

Mannitol 투여에 의한 Blood-brain Barrier Disruption시에 Barbiturate와 Propofol의 비교

아주대학교 의과대학 신경외과학교실

윤수한 · 안영환 · 안영민 · 조기홍 · 조경기

The Effect of Barbiturate and Propofol on Blood-Brain Barrier Disruption Induced by Mannitol

Soo Han Yoon, Young Hwan Ahn, Young Min Ahn
Ki Hong Cho and Kyung Gi Cho

Department of Neurosurgery, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

We compared the anesthetic effects of barbiturate and propofol on mannitol-induced blood-brain-barrier disruption in four groups of each 6 rats. Group 1 was a barbiturate saline control, group 2 was propofol saline control, group 3 given propofol mannitol, and group 4 given barbiturate mannitol. There was no significant difference between group 1 and 2, or between group 3 and 4. These results suggest that barbiturate can be replaced with propofol for anesthesia in mannitol-induced blood-brain-barrier disruption.

Key Words: Blood brain barrier disruption, Mannitol, Barbiturate, Propofol

서 론

mannitol과 같은 고삼투압성 제제에 의한 blood-brain-barrier disruption(BBBD)의 조작은 악성 뇌종양의 화학요법제중 대표적인 BCNU, ACNU, cis-platinum 등의 경동맥 투여시^{1,2,3} 그외에 항진균제, 또는 monoclonal antibody 등을 뇌실질내로 통과시키기 위해서 사용되고 있는데 이러한 고삼투압성 제제에 의한 BBBD의 조작은 간단하고 경제적이어서 가장 많이 이용되고 있다. BBBD 조작중 마취방법으로는 barbiturate를 고전적으로 많이 사용하여 왔지만, 근래에 널리 쓰이기 시작한 propofol은 작용시간이 아주 짧아 마취시간 조절이 정확하여 실험실 사용에서도 작용시간 조절이 좋다는 장점이 있고, 임상적으로는 통원치료에도 쓸 수 있다는 장점이 있어 BBBD를 하고자 할때 마취로서 propofol을 사용가능한지에 대해서 알기 위하여 백서에서 barbiturate와 propofol을 사용시에 mannitol에 의한 BBBD의 정도를 조사 비교해 보고자 한다.

방 법

전체 24마리의 백서를 4개의 군으로 나누어 1군은 barbiturate 마취를 한 식염수 대조군(saline control), 2군은 propofol 마취를 한 식염수 대조군, 3군은 propofol 마취에 의한 mannitol BBBD군, 그리고 4군은 barbiturate 마취에 의한 mannitol BBBD군으로 하였다. 2군과 3군에서 각각 몸무게가 200~500 gm 정도의 6마리의 백서(Sprague-Dawley rat)에서 ethanol 로 5분정도 초기마취를 시행하여 기관절개 및 대퇴정맥의 삽관을 시행후 propofol을 정맥내 주입하여 마취의 깊이를 조절하였으며, 1군과 4군에서는 각각 6마리의 백서에서 barbiturate를 사용하여 마취를 하고나서 혈압을 90 mmHg이상을 유지하고 tracheostomy를 시행하며 필요시에는 인공호흡을 사용하였다. 대퇴동맥과 대퇴정맥에 삽관을 하고 이를 통하여 마취제를 투여하고 pterygopalatine 동맥은 절찰하며 외경동맥에 삽관하여 이를 통해서 동맥내 약물투여를 하였으며, 약물투여시 심장으로 약물이 역류되지 않도록 내경동맥과 외경동맥으로 분지하는 점에서 약 5~10 mm 근위부의 경동맥을 박리하여 일시적으로 절찰하였다. 혈장내의 albumin(M.W.=68,000)과 완전히 결

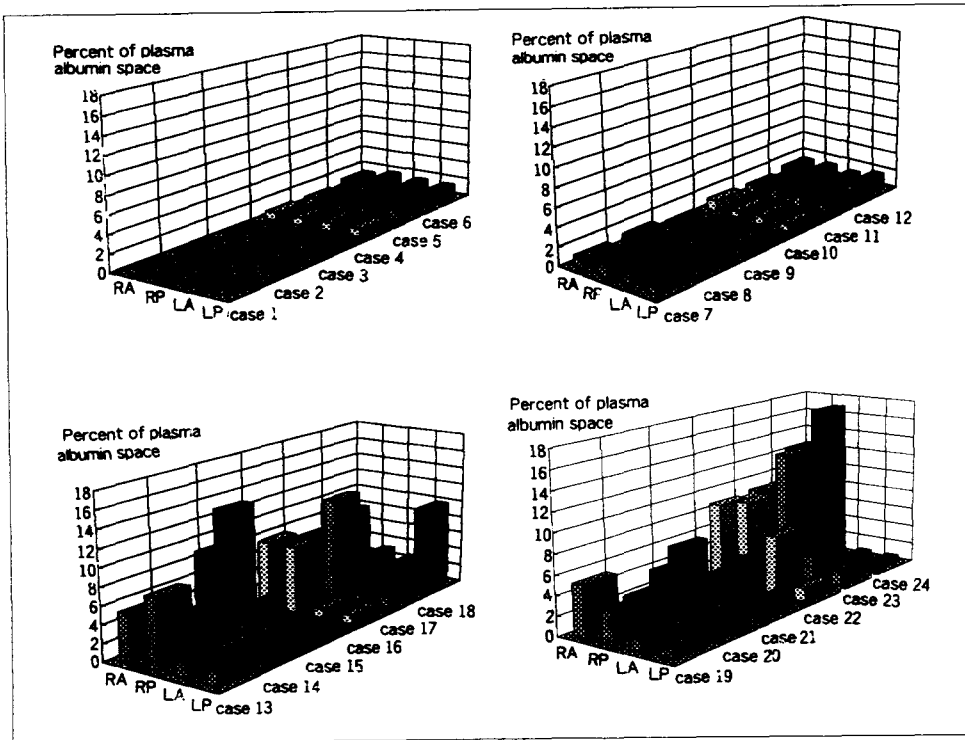


Fig. 1. Bar graphs showing averages of percent plasma albuminal space. *Upper Left:* Group 1 of barbiturate saline control. *Upper Right:* Group 2 of propofol saline control. *Lower Left:* Group 3 of propofol mannitol administration. *Lower Right:* Group 4 of barbiturate mannitol administration. (RA:right anterior portion of cerebrum, LA:left anterior portion of cerebrum, RP:right posterior portion of cerebrum, LP:left posterior portion of cerebrum)

합되는 양의 Ebans-blue(2%, 2 ml/kg)를 대퇴정맥으로 주입하고나서, 5분후에 0.5~1.0 mCi ^{99m}Tc-human serum albumin을 주사하고, 다시 5분후에 1군과 2군에서는 7 ml/Kg 37°C의 normal saline을, 3군과 4군에서는 37°C 25% mannitol을 1.75 g/kg을 경동맥으로 35~50초에 걸쳐서 투여한후 40분후 KCl을 정맥주사하여 사망시킨뒤 백서의 뇌를 분리하여 대뇌 전반부와 후반부의 2가지 부분으로 나누고, 각각에서 뇌부분의 단위무게당 방사선량을 측정하였고 또한 혈장의 단위량당 방사선량을 측정하여 결국 뇌-혈장방사선량 비율(percent albuminal space)을 계산하였고 확인을 위해서 Ebans-blue의 염색 정도를 관찰하였다.

결 과

saline barbiturate를 투여한 1군에서는 뇌전체에 있어 0.66~0.78% albumin space를 보였으며 Ebans-blue 염색에서 거의 염색이 되지 않았고, saline propofol을 투여

한 2군에서도 뇌전체에서 0.96~1.07% albumin space를 보였으며 Ebans-blue 염색에서 역시 거의 염색이 되지 않았다. mannitol propofol를 투여한 3군에서 percent albumin space는 우측 뇌에서 6.08~7.21 정도를 보였고, 좌측뇌에서 0.96~0.97을 보여 현저한 차이를 보였으며, Ebans blue 염색에서도 우측뇌 우선의 염색을 보였고, mannitol barbiturate를 투여한 4군에서는 우측뇌에서 5.95~7.08, 좌측뇌에서 1.3~2.05% albumin space를 각각 보였으며 좌측뇌보다 우측뇌에서 역시 현저한 Evans blue 염색을 보였다(Table 1).

고 찰

urea, arabinose, lactamide, sucrose, 그리고 mannitol 등의 고삼투압성 제제에 의한 blood-brain barrier disruption은 일시적일 수도 있고 영구적일 수도 있으며, 사용된 약제의 lipid solubility에 따라서 주로 결정되는데, 지질에 잘 녹고 전해성이 없을수록 세포막의 손상을 심하

Table 1. Plasma albuminal space of the four portions of cerebrum in each group

Group	RA	RP	LA	LP
group 1: saline barbiturate averages	0.6658	0.7862	0.7077	0.729
standard deviations	0.2524	0.3866	0.3130	0.3064
group 2: saline propofol averages	1.0735	1.089	0.9568	0.9655
standard deviations	0.2054	0.2698	0.1880	0.3854
group 3: mannitol propofol averages	6.0791	7.2121	1.229	1.9962
standard deviations	3.6892	3.8861	0.5393	2.7691
group 4: mannitol barbiturate averages	5.9481	7.0774	2.0462	1.2564
standard deviations	3.1657	4.6859	1.7526	0.7454

RA:right anterior portion of cerebrum, LA:left anterior portion of cerebrum, RP:right posterior portion of cerebrum, LP:left posterior portion of cerebrum

게 가져오게 되는데 그예로, propylene glycol을 사용하면 blood-brain barrier가 불가역적으로 파괴되어 버린다^{4,5}. 저자들에 따라 여러 보고가 있지만 blood-brain barrier disruption은 투여되는 용액의 삼투압성, 투여 시간, 투여 속도, 그리고 투여량 등에 의해서 결정되는 threshold event로서 보고되고 있다^{6,7}.

이러한 일시적인 blood-brain barrier의 열림(opening)은 대뇌 모세혈관이 고삼투압성 제제에 의해서 수축되면서 tight junction을 당겨서 생긴 이차적인 현상으로 tight junction이 일시적으로 열린 결과로 생각되어 왔는데⁸, Nagy와 Huttner는⁹ 고삼투성 mannitol 투여후 tight junction이 부분적으로 열리고 각 junctional strand가 풀리는 것을 보여주었으며, Brightman은¹⁰ urea 투여후 일부 내막세포 사이에서 약 15~60 nm 크기의 tight junction opening이 있었다고 보고하였으나, 후에 Nagy등¹¹은 고삼투압성 mannitol 투여후에도 대뇌 혈관내막 세포의 동결절편(freeze fracture)에서 직접적인 구조변화의 증거를 볼 수 없었다고 보고하였다.

그 동안에 고혈압시에 blood-brain barrier 통과성이 증가한다는 사실에 기초하여 세포내 vesicle 형성이 증가하고 이들의 합류에 의해서 transendothelial channel을 형성한다는 이론이 대두되었는데^{12,13}, 이것은 높은 내압에 대한 혈관의 취약성을 증가시키는 즉, 혈관이 늘어나서 autoregulation 기능을 잃어버린 혈관확장의 2차적 결과로 생각되며, 다시 말해서 혈관내압이 급격히 증가하면 cyclic AMP 억제의 결과로 내막세포막에서 pinocytotic vesicle 형성이 시작될 것으로 추측되었다. Houthoff등¹²은 경동맥으로 urea를 투여하여 세포내막 세포, basal lamina, 그리고 perivascular brain tissue에서 표지물

질로 사용한 HRP가 불연속적으로 extravasation 되었다고 보고했고, 여기서 많은 수의 endothelial vesicle이 주로 10초와 5분대에 증가하였으며, channel-like structure 또는 계속적인 vesicular array들이 내막세포의 세포질에서 관찰 되었다고 하였다. Farrel과 Shivers¹⁴는 arabinose를 투여한 쥐의 모세혈관 내막 세포에서 동결절편기법을 이용하여 수많은 membrane-bound cytoplasmic vesicle을 발견하였다고 하였으며, 이들의 크기는 40~200 nm 이고, 여러가지의 크기가 있으며, 한개로, 집단적으로 또는 고리모양으로 나타나며, 또한 세포를 통과하는 관형 구조는 발견되었지만 junction 구조에는 변화가 없었다고 보고하였다.

최근에 Broadwell등¹⁵은 전기적 극성을 가진 대뇌 혈관세포의 blood-brain barrier를 통하여 macromolecule이 vectorial transcytosis 되는 것에 주의를 기울이기 시작하였는데, 이들은 HRP와 wheatgerm agglutinin을 사용하여 bulk-phase와 absorptive endocytosis를 각각 보여주었으며, 또한 이러한 transcytosis는 Villegas와 Broadwell¹⁶에 의해서 한방향으로만 있다고 강조하였다. endocytosis나 transcytosis는 대뇌의 혈관내막세포에서 macromolecule의 통과에 주로 작용하는데, 따라서 세포내 cyclic nucleotide의 생성도 에너지원으로서 중요하며, cyclic nucleotide 생성이나 대사에 관여하는 약물도 pinocytosis와 macromolecule의 이동에 영향을 줄 수 있을 것으로 추측된다¹⁷.

protein phosphorylation과 다른 세포기능의 조절에서 second messenger의 역할에 대해서 연구되었는데, 여기서 4가지의 주요 second messenger system이 작용할 것으로 제시되었고, Ca²⁺-calmodulin (CAM) system,

Ca²⁺-phospholipid-dependent protein kinase C (PKC) system, cyclic GMP (cGMP) system, 그리고 cyclic AMP (cAMP) system 등으로서 이들에 의한 protein phosphorylation이 blood-brain barrier를 통한 이동성과 투과성에 변화를 가져올 수도 있을 것으로 보고되었다^{18,19}.

마취제에 따른 BBBD에 대한 보고는 Newelt³가 처음으로 mannitol을 이용하여 항암제 투여에 사용을 보고한 이후 Gumerlock등²⁰이 여러 가지 휘발성 마취제를 백서에 사용하여 보고한 바 있으나 지금까지 그 실험 방법에 있어서는 mannitol에 의해서 BBBD가 성공한 레측, Ebans-blue 염색이 이루어진 경우만으로 그 자료를 보고하였으므로 자료선택의 방법에 있어서의 결함을 가지고 있어 문제가 있었다.

본 실험에서는 mannitol에 의한 BBBD를 단순히 Ebans-blue 염색으로만 단정하지 않고 방사선량에 의한 자료산출을 하여 BBBD의 여부를 결정하였다. 대조군인 1군과 2군에서는 BBBD의 정도가 아주 적어 일반적으로는 BBBD가 이루어지지 않았다고 말할 수 있었으며, 통계적으로도 두자료간에 차이가 없어(p<0.01) propofol 이 직접적으로 BBBD에 미치는 영향은 없는 것으로 간주할 수 있었다. mannitol에 의한 BBBD에 있어서의 마취제의 영향을 조사한 3군과 4군중 propofol 을 사용한 3군에서는 mannitol을 이용한 BBBD이 5레에서는 좌측뇌보다 주로 우측뇌에 높게 일어났고, 1레에서는 양측성으로 일어났으며, 우측뇌중에서 전반부와 후반부의 위치에 따른 차이는 없었다. barbiturate를 사용한 4군에서는 2레에서 양측성으로 BBBD를 보였고, 전체적으로는 3군의 BBBD와 차이를 보이지 않았으며(p<0.03), 따라서 mannitol에 의한 BBBD 조작시에 barbiturate 대신에 propofol을 사용할 수 있을 것으로 사료되었다. 양측성을 보인 경우는 뇌혈류가 circle of Willis의 구조에 따라 전교통동맥이나 후교통동맥을 통하여 반대편으로 진행하여 이루어진 결과로 추측되며 일부는 실험방법에서 외경동맥에 삽관시 경부절개를 하게되고 이때 lidocaine을 쓰는데 이 마취제의 교감신경에 대한 국소적인 자극차단에 기인할 수도 있을 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

- Gumerlock MK, Belshe BD, Madsen R and Watts C: Osmotic brain barrier disruption and chemotherapy in the treatment of high grade malignant glioma. Patient series and literature review. *J Neurol Onco* 12: 33-46, 1992
- Hiesiger EM, Voorhies RM, Basler GA, Lipschutz LE, Posner JB and Shapiro WR: Opening the blood-brain and blood-tumor barriers in experimental rat brain tumors: The effect of intracarotid hyperosmolar mannitol on capillary permeability and blood flow. *Ann Neurol* 19: 50-59, 1986
- Newelt E and Dahlborg S: Blood-brain barrier disruption in the treatment of brain tumors: Clinical implications. In *Implications of the Blood-Brain Barrier and Its Manipulation*. Vol 2, E.A. Newelt(ed), Plenum Publishing Corporation, New York, 1989, pp195-261
- Pollay M: Effect of hypertonic solutions on the blood-brain barrier. *Neurology* 25: 852, 1975
- Pollay M: Evaluation of altered blood-brain barrier permeability to amino acids. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 10: 763, 1975
- Greenwood J: Mechanisms of blood-brain barrier breakdown. *Neuroradiology* 33: 95-100, 1991
- Greenwood J, Luther PJ, Pratt OE and Lantos PL: Hyperosmolar opening of the blood-brain barrier in the energy-depleted rat brain. Part 1. Permeability studies. *J Cereb Blood Flow Metab* 8: 9-15, 1988
- Nagy Z, Pappius HM, Mathieson G and Huttner I: Opening of tight junction in cerebral endothelium: I. Effect of hyperosmolar mannitol infused through the internal carotid artery. *J Com Neurol* 185: 569-578, 1979
- Nagy Z and Huttner I: Opening of the tight junctions in cerebral endothelium by hyperosmolar mannitol. In *Acta Neuropathol Supplementum VIII - Cerebrovascular Transport Mechanisms*, KA Hossmann, I Klatzo (eds), Springer, New York, 1983, p143
- Brightman MW: The anatomic basis of the blood-brain barrier. In *Implications of the blood-brain barrier and its manipulation*, EA Newelt (ed), Plenum Publishing Corp, New York, 1989, pp53-83
- Nagy Z, Peters H, Huttner I: Fracture faces of cell junctions in cerebral endothelium during normal and hyperosmotic conditions. *Lab Invest* 50: 313-322, 1984
- Houthoff HJ, Go KG, Gerrits PO: The mechanisms of blood-brain barrier impairment by hyperosmolar perfusion. *Acta Neuropathol (Berl)* 56: 99-112, 1982
- Westergaard E: Ultrastructural permeability properties of cerebral microvasculature under normal and experimental conditions after application of tracers. *Adv Neurol* 28: 55-74, 1980
- Farrel CL, Shivers RR: Capillary junctions of the rat are not affected by osmotic opening of the blood-brain barrier. *Acta Neuropathol* 63: 179-189, 1984
- Broadwell RD: Transcytosis of macromolecules through the blood-brain barrier: A cell biological perspective and critical appraisal. *Acta Neuropathol* 79: 117-128, 1989

16. Villegas JG, Broadwell RD: Transcytosis of protein through the mammalian cerebral epithelium and endothelium. *J Neurocytol* 22: 67-80, 1993
 17. Nag S: Cerebral endothelial surface charge in hypertension. *Acta Neuropathol* 63: 276-282, 1984
 18. Joo F, Lengyel I, Kovacs J, Penke B: Regulation of trans-endothelial transport in the cerebral microvessels: The role of second messengers-generating systems. *Pro Brain Res* 91: 177-187, 1992
 19. Olah Z, Novak R, Lengyel I, Dux E, Joo F: Kinetics of protein phosphorylation in microvessels isolated from rat brain: Modulation by second messengers. *J Neurochem* 51: 49-56, 1988
 20. Gumerlock MK, Neuwelt EA: Anesthetic effects on osmotic disruption of the blood-brain barrier. *Neurosurgery* 26: 268-277, 1990
-