

가토에서 TRH로 야기된 장내용물 이동항진에 대한 Naloxone 및 Naltrexone의 봉쇄작용

이화여자대학교 의과대학 약리학교실

배 영 숙

= ABSTRACT =

Blockade by naloxone and naltrexone of the TRH-induced Stimulation of Colonic Transit in the Rabbit

Young Sook Pae, M.D.

Dept. of Pharmacology, College of Medicine, Ewha Womans University

Thyrotropin releasing hormone (TRH) administered intracerebroventricularly (i. c. v) in microgram quantities to anesthetized rabbits, produces marked stimulation of colonic motility, transit and fluid accumulation.

These effects depend on an intact vagal system. Atropine blocks hypermotility but not the increased intestinal transit and fluid accumulation. The latter effects are antagonized by antiserotonin compounds.

In this study we found that pretreatment of rabbits with naloxone (2.5 mg/kg) or naltrexone (1.0 mg/kg) attenuated or blocked the TRH-induced colonic transit and increase in luminal fluid, but not the hypermotility.

In this respect the narcotic antagonist effects resemble those produced by the antiserotonine compounds or opiate agonists.

서 론

Thyrotropin releasing hormone(이하 TRH로 약함)의 존재는 1960년도 초기에 처음 발표된 이래, 여러 동물의 종(species)에서 분리되었으며 tripeptide pyroglutamyl-histidyl-prolinamide로 증명되었다.

그 후 Kubek등은 1977년 TRH가 포유동물의 중추 신경계에 널리 분포되어 있으며, 또한 신경말단에 존재하고 synaptosome으로부터 유리된다고 보고 한 바 있다(Bennett등., 1975; Warberg등., 1977).

1979년 Tonone과 Nomoto는 TRH를 흰쥐 뇌측실 내로 투여하여 십이지장의 myoelectric activity를 변화시킴을 관찰하였다. 또 최근 토끼 뇌측실내로 microgram의 TRH를 주입하여 장운동의 항진을 관찰 보고 한 바 있다(Smith등., 1977; Lahann과 Horita., 1982:). 장운동 항진이란 평활근 운동의 증가 뿐 아니라, 장 내용물(주로 fluid contents를 말함)의 증가를 뜻하며, 이는 charcoal 주입시 charcoal 표식지의 이동항진으로 나타났으며, 이에 따라 설사를 유발시킴을 1982년 Horita와 Carino가 보고 하

였다. 그러나 양측 미주신경 절단시에 장운동 항진 및 내용물 이동의 항진이 봉쇄되거나 감소되었으며 atropine 투여로 장의 과운동성 (hypermotility)만 봉쇄되었다. Serotonin 길항제 투여시 장 내용물의 증가 및 이동 항진이 봉쇄되었으며 이에따라 설사도 억제됨을 관찰하였다. 이러한 점으로 미루어 보아 장 내용물의 양과 이동에 serotonin 이 관여함을 미루어 생각할 수 있다.

이러한 결과를 종합하여 보면 TRH는 미주신경계를 통해 장 평활근 수축을 항진시키며 serotonin에 의해 장 내용물 및 장 이동이 조절된다고 생각된다.

본 실험에서는 naloxone 과 naltrexone 을 투여하면 TRH로 야기되면 장 내용물의 증가 및 이동 항진이 봉쇄됨을 관찰하고 이는 중추신경계를 통한 TRH의 장 관제에 대한 작용을 일부 봉쇄한다고 생각되어 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

2.5~3.5 kg의 웅성가토를 사용하였으며 sodium pentobarbital(30mg/kg)을 정맥내 주사하여 마취시켰다.

뇌척수내 주입방법 (intracerebroventricular injection); Jacob 등 (1972)의 방법에 의하여(Bregma에서 부터 1.0 mm 비측, 정중선 봉합에서 양측옆으로 1.0 mm) 토끼 두개골에 천공하고 23 gauge 주사바늘로 TRH (10 µg/10 µℓ)를 뇌척수내에 주입하였다.

장 운동 graph 측정; 토끼에 기판지 절개술을 시행하여 인공호흡기로 호흡을 유지시켰다. Pancuronium bromide(0.4mg/kg)을 정맥내 주사하여 근육을 이완시키고 복부 정중선을 절개하여 결장을 노출 시킨 후 strain gauge를 부착시켜 grass model polygraph에 의해 장운동 곡선을 측정하였다.

장 내용물의 용량 측정; 1976년 Roberts 등이 시행한 enteropooling assay 방법에 의거하여 측정하였다.

즉 결장내 유동물질과 혈액으로 부터 내강 쪽으로 유출된 유동물질의 합으로 생각하여, 맹장과 결장 연결점을 실로 매어 맹장내용물이 결장으로 배출됨을 방지하였다. 도살직전 직장과 결장의 연결점을 매고, 결장내 내용물을 원심분리기 시험관에 받아 10,000G에서 30분간 원심침전 시켜 상층액만을 용적으로 측정하였다. 모든 내용물의 용량은 장의 길이 cm당 ml로 표시하였다.

결장 내용물의 이동 측정; charcoal 부유액을 결장 근위부에 주입한 후 2시간 후에 도살하여 결장을 잘라내어 charcoal 표식지의 이동거리를 측정하였다(Horita와 Carino., 1982;).

약품; atropine methyl bromide(MannResearch Laboratories, Inc; New York, NY); pancuronium bromide(Organon, Inc; West orange, NJ); sodium pentobarbital (Med-Tech Incorporated, Elwood, KS); TRH(Abbott Laboratories); naltrexone (Dupont pharmaceutical, Garden city, NY); naloxone hydrochloride (Endo Laboratories);

통계처리; charcoal 표식지의 이동거리 및 장 내용물의 용량은 student t-test에 의한 통계적 처리로 분석하였다.

결 과

1) TRH로 야기된 장 내용물의 증가 및 charcoal 표식지의 이동 항진에 대한 naltrexone, naloxone의 효과

마취된 토끼에 10 µg의 TRH를 뇌척수내로 주입한 경우 2시간 후 charcoal 표식지가 약 60cm정도 이동함을 볼 수 있으며 이는 대조군에 비해 약 6배나 증가된 이동을 보여 주었다(Fig. 1). 이때 장 내용물은 pellet모양의 형태를 갖추지 못한 유동성의 변을 말하며 fluid의 양은 대조군에 비해 상당히 증가된 양상을 나타내었다(P<.02). (Table 1).

TRH로 야기된 charcoal 표식지의 항진된 이동은 naloxone(2.5mg/kg)이나 naltrexone (1.0mg/kg)을 20분전 전처치 할 경우 완전히 봉쇄되었으며, naloxone이나 naltrexone 만을 투여한 군은 대조군과 비슷한 양상을 보였다(Fig. 1).

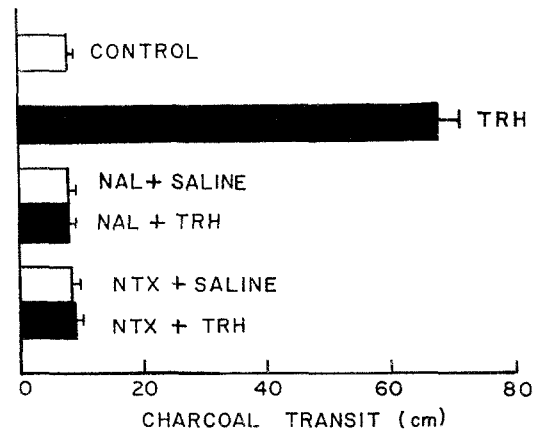


Fig. 1. Effect of naloxone (Nal) and naltrexone (Ntx) on TRH-induced charcoal transit in the colon of anesthetized rabbits. Each bar represents the mean \pm sem responses observed in five to seven animals.

Table 1. Effect of naltrexone on TRH-stimulated fluid accumulation in colon of anesthetized rabbits. Data represent mean \pm S.E.M. volumes of fluid accumulation per cm of colon after different drug treatments. Animals were anesthetized with 30 mg/kg of pentobarbital Na. Naltrexone (N-TX) was administered i. v. 25 min before the saline or TRH. ^ap < .02 ^bp < .01.

DRUG TREATMENT	N	FLUID VOL.(ml / cm)
Saline(10 ul icv)	5	.35 \pm .05
TRH(10 ug icv)	6	.64 \pm .07 ^a
NTX(1 mg/kg iv) + saline	4	.34 \pm .02
NIX + TRH	5	.05 \pm .01 ^b

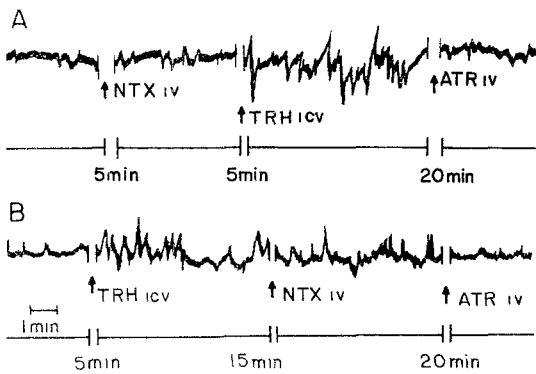


Fig. 2. Effect of naltrexone (Ntx) and atropine on the TRH-induced increase of colonic activity in an anesthetized rabbit.

장 내용물의 용량은 saline(icv)군에 비해 TRH(icv)군이 증가되었으며 ($P < .02$), naltrexone(1mg/kg iv) 전처치군은 TRH(icv)군에 비해 현저히 감소됨을 보여 ($P < .01$) 봉쇄됨을 나타내었다.

2) TRH로 야기된 장의 과운동성에 대한 naloxone 및 naltrexone의 효과

TRH(icv) 투여군의 장의 운동성은 현저히 증가되었으며, 그 크기나 빈도에서 모두 증가됨을 볼 수 있었다 (Fig. 2).

TRH를 뇌척수내 주입하기전 혹은 후에 naltrexone을 정맥내로 주입하여도, TRH(icv)에 의해 야기된 운동성의 향진이 봉쇄되지 않았다. 그러나 atropine 정맥주사시에 장의 운동성이 봉쇄됨을 나타내었다 (Fig. 2).

TRH를 토끼 뇌척수내로 주입시 위장관 계통의 근육을 자극하여 장 운동을 항진시키며 (Boom 등., 1965;) 이는 중추에 의해 장운동이 영향을 받는 것을 의미한다. 위장관 계통의 질병으로 irritable bowel syndrome같은 경우 중추신경계 일부분의 질환이다 (Adams., 1964; Thompson., 1974;). 장운동 항진은 atropine이나 양측 미주신경 절단시 봉쇄되는 것으로 보아 미주신경을 통하여 전달되는 것으로 생각된다. 1975년 Hokfelt등이 방사선면역법에 의해 분석한 결과 내인성 TRH가 미주신경핵에 존재하지 않음을 관찰하고 아마 TRH가 직접 미주신경에 작용한다기 보다는 원심성 미주신경을 활성화하는 신경경로를 자극하는 것으로 간주하였다. 1982년 Horita와 Carino는 atropine 투여시 장의 과운동성만 봉쇄되었으나, 미주신경 절단시 장운동항진 및 장내용물의 이동 항진이 모두 봉쇄됨을 보고하고 TRH에 의해 야기되는 장운동의 증가는 미주신경을 통한 cholinergic, serotonergic 기전에 의한다고 시사한 바 있다. 또 문맥혈중의 serotonin 함량이 증가하는 것으로 보아 장내용물 이동에 serotonin이 관여하는 것으로 보고하였다.

Opiates가 변비를 일으킨다는 것은 잘 알려진 사실이며 diphenoxylate나 loperamide는 여러 원인에 의한 설사치료에 널리 사용되는 약물들이다 (Awouters 등., 1983;). 본 실험에서는 opiates의 길항제인 naloxone naltrexone을 투여하여 장내용물 증가 및 내용물 이동항진을 봉쇄하였으며, 이는 마치 항serotonin제 투여와 비슷한 효과를 나타내었다. 그러나 장의 과운동성은 봉쇄하지 못하였으며 atropine에 의해 봉쇄되었으므로 cholinergic봉쇄작용은 없는 듯 하였다.

1983년 Kreek 등은 환자 2명에서 naloxone이 idiopathic chronic constipation을 완화시키는데는 효과적이었으며 아마 endogenous opioids가 이에 관여하였으리라 추측한 바 있다. 또 1979년 Dajani 등은 마우스에서 naloxone 투여시 지사작용이 봉쇄되었으며 100mg/kg의 naloxone이 사용되었다고 보고 하였다. 본 실험에서는 비교적 소량의 naloxone(2.5mg/kg)이나 naltrexone(1.0mg/kg)에 의해 장내용물 이동항진을 봉쇄함으로써 다른 보고들과 상반되는 결과를 얻었으며, 1979년 Sawynok 등은 10mg/kg 이상의 naloxone 투여시 이는 opiate receptor 봉쇄작용 이상의 다른 효과가 있을 것으로 추정하 바 앞으로 더 연구해 봐야 할 과제로 생각되는 바이다.

REFERENCES

- Adams J L :The colon patterns in anxiety and introspection. *NZ Med J* 1964 ;63 :558.
- Awouters F, Niemegeer C J E and Janssen P A J : Pharmacology of antidiarrheal drugs. *Ann Rev v. Pharmacol. Toxicol* 1983 ;23 :279.
- Bennett G W., Edwardson J A, Holland O, Jeffcoate S L and White N : Release of immunoreactive luteinizing hormone releasing hormone and thyrotropin releasing hormone from hypothalamic synaptosomes. *Nature* 1975 ; 257 :323.
- Boor R, Chavez Ibarra G, Del Villar, J and Hernandez Peon R : Changes of colonic motility induced by electrical and chemical stimulation of the forebrain and hypothalamus in cats. *Int. J. Neuropharmacol* 1965 ; 4 :169.
- Dajani E Z, Woods E M, Rose E A W, Betermann R E and Schweigruber F L : Naloxone reversal of drug induced diarrhea in mice. *Arch. int. Pharmacodyn.* 1979 ;240 :340.
- Hokfelt T, Fuxe K, Johanssen S, and White N : TRH-containing nerve terminals in certain brain stem nuclei and in the spinal cord. *Neurosci. Lett* 1975 ;1 :133.
- Horita A and Carino M A : Centrally administered thyrotropin releasing hormone (TRH) stimulates colonic transit and diarrhea production by a vagally mediated serotonergic mechanism in the rabbit. *J Pharmacol Exp Ther* 1982 ;222 :367.
- Jacob J, Girault J M, Peindaries R : Actions of 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxytryptophan injected by various routes on the rectal temperature of the rabbit. *Neuropharmacol.* 1972 11 :1.
- Kreek M J, Hahn E F, Schaefer R A and Fishman J : Naloxone, a specific opioid antagonist, reverse chronic idiopathic constipation. *Lancet* Feb. 1983 ;5 :261.
- Kubek M J, Lorincz M A and Wilber J F : The identification of thyrotropin releasing hormone (TRH) in hypothalamic and extrahypothalamic loci of the human nervous system. *Brain. Res.* 1977 ;126 :196.
- Lahann T R and Horita A : Thyrotropin releasing hormone : Centrally mediated effects on gastrointestinal motor activity. *J. Pharmacol Exp Ther.* 1982 ;222 :66.
- Robert A., Nejamis J E, Lancaster C, Hanchar A J and Klepper M S : Enteropooling assay : A test for diarrhea produced by prostaglandins, Prostaglandins. 1976 ;11 :809.
- Sawynok J, Pinsky C and Labella F S : On the specificity of naloxone as an opiate antagonist, *Life Sci* 1979 ;25 :1621.
- Smith J R, Lahann, T R, Chesnut R M, Carino M A and Horita A : Thyrotropin releasing hormone : Stimulation of colonic activity following intracerebroventricular administration. *Science.* 1977 ;196 :660.
- Thompson W.G : The irritable colon. *Can Med Assoc. J* 1974 ;3 :1236.
- Warberg J, Eskay R L, Barnea, A., Reynolds, R C and Porter J C : Release of luteinizing hormone releasing hormone and thyrotropin releasing hormone from a synaptosomes enriched fraction of hypothalamic homogenates. *Endocrinology.* 1977 ;100 :814.