

상경부교감신경절블록은 백서의 영구국소뇌허혈에서 초기의 뇌손상에는 영향을 미치지 못한다

울산대학교 의과대학 서울아산병원 마취통증의학과

김현혜 · 임정길 · 신진우 · 심지연 · 이동명

Superior Cervical Sympathetic Ganglion Block may not Influence Early Brain Damage Induced by Permanent Focal Cerebral Ischemia in Rats

Hyun Hae Kim, M.D., Jeong Gill Leem, M.D., Jin Woo Shin, M.D., Ji Yeon Shim, M.D., and Dong Myung Lee, M.D.

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

Background: Cerebral blood vessels are innervated by sympathetic nerves from the superior cervical ganglion (SCG). The purpose of the present study was to evaluate the neuroprotective effect of superior cervical sympathetic ganglion block in rats subjected to permanent focal cerebral ischemia.

Methods: Thirty male Sprague-Dawley rats (270-320 g) were randomly assigned to one of three groups (control, lidocaine and ropivacaine). A brain injury was induced in all rats by middle cerebral artery occlusion with a nylon thread. The animals of the local anesthetic group received 30 μl of 2% lidocaine or 0.75% ropivacaine in the SCG. Neurologic scores were assessed 24 hours after brain injury. Brain samples were then collected. The infarct and edema ratios were measured by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining.

Results: There were no differences in the death rates, neurologic scores, or infarction and edema ratios between the three groups.

Conclusions: These findings suggest that superior cervical sympathetic ganglion block may not influence the brain damage induced by permanent focal cerebral ischemia in rats. (Korean J Pain 2008; 21: 33-37)

Key Words: cervical sympathetic ganglion block, focal cerebral ischemia, rat.

서 론

노령인구와 성인병이 증가하는 상황에서 뇌졸중은 주요한 사망원인일 뿐만 아니라 불구 및 장애를 초래한다. 뇌졸중의 80-90%는 혈전색전증이 원인이며 주로 중대 뇌동맥과 그 분지에서 발생한다.¹⁾ 뇌혈관 폐색으로 산소와 포도당의 공급이 중단되면 세포생존에 필수적인 고에너지 화합물(high energy compounds)이 급격히 고갈되

어 신경원의 손상이 발생한다.²⁾

지금까지 동물실험을 통하여 허혈로 인한 신경손상의 기전을 밝히고 세포자멸사로 인한 이차손상을 최소화하려는 많은 연구가 있었지만³⁻⁶⁾ 자율신경계의 역할에 대해서는 알려진 바가 많지 않다. 대뇌혈관을 지배하는 교감신경을 차단하면 대뇌순환과 측부순환이 개선되고,⁷⁾ 경막하출혈 환자에서 혈관연축을 방지하여 지연손상을 감소시킬 수 있다고 하며,⁸⁾ 베타차단제와 알파-2 아드레날린 작용제 또한 국소 뇌허혈에서 신경보호효과가 있

접수일 : 2008년 1월 15일, 승인일 : 2008년 2월 5일
책임저자 : 임정길, (138-736) 서울시 송파구 풍납 2동 388-1
서울아산병원 마취통증의학과
Tel: 02-3010-3868, Fax: 02-470-1363
E-mail: jgleem@amc.seoul.kr

Received January 15, 2008, Accepted February 5, 2008
Correspondence to: Jeong-Gill Leem
Department of Anesthesiology and Pain Medicine,
Asan Medical Center, Ulsan University College of Medicine,
388-1, Pungnap 2-dong, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea
Tel: +82-2-3010-3868, Fax: +82-2-470-1363
E-mail: jgleem@amc.seoul.kr

다고 하였으나⁹⁻¹¹⁾ 신경보호효과가 없다는 상반된 보고도 있다.¹²⁾ 또 알츠하이머병 동물모델에서 선택적으로 콜린탈신경(cholinergic denervation)을 유도하면 해마(hippocampus)로 자율신경이 증식되어 들어 오며 그 결과 세포자멸사가 감소한다는 보고가 있고,¹³⁾ 소뇌의 꼭지핵(fastigial nucleus)을 전기적으로 자극하면 교감신경 유출이 증가하며 중대뇌동맥의 영구폐색으로 인한 경색면적이 감소하지만, 이는 뇌혈류의 증가나 대사량의 감소와 관계없는 신경인성신경보호효과(neurogenic neuroprotection)에 기인한다는 연구결과도 있다.^{14,15)}

이에 저자들은 중대뇌동맥의 영구 폐쇄로 허혈뇌손상을 유발시킨 백서에서 국소마취제를 사용한 상경부교감신경절 블록이 신경보호효과가 있는지 알아보았다.

대상 및 방법

1. 허혈손상

실험은 동물실험 윤리위원회의 승인을 얻어 시행하였으며, 동 위원회의 동물관리 규정을 준수하였다.

체중 270-320 g의 웅성 Sprague-Dawley 백서를 무작위로 10마리씩 대조군, lidocaine군과 ropivacaine군으로 분류하였다. 백서들은 12시간 간격으로 명암이 조절되는 사육실에서 실험 당일까지 정상적으로 물과 먹이를 섭취하도록 하였다.

복강 내로 zoletil 12.5 mg과 xylazine 3 mg을 주사한 후 목부위의 털을 제거하고 동물 고정대에 양와위로 고정하였다. 체온계를 직장 내로 거치시키고 가온패드를 이용하여 체온이 36.5°C 내외로 유지되도록 하였으며 시술 중 동물의 자발호흡은 적절히 유지되도록 하였다.

경부에 정중절개를 하고 해부현미경하에서 주위의 갑상선, 신경, 근막을 박리한 뒤 좌측 총경동맥을 내경동맥과 외경동맥의 분지점까지 노출시켰다. 외경동맥과 내경동맥의 원위부를 4-0 면봉합사를 사용하여 느슨하게 묶고 curved microvascular clip을 총경동맥에 거치한 뒤 외경동맥을 절개하였다. 절개한 틈으로 끝을 가열하여 부드럽게 만든 4-0 nylon monofilament 봉을 저항이 느껴질 때까지 20-21 mm 정도 삽입하여 중대뇌동맥의 혈류를 차단하였다.

중대뇌동맥의 수술조작 후 국소마취제군은 2% lidocaine 혹은 0.75% ropivacaine 30 μl를, 대조군은 동량의 생리식염수를 혈류 차단 직후와 1시간 후 상경부교감신경절 부위에 도포하였다. 중대뇌동맥을 폐쇄하고 난 2시간 후 총경동맥에 거치한 microvascular clip을 제거하고

피부를 봉합한 다음 마취에서 회복되는 것을 확인하고 사육실로 이동하였다.

2. 신경학적 점수 측정

뇌허혈 손상 후 24시간에 생존한 백서의 신경학적 점수를 확인하였다. 신경학적 점수는 정상을 0점, 꼬리를 잡아 들어올렸을 때 반대편 앞다리를 구부리는 경우 1점, 반대편 앞다리의 잡는 힘이 감소한 경우를 2점, 꼬리를 잡아당길 때 반대편으로 도는 경우를 3점, 가만히 두었을 때도 반대편으로 도는 행동을 보이는 경우를 4점으로 하였다.¹⁶⁾

3. 경색면적과 뇌부종

신경학적 점수를 측정된 후 zoletil 12.5 mg과 xylazine 3 mg을 이용하여 마취하고 단두하여 뇌를 신속히 적출하였다. 적출한 뇌는 관측면을 따라 2 mm 간격으로 절단하였다.

중대뇌동맥이 분지하는 지점으로부터 전두엽 방향으로 2 mm 간격으로 절단된 조직을 생리 식염수에 녹인 2% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride에 37°C에서 30분간 담그어 염색하고 10% phosphate-buffered formaline을 이용해 4°C에서 고정시켰다. 경색부위의 면적은 image analysis system (Window version, Image J, NIH)을 이용해 분석하였고, 경색의 비율은 경색된 면적을 동측 뇌반구의 전체 면적으로 나누어 환산하였다. 경색부위의 뇌부종 형성 정도는 같은 절단면 내의 양측 대뇌반구의 면적 비로 계산하였다.

4. 통계 처리

대조군과 국소마취제 투여군 간의 사망률과 신경학적 점수의 비교는 Chi-square검증을 하였고, 경색과 부종면적 비교에는 Kruskal-Wallis test를 이용하여 분석하고 P값이 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

신경손상 후 사망한 개체는 대조군, lidocaine군과 ropivacaine군이 각각 3, 4, 3마리로 군 간 차이가 없었으며 신경학적 점수도 차이가 없었다(Table 1).

중대뇌동맥 결찰로 기저핵과 측두엽 쪽으로 뇌분수계 경색(watershed infarction)이 발생하지만(Fig. 1) 뇌경색 면적과 뇌부종 형성의 정도는 세 군 간 차이가 없었다(Fig. 2).

고 찰

본 연구에서 중대뇌동맥의 폐쇄로 인한 허혈뇌손상에 서 상경부교감신경절블록은 초기 사망률과 신경학적 점수 및 뇌경색 면적과 뇌부종 형성에 영향이 없었다. 이는 상경부교감신경절블록이 허혈손상에 대한 뇌보호효과가 없다는 것을 시사한다.

대뇌 혈관은 교감신경계의 지배를 받으며, 주로 상경부

교감신경절에 의해 이루어 진다. 세동맥의 90% 이상이 adrenergic 신경분포를 받으며, 연질막 혈관(pial vessel)은 non-adrenergic 교감신경의 지배를 받는다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 그러나 뇌혈관의 조절에 대한 외인성 교감신경의 기능과 중요성에 대해서는 아직 정확히 알려진 것이 없다. 오히려 교감신경 차단에 의한 대뇌혈류의 변화는 거의 미미한 것으로 보고되고 있고, 정상적인 대뇌혈류에 대한 교감신경의 중요성은 논란의 여지가 많다.²⁰⁾ 이는 대뇌혈관의 조절에 교감신경이 제한적으로 작용하기 때문이다. 두개 외혈관은 상경부교감신경절로부터 기인한 교감신경의 지배를 받지만 대뇌혈관이 뇌실질 내로 들어가면 피질 밑으로부터 기인한 신경의 지배를 받게 되며 혈관주위 신경(perivascular nerve)에서 분비되는 신경전달물질 또는 그 매개체에 의해 조절된다.²¹⁾ 그러나 교감신경에 의한 대뇌혈류의 변화를 관찰한 보고들도 많다. 경부교감신경의 차단은 지주막하 출혈 후 발생하는 뇌혈관연축

Table 1. Death Rate and Neurologic Scores

	Control (n = 10)	Lidocaine (n = 10)	Ropivacaine (n = 10)
Number of dead animals	3	4	3
Median values of neurologic scores (number of animals)	3 (7)	3 (6)	3 (7)

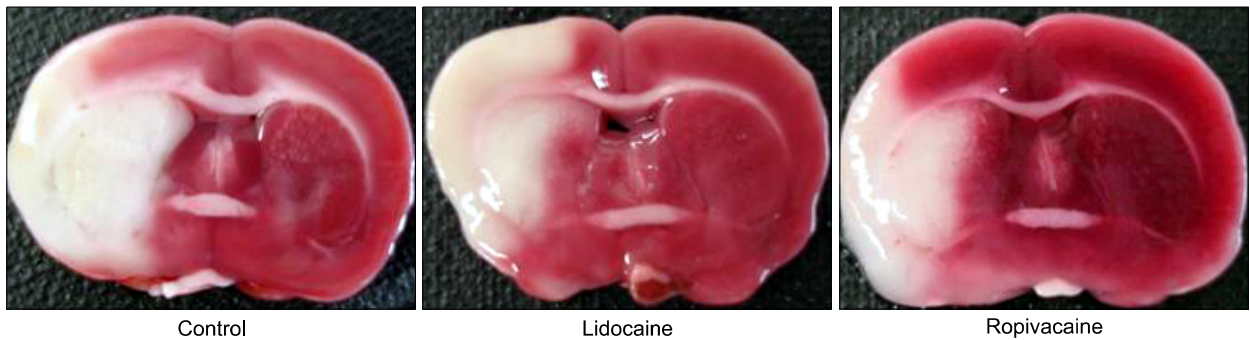


Fig. 1. Representative 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride stained brain sections from the control, lidocaine and ropivacaine group of animals are shown. The white areas represent the infarct regions in these sections.

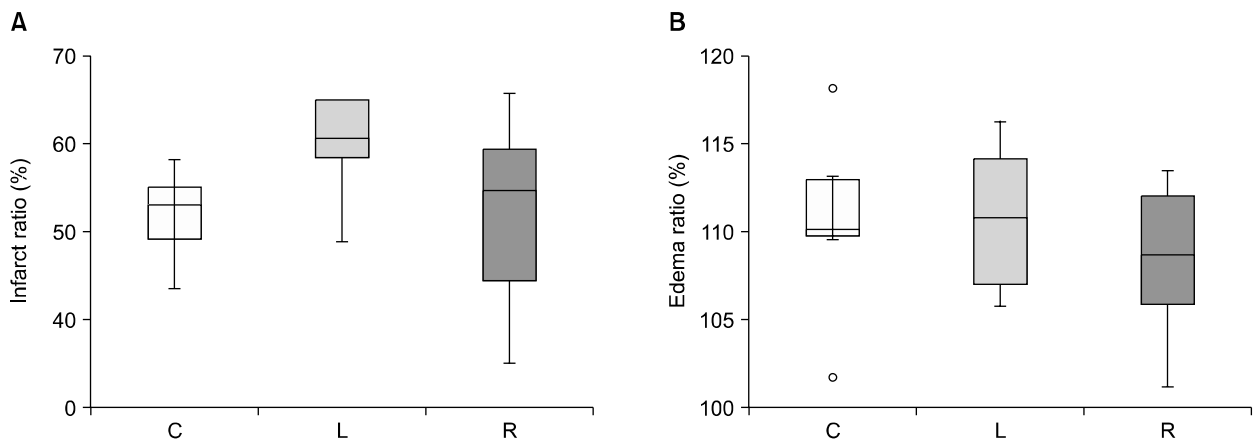


Fig. 2. Infarct (A) and edema (B) ratios, measured at 24 hours after permanent focal cerebral ischemia are shown. The boxes show interquartile ranges; error bars show 10th and 90th percentiles. ○: extreme cases over 3 times of each box value, C: control, L: lidocaine, R: ropivacaine.

의 치료에 도움이 되었다는 보고가 있으며,^{20,22)} 대뇌혈관긴장을 감소시키고, 대뇌관류압을 증가시키며, 건강한 사람에서 국소대뇌혈류를 증가시켰다는 보고가 있다.^{17,23,24)} 또 경부교감신경절 블록의 일종인 별신경절블록에 의해 대뇌혈류의 변화 없이 산화 헤모글로빈의 용적이 증가함으로써 대뇌의 산소공급이 증가된다는 보고도 있다.²⁵⁾ 이러한 이유로 대뇌 혈전이나 색전과 관련된 혈관성 질환에 교감신경절블록이 유용하게 사용될 수 있다는 가능성이 제시되고 있다.^{17,26)}

이전 저자들의 연구에서 국소마취제를 사용한 상경부교감신경절블록은 중대뇌동맥의 일시적인 허혈과 재관류로 인한 초기 신경손상을 감소시킬 수 있는 것으로 나타나²⁷⁾ 본 연구 결과와는 차이가 있는데 이는 본 연구에 적용한 모델이 재관류가 일어나지 않는 영구적인 허혈 손상이었으므로 혈관이 폐쇄되지 않았을 경우 중대뇌동맥의 근위부에서 후열(rhinal fissure) 사이에 존재할 수 있는 측부순환이²⁸⁾ 차단되었고, 재관류를 하지 않음으로써 조직손상 시 분비되는 독성물질의 배출이 불가능하였거나 지연되었기 때문으로 생각한다. 또 중대뇌동맥의 폐쇄로 반음영(penumbra) 부위에서 세포자멸사로 인한 이차 손상이 있을 수 있으나 본 연구에서는 세포자멸사를 추적하는 조직학적 연구를 진행하지 않았기 때문에 반음영 부위에 대한 영향은 예측할 수 없다. 또 뇌부종의 정도가 대조군과 상경부교감신경절블록 군 간에 차이가 없었던 것은 교감신경차단이 신경내 혈관의 보호에 실패하였기 때문이라 생각한다. 일반적으로 중대뇌동맥폐색 이후 1-2시간 이내에 primary microvessel permeability barrier의 손상이 나타나 fibrinogene 등에 의한 여출액(transudate)이 발생하게 된다.²⁹⁾ 또한 bradykinin,³⁰⁾ vascular endothelial growth factor,³¹⁾ thrombin, active matrix metalloproteinase³²⁾ 등에 의해 혈뇌장벽과괴가 발생하는데, 교감신경의 차단으로는 이러한 물질들의 생성이 억제되지 않기 때문에 뇌부종의 발생이 대조군과 큰 차이가 없었던 것이라 생각한다.

신경학적 점수의 차이가 없었던 것은 허혈로 인한 신경손상의 정도가 너무 심하였기 때문이라 생각한다. 최근 여러 연구에서 24시간 재관류를 시행한 백서의 신경학적 점수와 뇌손상 사이의 연관성을 입증하지 못하였으며,^{33,34)} 따라서 신경학적 평가는 최소한 3일 이상의 관찰이 필요하다고 하였다.³⁵⁾ 또 24시간 이내에 중대뇌동맥의 폐쇄로 괴사가 일어나는 부위는 주로 기저핵부위에 집중되므로 운동기능만으로 신경학적 점수를 평가한 것도 신경학적 점수에 차이가 없는 요인의 하나로 생각

한다.

결론적으로 영구적인 허혈뇌손상의 초기에 국소마취제로 편측의 상경부교감신경절을 블록하는 것은 행동학적 신경검사 소견의 개선이 없고, 뇌경색 면적을 감소시키지도 못하였으므로 허혈뇌손상에 대한 신경보호효과가 없다고 할 수 있으며, 세포자멸사로 인한 2차 손상에 대해서는 추후 연구가 필요하다고 하겠다.

참 고 문 헌

- Mohr JP, Caplan LR, Melski JW, Goldstein RJ, Duncan GW, Kistler JP, et al: The Harvard Cooperative Stroke Registry: a prospective registry. *Neurology* 1978; 28: 754-62.
- Mattson MP, Culmsee C, Yu ZF: Apoptotic and anti-apoptotic mechanisms in stroke. *Cell Tissue Res* 2000; 301: 173-87.
- Wang C, Zhang D, Ma H, Liu J: Neuroprotective effects of emodin-8-O-beta-D-glucoside in vivo and in vitro. *Eur J Pharmacol* 2007; 577: 58-63.
- Rami A, Agarwal R, Spahn A: Synergetic effects of caspase 3 and mu-calpain in XIAP-breakdown upon focal cerebral ischemia. *Neurochem Res* 2007; 32: 2072-9.
- Lukic-Panin V, Kamiya T, Zhang H, Hayashi T, Tsuchiya A, Sehara Y, et al: Prevention of neuronal damage by calcium channel blockers with antioxidative effects after transient focal ischemia in rats. *Brain Res* 2007; 1176: 143-50.
- Amantea D, Spagnuolo P, Bari M, Fezza F, Mazzei C, Tassorelli C, et al: Modulation of the endocannabinoid system by focal brain ischemia in the rat is involved in neuroprotection afforded by 17beta-estradiol. *FEBS J* 2007; 274: 4464-75.
- White BC, Sullivan JM, DeGracia DJ, O'Neil BJ, Neumar RW, Grossman LI, et al: Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *J Neurol Sci* 2000; 179: 1-33.
- Piantadosi CA, Zhang J: Mitochondrial generation of reactive oxygen species after brain ischemia in the rat. *Stroke* 1996; 27: 327-31.
- Goyagi T, Kimura T, Nishikawa T, Tobe Y, Masaki Y: Beta-adrenoreceptor antagonists attenuate brain injury after transient focal ischemia in rats. *Anesth Analg* 2006; 103: 658-63.
- Culmsee C, Junker V, Kremers W, Thal S, Plesnila N, Kriegelstein J: Combination therapy in ischemic stroke: synergistic neuroprotective effects of memantine and clenbuterol. *Stroke* 2004; 35: 1197-202.
- Kuhmonen J, Haapalimma A, Sivenius J: Effects of dexmedetomidine after transient and permanent occlusion of the middle cerebral artery in the rat. *J Neural Transm* 2001; 108: 261-71.

12. Antier D, Franconi F, Sannajust F: Idazoxan does not prevent but worsens focal hypoxic-ischemic brain damage in neonatal Wistar rats. *J Neurosci Res* 1999; 58: 690-6.
13. Harrell LE, Parsons DS, Kolasa K: Pro- and anti-apoptotic evidence for cholinergic denervation and hippocampal sympathetic ingrowth in rat dorsal hippocampus. *Exp Neurol* 2005; 194: 182-90.
14. Dormer KJ, Foreman RD, Ohata CA: Fastigial nucleus stimulation and excitatory spinal sympathetic activity in dog. *Am J Physiol* 1982; 243: R25-33.
15. Golanov EV, Zhou P: Neurogenic neuroprotection. *Cell Mol Neurobiol* 2003; 23: 651-63.
16. Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, Nishimura MC, Davis RL, Bartkowski H: Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke* 1986; 17: 472-6.
17. Treggiari MM, Romand JA, Martin JB, Reverdin A, Rufenacht DA, de Tribolet N: Cervical sympathetic block to reverse delayed ischemic neurological deficits after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 2003; 34: 961-7.
18. Loos N, Grant DA, Wild J, Paul S, Barfield C, Zoccoli G, et al: Sympathetic nervous control of the cerebral circulation in sleep. *J Sleep Res* 2005; 14: 275-83.
19. Tuor UI: Local distribution of the effects of sympathetic stimulation on cerebral blood flow in the rat. *Brain Res* 1990; 529: 224-31.
20. Umeyama T, Kugimiya T, Ogawa T, Kandori Y, Ishizuka A, Hanaoka K: Changes in cerebral blood flow estimated after stellate ganglion block by single photon emission computed tomography. *J Auton Nerv Syst* 1995; 50: 339-46.
21. Hamel E: Perivascular nerves and the regulation of cerebrovascular tone. *J Appl Physiol* 2006; 100: 1059-64.
22. Gupta MM, Bithal PK, Dash HH, Chaturvedi A, Mahajan RP: Effects of stellate ganglion block on cerebral haemodynamics as assessed by transcranial doppler ultrasonography. *Br J Anaesth* 2005; 95: 669-73.
23. Nitahara K, Dan K: Blood flow velocity changes in carotid and vertebral arteries with stellate ganglion block: measurement by magnetic resonance imaging using a direct bolus tracking method. *Reg Anesth Pain Med* 1998; 23: 600-4.
24. Gotoh F, Fukuuchi Y, Amano T, Tanaka K, Uematsu D, Suzuki N, et al: Comparison between pial and intraparenchymal vascular responses to cervical sympathetic stimulation in cats. Part I. Under normal resting conditions. *J Cereb Blood Flow Metab* 1986; 6: 342-7.
25. Yokoyama K, Kishida T, Sugiyama K: Stellate ganglion block and regional cerebral blood volume and oxygenation. *Can J Anaesth* 2004; 51: 515-6.
26. Moore DC: Stellate ganglion block-therapy for cerebral vascular accidents. *Br J Anaesth* 2006; 96: 666.
27. Lee AR, Yoon MO, Kim HH, Choi JM, Jeon HY, Shin JW, et al: Effect of superior cervical sympathetic ganglion block on brain injury induced by focal cerebral ischemia/reperfusion in a rat model. *Korean J Pain* 2007; 20: 83-91.
28. Zhao H, Sapolsky RM, Steinberg GK: Interrupting reperfusion as a stroke therapy: ischemic postconditioning reduces infarct size after focal ischemia in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2006; 26: 1114-21.
29. Okada Y, Copeland BR, Fitridge R, Koziol JA, del Zoppo GJ: Fibrin contributes to microvascular obstructions and parenchymal changes during early focal cerebral ischemia and reperfusion. *Stroke* 1994; 25: 1847-53.
30. Kamiya T, Katayama Y, Kashiwagi F, Terashi A: The role of bradykinin in mediating ischemic brain edema in rats. *Stroke* 1993; 24: 571-5.
31. Abumiya T, Lucero J, Heo JH, Tagaya M, Koziol JA, Copeland BR, et al: Activated microvessels express vascular endothelial growth factor and integrin alpha(v)beta3 during focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19: 1038-50.
32. Heo JH, Lucero J, Abumiya T, Koziol JA, Copeland BR, del Zoppo GJ: Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19: 624-33.
33. Rogers DC, Campbell CA, Stretton JL, Mackay KB: Correlation between motor impairment and infarct volume after permanent and transient middle cerebral artery occlusion in the rat. *Stroke* 1997; 28: 2060-5.
34. Smith SE, Hodges H, Sowinski P, Man CM, Leach MJ, Sinden JD, et al: Long-term beneficial effects of BW619C89 on neurological deficit, cognitive deficit and brain damage after middle cerebral artery occlusion in the rat. *Neuroscience* 1997; 77: 1123-35.
35. Zausinger S, Hungerhuber E, Baethmann A, Reulen H, Schmid-Elsaesser R: Neurological impairment in rats after transient middle cerebral artery occlusion: a comparative study under various treatment paradigms. *Brain Res* 2000; 863: 94-105.