

급성심근경색증에서 반복적 허혈전조치가 심근괴사에 미치는 영향에 관한 연구*

한림대학교 의과대학 내과학교실,** 서울대학교 의과대학 내과학교실
유규형** · 이명묵 · 이 영** · 김준수 · 서정돈 · 이영우

= Abstract =

Influence of Ischemic preconditioning on Lethal Cell Injury After Coronary Artery Occlusion

Kyu Hyung Ryu, M.D.,** Myoung Mook Lee, M.D., Yung Lee, M.D.,**
June Soo Kim, M.D., Jung Don Seo, M.D., Young Woo Lee, M.D.

*Department of Internal Medicine, College of Medicine, Hallym University, Seoul, Korea***

Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : The concept of myocardial injury after coronary occlusion is changing in recent years. Brief episode of ischemia induces reversible myocardial injury and repeated brief ischemic insults might cause myocardial necrosis due to cumulative damages. Recent observations showed that brief episodes of ischemia have protective effects on the myocardium increasing the myocardial tolerance to a subsequent sustained ischemic insult. This phenomenon is termed ischemic preconditioning and can be noticed after a variety of protocols in multiple species of experimental animals. This study was planned to 1) measure the changes of hemodynamic parameters and the ischemic damage of insulted myocardium during ischemic preconditioning, and 2) compare the infarct sizes with or without preconditioning.

Methods : Using canine model of a single 90 minutes' occlusion of left anterior descending coronary artery and 240 minutes' reperfusion, 14 mongrel dogs were randomized to with(n=7) or without(n=7) ischemic preconditioning such as four 5 minutes' occlusion and 5 minutes' reperfusion. Changes of hemodynamic parameters and extents of the ischemic myocardial damages during preconditioning were observed. And using in vitro myocardial staining with monastral blue and triphenyl tetrazolium chloride, we compared the infarct sizes and risk areas in two groups of occlusion and reperfusion canine model with and without preconditioning.

Results :

1) Heart rate was significantly decreased after first 5 minutes' occlusion compared with those of basal control(151 ± 27 VS 163 ± 25 BPM, $p < 0.05$) without further changes in subsequent ischemic insults. Left ventricular systolic pressure was significantly decreased after first 5 minutes' occlusion(109.0 ± 19.9 VS 130.6 ± 23.3 mmHg, $p < 0.005$), and after first 5 minutes' reperfusion

*이 논문은 1992년도 서울대학교병원 대형공동연구비 지원에 의해 이루어진 것임.

and second 5 minutes' occlusion compared with those of basal control(111.3 ± 29.8 , 109.9 ± 17.2 VS 130.6 ± 23.3 mmHg respectively, $p < 0.05$), without further changes during remaining ischemia. Left ventricular end diastolic pressure and maximum $+dp/dt$ were not changed. Peak $-dp/dt$ was decreased significantly after first and second 5 min occlusion(943.7 ± 294.4 , and 962.1 ± 281.5) from basal control level(1168.2 ± 358.8 mmHg, $p < 0.05$). Thereafter no change was noted during remaining preconditioning. The changes in rate-pressure product were same as those of left ventricular systolic pressure(first 5 minutes occlusion : 17.3 ± 3.7 VS 21.2 ± 3.5 , $p < 0.005$, second 5 minutes' occlusion : 17.9 ± 5.3 , 18.1 ± 3.4 VS 21.2 ± 3.5 , $p < 0.05$).

2) Transmyocardial lactate extraction ratio was significantly decreased in early phase of ischemic preconditioning(17.5 ± 11.3 VS $25.2 \pm 9.9\%$, $p < 0.05$).

3) Hemodynamic parameters such as heart rate, left ventricular systolic pressure, left ventricular end-diastolic pressure, maximum $+dp/dt$, peak $-dp/dt$ and rate-pressure product were changed similarly in both control and preconditioned groups.

4) There was no significant difference of mean myocardial blood flows in infarct zones, which represent collateral blood flow, after 5 minutes' brief occlusion and 60 minutes of sustained occlusion in preconditioned group.

5) The infarct area/risk area ratio was significantly reduced in preconditioned group(27.0 ± 9.6 VS $5.6 \pm 3.1\%$, $p < 0.005$), but the risk area/left ventricular area ratio showed no difference in the two groups.

Conclusions : These findings suggest that, in the early phase of brief repeated occlusion and reperfusion, myocardial ischemic damage accompanying systolic and diastolic myocardial dysfunctions develops and myocardial protective effect of ischemic preconditioning was obtained at the same time. Ischemic preconditioning group demonstrated reduced infarct sizes compared to those of control group after 90 minutes' sustained ischemia and reperfusion in canine acute myocardial infarction model.

KEY WORDS : Acute myocardial infarction · Ischemic preconditioning · Myocardial injury · Ischemic injury.

서 론

급성 심근경색증에서 초기에 적절한 시간내의 재관류 요법은 비가역적인 심근손상을 줄여주며¹⁻³⁾, 장기예후를 호전시킨다는 것이 밝혀졌다⁴⁾. 최근들어 혈전용해요법, 경피적 관동맥 확장술 또는 응급 관상동맥우회술등을 이용한 재관류 요법은 적응증이 되는 급성 심근경색증 환자에서 표준 치료요법이 되었다. 그러나 재관류요법치료는 심근 경색증 초기에 시행하여야만 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 임상적으로 심근경색증이 발생하기 직전에 협심증이 있었던 환자에게서 혈전용해요법 치료시 심근 손상의 양이 적었고, 경피적 관동맥

확장술시 처음에 풍선도자를 확장했을 때보다 두 번째, 세번째 확장시 흉통과 심전도상 허혈변화가 감소하는 것을 경험하였다. 이런 현상에 대한 설명으로 단시간의 허혈과 재관류를 통해 유도된 허혈전조치(ischemic preconditioning) 효과가 지속적인 허혈손상으로부터 심근손상에 대한 내성을 증대시킨다는 보고가 있고, 또한 반복적인 풍선도자 확장시 협심증의 threshold(역치)가 높아진다는 것에 대한 보고가 있었다^{5,6)}.

단시간의 허혈과 재관류로 획득된 허혈전조치가 심근의 허혈손상에 대한 보호기능이 있다는 것은 알려지고 있으나, 아직까지 보고자마다 실시한 대상동물과 허혈전조치 과정이 다양하여 허혈전조치

효과가 획득되는 전조치 시간, 횡수 및 재관류시간이 정립되어야 하며, 어느 정도 기간의 지속적인 허혈손상에 대하여 허혈전조치의 심근보호효과가 유지되며, 허혈전조치후 어느 기간까지 재관류를 실시한 후까지 심근보호효과가 유지되는가에 대한 연구들이 필요하며, 또한 허혈전조치의 생성기전을 밝히는 것이 연구과제이다.

이에 본 연구에서는 실험동물을 이용한 심근경색 model에서 반복적인 단시간의 허혈과 재관류의 전조치를 시행한 허혈전조치군을 대조군과 비교하여, 먼저 허혈전조치 기간 중 허혈전조치 자체로 인한 심근의 기능 변화와 심근의 허혈손상을 관찰하고 이런 허혈전조치가 어느 정도 기간의 지속적인 허혈 손상에 대해 심근보호효과가 있는지를 알아보고자 하였다.

연구대상 및 방법

1. 실험대상

성에 관계없이 체중 10kg 내지 15kg(평균 14.2kg)의 잡견 15마리를 대상으로 1마리는 실험도중 사망하여 7마리는 대조군으로, 7마리는 허혈전조치

군으로 하였다.

2. 실험 동물 준비 및 관찰 방법

전박부 정맥에 medicut을 이용하여 정맥선을 확보한 후 sodium pentobarbital 30mg/kg을 정맥주사하여 전신마취를 한 후, 기관지 삽입술을 시행하고 인공호흡장치(Benett회사제, PR-2 respirator Unit)를 사용하여 양압 인공호흡을 실시하였다. Needle electrode를 사지에 꽂아 제 2 표준 사지유도를 지속적으로 monitoring하면서 서혜부를 박리하여 대퇴동맥을 박리한 후 7F 동맥관(USCI 회사제)을 삽입하고 heparinized saline을 채워 놓은 후 대동맥압 monitoring, lactate 농도 측정과 microsphere 주입시 표준혈류량 혈액채취를 위한 pigtail catheter 삽입 부위로 이용하였다. 필요시 간헐적으로 2~3 mg/kg의 sodium pentobarbital을 정맥주사하여 마취를 유지시키면서 제 5 늑간을 통해 좌흉곽절개술을 시행하여 심장을 노출시킨 후 심막을 절개하여 심막요람(pericardial cradle)을 만들었다. 심첨부에 heparinized saline이 채워진 polyvinyl catheter를 purse string suture 방법을 이용하여 삽관 후 좌심실압 측정에 사용하였다. 좌심방 appendage에 heparinized saline이 채워진 polyvinyl catheter를 purse string

* Control Group

Base line	Occlusion 90 min	Reperfusion 240 min
-----------	------------------	---------------------

Hemodynamic parameters : base, 030, 060, 090
R30, R60, R120, R180, R240

RMBF : 05, 060

* Ischemic preconditioned group

Base line	P O 5	P R 5	P O 5	P R 5	P O 5	P R 5	P O 5	P R 5	O 90 min	R 240 min
-----------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	----------	-----------

Hemodynamic parameters : base, PO4×4, PR4×4, 030, 060, 090
R30, R60, R90, R120, R180, R240

Lactate : base, PR4×4

RMBF : P05, 060

Fig. 1. Diagram showing experimental protocol.

030(60,90) : after sustained occlusion 30(60,90)min

R30(60,90,120,180,240) : after reperfusion 30(60,90,120,180,240)min

PO4(×4) : after preconditioning occlusion 4min(4 times)

PR4(×4) : after preconditioning reperfusion 4min(4 times)

RMBF : regional myocardial blood flow

Ischemic preconditioning such as four 5min occlusion and each separated by 5min reperfusion.

suture 방법을 이용하여 삽관후 microsphere 주입 및 약물 주입 부위로 사용하였다. 실험 중 국소심근허혈을 유도하기 위하여 좌전하행 동맥의 가장 큰 분지인 제1 대각지 기시부의 원위부를 박리하여 pneumatic occluder를 걸어두었다. 관정맥에는 Swan-Ganz catheter를 삽입하여 lactate농도 측정에 이용하였다(Fig. 1). 실험준비가 완료되면 20분간의 안정기 후 기준 혈역학인자를 기록하였다. Pneumatic occluder를 inflation하여 혈관을 완전 폐쇄시켜 허혈을 유도하였다. 관상동맥 폐쇄와 재관류의 허혈전조치시 각 재관류가 끝나기 1분전에 lactate 측정을 위한 대동맥과 관정맥에서 혈액을 채취하였고, 폐쇄가 끝나기 직전과 재관류가 끝나기 직전에 혈역학인자와 심전도를 각각 1번씩 4회 측정하고, 지속적 관동맥 폐쇄시는 30분 간격으로 혈역학인자들을 측정하였다. 대조군 역시 지속적 관동맥 폐쇄후 30분 간격으로 혈역학 인자들을 측정하였다.

Microsphere는 대조군에서는 지속적 관동맥 폐쇄 5분과 60분에 주입하였다. 지속적 허혈 90분에 lidocaine 2mg/kg를 정맥주사한 후 pneumatic occluder를 서서히 deflation하여 재관류 시켰다. 이후 4



Fig. 2. Photography showing myocardial staining. A representative transverse slice of left ventricle is showing from a control dog. The brick-red area represents noninfarcted tissue of the risk area(triphenyl tetrazolium, positive). Pale white zone is the infarct area(triphenyl tetrazolium, negative). Dark blue area represents the normal zone stained by monastral blue.

시간동안 재관류 시키면서 재관류 60분까지는 매 30분 마다 그 이후에는 매 60분마다 혈역학인자를 측정하였다(Fig. 2). 관동맥허혈 도중이나 재관류시 실세동이 발생하면 재세동기(Hewlett Packard 회사제, 78620A defibrillator-monitor)를 이용하여 10J 내지 20J의 에너지로 제세동하였다. 재관류 4시간에 potassium chloride 40mEq를 좌심방내로 급속히 주입하여 안락사 시킨 후 심장이 정지하는 즉시 대동맥, 폐동맥, 상, 하 공정맥, 폐정맥을 잘라 심장을 적출하였다.

3. 혈역학인자의 측정

좌심실 심첨부위 polyvinyl catheter를 pressure transducer(Gould 회사제, statham P23Db transducer)에 연결한 후 심전도, 대동맥압, 좌심실 수축기압과 확장기말압을 multichannel oscilloscopic recorder(Electronic for Medicine 회사제, VR-12)를 이용하여 기준치와 관상동맥 폐쇄와 재관류를 각각 5분씩 4회 시행하는 허혈전조치 기간중에 매회 폐쇄와 재관류가 끝나기 직전에 측정하여, 4회를 반복하였다. 지속적인 관상동맥 폐쇄후는 30분 간격, 재관류시는 30분 간격 2회 이후 60분 간격으로 100 mm/sec의 속도로 기록지(3M 회사제, 7772 type dry silver recording paper)에 기록하였다.

4. Lactate 측정

허혈전조치군에서는 기준치와 관동맥 폐쇄와 재관류가 끝나기 1분전 대동맥과 Swan-Ganz catheter를 통해 관정맥에서 동시에 혈액 채취를 4회 실시하였고 지속적인 폐쇄 후 재관류시 5분 후에도 같은 방법으로 혈액 채취를 실시하였다.

5. 국소 심근혈류량의 측정

좌심실의 국소 혈류량을 cobalt-57, Strontium-85를 부착시킨 15 μ 크기의 microsphere(NEN 회사제)를 이용하여 대조군은 지속적 관동맥 폐쇄후 5분과 60분에 측정하고 허혈전조치군은 처음 전 조치시 5분과 지속적 관동맥 폐쇄후 60분에 측정하였다. Microsphere는 1mCi가 10% dextran과 0.01% Tween 80이 혼합된 10ml 용액에 부유되어 있는 것을 사용하였다.

Microsphere병을 5분간 손으로 흔든후 1ml 주사기를 사용하여 약 200만개의 microsphere를 뽑아

2ml 생리식염수가 미리 채워진 3ml 주사기에 섞었다. Three-way를 이용하여 다른 또 하나의 3ml 주사기와 연결한 후 주입직전 microsphere 용액이 두개의 주사기 사이를 10~15회 왔다갔다 하여 microsphere가 균일하게 부유되도록 한 후 사용하였다. Microsphere는 좌심방에 15초간 주입하였으며 주입 후 10ml의 생리식염수로 flushing 하였다. 표준 혈류량 측정을 위한 혈액의 채취를 위하여 대퇴 동맥의 동맥관을 통하여 7F pigtail catheter를 끝이 상행대동맥에 이르도록 삽관한 후, microsphere 주입 5초 전에 시작하여 120초간 pigtail catheter로부터 13ml/min의 속도로 withdrawal pump(Harvard Apparatus 회사제)를 이용하여 상행대동맥에서 heparin을 문힌 주사기에 혈액을 채취하였다⁷⁾. 채취한 혈액을 5ml관(녹십자 회사제)에 2ml씩 분주한 후 증류수를 2ml씩 섞어 혈액을 용혈시켰으며 채혈 주사기를 4ml의 생리식염수로 flushing하여 방사능 계수 측정에 포함시켰다.

6. 계측 방법

1) 혈액학인자의 측정

맥박수, 대동맥수축기압, 좌심실 수축기압과 확장기말압, maximum + dp/dt와 peak - dp/dt를 3 beat에서 측정하여 평균치를 구하였으며 맥박수와 좌심실 수축기압을 곱하여 rate-pressure product (RPP)를 구하였다.

2) Lactate 농도 측정

혈액 1ml를 10mg sodium fluoride(NaF) 용기에 담은 후 혈장을 원심분리기에 2500RPM으로 7분간 돌려 분리한 후 immunofluorescence polarization method인 STT kit를 이용하여 TDX analyzer로 농도를 측정함으로써 대동맥과 관정맥의 lactate 축출율을 구하였다.

3) 국소 심근 혈류량 계산

심첨부로부터 atrioventricular groove에 평행하게 1cm의 두께로 좌심실을 잘라 6개의 편을 만들어 심근 경색 범위에 대한 측정을 끝마친 후 두번째, 세번째, 네번째, 다섯번째와 여섯번째의 절편을 심장의 전후 단면으로 놓고 12시 방향이 우심실과 전방중격이 만나는 부위로 정하고, 6시 방향은 후 유두근의 중심부를 지나게 하여 16개의 소절편으로

나누었다. 이 표본을 다시 심내막하층, 심중근층과 심외막하층으로 나누어 각각의 무게를 측정한 후 scintillation gamma counter(Packard 회사제, Model 5003)을 이용하여 심근표본과 표준혈류량 혈액의 방사능 계수를 3분간 측정하였다. 각 동위원소의 상호영향을 고정한 후 각 동위원소 핵종의 순수 방사능 계수를 산출하였다. 심근표본의 혈류량 (ml/min)은 다음 공식을 이용하여 계산하였다. $Q_m = Q_r \times C_m / C_r$, Q_m = 심근혈류량(ml/min), Q_r = 표준혈류량(ml/min), C_m = 심근표본의 방사능계수(count/min), C_r = 표준혈류량 혈액의 방사능 계수(count/min). 심근 혈류량(ml/min)을 심근 표본의 무게로 나누어 ml/min/g 단위로 표시하였으며 좌심실의 각절편 심내막하층, 심중근층과 심외막하층의 각각에 혈류량을 mapping하였고, 또 심근 전체를 경색부위, 허혈부위와 정상부위를 통벽성으로 혈류량을 mapping하였다. 허혈부위는 두 microsphere의 혈류량 mapping상 절편 하나 정도의 차이가 있을 때 동일하다고 판정하였고, 정상부위와 경색부위의 평균심근혈류량은 가장 현저한 부위를 취하여 산출하였다.

4) 심근경색 범위 측정

적출된 심장을 37℃의 생리식염수에 세척한 후 Reimer와 Jennings⁸⁾의 방법을 이용하여 심장을 염색하였다. 좌, 우관동맥의 ostium 부위와 좌전하행 동맥의 폐쇄시켰던 부위 직전의 혈관을 통해 직하부에 polyvinyl catheter로 canulation한 후 suture ligation 하였다.

허혈을 유도하였던 심근 부위의 관동맥, 즉 좌전하행동맥의 폐쇄부위 직하부는 1% triphenyl tetrazolium chloride(TTC) 용액으로, 좌, 우관동맥의 ostium 부위는 0.5% monastral blue 용액으로 37℃에서 120~140mmHg의 압력으로 3분간 관류하며 공기가 주입되지 않도록 주의하였다. 관류액은 6% dextran을 포함한 phosphate buffer(8.8×10⁻²mol dibasic and 0.18×10⁻² mol monobasic sodium phosphate/liter, pH 8.25~8.6)에 TTC와 monastral blue를 혼합하여 37℃로 덩혀 사용하였다. TTC는 매번 사용시 새로 혼합하며 차광된 용기를 사용하였다. 염색이 끝난 후 심장을 formalin 용액에 넣어 3일간 고정시킨 후 우심실, 좌심방, 우심방을

제거하고 심첨부로부터 atrioventricular groove에 평행하게 1cm의 두께로 잘라 6개의 절편을 만든 후 각 절편의 무게를 기록하였다. 정상부위는 monastal blue에 의하여 파란색으로 염색되며 허혈부위(위험부위)중 살아있는 심근은 TTC와 심근의 dehydrogenase 사이에 formazan 침전을 형성하여 적홍색으로 염색되며 경색부위는 염색이 안되었다. 경색부위의 면적을 측정하기 위하여 심첨부로부터 두번째, 세번째, 네번째, 다섯번째, 여섯번째 절편의 심첨부면을 사진을 찍어 현상된 slide film을 slide project를 이용하여 약 5배정도 확대시킨 후 투명 용지에 옮겨 그리고, 위험부위와 경색부위를 digitizer(Houston Institute 회사제)와 microcomputer(IBM 회사제)를 이용한 planimetry 방법으로 각 절편의 면적에 대한 비를 구하였다(Fig. 2).

5. 통계처리방법

허혈전조치 기간중의 혈역학인자와 대사산물은 paired t-test로 검정하였고, 대조군과 허혈전 조치군간의 혈역학인자, 위험부위의 크기, 경색부위의 크기, 국소 심근혈류량은 unpaired t-test로 검정하였다. 모든 data는 평균±표준편차로 표시하였다.

결 과

1. 허혈전조치중 혈역학인자의 변화

좌전하행지의 5분간씩 폐쇄와 재관류를 4회 반복하는 동안 맥박수의 변화에서 기준치는 분당 163±25회, 첫번째, 폐쇄가 끝나기 직전의 맥박수가 분당 151±27회로 유의한 감소를 보였고($p<0.05$) 그 이후는 유의한 차이가 없었다(Table 1). 좌심실수축기압은 기준치가 130.6±23.3mmHg에서 첫번째 폐쇄가 끝나기 직전에 109.0±19.9mmHg로 유의한 감소($p<0.05$)를 보였고, 첫번째 재관류가 끝나기 직전이 111.3±29.8mmHg로 유의한 감소($p<0.05$)가 있었으며, 두번째 폐쇄가 끝나기 직전이 109.9±17.2mmHg로 유의한 감소($p<0.05$)를 보였으며 그 이후에는 유의한 차이가 없었다(Table 1). 좌심실 확장기말압은 기준치와 허혈전조치 기간중 유의한 차이가 없었다(Table 1). Maximum -dp/dt는 기준치에 비하여 첫번째 폐쇄가 끝나기 직전의 두번째 폐쇄가 끝나기 직전에 감소하는 경향을 보였으나, 유의한 차이는 없었다. 그 이후에도 차이가 없었다(Table 1). Peak -dp/dt는 기준치가 1068.2±358.8mmHg/sec, 허혈전조치 기간중 첫번째 폐쇄가 끝나기 직전이 943.7±294.4mmHg/sec로 유의한 감소($p<0.05$)를 보였고, 두번째 폐쇄가 끝나기 직전이 962.1±281.5mmHg/sec로 유의한 감소($p<0.05$)를 보였으며 이후에는 유의한 차이가 없었다(Table 1). Rate-pressure product는 기준치가 21.2±3.5, 첫번째 폐쇄가 끝나기 직전이 17.3±3.7로 유의한 감소($p<0.005$)를 보였고, 첫번째 재관류가 끝나기 직전이 17.9±5.3로 역시

Table 1. Hemodynamic parameters during ischemic preconditioning

	HR	LVSP	LVEDP	Maximum + dp/dt	Peak - dp/dt	RPP/1000
B	163.3±25.1	130.6±23.3	3.1±2.3	1871.0±511.5	1168.2±358.8	21.2±3.5
O1	151.3±26.5*	109.0±19.9**	3.9±3.0	1429.4±299.9	943.7±292.4*	17.3±3.7**
R1	154.1±29.1	111.3±29.8*	2.4±2.9	1514.0±476.6	1059.6±360.6	17.9±5.3*
O2	158.4±19.9	109.9±17.2*	4.4±3.6	1398.2±250.2	962.1±281.5*	18.1±3.4*
R2	163.3±25.1	119.0±19.5	4.6±3.9	1493.8±406.6	1057.8±301.8	19.9±4.9
O3	164.1±24.1	113.7±25.8	4.3±3.2	1471.8±417.7	1039.4±342.2	19.3±5.2
R3	159.9±24.1	120.1±27.6	3.6±3.0	1664.9±445.3	1120.3±345.9	19.6±5.0
O4	161.0±21.4	113.9±30.7	4.6±3.7	1512.2±443.4	1006.2±397.4	19.0±5.7
R4	166.1±25.9	114.4±34.5	3.3±3.2	1536.2±533.6	1089.0±441.6	19.9±7.1

B : basal

O1(2,3,4) : after first(2nd,3rd,4th) preconditioning occlusion 5min

R1(2,3,4) : after first(2nd,3rd,4th) preconditioning reperfusion 5min

HR : heart rate, LVSP : left ventricular systolic pressure

LVEDP : LV end-diastolic pressure, RPP : rate-pressure product

Values are mean±SD, * $p<0.05$, ** $p<0.005$

유의한 감소($p<0.05$)를 보였고, 두번째 폐쇄가 끝나기 직전이 18.1 ± 3.4 로 역시 유의한($p<0.05$) 감소를 보였으며 이후에는 유의한 차이가 없었다 (Table 1).

2. 허혈전조치 기간 중 lactate 추출율의 변화
허혈전조치중의 lactate 추출율은 기준치 $25.2\pm 9.9\%$, 첫번째 전조치후 $17.5\pm 11.3\%$ 로 유의한 감소($p<0.05$)가 있었으며 이후에는 유의한 차이가 없

Table 2. Lactate extraction during ischemic preconditioning(%)

Base	PR1	PR2	PR3	PR4	PR5
25.2 ± 9.9	$17.5\pm 11.3^*$	22.4 ± 11.0	25.1 ± 12.9	23.2 ± 12.3	22.4 ± 11.5

PR1(2,3,4) : after first(2nd,3rd,4th) preconditioning reperfusion 4min
R5 : after sustained occlusion, reperfusion 5min
Values are mean \pm S.D. * $p<0.05$

Table 3-1. Hemodynamic parameters between the control group and the preconditioned group

	HR(bpm)		LVSP(mmHg)		LVEDP(mmHg)	
	Control	Precon	Control	Precon	Control	Precon
Base	162.9 ± 24.3	163.3 ± 25.2	136.9 ± 11.5	130.6 ± 23.3	3.1 ± 1.2	3.1 ± 2.3
Occlusion						
30min	168.6 ± 27.9	163.9 ± 16.6	130.3 ± 20.1	124.6 ± 33.7	5.0 ± 1.2	4.3 ± 3.6
60min	165.7 ± 25.1	158.1 ± 14.9	139.9 ± 33.0	131.6 ± 25.8	4.6 ± 3.5	4.6 ± 4.5
90min	171.4 ± 30.2	151.0 ± 18.6	142.3 ± 37.1	125.9 ± 23.6	4.6 ± 3.4	4.7 ± 3.9
Reperfusion						
30min	157.1 ± 24.3	145.3 ± 20.5	134.8 ± 30.4	125.9 ± 26.9	4.0 ± 3.6	3.7 ± 3.7
60min	165.7 ± 25.1	151.9 ± 20.9	133.4 ± 33.5	127.7 ± 25.1	4.9 ± 3.4	3.6 ± 3.6
120min	162.9 ± 24.3	151.9 ± 20.9	138.3 ± 30.2	130.3 ± 18.7	4.0 ± 3.8	3.4 ± 3.0
180min	174.3 ± 29.9	158.4 ± 28.2	130.3 ± 27.1	132.3 ± 21.8	4.1 ± 3.5	3.9 ± 3.4
240min	175.7 ± 40.8	157.5 ± 28.9	129.7 ± 21.9	137.4 ± 22.6	4.3 ± 4.0	2.9 ± 2.9

Precon : preconditioned group, values are mean \pm S.D.

HR : heart rate bpm : beat per min, LVSP : left ventricular pressure

LVEDP : left ventricular end-diastolic pressure

Table 3-2. Hemodynamic parameters between the control group and the preconditioned group

	Maximum -dp/dt		Peak -dp/dt		RPP/1000	
	Control	Precon	Control	Precon	Control	Precon
Base	2036.2 ± 450.8	1876.0 ± 511.5	1225.4 ± 95.7	1168.2 ± 358.8	22.2 ± 3.2	21.2 ± 3.5
Occlusion						
30min	1942.4 ± 599.8	1530.6 ± 504.2	1245.7 ± 250.2	1052.2 ± 439.8	22.0 ± 5.2	19.4 ± 5.6
60min	2057.1 ± 702.9	1665.0 ± 441.6	1262.2 ± 307.3	1107.4 ± 357.0	23.4 ± 7.3	19.3 ± 7.0
90min	1753.5 ± 434.2	1852.6 ± 605.4	1172.1 ± 242.9	1125.8 ± 253.9	24.9 ± 9.9	19.2 ± 7.7
Reperfusion						
30min	1940.2 ± 991.8	1753.4 ± 715.8	1302.7 ± 305.4	1170.0 ± 544.6	21.8 ± 6.6	18.7 ± 6.4
60min	1950.4 ± 940.2	1826.8 ± 487.6	1319.3 ± 207.9	1153.4 ± 268.6	22.5 ± 8.3	19.7 ± 8.1
120min	2208.0 ± 991.8	1959.4 ± 366.2	1240.2 ± 329.4	1280.4 ± 242.9	22.8 ± 6.7	20.0 ± 6.3
180min	2171.2 ± 605.4	1972.2 ± 506	1262.2 ± 174.8	1230.7 ± 268.6	21.2 ± 5.8	21.3 ± 5.4
240min	1895.2 ± 791.2	2126.8 ± 686.3	1311.9 ± 447.1	1249.1 ± 255.8	21.3 ± 8.7	21.7 ± 4.9

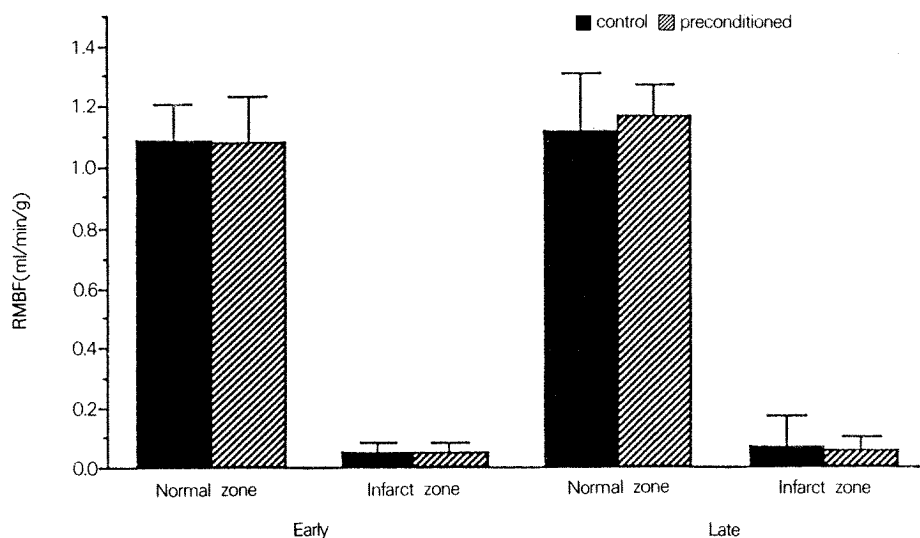
RPP : rate-pressure product

Precon : preconditioned group

Table 4. Myocardial blood flow during coronary artery occlusion

	Early		p-value	Late occlusion		p-value
	Control (ml/min/g)	Preconditioned (ml/min/g)		Control (ml/min/g)	Preconditioned (ml/min/g)	
Total						
Normal zone	1.09±0.12	1.08±0.15	NS	1.12±0.19	1.17±0.10	NS
Infarct zone	0.05±0.03	0.05±0.03	NS	0.07±0.03	0.06±0.04	NS
Subendocardium						
Normal zone	1.18±0.19	1.16±0.17	NS	1.25±0.18	1.14±0.11	NS
Infarct zone	0.03±0.02	0.03±0.02	NS	0.04±0.02	0.05±0.02	NS
Midmyocardium						
Normal zone	1.08±0.09	1.05±0.14	NS	1.06±0.18	1.07±0.06	NS
Infarct zone	0.04±0.03	0.04±0.03	NS	0.05±0.04	0.05±0.03	NS
Subepiocardium						
Normal zone	1.01±0.07	1.02±0.14	NS	1.05±0.20	1.03±0.13	NS
Infarct zone	0.08±0.04	0.07±0.03	NS	0.11±0.04	0.10±0.05	NS

Values are mean±SD NS : Not significant

**Fig. 3.** Mean myocardial blood flow in the normal and the infarct zone during early and late coronary artery occlusion in the control and the preconditioned group.

RMBF : regional myocardial blood flow

There was no difference of the mean myocardial blood flow in infarct zone at 5 minutes and 60 minutes of sustained occlusion in two groups.

었다(Table 2).

3. 대조군과 허혈전조치군간에 혈역학인자들의 변화

90분간 좌전하행지 폐쇄와 240분간 재관류시 두군간의 맥박수는 변화가 없었으며, 좌심실수축 기압은 지속적 폐쇄 초기에 양군 모두 감소하는

경향이 있었으나 유의한 차이는 없었고, 역시 재관류 초기에 감소하는 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다. 좌심실 확장기말압은 지속적 폐쇄 초기에 상승하는 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다. Maximum +dp/dt 역시 폐쇄 초기에 감소하는 경향이 있었으나 유의한 차이는 없었다.

Peak - dp/dt와 rate-pressure product 값은 두군간에 유의한 차이가 없었다(Table 3).

4. 국소심근 혈류량

두 microsphere의 심근 혈류량 Mapping에서 절편 하나 정도의 위험부위차이는 동일하다고 판정할때 전예에서 위험부위는 동일하였다. 좌전하행관상동맥 폐쇄 5분의 대조군과 허혈전조치군의 정상부위 평균심근혈류량은 각각 $1.09 \pm 0.12 \text{ ml/min/g}$, $1.08 \pm 0.15 \text{ ml/min/g}$ 이었고 폐쇄 60분의 각각의 평균심근혈류량은 $1.12 \pm 0.19 \text{ ml/min/g}$, $1.17 \pm 0.10 \text{ ml/min/g}$ 으로 두군간에 유의한 차이가 없었다. 경색부위의 평균심근혈류량은 관상동맥 폐쇄 5분의 대조군과 허혈전조치군에서 각각 $0.05 \pm 0.03 \text{ ml/min/g}$, $0.05 \pm 0.03 \text{ ml}$ 이었고, 폐쇄 60분의 각각의 평균심근혈류량은 $0.07 \pm 0.3 \text{ ml/min/g}$, $0.06 \pm 0.04 \text{ ml/min/g}$ 으로

두군간의 유의한 차이가 없었다(Table 4, Fig. 3).

5. 심근경색부위의 크기 비교

위험부위/좌심실면적비는 대조군에서 $46.8 \pm 6.1\%$, 허혈전조치군에서 $43.6 \pm 10.5\%$ 로 유의한 차이가 없었다. 경색부위/좌심실면적비는 대조군에서 $12.7 \pm 6.9\%$, 허혈전조치군에서 $2.5 \pm 1.8\%$ 로 유의한 감소가 있었으며, 경색부위/위험부위면적비는 대조군 $27.0 \pm 9.6\%$ 에 비하여 허혈전조치군 $5.6 \pm 3.1\%$ 로 유의하게 낮았다($p < 0.005$)(Table 5, Fig. 4).

고 안

단시간의 심근허혈은 가역적인 심근세포의 손상을 초래하며, 가역적인 손상은 초기에 관상동맥 재관류를 통하여 심근 괴사를 막고 구조적, 기능적

Table 5. The risk and the infarct area in the control and the preconditioned groups

	Control	Preconditioned	p-value
Risk/LV(%)	46.8 ± 6.1	43.6 ± 10.5	NS
Infarct/LV(%)	12.7 ± 6.9	2.5 ± 1.8	< 0.005
Infarct/Risk(%)	27.0 ± 9.6	5.6 ± 3.1	< 0.005

Values are mean \pm standard deviation

LV : Left ventricle

NS : Not significant

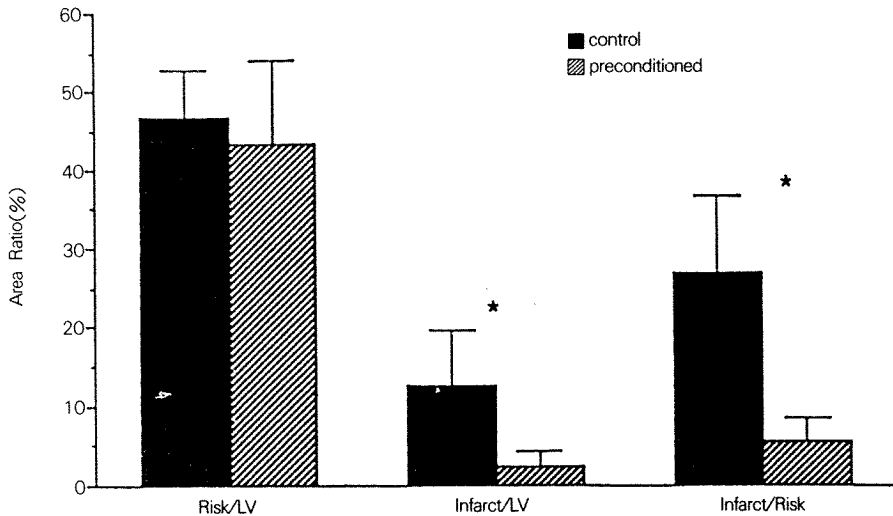


Fig. 4. Risk and infarct area in the control and the preconditioned group.

LV : left ventricle, * : $p < 0.005$

The risk area/left ventricle area ratio showed no difference in two groups. The infarct area/risk area ratio was significantly reduced in the preconditioned group.

및 대사적으로 정상 회복하는 것을 의미한다. 그러나 약 5~15분간의 허혈이라도 완전회복은 신속하게 일어나는 것이 아니고, 몇시간 혹은 몇일에 걸쳐 일어난다. 실험동물에서 15분간의 관동맥 폐쇄시 약 1시간동안 조직의 수분함량과 포타슘(K^+)의 농도가 증가한다⁹⁾. 약 4일간은 재합성 결핍으로 adenine nucleotide가 감소하며^{10,11)}, 허혈후 심근기능 회복지연(myocardial stunning)은 약 2~4일간 지속된다고 하였다⁴⁾. 이런 심근기능 회복지연의 기전은 완전히 밝혀지지는 않았지만 calcium의 homeostasis 이상과 반응성 산소(free radical)로 유도된 손상에 의한 것으로 판단된다¹²⁻¹⁴⁾.

반복적인 단시간의 허혈과 재관류후, 단시간의 지속적 허혈손상은 adenine nucleotide의 고갈을 더욱 조장하여 대사적, 기능적 손상이 누적 악화되어 결국 심근의 손상이 괴사에 이를 것으로 예측하였다. 그러나 실험동물에서는 심근괴사는 초래되지 않았으며 ATP 소모와 심근의 산소 수요량이 감소되어, 오히려 지속적인 허혈에 대해 심근을 보호하는 효과가 있는 것이 밝혀졌다¹⁵⁻¹⁷⁾. 물론 허혈후 심근기능 저하 역시 반복적인 허혈로 인한 누적된 결과인 것이 증명되었다^{18,19)}. 실험적으로, 반복적인 허혈 상태의 대사과정에서 처음 10분간의 허혈 손상시 약 60% ATP가 고갈되고 20분간의 재관류시 소실된 ATP의 약 50%가 재합성 되지만, 두번째, 세번째, 네번째 허혈손상시 더 이상의 ATP 고갈이 없는 것으로 밝혀졌다²⁰⁾. 더우기 adenine nucleotide의 대사산물이 처음 허혈손상 때보다 이후의 허혈손상에서 더 적게 생성되며, 이는 허혈 손상 직후에서의 심근은 이전의 에너지 대사율과는 상이한 것을 나타낸다고 하였다. 반복적으로 단시간 허혈과 재관류를 시행한 실험동물에서 심근괴사와 adenine nucleotide의 농도를 측정한 결과는 심근 괴사의 양이 현저히 감소하였고, 대사결핍도 적었다. 이런 심근의 보호 효과는 반복적인 재관류로 고에너지인 산인 ATP를 충족시키고, 해로운 대사산물을 제거해줌으로써 획득되는 것으로 설명하였다²⁰⁾. Murry²¹⁾ 등은 이런 허혈에 대한 심근의 내성을 유도하는 것을 허혈전조치(ischemic preconditioning)라고 하였다. 국소심근 혈류량과 심정맥혈류량을 측정하여 측부 순환의 발생 및 그 영향에 의한 것이 아님을 밝히면서 단시간 허혈과 재관류를

연속 반복적으로 전조치를 취한 경우에 이런 전조치를 시행치 않은 경우에 비하여, 40분간의 관동맥 폐쇄시 심근 괴사의 양이 75% 정도 감소한 것을 보고하였다²¹⁾.

허혈전조치에 대한 실험은 다양한 대상동물들에서 다양한 model을 사용하여 실시되었으며²¹⁻²⁶⁾, 최근에 사람에게서 좌전하행지의 관상동맥 확장술시 90초간 폐쇄후 5분간 재관류하는 방법으로 2회 실시한 결과로 환자의 흉통 호소, 심전도상 ST 분절 상승과 심근의 lactate 생성이 첫번째 관상동맥 확장술시 관상동맥 폐쇄로 유발된 심근의 허혈 변화에 비해 두번째 폐쇄시 심근의 허혈 변화가 뚜렷히 감소하는 것을 보고하였다⁶⁾. 또한 두번째 관상동맥 폐쇄시 심정맥에서 혈류량이 오히려 감소하는 것을 밝힘으로써 심근의 허혈변화가 감소하는 것은 측부혈류 순환에 의한 것이 아니고 허혈에 대한 심근의 내성이 증가한 것이라고 주장하였다. 이와 같이 허혈전조치로 획득된 허혈에 대한 내성증가는 심근세포의 손상에서 가역적인 손상 시간을 연장시켜 주는 것을 의미한다.

잡견 model에서 한번 허혈전조치로 획득된 허혈에 대한 심근 보호효과는 지속적인 허혈 손상에 대하여 40분에서 60분까지 유효하나^{21,27)} 지속적인 허혈이 90분 이상 혹은 180분 이상 지속시에는 심근 보호 효과가 없다고 하여, 허혈전조치한 후 지속적인 허혈손상을 가하는 시간이 길수록 허혈전조치의 심근보호효과가 점차 감소할 것이라고 생각하고 있으나, 어느 정도의 지속적인 허혈 기간에서 허혈전조치의 심근보호효과가 상실되는 지에 대한 정확한 보고는 없다. 이와 같이 허혈전조치가 허혈손상에 대한 심근보호효과 감소에 대한 시간은 유도된 허혈전조치 조건과 실험동물 model에 따라 다양한 것으로 생각된다. 주어진 실험동물 model에서는 허혈전조치가 가역적인 심근손상이 심하면 심할수록 오랜시간 지속적인 허혈손상에 대해 심근보호효과가 있을 것이고 재관류시에도 이런 효과는 천천히 소멸될 것이라고 가정할 수 있으나 아직 발표된 보고는 없다.

허혈전 조치시 획득되는 허혈에 대한 심근보호 효과의 생성에 대해서 아직 확립된 이론은 없고 많은 가설하에 실험이 진행중에 있다. 가능한 가설중 측부순환 혈류증가를 제시하고 있으나 많은

보고들에 의해 측부순환혈류는 관계가 없다는 것이 증명되었고^{21,29,30)} 측부순환이 거의 없는 토끼나 돼지 model에서도 허혈전조치효과가 획득되므로 측부순환혈류증가 가설은 가능성이 적겠다. 지속적인 허혈손상이 허혈전조치로 인한 현저한 에너지 대사 감소의 심근보호로²⁹⁾, 허혈전 조치 기간에는 ATP의 소모가 있더라도 이후 지속적인 허혈손상시 ATP의 소모율이 매우 감소되며, glycogenolysis와 혐기성 glycolysis가 천천히 진행되어 허혈대사물의 심근내 축적이 감소되게 된다고 한다. 그러나 이런 ATP의 보존과 대사산물의 축적 제한이 세포의 생명력을 보호해 준다는 증거는 아직 밝혀져 있지 않다. 또한 허혈전조치동안에 일어난 기계적인 심근손상(stunning)으로 에너지 요구량이 감소되는 것을 제시하고 있으며 폐쇄후 재관류 시간이 연장되면 심근 보호효과가 감소하리라 생각하고 있다. 그러나 기계적인 기능 회복없이, 2시간 이상 재관류한 경우에는 허혈전조치 기능이 감소한다고 하였다²³⁾. Miura²⁴⁾등은 역시 stunning의 정도와 허혈전조치 효과사이에 상관관계가 적다고 했으며, Schott²⁵⁾등 역시 지속적인 허혈손상전의 심근 산소소모량과 혈전조치로 획득된 심근보호효과간에 상관관계가 적다고 했다. 이와같이 stunning 자체만으로는 허혈전조치를 설명하기에는 부족하다. 그러나 심근의 stunning 없이 허혈전조치 효과가 획득되는 지에 대한 연구는 아직 밝혀진 적이 없다. 허혈전조치를 한 경우에는 대조군에 비해 myeloperoxidase 활성도가 낮는데, 이 효소의 원천이 호중구인 것으로 보아서 호중구가 관여하는 손상이 적은 것이 허혈전조치의 심근보호 효과의 기전이며 허혈전조치시 심근경색 부위가 적어져 호중구의 축적이 감소되는 것을 원인으로 제시했다³¹⁾. Adenine nucleotide의 대사 산물인 hypoxanthine은 허혈동안에 dehydrogenase에서 변환된 xanthine oxidase에 의해 산소의 존재하에서 hypoxanthine이 xanthine으로 산화되고 superoxide(O_2^-)를 생성하여 즉 허혈과 재관류에 의한 reactive hyperemia로 발생하는 oxygen-derived free radical이 심근괴사를 초래한다. 그러므로 지속적인 관동맥 폐쇄전에 허혈전조치시 심근에 adenine nucleotide 농도를 감소시켜 hypoxanthine의 축적과 superoxide 생성을 제한할 수 있다고 한다^{32,33)}. 그러나 Reimer³⁴⁾등에

의하면 xanthine oxidase inhibitor인 allopurinol 사용으로도 심근경색 부위를 감소시키지 못한 것으로 미루어 xanthine oxidase 대사과정에서 생긴 free radical이 허혈전조치의 심근보호 효과에 관여하지 않을 것이라고 주장했다. 가역적인 심근 손상에 반응성산소 free radical 생성으로 허혈의 내성을 갖게 된다는 또다른 주장이 있다. 즉, 단시간의 관상동맥 폐쇄후 재관류시 많은 양의 free radical이 생성되어, 가역적인 손상인 stunning과 세포막 투과성을 향진시킨다는 보고가 있다^{14,35)}. 그러나 아직 free radical의 scavenger인 superoxide dismutase와 catalase로 허혈전조치 효과를 감소시킨다는 보고³⁶⁾와 전혀 효가가 없다는 상반된 보고가 있어³⁷⁾ 향후 상반된 결과에 대한 보충 연구가 필요하다. Neerly³⁸⁾등은 혐기 관류로 glycogen을 소모시키는 전처치를 한 경우 허혈후에 lactate의 축적이 적었고, 심근기능 회복도 혐기관류 전조치하지 않은 경우보다 호전됨을 발표하였다. 그러나 관류액에 lactate를 추가한 경우 위의 기능회복 호전이 소멸된 것으로 보아 ATP의 고갈이 아닌 해당분해 산물들의(lactate, hydrogen ion, NADH등) 축적이 조직의 가역적 손상을 비가역적 손상이 되게하며, 결국 간헐적인 재관류는 해로운 혐기성 대사산물을 제거해주는 효과가 있다고 하였다. 허혈전조치로 생긴 세포 보호 효과는 허혈 동안에 대사 반응이 현저히 저하되는 것이 원인이라고 주장하며²⁹⁾ 이 반응은 ATP의 생성과 이용 모두 관여한다고 하였다. 심한 허혈 상태에서는 새로운 ATP 생성을 주로 혐기성 당분해 작용에 의존한다. 그러나 허혈전조치를 받은 심근은 당분해 대사 과정이 전부 천천히 일어나 조직에 lactate 뿐만아니라 당분해 대사의 중간산물이 거의 축적되지 않는다³⁹⁾. 그러므로 허혈전조치의 심근대사에서 ATP 이용이 저하되는 기전을 밝히는 것이 심근보호의 기전을 규명하는데 도움이 될 것이다. 허혈시 ATP 사용은 주로 mitochondria의 ATPase에 의해 ATP가 소모되고 있다고 밝혀졌고⁴⁰⁾ 허혈로 mitochondria가 산성화 되면 ATPase가 장애를 받는다고 하였다. 이런 장애는 반복적인 허혈시 좀 더 신속하고 완벽하게 일어나는 것으로 허혈전조치를 설명하고 있다⁴¹⁾. 또 다른 가설은 허혈에 대한 심근의 적응을 heat shock 후 stress protein에 의해 유도된 gene product의 신속한 표현으로

설명하기도 하며⁴²⁾, 대사산물의 축적 감소가 허혈 동안에 발생하는 osmotic load(삼투부하)를 감소시켜서, 허혈과 재관류시 세포의 종창의 양을 감소시켜 손상받은 세포막의 파열을 막아준다는 주장⁴³⁾, 중성구 chemotactic factor의 축적이 감소된다는 주장과⁴⁴⁾ 교감신경 긴장의 감소를 기전으로 하는 가설이 있으나 아직 확실치 않다⁴⁵⁾. Murry²¹⁾ 등은 허혈전조치의 심근보호효과는, 허혈을 극복할 수 있는 세포내의 효소를 활성화하거나, 이런 효소합성을 활성화 할 것이라는 가설을 제시하였으나 아직까지 이런 가설을 증명한 보고는 없다. 이런 허혈전조치후 지속적인 허혈손상이 3시간 이상되면 심근보호 효과는 소멸된다는 보고가 있다⁶⁾. 이는 허혈전조치가 오직 세포괴사를 연기하는 것으로, 오랜시간 허혈손상이 지속되면 심내막하부위의 심근보호 효과부터 소멸되는데 이는 허혈전조치시 각 심근부위별로 심근보호 효과가 역시 다르다고 하였다. 즉, 심외막에 비해 허혈전조치 효과가 적으나, 전조치의 허혈시간을 연장하면 심중 및 외막에도 심근보호 효과가 있을 것이라고 주장한다²¹⁾. 또한 허혈전조치 이후 재관류 시간이 2시간 이상되면 역시 심근보호 기능이 없다는 주장이 있다²⁹⁾. 허혈전조치로 부정맥 발생 빈도를 줄여주는 효과가 있다는 보고가 있으며⁴⁶⁾ 또한 심근의 미세구조의 변형도 보호해주는 효과가 있음을 밝혔다⁴⁷⁾. 최근 Liu⁴⁸⁾ 등은 허혈전조치에 adenosine이 주요한 기능을 할 것이라고 제시하였다. 즉, adenosine receptor antagonist로 처리한 경우 허혈전조치 효과가 전부 소멸되는 것이 밝혀졌다. 또한 적출된 심장에서 adenosine과 A1 receptor agonist 투여로 허혈전조치와 같이 효과를 나타냈다고 하였다. 그러나 아직까지 adenosine이 어떻게 그런 효과를 나타내는지는 밝혀져 있지 않으나, 아마도 neutrophil를 활성화하여 재관류 손상을 줄여주고 glycolytic flux를 증대시켜 ATP를 보존할 것이라고 가정하고 있다. 또한 adenosine의 관상동맥 확장과 심박동수 저하 효과도 유효한 것으로 생각되고 있다. 이와같이 허혈전조치에 의한 심근보호효과의 발생기전에 대한 다양한 가설과 실험이 있어 왔으나 아직 확립된 이론은 정립되어 있지 않다.

허혈전조치에 대한 실험 model과 동물이 다양

하지만 모두 심근괴사의 양을 현저히 감소시키고 있다. 그러나 각기 다른 model과 실험동물에 따라 허혈전조치를 유도하는 허혈기간이 다양하며, 또한 횡수 역시 보고자 마다 다양하다. 또한 대상동물에 따라서도 상이한 결과를 보고하고 있다. 이런 허혈전조치가 지속적인 허혈에 대해 어느정도까지 허혈에 대한 심근보호효과가 있는지에 대해서도 의견이 다양하며, 허혈전조치후 어느정도 기간까지 재관류한후에도 지속적인 허혈에 대해 심근보호효과가 유지되는지도 연구중에 있다. 또한 허혈전조치의 생성기전역시 연구과제라 하겠다. 이에 본 연구에서는 허혈전조치 기간중 허혈전조치 자체로 인한 심근의 기능변화와 심근허혈손상을 관찰하여 허혈전조치 효과의 획득과정을 확인하고, 이런 허혈전조치가 어느정도 기간의 지속적인 허혈손상에 대해 심근보호효과가 있는가를 알아보고자 하였다. 본 연구에서 허혈전조치로 5분간 관상동맥 폐쇄와 5분간 재관류를 시행하는 방법을 사용한 것은 잠전 model에서 허혈기간이 20분 이상 되면 심근 괴사가 나타난다고 하며, 15분 정도에서는 흔하게 심실성 부정맥이 유발되고 역시 10분씩 2회 폐쇄하는 방법도 역시 비슷한 빈도를 보인다고 한다. 5분 정도의 폐쇄는 비교적 위험한 부정맥 출혈이 적다고 하며, 1~2분 정도의 허혈에서는 허혈대사 산물의 생성과 혈역학적 인자들의 변화를 얻는데 기술적으로 어렵다고 생각하였다. 허혈전조치를 10분간 일회주었을때 심근기능의 변화를 비교하기가 어려웠고, 본 실험전 시행한 예비실험에서 5분씩 2회 전조치시 심근기능의 변화가 초기에 있었으며, 5분씩 3회 전조치시도 비슷한 변화를 보였다. 그러므로 5분씩 4회 전조치하여 비가역적인 허혈손상 시간인 20분과 유사하게 하면서, 또한 허혈전조치 기간에 허혈대사산물이 충분히 생성되고, 충분히 세척될 수 있는 기회를 주어 관상동맥의 폐쇄후와 재관류후 혈역학적 인자들의 변화와 심근의 허혈손상에 대한 대사산물을 측정하고자 하였다. 이로써 아직까지 확실히 밝혀지지 않은 허혈전조치의 기간중 허혈전조치 자체에 의한 심근기능의 변화를 관찰하고자 하였다. 지속적인 허혈시간도 60분 이상에서는 허혈전조치의 심근보호효과가 없다는 보고가 많았으나, 본 실험전의 예비 실험에서 지속적 허혈시간이 60분이상에서도 허혈전 조치의 심근보

호효과가 유지될 것으로 사료되어, Nae²⁷⁾ 등이 효과 없다고 주장한 지속적 허혈시간을 90분으로 하여, 허혈전조치의 지속적인 허혈에 대한 심근보호효과를 심근경색의 크기를 비교하여 판정하고자 하였다. 본 연구에서는 개흉 model을 사용하였으므로 재관류 시간을 비교적 짧은 4시간으로 하였다. 재관류 시간 역시 보고자마다 다양하며, 이에 대한 허혈전조치 효과를 비교한 실험이 없어 추후 또 하나의 연구과제라 하겠다.

심근경색의 크기를 감소시키는 약제나 조건을 정확히 알기 위해서는 심근 경색의 크기에 영향을 미치는 인자들을 통제해야 하는데 1985년 미국의 The animal models for protecting ischemic myocardium (AMPIM) cooperative study에서는 서로 다른 실험군간에 어떤 치료가 심근경색의 크기를 줄이는가를 판정하기 위하여서는 심근경색의 크기에 변화를 줄 수 있는 세가지 인자인 허혈부위의 크기, 측부순환 혈관 혈류, 심근 대사요구 (metabolic demand)를 나타내는 rate-pressure-product가 동일하여야 하며 이들 세인자가 심근경색크기에 변화를 가져오는 조절할 수 있는 변수 (controllable variable)의 90%를 차지한다고 보고하였다⁴⁹⁾. 따라서 본 연구에서는 위의 3가지 인자를 측정하여 실험 model에 정확성을 기하였다.

허혈전조치가 어느정도 기간의 지속적인 허혈에 대해 심근보호효과가 있는 지에 대한 판정으로 90분간 폐쇄한 후 240분간 재관류한 후 경색부위를 판정하였다. 위험부위와 좌심실 전체 면적의 비는 실험조건에 따라 달라질 수 있으나 본 연구에서는 44% 내지 46%로 다른 연구자들의 보고인 40% 내지 45%와 유사하였다⁵⁰⁾. 경색부위의 좌심실에 대한 면적비는 다른 연구자에 비해 다소 낮았으며, 치료 효과 판정에 가장 유용한 지표인 경색부위/위험부위의 면적비 역시 낮았다. Reimer와 Jennings⁸⁾의 실험에 의하면 잠건을 이용한 심근경색 model에서 좌회전동맥을 4일간 폐쇄-재관류시 관상동맥 폐쇄 시간에 따른 경색부위/위험부위의 면적비는 20분의 경우 0%, 40분의 경우 $28 \pm 5\%$, 3시간의 경우 $70 \pm 6\%$ 이다. 6시간의 경우 $72 \pm 6\%$, 4일의 경우 $79 \pm 3\%$ 로서 3시간 이후에는 시간의 경과에 따른 경색부위/위험부위의 면적비가 다른데 이는 재관류 시간이 지남에 따라 재관류 손상이

진행되어 경색의 크기가 증가할 수 있을 것으로 사료된다. 대조군에 비해 허혈전조치 군에서 경색부위/위험부위의 면적비가 현저히 감소한 것으로 나타난 본 실험의 결과로 허혈전조치가 지속적 허혈시간 90분까지 심근보호효과가 관찰되었다.

요 약

연구배경 :

반복적인 단시간의 허혈과 재관류의 전조치를 시행한 허혈전조치가 지속적인 허혈손상으로부터 심근보호효과가 있어 심근 손상을 감소시키며, 세포괴사가 지연되어 재관류요법을 이용할 수 있는 시간이 연장되어 구제할 수 있는 심근이 많아질 것이 예상된다. 이런 허혈전조치효과를 증명하기 위해 잠건을 이용한 심근 경색 model에서 1) 반복적인 단시간의 허혈과 재관류의 허혈전조치 기간에 심근의 혈역학적인자들과 대사 산물의 변화를 관찰하여, 허혈전조치 자체에 의한 심근 기능의 변화와 심근손상을 확인하며 허혈전조치효과의 획득과정을 살펴보고, 2) 이런 허혈전조치가 90분간의 지속적 허혈 손상에 대해 심근보호효과가 있는가를 판정하기 위해, 경색 부위를 대조군과 정량적으로 측정 비교하여 감소 유무를 판정함으로써 허혈전조치의 허혈 손상에 대한 심근보호효과를 알아 보고자하였다.

연구방법 :

실험견에서 좌전하동맥을 90분폐쇄~4시간 재관류하는 심근경색 model을 만들어 대조군으로 하였고, 지속적인 폐쇄전 5분간 폐쇄-5분간 재관류를 4회 시행하는 허혈전조치 군으로 나누어, 허혈전조치 기간의 혈역학적인자들과 lactate 추출율의 변화를 관찰하고, 지속적 폐쇄와 재관류시 두 군사이의 혈역학적 인자들, 국소심근혈류량과 심근경색부위의 크기를 비교하였다.

결 과 :

- 1) 허혈전조치 기간중 초기에만 맥박수 심실수축기압, Peak -dp/dt와 rate-pressure product 등의 혈역학적인자들이 유의하게 감소하였다.
- 2) 허혈전조치 기간중 초기에만 lactate 추출율이 유의하게 감소되었다.
- 3) 지속적 폐쇄와 재관류시 대조군과 허혈전조

치군간에 맥박수, 좌심실 수축기압, 확장기말압, maximum +dp/dt, peak -dp/dt와 rate pressure product 값에 유의한 차이가 없었다.

4) 각군에서 정상부위의 지속적 관동맥 폐쇄 5분간 60분간의 국소심근혈류량에 유의한 차이가 없었으며, 두군간에도 유의한 차이가 없었다. 경색부위 역시 지속적 관동맥 폐쇄 5분과 60분간의 국소심근혈류량에 유의한 차이가 없었으며, 두 군간에도 유의한 차이가 없었다.

5) 위험부위/좌심실 면적비는 두군에서 유의한 차이가 없었으며 경색부위/위험부위 면적비는 대조군에 비하여 허혈전조치군에서 유의하게 낮았다.

결 론 :

심근의 단시간의 허혈과 재관류를 반복적으로 시행한 허혈전조치 기간중 초기에만 심근의 수축기와 확장기 기능이 저하되며, 이후에는 변화가 없었고 심근허혈손상도 초기에만 유발되므로 허혈전조치의 심근보호기능은 전조치 초기에 획득되는 것으로 추측된다. 또한 관동맥의 폐쇄와 재관류를 각각 5분간씩 4회 실시한 허혈전 조치는 잠전을 이용한 심근경색 model에서 90분간의 지속적인 허혈에 대한 심근성색의 크기를 감소시키는 것으로 사료된다.

References

- 1) Jennings RB, Somers HM, Smyth GA, Flack HA, Linn H : *Myocardial necrosis induced by temporary occlusion of a coronary artery in the dog. Arch Pathol* 70 : 68-78, 1960
- 2) Stack RS, Phillips HR III, Grierson DS : *Functional improvement of jeopardized myocardium following intracoronary streptokinase infusion in acute myocardial infarction. J Clin Invest* 72 : 84-95, 1983
- 3) Kloner RA, Ganote SG, Lange R : *Studies of experimental coronary artery reperfusion : Effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure, and microvascular damage. Circulation* 58 (Z) : 1-8, 1985
- 4) Braunwald E, Kloner RA : *The stunned myocardium : Prolonged, postischemic ventricular dysfunction. Circulation* 66 : 1146-1149, 1982
- 5) Krucoff MW, Bettner RK, Renzi RM, Ahmed SW, Morea CJ, Stroming SL, Satler LF, Rackley CE,

- Kent KM : *Fading ischemia during transluminal coronary angioplasty(TCA) : Correlation with systemic beta blockade(abstract). Circulation* 76(suppl IV) : IV-184, 1987
- 6) Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG, Hirshfeld JW, Jr, Herrmann HC, Laskey WK : *Adaptation to ischemia during percutaneous transluminal coronary angioplasty : Clinical, hemodynamic and metabolic features. Circulation* 82 : 2044-2051, 1990
- 7) Heymann MA, Payru BD, Hoffman JL : *Blood flow measurements with radionuclide labeled particles. Prog Cardiovasc Dis* 20 : 50-79, 1977
- 8) Reimer KA, Jennings RB : *The "wavefront phenomenon" of myocardial ischemic cell death. Lab Invest* 40 : 663-644, 1979
- 9) Jennings RB, Schaper J, Hill ML, Steenbergen C, Jr, Reimer KA : *Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury : Changes in cell volume, electrolytes, metabolites and ultrastructure. Circ Res* 56 : 262-278, 1985
- 10) Reimer KA, Hill ML, Jennings RB : *Prolonged depletion of ATP and of the adenine nucleotide pool due to delayed resynthesis of adenine nucleotides following reversible myocardial ischemic injury in dogs. J Mol Cell Cardiol* 13 : 229-239, 1981
- 11) Swain JL, Sabina RL, McHale PA, Greenfield JC, Jr, Holmes EW : *Prolonged myocardial adenine nucleotide depletion after brief ischemia in the open-chest dog. Am J Physiol* 242 : H818-H826, 1982
- 12) Marban E, Koretsune Y, Corretti M, Chacko VP, Kusuoka H : *Calcium and its role in myocardial cell injury during ischemia and reperfusion. Circulation* 80(suppl IV) : IV-17-22, 1989
- 13) Krause SM, Jacobus WE, Becker LC : *Alterations in cardiac sarcoplasmic reticulum calcium transport in the postischemic "stunned" myocardium. Circ Res* 65 : 526-530, 1989
- 14) Bolli R, Jeroudi MO, Patel BS, Aruoma OI, Halliwell B, Lai EK, McCay PB : *Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion : Evidence that myocardial "stunning" is a manifestation of reperfusion injury. Circ Res* 65 : 607-622, 1989
- 15) Geft IL, Fishbein MC, Ninoyiya K, Hashida J, Chaux E, Yano J, Y-Rit J, Genov T, Shell W, Ganz

- W : Intermittent brief periods of ischemia have a cumulative effect and may cause myocardial necrosis. *Circulation* 66 : 1150-1153, 1982
- 16) Swain JL, Sabina RL, Hines JJ, Greenfield JC, Jr, Holmes EW : Repetitive episodes of brief ischemia (12min) do not produce a cumulative depletion of high energy phosphate compounds. *Cardiovasc Res*, pp264-269, 1984
 - 17) Hoffmeister HM, Mauser M, Schaper W : Repeated short periods of regional myocardial ischemia : Effect on local function and high energy phosphate levels. *Basic Res Cardiol* 81 : 361-372, 1986
 - 18) Schroder E, Rieso RA, Laughlin D : Altered response of reperfused myocardium to repeated coronary occlusion in dogs. *J Am Coll Cardiol* 10 : 898-905, 1987
 - 19) Nicklas JM, Becker LC, Bulkley BH : Effects of repeated brief coronary occlusion on regional left ventricular function and dimension in dogs. *Am J Cardiol* 56 : 473-478, 1985
 - 20) Reimer KA, Murry CE, Yamasawa I, Hill ML, Jennings RB : Four brief periods of myocardial ischemia cause no cumulative ATP loss or necrosis. *Am J Physiol* 251(Heart Circ Physiol 20) : H1306-H1315, 1986
 - 21) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA : Preconditioning with ischemia : A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74 : 1124-1136, 1986
 - 22) Li GC, Vasquez JA, Gallagher KP, Lucchesi BR : Myocardial protection with preconditioning. *Circulation* 82 : 609-619, 1990
 - 23) Murry CE, Richard VJ, Reimer KA : Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. *Am J Physiol* 260 (Heart Circphysiol 29) : H790-H804, 1991
 - 24) Miura T, Noto T, Adachi T : Does myocardial stunning contribute to infarct limitation by preconditioning(abstract). *Circulation* 82(suppl III) : III-40, 1990
 - 25) Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W : Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circ Res* 66 : 1133-1142, 1990
 - 26) Hagar JM, Hale SL, Kloner RA : Effect of preconditioning ischemia on reperfusion arrhythmias after coronary artery occlusion and reperfusion in the rat. *Cir Res* 68 : 61-68, 1991
 - 27) Nao BS, McClanhan TB, Grol MA : The time limit of effective ischemic preconditioning in dogs(abstract). *Circulation* 82(suppl III) : III-271, 1990
 - 28) Corbalan R, Verrier RL, Lown B : Differing mechanisms for ventricular vulnerability during coronary occlusion and release. *Am Heart J* 92 : 223-230, 1976
 - 29) Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB : Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode. *Circ Res* 66 : 913-931, 1990
 - 30) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA : New insights into potential mechanism of ischemic preconditioning. *Circulation* 84 : 442-445, 1991
 - 31) Donnelly TJ, Sievers RE, Bunting S, Bullens SL, Parmley WW, Wolfe CL : Myocardial protection with preconditioning during ischemia and reperfusion : Assessment by phosphorous magnetic resonance(abstract). *Clin Res* 37 : 255A, 1989
 - 32) McIord JM : Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 312 : 159, 1985
 - 33) Chambers DE, Parks DA, Patterson G, Roy R, McCord JM, Yoshida S, Parmley LF, Downey JM : Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 17 : 145, 1985
 - 34) Reimer KA, Jennings RB : Failure of the xanthine oxidase inhibitor allopurinol to limit infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. *Circulation* 71 : 1069, 1985
 - 35) Svendsen JH, Bjerrum PJ, Haunsø S : Myocardial capillary permeability after regional ischemia and reperfusion in the in vivo canine heart : Effect of superoxide dismutase. *Circ Res* 68 : 174-184, 1991
 - 36) Murry CE, Richard VJ, Jennings RB, Reimer KA : Preconditioning with ischemia : Is the protective effect mediated by free radical-induced myocardial stunning(abstract). *Circulation* 78(suppl II) : II-7, 1988
 - 37) Iwamoto T, Miura T, Adachi T : Myocardial infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning was not attenuated by oxygen free radical scavengers in the rabbit. *Circulation* 83y1015-1022, 1991

- 38) Neely JR, Grottyhann LW : *Role of glycolytic products in damage to ischemic myocardium dissociation of adenosine triphosphate levels and recovery of function of reperfused ischemic hearts.* *Circ Res* 55 : 816, 1984
- 39) Jennings RB, Murry CE, Steenbergen C, Reimer KA : *Development of cell injury in sustained acute ischemia.* *Circulation* 82(suppl 11) : 11-211, 1990
- 40) Rouslin W, Erickson JL, Solaro RJ : *Effects of oligomycin and acidosis on ATP depletion in ischemic heart muscle.* *Am J Physiol* 250 : H503-H508, 1986
- 41) Rouslin W, Pullman ME : *Protonic inhibition of the mitochondrial adenosine 5'-triphosphatase in ischemic cardiac muscle : Reversible binding of the ATPase inhibitor protein to the mitochondrial ATPase during ischemia.* *J Mol Cell Cardiol* 19 : 661-668, 1987
- 42) Knowlton AA, Brecher P, Ngoy S, Apstein CS : *Brief cardiac ischemia induces expression of heat shock protein 70(abstract).* *Circulation* 80(suppl II) : II-237, 1989
- 43) Steenbergen C, Hill ML, Jennings RB : *Volume regulation and plasma membrane injury in aerobic and anaerobic ischemic myocardium in vitro. Effects of osmotic cell swelling on plasma membrane integrity.* *Circ Res* 57 : 864, 1985
- 44) Engler RL, Schmid-Schonbein GW, Pavelec RS : *Leukocyte capillary plugging in myocardial ischemia and reperfusion in the dog.* *Am J Pathol* 111 : 98, 1983
- 45) Janes RD, Johnstone DE, Klassen GA, Armour JA : *The function of cardiac sympathetic efferent nerves within a zone of repeated ischemia.* *Circulation(abst)* 72(suppl III) : III-63, 1985
- 46) Shiki K, Hearse DJ : *Preconditioning of ischemic myocardium. Reperfusion-induced arrhythmias.* *Am J Physiol* 253 : H1470-H1476, 1987
- 47) Basuk WL, Reimer KA, Jennings RB : *Effect of repetitive brief episodes of ischemia on cell volume, electrolytes and ultrastructure.* *J Am Coll Cardiol* 8 : 33A-41A, 1986
- 48) Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM : *Protection against infarction afforded by preconditioning mediated by A1 adenosine receptors in the rabbit heart.* *Circulation* 84 : 350-356, 1991
- 49) Reimer KA, Jennings RB, Cobb FR : *The AMPIM (Animal Models for protecting ischemic myocardium) study group. Animal models for protecting myocardium. Results of the NHLBI cooperative study.* *Cir Res* 56 : 657-665, 1985
- 50) 김덕경 · 김영권 · 김철호 · 손대원 · 이명록 · 박영배 · 서정돈 · 이영우 : *잡견을 이용한 심근경색 Model에서 adenosine이 재관류 손상에 미치는 영향.* *순환기* 20 : (부록) 619, 1990