시켰어도 MRS에 노출시킨경우 TEA가 빠른속도로 TEA의 receptor로 부터 분리되어 75분내에 100% 회복을 보인 반면 TEA에서의 회복을 측정한 경우 $10^{-1}M$ 에서는 회복되지 못하고, $5 \times 10^{-2}M$ 에서는 약 60%, $10^{-2}M$ 에서는 약 70% 정도의 회복 반응을 보임으로 오히려 CAP의 억제가 증가함을 보아 신경의 bupivacaine으로부터의 회복시 TEA를 통한 억제 효과가 입증되었다. 이러한 효과는 TEA농도가 높을수록 뚜렷하였으며 그 기전으로는 Na^+ channel의 open 및 inactive state 증가와 phasic stimuli가 기인된다고 할 수 있겠다.

상기 여러 연구 결과 K^+ channel blocker는 국소마취제의 nerve conduction block의 기능을 강화시키는 사실이 분명하며 이런 점에서 장시간의 신경차단이 필요할 때 K^+ channel blocker와 국소마취제의 혼합이 고려될 수 있으며 이 목적을 위해 우선 반복적인 실험을 통해 epinephrine을 혼합했을 때와의 장단점의 비교 및 적정량, 부작용에 대한 연구가 선행되어야 한다고 사료된다.

결 론

Bupivacaine의 신경차단 효과에 대한 TEA의 영향을 알고자 쥐의 좌팔신경을 이용하여 $1.3 \times 10^{-5}M$ 의 bupivacaine 단독 및 다양한 농도의 TEA용액에서 전기자극하여 compound action potential의 억제 및 회복, 모양의 변화등을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. K^+ channel blocker, TEA($10^{-1}M$)는 bupivacaine

과 혼합하여 10Hz로 전기자극시 CAP의 억제를 20-30% 정도 증가하였다.

2. TEA는 bupivacaine으로부터 CAP의 회복을 지연시켰으며 고농도에서는 회복되지 못하였다.

3. TEA의 CAP의높이에 대한 영향은 amplitude는 3-80분에 걸쳐 0.9%에서 12.3%까지 증가시켰다.

TEA는 CAP의 모양을 $5 \times 10^{-1}M$ 이상의 고농도에서 상당히 변화시켜 repolarization time을 증가시켰으며 1M의 TEA는 half width를 5.33배까지 증가시켰다.

상기 여러결과로 볼때 TEA는 국소마취제의 impulse conduction block을 open 및 inactive state의 Na^+ channel의 증가로 인해 강화시키며 이 효과를 위해 TEA의 국소마취제와의 혼합이 고려될 수 있으나 향후 부작용 및 적정용량등에 대한 추가적인 실험이 요구된다.

참 고 문 헌

- 1) Chernoff DM, Strichartz GR. *Binding kinetics of local anesthetics to closed and open sodium channels during phasic inhibition. Relevance to antiarrhythmic drugs.* Edited by Hondenglen LM, Mt Kisco, Futura Publisher 1989: 307-35.
- 2) Courtney KR. *Structure activity relations for frequency-dependent sodium channel block in nerve by local anesthetics.* J pharmacol Exp Ther 1980; 213: 114-9.
- 3) Bostock H, Sears TA, Sherraff RM. *The effects of 4-aminopyridine and TEA ions on normal and demyelinated mammalian nerve fibers.* J physiol 1981; 313: 301-15.
- 4) Chernoff DM, Strichartz GR. *Kinetics of local anesthetic inhibition of neuronal sodium currents: pH and hydrophobicity dependence.* Biophys 1990; 58: 69-81.
- 5) Rogers MC, Tinker, Covino BG. *Principles and*

- practice of anesthesiology vol II 1993; 1207.*
- 6) Chiu SY, Ritchie JM. Potassium channels in nodal and internodal axonal membrane of mammalian myelinated fibers. *Nature* 1980; 284: 170-1.
- 7) Chiu SY, Ritchie JM, Rogart RB. A quantitative description of membrane current in rabbit myelinated nerve. *J physiol(London)* 1979; 292: 149-66.
- 8) Ritchie JM, Rogart RB. Density of sodium channels in mammalian myelinated nerve fibers and nature of the axonal membrane under the myelin sheath. *Proc Natl Acad sci USA* 1977; 74: 211-5.
- 9) Barchi RL, Cohen SA, Murphy LE. Purification from rat sarcolemma of the saxitoxin-binding component of the excitable membrane sodium channel. *Proc Natl Acad sci USA* 1980; 77: 1306-10.
- 10) Hartshorne RP, Catterall WA. Purification of the saxitoxin receptor of the sodium channel from rat brain. *Proc Natl Acad sci USA* 1981; 77: 4620-4.
- 11) Goldman L, Schauf CL. Inactivation of the sodium current in *Myxicola* giant axons. Evidence for coupling of the activation process. *J Gen physiol* 1972; 59: 659-75.
- 12) Benzanilla F, Armstrong CM. Inactivation of sodium channel. *J Gen Physiol* 1977; 70: 549-66.
- 13) Strichartz GR. The inhibition of sodium currents in myelinated nerve by quarternary derivatives of lidocaine. *J Gen physiol* 1977; 62: 37-57.
- 14) Hille B. Local anesthetics, hydrophilic and hydrophobic pathways for the drug-receptor reaction. *J Gen physiol* 1975; 69: 497-515.
- 15) Courtney KR. Mechanism of frequency-dependent inhibition of sodium currents in frog myelinated nerve by the lidocaine derivative. *J pharmacol Exp Ther* 1975; 195: 225-36.
- 16) Chernoff DM. Kinetic analysis of phasic inhibition of neuronal sodium currents by lidocaine and bupivacaine. *Biophys J* 1990; 58: 53-68.
- 17) Stanfield PR. The onset of the effects of zinc and tetraethylammonium ions on action potential duration and twitch amplitude of single muscle fibers. *J physiol* 1973; 235: 639-54.
- 16) Tasaki I, Hagiwara S. Demonstration of two stable potential states in the squid giant axon under tetraethylammonium chloride. *J Gen physiol* 1980; 40: 859-85.
- 19) Shrager PG, Macey RI, Strickholm A. Internal perfusion of crayfish giant axons: Action of tannic acid, DDT, and TEA. *J cell physiol* 1969; 74: 77-90.
- 20) Wong BS, Binstock L. Inhibition of potassium conductance with external TEA ion in *myxicola* giant axons. *J Biophys* 1980; 32: 1037-42.
- 21) Hille B. The relative inhibition of delayed potassium currents in nerve by tetraethylammonium ion. *J Gen physiol* 1967; 50: 1287-1302.
- 22) Kirsch GE, Taglialatela M, Brown AM. Internal and external TEA block in single closed K^+ channels. *American Journal of physiology* 1991; 261: 583-90.
- 23) Taglialatela M, Vandongen AMJ, Drewe JA. Patterns of internal and external TEA block in four homologous K^+ channels. *Molecular pharmacology* 1991; 40: 299-307.
- 24) Davies NW, Spruce AE, Standen NB. Multiple blocking mechanisms of ATP-sensitive potassium channels of frog skeletal muscle by TEA ions. *Journal of physiology* 1989; 413: 31-48.
- 25) Weingart R. The permeability to TEA ions on action potential duration and twitch amplitude of single muscle fibers. *J physiol* 1974; 235: 639-54.

- 26) Devor M. *Potassium channels ectopic moderate excitability of nerve-end neuromas in rats. Neurosci Lett* 1983; 40: 181-6.
- 27) Hille B. *The common mode of action of three agents that decrease the transient change in sodium permeability in nerve. Nature* 1966; 210: 1220.
-