흰쥐 횡격막 신경근 표본에서 5- hydroxytryptamine이 Rocuronium의 근이완 작용에 미치는 효과

울산대학교 의과대학 서울아산병원 마취통증의학교실

최우종 · 김혜진 · 이윤경 · 양홍석

Effects of 5-hydroxytryptamine on Rocuronium-induced Neuromuscular Blockade in a Rat Phrenic Nerve-hemidiaphragm Preparation

Woo Jong Choi, M.D., Hye Jin Kim, M.D., Yoon Kyung Lee, M.D., and Hong Seuk Yang, M.D.

Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Asan Medical Center, College of Medicine, University of Ulsan, Seoul, Korea

Background: The 5-hydroxytryptamine 3 receptor (5-HT₃R) is a member of a superfamily of ligand-gated ion channels which has structural similarities and common evolutionary origin to those of the nicotinic acetylcholine receptor (nAChR). 5-hydroxytryptamine (5-HT) and muscle relaxants may have cross reaction. Rocuronium is a non-depolarizing neuromuscular blocking agent which has a rapid onset. The aim of this study was to examine the effects of 5-HT on rocuronium-induced neuromuscular blockade in a rat phrenic nerve-hemidiaphragm preparation.

Methods: Institutional approval was obtained for the experimental procedure. Fifty male Sprague-Dawley rats (150–200 g) were divided into 5 groups; the control, and 0.1, 1, 10, and 20 μ g/ml of 5-HT. The animals were injected with phentobarbital at 40 mg/kg into the peritoneal cavity. The hemidiaphragm with the phrenic nerve was dissected and then mounted in a bath containing 100 ml Krebs solution at room temperature. The phrenic nerve was stimulated at the supramaximal intensity using a Grass[®] S88 stimulator via an SIU5 isolation unit. The twitch height was measured and recorded using a precalibrated Grass[®] FT88 force displacement transducer and recorded with a Grass[®] 79 polygraph, respectively. In the cumulative dose-response study, the rocuronium 100 μ g/dl and each dose of 5-HT were administered simultaneously administered, with additional 50 μ g/dl incremental doses of rocuronium were added to obtain greater than 95% neuromuscular twitch inhibition. The ED₅, ED₅₀, ED₉₀, and ED₉₅ of rocuronium in each group were calculated using a probit model.

Results: The ED₅₀, ED₉₀, and ED₉₅ of rocuronium were significantly reduced in 5-HT 20 μ g/ml group ($P < 0.05$), but no differences were observed with the other 5-HT groups compared to the control groups.

Conclusions: 5-HT at 20 μ g/ml enhanced the neuromuscular blockade of rocuronium. (Korean J Anesthesiol 2007; 52: 438~42)

Key Words: cross reaction, neuromuscular blockade, rocuronium, 5-hydroxytryptamine.

서 론

신경계에는 다양한 신경전달물질이 존재하고 각각의 수용체를 통하여 작용을 한다.¹⁾ 신경전달물질이 고유의 수용

체 외에 비슷한 구조를 갖는 다른 수용체와 결합하여 교차 상호작용을 나타낼 수 있다. 예를 들어 histamine은 교감신경절의 전접합부 말단에서 acetylcholine (ACh)의 분비를 조절하고 개구리의 근육 말단부에서 니코틴성 아세틸콜린(nAChR)의 탈감작화를 유발한다.^{2,3)}

5-hydroxytryptamine (5-HT)은 중추신경 및 말초신경에 존재하는 신경전달물질로 많은 5-HT 수용체의 아형들이 존재하기 때문에 다양한 생리적 작용을 나타낸다.⁴⁾ 특히 5-hydroxytryptamine receptor type 3 (5-HT₃R)는 배위자 결합 이온통로(ligand-gated ion channel, LGIC) 계열에 속하며 nAChR과 구조적으로 유사하여 상호 작용을 하는 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 5-HT이 포유류 및 양서류에서 교감신경절의 신경을 탈

논문접수일 : 2006년 12월 15일

책임저자 : 양홍석, 서울시 송파구 풍납동 388-1

울산대학교 의과대학 서울아산병원 마취통증의학교실

우편번호: 138-040

Tel: 02-3010-3865, Fax: 02-470-1363

E-mail: hsyang@amc.seoul.kr

석사학위 논문임.

분극시키고 개구리의 근육 말단부에서 nAChR의 탈감작화를 유발한다고 한다.⁶⁻⁸⁾ 5-HT와 5-HT 유사물질들이 *Xenopus laevis* 난모세포들에서 발현된 신경 nAChR과 근육 nAChR의 탈감작화를 강화시켰고¹⁾ 또한 임상에서 강력한 항구토제로 널리 사용되고 있는 ondansetron은 5-HT₃R 길항제이지만⁹⁾ 5-HT와 비슷한 구조를 가지고 있어 *Xenopus laevis* 난모세포들에 발현된 근육 nAChR을 억제한다고 한다.¹⁾ 이와 같이 5-HT와 ondansetron은 nAChR에서 수용체를 탈감작시키거나 ACh의 작용에 영향을 미치고 있으며 nAChR을 억제하여 신경근 차단을 일으키는 근이완제와 5-HT의 상호 작용에 의해 근이완 효과가 다르게 나타날 수 있을 것이다.

따라서 본 연구는 5-HT이 근육의 nAChR에 교차 상호작용을 일으키는지 알아보기 위하여 흰쥐의 횡격막 신경근 표본을 이용하여 rocuronium의 근이완 작용에 대한 5-HT의 영향에 대하여 알아 보고자 하였다.

대상 및 방법

본 연구는 본원의 동물실험 윤리위원회의 승인을 얻은 후에 실시되었으며 200–250 g의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley rat) 50마리를 대상으로 하였다.

실험을 시작하기 전에 최소 5일 이상 실험실 환경 적응 기간을 가졌다. 흰쥐의 복강 내로 thiopental sodium 40 mg/kg를 투여하여 마취하였다. 흉곽을 분리하여 Krebs 용액(NaCl 118, KCl 5.0, CaCl₂ 2.5, NaHCO₃ 30, KH₂PO₄ 1.0, MgSO₄ 1.0, Glucose 11.4 mM)이 담겨 있는 배양접시에 옮겼다. 횡격막 신경이 부착된 횡격막을 절제하여 신경자극을 위해 고안된 장치로 고정하여 95%의 산소와 5% 이산화탄소가 공급되는 Krebs 용액 100 ml가 들어있는 수조 내에 거치하였다. 신경자극기(S88, Grass, USA)를 이용하여 각각의 stimulation isolation unit (SIU5, Grass, USA)를 통한 0.2 msec의 최대상 자극을 10 초 간격으로 횡격막신경에 가하고 이때 나타나는 횡격막 근육의 단순 연축 반응을 힘변환기(FTO3, Grass, USA)를 이용하여 physiography (Model 79, Grass, USA)로 기록하였다.

각 군당 10마리씩 대조군과 5-HT (5-hydroxytryptamine Creatine Sulfate Complex, Serotonin, SIGMA Chemical, St. Louis, USA) 0.1, 1, 10, 20 µg/ml군의 다섯군으로 무작위로 나누었다. 단순 연축 반응이 나타나면 30분 동안의 안정기를 가진 후 실험을 시작하였다.

누적 용량-반응 실험은 rocuronium 100 µg (에스메론, 한화 제약, 한국)을 Krebs 용액 100 ml에 초회 투여하였고 이후 10분 간격으로 3–5개의 안정된 단일연축자극에 의한 반응이 나타나면 rocuronium 50 µg을 95% 근이완이 나타날 때까지 추가 투여하였다. 5-HT 실험군에서는 rocuronium의 초회 투여와 동시에, 5-HT를 0.1 µg/ml, 1 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml 투여하였다. 최대상자극에서 단일연축자극에 의한 반응의 높이를 $\chi\%$ 감소시키는 데 필요한 rocuronium의 유효용량을 계산하여 ED χ (effective dose to achieve $\chi\%$ decrements of single twitch height at supramaximal intensity)로 나타내었다.

Rocuronium의 용량과 반응의 관계식으로 probit 함수를 가정하고 자료를 변환한 후 혼합선형모형을 이용하여 상관성을 보았다. 또 여기에서 ED₅, ED₅₀, ED₉₀, ED₉₅ 값을 구하고 각 군 간의 차이를 ANOVA 분석을 하였으며 다중비교는 Tukey 방법을 사용하였다. 모든 측정치는 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고 P값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 하였다.

결 과

횡격막 근육의 연축반응을 5% 억제시키는 rocuronium의 ED₅는 대조군에 비해 5-HT 실험군 모두에서 차이가 없었다. 횡격막 근육의 연축반응을 50% 억제시키는 rocuronium의 ED₅₀은 5-HT 20 µg/ml군에서 234 $\pm$ 74.3 µg/dl로 대조군의 315.4 $\pm$ 63.6 µg/dl보다 유의하게 감소하였다(P < 0.05) (Table 1). 횡격막 근육의 연축반응을 90% 억제시키는 rocuronium의 ED₉₀은 5-HT 20 µg/ml군에서 325.7 $\pm$ 116.7 µg/dl로 대조군의 446.3 $\pm$ 80.3 µg/dl보다 유의하게 감소하였다(P < 0.05) (Table 1). 또한 횡격막 근육의 연축반응을 95% 억

Table 1. Effective Dose (ED) of Rocuronium (µg/dl) with Different Concentrations of 5-HT in Krebs Solution

	ED ₅ (n = 10)	ED ₅₀ (n = 10)	ED ₉₀ (n = 10)	ED ₉₅ (n = 10)
Control	147.4 $\pm$ 59.8	315.4 $\pm$ 63.6	446.3 $\pm$ 75.9	483.4 $\pm$ 80.3
5-HT 0.1 µg/ml	138.5 $\pm$ 60.9	301.6 $\pm$ 76.1	428.7 $\pm$ 90.9	464.7 $\pm$ 95.4
5-HT 1 µg/ml	138.8 $\pm$ 36.9	320.5 $\pm$ 59.5	462.1 $\pm$ 83.6	502.2 $\pm$ 90.8
5-HT 10 µg/ml	133.6 $\pm$ 37.3	291.4 $\pm$ 68.7	414.3 $\pm$ 102.9	449.1 $\pm$ 113.1
5-HT 20 µg/ml	116.3 $\pm$ 35.8	234.1 $\pm$ 74.3*	325.7 $\pm$ 116.7*	351.7 $\pm$ 129.2*

Values are mean $\pm$ SD. ED₅, ED₅₀, ED₉₀, ED₉₅: 5, 50, 90, 95% effective dose for twitch depression respectively. *: P < 0.05 compared with control group. 5-HT: 5-hydroxytryptamine.

Fig. 1. Dose-response curve of rocuronium with different concentration of 5-HT in Krebs solution (0.1, 1, 10, 20 $\mu\text{g/ml}$). *: $P < 0.05$ compared with control group. 5-HT: 5-hydroxytryptamine.

제시키는 rocuronium의 ED_{95} 은 5-HT 20 $\mu\text{g/ml}$ 군에서 $351.7 \pm 129.2 \mu\text{g/dl}$ 로 대조군의 $483.4 \pm 80.3 \mu\text{g/dl}$ 보다 유의하게 감소하였다($P < 0.05$)(Table 1). 다른 실험군은 대조군과 차이가 없었다.

용량반응 곡선은 5-HT 20 $\mu\text{g/ml}$ 군에서 대조군에 비하여 유의하게 좌측 이동이 있었다($P < 0.05$)(Fig. 1).

고 찰

본 연구에서 5-HT 20 $\mu\text{g/ml}$ 군이 신경근 접합부의 nAChR에서 rocuronium의 근이완 작용을 강화시키는 것을 알 수 있었다.

nAChR과 5-HT₃R은 LGIC에 속하는데 이외에도 gamma-aminobutyric acid (GABA)와 glycerine 수용체가 있고, 이들은 유전학적으로 같은 기원을 가지고 있으며 중양의 이온 전도 통로를 둘러싸고 있는 소단위들로 이루어져 있다.¹⁰⁾ 각 수용체의 소단위들은 같은 수용체에서는 아미노산 배열이 70%까지 일치하고 다른 수용체들에서는 30–40%까지 일치하는 것으로 알려져 있고 소단위는 공통적으로 세포 밖의 N-말단과 세포막 통과지역(M1-M4), 그리고 세포 밖의 짧은 C-말단으로 구성되어 있는데 N-말단에 배위자 결합 위치가 있다.¹¹⁾ GABA와 glycerine 수용체는 음이온에 의해 억제성 신경전달을 일으키는 반면에 nAChR과 5-HT₃R은 양이온에 의해 흥분성 신경전달을 일으킨다.^{12,13)} 이처럼 두 수용체는 유전적, 구조적, 기능적으로 유사하여 5-HT가 교차 상호작용을 일으킬 가능성이 높다.

nAChR과 5-HT₃R이 결합물질들에 의해 교차 상호작용을 한다는 여러 보고가 있는데 비탈분극성 근이완제인 d-tubocurarine은 nAChR과 5-HT₃R 모두에서 강력한 경쟁적 길항제

로 작용을 하며 두 수용체의 비슷한 부위에서 결합을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁴⁾ 바다뱀 독소인 erabutoxin이 nAChR에 직접 결합하여 차단작용을 나타내는데 5-HT가 이를 억제하며^{15,16)} 황소 개구리 교감신경절의 신경세포에서도 nAChR의 감수성을 감소시킨다.¹⁷⁾

nAChR과 5-HT₃R은 N-말단에 위치한 방향족 아미노산 tryptamine, tyrosine 잔기(residue)들이 결합물질의 결합에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 알려져 있다.^{18,19)} Yan 등은²⁰⁾ tubocurarine이 결합하는 부위가 nAChR의 γ 소단위 tryptamine-55과 δ 소단위 tryptamine-57이며 5-HT₃R의 tryptamine-89부위와 동일하다고 하였다. 그리고 두 수용체와 결합물질의 결합에는 수용체의 방향족 고리(aromatic ring) 표면의 음 정전기 전위와 결합물질의 양전하를 띠는 질소 원자 사이에 형성되는 양이온- π 상호작용이 관여한다.²¹⁾ 이와 같이 이들 잔기의 위치와 기능이 유사하여 두 수용체의 구조적 연관성을 강하게 시사한다.

이번 연구에서 5-HT 20 $\mu\text{g/ml}$ 군에서 rocuronium의 근이완 작용을 강화시킬 수 있었으며 대조군에 비해 5-HT의 농도를 증가시킬수록 근이완제의 용량반응 곡선이 좌측으로 이동하는 추세를 볼 수 있었다. 이는 5-HT이 용량 의존적으로 nAChR를 탈감작할 가능성을 시사한다. 쥐 근육대롱, 인간 클론 TE671/RD cells, 그리고 *Xenopus laevis* 난모세포들에 발현된 근육 nAChR에서 5-HT이 용량 의존적으로 ACh에 의한 전류를 감소시켰으며²²⁾ *Xenopus laevis* 난모세포들에 발현된 신경 nAChR과 근육 nAChR에서 5-HT가 ACh과 경쟁적인 길항제로서 작용하고 nAChR의 작용을 조절한다고 한다.¹⁾ 또한 Akasu와 Koketsu는¹⁷⁾ 황소 개구리 교감신경절의 신경세포에서 5-HT가 ACh의 최대 전류는 일정하게 유지한 상태에서 ACh 용량반응 곡선을 우측으로 이동시켰으며 경쟁적 길항제로 작용한다고 하였다.

5-HT 20 $\mu\text{g/ml}$ 군에서 용량반응 곡선이 대조군에 비해 유의하게 차이가 난 것은 고농도의 5-HT에서는 rocuronium과 분명한 교차 상호작용을 보이고 있으며 rocuronium의 투여 초기에 비해 많은 양이 투여된 후에 근이완이 증강되는 추세는 5-HT와의 상호작용이 지연되어 나타나거나 rocuronium을 소량보다는 대량 투여한 후에 상호작용이 나타나는 것으로 추측된다.

이번 연구는 흰쥐의 횡경막을 이용한 근육 nAChR에서의 연구이다. nAChR은 신경 nAChR과 근육 nAChR으로 나눌 수 있는데 구성하고 있는 소단위에 따라 더 많은 아형으로 나눌 수도 있다.²³⁾ 신경 nAChR은 근육 nAChR과 비교했을 때 여러 가지의 니코틴성 길항제에 대해 다른 감수성을 나타내며 근육 nAChR은 α -bungarotoxin에 의해 차단이 되지만 신경 nAChR은 차단되지 않는다.^{24,25)} 뿐만 아니라 신경 nAChR의 α , β 소단위의 구성에 따라 ACh이나 nicotine의

민감도가 차이가 난다.²⁶⁾ 따라서 5-HT에 대한 반응도 두 nAChR에서 다르게 나타날 수 있다. 성인에 비해 태아의 nAChR은 ϵ 소단위가 γ 소단위로 바뀌어 있는데 태아의 nAChR은 성인에 비해 5-HT에 의해 더욱 강하게 탈감작화 된다.²²⁾ 포유류의 와우 및 전정에는 $\alpha 9$, $\alpha 10$ 소단위가 포함되어 있는 nAChR가 있으며 또한 5-HT을 분비하는 신경이 분포되어 있다.²⁷⁾ 이 5-HT에 의해 주머니 털세포의 신경 전달작용에 영향을 미칠 수가 있다.²⁸⁾ 이처럼 소단위가 다르게 구성된 nAChR들은 민감도의 차이는 있지만 5-HT의 영향을 받는 것으로 보인다.

약물의 작용은 종과 수용체의 아형에 따라 달라질 수 있고 생체 내에서는 약력학적 요소가 함께 작용하므로 임상에서 5-HT이 근이완제에 얼마나 영향을 미치는지 평가하기는 어렵다. 예를 들어 5-HT₃R에서 d-tubocurarine의 역가는 인간과 생쥐에서 약 1,800배의 차이가 있는 것으로 알려져 있다.²⁹⁾ 그러나 수술 후 잔여 근이완 효과가 있는 상태에서 구역, 구토를 억제하기 위해 granisetron, ondansetron을 과량 투여할 경우 잔여 근이완 작용이 증가될 수 있다.³⁰⁾ 이 외에 알레르기나 천식환자의 경우 혈소판에서 5-HT의 분비가 증가될 수 있으므로^{31,32)} nAChR의 기능에 영향을 줄 수 있음을 고려하여야 한다. 따라서 5-HT의 체내 분비가 증가될 수 있는 환자, 또는 5-HT에 영향을 줄 수 있는 약물을 투여하는 환자에서는 근이완제를 투여할 때 신경근 감시를 하여야 하고 잔여 근이완 효과에 유의해야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Cross KM, Foreman RC, Chad JE: Enhancement by 5-hydroxytryptamine and analogues of desensitization of neuronal and muscle nicotinic receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *Br J Pharmacol* 1995; 114: 1636-40.
2. Yamada M, Tokimasa T, Koketsu K: Effects of histamine on acetylcholine release in bullfrog sympathetic ganglia. *Eur J Pharmacol* 1982; 82: 15-20.
3. Ariyoshi M, Hasuo H, Koketsu K, Ohta Y, Tokimasa T: Histamine is an antagonist of the acetylcholine receptor at the frog endplate. *Br J Pharmacol* 1985; 85: 65-73.
4. Bradley PB, Engel G, Feniuk W, Fozard JR, Humphrey PP, Middlemiss DN, et al: Proposals for the classification and nomenclature of functional receptors for 5-hydroxytryptamine. *Neuropharmacology* 1986; 25: 563-76.
5. Hirai K, Koketsu K: Presynaptic regulation of the release of acetylcholine by 5-hydroxytryptamine. *Br J Pharmacol* 1980; 70: 499-500.
6. Wallis DI, North RA: The action of 5-hydroxytryptamine on single neurones of the rabbit superior cervical ganglion. *Neuropharmacology* 1978; 17: 1023-8.
7. Watanabe S, Koketsu K: 5-HT hyperpolarization of bullfrog sympathetic ganglion cell membrane. *Experientia* 1973; 29: 1370-2.
8. Colomo F, Rahamimoff R, Stefani E: An action of 5-hydroxytryptamine on the frog motor end-plate. *Eur J Pharmacol* 1968; 3: 272-4.
9. Markham A, Sorkin EM: Ondansetron. An update of its therapeutic use in chemotherapy-induced and postoperative nausea and vomiting. *Drugs* 1993; 45: 931-52.
10. Ortells MO, Lunt GG: Evolutionary history of the ligand-gated ion-channel superfamily of receptors. *Trends Neurosci* 1995; 18: 121-7.
11. Betz H: Ligand-gated ion channels in the brain: the amino acid receptor superfamily. *Neuron* 1990; 5: 383-92.
12. Absalom NL, Lewis TM, Schofield PR: Mechanisms of channel gating of the ligand-gated ion channel superfamily inferred from protein structure. *Exp Physiol* 2004; 89: 145-53.
13. Grenningloh G, Rienitz A, Schmitt B, Methfessel C, Zensen M, Beyreuther K, et al: The strychnine-binding subunit of the glycine receptor shows homology with nicotinic acetylcholine receptors. *Nature* 1987; 328: 215-20.
14. Yan D, Pedersen SE, White MM: Interaction of D-tubocurarine analogs with the 5HT₃ receptor. *Neuropharmacology* 1998; 37: 251-7.
15. Kato E, Kuba K, Koketsu K: Effects of elabutoxins on neuromuscular transmission in frog skeletal muscles. *J Pharmacol Exp Ther* 1978; 204: 446-53.
16. Koketsu K, Akasu T, Miyagawa M, Hirai K: Biogenic antagonists of the nicotinic receptor: their interactions with erabutoxin. *Brain Res* 1982; 250: 391-3.
17. Akasu T, Koketsu K: 5-Hydroxytryptamine decreases the sensitivity of nicotinic acetylcholine receptor in bull-frog sympathetic ganglion cells. *J Physiol* 1986; 380: 93-109.
18. Price KL, Lummis SC: The role of tyrosine residues in the extracellular domain of the 5-hydroxytryptamine₃ receptor. *J Biol Chem* 2004; 279: 23294-301.
19. Spier AD, Lummis SC: The role of tryptophan residues in the 5-Hydroxytryptamine (3) receptor ligand binding domain. *J Biol Chem* 2000; 275: 5620-5.
20. Yan D, Schulte MK, Bloom KE, White MM: Structural features of the ligand-binding domain of the serotonin 5HT₃ receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 5537-41.
21. Beene DL, Brandt GS, Zhong W, Zacharias NM, Lester HA, Dougherty DA: Cation- π interactions in ligand recognition by serotonergic (5-HT_{3A}) and nicotinic acetylcholine receptors: the anomalous binding properties of nicotine. *Biochemistry* 2002; 41: 10262-9.
22. Grassi F, Polenzani L, Mileo AM, Caratsch CG, Eusebi F, Miledi R: Blockage of nicotinic acetylcholine receptors by 5-hydroxytryptamine. *J Neurosci Res* 1993; 34: 562-70.
23. Luetje CW, Patrick J, Seguela P: Nicotine receptors in the mammalian brain. *Faseb J* 1990; 4: 2753-60.
24. Steinbach JH, Ifune C: How many kinds of nicotinic acetylcholine receptor are there? *Trends Neurosci* 1989; 12: 3-6.
25. Brown DA, Fumagalli L: Dissociation of α -bungarotoxin binding

- and receptor block in the rat superior cervical ganglion. *Brain Res* 1977; 129: 165-8.
 26. Luetje CW, Patrick J: Both alpha- and beta-subunits contribute to the agonist sensitivity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci* 1991; 11: 837-45.
 27. Gil-Loyzaga P, Bartolome V, Vicente-Torres A, Carricondo F: Serotonergic innervation of the organ of Corti. *Acta Otolaryngol* 2000; 120: 128-32.
 28. Rothlin CV, Lioudyno MI, Silbering AF, Plazas PV, Casati ME, Katz E, et al: Direct interaction of serotonin type 3 receptor ligands with recombinant and native alpha 9 alpha 10-containing nicotinic cholinergic receptors. *Mol Pharmacol* 2003; 63: 1067-74.
 29. Miyake A, Mochizuki S, Takemoto Y, Akuzawa S: Molecular cloning of human 5-hydroxytryptamine₃ receptor: heterogeneity in distribution and function among species. *Mol Pharmacol* 1995; 48: 407-16.
 30. Paul M, Callahan R, Au J, Kindler CH, Yost CS: Antiemetics of the 5-hydroxytryptamine 3A antagonist class inhibit muscle nicotinic acetylcholine receptors. *Anesth Analg* 2005; 101: 715-21.
 31. Lechin F, van der Dijs B, Orozco B, Lechin M, Lechin AE: Increased levels of free serotonin in plasma of symptomatic asthmatic patients. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1996; 77: 245-53.
 32. Malmgren R, Grubbstrom J, Olsson P, Theorell H, Tornling G, Unge G: Defective serotonin (5-HT) transport mechanism in platelets from patients with endogenous and allergic asthma. *Allergy* 1982; 37: 29-39.
-