

Nonlinear mixed effect modeling of population pharmacokinetics and pharmacodynamics of anesthetic agents

연세대학교 의과대학 마취통증의학교실

한 동 우

집단 약동학/약력학(population pharmacokinetics/pharmacodynamics)적인 접근법은 환자 집단에서 약물을 투여했을 때 얻어지는 농도 혹은 효과의 변이(variability)를 서술하고 그 원인을 연구하는 학문으로서 고정 효과(fixed effect)와 랜덤 효과(random effect)를 함께 추정하는 기법, 즉 mixed effect modeling analysis를 의미한다. Nonlinear mixed effect modeling에서는 개개인의 약동/약력학적 parameter가 평균과 분산

으로 표시될 수 있는 집단의 분포상에 위치한다는 가정하에 개개인의 parameter를 집단의 대표 값(typical value)과 그로부터의 차이로 표현된다. 고정 효과는 어떤 집단의 parameter의 대표 값으로 나타내며, 랜덤 효과는 개인간(inter-individual) 변이 및 이로써 설명 안 되는 부분을 개인내(intra-individual) 변이로써 나타낸다. 개인간 변이는 공변량(covariate) (예; 체중, 나이, 신기능, 질병 등)으로써 개인

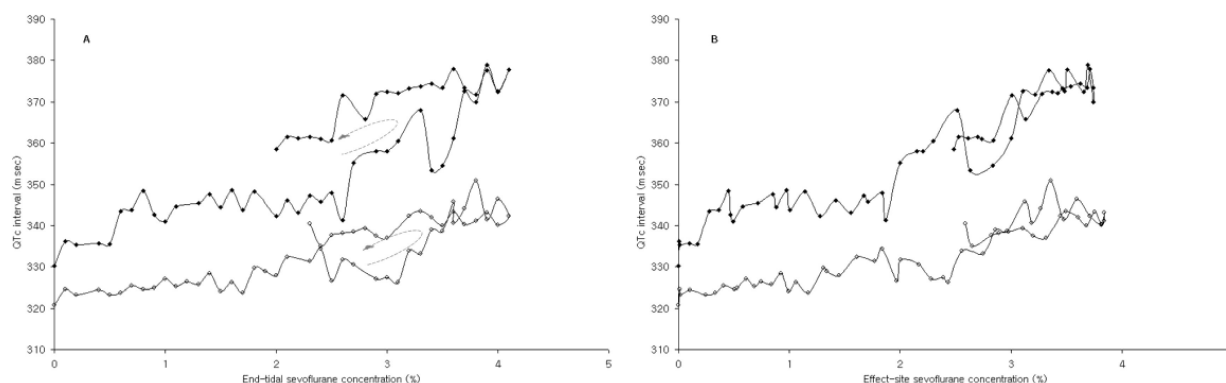


Fig. 1. The relationship between QTc interval and the end-tidal sevoflurane concentration (A) and effect-site sevoflurane concentration (B) for two representative patients. The gray dotted arrows indicate the counter-clockwise hysteresis. QTc interval = corrected QT interval.

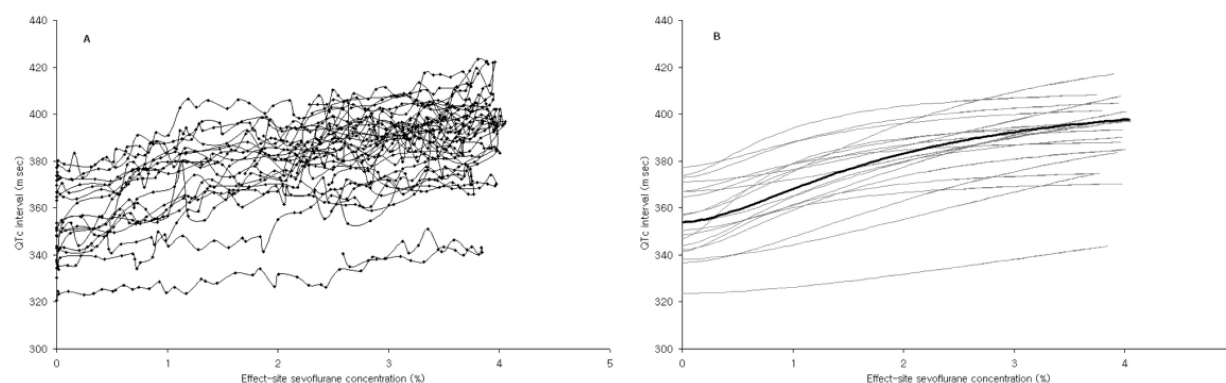


Fig. 2. (A) Observed raw QTc interval versus the calculated sevoflurane effect-site concentration. (B) The thin gray lines represent individual predicted values of QTc interval, whereas the bold black line represents the typical curve of the population data. QTc interval = corrected QT interval.

의 parameter와의 관계를 정량화 할 수 있으며, 개인내 변이는 다양한 환경 에러뿐만 아니라, 약물 투여, 채혈에러, 모델 자체의 에러 등을 표현한다. 이렇게 추정된 집단 모델

의 각종 parameter들을 입력함으로써 simulation을 수행할 수 있고, 이를 통하여 실제 임상에서 개인에게 약물 투여 시 혈중 및 효과치(effect-site) 농도와 약물의 효과 및 부작용을

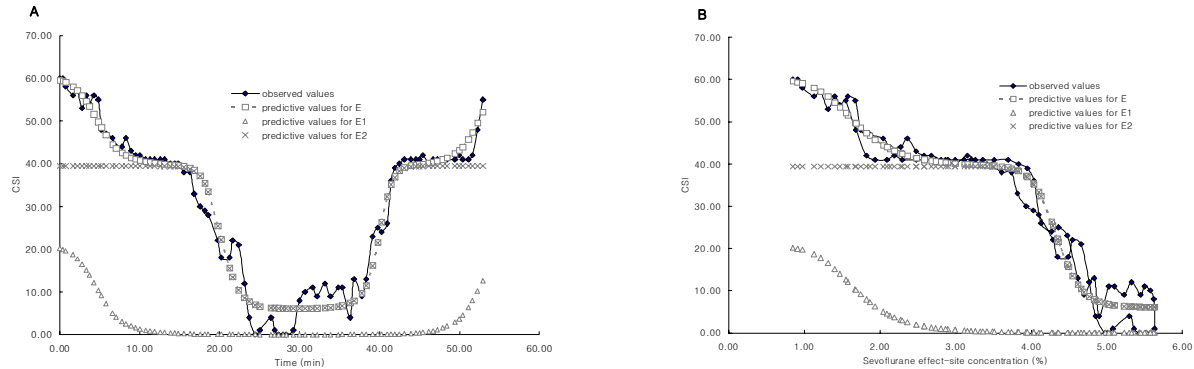


Fig. 3. Example of the real value and individual prediction value of cerebral state index (CSI) vs time (A) and effect-site sevoflurane concentration (B) as obtained in one patient. Individual prediction value (E) consists of sum of two sigmoid Emax models (E_1 , E_2). The E_1 represents the effect at sevoflurane concentrations from baseline value to plateau value while the E_2 are constant. E_2 represents the effect at sevoflurane concentrations from plateau value to the maximal value while the values E_1 are constant.

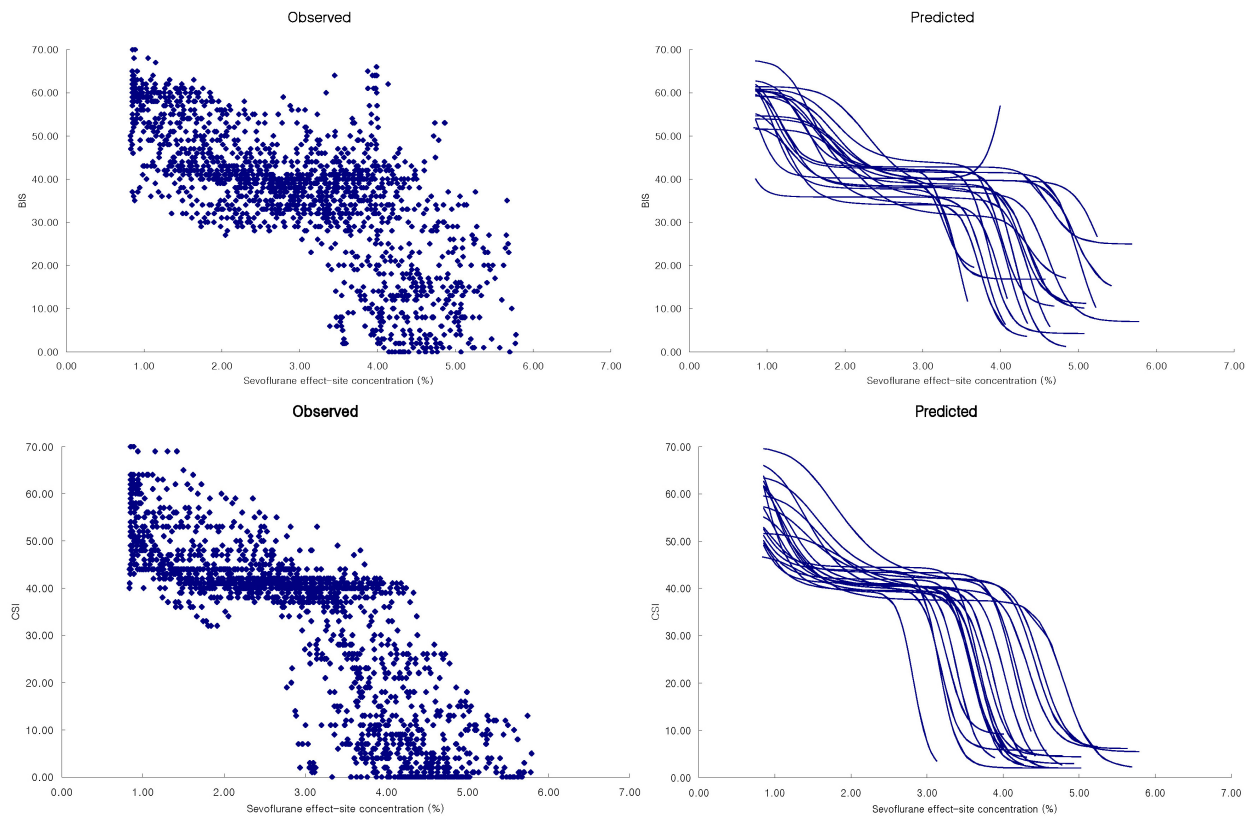


Fig. 4. Observed bispectral index (BIS) values (A) and individual predicted values (B) for all patients versus the calculated sevoflurane effect-site concentrations. Observed cerebral state index (CSI) values (C) and individual predicted values (D) for all patients versus the calculated sevoflurane effect-site concentrations.

Table 1. Comparison of Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Parameters between BIS and CSI

| | Bispectral Index (BIS) | Cerebral State Index (CSI) |
|--------------------------------|------------------------|----------------------------|
| K_{e0} (min^{-1}) | 0.36 ± 0.48 | 0.22 ± 0.16 |
| E_{01} | 20.6 ± 3.7 | 21.1 ± 7.7 |
| C_{501} | $1.6 \pm 0.4^*$ | 1.2 ± 0.4 |
| λ_1 | 8.2 | 5.7 |
| E_{02} | 38.7 ± 3.3 | 40.6 ± 1.8 |
| $E_{\text{max}2}$ | $12.7 \pm 7.3^*$ | 3.4 ± 2.2 |
| C_{502} | $4.2 \pm 0.5^*$ | 3.8 ± 0.5 |
| λ_2 | 30.0 | 26.5 |
| MDPE (%) / MDAPE (%) | -1.13/8.05 | -0.87/6.53 |

Data are presented as mean \pm SD. E_1 and E_2 , the electroencephalographic effect at sevoflurane concentrations from start point to plateau point and from plateau point to the maximal point; K_{e0} , first-order rate constant determining the efflux from the effect-site; E_{01} and E_{02} , the baseline value for E_1 and E_2 ; λ_1 and λ_2 , the steepness of the concentration-response relation curve for E_1 and E_2 ; C_{501} and C_{502} , the effect-site concentration associated with 50% decrease from E_{01} to 0 and from E_{02} to $E_{\text{max}2}$; $E_{\text{max}2}$, the maximum value for E_2 ; MDPE, median prediction error; MDAPE, median absolute prediction error. * $P < 0.05$ for BIS vs CSI.

예측할 수 있으며, 향후 하고자 하는 임상 시험의 결과를 미리 예측할 수도 있어 연구의 효율을 극대화 시킬 수 있다. 또한 집단 약동학/약력학적 접근법은 잘 디자인된 임상 시험으로부터 산출된 질 높은 자료가 아니거나 실제 임상 현장에서 부수적으로 생산된 방대한 비실험적(nonexperimental) 혹은 관찰(observational) 자료를 분석할 수 있는 해결책을 제시함으로써 약물의 특성을 파악하는데 유용하다.

연구1. Modeling the effect of sevoflurane on corrected QT Prolongation: a pharmacodynamic analysis

Sevoflurane은 마취유도 및 유지 시 심전도상 corrected QT (QTc)간격을 연장시킨다. 하지만 sevoflurane과 QTc 간격 사이의 용량-반응 관계에 대해서는 밝혀진 바가 없으며 이러한 관계를 집단 약력학적 분석을 이용하여 알아보고자 하였다. 20-50세의 건강한 환자 21명을 대상으로 15분 동안 sevoflurane 농도를 단계적으로 증가시킨 후 다시 단계적으로 감소시켰다. 이 때의 흡기 말 sevoflurane 농도와 QTc 간격을 연속적으로 기록하였고 NONMEM (Nonlinear Mixed Effects Modeling) VII software를 이용하여 약력학적 모델링을 시도하였다. 측정된 baseline QTc 간격과 최고로 연장된 QTc 간격은 각각 351.7 ± 15.4 msec와 397.8 ± 17.5 msec였고, sevoflurane 호기 말 농도와 QTc 간격 간의 용량-반응관계에서는 이력현상(hysteresis)을 나타내었다. K_{e0} 는 $2.0 \pm 1.0 \text{ min}^{-1}$ 이었고, 효과처(effect-site) 농도와 QTc 간격 사이의 용량-반응 관계는 effect-site compartment를 포함한 sigmoid Emax모델에 적합하였다. C_{e50} 에 해당하는 sevoflurane농도는 2.5%이고, 이 때의 QTc 간격의 연장은 29.0 msec로 임상 적

용 농도에서 의미 있게 연장됨을 알 수 있었다.

연구2. Application of bispectral index and cerebral state index to measurement of electroencephalographic effects of sevoflurane using combined emax model

Cerebral state index (CSI)는 환자의 진정 정도를 측정하는 최근에 소개된 processed EEG의 한 종류이다. 본 연구에서는 sevoflurane 흡입 마취 중 CSI의 약력학적 효과를 기존의 bispectral index (BIS)와 비교하고자 하였다. 개복술을 시행 받는 건강한 환자 20명을 대상으로 sevoflurane 농도를 70분에 걸쳐 단계적으로 증가시킨 후 다시 단계적으로 감소시켰다. Sevoflurane 효과처 농도와 CSI와 BIS와의 약동학적 관계는 두 sigmoid Emax모델을 결합한 새로운 혼합 모델을 개발하여 적용하였다. Sevoflurane 농도가 증가함에 따라 BIS와 CSI값 모두 점차 감소하면서 두 부분의 평탄부(plateau)를 나타내었다. CSI/BIS와 sevoflurane 효과처 농도 간의 coefficient of determination (R^2) 값은 CSI가 BIS에 비해 더 높은 상관관계를 나타내었다 (0.95 ± 0.04 vs 0.87 ± 0.07) ($P < 0.05$). 상위평탄부와 하위평탄부 각각의 E_{max} 와 CE_{50} 는 BIS (12.7 ± 7.3 , 1.6 ± 0.4 , 4.2 ± 0.5)가 CSI (3.4 ± 2.2 , 1.2 ± 0.4 , 3.8 ± 0.5)에 비해 크게 나타났으며, 그 이외의 약동학적 parameter는 유사하였다. 새로이 개발한 혼합 모델은 마취 중 sevoflurane농도와 BIS와 CSI값 사이의 약동학적 관계를 잘 설명할 수 있었고, CSI는 BIS의 EEG processing algorithm과 다름에도 불구하고, sevoflurane과의 용량-반응 관계는 크게 다르지 않음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Kreuer S, Bruhn J, Larsen R, Grundmann U, Shafer SL, Wilhelm W. Application of Bispectral Index and Narcotrend index to the measurement of the electroencephalographic effects of isoflurane with and without burst suppression. *Anesthesiology* 2004; 101: 847-54.
2. Cortinez LI, Troconiz IF, Fuentes R, Gambus P, Hsu YW, Altermatt F, Munoz HR. The influence of age on the dynamic relationship between end-tidal sevoflurane concentrations and bispectral index. *Anesth Analg* 2008; 107: 1566-72.
3. Soehle M, Ellerkmann RK, Grube M, Kuech M, Wirz S, Hoeft A, Bruhn J. Comparison between bispectral index and patient state index as measures of the electroencephalographic effects of sevoflurane. *Anesthesiology* 2008; 109: 799-805
4. 임동석. 집단약동학과 임상시험. *임상약리학회지* 2005; 13: 115-20.
5. 임동석, 홍경섭, 정재용, 이소영, 배균섭, 김묘경, 조주연, 장인진. Nonlinear Mixed Effect Modeling과 Naïve Pooled Data방법에 의한 Barnidipine Dose-Titration Trial의 분석. *임상약리학회지* 2001; 9: 174-87.

Peripheral inflammation induces TNF-dependent AMPA receptor trafficking in spinal cord

전남대학교 의과대학 마취통증의학교실

최 정 일

Tumor necrosis factor (TNF) is a pro-inflammatory cytokine released from glia known to increase neuronal excitability through a variety of post-transcriptional mechanisms, including changes in neuronal α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid (AMPA) receptors. These receptors are composed of up to four subunits, GluR1-GluR4; those without GluR2 subunits are Ca^{++} permeable (Ca^{++} -perm) and frequently participate in synaptic strengthening.

In hippocampal neurons and α -motor neurons, TNF increases plasma membrane concentration of Ca^{++} -perm AMPAR within minutes. As yet, no connection has been made between spinal TNF and Ca^{++} -perm AMPAR in dorsal horn. However, spinal Ca^{++} -perm AMPAR contribute to hyperalgesia and multiple peripheral insults increase Ca^{++} -perm AMPAR in dorsal horn cells, including nociceptive projection neurons.

While the initiating stimulus resulting in increased AMPAR trafficking and membrane Ca^{++} -perm AMPAR in dorsal horn is still not determined, some of the intervening steps have been demonstrated. There is a strong evidence implicating phosphatidylinositol 3-kinase (PI-3K). Akt (protein kinase B) is a downstream mediator of PI-3K, and the blockade of either PI-3K or Akt reduces pain behavior following peripheral tissue injury. In addition, PI-3K is also required for AMPA receptor insertion in hippocampal neurons during long term potentiation (LTP).

In rat spinal cord, insertion of GluR1 into plasma membrane was induced by intraplantar injection of carrageenan. Spinal TNF antagonism by etanercept, TNF antagonist, not only reduced mechano-allodynia, but blocked trafficking of GluR1 subunit (Fig. 1). Intraplantar carrageenan also induced a time dependent increase in P-Akt in dorsal spinal cord. The expression of p-Akt was attenuated by etanercept pretreatment (Fig. 2).

Immunohistochemical study following intraplanar carrageenan injection showed the increase of p-Akt expression was

peaked at 45 min in superficial dorsal horn, while Akt was activated in deep DH after a time lag of 30–60min. This pattern of p-Akt expression could be mediated by NK-1 receptor expressing projection neurons in superficial lamina, which has been known to be involved in lamina V cell plasticity. After ablation of NK-1 receptor expressing neurons with injection of [Sar9Met(O2)11 substance P coupled to saporin, the late development of p-Akt in lamina V neurons was blocked. The pattern of P-Akt increase suggests a link between activation of Lamina I projection neurons and α -motor neurons. However, as there was some loss of excitatory interneurons in Laminae I-III, the linkage may be via interneurons and not projection neurons.

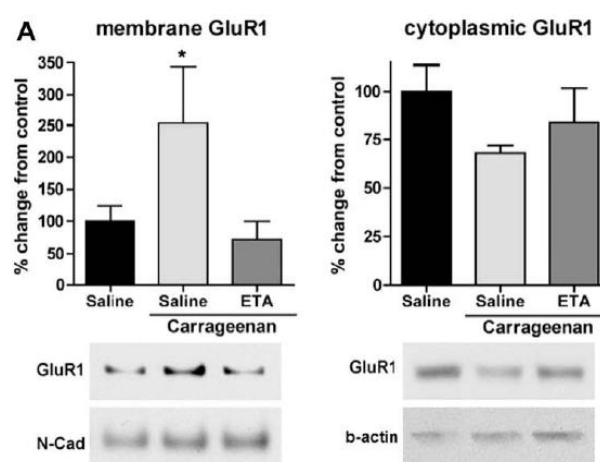


Fig. 1. Intraplantar carrageenan induced a TNF dependent increase in GluR1, but not GluR2 in membrane fractions of cellular homogenates. Histograms illustrate that intraplantar carrageenan induced an increase in GluR1 in membrane fractions 1 h after intraplantar injection. In cytoplasmic fractions obtained from the same tissue, GluR1 showed a marked tendency to decrease, but it did not reach significance. Spinal pretreatment with Etanercept (100 μg) blocked the carrageenan induced GluR1 trafficking indicating the TNF dependence of the process.

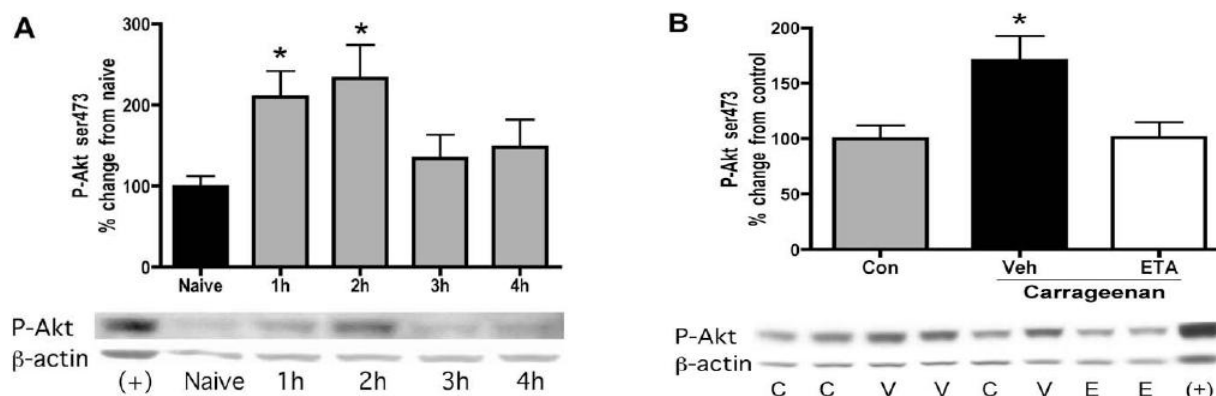


Fig. 2. Intraplantar carrageenan induced a time dependent increase in P-Akt in dorsal spinal cord. (A) Level of P-Akt increased at 1 and 2 h after bilateral carrageenan injections. Representative P-Akt blots along with β -actin loading controls are illustrated. + is a P-Akt positive loading control. Animals did not have i.t. catheters. (B) Histogram illustrates P-Akt response 2 h after a unilateral carrageenan injection. This increase in P-Akt was blocked by spinal pretreatment with Etanercept (ETA, 100 mg) 1 hour prior to carrageenan injection. Equivalent increases and ETA antagonism were observed 1 h after carrageenan. * $P < 0.05$, significantly different from naïve or control. $n = 4-7$ rats/group.

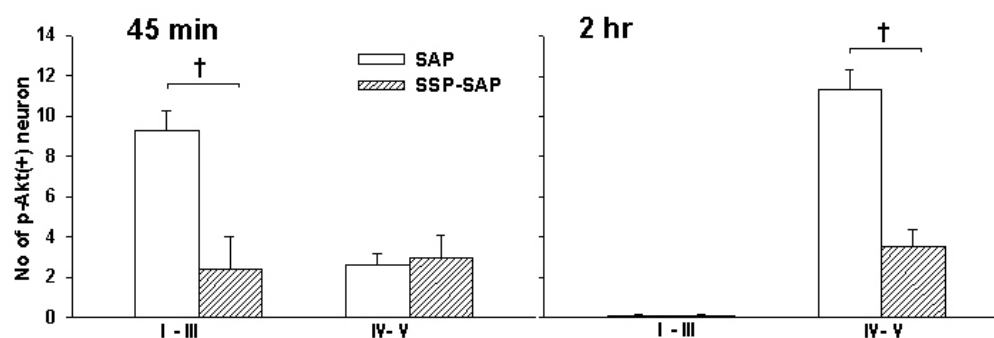


Fig. 3. Histogram illustrating time course of P-Akt within various regions of the dorsal horn. Neurons positive for P-Akt and NeuN were counted by a blinded observer, all counted neurons had a visible nucleus. Counts are averages of 4 separate sections/animal. Counts are of 1 hemisection. $N = 4$ animals/group for all bars.

References

- DeLeo JA, Rutkowski MD, Stalder AK, Campbell IL. Transgenic expression of TNF by astrocytes increases mechanical allodynia in a mouse neuropathy model. *Neuroreport* 2000; 11: 599-602.
- Hollmann M, Hartley M, Heinemann S. Ca^{2+} permeability of KA-AMPA-gated glutamate receptor channels depends on subunit composition. *Science* 1991; 252: 851-3.
- Malinow R, Malenka RC. AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 2002; 25: 103-26.
- Choi JI, Svensson CI, Koehn FJ, Bhushute A, Sorkin LS. Peripheral inflammation induces tumor necrosis factor dependent AMPA receptor trafficking and Akt phosphorylation in spinal cord in addition to pain behavior. *Pain* 149: 243-53.
- Pezet S, Spyropoulos A, Williams RJ, McMahon SB. Activity-dependent phosphorylation of Akt/PKB in adult DRG neurons. *Eur J Neurosci* 2005; 21: 1785-97.
- Sun R, Yan J, Willis WD. Activation of protein kinase B/Akt in the periphery contributes to pain behavior induced by capsaicin in rats. *Neuroscience* 2007; 144: 286-94.
- Wiley RG, Kline RH, Vierck CJ, Jr. Anti-nociceptive effects of selectively destroying substance P receptor-expressing dorsal horn neurons using [Sar9, Met(O2)11]-substance P-saporin: behavioral and anatomical analyses. *Neuroscience* 2007; 146: 1333-45.

The tumor necrosis factor- α and A2B adenosine receptor in acute kidney injury

고려대학교 의과대학 마취통증의학교실

김 재 환

서 론

허혈-재관류 손상시 보체활성화, 내인성 독소 등에 의해 사이토카인(cytokine)이 유리되어 중성구(neutrophil)의 활성화가 일어나며 이로 인해 혈관내피세포가 손상되어 혈관투과성이 증가하고 조직의 손상을 일으키는 염증반응이 일어난다. 따라서 허혈-재관류 손상시의 염증반응에는 사이토카인의 유리가 중요한데 사이토카인의 종류에는 전구염증매개물질(proinflammatory mediator)인 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1, interleukin-6, interleukin-8 (IL-1, IL-6, IL-8) 등이 있으며 항염증매개물질(antiinflammatory mediator)인 interleukin-10 (IL-10) 등이 알려져 있다. 이중 TNF- α 는 그람음성균의 산물이나 내인성 독소에 의해 단핵구(monocyte)나 대식세포(macrophage)에서 주로 분비되며 10^{-9} mmol/L 정도의 소량으로도 중성구와 임파구를 활성화 시켜 IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 등과 같은 사이토카인들과 여러 염증매개물질의 유리를 유발하며 중성구의 탈과립화와 혈관내피세포에의 부착을 촉진하는 등 허혈-재관류 손상의 염증반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

Olafsson 등이 개의 관상동맥 내로 adenosine을 주입하여 허혈 후 재관류시 심근괴사를 감소시킬 수 있었다는 보고를 한 이후 허혈-재관류 손상시의 adenosine의 역할에 대한 많은 연구가 진행되고 있다. Adenosine은 adenosine triphosphate (ATP)의 분해 산물로서 주로 세포 밖의 adenosine 수용체 (adenosine receptor, AR)에 결합하여 항염증매개물질로 작용한다. Adenosine 수용체는 A1AR, A2AAR, A2BAR, A3AR의 네가지 아형으로 구분되며 G-단백과의 결합을 통하여 2차 전달자로 cyclic-AMP (c-AMP)를 이용하여 생리학, 약리학, 효과적 효과를 나타낸다. A1AR, A2AAR, A3AR는 높은 친화력을 갖는 수용체로서 수용체 활성화에 10 nM-1 μ M의 낮은 adenosine 농도를 필요로 하는데 이는 일반적인 생리적 상태에 해당하는 adenosine 농도이다. 반면에 A2BAR는 친화력이 낮은 수용체로서 10 μ M 이상의 높은 adenosine 농도에서 활성화되는데 이는 저산소증, 허혈손상 등과 같은

특이한 경우에 나타난다고 한다. 신장의 허혈-재관류 손상시 A1AR, A2AAR, A2BAR의 활성화는 그 손상의 정도를 악화시키는 보호효과를 가지고 있다고 알려져 있으나 A3AR의 활성화가 보호효과를 갖는지의 여부는 알려진 바가 없다.

이러한 adenosine과 AR의 허혈-재관류 손상에 대한 보호효과는 TNF- α 와 IL-1, IL-6과 같은 전구염증매개물질의 생성과 유리를 억제하여 나타난다. 따라서 허혈-재관류 손상시 그 손상의 정도는 TNF- α 및 adenosine과 AR의 발현과 그 친화 정도에 영향을 받을 것으로 생각된다. 그러나 아직 이에 대한 연구가 실시 되지 않아 이 실험을 통하여 TNF- α 유전자제거(TNF- α knock-out, TNF- $\alpha^{-/-}$) 및 TNF- α 유전자 과발현(TNF- α overexpression, TNF^{ARE}) 생쥐에서 신장에 허혈-재관류 손상을 주고 그 정도를 야생형(wild type, WT) 및 A2BAR 유전자제거 (A2BAR^{-/-}) 생쥐의 손상 정도와 비교해 보고자 한다.

대상 및 방법

동물실험은 미국 콜로라도대학교의 동물관리 규칙을 준수하였으며 동물관리 위원회의 승인을 받고 시행하였다. WT은 C57BL/6 생쥐를 사용하였고, TNF- $\alpha^{-/-}$, TNF^{ARE}, A2BAR^{-/-} 생쥐는 C57BL/6 계열 세대의 후손을 이용하여 유전자 조작을 하였으며 실험은 4-6주의 나이, 성별, 체중이 유사하고 한배에서 나온 생쥐를 사용하였다.

실험대상인 생쥐는 pentobarbital sodium 50 mg/kg을 복강내 투여하여 마취한 후 37°C로 체온조절이 되는 수술대에서 우측경정맥에 카테터를 삽입하였고 사구체 여과율을 측정하기 위하여 ³H-inulin을 600 μ l/h/30 g의 속도로 주입하고 방광내 카테터를 삽입하여 요량을 측정하였다. 우측 신장출혈을 실시한 후 좌측 신장 동맥을 일시적으로 폐쇄시켜 20분간 신장허혈을 실시한 후 재관류시켰으며 피부 및 절개 부위를 봉합한 후 생리식염수 0.3 ml를 복강내 투여하고 2시간의 회복을 취한 후 24시간 동안 신장 기능을 감시하기 위하여 사육장에 다시 넣었다.

소변 채취 중간에 혈액을 채취하여 ^3H -inulin의 소변과 혈액 속의 농도로 사구체 여과율을 측정하였으며 허혈 후 2시간에 신장을 적출하여 TNF- α 및 IL-1, IL-2, IL-6, IL-10, IL-12, 케라틴세포-유도 케모카인(keratinocyte-derived chemokine, KC로서 사람의 IL-8에 해당 됨) 등의 사이토카인을 측정하였다.

A2BAR의 작용제(agonist)인 BAY 60-6538을 60 ug/kg의 용량으로 수술전, 허혈전, 재관류 직전, 재관류 후 5분 및 2시간에 WT및 A2BAR $^{-/-}$ 생쥐에 투여하여 신장에서의 TNF- α 의 발현 정도를 측정하였다.

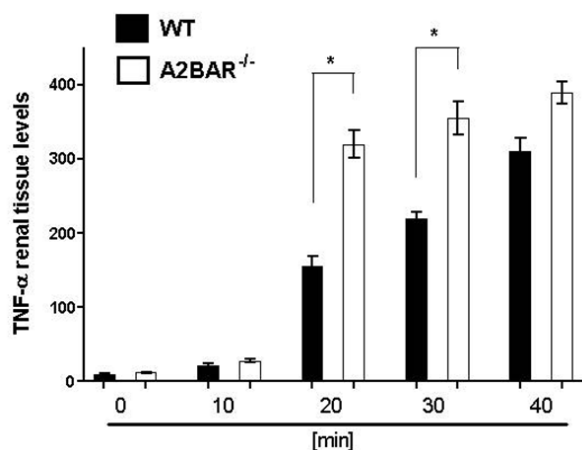


Fig. 1. The TNF- α renal tissue levels with time course after renal ischemia were higher in A2BAR $^{-/-}$ than WT mice. *P < 0.05 compared with A2BAR $^{-/-}$ mice.

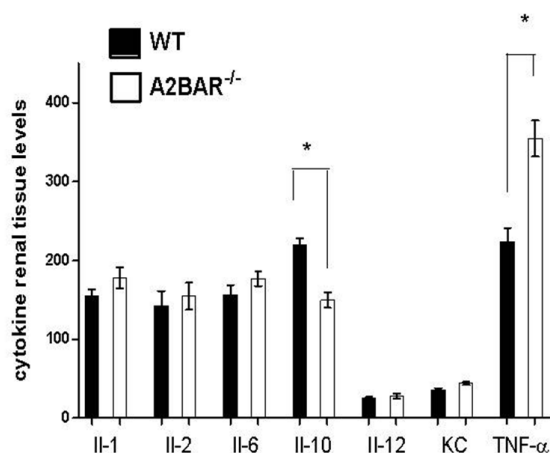


Fig. 2. The cytokine renal tissue levels after renal ischemia. The IL-10 was higher and TNF- α was lower in WT than A2BAR $^{-/-}$ mice. *P < 0.05 compared with A2BAR $^{-/-}$ mice.

결 과

WT및 A2BAR $^{-/-}$ 생쥐에서 허혈 시간에 따른 TNF- α 의 발현은 20-30분의 허혈에서 A2BAR $^{-/-}$ 에서 WT생쥐에 비해 높았다(Fig. 1).

20분간의 허혈 후 2시간에 측정된 사이토카인의 발현 정도는 WT생쥐에서 A2BAR $^{-/-}$ 생쥐에 비해 IL-10의 농도는 높았고 TNF- α 농도는 낮았다(Fig. 2).

WT 생쥐에서 허혈전, 재관류 직전 및 재관류 후 5분에 BAY 60-6538을 투여한 경우에 신장에서의 TNF- α 의 발현 정도가 수술전 및 재관류 후 2시간에 비해 낮았으나 A2BAR $^{-/-}$ 생쥐에서는 이러한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 3).

WT및 TNF- α $^{-/-}$ 생쥐에서 모두 20분간의 허혈 후 측정된 사구체 여과율은 허혈 전에 비해 줄어들었는데 그 정도는 WT에서 TNF- α $^{-/-}$ 생쥐에 비해 더 저하되었다(Fig. 4).

WT및 TNF $^{\Delta ARE}$ 생쥐에서 모두 20분간의 허혈 후 측정된 사구체 여과율은 허혈 전에 비해 줄어들었는데 그 정도는 TNF $^{\Delta ARE}$ 에서 WT 생쥐에 비해 더 저하되었다(Fig. 5).

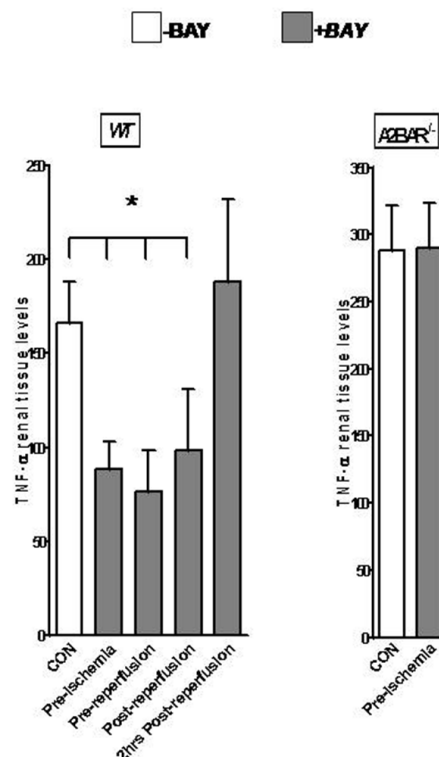


Fig. 3. The BAY treatment on WT and A2BAR $^{-/-}$ mice. The TNF- α renal tissue levels were lower in WT at pre-ischemia, pre-reperfusion, and 5 min after reperfusion. *P < 0.05 compared with control and 2 hrs after reperfusion.

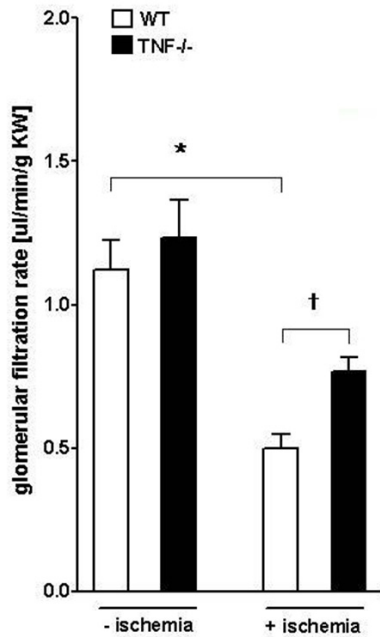


Fig. 4. Improved renal function in TNF- $\alpha^{-/-}$ following renal ischemia. The GFR was decreased after 20 min ischemia in WT and TNF- $\alpha^{-/-}$ mice, however the severity of the decrease was higher in WT than TNF- $\alpha^{-/-}$ mice. *P < 0.05 compared with after ischemia, † P < 0.05 compared with WT mice.

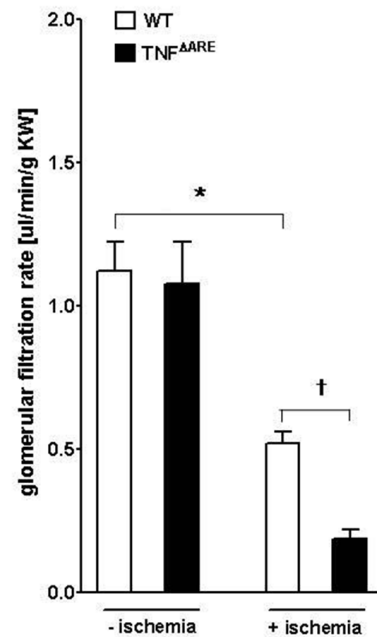


Fig. 5. Reduced renal function in TNF $^{\Delta ARE}$ following renal ischemia. The GFR was decreased after 20 min ischemia in WT and TNF $^{\Delta ARE}$ mice, however the severity of the decrease was higher in TNF $^{\Delta ARE}$ than WT mice. *P < 0.05 compared with after ischemia, † P < 0.05 compared with WT mice.

신장에서의 TNF- α 의 발현 정도는 허혈 전과 허혈 후 2 시간과 24시간에 TNF $^{\Delta ARE}$ 에서 WT 및 A2BAR $^{-/-}$ 생쥐에 비해 현저히 높았으며, 허혈 후 2시간에는 TNF- α 의 농도가 A2BAR $^{-/-}$ 에서 WT 생쥐에 비해 높았으나 허혈 후 24시간에는 차이가 없었다(Fig. 6).

고 찰

신장의 허혈-재관류 손상은 세포손상과 조직 기능 부전에 이르는 일련의 과정을 유발한다. TNF- α 는 강력한 전구염 증매개 사이토카인으로 허혈-재관류 손상시 신장내에 분포 되어 있던 대식세포 등 각종 염증 및 면역 반응에 관여하는 세포와 조직에서 분비되며 허혈-재관류 손상에 관여한다. TNF- α 는 사구체에 fibrin 침착, 세포침윤과 혈관수축을 초래하여 사구체 여과율을 감소시킨다. 따라서 허혈-재관류 손상시 TNF- α 생성을 억제함으로써 신장의 기능이 악화되는 일련의 과정을 차단하는 과정에 관심이 집중되고 있다.

재관류시에 생성되어 유리되는 산화제(oxidant)는 p38 mitogen activated protein kinase (p38 MAPK)와 TNF- α 의 전사 인자(transcription factor)인 nuclear factor kappa B (NFkB)를 활성화 시켜 TNF- α 를 생성한다. TNF- α 가 수용체에 결합하면 NFkB를 재활성화 시키는데 이는 양성 되먹임 기전은

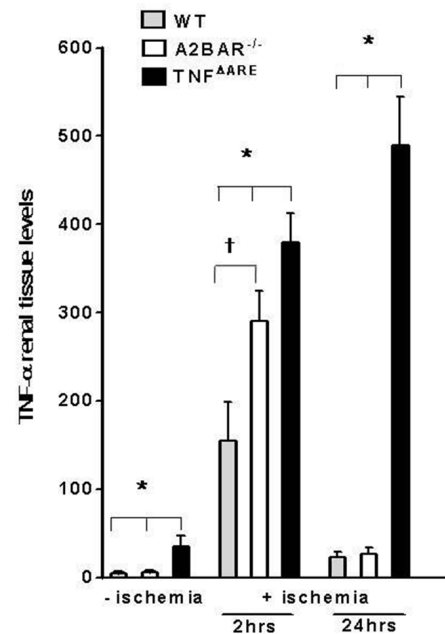


Fig. 6. The TNF- α renal tissue levels with time course after renal ischemia were higher in TNF $^{\Delta ARE}$ than WT and A2BAR $^{-/-}$ mice. The TNF- α level was higher in A2BAR $^{-/-}$ than WT mice at 2 hours after reperfusion. *P < 0.05 compared with WT and A2BAR $^{-/-}$ mice. † P < 0.05 compared with WT mice.

로 작용하여 TNF- α 의 추가 생성을 촉진한다. 이러한 기전으로 인해 TNF- α 가 up-regulation되며 염증반응에 관여하는 다른 중요한 유전자의 발현을 촉진하게 된다. TNF- α 가 수용체에 결합하면 신장 세포의 apoptosis를 유발하여 신장 허혈-재관류 손상의 세포의 죽음을 유발한다. 신장 허혈-재관류 손상시 항 TNF- α 치료의 전략은 p38 MAPK, NFKB, TNF- α 및 수용체의 반응을 경감시켜 허혈-재관류 손상의 정도를 완화시키는데 있다.

Adenosine은 TNF- α , IL-1, IL-6과 같은 전구염증매개물질의 생성과 유리를 강력히 억제하는 물질이다. Adenosine은 TNF- α 와 반대로 p38 MAPK 및 NFKB의 작용을 억제하여 허혈-재관류 손상의 정도를 완화시킨다. 신장 허혈-재관류 손상시 adenosine을 이용한 치료의 전략은 adenosine과 AR의 작용, 특히 A2BAR과의 결합을 통해 p38 MAPK 및 NFKB 수용체의 반응을 경감시켜 허혈-재관류 손상의 정도를 완화시키는데 있다. 따라서 adenosine과 A2BAR과의 결합을 이용하면 p38 MAPK 및 NFKB 수용체의 반응을 경감시키게 되고 TNF- α 를 비롯한 전구염증매개 사이토카인 생성 및 유리가 감소되어 허혈-재관류 손상의 정도가 감소하게 된다.

본 실험에서는 신장의 허혈-재관류 손상시 TNF- α 의 발현 정도는 허혈 후 WT에서 TNF^{ΔARE} 생쥐에 비해 낮고 TNF- α ^{-/-} 생쥐에 비해 높았는데 허혈 후 측정된 사구체 여과율 역시 WT에 비해 TNF^{ΔARE} 생쥐에서는 낮았으며, TNF- α ^{-/-} 생쥐에서는 높아 TNF- α 의 발현 정도가 사구체 여과율에 영향을 미침을 알 수 있었다. 허혈 후 2시간에 측정된 TNF- α 의 농도가 WT에 비해 A2BAR^{-/-} 생쥐에서 낮아 A2BAR가 없는 경우 TNF- α 가 많이 생성됨이 관찰되었다. 또한 WT 생쥐에서 허혈-재관류 직전 및 직후에 A2BAR 작용제인 BAY 60-6538을 투여한 경우에 신장에서의 TNF- α 의 발현 정도가 허혈 전에 비해 낮게 나와 TNF- α 의 발현에 A2BAR가 관여하는 것이 확인되었으며 A2BAR가 없는 A2BAR^{-/-} 생쥐에서는 이러한 차이가 관찰되지 않아 TNF- α 의 발현에 A2BAR가 관여하는 것이 다시 한번 확인되었다.

참 고 문 헌

1. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Immunol* 1992; 10: 411-52.
2. Kruglov AA, Kuchmiy A, Grivennikov SI, Tumanov AV, Kuprash DV, Nedospasov SA. Physiological functions of tumor necrosis factor and the consequences of its pathologic overexpression or blockade: mouse models. *Cytokine Growth Factor Rev* 2008; 19: 231-44.
3. Bouma MG, van den Wildenberg FA, Buurman WA. Adenosine inhibits cytokine release and expression of adhesion molecules by activated human endothelial cells. *Am J Physiol* 1996; 270: C522-9.
4. Majumdar S, Aggarwal BB. Adenosine suppresses activation of nuclear factor-kappaB selectively induced by tumor necrosis factor in different cell types. *Oncogene* 2003; 22: 1206-18.
5. Ohta A, Sitkovsky M. Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage. *Nature* 2001; 414: 916-20.
6. Haskó G, Linden J, Cronstein B, Pacher P. Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 759-70.
7. Vallon V, Mühlbauer B, Osswald H. Adenosine and kidney function. *Physiol Rev* 2006; 86: 901-40.
8. Grenz A, Osswald H, Eckle T, Yang D, Zhang H, Tran ZV, Klingel K, Ravid K, Eltzschig HK. The reno-vascular A2B adenosine receptor protects the kidney from ischemia. *PLoS Med* 2008; 5: e137.
9. Grenz A, Eckle T, Zhang H, Huang DY, Wehrmann M, Köhle C, Unertl K, Osswald H, Eltzschig HK. Use of a hanging-weight system for isolated renal artery occlusion during ischemic preconditioning in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: F475-85.
10. Joo JD, Kim M, Horst P, Kim J, D'Agati VD, Emala CW Sr, Lee HT. Acute and delayed renal protection against renal ischemia and reperfusion injury with A1 adenosine receptors. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: F1847-57.
11. Day YJ, Huang L, McDuffie MJ, Rosin DL, Ye H, Chen JF, Schwarzschild MA, Fink JS, Linden J, Okusa MD. Renal protection from ischemia mediated by A2A adenosine receptors on bone marrow-derived cells. *J Clin Invest* 2003; 112: 883-91.
12. Lee HT, Emala CW. Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A(1) and A(3) receptors. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278: F380-7.

Single unit recordings from cortical, thalamus and reticular formation neurons of cat

경희대학교 의과대학 마취통증의학교실

이 봉 재

Introduction

Unconsciousness is a key hallmark of anesthesia [1], yet it is unclear how anesthetics produce this vital behavioral end-point. There is a controversy regarding what anatomic sites and molecular targets anesthetics affect. For example, there is evidence that cortical neurons are the primary target [2], while other evidence suggests that subcortical sites, such as the thalamus and reticular activating system, are more critical [3]. In addition, the cholinergic system appears to be important to anesthetic-induced unconsciousness [4]. Furthermore, anesthetics differ in their actions at various neurotransmitter receptors [5]. Propofol acts almost exclusively at the GABA_A receptor [6] as does midazolam, while ketamine acts to block N-methyl-D-aspartate (NMDA) and acetylcholine (ACh) receptors [7]; isoflurane has actions at various receptors, but it is unknown which of these actions is critical to producing unconsciousness.

Although numerous volunteer and patient studies have examined anesthetic effects on the brain, surprisingly, few animal studies report anesthetic effects on cortical and sub-cortical neuronal function during the transition from consciousness to unconsciousness. The paucity of animal studies is due to the need to have a chronic animal preparation which permits recording neuronal function in the awake, anesthetic-free animal. It need to investigate anesthetic effects on cortical and sub-cortical neurons (such as thalamus and reticular formation) using an animal preparation (cat) with chronic in-dwelling plastic wells that permit access to the cerebral cortex and sub-cortical sites for recording single-unit activity.

Methods

Following ethical approval, cats had a head implant, recording well and EEG screws placed under anesthesia. After a

five-day recovery period the cats were repeatedly studied 3–4 times/week. Neuronal (single unit) activity in cerebral cortex (areas 16–18), thalamus (VPL nucleus) or reticular formation (lateral to peri-aqueductal grey matter) was recorded before, during and after infusion of either propofol or etomidate.

Results

Propofol and etomidate decreased spontaneous firing rate of cortical neurons by 33–36%; neuronal firing rate in thalamus and reticular formation decreased 43–46%. The EEG shifted from a low amplitude, high frequency pattern to a high amplitude, low frequency pattern during drug infusion, suggesting an anesthetic effect. During anesthesia the cats were heavily sedated, with depressed corneal and whisker reflexes; withdrawal to noxious stimulation remained intact.

Discussion

These data show that neurons in cortex, thalamus and reticular formation are similarly depressed by propofol and etomidate, although sub-cortical neurons appear to be more sensitive. Further work is needed to determine whether depression at one site (e.g. thalamus) directly leads to depression at other sites (e.g., cortex) or if the depression at each site is independent of the other.

Reference

1. Antognini JF, Carstens E. In vivo characterization of clinical anaesthesia and its components. *Br. J Anaesth* 2002; 89: 156-66.
2. Hentschke H, Schwarz C, Antkowiak B. Neocortex is the major target of sedative concentrations of volatile anaesthetics: strong depression of firing rates and increase of GABA receptor-mediated inhibition. *Eur J Neurosci* 2005; 21: 93-102.
3. Alkire MT, Haier RJ, Fallon JH. Toward a unified theory of

- narcosis: brain imaging evidence for a thalamocortical switch as the neurophysiologic basis of anesthetic-induced unconsciousness. *Conscious. Cogn* 2000; 9: 370-86.
4. Hudetz AG, Wood JD, Kampine JP. Cholinergic reversal of isoflurane anesthesia in rats as measured by cross-approximate entropy of the electroencephalogram. *Anesthesiology* 2003; 99: 1125-31.
 5. Krasowski MD, Harrison NL. General anaesthetic actions on ligand-gated ion channels. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 1278-303.
 6. Jurd R, Arras M, Lambert S. General anesthetic actions in vivo strongly attenuated by a point mutation in the GABA(A) receptor beta3 subunit. *FASEB J* 2003; 17: 250-2.
 7. Coates KM, Flood P. Ketamine and its preservative, benzethonium chloride, both inhibit human recombinant alpha7 and alpha4beta2 neuronal nicotinic acetylcholine receptors in *Xenopus* oocytes. *Br J Pharmacol* 2001; 134: 871-9.

Anesthesia and learning disability project at Mayo clinic

인제대학교 의과대학 마취통증의학교실

이 군 무

전신마취의 기본적 전제는 마취제가 무의식과 무반응의 가역적 상태를 유발하는 것이다. 이러한 전제의 의미는 뇌와 척수가 마취전과 마취후의 신경생리학적으로 동일한 상태를 말한다. 최근 실험논문들에서 마취제의 완전한 가역상태에 의문을 제시해 왔다.

1999년 Ikonomidou 등은 ketamine에 노출된 새끼 쥐의 뇌세포에서 apoptotic cell death가 증가한다는 연구를 science지에 발표하였다. 이 연구의 결론은 ketamine은 영아와 소아에게 부적절한 마취제 일 수 있다는 것을 제시하였다. 이것은 동물에 마취제 독성에 대한 관심을 불러 일으켜 마취제의 영향에 대한 오랜 연구가 시작되는 선두연구가 되었다. 이러한 연구들로부터 몇 가지 일반적 주제가 나타났는데 NMDA antagonists (ketamine, nitrous oxide, ethanol)과 GABA agonists (benzodiazepine, propofol, isoflurane, barbiturates, ethanol)가 문제의 약제들이다.

지난 십 년 동안 NMDA antagonists 혹은 GABA agonists에 작용하는 마취제와 진정제가 실험동물에서 성장 시 적절한 기간과 충분한 용량을 주었을 때 apoptotic neuronal cell death의 유발을 증가시키는 원인이 될 수 있다는 증거가 늘고 있다. 더욱이 이러한 것은 후에 실험동물들에 있어 학습을 저해할 수 있다는 증거들도 늘어나고 있다. 이것은 전신마취 혹은 오랜 진정제를 인간의 영아나 소아에 시행하거나 투여하였을 때 유사한 문제를 유발할 수 있다는 염려가 증가하고 있다. Rapid synaptogenesis동안 성장에 취약한 기간이 있다. 쥐에 있어서는 생후 7일째 절정에 있고 원숭이에 있어서는 임신기간 122일 근처에서 시작하여 생후 35일전에 끝난다. 인간에 있어서는 정확한 취약기간은 알려져 있지 않다. 인간에서는 임신 3기에서 생후 4세까지 취약할 것으로 제시되고 있다.

인간의 연구에서는 준비의 단계이고 동물보다 연구영역에 있어 제한된 범위에 놓여있다. 전신마취 후 apoptosis의 증가 혹은 synaptogenesis의 감소에 대한 전신마취한 영아의 뇌와 그렇지 않은 뇌에 대한 비교를 할 수 있는 것은 없다. 현재 임상적으로 apoptosis를 측정할 수 있는 비침습적 영상 기술은 없다. 따라서 마취제로부터 영아의 조직학적 변화의 직접적 증거를 취할 수는 없다. 이것은 취약기간을 결정하

는 능력뿐만 아니라 변화를 일으키는 마취제의 용량과 기간을 결정하기에 제한적일 수 밖에 없다.

앞선 임상연구에서는 대부분 미숙아, 저체중, 혹은 선천성 심질환 같은 심각한 동반이환(comorbidity)을 가진 영아를 포함한 수술과 마취 후 신경발달의 결과를 조사한 것들이다. 이것은 신경발달의 결과에 대한 마취제의 효과를 명확하게 분석하기 힘들고 마취제의 상대적 기여가 이런 환자들에서 가지는 의미 있는 동반이환 조건과의 연관성을 판독하기에 어려움이 따른다. 또한 오랜 기간 신경행동학적 결과를 조사하지는 못했다. 결과적으로 지금까지 임상연구 결과의 제한 점으로 신경발달에 대한 마취제의 직접적 조사가 없었고, long-term outcome의 추적조사에 대한 시간들이 불충분했으며 명확한 신경발달의 결과에 대한 종말 점이 부족하였다.

최근 미국의 Mayo Clinic에서는 Rochester Epidemiology Project의 일환으로 anesthesia and learning disability에 관한 역학적 연구가 지속되고 있어 이와 관련된 결과와 연구중인 내용에 대하여 소개하고자 한다.

1. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort.
2. Anesthesia for cesarean delivery and learning disabilities in a population-based birth cohort.
3. Neuraxial labor analgesia for vaginal delivery and its effects on childhood learning disabilities.

참 고 문 헌

1. Ikonomidou C, Bosch F, Miksa M, Bittigau P, Vockler J, Dikranian K, et al. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. Science 1999; 283: 70-4.
2. Patel P, Sun L. Update on neonatal anesthetic neurotoxicity: insight into molecular mechanisms and relevance to humans. Anesthesiology 2009; 110: 703-8.
3. Wilder RT, Flick RP, Sprung J, Katusic SK, Barbaresi WJ, Mickelson C, et al. Early exposure to anesthesia and learning disabilities in a population-based birth cohort. Anesthesiology 2009; 110: 796-804.

4. Sprung J, Flick RP, Wilder RT, Katusic SK, Pike TL, Dingli M, et al. Anesthesia for cesarean delivery and learning disabilities in a population-based birth cohort. *Anesthesiology* 2009; 111: 302-10.
5. Flick RP, Lee K, Hofer RE, Beinborn CW, Hambel EM, Klein MK, et al. Neuraxial labor analgesia for vaginal delivery and its effects on childhood learning disabilities. *Anesth Analg* 2010.