

## 쥐의 신경병증성 통증 모델에서 트라마돌의 진통효과

서울대학교 치과대학 치과마취학교실

송 경 화 · 김 현 정 · 염 광 원

= Abstract =

### Antinociceptive Effects of Tramadol on the Neuropathic Pain in Rats

Kyung-Wha Song, D.D.S., Hyun-Jeong Kim, M.D., and Kwang-Won Yum, M.D.

Department of Anesthesiology, College of Dentistry, Seoul National University, Seoul, Korea

**Background:** Tramadol is known to be a weak opioid. However, it has also been shown that tramadol is an effective norepinephrine and serotonin uptake blocker, which may be effective in the treatment of neuropathic pain. The present study was undertaken in order to assess the antinociceptive action of tramadol and to investigate possible antinociceptive mechanisms by using antagonists in an animal neuropathic pain models in rats.

**Methods:** Rats were prepared with tight ligation at the left 5 and 6th lumbar spinal nerves (Kim and Chung's neuropathic pain model). The antinociceptive effects of tramadol (10, 20, and 50 mg/kg i.p.) in rats with neuropathic pain were assessed. Additionally, following coadministration of antagonists such as naloxone (1 mg/kg i.p.), yohimbine (1 mg/kg i.p.) and ritanserin (1 mg/kg i.p.) with 50 mg/kg of tramadol, the responses to mechanical and thermal stimuli were measured over a two-hour period.

**Results:** Tramadol displayed potent antinociceptive effects in a dose-dependent manner on rats with neuropathic pain ( $P < 0.05$ ). The effects of tramadol were inhibited by coadministered naloxone and yohimbine in rats with mechanical and thermal allodynia, respectively ( $P < 0.05$ ). However, there were no significant changes in the pain behaviors in the case of ritanserin.

**Conclusions:** Tramadol showed significant antinociceptive effects in rats with regards to neuropathic pain against both mechanical and thermal allodynia. The antinociceptive effect on the mechanical stimuli is mediated via an opioid receptor. However, it appears that the antinociceptive effects on thermal allodynia are mediated via a noradrenalin receptor vice a serotonergic receptor.

**Key Words:** Analgesic, Naloxone, Neuropathy, Ritanserin, Tramadol, Yohimbine

책임저자 : 김현정, 서울시 종로구 연건동 28  
서울대학교 치과대학 치과마취학교실  
우편번호: 110-744  
Tel: 02-760-3042, Fax: 02-766-9427  
E-mail: dentane@plaza.snu.ac.kr

박사학위 논문임.

본 연구는 서울대학교 발전기금 일반학술연구비(00-3-3-55) 지원으로 수행되었음.

## 서 론

외상이나 염증, 허혈성 손상 또는 대사산물에 신경이 노출되었을 때, 신경병증성 통증이 발생한다. 신경병증성 통증은 자발통, 이질통 및 통각과민을 특징으로 하며, 난치성 통증 질환의 하나이다.<sup>1)</sup> 임상적으로 신경병증성 통증의 일차 치료제는 신경말단

에서 norepinephrine과 serotonin의 농도를 증가시키는 삼환계 항우울제들이다.<sup>2)</sup>

경미한 마약성 진통제인 트라마돌도 신경말단에서 norepinephrine과 serotonin의 흡수를 방해하여 이들의 농도를 신경말단에서 증가시키는 것으로 알려져 있다.<sup>3)</sup> 최근에 대상포진 후 신경통, 다발성 신경병증 등의 신경병증성 통증치료에 트라마돌이 임상적으로 사용되어 탁월한 치료효과가 입증되었고,<sup>4,5)</sup> 일부 신경병증성 동물 통증 모델에서도 그 진통효과가 보고 되고 있다.<sup>6,7)</sup> 그러나 아직까지는 신경병증성 통증에서 트라마돌의 진통기전은 알려진 바가 없다.

따라서, 본 연구에서는 쥐의 신경병증성 통증 모델에서 트라마돌의 진통효과를 확인하고, 길항제들을 트라마돌과 동시 투여하여 트라마돌의 진통기전을 규명하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 통증행동검사

실험동물은 초기 체중 150-200 g의 웅성 Sprague-Dawley 쥐를 대상으로 12시간의 광주기성을 유지하며, 4-5마리씩 짝집이 있는 통에 사육하였다. 통증 행동 검사는 일정 온도(20-24°C) 및 일정 습도 (40-60%)를 유지한 환경에서 일정 시간(오전 10시-오후 5시)에 시행하였다.

기계적 자극에 대한 통증회피반응은 철망 위에 놓인 통(8 × 8 × 18 cm) 속에 대상 쥐를 넣고, 30분 동안 안정시킨 후 측정하였다. 통증 행동 검사 전 보정한 von Frey hair들(0.41, 0.70, 1.20, 2.00, 3.63, 5.50, 8.50, 및 15.14 g) 중 2.00 g부터 시작하여 철망 사이로 up & down 방법으로<sup>8)</sup> 발바닥에 자극을 가한 후 50% 회피 역치를 측정하였다.

냉자극에 대한 통증회피반응은 철망 위에 놓인 통(8 × 8 × 18 cm) 속에 대상 쥐를 넣고 30분 동안 안정시킨 후 99% 아세톤을 철망 사이로 쥐의 발바닥에 한 방울 문헌 후 통증회피반응이 나타날 때까지의 잠복기를 측정하였고, 차단 시간은 20초로 하였다. 열자극에 대한 통증회피반응은 Hargreaves 방법을<sup>9)</sup> 이용하였다. 즉 Plantar test (Ugo-Basil, Italy) 기계를 이용하여 빛의 강도는 40, 차단 시간은 50초로 하여 열자극에 대한 잠복기를 자동으로 측정하였다. 온도자극에 대한 실험은 5분 간격으로 5회 시행

하여 평균 잠복기를 선택하였다.

### 신경병증성 통증 모델의 제작

Kim과 Chung의 방법을<sup>10)</sup> 이용하여 신경병증성 통증 모델을 제작하였다. 신경결찰 전 1주일 동안 3회 시행한 통증행동검사에서 3회 모두 통증회피반응을 보이지 않은 쥐들을 대상으로 Halothane (2-3 V%) 흡입마취 하에 척추의 정중선을 절개한 다음 제 5 및 6번 요척수 신경을 노출한 후 6-0 실크 봉합사로 단단히 결찰하였다. 생리식염수로 관주하고, 지혈한 후 근육과 피부를 다시 봉합하였다.

모델제작 후 1, 4, 7 및 14일에 통증 반응 검사를 시행하여 통증이 확실히 발생한 쥐들을 대상으로 약물을 투여하였다.

### 약물들의 준비 및 투여

트라마돌(Zipan, Il-Sung, Korea)과 마약성 수용기에 대한 길항제인 naloxone은 생리식염수에, noradrenaline 수용기 길항제인 yohimbine과 serotonin 수용기 길항제인 ritanserin은 최소량의 증류수에 용해한 후 생리식염수로 최종 용량이 1.5 ml이 되게 준비하였다. 길항제들은 모두 Sigma (USA)에서 구입하였다.

트라마돌의 진통효과를 측정하기 위하여 복강내 주사(10, 20, 및 50 mg/kg)하였다. 또한 트라마돌의 수용기에 대한 진통효과를 보기 위하여 1 mg/kg의 naloxone, yohimbine 및 ritanserin을 트라마돌(50 mg/kg)과 함께 복강 내에 각각 투여하였다. 통증 반응의 변화는 약물 투여 전과 투여 후 30, 60 및 120분 경과 후에 기계적 및 온도자극에 대한 통증회피반응을 측정하였다.

### 통계

모든 수치는 평균 ± 표준오차로 나타내었다. 한편 통증 행동 반응의 변화는 약물 투여 전의 수치를 기준으로 % change로 환산하여 나타내었다. 시간 경과에 따른 통증 반응의 변화는 LSD post hoc multiple comparisons를 포함한 repeated measured ANOVA (SPSS ver 7.5, USA)를, 군간의 비교는 t-test를 이용하였다. P 값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 간주하였다.

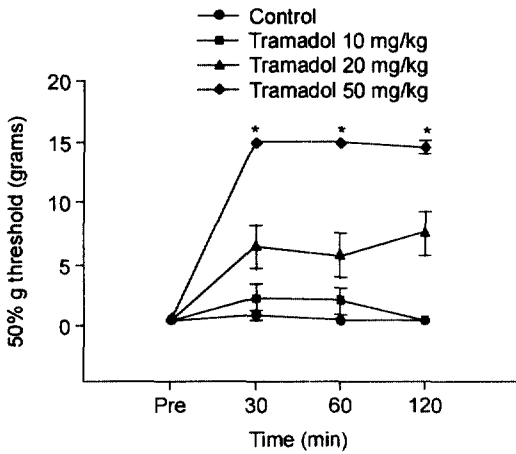


Fig. 1. Analgesic effect of intraperitoneal injection of tramadol on the mechanical allodynia. Tramadol 50 mg/kg showed significant analgesic effect on the mechanical allodynia compared to control ( $P < 0.05$ ).

결 과

기계적 이질통에 대한 트라마돌의 진통효과는 용량 증가에 따라 증가하는 경향을 보였고, 50 mg/kg의 용량에서 대조군에 비하여 유의한 진통효과를 보였다(Fig. 1,  $P < 0.05$ ). 한편, 열자극에 대한 반응에서는 50 mg/kg의 용량에서, 냉자극에 대한 반응에서는 20 및 50 mg/kg의 용량에서 대조군에 비하여 유의한 진통효과를 보였다(Fig. 2,  $P < 0.05$ ).

또한 기계적 이질통에서는 naloxone이, 열자극에 대한 이질통에서는 yohimbine이 유의한 길항효과를 나타내었다( $P < 0.05$ ). 그러나 ritanserin은 두 이질통 모두에 의미있는 길항효과를 보이지 않았다(Table 1, Fig. 3).

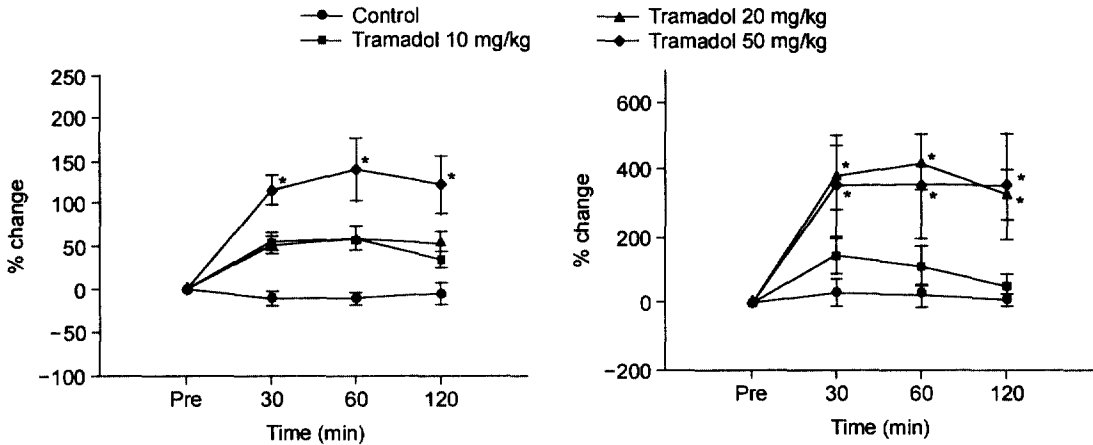


Fig. 2. Analgesic effect of intraperitoneal injection of tramadol on the thermal allodynia (above; heat, bottom; cold stimuli). Tramadol 50 mg/kg showed significant analgesic effect on the thermal allodynia compared to control ( $P < 0.05$ ).

Table 1. Effects of Antagonists on the Tramadol-induced Analgesia in Rats with Mechanical Allodynia

		Pre	30 min	60 min	120 min
Normal saline	8	0.41 ± 0.00	0.91 ± 0.41	0.51 ± 0.10	0.41 ± 0.00
Tramadol	13	0.46 ± 0.05	15.14 ± 0.00	15.14 ± 0.00	14.64 ± 0.50
Tramadol with naloxone	4	0.41 ± 0.00	0.61 ± 0.20	0.41 ± 0.00	0.41 ± 0.00
Tramadol with ritanserin	6	0.54 ± 0.14	15.14 ± 0.00	15.14 ± 0.00	15.14 ± 0.00
Tramadol with yohimbine	5	0.41 ± 0.00	15.14 ± 0.00	15.14 ± 0.00	15.14 ± 0.00

Data were expressed as mean ± SE.

(unit: g)

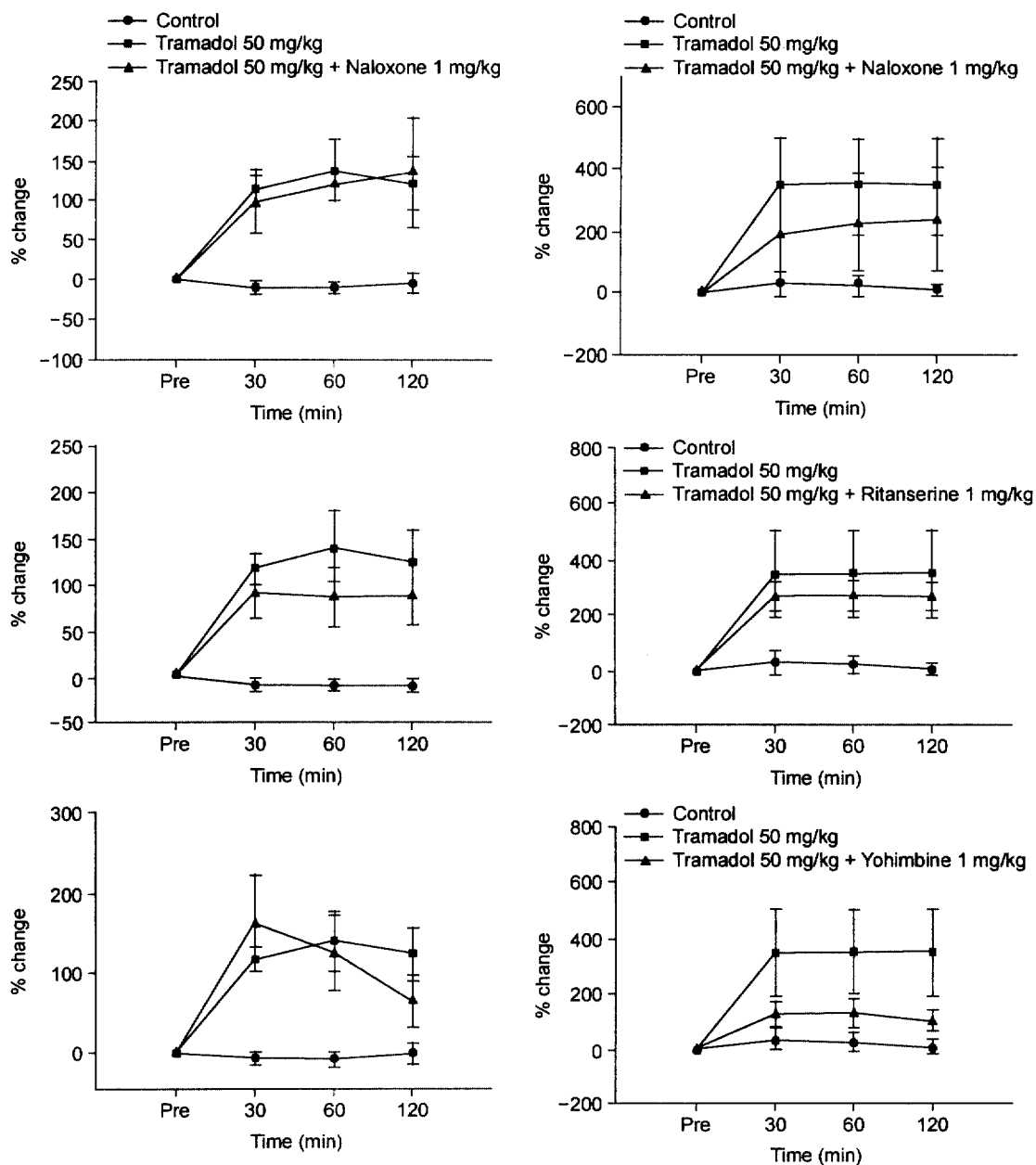


Fig. 3. Effects of antagonists (top; naloxone, middle; ritanserin, bottom; yohimbine) on the tramadol- induced analgesia induced by intraperitoneal injection to thermal allodynia (left; heat, right; cold stimuli). Yohimbine showed significant antagonistic effects on thermal allodynia induced by cold stimuli compared to only tramadol treatment ( $P < 0.05$ ). Naloxone and ritanserin did not show any antagonistic effects on the thermal allodynia.

### 고찰

트라마돌이 쥐의 말초신경 손상 후에 발생된 기계

적 및 온도자극에 대한 이질통 모두에서 탁월한 진통효과를 나타낼 수 있음을 본 연구에서 확인할 수 있었다. 트라마돌은 aminocyclohexanol 유도체로서 아편양  $\mu$  수용기에 대한 결합성은 morphine의 1/6000

인 것으로 보고되고 있다. 이러한 이유로 트라마돌은  $\mu$  수용기 활성화에 따른 여러 아편양 제제들의 심각한 합병증들인 호흡저하, 약물중독 등을 동반하지 않고, 비마약성스테로이드 진통제들과는 달리 심각한 위장장애 없이 여러 종류의 급만성 통증에 오랜 시간 동안 사용되어, 약물 안전성이 입증된 약물이다.<sup>11)</sup> 최근에는 보다 다양한 범주의 만성 통증에서도 사용되어 트라마돌의 진통효과 확인되고 있고,<sup>12)</sup> 본 연구결과 향후 트라마돌이 신경손상에 기인한 신경병증성 통증에서도 효과적인 치료제가 될 수 있음을 알 수 있었다.

한편 연구에 사용된 길항제들의 농도는 길항효과를 보여주었던 기존의 여러 연구 결과들에서 참조하였고,<sup>13,14)</sup> 길항제들과 같이 투여된 트라마돌의 농도는 진통 효과 실험에서 가장 효과적인 용량인 50 mg/kg로 결정하였다.

일반적으로 아편양 약제들은 신경병증성 통증에 효과가 좋지 않은 것으로 알려져 있으나, 이에 대한 반론들이 여러 논문들에서 제기되고 있다.<sup>15,16)</sup> 최근 Nam 등은<sup>17)</sup> 저빈도, 고강도의 전기자극에 의해 분비되는 내인성 아편양 제제에 의하여 진통효과를 보이는 기계적 이질통에 naloxone이 길항효과를 보였음을 보고하였다. 이는 신경병증성 통증에도 아편양 제제들이 효과적임을 시사한다. 본 실험에서도 기계적 이질통에 대한 트라마돌의 진통효과는 같이 투여된 naloxone에 의하여 차단되어, 기계적 자극에 대한 통증은 아편양  $\mu$  수용기에 의해 매개됨을 알 수 있었다.

트라마돌은 수용기 말단에서 serotonin (5-HT)과 noradrenalin 일가 아민(monoamine) 신경전달물질들의 재흡수를 방해하여 신경접합에서 그 농도를 증가시키고, 이들 신경전달물질들은 통증 전달경로 중 하행성 억제경로에 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>18)</sup> 온도자극에 대한 이질통은 yohimbine에 의하여 길항되었다. Desmeules 등은 트라마돌의 진통효과가 yohimbine에 의하여 의미있게 길항되었음을 보고하여<sup>18)</sup> 본 연구의 결과와 합당하였다.

척수강 내로 투여된 여러 5-HT 수용기 결합물질 중 5-HT<sub>2</sub> 수용기가 신경병증성 통증에서 가장 중요한 역할을 할 수 있음이 보고되어,<sup>19,20)</sup> 본 연구에서는 5-HT 수용기 중 5-HT<sub>2</sub>/5-HT<sub>1c</sub>에 특이적으로 결합하는 ritanserin을 길항제로 선택하였다. 그러나, 본

연구에서 기존의 다른 연구들과는 다르게 트라마돌의 진통효과에 대하여 유의한 길항효과를 보이지 않은 이유는 약물의 투여경로와<sup>19,20)</sup> 희석방법에 차이에<sup>20,21)</sup> 의한 것으로 생각된다. 따라서 이에 대한 추가연구가 요구되는 바이다.

결론적으로 말초신경 손상 후 신경병증성 통증이 발생된 쥐들에서 트라마돌은 기계적, 열자극에 대한 이질통 모두에 진통효과를 보였으며, 기계적 자극에 대한 진통효과는 아편양 수용기에, 열자극에 대한 이질통은 noradrenalin 수용기의 작용한 것으로 생각된다.

## 참 고 문 헌

1. 임중우, 최 윤, 이재환, 남택상, 백광세: 신경병증성 통증 모델 쥐에서 뇌간핵 부위에 미세 주입한 Bicuculline에 의한 척수후각세포의 반응도 억제. 대한통증학회지 1998; 11: 23-9.
2. Tura B, Tura SM: The analgesic effect of tricyclic antidepressants. Brain Res 1990; 518: 19-22.
3. Driessen B, Reimann W: Interaction of the central analgesic, tramadol, with the uptake and release of 5-hydroxytryptamine in the rat brain in vitro. Br J Pharmacol 1992; 105: 147-51.
4. Attal N: Pharmacologic treatment of neuropathic pain. Acta Neurol Belg 2001; 101: 53-64.
5. Sindrup SH, Andersen G, Madsen C, Smith T, Brosen K, Jensen TS: Tramadol relieves pain and allodynia in polyneuropathy: a randomised, double-blind, controlled trial. Pain 1999; 83: 85-90.
6. Apaydin S, Uyar M, Karabay NU, Erhan E, Yegul I, Tuglular I: The antinociceptive effect of tramadol on a model of neuropathic pain in rats. Life Sci 2000; 66: 1627-37.
7. Tsai YC, Sung YH, Chang PJ, Kang FC, Chu KS: Tramadol relieves thermal hyperalgesia in rats with chronic constriction injury of the sciatic nerve. Fundam Clin Pharmacol 2000; 14: 335-40.
8. Dixon WJ: Efficient analysis of experimental observations. Ann Rev Pharmacol Toxicol 1980; 20: 441-62.
9. Hargreaves K, Dubner R, Brown F, Flores C, Joris J: A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. Pain 1988; 32: 77-88.
10. Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal

- nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50: 355-63.
11. Bamigbade TA, Langford RM: Tramadol hydrochloride: an overview of current use. *Hosp Med* 1998; 59: 373-6.
  12. Sindrup SH, Jensen TS: Efficacy of pharmacological treatments of neuropathic pain: an update and effect related to mechanism of drug action. *Pain* 1999; 83: 389-400.
  13. Rubat C, Coudert P, Mavel S, Fialip J, Couquelet J: Effects of two N-arylpiperazinylmethylpyrazolo [1,5-d][1,2,4]triazine derivatives in pain and antidepressant tests in mice. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49: 1019-24.
  14. Massi M, Marini S: Effect of the 5HT<sub>2</sub> antagonist ritanserin on food intake and on 5HT-induced anorexia in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 26: 333-40.
  15. DelleMijn P: Are opioids effective in relieving neuropathic pain? *Pain* 1999; 80: 453-62.
  16. Kontinen VK, Paananen S, Kalso E: Systemic morphine in the prevention of allodynia in the rat spinal nerve ligation model of neuropathic pain. *Eur J Pain* 1998; 2: 35-42.
  17. Nam TS, Choi Y, Yeon DS, Leem JW, Paik KS: Differential antinociceptive effect of transcutaneous electrical stimulation on pain behavior sensitive or insensitive to phentolamine in neuropathic rats. *Neurosci Lett* 2001; 301: 17-20.
  18. Desmeules JA, Piguat V, Collart L, Dayer P: Contribution of monoaminergic modulation to the analgesic effect of tramadol. *Br J Clin Pharmacol* 1996; 41: 7-12.
  19. Obata H, Saito S, Sasaki M, Ishizaki K, Goto F: Antiallodynic effect of intrathecally administered 5-HT (2) agonists in rats with nerve ligation. *Pain* 2001; 90: 173-9.
  20. Fone KC, Robinson AJ, Marsden CA: Characterization of the 5-HT receptor subtypes involved in the motor behaviours produced by intrathecal administration of 5-HT agonists in rats. *Br J Pharmacol* 1991; 103: 1547-55.
  21. Samanin R, Mennini T, Bendotti C, Barone D, Caccia S, Garattini S: Evidence that central 5-HT<sub>2</sub> receptors do not play an important role in the anorectic activity of D-fenfluramine in the rat. *Neuropharmacology* 1989; 28: 465-9.
-