

활성산소로 손상된 심장에 대한 교감신경계의 영향*

포항선린병원 내과

송 영 성

계명대학교 의과대학 약리학교실

김 수 경

= Abstract =

Adrenergic Effects on the Cardiac Damage by Oxygen Free Radicals

Young-Sung Song, M.D.

Department of Internal Medicine, Sunlin Presbyterian Hospital, Pohang, Korea

Soo-Kyung Kim, M.D.

Department of Pharmacology, School of Medicine, Keimyung University, Taegu, Korea

Background : It is now well known that oxygen free radicals act as mediators of cellular injury in many cardiovascular diseases. Although some evidences have been presented for an altered number of adrenergic receptors in heart disease, a detailed examination of the interaction of free radicals with cardiac adrenergic receptors has little been carried out.

Methods : This study is therefore undertaken to examine the influences of adrenergic blocking agents(propranolol, prazosin) and cyclooxygenase inhibitor(aspirin) on the cardiac damage by oxygen free radicals. Ischemic condition of the isolated rat heart was made by Langendorff preparation, and then measured superoxide dismutase(SOD), lactate dehydrogenase(LDH) released in the perfusate, and malondialdehyde(MDA) concentration in the cardiac tissue.

Results : We obtained the results that increased SOD activity and tendency of decreased LDH activity by the pretreatment of propranolol, prazosin, and aspirin in cardiac ischemic-reperfusion injury. Those effects were more predominant in adriamycin treated group comparing with not treated group.

Conclusion : Adrenergic blocking agent, propranolol, prazosin, and aspirin seem to have some protective effect on the reperfusion injury of the heart.

KEY WORDS : Adrenergic blocking agent · Oxygen free radical.

서 론

최근 활성산소는 심혈관계통의 허혈-재관류 손상¹⁻³⁾

*본 논문은 송영성의 박사학위 논문임.

뿐만 아니라 암발생⁴⁻⁵⁾, 백혈구의 포식작용 및 염증반응⁶⁻⁹⁾, 약물의 부작용의 기전¹⁰⁾ 및 노화¹¹⁾에 이르기까지 중요한 병인으로 주목받고 있다. 산소 재공급으로 일어나는 조직 손상은 실제 임상에서 심근경색의 관상동맥 재관류 시, 뇌혈관 전색후 혈액의 재공급시, 또는 혈관 재문합을

받은 후에 관찰되며, 이 경우에 허혈상태의 조직이 혈액 재관류로 산소를 공급 받음으로써 발생하는 활성산소 때문이라고 한다. 활성산소의 생성기전에 대해서는 허혈시에 생기는 xanthine oxidase, mitochondria의 산화반응, 유리된 catecholamine의 산화현상, 백혈구 및 prostaglandin의 생성과 관련된 산화성 대사물질이 혈액 재관류로 공급된 산소를 superoxide로 활성화 시켜서 조직을 손상시킨다고 설명하고 있다.

활성산소가 매개된다는 사실을 뒷받침하는 증거로서는 활성산소 제거효소인 superoxide dismutase (SOD)가 발견^[2]된 이후 SOD^[3], catalase^[4], glutathione peroxidase^[5]와 비타민 E, 비타민 C 같은 항산화제를 투여하면^[6] 활성산소에 의한 조직의 손상이 경감되며 allopurinol과 같은 xanthine oxidase inhibitor를 투여하여 활성산소로 인한 손상이 감소되었다는 실험적인 보고들이 있다^[7,18]. 그러나, 심혈관 재관류시에 발생한 활성산소가 심근세포를 손상시키는 기전에 대해서는 여러가지 가설이 있다. 발생된 활성산소는 주로 sarcolemmal Ca^{2+} -stimulated adenosine triphosphatase(ATPase)와 sarcoplasmic Ca^{2+} -stimulated ATPase를 감소시킴으로써 sarcolemmal membrane의 Ca^{2+} 에 대한 투과성을 증가시키므로 세포내 Ca^{2+} 이 축적되어서 심근이 손상받게 된다고 생각하고 있다^[1,19-21].

그러나, 그외에도 활성산소는 mitochondria의 산화성 인산화과정에 장애를 초래하거나 직접 심근 조직을 손상시킬 가능성이 있다고 한다^[22]. 심근세포에서 Ca^{2+} 의 유입에 교감신경계가 관여하고 있음은 이미 알려진 사실로서^[23], 활성산소에 의하여 심근내의 Ca^{2+} 조절에 이상이 생기는 경우에 교감신경계가 영향을 미칠 수 있다는 것을 추측할 수가 있다. 최근에는 β -adrenergic 수용체 차단약물이 지질과산화를 억제한다는 보고와^[24-27] α -adrenergic 수용체 차단약물이 재관류시의 부정맥에 효과가 있다는 보고^[28-30] 등 활성산소의 세포손상과 교감신경계와의 관련성에 대하여 흥미있는 연구들이 이루어지고 있다.

그러나 심장의 교감신경계 수용체와 활성산소와의 관계에 대해서는 아직 명확하게 연구되어 있지 않으므로 이러한 점에 흥미를 갖고 이 연구에서는 superoxide생성에 의해서 심장손상을 일으키는 것으로 알려진 adriamycin을 3주간 투여한 흰쥐와 투여하지 않은 흰쥐

의 허혈-재관류 적출심장 model을 이용하여 심근손상에 대한 교감신경계 약물의 반응을 관찰하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험군

실험동물은 동일 장소에서 3주이상 일정한 사료로 사육한 체중 300g 내외의 Sprague-Dawley종의 수컷 흰쥐를 사용하였다. 동물은 adriamycin 비투여군과 adriamycin 투여군(1mg/kg, i.p. 3주간)으로 크게 두 군으로 나누고, 각 군을 다시 saline(0.85%) 전처치군, propranolol(10^{-3} M) 전처치군, prazosin(10^{-3} M) 전처치군 및 aspirin(10^{-3} M) 전처치군으로 나누었다.

각 실험군 당 6마리 내외의 흰쥐가 사용되었으며 혈액 응고를 막기 위해 heparin(500U/100g, i.p.)을 주사하고 30분후에 단두하여 희생시킨 후, 즉시 심장을 적출하여 차가운 Krebs-Henseleit 완충용액에 담구어 Langendorff 방법^[31]에 의한 관류장치에 현수하고 5% CO_2 와 95% O_2 혼합가스로 포화된 37°C의 Krebs-Henseleit 완충용액(120mM NaCl, 20mM $NaHCO_3$, 4.63mM KCl, 1.2mM $MgSO_4$, 1.17mM KH_2PO_4 , 2.5mM $CaCl_2$, 8mM Glucose)을 관류시켰다. 적출심장의 관류는 대동맥에 맥관을 삽입시킨 후 완충용액을 80cm 높이의 수압하에서 peristaltic pump를 이용하여 10ml/min의 일정속도로 관류되도록 하였다. 적출한 심장을 30분간 안정시킨 후 상기 약물 1ml를 허혈 실시 전 관류액과 함께 1분간 주입하므로써 전처치하였다. 허혈상태는 관류액을 30분간 차단하여 유발시켰으며, 그 이후 원상태로 재관류를 실시하여 즉시, 5, 10, 30, 60, 90 및 120분에 심장을 통해 흘러 나온 관류액을 각각 채취하였다.

2. Superoxide dismutase(SOD) 활성도의 측정

Sun 외^[32]의 방법에 의하여 0.3mM xanthine, 0.6 mM EDTA, 150 μ M nitroblue tetrazolium, 400mM Na_2CO_3 및 albumin(1g/l)의 조성의 SOD assay reagent 2.4ml와 채취한 관류액 0.5ml를 잘 섞고, 여기에 xanthine oxidase(167U/l) 100 μ l를 넣은 후 25°C 항온조에서 20분간 반응시키고, 0.8mM $CuCl_2$ 1ml를 넣어서 반응을 중단시킨 후, spectrophotometer 파장

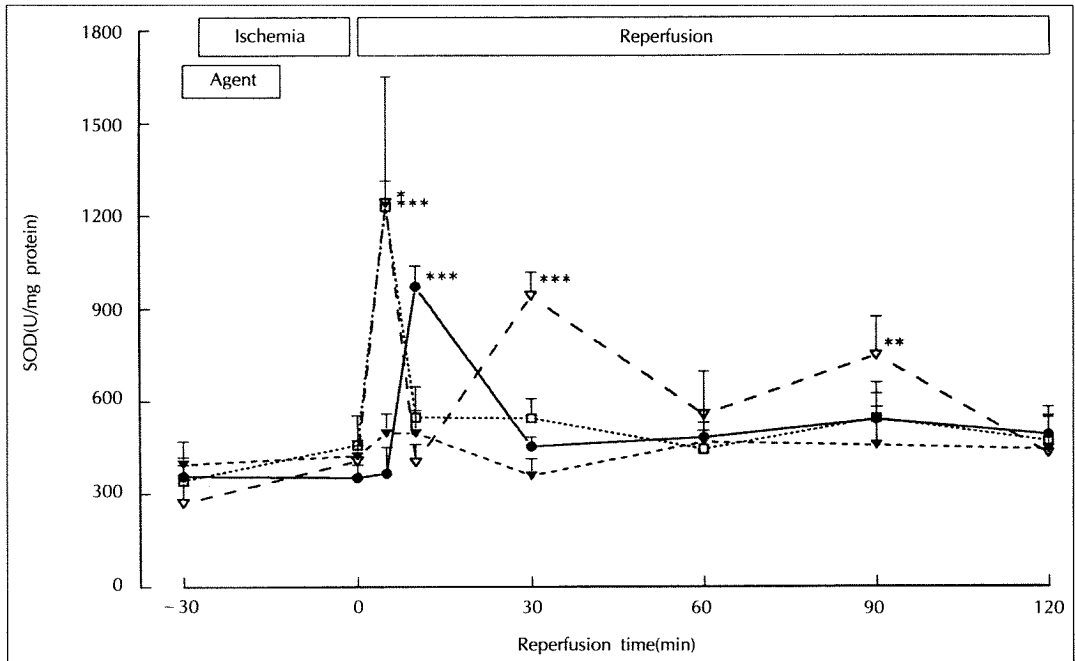


Fig. 1. Change of SOD by propranolol(▽---▽), prazosin(▼---▼), and aspirin(●---●) in reperfusion injury of the isolated rat heart.

Saline : □-□ Each values represents the mean±S.E.

The values at 0, 5, 10, 30, 60, 90min reperfusion were statistically compared with value before ischemia.

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

3). 심근조직내 MDA 농도는 대조치에 비하여 별 차이를 볼 수 없었다(Table 5, Fig. 5).

Adriamycin(1mg/kg)을 3주간 복강내로 투여한 실험군에 propranolol을 허혈 직전에 투여한 군에서 SOD 활성도는 대조치(363.9 ± 58.2 unit/mg protein)에 비하여 재관류 직후부터 5분, 10분, 30분, 60분, 90분 및 120분 관류액에서 유의한 증가를 나타내었으며(Table 2, Fig. 2), LDH 활성도는 대조치(198.7 ± 58.4 unit/mg protein)에 비하여 재관류 60분, 90분 및 120분 관류액에서 감소의 경향을 나타내었다(Table 4, Fig. 4). 심근조직내 MDA 농도는 대조치에 비하여 별 차이를 볼 수 없었다(Table 5, Fig. 6).

2. Prazosin의 허혈-재관류 심장손상에 대한 영향

Adriamycin을 투여하지 않은 실험군에 prazosin을 허혈직전에 투여한 군에서 SOD 활성도는 대조치(394.2 ± 74.3 unit/mg protein)에 비하여 재관류하는 동안에 별 변화를 볼 수 없었으나(Table 1, Fig. 1), LDH 활성도는 대조치(114.1 ± 68.8 unit/mg protein)에 비하여

재관류하는 동안에 증가의 경향을 나타내었으며 그 중 재관류 직후의 LDH 활성도는 통계학적으로 유의하였다(Table 3, Fig. 3). 심근조직내 MDA 농도는 대조치에 비하여 별 변화를 볼 수 없었다(Table 5, Fig. 5).

Adriamycin(1mg/kg)을 3주간 복강내로 투여한 실험군에 prazosin을 허혈 직전에 투여한 군에서 SOD 활성도는 대조치(407.7 ± 39.8 unit/mg protein)에 비하여 증가를 보였으며 재관류 직후, 5분, 10분, 및 30분 관류액에서도 유의한 증가를 보였다(Table 2, Fig. 2). LDH 활성도는 대조치(190.1 ± 46.2 unit/mg protein)에 비하여 재관류 90분과 120분 관류액에서 증가의 경향을 보였으나 통계학적으로 유의하지는 않았다(Table 4, Fig. 4). 심근조직내 MDA 농도는 대조치에 비하여 별 변화를 볼 수 없었다(Table 5, Fig. 6).

3. Aspirin의 허혈-재관류 심장손상에 대한 영향

Adriamycin을 투여하지 않은 실험군에 aspirin을 허혈 직전에 투여한 군에서 SOD 활성도는 대조치(355.2 ± 61.8 unit/mg protein)에 비하여 재관류 10분에만 유의한 증가를 보였으며(Table 1, Fig. 1), LDH 활성

Table 2. Effects of propranolol, prazosin, and aspirin on the change of SOD(U/mg protein) in reperfusion injury of isolated rat heart treated with adriamycin

Pretreatment	Control	Reperfusion time(min)							
		0	5	10	30	60	90	120	
Saline	543.4±72.2	406.4± 74.2 (74.8%)	365.2± 86.0 (67.2%)	365.0± 53.4 (67.2%)	580.4±83.4 (106.8%)	542.7± 51.8 (99.8%)	430.1± 28.8 (79.1%)	483.7± 52.7 (89.0%)	
Propranolol	363.9±58.2	1291.5±173.5*** (354.9%)	1308.1± 56.5*** (359.5%)	1146.9± 154.2*** (315.1%)	516.9±36.6* (142.0%)	1366.9±199.8*** (375.0%)	1923.0±160.3*** (528.4%)	806.8± 73.2*** (221.7%)	
Prazosin	428.6±76.0	342.2± 23.3 (79.8%)	666.2± 84.2 (155.4%)	1040.1±131.9*** (242.7%)	686.3±86.5* (160.1%)	701.5± 55.2** (163.7%)	629.4±282.7 (146.9%)	621.5±125.3 (145.0%)	
Aspirin	407.7±39.8	259.6± 35.8* (63.7%)	1122.7±256.4* (275.4%)	570.1±25.7** (139.8%)	546.1±22.1* (133.9%)	327.4± 26.6 (80.3%)	473.7± 9.2 (116.2%)	361.5± 18.0 (88.7%)	
Control means the value before ischemia.		The value represents mean±S.E. (%) vs control. * : p < 0.05, ** : p < 0.01, *** : p < 0.001							

Table 3. Effects of propranolol, prazosin, and aspirin on the change of LDH(U/mg protein) in reperfusion injury of the isolated rat heart

Pretreatment	Control	Reperfusion time(min)							
		0	5	10	30	60	90	120	
Saline	257.4±63.0	247.5±34.6 (96.2%)	449.3±38.7* (174.6%)	414.7±73.3 (161.1%)	252.0±31.5 (97.9%)	259.9±66.3 (101.0%)	200.0±26.5 (77.7%)	259.8±59.3 (100.9%)	
Propranolol	208.0±69.1	229.9±77.3 (110.5%)	158.0±58.0 (76.0%)	184.5±17.2 (88.7%)	145.3±35.3 (69.9%)	122.4±17.7 (58.8%)	126.0±26.0 (60.6%)	165.1±25.7 (79.4%)	
Prazosin	114.1±68.8	381.6±48.1** (334.4%)	278.0±70.6 (243.6%)	659.3±74.1*** (577.8%)	251.8±84.5 (220.7%)	201.9±59.2 (177.0%)	229.3±46.8 (201.0%)	189.9±41.1 (166.4%)	
Aspirin	185.7±60.7	358.7±39.7* (193.2%)	245.4±68.6 (132.1%)	141.8±15.1 (76.4%)	82.8±1.8 (44.6%)	52.9±0.1 (28.5%)	85.3±12.5 (45.9%)	170.2±23.6 (91.7%)	
Control means the value before ischemia.		The value represents mean±S.E. (%) vs control. * : p < 0.05, ** : p < 0.01, *** : p < 0.001							

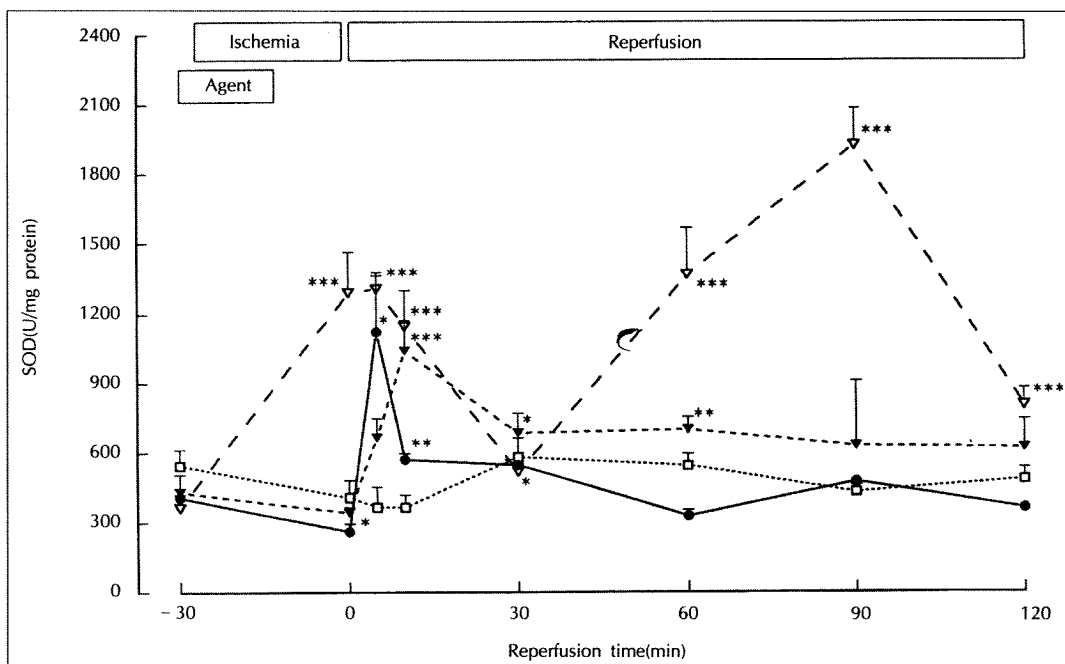


Fig. 2. Change of SOD by propranolol(▽---▽), prazosin(▼---▼), and aspirin(●—●) in reperfusion injury of the isolated rat heart treated with adriamycin.
 Saline : □-----□ * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

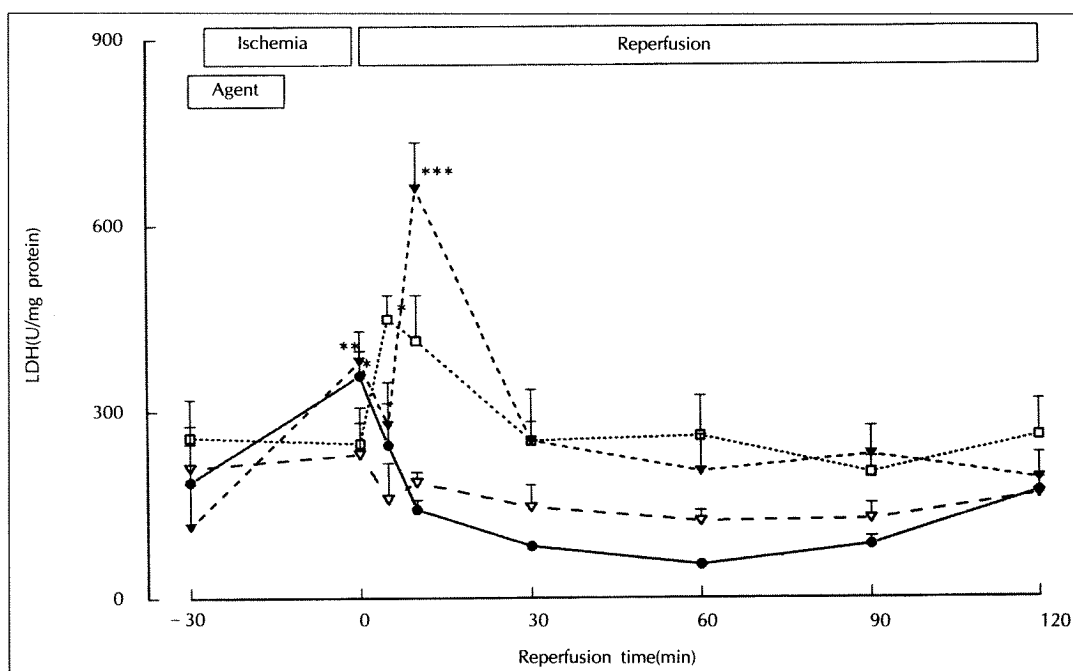


Fig. 3. Change of LDH by propranolol(▽---▽), prazosin(▼---▼), and aspirin(●—●) in reperfusion injury of the isolated rat heart.
 Saline : □-----□ * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$

Table 4. Effects of propranolol, prazosin, and aspirin on the change of LDH(U/mg protein) in reperfusion injury of isolated rat heart treated with adriamycin

Pretreatment	Control	Reperfusion time(min)							
		0	5	10	30	60	90	120	
Saline	210.3 ± 36.3	315.9 ± 50.9 (150.2%)	243.8 ± 28.8 (115.9%)	274.1 ± 29.6 (130.3%)	163.7 ± 15.2 (77.8%)	155.8 ± 37.4 (74.1%)	164.1 ± 43.1 (78.0%)	137.3 ± 35.8 (65.3%)	
Propranolol	198.7 ± 58.4	143.0 ± 13.0 (72.0%)	299.0 ± 47.3 (150.5%)	351.1 ± 88.6 (176.7%)	133.6 ± 31.2 (67.2%)	73.9 ± 36.0 (37.2%)	100.4 ± 22.7 (50.5%)	101.9 ± 41.7 (51.3%)	
Prazosin	190.1 ± 46.2	202.8 ± 38.1 (106.7%)	202.3 ± 59.8 (106.4%)	187.4 ± 42.9 (98.6%)	177.2 ± 53.9 (93.2%)	188.7 ± 58.5 (99.3%)	335.0 ± 84.4 (176.2%)	328.3 ± 71.2 (172.7%)	
Aspirin	201.9 ± 45.9	112.2 ± 35.3 (55.6%)	159.8 ± 17.7 (79.1%)	249.5 ± 82.4 (123.6%)	84.1 ± 2.3** (41.7%)	72.9 ± 25.7** (36.1%)	72.3 ± 17.7** (35.8%)	71.3 ± 7.4** (35.3%)	

Control means the value before ischemia. The value represents mean±S.E. (%) vs control.

** : $p < 0.01$

도는 대조치(185.7 ± 60.7 unit/mg protein)에 비하여 재관류 직후에는 유의한 증가를 보였으나 그 이후의 재관류액에서는 통계학적으로 유의하지는 않았으나 감소의 경향을 볼 수 있었다(Table 3, Fig. 3). 심근조직내 MDA 농도는 대조치에 비하여 별 변화를 볼 수 없었다(Table 5, Fig. 5).

Adriamycin(1mg/kg)을 3주간 복강내로 투여한 실험군에 aspirin을 허혈 직전에 투여한 군에서 SOD 활성도는 대조치(407.7 ± 39.8 unit/mg protein)에 비하여 재관류 직후, 5분, 10분, 및 30분 관류액에서 유의한 차이를 나타내었으며(Table 2, Fig. 2), LDH 활성도는 대조치(201.9 ± 45.9 unit/mg protein)에 비하여 재관류 30분, 60분, 90분 및 120분 관류액에서 유의한 감소를 보였다(Table 4, Fig. 4). 심근조직내 MDA 농도는 대조치에 비하여 별 변화를 볼 수 없었다(Table 5, Fig. 6).

고 안

허혈 - 재관류시 허혈 기간 중 유리된 catecholamine의 자가산화에 의한 활성산소 생성에 대한 교감신경계의 영향을 보고자 한 이 연구에서 prazosin보다 propranolol은 재관류하는 시간이 경과함에 따라 SOD 활성도의 증가와 LDH활성도의 감소를 나타내었으며 이것은 adriamycin 비투여군에 비하여 adriamycin을 1mg/kg를 3주간 투여한 실험군에서 더욱 뚜렷하여 propranolol이 허혈 - 재관류 손상에 대해 방어적인 효과가 있음이 관찰되었다.

Wheatley 외³⁵⁾ 및 Green 외³⁶⁾는 catecholamine은 허혈후 재관류되는 순간에 허혈부위에 상당량의 norepinephrine(NE)이 유리된다고 하였으며, Jolly 외¹⁾는 NE 산화반응의 부산물인 활성산소에 의해서 손상이 초래되며²⁻³⁾ Wolin과 Belloni³⁷⁾는 이 손상은 free radical scavenger에 의해서 현저히 억제되었다고 하였다.

심근경색시 β -adrenergic 수용체 차단제를 관상동맥 결찰 직전 또는 직후에 투여하였을때 심근의 손상을 감소시키는 작용이 있었다고 하는 연구 보고²⁴⁻²⁷⁾들이 있다. 그러나 Reynold 외³⁸⁾는 허혈 직전 또는 재관류 직후에 투여했을 때에만 경색의 크기를 경감시켰다고 보고하였으며, 최근에는 β -adrenergic 수용체 차단제가 활성산소에 의한 세포막의 지질과산화반응을 억제하므로써 효과가 있다는 보고가 있다^{24-27, 38)}. 또한 허혈 초기³⁹⁾와 후기

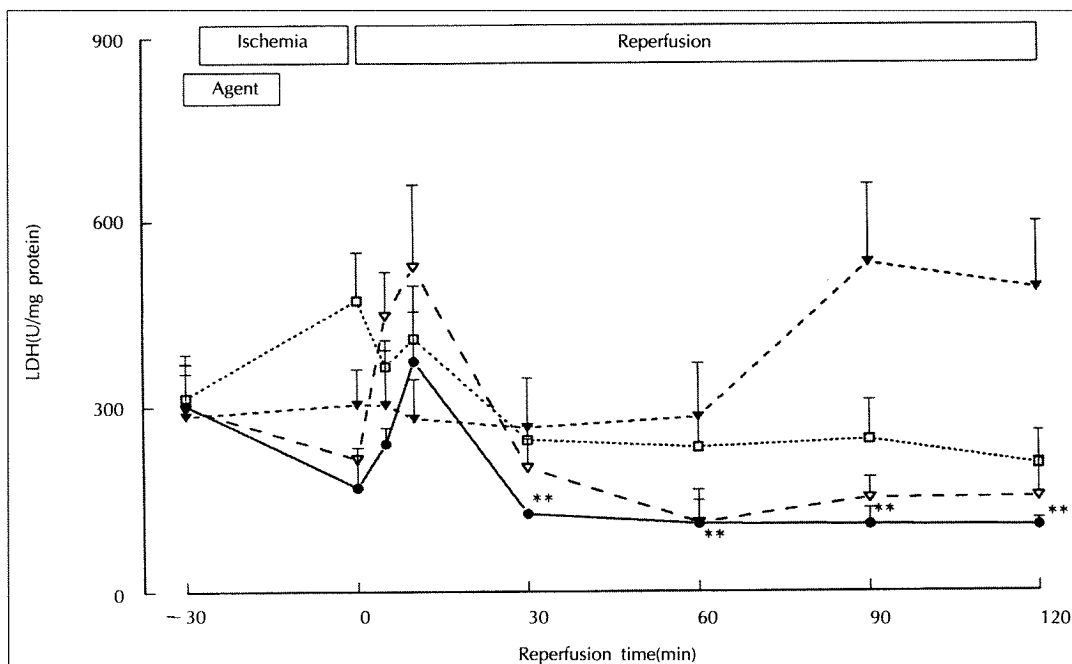


Fig. 4. Change of LDH by propranolol(▽---▽), prazosin(▼---▼), and aspirin(●—●) in reperfusion injury of the isolated rat heart treated with adriamycin.
Saline : □-----□ ** : $p < 0.01$

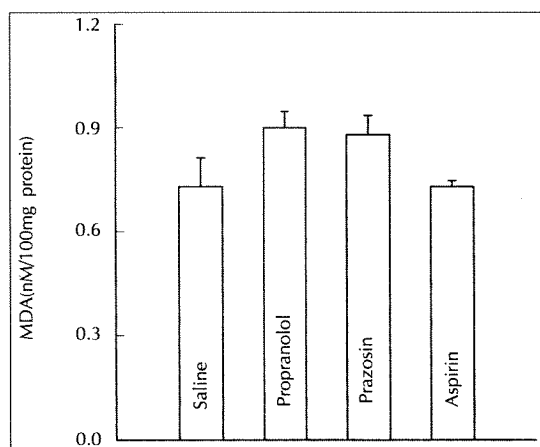


Fig. 5. Change of MDA by propranolol, prazosin, and aspirin in reperfusion injury of the isolated rat heart.

Table 5. Effects of propranolol, prazosin, and aspirin on the changes of MDA(nM/100mg protein) in reperfusion injury of isolated rat heart without or with adriamycin

Pretreatment	Adriamycin treatment	
	without	with
Saline	0.73 ± 0.08	0.95 ± 0.11
Propranolol	0.90 ± 0.05	1.21 ± 0.20
Prazosin	0.88 ± 0.06	0.80 ± 0.09
Aspirin	0.73 ± 0.02	0.77 ± 0.04

adrenergic 수용체는 전체적인 숫자보다는 기능적인 면이 더 중요한 문제라고 추측된다. Kramer 외²⁶⁾는 심근 세포 배양에서 산소 재공급하에서 β -adrenergic 차단제가 지질대사를 억제하였다고 하였다. 한편 같은 β -adrenergic 차단제인 propranolol과 metoprolol중에서 지용성이 더 높은 propranolol이 용이하게 심근세포에 도달하여 항산화제로 작용할 수 있으며, metoprolol은 조기 투여에 의한 심근기능 향상이나 사망률에 크게 영향을 미치지 않았다고 하는 보고도 있다²⁴⁾. 이 연구에서 adriamycin과 같은 anthracycline 항생제계 항암제로 활성산소에 의한 심근손상을 일으킨 상태에⁴⁵⁾ propranolol을 투여하였을 때, SOD활성도의 결과로 보아 propranolol의 방어적인 영향이 관찰되었으나, 지질과

^{40,41)}에 심근 β -adrenergic 수용체의 활성에 따른 adenylate cyclase activity 감수성의 차이가 있음이 알려지고, β -adrenergic 수용체와 허혈의 관계에 있어서 허혈로 심근경색이 발생했을 때 β -adrenergic 수용체의 수가 증가되었다는 보고가 있다^{42,43)}. 또한 지질과산화 반응 자체가 β -adrenergic 수용체의 수를 감소시킨다고 하는 보고도 있다⁴⁴⁾. 이로써 허혈-재관류 손상시 심장의 β -

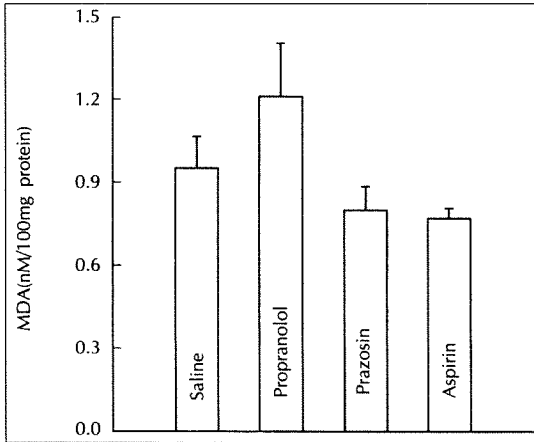


Fig. 6. Change of MDA by propranolol, prazosin, and aspirin in reperfusion injury of the isolated rat heart

산화의 부산물인 MDA함량에는 별 변화가 없었다.

Catecholamine 유리하에 허혈 재관류시 arachidonic acid등의 불포화지방산의 대사부산물로서 활성산소가 생기는데 arachidonic acid로부터 생성되는 prostaglandin들 중에서 prostaglandin E₁와 prostaglandin I₂는 neutrophil의 활성을 억제, 즉 neutrophil에 의한 superoxide형성을 억제하므로써 재관류 손상을 감소시키며, prostaglandin hydroperoxidase에 의하여 prostaglandin G₂와 prostaglandin H₂로 전환되면서 생성된 free radical 부산물은 재관류 손상을 일으킨다고 하였다⁴⁶⁻⁴⁸⁾. Cyclooxygenase 효소 억제제인 aspirin을 투여하여 cyclooxygenase에 의한 arachidonic acid의 대사를 억제하면 adriamycin을 투여받지 않은 실험군에서는 재관류 10분에 SOD활성도는 증가를 나타내었으나, MDA함량의 결과에는 별 변화가 없었다. 그러나 adriamycin을 3주간 투여받은 실험군에서는 통계학적인 유의성은 없었으나 감소의 경향을 나타내었다.

허혈-재관류에 의한 심근손상의 정도를 본 LDH의 측정 결과는 propranolol 및 aspirin 전처리로 심장손상이 경감된 것으로 나타났으나, propranolol과 aspirin 투여군에서는 경감의 효과를 보지 못하였다. 그러나 MDA함량은 aspirin 전처리군에서는 유의하지는 않았으나 억제의 경향을 보였으며 propranolol은 증가의 경향을 보였다. 이것은 이전의 시간에 따른 변동에 대해서 언급할 수는 없겠으나 propranolol의 방어적인 효과는 aspirin효과와는 다른 catecholamine작용의 차단에

의한 것으로 생각되었다. 허혈-재관류시 또한 부정맥과 전해질 불균형이 일어나는데^{49,50)}, 특히 calcium의 과다한 축적으로 세포가 사망하게 됨은 잘 알려져 있다. 재관류와 더불어 심근 조직내 calcium의 양의 증가는 허혈과 재관류의 기간에 따라 달라지며⁵¹⁾ calcium 길항제들이 심장에 보호적으로 작용한다는 증거들이 있다^{52,53)}.

또한 phentolamine이나 prazosin 같은 α -adrenergic 수용체 차단제가 허혈후 재관류되는 동안에 세포내 calcium의 농도를 감소시킨다는 보고가 있으며^{28,30)}, Thandroyen 외²⁹⁾는 prazosin을 reperfusion에 의한 부정맥 치료제로 보고하였다. 그러나 아직 α -adrenergic 수용체 차단제의 심장보호작용에 대한 기전은 확실하게 밝혀져 있지 않다. 이 연구에서 prazosin 처치시 adriamycin이 투여되지 않은 실험군에서는 SOD 활성도의 변화가 없었으나, adriamycin을 3주간 투여한 실험군에서는 SOD 활성도의 증가를 나타내어서 방어적인 효과가 있는 것으로 나타났다. 그러나 LDH활성도는 adriamycin 투여한 군과 투여하지 않은 두 실험군에서 차이를 나타내지 않았으며, MDA함량도 별 차이를 나타내지 않았다. 이로써, prazosin의 방어작용은 다른 보고들과 일치하였으며²⁸⁻³⁰⁾ β -adrenergic 수용체 차단제인 propranolol은 지질과산화반응이 관여되지 않는 기전에 의하여 일어나는 것으로 생각되었다. 이 연구결과로 교감신경계 차단 약물인 propranolol, prazosin과 cyclooxygenase 억제제인 aspirin에 의하여 허혈-재관류 심장손상은 활성산소 손상이 일어난 심장에서 SOD 활성도 증가와 LDH 감소의 경향을 보이므로써 방어적인 효과를 나타내었으며, propranolol과 prazosin의 작용기전은 lipid peroxidation에 의하지는 않는 것으로 추측되나 명확한 작용기전에 대하여는 향후 연구가 필요하다고 생각된다.

요 약

연구배경 :

심장의 교감신경계 수용체와 활성산소와의 관계에 대해서는 아직 명확하게 연구되어 있지 않으므로 이러한 점에 흥미를 갖고 활성산소로 인한 심장손상 유발시 교감신경계 차단약들의 효과를 연구하고자 하였다.

방 법 :

Adriamycin을 3주간 전처치하여 심장에 활성산소 손

상을 일으킨 흰쥐와 단지 허혈-재관류 손상만을 일으킨 흰쥐에서 허혈-재관류 적출심장 model을 이용하여 심근손상에 대한 교감신경계 약물의 반응을 살펴보고자 하였다. 적절한 흰쥐의 심장을 Langendorff 관류장치에 현수하고 안정시킨 후 30분간 허혈시키고 다시 정상관류 10ml/min로 복귀시킨 허혈-재관류 실험 심장표본을 이용하여 SOD, LDH 활성도 및 심장조직에서 MDA 함량을 측정하였다.

결 과 :

Adriamycin을 투여한 흰쥐 허혈-재관류 심장에서 propranolol, prazosin 및 aspirin을 허혈 직전에 투여한 후 재관류 즉시, 5, 10, 30, 60, 90분에 채취한 관류액에서 SOD의 활성도가 증가되고 LDH의 활성도가 감소되었으며, 심장조직에서 MDA 함량에는 별 변화가 일어나지 않았다.

결 론 :

교감신경계 차단 약물인 propranolol과 prazosin 및 cyclooxygenase 효소 억제제인 aspirin에 의하여 허혈-재관류 심장손상은 활성산소 손상이 일어난 심장에서 SOD 활성도 증가와 LDH 감소의 경향을 보이므로써 심장손상에 대하여 더욱 방어적인 효과를 보이는 흥미로운 소견을 얻었으며, propranolol과 prazosin의 방어기전은 lipid peroxidation과 관련되지 않고 활성산소에 의한 심장손상에 교감신경계 신경전달물질이 관여되는 것으로 생각된다.

References

- 1) Jolly SR, Kane WJ, Bailie MB, Abrams GD and Lucchesi BR : *Canine myocardial reperfusion injury. Its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase.* *Circ Res* 54(3) : 277-285, 1985
- 2) Hammond B and Hess ML : *The oxygen free radical system : potential mediator of myocardial injury.* *J Am Coll Cardiol* 6(1) : 215-220, 1985
- 3) Ferrari R, Ceconi C, Curello S, Cargnoni A, Pardini E, Giuli F De and Albertini A : *Role of oxygen free radicals in ischemic and reperfused myocardium.* *Am J Clin Nutr*, 53(1 suppl) : 215S-222S, 1991
- 4) Cerutti PA : *Prooxidant states and tumor promotion.* *Science* 227 : 375-381, 1985
- 5) Taffe BG and Kensler TW : *Role of oxidative stress in tumor promotion, In Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, vol 3.* Miquel J, Quintanilha AT, Weber H. p35-49, Boca Raton, CRC press, 1989
- 6) Weiss SJ and LoBuglio AF : *Biology of disease : phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury.* *Lab Invest* 47(1) : 5-18, 1982
- 7) Baehmer RL, Boxer LA and Ingraham LM : *Reduced oxygen by-products and white blood cells.* *Free Radical Biol* 5 : 91-113, 1982
- 8) Zimmerman R and Cerutti P : *Active oxygen acts as a promoter of transformation in mouse embryo C 3H/10T_{1/2}/Cl8 fibroblasts.* *Proc Natl Acad Sci USA* 81 : 2085-2087, 1984
- 9) Weiss SS, Peppin G, Ortiz X, Ragsdale C and Test ST : *Oxidative autoactivation of latent collagenase by human neutrophils.* *Science* 227 : 747-748, 1985
- 10) Gianni L, Zweier JL, Levy A and Myers CE : *Characterization of the cycle of iron-mediated electron transfer from adriamycin to molecular oxygen.* *J Biol Chem* 260(11) : 6820-6826, 1985
- 11) Yagi K : *Serum lipid peroxide levels in subjects having certain diseases and in aging, In Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, vol 1.* p 113-230, Boca Raton, CRC press, 1989
- 12) McCord JM and Fridovich I : *Superoxide dismutase : an enzymatic function for erythrocuprein (hemocuprein).* *J Biol Chem* 244(22) : 6049-6055, 1969
- 13) Ambrosio G, Weisfeldt ML, Jacobus WE and Flaherty JT : *Evidence for a reversible radical-mediated component of reperfusion injury : reduction by recombinant human superoxide dismutase administered at the time of reflow.* *Circulation* 75(1) : 282-291, 1987
- 14) Ross D, Weening RS, Wyss SR and Aebe HE : *Protection of human neutrophils by endogenous catalase : studies with cells from catalase-deficient individuals.* *J Clin Invest* 65 : 1515-1522, 1980
- 15) Lawrence RA and Burk RF : *Species, tissue and subcellular distribution of nonselenium dependent glutathione peroxidase activity.* *J Nutr* 108(2) : 211-215, 1978
- 16) Diplock AT and Lucy JA : *The biochemical model*

- of action of vitamin E and selenium : a hypothesis. *FEBS Lett* 29 : 205-212, 1974
- 17) Godin DV and Bhimji S : Effects of allopurinol on myocardial ischemic injury induced by coronary artery ligation and reperfusion. *Biochem Pharmacol* 36(13) : 2101-2107, 1987
 - 18) Sobey CG, Dalipram RA and Woodman DL : Alopurinol and amlodipine improve coronary vasodilation after myocardial ischaemia and reperfusion in anesthetized dogs. *Br J Pharmacol* 108 : 342-347, 1993
 - 19) Freeman BA and Crapo JD : Biology of disease : free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47(5) : 412-426, 1982
 - 20) Kaneko M, Beamish RE and Dhalla NS : Depression of heart sarcolemmal Ca^{2+} -pump activity by oxygen free radicals. *Am J Physiol* 256(Heart Circ Physiol 25) : H368-H374, 1989
 - 21) Kloner RA and Przyklenk K : Progress in cardioprotection : the role of calcium antagonists. *Am J Cardiol* 66 : 2H-9H, 1990
 - 22) Bolli R : Oxygen-derived free radicals and post-ischemic myocardial dysfunction ("stunned myocardium"). *J Am Cell Cardiol* 12(1) : 239-249, 1988
 - 23) Tsien RW : Cyclic AMP and contractile activity in heart. *Adv Cyclic Nucleotide Res* 8 : 363-420, 1977
 - 24) Mak IT and Weglicki WB : Protection by β -blocking agents against free radical-mediated sarcolemmal lipid peroxidation. *Circ Res* 63(1) : 262-266, 1988
 - 25) Weglicki WB, Mak IT, Simie MG : Mechanisms of cardiovascular drugs as antioxidants. *J Mol Cell Cardiol* 22 : 1199-1208, 1990
 - 26) Kramer JH, Mak IT, Freeman AM and Weglicki WB : Propranolol reduces anoxia/reoxygenation-mediated injury of adult myocytes through an anti-radical mechanism. *J Mol Cell Cardiol* 23 : 1231-1244, 1991
 - 27) Liu X, Engelman RM, Agrawal HR and Das DK : Preservation of membrane phospholipids by propranolol, pindolol, and metoprolol : a novel mechanism of action of beta-blockers. *J Mol Cell Cardiol* 23 : 1091-1100, 1991
 - 28) Sharma AD, Saffitz JE, Lee BI, Sobei BE and Corr PB : Alpha adrenergic-mediated accumulation of calcium in reperfused myocardium. *J Clin Invest* 72 : 802-818, 1983
 - 29) Thandroyen FT, Worthington MG, Higginson LM and Opie LH : The effect of alpha- and beta-adrenoceptor antagonist agents on reperfusion ventricular fibrillation and metabolic status in the isolated perfused rat heart. *J Am Coll Cardiol* 1(4) : 1056-1066, 1983
 - 30) Nayler WG, Gordon M, Stephens DJ and Sturrock WJ : The protective effect of prazosin on the ischemic and reperfused myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 17 : 685-699, 1985
 - 31) Langendorff O : Untersuchungen am uberlebenden saugethierherzen. *Pfluegers Arch* 61 : 291-332, 1895
 - 32) Sun Y, Oberley LW and Li Y : A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34(3) : 497-500, 1988
 - 33) Buege JA and Aust SD : Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 52 : 302-310, 1978
 - 34) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ : Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
 - 35) Wheatley AM, Thandroyen FT and Opie LH : Catecholamine-induced myocardial cell damage : catecholamines or adrenochrome. *J Mol Cell Cardiol* 17 : 349-359, 1985
 - 36) Green S, Mazur A and Shorr E : Mechanism of the catalytic oxidation of adrenaline by ferritin. *J Biol Chem* 220 : 237-255, 1956
 - 37) Wolin MS and Belloni FL : Superoxide anion selectively attenuates catecholamine induced contractile tension in isolated rabbit aorta. *Am J Physiol* 249(Heart Circ physiol 18) : H1127-H1133, 1985
 - 38) Reynolds RD, Burmeister WE, Gorczynski RJ, Dickerson DD, Mathews MP and Lee RJ : Effects of propranolol on myocardial infarct size with and without coronary artery referfusion in the dog. *Cardiovasc Res* 15(7) : 411-420, 1981
 - 39) Strasser RH, Marquetant R and Kubler W : Independent sensitization of beta-adrenoceptors and adenylate cyclase in acute myocardial ischaemia. *Br J Clin Pharmacol* 30(suppl.1) : 27s-35s, 1990
 - 40) Mukherjee A, Bush LR, McCoy KE, Duke RJ, Hagler H, Buja LM and Willerson JT : Relationship between β -adrenergic receptor numbers and physiological responses during experimental canine myocardial ischemia. *Circ Res* 50(5) : 735-741, 1982
 - 41) Susanni EE, Manders WT, Knight DR, Vatner DE,

- Vatner SF and Homcy CJ : *One hour of myocardial ischemia decreases the activity of the stimulatory guanine-nucleotide regulatory protein Gs*. *Circ Res* 65(4) : 1145-1150, 1989
- 42) Vatner SF and Braunwald E : *Cardiovascular control mechanisms in the conscious state*. *N Eng J Med* 293(19) : 970-976, 1975
- 43) Vatner DE, Knight DR, Shen YT, Thomas JX, Homcy CJ and Vatner SF : *One hour of myocardial ischemia in conscious dogs increases **beta-adrenergic** receptors, but decreases adenylate **cyclase** activity*. *J Mol Cell Cardiol* 20(1) : 75-82, 1988
- 44) Bast A, Kramer K, Leurs R and Timmerman H : *Decrease in beta-adrenoceptor density during lipid peroxidation(abstract)*. *Br J Pharmacol* 89(suppl) : 695, 1986
- 45) Doroshow JH : *Effect of anthracycline antibiotics on oxygen free radical formation in rat heart*. *Cancer Res* 43 : 460-472, 1983
- 46) Kontos HA, Wei EP, Povishock JT, Rowe GT and Hess ML : *Cerebral arteriolar damage by arachidonic acid and prostaglandin G₂*. *Science* 209 : 1242-1245, 1980
- 47) Siedlik PH and Marnett LJ : *Oxidizing radical generation by prostaglandin H synthetase*. *Method Enzymol* 105 : 412-416, 1984
- 48) Okabe E, Kato Y, Kohno H, Hess ML and Ito H : *Inhibition by free radical scavengers and by cyclooxygenase inhibitors of the effect of acidosis on calcium transport by masseter muscle sarcoplasmic reticulum*. *Biochem Pharmacol* 34(7) : 961-968, 1985
- 49) Nayler WG, Yezpe C and Poole-Wilson PA : *The effect of beta-adrenoceptor and Ca²⁺ antagonist drugs on the hypoxia-induced increase in resting tension*. *Cardiovasc Res* 12(11) : 666-674, 1978
- 50) Bourdillon PD and Poole-Wilson PA : *The effects of verapamil, quiescence, and cardioplegia on calcium exchange and mechanical function in ischemic rabbit myocardium*. *Circ Res* 50(3) : 360-368, 1982
- 51) Allen DG and Orchard CH : *Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia*. *Circ Res* 60(2) : 153-168, 1987
- 52) Bush LR, Li YP, Schlafer M, Jolly SR and Lucchesei BR : *Protective effects of diltiazem during myocardial ischemia in isolated cat hearts*. *J Pharmacol Exp Ther* 218(3) : 653-661, 1981
- 53) Cavero I, Boudot JP and Feuvary D : *Diltiazem protects the isolated rabbit from the mechanical and ultrastructural damage produced by transient hypoxia, low-flow ischemia and exposure to Ca²⁺-free medium*. *J Pharmacol Exp Ther* 226(1) : 258-268, 1983