

## 허혈/재관류 심장에서 허혈전처치가 카테콜아민 유리에 미치는 영향

서울대학교 의과대학 약리학교실

박종완 · 김영훈 · 김명석

### = Abstract =

#### Effect of Ischemic Preconditioning on Catecholamine Release from the Isolated, Ischemic Reperfused Hearts of Rats

Jong-Wan Park, M.D., Young-Hoon Kim, M.D., Myung-Suk Kim, M.D.

*Department of Pharmacology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea*

**Background :** Ischemic preconditioning reduces the infarct size and the severity of arrhythmia in a post-ischemic reperfused heart although the detailed mechanism is unknown. In the ischemic heart, a large amount of catecholamine is released from the adrenergic nerve terminal and this aggravates cell destruction and arrhythmia. In this study, the possibility for ischemic preconditioning to inhibit the release of endogenous catecholamine from the ischemic heart was tested to investigate the probable cardioprotective mechanism of ischemic preconditioning.

**Methods :** In the isolated, Langendorff perfused rat hearts, we observed the protective effect of ischemic preconditioning against post-ischemic reperfusion injury, and measured the amount of catecholamine released into coronary effluent. In addition, we observed the effect of catecholamine depletion on reperfusion injury in non-preconditioned and preconditioned hearts.

**Results :** During the reperfusion(20min) after ischemia(30min), the cardiac function was markedly depressed with the development of severe contracture. In the heart preconditioned by three sequential episodes of 5min ischemia and 5min reperfusion, the reperfusion contracture decreased significantly and the cardiac function was almost recovered to normal after 20min reperfusion. The release of lactate dehydrogenase was also decreased in the preconditioned heart. The release of endogenous catecholamine was abruptly increased immediately after the reperfusion and the release was exponentially decreased throughout the reperfusion period. The pattern of catecholamine release was much different from that of lactate dehydrogenase release. In the preconditioned heart, the release was significantly decreased to about half of that in non-preconditioned heart. Endogenous catecholamine depletion by reserpine treatment did not affect the post-ischemic functional recovery in both non-preconditioned and preconditioned hearts.

**Conclusion :** It is suggested from these results that ischemic preconditioning inhibits the

release of endogenous catecholamine during ischemic period, which may be partly related to cardioprotective effect of preconditioning in ischemic and reperfused heart.

**KEY WORDS** : Ischemia-reperfusion injury · Preconditioning · Catecholamine.

## 서 론

허혈심장의 혈류재개 초기에는 심한 심실 부정맥과 급격한 세포손상을 동반한 재관류손상이 발생하여 치명적인 결과를 낳을 수도 있다<sup>1,2)</sup>. 이러한 심장의 허혈/재관류 손상이 허혈전처치(ischemic preconditioning)에 의해 효과적으로 경감됨이 Murry등<sup>3)</sup>에 의해 처음으로 보고된 이후 이에 대한 관심이 커지고 있다. Murry등<sup>3)</sup>은 개의 관상 혈관을 5분간 묶었다가 다시 5분간 풀어주는 전처치를 4회 반복한 다음 계속해서 40분 동안 혈관을 묶었을 때 전처치하지 않은 경우보다 심근괴사 부위가 약 75% 정도 축소되며 재관류시 심기능 회복이 촉진됨을 보고하였다. 이후 이러한 현상은 개 뿐 아니라 토끼<sup>4)</sup>, 돼지<sup>5)</sup>, 흰 쥐<sup>6)</sup> 등 각종 동물에서도 확인되었으며, Deutsch등<sup>7)</sup>은 사람에서도 허혈전처치의 효과가 나타남을 보고하였다. 허혈전처치는 심기능 향상이나 심근괴사 축소 뿐 아니라 허혈 시기<sup>8)</sup>와 재관류 시기<sup>9)</sup> 모두에서 심실빈맥과 심실세동을 억제하는 항부정맥 효과도 나타난다.

허혈전처치의 심장보호작용 기전은 아직 명백히 규명되어 있지 않으나 허혈/재관류 손상을 야기하는 모종의 유발인자를 제거하기 때문이라고 할 수 있다. 현재 주장되고 있는 허혈/재관류 손상의 유발인자로는 high energy phosphate의 고갈<sup>10)</sup>, 과다한  $\text{Na}^+$  및  $\text{Ca}^{2+}$  유입<sup>11)</sup>, phospholipase 활성화<sup>12)</sup>, 산소라디칼 생성 증가<sup>13)</sup> 그리고 내인성 카테콜아민 유리<sup>14)</sup> 등이 있으며, 이들의 복합적인 상호작용의 결과로 허혈/재관류 손상이 발생한다고 여겨진다. 따라서 허혈전처치는 이러한 유발인자들의 전부 혹은 일부를 제거함으로써 심장 보호작용을 나타낼 가능성이 있다.

카테콜아민은 심수축력과 심박수를 증가시키는 매우 중요한 심기능 조절 인자이지만 다량 혹은 장기간 노출시에는 심독성이 야기된다. 허혈심장에서는 허혈 부위의 교감신경말단에서 다량의 카테콜아민이 유리되는데 이는 부정맥을 유발하는 중요한 인자일 뿐만 아니라<sup>15)</sup> 허

혈 심근세포의 에너지고갈, 세포내 칼슘유입, 카테콜아민 산화에 의한 산화성 손상 등을 유도하여 심근세포괴사를 촉진하게 된다<sup>16)</sup>. 이러한 허혈 심근이 재관류 되면 허혈부위 심근세포의 전기적 활동과 수축능이 불규칙하게 회복되면서 심실부정맥이 더욱 악화되며 심하면 순환부전으로 진행된다. 따라서 만일 허혈 심근에서 카테콜아민의 분비가 억제된다면 허혈과 재관류에 의한 심실부정맥과 심근괴사가 감소될 수도 있을 것으로 여겨진다.

본 연구의 목적은 이러한 관점에서 허혈전처치가 허혈부위의 카테콜아민 분비를 억제함으로써 심장 보호효과를 나타낼 수 있을지 그 가능성을 검토하는 것이다. 이를 위하여 적출심장을 이용한 허혈/재관류 손상 모델에서, 허혈전처치 유무에 따라 관류액으로 유출되는 카테콜아민의 양을 측정비교하였고, 내인성 카테콜아민을 고갈시킨 상태에서 허혈/재관류 손상의 양상변화를 관찰하여 카테콜아민 유리 억제가 허혈/재관류 손상 보호에 기여하는 정도를 조사하였다.

## 연구재료 및 방법

### 1. 연구재료

실험동물은 체중 200g 내외의 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐 52마리를 사용하였다. Sodium pyruvate, NADH, norepinephrine, ethylene diamine tetraacetic acid, aluminum oxide, perchloric acid, potassium ferricyanide, ascorbic acid등은 Sigma사 제품을 사용하였으며, 기타 모든 시약들은 특급시약을 사용하였다.

### 2. 허혈/재관류손상 유도 및 허혈전처치

흰쥐에 30mg/kg 용량으로 sodium pentobarbital을 복강주사하여 마취시킨 후 인공호흡 상태에서 흉부를 절개하였다. 대동맥을 절개하여 삽입관을 삽입한 다음 폐장을 포함한 주위조직을 제거하고 곧이어 Langendorff 관류장치에 대동맥 삽입관을 연결시켜 역방향 관류를 하였다. 관류액은 95%  $\text{O}_2$ ~5%  $\text{CO}_2$ 로 포화시킨

Krebs-Henseleit(K-H) 완충용액(NaCl 118mM, NaHCO<sub>3</sub> 27.2mM, KCl 4.8mM, MgSO<sub>4</sub> 1.2mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1mM, CaCl<sub>2</sub> 1.25mM, Glucose 10mM, pH 7.4)을 80 Cm H<sub>2</sub>O의 일정 압력으로 관류하였고, 심장 온도를 37℃로 일정하게 유지하였다. 충분히 산소가 포화된 K-H용액으로 15분 동안 관류하여 심기능이 안정화된 후, 대동맥 삽입관에 장치된 3-way 코크를 막아 심장 전체허혈(global ischemia)을 유도하였다. 30분 허혈을 지속한 다음 다시 3-way 코크를 열어 재관류 시켰다. 모든 심장은 실험이 끝나면 중축으로 4등분하여 표면에 묻은 물기를 닦아 내고 무게(wet weight)를 측정하였다. 허혈전처치로는 심기능이 안정화된 후, 5분 허혈을 시키고 5분 재관류 시키는 작업을 3회 연속으로 반복하였으며 곧이어 30분 허혈 및 20분 재관류를 시행하였다.

### 3. 심기능 지표

심기능의 지표로서 심박수와 좌심실 압력을 측정하였다. 좌심실 압력은 끝에 balloon이 붙은 20G의 plastic 삽입관을 승모판을 통해서 좌심실에 삽입하고 압력 변환기에 연결한 후, 생리기록계를 이용해서 측정하였다. 이때 안정화된 심장의 좌심실 이완기말 압력(left ventricular end-diastolic pressure, LVEDP)이 5mmHg가 되도록 balloon을 팽창시켰다. 심박수는 1분간 기록된 수축 횟수로 알 수 있으며 좌심실 압력 중 이완기말 압력은 심근의 contracture 정도를, 수축기말 압력과 이완기말 압력의 차이(developed pressure)는 심장의 수축력을 나타내는 지표로 사용하였다. 또한 심장의 혈액순환 능력(심기능 지수)은 developed pressure에 심박수를 곱하여 산출하였고, 허혈조작전과 허혈후 재관류 20분에서의 이수치를 비교하여 재관류후 심기능 회복률을 계산하였으며 이를 전처치한 경우와 비교 검토하였다.

### 4. 심근세포 손상의 지표

세포질 효소인 lactate dehydrogenase(LDH)의 유출을 심근세포 손상의 지표로 삼았다. 30분간의 허혈에 이은 재관류시 초기 10분 동안 관류액을 받아 관류량을 측정하고 이를 얼음 속에 보관하여 8시간 내에 효소 측정 시료로 사용하였다. LDH 활성은 48mM phosphate buffer(pH 7.5), 0.6mM sodium pyruvate, 0.18mM NADH를 함유한 반응계에 관류액 시료 0.5ml

를 첨가한 후 25℃에서 NADH가 NAD로 산화되는 과정을 340nm에서의 흡광도 변화로 기록 측정하였다<sup>17)</sup>.

### 5. 카테콜아민의 측정

카테콜아민은 aluminum oxide를 사용한 Anton과 Sayre<sup>18)</sup>의 방법으로 측정하였다. 관류액과 1/3 용량의 Tris/EDTA 용액(200mM Tris/HCl pH 8.6, 100mM EDTA.2Na)을 혼합한 후 0.1g의 activated aluminum oxide를 넣고 15분간 세차게 흔들어 주었다. 여기에 동량의 탈이온수를 첨가하고 1,000g로 5분간 원심분리하여 aluminum oxide만 남기고 상청액은 모두 제거하였다. 다시 40ml의 탈이온수를 첨가하여 잘 섞은 후 1,000g로 5분 원침하여 상청액을 제거하였다. 침전물에 2ml의 50mM perchloric acid를 넣고 15분간 세차게 흔들어 준 후 1,000g로 5분간 원심분리하여 상청액 0.8ml를 취하였다. 상청액에 0.4ml의 0.5M phosphate buffer(pH 6.9)와 80μl의 0.25% potassium ferricyanide를 넣어 혼합한 다음 상온에서 2분간 반응시켰다. 반응 후 0.8ml의 alkaline ascorbate 용액(20% NaOH : 1% ascorbic acid = 4 : 1)을 넣어 혼든 후 형광분석기(395 nm/505 nm)로 형광도를 측정하였다. Blank로는 0.8ml 상청액 대신 0.8ml perchloric acid를 동일한 방법으로 반응시켰으며 카테콜아민의 양은 여러 양의 norepinephrine을 이용한 표준직선에 준해서 계산하였다.

## 결 과

### 1. 허혈/재관류 손상에 대한 허혈전처치의 보호 효과

산소를 포화시킨 K-H용액으로 1시간 관류한 정상심장에서는 심기능 변화는 거의 없었다. 15분간 관류를 하여 수축기능이 불량하거나 수축이 불규칙한 심장은 모든 실험에서 제외하였다. 적출심장의 관류를 차단하면 2분 내에 수축이 정지되며, 30분 허혈후 재관류를 시행하면 심장은 곧 매우 불규칙적인 수축을 하게 되고 계속 경축이 심해져 2 내지 5분 만에 수축이 멈추었다. 재관류 20분 후에도 심한 경축과 부정맥이 지속되어 정상적인 수축을 하지 못하며 그 수축력도 매우 미약하였다. 반면 허혈전처치 심장에서는 재관류시 급격한 경축 감소에 이어 5 내지 10분부터 정상적인 수축이 이루어 졌다. 이렇

**Table 1.** Protective effect of ischemic preconditioning on ischemia-reperfusion injury in isolated rat hearts

	Non-preconditioned		Preconditioned	
	Preischemia	Reperfusion	Preischemia	Reperfusion
HR(beats/min)	302 ± 6.17	228 ± 10.67	308 ± 3.49	284 ± 6.33*
LVEDP(mmHg)	5	77.1 ± 3.77	5	23.5 ± 5.04*
DP(mmHg)	58.4 ± 5.42	10.6 ± 3.63	58.5 ± 3.94	57.9 ± 8.71*
Recovery of function(%)	100	14.1 ± 4.33	100	91.0 ± 10.71*
Released LDH(unit/10 min/g wet wt.)		41.2 ± 9.60		11.9 ± 2.40*

HR, heart rate LVEDP, left ventricular end-diastolic pressure DP, developed pressure

Recovery of function was estimated from the cardiac index(HR×DP) at the end of 20 minutes of reperfusion

Values are given as mean ± SE of six hearts \*p < 0.01 versus values of non-preconditioned hearts

듯 비전처치 심장과 허혈전처치 심장 사이에는 심박수, 이완기말 압력, 수축력 등 모든 심기능 지표에서 매우 현저한 차이가 났으며, 이들 수치로부터 산출된 심기능 지수(DP×HR)로 볼 때 허혈전처치 심장의 허혈후 기능 회복률은 91%에 달하였다(Table 1). 또한 관류액에서 LDH의 효소활성을 측정된 결과, 허혈전처치 심장에서 재관류시 LDH 유출이 월등히 적었다(Table 1). 따라서 허혈전처치는 허혈후 심기능 회복 뿐만 아니라 심근 세포손상도 보호하였다.

## 2. 허혈 심장에서의 카테콜아민 유리에 대한 허혈 전처치의 효과

허혈후 재관류 초기부터 다량의 카테콜아민이 유리되었으나 시간이 지나면서 그 유출량은 급격히 감소하였다(Fig. 1). 이러한 카테콜아민의 유출은 허혈전처치에 의해 40% 이상(pmol/5min/g wet wt, 대조군: 376 ± 37.7, 허혈전처치군: 215 ± 16.4) 현저히 감소하였다(Fig. 3).

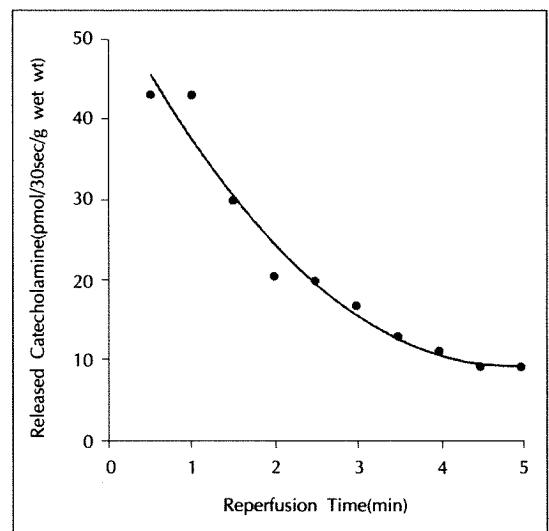
## 3. 내인성 카테콜아민 고갈 심장에서의 허혈/재관류 손상

허혈전처치에 의한 내인성 카테콜아민 유출 방지가 심장보호작용에 기여하는 정도를 판단하기 위해 reserpine으로 내인성 카테콜아민을 고갈시킨 심장에서 허혈/재관류 손상을 관찰하였다. Reserpine을 1mg/kg 용량으로 실험전 48 시간과 24 시간에 복강주사하였으며, 적출심장을 30분 허혈후 재관류시 관류액에서 카테콜아민 유출이 측정되지 않음을 확인하였다. 이러한 방법으로 내인성 카테콜아민을 고갈시킨 심장을 허혈/재관류시킨 결과, 허혈후 심기능 회복이 카테콜아민이 존재하는 대조군과 차이가 없었다. 또한 카테콜아민 고갈 심장을 허혈전처치하여도 허혈후 심기능 회복률이 대조

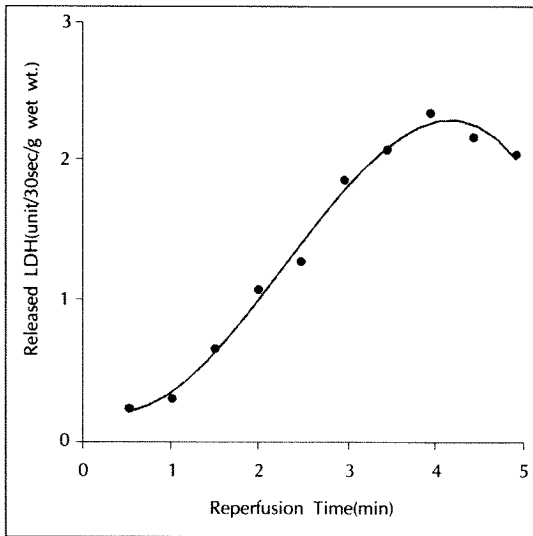
군의 허혈전처치 심장과 차이가 없었다.

## 고 안

허혈전처치에 의한 허혈/재관류손상 보호기전에 대해서는 아직 명확히 밝혀진 바가 없으나 최근에 몇 가지 가설들이 검토되고 있다. 우선적으로 허혈전처치의 효과를 허혈부위의 collateral 혈류 증가로 설명하는 보고도 있으나<sup>10)</sup>, 본 연구에서와 같은 global ischemia 조건에서는 허혈시 collateral 혈류가 있을 수 없으므로 이 가설은 타당성이 적다고 생각된다. 한편 허혈은 근본적으로 에너지공급을 중단시킴으로써 세포손상을 일으킴



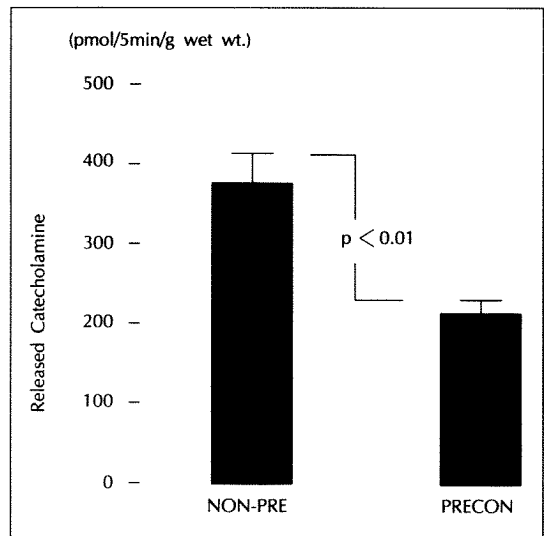
**Fig. 1.** Catecholamine release during reperfusion of ischemic rat heart. Coronary effluents were collected at 30 second interval to determine the amount of catecholamine. Catecholamine was assayed by the fluorescent method as in Materials and Methods. Each point represents the mean value from two experiments.



**Fig. 2.** LDH release during reperfusion of ischemic rat heart. Coronary effluents were collected at 30 second interval to determine the activity of LDH. The LDH activity was assayed as described in Materials and Methods. Each point represents the mean value from two experiments.

로 허혈전처치가 세포의 에너지소모를 억제함으로써 그 효과를 나타낼 가능성도 있다. 이와 관련하여 몇몇 연구자들은 허혈전처치시 허혈기간에 나타날 수 있는 ATP의 급격한 소모가 감소하며, 혐기성 해당작용의 대사가 억제되어 lactate 축적이 줄어든다고 보고하였다<sup>20,21)</sup>. 이외에도 허혈전처치가 자극이 되어 stress protein이나 항산화효소 등의 발현이 증가되어 보호효과가 나타난다는 가설<sup>22)</sup>, 허혈전처치 기간에 ATP 소모의 결과로 adenosine 같은 purine 대사물이 interstitial space로 나와서 심근세포막에 있는 purine 수용체( $A_1$ -수용체)와 결합함으로써 심장보호가 된다는 가설<sup>23)</sup>, 허혈시 생성이 증가되는 prostaglandine계 물질이 재관류시 부정맥을 억제한다는 가설<sup>24)</sup>, 허혈전처치로 재관류시 산소라디칼 반응이 감소한다는 가설<sup>25)</sup> 등이 있다. 이렇듯 많은 가설들이 주장되기는 하지만 뚜렷이 확립된 것은 없기 때문에 본 연구에서는 허혈/재관류 손상의 발생에 있어서 중요한 기전의 하나로 인정되고 있는 내인성 카테콜아민 관련설<sup>14)</sup>에 입각해서 허혈전처치의 보호기전을 조사하였다.

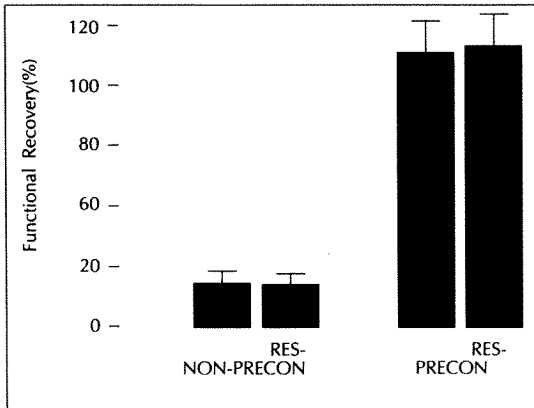
카테콜아민이 허혈손상의 진행을 악화시키는 주요 인자로 작용함은 다각적으로 증명된 바 있다. 실험적으로 다량의 카테콜아민은 그 자체로도 심실 부정맥과 심근



**Fig. 3.** The effect of preconditioning on catecholamine release in ischemic rat heart. The measurement of catecholamine was described in Methods. NON-PRE : non-preconditioned heart, PRECON : preconditioned heart. The p value is estimated using Student's t-test.

괴사를 일으키며, 허혈 심근에서는 그 독성이 더욱 심화된다<sup>26)</sup>. 또한 아드레날린성  $\beta$ -차단제에 의해 허혈에 의한 부정맥과 심근손상이 방지됨이 실험적으로 증명되었으며<sup>27)</sup> 이러한 효과는 임상적으로도 확인되었다. 즉 급성 심근경색 환자에게  $\beta$ -차단제를 투여하면 혈중 creatine kinase 활성이 감소되며<sup>28)</sup> 환자의 사망률이 감소하는<sup>29)</sup> 등 예후가 좋아짐이 보고되었다. 따라서 허혈전처치에 의해 카테콜아민의 유출이 감소됨(Fig. 3)은 항부정맥 효과나 심근세포 손상 방지효과에 일부 기여할 가능성이 높다고 여겨진다.

카테콜아민에 의한 심기능 악화 요인은 이미 언급한 것처럼 심실 부정맥과 심근괴사가 있다. 허혈 및 재관류 심장에서 내인성 카테콜아민 유리에 의하여 부정맥이 발생하는 과정에서 카테콜아민의 불균등 분포가 중요한 원인이 된다고 여겨지고 있다. 즉 허혈 심근에서 collateral 혈류의 분포의 유무에 따라 허혈손상의 정도가 부위별로 달라 유리되는 카테콜아민의 양도 부위별로 차이가 있을 수 있으며, 혈류가 차단된 상태이므로 유리된 카테콜아민이 확산되지 못하여 높은 농도의 카테콜아민이 국소적으로만 분포하므로 부위별 전도성 차이가 생겨 부정맥이 발생하게 된다<sup>30)</sup>. 또한 다량의 카테콜아민은 심근세포의 에너지고갈, 칼슘유입 증가, 카테콜아민의



**Fig. 4.** The effect of catecholamine depletion on the post-ischemic functional recovery. Functional recovery was estimated from the cardiac index(HR×DP) at the end of 20min reperfusion following 30min global ischemia. Catecholamine was depleted by treatment with reserpine(1mg/kg, ip, 48hr and 24hr before the experiment).

자발적 산화에 의한 산화손상 등을 유도하므로 허혈 심근의 세포괴사를 촉진할 수도 있다<sup>16)</sup>. 그러나 카테콜아민에 의한 심근세포 전도성의 변화는  $10^{-7}M$  이하의 생리적 농도에서도 가능하지만 카테콜아민의 심근손상 효과는  $10^{-6}M$  이상의 고농도의 카테콜아민을 인위적으로 투여하는 실험 조건<sup>26)</sup>에서 나타나므로 내인성 카테콜아민 유리가 이 정도의 고농도까지 이루어질 수 있을지는 알 수 없다. 흰쥐 심실근에 존재하는 노르아드레날린이 모두 유리되었을 경우 그 조직내 농도는 약  $10^{-6}M$  정도라는 Waldenstrom 등<sup>26)</sup>의 보고와 30분 허혈로는 내인성 카테콜아민의 1/4 정도만이 유리된다는 Schomig<sup>30)</sup>의 보고에 따르면, 30분내의 허혈조건에서 유리되는 카테콜아민의 조직내 농도는  $10^{-6}M$ 보다 훨씬 낮은 것으로 추정된다. 그러므로 단기간 허혈에 의해 유리되는 내인성 카테콜아민은 부정맥을 유발시킬 수 있으나 심근세포 손상을 초래하지는 못할 것으로 여겨진다. 실제로 단기간 허혈후 재관류시 reserpine 처리로 심실세동에 의한 사망은 현저하게 감소하나 괴사빈도는 대조군과 같다는 Sommers와 Jennings<sup>31)</sup>의 보고는 이러한 가능성을 뒷받침하며, 이러한 이유로 본 연구에서 시행한 단기간 허혈조건에서도 reserpine 처리에 의한 허혈/재관류 심근 보호효과가 관찰되지 않은 것으로 생각된다(Fig. 4). 따라서 단기간 허혈조건에서는 허혈전처치에 의한 카테콜아민 유출 감소가 항부정맥 효과를 나타내는데 기여할 가능성이 있으나, 허혈전처치의 심근세포손상 방지효과

는 다른 기전에 의해 이루어지리라 사료된다.

한편, 허혈전처치가 어떻게 허혈 심장의 카테콜아민 유출을 억제하는가? 라는 매우 흥미로운 의문점이 생긴다. 이러한 의문점을 해결하기 위해서는 우선적으로 허혈에 의한 내인성 카테콜아민의 유출 기전을 고려해 보아야 할 것이다. 카테콜아민의 유출 기전을 조사하기 위해서는 먼저 그 유출 시기를 알아야 되는데, 과거에는 카테콜아민 유리가 허혈기간에 진행되는지 아니면 재관류시기에 재관류 손상의 결과로 일어나는지에 대해 논란이 있었다. 그러나 근자에는 카테콜아민의 유출은 허혈기간에 이루어지며 재관류시 관류액에서 검출되는 카테콜아민은 단순히 고여있던 것이 흘러나오는 현상이라고 여겨지고 있다<sup>30)</sup>. 본 연구의 결과에서도 LDH의 유출은 재관류시간이 경과함에 따라 점차 증가하여 재관류 4분경에 절정에 도달한 반면(Fig. 2), 카테콜아민의 유출은 재관류 시작과 함께 다량 유출되고 곧이어 급격히 감소하는 wash-out의 양상이었다. 따라서 카테콜아민 유출은 심근의 재관류 손상 보다 앞서 진행되므로 카테콜아민 유출이 재관류 손상의 이차적인 결과가 아니고 허혈 자체에 의한 것이라고 생각된다. 이에 관련된 기전으로 내인성 카테콜아민 유리가 3단계로 이루어진다는 가설이 있다<sup>32)</sup>. 즉 허혈 초기(10분 이내)에는 허혈에 의한 심기능 저하와 허혈 부위의 구심성 신경섬유 자극으로 교감반사가 항진되어 교감신경말단에서 카테콜아민이 분비된다. 허혈이 10분에서 40분 정도 유지되면 두 번째 단계로 교감신경 세포의 에너지가 고갈되면서 세포내  $Na^+$  축적으로 카테콜아민의 재흡수 장치인 uptake<sub>1</sub> carrier을 통해 오히려 카테콜아민이 분비되어 허혈부위의 카테콜아민 농도가 혈장의 약 1,000 배까지 상승한다. 허혈기간이 40분이 지나면 세 번째 단계로 신경말단이 허혈손상을 심하게 받아 세포막이 파괴되면서 세포내 카테콜아민이 유출된다. 이러한 과정에서 본 연구에서는 교감신경 반사가 배제된 적출심장을 30분간 허혈 조작을 하였으므로 2단계에 의한 카테콜아민 유리가 주요 기전이라 생각된다. 따라서 허혈전처치로 이 단계의 카테콜아민 유리가 억제되었을 가능성이 있다. 즉 허혈전처치로 인한 교감신경 세포내  $Na^+$  축적 억제, storage vesicle에서 세포질로의 카테콜아민 유리 억제 또는 uptake<sub>1</sub> carrier를 통한 카테콜아민 분비의 억제 등 그 기전으로서 몇 가지 가능성을 예측할 수는 있으므로, 이는 추후 검토되어야 할 과제라 생각된다.

## 요 약

### 연구배경 :

허혈전처치는 허혈/재관류 심장의 심근괴사를 방지할 뿐 아니라 재관류 부정맥도 완화시킨다. 이러한 허혈전처치의 심장 보호효과 기전에 관하여 여러 가설이 제시되고 있기는 하지만 아직 그 자세한 기전이 밝혀지지는 않았다. 한편, 허혈심장에서 카테콜아민이 다량 분비되어 심근세포의 괴사와 부정맥을 악화시킨다는 것은 이미 잘 알려진 현상이다. 따라서 본 연구에서는 허혈전처치가 허혈심장에서 카테콜아민 유리를 억제함으로써 심장 보호효과를 나타낼 가능성을 검토하였다.

### 방 법 :

흰 쥐 적출심장의 Langendorff 관류표본을 이용하여 허혈전처치(5분 허혈 - 5분 재관류, 3회 반복)에 의한 허혈/재관류 손상 보호작용을 관찰하였으며, 관류액으로 유출되는 카테콜아민의 양을 측정하고, 내인성 카테콜아민을 고갈시킨 상태에서 허혈/재관류 손상을 유도하였다.

### 결 과 :

적출심장에서 30분 허혈후 재관류시 좌심실의 심한 경축과 심기능 저하가 지속되었으나, 허혈전처치 심장에서는 재관류시 경축의 현저한 감소에 이어 심기능 회복이 촉진되었다. 또한 허혈전처치 심장에서 재관류시 LDH 유출이 비전처치 심장보다 월등히 적었다. 허혈후 재관류 초기부터 다량의 카테콜아민이 유리되었고 시간이 지나면서 그 유출양이 급격히 감소하는 wash-out 양상을 보였으며, 이러한 카테콜아민의 유출은 허혈전처치에 의해 현저히 감소하였다. 그러나 reserpine 처치에 의하여 내인성 카테콜아민을 고갈시킨 심장에서도 허혈후 심기능 회복이 대조군과 차이를 보이지는 않았다.

### 결 론 :

이상의 결과로부터 허혈전처치는 허혈에 의한 내인성 카테콜아민 유리를 억제하며, 이는 허혈전처치의 허혈/재관류 심장 보호작용에 일부 기여할 수 있으리라 여겨졌다.

## References

- 1) Ganote CE, Seabra-Gomes R, Nayler WG : Irreversible myocardial injury in anoxic perfused rat heart. *Am J Pathol* 80 : 416-450, 1975
- 2) Hearse DJ : Reperfusion of ischemic myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 9 : 605-616, 1977
- 3) Murry CE, Jennings RB, Reimer KA : Preconditioning with ischemia : A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74 : 1124-1136, 1986
- 4) Miura T, Noto T, Adachi T, Endoh A, Goto M, Urabe K, Iimura O : Does myocardial stunning contribute to infarct limitation by preconditioning? (abstract) *Circulation* 82(Suppl III) : III-40, 1990
- 5) Schott RJ, Rohmann S, Braun ER, Schaper W : Ischemic preconditioning reduces infarct size in swine myocardium. *Circ Res* 66 : 1133-1142, 1990
- 6) Tani M, Neely JR : Intermittent perfusion of ischemic myocardium : possible mechanisms of protective effects on mechanical function in isolated rat heart. *Circulation* 82 : 536-548, 1990
- 7) Deutsch E, Berger M, Kussmaul WG : Adaptation to ischemia during percutaneous transmural coronary angioplasty : Clinical, hemodynamic, and metabolic features. *Circulation* 82 : 2044-2051, 1990
- 8) Vegh A, Komori S, Szekeres L, Parratt JR : Antiarrhythmic effects of preconditioning in anesthetized dogs and rats. *Cardiovasc Res* 26 : 487-495, 1992
- 9) Shiki K, Hearse DJ : Preconditioning of ischemic myocardium : reperfusion-induced arrhythmias. *Am J Physiol* 253 : H1470-H1476, 1987
- 10) Jennings RB, Reimer KA, Hill ML, Mayer SE : Total ischemia in dog hearts, in vitro. I. Comparison of high energy phosphate production, utilization, and depletion, and of adenine nucleotide catabolism in total ischemia in vitro vs severe ischemia in vivo. *Circ Res* 49 : 892-900, 1981
- 11) Tani M, Neely JR : Role of intracellular  $Na^+$  in  $Ca^{2+}$  overload and depressed recovery of ventricular function of reperfused ischemic rat hearts. *Circ Res* 65 : 1045-1056, 1989
- 12) Chien KR, Reeves JP, Buja LM, Bonte F, Parkey RW, Willerson JT : Phospholipid alterations in canine ischemic myocardium. Temporary and topographical correlations with Tc-99 on PPi accumulation and an in vitro sarcolemmal  $Ca^{2+}$  permeability defect. *Circ Res* 48 : 711-719, 1981
- 13) Kim MS, Park JW, Kim YS, Chung MH, Lee DK

- : A study on the mechanism of myocardial ischemic-reperfusion injury : Role of oxygen-free radical in hypoxia-reoxygenation injury in isolated cardiomyocyte of rat. *Seoul J Med* 30 : 231-242, 1989
- 14) Gaudel Y, Karagueuzian HS, DeLeiris J : Deleterious effects of endogenous catecholamines on hypoxic myocardial cells following reoxygenation. *J Mol Cell Cardiol* 11 : 717-731, 1979
  - 15) Podrid PJ, Fuchs T, Candinas R : Role of the sympathetic nervous system in the genesis of ventricular arrhythmia. *Circulation* 82 : II03-II13, 1990
  - 16) Rona G : Catecholamine cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol* 17 : 291-309, 1985
  - 17) Bergmeyer HU, Bernt E : UV assay of lactate dehydrogenase activity with pyruvate and NADH. In *Method of Enzymatic Analysis*, vol II, Bergmeyer HU, 2nd Ed. pp574-579, New York, Academic Press, 1974
  - 18) Anton AH, Sayre DF : A study of the factors affecting the aluminum oxide-trihydroxyindole procedure for analysis of catecholamine. *J Pharmacol Exp Ther* 138 : 360-375, 1962
  - 19) Fujita M, McKown DP, McKown MD, Hartley JW, Franklin D : Evaluation of coronary collateral development by regional myocardial function and reactive hyperemia. *Cardiovasc Res* 21 : 377-384, 1987
  - 20) Murry CE, Richard VJ, Reimer KA, Jennings RB : Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during sustained ischemia. *Cir Res* 66 : 913-931, 1990
  - 21) 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 : H1306-H1315, 1986
  - 22) Knowlton AA, Brech P, Ngoy S, Apstein CS : Brief cardiac ischemia induces expression of heat shock protein 70. *Circulation* 80(suppl II) : II-237, 1989
  - 23) Liu GS, Thornton J, Van Winkle DM, Stanley AWH, Olsson RA, Downey JM : Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in rabbit heart. *Circulation* 84 : 350-356, 1991
  - 24) Vegh A, Szekeres L, Parratt JR : Protective effects of preconditioning of the ischemic myocardium involve cyclo-oxygenase products. *Cardiovasc Res* 24 : 1020-1023, 1990
  - 25) Kim MS, Park JW, Kim YH : Effect of ischemic preconditioning on the oxygen free radical production and antioxidant systems in the post-ischemic reperfused heart, in *Proceedings of the 6th international conference on superoxide and superoxide dismutase*, Kyoto, Japan. 475-476, 1993
  - 26) Waldenstrom AP, Hjalmarson AC, Thornell L : A possible role of noradrenalin in the development of myocardial infarction. *Am Heart J* 95 : 43-51, 1978
  - 27) Daugherty A, Frayn KN, Redfern WS, Woodward B : The role of catecholamines in the production of ischemia-induced ventricular arrhythmias in the rat in vivo and in vitro. *Br J Pharmacol* 87 : 265-277, 1986
  - 28) Peter T, Norris RM, Clarke ED, Heng MK, Singh BN, Williams B, Howell DR, Ambler PK : Reduction of enzyme levels by propranolol after acute myocardial infarction. *Circulation* 57 : 1091-1095, 1978
  - 29) Norwegian multicenter study group : Timolol-induced reduction in mortality and reinfarction in patients surviving acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 304 : 801-807, 1981
  - 30) Schomig A : Catecholamines in myocardial ischemia : Systemic and Cardiac release. *Circulation* 82 : II 13-II22, 1990
  - 31) Sommers HM, Jennings RB : Ventricular fibrillation and myocardial necrosis after transient ischemia : Effect of treatment with oxygen, procainamide, reserpine and propranolol. *Arch Intern Med* 129 : 780-789, 1972
  - 32) Schomig A, Dart AM, Dietz R, Mayer E, Kubler W : Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part A : locally mediated release. *Cir Res* 55 : 689-701, 1984