

흰쥐에서 대동정맥루로 유발된 보상성 좌심 비후에서 Bosentan의 예방 효과

동국대학교 의과대학 소아과학교실,¹ 생리학교실,² 해부학교실³

이동석¹ · 김두권¹ · 최성민¹ · 김영규² · 고복현³ · 정용욱³

Bosentan Attenuates Compensatory Left Ventricular Hypertrophy Induced by Aortocaval Fistula in Rats

Dong Seok Lee, MD¹, Doo Kwun Kim, MD¹, Sung Min Choi, MD¹,
Young Kyu Kim, PhD², Bok Hyun Ko, MD³ and Yong Wook Jung, MD³

¹Department of Pediatrics, ²Physiology and ³Anatomy, College of Medicine, Dongguk University, Gyeongju, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Endothelin-1 (ET-1) is increased in advanced congestive heart failure and pulmonary hypertension associated with increased pulmonary blood flow. The role of ET-1 and the protective effect of the dual endothelin receptor antagonist, Bosentan, were investigated in overcirculation-induced compensatory left ventricular (LV) hypertrophy using aortocaval fistula (AVF) rats. **Materials and Methods :** Twenty one 8-week-old rats were randomized into sham control, AVF and Bosentan (100 mg/kg/day) treatment groups. Four weeks later, the cardiac hypertrophy, pulmonary artery morphometry, plasma and tissue levels of ET-1 and the immunoreactive signal of ET-1 were evaluated in the heart and lung tissues. **Results :** Chronic AVF developed LV hypertrophy and markedly increased the plasma and tissue ET-1 levels in the heart and lung compared to those in the controls ($p < 0.05$), and these changes were attenuated by Bosentan treatment ($p < 0.05$). However, the wall thickness of the pulmonary arteriole did not change. In addition, the immunoreactive signal of ET-1 was increased in the heart after AVF compared with the controls, and was also slightly decreased with Bosentan treatment. However, there were no remarkable differences in the lung tissue. **Conclusion :** ET-1 was up-regulated in compensatory LV hypertrophy induced by AVF. Bosentan attenuates cardiac hypertrophy and decreases the ET-1 levels in the plasma, heart and lung. Therefore, it is speculate that chronic treatment of an ET-1 antagonist may provide an additional strategy for AVF-induced compensatory LV hypertrophy. (Korean Circulation J 2005; 35:665-671)

KEY WORDS : Endothelin ; Pulmonary circulation ; Hypertrophy ; Hypertension, pulmonary.

서론

소아에서 흔히 볼 수 있는 선천성 심질환에서 폐혈류량의 증가는 심부전이나 폐동맥 고혈압의 발생과 깊은 연관성을

가지고 있다. 몇몇 연구에서 이러한 폐혈류의 증가를 보이는 다양한 심질환에서 endothelin-1(ET-1)의 혈중 농도가 증가한다고 보고 되고 있다.¹⁻⁴⁾

ET-1은 혈관 내피 세포에서 유래하는 강력한 정동맥 혈관 수축 물질로, 다양한 심혈관 질환의 병리 기전에 관여하며 특히 사람과 동물의 심부전과 폐동맥 고혈압 등에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁵⁻⁹⁾ 심부전과 폐동맥 고혈압 실험 모델이나 임상적으로 진행된 심부전과 폐동맥 고혈압에서 혈중 ET-1이 증가되어 있으며 질환의 심한 정도와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 이러

논문접수일 : 2005년 5월 10일

수정논문접수일 : 2005년 6월 28일

심사완료일 : 2005년 7월 27일

교신저자 : 이동석, 780-350 경북 경주시 석장동 1090-1

동국대학교 의과대학 소아과학교실

전화 : (054) 770-8255 · 전송 : (054) 741-2093

E-mail : lds117@dongguk.ac.kr

한 질환들에서 ET-1 수용체 차단제의 효과에 대해서는 보고가 다양하다. 비록 동물 실험이나 임상 실험에서 폐동맥 고혈압의 조절에는 비교적 좋은 결과를 보여주고 있으나,¹⁰⁾¹¹⁾ 진행된 심부전 환자를 대상으로 한 대규모 연구에서의 ET-1 수용체 차단제의 사용은 사망률과 이환율의 감소에는 큰 이득이 없는 것으로 보고 되고 있다.¹²⁾ 그러나 다양한 심혈관 질환에서의 ET-1의 기능과 역할에 대하여 많은 연구가 있었으나, 소아에서 흔히 볼 수 있는 좌우 단락을 가진 선천성 심질환에서와 같이 폐혈류량 증가에 의한 심비후, 심부전이 폐동맥 고혈압으로의 진행 과정에서 ET-1의 변화와 역할에 대해서는 아직까지 잘 알려져 있지 않다. 그러나 최근 좌우 단락을 가진 선천성 심질환에서 혈중 ET-1의 증가가 확인 되면서 ET-1이 좌우 단락 질환의 병태 생리적 변화에 중요한 역할을 하는 것으로 추측되고 있다.²⁾ 이에 본 연구에서는 흰쥐에서 대동정맥루(aortocaval fistula)로 심부전의 전단계인 보상성 좌심 비대(compensated LV hypertrophy)를 유발한 뒤 혈액과 심폐 조직에서의 ET-1의 변화와 비특이적 ET-1 수용체 차단제인 Bosentan을 투여하여 그 예방 효과를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

약 250~350 gm 전후의 흰쥐(Sprague-Dawley rats)를 이용하였으며, 각각의 조건에 따라, 대조군(n=7), 대동정맥 루군(n=7) 그리고 Bosentan(100 mg/kg/day) 치료군(n=7)으로 나누었다. 실험 동물은 동일한 조건에서 4주간 사육한 뒤 실험에 이용하였다.

수술 방법

대동정맥루는 Garcia 등¹³⁾의 방법에 따라서 시행하였다. 간략히 기술하면 먼저 흰쥐는 N₂O와 isoflurane을 이용하여 마취를 유도하였고, 무균 상태에서 복부를 정중선을 따라 길게 절개한 후 대동맥과 하대 정맥을 노출시켰다. 하행 대동맥의 신동맥 분지 하방을 atraumatic aneurysmal clip을 이용하여 clamping 후 18 gauge 바늘을 대동맥 하방 1/3 지점에서 천자한 후 위쪽으로 약간 진행한 다음, 인접한 우측의 하대 정맥을 찌른 후 바늘을 완전히 제거하였다. 천자 부위는 cyanoacrylate glue를 이용하여 접합하였고 30초 뒤 clip을 풀고 하대 정맥에서 동맥혈의 박동성 혈류를 확인한 뒤 전 복벽을 봉합하였다.

조직학적 검사

4주 뒤 모든 실험 동물을 동일한 N₂O와 isoflurane으로 마취를 유도하고 복강을 절개한 뒤 하행 대동맥으로부터 채혈을 시행한 뒤 흉곽을 열고 심장과 폐를 적출하였다. 심장은 총 무게를 측정하였고 심장과 폐조직은 필요에 따라 액

화 질소나 4% 포르말데하이드 용액에 고정하였다. 조직학적 검사를 위해 24시간 고정 후 파라핀 블록을 만들었으며, 조직은 5 μ m의 두께로 잘라 염색하였다. 폐세동맥 중막의 두께를 측정하기 위해 hematoxylin과 eosin 염색과 elastine 염색을 시행하였다. 폐세동맥의 외경(ED)이 50~100 μ m이면서 완전한 근육층을 가진 세동맥에서 외경에 대한 중간층의 두께를 %로 나타내었다. 중막의 두께(MT)는 다음과 같은 공식으로 구하였다. %MT=2 \times MT/ED \times 100.

ET-1의 측정

ET-1의 농도는 ELISA Kit(R & D system, Minneapolis, USA)를 이용하여 측정하였다. ET-2, ET-3, big ET-1에 대한 cross reactivity는 각각 45, 14, 1%이었다. 혈청 ET-1은 혈청 1 mL와 1.5 mL의 추출 용액[acetone: 1M HCl: water(40 : 1 : 5)]을 섞은 다음 3,000 g에서 20분간 원심 분리하였다. 상층액은 냉동 건조기를 이용해 건조시킨 다음 0.25 mL의 희석액을 첨가하였다. 각각의 well에 100 μ L의 희석된 conjugate를 넣고 100 μ L의 standard, control과 sample을 넣었다. 1시간 동안 incubation한 뒤 washing을 시행하였고 100 μ L의 substrate를 넣고 30분간 실온에 두었다. 100 μ L의 stop 용액을 첨가한 뒤 microplate reader를 이용하여 450 nm에서 판독하였다. ET-1의 농도는 표준 곡선을 이용하여 측정하였다.

폐와 심근 조직에서 ET-1의 농도를 측정하기 위해 냉동된 조직(100 mg)을 1 mL의 1M acetic acid-0.1% Triton X-100(Sigma, St. Louis, MO)에서 완전히 분쇄한 다음 7분간 끓였다. 원심 분리후 상층액은 일정한 농도로 희석 하여 혈청 ET-1의 측정과 동일한 방법으로 측정하였다.

면역 조직 염색

폐와 심근내 ET-1 단백질의 발현을 보기 위해 면역 조직 염색을 시행하였다. 간략히 기술하면 파라핀 블록은 5 μ m의 두께로 자른 뒤 탈파라핀화한 후 2% hydrogen peroxide로 내재성 과산화효소의 blocking을 시행하였다. ET-1에 대한 mouse 단일 클론성 항체(Sigma, St. Louis, MO)는 조직에 따라 1 : 1000~1 : 2000의 농도로 4℃에서 하루 동안 배양하였다. 2차 항체로 biotin-labeled anti-mouse antibody를 사용하였으며 streptavidin-peroxidase에 incubation 후 diaminobenzidine(DAB)으로 발색하였다.

통 계

모든 결과는 평균 \pm 표준 편차로 표시하였다. 대조군과 치료군 간의 측정값의 차이 및 유의성은 unpaired student t-test를 이용하여 검정하고 p<0.05를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

심근 무게의 변화

대동정맥루군의 총 심근 무게는 $0.71 \pm 0.05/100$ g body weight(BW)로 대조군의 $0.32 \pm 0.04/100$ g BW에 비하여 유의한 증가를 보였으며($p < 0.05$) 우심비후의 소견은 보이지 않았다. Bosentan 치료군의 심근 무게는 $0.58 \pm 0.05/100$ g BW로 대조군에 비하여 증가되어 있었으나 대동정맥루군에 비하여 유의하게 감소하였다($p < 0.05$)(Fig. 1).

폐세동맥 중막 두께

폐조직 검사에서 대동정맥루군의 폐세동맥은 일부에서 중막의 비대를 보였으나 전반적으로 폐동맥 고혈압에서 보이는 소견은 볼 수 없었으며 각 군간에 폐세동맥 중막의 두께에는 차이를 보이지 않았다(Fig. 2).

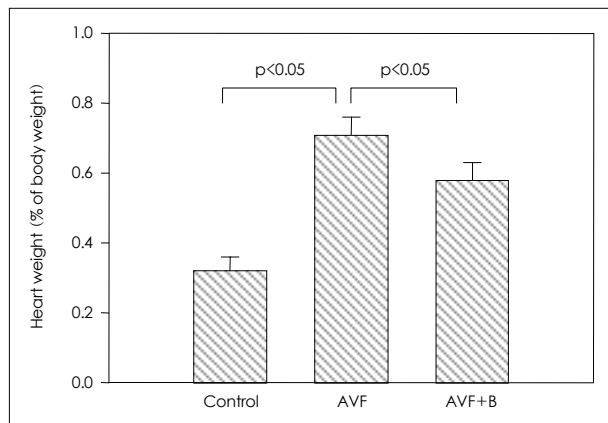


Fig. 1. Development of cardiac hypertrophy. AVF rats were developed marked cardiac hypertrophy after 4 weeks ($p < 0.05$). Bosentan treatment attenuated cardiac hypertrophy significantly ($p < 0.05$). Results are expressed as means \pm SD. AVF: aortocaval fistula, B: bosentan.

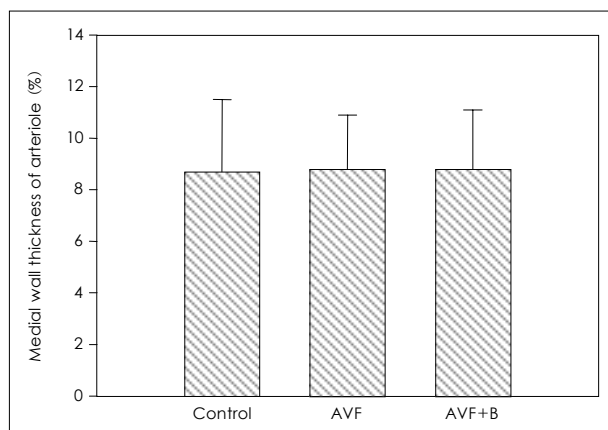


Fig. 2. Medial wall thickness ($2 \times$ medial wall thickness/external diameter $\times 100$) for pulmonary vessels with diameters from 50 to 100 μ m. The medial wall thickness was not different with controls, AVF and bosentan treatment rats. Results are expressed as means \pm SD. AVF: aortocaval fistula, B: bosentan.

ET-1의 변화

혈중 ET-1은 대조군의 3.2 ± 0.18 ng/mL에 비해 대동정맥루군에서 4.5 ± 0.93 ng/mL로 유의하게 증가하였으며($p < 0.05$), Bosentan 투여군에서는 3.41 ± 1.34 ng/mL로 대동정맥루군과 비교하여 유의하게 감소하였다($p < 0.05$)(Fig. 3A). 심근 조직의 ET-1은 대조군의 26.7 ± 0.4 ng/100 mg tissue에 비해 대동정맥루군에서 78.5 ± 7.7 ng/100 mg tissue로

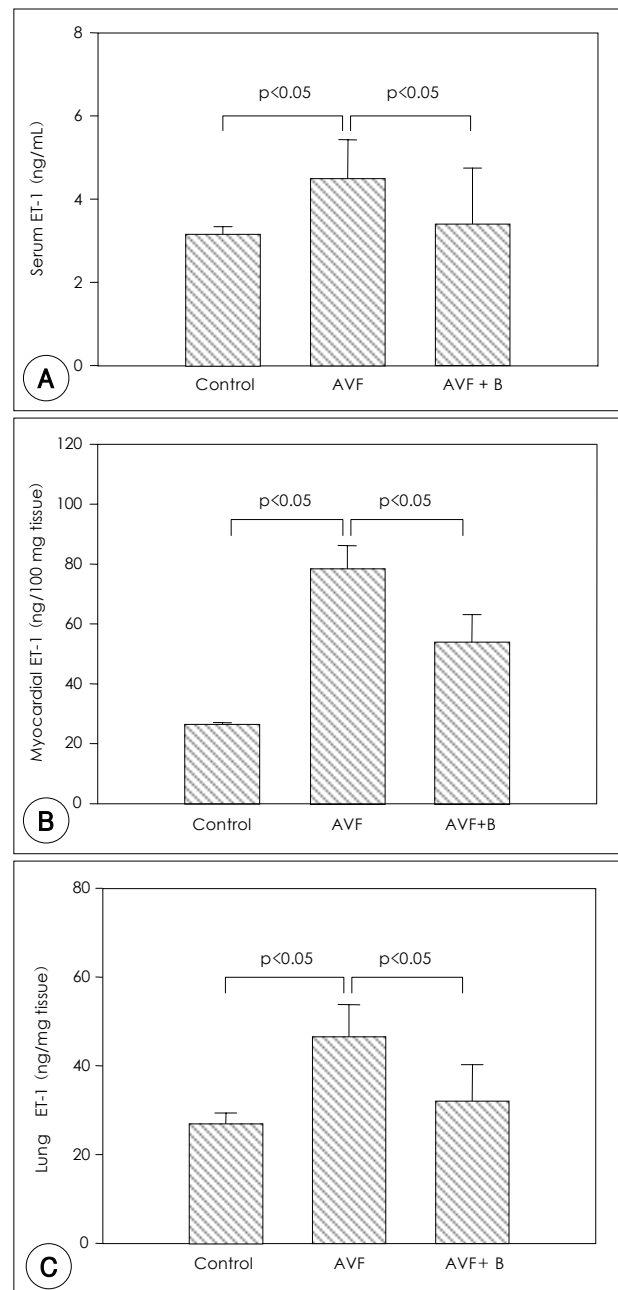


Fig. 3. The levels of ET-1 in blood (A), left ventricle (B) and lung tissue (C). ET-1 levels in blood were increased after AVF ($p < 0.05$). Bosentan treatment decreased significantly ($p < 0.05$). ET-1 levels in heart and lung tissue also increased markedly ($p < 0.05$). Bosentan treatment decreased ET-1 levels in heart and lung tissue significantly ($p < 0.05$). Results are expressed as means \pm SD. ET-1: Endothelin-1, AVF: aortocaval fistula, B: bosentan.

유의하게 증가하였다($p<0.05$). Bosentan군에서는 54.0 ± 9.2 ng/100 mg tissue로 대조군에 비해 증가되어 있었으나 대동정맥루군에 비해 유의하게 감소하였다($p<0.05$)(Fig. 3B).

폐조직에서의 ET-1은 대조군의 27.0 ± 2.4 ng/mg tissue에 비해 대동정맥루군에서 46.6 ± 7.2 ng/mg tissue로 유의하게 증가하였으며($p<0.05$), Bosentan 투여군에서 32.1

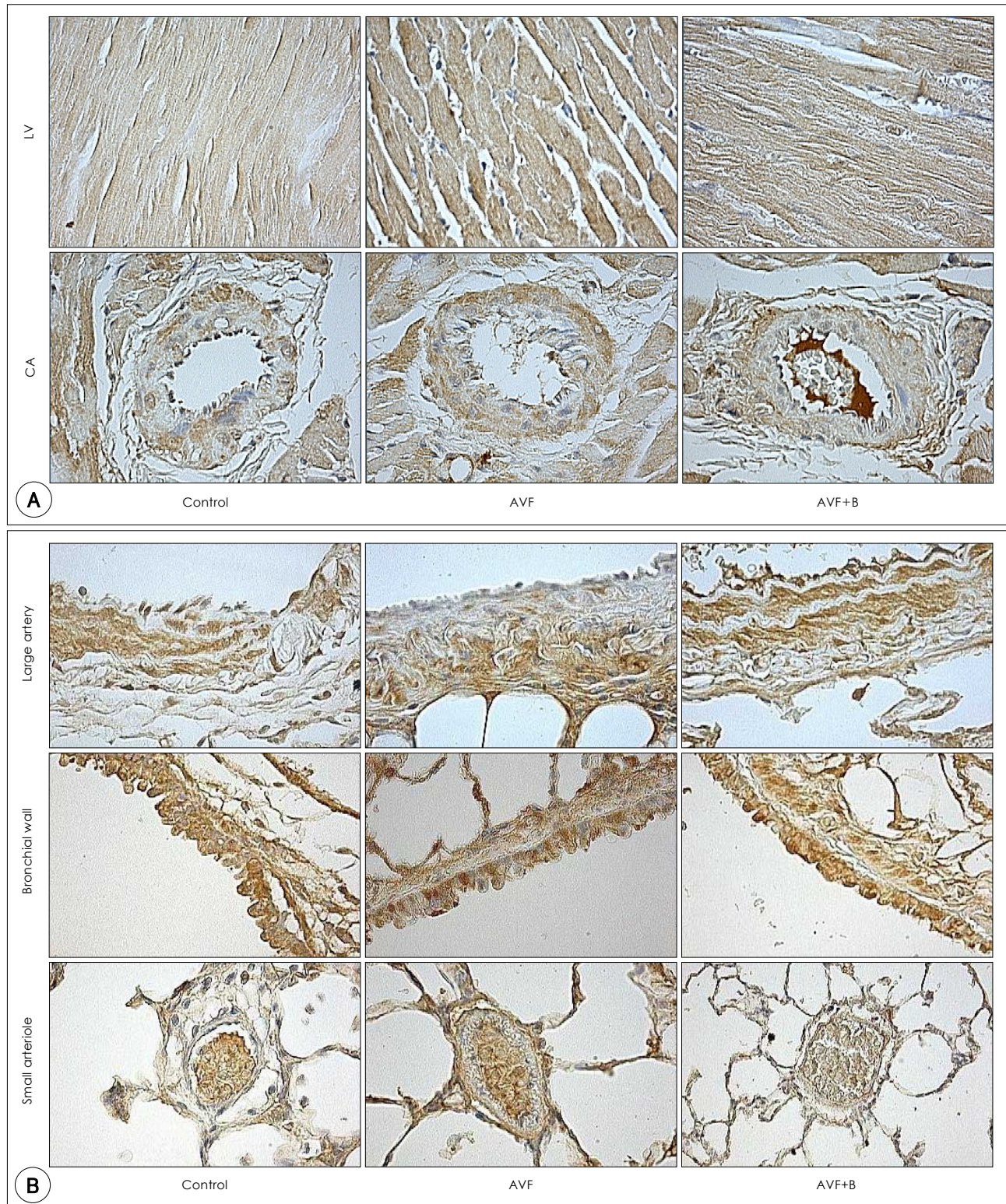


Fig. 4. The expression of ET-1 (brown color) was increased in heart after AVF compared with controls and was slightly decreased with Bosentan treatment. ET-1 in coronary artery was expressed focally and no remarkable differences between groups (A). There were no remarkable differences in large pulmonary artery and bronchial wall. However, there were not stains in small pulmonary arterioles (B) ($\times 400$). Bar=50 μ m. LV: left ventricle, CA: coronary artery, AVF: aortocaval fistula, B: bosentan, ET-1: Endothelin-1.

± 8.2 ng/mg tissue로 대동정맥루군과 비교하여 ET-1이 유의하게 감소하였다($p < 0.05$) (Fig. 3C).

ET-1 면역 조직 염색

심근 내에서의 ET-1은 대조군에서도 전체적으로 고르게 발현하였으며 대동정맥루군에서 발현의 증가를 보였다. Bosentan 투여군에서 ET-1의 발현은 경하게 감소하였다. 좌우 심실 사이에서의 현저한 차이는 보이지 않았다. 주변부 관상 동맥의 중막에서는 ET-1의 발현이 고르게 나타나지는 않았으며 세 군 간에도 큰 차이를 보이지는 않았다 (Fig. 4A). 폐조직에서는 큰 폐동맥의 중막과 기관지벽을 중심으로 고르게 분포하였으며 세군 간에 염색 정도의 차이는 현저하지 않았다. 반면에 폐세동맥벽에서 ET-1의 발현은 세 군 모두에서 증가를 보이지 않았다 (Fig. 4B).

고 찰

소아의 선천성 심질환은 다양한 혈류역학을 가지며, 특히 좌우 단락으로 폐혈류량의 증가를 보이는 질환을 흔히 볼 수 있다. 이러한 지속적인 폐혈류량의 증가는 심부전이나 폐동맥 고혈압을 유발하며 심각한 morbidity와 mortality를 나타내는 것으로 알려져 있다.¹⁴⁾ 최근의 몇몇 연구에서 폐혈류량의 증가나 폐동맥 고혈압을 동반한 선천성 심질환에서 혈중 ET-1이 증가한다고 보고 되고 있다.¹⁻⁴⁾

ET-1은 혈관 내피 세포와 심근 조직에서 주로 분비되며, 정동맥 혈관 평활근 세포의 수축과 증식 작용을 유발하며 심근의 수축력을 증가시킨다. ET-1의 유전자는 6번 염색체에 존재하며 203개의 아미노산으로 구성된 preproET-1으로 전사된다. 이것은 proendothelin(Big ET-1)으로 나누어지고 endothelin converting enzyme(ECE-1)에 의해 기능 단위인 endothelin이 생성된다.⁵⁾ ET-1이 사람^{6,7)}과 동물의 심부전 모델^{8,9)}에서도 증가되는 것으로 알려져 있으며, ET-1의 기능과 역할이 속속 알려지고 있다. 또한 ET-1의 혈중 농도는 아주 낮아 순환하는 호르몬(circulating hormone)의 역할보다는 주변 분비/자가 분비(paracrine/autocrine) mediator의 작용이 강한 것으로 생각되고 있다.^{15,16)} ET-1은 혈관 내피 세포뿐만 아니라 심근 세포에서도 분비되며 ET-1은 ET_A와 ET_B라는 특이 수용체를 통하여 그 작용을 나타낸다. 혈관의 평활근에 존재하는 ET_A와 ET_B 수용체의 자극은 혈관 평활근의 수축력을 증가시키는 반면, 혈관 내피 세포에 존재하는 ET_B 수용체의 자극은 nitric oxide(NO)와 prostacycline을 분비하여 혈관 확장을 일으키며 ET-1을 제거하는 역할을 한다.¹⁷⁻²⁰⁾ 특히 NO는 강력한 혈관 확장 작용 외에도 ET-1의 분비를 억제하는 endogenous inhibitor의 역할을 담당하고 있다.²¹⁾

최근 십여 년 동안 만성 심부전의 neurohormonal activation에서 ET 계통이 중요한 역할을 한다는 다양한 증거들

이 나타나고 있다. 많은 연구에서 혈중 ET-1의 농도가 심부전의 심한 정도 그리고 기능적 분류와 잘 비례하는 것으로 보고 되고 있고, 심근 경색 후 생존자의 사망을 예측하는 인자로 생각되고 있다.^{22,23)}

그러나 진행된 심부전과 폐동맥 고혈압에서의 ET-1 역할에 대한 연구가 많이 진행되고 있는 반면에 소아에서 흔히 볼 수 있는 좌우 단락을 가진 선천성 심질환에서의 ET-1의 역할에 대하여는 연구가 부족하다. 특히 좌우 단락을 가진 선천성 심질환에서, 좌심 비후에서부터 심부전과 폐동맥 고혈압으로의 진행 과정에서 ET-1의 초기 변화와 ET-1 수용체 차단제의 역할에 대해서는 잘 알려져 있지 않다.

좌우 단락을 가진 선천성 심질환 환자의 혈중 ET-1의 농도에 대한 결과는 각 연구자 마다 조금씩 다른 결과를 보여 주고 있다. 본 연구에서는 대동정맥루 모델을 이용하여 좌우 단락으로 유도된 보상성 좌심 비후를 유발하였으며 결과적으로 혈중 농도 뿐만 아니라 심근과 폐조직 내에서도 ET-1의 현저한 증가를 볼 수 있었다. Vincent 등¹⁾에 의하면 좌우 단락을 가진 심질환에서 ET-1의 혈중 농도가 증가되었으며 폐혈류량에 비례하여 증가되는 양상을 보인다고 보고 하였으며, Tutar 등²⁾은 좌우 단락을 가진 심질환 환자의 혈중 ET-1이 대조군에 비하여 증가를 보였으나 폐동맥 고혈압의 유무에 따른 ET-1의 변화는 볼 수 없었다고 보고하고 있다. 이와는 달리 또다른 연구에서는 이들 질환에서 ET-1의 증가를 볼 수 없었다고 보고하고 있다.^{24,25)} 이렇게 각 연구마다 차이를 보이는 것은 Iwanaga 등²⁶⁾의 보고에서와 같이 보상성 심비후에서 심부전으로 진행되는 특정한 시기에 따라 ET-1의 활성화에 큰 차이를 보이는 것으로 생각되며, 그 외에도 검사 방법이나 실험의 모델에 따른 차이가 있을것으로 생각된다. 또한 ET-1은 혈중을 순환하는 호르몬의 역할보다는 주변 세포와 조직에 직접 분비되어 작용을 하므로 혈중 농도의 변화가 적을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 혈류역학적 검사가 없어서 폐동맥압의 증가 여부는 알수없으나 폐조직내의 폐세동맥 중막의 두께 변화가 없는 것으로 보아 혈중 및 심 폐 조직에서의 ET-1 증가는 폐혈류량의 증가에 기인한 것으로 생각된다.

심근 조직의 ET-1 면역 조직 검사상에서는 대조군에서도 ET-1이 비교적 고르게 발현하고 있었으며, 대동정맥루군에서 발현의 증가를 보였다. Bosentan 투여군에서 ET-1의 감소를 보였으나 심근 조직 내에서 현저한 발현의 차이를 보이지는 않았다. 이러한 결과는 ET-1의 정상 심근 세포 내에서도 비교적 많은 양이 존재하는 것과 관련된 것으로 생각된다. 폐조직에서 ET-1은 큰 폐동맥 혈관과 기관지벽에서 발현이 많았으며 세 군 간에 현저한 차이는 볼 수 없었다. 진행된 폐동맥 고혈압에서 볼 수 있는 폐세동맥에서의 ET-1의 발현은 세 군 모두에서 볼 수가 없었다.

Bosentan은 비 특이적인 ET_A와 ET_B 수용체 차단제로 진행된 심부전,¹²⁾ 급성 심근경색증이나^{27,28)} 폐동맥 고혈압의

치료제로¹⁰⁾ 많은 연구가 진행되고 있다. Rondelet 등²⁹⁾은 좌우 단락을 이용한 폐동맥 고혈압 모델에서 Bosentan이 폐동맥 고혈압의 진행을 완전히 막는다고 보고하였다. 본 연구에서도 Bosentan은 심근의 비후뿐만 아니라 혈중 및 심폐조직의 ET-1 증가를 현저히 감소시켰다. 심부전과 폐동맥 고혈압에서의 ET-1 수용체 차단제의 사용은 endothelin의 역할 즉 심근에 대한 직접적인 독성, ET-1의 평활근 세포에 대한 강력한 비후 효과, 장기간의 수축력 증가에 의한 심부전의 악화, 그리고 부정맥의 유발을 방지함으로 그 효과를 얻을 수 있다.¹⁰⁾³⁰⁾ Bosentan은 심부전과 폐동맥 고혈압에서 혈관을 확장시켜 전부하와 후부하를 감소시키나 심부전 이전에는 혈압의 변화는 크게 일으키지 않는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서도 Bosentan의 투여가 폐동맥압이나 혈압에는 큰 영향을 주지 않았을 것으로 생각되며, 심비후의 감소에는 ET-1으로 인한 섬유모세포와 심근 세포의 증식과 비후를 방지하고 아교질등의 생성을 억제함으로서 나타난 것으로 생각된다. 그러나 Bosentan은 심비후에서 만성 심부전으로의 진행 과정에서 좌심실의 비후와 수축기 기능을 보전하는 역할은 할 수 있으나 심부전이 진행시 좌심실 비후를 지속적으로 방지할 수는 없는 것으로 보아 심부전과 폐동맥 고혈압으로의 진행을 완전하게 차단할 수는 없는 것으로 생각된다.²⁶⁾

본 연구에서 대동정맥루로 유도된 흰쥐의 보상성 좌심 비후 모델에서 ET-1의 활성화를 볼 수 있었으며 비특이적 ET-1 수용체 차단제 Bosentan의 사용은 심근의 비후와 ET-1의 조직 내 농도를 현저하게 감소시키는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과로 보아 좌우 단락을 가진 선천성 심질환에서 ET-1 수용체 차단제의 조기 사용이 심비후와 심부전으로의 진행을 지연시킬수 있는 하나의 치료 방법이 될 수 있을 것으로 생각된다.

그러나 본 연구에서 대동정맥루로 인한 단락의 량, 폐동맥 고혈압의 유무와 Bosentan 투여 전후의 단락량의 변화 등에 대한 혈류역학적 자료가 없는 제한점이 있다. 앞으로 대동정맥루로 인한 보상성 좌심 비후, 심부전과 폐동맥 고혈압으로 진행되는 각각의 단계에서의 혈류역학적 검사와 동반된 ET-1의 변화 과정과 ET-1 수용체 차단제의 효과에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

요 약

배경 및 목적 :

Endothelin-1(ET-1)은 좌우 단락을 가진 선천성 심질환과 같은 폐 혈류량 증가로 인한 진행된 심부전이나 폐동맥 고혈압에서 증가를 보이며, 이들 질환의 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그러나 아직까지 심부전과 폐동맥 고혈압의 전단계인 보상성 좌심 비후에서의 역할에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 본 연구는 대동정맥루를 이

용하여 보상성 좌심 비후를 유도하고 ET-1의 역할과 ET-1 수용체의 비특이적 차단제인 Bosentan의 예방 효과를 알아보고자 하였다.

방 법 :

8주 전후의 흰쥐 21마리를 대조군, 대동정맥루군과 Bosentan 치료군(100 mg/kg/day)으로 나누었다. 대동정맥루군과 Bosentan군은 복강을 열고 대동맥과 하대 정맥 사이를 18 gauge 바늘을 이용하여 단락을 형성하였다. 4주 뒤 심장의 비후, 폐동맥 혈관의 형태학적 검사, 혈중과 심폐 조직 내의 ET-1의 변화와 면역 조직 검사를 시행하였다.

결 과 :

4주간의 대동정맥루는 대조군에 비해 현저한 좌심 비후를 보였으며($p<0.05$), 이러한 심비후는 Bosentan의 투여로 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 혈중 ET-1은 대동정맥루군에서 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며($p<0.05$), Bosentan 투여로 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 심근과 폐조직의 ET-1 농도 역시 대동정맥루군에서 대조군에 비해 현저히 증가하였으며($p<0.05$), Bosentan 투여로 유의하게 감소하였다($p<0.05$). 그러나 폐동맥 중막의 두께 변화는 관찰 할 수 없었다. 심근 내에서의 ET-1은 대조군에서도 고르게 발현하였으며 대동정맥루군에서 발현의 증가를 보였다. Bosentan 투여군에서 ET-1의 발현은 경하게 감소하였다. 폐조직에서는 큰 폐동맥의 중막과 기관지벽을 중심으로 고르게 분포하였으며 세 군 간에 현저한 차이는 보이지 않았으며, 폐동맥에서는 세 군 모두에서 발현을 보이지 않았다.

결 론 :

대동정맥루로 유도된 흰쥐의 보상성 좌심 비후 모델에서 ET-1의 활성화를 볼 수 있었으며 비특이적 ET 수용체 차단제 Bosentan의 사용은 심근의 비후와 ET-1의 발현을 감소시켰다. 이러한 결과로 보아 좌우 단락 질환에서 ET-1 수용체 차단제의 사용이 좌심 비후와 심부전으로의 진행을 완화시킬수있을 것으로 생각된다.

중심 단어 : Endothelin ; 폐혈류 ; 심비후 ; 폐동맥 고혈압.

본 연구는 2001년도 대한순환기학회 산학협동연구비와 동국대학교 논문게재장려금의 지원으로 연구되었음.

REFERENCES

- 1) Vincent JA, Ross RD, Kassab I, Hsu IM, Pinsky WW. *Relation of elevated plasma endothelin in congenital heart disease to increased pulmonary blood flow.* Am J Cardiol 1993; 71:1204-7.
- 2) Tutar HE, Imamoglu A, Atalay S, Gümüş H, Akar N. *Plasma endothelin-1 levels with left-to-right shunt with or without pulmonary hypertension.* Int J Cardiol 1999; 70:57-62.
- 3) Yamamoto K, Ikeda U, Mito H, Fujikawa H, Sekiguchi H, Shimada K. *Endothelin production in pulmonary circulation of patients with mitral stenosis.* Circulation 1994; 89:2093-8.
- 4) Yoshibayashi M, Nishioka K, Nakao K, et al. *Plasma endothelin concentrations in patients with pulmonary hypertension associated with congenital heart defects. Evidence for increased pro-*

- duction of endothelin in pulmonary circulation. *Circulation* 1991; 84:2280-5.
- 5) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-5.
 - 6) Hiroe M, Hirata Y, Fujita N, et al. Plasma endothelin-1 levels in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1991;68:1114-5.
 - 7) McMurray JJ, Ray SG, Abdullah I, Dargie HJ, Morton JJ. Plasma endothelin in chronic heart failure. *Circulation* 1992;85:1374-9.
 - 8) Margulies KB, Hildebrand FL Jr, Lerman A, Perrella MA, Burnett JC Jr. Increased endothelin in experimental heart failure. *Circulation* 1990;82:2226-30.
 - 9) Underwood RD, Aarhus LL, Heublein DM, Burnett JC Jr. Endothelin in thoracic inferior vena caval constriction model of heart failure. *Am J Physiol* 1992;263:H951-5.
 - 10) Rubin LJ, Badesch DB, Barst RJ, et al. Bosentan therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 2002;346:896-903.
 - 11) Barst RJ, Langleben D, Frost A, et al. Sitaxsentan, a selective ETA antagonist improves cardiopulmonary hemodynamics in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:A273.
 - 12) Parker M. Effects of the endothelin receptor antagonist bosentan on the morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. Result of the ENABLE 1 and 2 trial program. Congress of the American College of Cardiology 2002; Late Breaking Clinical Trials: Special Topic #412.
 - 13) Garcia R, Diebold S. Simple, rapid, and effective method of producing aortocaval shunts in rat. *Cardiovasc Res* 1990;24:430-2.
 - 14) Burrows FA, Klinck JR, Ravinovich M, Bohn DJ. Pulmonary hypertension in children: perioperative management. *Can Anesth Soc J* 1986;33:606-28.
 - 15) Sütch G, Kiowski W. Endothelin and endothelin receptor antagonism in heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;35:S69-73.
 - 16) Miyauchi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol* 1999;61:391-415.
 - 17) Takasaki C, Iamiya N, Bdolah A, Wollberg Z, Kochva E. Sarafotoxins S6: several isotoxins from *Atractaspis engaddensis* (burrowing asp) venom that affect the heart. *Toxicon* 1988;26:543-8.
 - 18) Sakurai T, Yanagisawa M, Inoue A, et al. cDNA cloning, sequence analysis and tissue distribution of rat preproendothelin-1 mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;175:44-7.
 - 19) Masaki T, Vane JR, Vanhoutte PM. International union of pharmacology nomenclature of endothelin receptor. *Pharmacol Rev* 1994; 46:137-42.
 - 20) Hong MK, Kim JJ, Lee CW, Park SW, Park SJ. Endothelium-dependent and independent responsiveness to endothelin in porcine coronary artery. *Korean Circ J* 1998;28:1993-2001.
 - 21) Vanhoutte PM. Endothelin-1: a matter of life and breath. *Nature* 1994;368:693-4.
 - 22) Pacher R, Stanek B, Hülsmann M, et al. Prognostic impact of big endothelin-1 plasma concentration compared with invasive hemodynamic evaluation in severe heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1996;27:633-41.
 - 23) Pousset F, Isnard R, Lechat P, et al. Prognostic value of plasma endothelin-1 in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 1997;18:254-8.
 - 24) Adatia I, Haworth SG. Circulating endothelin in children with congenital heart disease. *Br Heart J* 1993;69:233-6.
 - 25) Gorenflo M, Gross P, Bodey A, et al. Plasma endothelin-1 in patients with left-to-right shunt. *Am Heart J* 1995;130:537-42.
 - 26) Iwanaga Y, Kihara Y, Hasegawa K, et al. Cardiac endothelin-1 plays a critical role in the functional deterioration of left ventricles during the transition from compensatory hypertrophy to congestive heart failure in salt-sensitive hypertensive rats. *Circulation* 1998;98:2065-73.
 - 27) Seo BG, Choi DJ, Hwang JY. Pathophysiologic role of endothelin-1 and clinical usefulness of endothelin antagonist. *Korean Circ J* 1998;28:825-33.
 - 28) Seo BG, Hwang JY. Effect of endothelin antagonists on myocardial infarct size after coronary artery occlusion and reperfusion in rat. *Korean Circ J* 1997;27:1190-8.
 - 29) Rondelet B, Kerbaul F, Motte S, et al. Bosentan for the prevention of overcirculation-induced experimental pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2003;107:1329-35.
 - 30) Yorikane R, Koike H. The arrhythmogenic action of endothelin in rats. *Jpn J Pharmacol* 1990;53:259-63.