

□ 원 저 □

고양이의 기관지 동맥의 결찰이 폐조직내 열단백질 70의 생성에 미치는 효과

국립의료원 흉부내과, 고려대학교 생리학교실*

윤상원, 유남수, 조동일, 남현정*, 성백길*, 나홍식*, 홍승길*

=Abstract=

The effect of the occlusion of the left bronchial artery
on the production of HSP70 in cat lung

Sang Won Yun,M.D., Nam Soo Rheu,M.D., Dong IL Cho,M.D., Hyun Jung Nam*,M.D.,
Back Kil Sung*,M.D, Heung Sik Na*,M.D., Seung Kil Hong*,M.D.

Department of Chest medicine, National Medical Center, Seoul, Korea.

Department of Medical Science, Major in Physiology, Korea University, Seoul, Korea*

Several stresses are known to induce synthesis of heat shock protein. The present study was performed to see whether pulmonary ischemia, induced by the bronchial artery occlusion, produced HSP70 in cat lung. To this aim, we compared experimental and control groups of cats with respect to the HSP70 production in the lung. Experimental animals were subjected to 10-min bronchial artery occlusion followed by reperfusion. The interval between the end of the occlusion and the end of the reperfusion was 1 hour, 4 hours and 8 hours, whereas control animal was not subjected to any manipulation except anesthesia. According to the interval differences, experimental animals were divided into 1HR, 4HRs and 8HRs groups. To determine the induction of HSP70 in each group, total proteins of lung tissues were extracted and separated by PAGE electrophoresis. Immunoblotting with a mouse monoclonal anti-HSP70 IgG antibody revealed that HSP70 was not detected in the pulmonary tissues resected from control, 1HR or 4HRs groups. In contrast, HSP70 expression in 8HRs group was marked. These results suggest that pulmonary ischemia by the bronchial artery occlusion produces HSP70 in a delayed manner.

Key words : Heat shock proteins(HSPs)

서 론

모든 생명체는 세포 내외의 다양한 스트레스에 처했을 때 정상적인 세포기능을 담당하는 대부분의 단백질 합성을 억제하지만 일정 그룹의 단백질 생성을 증가시키거나 새로이 유도함으로써 스트레스에 대응하는 생체방어능력을 가지고 있다. 스트레스 반응으로 생성이 증가하거나 유도되는 단백질을 stress protein 혹은 heat shock protein(HSPs)이라 한다¹⁾. 치명적이지 않을 정도의 스트레스에 의해 세포내에 HSPs이 발현되면 이들은 유해한 단백질의 합성을 억제하고 이미 합성된 정상 단백질의 구조를 보호할 수 있다²⁻⁵⁾. 따라서 HSPs은 이후의 거의 치사량에 해당하는 동일한 자극은 물론 다른 종류의 외부자극에 대해서도 세포를 보호함으로써 생존능력을 현저히 향상시킨다⁶⁾.

HSPs은 초기 연구에서 보고된 고열자극 뿐 아니라 anoxia, endotoxin, ethanol, 중금속 이온, oxygen radical 등 다양한 종류의 스트레스에 의해 유도된다⁷⁻¹⁰⁾. 생체조직의 허혈도 산소와 대사물질 결핍에 의해 세포에 치명적 영향을 주는 스트레스로 작용할 수 있으며, 허혈후의 재관류는 급격한 산소 유입으로 세포의 형태학적, 생화학적 변화와 상당 기간 지속되는 기능장애를 일으키는 이른바 재관류 손상(reperfusion injury)을 초래한다¹¹⁻¹²⁾.

현재까지 재관류 손상을 감소시키는 방법으로 몇 가지의 연구 보고가 제시된 바 있다. Currie¹³⁾ 등은 항산화 효소인 catalase나 SOD(superoxidative dismutase)를 재관류용액에 첨가하면 oxidative free radical의 생성을 직접적으로 억제함으로써 조직손상을 감소시킬 수 있다고 하였다. 최근 보고들에 의하면 전조건화(preconditioning)라고 알려진 일시적인 스트레스성 자극으로 thermotolerance를 증가시켜 이후 장기간의 허혈로 인한 손상으로 부터 세포를 보호할 수 있다고 한다¹⁴⁻¹⁶⁾. 또한 Knowlton

은 일시적인 심근허혈 결과 heat shock protein family중의 하나인 HSP70의 발현이 다른 mRNA에 비해 선택적으로 증가하며 반복 허혈일 때 mRNA가 더욱 증폭하는 것을 관찰하였다¹⁷⁾.

심근에서 뿐만 아니라 돼지의 간세포에서도 허혈에 의해 HSP72 mRNA가 발현되며, 합성된 단백질은 간세포에 존재하는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾. 실험동물의 허파에서 고열자극에 의해 HSP생성이 유도되고, 이러한 전조건화가 이후 endotoxin으로 인한 세포의 치사율을 감소시키는 것으로 보아 HSPs이 세포손상에 대한 보호효과를 나타낼 수 있다는 가능성이 제시되었지만¹⁹⁻²⁰⁾ 허혈에 의한 허파손상 및 HSPs생성과의 상관관계에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

기관지동맥(bronchial artery)과 허파동맥(pulmonary artery)으로 부터 혈액공급을 받는 허파는 산소의존적 대사를 하며, 영양물질 결핍에 매우 민감하여 일시적인 허혈도 세포내 ATP와 pH를 감소시켜 치명적인 영향을 주게 된다²¹⁾. 이러한 점에 비추어 볼 때 허파로 향하는 동맥결찰로 인한 허혈과 재관류는 전체 허파순환에 영향을 주고, 이러한 스트레스에 반응하여 HSPs이 생성되리라 추정된다. 본 연구에서는 고양이의 기관지 동맥을 일시적으로 묶어서 허파를 허혈상태로 만든 뒤 다시 재관류시켜 HSPs이 유도되는지 확인하고 재관류 후 시간에 따른 HSPs의 생성 양상을 관찰하고자 하였다.

실험 방법

1. 실험동물 준비

실험동물로는 성숙한 숫고양이를 사용하였으며 α -chloralose 60mg/kg를 복강내 정맥주사하여 마취시켰다. 좌측상지 전완정맥(antecubital vein)에 polyethylene관을 삽입하여 압력전환기(pressure transducer, Statham P203b, SER No. 32000, Puerto Rico)를

통해 생리기록기(physiograph, Grass, Model 79E, U.S.A)로 혈압을 연속 측정하였으며 최대 동맥압은 130-150mmHg로 유지시켰다. 기도유지를 위하여 기관절개술(tracheostomy)를 시행하여 개흉시 사용하는 인공호흡기와 연결하였다. 개흉시 pancuronium bromide(Mioblock) 0.5-1.0mg/hr을 정맥내로 주입하고 이 때 발생하는 호흡곤란은 인공호흡기(mechanical ventilator, Harvard, intermediary ventilator, U.S.A.)를 이용하여 방지하였다.

2. 허파허혈과 재관류

허파에 허혈상태를 일으키기 위하여 좌측기관지 동맥을 10분간 묶은 뒤 재관류 하였다. 허혈과 재관류에 의한 Heat shock protein생성의 시간 경로를 보기 위하여 재관류 시간을 1시간, 4시간, 8시간으로한 3군과 아무런 처치를 하지 않은 대조군등 4군을 실험대상으로 하였다(Fig.1).

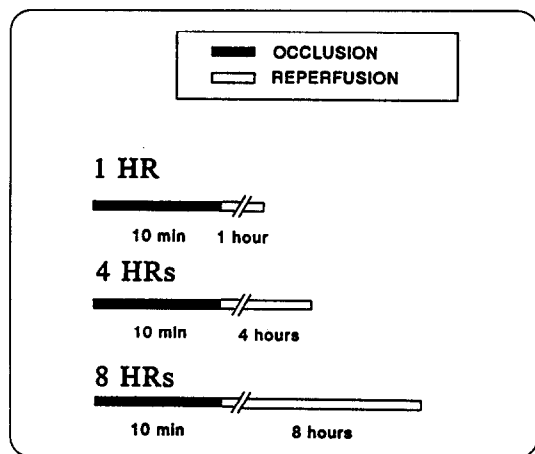


Fig. 1. Schematic diagram illustrating the experimental design. Animals in experimental group were subjected to a 10-min episode of occlusion of the left bronchial artery followed by 1 hour, 4 hours or 8 hours reperfusion

3. 조직추출과 전기영동

고양이의 허파를 적출하여 생리식염수(0.85% NaCl)로 관류시켰다. 허파의 상엽부위를 200-300mg 정도 떼어낸 뒤 면도칼로 잘게 썬 다음 Dounce homogenizer를 사용하여 1ml의 extraction buffer용액(5% SDS, 2% 2-mercaptoethanol)으로 homogenize하고 100℃에 중탕하여 5분간 끓였다. 27게이지 주사바늘을 통과시켜 남아있는 입자를 거른 후 액화질소로 동결시켜 보관하였다. 사용할 때 해동하여 5000rpm에서 15분간 원심분리한 후 modified Lowry 방법²²⁾에 따라 단백질 농도를 측정하고 최종적으로 Laemmli sample buffer용액(0.0625M Tris, 2% SDS, 10% glycerol, 5% 2-mercaptoethanol, 0.001% bromophenol blue, 10mM EDTA, pH 6.8)으로 1 : 1 희석하였다. 동량의 단백질을 Laemmli 방법²³⁾에 의해 10% polyacrylamide gel로 35mA에서 전기영동하였다.

4. Western blotting

전기영동이 끝난 gel상의 단백질들을 10℃, 150 mA에서 overnight동안 Nitrocellulose(NC) membrane으로 옮겼다. NC membrane을 5% skim milk가 포함된 phosphate buffered saline(PBS)-tween20용액에 실온에서 2시간 동안 반응시켜 nonspecific binding site를 차단한 후 PBS-tween20으로 씻었다. 1 : 800으로 희석시킨 monoclonal anti-72KDa Heat-shock protein(Amersham)으로 4℃에서 overnight으로 1차 반응시키고 씻었다. 1:500으로 희석시킨 peroxidase conjugated goat anti-mouse immunoglobulinG(IgG) (KPL)과 실온에서 2시간 동안 반응시킨 후 앞의 방법과 동일하게 씻었다. Membrane을 ECL detection용액(Amersham)과 1분 동안 반응시키고 X-ray film(Agfa)에 노출시켜 현상하였다.

동일한 방법으로 전기영동한 다음 western blot-

ting하지 않은 gel은 coomassie brilliant blue염색용액으로 염색하고 다시 탈색용액으로 탈색한 다음 80℃에서 2시간 동안 dry시켰다.

결 과

일시적인 허혈도 허파에 유해한 자극을 줄 수 있고 이에 대한 영향으로 Heat-shock protein(HSPs)의 생성을 유도한다는 보고를 기초로 하여 기존에 보고된 바 없는 고양이의 허파허혈로 인한 HSPs 생성에 대한 연구를 수행하였다.

허파의 기관지동맥(bronchial artery)을 결찰하여 10분간 허혈이 생기도록 하고, 다시 재관류 시켜 각각 1시간, 4시간, 8시간 후 허파조직을 적출하였다.

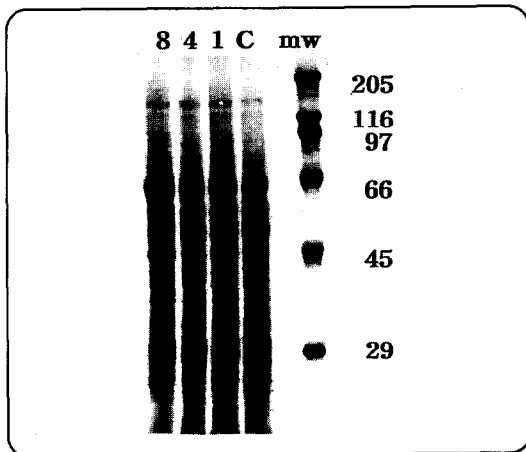


Fig. 2. Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE) of the cat lung proteins extracted after ischemic treatment. Equal amounts of total protein were loaded on a 10% gel as determined by modified Lowry method and stained with 0.1% Coomassie brilliant blue. C, 1, 4 and 8 represent sham-operated control and hours after completion of protocol, respectively. mw represents standard molecular marker.

Fig. 2는 적출한 허파조직의 전체 단백질을 전기영동으로 분리한 후 Coomassie brilliant blue로 염색한 결과이다. 재관류후 시간이 지남에 따라 gel 상에서 분리된 단백질띠의 염색정도는 70KDa부위를 제외하고는 거의 일정하게 나타났다. 마취 이외에는 아무런 처리를 하지 않은 대조군에서부터 8시간군 까지 gel의 각 lane에는 동량의 단백질이 loading되었으며, 재관류 8시간이 되어도 단백질이 변성되지 않고 존재함을 확인할 수 있었다.

허혈과 재관류에 의한 HSPs 생성을 확인하기 위하여 monoclonal anti-72KDa HSP으로 immunoblotting하여 보았다. 허혈과 재관류를 거친 허파조직으로부터 추출하여 전기영동으로 분리된 단백질에 대하여 anti-HSP72와 결합시킨 결과 재관류 8시간이 지난 단백질 sample에서 HSPs이 생성된 것으로 나타났다. 이와는 달리 마취 이외에는 아무런 처리를 하지 않은 대조군과 재관류 1시간, 4시간에서는 HSP70이 생성되지 않은 것으로 나타났다(Fig. 3).

따라서 이상의 결과로 부터 고양이의 기관지맥을 묶으면 허파가 허혈상태에 빠지며 이는 HSP70 생성을 유도하는 스트레스로 작용할 수 있다는 것을 알 수 있었다.

고 찰

생체내 허파는 가스교환을 우선으로 하는 폐순환과 기관지, 허파내 혈관, 림프절, lung parenchyma등에 영양물질을 제공하는 기관지순환의 두가지 순환계로 이루어져 있다²⁴⁾. 이 두 순환계는 서로 모세혈관 문합에 의해 연결되어 있고, 기관지혈류의 2/3이상은 폐순환을 통과한다. 따라서 기관지 혈관계는 폐혈압관에 일어난 변화에 의하여 직접적으로 영향을 받을 뿐만 아니라 허파 부

피의 변화에 따른 간접적 영향으로도 기계적 스트레스에 노출되기 쉬워서 혈류의 이상을 초래하기도 한다²⁵⁾.

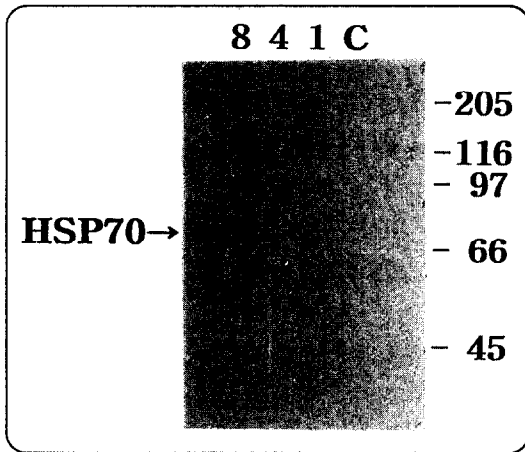


Fig. 3. Western blotting analysis of SDS-PAGE illustrating HSP(72KDa heat shock protein) in the cat lung after ischemia and reperfusion. Tissue extracts were subjected to 10% SDS gel electrophoresis and transferred to nitrocellulose for western blot analysis using inducible monoclonal anti-72KDa HSP. C, 1, 4 and 8 represent sham-operated control and hours after completion of protocol, respectively.

혈류의 손실은 조직에서 허혈을 유발할 수 있는데, 허파의 경우 허파동맥의 막힘에 의한 손상이 기관지순환에 의해 보상되므로 다른 기관과는 달리 비교적 허혈에 강한 것으로 알려졌으나²⁶⁾ 근래 허파 이식 후 이식된 허파의 기관지 동맥 혈류가 막혀 일부 조직과 기관지에서 허혈이 유발되는 것과 관련하여 기관지순환의 중요성이 강조되고 있다²⁷⁾.

본 실험에서는 허파로 향한 기관지동맥을 일시적으로 묶음으로써 허파조직에 허혈을 유도할 수

있는지 관찰하였다. 허파 허혈은 산소와 대사물질이 모자라서 유발되는 것으로 미세혈관내 적혈구 응집과 폐포세포의 ATP 수준을 낮추고 염증반응을 일으킨다²⁸⁻²⁹⁾. 또한 허혈이 일어난 조직에 혈류가 재관류되면 손상 정도를 더욱 증가시키는 재관류 손상(reperfusion injury)을 초래하는데, 이것은 산소가 급격히 유입되어 oxidative free radical을 생성하고 이들이 세포막 지질을 산화하기 때문인 것으로 알려져 있다^{4,15,19,30)}.

재관류 손상으로부터 조직을 보호할 수 있는 방법이 여러 가지 보고에서 제시되고 있다. Donnelly는 허혈과 같은 일시적인 스트레스성 자극을 주면 세포가 이에 대한 방어기작으로 HSPs를 생성하며, 허혈 후 심장수축력의 회복이 HSP72의 발현 및 축적의 시간 경로와 유사하다고 하였다³¹⁻³²⁾.

본 연구에서는 기관지동맥(bronchial artery)을 10분간 묶은 뒤 재관류시켜 시간에 따라 생성된 HSPs의 양을 immunoblotting으로 확인하였다. 실험 결과 재관류 후 8시간이 지난 허파로부터 추출한 단백질만이 monoclonal anti-72HSP과 결합하는 것으로 보아 허혈에 의해 HSP gene이 발현되어 8시간이 지나야 이들에 의해 단백질이 합성된다는 것을 알 수 있었다.

Knowlton¹⁾등은 토끼의 심장에 일시적이고 반복적인 허혈을 일으킬 경우 HSP70에 대한 mRNA가 발현되며, HSP70 mRNA 발현은 심근 결찰 후 1시간 부터 시작되어 24시간 까지 지속되고, HSP70은 2시간 후 부터 생성되어 24시간이 지나면 더욱 증가한다고 보고하였다.

또한 Landry³³⁾는 Morris hepatoma 세포에서 HSPs의 생성이 heat shock 처리 후 2시간에서 4시간 사이에 가장 활발하며 24시간 이후에는 분해가 시작된다고 하였다. 본 실험결과에서 1시간이나 4시간 후에 HSP 70이 생성되지 않다가 8시간이 지난 후에야 생성된 것으로 보아 고양이의 허파에서는

HSP 70이 생성되는 데까지 걸리는 시간이 길기 때문인 것으로 생각된다. 이런 결과들을 볼 때 스트레스 후 HSPs이 생성되는 시간은 생물종에 따라 차이가 있으며, 스트레스의 종류 및 스트레스를 받는 장기, 기간, 생리적 상태에 따라 차이가 있음을 알 수 있다.

최근까지도 HSPs이 유도됨으로써 세포를 보호하는 기작에 관해서는 자세히 밝혀져 있지 않다. HSPs은 스트레스 후 변성된 단백질에 결합하여 단백질들의 응집을 방지하고 DNA 복제때 DnaB와 P-단백질의 결합을 방해하여 유해한 단백질의 합성을 억제한다³⁴⁾. 특히 oxidative free radical 형성과 세포막 지질 산화에 의한 재관류 손상을 회복하는 과정에서 항산화 효소인 catalase activity가 상승하는데 유도된 HSP71이 catalase activity를 활성화시킨다고 알려졌다^{15,30,35)}. 즉 일시적인 허파허혈 후 유도된 HSP70은 허파의 손상을 경감시키며 허파의 기능을 계속 유지시키는데 주요 역할을 하리라 생각된다. 본 실험에서는 기관지 동맥을 일시적으로 묶더라도 허파는 허혈상태에 빠지며 어느 정도의 재관류 시간이 지나면 스트레스 단백질인 heat shock protein이 생성된다는 것을 알 수 있었다. 그러나 유도된 HSPs이 허파를 보호하는 방어기작에는 여러 가지 다른 조절요인도 있을 것이라 사료되며, HSPs의 정확한 조절기작에 대해서는 앞으로 연구되어야 할 과제이다.

결 론

본 연구는 일시적인 허파허혈이 heat shock protein의 합성을 유도하는지 알아보기 위한 것으로 고양이를 이용하여 다음과 같이 실험하였다.

허파 기관지동맥(bronchial artery)을 10분간 묶어 허혈을 유도한 다음, 다시 재관류 시켜 시간에 따라 허파를 적출하여 스트레스에 의해 유도되는

HSP70의 생성을 immunoblotting방법으로 확인하여 보았다. 실험 결과 재관류 후 8시간이 지난 허파 조직에서 HSP70이 생성된 것으로 나타났다. 반면, 마취 이외에는 아무런 처리를 하지 않은 대조군과 재관류 1시간, 4시간 후의 조직에서는 HSP70이 생성되지 않았다. 따라서 이상의 결과로부터 고양지에서 일시적으로 기관지동맥을 묶으면 허파가 허혈상태로 되며, 이는 HSP70을 유도하는 스트레스로 작용한다는 사실을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

- 1) Lindquist, S. and Craig, E.K.(1988). The heat-shock proteins. *Annu. Rev. Genet.*, **22** : 631-677.
- 2) Welch, W.(1987). The mammalian heat shock (or stress) response : a cellular despendence mechanism. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **225** : 287-304.
- 3) Lindquist, S.(1980). Translational efficiency of heat-induced messages in *Drosophila melanogaster* cells. *J. Mol. Biol.*, **137** : 151-158.
- 4) Welch, W., J.R. Feramisco(1984). Nuclear and nucleolar localization of the 72KD heat shock protein in heat-shocked mammalian cells. *J. Biol. Chem.*, **259** : 4501-4513.
- 5) Schlesinger, M.J.(1986). Heat shock proteins : the search for functions. *J. Cell. Biol.*, **103** : 321-325.
- 6) Burdon, R.H.(1986). Heat shock and the heat shock proteins. *Biochem. J.*, **240** : 313-324.
- 7) Morimoto, R.I.(1991). Heat shock: the role of transient inducible reponses in cell damage, transformation and differentiation. *Cancer cells*, **3** : 295-301.
- 8) Kloner, R.A.(1985). Studies of experimental coronary artery reperfusion : effects on infact

- size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. *Circ.*, **58**(suppl I) : 1-8-I-15.
- 9) Miura, T., Ogawa, T., Iwanmoto, T., Tsuchia, A., Iimura, O.(1990). Infact size limiting effect of preconditioning : Its duration and dose-response relationship. *Circ.*, **82**(suppl III) : III-271.
 - 10) Bernier, M., Hearse, D.J., Manning, A.S.(1986). Reperfusion induced arrhythmias and oxygen-derived free radicals: studies with "anti-free radical" interventions and a free radical-generating system in the isolated perfused rat heart. *Circ. Res.*, **58** : 331-339.
 - 11) Bolli, R., Zhu, W.X., Thornby, J.I., O'Neill, P.G., Roberts, R.(1988). Time-course and determinants of recovery of function after reversible ischemia in conscious dogs. *Am. J. Physiol.*, **254** : H102-H114.
 - 12) Braunwald, E., Kloner, R.A.(1982). The stunned myocardium : prolonged, postischemic ventricular dysfunction. *Circ.*, **66** : 1146-1149.
 - 13) Currie, R.W., M. Karmazyn, M. Kloc, K. Mailer(1988). Heat-shock response is associated with enhanced postischemic ventricular recovery. *Circ. Res.*, Vol 63, No 3.
 - 14) Murry, C.E., R.B. Jennings, K.A. Reimer(1986). Preconditioning with ischemia : a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circ.*, **74** : 1124-1136.
 - 15) Sanz, E., Garcia-Dorado, D., Oliveras, J., Perez-Villa, F., Carreras, M.J., Theroux, P., Soler-soler, J.(1992). Ischemic preconditioning limits postreperfusion myocardial edema and preserves left ventricular function. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **19** : 118A.
 - 16) Murry, C.E., Jennings, R.B., Reimer, K.A. (1986). Preconditioning with ischemia : a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circ.*, **74** : 1124-1136.
 - 17) Knowlton, A.A., P. Brecher, C.S. Apstein(1991). Rapid expression of heat shock protein in the rabbit after brief cardiac ischemia. *J. Clin. Invest.*, **87** : 139-147.
 - 18) Schoeniger, L.O., K.A. Andreoni, G.R. Ott, T.H. Risby, T.G. Buchman(1994). Induction of heat shock gene expression in postischemic pig liver depends on superoxide generation. *Gastroenterology*, **106** : 177-184.
 - 19) Blake, M.J., D. Gershon, j. Fargnoli, N.J. Holbrook(1990). Discordant expression of heat shock protein mRNA in tissues of heat-stressed rats. *J. Biol. Chem.*, **265** : 15275-15279.
 - 20) Hotchkiss, R., I. Nunnally, S. Lindquist, J. taulieb, G. Perdrizet, I. Karl(1993). Hyperthermia protects mice against the lethal effect of endotoxin. *Am. Phy. Soc.*, R1447-1457.
 - 21) Markwell, M.K.(1978). A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein samples. *Anal. Biochem.*, **87** : 206-210.
 - 22) Laemmli, V.K.(1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227** : 680-685.
 - 23) von Wichert, P.(1972). Studies on the metabolism of ischemic rabbit lung. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **63** : 284-291.
 - 24) Baile, E.M., R.K. Albert, W. Kirk, S. Lakshaminarayan, B.J.R. Wiggs, P.D. Pare(1984). Positive and expiratory pressure decreases

- bronchial blood flow in the dog. *J. Appl. Physiol.*, **56**(5) : 1289-1293.
- 25) Schraufnagel, D.E.(1989). Microvascular casting of the lung: bronchial versus pulmonary artery filling. *Scanning Microsc.*, **3** : 575-578.
 - 26) Butler, J.(1992). Nutrition and ischemic injury of the lung. *The Bronchial circulation*. Edited by J. Butler. New York, Marcel Dekler, INC., p : 357-387.
 - 27) Deffebach, M.E., N.B. Charan, S. Lakshminarayan, J. Butler(1987). The bronchial circulation. Small, but a vital attribute of the lung. *Ann. Rev. Respir. Dis.*, **135** : 463-481.
 - 28) Bishop, M.J., R.K. Albert, W. Lamm, S.M. Guidotti(1989). Pulmonary ischemia increases vascular permeability even without reperfusion. *Am. Rev. Respir. Dis.*, **139** : 415A.
 - 29) Bishop, M.J., M. Su, E.Y. Chi, F.W. Cherey (1989). Neutrophil depletion with hydroxy urea ameliorates lung perfusion injury. *J. Crit. Care*, **4** : 176-183.
 - 30) Morris, K., K. Mailer, R.W. Currie(1990). Acquisition and decay of heat shock enhanced postischemic ventricular recovery, *Am. Phy. Soc.*, H424-431.
 - 31) Donnelly, T.J., E. Richard, L.J. Frank, W.J. Welch, L.W. Christopher(1991). Heat shock protein induction in rat hearts, *Circulation*, Vol 85, No 2 : 769-778.
 - 32) Matthew M.H., Richard. E.(1994). Heat shock protein induction in rat hearts. *Circulation*, **89** : 355-359.
 - 33) Landry, J., Bernier, D., Chretien, P., Nicole, L.M., Tanguay, R.M., Marceau, N.(1982). Synthesis and degradation of heat shock protein during development and decay of thermotolerance. *Cancer Res.*, **42** : 2457-2461.
 - 34) Lindquist, S., E.A. Craig(1988). The heat shock proteins. *Annu. Rev. Genet.*, **22** : 631-677.
 - 35) McCord, J.(1985). Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N. Engl. J. Med.*, **312** : 159-163.