

Cortisone 및 Calcium이 局所麻醉藥의 Acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 미치는 影響

서울大學校 齒科大學

裴庚洪 · 咸鍾大 · 李相信

EFFECTS OF CORTISONE AND CALCIUM ON THE DEPRESSIVE EFFECTS OF LOCAL ANESTHETICS ON THE ACETYLCHOLINE-INDUCED SKELETAL MUSCLE CONTRACTION.

School of Dentistry, Seoul National University.

Bai, Yu-Hong, D.D.S., Hahm, Jhong-Dai, D.D.S., Lee, Sang-Sin, D.D.S.

Abstract

The authors have investigated the roles of cortisone and calcium on the depressive effects of local anesthetics on the acetylcholine-induced skeletal muscle contraction in frog.

The results are as follows.

1. Tetracaine, cocaine, lidocaine and procaine decreased the acetylcholine-induced skeletal muscle contraction.
2. Cortisone increased the depressive effects of local anesthetics on the acetylcholine-induced skeletal muscle contraction.
3. There was a tendency that in high calcium concentration, the depressive effects of cocaine and lidocaine on acetylcholine-induced skeletal muscle contraction were increased.

I. 緒 論

局所麻醉藥은 神經과 筋肉에서 sodium과 potassium의 移動에 關與함으로써 electrophysiological effects를 나타낸다¹⁻³⁾. 卽 局所麻醉藥은 개구리의 骨格筋에서 安定時期¹⁾와 活動電壓發生時期²⁾에 骨格筋 細胞膜의 透過性을 低下시킨다.

또한 局所麻醉藥은 筋神經接合部에서의 impulse의 傳達을 抑制시키는 바 이러한 局所麻醉藥의 效果는 局所麻

醉藥이 運動神經의 末端部位에서 acetylcholine의 生成을 減少시키기 때문이다⁴⁾.

한편 acetylcholine이 筋神經接合部에 作用하여 筋攣縮을 일으키고 筋神經接合部에 抑制의으로 作用하는 藥物은 acetylcholine의 筋攣縮效果를 減少乃至遮斷시킨다는 것은 周知의 事實이다⁵⁾.

Locke⁶⁾가 筋攣縮機轉에 Ca^{++} 이 關與한다고 最初로 報告한 以後 Feng⁷⁾은 骨格筋을 攣縮시키는 Ca^{++} 의 作用은 Ca^{++} 이 筋肉自體에 作用해서 일어나는 現象이 아

니고 Ca^{++} 이 synapse部位에 作用하여 acetylcholine의 遊離를 促進시키므로서 일어나는 現象이라고 하였으며, Harvey와 Macintosh⁸⁾는 Ca^{++} 의 不在下에서는 交感神經을 電氣刺戟하거나 potassium을 注射해도 節前纖維末端으로부터 acetylcholine이 遊離되지 않는다고 報告하였다. Hutter와 Kostial⁹⁾은 高濃度の Ca^{++} 은 筋神經接合部에서 acetylcholine의 遊離를 倍加시켰고, slow frog skeletal muscle로부터 Ca^{++} 을 涸渴시킨 境遇에 Na^+ 에 依해서 筋肉의 tension이 招來되며¹⁰⁾, 局所麻酔藥은 erythrocyte ghost에서 Ca^{++} 과 拮抗의 作用하여 細胞膜과 結合되어 있는 Ca^{++} 과 置換된다¹¹⁾. 뿐만 아니라 局所麻酔藥과 quinindine은 骨格筋 microsome 內에서 Ca^{++} 과 拮抗의 作用하여 microsome과 結合되어 있는 Ca^{++} 과 置換되기도 한다¹²⁾.

Ca^{++} 은 cortical cell에 作用하여 corticosteroids의 合成과 遊離에 關與하여¹³⁾, Ca^{++} 과 adrenal cortical hormones는 心臟의 glycogen phosphorylase 活性化를 增加시킨다¹⁴⁾ 15).

著者는 acetylcholine筋攣縮效果에 미치는 局所麻酔藥의 影響을 觀察하고, 이러한 局所麻酔藥의 效果에 cortisone과 calcium이 미치는 作用을 觀察하여 相互關係性을 숙지하였기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

實驗動物로는 健康한 개구리를 雌雄의 區別없이 使用하였다. 實驗方法은 斷頭하고 脊髓를 破壞한 개구리를 固定板에 背位로 固定한 後에 腹部皮膚를 切開하여 一個의 腹直筋을 膜帶로부터 肩帶의 軟骨附着部까지 切開하였다. 그리고 이 筋肉을 普通의 길이로 維持되도록 4개의 Pin으로 固定板에 固定하고 筋肉의 兩端을 실로 結찰하여 Magnus병 內에 固定하였다. Magnus병의 溶液은 冷血動物用 Ringer 溶液을 使用하였고 이 溶液內에 繼續해서 酸素를 供給하였으며, 全實驗은 室溫下에서 施行하였다.

Acetylcholine의 腹直筋에 對한 攣縮效果를 觀察하기 爲해서 Magnus병 下端에 位置하고 있는 고무튜브를 열어서 Ringer液을 버리고 $\frac{1}{2} \times 10^{-5}$ acetylcholine이 舍有된 Ringer液을 Magnus병에 注入한 後에 kymography의 drum을 回轉시키면서 正確히 90秒間 그 效果를 觀察하고 回轉을 中止시켰다. 이어서 acetylcholine이 舍有된 溶液을 버리고 正常 Ringer液으로 交換한 後 heber를 가볍게 눌러 筋肉을 原來의 길이로 復舊시켰다. 5分後에 같은 濃度の acetylcholine 溶液을 加해서 同一時間을 作用시켜 前後의 兩效果가 같을 때에 다음 實驗으로

移行하였다.

i) Acetylcholine의 筋攣縮效果에 對한 局所麻酔藥의 作用에 關한 實驗.

Acetylcholine의 筋攣縮作用에 對한 局所麻酔藥의 效果를 觀察하기 爲하여 10^{-6} , 10^{-5} , $\frac{1}{2} \times 10^{-4}$, 10^{-4} , $\frac{1}{2} \times 10^{-3}$, 10^{-3} , 濃度の tetracaine, cocaine, lidocaine, procaine을 acetylcholine과 併用한 境遇에 나타나는 筋攣縮效果를 acetylcholine單獨使用時에 나타난 筋攣縮效果와 比較觀察하였다.

ii) 局所麻酔藥의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 對한 cortisone의 作用에 關한 實驗.

局所麻酔藥의 acetylcholine筋攣縮抑制效果에 對해서 cortisone이 어떠한 效果를 나타내는가를 觀察하기 爲해서 10^{-4} 濃度の cortisone을 1分 慈은 5分間 筋肉에 前處置한 後에 上記한 濃度の tetracaine, cocaine, lidocaine, procaine을 各各 加했을 때 나타나는 acetylcholine 筋攣縮效果를 局所麻酔藥 單獨處置時 나타났던 acetylcholine 筋攣縮效果와 比較觀察하였다.

iii) 局所麻酔藥의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 對한 Ca의 作用에 關한 實驗.

局所麻酔藥의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 對한 Ca의 作用을 觀察하기 爲하여 1mM, 2mM, 8mM, 16mM 濃度の $CaCl_2$ 를 10^{-3} lidocaine 및 10^{-4} cocaine과 併行해서 筋에 作用 했을 때 나타나는 acetylcholine 筋攣縮效果를 局所麻酔藥 單獨作用時 나타나는 acetylcholine 筋攣縮效果와 比較觀察하였다.

本實驗에 使用한 藥物은 procaine HCl (Sigma), lidocaine HCl(京華藥品) cocaine HCl(East man Chemical), tetracaine (Sigma), cortisone acetate (Medical Chemicals Corp) 등이었다.

III. 實驗成績

1) 局所麻酔劑의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果(Fig.1)

1. Procaine

10^{-3} procaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制率은 29%였으며, $\frac{1}{2} \times 10^{-3}$ 濃度에서는 11%, 10^{-4} 濃度에서는 5%, 10^{-5} 濃度에서는 0%의 抑制率을 나타냈다.

2. Cocaine

10^{-3} cocaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制率은 97%, $\frac{1}{2} \times 10^{-3}$ 濃度에서는 89%, 10^{-4} 濃度에서 31% 및 10^{-5} 濃度에서 1.2%의 抑制率을 나타냈다.

3. Lidocaine

10^{-3} lidocaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制率은 73

%, $\frac{1}{2} \times 10^{-3}$ 濃度에서는 37%, 10^{-4} 濃度에서는 13%, 10^{-5} 濃度에서는 5%, 10^{-6} 濃度에서는 0%의 抑制率을 나타냈다.

4. Tetracaine

10^{-3} tetracaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制藥은 100%, 10^{-4} 濃度에서는 89%, $\frac{1}{2} \times 10^{-4}$ 濃度에서는 73%, 10^{-5} 濃度에서는 9%, 10^{-6} 濃度에서는 0%의 抑制率을 나타냈다.

2) Cortisone 前處置가 局所麻酔藥의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 미치는 影響 (Fig. 2.)

10^{-4} cortisone을 1分間 前處置한 境遇에 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} procaine, 10^{-3} , $\frac{1}{2} \times 10^{-3}$, 10^{-4} , 10^{-5} lidocaine, 10^{-3} , $\frac{1}{2} \times 10^{-3}$, 10^{-4} , 10^{-5} Cocaine, 및 10^{-3} , 10^{-4} , $\frac{1}{2} \times 10^{-4}$, 10^{-5} , 10^{-6} tetracaine의 acetylcholine 筋攣

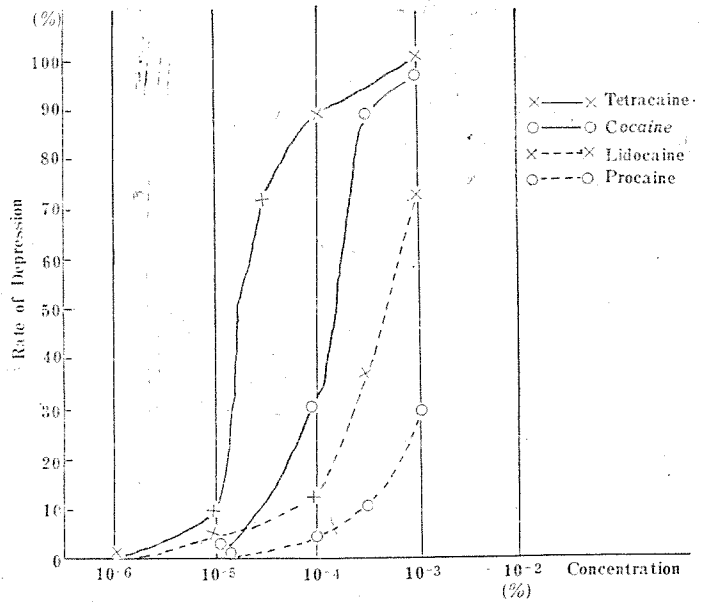
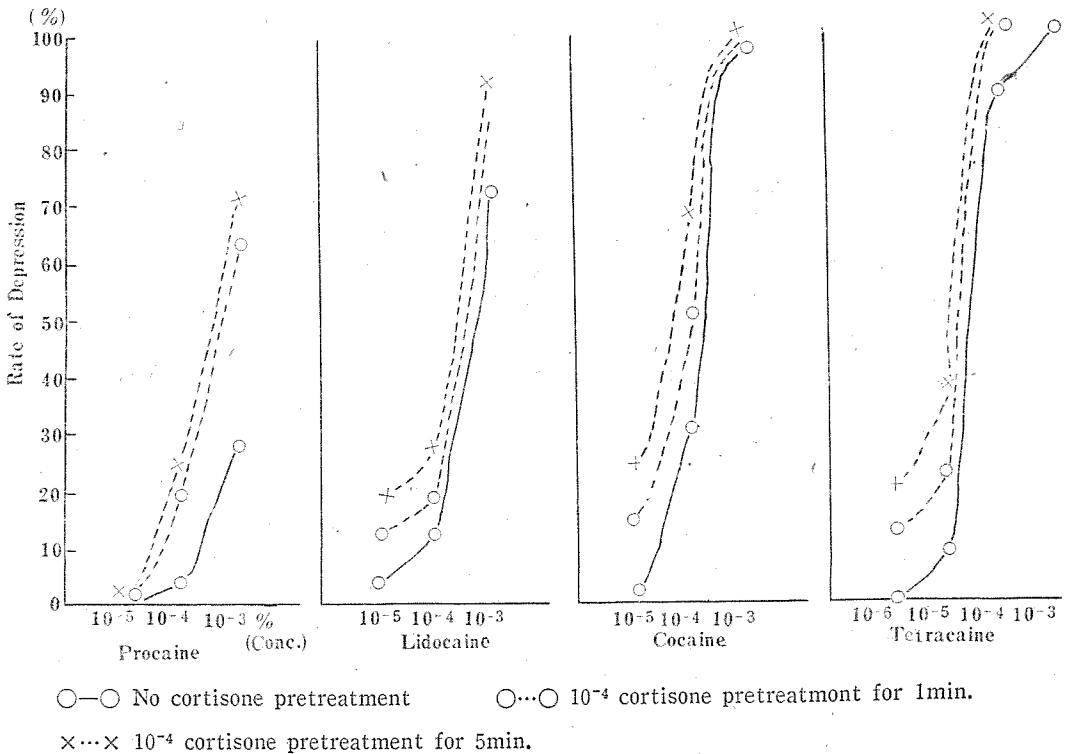


Fig. 1 Depressive effects of local anesthetics on the acetylcholine-induced skeletal muscle contraction in frog.



○—○ No cortisone pretreatment ○---○ 10^{-4} cortisone pretreatment for 1min.
 ×---× 10^{-4} cortisone pretreatment for 5min.

Fig. 2 Effects of cortisone pretreatment on the depressive effect of local anesthetics on the Ach-induced skeletal muscle contraction in frog.

縮抑制率은 各各 63%, 21%, 2%, (procaine), 86%, 72%, 20%, 14%, (lidocaine), 99%, 92%, 50%, 15%, (cocaine) 및 100%, 91%, 89%, 23%, 13%, (tetracaine)를 나타냈다.

또한 10^{-4} cortisone을 5分間 前處置한 境遇에 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} procaine, 10^{-3} , $\frac{1}{2} \times 10^{-3}$, 10^{-4} , 10^{-5} lidocaine, 10^{-3} , $\frac{1}{2} \times 10^{-3}$, 10^{-4} , 10^{-5} cocaine 및 10^{-4} , $\frac{1}{2} \times 10^{-4}$, 10^{-5} , 10^{-6} tetracaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制率은 各各 72%, 26%, 2% (procaine), 92%, 78%, 29%, 19% (lidocaine) 100%, 92%, 69%, 25%, (Cocaine), 및 100%, 93%, 36%, 21%, (tetracaine))를 나타냈다.

3) Calcium이 局所麻醉劑의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 미치는 影響(Fig. 3)

1. Calcium이 lidocaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 미치는 影響.

1, 2, 8, 16mM의 calcium을 10^{-3} lidocaine과 함께 筋肉에 作用시킨 境遇 acetylcholine 筋攣縮抑制率은 各各 36%, 27%, 52%, 78%였다.

2. Calcium이 cocaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 미치는 影響.

1, 2, 8, 16mM의 calcium을 10^{-4} cocaine과 함께 筋肉에 作用시킨 境遇 acetylcholine 筋攣縮抑制率은 各各 21%, 17%, 13%, 20%였다.

VI. 考 察

Ca^{++} 이 細胞膜의 electrical excitability를 維持하는데 必須인 因子라는 것은 周知의 事實이다. 即 細胞膜의 Ca^{++} 濃度가 低下될 時 細胞膜의 活動電壓의 發生이 抑制되는데 局所麻醉藥은 Ca^{++} 과 拮抗적으로 作用하므로서 活動電壓을 일으키는 Na^+ channels를 遮斷할지도 모른다는 생각을 하게 되었다⁶⁾. 실제로 局所麻醉藥效果를 保有하고 있는 chlorpromazine은 $1-10\mu M$ 의 濃度에서 細胞膜과 結合되어 있는 Ca^{++} 과 置換된다¹¹⁾. 本實驗에서 tetracaine, cocaine, lidocaine, procaine 등은 acetylcholine 筋攣縮效果를 顯著히 抑制시켰는데 이러한 局所麻醉藥의 效果는 Jaco 및 Wood⁴⁾의 報告와 一致한다. 局所麻醉藥이 外部에서 投與된 acetylcholine의 筋攣縮效果를 抑制하는 機轉은 알려져 있지 않으나 神經細胞의 軸索突起末端에서 細胞膜이 depolarization

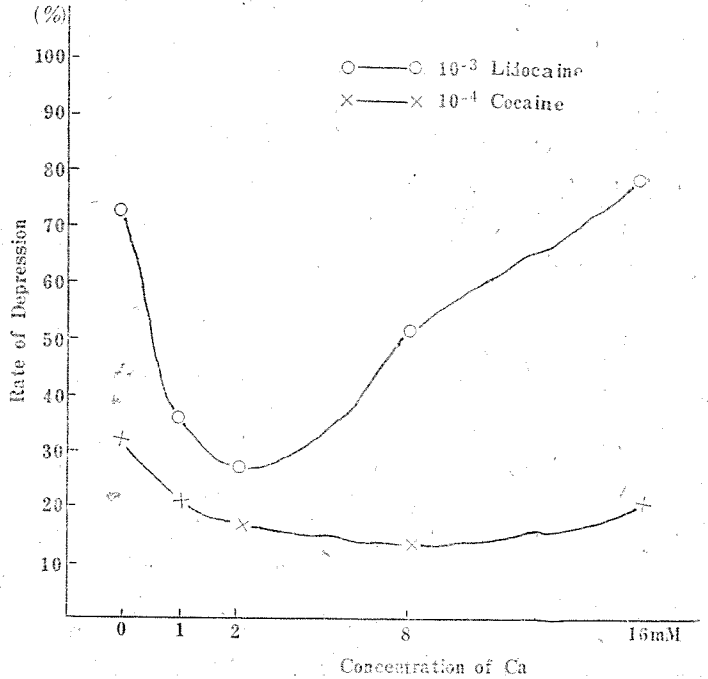


Fig. 3 Effect of calcium on the depressive effect of local anethetis on the Ach-induced skeletal muscle contraction in frog

되면 細胞膜의 外部에 있던 Ca^{++} 이 細胞膜內로 들어오게 되고 이어서 軸索突起末端에서 acetylcholine이 遊離되는 事實¹⁰⁾으로 미루어보아 局所麻醉藥이 Ca^{++} 과 細胞膜이 結合되는 것을 抑制하므로서 外因性 acetylcholine의 筋攣縮效果를 抑制시키는 것 같지 않다. 故로 局所麻醉藥은 acetylcholine이 作用하여 일어나는 postsynaptic excitation 過程中 어느 過程을 遮斷시키는 것이 라고 思料된다.

Cortisone을 1分乃至 5分間 개구리 骨格筋에 前處置한 後에 局所麻醉藥의 acetylcholine 筋攣縮效果를 觀察한바 局所麻醉藥의 acetylcholine 筋攣縮效果가 더욱 上昇되었다. 이러한 cortisone의 作用은 cortisone을 繼續해서 投與하던 體內的 sodium 縮積과 potassium의 排泄이 增加되는 點으로¹²⁾ 미루어보아 cortisone이 細胞膜의 Na-K 透過性에 어떤 作用을 나타내어 이 作用이 局所麻醉藥의 細胞膜乃至는 postsynaptic excitation에 對한 作用과 함께 나타나서 局所麻醉藥의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果를 더욱 上昇시키는 것 이 라고 생각된다.

本實驗에서 高濃度의 Ca^{++} 은 局所麻醉藥의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果를 上昇시켰는데 이는 高濃度의 Ca^{++} 은 筋神經接合部의 細胞膜에서 Na^+ 과 K^+ 의 透過性을 抑制하므로서 筋攣縮을 減少시키고, 低濃度의 Ca^{++}

은 이와는 相反된 效果를 나타낸다는 Shanes¹⁸⁾의 報告 一致하였다.

V. 結 論

개구리의 腹直筋에서 cortisone 및 calcium이 局所 麻酔藥의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果에 미치는 影響을 觀察한바 아래와 같은 結論을 얻었다.

1. Tetracaine, cocaine, lidocaine 및 procaine은 acetylcholine 筋攣縮效果를 抑制시켰다.

2. Cortisone은 tetracaine, cocaine, lidocaine 및 procaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果를 上昇시켰다.

3. 高濃度の Ca^{++} 은 cocaine과 lidocaine의 acetylcholine 筋攣縮抑制效果를 上昇시키는 傾向을 나타내었다.

(本論文 作成에 있어서 心身兩面으로 아낌없이 協助 해주신 丁東均副教授님 및 朴魯喜先生님께 深甚한 謝意를 表합니다.)

REFERENCES

- 1) Shanes, A.M.: Drugs and ion effects in frog muscle. *J. Gen. Physiol.* 33 : 729, 1950.
- 2) Taylor, R.E.: Effect of procaine on electrical properties of squid axon membrane. *Am. J. Physiol.* 196 : 1071, 1959.
- 3) Inoue, F. & Frank, G.B.: Action of procaine on frog skeletal muscle. *J.P.E.T.* 136 : 190, 1962.
- 4) Jacó, N.T. and D. R. Wood: The interaction between procaine, cocaine, adrenaline and prostigmine on skeletal muscle. *J.P.E.T.* 82 : 63, 1944.
- 5) Louis, S. Goodman, and Alfred Gilman: The pharmacological basis of therapeutics. 3rd ed. p.468. 1965.
- 6) Locke, F. S.: Notiz über den Einfluss physiologischer Kochsalzlösung auf die elektrische Erregbarkeit Von Muskel und Nerv. *Zentralbl. Physiol.* 8 : 166, 1894.
- 7) Fenge, T.P.: Studies on the neuromuscular junction. II. Universal antagonism between

calcium and curarizing agencies *Chin. J. Physiol.* 10 : 513, 1936.

- 8) Harvey, A.M. and MacIntosh, F.C.: Calcium and synaptic transmission in a sympathetic ganglion. *J. Physiol. (London)* 97 : 408, 1940.
- 9) Hutter, O.F. and Kostial, K.: Effect of magnesium and calcium ions on the release of Ach. *J. Physiol. (London)* 124 : 234, 1954.
- 10) Irwin, R.L. and Oliver, K.L.: Sodium-induced tension in slow skeletal muscle deprived of external calcium. *Am. J. Physiol.* 217 : 13, 1969.
- 11) Kwant, W.O. and Seeman, P.: The displacement of membrane Ca by a local anesthetic (Chlorpromazine). *Biochim. Biophys. Acta.* 193 : 338, 1969.
- 12) Bondani, A. and Karler, R.: Interaction of calcium and local anesthetics with skeletal muscle microsomes. *J. Cellular Physiol.* 75 : 199, 1970.
- 13) Bar, H.P. and Hechter, O.: Adenyl cyclase and hormone action. III. Calcium requirement for ACTH stimulation of adenyl cyclase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 35 : 681, 1969.
- 14) Friesen, A.J.D., Oliver, N. and Allen, G.: Activation of cardiac glycogen phosphorylase by calcium *Am. J. Physiol.* 27 : 445, 1969.
- 15) Hess, M.E., Aronson, C.E., Hottenstein, D. W. and Karp, J.: Effects of adrenal cortical hormones and thyroxine on phosphorylase activity in muscle. *Endocrinology.* 84 : 1107, 1969.
- 16) Katz, B. and Miledi, R.: Input-output relation of a single synapse. *Nature, London.* 212:1242, 1966.
- 17) Louis, S. Goodman and Alfred Gilman: The pharmacological basis of therapeutics. 3rd ed. p.1623, 1965.
- 18) Shanes, A.M.: Movement of calcium in muscle and nerve. The transfer of calcium across biological membrane. Academic Press, Inc. New York. 1963.